İÇİNDEKİLER

ÖZET	ii
SUMMARY	iv
TEŞEKKÜR	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
TABLOLAR DİZİNİ	Х
KISALTMALAR DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ	1
2. MATERYAL ve METOT	19
2.1. Chelonia mydas Örneklerinin Toplanması	19
2.2. Toplam Genomik DNA İzolasyonu	20
2.3. Genomik DNA'nın Kalite ve Miktarının Belirlenmesi	21
2.4. PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)	21
2.4.1.1. MtDNA Reaksiyon Koşulları	21
2.4.1.2. MtDNA Dizi Analizi	25
2.4.1.3. MtDNA Veri Analizi	25
2.4.2.1. Mikrosatellit Reaksiyon Koşulları	26
2.4.2.1. Mikrosatellit Veri Analizi	28
3. BULGULAR	30
3.1. Mitokondri DNA (mtDNA) Bulguları	30
3.2. Mikrosatellit (nDNA) Bulguları	38
4. TARTIŞMA VE SONUÇ	62
5. KAYNAKLAR	69
6. ÖZGEÇMİŞ	88

ÖZET

Doktora Tezi Kuzeydoğu Akdeniz'deki Yeşil Deniz Kaplumbağası (*Chelonia mydas*) Populasyonlarının Genetik Yapısı Efkan BAĞDA

Cumhuriyet Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Fevzi BARDAKCI

Doç. Dr. Oğuz TÜRKOZAN

Herbivor yeşil deniz kaplumbağası tropikal ve subtropikal sularda yayılır ve beş kıtanın sahillerinde yuva yapar. C. mydas'ın Akdeniz'deki ana yuvalama bölgesi Türkiye ve Kıbrıs'tır. Bu sahiller C. mydas'ın Akdeniz'deki yuvalama bölgelerinin yaklaşık % 99'unu oluşturur. Bu sahiller C. mydas'ın yuvalaması için önemli olmasına rağmen, buralara ait herhangi bir kapsamlı populasyon ve koruma genetiği çalışması yapılmamıştır. Bu nedenle, Türkiye'nin Akdeniz kıyıları boyunca altı ve Kuzey Kıbrıs'tan bir yuvalama sahillerinin mitokondri DNA'nın kontrol bölgesi dizilemesi (n=225) ve altı mikrosatellit lokusu (n=232) kullanarak C. mydas populasyonlarının genetik yapısının belirlenmesi amaçlandı. Toplamda altı mtDNA haplotipinden üçü ilk kez tanımlandı. CM-A13 adlı tek bir haplotip baskındı ve farklı yuvalama sahillerinden 216 yavruda bulundu. Diğer taraftan, mikrosatellit analizler farklı yuvalama sahillerinden çalışılmış bireyler arasında güçlü genetik yapılanma gösterir. MtDNA farklılaşma sonuçları genetik farklılıların ve dişilerin yuvalama alanına sadakatini tanımlamak için düşüktü, fakat mikrosatellit veriler çalışılan yuvalama kumsallarından bireyler arasındaki genetik yapılanmayı göstermektedir. Mitokondri ve çekirdek DNA analizleri yeşil deniz kaplumbağasının kuzeydoğu Akdeniz'de yuvalayan populasyonlarının yakın geçmişte Atalantik'ten köken aldığı ve bu kolonileşme sonucu muhtemelen kurucu etkisi ve bunun sonucu meydana gelen genetik sürüklenmeyle özellikle düşük mtDNA ve nispeten yüksek mikrosatellit varyasyonu ile sonuçlandığına işaret etmektedir. Sonuç olarak, Akdeniz yeşil deniz kaplumbağasının kendine özgü bir genetik yapısı vardır ve bu yüzden bir yönetim birimi olarak kabul edilebilir.

Anahtar Kelimeler: *Chelonia mydas*, yeşil deniz kaplumbağası, mitokondri DNA kontrol bölgesi, mikrosatellit, Kuzeydoğu Akdeniz.

SUMMARY

Ph. D. Thesis

Population Genetic Structure of Green Turtle

(Chelonia mydas) in the Northeastern Mediterranean

Efkan BAĞDA

Cumhuriyet Universty Graduate School of Natural and Applied Sciences Department of Biology

Supervisor: Prof. Dr. Fevzi BARDAKCI

Asc. Prof. Dr. Oğuz TÜRKOZAN

The herbivorous green turtle is distributed in tropical and subtropical waters and nests on beaches of five continents. Major nesting sites of C. mydas in the Mediterranean are in Turkey and Cyprus. These beaches comprise approximately 99% of the nesting sites of C. mydas in Mediterranean. Despite the importance of the these beaches for nesting of C. mydas, there has not been any detailed population and conservation genetic studies carried out. Therefore, it is aimed to determine the genetic structure of the C. mydas populations in the six nesting beaches along the Turkish Mediterranean cost and one in the Northern Cyprus using sequencing of the control region of the mitochondrial DNA (mtDNA) (n= 225) and six microsatellite loci (n= 232). A total of six mtDNA haplotypes determined and three of them were identified for the first time. Only one mtDNA haplotype named CM-A13 were predominant and found in 216 hatchlings from different nesting beaches. On the other hand, microsatellite data analysis showed a strong genetic structuring among individuals from different nesting beaches studied. These results indicate that mtDNA divergence was low for identification of genetic differentiation and female natal phylopatry, but microsatellite data revealed genetic structuring among the individuals from the nesting beaches studied. Analyses of both mtDNA and nuclear DNA put forwarded that green

turtles nesting in the northeastern Mediterranean were originated from Atlantic and possibly founder effect followed by genetic drift as consequence of this colonization resulted with a low mtDNA and relatively higher microsatellite DNA variation in the region. In conclusion, the Mediterranean green turtle has unique genetic structure and therefore could be considered as a management unit.

Keywords: *Chelonia mydas*, green sea turtle, mitochondrial DNA control region, microsatellite, Northeastern Mediterranean.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmamın her aşamasında benden yardımlarını ve desteklerini esirgemeyen tez danışmanlarım sayın Prof. Dr. Fevzi BARDAKCI ve sayın Doç. Dr. Oğuz TÜRKOZAN hocalarıma içten teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım sırasında benden sıcak arkadaşlığını ve çok faydalı yardımlarını esirgemeyen sevgili arkadaşım Can YILMAZ'a, hocam Yrd. Doç. Dr. Kubilay METİN'e ve çalışmamın Aydın'daki kısmında bana evlerini ve sıcak kalplerini açan sevgili arkadaşlarım Uğur HENDER ve Selim ALTUN'a en içten teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca bu çalışma için gerekli olan çalışma ortamını sağlayan ve gerektiğinde yardımlarını esirgemeyen Cumhuriyet Üniversitesi ve Adnan Menderes Üniversitesi Biyoloji Bölümü elemanlarına da teşekkür ederim.

Bu çalışmanın gerçekleşmesi için maddi kaynak sağlayan TÜBİTAK (106T248 nolu proje) ve Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyon Başkanlığı'na (F207 nolu proje) teşekkür ederim.

Bana çalışabilme olanağı sağlayan sevgili aileme ve eşimin ailesine teşekkür ederim.

Çalışmamın tüm yükünü benimle paylaşan, her zaman desteğini hissettiğim çok sevdiğim eşim Esra BAĞDA'ya teşekkür ederim.

Çalışmam yüzünden yaşamının ilk yılında yanında olamadığım ve bu yüzden kocaman bir özür borçlu olduğum biricik yavrum Zeynep Duru BAĞDA'ya teşekkür ederim.

SEVGİLİ AİLEME.

EFKAN BAĞDA

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Yeşil deniz kaplumbağasının ana yuvalama alanları ve ortalama yuva
yapan dişi sayıları. 5
Şekil 1.2. Yeşil deniz kaplumbağasının genel yaşam döngüsü.7
Şekil 1.3. Genetik varyasyonun biyolojik sistemlerde gösteriminde bazı moleküler
belirteçlerin kullanım alanları ve çözümleme gücü. 12
Şekil 1.4. C. mydas Güney Atlantik yuvalama kolonilerinde görülen haplotiplerin
dağılımı. 13
Şekil 1.5. Kuzey Atlantik Akıntısı.16
Şekil 2.1. C. mydas örneklerinin toplandığı yuvalama kumsalları.20
Şekil 2.2. C. mydas mtDNA analizinde kullanılmış tüm oligonükleotid çiftlerinin
mukayese şeması. 23
Şekil 2.3. mtDNA kontrol bölgesi PCR ürünleri.24
Şekil 2.4. PCR temizleme kitinden geçirilmiş PCR ürünleri.24
Şekil 2.5. BioEdit 7.0.9 programı tarafından DNA dizilerinin görüntülenmesi. 25
Şekil 2.6. PCR ürünleri (Cc-7 lokusu). 28
Şekil 2.7. Bir bireye ait Cc-7 lokusunun grafik görüntüsü.28
Şekil 3.1. C. mydas yuvalama kumsallarına ait mtDNA d-loop haplotip sıklıkları.
32
Şekil 3.2. NCA analizine dayalı mtDNA haplotiplerinin tahmini kladogramı. 36
Şekil 3.3. Atlantik ve Akdeniz C. mydas populasyonlarına ait mtDNA kontrol
bölgesi haplotiplerinin haplotip network analiz sonucu. 37
Şekil 3.4. Yuvalama kumsallarına göre Cc-7 lokusunun alel ve alel sıklıkları
dağılımı. 43
Şekil 3.5. Yuvalama kumsallarına göre Ccar-176 lokusunun alel ve alel sıklıkları
dağılımı. 44
Şekil 3.6. Yuvalama kumsallarına göre Cc-117 lokusunun alel ve alel sıklıkları
dağılımı. 45
Şekil 3.7. Yuvalama kumsallarına göre Cm-72 lokusunun alel ve alel sıklıkları
dağılımı. 46

Şekil 3.8. Yuvalama kumsallarına göre Cm-84 lokusunun alel ve alel sıklık	cları
dağılımı.	47
Şekil 3.9. Yuvalama kumsallarına ait Cc-7 lokusu alel ve alel sıklıkları.	48
Şekil 3.10. Yuvalama kumsallarına ait Ccar-176 lokusu alel ve alel sıklıkları.	48
Şekil 3.11. Yuvalama kumsallarına ait Cc-117 lokusu alel ve alel sıklıkları.	49
Şekil 3.12. Yuvalama kumsallarına ait Cm-84 lokusu alel ve alel sıklıkları.	49
Şekil 3.13. Yuvalama kumsallarına ait Cm-72 lokusu alel ve alel sıklıkları.	50
Şekil 4.1. Coalescent metodu kullanan MIGRATE programı ile hesaplanmış populas	syon
çiftleri arasındaki göç oranları (M) ile yuvalama kumsallarının	ikili
karşılaştırılmalarına ait genetik uzaklık ve bunlara ait X^2 olasılık değe	rleri

kullanılarak oluşturulmuş yuvalama kumsalları arası genetik uzaklık haritası.

67

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 1.1. Deniz kaplumbağa populasyonlarını tanımlamada kullanılan moleküler
belirteçler 9
Tablo 2.1. Chelonia mydas örneklerine ait lokalite bilgileri19
Tablo 2.2. Mikrosatellit analizinde kullanılan oligonükleotidlerin dizi ve boya
özellikleri 27
Tablo 3.1. <i>C. mydas</i> yuvalama kumsallarına ait mtDNA haplotip dağılımı30
Tablo 3.2. C. mydas yuvalama kumsallarına ait altı mtDNA haplotipine karşılık
gelen polimorfik bölgeler 31
Tablo 3.3. C. mydas yuvalama kumsallarına ait mtDNA haplotip sıklıkları31
Tablo 3.4. Yuvalama kumsallarına ait örnekleme yıllarına göre haplotip (h),
nükleotid (π) çeşitliliği 32
Tablo 3.5. Yuvalama kumsallarına ait haplotip (h), nükleotid (π) çeşitliliği ve
etkili populasyon büyüklüğü (Ne) 33
Tablo 3.6. C. mydas yuvalama kumsallarına ait mtDNA genetik uzaklık (γ_{st})
değerleri ile yuvalama kumsallarının ikişerli karşılaştırılmalarına ait X^2
ve Z* testi anlamlılık dereceleri ile göç oranları (Nm) 34
Tablo 3.7.a: Gruplar ve yuvalama kumsalları arasındaki moleküler varyans
analizi 35
Tablo 3.7.b: Gruplar ve yuvalama kumsalları arasındaki moleküler varyans
analizi 35
Tablo 3.7.c: Gruplar ve yuvalama kumsalları arasındaki moleküler varyans
analizi 35
Tablo 3.8. Yuvalama kumsallarına göre birey ve mikrosatellit alellerinin dağılımı
38
Tablo 3.9. C. mydas örneklerinin mikrosatellit DNA analizi sonucunda elde
edilen gen sayısı (N), alel sayısı (k), alel sıklıkları, gen çeşitliliği (H_B) ve
gözlenen (H _G) heterozigotluk değerleri 39
Tablo 3.10. C. mydas yuvalama kumsallarının Hardy-Weinberg dengesine dayalı
alel sıklığı anlamlılığı 51

Tablo 3.11. C. mydas yuvalama kumsallarının gen çeşitliliği (H _B) ve her	
yuvalama kumsalında ve lokusta gözlenen heterozigotluk (H _G). (*)	
Hardy-Weinberg dengesine dayalı alel sıklığı anlamlılığı 52	
Tablo 3.12. Hardy-Weinberg dengesine dayalı alel sıklığı anlamlılığı53	
Tablo 3.13. C. mydas yuvalama kumsallarının yıllara göre gen çeşitliliği (H_B) ve	
her yuvalama kumsalında ve lokusta gözlenen heterozigotluk (H_G) 54	
Tablo 3.14. Lokus çiftleri arasında ki bağlantı dengesizliği analizi (?:	
hesaplanamadı) 55	
Tablo 3.15. Etkili populasyon büyüklüklerinin karşılaştırılması55	
Tablo 3.16. Yuvalama kumsallarının nDNA bakımından genetik yapısı56	
Tablo 3.17. Yuvalama kumsalları arası göç tahminleri57	
Tablo 3.18. <i>C. mydas</i> Türkiye yuvalama kumsallarının genetik yapısı. mtDNA (γ_{st}	
değerleri) ve nDNA'ya (F _{st} değerleri) dayalı populasyonlar arasındaki	
genetik mesafeyi ve populasyonların ikili karşılaştırılmalarına ait X^2	
anlamlılık derecelerini 58	
Tablo 3.19. Yuvalama kumsallarının, mtDNA ve nDNA verilerine dayalı, etkili	
populasyon büyüklüklerinin (Ne) karşılaştırılması 59	
Tablo 3.20.a. Gruplar ve yuvalama kumsalları arasında moleküler varyans analizi	
60	
Tablo 3.20.b. Gruplar ve yuvalama kumsalları arasında moleküler varyans analizi	
60	
Tablo 3.20.c. Gruplar ve yuvalama kumsalları arasında moleküler varyans analizi	
60	
Tablo 3.20.d. Gruplar ve yuvalama kumsalları arasında moleküler varyans analizi	
61	
Tablo 4.1. Çalışmada kullanılan bazı lokuslara ait önceki çalışmalarda elde	
edilmiş gözlenen heterozigotluk değerleri (H _G) 65	

KISALTMALAR DİZİNİ

STE	Sodyum Tris EDTA			
EDTA	Etilen Diamin Tetra Asetik Asit			
SDS	Sodyum Dodesil Sülfat			
PCI	Fenol Kloroform İzoamilalkol			
ТЕ	Tris EDTA			
PCR	Polimeraz Zincir Reaks, yonu			
h	Haplotip çeşitliliği			
π	Nükleotid çeşitliliği			
γ _{st} , (Gamma _{st})	Genetik Uzaklık			
AMOVA	Moleküler Varyans Analizi			
Ne	Etkili populasyon büyüklüğü			
μ	Mutasyon oranı			
Nm	Göç Oranı (Gen Akışı)			
Μ	Göç Oranı (Gen Akışı)			
k	Alel Sayısı			
H _B	Beklenen Heterozigotluk (gen çeşitliliği)			
H _G	Gözlenen Heterozigotluk			
F _{st}	Genetik Uzaklık			
Р	Olasılık Değerleri			
IAM	Sonsuz-Alel Mutasyon Modeli			
SMM	Stepwise Mutasyon Modeli			
ТРМ	İki fazlı mutasyon modeli			
Ort	Ortalama			
SS	Standart Sapma			

1. GİRİŞ

Canlılığın doğuşundan, çeşitlenmesinden ve devamlılığından sorumlu olan doğal süreçler hassas bir dengenin ürünüdür. Bu işleyişin sağlıklı ilerlemesi, denge içindeki çeşitliliğin korunmasına bağlıdır. İnsanların ihtiyaçlarını gözardı etmeyen, sürdürülebilir ve etkin bir koruma için gerekli olan ilk şey ise, sağlam bir bilimsel teoridir. İyi bir bilimsel teori doğada varolagelen bir durumun modellenmesini ve devamında bu modelin açığa çıkmasından sorumlu süreçlerin tanımlanmasını içerir. Bunun için, her bir türün tanımlanması, yaşam ortamlarında gözlenmesi ve evrimsel hikayelerinin oluşturulması gerekmektedir. Elde edilen verilerin insan ile doğa etkileşiminin yönetiminde etkin şekilde kullanılması doğal süreçlerin işleyişine insan etkisini en aza indirmedeki son basamaktır.

Eti, kemiği ve kabuğu için avlanan, yumurtlama alanları olan sahillerde ağır turizm ve yerleşim baskısı altında olan, balıkçı ağlarına takılan ve doğal avcılarının tehdidi altında yaşam savaşı veren deniz kaplumbağaları, nesli tehlike altında olan türler içermesi ile bu tip çalışmalar için büyük bir bilimsel ilgiyi üzerine çekmektedir. Bununla beraber, yüzmilyon yıldan daha uzun süredir okyanuslarda yaşamını sürdüren ve doğal dengeye katkısını sunan deniz kaplumbağaları, uzun yaşam süreleri, göçmen doğası, farklı habitatlarda geçirdiği yaşam safhaları ve çok geniş yayılım alanları ile bilimsel cazibesi yüksek fakat incelenmesi zor türlerdendir.

Tipik olarak, sucul hayata uyum sağlamış olan deniz kaplumbağası türlerinde ön ve arka üyeler kürek şeklini almış, keratin plaklarla örtülü kabukları dorsoventral yönde yassılaşmıştır. Hirayama (1998) tarafından Doğu Brezilya'da Erken Kretase dönemine (~110 milyon yıl önce) ait sedimentlerden tanımlanan 20 cm'lik *Santanachelys gaffneyi* modern deniz kaplumbağalarının bilinen ilk fosil formudur. Kreatase yok oluşuna kadar dört familya (Cheloniidae, Dermochelyidae, Toxochelyidae ve Protostegidae) içinde 50 cins, yüzden fazla türle temsil edilen deniz kaplumbağaları günümüze iki familya (Cheloniidae, Dermochelyidae) ile gelebilmiştir (Pritchard, 1996).

İki familya ile temsil edilen Chelonioidea (deniz kaplumbağaları) üstfamilyası, altı cins içinde dağılan toplam yedi tür içermektedir (Bowen vd., 1992; Pritchard, 1996). Cheloniidae familyası; Eretmochelys imbricata (Linnaeus, 1766), Lepidochelys kempii (Garman, 1880), Lepidochelys olivacea (Eschscholtz, 1829), Natator depressus (Garman, 1880), Chelonia mydas (Linnaeus, 1758) ve Caretta caretta (Linnaeus, 1758) türlerini; monotipik Dermochelyidae familyası ise Dermochelys coriacea (Vandelli, 1761) türünü kapsar. Ölçülebilir özellikler ve çok değişkenli morfolojik karakterlere dayalı çalışmalar sonucunda bazı araştırmacılar doğu Pasifik yeşil kaplumbağalarını farklı bir alttür [C. mydas agassizii (Marquez, 1990)] veya tür [C. agassizii (Pritchard, 1999)] olarak kabul etmişlerdir. Bununla beraber moleküler çalışmalar sonucunda doğu Pasifik yeşil kaplumbağalarının, yeşil deniz kaplumbağaları pasifik soy hattının bölgesel ve fazla pigmentli bir alt populasyonu olduğu belirlenmiştir (Dutton vd., 1996; Karl ve Bowen, 1999; Chassin-Noria vd., 2004). N. depressus türü dışında, diğerlerinin nesli yok olma riski altındadır. Bu nedenle son 30 yıldan beri dünya genelinde bu türlere yoğun bir koruma programı uygulanmaktadır.

Deniz kaplumbağaları farklı ekolojik nişleri işgal ederler. *D. coriacea*, *L. olivacea*, sünger yiyen *E. imbricata* ve herbivor *C. mydas* açık denizlerde yaşarlar. *C. caretta* ve *L. kempii* daha kozmopolit diyetli kıyı karnivorları olup diğer deniz kaplumbağalarından farklı olarak genç açık denizel dönemi bulunmayan *N. depressus* ise Avusturalya, Yeni Gine ve komşu okyanuslarla sınırlı alanlarda yaşar (Bowen ve Karl, 2007).

Yaşayan yedi türden beşi; *D. coriacea, E. imbricata, L. kempii, C. mydas, C. caretta* Akdeniz'de görülürken, bunlardan Akdeniz sahillerine düzenli olarak yuva yapan sadece *C. mydas* ve *C. caretta* türleridir (Groombridge, 1990). CITES (Nesli Tehlike Altında Olan Yabani Hayvan ve Bitki Türlerinin Uluslararası Ticaretine İlişkin Sözleşme) ve Bern Anlaşması (1979) (Avrupa Doğal Hayatı ve Yaşamı Koruma Anlaşması) ile koruma altında olan her iki türde IUCN (Dünya Doğayı Koruma Birliği) kırmızı listesinde (2000) küresel düzeyde "yakın gelecekte nesli

tükenme tehlikesiyle karşı karşıya olan tür", *C. mydas* ayrıca, Akdeniz altpopulasyonu için "kritik olarak tehlike altında olup çok yakın gelecekte nesli tükenme tehlikesiyle karşı karşıya olan tür" olarak listelenmiştir.

Akdeniz kıyılarında yılda ortalama 350-1750 *C. mydas* yuvasının 115-580 dişi tarafından yapıldığını tahmin eden Kasparek vd. (2001)'leri Akdeniz sahilllerinde kaydedilmiş yuvaların % 99'unun Kıbrıs ve Türkiye (geri kalanların ise Lübnan, İsrail ve Mısır) olduğunu; yine bütün yuvaların % 78'inin ise Türkiye'den üç (Akyatan, Kazanlı, Samandağ), Kıbrıs'tan iki (Kuzey Karpaz, Alagadi) olmak üzere toplam beş bölgede yoğunlaştığını tespit etmişlerdir. Broderick vd. (2002)'ne göre tüm Akdeniz'de yılda 339-360 dişi yuva yapmaktadır. Buradaki genel verilerden de anlaşılacağı üzere Türkiye, Akdeniz *C. mydas* populasyonun % 62'sinden fazlasını oluşturmaktadır. Başka bir deyişle Türkiye Akdeniz'de *C. mydas* türü için en önemli üreme ve kışlama alanıdır.

Türkiye'deki deniz kaplumbağaları üzerine yayınlanan ilk çalışma Hathaway (1972)'in *C. mydas ve C. caretta* yüksek ihtimalle Türkiye kıyılarında yuvaladığını tahmin ettiği çalışmadır (Canbolat, 2004). Akdeniz'de üreyen *C. mydas* stokları, geçmişte besin amaçlı aşırı tüketim nedeniyle çok ciddi bir düşüş yaşamıştır (Sella, 1982). Bu durum, son yıllarda üreme kumsallarının insanlar tarafından tahrip edilmesi, balıkçı ağlarına kazara takılan ergin bireylerin sayısının artması ve denizdeki kirlenme nedeniyle daha kötüye gitmiştir (Corbett, 1989; Groombridge, 1990; Medasset, 2000).

Daha sonra Başoğlu (1973) ve Başoğlu ve Baran (1982) İzmir, Köyceğiz ve Fethiye'den bulunan *C. caretta* türüne ait karapaks plaklarını çalışmışlardır. Türkiye'nin Akdeniz sahillerindeki bazı kumsallarında bu türün populasyon biyolojisi ve koruma çalışmaları yapılmıştır (Geldiay ve Koray, 1982; Geldiay vd, 1982; Geldiay, 1984). Bu çalışmayı takiben Baran ve Kasparek (1989) tüm Türkiye kumsallarını kapsayan ilk detaylı çalışmayı ortaya koymuşlardır. Bu çalışmanın sonucunda ülkemizde *C. caretta* ve *C. mydas* türüne ait 17 önemli üreme alanı belirlenmiştir. Bu alanlardan 13 tanesi yüksek yoğunlukta yuvalama bölgesi (Dalyan,

Dalaman, Fethiye, Patara, Kumluca, Belek, Kızılot, Demirtas, Gazipasa, Göksu Deltası, Kazanlı, Akyatan, Samandağ) geriye kalan dört tanesi (Ekincik, Kale, Tekirova, Anamur) ise düşük yoğunlukta yuvalama bölgeleri olarak tanımlanmışlardır. Tüm Türkiye kumsallarını kapsayan ve üreme alanlarının yeniden değerlendirilmesi çalışması tüm üreme sezonunu kapsayacak şekilde Yerli ve Demirayak (1996) tarafından yapılmıştır. Benzer bir calışma Yerli ve Canbolat (1998a ve b) ve Yerli vd. (1998) tarafından gerçekleştirilmiş ve deniz kaplumbağaları için ilave üreme kumsalları belirlenmiştir. Bu toplam 17 yumurtlama alanının yanı sıra, 1996 (Yerli ve Demirayak, 1996) ve 1998 (Yerli ve Canbolat, 1998c) yıllarında, sırasıyla Çıralı, Akyatan ve Yumurtalık da birinci derecede önemli yumurtlama sahaları kapsamına alınmıştır.

Tek herbivor deniz kaplumbağası olan *C. mydas* testere gibi ucu bulunan alt çenesi yardımı ile bütün okyanus havzalarındaki çayırlarda beslenir. Tropik ve subtropikal sularda yayılır ve 30° Kuzey ve 30° Güney enlemleri arasında beş kıtanın sahillerinde yuva yaparlar (Şekil 1.1) (Marquez, 1990; Hirth, 1997). Beslenme ve üreme alanları arasında her 2 ila 10 yılda bir anaç dişiler yüzlerce km süren göçler yaparlar (Meylan, 1982). Fakat erkekler çiftleşmek için her yıl beslenme yerlerinden, aynı çiftleşme bölgelerine göç ederler (Dizon ve Balazs, 1982; FitzSimmons vd.; 1997a). Yeşil kaplumbağalar suda çiftleşir ve çiftleşme kıyıdan biraz uzakta olur. Bir yumurtlama sezonunda 10-14 günlük periyotlarla üç veya dokuz kere yumurtlayabilir (Hirt, 1980). İki yumurtlama arasındaki periyot su sıcaklığına göre değişir ve sıcaklık arttığı zaman periyot azalır. Ascension Adası ve Kıbrıs'ta yuva yapan *C. mydas*'da iki yuvalama arasındaki zaman aralığı 10-14 gündür.



Şekil 1.1. Yeşil deniz kaplumbağasının ana yuvalama alanları ve ortalama yuva yapan dişi sayıları. Tortuguero (22500), RaineAdası (18000), Umman (6000), Komor Adaları (5200), Seyşel Adaları (4900), Sabah (3800), Ascension Adası (3400), Isla Trinidade (300), Filipinler (2600), Gine Bissau (2500), Sarawak (2000), Surinam (1800), Berau Adaları (1800), Yucatan Yarımadası (1600), Galapagos Adaları (1400), Isles Eparces (1250), Colola (850), Florida (780), Suudi Arabistan (750), Malezya Yarımadası (690), Myanmar (690), Yemen (675), Havai (580), Heron Adası (575), Ekvatoryal Gine (425), Aves Adası (265), Europa Adası (260), Türkiye (230) (Spotila, 2004).

Yeşil kaplumbağalar koloni halinde yuvalarlar ve dişiler yuvalama için aynı spesifik sahilleri kullanırlar (Carr ve Carr, 1972). Bir üreme sezonu boyunca bir dişi tipik olarak her birinde ortalama 100 yumurta bulunan üç ila dokuz yuva yapar. Sekiz hafta süren inkübasyon süresi sonrasında yumurtadan çıkan yavrular yuvadan denize doğru koşmaya başlarlar. Denize geçen yavrular açık deniz akıntıları içinde en az 24 saat çılgınca yüzerler. Pelajik zona geçen yavrular, neritik zonda beslenme alanında görülünceye kadar ortadan kaybolur. Bu birkaç yıllık dönem kayıp yıllar olarak tanımlanır (Carr, 1987). Mevcut veriler kayıp yılların okyanus akıntıları içinde sürüklenmeyle oluşan, en az birkaç yıl süren ve bütün okyanus havzasının etrafını dolaşabilen pasif bir göçü de kapsadığını göstermektedir (Bowen vd., 1995; Bolten vd., 1998; Lahanas vd., 1998). *C. mydas* yavruları önceleri karnivor ağırlıklı olarak

omnivordur (Bjorndal, 1985). Deniz anası, küçük mollusklar, krustaseler, süngerlerle beslenir. Karapaks uzunluğu 20-25 cm'ye ulaştığında otla beslenmeye başlarlar. Ergin yeşil deniz kaplumbağaları algler (*Chaetomorpha, Sargassum* ve *Hypnea*) ve deniz otları (*Thalassia, Syringodium, Halophila, Posidonia, Halodule ve Zostera*) ile beslenirler (Pritchard, 1976; Spotila, 2004). Bunun için genellikle deniz otları ve alglerle kaplı, kumlu, sığ, geniş ve düz deniz arazilerinde (neritik kuşakta) yiyecek arar. Yeşil deniz kaplumbağaları için önemli beslenme yerleri Nikaragua'daki Miskito Cays; Brezilya'daki sığ kıyılar, Orta Doğu'da Umman Körfezi, Arafura ve Güney Pasifik'teki Vanuatu ile Fiji arasındaki Mercan Denizi, Japon takımadalarının Pasifik kısmı ve Doğu Çin Denizi, Kaliforniya Baja'daki kıyı suları ve Kosta Rika'dan Peru'ya Amerika kıyılarıdır.

Yeşil deniz kaplumbağasında erginliğe ulaşma yaşı Atlantik için 27-33 yıl (Frazer ve Ladner, 1986), Avusturalya için 30 veya üstü yıl (Limpus ve Walter, 1980) ve Havai için ise 9-58 yıl (Zug ve Balazs, 1985) olarak saptanmıştır. Ergin bireyler çiftleşme mevsimlerinde yuvalama kumsalları yakınındaki sığ sularda çiftleşmek üzere beslenme bölgelerinden göç ederler. Çiftleşme sonrası erkek kaplumbağalar beslenme bölgelerine geri dönerler. Dişiler yuvalama kumsalına yakın sığ sularda beklerler ve aynı yuvalama sezonu içinde 10-14 gün aralıklarla yuvalamak için 3-9 defa yuvalama kumsalına çıkarlar (Şekil 1.2).



Şekil 1.2. Yeşil deniz kaplumbağasının genel yaşam döngüsü [Miller (1996)'dan değiştirilerek].

Uzun olgunlaşma süresi, gizemli yayılma karakteristikleri ve izole üreme habitatları ile özdeş deniz kaplumbağaları doğrudan çalışılması zor olan karmaşık bir yaşam hikayesine sahiptir. Yavru ve genç bireylerin gelişimleri boyunca birkaç habitat arasındaki hareketleri ile yetişkinlerin beslenme ve yuvalama bölgeleri arasındaki binlerce km'ye varan göçlerinin deniz ortamında izlenmesi zordur (Carr, 1980). Bundan dolayı deniz kaplumbağaların yaşam hikayeleri hakkında bilinenlerin çoğu yuvalama kumsallarına çıkan dişilere uygulanan markalama çalışmalarından elde edilen bilgilerdir. Bunun dışında laparoskopi ile üretkenliğinin çalışılması (Limpus ve Reed, 1985), karapaks epibiotasından genel göç davranışının çıkarılması (Eckert ve Eckert, 1988) ve osteoloji ve histoloji yardımı ile büyüme oranının belirlenmesi (Rhodin, 1985; Zug vd., 1986; Klinger ve Musick, 1992) gibi doğrudan gözlemlemekten daha az uygun olan dolaylı yöntemlerden de bilgiler sağlanır. Açığa çıkan diğer bir yaklaşım ise deniz kaplumbağalarının doğal tarihine ve evrimine yeni bir bakış açısı sağlayan moleküler belirteçlerin kullanıldığı analizlerdir (Bowen vd., 1992). Morfolojik karakterlere dayalı sistematik çalışmalarda, çevre etkili çeşitliliğin büyüklüğü genellikle bilinmediği gibi, gerçek evrimsel farklılıkları morfolojik esneklikten ayırt etmekte zordur. Deniz kaplumbağalarının morfolojik evriminin düşük hızı, moleküler sistematiğin uygulanmasını bu hayvanlar için özellikle kullanışlı kılar. Moleküler genetik veri, sistematik anlaşmazlıkları çözmeğe yardım eden yeni ve bağımsız bir kanıt hattı temin eder (Bowen ve Karl, 1996). Habitat kullanımı, filopatri, çiftleşme davranışı ve çiftleşme modelleri populasyon yapısını belirlemede önemli rol oynarlar ve moleküler teknikler deniz kaplumbağalarında gözlenmesi zor olan bu davranışların içyüzünü anlamada güçlü yöntemler sağlar (Meylan vd., 1990; Karl vd., 1992; Allard vd., 1994; Norman vd., 1994; Roberts vd., 2004; Formia vd., 2006).

Doğal populasyonların filocoğrafyası ve populasyon genetiği yaşam hikayesine çok yakından bağlıdır (Reece vd., 2005). Geniş yayılımlı farklı habitatları yüksek sadakat ile kullanan deniz kaplumbağalarının yaşam hikayeleri, filocoğrafyası ve populasyon genetiğini doğrudan etkiler. Bu etkileşimden faydalanılarak sadece yuvalama kumsallarında yuva yapan dişiler ile yuvadan yeni çıkmış yavruların gözlenmesi, markalanması ve örneklenmesi üzerine odaklanmış deniz kaplumbağa araştırmalarının içerdiği önemli eksiklikler moleküler teknikler kullanılarak tamamlanabilir. Moleküler teknikler, deniz kaplumbağalarının yaşam hikayesi ve evriminin gizli bileşenlerini incelemek için uygun ekstra özelliklere sahiptir (Bowen ve Karl, 1996).

Deniz kaplumbağalarının filogenetik ilişkilerini belirlemek için araştırmacılar biyokimyasal (Ackman vd., 1971), immünolojik (Frair, 1979), protein elektroforezi (Smith, 1977; Frair, 1982; Bonhomme vd., 1987; Coates vd., 1994), mtDNA (Bowen vd., 1993; Dutton vd., 1996) ve nDNA (Karl vd., 1992) verilerini değerlendirmişlerdir (Bowen ve Karl, 1996).

Deniz kaplumbağaları ile yapılan ilk populasyon genetiği çalışması Smith vd. (1977) tarafından protein elektroforezi ile *C. caretta* ve *C. mydas* yuvalama

kumsallarının incelendiği araştırmadır (Bowen ve Karl, 2007). Muhtemelen düşük metabolizma hızı ve uzun nesil süresinden kaynaklanan düşük genetik çeşitlilik gözlenmesinden dolayı, araştırmanın mtDNA ve çekirdek DNA çalışmaları ile tekrarlanması gerekmiştir (Avise vd., 1992; Karl vd., 1992; Martin ve Palumbi, 1993). Gözlemlenen düşük varyasyon oranlarından sonra araştırmacıların çoğu mtDNA kontrol bölgesi ve mikrosatellit çalışmalarına yönelmiştir (Bowen ve Karl, 2007) (Tablo 1.1.).

Tablo 1.1. Deniz kaplumbağa populasyonlarını tanımlamada kullanılan moleküler belirteçler(FitzSimmons vd., 1999)

Belirteç	Kalıtımı	Populasyon Çeşitliliği ^a içinde/arasında
Çekirdek Genomu		
protein elektroforez	anasal-babasal	düşük/düşük
anonim tek kopya	anasal-babasal	düşük/düşük
mikrosatellitler	anasal-babasal	yüksek/düşük-orta
Mitokondri Genomu		
Restriksiyon parçaları	anasal	düşük/düşük-yüksek
Kontrol bölgesi dizileri	anasal	düşük-yüksek/orta-yüksek

^a Yuvaların bölgesel toplulukları içindeki ve arasındaki göreceli çeşitlilik.

Erken dönemde DNA'nın doğrudan dizilenmesi oldukça zordu. Bundan dolayı DNA dizilerinin incelenmesi, DNA dizilerini özgül olarak kesen "restriksiyon endonükleaz" adlı enzimlerle kesilerek "restiriksiyon parça uzunluk polimorfizmi (RFLP)" analizi ile yapılmıştır (Bowen ve Karl, 1996). Örneklerin herbirinden aynı (homolog) DNA bölgesini çalışmak teknik olarak sorunludur. Başlangıçta, bu problemi yenmek için yaklaşık 17 bin nükleotidten oluşan mtDNA ile çalışılmıştır.

Mullis vd., (1986) tarafından geliştirilen PCR (polimeraz zincir reaksiyonu) ile bir DNA parçasını sadece az sayıdaki başlangıç molekülünden milyonlarca kopyası çoğaltılabilmektedir. Bununla DNA etkili şekilde çoğaltılıp analiz edilebilir. Bu yöntem doğal populasyonlardan çok sayıda bireyin oldukça kolay ve zarar vermeden örneklenmesini sağlar.

C. mydas populasyonları ile yapılan markalama çalışmaları yetişkin dişi kaplumbağaların ardıl üreme dönemlerinde aynı yuvalama kumsallarına döndüğünü göstermiştir (Carr ve Ogren, 1960). Dişi kaplumbağaların gösterdiği bu davranış özelliği Carr (1967) tarafından yetişkin dişilerin yuvalamak için yumurtadan çıktıkları sahillere geri döndüğü şeklinde önerilmiştir. Hendrickson (1958) tarafından önerilmis alternatif bir hipotez ise "sosyal davranıs" hipotezidir. Buna göre ilk kez yumurtlayacak dişiler tecrübeli dişileri yuvalama kumsalına kadar takip ederler. Yumurtadan çıkmış yavruları yetişkin oluncaya kadar izleyebilmeyi olanaklı kılan bir markalama yapılamadığından, bu hipotezleri doğrudan sınamak zordur (Carr, 1986). Bunun için mtDNA gibi anasal aktarımlı karakterler kullanılarak yuvalama kumsalları arasında disi merkezli gen akısının olup olmadığı sınanabilir. Sosyal davranış aynı beslenme bölgesini paylaşan yuvalar arasında yüksek oranda dişi merkezli gen akışına olanak sağlarken, yumurtadan çıktıkları yere sadakat davranışı yuvalama kumsalları arasında dişi merkezli gen akışına olanak vermez. Markalama calısmaları yuvalama yapan dişilerin genel olarak aynı beslenme bölgelerine geri döndüğünü göstermiştir (Limpus vd., 1992) ve onlar beslenme çayırlarını çoğunlukla farklı yuvalardan gelen kaplumbağalarla paylaşırlar (Pritchard, 1976). Kısacası yuvalama populasyonları beslenme bölgeleri, gelişim habitatları veya göç yollarında biraraya gelirler (Bass vd., 1998; Lahanas vd., 1998; Bass ve Witzell 2000).

C. mydas mtDNA'sı halkasal çift zincirli olup, 16 497 baz çiftinden oluşur. Mitokondri DNA'sının % 90'ından fazlası kodlama yapan bölgedir ve intron içermez. mtDNA; 13 protein, 22 tRNA, 2 rRNA'yı şifreler. Protein genleri; sitokrom b, 7 NADH dehidrogenaz alt birimi, 3 sitokrom oksidaz alt birimi ve 2 ATPaz alt biriminden ibarettir. MtDNA dizi verileri filocoğrafya ve sistematik için önemli bilgilere sahiptir (Hillis vd., 1996). Yarı özerk, endosimbiyotik kökenli mtDNA haploittir. Anasal kalıtılır ve doğal seçilime uğrar. mtDNA'nın mutasyonlara yatkınlığı çekirdekteki genlerden daha fazladır. MtDNA'daki yüksek mutasyon oranı; koruyucu histonların olmaması, DNA'nın oksidatif fosforilasyonda rolü olan serbest radikallerle karşılaşması ve sınırlı bir onarım mekanizmasına bağlıdır. Hayvan mitokondri genomu yüksek derecede korunmuş gen içeriği ve düzenine sahiptir (Boore, 1999), intron içermez, rekombinasyon göstermez (Avise, 1994, 2004; Moore, 1995; Sunnucks, 2000) ve herbir hücrede çok sayıda kopyası bulunur. Çekirdek genomuna nazaran mtDNA dizisinin elde edilmesi, analizi daha kolaydır. Toplamda nükleotid yer değiştirme oranı mitokondri genomunda daha yüksek (Brown vd., 1979) ve değişken karakterlerin zengin bir kaynağıdır. Bununla birlikte, hem yeni ayrılmış soyhatlarını (tür içinde ve nispeten yakın türler arasında) çalışmak için kullanışlı hızlı evrimleşen genleri hem de daha eski ayrılmaların (cinsler ve familyalar arasında) çalışılması için elverişli yavaş evrimleşen genlerin bir karışımını sunar (Engstrom vd., 2007). Mitokondri DNA, yüksek çeşitliliğe (Hudson ve Turelli, 2003) karşın, çekirdek genomuna oranla kısa birleşme zamanı ortalaması (shorter average coalescent time) ile sonuçlanan (Moore, 1995) küçük etkili populasyon büyüklüğüne sahiptir (Engstrom vd., 2007).

Kaplumbağa taksonları ile yapılan derin filogenetik çalışmalarında çoğunlukla yavaş evrimleşme hızına sahip 12S ve 16S rRNA (Shaffer vd., 1997; Naro-Maciel vd., 2008) ve ortalama bir evrimsel hıza sahip *sitokrom b* (*cyt b*) genleri kullanılır (Bowen vd., 1993; Spinks vd., 2004). *Cyt b, NADH 4* ve diğer protein şifreleyen genler, daha yakın akraba türler arasındaki (Engstrom vd., 2002; Feldman ve Parham, 2002) veya türler içindeki filocoğrafik çalışmalarda (Bowen vd., 1993; Dutton vd., 1996; Starkey vd., 2003; Spinks ve Shaffer, 2005) sıkça kullanılmaktadır. MtDNA molekülünün en hızlı evrimleşen parçalarından biri kontrol bölgesidir (d-loop). Bu bölge, bir protein kodlamaz ve DNA molekülünün replikasyon orijinidir. MtDNA kontrol bölgesi, yüksek evrimleşme hızından dolayı populasyon ve tür içi seviyelerdeki çalışmalarda kullanılmaktadır (Şekil 1.3) (Pearse vd. 2006; Norman vd., 1994; Allard vd., 1994; Encalada vd., 1994; McGaugh vd., 2007).



Şekil 1.3. Genetik varyasyonun biyolojik sistemlerde gösteriminde bazı moleküler belirteçlerin kullanım alanları ve çözümleme gücü [McGaugh vd. (2007)'den değiştirilerek].

Bununla beraber, mtDNA'nın anasal ve bir birim olarak kalıtılması (Avise, 1994), hibrit zonlarda tam bir çözüm sunamamasından (Ferris vd., 1983; Tegelstrom, 1987) dolayı bir türün evrimsel ve ekolojik tarihinde sınırlı bir bakış açısı sağlar. Bu yüzden mtDNA hipotezlerini sınamak için sık sık çekirdek DNA'sı verilerine ihtiyaç duyulur.

Carr (1975) ve Pritchard (1976) tarafından yapılan markalama çalışmaları Brezilya'nın beslenme çayırlıklarının Surinam ve Ascension Adası yuvalama kolonilerince paylaşıldığını göstermiştir. Bu yuvalama kumsallarında yaptıkları mtDNA dizi analizi ile Bowen vd. (1992) Surinam yuvalama kumsalı bireylerinin sahip olduğu haplotiplerden hiçbiri aynı beslenme alanında yoğun olarak bir arada bulunan Ascension Adası yuvalama alanlarında gözlenmediğini tespit etmişlerdir (Şekil 1.4). Bu çalışmalardan elde edilen sonuçlardan yuva yapan dişilerin yuvalama bölgesine sadakat gösterdikleri ve yuvalama kumsalları arasında dişi kaynaklı gen akışının olmadığı anlaşılmaktadır.



Şekil 1.4. *C. mydas* Güney Atlantik yuvalama kolonilerinde görülen haplotiplerin dağılımı (Bowen vd., 1992).

C. mydas örnekleri aynı beslenme alanını farklı yuvalama kumsallarından gelenlerle paylaşırlar. Oluşan karma yapı mtDNA kullanılarak çözümlenebilir (Lahanas vd., 1998; Bass vd, 1998; Luke vd, 2004; Bass vd., 2006; Nario-Maciel vd, 2006).

C. mydas'ın küresel filocoğrafyasını çözümlemek için Bowen vd. (1992) global dağılımlı 15 lokaliteden 226 örneğin mtDNA'sını incelemiş ve Karl vd. (1992) aynı populasyonları nDNA analizi ile tekrar gözden geçirmiştir. Elde edilen mtDNA haplotiplerinin ana okyanus havzaları ile örtüşen iki topluluk içinde gruplandığını gözlemlemişlerdir. Buna göre mtDNA haplotipleri Atlantik Okyanusu ve Akdeniz ile Hint ve Pasifik Okyanusu havzaları içinde ikiye ayrılmıştır. Panama Kıstağı'nın 3 milyon yıl önce yükselmesi (Lundelius, 1987) sonucu ana okyanus havzalarının birbirinden ayrılması ile ilgili jeolojik verilerlede desteklenen bu genetik model, yeşil deniz kaplumbağasının yayılışının coğrafik ve iklimsel sınırları ile de uyumludur. Populasyonlar muhtemelen, Afrika ve Amerika'nın güney uçları çevresindeki düşük su sıcaklık derecelerinden dolayı bir izolasyon sağlar, oysa her iki bölge arasında da fiziksel bir bariyer bulunmaz (Briggs, 1974). Nitekim mikrosatellit verilerini kullanan Roberts vd. (2004) yakın bir zamanda veya devamlı olarak Hint ve Atlantik Okyanusu havzaları içindeki populasyonlar arasında erkek merkezli gen akışı tesbit etmişlerdir. Buna ek olarak Bourjea vd. (2007) Güneybatı Hint Okyanusu'ndaki bazı yuvalama alanlarında yaptıkları mtDNA kontrol bölgesi dizileme çalışması sonucunda ilk kez Atlantik Okyanusu'na ait CM-A8 haplotipini Hint-Pasifik yuvalama kumsallarında gözlemlemişlerdir. Bu sonuçlar Afrika'nın güney ucu (Good Hope Burnu) Atlantik Okyanusu ile Hint-Pasifik Okyanusu havzaları arasında dişi merkezli gen akışına engel oluşturmadığını göstermektedir. Buna göre, daha önce farklı türler için bildirilen (Chow vd., 2000; Bowen vd., 2001; Lessios vd., 2001) Agulhas Akıntısı içinde Hint Okyanusu'ndan Atlantik Okyanusu'na doğru pasif sürüklenmelerle olan geçişlerin aksine *C. mydas* kendisi gibi aktif yüzücü olan çekiç kafalı köpekbalıklarında olduğu (Duncan vd., 2006) gibi, Atlantik Okyanusu'ndan Hint Okyanusu'na doğru aktif olarak yayılmışlardır (Bourjea vd., 2007).

Naro-Maciel vd. (2008) beş çekirdek DNA (*BDNF, Cmos, R35, Rag1* ve *Rag2*) ve iki mtDNA (12S ve 16S) bölgesi ile yaptıkları dizileme analizi sonucunda Atlantik ve Pasifik yeşil kaplumbağa populasyonlarının yaklaşık 7 milyon yıl önce Atlantik ve Hint-Pasifik tropikal türlerinin karışımını engelleyen (Rosen, 1988) Tetis Denizi'nin kapanmasını (14-18 milyon yıl önce, Vrielynck vd., 1997; Rögl, 1998) takip ettiğini öne sürmüşlerdir. Buna göre, Güney okyanus sıcaklığının orta ve geç Miyosen (15-17 milyon yıl öncesinden yaklaşık 6 milyon yıl öncesine kadar) boyunca azalması, yaklaşık 7 milyon yıl önce, güney rotasından yayılımı engelleyecek dercelere kadar düşmesi ile ayrılma sağlanmıştır.

Dişi deniz kaplumbağalarının yumurtlamak için yumurtadan çıktıkları kumsallara geri dönmeleri ile ardıl sezonlarda aynı kumsala yuvalamaları, yuvalama alanları arasındaki mitokondri genomuna ait genetik ayrılmaları açıklayabilir (Reece vd. 2005). Yeşil deniz kaplumbağası yüksek derecede yuvalama bölgesine sadakat göstermekle beraber, yuvaların yaygın dağılımını açıklamak için göç hatalarının oluşması gerekir (Bowen vd., 1992). Florida yeşil deniz kaplumbağalarının önceki yuvalama alanlarından 10 km içindeki sapmalarla yuvalama yaptıkları saptanmıştır (Carr vd., 1978; Balazs, 1980; Limpus vd., 1992). Buna karşın Dethmers vd. (2006)

ve Bourjea vd. (2007) yeşil deniz kaplumbağa populasyonlarının 500 km'den sonra genetik farklılık gösterdiğini bildirmişlerdir.

Encalada vd. (1996) Atlantik ve Akdeniz *C. mydas* populasyonları ile yaptıkları mtDNA dizileme çalışması sonucunda Atlantik havzası mtDNA soyhattının dağılımını açıklayan iki olası modelden bahsederler. Bunlardan ilki olan vikaryant senaryo organizmaların dağılımının parçalanmasını iklim veya jeolojik değişimler yoluyla habitatların kalıcı bölünmesi ile açıklar. İkincisi ise dispersal (yayılma) senaryo olup organizmanın tarihsel dağılım sınırlarının ötesine ara sıra geçebilme yeteneğini vurgular.

Panama Kıstağı'nın yükselmesi ile gerçekleşen vikaryant senaryo ana okyanus havzaları arasındaki dağılımı açıklarken, pleistosen dönemde (~2 milyon yıl önce) okyanus su seviyelerinin yaklaşık 100 m çekilmesinden (Bowen, 1978) kaynaklanan bir populasyon yaşam alanı daralmasının sonucunda yeşil deniz kaplumbağalarının ekvatora yakın bölgelere çekildiğini ve buradan tekrar yayıldığını öngören dispersal senaryo Atlantik yeşil kaplumbağa populasyonları için Karayip - Akdeniz ve Güney Atlantik - Batı Afrika gibi iki farklı evrimsel soyhattlarını açıklamaktadır (Encalada vd., 1996). Reece vd. (2005) yaptıkları çalışmada atasal Atlantik populasyonlarının, önceki çalışmaya benzer olarak, yakın ekvatoral ve Karayip-Akdeniz altpopulasyonlarına bölündüğünü tahmin etmişlerdir.

Kuzey Atlantik genç deniz kaplumbağalarının okyanus akıntılarıyla Akdeniz'e girdiği düşünülmektedir (Carr 1987; Laurent 1990) (Şekil 1.5.). Önceki genetik çalışmalar Karayip'ten köken alan Akdeniz'deki yuvalama populasyonlarının, *C. caretta*'da olduğu gibi Pleistosen sonu, Holosen başlarında (~10 bin yıl önce) Atlantik'ten izole olmaya başladığını göstermektedir (Bowen vd.,1992; Encalada vd., 1996).



Şekil 1.5. Kuzey Atlantik Akıntısı (Luke vd., 2004).

Mikrosatellitler veya basit dizi tekrarları (SSRs=simple sequence repeats) kodlama yapmayan, bireyden bireye farklılık gösteren, 2-6 bazdan oluşmuş, tekrar sayısı değişken tekrarlı DNA dizileridir (Tautz, 1989). Hem kodlama yapan hem de yapmayan bölgelerde bulunur ve yüksek derecede polimorfiktir. Polimorfizmin kaynağının neler olduğu tartışmaları sürmekle birlikte, DNA replikasyonu boyunca oluşan kaymaların (slippage) etkili olabileceği düşünülmektedir (Tautz ve Rentz, 1984; Levinson ve Gutman, 1987; Stephan, 1989;Weber, 1990; Schlötterer ve Tautz, 1992). Mikrosatellit lokuslarındaki evrim, yeni aleller için tek bir tekrar ünitesinin kazanılması veya kaybedilmesi ile oluşan stepwise mutasyon modelini (SMM) izler (Kimura ve Ohta, 1978; Shriver vd., 1993; Valdes vd., 1993). Bu modele alternatif olan diğer bir model, mikrosatellit lokuslarındaki yeni alellerin rekombinasyon sırasında, eşit olmayan krossing-over'dan oluştuğunu öngörür. Bu lokuslar sonsuz alel modeline (IAM, Kimura ve Ohta, 1978) göre gelişmektedir. Bununla birlikte Di Rienzo vd. (1994)'nin yaptığı bir simulasyon çalışmasında insandaki bir çok lokusta

mikrosatellit evrimsel süreci için iki fazlı mutasyon (TPM) modelinin en uygun olduğu gösterilmiştir. İki basamaklı evrimsel modelde tipik olarak yeni aleller tek bir tekrar ünitesinin kazanılması yahut kaybedilmesi ile oluşmaktadır. Bununla birlikte sık olmayan alel büyüklüğündeki büyük değişikliklerde görülmektedir. Ortaya çıkan alel sıklık dağılımı asimetrik ve çoklu model doğasındadır (Roberts vd., 2004).

Ortalama olarak mutasyon oranı her bir nesil başına her bir gamette (nesil/gamet) 10⁻² ve 10⁻⁵ arasında değişmektedir (Page ve Holmes, 1998). Buna bağlı olarak dar coğrafik alanlardaki bireyler ve populasyonlar arasındaki farklılıkları çözümleyebilir (Bruford ve Wayne, 1993).

Mikrosatellitler hem anadan hemde babadan (ikili atasal) kalıtılan ko-dominant (eş-baskın) belirteçlerdir. Mikrosatellitler genellikle seçici nötral olarak düşünülürler ve basit Mendel kalıtımı gösterdiklerinden genetik çeşitliliğin değerlendirilmesinde yararlı ve kullanışlıdırlar. Kaplumbağalarda mikrosatellitler, populasyon genetiği (FitzSimmons vd., 1997a, b; Pearce, 2001; Chassin-Noria vd., 2004; Roberts vd., 2004; Bowen vd., 2005; Rivalan vd., 2006; Carreras vd., 2007; Lee vd., 2007; Naro-Maciel vd., 2006), moleküler evrim (Dutton, 1995; FitzSimmons vd., 1995), koruma genetiği (Fitzsimmons vd., 1997b; Roberts vd., 2004; Bowen vd., 2005; Cunningham vd., 2002; Pearse vd., 2006) ve babalık tespiti (Peare ve Parker, 1996; FitzSimmons, 1998; Peare vd., 1998; Ireland vd., 2003) çalışmalarında kullanılmaktadır (Engstrom vd., 2007; McGaugh vd., 2007) (Şekil 1.3). Ek olarak türler arası hibritleşmenin kaplumbağa biyolojisinde gelecekteki yerini belirlemede (Roy vd., 1994, 1996; Williams vd., 2005) ve yaban hayattaki kaçak avlanmaların kriminal incelemelerinde mikrosatellitler kullanılır (Manel vd., 2002).

Akdeniz *C. mydas* populasyonunun Atlantik populasyonundan izole olması, genetik çeşitliliğinde anlamlı derecede azalma ile sonuçlanmıştır. Genetik çeşitliliğin kaybı, potansiyel olarak soyiçi üremenin ve genetik sürüklenmenin artması nedeniyle zararlı alellerin baskısının artmasına ve populasyondaki bireylerin uyum gücünün azalmasına neden olur. Genetik çeşitlilikteki böyle bir azalma küçük populasyonlarda daha hızlı meydana gelir ve türlerin koruma çalışmalarında oldukça önemlidir. Karl vd. (1992) Surinam ve Ascension Adası populasyonlarına ait mtDNA ve mikrosatellit verilerini karşılaştırarak populasyonlar arasında mtDNA haplotipleri açısından tam bir ayrılmanın olduğunu, buna karşın mikrosatellit sonuçlarında ayrılmanın görülmediğini, dolaysıyla populasyonlar arasında erkek merkezli gen akışı olduğunu tesbit etmişlerdir.

Dişi deniz kaplumbağalarının yuvalama bölgesine gösterdikleri sadakat, aynı beslenme alanlarının farklı yuvalama alanlarından gelenlerce paylaşılması durumları anasal kalıtılan mtDNA ile çözümlenebilir. Buna karşın populasyonlar arasında erkek merkezli gen akışının olup olmadığı ile aynı yuvaya birden fazla erkeğin katkıda bulunup bulunmadığı sorularının cevabı ancak ikili atasal kalıtılan mikrosatellit gibi çok değişken çekirdek DNA parçalarının araştırılması ile cevaplanabilir (FitzSimmons vd., 1997a; Ireland vd., 2003; Roberts vd., 2004).

Akdeniz sahillerinde kaydedilmiş yuvaların % 99'unun Kıbrıs ve Türkiye olduğu bilinmesine karşın (Kasparek vd., 2001) Akdeniz *C. mydas* populasyonlarına ait moleküler çalışmalar az sayıda olup, yalnız Kıbrıs'dan alınmış az sayıda örneklerle yapılmıştır. İlk çalışma Bowen vd. (1992) tarafından mtDNA'nın restriksiyon endonüleaz enzimleriyle sindirilmesine dayalı RFLP analizidir (10 örnek). Bu sonuçlar Karl vd. (1992) tarafından aynı örneklerin anonim tek kopyalı çekirdek DNA bölgelerinin RFLP analiz sonuçları ile kıyaslanmıştır. MtDNA kontrol bölgesi dizi analizi Encalada vd. (1996) ile Kaska (2000) tarafından yapılmış ve toplamda 17 bireyden iki farklı haplotip elde edilmiştir. *C. mydas*'ın Türkiye'deki yuvalama alanları ile ilgili bir çalışma hali hazırda bulunmamaktadır.

Bu çalışmada Kuzey Kıbrıs ve Türkiye'nin Akdeniz sahillerinin yer aldığı Kuzeydoğu Akdeniz'deki *C. mydas*'ın farklı yuvalama kumsallarından toplanan örnekleri mtDNA kontrol bölgesi dizi analizi ve mikrosatellit lokusları analiz edilerek populasyon genetik yapısının belirlenmesi amaçlandı. Elde edilen veriler *C. mydas*'ın diğer coğrafyalarda yayılış gösterilenlerinkiyle karşılaştırılarak filocoğrafyaları ortaya konmaya çalışıldı. Veriler bir bütün olarak bu türün koruma genetiği açısından değerlendirilmiştir.

18

2. MATERYAL VE METOT

2.1. Chelonia mydas Örneklerinin Toplanması

Çalışma için Türkiye ve Kuzey Kıbrıs'ın yeşil deniz kaplumbağasına ait yedi yuvalama kumsalından (Şekil 2.1) toplanan örnekler kullanıldı (Tablo 2.1). Yuva örneklerinin tamamı, yaklaşık 10-14 günlük döngülerle bir sezonda genellikle 2-4 kez yuvalayan dişileri (Hirth, 1997) yeniden örneklemeden kaçınmak için 10 günlük periyotlar içinde alındı. Her bir yuvadan tek bir ölü yavru sağ ön yüzgeci veya ölü embriyo örneği alınarak, % 95'lik etanol (v/v) içerisinde tespit edilerek, çalışmanın sonraki basamakları için saklandı.

Yuvalama Sahili	Tarih	Koordinatlar		Yuva sayısı
Akyatan-Adana	2006			48
Akyatan-Adana	2007	K36° 22' 11" K36° 20' 03"	D35° 07' 19" D35° 11' 40"	29
Akyatan-Adana	2008	K50 20 05	033 11 40	15
Alata-Mersin	2007	K36° 22' 46"	D34° 12' 43"	5
Alata-Mersin	in 2008 K36° 22' 02"	K36° 22' 02"	D34° 12' 50"	17
Göksu-Mersin	2008	K36° 22' 11" K36° 20' 03"	D35° 07' 19" D35° 11' 40"	2
Kazanlı-Mersin	2007	K36° 29' 13"	D34° 26' 41"	19
Kazanlı-Mersin	2008	K36° 28' 58"	D34° 28' 22"	6
Kuzey Kıbrıs	2002	K35° 36' 00" K35° 38' 31"	D34° 19' 53" D34° 33' 27"	35
Samandağ-Hatay	2006			10
Samandağ-Hatay	2007	K36 04 30" K36° 00' 21"	D35 03' 33" D35° 35' 20"	5
Samandağ-Hatay	2008	1450 00 21	033 33 20	11
Yumurtalık-Adana	2006	K36° 20' 23"	D35° 20' 11"	9
Yumurtalık-Adana	2008	K36° 30' 12"	D35° 32' 16"	14
Toplam				225

Tablo 2.1. Chelonia mydas örneklerine ait lokalite bilgileri



Şekil 2.1. Chelonia mydas örneklerinin toplandığı yuvalama kumsalları.

2.2. Toplam Genomik DNA İzolasyonu

Toplam genomik DNA, ölü yavru sağ ön yüzgeci veya ölü embriyodan eşit miktarda alınan dokudan Hillis ve Moritz'in (1990) standart fenol-kloroform DNA izolasyon protokolünde bazı değişiklikler yapılarak izole edildi.

Alkolü uzaklaştırılan örneklerden 0.1 g tartılarak, mikrosantrifüj tüplerine konuldu ve üzerlerine 500 µl STE (0.1 M NaCl, 0.05 M Tris ve 0.001 M EDTA, pH 8.0) tamponu ilave edildi. Steril bir makasla dokular iyice parçalandı. Üzerlerine 25 µl proteinaz K (Sigma, 10 mg/ml) eklenerek karıştırıldı. 50 µl SDS (% 10'luk) ilave edilen tüpler 2 saat 55 °C'de, zaman zaman alt-üst edilerek, inkübe edildi. İnkübasyondan sonra üzerlerine eşit hacimde PCI (Fenol:kloroform:izoamil alkol 25:24:1; v:v:v) eklenen tüpler yavaşça alt-üst edildi. Bir mikropipet yardımıyla üst berrak tabaka alınarak yeni bir mikrosantrifüj tüpe aktarıldı. Bu sırada orta tabakanın (interfaz) bozulmamasına dikkat edildi. Üzerlerine eşit hacimde ikinci kez PCI ilave edilip oda sıcaklığında alt-üst edilerek 5 dk bekletildikten sonra, 12 800 g'de 5 dk santrifüj edildi. Orta fazın benzer şekilde bozulmamasına dikkat edilerek, mikropipetle üst berrak tabaka alındı ve yeni bir mikrosantrifüj tüpe aktarıldı.

Üzerlerine 1 ml soğuk mutlak etanol ilave edilerek 20 dk buz üzerinde bekletildi. DNA gözle görününceye kadar tüpler yavaşça alt üst edildi. Örnek 1 dk 12 800'de santrifüj edilerek çöktürüldü. Alkol uzaklaştırıldı. Çöktürülen DNA'dan alkolü tamamen uzaklaştırmak için, tüpler 37 °C'de 5-10 dk inkübe edildi. Pellet 250 µl TE (1 mM Tris-HCl, pH 7.5, 0.1 mM EDTA) içinde çözdürüldü. Çalışma için +4 °C'de saklandı.

2.3. Genomik DNA'nın Kalite ve Miktarının Belirlenmesi

İzole edilerek TE tamponu içerisinde çözdürülen DNA örneklerinin spektrofotometre ile 260 nm dalgaboyunda soğurumları okundu. Soğurum verilerinden yararlanılarak aşağıdaki formülle çift zincirli DNA derişimi hesaplandı:

$$C_{DNA} = O.D._{260nm} x S.K. x 50$$

O.D.- Optik Dansite (260 nm'de okunan absorbans değeri).

S.K.- Sulandırma katsayısı.

50 - 260 nm'de 1 optik dansite, çift iplikli DNA konsantrasyonunda50 mg/ml'sine denk gelir.

Derişimleri belirlenen DNA örnekleri daha sonra % 1'lik agaroz jelde yürütülerek kalitesi belirlendi.

2.4. PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)

2.4.1.1. MtDNA Reaksiyon Koşulları

Mitokondri DNA analizinde; *tRNA-Thr* (son 29 bç'i), *tRNA-Pro* (70 bç) ve *d-loop* bölgesinin bir kısmını da (ilk 769 bç'i) kapsayan yaklaşık 940 bç uzunluğunda mitokondri DNA parçası çalışıldı. Bunun için;

LCM153825'- GCT TAA CCC TAA AGC ATT GG -3' veH9505'- GTC TCG GAT TTA GGG GTT TG -3'

oligonükleotidleri (Abreu-Grobois vd., 2006) kullanılarak PCR (Mastercycler Personel, Eppendorf, Almanya) ile mtDNA kontrol bölgesi çoğaltıldı (Şekil 2.2).



3' yönü Şekil 2.2. *C. mydas* mtDNA analizinde kullanılmış tüm oligonükleotid çiftlerinin karşılaştırma şeması [Abreu-Grobois vd. (2006)'den değiştirilerek]. Çalışma için LCM15382 ve H950 oligonükleotidleri kullanıldı. 23

MtDNA kontrol bölgesi, son hacimde 4 ng/µl kalıp DNA (100 ng/µl), 1x *Taq* tamponu [10x *Taq* Buffer; 100 mM Tris-HCl (pH 8.8), 500 mM KCl, % 0.8 Nonidet P40; Fermentas, MBI], 1.5 mM MgCl₂ (25 mM; Fermentas, MBI), 0.1 mM dNTP karışımı (herbir dATP, dTTP, dCTP, dGTP 0.5 mM; Fermentas, MBI), 0.02 U/µl *Taq* polimeraz (5 U/µl; Fermentas, MBI), 0.2 pmol/µl LCM15382 ve H950 oligonükleotidleri (her biri 25 pmol/µl) 25 µl reaksiyon hacminde steril distile su ile tamamlanarak PCR ile çoğaltıldı. Amplifikasyon için; 94 °C 30 sn, 65 °C 1 dk ve 72 °C 1 dk PCR sıcaklık profili 35 döngü boyunca uygulandı.

PCR ürünleri % 1'lik agaroz jele yüklenerek kontrol edildi (Şekil 2.3).



Şekil 2.3. mtDNA kontrol bölgesi PCR ürünleri.

Agaroz jelde kontrol edilen PCR ürünleri PCR temizleme kiti (GenElute PCR Clean-Up Kit, Sigma, Almanya) kullanılarak temizlendi. Kitle temizlenen örnekler % 1'lik agaroz jele yüklenerek kontrol edildi (Şekil 2.4).



Şekil 2.4. PCR temizleme kitinden geçirilmiş PCR ürünleri.

2.4.1.2. MtDNA Dizi Analizi

PCR temizleme kitinden geçirilen ve agaroz jelle kontrol edilen mtDNA örneklerine, enzimatik sentez yöntemi (Sanger ve Coulson, 1975) kullanılarak geliştirilmiş bir kapiller sistemle (Automatic Sequencer 3730xl) otomatik DNA dizi analizi yaptırıldı (Macrogen Inc., Güney Kore). DNA dizi analiz sonuçları BioEdit ver 7.0.9 (Hall, 1999) programı (http://www.mbio.ncsu.edu/BioEdit/bioedit.html) kullanılarak görüntülendi (Şekil 2.5). DNA dizi verileri, Clustal W çoklu dizi hizalama programı (Clustal W multiple sequence alignment program) (http://www.clustalw.genome.jp/) ile hizalandı. Gözle de kontrol edilen hizalama dizileri arasında uzunluk farklılıkları olması nedeniyle örneklerin başlangıç ve sonlanma noktalarından hizalamalar yapıldı. Her bir örneğin dizi uzunluğu 862 baz çifti olarak hizalandı. Sonuçlar daha önce tanımlanmış haplotiplerle (GenBank; http://ncbi.nlm.nih.gov ve Archie Carr Center for Sea Turtle Research= ACCSTR; http://accstr.ufl.edu) kıyaslandı.



Şekil 2.5. BioEdit 7.0.9 programı tarafından DNA dizilerinin görüntülenmesi.

2.4.1.3. MtDNA Veri Analizi

Yuvalama kumsallarının haplotip (h) ve nükleotid (π) çeşitliliği (Nei, 1987) ile yuvalama kumsalı çiftleri arasındaki genetik uzaklık (γ_{st} , Gamma_{st}) (Nei, 1982) DNAsp ver 4.50 (Rozas vd., 2003) kullanılarak hesaplandı. Yakın farklı örnekleme alanları arasındaki genetik farklılıklar, DNAsp paketindeki CHIRXC (Zaykin ve Pudovkin, 1993) programı kullanılarak, Zs* (Hudson vd. 1992) ve X^2 (*ki-kare*) testleri (Cuadras, 1983) ile değerlendirildi. Aralarında istatistiksel farklılık tespit
edilemeyen örnekleme alanları aynı populasyon grubuna dahil edildi. Yuvalama bölgelerinin coğrafik yakınlıkları ve istatistiksel verilere dayalı populasyon gruplamaları yapılarak Arlequin ver 3.1 (Excoffier vd., 2006) programı ile AMOVA (analysis of molecular variance approach = moleküler varyasyon yaklaşımının analizi) analizi (Excoffier vd., 1992) yapıldı. AMOVA ile haplotip sıklıklarına dayalı genetik varyasyonun gruplar arasında, grup içi yuvalama kumsalları arasında ve yuvalama kumsalları içindeki dağılımı, istatistiksel önem dereceleri belirlenerek (1023 permütasyon) tespit edildi.

Etkili populasyon büyüklüğü (Ne), *Ameiurus nebulus* adlı balığın mtDNA kontrol bölgesi için saptanmış mutasyon oranı ($\mu = 1.29 \times 10^{-5}$) kullanılarak

 $\pi = 2$ Ne. μ (Chen and Herbert 1999)

formülünden tekrar hesaplandı. Her yuvalama kumsalı çifti arasındaki göç oranı (gen akışı);

Nm= 0.5 (1/\gamma_{st} - 1) (Takahata ve Palumbi, 1985)

eşitliği kullanılarak tekrar hesaplandı.

Yuvalama kumsallarının bugünkü genetik yapılarının oluşmasında etkili olan evrimsel güçleri test etmek için Nested Clade Analysis (NCA) (Templeton, 1998; Templeton, 2001) uygulandı. Templeton vd. (1992) de tanımlanan haplotiplerin istatistiksel "köksüz tutumluluk ağı" (Unrooted parsimony network) TCS v1.02 (Clement vd., 2000) adlı bilgisayar programı kullanılarak oluşturuldu. Halotip ağı ile haplotiplerin coğrafik yerleşimleri arasında önemli bir bağlantının olup olmadığı Geodis 2.0 (Posada vd., 2000) bilgisayar programı kullanılarak NCA ile test edildi.

2.4.2.1. Mikrosatellit Reaksiyon Koşulları

Daha önceki çalışmalarda deniz kaplumbağaları için tanımlanmış altı mikrosatellit lokusu çalışıldı (Tablo 2.2). Mikrosatellit lokusları DY 549, 6-FAM ve NED floresans boyaları ile 5' ucu etiketlenmiş oligonükleotidler kullanılarak PCR ile çoğaltıldı. Amplifikasyonda kullanılan oligonükleotidlerin dizi ve floresans etiket bilgileri Tablo 2.2'de verilmiştir.

Lokus	Oligonükleotid Dizisi	Floresans Boya
$Cm-72^a$	5'- CTA TAA GGA GAA AGC GTT AAG ACA -3'	5': DY 549
	5'- CCA AAT TAG GAT TAC ACA GCC AAC -3'	
<i>Cm-84</i> ^a	5'- TGT TTT GAC ATT AGT CCA GGA TTG -3'	5': 6-FAM
	5'- ATT GTT ATA GCC TAT TGT TCA GGA -3'	
<i>Cc-117</i> ^a	5'- TCT TTA ACG TAT CTC CTG TAG CTC -3'	5': DY 549
	5'- CAG TAG TGT CAG TTC ATT GTT TCA -3'	
<i>Cc</i> -7 ^b	5'- TGC ATT GCT TGA CCA ATT AGT GAG -3''	5': NED
	5'- ACA TGT ATA GTT GAG GAG CAA GTG -3'	
<i>Cm-141</i> ^c	5'- CAG CAG GCT GTC AGT TCT CCA C -3'	5': HEX
	5'-TAG TAC GTC TGG CCT GAC TTT -3'	
<i>Ccar-176</i> ^d	5'- GGC TGG GTG TCC ATA AAA GA -3'	5': 6-FAM
	5'- CCC TAA GTA AAG ATT GGC TGC T -3'	

Tablo 2.2. Mikrosatellit analizinde kullanılan oligonükleotidlerin dizi ve boya özellikleri

1- FitzSimmons vd., 1995; 2- FitzSimmons, 1998; 3- FitzSimmons vd., 1996; 4- Moore ve Ball, 2002.

Her bir mikrosatellit lokusu, son hacimde 4 ng/µl kalıp DNA (100 ng/µl), 1x *Taq* tamponu [10x *Taq* Buffer; 100 mM Tris-HCl (pH 8.3), 500 mM KCl, 15 mM MgCl₂, % 0.01 jelatin; Sigma], 1.5 mM MgCl₂ (25 mM; Fermentas, MBI), 0.1 mM dNTP karışımı (herbir dATP, dTTP, dCTP, dGTP 0.5 mM; Fermentas, MBI), 0.5 U/µl *Taq* polimeraz (5 U/µl; Fermentas, MBI), oligonükleotid çiftinin herbirinden 0.24 pmol/µl (her biri 20 pmol/µl) 25 µl reaksiyon hacminde steril distile su ile tamamlanarak PCR ile çoğaltıldı. Çoğaltmak için; 94 °C 45 sn, 55 °C 1 dk ve 72 °C 1 dk PCR sıcaklık profili 32 döngü boyunca uygulandı.

PCR ürünleri % 1'lik agaroz jele yüklenerek kontrol edildi (Şekil 2.6).



Şekil 2.6. PCR ürünleri (*Cc*-7 lokusu).

2.4.2.2. Mikrosatellit Veri Analizi

Mikrosatellit alel büyüklükleri ABI 3730 Automated DNA Analyzer (Applied Biosystems) ile belirlendi (Macrogen Inc., Güney Kore). Alel büyüklükleri Genemaker v1.8 (SoftGenetics LLCTM) programı kullanılarak hesaplandı (Şekil 2.7).



Şekil 2.7. Bir bireye ait *Cc*-7 lokusunun grafik görüntüsü.

Populasyonlara göre lokusların alel sayısı (k), beklenen heterozigotluk (H_B; gen çeşitliliği) ve gözlenen (H_G) heterozigotluk değerleri hesaplandı. Populasyon çiftleri arasındaki genetik uzaklık (F_{st}) belirlendi ve populasyonların Hardy-Weinberg dengesinde olup olmadığı ile lokuslar arasında bağlantı dengesizliğinin varlığı test edildi. Populasyon çiftleri arasındaki farklılığını belirlemek için P (olasılık) değerleri, Markov chain randomization (Guo ve Thompson, 1992) ile hesaplandı. Bütün bu istatiksel analizler Genepop v 4.0 (Rousset, 2008) kullanılarak yapıldı. Yakın tarihlerde populasyonlarda meydana gelmiş olası darboğazları tespit etmek için iki fazlı mutasyon modeli (TPM) kullanılarak, Wilcoxon testi uygulandı (Bottleneck ver. 1.2; Cornuet ve Luikart, 1996).

Etkili populasyon büyüklüğü (Ne), FitzSimmons (1998)'daki verileri kullanarak Ellegren (2000) tarafından hesaplanan *C. mydas* deniz kaplumbağası için ortalama, dinükleotid tekrar mutasyon oranı (2 x 10^{-3}) ile hesaplandı. Mutasyon oranlarının en az ve en büyük değerleri (en az: 9.6 x 10^{-3} ; en büyük: 5.7 x 10^{-4}) kullanılarak mutasyon oranının değişim çeşitliliği hesaplandı. Etkili populasyon büyüklüğünün (Ne) değişim (varyasyon) aralığını tespit etmek için iki model test edildi. Bunlar;

 $H = 4Ne\mu/(1+4Ne\mu)$ formülünden tespit edilen sonsuz-alel (infinite-allele) modeli (IAM: Kimura ve Crow, 1964) ile,

 $H = 1-(1/\sqrt{1+8Ne\mu})$ formülünden tespit edilen stepwise mutasyon modeli (SMM: Ohta ve Kimura, 1973)dir.

Yeni varyantları oluşturmada mutasyondan daha etkili olan populasyonlar arası gen akışı oranı iki farklı yolla hesaplandı. İlk olarak yuvalama kumsalı çiftleri arasındaki genetik uzaklık değerlerinden (Fst) yararlanılarak aşağıdaki formülle hesaplandı.

Nm = 1/4[1/Fst-1] (Wright, 1951).

Yuvalama kumsalları arası gen akışı (M) ayrıca, Coalescent Yaklaşımına (Beerli ve Felsenstein, 1999) dayalı Bayesian Metodu kullanılarak Migrate-n ver. 3.0.3 ile (Beerli, 2002) hesaplandı.

Yuvalama kumsalları arası coğrafik uzaklıklara ve istatistiksel verilere dayalı populasyon gruplamaları yapılarak Arlequin ver. 3.1 (Excoffier vd., 2006) programı ile AMOVA analizi (Excoffier vd., 1992) yapıldı. AMOVA ile alel sıklıklarına dayalı genetik varyasyonun gruplar arasında, grup içi populasyonlar arasında ve populasyonlar içindeki dağılımı, istatistiksel önem dereceleri belirlenerek (1023 permütasyon), tespit edildi.

3. BULGULAR

3.1. Mitokondri DNA Bulguları

Türkiye ve Kuzey Kıbrıs sahillerindeki yedi *C. mydas* yuvalama kumsalından 225 örneğin mtDNA kontrol bölgesi dizileme çalışmasından toplam altı farklı haplotip elde edildi (Tablo 3.1). Bunlardan ikisi CM-A13 ve CM-A14 haplotipleri (Encalada vd., 1996; Kaska, 2000) Akdeniz populasyonu için önceki çalışmalarda verilmişken, Kuzey Karolayna ve Küba beslenme populasyonlarında saptanmış olan CM-A27 haplotipi (Lopez vd., 2000; Naro-Maciel vd., 2006) Akdeniz yuvalama populasyonları için ilk kayıt olarak belirlenmiştir. Geri kalan üç haplotip *C. mydas* için yeni kayıtlar olup ACCSTR'e ait internet sitesinde (http://accstr.ufl.edu/cmmtdna.html) CM-A61, CM-A62 ve CM-A63 adıyla yayınlandı. Buna göre çalışmada elde edilen altı haplotipten hem Atlantik hem de Akdeniz'de tespit edilmiş olan CM-A27 haplotipi dışındakiler sadece Akdeniz'de saptanmıştır.

Tablo 3.1. C. mydas yuvalama kumsallarına ait mtDNA haplotip dağılımı (Heteroplazmi çeşitleri; A: CM-A13 ve CM-A 27, B: CM-A 13 ve CM-A61, C: CM-A13 ve CM-A63)

	CM-AI3	CM-A14	CIVI-A27	CM-A01	CMI-A02	CIVI-A03	A	D	U	горган
Akyatan	90	-	1	-	-	-	1	-	-	92
Alata	21	-	-	-	-	1	-	-	-	22
Göksu	2	-	-	-	-	-	-	-	-	2
Kazanlı	24	-	-	1	-	-	-	-	-	25
K. Kıbrıs	32	2	-	-	1	-	-	-	-	35
Samandağ	25	-	-	-	-	-	-	-	1	26
Yumurtalık	22	-	-	-	-	-	-	1	-	23
Toplam	216	2	1	1	1	1	1	1	1	225

CM-A13 CM-A14 CM-A27 CM-A61 CM-A62 CM-A63 A B C Toplam

Yuvalama kumsallarından elde edilen altı mtDNA haplotipine karşılık gelen polimorfik bölgelerdeki baz değişimleri belirlendi (Tablo 3.2).

Baz Sırası Haplotip	186	242	326	458	471
CM-A13	С	А	А	С	А
CM-A14	•	•	•	Α	•
CM-A27	•	G*	•	•	•
CM-A61	•	•	G*	•	•
CM-A 62	•	•	•	•	G*
CM-A63	Т*	•	•	•	•

Tablo 3.2. *C. mydas* yuvalama kumsallarına ait altı mtDNA haplotipine karşılık gelen polimorfik bölgeler. Polimorfizmler dört transversiyon ve bir transisyondan (*) oluşmaktadır

C. mydas yuvalama kumsallarına ait mtDNA haplotip sıklıklarının yuvalama alanlarına göre dağılımı belirlendi (Tablo 3.3). Heteroplazmi gösteren bireyler, heteroplazmi durumlarını belirleyici başka analizler yapılmadığından değerlendirme dışı tutuldu. Baskın olan CM-A13 haplotipi en düşük Kuzey Kıbrıs'ta (% 91.4), en yüksek ise Göksu, Samandağ ve Yumurtalık'ta (% 100) bulundu. Diğer haplotipler içersinde en yüksek sıklığa CM-A14 (KuzeyKıbrıs, % 5.7), en düşük CM-A27 (% 1) olarak belirlendi. Toplamda ise sıklığı en yüksek olan CM-A13 (% 97.3)'ün ardından sırasıyla CM-A14 (% 0.9); CM-A27, CM-A61, CM-A62, CM-A63 (% 0.45) olarak belirlendi (Şekil 3.1).

	CM-A13	CM-A14	CM-A27	CM-A61	CM-A62	CM-A63
Akyatan	0.989	-	0.011	-	-	-
Alata	0.955	-	-	-	-	0.045
Göksu	1	-	-	-	-	-
Kazanlı	0.960	-	-	0.040	-	-
K. Kıbrıs	0.914	0.057	-	-	0.029	-
Samandağ	1	-	-	-	-	-
Yumurtalık	1	-	-	-	-	-
Toplam	0.973	0.009	0.0045	0.0045	0.0045	0.0045

Tablo 3.3. C. mydas yuvalama kumsallarına ait mtDNA haplotip sıklıkları



Şekil 3.1. C. mydas yuvalama kumsallarına ait mtDNA d-loop haplotip sıklıkları.

Yuvalama kumsallarına ait haplotip (h) ve nükleotid (π) çeşitliliği ile etkili populasyon büyüklüğü (Ne) belirlendi (Tablo 3.4, Tablo 3.5).

Kumsal	Tarih	Birey	Haplotip	h	π
Akyatan	2006	47	2	0.04255	0.00005
Akyatan	2007	29	1	0	0
Akyatan	2008	15	1	0	0
Alata	2007	5	1	0	0
Alata	2008	17	2	0.11765	0.00014
Göksu	2008	2	1	0	0
Kazanlı	2007	19	2	0.10526	0.00012
Kazanlı	2008	6	1	0	0
K. Kıbrıs	2002	35	3	0.16471	0.00019
Samandağ	2006	9	1	0	0
Samandağ	2007	5	1	0	0
Samandağ	2008	11	1	0	0
Yumurtalık	2006	8	1	0	0
Yumurtalık	2008	14	1	0	0
Toplam		222	6	0.05340	0.00006

Tablo 3.4. Yuvalama kumsallarına ait örnekleme yıllarına göre haplotip (h), nükleotid (π) çeşitliliği

	Birey	Haplotip	h	π	Ne
Akyatan	91	2	0.0220	0.00003	1
Alata	22	2	0.0909	0.00011	4
Göksu	2	1	0	0	-
Kazanlı	25	2	0.0800	0.00009	3
K. Kıbrıs	35	3	0.1647	0.00019	7
Samandağ	25	1	0	0	-
Yumurtalık	22	1	0	0	-
Toplam	222	5	0.0534	0.00006	2

Tablo 3.5. Yuvalama kumsallarına ait haplotip (h), nükleotid (π) çeşitliliği ve etkili populasyon büyüklüğü (Ne)

Yıllara göre homojen bir dağılım göstermeyen genetik çeşitlilik toplamda çok az (h_T=0.0534, π_T = 0.00006) olup, üç yuvalama kumsalı (Göksu, Samandağ ve Yumurtalık) monomorfiktir (h=0). Üç haplotip içeren Kuzey Kıbrıs yuvalama kumsalının en yüksek gen çeşitliliğine (h=0.16471) sahip olduğu, onu sırası ile iki haplotip içeren Alata, Kazanlı ve Akyatan yuvalama kumsallarının (0.0909, 0.0800 ve 0.0220) izlediği belirlendi.

Etkili populasyon büyüklüğü düşük nükleotid çeşitliliğine bağlı olarak yuvalama kumsallarının tamamında ve toplamında 8'den küçük bulundu (Tablo 3.5).

Yuvalama kumsallarının ikişerli karşılaştırmalarına ait X^2 (haplotip bazlı analiz) ve Z^* (nükleotid, sekans bazlı analiz) testi analizleri sonucunda Akyatan ile Kuzey Kıbrıs yuvalama kumsalları arasında istatistiksel olarak anlamlı (0.01<P<0.05) bir genetik farklılık belirlendi (Tablo 3.6). Genetik uzaklık (γ_{st}) verilerinin de bu sonucu desteklediği görüldü (Tablo 3.6). Bu durum yuvalama alanlarının farklı gruplar arasında dağıtılması için, diğer yuvalama kumsallarıyla olan coğrafik yerleşim açısından, yeterli olmamakla beraber, gruplandırma gerektiren sonra ki analizlerde Türkiye ve Kuzey Kıbrıs olmak üzere iki grup oluşturularakta analiz yapıldı.

	γst	X^2	Z*	Nm
Akyatan-Alata	0.0196	0.1108	0.3150	25.1
Akyatan-Göksu	0	0.8815	0.6970	-
Akyatan-Kazanlı	0.0170	0.1400	0.3880	28.9
Akyatan-K.Kıbrıs	0.0269	0.0397	0.0140	18.1
Akyatan-Samandağ	0	0.5986	0.5970	-
Akyatan-Yumurtalık	0	0.6214	0.6710	-
Alata-Göksu	0.0040	0.7581	0.8440	126.1
Alata-Kazanlı	0.0219	0.3648	0.9050	22.3
Alata-K.Kıbrıs	0.0213	0.3207	0.5270	23.0
Alata-Samandağ	0.0247	0.2812	0.4150	19.7
Alata-Yumurtalık	0.0233	0.3117	0.5600	21.0
Göksu-Kazanlı	0.0031	0.7732	0.1420	161.8
Göksu-K.Kıbrıs	0.0027	0.9109	0.9850	184.7
Göksu-Samandağ	0	-	-	-
Göksu-Yumurtalık	0	-	-	-
Kazanlı-K.Kıbrıs	0.0213	0.3111	0.5020	23.0
Kazanlı-Samandağ	0.0204	0.3124	1.0	24.0
Kazanlı-Yumurtalık	0.0191	0.3430	1.0	25.6
K.Kıbrıs-Samandağ	0.0204	0.3237	0.3770	24.0
K.Kıbrıs-Yumurtalık	0.0189	0.3696	0.5700	25.9
Samandağ-Yumurtalık	0	-	-	-

Tablo 3.6. *C. mydas* yuvalama kumsallarına ait mtDNA genetik uzaklık (γ_{st}) değerleri ile yuvalama kumsallarının ikişerli karşılaştırılmalarına ait X^2 ve Z^* testi anlamlılık dereceleri ile göç oranları (Nm)

Genetik uzaklık (γ_{st}) değerlerine bağlı, yuvalama kumsalları çiftleri arasındaki gen akışı (göç oranı, Nm) değerlerinin 18.1 ile 184.7 arasında büyük değişkenlik gösterdiği belirlendi (Tablo 3.6). Gen akışı en düşük Akyatan-Kuzey Kıbrıs (18.1), en yüksek ise Göksu-Kuzey Kıbrıs (184.7) arasında ölçüldü. Göksu değerlendirme dışı tutulduğunda ise gen akışı değerlerinin 18.1 (Akyatan-Kuzey Kıbrıs) ile 28.9 (Akyatan-Kazanlı) arasında değiştiği görüldü.

Yuvalama bölgelerinin coğrafik yakınlıkları ve istatistiksel verilere dayalı yuvalama kumsalları gruplamaları yapılarak moleküler varyans analizi (AMOVA) yapıldı (Tablo 3.7.a, b, c). Tablo 3.7.a: Gruplar ve yuvalama kumsalları arasındaki moleküler varyans analizi (Grup sayısı: 6; 1: Akyatan; 2: Alata ve Göksu; 3: Kazanlı; 4: K. Kıbrıs; 5: Samandağ ve 6: Yumurtalık)

	Varyans	Varyasyon %'si	Fiksasyon İndeksi	Р
Gruplar Arasında	0.00330	12.19	0.12188 F _{CT}	0.21701
Grup İçi Yuvalama Kumsalları Arasında	-0.00256	-9.45	-0.10764 F _{SC}	1.0
Yuvalama Kumsalları İçinde	0.02636	97.26	0.02736 F _{ST}	0.01662

Tablo 3.7.b: Gruplar ve yuvalama kumsalları arasındaki moleküler varyans analizi (Grup sayısı: 5; 1: Akyatan; 2: Alata, Göksu ve Kazanlı; 3: K. Kıbrıs; 4: Samandağ ve 5: Yumurtalık)

	Varyans	Varyasyon %'si	Fiksasyon İndeksi	Р
Gruplar Arasında	0.00004	0.15	0.02336 F _{CT}	0.58553
Grup İçi Yuvalama Kumsalları Arasında	0.00070	2.57	0.02569 F _{SC}	0.28739
Yuvalama Kumsalları İçinde	0.02636	97.29	$0.02714 \; F_{ST}$	0.01564

Tablo 3.7.c: Gruplar ve yuvalama kumsalları arasındaki moleküler varyans analizi (Grup sayısı: 2; 1: Akyatan, Alata, Göksu, Kazanlı, Samandağ ve Yumurtalık 2: K. Kıbrıs)

	Varyans	Varyasyon %'si	Fiksasyon İndeksi	Р
Gruplar Arasında	0.00179	6.33	0.06327 F _{CT}	0.13490
Grup İçi Yuvalama Kumsalları Arasında	0.00011	0.39	0.00418 F _{SC}	0.06940
Yuvalama Kumsalları İçinde	0.02636	93.28	0.06718 F _{ST}	0.01369

Moleküler varyans analizi sonucunda, yapılan üç farklı gruplandırmada da genetik varyasyonun yuvalama kumsalları içinde en fazla olduğu (en az %93.28) gözlendi (P<0.05). Gruplar arasında ise anlamlı bir genetik varyasyon belirlenemedi (P>0.05).

Haplotiplerin istatistiksel "köksüz tutumluluk ağı" oluşturuldu. Halotip ağı ile haplotiplerin coğrafik yerleşimleri arasında önemli bir bağlantının olmadığı tespit edildi (Şekil 3.2).

Atlantik ve Akdeniz *C. mydas* populasyonlarına ait yayınlanmış (ACCSTR; http://accstr.ufl.edu) mtDNA kontrol bölgesi haplotiplerinin, haplotip tutumluluk ağı analizi yapıldı (haplotip sıklıkları verilmemiş, Şekil 3.3). Bu çalışma da belirlenen, Akdeniz populasyonuna ait mtDNA kontrol bölgesi haplotiplerinin, Atlantik populasyonuna ait haplotipleri de içeren ayrı bir soyhattı içinde toplandığı gözlendi.



derecede büyük).



3.2. Mikrosatellit (nDNA) Bulguları

Türkiye ve Kuzey Kıbrıs sahillerindeki yedi *C. mydas* yuvalama kumsalından 232 örnekten altı farklı mikrosatellit lokusu çalışıldı (Tablo 3.8). Lokuslardan biri monomorfik (*Cm-141*) olup, diğerlerin de alel sayısı 8 (*Ccar-176*) ile 34 (*Cm-72*) arasında değişmektedir.

Altı lokus için toplamda ortalama 12.67 olan alel sayısı, polimorfik lokuslar içinde en az *Ccar-176* (4.71) ve en yüksek ise *Cm-72* (15.43) lokusundan saptandı. Yumurtlama kumsallarında gözlenen ortalama heterozigotluk değerleri ise en düşük (H_G= 0.2917) Göksu ve en yüksek (H_G= 0.7046) Yumurtalık yuvalama bölgesinde saptanmıştır (Tablo 3.9). Monomorfik *Cm-141* lokusu ile iki örnekten oluşan Göksu yuvalama kumsalı değerlendirme dışı tutulduğunda lokuslardaki en yüksek alel sayıları şu şekilde belirlendi. En yüksek alel sayısı *Cc-*7 lokusunda Kuzey Kıbrıs (10 alel), *Ccar-176* lokusunda Akyatan (7 alel), *Cc-117* lokusunda Akyatan, Alata, Kuzey Kıbrıs ve Yumurtalık (10 alel), *Cm-72* lokusunda Akyatan (29 alel) ve son olarak *Cm-84* lokusunda Akyatan (17 alel) yuvalama kumsallarında belirlendi (Tablo 3.9).

Tablo	3.8.	Yuvalama	kumsallarına	göre	birey	ve	mikrosatellit	alellerinin	dağılımı
	(O	rt:ortalama)							

	Birey	Cm-141	Cc- 7	<i>Ccar-176</i>	Cc-117	Cm-72	Cm-84	Toplam
Akyatan	100	1	9	7	10	29	17	
Alata	22	1	9	3	10	16	9	
Göksu	2	1	2	1	2	3	1	
Kazanlı	28	1	9	5	9	12	8	
K. Kıbrıs	33	1	10	5	10	17	12	
Samandağ	25	1	8	6	8	14	10	
Yumurtalık	22	1	8	6	10	17	9	
Toplam	232	1	10	8	10	34	17	
Ort		1	7.71	4.71	8.43	9.43	15.43	12.67

		Akyatan	Alata	Göksu	Kazanlı	K.Kıbrıs	Samandağ	Yumurtalık	Ort.
	Ν	182	42	2	50	58	48	42	
41	k	1	1	1	1	1	1	1	1
<i>u-1</i>	181	1	1	1	1	1	1	1	
Ü	$\mathbf{H}_{\mathbf{G}}$	0	0	0	0	0	0	0	0
	$\mathbf{H}_{\mathbf{B}}$	0	0	0	0	0	0	0	0
	Ν	180	42	2	52	58	46	40	
	k	9	9	2	8	10	8	8	7.71
	174	0.2889	0.1905	0	0.3077	0.2586	0.1739	0.2750	
	176	0.1056	0.0714	0.5	0.0577	0.0345	0.1304	0.1500	
	178	0.0556	0.1190	0.5	0.0385	0.0517	0.1957	0.0100	
	180	0.0500	0.1190	0	0.0769	0.0690	0.1522	0.0750	
5	182	0.2167	0.2143	0	0.2885	0.02931	0.1957	0.2250	
ŭ	184	0.0167	0.0714	0	0	0.0172	0	0.0250	
	186	0.0611	0	0	0.0769	0.0690	0.0652	0.0750	
	188	0.1722	0.1190	0	0.1154	0.1034	0.0435	0.0750	
	190	0.0333	0.0476	0	0.0385	0.0690	0	0	
	192	0	0.0476	0	0	0.0345	0.0435	0	
	$\mathbf{H}_{\mathbf{G}}$	0.8225	0.8821	0.5	0.8038	0.8307	0.8646	0.8408	0.7921
	$\mathbf{H}_{\mathbf{B}}$	0.8444	0.8571	1	0.9231	0.8621	0.8261	1	0.9018
	Ν	182	42	2	50	60	48	42	
	k	7	3	1	5	5	6	6	4.71
	165	0.0604	0	0	0	0	0.0208	0.0238	
	166	0.0165	0	0	0	0	0	0	
9	167	0.2582	0.4286	0	0.1400	0.3167	0.1458	0.2381	
	168	0.2747	0.2619	1	0.3200	0.2333	0.4792	0.2857	
Car	169	0.0549	0	0	0.0400	0.0667	0.0625	0,1667	
0	170	0.3242	0.3095	0	0.4800	0.3500	0.2708	0.2619	
	171	0.0110	0	0	0	0.0333	0	0.0238	
	172	0	0	0	0.02	0	0.0208	0	
	$\mathbf{H}_{\mathbf{G}}$	0.7518	0.6738	0	0.6683	0.7356	0.6938	0.7905	0.6163
	$\mathbf{H}_{\mathbf{B}}$	0.3846	0.4286	0	0.2	0.3667	0.2917	0.4762	0.3068

Tablo 3.9. *C. mydas* örneklerinin mikrosatellit DNA analizi sonucunda elde edilen gen sayısı (N), alel sayısı (k), alel sıklıkları, gen çeşitliliği (H_B) ve gözlenen (H_G) heterozigotluk değerleri (Ort: Ortalama; SS: Standart Sapma)

Tablo 3.9.'un devamı

		Akyatan	Alata	Göksu	Kazanlı	K.Kıbrıs	Samandağ	Yumurtalık	Ort.
	Ν	180	44	4	48	64	48	44	
	k	10	10	2	9	10	8	10	8.43
	234	0.0667	0.0682	0	0.0625	0.0625	0	0.0227	
	238	0.1056	0.0227	0	0.2292	0.1406	0.0625	0.0455	
	240	0.0111	0.0227	0	0.0417	0.0156	0.0208	0.0909	
•	242	0.1389	0.1818	0	0.1667	0.1094	0.1042	0.1136	
II	244	0.1667	0.1818	0	0.2708	0.1406	0.4375	0.2500	
ပ် ပ	246	0.0778	0.1591	0	0.0833	0.1094	0.0625	0.0455	
	248	0.0889	0.0682	0	0.0625	0.0938	0.1042	0.0909	
	250	0.2056	0.2273	0.5	0.0417	0.2031	0.1042	0.2045	
	257	0.1278	0.0227	0.5	017	0.1094	0.1042	0.1136	
	259	0.0111	0.0455	0	0.042	0.0156	0	0.0227	
	$\mathbf{H}_{\mathbf{G}}$	0.8695	0.8658	0.5	0.8451	0.8841	0.7726	0.8658	0.8004
	H _B	0.8556	0.7727	1	0.7917	0.8750	0.7917	0.9545	0.8630
	Ν	182	44	4	48	64	46	44	
	k	17	9	1	8	12	10	9	9.43
	323	0.0055	0	0	0	0	0	0	
	326	0.0110	0	0	0	0.0156	0.0435	0	
	327	0.0879	0.0455	0	0.1042	0.1094	0.1304	0.0682	
	328	0.0110	0.0227	0	0	0	0	0.0682	
	332	0.0714	0	0	0.0417	0.0469	0.0435	0.0909	
	333	0.1429	0.2500	0	0.2083	0.1875	0.1087	0.1136	
	336	0.0275	0.0227	0	0	0.0313	0	0.1136	
4	338	0.3077	0.2273	1	0.3125	0.2188	0.2609	0.2500	
<u>м-б</u>	339	0.0110	0	0	0.0208	0	0.0435	0	
C	340	0.0110	0	0	0	0	0	0	
	342	0.0275	0.0227	0	0.0208	0.0625	0.0435	0.0682	
	343	0.0055	0	0	0	0.0313	0.0217	0	
	344	0.0055	0	0	0	0	0	0	
	345	0.0165	0.0227	0	0	0.0313	0	0	
	346	0.0934	0.0909	0	0.1458	0.0469	0.0870	0.0455	
	347	0.1484	0.2955	0	0.1458	0.2031	0.2174	0.1818	
	348	0.0165	0	0	0	0.0156	0	0	
	$\mathbf{H}_{\mathbf{G}}$	0.8438	0.8084	0	0.8188	0.8659	0.8607	0.8755	0.7247
	H _B	0.7692	0.6364	0	0.8750	0.8438	0.7826	0.8182	0.6750

Tablo 3.9'un devamı

		Akyatan	Alata	Göksu	Kazanlı	K.Kıbrıs	Samandağ	Yumurtalık	Ort.
	Ν	178	44	4	50	64	44	44	
	k	29	16	3	12	17	14	17	15.43
	223	0.0281	0	0	0.0800	0	0	0	
	229	0.0112	0.0227	0	0	0.0156	0	0	
	230	0.0225	0.0682	0	0	0.0625	0.0682	0	
	231	0.0393	0.0227	0	0.1800	0.0156	0.0455	0.0455	
	234	0.0056	0	0	0	0	0	0	
	241	0.4045	0.4545	0.5	0.4000	0.3438	0.5227	0.3636	
	242	0.0169	0	0	0.0400	0.0156	0.0455	0	
	246	0	0	0	0	0	0	0.0227	
	248	0.0056	0	0	0.0200	0	0	0	
	250	0.0281	0.0227	0	0	0.0625	0.0455	0.0682	
-72	251	0	0	0	0	0	0	0.0227	
C m -	258	0.0169	0.0227	0	0	0.0625	0	0	
Ŭ	259	0.0056	0	0	0	0	0	0	
	264	0	0	0	0	0	0.0227	0	
	273	0.0169	0	0	0	0	0	0	
	275	0.0169	0.0455	0	0	0.0469	0.0455	0	
	277	0.1124	0.0909	0	0.1000	0.0938	0.0227	0.0227	
	278	0.0112	0	0	0.0200	0	0	0.0455	
	279	0.0449	0	0	0	0.0313	0	0.0909	
	280	0	0	0	0	0.0469	0.0455	0	
	281	0.0225	0	0	0.0200	0.0313	0	0.0227	
0	283	0.0393	0	0	0.0400	0.0781	0.023	0.0455	
n-7.	284	0	0	0	0	0	0.0227	0.0455	
C	285	0.0225	0.0227	0	0	0.0156	0	0	
	287	0.0056	0.0227	0	0.0400	0	0	0.0227	
	289	0.0056	0.0682	0.25	0.0400	0	0.0227	0	
	290	0.0112	0	0.25	0.0200	0	0	0.0455	
	291	0.0056	0.0227	0	0	0	0	0.0455	
	292	0.0281	0.0227	0	0	0	0	0.0227	
	294	0.0112	0.0227	0	0	0.0313	0.0227	0.0455	
	296	0.0112	0.0455	0	0	0.0313	0	0	
	297	0.0169	0	0	0	0	0	0	
	300	0.0225	0	0	0	0.0156	0.0455	0.0227	
	302	0.0112	0.0227	0	0	0	0	0	
	$\mathbf{H}_{\mathbf{G}}$	0.8168	0.7868	0.75	0.8042	0.8609	0.7262	0.8550	0.7999
	H _B	0.7528	0.6818	1	0.5600	0.7500	0.5909	0.9091	0.7492

	Akyatan	Alata	Göksu	Kazanlı	K.Kıbrıs	Samandağ	Yumurtalık
kOrt	12.17	8.00	1.67	7.17	9.17	7.83	8.50
kSS	9.72	5.37	0.82	3.76	5.56	4.31	5.24
$H_G Ort$	0.6841	0.6695	0.2917	0.6567	0.6962	0.6530	0.7046
H _G SS	0.3374	0.3362	0.3323	0.3276	0.3451	0.3273	0.3465
H _B Ort	0.6011	0.5628	0.50	0.5583	0.6163	0.5472	0.6930
H _B SS	0.3416	0.3114	0.5477	0.3816	0.3575	0.3345	0.3879

Yuvalama kumsallarına göre mikrosatellit lokuslarının alel sıkları belirlenerek grafik ile gösterildi (Şekil 3.4, Şekil 3.5, Şekil 3.6, Şekil 3.7, Şekil 3.8). Mikrosatellit lokuslarının toplam alel sıklıkları belirlendi (Şekil 3.9, Şekil 3.10, Şekil 3.11, Şekil 3.12, Şekil 3.13).



Şekil 3.4. Yuvalama kumsallarına göre *Cc-7* lokusunun alel ve alel sıklıkları dağılımı.



Şekil 3.5. Yuvalama kumsallarına göre *Ccar-176* lokusunun alel ve alel sıklıkları dağılımı.



Şekil 3.6. Yuvalama kumsallarına göre *Cc-117* lokusunun alel ve alel sıklıkları dağılımı.



Şekil 3.7. Yuvalama kumsallarına göre *Cm*-72 lokusunun alel ve alel sıklıkları dağılımı.



Şekil 3.8. Yuvalama kumsallarına göre *Cm*-84 lokusunun alel ve alel sıklıkları dağılımı.



Şekil 3.9. Yuvalama kumsallarına ait Cc-7 lokusu alel ve alel sıklıkları.



Şekil 3.10. Yuvalama kumsallarına ait Ccar-176 lokusu alel ve alel sıklıkları.



Şekil 3.11. Yuvalama kumsallarına ait Cc-117 lokusu alel ve alel sıklıkları.



Şekil 3.12. Yuvalama kumsallarına ait Cm-84 lokusu alel ve alel sıklıkları.



Şekil 3.13. Yuvalama kumsallarına ait *Cm*-72 lokusu alel ve alel sıklıkları.

Alel sıklıklarına dayalı X^2 testi kullanılarak tüm yuvalama kumsallarının her bir lokus için Hardy-Weinberg dengesinde olup olmadıkları test edildi (Tablo 3.10, Tablo 3.11). Bütün lokuslar için yuvalama kumsallarının toplamında Hardy-Weinberg dengesinden sapma gözlendi (X^2 , P< 0.001) (Tablo 3.10, Tablo 3.11). Yuvalama kumsallarının toplamında *Ccar-176, Cm-72* ve *Cm-84* lokuslarının Hardy-Weinberg dengesinde olmadığı belirlendi. Göksu yuvalama kumsalı, az sayıda örnek içerdiğinden, değerlendirme dışı tutulduğunda; *Ccar-176* lokusunun tüm yuvalama kumsallarında (P< 0.001), *Cc-117* lokusunun Kuzey Kıbrıs yuvalama kumsalında (P< 0.05), *Cm-72* lokusunun Kazanlı, Samandağ (P< 0.001) ve Alata (P< 0.05) kumsallarında, *Cm-84* lokusunda ise Kazanlı ve Samandağ (P< 0.05) kumsallarında Hardy-Weinberg dengesinden saptığı tespit edildi.

Tablo 3.10. *C. mydas* yuvalama kumsallarının Hardy-Weinberg dengesine dayalı alel sıklığı anlamlılığı (P, olasılık; ydö: yüksek derecede önemli)

	<i>Cc-7</i>	Ccar-176	Cc-117	Ст-72	<i>Cm-84</i>	Toplam
Akyatan	0.6108	0	0.5360	0.1469	0.0828	ydö
Alata	0.2064	0.0003	0.3252	0.0347	0.4161	0.0009
Göksu	-	-	1.0	1.0	-	1.0
Kazanlı	0.8412	0	0.2756	0	0.0433	ydö
K. Kıbrıs	0.7120	0	0.0289	0.1068	0.6151	ydö
Samandağ	0.9949	0	0.3898	0	0.0453	ydö
Yumurtalık	0.4775	0.0002	0.2797	0.6482	0.1451	0.0040
Toplam	0.8795	ydö	0.2262	ydö	0.0201	ydö

	C	c- 7	Са	car-176	Cc	-117	(Cm-72	С	n-84		Ort ²
	H _G	H _B	H _G	H _B	H _G	H _B	H _G	H _B	H _G	H _B	H _G	H _B
Akyatan	0.8225	0.8444	0.7518	0.3846***	0.8695	0.8556	0.8168	0.7528	0.8438	0.7692	0.68	0.60***
Alata	0.8821	0.8571	0.6738	0.4286***	0.8658	0.7727	0.7868	0.6818*	0.8084	0.6364	0.67	0.56***
Göksu	0.50	1.0	0	0	0.50	1.0	0.75	1.0	0	0	0.29	0.50
Kazanlı	0.8038	0.9231	0.6683	0.2000***	0.8451	0.7917	0.8042	0.5600***	0.8188	0.8750*	0.66	0.56***
Kuzey Kıbrıs	0.8307	0.8621	0.7356	0.3667***	0.8841	0.8750*	0.8609	0.7500	0.8659	0.8438	0.70	0.62***
Samandağ	0.8646	0.8261	0.6938	0.2917***	0.7726	0.7917	0.7262	0.5909***	0.8607	0.7826*	0.65	0.55***
Yumurtalık	0.8408	1.0	0.7905	0.4762***	0.8658	0.9545	0.855	0.9091	0.8755	0.8182	0.70	0.69**
Ort ¹	0.7921	0.9018	0.6163	0.3068***	0.8004	0.8630	0.7999	0.7492***	0.7247	0.6750*	0.6222	0.5826***

Tablo 3.11. *C. mydas* yuvalama kumsallarının gen çeşitliliği (H_B) ve her yuvalama kumsalında ve lokusta gözlenen heterozigotluk (H_G). (*) Hardy-Weinberg dengesine dayalı alel sıklığı anlamlılığı (exact testlere dayalı, P<0.05-*, P< 0,01- ** ve P<0,001- ***) (Ort¹: Bir lokusun tüm yuvalama kumsallarındaki ortalama değerleri; Ort²: Bir yuvalama kumsalındaki tüm lokusların ortalama değerleri.)

Alel sıklıklarına dayalı X^2 testi kullanılarak yıllara göre tüm yuvalama kumsallarının her bir lokus için Hardy-Weinberg dengesinde olup olmadıkları test edildi (Tablo 3.12, Tablo 3.13). Bütün lokuslar için yuvalama kumsallarının toplamında Hardy-Weinberg dengesinden sapma gösterdiği gözlendi (X^2 , P< 0.001) (Tablo 3.12). Yuvalama kumsallarının toplamında *Ccar-176* ve *Cm-72* lokuslarının Hardy-Weinberg dengesinde olmadığı belirlendi. Yuvalama kumsallarına dayalı analiz sonucunda toplamda Hardy-Weinberg dengesinden saptığı tespit edilen *Cm-84* lokusunun yıllara göre yapılan incelemesinde Hardy-Weinberg dengesinde olduğu belirlendi. Göksu yuvalama kumsalı, az sayıda örnek içerdiğinden, değerlendirme dışı tutulduğunda; *Ccar-176* lokusu 2007 Samandağ ve 2007 Alata yuvalama kumsalları dışında, *Cc-117* lokusunun Kuzey Kıbrıs yuvalama kumsalında (P< 0.05), *Cm-72* lokusunun Alata 2008, Kazanlı 2007, Kuzey Kıbrıs 2002 ve Samandağ 2008 kumsallarında Hardy-Weinberg dengesinden saptığı tespit edildi (Tablo 3.12).

Tablo 3.12. Hardy-Weinberg dengesine dayalı alel sıklığı anlamlılığı

	Tarih	<i>Cc-7</i>	Ccar-176	Cc-117	Cm-72	Cm-84	Toplam
Akyatan	2006	0.4837	0	0.1693	0.0939	0.1215	ydö
Akyatan	2007	0.3367	0	0.8269	0.3183	0.0614	ydö
Akyatan	2008	0.5414	0.0003	0.2123	0.3461	0.4104	0.0059
Alata	2007	0.6894	1.0	0.6216	0.3046	0.6901	0.9032
Alata	2008	0.1814	0.0007	0.2052	0.0317	0.2649	0.0006
Göksu	2008	-	-	1.0	1.0	-	1.0
Kazanlı	2007	0.8149	0.0021	0.1952	0.0132	0.0531	0.0007
Kazanlı	2008	0.8081	0.0014	0.8520	0.0162	0.3982	0.0075
K. Kıbrıs	2002	0.7461	0	0.0228	0.0234	0.6322	ydö
Samandağ	2006	0.9316	0.0226	0.5865	0.5600	0.8729	0.4213
Samandağ	2007	1.0	0.0857	0.3301	0.4331	0.3143	0.3484
Samandağ	2008	0.7252	0.0051	0.9467	0.0245	0.2311	0.0169
Yumurtalık	2006	0.2210	0.0318	0.4723	0.4585	0.1947	0.0928
Yumurtalık	2008	0.5595	0.0001	0.6127	0.9916	0.3119	ydö
Toplam		0.9495	ydö	0.4552	0.0019	0.1177	ydö

Tablo 3.13. C.	<i>mydas</i> yuvalama	kumsallarının	yıllara göre	gen çeşitliliği ((H_B) ve her	yuvalama	kumsalınd	da ve lokusta	gözlenen heter	ozigotluk
(H_G) .	(Ort ¹ : Bir lokusu	n tüm yuvalam	a kumsalları	ndaki ortalama	değerleri;	Ort ² : Bir y	/uvalama l	kumsalındaki	tüm lokusların	ortalama
değer	leri.)									

		Ca	e-7	Cc	ar-176	Cc	-117	Cn	n-72	Ст	-84		Ort ²
	Tarih	H _G	H _B	H _G	H _B	H _G	H _B	H _G	H _B	H _G	H _B	$\mathbf{H}_{\mathbf{G}}$	H _B
Akyatan	2006	0.8084	0.8095	0.7345	0.3721***	0.8595	0.8333	0.7962	0.7000	0.8345	0.7317	0.6681	0.5697***
Akyatan	2007	0.8454	0.8846	0.7942	0.4000***	0.8725	0.9565	0.8442	0.7917	0.8658	0.8000	0.6967	0.6309***
Akyatan	2008	0.8312	0.8636	0.7638	0.3913***	0.8833	0.8000	0.8267	0.8000	0.8500	0.8000	0.7032	0.6197**
Alata	2007	0.8750	0.8000	0.4500	0.6000	0.9000	0.8000	0.9500	0.8000	0.8750	0.8000	0.6750	0.6333
Alata	2008	0.8938	0.8750	0.6563	0.3750***	0.8695	0.7647	0.7500	0.6471*	0.8015	0.5882	0.6662	0.5455***
Göksu	2008	0.5000	1.0	0	0	0.5000	1.0	0.7500	1.0	0	0	0.4167	0.6667
Kazanlı	2007	0.8271	0.8750	0.7024	0.2667**	0.8810	0.7333	0.7929	0.6000*	0.8167	0.8667	0.6717	0.5604***
Kazanlı	2008	0.7667	1.0	0.6000	0.1000**	0.8056	0.8889	0.8389	0.5000*	0.7708	0.8889	0.6249	0.5517**
Kuzey Kıbrıs	2002	0.8307	0.8621	0.7356	0.3667***	0.8841	0.8750*	0.8609	0.7500*	0.8659	0.8438	0.7049	0.6250***
Samandağ	2006	0.8682	0.8182	0.6455	0.3636*	0.7389	0.7000	0.5446	0.5000	0.8889	1.0	0.6066	0.5500
Samandağ	2007	0.8333	1.0000	0.7500	0.2500	0.9583	0.7500	0.9167	0.7500	0.8333	0.5000	0.7153	0.5417
Samandağ	2008	0.8661	0.7500	0.7292	0.2222**	0.7556	0.9000	0.8167	0.6000*	0.8778	0.7000	0.6784	0.5357***
Yumurtalık	2006	0.8929	1.0	0.7946	0.5000*	0.8472	1.0	0.8819	0.8889	0.8542	1.0	0.7171	0.7400
Yumurtalık	2008	0.7949	1.0	0.8013	0.4615***	0.8622	0.9231	0.8333	0.9231	0.8654	0.6923	0.6928	0.6667***
Ort ¹		0.8339		0.7255	***	0.8560		0.8157	**	0.8382			***

Hiçbir yuvalama kumsalının, iki basamaklı mutasyon (TPM) modeli altında, son zamanlarda bir darboğaz geçirdiğine dair kanıt tespit edilemedi (Wilcoxon testinde bütün lokuslarda P>0.05).

Mikrosatelit lokus çiftleri, *Cc-7* ile *Cm-84* ve *Ccar-176* ile *Cm-84* lokus çiftlerinin bağlantı dengesizliğinde olduğu belirlendi (X^2 , P = ydö). Monomorfik *Cm-141* lokusu ile diğer lokuslar arasındaki lokus çiftleri bağlantı dengesizliği analizinde X^2 değerleri hesaplanamadı (Tablo 3.14).

Tablo 3.14. Lokus çiftleri arasındaki bağlantı dengesizliği analizi olasılık değerleri (?: hesaplanamadı; ydö: yüksek derecede önemli)

	Cm-141	Cc- 7	Ccar-176	Cc-117	Ст-72
Cm-141					
<i>Cc</i> -7	?				
Ccar-176	?	0.303			
Cc-117	?	0.879	0.466		
Cm-72	?	0.165	0.483	0.852	
Cm-84	?	ydö	ydö	0.727	0.475

Etkili populasyon büyüklüğü değerleri (Ne), IAM modeli altında 153 (Samandağ) ile 278 (Yumurtalık) arasında değişirken, SMM modeli altında 246 (Samandağ) ile 588 (Yumurtalık) arasında değişmektedir (Tablo 3.15).

Tablo 3.15. Etkili populasyon büyüklüklerinin karşılaştırılması (H_B: Gen çeşitliliği, Ne: Etkili populasyon büyüklüğü, IAM: Kimura ve Crow, 1994; SMM: Ohta ve Kimura, 1973, ea.: en az ve eç.: en çok)

	H _B	NeIAM (ea-eç)	NeSMM (ea-eç)
Akyatan	0.60	188 (39-658)	328 (68-1151)
Alata	0.56	159 (33-558)	260 (54-913)
Göksu	0.50	125 (26-439)	188 (39-658)
Kazanlı	0.56	159 (33-558)	260 (54-913)
K.Kıbrıs	0.62	204 (42-716)	370 (77-1299)
Samandağ	0.55	153 (32-536)	246 (51-864)
Yumurtalık	0.69	278 (58-976)	588 (122-2063)

Tüm yuvalama kumsallarının aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir genetik yapılanma göstermedikleri saptanmıştır (Fst= 0.0071, P> 0.05). Bununla birlikte, 21 tane olan yuvalama kumsallarının ikişerli karşılaştırılmalarının 11 tanesinde istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar belirlendi (Tablo 3.16).

	F _{st}	Р
Akyatan-Alata	0.0038	*0.0168
Akyatan-Göksu	0.0634	0.2812
Akyatan-Kazanlı	0.0066	**0.0027
Akyatan-K.Kıbrıs	-0.0036	0.4489
Akyatan-Samandağ	0.0176	***0.0001
Akyatan-Yumurtalık	-0.0034	0.2034
Alata-Göksu	0.0991	0.1357
Alata-Kazanlı	0.018	***0.0002
Alata-K.Kıbrıs	-0.0053	0.3562
Alata-Samandağ	0.0172	**0.0025
Alata-Yumurtalık	0.0043	**0.0034
Göksu-Kazanlı	0.1185	**0.0022
Göksu-K.Kıbrıs	0.0968	0.0611
Göksu-Samandağ	0.0686	0.2785
Göksu-Yumurtalık	0.0757	0.4642
Kazanlı-K.Kıbrıs	0.0069	***ydö
Kazanlı-Samandağ	0.0155	**0.0011
Kazanlı-Yumurtalık	0.0114	***0.0002
K.Kıbrıs-Samandağ	0.0200	*0.0127
K.Kıbrıs-Yumurtalık	-0.0037	0.0911
Samandağ-Yumurtalık	0.0037	0.1237

Tablo 3.16. Yuvalama kumsallarının nDNA bakımından genetik yapısı. Alttaki bölüm yuvalama kumsalları arasındaki genetik uzaklığı (F_{st}) gösteriyor. Üstteki bölüm yuvalama kumsallarının ikişerli karşılaştırılmalarına ait X^2 anlamlılık derecelerini (P<0.05-*, P< 0.01- ** ve P<0.001- ***; ydö: yüksek derecede önemli) gösteriyor

Yuvalama kumsalları arasındaki gen akışı tahminleri genetik uzaklık verilerine dayalı olarak ve Bayesian metodu kullanılarak hesaplandı. Yuvalama kumsalları arasındaki gen akışının yüksek derecede değişken olduğu belirlendi (Tablo 3.17). Göksu kumsalı değerlendirme dışı tutulduğunda, genetik uzaklık verilerine dayalı hesaplanan gen akışı (Nm) (Göksu kumsalı hariç) en düşük Kuzey Kıbrıs-Samandağ (12.25), en yüksek ise Samandağ-Yumurtalık (67.32) kumsalları arasında tespit edildi. Bayesian metodu ile de yuvalama kumsalları arasındaki gen akışı (M) en düşük Kazanlı-Yumurtalık (30.07), en yüksek Kazanlı-Kuzey Kıbrıs (200.46) arasında gözlendi.

	F _{st}	Nm	M ₁₋₂	M ₂₋₁	Μ
Akyatan-Alata	0.0038	65.54	141.77	20.83	162.60
Akyatan-Göksu	0.0634	3.69	73.74	5.634	79.37
Akyatan-Kazanlı	0.0066	37.63	85.13	12.55	97.68
Akyatan-K.Kıbrıs	-0.0036	-	126.51	28.13	154.64
Akyatan-Samandağ	0.0176	13.95	69.78	19.09	88.87
Akyatan-Yumurtalık	-0.0034	-	91.11	12.67	103.78
Alata-Göksu	0.0991	2.27	69.26	24.77	94.03
Alata-Kazanlı	0.018	13.64	26.81	74.59	101.40
Alata-K.Kıbrıs	-0.0053	-	25.02	140	165.02
Alata-Samandağ	0.0172	14.28	4.84	164.99	169.83
Alata-Yumurtalık	0.0043	57.89	46.43	50.52	96.95
Göksu-Kazanlı	0.1185	1.86	20.15	37.66	57.81
Göksu-K.Kıbrıs	0.0968	2.33	14.31	37.95	52.26
Göksu-Samandağ	0.0686	3.39	13.71	22.06	35.77
Göksu-Yumurtalık	0.0757	3.05	24.56	34.94	59.50
Kazanlı-K.Kıbrıs	0.0069	35.98	45.75	154.71	200.46
Kazanlı-Samandağ	0.0155	15.88	39.77	18.04	57.81
Kazanlı-Yumurtalık	0.0114	21.68	18.53	11.54	30.07
K.Kıbrıs-Samandağ	0.0200	12.25	24.46	82.83	107.29
K.Kıbrıs-Yumurtalık	-0.0037	-	16.77	41.38	58.15
Samandağ-Yumurtalık	0.0037	67.32	60.31	66.51	126.82

Tablo 3.17. Yuvalama kumsalları arası göç tahminleri (Nm: Fst değerlerine bağlı yuvalama kumsalları arasındaki göç oranı), (Bayesian metodu sonuçları; M₁₋₂: birinci ve ikinci yuvalama kumsalları arası, M₂₋₁: ikinci ve birinci yuvalama kumsalları arası ve M: toplam göç oranı)

Yuvalama kumsallarınınn ikili karşılaştırılmalarına ait genetik uzaklık değerlerinden kumsallar arası göç oranları hesaplandı (Tablo 3.18). Göksu kumsalı hariç, mikrosatellit lokuslarından elde edilen göç oranlarının (12.25-67.32), mtDNA haplotip verilerinden (18.1-28.9) elde edilenlerden yüksek olması, kumsallar arası gen akışının yüksek oranda erkek kaynaklı olduğunu gösterir. Haploit olan ve anasal kalıtılan mtDNA normalde diploit nDNA'ya nazaran dört kat küçük etkili populasyon büyüklüğüne sahiptir (Tablo 3.19). Ek olarak mtDNA'ya oranla daha yüksek gen çeşitliliğine sahip olmasından dolayı mikrosatellit lokuslarında etkili populasyon büyüklüğü yüksek çıkmıştır.

		Ът	Б	.
	γst	Nm	F _{st}	Nm
Akyatan-Alata	0.0196	25.1	*0.0038	65.54
Akyatan-Göksu	0	-	0.0634	3.69
Akyatan-Kazanlı	0.0170	28.9	**0.0066	37.63
Akyatan-K.Kıbrıs	*0.0269*	18.1	-0.0036	-
Akyatan-Samandağ	0	-	***0.0176	13.95
Akyatan-Yumurtalık	0	-	-0.0034	-
Alata-Göksu	0.0040	126.1	0.0991	2.27
Alata-Kazanlı	0.0219	22.3	***0.0180	13.64
Alata-K.Kıbrıs	0.0213	23.0	-0.0053	-
Alata-Samandağ	0.0247	19.7	**0.0172	14.28
Alata-Yumurtalık	0.0233	21.0	**0.0043	57.89
Göksu-Kazanlı	0.0031	161.8	**0.1185	1.86
Göksu-K.Kıbrıs	0.0027	184.7	0.0968	2.33
Göksu-Samandağ	0	-	0.0686	3.39
Göksu-Yumurtalık	0	-	0.0757	3.05
Kazanlı-K.Kıbrıs	0.0213	23.0	***0.0069	35.98
Kazanlı-Samandağ	0.0204	24.0	**0.0155	15.88
Kazanlı-Yumurtalık	0.0191	25.6	***0.0114	21.68
K.Kıbrıs-Samandağ	0.0204	24.0	*0.0200	12.25
K.Kıbrıs-Yumurtalık	0.0189	25.9	-0.0037	-
Samandağ-Yumurtalık	0	-	0.0037	67.32
Toplam	0.03408	7.09	0.0071	

Tablo 3.18. *C. mydas* Türkiye yuvalama kumsallarının genetik yapısı. mtDNA (γ_{st} değerleri) ve nDNA'ya (F_{st} değerleri) dayalı populasyonlar arasındaki genetik mesafeyi ve populasyonların ikili karşılaştırılmalarına ait X^2 anlamlılık derecelerini (P<0.05-*, P< 0,01- ** ve P<0,001- ***) (mtDNA için sağdaki X^2 , soldaki Z* testi değerlerini) gösteriyor

Tablo 3.19. Yuvalama kumsallarının, mtDNA ve nDNA verilerine dayalı, etkili populasyon büyüklüklerinin (Ne) karşılaştırılması (h: haplotip
çeşitliliği; π : nükleotid çeşitliliği; H _B : gen çeşitliliği; H _G : gözlenen heterozigotluk; IAM: Kimura ve Crow, 1994; SMM: Ohta ve
Kimura, 1973; ea.: en az; eç.: en çok)

		<u>mtDNA</u>				<u>nDNA</u>	
	h	π	Ne	H_B	$\mathbf{H}_{\mathbf{G}}$	NeIAM (eaeç.)	NeSMM (eaeç.)
Akyatan	0.0220	0.3x10 ⁻⁴	1	0.60	0.68	188 (39-658)	328 (68-1151)
Alata	0.0909	11 x10 ⁻⁴	4	0.56	0.67	159 (33-558)	260 (54-913)
Göksu	0	0	-	0.50	0.29	125 (26-439)	188 (39-658)
Kazanlı	0.0800	$0.9 \text{ x} 10^{-4}$	3	0.56	0.66	159 (33-558)	260 (54-913)
K.Kıbrıs	0.1647	19 x10 ⁻⁴	7	0.62	0.70	204 (42-716)	370 (77-1299)
Samandağ	0	0	-	0.55	0.65	153 (32-536)	246 (51-864)
Yumurtalık	0	0	-	0.69	0.70	278 (58-976)	588 (122-2063)
Toplam	0.0534	0.00006	2	0.5829	0.6222	175 (36-163)	297 (62-1041)

Yuvalama kumsallarının coğrafik yakınlıkları ve istatistiksel verilere dayalı gruplamalar yapılarak moleküler varyans analizi (AMOVA) yapıldı (Tablo 3.20.a, b, c).

Tablo 3.20.a. Gruplar ve yuvalama kumsalları arasında moleküler varyans analizi (Grup sayısı: 4; 1: Kazanlı; 2: Alata; 3: Akyatan, Göksu, K. Kıbrıs ve Yumurtalık; 4: Samandağ) (öd: önemli değil)

	Varyans	Varyasyon %'si	Fiksasyon İndeksi	Р
Gruplar Arasında	0.01428	0.66	0.00663 F _{CT}	öd
Grup İçi Yuvalama Kumsalları Arasında	0.00170	0.08	0.00080 F _{SC}	< 0.05
Yuvalama Kumsalları İçi Bireyler Arasında	0.45289	21.04	$0.21202 \; F_{IS}$	< 0.0001
Bireyler İçinde	1.68319	78.21	0.21787 F _{IT}	< 0.0001

Tablo 3.20.b. Gruplar ve yuvalama kumsalları arasında moleküler varyans analizi (Grup sayısı: 4; 1: Kazanlı; 2: Alata, Göksu, K. Kıbrıs; 3: Akyatan; 4: Samandağ, Yumurtalık) (öd: önemli değil)

	Varyans	Varyasyon %'si	Fiksasyon İndeksi	Р
Gruplar Arasında	0.00508	0.24	$0.00237 \; F_{CT}$	öd
Grup İçi Yuvalama Kumsalları Arasında	0.00662	0.31	0.00309 F _{SC}	öd
Yuvalama Kumsalları İçi Bireyler Arasında	0.45289	21.09	0.21202 F _{IS}	< 0.0001
Bireyler İçinde	1.68319	78.37	0.212631 F _{IT}	< 0.0001

Tablo 3.20.c. Gruplar ve yuvalama kumsalları arasında moleküler varyans analizi (Grup sayısı: 6; 1: Kazanlı; 2: Göksu, K. Kıbrıs, Samandağ, Yumurtalık; 3: Akyatan; 4: Alata) (öd: önemli değil)

	Varyans	Varyasyon %'si	Fiksasyon İndeksi	Р
Gruplar Arasında	-0.01030	-0.48	-0.00480 F _{CT}	öd
Grup İçi Yuvalama	0.02050	0.95	$0.00950 \; F_{SC}$	öd
Kumsalları Arasında				
Yuvalama Kumsalları İçi	0.45289	21.10	$0.21202 F_{IS}$	< 0.0001
Bireyler Arasında				
Bireyler İçinde	1.68319	78.42	0.21576 F _{IT}	< 0.0001

Tablo 3.20.d. Gruplar ve yuvalama	kumsalları arasında moleküler v	varyans analizi (Grup
sayısı: 6; 1: Kazanlı; 2: K.	Kıbrıs, Yumurtalık; 3: Akyatar	n; 4: Alata; 5: Göksu;
6: Samandağ) (öd: önemli d	leğil)	

	Varyans	Varyasyon %'si	Fiksasyon İndeksi	Р
Gruplar Arasında	0.02204	1.03	0.01026 F _{CT}	öd
Grup İçi Yuvalama	-0.00989	-0.43	-0.00465 F _{SC}	öd
Kumsalları Arasında				
Yuvalama Kumsalları İçi	0.45289	21.08	$0.21202 \; F_{IS}$	< 0.0001
Bireyler Arasında				
Bireyler İçinde	1.68319	78.35	$0.21647 \; F_{IT}$	< 0.0001

Moleküler varyans analizi sonucunda, yapılan dört farklı gruplandırmada da genetik varyasyonun sırası ile bireyler içinde (~ %78) ve yuvalama kumsalları içindeki bireyler arasında (~ %21) olduğu gözlendi (P<0.0001). Gruplar arasında anlamlı bir genetik varyasyon (\leq %1) belirlenemedi (P>0.05).
4. TARTIŞMA ve SONUÇ

Doğal populasyonların filocoğrafyası ve populasyon genetiği yaşam hikayesine çok yakından bağlıdır (Reece vd., 2005). Geniş yayılımlı farklı habitatları beslenme, çiftleşme ve yuvalama bölgelerine sadakat göstererek kullanan deniz kaplumbağalarının karmaşık yaşam hikayeleri populasyon yapısını belirlemede önemli ovnar (Formia vd., 2006). Moleküler teknikler rol deniz kaplumbağalarında gözlenmesi zor olan bu davranışları populasyon yapışındaki değişiklikleri izleyerek anlamada güçlü yöntemler sağlar (Meylan vd., 1990; Bowen vd., 1992; Karl vd., 1992; Allard vd., 1994; Norman vd., 1994; Bass vd., 1996; FitzSimmons vd., 1997; Laurent vd., 1998; Roberts vd., 2004). C. mydas'ın Akdeniz sahillerinde kaydedilmiş yuvalarının % 99'unu oluşturan Kıbrıs ve Türkiye yuvalama kumsallarına ait populasyon yapısını araştıran (Kasparek vd., 2001) yetersiz sayıda çalışma bulunmaktadır. Yalnız Kıbrıs yuvalama kumsallarına ait sınırlı sayıda örnekle yapılan çalışmalara (Bowen vd., 1992; Karl vd., 1992; Encalada vd., 1996; Lahanas vd., 1998; Roberts vd., 2004) karşın Akdeniz yuvalarının % 62'sinden fazlasını oluşturan Türkiye yuvalama kumsallarına (Kasparek vd., 2001) ait genetik yapısını araştıran hiçbir çalışma bulunmamaktadır.

Bu çalışma da Türkiye ve Kuzey Kıbrıs'ta bulunan yeşil deniz kaplumbağasına ait yedi yuvalama kumsalının populasyon yapısı mtDNA ve mikrosatellit belirteçleri kullanılarak araştırıldı. Her bir yuvalama kumsalı için, FitzSimmons vd. (1999) tarafından belirtilen üreme populasyonları çalışmaları için istatistiksel öneme sahip [mtDNA analizleri için 20 (en az 6-8), mikrosatellit analizi için ise 30-50 (Roberts vd. (2004)'ne göre 15)] örnekleme sayısına ulaşılmaya çalışıldı. Göksu örneğinde olduğu gibi yeterli populasyon büyüklüğüne sahip olmayan yuvalama kumsallarında bu rakamlara ulaşılamadı.

Yedi yuvalama bölgesinden 225 örnekle yapılan mtDNA kontrol bölgesi analizinden (heteroplazmi gösteren üç örnek hariç) toplamda altı farklı haplotip elde edildi (Tablo 3.3). Daha önce Atlantik (Kuzey Karolayna ve Küba) beslenme bölgelerinden belirlenmiş ve ilk kez bu çalışma ile Akdeniz'den bildirilen CM- A27 (% 0.45) hariç, tespit edilen haplotiplerin tamamı Akdeniz havzasına özgüdür (% 99.55) (Encalada vd., 1996; Naro-Maciel vd., 2006). Kendine has bir haplotip dağılımı gösteren Akdeniz populasyonu bu özelliği ile genelde diğer tüm *C. mydas* populasyonlarından özelde ise Atlantik populasyonlarından farklılık göstermektedir.

Atlantik yuvalama populasyonları (Encalada vd., 1996; Reece vd., 2005; Bass vd., 2006) ile karşılaştırıldığında Akdeniz populasyonun daha düşük mtDNA kontrol bölgesine ait haplotip ve nükleotit çeşitliliğine sahip olduğu belirlendi (Tablo 3.4-5). Bu durum, Akdeniz populasyonunun, Kuzey Atlantik genç deniz kaplumbağalarının okyanus akıntıları ile Akdeniz'e girmeleri ile yaklaşık 12 000 yıl önce Atlantik populasyonlarından izole olduğunu öne süren hipotez ile uygunluk göstermektedir (Bowen vd., 1992; Encalada vd., 1996; Reece vd., 2005). Kurucu populasyon etkisine bağlı olarak, akıntılarla Akdeniz'e geçen ilk kolonin Akdeniz yuvalama alanlarında baskın olarak yayılmış (% 97.3) CM-A13 haplotipinde olma olasılığıda yüksek görülmektedir. Önceden bilinen ve ilk kez bu çalışmada tanımlanan haplotiplerin tamamının CM-A13 haplotipinden değişmiş olması muhtemeldir. Haplotip tutumluluk ağı analiz sonuçlarınca da desteklenen bu hipotezin dışında CM-A27 haplotipi ya Atlantik populasyonundan göç yolu ile gelmiş, yada Atlantik populasyonundan bağımsız olarak Akdeniz populasyonunda açığa çıkmış olabilir (Şekil 3.2-3).

Örnek sayısı yetersiz olan Göksu kumsalı değerlendirme dışı tutulduğunda mtDNA haplotip verilerine dayalı populasyonlar arasındaki genetik uzaklık (γ_{st}) ve populasyonların ikili karşılaştırılmalarına ait X^2 anlamlılık dereceleri karşılaştırıldı .(Tablo 3.6) Sadece Akyatan ile Kuzey Kıbrıs arasındaki genetik uzaklık değeri, X^2 testince zayıf desteklemekle beraber (P = 0.0397), anlamlı çıkmıştır (γ_{st} = 0.0269, P< 0.05). Moleküler varyans analizi (AMOVA) sonuçları, yuvalama kumsalları arasında yapılan istatistiksel ve coğrafik yakınlık verilerine dayalı gruplamaları desteklememiştir (P> 0.05) (Tablo 3.7a, b ve c). Yine aynı şekilde; mtDNA haplotip tutumluluk ağı analiz sonuçları da haplotip ağı ile haplotiplerin coğrafik yerleşimleri arasında önemli bir bağlantının olmadığını ve tek bir soyhattının varlığını desteklemektedir (Şekil 3.2). Bu durum

yeşil deniz kaplumbağalarının yaşam hikayesinin önemli bir parçasını oluşturan yuvalama bölgesine sadakat özelliğini ortaya koymakta yetersiz kalmaktadır (Carr vd., 1978; Balazs, 1980; Limpus vd., 1992). Ancak, Dethmers vd. (2006) ve Bourjea vd. (2007) yeşil deniz kaplumbağa populasyonlarının mtDNA haplotip 500 km'den sonra genetik farklılık gösterdiği gözlemleriyle de örtüşmektedir.

Sonuç olarak mtDNA için çalışmada kullanılan yuvalama kumsalları arasında anlamlı bir genetik farklılık belirlenemedi. Yuvalama kumsalları arasında anlamlı bir genetik farklılık bulunması, yuvalama kumsalları arasında gen akışının olmadığı ve izole olduklarını gösterir. Buna göre iki yuvalama kumsalı arasında anlamlı bir genetik farklılık bulunmuyor ise bu kumsallar tek bir yuvalama bölgesi olarak değerlendirilmelidir. Ancak populasyonlar arasında genetik bir farklılığın olmamasının yuvalama populasyonları arasında devam eden gen akışının olmasından başka iki sebebi daha olabilir (FitzSimmons vd., 1999). Bunlar; (I) İstatistiksel öneme sahip örnekleme sayısının altında örnekle calışılmış olması (Baverstock and Moritz 1996), (II) Populasyonlar arasındaki ayrılmanın yakın tarihte olması yüzünden genetik çeşitliliğin henüz birikmemiş olması, Çalışmada istatistiksel olarak anlamlılığı belirlenmiş örneklem büyüklüğü, kullanıldığından (FitzSimmons vd., 1999; Roberts vd. 2004), beklenen genetik farklılığın, görülememesinin nedeni populasyonlar arasındaki ayrılmanın yakın zamanda gerçekleşmesi olabilir. Haploit olan ve anasal kalıtılan mtDNA'nın, çekirdek DNA'sına nazaran darboğaz gibi populasyon yapısında meydana gelen değişimlere daha duyarlı olması ve fiksasyona gitmeside bu varsayımı desteklemektedir. Aynı şekilde populasyondaki normalleşme sürecine geç tepki vermeside genetik çeşitliliğin mtDNA'da daha geç artmasına neden olabilir (Joanna, 2005).

Anasal kalıtılan mtDNA, yuvalama kumsallarının ve beslenme bölgelerinin genetik yapısından yola çıkarak dişi deniz kaplumbağalarının yaşam hikayesinin eksiklerini tamamlamada kullanılır. Erkek deniz kaplumbağalarının populasyonun genetik yapısına yaptıkları katkıyı ve tam bir yaşam hikayesinin belirlenmesi için ise ikili atasal kalıtılan çekirdek DNA belirteçlerinden faydalanılır. Bunun için birey ve populasyon düzeyinde çok değişken yapısından dolayı akrabalık, populasyon yapısı ve populasyon genetiği çalışmaları için kullanışlı olan mikrosatellit lokusları kullanılır (McGaugh vd., 2007) (Şekil 1.3).

Bu çalışmada Türkiye ve Kuzey Kıbrıs sahillerindeki yedi *C. mydas* yuvalama kumsalından 232 örnekten altı farklı mikrosatellit lokusu araştırıldı. Lokuslardan biri monomorfik (*Cm-141*) olup, polimorfik olan diğerlerin de alel sayısı 8 (*Ccar-176*) ile 34 (*Cm-72*) arasında değişmektedir. Altı lokus için toplam 80 olan alel sayısı, ortalamada 12.67 olarak belirlendi (Tablo 3.8).

Populasyon içi varyasyonun önemli bir göstergesi olan gözlenen heterozigotluk değerleri belirlendi (Tablo 3.9). Göksu kumsalı hariç, en yüksek Cc-117 lokusundan Kuzey Kıbrıs'ta (0.884), en düşük ise Ccar-176 lokusundan Kazanlı'da (0.668) gözlendi. Bekelenen ile gözlenen heterozigotluk arasındaki en büyük fark ise Ccar-176 lokusundan Kazanlı'da (H_G= 0.668, H_B= 0.2) belirlendi. Monomorfik Cm-141 lokusu değerlendirme dışı tutulduğunda, kumsalların toplamında gözlenen heterozigotluk değerlerinden en yüksek Cc-117 (0.8004) ve Cm-72 (0.7999), en düşük ise Ccar-176 (0.3068) lokuslarında saptandı.

Çalışma için kullanılan lokuslardan bazıları daha önce farklı araştırmalarda kullanılmış ve gözlenen heterozigotluk değerleri saptanmıştır (Tablo 4.1).

Tablo 4.1. Çalışmada kullanılan bazı lokuslara ait önceki çalışmalarda elde edilmiş
gözlenen heterozigotluk değerleri (H_G)

H _G	Kıbrıs ^a	Atlantik ^a	Brezilya^b	Türkiye^c	Kıbrıs ^c
<i>Cm-72</i>	0.8	0.834	0.974-0.932	0.7999	0.8609
<i>Cm-84</i>	0.68	0.814	0.780-0.845	0.7247	0.8659
<i>Cc-7</i>	-	-	0.823-0.821	0.7921	0.8307
^a Roberts vd. (2004) ^b Naro-Maciel vd. (2006) ^c Bu calisma					

^a Roberts vd. (2004) ^b Naro-Maciel vd. (2006) ^c Bu çalışma

Buna göre Türkiye için saptanan gözlenen heterozigotluk değerleri Atlantik ve Brezilya yakınındaki iki beslenme alanından verilen değerlerden düşük çıkmıştır. Özellikle Türkiye ile Brezilya arasıda *Cm-72* lokusunda önemli bir farklılık belirgindir. Kıbrıs için ise bu çalışmada elde edilen gözlenen heterozigotluk değeri önceki çalışmada kaydedilenden, özellikle *Cm-84* lokusu için yüksektir. Toplamda Türkiye ve Kıbrıs'a ait yuvalama kumsalından elde edilen gözlenen heterozigotluk, Atlantik populasyonundan düşük çıkmıştır. Bu durum populasyon içi varyasyonun çalışılan kumsallarda Atlantik'e göre düşük olduğunu gösterir. Atlantik populasyonundan izole olduğu en azından mtDNA düzeyde belirgin olan Akdeniz populasyonun düşük genetik çeşitliliğe sahip olması kurucu populasyon etkisi ile örtüşmektedir.

Alel sıklıklarına dayalı X^2 testi kullanılarak yuvalama kumsalları için her bir lokusun Hardy-Weinberg dengesinde olup olmadığı araştırıldı (Tablo 3.10-11). Toplamda bütün yuvalama kumsallarının Hardy-Weinberg dengesinde olmadığı görüldü. Lokuslar arasında alellerin rasgele olmayan ilişkisi bağlantı dengesizliği olarak bilinir ve bu birçok nedenden kaynaklanabilir. En yaygın olanı da bir kromozom üzerinde iki lokusun yakınlığıdır. Çoklu lokuslardan veri analiz edilirken beklenenden daha az bağımsız lokusun olma olasılığını reddetmeden önce bağlantı dengesizliği için test yapılmalıdır. Bağlantı dengesizliği lokusların beklenmeyen bir şekilde davranmasına neden olablir. Örneğin; seçilen alellere bağlı olan nötr alleler nötr değilmiş gibi görülecek ve populasyon büyük ve eşleşme gelişigüzel olsa bile Hardy-Weinberg dengesinde değiller gibi olacaklardır (Joannan, 2005). Lokusların bağımsız kalıtılmalarının bir ölçümü olan bağlantı dengesizliği analizinde, aralarında bağlantı dengesizliği olduğu saptanan Cc-7, Cm84 ve Ccar-176, Cm-84 lokus çiftlerinin (P = yüksek derecede önemli) (Tablo 3.14) varlığı, populasyonların Hardy-Weinberg dengesinden sapmasında etkili olmuş olabilir. Sözkonusu etki populasyonların Cc-7, Cm84 ve Ccar-176 lokuslarında da Hardy-Weinberg dengesinden sapmasının bir nedeni olabilir (Tablo 3.10).

Populasyonların Hardy-Weinberg dengesinden sapmasının diğer bir nedeni de erkek kaplumbağaların çiftleşme bölgelerine sadakat göstermemesi veya beslenme bölgelerinden çiftleşme bölgelerine olan göçler sırasında farklı yuvalama bölgelerinden dişilerle olan çiftleşme şanslarını değerlendirmiş olmalarından kaynaklanıyor olabilir.

Yukarıda çalışılan yuvalama kumsalındaki *C. mydas*'ların Hardy-Weinberg dengesi olmamasının nedenlerinden belki de en önemli nedeni kurucu etkisi ve bunun sonucunda meydana gelen genetik sürüklenme sayılabilir. Mikrosatellit verilerine dayalı populasyonlar arasındaki genetik uzaklık (F_{st}) ve populasyonların ikili karşılaştırılmalarına ait X^2 anlamlılık dereceleri karşılaştırıldı (Tablo 3.16). Örnek sayısı yetersiz olan Göksu kumsalı değerlendirme dışı tutulduğunda 15 ikili karşılaştırmanın 10'unda istatistiksel olarak farklılıklar belirlendi (P< 0.05) (Şekil 4.1). En düşük genetik uzaklık değeri Kuzey Kıbrıs-Alata (-0.0053), en yüksek ise Kuzey Kıbrıs-Samandağ (0.02) arasında gözlendi. Kazanlı kumsalının diğer bütün yuvalama kumsallarından, Kuzey Kıbrıs yuvalama kumsalının ise Kazanlı (0.0069) ve Samandağ (0.02) dışındaki diğer kumsallarla olan genetik uzaklığı istatistiksel olarak (P< 0.05) anlamlı çıkmıştır.



Şekil 4.1. Coalescent metodu kullanan MIGRATE programı ile hesaplanmış populasyon çiftleri arasındaki göç oranları (M) ile yuvalama kumsallarının ikili karşılaştırılmalarına ait genetik uzaklık ve bunlara ait X² olasılık değerleri kullanılarak oluşturulmuş yuvalama kumsalları arası genetik uzaklık haritası (Göksu değerlendirilmemiştir) (Siyah çizgi: P> 0.05, Kırmızı çizgi: P< 0.05).</p>

Erkek kaplumbağaların ardışık çiftleşme sezonlarında aynı çiftleşme bölgesine gelmesi ile dişi kaplumbağaların yumurtadan çıktıkları ve yuvalama bölgelerine gösterdikleri sadakat yuvalama kumsalları arasındaki istatistiksel olarak anlamlı genetik farklılıkların kaynağını açıklamada kullanılabilir. Kurucu populasyon etkisi altında düşük genetik çeşitliliğe sahip olan mtDNA haplotip dağılımından tam olarak tespit edilemeyen dişilerin yuvalama bölgesine sadakati, ikili atasal kalıtılan mikrosatellit lokuslarında açığa çıkmış olabilir.

Yuvalama kumsallarının ikili karşılaştırılmalarına ait genetik uzaklık ve bunlara ait X^2 olasılık değerleri kullanılarak oluşturulmuş yuvalama kumsalları grupları moleküler varyans analizi (AMOVA) için kullanıldı (Tablo 3.20a, b, c, d). Moleküler varyans analizi sonuçları, istatistiksel verilere dayalı gruplamalar arasıda anlamlı bir genetik çeşitliliği desteklememektedir. Bu durum erkeklerin çiftleşme, dişilerin ise yuvalama bölgelerine sadakati ile çelişmekle birlikte, yuvalama kumsalları arasında erkek kaynaklı gen akışının bir sonucu olarakta değerlendirilebilinir. Buna göre erkek kaplumbağalar ya çiftleşme bölgesine tam sadakat göstermiyor, yada çiftleşme bölgelerine olan göçlerde beslenme bölgelerindeki farklı yuvalama bölgesinden dişilerle çiftleşiyor olabilirler.

Kuzeydoğu Akdeniz *C. mydas* populasyonunun sahip olduğu farklı mtDNA haplotip ve mikrosatellit alel dağılımı (Roberts vd., 2004) onun Atlantik ana populasyonundan önemli derecede izole olduğunu göstermektedir. Sahip olduğu bu farklılıklar nedeni ile Akdeniz populasyonu Atlantik populasyonundan bağımsız bir birim olarak değerlendirilmelidir. *C. mydas* için ayrı bir stok ve yönetim birimi olan ve izole genetik yapısı ile farklı evrimsel süreçlere sahip Akdeniz populasyonu korunması gereken önemli bir populasyondur. Bu çalışma, *C. mydas*'ın Akdeniz populasyonuna ait bilgilerdeki eksiklikleri tamamlamada ve bu yönü ile koruma çalışmalarına yönelik önemli katkılar sunmaktadır.

5. KAYNAKLAR

- Abreu-Grobois F. A., Horrocks, J. A., Formia, A., Dutton, P., LeRoux, R., Vélez-Zuazo, X., Soares, L. and Meylan, P.; 2006. New mtDNA dloop primers which work for a variety of marine turtle species may increase the resolution capacity of mixed stock analyses. Poster presented at the 26th Annual Symposium on Sea Turtle Biology and Conservation, Crete, Greece, 2-8 April 2006.
- Ackman, R.G., Hooper, S.N., and Frair, W. 1971. Comparison of the fatty acid compositions of depot fats from fresh-water and marine turtles. Comp. Biochem. Physiol. B, 40: 931–944.
- Allard, M., Miyamoto, M.M., Bjorndal, K.A., Bolten, A.B. and Bowen, B.W.; 1994. Support for natal homing in green turtles from mitochondrial DNA sequences. *Copeia*, 34-41.
- Avise, J.C.; 1994. Molecular markers, natural history and evolution. Chapman & Hall, NewYork.
- Avise, J.C.; 2004. Molecular Markers, Natural History and Evolution (Second Edition). Sinauer, Sunderland, MA.
- Avise, J.C., Bowen, B.W., Bermingham, E., Meylan, A.B. and Lamb, T.; 1992. Mitochondrial DNA evolution at a turtle's pace: evidence for low genetic variability and reduced microevolutionary rate in the Testudines. *Molecular Biology and Evolution*, 9, 457–473.
- Balazs, G.H.;1980. Synopsis of biological data on the green turtle in the Hawaiian Islands. U.S. Dept. Commer., NOAA Tech. Memo. NMFS, NOAA-TMNMFS-SWFC-7, and University of Hawaii Sea Grant Cooperative Report UNIHI-SEAGRANT CR-8 1-02.
- Baran, I., Kasparek, M., 1989. Marine Turtles in Turkey: Status Survey 1988 and Recommendations for Conservation and Management. World Wide Fund for Nature, Heidelberg.
- **Bass, A.L., Epperly, S.P. and Braun-McNeill, J.; 2006.** Green turtle (*Chelonia mydas*) foraging and nesting aggregations in the Caribbean and Atlantic:

impacts of currents and behavior on dispersal. *Journal of Heredity*, 97, 346–354.

- Bass, A.L., Good, D.A., Bjorndal, K.A., Richardson, J.I., Hillis, Z.M., Horrocks, J.A. and Bowen, B.W.; 1996. Testing models of female reproductive migratory behaviour and population structure in the Caribbean hawksbill turtle, *Eretmochelys imbricata*, with mtDNA sequences. *Mol. Ecol.*, 5, 321–328.
- Bass, A.L., LaGueux, C.J. and Bowen, B.W.; 1998. Origin of green turtles, *Chelonia mydas*, at 'sleeping rocks' off the northeast coast of Nicaragua. *Copeia*, 1064–1069.
- **Bass, A.L. and Witzell, W.N.; 2000.** Demographic composition of immature green turtles (*Chelonia mydas*) from the east central Florida coast: evidence from mtDNA markers. *Herpetologica*, 56, 357–367.
- Başoğlu, M.; 1973. Sea Turtles and the Species Found- Along the Coast of Neighboring Countries. *Türk Biyoloji Dergisi*. 23: 12-21.
- Başoğlu, M., Baran, I., 1982. Anadolu sahillerinde toplanan deniz kaplumbağası materyali üzerine kısa bir rapor (Short reports on previously collected sea turtle data in Anatolian coastline). *Doğa Temel Bilimler* Serial A 6 (2), 69–71.
- Baverstock, P.R. and Moritz, C.; 1996. Project design, p.17-27. In: D. M. Hillis, C. Moritz, and B. K. Mable (Editors), Molecular Systematics, Second edition. Sinauer Assoc., Sunderland, Massachusetts.
- **Beerli, P.; 2002.** MIGRATE Ver. 1.7.6.1– Documentation and Program. Available at <u>http://evolution.genetics.washington.edu</u>/lamark.html
- **Beerli P. and Felsenstein, J.; 1999.** Maximum likelihood estimation of migration rates and effective population numbers in two populations using a coalescent approach. *Genetics* 152:763–773.
- Bjorndal, K.A.; 1985. Nutritional ecology of sea turtles. *Copeia*, 736–751.
- Bjorndal, K.A., Bolten, A.B. and Troeng, S.; 2005. Population structure and genetic diversity in green turtles nesting at Tortuguero, Costa Rica, based

on mitochondrial DNA control region sequences. *Marine Biology*, 147: 1449–1457.

- Bolten AB, Bjorndal K.A., Martins, H.R. Dellinger, T., Biscoito, M.J., Encalada, S.E. and Bowen, B.W.; 1998. Transatlantic developmental migrations of loggerhead sea turtles demonstrated by mtDNA sequence analysis. *Ecological Applications*, 8, 1–7.
- Bonhomme, F., Lebeau, A., Pasteur, G.; 1987. Comparaison génétique des tortues vertes (*Chelonia mydas*) des océans Atlantique, Indien et Pacifique: une illustration apparente de la théorie mullerienne classique de la structure génétique des populations? *Genetica*, 74, 89–94.
- Boore, J.L.; 1999. Animal mitochondrial genomes. *Nucleic Acids Research*, 27:1767-1780.
- Bourjea, J., Lapègue, S., Gagnevin, L., Broderick, D., Mortimer, J.A., Ciccione, S., Roos, D., Taquet, C., Grizel, H.; 2007. Phylogeography of the green turtle, *Chelonia mydas*, in the Southwest Indian Ocean. *Molecular Ecology* 16, 175–186.
- Bowen, B.W., Abreu-Grobois, F.A., Balazs, G.H., Kamezaki, N., Limpus, C.J. and Ferl, R.J.; 1995. Trans-Pacific migrations of the loggerhead sea turtle demonstrated with mitochondrial DNA markers. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, 92, 3731–3734.
- Bowen, B.W., Bass, A.L., Garcia-Rodgriguez, A., Diez, C.E., Van Dam, R., Bolten, A., Bjorndal, K.A., Miyamoto, M.M. and Ferl, R.J.; 1996. Origin of hawksbill turtles in a Caribbean feeding area as indicated by genetic markers. *Ecological Applications*, 6, 566–572.
- Bowen, B.W., Bass, A.L., Rocha, L.A., Grant, W.S. and Robertson, D.R.; 2001. Phylogeography of the trumpetfishes (*Aulostomus*): ring species complex on a global scale. *Evolution*, 55, 1029–1039.
- Bowen, B.W., Bass, A.L., Soares, L., Toonen, R.J.; 2005. Conservation implications of complex population structure: lessons from the loggerhead turtle (*Caretta caretta*). *Mol. Ecol.*, 14, 2389–2402.

- Bowen, B.W. and Karl, A.; 1996. Population genetics, phylogeography, and molecular evolution. In: *The Biology of Sea Turtles* (eds Lutz PL, Musick JA), pp. 29–50. CRC Press, Boca Raton, Florida.
- Bowen, B.W. and Karl, A.; 2007. Population genetics and phylogeography of sea turtles. *Molecular Ecology*, 16, 4886-4907.
- Bowen, B.W., Meylan, A.B., Ross, J.P., Limpus, C.J., Balazs, G.H. and Avise, J.C.; 1992. Global population structure and natural history of the green turtle (*Chelonia mydas*) in terms of matriarchal phylogeny. *Evolution*, 46, 865–881.
- Bowen, B.W., Nelson, W.S. and Avise, J.C.; 1993. A molecular phylogeney for marine turtles: trait mapping, rate assessment , and conservation relevance. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90,5574.
- Bowen, D.Q.; 1978. Quaternary Geology. Pergamon Press. Oxford, UK.
- Briggs, J.C.; 1974. Marine Zoogeography. McGraw-Hill, N.Y., USA.
- Broderick, A.C., Glen, F., Godley, B.J. and Hays G.C.; 2002. Estimating the Size of Nesting Populations of Green and Loggerhead Turtles in the Mediterranean. *Oryx*, 36: 227-236.
- Brown, W.M., M. George JR. and Wilson, A.C.; 1979. Rapid evolution of animal mitochondrial DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 76:1967-1971.
- **Bruford, M.W. and Wayne, R.K.;1993.** Microsatellites and their application to population genetic studies. *Current Opinions in Genetic Development,* 3:939-43.
- Canbolat, A.F.; 2004. A reviewof sea turtle nesting activity along the Mediterranean coast of Turkey. *Biological Conservation*, 116, 81-91.
- Carr, A.F.; 1967. So Excellent a Fishe: A Natural History of Sea Turtles. Scrihner, N.Y., USA.
- Carr, A.F.; 1975. The Ascension Island green turtle colony. Copeia, 547-555.
- Carr, A.F.; 1980. Some problems of sea turtle ecology. Am. Zool. 20:489-198.
- Carr, A.F.; 1986. Rips, FADS, and little loggerheads. Bioscience 36(2):92-100.

- Carr, A.F.; 1987. New perspectives on the pelagic stage of sea turtle development. *Conservation Biology*, 1, 103–121.
- Carr, A.F. and Carr, M.H.; 1972. Site fixity in the Caribbean green turtle. Ecology 53(3):425429.
- Carr, A.F., Carr, M.H. and Meylan, A.B.; 1978. The ecology and migrations of sea turtles, 7. The west Caribbean green turtle colony. *Bull. Am. Mus. Nat. Hist.*, 162: 146.
- Carr, A.F., and Ogren, L.; 1960. The ecology and migration of sea turtles. Bulletin of the American Museum of Natural History, 121, 1–48.
- Carreras, C., Pascual, M., Cardona, L., Aguilar, A., Margaritoulis, D., Rees,
 A., Turkozan, O., Levy, Y., Gasith, A., Aureggi, M., Khalil, M.; 2007.
 The genetic structure of the loggerhead sea turtle (*Caretta caretta*) in the
 Mediterranean as revealed by nuclear and mitochondrial DNA and its
 conservation implications. *Conserv. Genet.*, 8, 761–775.
- Chassin-Noria, O., Abreu-Grobois, A., Dutton, P. H. and Oyama, K.; 2004. Conservation genetics of the east Pacific green turtle (*Chelonia mydas*) in Michoacan, Mexico. *Genetica*,; 121: 195–206.
- Chen, J.Z. and Hebert, P.D.N.; 1999. Intraindividual sequence diversity and a hierarchical approach to the study of mitochondrial DNA mutations. *Mutation Research*, 434, 205-217.
- Chow, S., Okamoto, H., Miyabe, N., Hiramatsu, K. and Barut, N.; 2000. Genetic divergence between Atlantic and Indo-Pacific stocks of bigeye tuna (*Thunnus obesus*) and admixture around South Africa. *Molecular Ecology*, 9, 221–227.
- Clement, M., Posada, D. and Crandall, K. A.; 2000. TCS: A computer program to estimate gene genealogies. *Molecular Ecology*, 9(10):1657-1659.
- Coates, D.J., Carstairs, S.A. andPrince, R.I.T.; 1994. In Proceedings of the Australian Marine Turtle Conservation Workshop (Queensland Department of Environment and Heritage and Australian Nature Conservation Agency), pp. 163–166.

- Corbett, K.; 1989. The Conservation of European Reptiles and Amphibians. C. Helm, London, North Pomfret, Vermont. 274 pp.
- Cornuet, J.M. and Luikart, G.; 1996. Description and power analysis of two tests for detecting recent population bottlenecks from allele frequency data. *Genetics* 144:2001–2014
- Cuadras, C.M.; 1983. Problemas de probabilidad y estadistica. PPU, Barcelona.
- Cunningham, J., Baard, E.H.W., Harley, E.H. and O'Ryan, C.; 2002. The investigation of geneticdiversity in severely fragmented geometric tortoises (*Psammobates geometricus*) populations. *Conservation Genetics*, 3:215-223.
- Dethmers, K.E.M., Broderick, D., Moritz, C., FitzSimmons, N.N., Limpus, C.J., Lavery, S., Whiting, S., Guinea, M., Prince, R.I.T. and Kennett, R.; 2006. The genetic structure of Australasian green turtles (*Chelonia mydas*): exploring the geographical scale of genetic exchange. *Molecular Ecology*, 15, 3931–3946.
- Di Rienzo, A.D., Peterson, A.C., Garza, J.C., Valdes, A.M., Slatkin, M. and Freimer, N.B.; 1994. Mutational processes of simple-sequence repeat loci in human populations. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 91: 3166–3170.
- Dizon, A.E., and Balazs, G.H.; 1982. Radio telemetry of Hawaiian green turtles at their breeding colony. Mar. Fish. Rev, 44: 13-20.
- Duncan, K.M., Martin, A.P., Bowen, B.W. and De Couet, H.G.; 2006. Global phylogeography of the scalloped hammershark (*Sphyrna lewini*). *Molecular Ecology*, 15, 2239–2251.
- Dutton, P.H.; 1995. Molecular evolution of sea turtles with special reference to leatherback, Dermochelys coriacea. (Thesis), Department of Zoology, Texas A&M University.
- Dutton, P.H.; 1996. Use of molecular markers for stock identification, fingerprinting, and the study of mating behavior in leatherback turtles. In: Proceedings of the International Symposium on Sea Turtle Conservation Genetics (eds. Bowen BW, Witzell WN), pp. 79–86. NOAA Technical Memorandum NMFS-SEFSC-396, US Department of Commerce.

- Dutton, P.H., Davis, S.K., Guerra, T. and Owens, D.; 1996. Molecular phylogeny for marine turtles based on sequences of the ND4-Leucine tRNA and control region of mitochondrial DNA. *Mol. Phylogenet. Evol.* 5: 511–521.
- Eckert, L. and Eckert, S.A.; 1988. Pre-reproductive movements of leatherback sea turtles (*Dermochelys coriacea*) nesting in the Caribbean. *Copeia* 1988:400-406.
- Ellegren, H.; 2000. Microsatellire mutations in the germline: implications for evolutionary inference. *Trend in Genetics*, 16 (112), 551-558.
- Encalada, S.E., Eckert, S.A. and Bowen, B.W.; 1994. Forensic applications of mitochondrial DNA markers: origin of a confiscated green turtle. *Marine Turtle Newsletter*, 66, 1-3.
- Encalada, S.E., Lahanas, P.N., Bjorndal, K.A., Bolten, A.B., Miyamoto, M.M. and Bowen, B.W.; 1996. Phylogeography and population structure of the Atlantic and Mediterranean green turtle *Chelonia mydas*: a mitochondrial DNA control region sequence assessment. *Molecular Ecology*, 5, 473–483.
- Engstrom, T.N., Edwards, T., Osentoski, M.F. and Myers, E.M.; 2007. A compendium of PCR primers for mtDNA, microsatellite, and other nuclear loci for freshwater turtles and tortoises. *Chelonian Research Monograph*, 4, 124-141.
- Engstrom, T.N., Shaffer, H.B. and McCord, W.P.; 2002. Phylogenetic diversity of endangered and critically endangered southeast Asian softshell turtles (Trionychidae: *Chitra*). *Biological Conservation*, 104:173-179.
- Excoffier, L., Laval, G. and Schneider, S.; 2006. Arlequin ver 3.1. An Integrated Software Package for Population Genetics Data Analysis. <u>http://cmpg.unibe.ch/software /arlequin3</u>
- Excoffier, L., Smouse, P. and Quattro, J.; 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: Application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics*, 131:479-491.

- Feldman C.C. and Parham, J.F.; 2002. Molecular phylogenetics of Emydine turtles: taxonomic revision and the evolution of shell kinesis. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 22:388-398.
- Ferris, S.D., Sage, R.D., Huang, C.M., Nielsen, J.T., Ritte, U. and Wilson, A.C. 1983. Flow of mitochondrial DNA across a species boundary. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 80: 2290-2294.
- FitzSimmons, N.N. 1998. Single paternity of clutches and sperm storage in the promiscuous green turtle (*Chelonia mydas*). Molecular Ecology 7:575-584.
- FitzSimmons, N.N., Limpus, C.J., Norman, J.A., Goldizen, A.R., Miller, J.D., Moritz, C., 1997b. Philopatry of male marine turtles inferred from mitochondrial DNA markers. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 94, 8912– 8917.
- FitzSimmons, N., Moritz, C. and Bowen, B.W.; 1999. Population Identification. IUCN/SSC Marine Turtle Specialist Group Publication No. 4, 1-8.
- FitzSimmons, N.N., C. Moritz, C. J. Limpus, J. D. Miller, C. J. Parmenter and R. Prince. 1996. Comparative genetic structure of green, loggerhead and flatback populations in Australia based on variable mt DNA and nDNA regions, p.25-32. *In:* B. Bowen and W. Witzell (Editors.), Proceedings of the International Symposium on Sea Turtle Conservation Genetics. NOAA Technical Memorandum NMFSSEFSC-396. U. S. Department of Commerce.
- FitzSimmons, N.N., Moritz, C., Limpus, C.J., Pope, L. and Prince, R.; 1997a. Geographic structure of mitochondrial and nuclear gene polymorphisms in Australian green turtle populations and male-biased gene flow. *Genetics*, 147, 1843–1854.
- FitzSimmons, N.N., Moritz, C. and Moore, S.S.; 1995. Conservation and dynamics of microsatellite loci over 300 million years of marine turtle evolution. *Mol Biol Evol* 12:432–440.
- Formia, A., Godley, B.J., Dontaine, J.F. and Bruford, M.W.; 2006. Mitochondrial DNA diversity and phylogeography of endangered green

turtle (*Chelonia mydas*) populations in Africa. *Conservation Genetics*, 7:353–369.

- Frair, W.; 1979. Taxonomic relations among sea turtles elucidated with serological tests. *Herpetologica*, 35, 239.
- Frair, W.; 1982. Serum electrophoresis and sea turtle classification. *Comp. Biochem. Physiol.*, 66B, 421.
- Frazer, N.B. and Ladner, R.C.; 1986. A growth curve for green sea turtles, *Chelonia mydas*, in the U.S. Virgin Islands. *Copeia*, 1986:798-802.
- Geldiay, R., 1984. Türkiye'nin Ege ve Akdeniz kıyılarında yaşayan deniz kaplumbağalarının (*Caretta C. caretta L. ve Chelonia m. mydas L.*) populasyonları ve korunması ile ilgili araştırmalar. *Doğa Bilim Dergisi* A2 8 (1), 66–75.
- Geldiay, R., Koray, T., 1982. Türkiye'nin Ege ve Akdeniz kıyılarında yaşayan deniz kaplumbağalarının (*Caretta C. caretta* L. ve *Chelonia m. mydas* L.) populasyonları ve korunmaları ile ilgili tedbirler uzerine araştırmalar [Survey on the sea turtle (*Caretta c. caretta* L. and *Chelonia m. mydas* L.) populations living on the Aegean and Mediterranean coasts of Turkey and their conservation schemes]. TUBITAK, Ankara-Turkey, Project No; WHAG-431.
- Geldiay, R., Koray, T. vd. Bahk, S., 1982. Status of the sea turtle population (*Caretta C. caretta* and *Chelonia m. mydas*) in the northern Mediterranean Sea, Turkey. In: Bjorndal, K.A. (Ed.), Biology and Conservation of Sea Turtles. Smithsonian Institution Press, Washington, 424–435.
- Groombridge, B., 1990. Marine Turtles in the Mediterranean; Distribution, Population Status, Conservation. A Report to the Council of Europe,World ConservationMonitoring Centre, Cambridge, UK.
- Guo, S.W. and Thompson, E.A.; 1992. Performing the exact test of Hardy-Weinberg proportions for multiple alleles. *Biometrics* 48:361–372

- Hall, T.A.; 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucl. Acids. Symp.* Ser. 41:95-98.
- Hathaway, R.R., 1972. Sea turtles, unanswered questions about sea turtles in Turkey. *Balik ve Balikçılık*, 20(1), 1–8.
- Hendrickson, J.R., 1958. The green sea turtle, *Chelonia mydas* (Linn.) in Malaya and Sarawak. Proc. Zool. Soc. London 130:455-535.
- Hillis, D.M. and Moritz, C.; 1996. Molecular systematics. Sinauer Associates, Sunderland, MA.
- Hirayama, R., 1998. Oldest known sea turtle. Nature, 392, 705–708.
- Hirth, F.H., 1980. Some aspects of the nesting behavior and reproductive biology of sea turtles. *Am. Zool.*, 20, 507.
- Hirth, F.H., 1997. Synopsis of the Biological Data on The Green Turtle, *Chelonia mydas* (Linnaeus, 1758). Biological Report, 97(1) FWS-US.
- Hudson, R.R., Boos, D.D. and Kaplan, N.L.; 1992. A statistical test for detecting geographic subdivision. *Mol. Biol. Evol.*, 9: 138–151.
- Hudson, R.R. and Turelli, M.; 2003. Stochasticity overrules the 'three-times rule': Genetic drift, genetic draft, anfd coalescent times for nuclear loci versu4 s mitochondrial DNA. *Evolution*, 57: 182-190.
- Ireland, J.S., Broderick, A.C., Glen, F., Godley, B.J., Hays, G.C., Lee, P.L.M. and Skibinski, D.O.F.; 2003. Multiple paternity assessed using microsatellite markers, in green turtles *Chelonia mydas* (Linnaeus, 1758) of Ascension Island, South Atlantic. J. *Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 291, 149– 160.
- Joanna, F.; 2005. Molecular Ecology. John Wiley and Sons Inc., ISBN-13 978-0-470-09061-8.
- Karl, S.A. and Bowen, B.W.; 1999. Evolutionary significant units versus geopolitical taxonomy: molecular systematics of an endangered sea turtle (genus *Chelonia*). *Conserv. Biol.* 13: 990–999.

- Karl, S.A. and Bowen, B.W. and Avise, J.C.; 1992. Global population structure and male-mediated gene flow in the green turtle (*Chelonia mydas*): RFLP analysis of anonymous nuclear DNA regions. *Genetics*, 131, 163–173.
- Kaska, Y.; 2000. Genetic structure of Mediterranean sea turtle populations. *Turk* J Zool 24:191–197.
- Kasparek, M., Godley, B.J., Broderick, A.C., 2001. Nesting of the Green Turtle, *Chelonia mydas*, in the Mediterranean: a review of status and conservation needs. *Zoology in the Middle East* 24, 45–74.
- Kimura, M. and Crow, J.F.; 1964. The number of alleles that can be maintained in a finitepopulation. *Genetics*, 49, 725-738.
- Kimura, M. and Ohta, T.; 1978. Stepwise mutation model and distribution of allelic frequencies in a finite population. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 75: 2868–2872.
- Klinger, R.C. and Musick, J.A.; 1992. Annular growth layers in juvenile loggerhead turtles (*Caretta caretta*). Bulletin of Marine Science, 51 (2), 224-230.
- Lahanas, P.N., Bjorndal, K.A., Bolten, A.B., Encalada, S.E., Miyatomo, M.M., Valverde, R.A. and Bowen, B.W.; 1998. Genetic composition of a green turtle (*Chelonia mydas*) feeding ground population: evidence for multiple origins. *Marine Biology*, 130, 345–352.
- Laurent, L.; 1990. L'origine des tortues caouannes, Caretta caretta (Linnaeus, 1758) de Mediterranee Occidentale. Rapports et Procès-Verbaux des Reunions de la Commission Internationale pour l'Exploration Scientifique de la Mer Méditerranée, 32, 240.
- Laurent, L., Casale, P., Bradai, M.N., Godley, B.J., Gerosa, G., Broderick, A.C., Schroth, W., Schierwater, B., Levy, A.M., Freggi, D., Abd El-Mawla, E.M., Hadoud, D.A., Gomati, H.E., Domingo, M., Hadjichristophorou, M., Kornaraky, L., Demirayak, F. and Gautier, CH.; 1998. Molecular resolution of marine turtle stock composition in fishery bycatch: a case study in the Mediterranean. *Mol. Ecol.*, 7, 1529– 1542.

- Lee, P.L.M., Luschi, P., Hays, G.C.; 2007. Detecting female precise natal philopatry in green turtles using assignment methods. *Mol. Ecol.*, 16, 61–74.
- Lessios, H.A., Kessing, B.D. and Pearse, J.S.; 2001. Population structure and speciation in tropical seas: global phylogeography of the sea urchin Diadema. *Evolution*, 55, 955–975.
- Levinson, G. and Gutman, G.A.; 1987 High frequency of short frame shifts in poly-CA/GT tandem repeats borne by bacteriophage M13 in *Escherichia coli* K-12. *Nucleic Acids Res.*, 15: 5323–5338.
- Limpus, C.J., Miller, J.D., Parmenter, C.J., Reiner, D., Mclachlan, N. and Webb, R.; 1992. Migration of green (*Chelonia mydas*) and loggerhead (*Caretta caretta*) turtles to and from east Australian rookeries. *Wildlife Research*, 19, 347–358.
- Limpus, C.J. and Reed, P.C.; 1985. The green turtle *Chelonia mydas* in Queensland: Population structure in a coral reef feeding ground, pp. 343-35 1. In G. C. Grigg, R. Shine, and H. Ehmann (eds.), Biology of Australasian Frogs and Reptiles. Surrey Beatty and Sons, Sydney, Australia.
- Limpus, C.J., and Walter, D.G.; 1980. The growth of immature green turtles (*Chelonia mydas*) under natural conditions. *Herpetologica* 36: 162-1 65.
- Lopez, E.G., Aguilera, G.H., Jager, M., Gamez, K O., Martin, M.E.I., Masselot, M. and Deutch, J.; 2000. Proceedings of the Nineteenth Annual Symposium on Sea Turtle Biology and Conservation. NOAA Technical Memorandum NMFS-SEFSC-443, pp 121-123.
- Luke, K., Horrocks, J.A., Leroux, R.A. and Dutton, P.H.; 2004. Origins of green turtle (*Chelonia mydas*) feeding aggregations around Barbados, West Indies. *Marine Biology*, 144, 799–805.
- Lundelius Jr., E.L.; 1987. The North American quaternary sequence, 11-235. InM. 0. Woodburne (ed.), Cenozoic Mammals of North America.University of California Press. Berkeley, CA USA.

- Lutz, P.L. and Musick, J.A.; 1996. The Biology of Sea Turtles. ISBN 0-8493-8422-2, 432 sayfa.
- Manel, S., Berthier, P. and Luikart, G.; 2002. Detecting wildlife poaching: identifying the origin of individuals with Bayesian assignment tests and multilocus genotypes. *Conservation Biology*, 16:650-659.
- Marquez, R.J.; 1990. Sea turtles of the world. An annotated and illustrated catalogue of sea turtle species knows to date. *FAO Fisheries Synopsis*, 125 (11), Rome, FAO.
- Martin, A.P. and Palumbi, S.R.; 1993. Body size, metabolic rate, generation time, and the molecular clock. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, 90, 4087–4091.
- McGaugh, S.E., Alacs, E.A., Edwards, S.V., Feldman, C.R., George, A., SITES, JR. J.W. and Valenzuela, N.; 2007. From Molecules to Organisms: Research Applications of Modern Genetic Tools for Turtle Biology and Conservation. *Chelonian Research Monographs*, 4:47–72.
- MEDASSET, 2000. Green turtle (*Chelonia mydas*) on the Turkish Mediterranean Coasts. Council of Europe report T PVS (2000)56.
- Meylan, A.B.; 1982. Sea turtle migration evidence from tag returns. In: Biology and Conservation of Sea Turtles (ed. Bjorndal KA), 91–100. Smithsonian Institution Press, Washington, D.C.
- Meylan, A.B., Bowen, B.W. and Avise, J.C., 1990. A genetic test of the natal homing versus social facilitation models for green turtle migration. *Science*, 248, 724–727.
- Miller, J.D.; 1996. Reproduction in sea turtles. In: *The Biology of Sea Turtles* (eds Lutz PL, Musick JA), pp. 51–81. CRC Press, Boca Raton, Florida.
- Moore, W.S.; 1995. Inferring phylogenies from mtDNA variation: mitochondrialgene trees versus nuclear-gene trees. *Evolution* 49:718-726.
- Moore, M.K. and Ball, R.M.; 2002. Multiple paternity in loggerhead turtle (*Caretta caretta*) nests on Melbourne Beach, Florida: a microsatellite analysis. *Molecular Ecology*, 11:281–288.

- Mullis, K., Faloona, F., Scharf, S., Saiki, R., Horn, G. and Erlich, H., 1986. Specific enzymatic amplification of DNA *in vitro*: The polymerase chain reaction. Cold Spring Harbor Symp. 51: 263-273.
- Naro-Maciel, E., Becker, J.H., Lima, E.H.S.M., Marcovaldi, M.A. and DeSalle, R.; 2006. Testing Dispersal Hypoteysis in Foraging Green Sea Turtles (*Chelonia mydas*) of Brazil. *Journal of Heredity*, 98:35-41.
- Naro-Maciel, E., Le, M., FitzSimmons, N.N. and Amato, G.; 2008. Evolutionary relationships of marine turtles: A molecular phylogeny based on nuclear and mitochondrial genes. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 49: 659–662.
- Nei, M.; 1982. Evolution of human races at the gene level. In: Bone-Tamir B, Cohen T, Goodman RM (eds) Human genetics part A: the unfolding genome. Alan R Liss, New York, 167–181.
- Nei, M.; 1987. Molecular Evolutionary Genetics. Columbia Univ. Press, New York.
- Norman, J.A., Moritz, C., Limpus, C.; 1994. Mitochondrial DNA control region polymorphisms: genetic markers for ecological studies of marine turtles. *Molecular Ecology*, 3, 363–373.
- **Ohta, T., ve Kimura, M.; 1973.** A model of mutation approiate to estimate the number of electrophoretically detecyable alleles in a finite population. *Genetics Research*, 22, 201-204.
- Page, R.D.M. and Holmes, E.C.; 1998. Molecular Evolution: A Phylogenetic Approach. Blackwell Science, Oxford.
- Pearce, A.F.; 2001. Contrasting population structure of the loggerhead turtle (*Caretta caretta*) using mitochondrial and nuclear DNA markers. (Thesis). University of Florida, Gainesville.
- Peare, T. and Parker, P.G.; 1996. Local genetic structure within two rookeries of *Chelonia mydas* (the green turtle). *Heredity*, 77, 619–628.
- Peare, T., Parker, P.G. and Irwin, M.E.; 1998. Paternity analysis of the green turtle. Proc. 16th Annu. Symp. Sea Turtle Biol. & Conserv. NOAA Tech. Memo. NMFS-SEFSC-412, vol. 116.

- Pearse, D.E., Arndt, A.D., Valenzuela, N., Miller, B.A., Cantarelli, V.and Sites Jr., J.W.; 2006. Estimating population structure under nonequilibrium conditions in a conservation context: continent-wide population genetics of the giant Amazon river turtle, *Podocnemis expansa (Chelonia*; Podocnemididae). *Molecular Ecology*, 15:985–1006.
- Posada, D., Crandall, K. A. and Templeton, A. R.; 2000. GeoDis: A program for the cladistic nested analysis of the geographical distribution of genetic haplotypes. *Molecular Ecology*, 9(4):487-488.
- Pritchard, P.C.H.; 1976. Post-nesting movements of marine turtles (Cheloniidae and Dermochelyidae) tagged in the Guianas. *Copeia* 1976:749-754.
- Pritchard, P.C.H.; 1996. Evolution, phylogeny, and current status, p.1-28. In: P. L. Lutz and J. A. Musick (eds.), The Biology of Sea Turtles. CRC Press, New York.
- Pritchard, P.C.H.; 1999. Status of the black turtle. Conserv. Biol. 13: 1000–1003.
- Reece, J.S., Castoe, T.A. and Parkinson, C.L.; 2005. Historical perspectives on population genetics and conservation of three marine turtle species. *Conservation Genetics*, 6, 235–251.
- Rhodin, A.G.J.; 1985. Comparative chondro-osseous development and growth of marine turtles. *Copeia* 1985:752-771.
- Rivalan, P., Dutton, P.H., Baudry, E., Roden, S.E., Girondot, M.; 2006. Demographic scenario inferred from genetic data in leatherback turtles nesting in French Guiana and Suriname. *Biol. Conserv.*, 130, 1–9.
- Roberts, M.A., Schwartz, T.S. and Karl, S.A.; 2004. Global population genetic structure and male-mediated gene flow in the green sea turtle (*Chelonia mydas*): analysis of microsatellite loci. *Genetics*, 166, 1857–1870.
- Rosen, B.R.; 1988. Progress, problems and patterns in the biogeography of reef corals and other tropical marine organisms. *Helgol Wiss Meeresunters*, 42, 269–301.

- Rousset, F.; 2008. GENEPOP'007: a complete re-implementation of the GENEPOP software for Windows and Linux. *Molecular Ecology Resources*; 8,1: 103-106.
- Roy, M.S., Geffen, E., Smith, D., Ostrander, E. and Wayne, R.K.; 1994. Patterns of differentiation in North American wolf-like canids revealed by analysis of microsatellite loci. *Mol. Biol. Evol.*, 11:553-570.
- Roy, M.S., Geffen, E., Smith, D. and Wayne, R.K.; 1994. Molecular genetics of pre-1940 red wolves. *Conservation Biology*, 10,:1413-1424.
- Rozas, J., Sánchez-DelBarrio, J. C., Messeguer, X. and Rozas, R.; 2003. DnaSP version 4.0. *Bioinformatics* 19: 2496-2497.
- Rögl, F.; 1998. Palaeogeographic considerations for mediterranean and paratethys seaways (oligocene to miocene). Ann. Naturhist. Mus. Wien, 99A, 279– 310.
- Sanger, F. and Coulson, A.R., 1975. A rapid method for determining sequences in DNA by primed synthesis with DNA polymerase. *Journal of Molecular Biology*. 94(3):441–448.
- Schlötterer, C. and Tautz, D.; 1992. Slippage synthesis of simple sequence DNA. *Nucleic Acids Res.*, 20:211-215.
- Sella, I.; 1982. Sea turtles in the eastern Mediterranean and Northern Red Sea, p. 417-423. *In*: Biology and Conservation of Sea Turtles (K. A. Bjorndal, ed.). Smithsonian Institution Press, Washington D.C.
- Shaffer, H.B., Meylan, P.A. and McKnight, M.L.; 1997. Tests of turtle phylogeny: molecular, morphological, and paleontological approaches. *Systematic Biology*, 46:235-268.
- Shriver, M.D., Jin, L., Chakraborty, R. and Boerwinkle, E.; 1993. VNTR allele frequency distributions under the stepwise mutation model: a computer simulation approach. *Genetics*, 134: 983–993.
- Smith, M.H., Hillstad, H.O., Manlove, M.N., Straney, D.O. and Dean, J.M.; 1977. Management implications of genetic variability in logger loggerhead and green sea turtles. *Proceedings of the 13th International Congress of Game Biologists*, 13, 302–312.

- Spinks, P.Q. and Shaffer, H.B.;2005. Range-wide molecular analysis of the western pond turtle (*Emys marmorata*): cryptic variation, isolation by distance, and their conservation implications. *Molecular Ecology*, 14:2047-2064.
- Spinks, P.Q., Shaffer, H.B., Iverson, J.B. and Mccord, W.P.; 2004. Phylogenetic hypotheses for the turtle family Geoemydidae. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 32:164-182.
- Spotila, J.R.; 2004. Sea Turtles: A Complete Guide to Their Biology, Behavior, and Conservation. ISBN 0-8018-8007-6, 227 sayfa.
- Starkey, D.E., Shaffer, H.B.,Burke, R.L., Forstner, M.R.J., Iverson, J.B., Janzen, F.J., Rhodin, A.G.J. and Ultsch, G.R.; 2003. Molecular systematics, phylogeography, and the effects of Pleistocene glaciation in the painted turtle (*Chrysemys picta*) complex. *Evolution*, 57:119-128.
- Stephan, W.; 1989. Tandem-repetitive noncoding DNA: forms and forces. Mol. Biol. Evol., 6: 198–212.
- Sunnucks, P.; 2000. Efficient genetic markers for population biology. *Trends in Ecology and Evolution* 15:199-203.
- Takahata, N. and Palumbi, S.R.; 1985. Extranuclear differentiation and gene flow in the finite island model. *Genetics* 109:441–457.
- Tautz, D. 1989. Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers. *Nucleic Acids Research*, 17: 6463-6471.
- Tautz, D. and Rentz, M.; 1984. Simple sequences are ubiquitous repetitive components of eukaryotic genomes. *Nucleic Acids Res.*, 17: 4127–4138.
- **Tegelstrom, H. 1987.** Transfer of mitochondrial DNA from the northern redbacked vole (*Cletrionomys rutilus*) to bank vole (*C. glareolus*). *Journal of Molecular Evolution*, 24: 218-227.
- Templeton, A.R.; 1998. Nested clade analysis of phylogeographic data: testing hypothesis about gene flow and population history. *MolecularEcology*,7,381-397.
- Templeton, A.R.; 2001. Using phylogeographic analysis of gene trees to test species status and processes. *MolecularEcology*,10, 779-791.

- Templeton, A.R., Crandall, K.A. and Sing, C.F.; 1992. A cladistic analysis of phenotypic associations with haplotypes inferred from restriction endonuclease mapping and DNA sequence data. III cladogram estimation. *Genetics* 132:619–633.
- Valdes, A.M., Slatkin, M. and Freimer, N.B.; 1993. Allele frequencies at microsatellite loci: the stepwise mutation model revisited. *Genetics*, 133: 737–749.
- Vrielynck, B., Odin, G.S. and Dercourt, J.; 1997. Miocene palaeogeography of the Tethys Ocean: potential global correlations in the mediterranean. In: Montanari, A., Odin, G.S., Coccioni, R. (Eds.), Miocene Stratigraphy: An Integrated Approach. Elsevier, Amsterdam, pp. 157–165.
- Weber, J.L.; 1990. Informativeness of human (dC-dA)n. (dG-dT)n polymorphisms. *Genomics*, 7: 8-27.
- Williams, C.L., Brust, R.C., Fendley, T.T., Tiller, G.R. Jr.and Rhodes, O.E.Jr.; 2005. A comparison of hybridization between Mottled Ducks (*Anas fulvigula*) and Mallards (*A. platyrhynchos*) in Florida and South Carolina using microsatellite DNA analysis. *Conservation Genetics*, 6:445-453.
- Wright S (1951). The genetical structure of populations. Ann Eug., 15:323–354.
- Yerli, S.V., Canbolat, A.F., 1998a. Principles of the Management Plan for the Protection of Sea Turtles in the East Mediterranean Coasts of Turkey. Ministry of Environment, GDEP Publication (ISBN 975-7347-44-2), Ankara.
- Yerli, S.V., Canbolat, A.F., 1998b. Principles of the Management Plan for the Protection of Sea Turtles in the Specially Protected Areas (Köyceğiz-Dalyan, Patara, Fethiye-Calis, Belek, Göksu Delta). Ministry of Environment, APSA (The Authority for the Protection of Special Areas) Publication (ISBN 975-7347-43-4), Ankara.
- Yerli, S.V., Canbolat, A.F., 1998c. Results of a 1996 survey of *Chelonia* in Turkey. Marine Turtle Newsletter 79, 9–11.

- Yerli, S.V, Canbolat, A.F., Uluğ, H., Doğan, O., 1998. Principles of the Management Plan for the Protection of Sea Turtles in the West Mediterranean Coasts of Turkey. Ministry of Environment, GDEP Publication, ISBN 975-7347-45-0, Ankara.
- Yerli, S.V., Demirayak, F., 1996. Marine Turtles in Turkey: A Survey on Nesting Site Status. DHKD, CMS Report No. 96/4, Istanbul (ISBN 975-96081-0-3).
- **Zaykin, D.V. and Pudovkin A.I.; 1993.** Two programs to estimate significance of X^2 values using pseudo-probability tests. *J. Hered.*, 84:152.
- Zug, G.R. and Balazs, G.H.; 1985. Skeletochronological age estimates for Hawaiian green turtles. *Marine Turtle Newsletter*, 33:9-10.
- Zug, G.R., Wynn, A.H. and Ruckdeschel, C.; 1986. Age determination of loggerhead sea turtles, *Caretta caretta*, by incremental growth marks in the skeleton. *Smithson. Contrib. Zool.* 427: 1-34.

6. ÖZGEÇMİŞ

<u>Kişisel Bilgiler</u>	
Adı Soyadı	Efkan Bağda
Doğum Yeri ve Tarihi	Iğdır, 14/07/1974
Medeni Hali	Evli
Yabancı Dili	Almanca
İletişim Adresi	Cumhuriyet Üniversitesi Fen-Edb. Fak. Biyoloji
	Bölümü 58140-Sivas
E-posta Adresi	ebagda@cumhuriyet.edu.tr

Eğitim ve Akademik Durumu

Lise	Ankara Kurtuluş Lisesi, 1992
Lisans	Hacttepe Üniversitesi, 1998
Yüksek Lisans	Cumhuriyet Üniversitesi, 2004

<u>İş Tecrübesi</u> Cumhuriyet Üniversitesi Araştırma görevlisi, 2001