



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



ADLİ ÖNEMİ OLAN DİPTERA TÜRLERİNİN MTDNA COI GEN ANALİZİ İLE GENETİK TEŞHİSİ

Abdullah Zübeyir CEYLAN

**DİSİPLİNLERARASI ADLİ BİLİMLER ANABİLİM DALI
ADLİ GENETİK PROGRAMI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. N. Lale ŞATIROĞLU TUFAN**

**ANKARA
2020**

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ADLİ ÖNEMİ OLAN DİPTERA TÜRLERİNİN MTDNA
COI GEN ANALİZİ İLE GENETİK TEŞHİSİ

Abdullah Zübeyir CEYLAN

DİSİPLİNLERARASI ADLİ BİLİMLER ANABİLİM DALI
ADLİ GENETİK PROGRAMI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. N. Lale ŞATIROĞLU TUFAN
Doç. Dr. H. Nihal AÇIKGÖZ

ANKARA
2020

ETİK BEYAN

Ankara Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Yüksek Lisans tezi olarak hazırlayıp sunduğum “Adli Önemi Olan Diptera Türlerinin mtDNA COI Gen Analizi İle Genetik Teşhisi” başlıklı tez; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencisinin Adı Soyadı : Abdullah Zübeyir CEYLAN

Tarih : 24.08.2020

İmza

KABUL VE ONAY



İÇİNDEKİLER

Etik Beyan	ii
Kabul ve Onay	iii
İçindekiler	iv
Önsöz	vi
Simgeler Ve Kısaltmalar	viii
Şekiller	ix
Çizelgeler	x
1.GİRİŞ	1
1.1. Adli Entomoloji	1
1.1.1. Adli Entomolojinin Tarihçesi	2
1.1.2. Bir Sineğin Yaşam Döngüsü	6
1.1.3. Adli Entomolojide Tür Teşhisinin Önemi	7
1.1.4. Adli Entomolojide Ölüm Zamanının Tahmini	9
1.1.4.1. İsomorfen ve İsomegalen Grafiği	10
1.1.4.2. Birikmiş Derece Gün (BDG) ve Birikmiş Derece Saat (BDS) Yöntemleri	11
1.1.5. Adli Entomolojik İncelemelerde Sık Karşılaşılan Sorunlar	12
1.2.DNA Bazlı Böcek Teşhis Yöntemleri	13
1.2.1.Mitokondrial DNA	13
1.2.2. DNA Barkodlama Belirteci Olarak Sitokrom c Oksidaz Alt Birim I (COI)	15
2. GEREÇ VE YÖNTEM	19
2.1. Arazi Çalışması	19
2.2. Laboratuvar aşaması	20
2.2.1. Morfolojik teşhis	21
2.2.2. DNA İzolasyonu	21
2.2.3. Fenol-Kloroform DNA İzolasyon Yöntemi	22
2.2.4. PZR Aracılığıyla Gen Bölgelerinin Çoğaltılması	23
2.2.5. Jel Elektrophorez	24
2.2.6. PZR Ürünlerinin Dizi Analizi ve Sonuçların Değerlendirilmesi	25
2.2.6.1. Verilerin İstatistiksel Analizi	25
2.2.6.1.1. Genetik Mesafe Testi	26
2.2.6.1.2.Filogenetik Ağaç Çizimi	26
2.3. Sonuçların Değerlendirilmesinde Kullanılan Yazılımlar	27
3.BULGULAR	28
3.1. Morfolojik Teşhis Sonuçları	28
3.2. Dizilerin BLAST ve BOLD Tarama Sonuçları	30
3.3.Tür İçi ve Türler Arası Genetik Mesafenin Karşılaştırılması	32
3.4. Filogenetik Ağaç Çizim Sonucu	35
4.TARTIŞMA	36
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	40
ÖZET	42
SUMMARY	43
KAYNAKLAR	44
EKLER	52

Ek-1. Örneklerin kullanımı için Başkent üniversitesi Tıp ve Sağlık Bilimleri Araştırma Kurulundan alınan izin belgesi	52
Ek-2. COI Bölgesi Dizi Analiz Sonuçları	53
ÖZGEÇMİŞ	68



ÖNSÖZ

Adli entomoloji, adli soruşturmalarda eklem bacaklılar incelenerek suçun açığa çıkarılmasını sağlayan disiplinler arası bir bilim dalıdır. Ölümden sonra geçen zaman aralığının (PMI: Post Mortem Interval) belirlenmesi adli bilimlerde inceleme sürecinin en önemli unsurlarından biridir. PMI tayininde entomolojik incelemeler önde gelen araştırma yöntemlerinden biridir. Entomolojik analizlerin adli olaylarda etkili bir şekilde uygulanması tür teşhisinin doğru yapılmasına bağlıdır. Bu tezin amacı Türkiye’de adli önemi olan Diptera takımına ait 12 türün mtDNA sitokrom c oksidaz alt ünite I gen bölgesi hedeflenerek genetik teşhisleri ile morfolojik özellikler kullanılarak yapılan tanımlamaları kesinleştirmektir. Yapılan bu çalışmanın adli entomoloji çalışmalarının en zor kısmı olan tür teşhisinin doğru yapılmasına katkıda bulunacağı düşünülmektedir. GenBank ve BOLD veri tabanlarına katkıda bulunulacağı umulmaktadır.

Tez çalışmamda planlanmasında ve yürütülmesinde ilgi ve desteğini esirgemeyen, engin bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, yönlendirme ve bilgilendirmeleriyle çalışmamı bilimsel temeller ışığında şekillendiren tez danışmanım Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Adli Tıp Anabilim Dalı öğretim üyesi Sayın Prof. Dr. N. Lale ŞATIROĞLU TUFAN' a,

Bu çalışmanın gerçekleştirilmesinde, üç yıl boyunca değerli bilgilerini benimle paylaşan, kullandığı her kelimenin hayatıma kattığı önemini asla unutmayacağım ikinci danışmanım Sayın Doç. Dr. Halide Nihal AÇIKGÖZ' e,

Ankara Üniversitesi Adli Bilimler Enstitüsü’nün bütün imkânlarından faydalanmamı sağlayan ve kıymetli zamanını ayırarak bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan Enstitü Müdürü Sayın Prof. Dr. H. Sinan SÜZEN' e

Türkiye’nin ilk ceset çiftliğinin kurulmasına önayak olan; bu çalışmada kullanılan örneklerin elde edildiği projenin hayata geçmesini sağlayan Başkent Üniversitesi’nin Kurucusu ve Yönetim Üst Kurulu Başkanı Sayın Prof. Dr. Mehmet HABERAL' a

Çalışmalarımızı Başkent Üniversitesi Birben Tepesi Ceset Çiftliği’nin kuruluşundan itibaren destekleyen Başkent Üniversitesi Rektörü Sayın Prof. Dr. Ali Haberal ve Genel Sekreter Sayın Giray ŞAHİN' e

Başkent Üniversitesi Birben Tepesi Ceset Çiftliği ve yürütücülüğünü üstlendiği proje imkanlarından yararlanmamı sağlayan; tezimin geliştirilmesinde kıymetli bilgi, birikim ve tecrübeleri ile bana yol gösterici ve destek olan Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Adli Tıp Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Erhan BÜKEN' e

Projenin yürütülmesi sırasında bizlere lojistik destek sağlayan Başkent Üniversitesi Güvenlik Amirliği ekibine ve Teknik Destek personeli' ne

Laboratuvar çalışmalarımda her türlü malzeme desteği için Sayın Doç. Dr. Mehmet GÜMÜŞTAŞ ve Arş. Gör. Kenan Can TOK' a

Her soruma cevap bulduğum Enstitü Müdür Yardımcımız Sayın Doç. Dr. Dilek KAYA AKYÜZLÜ' ye

Laboratuvar çalışmalarımda bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan Adli Biyoloji Bilim Uzmanı Ayşe KARAKUŞ ve Entomoloji Bilim Uzmanı Merve KÜÇÜKYETİM' e,

Tezimin yazım döneminde yanımda olan ve beni sıkılmadan dinleyen arkadaşlarım Serhat GENCER ve Mustafa Osman TEKİN' e

Çalışmalarım boyunca maddi manevi destekleriyle beni hiçbir zaman yalnız bırakmayan annem Yurdağül CEYLAN, babam Mustafa CEYLAN ve kardeşim Sema CEYLAN' a sonsuz teşekkürler ederim.

SİMGELER VE KISALTMALAR

BDG	Birikmiş Derece Gün
BDS	Birikmiş Derece Saat
BLAST	Basic Local Alignment Search Tool
BOLD	Barcode of Life Data System
COI	Sitokrom c oksidaz alt birimi I
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
EDTA	Etien Diamin Tetra Asetik Asit
g	Gram
ml	Mililitre
mtDNA	Mitokondrial DNA
NaCl	Sodyum Klorür
NCBI	National Center for Biotechnology Information
PMI	Post Mortem Interval
PZR	Polimeraz Zincir Reaksiyon (PCR: polymerase chain reaction)
RNA	Ribo Nükleik Asit
rpm	Dakikada Devir Sayısı (Revolutions Per Minute)
SDS	Sodyum dodesil sülfat
tRNA	Transfer RNA
µl	Mikrolitre

ŞEKİLLER

Şekil 1.1. Domuz cesedine bırakılan yumurtalar ve bu yumurtalardan çıkan larvalar.	2
Şekil 1.2. Sung Tzu (1186-1249) ve Sung Tzu'nun kitabı	3
Şekil 1.3. "Ölümün Dansı" (<i>Der Totentanz</i>) (1460), Robert Touse'un mezarı ve Memento Mori (ölümün sembolü) olarak vasıflandırılan fildişinden yapılma "Küçük Ölü" (Tödlein) isimli 1520 yılında yapılmış, 36 cm boyunda heykelcik. Larvaların etkisi ile ilerlemiş dekompozisyonu betimliyor. Baş tamamen iskeletleşmiş görünümde ve ceset larvalarla kaplı, göğüs kafesinin içinde bir sinek görülüyor. Almanya'da Köln'de Schnutgen Müzesinde sergileniyor) (Benecke, 2001).	4
Şekil 1.4. Bir sineğin yaşam döngüsü (Whitaker ve Hall, 2008).	7
Şekil 1.6. Bir sineğin morfolojik yapısı (Contributors, 2007)	8
Şekil 1.7. Sineğin morfolojik teşhisinde kullanılan bazı bölgeleri	8
Şekil 1.8. Mitokondrinin yapısı (Ma ve Huang, 2018)	14
Şekil 1.9. <i>Hydrotaea spinigera</i> mitokondrial DNA gen haritası (Lodish ve ark., 2008)	15
Şekil 2.1. Çalışmada kullanılan örneklerin toplandığı domuz cesedi	20
Şekil 2.2. Domuz cesetlerinin yerleştirildiği kafesler.	20
Şekil 2.3. Morfolojik teşhiste kullanılan Leica S8APO trinocular stereozoom araştırma mikroskobu ve steril laboratuvar ekipmanları	22
Şekil 2.4. Elde edilen ham dizilerden bir örnek.	26
Şekil 2.5. Forward ve reverse dizilerin Clustal W ile hizalanmış görüntüsü.	26
Şekil 3.1. Sitokrom c oksidaz I (COI) bölgesinin türler arası ve tür içi nükleotit farklılıklarının yüzdesel değerleri.	33
Şekil 3.2. DNA dizilerinin hizalanarak birbirleri ile olan nükleotit farklılıklarını ve benzerliklerini gösteren şema	34
Şekil 3.3. Neighbor-Joining Tree metodu kullanılarak K2P modeliyle 1000 bootstrap ile çizilmiş filogenetik ağaç.	35

ÇİZELGELER

Çizelge 2.1. PZR amplifikasyonlarında kullanılan primerler (Folmer ve ark., 1994)	23
Çizelge 2.2. PZR Reaksiyonunda kullanılan malzemeler ve hacimleri	24
Çizelge 2.3. PZR ın gerçekleştirildiği koşullar.	24
Çizelge 3.1. Morfolojik teşhis sonuçları	28
Çizelge 3.2. İzolasyon sonrası DNA miktar ve saflık ölçüm sonuçları	29
Çizelge 3.3. Morfolojik ve COI tür teşhisi karşılaştırması.	30
Çizelge 3.4. DNA dizilerinin GenBank ve BOLD veri tabanlarında çıkan benzerlik sonuçlarının karşılaştırılması	31
Çizelge 3.5. Tür içi ve türler arası maksimum genetik uzaklıklar	32

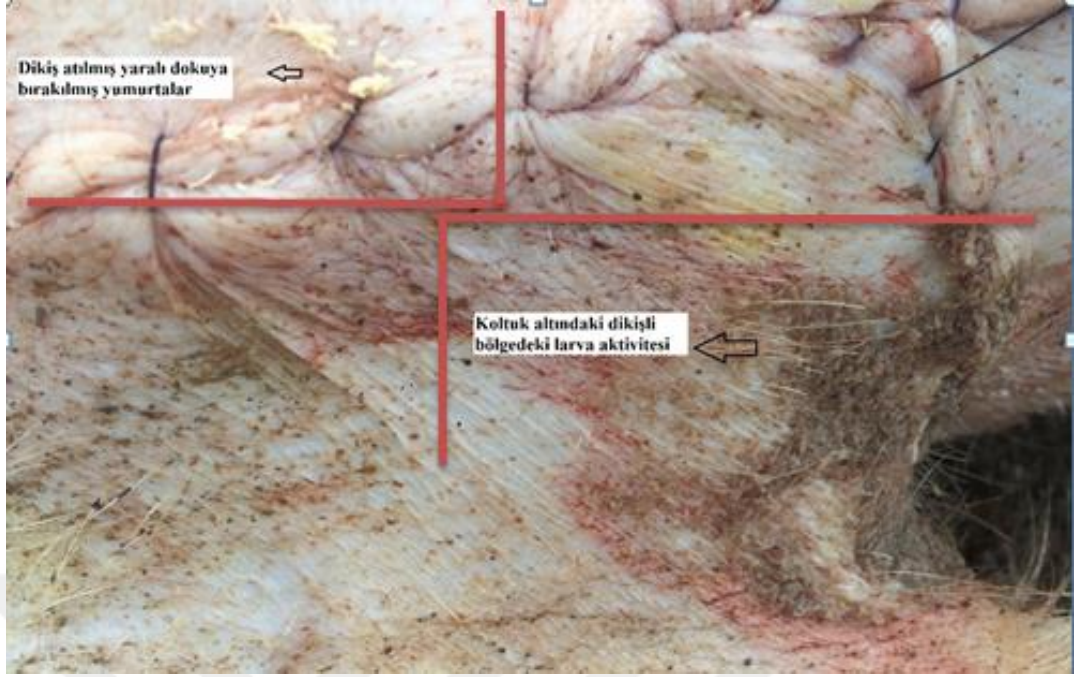


1.GİRİŞ

1.1. Adli Entomoloji

Adli entomoloji, adli soruşturmalarda eklem bacaklıların incelenerek suçun açığa çıkarılmasını sağlayan disiplinler arası bir bilim dalıdır (Amendt ve ark., 2004; Benecke, 2005). Adli entomolojinin cevap aradığı sorular, ölümün ne zaman, nerede ve nasıl gerçekleştiğidir. Soruların cevabı, ceset üzerindeki larvalar ve ergin böceklerdedir. Böcekler, yumurtalarını insan ceset ve hayvan leşlerinde kulak yolu, ağız ve dudakların iç kısmı, göz çukuru, burun içi, yanak, vajina, anüs, parmak arası, avuç içi, kadınlarda meme altı, erkeklerde penis ve testislerin altı, giysilerin kıvrımları, cesedin altı gibi korunaklı ve nemli bölgelere bırakırlar (Erzinçlioğlu, 1996; Greenberg ve Kunich, 2002; Charabidze ve ark., 2015) (Şekil1.1). Böceklerin yumuşak ve nemli bölgeleri seçmesinin en büyük nedeni, birinci dönem larvaların ağız parçalarının deri ve kas gibi dokular için çok güçsüz olmasıdır. Özellikle göz içi, burun içi, ağız içi mukozasının yumuşak ve nemli yapısı beslenme, korunma ve üreme alanı olarak böcekler için en elverişli bölgelerdir (Charabidze ve ark., 2015). Cesedin kokusunu alıp gelen nekrofaj (ölü yiyen) böcekler, kısa bir süre içinde cesedin dağılmasında rol oynarlar. Ayırıştırıcılar olarak bilinen bu grup ekosistemin çöpçüsü olarak görev yapar.

Adli entomolojiden sadece ölüm olgularında değil, başka çok çeşitli amaçlarla da yararlanılabilir. Örneğin, çocuk ve yaşlı ihmal ve istismarının ortaya çıkarılmasında da kullanılabilir. Kendi bakımlarını sağlayamayan çocuk ve yaşlılarda vücudun kirli bölgelerinde ya da kaza veya şiddet uygulaması suretiyle oluşan açık yaralara larvalarını bırakan sineklerin oluşturduğu bu duruma miyazis denir. Miyazis adli araştırmacılara kişinin ne kadar süre ile ihmal ve istismara maruz kaldığı hakkında bilgi verebilir.

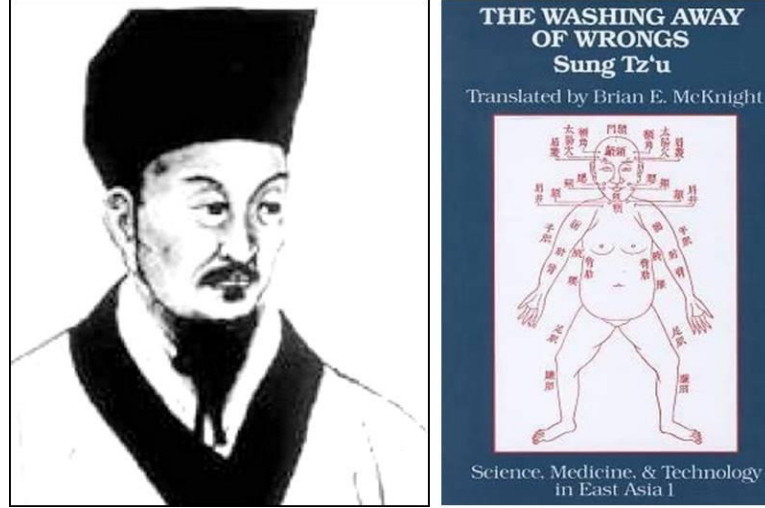


Şekil 1.1. Domuz cesedine bırakılan yumurtalar ve bu yumurtalardan çıkan larvalar.

1.1.1. Adli Entomolojinin Tarihçesi

İnsanlar var oldukları andan itibaren böceklerle çevrelerini paylaşmışlar ve onların ayrıştırıcı görevinden haberdardır. Sekizinci yüzyılın sonlarında ya da yedinci yüzyılın başlarında yazıldığı tahmin edilen Homer'ın Ilyada destanında (The Iliad) Achilles karakteri, sineklerin "kurtçuklar üreteceğinden" ve arkadaşı Patroclus'un bedeninin yaralarının içine yerleşip buralardan besleneceğinden ve ölü bedeni deforme edip çürüteceklerinden, dolayısı ile bedenin kirleneceğinden duyduğu endişeyi annesi ile paylaşır (Homer, 600 BC).

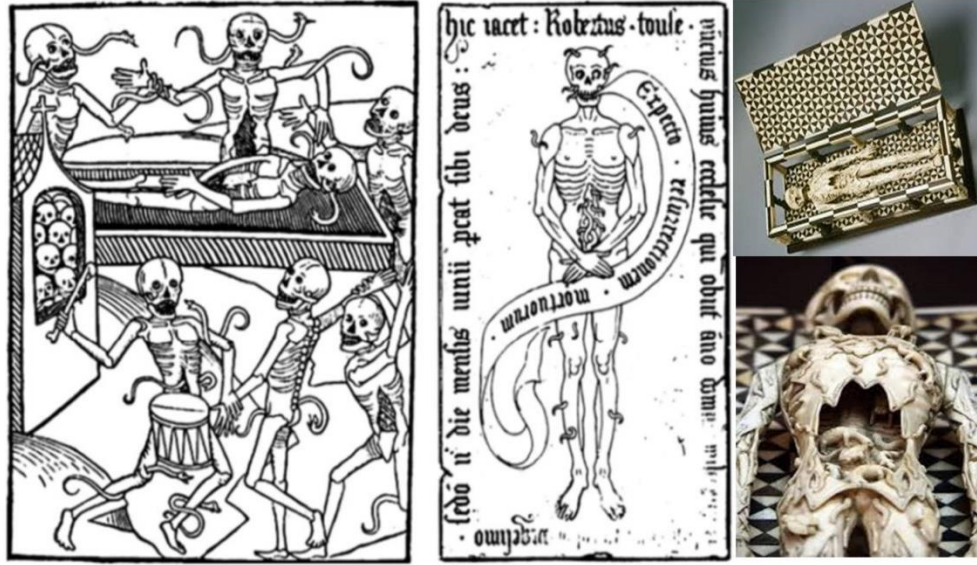
Milattan sonra 1235 yılında Çin'de yaşayan yargı görevlisi Song Ci olarak da anılan Sung Tzu bir pirinç tarlasının yakınlarında gerçekleşen ölüm olayının ardından köydeki herkesin oraklarını getirmelerini istemiştir. Orakları gün ışığı altına yerleştiren Sung Tzu bir süre bekledikten sonra bir orağa çok sayıda Calliphoridae familyasından sineklerin geldiğini gözlemleyerek cinayetin bu orakla gerçekleştiği sonucuna varmıştır (Tz'u, 1981; Benecke, 2001; Gennard, 2007; Frederickx ve ark., 2011).). (Şekil 1.2).



Şekil 1.2. Sung Tzu (1186-1249) ve Sung Tzu'nun kitabı

MS 1247'de Sung Tzu, adli tıp hekimleri için vakalardan aldığı notlardan oluşan bir el kitabı yazmıştır. Kitap, *The Washing Away of Wrongs: Forensic Medicine in Thirteenth-Century China (Science, Medicine, and Technology in East Asia)* adıyla 1981 yılında Brian McKnight tarafından İngilizceye çevrilmiştir (Madea, 2017). Adli alanda çalışan diğer araştırmacılara bir el kitabı sunmayı amaçlayan yazar bu kitap ile bir kişinin nasıl öldüğünü, ölüme sebep olan olası nedenleri ve bunları belirleme sürecini, bir olay yerini en detaylı şekilde inceleme yöntemlerini, cesedin gömülmeden önce ve gömüldükten sonra nasıl incelenmesi gerektiğini de detaylarıyla anlatmıştır.

Orta çağda, tıp ve hukuk uzmanlarının yanı sıra heykeltıraşlar, ressamlar ve şairler, insan vücudunun çürümesini yakından gözlemleyerek larvaların ve cesetlerin çizimlerini yapmışlardır. Buna en iyi örnek Şekil 1.3'te görülmektedir (Benecke, 2001).



Şekil 1.3. “Ölümün Dansı” (*Der Totentanz*) (1460), Robert Touse’un mezarı ve Memento Mori (ölümün sembolü) olarak vasıflandırılan fildişinden yapılmış “Küçük Ölü” (Tödlein) isimli 1520 yılında yapılmış, 36 cm boyunda heykelcik. Larvaların etkisi ile ilerlemiş dekompozisyonu betimliyor. Baş tamamen iskeletleşmiş görünümde ve ceset larvalarla kaplı, göğüs kafesinin içinde bir sinek görülüyor. Almanya’da Köln’de Schnutgen Müzesinde sergileniyor) (Benecke, 2001).

1855 yılında Fransız hekim Bergeret d'Arbois'nın ölümden sonra geçen süreyi tahmin etmek için cesede gelen sinek ve güveleri kullanarak yazdığı rapor, mahkemede kullanılan ilk modern adli entomoloji vaka raporu olarak bilinmektedir (Frederickx ve ark., 2011). Konuya olan ilgi artınca Bergeret'in yaptığı bu çalışma ölüm sonrası aralığın belirlenmesi (PMI: Post Mortem Intervalin) olarak adlandırılmıştır. Bergeret, böcek süksesyonunu (cesede ardışık gelmeyi) açıklayarak farklı böcek türlerinin ve farklı eklem bacaklıların, farklı çürüme dönemlerinde ölü bedenleri istila etme eğiliminde olduğunu göstermiştir (Benecke, 2001).

Yovanovitch 1888 tarihli Paris Tıp Fakültesinde hazırlayıp sunduğu doktora tezinde; Fransa’da adli tıbbın köklü bir değişime gereksinim duyduğunu, Bruhier, Josa, Deschamps, Casper, Zachias, Louis, Taylor, Chaussier, Orfila gibi büyük adli tıp hekimlerinin ölüm zamanını belirlemek kadar zor ve sıklıkla belirsizlik içeren konularda böceklerin ne kadar önemli bir rol oynayabileceğini fark etmediklerini belirtmiş ve Mégnin’in çalışmalarından övgüyle söz etmiştir. Hem Yovanovitch tezinde hem Mégnin yayınladığı “La Faune des Cadavres” (Cesetlerin Faunası) isimli kitabında ceset üzerindeki böcek faunasını, cesede gelen böceklerin

süksesyonunun ve fauna ile süksesyon çalışmalarının ölüm zamanının belirlenmesindeki önemini vurgulamışlardır (Yovanovitch, 1888; Mégnin, 1894).

Adli entomoloji alanındaki çalışmaların ilerlemesinde 20. Yüzyılın ortalarında bilim dünyasına kazandırılan iki yayının etkisi çok büyük olmuştur. David G. Hall 1948 de yayınladığı “The Blowflies of North America” çalışmasında Calliphora türlerinin üçüncü evre larvalarının ve erişkinlerinin ayrıntılı tanımlarını yapmıştır. Daha sonra 1986 yılında adli entomoloji alanında ilk ders kitabı olarak kabul edilen “A Manuel of Forensic Entomology” isimli çalışma Kenneth G.V. Smith tarafından yayınlanmıştır (Smith, 1986; Hall ve Huntington, 2001).

20. yüzyılın başından bu yana, böceklerin özellikleri hakkındaki bilgilerin artmasıyla birlikte adli entomoloji birçok ülkede suçun aydınlatılmasında önemli bir araç olarak kabul edilmiştir. Yirmi birinci yüzyılın başlarında birçok yazarın katılımıyla yayımlanan en önemli kitap Jason Byrd ve James Castner editörlüğünde “Forensic Entomology: The Utility of Arthropods in Legal Investigations” adlı kitaptır (Byrd ve Castner, 2001).

Türkiye de Adli Entomoloji alanında yayımlanan ilk makale 1994 yılında Savran ve arkadaşları tarafından kaleme alınmıştır (Savran ve ark., 1994). Türkiye de adli entomoloji hakkında genel bilgi içeren yayınların (Kansu, 2000; Hanci ve ark., 2001; Açıkgöz ve ark., 2002; Hanci, 2002; Tüzün ve Açıkgöz, 2002; Hanci, 2003; Açıkgöz, 2010; Açıkgöz ve ark., 2012; Tüzün ve ark., 2015) yanı sıra entomolojik delillerden yararlanarak ölüm zamanının tahmini (Açıkgöz ve Açıkgöz, 2007; Tüzün ve Yüksel, 2007; Açıkgöz, 2008; Kökdener, 2016; Açıkgöz ve Açıkgöz, 2018), Türkiye’de ilk kez çalışılan cesedin mikrobiyomu ile ölüm zamanı tahmini konusunda (Hortaç ve ark., 2019), ölenin yerinin değiştirilip değiştirilmediğinin tespiti (Açıkgöz ve Açıkgöz, 2008), ölüme neden olan toksik maddenin larvalar yardımıyla tanımlanması işlemleri (Aktay ve ark., 2003; Fedakar, 2003; Battal ve ark., 2004; Bağriaçık, 2007; Altunsoy ve Başaran, 2011; Dağlioğlu ve ark., 2013; Özer ve ark., 2015; Açıkgöz, 2018) ve adli böcek faunasına ilişkin çalışmalar (Bayrakal ve Açıkgöz, 2004; Karapazarlıoğlu, 2004; Akdemir, 2005; Karatepe ve

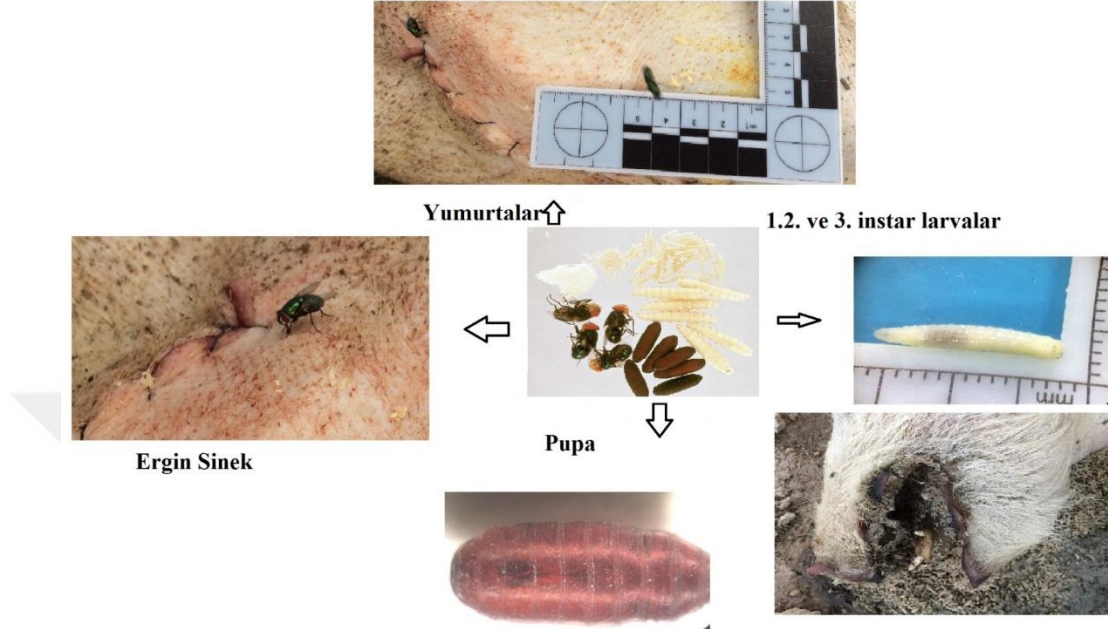
ark., 2005; Yüksel ve ark., 2007b; Yüksel ve ark., 2007a; Aksoy, 2009; Özdemir ve Sert, 2009; Sabanoğlu ve Sert, 2010; Fazlıoğlu ve ark., 2014; Açıkgöz ve ark., 2016; Kekillioğlu ve Başar, 2019) ile adli böcek DNA'sına yönelik derleme (Özdemir ve İnak, 2018) ve deneysel çalışmalar yapılmıştır. "mtDNA COI gen analizi ile adli önemi olan *Calliphora vicina*'nın Türkiye'de yapılan ilk tür teşhisi" başlıklı proje, Açıkgöz ve arkadaşları tarafından 2016-2018 yılları arasında Ankara Üniversitesi'nde yapılmıştır. Uğur (2019) yılında yüksek lisans tezinde Calliphoridae familyasından yedi türü mtDNA COIII-COIV genini kullanarak tanımlamıştır.

Entomolojik değerlendirmelerin yapılabilmesi için incelenen canlının yaşam döngüsünün iyi anlaşılması gerekmektedir. Her türün yaşam döngüsü farklıdır. Yaşam döngüsünün süresine etki eden sıcaklık, nem, rüzgar gibi faktörler yaşam döngüsünde farklılık görülmesine neden olur. Tezimizde Diptera takımına ait adli önemi olan türler değerlendirildiği için bu kısımda sineklerin yaşam döngüsüne değinilmiştir.

1.1.2. Bir Sineğin Yaşam Döngüsü

Bir dişi şişe sineği (blow fly) hayatında sadece bir kez çiftleşir, ancak yaşamı boyunca birkaç yumurta öbeğini yumurta gelişimi tamamlandıktan sonra uygun besi yerlerine bırakır (Şekil 1.4). Dişi rahatsız edilmez ise tek seferde 300 yumurta bırakabilir (Davies, 2006). Bu aşamada embriyonik dönem bitmiş olur. Sıcaklığa ve türe bağlı olarak yumurtalar 12-24 saat aralığında açılarak larva halini alırlar. Larvalar her evrede deri değiştirerek büyürler ve üçüncü evreye (L₃) ulaştıktan sonra besin ortamından uzaklaşırlar ve bu evreye göçmen evre denir. Beslenmeyi bıraktıkları bu dönem beslenme sonrası (post feeding) dönem olarak adlandırılır. Kendine korunaklı bir yer bulan larvanın dış derisi aşama aşama önce açık, sonra orta ve en son koyu kahverengi renge dönen kutikula ile kaplanarak pupa olur. Pupa içerisindeki larva metamorfoz geçirerek yetişkin sinek haline dönüşür (Martín-Vega ve ark., 2017; Hall ve Martín-Vega, 2019). Ortam sıcaklığı arttıkça larvanın erişkine

dönüşme süreci kısalmır. İlaçlar ve diğer toksinlerin böcek büyüme oranları üzerinde hem olumlu hem de olumsuz etkileri olabilir (Goff ve Lord, 1994).

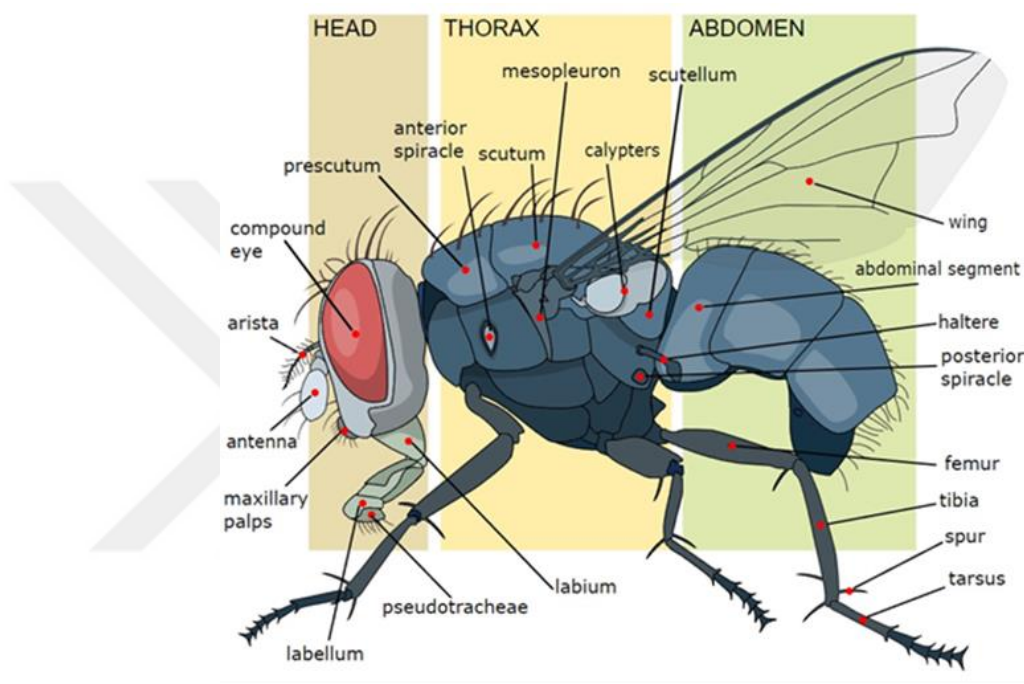


Şekil 1. 4. Bir sineğin yaşam döngüsü (Whitaker ve Hall, 2008).

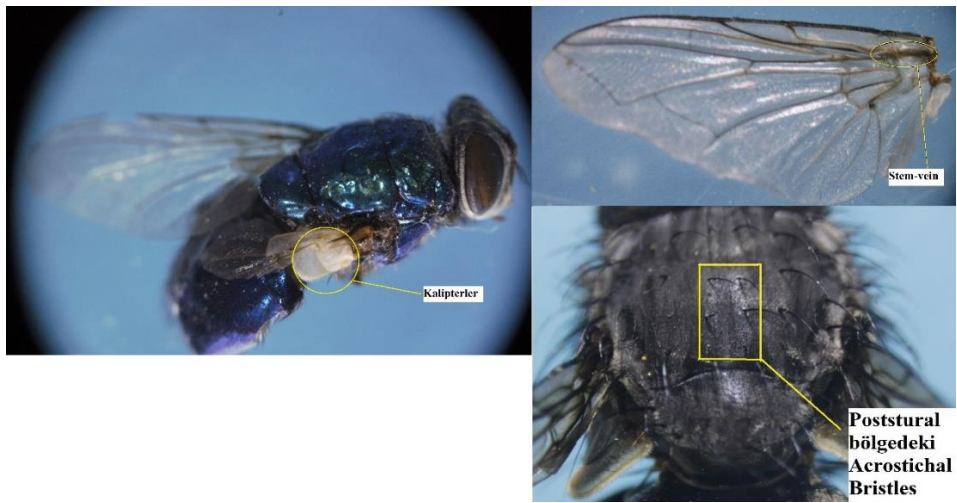
1.1.3. Adli Entomolojide Tür Teşhisinin Önemi

Şüpheli ölüm vakalarında suçun aydınlatılmasında atılması gereken en önemli adım ölümden sonra geçen zamanın (ÖZ: Ölüm zamanı PMI: Post Mortem Interval) bulunmasıdır (Benecke, 2005). Adli entomolojinin adli olaylarda etkili bir şekilde uygulanması tür teşhisinin doğru yapılmasına bağlıdır. Geleneksel teşhis yöntemi böceğin morfolojik karakteristik özelliklerinin kullanılması ile yapılır (Şekil 1.5). Türkiye’de de diğer birçok ülkedeki gibi yaygın olarak morfolojik-morfometrik teşhis yöntemlerinin kullanılmakta olduğu, yapılan literatür taramaları ile belirlenmiştir (Özdağ ve Değer, 2005; Kiliç ve ark., 2011; İlhan ve ark., 2018). Morfolojik tayin kriterleri ile teşhisin en büyük zorluğu, sineğin fiziksel hasar gördüğü durumlarda türünü yanlış teşhis etmek ya da hiç edememektir. Tamamen bozulmamış bir örnekle bile, morfolojik anahtar ile teşhis yapmak karmaşık ve zordur. Böceğin teşhisinde kriter olarak kullanılan vücut rengi, kanadın başlangıç bağlantısı dediğimiz basikostanın rengi, kanat damarlarının belli bölgelerinin kılla

kaplı olup olmaması, kanat kenarlarındaki kırıkların sayısı, kanat damarlarının kıvrımlarının yönü, kalipterlerin rengi ve kıl yapısı, baş kıllarının sayısı, şekli, yüz kıllarının, toraks, meron, skutellum, abdomen üzerindeki kılların sayısı, ince, kalın, kısa, uzun olması, cinsiyet organlarının şekli gibi yapılar (yetişkin Sarcophagidae erkeğinde) önem taşır (Şekil 1.6). Bu süreç zaman alıcıdır ve uzman olmayan kişiler için yorumlanması zordur. Her zaman başarılı olunamayabilir.



Şekil 1.5. Bir sineğin morfolojik yapısı (Contributors, 2007)



Şekil 1.6. Sineğin morfolojik teşhisinde kullanılan bazı bölgeleri

Morfolojik teşhis yönteminin bazı sınırlamaları vardır.

1. Örneklerin ceset ya da leşler üzerinden toplanması sırasında ya da predatörlerin aktiviteleri sırasında örneklerin vücut kısımlarının zarar görmesi başlıca sorundur.

2. Birbirine yakın türlerin morfolojik benzerliklerinin fazla olması da doğaldır. Aynı familyaya ait türlerin her biri aynı renk ve boyda olmamakla birlikte bazı türlerin erginlerini bile morfolojik olarak teşhis etmek zor iken larvaların teşhisi çok daha karmaşık bir hal almaktadır.

3. Her türe ait morfolojik tür teşhis anahtarının bulunmaması araştıracının incelediği tür için anahtar oluşturmasını gerektirir ki bir anahtarın oluşturulması için yapılacak çalışmalar yıllar almaktadır.

4. Araştırmacılar bazı böceklerin tür teşhisinin ergin bireyden daha rahat yapıldığını düşündükleri için larvaları ergin olana kadar yetiştirip morfolojik teşhisi tamamlamayı hedefler. Ancak her zaman yetiştirme yöntemi ve koşulları doğru olarak sağlanamayabilir böcekler ölür ve hiç teşhis yapılamayabilir.

5. Sarcophagidae türleri gibi bazı türler erkek bireyler kullanılarak teşhis edilir. Ancak cesetten toplanan türlerin büyük bir çoğunluğu dişi bireylerden oluşmaktadır.

Ölüm sonrası aralığı belirlemek için öncelikle ceset üzerindeki türleri doğru tanımlamak gerekir. Yanlış yapılan tür teşhisi ölüm zamanının da yanlış hesaplanmasına neden olacağından suçsuz bir kişinin suçlanmasına ya da suçlunun serbest kalmasına sebep olacak vahim hatalara neden olacaktır. Harvey ve ark. (2003) bu sorunları aşabilmek için en iyi yöntemin DNA temelli teşhis yöntemleri olduğunu bildirmişlerdir (Gilarriortua ve ark., 2014; Salem ve ark., 2015; Shayya ve ark., 2018).

1.1.4. Adli Entomolojide Ölüm Zamanının Tahmini

Ölüm sonrasında ceset üzerindeki değişiklikleri kullanarak ölüm zamanını belirlemek genellikle zordur. Geçen süre kısaysa geleneksel adli tıp yöntemleri ile ölüm zamanı doğru bir şekilde hesaplanır (Vanezis ve ark., 1996). Ancak ölüm

üzerinden geçen süre uzadıkça geleneksel adli tıbbi inceleme yöntemleri beklenen doğruluğa ulaşamayabilir. Bu durumda adli entomolojik incelemelerin kullanılması ölüm zamanının belirlenmesinde çok daha elverişli bir yöntemdir (Catts, 1990). Adli entomologlar, ekolojik faktörlere bağlı olarak böceğin yaşam döngüsünü cesedin bulunduğu andan geriye giderek inceleyip ölümden sonra cesedin bulunmasına kadar geçen aralığı (PMI) hesaplarlar.

PMI tayini için ceset üzerinden toplanan larvanın morfolojik özellikleri incelenerek hangi evrede olduğu belirlenir. Tür teşhisi yapılır, ardından toplandığı ortamın sıcaklık ve ortam koşulları yaratılarak laboratuvarında iklim dolabı ya da uygun sıcaklık aralıklarına sahip etüvlerde cesetten toplandığı evreye gelene kadar yetiştirilir. Böylece larvanın olay yerinden toplandığı andan yetiştirilerek aynı evreye gelene kadar geçen süre yani minimum ölüm zamanı elde edilir.

Buna ek olarak kullanılan başka yöntemler de vardır. Bu yöntemler aşağıda özetlenmiştir.

1.1.4.1. İsomorfen ve İsomegalen Grafiği

İsomorfen ve İsomegalen Grafiğinin çizdirilmesi ölüm zamanını en hızlı ve doğru tespit etmemizi sağlayan yöntemlerdir. Ceset üzerinden toplanan larva ve ergin sinekler öldürüldükten sonra mikroskop altında morfolojik tür teşhisi yapılır. Örneklerin gelişim evresi daha önce farklı sıcaklık değerlerinde yapılmış yayımlanmış bilimsel çalışmalar sonucu ortaya çıkan gelişim grafikleri ile karşılaştırılarak değerlendirilir. Oluşturulan grafik, sıcaklığın böceğin gelişim evrelerinin süresi üzerindeki etkisini ortaya koyar. Ceset üzerinde pupaya girmeye hazır larva ve pupa var ise kullanılan bir yöntemdir. Bu yöntemde olay yerlerinde ortam sıcaklığının değişkenlik gösterdiği durumlar hatalara neden olabilmektedir. En verimli kullanıldığı yerler sıcaklığın sabit olduğu kapalı alanlardır.

1.1.4.2. Birikmiş Derece Gün (BDG) ve Birikmiş Derece Saat (BDS) Yöntemleri

Larvanın ceset üzerinde geçirdiği sürenin yani yaşının tespit edilmesinde uygulanan yöntemdir. Olgunlaşma aşamasındaki larvanın gelişim hızı ortam sıcaklığına bağlıdır. Örneklerin yaşı, büyüme sırasında topladıkları toplam ısı ile pozitif korelasyon gösterir. Larvanın gelişimi boyunca ihtiyacı olan enerjiyi hesaplamada gün veya saat bazında yapılan hesaplamalar ile gelişim dönemleri elde edilir. İncelenen örneğin yaşam periyodu kısaysa Birikmiş Derece-Saat (BDS), uzun ise Birikmiş Derece-Gün (BDG) olarak hesaplanır. BDG ve BDS hesaplanırken iki ayrı formül kullanılır.

$$\text{Birincisi: Birikmiş Derece-Gün (BDG)} = (T_{SS} - T_{AGS}) \times t_G$$

$$\text{İkincisi: Birikmiş Derece-Saat (BDS)} = (T_{SS} - T_{AGS}) \times t_S$$

$$T_{SS} = \text{Sabit sıcaklık}$$

$$T_{AGS} = \text{türe özgü alt gelişim sıcaklığını}$$

$$t_G = \text{gün olarak gelişme süresi}$$

$$t_S = \text{saat olarak gelişme süresi}$$

Olay yerinin sıcaklığı ile meteorolojiden alınan saatlik sıcaklık değerleri arasındaki farkı bulmak için aşağıdaki formül uygulanır.

$$\Delta S = (T_{OS} - T_{AGS})$$

$$\Delta S_n = \text{Saatlik derece-saat değeri}$$

Hesaplanan saatlik derece-saat değeri laboratuvar ortamında sabit sıcaklıkta bulunan BDS değerine ulaşana kadar aşağıdaki formül ile hesaplanır.

$$BDS = \sum_{1}^n \Delta S_n$$

Hesaplanan BDS değeri ile $PMI=BDS+YAS$ formülü kullanılarak PMI bulunur.

$YAS=Yumurta\ açılma\ süresi$

YAS eklendiğinde maksimum ölüm zamanı bulunmuş olur. Bu hesaplamanın sonucu bize tam dakikası dakikasına ölüm zamanını verir. Adli entomoloji ile ölüm zamanının tahmini güçlü bir yöntemdir. Ancak rapor yazılırken ölüm zamanı mutlaka bir saat aralığı ile belirtilmelidir. Çünkü böceklerin soğukkanlı yani ortam şartlarına göre vücut ısılarını, metabolik ve fizyolojik aktivitelerini ayarlayan canlılar olduğu ve mikroklimatik faktörlerden çok etkilendikleri unutulmamalıdır (George ve ark., 2013; Martín-Vega ve ark., 2017).

1.1.5. Adli Entomolojik İncelemelerde Sık Karşılaşılan Sorunlar

En sık rastlanılan sorunlardan biri, olay yerinden laboratuvara örnek gelmemesidir. Bunun en büyük nedeni kolluk kuvvetlerinin olay yeri inceleme birim elemanlarının, entomolojik örnek içeren cesetteki böcek, larva ve kalıntıların nasıl toplanması gerektiği konusunda yetersiz bilgiye sahip olmasıdır. Olay yerine ya da otopsiye giden hâkim, savcı ve ölü muayenesini yapan adli tıp hekimlerinin konuya henüz hakim olmamaları, entomolojik örneklerin incelenmesinin vakanın çözümüne olası katkısını yorumlayamamaları da söz konusu olabilir (Açıkgöz 2016). Ayrıca, gönderilen örneklerin laboratuvara canlı olarak gelmesi gerekirken ölü ve zarar görmüş olarak gelmesi morfolojik teşhisi imkânsız kılmaktadır. Morfolojik teşhis mümkün olmayan bu örneklerde DNA analizi oldukça işlevseldir. Örneklerin sadece bacakları kullanılarak bile mtDNA COI geninin dizilenmesi ile teşhis edilebilir.

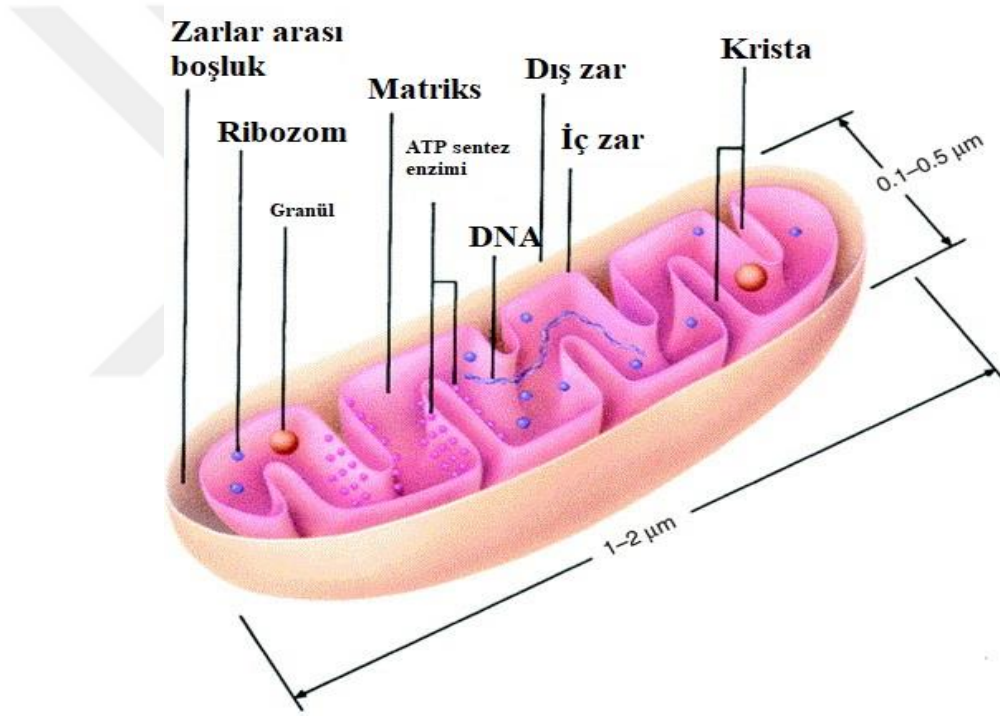
1.2.DNA Bazlı Böcek Teşhis Yöntemleri

Cesetten yayılan kokuları alan Diptera (çift kanatlılar, sinekler) takımına ait çeşitli türler cesede ulaşırlar. Ceset üzerindeki entomolojik örnekler olay yeri inceleme timi tarafından toplanır ve adli entomoloji laboratuvarına gönderilir. Laboratuvarında öncelikle örneklerin morfolojik teşhisi yapılır. Böcek teşhisinde, morfolojik teşhis anahtarları ile ergin sinekte renk, boyut, vücut kıllarının yeri, şekli ve sayısı, kanat yapısı, anten yapısı incelenir (Akbarzadeh ve ark., 2015). Teşhis kriterleri kişinin yorumuna açıktır. Halen yaygın olarak morfolojik teşhis yöntemi kullanılsa da günümüzde güvenilirliği morfolojik tanımlamadan çok daha fazla olduğu bilinen DNA analizi ile teşhis yöntemi geliştirilmiştir. Böcek DNA'sı coğrafi veya iklimsel olarak tür içerisinde değişmeyen, sabit bir özelliktir (Chen ve ark., 2004). İnceleyen kişinin yorumuna göre değişebilecek olan morfolojik özelliklere göre DNA analiz sonuçları; çok daha güvenilirdir (Boehme ve ark., 2010). Çoğunlukla DNA analizinde böceğin mitokondrial DNA'sının (mtDNA) sitokrom c oksidaz alt birimi I (COI), sitokrom c oksidaz alt birimi II (COII) gen bölgeleri çalışılmıştır. mtDNA'nın yanı sıra ribozomal DNA, intronlar ve nükleer proteinleri kodlayan gen bölgeleri de DNA incelemesi sırasında çalışılabilmektedir. Böcekten yapılan DNA analizinin kullanım alanları filogenetik çalışmalar, zoocoğrafik çalışmalar, biyo-çeşitliliğin belirlenmesi ve adli entomoloji çalışmaları olarak sıralanabilir.

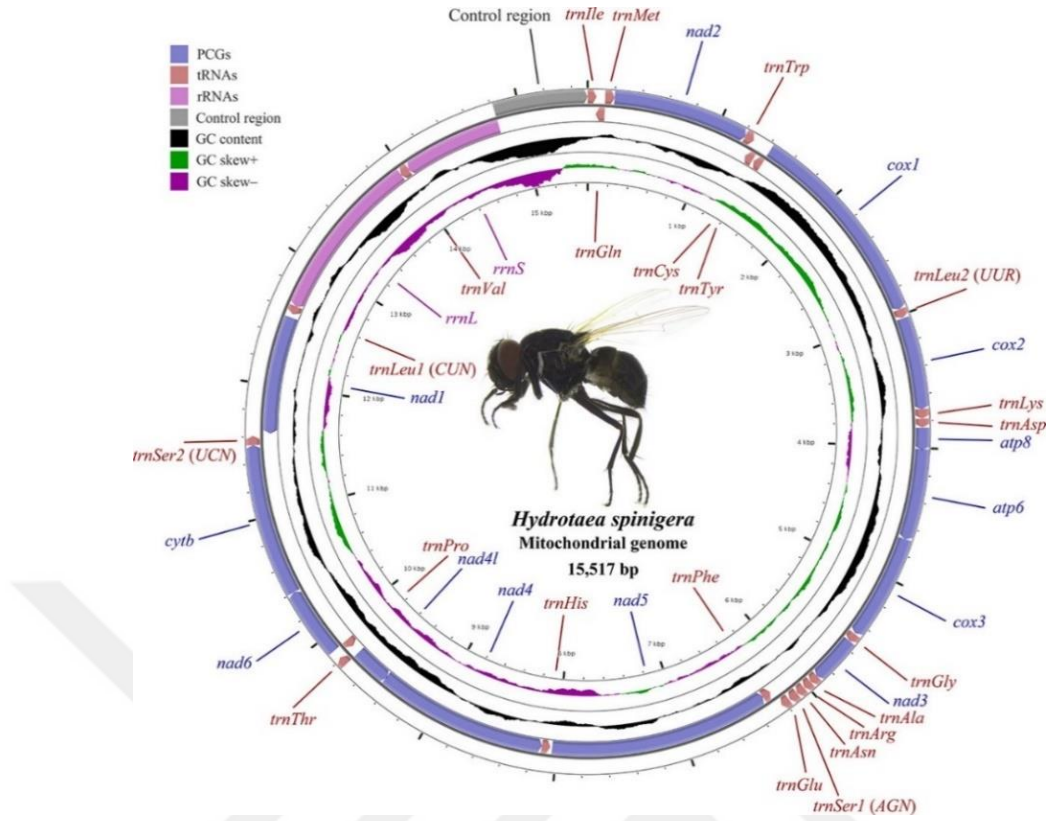
1.2.1.Mitokondrial DNA

Mitokondri organik besin maddeleri ve oksijeni enerjiye dönüştüren organelidir. Mitokondride en fazla üretilen molekül Adenozin Trifosfattır (ATP). ATP üretimine "oksidatif fosforilasyon" denir. Mitokondriler genomik DNA'dan bağımsız replikasyona uğrayabilen 15517 bp uzunluğunda kendine ait bir DNA'ya sahiptir (Şekil1.7). Genel olarak hayvanların mitokondriyal genomu, yüksek kopya sayısı, intron bölgelerinin daha az olması ve rekombinasyona uğramaması nedenleriyle araştırmalar için nükleer genomdan daha iyi bir hedeftir (Hebert ve ark., 2003a). Hayvanlarda mtDNA, 13 protein kodlayan gen, iki ribozomal gen, protein içermeyen

bir kodlama kontrol bölgesi ve birkaç tRNA (taşıyıcı RNA) içeren tek bir çift sarmal dairesel molekül olarak ortaya çıkar (Şekil 1.8). Her mitokondri bu gibi birkaç dairesel molekül ve dolayısıyla birkaç tam mitokondriyal gen seti içerir. Ayrıca her hücre birkaç mitokondriye sahip olması sebebiyle hücre içinde çok sayıda mtDNA kopyası bulunmaktadır. Dolayısıyla numune dokusu sınırlı olduğunda, mitokondrilerden nispeten daha fazla miktarda DNA elde edilebilir (Waugh, 2007). Sonuç olarak bu özellikler, kötü korunmuş veya toplama esnasında zarar görmüş örneklerden mtDNA elde etmede adli araştırmalar için avantaj sağlar.



Şekil 1.7. Mitokondrinin yapısı (Ma ve Huang, 2018)



Şekil 1.8. *Hydropotaea spinigera* mitokondrial DNA gen haritası (Lodish ve ark., 2008)

1.2.2. DNA Barkodlama Belirteci Olarak Sitokrom c Oksidaz Alt Birim I (COI)

DNA barkodlama, tür için tanımlayıcı görevi gören standart bir mtDNA fragmanının dizi analizi ile yapılan moleküler tür teşhis tekniğidir (Hebert ve ark., 2003b). Mitokondriyal solunum zincirinin son enzimi olan ökaryotik sitokrom c oksidaz, metabolizma için oksidatif fosforilasyon kullanan türler arasında yüksek oranda korunan bir enzimdir. Sitokrom oksidaz I, II ve III alt birimleri mitokondriyal genomda kodlanmış yüksek hidrofobik büyük transmembran proteinleridir. Enzimin katalitik alt birimi olan sitokrom c oksidaz alt birimi I (COI), ağırlıklı olarak mitokondriyal kristanın zarına gömülüdür. Bu enzimi kodlayan genin nükleotidleri türler arasında ayırım yapmak için yeterli varyasyonu göstermektedir (Waugh, 2007).

Sperling ve arkadaşları 1994 yılında adli önemi olan *Phormia regina* (Meigen, 1826), *Phaenicia sericata* (Meigen, 1826) ve *Lucilia illustris* (Meigen, 1826) türleri

ile gerçekleştirdikleri çalışmada mitokondriyal COI, COII ve tRNA genleri için dizi analizi yapmışlar ve bu türler arasındaki nükleotit farklılıklarını göstermişlerdir (Sperling ve ark., 1994). Wells ve Sperling (2001) mtDNA'dan COI ve COII gen dizilerini çalışarak aynı genus'un iki türü arasındaki farklılıkların belirlenmesinde ve farklı coğrafik lokasyonlarda bulunan türlerin genetik özelliklerinin belirlenmesinde COI ve COII gen dizileri ile tür tayininin yararlı ve güvenilir bir yöntem olduğunu belirtmişlerdir. Hebert ve arkadaşları da DNA barkodlamanın etkili olabilmesi için uygun DNA bölgelerinin doğru seçilmesi gerektiğini, mutasyon hızı ve tür içi varyasyonun en aza indirgeneceği, ancak türler arası ayrımı yapmak için yeterince hızlı olacak şekilde ve yeterince yavaş olması gerektiğini, hizalamayı kolaylaştırmak için insersiyon ve delesyon sayısının az olmasının önemli olduğunu vurgulamışlardır (Hebert ve ark., 2003a). Hebert ve arkadaşları 2003 yılında yayımladıkları bir diğer çalışmada DNA barkodlamasına uygun DNA belirteci olarak sitokrom c oksidaz I kullanımını önermişlerdir. COI'nin iki önemli avantajı olduğunu vurgulamışlardır. Birincisi genin çoğaltılması için evrensel primerlerin uygun olması, ikincisi ise, herhangi bir mitokondriyal genden daha geniş bir filogenetik sinyal aralığına sahip olmasından dolayı COI bölgesinin kullanılabileceğini belirtmişlerdir (Hebert ve ark., 2003a). Tüm bu gelişmelerin ardından 2004 yılında DNA barkodlama çalışmalarında bir standart oluşturmak ve elde edilen verilerin tek bir veri bankasında depolanmasını sağlamak amacıyla 'Yaşamın Barkodlanması Konsorsiyumu' (Consortium for the Barcode of Life "CBOL") kurulmuştur. Daha sonra 2008 yılında 26 ülkenin katılımıyla Uluslararası Yaşamın Barkodlanması (International Barcode of Life "iBOL") projesi başlatılmış ve devamında BOLD (Barcode of Life Data System) veri tabanı oluşturulmuştur. BOLD veri tabanında 2020 yılı itibari ile 222.000 hayvan türü, 69.000 bitki türü ve 23.000 mantar ve diğer canlı türlerinden elde edilmiş 8.383.000 adet DNA barkodu kayıt altına alınmıştır.

Ames ve ark. (2006), yaptıkları çalışmada COI genini kullanarak *Calliphora vicina* (Robineau-Desvoidy, 1830) ile *Calliphora vomitoria* (Linnaeus, 1758) ayrımını yapmanın morfolojik yöntemlere göre daha kolay ve hızlı bir yöntem olduğunu belirtmişlerdir. Nelson ve ark. (2007), DNA barkod sisteminin, taksonların morfolojik teşhisinde ve farklı yaşam basamaklarını ilişkilendirmekte yaşanan

sorunlara farklı bir yaklaşım getirmekte olduğunu, Avustralya'dan topladıkları 56 türün COI genini inceleyerek ve bu genin doğru bir şekilde amplifiye olduğunu kanıtlamışlardır.

Morfolojik teşhis anahtarı kullanılarak yapılan teşhis ve moleküler analiz yöntemleri ile yapılan teşhis metotları karşılaştırıldığında moleküler yöntemlerin üstünlüğü açıkça görülmektedir (Cainé ve ark. 2009). Wells ve Stevens (2008), mahkemeye sunulan adli entomoloji raporlarının morfolojik analiz yöntemleri ile değil de mitokondriyal metotlar sonucunda oluşturulmasının benimsenmesi gerektiğini savunmuşlardır. Saigusa ve ark. (2009), mumyalanmış bir cesetten topladıkları entomolojik örnekleri analiz etmişler ve bulunan türlerin bazılarının *Calliphora vicina* türüne ait pupalar olduğunu mitokondriyal COI genini inceleyerek göstermişlerdir. Çok iyi tanımlanan DNA barkodlama ile gendeki farklı bölgeleri inceleyerek tür bazında teşhis yapmanın güvenilirliğini vurgulamışlardır. Malewski ve ark. (2010), yaptıkları çalışmada, Polonya'da adli önemi olan Calliphoridae familyasına ait 16 türün COI geninin türler arası ve tür içi çeşitliliğinin saptanmasında standart bir barkod olarak kullanılabileceğini belirtmişlerdir. Boehme ve ark. (2012), Diptera takımı Calliphoridae familyasından 13 türden 111 örneğin tür teşhisini COI geni vasıtasıyla yapmışlar ve bu metodun sadece taksonomistler için değil aynı zamanda filogenetik araştırmalar yapan bilim adamları içinde uygun bir yöntem olduğunu belirtmişlerdir. Sanaa ve Wen (2013), yaptıkları DNA tabanlı çalışmada Çin'den ve Mısır'dan 3 familyadan 19 türe ait 75 örneği sitokrom oksidaz I geninin 304 bp'lik parçasından faydalanarak türleri tanımlamışlardır. Bu yöntemin adli entomolojik incelemelere bir standart getireceğini ve morfolojik teşhis yöntemlerinin hatalarını ortadan kaldıracağını belirtmişlerdir. Kavitha ve ark. (2013), Calliphoridae familyası ile yaptıkları çalışmalarında uzun baz çiftlerinin moleküler tanımlamada zaman ve maliyet açısından kayıp oluşturacağını bu nedenle baz çiftlerinin kısa seçilmesinin uygun olduğunu ve özellikle larvaların birinci ve ikinci evrelerinde morfolojik tanımlamanın çok zor olduğunu morfolojik olarak tanımlanamayan erken larval evredeki türlerin moleküler yöntemlerle kesin olarak tanımlanabildiğini belirtmişlerdir. Bizim tez çalışmamızda da baz çiftleri uzun seçilmemiştir. Farinha ve ark. (2014), adli entomolojik çalışmalarda tür teşhisinin en

önemli basamak olduğunu söylemişlerdir. Morfolojik metotların genelde kullanıldığını ancak örneklerin kimliklendirilmesinde moleküler tekniklerin çok yardımcı olduğunu ve COI geninin bu amaç için iyi bir saptama kriteri olduğunu belirtmişlerdir.

Bu tez çalışmasının amacı Türkiye’de adli önemi olan Diptera takımına ait 12 türün yapılan morfolojik tanımlamalarını mtDNA sitokrom c oksidaz alt ünite I gen bölgesi hedeflenerek genetik teşhisler ile kesinleştirmek ve GenBank ile BOLD veri tabanlarına katkıda bulunmaktır.



2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Arazi Çalışması

Yapmış olduğumuz tez çalışmasında kullanılan örnekler Başkent Üniversitesi Bağlıca Kampüsünde Birben Tepesinde 2018 yılından beri faaliyet göstermekte olan Türkiye'nin ilk ceset çiftliğinde (Body Farm), Prof. Dr. Erhan BÜKEN yönetiminde yürütülmekte olan “Domuz (*Sus scrofa domesticus* (Linnaeus, 1758)) Cesedine Gelen Böceklerin Süksesyonunun Belirlenmesi ile Ölüm Zamanı Tahmini” isimli proje kapsamında domuz cesetlerine gelen yetişkin sineklerin tuzaklar ile toplanması ile elde edilmiştir (Şekil 2.1). Örneklerin kullanımı için gerekli izin Başkent Üniversitesi Tıp ve Sağlık Bilimleri Araştırma Kurulu'nun 94603339-604.99/4564 sayılı kararı ile alınmıştır (Ek 1). Toplanan örnekler arasından özellikle cesede ilk gelen ve Türkiye ile Avrupa faunasına katkı sağlayabileceğini umduğumuz türler seçilmiştir. Arazinin koordinatları 39°52'55.0"N 32°38'52.3"E ve rakımı 994 m'dir. Araziye dışarıdan herhangi bir karnivorun gelmesini engelleyecek nitelikte yapılandırılmış kafesler içine yerleştirilen domuz leşlerinin üzerine gelen ve yumurtalarını bırakan yetişkin sinekler toplanarak ve içinde %96'lık etil alkol bulunan etiketli numune toplama şişelerinde saklandı (Şekil 2.2). Etiketlerin üzerine tarih, şişelerin içine konan örnek sayısı, şişe numarası, toplayan kişinin adı yazıldı.



Şekil 2.1. Çalışmada kullanılan örneklerin toplandığı domuz cesedi



Şekil 2.2. Domuz cesetlerinin yerleştirildiği kafesler.

2.2. Laboratuvar Aşaması

Laboratuvara getirilen ve arazide öldürölüp etiketli ve içinde %96'lık etil alkol bulunan örnek kaplarına konmuş olan türler, distile su ile yıkandı, peçete üzerinde kurutularak morfolojik teşhis için hazır hale getirildi.

2.2.1. Morfolojik Teşhis

Morfolojik tür teşhisleri Ankara Üniversitesi Adli Bilimler Enstitüsü Adli Entomoloji/Adli Biyoloji laboratuvar sorumlusu Doç. Dr. H. Nihal AÇIKGÖZ gözetiminde morfolojik karakteristik özelliklere göre hazırlanmış tür teşhis anahtarları kullanılarak Adli Entomoloji/Adli Biyoloji laboratuvarında yapıldı (Smith, 1986; Szpila, 2012; Akbarzadeh ve ark., 2015). Türlerin tanımlanmasında Calliphoridae familyasına ait olan türlerden *Calliphora vicina* (Robineau-Desvoidy, 1830) (7), *Calliphora vomitoria* (Linnaeus, 1758) (2), *Chrysomya albiceps* (Wiedemann, 1819) (4), *Lucilia caesar* (Linnaeus, 1758) (1), *Lucilia sericata* (Meigen, 1826) için 5 olmak üzere 11 tür teşhis edilmiştir. Sarcophagidae familyasına ait *Sarcophaga africa* (Wiedemann 1824) (2), *Sarcophaga argyrostoma* (Robineau-Desvoidy, 1830) (4), *Sarcophaga crassipalpis* (Macquart, 1839) (1), *Sarcophaga cucullans* (Pandelle, 1896) (5), *Sarcophaga filia* (Rondani, 1860) (1) ve Muscidae familyasına ait türlerden *Hydrotaea ignava* (Harris, 1780) (1) ve *Muscine stabulans* (Robineau-Desvoidy, 1830) için 2 ve 2 adet de teşhis edilemeyen tür olmak üzere toplamda 35 örnek incelendi.

2.2.2. DNA İzolasyonu

DNA izolasyonu için seçilen Calliphoridae (16), Sarcophagidae (13), Muscidae (2), familyalarına ait 35 örneğin sadece bacakları kullanıldı. Örneklerin bacak kısımları önceden sterilize edilmiş pens ve bistüri yardımıyla mikroskop altında vücuttan ayrılarak numaralandırılmış steril kuru 1.5 ml eppendorf tüplere konuldu (Şekil 2.3). Vücudun kalan kısmı içinde %96'lık etil alkol bulunan etiketlenmiş eppendorf tüplerinde saklandı. DNA izolasyon işlemi Ankara Üniversitesi Adli Bilimler Enstitüsü Adli Entomoloji/Adli Biyoloji Laboratuvarında Fenol-Kloroform-İzoamil Alkol metodu ile gerçekleştirildi.



Şekil 2.3. Morfolojik teşhiste kullanılan Leica S8APO trinocular stereozoom araştırma mikroskobu ve steril laboratuvar ekipmanları

2.2.3. Fenol-Kloroform DNA İzolasyon Yöntemi

Doku parçalama çubuğu ile eppendorf içindeki bacak ezilerek bacak kutikulasının toz haline gelmesi ve DNA elde edeceğimiz kısımların açığa çıkması sağlandı. Ezilmiş örneğin üzerine 80 µl %10'luk Sodyum dodesil sülfat (SDS), 90 µl 1 Molar NaCl, 20 µl Proteinaz K eklenmiş ve son hacim Tris-EDTA(TE) buffer ile 500 µl ye tamamlandı. Sindirim solüsyonlarının eklenmesinin ardından tüpler 10 saniye süreyle vortekslendi. Bu işlemin ardından bacak parçalarını içeren 35 adet eppendorf tüpü 56°C'lik su banyosunda bir gece bekletildi.

Ertesi sabah örnekler su banyosundan alınarak üzerlerine eşit hacimde yani 500 µl fenol-kloroform ve izoamil alkol ilave edilerek 2500 rpm'de 2 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrasında üst kısımdaki berrak faz temiz bir tüpe aktarıldı. Üst fazın yeterince berrak olmadığı görüldüğünde santrifüj işlemi tekrar edildi. Temiz bir tüpe alınan berrak fazların üzerine 1 ml soğuk etil alkol eklendi ve 14000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Sonrasında alkol uzaklaştırıldı. Tüplerin diplerindeki pelet üzerine %70'lik etil alkol eklenerek 14000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Alkol

pipet ile uzaklaştırılarak 56°C'lik etüvde pelet kuruyana dek bekletildi. Kuruyan pelet üzerine 80 µl Tris-EDTA (TE) tampon solüsyonu eklendi ve -20°C de saklandı.

DNA izolasyonu sonrasında elde edilen DNA'nın miktarı ve saflığı Thermo Fisher Nanodrop cihazı ile ölçüldü. Saflığı ve miktarı uygun görülen DNA örneklerinin COI gen bölgeleri PZR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) yöntemi ile çoğaltılmış ve analizleri gerçekleştirilmiştir.

2.2.4. PZR Aracılığıyla Gen Bölgelerinin Çoğaltılması

Tür teşhisi için çoğaltılması amaçlanan gen bölgesi mitokondriyal COI geninin yaklaşık 658 baz çiftlik bir bölgesidir. İzolasyonu yapılan örneklerin mtDNA'larında ki COI özgün bölgesi, Ankara Üniversitesi Adli Bilimler Enstitüsü DNA İzolasyonu ve Komet laboratuvarında Thermal Cycle PZR cihazı ile çoğaltıldı. COI bölgesi için Çizelge 2.1'de gösterilen evrensel primerler kullanıldı. PZR karışımı son hacmi 50 µl olacak şekilde hazırlandı. PZR Reaksiyonunda kullanılan malzemeler ve hacimleri Çizelge 2.2'de sunulmuştur. COI gen bölgesinin PZR amplifikasyonunda kullanılan primerlerin T_m değerlerine uygun, primerlerin bağlanabilmesi için gerekli sıcaklık değeri ile çizelge 2.3. de verilen PZR protokolü geliştirildi. (Son uzamanın ardından sıcaklık 4°C'ye düşürülüp PZR tamamlanmıştır.

Çizelge 2.1. PZR amplifikasyonlarında kullanılan primerler (Folmer ve ark., 1994)

Gen Bölgesi	Bağlanma Yönü	Primer Dizisi
COI	Forward	LCO-1490 5'-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3'
	Reverse	HCO-2198 5'-TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA-3'

Çizelge 2.2. PZR Reaksiyonunda kullanılan malzemeler ve hacimleri

Materyal	Hacim(µl)
dH ₂ O	36,35
10X Buffer	5
MgCl ₂ (25mM)	4
dNTP (10mM)	1
Primer 100 pmol/µl F	0,2
Primer 100 pmol/µl R	0.2
Taq Polimeraz	0.25
Kalıp DNA	3
Toplam	50

Çizelge 2.3. PZR ın gerçekleştirildiği koşullar.

Reaksiyon	°C	Zaman	Döngü
Başlangıç denatürasyonu	94	5 Dakika	1
Denatürasyon	94	45 Saniye	
Primerlerin Bağlanması	55	45 Saniye	35 Döngü
Uzama	72	1 Dakika	
Son uzama	72	5 Dakika	1

2.2.5. Jel Elektroforez

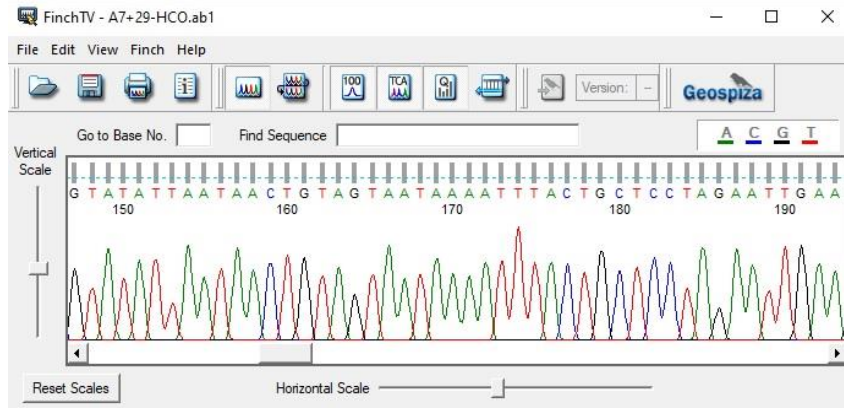
Hazırlanacak olan %1'lik agaroz jel için, 2,4 gr agaroz tartılarak, 100 ml 1XTBE buffer erlenmayer içerisinde çözündürüldü. Mikrodalga fırında ısıtılarak sıcaklık 50°C-60°C'ye düştüğünde, 1µl EtBr (10 mg/ml) damlatılarak, erlenmayer hafifçe çalkalandı. Jel kalıbı monte edilerek jel tarakları deliklerine düzgünce yerleştirildi ve agar hava kabarcıklarının oluşmasını önlemek için yavaş ve 45 derece açıyla kalıba döküldü. Jelin katılaşması için oda sıcaklığında 30-45 dakika kadar bekletilip agaroz jel kalıbından taraklar ve bariyerler çıkarıldı. Katılaştıran jel elektroforez tankına yerleştirildi. Jelin üzerini 2-3 mm kadar kaplayacak miktarda 1X TBE çözeltisi tank içine döküldü. 1µl Loading Buffer ve 5µl DNA örneği 15 cm uzunluğunda parafilm üzerine alınarak, karıştırıldı ve kuyucuklara yerleştirildi. Elektroforez tankının kapağı kapatılarak, güç kaynağının anot ve katot uçlarının bağlantıları güç kaynağı 100 volt ve 70 ampere ayarlandı. Jel içerisindeki numuneler 45 dakika süre ile elektroforeze tabii tutuldu. UV ışığı altında, Jel görüntüleme cihazında elektroforez sonucu değerlendirilmiştir.

2.2.6. PZR Ürünlerinin Dizi Analizi ve Sonuçların Değerlendirilmesi

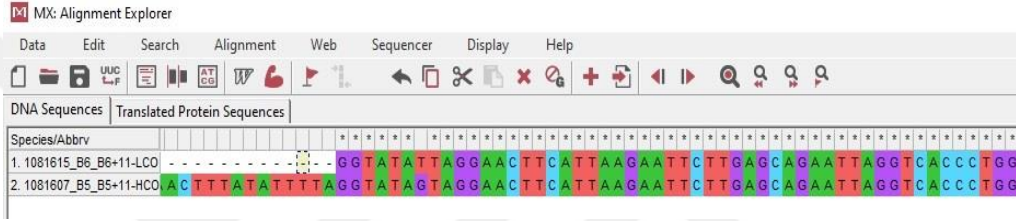
Dna Dizi Analizi işlemi hizmet alımı olarak BM Laboratuvar Sistemleri firmasına yaptırılmıştır. Sanger Dizileme için ABI 3730XL Sanger dizileme cihazı (Applied Biosystems, Foster City, CA) ve BigDye Terminator v3.1 Cycle Dizileme Kiti kullanılmıştır (Applied Biosystems, Foster City, CA).

2.2.6.1. Verilerin İstatistiksel Analizi

İleri (forward) ve geri (reverse) primerler kullanarak çift yönlü elde edilen ab1 formatındaki ham dizi sonuçları FinchTV (Versiyon 1.4.0) kullanılarak açıldı (Şekil 2.4). Dizilerin başında ve sonunda bulunan gürültü bölgeleri denilen bozuk kısımlar analiz kapsamı dışında bırakıldı. Diziler fasta formatına dönüştürüldü. Elde edilen fasta formatındaki forward ve reverse diziler ikiye ayrılarak Mega X yazılımı yardımıyla açıldı (Kumar ve ark., 2018). Reverse yönlü dizinin reverse komplementeri alındı. Biyoenformatikte çoklu dizi hizalama için kullanılan Mega X içerisindeki ClustalW yazılımı yardımıyla iki dizi hizalandı (Şekil 2.5). Hizalanan diziler birbiri ile karşılaştırılarak bir dizide olup diğer dizide bulunmayan kısımlar tamamlandı. Son olarak elde edilen tek dizi fasta formatında kaydedildi. Birleştirilen diziler dünyanın en geniş tıp kütüphanesi olan Birleşik Devletler Ulusal Tıp Kütüphanesi (United States National Library of Medicine-NLM)'nin bir parçası olan Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi (National Center for Biotechnology Information-NCBI)'nde BLAST (Basic Local Alignment Search Tool-Temel Yerel Hizalama Arama Aracı) programıyla NCBI veri bankasında taratılarak tür teşhisleri yapıldı. Elde edilen diziler daha sonra BOLD (Barcode of Life Data System) veri bankasında da taranarak tür teşhisleri yapıldı ve 2 veri bankasında yapılan teşhis yüzdeleri karşılaştırıldı.



Şekil 2.4. Elde edilen ham dizilerden bir örnek.



Şekil 2.5. Forward ve reverse dizilerin Clustal W ile hizalanmış görüntüsü.

2.2.6.1.1. Genetik Mesafe Testi

Aynı türlerin kendi içerisindeki genetik uzaklıklarını (İntraspecific) ve farklı türler arasındaki genetik uzaklıkları (İnterspecific) ortaya çıkarmak için Mega X yazılımı yardımıyla Maximum Composite Likelihood metodu kullanılarak genetik uzaklık testi yapıldı. Aynı tür içindeki ve türler arasındaki maksimum genetik uzaklıklar hesaplandı.

2.2.6.1.2. Filogenetik Ağaç Çizimi

Türler arası ilişkinin daha iyi anlaşılabilmesi için elde edilen diziler Mega X yazılımı kullanılarak filogenetik ağaç oluşturuldu. Düzenlenen diziler Mega X programına yüklendi. ClustalW seçeneği ile hizalandı. Çiftler Bazında Veri Silme (Pairwise Deletion) ve 1000 bootstrap seçenekleri kullanılarak K2P modeline göre

Komşu Birleştirme Metodu (Neighbor Joining) kullanılarak filogenetik ağaç elde edilmiştir (Saitou ve Nei, 1987).

2.3. Sonuçların Değerlendirilmesinde Kullanılan Yazılımlar

Bu çalışmada sonuçların değerlendirilmesinde kullanılan yazılımlar ve web siteleri aşağıda belirtilmiştir.

MEGA X (Molecular Evolutionary Genetics Analysis)

Erişim: <https://www.megasoftware.net/>

FinchTV Versiyon 1.4.0

Erişim: <https://digitalworldbiology.com/FinchTV>

BLAST: Basic Local Alignment Search Tool

Erişim: <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>

BOLD (Barcode Of Life Data System)

Erişim: https://www.boldsystems.org/index.php/IDS_OpenIdEngine

3.BULGULAR

3.1. Morfolojik Teşhis Sonuçları

Tez çalışmamızdan elde ettiğimiz morfolojik teşhis sonuçları Çizelge 3.1’de; izolasyon sonrası DNA miktar saflık ölçüm sonuçları Çizelge 3.2’de sunulmuştur.

Çizelge 3.1. Morfolojik teşhis sonuçları

Örnek kodu	Morfolojik teşhis	Cinsiyet	Teşhisi yapan
SAR1	Sarcophagidae	Dişi	AZ. CEYLAN
SAR2	Sarcophagidae	Dişi	AZ. CEYLAN
SAR3	Sarcophagidae	Dişi	AZ. CEYLAN
SAR4	Sarcophagidae	Dişi	AZ. CEYLAN
SAR5	Sarcophagidae	Dişi	AZ. CEYLAN
SAR6	Sarcophagidae	Dişi	AZ. CEYLAN
SAR7	Sarcophagidae	Dişi	AZ. CEYLAN
SAR8	Sarcophagidae	Dişi	AZ. CEYLAN
SAR9	Sarcophagidae	Dişi	AZ. CEYLAN
SAR10	Sarcophagidae	Dişi	AZ. CEYLAN
SAR11	Sarcophagidae	Dişi	AZ. CEYLAN
SAR12	Sarcophagidae	Dişi	AZ. CEYLAN
CVİ1	<i>Calliphora vicina</i>	Dişi	AZ. CEYLAN
CVİ2	<i>Calliphora vicina</i>	Dişi	AZ. CEYLAN
CVİ3	<i>Calliphora vicina</i>	Dişi	AZ. CEYLAN
CVİ4	<i>Calliphora vicina</i>	Erkek	AZ. CEYLAN
CVİ5	<i>Calliphora vicina</i>	Dişi	AZ. CEYLAN
CVİ6	<i>Calliphora vicina</i>	Erkek	AZ. CEYLAN
CVİ7	<i>Calliphora vicina</i>	Dişi	AZ. CEYLAN
CAL1	<i>Chrysomya albiceps</i>	Erkek	AZ. CEYLAN
CAL2	<i>Chrysomya albiceps</i>	Dişi	AZ. CEYLAN
CAL3	<i>Chrysomya albiceps</i>	Dişi	AZ. CEYLAN
CAL4	<i>Chrysomya albiceps</i>	Dişi	AZ. CEYLAN
LCA1	<i>Lucilia caesar</i>	Dişi	AZ. CEYLAN
LSE1	<i>Lucilia sericata</i>	Erkek	AZ. CEYLAN
LSE2	<i>Lucilia sericata</i>	Erkek	AZ. CEYLAN
LSE3	<i>Lucilia sericata</i>	Erkek	AZ. CEYLAN
LSE4	<i>Lucilia sericata</i>	Dişi	AZ. CEYLAN
LSE5	<i>Lucilia sericata</i>	Erkek	AZ. CEYLAN
UNW2	Teşhis Edilemedi	Erkek	AZ. CEYLAN
UNW3	Teşhis Edilemedi	Dişi	AZ. CEYLAN
CVO1	<i>Calliphora vomitoria</i>	Dişi	AZ. CEYLAN
CVO3	<i>Calliphora vomitoria</i>	Erkek	AZ. CEYLAN
MST1	<i>Muscine stabulans</i>	Dişi	AZ. CEYLAN
MST2	<i>Muscine stabulans</i>	Dişi	AZ. CEYLAN

Morfolojik teşhisleri yapılan 35 örneğin 26 adeti (%74,28) dişi, sadece dokuz örnek erkek (%25,72) olarak tespit edilmiştir. Sarcophagidae familyasına ait türlerin teşhisinde erkek bireyler kullanılmaktadır. Çalışmada kullanılan tüm Sarcophagidae örnekleri dişi olması sebebiyle sadece familya düzeyinde teşhis yapılabilmektedir. 2 örneğin ise yüz rengi ve abdomen yapısındaki renk farklılıkları sebebiyle teşhisi yapılamamıştır.

Çizelge 3.2. İzolasyon sonrası DNA miktar ve saflık ölçüm sonuçları

Örnek kodu	DNA Miktarı ng/µL	260/280	260/230
SAR1	79,6	1,92	1,24
SAR2	12,7	1,65	0,35
SAR3	78,1	1,99	1,64
SAR4	65,1	2,03	1,09
SAR5	74,9	2,26	1,19
SAR6	49,1	2,02	1,04
SAR7	50,2	2,08	0,97
SAR8	42,5	1,68	0,8
SAR9	25,7	1,83	0,6
SAR10	232	2,01	1,76
SAR11	304	1,43	0,98
SAR12	315	1,89	1,09
CVİ1	56,2	1,87	1,04
CVİ2	63,5	2,21	1,09
CVİ3	50,3	2,11	1,85
CVİ4	60,5	2,01	1,79
CVİ5	50,6	1,85	1,75
CVİ6	70,6	1,92	1,65
CVİ7	55,2	1,79	1,89
CAL1	40,3	1,88	1,66
CAL2	60,5	2,13	1,77
CAL3	50,5	2,21	1,12
CAL4	30,1	1,98	0,65
LCA1	41,1	1,92	0,8
LSE1	341	2,08	1,92
LSE2	279	2,07	1,71
LSE3	30,5	2,32	0,7
LSE4	390	2,05	1,93
LSE5	61,5	2,04	1,95
UNW2	59,7	1,8	1,1
UNW3	144,1	2,05	1,81
CVO1	49,4	2,06	0,94
CVO3	175,3	1,51	0,72
MST1	70,6	1,54	0,70
MST2	75,3	1,76	0,85

3.2. Dizilerin BLAST ve BOLD Tarama Sonuçları

658 bp uzunluğundaki mitokondriyal COI geni fragmanı 35 örnek ve 12 farklı sinek türü için başarıyla amplifiye edildi ve dizi analizi yapıldı (EK 2). Elde edilen ham forward ve reverse diziler FinchTV ve Mega X yazılımları işlendikten sonra NCBI BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) arama motorunda taratılarak benzerlik oranları elde edildi. Çıkan sonuçlar morfolojik teşhis sonuçları ile karşılaştırıldı (Çizelge 3.3.). Morfolojik teşhis ile teşhis edilemeyen UNW2 ve UNW3 kodlu türlerin genetik teşhis sonucunda *Sarcophaga cucullans* ve *Hydrotaea ignava* olduğu belirlendi. SAR9 ve UNW2 örnekleri dışındaki bütün örnekler %98-%100 arası benzerlik oranına sahiptir.

Çizelge 3.3. Morfolojik ve COI tür teşhisi karşılaştırması.

Örnek kodu	Morfolojik teşhis	COI Teşhis	Benzerlik oranı %
SAR1	Sarcophagidae	<i>Sarcophaga argyrostoma</i>	100
SAR2	Sarcophagidae	<i>Sarcophaga argyrostoma</i>	99,71
SAR3	Sarcophagidae	<i>Sarcophaga argyrostoma</i>	100
SAR4	Sarcophagidae	<i>Sarcophaga argyrostoma</i>	100
SAR5	Sarcophagidae	<i>Sarcophaga cucullans</i>	99,54
SAR6	Sarcophagidae	<i>Sarcophaga cucullans</i>	99,24
SAR7	Sarcophagidae	<i>Sarcophaga cucullans</i>	99,63
SAR8	Sarcophagidae	<i>Sarcophaga cucullans</i>	99,82
SAR9	Sarcophagidae	<i>Sarcophaga filia</i>	92,88
SAR10	Sarcophagidae	<i>Sarcophaga africa</i>	100
SAR11	Sarcophagidae	<i>Sarcophaga africa</i>	100
SAR12	Sarcophagidae	<i>Sarcophaga crassipalpis</i>	100
CVİ1	<i>Calliphora vicina</i>	<i>Calliphora vicina</i>	100
CVİ2	<i>Calliphora vicina</i>	<i>Calliphora vicina</i>	98,77
CVİ3	<i>Calliphora vicina</i>	<i>Calliphora vicina</i>	99,14
CVİ4	<i>Calliphora vicina</i>	<i>Calliphora vicina</i>	99,65
CVİ5	<i>Calliphora vicina</i>	<i>Calliphora vicina</i>	99,65
CVİ6	<i>Calliphora vicina</i>	<i>Calliphora vicina</i>	100
CVİ7	<i>Calliphora vicina</i>	<i>Calliphora vicina</i>	99,48
CAL1	<i>Chrysomya albiceps</i>	<i>Chrysomya albiceps</i>	99,85
CAL2	<i>Chrysomya albiceps</i>	<i>Chrysomya albiceps</i>	99,41
CAL3	<i>Chrysomya albiceps</i>	<i>Chrysomya albiceps</i>	99,85
CAL4	<i>Chrysomya albiceps</i>	<i>Chrysomya albiceps</i>	100
LCA1	<i>Lucilia caesar</i>	<i>Lucilia caesar</i>	100
LSE1	<i>Lucilia sericata</i>	<i>Lucilia sericata</i>	99,85
LSE2	<i>Lucilia sericata</i>	<i>Lucilia sericata</i>	99,85
LSE3	<i>Lucilia sericata</i>	<i>Lucilia sericata</i>	100
LSE4	<i>Lucilia sericata</i>	<i>Lucilia sericata</i>	99,85
LSE5	<i>Lucilia sericata</i>	<i>Lucilia sericata</i>	99,85
UNW2	Teşhis Edilemedi	<i>Sarcophaga cucullans</i>	93,67
UNW3	Teşhis Edilemedi	<i>Hydrotaea ignava</i>	100
CVO1	<i>Calliphora vomitoria</i>	<i>Calliphora vomitoria</i>	100
CVO2	<i>Calliphora vomitoria</i>	<i>Calliphora vomitoria</i>	100
MST1	<i>Muscine stabulans</i>	<i>Muscine stabulans</i>	100
MST2	<i>Muscine stabulans</i>	<i>Muscine stabulans</i>	100

GenBank kütüphanesinde tür teşhisi yapılan diziler yeryüzündeki canlıların barkodlanması amacıyla kurulan BOLD (Barcode of Life) kütüphanesinde de aratıldı. Bu tarama sonucunda elde edilen veriler yüzde olarak GenBank sonuçları ile karşılaştırıldı ve Çizelge 3.4 de sunuldu. SAR9 ve UNW2 kodlu örneklerin BOLD kütüphanesi taramalarından sonuç alınamamıştır. SAR12, LSE1, LSE2, LSE3, LSE4, LSE5 ve UNW3 kodlu örneklerin BOLD kütüphanesinde yapılan taramalarında bu türler sadece cins düzeyinde teşhis edilebilmiştir. BOLD veri tabanından alınan benzerlik oranları %99 ve üzeridir.

Çizelge 3.4. DNA dizilerinin GenBank ve BOLD veri tabanlarında çıkan benzerlik sonuçlarının karşılaştırılması

GenBank Sonucu (NCBI)	GenBank Benzerlik Oranı (%)	BOLD Sonucu	BOLD Benzerlik Oranı (%)
<i>Sarcophaga argyrostoma</i>	100	<i>Sarcophaga argyrostoma</i>	100
<i>Sarcophaga argyrostoma</i>	99,71	<i>Sarcophaga argyrostoma</i>	100
<i>Sarcophaga argyrostoma</i>	100	<i>Sarcophaga argyrostoma</i>	100
<i>Sarcophaga argyrostoma</i>	100	<i>Sarcophaga argyrostoma</i>	100
<i>Sarcophaga cucullans</i>	99,54	<i>Sarcophaga cucullans</i>	99,54
<i>Sarcophaga cucullans</i>	99,24	<i>Sarcophaga cucullans</i>	99,54
<i>Sarcophaga cucullans</i>	99,63	<i>Sarcophaga cucullans</i>	99,6
<i>Sarcophaga cucullans</i>	99,82	<i>Sarcophaga cucullans</i>	99,8
<i>Sarcophaga filia</i>	92,88	Teşhis edilemedi	-
<i>Sarcophaga africa</i>	100	<i>Sarcophaga africa</i>	100
<i>Sarcophaga africa</i>	100	<i>Sarcophaga africa</i>	100
<i>Sarcophaga crassipalpis</i>	100	<i>Sarcophaga</i>	100
<i>Calliphora vicina</i>	100	<i>Calliphora vicina</i>	100
<i>Calliphora vicina</i>	98,77	<i>Calliphora vicina</i>	100
<i>Calliphora vicina</i>	99,14	<i>Calliphora vicina</i>	99,03
<i>Calliphora vicina</i>	99,65	<i>Calliphora vicina</i>	99,56
<i>Calliphora vicina</i>	99,65	<i>Calliphora vicina</i>	99,56
<i>Calliphora vicina</i>	100	<i>Calliphora vicina</i>	100
<i>Calliphora vicina</i>	99,48	<i>Calliphora vicina</i>	100
<i>Chrysomya albiceps</i>	99,85	<i>Chrysomya albiceps</i>	99,85
<i>Chrysomya albiceps</i>	99,41	<i>Chrysomya albiceps</i>	100
<i>Chrysomya albiceps</i>	99,85	<i>Chrysomya albiceps</i>	99,85
<i>Chrysomya albiceps</i>	100	<i>Chrysomya albiceps</i>	100
<i>Lucilia caesar</i>	100	<i>Lucilia caesar</i>	100
<i>Lucilia sericata</i>	99,85	<i>Lucilia</i>	100
<i>Lucilia sericata</i>	99,85	<i>Lucilia</i>	100
<i>Lucilia sericata</i>	100	<i>Lucilia</i>	100
<i>Lucilia sericata</i>	99,85	<i>Lucilia</i>	100
<i>Lucilia sericata</i>	99,85	<i>Lucilia</i>	100
<i>Sarcophaga cucullans</i>	93,67	Teşhis edilemedi	-
<i>Hydrotaea ignava</i>	100	<i>Hydrotaea</i>	100
<i>Calliphora vomitoria</i>	100	<i>Calliphora vomitoria</i>	100
<i>Calliphora vomitoria</i>	100	<i>Calliphora vomitoria</i>	100
<i>Muscine stabulans</i>	100	<i>Muscine stabulans</i>	100
<i>Muscine stabulans</i>	100	<i>Muscine stabulans</i>	100

3.3. Tür İçi ve Türler Arası Genetik Mesafenin Karşılaştırılması

Tür içi ve türler arası genetik uzaklık testi sonucu elde edilen genetik uzaklık matrisi (Şekil 3.1) kullanılarak çalışmada kullanılan türlerin tür içi ve türler arası maksimum genetik uzaklıkları yüzdesel olarak hesaplanmıştır (Çizelge 3.5). *Sarcophaga filia*, *Sarcophaga crassipalpis* ve *Lucilia caesar* türlerinden çalışmada sadece birer tane örnek olduğu için tür içi genetik uzaklığı hesaplanamamıştır. Çalışmada kullanılan türlerin DNA dizileri arasındaki nükleotit farklılıklarını ve benzerliklerini incelemek amacıyla diziler hizalanmıştır (Şekil 3.2).

Çizelge 3.5. Tür içi ve türler arası maksimum genetik uzaklıklar

	Tür içi genetik varyasyon (Intraspecific)	Türler arası genetik varyasyon (Interspecific)
<i>S. argyrostoma</i>	0,19	13
<i>S. cucullans</i>	0,19	14,36
<i>S. filia</i>	Tek örnek	15,28
<i>S. africa</i>	0	14,35
<i>S. crassipalpis</i>	Tek örnek	12,52
<i>C. vomitoria</i>	0	12,75
<i>C. vicina</i>	0,19	12,07
<i>Ch. albiceps</i>	0,19	15,28
<i>L. caesar</i>	Tek örnek	12,29
<i>L. sericata</i>	0	12,96
<i>M. stabulans</i>	0	15,27

	Tür isimleri	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32
1	<i>S. filia</i>																																
2	<i>S. cucullans</i>	11,27																															
3	<i>S. cucullans</i>	11,5	0,19																														
4	<i>S. cucullans</i>	11,5	0,19	0																													
5	<i>S. cucullans</i>	11,49	0,39	0,19	0,19																												
6	<i>S. erasipalpis</i>	11,69	7,74	7,96	7,96	7,95																											
7	<i>S. argyrostoma</i>	10,31	8,81	9,04	9,04	9,03	5,81																										
8	<i>S. argyrostoma</i>	10,31	8,81	9,04	9,04	9,03	5,81	0																									
9	<i>S. argyrostoma</i>	10,11	9,04	9,27	9,27	9,26	6,3	0,19	0,19																								
10	<i>S. argyrostoma</i>	10,31	8,81	9,04	9,04	9,03	5,81	0	0	0,19																							
11	<i>S. affrica</i>	11,2	9	9,22	9,22	9,21	5,17	0,79	7,91	8,14	7,91																						
12	<i>S. affrica</i>	11,2	9	9,22	9,22	9,21	5,17	0,79	7,91	8,14	7,91	0																					
13	<i>M. stabulans</i>	14,57	13,9	14,13	14,13	14,36	12,52	12,74	12,74	13	12,74	14,35	14,35																				
14	<i>M. stabulans</i>	14,57	13,9	14,13	14,13	14,36	12,52	12,74	12,74	13	12,74	14,35	14,35	0																			
15	<i>L. sericata</i>	12,96	10,51	10,73	10,73	10,95	8,97	8,96	8,96	8,99	8,96	9,84	9,84	10,05	10,05																		
16	<i>L. sericata</i>	12,96	10,51	10,73	10,73	10,95	8,97	8,96	8,96	8,99	8,96	9,84	9,84	10,05	10,05	0																	
17	<i>L. sericata</i>	12,96	10,51	10,73	10,73	10,95	8,97	8,96	8,96	8,99	8,96	9,84	9,84	10,05	10,05	0	0																
18	<i>L. sericata</i>	12,96	10,51	10,73	10,73	10,95	8,97	8,96	8,96	8,99	8,96	9,84	9,84	10,05	10,05	0	0	0															
19	<i>L. sericata</i>	12,96	10,51	10,73	10,73	10,95	8,97	8,96	8,96	8,99	8,96	9,84	9,84	10,05	10,05	0	0	0	0														
20	<i>L. caesar</i>	12,29	9,41	9,64	9,64	9,85	10,3	9,41	9,41	9,22	9,41	10,3	10,3	10,94	10,94	4,15	4,15	4,15	4,15	4,15													
21	<i>H. ignava</i>	13,21	12,97	13,2	13,2	13,43	10,71	11,16	11,16	11,19	11,16	11,15	11,15	15,27	15,27	10,05	10,05	10,05	10,05	10,51	9,83												
22	<i>Ch. albiceps</i>	15,28	12,74	12,74	12,74	12,74	11,16	11,39	11,39	11,64	11,39	12,05	12,05	14,15	14,15	10,51	10,51	10,51	10,51	10,51	9,18	12,27											
23	<i>Ch. albiceps</i>	15,05	12,51	12,51	12,51	12,51	11,38	11,16	11,16	11,41	11,16	11,83	11,83	13,91	13,91	10,28	10,28	10,28	10,28	10,28	8,96	12,05	0,19										
24	<i>Ch. albiceps</i>	15,28	12,74	12,74	12,74	12,74	11,16	11,39	11,39	11,64	11,39	12,05	12,05	14,15	14,15	10,51	10,51	10,51	10,51	10,51	9,18	12,27	0	0,19									
25	<i>C. vomitoria</i>	12,75	11,22	11,22	11,22	11,44	9,85	10,3	10,3	10,32	10,3	11,63	11,63	10,96	10,96	6,01	6,01	6,01	6,01	6,01	5,8	10,71	10,06	9,84	10,06								
26	<i>C. vomitoria</i>	12,75	11,22	11,22	11,22	11,44	9,85	10,3	10,3	10,32	10,3	11,63	11,63	10,96	10,96	6,01	6,01	6,01	6,01	6,01	5,8	10,71	10,06	9,84	10,06	0							
27	<i>C. vicina</i>	12,07	10,3	10,3	10,3	10,52	10,31	10,07	10,07	10,09	10,07	10,29	10,29	11,62	11,62	5,79	5,79	5,79	5,79	5,79	5,58	11,6	8,98	8,76	8,98	4,15	4,15						
28	<i>C. vicina</i>	12,07	10,3	10,3	10,3	10,52	10,31	10,07	10,07	10,09	10,07	10,29	10,29	11,62	11,62	5,79	5,79	5,79	5,79	5,79	5,58	11,6	8,98	8,76	8,98	4,15	4,15	0					
29	<i>C. vicina</i>	11,84	10,08	10,08	10,08	10,3	10,08	9,84	9,84	9,87	9,84	10,07	10,07	11,39	11,39	5,58	5,58	5,58	5,58	5,58	5,37	11,38	8,76	8,54	8,76	4,36	4,36	0,19	0,19				
30	<i>C. vicina</i>	12,07	10,3	10,3	10,3	10,52	10,31	10,07	10,07	10,09	10,07	10,29	10,29	11,62	11,62	5,79	5,79	5,79	5,79	5,79	5,58	11,6	8,89	8,76	8,98	4,15	4,15	0	0	0,19			
31	<i>C. vicina</i>	12,07	10,3	10,3	10,3	10,52	10,31	10,07	10,07	10,09	10,07	10,29	10,29	11,62	11,62	5,79	5,79	5,79	5,79	5,79	5,58	11,6	8,89	8,76	8,98	4,15	4,15	0	0	0,19	0		
32	<i>C. vicina</i>	11,84	10,08	10,08	10,08	10,3	10,54	10,29	10,29	10,32	10,29	10,29	10,29	11,39	11,39	6	6	6	6	6	5,79	11,83	9,2	8,98	9,2	4,36	4,36	0,19	0,19	0,38	0,19	0,19	

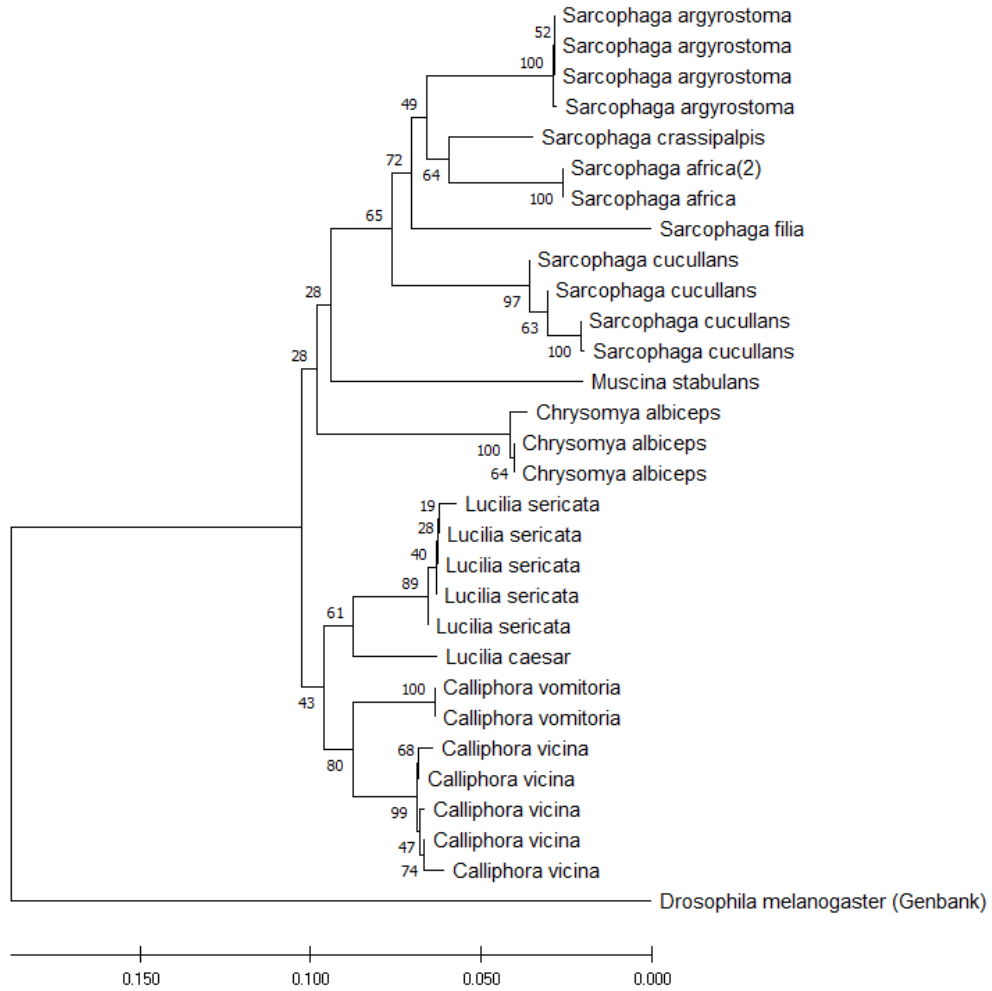
Şekil 3.1. Sitokrom c oksidaz I (COI) bölgesinin türler arası ve tür içi nükleotit farklılıklarının yüzdesel değerleri.

S. cucullans	TTATTTTGGGAGCTTGAGCAGGTATAGTAGGAACCTTCATTAAGAATTCCTTATTCGAGCGGAATTAGGTCAATCC
S. argyrostoma	.C.....A.....C.....A.....C.....
S. filia	.AT...CC.....G...C...C.....C.....A..A.....C.....
S. crassipalpis	.C..C.....A.....C.....C.....A.....C.....
S. africa	.C.....C.....A.....C.....C.....
M. stabulans	.T.....T...A.....CC...T..C..AG.A..A.T...A.....
H. ignava	.C.....T...T...A..A.T.....T..A.....A.....C.....
L. sericata	.T.....T..C..A..A.T.....T.....A.....T.....A.....
L. caesar	.T.....T..C...A.C.....T..A.....T.....A.C.....
C. albiceps	.C.....C.....T.T.A.....T.....A.....T.....A.....
C. vomitoria	.T.....T.....T..A..GA.T.....T..A.....T..C..G.....
C. vicina	.T.....T.....T..G..A..A.T.....A.....C..C..A.....
S. cucullans	ACGACCAAAATTTACAATGTAATGTTACAGCCCATGCTTTTATTATAATTTCTTTATAGTAATACCAATTAT
S. argyrostoma	.T..T.....T.....T.....T.....C.....
S. filia	.T..T.....T..C.....A.C.....C.....T.....
S. crassipalpis	.T..T.....T.....T.....T.....
S. africa	.T..T.....T.....C.....T.....
M. stabulans	.T.....T..C.....A.....T.....T..C.....G..T.....
H. ignava	.T..T.....T.....T...A.....T.....T.....
L. sericata	.T..T.....T.....T.....T.....G.....
L. caesar	.T.....T.....T.....T.....
C. albiceps	.T.....T.....A.....T..C.....
C. vomitoria	.T..T.....T.....T.....T.....
C. vicina	.T.....T.....T.....T.....
S. cucullans	ATTGACTAGTCCCACTTATACCTAGGAGCTCCAGATATAGCCTTTCTCGAATAAATAATATAAGTTTTTGACT
S. argyrostoma	.C.....T...A.....T.....T..C.....A.....
S. filia	.A.....A.....T.....T.....T..C..C.....
S. crassipalpis	.C..T.....T...A.....T.....C.....G.....C.....
S. africa	.T.....G...A.....C.....G.....C.....
M. stabulans	.T.....TT.A..T.....A.....A..C..C.....
H. ignava	.T..T...T.A..T.....C.....T.....T.....
L. sericata	.T.....T...T.A.....A.C.....
L. caesar	.T.....T..T.A..T.....C.....A.C.....
C. albiceps	.T.....T..T.A..T.....C.....T..C..A.....C.....
C. vomitoria	.T.....T..T.A..T.....C.....A.C.....C.....
C. vicina	.T.....T..T.A..T.....C.....G.....C.....C.....
S. cucullans	CTCTTCTTTCTAGTAAGTAGCATAGTAGAAAAACGGAGCTGGAAACAGGATGAACGTGTTTACCCCCATTATCATC
S. argyrostoma	.AT.A..A.....T.....T.....T.....T.....
S. filia	.A..C..C.....T.....G...C.....T.....TC.....
S. crassipalpis	.AT.G.....T.....T.....G..G.....T..T.....T.....
S. africa	.AT.G.....T.....T.....T.....A.....T..T.....T.....
M. stabulans	.AT.AT.A..T.....T.....T.....G..G.....T..T.....C.....T..T.....T.....
H. ignava	.AT.AT.AT.....A.....T.....T.....T.....T.....
L. sericata	.T.AT.AT.....T.....T.....A.....T..TC.....T.....
L. caesar	.T.AT.AT.....T.....T.....A.....T..T.....T.....
C. albiceps	.T.A..AT.....T.....T.....A.....T..A..T.....
C. vomitoria	.T.A..AT.....T.....T.....T.....T.....A..T.....T.....
C. vicina	.T.A..AT.....T.....T.....A.....T.....T.....
S. cucullans	GAGCTTCTGTGATTAGCTATTTTTCTTTACATTTAGCTGGAATTTCTCTCAATTTAGGAGCCAGTAATTT
S. argyrostoma	.C.....C.....T..C.....A.....T..T.....
S. filia	.C.....C.....C.....T.....T.....
S. crassipalpis	.C.....C.....C.....T.....T.....
S. africa	.C.....C.....C.....T.....C.....
M. stabulans	.A.....A.....A.....T.....T.....T.....
H. ignava	.C.....C.....T.....A.....T.....C.....T.....
L. sericata	.C.....C.....T.....A.....T.....T.....T.....
L. caesar	.C.....C.....T.....A.....A.....T.....T.....
C. albiceps	.A..A.....C.....C.....A.....A.....T.....T.....
C. vomitoria	.C.....C.....A.....A.....T.....T.....
C. vicina	.C.....C.....A.....A.....T.....T.....
S. cucullans	ATATGCGTTCTACAGGTATTACTTTTGATCGAATACCATTTGTTTGATCAGTAGTAATTACAGCTTTACT
S. argyrostoma	.A..A.....C.....C.....CC..T.....C.....
S. filia	.A..A..C.....C.....C.....T.....T.....T.....
S. crassipalpis	.A..A.....A.....C.....T.....A.....C.....CC.....
S. africa	.A..A..A.....A..C.....T.....A.....T.....C.....CC.....
M. stabulans	.A..A..C.....T.A.....T.....C.....A.....T.....
H. ignava	.A..A..A..T..A.....C.....T.....T.....T.....C..TT.....
L. sericata	.A..A..A.....A.....C.....T.....C.....T.....
L. caesar	.A..A..A.....A.....C.....T.....C.....T.....
C. albiceps	.A..A.....A..C..A.....T.....C..A.....T.....T.....C..T.....
C. vomitoria	.A..A..A.....C..C.....C.....T.....C.....T.....
C. vicina	.A..A..A.....A..C..C.....T.....T.....T.....
S. cucullans	CAGTACTTGCTGGAGCAATTACTATCTATTAAACAGATCGAAACGTT
S. argyrostoma	.C.....A.....T.....T.....T.....TA.....
S. filia	.T.....C.....G.....T.....G.....TA.....
S. crassipalpis	.G.....A.....T.....T.....T.....TA.....
S. africa	.T.....C.....T.....T.....T.....TA.....
M. stabulans	.T..TT.A.....T.....A.....T.....T..TT.A.....
H. ignava	.T..T.A.....T.....T.....T.....T..TT.A.....
L. sericata	.T.A..A.....T.....A.....T.....C.....TC.....
L. caesar	.T.A.....T.....T.....T.....TC.....
C. albiceps	.T.A..C..T.....T.....T.....TT.A.....
C. vomitoria	.T.A..A.....T.....T.....TC.....
C. vicina	.T.A..A..T.....T.....T.....TC.....

Şekil 3.2. DNA dizilerinin hizalanarak birbirleri ile olan nükleotit farklılıklarını ve benzerliklerini gösteren şema

3.4. Filogenetik Ağaç Çizim Sonucu

Türlerin birbirleri ile akrabalık düzeyini anlamamızı sağlayan filogenetik ağaçlar, elde edilen diziler yardımıyla çizilmektedir. Bütün diziler Mega X yazılımına yüklendikten sonra ClustalW yazılımı yardımıyla hizalanmıştır. Hizalanan diziler Mega X yazılımı ile Neighbor-Joining Tree metodu kullanılarak K2P modeliyle 1000 bootstrap ile çizilmiştir (Şekil 3.3). Çalışmada dış grup olarak *Drosophila melanogaster* (Meigen, 1830) kullanılmıştır.



Şekil 3.3. Neighbor-Joining Tree metodu kullanılarak K2P modeliyle 1000 bootstrap ile çizilmiş filogenetik ağaç.

4.TARTIŞMA

Bu çalışmanın amacı Türkiye’de adli önemi olan Diptera takımının Calliphoridae (%54,3), Sarcophagidae (%37,1) Muscidae (%8,6) olmak üzere üç familyasından altı cinse ait 12 türü içeren 35 örneğin mtDNA COI gen bölgesinin dizi analizi ile morfolojik tanımlamalarını kesinleştirmek ve teşhis oranlarını değerlendirmektir.

Teşhisi yapılan Sarcophagidae familyasının türlerinin birbirlerine çok benzemesi morfolojik teşhisi zorlaştırmakta ve uzmanların taksonomik bilgilerinin güçlü olmasını gerektirmektedir. Sarcophagidae familyası için düzenlenmiş morfolojik teşhis anahtarı yok denecek kadar azdır. Var olan anahtarlarda bizim coğrafik faunamızdan farklı bölgelere aittir. Çalışmamızın bu eksikliğin giderilmesine katkı sağlayacağını umuyoruz. Yapılan morfolojik teşhisin doğruluğunu kanıtlamak için veritabanlarına Türkiye’den bu türlere ait dizilerin girilmesi gerekmektedir.

Jordaens ve arkadaşları Sarcophaga cinsi örneklerinin cesede ilk gelen türler olduğunu ve dişilerinin teşhisinin çok zor olduğunu ve sadece erkeklerin eril organlar yardımı ile teşhis edilebildiğini ve cesette en çok dişi örnek bulunduğunu çözüm olarak da mtDNA COI gen bölgesinin dizi analizi ile teşhis yapılmasının daha güvenli olduğunu bildirmişlerdir (Jordaens ve ark., 2013). Örneklerin çoğunluğunun dişi olmasının nedeni; dişilerin cesede gelme nedeninin beslenme, çiftleşme ve yumurta bırakmak olması oysa erkeklerin cesede gelme nedeninin ise sadece çiftleşmek ve beslenmek olması ile açıklanabilir. Dişi örneklerin tanımlanması için DNA bazlı yöntemlerle tür teşhisi yapılması zorunlu hale gelmiştir. Domuz cesedinden toplanıp morfolojik teşhisleri yapılan 35 örneğin 26 adeti (%74,28) dişi, sadece dokuz örnek (%25,72) erkek olarak tespit edilmiştir (Çizelge 3.1).

658 bp uzunluğundaki mitokondriyal COI geni fragmanı, 12 farklı sinek türü içeren 35 örnek için başarıyla amplifiye edildi ve dizilendi. Tüm Sarcophagidae familyasında olan örneklerimiz dışı olduğu için tür teşhisleri morfolojik olarak yapılamadı. Teşhis edilemeyen iki örneğin *S.cucullans* ve *H. ignava* olduğu anlaşılmıştır. Bununla birlikte COI geni kullanılarak barkodlama yöntemi sonucunda diğer örnekler başarı ile teşhis edilmişlerdir. Sarcophagidae türleri üzerinde yapılan moleküler çalışmalar kaynaklarda önemli bir yer tutmaktadır (Pohjoismaki ve ark., 2010; Guo ve ark., 2013; Rolo ve ark., 2013). Guo ve ark., Sarcophagidae türlerini ve gelişimsel basamaklarını kesin bir şekilde tespit etmenin, ölüm zamanı tahmininde esas rol oynadığını belirtmişlerdir. 2010-2012 yılları arasında Çin'in 19 farklı bölgesinden topladıkları 36 örnekle yaptıkları çalışmada, COI geninin 700 baz çiftlik fragmanı başarılı şekilde izole ederek analiz etmişlerdir. Rolo ve ark. (2013) adli olaylardaki Diptera türlerini göstermeyi ve bununla birlikte DNA barkodlama sistemini, cesetlerden toplanan leş sinekleri ile test etmeyi amaçlamışlardır. Bulgularımız literatür ile uyumludur.

Belirli bir gen bölgesinin dizi analizi ile tür teşhisinin yapıldığı GenBank ve BOLD veri tabanları, elde ettiğimiz sonuçları kendi bünyelerinde bulunan referans diziler ile karşılaştırma yaparak benzerlik sonuçlarını vermektedir. GenBank'ta bir türün teşhisinin yapılabilmesi için benzerlik oranının %98 den büyük olması gerekmektedir. Bu oran BOLD veri tabanı için %99 ve üzeridir. Her iki kütüphane içindeki depolanan türlere ait dizi sayısı arttıkça yapılan tür teşhis oranının doğruluğu da artmaktadır. GenBank ve BOLD veri tabanlarının tür tanımlama kapasitelerini karşılaştırmak amacıyla oluşturulan Çizelge 3.4'te görüldüğü gibi GenBank da taranan 35 örnekten 33 (%94,3) tanesi %98-100 arası benzerlik yüzdesi ile sonuç vermiştir. İki (%4,7) örnek ise %92-%93 arası tanımlama yüzdesi ile sonuç vermiştir. Bu iki örnekten UNW2 kodlu örneğin dizi analizi sonuçlarının kötü gelmesinden dolayı benzerlik oranının düşük geldiği düşünülmektedir. Fakat SAR9 kodlu örneğin dizi sonuçları kötü olmamasına rağmen benzerlik oranı %92,88 oranında *S.filia* olarak sonuç vermiştir. Bunun sebebinin GenBank da *S.filia* ya ait sadece on dizinin bulunmasından kaynaklı olduğu düşünülmektedir. BOLD veri tabanında taranan 35 örnekten 26 (%74,3) tanesi tür düzeyinde %99-100 arası benzerlik yüzdesinde sonuç

vermiştir. SAR9 ve UNW2 kodlu iki (%5,7) örneğin ise BOLD veri tabanı taramalarından sonuç alınamamıştır. Yedi (%20) örnek ise BOLD veri tabanında sadece cins düzeyinde teşhis edilebilmiştir (Çizelge 3.3). İki moleküler veri tabanı olan GenBank ve BOLD arasındaki karşılaştırmada, GenBank veri tabanının BOLD veri tabanından daha iyi sonuç verdiği görülmüştür. Bunun nedeni, BOLD veri tabanının GenBank'a nazaran daha yeni ve özel bir veri tabanı, GenBank kütüphanesinin ise daha kapsamlı veriye sahip olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Ren ve arkadaşları yaptıkları çalışmada 12 tür den oluşan 51 muscid örneğini GenBank da bulunan kullanılabilir 125 muscid dizisi ile karşılaştırarak COI geninin kullanılabilirliğini değerlendirmişler ve sonuç olarak GenBank da bulunan muscid verileri 51 örneğin hepsini teşhis etmek için yeterli olmamıştır. Bu sebeple gelecek çalışmalarda hata olmaması ve türler arası yakınlığın tespiti için daha fazla muscid türünün bilgisinin veri bankasına girilmesi gerektiğini savunmuşlardır (Ren ve ark. 2018). GenBank ve BOLD tarama sonuçlarından elde edilen veriler literatür ile uyumludur.

DNA barkodlama ile türleri ayırt etmek için %3 eşik değeri kullanılmaktadır. Çizelge 3.5 de görüldüğü üzere tür içi genetik mesafe %3 den düşük olmak zorundadır. Türler arası mesafe ise %3 den büyüktür. Çalışmada kullandığımız türler arasında genetik olarak en uzak olan örnekler %15.28 ile *S.filia* ve *Ch. albiceps* olduğu gözlenmiştir (Çizelge 3.5). Park ve ark. (2009), Calliphoridae familyasına ait 4 türün COI geninin tamamını analiz etmişlerdir ve tür içi dizi aralığının %0.0'dan 0.4'e kadar çeşitlilik gösterirken türler arası mesafenin % 3.8'den 6.4'e çeşitlilik gösterdiğini çalışmalarında görmüşlerdir. Bu yakın aralıkların tür düzeyinde teşhisin COI geninin dizilenmesiyle mümkün olduğunu belirtmişlerdir. Hesaplanan tür içi ve türler arası genetik mesafe sonuçları literatür ile uyumludur.

COI geninin tür içi ve türler arası varyasyonu tespit etmedeki başarısı sayesinde türlerin birbirleri ile olan genetik bağınyı yani akrabalık ilişkisini ortaya koyan filogenetik ağaç çizilmiştir. Şekil3.1 de görüldüğü üzere aynı familyadan olan türler birbirlerine daha yakın dallarda görülürken çalışmada kullanılan türlere yapı

itibari ile benzemeyen dış grup olarak kullanılan *D.melanogaster* in diğer türlerden çok uzakta dallanma gösterdiği anlaşılmıştır.

Türkiye'de, adli entomoloji geliştirmekte olan bir alandır. Birçok vakada olay yerinden entomolojik deliller toplanmamaktadır. Bunun en önemli sebeplerinden biri tür teşhisini yapabilecek uzman sayısının azlığı ve morfolojik teşhisin zorluğudur. Adli entomoloji çalışmalarında tür teşhisi en önemli basamaktır. Olay yerinden toplanan her böceğin teşhisi için hali hazırda kullanılmakta olan morfolojik özelliklere göre bir teşhis anahtarı yoktur, olan morfolojik teşhis anahtarları da sayılı türler içindir. Böceklerin morfolojik özellikleri oldukça karmaşıktır ve uzman olmayan bir gözün yapacağı yanlış teşhis ölüm zamanının hesaplanmasında da hatalara neden olacaktır. Yapılan çalışmalarda morfolojik metotların genel olarak tüm dünyada halen kullanılmakta olduğu ancak örneklerin kimliklendirilmesinde moleküler tekniklerin daha kesin sonuç verdiği ve COI geninin bu amaç için iyi bir saptama kriteri olduğu belirtilmiştir (Preativatanyou ve ark. 2010, Boehme ve ark. 2012, Farinha ve ark. 2014).

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sunulan tezimizde mtDNA COI geninin bir kısmı amplifiye edilmiş ve dizi analizi sonucunda Diptera takımından üç ayrı familyaya ait toplamda 12 farklı türden 35 örnek başarıyla tanımlanmıştır. Elde edilen dizilerin GenBank sonuçları ve morfolojik teşhisler karşılaştırıldığında GenBank tarafından morfolojik teşhisler başarıyla desteklenmiştir. GenBank ve BOLD arasındaki karşılaştırmada, GenBank veri tabanının daha çeşitli türlerin dizilerini bünyesinde barındırması ve BOLD veri tabanının genç bir sistem olması sebebiyle GenBank'ın tür teşhisinde daha başarılı sonuçlar verdiği görülmüştür. Türlerin evrimsel genetik yakınlığını gösteren filogenetik ağaç çizilmiştir.

Yapılan bu çalışmalar ışığında adli entomoloji raporlarının mitokondriyal analizler yapılarak oluşturulması gerektiği görüşündeyiz. Mahkeme ve Savcılıkların adli entomolojik inceleme taleplerinde bu hususu göz önünde bulundurmaları yararlı olacaktır.

Adli önemi olan böcek türleri için kapsamlı bir yerel DNA kataloğu Türkiye'de henüz derlenmemiştir. Yerel DNA dizilerinin kataloglanması da dahil olmak üzere kapsamlı yerel fauna envanterlerine ihtiyaç vardır. Bu nedenle Türkiye'de adli önemi olan türlerle ilgili olarak daha fazla faunistik çalışma yapılması ve bu çalışmalardan elde edilen mtDNA COI barkodları için GenBank ve BOLD kütüphanelerinden erişim katılım numarası alınması gerektiği düşüncesindeyiz.

Bu çalışmada maliyeti düşürmek amacıyla fenol-kloroform DNA izolasyonu metodu uygulandı. Gelecek çalışmalarda maliyeti düşürme üzerine çalışılarak bu işlemleri rutin hale getirmeye çalışılmalıdır. DNA dizi analizi işlemlerinde kullanılan çok fazla yazılım mevcuttur. Her işlem için farklı bir yazılım kullanmak hesaplamalardaki hata oranını artırabilir. Bu çalışmanın tamamının MEGAX yazılımı

ile yapılması, sadece hata oranını minimuma indirmekte kalmayıp zamandan kazanç sağlamaktadır.

Olay yerine giden kolluk kuvvetlerinin, hakim, savcı ve hekimlerin farkındalığının arttırılmasının adli bilimcilerin yerel DNA ve fauna kataloğundan yararlanmasının sağlanmasının Türkiye’de yapılacak çalışmalarda daha doğru sonuçlar elde edilmesini sağlayacağı kanısındayız.



ÖZET

Adli Önemi olan Diptera Türlerinin mtDNA COI Gen Analizi ile Genetik Teşhisi

Adli entomoloji, eklem bacaklıların incelenmesiyle suçun açığa çıkarılmasını sağlayan disiplinler arası bir bilim dalıdır. Ölümden sonra geçen süre kısaysa geleneksel adli tıp yöntemleri ile ölüm zamanı doğru bir şekilde hesaplanmakla birlikte ölüm üzerinden geçen süre uzadıkça geleneksel adli tıp yöntemleri yetersiz kalabilir. Bu durumda ceset üzerindeki böceklerin incelemesi ile kesin ölüm zamanının belirlenmesi elverişli bir yöntem olarak karşımıza çıkar. Adli entomolojinin adli olaylarda etkili bir şekilde uygulanması tür teşhisinin doğru yapılmasına bağlıdır. Laboratuvara gelen böceğin morfolojik teşhisinin yapılması tüm dünyada uygulanan bir yöntemdir Böceğin karakteristik morfolojik özellikleri kullanıldığı için örneklerin toplanması ya da nakli sırasında fiziksel hasar gördüğü durumlarda türünü yanlış teşhis etmek ya da hiç edememek bu yöntemi sınırlayan unsurlardan biridir. Yanlış yapılan tür teşhisi, ölüm zamanının da yanlış hesaplanmasına neden olur. Günümüzde adli entomoloji çalışmalarında hızlı ve doğru tür teşhisi için COI gen bölgesinin kullanımı araştırmacılar arasında yaygınlaşmaya başlamıştır.

Bu tezin amacı; Türkiye’de adli önemi olan Diptera takımına ait 12 türün mtDNA sitokrom c oksidaz alt ünite I gen bölgesi hedeflenerek genetik teşhisleri ile morfolojik tanımlamaları kesinleştirmek ve bu teşhisleri yapmamızı sağlayan GenBank ve BOLD veri tabanlarının teşhis oranlarını karşılaştırmaktır. Sonuç olarak 12 tür den oluşan 35 örneğin dizi analizi ile tür teşhisleri yapıldı. GenBank ve BOLD veri tabanları arasındaki karşılaştırmada GenBank’ın daha fazla türü teşhis ettiği belirlendi. Maliyeti düşürmek amacıyla fenol-kloroform-izoamil alkol DNA izolasyonu metodu uygulandı. MEGAX yazılımı kullanılarak hem hesaplamalarda hata oranı minimuma indirildi hem de zaman tasarrufu sağlandı.

Anahtar Sözcükler: Adli entomoloji, COI, Diptera, GenBank, mtDNA

SUMMARY

Genetic Identification of Diptera Species having Forensic Importance Using mtDNA COI Gen Analysis

Forensic entomology is an interdisciplinary science which helps solving the crime by examining the Arthropoda. If the time elapsed after death is short, time of death can be calculated accurately using conventional forensic methods, but conventional forensic methods might be inadequate as the time elapsed after death is extended. In that case, estimation of the exact time of death by examining the insects on the body is a convenient method. Implementation of forensic entomology in forensic cases effectively depends on accurate identification of the species. Morphological identification of the insect that transfers to the laboratory is a method implemented throughout the world. As characteristic morphological features of the insect are used, misidentification of the species or inability to identify the species in the cases where it is damaged physically during collection or transportation of samples is one of the factors that limit this method. Inaccurate identification of the species causes that time of death is calculated wrong as well. Today, using the COI gene region for quick and accurate identification of species in forensic entomology studies is becoming popular among researchers.

The aim of this thesis is to confirm genetic identifications and morphological definitions of 12 species in Diptera order that have forensic importance in Turkey by targeting their mtDNA Cytochrome c oxidase subunit I gene region and compare the identification rates of GenBank and BOLD databases which enable us to make those identifications. As a conclusion, species identifications of 35 samples of 12 species were made by sequence analysis. In the comparison between GenBank and BOLD databases, it was determined that GenBank identified more species. To reduce costs, the phenol-chloroform-isoamyl alcohol DNA isolation method was carried out. Both error rate is minimized in calculations and time is saved by using MEGAX software.

Keywords: COI, Diptera, Forensic entomology, GenBank, mtDNA

KAYNAKLAR

- AÇIKGÖZ A (2008). İnsan cesetleri üzerinden toplanan entomolojik delillerle ölüm zamanı tayini. Doktora tezi, Ankara Üniversitesi Disiplinler Arası Adli Bilimler Anabilim Dalı.
- AÇIKGÖZ A, AÇIKGÖZ H (2018). Survey of necrophagous insects in forensic autopsies associated with human remains in Turkey. *Entomological News*, **127**: 14.
- AÇIKGÖZ H (2010). Adli entomoloji. *Türkiye Parazitol Derg*, **34**: 216-221.
- AÇIKGÖZ H (2018). Multiple drug analysis of *Chrysomya albiceps* larvae provides important forensic insights to unravel drug-associated mortalities. *Entomological News*, **128**: 9.
- AÇIKGÖZ H, AÇIKGÖZ A, (2007). Ölüm zamanı tahmininde kullanılan iki yöntemin karşılaştırılması., 19. Ulusal Biyofizik Kongresi.Konya, 5-7 Eylül 2007.
- AÇIKGÖZ H, AÇIKGÖZ A, (2008). Ben nerde öldüm?, 8. Adli Bilimler Kongresi.Kocaeli-Turkey.
- AÇIKGÖZ H, HANCI İ, ÇETİN G (2002). Adli olaylarda böceklerden nasıl yararlanılır? *Ankara Üniversitesi Hukuk Fakültesi Dergisi*, **51**: 117-125.
- AÇIKGÖZ H, KILINÇARSLAN L, AÇIKGÖZ A (2012). Roles of Acari in forensic medicine. *Türkiye Klinikleri Adli Tıp Dergisi*, **9**.
- AÇIKGÖZ H, KÖSE S, AÇIKGÖZ A (2016). Determination of early colonizer urban blowfly species using small bait traps on a university campus. *Pak J Zool*, **49**: 117-124.
- AKBARZADEH K, WALLMAN J, SULAKOVA H, SZPILA K (2015). Species identification of Middle Eastern blowflies (Diptera: Calliphoridae) of forensic importance. *Parasitol Res*, **114**: 1463-1472.
- AKDEMİR A (2005). Samsun ilinde post-mortal dönemde insanda gelişen böcek türlerinin saptanması. Yüksek Lisans Tezi, O.M.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma (A.D.) Programı.
- AKSOY H (2009). Bazı Calliphoridae (Diptera) türlerinin gelişim aşamaları üzerine çalışmalar. Yüksek Lisans Tezi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı.

- AKTAY G, AÇIKGÖZ H, HANCI I (2003). Adli bilimlerde yeni bir araştırma alanı: Entomotoksikoloji. *Adli Bilimler Dergisi*, **2**: 25-31.
- ALTUNSOY F, BAŞARAN A (2011). Effects of thallium on the larval development of *Lucilia sericata* Meigen 1826 and PMI estimation. *Anadolu Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi - C Yaşam Bilimleri ve Biyoteknoloji*, **1**.
- AMENDT J, KRETTEK R, ZEHNER R (2004). Forensic entomology. *Naturwissenschaften*, **91**: 51-65.
- AMES C, TURNER B, DANIEL B (2006). The use of mitochondrial cytochrome oxidase I gene (COI) to differentiate two UK blowfly species *Calliphora vicina* and *Calliphora vomitoria*. *Forensic Sci Int*, **164**: 179-182.
- BAĞRIAÇIK N (2007). Entomotoksikoloji. *Toksikoloji Dergisi*, **5**: 5-8.
- BATTAL D, GÜLMEN M, HILAL A (2004). Entomotoksikoloji ve adli tıpta kullanımı. *Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, **20**.
- BAYRAKAL V, AÇIKGÖZ H (2004). Tavsan leşi üzerine gelen Sarcophagidae ve Calliphoridae (Ordo: Diptera) türlerinin neden olduğu harabiyetin İncelenmesi. 11. Ulusal Adli Tıp Günleri Paneller ve Poster Sunuları, Antalya-Turkey, T.C. Adalet Bakanlığı Adli Tıp Kurumu.
- BENECKE M (2001). A brief history of forensic entomology. *Forensic Sci. Int.*, **120**: 2-14.
- BENECKE M (2005). Arthropods and corpses. Book title. Humana Press, **2**: 207-240.
- BOEHME P, AMENDT J, DISNEY RH, ZEHNER R (2010). Molecular identification of carrion-breeding scuttle flies (Diptera: Phoridae) using COI barcodes. *Int. J. Legal Med.*
- BOEHME P, AMENDT J, ZEHNER R (2012). The use of COI barcodes for molecular identification of forensically important fly species in Germany. *Parasitology Research*, **110**: 2325-2332.
- BYRD J, CASTNER J (2001). Forensic entomology: The utility of arthropods in legal investigations, Law enforcement net base CRC Press, Boca Raton.
- CATTS E (1990). Analyzing entomological data. Book title. Joyce's Print Shop, Clemson, South Carolina. 125.
- CHARABIDZE D, DEPEME A, DEVIGNE C, HEDOUIN V (2015). Do necrophagous blowflies (Diptera: Calliphoridae) lay their eggs in wounds?: Experimental data and implications for forensic entomology. *Forensic Science International*, **253**: 71-75.

- CHEN WY, HUNG TH, SHIAO SF (2004). Molecular identification of forensically important blow fly species (Diptera: Calliphoridae) in Taiwan. *J Med Entomol*, **41**: 47-57.
- CONTRIBUTORS WC (2007). Housefly anatomy key. Erişim Adresi: [https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Housefly_anatomy-key.svg]. Erişim Tarihi:12/07/2020
- DAĞLIOĞLU N, AÇIKGÖZ H, GÖREN İ, DIVRAK D, EFEOĞLU P, GÜLMEN M, (2013). *Chrysomya albiceps* (Diptera: Calliphoridae) larvalarda çoklu ilaç analizi:Entomotoksikolojik ön çalışma, X.Adli Bilimler Sempozyumu 2013.
- DAVIES L (2006). Life time reproductive output of *Calliphora vicina* and *Lucilia sericata* in outdoor caged and field populations; flight vs. Egg production? *Medical and Veterinary Entomology*, **20**: 453-458.
- ERZİNÇLİOĞLU Z (1996). Blowflies, Richmond Publishing Co. Ltd, Slough. ii + 71 pp.
- FARINHA A, DOURADO CG, CENTEIO N, OLIVEIRA AR, DIAS D, REBELO MT (2014). Small bait traps as accurate predictors of dipteran early colonizers in forensic studies. *Journal of Insect Science*, **14**: 77.
- FAZLIOĞLU GY, KUBANÇ C, KOLUSAYIN MÖ (2014). Identification of Diptera families families in fauna of Thrace: First record of *Muscina stabulans* for forensic entomology. *J For Med*, **28**: 41-52.
- FEDAKAR R (2003). Entomotoksikoloji. *Adli Tıp Dergisi*, **17**: 69-73.
- FOLMER 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.
- FREDERICKX C, DEKEIRSSCHIETER J, VERHEGGEN F, HAUBRUGE E (2011). L'entomologie forensique, les insectes résolvent les crimes. *Entomologie faunistique – Faunistic Entomology*, **63**: 237-249.
- GENNARD D (2007). Forensic entomology: An introduction, John Wiley & Sons Ltd., England. 2-3.
- GEORGE KA, ARCHER MS, TOOP T (2013). Nocturnal colonization behavior of blowflies (Diptera: Calliphoridae) in Southeastern Australia. *J Forensic Sci*, **58**: S112-116.
- GILARRIORTUA M, SALOÑA BORDAS MI, KÖHNEMANN S, PFEIFFER H, DE PANCORBO MM (2014). Molecular differentiation of Central European blowfly species (Diptera, Calliphoridae) using mitochondrial and nuclear genetic markers. *Forensic Science International*, **242**: 274-282.

- GOFF ML, LORD WD (1994). Entomotoxicology. A new area for forensic investigation. *Am J Forensic Med Pathol*, **15**: 51-57.
- GREENBERG B, KUNICH J (2002). Entomology and the law: Flies as forensic indicators, Cambridge University Press.
- GUO Y, ZHA L, YAN W, LI P, CAI J, WU L (2013). Identification of forensically important Sarcophagid flies (Diptera: Sarcophagidae) in China based on COI and period gene. *Int. J. Legal Med.*, **128**: 221-228.
- HALL M, MARTÍN-VEGA D (2019). Visualization of insect metamorphosis. *Phil. Trans. R. Soc. B*, **374**.
- HALL R, HUNTINGTON T (2001). Introduction: Perceptions and status of forensic entomology. Book title. CRC Press, Boca Raton. 1-16.
- HANCI İH, Ed. (2002). Adli entomoloji. Adli tıp ve adli bilimler. Ankara, Seçkin Yayıncılık San ve Tic AŞ.
- HANCI İH (2003). Adli entomoloji. *TBB Dergisi*, **49**.
- HANCI İH, TÜZÜN A, AÇIKGÖZ H, BALSEVEN A, CANDAR S (2001). Adli entomoloji, Ankara.
- HARVEY ML, DADOUR IR, GAUDIERI S (2003). Mitochondrial DNA Cytochrome C oxidase I gene: Potential for distinction between immature stages of some forensically important fly species (Diptera) in Western Australia. *Forensic Sci Int*, **131**: 134-139.
- HEBERT P, CYWINSKA A, BALL S, DEWAARD J (2003a). Biological identification through DNA barcodes. *Proc. R. Soc. London, Ser. A*, **5**: 313-321.
- HEBERT PDN, RATNASINGHAM S, DEWAARD JR (2003b). Barcoding animal life: Cytochrome C oxidase subunit I divergences among closely related species. *Proceedings. Biological sciences*, **270**: S96-S99.
- HOMER (600 BC). Iliad, Free eBooks at Planet eBook.com, <https://www.planetebook.com/free-ebooks/the-iliad.pdf>. 509.
- HORTAÇ E, AÇIKGÖZ A, CEYLAN A, BÜKEN E, TALEB M, AÇIKGÖZ H, (2019). Microbiome and enviromental conditions: The first study from Turkey, 16th. Meeting of The European Association of Forensic Entomology, EAFE. France, EAFE.
- İLHAN C, DİK B, ZAMIRBEKOVA N (2018). Bir kedide *Lucilia sericata*'dan kaynaklanan travmatik myiasis olgusu. *Eurasian J Vet Sci*, **34**: 131-133.
- JORDAENS K, SONET G, RICHEL R, DUPONT E, BRAET Y, DESMYTER S (2013). Identification of forensically important Sarcophaga species (Diptera:

Sarcophagidae) using the mitochondrial COI gene. *Int. J. Legal Med.*, **127**: 491-504.

KANSU İA (2000). Genel entomoloji, Ankara:.

KARAPAZARLIOĞLU E (2004). Doğal ortamda domuz karkasları üzerine gelen arthropoda'ların ve süksesyonlarının belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma (A.D.) Programı.

KARATEPE M, YAĞCI Ş, KARATEPE B, KARAER Z (2005). Sığır kesim artıkları üzerinde gelişmelerini sürdüren myiasis sinekleri. *Türk. Parazitol. Derg.*, **29**: 271-274.

KAVITHA R, TAN T, LEE H, NAZNI W, SOFIAN A (2013). Molecular identification of Malaysian *Chrysomya megacephala* (Fabricius) and *Chrysomya rufifacies* (Macquart) using life stage specific mitochondrial DNA. *Tropical Biomedicine*, **30**: 211-219.

KEKİLLİOĞLU A, BAŞAR M (2019). Adli böceklerin (Arthropoda:Insecta) yüzeysel gömülerde ekolojik karakter ve kategorilerin incelenmesi. *Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi*, **12**: 18-21.

KILIÇ K, ARSLAN M, KARA M (2011). Kars'ta bir kadında *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae)'nın neden olduğu postoperatif yara myiasisi *Türk. Parazitol. Derg.*, **35**: 43-46.

KÖKDENER M (2016). Ölüm zamanı tayininde adli entomolojik delillerin kullanımı. *Gümüşhane Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, **5**: 105 - 110.

KUMAR S, STECHER G, LI M, KNYAZ C, TAMURA K (2018). Mega X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Mol Biol Evol*, **35**: 1547–1549.

LODISH H, BALTIMORE D, BERK A, ZIPURSKY S, MATSUDAIRA P, DARNEL J (2008). Molecular cell biology, Freeman, New York.

MA T, HUANG JP (2018). Characterization of the complete mitochondrial genome of *Hydrotaea spinigera* (Diptera: Muscidae) with phylogenetic implications. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, **4**: 1416-1423.

MADEA B (2017). History of forensic medicine, Lehmanns Media GmbH, Berlin, Germany.

MALEWSKI T, DRABER-MOŃKO A, POMORSKI J, ŁOŚ M, BOGDANOWICZ W (2010). Identification of forensically important blowfly species (Diptera: Calliphoridae) by high-resolution melting PCRR analysis. *Int. J. Legal Med.*, **124**: 277-285.

- MARTÍN-VEGA D, SIMONSEN TJ, WICKLEIN M, HALL MJR (2017). Age estimation during the blow fly intra-puparial period: A qualitative and quantitative approach using micro-computed tomography. *Int. J. Legal Med.*, **131**: 1429-1448.
- MÉGNIN P (1894). La faune de cadavres. Application de l'entomologie a la médecine légale, Gauthier-Villars et Fils, Paris.
- NELSON LA, WALLMAN JF, DOWTON M (2007). Using COI barcodes to identify forensically and medically important blowflies. *Medical and Veterinary Entomology*, **21**: 44-52.
- ÖZDAL N, DEĞER S (2005). Van ve yöresinde travmatik myiasis larvalarının gelişmeleri ve identifikasyonları. *YYÜ Vet Fak Derg*, **16**: 81-85.
- ÖZDEMİR E, İNAK E (2018). Adli entomolojide DNA ve entomotoksikoloji. *Adli Bilimler Dergisi*, **17**: 37-43.
- ÖZDEMİR S, SERT O (2009). Determination of Coleoptera fauna on carcasses in Ankara province, Turkey. *Forensic Sci Int*, **183**: 24-32.
- ÖZER Y, ŞAHİN M, YETER O, KARAPAZARLIOĞLU E, BÜYÜK Y, (2015). Akut eroin intoksikasyonunda erken ve geç post-mortem dönemde toksikoloji: Entomotoksikoloji değerli mi?, XII. ADLİ BİLİMLER KONGRESİ, ÇAYLI, E., DEMİRER, M., KÜPELİ, A., KAR, H.İsparta, Türkiye, İstanbul Adli Tıp Kurumu Başkanlığı.
- POHJOISMAKI J, KARHUNEN P, GOEBELER S, SAUKKO P, SAAKSJARVI I (2010). Indoors forensic entomology: Colonization of human remains in closed environments by specific species of sarcosaprophagous flies. *Forensic Sci Int*, **199**: 38-42.
- ROLO EA, OLIVEIRA AR, DOURADO CG, FARINHA A, REBELO MT, DIAS D (2013). Identification of sarcosaprophagous Diptera species through DNA barcoding in wildlife forensics. *Forensic Science International*, **228**: 160-164.
- SABANOĞLU B, SERT O (2010). Determination of Calliphoridae (Diptera) fauna and seasonal distribution on carrion in Ankara province. *J Forensic Sci.*, **55**: 1003-1007.
- SAIGUSA K, MATSUMASA M, YASHIMA Y, TAKAMIYA M, AOKI Y (2009). Practical applications of molecular biological species identification of forensically important flies. *Leg. Med. (Tokyo)*, **11**: S344-347.
- SAITOU N, NEI M (1987). The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*, **4**: 406-425.

- SALEM AM, ADHAM FK, PICARD CJ (2015). Survey of the genetic diversity of forensically important *Chrysomya* (Diptera: Calliphoridae) from Egypt. *Journal of Medical Entomology*, **52**: 320-328.
- SANAA M, WEN J (2013). Applicability of partial characterization of Cytochrome oxidase I in identification of forensically important flies (Diptera) from China and Egypt. *Parasitology Research*, **112**: 2667-2674.
- SAVRAN B, KOÇ S, ÇETİN G, KOLUSAYIN Ö (1994). Adli entomoloji. *Adli Tıp Dergisi*, **10**: 143-152.
- SHAYYA S, DEBRUYNE R, NEL A, AZAR D (2018). Forensically relevant blow flies in Lebanon survey and identification using molecular markers (Diptera: Calliphoridae). *Journal of Medical Entomology*, **55**: 1113-1123.
- SMITH K (1986). A manual of forensic entomology, University Printing House, Oxford.
- SPERLING FA, ANDERSON GS, HICKEY DA (1994). A DNA-based approach to the identification of insect species used for postmortem interval estimation. *J Forensic Sci*, **39**: 418-427.
- SZPILA K. (2012, 2019). Key for identification of European and Mediterranean blowflies (Diptera: Calliphoridae) of medical and veterinary importance adult flies. http://www.eafe.org/Members_area_files/Szpila_key_blowflies_imago.pdf.
- TÜZÜN A, AÇIKGÖZ HN, (2002). Olay yerinden entomolojik delillerin toplanması ve saklanması, I. Anadolu Adli Bilimler Kongresi.Erzincan.
- TÜZÜN A, MURAT HG, BİLGİLİ G (2015). Forensic acarology. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, **8**: 54 - 56.
- TÜZÜN A, YÜKSEL S (2007). Postmortem İnterval'in saptanmasında adli entomoloji. *Türkiye Klinikleri J.Foren.Med*, **4**: 23-32.
- TZ'U S (1981). The washing away of wrongs: Forensic medicine in thirteenth century China, Ann Arbor: Center for Chinese Studies, The University of Michigan.
- UĞUR F (2019). İstanbul'da adli bilimler açısından önemli ergin Calliphoridae türlerinin DNA temelli yöntemlerle belirlenmesi. Yüksek Lisans, Üsküdar Üniversitesi Bağımlılık ve Adli Bilimler Enstitü.
- VANEZIS P, KENSSGE C, KNIGHT B, KROMPECHER T, MADEA B, NOKES L (1996). Estimation of time since death in the early postmortem period *Medicine Science and the Law*, **36**: 359-359.
- WAUGH J (2007). DNA barcoding in animal species: Progress, potential and pitfalls. *Bioessays*, **29**: 188-197.

- WELLS JD, SPERLING FA (2001). DNA-based identification of forensically important Chrysomyinae (Diptera: Calliphoridae). *Forensic Sci Int*, **120**: 110-115.
- WHITAKER A, HALL M (2008). Forensic entomology: Using insects to solve crime. *Catalyst*, **19**: 1-3.
- YOVANOVITCH G (1888). Entomologie appliquée à la médecine légale, Ollier-Henry, Paris.
- YÜKSEL Y, KÜTÜK M, ÇETİN G, KURT K, (2007a). The comparison of findings from two different experimental field studies on insect fauna visiting, decaying animal liver in İstanbul, 5th Meeting of the European Association for Forensic Entomology.Brussels--Belgium.
- YÜKSEL Y, KÜTÜK M, ÇETİN G, KURT K, (2007b). An initial study on insect fauna visiting a decaying animal liver: An experimental field study in İstanbul, 5th Meeting of the European Association for Forensic Entomology.Brussels-Belgium.

EKLER

Ek-1. Örneklerin kullanımı için Başkent Üniversitesi Tıp ve Sağlık Bilimleri Araştırma Kurulundan alınan izin belgesi



Sayı : 94603339-604.99/ 4564
Konu : Abdullah Zübeyir Ceylan'ın Tez
Çalışmasında Kullanılacak Materyal
Hk.

11/03/2019

İlgili Makama

Adli Tıp Anabilim Dalında görev yapmakta olan Prof. Dr. Erhan Büken tarafından yürütülmekte olan Abdullah Zübeyir Ceylan'ın da araştırmacı olarak görev aldığı DA18/19 nolu "Domuz cesedine *Sus scrofa domesticus* (Linnaeus, 1758) gelen böceklerin süksesyonunun belirlenmesi ile ölüm zamanı tahmini" başlıklı araştırma projesinde domuz cesetlerine gelen ergin Diptera türlerinin bıraktığı yumurta ve larvaların laboratuvar ortamında geliştirilmesiyle oluşan pulpalardan çıkanlar erginlerin toplanması ile elde edilen ve önceki çalışmada kullanılanlardan arta kalan numunelerin "entomolojik materyalin" Prof. Dr. Lale Tufan yönetiminde gerçekleştirilmesi planlanan "Adli önemi olan Diptera türlerinin mtDNA COI gen analizi ile genetik teşhisi" başlıklı tezde, tür tanımlama ve mtDNA analizinde kullanılması Kurulumuz tarafından uygun bulunmuştur.

İşbu belge adı geçen in isteği üzerine düzenlenmiş olup bilgilerinizi rica ederim.

e-imzalıdır
Prof. Dr. Hakan ÖZKARDEŞ
Kurul Başkanı

Doğrulama Adresi: http://ebys.baskent.edu.tr/en/Vision/Validate_doc.aspx?V-BESNATYA

Taşkent Caddesi (Eski 1. Caddesi) 77. Sokak (Eski 16. Sokak) No:11 06490 Bahçelievler / Ankara
Birim Telefon No: 0 312 212 90 63 Faks No: 0 312 221 37 59
E-Posta: arastirma@baskent.edu.tr İnternet Adresi: www.baskent.edu.tr

Bilgi İçin: Liliye TAŞBİLEK
Unvan: Sekreter
Telefon No: 2129065-2228



Bu belge, 5070 sayılı Elektronik İmza Kanununa göre Güvenli Elektronik İmza ile imzalanmıştır.

Ek-2. COI Bölgesi Dizi Analiz Sonuçları

Örnek kodu	DİZİ SONUCU
SAR1 <i>Sarcophaga argyrostoma</i>	CATAAAGATATTGGAACCTTTATATTTTATTTTCGGAGCTTG AGCAGGAATAGTAGGAACCTTCACTAAGAATCCTAATTCGA GCAGAACTAGGTCACCCTGGTGCAATTAATTGGAGATGATC AAATTTATAATGTAATTGTTACAGCTCATGCTTTTATTATA ATTTTTTTTATAGTAATACCAATCATAATTGGAGGATTTGG AACTGACTAGTTCCAATTATACTAGGAGCTCCAGATATA GCTTTCCTCGAATAAATAATATAAGATTTTGACTTTTACC TCCTGCATTAACATTACTACTAGTAAGTAGTATAGTAGAAA ATGGAGCTGGAACAGGATGAACTGTTTACCCTCCTTTATCA TCTAATATTGCTCATGGAGGAGCTTCTGTTGATCTAGCTAT TTTTTCTCTTCACTTAGCTGGAATTTCTTCAATTTTAGGAGC AGTAAATTTTATTACTACAGTAATTAATATACGATCTACAG GTATTACTTTTGATCGAATACCCCTTTTTGTTTGATCAGTAG TAATTACCGCTTTACTTCTCCTTCTATCCCTACCCGTACTTG CAGGAGCAATTACTATATTATTAAGTACCGAAATATTAAT ACTTCATTTTTTGATCCAGCAGGAGGAGAGATCCAATTCT ATATCAACACTTATTTTGATTTTTTGGTCACCC
SAR2 <i>Sarcophaga argyrostoma</i>	TATTGGAACCTTTATATTTTATTTTCGGAGCTTGAGCAGGAA TAGTCGAACCTTCACTAAGAATCCTAATTCGAGCAGAACTA GGTCACCCTGGTGCAATTAATTGGAGATGATCAAATTTATAA TGTAATTGTTACAGCTCATGCTTTTATTATAATTTTTTTTAT AGTAATACCAATCATAATTGGAGGATTTGGAACTGACTA GTTCCAATTATACTAGGAGCTCCAGATATAGCTTTCCTCG AATAAATAATATAAGATTTTGACTTTTACCTCCTGCATTAA CATTACTACTAGTAAGTAGTATAGTAGAAAATGGAGCTGG AACAGGATGAACTGTTTACCCTCCTTTATCATCTAATATTG CTCATGGAGGAGCTTCTGTTGATCTAGCTATTTTTTCTCTTC ACTTAGCTGGAATTTCTTCAATTTTAGGAGCAGTAAATTTT ATTACTACAGTAATTAATATACGATCTACAGGTATTACTTT TGATCGAATACCCCTTTTTGTTTGATCAGTAGTAATTACCG CTTACTTCTCCTTCTATCCCTACCCGTACTTGCAAGGAGCA ATTACTATATTATTAAGTACCGAAATATTAATACTTCATT TTTTGATCCAGCAGGAGGAGGAGATCCAATTCTATATCAA CACTTATTTTGATTTTTTGGTCACC

SAR3 <i>Sarcophaga argyrostoma</i>	ATAAAGATATTGGAACCTTTATATTTTATTTTCGGAGCTTGA GCAGGAATAGTAGGAACCTTCACTAAGAATCCTAATTTCGAG CAGAACTAGGTCACCCTGGTGCATTAATTGGAGATGATCA AATTTATAATGTAATTGTTACAGCTCATGCTTTTATTATAAT TTTTTTTATAGTAATACCAATCATAATTGGAGGATTTGGAA ACTGACTAGTTCCAATTATACTAGGAGCTCCAGATATAGCT TTCCCTCGAATAAATAATATAAGATTTTGACTTTTACCTCC TGCATTAACATTACTACTAGTAAGTAGTATAGTAGAAAAT GGAGCTGGAACAGGATGAACTGTTTACCCTCCTTTATCATC TAATATTGCTCATGGAGGAGCTTCTGTTGATCTAGCTATTT TTTCTCTTCACTTAGCTGGAATTTCTTCAATTTTAGGAGCAG TAAATTTTATTACTACAGTAATTAATATACGATCTACAGGT ATTACTTTTGATCGAATACCCCTTTTTGTTTGATCAGTAGTA ATTACCGCTTTACTTCTCCTTCTATCCCTACCCGTACTTGCA GGAGCAATTACTATATTATTAAGTACCGAAATATTAATAC TTCATTTTTTGATCCAGCAGGAGGAGGAGATCCAATTCTAT ATCAACACTTATTTTGATTTTTTGGTCACCC
SAR4 <i>Sarcophaga argyrostoma</i>	TCATAAAGATATTGGAACCTTTATATTTTATTTTCGGAGCTT GAGCAGGAATAGTAGGAACCTTCACTAAGAATCCTAATTTCG AGCAGAACTAGGTCACCCTGGTGCATTAATTGGAGATGAT CAAATTTATAATGTAATTGTTACAGCTCATGCTTTTATTAT AATTTTTTTTATAGTAATACCAATCATAATTGGAGGATTTG GAAACTGACTAGTTCCAATTATACTAGGAGCTCCAGATAT AGCTTTCCCTCGAATAAATAATATAAGATTTTGACTTTTAC CTCCTGCATTAACATTACTACTAGTAAGTAGTATAGTAGAA AATGGAGCTGGAACAGGATGAACTGTTTACCCTCCTTTATC ATCTAATATTGCTCATGGAGGAGCTTCTGTTGATCTAGCTA TTTTTCTCTTCACTTAGCTGGAATTTCTTCAATTTTAGGAG CAGTAAATTTTATTACTACAGTAATTAATATACGATCTACA GGTATTACTTTTGATCGAATACCCCTTTTTGTTTGATCAGTA GTAATTACCGCTTTACTTCTCCTTCTATCCCTACCCGTACTT GCAGGAGCAATTACTATATTATTAAGTACCGAAATATTA ATACTTCATTTTTTGATCCAGCAGGAGGAGGAGATCCAATT CTATATCAACACTTATTTTGATTTTTTGGTC
SAR5 <i>Sarcophaga cucullans</i>	TCAACAAATCATAAAGATATTGGAACCTTTATACTTTATTTT GGGAGCTTGAGCAGGTATAGTAGGAACCTTCATTAAGAATT CTTATTCGAGCGGAATTAGGTCATCCTGGTGCATTAATTGG AGACGACCAAATTTACAATGTAATTGTTACAGCCCATGCTT TTATTATAATTTCTTTATAGTAATACCAATTATAATTGGA GGATTTGGAAATTGACTAGTCCCACTTATACTAGGAGCTCC

	AGATATAGCCTTTCCTCGAATAAATAATATAAGTTTTTGAC TTTTACCTCCTGCACTAACTCTTCTCTAGTAAGTAGCATA GTAGAAAACGGAGCTGGAACAGGATGAACTGTTTACCCCC CATTATCATCTAATATCGCTCACGGAGGAGCTTCTGTTGAT TTAGCTATTTTTTCTTTACATTTAGCTGGAATTTCCCTCAATT TTAGGAGCAGTAAATTTTATTACTACAGTAATTAATATGCG TTCTACAGGTATTACTTTTGATCGAATACCATTATTTGTTTG ATCAGTAGTAATTACAGCTTTACTATTATTACTTTCTTTACC AGTACTTGCTGGAGCAATTACTATACTATTAACAGATCGAA ACGTTAATACCTCATTTTTTGATCCCGCTGGGGGAGGAGAT CCAATTTTATATCAACACCTATTTTGATTTTTTGGTCACCC
SAR6 <i>Sarcophaga cucullans</i>	CATAAAGATATTGGAACCTTATACTTTATTTTTGGAGCTTG AGCAGGTATAGTAGGAACCTCATTAGAATTCTTATTCGAG CGGAATTAGGTCATCTGGTGCATTAATTGGAGACGACCA AATTTACAATGTAATTGTTACAGCCCATGCTTTTATTATAA TTTTCTTTATAGTAATACCAATTATAATTGGAGGATTTGGA AATTGACTAGTCCCCTTATACTAGGAGCTCCAGATATAGC CTTTCCTCGAATAAATAATATAAGTTTTTGACTTTTACCTCC TGCACTAACTCTTCTCTAGTAAGTAGCATAGTAGAAAACG GAGCTGGAACAGGATGAACTGTTTACCCCCATTATCATCT AATATCGCTCACGGAGGAGCTTCTGTTGATTTAGCTATTTT TTCTTTACATTTAGCTGGAATTTCCCTCAATTTTAGGAGCAG TAAATTTTATTACTACAGTAATTAATATGCGTTCTACAGGT ATTACTTTTGATCGAATACCATTATTTGTTTGATCAGTAGT ATATTACAGCTTTACTATTATTACTTTCTATTACCAGTACTT GCTGGAGCATATTACTATACTATTAACAGATCGAAACGTTA ATACCTCATTTTTTGATCCCGCTGGGGGAGGAGATCCAATT TTATATCAACACCTATTTTGATTTTTTGGTC
SAR7 <i>Sarcophaga cucullans</i>	AATAGTAAAGCTGTAATTACTACTGATCAAACAAATAATG GTATTCGATCAAAAGTAATACCTGTAGAACGCATATTAATT ACTGTAGTAATAAAATTTACTGCTCCTAAAATTGAGGAAAT TCCAGCTAAATGTAAAGAAAAAATAGCTAAATCAACAGAA GCTCCTCCGTGAGCGATATTAGATGATAATGGGGGGTAAA CAGTTCATCCTGTTCCAGCTCCGTTTTCTACTATGCTACTTA CTAGAAGAAGAGTTAGTGCAGGAGGTAAAAAGTCAAAACT TATATTATTTATTCGAGGAAAGGCTATATCTGGAGCTCCTA GTATAAGTGGGACTAGTCAATTTCCAAATCCTCCAATTATA ATTGGTATTACTATAAAGAAAATTATAATAAAAGCATGGG CTGTAACAATTACATTGTAAATTTGGTCGTCTCCAATTAAT GCACCAGGATGACCTAATTCCGCTCGAATAAGAATTCTTA

	ATGAAGTTCCTACTATACCTGCTCAAGCTCCAAAAATAAA GTATAAAGTTCCAATATCTTTATGATTTGTTGA
SAR8 <i>Sarcophaga cucullans</i>	TAATAGTAAAGCTGTAATTACTACTGATCAAACAAATAAT GGTATTCGATCAAAAGTAATACCTGTAGAACGCATATTAA TACTGTAGTAATAAAATTTACTGCTCCTAAAATTGAGGAA ATTCCAGCTAAATGTAAAGAAAAAATAGCTAAATCAACAG AAGCTCCTCCGTGAGCGATATTAGATGATAATGGAGGGTA AACAGTTCATCCTGTTCCAGCTCCGTTTTCTACTATGCTACT TACTAGAAGAAGAGTTAGTGCAGGAGGTAAAAGTCAAAA ACTTATATTATTTATTCGAGGAAAGGCTATATCTGGAGCTC CTAGTATAAGTGGGACTAGTCAATTTCCAAATCCTCCAATT ATAATTGGTATTACTATAAAGAAAATTATAATAAAAGCAT GGGCTGTAACAATTACATTGTAAATTTGGTCGTCTCCAATT AATGCACCAGGATGACCTAATTCGCTCGAATAAGAATTC TTAATGAAGTTCCTACTATACCTGCTCAAGCTCCAAAAATA AAGTATAAAGTTCCAATATCTTTATGATTT
SAR9 <i>Sarcophaga filia</i>	AGATATTGGAACTTTATATTTATTTTCCGGAGCTTGAGCG GGTCTAGTCGGAACCTTCATTAAGAATCCTTATTCGAGCAGA AATAGGTCACCCAGGTGCATTAATTGGTGATGATCAAATTT ATAACGTAATTGTTACAGCACACGCTTTTCTTTATAATTTTT TTTATAGTAATACCAATTATAATTGGAGGATTCGGGAATTG ACTAGTCCCAATTATATTAGGAGCTCCTGATATAGCTTTCC CCCGAATAAATAATATAAGTTTTTGACTTTTACCTCCTGCA TTAACACTCCTCCTAGTAAGTAGTATAGTGAAACCGGAG CTGGAACAGGATGAACTGTTTACCCTCCTCTATCATCTAAT ATTGCTCATAGAGGAGCTTCTGTTGACTTAGCTATTTTTCT TTACATTTAGCAGGAATTTCTTCTATTTTAGGAGCAGTAAA TTTTATTACTACTGTAATTAATATACGATCCACAGGTATCA CCTTTGACCGAATACCATTATTTGTTTGATCTGTAGTAATT ACTGCTTTATTACTATTACTCTCCTTACCTGTACTTGCCGGA GCAATTACGATATTATTGACTGATCGAAATATTAATACTTC ATTTTTTGATCCTGCAGGAGGAGGAGATCCAATTTTATACC ACCACTTATTCTGATTTTTTTGGTCACC
SAR10 <i>Sarcophaga africa</i>	AAAGATATTGGAACCTTTATATTTTATTTTCCGGAGCTTGAGC AGGTATAGTAGGAACTTCATTAAGAATCCTTATTCGAGCAG AATTAGGTCACCCTGGTGCATTAATTGGTGATGATCAAATT TATAATGTAATTGTTACAGCCCATGCTTTCATTATAATTTTT TTTATAGTAATACCAATTATAATTGGAGGATTTGGAAATTG

	ATTAGTGCCAATTATACTAGGAGCTCCAGATATAGCCTTCC CTCGGATAAACAATATAAGTTTTTGACTTTTACCTCCTGCA TTAACATTGCTTCTAGTAAGTAGTATAGTAGAAAATGGAG CTGGAACAGGTTGAACTGTATACCCTCCTTTATCTTCTAAT ATTGCTCATGGAGGAGCTTCTGTTGATTTAGCTATTTTTTCT CTCCATTTAGCTGGAATTTCTTCAATTCTAGGAGCAGTAAA TTTTATTACTACAGTTATTAATATACGATCAACAGGAATCA CTTTTGATCGAATACCTTTATTTGTATGATCTGTAGTAATCA CAGCCCTACTTTTATTACTTTCTTTACCTGTACTTGCCGGAG CTATTACTATATTATTAAGTATCGAAATATTAATACTTCA TTTTTTGACCCGGCAGGAGGAGGAGATCCTATTCTATATCA ACATTTATTTTGATTTTTTGGTCAC
SAR11 <i>Sarcophaga africa</i>	AAAGATATTGGAACTTTATATTTTATTTTCGGAGCTTGAGC AGGTATAGTAGGAACTTCATTAAGAATTCTTATTCGAGCAG AATTAGGTCACCCTGGTGCATTAATTGGTGATGATCAAATT TATAATGTAATTGTTACAGCCCATGCTTTCATTATAATTTTT TTTATAGTAATACCAATTATAATTGGAGGATTGGAAATTG ATTAGTGCCAATTATACTAGGAGCTCCAGATATAGCCTTCC CTCGGATAAACAATATAAGTTTTTGACTTTTACCTCCTGCA TTAACATTGCTTCTAGTAAGTAGTATAGTAGAAAATGGAG CTGGAACAGGTTGAACTGTATACCCTCCTTTATCTTCTAAT ATTGCTCATGGAGGAGCTTCTGTTGATTTAGCTATTTTTTCT CTCCATTTAGCTGGAATTTCTTCAATTCTAGGAGCAGTAAA TTTTATTACTACAGTTATTAATATACGATCAACAGGAATCA CTTTTGATCGAATACCTTTATTTGTATGATCTGTAGTAATCA CAGCCCTACTTTTATTACTTTCTTTACCTGTACTTGCCGGAG CTATTACTATATTATTAAGTATCGAAATATTAATACTTCA TTTTTTGACCCGGCAGGAGGAGGAGATCCTATTCTATATCA ACATTTATTTTGATTTTTTGGTC
SAR12 <i>Sarcophaga crassipalpis</i>	AATATTTTCGGTCAGTTAATAATATAGTAATAGCTCCTGCAA GTACCGGTAAAGATAAAAGTAAAGTAGGGCTGTAATTAC TACTGATCAAACAAATAAAGGTATTCGATCAAAGGTAATT CCTGTAGATCGTATATTAATTACTGTAGTAATAAAATTTAC TGCTCCTAAAATTGAAGAAATTCAGCTAAATGTAGAGAA AAAATAGCTAAATCAACAGAAGCTCCTCCATGAGCAATAT TAGAAGATAAAGGAGGGTAAACAGTTCACCCCGTTCCAGC TCCATTTTCTACTATACTACTTACTAGAAGCAATGTTAATG CTGGGGGTAAAAGTCAAAAACCTTATATTATTTATTCGAGG AAAGGCTATATCTGGAGCTCCTAGTATAATTGGAACATAATC AGTTTCCAAATCCTCCAATCATAATTGGTATTACTATAAAA

	AAAATTATAATAAAAGCATGAGCTGTAACAATTACATTAT AAATTTGATCATCTCCAATTAATGCACCAGGATGACCTAAT TCTGCTCGAATAAGAATTCCTTAGTGAAGTTCCTACTATTCC TGCTCAAGCTCCGAAGATAAAATATAAAGTTCCAATATCTT TATGA
CVi1 <i>Calliphora vicina</i>	TCAACAAATCATAAAGATATTGGTACTTTATACTTTATTTT TGGAGCTTGATCGGGAATAATTGGAACCTCATTAAAGAATTC TAATTCGAGCCGAAGTAGGACATCCTGGAGCATTAAATTGG AGATGACCAAATTTATAATGTAATTGTTACAGCTCATGCTT TTATTATAATTTTTTTATAGTAATACCAATTATAATTGGAG GATTTGGTAATTGATTAGTCCCTTTAATATTAGGAGCTCCA GATATAGCCTTCCCTCGGATAAACAATATAAGTTTCTGACT TTTACCTCCTGCATTAACTTTACTATTAGTAAGTAGTATAG TAGAAAACGGAGCTGGAACAGGATGAACTGTTACCCACC TTTATCTTCTAATATCGCTCATGGAGGAGCTTCTGTTGATTT AGCTATTTTTTCTTTACACTTAGCAGGAATTTCTTCAATTTT AGGAGCTGTAAATTTTATTACTACAGTTATTAATATACGAT CAACAGGAATTACATTCGACCGAATACCATTATTTGTTTGA TCTGTAGTAATTACAGCTTTATTACTTTTATTATCTTTACCA GTATTAGCAGGTGCTATTACTATATTATTAACAGATCGAAA TCTTAATACATCATTCTTTGACCCAGCAGGAGGAGGAGAC CCAATCTTGTACCAACATTTATTTTGATTTTTTGGTCACCCT
CVi2 <i>Calliphora vicina</i>	AATGTAATTCCTGTTGATCGTATATTAATAACTGTAGTAAT AAAATTTACAGCTCCTAAAATTGAAGAAATTCCTGCTAAGT GTAAAGAAAAAATAGGTAAATCAACAGAAGCTCCTCCATG AGCGATATTAGAAGATAAAGGTGGGTAAACAGTTCATCCT GTTCCAGCTCCGTTTTCTACTATACTACTTACTAATAGTAA AGTTAATGCAGGAGGTAAAAGTCAGAACTTATATTGTTT ATCCGAGGGAAGGCTATATCTGGAGCTCCTAATATTAAAG GGACTAATCAATTACCAAATCCTCCAATTATAATTGGTATT ACGATAAAAAAAATTATAATAAAAGCATGAGCTGTAACAA TTACAGTATAAATTTGGTCATCTCCAATTAATGCTCCGGGA TGTCTAGTTCGGCTCGAATTAATAATTCATAATGAAGTTCC AATTATTCCCGATCAAGCTCCAAAAATAAGGTATAAAGTA CACAATATCATTTATGGATAT
CVi3	ATTCTAATGAACCAAAAGTTTCCTTTTTTCTGATTCTTGG CTAATAATATGTGAAATTATTCCGAATCCAGGTAAAATTAA AATATAAACTTCAGGATGACCAAAAAATCAAAATAAATGT

<i>Calliphora vicina</i>	TGGTACAAGATTGGGTCTCATCCTCCTGCTGGATCAAAGAA TGATGTATTAAGATTTTCGATCTGTTAATAATATAGTAATAG CGCCTGCTAATCAGGGTAAAGATAATAAAAGTAATAAAGC TGTAATTACTACAGATCAAACAAATAATGGTATTCCGGTCG AATGTAATTCCTGTTGATCGTATATTAATAACTGTAGTAAT AAAATTTACAGCTCCTAAAAATTGAAGAAATTCCTGCTAAGT GTAAAGAAAAAATAGCTAAATCAACAGAAGCTCCTCCATG AGCGATATTAGAAGATAAAGGTGGGTAAACAGTTCATCCT GTTCCAGCTCCGTTTTCTACTATACTACTTACTAATAGTAA AGTTAATGCAGGAGGTAAAAGTCAGAACTTATATTGTTT ATCCGAGGGAAGGCTATATCTGGAGCTCCTAATATTAAAG GAACTAATCAATTT
CVi4 <i>Calliphora vicina</i>	ATTCCTAATGAACCAAAAAGTTTCCTTTTTTCCTGATTCTTGG CTAATAATATGTGAAATTATTCCGAATCCAGGTAAAATTAA AATATAAACTTCAGGATGACCAAAAAATCAAAATAAATGT TGGTACAAGATTGGGTCTCCTCCTCCTGCTGGGTCAAAGAA TGATGTATTAAGATTTTCGATCTGTTAATAATATAGTAATAG CGCCTGCTAATCCTGGTAAAGATAATAAAAGTAATAAAGC TGTAATTACTACAGATCAAACAAATAATGGTATTCCGGTCG AATGTAATTCCTGTTGATCGTATATTAATAACTGTAGTAAT AAAATTTACAGCTCCTAAAAATTGAAGAAATTCCTGCTAAGT GTAAAGAAAAAATAGCTAAATCAACAGAAGCTCCTCCATG AGCGATATTAGAAGATAAAGGTGGGTAAACAGTTCATCCT GTTCCAGCTCCGTTTTCTACTATACTACTTACTAATAGTAA AGTTAATGCAGGAGGTAAAAGTCAGAACTTATATTGTTT ATCCGAGGGAAGGCTATATCTGGAGCTCCTAATATTAAAG GAACTAATC
CVi5 <i>Calliphora vicina</i>	ATTCCTAATGAACCAAAAAGTTTCCTTTTTTCCTGATTCTTGG CTAATAATATGTGAAATTATTCCGAATCCAGGTAAAATTAA AATATAAACTTCAGGATGACCAAAAAATCAAAATAAATGT TGGTACAAGATTGGGTCTCCTCCTCCTGCTGGGTCAAAGAA TGATGTATTAAGATTTTCGATCTGTTAATAATATAGTAATAG CACCTGCTAATCCTGGTAAAGATAATAAAAGTAATAAAGC TGTAATTACTACAGATCAAACAAATAATGGTATTCCGGTCA AATGTAATTCCTGTTGATCGTATATTAATAACTGTAGTAAT AAAATTTACAGCTCCTAAAAATTGAAGAAATTCCTGCTAAGT GTAAAGAAAAAATAGCTAAATCAACAGAAGCTCCTCCATG

	AGCGATATTAGAAGATAAAAGGTGGGTAAACAGTTCATCCT GTTCCAGCTCCGTTTTCTACTATACTACTTACTAATAGTAA AGTTAATGCAGGAGGTAAAAGTCAGAACTTATATTGTTT ATCCGAGGGAAGGCTATATCTGGAGCTCCTAATATTAAAG GAACTAATCA
CVi6 <i>Calliphora vicina</i>	ATTCTAATGAACCAAAAGTTTCCTTTTTCTGATTCTTGG CTAATAATATGTGAAATTATTCCGAATCCAGGTAAAATTAA AATATAAACTTCAGGATGACCAAAAAATCAAAATAAATGT TGGTACAAGATTGGGTCTCCTCCTCTGCTGGGTCAAAGAA TGATGTATTAAGATTTTCGATCTGTTAATAATATAGTAATAG CACCTGCTAATACTGGTAAAGATAATAAAAGTAATAAAGC TGTAATTACTACAGATCAAACAAATAATGGTATTCCGTCCG AATGTAATTCCTGTTGATCGTATATTAATAACTGTAGTAAT AAAATTTACAGCTCCTAAAAATTGAAGAAATTCCTGCTAAGT GTAAAGAAAAAATAGCTAAATCAACAGAAGCTCCTCCATG AGCGATATTAGAAGATAAAAGGTGGGTAAACAGTTCATCCT GTTCCAGCTCCGTTTTCTACTATACTACTTACTAATAGTAA AGTTAATGCAGGAGGTAAAAGTCAGAACTTATATTGTTT ATCCGAGGGAAGGCTATATCTGGAGCTCCTAATATTAAAG GAACTAATCAATT
CVi7 <i>Calliphora vicina</i>	ATTCTAATGAACCAAAAGTTTCCTTTTTCTGATTCTTGG CTAATAATATGTGAAATTATTCCGAATCCAGGTAAAATTAA AATATAAACTTCAGGATGACCAAAAAATCAAAATAAATGT TGGTACAAGAGTGGGTCTCCTCCTCTTTCTGGGTCAAAGAA TGATGTATTAAGATTTTCGATCTGTTAATAATATAGTAATAG CACCTGCTAATACTGGTAAAGATAATAAAAGTAATAAAGC TGTAATTACTACAGATCAAACAAATAATGGTATTCCGTCCG AATGTAATTCCTGTTGATCGTATATTAATAACTGTAGTAAT AAAATTTACAGCTCCTAAAAATTGAAGAAATTCCTGCTAAGT GTAAAGAAAAAATAGCTAAATCAACAGAAGCTCCTCCATG AGCGATATTAGAAGATAAAAGGTGGGTAAACAGTTCATCCT GTTCCAGCTCCGTTTTCTACTATACTACTTACTAATAGTAA AGTTAATGCAGGAGGTAAAAGTCAGAACTTATATTGTTT ATCCGAGGGAAGGCTATATCTGGAGCTCCTAATATTAAAG GAACTAATCAATT

CAL1 <i>Chrysomya albiceps</i>	GGTCAACAAATCATAAAGATATTGGTACTTTATATTTTCATT TTCGGAGCTTGATCTGGAATAGTAGGAACTTCTTTAAGAAT TCTAATTCGAGCTGAATTAGGACATCCTGGAGCACTAATTG GAGATGACCAAATTTATAATGTAATTGTAACAGCTCATGCC TTTATTATAATTTTCTTTATAGTAATACCAATTATAATTGGA GGATTTGGAAATTGACTAGTTCCTTTAATATTAGGAGCCCC AGATATAGCTTTCCACGAATAAATAATATAAGTTTCTGAC TTTTACCCCTGCATTAACTTTACTATTAGTAAGTAGTATA GTAGAAAATGGAGCTGGAACAGGATGAACTGTTTATCCAC CTTTATCATCTAATATTGCTCATGGTGGAGCATCAGTTGAT TTAGCTATTTTTCTTTACACTTAGCTGGAATTCATCAATT TTAGGAGCTGTAAATTTTATTACAACCTGTTATTAATATACG ATCTACAGGAATCACATTTGATCGAATACCTTTATTCGTAT GATCTGTAGTTATTACTGCTCTTCTTTTATTATTATCATTAC CAGTATTAGCCGGTGCAATTACTATATTATTAAGTATCGA AATTTAAATACTTCATTCTTTGATCCAGCAGGAGGAGGAG ATCCTATTTTATATCAACATTTATTTTGATTTTTTGGTCACC CTGAAGTT
CAL2 <i>Chrysomya albiceps</i>	TCAACAAATCATAAAGATATTGGTACTTTATATTTTCATTTT CGGAGCTTGATCTGGAATAGTAGGAACTTCTTTAAGAATTC TAATTCGAGCTGAATTAGGACATCCTGGAGCACTAATTGG AGATGACCAAATTTATAATGTAATTGTAACAGCTCATGCCT TTATTATAATTTTCTTTATAGTAATACCAATTATAATTGGA GGATTTGGAAATTGACTAGTTCCTTTAATATTAGGAGCCCC AGATATAGCTTTCCACGAATAAATAATATAAGTTTCTGAC TTTTACCTCCTGCATTAACTTTACTATTAGTAAGTAGTATA GTAGAAAATGGAGCTGGAACAGGATGAACTGTTTATCCAC CTTTATCATCTAATATTGCTCATGGTGGAGCATCAGTTGAT TTAGCTATTTTTCTTTACACTTAGCTGGAATTCATCAATT TTAGGAGCTGTAAATTTTATTACAACCTGTTATTAATATACG ATCTACAGGAATCACATTTGATCGAATACCTTTATTCGTAT GATCTGTAGTTATTACTGCTCTTCTTTTATTATTATCATTAC CAGTATTAGCCGGTGCAATTACTATATTATTAAGTATCGA ATTTTAAATACTTCATTCTTTGATCCAGCAGGAGGAAGAAA ATCCTATTTTATATCAA

CAL3 <i>Chrysomya albiceps</i>	GGTCAACAAATCATAAAGATATTGGTACTTTATATTTTCATT TTCGGAGCTTGATCTGGAATAGTAGGAACCTCTTTAAGAAT TCTAATTCGAGCTGAATTAGGACATCCTGGAGCACTAATTG GAGATGACCAAATTTATAATGTAATTGTAACAGCTCATGCC TTTATTATAATTTCTTTATAGTAATACCAATTATAAATTGGA GGATTTGGAAATTGACTAGTTCCTTTAATATTAGGAGCCCC AGATATAGCTTTCCACGAATAAATAATATAAGTTTCTGAC TTTTACCCCTGCATTAACCTTACTATTAGTAAGTAGTATA GTAGAAAATGGAGCTGGAACAGGATGAACTGTTTATCCAC CTTTATCATCTAATATTGCTCATGGTGGAGCATCAGTTGAT TTAGCTATTTTTCTTTACACTTAGCTGGAATTCATCAATT TTAGGAGCTGTAAATTTTATTACAACCTGTTATTAATATACG ATCTACAGGAATCACATTTGATCGAATACCTTTATTCGTAT GATCTGTAGTTATTACTGCTCTTCTTTTATTATTATCATTAC CAGTATTAGCCGGTGCAATTACTATATTATTAAGTATCGA AATTTAAATACTTCATTCTTTGATCCAGCAGGAGGAGGAG ATCCTATTTTATATCAACATTTATTTTGATTTTTTGGTCACC CTGAAGTTT
CAL4 <i>Chrysomya albiceps</i>	AGATGACCAAATTTATAATGTAATTGTAACAGCTCATGCCT TTATTATAATTTCTTTATAGTAATACCAATTATAAATTGGA GGATTTGGAAATTGACTAGTTCCTTTAATATTAGGAGCCCC AGATATAGCTTTCCACGAATAAATAATATAAGTTTCTGAC TTTTACCTCCTGCATTAACCTTACTATTAGTAAGTAGTATA GTAGAAAATGGAGCTGGAACAGGATGAACTGTTTATCCAC CTTTATCATCTAATATTGCTCATGGTGGAGCATCAGTTGAT TTAGCTATTTTTCTTTACACTTAGCTGGAATTCATCAATC TTAGGAGCTGTAAATTTTATTACAACCTGTTATTAATATACG ATCTACAGGAATCACATTTGATCGAATACCTTTATTCGTAT GATCTGTAGTTATTACTGCTCTTCTTTTATTATTATCATTAC CAGTATTAGCCGGTGCAATTACTATATTATTAAGTATCGA AATTTAAATACTTCATTCTTTGATCCAGCAGGAGGAGGAG ATCCTATTTTATATCAACATTTATTTTGATTTTTTG
LCA1 <i>Lucilia caesar</i>	AAAGATATTGGTACTTTATACTTTATTTTTGGAGCTTGATC CGGTATAATCGGAACCTTCATTAAGAATTTAATTCGAGCTG AATTAGGACACCCTGGTGCATTAATTGGAGATGACCAAAT TTATAATGTAATTGTTACAGCTCATGCTTTTATTATAATTTT CTTTATAGTAATACCAATTATAATTGGAGGATTTGGAAATT GATTAGTTCCTTTAATATTAGGAGCCCCAGATATAGCATT CCTCGAATAAATAATATAAGTTTTTGACTTTTACCTCCTGC ATTAACCTTTATTATTAGTAAGTAGTATAGTAGAAAACGGA

	GCTGGAACAGGATGAACAGTTTACCCTCCTTTATCATCTAA TATCGCTCATGGAGGAGCTTCTGTTGATTTAGCTATTTTTTC TCTTCATTTAGCAGGAATTTTCATCAATTTTAGGAGCTGTAA ATTTTATTACTACAGTTATTAATATACGATCAACAGGAATT ACTTTTGACCGAATACCTTTATTCGTTTGATCAGTAGTAAT TACAGCTTTATTACTTTTATTATCATTACCAGTATTAGCTGG AGCTATTACTATACTTTTAACTGATCGAAATCTTAATACTT CATTCTTTGATCCAGCAGGAGGAGGAGACCCAATTTTATAC CAACATTTATTTTGATTTTTTGGTCAC
LSE1 <i>Lucilia sericata</i>	AAAGATATTGGAACCTTATATTTTATTTTGGAGCTTGATC CGGAATAATTGGAACCTCTTTAAGAATTCTAATTCGAGCTG AATTAGGACATCCTGGAGCTTTAATTGGAGATGATCAAATT TATAATGTAATTGTTACAGCTCATGCTTTTATTATAATTTTT TTTATAGTAATGCCAATTATAATTGGAGGATTTGGAAATTG ATTAGTTCCATTAATACTAGGAGCTCCAGATATAGCATTCC CTCGAATAAATAATATAAGTTTTTGACTTTTACCTCCTGCA TTAACTTTATTATTAGTTAGTAGTATAGTAGAAAACGGAGC TGGAACAGGATGAACAGTTTACCCTCCTCTATCTTCTAATA TTGCTCATGGAGGAGCTTCTGTTGATTTAGCTATTTTCTCTC TTCATTTAGCAGGAATTTCTTCAATTTTAGGAGCTGTAAAT TTTATTACTACAGTTATTAATATACGATCAACAGGAATTAC TTTTGATCGAATACCTTTATTTGTTTGATCAGTAGTAATTAC AGCTTTATTACTTTTATTATCATTACCAGTATTAGCAGGAG CTATTACAATACTTTTAAACAGACCGAAATCTTAATACATCA TTCTTTGACCCTGCAGGAGGAGGAGATCCAATTTTATACCA ACATTTATTTTGATTTTTTGGT
LSE2 <i>Lucilia sericata</i>	CATAAAGATATTGGAACCTTATATTTTATTTTGGAGCTTG ATCCGGAATAATTGGAACCTCTTTAAGAATTCTAATTCGAG CTGAATTAGGACATCCTGGAGCTTTAATTGGAGATGATCA AATTTATAATGTAATTGTTACAGCTCATGCTTTTATTATAAT TTTTTTTATAGTAATGCCAATTATAATTGGAGGATTTGGAA ATTGATTAGTTCCATTAATACTAGGAGCTCCAGATATAGCA TTCCCTCGAATAAATAATATAAGTTTTTGACTTTTACCTCCT GCATTAACCTTTATTATTAGTTAGTAGTATAGTAGAAAACGG AGCTGGAACAGGATGAACAGTTTACCCTCCTCTATCTTCTA ATATTGCTCATGGAGGAGCTTCTGTTGATTTAGCTATTTTCT CTCTTCATTTAGCAGGAATTTCTTCAATTTTAGGAGCTGTAA AATTTTATTACTACAGTTATTAATATACGATCAACAGGAAT TACTTTTGATCGAATACCTTTATTTGTTTGATCAGTAGTAAT TACAGCTTTATTACTTTTATTATCATTACCAGTATTAGCAG

	GAGCTATTACAATACTTTTAAACAGACCGAAATCTTAATACA TCATTCTTTGACCCTGCAGGAGGAGGAGATCCAATTTTATA CCAACATTTATTTTGATTTTTTGGT
LSE3 <i>Lucilia sericata</i>	GTATTAAGATTTTCGGTCTGTTAAAAGTATTGTAATAGCTCC TGCTAATACTGGTAATGATAATAAAAGTAATAAAGCTGTA ATTACTACTGATCAAACAAATAAAGGTATTTCGATCAAAAG TAATTCCTGTTGATCGTATATTAATAACTGTAGTAATAAAA TTTACAGCTCCTAAAATTGAAGAAATTCCTGCTAAATGAAG AGAGAAAATAGCTAAATCAACAGAAGCTCCTCCATGAGCA ATATTAGAAGATAGAGGAGGGTAAACTGTTTCATCCTGTTC CAGCTCCGTTTTCTACTATACTACTAACTAATAATAAAGTT AATGCAGGAGGTAAAAGTCAAAAACCTTATATTATTTATTC GAGGGAATGCTATATCTGGAGCTCCTAGTATTAATGGAAC TAATCAATTTCCAAATCCTCCAATTATAATTGGCATTACTA TAAAAAAAATTATAATAAAAGCATGAGCTGTAACAATTAC ATTATAAATTTGATCATCTCCAATTAAAGCTCCAGGATGTC CTAATTCAGCTCGAATTAGAATTCTTAAAGAAGTTCCAATT ATTCCGGATCAAGCTCCAAAAATAAAATATAAAGTTCCAA TATCTTTATG
LSE4 <i>Lucilia sericata</i>	CATAAAGATATTGGAACCTTTATATTTTATTTTGGAGCTTG ATCCGGAATAATTGGAACCTCTTTAAGAATTCTAATTCGAG CTGAATTAGGACATCCTGGAGCTTTAATTGGAGATGATCA AATTTATAATGTAATTGTTACAGCTCATGCTTTTATTATAAT TTTTTTTATAGTAATGCCAATTATAATTGGAGGATTTGGAA ATTGATTAGTTCCATTAATACTAGGAGCTCCAGATATAGCA TTCCCTCGAATAAATAATATAAGTTTTTGACTTTTACCTCCT GCATTAACCTTTATTATTAGTTAGTAGTATAGTAGAAAACGG AGCTGGAACAGGATGAACAGTTTACCCTCCTCTATCTTCTA ATATTGCTCATGGAGGAGCTTCTGTTGATTTAGCTATTTTCT CTCTTCATTTAGCAGGAATTTCTTCAATTTTAGGAGCTGTA AATTTTATTACTACAGTTATTAATATACGATCAACAGGAAT TACTTTTGATCGAATACCTTTATTTGTTTGATCAGTAGTAAT TACAGCTTTATTACTTTTATTATCATTACCAGTATTAGCAG GAGCTATTACAATACTTTTAAACAGACCGAAATCTTAATACA TCATTCTTTGACCCTGCAGGAGGAGGAGATCCAATTTTATA CCAACATTTATTTTGATATTTTTGGTC

LSE5 <i>Lucilia sericata</i>	ATAAAGATATTGGAACCTTTATATTTTATTTTGGAGCTTGA TCCGGAATAATTGGAACCTCTTTAAGAATTCTAATTCGAGC TGAATTAGGACATCCTGGAGCTTTAATTGGAGATGATCAA ATTTATAATGTAATTGTTACAGCTCATGCTTTTATTATAATT TTTTTTATAGTAATGCCAATTATAATTGGAGGATTTGGAAA TTGATTAGTTCCATTAATACTAGGAGCTCCAGATATAGCAT TCCCTCGAATAAATAATATAAGTTTTTGACTTTTACCTCCT GCATTAACCTTTATTATTAGTTAGTAGTATAGTAGAAAACGG AGCTGGAACAGGATGAACAGTTTACCCTCCTCTATCTTCTA ATATTGCTCATGGAGGAGCTTCTGTTGATTTAGCTATTTTCT CTCTTCATTTAGCAGGAATTTCTTCAATTTTAGGAGCTGTA AATTTTATTACTACAGTTATTAATATACGATCAACAGGAAT TACTTTTGATCGAATACCTTTATTTGTTGATCAGTAGTAAT TACAGCTTTATTACTTTTATTATCATTACCAGTATTAGCAG GAGCTATTACAATACTTTTAACAGACCGAAATCTTAATACA TCATTCTTTGACCCTGCAGGAGGAGGAGATCCAATTTTATA CCAACATTTATTTTGATTTTGGTC
UNW2 <i>Sarcophaga cucullans</i>	GACCTTAAGGATTTGTGAACCTTTATTTTATAGAGTTATTGC ACCTGCAAGTACTGGTAAAGAAAGTAATAATAGTAAAGCT GTAGTTACTACTGATCAAACAAATAATGGTATTCGATCAA AAGTAATACCTGTANAACGCATATTAATTACTGTAGTAATA AAATTTACTGCTCCTAAAATTGAGGAAATTCAGCTNATGT AAAGAGAAAATATCTAAATCAACAGAATCTCCTACATGAG CGATATTAGATAATANTGGGGGGTAGA
UNW3 <i>Hydrotaea ignava</i>	AAAGATATTGGTACTTTATATTTTATTTTGGAGCTTGATC AGGAATAATTGGAACCTCATTAAGAATTTAATTCGAGCA GAATTAGGTCACCCAGGAGCATTAAATTGGTGATGATCAAA TTTATAATGTAATTGTTACAGCTCATGCATTTATTATAATTT TTTTTATAGTAATACCTATTATAATTGGAGGATTTGGAAAT TGACTTGTTCCATTAATATTAGGAGCTCCCGATATAGCTTT TCCTCGAATAAATAATATAAGTTTTTGATTATTACCTCCTG CTTTAACATTATTATTAGTAAGTAGAATAGTAGAAAATGG AGCTGGAACCTGGTTGAACTGTTACCCTCCATTATCATCTA ATATTGCACATGGAGGAGCTTCTGTTGATTTAGCTATTTTT TCTCTTCATTTAGCTGGAATTTTCTATTTCTAGGTGCAGTA AATTTTATTTCTACTGTAATTAATATACGATCAACTGGAAT TACCTTTGATCGAATACCTTTATTTGTTGATCTGTAGTAAT TACTGCTCTTTTATTATTATTATCATTACCTGTATTAGCTGG AGCTATTACTATATTATTAAGTATCGAAATTTAAATACTT CATTTTTTGATCCTGCTGGAGGAGGAGATCCAATTTTATAT

	CAACATTTATTTTGATTTTTTGGTC
CVO1 <i>Calliphora vomitoria</i>	TAAAGATATTGGTACTTTATACTTTATTTTTGGAGCTTGATC AGGAATGATTGGAACCTTCATTAAGAATTTAATTTCGAGCTG AACTAGGGCATCCTGGAGCATTAAATTGGAGATGATCAAAT TTATAATGTAATTGTTACAGCTCATGCTTTTATTATAATTTT TTTTATAGTAATACCAATTATAATTGGAGGGTTTGGAAATT GATTAGTTCCTTTAATATTAGGAGCCCCAGATATAGCATT CCTCGAATAAATAATATAAGTTTCTGACTTTTACCTCCTGC ATTAACCTTTACTATTAGTAAGTAGTATAGTAGAAAACGGA GCTGGAACCTGGATGAACTGTTTATCCACCTTTATCTTCTAA TATTGCACATGGAGGAGCTTCTGTTGATTTAGCTATTTTTTC TTTACATTTAGCAGGAATTTCTTCAATTTTAGGAGCTGTAA ATTTTATTACTACAGTTATTAATATACGATCAACAGGTATT ACCTTCGACCGAATACCATTATTTGTTTGATCAGTAGTAAT TACAGCCTTATTACTTTTATTATCTTTACCAGTATTAGCAGG AGCTATTACTATATTATTAACAGATCGAAATCTTAATACTT CATTCTTTGACCCAGCAGGAGGAGGAGATCCAATTTTATAC CAACACTTATTTTGATTTTTTGGTCA
CVO2 <i>Calliphora vomitoria</i>	AACAAATCATAAAGATATTGGTACTTTATACTTTATTTTTG GAGCTTGATCAGGAATGATTGGAACCTTCATTAAGAATTTTA ATTTCGAGCTGAACTAGGGCATCCTGGAGCATTAAATTGGAG ATGATCAAATTTATAATGTAATTGTTACAGCTCATGCTTTT ATTATAATTTTTTTTATAGTAATACCAATTATAATTGGAGG GTTTGGAAATTGATTAGTTCCTTTAATATTAGGAGCCCCAG ATATAGCATTCCCTCGAATAAATAATATAAGTTTCTGACTT TTACCTCCTGCATTAACCTTTACTATTAGTAAGTAGTATAGT AGAAAACGGAGCTGGAACCTGGATGAACTGTTTATCCACCT TTATCTTCTAATATTGCACATGGAGGAGCTTCTGTTGATTT AGCTATTTTTTCTTTACATTTAGCAGGAATTTCTTCAATTTT AGGAGCTGTAAATTTTATTACTACAGTTATTAATATACGAT CAACAGGTATTACCTTCGACCGAATACCATTATTTGTTTGA TCAGTAGTAATTACAGCCTTATTACTTTTATTATCTTTACCA GTATTAGCAGGAGCTATTACTATATTATTAACAGATCGAAA TCTTAATACTTCATTCTTTGACCCAGCAGGAGGAGGAGATC CAATTTTATACCAACACTTATTTTGATTTTTTGGTCACCCTG A

MST1 <i>Muscina stabulans</i>	TTACGATCTGTTAATAATATTGTAATAGCTCCAGCTAAAAAC AGGTAAGGATAAAAAGAAGTAATAATGCTGTAATTACTACT GATCAAACAAATAAGGGTATACGATCAAATGAAATACCTG TGGATCGTATATTAATTACGGTTGTAATAAAATTTACAGCT CCTAAAATTGAAGAAATTCCTGCTAAATGTAAAGAAAAAA TAGCTAAATCTACAGAAGCTCCTCCATGAGCAATATTAGA AGATAAAGGAGGGTAAACGGTTCAACCAGTTCAGCCCCC TTTTCAACTATACTACTTACAAGTAATAATGTTAATGCGGG AGGTAAAAGTCAAAAACCTTATATTATTTATTCGGGGGAAT GCTATATCTGGTGCTCCTAATATTAAAGGGACTAATCAATT TCCAAATCCTCCAATTATAATAGGCATTACTATGAAAAAA ATTATAATAAAAGCATGGGCTGTTACAATTACGTTATAAAT TTGGTCATCCCCAATTAAAGCACCAGGATGTCCTAATTCAG TTCGTACTAGGATACTTAGGGAAGTTCCTACTATTCCTGAT CAAGCTCCAAAAATAAAATATAAAGTACCAATATCTTTAT GATTTGTTGA
MST2 <i>Muscina stabulans</i>	TCAACAAATCATAAAGATATTGGTACTTTATATTTATTTTT GGAGCTTGATCAGGAATAGTAGGAACCTCCCTAAGTATCC TAGTACGAAGTGAATTAGGACATCCTGGTGCTTTAATTGGG GATGACCAAAATTTATAACGTAATTGTAACAGCCCATGCTTT TATTATAATTTTTTTCATAGTAATGCCTATTATAAATTGGAG GATTTGGAAATTGATTAGTCCCTTTAATATTAGGAGCACCA GATATAGCATTCCCCGAATAAATAATATAAGTTTTTGACT TTTACCTCCCGCATTAACATTATTACTTGTAAGTAGTATAG TTGAAAAGGGGGCTGGAAGTGGTTGAACCGTTTACCCTCCT TTATCTTCTAATATTGCTCATGGAGGAGCTTCTGTAGATTT AGCTATTTTTTCTTTACATTTAGCAGGAATTTCTTCAATTT AGGAGCTGTAAATTTTATTACAACCGTAATTAATATACGAT CCACAGGTATTTCAATTTGATCGTATACCTTATTTGTTTGAT CAGTAGTAATTACAGCATTATTACTTCTTTTATCCTTACCTG TTTTAGCTGGAGCTATTACAATATTATTAACAGATCGTAAT TTAAATACTTCATTCCTTGACCCCGCAGGAGGAGGAGATCC AATTCCTTACCAACATTTATTTTGATTTTTTGGTCACCTGA AGTT

ÖZGEÇMİŞ

I- Bireysel Bilgiler

Adı : Abdullah Zübeyir CEYLAN
Doğum Yeri ve Yılı : Salihli-1992
Uyruğu : T.C.
Medeni durumu : Bekar
Askerlik durumu : Muaf
İletişim Adresi : Saimekadın Mah. Görgülü Sokak 26/1 Mamak/Ankara
Telefon No : 05433306568

II- Eğitimi

2018-2020 Ankara Üniversitesi Adli Bilimler Enstitüsü Adli Genetik
Yüksek Lisans

2010-2016 Hacettepe Üniversitesi Biyoloji Bölümü

2006-2010 Özel Yüksel Lisesi

2003-2006 Salihli Sanayi ve Ticaret Odası İlköğretim Okulu

1998-2003 Çamurhamamı Köyü İlköğretim Okulu

Yabancı dili: İngilizce

III- Ünvanları

2016- Biyolog

IV- Mesleki Deneyimi

2016 (Temmuz-Ağustos) MicroGen Genetik Tanı Merkezi -Gönüllü stajyer

V- Bilimsel İlgi Alanları

Adli Entomoloji, Adli Genetik

Yayınları:

- 1- HORTAÇ E, AÇIKGÖZ A, **CEYLAN AZ**, BÜKEN E, TALEB M, AÇIKGÖZ HN, (2019). Microbiome and enviromental conditions:The first study from Turkey, 16th. Meeting of The European Association of Forensic Entomology, EAFE.France. (Sözel Sunum)
- 2- BÜKEN E, AÇIKGÖZ A, ARIDURU S, **CEYLAN AZ**, TALEB M, AÇIKGÖZ HN, (2019). The succession of buried pig (*Sus scrofa domesticus* Linnaeus, 1758) carcass in TURKEY, 16th. Meeting of The European Association of Forensic Entomology, EAFE.France (Poster)
- 3- **CEYLAN AZ**, AÇIKGÖZ A, TALEB M, AÇIKGÖZ HN (2020) Ben nereliyim dedi BÖCEK! 1. Uluslararası 17. Ulusal Adli Bilimler Kongresi. (Sözel Sunum)

VI- Bilimsel Etkinlikleri

Projeleri

Domuz Cesedine *Sus scrofa domesticus* (Linnaeus, 1758) Gelen Böceklerin Süksesyonunun Belirlenmesi ile Ölüm Zamanı Tahmini, Başkent Üniversitesi, Araştırmacı. 2018-Halen

Gömülü Domuz Cesetlerinin *Sus scrofa domesticus* (Linnaeus, 1758) Dekompozisyonunun Belirlenmesi, Başkent Üniversitesi, Araştırmacı. 2018-Halen

Verdiği konferans ya da seminerler

Adli Entomolojide Mitokondriyal Sitokrom C Oksidaz Alt Ünite I (COI) Geninin Kullanılması; 16.01.2019 Ankara Üniversitesi Adli Bilimler Enstitüsü

VII- Diğer Bilgiler

Tıpta Uygulama Hataları Sempozyumu, Türkiye Barolar Birliği Başkanlığı, 2018.
Ankara

16th. Meeting of The European Association of Forensic Entomology, 2019. France.

Polis Akademisi I. Uluslararası Adli Bilimler Kongresi (1st ICFS) 2019. ANKARA

Yapay Zeka ve Görüntü İşleme Günü YAZGİG 2019. Ankara

