



T.C.

ÜSKÜDAR ÜNİVERSİTESİ

BAĞIMLILIK VE ADLİ BİLİMLER ENSTİTÜSÜ

Danışman

Prof.Dr. Sevil Atasoy

İSTANBUL'DA ADLİ BİLİMLER AÇISINDAN ÖNEMLİ ERGİN
CALLIPHORİDAE TÜRLERİNİN DNA TEMELLİ YÖNTEMLERLE
BELİRLENMESİ

ADLİ BİLİMLER ANA BİLİM DALI
OLAY YERİ İNCELEME VE KRİMİNALİSTİK BİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Biyolog Gizem UĞUR

İstanbul-2019



T.C.
ÜSKÜDAR
ÜNİVERSİTESİ

YÜKSEK LİSANS TEZ SAVUNMA SINAVI TUTANAĞI
BAĞIMLILIK VE ADLİ BİLİMLER ENSTİTÜSÜ

GENEL BİLGİLER

Öğrenci No	: 164501018
Öğrenci Adı Soyadı	: Fatma Gizem Uğur
Anabilim Dalı	: Adli Bilimler
Tez Danışmanı	: Prof. Dr. Sevil ATASOY
Tezin Başlığı	: İstanbul'da Adli Bilimler Açısından Önemli Erpin Calliphoridae Türlerinin DNA Temelli Yöntemlerle Belirlenmesi

Toplantı Tarihi	: 21.10.2019	Saati	: 15:00
Öğrenci Savunmaya	: <input checked="" type="checkbox"/> Geldi		
Üniversitemiz Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca tez bilimsel olarak incelenmiş, adayın tez çalışmasını sunmasının ardından, adaya tez çalışması ile ilgili sorular yöneltilmiştir.			
<input checked="" type="checkbox"/> Yapılan savunma sınavında adayın tez çalışması başarılı bulunarak KABUL edilmesine,			
<input type="checkbox"/> Yapılan savunma sınavı sonunda tez çalışmasının DÜZELTİLMESİNE , düzeltme için adaya ay EK SÜRE verilmesine (en fazla 3 ay)			
<input type="checkbox"/> Yapılan savunma sınavının sonunda tezin REDDEDİLMESİNE			
<input type="checkbox"/> OY BİRLİĞİ <input checked="" type="checkbox"/> OY ÇOKLUĞU			
İle karar verilmiştir.			
Savunmada Tezin Başlığı	: <input checked="" type="checkbox"/> Değişmedi <input type="checkbox"/> Değişti		
Tezin Yeni Başlığı	: <input checked="" type="checkbox"/> Değişmedi		
Öğrenci Savunmaya	: <input type="checkbox"/> Gelmedi		
Üniversitemiz Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca yukarıda belirtilen tarih ve saatte Tez Savunma Jürisi toplanmış ancak ilgili öğrenci savunma sınavına gelmemiştir. Adayın tez çalışmasını Jüri önünde sunmadığı için yapılan değerlendirmeler sonunda adayın tez çalışmasıyla ilgili aşağıdaki kararı,			
<input type="checkbox"/> OY BİRLİĞİ İLE REDDEDİLMİŞTİR.			

Tez Sınavı Jürisi	Unvanı, Adı Soyadı	İmza
Başkan	Dr. Öğr. Üyesi Kaan Yılmazoğlu	
Danışman Üye	Prof. Dr. Sevil ATASOY	
Üye	Dr. Öğr. Üyesi Ahmet Can Timuçin	
Üye	Dr. Öğr. Üyesi Tuğba İnsal	
Üye	Doç. Dr. Emel Timuçin	

(Tüm durumlarda jüri üyelerinin tez değerlendirme raporları gerekir.)

Sayı No :

Tarih : 21. / 10. / 2019.

Yukarıda kimlik bilgileri belirtilen ve Anabilim Dalımız Yüksek Lisans Programı öğrencisinin Tez Savunma Sınav Tutanağı ve eklerinin Enstitü Yönetim Kurulunda görüşülmesi hususunda bilgilerinizi ve gereğini arz ederim.

Not: Bu forma orijinal raporlar (bir nüsha) eklenecektir.

Prof. Dr. Sevil ATASOY
Anabilim Dalı Başkanı
(Unvanı, Adı Soyadı, İmza)

T.C.
ÜSKÜDAR ÜNİVERSİTESİ
BAĞIMLILIK VE ADLİ BİLİMLER ENSTİTÜSÜ

Danışman
Prof.Dr. Sevil Atasoy

İSTANBUL'DA ADLİ BİLİMLER AÇISINDAN ÖNEMLİ ERGİN
CALLIPHORİDAE TÜRLERİNİN DNA TEMELLİ YÖNTEMLERLE
BELİRLENMESİ

ADLİ BİLİMLER ANA BİLİM DALI
OLAY YERİ İNCELEME VE KRİMİNALİSTİK BİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Biyolog Gizem UĞUR

İstanbul,2019

YEMİN METNİ

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “**İstanbul'da Adli Bilimler Açısından Önemli Ergin Calliphoridae Türlerinin DNA Temelli Yöntemlerle Belirlenmesi**” adlı çalışmanın, tarafımdan, bilimsel ahlak ve geleneklere aykırı düşecek bir yardıma başvurmaksızın yazıldığını ve yararlandığım eserlerin kaynakçada gösterilenlerden oluştuğunu, bunlara atıf yapılarak yararlanılmış olduğunu belirtir ve bunu onurumla doğrularım.

... / ... / 2018

İmza

Fatma Gizem UĞUR

ÖN SÖZ

Bu çalışma, çocukluğumdan beri ilgi duyduğum böceklere olan ilgimin bir merakı sonucu ortaya çıkmıştır. Böceklerin adli entomoloji ile bağlantısını öğrendiğim gün bu alanda bir eğitim almam gerektiğine karar verdim. Üniversitemizin Bağımlılık ve Adli Bilimler Enstitüsündeki Yüksek Lisans Ders Programının sonunda tez safhasına geldiğinde Sayın Hocam Prof. Dr. Sevil ATASOY'a bu alanda çalışmak istediğimi paylaştıktan sonra bu alan ile ilgili araştırma yaparken yolumun tesadüfî bir şekilde keşiştiği Sayın Hocam Dr. H. Nihal AÇIKGÖZ ile tez konumu belirledim.

Çalışma konusunun belirlenmesi ile başlayıp, tez çalışmasının son aşamasına kadar devam eden uzun süreçte bana her zaman yardımcı olan, yol gösteren, bilgi ve desteğini esirgemeyen, sonsuz sabrı ile yanımda olan tez danışmanım ve kendisinden çok şey öğrendiğim değerli hocam Prof. Dr. Sevil ATASOY'a, eş danışmanım Ankara Üniversitesi Adli Bilimler Enstitüsü Adli Biyoloji Ana Bilim Dalı'ndan Öğretim Görevlisi Dr. H. Nihal AÇIKGÖZ'e teşekkürü borç bilirim.

Tez çalışmam süresi boyunca bana her konuda yardım eden, desteğini benden esirgemeyip tecrübesini benimle paylaşan, laboratuvar imkanları, tez yaşam aşaması, materyal-metod ve deneylerin yapılmasında Dr. Öğretim Üyesi Kaan YILANCIOĞLU'a, Araştırma Görevlisi Nilay YÖNET, lisans öğrencileri Furkan DÜZYOL, Kubilay GÜÇ ve Ege BALTA, analiz işlemlerinde Aykut HACIOĞLU, Ulaş SANCAK ve Ankara Üniversitesi Adli Bilimler Enstitüsü Adli Genetik Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi Abdullah Zübeyir CEYLAN'a teşekkürlerimi sunarım.

Hayatım boyunca beni her zaman destekleyen, kararlarımı kimi zaman saygıyla kimi zaman da hoşgörü ile karşılayan, hiçbir özveriden kaçınmayarak, maddi ve manevi

yönden bana her zaman destek olan, annem Füsun Uğur'a, babam İbrahim Nuri Uğur'a, kardeşim Eren Uğur'a ve arkadaşım Batuhan ERYAZ'a sonsuz minnet ve teşekkürlerimi sunarım.



İÇİNDEKİLER

YEMİN METNİ.....	i
ÖN SÖZ.....	ii
İÇİNDEKİLER	iv
TABLULAR LİSTESİ.....	viii
KISALTMALAR.....	ix
SİMGELER DİZİNİ	xi
ÖZET.....	xii
ABSTRACT	xiv
1.GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2.GENEL BİLGİLER	5
2.1.Mitokondri Adli Entomoloji ve DNA	5
Sitokrom C Oksidaz Alt Ünite 1 (COI) Geni.....	5
2.1.1. Mitokondri	5
2.1.1.1. Mitokondriyal DNA Molekülü (MtDNA)	6
2.2. Adli Entomoloji ve DNA	8
2.3. Böceklerde Mitokondriyal DNA (mtDNA)	9
2.3.1. Böcek MtDNA Kontrol Bölgesi.....	12
2.3.2. Sitokrom Oksidaz Altünite 1 (COI) Geni	13
2.4.Çalışmada Kullanılan Böcek Türleri ve Bazılarının Özellikleri.....	14
2.4.1. Çalışmada Kullanılan Calliphoridae Türlerinin Özellikleri.....	14
2.4.1.2. <i>Chrysomya albiceps</i>	15
2.4.1. 3. <i>Calliphora vicina</i>	15
2.4.1.4. <i>Lucilia sericata</i>	16
3.MATERYAL VE METOT	17
3.1. Tuzakların Hazırlanması.....	17

3.2. Arazi çalışması.....	18
3.2.1. Birinci İstasyon.....	19
3.2.2. İkinci İstasyon.....	19
3.3. Örneklerin Toplanması.....	20
3.4. Laboratuvar Çalışması	21
3.4.1. Teşhis aşaması	21
3.4.2. DNA İzolasyonu-Polimeraz Zincir Reaksiyonu	21
3.4.3. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)	25
3.4.4. Agaroz Jel Elektrofrezisi.....	26
3.4.5. Elektrofrez ve Sonuçlarının Yorumlanması	27
4. BULGULAR	29
4.1. Mitokondriyal DNA Sitokrom C Oksidaz Altünite I Bölgesinin Dizilenmesi	29
4.2. Sekans Sonuçları	29
4.2.1. Türün adı: <i>C.albiceps</i>	29
4.2.2. Türün adı: <i>L.silvarum</i>	30
4.2.3. Türün adı: <i>L.richardsi</i>	31
4.2.4. Türün adı: <i>C.vicina</i>	32
4.2.5. Türün adı: <i>L.sericata</i>	33
4.2.6. Türün adı: <i>L.ampullaca</i>	33
4.2.7. Türün adı: <i>L.illustris</i>	34
4.3. Sekans sonuçları	35
4.3.1. <i>Chrysomya albiceps</i> Finch Tv programında görüntüsü	35
4.3.2. <i>Lucilia silvarum</i> Finch Tv programında görüntüsü	35
4.3.3. <i>Calliphora vicina</i> Finch Tv programında görüntüsü	36
4.3.4. <i>Lucilia richardsi</i> Finch Tv programında görüntüsü.....	36

4.3.5. <i>Lucilia sericata</i> Finch Tv programında görüntüsü.....	36
4.3.6. <i>Lucilia ampullaca</i> Finch Tv programında görüntüsü	37
4.3.7. <i>Lucilia illustris</i> Finch Tv programında görüntüsü	37
4.4. Blast Sonuçları.....	37
4.4.1. <i>Chrysomya albiceps</i> Blast Sonuçları.....	38
4.4.2 <i>Lucilia silvarum</i> Blast Sonuçları.....	38
4.4.3. <i>Calliphora vicina</i> Blast Sonuçları	39
4.4.4. <i>Lucilia richardsi</i> Blast Sonuçları	39
4.4.5. <i>Lucilia sericata</i> Blast Sonuçları	39
4.4.6. <i>Lucilia ampullaca</i> Blast Sonuçları.....	40
4.3.7 <i>Lucilia illustris</i> Blast Sonuçları.....	40
4.4. Çalışmadaki Türlerle Bağlı Benzerlik Ağaçları	41
5.TARTIŞMA	44
6.SONUÇ	47
7.KAYNAKÇA	48
ÖZGEÇMİŞ.....	58

ŞEKİLLER LİSTESİ

ŞEKİL 1 : Mitokondri organeli (17).	5
ŞEKİL 2 : Mitokondriyal DNA (33).	8
ŞEKİL 3: <i>Drosophila yakuba</i> mtDNA'sı (38).	10
ŞEKİL 4: <i>Chrysomya albiceps</i> (64).	15
ŞEKİL 5: <i>Calliphora vicina</i> (67).	16
ŞEKİL 6: <i>Lucilia sericata</i> (68).	16
ŞEKİL 7: Dana ciğerleri (Fotoğraf çekimi Fatma Gizem UĞUR'a aittir.).....	17
ŞEKİL 8: Tuzaklar (Fotoğraf çekimi Fatma Gizem UĞUR'a aittir.)	18
ŞEKİL 9: Tuzakların ağaca asılması (Fotoğraf çekimi Fatma Gizem UĞUR'a aittir.).....	18
ŞEKİL 11: Atapark arazi istasyonu(70).	20
ŞEKİL 12: Arazide örneklerin toplanması (Fotoğraf çekimi Fatma Gizem UĞUR'a aittir.)	21
Şekil 13: (A) Homojenizatör (B) Tartı.	22
Şekil 14: (A) Mikro pipet (B) Vorteks (C) Fırın	23
Şekil 15: Santrifüj.....	24
ŞEKİL 16: PZR cihazı.....	26

TABLolar LİSTESİ

TABLO 1: PCR işleminde reaksiyon birleşenleri	26
TABLO 2: Polimeraz zincir reaksiyonu şartları.	26
TABLO 3: Türlerin birbiri ile benzerliğini gösteren ağaç.	41
TABLO 4 : Komşu ülke ve Avrupa ülkelerine göre örneklerin akrabalığı.....	42



KISALTMALAR

A: Adenin

bç: Baz çifti

COI: Sitokrom C Oksidaz Altünite 1

COII: Sitokrom C Oksidaz Altünite 2

COIII: Sitokrom C Oksidaz Altünite 3

COIV: Sitokrom C Oksidaz Altünite 4

Cytb: Sitokrom b (cytochrome b)

DNA: Deoksiribo Nükleik Asit

D-loop: Merkezi kontrol bölgesi (displacement loop)

G: Guanin

gr: Gram

H: Mitokondriyal DNA'nın ağır ipliği

km: Kilometre

L: Mitokondriyal DNA'nın hafif ipliği

lt: Litre

M: Metre

mm: Milimetre

mtDNA: Mitokondiyal DNA

PBS: Fosfat tamponlu salin

PMI: Postmortem İnterval

PZR: Polimeraz Zincir Reaksiyonu

rpm: Dakikadaki devir sayısı (Revolutions per minute)

RNA: Ribo nükleik asit

rRNA: Ribozomal RNA

s: Saniye

T: Timin

tRNA: Transfer RNA

SİMGELER DİZİNİ

μm : Mikrometre

μL : Mikrolitre

%: Yüzde

$^{\circ}\text{C}$: Santigrat Derece

$^{\circ}$: Derece

': Dakika

": Saniye

ÖZET

(UĞUR, Fatma Gizem, Yüksek Lisans, İstanbul, 2019)

**İSTANBUL'DA ADLİ BİLİMLER AÇISINDAN ÖNEMLİ ERGİN
CALLIPHORİDAE TÜRLERİNİN DNA TEMELLİ YÖNTEMLERLE
BELİRLENMESİ**

Adli vakalarda, ölüm zamanı tayinleri yapılırken böceklerin cesede ilk ulaşan canlılar olması nedeniyle adli entomoloji alanına olan ilgi artmıştır. Bu araştırmada “İstanbul İli’nde Adli Bilimler Açısından Önemli Calliphoridae Cinslerinin DNA Temelli Yöntemlerle Belirlenmesi “adına yapılan ilk çalışma özelliğini taşımaktadır. Bu böcek cinsleri İstanbul’daki olay yerlerinde bulunan cesetlerde ölüm zamanı tayini için önemlidir. Bu nedenle moleküler olarak tanımlanmaları, bölgelere göre farklılık gösterip göstermedikleri, dünyadaki diğer benzer türlerle olan genetik benzerlik/farklılıkları incelenmiştir.

Çalışmada, *Chrysomya albiceps* (Wiedemann, 1891), *Calliphora vicina* (Robineau-Desvoidy, 1830), *Cynomya mortuorum* (Linnaeus, 1761), *Lucilia ampullacea* (Villeneuve, 1922), *Lucilia illustris* (Meigen, 1826), *Lucilia sericata* (Meigen, 1826) Townsend, 1908), *Lucilia richardsi* (Collin in Richards, 1926), *Lucilia silvarum* (Meigen, 1826) türleri çalışılmıştır. Bu türlere uygulanan DNA temelli yöntemlerden; DNA izolasyonu, Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR), Agaroz Jel Elektrofrezisi ve sekanslama işlemleri sonucunda akrabalık ilişkileri ortaya konmuştur.

Morfolojik teşhislerin doğruluğundan emin olmak için, tür içi coğrafik varyasyonları belirlemek ve tür içi genetik farklılıkları ortaya koymak için yapılan

çalışmalarda sitokram oksidaz I geni ve sitokram oksidaz II geninin birlikte kullanılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Adli Entomoloji, DNA Sekans, DNA Barkodlama, COI Geni, Calliphoridae, Adli Bilimler, Calliphoridaea, mtDNA



ABSTRACT

(UĞUR, Fatma Gizem, Master, İstanbul, 2019)

DETERMINATION OF IMPORTANT ADULT CALLIPHORIDAE SPECIES IN TERMS OF FORENSIC SCIENCE IN ISTANBUL BY DNA-BASED METHODS

In forensic cases, interest in the field of forensic entomology has increased as insects are the first to reach the body when death-time determinations are made. This study is the very first one regarding the Determination of Important Adult Calliphoridae Species in Terms of Forensic Sciences in Istanbul By DNA Based Methods. These insect species are important for the determination of the time of death in corpses located in Istanbul. Therefore, the genetic similarities, differences in regions, whether they are different, similar to other species in the world genetic similarities / differences are examined.

In this study, *Chrysomya albiceps* (Wiedemann, 1818), *Calliphora vicina* (Robineau-Desvoidy, 1830), *Cynomya mortuorum* (Linnaeus, 1761), *Lucilia ampullacea* (Villeneuve, 1922), *Lucilia illustris* (Meigen, 1826), *Lucilia sericata* (Meigen, 1826 (Townsend, 1908)), *Lucilia richardsi* (Collin in Richards, 1926), *Lucilia silvarum* (Meigen, 1826), species studied. DNA-based methods applied to these species; DNA isolation, Polymerase Chain Reaction (PCR), Agarose Gel Electrophoresis and sequencing processes revealed kinship relations.

In order to determine the accuracy of morphological diagnoses, in order to determine the intra-species geographic variations and to reveal the genetic differences within the species, the cytochrome oxidase I gene and the cytochrome oxidase II gene were used together.

Key Words: Forensic Entomology, DNA Sequence, DNA Barcoding, COI Gene, Genomic DNA, Calliphoridae, Forensic Sciences, Calliphoridae, mtDNA; diagnosi

1.GİRİŞ VE AMAÇ

DNA (deoksiribo nükleik asit), tüm organizmalarda ve bazı virüslerde genetik bilgi taşıyan bir nükleik asittir. DNA sahip olduğu bilgiyi uzun süre saklama özelliğinden dolayı adli vakalarda kimlik tespitinde tercih edilir. Bunun yanında protein ve RNA gibi yapıların oluşumunda içerdiği bilgi ile kalıp görevini de üstlenir. DNA hücrelerde kromozomlar içerisinde konumlanır. DNA'nın eşleşmesi ise hücre bölünmesi öncesinde kromozomların eşleşmesi sırasında gerçekleşmektedir (1). Ökaryot hücre yapısına sahip canlılarda çekirdekte, prokaryotlarda ise hücre sitoplazmasında konumlanır. Yapısal olarak çift sarmal iplik şeklinde iki nükleotit dizisinden oluşan DNA, görüntüsü itibari ile merdiveni andırır. İçerisinde adenin, guanin, sitozin ve timin bazları, beş karbonlu şeker olarak deoksiriboz ve fosfat molekülü, bağlar olarak ise glikozit bağı ve ester bağı bulunur (2).

Kimliklendirme, biyolojik örneğin kimliği bilinen bir kişiye ait olup olmadığını durumlarda, kimliği bilinmeyen ceset ve insan kalıntılarından elde edilmiş örneklerle karşılaştırma ile yapılır (3). Adli bilimlerde kimliklendirme yaklaşık 50 yıldır hukuk ve ceza davalarında kullanımının yanında insan hakları, göçler ve göçlerin ihlali davalarında da kullanılır (3). Adli tıpta en önemli en geniş konulardan biri olan kimliklendirmede; felaketin türü, kurban sayısı ve cesedin durumu gibi faktörlerde DNA'ya dayalı kimliklendirme yöntemi tercih edilir. Bu yöntemin tercih edilmesinde en önemli avantaj kişinin kendine ait kıyaslama materyalinin (biyolojik örnekler ile DNA profili) direkt referans olarak kullanılması, aile bireylerinden ise endirekt referans örneklerle soybağına bağlı kimliklendirme yapılmasına olanak sağlamasıdır. Buda DNA'ya dayalı kimliklendirme yönteminin diğer yöntemlerin önüne geçerek tercih edilmesini sağlar (4).

DNA teknolojisindeki gelişmeler sayesinde elde edilen delillerin kullanımında artış gözlemlenmiştir. Olay yerinden ve adli olaylara karışan kişilerin kıyafet ve bedenlerinden elde edilen delillerin suçlanan kişinin genetik materyaliyle karşılaştırılmasında, kriminal ve doğal ölümlerde, afetlerde ve yangınla ölen kişinin kimliğinin belirlenmesi gibi durumlarda modern DNA temelli adli genetik çalışmalarından yararlanır (3).

DNA kimliklendirmede DNA profilinin kullanım şekilleri; DNA veri tabanı yardımı ile DNA sahibinin tespitinin yapılması, kişinin hayattayken kendine ait kişisel eşyaları (diş fırçası, tıraş bıçağı, saç fırçası vb., biyokimya tahlilleri gibi biyolojik örnek temin edilebilecek yerlerden alınan örnekler) ve kurbanla soy bağı olan kişilerden alınan biyolojik numuneler olarak üç çeşittir. DNA kimliklendirmenin diğer bir kullanım alanı ise babalık tayinidir (1).

Biyolojik örneğin eski olduğu ve olumsuz koşullarda saklanmanın örneklerde adli kimliklendirme işleminde nükleer DNA eldesi sağlanamaz. Bu durumlarda DNA bozulsa bile eldesi mümkün olan mt DNA (mitokondriyal DNA) ön plana çıkar. Mitokondriyal DNA dış koşullara daha dayanıklıdır. Bu özelliğini kazanmasında çekirdek DNA'sının daha fazla olması, mitokondrilerinin çift çeperli olması, mtDNA'nı kapalı ve sirküler yapıda olması etkidir. Mitokondriyal DNA analizi arkeolojik çalışmalarda, antropolojik çalışmalarda, büyük felaket ve toplu mezarlarda kimliklendirme çalışmalarda da kullanılır. Ancak mtDNA analizinde kemikler mezardan çıkarılırken insanda kontaminasyon, ikinci doğal çürüme aşamasındaki bakteri ve fungus kontaminasyonları, yöntemin uzun sürmesi ve masraflı olması, her

toplumun kendine ait yeterli populasyon genetiği verilerin olmaması yöntemin sınırlayıcı faktörleridir (4).

Adli Entomoloji, sadece PMI ve ölüm yeri belirlenmesinde yol gösterici olmakla kalmayıp ölüm olayı ya da cinayette; minimum ölüm zamanı hesaplamasının yanında, ölüm olayının gerçekleştiği yer, kişinin çok soğuk veya sıcak bir ortamda ölüp ölmediğini veya cesedin, konteynırda kalıp kalmadığını çocuk ve yaşlı istismarı, tecavüz, zehirlenme, trafik kazası ve uyuşturucu madde kullanımı gibi konularda bilgi edinmemizi sağlayan biyolojik ajanlar olarak kullanılır (5-6-7-8). Ölümden hemen sonra, hayvan veya insan cesetlerinin dokularından yayılan kokular, böcekler ve diğer omurgasızlar için çok çekicidir. Ceset üzerindeki entomolojik örnekler olay yeri inceleme timi tarafından toplanır ve adli entomoloji laboratuvarına gönderilir. Halen yaygın ve pratik olarak böceklerin morfolojik teşhis yöntemi kullanılsa da günümüzde güvenilirliği morfolojik kimliklendirmeden çok daha fazla olduğu bilinen DNA analizi ile teşhis yöntemi geliştirilmiştir. Kimliği belirlenemeyecek kadar çürümüş cesetlerin üzerinde bulunan sinek ve larvaların sindirim sistemindeki kandan DNA tipleme yapılabılır (9).

Bu tez çalışması “İstanbul İli’nde Adli Bilimler Açısından Önemli Calliphoridae Cinslerinin DNA Temelli Yöntemlerle Belirlenmesi “adına yapılan ilk çalışma özelliğini taşımaktadır. Çalışmada toplanan böcek cinsleri İstanbul’daki olay yerlerinde bulunan cesetlerde ölüm zamanı tayini için önem taşımaktadır. Bu nedenle morfolojik teşhislerin doğruluğundan emin olmak için, yapılan moleküler çalışmalarda sitokram oksidaz III (COIII) geni ve sitokram oksidaz IV (COIV) geninin birlikte kullanılarak tür içi coğrafik varyasyonları belirlemek ve tür içi genetik farklılıkları ortaya koyarak

moleküler olarak tanımlanmaları, bölgelere göre farklılık gösterip göstermedikleri, dünyadaki diğer benzer türlerle olan genetik benzerlik/farklılıkları karşılaştırılmasının yapılması amaçlanmıştır.



2.GENEL BİLGİLER

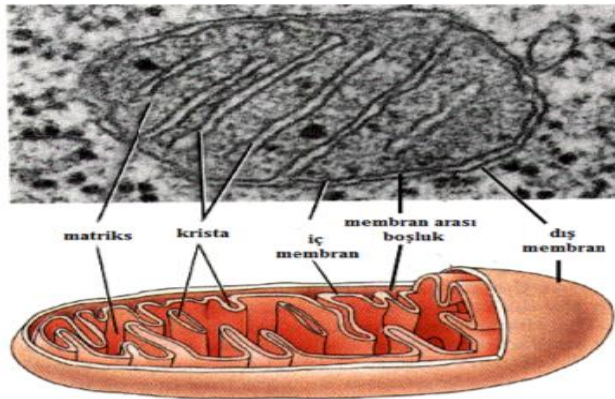
2.1.Mitokondri Adli Entomoloji ve DNA

Sitokrom C Oksidaz Alt Ünite 1 (COI) Geni

2.1.1. Mitokondri

Prokaryotlar ve memeli alyuvarı dışında tüm ökaryotlarda hücrenel reaksiyonların enerji ihtiyacı karşılamak için bulunan çift zarlı organel olan mitokondridir. Yaklaşık 0.5-1 μm boyutludur (10,11). Enerji ihtiyacı dışında programlanmış hücre ölümünde de (apoptoz) görev alırlar. Metabolik faaliyetlerde enerji ihtiyacı karşılamada görev aldığından fazla enerjiye ihtiyaç duyulan hücrelerde sayıca fazladır (12-13-14-15).

Mitokondirinin sahip olduğu çift zarlar bileşim açısından farklılık gösterir. İç zarı olan matrikste mtDNA molekülü bulunur (10). Dış zarı ise lipit yapısında olup geçirgenken, iç zar daha az geçirimlidir. İki zarda da sitozolden içeri gelen gerekli proteinlerin tanımlama ve geçişini sağlayan sistemler bulunur (16).



ŞEKİL 1 : Mitokondri organeli (17)

2.1.1.1. Mitokondriyal DNA Molekülü (MtDNA)

Mitokondrinin kendine ait genetik materyali olan mitokondriyal DNA (mtDNA) mitokondride matrikste bulunur. Mitokondri sitoplazmik olarak bölünerek çoğalmasını gerçekleştirir ve yeni hücrelerini oluşturur. Hücredeki enerji ihtiyacına göre mitokondri sayısı da değişir ve her bir mitokondride de çok sayıda mtDNA kopyası bulunur. Hücre bölünürken nükleer DNA'dan bağımsız olarak mtDNA'sı rasgele olarak yavru hücrelere dağılır. Mitokondriyal DNA (mtDNA), hepsinin aynı olması durumu ve normal mtDNA'ların bir arada olmalarına göre isimlendirilir. Hepsinin bir arada bulunmasına homoplazmi, mutant ve normal mtDNA'ların bir arada olmasına ise heteroplazmi denilir (18).

Mitokondrilerin anneden gelmesinin sebebi, annenin mtDNA'sını bütün yavrularına vermesi ve sadece dişi olan yavruların mtDNA'sını nesillere aktarmasıdır. Bu yüzden mtDNA anasal (maternal) kalıtım gösterir (19).

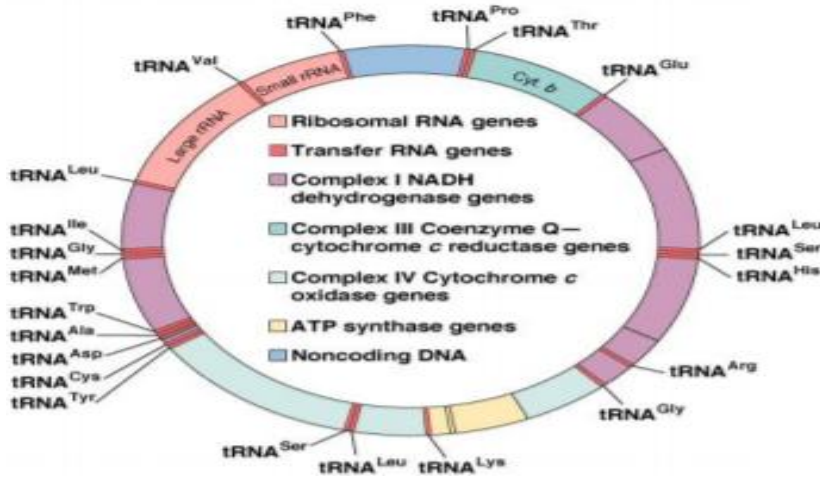
MtDNA, nükleer DNA'dan daha hızlı bir şekilde değişir ve histon benzeri koruyucu proteinleri ve tamir mekanizması içerir (20-21-22). Mutasyonun hızının yüksek olması nükleer DNA'ya göre daha fazla polimorfizm gösterme sebeplerindendir. Hayvansal mtDNA, hızlı evrimleşme göstermesine karşın gen düzenlemeleri durağan olup ve evrimsel süreç gerçekleşirken bu genler değişmemiştir. MtDNA'nın sahip olduğu bu özellikleri ile bu bölgeleri popülasyon genetiği araştırmalarında, evrimsel çalışmalarda ve tür teşhisi yapılırken kullanılması avantaj sağlar (23-24- 25). MtDNA'nın her hücrede çok

sayıda olması, çok küçük dokulardan ya da bozulmuş biyolojik örneklerden mtDNA elde edilmesinde avantaj sağlar (26-27).

Metazoa ve protozoa hayvanlarının mtDNA'sı karşılaştırıldığında protozoalarda mitokondriyal genom boyutunda farklılık var iken metazoalarda gen kodlayan bölgelerin olmaması dikkat çekicidir (28). Bazı istisnalar dışında (Cnidarians, Ctenophores, Poriferans, Placozoans olmak üzere bilateral olmayan canlılar) çok hücreli hayvanların mtDNA'sında 37 gen bulunur (28).

MtDNA molekülü, yapısal olarak çift iplikli ve kapalı halkasaldır. İki ipliğin yoğunluğu farklı olmasından dolayı ağır iplik (H) ve hafif iplik (L) olarak adlandırılır. Kodlanan genlerden 28'i H zincirde ve 9'u L zincirde yer alır (29).

Her mtDNA molekülü kontrol bölgesi bulunur. Kontrol bölgesi, kodlama yapmayan, transkripsiyonun ve translasyonun başlamasından sorumludur (30). Omurgalılarda bu bölge (kuşlar hariç), tRNA^{pro} (prolin) ve tRNA^{phe} (phe) arasında konumlanır (31). Merkezi kontrol bölgesi (D-loop) olarak adlandırılan ve omurgalılarda bulunan bölge, en büyük kodlayan bölgedir (26). Buna karşın omurgasızlarda ise genomdaki kontrol bölgesi çok çeşitlilik gösterir (32). Adenin ve Timin bazları yüksek oranda bulunduğu A+T açısından zengin bölge denir (31- 23-26). Böceklerde evrimsel süreçte bu bölgenin konumu farklı türlerde kontrol bölgesine komşu olan tRNA transpozisyonundaki farklılıklardan dolayı değişiklik gösterir. Bu nedenle bölgenin çoğaltılması için polimeraz zincir reaksiyonunda kullanılacak primer seçimi bu farklılıklar göz önüne alınarak uygun seçilmelidir (31).



ŞEKİL 2 : Mitokondriyal DNA (33)

2.2. Adli Entomoloji ve DNA

Adli araştırmalarda böcek delillerinin analizini yapan kişiler tarafından DNA teknolojisi yaygın bir şekilde kullanılır. DNA kullanımının avantajları; kesin tanı bilgisi sunması, tüm biyolojik dokularda bulunması ve diğer biyolojik moleküllere göre çevresel bozulmalara karşı dirençli olmasıdır.

Genomik DNA, organizmanın tüm içeriği iken, genom biyolojik örneklerden teknikler ile çıkarılan DNA bölgesidir. Locus ise tanımlamada kullanılan DNA bölgesidir. Farklı teknikler kullanılarak bir lokusun bireyler arasında değişen uzunluğu veya sırası ile ilgili çeşitlilikler saptanabilir. Alel, belirli lokuslardaki çeşitlenmedir. Alleller bireyler arasında gözlemlenen farklılıkları belirler. Polimorfizm ise bireyler arasında gözlemlenen farklılıklardır. Biyolojik örnekte DNA testi yapabilmek için bir lokustaki allellerin veya allellerin bir arada olduğu kombinasyonu belirlemek gerekir. Adli DNA testinde amaç, iki veya daha fazla biyolojik örneğin aynı kaynaktan

olduğu ihtimalini belirlemektir. Kanıtlar şüpheli dışındaki bir bireyden elde edildiğinde ise kanıt ile şüpheli arasındaki eşleşme ortaya çıkar ve kişinin suçlu olmadığı kanıtlanmış olur (34).

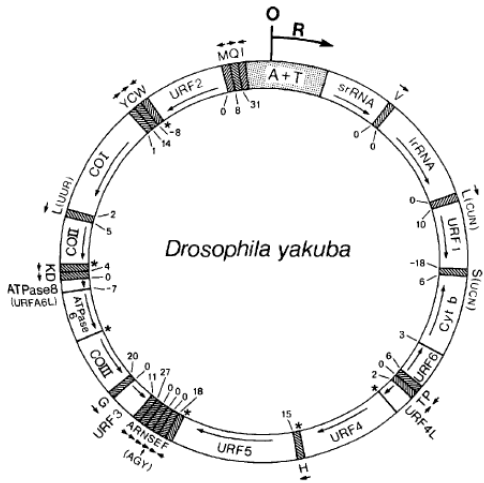
Böcek delillerinin erginlerinin olduğu delillerde morfolojik teşhis yapmak kolay iken, larva ve pupa delillerine rastlandığında morfolojik teşhis yapmak zorlaşır. Larvaların ergin birey halini alması gelmesini beklemek vakit kaybı olacağı için ve larva halini tesbit edecek uzman taksonomistlerin az olması dezavantajları göz önünde bulundurulunca DNA teknikleri böcek delillerinin ergin, larva ve pupa gibi bütün biyolojik dönemlerinde teşhis etmede adli entomologlar için bir avantaj olmuştur. Ayrıca DNA teknolojisi adli entomolojide böceklerin mide içeriğinden insan DNA'sının elde edilmesinde ve cesetten beslenen böcek örneğinden insan kanının DNA'sına ulaşmaya da yardımcı olur (35). Kromozomlardaki nükleotid dizilerinin belirlenmesi ile böcek türü belirlenir (8). Teşhislerde DNA tekniklerinden nükleer DNA ve mtDNA (mitokondriyal DNA) yöntemleri kullanılır.

2.3. Böceklerde Mitokondriyal DNA (mtDNA)

Böceklerde mtDNA, çift iplikli ve kapalı halkasal bir yapıdadır. MtDNA'nın incelenmesi için kullanılan *Drosophila* türleri üzerine yapılan çalışmalarda, memeli ve omurgalılarda aynı genlerin bulunmasına rağmen bu genlerin düzenlemelerinde farklılıklar olduğunu ortaya koymuşlardır (36).

Böcek mtDNA'sı 37 gen kodlanır. Oksidatif fosforilasyonda polipeptidleri kodlayan 13 gen (COI-III, CytB, ND1-6, ND4L, ATP6, ATP8), 2 ribozomal RNA (rrnS ve rrnL) ve translasyonda görevli 22 transfer RNA genom üzerinde konumlanır (23).

Drosophila yakuba (Burla, 1954) mtDNA'sı yapılan ilk böcek türüdür (36). Türün mtDNA'sında ana kodlama zincirinde 9 protein kodlayan gen ve 14 tRNA geni olmak üzere 23 gen bulunur. Hafif zincir olan ters zincirde ise kalan protein kodlayan genlerden 4 tanesi ve 8 tRNA genleri ile 2 rRNA genleri bulunur (37).



ŞEKİL 3: *Drosophila yakuba* mtDNA'sı (38)

Mitokondriyal DNA (mtDNA) 'da tür tayini yapılırken türlerin doğru tanımlanması ile yasal soruşturmada entomolojik delillerin kullanımında tercih edilir. Örneğin; cesete ilk gelen Diptera türlerinin yumurta ve larvalarının morfolojik teşhisinin zor olmasından dolayı mtDNA ile tür tayini yapılması daha güvenlidir. Çünkü yanlış bir teşhis sonucunda soruşturmanın seyri değişebilir. Adli entomologların mtDNA tekniğini kullanarak mtDNA'sının boyut ve

yapısını elde ettiği ilk sinek türü *Drosophila yakuba* türüdür (34). Bu çalışma ile beraber mtDNA'nın adli entomolojide temelleri atılmıştır. Sperling yaptığı çalışmalarda adli açıdan önemli ergin sineklerin mtDNA sekans sonuçlarını aynı türün larva formlarında nasıl kullanacağını açıklayan ilk araştırmacıdır. Wells ve Sperling (2001) bu teknik ile taksonomik olarak ayırt edilmesi zor olan ergin Calliphoridae türlerinin diğer ergin türlerden farklı mtDNA'nın olabileceğini belirlemiştir. Mitokondriyal DNA analizi genellikle iki veya daha fazla numunenin mtDNA dizilerinin karşılaştırılması ile yapılır. Böceklerde sitokrom oksidaz alt ünite birimlerinin bir kısmı veya tamamının dizilenmesi yaygın olarak kullanılır. Eğer bilinmeyen bir örnekten dizi verisi elde edildiyse GenBank veri tabanından BLAST araması yapılarak önceden dizisi tanımlanmış olan örnekler ile karşılaştırılması yapmak mümkündür (35).

Mitokondriyal DNA'nın adli entomolojide tercih edilmesinde; mtDNA'nın bireylere sadece anneden gelmesinden dolayı türler arasında çok daha az çeşitlilik göstermesi, her hücrede çok sayıda kopyasının olması ve tamir mekanizmasının iyi olmasıdır (35).

Günümüze kadar pek çok böcek türüne ait mitokondriyal genom çalışmaları yapılan bazı gruplar; Diptera (36- 39-40-41-42-43- 44-45-46); Lepidoptera (47); Orthoptera (37), Hymenoptera (48), Hemiptera (49-50), Trichoptera'dır (51).

Böcek mitokondriyal genomuna ait yapılan farklı çalışmalarda genom uzunluklarının farklılık gösterdiği görülmektedir. Sineklerde en uzun genom Lewis ve arkadaşları 1994 yılında yaptığı çalışma sonucunda 19,517 baz çifti (bç) ile *Drosophila melanogaster* (Meigen, 1830), en kısa mitokondriyal

genom ise Beckenbach ve arkadaşları 2009 yılındaki çalışmaları ile 14,503 baz çifti (bç) ile *Rhopalomyia pomum* (Gagne, 1975) olmak üzere Diptera sınıfına aittir. Farklı türlere ait genom boyutları tabloda verilmiştir.

Drosophila türleri ile yapılan çalışmalar sayesinde böcek mtDNA replikasyonuna dair bilgiler ortaya konmuştur. Sentezin ilerlemesi, tek yönlü ve asimetriktir. *Drosophila* mtDNA'sının sentezi sırasında ilk zincirin sentezi %99-100 oranında tamamlanmışken tamamlayıcı zincirin sentezi yeni başlamıştır (32-52-53).

Böceklerin gen düzenlemelerinde farklılıklar bulunur. *Drosophila yakuba* (Burla, 1954)'ya ait mtDNA'nın tRNA genleri memelilerdeki gibi organellerde olmayan tRNA'lardan daha çeşitli dizilim gösterir. ATG ATT, ATA mitokondriyal protein genlerindeki translasyonda başlama kodonları iken, ATAA COI de translasyonda başlama kodonudur. TAA ise bu genlerdeki tek sonlanma kodonudur. *Drosophila yakuba*'da mitokondriyal genetik kodu sırası ile AGA, ATA, TGA, serin, izolösin, triptofanı belirler (36). Moleküler böcek sistematüğinde, filocoğrafya ve populasyon genetiğı çalışmalarımda mitogenom kullanımı yaygındır (54).

2.3.1. Böcek MtDNA Kontrol Bölgesi

Mitokondriyal genomda bulunan AT bölgesi, kodlama yapma özelliğı olmayan, mtDNA'nın transkripsiyonu ve replikasyonu başlatmak için kontrol elementi olarak isimlendirilen bölgedir. AT bölgesinin konumu genelde srRNA ve tRNA-I arasındadır (54,55). Canlı gruplarında mtDNA uzunluklarındaki farklılık göstermesinin nedeni, kontrol bölgesindeki baz çifti sayısının farklılık gösterir.

AT bölgesinin yüksek A+T içeriği, böceklerde karakteristik bir durumdur (31). Kontrol bölgesindeki AT yoğunluğu, molekülde bulunan toplam AT içeriğini etkiler.

2.3.2. Sitokrom Oksidaz Altünite 1 (COI) Geni

Moleküler düzeyde yapılan filogenetik ve evrimsel araştırmalar için belirli bir gen belirlemek zorunlu olmasa da COI genin tercih edilmesi sağlayan bazı özellikler vardır.

Solunum zincirindeki temel katalizörü olan COI'nin, biyokimyasal düzeyde iyi oranda çalışması ve tüm aerobik solunum yapan organizmalarda yapısının korunduğu gözlenmiştir (56). Bir diğer tercih sebebi ise mitokondriyal genomun değişen bölgeler içermesidir. COI genin, genom içerisinde protein kodlayan en büyük genlerden biri olması ve sitokrom oksidaz genlerin en büyüğü olmasıdır. Bu durum sayesinde, daha çok sayıda karakteristik özelliğin (nükleotitlerin) çoğalması ve dizilenmesi mümkün olur (57).

mtDNA'nın ilk altünitesi olan ve *Drosophila yakuba*'da 1490-2198 baz çifti (bc)'ne karşılık gelen CO geni (36), DNA barkodlama bölgesi olarak tercih edilir (58-59). Bu bölgenin sahip olduğu moleküler evrimsel oranı, 12S ya da 16S rDNA'ya oranla yaklaşık 3 kat daha büyük olduğu tespit edilmiştir (55). Bu özelliği sayesinde mitokondriyal DNA analizlerinde COI geni kullanılır (60).

2.4.Çalışmada Kullanılan Böcek Türleri ve Bazılarının Özellikleri

2.4.1. Çalışmada Kullanılan Calliphoridae Türlerinin Özellikleri

Çalışmada, *Chrysomya albiceps* (Wiedemann, 1891), *Calliphora vicina* (Robineau-Desvoidy, 1830), *Cynomya mortuorum* (Linnaeus, 1761), *Lucilia ampullacea* (Villeneuve, 1922), *Lucilia illustris* (Meigen, 1826), *Lucilia sericata* (Meigen, 1826) Townsend, 1908), *Lucilia richardsi* (Collin in Richards, 1926), *Lucilia silvarum* (Meigen, 1826) türleri çalışılmıştır.

2.4.1.1. Calliphoridae

Et sinekleri (flesh flies) olarak bilinen familya dünyada geniş yayılıma sahip olup 1000'in üzerinde türe sahiptir. Genelde morfolojik olarak orta boylu olup, metalik mavi ve yeşil renklerde olanlarının dışında bazı türleri vücudun bir kısmı ya da tamamı sarı-kahverengi renklemeler gösterirler. Holometabol başkaşım geçirirler. Çoğunluğu ovipar olsa da larvipar olanları da bulunur. Yumurtalarını çürümek üzere olan çürüme aşamasındaki et ve canlı dokulara, ağız ve burun gibi vücut açıklıklarına, ezilmiş kısımlara, kan lekesi olan ya da ıslak giysilere ve yaralara bırakırlar. Çok sıcak ve kuru havada yumurtalarını cesedin korunakları yerlerine bırakmaları için olay yerinden örnek toplanırken dikkatli olunması gerekir. Besinlerini dışkı, leşler, bozulmuş dokular ve çürümüş bitkisel materyallerden sağlarlar. Cesette oluşan kokuyu antenlerindeki reseptörlerle algılayıp görüş aramasıyla da cesede ilk gelen türler bu familyadadır. Bazı türleri gece, rüzgâr ve yağmurda uçamadıkları için gece çiftleşmeyi ve yumurtlamayı tercih etmemektedir. Hayat döngüsü boyunca 3 ya da 4 sefer yumurtlayarak tek bir defada 300 yumurta bırakırlar. Üç larva dönemi geçirirler ve her dönemde boylarında

büyüme olup, deri değiştirirler. Familyaya ait önemli cinsler Calliphora, Lucilia, Chrysomya, Phormia, Protophormia ve Cochliomyia'dır (61).

2.4.1.2. *Chrysomya albiceps*

Dünyada ve Türkiye'de yayılım gösteren türün vücudu metalik yeşil renktedir (62). Cesetlere ilk gelen sinek türleridir. Çürümüş organik maddeler üzerinde beslenirler. Larvalarının sardırgan ve rakiplerini yok eden beslenme şekilleri sayesinde cesette baskın larvalar olarak bilinir. Pupa ve ergin olarak çabuk gelişmelerinde ısı, ışık ve besin almaları etki gösterir (63).



ŞEKİL 4:Chrysomya albiceps (64)

2.4.1. 3. *Calliphora vicina*

Mavi şişe sineği olarak bilinen türlerdendir. Kozmopolit bir türdür. Genel olarak tüm dünyada yayılım göstermektedir. Erginleri genelde 10-14 mm boyutlarındadır. Baş kısmı siyah, bucca'nın altı (yanakları) kırmızı-turuncu renkte, karın kısmı metalik mavidir. Vücudu tüylerle kaplıdır. *Calliphora vomitoria* ile benzer morfolojik özellikler gösterebilir. *C. vomitoria*'nın başının posterior kenarında kırmızı-turuncu renkte kıllar vardır ve bucca siyah renktedir. Erginleri; çürümüş et, meyve ve dışkıya, cesette ise vücut açıklıkları, burun, ağız ve açık yaraları tercih ederler (65,66).



ŞEKİL 5: Calliphora vicina (67)

2.4.1.4. *Lucilia sericata*

Dış görünüş olarak parlak metalik koyu yeşil ya da bakırimsi renklidir. Ovipar olarak çoğalan tür, tek seferde 50-150 yumurta bırakır. Yumurtalarını koyunların kuyruk altı, karın gibi ter ve idrar bulaşmış yerlerine bırakmaktadırlar. Larvalar yumurtadan 8 saat ile 3 gün içerisinde çıkar. Larvalar 3 larval dönem geçirir. Erginleri insan ve koyunlarda myiasise neden olmaktadır (62).



ŞEKİL 6: Lucilia sericata (68)

3.MATERYAL VE METOT

Sunulan bu çalışmamız 2017 yılında İstanbul ilinde Temmuz-Ağustos aylarını içeren yaz mevsiminde, arazi ve laboratuvar çalışması olarak iki aşamada yürütülmüştür.

3.1. Tuzakların Hazırlanması

İnsan kas dokusuna yapısı itibari ile en çok benzeyen kas dokusuna sahip olması sebebiyle, yeni kesilmiş dana ciğerleri kullanılmasına özellikle dikkat edilmiş olup, deney düzeneklerine dikkatlice yerleştirilmiştir. Çalışmada Şekil 7’de görülen her biri 200 gr ağırlıkta 8 adet dana ciğeri Kartatepe’de bulunan market ve kasaplardan alınmıştır. Ciğerler temin edildikten sonra kapalı olarak 1 lt’lik pet şişeler ağız kısmı kesilip ters çevrilerek ergin sineklerin içeri girmesini ve yumurta bıraktıktan sonra şişenin içinde kalmalarını sağlamak üzere Şekil 8’deki gibi hazırlanmıştır. Yaz olduğundan kurumayı ve kokunun engellenmesi için pet şişelerin içine çok az miktarda su konulmuştur. Bakırköy Kartaltepe Mahallesi ve Ataköy’de bulunan Atapark ikişer adet tuzak yerleştirilmiştir. Sokak hayvanlarının zarar vermemesi için tuzaklar 3m’lik özel bir düzenekle ağaçların üst dallarına asılmıştır.



ŞEKİL 7: Dana ciğerleri (Fotoğraf çekimi Fatma Gizem UĞUR’a aittir.)



ŞEKİL 8: Tuzaklar (Fotoğraf çekimi Fatma Gizem UĞUR'a aittir.)

3.2. Arazi çalışması

Bakırköy Kartaltepe Mahallesi ve Ataköy'de bulunan Atapark arazi çalışması için istasyon olarak seçilmiştir. Arazi seçimi yapılırken alanların birbirinden farklı özelliklere sahip ve yeterince uzak olmasına dikkat edilmiştir. İki istasyon birbirinden yaklaşık olarak 28 km uzaklıktadır. Buradaki amacımız iki düzeneğe gelen türleri karşılaştırarak nekrofaj türleri tespit etmek ve tesadüfen gelip yumurta bırakmadan giden türleri ayırt etmektir. Seçilen bölgelere basit et tuzakları kurulmuştur. Arazi çalışmasında tuzakların ağaca asılma yöntemi ŞEKİL 9' daki verilmiştir.



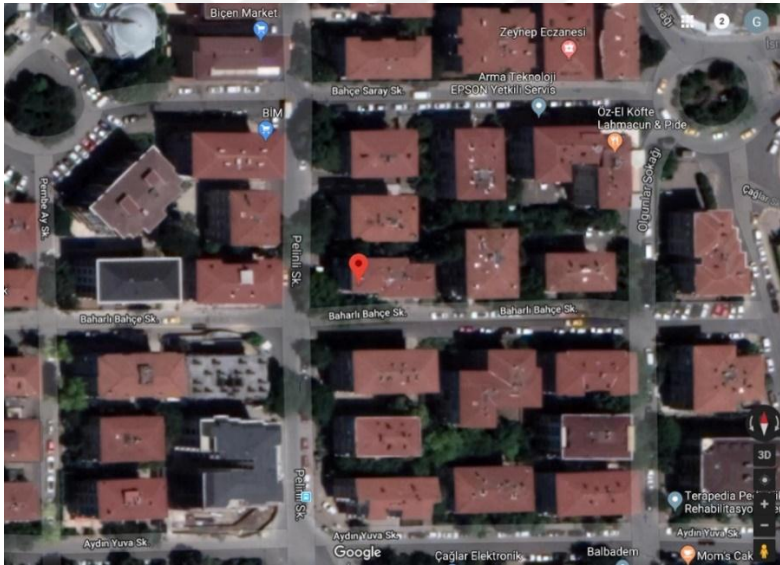
ŞEKİL 9: Tuzakların ağaca asılması (Fotoğraf çekimi Fatma Gizem UĞUR'a aittir.)

3.2.1. Birinci İstasyon

Bakırköy ilçesinde koordinatları $40^{\circ} 59' 41.7''$ enlem ve $28^{\circ} 52' 23.3''$ boylamlarında konumlanmaktadır ve çalışma bölgesi yoğun insan popülasyonuna sahiptir. Şekil 14'de arazi alanı belirtilmiştir.

3.2.1.1. Çalışma alanının bitki örtüsü

Salix alba (Söğüt) ve *Populus canadensis moench* (Kavak) ağaçları, yabani otlar ve çalılıklar baskın durumdadır, arazide tuzakların asılı olduğu ağacın yakınında balıkçı bulunmaktadır.



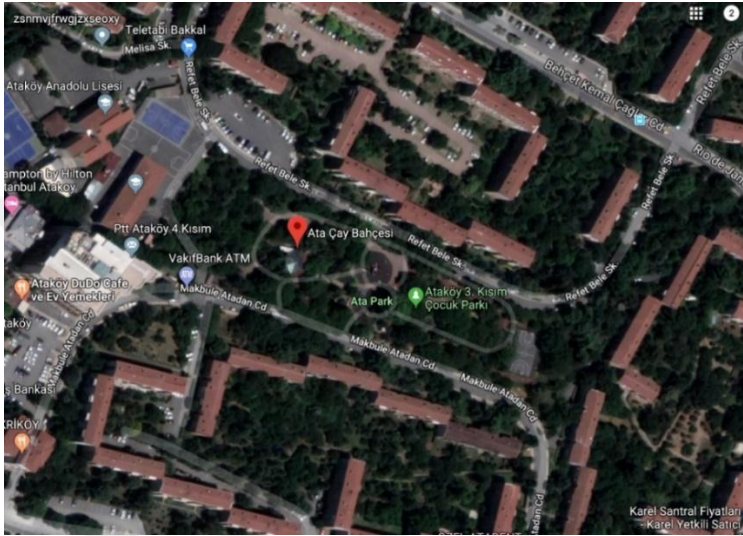
ŞEKİL 10: Kartaltepe arazi istasyonu (69)

3.2.2. İkinci İstasyon

İkinci çalışma alanı olarak, Ataköy'de bulunan $40^{\circ} 58' 56.2368''$ enlem ve $28^{\circ} 51' 47.8044''$ boylamdaki Atapark Çay Bahçesi seçilmiştir.

3.2.2.1. Çalışma alanının bitki örtüsü

Populus canadensis moench (Kavak) ağaçları, *Pinus pinea* (Fıstık çamı) ağaçları, yabancı otlar ve çalılıklar baskın durumdadır, arazide tuzakların asılı olduğu ağacın yakınında çocuk parkı bulunmaktadır. Şekil 11’de arazi alanı belirtilmiştir.



ŞEKİL 11: Atapark arazi istasyonu(70)

3.3. Örneklerin Toplanması

Örnekler toplanırken ergin böcekler ve pupa ciğer üzerinden elle veya pensle toplanarak alkollü özel şişelerde etiketlenmesi soğuk ortamda kalmaları için buzdolabında saklandı. Böcek aktivitesinin yüksek olduğu öğlen saatlerinde çalışma alanına gidilerek örnekler toplandı. Deney alanına çevreden gelebilecek olumsuzluklara karşı kontrolü sağlamak için her gün gidildi. Örnekler eş günde bir toplandı ve yerlerine yenileri asıldı. Bölgenin hava sıcaklığı verilerinin bir kısmı devlet meteoroloji istasyon’undan alındı. Şekil 12’de arazide örneklerin toplanması belirtilmiştir.



ŞEKİL 12: Arazide örneklerin toplanması (Fotoğraf çekimi Fatma Gizem UĞUR'a aittir.)

3.4. Laboratuvar Çalışması

Çalışma kapsamında iki aşamalı olarak laboratuvar çalışması gerçekleştirilmiştir. Bu aşamalar teşhislerin yapılması ve DNA izolasyonu ve polimeraz zincir reaksiyonunun gerçekleştirilmesi şeklinde yapılmıştır.

3.4.1. Teşhis aşaması

Teşhis aşaması, Ankara Üniversitesi Adli Bilimler Enstitüsü Adli Biyoloji Anabilim Dalı'nın Adli Entomoloji/Adli Biyoloji Laboratuvarı'nda Uzm. Dr. Halide Nihal AÇIKGÖZ ile beraber teşhisi gerçekleştirildi.

3.4.2. DNA İzolasyonu-Polimeraz Zincir Reaksiyonu

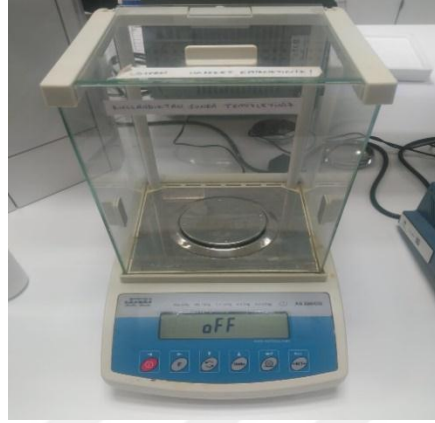
Teşhisler tamamlandıktan sonra Üsküdar Üniversitesi Altunizade Merkez Yerleşke'de Moleküler Biyoloji ve Genetik Laboratuvarı'nda genomik DNA izolasyonu ve Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) yapıldı.

Böcekler alkolle yıkandıktan sonra her birinin ağırlığı tartı (RADWAg marka) (Şekil 13 (B)) ile ölçüldü ve not edildi. Böcekler 250µL PBS (fosfat tamponlu salin)

eklenerek, homojenizatörde (MagNa Lyser (Roche)) (Şekil 13 (A)), 4500 rpm 50 s' de 6 tekrar yapılarak ezildi.



(A)



(B)

Şekil 13: (A) Homojenizatör (B) Tartı

Sonrasında DNA izolasyon işlemine başlandı. Bunun için DNA izolasyonu için invitrogen Purelink Genomik DNA Mini Kit'in Kan lizat protokolündeki sırasıyla aşağıdaki gibi uygulandı.

-Lizatların hazırlanmasında kan lizatı (Preparing Lysates: Blood Lysates),

-DNA'nın bağlanması (Binding DNA)

-DNA elüsyonu (Eluting DNA)

3.4.2.1. Lizatların hazırlanmasında kan lizatı (Preparing Lysates: Blood Lysates)

Ezilen böcek örneklerine 20 µL Proteinaz K (kitle birlikte verilir) ve 20 µL RNase A (kitle birlikte verilir) ekleyerek kısa bir süre karıştırıldı. Vorteksleme işlemi (Stuart- BioCote (Şekil 14 (B)) gerçekleştirilerek oda sıcaklığında 2 dakika inkübe

edildi. 200 μ L PureLink® Genomik Lizis/Binding Buffer'ı mikro pipetle (Eppendorf (Research plus) (Şekil 14 (A)) ekleyerek karıştırılıp, homojen bir çözelti elde etmek için vortekslendi. Protein ayrışması için 55°C' de 10 dakika fırın ile inkübe (Thermo oven Şekil 14 (C)) edildi. Lizata 200 μ L %96-100 etanol ekleyerek homojen çözelti elde etmek için 5 saniye vortekslendi.



(A)



(B)



(C)

Şekil 14: (A) Mikro pipet (B) Vorteks (C) Fırın

3.4.2.2. DNA Bağlama (Binding DNA)

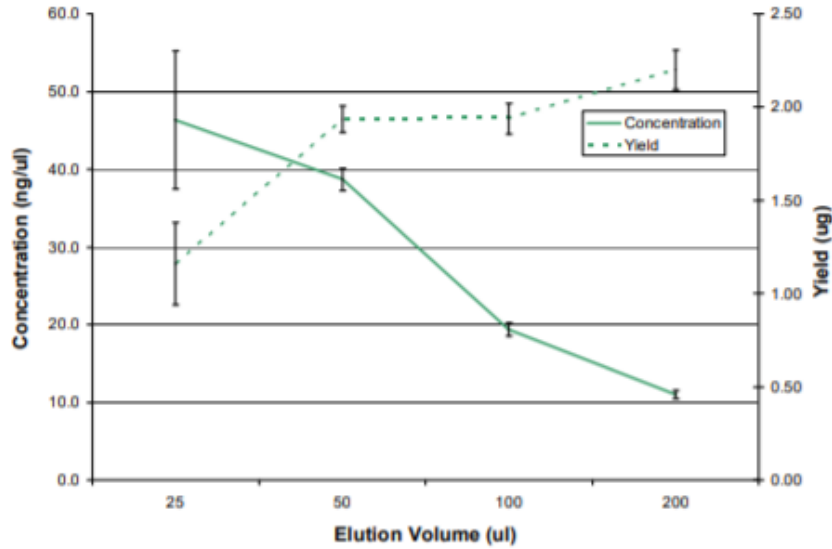
DNA bağlama Yıkama Tamponu 1 ve Yıkama Tamponu 2 'nin eklenmesi olarak iki aşamada gerçekleştirildi. Kolona etanolle hazırlanan 500 μ L Yıkama Tamponu 1 eklendi. Örnek oda sıcaklığında 1 dakika boyunca 10.000 \times g'de örnek santrifüjlendi. Toplama tüpü atılarak ve kolon temizlenerek izole edilip yeni temiz toplama tüpü içine yerleştirildi. Örnekler kolon etanol ile hazırlanan 500 μ L Yıkama Tamponu 2 eklenerek toplama tüpüne alındı. Oda sıcaklığında 3 dakika boyunca maksimum hızda santrifüjlenmiş (Beckman Coulter) (Şekil 15), sonrasında toplama tüpü atılarak örnekler yeni toplama tüpüne yerleştirildi.



Şekil 15: Santrifüj

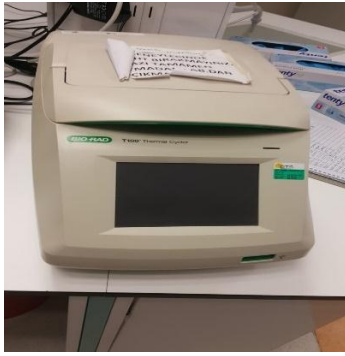
3.4.2.3. DNA elüsyonu (Eluting DNA)

Örnekler steril bir 1.5 mL mikrosantrifüj tüpüne yerleştirildi. Çalışma için Tablo 2’de görüldüğü üzere Optimum 50 mikro litre kullanmanın uygun olacağı kolona 50 µL Elüsyon Tamponu’nun (Genomik Elution Buffer) elde edilecek DNA optimum olduğu belirtmiştir bu sebeple kolona 50 mikro eklenmiştir. Örnekler oda sıcaklığında 1 dakika inkübe edilerek 1 dakikada maksimum hızda santrifüjlenip elde edilen DNA uzun süreli kullanılacağından toplama tüplerinde -20°C’de saklandı. En uygun konstrasyon için birinci seçenek olarak eğer örneğe çok fazla elüsyon tamponu (elution buffer) eklersek konsantrasyonun, ikinci seçenek olarak da az koyarsak kolondan alınacak verimin artacağı tespit edildiğinden elüsyon hacmi grafiğinden bakılarak 50ml olarak kullanmasına karar verildi (Grafik 1) ve tampon çözelti ekledikten sonra vorteksleme işlemi gerçekleştirildi.

Grafik 1: Elüsyon hacmi grafiği

3.4.3. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)

PZR EconoTaq® PLUS GREEN 2X Master Mix protokolüne göre 1 örnek için reaksiyon hacmi 25 µl olarak alınmış, reaksiyon birleşenleri Tablo 1’de verilmiştir. Örneklerde karışım miktarlarını dengeli tutmak için, DNA hariç tüm malzemeler bir mikrosantrifüj tüpünde karıştırıldı. Her bir PCR tüpüne 24 µl reaksiyon karışımı ve üzerlerine örnek DNA’sından 1 µL kondu ve BİO-RAD T100 (Şekil 16) ile aşağıdaki koşullarda amplifikasyon gerçekleştirildi (Tablo 2). Polimeraz zincir reaksiyonunun aşamaları Tablo 3’teki gibi uygulandı. Yöntemde kullanılan primerler Saskia vd., 2009 yılındaki makalesi referans olarak seçilmiştir. Yöntemde kullanılan primer C1-N-2191-COI CCCGGTAAAATTAAAATATAAACTTC (Simon *et al.*, 1994) ve C1-J-1718-COI GGAGGATTTGGAAATTGATTAGTTCC (Simon *et al.*, 1994) ‘dir. Her bir örnek için 2 primer kullanılmış ve iki ayrı reaksiyon gerçekleştirilmiştir.



ŞEKİL 16: PZR cihazı

TABLO I: PZR işleminde reaksiyon birleşenleri

Reaksiyon Bileşeni	Hacim 1 örnek için
EcoTaq Plus Master mix	12.5 Ml
F Primer	1 µL
R Primer	1 µL
NF H ₂ O	9.5 µL
DNA template	1 µL
Toplam hacim	25 µL

TABLO II: Polimeraz zincir reaksiyonu şartları

Sıcaklık	Süre		Evreler
95 °C	5 dakika		Ön denatürasyon
95°C	1 dakika		Denatürasyon
54°C	1 dakika	X 30 döngü	Bağlanma
72°C	30 saniye		Uzama
72°C	7 dakika		Son uzama
4°C derece			Sonlanma

3.4.4. Agaroz Jel Elektroforezi

İzole edilen genomik DNA örnekleri ve Polimeraz zincir reaksiyonu ile amplifikasyonu yapılan ürünler sırasıyla %1 ve %1,5'lik oranda hazırlanan agaroz jelde 110 voltta 60 dakika yürütüldü ve 20 dakikada bir görüntü alındı. 100 bc'lik (baz çifti)

DNA ladder kullanılarak tek ve temiz bir bant görüntülenmiştir. Beklenen yerde gözlemlenen ürünlerin bir kısmı jele yüklenerek ependorf tüplere alınıp dizileme işlemi için saflaştırıldı. Kalan PZR ürünü dizilemeye gönderildi.

3.4.5. Elektroforez ve Sonuçlarının Yorumlanması

3.4.5.1. Sekans İşlemi

Örnekler sekans işlemi için Ankara'da bulunan BM Laboratuvar Sistemleri (MacroGen)' ne yollandı. Kitin prosedüründeki aşamalar aşağıdaki gibi gerçekleştirilmiştir.

1. ExoSAP-IT™ reaktifi -20 ° C dondurucan çıkarıldı ve işlem boyunca buzda bekletildi.

2. 2 µL of ExoSAPIT™ reaktifi ile 5 µL PZR ürünü karıştırılarak 7 µL reaksiyon hacmi elde edildi. PZR ürünü 5 µL fazla olduğu zamanlarda ExoSAPIT™ reaktifi oranlı artırılarak kullanılmalıdır.

3. Kalan primer ve nükleotidler için 37° C'de 15 dakika inkübe edildi.

4. ExoSAP-IT™ reaktifini uzaklaştırmak için 80 37° C'de 15 dakika inkübe edildi.

5. Bu işlemlerden sonra PCR ürünü olan DNA'lar analiz işlemlerine hazır hale gelmiştir. Analizler yapılana kadar -20 C'de saklanmasıdır.

Sanger Dizileme örnekleri için, MacroGen Hollanda laboratuvarında, ABI 3730XL Sanger dizileme cihazı (Applied Biosystems, Foster City, CA) ve BigDye

Terminator v3.1 Cycle Dizileme Kitinin (Applied Biosystems, Foster City, CA) protokolü kullanıldı (71).

3.4.5.2. Blast Sonuçlarının Yorumlanması

Gelen sonuçlar FinchTv Version 1.4.0. 2004-2006 Geospiza Inc. ile incelendi. Sonrasın da ABI 3730XL Sanger dizileme cihazı ile dizilenen baz sırası, Finch Tv programında görüntülendi ve işaretleme yapılarak Blast Sequence seçeneğinden nükleotid Blast seçeği seçildi. Bu seçenek NCBI'da yönlendirir. Çıkan NCBI internet sayfasında FASTA sekansları görüldü. Sayfadan nükleotid kolleksiyonu seçilerek BLAST butonuna basıldı. Karşımıza yüklenmiş olan türe yakın olan türlerin sonuçları listendi. Aynı türe ait verilerle kıyaslanarak sekans dizisi bilinen türlere ait gen dizilerinin doğruluklarına ve türlerin yakın olduğu diğer türlerin karşılaştırılması PHYLIP programı ile ağaçlar çizildi ve Bootstrap gerçekleştirilerek % olarak doğruluğu kontrol edildi.

4.BULGULAR

4.1. Mitokondriyal DNA Sitokrom C Oksidaz Altünite I Bölgesinin Dizilenmesi

ABI 3730XL Sanger dizileme cihazı (Applied Biosystems, Foster City, CA) ile dizilenen baz sırası, Finch Tv programında görüntülenmiş ve Word formatına aktarılmıştır. NCBI'da yüklenmiş olan aynı türe ait verilerle kıyaslanarak sekans dizilerinin türlere ait gen dizisi olduğu aşağıdaki gibi doğrulanmıştır.

4.2. Sekans Sonuçları

4.2.1. Türün adı: *C.albiceps*

Sekans sonucu:

GGATTCGGATAATTTCTCATATTATTAGTCAAGAATCAGGAAAAAAGGAAA
 CATTGGATCTTTAGGAATAATTTATGCAATATTAGCTATTGGTCTATTAGG
 ATTTATTGTATGAGCTCATCATATATTTACTGTAGGAATGGATGTAGATACT
 CGAGCATATTTTACTTCAGCTACAATAATTATTGCTGTACCAACTGGAATTA
 AAATTTTATGTTGATTAGCAACTCTTTATGGAACACAATTAATTAATTAATTA
 AGCTACCTTATGAGCTTTAGGATTTGTATTTTATTTACTGTAGGAGGATTA
 ACTGGAGTTGTTTTAGCTAATTCATCTATTGATATTATTTTACATGATACATA
 TTATGTAGTAGCTCACTTCCATTATGTTCTTTCAATAGGAGCTGTATTCGCTA
 TTATAGCAGGATTCGTTTCATTGATTCCCATTATTCACG

4.2.2. Türün adı: *L.silvarum*

Sekans sonucu:

AACTTTATACTTTATTTTTGGAGCTTGATCCGGAATAATTGGAACCTTCTTTAA
 GAATTTTAATTCGAGCCGAATTAGGACACCCTGGAGCATTAAATTGGAGATG
 ACCAAATTTATAATGTAATTGTTACAGCTCATGCTTTTATTATAATTTTTTTT
 ATAGTAATACCAATTATAATTGGAGGGTTTGGAAATTGATTAGTTCCATTAA
 TACTAGGAGCTCCAGATATAGCATTTCCTCGAATAAATAATATAAGTTTTTG
 ACTTTTACCTCCTGCATTAACCTTTATTATTAGTTAGTAGTATAGTAGAAAAC
 GGGGCTGGAACAGGATGAACAGTTTACCCACCTCTATCTTCTAATATCGCCC
 ATGGAGGAGCTTCTGTAGATTTAGCTATTTTTCTCTCTCCACTTAGCAGGAAT
 TTCTTCAATTTTAGGAGCTGTAAATTTTATTACTACAGTTATTAATATACGAT
 CAACAGGAATTACTTTTGACCGAATACCTTTATTTGTATGATCAGTAGTAAT
 TACAGCTTTATTACTTTTATTATCATTACCTGTATTAGCAGGGGCTATTACAA
 TACTTTTAACAGATCGAAATCTTAATACATCATTCTTTGACCCTGCAGGAGG
 AGGAGACCCAATTCTATACCAACATTTATTTTGATTCTTCGGACACCCTGAA
 GTTTACATTTTAATTTTACCTGGATTTGGAATAATTTCTCATATTATTAGTCA
 AGAATCAGGTAAAAAGGAAACATTCGGTTCATTAGGAATAATTTATGCCAT
 ATTAGCTATTGGATTATTAGGATTTATTGTTTGAGCTCACCATATATTTACAG
 TAGGAATAGACGTTGATACACGAGCTTATTTTACTTCAGCTACTATAATTAT
 TGCCGTACCAACTGGAATTAATAATTTTATAGTTGATTAGCAACTCTTTATGGA
 ACCCAATTAAACTATTCTCCTGCTACTTTATGAGCCTTAGGATTTGTATTTTT
 ATTTACTGTAGGAGGTTTAACTGGAGTTGTTTTAGCTAACTCTTCAGTTGAT
 ATTATTCTACATGATACATATTATGTAGTAGCTCATTTCATTATGTTTTATC

AATAGGAGCTGTATTTGCTATTATAGCAGGATTTGTTTCATTGATACCCTCTA
 TTTACAGGATTAAC TTAAATACTAAAATACTAAAAAGTCAATTTACTATTA
 TATTTATTGGAGTAAATTTAACATTTTTCCCTCAACATTTTTTAGGGTTAGCA
 GGAATACCACGACGATATT

4.2.3. Türün adı: *L.richardsi*

Sekans sonucu:

AACTTTATACTTTATTTTTGGAGCTTGATCCGGAATAATTGGAAC TTCTTTAA
 GAATTTTAATTCGAGCCGAATTAGGACACCCTGGAGCATTAAATTGGAGATG
 ATCAAATTTATAATGTAATTGTTACAGCTCATGCTTTTATTATAATTTTTTTT
 ATAGTAATACCAATTATAATTGGAGGGTTTGGAAATTGATTAGTTCCACTAA
 TACTAGGAGCTCCAGATATAGCATTCCCTCGAATAAACAATATAAGTTTTTG
 ACTTTTACCCCCTGCATTAAC TT TATTATTAGTTAGTAGTATAGTAGAAAAC
 GGAGCTGGAACAGGATGAACAGTTTACCCACCTCTATCTTCTAATATCGCCC
 ATGGAGGAGCTTCTGTAGATTTAGCTATTTTTCTCTCTCCACTTAGCAGGAAT
 TTCTTCAATTTTAGGAGCTGTAAATTTTATTACTACAGTTATTAATATACGAT
 CAACAGGGATTACTTTTGACCGAATACCTTTATTTGTATGATCAGTAGTAAT
 TACAGCTTTATTACTTTTATTATCTTTACCTGTACTAG
 CAGGAGCTATTACAATACTTTTAAACAGATCGAAATCTTAATACATCATTCTT
 TGACCCTGCAGGAGGAGGAGATCCAATTCTTTACCAACATTTATTTTGATTC
 TTCGGACACCCTGAAGTTTACATTTTAATTTTACCTGGATTTGGAATAATTC
 TCATATTATTAGTCAAGAATCAGGTAAAAAGGAAACATTCGGTTCATTAGG
 AATAATCTATGCTATATTAGCTATTGGATTATTAGGATTTATTGTTTGAGCTC
 ATCATATATTTACAGTAGGAATAGACGTTGATACACGAGCTTATTTTACTTC

AGCTACTATAATTATTGCTGTACCAACTGGAATTAATAATTTTTAGTTGATTA
 GCAACTCTTTATGGAACTCAATTAATAATTATTCTCCTGCTACTTTATGAGCTTT
 AGGATTTGTATTTTTATTTACTGTAGGAGGTTTAACTGGAGTTGTTTTAGCTA
 ACTCTTCAGTTGATATTATTTTACATGATACATATTATGTAGTAGCTCACTTC
 CATTATGTTTTATCAATAGGAGCTGTATTTGCTATT
 ATAGCAGGATTTGTTTCATTGATACCCTTTATTTACAGGATTAACTTTAAATA
 CTAAAATACTAAAAAGTCAATTCACTATTATATTTATTGGAGTAAATTTAAC
 ATTCTTCCCTCAACATTTTTTTAGGATTAGCAGGAATACCACGACGATATT

4.2.4. Türün adı: *C.vicina*

Sekans sonucu:

GGATTCGGATAATTTACATATTATTAGCCAAGAATCAGGAAAAAAGGAAA
 CTTTTGGTTCATTAGGAATAATTTATGCTATATTAGCTATTGGATTATTAGGA
 TTTATTGTATGAGCTCATCATATATTTACAGTAGGGATAGACGTTGATACTC
 GAGCTTATTTTACATCAGCTACTATAATTATTGCTGTCCCAACAGGAATTA
 GATTTTTAGTTGATTAGCAACTCTTTATGGTACCCAATTAATTCTTCCCCAG
 CTACTTTATGAGCCTTAGGGTTTGTATTCTTATTTACAGTAGGAGGATTAAC
 AGGAGTTATTTAGCTAATTCTTCAGTAGACATTATTCTTCATGATACATATT
 ATGTAGTTGCCCATTTCCATTATGTATTATCTATAGGAGCTGTATTCGCTATT
 ATAGCAGGATTCGTTCACTGATACCATTATTCACTGGGA

4.2.5.Türün adı: *L.sericata*

Sekans sonucu:

TGGATTTGGAATAATTTCTCATATTATTAGTCAAGAATCAGGTAAAAAGGA
AACATTCGGTTCATTAGGGATGATTTATGCCATATTAGCTATTGGATTATTA
GGATTTATTGTTTGAGCTCATCATATATTCACAGTAGGAATAGACGTTGATA
CACGAGCTTACTTTACTTCAGCTACTATAATTATTGCTGTACCAACTGGAAT
TAAGATTTTTAGTTGATTAGCAACTCTTTATGGAACTCAATTAACTATTCC
CCTGCTACTTTATGAGCTTTAGGATTTGTATTTTTATTCACTGTAGGAGGTTT
AACTGGAGTTGTTTTAGCTAACTCTTCAGTTGATATTATTTTACATGATACAT
ACTATGTAGTAGCTCACTTCCATTATGTTTTATCAATGGGAGCTGTATTTGCT
ATTATAGCAGGATTTGTTCACTGATATCCATTATTCA

4.2.6.Türün adı: *L.ampullaca*

Sekans sonucu:

AATTTCTCATATTATTAGTCAAGAATCAGGAAAGAAGGAAACATTTGGATC
ACTAGGAATAATTTATGCTATATTAGCTATTGGATTACTAGGATTTATCGTA
TGAGCTCATCATATATTTACTGTAGGTATAGACGTTGATACTCGAGCTTACT
TACTTCAGCTACTATAATTATTGCTGTACCAACTGGAATTAATAATTTTTAGT
TGATTAGCAACTCTTTATGGAACTCAATTAAATTATTCTCCTGCTACTTTATG
AGCTTTAGGGTTTGTATTTTTATTACAGTAGGAGGTCTAACTGGAGTTGTT
TTAGCTAATTCTTCAGTTGATATTATTTTACATGATACATACTATGTAGTAGC
TCATTTCCATTATGTACTTTCAATGGGAGCTGTATTTGCTATTATAGCAGGAT
TTGTTCAATTGATACCCATTATTAC

4.2.7. Türün adı: *L.illustris*

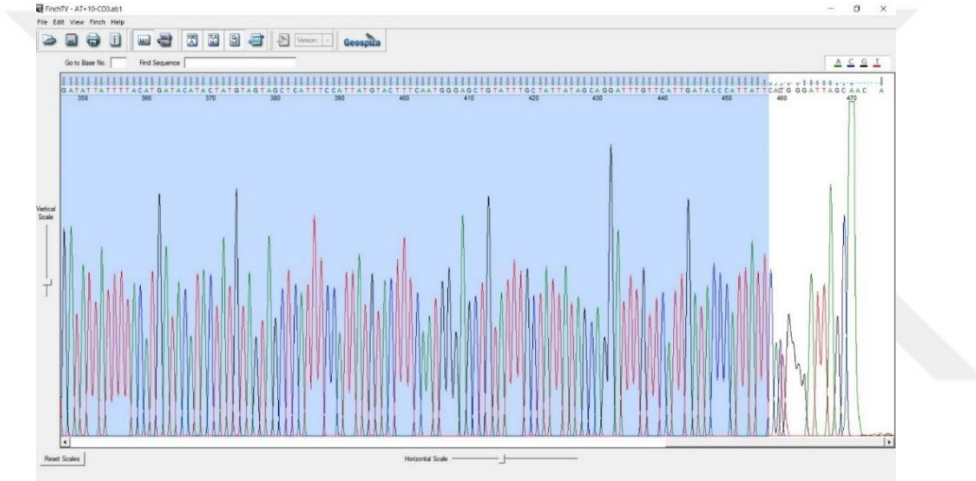
Sekans sonucu:

TACTTTATACTTTATTTTTGGAGCTTGATCCGGTATAATCGGAACTTCATTAA
 GAATTTTAATTCGAGCTGAATTAGGACACCCTGGTGCATTAATTGGAGATGA
 CCAAATTTATAATGTAATTGTTACAGCTCATGCTTTTATTATAATTTTCTTTA
 TAGTAATGCCAATTATAATTGGAGGATTTGGAAATTGATTAGTTCCTTTAAT
 ATTAGGAGCTCCAGATATAGCATTCCCTCGAATAAATAATATAAGATTTTGA
 CTTTTACCTCCTGCATTAACTTTACTATTAGTAAGTAGTATAGTAGAAAACG
 GAGCTGGAACAGGATGAACAGTTTACCCTCCTTTATCATCTAATATCGCTCA
 TGGAGGGGCTTCTGTTGATTTAGCTATTTTTTCTCTTCATTTAGCAGGAATTT
 CATCAATTTTAGGAGCTGTAAATTTTATTACTACAGTTATTAATATACGATC
 AACAGGGATTACTTTTGATCGAATGCCTTTATTTGTTTGATCAGTAGTAATT
 ACAGCTTTATTACTTTTATTATCATTACCAGTATTAGCTGGAGCTATTACTAT
 ACTTTTAACTGATCGAAATCTTAATACTTCATTCTTTGACCCAGCAGGAGGA
 GGAGACCCAATTTTATATCAACATTTATTTTGATTCTTTGGTCATCCTGAAGT
 TTATATTTTAATTTTACCTGGATTTGGAATAATTTCTCATATTATTAGTCAAG
 AATCAGGAAAGAAGGAAACATTCGGATCACTAGGAATAATTTATGCTATAT
 TAGCTATTGGATTATTAGGATTTATTGTATGAGCACATCACATATTTACTGT
 AGGGATAGACGTTGATACTCGAGCTTACTTTACTTCAGCTACAATAATTATT
 GCTGTACCAACTGGAATTAATAATTTTTAGTTGATTAGCAACTCTTTATGGAA
 CTCAATTAAATTATTCTCCTGCTACTTTATGAGCTTTAGGGTTTGTATTTTA
 TTCACAGTAGGAGGATTAACCTGGAGTTGTTTTAGCTAATTCTTCAGTTGATA
 TTATTTTACATGATACATATTATGTAGTAGCTCATTTTCACTATGTATTATCA

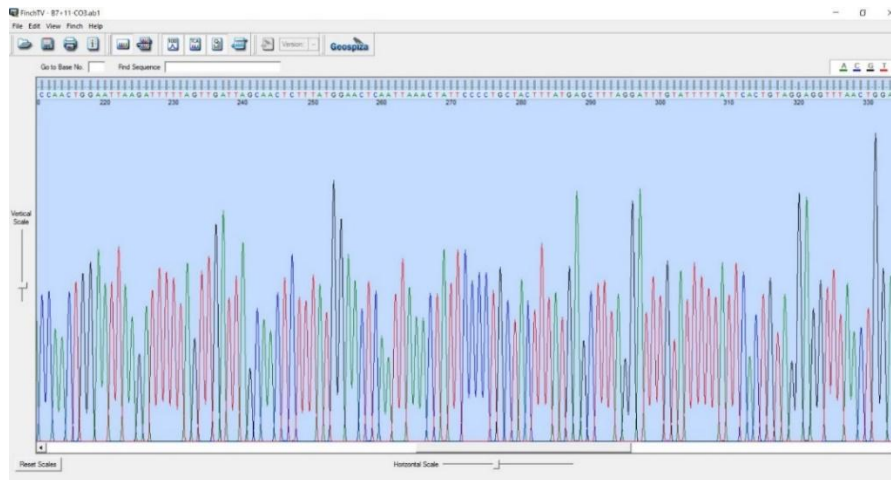
ATAGGAGCTGTATTTGCTATTATAGCAGGATTCGTTTCATTGATATCCTCTATT
TACAGGACTAACTTTAAATGCAAAGATGTTAAAGAGTCAATTTACTATTATA
TTTATTGGAGTAAATTTAACTTTCTTCCCTCAACATTTTTTTAGGACTAGCAGG
AATACCACGACGATACT

4.3. Sekans sonuçları

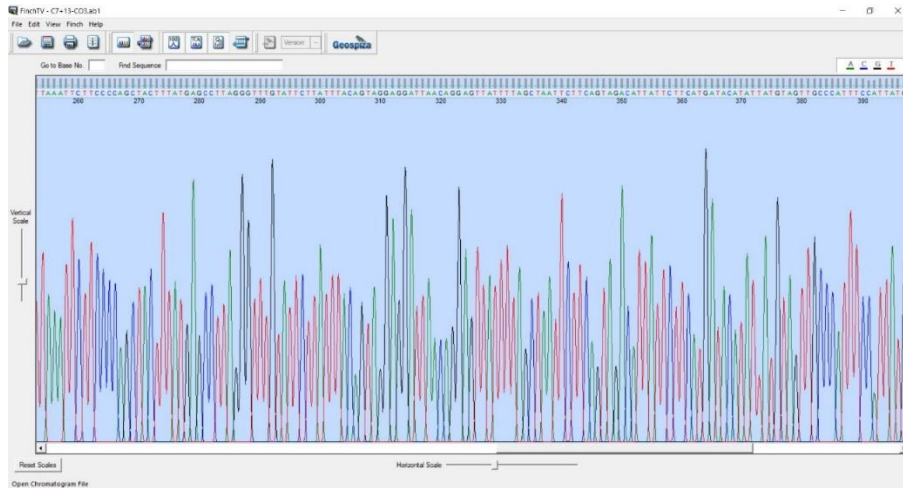
4.3.1. *Chrysomya albiceps* Finch Tv programında görüntüsü



4.3.2. *Lucilia silvarum* Finch Tv programında görüntüsü



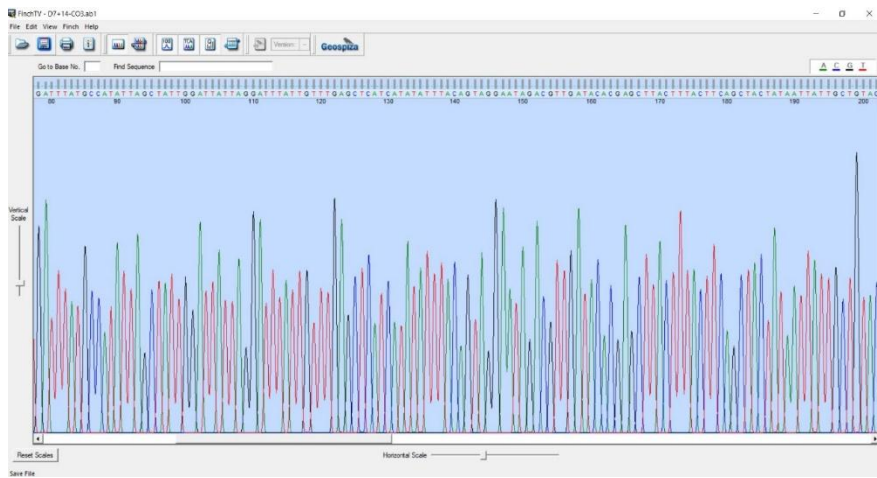
4.3.3. *Calliphora vicina* Finch Tv programında görüntüsü



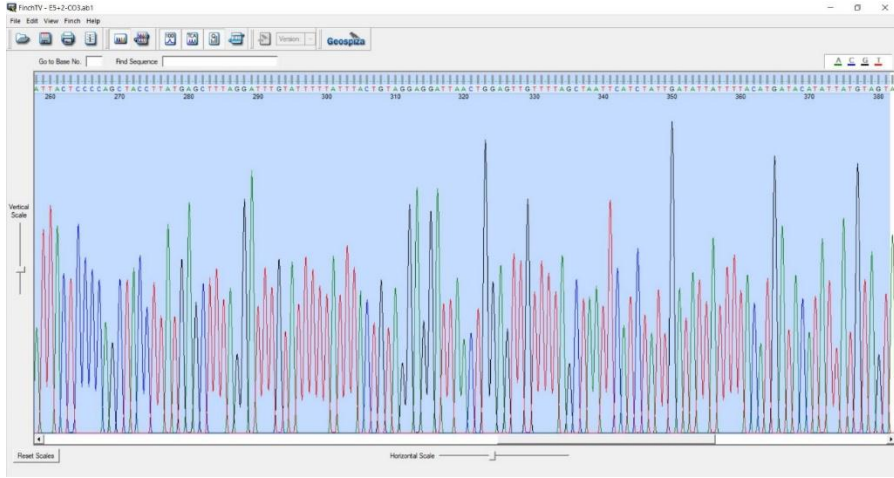
4.3.4. *Lucilia richardsi* Finch Tv programında görüntüsü



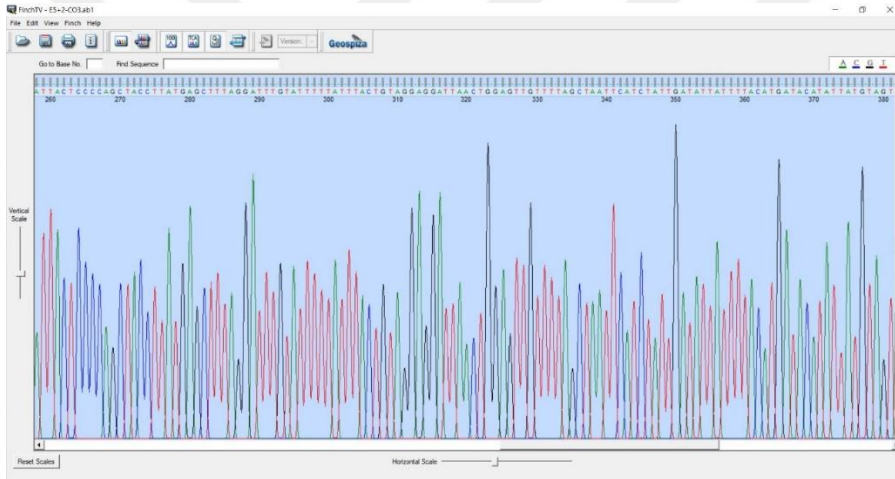
4.3.5. *Lucilia sericata* Finch Tv programında görüntüsü



4.3.6. *Lucilia ampullaca* Finch Tv programında görüntüsü



4.3.7. *Lucilia illustris* Finch Tv programında görüntüsü



4.4. Blast Sonuçları

Blast sonuçları örneklerdeki türlerin en yakın türlerin benzerlik oranlarını göstermektedir. 7 türünde NCBI'dan elde edilen benzerliklerdeki ilk beş türü tablolar oluşturularak aşağıda listelenmiştir.

4.4.1. *Chrysomya albiceps* Blast Sonuçları

Tür adı	Accession	Query coverage	Identity	E value
<i>Chrysomya albiceps</i>	KM407601.1	%100	%99.78	0.0
<i>Chrysomya albiceps</i>	KM434348.1	%100	%99.78	0.0
<i>Chrysomya albiceps</i>	KM434347.1	%100	%99.78	0.0
<i>Chrysomya albiceps</i>	KM434345.1	%100	%99.78	0.0
<i>Chrysomya albiceps</i>	KM434342.1	%100	%99.78	0.0

4.4.2. *Lucilia silvarum* Blast Sonuçları

Tür adı	Accession	Query coverage	Identity	E value
<i>L.silvarum</i>	KJ394941.1	%100	%100	0.0
<i>L.silvarum</i>	KJ394954.1	%100	%99.92	0.0
<i>L.silvarum</i>	KJ394952.1	%100	%99.92	0.0
<i>L.silvarum</i>	KJ394947.1	%100	%99.92	0.0
<i>L.silvarum</i>	KJ394942.1	%100	%99.84	0.0

4.4.3. *Calliphora vicina* Blast Sonuçları

Tür adı	Accession	Query coverage	Identity	E value
<i>C.vicina</i>	KX893332.1	%99	%99.33	0.0
<i>C.vicina</i>	KX893331.1	%99	%99.33	0.0
<i>C.vicina</i>	KJ394644.1	%99	%99.33	0.0
<i>C.vicina</i>	KJ394641.1	%99	%99.33	0.0
<i>C.vicina</i>	KJ394625.1	%99	%99.33	0.0

4.4.4. *Lucilia richardsi* Blast Sonuçları

Tür adı	Accession	Query coverage	Identity	E value
<i>L.richardsi</i>	KJ394921.1	%100	%100	0.0
<i>L.richardsi</i>	KJ394928.1	%100	%99.92	0.0
<i>L.silvarum</i>	KJ394941.1	%100	%98.04	0.0
<i>L.silvarum</i>	KJ394954.1	%100	%97.96	0.0
<i>L.silvarum</i>	KJ394952.1	%100	%97.96	0.0

4.4.5. *Lucilia sericata* Blast Sonuçları

Tür adı	Accession	Query coverage	Identity	E value
<i>L.sericata</i>	MH673342.1	%100	%99.56	0.0
<i>L.sericata</i>	MH673341.1	%100	%99.56	0.0
<i>L.sericata</i>	MH673339.1	%100	%99.56	0.0
<i>L.sericata</i>	MH673338.1	%100	%99.56	0.0
<i>L.sericata</i>	MH673337.1	%100	%99.56	0.0

4.4.6. *Lucilia ampullaca* Blast Sonuçları

Tür adı	Accession	Query coverage	Identity	E value
<i>L.ampullaca</i>	KJ394760.1	%99	%99.77	0.0
<i>L.ampullaca</i>	KJ394741.1	%99	%99.77	0.0
<i>L.ampullaca</i>	KJ394736.1	%99	%99.77	0.0
<i>L.ampullaca</i>	KJ394718.1	%99	%99.77	0.0
<i>L.ampullaca</i>	KF225234.1	%99	%99.77	0.0

4.3.7 *Lucilia illustris* Blast Sonuçları

Tür adı	Accession	Query coverage	Identity	E value
<i>L.illustris</i>	KJ394920.1	%100	%100	0.0
<i>L.illustris</i>	KJ394906.1	%100	%99.92	0.0
<i>L.illustris</i>	KM657109.1	%100	%99.76	0.0
<i>L.illustris</i>	KT272845.1	%100	%99.69	0.0
<i>L.illustris</i>	KM657110.1	%100	%99.69	0.0

4.4. Çalışmadaki Türlerle Bağlı Benzerlik Ağaçları

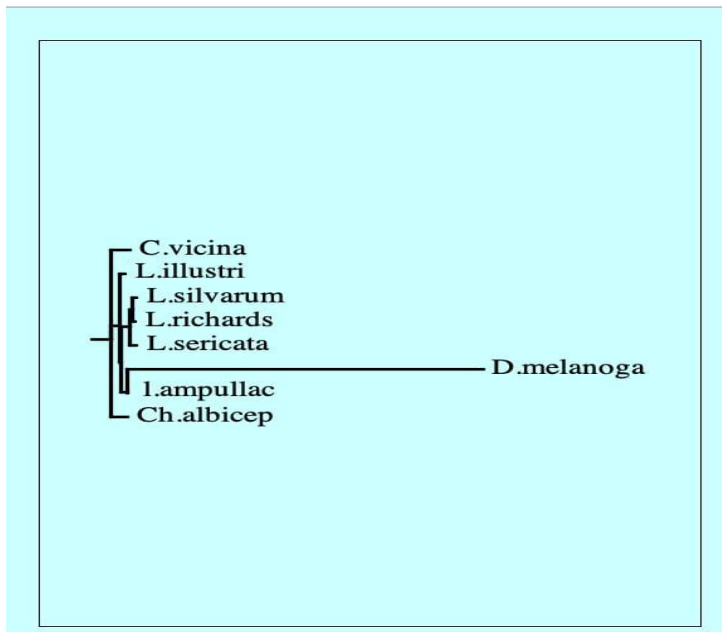
PHYLIP programı filogenetik ağaçların çıkarılması için kullanılan bir programdır. Bu program kullanılarak NCBI üzerinden elde edilen COI genini temel alan analiz dizileri kullanılarak türlere bağlı benzerlik ağaçlar çizilmiştir. TABLO 3' te türlerin birbiri ile benzerliğini gösteren ağaç ve TABLO 4' te ise komşu ülke ve avrupa ülkelerine göre örneklerin akrabalığı şematize edilmiştir.

TABLO III: Türlerin birbiri ile benzerliğini gösteren benzerlik ağacı

```

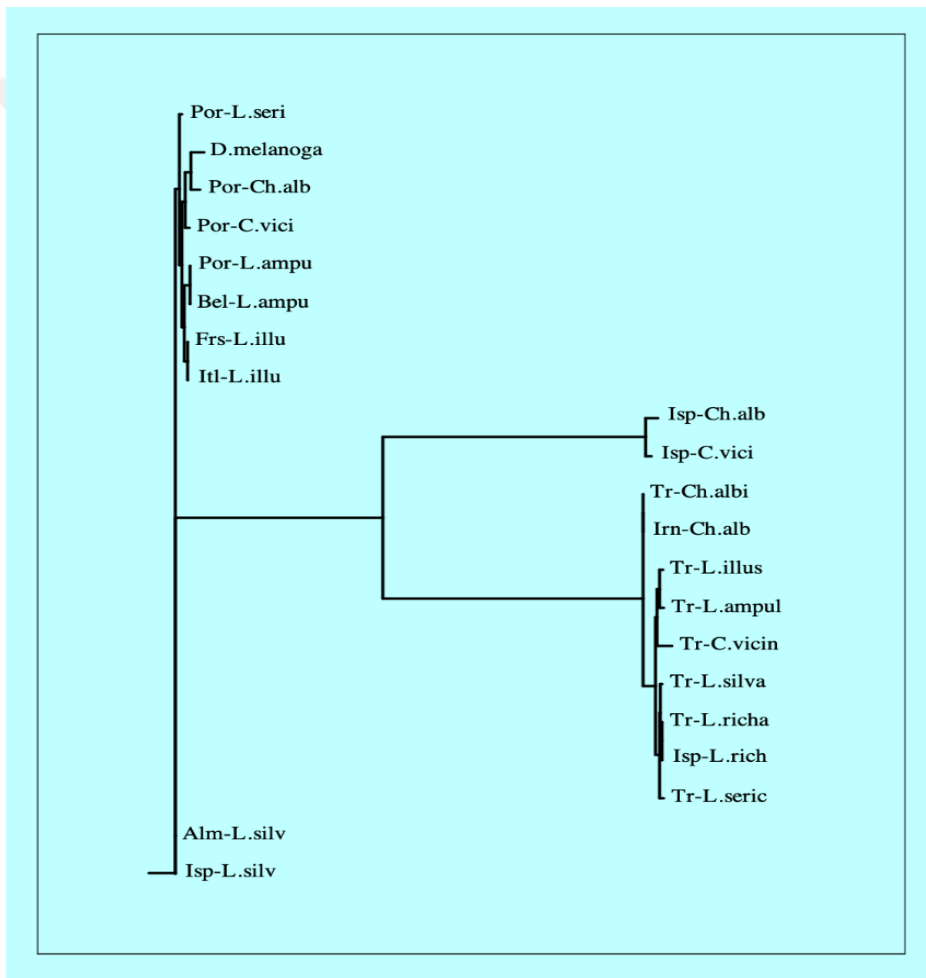
+-C.vicina
|
| +L.illustri
| |
| | +L.silvarum
1--5 +--4
| | +--3 +L.richards
| | | |
| +--2 +L.sericata
| |
| | +-----D.melanoga
| +--6
| +l.ampullac
|
+-Ch.albicep

```



Lucilia richardsi türünün yapılan işlemler sonucunda akrabalık ilişkileri incelendiğinde benzerliği en yakın olandan en uzağa sıralandığında *Lucilia silvarum*, *Lucilia sericata*, *Lucilia ampullacea* ve *Lucilia illustris* olarak sıralanır. Ağaçta *Drosophila melanogaster* seçilmesinin sebebi yukarıdaki canlı familyasına uzak olmasıdır.

TABLO IV : Komşu ülke ve Avrupa ülkelerine göre örneklerin akrabalığı



Lucilia silvarum türünün İspanya ve Almanya'daki türlerle birebir aynı olduğu, İtalya ve Fransa'daki *Lucilia illustris* türünde kuvvetli akrabalık ilişkisi bulunduğu, *Lucilia ampullacea* türünün Belçika ve Portekiz'deki türlerle aynı olduğu, *Calliphora*

vicina'nın Portekiz ve İspanya'da tamamen aynı olduğu, Türkiye'deki *Lucilia illustris* ve *Lucilia ampullacea* yakın akrabalıdır.

Bu benzerliğin ortaya çıkmasında benzer coğrafi konumların sahip olma, hava sıcaklığı, gemi ticareti yollarının sıralamak mümkündür.



5.TARTIŞMA

Olay yerinden elde edilen tür teşhisinin doğru yapılması önemlidir. Çünkü tür teşhisi yanlış yapılırsa ya da hatalı olursa yapılan incelemede ölüm sonrası sürenin tahmini ve ölüm nedeni üzerine tahminlerin yanlış olmasına neden olacaktır. Bazı böcek türlerinin benzer gelişme ve büyüme göstermesinden dolayı hata yapılma şansı yüksektir. Halen yaygın ve pratik olarak morfolojik teşhis yöntemi incelemeyi yapan kişinin yanlış teşhisi, toplanan larvaların yetiştirme aşamasındaki zaman kaybı gibi etmenler göz önünde bulundurulduğunda morfolojik kimliklendirmeden çok daha fazla güvenilir olan DNA analizi ile teşhis yöntemi ön plana çıkmaktadır. DNA analizlerinde böceklerin larva, pupa ve ergin aşamalarından elde edilen DNA'lar ile türlerin doğru tayinini yapmak mümkündür ve bu sayede larvaların yetiştirilmesindeki bekleme aşamasına gerek kalmadığı için olayların aydınlatılmasında zaman kaybının önüne geçilmiş olunur. DNA analiz araştırmalarında COI bölgesine önem kazanmıştır. Sitokrom c oksidaz alt birimleri (COI ve COII) bugüne kadar en çok kullanılan mitokondriyal genlerdir. Entomoloji tür teşhisinde standart olarak tercih edilmektedir.

Çalışmada 3 cinse ait (*Chrysomya*, *Lucilia*, *Calliphora*) türler tespit edilmiştir. Elde edilen türler; *Chrysomya albiceps* (Wiedemann, 1819), *Lucilia richardsi*, *Lucilia ampullaca*, *Lucilia sericata*, *Lucilia illustris* ve *Calliphora vicina*'dır.

Çalışmada teşhis edilen türlerin güvenilirliği için yapılan sekansların sonucunda *Lucilia ampullaca* türünün % 99.77, *Chrysomya albiceps* türünün % 99.78, *Lucilia silvarum* türü, *Lucilia richardsi* türü ve *Lucilia illustris* türü %100, *Calliphora vicina* türü %99.33, *Lucilia sericata* türü %99.56 eşleşme sağladığı görülmektedir.

Lucilia richardsi türüne sekanslama işlemi sonunda *Lucilia silvarum* %100 benzerliktedir. Morfolojik olarak iki tür birbirine benzerlik gösterdiği için bu sonucun yakın çıkması beklenen bir durumdur. Wall vd., 2019 yılında yaptığı çalışmada ve Williams vd., 2016 yaptığı çalışmada bu benzerlikten bahsetmiştir.

Lucilia cinsleri arasında en bol yayılış gösteren *Lucilia sericata* %99.56 oranında tür teşhisinin doğru yapıldığını desteklemiştir. *Lucilia sericata* türüne diğer yayınlarda yakın olarak *Lucilia cuprina* 'nın yakın olduğuna Maite ve diğ., yaptığı çalışmada da değinilmiştir. Meng vd., çalışmalarında da *Lucilia sericata* ve *Lucilia cuprina* yakınlığı vurgulanmıştır. Aynı iki türün benzerliğine Shayya vd., çalışmalarında değinmektedir. Koroiva ve diğ. Ve Williams ve diğ. yayınlarda *Lucilia sericata* ve *Lucilia cuprina* benzerliğini ifade etmiştir.

Chrysomya albiceps sekans işlemi sonucunda %100.00 eşleştiği tespit edilmiştir. Yapılan diğer çalışmalarda *Chrysomya rufifacies* 'türünün *Ch.albiceps*'e yakın olduğu belirtilmiştir. Wells vd., çalışmasında bu iki türün yakınlığını incelemek mümkündür. Shayya ve diğ.,'nın çalışması incelendiğinde ise iki türün yakınlığını ağaç üzerinde belirtilmiştir.

Çalışmada teşhis edilen türlerin güvenilirliği için yapılan sekansların sonucunda *Lucilia ampullaca* türünün % 99.77 eşleşme sağladığı görülmektedir. Bu türe *Lucilia porphyrina* % 98.87, *Lucilia illustris* %95.71, *Lucilia caesar* %95.71, *Lucilia coeruleiviridis* %95.71 ve *Lucilia adisoemortoi* % 95.03 benzerlik gösteren türler olduğu diğer yayınlarda belirtilmiştir. Maite ve arkadaşları yaptığı çalışmada *Lucilia ampullaca* ile *Lucilia caesar* ve *Lucilia porphyrina* yakınlığını göstermişlerdir. Reibe vd., *Lucilia illustris* ve *Lucilia caesar* benzerliğine değinmiştir. Reibe doktora

çalışmasında *L.illustris* ve *L.caesar* türlerinin yakınlığını belirtmiştir. Boehme ve diğ., yaptığı çalışmada iki türün benzerliği üzerinde durmuştur.



6.SONUÇ

Tür içi coğrafik varyasyonları belirlemede ve tür içi genetik farklılıkları ortaya koymak için yapılan çalışmalarda sitokram oksidaz I geni ve sitokram oksidaz II geninin birlikte kullanılmasının çok daha kesin sonuçlar vereceği göz önünde bulundurulmalıdır.

Bu konuda daha fazla testler ve çalışma yapılması morfolojik teşhislerde karşılaşılan sorunları gidermede ve karışan türleri ayırt etmede oluşan sorunlar sonucunda ölüm zamanı tayinde sorun yaşanmasınınönğne geçilmiş olunur.

7.KAYNAKÇA

1. https://acikders.ankara.edu.tr/pluginfile.php/94808/mod_resource/content/0/Adli%20Genetik%20ve%20Olay%20Yerinden%20Biyolojik%20%C3%96rnek%20Toplanmas%C4%B1-K%C4%B1sa-A%C3%A7%C4%B1k%20Ders.pdf
(ERİŞİM TARİHİ: 23.08.2019)
2. Baloğlu, UB. DNA sıralarındaki tekrarlı örüntülerin ve potansiyel motiflerin veri madenciliği yöntemiyle çıkarılması [Yüksek Lisans Tezi]. Fırat Üniversitesi, Elazığ, 2006.
3. Büken, E. Adli Tıpta Genetik Araştırmalar, İyi Klinik Uygulamalar Dergisi 2009; 22: 32-42.
4. Öztürk, GE. Adli DNA ve Kimliklendirme, [Bitirme Tezi]. Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Adli Tıp Anabilim Dalı, İzmir, 2015.
5. Aktay G, Açıkgoz H, Hancı İ.H. Adli Bilimlerde Yeni Bir Araştırma Alanı: Entomotoksikoloji. Adli Bilimler Dergisi 2003; 2(3): 25-31.
6. Amendt J, Krettek R, Zehner R. Forensic entomology. Naturwissenschaften. 2004; 91(2): 51-65.
7. Amendt J, Krettek R, Zehner R, Bratzke H. Practice of forensic entomology--usability of insect fragments in the estimation of the time of death. Archiv für Kriminologie. 2004; 214(1-2):11-18.

8. Açıkgöz A, Açıkgöz HN, İşbaşı T. İnsan Cesetleri Üzerinde Bulunan *Chrysomya Albiceps*' in (Fabricius) (Diptera: Calliphoridae) Predatör Davranışı. 8. Adli Bilimler Kongresi 15-18 Mayıs 2008; Kocaeli-Türkiye.
9. Hancı H. Adli entomoloji. TBB Dergisi 2003; 49: 400-405.
10. Cummins, JM. Mitochondrial DNA in mammalian reproduction, *Reviews of Reproduction* 1998; 3 (3): 172-182.
11. Rokas A, Ladoukakis E, Zouros E. 2003. Animal Mitochondrial Recombination Revisited. *TRENDS in Ecology and Evolution*, 18(8): 411-417.
12. Brand MD, Rolfe DF. The physiological significance of mitochondrial proton leak in animal cells and tissues, *Bioscience Reports* 1997; 17(1): 9-16.
13. Kroemer G, Dallaporta B, Resche-Rigon M. The mitochondrial death/life regulator in apoptosis and necrosis. *Annual Review of Physiology* 1998; 60: 619-42.
14. Duchen MR. Mitochondria and calcium: from cell signalling to cell death. *Journal of Physiology* 2000; 529.1: 57—68.
15. Friedman JR, Nunnari J. Mitochondrial form and function. *Nature* 2014; 505(7483): 335–343.
16. Neupert W. Protein import into mitochondria. *Annual Review of Biochemistry* 1997; 66: 863–917.

17. <http://academic.brooklyn.cuny.edu/biology/bio4fv/page/mito.htm>(ERİŞİM TARİHİ:28.08.2019)
18. Saara F. Phylogenetic analysis of mitochondrial DNA in patients with an occipital stroke. Evaluation of mutations by using sequence data on the entire coding region. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* 2001; 458(1-2): 31-9.
19. Manfredi G, Thyagarajan D, Papadopoulou LC, Pallotti F, Schon EA. The fate of human sperm-derived mtDNA in somatic cells. *American Journal of Human Genetics* 1997; 61: 953-960.
20. Upholt WB, Dawid IB. Mapping of mitochondrial DNA of individual sheep and goats: Rapid evolution in the D loop region. *Cell*, 1977; 11(3): 571-583.
21. Brown W.M, George M.JR, Wilson A.C. Rapid evolution of animal mitochondrial DNA. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*,1979.; 76(4): 1967-1971.
22. Bogenhagen D. F. DNA Repair'99 of mtDNA in Vertebrates *Am.J.Hum.Genet.* 1999;. 64: 1276-1281.
23. Boore J.L, Brown W.M. Big trees from little genomes: mitochondrial gene order as a phylogenetic tool. *Current Opinion in Genetics & Development* 1998; 8(6):668-674.
24. Simon C, Buckley TR, Frati F, Stewart JB, Beckenbach AT, Incorporating Molecular Evolution into Phylogenetic Analysis, and a New Compilation of

- Conserved Polymerase Chain Reaction Primers for Animal Mitochondrial DNA. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematic* 2006; 37: 545–79.
25. De Mandal S, Chhakchhuak L, Gurusubramanian G, Kumar N.S. Mitochondrial markers for identification and phylogenetic studies in insects – A Review. *DNA Barcodes* 2014; 2: 1–9.
26. Benecke M, Wells JD. DNA Techniques for Forensic Entomology. Byrd JH, Castner. *Forensic Entomology The Utility of Arthropods in Legal Investigations*. Amerika Birleşik Devletleri, Florida: CRC, 2001; 348-349.
27. Behura SK. Molecular marker systems in insects: current trends and future avenues. *Molecular Ecology* 2006; 15: 3087–3113.
28. Osigus HJ, Eitel M, Bernt M, Donath A, Schierwater B. Mitogenomics at the base of Metazoa. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 2013; 69(2): 339–351.
29. Chinnery PF, Hudson G. Mitochondrial genetics *British Medical Bulletin* 2013; 106 (1): 135–159.
30. Harrison RG. Animal Mitochondrial DNA As a Genetic Marker in Population and Evolutionary Biology, *Trends in Ecology & Evolution* 1989; 4(1): 6-11.
31. Zhang DX, Hewitt GM, Insect Mitochondrial Control Region: A Review of its Structure, Evolution and Usefulness in Evolutionary Studies. *Biochemical Systematics and Ecology* 1997; 25(2): 99-120.
32. Wolstenholme DR. Animal Mitochondrial DNA: Structure and Evolution. *International Review of Cytology* 1992; 141: 173-216.

33. http://docs.neu.edu.tr/staff/umut.fahrioglu/Mitokondrial%20DNA%202015_4.pdf (ERİŞİM TARİHİ:25.09.2019)
34. https://acikders.ankara.edu.tr/pluginfile.php/44425/mod_resource/content/1/14.pdf (ERİŞİM TARİHİ: 25.08.2019)
35. Özdemir E, İnak E. Adli entomolojide DNA ve entomotoksikoloji. *Adli Bilimler Dergisi* 2018; 17(4): 37-43.
36. Wolstenholme DR, Clary DO. The mitochondrial DNA molecular of *Drosophila yakuba*: nucleotide sequence, gene organization, and genetic code. *Journal of molecular evolution* 1985; 22(3):252-71.
37. Simon C, Frati F, Francesco F, Beckenbach A, Crespi B, Liu H, Flook P. 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* 1994. 84(6): 651–701.
38. Douglas OC, Wolstenholme DR. The Mitochondrial DNA Molecule of *Drosophila yakuba*: Nucleotide Sequence, Gene Organization, and Genetic Code. *Journal of Molecular Evolution* 1985; 22: 252-271.
39. Beard CB, Mills Hamm D, Collins FH. The mitochondrial genome of the mosquito *Anopheles gambiae*: DNA sequence, genome organization, and comparisons with mitochondrial sequences of other insects. *Insect molecular biology* 1993; 2(2): 103-124.

40. Mitchell J, Savage HM, Niebylski ML, Smith G.C, Craig GB. Host-Feeding Patterns of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) at a Temperate North American Site. *Journal of Medical Entomology* 1993; 30(1): 27–34.
41. Lewis DL, Farr CL, Farquhar AL, Kaguni LS, Sequence, Organization and Evolution of the A+T Region of *Drosophila melanogaster* Mitochondrial DNA *Molecular Biology and Evolution* 1994; 11(3): 523-538.
42. Lessinger AC, Azeredo-Espin AML. Evolution and Structural Organisation of Mitochondrial DNA Control Region of Myiasis-causing Flies. *Medical and Veterinary Entomology* 2000; 14(1): 71-80.
43. Spanos L, Koutroumbas G, Kotsyfakis M, Louis C. The mitochondrial genome of the mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata*. *Insect Molecular Biology*. 2000; 9(2): 139-44.
44. Ames C, Turner B, Daniel B, The use of mitochondrial cytochrome oxidase I gene (COI) to differentiate two UK blowfly species – *Calliphora vicina* and *Calliphora vomitoria* *Forensic Science International* 2006; 164 (2-3): 179–182.
45. Ferreira S, Oliveira AR, Farinha A, Rebelo MT, Dies D, Forensic entomology: Nuclear and mitochondrial markers for Diptera and Coleoptera identification. *Forensic Science International: Genetics Supplement Series* 3 2011; 174–175.
46. Meiklejohn KA, Wallman JF, Downton M. DNA-based identification of forensically important Australian Sarcophagidae (Diptera). *International Journal of Legal Medicine* 2011; 125(1): 27–32.

47. Taylor MFJ, Mckechnie SW, Pierce N, Kreitman M, The Lepidopteran Mitochondrial Control Region: Molecular Biology and Evolution 1993; 10(6): 1259- 1272.
48. Crozier RH, Crozier YC. The Mitochondrial Genome of the Honeybee *Apis melliferu*: Complete Sequence and Genome Organization. Genetics Society of America 1993; 133: 97-117.
49. Massimino CGE, Silvestro SD, Giordano R, Rapisarda C. Congruence between cytochrome oxidase I (COI) and morphological data in *Anuraphis* spp. (*Hemiptera*, *Aphididae*) with a comparison between the utility of the 5' barcode and 3' COI regions. ZooKeys, 2015; (529): 123–144.
50. Li T, Yang J, Li Y, Cui Y, Xie Q, Bu W, Hillis DM. A Mitochondrial Genome of Rhyparochromidae (Hemiptera: Heteroptera) and a Comparative Analysis of Related Mitochondrial Genomes. Nature Scientific Reports 2016; 6: 1-12.
51. Wang Y, Chen J, Jiang LY, Qiao GX. The Complete Mitochondrial Genome of *Mindarus keteleerifoliae* (Insecta: Hemiptera: Aphididae) and Comparison with Other Aphididae Insects. International Journal of Molecular Sciences 2015; 16(12): 30091–30102.
52. Goddard JM, Wolstenholme DR, Origin and direction of replication in mitochondrial DNA molecules from *Drosophila melanogaster*. Proceedings of the National Academy of Sciences USA 1978; 75(8): 3886- 3890.

53. Goddard JM, Wolstenholme DR. Origin and direction of replication in mitochondrial DNA molecules from the genus *Drosophila*. *Nucleic Acids Research* 1980; 8(4): 741–757.
54. Hua J, Li M, Dong P, Cui Y, Xie Q, Bu W. Comparative and phylogenomic studies on the mitochondrial genomes of Pentatomomorpha (Insecta: Hemiptera: Heteroptera). *BMC Genomics* 2008; 9:610.
55. Cameron SA, Hines HM, Williams PH. A comprehensive phylogeny of the bumble bees (*Bombus*). *The Linnean Society of London, Biological Journal of the Linnean Society*, 2007; 91(1): 161–188.
56. Saraste M, Sibbald, PR, Wittinghofer A. The P-loop a common motif in ATP- and GTP-binding proteins, *Trends in Biochemical Sciences* 1990; 15(11): 430-434.
57. Lunt, D. H., Zhang, D.X, Szymura, J.M, Hewlitt, O.M, The insect cytochrome oxidase I gene: evolutionary patterns and conserved primers for phylogenetic studies. *Insect molecular biology* 1996;5(3): 153-165.
58. Hebert PDN, Cywinska A, Ball SL, deWaard JR. Biological identifications through DNA barcodes. *The Royal Society* 2003; 270(1512): 313–321.
59. Nelson LA, Wallman JF, Dowton M, Identification of forensically important *Chrysomya* (Diptera: Calliphoridae) species using the second ribosomal internal transcribed spacer (ITS2). *Forensic Science International* 2008; 177(2-3): 238-247.

60. Arif A, Khan HA, Molecular markers for biodiversity analysis of wildlife animals: a brief review *Animal Biodiversity and Conservation* 2009; 32.1: 9–17.
61. Topçular, M. Adli önemi olan böcek türlerinden *Calliphora vomitoria* (Linnaeus, 1758) (DIPTERA: CALLIPHORIDAE)'nın Farklı Sıcaklıklarda Gelişim Sürelerinin Araştırılması [Yükseklisans Tezi]. Hacettepe Üniversitesi, Ankara, 2014.
62. Bildirici Kökdener M. Adli Entomolojide Kullanılan Sinek Türlerinin Samsun'da Mevsimlere Göre Durumunun Belirlenmesi [Doktora Tezi]. İstanbul Üniversitesi, İstanbul, 2012.
63. Açıkgöz H.N, AÇIKGÖZ A, İŞBAŞAR T, İnsan Cesetleri Üzerinde Bulunan *Chrysomya albiceps*'in (Fabricius) (Diptera: Calliphoridae) Predatör Davranışı. *Türkiye Parazitoloji Dergisi* 2011;35, (2): 105–109. Doi:10.5152/tpd.2011.26.
64. https://diptera.info/forum/viewthread.php?thread_id=50776 (ERİŞİM TARİHİ: 09.09.2019)
65. Tüzün A, Yüksel S. Postmortem invertal'in saptanmasında adli entomoloji, *Türkiye Klinikleri J Foren Med* 2007; 4 :23-32
66. Dinar M. Adli Önemi Olan Böcek Türlerinden *Calliphora vicina* (Robineau-Desvoidy, 1830) (Diptera: Calliphoridae)'nın Farklı Sıcaklıklarda Gelişim Sürelerinin Araştırılması [Yükseklisans Tezi]. Hacettepe Üniversitesi, Ankara, 2014.

67. https://diptera.info/forum/viewthread.php?thread_id=81737&highlight=Calliphora+vicina&pid=341027 (ERİŞİM TARİHİ:09.09.2019)
68. https://diptera.info/forum/viewthread.php?thread_id=21891(ERİŞİM TARİHİ: 09.09.2019)
69. <https://www.haritamap.com/yer/baharli-bahce-sokak-bakirkoy>(ERİŞİM TARİHİ:10.09.2019)
70. <https://www.haritamap.com/yer/ata-park-bakirkoy> (ERİŞİM TARİHİ:10.09.2019)
71. http://tools.thermofisher.com/content/sfs/manuals/cms_081527.pdf (ERİŞİM TARİHİ: 20.05.2019)

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler:

Ad-Soyad: Fatma Gizem UĞUR

Doğum Tarihi:03.04.1990

Doğum Yeri: İstanbul

e-mail: gizemgr90@gmail.com

Eğitim Durumu:

2009-2013 Ege Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü

2014-2019 İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Ana Bilim Dalı,
Hidrobiyoloji Programı

2016-2019 Üsküdar Üniversitesi, Bağımlılık ve Adli Bilimler Enstitüsü, Olay Yeri
İnceleme ve Kriminalistik Bilim Dalı

Yabancı Dil ve Düzeyi:

İngilizce- İleri seviye

İş Deneyimi:

2015- BAKIRKÖY 70.YIL SAĞLIK MESLEK LİSESİ(BİYOLOJİ ÖĞRETMENLİĞİ)

2015-2015 ÖZEL YEŞİLYURT ÇAĞDAŞ ÖĞRETİM ETÜT MERKEZİ(BİYOLOJİ
ÖĞRETMENİ)

2015-2016 ÖZEL GÜNGÖREN OĞUZ FEN BİLİMLERİ TEMEL LİSESİ (BİYOLOJİ
ÖĞRETMENİ)

MART 2016-HAZİRAN 2016 ACADEMIA EĞİTİM DANIŞMANLIK(BİYOLOJİ
ÖĞRETMENİ)

AĞUSTOS 2016-HAZİRAN 2017 NİŞANTAŞI BİREBİR TEMEL LİSESİ (BİYOLOJİ
ÖĞRETMENİ)

AĞUSTOS 2017-2018 ÖZEL GÜLTEPE OĞUZ FEN BİLİMLERİ ÖZEL ÖĞRETİM
KURSU (BİYOLOJİ ÖĞRETMENİ)

AĞUSTOS 2018-.... ÖZEL BÜYÜKÇEKMECE UĞUR ANADOLU LİSESİ

Bilimsel Yayınlar ve Çalışmalar:

2017 Kadın Adli Bilimciler Semineri Adli Entomoloji (konuşmacı)