



Kocaeli Üniversitesi Umutepe Yerleşkesi'nde Yayılış Gösteren Kertenkelelerin Moleküler Düzeyde Tür Tayini

Species Identification Through Molecular Analysis of Lizard Distributed in The Umutepe Campus of Kocaeli University

Fikriye POLAT^{1*} , Ahmet Mehdi DURGUN² , Aslı OLACAM³ , Gülen Sinem İNCİ⁴ , Merve Bahar DOĞAN⁵ , Elif Deniz UZUN⁶ , Evin IŞIK⁷ 

¹Kocaeli Üniversitesi, Eğitim Fakültesi, Matematik ve Fen Bilimleri Eğitimi, Kocaeli, 41380, Türkiye, **Orcid Id:** 0000-0002-5414-2501

²Kocaeli Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji, Kocaeli, 41380, Türkiye, **Orcid Id:** 0000-0002-7913-9931

³Kocaeli Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji, Kocaeli, 41380, Türkiye, **Orcid Id:** 0000-0003-1919-5728

⁴Kocaeli Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji, Kocaeli, 41380, Türkiye, **Orcid Id:** 0000-0003-0195-4108

⁵Kocaeli Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyomedikal Mühendisliği, Kocaeli, 41380, Türkiye, **Orcid Id:** 0000-0001-6084-2507

⁶Kocaeli Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji, Kocaeli, 41380, Türkiye, **Orcid Id:** 0000-0001-6725-3959

⁷Kocaeli Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji, Kocaeli, 41380, Türkiye, **Orcid Id:** 0000-0003-4806-396X

Araştırma Makalesi

Gönderilme Tarihi : 28/12/2018

Kabul Tarihi : 18/03/2019

Anahtar Kelimeler

Barkod Genleri
DNA
Filogenetik Analiz
Kertenkele
Podarcis siculus

Research Paper

Received Date : 28/12/2018

Accepted Date : 18/03/2019

Keywords

Barcode Gene
DNA
Lizard
Phylogenetic Analysis
Podarcis siculus

Özet

Kocaeli Üniversitesi Umutepe Yerleşkesi'nde sıklıkla rastlanan kertenkeleler, moleküler düzeyde tür teşhisi yapılmak üzere yakalanıp, kuyruk bölgelerinden doku örnekleri alındı. Ardından DNA izolasyonu, evrensel mitokondrial COI ve 16S rRNA primerleri kullanılarak Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ve DNA dizi analizleri yapıldı. Elektroferogramları değerlendirildi ve elde edilen sonuçlar NCBI veri tabanında kayıtlı kertenkele türleri ile karşılaştırıldı. Tür bazında moleküler filogenetik analiz yapılan bu çalışmada Kocaeli Üniversitesi'nde yayılış gösteren kertenkelelerin Podarcis siculus türüne (İstanbul Kertenkelesi) ait oldukları tespit edildi.

Abstract

Lizards, commonly found in the Umutepe Campus of Kocaeli University, were caught and tissue samples were taken from their tail region for species identification through molecular analysis. After that, DNA isolation, Polymerase Chain Reaction (PCR) by using universal primers for the mitochondrial COI and 16S rRNA, and DNA sequence analysis were performed. Electropherograms were evaluated and the results obtained were compared with the species recorded in the NCBI databases. In this study using molecular phylogenetic analysis for species identification, the lizards distributed in the Umutepe Campus of Kocaeli University were determined to belong to Podarcis siculus (Istanbul lizard).

1. Giriş

Reptilia (sürüngenler) omurgalıların “Tetrapoda” denen “4 bacaklılar” veya “kara omurgalıları” grubunun 2'inci sınıfını oluştururlar. Bu sınıfın üyelerinin her bir bacağına 5 parmak ve parmak uçlarında keratin yapısında tırnaklar bulunur [1]. Sürüngenler sınıfı beş grup hayvanın

bir araya gelmesiyle oluşur. Bu gruba dahil olan hayvanlar yılanlar, kertenkeleler, kaplumbağalar, timsahlar ve kalak başlılardır [2].

Kertenkeleler, sürüngenler sınıfının Squamata (pullular) takımına aittir. Türkiye'de geniş coğrafyalara yayılan kertenkeleler ülkemizde sekiz familya (Agamidae, Chamaeleonidae, Gekkonidae, Lacertidae, Scincidae, Anguidae, Varanidae, Eublepharidae ve Blanidae) ile temsil edilen kertenkelelerin tür bakımından en zengin

* Sorumlu Yazar (Correspondin Author): fikriyepolat@kocaeli.edu.tr



olanı Lacertidae familyasıdır. Lacertidae familyası ülkemizde 13 cins (*Acanthodactylus*, *Anatololacerta*, *Apathya*, *Darevskia*, *Eremias*, *Iranolacerta*, *Lacerta*, *Meselina*, *Ophisops*, *Parvilacerta*, *Phoenicolacerta*, *Podarcis* ve *Timon*) ile temsil edilir. Bu cinslerden biri olan *Podarcis* cinsinin Dünya’da yayılış gösteren 22 türü, Türkiye’de ise 3 türü (*Podarcis muralis*, *Podarcis siculus* ve *Podarcis tauricus*) bulunur [3].

İtalyan duvar kertenkelesi olarak da bilinen İstanbul kertenkelesi latince ismiyle *Podarcis siculus*, Orta Akdeniz bölgesinde yayılış gösterir. Özellikle Güneybatı Avrupa ülkelerinde İtalya’da, Sicilya, Sardunya, Korsika’da ve Adriyatik kıyılarınun kuzey kesiminde ve birçok Adriyatik adasında çok sayıda rastlanır [4]. İlginç bir şekilde Yunanistan, Bulgaristan ve Trakya’nın büyük kısmında mevcut olmayan tür İstanbul ve civarında tekrar ortaya çıkar. Bu kesikli yayılış durumu nedeniyle bu türün İstanbul civarına gemilerle geldiği muhtemeldir. Türkiye’de Marmara Denizi kıyıları, Marmara Adaları, İstanbul içi, Kocaeli, Adapazarı ve Zonguldak’ta yayılış gösterir. Deniz seviyesinden 1800 metre yüksekliklere kadar çıkabilir [5].

Vücut boyu yaklaşık 24 cm ve kuyrukları vücudunun 2/3’ü kadar olan *Podarcis siculus*’un sırt pulları küçük, yuvarlak ve düzdür. Sırt tarafı genellikle yeşilimsi veya gri kahverengi olup karışık düzende koyu veya açık lekeli, karın tarafı beyaz, kırmızı ve lekesizdir. Yer altında, ağaçlar üzerinde, kayalık kısımlar, taş duvarlar ile çalılık yerlerde, eğimli yolların sınırları boyunca yaşarlar. Böcek türleriyle beslenirler. Bir dişi 3-12 yumurta bırakır. Poikloterm canlılardır. Eylül ile Mart ayları arasında taşların altında ya da yarıklarda kış uykusuna yatarlar [5].

Podarcis siculus’un taksonomisi şöyledir:

Domain: Eukaryota

Kingdom: Metazoa

Phylum: Chordata

Subphylum: Vertebrata

Class: Reptilia

Order: Sauria

Family: Lacertidae

Genus: *Podarcis*

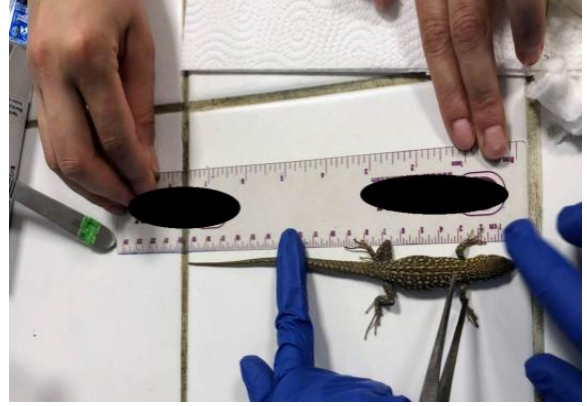
Species: *Podarcis siculus* (Rafinesque-Schmaltz, 1810)

Bu çalışma Kocaeli Üniversitesi, Umuttepe Yerleşkesinde yayılış gösteren kertenkelelerin, Sitokrom Oksidaz Subunit I (COI) ve 16S rRNA gen bölgeleri ile moleküler düzeyde tür bazında tespitini yapmak üzere amaçlanmıştır.

2. Materyal-Metod

2.1. DNA İzolasyonu

Çalışma için Tarım ve Orman Bakanlığı, Doğa Koruma ve Milli Parklar Genel Müdürlüğü (E.3757721) ve KOU-HADYEK (2/1-2018) izinleri alındı. Kocaeli Üniversitesi Umuttepe Yerleşkesinde yayılış gösteren kertenkelelerden 2 adet yakalanıp (Şekil 1) eter ile bayıldıktan sonra kuyruk bölgelerinden yüzer mg kadar doku örnekleri alınıp Zymo Research Solid Tissues DNA izolasyon kiti ile genomik DNA elde edildi.



Şekil 1. *Podarcis siculus* bireyinin dorsalden görünüşü.

2.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu-Agaroz Jel Elektroforezi

COI [6] ve 16S rDNA [7] gen bölgelerine ait evrensel primerler (Tablo 1) kullanılarak ilgili gen bölgeleri PZR ile çoğaltıldı ve %1’lik agaroz jel hazırlanarak 100 voltta 45 dakika yürütüldü.

Tablo 1. COI ve 16S rDNA gen bölgelerine ait primerler ve hibritleşme sıcaklıkları.

Genler		
Primerler	COI	16S rDNA
Forward	<i>LCOI490</i> 5'- GGTC AACAAATCATAAAGATATTGG -3'	5'-TCGACTGTTTACCAAAAACATAGC-3'
Reverse	<i>HCO2198</i> 5'-TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA-3'	5'-ACGGAATGAACTCAAATCATGTAA-3'
Hibritleşme sıcaklığı	55°C’de 1 dk	50°C de 30 s

2.3. DNA Dizi Analizi

PZR ürünleri ExoSAP-ITTM PCR Product Cleanup Reagent (Thermo Fisher Scientific, USA) kiti prosedürüne uygun olarak BM Lab tarafından saflaştırılıp ABI 3730XL Sanger dizileme cihazı (Applied Biosystems, Foster City, CA) ve BigDye Terminatör v3.1 Cycle Dizileme kiti kullanılarak yapıldı.

2.4. Filogenetik Analiz

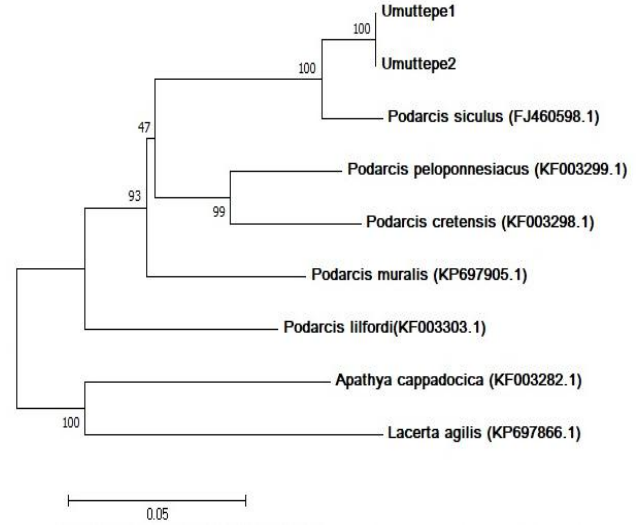
DNA sekanslarına ait elektroferogramlar Chromas 2.6.5 programı ile görüntülendi. Ardından diziler ayrı ayrı FASTA formatında kaydedildi. Dizilerin forward ve reverse complement okumaları Clustal W programı ile hizalanarak karşılaştırıldı. COI ve 16S rRNA bölgesine ait diziler FASTA formatında NCBI BLAST'ta yüklendi. NCBI Nucleotide'de en çok benzerlik gösteren diziler tespit edilerek erişim numaraları (accession number) ile birlikte filogenetik ağaçta kullanılmak üzere kaydedildi. Nükleotid dizileri iki gen için ayrı ayrı MEGA 7.0 programına yüklendi. Modelleme yöntemleri ve mesafeleri belirlendi. Maximum Likelihood metodu Tamura-Nei Modeli (1993), Bootstrap 1000'de filogenetik ağaçları oluşturuldu.

3. Bulgular

3.1. COI

Umuttepe1 ve Umuttepe2 ismi verilen kertenkelelere ait COI dizileri ayrı ayrı NCBI Blast'a girilerek veri tabanında bulunan kertenkele türleriyle benzerlikleri bulundu. Bunlar arasından çalışmamıza ait COI dizileriyle

%96,70-%78,53 benzerlik oranlarına göre *Podarcis siculus* (FJ460598.1), *Podarcis muralis* (KP697905.1), *Podarcis peloponnesiacus* (KF003299.1), *Podarcis cretensis* (KF003298.1), *Podarcis lilfordi* (KF003303.1), *Apathya cappadocica* (KF003282.1), *Lacerta agilis* (KP697866.1) veri tabanından seçildiler. Çalışmamıza ait MH454664 ve MH454665 erişim numaralı *Podarcis siculus*'lar ile veri tabanından belirlenen örneklerle ait COI geni için en düşük genetik uzaklık 0,000, en yüksek genetik uzaklık ise 0,202 olarak bulundu (Tablo 2).



Şekil 2. Umuttepe1 ve Umuttepe2'ye ait COI gen bölgeleri için ML metodu ile oluşturulan moleküler filogenetik ağacı.

Programda baz frekansları $f(A)=0,254$, $f(T)=0,328$, $f(C)=0,254$, $f(G)=0,165$ ve +G (Gamma distribution)=0,19 olarak elde edildi. Örneklerimize ait COI gen bölgesi için filogenetik ağaç Şekil 2'de görülmektedir.

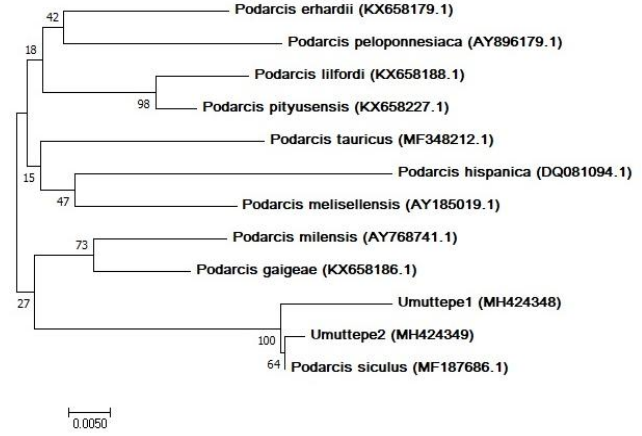
Tablo 2. Umuttepe1 ve Umuttepe2'ye ait *Podarcis siculus* COI gen bölgeleri ile diğer gruplara ait ML ve genetik uzaklıkları.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1. Umuttepe 1		0,000	0,007	0,013	0,013	0,013	0,014	0,017	0,018
2. Umuttepe 2	0,000		0,007	0,013	0,013	0,013	0,014	0,017	0,018
3. <i>Podarcis siculus</i> (FJ460598.1)	0,032	0,032		0,012	0,013	0,013	0,014	0,017	0,018
4. <i>Podarcis muralis</i> (KP697905.1)	0,111	0,111	0,116		0,012	0,013	0,013	0,016	0,017
5. <i>Podarcis peloponnesiacus</i> (KF003299.1)	0,117	0,117	0,112	0,097		0,011	0,014	0,016	0,017
6. <i>Podarcis cretensis</i> (KF003298.1)	0,119	0,119	0,122	0,102	0,068		0,014	0,016	0,018
7. <i>Podarcis lilfordi</i> (KF003303.1)	0,139	0,139	0,143	0,107	0,128	0,131		0,015	0,016
8. <i>Apathya cappadocica</i> (KF003282.1)	0,185	0,185	0,190	0,175	0,182	0,182	0,167		0,015
9. <i>Lacerta agilis</i> (KP697866.1)	0,202	0,202	0,202	0,189	0,194	0,209	0,172	0,153	

3.2. 16S rDNA

Podarcis siculus oldukları tespit edilen Umuttepe1 ve Umuttepe2'ye ait 16S rDNA gen bölgeleri için NCBI veri bankasından MH424348 ve MH424349 erişim numaraları elde edildi. Aynı veri tabanından çalışmamıza ait olan 16S rDNA gen bölgeleri ile yakın benzerlik gösteren kertenkele türleri tespit edildi. Umuttepe1 ve Umuttepe2 16S rDNA dizileriyle %98,06-85,56 benzerlik oranlarına göre Podarcis siculus (MF187686.1), Podarcis hispanica (DQ081094.1), Podarcis erhardii (KX658179.1), Podarcis lilfordi (KX658188.1), Podarcis pityusensis (KX658227.1), Podarcis tauricus (MF348212.1), Podarcis melisellensis (AY185019.1), Podarcis milensis (AY768741.1), Podarcis gaigeae (KX658186.1), Podarcis peloponnesiaca (AY896179.1) veri tabanından seçildiler. Çalışmamıza ait MH424349 ve MH187686.1 erişim numaralı Podarcis siculus'lar ile veri tabanından belirlenen örnekler için en düşük genetik uzaklık 0,014, en yüksek genetik uzaklık ise 0,080 olarak bulundu (Tablo 3). Programda baz frekansları $f(A)=0,296$;

$f(T)=0,296$; $f(C)=0,204$; $f(G)=0,037$ ve +G (Gamma distribution)=0,09 olarak elde edildi. Örneklerimize ait 16S rDNA gen bölgesi için filogenetik ağaç Şekil 3'de görülmektedir.



Şekil 3. Umuttepe1 ve Umuttepe2'ye ait 16S rDNA gen bölgeleri için ML metodu ile oluşturulan moleküler filogenetik ağacı.

Tablo 3. Umuttepe1 ve Umuttepe2'ye ait Podarcis siculus 16S rDNA gen bölgeleri ile diğer gruplara ait ML ve genetik uzaklıkları.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1. Umuttepe 1 (MH424348)		0,006	0,005	0,013	0,012	0,012	0,012	0,012	0,012	0,012	0,011	0,013
2. Umuttepe 2 (MH424349)	0,016		0,002	0,012	0,011	0,011	0,011	0,011	0,011	0,011	0,010	0,012
3. Podarcis siculus (MH187686.1)	0,014	0,002		0,012	0,011	0,011	0,011	0,011	0,011	0,011	0,010	0,012
4. Podarcis hispanica (DQ081094.1)	0,087	0,080	0,078		0,012	0,012	0,011	0,011	0,010	0,011	0,012	0,011
5. Podarcis erhardii (KX658179.1)	0,069	0,057	0,055	0,069		0,009	0,009	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010
6. Podarcis lilfordi (KX658188.1)	0,069	0,057	0,055	0,076	0,046		0,006	0,010	0,010	0,010	0,009	0,010
7. Podarcis pityusensis (KX6581227.1)	0,067	0,055	0,053	0,064	0,041	0,016		0,009	0,010	0,010	0,010	0,010
8. Podarcis tauricus (MF348212.1)	0,080	0,069	0,067	0,067	0,053	0,053	0,044		0,010	0,009	0,009	0,011
9. Podarcis melisellensis (AY185019.1)	0,069	0,062	0,060	0,057	0,050	0,057	0,046	0,053		0,010	0,009	0,010
10. Podarcis milensis (AY768741.1)	0,071	0,060	0,057	0,067	0,046	0,060	0,048	0,046	0,046		0,007	0,011
11. Podarcis gaigeae (KX658186.1)	0,057	0,046	0,044	0,076	0,055	0,046	0,048	0,048	0,044	0,028		0,010
12. Podarcis peloponnesiaca (AY896179.1)	0,080	0,069	0,067	0,064	0,046	0,055	0,046	0,062	0,055	0,057	0,050	

4. Tartışma ve Sonuç

Canlılarda tür teşhisi yapmak için bilim insanları tarafından çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Bu yöntemlerden biri uzun yıllardır kullanılan ve kullanılmaya devam eden geleneksel yöntemlerdir. Bu yöntemde önce

canlının dış görünüşüne göre bireyler ayıklanır, eşey ve yaş ayrımı yapılır, varsa karşılaştırma materyallerinden yararlanılır, çizimler, fotoğraflar kullanılır. Fenotipik yöntem olarak da anılan geleneksel yöntemde tür tayini yapmak uzun zaman almakta ve bazen sonuç bile vermemektedir. Son yıllarda tür tayini yapmada

geleneksel yöntemler yerini moleküler yöntemlere bırakmaya başlamıştır. Filogenetik analiz de denilen bu yöntemlerde evrimsel olarak değişmemiş (korunmuş) genler çalışılmaktadır. İlgili genin korunmuş bölgesi içinde değişken bölgelerinin bulunması tür tayinini yapmada oldukça önemlidir. Moleküler düzeyde tür tayini yapmada en çok kullanılan genler mitokondrial protein kodlayan COI, COII, Cytb, ND1 ve ND2 genleri ve 16S ve 12S rDNA genleri, çekirdek DNA'sında ise 18S, 28S, 5.8S rDNA genleri ile IGS ve ITS gen bölgeleridir.

COI türe özgü DNA profili çıkarmada en uygun genlerden biridir. COI evrensel primerleri kullanılarak denizanası gibi sucul canlılardan böceklerle hatta sürüngenlere çok farklı canlı profilinde moleküler düzeyde taksonomik tanımlama yapılabilmektedir. Yaklaşık 655 baz çiftlik bölgeye karşılık gelen protein kodlayan bu gen oldukça yüksek ayırım gücüne sahiptir. Bu nedenle DNA barkod bölgesi olarak kabul edilmektedir [8-10].

Ribozomal RNA bilgisini taşıyan rDNA geni de son yıllarda sınıflandırmada biyomarker olarak kullanılmaktadır. Araştırmacılar tarafından rDNA dizisinin sık tercih edilmesinde; ribozomal RNA'ların tüm canlıların protein sentezinde önemli rol oynaması, bu genetik yapıların tüm canlılarda primer ve sekonder kopyalarının fonksiyonel olarak korunmuş olmasıdır. 16s rDNA evrensel primerleri kullanılarak filogenetik akrabalık derecesini belirlemek amacıyla bu gen bölgesi, PCR cihazında çoğaltılıp ardından DNA sekansı elde edilip gen bankasındaki diğer dizilerle karşılaştırılarak analizleri yapılmaktadır. Yaklaşık 1550 baz çifti büyüklüğünde olan 16S rDNA gen bölgesinin üzerinde iyi korunmuş bölgeler olmasının yanında heterojen bölgeler de içermesi filogenetik tür tayininde oldukça ideal olmasını sağlamaktadır [11, 12].

Şimdiye kadar 22 türü belirlenen Podarcis cinsine ait üç tür Podarcis muralis, Podarcis siculus ve Podarcis tauricus ülkemizde görülmektedir. Podarcis türleri gerek vücut büyüklüğü ve şekli gerekse renkleri açısından taksonomileri zorlaştırmakta, türler arası ve popülasyonlar arası yüksek değişkenlik göstermektedir [13]. Ülkemizde kertenkeleler üzerine yapılan çalışmalar incelendiğinde daha çok morfoloji ve yayılışları üzerinde oldukları görülmektedir [1, 3, 14]. Moleküler düzeyde ise birkaç çalışma bulunmaktadır. Bunlar arasında; Podarcis muralis [3], Darevskia rudis (Trabzon kertenkelesi), Darevskia bithynica, Podarcis siculus ve Podarcis tauricus 16S rRNA ve cytB genleri üzerinde yapılmış çalışmalar [15] ile Güney Anadolu'da yayılış gösteren Anatololacerta [16] cinsi kertenkeleler üzerinde mitokondrial DNA ve nDNA markerları ile yapılmış bir çalışma bulunmaktadır.

Umuttepe1 ve Umuttepe2 örneklerimiz, NCBI genom veri bankasından seçilen diğer kertenkele türleri ile mesafeler açısından karşılaştırıldığında (Tablo 2, Tablo 3

ve ClustalW karşılaştırmalarında (burada bu data gösterilmemiştir)) COI gen bölgesi daha etkili görünse de kanımızca kertenkelelerde tür düzeyinde farklılığı ortaya koymada her iki DNA barkod geni de etkili olmuştur.

Kocaeli Üniversitesi Umuttepe Yerleşkesi'nde yayılış gösteren ve rastgele yakalanan kertenkele örneklerinin, DNA barkod genleri olan mitokondrial COI ve 16S rDNA genleri kullanılarak yapılan bu araştırma ile Podarcis siculus türü oldukları tespit edilmiştir. Geleneksel tür teşhisi yöntemi her ne kadar zaman alıcı olsa da hem geleneksel hem de moleküler DNA barkod yöntemlerinin birlikte kullanılması, çalışmaları daha değerli kılacaktır. Türkiye'de yayılış gösteren Podarcis, Blanus, Anatololacerta, Mediodactylus, Darevskia, Eremias, Lacerta, Phoenicolacerta, Trachylepis gibi pek çok cinsine ait türler bulunmaktadır. Ülkemizde yaşayan bu türler moleküler düzeyde çalışılmamıştır. Konuya ilgi duyan genç araştırmacılara DNA barkod genleri kullanılarak Türkiye'ye ait kertenkelelerin DNA profillerinin çıkarılması ve Genom veri bankalarına kazandırılmaları önerilmektedir.

Kaynaklar

- [1] Eroğlu A. İ., 2017. Türkiye'deki Podarcis Cinsi Kertenkele Türlerine Ait Bazı Popülasyonlardaki Yaş Yapısının İncelenmesi. Doktora Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi.
- [2] Budak A., Göçmen B., 2005. Herpetoloji. Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Kitaplar Serisi, No. 194, Ege Üniversitesi Basımevi, Bornova-İzmir, 226 s. (ISBN 975-483-658-2).
- [3] Kurnaz M., 2015. Artvin Kertenkelesi (Darevskia Derjugini; Nikolsky, 1898)'nin Türkiye'de Yayılış Gösteren İki Alttürüne Ait Morfolojik Varyasyonların İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi.
- [4] Podnar M., Mayer W., Tvrtkovič N., 2005. Phylogeography of the Italian wall lizard, Podarcis sicula, as revealed by mitochondrial DNA sequences. Molecular Ecology, **14**, 575-588.
- [5] Baran İ., Ilgaz Ç., Avcı A., Kumlutaş Y., Olgun, K., 2012. Türkiye Amfibi ve Sürüngenleri. Tübitak Popüler Bilim Kitapları, Ankara.
- [6] Ortman B.D., Bucklin A., Pages F., Youngbluth M., 2010. DNA barcoding the Medusozoa using mtCOI. Deep-Sea Res Pt II, **57**, 2148-2156.
- [7] Sparmann S. F., 2012. Contributions To The Molecular Phylogeny, Phylogeography, and Taxonomy Of Scyphozoan Jellyfish. The University of British Columbia, Master of Science, September.

- [8] Aravind K., Ravikanth G., Shaanker R. U., Chandrashekara K., Kumar, A. R. V., Ganeshaiyah, K.N., 2007. DNA barcoding: An exercise in futility or utility? *Current Science*, **92**, 1213-1216.
- [9] Folmer O., Black M., Hoeh W., Lutz, R., Vrijenhoek, R., 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology And Biotechnology*, **3**, 294-299.
- [10] Kress W.J., Erickson D. L. 2008. DNA barcodes: Genes, genomics, and bioinformatics. *Proceedings of The National Academy Of Sciences*, **105**, 2761-2762.
- [11] Orhan F., 2013. Doğu Anadolu Bölgesindeki Tuzlu Topraklardan İzole Edilen Tuza Dayanıklı Bakterilerin Moleküler Karakterizasyonu. Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- [12] Hıdıroğlu N., 2015. Bakteriyorodopsin Üretme Potansiyeline Sahip Halofilik Arke Halobacterium Salinarum'un İzolasyonu ve Nanobiyomolekül Olarak Kullanılabilecek Bakteriyorodopsin'in Saflaştırılması ve Karakterizasyonu. Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- [13] Mücahit Ç., 2013. Türkiye'de Yaşayan Duvar Kertenkelesi (Podarcis muralis)'nin Taksonomik Durumunun Morfolojik ve Moleküler Yönden İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- [14] Nurhan S., 2009. Trabzon ve Bursa'da yayılış gösteren yılan kertenkele (*Anguis fragilis* Linnaeus, 1758)'nin helminth faunası / Helminth parasites of the slowworm, *Anguis fragilis* (Linnaeus;1758) (Squamata: Anguidae) from Trabzon and Bursa. Uludağ Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı.
- [15] Koç H., Kutrup B., Eroğlu O., Bülbül U., Kurnaz M., Afan F., Eroğlu A. İ. 2017. Phylogenetic relationships of *D. rudis* (Bedriaga,1886) and *D. bithynica*(Mehely, 1909) based on microsatellite and mitochondrial DNA in Turkey. *Mitochondrial DNA*, **28**, 814-825.
- [16] Candan K., Kankılıç T., Güçlü Ö., Kumlutaş Y., Durmuş S. H., Lymberakis P., Poulakakis N., Ilgaz Ç., 2014. First assessment on the molecular phylogeny of *Anatololacerta* (Squamata, Lacertidae) distributed in Southern Anatolia: insights from mtDNA and nDNA markers. *Mitochondrial DNA*, **27**, 1740-1744.