

**KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**MARMARA DENİZİ'NDE YAYILIŞ GÖSTEREN *Aurelia aurita*  
DENİZANASI TÜRÜNÜN MOLEKÜLER FİLOGENİSİ**

**MELTEM GÜNEŞ**

**KOCAELİ 2018**

**KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BİYOLOJİ**  
**ANABİLİM DALI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**MARMARA DENİZİ'NDE YAYILIŞ GÖSTEREN *Aurelia aurita***  
**DENİZANASI TÜRÜNÜN MOLEKÜLER FİLOGENİSİ**

**MELTEM GÜNEŞ**

**Doç. Dr. Fikriye POLAT**  
**Danışman, Kocaeli Üniv.**  
**Dr. Öğr. Üy. Yonca YÜZÜGÜLLÜ KARAKUŞ**  
**Jüri Üyesi, Kocaeli Üniv.**  
**Prof. Dr. Murat BELİVERMİŞ**  
**Jüri Üyesi, İstanbul Üniv.**

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

**Tezin Savunulduğu Tarih: 21.12.2018**

## ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Bu tez çalışması, Marmara Denizi'nde yayılış gösteren bir denizanası türü olan *Aurelia aurita*'nın moleküler karakterizasyonunun yapılması ve gelecekte yapılacak olan filogenetik araştırmalar için kaynak olması amacıyla gerçekleştirilmiştir.

Yüksek lisans öğrenimim boyunca bana her türlü yardımı yapıp kendimi geliştirmeme katkı sağlayan ve bana hep destek olan danışman hocam Sayın Doç. Dr. Fikriye Polat'a, beni hep destekleyen ve tüm bu süreçte yanımda olan arkadaşlarım Günce Göç, Serkan Dede ve Samet Bakırcı'ya teşekkürlerimi sunuyorum.

Son olarak da, lisans ve yüksek lisans öğrenimim boyunca her düşüşümde beni kaldırmak için yanımda olan babam Hüseyin Güneş, annem Ayten Güneş, ablam Merve Güneş'e ve tüm yardımlarından dolayı dayım Mustafa İpek'e sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunuyorum.

Tez çalışmamı destekleyen Kocaeli Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (Proje Numarası: 2017-095) birimine şükranlarımı sunarım.

Aralık - 2018

Meltem GÜNEŞ

## İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR .....	i
İÇİNDEKİLER .....	ii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	iii
TABLolar DİZİNİ .....	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ .....	v
ÖZET.....	vii
ABSTRACT .....	viii
GİRİŞ .....	1
1. GENEL BİLGİLER .....	3
1.1. Cnidaria Şubesinin Genel Özellikleri.....	3
1.1.1. <i>Aurelia aurita</i> türünün genel özellikleri.....	4
1.1.2. <i>A. aurita</i> 'nın taksonomisi.....	6
1.2. Filogeni, Filocoğrafya ve Tür Saptama.....	6
1.3. Sitokrom Oksidaz Altünite I (COI).....	9
1.4. 16S rDNA ve 18S rDNA.....	11
1.5. Internal Transcribed Spacer (ITS).....	12
1.6. Filogenetik Analizlerde Kullanılan Terimler .....	12
2. MATERYAL METOD .....	15
2.1. Örneklerin Toplanması.....	15
2.2. DNA İzolasyonu.....	15
2.3. Polimeraz Zincir Reaksiyonu .....	16
2.4. Agaroz Jel Elektroforezi.....	18
2.5. DNA Dizi Analizi.....	19
2.6. Filogenetik Analiz .....	19
3. BULGULAR.....	21
3.1. COI.....	21
3.2. 16S rDNA.....	22
3.3. 18S rDNA.....	24
3.4. ITS1 .....	26
4. TARTIŞMA .....	28
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER .....	33
KAYNAKLAR .....	34
EKLER.....	39
KİŞİSEL YAYINLAR VE ESERLER .....	49
ÖZGEÇMİŞ .....	50

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1.	<i>A. aurita</i> yaşam döngüsü .....	5
Şekil 1.2.	MtDNA haritası (URL.1).....	8
Şekil 2.1.	İzmit Seka Park Sahilinden alınan <i>A. aurita</i> .....	15
Şekil 2.2.	COI PCR ürünlerinin agaroz jel görüntüsü, marker 100 bp DNA Ladder .....	18
Şekil 2.3.	1-2. sütunlar 16S rDNA, 3-4. sütunlar 18S rDNA ve 5-6. sütunlar ITS1 PCR ürünlerinin agaroz jel görüntüleri, marker 100 bp DNA Ladder .....	19
Şekil 3.1.	<i>A. aurita</i> 'ya ait COI gen bölgesi için ML metodu ile oluşturulan moleküler filogenetik ağaç.....	22
Şekil 3.2.	<i>A. aurita</i> 'ya ait 16S rDNA gen bölgesi için ML metodu ile oluşturulan moleküler filogenetik ağaç.....	23
Şekil 3.3.	<i>A. aurita</i> 'ya ait 18S rDNA gen bölgesi için ML metodu ile oluşturulan moleküler filogenetik ağaç.....	25
Şekil 3.4.	<i>A. aurita</i> 'ya ait ITS1 gen bölgesi için ML metodu ile oluşturulan moleküler filogenetik ağaç.....	27

## TABLolar DİZİNİ

Tablo 2.1.	Mitokondriyal COI, 16S rDNA, 18S rDNA ve ITS1 bölgelerinin PCR işlemlerinde kullanılan forward (ileri) ve reverse (geri) primerler.....	17
Tablo 2.2.	Mitokondriyal COI bölgesine ait PCR koşulları.....	17
Tablo 2.3.	Mitokondriyal 16S rDNA bölgesine ait PCR koşulları .....	17
Tablo 2.4.	Mitokondriyal 18S rDNA bölgesine ait PCR koşulları .....	17
Tablo 2.5.	Mitokondriyal ITS1 bölgesine ait PCR koşulları .....	18
Tablo 3.1.	SPJ3 (MH206614) ve SPJ5 (MH206613) COI gen bölgeleri ile NCBI-Nucleotide'den alınan diğer denizanalarının Clustal W programı ile % benzerlik oranlarının karşılaştırılması .....	21
Tablo 3.2.	MH206614 ve MH206613 erişim numaralı <i>A. aurita</i> COI gen bölgeleri ile denizanası türlerine ait ML ve genetik uzaklıkları .....	22
Tablo 3.3.	SPJ3 (MH059723) ve SPJ5 (MH064432) 16S rDNA gen bölgeleri ile NCBI-Nucleotide'den alınan diğer denizanalarının Clustal W programı ile % benzerlik oranlarının karşılaştırılması .....	23
Tablo 3.4.	MH064432 ve MH059723 erişim numaralı <i>A. aurita</i> 16S rDNA gen bölgeleri ile diğer denizanası türlerine ait ML ve genetik uzaklıkları .....	24
Tablo 3.5.	SPJ3 (MH059775) ve SPJ5 (MH062790) 18S rDNA gen bölgeleri ile NCBI-Nucleotide'den alınan diğer denizanalarının Clustal W programı ile % benzerlik oranlarının karşılaştırılması .....	25
Tablo 3.6.	MH059775 ve MH062790 erişim numaralı <i>A. aurita</i> 18S rDNA gen bölgeleri ile diğer denizanası türlerine ait ML ve genetik uzaklıkları .....	25
Tablo 3.7.	SPJ3 (MH059572) ve SPJ5 (MH062754) ITS1 gen bölgeleri ile NCBI-Nucleotide'den alınan diğer denizanalarının Clustal W programı ile % benzerlik oranlarının karşılaştırılması .....	26
Tablo 3.8.	MH059572 ve MH062754 erişim numaralı <i>A. aurita</i> ITS1 gen bölgeleri ile diğer iç ve dış gruplarına ait ML ve genetik uzaklıkları .....	27

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

%	: Yüzde
=	: Eşittir
≤	: Daha Küçük veya Eşit
+	: Artı
μl	: Mikrolitre
cm	: Santimetre
g	: Gram
f	: Frekans
g	: G Kuvveti
M	: Molar
m	: Metre
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
mM	: Milimolar
ng	: Nanogram
ng/μl	: Nanogram/Mikrolitre
nm	: Nanometre
°C	: Santigrat Derece
T <sub>m</sub>	: Erime Sıcaklığı
U	: Unit/Enzim Birimi
U/μl	: Unit/Mikrolitre
μmol/ml/dk	: Unit/Mililitre/Dakika
S	: Svedberg Birimi / Sedimentasyon Katsayısı

## Kısaltmalar

+G	: Gamma Distribution Shape Parameter (Gama Dağılımı Şekil Parametresi)
+I	: Evolutionary Invariable Sites (Değişmeyen Evrensel Bölgeler)
A	: Adenin
ATP	: Adenozin Trifosfat
bç	: Baz Çifti
C	: Sitozin
cm	: Santimetre
COI	: Sitokrom Oksidaz Altünite 1
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
EDTA	: Etilen Diamin Tetra Asetik Asit
F	: Forward (İleri)
G	: Guanin
ITS	: Internal Transcribed Spacer (Dahili Transkripsiyon Alanı)
ML	: Maksimum Likelihood (Maksimum Olabilirlik)

mtDNA	: Mitokondriyal DNA
NADH	: Nikotinamid Adenin Dinükleotit
NCBI	: National Center for Biotechnology Information
PCR	: Polymerase Chain Reaction (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)
R	: Reverse (Geri)
rDNA	: Ribozomal DNA
RFLP	: Restriction Fragment Length Polymorphism
RNA	: Ribonükleik asit
rRNA	: Ribozomal RNA
T	: Timin
TAE	: Tris Asetat EDTA
tRNA	: Taşıyıcı RNA
UV	: Ultra Viyole
v	: Versiyon
w/v	: Ağırlık/Hacim





## MARMARA DENİZİ'NDE YAYILIŞ GÖSTEREN *Aurelia aurita* DENİZANASI TÜRÜNÜN MOLEKÜLER FİLOGENİSİ

### ÖZET

Bu çalışmada, Marmara Denizi sahillerinde yayılış gösteren *Aurelia aurita* denizanası türünün moleküler karakterizasyonunun belirlenmesi hedeflenmiştir. Ekim 2017- Şubat 2018 tarihleri arasında Marmara Denizi'nin kuzey ve güney sahillerinden 4 istasyon ve toplamda 28 denizanası örneği toplanarak, DNA izolasyonları yapılmıştır. Mitokondrial Sitokrom Oksidaz Altünite I (COI), 16S rDNA, nükleer 18S rDNA ve Internal Transcribed Spacer 1 (ITS1) gen bölgeleri Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) ile amplifiye edildikten sonra DNA Dizi Analizi yapılmıştır. Elde edilen diziler Chromas (v.2.6.5.) programı ile FASTA formatında kaydedilip NCBI BLAST'a yüklenerek, veri bankasında kayıtlı diğer dizilerle benzerlikleri karşılaştırılmıştır. İlgili gen bölgelerine ait tüm diziler MEGA (v.7.0) programına yüklenerek modelleme yöntemleri ve mesafeleri belirlenmiştir. Bootstrap 1000'de filogenetik ağaçları oluşturulmuştur. Sonuç olarak, 18S rDNA geninin denizanası türlerini belirleme oranının düşük olmasına rağmen COI, 16S rDNA ve ITS1 genlerinin tür bazında ayırım gücünün yüksek olduğu bulunmuştur.

**Anahtar Kelimeler:** 16S rDNA, 18S rDNA, *Aurelia aurita*, COI, ITS1.

## **MOLECULAR PHYLOGENY OF *Aurelia aurita* JELLYFISH IN THE SEA OF MARMARA**

### **ABSTRACT**

In this study, it was aimed to determine the molecular characterization of the *Aurelia aurita* jellyfish line which is spread in Marmara Sea coasts. Between October 2017 and February 2018, 4 station and totally 28 samples of jellyfish from the northern and southern coasts of the Sea of Marmara were collected and DNA isolations were made. DNA Sequence Analysis was performed after amplification with Polymerase Chain Reaction (PCR) by mitochondrial Cytochrome Oxidase Substrate I (COI), 16S rDNA, nuclear 18S rDNA and Internal Transcribed Spacer 1 (ITS1) gene region. The obtained sequences were recorded in FASTA format and uploaded to NCBI BLAST with Chromas (v.2.6.5.) program and their similarities were compared with the other sequences recorded in the data bank. All sequences belonging to the respective gene regions were loaded into the MEGA (v.7.0) program, and modeling methods and distances were determined. Phylogenetic trees were created in Bootstrap 1000. As a result, although the rate of detection of jellyfish species of the 18S rDNA gene is low, the discrimination power of COI, 16S rDNA and ITS1 genes is found to be high.

**Keywords:** 16S rDNA, 18S rDNA, *Aurelia aurita*, COI, ITS1.

## GİRİŞ

Türkiye’de yaşayan denizanası türlerinin içerisinde bulunduğu Scyphozoa (Denizaneleri) sınıfını kapsayan Cnidaria (Kıtliler) şubesi, 5 farklı sınıf içermektedir. Türkiye denizlerinde Cnidaria şubesine ait *Rhizostoma pulmo*, *Aurelia aurita*, *Pelagia noctiluca* en çok rastlanan türlerdir.

Denizaneleri, küçük deniz hayvanlarını, larvaları ve deniz canlılarının yumurtalarını tükettikleri için karnivor olarak sınıflandırılmaktadır. Zooplanktonik canlılar olmalarından dolayı, iklim değışiklikleri ve denizel akıntılarının etkisiyle farklı denizanası türleri farklı bölgelere göç edebilmektedir. Daha çok kirli bölgelerde ve sahil kıyılarında görülürler. Denizanelerinin sığ sularda binlerce sayıya ulaşan topluluklar halinde yaşamaları, balıkçıların ağ atmasına engel oluşturmakta ve balıkçılığı olumsuz yönde etkilemektedir. Sahil şeridine gelen geniş denizanası grupları görüntü itibariyle çirkin olmakla birlikte, pis koku oluşumuna da sebep olmaktadır.

Tüm bu olumsuz etkilerinin yanı sıra denizaneleri, yüksek besin değeri bulundurması nedeniyle (%95 su, %4 protein, %1 tuz) özellikle Uzakdoğu ülkelerinde besin kaynağı olarak kullanılmaktadır. Tıbbi amaçlı olarak diyabet ve obezite gibi hastaların belli perhizlere uymasının gerektiği hastalıklarda ek gıda olarak ve kollajen ekstraksiyonuyla da sağlık ve güzellik alanlarında kullanımı mevcuttur. Bazı denizanelerinde görülen ve canlıya biyoluminesans özellik sağlayan Green Flourescent Protein (GFP) ile son yıllarda transgenik bitki ve hayvanlara gen aktarımı işlemlerinde biyo marker ve biyo tag olarak da kullanılmaktadır (Taşer, 2017).

Kozmopolit bir tür olan (Kramp, 1961) ve genellikle kirli sularda yaşayan, gerek ticari gerekse sağlık açısından zararları bulunan bir denizanası türü olan *A. aurita* sistematik çalışmaların büyük çoğunluğunda morfolojik yöntemler kullanılarak incelenmiştir (İşinibilir ve diğ., 2015). Bunların dışında denizlerdeki yayılışları, toksik etkileri, tomurcuklanma (bloomng) gerçekleştirmeleri üzerine pek çok

çalışma vardır (Taşer, 2017). Moleküler biyolojideki gelişmelerle birlikte taksonomide belirli genlere ait baz dizilişlerinin tespit edilerek tür bazında tayin yapmak, geleneksel tayin yöntemlerine ek olarak daha güvenilir sonuçlar vermektedir.

Marmara Denizi'nde yayılış gösteren *A. aurita* türü için moleküler seviyede, şimdiye kadar yapılmış geniş kapsamlı herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Literatür tarandığında Keskin ve Atar (2013) tarafından *A. aurita*'ya ait COI gen bölgesi ve Doğan (2017) tarafından, *A. aurita* ve *R. pulmo*'ya ait ITS1 gen bölgesi ile ilgili araştırmalar dışında başka bir çalışma bulunmamaktadır.

Bu çalışmada Marmara Denizi'nde yayılış gösteren *A. aurita*'nın COI, 16S rDNA, 18S rDNA ve ITS1 gen bölgelerinin baz dizilişlerini ortaya çıkararak moleküler yönden değerlendirme yapmak amaçlanmıştır.

## 1. GENEL BİLGİLER

### 1.1. Cnidaria Şubesinin Genel Özellikleri

Dünya üzerindeki tüm denizler ve okyanuslar düşünüldüğünde, 10 binden fazla Cnidaria türünün yaşadığı keşfedilmiştir (Appeltans ve diğ., 2012; Coll ve diğ., 2010). Bu canlılar gerçek dokuları gelişmiş olan, en basit yapılı çok hücrelilerdir. Çoğu denizlerde, az bir kısmı tatlı sularda bulunan bu şube üyeleri, ayrı ayrı veya koloni halinde yaşamaktadırlar (Bayha ve diğ., 2010; Tanyolaç ve Tanyolaç, 2000).

Genellikle iki tipte bulunurlar;

**Polip:** Kendini bir yere tespit ederek yaşayan sesil formdur. Vücudu tüp şeklinde olup ağız ve anüs işini gören tek bir açıklık vardır. Ağızın etrafında tentaküller bulunmaktadır (Simon, 2015).

**Medüz:** Denizlerde serbest yüzerek yaşayan bu formun vücudu şemsiye şeklinde ve jelimsi bir yapıdadır. Sahip oldukları tek açıklık hem ağız hem de anüs görevi görmektedir. Bazı sınıflarda hem polip hem medüz tipi yaşam formu varken bazı gruplarda sadece ya polip ya da medüz tipi görülmektedir (Simon, 2015).

Cnidaria beş sınıfa ayrılır.

- Hydrazoa (Hidralar)
- Anthozoa (Mercanlar)
- Scyphozoa (Denizaneleri)
- Staurozoa
- Cubozoa

Cnidaria şubesine ait olan Scyphozoanların ise 200'ün üstünde türü bulunmaktadır. Genel olarak bu sınıfta baskın yaşam evresi medüz formu olduğundan "gerçek denizanası" olarak adlandırılırlar. Polip formu yalnızca larva evresi olarak meydana gelir. Hidra medüzlerinden farklı olarak, denizanası medüzlerinde velum yoktur, mesoglea amoeboid mesenkim hücreleri içermektedir, knidositler epidermiste olduğu

gibi gastrodermisde de meydana gelmektedir ve gametler köken olarak gastrodermaldir (Miller ve Harley, 2016).

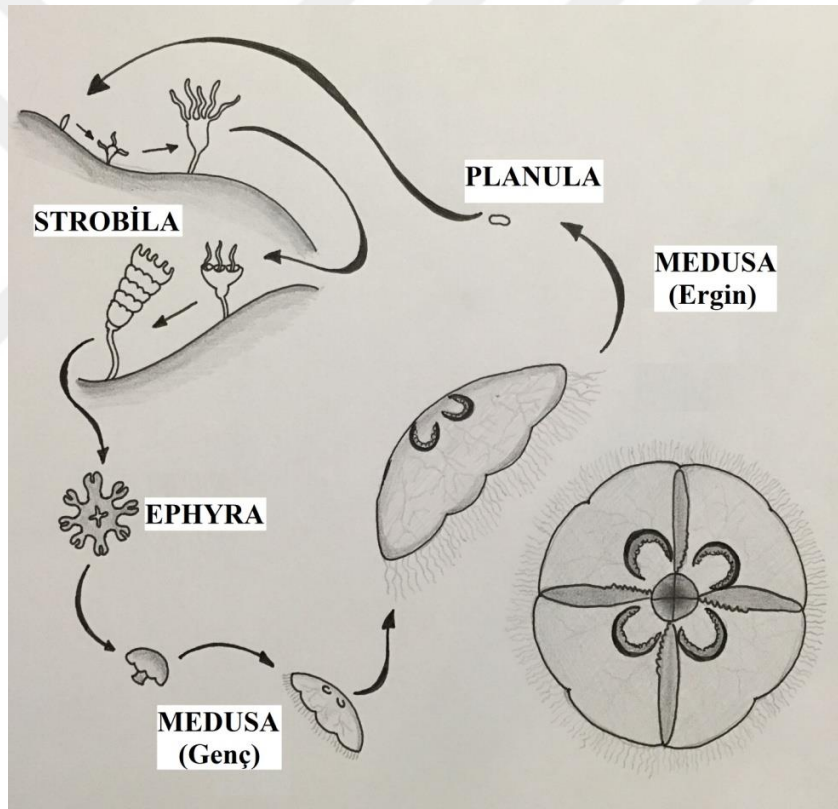
Scyphozoa sınıfının alt sınıfı olan Discomedusae'de 9 ayrı familya bulunmaktadır. Türkiye'de bulunan Scyphozoa türlerini düşündüğümüzde Ulmaridae familyasından *A. aurita* Karadeniz, Marmara Denizi, Ege Denizi ve Akdeniz'de; Pelagiidae familyasından *Chrysaora hysoscella* Marmara Denizi, Ege Denizi ve Akdeniz'de, *Pelagia noctiluca* Ege Denizi ve Akdeniz'de; Cyaneidae familyasından *Drymonema dalmatinum* Ege Denizi'nde; Cassiopeidae familyasından *Cassiopea andromeda* Ege Denizi ve Akdeniz'de; Cepheidae familyasından *Cotylorhiza tuberculata* Ege Denizi'nde; Mastigiidae familyasından *Phyllorhiza punctata* Ege Denizi ve Akdeniz'de; Rhizostomatidae familyasından *R. pulmo* Karadeniz, Marmara Denizi, Ege Denizi ve Akdeniz'de, *Rhopilema nomadica* Ege Denizi ve Akdeniz'de; Periphyllidae familyasından *Nausithoe punctata* Ege Denizi ve Akdeniz'de, *Periphylla periphylla* Marmara Denizi'nde; Paraphyllinidae familyasından *Paraphyllina rasoni* Marmara Denizi'nde kaydedilmiş türlerdir (Çınar ve diğ., 2014).

### **1.1.1. *Aurelia aurita* türünün genel özellikleri**

*A. aurita*, çok hücreli hayvanlardan olan Cnidaria şubesinden Scyphozoa sınıfı, Ulmaridae familyasına ait bir türdür. Kuzey Amerika'nın hem Pasifik hem de Atlantik kıyı sularında yaygın bulunan ve hepsi denizlerde yaşayan, sapsız, şemsiye şeklinde Scyphozoanlardır. Çapları 10 cm ile 3 m arasında değişebilir. *A. aurita*'nın polip ve medüz olmak üzere iki yaşam şekli vardır. Larvaları poliptir, erginleri medüz şeklinde olup su yüzeyine yakın ve serbest yüzmektedir. Çoğu saydam, mavi ya da pembe renklerde olabilirler. Vücutlarının %95'i sudur. Scyphozoanlar şemsiye şeklindeki vücutlarının açılıp kapanması ile suda serbestçe hareket etmektedir (Arai, 1996; Miller ve Harley, 2016; Tanyolaç ve Tanyolaç, 2000).

Saydam bir vücudu olan *A. aurita*'nın sekiz adet oyuk içine yerleşmiş ropalium denen basit göz, denge ve koklama gibi özelliklere sahip duyu organları bulunmaktadır. Sekiz loplu olan vücudunun kenarlarında yakıcı hücreler içeren çok sayıda ince ve küçük tentaküller vardır. Merkezde manibrium (ağız borusu) denen kısa bir yapı ve bunun ortasında dört ağız kolu ve kare şeklinde bir ağız açıklığı bulunmaktadır. Kollar su içinde serbestçe hareket etmekte ve üzerindeki yakıcı

hücreler sudaki küçük canlılara çarparak onları felce uğratmaktadır. Ağız çevresindeki atnalı şekilde dört gastrik cep yakalanan avın kaçmasını önlemektedir. Gastrik ceplerin tabanında pembe renkli gonadlar vardır. Medüzler ayrı eşeylidir. Olgunlaşan gametler gonadlardan gastrik ceplere, buradan da ağız yolu ile dışarı atılmaktadır. Yumurta ve sperm dışarıda birleşmekte ve oluşan zigot daha sonra kirpikli Planula larvasına dönüşmektedir. Planula bir süre suda yüzdükten sonra sert bir yere oturarak sesil bir polibe dönüşmekte, daha sonra da polibin serbest ucunda bölünmelerle tomurcuklanma oluşmaktadır. Bunlara Ephyra (Efiyra) adı verilmektedir. Ephyra bir sonraki aşamada ana bireyden ayrılarak su içinde serbest yüzen medüze dönüşmektedir (Tanyolaç ve Tanyolaç, 2000) (Şekil 1.1).



Şekil 1.1. *A. aurita* yaşam döngüsü

### 1.1.2. *A. aurita*'nın taksonomisi

Alem (Kingdom): Hayvanlar Alemi (Animalia)

Şube (Phylum): Knitliler (Cnidaria)

Sınıf: Scyphozoa

Takım (Order): Semaestomeae

Aile (Family): Ulmaridae

Alt aile (Subfamily): Discomedusae

Cins (Genus): Aurelia

Tür (Species): *A. aurita* (Linnaeus, 1758)

### 1.2. Filogeni, Filocoğrafya ve Tür Saptama

Yapılan tahminlerle yaklaşık olarak 31 bin protist, 1,5 milyon hayvan ve 800 bin kadar bitki türünün yeryüzünde olduğu bilinmekle birlikte, bu canlıların yaklaşık 3-10 milyon kadarı henüz sınıflandırılmamış, birçok türün ise yok olduğu düşünülmektedir. Tüm bu canlı çeşitliliğini düşündüğümüzde sınıflandırma yapılmamış olsaydı tüm bu değişikliklerle uğraşmak mümkün olmayacak ve yapılacak olan tüm araştırmalarda zorluklar çıkacaktı.

Sistematik bilimi, her türün ve daha yüksek taksonlarının kendine has özelliklerinin ne oluşunu karşılaştırmalarla tespit etmekte, bazı taksonların özelliklerinin neler olduğunu ve sahip olduğu özelliklerinin ya da farklılıklarının hangi biyolojik etmenlerden dolayı oluştuğunu saptamaktadır. İyi bir şekilde oluşturulmuş bir sınıflandırma sistemi, günümüzde ve gelecekte yapılacak olan genetik ve moleküler çalışmalara büyük kolaylıklar sağlamaktadır.

1990'lardan beri yapılmakta olan çalışmalar sayesinde ulaşılan canlı DNA parçalarının incelenmesi, bilim insanlarına bir evrim ağacı çizme ve tüm bu canlıların akrabalıklarını belirleme olanağı sağlamıştır (Zimmer, 2016). Filogenetik sistematik (kladizm ya da diğer bir adıyla evrimsel sistematik) ise geçmişten bu güne tartışmalara neden olmuş sınıflandırma karışıklıklarına farklı bir bakış getirebilmek adına kladistik ve genetik sistematığı kullanmaktadır. Filogenetik sistematik ilk kez Willi Hennig tarafından tanımlanmıştır. Hennig'e göre filogenetik sistematik; filogeni ilişkisinin yardımıyla doğal taksonları saptamakta, bunları birbirleriyle



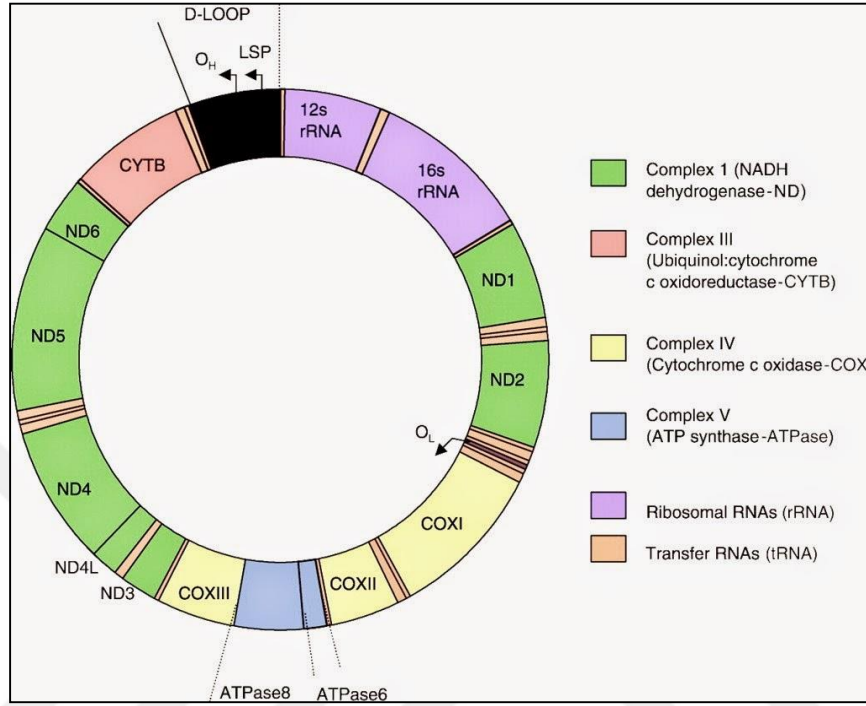
ilişkilendirerek doğal bir sınıflandırma ortaya koymaktadır. Bahsi geçen doğal taksonlar, evrimsel süreçte kendiliğinden oluşmakta olan taksonlardır ve bunlar türleşme süreçleri ile oluştukları için ortak bir atadan söz etmek mümkündür (Hennig, 1999).

Mutasyonlar bir türün DNA'sında milyonlarca yılda düzenli bir şekilde birikir. Bunun bir sonucu olarak bilim insanları ortak bir ataya sahip türlerdeki mutasyonları karşılaştırarak bir çeşit "moleküler saat"e ulaşırlar. Siyanobakterilerden maya mantarlarına dek yüzlerce türden genetik materyal parçacıkları yardımıyla, bilim insanları geçtiğimiz 25 yıl içinde yaşam ağacını oluşturdular. Tüm yaşayan türler belirli ortak özellikleri paylaşmaktadır; örneğin hepsi genetik bilgilerini DNA olarak taşımakta ve bu bilgileri proteinlere çevirmek için RNA'ları kullanmaktadır (Zimmer, 2016).

Canlı hücrelerde çekirdek haricinde DNA taşıyan iki organelden daha söz edilmektedir; mitokondri ve kloroplast. DNA taşıyan bu özelleşmiş organel, evrimsel süreçte  $\alpha$ -proteobakterinin ökaryotik hücre içerisine girmesi sonucu özelleşmiştir. İlk başlarda tüm proteinlerini kodlayan genlere sahip olan bu organel, geçirdiği yapısal değişiklikler ve evrimleşmeyle, omurgalılarda, şu anki 16.000-18.000 baz çiftini içeren halkasal yapısına kavuşmuştur. Mitokondri genomu, protein kodlayan 13 bölgeye, 2 rRNA'ya, 22 tRNA'ya ve bir de replikasyon kontrol bölgesine sahiptir. Mitokondri DNA'sı (mtDNA), Sitokrom oksidaz, ATP sentetaz ve NADH sistemleriyle hücrede solunum sistemine katkıda bulunmaktadır ve yapısında intron bölgeleri içermemektedir. MtDNA'nın anne tarafından bir nesilden diğerine aktarılıyor olması en önemli özelliğidir. Bu özelliği sayesinde ve bunun dışında da rekombinasyon gözlenmemesi ile genetik kalıtımın daha kolay takip edilmesinde yarar sağlamaktadır.

Popülasyon geçmişleri hakkında bilgi edinilmesini sağlayan mtDNA'da yer alan 12S rRNA, 16S rRNA ve Sitokrom b genleri yanı sıra nüklear ribozomal genler, hayvanlar üzerinde yapılan moleküler ve genetik çalışmalarda kullanılmakta ve filogenetik ilişkileri ortaya koymaktadır (Özdemir, 2007). Yapılmış olan pek çok filogenetik ve taksonomik çalışmada kullanılan mtDNA primerleri evrensel olup geniş bir kullanım alanına sahiptirler. Canlılardan alınan doku parçalarından DNA

izole edildikten sonra, bu evrensel primerler kullanılarak ilgili gen bölgeleri çoğaltılmakta ve DNA'daki bazı sıraları analiz edilmektedir (Aygün, 2012; Dingman, 2009; Sucharitaku ve diğ., 2017; van Walraven ve diğ., 2016; Zimmer, 2016).



Şekil 1.2. MtDNA haritası (URL.1)

MtDNA'nın yanı sıra filogenetik ilişkilerin belirlenmesinde kullanılan ribozomal RNA (rDNA)'lar ise yapısal olarak çok büyük, işlevsel olarak sabit ve evrensel olarak yaygın moleküllerdir. Tüm canlı hücrelerde çok sayıda korunmuş bölge içermektedirler. Prokaryot hücrelerde bulunan korunmuş bölgeler 5S, 16S ve 23S; ökaryot hücrelerde bulunan korunmuş bölgeler 5.8S, 18S ve 28S'dir.

Ribozomal DNA'yı kodlayan DNA, diğer DNA bölgelerinden nispeten daha yavaş değişime uğramaktadır. Bu nedenle bu genlerdeki DNA sekanslarının karşılaştırılması yüzlerce, milyonlarca yıl önce birbirinden farklılaşarak ayrılmış taksonlar arasındaki akrabalık ilişkisinin incelenmesi için kullanışlıdır. MtDNA, rDNA'ya göre daha hızlı değişir ve yakın zamandaki evrimsel olayları incelemek için kullanılır.

Bir filogenetik ağaç veya evrim ağacı, farklı biyolojik türler veya ortak bir atası olduğuna inanılan diğer varlıklar arasındaki evrimsel ilişkileri gösteren bir ağaçtır. Bir filogenetik ağaçta iki dalın ayrıldığı her bir düğüm noktası alt soyların ortak

atasını temsil etmektedir. Filogenetik uygulamalara bakıldığında en çok kullanılanı, bir canlıya ait DNA dizisindeki benzerlikler yardımıyla hangi türe akrabalığı olduğunu anlama çalışmalarıdır. Organizmalar çok benzer morfolojilere veya DNA dizilerine sahiplerse de, farklı görünüş ve genetik dizilime sahip türlerden daha yakın akraba olabilirler. Filogenik çıkarımlar, homoloji yani aynı atasal canlıdan geliyorsa, benzer farklılıkları geçirmiş olmalıları yani analogiyi göstermelidirler. Diğer bir deyişle, farklılaşmaların da benzer olması beklenir. Filogenetik analizlerde DNA dizilerinin karşılaştırılması ve moleküler homolojilerin belirlenmesi için bilgisayar programları kullanılmaktadır (Reece ve diğ., 2013).

### **1.3. Sitokrom Oksidaz Altünite I (COI)**

Türe özgü DNA profili çıkarmada kullanılan DNA barkodlama yönteminin temelinde, bazı canlılarda tür seviyesinde tanımlama yapmak için kullanılan COI geni önerilmektedir. Bu yöntemle, henüz tanımlanmamış olan DNA dizileri, DNA barkod veri tabanında bulunan DNA dizileri ile eşleştirilmekte ve bu sayede türlerin tanımlanmasında kullanılabilecek evrensel bir tür teşhisi anahtarı oluşturabilmek mümkün olmaktadır. DNA barkodlama yönteminde, doku örneklerinden DNA izolasyonu yapılması, elde edilen bu DNA'nın ilgili gen bölgesinin Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) ile çoğaltılması ve ardından çoğaltılan bölge için DNA dizi analizi yapılması aşamaları bulunmaktadır. Canlı türüne ait DNA dizisi çıkarıldıktan sonra DNA barkod veri bankalarına işlenmektedir (Aravind ve diğ., 2007).

Bir gen bölgesinin DNA barkodu kadar kullanışlı olabilmesi için bazı özelliklere sahip olması gerekmektedir; bu özellikler ise 1) Tür seviyesinde belirli bir ayırım gücüne ve belirgin bir genetik varyasyona sahip olması, 2) Canlıları geniş bir taksonomik ölçekle düşünüldüğünde bunlar için uygun olan evrensel primerlerle çoğaltılabilecek korunmuş uç bölgelere sahip olması, 3) DNA izolasyonu ve PCR işlemleri sırasında sorun oluşturmayacak kadar dizi uzunluğuna sahip olmasıdır. Sahip olduğu tüm bu özelliklerden dolayı COI geni de tür seviyesinde bir ayırım gücüne sahiptir (Kress ve Ericson, 2008). Yaklaşık 655 baz çiftlik (bç) COI geninde farklı şubelerde bulunan canlılara göre tasarlanabilen evrensel primerlerin bulunması bu genin standart bir barkod bölgesi olarak kabul edilmesine neden olmuştur (Folmer ve diğ., 1994).

Çok hücreli canlılarda, mitokondriyal genom açısından COI barkod bölgesinin, tür içerisinde %3'ten küçük ve türler arasında ortalama %10-25 arasında belirgin bir derecede farklılık göstermekte olduğu yapılan çalışmalarla ortaya çıkarılmıştır (Hebert ve diğ., 2003b). Çok hücreli canlı türleri için standart barkod olarak kullanılan COI geni 5' ucundan 652-658 baz çiftlik bölge olarak tanımlanmıştır (Hebert ve diğ., 2003a). Mitokondriyal genom, intronların bulunmaması, rekombinasyona sınırlı derecede maruz kalması, tüm hücrelerde çok sayıda kopya olması, haploid olması ve anneden gelen bir kalıtıma sahip olması açısından nükleer genoma göre pek çok avantajları vardır. Mitokondriyal genomda 13 çeşit proteini kodlayan gen bulunmaktadır. COI geni, özgün evrensel primer çiftleri kullanılmasıyla çoğaltılabilir olması ve farklı taksonomik seviyeler düşünüldüğünde uygun bir filogenetik sinyale sahip olması nedeniyle protein kodlayan diğer mitokondriyal genlerden daha üstündür (Keskin ve Atar, 2013).

COI geni kodonlarında görülen üçüncü pozisyon nükleotidleri yüksek substitüsyona sahiptir ve bundan dolayı mitokondriyal rDNA genlerine kıyasla üç kat daha yüksek moleküler evrim hızına sahip olarak değerlendirilmektedir. Diğer bir önemli nokta ise yakın türlerin birbirinden ayrılmasında COI genindeki evrimsel değişim hızıdır ve böylece coğrafik yapıyla ilişkilendirilebilecek tür içi varyasyon da ortaya konulabilmektedir (Bucklin ve diğ., 2011). Birden fazla tür için COI geninin belirgin ayırım gücü göstermesi ve tür içi/türler arası uzaklığın birbiriyle çakışmadığı tipik bir varyasyon modeli olması, COI geninde gerçekleşen evrimin önemli bir noktası olarak görülmektedir (Hebert ve diğ., 2003b). Tür içi/türler arası oluşan varyasyonda herhangi bir çakışmanın oluşmaması "barkodlama açıklığı" olarak tanımlanmıştır (Meyer ve Paulay, 2005). Bu durum barkod dizisinin güvenilirliği ve isabeti düşünüldüğünde en önemli noktası olarak kabul görmüştür (Keskin ve Atar, 2013).

Barkodlama çalışmaları, biyoçeşitlilik alanında veri tabanlarındaki materyallerin karakterize edilmesinde ve hayvan hücrelerinin hatlarının tanımlanması konusunda kullanılan bir uygulama olarak karşımıza çıkmaktadır (Hanner ve Gregory, 2007). Tüm bunlara ek olarak, COI gen bölgesi geniş bir yelpazede tek hücreli alglerden mantarlara, omurgasızlardan omurgalılara kadar kullanılmaktadır (Saunders, 2005; Seifert ve diğ., 2007; Waugh, 2007).

#### 1.4. 16S rDNA ve 18S rDNA

Ribozomlar, rDNA ve protein meydana getiren ribonükleoprotein yapıda organellerdir. Prokaryot hücrelerde bulunan 16S rDNA 1541 nükleotidden oluşmakta olup 30S'lik alt birimde bulunurken; 5S rDNA 120 nükleotidden ve 23S ise 2904 nükleotidden oluşmakta, 50S'lik alt birimde bulunmaktadır. Ökaryot hücrelerde bulunan 18S rDNA ribozomun 40S'lik alt biriminin yapısına katılırken; 5S, 5.8S ve 28S rDNA'lar ise 60S'lik alt birimde yer almaktadırlar (Temizkan, 2004).

Filogenetik ilişkilerin alem, şube ve sınıf düzeyinde belirlenmesinde yaygın olarak kullanılan rDNA'lardan biri olan 16S rDNA, tür içi spesifik gen bölgeleri bulundurduğundan, yavaş evrimleşmesinden ve taksonomik karşılaştırmalarda kullanılacak gerekli verileri içerdiğinden tür tanımlama çalışmalarında sıklıkla kullanılmaktadır (Brown-Elliott ve diğ., 2006; Tindall ve diğ., 2010; Zhi ve diğ., 2009). Buna rağmen cinsler ve doğru bir şekilde seçilmiş türler arasında ilişki kurmak için ve farklılıklarını da ayırt edebilmekte kullanılan 16S rDNA için son zamanlarda yapılan çalışmalarda yeni bir türün belirlenmesi için tek başına yeterli bir kriter olmadığı da gösterilmiştir. 16S rDNA'nın korunmuş yapısı cins içerisindeki türler için oldukça faydalı olmasına karşın, birbirine çok yakın olan türler arasından da kesin bir ayırım sağlayamadığından dezavantajlara sahiptir. Ayrıca sekanslarda hatalar olabilmesi dolayısıyla da uzaklık ilişkilerini belirlemede yetersiz kalabilmektedir (Kirby ve diğ., 2010).

Ökaryot ribozomlarında bulunan ve 16S rDNA gibi korunmuş olan 18S rDNA da, ökaryotlar için dizileme çalışmalarında kullanılmıştır. 16S ve 18S rDNA'lar ribozomun 30S'lik ve 40S'lik küçük alt birimlerinin parçaları olmalarından dolayı, ikisi için de gerçekleştirilen dizileme çalışmaları eş anlam taşımaktadırlar. Fakat 16S rDNA ökaryot hücre mitokondrisinde bulunduğu için sadece prokaryot hücrelerde değil, ökaryotlarda da kullanılabilir.

## 1.5. Internal Transcribed Spacer (ITS)

Genomik DNA'daki rDNA bölgeleri birçok gen yapısının ardışık sıralanması şeklinde oluşur. ITS bölgeleri ise DNA üzerinde bulunan rDNA tekrarlarına yerleşmiştir ve korunmuş olan bölgeleri birbirinden ayıran iki kısmı temsil etmektedirler. Türler için ait ITS baz dizileri birbirinden ayrı popülasyonların aralarındaki akrabalık ilişkilerinin araştırılmasında yararlı veriler sunmaktadır (Baldwin ve diğ., 1995). ITS1 gen bölgesi, 18S ve 5.8S rDNA arasına yerleşmiş; ITS2 gen bölgesi ise 5.8S ve 28S rDNA arasına yerleşmiştir.

Ökaryotik organizmalardaki 5.8S rDNA gen bölgesi ITS ile birlikte, toplam 700 bp olarak değerlendirilmektedir. Bu bölgeler, korunmuş olan rDNA gen bölgelerine kıyasla daha fazla değişkenlik göstermektedirler. Filogenetik çalışmalarda kullanım açısından ITS1 bölgesi, ITS2 gen bölgesinden fazla değişiklik gösterdiği için ilişkilerin incelenmesi açısından daha fazla çözüm sunmaktadır. Özellikle bitkiler üzerinde yapılan çalışmalarda ITS bölgeleri genetik sürüklenmelere yönelik etkili veriler sunmakta ve değişik seviyelerdeki filogenetik çalışmalarda kullanışlı olduğu görülmektedir (Baldwin ve diğ., 1992; Baldwin ve diğ., 1999).

## 1.6. Filogenetik Analizlerde Kullanılan Terimler

**Filogeni:** Bir türün ya da taksonların, aralarındaki türeyiş ilişkilerini de kapsayan, evrimsel geçmişi. Bir yaşam ağacı; ideal olarak atasal ilişkilerin bir resmini yansıtan bir çizim (Futuyma, 2008).

**Filogenetik Tür:** Ata döl ilişkisine sahip olan, diğer kümelerden tanımlanabilecek bir biçimde ayrılabilen, temel bir canlı kümesi (Futuyma, 2008).

**Dal (Clade):** Bir filogenetik ağaçta, öncelik ve sonralık anlamında, zamana göre spesifik bir popülasyonu veya taksonomik grubu gösteren çizgiler (Freeman ve Herron, 2002).

**Kladistik:** Dallanma desenleri ile ilgili olan; kladistik bir sınıflandırma, canlıları ortak atalarından ayrılma sırasına göre sınıflandırır. Sistematikte, organizmaların özellikle ortak ataları esas alınarak gruplar içerisinde yerleştirildiği bir yaklaşım (Futuyma, 2008).

Monofiletik: Tek bir ortak atayı ve ondan türeyen tüm taksonları içeren takson grubu. Monofiletik takson, klada eş değerdir (Freeman ve Herron, 2002).

Parafiletik: Ortak ata ve ortak atayı paylaşan taksonların bir kısmını kapsayan, ancak bazılarını dışarıda tutan takson grubunu belirlemek için kullanılan terim (Freeman ve Herron, 2002).

Polifiletik: İki ya da daha fazla sayıda atadan köken almış takson grubunu belirlemek için kullanılan terim (Freeman ve Herron, 2002).

Dış grup: Çalışılan tür grubunu içeren soy hattından daha önce ayrılmış olduğu bilinen evrimsel soy hattından olan tür ya da tür grubu (Freeman ve Herron, 2002).

İç grup: Evrimsel akrabalık ilişkilerini belirlemeye çalıştığımız tür ya da tür grubu (Freeman ve Herron, 2002).

Maksimum Parsimoni: Bir gözlem hakkında çok sayıda açıklama düşünüldüğü zaman, olaylarla tutarlı en basit açıklamanın ilk olarak araştırılmasının yerinde olacağını ileri süren prensip (Freeman ve Herron, 2002).

Komşu katılma yöntemi (Neighbour Joining): Filogenetik ağaçları oluşturmak ve bu ağaçlardaki dal uzunluklarını bilgisayarla hesaplamak için kullanılan bir metoddur (Saitou ve Nei, 1987).

Bot-Bağlama (Bootstrapping): Belli bir ağaç üzerindeki dallardan hangilerinin diğerlerine göre daha iyi desteklendiklerini değerlendiren bir tekniktir (Freeman ve Herron, 2002).

Politomi: Filogenetik ağaçta, kendisinden ikiden fazla soy hattının çıktığı dallanma noktası. Politomi, türeyen taksonlar arasındaki evrimsel akrabalık ilişkisinin henüz açığa kavuşturulamadığına işaret eder (Futuyma, 2008).

Oydaşım/Uyuşma Ağacı (Consensus Tree): İki ya da daha fazla ağaç arasındaki hem emin olduğumuz ilişkileri hem de çözülmemiş ilişkileri gösteren politomileri veren bir yöntemdir (Futuyma, 2008).

En Yüksek Olasılık (Maksimum Likelihood): Moleküler sistematığe uygulandığında, düşünölen çok sayıda filogenetik hipotezden, DNA'nın zaman içerisinde nasıl değiştığine ilişkin belirli kuralları göz önünde bulundurmak suretiyle evrimsel olayların sırasını en büyük olasılıkla yansıtan hipotezin dikkate alınması gerektiğini ifade eden prensip (Freeman ve Herron, 2002).

Homoloji: Paylaşılan ortak ata nedeniyle karakterlerdeki benzerlik (kökendeşlik) (Baxevanis ve Ouellette, 2005).

Analoji: Ortak atadaki aynı özellikten gelme nedeniyle değil, konvergent evrime uygun olarak iki tür arasındaki benzerlik (Freeman ve Herron, 2002).





## 2. MATERYAL METOD

### 2.1. Örneklerin Toplanması

Çalışmamızda incelemek üzere İzmit Seka Park (8), İstanbul Yeşilköy (6), Tekirdağ Kumbağ (6), Çanakkale Lapseki (8) sahillerinden atrap yardımıyla denizanası örnekleri toplandı ve içerisine deniz suyu konulan derin kaplar içerisinde canlı bir şekilde laboratuvara getirildi.



Şekil 2.1 İzmit Seka Park Sahilinden alınan *A. aurita*

### 2.2. DNA İzolasyonu

Denizanası örneklerinin ektoderm tabakaları üstten bir miktar kesilip atıldıktan sonra alttaki dokudan steril bistüri yardımı ile doku örnekleri alındı. Zymo Research Quick DNA Universal Kit (Catalog Nos. D4068 & D4069) kullanılarak DNA izolasyonları yapıldı. Zymo Research Solid Tissues protokolü modifiye edilerek kullanıldı. 25 mg kadar doku örnekleri 2ml'lik eppendorf tüplere konuldu ve etiketlendi. Üzerlerine 95µl distile su, 95 µl Solid Tissue Buffer ve 20 µl Proteinaz K eklenerek 55°C'de inkübatörde 3 saat sıvı hale gelinceye kadar bekletildi. Çözülmemiş olan doku parçalarını ortadan kaldırmak için 12000 x g'de 1 dakika santrifüj edilip sıvı

süpernatant kısmı temiz bir tüpe transfer edildi. Süpernatanta 1:2 oranında Genomic Binding Buffer eklenip iyice karışması sağlandı. Karışım içinde Zymo-Spin IIC-XL kolonu bulunan bir biriktirme tüpüne (Collection Tube) transfer edildi. Ardından 12000 x g'de 1 dakika santrifüj edilip biriktirme tüpündeki süzüntü atıldı. Kolon yeni bir biriktirme tüpüne aktarılıp üzerine 400 µl DNA Pre-Wash Buffer eklenip 1 dakika santrifüj edildi. Biriktirme tüpü boşaltıldı ve 700 µl g-DNA Wash Buffer kolona eklenerek tekrar 1 dakika santrifüj edilerek alttaki süzüntü uzaklaştırıldı. Bir sonraki aşamada 200 µl g-DNA Wash Buffer eklenip 1 dakika santrifüj edilip biriktirme tüpünde oluşan süzüntü tekrar atıldı. Son aşamada DNA'yı çözmek için temiz bir mikrosantrifüj tüpüne kolon transfer edildi. 70 µl DNA Elution Buffer eklenip 5 dakika oda sıcaklığında bekletilip ardından 1 dakika santrifüj edildi.

### **2.3. Polimeraz Zincir Reaksiyonu**

İzole edilen DNA'lardan mitokondrial COI (Ortman ve diğ., 2010), 16S rDNA (Hamner ve Dowson 2009; Palumbi 1996), 18S rDNA (Bayha ve diğ., 2010) ve ITS1 (Internal Transcribed Spacer I) (Dowson ve Jacops, 2001) bölgelerine ait primerler kullanılarak PCR (Gradient PCR, SuperCycler: Kyratec) yapıldı. Kullanılan primerler Tablo 2.1.'de, PCR koşulları Tablo 2.2-5.'de görülmektedir. PCR reaksiyon karışımı hazırlamak için 5x FIREPol Master Mix (Solis BioDyne) kullanılmıştır. Firma tarafından tavsiye edilen PCR reaksiyon karışımı şu şekilde oluşturulmuştur:

5x Master Mix: 6µl

10 µM primer (forward): 0.5 µl

10 µM primer (reverse): 0.5 µl

Kalıp DNA: 2 µl ( 16S, 18S ve ITS1 için), 5 µl (COI için)

Saf Su: Her bir gen bölgesine ait PCR karışımı için 30 µl'ye tamamlandı.

Tablo 2.1 Mitokondriyal COI, 16S rDNA, 18S rDNA ve ITS1 bölgelerinin PCR işlemlerinde kullanılan forward (ileri) ve reverse (geri) primerler

Primer Bölgesi	Primer Yönü	Primer Dizisi
COI	Forward	5'-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3'
	Reverse	5'-TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA-3'
16S rDNA	Forward	5'-TCGACTGTTTACCAAAAACATAGC-3'
	Reverse	5'-ACGGAATGAACTCAAATCATGTAA-3'
18S rDNA	Forward	5'-AACCTGGTTGATCCTGCCAGT-3'
	Reverse	5'-GATCCTTCTGCAGGTTACCTAC-3'
ITS1	Forward	5'-GGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATC-3'
	Reverse	5'-CGCACGAGCCGAGTGATCCACCTTAGAAG-3'

Tablo 2.2. Mitokondriyal COI bölgesine ait PCR koşulları

PCR Aşaması	Sıcaklık (°C)	Süre (saniye)	Döngü Sayısı
Ön Denatürasyon	94	300	1
Denatürasyon	95	60	
Bağlanma	55	60	35
Uzama	72	60	
Son Uzama	72	420	1
Saklama	4		

Tablo 2.3. Mitokondriyal 16S rDNA bölgesine ait PCR koşulları

PCR Aşaması	Sıcaklık (°C)	Süre (saniye)	Döngü Sayısı
Ön Denatürasyon	95	120	1
Denatürasyon	95	30	
Bağlanma	50	30	40
Uzama	72	40	
Son Uzama	72	300	1
Saklama	4		

Tablo 2.4. Mitokondriyal 18S rDNA bölgesine ait PCR koşulları

PCR Aşaması	Sıcaklık (°C)	Süre (saniye)	Döngü Sayısı
Ön Denatürasyon	94	300	1
Denatürasyon	94	45	
Bağlanma	48	60	38
Uzama	72	120	
Son Uzama	72	300	1
Saklama	4		

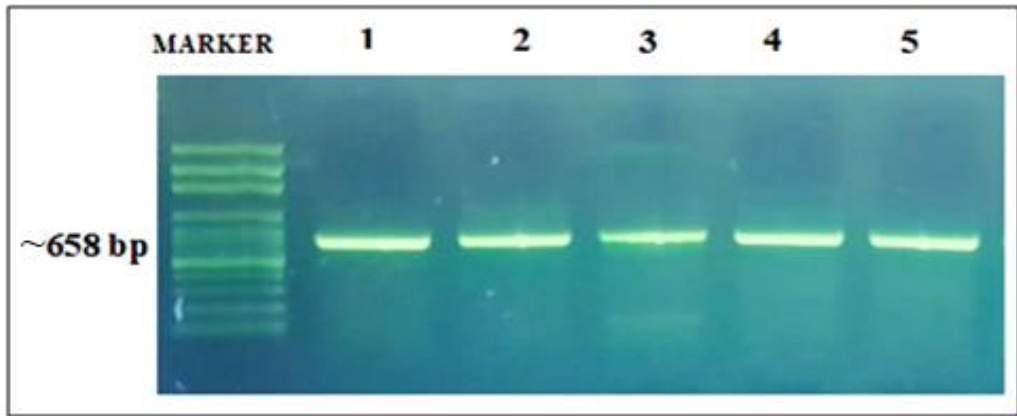
Tablo 2.5. Mitokondriyal ITS1 bölgesine ait PCR koşulları

PCR Aşaması	Sıcaklık (°C)	Süre (saniye)	Döngü Sayısı
Ön Denatürasyon	95	300	1
Denatürasyon	94	30	35
Bağlanma	60	30	
Uzama	72	40	
Son Uzama	72	360	1
Saklama	4		

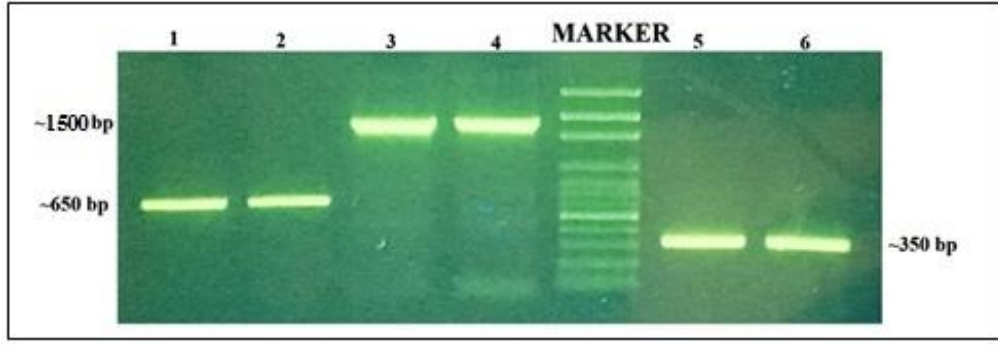
#### 2.4. Agaroz Jel Elektroforezi

İzole edilen DNA örneklerini incelemek için agaroz jel elektroforez tekniği kullanıldı. 10X Tris Asetat-EDTA (TAE) solüsyonu (AppliChem Panreac ITW Companies A4227) 1X elde edilecek şekilde seyreltilti. %1 w/v olacak şekilde agaroz (Sigma Life Science A9539) tartıldı. Sonra 1X TAE ve agaroz karışımı mikrodalga fırında agarozun erimesi ile homojen hale getirilinceye kadar ısıtıldı. Bir süre bekletilerek soğuması sağlandı ardından 5 µl Safe-T-Stain (Etidyum bromid'e alternatif, ETB666.R BioShop Canada) eklenilerek iyice karıştırıldı. Elde edilen karışım elektroforez sistemindeki tabağa döküldü ve polimerize olması için bekletildi.

Genomik DNA örnekleri 100 voltta 15 dakika yürütüldü. PCR ile çoğaltılan COI, 16S rDNA, 18S rDNA ve ITS1 gen ürünleri %1'lik agaroz jelde 100 voltta 45 dakika yürütüldü. DNA bantları UV translüminatör ile görüntülenerek fotoğraflandı (Şekil 2. 1 ve Şekil 2. 2).



Şekil 2.2. COI PCR ürünlerinin agaroz jel görüntüsü, marker 100 bp DNA Ladder



Şekil 2.3. 1-2. sütunlar 16S rDNA, 3-4. sütunlar 18S rDNA ve 5-6. sütunlar ITS1 PCR ürünlerinin agaroz jel görüntüleri, marker 100 bp DNA Ladder

## 2.5. DNA Dizi Analizi

PCR ürünleri ExoSAP-IT™ PCR Product Cleanup Reagent (Thermo Fisher Scientific, USA) kiti prosedürleri kullanılarak BM Lab tarafından saflaştırıldı. Saflaştırılan PCR ürünleri COI, 16S rDNA, 18S rDNA ve ITS1'e ait ileri ve geri yönlü primerler ile karıştırılarak dizi analizi gerçekleştirildi. Dizi analizi için Macrogen Hollanda laboratuvarında, ABI 3730XL Sanger dizileme cihazı (Applied Biosystems, Foster City, CA) ve BigDye Terminator v3.1 Cycle Dizileme Kiti kullanılarak yapıldı.

## 2.6. Filogenetik Analiz

Elde edilen DNA sekanslarından SPJ3 (SekaPark Jellyfish 3) ve SPJ5 (SekaPark Jellyfish 5) tüm dizilerde en temiz sekansları verdiklerinden dolayı filogenetik analizlere ikisi ile devam edildi. İki örneğe ait COI, 16S rDNA, 18S rDNA ve ITS1 gen dizileri Chromas (v.2.6.5.) programı kullanılarak elektroferogramları görüntülendi. Chromas üzerinden diziler ayrı ayrı FASTA formatında kaydedildi. Dizilerin forward ve reverse komplement okumaları ClustalW programı ile hizalanarak karşılaştırıldı. Her bir gen bölgesine ait diziler FASTA formatında NCBI Nucleotide BLAST'a yüklenerek erişim numaraları (EK A-D) alındı. NCBI veri bankasında kayıtlı dizilerle benzerlikleri karşılaştırıldı. En çok benzerlik gösteren diziler, benzerlik sıralarına göre GeneBank erişim numaraları ile birlikte filogenetik ağaçta kullanılmak üzere not edildiler. Çalışılan dört gen bölgesine ait olan tüm diziler ayrı ayrı MEGA (v.7.0) programına yüklenerek modelleme yöntemleri, mesafeleri belirlendi. Maksimum Likelihood (ML) metodu, Bootstrap 1000'de

filogenetik ağaçları oluşturuldu. En son tüm ağaçları bir arada görebilmek için, FigTree (v1.4.3.) programı yardımıyla görsel olarak düzenlendi (EK-H).



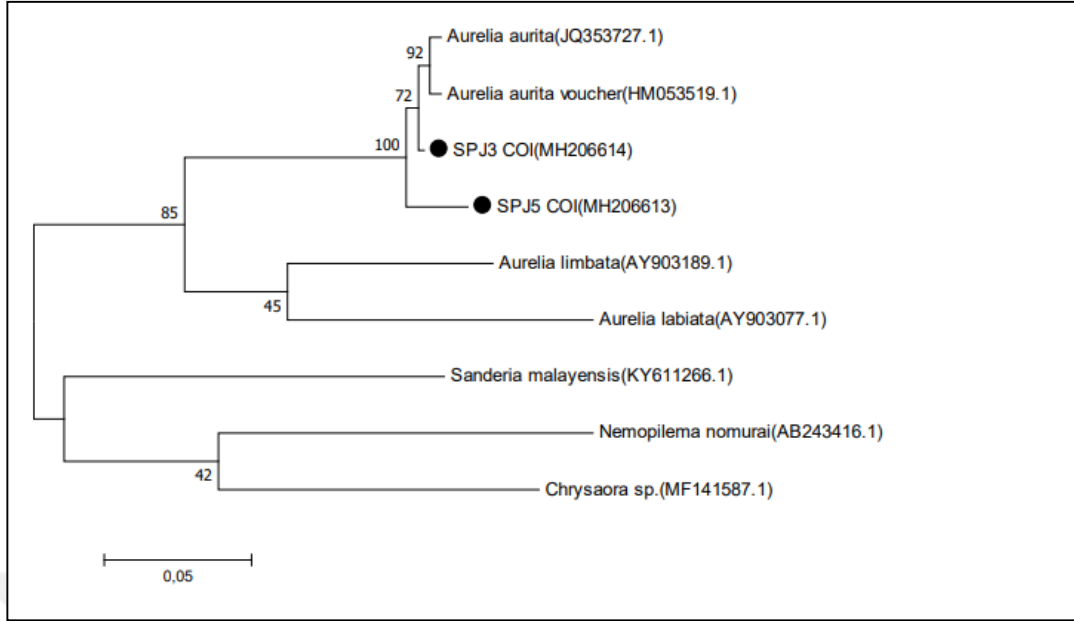
### 3. BULGULAR

#### 3.1. COI

*A. aurita* için NCBI'dan SPJ3\_COI için MH206614, SPJ5\_COI için MH206613 erişim numaraları (Accession Number) alındı. MH206614 ve MH206613 için ayrı ayrı NCBI Blast'a girilerek veri tabanında bulunan denizanası türleriyle benzerlikleri bulundu. Bunlar arasından çalışmamıza ait COI dizileriyle %99.1-76.6 benzerlik oranlarına göre *A. limbata* (AY903189.1), *A. labiata* (AY903077.1), *Nemopilema nomurai* (AB243416.1), *Chrysaora sp.* (MF141587.1), *Sanderia malayensis* (KY611266.1), *A. aurita* (JQ353727.1) ve *A. aurita* voucher (HM053519.1) veri tabanından seçildi (Tablo 3.1). Genetik uzaklıkları hesaplandı ve model olarak T92+G+I seçildi. Çalışmamıza ait MH206614 ve MH206613 erişim numaralı *A. Aurita*'lar ile veri tabanından belirlenen örneklere ait COI geni için en düşük genetik uzaklık 0.004, en yüksek genetik uzaklık ise 0.295 olarak bulundu (Tablo 3.2). Programda baz frekansları  $f(A)=0.309$ ,  $f(T)=0.309$ ,  $f(C)=0.191$ ,  $f(G)=0.191$  ve +G (Gamma distribution)=7.39, +I=0.56 olarak elde edildi. Örneklerimize ait COI geni için oluşturulan filogenetik ağaç Şekil 3.1'de görülmektedir.

Tablo 3.1. SPJ3 (MH206614) ve SPJ5 (MH206613) COI gen bölgeleri ile NCBI-Nucleotide'den alınan diğer denizanelerinin Clustal W programı ile % benzerlik oranlarının karşılaştırılması

Erişim Numarası	SPJ3 (% benzerlik)	SPJ5 (% benzerlik)
<i>A. aurita</i> (JQ353727.1)	99.1	86.7
<i>A. aurita</i> (HM053519.1)	95.6	85.3
<i>A. limbata</i> (AY903189.1)	84.8	74.8
<i>A. labiata</i> (AY903077.1)	82.2	74
<i>S. malayensis</i> (KY611266.1)	76.8	68
<i>N. nomurai</i> (AB243416.1)	76.7	69.2
<i>Chrysaora sp.</i> (MF141587.1)	76.6	68



Şekil 3.1. *A. aurita*'ya ait COI gen bölgesi için ML metodu ile oluşturulan moleküler filogenetik ağaç

Tablo 3.2. MH206614 ve MH206613 erişim numaralı *A. aurita* COI gen bölgeleri ile denizanası türlerine ait ML ve genetik uzaklıkları

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1. SPJ3 COI(MH206614)		0.022	0.023	0.027	0.028	0.026	0.004	0.004	0.007
2. <i>Aurelia limbata</i> (AY903189.1)	0.183		0.021	0.027	0.024	0.025	0.023	0.024	0.024
3. <i>Aurelia labiata</i> (AY903077.1)	0.212	0.177		0.026	0.027	0.027	0.023	0.024	0.024
4. <i>Nemopilema nomurai</i> (AB243416.1)	0.251	0.250	0.249		0.024	0.028	0.027	0.027	0.030
5. <i>Chrysaora sp.</i> (MF141587.1)	0.270	0.235	0.269	0.232		0.024	0.028	0.028	0.029
6. <i>Sanderia malayensis</i> (KY611266.1)	0.243	0.259	0.274	0.276	0.234		0.026	0.026	0.027
7. <i>Aurelia aurita</i> (JQ353727.1)	0.010	0.197	0.210	0.263	0.272	0.253		0.004	0.008
8. <i>Aurelia aurita</i> voucher(HM053519.1)	0.010	0.197	0.207	0.260	0.272	0.253	0.008		0.008
9. SPJ5 COI(MH206613)	0.027	0.203	0.228	0.289	0.295	0.260	0.033	0.033	

### 3.2. 16S rDNA

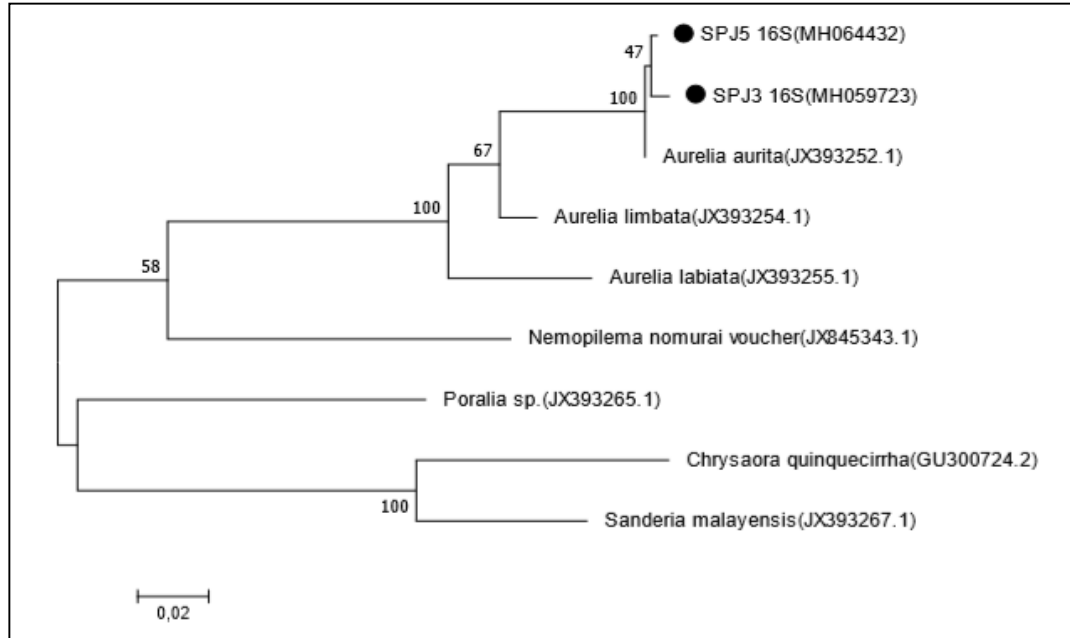
*A. aurita* için NCBI'dan SPJ3\_16S rDNA için MH059723, SPJ5\_16S rDNA için MH064432 erişim numaraları alındı. MH059723 ve MH064432 için ayrı ayrı NCBI Blast'a girilerek veri tabanında bulunan denizanası türleriyle benzerlikleri bulundu. Bunlar arasından çalışmamıza ait 16S rDNA dizileriyle %99.67-70.04 benzerlik oranlarına göre *A. aurita* (JX393252.1), *A. limbata* (JX393254.1), *A. labiata* (JX393255.1), *Poralia sp.* (JX393265.1), *N. nomurai* voucher (JX845343.1), *C. quinquecirrha* (GU300724.2) ve *S. malayensis* (JX393267.1) veri tabanından seçildi (Tablo 3.3). Genetik uzaklıkları hesaplandı ve model olarak GTR+G+I seçildi. Çalışmamıza ait MH064432 ve MH059723 erişim numaralı *A. Aurita* ile NCBI veri



tabanından belirlenen örneklere ait 16S rDNA geni için en düşük genetik uzaklık 0.003, en yüksek genetik uzaklık ise 0.396 olarak bulundu (Tablo 3.4). Programda baz frekansları ise  $f(A)=0.354$ ,  $f(T)=0.272$ ,  $f(C)=0.179$ ,  $f(G)=0.195$  ve  $+G=0.60$ ,  $+I=0.28$  olarak elde edildi. Örneklerimize ait 16S rDNA geni için oluşturulan filogenetik ağaç Şekil 3.2’de görülmektedir.

Tablo 3.3. SPJ3 (MH059723) ve SPJ5 (MH064432) 16S rDNA gen bölgeleri ile NCBI-Nucleotide’den alınan diğer denizanalarının Clustal W programı ile % benzerlik oranlarının karşılaştırılması

Erişim Numarası	SPJ3 (% benzerlik)	SPJ5 (% benzerlik)
<i>A.aurita</i> (JX393252.1)	99.3	99.7
<i>A. limbata</i> (JX393254.1)	94.3	93.8
<i>A. labiata</i> (JX393255.1)	88.2	88.2
<i>N. nomurai</i> (JX845343.1)	74.7	74.9
<i>Poralia</i> sp. (JX393265.1)	74.5	75.2
<i>C. quinquecirrha</i> (GU300724.1)	71	71.8
<i>S. malayensis</i> (JX393267.1)	70.9	70



Şekil 3.2 *A. aurita*'ya ait 16S rDNA gen bölgesi için ML metodu ile oluşturulan moleküler filogenetik ağaç

Tablo 3.4. MH064432 ve MH059723 erişim numaralı *A. aurita* 16S rDNA gen bölgeleri ile diğer denizanası türlerine ait ML ve genetik uzaklıkları

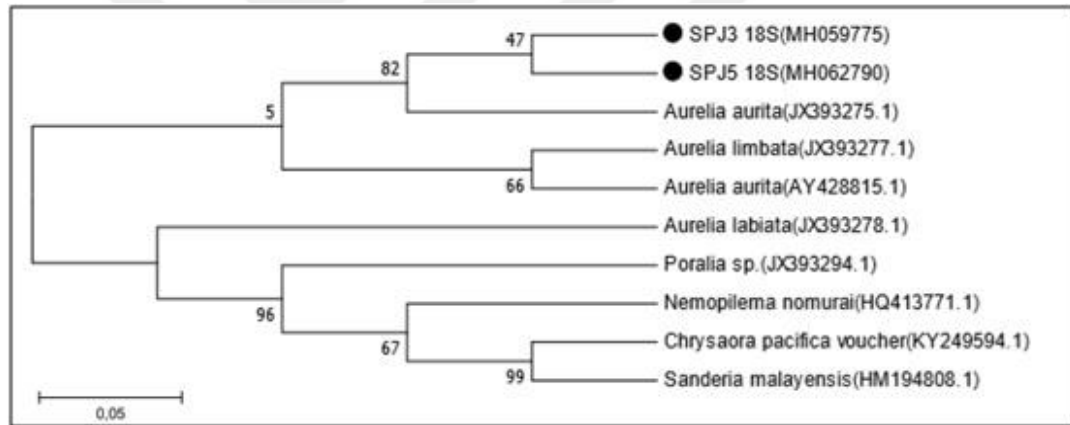
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1. SPJ5 16S(MH064432)		0.003	0.002	0.013	0.020	0.045	0.039	0.058	0.059
2. SPJ3 16S(MH059723)	0.007		0.003	0.013	0.020	0.046	0.039	0.059	0.058
3. Aurelia aurita(JX393252.1)	0.003	0.007		0.012	0.019	0.045	0.038	0.056	0.057
4. Aurelia limbata(JX393254.1)	0.061	0.061	0.057		0.013	0.047	0.039	0.053	0.056
5. Aurelia labiata(JX393255.1)	0.122	0.121	0.115	0.072		0.055	0.045	0.060	0.055
6. Poralia sp. (JX393265.1)	0.312	0.319	0.312	0.318	0.355		0.038	0.048	0.042
7. Nemopilema nomurai voucher(JX845343.1)	0.278	0.277	0.269	0.269	0.309	0.272		0.057	0.050
8. Chrysaora quinquecirrha(GU300724.2)	0.407	0.412	0.395	0.371	0.421	0.360	0.402		0.023
9. Sanderia malayensis(JX393267.1)	0.396	0.395	0.384	0.372	0.373	0.309	0.355	0.143	

### 3.3. 18S rDNA

*A. aurita* için NCBI'dan SPJ3\_18S için MH059775, SPJ5\_18S için MH062790 erişim numaraları alındı. MH059775 ve MH062790 için ayrı ayrı NCBI Blast'a girilerek veri tabanında bulunan denizanası türleriyle benzerlikleri bulundu. Bunlar arasından çalışmamıza ait 18S rDNA dizileriyle %100-90.46 benzerlik oranlarına göre *A. limbata* (JX393277.1), *A. labiata* (JX393278.1), *Poralia sp.* (JX393294.1), *N. nomurai* (HQ413771.1), *C. pacifica voucher* (KY249594.1), *S. malayensis* (HM194808.1), *A. aurita* (JX393275.1) ve *A. aurita* (AY428815.1) benzerlik oranları gösteren örnekler veri tabanından seçildi (Tablo 3.5). Genetik uzaklıkları hesaplandı ve model olarak T92+G seçildi. Çalışmamıza ait MH059775 ve MH062790 erişim numaralı *A. aurita* ile NCBI veri tabanından belirlenen örneklerle ait 18S rDNA geni için en düşük genetik uzaklık değeri 0.000 iken, en yüksek genetik uzaklık değeri 0.066 olarak bulundu (Tablo 3.6). Programda baz frekansları  $f(A)=0.272$ ,  $f(T)=0.272$ ,  $f(C)=0.228$ ,  $f(G)=0.228$  ve  $+G=0.13$ ,  $+I=0.28$  olarak elde edildi. Örneklerimize ait 18S rDNA geni için oluşturulan filogenetik ağaç Şekil 3.3'de görülmektedir.

Tablo 3.5. SPJ3 (MH059775) ve SPJ5 (MH062790) 18S rDNA gen bölgeleri ile NCBI-Nucleotide'den alınan diğer denizanalarının Clustal W programı ile % benzerlik oranlarının karşılaştırılması

Erişim Numarası	SPJ3 (% benzerlik)	SPJ5 (% benzerlik)
<i>A. aurita</i> (JX393275.1)	100	89.9
<i>A. labiata</i> (JX393278.1)	99.9	83.7
<i>A. limbata</i> (JX393277.1)	99.3	88.4
<i>A. aurita</i> (AY428815.1)	98.3	89.4
<i>Poralia sp.</i> (JX393294.1)	98.1	87.2
<i>C. pacifica</i> (KY249594.1)	96.2	86.9
<i>N. nomurai</i> (HQ413771.1)	95.7	87.1
<i>S. malayensis</i> (HM194808.1)	95.3	85.9



Şekil 3.3 *A. aurita*'ya ait 18S rDNA gen bölgesi için ML metodu ile oluşturulan moleküler filogenetik ağaç

Tablo 3.6. MH059775 ve MH062790 erişim numaralı *A. aurita* 18S rDNA gen bölgeleri ile diğer denizanası türlerine ait ML ve genetik uzaklıkları

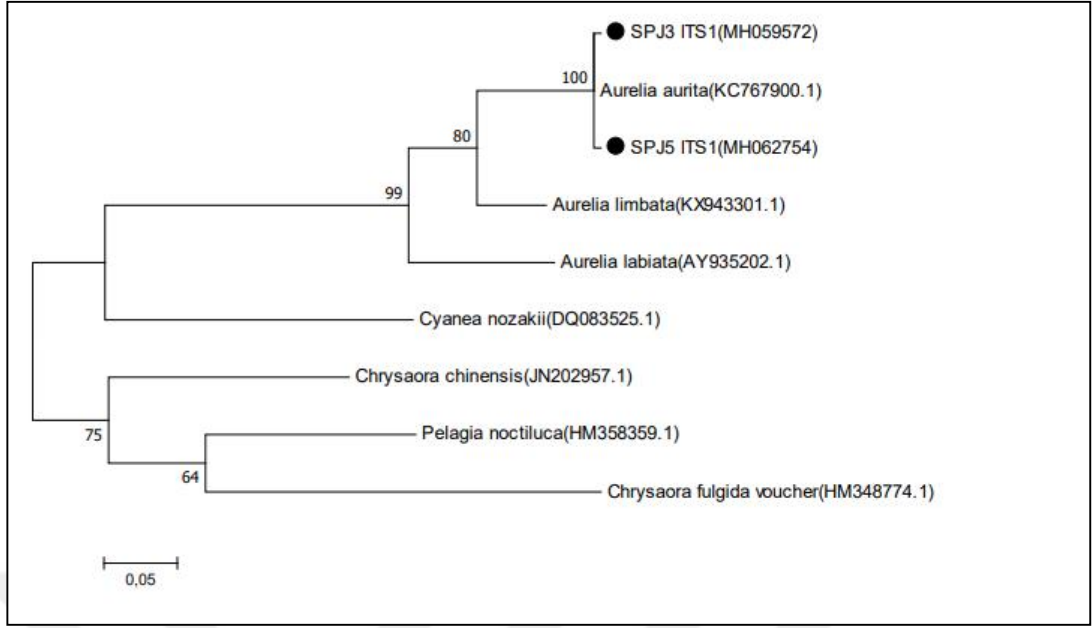
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1. SPJ3 18S(MH059775)		0.002	0.001	0.004	0.004	0.004	0.005	0.000	0.001	0.006
2. Aurelia limbata(JX393277.1)	0.004		0.002	0.004	0.004	0.004	0.005	0.002	0.001	0.006
3. Aurelia labiata(JX393278.1)	0.002	0.004		0.003	0.004	0.004	0.005	0.001	0.001	0.006
4. Poralia sp. (JX393294.1)	0.015	0.015	0.013		0.004	0.004	0.005	0.004	0.003	0.008
5. Nemopilema nomurai(HQ413771.1)	0.015	0.017	0.015	0.015		0.004	0.005	0.004	0.004	0.008
6. Chrysaora pacifica voucher(KY249594.1)	0.018	0.018	0.016	0.019	0.016		0.003	0.004	0.004	0.008
7. Sanderia malayensis(HM194808.1)	0.029	0.029	0.027	0.030	0.026	0.014		0.005	0.005	0.009
8. Aurelia aurita(JX393275.1)	0.000	0.004	0.002	0.015	0.015	0.018	0.029		0.001	0.006
9. Aurelia aurita(AY428815.1)	0.002	0.002	0.002	0.013	0.015	0.018	0.029	0.002		0.006
10. SPJ5 18S(MH062790)	0.034	0.038	0.036	0.051	0.050	0.054	0.066	0.034	0.036	

### 3.4. ITS1

*A. aurita* için NCBI'dan SPJ3 ITS1 için MH059572, SPJ5 ITS1 için MH062754 erişim numaraları alındı. MH059572 ve MH062754 için ayrı ayrı NCBI Blast'a girilerek veri tabanında bulunan denizanası türleriyle benzerlikleri bulundu. Bunlar arasından çalışmamıza ait ITS1 dizileriyle %84-41 benzerlik oranlarına göre *A. aurita* (KC767900.1), *A. limbata* (KX943301.1), *A. labiata* (AY935202.1), *Pelagia noctiluca* (HM358359.1), *C. fulgida voucher* (HM348774.1), *C. chinensis* (JN202957.1) ve *Cyanea nozakii* (DQ083525.1) veri tabanından seçildi (Tablo 3.7). Genetik uzaklıkları hesaplandı ve model olarak T92+G+I seçildi. Çalışmamıza ait MH059572 ve MH062754 erişim numaralı *A. aurita*'lar ile veri tabanından seçilen örneklere ait ITS1 gen bölgesi için en düşük genetik uzaklık 0.005 ve en yüksek genetik uzaklık ise 0.683 olarak bulundu (Tablo 3.8.). MEGA (v.7.0) programında baz frekansları  $f(A)=0,290$ ,  $f(T)=0.290$ ,  $f(C)=0.210$ ,  $f(G)=0.210$  ve  $+G=2.42$ ,  $+I=0.33$  olarak elde edildi. Örneklerimize ait ITS1 gen bölgesi için oluşturulan filogenetik ağaç Şekil 3.4'de görülmektedir.

Tablo 3.7. SPJ3 (MH059572) ve SPJ5 (MH062754) ITS1 gen bölgeleri ile NCBI-Nucleotide'den alınan diğer denizanelerinin Clustal W programı ile % benzerlik oranlarının karşılaştırılması

Erişim Numarası	SPJ3 (% benzerlik)	SPJ5 (% benzerlik)
<i>A. aurita</i> (KC767900.1)	84.9	92.3
<i>A. limbata</i> (KX943301.1)	56.4	60.7
<i>A. labiata</i> (AY935202.1)	52.6	54.5
<i>C. chinensis</i> (JN202957.1)	49.8	50.8
<i>C. fulgida</i> (HM348774.1)	48.7	51.7
<i>P. noctiluca</i> (HM358359.1)	41.4	43.6
<i>C. nozakii</i> (DQ083525.1)	38	44.2



Şekil 3.4 *A. aurita*'ya ait ITS1 gen bölgesi için ML metodu ile oluşturulan moleküler filogenetik ağaç

Tablo 3.8. MH059572 ve MH062754 erişim numaralı *A. aurita* ITS1 gen bölgeleri ile diğer iç ve dış gruplarına ait ML ve genetik uzaklıkları

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1. SPJ3 ITS1(MH059572)		0.005	0.028	0.044	0.094	0.107	0.086	0.083	0.007
2. Aurelia aurita(KC767900.1)	0.005		0.028	0.043	0.093	0.105	0.084	0.082	0.005
3. Aurelia limbata(KX943301.1)	0.134	0.128		0.038	0.097	0.116	0.078	0.081	0.027
4. Aurelia labiata(AY935202.1)	0.230	0.223	0.193		0.089	0.109	0.095	0.077	0.044
5. Pelagia noctiluca(HM358359.1)	0.614	0.602	0.604	0.570		0.079	0.067	0.073	0.094
6. Chrysaora fulgida voucher(HM348774.1)	0.669	0.655	0.683	0.662	0.476		0.089	0.107	0.104
7. Chrysaora chinensis(JN202957.1)	0.558	0.547	0.501	0.596	0.414	0.546		0.077	0.086
8. Cyanea nozakii(DQ083525.1)	0.549	0.537	0.524	0.507	0.483	0.632	0.485		0.084
9. SPJ5 ITS1(MH062754)	0.010	0.005	0.128	0.230	0.614	0.653	0.558	0.548	

#### 4. TARTIŞMA

Tüm dünyada hızla devam eden moleküler biyoloji ve genetik alanındaki çalışmalarda temel amaç popülasyonlar ve bireylerde genetik yapının belirlenmesi, bu genetik yapıdaki genlerin buldukları yerlerin saptanması, fonksiyonlarının algılanması ve diğer genlerle olan ilişkilerinin belirlenmesi yönündedir. DNA'nın yapısının çözülmesiyle birlikte genetik kodların şifresi de bulunmuş ve böylelikle biyoloji alanında çok büyük mesafeler katedilmiştir.

Canlılar üzerinde yapılan filogenetik ve taksonomik çalışmalarda nüklear ribozomal genler ile mitokondride yer alan 12S rDNA, 16S rDNA ve sitokrom b genleri PCR ile çoğaltılmakta ve DNA'daki bazı sıraları analiz edilmektedir (Aygün, 2012; Dingman, 2009; Özdemir, 2007; Sucharitaku ve diğerleri, 2017; Tindall ve diğ., 2010; van Walraven ve diğerleri, 2016)

Laboratuvarımızın bulunduğu konuma çok uzak mesafelerde Marmara Denizi'nin kuzey ve güney sahillerinden alınıp deniz suyu konularak derin kaplarda taşınan denizanası örneklerinin bir kısmından çok az miktarda DNA izole edilebildi. İzole edilen DNA'ların bir kısmında DNA dizi analizleri incelendiğinde midye, balık, alg ve bakteri gibi çeşitli canlılara ait oldukları tespit edildi. En iyi çalışılan 2 örnek İzmit Sekapark sahilinden toplanan *A. aurita* denizanası örnekleri oldu. Bu nedenle çalışmaya bu iki örnekle devam edildi. Diğer sahillerden toplanan denizanası örneklerinin uzak mesafelerden kendi doğal ortamları olan denizsuyu içinde taşınmalarına rağmen laboratuvara getirilene kadar kontamine olabileceklerini ve bu nedenle DNA analizlerinde farklı canlı türlerine rastlamış olabileceğimizi düşünmekteyiz. Nitekim İzmit Sekapark sahilinden toplanan denizanası örneklerinin hızlı bir şekilde laboratuvara ulaştırılması doğru sonucu elde etmemizi sağlamıştır.

Ribozom, RNA ve protein molekülleri içeren iki alt birimden oluşmakta ve bu birimler aracılığıyla protein sentezi sağlanmaktadır. Prokaryotik küçük alt ünite rDNA molekülü 16S sedimentasyon katsayısına sahip bir fragmandır. Büyük alt ünite rDNA 23S ve 5S moleküllerini taşımaktadır. 16S ve onu kodlayan genomik

dizi sınıflandırmada kullanılmakta olan bir gen bölgesidir. Bu gen bölgesi iyi korunmaktadır ve heterojen bölgelere sahiptir. 16S rDNA'nın yüksek oranda korunmuş olan bölgeleri, pek çok türde PCR amplifikasyon primerleri olarak kullanılmaktadır. DNA dizi farklarını gösteren bölgeler, izolatların taksonomik olarak cins veya tür düzeyinde sınıflandırılmasında kullanılacak polimorfizmler taşısa da bazen 16S rDNA dizilerindeki farklılık dereceleri çok yakın türlerin birbirinden ayrılmasında yetersiz kalmaktadır (Brown-Elliott ve diğ., 2006; Kolbert ve diğ., 2004). 16S rDNA'nın yetersiz kaldığı böyle durumlarda ise korunaklı gen bölgelerine sahip olan diğer genler kullanılmakta ve 16S rDNA'ya kıyasla daha kesin sonuçlar vermektedirler (Tindall ve diğ., 2010; Coenye ve diğ., 2005; Kirby ve diğ., 2010). Nitekim Duman ve diğ. (2016), *Bacillus* cinsi bakteriler üzerinde yaptıkları çalışmada 16S rDNA ile tür ayırımına gittiklerinde *Bacillus methylotrophicus* ayırımını yapamadıklarını belirtmişlerdir. *B. methylotrophicus*, *B. subtilis*, *B. thurugiensis*, *B. vallismortis* türlerinin % benzerlik oranlarının çok yakın olmasından dolayı tür ayırımına gitmek için *gyrA* gen bölgesini de çalışmaları kapsamına aldıklarını not etmişlerdir (Duman ve diğ., 2016). Duman ve diğ. (2016) prokaryotlarda yaptıkları çalışmanın tersine biz ökaryot genomunda, denizanası üzerinde yaptığımız çalışmada 16S rDNA gen bölgesinin denizanası türleri arasında ayırım gücünün yüksek olduğunu belirledik. SPJ3 ve SPJ5 örneklerimiz incelendiğinde %99.3 ve %99.7 benzerlik oranı ile *A. aurita* türüne ait olduğunu görmekteyiz. NCBI BLAST ile örneklerimize ait 16S rDNA dizisi incelendiğinde *A. aurita*'yı yaklaşık %94 ile *A. limbata* ve %88.2 ile *A. labiata* izlemektedir. Aurelia'da cins düzeyinde denizaneleri arasında da yakın benzerlik oranları görülmesine karşın 16S rDNA dizisinin türler arasında ayırım gücünün yüksek olduğu görülmektedir. *Poralia sp.*, *N. nomurai*, *C. quinquecirrha* ve *S. malayensis* ise %75-70 arası benzerlikler takip etmektedir (Tablo 3.3).

Türkiye denizlerinde yaşayan *A. aurita*, *R. pulmo* ve *C. andromeda* denizaneleri üzerinde Özbalcılar (2012) tarafından yapılan bir çalışmada mitokondrial 16S rDNA bölgeleri değerlendirilmiştir. Belirtilen çalışmada PCR-RFLP tekniği kullanılarak denizanası türleri arasında 4 çeşit restriksiyon endonükleaz enzimi (BsuRI, AluI, Hin6I, RsaI) kullanılarak 5 haplotip ortaya çıkarılmış; *R. pulmo* ve *A. aurita* türlerinin yakın akrabalığı ve *C. andromeda* türünün bu iki türe göre nispeten daha

uzak akrabalığın olduğu bulunmuştur. Özbalcılar (2012), tarafından yapılan bu araştırmada 16S rDNA'nın denizanası türleri arasında ayırım gücüne sahip olması yaptığımız çalışmayı destekler nitelikte görülmektedir.

Türkiye kıyılarında yayılış gösteren Gadidae (mezgit) ailesine ait türler üzerinde yapılan bir filogenetik analiz çalışmasında 12S rDNA gibi kısa baz uzunluğuna sahip hem de 16S rDNA gibi uzun baz uzunluğuna sahip gen bölgesinde oluşturulan ağaçlar tür ayırımında kullanışlı bulunmuştur (Gür, 2014). Gerek Özbalcılar (2012) ve Gür (2014) gerekse tarafımızdan yapılan 16S rDNA çalışmaları birlikte ele alındığında moleküler düzeyde tür tayini yapmada (daha çok deniz canlılarında) 16S rDNA gen bölgesinin barkodlama çalışmalarında kullanılabileceği desteklenmektedir.

Nükleer ITS1 ve mitokondrial COI genleri, en az dokuz farklı Aurelia kladında farklılıkları ortaya çıkarmaktadır. ITS1'in 240 nükleotidden 360 nükleotide kadar değişen baz uzunlukları türler arasındaki farkı çarpıcı bir şekilde ortaya koymaktadır. Değişen uzunluk benzer türler arasında örneğin Corallimorpharia (yumuşak mantar mercanları)'da 286'dan 350'ye; Scleractinia (taşlı mercanlar)'da 214'den 297'ye ve Octocorallia (yumuşak mercanlar) türleri arasında 216 nükleotidden 336 nükleotide kadar farklılık göstermektedir. Bir diğer avantaj, ITS1'de mikrosatellit içeren bölgelerdeki yüzde oranlar kladlar arasında örneğin %10'dan (*A. labiata*) %40'a (*Aurelia sp.*) farklılığı ortaya koymaktadır. Yapılan çalışmalarla taksonlar arasında da benzerlik ve farklılıkların ITS1 ile gösterilebileceği bulunmuştur. Örneğin mercanlarda %4,5-14,9 arasında değişkenlik gösterebilirken sivrisineklerde %5.8-19.5 arasında değişkenlik göstermektedir. ITS1 dizileri arasındaki %5-15 arasındaki bir farklılık türler arasındaki ayrılığı işaret etmektedir (Beauchamp ve diğ., 1996; Chen ve diğ., 1996; Dawson ve Jacobs, 2001; Odorico ve diğ., 1997; Wesson ve diğ., 1992). *A. limbata*, *A. labiata* ve *A. aurita*'nında içinde bulunduğu en az dokuz farklı Aurelia türünde ITS1'de ki sekans farklılığı Dawson ve Jacobs (2001) tarafından rapor edilmiştir.

Marmara Denizi ve Karadeniz sahillerinde Doğan (2017), tarafından Scyphozoa sınıfına ait *A. aurita* ve *R. pulmo* türlerinde ITS1 gen bölgesi kullanılarak filogenetik analiz yapılmış fakat çalışmaya ait örneklerin GeneBank erişim numaralarına



ulaşılamadığından filogenetik ağaç oluştururken kaynak olarak kullanılamamıştır. Yaptığımız çalışma ile Marmara Denizi'nde yayılış gösteren *A. aurita* üzerinde ITS1 geni veri girişi sağlanmış durumdadır. Doğan (2017) tarafından *A. aurita* ve *R. pulmo* denizanalarında yapılan çalışmada ITS1 gen bölgelerine ait PCR görüntüleri incelendiğinde farklı nükleotid uzunluklarına sahip bantlar olduğu görülmektedir. Dawson ve Jacobs (2001) ve Batovska ve diğ. (2017) çalışmaları incelendiğinde de, ITS1 gen bölgesinin yüksek varyasyon göstermesi hizalamalarda zorluklar çıkarmasına rağmen komşu dizileri ile ya da diğer DNA barkod genleri ile birlikte değerlendirilmesinin faydalı olacağını düşünmekteyiz.

Çok hücreli canlılarda da COI geninde örneğin Copepod (kürek ayaklılar) türleri %18 kadar, *Alpheus* (karides) türleri arasında %4-19, *Gammarus* (nehir tırağı) türleri arasında ise %11.5-30.8 lik bir sekans varyasyonu türleri tanımlamada farklılığı ortaya koymaktadır. *Aurelia* türleri arasında COI geninde %13'den %24'e değişen sekans varyasyonları olduğu bildirilmiştir. (Dawson ve Jacobs, 2001). COI genindeki bu değişen bölgeler *A. limbata*, *A. labiata* ve *A. aurita* türleri arasındaki filogenetik ayrımı destekler niteliktedir.

Tablo 3.5 incelendiğinde SPJ3 örneğimize ait DNA sekansı ile diğer denizanalarına ait 18S rDNA sekansları hizalandığında benzerliklerinin çok yakın oldukları bulunmuştur. Her ne kadar 18S rDNA sekansımız NCBI-Blast'ta %100 oranında *A. aurita* (JX393275.1) ile aynı çıksa da bunu %99.9 ile *A. labiata*, %99.3 ile *A. limbata* izlemektedir. Tablo 3.5'de görülen diğer türlerle de % benzerlik oranları oldukça yakındır. Elde ettiğimiz sonuçlardan da görüleceği üzere denizanalarında 18S rDNA gen bölgesi cins ve tür ayrımında DNA barkodlamada çok ayırıcı değildir. 18S rDNA dizisi ağırlıklı olarak evrimsel korunmuş bölgeler içerdiğinden alem, filum, sınıf ve takım seviyesinde filogenetik ilişkileri ortaya çıkarmada kullanılabilir (Chalwatzis ve diğ. 1995; Hwang ve Kim, 1999).

SPJ3 ve SPJ5 örneklerimiz ve diğer denizanası türleri için Tablo 3.1, Tablo 3.2, Tablo 3.7 ve Tablo 3.8 COI ve ITS1 gen bölgeleri açısından karşılaştırıldığında ITS1'in bariz bir şekilde tür düzeyinde farklılığı ortaya koyduğunu görmekteyiz. Tablo 3.3 ve Tablo 3.4 için mitokondrial 16S rDNA gen bölgesi COI ve ITS ile karşılaştırıldığında tür düzeyinde belirleyici olmasına rağmen farklılığı ortaya

koymada nispeten daha düşük bulunmuştur. Bu durumda denizanası çalışmaları için tür tespit etmede yaptığımız çalışmaya göre en belirleyici olandan en düşük olana doğru ITS1, COI, 16S rDNA ve 18S rDNA olarak sıralayabiliriz. 18S rDNA her ne kadar *A. aurita* olduğunu gösterse de gerek *Aurita* cinsleri arasında gerekse diğer türler arasında benzerlik oranlarını çok yakın göstermektedir. Literatür bilgilerine göre 18S rDNA gen bölgesi evrimsel olarak yüksek oranda korunmuş bölgeler içerdiğinden cinsten yüksek taksonlarda kullanılmaktadır (Hwang ve Kim, 1999)

Türkiye sularında yapılan çalışmalar araştırıldığında Çanakkale Boğazındaki, Scyphomedusae (*A. aurita*, *R. pulmo* ve *Chrysaora hysoscellid*) ve Ctenophora türlerinin (*Mnemiopsis leidyi*, *Pleurobranchia pileus*) mevsimsel dağılımları (Çardak, 2002), Karadeniz’de yaşayan *R. pulmo* denizanalarının işlenmesi, protein, karbon, hidrojen, azot, Ca, Mg, Cu, Fe, Zn ve Ni miktarlarının bulunması (Özer, 1994) gibi çalışmalar bulunmaktadır. *Aurelia* bütün denizanaları arasında en çok çalışılmış olmasına rağmen onun taksonomisi ve moleküler karakterizasyonu ile ilgili çok az şey bilinmektedir. Yaptığımız bu çalışma ile *A. aurita*’ya ait mitokondrial COI, 16S rDNA, 18 rDNA ve ITS1 gen bölgeleri araştırılmıştır. Keskin ve Atar (2013) tarafından Karadeniz-Sinop kıyılarından elde edilen *A. aurita* örneklerine ait COI gen bölgesi sekans dizilerinin genom veri bankasında kayıtları bulunmaktadır. Elde ettiğimiz COI dizileri ile Marmara Denizi’nde yaşayan *A. aurita*’ya ilk veri girişi (MH206614, MH206613) sağlanmış bulunmaktadır. Aynı şekilde yine Türkiye, Marmara sahillerinde yayılış gösteren *A. aurita*’ya ait 16S ribozomal RNA geni (MH059723, MH064432), 18S ribozomal RNA geni (MH059775, MH062790) ve ITS1 geni (MH059572, MH062754) ile ilgili genom veri bankasına ilk kayıt sağlanmıştır.

## 5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Sonuç olarak yaptığımız bu çalışmada Marmara Denizi'nde yayılış gösteren *A. aurita* denizanası türüne ait mitokondrial COI, 16S rDNA ile nükleer 18S rDNA ve ITS1 genleri PCR-DNA sekans analizi ile moleküler düzeyde çalışılarak filogenetik analizi yapılmış ve veri bankalarına kaydı sağlanmıştır. COI, 16S rDNA ve ITS1 gen bölgeleri denizanelerinde yapılacak moleküler düzeyde tür tayinlerinde ayrı ayrı kullanılabilmesi gibi daha kesin sonuçlara ulaşmada birlikte kullanılmalarının daha destekleyici nitelikte olacağını düşünmekteyiz. Bundan sonraki çalışmalarda ülkemiz sularında yaşayan diğer denizanası türlerinin de genetik analizleri yapılarak incelenmesi biyoçeşitliliğimizin veri bankalarında kaydının sağlanması ve literatür açığının kapatılması yönünden önemlidir.

Çoğunlukla kirli sularda yaşayan denizanası üzerinde moleküler düzeyde çalışma planlayan araştırmacılar için denizanasından doku örneği almadan önce canlının uygun bir şekilde temizlenmesi, ektoderm tabakasının altından steril bir şekilde taze doku alınarak çalışılması, mümkünse DNA izolasyonunun en kısa sürede beklemeden yapılması, zaman kaybı olmaması için denizaneleri göç dönemlerinin dikkate alınarak planlama yapılması önerilmektedir.

Türkiye sularında *A. aurita*'nın dışında *Cassiopea andromeda* (Forsskal, 1775), *Rhopilema nomadica* (Galil, 1990), *R. pulmo* (Marci, 1778), *Cotylorhiza tuberculata* (Marci, 1778), *C. hysocella* (Linnaeus, 1767), *Phyllorhiza punctata* (von Lendenfeld, 1884) ve *P. noctiluca* (Forsskal, 1775) denizanası türleri de bulunmaktadır. Ancak literatür incelendiğinde Türkiye denizlerinde yaşayan denizanası türlerine ait birkaç çalışma dışında DNA barkod çalışması bulunmamaktadır (Doğan, 2017; Keskin ve Atar, 2013; Özbalcılar, 2012). İlgili duyan araştırmacılar için yukarıda belirtilen denizanası türlerine ait gen bölgeleri dizilerek veri bankalarına kayıtları sağlanabilir.

Karadeniz, Akdeniz ve Ege Denizi'nde bulunan diğer *A. aurita*'ların da moleküler düzeyde çalışılarak haplotiplerinin belirlenmesi literatüre önemli katkı sağlayacaktır.

## KAYNAKLAR

Appeltans W., Ahyong S. T., Anderson G., Angel M. V., Artois T., Bailly N., Bamber R., Barber A., Batsch I., Berta A. ve diğ., The Magnitude of Global Marine Species Diversity, *Current Biol.*, 2012, **22**, 2189-2202.

Arai M. N., *Functional Biology of Scyphozoa*, 1st ed., Chapman and Hall, New York, 1996.

Aravind K., Ravikanth G., Shaanker R. U., Chandrashekara K., Kumar A. R. V., Ganeshaiyah K. N., DNA Barcoding: an Exercise in Futility or Utility, *Current Sci.*, 2007, **92** (9), 1213-1216.

Aygün H., Bazı Bacillus İzolatlarının 16S rDNA Bölgelerinin Moleküler ve Biyoinformatik Karakterizasyonu, Yüksek Lisans Tezi, Dicle Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Diyarbakır, 2012, 335523.

Baldwin B. G., Markos S., Phylogenetic Utility of The External Transcribed Spacer (ETS) of 18S-26S rDNA, *Mol. Phylogenet. Evol.*, 1999, **10**, 449-463.

Baldwin B. G., Sanderson M. J., Porter J. M., Wojciechowski M. F., Campbell C. S., Donoghue M. J., The ITS Region of Nuclear Ribosomal DNA: a Valuable Source of Evidence on Angiosperm Phylogeny, *Ann. Mo. Bot. Gard.*, 1995, **82** (2), 250-272.

Baldwin B. G., Phylogenetic Utility of The Internal Transcribed Spacers of Nuclear Ribosomal DNA in Plants: an Example from The Compositae, *Mol. Phylogenet. Evol.*, 1992, **1**, 3-16.

Batovska J., Cogan N. O., Lynch S. E., Blacket M. J., Using Next-Generation Sequencing for DNA Barcoding: Capturing Allelic Variation in ITS2, *G3*, 2017, **7**(1), 19-29.

Baxevanis A. D., Oullette B. F. F., *Bioinformatics A Practical Guide to The Analysis of Genes and Proteins*, 3rd. Ed., John Wiley, Hoboken New-Jersey, 2005.

Bayha K. M., Dawson M. N., Collins A. G., Barberitos M. S., Haddock S. H. D., Evolutionary Relationships Among Scyphozoan Jellyfish Families Based on Complete Taxon Sampling and Phylogenetic Analysis of 18S and 28S Ribosomal DNA, *Integr. Comp. Biol.*, 2010, **50** (3), 436-455.

Beauchamp K. A., Powers D. A., Sequence Variation of The First Internal Spacer (ITS1-1) of Ribosomal DNA in Ahermatypic Corals from California, *Mol. Mar. Biol. Biotechnol.*, 1996, **5**, 357-362.

Brown-Elliott B. A., Brown J. M., Conville P. S., Wallace R. J., Clinical and Laboratory Features of The *Nocardia* spp. Based on Current Molecular Taksonomy, *Clin. Microbiol. Rev.*, 2006, **19**, 259-282.

Bucklin A., Steinke D., Blanco-Bercial L., DNA Barcoding of Marine Metazoa, *Ann. Rev. Mar. Sci.*, 2011, **3**, 471-508.

Chalwatzis N., Bauer A., Stetzer E., Kinzelbach R., Zimmermann F. K., Strongly Expanded 18S rRNA Genes Correlated with a Peculiar Morphology in The Insect Order of Strepsiptera, *Zoology*, 1995, **98**, 115-126.

Chen C. A., Willis B. L., Miller D. J., Systematic Relationships Between Tropical Corallimorpharians (Cnidaria: Anthozoa: Corallimorpharia): Utility of The 5.8S and Internal Transcribed Spacer (ITS) Regions of The rDNA Transcription Unit, *Bull. Mar. Sci.*, 1996, **59**, 196-208.

Coenye T., Gevers D., Peer van de Y., Vandamme P., Swings J., Towards a Prokaryotic Genomic Taxonomy, *FEMS Microbiol. Rev.*, 2005, **29**, 147-167.

Coll M., Piroddi C., Steenbeek J., Kaschner K., Lasram F. B. R., Aguzzi J., Ballesteros E., Bianchi C. N., Corbera J., Dailianis T. ve diğ., The Biodiversity of The Mediterranean Sea: Estimates, Patterns and Threads, *PLoS*, 2010, **5**, 11842.

Cooper J. K., Sykes G., King S., Cottrill K., Ivanova N. V., Hanner R., Ikonomi P., Species Identification in Cell Culture: a Two-pronged Molecular Approach, *In Vitro Cell. Dev. Biol. Anim.*, 2007, **43**, 344-351.

Çardak M., Çanakkale Boğazı, Nara Burnu Civarındaki Scyphozoa ve Ctenophora Türleri ile Bunların Bölgedeki Dağılımlarının Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 2002, 121545.

Çınar M. E., Açık Ş., Bakır A. K., Checklist of Cnidaria and Ctenophora from The Coasts of Turkey, *Turk J. Zool.*, 2014, **38**, 677-679.

Dawson M. N., Jacobs D. K., Molecular Evidence for Cryptic Species of *Aurelia aurita* (Cnidaria, Scyphozoa), *Biol. Bull.*, 2001, **200**, 92-96.

Dingman D. W., DNA Fingerprinting of *Paenibacillus popilliae* and *Paenibacillus lentimorbus* Using PCR-amplified 16S-23S rDNA Intergenic Transcribed Spacer (ITS) Regions, *J. Invertebr. Pathol.*, 2009, **100**, 16-21.

Doğan O., Türkiye Kıyılarında Dağılım Gösteren Scyphozoa Sınıfına Ait Bazı Türlerin Moleküler Filogenisi, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 2017, 462931.

Duman Y., Yüzügüllü Karakuş Y., Sertel A., Polat F., Production, Purification and Characterization of a Thermo-alkali Stable and Metal-tolerant Carboxymethylcellulase from Newly Isolated *Bacillus methylotrophicus* Y37, *Turk. J. Chem.*, 2016, **40**, 802-815.

Folmer O., Black M., Hoeh W., Lutz R., Vrijenhoek R., DNA Primers for Amplification of Mitochondrial Cytochrome C Oxidase Subunit I from Diverse Metazoan Invertebrates, *Mol. Mar. Biol. Biotechnol.*, 1994, **3**(5), 294-299.

Freeman S., Herron J. C., *Evolutionary Analysis*, 2. Baskıdan Çeviri, Palme Yayıncılık, Ankara, 2002.

Futuyma D. J., *Evolution*, Palme Yayıncılık, Ankara, 2008.

Gür Ü., Türkiye’de Dağılım Gösteren Gadidae Türlerinin mtDNA Sekans Analiz Yöntemiyle Moleküler Filogenetik Yapısının Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Ordu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ordu, 2014, 38289.

Hamner W. M, Dawson M. N, A systematic review of the evolution of jellyfish blooms: advantageous aggregations and adaptive assemblages. *Hydrobiologia*, 2009, **616**, 161-191.

Hanner R., Gregory T. R., Genomic Diversity Research and The Role of Biorepositories, *Cell Preserv. Technol.*, 2007, **5**, 93-103.

Hebert P. D. N., Cywinska A., Ball S. L., Waard de J. R., Biological Identifications Through DNA Barcodes, *Proc. Biol. Sci.*, 2003a, **270**, 313-321.

Hebert P. D. N., Ratnasingham S., Dewaard J. R., Barcoding Animal Life: Cytochrome C Oxidase Subunit I Divergences Among Closely Related Species, *Proceedings of The Royal Society B: Biological Sciences*, 2003b, **270**, 96-99.

Hennig W., *Phylogenetic Systematics*, 1st. Ed. Translate, University of Illinois Press, London, 1999.

Hwang U. W., Kim W., General Properties and Phylogenetic Utilities of Nuclear Ribosomal DNA and Mitochondrial DNA Commonly Used in Molecular Systematics, *Korean J. Parasitol.*, 1999, **37**(4), 215.

İşinibilir M., Yılmaz I. N., Demirel N., New Records of Jellyfish Species in the Marmara Sea, *Ital. J. Zool.*, 2015, **82**, 425-429.

Keskin E., Atar H. H., DNA Barcoding Commercially Important Fish Species of Turkey, *Mol. Ecol. Resour.*, 2013, **13**(5), 788-797.

Keskin E., Atar H. H., DNA Barkodlama: Mitokondriyal COI Geni Kullanılarak Moleküler Tanımlama, *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 2013, **6**(2), 01-08.

Kirby B. M., Everest G. J., Meyers P. R., Phylogenetic Analysis of The Genus *Kribbella* Based on The *gyrB* Gene: Proposal of a *gyrB*-sequence Threshold for Species Delineation in The Genus *Kribbella*, *Antonie van Leeuwenhoek*, 2010, **97**, 131-142.

Kolbert C. P., Rys P. N., Hopkins M., Lynch D. T., Germer J. J., O'Sullivan C. E., Trampuz A., Patel R., 16S Ribosomal DNA Sequence Analysis for Identification of Bacteria in a Clinical Microbiology Laboratory, Editors: Persing D. H., Tenover F. C., Versalovic J., Tang Y. W., Unger E. R., Relman D. A., White T. J., *ASM Pres*, 2004, **29**, 361-377.

Kramp P., Synopsis of The Medusae of The World, *J. Mar. Biol. Assoc.*, 1961, **40**, 1-469.

Kress W. J., Erickson D. L., DNA Barcodes, Genes, Genomics, and Bioinformatics, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 2008, **105**(8), 2761-2762.

Meyer C. P., Paulay G., DNA Barcoding: Error Rates Based on Comprehensive Sampling, *PLoS Biology*, 2005, **3**(12), 2229-2238.

Miller S. A., Harley J. P., *Zoology*, 10th ed., McGraw Hill, New York, 2016.

Odorico D. M., Miller D. J., Variation in The Ribosomal Internal Transcribed Spacers and 5.8S rDNA Among Five Species of Acropora (Bnidaria: Scleractinia): Patterns of Variation Consistent With Reticulate Evolution, *Mol. Biol. Evol.*, 1997, **14**, 465-473.

Ortman B. D, Bucklin A, Pages F, Youngbluth M., DNA barcoding the Medusozoa using mtCOI. *Deep-Sea Res Pt II*, 2010, **57**, 2148-2156.

Özbalçılar B., Türkiye Denizlerinde Bulunan Akdeniz ve İndo-Pasifik Kökenli Denizanelerinin Filogenetiği, Yüksek Lisans Tezi, Mustafa Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Hatay, 2012, 329548.

Özdemir M., Doğru Ü., Genetik Karakterizasyonda Mitokondriyal DNA Kullanımı, *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 2007, **38**(1), 105-111.

Özer N. P., Rhizostoma pulmo (Macri, 1778) Denizanasının İşleme ve Değerlendirme Yöntemlerinin Karşılaştırılması, Doktora Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 1994, 33737.

Palumbi S. R., *Molecular Systemetics*, 2nd. Edition, Sinauer, Massachusetts, 1996.

Reece J. B., Urry L. A., Cain M. L., Wasserman S. A., Minorsky P. V., Jackson R. B., *Campbell Biology*, 9. Ed. Translate, Pearson, United States, 2010.

Saitou N., Nei M., The Neighbor-joining method: a New Method for Reconstructing Phylogenetic Trees, *Mol. Biol. Evol.*, 1987, **4**(4), 406-25.

Saunders G. W., Applying DNA Barcoding to Red Macroalgae: a Preliminary Appraisal Holds Promise for Future Applications, *Philos. Biol. Sci.*, 2005, **360**, 1879-1888.

Seifert K. A., Samson R. A., Waard de J. R., Houbraken J., Levesque C. A., Moncalvo J. M., Louis-Seize G., Hebert P. D. N., Prospects for Fungus Identification Using COI DNA Barcodes, with *Penicillium* as a Test Case, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 2007, **104**, 3901-3906.

Simon E. J., *Biology The Core*, 1. Baskıdan Çeviri, Nobel Yayınevi, Ankara, 2015.

Sucharitaku P., Chomdej S., Achalawitkun T., Arsiranant I., Description of *Chironex Indrasaksajiae* Sucharitakul sp. nov. (Cnidaria, Cubozoa, Chirodropida): a New Species of Box Jellyfish from The Gulf of Thailand, *Phuket Mar. Biol. Cent. Res. Bull*, 2017, **74**, 33-44.

Tanyolaç, J., Tanyolaç. T., *Genel Zooloji*, 6. Baskı, Hatiboğlu Yayınevi, Ankara, 2000.

Taşer Y., Denizanelerinin Farklı Alanlarda Değerlendirilmesi (Cnidaria=Coelenterata), Yüksek Lisans Tezi, Katip Çelebi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir, 2017, 459006.

Temizkan G., Yılmaz S., Öztürk M., Arı Ş., Ertan H., Sarıkaya A. T., Arda N., *Moleküler Biyolojide Kullanılan Yöntemler*, 2. Baskı, Nobel Yayın Dağıtım, Ankara, 2004.

Tindall J., Rosselló-Móra R., Busse H. J., Ludwig W., Kämpfer P., Notes on The Characterization of Prokaryote Strains for Taxonomic Purposes, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 2010, **60**, 249-266.

URL - 1: <http://genetikdanimma.blogspot.com/2015/01/mitokondriyal-dna-mtdna.html> (Ziyaret Tarihi: 17.07.2018).

Walraven van L., Driessen F., Bleijswijk van J., Bol A., Luttikhuisen P. C., Coolen J. W. P., Bos O. G., Gittenberger A., Schrieken N., Langenberg V. T., Veer van der H. W., Where are The Polyps Molecular Identification, distribution and population Differentiation of *Aurelia aurita* Jellyfish Polyps in The Southern North Sea Area, *Mar. Biol.*, 2016, 163-172.

Waugh J., DNA Barcoding in Animal Species: Progress, Potential and Pitfalls, *Bioessays*, 2007, **29**, 188-197.

Wesson D. M., Porter C. H., Colling F. H., Sequence and Secondary Structure Comparisons of ITS rDNA in Mosquitoes (Diptera: Culicidae), *Mol. Phylogenet. Evol.*, 1992, **1**, 253-269.

Zhi X. Y., Li W. J., Stackebrandt E., An update of the structure and 16S rRNA gene sequence-based definition of higher ranks of the class Actinobacteria, with the proposal of two new suborders and four new families and emended descriptions of the existing higher taxa, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 2009, **59** (3), 589-608.

Zimmer C., Emlen D. J., *Evolution: Making Sense of Life*, 2nd. Ed., Nova Knyha, Vinnitsya, 2016.





**EKLER**

## EK-A

*Aurelia aurita* SPJ3 COI gen bölgesi NCBI ekran alıntısı

### Aurelia aurita isolate SPJ3 cytochrome oxidase subunit I gene, partial cds; mitochondrial

GenBank: MH206614.1  
[FASTA](#) [Graphics](#)

Go to:

LOCUS MH206614 707 bp DNA linear INV 01-OCT-2018  
DEFINITION Aurelia aurita isolate SPJ3 cytochrome oxidase subunit I gene, partial cds; mitochondrial.  
ACCESSION MH206614  
VERSION MH206614.1  
KEYWORDS .  
SOURCE mitochondrion Aurelia aurita (moon jelly)  
ORGANISM [Aurelia aurita](#)  
Eukaryota; Metazoa; Cnidaria; Scyphozoa; Semeaeostomeae; Ulmaridae; Aurelia.  
REFERENCE 1 (bases 1 to 707)  
AUTHORS Gunes,M. and Polat,F.  
TITLE Direct Submission  
JOURNAL Submitted (14-APR-2018) Biology, Institute of Science, Umuttepe, Kocaeli, Izmit 41380, Turkey  
COMMENT ##Assembly-Data-START##  
Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing  
##Assembly-Data-END##  
FEATURES Location/Qualifiers  
source 1..707  
/organism="Aurelia aurita"  
/organelle="mitochondrion"  
/mol\_type="genomic DNA"  
/isolate="SPJ3"  
/db\_xref="taxon:6145"  
CDS  
<1..>707  
/codon\_start=1  
/transl\_table=4  
/product="cytochrome oxidase subunit I"  
/protein\_id="AYD37627.1"  
/translation="STNHKDIGTLYLIFGAFSAMVGTAFSMIIRLELSGPGSMLGDDQ  
LYNVVTAHALIMIFFFVMPVLIGGFGNLWPLYIGAPDMAFPRLNNISFWLLPPALL  
LLLGSSLIEQAGGTGWTIYPLSAIQAHSGGSVDM AIFSLHLGASSIMGAINFITTI  
LNM RAPGMTMDKIPLFVMSVLVTAI LLLL LSLPVLG AITMLL TDRNFNTSFFDPAGGG  
DPILFQHLFWFFGHPEV"  
ORIGIN  
1 tcaacaaatc ataaagatat tggaaacatta tatctaata tgggtgcttt ccttgctatg  
61 gtaggaactg cctttagtat gattataaga ttggaactgt caggacctgg atctatgcta  
121 ggagatgacc aattatacaa tgttgtagta actgcacatg ctctaataat gattttcttt  
181 ttgtttatgc cgtcttaaat aggggggttt ggaattgac tggttccatt atataattgga  
241 gccccagata tggcctttccc aaggcttaac aatattagtt ttgattact acccccagct  
301 ctgcttttac tattagggtc ttctcttata gaacagggag caggtagctg atgaacaatt  
361 tatccccccc taagcgaat tcaggcccat tccggtagtt cagtagatat ggctatattt  
421 agtttgcac tggcaggggc ctctcaata atgggagcta taaattttat cactacaata  
481 ttaaatatga gggccccgg aatgactatg gataaaatac ctctattcgt atgatccgta  
541 ctggtaaccc caatattatt gttattatct ttacctgtct tggctggggc tattacaatg  
601 ttattaaccc acagaaactt taatcacatc ttctttgacc ctgctggagg aggagatcca  
661 attttatttc agcatctttt ctgatTTTTT ggtcaccctg aagttta  
//

A. aurita SPJ5 COI gen bölgesi NCBI ekran alıntısı

**Aurelia aurita isolate SPJ5 cytochrome oxidase subunit I gene, partial cds; mitochondrial**

GenBank: MH206613.1  
[FASTA](#) [Graphics](#)

---

Go to:

LOCUS MH206613 561 bp DNA linear INV 01-OCT-2018  
DEFINITION Aurelia aurita isolate SPJ5 cytochrome oxidase subunit I gene, partial cds; mitochondrial.  
ACCESSION MH206613  
VERSION MH206613.1  
KEYWORDS .  
SOURCE mitochondrion Aurelia aurita (moon jelly)  
ORGANISM [Aurelia aurita](#)  
Eukaryota; Metazoa; Cnidaria; Scyphozoa; Semaestomeae; Ulmaridae; Aurelia.  
REFERENCE 1 (bases 1 to 561)  
AUTHORS Gunes, M. and Polat, F.  
TITLE Direct Submission  
JOURNAL Submitted (14-APR-2018) Biology, Institute of Science, Umuttepe, Kocaeli, Izmit 41380, Turkey  
COMMENT ##Assembly-Data-START##  
Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing  
##Assembly-Data-END##  
FEATURES Location/Qualifiers  
source 1..561  
/organism="Aurelia aurita"  
/organelle="mitochondrion"  
/mol\_type="genomic DNA"  
/isolate="SPJ5"  
/db\_xref="taxon:6145"  
CDS  
<1..>561  
/codon\_start=2  
/transl\_table=4  
/product="cytochrome oxidase subunit I"  
/protein\_id="AYD37626.1"  
/translation="HKDIGTLYLIFGAFSAMVGTAFSMIIRLELSGPGSMLGDDQLYNVVVTAHALIMIFFVMPVLIGGFGNWLPLYIGAPDMAFPRLNNSIFWLLPALLLLGSSLIEQGAGTGTIYPPLSAIQAHSGGSVDMAFSLHLGASSIMGAVNFITILNMRAPGMTMDKIPLFVWSVLVTAILLLS"  
ORIGIN  
1 tcataaagat attggaacat tatatctaatt attcgggtgct ttctctgcta tggtaggaac  
61 tgccttttagt atgattataa gattggaact gtcaggacct ggatctatgc taggagatga  
121 ccaattatac aatggttag tagtaactgcaca tgctctaata atgattttct tttttgatat  
181 gcccgctcta ataggggggt ttggaattg actggttcca ttatatattg gagccccaga  
241 tatggctttc ccaaggctta acaatattag ttttgattg ctacccccag ctctgctttt  
301 actattaggg tcttctcta tagaacaggg agcaggtagt ggatgaacaa tttatcccc  
361 cctaagcgca attcaggccc attcgggtgg ttcagtagat atggctatat ttagtttgca  
421 tctggcaggg gcctcctcaa taatgggagc tgtaaattt atcactacca tattaataat  
481 gagggcccc ggaatgacta tggataaaat acctctattc gtatgatccg tactgggtcac  
541 tgcaatatta ttgttattat c  
//

## EK-B

### A. aurita SPJ3 16S rDNA gen bölgesi NCBI ekran alıntısı

#### Aurelia aurita isolate SPJ3-16S large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; mitochondrial

GenBank: MH059723.1  
[FASTA](#) [Graphics](#)

---

[Go to:](#)

LOCUS MH059723 632 bp DNA linear INV 31-MAY-2018  
DEFINITION Aurelia aurita isolate SPJ3-16S large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; mitochondrial.  
ACCESSION MH059723  
VERSION MH059723.1  
KEYWORDS .  
SOURCE mitochondrion Aurelia aurita (moon jelly)  
ORGANISM [Aurelia aurita](#)  
Eukaryota; Metazoa; Cnidaria; Scyphozoa; Semeaeostomeae; Ulmaridae; Aurelia.  
REFERENCE 1 (bases 1 to 632)  
AUTHORS Gunes,M. and Polat,F.  
TITLE Direct Submission  
JOURNAL Submitted (15-MAR-2018) Biology, Science, Umuttepe, Izmit 41380, Turkey  
COMMENT ##Assembly-Data-START##  
Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing  
##Assembly-Data-END##  
FEATURES Location/Qualifiers  
source 1..632  
/organism="Aurelia aurita"  
/organelle="mitochondrion"  
/mol\_type="genomic DNA"  
/isolate="SPJ3-16S"  
/db\_xref="taxon:6145"  
rRNA <1..>632  
/product="large subunit ribosomal RNA"  
ORIGIN  
1 taccaaaaa atagccctac gtaactcttg taaggtagag cctgccaat gactgccaat  
61 aatctaataa aatcaggtc aatggccgcg gtaactctga ccgtgataaa gtagcataat  
121 cactgtgtc ttaattggtg actggaatga atggcctaac gaatcctccc ctgtctctga  
181 agaaatcctg gcaaatTTga aatagcagtg aagatgctgc taagtaattg taagacgaaa  
241 agaccctatc gagctttact ggaatcttgc aaagtaacat agttatataa gacaaaatta  
301 tacaattgca aagcccgaca gtttggttgg ggcgaccacc cctaaaaacg tatcagggga  
361 actctaaggc ctgtcataat atgaaaaacc gccttactgg agacaaacaa gtcaatcagt  
421 tataatttat aggacatatt gaccggttat ttagcttcac aacaaataac gactatgaaa  
481 aaagtaccg tagggataac agggtaatat ttcagagag ttcatatcga tgaatggtt  
541 tgccacctcg atgttgaatt atgatatcct gagggtagag cagctctcaa gggttggctt  
601 gttcgaccat taaaatccta catgatttga gt

A. aurita SPJ5 16S rDNA gen bölgesi NCBI ekran alıntısı

**Aurelia aurita isolate SPJ5-16S large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; mitochondrial**

GenBank: MH064432.1

[FASTA](#) [Graphics](#)

LOCUS MH064432 641 bp DNA linear INV 31-MAY-2018

DEFINITION Aurelia aurita isolate SPJ5-16S large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; mitochondrial.

ACCESSION MH064432

VERSION MH064432.1

KEYWORDS .

SOURCE mitochondrion Aurelia aurita (moon jelly)

ORGANISM [Aurelia aurita](#)  
Eukaryota; Metazoa; Cnidaria; Scyphozoa; Semaestomeae; Ulmaridae; Aurelia.

REFERENCE 1 (bases 1 to 641)

AUTHORS Gunes,M. and Polat,F.

TITLE Direct Submission

JOURNAL Submitted (15-MAR-2018) Biology, Science, Umuttepe, Izmit 41380, Turkey

COMMENT ##Assembly-Data-START##  
Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing  
##Assembly-Data-END##

FEATURES Location/Qualifiers

source	1..641 /organism="Aurelia aurita" /organelle="mitochondrion" /mol_type="genomic DNA" /isolate="SPJ5-16S" /db_xref="taxon:6145"
<a href="#">rRNA</a>	<1..>641 /product="large subunit ribosomal RNA"

ORIGIN

```
1  taccaaaaac atagccctac gacactcttg taaggatgaag cctgcccaat gactgccaat
61  aatctaataa aaatcagttc aatggccgcg gtaactctga cgtgataaaa gtagcataat
121 cactgtgtcac ttaattgggtg actggaatga atggctaaac gaatcctcct ctgtctctga
181 agaaatcctg gcaaatttga aatagcagtg aagatgctgc taaataattg taagacgaaa
241 agaccctatc gagctttact ggaatcttgc aaagtaacat agttatataa gacaaaatta
301 tacaatttgc aagcccgaca gtttggttgg ggcgaccacc cctaaaaacg tatcagggga
361 actctaaggg ctgtcataat atgaaaaacc gccttactgg agacaaacaa gtcaatcagt
421 tataatttat aggacatatt gaccggttat ttagcttcac aacaaataac gactatgaaa
481 aaagtaccg tagggataac aggtaatat ttcagagag ttcatatcga tgaaaatgtt
541 tgccacctcg atgttgaatt atgatatcct gaggggtgag cagctttcaa gggttggtct
601 gttcgacctt taaaatctta catgatttga gttcattcgg t
```

## EK-C

### A. aurita SPJ3 18S rDNA gen bölgesi NCBI ekran alıntısı

#### Aurelia aurita isolate SPJ3-18S small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence

GenBank: MH059775.2  
[FASTA](#) [Graphics](#)

Go to: ☺

LOCUS MH059775 1741 bp DNA linear INV 26-SEP-2018  
DEFINITION Aurelia aurita isolate SPJ3-18S small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence.  
ACCESSION MH059775  
VERSION MH059775.2  
KEYWORDS .  
SOURCE Aurelia aurita (moon jelly)  
ORGANISM *Aurelia aurita*  
Eukaryota; Metazoa; Cnidaria; Scyphozoa; Semeaostomeae; Ulnaridae; Aurelia.  
REFERENCE 1 (bases 1 to 1741)  
AUTHORS Gunes,M. and Polat,F.  
TITLE Direct Submission  
JOURNAL Submitted (15-MAR-2018) Biology, Science, Umuttepe, Izmit 41380, Turkey  
COMMENT On Sep 26, 2018 this sequence version replaced [MH059775.1](#).

##Assembly-Data-START##  
Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing  
##Assembly-Data-END##

FEATURES  
source Location/Qualifiers  
1..1741  
/organism="Aurelia aurita"  
/mol\_type="genomic DNA"  
/isolate="SPJ3-18S"  
/db\_xref="taxon:6145"  
rRNA  
<1..>1741  
/product="small subunit ribosomal RNA"

ORIGIN  
1 aaaataagcc tgcattgcta agtataagca cttgtactgt gaaactgcga atggctcatt  
61 aaatcagtta tcgtttattt gattgtacct tactacatgg ataaccgtgg taattctaga  
121 gctaatacat gcgaaaagtc ccgacttctg gaagggatgt atttattaga ctaaaagcca  
181 atacgggtgc tcttttgggc acacgttcat gtgggtgattc atgataactt ctcgaatcgc  
241 atggccttgc gcggcgatg ttccattcaa atttctgccc tatcaactgt cgatggtaag  
301 gtagtggcct accatgggta caacgggtga cggagaatta ggggttcgatt ccggagaggg  
361 agccttgaaa acggctacca catccaagga aggcagcagg cgcgcaaat acccaatccc  
421 gacacgggga ggtagtgaca agaaataaca atccgtgtcc atattctgga tgcgaaattg  
481 gaatgagtac aatttaaact ctttaacgag gaccaattgg agggcaagtc tgggtccagc  
541 agcccgcgta attccagctc caatagcgtt tattaagatt gttgcagtta aaaagctcgt  
601 agttggattt cgggatgggc cagtcggtct gccgcaaggt atgttactgg ctggtctgtc  
661 ctctctcgca aagactgcgt gtgctcttaa ctgagtgctc gtaggatttg cgactttac  
721 ttgaaaaaaa ttagagtgtt caaagcaggc taaccgcttg aatacatgag catggaataa  
781 tggaaatagga ctttggttct attttgttg ttctagaac tgaagtaatg attaagaggg  
841 acagtggggg gcattcgtat ttctgtgca gaggtgaaat tcttggattt acgaaaagacg  
901 aacaactcgc aaagcatttg ccaagaatgt ttccattaat caagaacgaa agttagaggc  
961 tcgaagacga tcagataacc tcctagtctt aaccataaac gatgccgact agggatcagc  
1021 gggcggtatt ttatgacccc gttggcacc tttgggaaac caaagttttt ggggtccggg  
1081 ggaagtatgg ttgcaagct gaaacttaaa ggaattgarg gaagggcacc accaggagtg  
1141 gagcctcggc cttaatttga ctcaacacgg gaaaactcac caggtccaga catagtaagg  
1201 attgacagat tgagagctct ttcttgattc tatgggtggg ggtgcatggc cgttcttagt  
1261 tgggtggagt atttgtctgg ttaattccgt taacgaacga gacctatcc tgctaataatg  
1321 ccacacgaat ctgcttctgt gcctggcttc ttagagggac tgttgggttt aaccatcgt  
1381 aggaagcaca taacaggtct gtgatgccct tagatgttct gggccgcacg cgcctacac  
1441 tgacgatgac aacgagtctt aaccttcgcc gataggtgtg ggtaatcttc tgaaacatcg  
1501 tcgtgatggg gatagatcat tgcaattatt gatcttgaac gaggaattcc tagtaagcgc  
1561 gagtcatcag ctgcggttga ttactgccct gccctttgta cacaccgcccc gtgcctacta  
1621 ccgattgaat ggtctagcga gaccttcgga ttggcgcctg ttcggccccg aaggctgaa  
1681 gtggatagcc gagaagtcgc tctagtctga tcattagagg aagtaaaagt cgaacaagtc  
1741 c

//

A. aurita SPJ5 18S rDNA gen bölgesi NCBI ekran alıntısı

**Aurelia aurita isolate SPJ5-18S small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence**

GenBank: MH062790.1  
[FASTA](#) [Graphics](#)

Go to:

LOCUS MH062790 1206 bp DNA linear INV 31-MAY-2018  
DEFINITION Aurelia aurita isolate SPJ5-18S small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence.  
ACCESSION MH062790  
VERSION MH062790.1  
KEYWORDS .  
SOURCE Aurelia aurita (moon jelly)  
ORGANISM [Aurelia aurita](#)  
Eukaryota; Metazoa; Cnidaria; Scyphozoa; Semeostomeae; Ulmaridae; Aurelia.  
REFERENCE 1 (bases 1 to 1206)  
AUTHORS Gunes, M. and Polat, F.  
TITLE Direct Submission  
JOURNAL Submitted (15-MAR-2018) Biology, Science, Umuttepe, Izmit 41380, Turkey  
COMMENT ##Assembly-Data-START##  
Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing  
##Assembly-Data-END##  
FEATURES Location/Qualifiers  
source 1..1206  
/organism="Aurelia aurita"  
/mol\_type="genomic DNA"  
/isolate="SPJ5-18S"  
/db\_xref="taxon:6145"  
rRNA <1..>1206  
/product="small subunit ribosomal RNA"  
ORIGIN  
1 gtataaata gcctgcatgt ctaagtataa gcactgttac tgtgaaactg cgaatggctc  
61 attaaatcag ttatcgttta ttgattgta cttactaca tggataaccg tggtaattct  
121 agagctaata catcgaaaa gtcccgaact ctggaaagga tgtatttatt agactaaaag  
181 ccaatacggg tgctcttttg ggcacacgtt catgtggtga ttcataataa cttctcgaat  
241 cgcatggcct tgcgccggcg atgtttcatt caaatttctg ccctatcaac tgtcgtgggt  
301 aaggtagtgg cttaccatgg ttacaacggg tgacggagaa ttagggttcg attcggaga  
361 gggagcctga gaaacggcta ccacatccaa ggaaggcagc aggcgcgcaa attaccaat  
421 cccgacacgg ggaggtagtg acaagaaata acaatccgtg tccatattct ggatcggaaa  
481 ttggaatgag tacaatttaa atcctttaac gaggaccaat tggagggcaa gtctggtgcc  
541 agcagcccg gtaattccag ctccaatagc gtatattaaa gttgttcag ttaaaaagct  
601 cgtagtggga tttcgggatg ggccagtcgg tctgccgcaa ggtatgttac tggctggtct  
661 gtccttcttc gcaaaagact cgtgtgctct taactgagtg tgcgtaggat ttgcgacgtt  
721 tactttgaaa aaattagagt gttcaaagca ggctaaccgc tgaatacat gagcatggaa  
781 taatggaata ggactttggt tctattttgt tggtttctag aactgaagta atgattaaga  
841 gggacagttg ggggcattcg tatttcggtg tcagaggtga aattcttggg tttcagaaa  
901 acgaacaact gcgaaagcat ttgccaagaa tgttttcatt aatcaagaac gaaagttaga  
961 ggctcgaaga cgatcagata ccgtcctagt tctaaccata aacgatgccg actagggatc  
1021 agcgggcggt atttatgac cccgttggca ccttatggga aaccgctgaa gtggatagcc  
1081 gagaagaagt atcgtaata gttcgtatc ttagaggaag ttggacgaaa agtcgtacca  
1141 atcaggaatt ggaaccctgc gggtttaatt ttgacttaac accgggaaaa cttaccaagg  
1201 ttcaaa

## EK-C

### A. aurita SPJ3 ITS1 gen bölgesi NCBI ekran alıntısı

#### **Aurelia aurita isolate SPJ3-ITS1 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, complete sequence; and 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence**

GenBank: MH059572.1

[FASTA](#) [Graphics](#)

```
LOCUS      MH059572                344 bp    DNA     linear   INV 31-MAY-2018
DEFINITION Aurelia aurita isolate SPJ3-ITS1 small subunit ribosomal RNA gene,
partial sequence; internal transcribed spacer 1, complete sequence;
and 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence.
ACCESSION  MH059572
VERSION   MH059572.1
KEYWORDS  .
SOURCE    Aurelia aurita (moon jelly)
  ORGANISM Aurelia aurita
            Eukaryota; Metazoa; Cnidaria; Scyphozoa; Semaestomeae; Ulmaridae;
            Aurelia.
REFERENCE  1 (bases 1 to 344)
  AUTHORS  Gunes,M. and Polat,F.
  TITLE    Direct Submission
  JOURNAL  Submitted (15-MAR-2018) Biology, Science, Umuttepe, Izmit 41380,
            Turkey
COMMENT   ##Assembly-Data-START##
          Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
          ##Assembly-Data-END##
FEATURES  Location/Qualifiers
   source  1..344
            /organism="Aurelia aurita"
            /mol_type="genomic DNA"
            /isolate="SPJ3-ITS1"
            /db_xref="taxon:6145"
   misc_RNA
            <1..>344
            /note="contains small subunit ribosomal RNA, internal
            transcribed spacer 1, and 5.8S ribosomal RNA"
ORIGIN
1  ggtttccgta ggtgaacctg cgggaaggatc attacaaaaa ttcacathtt gttgctgcaa
61  aagctattct attctgttga gcggatgctt gtcattcga caacgaataa agaattaacc
121 actgtgaact tggtagctat ctgtgtgagg tggcagagt gcacatgcgt ggtacgtct
181 gaggcttaaa tgacggcgtt tttccatcg gcctcacatg gagtttttt tcattgttaa
241 taacttgtgt taaaaattat tcctgaaat ggtcaaacct ttttggttg gctaaagttg
301 aaaaatgaga tacaattct aagtggtatc actcggctcg tgcg
//
```



A. aurita SPJ5 ITS1 gen bölgesi NCBI ekran alıntısı

**Aurelia aurita isolate SPJ5-ITS1 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, complete sequence; and 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence**

GenBank: MH062754.1  
[FASTA](#) [Graphics](#)

---

Go to:

LOCUS MH062754 336 bp DNA linear INV 31-MAY-2018  
DEFINITION Aurelia aurita isolate SPJ5-ITS1 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, complete sequence; and 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence.  
ACCESSION MH062754  
VERSION MH062754.1  
KEYWORDS .  
SOURCE Aurelia aurita (moon jelly)  
ORGANISM [Aurelia aurita](#)  
Eukaryota; Metazoa; Cnidaria; Scyphozoa; Semeaeostomeae; Ulmaridae; Aurelia.  
REFERENCE 1 (bases 1 to 336)  
AUTHORS Gunes,M. and Polat,F.  
TITLE Direct Submission  
JOURNAL Submitted (15-MAR-2018) Biology, Science, Umuttepe, Izmit 41380, Turkey  
COMMENT ##Assembly-Data-START##  
Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing  
##Assembly-Data-END##  
FEATURES Location/Qualifiers  
source 1..336  
/organism="Aurelia aurita"  
/mol\_type="genomic DNA"  
/isolate="SPJ5-ITS1"  
/db\_xref="taxon:6145"  
misc\_RNA <1..>336  
/note="contains small subunit ribosomal RNA, internal transcribed spacer 1, and 5.8S ribosomal RNA"  
ORIGIN  
1 ggtttccgta ggtgaacctg cggaggatc attaccgaaa ctgcagttt atgctgcaaa  
61 agctattcta ttctgttgag cggatcctg tcattcgaca acgaataaag aataaccact  
121 gtgaacttgt acctatctgt gtgagggtggg cagagtgcac atgctgtgt acgtctgagc  
181 ttaaatgacg ggcgttttcc catcggcctc acatggagtt ttttcattg ttaataactt  
241 gtgtaaaaat taattcctga aaagggtcaaa cttttgggtt tggctaagtt gcaaaaaatga  
301 gatacaactt ctaagggtgga tcactcggct cgtgcg



## KİŞİSEL YAYINLAR VE ESERLER

**Güneş M.**, Polat F., Bingöl G., Marmara Denizi Sahillerinde Yaşayan *Aurelia aurita* Denizanası Türünün Moleküler Karakterizasyonu, *International Eurasian Conference on Biological and Chemical Sciences*, Ankara, Türkiye, 26-27 Nisan 2018.

Polat F., Bingöl G., Diler S. B., **Güneş M.**, Türk Populasyonunda Il-1Ra ve Il-4 VNTR Polimorfizmleri ve Prostat Kanserine Yatkınlık, *I. Uluslararası Sağlık Bilimleri Kongresi*, Aydın, Türkiye, 29 Haziran-01 Temmuz 2017.



## **ÖZGEÇMİŞ**

1990 yılında İstanbul'da doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini İstanbul'da tamamladı. 2010 yılında girdiği Kocaeli Üniversitesi Biyoloji Bölümü'nden 2016 yılında mezun oldu. 2016 yılında Kocaeli Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimine başladı.

