

Türkiye'nin Bazı Tatlı Su Göllerinde Yayılış Gösteren Ponto-Caspian Kökenli
Potamothrix hammoniensis'in (Clitellata) Filocoğrafyası ve Coğrafik Genetik Analizi

Deniz Kara

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Biyoloji Anabilim Dalı

Ocak 2014

Phylogeography and Geographic Genetic Analysis of *Potamothrix hammoniensis*
(Clitellata) which is a Ponto-Caspian Origin Having Distribution in Some Fresh Water
Lakes of Turkey

Deniz KARA

Master of Thesis Science

Department of Biology

January 2014

Türkiye'nin Bazı Tatlı Su Göllerinde Yayılış Gösteren Ponto-Caspien Kökenli
Potamothrix hammoniensis'in (Clitellata) Filocoğrafyası ve Coğrafik Genetik Analizi

Deniz Kara

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Lisansüstü Yönetmeliği Uyarınca
Biyoloji Anabilim Dalı
Hidrobiyoloji Bilim Dalı
YÜKSEK LİSANS TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır.

Danışman: Prof. Dr. Naime Arslan

2. Danışman: Yrd. Doç. Dr. Ertan Mahir Korkmaz

Bu tez TÜBİTAK tarafından 113Y030 no'lu proje çerçevesince desteklenmiştir.

Ocak 2014

ONAY

Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi Deniz KARA'nın YÜKSEK LİSANS tezi olarak hazırladığı "Türkiye'nin Bazı Tatlı Su Göllerinde Yayılış Gösteren Ponto-Caspian Kökenli *Potamothenix hammoniensis*'in Filocoğrafyası ve Coğrafik Genetik Analizi" başlıklı bu çalışma, jürimizce lisansüstü yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

Danışman : Prof. Dr. Naime ARSLAN

İkinci Danışman : Yrd.Doç. Dr. Ertan Mahir KORKMAZ

Yüksek Lisans Tez Savunma Jürisi:

Üye:Prof.Dr.Naime ARSLAN

Üye:Prof.Dr.Ali Yavuz KILIÇ

Üye:Prof.Dr. Mehmet KARATAŞ

Üye:Prof. Dr. Mustafa DURAN

Üye:Yrd.Doç.Dr.Ertan Mahir KORKMAZ

<p>Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun tarih ve..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.</p> <p style="text-align: right;">Prof.Dr.Nimetullah BURNAK Enstitü Müdürü</p>
--

ÖZET

Bu çalışmada, Ponto-Caspian bir tür olan *Potamothenix hammoniensis*'in (Michaelson, 1901) Türkiye'nin bazı doğal göllerindeki yayılışının ve filocoğrafyasının moleküler çalışmalarla ortaya konulması amaçlanmıştır. *P. hammoniensis*'in, Annelid'lerden başlayarak türe kadar tanımlanmasında yaklaşık 50'ye yakın morfolojik taksonomik karakter kullanılmaktadır. Türün filocoğrafik hikâyesi içinde yayılış bariyerleri ile ilişkili olarak progresif veya konservatif endemizm durumlarında da olduğu gibi allopatrik izolasyona bağlı olarak türleşme gösterebileceği öngörülmüştür.

2010-2013 yılları arasında Gala Gölü (Edirne), Büyük Akgöl (Adapazarı), Sapanca, Eğirdir Gölü (Isparta), Mogan Gölü (Ankara), Cernek Gölü (Samsun), Gölbaşı Gölü (Hatay) ve Nemrut Gölü (Bitlis)'nde yapılan arazi çalışmaları ile örnekler toplanmıştır. *Potamothenix* cinsine bağlı, morfolojik olarak *P. hammoniensis*'e çok benzeyen, ancak bugüne kadar tanımlanan *P. hammoniensis* türü taksonomik karakterlerinden alt tür veya tür kategorisinde farklılık gösteren, dolayısıyla da mevcut anahtarlara göre teşhisi yapılamayan örnekler tespit edilmiştir.

P. hammoniensis'in ülkemiz durgun sularındaki yayılışını temsil edebilecek, batıdan doğuya doğru yukarıda anılan göllerde coğrafik izolasyona bağlı olarak bu göllerde tespit edilen *P. hammoniensis*'e morfolojik olarak benzerlik gösteren üremede primer görevli olan bazı karakterler bakımından farklı olan örnekler moleküler veri setlerinden yararlanılarak varyasyon sınırları belirlenmiştir. Böylelikle türün, ülkemiz yayılış alanı içerisinde tek bir türle temsil edilmediği, Gala Gölü'nden tespit edilen örneklerin yeni tür olabileceği, Sapanca ve Eğirdir Gölleri'nden elde edilen örneklerin ise farklılaşma gösterdiği, ancak bu farklılaşmanın Gala Gölü örneklerindeki kadar yüksek oranda olmadığı tespit edilmiştir. Nemrut Gölü örneklerinin de farklılaşma oranının yüksek olduğu ve araştırılan tüm göllerdeki örneklerden farklı bir izolasyon süreci ve mekanizması geçirdiği sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Ponto-Caspian Tubificin, *Potamothenix hammoniensis*, coğrafik izolasyon

SUMMARY

In this study, it is aimed that presents distribution and phylogeography of *Potamothrix hammoniensis* (Michaelson, 1901) which is a Ponto-Caspian species in some natural lakes of Turkey with molecular studies. It is used almost 50 morphologic taxonomic characters for determination of *P. hammoniensis* becoming from Annelids. It is predicted that this species can show speciation depends on allopatric isolation as in also progressive or conservative endemism situations as related to distribution barriers in phylogeographic history of this species.

Oligochaeta samples were collected from Gala Lake (Edirne), Büyük Akgöl (Adapazarı), Sapanca, Eğirdir Lake (Isparta), Mogan Lake (Ankara), Cernek Lake (Samsun), Gölbaşı Lake (Hatay) and Nemrut Lake (Bitlis) between 2010-2013. These samples are belong to *Potamothrix* genus and look like *P. hammoniensis* as morphologically but differ from some taxonomic characters which are primary rolling in reproduction of *P. hammoniensis* determined until today at category of subspecies or species so could not identify according to current identification keys.

In this way, it is determined whether this species is represented with only one species in distribution area of our country or, samples determined in Gala Lake may be new species, samples in Sapanca Lake and Eğirdir Lake shown differentiation, however this differentiation is not high to samples in Gala Lake. Differentiation in Nemrut Lake samples also is high and it reach a conclusion that these samples have different isolation process and mechanism from all studied lakes samples.

Keywords: Ponto-Caspian Tubificin, *Potamothrix hammoniensis*, geographic isolation

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans tez çalışmamda, gerek derslerimde ve gerekse tez çalışmalarında, bana danışmanlık ederek, beni yönlendiren, bilgisini, tecrübelerini ve güvenini benden esirgemeyen, bana karşı her zaman sabırlı davranan değerli hocalarım Prof. Dr. Naime ARSLAN'a ve Yrd. Doç. Dr. Ertan Mahir KORKMAZ'a sonsuz teşekkür ederim.

Örneklerimin DNA analizinde ve biyoinformatik kısmında bana yardımcı olan ve desteklerini esirgemeyen değerli arkadaşlarım Mervenur ÖRDEK'e, H. Bilal AYDEMİR'e, Özgül DOĞAN'a ve Murat GÜLER'e teşekkür ederim.

Bu tez 113Y030 no'lu ve "Türkiye'nin Bazı Tatlısu Göllerinde Yayılış Gösteren Ponto-Caspian Kökenli *Potamothrix hammoniensis*'in Filocoğrafyası ve Coğrafik Genetik Analizi" adlı proje ile TÜBİTAK 1002 Hızlı Destek Programı kapsamında desteklenmiştir.

Benden desteklerini asla esirgemeyen, sevgilerini her zaman yanımda hissettiğim annem Fatma KARA'ya ve babam Mustafa Hikmet KARA'ya teşekkürü bir borç bilirim. Ayrıca arazi çalışmalarında ve tez yazım aşamasında yanımda olan Hakan MERCAN'a teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	v
SUMMARY	vi
TEŞEKKÜR	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
TABLolar DİZİNİ	xii
1. GİRİŞ	1
1.1. Tür ve Türleşme	1
1.2. Clitellata Sınıfı ve <i>P. hammoniensis</i> Hakkında Genel Bilgiler	10
1.3. Mitokondri DNA ve Çekirdek DNA Hakkında Genel Bilgiler	19
1.4. Çalışmanın Amacı	22
2. MATERYAL ve METOD	25
2.1. Arazi Çalışması ve Örneklem Noktaları	25
2.2. Tür Teşhisi ve Örneklerin Saklanması	31
2.3. DNA Analizi	31
2.4. COI ve ITS2 Fragmanlarının Polimeaz Zincir Reaksiyonu ile Çoğaltılması	32
2.5. Jel Elektroforezi	35
2.6. PZR Ürünlerinin Dizilenmesi ve Hizalanması	36

2.7. Veri Analizleri	38
2.7.1. Genetik Çeşitlilik, Genetik Uzaklık ve Gen Karakterizasyonu	38
2.7.2. Filogeni ve Filocoğrafya	38
3. BULGULAR	40
3.1. Morfolojik Bulgular.....	40
3.2. Genetik Çeşitlilik ve Populasyonlar Arasındaki Genetik Uzaklık	45
3.3. Filogeni ve Filocoğrafya	59
4. TARTIŞMA, SONUÇ ve ÖNERİLER	77
5. KAYNAKLAR DİZİNİ	83

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
1.1. İçsuların zoocoğrafik bölgeleri ve alt bölgeleri.....	9
1.2. Tubificinae alt familyasına ait genel vücut organizasyonu	11
1.3. Bir Tubificinae bireyinin somatik-genital seta tipleri ve anatomikal terminolojisi	12
1.4. Clitellata grubunda genel seta şekilleri	12
1.5. 1. <i>Potamothrix hammoniensis</i> , 2. <i>P. moldaviensis</i> . Spermatekal seta: 3&4. <i>P. hammoniensis</i> , 5. <i>P. heuscheri</i> , 6. <i>P. bavaricus</i> , 7. <i>P. bedoti</i> , 8. <i>P. moldaviensis</i> , 9. <i>P. scleropenis</i> . Yumurta kokonları: 10. <i>P. hammoniensis</i> , 11. <i>P. vej dovskyi</i> , 12. <i>P. bedoti</i> , 13. <i>P. moldaviensis</i>	14
1.6. Palearktik'teki <i>Potamothrix</i> cinsinin yayılış alanı	17
1.7. Pliyosen-Pleistosen dönemlerinde Anadolu İç Gölü'nün kaplandığı alan...	24
1.8. Anadolu Diyagoneli oluşuktan sonra Anadolu İç Gölü'nün durumu	24
2.1. Gölbaşı Gölü'nden bir görüntü	27
2.2. Sapanca Gölü'nden bir görüntü	27
2.3. Nemrut Gölü'nden bir görüntü	28
2.4. Cernek Gölü'nden bir görüntü	28
2.5. Mogan Gölü'nden bir görüntü	29
2.6. Büyük Akgöl'den bir görüntü	29
2.7. Eğirdir Gölü'nden bir görüntü	30
2.8. Gala Gölü'nden bir görüntü	30
2.9. ITS2 ve COI fragmanlarının jel görüntüleri	36

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.10. COI ve ITS2 fragmanlarına ait bazı dizi kromotogramları	37
3.1. COI fragmanı Komşu Bağlama (NJ) dendogramı.....	65
3.2. ITS2 fragmanı Komşu Bağlama (NJ) dendogramı.....	66
3.3. COI fragmanı maksimum olasılık yöntemine dayalı filogenetik ağaç	67
3.4. ITS2 fragmanı maksimum olasılık yöntemine dayalı filogenetik ağaç	68
3.5. COI fragmanı maksimum parsimoni yöntemine dayalı filogenetik ağaç	69
3.6. ITS2 fragmanı maksimum parsimoni yöntemine dayalı filogenetik ağaç	70
3.7. COI fragmanı MrBayes ağacı	71
3.8. ITS2 fragmanı MrBayes ağacı	72
3.9. COI ve ITS2 fragmanları birleştirilerek oluşturulan konsensus ağacı	73
3.10. COI fragmanı şebeke analizi ile oluşturulan soy-hattı ilişkisi	74
3.11. ITS2 fragmanı şebeke analizi ile oluşturulan soy-hattı ilişkisi	75
3.12. ITS2 ikincil yapıları	76
4.1. Kladlar arasındaki moleküler ve morfolojik farklılıklar.....	79

TABLOLAR DİZİNİ

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. <i>P. hammoniensis</i> örneklerin toplandığı lokaliteler, örnekleme tarihleri, koordinatları, her lokaliteden toplanan birey sayıları ve lokalite kısaltmaları	26
2.2.COI ve ITS2 primerlerine ait siziler, T _M değerleri ve % GC içerikleri	33
3.1.Gala Gölü'nden morfolojik teşhis anahtarına göre <i>P. hammoniensis</i> olarak teşhis edilen örneklerin, <i>P. hammoniensis</i> bireylerinden gözlemlenen farklılıkları	41
3.2.Eğirdir ve Sapanca Göllerinden morfolojik teşhis anahtarına göre <i>P. hammoniensis</i> olarak teşhis edilen örneklerin, <i>P. hammoniensis</i> bireylerinden gözlemlenen farklılıkları	42
3.3.Nemrut Gölü'nden morfolojik teşhis anahtarına göre <i>P. hammoniensis</i> olarak teşhis edilen örneklerin, <i>P. hammoniensis</i> bireylerinden gözlemlenen farklılıkları	43
3.4.Büyük Akgöl, Mogan, Gölbaşı ve Cernek Gölleri'nde morfolojik teşhis anahtarına göre <i>P. hammoniensis</i> örneklerinden sapma göstermeyen bireylerin özellikleri	44
3.5.COI fragmanı örnekler arası p-genetik uzaklık	47
3.6.ITS2 fragmanı örnekler arası p-genetik uzaklık	48
3.7.COI fragmanı Tamura-Nei genetik uzaklık	52
3.8. ITS2 fragmanı Tamura-Nei genetik uzaklık	53
3.9.COI fragmanı kladlar arasındaki p-genetik uzaklık	57
3.10.ITS2 fragmanı kladlar arasındaki p-genetik uzaklık	57
3.11.COI fragmanı kladlar arasındaki Tamura-Nei genetik uzaklık	58
3.12.ITS2 fragmanı kladlar arasındaki Tamura-Nei genetik uzaklık	58
3.13.Populasyonların COI ikili F _{ST} değerleri	59
3.14.Populasyonların ITS2 ikili F _{ST} değerleri	59
3.15.COI fragmanı için oluşturulan haplotipler	63
3.16.ITS2 fragmanı için oluşturulan haplotipler	63
3.17.COI fragmanı için Nötralite testleri	64
3.18.ITS2 fragmanı için Nötralite testleri	64

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Simgeler</u>	<u>Açıklama</u>
%	Yüzde
-	Eksi
+	Artı
°C	Santigrat derece
A	Adenin
C	Sitozin
D	Doğu boylamı
<i>D</i>	Tajina'nın nötralite istatistiği
dH ₂ O	Distile su
F _S	Fu'nun nötralite istatistiği
F _{ST}	Gruplar arası populasyonlar arası fiksasyon indeksi
G	Guanin
<i>h</i>	Haplotip Çeşitliliği
K	Kuzey enlemi
mA	Miliamper
MgCl ₂	Magnezyum Klorür
ml	Mililitre
mM	Milimolar
p	İstatistiksel açıdan anlamlılık derecesi
T	Timin
T _A	Bağlanma Sıcaklığı
T _M	Erime sıcaklığı
π	Nükleotid Çeşitliliği
ϵ	Epsilon

Kısaltmalar**Açıklama**

AIC	Akaike Bilgi Kıstası
bç	Baz çifti
BIC	Bayesian Bilgi Kıstası
BSA	Bovin serum albumin
bknz.	Bakınız
COI	Sitokrom oksidaz I geni
dk	Dakika
DNA	Deoksiribonükleik asit
dNTP	Deoksiribonükleotid trifosfat
EDTA	Etilendiamintetraasetik asit
et al.	Ve diğerleri
GTR	Genel Zaman Dönüşümlü
GTR+I+G	Gamma parametrelili, değişken olmayan pozisyonların oranının tahmin edilmesini öneren GTR mutasyon modeli
ITS1	Internal transcribed spacer 1
ITS2	Internal transcribed spacer 2
m	Metre
NJ	Neighbour Joining (Komşu Bağlama)
ML	Maksimum Olasılık
MP	Maksimum Parsimoni
mtDNA	Mitokondriyal Deoksiribonükleik asit
my	Milyon yıl
O.D.	Optik Yoğunluk
PAUP	Parimoni Kullanımlı Filogenetik Analiz
pmol	Pikomol
PZR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
rDNA	Ribozomal Deoksiribonükleik Asit
RNAz	Ribonükleaz
SBZ	Son Buzul Zamanı
syf.	Sayfa
TAE	Tris Asetik asit EDTA tamponu
vd.	Ve diğerleri

1.GİRİŞ

Bir bölgenin biyolojik ya da genetik çeşitliliği genel olarak o bölgenin günümüz yapılanma örüntüleri ve evrimsel tarihi ile ilişkilendirilmektedir. Evrimsel tarihinde etkili olan faktörler arasında o bölgenin coğrafik pozisyonu, paleocoğrafik evrimi ve paleoiklimsel yapısının yanısıra birbirini takip eden buzul ve buzullar arası dönemlergibi zamana bağlı ardışık değişimlerin varlığı da sayılabilmektedir. Günümüz biyo- ya da genetik çeşitliliği bir önceki dönemin kompozisyonundan köken alırken, bu süreç bir önceki dönemde başka bir öncü kompozisyon tarafından kökenlenen çeşitlilikle devam etmektedir. Anadolu'nun günümüz genetik çeşitliliği Holosen dönemindeki genetik kompozisyondan oluşmakta, Holosen dönemi ise Mindel Buzul dönemine gitmektedir. Bu süreç ardışık olarak birbirini takip etmektedir. Anadolu genetik çeşitliliği üzerine bu ardışık buzul dönemlerinin etkisi ile birlikte, kendi içerisinde değişkenlik sergileyen topografik ve iklimsel yapıya sahip olması da bu coğrafyada türleşmeyi tetikleyerek, bölgenin genetik çeşitliliğini artıran bir dinamik sağlamaktadır. Bu nedenle Anadolu yarımadasının sadece kuzey türleri açısından bir buzul sığınağı olarak nitelendirmek yerine, “sığınak içinde sığınak” şeklinde tanımlamanın daha doğru bir yaklaşım olacağı belirtilmektedir (Çıplak, 2008).

1.1.Tür ve Türleşme

Evrimsel bağımsızlık, popülasyonlardaki alel frekanslarının mutasyon, seçilim, genetik göç ve genetik sürüklenme ile neden olunan değişimlerle ortaya çıkar. Tür, bu evrimsel bağımsızlık sayesinde değişime uğramış alellerin başka gen havuzlarına yayılmasını engelleyen bir sınır oluşturarak evrimleşir (Freeman and Herron, 2007). Karşılaştırmalı biyoloji literatüründe 22 tane tür kavramı olduğu belirtilmiştir (Wheeler

and Meier, 2000). Günümüzde en yaygın olarak kullanılan tür kavramları; ekolojik, morfolojik, filogenetik, biyolojik ve evrimsel tür kavramlarıdır.

Ekolojik tür kavramı, türü, türün kullanıldığı çevresel kaynaklar olarak tanımlanan ekolojik niş bakımından tanımlamaktadır. Diğer taraftan, bir türün nişi, biyolojik komünitedeki üstlendiği özel role göre yapmış olduğu özgün uyumlara bağlıdır. Bu tür kavramı, biyolojik tür kavramının uygulanamadığı eşeysiz türler için de uygundur (Campbell and Reece, 2010).

Eski kültürlerde, insanlar türleri morfolojik benzerlik ve farklılıkları temel alarak isimlendirirler. Biyolojide, **morfolojik tür** tanımlamanın temeli fenotipik farklılıkları dikkatlice ortaya koymaktır. Morfolojik tür kavramının (MTK) en büyük avantajı kullanışlı olmasıdır. Bu kavram soyu tükenmiş ya da yaşamakta olan, eşeyli ya da eşeysiz üreyen türlere uygulanabilir. Ancak bu kavramın en sorunlu tarafı, dikkatli bir şekilde uygulanmadığında tür tanımlamalarının keyfi ve kişiye özgü olabilmesidir. Morfolojik olarak benzer olan, ancak diğer davranışsal özellikler açısından oldukça farklılaşmış türler morfolojik olarak ayırt edilemezler. "Morfolojik olarak benzer ancak aslında birbirinden evrimsel olarak farklılaşmış" böylesi populasyonlara **kriptik (gizli) türler** denir (Freeman and Herron, 2007).

Biyolojik tür kavramı (BTK), türü, üyeleri doğada kendi aralarında üreme potansiyeline sahip olan ve yaşayabilir, verimli döller meydana getiren; fakat diğer türlerin üyeleriyle yaşayabilir ve verimli döller meydana getiremeyen, populasyon ya da populasyonlar grubu olarak tanımlanmaktadır. BTK'na göre evrimsel bağımsızlığı tanımlayan ölçüt üreme izolasyonudur. Yani, eğer populasyonlar veya organizmalar doğada hibritleşemez veya hibritleşse bile verimli döller vermezlerse o zaman populasyonlar üreme izolasyonuna sahiptir ve geçerli birer tür olarak kabul edilmektedir. Biyolojik tür kavramının en güçlü yanı, gen akışının kesildiğini

belirlemek için üreme izolasyonunu ölçüt olarak kullanmasıdır (Campbell and Reece, 2010).

Son 15-20 yıldır canlılar arasında görülen farklılaşmanın ekofenotipik bir varyasyon mu yoksa coğrafik izolasyona bağlı bir farklılaşma mı olduğunun net olarak ortaya koyulması amacıyla filogenetik tür kavramı ve buna bağlı olarak da filokodaolan ilgi artmaya başlamıştır. **Filogenetik tür kavramına** göre türler, yakın akraba populasyonlar arasındaki filogeninin ortaya çıkartılması ve filogenetik ağaçta en küçük monofiletik grupların bulunmasıyla belirlenmektedir. Ancak filokod sistemi alışılmış taksonominin verdiği klasik sınıflandırmayı tam olarak ortaya koyamamaktadır. Filogenetik tür kavramının arkasındaki mantığa göre, populasyonların bir filogeni üzerinde ayırt edilmesini sağlayacak karakterlerin ortaya çıkabilmesi için, populasyonların izolasyon sonucu birbirinden ayrılmış ve genetik olarak farklılaşmış (muhtemelen morfolojik olarak da farklılaşmışlardır) olması gerekmektedir. Başka bir deyişle, filogenetik tür kavramına göre, ayrı bir türü tanımlayabilmek için, tanımlayıcı karakterlerin ortaya çıkışına yetecek kadar uzun süre populasyonların evrimsel olarak bağımsız kalmış olmaları gerekmektedir. Aynı türe ait populasyonların sahip olduğu paylaşılan türemiş özellikleri onları diğer türe ait populasyonlardan ayırt etmeye yarar (Freeman and Herron, 2007).

Evrimsel tür kavramına göre tür, kendi evrimsel süreci ve tarihsel geçmişi olan ve diğer böyle soy hatlardan kendi özgünlüğünü sürdüren; ata-nesil populasyonlarının tek bir soy hattıdır (Ogunseitan, 2005). Bu kavramın en önemli özelliği, "evrimsel süreç ve tarihsel geçmiş" kavramlarına tanımlama içerisinde yer vermesidir (De Pinna, 1999; Wheeler and Meier, 2000).

Günümüzde hayvanların ve bitkilerin teşhisinde en çok kullanılan kavram morfolojik tür kavramıdır. Bu da hayvanların morfolojik karakterlerine göre benzerlik ve farklılıkları ortaya konularak çalıştığından dolayı, aynı atasal formdan gelen, ana

populasyondan ayrılan ve (kısa süreli) coğrafik izolasyona tabi kalmış ancak aralarında henüz üreme izolasyonu tam olarak oluşmamış küçük populasyonlar arasındaki farklılığı ortaya koymakta yetersiz kalmaktadır.

Türleşme, çeşitliliğin oluşmasını sağlayan yaratıcı bir süreçtir. Türleşme ile ilgili model ve süreçleri anlamak, biyoçeşitliliği açıklamanın temelidir (Mayr, 1963). Türleşme üç evreli bir süreç olarak analiz edilebilir: İlk basamak populasyonların ayrılma süreci, ikinci basamak çiftleşme yöntemleri ve habitat kullanımı gibi özelliklerin değişime uğraması süreci ve son basamak ise üreme izolasyonunun oluşum sürecidir. Bu görüşe göre, ayrılma ve farklılaşma süreçleri populasyonlar farklı coğrafik alanlarda kaldıklarında zaman içinde oluşur. Son adımda, farklılaşmış bu populasyonların tekrar teması geçmesiyle **ikincil temas** olarak bilinen bir durum ortaya çıkacağı öngörülür (Freeman and Herron, 2007). Türleşme modelleri geleneksel olarak; allopatrik, simpatrik ve parapatrik türleşme olmak üzere 3 başlık altında toplanmıştır.

Allopatrik türleşme adı verilen türleşme tarzında, türleşme olayı coğrafik olarak birbirinden ayrılmış populasyonlarda gerçekleşmektedir. İki populasyon buldukları alanda birbirlerinden ayrılmış olduklarından dolayı aralarındaki gen akışı başlangıçta kesilir ya da indirgenir. Allopatrik türleşmede en önemli etken bariyerlerdir. Bariyer, türün ekolojik isteklerini karşılayamayan yer veya yerlerdir (Demirsoy, 1996). Herhangi bir alan bir tür için tam bir bariyerken, bir diğer tür için en iyi yaşama yeri olabilmektedir. Aynı atadan gelen iki veya daha fazla tür aynı alanda oluşmuşsa ve bu alanda yaşamını sürdürüyorsa bu türlere "simpatrik türler" adı verilmektedir. **Simpatrik türleşme** adı verilen türleşme şeklinde ise, türleşme olayı, yayılış alanları coğrafik olarak üst üste binen populasyonlarda gerçekleşmektedir. Bu tip türleşme, aynı habitatta bulunan bireylerin üreme işlevlerinde ve davranışlarında oluşan değişiklikler nedeniyle ortaya çıkan bir türleşme olarak da kabul edilmektedir. Burada, kromozom değişiklikleri ve rastgele olmayan çiftleşmeler gibi biyolojik faktörler gen akışını indirgemektedir (Campbell and Reece, 2010). Kesintisiz bir

coğrafi bölgede yeni ekolojik konumların ortaya çıkması ile populasyon ikiye ayrılır ve türler arası etkileşim azalır. Heterozigotların az uyumlu olması nedeniyle iki topluluğun birbiriyle eşleşmemesini avantajlı kılacak davranışlar veya mekanizmalar seçilime uğrar. Bu farklı seçim baskısı sonucunda meydana gelen türleşmeye **parapatrik türleşme** denir (Dawkins, 2004; Alström, 2006).

Dünya tarihi boyunca meydana gelen iklimsel değişimler farklı coğrafyaları farklı şekillerde etkilemiş, farklı coğrafyalardaki türlerin bu değişimlere cevabı da farklı olmuştur. DNA dizilerinin türlerin coğrafi dağılımları ile ilişkili gen ağaçlarının çıkarılmasında kullanılması (filocoğrafya) bu alandaki araştırmalara önemli katkılar sağlamaktadır (Avice, 1994; Hewitt, 2003; Taylor and Keller, 2007). Filocoğrafya genetik varyasyonun tür içi ve yakın türler arasındaki yayılışını belirleyen süreçleri anlamayı amaçlar ve jeolojik olayların, çevresel etkilerin ve coğrafi etkenlerin bir türün ekolojisi ve doğa tarihi ile etkileşerek, o türün evrimini nasıl şekillendirdiği ile ilgili türe özgü bilgiler verir (Knowles, 2009).

Dünyanın özellikle Pleistosen döneminde dört önemli buzul dönemi (Günz, Mindel, Riss ve Würm) geçirdiği ve bu dönemlerin biyolojik çeşitlilikte önemli bir etkiye sahip olduğu bilinmektedir (Webb and Bartlein 1992; Hewitt 1996; Cox and Moore 2005; Çıplak 2008).

Horowitz (1988) Kuaterner buzul döngüleri boyunca Akdeniz’de deniz seviyesinin bugünküne göre -150 ve +120 m arasında değişim gösterdiğini belirtmiştir. Kaiser (1969)’a göre SBZ’de deniz seviyesi bugünkünden yaklaşık 150 m daha düşük bir seviyeye inmiştir. Bu da birçok kara bağlantısının kurulmuş olmasına ve organizmaların bu köprüleri kullanarak yayılmasına; allopatrik türlerin tekrar karşılaşmasına neden olmuş olmalıdır.

Bugün yaşayan canlıların yayılışına baktığımızda bu yayılışların Avrupa ve Asya’da enlemsel bantlaşmalar gösterdiğini, kuzey ve güney sınırlara sahip olduğunu

görürüz (örneğin kuşlar ve kelebekler, Harrison, 1982; Higgins and Hargreaves, 1983). Hewitt (2003)'e göre canlıların bu şartlara uyumları yayılış sınırlarının iklim dalgalandıkça kuzey ve güneye kaydığını göstermektedir. Buzul dönemlerinde sürekli olarak güney enlemlere sığınmaları, buzullar arası dönemlerde yeniden kuzeye yayılma olanağı bulmaları, canlıların genomunda da izler bırakmıştır. İklimin elverişliliği arttıkça kuzeye doğru gerçekleşen yayılmanın alel kaybı ve homozigotlukta artış gibi sonuçları olmuştur. Nitekim sonradan yerleşilmiş alanlarda genomda düşük değişkenlik gözlenmektedir. Artan sayıda araştırma kuzeydeki populasyonların daha az genetik çeşitliliğe sahip olduğunu göstermektedir (Hewitt, 1996; Pinho, et al., 2007). Buna karşın güneyli populasyonların güneyin dağlık arazisindeki yayılış hareketi daha yavaş ve kısa mesafeli olduğundan buralarda genetik çeşitlilik korunmaktadır (Hewitt, 2003; Thompson, 2005). Bu iki aşırı uçtaki populasyon hareketi tipi “Öncü Birlik ve Tabur” (pioneer ve phalanx) olarak bilinir (Nichols and Hewitt, 1996).

Biyolojik çeşitlilik bilindiği gibi; ekosistem çeşitliliği, tür çeşitliliği, genetik çeşitlilik ve ekolojik proseslerin birleşimidir. Herhangi bir zoocoğrafik bölgenin biyolojik çeşitliliğinin yüksek olması, bu dört bileşen bakımından zengin olduğu anlamına gelmektedir. Türkiye de Palearktik bölge içerisinde biyolojik çeşitliliği yüksek olan ülkelerden biridir. Eski dünya kıtaları arasında köprü görevi gören Türkiye, son iki milyon yılda yaşanan buzul çağlarında pek çok canlı türü tarafından sığınak olarak kullanılmış ve günümüzdeki biyolojik çeşitliliğine kavuşmuştur (Eken vd., 2006). Anadolu, Avrupalı türlerin buzul dönemlerde sığınak olarak kullandığı güney enlemlerindedir (Hewitt, 1996, 2000) ve bu bağlamda Anadolu'da biyolojik çeşitliliğin yüksek olması beklenir ki gerçek bu beklentiyle uyumludur (Şekercioğlu vd., 2011). Buzul dönemlerinde kuzeyde yaşayan canlılar güneye doğru ilerlemeye başlamış ve Anadolu pek çok canlı türü için önemli bir sığınak işlevi görmüştür. Canlıların Türkiye'ye ulaşabilmeleri için iki giriş kapısı işlev görmüştür: Trakya ile Kuzeydoğu Anadolu. Kuzeyde yaşayan canlılar bu kapılardan girerek Anadolu'ya yerleşmiştir (Eken vd., 2006).

Türkiye, jeolojik açıdan genç bir ülkedir ve halen devam etmekte olan bir dağ oluşum kuşağında yer almaktadır. 65 milyon yıl önce başlayan bu dağ oluşumu hareketleriyle Afrika, Arabistan ve Hindistan kuzeye, Avrupa ve Asya'ya doğru ilerlemekte ve bu ilerlemenin sonucunda temas sağlanan kesimlerde yüksek dağ kıvrımları oluşmaktadır. Çevresindeki büyük kıtalarla kıyaslandığında çok geç deniz yüzeyine çıkan Anadolu, Afrika'nın eski Akdeniz'in (Tetis) tabanındaki tortulları itekleyip yükseltmesiyle Toros Dağları'na kavuşmuştur. Anadolu, yaklaşık 12 milyon yıl önce Arap levhasının-yılda iki üç santimetre kadar bir hızla- çarpmasıyla doğu kısmından yükselmeye başlamış, batı kesimi ise gevşeme sonucu kırılmalarla bloklar halinde çökerek Gediz ve Menderes Nehirleri için hazır vadiler oluşturmuştur. İç Anadolu Kapalı Havzası da aynı dönemin eseridir. Yine aynı dönemde Karaman'ın kuzeyindeki Karacadağ'dan Ağrı Dağı'na dek uzanan hat boyunca volkan dağları yükselmiş ve günümüzdeki şeklini almıştır (Eken vd., 2006).

Tüm bu dönemler boyunca dağ yükselmeleri Anadolu'daki tatlı su bağlantıları (özellikle göl) zaman zaman kesilmesini, zaman zaman da akarsular aracılığıyla birleşmesine neden olmuştur. Böylelikle tatlı su canlıları arasında coğrafik izolasyon başlamıştır (Demirsoy, 2002). Ancak Anadolu'yu kuzeydoğudan Antakya yönüne doğru ikiye bölen ve yüksek dağ silsilelerinden oluşan "Anadolu Diyagonalı" adlı fiziksel engel, bu iki kapıdan giriş yapan bazı canlıların birbirleriyle Anadolu'da yeniden buluşmalarına engel olmuştur. Hareket yeteneği az gelişmiş olan bitki türleri ve bazı hayvanlar, bu diyagonalin batı ve doğusunda birbirlerinden bağımsız olarak çoğalarak farklılaşmaya başlamışlar, bu durum Anadolu'daki biyolojik çeşitliliğin daha da artmasını sağlamıştır (Demirsoy, 2002; Eken vd., 2006). Bugün, Avrupalı canlılara daha çok Karadeniz ve Batı Anadolu'da, Afrikalı türlerin topluluklarına Akdeniz Bölgesi'nin sahil şeridi ve Güneydoğu Anadolu'da, Asya kökenli türlere ise Doğu ve Orta Anadolu'da rastlanmaktadır (Eken vd., 2006).

Buzul arası sıcak dönemlerde ise güneydeki canlı toplulukları kuzeye doğru harekete başlamıştır. Bu dönemlerde Antakya, Güneydoğu Anadolu ve Iğdır Ovası,

Afrika ve çöl kökenli türler için giriş kapısı işlevi görmüştür. Tüm bu güneye iniş ve kuzeye çıkışlar, Anadolu topografyasından doğan mikroklimatik zenginlik nedeniyle bu topraklar üzerinde çok daha şaşırtıcı izler bırakmıştır (Eken vd., 2006).

Anadolu bulunduğu coğrafya ve topografyası nedeniyle pek çok melezleşme olayının gözlenmesi beklenen bir bölgedir. Ayrıca batısında ve doğusunda, karasal organizmalar tarafından buzul dönemlerinde sığınak olarak kullanılmış olan alanların bulunması (Kosswig, 1955; Hewitt, 1996, 2000). Anadolu'yu biyocoğrafya açısından daha da önemli hale getirmektedir (Rokas, et al., 2003; Bilgin, 2011).

Türkiye'nin su havzaları yapısının çok karmaşık ve parçalı olması gerek iç su balıkları gerekse omurgasız canlı türlerinde yüksek endemizm ve genetik çeşitliliğe neden olmuştur. Otuz beş milyon yıl kadar önce (Tersiyerin ikinci yarısı) Anadolu'nun dört bir yanını çevreleyen Sarmatik İç Deniz, acıdan tatlısu karakterine dönüşerek zamanla Karadeniz, Hazar, Aral ve uzunca bir süre göl özelliği gösteren Ege havzalarına ayrılmıştır. Bu durum, Orta Avrupa türlerinin ve Tuna havzasındaki başta balık türleri olmak üzere bazı sucul canlı türlerinin Batı Anadolu'da bulunmasını açıklar. Bu yayılışın en güzel örneklerinden biri; Orta Avrupa kökenli *Gobio gobio*'nun alttürlerinin, hatta endemik bir tür olan *Gobio hettitorum*'un Orta Anadolu'daki yayılışıdır. Benzer bir durumda tatlı su omurgasızlarında gözlenmektedir (Eken vd., 2006). Özellikle aktif yayılma yeteneği olmayan omurgasız canlı gruplarından Amphipoda, Crustacea, Clitellata ve Gastropoda gibi grupların ülkemizde gösterdikleri endemizm durumu, balıklar kadar yüksek olmamakla beraber, iç sulardaki canlı yayılışı ve buna bağlı olarak oluşan türleşmenin göstergelerinden biridir.

İçsular zoocoğrafik açıdan; Holoarktik Bölge, Baykal Bölgesi, Sino-Hindistan Bölgesi, Etiyopya Bölgesi, Neotropikal Bölge ve Antarktik Bölge olmak üzere 6 bölgeye ayrılmaktadır (Brinkhurst and Cook, 1979) (Şekil 1.1).



Şekil 1.1. İçsuların zoocoğrafik bölgeleri ve alt bölgeleri. I-Holoarktik Bölge (I₁-Avrupa-Sibirya, I₂-Batı Balkan, I₃-Ponto-Caspian, I₄-Doğu Sibirya, I₅-Pasifik, I₆-Atlantik alt bölgesi). II-Baykal Bölgesi. III-Sino-Hindistan Bölgesi (III₁-Amur-Japonya, III₂-Çin, III₃-Hint-Malezya alt bölgesi). IV-Etiyopya Bölgesi. V-Neotropikal Bölge (V₁-Orta Amerika, V₂-Brazilya, V₃-Andian alt bölgesi). VI-Antarktik Bölgesi (VI₁-Patagonya, VI₂-Cape, VI₃-Avustralya, VI₄-Yeni Zelanda alt bölgesi). (Brinkhurst and Cook, 1979'dan)

Yaklaşık 6-7 bin yıl önce İstanbul Boğazı oluşmasının ardından Asya kökenli formların batıya doğru yayılımı için bariyer oluşturmuştur. Benzer şekilde kuzey ve güneydeki yüksek dağlar (Kuzey Anadolu dağları ve Toroslar), Orta Anadolu göllerini Akdeniz ve Karadeniz'den ayırmıştır. Bu durum, Orta Anadolu'daki tür çeşitliliğini ve endemizmi açıklamaktadır. Asya kökenli formlar Anadolu'ya geç girdiği için Çanakkale ve İstanbul Boğazı bariyerleri nedeniyle Avrupa kıtasına geçememiştir (Eken vd., 2006).

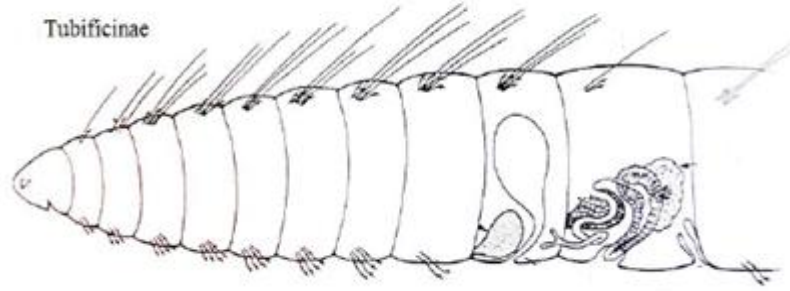
Türkiye, en son revizyonu Conservation International (Dünya Doğa Koruma Kurumu) tarafından yapılan sıcak bölgeler (hotspots) analizine göre dünyadaki 34 sıcak bölgenin üçünün kesişim noktasında yer almaktadır (Mittermeier, et al., 2004). Bu bölgeler; Kafkasya, Akdeniz Havzası ve İran-Anadolu'dur. İran-Anadolu sıcak bölgesi, 2005 yılında Doğa Derneği ve Conservation International araştırma ekiplerinin ortak çalışması sonucunda belirlenmiştir. Türkiye'nin Önemli Doğa Alanları envanteri üzerinde yapılan ön çalışmalar, aynı zamanda bu yeni sıcak bölgenin belirlenmesi için bilimsel altlık teşkil etmiştir. Türkiye'deki diğer iki sıcak bölge, Kafkasya ve Akdeniz Havzası, daha önceki yıllarda tanımlanmıştır. Dünyada üç sıcak bölgeyi aynı anda bulunduran çok az ülke bulunmaktadır (Eken vd., 2006).

1.2. Clitellata Sınıfı ve *Potamothrix hammoniensis* Hakkında Genel Bilgiler

Clitellata, klitelluma sahip canlı anlamına gelmektedir. Sadece karasal ve sucul formları olduğu gibi, hem toprakta hem de sucul sistemlerde bulunabilen formları (özellikle Enchytraeidae ve Lumbricidae) da vardır.

Clitellata üyelerinin vücutları tipik olarak homonom segmentli, pre-oral bir prostomium, bilateral simetrik, geniş sömümlü ve hermofrodit solucanlardır. İnce derili, saydam ve küçük vücutludurlar (Şekil 1.2). Büyüklükleri genel olarak 0,5 mm (bazı *Chaetogaster* türleri) ile 400 mm. (*Haplotaxis gordioides*) arasında değişebilir. Vücutları dissepimentlerle birbirinden ayrılmış sayısız segmentten meydana gelir. Vücuttaki segment sayısı altfamilyalara ve türlere göre değişebilir (Sperber, 1948; Brinkhurst and Jamieson, 1971). Vücut yüzeyi zar gibi ince bir kütikula ile örtülüdür. Her segmentte barsak ile vücut duvarı arasında bir çift sömüm kesesi yer alır. Sömm epitelinin yer yer değişikliğe uğraması ile metabolizma artıklarını içerisinde depolayarak boşaltıma yarayan "klorogogen hücreler" yer alır (Stephenson, 1930; Brinkhurst and Jamieson, 1971).

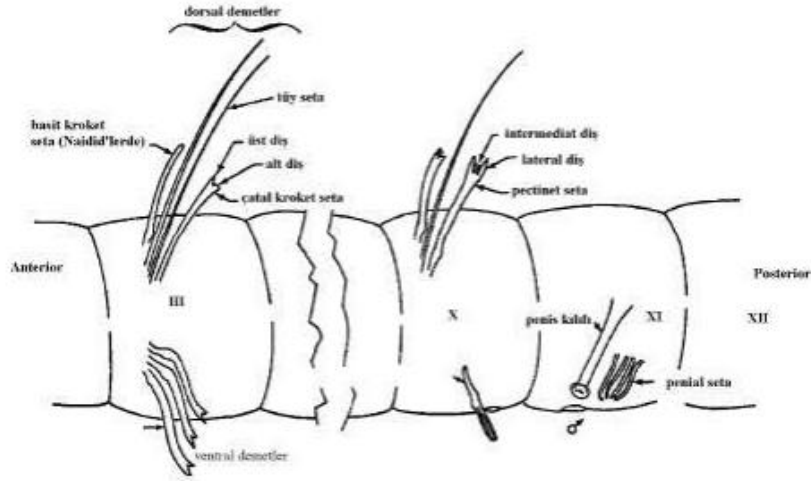
Clitellata üyelerine kırmızı rengi veren kandaki hemoglobindir. (Stephenson, 1930).



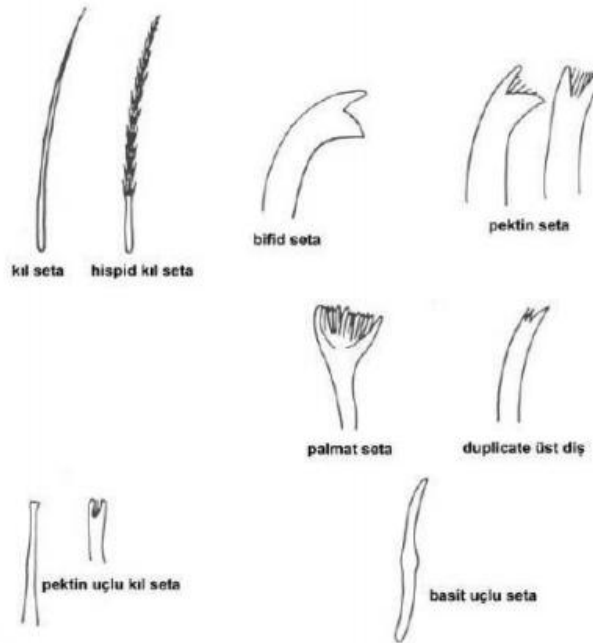
Şekil 1.2. Tubificinae alt familyasına ait genel vücut organizasyonu (Brinkhurst, 1986'dan)

Birkaç istisna olmakla beraber tüm Clitellata üyelerinin vücut duvarında ektodermal kökenli, kitin ve protein kısmından oluşan setalar bulunur (Avel, 1959) (Şekil 1.3). Clitellata üyelerinde temelde iki tip seta vardır. Dorsal demetlerde bulunan **tüy setalar (kıl seta, kapilliform seta)** nodulus olmayan silindir ve uzun setalardır. İkincisi ise, **sigmoid setalardır (kroket)**. Setanın distal, median veya proksimalinde bulunan (bazı türlerde bu bölge bulunmaz, bu nedenle ayırt edici bir özelliktir) nodulus olarak adlandırılan kalın bir bölgeye sahip S şeklindeki setalardır. Tüy setalar sadece dorsal demetlerde, sigmoid setalar ise sadece dorsal, sadece ventral veya her iki demette de bulunabilir (Timm, 1999). Bazı setalar üreme fonksiyonu ile bağlantılı olarak değişime uğramıştır ve bunlar erkek genital açıklığına oldukça yakın olup "genital seta" (penial seta) olarak adlandırılırlar (Sperber, 1948) (Şekil 1.4).

Clitellata üyeleri hermofrodit canlılardır. Eşeyssel olgunluğa erişmiş bir solucan, V-VIII veya X-XII. segmentler arasında yer alan genital bölge ile ayırt edilir (Brinkhurst and Jamieson, 1971).



Şekil 1.3. Bir Tubificinae bireyinin somatik-genital seta tipleri ve anatomikal terminolojisi (Stimpson, et al., 1982'den)



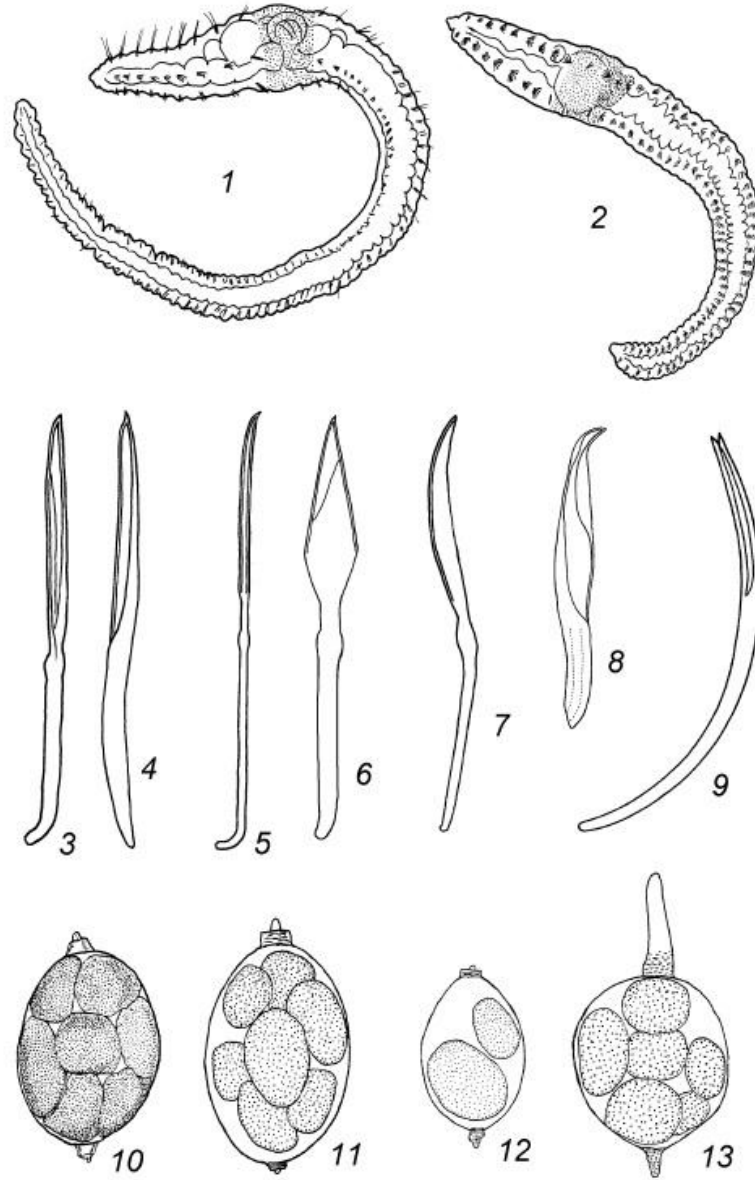
Şekil 1.4. Clitellata grubunda genel seta şekilleri (Kathman and Brinkhurst, 1998'den)

Potamothenix cinsi (Vejdovský et Mrázek, 1903), annelidlerin Tubificinae alt familyasının iyi tanımlanmış monofiletik bir grubudur. Tubificinae altfamilyasının Kuzey İliman zonundan köken aldığı ve bu altfamilya üyelerinin %53'ünün Holoarktik Bölgede yaşadığı bilinmektedir (Brinkhurst and Cook, 1979) .

Potamothenix (Vejdovský et Mrázek, 1903) türleri diğer tubificinlere göre düz vücutlu ve nispeten daha narindirler. Cins, uzun hortum benzeri atria, tam gelişmemiş vas deferens, küçük ya da tamamen bulunmayan prostat bezleri ve basit noktalı ve distali oluklu genellikle gaga şekilli spermatekal setanın bulunması (çoğu türde) ile karakterize edilir (Şekil 1.5). Bu oluk, aslında ince duvarlı bir tüptür, çünkü spermatekal setalar kopulasyon boyunca eşinin vücudu içine bazı uyarıcı bileşenleri bir enjektör gibi enjekte edilmesine yarar (Cuadrado and Martínez-Ansemil, 2001). Spermatekadaki sperm genellikle dölleyici ve korteks hücrelerini içeren spermatozeugma içinde düzenlenirler.

Bugün *Potamothenix* cinsi 25 geçerli tür içermektedir ve *Potamothenix* cinsini dünyadaki dağılımlarına göre dört, farklı morfolojik özelliklerine göre 3 grupta toplamıştır (Timm, 2013). Dağılımlarına göre birinci olarak, ortaya çıkış merkezinden (tahminen güneydoğu Avrupa'daki Ponto-Caspian su sistemi) Batı Palearktık'teki geniş bir alana (fakat bazı karışık sebeplerden dolayı Kuzey Amerika'da değil) uzun süre önce yayılan *P. hammoniensis*'dir. İliman iklimlerdeki farklı habitatlara adapte oldukları ve bazı tür içi morfolojik varyasyon gösterdikleri belirtilen çalışmada, Hazar Denizi'nde ve bazı yüksek dağ göllerinde bulunmayış nedenlerinin halen tam olarak açıklanamadığı belirtilmiştir. İkincisi, son iki yüzyıl boyunca insan eli ile Avrupa'nın etrafına ve bazı diğer kıtalara başarılı bir şekilde yayılan Ponto-Caspian kökenli türlerdir. Bunlar *P. moldaviensis*, *P. vej dovskyi*, *P. bavaricus* ve *P. heuscheri*'dir. Üçüncüsü, Ponto-Caspian ile sınırlandırılmış taksonlardır. Bunlar arasında, sadece *P. caspicus* ve *P. mrazeki* bu bölgenin bütün çalışılan kısımlarında kaydedilmiştir (Hazar Denizi, Karadeniz haliçleri ve Tuna Nehri ve kolları). Dördüncüsü, eski göllerde ya da başka deyişle uç habitatlarda oldukça sınırlı bir şekilde yayılmış türlerdir (Batı Balkan Yarımadası göllerindeki *P. ochridanus* ve *P. prespaensis*, Transkafkasya'nın ve

Anadolu'nun dağ göllerindeki *P. alatus*'un iki alt türü, Etiyopya'nın çöküntü gölündeki *P. tudoranceai* gibi).



Şekil 1.5. 1. *Potamothenia hammoniensis*, 2. *P. moldaviensis*. Spermathekal seta: 3&4. *P. hammoniensis*, 5. *P. heuscheri*, 6. *P. bavaricus*, 7. *P. bedoti*, 8. *P. moldaviensis*, 9. *P. scleropenis*. Yumurta kokonları: 10. *P. hammoniensis*, 11. *P. vejnovskyi*, 12. *P. bedoti*, 13. *P. moldaviensis* (Timm, 2013).

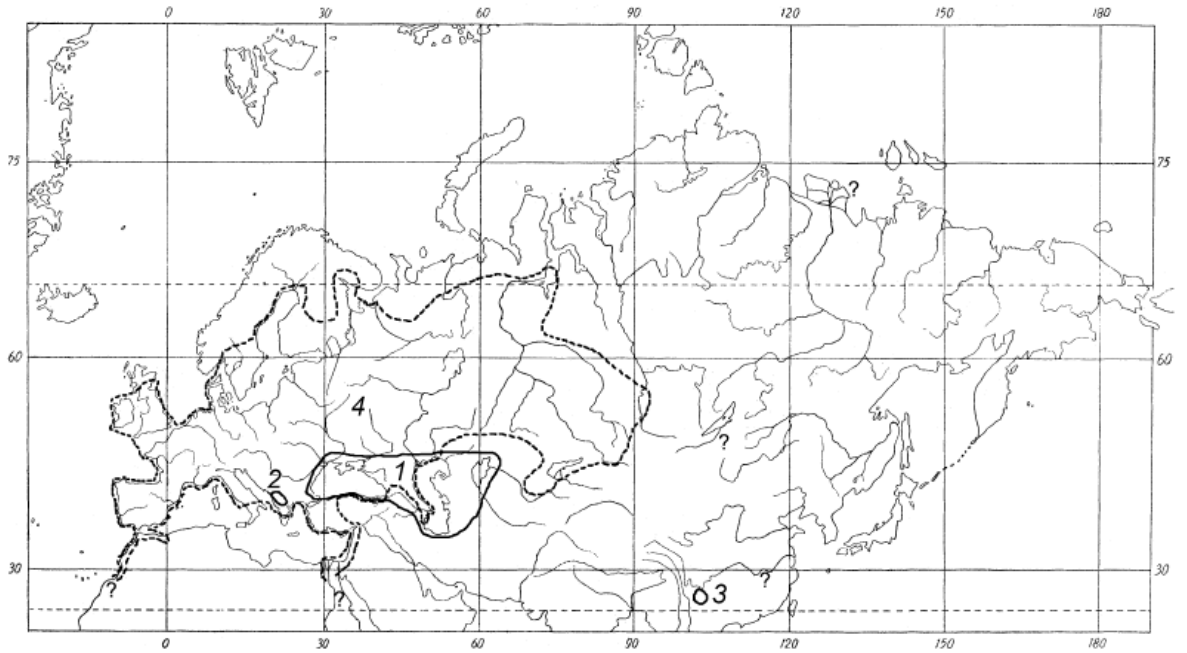
Timm (2013) tarafından yapılan morfolojik sınıflandırmaya göre; **dorsal demetlerinde tüy seta bulunduran batı türleri:** *Potamothenix hammoniensis* (Michaelsen, 1901), sinonim *Tubifex camerani* De Visart, 1901, *Psammoryctes fossor* Ditlevsen, 1904. Ön ve orta vücudun dorsal demetlerinde tüy ve pektinet setalara sahiptir; anterior olarak üst dişi biraz daha uzun ventral setalar fakat klitellum sonrasındaki segmentlerde eşit dişlidir. Spermatekal seta sadece X. segmentte, hareketle ilgili olanlardan daha kalın, distal kısımları olukludur ve dikey eksenlerinin etrafında hafifçe bükülmüştür (Şekil 1.5'de 1, 3, 4). XI. segmentte erkek açıklığında basit fakat küçük bifid setalar, genellikle 1-2 tanedir. Prostat bezi vardır. Atrium iki parçalıdır (histolojik olarak iki farklı kısımdan oluşur). Kokonları oval, düz, oldukça sert, sarımsı kabuklu ve iki eşit kısa uzantılıdır. *Potamothenix hammoniensis* dışında bu grupta yer alan diğer türler; *Potamothenix alatus* Finogenova, 1972, *Potamothenix prespaensis* (Hrabě, 1931), *Potamothenix ochridanus* (Hrabě, 1931), *Potamothenix thermalis* (Pop, 1968), *Potamothenix postojnae* Karaman, 1974, *Potamothenix vej dovskiyi* (Hrabě, 1941), *Potamothenix heuscheri* (Bretscher, 1900), *Potamothenix bavaricus* (Oschmann, 1913), *Potamothenix bedoti* (Piguet, 1913) ve *Potamothenix tudoranceai* Sporka, 1994'dir.

İkinci morfolojik sınıflandırma; **tüy ve pektinet setaları bulunmayan batı türleri (dorsal ve ventral setalar bifid):** *Potamothenix moldaviensis* Vejdovský et Mrázek, 1903. Bütün hareket setaları eşit uzun dişli bifid setalardır. Spermatekal seta kısa ve iridir, kısa proksimal sap, distal kısmı biraz kıvrılmış, kıvrık uç (Şekil 1.5'de 1, 8). XI. segmentte erkek açıklığında tek penial seta üst dişi daha uzun olan bifiddir. Prostat bezi yoktur. Atrium histolojik olarak üç parçalıdır. *Potamothenix moldaviensis*'den dışında bu grupta yer alan türler: *Potamothenix grimmi* (Hrabě, 1950), *Potamothenix cekanovskajae* Finogenova, 1972, *Potamothenix manus* Finogenova, 1976, *Potamothenix isochaetus* (Hrabě, 1931), *Potamothenix mrazeki* (Hrabě, 1941), *Potamothenix danubialis* (Hrabě, 1941) ve *Potamothenix caspicus* (Lastoçkin, 1937)'dir.

Üçüncü grup ise; **Çin'deki Yunnan Platosundaki eski göllerin *Potamothenix* türleri:** *Potamothenix scleropenis* Cui et Wang, 2005, *Potamothenix aductus* Cui et Wang,

2012, *Potamothenix praeprostata* Cui et Wang, 2012, *Potamothenix rhytipeniatus* Cui et Wang, 2012, *Potamothenix paramoldaviensis* Cui et Wang, 2012, *Potamothenix parabedoti* Cui et Wang, 2012'dir (Cui and Wang, 2012).

Karadeniz-Hazar Denizi bölgesinden köken alan Tubificinae altfamilyasındaki Ponto-Caspian kökenli türler, Orta Avrupa ve Baltık Denizi bölgesi boyunca kuzey batıda kesintisiz olarak yayılış sergilemektedir (Timm, 1970, 1980; Milbrink, 1980) ve bunların büyük bir kısmı *Potamothenix* cinsine aittir (Şekil 1.6). Tubificinae içerisinde geniş yayılış gösteren türlerden biri olan *Potamothenix hammoniensis*, son yıllarda en yaygın çalışılan tatlı su Clitellata türlerinden biridir. Günümüzde *Potamothenix* cinsine ait 25 geçerli tür bilinmektedir. Bunlardan ikisi hariç (*P. bavaricus* ve *P. tudoranceai*) tamamı tüm Holoarktik bölgede yayılış göstermektedir (Cui and Wang, 2012). *P. hammoniensis*'in Annelid'lerden başlayarak türe kadar tanımlanmasında yaklaşık 50'ye yakın morfolojik taksonomik karakter kullanılmaktadır (ayrıntılı bilgi için bkz. syf. 17). Türün filocoğrafik hikayesi içinde yayılış bariyerleri ile ilişkili olarak progresif veya konservatif endemizm durumlarında da olduğu gibi allopatrik izolasyona bağlı olarak türleşme gösterebileceği; bu durumun mevcutta kullanılan morfolojik tayin anahtarları ile tür teşhislerinde karşılaşılan zorluk yüzünden günümüzde pek çok taksonda olduğu gibi, Clitellata üyelerinde de türlerin filocoğrafyası ve filogenetik ilişkileri moleküler çalışmalarla ortaya konulmaya başlanılmıştır (Erséus, et al., 2000; Erséus, et al., 2002).



Şekil 1.6. Palearktik'teki *Potamothenis* cinsinin yayılış alanı 1. Ponto-Caspian Havzası; 2. Batı Balkan Yarımadası'ndaki eski göller; 3. Yunnan platosundaki eski göller; 4 (kesikli çizgi ile çevrilmiş alan). *P. hammoniensis*'in yayılış alanı; ?. Kesintisiz yayılış alanından uzaktaki *P. hammoniensis*'in şüpheli kayıtları (Timm, 2013)

***Potamothenis hammoniensis*'in tür teşhisinde kullanılan morfolojik karakterler;**

1. Genellikle uzun solucanlardır (birkaç milimetre ya da santimetre uzunluğundadır).
2. Canlıyken kırmızı ya da pembedir.
3. Vücut yüzeyi düzgün, şeffaftır.
4. Vücut duvarı narindir, saklandığı zaman kuyruk üzerinde derin intersegmental olukları vardır.
5. Gözleri yoktur.
6. Anterior uçta prostomium vardır.
7. Prostomium tentakülsüzdür.

8. Prostomium kısa konik ve belirgin bir oluk ile I. segmentten ayrılır (daimi preparatlarda).
9. Vantuz ya da kitinli çene yoktur.
10. Her demetteki seta sayısı değişkendir, genellikle ikiden daha fazladır.
11. Genellikle dorsal ve ventral demetlerdeki ya da daha fazla seta bulunur.
12. Dorsal demetler II. segmentten başlar.
13. Tüy setalar sadece dorsal demetlerde bulunur.
14. Tüy setalar ve bifid setaların çeşitli özel modifikasyonları (pektinetler) dorsal demetlerde oluşabilir.
15. Anterior dorsal demetler 1-5 tüy setaya sahiptir ve 300-650 µm uzunluğundadır.
16. Anterior dorsal demetlerdeki pektinet setalar 3-5 tanedir, 80-175 µm uzunluğundadır, üst diş biraz daha uzundur ve orta dişçikler kısadır.
17. Ventral demetlerdeki setaların hepsi bifiddir.
18. Ventral setalar en azından öndeki segmentlerde eşit dişler ile ya da üst diş daha uzun bir şekilde bulunur.
19. Anterior ventral setalar her demette 3-6 tanedir ve 120-165 µm uzunluğundadır, üst diş biraz daha uzun ve incedir.
20. Ventral demetlerde erkek açıklığı yanında, XI. segmentte, 1-2 tane, küçük bifid setalar yer alır.
21. Genital açıklıktaki ventral setalar spermatekal seta olarak değişebilir.
22. Üreme sadece eşeyli yolla gerçekleşir.
23. Ergin örneklerde erkek açıklığı ve klitelliumun anterior kısmı XI. segmenttedir, nadiren öncedir (X., IX. ya da VIII. segmentlerde, istisnai olarak XII. segmentte); spermatekal açıklıklar önceki segmenttedir (çoğunlukla X. segmentte, nadiren takip eden segmentlerdedir).
24. Ergin bireylerde, tek değişmiş spermatekal seta X. segmentin ventral demetlerinde bulunur.
25. Spermatekal seta, birleşen köşeleri daha fazla ya da daha az paralel ya da simetrik bir biçimde X. segmentte bulunur.
26. Spermatekal seta çoğunlukla geniştir ya da distal kısmı bükülmüştür.
27. Ergin bireylerde, XI. segmentin ventral setaları vardır.

28. Erkek açıklığı ve klitellum XI. segmenttedir.
29. Spermatekal seta sivri, asla çengelli değil; distal kısmındaki oluk 8-12 μm genişliğindedir kıvrık kenarları ile, seta eksenini etrafında genelde biraz bükülmüştür.
30. Spermatekal seta, 175-256 μm uzunluğundadır. Canlı 15-45 mm uzunluğundadır, 75'e kadar segmente sahiptir.
31. Prostat bezi vardır.
32. Atrium iki bölmelidir.

1.3. Mitokondriyal DNA ve Çekirdek DNA Hakkında Genel Bilgiler

Son yıllarda hayvanlarda geniş bir taksonomik kategori aralığında, tür içi ve türler arası populasyonların evrimsel ve filogenetik araştırmaları amacıyla mtDNA *COI* gen bölgesi ve çekirdek DNA'ya ait rDNA gen bölgeleri çok sayıda evrimsel sürece ışık tutabilme özelliklerinden dolayı sıklıkla kullanılmaktadır. Mitokondriyal DNA belirteci son yıllarda geniş bir taksonomik kategori aralığında tür içi ve türler arası populasyonların evrimsel ve filoğrafik araştırmaları amacıyla tercih edilmektedir (Avice, 1987; Simon, et al., 1994; Lang, et al., 1999). Özellikle mitokondri genomunun yapısı ve evrimine ilişkin ortaya konulan birçok bilgi, mtDNA'nın evrimsel açıdan değerli bir başvuru kaynağı olmasını sağlamıştır. Mitokondriyal genler; rekombinasyona uğramadığından, intron içermediğinden, endosimbiyotik tabanlı olmasından, yüksek mutasyon oranına sahip olmasından ve anasal kalıtılmasından dolayı birçok evrimsel biyoloji çalışmalarında tercih edilen ve kullanılan belirteçlerdir (Nass and Nass, 1962; Gray, 1989; Wolstenholme, 1992). Sitokrom c oksidaz 1 (*COI*) geni, mitokondriyal zara entegre olmuş, oksidatif fosforilasyonda görevli 5 protein kompleksinden sitokrom c oksidaz kompleksinin ana alt ünitesini kodlayan genidir. *COI* mitokondriyal geni hem tür içi hem de türler arası akrabalık ilişkilerinin tahmininde bilgi vericidir. Bunun nedeni hem oldukça korunmuş hem de değişken bölgeler içermesi ve genler arasında heterojen evrimsel oranlara sahip olmasındandır (Lunt, et

al., 1996; Downton and Austin, 1997; Roe and Sperling, 2007; Budak vd., 2011). Bu bölge ayrıca, evrensel ölçekte hayvanlar için DNA-tabanlı bir biyo-tanımlama sisteminde de kullanılmaktadır (Hebert, et al., 2003).

Özellikle *COI* gen bölgesinin hem yüksek düzeyde korunmuş hem de değişken bölgeler içermesi nedeniyle populasyonlar arası ve populasyon içi dizi içeriğinde heterojen bir evrimsel oran sergilemesi beklenir (Lunt, et al., 1996; Caterino, et al., 2000; Goto and Kimura, 2001; Hebert, et al., 2003; Roe and Sperling, 2007; Korkmaz vd., 2011). Aynı zamanda kodon bölgelerindeki sinonim nükleotid değişimleri yakın akraba türler arasında ya da tür içinde dikkate değer bir varyasyon sergileyebilmektedir. Böylelikle farklı taksonomik düzeylerin moleküler filogenetik analizleri için oldukça uygun bir belirteç olduğu söylenebilir.

Mitokondri birçok grupta sadece anasal kalıtım göstermesi itibariyle sıra dışıdır. Ayrıca mtDNA, çekirdek (çk) DNA'sından daha yüksek bir oranda evrilir (Morgan and Blair, 1998; Vawter and Brown, 1986). Çünkü mitokondride DNA sentezi sırasında meydana gelen hataları düzeltecek bir mekanizma bulunmamaktadır. Bu özellikleri mtDNA'nın anasal gen akışı ve filogeni (soyoluş) çalışmalarında ve yakın akraba populasyonların ya da türlerin analizi konusunda genetik bir belirteç (marker) olarak geniş bir kullanım alanına sahip ideal bir araç olmasını sağlamıştır (Hoy, 2003; Moritz, et al., 1987; İpekdal, 2012).

MtDNA'daki varyasyona yönelik çalışmalar taksonomi ve filocoğrafya alanları için son derece önemli olmuştur (Avice, 2004; Ballard and Whitlock, 2004; Zink and Barrowclough, 2008). Bu anlamda sıklıkla kullanılmakta olan diğer belirteç ise çekirdek DNA'ya ait ribozomal DNA (rDNA) genlerinden *5.8S-ITS2-28S* rDNA gen bölgelerini kapsayan bir fragmandır (Ji, et al., 2003). Ribozomal DNA genleri *18S*, *5.8S* ve *28S* alt birimlerini içeren gen bölgelerine sahip olması nedeniyle korunmuş iken, tam tersine bu altbirimler arasında *ITS1* ve *ITS2* adı verilen ve transkripsiyonda

fonksiyonel olan bölgeler ise yüksek derecede değişkindir. Ayrıca *ITS1* ve *ITS2* bölgelerinin tekrarlı kopyalar içermesi özellikle tür içi genetik çeşitliliğin ölçümünde kullanışlıdır. Tüm bu özelliklerinden dolayı hem tür içi hem de türler arası evrimsel ilişkinin saptanmasında oldukça kullanışlı ve yaygın bir moleküler belirteçtir (Keller, et al., 2009). *ITS2* bölgesi nükleer ribozomal DNA'da tekrarlanan ve hızlı evrimleşen bölgelerdir. Hızlı evrimleşme sonucu, DNA dizisindeki varyasyonlar nedeni ile cins ve daha alt kategorideki taksonomik sınıflar için kullanışlı olduğu birçok yayında bildirilmiştir (Coleman, 2000, 2003, 2007; Álvarez and Wendel, 2003; Müller, et al., 2007; Sonnenberg, et al., 2007). Bununla birlikte evrimsel olarak oldukça iyi korunmuş iki bölgeye (5.8S rDNA ve 28S rDNA geni) komşu olması nedeni ile bu bölgenin çoğaltılması amacı ile evrensel primerler geliştirilmiştir. Bu tür moleküler belirteçlerden elde edilen populasyon genetiği verileri biyolojik çeşitliliğin ortaya konması çalışmalarında oldukça kullanışlıdır (Wayne and Morin, 2004; DeSalle and Amato, 2004).

ITS2 kodlama yapmayan DNA dizisi, 5.8S ve 28S rDNA çekirdek genlerinin arasında bulunan aralayıcı transkribe olmayan dizilerdir. *ITS2* bölgesi de, *COI* gen bölgesine nispeten yeni olmasına rağmen DNA barkod markeri olarak kullanılan bir belirteçtir (Schoch, et al., 2012; Roosman, 2007; Eberhardt, 2010). *ITS2* gen bölgesi, rDNA gen bölgeleriyle beraber polisistronik olarak kodlandığından diğer kodlama yapmayan gen bölgelerinden daha korunmuştur (Lalev ve Nazar, 1999; Lalev, et al., 2000; Lalev ve Nazar, 2001). Ayrıca yapılan son çalışmalarla *ITS2* gen bölgesinin sekonder yapılarının oldukça korunmuş ve RNA ekspresyonunda önemli olduğu saptanmıştır (Van de Peer, et al., 2000; Cannone, et al., 2002; Wolf, et al., 2005).

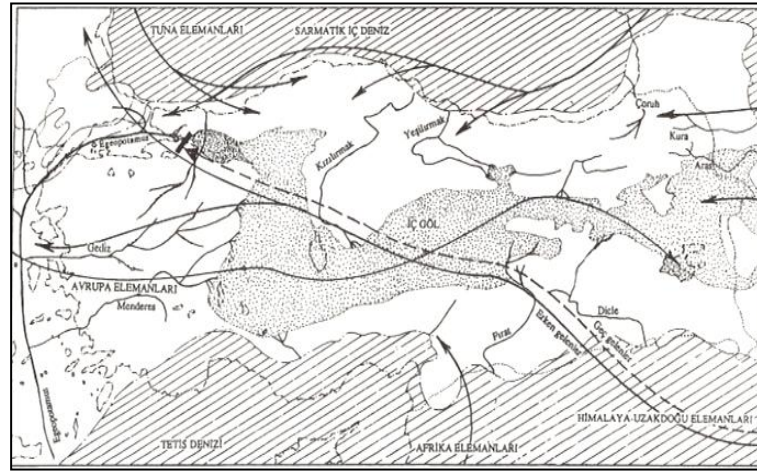
1.4. Çalışmanın Amacı

Bir türün yaşadığı alanda bulunmasının iki temel sebebi vardır; birincisi ekolojik sebepler ikincisi ise evrimsel tarihidir. Türün evrimsel tarihi içinde bir habitatta bulunması "ya oluşum merkezi bugün yaşadığı habitattır, ya da başka bir yerde ortaya çıkmış daha sonra o habitata taşınmıştır" şeklinde açıklanmaktadır (Freeman and Herron, 2002). Bu açıdan değerlendirildiğinde **nispeten oluşum zamanları ve bağlantıları itibari ile eski olan göllerimizde**, hem eski fauna sakinlerini hem de coğrafik izolasyonun etkilerini görme olasılığı oldukça yüksektir.

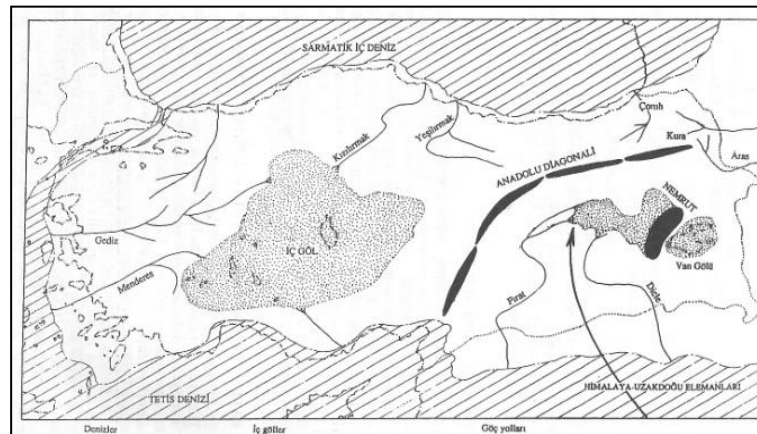
Ponto-Caspian kökenli canlılardan bir grup da Clitellata'dır. Dünyada bilinen yaklaşık 1700 sucul Clitellata türü vardır ve bunlarından yaklaşık 1100'ü tatlısulara yaşar. En fazla türe sahip grup, 1000 tanımlanmış tür ile Tubificinae'dir. Palearktık bölge, günümüze kadar tanımlanan 600'den fazla geçerli tür ile en bol ve en çeşitli tatlı su Clitellata faunasını oluşturur ve bunların % 80'inin endemik olduğu düşünülmektedir (Martin, et al., 2008).

Araştırılan Gala, Büyük Akgöl, Sapanca, Eğirdir, Mogan, Çernek, Gölbaşı ve Nemrut Gölleri Türkiye'nin farklı coğrafik bölgelerinde yer alan göl sistemlerimizdir. Özellikle 25 milyon yıl önce bugünkü Sapanca ve İznik göllerini içine alacak şekilde Mogan Gölü, Göller Bölgesi, Hazar ve Van Gölüne kadar uzanan bir tatlı su iç gölünün varlığı bilinmektedir. Yukarıda da belirtildiği gibi tektonik hareketler sonucu dağ yükselteleri ile bu iç göl önce Anadolu Diyagonali'nin (Şekil 1.7 ve Şekil 1.8) oluşumunda sonra doğu ve batı yönünde iki izole havzaya ayrılmıştır. Bugün bile hala Anadolu Diyagonali'nin doğusunda ve batısındaki tatlı sularını birbirine bağlayan herhangi bir sistem bulunmamaktadır. Dolayısıyla her iki tatlı su sisteminde yer alan ve başlangıçta aynı atasal formdan gelen türlerin coğrafik izolasyona bağlı farklılaşması olasıdır. ***Ancak bu farklılaşmanın tür bazında bir çeşitlilik yaratıp yaratmadığı ise morfolojik tayin anahtarları ile belirlenemeyeceği için bu çalışmada filogenetik çalışma kullanılmıştır.*** Güneyde Toros Dağları kuzeyde Karadeniz batıda ise Ege

Dağları ile bugünkü İç Anadolu'nun bulunduğu yerde yer alan göllerin kuzey güney ve batı ile de bağlantısı kesilmiş bulunmaktadır. Araştırılan göllerden Gala Gölü Trakya Bölgesi'nde, Cernek Karadeniz Dağları'nın Karadeniz'e bakan batı kesiminde, Gölbaşı Gölü Toros Dağları'nın Akdeniz'e bakan güney kesiminde, Mogan Gölü İç Anadolu Bölgesinde, Sapanca ve Büyük Akgöl Marmara Bölgesinde, Nemrut Gölü ise Anadolu Diyagonali'nin doğusunda yer almaktadır.



Şekil 1.7. Pliyosen-Pleistosen dönemlerinde Anadolu İç Gölü'nün kaplandığı alan (Demirsoy, 2002' den)



Şekil 1.8. Anadolu Diyagoneli oluşuktan sonra Anadolu İç Gölü'nün durumu (Demirsoy, 2002' den)

Daha önce yapılan etüt çalışmalarda bu göllerde varlığı tespit edilen ve mevcut morfolojik tür tayin anahtarları ile Ponto-Caspian kökenli *Potamothenix hammoniensis* olarak teşhis edilen bireyler bulunmaktadır. Ancak Gala Gölü ile Sapanca ve Eğirdir Göllerinde ve Nemrut Gölü'nde tespit edilen *P. hammoniensis* bireyleri arasındaki bazı taksonomik karakterler bakımından (tür teşhisinde temel olan spermatekal seta morfolojisi, ventral ve dorsal demetlerdeki seta yapı ve morfolojileri, vücut uzunluğu, prostomiumun yapısı gibi) farklılıklar gözlenmiştir. Buda morfolojik tayin anahtarları ile tespit edilemeyen henüz farklılaşması tam tamamlanmamış olan (alt tür ve/veya tür düzeyinde farklılaşma beklenmektedir) bireyler bulunabileceği fikrini güçlendirmektedir. Bu da ancak filogenetik çalışmalarla doğru ve kesin olarak ortaya konulabileceğinden, söz konusu 8 gölden aynı türe ait elde edilen bireyler araştırılmıştır.

2.MATERYAL ve METOD

2.1. Arazi Çalışması ve Örnekleme Noktaları

P. hammoniensis örnekleri, 2010-2013 yılları arasında Türkiye'deki göllerin tarihsel gelişim birlikteliğini batıdan doğuya doğru yansıtabilecek 8 farklı gölden (Şekil 2.1, 2.2., 2.3, 2.4, 2.5, 2.6, 2.7 ve 2.8) toplanmıştır. Örneklerin toplanması sırasında Ekman kepçesi (15x15 cm²) kullanılmıştır. Ekman kepçesi ile alınan örnekler 5'li elek sisteminden geçirilerek elenmiş ve örnekler %99'luk alkol içinde fikse edilmiştir. Örneklerin toplandığı lokalite isimleri, örnekleme tarihleri, lokalitelerin koordinatları, her lokaliteden toplanan birey sayıları ve lokalite kısaltmaları Tablo 2.1'de verilmiştir.

Tablo 2.1. *P. hammoniensis* örneklerin toplandığı lokaliteler, örnekleme tarihleri, koordinatları, her lokaliteden toplanan birey sayıları ve lokalite kısaltmaları

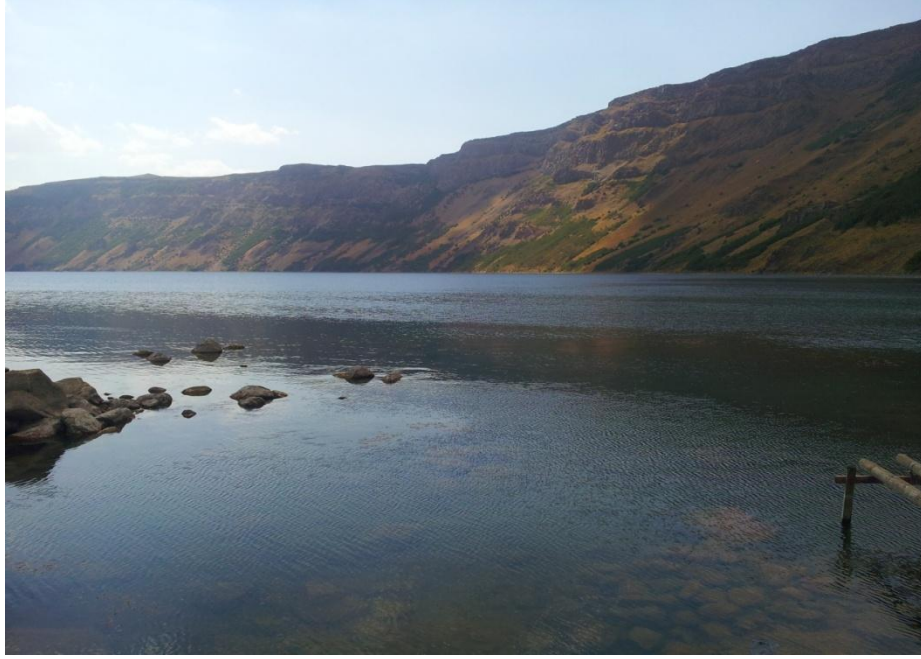
Lokalite Adı	Örnekleme Tarihi	Koordinat	Birey Sayısı	Lokalite Kısaltmaları
Gölbaşı Gölü (Hatay)	10.11.2012	36° 30' 30.41" K 36° 29' 37.66" D	10	Glbs
Sapanca Gölü	29.10.2011 16.12.2012	40° 43' 01.03" K 30° 15' 44.33" D	7	Spnc
Nemrut Gölü (Bitlis)	20.06.2012 30.08.2013	38° 37' 24.40" K 42° 13' 14.81" D	12	Nmr
Cernek Gölü (Samsun)	29.11.2012 26.08.2013	41° 38' 39.02" K 36° 04' 04.68" D	1	Crnk
Mogan Gölü (Ankara)	27.11.2012 21.06.2013	39° 46' 06.04" K 32° 47' 40.00" D	6	Mgn
Büyük Akgöl (Sakarya)	19.02.2010 15.04.2010	41° 01' K 30° 33' D	15	BAkg
Eğirdir Gölü (Isparta)	01.06.2013	38° 01' 23.20" K 30° 52' 22.37" D	4	Egrd
Gala Gölü (Edirne)	28.06.2013	40° 46' K 30° 11' D	7	Gla



Şekil 2.1. Gölbaşı Gölü'nden bir görüntü



Şekil 2.2. Sapanca Gölü'nden bir görüntü



Şekil 2.3. Nemrut Gölü'nden bir görüntü



Şekil 2.4. Cernek Gölü'nden bir görüntü



Şekil 2.5. Mogan Gölü'nden bir görüntü



Şekil 2.6. Büyük Akgöl'den bir görüntü



Şekil 2.7. Eğirdir Gölü'nden bir görüntü



Şekil 2.8. Gala Gölü'nden bir görüntü

2.2. Tür Teşhisi ve Örneklerin Saklanması

Laboratuvara getirilen örnekler taban materyalinden binoküler yardımı ile ayıklanmış ve Clitellata örneklerinin tür düzeyinde teşhisleri, geçici veya daimi preparatları hazırlanarak yapılmıştır. Geçici preparatlar 1/5 oranında saf su/gliserin, daimi preparatları ise CMCP-10 (Polivinil laktofenol-10) kullanılarak yapılmıştır. Clitellata teşhislerinde: Brinkhurst ve Jamieson, 1971; Brinkhurst, 1971; Sperber, 1948 ve 1950; Kathman ve Brinkhurst, 1998 ve Timm, 1999'dan yararlanılmıştır. Teşhisi yapılan *P. hammoniensis* örneklerinin ve morfolojik olarak *P.hammoniensis*'e çok benzeyen, ancak *P. hammoniensis*'den bazı taksonomik karakterler bakımından farklılık gösteren, dolayısıyla da mevcut anahtarlara göre teşhisi yapılamayan örneklerin anterior kısımları morfolojik teşhis için %70'lik etanol içinde, posterior kısımları ise moleküler analizler için %99'luk etanol içinde etiketlenerek +4 °C'de saklanmıştır.

2.3. DNA Analizi

Alkolde saklanan *P. hammoniensis* bireylerinin DNA izolasyonu için posterior kısımları kullanılmıştır. Örneğin posterior kısmı 1,5 ml'lik ependorf tüplerine aktararak etiketlenmiştir. Doku örneklerindeki alkolün uzaklaştırılması amacıyla örnekler, önce oda sıcaklığında kurutma kağıdında kurumaya bırakılmıştır ve daha sonra 3 kez distile su ile yıkanarak alkol iyice uzaklaştırılmıştır. Total genomik DNA, DNeasy doku kitiyle (Qiagen) üretici firmanın protokolünde bazı modifikasyonlar yapılarak izole edilmiştir. Buna göre modifiye edilerek yeniden düzenlenen protokol şu şekildedir:

1. Örnek üzerine 180 µl ATL (Lizis tamponu) eklenmiştir.
2. Daha sonra 20 µl Proteinaz K eklenmiş ve 55 °C'de örnekler parçalanıncaya kadar inkübe edilmiştir.
3. Tamamen parçalanan örneklerin üzerine 200 µl AL eklenmiş ve karıştırılmıştır.

4. 40 µl RNAz eklenmiştir.
5. 200 µl soğuk etanol eklenmiş ve tekrar karıştırılmıştır.
6. Ependorf tüpünün içindeki karışım, DNA izolasyon kitinin içinden çıkan kolona aktarılmıştır.
7. 8000 rpm'de 1 dk santrifüj edilmiştir. Alttaki toplama tüpü atılmış ve kolon yeni bir toplama tüpüne alınmıştır.
8. Kolona 500 µl AW1 eklenmiş ve 8000 rpm'de 1 dk santrifüj edilmiştir. Toplama tüpü atılmış ve kolon yeni bir toplama tüpüne alınmıştır.
9. Kolona 500 µl AW2 eklenmiş, 14000 rpm'de 3 dk santrifüj edilmiştir ve toplama tüpü atılıp kolon santrifüj tüpüne alınmıştır.
10. Kolondan maksimum oranda DNA eldesi sağlamak için Buffer AE 2 aşamada eklenmiştir. Buna göre toplamda 200 µl'de (örneğin büyüklüğüne bağlı olarak 160 µl'de) DNA çözülmüştür.
 - o 100 µl Buffer AE eklenmiştir. 1 dk oda sıcaklığında inkübe edildikten sonra 8000 rpm'de 1 dk santrifüj edilmiştir (Bazı örneklerde örneğin büyüklüğüne bağlı olarak buffer miktarı 80 µl'ye düşürülmüştür). Bu işlem 2 kez tekrarlanmıştır.
11. En son santrifüj tüpünde kalan karışım *in vitro* çoğaltımda kullanılmak üzere -20 °C'de saklanılmıştır.

İzole edilen DNA örneklerinin kalite ve kantitesi %1'lik agaroz jel elektroforez ortamında yürütülerek konsantrasyonu bilinen DNA belirteci ile karşılaştırılarak belirlenmiştir.

2.4. COI ve ITS2 Fragmanlarının Polimeraz Zincir Reaksiyonuyla Çoğaltılması

Total genomik DNA izolasyonu sonrasında her birey için çekirdek ve mitokondri genomuna ait olmak üzere iki DNA fragmanı polimeraz zincir reaksiyonu çalışmaları için seçilmiştir. Seçilen fragmanlardan ilki çekirdek DNA'nın 5.8S-ITS2-

28S rDNA fragmanına aittir. İkinci fragman ise; mitokondri DNA'ya ait *sitokrom oksidaz alt ünite 1 (COI)* fragmanıdır. Çekirdek DNA' nın 5.8S-ITS2-28S rDNA ve mitokondri DNA'nın COI fragmanlarının çoğaltılmasında Tablo 2.2'de dizileri, T_M değerleri ve % GC içerikleri verilen evrensel Cas5p8sFt-Cas28sB1d (Ji, et al., 2003) ve ITS4-ITS5 (White, et al., 1990), LCO1490-HC02198 (Folmer, et al., 1994) ve LCO1490-COI-E⁻ (Bely and Wray, 2004) primer çiftleri kullanılmıştır. Primer çiftlerinin absorbans-sıcaklık eğrilerinin orta noktası olan erime sıcaklığı (T_M) değerleri;

$$T_M = 69,3^{\circ}C + 0,41(\% G + C) - 650/Primer\ Uzunluğu$$

formülü kullanılarak hesaplanmıştır.

Tablo 2.2. COI ve ITS2 Primerlerine Ait Diziler, T_M Değerleri ve % GC içerikleri

ITS2	Primer Dizileri	T_M (°C)	% GC
Cas5p8sFt	5'-ATGAACATCGACATTTTCGAACGCATAT-3'	60,41	37,04
Cas28sB1d	5'-TTCTTTTCCTCCGCTTAGTAATATGCTTAA-3'	61,29	33,33
ITS4	5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'	55,30	45,00
ITS5	5'-GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG-3'	56,50	40,90
COI			
LCO1490	5'-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3'	56,42	32,00
HC02198	5'-TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA-3'	58,50	34,61
COI-E ⁻	5'-TATACTTCTGGGTGTCGAAGAATCA-3'	61,64	42,30

Liyofilize halde gelen primerlere öncelikle katalog bilgisinde verilen hacimlerde, mikrolitresinde 100 pmol olacak şekilde 1^xTE eklenmiştir. Daha sonra PZR'da kullanılmak üzere bu stoktan mikrolitresinde 10 pmol olacak şekilde seyreltmeler yapılmıştır.

Her bir fragmanın PZR reaksiyonu sırasında primer bağlanma (annealing) sıcaklığı (T_A), T_M değerlerinden hareket edilerek farklı sıcaklık ve DNA miktarlarında gradiyent PZR uygulaması yapılarak bulunmuştur. Gradyent PZR sonucunda; 5.8S-ITS2-28S rDNA gen bölgesi için; ITS4-ITS5 primer çifti için $50,5^{\circ}\text{C}$ T_A sıcaklığında ve $5\ \mu\text{l}$ DNA miktarıyla ve Cas5p8sFt-Cas28sB1d primer çifti için $52,2^{\circ}\text{C}$ T_A sıcaklığında ve $5\ \mu\text{l}$ DNA miktarıyla; COI gen bölgesi için; LCO1490-HC02198 primer çifti için 45°C T_A sıcaklığında ve $5\ \mu\text{l}$ DNA miktarıyla ve LCO1490-COI-E primer çifti için ise 46°C T_A sıcaklığında ve $5\ \mu\text{l}$ DNA miktarıyla optimize edilmiştir.

Herbir PZR karışımı $50\ \mu\text{l}$ son hacimde hazırlanmıştır. PZR bileşenleri, miktarları ve reaksiyona ait olan protokol aşağıda belirtilmiştir:

Bileşen	Miktar
Triton X-100 (%1'lik)	$5\ \mu\text{l}$
BSA (4 mg/ml)	$5\ \mu\text{l}$
MgCl_2	$6\ \mu\text{l}$
10^{\times} Tampon (100 mM Tris-HCl, pH 8.8, 500 mM KCl, %0.8 Nonidet P-40)	$5\ \mu\text{l}$
dNTP karışımı (0.2 mM her bir dNTP)	$5\ \mu\text{l}$
Forward Primer (10 pmol, 0.2 mM, Fermentas)	$1\ \mu\text{l}$
Reverse Primer (10 pmol, 0.2 mM, Fermentas)	$1\ \mu\text{l}$
Taq DNA polimeraz (0.1 U, Fermentas)	$0,2\ \mu\text{l}$
dH_2O	$16,8\ \mu\text{l}$
Kalıp DNA	$5\ \mu\text{l}$
Toplam	$50\ \mu\text{l}$

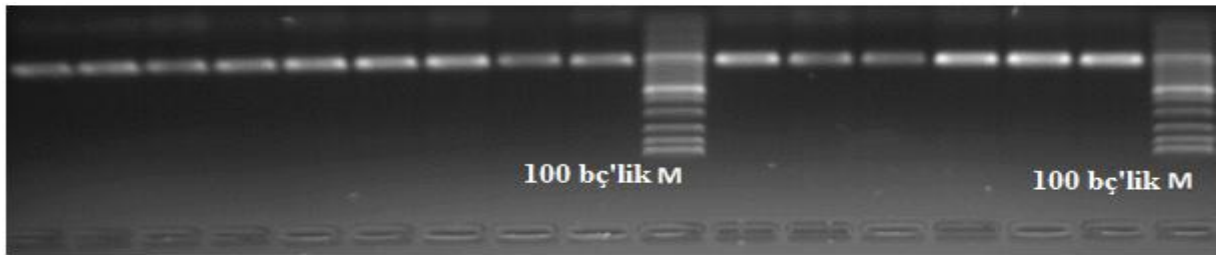
PZR reaksiyonları; BioRad (T100) ve Techne (TC-512) aletlerinde aşağıdaki koşullar altında gerçekleştirilmiştir.

Gen Bölgesi	Sıcaklık	Süre	Döngü Sayısı
ITS2	94 °C (başlangıç denatürasyonu)	5 dakika	x1
	94 °C (denatürasyon)	1 dakika	x35
	50.5 °C (ITS4-ITS5 için)	1 dakika	
	52.2 °C (Cas5p8sFt-Cas28sB1d için)		
	72 °C (uzama)	30 saniye	
	72 °C (son uzama)	5 dakika	x1
COI	94 °C (başlangıç denatürasyonu)	5 dakika	x1
	94 °C (denatürasyon)	1 dakika	x35
	45 °C (LCO1490-HC02198 için)	1 dakika	
	46 °C (LCO1490-COI-E için)		
	72 °C (uzama)	30 saniye	
	72 °C (son uzama)	5 dakika	x1

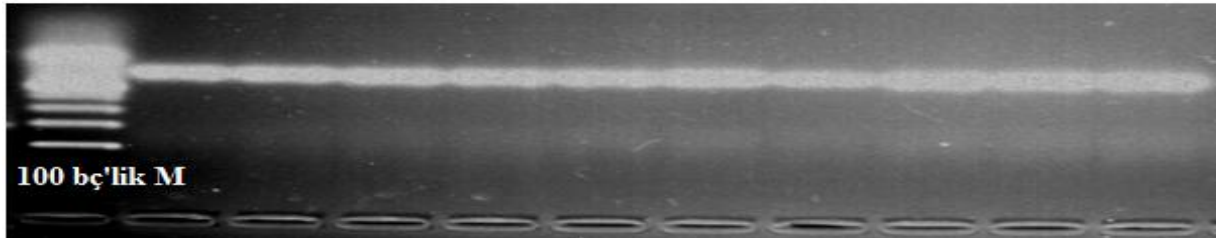
2.5. Jel Elektroforezi

ITS2 ve COI fragmanlarının PZR ürünleri %1'lik agaroz jel elektrofrezinde yürütülerek, çoğaltma sonrası istenilen bölgelerinin yeterli oranda ve saflıkta olup olmadığı kontrol edilmiştir. Jel; 100 ml 1^XTAE (Tris-Asetik asit-EDTA) ve 1 gr agaroz jel tozu bir behere eklenerek kaynatma yolu ile hazırlanmıştır. Kaynayan bu karışımın içine 10 µl Etidyum Bromür (Gel RedTM) eklenerek hafifçe çalkalanmıştır. Bu çözelti, daha önce hazırlanmış ve tarağı yerleştirilmiş elektrofrez plakasına aktararak polimerleşmesi beklenilmiştir. Sonrasında plaka, içinde 1^XTAE tamponu bulunan bir elektrofrez tankına yerleştirilmiş ve tarak çıkarılmıştır. Böylece yüklemenin

yapılacağı kuyucuklar elde edilmiştir. Her örnek için 3 µl DNA'dan ve 1 µl bromofenol mavisinden eklenerek jel içerisindeki kuyucuklara yüklenmiştir. Jelin her sırasındaki bir kuyucuğa ise 3 µl DNA Ladder (100 bç'lik) yüklenmiştir. Jele yüklenen örnekler, 20 mA'de yaklaşık 30 dk yürütüldükten sonra güç kaynağı 50 mA'e ayarlanarak 3 saat yürütülmüştür. Yürütme işleminin sonunda jel, görüntüleme cihazına yerleştirilmiş ve UV ışını altında görüntülenerek fotoğrafı çekilmiştir (Şekil2.9).



a) ITS2 fragmanı jel görüntüsü



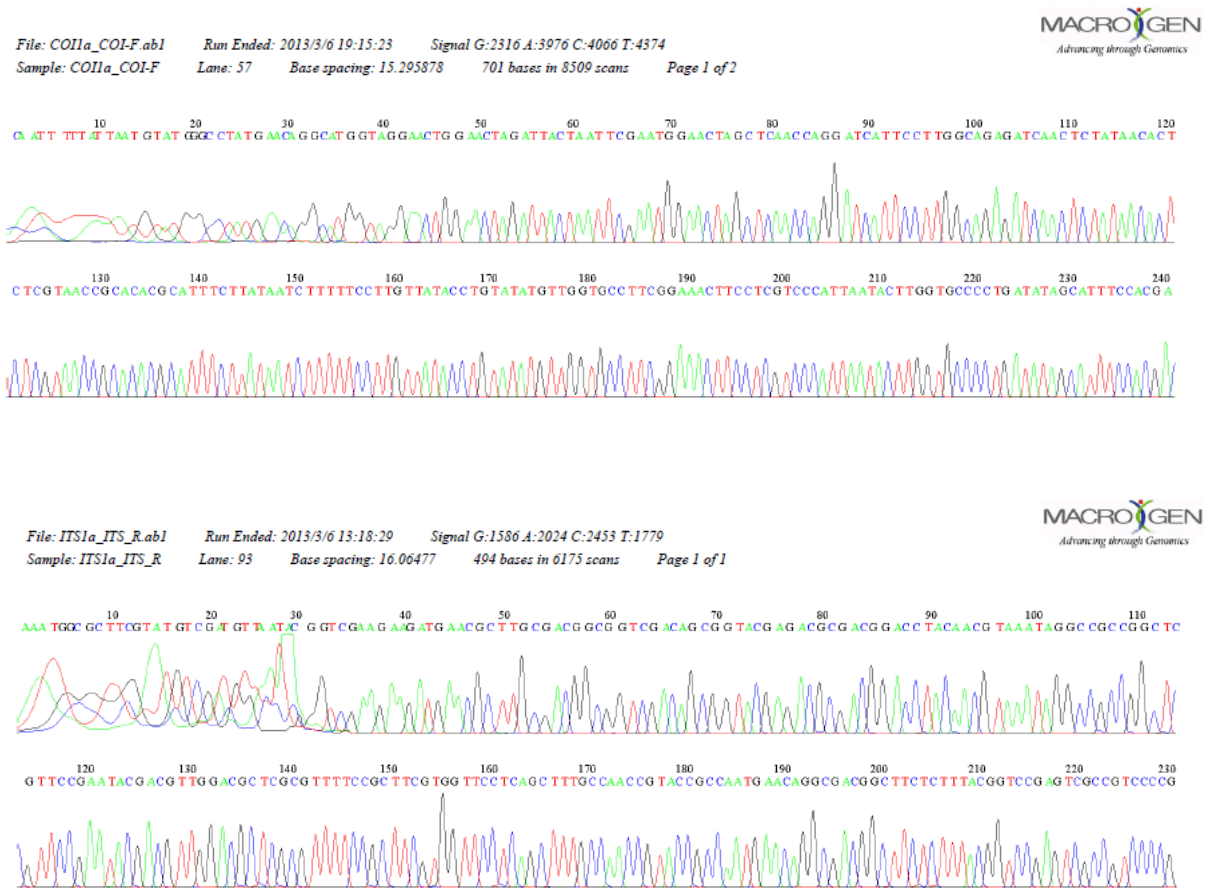
b) COI fragmanı jel görüntüsü

Şekil 2.9. ITS2 ve COI fragmanlarının jel görüntüleri

2.6. PZR Ürünlerinin Dizilenmesi ve Hizalanması

PZR reaksiyonları sonucunda çoğaltılan DNA fragmanlarının dizileme ve saflaştırma işlemleri Macrogen (908 World Meridian Venture Center, #60-24, Gasan-dong, Geumchun-gu, Seoul, 153-781, Korea) firmasından hizmet alımı yolu ile gerçekleştirilmiştir. Dizileme reaksiyonları PZR uygulamasındaki primer çiftleri kullanılarak her iki yönde gerçekleştirilmiştir (Şekil 2.10).

Dizileme reaksiyonları gerçekleştirilen DNA fragmanlarının hizalama aşamaları ileri (forward) ve geri (reverse) yönlü nükleotid dizilerinin CodonCode Aligner 3.5.6 (Ewing, et al., 1998) programına aktarılarak gözle hizalanması gerçekleştirilmiştir. Her bir fragman için önce bireylerin ileri ve geri dizi hizalamaları, sonra populasyon içi ve son olarak da populasyonlar arasında çoklu nükleotid dizi hizalamaları yapılmıştır. İleri ve geri yönlü dizilerinin çakışmayan kısımlarının varlığından dolayı her tür için konsensüs dizileri Mega 5.05 programı (Tamura, et al., 2011) kullanılarak elde edilmiştir.



Şekil 2.10. COI ve ITS2 fragmanlarına ait bazı dizi kromotogramları

2.7. Veri Analizleri

2.7.1. Genetik Çeşitlilik, Genetik Uzaklık ve Gen Karakterizasyonu

mtDNA gen bölgesi hedeflenerek çoğaltılan PZR ürününün pseudogen (nükleer kontaminant) olup olmadığı, nükleotid kompozisyonu, nükleotid yer değişim tipleri ve aminoasit kompozisyonları DnaSP 5.0 (Librado and Rozas, 2009) ve MEGA 5.05 programları aracılığıyla analiz edilmiştir. Filogenetik analizler için kullanılan haplotiplere ait mtDNA ve rDNA gen bölgelerinin veri matrisleri her bir haplotipin frekansını da içerecek şekilde tekrar hazırlanarak Arlequin 3.11 (Excoffier, et al., 2005) adlı popülasyon genetiği analiz programına aktarılmıştır. Bu program kullanılarak, her bir göl popülasyonundaki haplotip çeşitliliği (h), nükleotid çeşitliliği (π , Nei, 1987) her bir moleküler belirteç için ayrı ayrı hesaplanmıştır. Aynı zamanda her iki belirteçinde nükleotid çeşitliliğinin seçilim baskısına maruz kalıp kalmadığı, diğer bir deyişle nötraliteden uzaklaşıp uzaklaşmadığı hakkında bilgi edinmek amacıyla Arlequin 3.11 paket programında yer alan Tajima'nın D (Tajima, 1989) ve Fu'nun F_S (Fu, 1997) analizleri, nötralite istatistiklerinin hesaplanmasında kullanılmıştır. Anlamlılık düzeyleri 1000 tekrarlı rastgele permütasyon analiziyle elde edilmiş ve anlamlılık derecesi olarak $p < 0,05$ düzeyi kabul edilmiştir. Popülasyonlar ve bireyler arasında genetik uzaklığın tahmin edilmesi amacıyla p uzaklık parametresi ve Tamura-Nei'nin evrimsel uzaklık parametreleri (Tamura and Nei, 1993) kullanılarak Mega 5.0'da analizler gerçekleştirilmiştir. Cernek Gölü'nde yapılan araziler sonucunda elde edilen birey sayısı 1 ile sınırlı kaldığından dolayı bu göl popülasyonları ile ilgili analizlere dahil edilmemiştir.

2.7.2. Filogeni ve Filocoğrafya

mtDNA ve rDNA nükleotid veri seti hazırlandıktan sonra filogenetik analizlere başvurulmuştur. Analizler öncesinde analiz için doğasına göre en uygun model/modelleri

ve ağaç inşalarında kullanılacak olan parametre tahminleri jModelTest 0.1.1. (Posada, 2008) programında yer alan AIC (Akaike Information Criterion) ve BIC (Bayesian Information Criterion)'ye göre seçilmiştir. Bu modeller saptandıktan sonra, analizler DNA uzaklık (NJ), maksimum olasılık (ML), maksimum parsimoni (MP) ve Bayesian çıkarsaması (BI) olmak üzere dört farklı yaklaşımla gerçekleştirilmiştir. Maksimum parsimoni analizleri dışında kalan tüm diğer analizler sonucunda inşa edilen gen ağaçları FigTree v1.3.1 (Rambaut, 2009) programı kullanılarak çizilmiştir.

Uzaklık ve maksimum parsimoni analizleri PAUP (version 4.0b10, Swofford, 2002) programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Maksimum olasılık analizleri için PhyML (version 3.0, Guindon and Gascuel, 2003; Guindon, et al., 2005) programı kullanılmıştır. Bayesian çıkarsamalı filogenetik analizler ise MrBayes 3.1.2 (Huelsenbeck and Ronquist, 2001; Ronquist and Huelsenbeck, 2003) programında uygun model altında gerçekleştirilmiştir.

Analizlerde; *COI* fragmanı için model olarak GTR+I+G ve *ITS2* fragmanı için GTR+G model olarak kullanılmıştır. Nükleotid değişimlerine transisyon ve transversiyon değişimlerin tümü dahil edilmiştir. Nükleotid pozisyonları arasındaki nükleotid değişim oranındaki varyasyonun saptanabilmesi için gamma dağılımı seçilmiştir.

Gen ağaçlarının inşa edilmesine ek olarak, populasyonları oluşturan bireylerin her iki DNA belirteci için ait nükleotid dizilerine dayandırılarak bireyler arasındaki soy-hattı ilişkisini araştırmak için ortanca-bağlama (median-joining, MJ) şebeke yaklaşımı (Bandelt, et al., 1995, 1999) Network 4.5.1.6 (<http://www.fluxus-technology.com>) programına başvurularak gerçekleştirilmiştir. Şebeke inşası MJ yöntemi ($\epsilon = 0$) uygulanarak gerçekleştirilmiştir.

ITS2 ikincil yapıları; ITS2 database (<http://its2.bioapps.biozentrum.uni-wuerzburg.de/>) programı kullanılarak çizilmiştir.

3. BULGULAR

3.1. Morfolojik Bulgular

Gala, Sapanca, Büyük Akgöl, Eğirdir, Mogan, Gölbaşı, Cernek ve Nemrut Göllerinden elde edilen, morfolojik tayin anahtarına göre *P. hammoniensis* olarak tanımlanan örnekler önce mikroskopta incelenmiş, *P. hammoniensis* taksonomik kriterlerinden sapma olup olmadığı not edilerek fotoğrafları çekilmiş ve Tablo 3.1, 3.2, 3.3 ve 3.4'de verilmiştir. Genel olarak bakıldığında normal *P. hammoniensis*'in taksonomik karakterlerinden en yüksek orandaki sapmanın, Gala Gölü örneklerinde olduğu tespit edilmiştir.

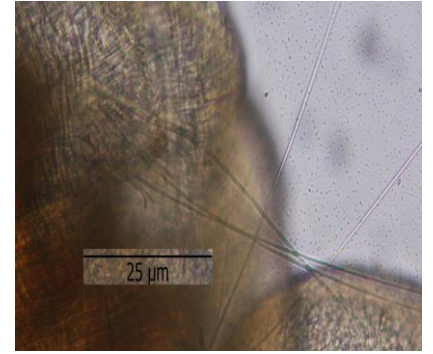
Gala Gölü'nden, morfolojik teşhis anahtarına göre *P. hammoniensis* olarak teşhis edilen örneklerde gözlemlenen taksonomik karakterlerdeki en büyük sapmanın spermatekal setada olduğu tespit edilmiştir. Gala Gölü örneklerinin spermatekal setaları düz, oluklu ve nodulus sonrası genişleme göstermez. En çok 100 µm uzunluğunda, distal kısımdaki oluk en fazla 5 µm genişliğindedir. Diğer karakterler olan prostomium yapı ve morfolojisi, dorsal ve ventral demetlerdeki seta sayı ve yapılarında da farklılaşmalar tespit edilmiştir. Bilindiği gibi canlıların morfolojik karakterlerinde habitata uyum sonucu ekofenotipik varyasyonlar gözlemlenebilir ancak farklılaşmalar üremede bir yalıtımı işaret etmez. Tubificin üyelerindeki spermatekal seta, üremede primer öneme sahip olup, spermilerin karşı tarafa aktarılmasında görev almaktadır. Spermatekal setadaki sapmalar bize farklılaşmanın ekofenotipik varyasyondan çok daha fazlasını, yani üremede de bir yalıtım olduğunu göstermektedir.

Tablo 3.1. Gala Gölü'nden morfolojik teşhis anahtarına göre *P. hammoniensis* olarak teşhis edilen örneklerin, *P. hammoniensis* bireylerinden gözlemlenen farklılıkları

1. Prostomium konik ancak kısa değildir ve birinci segmentten ayrımı bariz olarak gözlemlenmez.

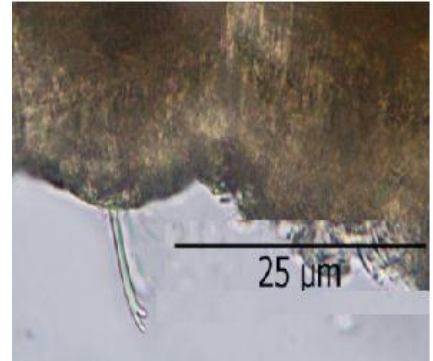


2. Anterior dorsal demetlerdeki tüy seta sayısı daha azdır. Genellikle 2-3, nadiren 4 adettir.

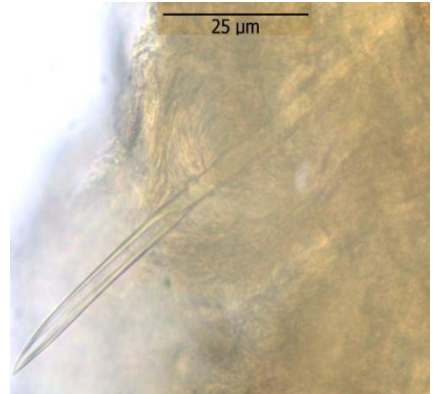


3. Anterior dorsal demetlerdeki pektinet sayısı azdır ve dişler daha ayırık ve eşittir. Genellikle 2-3, nadiren 4 adettir.

4. Anterior ventral demetlerdeki setalarda üst diş daha ince ve uzundur. 4-6 adettir.



5. Spermatekal seta düz, oluklu ve nodulus sonrası genişleme göstermez. En çok 100 µm uzunluğundadır. Spermatekal seta tektir. Distal kısımdaki oluk en fazla 5 µm genişliğindedir.

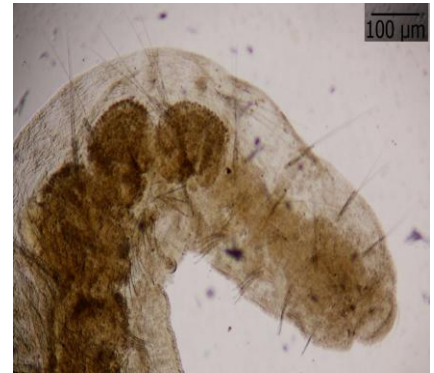


Tablo 3.2. Eğirdir ve Sapanca Göllerinden morfolojik teşhis anahtarına göre *P. hammoniensis* olarak teşhis edilen örneklerin, *P. hammoniensis* bireylerinden gözlemlenen farklılıkları

1. Prostomium tam konik değildir. Bireyler daha şeffaftır. Canlı bireylerde kırmızı renklenme bariz değildir.



2. Anterior dorsal demetlerdeki tüy seta sayısı en fazla 3 adettir ve kısadır. Pektinet sayısı 6'ya kadar değişen sayıda ve dişleri ayrı değildir ve eşit uzunluktadır.



4. Anterior ventral setalar dorsaldekilere göre daha ince ve uzundur. En fazla 5 adettir. Üst diş anterior demetlerde ince ve daha uzundur. Posterior demetlerde ise eşittir.



5. Spermatekal seta Gala Gölü örneklerinden daha uzundur. 150-200 µm uzunluğundadır. Distal kısımdaki oluk genişliği 8-10 µm'dir.



Tablo 3.3. Nemrut Gölü'nden morfolojik teşhis anahtarına göre *P. hammoniensis* olarak teşhis edilen örneklerin, *P. hammoniensis* bireylerinden gözlemlenen farklılıkları

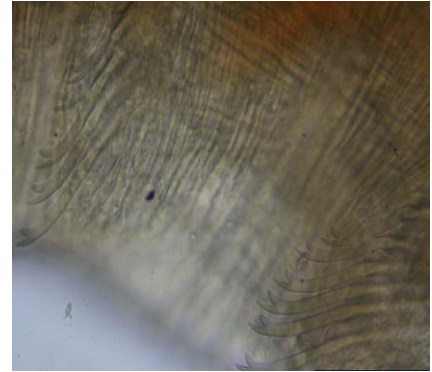
1. Prostomium az koniktir.



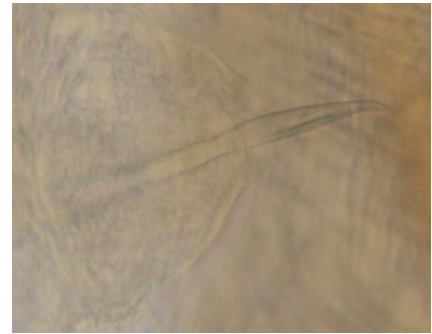
2. Anterior dorsal demetlerdeki tüy seta sayısı daha azdır, 2-3 adettir. Pektinet setalar ince ve uzundur. Dişler eşit ve ayrıktır.



4. Anterior ventral setalar 2-6 adettir. Üst diş ince ve çok az uzundur. Posterior ventrallerde seta sayısı azalır.



5. Spermatekal seta düz ve incedir. Distal kısımdaki genişleme çok azdır (Büyük Akgöl, Mogan, Gölbaşı ve Cernek Gölü örneklerinden farklı olarak).

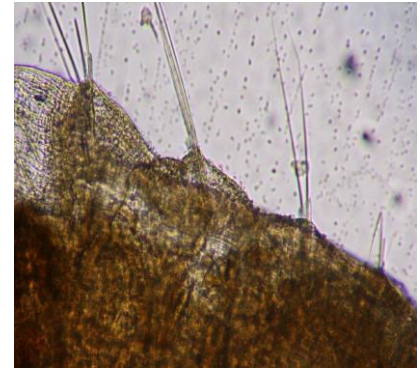


Tablo 3.4. Büyük Akgöl, Mogan, Gölbaşı ve Cernek Gölleri'nde morfolojik teşhis anahtarına göre *P. hammoniensis* örneklerinden sapma göstermeyen bireylerin özellikleri

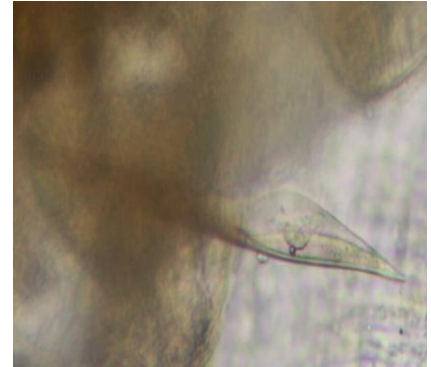
1. Prostomium tam koniktir ve keskindir (Cernek Gölü örneklerinde prostomium daha az koniktir).



2. Anterior dorsal demetlerdeki tüy ve pektinet setalarda farklılaşma gözlenmemiştir. Özellikle Mogan Gölü örneklerinde dorsal demetler sert eğilmezdir. Pektinetler daha kalındır.



3. Spermatekal setanın distal kısmındaki genişleme diğer farklılaşma görülen göllerinkinden oldukça farklıdır, geniştir ve kenarları daha kıvrıktır.



3.2. Genetik Çeşitlilik ve Populasyonlar Arasındaki Genetik Uzaklık

DNA izolasyonu, çoğaltım, dizileme ve hizalama uygulamaları sonucunda *COI* fragmanı açısından toplamda 7 lokaliteye ait 35 bireyde konsensüs dizisi elde edilmiş ve analizler bu nükleotid dizileri üzerinden gerçekleştirilmiştir. *COI* fragmanı için analizlere dahil edilemeyen populasyon Büyük Akgöl'dür. Analiz edilen mitokondri DNA dizilerinin her kromotogramda tekli piklere sahip oldukları, insersiyon ve delesyon (in-del) bölgeleri içermedikleri, dizi içerisinde rastgele stop kodonlar bulundurmadıkları ve en yüksek nükleotid yer değişimine 3. kodon pozisyonunda sahip oldukları gözlenmiştir. Dizi hizalama çalışmaları sonucunda *COI* fragmanının 642 bç sahip olduğu belirlenmiştir. Analiz edilen 35 bireye ait nükleotid konsensüs dizisi içerisinde 420'si korunmuş (% 65,42), 222'si değişken (% 34,57) ve parsimoni bilgi verici pozisyon sayısı 216'dır.

ITS2 fragmanı için 8 lokaliteye ait 62 bireyden elde edilen nükleotid dizileri kullanılarak veri seti hazırlanmış ve analizler bu veri seti üzerinden yürütülmüştür. İkili ve çoklu dizi hizalama çalışmaları sonucunda *ITS2* fragmanının 445 bç sahip olduğu belirlenmiştir. Analiz edilen 62 bireye ait nükleotid konsensüs dizisi içerisinde 344 bç korunmuş (% 77,30), 101 bç değişken (% 22,69) ve 100 bç (% 22,47) ise parsimoni bilgi verici pozisyon olarak saptanmıştır.

P. hammoniensis örneklerinin filogenileri farklı algoritmalar kullanılarak hesaplanmıştır. Analizler DNA uzaklık, maksimum olasılık (ML), maksimum parsimoni (MP) ve Bayesiyen çıkarımsal olmak üzere dört farklı yaklaşımda gerçekleştirilmiştir. Her iki fragmana ait nükleotid dizileri ayrı analiz edilmiştir. Ayrıca iki fragman nükleotid dizileri birleştirilerek toplam moleküler veri için analizler yapılmıştır. Hem AIC (Akaike Information Criterion) hem de BIC (Bayesiyen Information Criterion) parametreleri mevcut DNA dizilerinden mtDNA için en uygun model olarak altı parametrelili GTR + I + G modelini saptamıştır. Bu model altında *COI* fragmanı için transisyon/transversiyon oranı (R)=1.07; denge baz frekansları A=0,2778, T=0,3234, G=0,1705 ve C=0,2283; gamma şekil parametresi=0,3470 ve invariant şekil

parametresi=0,0000 olarak belirlenmiştir. Çekirdek DNA'sı için en uygun model olarak ise GTR + G modeli saptanmıştır. *ITS2* fragmanı için transisyon/transversiyon oranı (R)=1,13; denge baz frekansları A=0,1777, T=0,2001, G=0,3315 ve C=0,2908 ve gamma şekil parametresi=0,9620 olarak belirlenmiştir.

COI ve *ITS2* fragmanları için populasyonlar arası genetik uzaklık çizelgeleri Tablo 3.5, 3.6, 3.7 ve 3.8'de verilmiştir. p-genetik uzaklık ve Tamura-Nei genetik uzaklık analizleri sonucunda; Gala Gölü (p-genetik uzaklık değeri: 0,24; Tamura-Nei genetik uzaklık değeri=0,52), diğer populasyonlara genetik uzaklığı en fazla olan populasyon olarak belirlenmiştir (Tablo 3.5). Genetik uzaklık tabloları incelendiği zaman her iki analiz sonucunda da; Gala Gölü'nden sonra genetik uzaklığı fazla olan bir diğer populasyon ise Nemrut Gölü'dür (p- genetik uzaklık değeri: 0,17; Tamura-Nei genetik uzaklık değeri=0,32). Nemrut Gölü'nü takiben ise Sapanca ve Eğirdir Gölleri (p-genetik uzaklık değeri: 0,16; Tamura-Nei genetik uzaklık değeri=0,31) gelmektedir. Diğer 4 gölde ise (Büyük Akgöl, Mogan, Cernek ve Gölbaşı Gölleri); bu göllere oranla daha düşük bir genetik uzaklık gözlenmiştir.

COI ve ITS2 fragmanlarına ait diziler kullanılarak oluşturulan komşu bağlama ağaçları baz alınarak kladlar belirlenmiştir. COI fragmanı için; Klad1A: Gölbaşı Gölü-Mogan Gölü-Cernek Gölü, Klad1B:Nemrut Gölü, Klad2A:Sapanca Gölü, Klad2B:Eğirdir Gölü, Klad3:Gala Gölü bireylerini temsil etmektedir. ITS2 fragmanı için; Klad1:Mogan Gölü-Gölbaşı Gölü-Cernek Gölü-Büyük Akgöl-Nemrut Gölü-Sapanca7-18-25, Klad2A:Gala5-6-Sapanca15-17-21-26, Klad2B:Eğirdir Gölü- Gala1, Klad3:Gala2-3-4-7 bireylerini temsil etmektedir.

COI ve ITS2 fragmanları için kladlar arasındaki genetik uzaklık çizelgeleri ise Tablo 3.9, 3.10, 3.11 ve 3.12'de verilmiştir. p-genetik uzaklık ve Tamura-Nei genetik uzaklık analizleri sonucunda; Klad3 (p-genetik uzaklık değeri: 0,20; Tamura-Nei genetik uzaklık değeri=0,54), diğer kladlara genetik uzaklığı en fazla olan klad olarak belirlenmiştir (Tablo 3.9 ve 3.11). Bu veriler, popülasyonlar arası genetik uzaklık tablolarından elde edilen verileri destekler niteliktedir.

Tablo 3.9. COI fragmanı kladlar arasındaki p-genetik uzaklık

	Klad1A	Klad1B	Klad2A	Klad2B	Klad3
Klad1A		0,01	0,01	0,01	0,01
Klad1B	0,16		0,01	0,02	0,01
Klad2A	0,15	0,16		0,07	0,01
Klad2B	0,16	0,16	0,01		0,01
Klad3	0,19	0,20	0,18	0,18	

Tablo 3.10. ITS2 fragmanı kladlar arasındaki p-genetik uzaklık

	Klad3	Klad2B	Klad1	Klad2A
Klad3		0,02	0,01	0,02
Klad2B	0,20		0,01	0,01
Klad1	0,19	0,03		0,01
Klad2A	0,20	0,04	0,06	

Tablo 3.11. COI fragmanı kladlar arasındaki Tamura-Nei genetik uzaklık

	Klad1A	Klad1B	Klad2A	Klad2B	Klad3
Klad1A		0,05	0,04	0,05	0,06
Klad1B	0,30		0,05	0,06	0,10
Klad2B	0,26	0,29		0,11	0,07
Klad2A	0,31	0,31	0,02		0,08
Klad3	0,42	0,54	0,42	0,43	

Tablo 3.12. ITS2 fragmanı kladlar arasındaki Tamura-Nei genetik uzaklık

	Klad3	Klad2B	Klad1	Klad2A
Klad3		0,04	0,04	0,04
Klad2B	0,29		0,01	0,01
Klad1	0,28	0,03		0,01
Klad2A	0,29	0,04	0,03	

COI ve ITS2 fragmanlarının ikili F_{ST} değerlerine ait tablolar incelendiği zaman; mitokondri DNA belirteci bazında popülasyonlar arasında farklılaşmanın en yüksek (F_{ST} değeri=0,99) olarak gözlemlendiği ikili popülasyon çifti Nemrut ile Egirdir Gölü'dür (Tablo 3.13). İkili F_{ST} değerinin en düşük olduğu (F_{ST} değeri=0,18) popülasyon çifti ise Mogan ile Gölbaşı Gölü'dür (Tablo 3.13). Çekirdek DNA belirteci bazında ise; popülasyonlar arasında farklılaşmanın en yüksek (F_{ST} değeri=0,99) olarak gözlemlendiği ikili popülasyon çiftlerinin Nemrut ile Mogan Gölü ve Egirdir ile Mogan Gölleri arasında olduğu görülmektedir (Tablo 3.14). İkili F_{ST} değerinin en düşük olduğu (F_{ST} değeri=0,36) popülasyon çifti ise Sapanca ile Egirdir Gölü'dür (Tablo 3.14). Gala Gölü, filogenetik ağaçlar incelendiğinde önemli derecede farklılık gösterdiği için popülasyonlar arası ikili F_{ST} analizlerine dahil edilmemiştir.

Tablo 3.13. Populasyonların COI ikili F_{ST} değerleri

	Glbs	Spnc	Mgn	Nmr	Egrd
Glbs	0,00				
Spnc	0,95	0,00			
Mgn	0,18	0,95	0,00		
Nmr	0,96	0,98	0,98	0,00	
Egrd	0,95	0,95	0,97	0,99	0,00

Tablo 3.14. Populasyonların ITS2 ikili F_{ST} değerleri

	Mgn	Nmr	Spnc	Glbs	BAkg	Egrd
Mgn	0.00					
Nmr	0.99	0.00				
Spnc	0.71	0.59	0.00			
Glbs	0.60	0.96	0.73	0.00		
BAkg	0.53	0.95	0.76	0.39	0.00	
Egrd	0.99	0.98	0.36	0.95	0.95	0.00

3.3. Filogeni ve Filocoğrafya

Gala, Sapanca, Büyük Akgöl, Eğirdir, Mogan, Gölbaşı, Cernek ve Nemrut Göllerinden elde edilen, morfolojik tayin anahtarına göre *P. hammoniensis* olarak tanımlanan örnekler Tablo 3.1, 3.2, 3.3 ve 3.4'de verilmiştir. Genel olarak bakıldığında normal *P. hammoniensis*'in taksonomik karakterlerinden en yüksek orandaki sapmanın, Gala Gölü örneklerinde olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuç sadece morfolojik karakterlerde değil aynı zamanda *COI* ve *ITS2* fragmanlarının analizlerinde de (Şekil 3.1 ve 3.2) gözlemlenmektedir. Tüm filogenetik analizler sonucunda Gala Gölü örnekleri ayrı bir klad olarak gözlemlenmektedir. Gala Gölü'nden, morfolojik teşhis anahtarına göre *P. hammoniensis* olarak teşhis edilen örneklerde gözlemlenen taksonomik karakterlerdeki en büyük sapmasının spermatekal setada olduğu tespit

edilmiştir. Tubificin üyelerindeki spermatekal seta, üremede primer öneme sahip olup, spermlerin karşı tarafa aktarılmasında görev almaktadır. Spermatekal setadaki sapmalar bize farklılaşmanın ekofenotipik varyasyondan çok daha fazlasını, yani üremede de bir yalıtım olduğunu göstermektedir. Bu durum nükleotid veri seti üzerinden gerçekleştirilen ikili F_{ST} sonuçlarında da gözlenmektedir (Tablo 3.13 ve 3.14). Aynı zamanda *ITS2* fragmanı üzerinden inşa edilen sekonder yapı tahminleri de Gala Gölü örneklerinin diğer tüm populasyonlardan farklı olduğuna işaret etmektedir (Şekil 3.12). Nötralite analizleri (Tajima'nın D testi ve F_u 'nun F_S testi) her iki fragman açısından da incelendiğinde; nötraliteden önemli derecede bir uzaklaşma gözlenmemiştir (Tablo 3.17 ve 3.18). Bu durum populasyonların uzun süre önce farklılaşmış olduğunu ve son dönemlere özgü ani bir büyüme örüntüsüne sahip olmadığına işaret etmektedir.

Sapanca ve Eğirdir Gölü örneklerinin morfolojilerinde de *P. hammoniensis* taksonomik karakterlerinden sapmalar gözlemlenmiş ancak farklılaşma oranının, Gala Gölü örneklerindeki kadar yüksek oranda olmadığı tespit edilmiştir. Sapanca ve Eğirdir Gölü örneklerinde tespit edilen en önemli farklılaşmalar yine spermatekal setada olup, Gala Gölü örneklerindeki kadar belirgin değildir ancak normal setal morfolojiden sapma olduğu kesindir (Tablo 3.2). Ayrıca dorsal ve ventral demetlerdeki seta morfolojilerinde de farklılaşmalar tespit edilmiştir (Tablo 3.2). Sapanca ve Eğirdir Gölü örnekleri Gala Gölü kadar farklılaşmış bir yapı sergilemese de, neredeyse tüm filogenetik analizlerde ayrı bir klad olarak açığa çıkmıştır (Şekil 3.1 ve 3.2). Aynı zamanda şebeke analizleri de bu örüntüyü desteklemektedir. Genetik uzaklık ve ikili F_{ST} analizleri sonucunda, bu populasyonun diğer populasyonlarla tarihsel bir bağlantısı olmakla birlikte (özellikle Gala Gölü'nden bazı bireylerle ortak haplotip paylaşımı gibi) önemli ölçüde farklılaşmış olduğu da rapor edilebilir (Tablo 3.15 ve 3.16). Tüm bu bulgular doğrultusunda; Sapanca ve Eğirdir Gölü bireylerinin *P. hammoniensis* türünün Anadolu'da genetik olarak farklılaşmış bir populasyonu olduğu söylenebilir.

P. hammoniensis taksonomik karakterlerinden sapma gösteren bir diğer örnek de Nemrut Gölü'nden elde edilmiştir. Nemrut Gölü örneklerinde farklılaşma, Gala Gölü

örnekleri kadar yüksek oranda değil ancak, Sapanca ve Eğirdir Gölü örneklerindeki farklılaşmadan daha yüksek oranda olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuç muhtemelen Nemrut Gölü'nün, Anadolu Diyagoneli oluştuktan sonraki izolasyon süreci ile ilgili olabilir. Nemrut Gölü örnekleri tüm filogenetik analizlerde ayrı bir alt klad olarak konuşlanmış olması (Şekil 3.1 ve 3.2) ve coğrafik genetik analizleri sonucunda genetik uzaklıklarının her iki fragman açısından da yeterli ölçüde yüksek gözlenmesi (Tablo 3.1. ve 3.2) bu hipotezi destekler niteliktedir. Aynı zamanda şebeke analizi sonucunda açığa çıkan yapılanma Nemrut Gölü örneklerinin diğer göllerdeki bireylerden çok uzun süre önce ayrılmış olduğuna ve sonrasında farklı bir evrimsel tarihe sahip olduğuna işaret etmektedir (Şekil 3.9 ve 3.10). Bu öngörü *ITS2* fragmanından inşa edilen sekonder yapı tahminleri ile de desteklenmektedir (Şekil 3.12).

Büyük Akgöl, Mogan, Gölbaşı ve Cernek Göllerinden elde edilen *P. hammoniensis* bireylerinde de farklılaşmalar saptanmıştır, ancak bunlar ekofenotipik varyasyon olarak kabul edilebilir morfolojik değişimler olduğu söylenebilir. Büyük Akgöl, Mogan, Gölbaşı ve Cernek Gölleri farklı coğrafik özelliklere ve su kimyasına sahip olup, tüm bunlar allopatrik izolasyona bağlı türleşmenin sonuçlarını görmemiz için yeterli zamansal periyoda ulaşmamış gözükmektedir. Çünkü moleküler analiz sonuçlarında da görüldüğü gibi haplotip paylaşımlarının en fazla bu populasyonlar arasında gözlenmesi ya populasyonlar arasında gen akışının devam etmekte olduğuna ya da bu populasyonların çok kısa zaman önce ayrılmış olduklarına işaret etmektedir. Ek olarak tüm filogenetik analizler sonucunda bu populasyonların çoğunlukla aynı klad içerisinde bulunmaları (Şekil 3.1, 3.2, 3.3, 3.4, 3.5, 3.6, 3.7, 3.8 ve 3.9) ve şebeke analizleri sonucunda aralarındaki mutasyon farklılıklarının sadece 1-2 mutasyonla sınırlı olması (Şekil 3.10 ve 3.11) da bu hipotezi desteklemektedir. Benzer bir bulgu da genetik uzaklık indekslerinden gelmektedir (Tablo 3.5 ve 3.6).

COI ve *ITS2* fragmanları ile yapılan filogenetik ve filocoğrafik analizler sonucu oluşturulan ağaçlara bakıldığında; Gala Gölü örneklerinin diğerlerinden tamamen ayrı bir klad olarak diyagrama yansdığı görülmektedir. Bu da, Gala Gölü'nün araştırılan

diğer göllerden daha yüksek düzeyde bir izolasyona tabi kaldığını, genetik farklılaşmanın yanında üremedeki yalıtımın da işlediği fikrini akla getirmektedir. Palearktık bölgede geniş yayılış gösteren Ponto-Caspien kökenli *P. hammoniensis* bireyleri buzul dönemlerinde, muhtemelen de en yüksek oranda son buzul döneminde, Anadolu'ya Trakya üzerinden girmiş olabileceği fikrini güçlendirmektedir. Diğer göllerden elde edilen örneklerden farklı bir genetik yapı göstermesi ise; farklılaşmanın hem mitokondriyal hem de çekirdek DNA'sını etkilediğini ve dolayısıyla izolasyonun uzun bir periyodu kapsadığını göstermektedir.

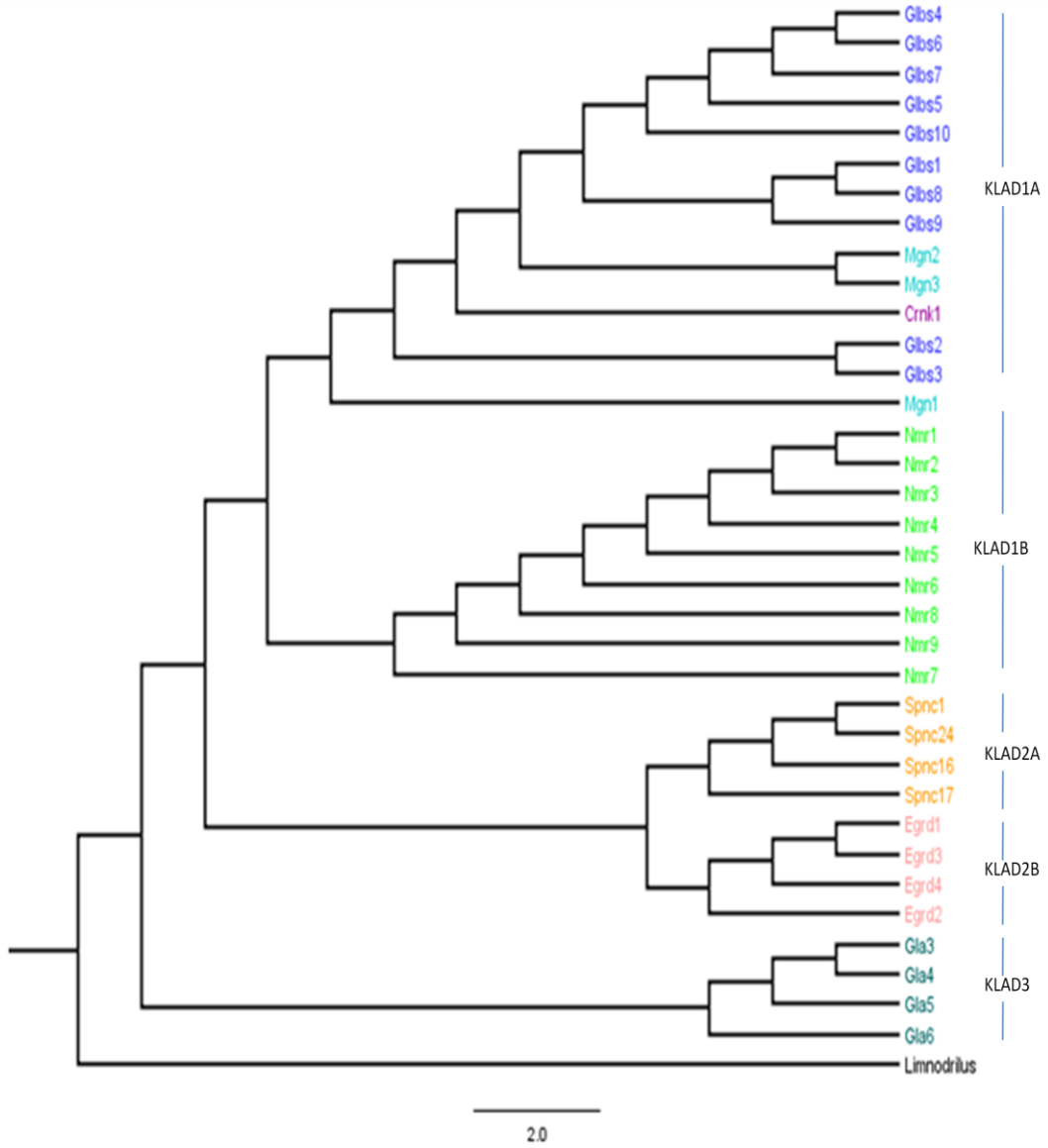
Bilindiği gibi Anadolu deniz düzeyinden bugünkü yüksekliğine Pliyosen buzul döneminden (14 My önce) başlayarak geç Pleistosen'e (120.000 yıl önce) kadar süren bir yükselme sonucunda erişmiştir. Miyosen'de (25 My önce) Doğu Anadolu'nun büyük bir kısmının denizlerle örtülü olduğu, Egeopotamus adı verilen büyük bir tatlı su nehri ve pek çok akarsuyun Sarmatik çöküntüden (bugünkü Karadeniz'i de içine alan, tatlı su ve bazen de acı su özelliği gösteren büyük iç göl) Akdeniz'e doğru aktığı belirtilmiştir. Egeopotamus Nehri bugünkü Vardar ve Tuna Nehirlerini de içine alarak Akdeniz'e akmakta ve Kos ve Girit adalarının arasından Akdeniz'e döküldüğü ve tatlı su canlıların yayılımına olanak tanıdığı bilinmektedir. Bu yayılımda en önemli görevi üstlenen bir diğer oluşum da uzun süre varlığını sürdüren, bugünkü İç Anadolu'nun kapladığı alanı örten bir iç tatlı su gölünün bulunmasıdır (Şekil 1.7). Bu gölden kaynaklanan pek çok akarsuyun farklı denizlere akarken, içerdiği canlıların yayılış ve çeşitlenmelerine de yardımcı olduğu bilinmektedir. Ancak, Sarmatik İç Gölü'nden ve Egeopotamus Nehri aracılığı ile Anadolu'ya ulaşabilen su canlılarının Anadolu İç Gölü'ne geldiklerinde, Tersiyerde tektonik hareketler sonucunda yükselmiş ve Anadolu'nun ortasındaki İç Gölü doğu-batı doğrultusunda ikiye bölmüş Anadolu Diyagonalı'ndan dolayı, doğu kesimlere yayılmalarının engellenmiş olduğu, böylelikle, Doğu ve Batı Anadolu tatlı su faunasının farklı yönlerde farklılaşmasına neden olduğu bildirilmiştir (Demirsoy, 2002). İklimin soğuması ile Palearktık bölgede geniş yayılış gösteren Ponto-Caspien kökenli *P. hammoniensis* Anadolu'ya, canlıların giriş kapısından biri olan Trakya üzerinden (Eken vd., 2006) giriş yaptığı fikrini doğrulamaktadır.

Tablo 3.17. COI fragmanı için Nötralite testleri

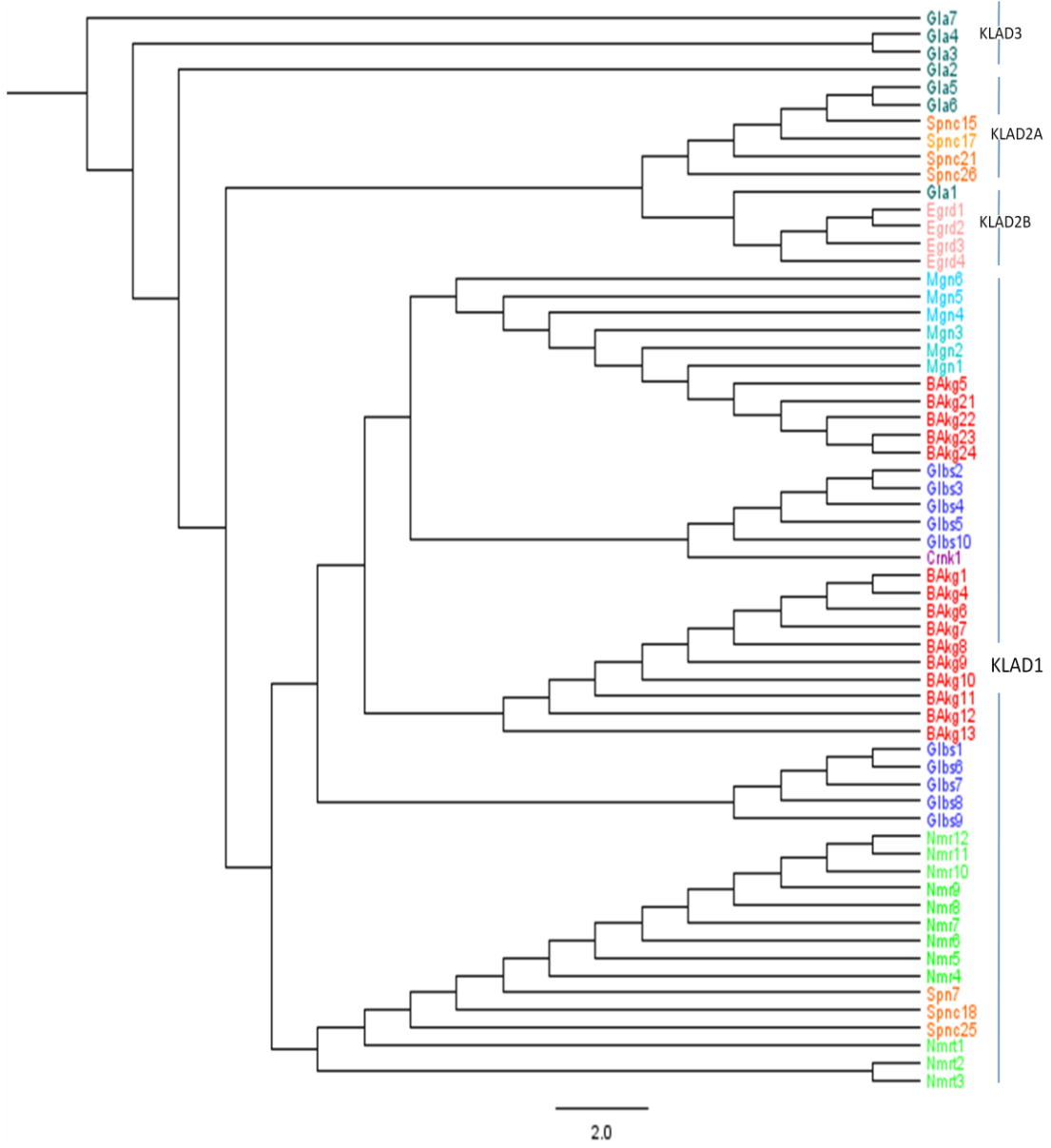
Tajima'nın D testi								
	Glbs	Spnc	Crnk	Mgn	Nmr	Egrd	Ortalama	s.d.
Örnek Sayısı	10	4	1	3	9	4	5,67	3
S	14	7	0	7	1	2	5,17	5
Pi	5,82	3,66	0,00	4,66	0,22	1,16	2,59	2,46
Tajima'nın D	0,80	-0,38	0,00	0,00	-1,08	0,59	-0,01	0,68
Tajima'nın D p-değeri	0,79	0,52	1,00	0,76	0,20	0,83	0,68	0,28
Fu'nun F_S testi								
Allel sayıları	7	4	1	2	2	3	3,16	2
Teta_pi	5,82	3,66	0,00	4,66	0,22	1,16	2,59	2,46
FS	-0,37	-0,94	0,00	2,88	-0,26	-0,65	0,10	1,39
FS p değeri	0,41	0,09	N.A.	0,86	0,16	0,15	N.A.	N.A.

Tablo 3.18. ITS2 fragmanı için Nötralite testleri

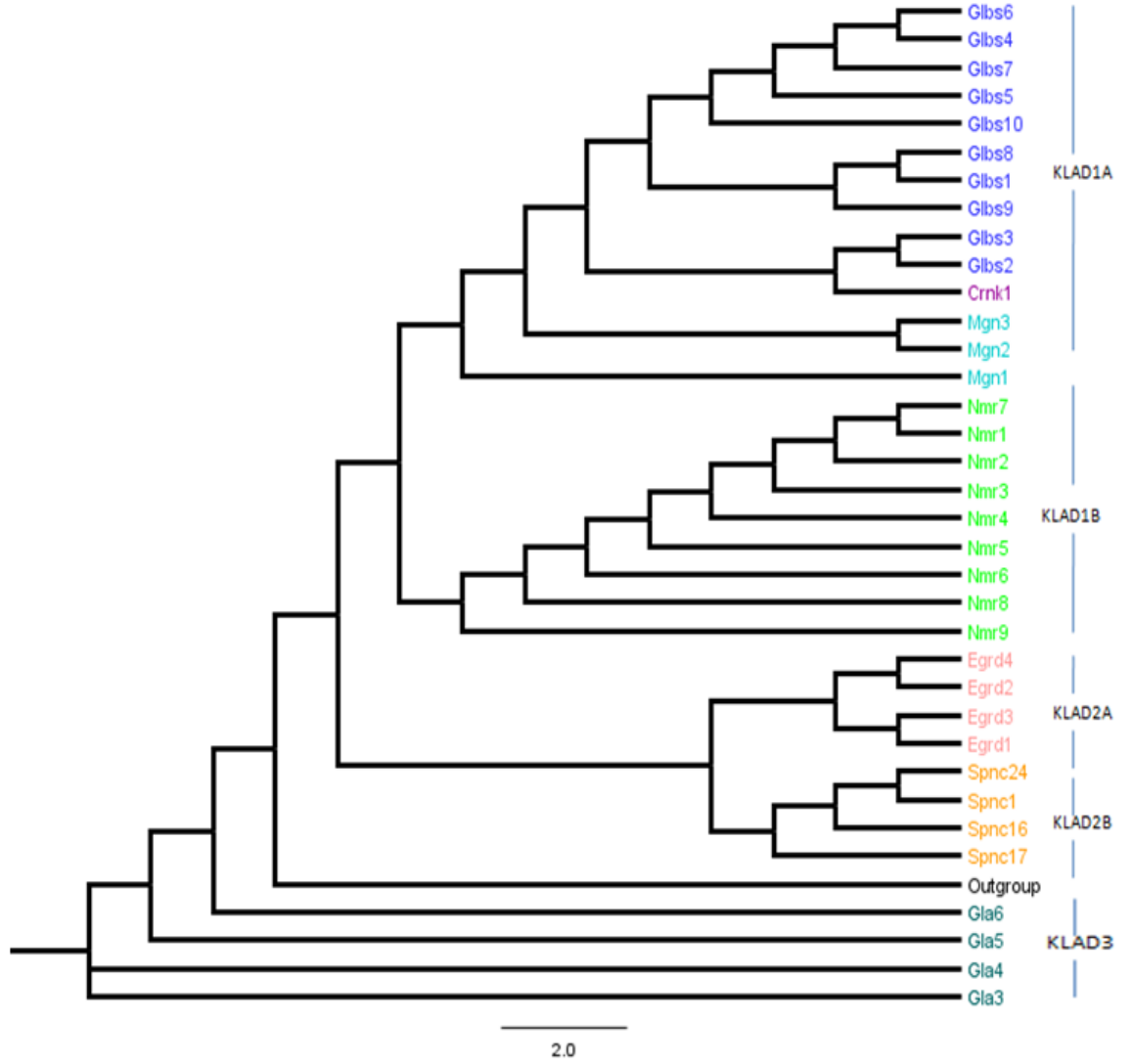
Tajima'nın D testi									
	Mgn	Nmr	Spnc	Glbs	Crnk	BAkg	Egrd	Ortalama	s.d.
Örnek Sayısı	6	12	7	10	1	15	4	8,28	4,19
S	0	1	16	2	0	2	0	3,00	5,80
Pi	0,00	0,30	13,14	1,66	0,00	1,42	0,50	2,43	4,76
Tajima'nın D	0,00	-0,19	2,21	1,84	0,00	1,44	0,00	0,75	1,03
Tajima'nın D p-değeri	1,00	0,29	1,00	0,98	1,00	0,94	1,00	0,88	0,26
Fu'nun F_S testi									
Allel sayıları	1	2	2	2	1	2	2	1,71	0,48
Teta_pi	0,00	0,30	13,14	1,66	0,00	1,42	0,50	2,43	4,76
FS	0,00	0,29	10,26	3,45	0,00	3,62	0,17	2,54	3,76
FS p değeri	N.A.	0,33	1,00	0,94	N.A.	0,95	0,33	N.A.	N.A.



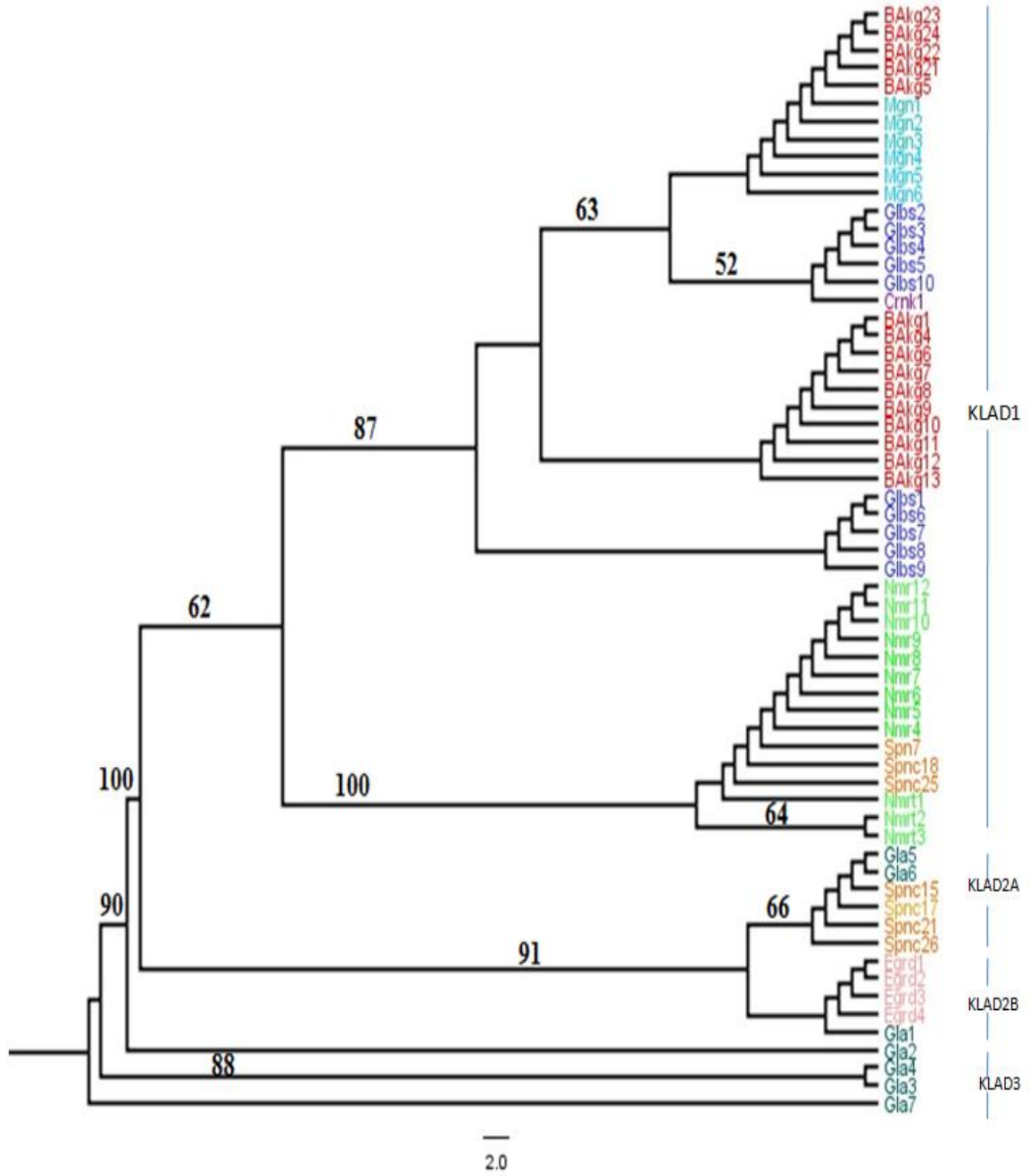
Şekil 3.1. COI fragmanı Komşu Bağlama (NJ) dendogramı



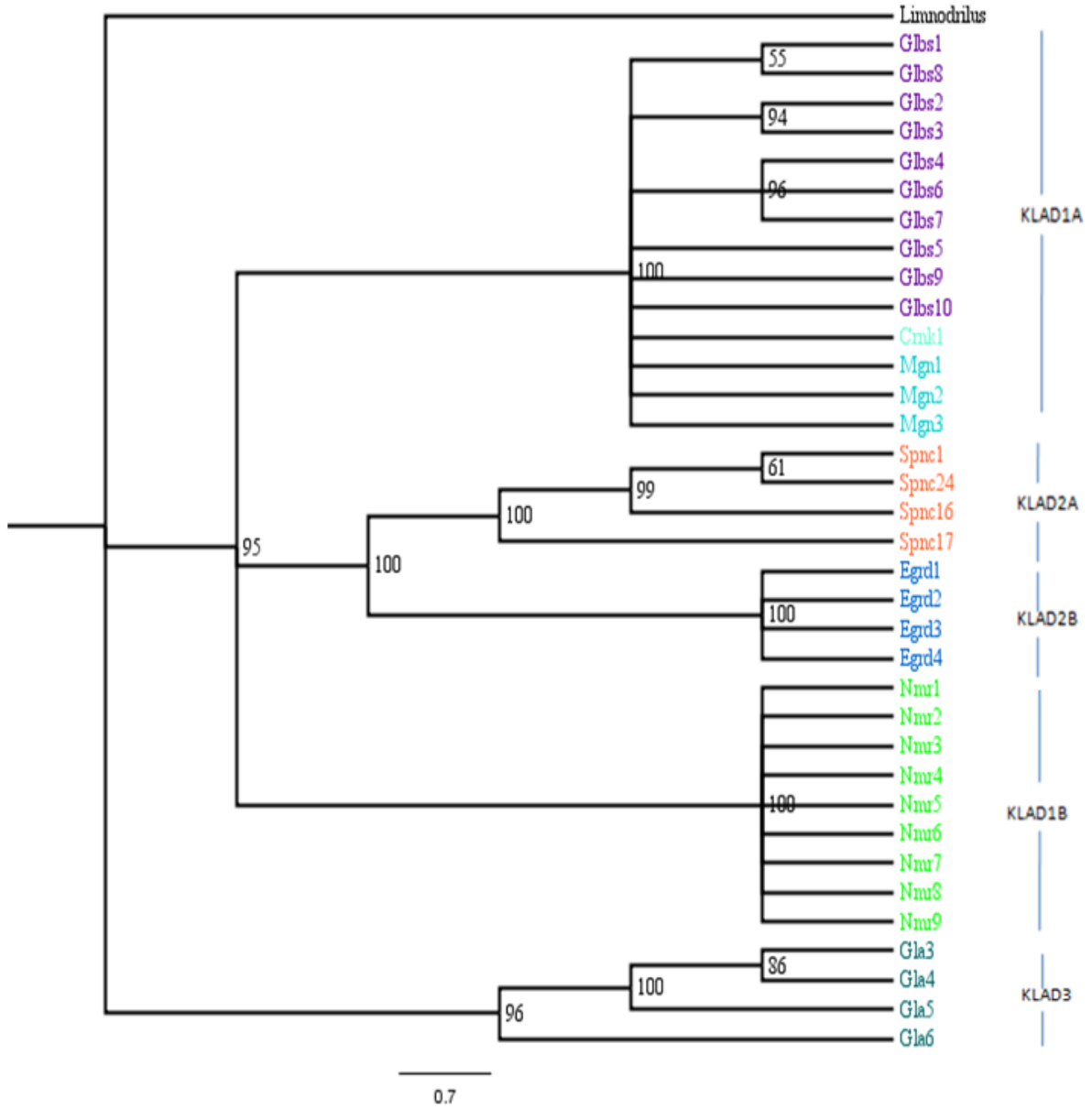
Şekil 3.2. ITS2 fragmanı Komşu Bağlama (NJ) dendogramı



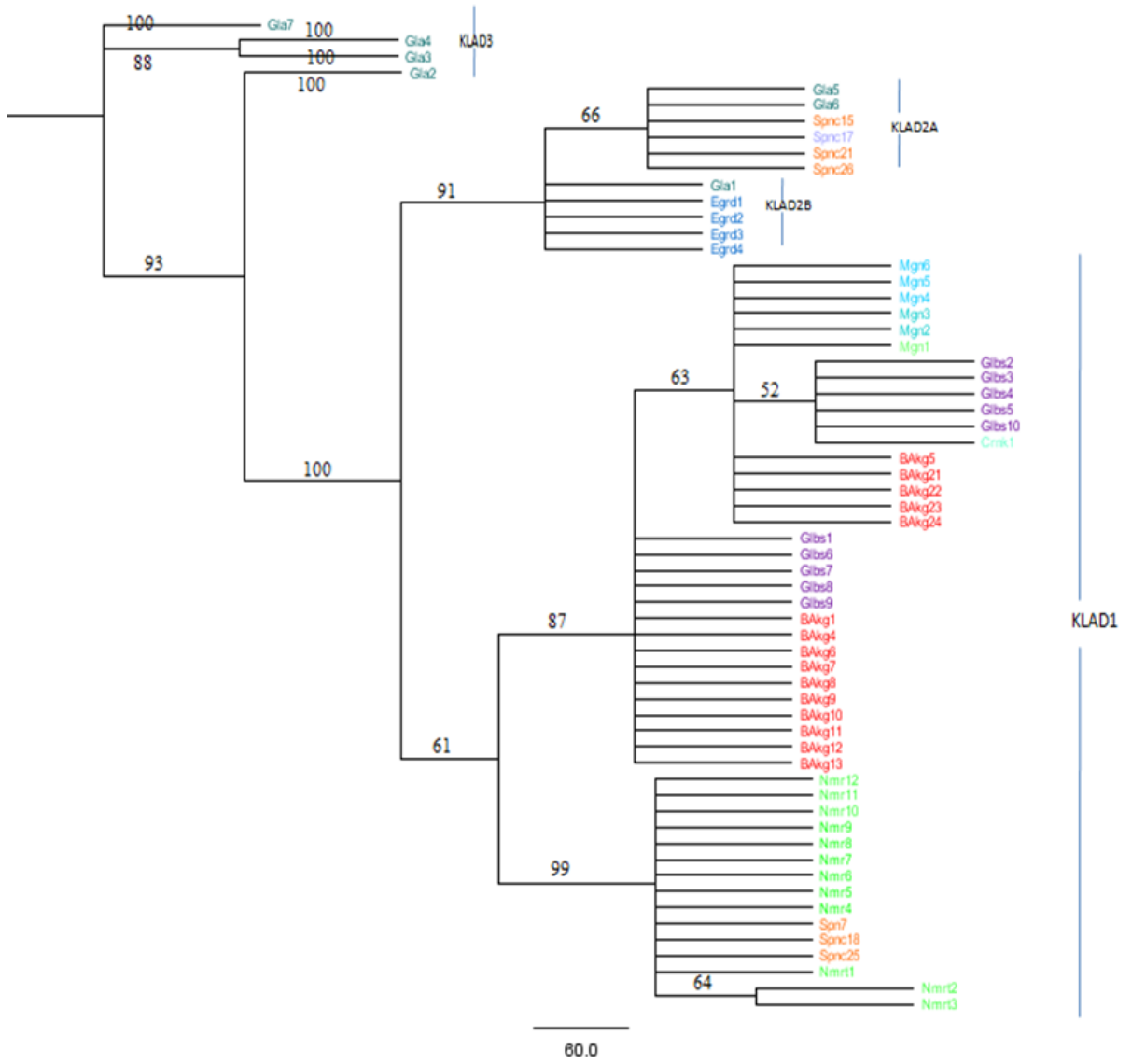
Şekil 3.3. COI fragmanı maksimum olasılık yöntemine dayalı filogenetik ağaç
(GTR+I+G modeli kullanılarak inşa edilmiştir.)



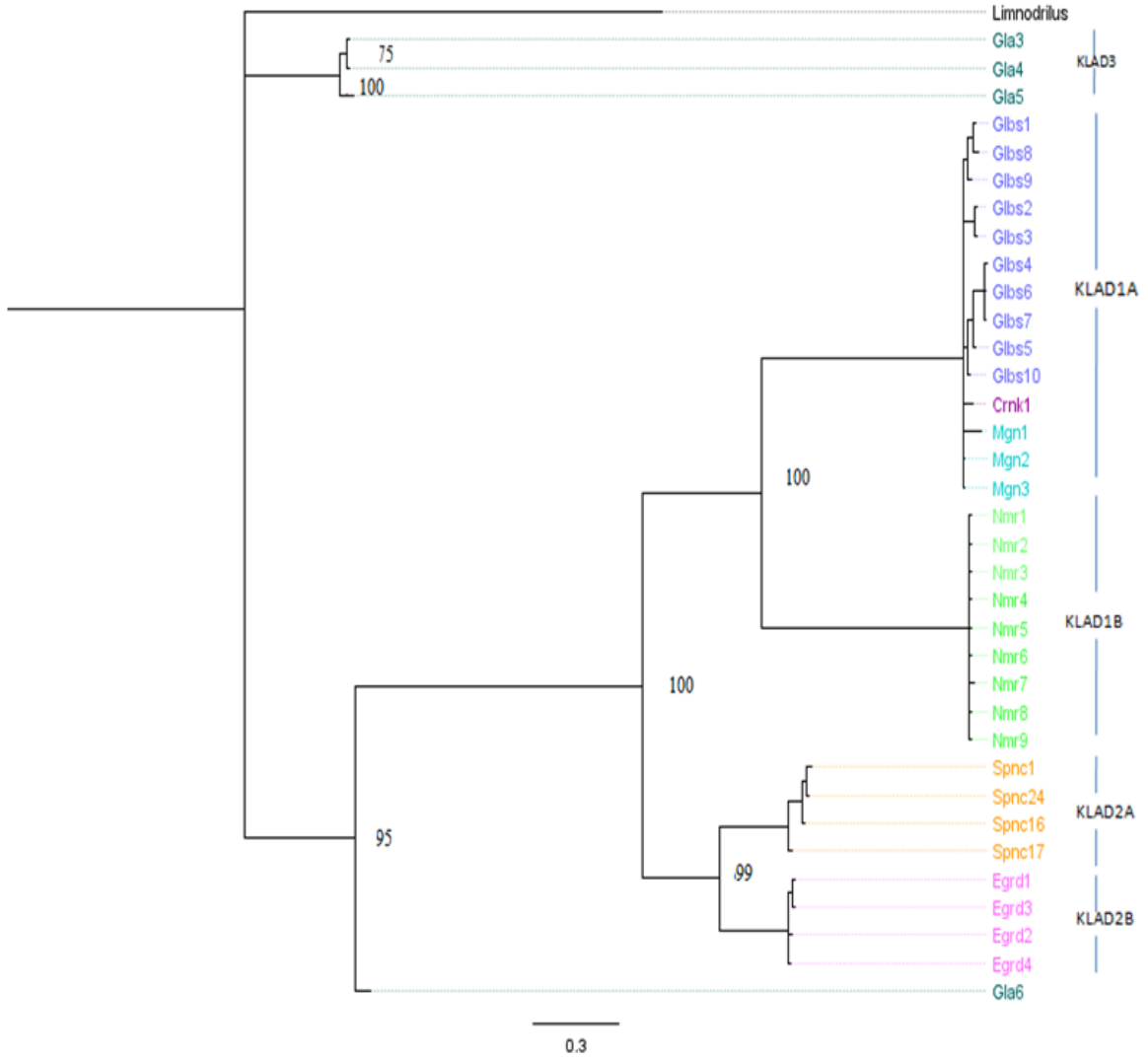
Şekil 3.4. ITS2 fragmanı maksimum olasılık yöntemine dayalı filogenetik ağaç (GTR+G modeli kullanılarak inşa edilmiştir. Kladlar üzerindeki değerler desteklenme yüzdelerini göstermektedir.)



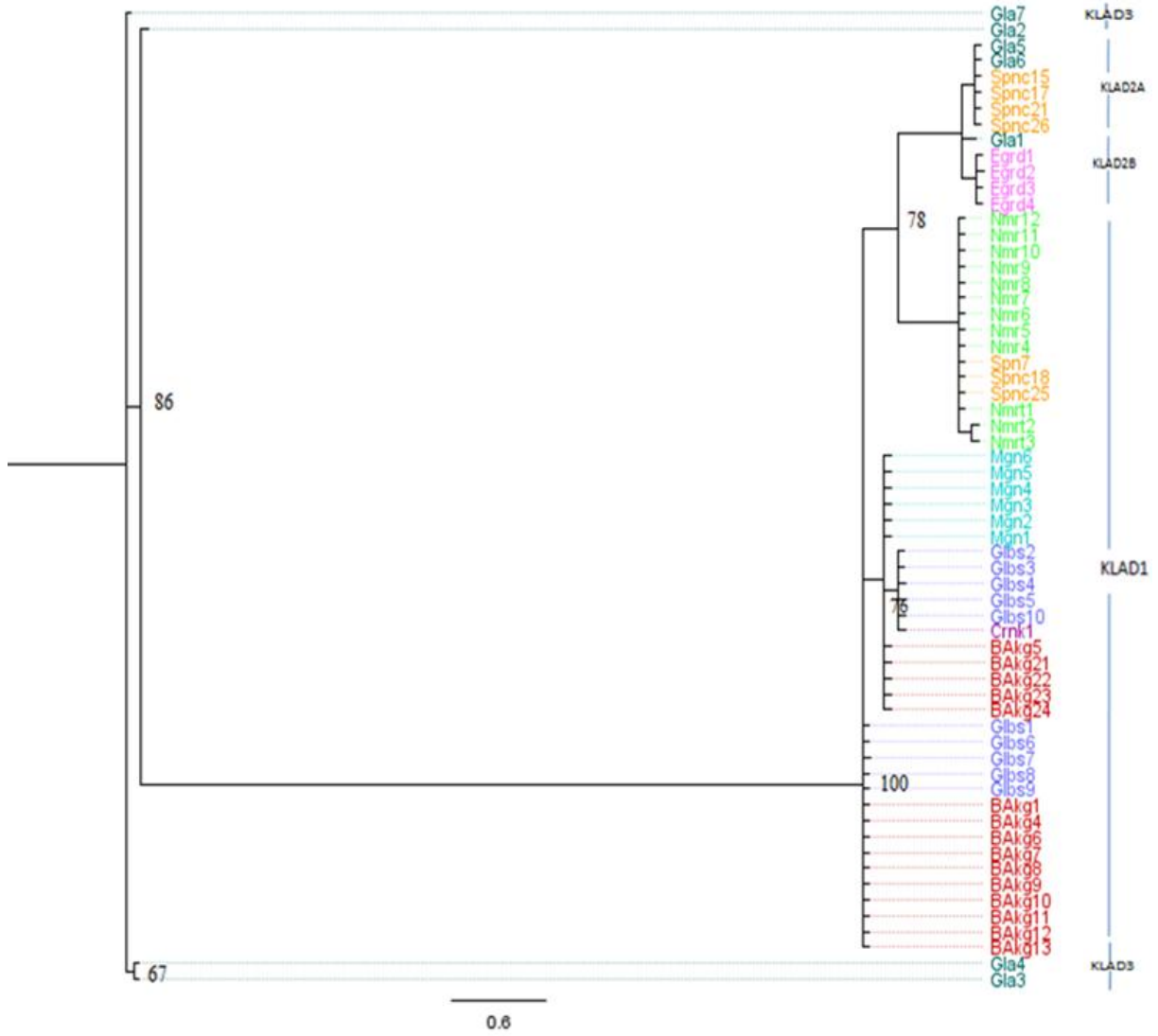
Şekil 3.5. COI fragmanı maksimum parsimoni yöntemine daha filogenetik ağaç (kladlar üzerindeki değerler desteklenme yüzdelerini göstermektedir.)



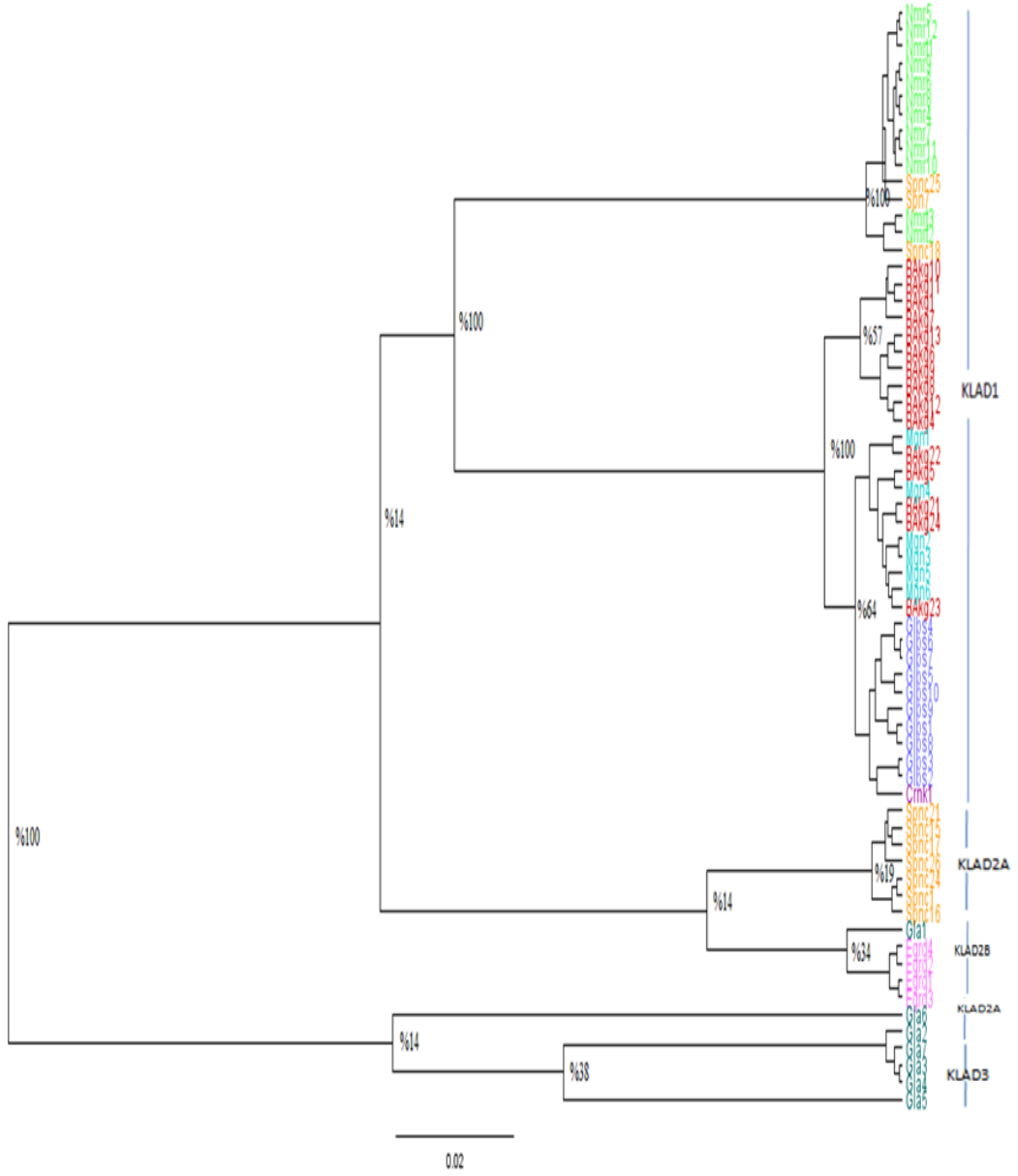
Şekil 3.6. ITS2 fragmanı maksimum parsimoni yöntemine daha filogenetik ağaç (kladlar üzerindeki değerler desteklenme yüzdelerini göstermektedir.)



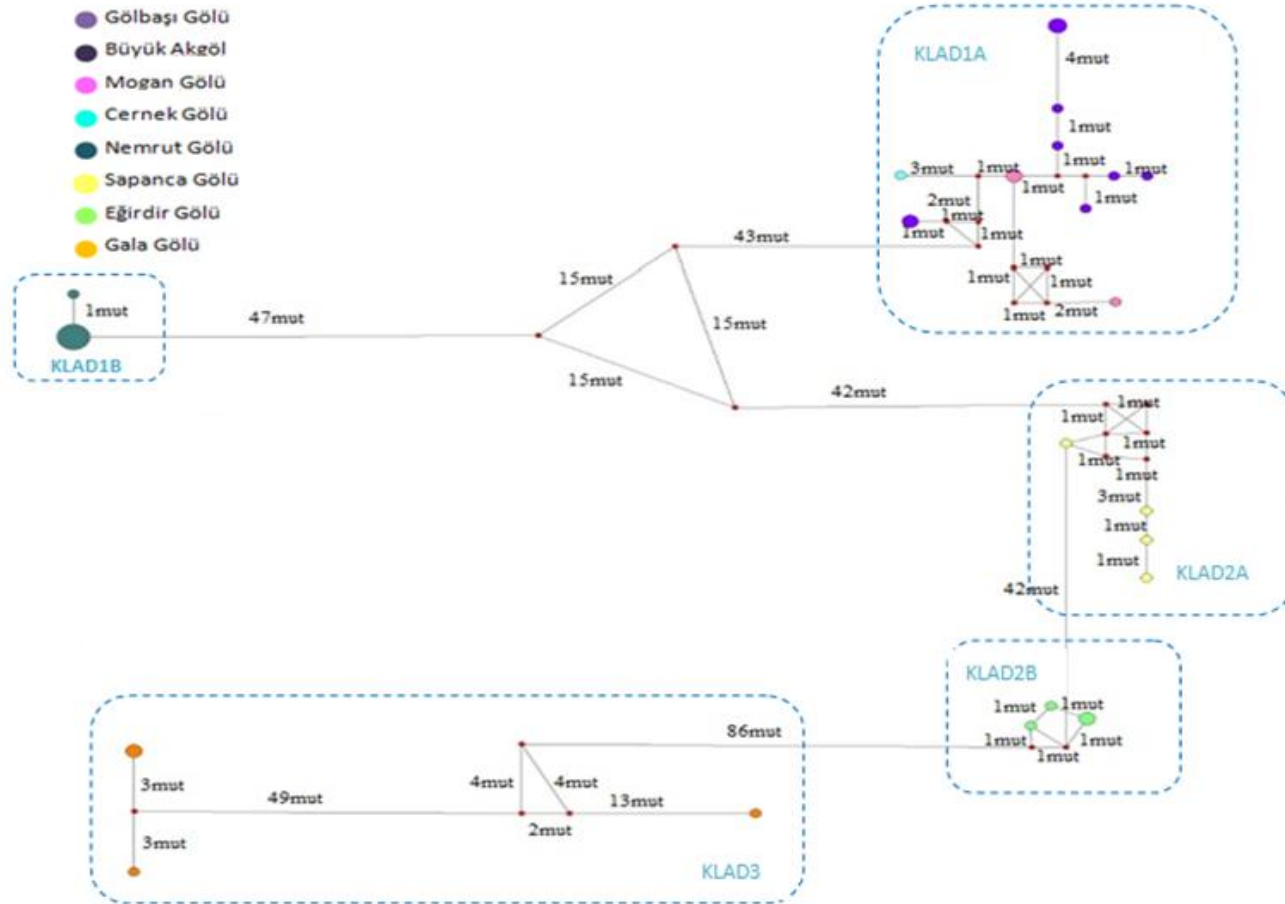
Şekil 3.7. COI fragmanı MrBayes ağacı (kladlar üzerindeki değerler desteklenme yüzdelerini göstermektedir.)



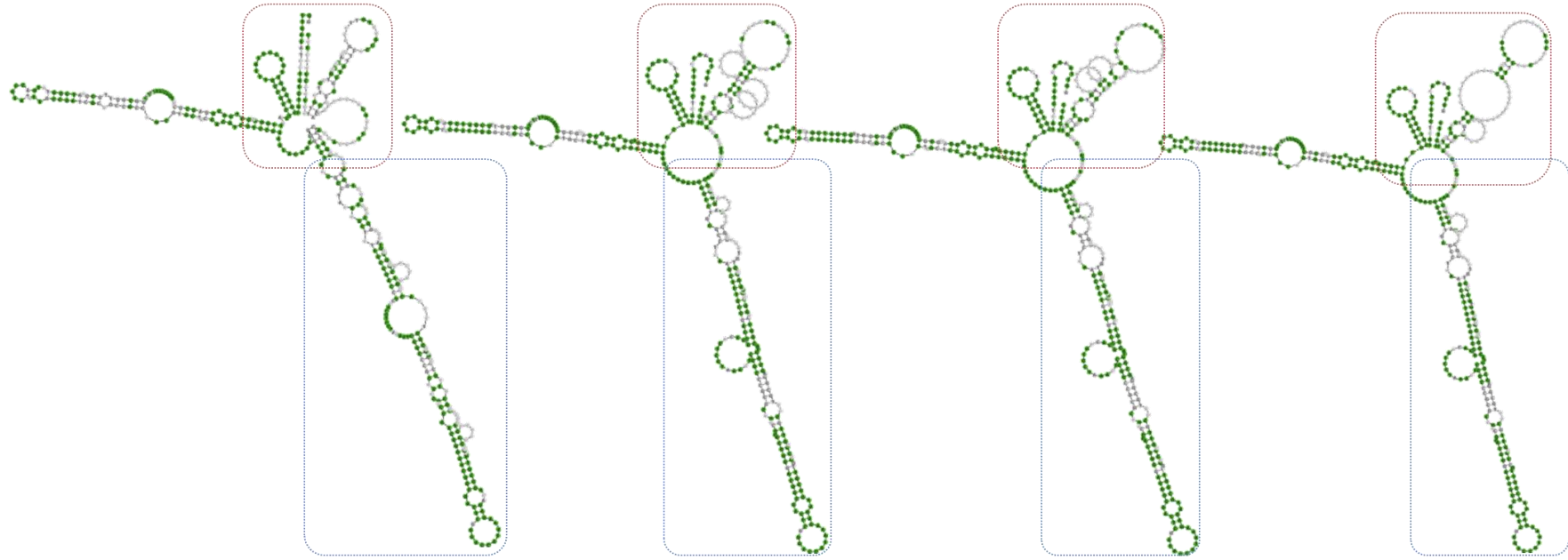
Şekil 3.8. ITS2 fragmanı MrBayes ağacı (kladlar üzerindeki değerler desteklenme yüzdeleri göstermektedir.)



Şekil 3.9. COI ve ITS2 fragmanları birleştirilerek oluşturulan konsensus ağacı (kladlar üzerindeki değerler desteklenme yüzdeleri göstermektedir.)



Şekil 3.10. COI fragmanı şebeke analizi ile oluşturulan soy-hattı ilişkisi (dallar üzerinde mutasyon sayıları yazılmıştır.)



Gala Gölü bazı bireylerince
paylaşılan ITS2 ikincil yapısı

Nemrut ve Sapanca Gölleri
bireylerince paylaşılan
ITS2 ikincil yapısı

Gölbaşı, Mogan , Cernek
Gölleri ve Büyük Akgöl
bireylerince paylaşılan ITS2
ikincil yapısı

Gala, Sapanca ve Eğirdir Gölü
bireylerince paylaşılan ITS2
ikincil yapısı

Şekil 3.12. ITS2 İkincil Yapıları

4. TARTIŞMA, SONUÇ ve ÖNERİLER

Türleşme, çeşitliliğin oluşmasını sağlayan yaratıcı bir periyottur (Mayr, 1963) ve türleşme üç evreli bir süreçten oluşmaktadır:

- i. popülasyonların ayrılma süreci,
- ii. eşleşme yöntemleri ve habitat kullanımı gibi özelliklerin değişime uğraması süreci,
- iii. üreme izolasyonunun oluşum sürecidir.

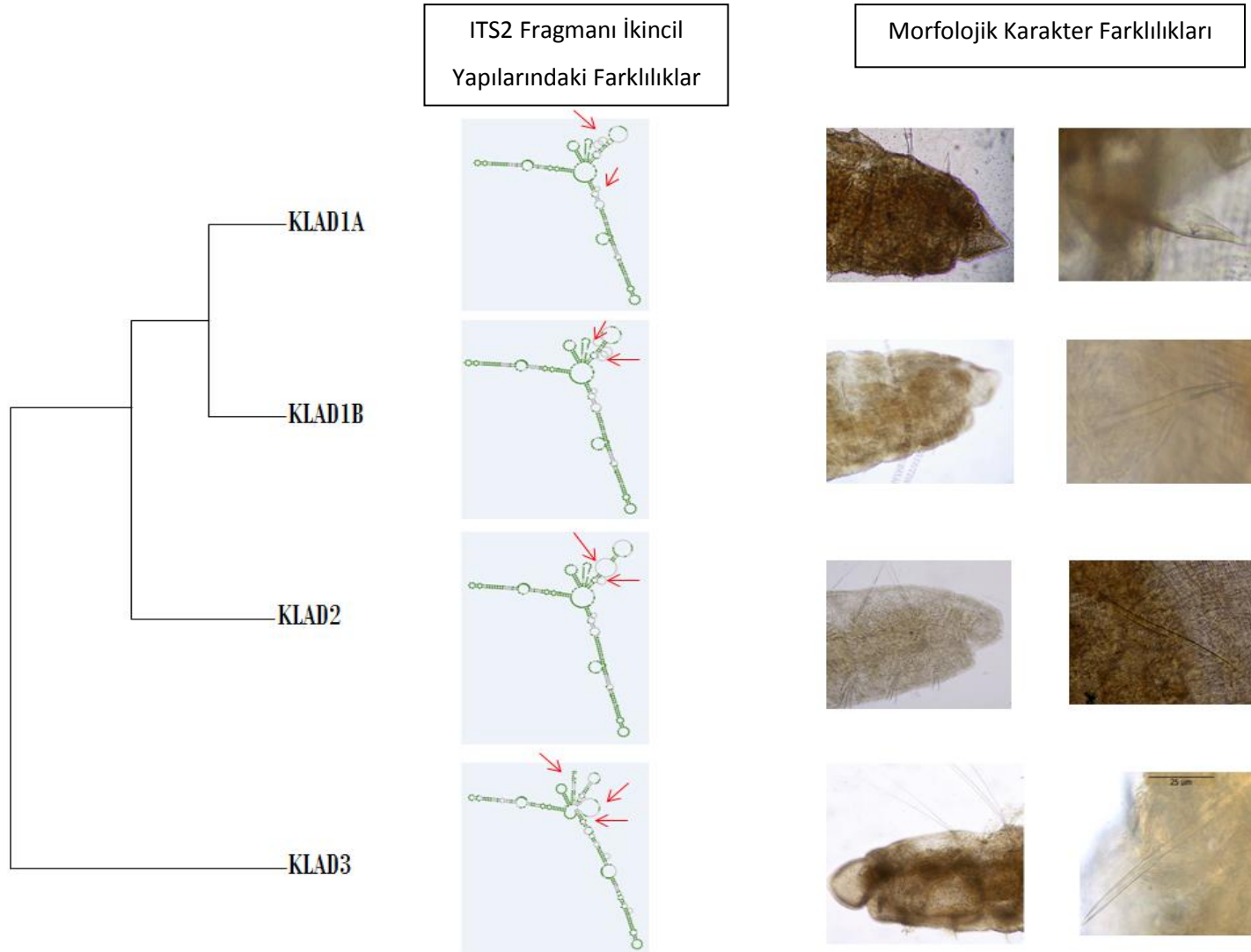
Bu görüşe göre, ayrılma ve farklılaşma süreçleri, popülasyonlar farklı coğrafik alanlarda kaldıklarında zaman içinde oluşur. Son adımda, farklılaşmış bu popülasyonların tekrar teması geçmesiyle ikincil temas olarak bilinen bir durum ortaya çıkacağı öngörülür (Freeman and Herron, 2007).

Araştırmadan elde edilen sonuçlara göre Gala, Büyük Akgöl, Sapanca, Mogan, Eğirdir, Gölbaşı, Cernek ve Nemrut Göllerinde varlığı tespit edilen, mevcut tayin anahtarlarına göre *P. hammoniensis* olarak teşhis edilen, ancak bu türün bazı temel taksonomik karakterlerinden sapma gösteren bireyler tespit edilmiş olması, söz konusu göllerde, yukarıda bahsedilen türleşme süreçlerinin başladığını ifade etmektedir. Ancak, araştırılan 8 göl, Türkiye'nin farklı zoocoğrafik bölgelerinde yer aldığından, popülasyonların ayrılma zamanına bağlı olarak da eşleşme yöntemleri ve habitat kullanımı gibi özelliklerin değişime uğraması sürecini etkilemekte, bu ise üremede yalıtımlarının yani yeni türlerin ortaya çıkış zamanını farklı kılmaktadır.

Bilindiği gibi Anadolu deniz düzeyinden bugünkü yüksekliğine Pliyosen buzul döneminden (14 My önce) başlayarak geç Pleistosen'e (120.000 yıl önce) kadar süren

bir yükselme sonucunda erişmiştir. Miyosen'de (25 My önce) Doğu Anadolu'nun büyük bir kısmının denizlerle örtülü olduğu, Egeopotamus adı verilen büyük bir tatlı su nehri ve pek çok akarsuyun Sarmatik çöküntüden (bugünkü Karadeniz'i de içine alan, tatlı su ve bazen de acı su özelliği gösteren büyük iç göl) Akdeniz'e doğru aktığı belirtilmiştir. Egeopotamus Nehri'nin bugünkü Vardar ve Tuna Nehirlerini de içine alarak Akdeniz'e akmakta ve Kos ve Girit adalarının arasından Akdeniz'e döküldüğü ve tatlı su canlıların yayılımına olanak tanıdığı bilinmektedir. Bu yayılımda en önemli görevi üstlenen bir diğer oluşum da uzun süre varlığını sürdüren, bugünkü İç Anadolu'nun kapladığı alanı örten bir iç tatlı su gölünün bulunmasıdır (Şekil 1.7). Bu gölden kaynaklanan pek çok akarsuyun farklı denizlere akarken, içerdiği canlıların yayılış ve çeşitlenmelerine de yardımcı olduğu bilinmektedir.

COI ve *ITS2* fragmanları ile yapılan filogenetik ağaçlara ek olarak şebeke diyagramları ve genetik uzaklık indeksleri incelendiği zaman; Gala Gölü örneklerinin diğerlerinden tamamen ayrı bir klad olarak açığa çıktığı görülmektedir. Bu da, Gala Gölü'nün araştırılan diğer göllerden daha yüksek düzeyde bir izolasyona tabi kaldığını, genetik farklılaşmanın yanında üremedeki yalıtımın da işlediği fikrini akla getirmektedir (Şekil 4.1). Palearktik bölgede geniş yayılış gösteren Ponto-Caspian kökenli *P. hammoniensis* bireyleri buzul dönemlerinde, Anadolu'ya Trakya üzerinden girmiş olabileceği fikrini güçlendirmektedir. Diğer göllerden elde edilen örneklerden farklı bir genetik yapı göstermesi ise; farklılaşmanın hem mitokondriyal hem de çekirdek DNA'sını etkilediğini ve dolayısıyla izolasyonun uzun bir periyodu kapsadığını göstermektedir.



Bilindiği gibi Gala Gölü Türkiye'nin Trakya bölgesinde yer almaktadır. Türkiye'nin tatlı su zoocoğrafyasına bakıldığında; dünyayı çepeçevre saran Tetis denizinin Oligosen sonlarında kuzeye doğru Paratethys denilen kolu oluşturduğu bilinmektedir. Paratethys'in bulunduğu bölge bugünkü Kafkaslar'ı da içine almaktadır. Bu arada Anadolu Miyosen'de bir kara köprüsüyle Avrupa'ya bağlıdır. Miyosende, Paratethys ile Tetis arasındaki bağlantı kesilerek kuzey ve batı kesimleri karaya dönüşür. Doğu kısımları ise daha sonra Karadeniz, Hazar ve Aral'ı oluşturacak olan Sarmatik İç Denizi'ne dönüşür. Bu arada bugünkü İtalya, Adriyatik, Yunanistan ve Anadolu kesiksiz bir kara parçası halinde olduğundan Avrupa faunası Anadolu'ya, Anadolu faunası ise Avrupa'ya geçebilmektedir. Muhmelen bu dönemde Anadolu'ya kadar ulaşabilen Ponto-Caspien kökenli *Potamothrix* türleri bugünkü Gala Gölü'ne bu yolla erişmiş olabilir. Miyosen'de denizin geri çekilmesi devam ederken, Çanakkale Boğazı ve Marmara Deniz'i bugünkü şeklini almaya başlar, ancak Ege Deniz'i kara özelliğini korumaktadır. Pliyosen'de Ege'nin çökmeye başlaması, Çanakkale ve İstanbul Boğazlarındaki nehirlerin erozyonla derin vadiler açmasıyla boğazların oluşumu sağlanmıştır. Bu periyotta da Gala Gölü'nün Anadolu'nun iç kısmında yer alan tatlı su iç gölü ile bağlantısı kesilmiş olur. Böylelikle bugünkü Gala Gölü fauna elemanlarının izolasyonu, İç Göl'de yer alan fauna elemanlarının izolasyonundan daha önce başlamış olmaktadır.

Pleistosen'de Ege'nin çökmesi tamamlanmış, kıta kaymalarına paralel Anadolu bloklara ayrılmıştır. Takip eden dönemlerde, Sarmatik iç gölünden ve Egeopotamus Nehri aracılığı ile Anadolu'ya ulaşabilen su canlıları, Anadolu iç gölüne geldiklerinde, Tersiyerde tektonik hareketler sonucunda yükselmiş ve Anadolu'nun ortasındaki iç gölü doğu-batı doğrultusunda ikiye bölmüş Anadolu Diyagonalı'ndan dolayı, doğu kesimlere yayılmalarının engellenmiş olduğu, böylelikle, Doğu ve Batı Anadolu tatlı su faunasının farklı yönlerde farklılaşmasına neden olduğu bilinmektedir (Demirsoy, 2002). Araştırılan göllerden Sapanca ve Eğirdir Gölleri bir kladda, Büyük Akgöl, Mogan, Cernek, Gölbaşı Gölleri bir kladda, Nemrut Gölü ayrı bir kladda gözlenmektedir. Anadolu'daki dağ kuşakları oluşmadan önce aynı iç gölde habitat birlikteliği içinde bulunan *Potamothrix* türleri, dağ kuşaklarının oluşumu ile ilk ayrılan habitatları

sayesinde izolasyona tabi kaldıkları fikri gelişmektedir. Çünkü, Nemrut Gölü örnekleri, Büyük Akgöl, Mogan, Cernek, Gölbaşı Gölleri'nden hem morfolojik hemde *COI* ve *ITS2* fragmanları bakımından farklılık göstermektedir. Sonuç olarak, Anadolu'nun bir kara parçası olarak oluşum süreci içinde iklimin soğuması ile Paleartik bölgede geniş yayılış gösteren Ponto-Caspien kökenli *P. hammoniensis* Anadolu'ya, canlıların giriş kapısından biri olan Trakya'dan (Eken vd., 2006) giriş yapmış gözükmektedir.

Bilindiği gibi Anadolu iç sular fauna tarihi kökenleri açısından 5 kısımda incelenir. Bunlar; Pangea kökenliler, Batı Paleartik ve Avrupa kökenli olanlar, Batı Asya ve Güneydoğu Asya kökenliler, Sarmatik İç Deniz'inden gelenler ve Mezopotamya elemanlarıdır. Bunların içinde özellikle Batı Paleartik ve Avrupa kökenli olanlar, Buzul devirlerinde iklimin kötüleşmesi ile başta balıklar olmak üzere burada yaşayan canlılar, Anadolu'ya iki yoldan girmişlerdir. Birincisi; Tuna Nehri, Pontik İç Denizi aracılığıyla Boğazlar ve Marmara üzerinden Anadolu'ya göç etmişlerdir ki bunlara Tuna elemanları denir. İkincisi ise, Egeopotamus Nehri ile kurulan Anadolu-Avrupa tatlı su köprüsü aracılığı ile giriş yapmışlardır. Araştırmamızdan elde edilen morfolojik, *COI* ve *ITS2* analiz sonuçlarına göre, Gala Gölü *Potamotheix* türlerinin Egeopotamus Nehri ile kurulan, Anadolu-Avrupa tatlısu köprüsü aracılığı ile Anadolu'ya girdiği, diğer göllerdeki örneklerin ise Tuna elemanı olduğu sonucuna varılabilir. Dolayısıyla Gala Gölü *Potamotheix* türlerinin konservatif endemik, diğer göllerden elde edilen *Potamotheix* örneklerinin ise progresif endemik olabileceği fikri ortaya çıkmaktadır. Çünkü, bulgular kısmında da verildiği gibi Gala Gölü'nden, morfolojik teşhis anahtarına göre *P. hammoniensis* olarak teşhis edilen örneklerde gözlemlenen taksonomik karakterlerdeki en büyük sapmanın spermatekal setada olduğu tespit edilmiştir. Spermatekal seta üremede görevli bir oluşumdur ve morfolojisi, Tubificin tür teşhislerindeki en temel karakterlerden biridir. Spermatekal setadaki farklılaşma hem izolasyon sürecinin bu göl için daha eski olduğunu hem de allopatrik izolasyona bağlı türleşmenin olduğunu göstermektedir. Sapanca ve Eğirdir Gölü örneklerindeki bu farklılaşmanın Gala Gölü örneklerindeki kadar belirgin ve ileri düzeyde olmaması belkide yalıtımın henüz üremeye tam etkili olmadığını gösterebilir. Muhtemelen bu da söz konusu iki gölün izolasyon sürecinin Gala Gölü'nden sonra

başladığını dolayısıyla henüz üremede yalıtımın (çekirdek DNA'sı değişiminin) tam oluşmamasından kaynaklı olabileceğini düşündürmektedir. *COI* ve *ITS2* diyagramlarında görüldüğü üzere, Büyük Akgöl, Mogan, Gölbaşı, Cernek Gölleri örneklerini önce bir klad içerisinde toplanmakta daha sonra bu klada Nemrut Gölü örnekleri katılmaktadır. Muhtemelen Büyük Akgöl, Mogan, Gölbaşı ve Cernek Gölleri örneklerinin morfolojik ve genetiksel yakınlığı Miyosende Anadolu'nun ortasında yer alan Anadolu tatlı su iç gölünün bu gölleri de kapsamıyla ilgilidir. Başlangıçta aynı areada yayılış gösteren ancak doğu ve batı Karadeniz Dağları ile Anadolu Diyagonali'nin oluşmasından sonra parçalanan iç gölün fauna elemanları da (en yüksek oranda da Nemrut Gölü elemanları) farklılaşmaya başlamıştır. Nemrut Gölü'nden elde edilen örneklerinde farklı bir kladda yer alması da bu şekilde açıklanabilir.

Yukarıda verilen bilgiler doğrultusunda, Gala Gölü *Potamotheix* cinsine ait morfolojik ve genetik olarak farklılaşmış örneklerin yeni bir *Potamotheix* türü olabileceği kanaatine varılmıştır.

Bu çalışma, Türkiye'de alanında yapılmış ilk çalışma olma özelliği taşımaktadır. Materyal ve yöntem konusunda da bundan sonra yapılacak çalışmalara örnek teşkil edecek niteliktedir.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Alström, P., 2006, Species concepts and their application: insights from the genera *Seicercus* and *Phylloscopus*, *Acta Zoologica Sinica*, 52, 429–434.
- Álvarez, I. and Wendel, J. F., 2003, Ribosomal ITS sequences and plant phylogenetic inference, *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 29, 417-434.
- Avel, M., 1959, Classe des Annelides Oligochaeta in p.p, Grasse, *Traité de Zoologie*, Paris, 5, 1, 224-462.
- Avise, J. C., 1994, *Molecular markers, natural history, and evolution*, New York, Chapman & Hall.
- Avise, J. C., 2004, *Molecular markers, natural history, and evolution*, Sinauer, Sunderland, MA, 684p.
- Avise, J. C., 1987, Identification and interpretation of mitochondrial DNA stocks in marine species, *In: Proceedings of the Stock Identification Workshop*, ed: Kumpf, H. and Nakamura, E.L., National Oceanographic and Atmospheric Administration, Panama City, FL, 105-136.
- Ballard, J.W.O. and Whitlock, M.C., 2004, The incomplete natural history of mitochondria, *Molecular Ecology*, 13, 729-744.
- Bandelt, H.J., Forster P., Sykes, B.C., and Richards, M.B., 1995, Mitochondrial portraits of human populations using median networks, *Genetics*, 141, 743–753.
- Bandelt, H.J., Forster, P. and Röhl, A., 1999, Median-Joining Networks for inferring intraspecific phylogenies, *Molecular Biology and Evolution* 16, 37–48.
- Bely, A. E. and Wray, G. A., 2004, Molecular phylogeny of Naidid worms (Annelida: Clitellata) based on cytochrome oxidase I, *Mol. Phylogen. and Evol.*, 30, 50-63.
- Bilgin, R., 2011, Back to the suture: the distribution of intraspecific genetic diversity in and around Anatolia, *International Journal of Molecular Sciences*, 12,4080-4103.
- Brinkhurst, R. O., 1971, *A guide for the identification of British Aquatic Oligochaeta*, Freshwater Biological Association Scientific Publication, 1-55.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Brinkhurst, R. O., 1986, Guide to the freshwater aquatic Microdrile Oligochaetes of North America, Canadian Special Publication of Fisheries and Aquatic Sciences, 84, 259 p.
- Brinkhurst, R.O. and Cook, D. G., 1979, Aquatic Oligochaete biology, Plenum Press, New York.
- Brinkhurst, R. O. and Jamieson, B. G. M., 1971, Aquatic Oligochaeta of the world, Univ. of Toronto, 860 p.
- Budak, M., Korkmaz, E. M. and Basibuyuk, H. H., 2011. A molecular phylogeny of the Cephinae (Hymenoptera, Cephidae) based on mtDNA COI gene: a test of traditional classification, Zookeys, 130, 363–378.
- Campbell, N. A. and Reece, J. B., 2010, Biyoloji, ed. Gündüz, E., Demirsoy, A. ve Türkan, İ., Palme Yayıncılık.
- Cannone, J. J., Subramanian, S., Schnare, M. N., Collett, J. R., D'Souza, L. M., Du, Y., Feng, B., Lin, N., Madabusi, L. V., Muller, K. M., Pande, N., Shang, Z., Yu, N., Gutell, R.R., 2002, The Comparative RNA Web (CRW) site: an online database of comparative sequence and structure information for ribosomal, intron, and other RNAs, BMC Bioinformatics, 3, 15.
- Caterino, M. S., Cho, S. and Sperling, F. A. H., 2000, The current state of insect molecular systematics: A thriving tower of babel, *Annu. Rev. Entomol.*, 45, 1–5.
- Coleman, A. W., 2000, The significance of a coincidence between evolutionary landmarks found in mating affinity and a DNA sequence, *Protist.*, 151, 1-9.
- Coleman, A. W., 2003, ITS2 is a double-edged tool for Eukaryote evolutionary comparisons, *Trends in Genetics*, 19, 370–375.
- Coleman, A. W., 2007, Pan-eukaryote ITS2 homologies revealed by RNA secondary structure, *Nucleic Acids Research*, 35, 3322–3329.
- Cox, C. B., and Moore, D. P., 2005, Biogeography: An ecological and evolutionary approach, 7th eds, Blackwell Publishing, Oxford.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Cuadrado, S. and Martínez-Ansemil, E., 2001, External structures used during attachment and sperm transfer in tubificids (Annelida, Oligochaeta), *Hydrobiologia*, 463, 107-113.
- Cui, Y. and Wang, H., 2012, Three new species of *Potamothenix* (Oligochaeta, Naididae, Tubificinae) from Fuxian Lake, the deepest lake of Yunnan Province, Southwest China, *ZooKeys*, 175, 1-17.
- Çıplak, B., 2008, The analogy between interglacial and global warming for the glacial relicts in a refugium, Ed. Fattorini S., *Insect Ecology and Conservation, Research Signpost*, 135–163.
- Dawkins, R., 2004, *The Ancestor's Tale*, Houghton Mifflin Company, 673 p.
- De Pinna, M. C. C., 1999, Species concepts and phylogenetics, *Review of Fish Biology and Fisheries*, 9, 353-373.
- Demirsoy, A., 1996, Yaşamın temel kuralları, *Entomoloji*, Cilt: II, Kısım: II, Üçüncü baskı, Ankara, 941 s.
- Demirsoy, A., 2002, Genel zoocoğrafya ve Türkiye zoocoğrafyası “Hayvan coğrafyası”, Meteksan, Ankara, 1007 s.
- Desalle, R. and Amato, G., 2004, The expansion of conservation genetics, *Nature Reviews Genetics*, 5, 702-712.
- Dowton, M. and Austin, A. D., 1997, Evidence for AT-transversion bias in wasp (Hymenoptera: Symphyta) mitochondrial genes and its implications for the origin of parasitism, *Journal of Molecular Evolution*.
- Eberhardt, U., 2010. A constructive step towards selecting a DNA barcode for fungi, *New Phytol*, 187, 265–268.
- Eken, G., Bozdoğan, M., İsfendiyaroğlu, S., Kılıç, D. T., Lise, Y., 2006, Türkiye'nin Önemli Doğa Alanları, Doğa Derneği, Ankara.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Erséus, C., Källersjö, M., Ekman, M. and Hovmöller, R., 2002, 18S rDNA phylogeny of Tubificidae and its constituent taxa (Clitellata): Dismissal of the Naididae, *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 22, 414-422.
- Erséus, C., Prestegard, T. and Källersjö, M., 2000, Phylogenetic analysis of Tubificidae (Annelida, Clitellata) based on 18S rDNA sequences, *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 15, 381-389.
- Ewing, B., Hillier, L., Wendl, M. C. And Green, P., 1998, Base-calling of automated sequencer traces using phred. I. Accuracy assessment, *Genome Res.*, 8, 3, 175-185.
- Excoffier, L., Laval, G., and Schneider, S., 2005, Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis, *Evolutionary Bioinformatics Online*, 1, 47-50.
- Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., Lutz, R. And Vrijenhoek, R., 1994, DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates, *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 3, 5, 294-299.
- Freeman, S. and Herron, J. C., 2007, *Evrimsel Analiz*, Çeviri Editörleri: Battal Çıplak, Hasan Başbüyük, Süphan Karaytuğ ve İslam Gündüz, 2. Baskı, Palme Yayıncılık.
- Fu, Y-X., 1997, Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection, *Genetics*, 147, 915-925.
- Goto, S. G. and Kimura, M. T., 2001, Phylogenetic utility of mitochondrial COI and nuclear Gpdh genes in *Drosophila*, *Molec.Phylog.Evol.*, 18, 3, 404-422.
- Gray, M. W., 1989. Origin and evolution of mitochondrial DNA, *Annual Review of Cell Biology*, 5, 25-50.
- Guindon, S. and Gascuel, O., 2003, A simple, fast and accurate algorithm to estimate large phylogenies by maximum likelihood, *Systematic Biology*, 52, 5, 696-704.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Guindon, S., Lethiec, F., Duroux, P. and Gascuel, O., 2005, PHYML Online- a web server for fast maximum likelihood-based phylogenetic inference, In *Nucleic Acids Research*, 33, 557-559.
- Harrison, C., 1982, *An Atlas of the birds of the western Palearctic*, Collins, London.
- Hebert, P. D. N., Ratnasingham, S. and deWaard, J. R., 2003, Barcoding animal life: Cytochrome C oxidase subunit I divergences among closely related species, *Proc. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.*, 270, 596–599.
- Hewitt, G. M., 1996, Some genetic consequences of ice ages, and their role, in divergence and speciation, *Biological Journal of the Linnean Society*, 58, 3, 247-276.
- Hewitt, G.M., 2000, The genetic legacy of the Quaternary ice ages, *Nature*, 405, 907-913.
- Hewitt, G.M., 2003, Ice ages, species distributions, and evolution, *Evolution on Planet Earth: The Impact of the Physical Environment*, Rothschild, L.J. and Lister, A. (eds.), Academic Press, London.
- Higgins, L. G. and Hargreaves, B., 1983, *The butterflies of Britain and Europe*, Collins pub., London, 256 p.
- Horowitz, A., 1988, The Quaternary environments and paleogeography of Israel, *The Zoogeography of Israel, The Distribution and Abundance at a Zoogeographical Crossroad*, Yom-Tov, Y. and Tchernov, E. (eds.), Junk, Dordrecht, The Netherlands, p.35–58.
- Hoy, M.A., 2003, *Insect molecular genetics, an introduction to principles and applications*, 2nd Edition, Academic Press, USA.
- Huelsenbeck, J. P., Ronquist, F., 2001, MrBayes: Bayesian inference of phylogenetic trees, *Bioinformatics*, 17, 754–755.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- İpekdal, K., 2012, Çam kese böceği *Thaumetopoea pityocampa* (Dennis&Schifferrmüller, 1775) ve *Thaumetopoea wilkinsoni* Tams, 1924 (Lepidoptera:Notodontidae), türlerinde ayrılma ve filocoğrafya, Hacettepe Üniversitesi, Biyoloji Anabilim Dalı, Doktora Tezi.
- Ji, Y.-J., Zhang, D.-X. and He, L.-J., 2003, Evolutionary conservation and versatility of a new set of primers for amplifying the ribosomal internal transcribed spacer regions in insects and other invertebrates, *Molecular Ecology Notes*, 3, 581–585.
- Kaiser, K., 1969, The climate of Europe during the quaternary ice age, In *Quaternary geology and climate*, Wright, H.E. (ed.), Washington DC, National Academy of Sciences, 10–37.
- Kathman, R.D. and Brinkhurst, R.O., 1998, *Guide to the freshwater Oligochaetes of North America*, Aquatic Resources Center, Tennessee, USA, 264 p.
- Keller, A., Schleicher, T., Schultz, J., Muller, T., Dandekar, T. and Wolf, M., 2009, 5.8S-28S rDNA interaction and HMM-based ITS2 annotation, *Gene*, 430, 50-57.
- Knowles, L.L., 2009, Statistical phylogeography, *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.*, 40, 593-612.
- Korkmaz, E. M., Budak, M., Başibüyük, H. H., 2011, Utilization of cytochrome oxidase I in *Cephus pygmeus* (L.) (Hymenoptera: Cephidae), *Turkish Journal of Biology*, 35, 713-726.
- Kosswig, C., 1955, Zoogeography of the near East, *Systematical Zoology*, 4, 49-73, +96.
- Lalev, A. I. and Nazar, R. N., 2001, A chaperone for ribosome maturation. *Journal of Biological Chemistry*, 276, 16655–16659.
- Lalev, A. I., Abeyrathne, P. D. and Nazar, R. N., 2000, A RAC protein-binding site in the internal transcribed spacer 2 of pre-rRNA transcripts from *Schizosaccharomyces pombe*, *Journal of Molecular Biology*, 302, 65–77.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Lalev, A. I., Nazar, R. N., 1999, Structural equivalence in the transcribed spacers of pre-rRNA transcripts in *Schizosaccharomyces pombe*, *Nucleic Acids Research*, 27, 3071–3078.
- Lang B.F., Gray M.W. and Burger G., 1999, Mitochondrial genome evolution and the origin of Eukaryotes, *Annual Review of Genetics*, 33, 351–397.
- Librado, P., and Rozas, J., 2009, DnaSP v5.0, A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data, *Bioinformatics*, 25, 1451–1452.
- Lunt, D. H., Zhang, D. X., Szymura, J. M. and Hewitt, G. M., 1996, The insect cytochrome oxidase I gene: Evolutionary patterns and conserved primers for phylogenetic studies, *Insect Molecular Biology*, 5, 153–165.
- Martin, P., Martinez-Ansemil, E., Pinder, A., Timm, T. and Wetzel, M., 2008, Global diversity of Oligochaetous Clitellates (“Oligochaeta”; Clitellata) in freshwater, *Hydrobiologia*, 595, 117–127.
- Mayr, E., 1963, *Animal species and evolution*, Belknap Press of Harvard University Press, 797 p.
- Michaelsen, W., 1921, Zur stammesgeschichte und systematik der Oligochaeten, insbesondere der Lunmbriculiden, -*Arch. Naturgesch.*, 86, 8, 130-141.
- Milbrink, G., 1980, Oligochaeta communities in pollution biology: The European situation with special reference to lakes in Scandinavia, *Aquatic Oligochaeta Biology*, ed: Brinkhurst, R.O. and Cook, D.G., Plenum Press, New York, 433-455 p.
- Mittermeier, R.A., Robles Gil, P., Hoffmann, M., Pilgrim, J., Brooks, T., Mittermeier, C.G., Lamoreaux, J. and da Fonseca, G.A.V. (eds.), 2004., *Hotspots (revisited): Earth’s biologically richest and most endangered terrestrial ecoregions*, Conservation International, Cemex, Meksika.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Morgan, J.A.T. and Blair, D., 1998, Relative merits of nuclear ribosomal internal transcribed spacers and mitochondrial CO1 and ND1 genes for distinguishing among *Echinostma species* (Trematoda), *Parasitology*, 116, 289-297.
- Moritz, C., Dowling, T.E., and Brown, W.M., 1987, Evolution of animal mitochondrial DNA: relevance for population biology and systematics, *Ann. Rev. Ecol. Syst.*, 18, 269-292.
- Muller, T., Philippi, N., Dandekar, T., Schultz, J., and Wolf, M., 2007, Distinguishing species, *RNA*, 13, 1469-1472.
- Nass, M. M. and Nass, S., 1962, Fibrous structures within the matrix of developing chick embryo mitochondria, *Experimental Cell Research*, 26, 424-427.
- Nei, M., 1987, *Molecular Evolutionary Genetics*, Columbia University Press, New York.
- Nichols, R.A. and Hewitt, G.M., 1994, The genetic consequences of long distance dispersal during colonization, *Heredity*, 72, 312-317.
- Ogunseitan, O., 2005, *Microbial diversity form and function in Prokaryotes*, Blackwell Publishing, ISBN 0-632-04708-9.
- Posada, D., 2008, jModelTest: phylogenetic model averaging, *Mol. Biol., Evol.*, 25, 7, 1253-1256.
- Rambaut, A., 2009, FigTree v1.3.1 Available from: <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/FigTree/>.
- Roe, A. D. and Sperling, F. A. H., 2007, Patterns of evolution of mitochondrial cytochrome C oxidase I and II DNA and implications for DNA barcoding, *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 44, 325-345.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Rokas, A., Atkinson, R. J., Webster, L. M. I., Csóka, G. and Stone, G. N., 2003, Out of Anatolia: longitudinal gradients in genetic diversity support an eastern origin for a circum-Mediterranean oak gallwasp *Andricus quercustozae*, *Molecular Ecology*, 12, 2153–2174.
- Pinho, C., Harris, D.J., and Ferrand, N., 2007, Contrasting patterns of population structure and historical demography in three western Mediterranean lizard species inferred from mtDNA variation, *Mol. Ecol.*, 16, 1191–1205.
- Ronquist, F. and Huelsenbeck, J. P., 2003, MRBAYES 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models, *Bioinformatics* 19, 1572–1574.
- Rossman, A. Y., 2007, Report of the planning workshop for all fungi DNA Barcoding, *Inoculum*, 58, 1–5.
- Seifert, K. A., Schocha, C. L., Keith, A., Hurd, S., Robert, V., Spouge, J.L., Levesque, C.A., Chen, W. and Fungal Barcoding Consortium, 2012, Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi, *PNAS*, 109, 6241–6246.
- Simon, C., Frati, F., Beckenbach, A., Crespi, B., Liu, H. and Flook, P., 1994, Evolution, weighting, and phylogenetic utility of mitochondrial gene sequences and a compilation of conserved polymerase chain reaction primers, *Annals of the Entomological Society of America*, 87, 651–701.
- Sonnenberg, R., Nolte, A. W. and Tautz, D., 2007, An evaluation of LSU rDNA D1–D2 sequences for their use in species identification, *Frontiers in Zoology*, 4, 6, 12.
- Sperber, C., 1948, A taxonomical study of the Naididae, *Zool. Bidrag, Uppsala Bd*, 296 p.
- Sperber, C., 1950, A Guide for the Determination of European Naididae, *Zool. Bidrag, Uppsala Bd*, 1-78.
- Stephenson, J., 1930, *The Oligochaeta*, Clarendon Press, Oxford.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Stimpson, K. S., Klemm, D. J. and Hiltunen, J. K., 1982, A guide to the freshwater Tubificidae (Annelida: Clitellata: Oligochaeta) of North America, Environmental Monitoring and Support Laboratory, Office of Research and Development, U.S. Environmental Protection Agency, Cincinnati, OH, 61 p.
- Swofford, D. L., 2002, PAUP: Phylogenetic Analysis Using Parsimony, Version 4.0 beta Computer program distributed by Sinauer Associates, Sunderland.
- Şekercioğlu, Ç., Anderson, S., Akçay, E., Bilgin, R., Can, Ö.E., Semiz, G., Tavşanoğlu, Ç., Yokeş, M. B., Soyumert, A., İpekdal, K., Sağlam, İ. K., Yücel, M., Dalfes, H.N., 2011, Turkey's globally important biodiversity in crisis, *Journal of Conservation Biology*, 144, 12, 2752-2769.
- Tajima, F., 1989, The effect of change in population size on DNA polymorphism, *Genetics*, 123, 597-601.
- Tamura, K. and Nei, M., 1993, Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees, *Molecular Biology and Evolution*, 10, 512-526.
- Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Steker, G., Nei, M. and Kumar, S., 2011, MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods, *Mol. Biol. Evol.*
- Taylor, D. R. and Keller, S. R., 2007, Historical range expansion determines the phylogenetic diversity introduced during contemporary species invasion, *Evolution*, 61, 334-345.
- Thompson, J. D., 2005, *Plant Evolution in the Mediterranean*, Oxford University Press, New York.
- Timm, T., 1970, On the fauna of Estonian Oligochaeta, *Pedobiologia*, 10, 52-78.
- Timm, T., 1980, Distribution of aquatic Oligochaetes, *Aquatic Oligochaete Biology*, ed: Brinkhurst R.O. and Cook D.G., Plenum Press, New York, 55-77.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Timm, T., 1999, A guide to the Estonian Annelida, Naturalist's Handbooks 1, Estonian Academy Publishers, Tartu-Tallinn, 208 p.
- Timm, T., 2013, The genus *Potamothrix* (Annelida, Oligochaeta, Tubificidae): a literature review, Estonian Journal of Ecology, 62, 2, 121-136.
- van de Peer, Y., P. de Rijk, J. Wuyts, T. Winkelmans, and R. de Wachte, 2000, The European small subunit ribosomal RNA database, Nucleic Acids Res, 28, 175-176.
- Vawter, L. and Brown, W.M., 1986, Nuclear and mitochondrial DNA comparisons reveal extreme rate variation in the molecular clock, Science, 234, 194-196.
- Vejdovský, F. and Mrázek, A., 1903, Ueber *Potamothrix* (*Clitellio?*) *moldaviensis* n. g. n. sp., Sitzungsberichte der königlichen böhmischen Gesellschaft der Wissenschaften, 24, 1-7.
- Wayne, R. K. and P. A., 2004, Morin conservation genetics in the new molecular age, Frontiers in Ecology and the Environment, 2, 2, 89-97.
- Webb, T., and Bartlein, P. J., 1992, Global changes during the last 3 million years: climatic controls and biotic responses, Annual Reviews of Ecology and Systematics, 23, 141-173.
- Wheeler, D. Q. and Meier, R., 2000, Species concepts and phylogenetic theory a debate, Columbia University Press, New York, ISBN:0-231-10142-2.
- White, T. J., Bruns, T., Lee, S., Taylor, J., 1990, Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics, In: PCR Protocols: a guide to methods and applications, (Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ, eds), Academic Press, New York, USA, 315-322.
- Wolf, M., Achtziger, M., Schultz, J., Dandekar, T., Muller, T., 2005, Homology modeling revealed more than 20,000 rRNA internal transcribed spacer 2 (ITS2) secondary structures, RNA, 11, 1616-1623.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Wolstenholme, D. R., 1992, Animal mitochondrial DNA: structure and evolution, *International Review of Cytology*, 141, 173–216.

Zink, R. M. and Barrowclough, G. F., 2008, Mitochondrial DNA under siege in avian phylogeography, *Molecular Ecology*, 17, 9, 2107-2121.

