

ACTA BIOLOGICA TURCICA

© 1950-1978 Biologi, Türk Biologi Dergisi, Türk Biyoloji Dergisi, Acta Biologica
E-ISSN: 2458-7893, http://www.actabiologicturcica.com

Haplotype variations of three Mitochondrial DNA genes in *Microtus guentheri* (Danford and Alston, 1880)

Derya ÇETİNTÜRK*, Nuri YİĞİT, Ercüment ÇOLAK

Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü, Döğol Caddesi, 06100, Beşevler, Ankara.

*Corresponding author: dceinturk@ankara.edu.tr

Abstract: Synonym site mutations do not cause any changes in the protein sequence, whereas non-synonymous site mutations alter the protein sequence, causing amino acid changes. In this study, the rates of synonymous and non-synonymous substitution (Ks-Ka values) with the mutation and nucleotide variations in the synonymous and non-synonymous were analysed in Guenther's vole *Microtus guentheri* (Danford and Alston, 1880) by amplification of three gene region (Cytochrome-oxidase I (COXI), Cytochrome-*b* (Cyt-*b*) and 12S rRNA), and haplotype variations were investigated in these genes. Haplotypes were found to be 12, 14 and 7 for the COXI, Cyt-*b* and 12S rRNA gene regions, respectively. Based on the Jukes and Cantor Parameter (Jukes and Cantor, 1969), the nucleotide diversity values in synonymous and non-synonymous regions were found to be close to each other in the COXI and Cyt-*b* regions but higher than in the 12S rRNA region. In addition to nucleotide diversity, Ka values in Cyt-*b* and 12S rRNA regions are generally higher than Ks values (Ka/Ks>1) while Ks and Ka values are very close to each other (Ks/Ka~1) in COXI region.

Keywords: *Microtus guentheri*, Mitochondrial DNA, Mutation.

Microtus guentheri (Mammalia: Rodentia) Türünün Üç Mitokondriyal DNA gGeninde Haplotip Varyasyonları

Özet: Gen bölgelerindeki sinonim bölge mutasyonları protein dizisinde herhangi bir değişikliğe neden olmaz iken, non-sinonim bölge mutasyonları protein dizisini değiştirerek aminoasit değişimlerine neden olmaktadır. Bu çalışmada, Türkiye'nin güneydoğu bölgesinde yayılış gösteren Guenther tarla faresi *Microtus guentheri* (Danford ve Alston, 1880) türünün sinonim ve non-sinonim bölgelerdeki mutasyon ve nükleotit çeşitlilikleri ile sinonim ve non-sinonim substitüsyon oranları (Ks-Ka değerleri) üç gen bölgesinin (Sitokrom-oksidad I (COXI), Sitokrom-*b* (Cyt-*b*) ve 12S rRNA) çoğaltılmasıyla analiz edilerek söz konusu türde mitokondriyal DNA haplotip varyasyonları araştırılmıştır. Haplotip sayıları COXI, Cyt-*b* ve 12S rRNA gen bölgeleri için sırasıyla 12, 14 ve 7 olarak hesaplanmıştır. Jukes and Cantor Parametresi (Jukes ve Cantor, 1969) baz alınarak yapılan analizler sonucu, sinonim ve non-sinonim bölgelerdeki nükleotit çeşitlilik değerleri COXI ve Cyt-*b* bölgelerinde birbirine yakın değerlerde ve 12S rRNA bölgesine kıyasla daha yüksek bulunmuştur. Ek olarak, sinonim ve non-sinonim substitüsyon oranlarına (Ks ve Ka değerleri) bakıldığında, Cyt-*b* ve 12S rRNA bölgelerinde Ka değerleri genel olarak Ks değerlerinden daha yüksek olup, (Ka/Ks>1). COXI bölgesinde ise Ks ve Ka değerleri birbirlerine oldukça yakındır (Ka/Ks~1).

Anahtar kelimeler: *Microtus guentheri*, Mitokondriyal DNA, Mutasyon.

Giriş

Microtus guentheri (Danford ve Alston, 1880) "Guentheri tarla faresi" türünün tip yeri Kahramanmaraş, Türkiye olup, Türkiye'nin güneydoğu bölgesi başta olmak üzere; Suriye, Lübnan, İsrail ve Kuzey Libya'da yayılış göstermektedir (Bodenheimer, 1958; Harrison ve Bates, 1991; Yiğit ve ark., 2006). Bu türün yayılışı daha önceleri birçok yazar tarafından Batı Anadolu, Trakya ve Avrupa içlerine kadar uzatılmıştır (Ellerman ve Morrison-Scott, 1951; Lay, 1967; Felten ve ark., 1971; Kefelioğlu ve

Kryštufek, 1999; Nowak, 1999; Musser ve Carleton, 2005; Wilson ve Reeder, 2005). Bu kapsamda genel olarak uzun süre Batı Anadolu ve Trakya popülasyonları da 2n: 54 kromozomuna sahip tarla farelerinin dahil olduğu *Sumeriomys* altcinsinin (Golenishchev ve ark., 2002) bir türü olan *M. guentheri* olarak kabul görmüştür. Ancak tip yeri Kahramanmaraş olan *M. guentheri*'nin bazı önemli morfolojik farklılıklara sahip olduğu da vurgulanmıştır (Kıvanç, 1978; Yiğit ve Çolak, 2002). İlk kez Yiğit ve Çolak (2002) tarafından Batı Anadolu'dan

kaydedilen *Microtus Iydius* Blackler, 1916 türünün *M. guentheri*'den morfometrik olarak farklı olduğu vurgulanmış ve *M. Iydius* geçerli bir takson olarak dikkate alınmıştır. Bu saptamadan sonra araştırmalar batı Anadolu ve Trakya/Avrupa popülasyonları üzerine yoğunlaşmış, öncelikle Avrupa popülasyonunun *M. guentheri* olmayacağı priorite kuralına göre *Microtus hartingi* Barret-Hamilton 1903, olması gerektiği Yiğit ve ark. (2012) tarafından vurgulanmıştır. Bu durum diğer araştırmacılar tarafından da genel bir kabul görmüştür. Ancak bu durum başka bir bilimsel problem doğurmuştur, buna göre Kryštufek ve ark. (2012) Yiğit ve ark. (2012)'nin tersine batı Anadolu popülasyonunun da *M. hartingi* olması gerektiği belirtmiş ve tanımlamıştır. Batı Anadolu'daki bu taksonomik probleme karşın, *M. guentheri*'nin yayılış alanı Kahramanmaraş ve Adıyaman hattının güneyinden İsrail'e kadar olan bir bölgeyi kapsamaktadır (Yiğit ve Çolak, 2002; Kryštufek ve ark., 2009; Kryštufek ve ark., 2012; Yiğit ve ark., 2012; Markov ve ark., 2014; Yiğit ve ark., 2017). Taksonomik durumu tartışmalı olan *Sumeriomys* altcinsinin türleri üzerine taksonomik problemlerinin çözümüne katkı sağlayacak ve filogenetik ilişkileri oluşturacak çalışmalar oldukça azdır (Kryštufek ve ark., 2009; Kryštufek ve ark., 2012; Yiğit ve ark., 2017). Bu çalışmada *M. guentheri* türüne ait örnekler kullanılarak Sitokrom-oksidad I (COXI), Sitokrom-*b* (Cyt-*b*) ve 12S rRNA gen bölgelerinde ortaya çıkan haplotiplerdeki nükleotit farklılıklarının analizi yapılmış; sinonim ve non-sinonim bölgelerdeki mutasyon ve nükleotit çeşitlilikleri ile Ks-Ka değerleri (sinonim ve non-sinonim substitüsyon oranları) bazında mitokondrial DNA haplotip varyasyonları ortaya konmuştur. Bu yolla türün yayılış alanı içindeki haplotiplerdeki non-sinonim nükleotid değişimlerine bağlı genetik farklılaşma seviyesinin belirlenmesine katkı sağlamak amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Bu çalışmada Ankara Üniversitesi Memeli Hayvan Koleksiyonu'na ait (AUMAC, <http://www.mammalia.ankara.edu.tr>) toplam 14 adet *M. guentheri* örneği, ek olarak Cyt-*b* bölgesine ait 3 adet GenBank sekansı kullanılmıştır. -80°de muhafaza edilen kas, karaciğer, kalp ve böbrek dokuları kullanılarak, GeneAll® Exgene™ Tissue SV mini kit (Atlas Biyoteknoloji, Türkiye) marka izolasyon kiti ile DNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir. COXI (720 baz çifti), Cyt-*b* (1100 baz çifti) ve 12S rRNA (1000 baz çifti) bölgeleri sırasıyla

BatL5310/R6036R (Robins ve ark., 2007), L14727-SP/H15915-SP (Jaarola and Searle, 2002) ve L651/12GH (Adkins ve ark., 2001), primerleri kullanılarak Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) vasıtasıyla çoğaltılmıştır. PCR bileşenleri ve reaksiyon koşulları Yiğit ve ark. (2017)'den alınmıştır. PCR sonucu amplifiye edilen DNA örnekleri 0,8%'lik agaroz jelde (1×TAE) 70 voltta 1 saat yürütülmüş ve jel görüntülemesi ve fotoğraflanması Syngene Bio Imaging Ingenius Jel Görüntüleme Sistemi'nde gerçekleştirilmiştir. Çift yönlü dizi analizi Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projeleri 15L0430002 numaralı projesi ile MEDSANTEK firmasına yaptırılmıştır.

Sekanslar Chromas Lite 2.1.1 Programı ile görüntülenmiş; (www.technelysium.com.au) Clustalx 2.0 (Larkin ve ark., 2007) ve BIOEDIT 7.2.0 (Hall, 1999) programları kullanılarak hizalama yapılmıştır. DNASP 5.10.01 (Rozas ve ark., 2010) Programı yardımı ile de, sinonim ve non-sinonim bölgelerdeki mutasyon ve nükleotit çeşitlilikleri (Jukes and Cantor Parametresi, Jukes and Cantor, 1969) ile Ks-Ka değerleri (sinonim ve non-sinonim substitüsyon oranları) hesaplanmıştır.

Sonuçlar ve Tartışma

Microtus guentheri örneklerinin COXI, Cyt-*b* ve 12S rRNA gen bölgelerinin Jukes and Cantor Parametresi (Jukes ve Cantor, 1969) baz alınarak hesaplanan sinonim ve non-sinonim bölgelerine ait mutasyon ve nükleotit çeşitlilik değerleri Tablo 1 ve 2'de verilmiştir. Buradan görüleceği *M. guentheri*'de çalışılan üç mitokondriyal gende en fazla sinonim bölge sayısı 552,99 ile COXI geninde ortaya çıkmıştır, bunu sırasıyla Cyt-*b* ve 12S rRNA izlemiştir. Non-sinonim bölge sayısında ise en fazla 170,1 ile Cyt-*b*'de olup bunu COXI ve 12S rRNA izlemiştir. Bunlara ilaveten nükleotit çeşitliliğini gösteren Pi değeri sinonim bölge mutasyonlarında en fazla 12S rRNA'da ortaya çıkmış bunu COXI ve Cyt-*b* izlemiştir. Toplam mutasyonlu bölge sayısı 12S rRNA'da diğer iki belirtece göre oldukça düşüktür (Tablo 1).

Non-sinonim bölge mutasyonlarındaki Pi değerleri tam tersi bir dizilim göstermiştir. Burada en yüksek değer COXI'de ortaya çıkarken bunu sırasıyla Cyt-*b* ve 12S rRNA izlemiştir (Tablo 2). Haplotiplerdeki sinonim mutasyonlar protein dizisinde herhangi bir değişikliğe neden olmazken; non-sinonim mutasyonlar ise protein dizisini değiştirerek aminoasit değişimi ile sonuçlanmakta; bu nedenle popülasyonlar arası

Table 1. *Microtus guentheri* türüne ait sinonim bölge mutasyonları ve nükleotit çeşitlilik (Pi) değerleri.

	Analiz edilen kodon ve bölge sayısı (parantez içinde)	Sinonim bölge sayısı	Nükleotit çeşitlilik (Pi)	Toplam mutasyonlu bölge sayısı
COXI	68 (204)	52,99	0,191	12
Cyt- <i>b</i>	74 (222)	51,90	0,134	17
12S rRNA	34 (102)	23,17	0,027	2

Table 2. *Microtus guentheri* türüne ait non-sinonim bölge mutasyonları ve nükleotit çeşitlilik (Pi) değerleri.

	Analiz edilen kodon ve bölge sayısı (parantez içinde)	Non-sinonim bölge sayısı	Nükleotit çeşitlilik (Pi)	Toplam mutasyonlu bölge sayısı
COXI	68 (204)	151,01	0,196	50
Cyt- <i>b</i>	74 (222)	170,10	0,164	43
12S rRNA	34 (102)	78,83	0,049	10

farklılaşmaya katkı sağladıkları bilinmektedir (Wang ve ark., 2009). Bu çalışmada elde edilen bulgularda da non-sinonim bölge mutasyon sayıları sinonim bölge mutasyonlarına göre oldukça fazla çıkmıştır. Ayrıca çalışılan mitokondriyal genlerin hayvan sistematğinde kullanımı farklılık arz etmektedir. COXI özellikle tür içi genetik farklılığın ortaya konmasında önemli bir belirteç olarak dikkate alınırken, Cyt-*b* türler arası, 12S rRNA ise daha çok cins ve daha üst taksonomik kategorilerin filogenetik ilişkilerinin ortaya konmasında kullanılmaktadır (Hebert ve ark., 2003; Pfunder ve ark., 2004; Zardoya ve Meyer, 1996; Avise, 1994; Irwin ve ark., 1991; Douzery ve Catzeflis, 1995; Ledje ve Arnason, 1996; Gatesy ve ark., 1997; Halanych ve Robinson, 1997; Wang ve ark., 2003). Bu bilgileri doğrular şekilde bu çalışmada çalışılan üç gen bölgesinde sinonim ve non-sinonim bölge sayıları en düşük 12S rRNA haplotiplerinde ortaya çıkmıştır. Bu türde saptanan haplotiplerdeki her üç gen bölgesinin nükleotit değişimleri, sinonim ve non-sinonim bölgeler esas alınarak ve kodon numaraları ile birlikte Tablo 3, 4 ve 5’de verilmiştir.

Taksonlardaki genetik farklılaşmaya ışık tutan diğer bir kriter sinonim (Ks) ve non-sinonim substitüsyon (Ka) oranlarıdır, bu değerlerden Ka/Ks oranı hesaplanarak türdeki genetik farklılaşma seviyesi ile ilgili değerlendirme yapmak olanaklı olabilmektedir; Ka/Ks=1 nötral bir seçilimi gösterirken, Ka/Ks>1 pozitif seçilimi ve Ka/Ks<1 ise negatif (stabil) bir seçilime işaret eder (Hanada ve ark., 2007). *Microtus guentheri* haplotipleri-

nin Ks ve Ka değerlerine bakıldığında ise, Ka değerinin her üç gen bölgesinde az da olsa yüksek olduğu görülmektedir (Tablo 6). Ks ve Ka değerlerinden hesaplanan Ka/Ks oranının aldığı değerler türün yayılış sınırları içinde alt türleşme ve türleşmeye yol açabilecek genetik çeşitliliğe ışık tutar. Tablo 3’den görüldüğü gibi her üç gen bölgesinde bu oran 1’in üzerindedir. Ka/Ks<1 durumunda çalışılan türün adaptif seçilim karakterlerini korumakla birlikte atasal karakterlere de sahip olduğunun bir göstergesi olarak dikkate alınabilir. Ancak *M. guentheri* türünde ortaya çıkan Ka/Ks>1 değerleri türün genetik bir farklılaşma içerisinde olduğunu desteklemektedir (Zang ve Yu, 2006; Hanada ve ark., 2007). Türkiye’de yayılış yapan guentheri grubu tarla fareleri üzerinde yapılan çalışmada Bayesian Markov Chain Monte Carlo, MCMC algoritmasıyla üretilen filogeni ağacında Güneydoğu Anadolu örneklerini oluşturan *M. guentheri* Batı Anadolu ve Trakya örneklerinden oldukça farklılaşmış ve ayrı bir alt kümede toplanmıştır (Yiğit ve ark., 2017). Bu sonuçlar bu çalışmadaki Ka/Ks>1 durumundan kaynaklanan farklılaşmayı desteklemektedir. Bu bulguların ışığı altında tip yeri Kahramanmaraş olan ve o yöreden güneye doğru yayılış yapan bu türün özellikle Suriye ve İsrail popülasyonları ile karşılaştırma yapılarak bu farklılaşmanın hangi boyutta olduğu; alt tür veya yeni bir tür boyutunda farklılaşma olup olmadığı daha sonra yapılacak çalışmalara ortaya konabilecek, bu çalışmadan elde edilen üç mitokondriyal belirtece ait veriler bu yönde sürdürülecek çalışmalara altlık oluşturacaktır.

Table 3. COXI bölgesinde sinonim (beyaz bölgeler) ve non-sinonim bölge mutasyonları (gri bölgeler). Haplotipler ve örnek numaraları: 1: Hatay (6573); 2: Kahramanmaraş (4807); 3: Hatay (2114); 4: Adıyaman (6720, 6721); 5: Adıyaman (6718); 6: Kahramanmaraş (6727); 7: Kahramanmaraş (3628, 3629); 8: Kilis (2765); 9: Kilis (5228); 10: Kahramanmaraş (3623); 11: Kahramanmaraş (3620); 12: Kilis (2941).

No	POZİSYON											
	HAP 1	HAP 2	HAP 3	HAP 4	HAP 5	HAP 6	HAP 7	HAP 8	HAP 9	HAP 10	HAP 11	HAP 12
6	C	G	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C
7	A	A	A	G	G	G	G	G	A	A	A	A
12	A	A	A	G	G	G	A	A	A	G	G	G
20	G	G	G	A	A	A	A	A	A	A	A	A
25	A	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
28	C	C	T	C	C	C	C	C	C	T	T	T
29	C	C	G	C	C	C	C	C	C	C	C	C
30	G	G	C	A	A	A	A	A	A	A	A	A
34	C	C	C	C	C	T	C	C	C	C	C	T
35	T	C	T	C	C	C	C	C	C	C	C	C
38	A	A	A	T	T	T	T	T	T	T	T	T
40	T	T	T	T	T	T	T	T	C	C	C	C
42	A	G	A	G	G	G	G	G	A	G	G	G
45	A	A	A	A	A	A	A	A	G	A	A	A
47	A	G	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
48	T	T	T	C	C	C	C	C	T	T	T	T
54	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	A
56	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	G
57	G	G	G	A	A	A	G	A	A	G	G	G
59	C	C	T	C	C	C	C	C	C	C	C	C
60	C	C	C	C	C	C	C	C	A	C	C	C
63	A	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
64	A	A	A	G	G	A	A	A	A	A	A	A
65	A	A	G	G	G	A	A	A	A	A	A	A
68	A	A	G	G	G	G	G	G	A	A	A	A
69	T	T	T	T	T	T	T	C	T	T	C	T
71	T	T	C	C	C	C	C	C	C	C	C	T
73	T	T	T	T	T	T	T	C	T	T	T	T
77	A	A	A	A	A	A	A	G	A	A	A	A
81	A	C	A	A	A	A	A	A	A	C	C	A
84	A	A	A	A	A	G	A	A	A	A	A	A
91	A	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	A
100	T	T	T	T	T	T	T	A	C	C	C	T
106	T	C	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
108	C	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	C
109	C	C	T	T	T	T	T	C	C	C	C	C
111	T	T	C	C	C	C	C	T	T	T	T	T
114	A	A	A	A	A	A	G	A	A	A	A	A
116	A	A	A	A	A	A	A	G	A	A	A	A
119	C	C	C	C	C	C	C	C	A	A	A	C
120	C	C	C	C	C	C	C	C	T	C	C	C
122	A	A	A	G	G	A	A	A	A	A	A	A
124	C	C	C	G	C	C	C	C	C	C	C	C
125	T	T	T	T	C	T	T	T	T	T	T	T
127	T	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C
132	T	T	T	T	T	T	T	T	C	C	C	C
137	T	T	C	T	T	T	T	T	C	T	C	C
144	A	A	A	T	T	T	T	T	C	C	C	C
149	A	A	A	C	C	C	C	C	C	C	C	C
156	A	A	A	A	A	A	A	A	G	A	A	A
160	G	G	G	T	T	T	T	T	T	T	T	T
163	A	A	A	G	G	G	G	G	A	A	A	A
171	C	C	C	T	T	T	T	T	C	C	C	C
172	G	A	G	A	A	A	A	A	A	A	A	A
177	C	C	C	C	A	C	C	C	A	C	C	C
180	T	T	T	T	T	T	C	C	T	T	T	T
183	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	A
184	C	C	C	C	C	C	T	C	C	C	C	C
191	C	C	A	C	C	C	C	C	C	C	C	C
192	A	A	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C
194	C	C	C	C	C	C	C	C	A	A	A	A
195	C	C	C	T	T	T	T	T	T	T	T	T

Table 4. Cyt-*b* bölgesinde sinonim (beyaz bölgeler) ve non-sinonim bölge mutasyonları (gri bölgeler). Haplotalar ve örnek numaraları: 1: Kilis (2765); 2: Kahramanmaraş (3629); 3: Kahramanmaraş (6727); 4: Adıyaman (6718); 5: Adıyaman (6720); 6: Hatay (2114), Kilis (2941), Suriye (AY513805.1); 7: İsrail (AY513806.1, AY513807.1); 8: Kahramanmaraş (4807); 9: Hatay (6573); 10: Kahramanmaraş (3620); 11: Kahramanmaraş (3628); 12: Adıyaman (6721); 13: Kahramanmaraş (3623); 14: Kilis (5228).

No	POZİSYON													
	HAP 1	HAP 2	HAP 3	HAP 4	HAP 5	HAP 6	HAP 7	HAP 8	HAP 9	HAP 10	HAP 11	HAP 12	HAP 13	HAP 14
5	A	A	A	A	A	A	A	C	A	A	A	A	A	A
6	A	A	A	A	G	A	A	A	A	A	A	A	A	A
13	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	G	A
16	A	A	A	A	A	C	C	C	C	C	C	C	C	C
18	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C
26	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	T	C
27	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	T	A
28	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	G	T
29	C	T	T	T	T	A	A	A	A	A	A	A	G	A
30	C	A	A	A	A	C	C	C	C	C	C	C	C	C
32	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	G	A
34	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	G	T
38	G	G	G	G	G	A	A	A	A	A	A	A	A	A
40	G	G	G	T	G	A	A	A	A	A	A	A	A	A
50	C	C	C	C	C	T	T	T	T	T	C	T	T	T
55	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	T
60	A	A	A	A	A	C	C	C	C	C	A	A	C	C
66	C	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T	T	T	T
67	T	T	A	T	T	C	C	C	C	C	C	C	C	C
71	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	C	C	G	G
72	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	G	G	A	A
73	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	A	A	G	G
77	A	A	A	A	A	C	C	C	C	C	A	A	C	C
83	C	C	C	C	C	T	T	T	T	T	C	C	T	T
91	C	C	C	C	C	C	C	C	C	T	C	C	C	C
98	C	C	C	C	C	T	T	T	T	T	C	C	T	T
101	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	T
103	T	T	T	T	T	C	C	C	C	C	T	T	C	C
105	T	T	T	T	T	C	C	C	C	C	T	T	C	C
108	T	T	T	T	T	C	C	C	C	C	T	T	C	T
113	A	A	A	A	A	G	G	G	G	G	A	A	G	A
117	T	T	T	T	T	C	C	C	C	C	T	T	C	T
120	C	C	C	C	C	T	T	T	T	T	C	C	T	C
121	T	T	A	A	A	A	A	A	A	A	T	A	A	A
123	T	T	T	T	T	C	C	C	C	C	T	T	C	T
133	C	C	C	C	C	T	T	T	T	T	C	C	T	A
134	C	C	C	C	C	T	T	T	T	T	C	C	T	T
135	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
140	A	A	A	A	A	C	C	C	C	C	T	T	C	C
141	C	C	C	C	C	A	A	A	A	A	C	C	A	A
146	T	T	T	T	T	C	C	C	C	C	T	T	C	C
151	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	C
155	T	T	T	T	T	C	C	C	C	C	T	T	C	C
162	C	C	C	C	C	A	A	A	A	A	C	C	A	A
164	C	T	T	T	T	C	C	C	C	C	T	T	C	T
174	T	T	T	T	T	C	C	C	C	C	T	T	C	T
180	C	C	C	T	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C
182	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	C
183	T	T	T	T	T	C	C	C	C	C	T	T	C	T
187	A	A	A	A	A	G	G	G	G	G	A	A	G	A
188	C	C	C	C	C	T	T	T	T	T	C	C	T	C
190	T	T	C	C	C	C	C	C	C	C	T	C	C	C
192	A	A	A	A	A	A	G	A	A	A	A	A	A	G
194	G	G	A	A	A	G	G	G	G	G	G	A	G	G
197	C	C	C	C	A	C	C	C	C	C	C	C	C	C
202	A	A	A	A	A	A	A	A	G	A	A	A	A	A
209	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	G	A
215	A	A	A	A	A	T	T	T	T	T	T	T	T	A
216	C	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T	T	T	C
223	C	C	C	C	C	G	G	G	G	G	G	G	G	C

Teşekkür

Bu çalışma Derya Çetintürk'ün yüksek lisans tezinin verileri temel alınarak üretilmiştir ve Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından

desteklenmiştir (Proje No: 15L0430002).

Kaynaklar

Adkins R.M., Gelke E.L., Rowe D., Honeycutt R.L. 2001.

Table 5. 12S rRNA bölgesinde sinonim (beyaz bölgeler) ve non-sinonim bölge mutasyonları (gri bölgeler). Haplotipler ve örnek numaraları: 1: Hatay (2114), Kahrama maraş (3620, 3623); 2: Kahramanmaraş (4807); 3: Hatay (6573); 4: Kilis (2765), Adıyaman (6720), Kahramanmaraş (6727); 5: Kilis (2941); 6: Kahramanmaraş (3629); 7: Adıyaman (6721).

No	POZİSYON						
	HAP 1	HAP 2	HAP 3	HAP 4	HAP 5	HAP 6	HAP 7
5	G	C	G	G	G	G	G
8	A	C	A	A	A	A	A
15	G	T	G	G	G	G	G
16	G	C	G	G	G	G	G
19	T	T	T	T	T	T	C
29	C	C	C	T	C	T	T
35	T	C	T	T	T	T	T
43	G	G	G	G	G	G	A
53	A	A	A	T	A	T	T
57	G	G	G	G	T	G	G
83	A	A	A	G	A	G	G
99	T	T	T	T	T	C	T

Table 6. COXI, Cyt-*b* ve 12S rRNA bölgelerine ait ortalama Ks (sinonim substitüsyon oranı) ve Ka (non-sinonim substitüsyon oranı) değerleri.

Tür	COXI	Cyt- <i>b</i>	12S rRNA
Ks	0,191	0,13	0,026
Ka	0,196	0,16	0,049
Ka/Ks	1,02	1,23	1,88

- Molecular Phylogeny and Divergence Time Estimates for Major Rodent Groups: Evidence From Multiple Genes, *Molecular Biology and Evolution*, 18(5): 777-791.
- Avise J.C. Molecular markers, natural history and evolution. 1994. Chapman and Hall Inc., New York. 511 p.
- Bodenheimer F.S. 1958. The present taxonomic status of the terrestrial mammals of Palestine. *Bulletin Res. Coun. Israel.*, 7: 165-190.
- Douzery E., Catzeflis F.M. 1995. Molecular evolution of the mitochondrial 12S rRNA in Ungulata (Mammalia). *Journal of Molecular Evolution*, 41(5): 622-636.
- Ellerman J.R., Morrison-Scott T.C.S. 1951. Checklist of Palaearctic and Indian mammals 1758 to 1946. order of the Trustees of the British Museum.
- Felten H., Spitzenberger F., Storch G. 1971. Zur Kleinsäugerfauna West Anatoliens. Teil I. *Senck. Biol.*, 52: 393-424.
- Gatesy J., Amato G., Vrba E., Schaller G., DeSalle R. 1997. A cladistic analysis of mitochondrial ribosomal DNA from the Bovidae. *Molecular phylogenetics and evolution*, 7(3): 303-319.
- Golenishchev F.N., Sablina O.V., Borodin P.V., Gerasimov S. 2002. Taxonomy of voles of subgenus *Sumeriomys* Argyropulo, 1933 (Rodentia, Arvicolinae, *Microtus*). *Russian Journal Of Theriology*, 1(1): 43-55.
- Halanych K.M., Robinson T.J. 1999. Multiple substitutions affect the phylogenetic utility of cytochrome b and 12S rDNA data: examining a rapid radiation in leporid (Lagomorpha) evolution. *Journal of Molecular Evolution*, 48(3): 369-379.
- Hall T.A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*, 41: 95-98.
- Hanada K., Shiu S.H., Li W.H. 2007. The Nonsynonymous /synonymous substitution rate ratio versus the radical/conservative replacement rate ratio in the evolution of mammalian genes. *Molecular Biology and Evolution*, 4: 467-478.
- Harrison D.L., Bates P.J.J. 1991. The Mammals of Arabia. Sec. Ed., Kent/England: Harrison Zool. Museum Pub.
- Hebert P.D., Ratnasingham S., de Waard J.R. 2003. Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 270 (Suppl 1): S96-S99.
- Irwin D.M., Kocher T.D., Wilson A.C. 1991. Evolution of the cytochrome b gene of mammals. *Journal of Molecular Evolution*, 32(2): 128-144.
- Jaarola M., Searle J.B. 2002. Phylogeography of field voles (*Microtus agrestis*) in Eurasia inferred from mitochondrial DNA sequences. *Molecular Ecology*, 11(12): 2613-2621.
- Jukes T.H., Cantor C.R. 1969. Evolution of protein molecules. *Mammalian Protein Metabolism*, 3: 21-132.
- Kefelioğlu H., Kryštufek B. 1999. The taxonomy of *Microtus socialis* group (Rodentia: Muridae) in Turkey, with the description of a new species. *Journal of Natural History*, 33: 289-303.
- Kıvanç E., 1978. Biometrische Untersuchungen zum Baculum von *Microtus socialis* und *Microtus guentheri* Danford Alston. *Communic. Fac. Sci. Univ. Ankara (C3: Zool.)* 22: 5-15.
- Kryštufek B., Buzan E.V., Vohralík V., Zareie V., Özkan B.

2009. Mitochondrial cytochrome b sequence yields new insight into the speciation of social voles in South-west Asia. *Biological Journal of the Linnean Society*, 98: 121-128.
- Kryštufek B., Zorenko T., Buzan E.V. 2012. New insights into the taxonomy and phylogeny of social voles inferred from mitochondrial cytochrome b sequences. *Mammalian Biology - Zeitschrift für Säugetierkunde*, 77: 178-182.
- Larkin M.A., Blackshields, G., Brown N.P., Chenna R., McGettigan P.A., McWilliam H., Valentin F., Wallace I.M., Wilm A., Lopez A., Thompson J.D., Gibson T.J., Higgins D.G. 2007. Clustal W and Clustal X version 2.0". *Bioinformatics*, 23(21): 2947-2948.
- Lay D.M. 1967. A Study of the Mammals of Iran: Resulting from the Street Expedition of 1962-63. *Field Museum of Natural History*, 54: 1-82.
- Ledje C., Arnason U. 1996. Phylogenetic relationships within caniform carnivores based on analyses of the mitochondrial 12S rRNA gene. *Journal of Molecular Evolution*, 43(6): 641-649.
- Markov G., Yiğit N., Çolak E., Kocheva M., Gospodinova M. 2014. Epigenetic diversity and Similarity of the Voles of "Guentheri" Group (Mammalia: Rodentia) in Anatolian Peninsula and South-Eastern Part of the Balkan Peninsula. *Acta Zoologica Bulgarica*, 66(2): 159-164.
- Musser G.G., Carleton M.D. 2005. Superfamily Muroidea. In: D.E. Wilson, D.A.M. Reeder (Eds.). *Mammal species of the World: A taxonomic and geographic reference*, 3(2): 894-1531.
- Nowak R.M. 1999. *Walker's Mammals of the World (Vol. 1)*. JHU Press, 1936 p.
- Pfunder M., Holzgang O., Frey J.E. 2004. Development of microarray-based diagnostics of voles and shrews for use in biodiversity monitoring studies, and evaluation of mitochondrial cytochrome oxidase I vs. cytochrome b as genetic markers. *Molecular Ecology*, 13(5): 1277-1286.
- Robins J.H., Hingston M., Matisoo-Smith E., Ross H.A. 2007. Identifying *Rattus* species using mitochondrial DNA. *Molecular Ecology Notes*, 7: 717-729.
- Rozas J., Librado P., Sánchez-Del Barrio J.C., Messeguer X., Rozas R. 2010. DnaSP Version 5 Help Contents [Help File], Available with the program at <http://www.ub.edu/dnasp/>.
- Wang C.H., Kuo C.H., Mok H.K., Lee S.C. 2003. Molecular phylogeny of elopomorph fishes inferred from mitochondrial 12S ribosomal RNA sequences. *Zoologica Scripta*, 32(3): 231-241.
- Wang D., Zhang S., He F., Zhu J., Hu S., Yu J. 2009. How Do Variable Substitution Rates Influence Ka and Ks Calculations? *Genomics Proteomics Bioinformatics*, 7(3): 116-127.
- Wilson D.E., Reeder D.M. 2005. *Mammal species of the world. A taxonomic and geographic reference (3rd ed.)*. John Hopkins University Press, Baltimore.
- Yiğit N., Çolak E. 2002. On the distribution and taxonomic status of *Microtus guentheri* (Danford and Alston, 1880) and *Microtus lydus* Blackler, 1916 (Mammalia: Rodentia) in Turkey. *Turkish Journal of Zoology*, 26(2): 197-204.
- Yiğit N., Çolak E., Sözen M., Karataş A. 2006. Rodents of Türkiye "Türkiye Kemiricileri", Demirsoy, A. (ed.), METEKSAN A.Ş., Ankara.
- Yiğit N., Markov G., Çolak E., Kocheva M., Saygılı F., Yüce D., Çam P. 2012. Phenotypic features of the 'Guentheri' Group Vole (Mammalia: Rodentia) in Turkey and Southeast Bulgaria: Evidence for its taxonomic detachment. *Acta Zoologica Bulgarica*, 64: 23-32.
- Yiğit N., Çetintürk D., Çolak E. 2017. Phylogenetic assessment of voles of the Guentheri Group (Mammalia: *Microtus*) in Turkish Thrace and Western Anatolia. *The European Zoological Journal*, 84(1): 252-260.
- Zardoya R., Meyer A. 1996. Phylogenetic performance of mitochondrial protein-coding genes in resolving relationships among vertebrates. *Molecular Biology and Evolution*, 13(7): 933-942.
- Zhang Z., Yu Z. 2006. Evaluation of six methods for estimating synonymous and nonsynonymous substitution rates. *Geno. Prot. Bioinfo.*, 4(3): 173-181.