

**Alata Üreme Kumsalında Bulunan Yeşil Deniz
Kaplumbağaları (*Chelonia mydas*)'nın Mikrosatellit Lokus
Analizi**

**Microsatellite Locus Analysis of Green Turtles (*Chelonia
mydas*) of Alata Beach**

Yasemin KAÇAR¹

¹Mersin Üniversitesi Fen-Ed. Fakültesi Biyoloji Bölümü, ykacar@gmail.com

ÖZET

Bu çalışmada dünyada soyları tehlike altında olan yeşil deniz kaplumbağalarının (*Chelonia mydas*) genetik özelliklerinin belirlenmesi amacıyla mikrosatellit lokus analizi yapılmıştır. Mikrosatellit lokus için örnekleme Mersin bölgesi Alata kumsalından 2006 üreme sezonu içerisinde farklı yuvalardan yapılmıştır. CM3 mikrosatellit lokusu çoğaltılan 28 yavru birey için 160-200 bp'lik PZR-DNA'ları dizi analizleri sonucu bireylerde GT tekrar sayısının (10-28) alleller arasında oldukça farklılıklar gösterdiği bulunmuştur. CM58 mikrosatellit lokusu çoğaltılan 30 yavru birey için 150-165 bp lik PZR-DNA'lar için GT tekrar sayısı 6-15 arasında değiştiği; CM72 lokusu için 28 yavru birey 250-290 bp lik PZR-DNA'larda GT tekrar sayısının 9-39 arasında değiştiği saptanmıştır. Genetik çeşitliliğin ortaya çıkartılması için genomik DNA'da daha çok lokusun incelenmesi gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: *Chelonia mydas*, Mikrosatellit lokus, PZR, Alata Kumsalı.

ABSTRACT

In this study microsatellite loci analysis performed on one of the endangered species green sea turtles (*Chelonia mydas*). Samples collected in 2006 season from Alata beach at the city zone of Mersin. Amplification of CM3 microsatellite locus of 28 non-sibling hatchlings resulted 160–200 bp PCR-DNA fragments which have been sequenced and GT repeat numbers show very high differences between alleles. GT repeat numbers was found between 10– 28 for CM3 locus. Amplification of CM58 microsatellite locus of 30 non-sibling hatchlings, resulted 150 – 165 bp DNA fragments which have GT repeat number between 6 to 15. Amplification of CM72 microsatellite locus of 28 nestling, resulted 250 – 290 bp PCR-DNA fragments which have GT repeats between 9 to 39.

Keywords: *Chelonia mydas*, Microsatellite locus, PCR, Alata Beach.

GİRİŞ

Türkiye denizlerinde yayılış gösteren deniz kaplumbağaları olan *Caretta caretta* ve *Chelonia mydas* ile ilgili ilk kayıtlar Hathaway (1972), Başoğlu ve Baran (1982) ve Geldiay (1984) ile başlamaktadır. Sonraki yıllarda yuvalama alanları tanımlanan deniz kaplumbağaları için koruma stratejileri geliştirilmiş ve sürdürülmektedir (Baran and Kasperek, 1989; Baran ve ark. 1992). Deniz kaplumbağaları üreme kumsallarından dört tanesi olan Anamur, Göksu, Kazanlı ve Alata kumsalları Mersin bölgesinde bulunmaktadır (Baran ve Kasperek, 1989;. Başoğlu ve Baran, 1982; Baran ve ark. 1992; Ergene-Gözükara ve ark., 2003). Mersin ili Erdemli ilçesinde bulunan Alata'da 2002 yılında *C. caretta* ve *C. mydas* populasyon izleme çalışmaları sonucunda bu bölgenin önemli bir kaplumbağa yuvalama alanı olduğu saptanarak, Alata 18. üreme kumsalı olarak 2005 yılında resmi olarak koruma altına alınmıştır (Ergene-Gözükara ve ark., 2003). 2002 yılında başlatılan koruma çalışmaları 2009 yılı da dahil olmak üzere her yıl düzenli olarak Haziran-Eylül ayları arasında devam ettirilmektedir.

Deniz kaplumbağalarının nesillerinin tehlike altına girmesindeki en önemli etkenlerden birisi insanların yapmış olduğu faaliyetler ve bunların sonucu yaşam alanlarının yok olmasıdır (Lutz and Musick, 1997). Soyu tükenme tehlikesi altında bulunan canlıları korumada canlıların genetik yapısı hakkında da bilgiye gereksinim duyulmaktadır. Biyolojik çeşitliliği korumada önemli bir alan olarak karşımıza çıkan populasyon ve koruma genetiği çalışmaları deniz kaplumbağalarında da sürdürülmektedir (Kaska, 2000). Deniz kaplumbağalarında yapılan genetik çalışmalar minisatellit ve mikrosatellit lokus analizleri, RAPD, allozim, mitokondriyal DNA-RFLP analizleri olarak karşımıza çıkmaktadır (Karl et.al., 1992). Deniz kaplumbağalarında genomik DNA belirteçleri arasında en fazla çalışma yapılanlar mtDNA kontrol bölgeleri (Encalada et.al., 1996) ve mikrosatellit lokuslardır (Bowen et.al., 1992). Genomik DNA'daki mikrosatellit lokuslar ile her populasyona özgü genetik belirteç kullanılarak deniz kaplumbağalarının populasyon yapıları ortaya çıkarılmaya ve üreme davranışları analiz edilmeye çalışılmıştır (Bowen et.al., 1992). Son yıllarda moleküler genetik tekniklerin hızlı

gelişmesi tür, alt tür ve popülasyonların klasik sistematik ve taksonomi çalışmalarına destek olmaktadır. Genomik DNA'da yapılan çalışmalar sonucu *C. mydas* için Fitzsimmons et.al. (1995) tarafından tanımlanan üç mikrosatellit belirteç CM3, CM58 ve CM72 dir.

Bu belirteçler kullanılarak Atlas okyanusunda İngiltere açıklarındaki Ascension adaları, Brazilya Rocas atolü, Venezüelanın Aves adaları, Floridanın Hutchinson adaları ve Meksika kıyılarındaki yuvalama alanlarından alınan yeşil deniz kaplumbağlarının (*C. mydas*) mikrosatellit lokus polimorfizimleri araştırılmıştır (Bowen et.al., 1992). Ayrıca Büyük ve Hint okyanusunda 7 lokasyonda bulunan yeşil deniz kaplumbağalarının da mikrosatellit analizi yapılarak polimorfizimlerine bakılmıştır (Roberts et.al., 2004). Akdeniz popülasyonu olarak ait Kıbrıs'a ait *Chelonia mydas* örnekleri kullanılmıştır (Encalada et.al., 1996).

Doğu Akdeniz kaplumbağalarının (*Caretta caretta* ve *Chelonia mydas*) genetik ve genomik yapıları konusunda çok az çalışma bulunmaktadır (Türkozan, 2000). *Chelonia mydas* popülasyonlarının genetik yapılarının incelenmesi ile polimorfizm gösteren bireylerin oranının saptanması, ana popülasyondan farklılığının ortaya çıkarılması, hangi ana popülasyona dahil olduğunun belirlenmesi amaçlanmaktadır. Aynı zamanda genetik yapının belirlenmesi çeşitlilik açısından çok zengin olan kumsallar için yeni bir koruma stratejisi geliştirmek için de temel oluşturacaktır.

YÖNTEM

2005-2006 üreme sezonu Alata kumsalında yapılan koruma çalışmaları sırasında açılan yuvalardan çıkan ölü yavrular %95'lik etanol içerisine alınarak oda sıcaklığında saklandı.

Total DNA İzolasyonu

Etanol içerisinde saklanan her bireyin genomik DNA eldesi için ön veya arka üyeden çıkartılan 30-40 mg kas dokusu, hayvan dokusuna özelleşmiş total DNA izolasyon kiti (Absogene kiti, RTA Firması) kullanılarak yapıldı.

Örnek DNA'larının (genomik DNA ve PZR ile çoğaltılan DNA) miktarı, uzunluğu ve kalitesi agaroz jel elektroforezi yöntemiyle belirlendi. Bu genomik DNA örnekleri için agaroz konsantrasyonu %1,5 ve PZR-DNA örnekleri için ise %4,5'luk jeller kullanıldı.

Mikrosatellit Lokusların PZR Yöntemi İle Çoğaltılması

Fitzsimon et.al. (1997a) tarafından *C. mydas* için tasarlanan 3 mikrosatellit lokus olan CM3, CM58 ve CM72 primer setleri kullanılarak ölü yavru DNA örnekleri PZR yöntemiyle ayrı ayrı çoğaltıldı. Analitik PZR için 25 µl lik tepkime ortamında her lokusa özgü "reverse" (R) ve "forward" (F) primerlerinden oluşan primer seti (0,1-1 pmol Forward Primer, 0,1-1 pmol Reverse Primer), 1X PZR Tamponu 0,2mM dNTP Karışımı, 1,5mM MgCl₂, 0,025U/µl Tag DNA Polimeraz ve 100ng şablon DNA olacak şekilde ayarlandı. PZR döngü koşulları ön denatürasyon 95°C de 2 dak., denatürasyon 95°C de 1 dak., Primer Bağlanması 55°C de 1 dak., Uzama 72°C de 1,5dak., döngü sayısı 35 ve Son Uzama 72°C de 7 dak., olarak programlandı (Techne TC 512). DNA analizinde kullanılacak olan PZR ortamı 40 µl olarak hazırlandı ve tepkime sonrası bunun 8 µl si agaroz jel elektroforeziyle kontrol için kullanıldı, kalan kısımda dizi analizi yapıldı (Refgen firması, ODTÜ, Ankara).

DNA Dizilerinin İşlenmesi

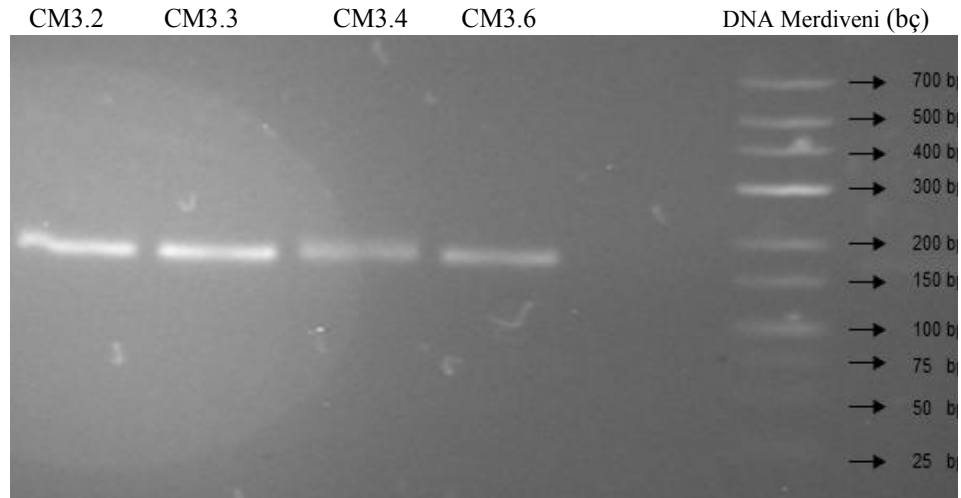
"ab1" formatında olan DNA dizileri "Geozpiza Finch TV" programında açılarak "fasta" formatına çevrildi. Her bireye ait Reverse ve Forward primer ile okunmuş iki dizi Clustal X programı kullanılarak tek bir DNA dizisi haline getirildi ve olgunlaştırılmış diziler aln formatında bir sonraki programda kullanılmak üzere kaydedildi. Diziler "Gene Doc" isimli programa aktarılarak "konsenzus diziler" oluşturuldu. Gen Doc programında oluşturulan diziler zengin metin belgesi (rtf) olarak

her bir örnek için tek tek kaydedildi. Polimorfizim analizi için zengin metin dosyası olarak kaydedilen diziler tekrar Clustal X programına aktarıldı ve bireylerin DNA dizilimlerinin birbirlerine olan benzerlik ve farklılıkları saptandı.

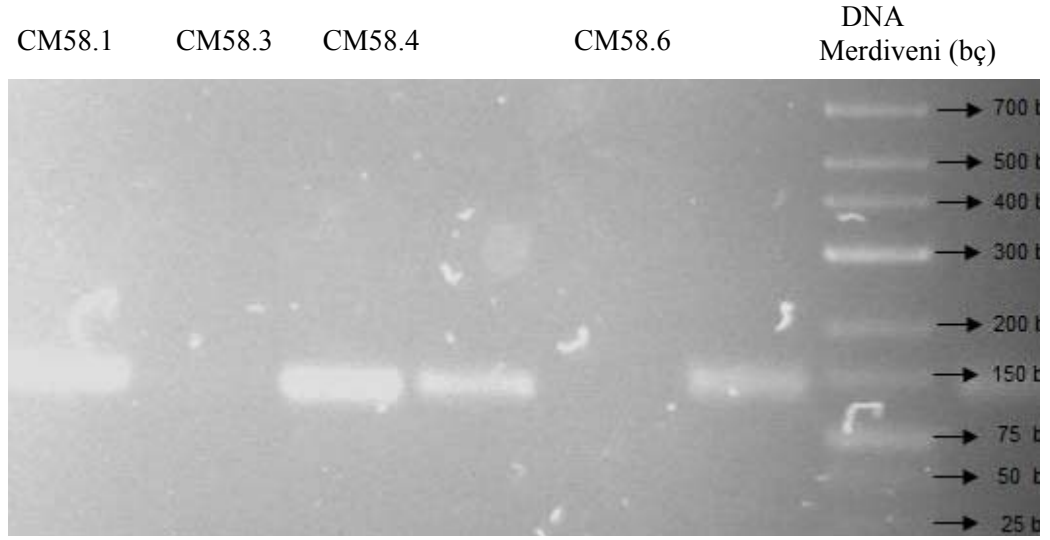
BULGULAR VE YORUMLAR

C. mydas'ın Mikrosatellit Lokus Analizi: GT Tekrar Dizilerinin ve Flank bölgelerinin karşılaştırılması

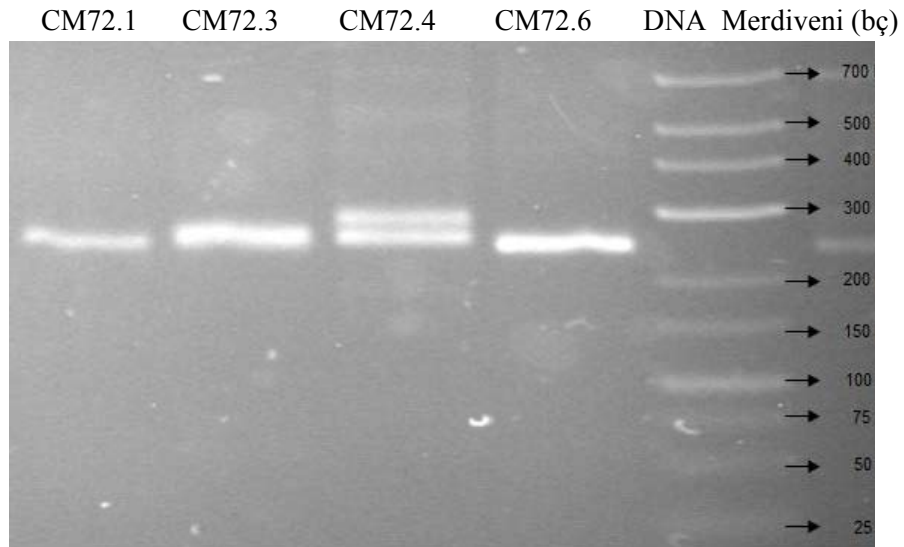
PCR tepkimesi sonucu CM3 lokusu için yaklaşık 160 – 200 baz çiftlik bp; CM58 için 150 – 165 bp; CM72 için 250 – 290 bp lik PZR- DNA bantlarının agaroz jel görüntüleri sırasıyla Şekil 1, Şekil 2 ve Şekil 3'de gösterilmektedir. CM3 için 28, CM58 için 30 ve CM72 için 28 bireyin sonuçlandırılan DNA dizileri ve karşılaştırmaları Tablo 1 ve Tablo 2'de özetlenmiştir. Bireylere ait mikrosatellit lokus dizileri GT tekrar sayısı temel alınarak her bir lokus için haplotip çeşitliliği belirlenmeye çalışılmıştır. GT tekrar sayısı aynı olan dizilerin tekrar motifini 5' ve 3' yönünde çevreleyen (Flankler) kısımları karşılaştırılarak bu bölgelerdeki baz değişimi, delesyonu ve insersiyonları Tablo 1'de CM3 lokusu ve Tablo 2'de CM72 lokusu için gösterilmektedir.



Şekil 1. *Chelonia mydas* bireylerine ait CM3 lokusu PZR-DNA bantları (%4,5'lik agaroz jel).



Şekil 2. *Chelonia mydas* bireyelerine ait CM58 lokusu PZR-DNA bantları (%4,5'lik agaroz jel).



Şekil 3. *Chelonia mydas* bireyelerine ait CM72 lokusu PZR-DNA bantları (%4,5'lik agaroz jel)

CM3 Mikrosatellit Lokusu Haplotiplemesi

CM3 lokusu incelenen 27 bireyin dizilerinin karşılaştırılması sonucu diziler 12 farklı haplotip olarak değerlendirildi. GT tekrar sayısı eşit bireylerin tekrar motifinin 5' ve 3' yönündeki flank dizileri karşılaştırıldı ve bulunan benzerlik ve farklılıklara göre aynı tip veya farklı tip olarak değerlendirildi. Haplotipleri ayırmak için harf kullanıldı (A,B,C.). Tablo1'de belirtildiği gibi, GT tekrar sayıları 15 ile 31 arasında değişim göstermektedir. Alata'da farklı yuvalara ait bireylerden (CM3.2,CM3.3, CM3.4,CM3.6) elde edilen diziler karşılaştırıldığında hepsinde GT tekrar sayısının farklı olduğunu bulundu. Alata kumsalında aynı yuvadan çıkan 4 kardeş bireyin (CM3.38, CM3.41, CM3.42, CM3.40) dizileri karşılaştırıldığında GT tekrar sayısının 16, ancak bir bireyin (CM3.40) flank bölgelerinde farklılıklar bulundu. Bir başka yuvaya ait iki kardeş bireyin (CM3.35, 3.36) GT tekrarı 17 olarak bulundu. Bu bireylerin flank bölgeleri başka yavruların dizileriyle benzerlik göstermediği belirlendi. Bir başka yuvaya ait GT tekrar sayısı 17 olan dört kardeş bireyin (CM3.33;34;35;36) flank dizileri üçünde aynı, birisinde (CM3.34) bir çok pozisyonda baz değişimi göstermektedir. En yüksek tekrar sayısına (31) sahip iki kardeş bireyin (CM3.15; 21) flank bölgeleri karşılaştırıldığında baz değişimi farklılıkları gösterdikleri bulundu.

CM72 Mikrosatellit Lokusu Haplotiplemesi

CM 72 lokusuna ait 26 bireyde ise haplotip olarak 8 gruba ayrıldı. CM72 lokusu analizinde toplam 19 bireyin GT tekrar sayısının 19 olduğu bulundu. Ancak bireyler arasında tekrar motifi dışındaki bölgelerde farklı pozisyonlarda baz değişimleri belirlendi (Tablo 2). Bu grup içinde yer alan aynı yuvaya ait üç kardeş (CM72.14;18;19) ve bir başka yuvanın yine üç kardeş bireyinin (CM72.37;38;39) flanklerinde birkaç baz değişimi gösterdiği bulundu. Alata'daki ait farklı yuvalara ait diğer yavru bireylerin GT tekrarı 29, 36 ve 39 olmak üzere farklılıklar gösterdiği saptandı. GT tekrarı 11 olan farklı yuvaya ait iki yavru bireylerin (CM72.10;CM72.23) 5' ve 3' flank bölgelerinde birkaç noktada baz değişimleri bulundu. Farklı yuvalardan GT tekrarı 15 olan üç bireyden birisinin (CM72.11) flank bölgesinde baz değişimi görüldü.

CM58 Mikrosatellit Lokusu Haplotiplemesi

CM 58 lokusu için 30 bireyden elde edilen diziler karşılaştırma sonucu dizilerin diğer lokusların dizilere göre kısa olmaları nedeniyle Clustal X programı yardımıyla yapılan dizi karşılaştırmaları yapılamadı. GT tekrar sayılarının 6-15 arasında değiştiği belirlendi.

Alata Chelonia Mydas Populasyonu Mikrosatellit Lokus Sonuçlarının Diğer Populasyonlarla Karşılaştırılması

Yapılan çalışmada Alata *C. mydas* populasyonunun üç mikrosatellit (GT veya CA tekrar motifi) lokusunda polimorfizm seviyesi belirlenmeye çalışılmıştır. Dünyada Atlas, Büyük okyanus ve Akdeniz’de dağılım gösteren *C. mydas* populasyonları ile yapılan çalışmalarda her üç lokusun oldukça polimorfik olduğu bulunmuştur (Roberts et.al., 2004). CM3 için 27 alel, CM58 için 19 alel ve CM72 için 41 alel saptanmıştır.

Tablo 1. CM3 lokusu baz dizilerinin karşılaştırılması

Haplotip	Birey	Baz Değişimleri	GT Tekrarı	DNA Uzunluğu(bp)
A (4)	CM3.4	-	15	234
B (9,24,27,38,41,42)	CM3.9	5’flank: INS C/13	16	241
	CM3.24	-	16	194
	CM3.27	-	16	225
	CM3.38	T-A/100 (GT tekrarı içerisinde)	16	167
	CM3.41	-	16	237
	CM3.42	-	16	284
	C(15,21)	CM3.15	5’flank: G-A/35, A-T/45	31
CM3.21		5’flank: C-A/48, C-A/49, C-A/50, G-C/52, A-G/53	31	195
D(14)	CM3.14	-	24	189
E(3,29,37)	CM3.3	5’flank: Δ/27, G-C/28, T- G/31, A-G/32 3’flank: A-C/128	22	193
	CM3.29	-	18	184
	CM3.37	-	18	178

F(8,12)	CM3.8	-	21	243
	CM3.12	-	21	241
G(2,7)	CM3.2	-	28	193
	CM3.7	-	19	241
H(6)	CM3.6	-	21	238
I(18,19)	CM3.18	-	17	217
	CM3.19	-	17	216
J(33,34,35,36)	CM3.33	-	17	241
	CM3.34	5' flank: C-T/26, C-A/34, A-G/57, T-G/58, T-G/60-61-62, T-A/122 (GT tekrarı içerisinde)	17	237
	CM3.35	-	17	237
	CM3.36	-	17	176
K(30,31)	CM3.30	5' flank: INS A/18, C-T/54	21	239
	CM3.31	5' flank: G-T/8, A-G/30, A-G/37, A-C/49, A-C/50	18	244
L(40)	CM3.40	-	16	179

Haplotipler (A-L). Her haplotipe ait bireyler "Birey" sütununda verilmiştir. GT tekrarı dışından kalan 5' ve 3' yönünde yer alan DNA bölgeleri (Flank) baz dizisi bakımından karşılaştırılmıştır. Bireyler arasındaki nükleotit değişimlerinin pozisyonları belirtilerek verilmiştir. Baz değişimi: Δ: nükleotit delesyonu, INS: nükleotit insersiyonu A-C: A'dan C'ye değişim gibi.

Tablo 2. CM72 lokusu baz dizilerinin karşılaştırılması

Haplotip	Birey	Baz Değişimleri	GT tekrarı	DNA Uzunluğu (bç)
A	CM72.10	5' flank: T-A/29, INS T/30, INS A/31, INS G/17, 3' flank: T-A/181	11	251
	CM72.23	3' flank: T-G/146, T-A/163	11	448
B	CM72.8	-	15	232
	CM72.11	3' flank: G-A/204	15	236
	CM72.12	5' flank: G-C/53, 3' flank: G-A/170	15	236
C	CM15	-	39	229
	CM72.32	-	36	236
D	CM72.26	-	29	218
E	CM72.4	3' flank: G-A/185, T-C/189	19	228
	CM72.24	5' flank: C-G/69, 3' flank: INS T/203	19	216
	CM72.30	A-G/206/3' bölgede)	19	219

	CM72.33	-	19	196
	CM72.42	3'flank: Δ/196	19	205
F	CM72.9	-	19	228
	CM72.14	5'flank: G-A/23,G-T/171, G-A/175, G-C/180, A-T/184, 3'flank: A-T/185	19	229
	CM72.18	5'flank: G-A/17, 3'flank: G-T/171, G-A/175, Δ/203	19	228
	CM72.19	-	19	200
	CM72.27	3'flank: A-G/115, G-C/128	19	191
	CM72.36	3'flank: T-A/195	19	201
G	CM72.7	-	19	228
H	CM72.1	-	19	231
	CM72.29	-	19	196
	CM72.35	5'flank: A-G/24, Δ/25, T-A/29, INS A/30, INS T/31, INS G/51	19	196
	CM72.37	INS T/51(5' bölgede)	19	202
	CM72.38	-	19	203
	CM72.39	5'flank: Δ/24, Δ/25, T-A/29, INS A/30, INS T/31	19	200
	CM72.40	5'flank: A-G/25, T-A/29, INS A/30, INS T/31, G-T/49	19	206
	CM72.41	3'flank: A-G/138, INS T/139	19	206

Haplotipler (A-L). Her haplotipe ait bireyler "Birey" sütununda verilmiştir. GT tekrarı dışından kalan 5' ve 3' yönünde yer alan DNA bölgeleri (Flank) baz dizisi bakımından karşılaştırılmıştır. Bireyler arasındaki nükleotit değişimlerinin pozisyonları belirtilerek verilmiştir. Baz değişimi: Δ: nükleotit delesyonu, INS: nükleotit insersiyonu A-C: A'dan C'ye değişim gibi.

Bu alellerin populasyonlar arasındaki dağılımı oldukça farklılık göstermektedir (Fitzsimmons et.al., 1997b). Bu çalışmada her birey için bir alel dizi analiz yoluyla belirlenmiştir. Bireye ait alel sayısının belirlenebilmesi için gerekli blotlama ve hibridizasyon çalışmaları mevcut laboratuvar koşullarımızda bulunmadığından gerçekleştirilemedi. Analiz edilen alellerin GT tekrar sayısı ve aynı tekrar sayısına sahip alellerde flank bölgelerinde hiçbir benzerlik göstermediği gibi birkaç baz değişimi ile sınırlı farklılıklar gösterebilmektedir. Bu bulgular mevcut mikrosatellit lokus

çalışmalarındaki sonuçlarla örtüşmektedir ve Alata popülasyonunun oldukça polimorfik olduğu yansımaktadır.

Mikrosatellit lokusunda mutasyonların oluşumunda polimerazın DNA eşleşmesi sırasında kaymasının neden olduğu düşünülmektedir (Tautz and Rentz, 1984; Stephan 1989). Bunun mikrosatellit lokus evriminin stepwise mutasyon modeline göre gerçekleşmesi beklenmekte ve bir nükleotit çiftinin (GT/CA) kaybı veya kazanımı ile yeni bir alel oluşmaktadır (Kimura and Ohta, 1978). Bir başka yaklaşımda yeni alellerin oluşumunda rekombinasyon sırasında eşit olmayan krossing-over'ın etkili olduğudur (Jarne et.al., 1996; Grimaldi and Crouau-Roy, 1997). İnsan mikrosatellit lokusları ile yapılan simülasyon çalışmasında iki fazlı mutasyon modelinin (TPM) mikrosatellit evriminin daha uygun olduğu gösterilmiştir. TPM ye göre yeni alel oluşumu motif (GT) kazanımı veya kaybıyla oluşmakta fakat alel uzunluğunda büyük farklılıklar olabilmektedir. Bu nedenle alel frekansı dağılımında asimetrik ve multimodal olabilmektedir. Mikrosatellit lokuslar için doğru mutasyon modelinin belirlenmesi sonuçların analizine etkisi nedeniyle önem kazanmaktadır. Ayrıca mikrosatellit alel uzunluğuna bağlı homoplazi de oldukça sık görülmektedir. Bunun nedeni motifin flank bölgelerinde görülen insersiyon ve delesyonlardır (Orti et.al., 1997).

Teşekkür

Bu çalışmayı destekleyen Mersin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine (proje no:BAP-FEF BB (YK) 2006-1) ve örnek sağlayan Dr. Cemil Aymak' a teşekkür ederim.

KAYNAKLAR

- Baran, İ. ve Kasperek, M. (1989). Marine Turtles Turkey, Status Survey 1988 and Recommendation for Conservation and management. WWF, 128.
- Baran, İ., Durmuş, H., Çevik, E., Üçüncü, S. ve Canbolat, A.F. (1992). Türkiye Deniz Kaplumbağaları Stok Tespiti. *Tr. J. of Zoology*, 16, 119-139.

- Baçoğlu, M. ve Baran, İ. (1982). Anadolu Sahillerinden Toplanan Deniz Kaplumbağası Materyeli Üzerinde Kısa Bir Rapor. *Doğa Bilim Dergisi*, Ser. A, 6(2), 69-71.
- Bowen, B. W., Meylan, A. B., Ross, J. P. Limpus, C. J. and Balazs G. H. (1992). Global population structure and natural history of the green sea turtle (*Chelonia mydas*) in terms of matriarchal phylogeny. *Evolution* 46, 865-880.
- Ergene Gözükar S., Aymak C. ve Kaska Y. (2003). Alata Kumsalı (Mersin)'nda Deniz Kaplumbağa (*Caretta caretta* ve *Chelonia mydas*) Populasyonlarının İncelenmesi, I. Ulusal Deniz Kaplumbağaları Sempozyumu, 4-5. Aralık
- Encalada , S.E., Lahanas, P.N., Bjorndal, K.A., Bolten, A.B., Miyamoto, M.M., Bowen, B.W. (1996). Phylogeography and population structure of the Atlantic and Mediterranean green turtle *Chelonia mydas*: a mitochondrial DNA control region sequence assessment. *Mol. Ecol.* 5, 473-483.
- Fitzsimmons, N. N., Moritz C. and Moore, S. S. (1995) Conservation and dynamics of microsatellite loci over 300 million years of marine turtle evolution. *Mol. Biol. Evol.* 13, 432-440.
- Fitzsimmons, N. N., Limpus, C. J., Norman, J. A., Goldizen, A. R. And Miller J. D. (1997a). Philopatry of male marine turtles inferred from mitochondrial DNA markers. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94, 8912-8917.
- Fitzsimmons, N. N., Moritz, C., Limpus, C. J., Pope, L. and Frince, R. (1997b). Geographic structure of mitochondrial and nuclear gene polymorphisms in Australian green turtle populations and male-biased gene flow. *Genetics* 147,1843-1854.
- Geldiay, R. (1984). Türkiye'nin Ege ve Akdeniz Kıyılarında Yaşayan Deniz Kaplumbağalarının (*Caretta caretta caretta* L. ve *Chelonia mydas mydas* L.) Populasyonları ve Korunmaları ile İlgili Araştırmalar. *Doğa Bilim Dergisi*, Ser. A 8, 66-75.
- Grimaldi, M.-C., ve Crouau-Roy, B. (1997)Microsatellite allelic homoplasy due to variable flanking sequences. *J. Mol. Evol.* 44, 336-340.
- Hathaway, R.R. (1972). Sea Turtles Unanswered Questions About Sea Turtles in Turkey. *Balık ve Balıkçılı*, 20, (1)1-8.
- Jarne, P., and Lagoda, P. J. L. Brown, W. M.,M., George, J. and Wilson, A. C. (1996). Microsatellites, from molecules Rapid evolution to populations and back. *Tree*, 11, 424-429.
- Karl, S. A., B. W. Bowen and J. C. Avise, 1992. Global population genetic structure and male-mediated gene flow in the green turtle (*Chelonia mydas*): RFLP analysis of anonymous nuclear loci. *Genetics* 131: 163-173.
- Kaska, Y. (2000). Genetic structure of mediterranean Sea turtle populations. *Tr. Journal of Zool.*, 24, 191-197.

- Kimura, M. and Ohta, T. (1978). Stepwise mutation model and Genetic divergence between Atlantic and Indo-Pacific bution of allelic frequencies in a finite population. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 75, 2868–2872.
- Lutz, P.L. and Musick, J.A. (1997). *The Biology of Sea Turtles*, CRC Press, New York..432pp.
- Orti, G., Pearse, D. E. and Avise, J. G.(1997,). Phylogenetic assessment of length variation at a microsatellite locus. *Proc Natl. Acad. Sci. USA*, 94, 10745-10749.
- Roberts.,M.A., Schwartz T. S., and S.A. Karl. (2004). Global population genetic structure and Male-mediated gene flow in the green sea turtle *Chelonia mydas*): Analysisi of microsatellite loci. *Genetics*, 166, 1857-1870.
- Stephan, W. (1989). Tandem-repetitive noncoding DNA: Forms and DC Forces. *Mol. Biol. Evol.*, 6, 198–212.
- Tautz, D. and Rentz M. (1984). Simple sequences are ubiquitous repetitive components of eukaryotic genomes. *Nucleic Acids Res.* 17, 4127-4138.
- Türkozan, O. (2000). Reproductive Ecology of the Loggerhead Turtle, *Caretta caretta*, on Fethiye and Kizilot Beaches, Turkey. *Chelonian Conservation and Biology*, 3(4), 686-692.

SUMMARY

First records about sea turtle species Chelonia mydas and Caretta caretta nesting along the beaches of Turkey reported by Hathaway (1972); Başoğlu ve Baran (1982); Geldiay (1984); Baran and Kasperek, (1989) and Baran et.al. (1992), thereafter more and more nesting areas were reported and protection measures and annually monitorring studies of those beaches took place and still done. One of the four important nesting areas found in Mersin region (Anamur, Göksu, Alata, Kazanlı) is the Alata nesting beach discovered in 2002 an important nesting area for green sea turtle species Chelonia mydas and in 2005 registered as 18th nesting beach of Turkey were put under protection. Monitorring and protection studies have been going on every mating-nesting season between May and September.

Human activities known to be primer cause for endangering sea turtle species and destruction of beaches one of important reasons preventing female sea turtle nesting. Other dangers were improper use of beaches, light pollution and predators which all influence the hatchlings viability.

To overcome all negative impacts laying on a endangered species can not overcome and were not sufficient by only classical population studies which includes monitoring and protection. Genetic analysis required to understand species behavior and their needings. Population genetics are new aera using genomic DNA and mitochondrial DNA as tools. Microsatelite loci polymorphisms were analysed in various species and also established for sea turtles species. Fitzsimons et. al (1995) determined three microsatellite loci markers (CM58, CM3, CM72) for green sea turtle species. Microsatellite loci polymorphisms among C. mydas populations distributed in Atlantic and Pacific were searched and for Mediterranean C. mydas populations examples only from Cyprus were analysed. Among analysed population for CM3 locus 27, CM58 locus 19 and CM72 alleles found respectively.

There are few studies about Mediterranean green turtles genetics. In this study microsatellite loci analysis performed on one of the endangered species green sea turtles (Chelonia mydas) from Alata beach of Mersin region at Mediterranean coast. DNA isolated from muscle tissue of death hatchlings (non-sibling). PCR reaction performed for three microsatellite loci CM3, CM57 and CM72 as described by Fitzsimonns et. al. (1997a). Microsatelit loci alleles separated by agarose gel electrophoresis, eluted, purified and subjected to DNA sequence analysis. DNA sequences analysed by Clustal X program. Amplification of CM3 microsatellite locus of 28 non-sibling hatchlings resulted 160–200 bp PCR-DNA fragments which have been sequenced and GT repeat numbers show very high differences between alleles. GT repeat numbers was found between 10– 28 for CM3 locus. Amplification of CM58 microsatellite locus of 30 non-sibling hatchlings, resulted 150 – 165 bp DNA fragments which have GT repeat number between 6 to 15. Amplification of CM72 microsatellite locus of 28 nestling, resulted 250 – 290 bp PCR-DNA fragments which have GT repeats between 9 to 39. Also comparison of 3' and 5' flanks surrounding GT repeat regions showed that Alata population is highly polymorphic for CM3 and CM 72 loci.