

**T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
BİY-DR-2010-0004**

**NİL YUMUŞAK KABUKLU KAPLUMBAĞASI, *TRIONYX*
TRIUNGUIS (TESTUDINES: TRIONYCHIDAE),
POPULASYONLARININ GENETİK YAPISI**

Özgür GÜÇLÜ

**Tez Danışmanı:
Doç. Dr. Celal ÜLGER**

**II. Danışman
Doç. Dr. Oğuz TÜRKOZAN**

AYDIN

T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE
AYDIN

Biyoloji Anabilim Dalı Doktora Programı öğrencisi Özgür GÜÇLÜ tarafından hazırlanan Nil Yumuşak Kabuklu Kaplumbağası, *Trionyx triunguis* (Testudines: Trionychidae), Populasyonlarının Genetik Yapısı başlıklı tez, 10.06.2010 tarihinde yapılan savunma sonucunda aşağıda isimleri bulunan jüri üyelerince kabul edilmiştir.

<u>Ünvanı, Adı Soyadı</u>	<u>Kurumu</u>	<u>İmzası</u>
Başkan : Prof. Dr. Fevzi BARDAKÇI	Adnan Menderes Üniversitesi	
Üye : Prof. Dr. Yusuf KUMLUTAŞ	Dokuz Eylül Üniversitesi	
Üye : Doç. Dr. Celal ÜLGER	Adnan Menderes Üniversitesi	
Üye : Doç. Dr. İslam GÜNDÜZ	On Dokuz Mayıs Üniversitesi	
Üye : Doç. Dr. Süphan KARAYTUĞ	Mersin Üniversitesi	

Jüri üyeleri tarafından kabul edilen bu doktora tezi, Enstitü Yönetim Kurulunun Sayılı kararıyla (*tarih*) tarihinde onaylanmıştır.

Ünvanı, Adı Soyadı
Enstitü Müdürü

T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

Bu tezde sunulan tüm bilgi ve sonuçların, bilimsel yöntemlerle yürütülen gerçek deney ve gözlemler çerçevesinde tarafımdan elde edildiğini, çalışmada bana ait olmayan tüm veri, düşünce, sonuç ve bilgilere bilimsel etik kuralların gereği olarak eksiksiz şekilde uygun atıf yaptığımı ve kaynak göstererek belirttiğimi beyan ederim.

10/06/2010

Özgür GÜÇLÜ

ÖZET

NİL YUMUŞAK KABUKLU KAPLUMBAĞASI, *TRIONYX TRIUNGUIS* (TESTUDINES: TRIONYCHIDAE), POPULASYONLARININ GENETİK YAPISI

Özgür GÜÇLÜ

Doktora Tezi, Biyoloji Anabilim Dalı
Tez Danışmanı: Doç. Dr. Celal ÜLGER
II. Danışman: Doç. Dr. Oğuz TÜRKOZAN
2010, 121 sayfa

Trionychidae familyasındaki kaplumbağalar Antartika kıtası hariç tüm kıtalarda yayılış göstermekle birlikte 14 cins ve bu cinslere giren 30 tür ile temsil edilirler. Nil yumuşak kabuklu kaplumbağası, *Trionyx triunguis* (Forskal, 1775) Afrika kıtasında Moritanya ve kuzey Namibya'dan Mısır'a ve Orta Doğu'da İsrail, Suriye ve Türkiye'de yayılış göstermektedir. Güney Afrika dışında Afrika kıtasının büyük çoğunluğuna dağılmıştır.

T. triunguis türünün populasyon yapısı ve genetiği üzerine fazla çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmanın amacı Akdeniz ve Afrika kıtasındaki çeşitli lokalitelerden elde edilen örnekler ile *T. triunguis*'in genetiksel stok verilerini elde etmektir. Bunun için dokuz mikrosatellit lokusu (n=102) ve mitokondrial DNA kontrol bölgesi dizisi (n=52) kullanılmıştır.

Bu çalışma ile dizayn edilen mtDNA kontrol bölgesi primerleri ile 13 haplotip bulunmuştur. Ayrıca kullanılan 9 mikrosatellit lokusundan 3'ünün polimorfik olduğu belirlenmiştir. Hem mtDNA hem de mikrosatellit verilerine göre Türkiye'nin batı ve doğu sahilleri ile Afrika kıtası arasında genetiksel farklılaşma olduğu belirlenmiştir. Bu genetiksel yapılaşma üç populasyonun da “Evrimsel Önemli Birimler” olarak değerlendirilmesi gerektiğini ortaya çıkarmıştır.

Anahtar Sözcükler: *Trionyx triunguis*, mtDNA, mikrosatellit, koruma genetiği, populasyon genetiği

ABSTRACT

THE GENETIC STRUCTURE OF NILE SOFT-SHELLED TURTLES, *TRIONYX TRIUNGUIS* (TESTUDINES: TRIONYCHIDAE), POPULATIONS

Özgür GÜÇLÜ

Ph.D. Thesis, Department of Biology
Supervisor: Assoc. Prof. Celal ÜLGER
Co-Supervisor: Assoc. Prof. Oğuz TÜRKOZAN
2010, 121 pages

SUMMARY

Turtles belonging to the Trionychidae family are dispersed in all continents except Antarctica and are currently represented by 30 species distributed in 14 genera. The Nile soft shell turtle, *Trionyx triunguis* (Forskal, 1775), is distributed in Turkey, Syria, and Israel in the Middle East and from Mauritania and North Namibia to Egypt in African continent. They are spread all over the vast majority of Africa, except in the southern part of the continent.

There are not a many studies about the population structure and genetics of *T. triunguis*. The aim of the study is to provide inventory data on the genetic structure of *T. triunguis* with the samples provided from different localities in the Mediterranean and African continent. With this purpose, mitochondrial DNA control region sequences (n=52) and nine microsatellite loci (n=102) are used.

The 13 haplotypes with the primers that we designed for mtDNA control region and 3 polymorphic microsatellite markers in 9 microsatellite loci are founded. Both mtDNA and microsatellite data showed genetic divergence between the eastern and western populations of Turkey and the African continent. This genetic structuring show us to evaluate the three population as an “Evolutionarily Significant Unit”.

Keywords: *Trionyx triunguis*, mtDNA, microsatellite, conservation genetics, population genetics

ÖNSÖZ

Tez çalışmam süresince fikirleri ile çalışmalarına yön veren ve sorunların çözülmesinde her türlü yardım ve ilgilerini esirgemeyen danışman hocalarım Doç. Dr. Celal ÜLGER'e ve Doç. Dr. Oğuz TÜRKOZAN'a içtenlikle teşekkür ederim.

Ayrıca çalışmamda beni yönlendiren, arazi çalışmama katılan, analizlerde yardımını esirgemeyen hocam Prof. Dr. Fevzi BARDAKÇI ve tez izleme jürisindeki katkılarından dolayı Doç. Dr. İslam GÜNDÜZ'e, tez dönemi boyunca maddi ve manevi olarak hep yanımda olan, oluşan olumsuzluklara karşı her zaman dimdik ayakta durmamı sağlayan hocam, dostum Doç. Dr. Bülent BOZDOĞAN'a, örneklerin analizi için gerek duyduğumda maddi ve manevi yardım aldığım Doç. Dr. Fatih ŞİMŞEK'e, doku örnekleri sağlayan Michael REIMANN, Yaniv LEVY, Roger BOUR, Prof. Dr. Serap ERGENE, Richard GEMMEL, Öğr. Gör. Dr. S. Hakan DURMUŞ ve Can YILMAZ'a, arazi çalışmamda ve malzeme yardımında bulunan Doç. Dr. Murat BİLECENOĞLU'na ve ihtiyaç duyduğumda tekne ve konaklama yardımında bulunan İlker YOKARLI'ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tez dönemi boyunca uygun çalışma ortamı sağlayan sayın bölüm başkanım Prof. Dr. Kurtuluş OLGUN'a, laboratuvar çalışmalarım boyunca gece gündüz birlikte çalıştığım arkadaşlarım başta Sare İlknur CİHANGİR olmak üzere Dilara ÖZSOYDAN ve Mehmet ÖZTÜRK'e, tezin düzenleme aşamasında yardımlarını aldığım Ekrem TINAZ ve Kamil CANDAN'a teşekkür ederim.

Bu çalışmanın gerçekleşmesi için maddi kaynak sağlayan Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyon Başkanlığı'na (Proje no: FBE-08032) teşekkür ederim.

Bugünlere gelmemde karşılığı asla ödenemeyecek en büyük emeğe sahip olan ve hiçbir fedakârlıktan kaçınmayan Annem Güner GÜÇLÜ ve Babam Veli GÜÇLÜ'ye, 11 yıldır her zaman yanımda olan, moral kaynağım, yaşama nedenim eşim Sibel SAYGILI GÜÇLÜ'ye en içten teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY SAYFASI.....	iii
BİLİMSEL ETİK BİLDİRİM SAYFASI.....	v
ÖZET	vii
ABSTRACT	ix
ÖNSÖZ.....	xi
İÇİNDEKİLER.....	xiii
SİMGELER DİZİNİ	xvii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xix
ŞEKİLLER DİZİNİ	xxi
EKLER DİZİNİ	xxiii
1. GİRİŞ	1
1.1. Kaplumbağaların Kökeni	1
1.1.1. Anapsid-Diapsid Ayrımı	1
1.1.2. Kaplumbağa Filogenisi.....	2
1.2. Trionychidlerin Evrimsel Gelişimi	5
1.2.1. Morfolojik ve Osteolojik Özelliklerine Göre Evrimsel Durumu.....	6
1.2.2. Trionychidae'ye ait Fosil Kayıtlara Göre Evrimsel Durumu	7
1.2.3. Trionychidae Filogenisi	8
1.3. <i>Trionyx triunguis</i>	12
1.3.1. Morfoloji.....	13
1.3.2. Biyoloji.....	14
1.3.2.1. Habitat	14
1.3.2.2. Yayılışı	14
1.3.2.3. Davranış	17
1.3.2.4. Üreme.....	17
1.3.2.5. Beslenme	18
1.3.2.6. Tehditler	18
1.3.2.7. Koruma statüsü	19
1.4. Tatlı Su Kaplumbağalarında Koruma.....	19
1.4.1 Değişik Amaçlar için Hayvanların Yakalanması	20
1.4.2 Çevresel Bozulma ve Habitat Kaybı	20
1.4.3. Genetik Çeşitliliğin Kaybı	21
1.5. Koruma Genetiği.....	21

1.5.1. Evrimsel Önemli Birimler (Evolutionary Significant Units).....	22
1.5.2. Yönetim Birimleri (Management Units)	23
1.6. Kullanılan Moleküler Belirteçler	23
1.6.1. MtDNA	24
1.6.2. Mikrosatellit	28
1.7. Genetik Farklılaşma	31
1.7.1 Genetik Farklılaşmanın Hesaplanması	32
1.7.1.1. Hardy-Weinberg Dengesi	33
1.7.1.2. Heterozigotluk	34
1.7.1.3. Allel zenginliği	34
1.7.1.4. Polimorfik lokusların oranı	34
1.7.1.5. F- istatistiği	35
1.7.1.6. R- istatistiği	36
1.7.1.7. Φ ve D istatistikleri	36
1.8. Amaç	37
1.9. Yönetim Önerileri	38
2. KAYNAK ÖZETLERİ	39
3. MATERYAL VE YÖNTEM	42
3.1. Bazı Araştırma Bölgelerinin Tanıtımı	42
3.1.1. Dalyan	42
3.1.2. Dalaman	42
3.1.3. Göksu Deltası	43
3.1.4. Afrika	43
3.2. Örnek Toplanması	44
3.3. Laboratuvar Metotları	45
3.3.1. Dokudan DNA Ekstraksiyonu	45
3.3.1.1. Standart Fenol/Kloroform yöntemi	45
3.3.1.2. EZNA kiti kullanılarak DNA ekstraksiyonu	46
3.3.2. Mitokondrial DNA D-loop Geninin Klonlanması	46
3.3.2.1. Elektrokompentan bakterilerin hazırlanması ve klonlanması	47
3.3.2.2. Plazmid ekstraksiyonu	48
3.3.2.3. Sekans analizi	48
3.3.3. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) ve Reaksiyon Koşulları	48
3.3.3.1. Mitokondrial DNA D-loop geninin polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ve reaksiyon koşulları	49

3.3.3.2. Afrika'dan elde edilen bazı örneklerde mitokondrial DNA D-loop geninin polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ve reaksiyon koşulları	49
3.3.3.3. Çekirdek DNA mikrosatellit bilgelerinin polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ve reaksiyon koşulları	50
3.3.4. PCR Ürünlerinin Varlığının Tespit Edilmesi	52
3.3.5. PCR Ürünlerinin Saflaştırılması	53
3.3.6. MtDNA için Sekans Analizi	53
3.4. Verilerin Analizi	54
3.4.1. MtDNA Dizilerinin Analizi	54
3.4.1.1. DNA dizilerinin hizalanması	54
3.4.1.2. Haplotip ve nükleotit çeşitliliği	54
3.4.1.3. Populasyonların genetik yapısı	54
3.4.1.4. Gen akışının hesaplanması	55
3.4.1.5. Nötralite testleri ve Mismatch (Uyumsuzluk) analizi	55
3.4.1.6. Genetik uzaklık	56
3.4.2. Mikrosatellit verilerinin analizi	56
3.4.2.1. Hardy-Weinberg eşitliği ve bağlantı dengesizliği	56
3.4.2.2. Populasyonlar arasındaki genetik farklılık	56
3.4.2.3. Populasyonların genetik yapısı	57
3.4.2.4. Populasyon darboğazlarının belirlenmesi	57
3.4.2.5. Assignment test	58
4. BULGULAR	59
4.1. MtDNA D-loop Geni Sekans Analizi	59
4.1.1. DNA Dizilerinin Hizalanması	59
4.1.2. Haplotip Dağılımı	59
4.1.3. Haplotip (H_d) ve Nükleotit Çeşitliliği	61
4.1.4. Nükleotit Dağılımı	62
4.1.5. Populasyonların Genetik Yapısı	62
4.1.6. Gen Akışının Hesaplanması	64
4.1.7. Nötralite Testleri ve Mismatch (Uyumsuzluk) Analizi	65
4.1.8. Genetik Uzaklık	66
4.2. Mikrosatellit Verilerinin Analizi	68
4.2.1. Hardy-Weinberg Eşitliği ve Bağlantı Dengesizliği	68
4.2.2. Genetik Çeşitlilik	69
4.2.3. Allel Frekansları	71

4.2.4. Populasyonların Genetik Yapısı.....	71
4.2.4.1. Gruplar arasında.....	71
4.2.4.2. Populasyonlar arasında.....	72
4.2.5. Gen Akışı	74
4.2.6. Populasyon Darboğazlarının Belirlenmesi	75
4.2.7. Assignment Test	75
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	77
5.1. Populasyonlardaki Genetik Çeşitlilik ve Genetik Yapılaşma	77
5.2. Genetiksel Verilerin Çeşitli Modellemeler Yoluyla Açıklanması.....	80
5.3. Yönetim Uygulamaları.....	82
5.4. Genetik Çeşitliğin Korunması.....	85
5.5. Populasyonların Geçmişi.....	86
KAYNAKLAR.....	89
EKLER.....	115
ÖZGEÇMİŞ.....	119

SİMGELER DİZİNİ

ESU	Evrimsel önemli birimler
H _d	Haplotip Çeşitliliği
IAM	Infinitive Allel Model
IUCN	The International Union for Conservation of Nature
MEDASSET	Mediterranean Association to Save the Sea Turtles
MtDNA	Mitokondrial DNA
MU	Yönetim Birimi
MYÖ	Milyon Yıl Önce
N	Birey Sayısı
nDNA	Çekirdek DNA
p	Önemlilik Derecesi
SDS	Sodyum Dodecyl Sulfate
SMM	Stepwise Mutation Model
STR	Short Tandem Repeat
π	Nükleotit Çeşitliliği

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. MtDNA'ya göre bazı omurgalı grupları arasındaki filogenetik ilişki	3
Şekil 1.2. Kaplumbağaların evrimsel soyağacı	4
Şekil 1.3. Kaplumbağa familyaları arasındaki filogenetik ilişkiyi gösteren ağaç	5
Şekil 1.4. Osteolojik karakterlere göre Trionychidae familyasına ait türler arasındaki akrabalık ilişkisi	11
Şekil 1.5. Çekirdek ve mtDNA verilerine göre Trionychidae familyasına ait türler arasındaki akrabalık ilişkisi	11
Şekil 1.6. <i>T. triunguis</i> 'in Dünyadaki yayılış sahası	15
Şekil 1.7. <i>T. triunguis</i> 'in Türkiye'deki yayılışı	17
Şekil 4.1. Örnek toplanan lokalitelere ait mtDNA D-loop haplotiplerinin dağılımı	60
Şekil 4.2. Bütün örneklerin oluşturduğu farklılaşmanın populasyonlar arasında, alt populasyonlar arasında ve alt populasyonlar içindeki miktarının moleküler varyans analiz sonucundaki dağılımı	63
Şekil 4.3. MtDNA D-loop gen bölgesinde genetik uzaklığa bağlı olarak çizilen Neighbor-joining (NJ) ağacı	67
Şekil 4.4. Bütün örneklerin oluşturduğu farklılaşmanın gruplar arasında, populasyonlar arasında ve populasyonlar içindeki miktarının moleküler varyans analiz sonucundaki dağılımı	72
Şekil 4.5. Mikrosatellit lokuslarından oluşturulan UPGMA dendogramı	74

EKLER DİZİNİ

Ek 4.1. <i>T. triunguis</i> 'e ait 53 örnekte mtDNA D-loop geninin varyasyon gösteren DNA bölgeleri.....	115
Ek 4.2. Örnek toplanan lokalitelerde belirlenen haplotipler arasındaki genetik uzaklık değerleri.....	117

1. GİRİŞ

1.1. Kaplumbağaların Kökeni

Yaşayan amniyotların temel gruplarını memeliler, kuşlar, timsahlar, kaplumbağalar, squamatlar ve sphenodontidler oluşturur. Fosil kayıtlardan, amniyotların günümüzden yaklaşık olarak 300 MYÖ (Milyon yıl önce) ortaya çıktıkları, 250 MYÖ ise neredeyse temel grupların hepsinin çeşitlendiği anlaşılmaktadır (Carroll, 1987; Laurin ve Reisz, 1995). Morfolojik olarak kaplumbağa, memeli ve kuşlar büyük oranda ilkel sürüngen atalarından türemişlerdir. Kaplumbağaların orijini, amniyot filogenisi ile ilgili çok az bilgi olmasından dolayı sürüngenlerin en tartışmalı grubu olarak ele alınmaktadır. Kaplumbağalar kabaca Triyas döneminin (200-250 MYÖ) sonlarında ortaya çıkmışlardır. Kaplumbağalar ve diğer amniyotlar arasındaki olağanüstü morfolojik değişim, kaplumbağaların Permien ve Triyas'ta var olan (300 MYÖ) parareptiller olarak bilinen ilkel sürüngenlerden dallandığını ortaya koymaktadır (Laurin ve Reisz, 1995; Lee, 1996). Ayrıca çeşitli fosil kayıtlarına göre, çoğunlukla kaplumbağaların karasal orjinli, bazılarına göre ise sucul orjinli canlı grubu olduğu belirlenmiştir (Li vd., 2008).

1.1.1. Anapsid-Diapsid Ayrımı

Kaplumbağaların vücut morfolojilerinin kökeni sürüngen evriminin en önemli gizemlerinden birini oluşturmaktadır. Kaplumbağaların anatomisi, kaplumbağalarla diğer sürüngen grupları arasındaki ilişkiyi ortaya çıkarmayı zorlaştıracak ölçüde büyük çeşitlilik göstermektedir (Li vd., 2008). Yaşayan kaplumbağalar, anapsid kafatasına sahip (kafatasında temporal açıklığın bulunmaması) sürüngenler olarak değerlendirilmiştir. Anapsid kafatasının morfolojik yapısı diapsid kafatasına sahip (kafatasındaki temporal bölgede 2 adet açıklığın bulunması) sürüngenler ile karşılaştırıldığında daha ilkeldir. Gaffney (1980) diapsid sürüngenler ile memelilerin alt temporal açıklığı paylaşımlarından dolayı kardeş grup olduklarını, kaplumbağaların da bu iki canlı grubunun oluşturduğu topluluğa yakın akraba olduğunu belirtmiştir.

Zardoya ve Meyer (1998) memeliler ile kuşlar arasında kardeş grup ilişkisini öne süren Haemathermia hipotezi ile birlikte kaplumbağaların en basit-yaşayan amniyot grubu olduğu görüşünü reddetmiştir. Ayrıca kaplumbağaların kafatasındaki delikleri ikincil olarak kaybettiklerini ortaya koymuştur. Bir başka ifade ile bu delikler hiç oluşmamasından ziyade sonradan kaybedilmiştir. Temporal açıklığın ikincil olarak kaybını imkânsız kılacak hiçbir güçlü neden olmamasının yanında (deBraga ve Rieppel, 1997), çeşitli morfolojik kanıtlar, temporal açıklığın ikincil olarak kaybının kabul edilmesi gerektiğini göstermiştir (Ör: Nothosaurs, Plesiosaurs ve Ichthyosaurs gibi nesli tükenen euryapsidler) (Rieppel ve deBraga, 1996; deBraga ve Rieppel, 1997). Son zamanlarda, kapsamlı morfolojik çalışmalar temel alındığında, kaplumbağaların diapsid özelliklere sahip canlılar olduğu görüşü ağır basmaktadır (Rieppel ve deBraga, 1996; Benton 1997; Liao vd., 2001).

1.1.2. Kaplumbağa Filogenisi

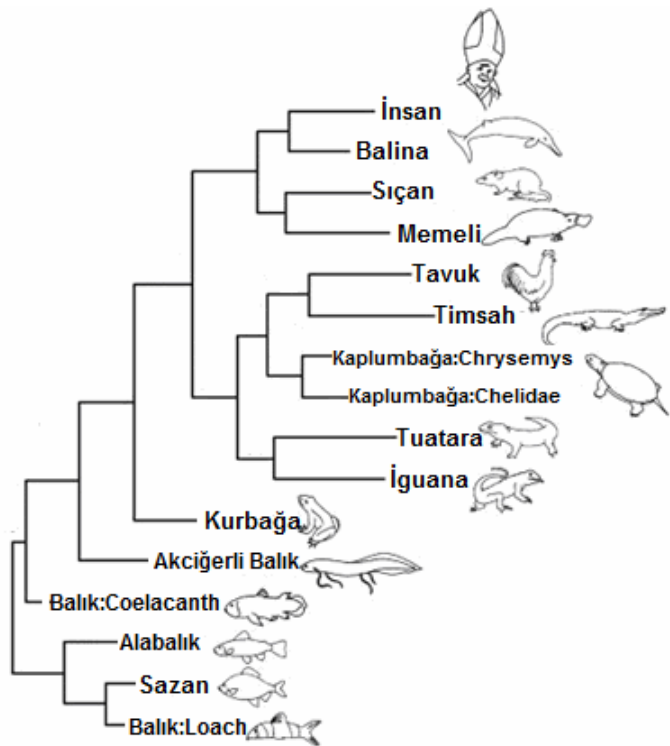
Günümüze kadar yapılan çeşitli moleküler çalışmalar, kaplumbağaların Tuatara, kertenkele ve yılanların dahil olduğu Lepidosauria grubunun dışında yer aldığı ve timsah ile kuşların bulunduğu Archosauria grubuna kardeş grup olduğunu ortaya koymuştur (Şekil 1.1) (Hennig, 1983; Lee, 1997; Zardoya ve Meyer, 1998).

Kumazawa ve Nishida (1999) kaplumbağaların orijininin sonradan kaybolan iki çift temporal açıklık ile archosauromorph bir atadan geldiğini güçlü istatistiksel testlerle ortaya koymuştur. Ayrıca kaplumbağa soy hattının orijininin, paleontolojik kayıtlardan (Benton, 1990) en az 240 MYÖ meydana geldiği saptanan Aves ve Crocodilia grupları arasında meydana gelen ayrımdan daha önce, hatta kabaca 260 MYÖ meydana geldiği hesaplanan archosauromorph ve lepidosauromorph arasında oluşan ayrımdan da önce oluştuğu saptanmıştır. Buna göre, archosaurian soy hattından kaplumbağaların ayrılmasının en eski kaplumbağa olarak bilinen geç Trias dönemindeki *Proganochelys*'in ortaya çıkışından biraz daha önce Permiyen döneminden geç Triyas'a kadar olan bir zaman dilimi içerisinde meydana geldiği belirlenmiştir (Kumazawa ve Nishida, 1999).

Protein sekansları (LDH-A, LDH-B ve α -enolaz) kullanılarak yapılan çalışmalarda timsahların kaplumbağalara en yakın canlı grubu olduğu

belirlenmiştir (Mannen vd., 1997; Mannen ve Li, 1999; Liao vd., 2001). Bu filogeni büyük oranda, Captorhinidler veya Pareiasaurus olarak adlandırılan kaplumbağaların, en yakınları arasında gösterilen, soyu tükenen Paleozoik anapsidlerin ilkel karakterleri olan temporal açıklıklarının olmamasına bağlıdır (Kumazawa ve Nishida, 1999). Liao vd. (2001) kaplumbağaların timsahlardan 177 MYÖ, yumuşak kabuklu kaplumbağaların ise diğer kaplumbağalardan 100 MYÖ ayrıldığını tespit etmişlerdir.

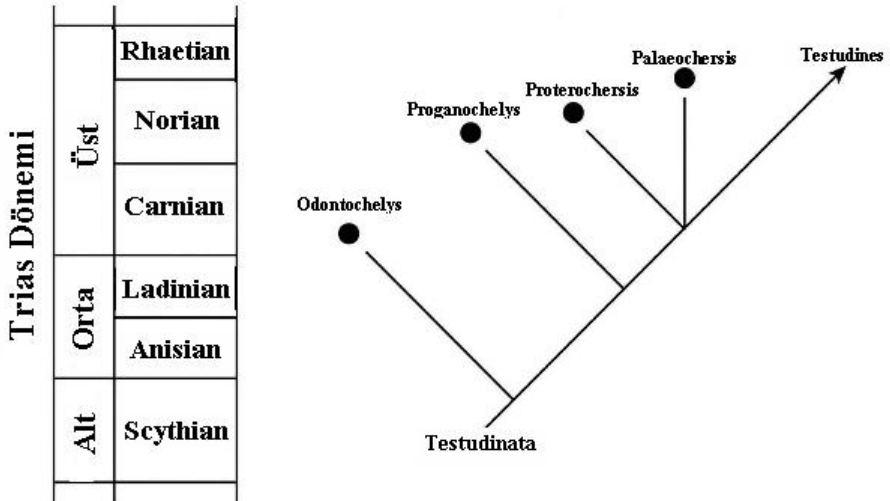
Gerek fosil temelli (Benton, 1997) gerekse diğer moleküler tekniklere (Kumar ve Hedges, 1998) dayanarak yapılan çalışmalarda, büyük tetrapod gruplarının evrimsel süreçte birbirlerinden ayrılma zamanları için aşağıdaki diyagram ortaya konmuştur (Şekil 1.1).



Şekil 1.1. MtDNA'ya göre bazı omurgalı grupları arasındaki filogenetik ilişki (Zardoya ve Meyer, 1998)

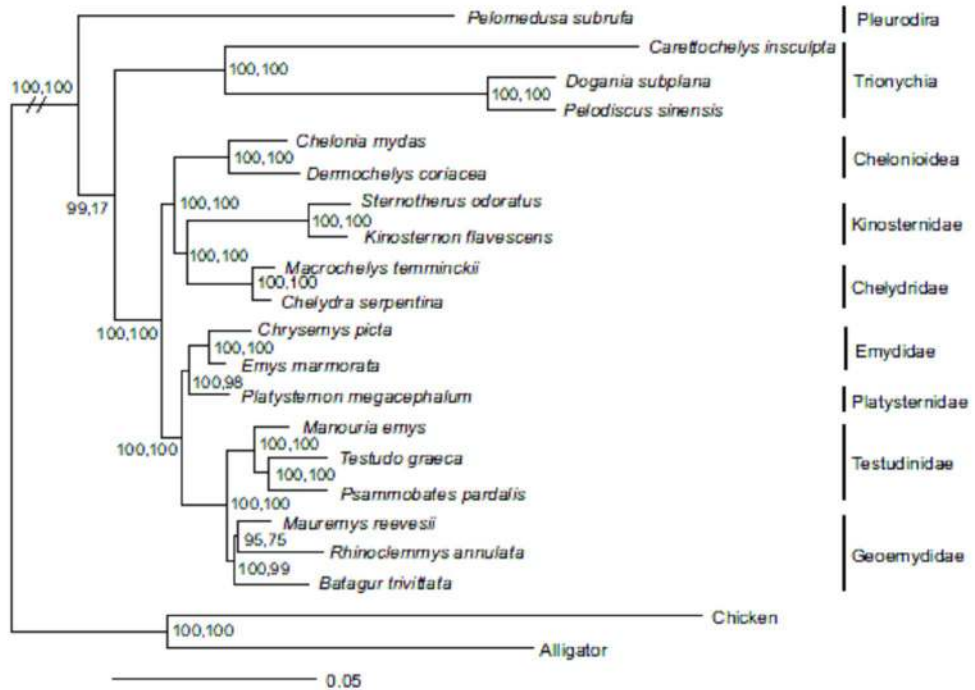
Buna göre, timsah-kaplumbağa ayrımının günümüzden 151.6 ± 23.7 MYÖ gerçekleştiği tahmin edilmektedir (Zardoya ve Meyer, 1998). Laurin ve Reisz (1995) en eski kaplumbağanın fosil kaydı ve moleküler tahmin ile kaplumbağaların 100 MYÖ çeşitlendiğini belirtmiştir. Gaffney (1990) fosil kayıtlara göre, en eski kaplumbağanın son triyasik dönemde (en az 200 MYÖ) yaşamış olan *Proganochelys* olduğunu tespit etmiştir. Bu iki çalışma arasındaki 100 MY'lık fark parareptillerin kaplumbağalara en yakın grup olup olmadığı hususundaki tartışmadan kaynaklanmaktadır (Lee, 1995; Platz ve Conlon, 1997). Bu nedenle, günümüz çalışmalarında kaplumbağalar, diapsidlerle ilgili karşılaştırmalı çalışmalarda ideal bir dış grup olarak kullanılmaktadır. Mannen ve Li (1999) karşılaştırmalı morfolojistlerin, kaplumbağaların filogenetik durumları tamamıyla çözülene kadar diapsidler içinde bir dış grup olarak kullanılmaları hakkında daha dikkatli olmaları gerektiğini ifade etmiştir.

Geç Triyas döneminden en eski kaplumbağa olarak bilinen *Proganochelys*'e ait kanıtlar onun kökeni hakkında bir ipucu vermemektedir. Li vd., (2008) günümüzden 220 MYÖ'ne ait olan ve nispeten *Proganochelys*'ten daha eski bir geçmişe sahip *Odontochelys* isimli yeni bir familya tanımlamışlardır (Şekil 1.2). Söz konusu çalışmaya göre, bilinen bütün kaplumbağa ve fosillerinin en eskisi *Odontochelys* olarak tespit edilmiştir (Li vd., 2008).



Şekil 1.2. Kaplumbağaların evrimsel soyağacı (Li vd., 2008)

Barley vd. (2010) kaplumbağa familyaları arasında evrimsel ilişkiyi ortaya koymuştur (Şekil 1.3). Buna göre; Carettochelyidae ve Trionychidae familyalarını içeren Trionychia grubun Pleurodiralardan ayrılmasından sonra diğer kaplumbağa familyalarının evrimleştiği tespit edilmiştir.



Şekil 1.3. Kaplumbağa familyaları arasındaki filogenetik ilişkiyi gösteren ağaç (Barley vd., 2010)

1.2. Trionychidlerin Evrimsel Gelişimi

Trionychidae familyası günümüzde 250 türden daha fazlasını içermektedir (geç mezozoikten günümüze kadar yaşamış 230 fosil kayıt ve 13 cinse ait 31 mevcut tür). Antarktika kıtası hariç diğer bütün kıtalarda yayılış göstermektedir (Rhodin vd., 2008). Kratase jeolojik döneminin başlarında Asya'dan orjinlenen Trionychidae familyası Kratase'nin sonlarında Kuzey Amerika'dan ayrılmış ve Tersiyer'de Antarktika kıtası haricinde tüm kıtalarda yayılış göstermiştir (Romer, 1956; Hirayama vd., 2000; Lapparent de Broin, 2000; Joyce ve Lyson, 2010).

1.2.1. Morfolojik ve Osteolojik Özelliklerine Göre Evrimsel Durumu

Yumuşak kabuklu kaplumbağalar (Trionychidae) Asya kıtasının Kratese jeolojik döneminin başlangıcından (yaklaşık 100–140 MYÖ) günümüze kadar gelen, yüksek oranda morfolojik çeşitlilik gösteren kaplumbağaların eski bir grubudur (Meylan ve Gaffney, 1992). Trionychid kabuğu diğer kaplumbağalarla kıyaslandığında dorsoventral yönde yassılaşmış ve üzeri kemikleşmiş plak tabakanın yerine deri bir tabakayla örtülmüştür. Boyunları uzun ve içeri çekilebilme özelliğindedir. Ön ve arka üyelerinin her biri 3 adet uzun tırnak bulundurlar ve suda yüzmek için pedal gibi kullanırlar. Esnek olan karapas kenarları trionchidlerin çamurlu çevrelere iyi adapte olmasını sağlamıştır. Esnek yapıdaki bu karapas kenarları sayesinde, nehir, göl veya deniz ekosistemlerinin dip sedimentlerini dalgalandırma hareketi ile kazarak korunma amaçlı kendilerini kamufle ederler (Ernst vd., 1994).

Trionychidler tipik olarak uzayan bir boyun ve uzun bir burun yapısına sahiptirler. Bu özelliklerini çamurda gizlenmiş halde bulunduğu sırada avına saldırma veya nefes almak için su yüzeyine ulaşmak amacıyla kullanırlar. Günümüzde var olan bütün yumuşak kabuklu kaplumbağalar büyük oranda sucul ortamda yaşarlar ve çoğu balıkların önemli predatörleri konumundadır. Dış morfolojileri değişkenlik göstermesinden dolayı taksonomik ve filogenetik amaçlar için kullanmak son derece zordur. Bunun yerine tür veya gruplar arasındaki ayrımı sağlamak için genellikle osteolojik karakterler kullanılır (Meylan, 1987; Ernst vd., 2000; Praschang ve Gemel, 2002; Praschang vd., 2007).

Trionychidae familyasına ait kaplumbağalar, diğer kaplumbağaların çoğunda karakteristik olan karapas plaklarının kaybı, kabuk kemik elementlerinin azalması gibi özelliklere sahiptirler. Coğrafik olarak geniş bir alanda yayılış gösteren bu familya üyeleri, eski ve morfolojik olarak diğer kaplumbağalardan farklı tuhaf görünüşte olan kaplumbağalardır. Trionychidlerde var olan düz vücut yapısı, bu canlıların yaşam alanı konumundaki su, kum veya bataklık alanların oluşturduğu harekete karşı direnci azaltır. Bununla birlikte trionychidlerde vücudu çevreleyen peripheral kemiklerin kaybolmasından dolayı toplam karapas ağırlığı ile birlikte tüm vücut ağırlığında dikkate değer bir azalma meydana gelmiştir (Pritchard, 1984). Peripheral ve neural kemiklerin sayısındaki düşüş ile birlikte 7. pleural ve nokal kemiğin büyüklüğündeki azalmadan dolayı trionychid kabuğunda bir ağırlık

kaybı söz konusudur. Ayrıca bu durum, kaplumbağanın sudaki hareketi esnasında, kabuğun su direncini azaltmak üzere özelleşmiş bir şekil almasını sağlamıştır. Bu gruba giren kaplumbağalar, karapaslarında yer alan kemik plaklarında bir azalma olmasına rağmen, geçmişte yayılış alanlarının büyük bir çoğunluğunda kaplumbağa yiyen timsahlarla bir arada yaşamışlardır (Meylan, 1987). Meylan (1987) trionychidlerin bu koşullar altında hayatta kalmasını predatörlerden saklanabilme ve hızlı yüzebilme yeteneklerine bağlamıştır. Kaplumbağalar arasında en hızlı yüzen türlerin bazıları trionychid grubunda yer almaktadır (Webb, 1962). Özelleşmiş kabukları, balık ve diğer yüzen avlara karşı hızlı predatör saldırı yapmaları için de avantaj sağlar (Mustoe ve Girouard, 2001).

1.2.2. Trionychidae'ye ait Fosil Kayıtlara Göre Evrimsel Durumu

Trionychidae familyasında yer alan kaplumbağalardan bazıları, dünya'da yayılış gösteren en büyük kaplumbağalardandır (Pritchard, 2001). Ayrıca bu familyaya mensup çoğu kaplumbağa, IUCN Kırmızı Listesi'ne göre "nesli tükenmeye başlayan" hayvanlar grubundadır (Van Dijk vd., 2000). Mevcut trionychidler Kuzey Amerika, Avrupa, Afrika, Asya ve Doğu Hindistan olmak üzere çok geniş bir dağılış sahasına sahip (Iverson, 1992) olmaları yanında Avustralya'dan da fosil kayıtları mevcuttur (Gaffney, 1979a). Hutchinson (1982) Kuzey Batı Amerika'dan elde ettiği fosil kayıtlara göre Trionychidae'nin Senozoik devirde yaşayan 11 sürüngen familyasından biri olduğunu tespit etmiştir.

Trionychidlerin evrimsel süreçte meydana gelen karakter değişimlerinin nedenlerini açıklayan birçok olasılık mevcuttur:

- (1) Büyük oranda ağız ile avını yakalamak için seçim
- (2) Çok hızlı bir şekilde yüzebilme için seçim
- (3) Büyük oranda sucul kazmaya uygun üye için seçim (Pritchard, 1984)

Trionychidlerin Carettochelyidlerden evrimleştiğini gösteren önemli evrimsel olay peripherallerin kaybıdır (*Lissemys* cinsi hariç). Söz konusu durum, vertebral orta hatta kaburga başlarının çok ince ve geniş sütur oluşturmalarıdır. Büyük kaburga başlarının gelişimi, plastronun (peripheraller yoluyla) kullanımına yapısal bir alternatif oluşturur. Sonuç olarak trionychid kabuğu pedamorfik olabilir; yani embriyonik dönemde karapas gelişimindeki son adım asla meydana gelmez.

Pedamorfizmin, trionychidlerin kabuklarının evrimleşmesini sağlayan mekanizma olabileceği düşünülmektedir (Meylan, 1987).

Trionychidlerin fosil kayıtları oldukça yaygındır ve geç Kretase döneminden bazı fosil taksonlar içermesi nedeniyle modern cins içinde sınıflandırılmıştır (Chkhikvadze, 2000). Bu fosil kayıt ve taksonun yüksek miktarda apomorfik morfolojik karakterlere sahip olması, bu grubun evrimsel olarak eski olabileceğini ortaya koymaktadır (Engstrom vd., 2004). Fosil kayıtlardan Trionychidlerin Palaeogene döneminde Avrupa'da bulunduğu ve Pliosen/Pleistosen'e kadar da Avrupa'nın önemli sürüngenleri içerisinde yer aldığı tespit edilmiştir (Lapparent de Broin, 2001; Danilov, 2005). Bununla birlikte, Trionychidae familyasının ilk evrimine ilişkin 2 olasılık bulunmaktadır (Joyce ve Lyson, 2010): (1) Temel Trionychid ayrımı Asya'da meydana gelmiştir, (2) Trionychidlerin Kuzey Amerika'ya ayrı bir soy hattı olarak geçişinden sonra meydana gelen vikaryans olayı ile ayırım gerçekleşmiştir.

Pritchard (1984) *Chitra*'nın atasal trionychidler için en iyi model olduğunu ve trionychidlerin vücut yapısının hızlı predatör saldırısı için meydana gelen bir adaptasyon olduğunu öne sürmüştür. Buna kanıt olarak, *Chitra* ile Avrupa'da Jura veya Kretase döneminde yaşamış olan *Chitracephalus dumonii* (Dollo, 1884) kafataslarının benzerliklerini göstermiştir. Ayrıca *Chitra*'nın trionychidler arasında en iyi gelişen etçil hayvan olduğunu ve diğer formların ikincil olarak oluştuğunu ortaya koymuştur. Mustoe ve Girouard (2001) Kuzeybatı Washington/ABD'de Tersiyer döneminin başlangıcından kalmış, Trionychidae familyasına ait olduğunu belirledikleri bir fosil etmiştir.

1.2.3. Trionychidae Filogenisi

Diğer kaplumbağalarla yumuşak kabuklu kaplumbağaların akrabalığı her zaman tartışma konusu olmuştur. Bazı araştırmacılar bu familyanın Cryptodira ve Pleurodira dışında ayrı bir alttakım altında sınıflandırılması gerektiğini belirtmişlerdir (Boulenger, 1889; Siebenrock, 1909; Bergounioux, 1955). Bazı morfolojistler ise, bu familyanın Carettochelyidae, Dermatemydidae ve Kinosternidae familyalarına akraba olan bir grup olduğunu öne sürmüşlerdir (McDowell, 1961; Gaffney, 1975, 1984). *Carettochelys* grubu belirlendiğinden beri araştırmacılar, bu cinsi Trionychidlere en yakın grup olarak kabul etmişlerdir

(Boulenger, 1889; Pritchard, 1967). *Carettochelys* ve Trionychidae arasındaki yakın akrabalığı tanımayan araştırmacılar arasında bazıları, bu iki grubu bir süperfamilya altında birleştirmişlerdir (Trionychia olarak Joyce vd., 2004; Trionychoidea olarak Shaffer vd., 1997). Son moleküler çalışmalar ise Avustralya/Yeni Gine domuz burunlu kaplumbağa (Carettochelyidae: *Carettochelys insculpta*) ile yumuşak kabuklu kaplumbağaları kardeş gruplar olarak ortaya koymakta (Shaffer vd., 1997; Starkey, 1997; Fujita vd., 2004) olup, bu iki grubun oluşturduğu dal, yaşayan diğer tüm Cryptodirlerin ve yaşayan diğer bütün kaplumbağaların kardeş grubu olarak göstermektedir. Moleküler veriler ve fosil kayıtlar Trionychia ve diğer tüm kaplumbağalar arasındaki ayrımın günümüzden yaklaşık olarak 90-120 MYÖ gerçekleştiğini ortaya koymaktadır (Shaffer vd., 1997).

Bazı morfolojistler, Carettochelyidae ve Trionychidae ile Dermatemydidae ve Kinosternidae gruplarını birlikte değerlendirmişlerdir (McDowell, 1961; Albrecht, 1967; Zug, 1971a; Gaffney, 1975, 1984). Gaffney (1975) bu 4 familyayı Trionychoidea süperfamilyası altında birleştirmiştir. Trionychidae familyası içindeki akrabalık ilişkilerini ortaya koyan temel bilgi, Meylan (1987)'nin kafatası, kabuk ve postkranial iskelet temelli morfolojik karakterlerin analizine dayanmaktadır. Meylan (1987) bu çalışmada, 4 familyanın monofiletik bir grup olduğu hipotezini desteklemiş ve bu monofili durumunu 9 osteolojik karaktere dayanarak ortaya koymuştur. Osteolojik verilere göre, Dermatemydidae familyası diğer 3 familyaya kardeş grup olarak ortaya konmaktadır (Meylan, 1987).

Trionychidae familyası monofiletik değildir. Sistematik çalışmalar (Gaffney, 1975, 1984; Meylan, 1985) familyayı monofiletik bir grup olarak tanımlarken, Meylan (1987) osteolojik verilere dayanarak bunun mümkün olmadığını tespit etmiştir.

Meylan (1987) Flap-Shelled (Dudaklı) kaplumbağaları Cyclanorbinæ olarak ayrı bir altfamilyaya ayırmıştır. Geri kalan yumuşak kabuklu kaplumbağalar ise Trionychinae altfamilyasına dahil edilmiştir. Dudaklı kaplumbağalarda monofili söz konusudur (De Broin, 1977). Ayrıca Meylan (1987) Cyclanorbinæ için 12, Trionychinae için ise 9 adet paylaşılan morfolojik karakter belirlemiş ve bu iki alt familyanın kuvvetli bir şekilde reziprokal monofili olduklarını ortaya koymuştur.

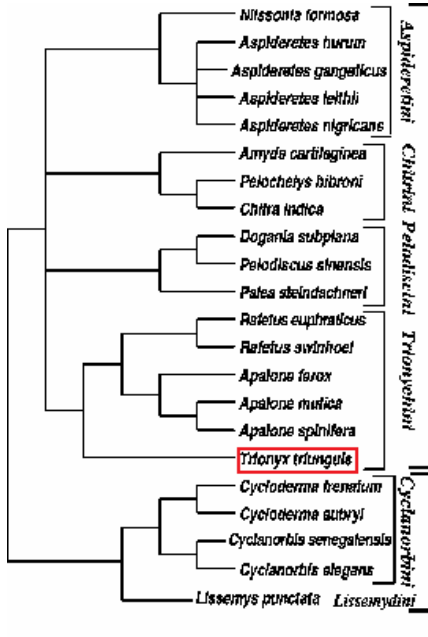
Meylan (1987) Trionychinae altfamilyasını 4 gruba ayırmış ve bu altfamilyanın monofiletik olduğunu öne sürmüştür. Bu gruplar;

- 1- Üç eski dünya türünü (*Trionyx triunguis*, *T. euphraticus* ve *T. swinhoei*) ve üç Kuzey Amerika formunu (*T. ferox*, *T. muticus* ve *T. spiniferus*) içeren Kuzey Amerika grubu,
- 2- Hindistan grubu; *T. gangeticus*, *T. leithii*, *T. hurum* ve *T. nigricans*
- 3- *Trionyx steindachneri* grubu; *T. steindachneri*, *T. sinensis* ve *T. subplanus*
- 4- *Trionyx cartilagineus* grubu; *T. cartilagineus*, *Chitra indica* ve *Pelochelys bibroni*.

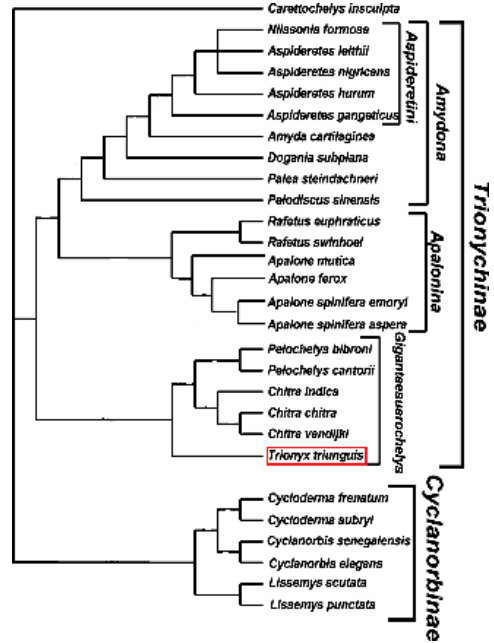
Hummel (1929) tarafından gerçekleştirilen revizyondan Meylan (1987)'ye kadar olan dönemde Trionychidae familyasına mensup bireyler (*Chitra* ve *Pelochelys* dışındaki), *Trionyx* isimli tek bir cinsten toplanmaktaydı. Meylan (1987) kladistik sınıflandırma ile önceleri sadece *Trionyx* cinsi içinde yer alan türleri 9 cins ve 15 türe ayırmıştır (Şekil 1.4). Meylan (1987) böylece Trionychidae içindeki cins sayısını 3'ten 11'e yükseltmiştir. Meylan (1987) bu 11 cinsi 4 tribusun içinde gruplandırmıştır. Bu tribuslar: Chitrini, Aspideretini, Trionychini ve Pelodiscini. Bu dört dalın her birinin monofili durumunu çok iyi bir şekilde ortaya koymasına rağmen, tribuslar arasındaki akrabalığı çözememiştir. Tek büyük bir cins olarak *Trionyx*, Trionychinae altfamilyasına giren bazı yumuşak kabuklu kaplumbağalar için hala kullanılmasına rağmen (Plummer, 2001), genel olarak Meylan (1987)'nin sınıflandırması kullanılmaktadır (Weiscrock ve Janzen, 2000; Engstrom vd., 2004).

Engstrom vd. (2004) Trionychinae ve Cyclonorbinae altfamilyaları arasında monofili olduğunu belirlemiştir (Şekil 1.5). Gerçekleştirdikleri analizler sonucunda, Meylan (1987)'nin aksine, Chitrini, Pelodiscini ve Trionychini tribuslarının monofili durumunu kabul etmemektedirler. Bunun nedeni olarak ta, Meylan (1987)'de, özellikle Chitrini ve Trionychini tribuslarının herbirinde birer taksonun hatalı bir şekilde sınıflandırılması olarak ortaya koymuşlardır. Sadece Aspideretini tribusunun monofiletik olduğu belirlenmiştir. Trionychidae içerisinde ayrılan iki dal, Trionychinae ve Cyclanorbinae, hem Meylan'ın morfolojik verileri hem de Engstrom (2004)'ün moleküler verileri tarafından desteklenmiştir.

Meylan (1987)'ye kadar olan hiçbir çalışmada *T. triunguis* Kuzey Amerika grubuna dahil edilmemiştir. Loveridge ve Williams (1957) *T. triunguis*'i, *T. sinensis* ve *T. steindachneri* ile birlikte Kuzey Amerika grubuna kardeş grup olarak göstermiştir. deBroin (1977), *T. triunguis*'i, Kuzey Amerika formları evrimleşirken onlardan bağımsız olarak ayrılıp evrimleşen kalıntı bir grup olarak göstermiştir. Meylan (1987) osteolojik verileri temel aldığında K. Amerika grubu'nun en iyi kardeş grubu olarak *T. triunguis*'i belirlemiştir. *T. triunguis* türü *Trionyx* cinsinin tip türü olması açısından taksonomik olarak oldukça önemlidir.



Şekil 1.4. Osteolojik karakterlere göre Trionychidae familyasına ait türler arasındaki akrabalık ilişkisi (Meylan, 1987)



Şekil 1.5. Çekirdek ve mtDNA verilerine göre Trionychidae familyasına ait türler arasındaki akrabalık ilişkisi (Engstrom vd., 2004)

Engstrom vd. (2002) *Chitra* cinsine ait yumuşak kabuklu kaplumbağaların mitokondrial DNA'nın *ND4* gen bölgesini kullanarak yaptıkları filogenetik analizler sonucunda *Chitra chitra* ve *C. indica* türlerinin birbirlerinden önemli derecede ayrım gösterdiğini, bununla birlikte Myanmar'dan elde edilen örneklerin bu iki türden ayrı bir tür olarak ele alınması gerekliliği ortaya koymuştur.

Engstrom vd. (2004) genellikle nehir ağzlarında yaşayan *Trionyx*, *Pelochelys* ve *Chitra* cinslerinin aynı dalda yer aldıklarını tespit etmiştir (Şekil 1.5). Bu grup,

yaşayan Trionychidlerin en eski atasal grubu olabilir. Bu dalın günümüze kadar neslini devam ettiren tüm üyeleri, yetişkinlerinin oldukça büyük vücut büyüklüğüne sahip olması, yani genellikle karapas uzunluğunun 100 cm.yi aşması (Pritchard, 2001) ve sık sık denizel habitatları veya nehirlerin denize dökülen bölümlerini kullanması ile karakterize edilmektedir (Ernst ve Barbour, 1989). Engstrom vd. (2004) bu özelliklere paralel olarak *Trionyx*, *Pelochelys* ve *Chitra*'nın oluşturduğu dala 'Gigantaestuarochelys' adını vermişlerdir. Ayrıca *Chitra* ve *Pelochelys*'in oluşturduğu Meylan (1987)'nin Chitrini olarak isimlendirdiği dal da 'Chitraina' olarak isimlendirilmiştir. Trionychidae familyasına ait 5 tane monotipik cins (*Amyda*, *Dogania*, *Palea*, *Pelodiscus* ve *Trionyx*) yer almaktadır. Engstrom vd. (2004) bunlardan, *Amyda cartilaginea*, *Dogania subplana*, *Palea steindachneri* ve *Peladiscus sinensis* ile birlikte *Aspideretini* tribusunun yakın akraba olduğunu tespit etmiş ve bu taksonların oluşturduğu dala yeni bir isim olarak 'Amydona', Meylan, (1987) tarafından Trionychini olarak belirtilen *Apalone* ve *Rafetus* cinslerinin oluşturduğu dala ise 'Apalonina' adını vermiştir. Bununla birlikte, Amydona ve Apalonina'nın birlikte oluşturdukları grup Gigantaestuarochelys'e en yakın grup olarak ortaya konmuştur (Şekil 1.5).

Praschang vd. (2007) mtDNA *sitokrom b* geninde gerçekleştirdikleri moleküler filogeni çalışmasında Trionychidae familyasında yer alan ve önceleri *Nilssonia* cinsi ile aralarında parafili durumu söz konusu olan (Engstrom vd., 2004) *Aspideretes* cinsine giren 4 türü (*Aspideretes gangeticus*, *A. hurum*, *A. leithii*, *A. nigricans*) *Nilssonia* cinsine dâhil etmiştir.

1.3. *Trionyx triunguis* FORSKÅL, 1775

Sinonimler: *Testudo striata* Suckow 1798

Trionyx aegytiacus Geoffroy 1809

Trionyx niloticus Gray 1831

Trionyx labiatus Bell 1837

Trionyx mortoni Hallowell 1844

Aspidonectes aspilus Cope 1860

Fordia africana Gray 1869

Trionyx triunguis Peters 1876

Trionyx triunguis rudolfianus Deraniyagala 1948

Trionyx triunguis Alderton 1988

1.3.1. Morfoloji

Kaplumbağalar, dişsiz, anapsid ve kemik bir kabuk ile üstleri örtülmüş ovipar özellik gösteren sürüngenlerdir. Genellikle üzerlerini örten kemik kabuğun üzeri epidermal plaklarla örtülmüştür. Kaburga kemikleri, leğen kemiği ve göğüs kemiği karapasta birleşmiştir. Klavikula ve interklavikula plastrondaki modifiye edilmiş alt kaburgalarla birleşmiştir. Boyun omurunun çıkıntısı Cryptodira alttakımında kaybolmuştur. Bu alttakımdaki kaplumbağalarda boyun geri çekilir. Pleurodira alttakımına giren kaplumbağalarda boyun omurundaki çıkıntı bulunduğundan boyunlarını geri çekemezler. Bunların yanında bütün kaplumbağalar poikilotherm özellik gösterirler (Meylan, 1987).

Güneydoğu Asya orijinli olan Trionychidae familyasına giren kaplumbağalar gece aktif olan etçil tatlı su kaplumbağalarıdır. Karapas ve plastronlarında epidermis orijinli plaklar olmamasına rağmen bu bölgelerin üstü ince bir deri ile örtülüdür. Gırtlak mukoza zarında yer alan yumak haldeki kapiler damar sistemi ve deri solunumunun yardımı ile suyun altında 15 saate kadar kalabilirler (Deckert vd., 1991).

Familyanın kürek şeklindeki üyelerinin her biri 5 parmaklı, bunların üçünde etkili, sivri tırnaklar mevcuttur. Burunları dışarıya doğru uzamış haldedir ve gözleri başının üst kısmındadır. Karapas ve plastron arasındaki bağlantı yerinde bulunan marjinaler çoğunlukla kaybolmuştur. Plastronda femoral çıkıntılar bulunmaz (Zug vd., 2001). Yumuşak kabuklu kaplumbağalarda karapas uzunluğu Çin yumuşak kabuklu kaplumbağasında (*Pelodiscus sinensis*) olduğu gibi 25 cm. ile Asya dev yumuşak kabuklu kaplumbağası (*Pelochelys cantorii*)'nda olduğu gibi 130 cm. arasında değişiklik gösterir (Stuart vd., 2001). *P. cantorii* ile neredeyse aynı büyüklükte (1.2 m.) olan *T. triunguis* kaydı bulunmaktadır (Kasperek, 2001). Grzimeck (1971) *T. triunguis*'e ait maksimum plastron uzunluğunu 90 cm. olarak tespit etmiştir. Trionychidae familyasının diğer üyelerinde karapas uzunluğu 40-60 cm arasında değişmektedir (Keller 2005).

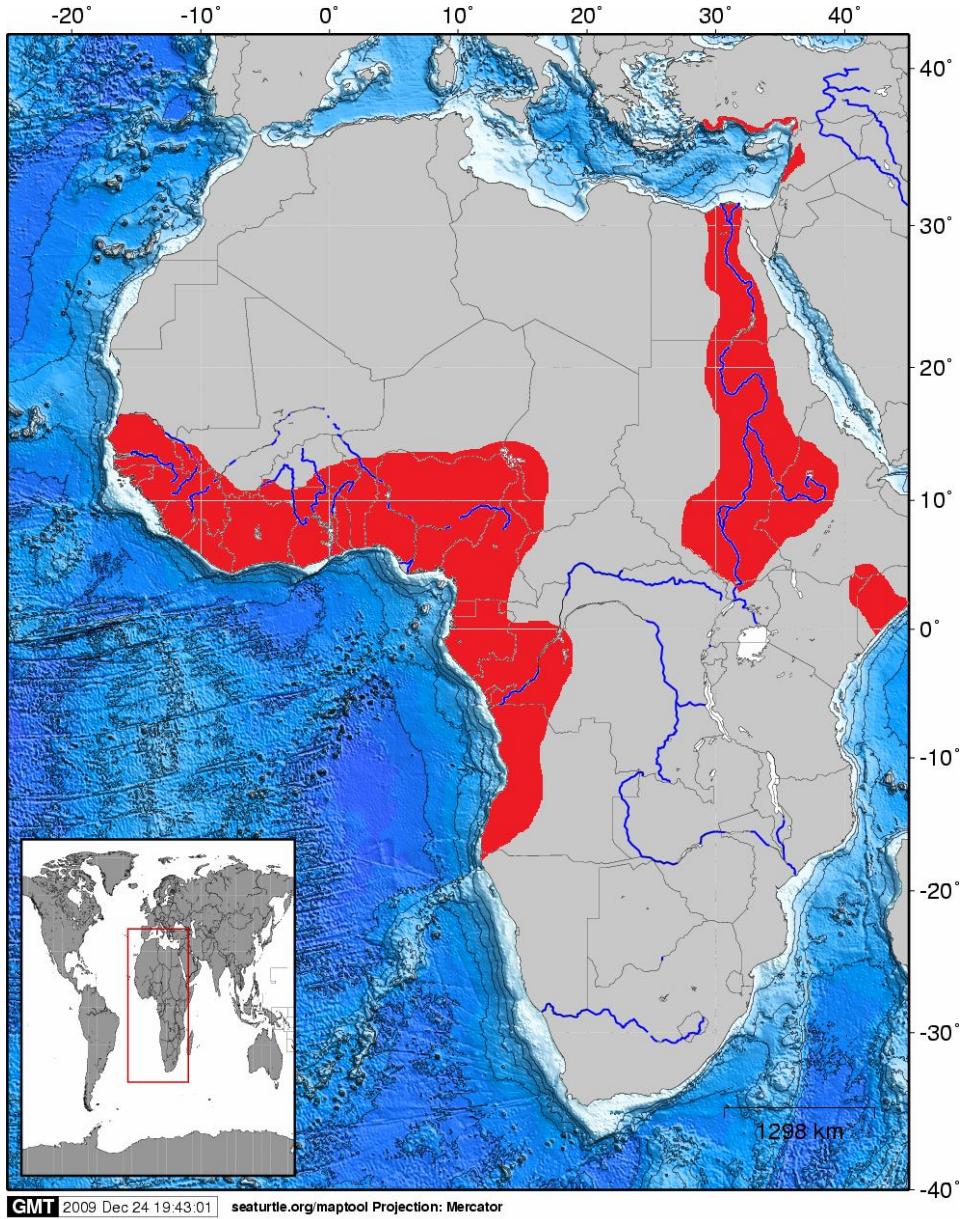
1.3.2. Biyoloji

1.3.2.1. Habitat

Göllerde, havuzlarda ve nehirlerin sığ kısımlarında yaşayan tamamıyla sucul özelliklere sahip canlılardır. Yumurta bırakma işlemini küçük kum tepelerinin vejetasyon olan kesimlerindeki bitki köklerine yakın bölümlerde gerçekleştirirler. *T. triunguis* genellikle hafif tuzlu suların bataklık bölümlerinde yaşadıkları bilinmelerine rağmen özellikle kış aylarında denizlerde türe ait çok sayıda kayıt tespit edilmiştir (Taşkavak vd., 1999; Kasperek, 2001; Taşkavak ve Akçınar, 2009). Bu durum, yaşam döngülerinin bir kısmını denizel ortamlarda geçirdiğinin bir göstergesidir. *T. triunguis*'in tuzlu suya olan geniş duyarlılık yeteneği, bu türe güneydoğu Akdeniz ve Avrupa'nın güneydoğusunda koloni oluşturabilme imkânı tanımıştır (Kasperek ve Kinzelbach, 1991, Venizelos ve Kasperek, 2006).

1.3.2.2. Yayılışı

T. triunguis günümüzde Türkiye'nin Akdeniz kıyıları ile birlikte Moritanya ve kuzey Namibya'dan Somali ve Mısır'a kadar olan bölümde yayılım göstermektedir. Güney Afrika dışında Afrika kıtasının büyük çoğunluğuna dağılmıştır: Kongo ve Batı Afrika'daki su kanalları, Mısır (Nil Nehri dışında), Eritrea, Etiyopya, Sudan, Güney Somali ve Kenya (Spawls vd., 2002), Angola, Benin, Çat, Fildişi Sahilleri, Namibya'nın kuzeyi, ve Senegal'in batısı, Mali (Caspary vd., 1998), Gabon, Gambia, Kamerun, Gana, Gine, Moritanya, Nijer, Nijerya, Raunda (Hinkel ve Fischer, 1988), Sierra-Leone, Suriye, Togo ve Uganda. Suriye, İsrail ve Türkiye, *T. triunguis*'in Akdeniz'deki en önemli yuvalama alanlarıdır (Nada, 2002; Venizelos ve Kasperek, 2006) (Şekil 1.6). Özellikle, İsrail'deki Alexander Nehri'nde türe ait yoğun bir populasyon bulunmaktadır ve bu alan en önemli yuvalama alanı olarak değerlendirilmektedir (Kasperek ve Kinzelbach 1991; Taşkavak vd., 1999). Yunanistan'ın Kos adası'nda sadece bir bireye ait kayıt bulunmaktadır (Taşkavak vd., 1999). Orta Doğu'da coğrafik olarak izole olan *T. triunguis*, Afrika'daki ana populasyonundan büyük oranda genetik farklılaşma göstermesi nedeniyle relik bir populasyon olarak değerlendirilebilir (Keller, 2005).



Şekil 1.6. *T. triunguis*'in Dünyadaki yayılış sahası (Türkozan (2007)'den uyarlanmıştır)

Populasyon büyüklüğünü belirlemek için ayrıntılı bir çalışma olmamasına rağmen Akdeniz populasyonunun 1.000 bireyden daha az olduğu tahmin edilmektedir (Venizelos ve Kasperek, 2006). MEDASSET'in 2002 yılında Nil Nehri'nde gerçekleştirdiği araştırmada türün bu bölgede son 20 yıldır görülmediği tespit edilmiştir (Nada, 2002). Buna göre, *T. triunguis*'in Mısır'da soyunun tükendiği

düşünülmektedir (Venizelos ve Kasperek, 2006). Ancak Amer ve Kumazawa (2009) gerçekleştirdikleri moleküler çalışmada bu türe ait örnekleri Nil Nehri'nin batı bölümünde yer alan Nasser Gölü'nden elde etmişlerdir.

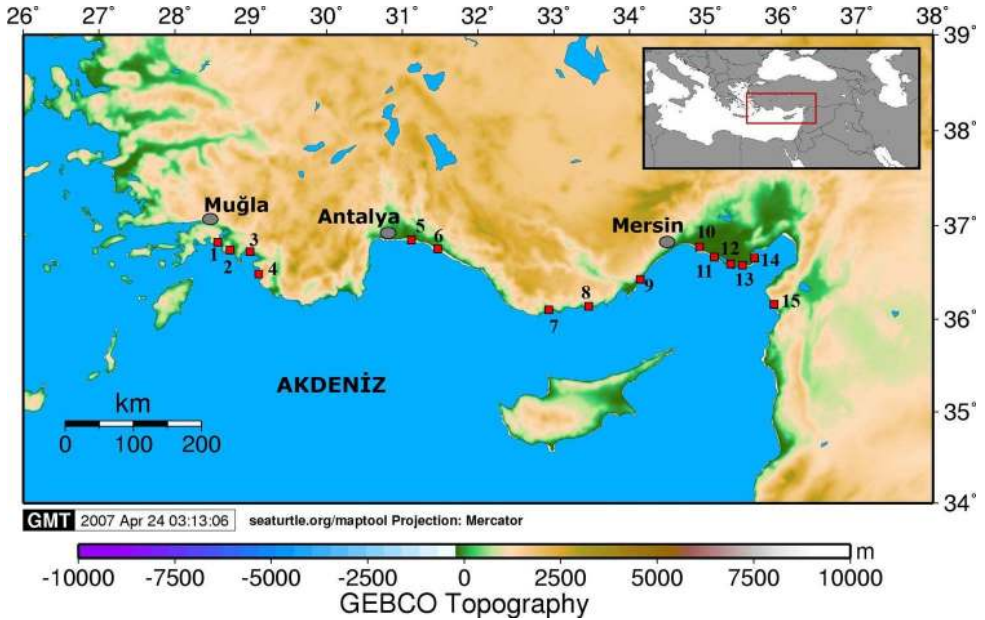
MEDASSET'in 1997 yılından beri Türkiye'de gerçekleştirdiği çalışmalar, Çukurova ve Dalaman deltalarının türün Akdeniz'deki önemli yuvalama alanları olduğunu göstermiştir. Ayrıca aynı çalışmada Çukurova ve Dalaman deltaları dışında Türkiye'de türe ait en az 8 yuvalama alanının daha olduğu ortaya konulmuştur.

Kasperek (2001) Türkiye'de türün yuvalama yaptığı 15 alan belirlenmiş, bu alanlardaki balıkçılar ve yerel halk ile görüşmesi neticesinde aldığı bilgiler ışığında populasyonları büyüklüklerine ve koruma önceliklerine göre Türkiye'de 3 kategori oluşturmuştur (Şekil 1.7).

I. Kategori: Dalaman ve Seyhan, en büyük ve en yüksek koruma öncelikli populasyon olarak belirtilmiştir.

II Kategori: Dalyan, Aksu/Acısü, Anamur, Göksu, Berdan çayı, Tuzla Direnaj kanalı, Karataş direnaj kanalı, Ceyhan ırmağı göreceli olarak büyük popülasyona sahip fakat yüksek koruma önceliği yoktur.

III. Kategori: Patara, Fethiye, Köprü Çayı/Acısü, Bozyazı, Asi Irmağı küçük popülasyona sahip ve türün hayatta kalması için koruma gereklidir.



Şekil 1.7. *T. triunguis*'in Türkiye'deki yayılışı (Kasperek, 2001): 1.Dalyan, 2.Dalaman, 3.Fethiye, 4.Patara, 5.Aksu Nehri, 6.Köprü Çayı, 7.Anamur, 8.Bozyazı, 9.Göksu Nehri, 10.Berdan Nehri, 11.Seyhan Nehri, 12.Tuzla drenaj kanalı, 13.Karataş drenaj kanalı, 14.Ceyhan Nehri, 15.Asi Nehri

1.3.2.3. Davranış

Yumuşak kabuklu kaplumbağalar, avlanmak için genellikle suyun kumlu veya killi dip kısımlarında saklanarak yaşarlar. Uzun bir boyun ve buruna sahip olmaları suyun yüzeyine çıktıklarında nefes almaları için kolaylık sağlar. Nil yumuşak kabuklu kaplumbağa akciğer, farinks, deri ve kloak solunumu yapabilir. Su yüzeyine çıkarak güneşlenme davranışını gerçekleştirirken pozisyonlarını korumak için üyelerini hafifçe kürek hareketi yaparak hareket ettirirler. Sudaki hareketlerini, üyelerinin suyu itmesi şeklinde gerçekleştirirler. Suyun içinde veya karada çok hızlı hareket edip yönlerini seri bir şekilde değiştirme yeteneğine sahiptirler (Burghardt vd., 1996; Keller, 2005).

1.3.2.4. Üreme

Dişi *T. triunguis* yaklaşık 100 pin-pon topu büyüklüğündeki yumurtayı aynı anda depolayabilir fakat bunların genellikle ancak 50 tanesini yumurtlar (Keller, 2005). Gidiş ve Kaska (2004) Dalaman bölgesinde yer alan *T. triunguis* için inkübasyon

süresini 55–56 gün olarak tespit etmiştir. Kaplumbağaların çoğunda fenotipe bakarak cinsiyet tayini yapılabilir. Deniz kaplumbağalarında cinsiyet yuva içi sıcaklığa bağımlı olarak belirlenirken (Keller, 2005), Trionychidlerde genotipik cinsiyet tayini söz konusudur. Yani, cinsiyet oranı, koruma önlemlerinin bir parçası olarak yapay sıcaklık değişimleri uygulanarak değiştirilemez, cinsiyet tayini sıcaklığa bağlı değildir (Bride, 2004; Keller, 2005).

1.3.2.5. Beslenme

Nil yumuşak kabuklu kaplumbağası karnivor olmakla birlikte besinlerinin büyük çoğunluğunu balıklar ve gastropodlar oluşturmaktadır. Bunların yanında sucul böcekler, krustaseler, kurbağa, kertenkele ve çeşitli bitkisel besinler de önemli besin kaynağıdır (Türkozan, 2007).

1.3.2.6. Tehditler

T. triunguis'in çok geniş dağılışıma rağmen Akdeniz popülasyonu yoğun balıkçılık aktiviteleri, sulama aktiviteleri yüzünden habitatların yoğun kullanımı, insan etkisi, su kirliliği, yuvalama alanlarının yok edilmesi ve teknelerin yol açtığı tahribat gibi nedenlerden dolayı büyük ölçüde tehdit altındadır (Kinzelbach 1986; Baran ve Kasperek 1989). Trol balıkçılığı bu türü tehdit eden en önemli tehlikelerden biridir. Bu kaplumbağalar hayat döngülerinin önemli bir kısmını denizlerde geçirirler (Kasperek, 2001; Taşkavak ve Akçınar, 2009). Oruç (2001) İskenderun ve Mersin arasında kalan bölgede trol ile avlanma çalışması gerçekleştirmiştir. Bu çalışmanın sonucunda 306 birey *Chelonia mydas*, 116 birey *Caretta caretta* ve 437 birey *Trionyx triunguis* türü kaplumbağa yakalanmıştır. Yakalanan bu kaplumbağaların %87'si suyun orta bölümündeki trolle yakalanmış geri kalanlar ise dip trolü (11-30m. arası) ile yakalanmıştır. Ayrıca özellikle kış aylarında yakalanan *T. triunguis* sayısının arttığı ve Aralık'ta bu sayının en yüksek seviyeye ulaştığı da bildirilmiştir (Bride, 2004).

1980'li yılların ortalarında Dalyan/Dalaman bölgesindeki turizm aktivitesindeki yoğun artış Nil yumuşak kabuklu kaplumbağa popülasyonunu yüksek oranda tehdit etmeye başlamıştır. Habitat yıkımı, tekne trafiği ve su kirliliği gibi etmenler bütün popülasyonların uzun vadede hayatta kalma olasılığı için büyük bir tehlike oluşturmaktadır. Bunun yanında, türün yırtıcı özelliğinden dolayı balık ağlarını

parçaladığı için balıkçılar tarafından öldürülmektedir (Venizelos ve Kasperek, 2006).

1.3.2.7. Koruma statüsü

T. triunguis Convention on the Conservation of European Wildlife and Natural Habitats Ek II: “Kesinlikle korunması gereken fauna türleri” kapsamındadır. Kasperek (2001) türün ergin birey sayısında giderek azalan bir durum söz konusu olduğunu ve bununla birlikte popülasyondaki birey sayısının 1.000 bireyin altına düştüğünü belirtmiştir (Kasperek, 2001). Bir popülasyonun kaybı türün genetik dimorfizminde güçlü bir kayba neden olmaktadır. Genetik havuzun zengin olması çevresel ve iklimsel şartlara türün daha iyi adaptasyonunu ve türün yaşamasını mümkün kılar (Wilson, 1998). Türkiye’de Nil yumuşak kabuklu kaplumbağası tam anlamıyla koruma altına alınmıştır. 2001 yılında MEDASSET Dalyan popülasyonunu Sınıf 2 (Korunması kuvvetle gerekli büyük popülasyon) olarak sınıflandırmıştır (Medasset, 2003).

1.4. Tatlı Su Kaplumbağalarında Koruma

Dünya’da yıllık 3.000-30.000 arasındaki hayvan türünün neslinin tükenmekte olduğu tahmin edilmektedir (Woodruff, 2001). IUCN (2008) raporuna göre memelilerin %15’i, kuşların %10’u, kurbağaların %35’i önümüzdeki 10–20 yıllık süre içinde nesli tükenme tehlikesi ile karşı karşıyadır. Ayrıca nesli tehlike altında olan bütün canlılar içerisinde sürüngenlerin oranı %2’dir. Nesli tehlike altında olan sürüngenleri tehdit eden faktörlerin en önemlisinin habitat kaybı olduğu belirlenmiştir. Habitat kaybı bu sürüngenlerin yaklaşık %85’inin hayatta kalma şansını olumsuz yönde etkilemektedir.

Kaplumbağa popülasyonlarının yaşam alanlarının maruz kaldığı kirlilik, habitat bozulması ve kaybı ile birlikte türlerin pet hayvanı olarak kullanımı, uluslararası ticareti, yollardaki ölümü ve besin amaçlı tüketim miktarındaki artışı ve buna paralel olarak aşırı avlanmadan dolayı Dünya’nın birçok bölgesinde sayısal olarak azalmaktadır (Gasith ve Sidis 1984; Bishop vd., 1998; van Dijk vd., 2000; Joyal vd., 2001; Gibbs ve Shriver, 2002; Moll ve Moll 2004). Bunun gibi koruma problemleri özellikle habitatları hızlı bir şekilde kaybolan bazı tatlı su hayvanları için ortaya çıkmaktadır.

1.4.1 Değişik Amaçlar için Hayvanların Yakalanması

İnsanın evrimleşmeye başladığı dönemden günümüze kadar olan sürede kaplumbağalar veya onların yumurtaları insanların önemli bir besin kaynağını oluşturmuştur. Günümüzde kaplumbağalar besin, mücevher (Kabuk ve iskelet parçaları) ve pet hayvanı olarak yaygın olarak bilinçsiz bir şekilde toplanmaktadır (Moll ve Moll, 2004). Bu nedenlerden ötürü kaplumbağaları korumak için çeşitli yönetim stratejilerinin uygulanmasının gerekliliği ortaya çıkmasına rağmen çoğu ülke ya bu stratejileri geliştirmemekte ya da çok azı uygulamaktadır (Kuchling, 1999; Moll ve Moll, 2004).

Roth ve Merz (1997) Trionychidae familyasındaki *Lissemys punctata* ve *Aspideretes spp.* türlerinin besin, ilaç ve pet hayvanı olarak toplandığını belirtmiştir. Ayrıca, Batı Afrika ve Doğu Asya'dan *T. triunguis* türüne ait örneklerin pet hayvanı ve besin amaçlı toplandığını ortaya koymuştur. Bununla birlikte, Amerika'da yumuşak kabuklu kaplumbağalardan *Apolone spinifera* türü özel tüketim amaçlı yaygın olarak toplanmaktadır (Moll ve Moll, 2004).

1.4.2 Çevresel Bozulma ve Habitat Kaybı

Yerleşim alanlarının gelişmesinin yanında küresel ısınmaya bağlı olarak artan sıcaklıklar, deniz ve akarsu kıyıları ile kıyı vejetasyonun yıkımı veya değişimi olarak ortaya çıkan habitat kaybına ve çevresel bozulmaya yol açmaktadır (Kuchling, 1999; Pertoldi vd., 2007). Artan sıcaklıklar ile türler yer değiştirmek zorunda kalabilmektedirler. Bu yer değiştirme esnasında lokal olarak bir nesil tükenmesi söz konusu olabilir. Geri kalan popülasyonlar, kendilerine uygun habitatlar azaldığı için taşıma kapasitesi düşük bölgelerde kalmaktadırlar. Bütün bunlara ek olarak, popülasyonlar veya bireyler arasında gen akışını azaltan insan kaynaklı habitat parçalanması, habitat kayıplarını hızlandırmaktadır (Pertoldi vd., 2007).

Tarım, yerleşim ve turizm alanlarının deniz veya nehir kıyılarına doğru ilerlemesi şeklinde ortaya çıkan çevresel bozulma, kaplumbağaların üreme ve beslenme bölgelerine olumsuz yöndeki etkisinden dolayı kaplumbağa türlerinin ekolojisi önemli derecede etkilenmektedir.

1.4.3. Genetik Çeşitliliğin Kaybı

Populasyonlar arasındaki izolasyonla birlikte populasyon büyüklüğündeki azalma, genetik çeşitliliğin kaybolmasına ve lokal yok oluşlara neden olabilir (Primack 1993; Frankham ve Ralls 1998).

Bir organizmanın karşılaşacağı çeşitli tehditlere olan tepkisi, organizmanın sahip olduğu genetik çeşitlilik miktarı ile doğru orantılıdır. Diğer bir ifadeyle, organizmanın genetik çeşitlilik azaldıkça tehditlere direnç gösterme şansı da düşmektedir. Bu tehditlerden habitat bozulması ve parçalanması genetik çeşitliliğin genetik sürüklenme yoluyla azalmasına neden olur (Amos ve Harwood, 1998). Ayrıca, insanlar tarafından habitatlara müdahaleler (yol ve baraj yapımı gibi), mevcut populasyonların birbirlerinden ayrılarak daha küçük populasyonların oluşumuna ve bu alt populasyonların oluşumu da genetik çeşitliliğin azalması ile sonuçlanabilir (Nagel, 2000).

1.5. Koruma Genetiği

Koruma, dünya üzerinde 3.5 milyar yıldır evrimleşmeyle meydana gelen genetik çeşitliliğin korunması için uygulanan girişimler olarak değerlendirilebilir (Eisner vd., 1995). Genetik çeşitlilik, tür ve ekosistem çeşitliliği ile birlikte koruma açısından IUCN tarafından tanımlanan biyoçeşitliliğin üç unsurundan biridir (McNeely vd., 1990). Genetik çeşitliliğin korunması, populasyonların yaşamlarını sürdürebilmeleri için son derece önemlidir. Çünkü genetik çeşitlilikte meydana gelebilecek bir azalma, soy içi üremenin artmasına ve buna bağlı olarak da uyum gücünde bir düşüşe neden olur (Allendorf ve Luikard, 2007). Türler üzerinde gerçekleştirilecek olan koruma genetiği çalışmaları, populasyon genetiği modellerine dayanmaktadır. Populasyon genetiği, populasyonların genetiği üzerine çalışan biyolojinin bir alanıdır. Zamana bağlı olarak populasyonlarda meydana gelen evrimsel değişimleri ve bu değişimlerle birlikte populasyon yapılarının nasıl şekillendiğini çeşitli modeller yardımıyla belirlemeye çalışır (Frankham vd., 2002).

Bir tür için herhangi bir koruma stratejinin ortaya konması, mevcut populasyonların genetik yapılarının belirlenmesine, populasyon içi veya populasyonlar arasındaki gen akışına ve populasyonlar arasındaki akrabalık

durumlarının tespitine bağlıdır. Bu tespitler sonucunda taksonlara veya popülasyonlara ayrı ayrı çeşitli koruma ve yönetim tedbirleri (“Evrimsel Önemli Birimler” ve “Yönetim Birimleri”) uygulanarak koruma stratejileri geliştirilebilecektir.

1.5.1. Evrimsel Önemli Birimler (Evolutionary Significant Units)

Koruma amaçlı olarak çeşitli popülasyon gruplarına “tür” dışında bir tanımlama ihtiyacı ortaya çıkmıştır (Avice ve Ball, 1990). Çözüm olarak evrimsel olarak farklılaşmış gruplarla tür arasındaki ayrımı belirtmek amacıyla “Evrimsel Önemli Birimler (ESU)” korumanın bir birimi olarak önerilmiş ve günümüzde popülasyonların devamlılığını sağlayıcı yönetim önerilerinin sunulması amacıyla yaygın olarak uygulanmaktadır (Waples, 1991; Moritz, 1994).

ESU, koruma yönetiminin en küçük birimi olarak ortaya konmuştur (Ryder, 1986). Buna göre bir tür, alttür veya popülasyon diğerlerinden morfolojik ve genetiksel olarak ayrılmışsa ve ayrı bir evrimsel geçmişe sahipse bu popülasyon “Evrimsel Önemli Birim” olarak tanımlanabilir. Bu terim daha çok takson olarak ifade edilemeyen grupları belirtmek amaçlı kullanılır. Genel olarak, bir alttür veya varyete terimlerini karşılar. Örneğin denizel hayvanlarda bu birimler “stok” olarak ifade edilirler.

Bir grubun ESU olarak değerlendirilebilmesi için çeşitli ölçütleri taşıması gerekmektedir:

(1) ESU’nun mtDNA allelleri için reziprokal monofili olması ve çekirdek lokuslarındaki allel frekansının önemli derecede farklılık göstermesi gerekir (Moritz, 1994).

(2) ESU, aynı türün diğer popülasyonlardan üreme özelliği bakımından büyük ölçüde izole olan popülasyon veya popülasyonun bir grubudur ve türün evrimsel kalıtımında önemli bir parçasını oluşturur (Waples, 1991).

ESU tanımlanırken en önemli amaç evrimsel olarak var olan çeşitliliğin korunması ve tanımlanmasının garanti altına alınmasıdır (Moritz vd., 1995).

1.5.2. Yönetim Birimleri (Management Units)

Bir popülasyondaki gözlenen genetik çeşitliliğin önceden belirlenen bir eşik değerden önemli oranda büyük olduğu durumlarda, o popülasyon için “Yönetim Birimi (MU)” değerlendirmesi yapılabilir. Moritz (1994) “Yönetim Birimi” terimini birçok lokustaki allel frekansı bakımından önemli derecede farklılık gösteren bir popülasyon olarak tanımlamıştır (Palsboll vd., 2006).

MU, ESU’dan farklı olarak uzun süreli evrimleşmeyi göstermez. İki den fazla sayıda popülasyonun korunması, türlerin uzun süreli devamlılıklarının sağlanmasını garanti altına almaktadır (Hughes vd., 1997; Hobbs ve Money, 1998). Ayrıca MU güncel popülasyon yapısı ve allel frekanslarını ele alırken, ESU geçmiş popülasyon yapısı ve mtDNA filogenisi üzerinden belirlenir. MU, ESU’dan daha küçük bir birimdir ve genellikle bir ESU’i temsil eden önemli bir metapopülasyonun içinde çeşitlenen alt popülasyonları ifade eder (Palsboll vd., 2006; Allendorf ve Luikard, 2007).

MU, doğal popülasyonların yönetiminin temelini oluşturmasıyla birlikte, sayısal olarak fazla birey sayısına sahip türlere insan aktivitesinin etkisini izlemek için çok önemlidir. Bunun yanında, sayısal olarak bağımsız popülasyonlar (popülasyondaki büyüme miktarı göçten ziyade doğum ve ölüm oranlarına bağlı) olarak tanımlanır. Bu üniteler, özellikle habitat ve popülasyon yönetimi, yerel ürün toplama kotalarının belirlenmesi, avlanma bölgelerinin tanımlanması gibi kısa dönem yönetim uygulamaları için ortaya konulmuştur (Allendorf ve Luikard, 2007). Ayrıca, oluşturulan yönetim birimleri içerisinde çeşitli alt yönetim birimleri oluşturulabilir. Bu alt birimlere ayrı yönetim uygulamaları uygulanabilir. Örneğin, hayvanların yer değiştirilmesi gerektiğinde bu işlem, popülasyonlar arasında değil, alt yönetim birimleri arasında gerçekleştirilir (Frankham vd., 2002).

1.6. Kullanılan Moleküler Belirteçler

Türlerin veya popülasyonların devamlılıklarını sürdürebilmesi genetiksel ve çevresel faktörlere bağlıdır. Bir organizmadaki genetik çeşitliliğin hesaplanması o organizma için uygulanacak koruma önlemlerinin belirlenmesi için önemli olabilmektedir (Faria ve Miyaki, 2006). Bununla birlikte genetik çeşitlilik gelecekte çevresel değişikliklere maruz kalma riski olan popülasyonlar için

gereklidir. Nötral genetik belirteçlerin türlerin evrimleşmesi için önemli olan genetik varyasyonu ortaya çıkardığının ortaya konmasıyla birlikte uygun genetik belirteçin seçiminin koruma çalışmaları için önemli olduğu belirlenmiştir (Frankham vd., 2002).

1.6.1. MtDNA

Populasyon ve filogenetik çalışmalarda mtDNA birçok nedenden dolayı tercih edilir. Mitokondri genomu, intronların bulunmaması, önemli oranda rekombinasyon içermemesi, her hücrede çoklu kopya bulunması ile birlikte gen dizilişi ve gen içeriği yüksek oranda korunmuştur (Avise, 1994, 2004). Ayrıca daha karmaşık olan çekirdek genomu ile kıyaslandığında mitokondrial dizi analizi çok daha kolay ve basittir. İnsan ve hayvan mtDNA'larının yaklaşık olarak 17 kb uzunluğunda, halkasal ve bütün genomun yaklaşık %1'inden daha azını oluşturduğu saptanmıştır (Davidson vd., 1989).

MtDNA'nın tümü 13 protein kodlayan gene sahiptir. Bunun yanında 2 rRNA (12S:omurgalılarda yaklaşık 900 bç ve 16S:omurgalılarda yaklaşık 1600 bç), 22 tRNA geni ve protein kodlamayan yalnızca replikasyon orijini içeren bazı gen bölgeleri (kontrol bölgesi: D-loop)'nden oluşmaktadır. Proteini kodlayan genler *NADH dehidrojenaz* (*ND1*, 2, 3, 4, 4L, 5, 6)'ın 7 alt birimi, *Sitokrom b*, *Sitokrom c oksidaz*ın 3 alt birimi (*cytc I*, II, III) ve *ATP sentetaz*'ın 2 alt birimi (*ATPaz 6* ve 8) olarak sıralanır. *Sitokrom oksidaz* ve *sitokrom b*'yi kodlayan genler en fazla korunan genler olmakla birlikte yüksek oranda farklılık gösteren genler *NADH dehidrojenaz* ve *ATPaz* genleridir. Bu protein kodlayan genlerden *sitokrom b* mayalarda 5 intron bölgesi bulundururken, hayvanlarda intron içermezler. Ayrıca *sitokrom b* "hem" grubu içerir ve solunum enzimi olarak da bilinir. *NADH-dehidrojenaz* alt birimlerini kodlayan genler sitrik asit döngüsü sırasında ifade olurlar. Enerjice zengin moleküllerdir ve yüksek transfer potansiyeline sahip birer çift elektron taşırlar. Krebs döngüsünün sonunda *NADH*, mitokondrilerin iç zarında bulunan elektron taşıma sisteminde oksijen tarafından oksitlenirler. Bu sırada açığa çıkan enerji oksidatif fosforilasyon ile Adenozin Tri Fosfat (ATP) yapımını sağlar.

Mitokondrial tRNA genleri nükleer tRNA genlerine oranla 100 kez daha hızlı evrimleşir (Brown vd., 1982; Meyer, 1993). Mitokondrial genin kendi içerisinde

evrimleşme nispeten yavaş olmasına rağmen, bu durum nükleer tRNA ile kıyaslandığında oldukça hızlıdır. tRNA gen bölgeleri korunmuş yapılarından dolayı polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) için gerekli olan primer dizaynı için oldukça elverişli bölgelerdir. Ancak filogenetik çalışmalarda uzunluklarının nispeten kısa olmasından dolayı tercih edilmezler. Mitokondri DNA'sı çift zincirli ve halkasal yapıdadır (Ağır-H zincir, hafif-L zincir). MtDNA'nın ufak bir bölümü üç zincirli DNA yapısındadır. Bu üçüncü zincir H zincirinin kısa bir segmentinin tekrarlayan sentezinden kaynaklanır. Bu üç zincirden oluşan alana D-loop bölgesi denir. D-loop bölgesi kodlanmayan bölgedir. Bu bölge içerisinde H (PH) ve L (PL) zincirlerinin promotor bölgeleri ve H (OH) zincirinin replikasyon orijini vardır (Russell, 2002).

MtDNA, histon gibi koruyucu proteinlerinin olmaması ve etkili bir tamir mekanizmasından yoksun olmalarıyla çekirdek DNA'sından farklılık gösterir. Bu tamir mekanizmasının olmamasından dolayı mtDNA, mitokondrinin iç zarında meydana gelen oksidatif fosforilasyon sonucu olarak açığa çıkan oksijen radikalleriyle doğrudan ilişki içerisinde. Bu oksijen radikallerinin etkisiyle meydana gelen O⁶-metilguanin, Timinle (T) eşleşme özelliği göstererek C:G çiftlerinin T:A çiftleri ile yer değiştirmesine yol açar. Tamir mekanizması işlevsel olan hücrelerde mutasyonun tamirinden sorumlu O⁶-metil transferaz enzimi, metil grubunu bir sistein yan zincirine taşır ve hücre membranından uzaklaştırır (Klug vd., 2006; Crozier ve Crozier, 1993).

MtDNA'nın çekirdek DNA'sından farklı olarak çok sayıda kopya DNA içermesi nedeniyle moleküler genetik çalışmaları için hayvan dokularından yeterli miktarda DNA izole edilebilir (Rokas vd., 2003). MtDNA genomu tüm hayvanlar alemi içerisinde önemli benzerlikler göstermektedir (Crozier ve Crozier, 1992). Ayrıca mtDNA çekirdek DNA gibi kodlanmayan gen bölgeleri (intron bölgeleri) içermediğinden farklı türler arasında mtDNA genomu bakımından karşılaştırma yapılması daha kolaydır (Brown, 1985).

Mitokondrial genomdaki nükleotit yer değiştirmelerinin oranı çekirdek genom ile karşılaştırıldığında oldukça hızlıdır ve bu da genomun çeşitlilik gösteren karakterlerce çok zengin olmasını sağlar (Brown vd., 1979; Meyer, 1993). Bunun nedeni, nokta ve parça mutasyonların oldukça yüksek miktarda gerçekleşmesidir. Ayrıca bu mutasyonlar üzerinde etkili bir tamir mekanizması bulunmamaktadır (Brown vd., 1979; Brown vd., 1982). Bu organel, hızlı evrimleşen genlerin bir

karışımından oluşmuştur ve günümüze yakın zamanda çeşitlenen (tür içi veya türler arası) soy hatlarını belirlemeye yönelik çalışmalar için kullanışlıdır (Brown vd., 1979). Daha yavaş evrimleşen genler çok daha eski çeşitlenen (cins veya familyalar arası) soy hatlarını belirlemeye yönelik çalışmalar için elverişlidir. MtDNA sadece anneden kalıtılmasına bağlı olarak bir türün evrimsel geçmişi üzerinde bir dereceye kadar sınırlı bilgi verir. MtDNA'nın gen içeriği ve düzeni bakımından da evrim çalışmaları için çok önemli avantajlara sahip olduğu belirlenmiştir. Genellikle aynı taksonomik sınıfta yer alan canlılarda protein kodlayan genlerin genom üzerindeki yerlerinin bazı türler arasında değiştiği bazı türler arasında ise aynı olduğu görülmüştür. Hatta birbirlerinden geç dönemlerde ayrılarak meydana gelen farklı tür ya da alt türler arasında çoğu gen bölgeleri için nükleotit diziliminin bile aynı olduğu tespit edilmiştir (Moritz vd., 1986; Crozier vd., 1991; Crozier ve Crozier, 1992, 1993). Filogenetik çalışmalarda genellikle yavaş olarak evrimleşen 12S rRNA ve ortalama sürede evrimleşen *sitokrom b* gen bölgeleri kullanılır (Shaffer vd., 1997; Spinks vd., 2004). *Sitokrom b*, *ND4* ve diğer protein kodlayan genler yakın türler arasındaki akrabalık ilişkilerini inceleyen çalışmalar (Engstrom vd., 2002; Feldman ve Parham, 2002) veya tür içi filogenetik çalışmalar için en kullanışlı moleküler belirteçlerdir (Starkey vd., 2003; Spinks ve Shaffer, 2005). Praschang vd. (2007) *sitokrom b* geninin yumuşak kabuklu kaplumbağalar (Apalone, Weisrock ve Janzen, 2000) veya diğer kaplumbağa familyalarında (Emydidae: Lamb vd., 1994; Lenk vd., 1999; Fritz vd., 2005a; Geomydidae: Barth vd., 2004; Testudinidae: Fritz vd., 2005b, 2006b, 2007) çok fazla homoplasik bilgi içermesine rağmen trionychidlerin tür seviyesindeki taksonomik durumlarını belirlemek için ideal bir belirteçtir. Ayrıca cins seviyesinde de iyi bir filogenetik ayıraçtır.

Sitokrom b geninin çeşitli sürüngen gruplarında ne kadar sürede ne oranda değişim gösterdiğini tespit etmeye yönelik çok sayıda çalışma vardır. Viperidae familyasına giren yılanların mitokondrial *sitokrom b* gen bölgesinin ortalama evrimsel oranı, her 1 milyon yıl için %1.4 lük bir DNA dizi farklılaşması olarak ortaya çıkarılmıştır (Ursenbacher vd., 2006). *Natrix* cinsi için bu farklılaşma oranı %1-1.35/1 milyon yıl'dır. Sürüngen türleri ile yapılan ve *sitokrom b* gen bölgesinin ele alındığı çalışmalarda söz konusu oranın en yüksek nispette tespit edildiği tür, *Lacerta agilis*, (%2.5/1 milyon yıl) en düşük tespit edildiği cins ise *Emys* (%0.3-0.4/1 milyon yıl)'dir (Lenk vd., 1999). *Sitokrom b* geni günümüzden yaklaşık 80 MYÖ'ne kadar meydana gelen filogenetik ilişkiler hakkında geniş

bilgiler verir (Meyer ve Wilson, 1990; Irwin vd., 1991). Zardoya ve Meyer (1996) omurgalılar arasında evrimsel akrabalığı en iyi ortaya koyan mitokondrial protein kodlayan genleri tespit etmeye yönelik yaptıkları çalışmada en iyi genleri *COI* (cytochrome oxidase subunit I), *sitokrom b* ve *ND2* olarak belirlemişlerdir.

Evrimsel değişikliğe karşı nispeten direnç gösteren protein sentezinde önemli rol oynayan Ribozomal RNA'nın *12S* ve *16S* genleri günümüzden yaklaşık 150 MYÖ çeşitliliğini göstermesi açısından önemli genlerdir (Mindell ve Honeycutt, 1990).

Populasyon genetiği çalışmalarını yürüten araştırmacılar açısından mtDNA'nın en önemli özellikleri, sadece anadan kalıtılan materyal olması (Heteroplazmi bazı türlerde görülebilir) ve bitki mtDNA'sı hariç rekombinasyon göstermemesidir (Moritz vd., 1987). Özellikle bal arılarının mtDNA varyasyonu bakımından araştırılması bu özellik nedeniyle çok yararlı sonuçlar vermektedir. Çünkü kolonideki tüm yavrular kraliçe arıya ait aynı mtDNA'yı taşırlar. Ayrıca hibrit bireylerin orijinlerini çalışmak için çok uygun bir tanımlayıcı genetik materyaldir (Lansman vd., 1983, Brown 1985, Gyllensten vd., 1985, Smith vd., 1989).

D-loop kontrol bölgesi, yüksek mutasyon oranı nedeniyle tür içi ilişkileri belirlemeye yönelik populasyon çalışmalarında yaygın olarak kullanılır (Stewart ve Baker, 1994; Starkey vd., 2003; Pearse vd., 2006). Kontrol bölgesinin baz yer değiştirme oranı mitokondrial protein kodlayan genlerin yer değiştirme oranından 2-5 kez daha fazladır (Meyer vd., 1990). Kontrol bölgeleri sıralı dublikasyonlardan dolayı boyca 200–4100 bp arasında farklılıklar göstermektedir ve bundan dolayı omurgalıların mitokondrial genomları uzunluk farklılıklarının çalışılmasında ana neden olmaktadır. Ayrıca populasyon seviyesinde yüksek frekansta parça mutasyonlarına sahiptir. Mutasyon burada çok hızlı biriktiği için, kontrol bölgesi çok yakın türler arası filogenetik ilişki üzerine yapılan çalışmalar ve populasyon seviyesinde yapılan çalışmalarda tercih edilen bir moleküldür.

Kaplumbağa mitokondrial DNA'sının evrimleşme oranının genel olarak her milyon yılda bir % 1-2 arasında değiştiği belirlenmiştir (Kuyl vd., 2002). Diğer yandan bazı araştırmacılar kaplumbağaların bütün mitokondrial DNA nükleotit değişim oranını *her* milyon yıl için % 0.4-0.6 olarak tespit etmişlerdir (Lamb ve Lydeard, 1994, Caccone vd., 1999). Bununla birlikte Avise vd. (1992) bu oranı kaplumbağalar için % 0.25/MY olarak belirtmiştir.

1.6.2. Mikrosatellit

Satellit DNA'lar 1968 yılında yapılan çalışmalarla ortaya çıkarılmış, 80'li yılların sonlarından itibaren çalışmalarda genetik belirleyici (marker) olarak kullanılmaktadır. Satellit DNA'lar çoğunlukla sıralı tekrar eden nükleotit dizilimlerinden meydana gelmektedir. Minisatellit ve mikrosatellit olarak ikiye ayrılırlar. Minisatellitlerin oluşturduğu tekrar dizilimleri genellikle 9-64 bp'lik DNA dizilerinden oluşmaktadır. Mikrosatellitler 1-5 nükleotitten oluşan ve 2 ila 40 kez tekrarlanan dizilerden oluşan kodlanmayan DNA dizileridir. Mikrosatellitlerdeki bu tekrarlar iki, üç, dört veya beş nükleotitten oluşan ve polimorfik özellik gösteren kısa DNA dizilerinin değişken sayıda art arda tekrarlanmasından oluşurlar. Bu tekrarlar (GT)_n, (ACC)_n veya (TAGA)_n şeklinde ifade edilmekte ve n ardışık tekrar sayısını göstermektedir. Omurgalılarda mikrosatellitlerin büyük çoğunluğu (%30 - %67) dinükleotit tarzında bulunur (Toth vd., 2000).

Mikrosatellitler, ökaryotik genoma geniş bir şekilde yayılmışlardır. Mikrosatellitler, çoğu lokusta tekrar bölgesinin sayısında çok farklılıklar göstermesinden dolayı genetiğin birçok alanında moleküler belirteç olarak kullanılmaktadır. Mikrosatellit varyasyon çalışmaları, nükleotit diziliminin boyu ve tekrarlanan nükleotitler arası ilişkilerin araştırılması şeklinde yapılmaktadır. Mikrosatellit tekrarların bulunduğu genom bölgelerindeki genetik varyasyonlar, genellikle DNA'da kayma sonucunda meydana gelir. Mikrosatellit lokuslardaki mutasyonlar, replikasyon sırasında tekrar bölgesindeki yanlış bir eşleşmelerden veya bu yanlış eşleşmelerin tamiri neticesinde lokusun kısalması veya uzaması şeklinde olur. Omurgalılarda genellikle (CA)_n gibi ikili tekrarlar görülür. En yaygın değişim ise yalnızca tek bir tekrar ünitesinin kaybı veya fazladan oluşması ile meydana gelmektedir. STR'ler her nesilde her bir gamet için ortalama olarak 10^{-2} ve 10^{-5} arasında mutasyon oranına sahiptir (Page ve Holmes, 1998).

Tekrar bölgelerinin her iki tarafında bulunan bölgeler 'flanking' bölgesi olarak isimlendirilir. Bu bölgeler primerlerin bağlanma noktalarıdır ve nötr allel oluşumuna neden olur. Çünkü nötr alleller alloenzim ve minisatellit çalışmalarında çok iyi bilinmesinin yanı sıra mikrosatellit lokuslarda da ortaya çıkarlar. Bu bölgelerde meydana gelecek mutasyonlar çok önemlidir. Flanking bölgelerinde oluşacak nükleotit eklenmeleri veya çıkmaları (insersiyon ve delesyon) primerlerin bağlanmasını engelleyeceği için bu lokuslar çoğaltılamaz (Abblet vd., 2006).

Mikrosatellitler ayrıca kriminolojik çalışmalarda, fertlerin akrabalık seviyelerinin yanı sıra ana ve babalarının belirlenmesinde, epidemiyoloji ve patoloji taramalarında, nicel karakterleri etkileyen genlerin haritalanmasında, genomdaki genlerin haritalarının çıkarılmasında, populasyonun genetik parametrelerinin (gen akışı ve etkili populasyon büyüklüğü gibi) tahmini ve populasyon farklılıklarının belirlenmesi gibi çalışmalarda da yoğun bir şekilde kullanılmaktadır (Bruford ve Wayne, 1993). Bunun nedeni mikrosatellitlerin genomda yoğun bir şekilde dağılmış olmaları ve işlemlerinin kolay bir şekilde yapıyor olmasından kaynaklanmaktadır.

Mikrosatellitler aracılığı ile yapılan genotip belirleme çalışmaları 4 aşamada gerçekleştirilir. Bu aşamalar güvenilir verilerin elde edilebilmesi için çok önemlidir ve üzerlerinde titizlikle çalışılması gerekmektedir. Bu basamaklar: 1) DNA izolasyonu 2) PCR 3) Elektroforez 4) Verilerin elde edilmesi ve değerlendirilmesi (Ün vd., 2000).

Mikrosatellit tekrarlayan dizileri genellikle PCR yöntemiyle gösterilmektedirler. Mikrosatellitleri çevreleyen DNA dizileri aynı türün bireyleri arasında korunmuş olduklarından, farklı genotiplerde çakışan mikrosatellit bölgelerin PCR primerleri ile çoğaltılarak seçimine izin vermektedir. Ardışık mikrosatellit tekrarlarının sayısındaki farklılık, PCR sonucunda farklı uzunlukta parça çoğaltımıyla sonuçlanır. Tekrar dizilerinin etrafında bulunan korunmuş DNA dizileri polimeraz zincir reaksiyonunda primer bağlanma bölgeleri olarak kullanılır ve reaksiyon sonunda satelitleri içeren dizinin uzunluğu tespit edilerek birey veya gruplar arasındaki varyasyon tespit edilebilir.

Mikrosatellit lokuslarıyla çalışmanın çeşitli dezavantajları da vardır. PCR amplifikasyonu için geliştirilmesi gereken türe özgü primerlerin dizaynı oldukça pahalıdır. PCR sonucunda elde edilen ürün denatüre edici poliakrilamid jel üzerinde yürütüldüğü zaman elde edilen bantlar genellikle merdiven veya sürüntü şeklinde meydana gelmektedir. Bu istenmeyen bantlar, PCR aşamasında ortamda bulunan primerlerin başka bölgelere de bağlanarak yanlış eşleşme yapmasından kaynaklanmaktadır. Bu durum allellerin veya PCR ürünün okunmasını neredeyse imkansız kılmaktadır.

Mikrosatellitler canlı neslinin devamı için gerekli olan genetik çeşitliliğin kaynağını sağlarlar. Küçük coğrafik bölgeler içinde bile birey ve populasyonlar

arasında farklılaşma görülebilmektedir. Mikrosatellitler kodominant belirteçlerdir ve hem anneden hem babadan kalıtılırlar, böylece heterozigotlarda bir lokustaki her iki allel de tespit edilir. Mikrosatellitler, tatlı su ve kara kaplumbağalarında populasyon genetiği (Ciofi vd., 2002; Kuo ve Janzen, 2004) ve koruma genetiği (Sites vd., 1999; Cunningham vd., 2002; Pearse vd., 2006) çalışmalarında kullanılmaktadır. Kaplumbağa türleri arasında oluşabilecek hibritleşme gibi olayların çözülmesinde önemli bir belirteçtir (Roy vd., 1994, 1996; Williams vd., 2005).

PCR ile kolaylıkla elde edilebilen mikrosatellitler, genellikle tekrar ünitelerinin çok fazla miktarda çeşitlilik göstermesinden dolayı organizmaların allel frekanslarına bağlı olarak yapılan populasyon karşılaştırmalarında yaygın olarak kullanılır (Bruford vd., 1996). Mikrosatellitler komodo ejderi (*Varanus komodoensis*) (Ciofi ve Bruford, 1998), kaplumbağa (FitzSimmons vd., 1997), yılan (Prosser vd., 1999) gibi sürüngenler üzerine gerçekleştirilen birçok koruma çalışmasında kullanılan belirteçlerdir.

Mikrosatellitler aynı populasyonun bireyleri arasında bile yüksek oranda mutasyon, heterozigotluk ve çeşitlilik gösterirler (Zardoya vd., 1996; Goldstein ve Pollock, 1997; Hancock, 1999; FitzSimmons vd., 2000). Mikrosatellitler, omurgalılarda omurgasızlardan daha yaygın olarak bulunur ve omurgalılar arasında kaplumbağalar daha uzun tekrar dizilerine sahiptirler (Chambers ve MacAvoy, 2000). Ayrıca uzun tekrar dizisine sahip mikrosatellitler kısa tekrar dizileri içerenlere oranla daha hızlı evrimleşmektedirler (Chambers ve MacAvoy, 2000). Bu özelliklerinden dolayı populasyonların genetik yapıları ve gen akışlarını belirlemek için kullanılan önemli genetik belirteçlerdir (Queller vd., 1993; Zardoya vd., 1996; Hancock, 1999).

Mikrosatellitler populasyonlar, türler ve alttürler arasında veya içindeki genetik yapının belirlenmesi amacıyla kullanılabilir (Moritz, 1994; Taylor vd., 1997). Populasyon farklılaşmasının hesaplanması ve populasyonlar arasında bağlantıyı anlamada çok önemlidir (Smith ve Wayne, 1996). Bu bağlamda, mikrosatellitler önemli populasyonlar için koruma stratejilerinin geliştirilmesinde önemli araçlardır (Hillis vd., 1996; FitzSimmons vd., 2000).

Mikrosatellitlerde bulunan yüksek miktardaki mutasyonları açıklamak için kullanılan iki model vardır: Kromozomlar arasında meydana gelen eşit olmayan

rekombinasyon (Hancock, 1999; Chambers ve MacAvoy, 2000) ve replikasyon patinajı (replication slippage) (Levinson ve Gutman, 1987; Valdes vd., 1993; Eisen, 1999; Estoup ve Cornuet, 1999; Feldman vd., 1999).

Bazı durumlarda, bir türde veya cinstе geliştirilen mikrosatellit primerleri yakın başka bir tür veya cinstе kullanılmak üzere adapte edilebilir. Ancak bu durum “flanking” dizisinin ve mikrosatellit bölgesinin korunmuş olup olmamasına bağlıdır (Beaumont ve Bruford, 1999; Chambers ve MacAvoy, 2000).

Bu çalışmada farklı bir trionychid türü olan *Pelodiscus sinensis* için geliştirilmiş olan primerler kullanılmıştır. Que ve ark (2007) tarafından *Pelodiscus sinensis*’te belirlenen 15 mikrosatellit bölgesinden 9’u başarılı bir şekilde bu çalışmaya uygulanmıştır.

1.7. Genetik Farklılaşma

Tür ve populasyonların genetik yapılarındaki değişiklik evrimin temelini oluşturmaktadır. Koruma genetiği yönünden bakıldığında, genetik varyasyonun temel olarak iki farklı durumda ortaya çıktığı görülmektedir.

- (1) Lokal populasyonlar içindeki bireyler arasındaki genetik farklılıklar
- (2) Aynı tür içinde populasyonlar arasındaki genetik farklılıklar.

Bir populasyon içindeki genetik farklılaşmanın miktarı bir populasyonun yapısı ve evrimsel geçmişi hakkında bilgi sahibi olmamızı sağlamaktadır. Populasyonlar arasındaki genetik ayırım, populasyonlar arasında meydana gelen genetik alışverişin miktarını gösterir ve türlerin korunması ve yönetiminde önemli bir rol oynayabilir (Allendorf ve Luikard, 2007).

Hiçbir zaman doğal populasyonlarda meydana gelen genetik farklılaşmanın miktarını ölçmeye yönelik “en iyi teknik”ten söz edilemez. Genel olarak, bir populasyon veya tür içindeki genetik farklılaşma miktarı hakkında farklı teknikler kullanmak suretiyle kesin bir sonuç elde edilebilir. Birden fazla belirteçin kullanılması kesin sonuca ulaşmak için en iyi yöntemdir. Örneğin mtDNA ve çekirdek belirteçleri kullanarak hem erkek orijinli gen akışı hem de dişi orijinli gen akışı hakkında bilgi edinilmektedir (Allendorf ve Luikard, 2007).

Genetik farklılaşma aynı türün farklı populasyonlarında değişim gösterebilir. Koruma açısından, bunun gibi tür içi farklılıklar, insan etkisine bağlı olarak ortaya çıkan genetik çeşitlilikteki düşüşü ortaya çıkarması nedeniyle türler arasındaki farklılıklardan daha anlamlıdır (Allendorf ve Luikard, 2007).

1.7.1 Genetik Farklılaşmanın Hesaplanması

Bir tür içindeki genetiksel çeşitliliğin toplam miktarı (H_T), bir populasyondaki bireyler arasında oluşan genetiksel farklılıkların miktarı (H_S) ile farklı populasyonlar arasındaki genetiksel farklılıkların miktarının toplamından oluşur (Nei, 1977). Populasyonlar arasındaki farklılıklar sonucu ortaya çıkan, bir tür içindeki toplam genetik farklılaşmanın miktarı genellikle F_{ST} olarak belirtilir (Allendorf ve Luikard, 2007). F_{ST} ile birlikte, doğal populasyonlar veya alt populasyonlar arasındaki genetik farklılaşma miktarının mikrosatellit lokuslarında ölçülmesinde R_{ST} , G_{ST} , Φ_{ST} ve D_{ST} istatistikleri kullanılmaktadır (Balloux ve Lugon-Moulin, 2002; Allendorf ve Luikard, 2007). Bunlardan F_{ST} ve R_{ST} birçok genetik çalışmada populasyonlar arasındaki gen akışının miktarını tespit etmek için yaygın olarak kullanılır (Balloux ve Lugon-Moulin, 2002). Bunun yanında, karşılaştırılan populasyonların birleşme veya ayrılma zamanları, mutasyon oranı ve gen akışı çeşitli evrimsel mutasyon modelleri üzerinden hesaplanmaktadır (Estoup vd., 2002).

Infinite allele modeli (IAM, Kimura ve Crow, 1964): Bu modele göre, her mutasyon populasyonda önceden bulunmayan yeni bir allel oluşturur (Balloux ve Lugon-Moulin, 2002). Mikrosatellit mutasyonları tekrarların sayısına bağlı olarak meydana gelme eğilimindedir. Bununla birlikte her mutasyon benzersiz olmayacak, daha ziyade populasyonda daha önceden meydana gelen bir allel (bir tekrarın 11 kopyası gibi) olacaktır. Bu olay farklı orijinlere sahip iki alleldeki homoplasi olarak adlandırılır (Allendorf ve Luikard, 2007). Bu model homoplasiyi göz ardı eder ve F_{ST} bu model üzerinden hesaplanır (Balloux ve Lugon-Moulin, 2002).

Stepwise mutasyon modeli (SMM, Kimura ve Ohta, 1978): Bu model, bir tekrar dizisinin eşit olasılıkla kaybolacağı veya ortaya çıkacağını öne sürer (Balloux ve Lugon-Moulin, 2002). R_{ST} stepwise mutasyon modelindeki allel büyüklüğündeki farklılıkları göz önüne alır.

Two phase model (TPM, Di Rienzo vd., 1994): İkili tekrarlı mikrosatellitlerin gözlenen varyasyonunu SMM'ye göre daha doğru bir şekilde açıklar (Di Rienzo vd., 1994). TPM, SMM'nin mutasyonal işleyişini bünyesinde bulundurur, ancak alleller üzerinde meydana gelen daha uzun mutasyonlara uygulanır.

K-allele model (KAM, Crow ve Kimura 1970): Bu modelde, K olası allel durumu vardır ve herhangi bir allel diğer $K-1$ allel durumunun herhangi birine karşı mutasyona uğrama olasılığına sahiptir (Crow ve Kimura, 1970). KAM tarafından üretilen homoplasi, SMM'nin ürettiğinden farklıdır ve iki mutasyon modeli için elde edilen sonuçlar birbirleriyle karşılaştırılamaz (Tsitrone vd., 2001).

Mikrosatellit mutasyonu için kullanılan en yaygın model, bir tekrarla ebeveynden farklılaşan Stepwise Mutasyon Modeli'dir (Leblois vd., 2003). Gerçekleştirilen çalışmaların çoğunda mutasyon oranı veya genetik çeşitliliğin etkisini ortaya koymada TPM modelinin SMM, KAM ve IAM'a göre daha gerçekçi bir mutasyon modeli olduğuna işaret edilmiştir (Estoup ve Cornuet, 1999; Ellegren, 2000a; Schlötterer, 2000). Bunların yanında, 20 mikrosatellit lokusundan daha az sayıdaki lokusta F_{ST} hesaplamaları yapmak için IAM modeli uygulamasının daha güvenilir sonuçlar verdiği belirlenmiştir (Gaggiotti vd., 1999).

1.7.1.1. Hardy-Weinberg Dengesi

“Rasgele çiftleşen popülasyonlarda bir nesilden diğerine genetik çeşitliliği sağlayan hiçbir faktör olmaması” popülasyon genetiğinin en basit modelidir (Allendorf ve Luikard, 2007). Bu modelde rasgele çiftleşme, mutasyon olmaması, popülasyon büyüklüğünün fazla olması, doğal seçilimin ve göçün olmaması varsayımları söz konusudur. Bu varsayımların iki önemli sonucu vardır. Bunlardan birincisi, popülasyon evrimleşmez ve allel ve genotip frekansları nesilden nesile değişmeden kalır. Bu durum Hardy-Weinberg eşitliği olarak bilinir. İkincisi, rasgele çiftleşme meydana geldikten bir nesil sonra genotip frekansı, allel frekansının binomial fonksiyonu olur. Hardy-Weinberg eşitliği koruma ve evrimsel genetikte oldukça önemlidir. Çünkü bir popülasyonda bu eşitlikten oluşabilecek herhangi bir sapma popülasyondaki göç, seçim ve soy içi üreme olaylarının belirlenmesi için temel bilgi oluşturur (Frankham vd., 2002). Başka bir ifadeyle, eğer bir popülasyon birçok lokus açısından Hardy-Weinberg dengesinden

sapmışsa bu durumda populasyonun tüm genomunu etkileyecek düzeyde göç, rasgele olmayan çiftleşme veya seçilim olayları söz konusudur.

1.7.1.2. Heterozigotluk

Bir populasyonda n lokusta ortalama beklenen heterozigotluk genetik çeşitliliğin en temel ölçümünü oluşturmaktadır. Rasgele seçilen bir bireydeki beklenen heterozigotluk oranı veya rasgele çiftleşen bir populasyonda her lokustaki ortalama heterozigotluk oranı bu ölçümü verir (Nei, 1987). Populasyonlar arasındaki heterozigotluk miktarı ile populasyon içi heterozigotluk miktarı bir türün genetik çeşitliliğinin miktarını verir. Eğer tür içi genetik çeşitlilik populasyonlar arasındaki heterozigotluk oranındaki farklılıktan kaynaklanıyorsa bu türde genetik çeşitliliği sürdürmek son derece önemli olacaktır ve koruma tedbirlerinin alınması gerekmektedir.

1.7.1.3. Allel zenginliği

Bir lokustaki toplam allel sayısı genetik çeşitliliğin bir ölçüsü olarak kullanılmaktadır. Bu ölçüm küçük populasyon büyüklüğüne sahip türlerde genetik çeşitliliğin kaybının miktarını heterozigotluğa göre daha hassas olarak gerçekleştirir. Ayrıca populasyonların uzun süreli evrimleşme miktarlarının belirlenebilmesi için önemli bir araçtır (Allendorf, 1986). Alleller üzerinden genetik çeşitlilik hesaplamalarının en önemli dezavantajı örnek sayısına bağlı olmasıdır. Doğal populasyonlarda çok sayıda düşük frekansta alleller bulunmasından dolayı örnekler arasındaki karşılaştırmalarda örnek sayısı populasyonlar arasında birbirine yakın olmazsa bir anlam ifade etmez. Bu sorun allel çeşitliliğinin hesaplanmasını sağlayan “allelık zenginlik” hesaplamasıyla ortadan kaldırılır.

1.7.1.4. Polimorfik lokusların oranı

Bir populasyonda polimorfik lokusların oranı tür ve populasyonlar arasındaki çeşitlilik miktarının karşılaştırılması için kullanılır. Farklı büyüklüğe sahip populasyonların karşılaştırılmasında ortaya çıkabilecek problemleri engellemek amacıyla bazı standartlar kullanılır. Bir lokus dikkate alındığında, en yaygın allelin

populasyondaki frekansı, 0.95 veya 0.99 altındaysa bu lokus polimorfik olarak değerlendirilir. 0.99 standardı çok sık kullanılır. 0.99 standardını kullanmak için örnek sayısının genellikle 50'den fazla olması gerekmektedir (Allendorf ve Luikard, 2007).

Bazı durumlarda polimorfik lokuslar üzerinden genetik çeşitlilik tahmini yapmak heterozigotluk ve allelik zenginliğine göre daha güvenilir sonuçlar sağlayabilmektedir. Polimorfik lokuslar büyük örnek sayısı ile yapılan çalışmalarda, allozim lokusları gibi lokuslarının çoğu monomorfik olan lokuslarda yaygın olarak kullanılır. Ancak birçok lokusu çoğu populasyonda polimorfik olan ve mikrosatellitler gibi yüksek çeşitlilik gösteren lokuslarda polimorfik lokuslar üzerinden bir değerlendirme yapmak çok sağlıklı olmamaktadır (Allendorf ve Luikard, 2007).

1.7.1.5. *F*- istatistiği

F- istatistiği genetik farklılaşmanın ölçümünde kullanılan en eski ve en yaygın tekniktir. F_{ST} , bütün populasyonun alt populasyonları içinde rasgele seçilen iki allel arasındaki ilişkiyi ve yine alt populasyonlar içindeki allel frekanslarının dağılımlarını temel alarak soy içi üremenin miktarını hesaplar (Balloux ve Lugon-Moulin, 2002; Allendorf ve Luikard, 2007). Bu şekilde populasyonlar arasındaki genetik çeşitlilik hesaplanır (Niegel, 2002). F_{ST} , populasyonların doğal seçim tarafından güçlü bir şekilde etkilenmediğini farz ederken, populasyon grupları arasındaki genetik sürüklenme ve gen akışına bağlı olarak hesaplamalar yapar (Niegel, 2002; Allendorf ve Luikard, 2007).

Wright (1931, 1951) soy içi üreme katsayısı kullanılan bir türdeki genetik çeşitliliğin dağılımını hesaplamak için çeşitli sistemler geliştirmiştir (Balloux ve Lugon-Moulin, 2002; Allendorf ve Luikard, 2007):

F_{IS} , populasyonlardaki Hardy-Weinberg dengesinden sapmanın bir ölçümüdür.

F_{ST} , populasyonlar arasındaki allel frekansı çeşitliliğinin bir ölçümüdür.

F_{IT} , hem populasyonlar içindeki rasgele olmayan çiftleşme (F_{IS}) hem de populasyonlardaki allel frekansından dolayı türdeki Hardy-Weinberg dengesinden

sapmanın bir ölçümüdür. Diğer bir ifadeyle, toplam tür içindeki Hardy-Weinberg dengesinden sapmanın bir ölçüsüdür.

Bu parametreler sadece iki allele sahip lokuslar için belirlenmiştir. İki veya daha fazla allele sahip lokuslar için G_{IS} , G_{ST} , G_{IT} parametreleri kullanılmaktadır (Nei, 1977).

F_{IS} değeri -1 ila +1 arasında değişim gösterirken (- heterozigot fazlalığını, + heterozigot azlığını belirtir), F_{ST} değeri 0–1 arasında değişir. Bu değer, tüm populasyonlar eşit allel frekansına sahip olduğunda 0'a, tüm populasyonlar farklı allellere fikse olduklarında 1'e doğru yayılış gösterir. F_{ST} bazen fiksasyon indeksi olarak da adlandırılır. Populasyonlar arasında hesaplanan F_{ST} değeri eğer 0-0.05 arasında bir değer ise populasyonlar arasında düşük genetik farklılığın olduğunu, 0.05-0.15 arasında ise dengeli bir genetik farklılığın olduğunu, 0.15-0.25 arasında ise büyük genetik farklılığın olduğunu ve 0.25'den büyük ise çok büyük genetik farklılığın olduğunu gösterir. F_{ST} 'nin yani populasyonlar arasındaki farkın büyüklüğünün istatistiksel olarak anlamlı olup olmadığı "Permütasyon Testi" kullanılarak hesaplanır.

1.7.1.6. R- istatistiği

R_{ST} , Stepwise Mutasyon Model'ine özgü ortaya çıkarılan bir genetik farklılaşma hesaplaması olup, mikrosatellit lokuslarının analizinde kullanılır (Slatkin, 1995). F_{ST} allel frekanslarının varyansı üzerinden hesaplanırken, R_{ST} populasyonlar arasındaki farklılıklardan oluşan allel uzunluklarının varyansı üzerinden hesaplama yapmaktadır (Slatkin, 1995; Balloux ve Lugon-Moulin, 2002). R_{ST} her mutasyonun sadece bir tekrar ünitesi tarafından allelin uzunluğunun değiştirildiğini farz etmesinin yanında (Örneğin, bir mutasyon bir dinukleotid (CA)'i ekler veya çıkarır), mikrosatellit lokuslarında meydana gelen homoplasi üzerinden populasyonlar arasındaki genetik çeşitliliğin miktarını hesaplar (Slatkin, 1995; Allendorf ve Luikard, 2007).

1.7.1.7. Φ ve D istatistikleri

Excoffier vd. (1992) allellerin soy akrabalıkları üzerinden hesaplanan farklılaşma ölçümü olarak Φ_{ST} 'yi ortaya koymuştur. Bu hesaplama alleller arasındaki

mutasyonel farklılıkların sayısını ağırlıklı bir faktör olarak alleler arasındaki farklılaşmanın bir derecesi olarak ortaya koyar (Allendorf ve Luikard, 2007).

Populasyonlardaki genetik farklılaşmanın hesaplanmasında kullanılan diğer bir yaklaşım Nei'nin genetik uzaklık yaklaşımıdır (D ; Nei, 1972). Buna göre D_{ST} populasyonlar arasındaki genetik çeşitliliğin ortalamasıdır (Balloux ve Lugon-Moulin, 2002). Ayrıca, tamamıyla izole olan populasyonlar arasındaki genetik farklılık zaman ile doğrusal olarak artacaktır. Bunun yanında D , genellikle, birbirlerinden izole olmayan populasyonlar için de kullanılır (Paetkau vd., 1997).

1.8. Amaç

Korumanın önemli amaçlarından biri türün neslinin tükenmesini önlemek için populasyonun genetik çeşitliliğini kontrol altına alarak evrimsel değişimin devamlılığının sağlanmasıdır (Hu vd., 2010; Shao vd., 2010). Genetik çeşitlilikte meydana gelebilecek bir azalma, kısa ve uzun dönemde sayısal ve çevresel değişimlere uyum sağlayamama durumunu ortaya çıkaracak ve buna bağlı olarak ta türün neslinin giderek yok olmasına yol açacaktır (Qiu vd., 2006).

Bu çalışmanın amacı Afrika kıtasının orta ve batı bölümündeki bazı populasyonlar ile Türkiye'nin Akdeniz kıyılarında yayılış gösteren *T. triunguis*'in populasyon yapısı ve genetik çeşitliliğini araştırmaktır. Genetiksel karakterler kullanılarak elde edilecek sonuçlar, *T. triunguis* türünün korunması ve türün devamlılığını sağlayacak olan yönetim planlamasına yardım edecektir. Mikrosatellit lokuslarının analizi ile *T. triunguis* populasyonları arasında ve içindeki genetik yapı ve çeşitliliği ortaya koymaktır. Ayrıca eş zamanlı yürütülen mtDNA analizi ile de populasyonlar arasındaki akrabalık ilişkisi belirlemektir. Bu moleküler belirteçler özellikle genetiksel olarak populasyon yapısı, gen akışı ve genetik çeşitliliğin miktarının belirlenmesi açısından önemli araçlardır (Slatkin, 1985a). Geçmişte, bu tür üzerine moleküler teknikler kullanılarak gerçekleştirilmiş iki adet çalışma mevcuttur (Amer ve Kumazawa, 2009; Güçlü vd., 2009).

Bu çalışma ile *T. triunguis*'in tüm yayılış alanından toplanan örnekler kullanılarak populasyonlar arasındaki ve içindeki genetik çeşitlilik mtDNA D-loop gen bölgesi ve mikrosatellit lokusları kullanılarak tespit edilmiştir. Ayrıca Akdeniz Havzası ve

Afrika kıtasındaki populasyonlar arasındaki çeşitliliği korumak için populasyon düzeyinde bilgiler sağlanmıştır.

1.9. Yönetim Önerileri

Populasyonların hepsinde veya bir kısmında çok az genetik farklılık saptanması durumunda bu populasyonlar arasında yüksek miktarda bir gen akışı veya bu populasyonların en son birbirlerinden izole oldukları sonucunu çıkaracaktır. Bu durum yönetim için lokal yok oluşun tür içinde genetik çeşitliliğin azalmasına yol açacağına işaret eder.

Eğer genetik farklılaşma populasyonlar arasında yüksek, populasyon içinde düşük seviyede tespit edilirse gen akışının populasyon içinde yüksek, populasyonlar arasında ise düşük olduğu sonucunu verir. Bu durumdaki yönetim uygulaması genetik çeşitliliğin çok az miktardaki kaybının belirli bir populasyonda meydana geldiğini işaret edecektir.

Her populasyon yüksek oranda genetik ayrım gösterirse bu durumda populasyonlar arasında gen akışının çok düşük seviyede olduğu anlamına gelir. Bu sonuç, populasyon içinde yüksek oranda bir genetik çeşitlilik kaybı olacağı, türün uzun dönemde devamlılığını sağlamasında sorunlar çıkacağı anlamına gelmektedir. Bu yüzden tür çeşitliliğini korumaya yönelik yönetim uygulamalarının hayata geçirilmesi gerekmektedir.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Trionyx triunguis'in terra typica'sı Nil Nehri'dir. Gray (1873) Nil Nehri'nin kuzey bölümündeki kollarında yaşayan trionychid türünün Güney bölümünde yaşayanlardan farklı olduğunu belirtmiş ve Kuzey'deki Hortum popülasyonunu çenelerindeki alveolar yüzeylerin daha geniş olması nedeniyle *Fordia africana* olarak adlandırmıştır. Ayrıca Gray (1855) *T. niloticus*'un yayılış alanını Kuzey Afrika, Nil Nehri, Mısır, Habeşistan ve Batı Afrika olarak belirtmiştir.

Lortet (1883) Anadolu'da Fırat Nehri'nden toplanan örnekleri *T. aegyptiacus* olarak sınıflandırmıştır.

Boulenger (1889) türün dağılış sahası olarak Afrika Kıtası'nda Nil Nehri, Kongo, Senegal ve bu bölgeler arasındaki nehir sistemleri ile Suriye'yi göstermiştir.

Nil Nehri'nin kuzey bölümünde yer alan bireylerde görülen alveolar yüzeyin daha geniş olma özelliğinin bir beslenme ve yaşa bağlı olarak değişen bir varyasyon olduğu belirlenmiştir (Gray, 1873).

Anderson (1898) türün Mısır dışında kalan tüm Nil sisteminde Senegal'den Somali'ye kadar uzanan Afrika Kıtası nehir sistemlerinde ve Suriye'nin bazı akarsularında yayılış gösterdiğini ortaya koymuştur.

Siebenrock (1913) bu türe kesin olmamakla birlikte, Ürdün ve Suriye gibi Afrika Kıtası dışındaki ülkelerde de rastlanabileceğini belirtmiştir.

Flower (1933) Afrika'da Senegal ve Kongo'dan Nil Nehri'ne kadar olan tropik su sistemlerinde türün yayılış gösterdiğini belirtmiştir. Ayrıca bu türün Nil Nehri'nde meydana gelen su taşmaları neticesinde Akdeniz'e bakan nehirlere kadar dağılışının genişlediğini ortaya koymuştur.

Deraniyagala (1948) Kenya'nın kuzeyinde bulunan Rudolf Gölü'nde *T. triunguis*'in bulunduğunu bildirmiş ancak, örneklerin özellikle karapas ve plastrondaki bazı morfolojik karakterler bakımından farklılık gösterdiğini iddia ederek bu türü *T. triunguis rudolfianus* adı ile alttür kategorisinde değerlendirmiştir.

Schmidt ve Ingler (1957) türün yayılışını Nil Nehir sisteminde, Kongo havzasında ve Filistin’de yer alan bazı küçük nehirler olarak belirtmiştir. Bunun yanında Boulenger (1889)’un da ortaya koyduğu gibi hayvanın çenesindeki alveolar yüzey genişliğinde rastlanan uyumsuzluğu beslenme farklılığı sonucu ortaya çıkmış bir özellik olarak ortaya koymuştur.

T. triunguis rudolfianus alttürü *T. triunguis*’in sinonimi olarak değerlendirilmiştir (Wermuth ve Mertens, 1961).

Lanza ve Sassi (1966) türün dağılış sahasını Mısır’dan Etiyopya ve Somali’ye, Kongo’dan Angola’ya kadar olan bölge olarak belirtmiştir.

Marx (1968) türün dağılım sahasını Mısır’dan güneyde Kuzey Kenya’daki Rudolf Gölü’ne, güneybatıda Angola’ya, kuzeybatıda Senegal’e kadar uzatmış fakat Filistin’i dahil etmemiştir.

Hoofien (1972) türün İsrail’de bulunduğunu belirtmiştir.

Başoğlu (1973) ilk defa Güneybatı Anadolu’dan *T. triunguis* kaydı vermiştir.

Eiselt (1976) Adana Karataş’tan elde edilen bir kafatasını *T. triunguis* olarak tanımlamıştır.

Atatür (1979) *T. triunguis* türünün morfolojisi, osteolojisi, biyolojisi ve dağılışını araştırmıştır. Bu çalışma ile *T. triunguis* ergin bireylerin eşeysel dimorfizmin sadece kuyruk boyuna (Erkeklerde uzun) bakılarak belirlenebileceğini belirtmiştir.

Kasperek ve Kinzelbach (1991) Doğu Akdenizde *T. triunguis*’ in dağılımını çalışmış ve en az 15 alt populasyon olduğunu belirtmiştir.

Gramentz (1993) tarafından Sülür Gölü, Kargın Gölü ve Taşlıçay Kanalı’nda 30-50 bireyin varlığı saptanmıştır.

Son zamanlarda Medasset (1999, 2003) (The Mediterranean Association to Save the Sea Turtles) destekli proje ile yapılan arazi çalışmaları türün varlığı hakkında yeni bilgiler ortaya koymuştur. Türkiye’de uygun alanlar ziyaret edilerek, balıkçılardan toplanan bilgiler ve direkt gözlemler yapılarak *T. triunguis*’in yayılışı saptanmıştır.

Günümüze kadar Türkiye’deki *T. triunguis*’in populasyon durumu ile ilgili olarak çok sayıda çalışma bulunmaktadır (Başoğlu 1973; Atatür 1979; Kasperek ve Kinzelbach 1991; Oruç vd.,1997; Bride 2004; Keller 2005).

Son yıllarda Dalaman kumsalında (Gidiş ve Kaska 2004) ve Dalyan kumsalında (Türkozan vd., 2006) *T. triunguis* türünün üreme biyolojine ait çalışmalar yapılmıştır.

Güçlü vd., (2009) mtDNA’nın *sitokrom b* ve *ND4* genlerini kullanarak *T. triunguis*’in tüm yayılış alanlarının bazılarında topladığı örneklerle (Afrika, Türkiye Güney sahilleri ve İsrail) populasyonlar arasındaki ayrımın miktarını tespit etmiştir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Bazı Araştırma Bölgelerinin Tanıtımı

3.1.1. Dalyan

Dalyan kumsalı *Caretta caretta* türü deniz kaplumbağası ve *Trionyx triunguis* türü tatlı su kaplumbağası için yoğun yuvalamanın olduğu alanlardan biridir (Baran ve Kasperek, 1989; Türkozan vd., 2006; Türkozan ve Yılmaz, 2008). *T. triunguis* uzun yıllardır yuva yaptığı bilinen Dalyan Kumsalı'nın (Atatür, 1979; Gramentz, 1990; Kasperek ve Kinzelbach, 1991) son dönemde bu türün Türkiye'deki yayılış bölgeleri içerisinde ikinci derecede önemli yuvalama bölgesi olduğu belirtilmiştir (Kasperek, 1999). Kasperek (2001) gerçekleştirdiği çalışmada Dalyan Kumsalı'nı 2. Kategori'de yani, “güçlü bir korumaya ihtiyaç duyulan nispeten büyük populasyon” olarak ortaya koymuştur.

Dalyan Kumsalı'nın toplam uzunluğu 4.7 km.dir. *Trionyx triunguis* türü Dalyan kumsalının İztuzu bölümünün ince burun mevkii ile Boğaz bölümü arasında kalan bölgede yuvalama yapmaktadır. Yuvalama yeri olarak kumsalın göl tarafında yer alan kum tepelerini ve özellikle de bu kum tepelerinde bulunan bitki diplerini tercih etmektedir. Ancak bu yuvaların büyük bir çoğunluğu bölgede yoğun bir şekilde var olan *Vulpes vulpes* türü tilkiler tarafından tahrip edilmektedir (Erk'akan 1993). Diğer taraftan, Dalyan Kanalı'nda özellikle yaz aylarında yoğun bir şekilde devam eden tekne trafiği ve balıkçılık aktiviteleri görülmektedir. Söz konusu durumun, türün davranışsal ekolojisi veya populasyon durumuna herhangi bir etkide bulunup bulunmadığı bilinmemektedir (Medasset, 2003).

3.1.2. Dalaman

Dalaman'da yer alan Thermemaris tatil köyünün ön bölümünde Kükürt Gölü bulunmaktadır. Bu tatil köyünde yaşayanlar tarafından ekmek veya et parçaları ile beslenen kaplumbağalar bu bölgede yaşamaya başlamışlar, bir nevi bu bölgeye alıştırmışlardır.

3.1.3. Göksu Deltası

Kasperek (1999) Göksu Deltası'nın *T. triunguis* 'in Türkiye'deki yayılış bölgeleri içerisinde ikinci derecede önemli yuvalama sahası olduğunu belirtmiştir. Ayrıca Göksu Deltası Su Kuşları Üretme ve Koruma Sahası (1989), Özel Çevre Koruma Alanı (1990), Ramsar Alanı (1994), Birinci Derece Doğal Sit Alanı (1996), Özel Kuş Alanı (ÖKA), Önemli Bitki Alanı (ÖBA), Yaban Hayatı Koruma Sahası, Deniz Kaplumbağası Yuvalama Alanı olmak üzere çok çeşitli koruma statülerine sahiptir.

Göksu Deltası Mersin'in Silifke ilçesine bağlı Taşucu beldesi sınırlarında bulunur. Kumsal, Seka kâğıt fabrikasının doğusunda bulunan Kum Mahallesi'nin başlangıcındaki kanaldan Atayurt 2 No.lu Güneş birlik alanının sonundaki DSİ I kanalına kadar olan yaklaşık 35 km.lik kısımdan oluşmaktadır. Kumsal 5 alt bölüme ayrılmıştır. Bu bölümlerden kumsalın Fener bölümü ile Dalyan bölümü arasında kalan yaklaşık 5.2 km.lik alan Göksu 2 alt bölümü olarak isimlendirilmektedir. Dalyan bölümüne doğru dalgaların kıyı içine girmesiyle kumul sertleşmiş ve yer yer çamurlu göletler oluşmuştur. *T. triunguis* türüne ait iz veya yuvalar özellikle kumsalın bu altbölümünün doğuya doğru son kısmında bulunan Paradeniz kıyısında tespit edilmiştir (Selin İnşaat, 2005). Paradeniz kıyısı yer yer küçük kum tepeleri ve tuza dayanıklı kumul bitkilerinden oluşmaktadır. Bu bölgeye yuvalamak ve güneşlenmek amacıyla çıkan *T. triunguis* ergin bireyleri bölgede yoğun olarak bulunan çakallar tarafından yenmek suretiyle predasyona uğratılmaktadır.

3.1.4. Afrika

Afrika Kıtası'ndan alınan 3 doku örneği ile İsrail'den bir bireye ait doku örneği, araştırmacı Michael REIMANN'ın Almanya'daki kaplumbağa çiftliğinde tutsak bulunan *T. triunguis* bireylerinden alınmıştır.

Gabon, Kongo ve Fildişi Sahili'nden elde edilen birer örnek ise müze örnekleridir. Bu örnekler Fransa Doğa-Tarih Müzesi'nden Dr. Roger Bour tarafından temin edilmiştir.

3.2. Örnek Toplanması

Çalışma dönemi boyunca *Trionyx triunguis*'in dünyadaki yayılış sahasına giren çeşitli lokalitelerden örnekler temin edilmiştir. Bu sürede 11 ayrı lokaliteden toplam 52 farklı birey veya yuvadan örnek alınmıştır. Toplanan örneklerle ait ayrıntılı bilgi Çizelge 3.1'de verilmiştir.

Dalyan Kumsalı'ndan araştırmada kullanılacak doku örnekleri 2004, 2008 ve 2009 üreme sezonları boyunca türe ait tespit edilen yuvalardan çıkan yavruardan alınmıştır. Söz konusu dönemlerde türe ait 7 yuva tespit edilmiş ve bu yuvalardan çıkan 57 yavrudan doku örneği alınmıştır.

2008 yılında Dalaman'da yapılan arazi çalışmalarında, Thermemaris tatil köyünün önünde bulunan ergin örnekler, 1 metre çapındaki kepçe veya 2X5 metre büyüklüğündeki ağ ile yakalanmış canlı ve doku örnekleri 20 farklı bireyden steril bisturi yardımıyla karapasın hemen kenarındaki yumuşak doku kısmından küçük bir parça kesilmesi suretiyle (2 mm²) örnek alınmıştır.

Anamur ve Kazanlı'dan elde edilen doku örnekleri, çeşitli nedenlerle ölmüş yavru bireylerin ön üyeleri kesilmek suretiyle alınmıştır.

Göksu Deltası'ndan bir örneğe ait doku bu bölgede çakallar tarafından predasyona uğramış ergin bir *T. triunguis*'ten alınmıştır.

Adana bölgesinden elde edilen örnekler Adana merkez de hastane havuzuna getirilen bir ergin bireyden ve Baharlı köyünde balıkçılar tarafından yakalan bir juvenil bireyden alınmıştır. Örnek alınan bireyler habitatlarına geri bırakılmışlardır.

İsrail'den toplanan dokuların 6 tanesi İsrail Deniz Kaplumbağaları Rehabilitasyon Merkezi'nde görevli Yaniv LEVY tarafından Nahal Alexander'dan toplanmıştır.

Batı Afrika'dan alınıp tutsak altında tutulan hayvanlardan elde edilen örnekler, steril bisturi yardımıyla ergin bireyin karapasından sürüntü şeklinde alınmıştır. Bunun dışında Fransa Doğa-Tarih Müzesi'nden temin edilen Afrika örnekleri, müze materyalinden küçük bir kas dokusu alınmak suretiyle temin edilmiştir.

Toplanan bütün doku örnekleri içinde %98'lik alkol bulunan 1.5-2 ml.lik tüplere alınarak laboratuara getirilmiş ve burada -20 °C'de derin dondurucuda muhafaza altına alınmıştır.

Çizelge 3.1. Örnek toplanan lokaliteler ve örnek sayıları

Lokaliteler		MtDNA	nDNA
Dalyan		7	57
Dalaman		20	20
Batı Akdeniz Grubu		27	77
Anamur	AnGkKzSy	4	8
Göksu		1	1
Kazanlı		3	1
Seyhan		2	1
İsrail		8	7
Doğu Akdeniz Grubu		18	18
Afrika Grubu		7	7
Toplam		52	102

3.3. Laboratuvar Metotları

3.3.1. Dokudan DNA Ekstraksiyonu

3.3.1.1. Standart Fenol/Kloroform yöntemi

Derin dondurucuda (-20 °C) muhafaza edilen doku örnekleri çıkarıldıktan sonra, örnekten 0.02 mg tartılarak steril bisturi yardımıyla mekanik olarak parçalanmış, daha sonra parçalanan bu dokular 1.5 ml'lik ependorf tüplere aktarılmıştır. Alınan dokulardan DNA ekstraksiyon işlemi aşağıda ayrıntılı bir şekilde verilen Standart Fenol/Kloroform DNA Ekstraksiyon Metodu kullanılarak yapılmıştır (Sambrook ve Russel, 2001).

- Parçalanan dokunun üzerine 700 µl STE (Sodyum/Tris/EDTA) tamponu, 50 µl %10'luk SDS ve 15 µl Proteinaz-K (20 mg/ml) solüsyonlarından

ilave edilmiş ve. tüplerin ağzı kapatılarak 50 °C’de 1 gece inkübasyona bırakılmıştır..

- İnkübasyon işleminden sonra her bir tüpe 600 µl fenol:kloroform:isoamil alkol (25:24:1) çözeltisi eklenerek 5 dakika alt üst edilerek karıştırılmış ve 10.000 g’de 5 dk santrifüj edilmiştir.
- Santrifüj işleminden sonra tüplerin üst kısmındaki süpernatant tabakası dikkatlice alınarak steril ependorf tüplere aktarılmış ve aynı hacimde fenol:kloroform:isoamil alkol eklenerek işlem tekrarlanmıştır.
- Süpernatant tekrar steril ependorf tüplere aktarılmış ve üzerlerine 1:1 hacimde -20°C’de bekletilen isopropanol eklenerek 1 saat -80°C’de inkübasyona bırakılmıştır.
- İnkübasyon işleminden sonra +4°C’de 10 dk. 16.000 g’de santrifüj işlemi uygulanmış ve bu işlemden sonra tüplerin dip kısımlarında pellet olduğu görülmüştür.
- Tüplerdeki isopropanol boşaltılarak pellet %70’lik 700 µl etil alkol ile yıkandıktan sonra 16.000 g’de +4 °C’de 10 dk. santrifüj edilmiştir ve santrifüj işleminden sonra tüplerdeki etil alkol uzaklaştırılmıştır.
- Son olarak, 10-15 dakika alkolün tamamen buharlaştırıldıktan sonra pellet üzerine 80 µl steril distile su ilave edilerek gece boyu 55°C’de bekletilerek pellet çözdürülmüştür.

3.3.1.2. EZNA kiti kullanılarak DNA ekstraksiyonu

Fransa Doğa ve Tarih Müzesi’nden temin edilen 4 lokaliteden toplam 4 bireye ait dokudan DNA izolasyonu EZNA marka DNA izolasyon kiti (E.Z.N.A. MicroElute Genomic DNA Kit, Omega-EZNA-D3096-00) ve bu kit ile birlikte verilen izolasyon prosedürü kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

3.3.2. Mitokondrial DNA D-loop Geninin Klonlanması

Engstrom vd. (2004) *Trionyx triunguis* türünün mitokondrial D-loop gen bölgesinin yaklaşık 500 bp.’lik kısmını kullanmışlardır. Araştırmacıların bu gen bölgesini çoğaltmak için kullandıkları primerler elimizde bulunan örneklerle ait DNA’larda denenmiş, ancak herhangi bir amplifikasyon elde edilememiştir. Bunun üzerine, D-loop bölgesine ait DNA dizisini elde etmek için *Pelodiscus sinensis* ve *Dogania subplana* (Testudiniata: Trionychidae) türlerine ait D-loop

DNA dizisi kullanılarak primer dizayn edilmiştir (Primer 3, primer dizayn programı). Bu primerler ile yapılan reaksiyonlarda amplifikasyon gerçekleşmiştir. Bunun üzerine elde edilen dizinin kontrol edilmesi amacıyla amplifikasyon ürünü klonlanmıştır.

MtDNA D-loop gen bölgesini çoğaltmak için OZGF 5'-AAG CAT TGG TCT TGT AAA C-3' ve primer OZGR 5'-CGG ATT TTG GGG TTT GAC GA-3' primerleri kullanılmıştır. 94°C'de 3 dakikalık denatürasyonu takiben 35 döngü 94°C 1 dakika, 55°C 1 dakika ve 72°C 1 dakika'da tamamlandıktan sonra, 72°C'de 20 dakika ile sona erdirilmiştir. Elde edilen ampliconlar "PCR purification kit" (Invitrogen Life Technologies, Burlington, Ontario, Kanada) ile saflaştırıldıktan sonra ampliconları klonlamak için hazırlanmış vektör içine (pTZ57R) ligasyon yoluyla üretici firmanın (InsT/Aclone PCR product cloning kit-Fermentas, Lithuania) tarif ettiği şekilde yerleştirilmiştir. Hazırlanan rekombinant plazmidler kompetan *Escherichia coli* DH10B içine elektrotransformatasyon yoluyla aktarılmıştır.

3.3.2.1. Elektrokompetan bakterilerin hazırlanması ve klonlanması

100 ml Brain Heart Infusion (BHI) banyosuna bir gün öncesinden hazırlanan *E. coli* DH10B kültüründen 1 ml. eklenmiştir. 600 nm'de optik yoğunluk 0.5-0.8'e ulaşınca kadar 37 °C'de çalkalanarak inkübe edilmiştir. Bakteriler santrifüj edilerek (3000-5000 rpm) toplanmış ve daha önceden soğutulmuş 20 ml steril distile suda dağıtılmıştır. Bu işlemde sonraki bütün aşamalar soğuk zincir kırılmadan yapılmıştır. Santrifüj edilerek bakteriler toplanmış ve soğuk su ile yıkama işlemi tekrarlanmıştır. İki kez de önceden soğutulmuş %10 gliserol eklenmiş su ile yıkandıktan sonra pellet %10 gliserollü 2 ml suda resüspanse edilerek 0.1 ml'lik alikotlara ayrılmış ve -80 °C'de saklanmıştır. Transformasyon için tüp -80 °C'den alınıp buz içine konmuş ve çözülmesi beklenmiştir. 1-2 µl DNA (su veya TE içerisinde) eklenmiş Gene Pulser 25 µF, 200Ω ve 2.5 KV'a ayarlanmıştır. 0.2 cm'lik elektroporasyon küveti içine konmuş DNA-kompetan bakteri karışımı elektropore edilmiş ve hemen 1 ml SOC besiyeri eklenip 225 rpm'de çalkalanarak 37°C'da 1 saat bekletilmiştir. 100 µl alınıp antibiyotikli seçici besiyerine yayılarak transformant bakterilerin seçimi gerçekleştirilmiştir.

3.3.2.2. Plazmid ekstraksiyonu

E. coli'den pTZ57R ekstraksiyonu QIAprep Spin Miniprep Kit (QIAGEN, Hilden, Germany) ile üreticinin direktifleri doğrultusunda yapılmıştır.

Transformanlar ampisilin, IPTG ve X-Gal içeren Brain-Hearth infusion agar seçici besiyerine ekilmiş ve 5 beyaz koloni seçilmiştir. Bu kolonilerden DNA ekstraksiyonu yapılmıştır. Klonlanan D-loop fragmanını çoğaltmak için insert çoğaltmaya yarayan M13F ve M13R primerleri kullanılmıştır. Sekans için M13F (5'-GTT TTC CCA GTC ACG ACG TTG TA-3') veya M13R (5'-CAG GAA ACA GCT ATG ACC-3') primerleri kullanılmıştır.

3.3.2.3. Sekans analizi

M13F ve M13R primerleri ile oluşturulan PCR ürünleri dizileme analizinin yapılması için Güney Kore'de bulunan Macrogen Inc. firmasına gönderilmiştir. Burada an ABI PRISM 3700 DNA automatic analyser (PE Applied Biosystems, Forster City, CA, USA) cihazı ile PCR için de kullanılan M13F ve M13R primerleri kullanılarak dizileme yapılmıştır. Elde edilen nükleotit dizileri gen bankası ile karşılaştırılmıştır. Bu amaçla National Center of Biotechnology Information'ın web sayfasındaki (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) Nucleotide-nucleotide BLAST programı kullanılmıştır.

3.3.3. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) ve Reaksiyon Koşulları

Polimeraz zincir reaksiyonu spesifik bir DNA parçasının kopyalarının primerler tarafından yönlendirilerek, enzimatik olarak sentezlenmesi şeklinde tanımlanan invitro bir yöntemdir.

Bu çalışmada PCR tekniği mtDNA'nın D-loop gen bölgesinin ve çekirdek DNA mikrosatellit bölgelerinin çoğaltılmasında kullanılmıştır.

3.3.3.1. Mitokondrial DNA D-loop geninin polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ve reaksiyon koşulları

Nil Yumuşak Kabuklu Kaplumbağası örneklerinden elde edilen toplam DNA içerisinde mitokondrial DNA'nın D-loop bölgesi çoğaltılmak için seçilmiştir.

Bütün örneklerle ait mitokondri DNA'sının D-loop gen bölgesinin yaklaşık 850 bç.'lik kısmı *T. triunguis* için dizayn edilen OZGF 5'-AAG CAT TGG TCT TGT AAA C-3' ve OZGR 5'-CGG ATT TTG GGG TTT GAC GA-3' primerleri kullanılarak Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) ile spesifik olarak çoğaltılmıştır. Çoğaltma işlemi şu koşullar altında yapılmıştır: Başlangıç denatürasyonu 94°C/3 dakika; 35 döngü 94°C/1 dakika denatürasyon, 55°C/1 dakika bağlanma ve 72°C/1 dakika uzama; 72°C/1 dakika son uzama. Reaksiyon karışımı 100 ng/2 µl template DNA, 2.5 mM dNTP, 1.5 mM MgCl₂, 0.75 µM primer, 1.0 unit Taq DNA polimeraz (Fermantas), 1X KCL PCR tampon (Fermantas) ve toplam reaksiyon hacmini 50 µl'ye tamamlayacak kadar steril-distile su ile hazırlanmıştır.

3.3.3.2. Afrika'dan elde edilen bazı örneklerde mitokondrial DNA D-loop geninin polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ve reaksiyon koşulları

Fransa Doğa ve Tarih Müzesi'nden temin edilen 3 ayrı lokaliteden (Kongo, Gabon, Fildişi Sahilleri) *Trionyx triunguis* bireyine ait doku parçalarından elde edilen DNA'nın Mitokondrial D-loop gen bölgesinin çoğaltımı OZG-F ve OZG-R primerleri kullanılarak gerçekleştirilememiştir. Bu durum, müze örneklerinde meydana gelen DNA degradasyonundan kaynaklanmaktadır. Degradasyona uğramış DNA'da PCR reaksiyonunu gerçekleştirebilmek için D-loop gen bölgesi 8 parçaya ayrılmış ve her bir parçaya özgü PCR primerleri dizayn edilmiştir. Bu primerler Çizelge 3.2'de verilmiştir.

PCR reaksiyonları 1X KCl PCR tampon (Fermantas), 1.5 mM MgCl₂ (Fermantas), 2.5 mM dNTP, 0.75 µM primer, 1.5 unit Taq polimeraz (Fermantas) ve yaklaşık 100 ng DNA'dan 2 µl kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Reaksiyon şartları; 94°C 3 dk. başlangıç denatürasyonundan sonra 35 defa tekrarlanan 94°C 30 saniye denatürasyon, 50°C 45 sn. bağlanma, 72°C 1 dk. uzama aşamaları ve 72°C 3 dk. son uzama olarak gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 3.2. MtDNA D-loop geninin her parçası için oluşturulan primer dizileri

Primerler	Primer Dizileri (5' – 3')	Uzunluk
OZG-F	AAGCATTGGTCTTGTAAAC	1-102
D102R	TGTGCGCGGGAGAGAGCAA	
D85F	TTGCTCTCTCCCGCGCACA	85-240
D240R	TGCATGTTCTAGTACAGTT	
D178F	TTTATGTAATCCGTAAGTGA	178-315
D315R	CTGTGACGATATTCATGGTG	
D269F	CGGACACACTTATTCAAAAT	269-417
D417R	ATGTACGCCAACTTTAAATG	
D379F	CATTACCAGTTTCAAGCC	379-516
D516R	TGTATAGAACACATCAACCG	
D468F	AAGTTCATATCATTATCTTTAA	468-616
D616R	TCAGTTATTTGGCAGGTAT	
D586F	CCCACAATACTGATACCTG	586-719
D719R	TGGTTGGTAATGTGTTTTG	
D682F	CGAAAGACATATAAATTCCA	682-776
OZGR	CGGATTTTGGGGTTTGACGA	

3.3.3.3. Çekirdek DNA mikrosatellit bilgilerinin polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ve reaksiyon koşulları

Çalışmada Que vd. (2007)'de verilen 15 mikrosatellit lokusa ait primer setleri ile PCR reaksiyonu yapılmıştır. Reaksiyonlarda kullanılan primer setleri ve oligonükleotit dizileri Çizelge 3.3'de verilmiştir.

Başlangıçta yapılan PCR reaksiyonları floresan işaretlenmemiş primerler ile bu lokusların *T. triunguis* türü için ampikon oluşturup oluşturmadığını belirlemek amacıyla gerçekleştirilmiştir. Bu denemelerden sonra toplam 9 lokusun (PS-01, PS-04, PS-11, PS-24, PS-25, PS-28, PS-29, PS-36, PS-40) *T. triunguis* için ampikon verdiği tespit edilmiş ve söz konusu lokuslara ait floresan işaretli (FAM, HEX, NED) primerler temin edilmiştir.

Çizelge 3.3. *Pelodiscus sinensis*'e ait Mikrosatellit lokus primerleri (Que vd., 2007)

Lokus	Forward Primer (5'-3')	Tekrar dizisi	Allel uzunluğu (bp)
PS-01F PS-01R	AGGCCAGAAGGGACCATTTA TGGTCGATCATTTTGCTGTG	(GT) ₁₈	215–246
PS-04F PS-04R	TGTGGCACCTGAAAGACTCA CCTGGACTTGATAAGTAACCCT	(GACACA) ₃ C(AC) ₃	166–168
PS-08F PS-08R	AAACTGACTACACTGGGGTGTG GTATTTGGGTGCATGCTTGA	(GT) ₁₀ (GA) ₁₄	143–167
PS-10F PS-10R	CATGGTCTAGGCAGTGCTGA GAGAGAACAGCCTCGCTGA	(CA) ₉	121–125
PS-11F PS-11R	CGCTCTTAGGCCAACAGTTC ATCACAGCAGCACACTCAGC	(TG) ₄ CA(TG) ₄	123–127
PS-21F PS-21R	TGCACATCCCAGACTGGTGA TCCATTTTGGGGTGTCTTCC	(GT) ₁₀	47–90
PS-24F PS-24R	GCCACGTACTCGTGGTTCAT GGAGGCTGTTTTACGACTG	(TG) ₉	108–110
PS-25F PS-25R	GCACCAGGAAAGAGTCAAGAA CAGCCCGAGAACATCAGAAT	(AC) ₈	123–125
PS-28F PS-28R	ACGCAGGACCAAGAGTGAGG TGTGCCACTCCCCGTATTGT	(CA) ₁₀	145–151
PS-29F PS-29R	AAGGGAGGAAGAGGACTGGT ACCATGCTACCCAATCAAGC	(CT) ₁₁	147–149
PS-32F PS-32R	CCAGAGTCTCAGCCCTGTTC AAACTTGGTTCCATGTTCAGC	(CT) ₁₄ GTCT(CA) ₁₃	123–141
PS-34F PS-34R	TGGCAAAGCGGTTAGCATA TCTCCACCCATGATCACAAA	(AC) ₅	92–110
PS-36F PS-36R	CAACCCAACTCTGCAGACAC GAATTGCATGGAAGGCAGAT	(AC) ₁₆	153–169
PS-38F PS-38R	AAAGCAGGGGAGAGAACAGC CATGGTCTAGGCAGTGCTGA	(GT) ₉	132–134
PS-40F PS-40R	GCACCAGGAAAGAGTCAAGAA CAGCCCGAGAACATCAGAAT	(AC) ₈	123–125

Mikrosatellit lokuslarının çoğaltılması için hazırlanan karışımlar toplam hacim 25 µl olacak şekilde hazırlanmıştır. Reaksiyon karışımı 100 ng template DNA, 2.5/5 mM dNTP, 1.5 mM MgCl₂, 0.50/0.75 µM primer, 0.5-1.5 unit Taq DNA polimeraz (Fermantas), 1X KCL PCR tampon (Fermantas) çözeltilerinden oluşmaktadır.

Örneklerin spesifik gen bölgelerinin çoğaltılması Thermal Cycler (Eppendorf) yardımıyla yapılmış ve Çizelge 3.4’de verilen PCR programları kullanılmıştır. İlk adımda 95°C’de 3 dk.’lık bir denatürasyonu takiben 94°C’de 1 dk.’lık denatürasyon, 50–55°C’de 45 sn. bağlanma ve 72°C’de 45 sn. uzama işlemi için 35 döngü olacak şekilde gerçekleştirilmiş ve 72°C’de 5 dk ilave uzama aşaması ile tamamlanmıştır (Çizelge 3.4).

Çizelge 3.4. Mikrosatellit bölgelerine ait PCR koşulları

	Fluoresans boyalar	Başlanıç Ayrılması	Ayrılma	Bağlanma °C/sn	Uzama	Son Uzama	Döngü
PS-01	FAM			55 / 45 sn			
PS-04	FAM			50 / 45 sn			
PS-11	FAM			50 / 45 sn			
PS-24	HEX	95°C	94°C	50 / 45 sn	72°C	72°C	35
PS-25	NED	3 dk	1 dk	50 / 45 sn	30 sn	5 dk	
PS-28	HEX			53 / 45 sn			
PS-29	NED			55 / 45 sn			
PS-36	NED			50 / 45 sn			
PS-40	NED			50 / 45 sn			

3.3.4. PCR Ürünlerinin Varlığının Tespit Edilmesi

PCR işleminden sonra ürünlerin kontrol edilmesi amacıyla mtDNA D-loop gen bölgesi için % 1’lik, mikrosatellit lokusları için ise % 2’lik agaroz jeller kullanılmıştır. Agaroz ve 0.5xTBE tamponu mikrodalga fırında 2 dk. kadar kaynatılıp hafifçe soğutulduktan sonra yükleme yapmak için kuyucukları oluşturacak tarak içeren elektroforez küveti içine dökülmüş ve 20-25 dk. agaroz jelin donması beklenmiştir. Daha sonra jel tarak çıkarıldıktan sonra elektroforez yürütme tankına yerleştirilerek üzerine jel yüzeyini kapatacak kadar 0.5xTBE

yürütme tamponu eklenmiştir. İlk kuyuya mtDNA için 100 bç (Fermantas), mikrosatellit lokusları için low range (Fermantas) DNA işaretleyicilerden 2.5 µl, sonraki kuyulara da 2 µl/6X Brom-fenol mavisi ile boyanmış her bir örneğe ait 3 µl PCR ürünü yüklenmiştir. Son kuyuya PCR karışımı hazırlanırken oluşabilecek herhangi bir kontaminasyonun varlığını tespit etmek amacıyla DNA yerine su konularak gerçekleştirilen PCR ürünü (negatif kontrol) yüklenmiştir. Daha sonra da 100 Volt'ta 30 dk. yürütülmüştür. Yürüme tamamlandıktan sonra küvetten alınan jel başka bir küvette bulunan %5 oranında Ethidium Bromide (EtBr) içeren 0.5X TBE çözeltisinin içerisinde 15 dk. bekletilmiştir. EtBr, DNA sarmalındaki bazlar ile van der Waals bağı kurarak 590 nm dalga boyundaki UV ışığı altında PCR ürününün görünür hale gelmesini sağlamıştır. EtBr ile boyanan DNA parçaları UV transilüminator ile görüntülenmiştir. Jel görüntüleri, jel dokümantasyon sistemi (Vilber Lourmat) kullanılarak kaydedilmiştir.

3.3.5. PCR Ürünlerinin Saflaştırılması

MtDNA D-loop ampliconları PCR Purification Kit (Invitrogen Life Technologies, Burlington, Ontario, Kanada) kullanılarak saflaştırılmış ve bu işlem sırasında firmanın kit ile birlikte göndermiş olduğu protokol takip edilmiştir.

3.3.6. MtDNA için Sekans Analizi

MtDNA D-loop gen bölgesinin dizileme analizleri için ampliconları oluşturan PCR primerleri kullanılmıştır. Bu primerlerle birlikte PCR ürünleri dizileme analizinin yapılması için Macrogen Inc. Firması'na gönderilmiştir (Seul, Güney Kore). Burada ABI PRISM 3700 DNA otomatik analiz (PE Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) cihazı ile dizileme yapılmıştır. Elde edilen sekanslar Gen Bankası'nda yer alan Trionychiade familyasına ait *Pelodiscus sinensis* ve *Dogania subplana* türlerine ait D-loop gen bölgeleri ile karşılaştırılmıştır. Bu amaçla National Center of Biotechnology Information'ın web sayfasındaki (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) Nucleotide-nucleotide BLAST programı kullanılmıştır.

3.4. Verilerin Analizi

3.4.1. MtDNA Dizilerinin Analizi

3.4.1.1. DNA dizilerinin hizalanması

DNA sekans analizi sonucunda elde edilen her iki DNA ipliğine ait dizilerin kromotogramları tek tek gözden geçirilerek her birey için en ortak DNA dizisi BioEdit 7.0.9 (Hall, 1999) paket programı kullanılarak elde edilmiştir. Bütün bireylere ait bu ortak diziler program için tek bir “girdi” dosyası haline getirilerek hizalama yapılmıştır. Bu hizalama işlemi Bioedit programı içerisine yerleştirilmiş ClustalW 2.0 (Thompson vd., 1997) programı ile gerçekleştirilmiştir. Hizalanan dizilerin başlangıç ve son kısımları arasındaki nükleotit dizileri korunarak, bu dizinin gerisinde ve ilerisinde kalan bütün örneklerde veri elde edilemeyen kısımlar dikkate alınmamıştır. Bu işlemler sonucunda bütün örnekler için diziler eşit uzunluğa getirilmiştir.

3.4.1.2. Haplotip ve nükleotit çeşitliliği

Bütün popülasyonlara ait mtDNA dizilerinin ortalama nükleotit içeriği, haplotip sayısı, transisyon, transversiyon, indel sayıları MEGA 4.0 (Kumar vd., 2004) paket programı vasıtasıyla hesaplanmıştır.

DNAsp 4.50 (Rozas vd., 2003) programı kullanılarak popülasyon içi ve popülasyonlar arası haplotipler oluşturulmuştur. Bu haplotiplerden popülasyonlardaki haplotip ve nükleotit çeşitliliği (π) (Nei, 1987) ve nükleotit farklılığı (Tajima, 1983) hem tüm popülasyonlar hem de her bir popülasyon için ayrı ayrı DNAsp 4.50 (Rozas vd., 2003) programı ile belirlenmiştir.

3.4.1.3. Popülasyonların genetik yapısı

T. triunguis türüne ait örnek toplanan habitatlar, birbirlerine olan coğrafik yakınlıkları ve istatistiksel verilere dayalı olarak gruplandırılmıştır. Gruplandırılan bu popülasyonların yapısını belirlemek amacıyla moleküler haplotipler arasındaki mutasyon miktarını dikkate alarak hesaplama yapan moleküler varyans (AMOVA)

analizi için GenAlEx (Peakall ve Smouse, 2001) programı kullanılmıştır. F_{ST} değeri hem tüm popülasyonlarda hem de grup çiftleri arasında hesaplanmıştır. F_{ST} değerinin istatistiksel önemi permütasyon analizi (tüm değerler için 1023, ikili popülasyon değerleri için 3024 permütasyon) uygulanmıştır.

3.4.1.4. Gen akışının hesaplanması

Popülasyonlar arası ve içindeki genlerin hareketi olarak tanımlanan gen akışı ARLEQUIN (Schneider vd., 2000) paket programı kullanılarak hesaplanmıştır. Farklı şekillerde hesaplanabilen (etkili popülasyon miktarı veya nadir ve özel allellerin kullanımı gibi) gen akışı bu çalışmada Slatkin (1995) tarafından geliştirilen ve doğal popülasyonlar arasındaki genetik farklılığın seviyesinin göstergesi olan F_{ST} değerlerinden hesaplanmıştır. Her popülasyon arasındaki gen akışı;

$$N_m = (1 - F_{ST}) / 2F_{ST}$$

formülü ile genetik uzaklık üzerinden hesaplanmıştır.

3.4.1.5. Nötralite testleri ve Mismatch (Uyumsuzluk) analizi

Bu testlerin amacı, rasgele olmayan şekilde çiftleşerek evrimleşen bir DNA sekansına karşı rasgele çiftleşen sekansı birbirlerinden ayırt etmek için kullanılır. Rasgele evrimleşen mutasyonlar nötral mutasyonlar olarak adlandırılırken seçim altındaki mutasyonlar nötral olmayan mutasyonlar olarak adlandırılır

Tajima D ve F_u 's istatistikleri, popülasyonların geçmişte bir seçilime uğrayıp uğramadıklarını test etmek için Arlequin 3.1 (Excoffier vd., 2006) programı kullanılarak hesaplanmıştır. Hesaplama sonucunun negatif ya da pozitif olmasına göre değerlendirilmiştir. Negatif değer, geçmişte ani bir popülasyon büyümesinin meydana geldiğini veya çok sayıdaki alleller üzerinde belirli bir allelin seçilime uğradığını göstermektedir (Fu, 1997; Soldevila vd., 2005). D değerinin istatistiksel olarak önemlilik göstermesi darboğaz veya popülasyon genişlemesi gibi faktörlerin etkin olduğunu işaret etmektedir (Tajima, 1996).

Uyumsuzluk dağılımı yöntemi popülasyon içi genetik varyasyonu kullanarak popülasyonun geçmişi (Ör, ani bir popülasyon genişlemesine maruz kalıp kalmadığı) hakkında bilgiler vermektedir (Rogers, 1995). Bu dağılım Arlequin 3.1

(Excoffier vd., 2005) programı ile belirlenmiştir. Unimodal dağılım, hızlı bir populasyon büyümesini işaret ederken, multimodal dağılım sabit populasyon büyüklüğünü gösterir.

3.4.1.6. Genetik uzaklık

MtDNA'ya ait elde edilen haplotiplerin MEGA 4.0 (Kumar vd., 2004) programı ile Neighbor-Joining (NJ) yöntemi kullanılarak filogenetik ilişkileri analiz edilmiştir. Bu filogenetik ilişki Kimura-2 parametresi kullanılarak belirlenmiş ve ağaç köklerinin desteği 1000 tekrarlı seç-bağla metodu ile sağlanmıştır.

3.4.2. Mikrosatellit verilerinin analizi

Mikrosatellit lokuslarının uzunluklarına ait bütün veriler Microsoft EXCEL programına girilmiştir. Bu veriler *T. triunguis* populasyonları içinde ve arasındaki genetik çeşitliliği belirlemek için çeşitli programlarda analiz edilmiştir. Microsoft EXCEL'e girilen verilerin analiz yapılacak programlara uyumlu "girdi" dosyalarına dönüştürmek için CONVERT 1.31 (Glaubitz, 2004) paket programı kullanılmıştır. Analiz programlarında genetik uzaklık, populasyon darboğazları, moleküler varyans (AMOVA), gen akışı, F_{ST} ve R_{ST} hesaplamaları ve allel frekansındaki değişim hesaplamaları yapılmıştır.

3.4.2.1. Hardy-Weinberg eşitliği ve bağlantı dengesizliği

Mikrosatellit lokuslarındaki çeşitlilik, beklenen heterozigotluk (H_e) ve gözlenen heterozigotluk (H_o) üzerinden hesaplanmıştır. Ayrıca GENEPOP 3.3 (Raymond ve Rousset, 1995) programı ile grup ve populasyonlardaki her lokus için Hardy-Weinberg dengesinden sapma miktarı ve lokuslar arasındaki bağlantı eşitsizliği Markov zincir permütasyonları ile belirlenmiştir.

3.4.2.2. Populasyonlar arasındaki genetik farklılık

Genetik farklılık hem her lokus için hem de bütün lokuslar için populasyonlar arasında beklenen heterozigotluk ile gözlenen heterozigotluk karşılaştırılarak hesaplanmıştır. Bu hesaplamalar GenAlEx (Peakall ve Smouse, 2001) programı ile

gerçekleştirilmiştir. Ayrıca, her lokus için populasyon çiftleri arasındaki allel frekansındaki farklılıklar GENEPOP (Raymond ve Rousset, 1995) programındaki Markov zincir yöntemi kullanılarak Fisher's exact testi ile hesaplanmıştır.

3.4.2.3. Populasyonların genetik yapısı

Populasyonların genetik yapısı "Infinite Allel Model (IAM)" ve "Stepwise Mutation Model (SMM)" üzerinden belirlenmiştir. Bu iki model kullanılarak F_{ST} (IAM) ve R_{ST} (SMM) hesaplamaları yapılmıştır. IAM, 20 mikrosatellit lokusundan daha az sayıda lokus analizlerde kullanıldığı için F_{ST} hesaplamaları bu model üzerinden gerçekleştirilmiştir (Gaggiotti vd., 1999). Populasyonlar arasındaki ikili karşılaştırmalar F_{ST} ve R_{ST} için GenAlEx (Peakall ve Smouse, 2001) programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Populasyonlar arasındaki gen akışı (Nm) F_{ST} 'nin populasyonların ikili karşılaştırma sonuçlarına göre Microsoft Excel kullanılarak $Nm = 1/(4(F_{ST}-1))$ eşitliği üzerinden hesaplanmıştır (Wright, 1951). Moleküler varyans analizi (AMOVA) (Excoffier vd., 1992) populasyonlar arasındaki genetik çeşitliliği belirlemek için kullanılmıştır.

Populasyonlar arasındaki genetik uzaklık değerlerine bağlı UPGMA genetik uzaklık metodu kullanılarak Nei (1972) yaklaşımı üzerinden bir dendrogram oluşturulmuştur. Bu dendrogram PHYLIP 3.5 programı üzerindeki NEIGHBOR modülü kullanılarak çizilmiştir.

3.4.2.4. Populasyon darboğazlarının belirlenmesi

Trionyx triunguis populasyonlarındaki son darboğazı test etmek için BOTTLENECK 1.2 (Piry vd., 1999) programı kullanılmıştır. Populasyon büyüklüklerinde son bir düşüş geçiren populasyonlarda polimorfik lokuslardaki heterozigot miktarında ve allel sayılarında birbirlerine paralel düşüşler gözlenmektedir. Fakat allelik farklılık heterozigotluktan daha hızlı bir düşüş göstermektedir. Bu durum, sadece Infinite allel model (IAM) altında evrimleşen lokuslar için geçerli bir durumdur. Lokuslar Stepwise mutasyon modeli (SMM) altında evrimleşirse heterozigot fazlalığının gözlenmediği durumlar olabilmektedir (Cornuet ve Luikart 1996). Bir populasyonun lokuslarının önemli derecede heterozigotluk fazlalığı gösterip göstermediğini belirlemek için Sign test ve

Wilcoxon sign-rank testleri SMM, IAM ve TPM (Two phase model) modelleri kullanılarak uygulanmıştır (Cornuet ve Luikart 1996; Piry vd., 1999).

3.4.2.5. Assignment test

Assignment testler lokuslara bağlı olarak oluşan genotip üzerinden bir populusyona bireyleri atayan testtir. Bireyler Bayesian olasılık yaklaşımı (Rannala ve Mountain, 1997)'na göre populusyonlara atanmıştır. Bu test GeneClass2 (Piry vd., 2005) programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. MtDNA D-loop Geni Sekans Analizi

4.1.1. DNA Dizilerinin Hizalanması

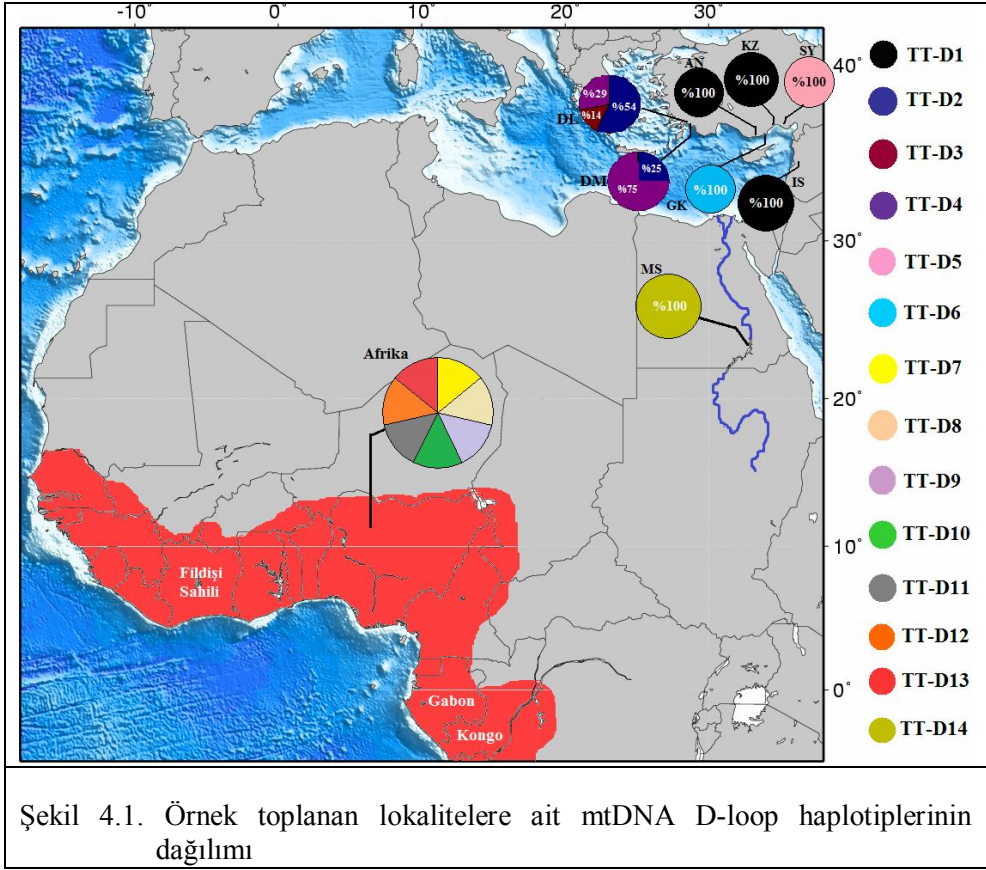
İsrail’den 8, Dalaman’dan 20, Dalyan’dan 7, Afrika Kıtası’ndan 7 olmak üzere 4 grup/populasyondan 42 örnekten örneklem yapılmıştır. Ayrıca Anamur’dan 4, Kazanlı’dan 3, Göksu Deltası’ndan 1, Seyhan’dan 2 örnek toplanmış, ancak bu populasyonlardaki örnek sayıları üzerinden bir değerlendirme yapmanın zor olması nedeniyle bu yaşama alanları coğrafik yakınlıklarına göre gruplandırılarak AnGkKzSy (10 örnek) populasyonu olarak ele alınmıştır. Sonuç olarak, toplam 52 örnek mtDNA D-loop gen bölgesinin dizi analizi gerçekleştirilmiştir.

Elde edilen diziler öncelikle *Trionyx triunguis*’e yakın türler olan *Pelodiscus sinensis* ve *Dogania subplana* ile birlikte aynı türün Amer ve Kumazawa (2009)’nın ortaya koyduğu bütün mtDNA sekansı ile karşılaştırılmıştır, daha sonra çalışılan gen bölgesini temsil edip etmediği Gen Bankası’nda bulunan Blast uygulaması yoluyla kontrol edilmiştir.

Elde edilen sekansların *T. triunguis* türüne yakınlık gösterdiği tespit edilmiştir. Daha sonra sekansların başlangıç ve son kısımlarında bulunan fazlalık kısımlar atılarak elde edilen toplam 776 bç.lık bölüm üzerinden mtDNA’ya ait analizler gerçekleştirilmiştir.

4.1.2. Haplotip Dağılımı

Haplotip analizine göre *T. triunguis* türünün yayılış alanında toplam mtDNA D-loop bölgesi için 14 haplotip tespit edilmiştir (Şekil 4.1). Bu haplotipler Gen Bankası’na HM068069-HM068081 kod numaralarıyla kaydı yapılmıştır. Bütün haplotiplerin lokalitelere göre dağılımı Ek 4.1’de verilmiştir. Tespit edilen bu haplotipler toplam 102 polimorfik bölgeden oluşmaktadır. Bu polimorfik bölgeler 68 transisyon, 12 transversiyon ve 22 insersiyon/delesyon’dan oluşmaktadır.



Anamur, Kazanlı ve İsrail’de sadece TT-D1 haplotipi (%100) gözlenmiş olup bu haplotip başka hiçbir lokalitede tespit edilememiştir.

TT-D2, TT-D3 ve TT-D4 haplotipleri Batı Akdeniz’de fiks olmuş durumdadır. Dalyan’da TT-D2, TT-D3 ve TT-D4 haplotiplerinin dağılımı sırasıyla %57, %14, ve %29 oranlarında değişirken, Dalaman’da TT-D2 ve TT-D4 haplotipleri %25 ve %75 oranında bulunmaktadır.

Seyhan’dan elde edilen 2 örnekte de TT-D5 haplotipi tespit edilmiştir. Göksu Deltası’ndan elde edilen bir örneğin sekansı 2 transversiyon, 1 transisyon ve 1 indel ile Seyhan’dan ayrılmaktadır (TT-D6).

Bütün sekanslar içerisinde tespit edilen 102 polimorfik DNA dizisinin büyük bir kısmı Afrika örneklerinin Akdeniz Havzası örneklerinden ayrılmasından kaynaklanmaktadır. Afrika Kıtası’ndan sekans analizi yapılan bütün örneklerin ayrı birer haplotipe sahip oldukları belirlenmiştir.

Bu haplotiplerden TT-D7, TT-D8, TT-D9, TT-D10 ve TT-D11 lokalitesi tam olarak bilinmeyen ancak Batı Afrika'dan temin edilen 4 örnek ile Fildişi Sahili'nden (Batı Afrika) elde edilen örneği kapsamaktadır. Orta Afrika'dan Kongo ve Gabon örnekleri ise birbirlerine yakın polimorfik özellik gösteren TT-D12 ve TT-D13 haplotiplerini oluşturmuşlardır. Ayrıca Amer ve Kumazawa (2009)'nın ortaya koyduğu D-loop sekansı TT-D14 koduyla ayrı bir haplotip olarak isimlendirilmiştir.

4.1.3. Haplotip (H_d) ve Nükleotit Çeşitliliği

Anamur, Göksu Deltası, Kazanlı, Seyhan ve İsrail'den elde edilen örneklerde sadece 1 haplotipin bulunmasından dolayı herhangi bir haplotip çeşitliliği söz konusu değildir. Bunun yanında Dalyan popülasyonunda %73 oranında haplotip çeşitliliği bulunurken bu değer Dalaman ve Afrika popülasyonlarında sırasıyla %40 ve %100 olarak tespit edilmiştir. Bütün popülasyonlar için haplotip çeşitliliği 0.79 olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1. Popülasyonlara göre haplotip ve nükleotit çeşitliliği

Lokale	H_d	$\Pi \pm SD$	K
Dalyan	0.73	0.00043± 0.00002	1.40
Dalaman	0.40	0.00	0.79
Batı Akdeniz	0.40	0.00052± 0.00003	0.40
Anamur	0.00	0.00	0.00
Göksu	0.00	0.00	0.00
Kazanlı	0.00	0.00	0.00
Seyhan	0.00	0.00	0.00
İsrail	0.00	0.00	0.00
Doğu Akdeniz	0.70	0.00104± 0.00004	0.80
Afrika	1.00	0.03460± 0.00753	33.48
Toplam	0.79	0.018± 0.0052	10.93

Çalışılan popülasyonlar arasındaki toplam nükleotit çeşitliliği 0.018±0.0052 olarak hesaplanmıştır. Bütün popülasyonlar içinde sadece Dalyan ve Afrika örnekleri nükleotit çeşitliliği gösterirken bu değer, Dalyan popülasyonu için 0.00043±0.00002, Afrika grubu için 0.035±0.0075 olarak hesaplanmıştır.

4.1.4. Nükleotit Dağılımı

Her bir haplotip için hesaplanan her bir nükleotit oranı Çizelge 4.2’de verilmiştir. Bütün haplotipler içerisinde nükleotitlerin dağılımı %12.1-%33.9 arasında değişmektedir. TT-D4 haplotipi için T-C-A-G yüzdeleri sırasıyla %28.9, %25.2, %33.7 ve %12.2 olarak bulunurken bütün haplotipler içerisinde en yüksek %GC (37.3) oranı hesaplanmıştır. Afrika Kıtası’ndan tespit edilen haplotiplerde Akdeniz Havzası’ndakilere nazaran daha düşük oranda %GC (%36.5-%36.9) belirlenmiştir. *T. triunguis* türüne ait ortalama nükleotit dağılımı %29.3 (T), %24.7 (C), %33.7 (A), %12.3 (G) şeklinde karşımıza çıkarken, %GC oranı ise %37 olarak hesaplanmıştır.

Çizelge 4.2. Haplotiplere göre nükleotit frekansları ve %GC

Haplotipler	T	C	A	G	%GC
TT-D1	29.1	25.0	33.7	12.2	37.2
TT-D2	29.1	25.0	33.7	12.2	37.2
TT-D3	29.1	25.0	33.9	12.1	37.1
TT-D4	28.9	25.2	33.7	12.2	37.4
TT-D5	29.0	25.0	33.8	12.2	37.2
TT-D6	29.2	24.8	33.9	12.2	37.0
TT-D7	29.9	24.1	33.3	12.8	36.9
TT-D8	29.8	24.0	33.2	12.9	36.9
TT-D9	30.0	23.9	33.3	12.8	36.7
TT-D10	29.7	24.2	33.7	12.4	36.6
TT-D11	29.8	24.0	33.5	12.6	36.6
TT-D12	29.7	24.2	33.8	12.3	36.5
TT-D13	29.5	24.2	33.9	12.3	36.5
TT-D14	29.1	24.8	33.9	12.1	36.9
Ort.	29.3	24.7	33.7	12.3	37.0

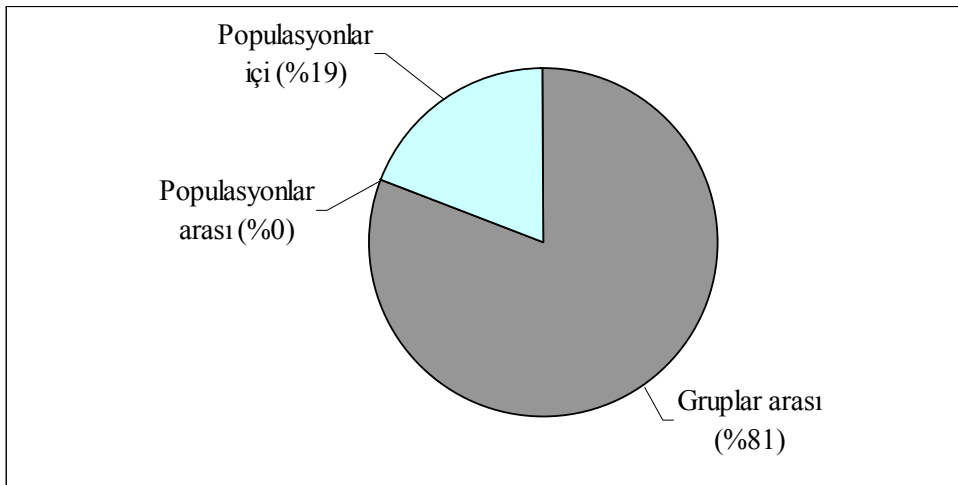
4.1.5. Populasyonların Genetik Yapısı

Trionyx triunguis türüne ait mtDNA D-loop gen bölgesi ve mikrosatellit lokuslarına ait analizler, türün yaşama alanları coğrafik yakınlıklarına göre

gruplandırılarak gerçekleştirilmiştir. Öncelikli olarak bu gruplar arasındaki farklılıklar ortaya konmuş, daha sonra bu grupları oluşturan populasyonlar arasında farklılıklar tespit edilmiştir. Buna göre;

- (1) Batı Akdeniz Grubu: Dalyan ve Dalaman populasyonlarından,
- (2) Doğu Akdeniz Grubu: Anamur-Göksu-Kazanlı-Seyhan (AnGkKzSy) ile İsrail populasyonlarından,
- (3) Afrika Grubu: Afrika kıtasından toplanan bütün örneklerden oluşmaktadır.

Gerçekleştirilen AMOVA analizi sonucunda gruplar arasındaki genetik varyasyon bütün varyasyonun %81.0'ini oluşturmaktadır ($p < 0.01$). Grupları oluşturan populasyonlar içindeki genetik varyasyon ise %19.0 oranında ($p < 0.01$) saptanırken, populasyonlar arasında herhangi bir varyasyon tespit edilmemiştir (%0.00; $p > 0.05$) (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. Bütün örneklerin oluşturduğu farklılaşmanın gruplar arasında, populasyonlar arasında ve populasyonlar içindeki miktarının moleküler varyans analiz sonucundaki dağılımı

Gruplar arasındaki en büyük genetik farklılık Afrika Kıtası ile Batı Akdeniz arasında hesaplanırken en az genetik farklılık Batı Akdeniz ile Doğu Akdeniz grupları arasında saptanmıştır (Çizelge 4.3). Bununla birlikte 3 bölgenin de kendi aralarında önemli derecede genetik farklılık gösterdiği tespit edilmiştir ($p = 0.01$).

Çizelge 4.3. MtDNA D-loop gen bölgesinin 3 grup arasındaki F_{ST} değerleri. Üstteki sayılar önemlilik derecesini vermektedir. (Permütasyon sayısı: 3078)

	Batı Akdeniz	Doğu Akdeniz	Afrika
Batı Akdeniz		0.01	0.01
Doğu Akdeniz	0.648		0.01
Afrika Kıtası	0.878	0.848	

Batı Akdeniz grubu içindeki Dalyan ve Dalaman ile Doğu Akdeniz grubu içindeki İsrail ve AnGkKzSy arasında herhangi bir genetik farklılık gözlenmemiştir (Dalyan/Dalaman $F_{ST} = 0.289$, $p = 0.07$; İsrail/AnGkKzSy $F_{ST} = 0.079$, $p = 0.25$). Diğer yandan, Dalyan-Dalaman ve İsrail-AnGkKzSy populasyon çiftleri haricindeki bütün populasyon çiftleri arasında önemli derecede genetik farklılık tespit edilmiştir ($p < 0.01$) (Çizelge 4.4).

Çizelge 4.4. Beş populasyonun ikili kombinasyonu ile F_{ST} değerleri. F_{ST} değerleri alt sırada, 1000 permütasyonlu önemlilik değerleri üst sırada verilmiştir.

	İsrail	AnGkKzSy	Dalyan	Dalaman	Afrika
İsrail		0.250	0.010	0.010	0.010
AnGkKzSy	0.079		0.010	0.010	0.010
Dalyan	0.838	0.598		0.070	0.010
Dalaman	0.782	0.595	0.289		0.010
Afrika	0.765	0.787	0.740	0.856	

4.1.6. Gen Akışının Hesaplanması

Populasyonlar arasında F_{ST} değeri üzerinden hesaplanan göç oranı en fazla Batı ve Doğu Akdeniz grupları arasında hesaplanmıştır (Çizelge 4.5). Diğer yandan Afrika grubu ile Batı ve Doğu Akdeniz grupları arasındaki gen akışı oldukça sınırlıdır.

Çizelge 4.5. MtDNA D-loop gen bölgesinin 3 grup arasındaki F_{ST} değerleri üzerinden hesaplanan göç oranları (N_m)

	Batı Akdeniz	Doğu Akdeniz	Afrika
Batı Akdeniz			
Doğu Akdeniz	0.27		
Afrika	0.07	0.09	

Populasyonlar içinde sadece Dalyan-Dalaman ve İsrail-AnGkKzSy arasında yüksek oranda gen akışı belirlenmiştir (Çizelge 4.6).

Çizelge 4.6. Batı Akdeniz ve Doğu Akdeniz grupları içindeki populasyonlar arası gen akışının F_{ST} değerleri üzerinden hesaplaması. $Nm = 1$, yüksek gen akışı; $Nm = 0$, gen akışı yok.

	İsrail	AnGkKzSy	Dalyan	Dalaman	Afrika
İsrail					
AnGkKzSy	5.867				
Dalyan	0.096	0.336			
Dalaman	0.139	0.340	1.229		
Afrika	0.153	0.136	0.176	0.084	

4.1.7. Nötralite Testleri ve Mismatch (Uyumsuzluk) Analizi

Tajima D değeri, Afrika grubu dışındaki bütün grup ve populasyonlarda pozitif değer olarak belirlenmiş olmasına rağmen, önemlilik göstermemektedir ($p > 0.05$). Bu durum populasyonların geçmişte seçim dışında populasyon büyümesi, darboğaz gibi faktörlerin etkisinde kalmadığını göstermektedir. Bununla birlikte, uyumsuzluk analizi ile tüm populasyonlar için populasyon büyümesinin nötral modeli reddedilmiştir (Çizelge 4.7).

Çizelge 4.7. *T. triunguis* populasyonlarındaki Nötralite Testi ve Uyumsuzluk Dağılımı analiz sonuçları. SSD: Sum of squared differences.

	<i>D</i>	<i>P</i>	<i>F_s</i>	<i>P</i>	<i>SSD</i>	<i>p</i>
Dalyan	-1.0062	0.2200	0.4064	0.5040	0.0385	0.4180
Dalaman	0.0000	1.0000	2.3433	0.8170	0.3116	1.0000
Batı Akdeniz	-1,1535	0.1280	-0.6389	0.3120	0.1381	0.1140
İsrail	0.0000	1.0000	0.0000	1.0000	0.0000	1.0000
AnGkKzSy	-0.6153	0.2630	-0.4186	0.2740	0.0958	0.1550
Doğu Akdeniz	-1.0711	0.2160	-2.1117	0.0510	0.06339	0.0700
Afrika	0.8812	0.8360	0.2177	0.3420	0.1018	0.2350

4.1.8. Genetik Uzaklık

Gruplar arası en yüksek genetik mesafe değeri Afrika ile Batı ve Doğu Akdeniz arasında tespit edilirken, en küçük değer ise Batı ve Doğu Akdeniz grupları arasında hesaplanmıştır (Çizelge 4.8).

Çizelge 4.8. Populasyon grupları arasındaki genetik uzaklık değerleri (Kimura-2 parametre).

	Batı Akdeniz	Doğu Akdeniz
Doğu Akdeniz	0.00193	
Afrika	0.35580	0.33666

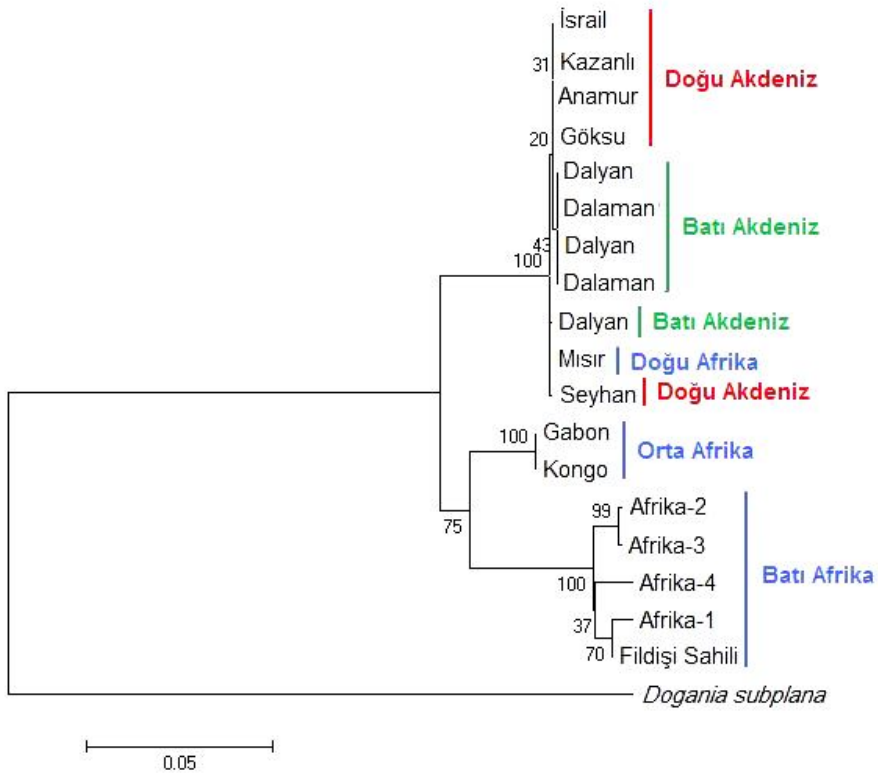
Populasyonlar arası genetik mesafe Kimura-2 parametresine göre hesaplanmıştır. Buna göre, populasyonlar arasındaki en küçük genetik uzaklık değeri Dalyan ile Dalaman ve AnGkKzSy ile İsrail arasında hesaplanmıştır (Çizelge 4.9).

Çizelge 4.9. Populasyonlar arasındaki genetik uzaklık değerleri (Kimura-2 parametre).

	Dalyan	Dalaman	AnGkKzSy	İsrail
Dalaman	0.0004			
AnGkKzSy	0.0021	0.0017		
İsrail	0.0018	0.0013	0.0003	
Afrika	0.0747	0.0752	0.0738	0.0737

T. triunguis türüne ait örneklerin toplandığı lokalitelerde tespit edilen haplotipler ile filogenetik analizde dendogram oluşturmak için kullanılan dış grup (*Dogania subplana*) arasındaki genetik uzaklık değerleri Ek 4.2’de verilmiştir.

T. triunguis örnekleri için gerçekleştirilen NJ analizi sonucunda oluşturulan ağaca göre, *T. triunguis* türü temel olarak Akdeniz Havzası ve Afrika kıtası olmak üzere 2 dala ayrılmıştır (Şekil 4.3). Akdeniz Havzası dalında İsrail, Kazanlı, Anamur ve Göksu’nun oluşturduğu Doğu Akdeniz ile Dalyan ve Dalaman’ın oluşturduğu Batı Akdeniz grubu bulunmaktadır. Bununla birlikte Amer ve Kumazava (2009)’nın Mısır’dan elde ettiği bir örneğe ait D-loop DNA dizisi Akdeniz dalı içerisinde yer almaktadır. Diğer taraftan, Afrika Kıtası’nın orta bölümünde yer alan Kongo ve Gabon’a ait örnekler ile kıtanın batı bölümünde yer alan örnekler Afrika dalının içerisinde ayrı birer alt dal oluşturmuşlardır (Şekil 4.3).



Şekil 4.3. MtDNA D-loop gen bölgesinde genetik uzaklığa bağlı olarak çizilen Neighbor-joining (NJ) ağacı (Kimura-2 parametre; 1000 replicate)

4.2. Mikrosatellit Verilerinin Analizi

Çalışma süresi boyunca toplam 102 *Trionyx triunguis* bireyi mikrosatellit analizleri için kullanılmıştır. Bu örneklerde toplam 9 adet mikrosatellit lokusu çalışılmıştır.

4.2.1. Hardy-Weinberg Eşitliği ve Bağlantı Dengesizliği

Gözlenen heterozigotluk Hardy Weinberg eşitliği altında beklenen heterozigotluktan TT-28 lokusu dışında istatistiksel olarak önemli bir fark göstermemektedir. TT-28 lokusu Afrika grubunda HW dengesinden sapma göstermiştir ($p < 0.05$). En yüksek gözlenen heterozigotluk tüm gruplar içinde Afrika'da ($H_o = 0.1217$) belirlenirken, en düşük gözlenen heterozigotluk Doğu Akdeniz'de ($H_o = 0.0741$) saptanmıştır. Populasyonlar içinde ise en yüksek gözlenen heterozigotluk değeri Dalyan'da ($H_o = 0.0916$) tespit edilirken, en düşük değer İsrail'de ($H_o = 0.0476$) belirlenmiştir (Çizelge 4.10).

Çizelge 4.10. Grup ve populasyonlardaki varyasyon hesaplamaları. *Na*: Her lokustaki ortalama allel sayısı, *He*: Beklenen heterozigotluk ortalaması, *Ho*: Gözlenen heterozigotluk ortalaması, H-W: Hardy Weinberg dengesinden sapmanın anlamlılık ölçüsü, ns: Anlamlı değil

	Dalyan	Dalaman	Batı Akdeniz	AnGkKzSy	İsrail	Doğu Akdeniz	Afrika
<i>Na</i>	1.3333	1.3333	1.3333	1.3333	1.2222	1.3333	1.5556
<i>He</i>	0.0757	0.0631	0.0721	0.1020	0.0745	0.0991	0.2000
<i>Ho</i>	0.0916	0.0556	0.0823	0.0909	0.0476	0.0741	0.1217
H-W	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

Herhangi bir populasyonun rastgele iki lokusu arasında önemli derecede bir bağlantı dengesizliği tespit edilmemiştir ($p > 0.05$). Bununla birlikte, mikrosatellit lokuslarındaki allelik çeşitliliğinin birbirlerinden bağımsız olarak gerçekleştiği belirlenmiştir.

4.2.2. Genetik Çeşitlilik

Pelodiscus sinensis için tasarlanan 15 mikrosatellit lokusuna ait primerlerin dokuz çifti *Trionyx triunguis* türü için amplikon oluşturmuştur. Amplikon oluşturan 9 lokusun üç tanesi populasyonlar arasında çeşitlilik göstermiş ve bu türün populasyon yapısının belirlenebilmesi için kullanılmışlardır. Çeşitlilik gösteren lokuslardan TT-01 lokusunda beş allel, TT-04 lokusunda iki allel ve TT-28 lokusunda üç allel tespit edilmiştir. Bu lokuslardaki allel uzunlukları TT-28'deki 141 baz çiftinden TT-01'deki 212 baz çiftine kadar değişim göstermektedir.

Batı ve Doğu Akdeniz gruplarında 6 allel bulunurken Afrika'da 9 allel bulunmaktadır (Çizelge 4.11). TT-28 lokusunda Batı Akdeniz ve Doğu Akdeniz gruplarında sadece bir allel tespit edilirken Afrika grubunda 3 allel belirlenmiştir. Bu lokustaki bütün alleller homozigottur. Dört allel sadece Afrika'da fikse olurken dört allelde bütün gruplar arasında paylaşılmıştır.

Çizelge 4.11. *T. triunguis*'in populasyonlarındaki allel frekanslarının dağılımı

[illegible]

4.2.3. Allel Frekansları

Allel frekanslarının grupları oluşturan populasyonlar arasında değerlendirildiğinde, hem Batı Akdeniz'i oluşturan Dalyan ve Dalaman populasyonları arasında hem de Doğu Akdeniz'i oluşturan AnGkKzSy ve İsrail populasyonlarında herhangi bir fark olmadığı belirlenmiştir (Dalyan ve Dalaman, $p = 0.75$; AnGkKzSy ve İsrail, $p = 0.08$). Ayrıca Dalyan ve Dalaman populasyonları ile Doğu Akdeniz populasyonu olan AnGkKzSy arasında önemli bir fark bulunmazken (Dalyan ve AnGkKzSy, $p = 0.40$; Dalaman ve AnGkKzSy, $p = 0.15$), bu iki populasyon ile İsrail populasyonu arasında allel frekansı bakımından önemli derecede farklılık söz konusudur ($p < 0.001$).

Gruplar arasında allel frekansları bakımından önemli derecede farklılık tespit edilmiştir ($p < 0.001$).

4.2.4. Populasyonların Genetik Yapısı

4.2.4.1. Gruplar arasında

Batı Akdeniz ile Doğu Akdeniz ($F_{ST} = 0.123$, $p < 0.01$; $R_{ST} = 0.163$, $p < 0.01$), Batı Akdeniz ile Afrika ($F_{ST} = 0.571$, $p < 0.01$; $R_{ST} = 0.697$, $p < 0.01$) ve Doğu Akdeniz ile Afrika grupları ($F_{ST} = 0.375$, $p < 0.01$; $R_{ST} = 0.361$, $p < 0.01$) arasında F_{ST} ve R_{ST} hesaplamalarına göre önemli bir genetik yapı tespit edilmiştir (Çizelge 4.12; 4.13).

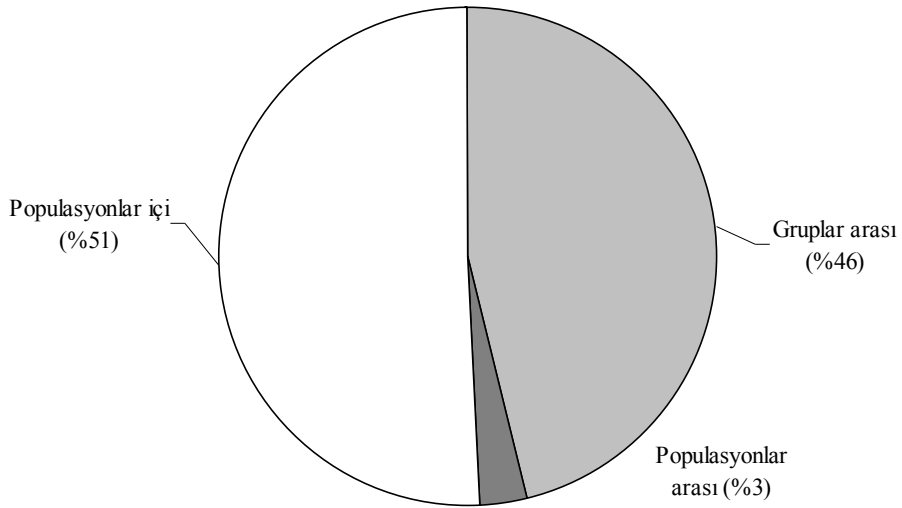
Çizelge 4.12. Üç grubun ikili kombinasyonu ile F_{ST} değerleri. F_{ST} değerleri alt sırada, 99 permütasyonlu önemlilik değerleri üst sırada verilmiştir.

	Batı Akdeniz	Doğu Akdeniz	Afrika
Batı Akdeniz		0.010	0.010
Doğu Akdeniz	0.123		0.010
Afrika	0.571	0.375	

Çizelge 4.13. Üç grubun ikili kombinasyonu ile R_{ST} değerleri. R_{ST} değerleri alt sırada, 99 permütasyonlu önemlilik değerleri üst sırada verilmiştir.

	Batı Akdeniz	Doğu Akdeniz	Afrika
Batı Akdeniz		0.010	0.010
Doğu Akdeniz	0.163		0.010
Afrika	0.697	0.361	

Gerçekleştirilen AMOVA analizi sonucunda 5 populasyon arasındaki önemli derecede genetik farklılaşma tespit edilmiştir ($p < 0.05$). Bütün örnekler için belirlenen bu farklılığın %46'sını gruplar arasındaki farklılık ($p < 0.01$) oluşturmakla birlikte, %3'ü populasyonlar arası ($p > 0.05$), %51'i ise populasyonlar içindeki farklılaşma ($p < 0.01$) sayesinde meydana gelmektedir (Şekil 4.4).



Şekil 4.4. Bütün örneklerin oluşturduğu farklılaşmanın gruplar arasında, populasyonlar arasında ve populasyonlar içindeki miktarının moleküler varyans analiz sonucundaki dağılımı

4.2.4.2. Populasyonlar arasında

Batı grubu içindeki Dalyan ve Dalaman populasyonları arasında herhangi bir genetik farklılık gözlenmezken ($F_{ST} = 0.001$, $p = 0.45$; $R_{ST} = 0.001$, $p = 0.39$),

Doğu grubu içindeki AnGkKzSy ve İsrail popülasyonları arasında farklılık söz konusudur ($F_{ST} = 0.136$, $p < 0.05$; $R_{ST} = 0.146$, $p < 0.05$) (Çizelge 4.14). Diğer yandan Dalyan ve Dalaman popülasyonları ile AnGkKzSy arasında bir farklılık tespit edilememiştir (Dalyan-AnGkKzSy, $F_{ST} = 0.013$, $p = 0.20$, $R_{ST} = 0.028$, $p = 0.16$; Dalaman-AnGkKzSy, $F_{ST} = 0.021$, $p = 0.12$, $R_{ST} = 0.05$, $p = 0.11$) (Çizelge 4.15).

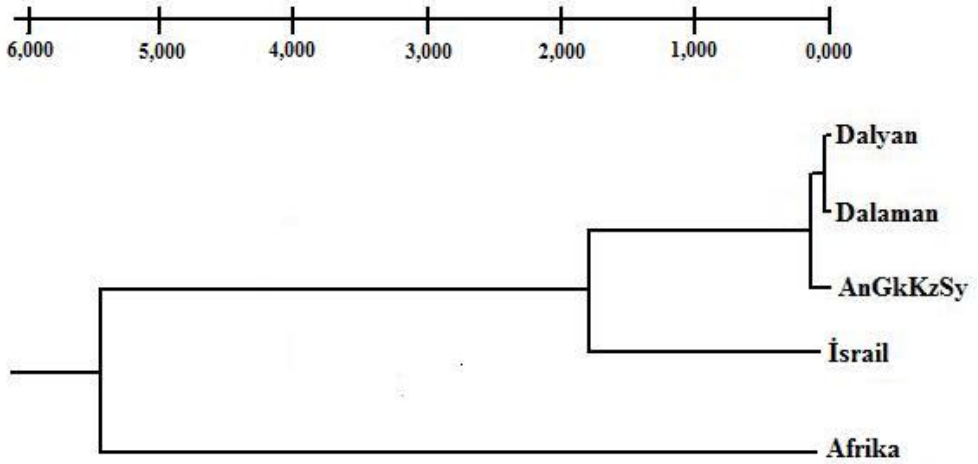
Çizelge 4.14. Beş popülasyonun ikili kombinasyonu ile F_{ST} değerleri. F_{ST} değerleri alt sırada, 99 permütasyonlu önemlilik değerleri üst sırada verilmiştir.

	Dalyan	Dalaman	AnGkKzSy	İsrail	Afrika
Dalyan		0.450	0.200	0.010	0.010
Dalaman	0.001		0.120	0.010	0.010
AnGkKzSy	0.013	0.021		0.020	0.010
İsrail	0.320	0.359	0.136		0.010
Afrika	0.547	0.527	0.359	0.336	

Çizelge 4.15. Beş popülasyonun ikili kombinasyonu ile R_{ST} değerleri. R_{ST} değerleri alt sırada, 99 permütasyonlu önemlilik değerleri üst sırada verilmiştir.

	Dalyan	Dalaman	AnGkKzSy	İsrail	Afrika
Dalyan		0.390	0.160	0.010	0.010
Dalaman	0.000		0.110	0.010	0.010
AnGkKzSy	0.028	0.050		0.030	0.010
İsrail	0.386	0.425	0.146		0.030
Afrika	0.633	0.387	0.259	0.167	

Popülasyonlar arasındaki genetik uzaklığa dayalı olarak oluşturulan UPGMA ağacı Şekil 4.5’de verilmiştir. Buna göre, 2 ana grup ortaya çıkmıştır. Bunlardan birincisi Afrika örneklerinin oluşturduğu grup, diğeri ise Dalyan, Dalaman, AnGkKzSy ve İsrail’in oluşturduğu Akdeniz Havzası grubudur. Akdeniz Havzasının oluşturduğu dalda AnGkKzSy grubunun Dalyan ve Dalaman dalları ile birlikte İsrail’den farklı olarak ayrı bir alt dalda yer aldığı tespit edilmiştir.



Şekil 4.5. Mikrosatellit lokuslarından oluşturulan UPGMA dendogramı (Nei, 1972). Üstte genetik uzaklık skalası bulunmaktadır

4.2.5. Gen Akışı

Afrika ile Doğu ve Batı Akdeniz grupları arasındaki gen akışı son derece kısıtlıdır ($Nm < 1$). Öte yandan, Batı ve Doğu Akdeniz grupları arasında yüksek miktarda gen akışı söz konusudur (Çizelge 4.16).

Çizelge 4.16. Batı Akdeniz, Doğu Akdeniz ve Afrika grupları arasındaki gen akışının F_{ST} değerleri üzerinden hesaplaması. $Nm = 1$, yüksek gen akışı; $Nm = 0$, gen akışı yok.

	Batı Akdeniz	Doğu Akdeniz	Afrika
Doğu Akdeniz	1.784		
Afrika	0.188	0.417	

Populasyonların ikili olarak karşılaştırılmasıyla F_{ST} değeri üzerinden hesaplanan gen akışına göre, en yüksek değer Dalyan ve Dalaman populasyonları ile AnGkKzSy populasyonu arasında belirlenmiştir (Dalyan/AnGkKzSy, $Nm = 18.4$; Dalaman/AnGkKzSy, $Nm = 11.8$). Diğer yandan Afrika grubunun diğer populasyonlarla çok sınırlı miktarda bir gen akışı bulunmaktadır ($Nm < 1$). Bu durum İsrail ile Dalyan ve Dalaman populasyonları için de söz konusudur (Çizelge 4.17).

Çizelge 4.17. Batı Akdeniz ve Doğu Akdeniz grupları içindeki populasyonlar arasındaki gen akışının F_{ST} değerleri üzerinden hesaplaması. $Nm = 1$, yüksek gen akışı; $Nm = 0$, gen akışı yok.

	Dalyan	Dalaman	AnGkKzSy	İsrail	Afrika
Dalaman	-----				
AnGkKzSy	18.427	11.795			
İsrail	0.532	0.447	1.593		
Afrika	0.207	0.225	0.447	0.493	

4.2.6. Populasyon Darboğazlarının Belirlenmesi

Bütün grup ve populasyonlar için gerçekleştirilen Sing ve Wilcoxon sign-rank testleri sonucunda lokuslarda önemli derecede heterozigot fazlalığı tespit edilmemiştir ($p > 0.05$). IAM, SMM ve TPM modelleri altında hesaplanan bu değerlere göre *T. triunguis*'in çalışılan yayılış sahası içerisindeki populasyonların geçmişte bir darboğaza uğramadıkları belirlenmiştir.

4.2.7. Assignment Test

Gerçekleştirilen Assignment Test'e göre, Dalyan örneklerinin % 92'si ($N = 52$) doğru olarak sınıflanırken %8'i hatalı sınıflandırılmıştır. Populasyona atanan bireylerin doğru olarak sınıflanma miktarı en yüksek İsrail populasyonunda tespit edilmiştir (İsrail % 100 ($N = 6$)). Bu oranın en düşük olduğu populasyon Dalaman'dır (%45'i doğru sınıflanmıştır). Bununla birlikte AnGkKzSy populasyonu içindeki toplam 11 bireyin 8 (% 73)'i doğru olarak sınıflanırken, 2 (% 18) tanesi Dalyan, 1 (% 9) tanesi ise Dalaman'da olmak üzere yanlış sınıflandırılmıştır (Çizelge 4.18).

Çizelge 4.18. Çoklu lokus genotipine bağlı olarak populasyonlara atanan bireylerin sayısı

[illegible]

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Günümüzde 14 cins ve bu cinslere giren 30 tür ile temsil edilen Trionychidae familyasındaki kaplumbağaların populasyon yapılarını belirlemeye yönelik çalışma son derece sınırlıdır (McGaugh vd., 2008; Güçlü vd., 2009). Bununla birlikte yapılan çalışmalar türlerin filogenetik ilişkilerini belirlemeye yönelik çalışmalardır (Weisrock ve Janzen, 2000; Engstrom vd., 2002; Engstrom vd., 2004; Prashag vd., 2007; McGaugh ve Janzen, 2008).

Bu çalışma da *Trionyx triunguis*'in bütün yayılış sahasından toplanan örnekler kullanılarak mtDNA D-loop geni ve mikrosatellit lokusları ile populasyonlar içindeki ve arasındaki genetik yapı belirlenmiştir. mtDNA D-loop bölgesi için bu çalışma da dizayn edilen primerler, mikrosatellit lokusları için ise Que vd., 2007'de belirtilen 9 lokusa ait primerler kullanılmıştır.

5.1. Populasyonlardaki Genetik Çeşitlilik ve Genetik Yapılaşma

MtDNA D-loop analizine göre, populasyonları oluşturan gruplarda tespit edilen haplotiplerin sadece belirlendiği gruplara özgü olduğu ortaya konmuştur. Diğer bir ifade ile gruplarda bulunan hiçbir haplotip diğer gruplarda paylaşılmamakta ve sadece bir grupta fiksedir. Afrika'da gözlenen haplotiplerin ve allellerin sayısı dikkate alındığında yüksek oranda genetik çeşitliliğe sahiptir (Çizelge 4.11; Ek 4.1). Bununla birlikte Doğu ve Akdeniz grupları içinde Afrika ile kıyaslandığında düşük miktarda bir genetik farklılık söz konusudur. Batı ve Akdeniz grupları kendi içlerinde düşük oranda bir genetik çeşitliliğe sahiptir. Ancak hem bu gruplar arasında hem de bu gruplar ile Afrika arasındaki genetiksel farklılık son derece önemlidir ($p < 0.01$).

Bir tür veya populasyonda belirlenen heterozigotluk miktarı o tür veya populasyonun genetik çeşitliliğini belirlemede kullanılan en önemli özelliktir (Allendorf ve Luikard, 2007). Tüm lokuslarda gruplar içinde gözlenen heterozigot değerleri bakımından en yüksek değer Afrika'da, en düşük değer Doğu Akdeniz grubunda gözlenmiştir (Çizelge 4.10). Beklenen ve gözlenen heterozigotluk değerlerinin birbirine çok yakın olması populasyonların Hardy-Weinberg dengesinde olduğunu ve bu populasyonlar içinde bir soy içi üremenin olmadığını göstermektedir (Allendorf ve Luikard, 2007). Gruplar arasında varyasyon gösteren

3 lokustan sadece TT-28 lokusu açısından Afrika grubu Hardy-Weinberg (HW) dengesinden sapma gösterirken, geri kalan iki lokus açısından bütün populasyonlar HW dengesindedir. Afrika grubu için görülen bu durum, grupta bir soy içi üremenin olabileceğini göstermektedir.

MtDNA D-loop gen bölgesi ile mikrosatellit lokuslarından elde edilen sonuçlar bir arada değerlendirildiğinde, Afrika grubu içerisinde önemli derecede farklılaşma söz konusudur ($p = 0.001$). Ayrıca, Batı ve Doğu Akdeniz içinde Afrika ile karşılaştırıldığında sınırlı miktarda genetik farklılaşma olmasına rağmen, bu üç grup arasında önemli derecede farklılaşma vardır ($p < 0.01$). F_{ST} değeri populasyonlardaki genetik sürüklenmenin bir ölçüsüdür. Başka bir ifadeyle, populasyonlar arasında hesaplanan F_{ST} değerinin 1'e yakın olarak belirlenmesi, genetik sürüklenmenin bu populasyonların içinde ve arasındaki farklılıkların oluşumunda önemli bir rol oynaması şeklinde yorumlanabilir. F_{ST} ve R_{ST} hesaplamalar, kullanılan örnek ve lokus sayısına göre değişiklik göstermektedir. Buna göre, R_{ST} 'nin, özellikle örnek sayısının 50'den fazla ve çalışılan lokus sayısının 20'den fazla olduğu durumlarda F_{ST} 'ye göre daha iyi sonuç verdiği belirlenmiştir. Eğer örnek ve lokus sayısı 20'den az ise populasyonların genetik yapılarının belirlenmesinde F_{ST} üzerinden gerçekleştirilen hesaplamalar kullanılmaktadır (Gaggiotti vd., 1999; Balloux ve Lugon-Moulin, 2002; Neigel, 2002). MtDNA D-loop gen bölgesine göre, üç grup arasındaki F_{ST} değerleri oldukça yüksek tespit edilmiştir. Burada dikkat edilecek husus, özellikle Afrika grubu ile Batı ve Doğu Akdeniz grupları arasındaki F_{ST} değerlerinin, 1'e çok yakın olarak hesaplanmış olmasıdır (Afrika-Batı Akdeniz: 0.878; Afrika-Doğu Akdeniz: 0.848). Noria vd. (2004)'nın Meksika sahillerinde yuvalayan *Chelonia mydas* türü deniz kaplumbağası üzerinde gerçekleştirdiği çalışmada mtDNA için populasyonlar arasındaki F_{ST} değerini 0.004-0.029 olarak hesaplamıştır. Bu değer *T. triunguis* populasyonları arasında 0.079-0.838 olarak belirlenmiştir.

Mikrosatellit lokuslarında ise bu değerler, mtDNA'ya göre daha düşüktür. Buna göre, Afrika ile Batı-Doğu Akdeniz ve Batı ile Doğu Akdeniz arasındaki F_{ST} değerleri sırasıyla, 0.571, 0.375 ve 0.123 olarak hesaplanmıştır. Yine bu grup kombinasyonları arasındaki R_{ST} değerleri ise, 0.697, 0.361 ve 0.163 olarak belirlenmiştir. Mikrosatellit lokuslarından elde ettiğimiz F_{ST} değerleri Carreras vd. (2007)'nin *Caretta caretta* türü deniz kaplumbağası populasyonları için hesapladığı F_{ST} değerleri ile kıyaslandığında oldukça yüksektir. *Trionyx triunguis*'e ait populasyonlar arasında belirlenen F_{ST} değerleri 0.000-0.547

arasında iken, bu değer *C. caretta* için 0.000-0.286 arasında değişim göstermektedir. Bu değer *Chelonia mydas* türü deniz kaplumbağası için ise 0.001-0.006 olarak tespit edilmiştir (Noria vd., 2004). R_{ST} değerleri yönünden değerlendirildiğinde, *T. triunguis* türü için R_{ST} değerleri populasyonlar arasında 0.000-0.633 olarak belirlenirken, bu değer *C. mydas* için 0.002-0.036 arasında değişmektedir.

Bir türe ait populasyonlar arasında normal bir gen akışının var olması durumunda F_{ST} değeri 0.05'ten düşük olacaktır. Eğer F_{ST} değeri 0.05-0.1 arasında ise populasyonlar birbirlerinden yarı izole olmuşlardır. F_{ST} 'nin 0.1'den yüksek olması populasyonların birbirlerinden tamamıyla izole oldukları anlamına gelmektedir (Wilson ve Rannala, 2003). Hem mtDNA hem de mikrosatellit lokus analizlerine göre, *T. triunguis* türünün Afrika grubunun Batı ve Doğu Akdeniz populasyon gruplarından izole olduğu belirlenmiştir ($F_{ST} > 0.5$).

Gen akışı, bir populasyondan diğer populusyona genlerin veya genleri oluşturan allellerin transfer olmasıdır (Allendorf ve Luikard, 2007). Populasyonları birbirlerinden ayıran bir bariyerin olması, bu populasyonların arasındaki gen akışının doğal olarak düşük olmasına yol açacaktır ve bunun bir sonucu olarak ta populasyonlar arasında genetiksel açıdan bir izolasyon meydana gelebilecektir (Slatkin, 1985). MtDNA D-loop gen bölgesinin F_{ST} değerine göre, gruplar arasında hesaplanan gen akışı oldukça azdır (Çizelge 4.5). Bu gruplar arasında en fazla gen akışı Batı ve Doğu Akdeniz grupları arasında hesaplanmıştır ($Nm = 0.3$). Bununla birlikte Afrika ile Batı ve Doğu Akdeniz grupları arasında hemen hemen gen akışı söz konusu değildir ($Nm < 0.1$). Doğu Akdeniz grubu içindeki gen akışının Batı Akdeniz grubu içindeki gen akışından fazla olduğu belirlenmiştir (Doğu Akdeniz için $Nm = 5.9$; Batı Akdeniz için $Nm = 1.2$).

Mikrosatellit lokuslarına bağlı olarak hesaplanan gen akışına göre, Batı ve Doğu Akdeniz grupları arasında bir gen akışı söz konusudur ($Nm = 1.8$). Afrika grubunun Batı ve Doğu Akdeniz ile olan gen akışı, mtDNA için hesaplanan gen akışına paralel bir şekilde Batı ve Doğu Akdeniz arasındaki gen akışından oldukça düşük hesaplanmıştır ($Nm < 1$). MtDNA'da olduğu gibi mikrosatellit lokuslarında da Batı ve Doğu Akdeniz'i oluşturan populasyonlar arasında yüksek oranda gen akışı tespit edilmiştir ($Nm > 1$). Ancak, mikrosatellit lokuslarında populasyonlar arasında hesaplanan gen akışı mtDNA'dan farklılık göstermektedir. Buna göre, Doğu grubu içerisinde yer alan AnGkKzSy populasyonu ile Batı Akdeniz

içerisindeki Dalyan ve Dalaman populasyonları arasında yüksek miktarda gen akışı söz konusudur ($AnGkKzSy/Dalyan-Nm = 18.4$; $AnGkKzSy/Dalaman-Nm = 11.8$).

Afrika grubu Batı ve Doğu Akdeniz gruplarında bulunmayan allelleri içermektedir. Bu durum, gen havuzundaki bu allellerin kaybolması durumunda bu türün genetik çeşitliliğinin büyük oranda etkileneceğini göstermektedir. Genetik çeşitlilikte oluşabilecek bu muhtemel kayıp koruma önceliği olarak Afrika grubunun Batı ve Doğu Akdeniz gruplarından daha önemli olduğunu ortaya çıkarmıştır. Ayrıca, hem mtDNA hem de mikrosatellit lokuslarında tespit edilen gen akışının Afrika grubu ile diğer gruplar arasında yok denecek kadar az miktarda olması, bu gruba özgü allel veya haplotiplerin bulunması ve gruplar arasında fikse olan farklılıkların bulunması Afrika grubunun türün evrimleşmesi sürecinde Akdeniz Havzası'ndan büyük oranda ayrılmış olduğunu göstermektedir. *T. triunguis* türü için tespit edilen Akdeniz Havzası ile Afrika Kıtası ayrımı mtDNA *ND4* ve *sitokrom b* gen bölgeleri tarafından da desteklenmiştir (Güçlü vd., 2009).

5.2. Genetiksel Verilerin Çeşitli Modellemeler Yoluyla Açıklanması

Mikrosatellit lokuslarına göre Batı Akdeniz grubunu oluşturan Dalyan ve Dalaman populasyonları ile Doğu Akdeniz grubunu oluşturan AnGkKzSy populasyonu arasında yüksek miktarda gen akışı belirlenirken mtDNA için böyle bir durum söz konusu değildir. Bunun nedenleri olarak populasyonların etkili populasyon büyüklüklerinin küçük olması veya mtDNA'nın fiksasyona mikrosatellit lokuslardan daha hızlı bir şekilde gitmesi gösterilebilir. Bilindiği gibi Nil yumuşak kabuklu kaplumbağasının üreme biyolojisine ait ayrıntılı bilgi neredeyse mevcut değildir. Bununla birlikte, deniz kaplumbağalarında görülen “yuva yeri sadakati (Bir dişinin aynı yuvalama kumsalına yuva yapması)” davranışının dişi *T. triunguis* bireylerinde de görülmesi olası bir sonuçtur. Ayrıca farklı populasyonlarda yuvalayan dişi bireylerin çiftleşme için belirli bölgelere gitmesi ve aynı erkek bireyler tarafından bu dişilerin döllenmesi yine kuvvetle muhtemeldir. Gerçekleştirilen çalışmalarda Türkiye'nin Akdeniz açıklarında çok sayıda ergin *T. triunguis* bireyine rastlanılmıştır (Oruç, 2001; Taşkavak ve Akçınar, 2009).

Populasyonların genetik çeşitliliğine ve genetik yapısına bağlı olarak populasyonların nasıl oluştuğunu veya dağılım gösterdiğini açıklamak için çeşitli modeller bulunmaktadır. Vikaryans türün yayılış alanını, birbirinden izole olmuş iki veya daha fazla alana bölerek aralarındaki gen akışını engelleyen olaylardır (Freeman ve Herron, 2001). Bu senaryoda, sadece bir tane olan *T. triunguis* populasyonu deniz seviyesi azaldığı zaman temelde Afrika ve Akdeniz Havzası olmak üzere 2 ayrı grup oluşturacak şekilde parçalara ayrılmıştır. Böylece türün günümüzdeki genetik yapısı, genetik sürüklenme yoluyla oluşmuştur (F_{ST} değerleri 1'e çok yakın). Bunun yanında, Afrika grubunda görülen yüksek genetik çeşitlilik, diğer gruplar ile kıyaslandığında geçmişte en büyük populasyon büyüklüğüne sahip olmasından kaynaklanabilir.

Dispersal (Dağılış) modele göre, populasyonlar veya bireyler yeni habitatlara yerleşerek komşu küçük alt populasyonlar oluşturabilirler. Daha sonra oluşan bu küçük alt populasyonlar coğrafik olarak izole olabilirler (Freeman ve Herron, 2001). Bu senaryoya göre, *T. triunguis* için kaynak populasyon olan Afrika grubunu oluşturan bireyler denizin yükselmesiyle öncelikle Doğu Akdeniz Havzası'nda kolonize olmuş, daha sonra Batı Akdeniz bölümüne geçiş yapmıştır. Bu varsayıma göre gruplar arasındaki gen akışının öncelikle Afrika-Doğu Akdeniz arasında, daha sonra da Doğu Akdeniz-Batı Akdeniz arasında gerçekleştiği tahmin edilmektedir. MtDNA D-loop gen bölgesi ve mikrosatellit lokuslarının analizine göre, Afrika ile Batı ve Doğu Akdeniz populasyonları arasındaki en fazla gen akışı sırasıyla Doğu Akdeniz ve Batı Akdeniz populasyonları arasında gerçekleşmiştir. Bütün bunlara ek olarak, Doğu Akdeniz grubunu oluşturan populasyonların ilk kurucu populasyonlar, Batı Akdeniz grubunu oluşturan populasyonların ise ikincil olarak kolonileşen kurucu populasyonlar olduğu düşünülebilir. Kolonileşme Senaryosu (Rowe vd., 2008)'na göre, Afrika kıtasında yaşamını sürdüren *T. triunguis* türü Akdeniz Havzası'nın yükselmesiyle bir seferde kuzeye doğru göç etmişlerdir. Daha sonra meydana gelen izolasyon ile türün Afrika grubu Akdeniz grubundan ayrılmıştır. Akdeniz populasyonu tek bir populasyonu oluşturmuştur. Bunun bir sonucu olarak Batı ve Doğu Akdeniz populasyonları Afrika populasyonundan daha fazla oranda allel paylaşmışlardır. Ayrıca Afrika grubunun diğer gruplara nazaran daha fazla genetik çeşitliliğe sahip olması, beklenen bir sonuçtur. Gerek MtDNA gerekse mikrosatellit lokuslarının analizine göre, *T. triunguis* populasyonlarının geçmişte nasıl bir dağılım gösterdiğini açıklayan en iyi model Vikaryans Modelidir.

Afrika populasyonları içerisinde görülen yüksek orandaki genetik çeşitliliğe göre, bu populasyonların kaynak populasyonlar olması olasıdır. Buna göre, asıl kaynağı Afrika Kıtası olan *T. triunguis* türüne ait bireyler zamanla kuzeye doğru dağılarak Akdeniz Havzası'ndaki populasyonları oluşturmuşlardır. Batı ve Doğu Akdeniz populasyonlarında Afrika populasyonuna göre daha düşük miktarda genetik çeşitlilik gözlenmiştir. Bu durum, Akdeniz Havzası'nda yer alan populasyonların küçük populasyon büyüklüğüne sahip olmalarının sonucu olarak ortaya çıkan genetik sürüklenme ile çeşitlilikte bir azalmayı veya kurucu etkisini yansıtır olabilir. Populasyonlarda meydana gelen genetik çeşitlilik ve buna bağlı olarak allel zenginliği populasyon büyüklüğü ile pozitif bir ilişki içindedir (Lu vd., 2005). Bu duruma göre, Afrika populasyonları yüksek genetik çeşitliliğe sahip olmasından dolayı populasyon büyüklükleri en fazla olan populasyonlar olarak düşünülebilir. Mevcut verilere göre Batı ve Doğu Akdeniz gruplarının büyük oranda eşit büyüklükteki populasyon grupları oldukları söylenebilir.

5.3. Yönetim Uygulamaları

Bir populasyonun evrimsel önemli birim (ESU= Evolutionarily Significant Unit) veya yönetim birimi. (MU= Management Unit) olarak sınıflandırılması, ancak o populasyonun genetik yapısının belirlenmesi ile mümkün olacaktır (Moritz vd., 1995; Moritz, 1999). Mockford vd. (2007) populasyonların ESU olarak değerlendirilmesi için Moritz (1994) tarafından ortaya atılan “hem çekirdek lokuslarındaki allel frekanslarının önemli farklılık göstermesi hem de mtDNA allellerinde reziprokal monofili olması gerekliliği” gibi sınırlı kriterlere gerek olmadığını belirtmiştir. Bunun yanında, Fraser ve Bernatchez's (2001) “bir türe ait bir soy hattı ile türün diğer soy hatları arasında büyük oranda sınırlı bir gen akışının olması o soy hattının ESU olarak değerlendirilmesi için yeterlidir” şeklinde daha genel bir kriter ortaya koymuştur. Her iki durumda da, ESU'nun tanımlanması için genetiksel verilerle oluşturulmuş bir yapı, ekolojik veriler tarafından desteklenmelidir (Mockford vd., 2007). Buna göre, populasyon veya populasyon gruplarının ESU olarak tanımlanması düşünüldüğü durumlarda, genetiksel analizler ile lokal ekolojik verilerin birleştirilerek değerlendirme yapılması gerekmektedir.

Lokal genetik yapılaşmalar, türlerin koruma planlaması ve yönetimi için önemli belirleyici etkenler olarak değerlendirilebilir. Alt bölümlere ayrılmış bir

populasyonda birey veya habitat bileşenlerindeki herhangi bir azalma toplam birey sayısında önemli bir azalma ile birlikte genetik çeşitliliğin kaybının artmasına bağlı olarak oluşan lokal yok oluşlara yol açmaktadır (Mockford vd., 2005). *Trionyx triunguis*'in Afrika bölümü, Batı ve Doğu Akdeniz bölümlerinden daha fazla genetik çeşitliliğe sahiptir. Bu yüzden Afrika grubu *T. triunguis* türünün evrimsel geleceğinin devamı için temel oluşturmasından dolayı, bu türün genetik çeşitliliğinin korunmasında Batı ve Doğu Akdeniz grupları ile kıyaslandığında daha önemli bir gruptur. Afrika, Batı Akdeniz ve Doğu Akdeniz grupları arasında önemli derecede genetiksel farklılıklar bulunduğu için bu grupların hepsi koruma önlemlerinin alınabilmesi için ayrı birer yönetim birimi olarak tanımlanabilirler. Ayrıca Batı Akdeniz ve Doğu Akdeniz gruplarını oluşturan populasyonlar genetik çeşitliliğin miktarına bağlı olarak ayrı birer alt yönetim birimleri olarak değerlendirilebilirler. Bu şekilde oluşturulacak alt yönetim birimleri birbirlerinden bağımsız olarak yönetileceklerdir.

Türlerin korunması için çeşitli yönetim birimlerinin oluşturulduğu çalışmalar bulunmaktadır. Encalada vd. (1998) Atlantik ve Akdeniz'deki *Caretta caretta* populasyonlarının birlikte değerlendirilmesi durumunda en az altı yönetimsel birimin bulunduğunu ortaya koymuşlardır. Carreras vd. (2007) Akdeniz Havzası'nda bulunan *C. caretta* türü deniz kaplumbağası için çeşitli yönetim birimleri belirlemiştir. Kuzey Amerika'da yayılış gösteren *Glyptemys insculpta* türü tatlı su kaplumbağasının DEWA (Delaware Water Gap National Recreation Area)'da yayılış gösteren populasyonun tek başına ayrı bir yönetim birimi olarak değerlendirilmesi gerektiğini belirtmiştir (Castellano vd., 2008).

Kaplumbağalar uzun süreli yaşamlarını sürdüren canlılar oldukları için uzun süreli populasyon izleme çalışmalarının yapılması genetik çeşitliliğin takip edilmesi için önemlidir (Limpus vd., 2002). Bu yüzden bütün populasyonlarda türün populasyon büyüklüğünün net bir şekilde ortaya konabilmesi, yaşam şartlarının takip edilmesi, maruz kaldığı veya kalması muhtemel tehditlerin neler olduğunun belirlenebilmesi ve en önemlisi bütün bu olguların türün genetik çeşitliliğini ne derecede etkilediğinin tespit edilebilmesi için uzun süreli populasyon izleme programları uygulanması gerekmektedir. *T. triunguis* türünün populasyon yapısını, yaşama alanlarının bu populasyonlara olan etkisini ve türün gelecekteki durumunu belirlemeye yönelik ciddi bir bilimsel çalışma günümüze kadar yapılmamıştır. Bu çalışma, temel bir çalışma olarak ele alınarak bundan sonra gerçekleştirilecek uzun süreli izleme çalışmaları için bir yol haritası olarak değerlendirilebilir. Bu süreçte,

çalışmada örneklem yapılan populasyonlardan yeniden örneklem yapılarak sayı artırılmalıdır. Bununla birlikte, yeni lokuslar veya markerlar kullanılması ile gerçekleştirilen yeni genetiksel analizler sayesinde populasyonların durumu daha net bir şekilde belirlenebilecektir.

Kaplumbağa populasyonlarının etkili bir şekilde yönetimi için o populusyona ait türlerin morfolojik özelliklerinin ve populusyondaki birey sayısının bilinmesi gerekmektedir (Hamann vd., 2008). Ayrıca küçük populusyonlarda büyük populusyonlara nazaran daha hızlı bir şekilde soy içi üreme meydana gelebilmektedir. Bu şekilde oluşacak bir genetik yapılaşmanın (soy içi üreme depresyonu, genetik sürüklenme yoluyla genetik çeşitliliğin kaybı) bu populusyonların nesillerinin tükenmesine neden olması kuvvetle muhtemeldir (Frankham vd., 2002; Carreras vd., 2007). Tatlı su kaplumbağaları, insanların direkt veya dolaylı olarak etkilerinden (habitatların yok edilmesi, parçalanması, aşırı kullanımı, kirlilik) dolayı hızlı bir şekilde yok olmaktadır. Bunların içerisinde en önemli faktör habitatların kaybı veya yok edilmesidir. Bu durum, özellikle küçük populusyonlarda genetik çeşitliliğin kaybolmasında etkilidir (Frankham vd., 2002).

Amerika'nın güneydoğusunda bulunan *Gopherus polyphemus* türü kara kaplumbağasının yaşadığı habitatın bozulması ve bu kaplumbağaların besin amaçlı toplanmasından dolayı 100 yıldan daha fazla süredir devam eden bir darboğaz ile karşı karşıya bulunduğu tespit edilmiştir. Bu durumun, populusyonu oluşturan birey sayısında %80 oranında düşüşe yol açtığı belirlenmiştir (Auffenberg ve Franz, 1982; Alacs vd., 2007). *Emydoidea blandingii* türü tatlı su kaplumbağası türünün populusyonunu oluşturan bireylerin sayısının azalmasındaki en önemli etkenin habitatların parçalanması veya kaybının olduğu ortaya konmuştur (McCollough, 1997; Mockford vd., 2007).

T. triunguis'in Doğu Akdeniz grubu içerisinde yer alan İsrail populusyonundaki Nahal Alexander'da 1990'ların başına kadar iyi bir populusyon bulunmaktaydı. Fakat oluşan fırtınalar ve bunun bir sonucu olarak denizin iç kısımlara doğru girmesinden sonra habitatta belirgin bir şekilde değişiklikler meydana gelmiş ve populusyon hızlı bir şekilde azalmaya başlamıştır (Kasperek, 2003). Günümüzde ise türün üremesi için uygun bölgelerin kaybolmasından dolayı populusyonu oluşturan bireyler tek veya ikişerli gruplar halinde dağınık bir şekilde bulunmaktadır. Bununla birlikte, Dalaman'da olduğu gibi meydana gelen turist

aktivitesi ile oluşan kentsel yapılaşma türün yuva yapabileceği uygun habitatları tehdit etmektedir. Bu aktivite, ya nehirlerin denizle birleştiği ağız bölümlerini kapatmakta ya da nehir kenarlarında bulunan yuvalamaya müsait kumul ve çamurlu habitatı yok etmektedir (Kasperek, 2003).

5.4. Genetik Çeşitliğin Korunması

Genetik çeşitlilik, çevresel değişimlere uyum sağlayabilmek amacıyla evrimleşen populusyonlar için son derece önemlidir. Genetik çeşitlilikte meydana gelebilecek bir azalma türlerin üreme ile ilgili uyum güçlerinde bir azalmaya neden olacaktır. Bu yüzden genetik çeşitliliğin korunması koruma biyolojisi için önemli bir noktadır (Frankham vd., 2002). Lacy (1987) bir populusyonda genetik çeşitliliğin korunmasında her nesil için 5 göçmenin yeterli olacağını belirtirken, Mills ve Allendorf (1996) göçmen sayısının 1-10 birey arasında olması gerektiğini ortaya koymuştur. Son olarak, Vucetich ve Waite (2000) populusyon büyüklüğindeki değişimlerden dolayı çeşitliliği artırmak için 10 göçmenden daha fazla bireyin populusyona katılmasının yeterli olacağını belirtmiştir. *T. triunguis* mtDNA ve mikrosatellit lokus verilerine göre Batı ve Doğu Akdeniz grupları ve grup içindeki populusyonlar arasında genetik çeşitlilik kaybını en aza indirgeyecek miktarda bir gen akışı söz konusudur. Ayrıca Doğu Akdeniz grubunda yer alan AnGkKzSy populusyonu ile Batı Akdeniz grubundaki Dalyan ve Dalaman populusyonları arasındaki mikrosatellit lokusları için tespit edilen çok yüksek miktarda gen akışı bu populusyonlardaki genetik çeşitlilik kaybını ortadan kaldırmaktadır. Bununla birlikte, Afrika ile Batı Akdeniz ve Doğu Akdeniz grupları arasında gen akışının yok denecek kadar az olması Afrika grubunun diğerlerinden iyice izole olduğu, kendine özgü bir genetik yapının oluştuğunu göstermektedir.

Çeşitli türler habitat yıkımı ve yuvalama alanlarının tahribatı gibi tehlikelerle karşı karşıyadır. Bu tehditlerin hepsi bir türün etkili populusyon büyüklüğünü azaltabilir ve bunun sonucunda da küçük populusyonlarda görülen soyiçi üreme depresyonu ve genetik sürüklenme gibi genetik faktörler büyük populusyonlara nazaran daha hızlı gerçekteşebilir. Bu durum zamanla populusyonların ortadan kalkmasına neden olabilir (Gilpin ve Soulé, 1986; Saccheri vd., 1998). Habitatların yeniden düzenlenmesi ile birlikte türün yayılış alanı içinde yeni populusyonların oluşturulması veya iyice küçülmüş olan bir populusyona büyük bir populusyondan bireylerin taşınımı yoluyla insan aktivitesi ile parçalanmış/bozulmuş alanlardaki

populasyonların devamlılıkları yeniden inşa edilebilmektedir (Hanski ve Gilpin, 1997). Populasyonlar arasındaki bağlantının yeniden sağlanması durumunda populasyonlar içindeki nesil tükenmesi kontrol altına alınmış olacaktır (Hanski, 1998). Ayrıca, habitatların düzenlenmesi ile sağlanan bu bağlantının yeniden yapılandırılması insan kaynaklı olarak bozulan sistemlerdeki populasyonların uzun süreli hayatta kalabilme olasılıklarının artması için son derece önemlidir (Moritz, 1999).

5.5. Populasyonların Geçmişi

Filocoğrafya filogenetik sistematik ve populasyon genetiği arasında bir köprü olarak bulunmaktadır (Avise, 2000). Bununla birlikte, tür çeşitliliği ve populasyon yapısının ne gibi faktörler tarafından etkilendiğinin anlaşılmasına katkıda bulunmaktadır (Avise, 1994). Dispersal ve vıkaryans yaklaşım biyocoğrafik özellikleri paylaşan temel mekanizmalar olarak tanımlanmaktadır (Stace, 1989).

Günümüzden 7.3 ila 5.3 milyon yıl arasındaki dönem Messinian Jeolojik Dönemi olarak isimlendirilmektedir. Messinian döneminin ortalarında yaklaşık 6 milyon yıl önce (MYÖ) meydana gelen ve yaklaşık 640.000 yıl kadar süren Messinian Tuz Krizi olarak isimlendirilen jeolojik olayda, Cebelitarık Boğazı kapanarak Atlas okyanusu ile Akdeniz Havzası arasında su akışı kesilmiş ve Akdeniz Havzası kurumıştır (Hsü, 1972, Krijgsman vd., 1999). Keller (2005) Orta Doğu'da yer alan *T. triunguis* populasyonlarının Afrika'da yer alan populasyonlar ile aralarında yüksek miktarda genetik farklılaşma olmasından dolayı coğrafik olarak birbirlerinden izole olduklarını ortaya koymuştur.

Güçlü vd. (2009) mtDNA *ND4* ve *sitokrom b* gen bölgelerine ait DNA dizilerini kullanarak Afrika Kıtası ile Akdeniz Havzası arasındaki nükleotit farklılaşmasını 1.5 ± 0.7 olarak hesaplamıştır. Bu çalışmada elde edilen Afrika örnekleri kıtanın batı kısmından temin edilmiştir. Bu örneklerle ek olarak, Orta Afrika'da bulunan Kongo ve Gabon ile yine Batı Afrika'da bulunan Fildişi Sahilleri'nden birer örnek bu analizlere dahil edildiğinde Afrika Kıtası ile Akdeniz Havzası arasındaki nükleotit farklılaşma oranı 1.2 ± 0.5 olarak belirlenmiştir (Güçlü vd., yayınlanmamış bilgi). İki bölüm arasındaki % nükleotit farklılaşmasının 1.5 'ten 1.2 'ye düşmesinin nedeni Orta Afrika'dan örneklerin analize dahil edilmesidir. MtDNA *ND4* ve *sitokrom b* gen bölgeleri ile mtDNA D-loop ve

mikrosatellit lokuslarındaki populasyonlar arasındaki farklılaşma miktarları da dikkate alındığında Afrika Kıtası bireyleri Akdeniz Havzası bireylerinden Havza'nın batı bölümünden başlayarak doğuya doğru bir ayrılma göstermiştir.

Kaplumbağa mtDNA'sının her milyon yılda %0.25 oranında evrimleştiği tespit edilmiştir (Avice vd., 1992). Güçlü vd. (2009) Afrika-Akdeniz Havzası ayrımının günümüzden yaklaşık olarak 6.0 ± 2.8 MYÖ gerçekleştiğini ortaya koymuştur. Bu örneklerle Kongo ve Gabon'dan elde edilen örnekler de eklendiğinde Afrika-Akdeniz Havzası ayrımının günümüzden 4.8 ± 2.0 MYÖ meydana geldiği sonucu ortaya çıkmaktadır (Güçlü vd., yayınlanmamış bilgi).

T. triunguis türünün Anadolu'da kolonileşmesi hususunda çeşitli varsayımlar bulunmaktadır. Elde edilen fosil kayıtlara göre, *T. triunguis* türünün Miyosen'in başlarında Orta Avrupa'da bulunduğunu göstermektedir (Tuna, 1988; Karl, 1999; Gemel, 2002). Nil yumuşak kabuklu kaplumbağasının Anadolu'da nasıl kolonize olduğunu ilişkin çeşitli yaklaşımlar bulunmaktadır. Haas (1951) populasyonun Kuzey Avrupa'ya ulaşan bölgesel bir relict populasyon olduğunu ortaya koymuştur. Bu sonuçlara göre, Messinian döneminde Akdeniz Havzası'nın kurumaya başlamasıyla Havza ile Afrika Kıtası arasında batıdan başlayarak bir ayrılma meydana gelmiştir. Yaklaşık 2 milyon yıl kadar süren bu ayrımda son bağlantı noktasının Nil Nehri populasyonları ile İsrail (Alexander Nahal) ve Asi Nehri olduğu düşünülmektedir. Messinian Tuz Krizi'nin sonunda Cebelitarık Boğazı açılmasıyla Atlantik Okyanusu ile Akdeniz Havzası arasında yeniden su geçişi başlamıştır. Bununla birlikte, *T. triunguis* bireyleri kendi habitatlarında kalmış ve bunun bir sonucu olarak Afrika grubu ile Akdeniz Havzası grubu birbirlerinden izole olmuşlardır.

Sonuç olarak; *T. triunguis* mtDNA haplotiplerine göre türün monofiletik bir tür olduğu belirlenmiştir. Populasyonları oluşturan gruplar arasında herhangi bir haplotipin paylaşılması, deniz kaplumbağalarında olduğu gibi bu türde de dışı kaplumbağalar için bir "yuva yeri bağlılığı" olduğunu düşündürmektedir. Diğer yandan, özellikle Batı ve Doğu Akdeniz gruplarının birbirlerine yakın populasyonları arasında mikrosatellit lokuslarında var olan gen akışının bir sonucu olarak bu populasyonlara yuvalamak için çıkan dişilerin çiftleşmek için belirli bölgelere gittiği ve bu bölgelerde aynı erkek bireylerle çiftleştikleri düşünülmektedir. Bu durum Akdeniz açıklarında çok sayıda *T. triunguis* ergin

bireyinin tespit edilmesi ile desteklenmektedir (Oruç, 2001; Taşkavak ve Akçınar, 2009).

Günümüze kadar tespit edilen fosil kayıtlardan türün Miyosen'in başlarında Afrika'dan Orta Avrupa'ya kadar geniş bir yayılış sahasına sahip olduğu görülmektedir. Miyosen'in ortalarından itibaren denizin geri çekilmesi, miyosen sonuna doğru Anadolu'nun bugünkü halini almasına kadar devam etmiştir. Miyosen'in sonlarında (Messinian dönemi) Cebelitarık boğazının kapanmasıyla Atlas Okyanusu'ndan Akdeniz Havzası'na su girişi kesilmiştir (Messinian Tuz Krizi). Bunun bir sonucu olarak Akdeniz Havzası kuruyarak bir Tuz yatağı haline gelmiştir. Bu dönemde *T. triunguis* türü vikaryans olayı ile Akdeniz Havzası ve Afrika olmak üzere temelde iki ayrı gruba ayrılmıştır. Günümüzde bu gruplar arasındaki gen akışı yok denecek kadar azdır.

MtDNA D-loop ve mikrosatellit lokuslarına göre üç grup arasında önemli derecede farklılık tespit edilmiştir. Bu farklılıklar neticesinde, gruplar birbirlerinden bağımsız “Evrimsel önemli birimler (ESU)” şeklinde değerlendirilmeli ve her birim için ayrı koruma planlamaları yapılmalıdır. Yönetim birimleri oluşturulmaması ve türün yaşama alanlarının tahrip edilmesi popülasyondaki parçalanmayı arttıracaktır. Bunun sonucu olarak sayısal açıdan küçük popülasyonların oluşması ile birlikte genetik sürüklenme ve soy içi üremeye bağlı olarak çeşitlilikte bir azalma meydana gelebilecektir.

Bu çalışma ile ortaya konan sonuçların daha da güçlendirilmesi, bu türe ait yeni mikrosatellit lokusları ve diğer moleküler belirteçlerin kullanılması ve özellikle Doğu Akdeniz ve Afrika Kıtası'ndan örnek sayılarının arttırılması ile mümkün olacaktır. Örnek sayısının arttırılması popülasyonları oluşturan gruplar için ayrı ayrı belirlenen evrimsel koruma ünitelerinin içerisinde alt koruma üniteleri meydana getirilmesine ve bununla birlikte popülasyonların korunması için daha etkin koruma birimlerinin oluşturulmasına katkı sağlayacaktır. Bunun neticesinde aynı koruma birimi içinde popülasyon devamlılığı tehlike altında olan alt koruma birimleri arasında birey taşınımı gerçekleştirilebilir.

KAYNAKLAR

- Ablett, G., Hill, H., Henry, R.J. 2006. Sequence Polymorphism Discovery in Wheat Microsatellite Flanking Regions using Pyrophosphate Sequencing. **Molecular Breeding**, 17(3): 281-289.
- Alacs, E.A., Janzen, F.J., Scribner, K.T. 2007. Genetic issues in freshwater turtle and tortoise conservation. **Chelonian Research Monographs**, 4:107-123.
- Albrecht, P.W. 1967. The cranial arteries and cranial arterial foramina of the turtle genera *Chrysemys*, *Sternotherus*, and *Trionyx*: a comparative study with analysis of possible evolutionary implications. **Tulane Studies in Zoology**, 14: 81-99.
- Allendorf, F.W. 1986. Genetic drift and the loss of alleles versus heterozygosity. **Zoo Biology**, 5: 181-190.
- Allendorf, F.W., Luikart, G. 2007. Conservation and the Genetics of Populations. Wiley-Blackwell Publishing, 642 pp.
- Amer, S.A., Kumazawa, Y. 2009. Complete sequence of the mitochondrial genome of the endangered Nile soft-shelled turtle *Trionyx triunguis*. **Egypt. J. Exp. Biol. (Zool.)**, 5:43-50.
- Amos, W., Harwood, J. 1998. Factors affecting levels of genetic diversity in natural populations. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London B**, 353, 177-186.
- Anderson, J. 1898. Zoology of Egypt. **1. Reptilia and Batrachia**, Quaritch, London.
- Atatür, M.K. 1979. Investigations on the morphology and osteology, biotope and distribution in Anatolia of *Trionyx triunguis* (Reptilia, Testudines) with some observations on its biology. Ege Univ. Fen. Fak. Monogr., Izmir, Ser., 18: 1-75.
- Auffenberg, W., Franz, R. 1982. The status and distribution of the gopher tortoise (*Gopherus polyphemus*). In: North American Tortoises: Conservation and Ecology. Wildlife Research Report 12, U.S. Fish and Wildlife Service, Washington D.C.
- Avise, J.C., Ball, R.M. 1990. Principles of genealogical concordance in species concepts and biological taxonomy. In: Futuyama, D. ve Antonovics, J. (eds) Oxford Surveys in Evolutionary Biology. Vol. 7, pp. 45-67. Oxford University Press, New York.

- Avise, J.C., Bowen, B.W., Lamb, T., Meylan, A.B., Bermingham, E. 1992. Mitochondrial DNA evolution at a turtle's pace: Evidence for low genetic variability and reduced microevolutionary rate in Testudines. **Molecular Biology and Evolution**, 9(3): 457-473.
- Avise, J.C. 1994. Molecular markers, natural history and evolution. New York: Chapman and Hall.
- Avise, J. 2000. Phylogeography: The History and Formation of Species. President and Fellows of Harvard College, pp. 441.
- Avise, J.C. 2004. Molecular Markers, Natural History, and Evolution. Sinauer Associates. Sunderland, MA.
- Balloux, F., Lugon-Moulin, N. 2002. The estimation of population differentiation with microsatellite markers. **Molecular Ecology**, 11: 155-165.
- Baran, I., Kasperek, M. 1989. Marine Turtles Turkey: Status survey 1988 and recommendations for conservation and management. WWF, Kasperek Verlag, Heidelberg. 123 pp.
- Barley, A.J., Spinks, P.Q., Thomson, R.C., Shaffer, H.B. 2010. Fourteen nuclear genes provide phylogenetic resolution for difficult nodes in the turtle tree of life. **Molecular Biology and Evolution**, 55(3): 1189-94.
- Barth, D., Bernhard, D., Fritzsche, G., Fritz, U. 2004. The freshwater turtle genus *Mauremys* (Testudines, Geomydidae): a textbook example of an east-west disjunction or a taxonomic misconception? **Zoologica Scripta**, 33: 213-221.
- Basoglu, M. 1973. A preliminary report on a specimen of Soft-shelled turtle from Southwestern Anatolia. Ege Univ. Fen Fak. Ilmi Rap. Ser. 172: 1-11
- Beaumont, M.A., Bruford, M.W. 1999. Microsatellites in conservation genetics. In D. B. Goldstein and C. Schlotterer (Eds.), Microsatellites: Evolution and applications, pp. 165-180. Oxford: Oxford University Press.
- Benton, M.J. 1990. The Reign of the Reptiles. Kingfisher Books, London.
- Benton, M.J. 1997. Vertebrate palaeontology. Chapman and Hall, London.
- Bergoinioux, F.M. 1955. Chelonia. **Traite de Paleontologie**, 5: 487-544.
- Bishop, C.A., P. Ng, Pettit, K.E., Kennedy, S.W., Stegeman, J.J., Norstrom, R.J., Brooks, R.J. 1998. Environmental contamination and developmental abnormalities in eggs

- and hatchlings of the common snapping turtle (*Chelydra serpentina serpentina*) from the Great Lakes-St. Lawrence River basin (1989-1991). **Environ. Pollut.**, 101: 143-156.
- Boulenger, G.A. 1889. Catalogue of the Chelonians, Rhynchocephalians, and Crocodiles in the British Museum (Natural History). London: Trustees of the Museum, 311 pp.
- Bride, I. 2004. Update Report on the Status of the Nile Soft-shelled Turtle, *Trionyx triunguis*, in Dalaman and Dalyan, Turkey. Report to the 24nd Meeting of the Standing Committee of the Convention on the Conservation of European Wildlife and Natural Habitats (Bern Convention). MEDASSET, 9 pp.
- Brown, W.M., George, M.Jr., Wilson, A.C. 1979. Rapid evolution of animal mitochondrial DNA. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 76, 1967-1971.
- Brown, W.M. 1985. The mitochondrial genome of animals. In: *Molecular Evolutionary Genetics* (ed.: R. MacIntyre), pp. 95-130. Plenum, New York.
- Brown, W.M., Prager E., Wang A., Wilson A.C. 1982. Mitochondrial DNA sequences of primers: tempo and mode of evolution. **J. Mol. Evol.**, 18: 225-239
- Bruford, M.W., Wayne, R.K. 1993. Microsatellites and their application to population genetic studies. *Curr. Opin. Genet. Develop.* 3: 939-943.
- Bruford, M.W., Cheesman, D.J., Coote, T., Green, H.A.A., Haines, S.A., O'Ryan, C., Williams, T.R. 1996. Microsatellites and their application to conservation genetics. In: Smith T.B. ve Wayne R.K. (eds) *Molecular Genetic Approaches in Conservation*. Oxford University Press, New York, pp 278-297.
- Burghardt, G.M., Ward, B., Rosscoe, R. 1996. Problem of reptile play: Environmental enrichment and play behavior in a captive nile soft-shelled turtle, *Trionyx triunguis*. **Zoo Biol.**, 15(3):223-238.
- Caccone, A., Amato, G., Gratry, O.C., Behler, J., Powell, J.R. 1999. A molecular phylogeny of four endangered Madagascar tortoises based on MtDNA sequences. **Molecular Biology and Evolution**, 12:1-9.
- Cann, J. 1993. Do not take our freshwater turtles for granted. In D. Lunney and D. Ayers (Eds.), *Herpetology in Australia: A diverse discipline* (pp. 363-365). Mossman: Royal Zoological Society of NSW.

- Carreras, C., Pascual, M., Cardona, L., Aguilar, A., Margaritoulis, D., Rees, A., Türkozan, O., Levy, Y., Gasith, A., Aureggi, M., Khalil, M. 2007. The genetic structure of the loggerhead sea turtle (*Caretta caretta*) in the Mediterranean Sea revealed by nuclear and mitochondrial DNA and its conservation implications. **Conservation Genetics**, 8: 761-775.
- Carroll, R.L. 1987. Heleosuchus: an enigmatic diapsid reptile from the Late Permian or Early Triassic of southern Africa. **Canadian Journal of Earth Sciences**, 24: 664-667.
- Caspary, H.U., Mertens, A.D., Niagaté, B. 1998. Possibilités d'une exploitation durable des ressources fauniques dans la Réserve de Faune du Bafing, Mali. 130 Deutsche Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit. – Eschborn.
- Castellano, C.M., Behler, J.L., Amato, G. 2008. Genetic diversity and population genetic structure of the Wood Turtle (*Glyptemys insculpta*) at Delaware Water Gap National Recreation Area, USA. **Conservation Genetics**, 10 (6): 1783-1788.
- Chambers, G.K., MacAvoy, E.S. 2000. Microsatellites: Consensus and controversy. **Comparative Biochemistry and Physiology**, (126), 455-476.
- Chkhikvadze, V.M. 2000. Fossil Trionychid turtles from the territory of the former SU. Forth Asian Herpetological Meeting.
- Ciofi, C., Bruford, M.W. 1998. Isolation and characterization of microsatellite loci in the Komodo dragon *Varanus komodoensis*. **Molecular Ecology**, 7:134-136.
- Ciofi, C., Milinkovitch, M.C., Gibbs, J.P., Caccone, A., Powell, J.R. 2002. Microsatellite analysis of genetic divergence among populations of giant Galapagos tortoises. **Molecular Ecology**, 11:2265-2283.
- Cornuet, J.M., Luikart, G. 1996. Description and power analysis of two tests for inferring recent population bottlenecks from allele frequency data. **Genetics**, 144:2001-2014.
- Crow, J.F., Kimura, M. 1970. An Introduction to Population Genetics Theory. Harper & Row, New York.
- Crozier, Y.C., Koulianos, S., Crozier, R.H. 1991. An improved test for Africanized honeybee mitochondrial DNA. **Experientia**, 47:968-969.
- Crozier, R.H., Crozier, Y.C. 1992. The cytochrome *b* and ATPase genes of honeybee mitochondrial DNA. **Molecular Biology and Evolution**, 9: 474-482.

- Crozier, R.H., Crozier, Y.C. 1993. The mitochondrial genome of the honeybee *Apis mellifera*: complete sequence and genome organization. **Genetics**, 133:97–117.
- Cunningham, J., Baard E.H.W., Harley E.H., O'ryan C. 2002. The investigation of genetic diversity in severely fragmented geometric tortoises (*Psammobates geometricus*) populations. **Conservation Genetics**, 3:215-223.
- Danilov Y.G. 2005. Die fossilen Schildkröten Europas. s. 329-441. In: Fritz U. (Hrsg.), Handbuch der Reptilien und Amphibien Europas. Band 3/IIIB: Schildkroten II. Wiebelsheim (Aula).
- Davidson, W.S., Birt, T.P., Green, J.M. 1989. Organization of the mitochondrial genome from Atlantic Salmon (*Salmo salar*). **Genome**, 32, 340–342.
- DeBraga, M., Rieppel O. 1997. Reptile phylogeny and the interrelationships of turtles. **Zoological Journal of the Linnean Society**, 120: 281-354.
- DeBroin, F. 1977. Contribution à l'étude des Chéloniens; Chéloniens continentaux du Crétacé et du Tertiaire de France. Mémoires du Muséum National d'Histoire Naturelle Serie C 38:1–366.
- Deckert, K., Deckert, G., Freytag, G.E., Gunther, K., Peters, G., Sterba, G. 1991. Fische, Lurche, Kriechtiere. – 724 pp. In: Die große farbige Enzyklopädie Urania Tierreich, Leipzig; Jena; Berlin (Urania Verlag).
- Deraniyagala, P.E.P. 1948. Some scientific results of two visits to Africa. **Spolia Zeylanica**, 25(2): 1-42.
- Di Rienzo, A., Peterson, A.C., Garza, J.C., Valdes, A.M., Slatkin, M., Freimer, N.B. 1994. Mutational processes of simple sequence repeat loci in human populations. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 91: 3166–3170
- Dollo, L. 1884. Première note sur les Cheloniens de Bernissart: Bulletin de Musée royal d'Histoire naturelle de Belgique.
- Eiselt, J. 1976. Ergebnisse zoologischer Sammelreisen in der Türkei Bemerkenswerte Funde von Reptilien, II. *Ann. Naturhistor. Mus. Wien.*, 80:803-814.
- Eisen, J.A. 1999. Mechanistic basis for microsatellite instability. In: Goldstein, D.B. ve Schlotterer, C. (Eds.) *Microsatellites: Evolution and applications*, Oxford University Press, pp. 34-48.

- Eisner, T., Lubchenco, J., Wilson, E.O., Wilcove, D.S., Bean, M.J. 1995. Building a scientifically sound policy for protecting endangered species. **Science**, 269: 1231–1232.
- Ellegren, H. 2000. Microsatellite mutations in the germline: implications for evolutionary inference. **Trends in Genetics**, 16, 551-558.
- Encalada, S.E., Bjorndal, K.A., Bolten, A.B., Zurita, J.C., Schroeder, B., Possardt, E., Sears, C.J., Bowen, B.W. 1998. Population structure of loggerhead turtle (*Caretta caretta*) nesting colonies in the Atlantic and Mediterranean as inferred from mitochondrial DNA control region sequences. **Marine Biology**, 130: 567-575.
- Engstrom, T.N., Shaffer, H.B., McCord, W.P. 2002. Phylogenetic diversity of endangered and critically endangered southeast Asian softshell turtles (Trionychidae: *Chitra*). **Biological Conservation**, 104: 173–179.
- Engstrom, T.N., Shaffer, H.B., McCord, W.P. 2004. Multiple datasets, high homoplasy and the phylogeny of softshell turtles. **Systematic Biology**, 53(5): 693-710.
- Erk'akan, F. 1993. Nesting biology of loggerhead turtles *Caretta caretta* L. on Dalyan Beach, Mugla-Turkey. **Biological Conservation**, 66 (1), pp. 1-4.
- Ernst, C.H., Barbour, R.W. 1989. Turtles of the World. Smithsonian Inst. Press, Washington, D.C. 313 pp.
- Ernst, C.H., Lovich, J.E., Barbour, R.W. 1994. Turtles of the United States and Canada. Smithsonian Institution Press, Washington and London, 578 pp.
- Ernst, C.H., Altenburg, R.G.M., Barbour, R.W. 2000. World Biodiversity Database CD-ROM Series. Expert Center for Taxonomic Identification. Amsterdam, The Netherlands.
- Estoup, A., Cornuet, J.M. 1999. Microsatellite evolution: Inferences from population data. In: Goldstein D.B. ve Schlotterer C. (Eds.). Microsatellites: Evolution and applications, pp. 49-64, Oxford: Oxford University Press.
- Estoup, A., Jarne, P., Cornuet, J.M. 2002. Homoplasy and mutation model at microsatellite loci and their consequences for population genetics analysis. **Molecular Ecology**, 11, 1591-1604.
- Excoffier, L., Smouse, P.E., Quattro, J.M. 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data, **Genetics**, 131: 479-491.

- Excoffier, L., Laval, G., Schneider, S. 2005. Arlequin v.3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. **Evol Bioinform**, Online 1:47-50.
- Faria, P.J., Miyaki, C.Y. 2006. Molecular markers for population genetic analyses in the family Psittacidae (Psittaciformes, Aves). **Genet. Mol. Biol.**, 29 (2): 231-240.
- Feldman, M.W., Kumm, J., Pritchard, J. 1999. Mutation and migration in models of microsatellite evolution. In D. B. Goldstein and C. Schlotterer (Eds.), *Microsatellites: Evolution and applications*, pp. 98-114, Oxford: Oxford University Press.
- Feldman, C.R. Parham, J.F. 2002. A molecular phylogeny for emydine turtles: taxonomic revision and the evolution of shell kinesis. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, 22(3): 388-398.
- FitzSimmons, N.N., Moritz, C., Limpus, C.J., Pope, L., Prince, R. 1997. 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., Tanksley, S., Forstner, R.J., Louis, E.E., Daglish, R., Gratten, J., Davis, S. 2000. Microsatellite markers for *Crocodylus*: New genetic tools for population genetics, mating system studies and forensics. In G. C. Grigg, F. Seebacher, and C. E. Franklin (Eds.), *Crocodylian biology and evolution*, pp. 51-57. Chipping Norton: Surrey Beatty and Sons.
- Flower, S.S. 1933. *Notes on some recent reptiles and amphibians of Egypt, with a list of the species recorded from that Kingdom.* **Proc. Zool. Soc. London**, 753-755.
- Frankham, R., Ralls, K. 1998. Conservation biology: Inbreeding leads to extinction. **Nature**, 392, 441–442.
- Frankham, R., Ballou, J.D., Briscoe, D.A. 2002. *Introduction to Conservation Genetics*. Cambridge University Press: Cambridge, UK. 617 pp.
- Fraser, D.J., Bernatchez, L. 2001. Adaptive evolutionary conservation: towards a unified concept for defining conservation units. **Molecular Ecology**, 10: 2741–2752.
- Freeman, S., Herron, J.C. 2001. *Evolutionary Analysis*, Second Edition USA, Prentice Hall., 704 pp.
- Fritz, U., Fattizzo, T., Guicking, D., Tripepi, S., Pennisi, M.G., Lenk, P., Joger, U., Wink, M. 2005. A new cryptic species of pond turtle from southern Italy, the

- hottest spot in the range of the genus *Emys* (Reptilia, Testudines, Emydidae). **Zoologica Scripta**, 34 (4): 351-371.
- Fritz, U., Fritzsche, G., Lehr, E., Ducotterd, J.M., Müller, A. 2005. The Atlas Mountains, not the Strait of Gibraltar, as a biogeographic barrier for *Mauremys leprosa* (Reptilia: Testudines). **Salamandra**, 41: 97-106.
- Fritz, U., Barata, M., Busack, S.D., Fritzsche, G., Castilho, R. 2006. Impact of mountain chains, sea straits and peripheral populations on genetic and taxonomic structure of a freshwater turtle, *Mauremys leprosa* (Reptilia, Testudines, Geoemydidae). **Zoologica Scripta**, 35: 97-108.
- Fritz, U., Guicking, D., Kami, H.G., Arakelyan, M., Auer, M., Ayaz, D., Ceesar Ayres Fernández, C.A., Bakiev, A.G., Celani, A., Dzukic, G., Fahd, S., Havas, P., Joger, U., Khabibullin, V., Mazanaeva, L., Siroky, P., Tripepi, S., Vélez, A.V., Antón, G.V., Wink, M. 2007. Mitochondrial phylogeography of European pond turtles *Emys orbicularis*, *Emys trinacris* - an update. **Amphibia-Reptilia** 28 (3): 418-426.
- Fu, Y.X. 1997. Statistical tests of neutrality against population growth, hitchhiking and background selection. **Genetics**, 147:915-925.
- Fujita, M.K., Engstrom, T.N., Starkey, D.E., Shaffer, H.B. 2004. Turtle phylogeny: insights from a novel nuclear intron. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, 31:1031-1040.
- Gaffney, E.S. 1975. A phylogeny and classification of higher categories of turtles. **Bull. Amer. Mus. Nat. Hist.**, 155(5), 387-436.
- Gaffney, E.S. 1979. An introduction to the logic of phylogeny reconstruction. In: Cracraft, J. ve Eldredge, N. (eds), **Phylogenetic Analysis and Paleontology**, Columbia University Press, New York, 79-111.
- Gaffney, E.S. 1980. Phylogenetic relationships of the major groups of amniotes. In A. L. Panchen (eds) *The Terrestrial Environment and the Origin of Land Vertebrates*: London: Academic Press, 593-610.
- Gaffney, E.S. 1984. Historical analyses of theories of chelonian relationship. **Syst. Zool.**, 33 (3), 283-301.
- Gaffney, E.S. 1990. The comparative osteology of the Triassic turtle *Proganochelys*. **Bull. Amer. Mus. Nat. Hist.**, 194: 1-263.

- Gaggiotti, O.E., Lange, O., Rassmann, K., Gliddon, C. 1999. A comparison of two indirect methods for estimating average levels of gene flow using microsatellite data. **Molecular Ecology**, 8, 1513-1520.
- Gasith, A., Sidis, I. 1984. Polluted water bodies, the main habitat of the Caspian terrapin (*Mauremys caspica rivulata*) in Israel. **Copeia**, 1984:216–219.
- Gemel, R. 2002. Weichschildkrötenreste aus dem Karpatium des Korneuburger Beckens (Untermiozän; Niederösterreich). In: Sovis, W. and Schmid, B. (Eds.): Das Karpat des Korneuburger Beckens, Teil 2. Beiträge zur Paläontologie Nr. 27 Wien (Institut für Paläontologie der Universität Wien).
- Gibbs, J.P., Shriver, W.G. 2002. Estimating the effects of road mortality on turtle populations. **Conservation Biology**, 16 (6): 1647-1652.
- Gidiş, M., Kaska, Y. 2004. Population size, reproductive ecology and heavy metals in the Nile soft-shelled turtle (*Trionyx triunguis*) around thermal Kükürtlü lake, Muğla-Turkey. **Fresenius Environmental Bulletin**, 13 (5), 405-412.
- Gilpin, M.E., Soulé, M.E. 1986. Minimum viable populations: The processes of species extinctions. In: M. Soulé (Ed.). Conservation biology: The science of scarcity and diversity, pp. 13-34. Sunderland Mass: Sinauer Associates.
- Glaubitz, J. 2004. CONVERT: A user-friendly program to reformat diploid genotypic data for commonly used population genetic software packages. **Mol. Ecol. Notes**, 4:309–310
- Goldstein, D.B., Pollock, D.D. 1997. Launching microsatellites: A review of mutation processes and methods of phylogenetic inference. **Journal of Heredity**, 88, 335-342.
- Gramentz, D. 1990. Beobachtungen an der Afrikanischen Weichschildkröte *Trionyx triunguis* in der Türkei. **Herpetofauna**, 12: 22-25.
- Gramentz, D., 1993. Beobachtungen und Untersuchungen zur Ethologie und Ökologie von *Trionyx triunguis* in West-Anatolien. **Salamandra**, 29, 16–43.
- Gray, J.E. 1855. Catalogue of Shield Reptiles in the Collection of the British Museum. Part I. Testudinata (Tortoises). London: British Museum, 79 pp.
- Gray, J.E. 1873. Notes on Chinese mud-tortoises (Trionychidae), with the description of a new species sent to the British Museum by Mr. Swinhoe, and observations on

the male organ of this family. *Annals and Magazine of Natural History*, (4) 12:156-161.

Grzimeck, B.H.C. 1971. *Grzimeck Tierleben*, Band VI: Kriechtiere. Kindler Verlag, Zürich.

Güçlü, Ö., Ülger, C., Türkozan, O., Gemmel, R., Reimann, M., Levy, Y., Ergene, S., Uçar, A., Aymak, C. 2009. First Assessment of Mitochondrial DNA Diversity in the Endangered Nile Softshell Turtle, *Trionyx triunguis*, in the Mediterranean, **Chelonian Conservation and Biology**, 8 (2), 222-226.

Gyllensten, U., Wharton, D., Wilson, A.C. 1985. Maternal inheritance of mitochondrial DNA during backcrossing of two species of mice. **Journal of Heredity**, 76: 321-324.

Haas, G. 1951. On the present state of our knowledge of the herpetofauna of Palestine. **Bulletin of the Research Council of Israel**, 1:67-94.

Haig, S.M. 1998. Molecular contributions to conservation. **Ecology**, 79:413–425.

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.

Hamann, M., Schäuble, C.S., Emerick, S.P., Limpus, D.J., Limpus, C.J. 2008. Freshwater turtle populations in the Burnett river. **Memoirs of the Queensland Museum**, 52(2): 221–232.

Hancock, J.M. 1999. Microsatellites and other simple sequences: Genomic context and mutational mechanisms. In: Goldstein, D.B. ve Scholtterer, C. (Eds.), *Microsatellites: Evolution and applications*. Oxford: Oxford University Press.

Hanski, I.A., Gilpin, M.E. 1997. *Metapopulation Biology: Ecology, Genetics, and Evolution*, Academic Press, San Diego, pp. 5–26.

Hanski, I. 1998. Metapopulation Dynamics. **Nature**, 396: 41-49.

Hennig, W. 1983. Stammesgeschichte der Chordaten. **Fortschritte in der Zoologischen Systematik und Evolutionsforschung**, 2: 1-208.

Hillis, D., Moritz, C., Mable, B.K. 1996. *Molecular Systematics*. Second edition Sunderland, MA Sinauer Associates.

Hinkel, H., Fischer, E. 1988. Reptiles et amphibiens du Rwanda et leurs environnement. *Naturwissenschaftliche Forschungsgruppe Zentral- & Ost- Africa*; Johannes

Gutenberg Universität; Bureau de Coordination. Mainz and Kigali.

- Hirayama, R., Brinkman, D.B., Danilov, I.G. 2000. Distribution and biogeography of non-marine Cretaceous turtles. **Russian Journal of Herpetology**, 7, 181–198.
- Hoobs, R.J., Mooney, H.A. 1998. Broadening the extinction debate: population deletions and additions in California and Western Australia. *Conservation Biology*, 12: 271–283.
- Hoofien, J.H. 1972. Reptiles of Israel. Dept. of Zoology. Tel-Aviv Univ. Israel.
- Hsu, K. 1972 Origin of Saline Giants : A Critical Review after the Discovery of the Mediterranean Evaporite. **Earth Science Rev.** 8, p. 371–396.
- Hu, Y., Wang, L., Xie, X., Yang, J., Li, Y., Zhang, H. 2010. Genetic diversity of wild populations of *Rheum tanguticum* endemic to China as revealed by ISSR analysis. **Biochemical Systematics and Ecology**, 1–11 doi:10.1016/j.bse.2010.01.006
- Hughes, J.B., Daily, G.C., Ehrlich, P.R. 1997. Population diversity: its extant and extinction. **Science**, 278: 689–692.
- Hummel, K. 1929. Die fossilen Weichschildkroten (Trionychia). Eine morphologisch-systematische und stammesgeschichtliche Studie. **Geologische und Palaentologische Abhandlungen**, 16:359–487.
- Hutchison, J.H. 1982. Turtle, crocodilian, and champsosaur diversity changes in the Cenozoic of the north-central region of western United States. **Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology** 37:147–164.
- Irwin, D.M., Kocher, T.D., Wilson, A.C. 1991. Evolution of the cytochrome *b* gene of mammals. **Journal of Molecular Evolution**, 32: 128–144.
- Iverson, J.B. 1992. A Revised Checklist with Distribution Maps of the Turtles of the World. John B. Iverson, Richmond, Indiana. 363 pp.
- Joyal, L.A., McCollough, M., Hunter, M.L. 2001. Landscape ecology approaches to wetland species conservation: a case study of two turtle species in southern Maine. **Conservation Biology**, 15: 1755–1762.
- Joyce, W.G., Parham, J.F., Gauthier J.A. 2004. Developing a protocol for the conversion of rankbased taxon names to phylogenetically defined clade names, as exemplified by turtles. **J. Paleont.**, 78 (5), 989–1013.

- Joyce, W.G., Lyson, T.R. 2010. A neglected lineage of North American turtles fills a major gap in the fossil record. **Palaeontology**, 53:241-248.
- Karl, H.V. 1999. Die Zoogeographie der känozoischen Weichschildkröte *Trionyx triunguis* (FORSSKÅL, 1775) (Testudines: Trionychidae). **Joannea Geologie und Paläontologie**, 1:27- 60.
- Kasperek, M., Kinzelbach, R. 1991. Distribution and bionomics of the Nile soft-shelled turtle, *Trionyx triunguis*, in the Eastern Mediterranean. Berlin: Zeitschrift für Angewandte Zoologie.
- Kasperek, M. 1999. An assessment on the status of the Nile soft-shelled turtle (*T. triunguis*) in Turkey with recommendations for edilselYation. **Testudo** 5: 40-50.
- Kasperek, M. 2001. The Nile soft-shelled turtle, *Trionyx triunguis*, Towards an Action Plan for the Conservation in the Mediterranean. **Report to the 21st Meeting of the Standing committee of the Conservation of European Wildlife and Natural Habitats**, (Bern Convention), 10 pp.
- Kasperek, M. 2003. Nile Soft-shelled Turtle, *Trionyx triunguis*. Medasset (Mediterranean Association to Save the Sea Turtles), poster.
- Keller, M. 2005. Die Nil-Weichschildkröte, *Trionyx triunguis* in der Türkei - ein Überblick. **Aktionsgemeinschaft Artenschutz e.V.**, 7 pp.
- Kimura, M., Crow, J.F. 1964. The number of alleles that can be maintained in a finite population. **Genetics**, 49: 725-738.
- Kimura, M., Ohta, T. 1978. Stepwise mutation model and distribution of allelic frequencies in a finite population. **Proc Natl Acad Sci USA**, 75: 2868–2872
- Kinzelbach, R. 1986. Recent records of the Nile soft-shelled turtle, *Trionyx triunguis*, and of the Euphrates softshelled turtle, *Trionyx euphraticus*, in the Middle East. **Zoology in the Middle East**, 1: 83–87.
- Klug, W.S., Cummings, M.R., Spencer, C.A. 2006. Concepts of Genetics, 8th Edition, Pearson Education, Inc. Publishing as Prentice Hall, pp. 667.
- Krijgsman, W., Hilgen, F.J., Raffi, I., Sierro, F.J., Wilson, D.S., 1999. Chronology, causes and progression of the Messinian salinity crisis. **Nature**, 400, 652-655.
- Kuchling, G. 1999. The reproductive biology of the Chelonia. Berlin: Springer-Verlag.

- Kumar, S., Hedges, S.B. 1998. A molecular timescale for vertebrate evolution. **Nature**, 392: 917-920.
- Kumar, S., Tamura, K., Nei, M. 2004. mega 3: integrated software for molecular evolutionary genetics analysis and sequence alignment. **Briefings in Bioinformatics**, 5: 150–163.
- Kumazawa, Y., Nishida, M. 1999. Complete mitochondrial DNA sequences of the green turtle and blue-tailed mole skink: statistical evidence for archosaurian affinity of turtles. **Mol. Biol. Evol**, 16: 784-792.
- Kuo, C., Janzen, F.J. 2004. Genetic effects of a persistent bottleneck on a natural population of ornate box turtles (*Terrapene ornata*). **Conservation Genetics**, 5: 425-437.
- Kuyl, A.C.V.D., Ballasina, D.L., Dekker, J.T., Maas, J., Willemsen, R. E., Goudsmit, J. 2002 Phylogenetic relationships among the species of the genus Testudo (Testudines: Testudinidae) inferred from mitochondrial 12S rRNA gene sequences. **Mol. Phylogen. Evol**, 22pp: 174-183.
- Lacy, R.C. 1987. Loss of genetic diversity from managed populations: Interacting effects of drift, mutation, immigration, selection, and population subdivision. **Conservation Biology**, 1:143-158.
- Lamb, T., Lydeard, C., Walker, R.B., Gibbons, J.W. 1994. Molecular systematics of map turtles (*Graptemys*): a comparison of mitochondrial restriction site versus sequence data. **Syst. Biol**, 43: 543--559.
- Lamb, T., Lydeard, C.A. 1994. Molecular phylogeny of the gopher tortoises, with comments on familial relationships within the Testudinoidea. **Mol Phylogenet Evol**, 3: 283-291.
- Lansman, R., Avise, J.C., Huettel, M.D. 1983. Critical experimental test of the possibility of ‘paternal leakage’ of mitochondrial DNA. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, 80: 1969-1971.
- Lanza, B., Sassi, A. 1966. Le Testuggini Terrestri e D’acqua Della Somalia (Reptilia, Testudinidae). **Monitore Zoologico Italiano**, 74: Supplement, 257–272.
- Lapparent de Broin, F. 2000. African chelonians from the Jurassic to the present: phases of development and preliminary catalogue of the fossil record. **Paleontologia Africana**, 36: 43–82.

- Lapparent de Broin, F. 2001. The European turtle fauna from the Triassic to the Present. **Dumerilia**, 4: 155–217. CSA
- Laurin, M., Reisz, R.R. 1995. A reevaluation of early amniote phylogeny. **Zoological Journal of the Linnean Society**, 113: 165-223.
- Leblois, R., Estoup, A., Rousset, F. 2003. Influence of mutational and sampling factors on the estimation of demographic parameters in a continuous population under isolation by distance. **Molecular Biology and Evolution**, 20: 491-502.
- Lee, M.S.Y. 1995. Historical burden in systematics and the interrelationships of 'Parareptiles'. **Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society**, 70: 459-547.
- Lee, M.S.Y. 1996. Correlated progression and the origin of turtles. **Nature**, 379: 812-815.
- Lee, M.S.Y. 1997. Pareiasaur phylogeny and the origin of turtles. **Zool. J. Linn. Soc**, 120: 197-280.
- Lenk, P., Fritz, U., Joger, U., Wink, M. 1999. Mitochondrial phylogeography of the European pond turtle, *Emys orbicularis* (Linnaeus, 1758). **Mol. Ecol**, 8: 1911-1922.
- Levinson, G., Gutman, G.A. 1987. Slipped-strand mispairing: A major mechanism for DNA sequence evolution. **Molecular Biology and Evolution**, 4(3): 203-221.
- Li, C., Wu, X. Rieppel, O. Wang, L. Zhao, L. 2008. An ancestral turtle from the Late Triassic of southwestern China. **Nature**, 456: 497–501.
- Liao, C.H., Ho, W.Z., Huang, H.W., Kuo, C.H., Lee, S.C., Li, S.S. 2001. Lactate dehydrogenase genes of caiman and Chinese soft-shelled turtle, with emphasis on the molecular phylogenetics and evolution of reptiles. **Gene**, 279: 63-7.
- Limpus, C.J., Limpus, D.J., Hamann, M. 2002. Freshwater turtle populations in the area to be flooded by the Walla weir, Burnett River, Queensland: Baseline study. **Memoirs of the Queensland Museum**, 48(1), 155-168.
- Lortet, L. (1883): Poissons et reptiles du lac Tibériade et de quelques autres parties de la Syrie.- Arch. Mus. Nat. Hist. Lyon; 3: 99-194.
- Loveridge, A., Williams, E.E. 1957. Revision of the African tortoises and turtles of the suborder Cryptodira. **Bull. Mus. Comp. Zool. Harvard**, 115: 163-557.

- Lu, H., Redus, M.A., Coburn, J.R., Rutger, J.N., McCouch, S.R., Tai, T.H. 2005. Population structure and breeding patterns of 145 U.S. rice cultivars based on SSR marker analysis. **Crop Sci.**, 45: 66–76.
- Mannen H., Tsoi, S.C.M., Krushkal, J.S., Li, W.H., Li, S.S.L. 1997. The cDNA cloning and molecular evolution of reptile and pigeon lactate dehydrogenase isozymes. **Molecular Biology and Evolution**, 14: 1081-1087.
- Mannen, H., Li, S.S.L. 1999. Molecular evidence for a clade of turtles. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, 13: 144-148.
- Marx, H. 1968. Checklist of the reptiles and amphibians of Egypt. Technical Report, p.44, map 35. U.S. Naval Medical Research Unit No. 3. FPO, New York.
- McCollough, M. 1997. Status and conservation of turtles in Maine. In: Tynning, T.F. (eds) Status and conservation of turtles of the Northeastern United States. Serpent's Tale, Lanesboro, Minnesota, pp 7–11.
- McDowell, S.B. 1961. On the major arterial canals in the ear-region of testudinoid turtles and the classification of the Testudinoidea. **Bull. Mus. Compar. Zool. Harvard**, 125(3): 23-39.
- McGaugh, S.E., Janzen, F.J. 2008. The status of *Apalone* atra populations in Cuatro Ciénegas, Coahuila, Mexico, preliminary data. **Chelonian Conservation and Biology**, 7: 88-95.
- Mcgaugh, S.E., Eckerman, C.M., Janzen, F.J. 2008. Molecular phylogeography of *Apalone spinifera* (Reptilia, Trionychidae). *Zoologica Scripta*, 37: 289–304.
- McNeely, J.A., Miller, K.R., Reid, W.V., Mittermeier, R.A., Werner, T.B. 1990. Conserving the World's Biological Diversity. IUCN, World Resources Institute, Conservation International, WWF-US and the World Bank: Washington, DC.
- Medasset, 1999. Up-date report and review of the status of the Nile soft-shelled Turtle (*Trionyx triunguis*) in Turkey. **The Mediterranean Association to Save the Sea Turtles**, Document T-PVS (99) 73.
- Medasset, 2003. Nile Soft-Shelled Turtle, *Trionyx triunguis* In: Group of Experts on the Conservation of Amphibians and Reptiles. **Report submitted to the Bern Convention**, T-PVS (2003) 18, p. 63. Strasbourg

- Meyer, A. 1993. Evolution of mitochondrial DNA of fishes. Biochemistry and molecular biology of fishes. P.W. Hochachka, P. Mommsen, Elsevier Press. pp. 1–38. Amsterdam.
- Meyer, A., Kocher, T.D., Basasibwaki, P., Wilson, A.C. 1990. Monophyletic origin of Lake Victoria cichlid fishes suggested by mitochondrial DNA sequences. **Nature**, 347: 550-553.
- Meyer, A., Wilson, C. 1990. Origin of tetrapods inferred from their mitochondrial DNA affiliation to lungfish. **Journal of Molecular Evolution**, 31: 359–364.
- Meylan, A. 1985. The role of sponge collagens in the diet of the hawksbill turtle, *Eretmochelys imbricata*, p. 191-196. In: Bairati, A. and Garrone, R. (Eds), **Biology of the Invertebrate and Lower Vertebrate Collagens**. Plenum Publ. Corp.
- Meylan, P.A. 1987. The phylogenetic relationships of soft-shelled turtles (Family Trionychidae). **Bulletin of the American Museum of Natural History**, 186(1): 1-101.
- Meylan, P.A., Gaffney, E.S. 1992. *Sinaspideretes* is not the oldest trionychid turtle. **Journal of Vertebrate Paleontology**, 12: 257-259.
- Mills, L.S., Allendorf, F.W. 1996. The one-migrant-per-generation rule in conservation and management. **Conservation Biology**, 10:1509-1518.
- Mindell, D.P., Honeycutt, R.L. 1990. Ribosomal RNA in vertebrates: Evolution and phylogenetic application. **Annual Review of Ecology and Systematics**, 21: 541–566.
- Mockford, S.W., McEachern, L., Herman, T.B., Snyder, M., Wright, J.M. 2005. Population genetic structure of a disjunct population of Blanding's turtle (*Emydoidea blandingii*) in Nova Scotia, Canada. **Biological Conservation**, 123:373-380.
- Mockford S.W., Herman, T.B., Snyder, M., Wright, J.M. 2007. Conservation genetics of Blanding's turtle and it application in the identification of evolutionarily significant units. **Conservation Genetics**, 8:209-219.
- Moll, D., Moll, E.O. 2004. The ecology, exploitation and conservation of river turtles. Oxford University Press, NewYork.
- Moritz, R.F.A., Hawkins, C.F., Crozier, R.H., Mackinley, A.G. 1986. A mitochondrial DNA polymorphism in honeybees (*Apis mellifera* L). **Experientia**, 42: 322-324.

- Moritz, C., Dowling, T. E., Brown, W. M. 1987. Evolution of animal mitochondrial DNA: Relevance for population biology and systematics. **Annual Review of Ecology and Systematics**, 18: 269-292.
- Moritz, C. 1994. Defining "evolutionarily significant units" for conservation. **Trends in Ecology and Evolution**, 9 (10): 373-375.
- Moritz, C. 1994. Applications of mitochondrial DNA analysis in conservation: A critical review. **Molecular Ecology**, 3: 401-411.
- Moritz, C., Lavery, S., Slade, R. 1995. Using allele frequencies and phylogeny to define units for conservation and management. **American Fisheries Society Symposium**, 17: 249-262.
- Moritz, C. 1999. Conservation units and translocations: Strategies for conserving evolutionary processes. **Hereditas**, 130, 217-228.
- Mustoe, G.E., Girouard, S.P.Jr. 2001. A fossil trionychid turtle from the early Tertiary Chuckanut Formation of northwestern Washington. **Northwest Science**, 75: 211–218.
- Nada, M. 2002. An Assessment of the Nile soft-shelled turtle, *Trionyx triunguis*, in the Nile Delta and its Lagoons, Egypt. Commissioned by The Mediterranean Association to Save the Sea Turtles (MEDASSET) and Supported by the British Chelonian Group (BCG). Final Report, July 2002: 13 pp.
- Nagel, K.O. 2000. Testing hypotheses on the dispersal and evolutionary history of freshwater mussels (Mollusca: Bivalvia: Unionidae). **Journal of Evolutionary Biology**, 13: 854-865.
- Nei, M. 1972. Genetic distances between populations. **Am. Nat.**, 106: 283-292.
- Nei, M. 1977. F-statistics and analysis of gene diversity in subdivided populations. **Ann. Hum. Genet.**, 41: 225-233.
- Nei, M. 1987. Molecular evolutionary genetics. Masatoshi Nei. New York, Columbia.
- Neigel, J.E. 2002. Is FST obsolete? **Conservation Genetics** 3: 167-173.
- Noria, O., Abreu-Grobois, A., Dutton, P.H., Oyama, K. 2004. Conservation genetics of the east Pacific green turtle (*Chelonia mydas*) in Michoacan, Mexico. **Genetica**, 121, 195–206.

- Oruç, A., Demirayak, F., Sat, G. 1997. Trawl fisheries in the eastern Mediterranean and its impact on sea turtles. WWF ve DHKD Report.
- Oruç, A. 2001. Trawl fisheries in the eastern Mediterranean and their impact on marine turtles. **Zoology in the Middle East**, 24: 119-25.
- Page, R.D.M., Holmes, E.C. 1998. Molecular Evolution: A phylogenetic approach. Blackwell Science, Oxford.
- Paetkau, D., Waits, L., Craighead, L., Vyse, E., Ward, R., Strobeck, C. 1997. Dramatic variation in genetic diversity in brown bears across North America: implications for conservation.
- Palsboll, P.J., Berube, M., Skaug, H.J., Raymakers, C. 2006. 'DNA registers of legally obtained wildlife and derived products as means to identify illegal takes', **Conservation Biology**, vol. 20, pp. 1284-1293.
- Palumbi, S. R. 1996. Nucleic Acids II: The Polymerase Chain Reaction. In Molecular Systematics (ed. D.M. Hillis, C. Moritz, B.K. Mable), pp. 205-247. Massachusetts: Sinauer Associates.
- Peakall, R., Smouse, P.E. 2001. genalex 5: Genetic Analysis in Excel. **Population Genetic Software for Teaching and Research**, The Australian National University, Canberra, Australia. <http://www.anu.edu.au/BoZo/GenAlEx/>.
- Pearse, D.E., Dastrup, R.B., Hernandez, O., Sites, J.W. 2006. Paternity in an Orinoco population of endangered Arrau river turtles, *Podocnemis expansa* (Pleurodira; Podocnemididae), from Venezuela. **Chelonian Conservation and Biology**, 5: 232-238.
- Pertoldi, C., Bijlsma, R., Loeschcke, V. 2007. Conservation genetics in a globally changing environment: present problems, paradoxes and future challenges. **Biodiversity Conservation**, 16: 4147-4163.
- Piry, S., Luikart, G., Cornuet, J.M. 1999. BOTTLENECK: A computer program for detecting recent reductions in the effective population size using allele frequency data. **Journal of Heredity**, 90 (4): 502-503
- Platz, J.E., Conlon, J.M. 1997. Reptile relationships turn turtle..... and turn back again. **Nature**, 389: 245-246.
- Plummer, M.V. 2001. Natural history notes: *Trionyx muticus*. foraging. **Herpetological Review**, 32: 250.

- Praschang, P., Gemel, R. 2002. Identity of the black softshell turtle *Aspideretes nigricans* (Anderson 1875) with remarks on related species. **Faunistische Abhandlungen** 23: 87-116.
- Praschang, P., Hundsdörfer, A.K., Reza, A.H.M.A., Fritz, U. 2007. Genetic evidence for wild-living *Aspideretes nigricans* and a molecular phylogeny of South Asian softshell turtles (Reptilia: Trionychidae: *Aspideretes*, *Nilssonina*). **Zoological Scripta**, 36(4): 301–310.
- Primack, R.B. 1993. Essentials of conservation biology. Sinauer, Sunderland, MA.
- Pritchard, P.C.H. 1967. Living turtles of the world. T. F. H. Publ., Inc. 288 pp. Jersey City, New Jersey.
- Pritchard, P.C.H. 1984. Piscivory in turtles, and evolution of the long-necked Chelidae. **Symposia of the Zoological Society of London**, 52: 87–110.
- Pritchard, P.C.H. 2001. Observations on body size, sympatry, and niche divergence in softshell turtles (Trionychidae). **Chelonian Conservation and Biology**, 4: 5-27.
- Prosser, M.R., Gibbs, H.L., Weatherhead, P.J. 1999. Microgeographic population genetic structure in the northern water snake, *Nerodia sipedon sipedon* detected using microsatellite DNA loci. **Molecular Ecology**, 8: 329–333.
- Qiu, Y.X., Li, J.H., Liu, H.L., Chen, Y.Y., Fu, C.X. 2006. Population structure and genetic diversity of *Dysosma versipellis* (Berberidaceae), a rare endemic from China. **Biochem. Systematic Ecology**, 34: 745–752.
- Que, Y., Zhu, B., Rosenthal, H., Chang, J. 2007. Isolation and characterization of microsatellites in Chinese soft-shelled turtle, *Pelodiscus sinensis*. **Molecular Ecology Notes**, 7: 1265–1267.
- Queller, D.C., Strassman, J.E., Hughes, C.R. 1993. Microsatellites and kinship. **Trends in Ecology and Evolution**, 8(8): 285-288.
- Rannala, B., Mountain, J.L. 1997. Detecting immigration by using multilocus genotypes. *Proc Natl Acad Sci USA* 94:9197–9201.
- Raymond, M., Rousset, F. 1995. Genepop (version 1.2) Population genetics software for exact tests and ecumenicism. **Journal Heredity**, 86: 248–249.
- Rhodin, A.G.J., van Dijk, P.P., Parham, J. F. 2008. Turtles of the world: annotated checklist of taxonomy and synonymy. In: Rhodin, A. G. J., P. C. H. Pritchard, P. P. van Dijk, R. A. Saumure, K. A. Buhlmann, and J. B. Iverson. Conservation

Biology of Freshwater Turtles and Tortoises: A Compilation Project of the IUCN/SSC Tortoise and Freshwater Turtle Specialist Group. Chelonian Research Monographs 5:000.1–000.38. www.iucn-tftsg.org/cbftt/.

- Rieppel, O., deBraga, M. 1996. Turtles as diapsid reptiles. **Nature**, 384: 453–455.
- Rokas, A., Melika, G., Abe, Y., Nieves-Aldrey, J.L., Cook, J. M., Stone, G.N. 2003. Lifecycle closure, lineage sorting, and hybridization revealed in a phylogenetic analysis of European oak gallwasps (Hymenoptera: Cynipidae: Cynipini) using mitochondrial sequence data. **Molecular Phylogeny and Evolution**, 26: 36–45.
- Rogers, A.R. 1995. Genetic evidence for a Pleistocene population explosion. **Evolution**, 49: 608–615.
- Romer, A.S. 1956. Osteology of the reptiles. Univ. Chicago Press, Chicago, Illinois. 772 pp.
- Roth, H. H., Merz, G. 1997. Wildlife resources :a global account of economic use. Springer-Verlag, Berlin, Germany, 403 pp.
- Rowe, K.C., Reno, M.L., Richmond, D.M., Adkins, R.M., Steppan, S.J. 2008. Pliocene colonization and adaptive radiations in Australia and New Guinea (Sahul): Multilocus systematics of the old endemic rodents (Muroidea: Murinae). **Molecular Phylogeny and Evolution**, 47 (1):84–101
- Roy, M.S., Geffen, E., Smith, D., Ostrander, E., Wayne, R.K. 1994. Patterns of differentiation and hybridization in North American wolf-like canids revealed by analysis of microsatellite loci. **Molecular Biology and Evolution**, 11: 553–570.
- Roy, M.S., Geffen, E., Smith, D., Wayne, R.K. 1996. Molecular genetics of pre-1940 red wolves. **Conservation Biology**, 10: 1413–1424.
- Rozas, J., Sanchez-DelBarrio, J.C., Messeguer, X., Rozas, R. 2003. DnaSP, DNA polymorphism analyses by the coalescent and other methods. **Bioinformatics**, 19: 2496–2497.
- Russell, P. J. 2002. iGenetics. Benjamin Cummings, San Francisco.
- Ryder, O.A. 1986. Species conservation and systematics: the dilemma of subspecies. **Trends in Ecology and Evolution**, 1(1): 9–10.
- Saccheri, I., Kuussaari, M., Kankare, M., Vikman, P., Fortelius, W., Hanski, I. 1998. Inbreeding and extinction in a butterfly metapopulation. **Nature**, 392: 491–494.

- Sambrook, Russell. 2001. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 3rd ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press. (Sambrook and Russell cites the original paper: Warburg, O. and Christian W. (1942). "Isolierung und Kristallisation des Gärungsferments Enolase". **Biochem. Z.**, 310: 384–421.
- Schmidt, K.P., Ingler, R.F. 1957. *Living reptiles of the world*. London, (Hamish Hamilton).
- Schlötterer, C. 2000. Evolutionary dynamics of microsatellite DNA. **Chromosoma**, 109: 365-371.
- Schneider, S., Roessli, D. Excoffier, L. 2000 Arlequin: a soft- ware for population genetics data analysis. Ver 2.000. Genetics and Biometry Lab, Department of Anthropology, University of Geneva.
- Selin İnşaat 2005. Deniz Kaplumbağası ve Nil Kaplumbağası Populasyonlarının Araştırılması ve Korunması Projesi. T.C. Çevre ve Orman Bakanlığı, Özel Çevre Koruma Kurumu Başkanlığı.
- Shaffer H.B., Meylan P., McKnight, M.L. 1997. Tests of turtle phylogeny: molecular, morphological, and paleontological approaches, **Syst. Biol**, 46(2): 235-268.
- Shao, J.W., Chen, W.L., Peng, Y.Q., Zhu, G.P., Zhang, X.P. 2010. Genetic diversity within and among populations of the endangered and endemic species *Primula merrilliana* in China, **Biochem. Syst. Ecol.**, 1-8. doi:10.1016/j.bse.2009.12.001
- Siebenrock, F. 1909. Synopsis der rezenten Schildkröten mit Berücksichtigung der in historischer Zeit ausgestorbenen Arten. **Zool. Jahrb. Suppl**, 10: 427-618.
- Siebenrock, F. 1913. Schildkröten aus Syrien und Mesopotamien. **Annalen des Naturhistorischen Museums Wien**, 27: 171–225.
- Sites, J.W., Fitzsimmons, N.N., Da Silva, N.J., Cantarelli, V.H. 1999. Conservation genetics of the giant Amazon river turtle (*Podocnemis expansa*; Pelomedusidae) – inferences from two classes of molecular markers. **Chelonian Conservation and Biology**, 3: 454-463.
- Slatkin, M. 1985. Gene flow in natural populations. **Annual Review of Ecology and Systematics**, 16, 393-430.
- Slatkin, M. 1995. A measure of population subdivision based on microsatellite allele frequencies. *Genetics*, 139: 457–462.

- Smith, D.R., Brown, W.M., Taylor, O.R.Jr. 1989. Neotropical Africanized bees have African mitochondrial DNA. **Nature**, 339: 213-215.
- Smith, T.B., Wayne, R. K. 1996. Molecular genetic approaches in conservation. Oxford: Oxford University Press.
- Soldevila, M., Calafell, F., Helgason, A., Stefansson, K., Bertranpetit, J. 2005. Assessing the signatures of selection in PRNP from polymorphism data: results support Kreitman and Di Rienzo's opinion. **Trends Genetics**, 21:389–391.
- Spawls, S., Howell, K., Drewes, R., Ashe, J. 2002. A field guide to the reptiles of East Africa. London: Academic Press.
- Spinks P.Q., 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., McCord, W.P. 2004. Phylogenetic hypotheses for the turtle family Geoemydidae. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, 32 (1): 164-182.
- Stace, C.A. 1989. Dispersal versus vicariance-no contest!. **Biogeography**, 16: 201-202.
- Starkey, D.E. 1997. Molecular systematics and biogeography of the New World turtle genera *Trachemys* and *Kinosternon*. Unpubl. Ph.D. diss., Texas A&M University, College Station.
- Starkey D.E., Shaffer, H.B., Burke, R.L., Forstner, M.R.J., Iverson, J.B., Jansen, F.J. 2003. Molecular systematics, phylogeography, and the effects of Pleistocene glaciation in the painted turtle (*Chrysemys picta*) complex. **Evolution** 57: 119–128.
- Stewart, D.T., Baker, A.J. 1994. Evolution of mtDNA Dloop sequences and their use in phylogenetic studies of shrews in the subgenus *Otrisorex* (Sorex: *Soricidae: Insectivora*). **Molecular Phylogenetics and Evolution** 3:38-46.
- Stuart, B.L., Van Dijk, P.P., Hendrie, D.B. 2001. Photographic guide to the turtles of Thailand, Laos, Vietnam, and Cambodia. Wildlife Conservation Society, Thailand.
- Sunnucks, P. 2000. Efficient genetic markers for population biology. **Trends in Ecology and Evolution**, 15(5), 199-203.
- Tajima, F. 1983. Evolutionary relationship of DNA sequences in finite populations. **Genetics**, 105, 437–460.

- Tajima, F. 1996. The amount of DNA polymorphism maintained in a finite population when the neutral mutation rate varies among sites. **Genetics**, 143: 1457–1465.
- Taşkavak, E., Reimann, M.J., Polder, W.N. 1999. First record of *Trionyx triunguis* from Kos Island, Greece with comments on its occurrence in the eastern Mediterranean. **Chelonian Conservation and Biology**, 3, 510–512.
- Taşkavak, E., Akçınar, S.C. 2009. Marine records of the Nile soft-shelled turtle, *Trionyx triunguis* from Turkey. Marine Biodiversity Records, Published on-line, doi:10.1017/S1755267208000092.
- Taylor, A.C., Horsup, A., Johnson, C.N., Sunnucks, P., Sherwin, B. 1997. Relatedness structure detected by microsatellite analysis and attempted pedigree reconstruction in an endangered marsupial, the northern hairy-nose wombat *Lasiorhinus krefftii*. **Molecular Ecology**, 6, 9-19.
- Thompson, J.D., Gibson, T.J., Plewniak, F., Jeanmougin, F., Higgins, D.G. 1997. The CLUSTAL_X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. **Nucleic Acids Res.**, 25: 4876-4882.
- Toth, G., Gaspari, Z., Jurka, J. 2000. Microsatellites in Different Eukaryotic Genomes: Survey and Analysis. **Genome Res.**, 10, pp. 967–981.
- Tsitroni, A., Rousset, F., David, P. 2001. Heterosis, marker mutational processes and population inbreeding history. **Genetics**, 159: 1845–1859.
- Tuna, V. 1988. The remains of a fossil Soft-shelled Turtle (*Trionyx*) from the Bayraktepe area (Turkey). **Zoology in the Middle East**, 2: 63-67.
- Türkozan, O., Ilgaz, Ç., Yılmaz, C. 2006. Reproductive ecology and hatchling morphology of the Nile soft shell Turtle, *Trionyx triunguis* (Forsskål 1775), at Dalyan beach, Turkey. **Russian Journal of Herpetology**, 13(1): 47-52
- Türkozan, O. 2007. *Trionyx triunguis*, the Nile softshell turtle. **Reptilia** 55: 17–23.
- Türkozan, O., Yılmaz, C. Loggerhead turtles, *Caretta caretta*, at Dalyan beach, Turkey: Nesting activity (2004-2005) and 19 year abundance Trend (1987-2005). **Chelonian Conservation and Biology**, 7(2):178-187, 2008.
- Ün, C., Wimmers, K., Ponsuksili, S., Schmoll, F., Schellander, K. 2000. Mikrosatellitler ve Kullanım Alanları. Hayvansal Üretim, 41: 9-14.
- Ursenbacher, S., Conelli, A., Golay, P., Monney, J.C., Zuffi, M.A., Thiery, G., Durand, T., Fumagalli, L. 2006. Phylogeography of the asp viper (*Vipera aspis*) inferred

- from mitochondrial DNA sequence data: evidence for multiple Mediterranean refugial areas. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, 38(2):546-52.
- Valdes, A.M., Slatkin, M., Freimer, N.B. 1993. Allele frequencies at microsatellite loci: The stepwise mutation model revisited. **Genetics**, 133: 737- 749.
- Van Dijk, P.P., Stuart, B., Rhodin, G.J. 2000. Asian Turtle Trade: Proceedings of a workshop on conservation and trade of freshwater turtles and tortoises in Asia. **Chelonian Research Monographs**, 2: 164 pp.
- Venizelos, L. Kasperek, M. 2006. *Trionyx triunguis*: the brackish water turtle that also lives in the Mediterranean Sea. In: Frick, M., A. Panagopoulou, A. Rees, and K. Williams. Book of Abstracts **26th Annual Symposium on Sea Turtle Biology and Conservation**, 168.
- Vucetich, J.A., Waite, T.A. 2000. Is one migrant per generation sufficient for the genetic management of fluctuating populations? **Animal Conservation**, 3:261-266
- Waples, R.S. 1991. Definition of "species" under the Endangered Species Act: application to Pacific salmon. NOAA Technical Memorandum, NMFS F/NWC-194. **National Marine Fisheries Service**, 29 pp. Seattle, Washington, USA.
- Webb, R.G. 1962. North American Recent soft-shelled turtles (Family Trionychidae). University of Kansas Publications. **Museum of Natural History**, Lawrence. 13(10): 429-611.
- Weisrock D.W., Janzen F.J. 2000. Comparative molecular phylogeography of North American softshell turtles (Apalone): Implications for regional and wide-scale historical evolutionary forces. **Molecular Phylogeny and Evolution**, 14: 152–164.
- Wermuth, H., Mertens, R. 1961. Schildkröten, Krocodile, Bruchenechsen. G. Fischer, Jena. 422 pp.
- Williams, C.L., Brust, R.C., Fendley, T.T., Tiller JR. G.R., Rhodes, JR. O.E. 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.
- Wilson, D.S. 1998. Nest-site selection: Microhabitat variation and its effects on the survival of turtle embryos. **Ecology**, 79: 1884–1892.

- Wilson, G.A., Rannala, B. 2003. Bayesian inference of recent migration rates using multilocus genotypes. **Genetics**, 163, 1177–1191.
- Woodroff, D.S. 2001. Declines of biomes and the future of evolution. **Proceedings of the National Academy Sciences, USA**, 98: 5471-5476.
- Wright, S. 1931. Evolution in Mendelian populations. **Genetics**, 16, 97-159.
- Wright S. 1951. The genetical structure of populations. **Annals of Eugenetics**, 15: 323-354
- Zardoya, R., Meyer, A. 1996. Phylogenetic performance of mitochondrial protein-coding genes in resolving relationships among vertebrates. **Molecular Biology and Evolution**, 13: 933-942.
- Zardoya, R., Meyer, A. 1998. Complete mitochondrial genome suggests diapsid affinities of turtles. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 95: 14226-14231, USA.
- Zardoya, R., Vollmer, D.M., Craddock, C., Streelman, J.T., Karl, S., Meyer, A. 1996. Evolutionary conservation of microsatellite flanking regions and their use in resolving the phylogeny of cichlid fishes (Pisces: Perciformes). **Proceedings of the Royal Society of London B**, 263: 1589-1598.
- Zug, G.R. 1971. Buoyancy, locomotion, morphology of the pelvic girdle and hindlimb, and systematics of cryptodiran turtles. Misc. Publ. Mus. Zool., Univ. Michigan, (142): 1-98.
- Zug, G.R., Vitt, L.J., Caldwell, J.P. 2001. Herpetology: An Introductory Biology of Amphibians and Reptiles. Academic Press, San Diego, CA. 630 pp.

Ek 4.1. *T. triunguis*'e ait 53 örnekte mtDNA D-loop geninin varyasyon gösteren DNA bölgeleri. (TD1 referans haplotip olarak alınmıştır)

[illegible]

Ek 4.2. Örnek toplanan lokalitelerde belirlenen haplotipler arasındaki genetik uzaklık değerleri (Kimura-2 parametre). (DY-Dalyan; DM-Dalaman; AN-Anamur; GK-Göksu; KZ-Kazanlı; SY-Seyhan; IS-İsrail; AF-Afrika; FD-Fildişi Sahili; GB-Gabon; KG-Kongo; MS-Mısır; *DS-Dogania subplana*). (D...: Haplotip kodları)

	DY	DY	DY	DM	DM	AN	GK	KZ	SY	IS	AF 1	AF 2	AF 3	AF 4	FD	GB	KG	MS
DY (D2)																		
DY (D3)	0.0013																	
DY (D4)	0.0000	0.0013																
DM (D2)	0.0000	0.0013	0.0000															
DM (D4)	0.0000	0.0013	0.0000	0.0000														
AN (D1)	0.0013	0.0027	0.0013	0.0013	0.0013													
GK (D6)	0.0013	0.0027	0.0013	0.0013	0.0013	0.0000												
KZ (D1)	0.0013	0.0027	0.0013	0.0013	0.0013	0.0000	0.0000											
SY (D5)	0.0027	0.0040	0.0027	0.0027	0.0027	0.0013	0.0013	0.0013										
IS (D1)	0.0013	0.0027	0.0013	0.0013	0.0013	0.0000	0.0000	0.0000	0.0013									
AF 1 (D7)	0.0853	0.0838	0.0853	0.0853	0.0853	0.0838	0.0838	0.0838	0.0852	0.0838								
AF 2 (D8)	0.0806	0.0791	0.0806	0.0806	0.0806	0.0791	0.0791	0.0791	0.0805	0.0791	0.0150							
AF 3 (D9)	0.0806	0.0791	0.0806	0.0806	0.0806	0.0791	0.0791	0.0791	0.0805	0.0791	0.0150	0.0027						
AF 4 (D10)	0.0853	0.0838	0.0853	0.0853	0.0853	0.0838	0.0838	0.0838	0.0823	0.0838	0.0191	0.0205	0.0205					
FD (D11)	0.0775	0.0760	0.0775	0.0775	0.0775	0.0760	0.0760	0.0760	0.0774	0.0760	0.0068	0.0164	0.0164	0.0177				
GB (D12)	0.0579	0.0564	0.0579	0.0579	0.0579	0.0564	0.0564	0.0564	0.0550	0.0564	0.0622	0.0607	0.0578	0.0595	0.0578			
KG (D13)	0.0579	0.0564	0.0579	0.0579	0.0579	0.0564	0.0564	0.0564	0.0550	0.0564	0.0622	0.0607	0.0578	0.0595	0.0578	0.0000		
MS (D14)	0.0027	0.0013	0.0027	0.0027	0.0027	0.0013	0.0013	0.0013	0.0027	0.0013	0.0822	0.0775	0.0775	0.0822	0.0744	0.0550	0.0550	
DS	0.3160	0.3160	0.3160	0.3160	0.3160	0.3160	0.3160	0.3160	0.3140	0.3160	0.3359	0.3382	0.3428	0.3274	0.3337	0.3095	0.3095	0.3160

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Özgür GÜÇLÜ
Doğum Yeri ve Tarihi : İzmir/1980

EĞİTİM DURUMU

Lisans Öğrenimi : Dokuz Eylül Üniversitesi
Yüksek Lisans Öğrenimi : Adnan Menderes Üniversitesi
Bildiği Yabancı Diller : İngilizce

BİLİMSEL FAALİYETLERİ

a) Yayınlar

-SCI

- Özdemir, A., Türkozan, O., Güçlü, Ö. 2008. Embryonic Mortality in Loggerhead Turtle (*Caretta caretta*) Nests: A Comparative Study on Fethiye and Gökso Delta Beaches. Turkish Journal of Zoology, 32: 287-292.
- Güçlü, Ö., Ülger, C., Türkozan, O., Gemmel, R., Reimann, M., Levy, Y., Ergene, S., Uçar, A.H., Aymak, C. 2009. First Assessment of Mitochondrial DNA Diversity in the Endangered Nile Softshell Turtle, *Trionyx triunguis*, in the Mediterranean. Chelonian Conservation and Biology, 8 (2): 222-226.
- Güçlü, Ö., Bıyık, H., Şahiner, A. 2010. Mycoflora identified from loggerhead turtle (*Caretta caretta*) egg shells and nest sand at Fethiye Beach, Turkey. African Journal of Microbiology Research, 4 (5): 408-413.
- Wielstra, B., Themudo, G.E., Güçlü, Ö., Olgun, K., Poyarkov, N.A., Arntzen, J.W. 2010. Cryptic crested newt diversity at the Eurasian transition: the mitochondrial DNA phylogeography of Near Eastern *Triturus* newts. Molecular Phylogenetics and Evolution (Basımda).
- Güçlü, Ö., Türkozan, O. 2010. Population structure of *Mauremys rivulata* in Western Turkey. Turkish Journal of Zoology (Basımda).

-Diğer

- Güçlü, Ö., Olgun, K. 2008. Present Status of *Lacerta danfordi* Complex (Günther, 1876) in Southwestern Anatolia, Turkey. Russian Journal of Herpetology, 15(3):179-188.

b) Bildiriler

-Uluslar arası

- Güçlü, Ö., Ülger, C., Türkozan, O. 2009. First Assessment of Mitochondrial Diversity within the Endangered Nile Softshell Turtle (*Trionyx triunguis*) in Turkey and Africa. 17. Annual Symposium on Conservation and Biology of Tortoises and Freshwater Turtles, St Louis, USA, s. 17.

- Güçlü, Ö., Ülger, C., Kiremit, F., Türkozan, O. 2007. Genetic Structuring of Loggerhead Sea Turtle (*Caretta caretta*) in Turkey. 14th European Congress of Herpetology, 19-23 Sep. 2007, Portugal, s. 227.
- Akçınar, C., Güçlü, Ö., Taşkavak, E., Türkozan, O. 2006. Golden Jackal Predation on Marine Turtles in Göksu Delta, Turkey, 26. Ann. Int. Symposium on Sea Turtle Biology and Conservation, Island of Crete, Greece, s. 120.
- Taşkavak, E., Türkozan, O., Kiremit, F., Türkecan, O., Güçlü, Ö., Akçınar C., Yılmaz, C., Tuncay, D. 2006. A Review of 2005 Marine Turtle Nesting Season On Five Beaches (Dalyan, Fethiye, Patara, Belek, Göksu Delta) in Turkey. 26. Annual International Symposium on Sea Turtle Biology and Conservation, Island of Crete, Greece, s. 328.
- Türkozan, O., Güçlü, Ö., Tuncay, D. 2005. Reproductive Ecology of the Loggerhead Turtle, *Caretta caretta*, on Fethiye Beach, Turkey in 2004. The Second Mediterranean Conference on the Marine Turtles, 4-7 May 2005, Antalya-Turkey, s. 43.
- Şahiner, A., Bıyık, H., Güçlü, Ö., Kiremit, F., Türkozan, O. 2005. Mycoflora of Loggerhead Turtle, *Caretta caretta*, Nest and Eggshell at Fethiye (Turkey). The Second Mediterranean Conference on the Marine Turtles, 4-7 May 2005, Antalya-Turkey, s. 40.

-Ulusal

- Öztürk, M., Ergün, P., Akbal, M., Güven, Y., Beşer, N., Güçlü, Ö. 2009. Dalyan Kumsalı'nda Biyotik ve Abiyotik Faktörlerin Yavru Çıkış Başarısına Etkisi, III. Ulusal Deniz Kaplumbağaları Sempozyumu, 03-05 Aralık 2009 Mersin, s. 30.
- Özsoydan, D., Apak, A., Kasırga, E., Kant, H., Durmuş, H., Güçlü, Ö. 2009. Dalyan Kumsalındaki *Caretta caretta* Yuvalarında Meydana Gelen Predasyona Bağlı Ölümünün Değerlendirilmesi, III. Ulusal Deniz Kaplumbağaları Sempozyumu, 03-05 Aralık 2009 Mersin, s. 42.
- Ilgaz, Ç., Özdemir, A., Durmuş, S.H., Güçlü, Ö. 2009. Fethiye Kumsalı'nda Yuvalayan *Caretta caretta* Türünün Üreme Ekolojisi: 2009 Üreme Sezonu. III. Ulusal Deniz Kaplumbağaları Sempozyumu, 03-05 Aralık 2009 Mersin, s. 16.
- Özdemir, A., Güçlü, Ö., Ilgaz, Ç., Durmuş, S.H. 2009. İribaşlı Deniz Kaplumbağası (*Caretta caretta*) Yuvarında Geciktirilmiş Zamanlamayla Yuva Taşımanın Etkileri. III. Ulusal Deniz Kaplumbağaları Sempozyumu, 03-05 Aralık 2009 Mersin, s. 43.
- Güçlü, Ö., Ülger, C., Türkozan, O. 2009. Afrika Kıtası ve Akdeniz Havzası'nda Yayılış Gösteren Nil Yumuşak Kabuklu Kaplumbağası (*Trionyx triunguis*)'nın Mitokondrial DNA Çeşitliliği Üzerine İlk Değerlendirme. IX. Ulusal Ekoloji ve Çevre Kongresi, Ürgüp-Nevşehir.
- Güçlü, Ö., Kiremit F., Ülger C., Türkozan O. 2007. İribaşlı Deniz Kaplumbağası (*Caretta caretta*)'nın Türkiye'deki bazı kumsallardaki Genetik Yapısı, II. Ulusal Deniz Kaplumbağaları Sempozyumu, Dalyan-Muğla, s. 48.

- Güçlü, Ö., Olgun, K. 2006. Büyük Menderes Nehri'nin Kuzey ve Güney Bölümlerinde Bulunan *Lacerta danfordi* (Reptilia: Lacertidae) Kompleksinin Taksonomik Durumu, 18. Ulusal Biyoloji Kongresi, 26-30 Haziran 2006, Kuşadası-AYDIN.
- Güçlü, Ö., Akçınar, C., Türkozan, O., Taskavak, E. 2006. Ergin İri Başlı Deniz Kaplumbagasi, *Caretta Caretta*, Bireylerinde Çakal Predasyonu, 18. Ulusal Biyoloji Kongresi, 26-30 Haziran 2006, Kusadası AYDIN.
- Güçlü, Ö., Durmuş, S.H., Ilgaz, Ç., Özdemir, A., Türkozan, O. 2004. Kazanlı Sahili (Mersin)'ndeki Deniz Kaplumbağalarının Karşı Karşıya Kaldığı Tehlikeler, XVII. Ulusal Biyoloji Kongresi, 21-24 Haziran 2004, ADANA.

İŞ DENEYİMİ

Çalıştığı Kurumlar ve Yıl : Adnan Menderes Üniversitesi 2006 –

İLETİŞİM

E-posta Adresi : ozgguclu@yahoo.com; oguclu@adu.edu.tr
Tarih : 10.06.2010