



İSKENDERUN TEKNİK

ÜNİVERSİTESİ

LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

DOKTORA
TEZİ

**EGE DENİZİ'NDEKİ
SİNAGRİT (*DENTEX DENTEX*) VE
SİVRİBURUN (*DIPLODUS PUNTAZZO*)
BALIKLARININ DOĞAL VE KÜLTÜR
POPÜLASYONLARI ARASINDAKİ
GENETİK ETKİLEŞİM VE
VARYASYONLARIN MOLEKÜLER
MARKIRLARLA BELİRLENMESİ VE
GELECEKTEKİ DURUM TAHMİNİ**

ALİ KAYACI

SU ÜRÜNLERİ
ANABİLİM DALI

AĞUSTOS 2023



**EGE DENİZİ'NDEKİ SİNAGRİT (*DENTEX DENTEX*) VE SİVRİBURUN
(*DIPLodus PUNTAZZO*) BALIKLARININ DOĞAL VE KÜLTÜR
POPÜLASYONLARI ARASINDAKİ GENETİK ETKİLEŞİM VE
VARYASYONLARIN MOLEKÜLER MARKIRLARLA BELİRLENMESİ VE
GELECEKTEKİ DURUM TAHMİNİ**

Ali KAYACI

**DOKTORA TEZİ
SU ÜRÜNLERİ ANABİLİM DALI**

**İSKENDERUN TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**

Ağustos 2023

Ali KAYACI tarafından hazırlanan “EGE DENİZİ’NDEKİ SİNARİT (*Dentex dentex*) VE SİVRİBURUN KARAGÖZ (*Diplodus puntazzo*) BALIKLARININ DOĞAL VE KÜLTÜR POPÜLASYONLARI ARASINDAKİ GENETİK ETKİLEŞİM VE VARYASYONLARIN MOLEKÜLER MARKIRLARLA BELİRLENMESİ VE GELECEKTEKİ DURUM TAHMİNİ” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile İskenderun Teknik Üniversitesi Su Ürünleri Anabilim Dalında DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. Mehmet Fatih CAN

Su Ürünleri Ana Bilim Dalı, İskenderun Teknik Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum

.....

Başkan: Prof. Dr. Hasan Hüseyin ATAR

Su Ürünleri Ana Bilim Dalı, Ankara Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum.

.....

Üye: Prof. Dr. C. Kaya GÖKÇEK

Hayvan Yetiştiriciliği Anabilim Bilim Dalı, Mustafa Kemal Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum.

.....

Üye: Prof. Dr. Yavuz MAZLUM

Su Ürünleri Ana Bilim Dalı, İskenderun Teknik Üniversitesi,

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum

.....

Üye: Prof. Dr. Yasemin Bircan YILDIRIM

Su Ürünleri Ana Bilim Dalı, İskenderun Teknik Üniversitesi,

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum.

.....

Tez Savunma

Tarihi:

29/08/2023

Jüri tarafından kabul edilen bu tezin Doktora Tezi olması için gerekli şartları yerine getirdiğini onaylıyorum.

.....

Doç. Dr. Ersin BAHÇECİ
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

İskenderun Teknik Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- ☒ Tez üzerinde Yükseköğretim Kurulu tarafından hiçbir değişiklik yapılamayacağı için tezin bilgisayar ekranında görüntülendiğinde asıl nüsha ile aynı olması sorumluluğunun tarafıma ait olduğunu,
- ☒ Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- ☒ Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- ☒ Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- ☒ Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- ☒ Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

İmza
Ali KAYACI
...../...../.....

EGE DENİZİ'NDEKİ SİNARİT (*Dentex dentex*) VE SİVRİBURUN KARAGÖZ (*Diplodus puntazzo*) BALIKLARININ DOĞAL VE KÜLTÜR POPÜLASYONLARI ARASINDAKİ GENETİK ETKİLEŞİM VE VARYASYONLARIN MOLEKÜLER MARKIRLARLA BELİRLENMESİ VE GELECEKTEKİ DURUM TAHMİNİ

(Doktora Tezi)

Ali KAYACI

İSKENDERUN TEKNİK ÜNİVERSİTESİ

LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

Ağustos 2023

ÖZET

Küresel ısınmanın olumsuz etkileri ile birlikte, dünya nüfusundaki hızlı artış karşısında insanların ihtiyaç duyduğu hayvansal protein ihtiyacının karşılanabilmesi için su ürünleri yetiştiriciliğinin tüm Dünya’da üretim alanı ve kapasitesinin artması beklenmektedir. Ancak kaçınılmaz olarak bu artışın doğal ekosistem üzerinde etkileri olacaktır. Bu etkilerden biride doğal ortamda bulunan ve genetik olarak daha fazla heterozigot yapıda olan bireyler ile çeşitli nedenlerden dolayı yetiştiricilik ortamlarından doğal ortama kaçan ve genetik olarak daha çok homozigot yapıda olan aynı türün bireyleri arasındaki döllenmeden kaynaklanan genetik çeşitliliğin azalması riskidir. Mümkün mertebede ekolojik olarak sürdürülebilir üretimin sağlanabilmesi için bu ilişkilerin anlaşılması önemlidir. Sinarit (*Dentex dentex*) ve Sivriburun karagöz (*Diplodus puntazzo*) Türkiye’nin Ege ve Batı Akdeniz bölgelerinde yetiştiriciliği yapılan balık türleridir. Bu çalışma ile bu iki türün doğal ve kültür popülasyonları arasındaki genetik etkileşim ve varyasyonların moleküler markırlar ile belirlenmesi ve gelecekteki durum tahmini yapılması amaçlanmıştır. Balık materyalleri için Ege Denizi ve Batı Akdeniz’de Karaburun, Çeşme, Kuşadası, Güllük, Bodrum, Çanakkale ve Antalya olmak üzere 7 farklı lokasyon belirlenmiştir. Kültür ve doğal olmak üzere Sinarit balığından toplam 53 örnek, Sivriburun karagöz balığından 58 adet örnek incelenmiştir. Sinarit türünde Ct ve Tm değerleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak fark bulunmamıştır ($p>0,05$). Buna karşın, Sivriburun karagöz türünde, bireylerin alındığı bölgeleri temsil eden gruplar arasında Ct değerleri açısından istatistik olarak çok önemli fark bulunmuştur ($p<0,05$). Elde edilen HRM profilleri Sinarit türünde 2 farklı grupta toplamıştır. Sivriburun karagöz türünde ise HRM profilleri, 4 farklı grup toplanmıştır. Sinarit türüne ait toplam 53 bireyde toplam haplotip sayısı $h=26$ olarak belirlenmiş, toplam ortalama haplotip çeşitliliği $Hd=0,7632$ olduğu tespit edilmiştir. Toplam belirlenen haplotiplerin 22’si istasyonlardan temin edilen ve çalışmayı oluşturan bireylerde sadece bir hayvanda bulunduğu tespit edilmiştir. Sivriburun Karagöz türüne ait toplam 58 bireyde toplam haplotip sayısı $h=45$ olarak belirlenmiş, toplam ortalama haplotip çeşitliliği $Hd=0,9816$ olduğu tespit edilmiştir. Sinarit popülasyonunda nükleotid çeşitlilik (π) verilerine bakıldığında ortalama nükleotid çeşitliliği: 0,004423 olarak belirlenmiştir. En yüksek değer “Karaburun kültür” $\pi=0,00967(+0,00122)$ ve en düşük değer ise $\pi=0,00140 (+0,00074)$ ile “Karaburun doğal” popülasyonunda gözlenmiştir. Sivriburun Karagöz popülasyonunda nükleotid çeşitlilik (π) verilerine bakıldığında ortalama nükleotid çeşitliliği: 0,0103 olarak belirlenmiştir. En yüksek değer “Çeşme doğal” $\pi=0,01935$ ve en düşük değer ise $\pi=0,00771$ ile “Kuşadası doğal” popülasyonunda gözlenmiştir. Sinarit türünde incelenen toplam nükleotid sayısı 477 bç’tir. Nükleotid dağılımı sırayla, T: %30,7; C: %28,6; A: %23,9; G: %16,8 olarak tespit edilmiştir. Sinarit örnekleri için toplam transisyon/transversiyon eğilimi (bias) $R=0,70$ olarak hesaplanmıştır. Sivriburun karagöz

türünde incelenen toplam nükleotid sayısı 465 bç'tir. Nükleotid dağılımı sırayla T: %31,6; C: %27,3; A: %25,0; G: %16,1 olarak tespit edilmiştir. Sivriburun karagöz örnekleri için toplam transisyon/transversiyon eğilimi (bias) $R = 1,419$ olarak hesaplanmıştır. Değerlerin kabul edilir sınırlar içerisinde olduğu görülmektedir. Sinarit türüne ait istasyonlardan "Karaburun kültür" ile "Güllük doğal" arasında en yakın genetik uzaklık 0,00080 olarak tespit edilmiştir. Sivriburun Karagöz türüne ait istasyonlardan "Karaburun doğal" ile "Güllük doğal" ve "Bodrum doğal" sırayla en yakın genetik uzaklık; 0,000106; 0,00060 olarak tespit edilmiştir. Bu durum istasyonlarda bulunan popülasyonların benzerlik oranı yüksek olmasından kaynaklanabildiğinin göstergesidir. Sinarit türüne ait 53 birey ile kontrol amacıyla evrensel gen havuzundan alınan levrek türüne ait (JQ623929.2) dizi ile DNA dizileme sonuçlarını içeren neighbor joining ağacı 7 gruptan oluşmuştur. Sivriburun Karagöz türüne ait 58 birey ile kontrol amacıyla evrensel gen havuzundan alınan levrek türüne ait (KP975556.1) dizisinin de bulunduğu DNA dizileme sonuçlarını içeren neighbor joining ağacı 4 gruptan oluşmuştur. Sinarit türüne ait veriler ile Sivriburun Karagöz türüne ait, Tajima'nın D değeri ve Fu'nun Fs testlerinde, tüm popülasyonların değerleri negatif ve toplam değerler negatif olduğu ve bu nedenle istatistiksel olarak çoğunlukla anlamsız bulunmuştur. Sinarit türüne ait kültür ve doğal örnekler arasında modellemeye göre, genetik etkileşim süresi $t = 2,1584$ yıl olarak tahmin edilmiştir. Sivriburun Karagöz türüne ait kültür ve doğal örnekler arasında modellemeye göre, genetik etkileşim süresi $t = 5,1367$ yıl olarak tahmin edilmiştir.

Sonuç olarak, incelen Sinarit ve Sivriburun Karagöz örneklerinde kültür ile doğal istasyonlar arasında farklı düzeylerde de olsa, genetik açıdan bir etkileşimin olduğu belirlenmiştir. Coğrafi koşulların, çalışma alanı için popülasyonların göçü açısından zorlu koşullara sahip olmaması bir etken olduğu düşünülmektedir. Belirli varsayımlar altında yapılan modelleme ile Sinarit ve Sivriburun karagöz türleri için, kültür ve doğal balıklar arasında genetik farklılığın 40 yıl içerisinde çok azalacağı öngörülmektedir. Doğal ortamdaki genetik çeşitliliğin korunması için, üretim tesislerin kalbi niteliğinde olan kuluçkahanelerde, damızlık yönetiminde sahip olunan gen havuzlarını oluşturan anaçlar belirli periyotlarda yenilenmeleri ve değişik popülasyonlardan anaç seçimlerinin bir program çerçevesinde yapılmalıdır. Bunun yanında kafeslerden kaçışın enaza indirilmesi için, üretim ekosistemi içinde bütünleşik olarak yapay zekâ, sensörler ve nesnelerin interneti gibi yenilikçi teknolojilerin de kullanılması önerilmektedir. Bunların sağlanabilmesi için doğal stokların korunmasını önceleyen bir yetiştiricilik politikasını oluşturmaya ihtiyaç vardır. Özel ölçekte ise, tür ve/veya bölgeye özgü bir ERP (Kurumsal Kaynak Planlama) modeli oluşturulabilir.

Anahtar Kelimeler : Mtdna, COI, Common Dentex, *Dentex dentex*, Sharpsnout Seabream, *Diplodus puntazzo*, Nükleotid Çeşitlilik, Haplotip Sayısı, Haplotip Çeşitliliği, HRM, Erime Zamanı, Döngü Sayısı, Transisyon Eğilim, Transversiyon Eğilim, Genetik Uzaklık, Neighbour Joining, Modelleme

Sayfa Adedi : 172

Danışman : Prof. Dr. Mehmet Fatih CAN

DETERMINATION OF GENETIC INTERACTIONS AND VARIATIONS BETWEEN
NATURAL AND CULTURED POPULATIONS OF COMMON DENTEX (*Dentex
dentex*) AND SHARPSNOUT SEABREAM (*Diplodus puntazzo*) FISHES IN AEGEAN
SEA BY MOLECULAR MARKERS AND PREDICTION OF FUTURE STATUS

(Doctoral Thesis)

Ali KAYACI

İSKENDERUN TECHNICAL UNIVERSITY

GRADUATE EDUCATION INSTITUTE

August 2023

ABSTRACT

Along with the negative effects of global warming, it is expected that the production area and capacity of aquaculture will increase all over the world in order to meet the animal protein needs of people in the face of the rapid increase in the world population. However, this increase will inevitably have impacts on the natural ecosystem. One of these effects is the risk of decreasing genetic diversity due to fertilization between individuals of the same species, which are genetically more heterozygous in the natural environment, and individuals of the same species, which are genetically more homozygous and escape from aquaculture environments to the natural environment for various reasons. It is important to understand these relationships in order to ensure ecologically sustainable production as far as possible. Common Dentex (*Dentex dentex*) and Sharpsnout Seabream (*Diplodus puntazzo*) are fish species farmed in the Aegean and Western Mediterranean regions of Turkey. The aim of this study was to determine the genetic interactions and variations between the natural and cultured populations of these two species by molecular markers and to predict the future status. Seven different locations in the Aegean Sea and Western Mediterranean, namely Karaburun, Çeşme, Kuşadası, Güllük, Bodrum, Çanakkale and Antalya were determined for the fish materials. A total of 53 specimens of Common Dentex fish and 58 specimens of Sharpsnout Seabream fish, both cultured and natural, were examined. There was no statistical difference ($p>0.05$) between the groups in terms of Ct and Tm values. On the other hand, there was a statistically significant difference ($p<0.05$) in Ct values between the groups representing the regions where the individuals were taken. The HRM profiles obtained were grouped in 2 different groups in the Common Dentex species. In Sharpsnout Seabream species, HRM profiles were collected in 4 different groups. The total number of haplotypes $h=26$ was determined in 53 individuals belonging to the Common Dentex species and the total average haplotype diversity $H_d=0.7632$. It was determined that 22 of the total haplotypes were found in only one animal in the individuals obtained from the stations and constituting the study. The total number of haplotypes in 58 individuals belonging to the Sharpsnout Seabream species was determined as $h=45$ and the total average haplotype diversity was determined to be $H_d=0.9816$. Looking at the nucleotide diversity (π) data in the Common Dentex population, the average nucleotide diversity was determined as 0.004423. The highest value was observed in "Karaburun culture" with $\pi=0.00967 (+0.00122)$ and the lowest value was observed in "Karaburun natural" population with $\pi=0.00140 (+0.00074)$. Looking at the nucleotide diversity (π) data in Sharpsnout Seabream population, the average nucleotide diversity was determined as 0.0103. The highest value was observed in "Çeşme natural" with $\pi=0.01935$ and the lowest value was observed in "Kuşadası natural" population with $\pi=0.00771$. The total number of nucleotides analyzed in the

Common Dentex species is 477 bc. The nucleotide distribution was as follows: T: 30.7%; C: 28.6%; A: 23.9%; G: 16.8%. The overall bias for transposition/transversion for the Common Dentex samples was calculated as $R = 0.70$. The total number of nucleotides analyzed in Sharpsnout Seabream species is 465 bc. The nucleotide distribution was as follows: T: 31.6%; C: 27.3%; A: 25.0%; G: 16.1%. The total bias for transposition/transversion was calculated as $R = 1.419$ for the Sharpsnout Seabream samples. It is seen that the values are within acceptable limits. The closest genetic distance between "Karaburun culture" and "Güllük natural" among the stations belonging to the Common Dentex species was determined as 0.00080. The closest genetic distance between "Karaburun natural" and "Güllük natural" and "Bodrum natural" stations of Sharpsnout Seabream species was 0.000106, 0.00060 respectively. This situation is an indication that the populations in the stations may be due to the high similarity rate. The neighbor joining tree containing the results of DNA sequencing with 53 individuals belonging to the flycatcher species and the sequence of the sea bass species (JQ623929.2) taken from the universal gene pool for control purposes consisted of 7 groups. The neighbor joining tree containing the DNA sequencing results of 58 individuals belonging to the Sharpsnout Seabream species and the sequence (KP975556.1) of the sea bass species taken from the universal gene pool for control purposes consisted of 4 groups. In Tajima's D-value and Fu's F_s tests, the values of all populations were found to be negative and the total values were found to be negative and therefore mostly statistically insignificant in the data of the Common Dentex species and Sharpsnout Seabream species. According to the modeling between cultivated and natural specimens of the flycatcher species, the genetic interaction time was estimated as $t = 2.1584$ years. According to the modeling between cultivated and natural specimens of Sharpsnout Seabream species, the genetic interaction time was estimated as $t = 5.1367$ years. As a result, it was determined that there was a genetic interaction between the culture and natural stations in the Common Dentex and Sharpsnout Seabream samples examined, albeit at different levels. Geographical conditions are thought to be a factor for the study area not having challenging conditions for the migration of populations. With the modeling done under certain assumptions, it is predicted that the genetic diversity between cultured and natural fishes will be very low within 40 years for Common Dentex and Sharpsnout Seabream species. In order to preserve the genetic diversity in the natural environment, the broodstock that make up the gene pools in the hatcheries, which are the heart of the production facilities, should be renewed in certain periods and broodstock selections from different populations should be made within the framework of a program. In addition, it is recommended that innovative technologies such as artificial intelligence, sensors and the internet of things should be used in an integrated manner within the production ecosystem in order to minimize the escape from cages. In order to achieve these, there is a need to establish an aquaculture policy that prioritizes the protection of natural stocks. On a specific scale, a species and/or region-specific ERP (Enterprise Resource Planning) model can be created.

Anahtar Kelimeler	: Mtdna, COI, Common Dentex, <i>Dentex dentex</i> , Sharpsnout Seabream, <i>Diplodus puntazzo</i> , Nucleotide Diversity, Haplotype Count, Haplotype Diversity, HRM, Melting Time, Cycle Count, Transition Tendency, Transversion Tendency, Genetic Distance, Neighbor Joining, Modelling
Sayfa Adedi	: 172
Danışman	: Prof. Dr. Mehmet Fatih CAN

TEŞEKKÜR

Bu çalışma, **TÜBİTAK 113O367** numaralı “Ege Denizi'ndeki Çipura (*Sparus aurata*), Levrek (*Dicentrarchus labrax* L.), Sinarit (*Dentex dentex*) ve Sivriburun Karagöz (*Diplodus puntazzo*) Balıklarının Doğal ve Kültür Popülasyonları Arasındaki Genetik Etkileşim ve Varyasyonların Moleküler Markırlar İle Belirlenmesi ve Yapay Sinir Ağ İle Gelecekteki Durum Tahmini” adlı proje kapsamında yapılmıştır. Bu süreçte ilgisini ve desteğini üzerimden esirgemeyen, verdiği değerli önerileri ile tez süreci boyunca yol gösteren saygıdeğer hocam ve tez danışmanım sayın Prof. Dr. Mehmet Fatih CAN’a; doktora lisansüstü eğitimim süresince desteklerini esirgemeyen Prof. Dr. Mevlüt AKTAŞ’a ve Prof. Dr. Yavuz MAZLUM’a; makale sürecinde ve tez hazırlama aşamalarında destek veren Prof. Dr. Mustafa ERAYMAN’a; TÜBİTAK projesinde her türlü desteği ve çalışmayı yapan değerli öğretim üyelerine teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Her zaman yanımda olan, tezime başladığım ilk günden itibaren sonsuz sabır ve desteğini esirgemeyen kıymetli eşim Öğretmen Fazilet KAYACI’ ya ve değerli aileme teşekkür ederim.

Artık yanımda olmasalar da beni en iyi şekilde yetiştirip büyüten, her zaman iyi bir birey ve başarılı bir insan olmam için emek etmiş, Annem Ayşe KAYACI’yı ve Babam Mesut KAYACI’yı rahmet ve minnet ile anarak, teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	vi
TEŞEKKÜR.....	viii
İÇİNDEKİLER.....	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xv
HARİTALAR DİZİNİ.....	xvii
RESİMLER DİZİNİ.....	xviii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xix
 1. GİRİŞ.....	 1
 2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	 18
2.1. Sinarit ve Sivriburun Karagöz Yetiştiriciliği ile İlgili Önceki Çalışmalar.....	18
2.2. Biyoinformatik Yöntemlerle İlgili Önceki Çalışmalar.....	20
 3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	 29
3.1. Materyal.....	29
3.2. Yöntem.....	35
3.2.1. Genomik dna izalasyonu.....	35
3.2.2. Gerçek zamanlı pcr (qpcr) ve yüksek çözünürlükte erime eğrisi (hrm) analizi	36
3.2.3. Primerlerin tasarlanması.....	37
3.2.4. Dizi analizi ve filogenetik analizler.....	38
3.2.6. Genetik farklılaşmanın belirlenmesi ve geleceğe ait projeksiyon (modelleme)	38

3.2.7. Geleceğe ait projeksiyon (modelleme).....	39
4. ARAŞTIRMANIN BULGULARI.....	41
4.1. DNA İzolasyonu ve Kontrolü.....	41
4.2. HRM Bulguları.....	48
4.3. MtDNA COI Bölgesinin Dizi Analizi Sonuçları.....	53
4.4. Nükleotid (π) ve Haplotip Çeşitliliği (Hd).....	58
4.5. Nükleotit Yer Değiştirme Oranlarına Ait Bulgular.....	63
4.6. İstasyonlar arası genetik mesafe bulguları.....	65
4.7. Filogenetik Ağaç Oluşturulması.....	68
4.8. Nötralite Testleri Bulguları.....	72
4.9. Genetik Farklılaşmanın Belirlenmesi ve Modelleme Kullanılarak Geleceğe Ait Projeksiyon.....	75
5. TARTIŞMA.....	77
5.1. CT ve TM Bulgularını Değerlendirilmesi.....	77
5.2. HRM Analizlerin Değerlendirilmesi.....	78
5.3. MtDNA dizi Analizlerini Değerlendirilmesi.....	80
5.4. Haplotip Çeşitliliği ve Haplotip Sayısının Değerlendirilmesi.....	80
5.5. Nükleotit Çeşitliliğin Değerlendirilmesi.....	86
5.6. Nükleotit Yer Değişim Oranlarının Değerlendirilmesi.....	89
5.7. İstasyonlar arası Genetik Mesafe Sonuçların Değerlendirilmesi.....	90
5.8. Filogenetik Ağaç ve Haplogrup Dağılımların Değerlendirilmesi.....	94
5.9. Nötralite Testlerinin Değerlendirilmesi.....	99

5.10. Genetik Farklılaşmanın Belirlenmesi ve Modelleme Kullanılarak Geleceğe Ait Projeksiyon (Modelleme).....	102
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	103
KAYNAKLAR.....	111
DİZİN.....	128
EKLER.....	133



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 3.1. Sinarit (<i>Dentex dentex</i>) örnekleme yapılan lokasyonlar ve örneklenen birey sayısı.....	31
Çizelge 3.2. Sivriburun Karagöz (<i>Dipodus puntazzo</i>) örnekleme yapılan lokasyonlar ve örneklenen birey sayısı.....	31
Çizelge 3.3. Farklı istasyonlardan temin edilen doğal ve kültür Sinarit (<i>D.dentex</i>) ve Sivriburun Karagöz (<i>D.puntazzo</i>) türlerine ait koordinatlar ve işletmeler.	32
Çizelge 3.4. İstasyonlar arası mesafe (km)	33
Çizelge 3.5. Reaksiyon içerikleri ve miktarları	36
Çizelge 3.6. Primerler ve hedef organizmalar	37
Çizelge 3.7. MtDNA COI geni için kullanılan Real-Time PCR Programı.....	37
Çizelge 4.1. <i>Dentex dentex</i> türüne ait COI hedef geni için yapılan QPCR deneylerine ait döngü sayısı (Ct) ve erime sıcaklığı (Tm) verileri.	41
Çizelge 4.1. (Devam) <i>Dentex dentex</i> türüne ait COI hedef geni için yapılan QPCR deneylerine ait döngü sayısı (Ct) ve erime sıcaklığı (Tm) verileri.....	42
Çizelge 4.2. <i>D.dentex</i> türüne ait Ct değerlerinin varyans analizi.....	43
Çizelge 4.3. <i>D.dentex</i> türüne ait Tm değerlerinin varyans analizi.....	44
Çizelge 4.4. <i>Diplodus puntazzo</i> türüne ait COI hedef geni için yapılan QPCR deneylerine ait döngü sayısı (Ct) ve erime sıcaklığı (Tm) verileri.....	45
Çizelge 4.4. (Devam) <i>Diplodus puntazzo</i> türüne ait COI hedef geni için yapılan QPCR deneylerine ait döngü sayısı (Ct) ve erime sıcaklığı (Tm) verileri.....	46
Çizelge 4.5. <i>Diplodus puntazzo</i> türüne ait Ct değerlerinin varyans analizi.	47
Çizelge 4.6. <i>D. puntazzo</i> türüne ait Tm değerlerinin varyans analizi.	48
Çizelge 4.7. HRM analizi ile <i>Dentex dentex</i> COI DNA dizilerinin benzerliklerine göre gruplandırılması (genotipleme)	49
Çizelge 4.8. HRM analizi ile <i>Dentex dentex</i> COI DNA dizilerinin benzerliklerine göre grup (genotipleme) ve örnek sayısı	50
Çizelge 4.9. HRM analizi ile <i>Dentex dentex</i> ait genotip grubu, birey ve popülasyon sayısı.....	50

Çizelge 4.10. HRM analizi ile <i>Diplodus puntazzo</i> COI DNA dizilerinin benzerliklerine göre gruplandırılması (genotipleme)	51
Çizelge 4.11. HRM analizi ile <i>Diplodus puntazzo</i> ait genotip grubu, birey ve popülasyon sayısı	51
Çizelge 4.12. HRM analizi ile <i>Diplodus puntazzo</i> COI DNA dizilerinin benzerliklerine göre gruplandırılması (genotipleme)	52
Çizelge. 4.14. <i>D.puntazzo</i> türüne ait örneklerden elde edilen COI gen bölgesinin alignment analizi	56
Çizelge. 4.14. (Devam) <i>D.puntazzo</i> türüne ait örneklerden elde edilen COI gen bölgesinin alignment analizi.....	57
Çizelge 4.15. <i>D.dentex</i> türüne ait haplotiplerin COI bölgesindeki nükleotid değişim analiz sonuçları.....	58
Çizelge 4.16. <i>Dentex dentex</i> türüne ait tespit edilen haplotipler ve belirlendiği örnek kodları.....	59
Çizelge 4.17. İstasyonlara göre <i>D.dentex</i> haplotip ve genetik çeşitlilik bilgileri	60
Çizelge 4.18. <i>D.puntazzo</i> türüne ait haploit grupların sekans hizalamaları ve nükleotid değişimleri	61
Çizelge 4.19. <i>Diplodus puntazzo</i> türüne ait tespit edilen haplotipler ve belirlendiği örnek kodları.....	62
Çizelge 4.20. Çalışılan <i>D. Puntazzo</i> popülasyonlarında belirlenen genetik çeşitlilik parametreleri.....	62
Çizelge 4.21. Sinarit türü örneklerine ait nükleotid yer değişim oranları (Kimura 2P Methodu).	63
Çizelge 4.22. Sinarit türü örneklerine ait transisyonel ve transversiyonel yer değişim oranları (Kimura 2P Methodu).	64
Çizelge 4.23. Sivriburun Karagöz türü örneklerine ait nükleotid yer değişim oranları (Tamura Methodu ve Kimura 2p Methodu)	64
Çizelge 4.24. Sivriburun Karagöz türü örneklerine ait nükleotit yer değişim oranları (Tamura Methodu ve Kimura 2p Methodu)	64
Çizelge 4.25. Sinarit (<i>Dentex dentex</i>) ait istasyon veriler için genetik mesade ölçümü methodu (Nei'nin dxy ve da).....	65
Çizelge 4.26. Sivriburun Karagöz türüne ait istasyon veriler için genetik mesafe ölçümü methodu (Nei'nin dxy ve da) ***P<0,001, **P<0,01, *P<0,05	66

Çizelge 4.27. İstasyonlar arası mesafe (km)	66
Çizelge 4.28. Çalışmadaki istasyonlardaki Sinarit (<i>Dentex dentex</i>) örnekleri için Wright'ın F istatistiğine göre elde edilen uzaklık matrisi	73
Çizelge 4.29. Çalışmadaki istasyonlardaki Sivriburun Karagöz (<i>Diplodus puntazzo</i>) örnekleri için Wright'ın F istatistiğine göre elde edilen uzaklık.....	73
Çizelge 4.30. Sinarit türüne ait örneklerin nötralite testleri sonuçları	74
Çizelge 4.31. Sivriburun Karagöz türüne ait örneklerin nötralite testleri sonuçları.	74



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
Şekil 1.1 Dünya su ürünleri üretimi verileri.	2
Şekil 1.2 Türkiye Su Ürünleri Üretimi Miktarı.	2
Şekil 1.3. Bir yarasa mitokondrisinin elektron mikroskobu altında görünümü	
Mitokondrinin üç boyutlu yapısı.....	4
Şekil 1.4. <i>Silurus glanis</i> mitokondriyal genomu.....	5
Şekil 1.5. Realtime PCR reaksiyon kullanılan donanımı, yazılımı ve işleyiş şeması.....	8
Şekil 1.6. Realtime PCR reaksiyon kullanılan SYBR Green boyama ve ışıması.....	9
Şekil 1.7. HRM (Yüksek Çözünürlüklü Erime) analiz şeması	10
Şekil 1.8. Dairesel bir filogenetik ağacın yapısı	15
Şekil 1.9. Sol ağaç Neighbour-Joining (köksüz), sağ ağaç UPGMA (köklü).....	16
Şekil 1.10. Temel filogenetik ağaç yapısı	17
Şekil 3.1. İstasyonlar arası mesafelerin harita üzerinde gösterimi.....	34
Şekil 3.2. Çalışmada kullanılan örneklerin kodlamalarının açılımı.....	35
Şekil 3.3. Karaburun Doğal <i>D.dentex</i> 1 örneği referans alınarak, Karaburun <i>D.dentex</i> doğal ve kültür arasındaki farklılık Bioedit® programı ile belirlenmesi.....	39
Şekil 4.1. <i>Dentex dentex</i> türüne ait COI hedef geni için örnek 5-36 arasına yapılan QPCR deneylerine ait döngü sayısı (Ct) görüntüsü.	44
Şekil 4.2. <i>Dentex dentex</i> türüne ait COI hedef geni için örnek 5-36 arasına yapılan QPCR ait erime sıcaklığı (Tm) görüntüsü.....	44
Şekil 4.3. Sinarit (<i>Dentex dentex</i>) örnek 1 ile 53 arası HRM profilleri	48
Şekil 4.4. Sivriburun Karagöz (<i>Diplodus puntazzo</i>) türüne ait örnek 1 ile 58 arası HRM profilleri	51
Şekil 4.5. Sinarit (<i>Dentex dentex</i>) türüne ait örneklerden elde edilen sekans sonuçları örneği.	53
Şekil 4.6. Karaburun kültür <i>Dentex dentex</i> -2 no'lu sinarit (<i>Dentex dentex</i>) örneğinin sekanslamaya ait veri örneği.....	53
Şekil 4.9. Sinarit türüne ait istasyon veriler için genetik Nei'nin dxy uzaklığına göre çizilen Phylogram ağacı.....	65
Şekil 4.10. Sivriburun karagöz türüne ait istasyon veriler için Nei'nin dxy genetik uzaklığına göre çizilen Phylogram ağacı	67

Şekil 4.11. Çalışmadaki istasyonlardaki Sinarit (<i>Dentex dentex</i>) örnekleri için Wright	
'ın F istatistiğine göre elde edilen Treeview ile oluşturulan cladogram NJ ağacı.....	67
Şekil 4.12. Çalışmadaki istasyonlardaki Sinarit (<i>Dentex dentex</i>) örnekleri için Wright	
'ın F istatistiğine göre elde edilen Treeview ile oluşturulan phylogram NJ ağacı.....	67
Şekil 4.13. Çalışmadaki istasyonlardaki Sivriburun Karagöz (<i>Diplodus puntazzo</i>) örnekleri	
için Wright'ın F istatistiğine göre elde edilen Treeview ile oluşturulan cladogram NJ ağacı	
.....	68
Şekil 4.14. Çalışmadaki istasyonlardaki Sivriburun Karagöz (<i>Diplodus puntazzo</i>) örnekleri	
için Wright'ın F istatistiğine göre elde edilen Treeview ile oluşturulan phylogram NJ ağacı	
.....	68
Şekil 4.15. Sinarit türüne ait örneklerin NJ ağacı (Levrek ve Ncbi <i>Diplodus puntazzo</i>	
ilaveli)	69
Şekil 4.16. Sivriburun Karagöz türünün CO-I bölgesi için çizilen NJ	70
Şekil 4.17. Sivriburun Karagöz türüne ait örneklerin haplotiplerin göre Median Joining	
networku ve haplogrupların gösterimi	71
Şekil 4.18. Sinarit türüne ait örneklerin Haplotiplerine göre Median Joining networku ve	
haplogrupların gösterimi	72
Şekil 4.19. Sinarit (<i>Dentex dentex</i>) türüne ait kültür ile doğal arasındaki genetik çeşitliliğin	
değişimi	76
Şekil 4.20. Sivriburun karagöz (<i>Diplodus puntazo</i>) türüne ait kültür ile doğal arasındaki	
genetik çeşitliliğin değişimi	76

HARİTALAR DİZİNİ**Harita****Sayfa**

Harita 3.1. Örnekleme yapılan istasyonlar.....	30
--	----



RESİMLER DİZİNİ

Resim	Sayfa
Resim 3.1. Çalışmada kullanılan Sinarit (<i>Dentex dentex</i>) örneklerinden bazıları.....	30
Resim 3.2. Çalışmada kullanılan Sivriburun Karagöz (<i>Diplodus puntazzo</i>) örneklerinden bazıları.....	30
Resim 3.3. Sivriburun karagöz balığında doku örneğinin alınması ve kullanılan araçlar ..	36



SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Bu çalışmada kullanılmış simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	Açıklamalar
A	Adenin
bp	Baz Çifti Uzunluğu
C	Sitozin
Cl	Klor
Ct	Döngü Sayısı
g	1 birim Yer Çekimi
G	Guanin
gr	Gram
H	Haplotip Çeşitlilik
kb	Kilo baz çifti
Km	Kilometre
Mg	Magnezyum
ml	Mili Litre
n	Birey sayısı
N	Popülasyon Sayısı
°C	Celcius
p	istatistiksel anlam oranı
R	Transisyon/transversiyon eğilimi
t	Yıl
T	Timin
Tm	Erime Sıcaklığı
//	Nükleotid Çeşitlilik
µl	Mikro Litre

Kısaltmalar**Açıklamalar**

ATP

Adenozin Tri Fosfat

COI

Sitokrom Oksidaz I

Cytb

Sitokrom Oksidaz B

Df

Farklılık

DNA

Deoksiriboz Nükleotid Asit

dNTP

Deoksiriboz içeren nükleosit trifosfat

FAO

Food and Agriculture Organization

Fst

Genetik Mesafe-Uzaklık

HRM

High Resolution Melting

mtDNA

Mitokondriyal Deoksiriboz Nükleotid Asit

NJ

Neighbor-Joining

PB

Parmosonik Bölge

PCR

Polimeraz Zincir Reaksiyonu

PiS

Parmasonik Bilgi Verici

QPCR

Kantitatif Polimeraz Zincir Reaksiyonu

RAPID

Rastgele Arttırılmış Polimorfik DNA

RNA

Ribonükleik asit

rRNA

Ribozomal Ribonükleik asit

SS

Standart Sapma

tRNA

Transfer Ribonükleik asit

TÜİK

Türkiye İstatistik Kurumu

UPGMA

Unweighted Pair Group Method with Arithmetic

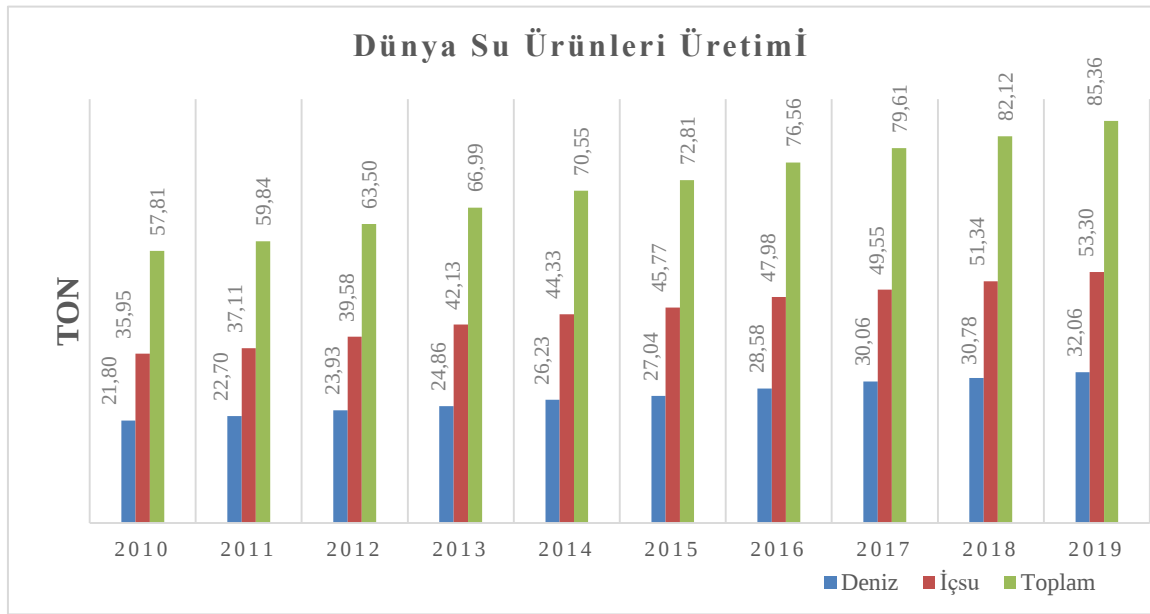
1. GİRİŞ

Dünya nüfusun da ki artış ve küresel ısınmamanın etkileri ile birlikte insan beslenmesinde hayvansal protein ihtiyacının karşılanabilmesi için balık üretimi her geçen gün daha da önem kazanmaktadır. Avcılık yolu ile doğal stoklardan temin edilebilecek su ürünleri üretimi sınırlı olduğundan ve bir kısım stok hâlihazırda aşırı sömürüldüğünden, yetiştiricilik yoluyla su ürünleri üretiminin artırılması bu anlamda tek yol olarak gözükmektedir. Nitekim dünya su ürünleri yetiştiriciliğindeki toplam üretim iki kat artarak, 2000 yılında 32,4 milyon tondan 2019 yılında 177,8 milyon tona ulaştığı görülmektedir (Şekil 1.1).

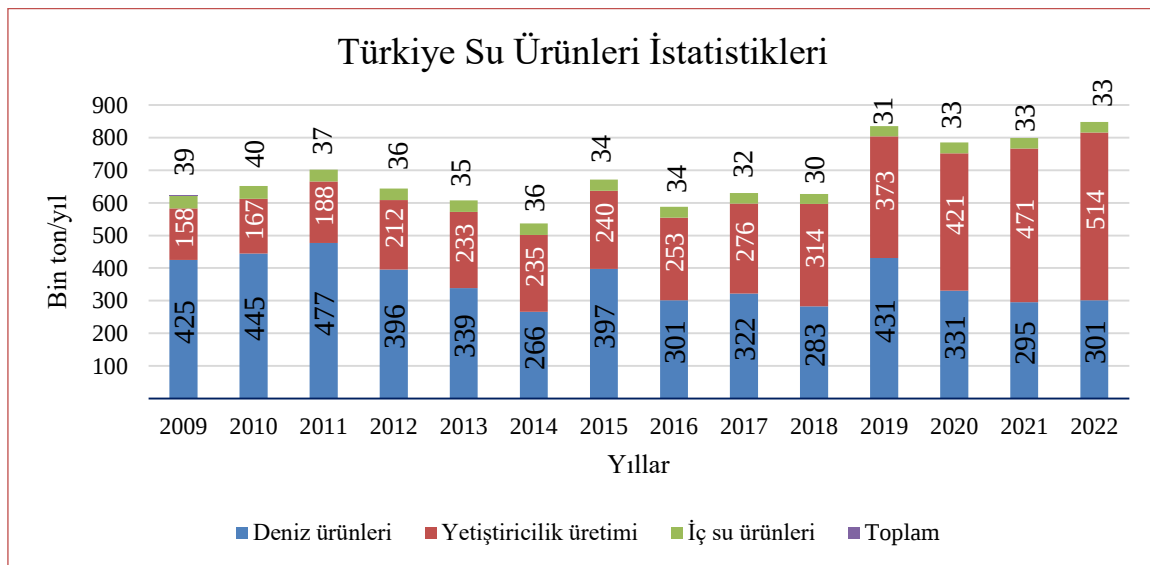
Dünya da görülen su ürünleri yetiştiriciliğindeki trend ülkemiz içinde geçerlidir. Nitekim 2010 yılında yetiştiricilik yoluyla üretim yıllık toplam 158 bin ton, 2022 yılında ise 514 bin ton olarak gerçekleşmiştir (Türkiye İstatistik Kurumu [TÜİK], 2022), (Şekil 1.2). Ülkemiz de su ürünleri yetiştiricilik sektörü hızlı gelişmekte olan bir endüstri haline gelmiş, 2022 yılı itibarı ile 1 milyar doların üzerinde bir ihracat değerine ulaşmıştır (Türkiye İstatistik Kurumu [TÜİK], 2022). Özellikle ülkemizin Akdeniz ve Ege Deniz kıyılarında önemli ölçüde çipura ve levrek, yetiştiriciliğinin yapıldığı görülmektedir. Talepteki bu artış, ticari değere sahip alternatif türlerin yetiştiriciliğe alınmasına sebep olmuştur. Bunun bir sonucu olarak, sinarit (*Dentex dentex*) ve Sivriburun karagöz (*Diplodus puntazzo*) türleri kültüre edilmeye başlanmış ve ticari olarak piyasaya sunulmuştur. Türkiye’de kültür ortamında sinarit üretimi 132 ton ve sivri burun karagöz üretimi 59 tondur. En son üretim verilerine sinarit üretimi için 2019 yılında 27 ton, sivri burun karagöz balığı üretimi için 2016 yılında 2 ton olarak bildirilmiştir. 2021 yılına ait istatistiklere göre avlama yoluyla elde edilen sinarit miktarı ise 68,4 ton ve sivri burun karagöz 0,5 ton olarak gerçekleşmiştir (Türkiye İstatistik Kurumu [TÜİK], 2022).

Su ürünleri yetiştiriciliği faaliyetlerindeki alansal ve zamansal ölçekteki hızlı artış beraberinde bu faaliyetlerin sürdürülebilirliği ve ekosistem üzerindeki etkilerinin de değerlendirilme ve sorgulanmasını beraberinde getirmektedir (Abdulsalam ve Kızak, 2019). Özellikle, sektörün çevreye ve ekosisteme vermiş olduğu fiziksel ve kimyasal zararlara ek olarak biyolojik ve genetik etkiler son yıllarda ayrı bir önem kazanmıştır. Gelişen ve büyüyen su ürünleri yetiştiriciliği sektörü, teknolojinin vermiş olduğu kolaylık ve teknikler ile yeni metotlar kullanılmasına rağmen çiftliklerden ve üretim alanlarından

doğaya kaçışların önüne tam olarak geçilememiştir. Bu durum beraberinde kaçan balıkların doğal türdeşleri ile genetik etkileşimde olup olmadıkları, etkileşim var ise bunun hangi oranda olduğu sorularını beraberinde getirmiştir. Genetik etkileşimin en olumsuz sonucu doğal ortamda bulunan balık stoklarındaki genetik çeşitliliğin azalması riskidir (Bradbury ve diğerleri, 2020)



Şekil 1.1 Dünya su ürünleri üretimi verileri (FAO, 2019).



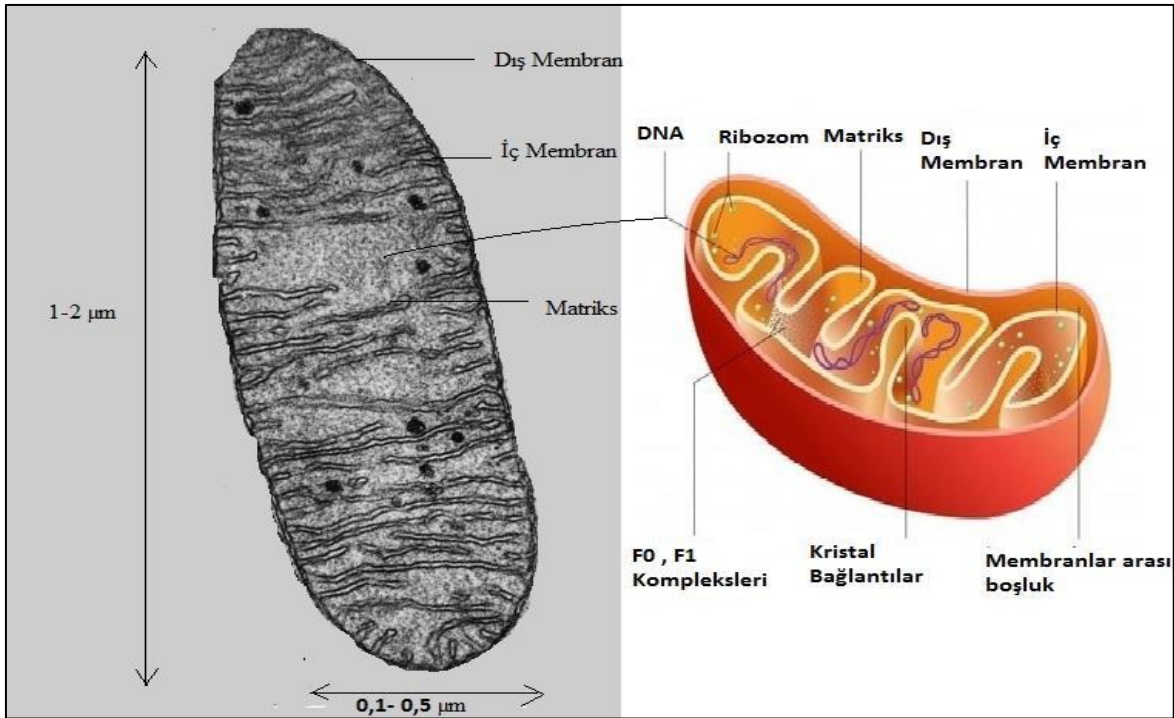
Şekil 1.2 Türkiye Su Ürünleri Üretimi Miktarı (TUİK 2022).

Mitokondriyal DNA (mtDNA) moleküler filogenetik çalışmalarda mevcut farklı gruplar, popülasyonlar, türler ve hatta bireyler arasındaki yüksek seviyedeki evrimsel ilişkileri ortaya çıkarmada, türlerin dişi ebeveynlerinin atasal ilişkilerinin geçmiş hakkında genomik düzeyde bilgi verici olmasından dolayı, balık popülasyonlarının genetik ilişkisi ve etkileşimlerinin ortaya konulması bakımından en çok tercih edilen moleküler markalama yöntemlerinden birisidir. Korunaklı bir yapıya sahip olması sebebiyle su ürünleri yetiştiriciliği alanında diğer türlerde olduğu gibi, sparidea familyasının türlerindeki filogenetik çalışmalarda popülasyonların soyağaçlarının ortaya konulmasında ve genetik etkileşimin var olup olmadığı, popülasyonlar arasındaki evrimsel sürecin belirlenmesi hakkında bilgi sahibi olunması açısından tercih edilmiştir (Fang ve diğerleri, 2022).

Bu çalışmada; sinarit (*Dentex dentex*) ve sivriburun karagöz (*Diplodus puntazzo*) türlerinin, Ege denizinde yetiştiricilik yoluyla üretim yapılan işletmelerden yapılan örnekler ile doğal vahşi türdeşleri arasında, doğaya kaçan balıklardan kaynaklanan genetik etkileşimin olup olmadığı moleküler incelemede mitokondriyal DNA'larından filogenetik yaklaşımda anlamsal öneme sahip olan Sitokrom Oksidaz I (COI) bölgesi hedef alınmış, bu bölgeye uygun primerler tasarlanıp, polimeraz zincir reaksiyonu (Polymerase Chain Reaction; PCR) ile istenilen bölge çoğaltılmış, incelenen türlerin tür içi farklılıkları ve benzerlikleri ortaya konulmasına yönelik DNA dizi analizi yapılmıştır. Sürdürülebilir bir balık üretimi için ekosistem temelli yaklaşımların belirlenmesinde genetik etkileşimin rolü filogenetik açıdan incelenmiştir.

Mitokondrinin Yapısı

Mitokondri; hücrede tek ve büyük olarak bulunabilmekle beraber hücre içerisindeki dağılımları ve miktarları farklı olabilmektedir. Hücrenin enerji ihtiyacına göre sayısı farklılık gösterir, örnek olarak karaciğer hücresi 2500 civarına mitokondri içerebilir. Bununla birlikte memeli hayvanların alyuvarlarında, mavi-yeşil alglerde ve prokaryot hücrelerde bulunmazlar. Resim 1.3'te gösterilen Mitokondrinin yapısının büyük bölümü protein ihtiva etmektedir. Ancak az miktarda lipid, DNA ve RNA bulunur. Kendine özgü DNA ve RNA bulundurması, bakterilere benzer şekilde enine ve boyuna çoğalabilme yeteneğine sahiptir. MtDNA boğumlanarak ikiye bölünen mitokondriye dağılarak çoğalma tamamlanmaktadır (Tanya ve Kumar; 2010).



Şekil 1.3. Bir yarasa mitokondrisinin elektron mikroskobu altında görünümü (solda) Mitokondrinin üç boyutlu yapısı (sağda) (Goldstein, Moerman ve Porter, 1984).

Mitokondriyal Genom

Mitokondri, kendine ait genomu yani mitokondriyal matriste içerisinde bulunan mitokondriyal DNA'yı (mtDNA) içerir. MtDNA hücre DNA'sından bağımsız olarak çoğalabilme özelliğine sahiptir. Böylelikle hücrenin enerji ihtiyacına göre replikasyona uğrayarak hücre içindeki sayısını arttırabilir. Her bir hücre genellikle mtDNA'nın birkaç benzer kopyasını içerir (Baltimore, Berk, Darnell, Lodish, Matsudaira ve, Zupursky 2003).

MtDNA, nispeten küçük, bol miktarda ve kolaylıkla izole edilmiş DNA molekülü olduğundan, erken genom sıralama projelerinin favori hedefidir ve çok sayıda türden mtDNA nükleotid dizisi belirlenmiştir. Hayvanlarda mitokondrial genom 16-18 kb iken, memeli mitokondriyal genomu yaklaşık 16,6 kb'lık kapalı dairesel, çift sarmallı bir DNA molekülüdür. MtDna, guanince zengin olup, polipeptit kodlamakla sorumlu 12 adet gen, transfer RNA (tRNA) kodlamaktan sorumlu 14 adet gen ile birlikte ribosomal RNA (rRNA) kodlayan iki geni ağır (H) zincir kolunda kodlanmıştır. Hafif zincir (L) kolunda 8 adet tRNA ve bir tek polipeptidi kodlanmıştır. Tüm 13 protein ürünleri oksidatif fosforilasyon sisteminin enzim komplekslerinin bileşenleridir (Anderson ve diğerleri, 1981; Chomyn ve diğerleri, 1985).

Döllenme esnasında yumurta tarafından spermdeki mtDNA yumurta içerisine alınmaz, böylelikle yumurtada bulunan mitokondriyal DNA, embriyonik dönemde sadece dişi bireyden aktarılan genetik materyal olarak bulunur. Bu olay “homoplazmi” olarak bilinmektedir. MtDNA’nın yeni nesillere aktarılması sadece dişi birey kökenlidir (Schwartz ve Vissing, 2002). Bakterilerde olduğu gibi mtDNA kopyalamasını tamamlayarak, eşit DNA bulunacak biçimde ortadan ikiye bölünür (Lewin, 2004).

Dıştaki halka Ağır (H) zincir halkası tarafından kodlanırken, içerideki daire hafif (L) zincir halkası tarafından kodlanır. Oklar, mtDNA amplifikasyonu için kullanılan primerleri temsil eder (Drosopoulou, Kappas, Pantzartzi ve Scouras, Vittas, 2011).

Filogenetik’te Mitokondriyal DNA’nın Yeri

Mitokondriyal DNA’da bulunan dizilerin %93-%94’ü kodlanmaya uygundur. Genler intron ihtiva etmezler. Genlerin bir kısmı üst üste sıralanmıştır, bir kısmı ise bir ya da iki bazlık kodlamaya izin verilmeyen bölgelerle birbirinden ayrılır veya boşluk vermeden devam eder. Mitokondriyal DNA’sı hücrenin nükleusunda ki DNA’dan farklı kendini çoğaltma mekanizmasında sahip olduğundan, çoğaltmadaki hata miktarı da birbirlerinden farklıdır. Nükleusta da bulunan DNA’nın mutasyona uğrama oranı mtDNA’ya göre çok daha fazladır. Bu durum popülasyonlar arasında genetik mesafenin belirlenmesinde ve filogenetik ağaçların oluşturulmasında mtDNA’nın 12srRNA, 16srRNA, Sitokrom-b, COI, COII ve D-loop bölgeleri kullanılmaktadır. Rekombinasyon göstermez, bununla birlikte hücre içerisinde çok fazla sayıda kopyası bulunur ve haploit özellik gösterir. MtDNA elde etmiş olduğu bu avantajla, genetik çalışmalarda bireyin filogenisini ortaya konulması açısından önemlidir. Mitokondriyal DNA moleküler filogenetik çalışmalarda mevcut farklı gruplar, popülasyonlar, türler ve hatta bireyler arasındaki yüksek seviyedeki evrimsel ilişkileri ortaya çıkarmada kullanılabilir olduğu yapılan çalışmalarla kanıtlanmıştır. Mitokondriyal DNA, hücrede bulunan DNA’nın %0,5’e yakını ihtiva etmektedir ve DNA molekülü ise çift zincirli, dairesel ve klonal olarak kendi genetik materyalinin aynısını taşıyan başka hücreler üretebilen (anneden gelen) mirastır. MtDNA’ya eklemeler/silmeler nadir olmamasına rağmen çoğu değişimler nokta mutasyonlar şeklindedir (Avise, 2012). MtDNA genomu DNA ya oranla nispeten küçüktür (balıklarda yaklaşık olarak 16,500 baz çifti), sinonim alanlardaki nükleotidlerin yüksek yer değişikliği oranına sahiptir. Perciformes familyasına ait balıklarda, mitokondriyal DNA’nın L-zinciri (light-hafif zincir) sitozin ve timinden zengin olmasından, H-zinciri (ağır zincir) ise guanin ve

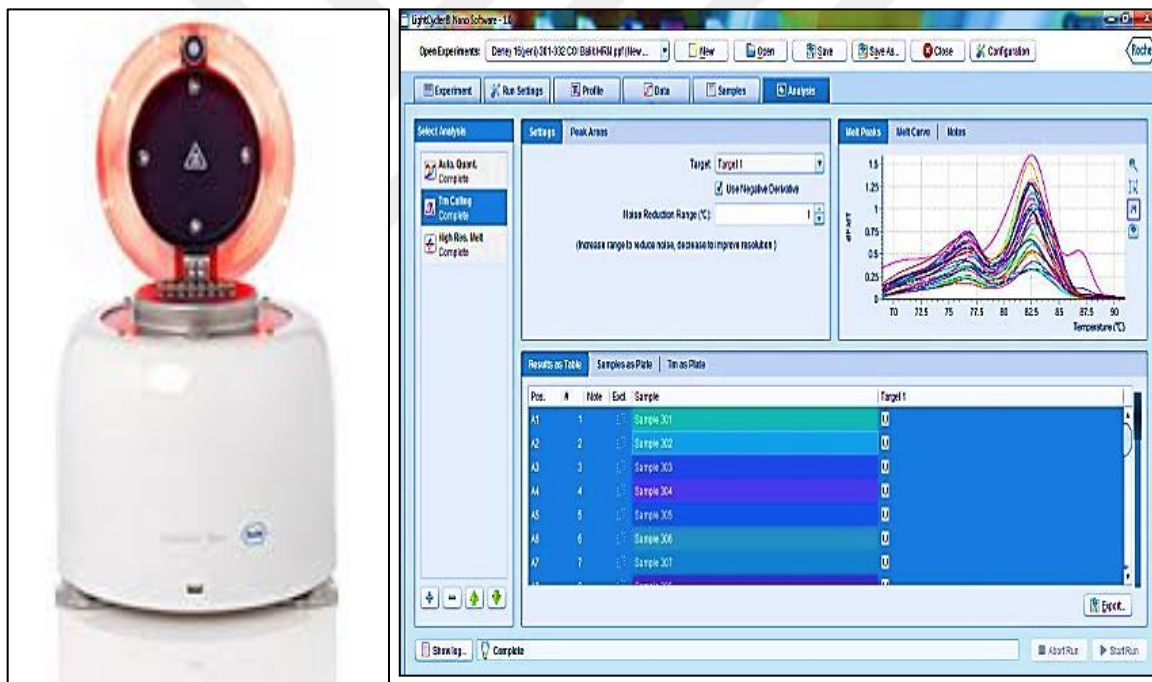
adenozinden zengin oluşundan kaynaklanmaktadır. Mitokondriyal DNA'da 13'ü protein kodu, 22'si tRNA geni ve 2'si rRNA kodlayan gen olmak üzere toplam 37 gen bulunmaktadır. Mitokondriyal genom içinde, farklı bölgeler farklı oranlarda evrimleştiğini bildirilmişlerdir. MtDNA genomlarını kullanarak benzer ağaçları elde ederek tekli mtDNA genlerinin kullanılabilir olduğunu açıklamış; genom filogenlerinin tamamının ortaya konmasının “gerçek” filogenin en iyi ölçüm olduğunu varsaymaktadır. Çekirdek DNA her hücrede 1 adet bulunmasına rağmen, MtDNA her hücrede 1000-10,000 kopya halinde mevcut olabilir. Bununla birlikte iki koruyucu membran zara sahip olan mitokondri, çevresel etkilere nükleer DNA'ya oranla çok daha dayanıklı olmasını bu iki özelliğine borçludur. Filogenetik alanda nükleer DNA'nın elde edilemediği, inceleme konusunda biyolojik materyalin kısıtlı olduğu ve deşere olan çok uzun zaman beklemiş örneklerde bile kullanışlı kılmaktadır. Diğer tekniklerle DNA dizi analizi arasındaki farklılıklara bakıldığında, DNA dizi analizi popülasyonlar arasındaki farklılaşmaya yol açan mutasyonların daha net biçimde ortaya koyması ve popülasyonların birbirinden uzaklaştığı zaman aralığının hesaplamada mutasyonun oluşum hızından faydalanmaktadır (Freeland, 2005; Meyer, 2004; Avise, 2012).

Filogenetik Temel Kavramlar ve Yöntemler

Realtime PCR

1980'li yılların sonlarına doğru polimer zincir reaksiyon (PCR veya PZR) tekniğinin gelişimiyle, 1990'lı yılların başında PCR ürünlerini sıcaklık döngüleri sağlayan ısıtıl döngüler (thermocyclers) cihaz ve hassas ölçüm yapan cihazların entegre edilip gerçek zamanlı tarayan bir sistem geliştirmeyi başarmışlardır. Gerçek zamanlı PCR sistemi etidyum bromür, UV ışığıyla beraber kutucuklara yerleştirilen her bir örneği aydınlanmaya yarayan termal döngü adaptörü ve oluşan floresan ışımının verilerini toplayacak bir kamera ve verileri analiz edecek bir bilgisayar sisteminden oluştuğunu bildirmişlerdir (Higuchi, Dollinger, Walsh, Griffith, 1992). Realtime pcr teknolojisinde reaksiyon başlangıcında Realtime PCR sisteminde kullanılan probler diziye özgü olarak tasarlanmıştır. Ancak kullanılan ışımaya yapan boyalar ise diziye özgü olarak tasarlanmamışlardır. Işıma yapan floresan parlama özellikli bu boyalar ile nitel ve nicel analizler uygulanabilmektedir (Wittwer ve diğerleri, 1997).

Bahse konu boyaların en çok kullanılan basit ve düşük maliyetli sistem, DNA'nın çift sarmalı arasına giren boya teknolojisidir. Bu boya türleri herhangi bir oligonükleotid eklenmesine gerek kalmadan DNA üzerine kolaylıkla tutunabilir. PCR koşullarına dikkat edilerek en uygun hale getirilmesi gerekir, çünkü çok özel ve çok özel olmayan örnekler iyi ayrıştırılması erime eğrisi analizinin verimliliği açısından önem arz etmektedir (Klein 2002). Bunun dışında kalan 3 sistemde ise, hibridizasyon çubukları (Wittwer ve diğ., 1997), moleküler işaretçi (Tyagi ve Kramer, 1996) ve hidroliz çubukları (Gibson, Heid, Williams, 1996) yöntemler reseptörler tarafından algılanabilir seviyede ışıma yapmak için oligonükleotid ayrılması esasına dayanmaktadır. Realtime PCR reaksiyon kullanılan donanımı, yazılımı ve işleyiş şeması Şekil 1.5'te gösterilmektedir.

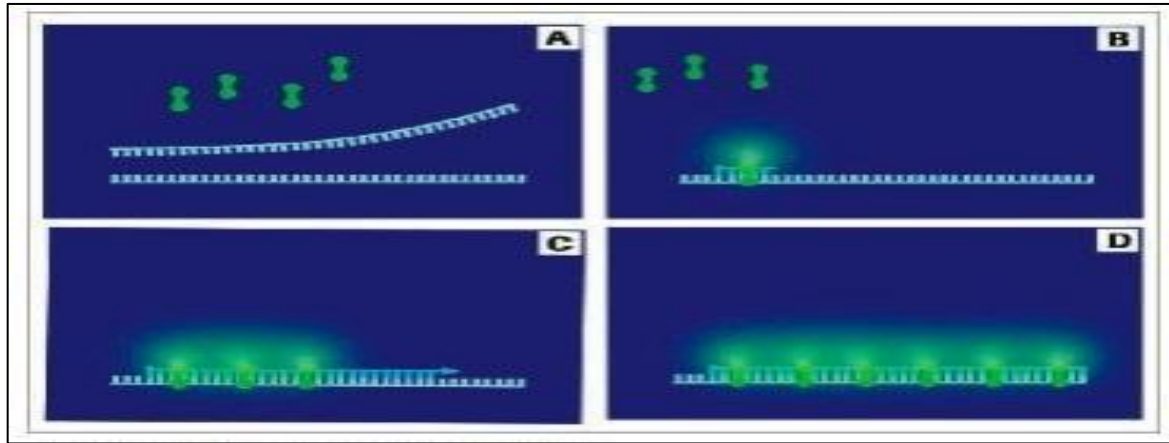


Şekil 1.5. Realtime PCR reaksiyon kullanılan donanımı, yazılımı ve işleyiş şeması

SYBR Green

Sybr Green çift zincirli DNA'ya tutunduklarında floresan ışıma yapan sybr green boya kullanılmasıyla, amplifikasyonla orantılı DNA artışı, ortama salınan floresan ışımının miktar ile ölçülmektedir. Reaksiyon kurulum aşamasında tüp içerisine primerler, yapısı bozulmuş DNA ve cyber green boya ayrı ayrı bulunduğu için ışıma sifra yakındır. Hedef moleküle primerin tutunması ile birlikte az miktarda cyber green boya çift sarmal'a

bağlanmasıyla az miktarda ışığa kaydedilir. Çift sarmal DNA sentezinin başlayıp uzamasını takip eden süreçte bağlanan boya miktarındaki artışla beraber floresan ışığa miktarında belirgin bir artışa sebep olacaktır (Gibson, Heid, Williams, 1996). Realtime PCR reaksiyon kullanılan SYBR Green boyama ve ışınması Şekil 1.6’da gösterilmektedir.



Şekil 1.6. Realtime PCR reaksiyon kullanılan SYBR Green boyama ve ışınması.

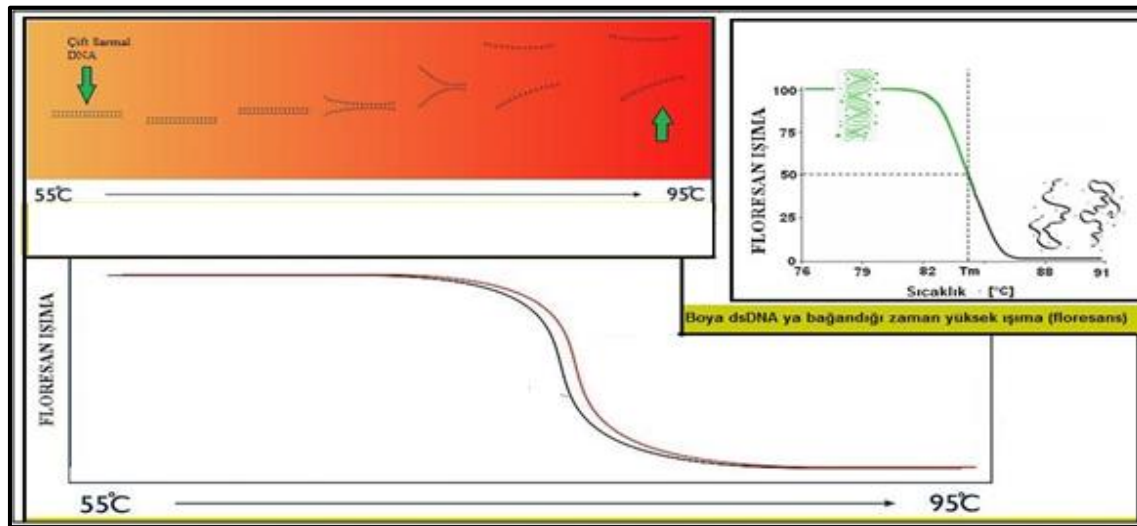
Erime Eğrisi Analizi

Boyalar veya proplar, primerler ile beraber annealing safhasında tekli DNA ‘ya tutunurlar. Sıralı halde tutunan boylar/proplar enerji aktarımı gerçekleştirdiğinden ötürü ışığa miktarında artış meydana gelir. Erime sıcaklığı eğrisi analizi sonuçları PCR döngülerinin bitiminin hemen akabinde ortaya çıkar. Erime eğrisi sıcaklığı analizi; PCR döngüleri tamamlanmasıyla, sıcaklık 0,2°C aralıkla yükseltilir, DNA dizilerindeki bağlı olan boyların/propların kopmaları hibridizasyon proplarının erime sıcaklıklarına (T_m) ulaşmasıyla gerçekleşir. Arda arda sıralanmış olan boya/propların koparak ayrılmasıyla birlikte enerji akışı ortadan kalktığı için ışığa miktarı azalır. DNA dizisinde bulunan hasar veya mutasyon erime sıcaklığının düşük olmasına neden olacaktır. Herhangi bir hasar veya mutasyon bulunmayan DNA’larda ayrılma daha zor olacağından erime sıcaklığı daha yüksektir. T_m derecesi; baz çiftini oluşturan nükleotidin yerine, komşu mutasyonların etkisiyle değişiklik gösterir (Klein, 2002).

HRM analizi

DNA çoğalmasının eş zamanlı izlenebildiği gerçek zamanlı PCR (qPCR) ile Yüksek Çözünürlükte Erime (HRM) boylarının kombine edilmesi ile birlikte, dizi analizi kadar

hassas sonuçlar verebilen HRM analizi ortaya. PCR sonrası 5-10 dk'lık bir süreçte tamamlanabilen HRM analizi ile, farklı DNA dizilimlerinin farklı HRM profilleri vermesi temeline dayanarak, analiz edilen yüzlerce dizi çok kısa bir sürede, hassas bir şekilde ayırt edilebilmekte ve gruplandırılabilir. HRM analizi viral ve mikrobiyal çeşitlilik çalışmalarında kullanılmaya başlanmasına rağmen, bu teknoloji halen ökaryotik çeşitlilik çalışmalarına aktarılamamıştır (Jin ve diğerleri, 2012; Woksepp ve diğerleri, 2011; Anuj ve diğerleri, 2011). HRM (Yüksek Çözünürlüklü Erime) analiz şeması örneği Şekil 1.7 'da gösterilmiştir.



Şekil 1.7. HRM (Yüksek Çözünürlüklü Erime) analiz şeması

"HRM" teknolojilerinde kullanılan nükleotidlere bağlanma ve floresan özelliklerine göre değişiklik gösteren çok sayıda inter katlayıcı boyalar kullanıldığı bildirilmiştir. HRM analizinde yaygın olarak kullanılan LC Green, SYTO® Dye, EvaGreen® ve Chromofly™ dir. PCR işleminden sonra, ampikon 60 ° C'den 95 ° C'ye yavaşça ısıtılır. Bu kademeli ısıtma sırasında, çift sarmallı DNA ayrılmaya başlar ve artan bir eğilimle floresan yayılımı başlar. Hedef DNA spesifik bir erime ısısına vardığında zinciri oluşturan hidrojen bağları tamamen koparak ayrıldığı, bu sırada fiks olan floresan boya ışınımı tepe noktasına vardığını bildirilmiştir. HRM eğrisi, üretilecek olan iki farklı eğri vasıtasıyla alleller arasındaki tek nükleotid farklarını tespit edebileceğine değinilmiştir. Tekli nükleotid mutasyonları ve sıralama farklılıklarını, DNA haritalama, tür tanımlama, zigosite testi, DNA parmak izi alma, GC içeriği ile metilasyon analizi ve ayırt edici dizi uzunluğu ve

iplik tamamlayıcılığını tespiti için kullanılacağı vurgulanmıştır (Monis, Giglio ve Saint., 2005; Wittwer, Reed, Gundry, Vandersteen ve Pryor 2003).

DNA dizi analizi

DNA'nın dizi analizi; DNA molekülündeki nükleotid bazlarının (timin, guanin, adenin, sitozin) diziliminin saptanmasına olanak sağlayan yöntemdir. 1960'lı yılların ilk yarısında 75-80 nükleotitlik tRNA başlayan dizi analizi çalışmaları 2D kromatografi temeline dayanan çok karmaşık ve zahmetli bir yöntemlerden oluşmaktadır. 1970'lerin ortasında zincir sonlandırma methodu yeni bir dönemin başlangıcı olmuş ve günümüzde kolay ve güvenilir olmasıyla da en çok kullanılan yöntem olarak karşımıza çıkmaktadır (Sanger ve diğerleri, 1981).

Sanger Metodu (Zincir Sonlandırma Yöntemi)

Fred Sanger ve diğerleri (1981), tarafından bulunup geliştirilen shotgun tekniği ile en sık kullanılan DNA dizi analizi yöntemi Zincir Sonlandırma (Sanger Yöntemi) yöntemidir. Enzimatik DNA (dideoksi enzimatik) sentezine dayanan ve shotgun dizileme metoduyla uzun DNA parçalarının dizilenmesine olanak sağlayarak DNA parçalarının dizilemek için kullanılır. Kapiller elektroforez cihazları içerisinde bulunan ışıma algılayıcı detektörler floresan işaretli ddNTP'ler farklı renkte ışıma yaparak her bazı görsel hale getirerek hassas bir biçimde dizileme işlemini tamamlayabilmektedir (Hartl ve Jones, 1998; Klug ve Cummings, 2002; Reece, 2004).

Yeni dideoksi yönteminde kapiller elektroforez cihazları kullanılmaktadır. Dideoksi yöntemleri ile yapılan dizi analizleri bazlara ait floresan ışımlar sensörler tarafından algılanır ve bazlara ait pikler kromatogramlar şeklinde görselleştirilir ve "AB, ABI, SCF veya AB1" dosya formatında kaydedilir. Bilgisayar yazılımlarından faydalanılarak kromatogramlar tür içi ve popülasyonlar arasındaki genetik etkileşim ve farklılıkların ortaya konulmasında istatistiki bilgi verir. Böylelikle filogenetik analizlerde kullanılabilen veriler elde edilmiş olur (Reece, 2004). Ancak belirli bir sıra ile yöntem uygulanmaktadır;

- I. Hedef DNA dizilerinin hizalanmalı
- II. Mutasyonlar (Nükleotid yer değişimleri) belirlenmeli ve yer değişimle ilgili veriler hesaplanmalı

- III. Örneklere ait filogenetik ağaçların çizilmesi
- IV. Elde edilen filogenetik ağaçların çeşitli veriler açısından yorumlanması
- V. İstatistik yöntemlerden faydalanılarak DNA dizi analizinde elde edilen veriler yorumlanması

Filogenetik'te kullanılan istatistik uygulamaları

Nükleotid Çeşitliliği (π)

Moleküler genetik popülasyonlardaki ait nükleotid değişimlerinin ve sapmalarının anlamlı olarak yorumlanmasını sağlar. Popülasyon genetiğinde, nükleotid oranı olarak da bilinen farklılıkları gösteren metot bunlardan birisidir. Bir diğeri ise popülasyonların çeşitliliğinin nükleotid seviyesinde gösterilmesidir.

Değişken özellik gösteren nükleotid bölgelerinin tespit edilerek nükleotid değişkenler kolaylıkla saptanır. Hedef DNA dizisi, belirleyici bölgelerin tüm nükleotid sayısına oranının hesaplanmasıyla elde edilir. Aşağıdaki denklemde popülasyona ait farklılıkları içeren nükleotid alanların oranı sunulmuştur (Nei ve Kumar, 2000):

$$p_s = S.N^{-1} \quad (1.1)$$

“Eş. 1.1” de, p_s : Nükleotid farklılık, N: hedef DNA’daki toplam nükleotid sayısı, S: Ayırt edici alanı temsil etmektedir.

Popülasyonlar arasındaki evrimsel sürecin tanımlanması ve popülasyon içi çeşitliliği görebilmek için sekans çiftleri arasındaki nükleotid varyasyonların oranı tanımlanması ve varyasyonların sekans frekanslarıyla orantılanmasıdır. İki DNA arasındaki ortalama nükleotid sayısı seçilerek hesaplanmış, π simgesiyle gösterilmiştir (Nei ve Kumar, 2000):

$$\hat{\pi} = n.(n-1)^{-1} \cdot \sum_y \hat{X}_i \hat{Y}_y \pi_y \quad (1.2)$$

“Eş.1.2” de, n toplam örnek sayısı, x_i ve x_j değerleri i olup, n belirli bir DNA bölgesi için birbirinden farklıdır ve j dizilerin frekanslarını “Eş.1.2” de temsil edilmiştir. Ayrıca, π i, j. ve j. sekanslar arasındaki her bir nükleotit bölgesi için nükleotit farklılıklarının sayısıdır.

Haplotip Çeşitliliği (H)

Haplotip, DNA zinciri üzerinde ard arda veya birbirine yakın bulunan, birbirlerinden ayrılması zor olan, daima bir arda bulunan ve gamete birlikte geçen baz değişimi serilerinin adıdır (Nei ve Tajima, 1981; Hedrick, 2009)

Dişi bireyden gelen ve kalıtsal materyal olan mitokondriyal dna’dan, nükleotidlerin çeşitlilikleri ve farklılıkları aralarındaki farklılardan yola çıkılarak, popülasyonlara ait filogenetik ve coğrafyasının aydınlatılmasına yönelik yeterli bilgi elde edilir (Nei ve Kumar, 2000; Jobling, Hurles ve Tyler-Smith, 2004).

$$h = (1 - \sum x_i^2) \cdot n \cdot (n-1)^{-1} \quad (1.3)$$

“Eş. 1.3” te, bir haplotipin frekans x_i değeri gen kopya sayısı n ile ifade edilir ve mtDNA için 1 olarak kabul edilir)

Filogenetik soyağaçlarında aynı küme içerisinde bulunan ve ortak soydan gelen haplotipler haplogrup olarak tanımlanır. Haplogruplar farklı harf ya da sayı-harf karışımından elde edilen belirteçler kullanılır. Bir türe özgü genetik varyasyonlar haplogrup sıklığı (frekansı) ile ifade edilir. Haplogrup sıklığı, belirli bir popülasyondaki belirli haplogrubunu bulunduran birey miktarının, aynı popülasyon içerisinde bulunan tüm birey miktarına oranıdır. Bu nedenle haplogrup sıklığının tanımlanması filogenetik ağaçların anlaşılmasında önem arz eder.

Genetik Mesafe Ölçümünde Nei Methodu

Nei tarafından 1972 yılında “standart genetik mesafe” formülü olarak da bilinen bu yöntem; yeni allellerin oluşmasına sebep olarak mutasyonların zamanla doğru orantılı olarak artmasıdır. Bununla birlikte nötralite (birbirinden uzaklaştırıcı seçiciliğin var olmaması) ve genetik sürüklenmeninde etkisi vardır (Jobling ve diğ., 2004; Freeland, 2005; Hedrick, 2009). Aşağıdaki formül ile hesaplanabilmektedir;

$$I_N = \frac{\sum_{i=1}^m (p_{ix} \cdot p_{iy})}{\sqrt{(\sum_{i=1}^m p_{ix}^2)(\sum_{i=1}^m p_{iy}^2)}} \quad (1.4)$$

“Eş. 1.4” te, x ve y popülasyonlarında i. allelin frekansını ifade etmek için P_{ix} ve P_{iy} değerleri kullanılmıştır. I değeri 0 ile 1 arasında bir değer alabilir. I değeri 0 ise popülasyonlar arasında paylaşılan alel bulunmadığı, 1'e eşitse popülasyon aynı allele sahip olduğu şeklinde yorumlanmıştır.

Irklar arası Genetik Mesafe Ölçümü (Fiksasyon İndeksi: F istatistiği)

Popülasyonlar ve alt popülasyonlarda meydana gelen seçicilik, sürüklenme ve popülasyonu oluşturan bireylerin orjinleriyle ilgili verilerin anlamsal bir bütünlük içerisinde yorumlanması bazen zor olabilmektedir. Fiksasyon analizi olarak ta bilinen Wright tarafından önerilen ve genetik çalışmalarda çok kullanılan istatistik analiz metodudur. Prensipte popülasyon genetiği çalışmalarından elde edilen Hardy-Weinberg sapmasını ve alt popülasyondaki genetik mesafelerin tespitinde genotipik frekanslardan faydalanılır. Aşağıda verilmiş olan denklemler F_{ST} (alt popülasyonlardaki genetik farklılık katsayısı) hesaplanmasında kullanılmaktadır.

$$\frac{V_p}{p(1-p)} = F_{st} = 1 - \left(\frac{H_s}{H_t} \right) \quad (1.5)$$

“Eş. 1.5” te geçen p değeri ortalama gen frekansını, V_p ise iki popülasyonun gen frekansı değişimini ve H ile gösterilen değerler H_s : alt popülasyonlardaki heterozigotluk, H_t : tüm popülasyonlardaki heterozigotluğu göstermektedir (Jobling ve diğ, 2004, Hedrick, 2009).

Filogenetik Ağaçlar

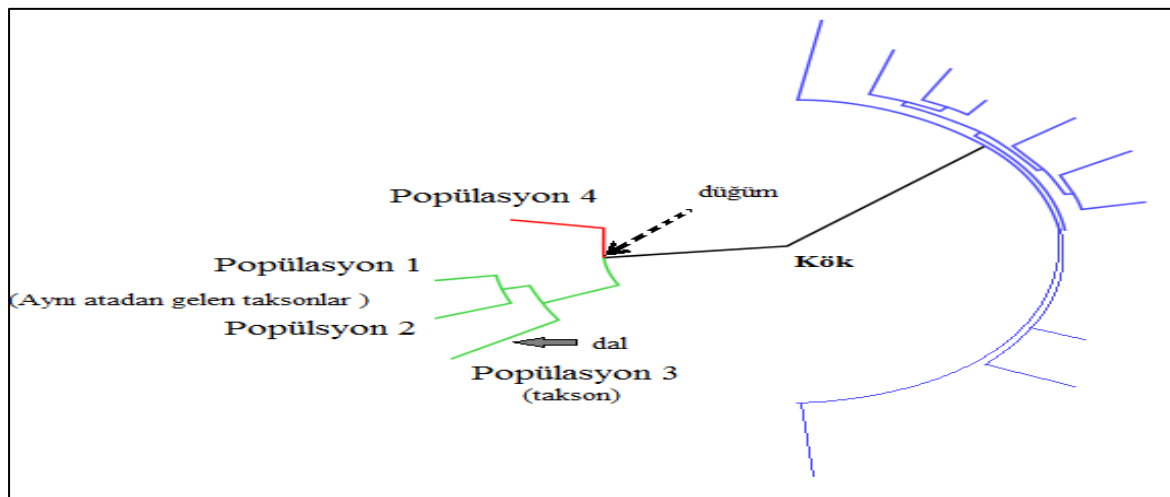
DNA dizi analizi sonucunda popülasyon ve türlere ait elde edilen verilerin özetlenmesi ve evrimsel süreçte akrabalık derecelerinin görsel hale getirilmesinde “Filogenetik Ağaç” oluşturarak yapılmaktadır. Düğüm ve dallardan oluşan filogenetik ağaçlar, türlere ait birden çok ağacı bünyesinde bulundurabilmektedir. Türlerin zaman içerisinde değişimler, filogenetik ağacın dallarıyla; türlerin birbirinden ayrımına uğradığı bölgeler ise düğümlerle gösterilmektedir (Freeman ve Herron, 2007; Jobling ve diğ., 2004). Her bir düğüm taksonomik birim anlamına gelmektedir ve taksonların uzaklığı ile dalların uzunlukları

arasında korelasyon bulunmaktadır (Hedrick, 2009). İç düğümler hipotetik taksonlar olarak bilinen geçmişteki taksonları oluşturmaktadır. Filogenetik ağaçların oluşturulurken, türe ait elde edilen nükleotid dizileri göz önünde bulundurularak, farklı türdeki bireye ait nükleotid dizilimiyle arasındaki genetik mesafenin ağaç dalındaki konumudur. Birbirine yakın olan dallar akrabalık derecesinin kuvvetli olduğunu, uzak dallar ise akrabalık derecesinin azaldığını ifade etmektedir. Dikey ya da dairesel bağlantı çizgileri görsel olarak kullanılması dışında herhangi bir anlamı bulunmamaktadır (Freeman ve Herron, 2007). Dairesel bir filogenetik ağacın yapısı Şekil 1.8’de sergilenmektedir.

Filogenetik Ağaç Modelleri

Filogenetik ağaçlar oluşturmada farklı yöntemler kullanılmaktadır. Dizi analizleri sonucu elde edilen veriler mesafe temelli yöntemler olarak bilinen UPGMA (unweighted pair group method algorithm / Aritmetik Ortalama ile Ağırlıksız Eş Grup Yöntemi) ve Neighbor-Joining (NJ/ Komşuya Katılma) metotlar kullanılmaktadır.

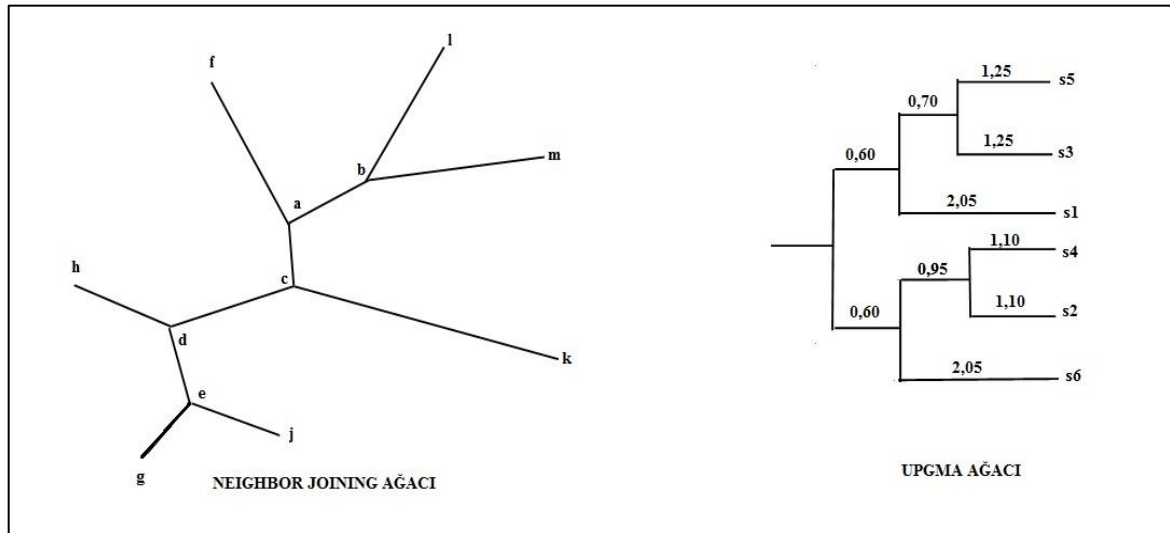
UPGMA ağaçları kümelenme algoritması temel alınarak, en çok birbirine benzeyen dizi çiftleri arasında aritmetik ortalama kullanılmak suretiyle ağırlıklı olmayan çift grup yöntemidir. Bu yöntemde değişkenlik hızı sabittir ve ağacın dalları boyunca devam ettiği varsayılır. Varsayım sonucu ağacın kökü (ata) de işleme ilave edilir.).



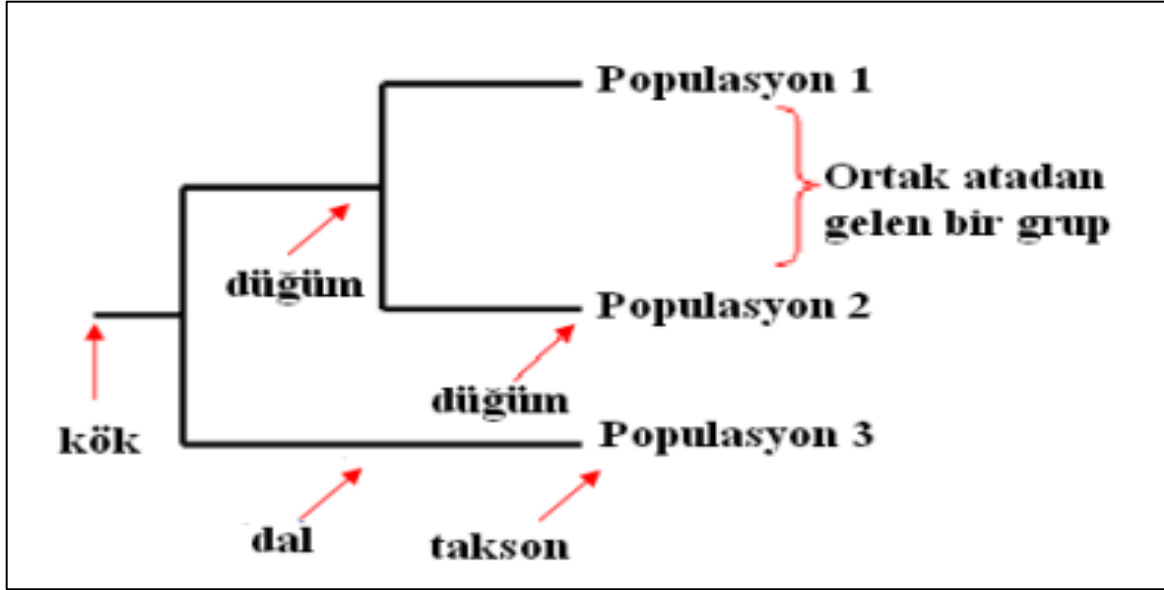
Şekil 1.8. Dairesel bir filogenetik ağacın yapısı

En hızlı metotlardan olup çok geniş veri setlerini hızlı biçimde analiz edebilir. Karakter analizi yapmaması ve benzerliğe bağlı sıralamada kullanılmaması dezavantajları olarak bilinir (Hedrick, 2009). Neighbour-Joining olarak bilinen yöntem aslında temelinde

UPGMA metodunun eksikleri düzeltilerek geliştirilmiştir. Biyoinformatikte Metotta yapılan analizlerde taksonların her bir çifti arasındaki uzaklığa ait bilgilerin algoritması kullanılarak aşından yukarıya (aglomeratif) kümeleme yöntemiyle filogenetik ağaçlar oluşturur. Ağaçlar oluştururken mesafe matrisi diye adlandırılan her bir dala ait evrimleşme oranının çok etkili bir tahmin sürecine dayanmaktadır. Bu yöntemle oluşturulan ağaçların kökleri bulunmamaktadır. Bunun yerine ortak atasal düğümler eklemek suretiyle en uzak çiftler birleştirilmiş olur. Taksonomik birimlerdeki artışa bağlı olarak topoloji sayısı doğru orantılı olarak artış göstermektedir. Rastgele bir örnek seçilmek suretiyle ağacı bu örneğe göre çizilir. Her örnek için yapılan bu işlem sonu elde edilen ağaca yüzdesel bir değer atanır. Bu işlem bazen 1,000, bazen de 10,000 defa tekrarlanmak suretiyle istatistiksel açıdan en güvenilir ağaçlar ve bu ağaçlara ait düğümlerle elde edildiği “bootstrap” yöntemi kullanılır. Elde edilen ağacın skorun yüksek olması topolojik doğruluğun gerçeğe en yakın değeri ortaya koymasından önem arz etmektedir (Hedrick, 2009; Wheeler ve Keçecioğlu, 2007). UPGMA ve Neighbor Joining ağaçları Şekil 1.09’de gösterilmektedir. Temel filogenetik ağaç yapısı Şekil 1.10’de sergilenmektedir.



Şekil 1.9. Sol ağaç Neighbour-Joining (köksüz), sağ ağaç UPGMA (köklü)



Şekil 1.10. Temel filogenetik ağaç yapısı

Nükleotid dizilerinden faydalanılarak görsel anlamlı ağaçlar karakter temelli yöntemler olarak bilinen; Maximum Parsimony, Maximum Likelihood ve Bayesian Inference metotları da kullanılmaktadır.

Maksimum Parsimoni olarak bilinen ve basit yapısı nedeniyle sıklıkla kullanılan bir metottur. Örnekler arasındaki farklılıkların elde edilen dizi verileriyle her türe ait mutasyonal (evrimsel) değişimlerin en az sayıda ve en az karmaşık yapıda oluşturulan filogenetik ağaçlar yardımıyla açıklanmasıdır. Sadece bilgi verici bölgeler bu metotta ağaç çiziminde kullanılır (Freeman ve Herron, 2007). Ağaç oluşturmak için birçok bilgisayar uygulaması bulunmaktadır ancak **PHYML** en çok tercih edilen açık kaynak yazılımdır.

Her bir türe ait DNA dizilerine ait veriler üzerinde değişkenlikleri ve evrimsel sürecin açıklanması için tüm olasılıkların değerlendirildiği metot maksimum likelihood metodu olarak bilinmektedir. Bireylere ait tüm olası ağaçlar taranır böylelikle en iyi ve en etkin yaklaşım elde edilir (Freeman ve Herron, 2007).

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Sinarit ve Sivriburun Karagöz Yetiştiriciliği ve yetiştiricilik ortamından doğal ortama kaçışlar ile İlgili Önceki Çalışmalar

Dünya ve ülkemizde su ürünleri yetiştiriciliği zaman içerisinde artan bir hızda gelişim göstermiştir. Bu gelişim süreci mevcut türlerin yansısı, yeni türlerin kültüre alınması üzerinde çalışmalar ile karşımıza çıkmaktadır. Ticari değere sahip potansiyel türler içerisinde Sparidae türlerinden Sinarit (*Dentex dentex*) Sivriburun karagöz (*Diplodus puntazzo*) kültüre alınma çalışmaları yapılmaya başlanmıştır (Jug- Dujaković, Dulčić, Katavić, 1995; Micale, Perdichizzi ve Basciano, 1996).

Franicevic (1989), sivriburun karagöz ile gerçekleştirdikleri yetiştiricilik çalışmasında, bu türün kültüre çok uyumlu olduğu ve yumurtadan itibaren yetiştiriciliğinin başarılı bir şekilde yapılabileceğini bildirmiştir. Gatland (1995), sivriburun karagözün ağ kafeslerde yetiştiriciliği üzerine yaptığı çalışmada sivriburun karagöz yavrularını 26 ay boyunca besleyerek 345 g canlı ağırlık elde etmiştir. Yapılan bu çalışmada yem dönüşüm oranını da 2,7 olarak bildirilmiştir.

Bodington (2000) yaptığı çalışmada, *Pagrus pagrus*, *Diplodus puntazzo*, *Dentex dentex* ve *Diplodus sargus* türlerini ele almış ve *Sparus aurata* kültürü ile karşılaştırmalı olarak uygulanabilir olup olmadığını araştırmıştır. Çalışmanın sonunda denemeye aldığı yeni türlerin yetiştiricilik açısından en az çipura kültürü kadar başarılı bir şekilde yapılabileceğini tespit etmiştir.

Akdeniz'e kıyısı olan ülkelerde 1990'dan itibaren Avrupa Birliği bünyesinde desteklenen araştırma projelerinde çipura ve levrek yetiştiriciliği yanında yeni tür olabilecek 20 tür üzerinde araştırmalar yapılmıştır. Bu türler, büyüme performansı ile ekonomik değeri göz önünde bulundurularak hızlı büyüyen ancak düşük ekonomik değere sahip türler (lambuka ve sarı kuyruk) ile yavaş büyüyen ancak ekonomik değeri yüksek türler (sinarit, sivriburun karagöz, fangri, mercan, vb) olmak üzere iki grupta incelendiği görülmektedir (Kentouri, Papandroulakis ve Divanach, 1995).

Knibb (2000), melezleme veya akrabalı yetiştiricilik düzeyleri, doğal ortamda ve üretim koşullarında değişiklik göstermektedir. Bu sebeple gelişme ve hayatta kalma performansları açısından doğal ve kültür çipura hatlarının yetiştirme koşullarının da farklı olabileceğini belirtmiştir. Düzgün genetik programları olmadığında, bölgesel balık yetiştiriciliği işletmeleri seçicilik çalışmalarını yetersiz düzeydeki damızlık ve sayıca az popülasyonlar ile yapmaya çalıştıklarını ve plansız bir seçicilik olduğundan yoğun akrabalı yetiştiriciliğin ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Bu durum ise yabani popülasyonlardaki genetik çeşitliliği üzerinde baskı oluşturduğu hatta yok olmasına neden olabileceği bildirilmiştir.

Bir canlının genel vücut biçimi hem genetiksel hem de o türün dahil olduğu stok durumu ve çevresel etkileşimiyle olan ilişkisiyle bağlantılıdır. Üretim biçimi, ortam koşulları, beslenme çeşitliliği, balığın büyüme performansı ve morfolojisi su ürünleri yetiştiriciliği yapan işletmelerde ticari açıdan büyük önem taşımaktadır (Fırat, Coğun, Yüzeroğlu, Gök ve Kargın, 2006).

Koca, Didinen, Ekici ve Dullu, (2011), sürdürülebilir su ürünleri üretimi üzerine yaptıkları çalışmada, endüstrileşme ile birlikte çevreye olan baskının hızlı bir biçimde arttığını, sürdürülebilir yetiştiricilik ile ekosistemi koruyarak, dengeli bir şekilde kullanmak ve çevrenin kalitesini bozmadan değerlendirilebileceğine değinmişlerdir. Bu amaçla üreticilerin çevre bilincine sahip üreticiler olmaları gerektiği vurgulanmış, su ürünleri üretiminde su kaynaklarının sürdürülebilir kullanımı akılcı bir planlama ve uygun yönetim stratejileri ile başarılabileceği bildirilmiştir.

İtalya'daki çipura yetiştiriciliğinin coğrafik kökenin araştırıldığı bir çalışmada, İtalya'da iki ticari kuluçkahaneden alınan anaçları, 4 mikrosatelite kullanarak genetik analizleri yapılmıştır. Analiz edilen anaçların karışık ve oldukça heterojen bir kökene sahip olduğunu bildirmişlerdir. Balıkların çiftliklerden kaçmaları veya stok destekleme (balıklandırma) programlarının kurulmasının endişe verici olduğundan bahsetmişlerdir (De Innocentiis, Miggiano, Ungaro, Livi, Sola ve Crosetti, 2005).

Balıkların kültür ortamlarından kaçışlarının, rutin bakımlar esnasında insan hataları, mekanik arızalar, aşılama-boylama esnasında dikkatsizlik ve tedbirsizlik, kötü hava koşulları, yunuslar-fok ve benzeri sucul yırtıcılar tarafından zarar gören ağlar gibi etkenlerden kaynaklanan kaçışların engellenmesi oldukça zor olduğuna değinmiştir.

Akdeniz bölgesinde sistematik bir uygulama olmamasına rağmen hem popülasyonların istikrarı, hem de genetik değişkenlik açısından lagünlerin balıklandırma programı kapsamında, yeniden stoklandığına rastlanıldığı üzerinde durmuştur (Rossi ve diğerleri, 2009).

Bununla birlikte az önemsenen bir hususun da sucul ortamda yetiştiricilik faaliyetleriyle ilgili olarak temel çevresel tehlikelerden birisinin de balık çiftliklerinden kaçan balık toplulukları ile vahşi balık toplulukları arasındaki genetik etkileşimlerin var olduğudur (Grigorakis, 2010).

Çiftlik balıkları kültüre alınırken doğal stoklarındaki türdeşleriyle aynı genetik uyum olacak şekilde vahşi ve yerel stoklardan alınmışlardır. Ancak çiftlik balık türleri genetik ıslah rejimlerinin aracılığıyla manipüle edilmesi ve evcilleştirilmesiyle; yüksek büyüme oranları, hastalıklara daha dirençli olmaları, yüksek stoklama yoğunluklarında saldırganlık ve adaptasyon kabiliyetleri gibi ticari nitelikler kazandırılmışlardır (Thorland, Papaioannou, Kottaras, 2006; Dupont-Nivet ve diğerleri 2010; Navarro ve diğerleri 2009).

2.2. Biyoinformatik Yöntemlerle İlgili Önceki Çalışmalar

Seksenli yılların sonlarında itibaren, mitokondriyal DNA, moleküler sistematikçiler tarafından yapılan çalışmaların ağırlıklı hedefi haline gelmiştir.

Bernatchez, Dodson ve Colombani (1991) tarafından, mitokondriyal DNA restriksiyon analizi konusunda alabalıkgiller alt familyasına ait 21 sınıf içerisindeki filogenetik düzenle ilgili yapılan araştırmada, yetiştiricilik açısından morfolojik bulguların filogenetik bağlantılara oranla adaptasyon sürecine yönelik daha iyi belirteçler olduğunu tespit etmişlerdir.

Bernatchez, Bonhomme ve Guyomard, (1992), batı Avrupa'da ki coğrafik ve morfolojik olarak ayrı kahverengi alabalık popülasyonlarının akrabalık ilişkilerini tespit etmek amacıyla, 24 farklı popülasyonu temsil eden 151 bireyin mitokondriyal kontrol bölgesi segmentlerinden DNA dizi varyasyonları belirlemiş, DNA polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) yoluyla çift-sarmallı sekanslama için hazırlamışlardır. Toplam 640 bp bölüm içeren 21 değişkenli nükleotid pozisyonları araştırmış, yaklaşık 7 nükleotidin yer değiştirdiğini ve

12 genotip farklılaşmanın olduğunu tespit etmişlerdir. Toplam 5 ana filogenetik toplulukta ortalama %0,96 ve %1,44 oranında sekans sapma farklılığı tanımlamışlardır. Araştırılan grupların hem ekolojik hem de morfolojik açıdan farklı olduğunu belirlemişlerdir. Çalışmanın sonuçları yönünden, *Salmo trutta* popülasyonlarındaki filogenetik ilişkilerin belirlenmesinde mitokondriyal DNA sekans analizlerinin kullanışlı olduğunu bildirmişlerdir.

Noack, Meyer ve Zardoya (1996) yaptıkları çalışmada, balık sistematğinde hem ışın yüzgeçliler (Actinopterygii) hem de yuvarlak yüzgeçli olarak sınıflandırılması yapılan, bununla birlikte Brachiopterygii’de tanımlanan bichir balıklarından ornate bichir ’in (*Polypterus ornatipinnis*) tüm mitokondriyal DNA’sını sekanslamıştır. Bu çalışmada filogenetik analiz sonuçlarının bu balıkların yuvarlak yüzgeçliler sınıfına ait olmadıklarını ve ışın yüzgeçliler sınıfının yaşayan en belirgin üyeleri olduklarını ortaya koymuşlardır.

Magoulas, Tsimenides ve Zouros (1996), çalışmalarını hamsi (*Engraulis encrasicolus*) mitokondriyal DNA üzerinde yapmış, geçmişte Akdeniz’deki popülasyonun bir farklılaşmaya uğradığı belirlemiş ve iki farklı şube (filum) bulunduğunu ifade etmişlerdir.

Foighil, Gaffney, Hilbish ve Wilbur (1998), Portekiz’de bulunan istiridyeler (*Crassostrea angulata*) üzerinde yaptığı çalışmada, Portekiz istiridyelerin uzun zamandır kuzeydoğu Atlantik bölgesinin yerel türü olduğu düşünülürken, şimdilerde türün Asya Pasifik istiridyesiyle [*Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793)] yakın ilişkide olduğu veya özdeş olduğunu birçok bulgu ile kanıtlamıştır. Sitokrom oksidaz I ’in 579 nükleotid bölümü için mitokondriyal DNA sekans verisine dayanan *C. angulata*’nın moleküler filogenetik analizi gerçekleştirmiştir. Çalışmanın sonunda Portekiz istiridye haplotipler kümesiyle Asya türlerinin güçlü bir şekilde yakın ilişki olduğunu ancak Japonya’da ki *C. gigas* örneklerinin özdeş olmadığını bildirmişlerdir.

Farias Meyer, Ortí, Sampaio, ve Schneider (1999), *Cichlidae* familyası mitokondriyal DNA filogenetik yapısı üzerinde çalışma yapmıştır. Ailedeki 16S rDNA’nın 564 bp’lık baz dizisi üzerinde yoğunlaştıkları çalışmada Neo-tropikal ciklitlerin moleküler evrimlerinin hızlı bir şekilde gerçekleştirdiklerini ve Afrika’da bulunan türdeşleriyle yüksek genetik varyasyon varlığını bildirmişlerdir.

Kültür somonları nesilleri arasında genetik değişkenlik gösterdiği, ancak kültür somon popülasyonlarının vahşi popülasyonlardan toplam genetik değişkenliğinin daha az sergilediği ortaya konulmuştur (Black, Norris ve Klompen 1999). Yerel olmayan somonlar ile ilgili yapılan bir çalışmada iki sonuca vardıkları bildirmiştir; bunların ilki, doğal somonlar üzerine kasıtlı olarak veya kaza sonucu serbest kalan somonların genetik etkileri sıklıkla tahmin edilemeyeceği ve ortaya çıkmayan etkilerden dolayı bütün integrasyonu veya yerini almaya farklılaşabileceği fikridir. İkincisi ise, performans özellikleri üzerinde (ör., tatlı ve deniz suyunda hayatta kalma) genetik etkiler belirlendiğinde, değişmemiş doğal popülasyonların özellikleri ile kıyaslanmasında her zaman olumsuz olduğundan bahsedilmiştir.

1989 ve 1996 yılları arasında (Faroes kapalı) Kuzey Atlantik denizlerin balıkçılıklar tarafından yakalanan Atlantik somonların kabaca %20 ile %40'nın çiftlik kökenli olduğuna değinmişlerdir (Hansen, Jacobsen, Lund, 1999).

Orrell (2000), Sparidae familyasına ait türler arasındaki filogenetik farklılığı belirlemek üzere Sitokrom b (1140 bp) ve 16S mtDNA analizleri kullanmışlardır. Bu veriler Sparidae familyasının alt türler olan *Pagrus*, *Pagellus*, *Dentex*'in revizyonunu amaçladığını ve bu sınıfların analizlerde monofiletik olmadığını bildirmişlerdir. Moronidae ile Lateolabrax arasında kardeş ilişki olduğunu sitokrom b, 16S ve kombine analizler ile kanıtlamıştır. Bununla birlikte biyocoğrafik analizler ile Sparidae evriminin En Doğu Hint Okyanusu- En Batı Pasifik Okyanusu ve En Batı Hint Okyanusu-Akdeniz/Atlantik olmak üzere iki alanda olduğunu ortaya koymuştur.

Bernatchez, Brunner, Douglas, Osinov ve Wilson (2001), Salmonidae ailesinin üyesi olan *Salvelinus alpinus* ait 83 popülasyona ait 159 örnek üzerinde 552 bp uzunluğundaki mitokondriyal DNA (mtDNA) sekans varyasyonunu değerlenmiştir. Filogenetik analizler, kompleksin monofilini destekledi ve gözlenen haplotipler, farklı buzul sığınakları ile ilişkili olabilecek beş coğrafi bölgeye ayrıldığını bildirmiştir.

Hanel, Summerer ve Sturmbauer (2001), Sparidae ailesinin *Diplodus* türleri aralarındaki akrabalık ilişkilerini üzerine yaptığı bir çalışmada 16S rDNA (621 bp) mitokondriyal gen bölgesini hedef bölge seçtikleri ve yakın akrabalık ilişkisini bu genus altında yer alan birçok tür arasında mevcut olduğunu tespit etmişlerdir.

Bargelloni ve diğerleri (2003) Kuzeydoğu Atlantik ve Akdeniz'deki yaptıkları çalışmada Sparidae ailesine ait beş deniz teleost türlerinin nükleer ve mitokondriyal lokuslarındaki genetik varyasyonları incelemişlerdir. Örneklenen tüm bireyler için 17 allozyme lokusları skorlanmışlar ve mtDNA D-loop bölgesinin 190 bp'lık bölümü kullanmıştır. *L. mormyrus* ve *D. dentex* türlerinin Atlantik Denizi ve Akdeniz'den toplanan örnekleri karşılaştırdıklarında allozyme verileri ile güçlü farklılaşma olduğunu ortaya koymuştur. *P. pagrus* için orta seviye olduğunu, *P. bogaraveo* ve *S. cantharus* için ise hiçbir farklılaşma karşılaşmadıklarını belirtmişlerdir. Biyolojik açıdan benzer türler arasındaki genetik çeşitliliğin coğrafik dağılımına sebep, ekolojik ve tarihsel faktörlerin olabileceğini bildirmişlerdir.

Çiftliklerden kaçmalar; düşük sayıda “sızma” veya fırtına vb epizodik olaylar etkisiyle tüm yetiştiricilik bölgelerinde vukuu bulduğu ve her yıl yaklaşık iki milyondan çiftlik somon balığının Kuzey Atlantik çiftliklerden kaçtıkları tahmininde bulunmuşlardır (Schiermeier 2003).

Alarcón, Alvarez, Georgakopoulos, Magoulas ve Zouros ve (2004), Alosim, mikrosatellit ve mitokondriyal DNA kullanılarak, ilk büyük ölçekli popülasyon genetik analizi çalışmasında, daha yüksek düzeyde polimorfizm çiftlik Atlantik somon oranının, yabani Atlantik somonundan sayıca fazla olduğunu belirtmişlerdir.

Bargelloni ve diğerleri (2005) Akdeniz'den doğu Atlantik kıyılarına kadar geniş bir dağılım gösteren iki türe odaklanmıştır: *Diplodus sargus* ve *Diplodus puntazzo*. Örneklenen tüm bireyler için İki tür ile kontrol bölgesi için oldukça farklı bir sekans polimorfizmi seviyesi ortaya konulmuştur. Sırasıyla 111 ve 28 haplotip tespit etmişlerdir. Allozyme markörlerinde herhangi bir farklılık tespit edilmediği bildirilmiştir. İki tür, popülasyon yapılarında da büyük farklılıklar gösterdi. *D. puntazzo*, Atlantik ve Akdeniz örnekleri arasında belirgin bir genetik farklılık sunarken, *D. sargus* çok az tür içi farklılaşma gösterdiğini tespit etmişlerdir. Biyolojik açıdan benzer türler arasındaki genetik çeşitliliğin coğrafik dağılımına sebep, ekolojik ve tarihsel faktörlerin olabileceğini bildirmiştir.

Connell, Holmes, Zmlak ve Ward, (2009), mtDNA COI bölgesinin, hayvan türlerinin ayırımında tek hedef gen olarak kullanılmasını önermişlerdir. Daha sonra yapılan çalışmalar COI-barkodlamasının hem omurgalı hem de omurgasız hayvanların tür ayırımında kullanılabilirliğini göstermişlerdir (Nicolas ve diğerleri 2012; Hebert ve diğ.,

2009; Barrett ve Hebert, 2005; Cywinska, Hebert ve Hunter, 2006; , Innes, Last, Hebert, Ward ve Zemlak 2005; Francis ve diğerleri 2010). Bununla birlikte, mtDNA'ların tür ayrımlarında kullanılmasının sakıncaları da vardır. Bunlardan en önemlisi mitokondriyal DNA'nın dışıdan gelmesi, bu nedenle de babadan kaynaklanan veya türler arası hibritleşme sonucu ortaya çıkan varyasyonları yansıtmamasıdır (Moritz ve Cicero, 2004). Bu dezavantaja rağmen, yapılan çalışmalar tür içi seviyesinden daha üst sınıflara gidildikçe mtDNA çeşitliliğinin arttığını ve mtDNA'nın sınıflandırmada kullanılabilirliğini göstermiştir (Francis, Hebert, Stoeckle ve Zemlak, 2004; Ward ve diğ., 2005; Kartavtsev 2009; Batischeva, Bogutskaya, Hanzawa Kartavtsev, Katugina ve 2017; Baldwin, Driskell, Ormos ve Weigt 2012).

Güney Avrupa su ürünleri yetiştiriciliğinde en önemli türlerinden biri olan çipura (*S.aurata*) üzerine ilk defa geniş ölçekli popülasyon genetiği analizi Bargelloni ve diğ., (2005) tarafından yapılmıştır. Güney Atlantik ve Akdeniz'i kapsayacak biçimde 6 yabani ve 5 kültür örnek setlerinde allozim, mikrosatalite ve mitokondriyal DNA farklılıkları araştırmışlardır. Mikrosatalitler allozimlerden yüksek seviyede polimorfizm gösterdiğini ve mtDNA'nın düşük değişimlerin popülasyon ayırımı için herhangi bir dayanak olmadığını bildirmiştir.

Ergüden ve Turan (2005), Karadeniz, Marmara, Ege Denizi ve Kuzeydoğu Akdeniz'den topladıkları örnekler ile Türkiye denizlerinde bulunan deniz levreği (*D. Labrax*) popülasyonlarının genetik ve morfolojik yapısını incelemişlerdir. Genetik analizde dört enzim sisteminde toplam dokuz losi kullanarak gerçekleştirdikleri Fisher'in testi sonucunda popülasyonlar arasında genetik bir farklılaşma gözlenmediğini bildirmişlerdir. Kümeler arası korelasyon analizinde popülasyonlar arasında yüksek derecede morfolojik farklılıklar tespit etmişlerdir.

Akdeniz'de kafeslerde balık yetiştiriciliğinin hızla gelişmesiyle birlikte doğal türler üzerinde çiftlik balıkları kaynaklı genetik etki sorunu gündeme gelmiştir. Özellikle bunun temel nedeninin Akdeniz Çipura yetiştiriciliğinde büyüme performansı bakımından yüksek verimliliğe sahip Atlantik çipurası kökenli damızların yaygın olarak kullanılmasından kaynaklandığını düşünmüşlerdir (Miggiano ve diğ., 2005).

Naylor ve diğerleri (2005), Norveç'te bulunan som balığı yetiştiriciliği yapılan ağ kafeslerden doğal ortama som balığı kaçışlarının meydana geldiği ve bu kaçışların yabani

som balıklarıyla rekabete, melezleşmeye, morfolojik farklılaşma ve patojenlerin yayılması gibi olumsuz etkilerinin olduğunu bildirmiştir.

Norveç'te yapılan bir çalışmada, %55'inin çiftlik kaçak kökenli balıklardan olan deneysel yavrulama popülasyonunda bir nesil sonra yetişkin balıklardaki genlere %19 oranla katkısı olduğu, çiftlik ve yabani balıklar arasındaki bu oran tek yönlü gen akışı devam etmesiyle her 3,3 nesil sonra genetik farkın yarı yarıya azaldığını ve hızlı genetik homojenizasyonuna neden olduğunu bildirilmiştir. Vahşi ve çiftlik balıkları arasındaki bu çiftleşme sonucu yeni melez türlerin oluşarak gen havuzlarına karışması ile çiftlik kökenli bireylerin genlerinin ağırlıklı olduğu yeni bir vahşi nüfusa yol açacağına değinmişlerdir. (Diserud, Hindar, Fleming ve McGinnity 2006).

Yerli vahşi popülasyonlar ile kaçak çiftlik balıkları arasında potansiyel tehlikeye bakılacak olduğunda, depresyon, yetersiz beslenme (düşük kondisyonlu hibrid bireylerden oluşan popülasyonlar), ve az sayıda anaç stoktan türeyen genotiplerle akraba olan çok sayıda kuşakların ortaya çıkmasıdır (Ward, 2006).

Balık barkodlama çalışmaları farklı birçok coğrafi bölgede yapılmış ve mtDNA'nın tür içi çeşitliliğini önemli derecede yansıttığını göstermişlerdir (Weigt ve diğ., 2012; Baharum ve Nurdalila, 2012; Jaafar 2014; Asgharian, Ardalan, Elahi, Sahafi ve Shekarriz, 2011; Cawthorn, Corli, Steinman ve Witthuhn, 2011; Lakra ve diğerleri 2011; Mecklenburg, Møller ve Steinke, 2011; Kartavtsev, 2009; Ward ve diğ., 2005; Hubert ve diğerleri, 2008).

Perrone, Rossi ve Sola (2006), Orta Akdeniz'deki çipura balıklarının genetik yapısı üzerine yaptıkları çalışmada İtalya ve Hırvatistan kıyılarındaki 6 farklı istasyondan alınan örnekleri allozim analizi ile gen-enzim sistemleri açısından incelemiştir. 26 gen bölgesi üzerindeki verilerin, 10'nunun poliformik olması önemsiz olarak belirtilmiş ancak türlerin önemli genetik yapısını $F_{st} = 0,0167$ olarak bildirmiştir. Araştırmaya konu olan popülasyonların alt bölümlerinin hiyerarşik analizinde kullanılabileceğini belirtmiş ve Adriyatik Denizi, Tiren Denizi ve Sardunya Kanalı'nda 3 farklı topluluk bulduklarını bildirmişlerdir.

Kafes ortamındaki balıkların kendiliğinden yumurtlamaları ile balık çiftliklerini bulunduğu sucul ortama gametlerin serbest bırakılmasıyla genetik kirlenmeye neden olabileceğidir (Akovitiotis, Dimitriou, Katselis, Koutsikopoulos ve Moutopoulos, 2007).

Yüksek çözünürlükte erime (HRM) analizi ile DNA barkodlama çalışmalarının analiz maliyet ve sürelerinin önemli derecede azaltılabileceğinden bahsetmişlerdir (Montgomery, , Palais, Wittwer ve Zhou 2007).

Genetik farklılaşma Akdeniz’de ki çeşitli yabani çipura popülasyonların arasında bulunduğu bildirilmiştir (Rossi ve diğ., 2006; Bonhomme, Chaoui, Faure, Kara ve Quignard, 2009).

Batı İtalya’da belirledikleri 2 lokasyondan topladıkları, 465 örneğin, 30 alloenzim ve 4 microsatalit lokus üzerinde genetik etkileşim çalışması yapmışlardır. Yetiştiricilik için toplama işleminin denizden lagüne göç eden yabani yavrulara dayandığını ve Sabaudia lagününde ki örnekler arasında genetik homojenlik tespit etmişlerdir. Böylece genetik yapının zamansal bir bileşeni hariç tutulabilirse, önceki araştırmalarda tespit edilen zayıf genetik yapının ana mekansal (coğrafi) bileşeni olan Tiren denizi olduğunu doğrulandıklarını bildirmişlerdir (Rossi ve diğ., 2009).

Atar ve Keskin (2009), ülkemize endemik bir tür olan İnci Kefali’nin (*Chalcalburnus tarichi*) filogenetik analizini yaparak, türün Sazansılar (*Cypriniformes*) takımındaki yerinin tespiti üzerine çalışma yapmışlardır. Türün filogenetik analizinde mitokondriyal sitokrom b, 12S ribozomal RNA, 16S ribozomal RNA, sitokrom oksidaz I ve sitokrom oksidaz II genlerinin DNA dizi analizleri analizlerini yapmış, elde ettikleri verileri daha önce yapılmış çalışmalara ait veriler ile karşılaştırdıkları ve dört farklı yöntem ile (neighbour joining, minimum evolution, maximum parsimony, unweighted pair group method of arithmetic average) sazangillerdeki filogenetik ilişkisini bildirmişlerdir.

Çoğunlukla mitokondriyal (mt) sitokrom b (Cytb), sitokrom oksidaz alt unite I (COI) ve 16S rRNA genleri hedeflenmiş ve tür, cins ve familya ayrımları başarıyla yapılabilmektedir (Hebert ve diğ., 2009; Avise, 2012; Baharum ve Nurdalila, 2012; Weigt ve diğ., 2012). Son yıllarda yapılan çalışmalar 16S rRNA’nın, mtDNA’ya ait Cytb ve COI’den daha az değişken, dolayısıyla tür ayırım gücünün daha az olduğunu göstermiştir (Nicolas ve diğ., 2012).

Abd El-Kader, Ahmed, El-Zaeem, ve Salama, (2012), doğal ve kültür Nil Tilapya (*Oreochromis niloticus*) popülasyonlarındaki fenotip ve genotip analizine dayanarak filogenetik farklılaşmayı incelemiştir. Kullanılan tüm primerlerin RAPD verilerine

dayanarak tilapiya'nın, en düşük genetik benzerliğin (%37) Manzalah Gölü ve kültürlü popülasyonları arasındaki olurken, Manzalah ve Edku Gölü nüfus arasındaki sergilenen popülasyonlar arası en yüksek genetik benzerlik (%64) göstermiş olduğunu bildirmiştir.

Atar ve Keskin (2012), mitokondriyal sitokrom oksidaz I (COI) geninin nükleotid dizisi farklılıklarından yararlanılarak ülkemiz Akdeniz kıyılarında mevcut bulunan mavi yengeç (*Callinectes sapidus*) popülasyonları arasındaki genetik çeşitliliğin ortaya koymuşlardır. Akdeniz bölgesinde kıyı şeridi boyunca 8 istasyondan temin ettikleri 143 birey genetik açıdan incelemişlerdir. Tamura 3-parameter modelinden yararlanılarak genetik farklılıkları belirlediklerini bildirmişlerdir. Çalışmanın sonucunda mavi yengeç popülasyonları arasında coğrafik uzaklıkla ilintili bir genetik gruplaşma var olduğunu belirlemişlerdir.

DNA barkodlama çalışmalarında analiz süresinin ve maliyetinin yüksek olması nedeniyle ülkemizde halen kapsamlı ökaryotik barkodlama çalışmaları yapılmamaktadır. Ökaryotik çeşitlilik çalışmalarında sıkça kullanılan moleküler yöntemlerin ilk adımı, hedef molekülün çoğaltılması için yapılan polimeraz zincir reaksiyonu (PCR)'dır. Çok sayıda numunenin analiz edildiği rutin izleme çalışmalarında tercih edilen yol, DNA parmak izi yöntemleriyle DNA'sı birbirine benzeyen organizmaların gruplandırılması, daha sonra ise her grubu temsil edilen bir organizma DNA'sının dizilenmesi ve türünün belirlenmesidir (Ebenezer, Medliniğ ve Ki, 2012, Ude ve diğerleri, 2020). Bu şekilde yüzlerce farklı organizmanın taranması ve gruplandırılması 3-5 günlük sürelerde tamamlanabilmektedir. Saatler mertebesinde yeni nesil dizi analizi (NGS) sistemleri ile aynı sonucu elde etmek mümkün olmakla birlikte, NGS'nin yüksek analiz maliyeti rutin izleme çalışmalarında kullanımını kısıtlamaktadır (Ebenezer, Medliniğ ve Ki, 2012).

Dizi analizi kadar hassas sonuçlar verebilen HRM analizi, DNA çoğalmasının eş zamanlı izlenebildiği gerçek zamanlı PCR (qPCR) ile HRM boyalarının kombine edilmesi ile birlikte ortaya çıkmıştır. PCR sonrası 5-10 dk'lık bir süreçte tamamlanabilen HRM analizi ile, farklı DNA dizilimlerinin farklı HRM profilleri vermesi temeline dayanarak, analiz edilen yüzlerce dizi çok kısa bir sürede, hassas bir şekilde ayırt edilebilmekte ve gruplandırılabilir. HRM analizi viral ve mikrobiyal çeşitlilik çalışmalarında kullanılmaya başlanmasına rağmen, bu teknoloji halen ökaryotik çeşitlilik çalışmalarına aktarılamamıştır (Jin ve diğ, 2012; Woksepp ve diğ, 2011; Anuj ve diğ., 2011). Bunun en büyük nedenlerinden bir tanesi de ökaryotik çeşitlilik çalışmalarında ayırım gücünü yüksek

tutmak amacıyla 500 bp'den uzun DNA dizilerinin hedeflenmesi ve HRM analizinin 500 bp'den uzun dizilerde ayırım gücünün düşük olmasıdır. Meusnier ve diğerleri (2008) çalışmalarında, COI barkod uzunluğunun sınıflandırmada ayırım gücüne etkisini incelemek için DNA data bankalarındaki tüm COI dizilerini karşılaştırmışlardır. Toplam 650 bp COI dizisi %97 tür çözünürlüğüne ulaşırken, 250 bp ve üzeri dizilerin de %95'in üzerinde çözünürlüğe sahip olduğu ortaya koymuşlardır. Bu çalışma yaklaşık %96 çözünürlüğe sahip 400-500 bp uzunluğundaki COI dizilerinin HRM analizinde hedeflenmesinin yolunu açmışlardır.

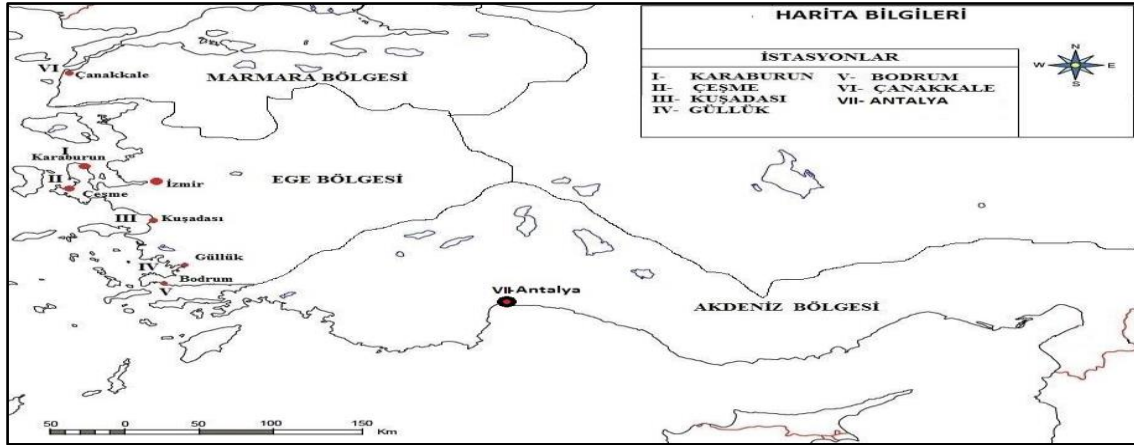
Çeşitli çalışmalarda çipura popülasyonlarının genetik farklılıklarını bulmaya odaklanmışlardır. Mikrosatellit moleküler verilere dayanılarak Ege Denizi ve İyon Denizi de kültür ve vahşi popülasyonlar arasında markırların oldukça fazla poliformik olduğu ve düşük genetik farklılaşma tespit ettiklerine değinmişlerdir (Gkagkavouzis, ve diğerleri, 2019).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

Bu çalışmada, Ege Denizi ve Akdeniz’de belirlenmiş olan istasyonlardan temin edilen sinarit (*Dentex dentex*) ve sivriburun karagöz (*Diplodus puntazzo*) türlerine ait doğal ve kültür örneklemeleri yapılmıştır. Tür içi doğal ve kültür etkileşimleri MtDNA COI bölgesi hedef alınarak aralarındaki genetik etkileşim ortaya konulması için balık örneklerinin kaudal yüzgeçe yakın bölgeden deri altı kas dokusundan alınmıştır (Keskin ve Atar 2013; Eroğlu, Çiftçi ve Firidin 2013). Alınan doku örneklerine; hedef mtDNA saflaştırılıp izole edilmesi, COI bölgesinin PZR (polimeraz zincir reaksiyonu) ile yükseltgenmesi ve en son olarak Sanger metoduyla dizi analizi uygulanmıştır. Filogenetik analizler için DNA dizileme sonucu elde edilen sekans verilerinden faydalanılmış, biyoinformatikte kullanılan bilgisayar programları yardımıyla veriler işlenmiş ve doğru yorumlanması için diziler hizalanmış ve istatistiki veriler haline getirilmiştir. Böylelikle genetik etkileşimin varlığı istatistiksel olarak ortaya konulmaya çalışılmıştır.

3.1. Materyal

Çalışmada kullanılan balık materyalleri, “TÜBİTAK 113O367” numaralı “Ege Denizi’ndeki Çipura (*Sparus aurata*), Levrek (*Dicentrarchus labrax* L.), Sinarit (*Dentex dentex*) ve Sivriburun Karagöz (*Diplodus puntazzo*) Balıklarının Doğal ve Kültür Popülasyonları Arasındaki Genetik Etkileşim ve Varyasyonların Moleküler Markırlar İle Belirlenmesi ve Yapay Sinir Ağ İle Gelecekteki Durum Tahmini” adlı proje bünyesinde, Ege Denizi ve Batı Akdeniz’de dağılım gösteren doğal sinarit (*Dentex dentex*) ve sivriburun karagöz (*Diplodus puntazzo*) türleri ve alt türlerini temsil edecek şekilde 7 farklı lokasyondan seçilmiştir. Doğal balık örnekleri yerel balıkçılardan, kültür stoklarına ait numuneler ise bölgede üretim yapan ağ-kafes işletmelerinden ve kuluçkahanelerden temin edilmiştir. Örnekleme yapılan lokasyonlar ve örneklenen birey sayısı ve örneklerden bazılarının fotoğrafları; Harita 3.1., Şekil 3.1., Şekil 3.2., Resim 3.1., Resim 3.2., Çizelge 3.1., Çizelge 3.2., Çizelge 3.3., Çizelge 3.4.’de gösterilmektedir.



Harita 3.1. Örnekleme yapılan istasyonlar



Resim 3.1. Çalışmada kullanılan Sinarit (*Dentex dentex*) örneklerinden bazıları



Resim 3.2. Çalışmada kullanılan Sivriburun Karagöz (*Diplodus puntazzo*) örneklerinden bazıları

Çizelge 3.1. Sinarit (*Dentex dentex*) örnekleme yapılan lokasyonlar ve örneklenen birey sayısı

No	Örnekleme lokasyonu	Kodlama	Örneklenen Birey Sayısı
1	Karaburun-Doğal	I-W	9
2	Karaburun-Kültür	I-C	9
3	Çeşme-Doğal	II-W	5
5	Kuşadası-Doğal	III-W	10
6	Güllük-Doğal	IV-W	5
7	Bodrum-Doğal	V-W	4
8	Çanakkale-Doğal	VI-W	6
9	Antalya-Doğal	VII-W	5
Toplam			53

Çizelge 3.2. Sivriburun Karagöz (*Dipodus puntazzo*) örnekleme yapılan lokasyonlar ve örneklenen birey sayısı

No	Örnekleme lokasyonu	Kodlama	Örneklenen Birey Sayısı
1	Karaburun-Doğal	I-W	10
2	Karaburun-Kültür	I-C	9
3	Çeşme-Doğal	II-W	4
5	Kuşadası-Doğal	III-W	10
6	Güllük-Doğal	IV-W	7
7	Bodrum-Doğal	V-W	8
8	Çanakkale-Doğal	VI-W	5
9	Antalya-Doğal	VII-W	5
Toplam			58

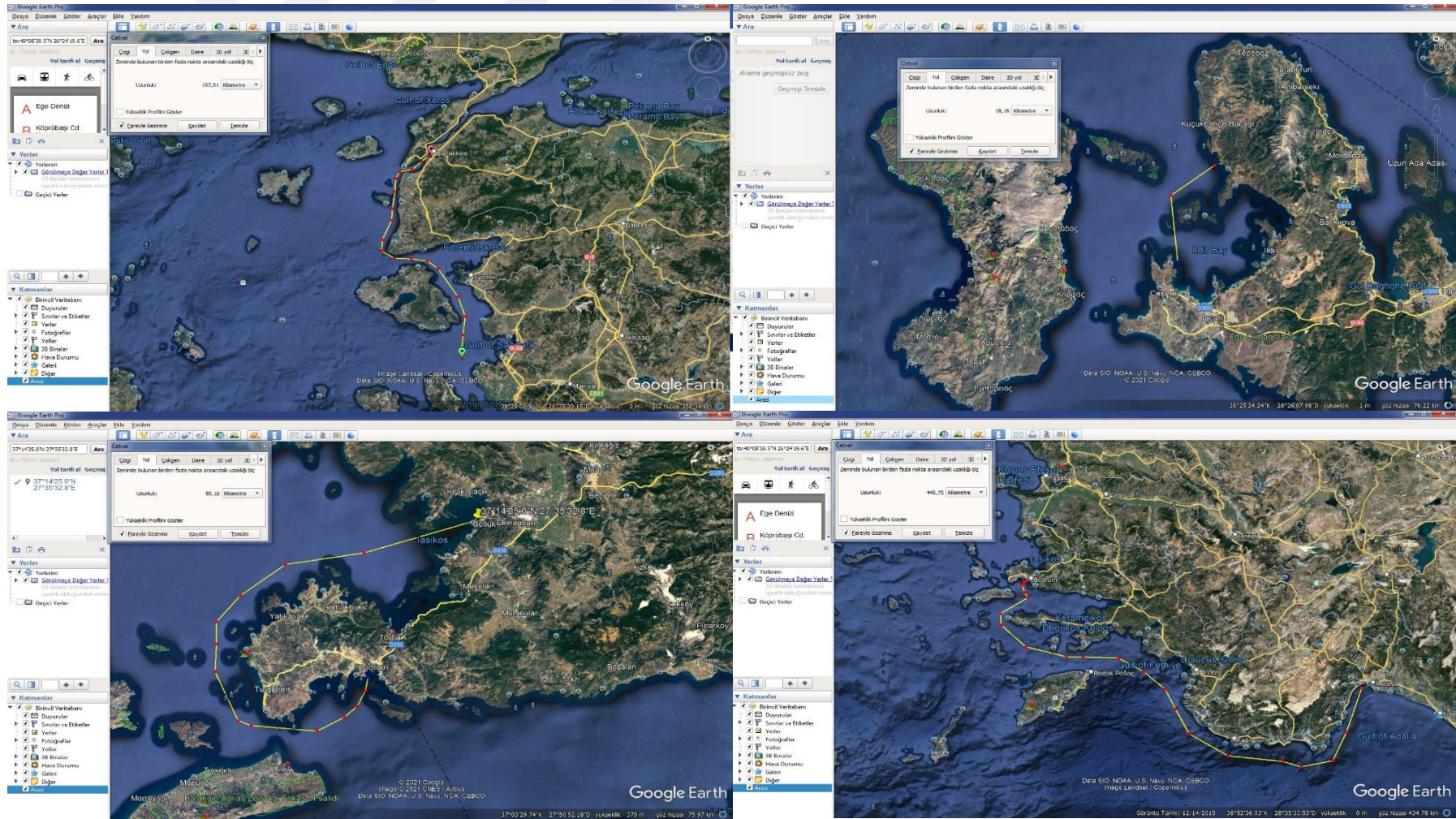
Çizelge 3.3. Farklı istasyonlardan temin edilen doğal ve kültür Sinarit (*D.dentex*) ve Sivriburun Karagöz (*D.puntazzo*) türlerine ait koordinatlar ve işletmeler.

Doğal			Kültür	
Türler	Sinarit	S.B.Karagöz	Sinarit	S.B.Karagöz
İstasyonlar				
KARABURUN	Foça açıkları 38°48'34.8"N 26°38'09.4"E [38.809444-26.635833]	Foça açıkları 38°48'34.8"N 26°38'09.4"E [38.809444-26.635833]	AKVATUR 38°30'29.3"N 26°23'12.4"E [38.508056-26.386667]	AKVATUR 38°30'29.3"N 26°23'12.4"E [38.508056-26.386667]
ÇEŞME*	Çeşme Dalyan 38°22'07.1"N 26°19'39.6"E [38.368611-26.3275]	Çeşme Dalyan 38°22'07.1"N 26°19'39.6"E [38.368611-26.3275]		
KUŞADASI**	Çağlar balıkçılık temsili 37°48'51,1"N 27°08'58.4"E [37.814167-27.149444]	Çağlar balıkçılık temsili 37°48'51,1"N 27°08'58.4"E [37.814167-27.149444]		
GÜLLÜK	Güllük körfezi 37°14'25.0"N 27°35'32.8"E [37.814167-27.149444]	Güllük körfezi 37°14'25.0"N 27°35'32.8"E [37.814167-27.149444]		
BODRUM	Bodrum Şenol Balıkçılık 37°1'11,20"N 27°25'20,88"E [37.019722-27.422222]	Bodrum Şenol Balıkçılık 37°1'11,20"N 27°25'20,88"E [37.019722-27.422222]		
ÇANAKKALE	Engin Balıkçılık 40°08'38.5"N 26°24'19.6"E [40,143889-26.405278]	Engin Balıkçılık 40°08'38.5"N 26°24'19.6"E [40,143889-26.405278]		
ANTALYA	Avcılık Yoluyla 36°50'4.98"N 30°38'47.14"E [36.834444-30,646389]	Avcılık Yoluyla 36°50'4.98"N 30°38'47.14"E [36.834444-30,646389]		
*Balıklar çeşme ılıca balıkçı kooperatifinden alınmıştır			**Çağlar balıkçılık akköy-milettur sitesi didim fatura adresi ama avcılık kuşadası açıkları.	

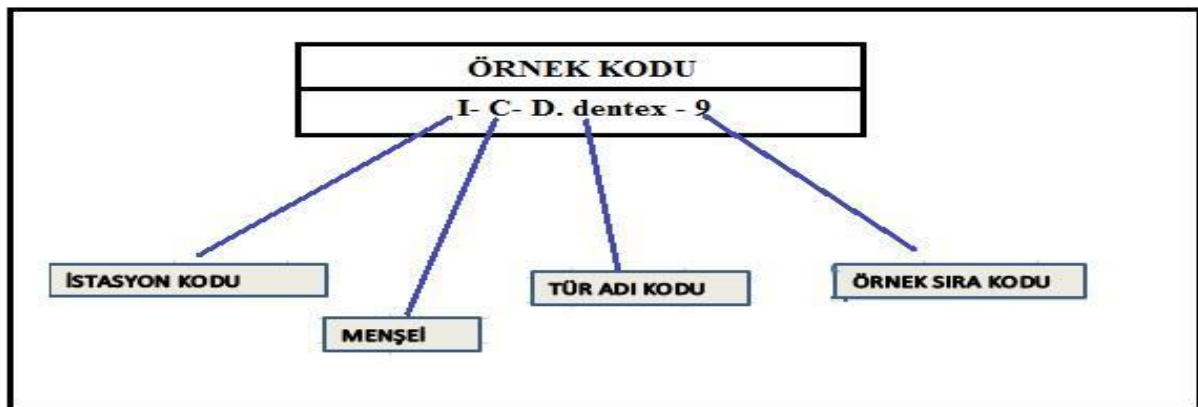
ÖRNEKLEMELER (Kasım) 2014 – (Temmuz) 2015 yılları arasında yapılmıştır

Çizelge 3.4. İstasyonlar arası mesafe (km)

İSTASYONLAR ARASI MESAFE (km)								
	KARABURUN-C	KARABURUN-W	ÇEŞME	KUŞADASI	GÜLLÜK	BODRUM	ÇANAKKALE	ANTALYA
KARABURUN-C	0	56	18	177	287	367	253	812
KARABURUN-W	56	0	63	139	249	329	197	774
ÇEŞME*	18	63	0	121	231	311	260	756
KUŞADASI**	177	139	121	0	110	190	336	635
GÜLLÜK	287	249	231	110	0	80	446	525
BODRUM	367	329	311	190	80	0	526	445
ÇANAKKALE	253	197	260	336	446	526	0	971
ANTALYA	812	774	756	635	525	445	971	0



Şekil 3.1. İstasyonlar arası mesafelerin harita üzerinde gösterimi (Google Earth ® programı kullanılmıştır)



Şekil 3.2. Çalışmada kullanılan örneklerin kodlamalarının açılımı

3.2. Yöntem

3.2.1. Genomik DNA İzolasyonu

Balık örneklerinden genomik DNA izolasyonu chelex 100 kullanılarak yapılmıştır (Singer-Sam, Tanguay ve Riggs, 1989). Chelex 100 yöntemi başlıca üç ana basamaktan oluşmaktadır; bunlar;

1. Doku homojenizasyonu,
2. Hücre parçalama,
3. DNA eldesi.

Balık örneklerinden DNA izolasyonu işlemi için doku örnekleri, dondurucudan çıkartılan örnekleri kuyruk kısmına yakın yanal bölgenin üst deri kısmı 1,5x1,5 cm ebatlarında bisturi yardımıyla epitel doku kesilerek çıkartılmıştır (Şekil 3.3.). Alt kısımda bulunan kas dokusu ızgara metoduyla küçük parçalara örnek üzerinde kıyılmış, (2mm³) 1-2 gr kadar kas dokusu kesilerek 1,5 ml mikrosantrifüj tüpüne konulmuştur. Ardından tüpün içerisine 300 µl, %10'luk chelex 100 çözeltisi eklenir ve karışım 2 dakika boyunca vortex vasıtasıyla homojenize edilmiştir. Homojenizasyon adımıdan sonra, karışım santrifüj ile çöktürülmüş ve 10 dakika boyunca 98 °C de inkübe edilmiştir. İnkübasyon aşamasından sonra, karışım tekrar 2 dakika boyunca vortex ile homojenize edilmiş, ardından 1 dakika 10000 g devirde santrifüj edilmiştir. Son olarak üst fazdan 100 µl sıvı çekilerek yeni bir tüpe alınmıştır.

Çalışma esnasında hem balık üzerinden kontaminasyona hem de araştırmacı tarafında doğacak kontaminasyonların en asgari seviyede tutulacak önlemler alınmaya çalışılmıştır. Her örnek çalışılırken ayrı bistüri ucu kullanılmıştır. Bununla birlikte 5 ayrı bistüri sapları %95 lik etil alkol içerisinde bekletilerek kullanılmıştır.



Resim 3.3. Sivriburun karagöz balığında doku örneğinin alınması ve kullanılan araçlar

3.2.2. Gerçek Zamanlı PCR (QPCR) ve Yüksek Çözünürlükte Erime Eğrisi (HRM) Analizi

Reaksiyonlar Çizelge 3.5.'te verilen içerik ve miktarlarla hazırlanmıştır. Reaksiyonlarda kullanılan organizma spesifik, mitokondriyal sitokrom oksidaz I (mtDNA COI) hedefli primerler Çizelge 3.6.'da verilmiştir. Reaksiyonların gerçekleştirilmesi için Roche LightCycler® Nano Real-Time PCR sistemi kullanılmıştır. QPCR ve HRM sonuçları Roche LightCycler® Nano Real-Time PCR sisteminin yazılımı kullanılarak değerlendirilmiştir.

Çizelge 3.5. Reaksiyon içerikleri ve miktarları

Bileşenler	Miktar
2x qPCR Mix (3 mM MgCl ₂ , 0,4 mM dNTP mix, 0,2U High Fidelity Hot Start Taq DNA Polimeraz, 2x EvaGreen)	5 µl
İleri primer (10 µM)	0,5 µl
Geri primer (10 µM)	0,5 µl
Moleküler ölçekli su	3 µl
DNA	1 µl
Toplam	10 µl

3.2.3. Primerlerin Tasarlanması

Primerler DNA kolu üzerinde hedeflenen bölgenin 3' ucuna bağlanarak bu bölgenin çoğaltılmasını sağlayan 15-25 baz çiftinden (base pair) oluşan yapıdır. Primer tasarımları türlere özgü olarak Primer 3 plus programı ile tasarlanmıştır (Andreas ve diğerleri, 2007). Primerler özellikle çalışma esnasında kendi üzerlerine dimmer yapmaması için tasarım sırasında dikkat edilmiştir. Tm (Erime Sıcaklığı=Temperature of melting) değeri hassasiyetine dikkat edilmiş böylelikle hem kararlı bir şekilde hedef DNA bölgesine bağlanma sağlanmış hem de hedef dışı bağlanmaların önüne geçilmiştir. Tm değeri yaklaşık 0,5°C kadar hassasiyettedir. Bununla birlikte deney tüpü içerisine eklenecek kimyasalların iyon yapısına dikkat edilmiştir. Çizelge 3.6.'da hedef organizmalar isimleri ve primer dizilimleri gösterilmektedir. Çizelge 3.7.'de MtDNA COI geni için kullanılan Real-Time PCR programı sergilenmektedir. Elde edilecek olan Ct ve TM verilerinin Varyans Analizi (Anova analizi) yapılarak grup ortalamaları, grup içi ve arası değişkenler gibi ile ortalamaların birbirine eşit olup olmadığı sınanacaktır.

Çizelge 3.6. Primerler ve hedef organizmalar

	Primer Dizisi	Ürün Boyutu
<i>D.puntazzo</i>	CTGCCTTAAGCCTGCTCATT ATTGTAATTCCGGCAGCAAG	543
<i>D.dentex</i>	CGAGCTGAACTTAGCCAACC GGTCGAAGAAGGTGGTGTTC	553

Çizelge 3.7. MtDNA COI geni için kullanılan Real-Time PCR Programı

<i>Adım</i>	<i>Süre</i>	<i>Sıcaklık</i>	<i>Döngü</i>
Başlangıç Denatrürasyonu	5 min	98 ⁰ C	1
Denatürasyon	20 s	98 ⁰ C	
Bağlanma ve uzama	40s	55 ⁰ C (tek okuma)	40
HRM	5 s/adım	72 ⁰ C -95 ⁰ C (0,2 ⁰ C/sn artış hızı) (sürekli okuma)	1

3.2.4. Dizi Analizi ve Filogenetik Analizler

PZR sonucu elde edilen kısmi COI geni amplikonlarının dizi analizleri Sanger yöntemiyle **(ABI prism Big Dye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit on an ABI Prism 377 DNA sequencer (Applied Biosystems, USA)** belirlenmiştir. Elde edilen diziler CHROMAS programıyla analiz edilmiştir. Elde edilen dizilerin DNA data bankasında en çok benzer olduğu diziler NCBI BLAST programı kullanılarak belirlenmiştir (Johnson, Zaretskaya, Raytselis, Merezhuk, McGinnis ve Madden 2008). DNA dizileri ClustalW yazılımı kullanılarak birbirleriyle karşılaştırılmış ve hizalanmıştır (Larkin ve diğerleri, 2007). Analizde sadece açıkça uyumlu baz pozisyonları kullanılmıştır. Yapılan dizi karşılaştırmalarına dayanan filogenetik ağaçların çizimi için MEGA yazılımı kullanılmıştır. Filogenetik ağaçlar 4 farklı algoritma (Neighbor-joining, maximum likelihood, maximum parsimony, UPGMA) ile elde edilmiştir.

3.2.5. Filogenetik Analizlerin İstatistiksel Yorumlanması

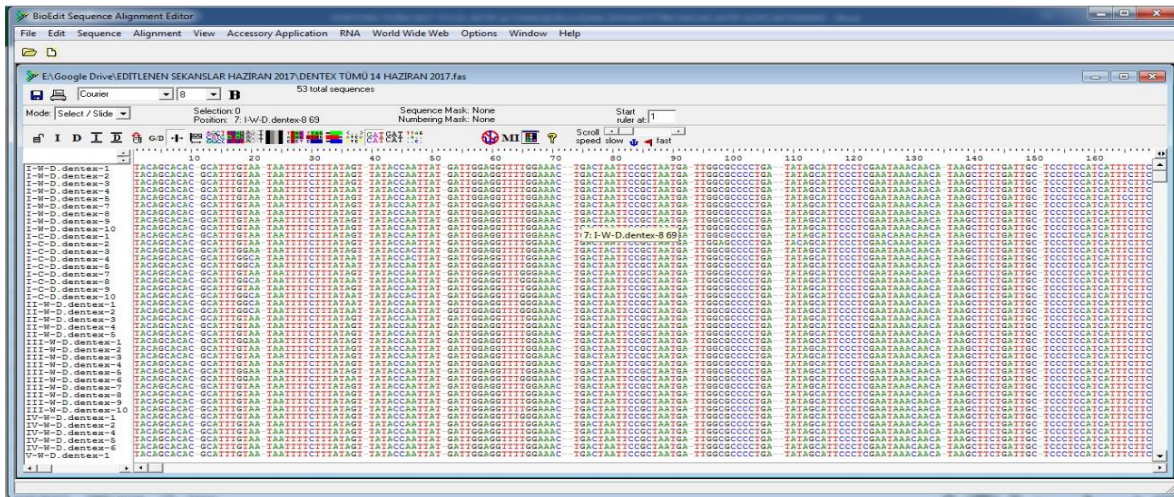
DNAsp v5 programından tür içi örnekler arasındaki nükleotit (π) ve haplotip çeşitliliğini (H) belirlemek amacıyla faydalanılmıştır (Librado ve Rozas., 2009). Türler arasındaki genetik mesafelerin belirlenmesinde MEGA (v.4) ile Arlequin (v.3.5.5) uygulamaları kullanılmıştır.

3.2.6. Genetik Farklılaşmanın Belirlenmesi

Genetik farklılaşmanın belirlenmesi

Sekanslama sonucu örneklerden elde edilen hedef mtDNA COI bölgesine ait nükleotid dizilimleri (baz çift) kendi içerisinde istasyonlarına ve türlerine göre ayrılmış, Chromas® programı ile editlenmiş ve hizalanmıştır. MtDNA dizilerinin editlenmesinden sonra elde edilen diziler Bioedit ® programı ile örneklerden 1 (bir) tanesini referans olarak belirlenmiş, diğer örnekler belirlenen referans örneği dizi ile benzerlikleri (.) nokta şeklinde gösterilmiş, farklı bazlar (A, G, T, C) şeklinde Bioedit ® programı tarafından görselleştirmiştir. Hedef türlere ait DNA dizilimleri projede belirlenen istasyonlara göre ayrı ayrı sıralanmıştır. İstasyondaki türün doğal ve kültür örneklerinin ortak başlangıç ve bitiş bölgeleri tespit edilmiştir. Tespit edilen başlangıç-bitiş bölgesi arasında kalan DNA

baz dizilimleri referans örnek baz alınarak diğer örneklerdeki farklılıklar sayılmıştır. Elde edilen veriler Microsoft Excel® programına aktarılmıştır. Karaburun doğal *D.dentex* 1 örneği referans alınarak, Karaburun *D.dentex* doğal ve kültür arasındaki farklılık Bioedit® programı ile belirlenmesi Şekil 3.3’de gösterilmektedir.



Şekil 3.3. Karaburun Doğal *D.dentex* 1 örneği referans alınarak, Karaburun *D.dentex* doğal ve kültür arasındaki farklılık Bioedit® programı ile belirlenmesi

3.2.7. Geleceğe ait projeksiyon (modelleme)

Genetik farklılaşma derecesinin (yüzdesinin), önümüzdeki yıllarda nasıl olabileceği konusunda, aşağıdaki varsayımlar altında bölge bazında her bir tür için projeksiyonlar yapılmıştır.

Varsayımlar-Ön kabuller:

1. Doğal ortamdaki süreçlerin modellenmesinde en büyük zorluk, incelenen değişken üzerine etki edebilecek rassal değişken sayısının ve matematiksel etki biçiminin (doğrusal, üssel, polinomial vs.) oldukça fazla olmasıdır. Bununla birlikte incelenen süreci (burada genetik farklılaşma oranı ya da ihtimali olmaktadır) anlamak için mümkün mertebede belirli varsayımlar ya da sınırlamalar altında genel ve basit bir model kullanmak başlangıç seviyesi olarak daha gerçekçi olabilecektir.
2. Kültür ortamından kaçan balıkların farklı büyüklüklerde olabilmeleri ve doğada kaldıkları süre zarfında zamanla doğal ortamda yaşayan balıklarla etkileşime girebilerek birçok döl verebilme ihtimali vardır. Dolayısı ile, doğal ortamdaki genetik çeşitliliğin zamanla azalma oranı doğrusal olamayacak, zamanın bir fonksiyonu olarak eksponansiyel olarak azalan bir trend gösterecektir.

3. Bu anlamda, burada Doğal ile Kültür balıkları arasındaki genetik farklılaşmanın derecesinin (P) zamana bağlı olarak (t) aşağıdaki gibi azalan bir azalan üssel bir fonksiyononel ilişki (negatif eksponansiyel model) gösterdiği varsayılmıştır:

$$\frac{P_t}{P_0} = \exp[-rt] \quad (3.1)$$

(Bu eşitlikte P_t : t zaman sonraki farklılaşma oranını (derecesini), P_0 : başlangıçtaki farklılaşma oranı, r : farklılaşma hızı, t: zaman (yıl) dır).

4. Geçmişten günümüze kadar hesaplamalar için P_0 değerinin 100 olduğu Kabul edilmiştir. Günümüzden geleceğe dönük tahminde ise ilgili bölge için mevcut genetik farklılaşma oranı (P), P_0 olarak dikkate alınmıştır.

5. Hesaplamalar da mevcut farklılaşma oranı dikkate alınarak, gelecekte farklılaşma oranının kaç yıl sonra % 50 ya da % 20 ye düşeceği değerlendirilmesi yapılmıştır.

6. Sinarit ve Sivriburun Karagöz için; Karaburun, Kuşadası, Güllük ve Bodrum için geçmişten günümüze yıllık ortalaması farklılık hızı hesaplanırken, bu bölgelerdeki Kuluçkahanelerden yetiştirilen balıkların kafes balıkçılığı için kullanılma süresi olarak yaklaşık 12 yıl olarak kabul edilmiştir.

4. ARAŞTIRMANIN BULGULARI

4.1. DNA İzolasyonu ve Kontrolü

Bu araştırmada incelenen Sinarit (*Dentex dentex*) ve Sivriburun Karagöz (*Diplodus puntazzo*) balık örneklerine ait COI hedefli QPCR ile elde edilen eşik döngü sayıları (Ct değerleri) ve erime sıcaklıkları (Tm değerleri) çizelge 4.1 ve çizelge 4.4'te gösterilmiştir. Gerçek zamanlı PCR yaklaşımı çok faydalıdır. PCR cihazı reaksiyon sırasında bir amplifikasyon ürününün varlığını ölçer, böylece operatörün sonucu okumak için elektroforez adımına ihtiyaç duymaz. Reaksiyon iki parça bilgi üretir, Ct (eşik döngüsü: ürünün iyi saptanabilir olduğu ilk reaksiyon döngüsü) ve Tm (her DNA fragmanı için oldukça spesifik olan amplifikasyon ürününün erime sıcaklığı) elde edilen Ct değerleri tüm numunelerden başarıyla DNA çoğaltıldığını göstermektedir. Erime eğrileri ise, çoğaltılan DNA'ların içerisinde, hedef COI geni yanında primer dimer oluşup oluşmadığını göstermektedir. Bu primer dimerler, DNA dizi analizi aşamasında yapılan PCR ürün saflaştırma aşamasında, 100 bp ve üstü DNA'ların saflaştırıldığı tamponlar kullanılarak analiz öncesi elenmiştir. *Dentex dentex* türüne ait COI hedef geni için yapılan QPCR deneylerine ait döngü sayısı (Ct) ve erime sıcaklığı (Tm) verileri gösterilmiştir.

Çizelge 4.1. *Dentex dentex* türüne ait COI hedef geni için yapılan QPCR deneylerine ait döngü sayısı (Ct) ve erime sıcaklığı (Tm) verileri.

İndeks No	Organizma adı	Örnek adı	Ct	Tm (COI)
1	<i>Dentex dentex</i>	I-C-D.dentex-9	21,2	82,7
6	<i>Dentex dentex</i>	I-C-D.dentex-5	23,5	82,8
7	<i>Dentex dentex</i>	I-C-D.dentex-3	24,6	82,9
8	<i>Dentex dentex</i>	I-C-D.dentex-8	23,8	82,8
9	<i>Dentex dentex</i>	I-C-D.dentex-7	24,8	82,5
10	<i>Dentex dentex</i>	I-C-D.dentex-2	25,7	82,8
11	<i>Dentex dentex</i>	I-C-D.dentex-10	22,1	82,8
12	<i>Dentex dentex</i>	I-C-D.dentex-4	23	82,7
13	<i>Dentex dentex</i>	I-C-D.dentex-1	25,2	82,8
14	<i>Dentex dentex</i>	III-W-D.dentex-8	24,5	82,7
15	<i>Dentex dentex</i>	III-W-D.dentex-7	23	82,7
16	<i>Dentex dentex</i>	III-W-D.dentex-6	24,8	82,9
17	<i>Dentex dentex</i>	III-W-D.dentex-10	26,1	82,9
18	<i>Dentex dentex</i>	III-W-D.dentex-3	24,4	82,9
19	<i>Dentex dentex</i>	III-W-D.dentex-1	23,6	82,9
20	<i>Dentex dentex</i>	III-W-D.dentex-2	23,2	82,9
21	<i>Dentex dentex</i>	III-W-D.dentex-4	23,4	82,7
22	<i>Dentex dentex</i>	III-W-D.dentex-9	24,3	82,7
23	<i>Dentex dentex</i>	III-W-D.dentex-5	22,9	82,6

Çizelge 4.1. (Devam) *Dentex dentex* türüne ait COI hedef geni için yapılan QPCR deneylerine ait döngü sayısı (Ct) ve erime sıcaklığı (Tm) verileri.

İndeks No	Organizma adı	Örnek adı	Ct	Tm (COI)
24	<i>Dentex dentex</i>	I-W-D.dentex-5	23,7	82,8
25	<i>Dentex dentex</i>	I-W-D.dentex-1	24	82,6
26	<i>Dentex dentex</i>	I-W-D.dentex-8	25,2	82,7
27	<i>Dentex dentex</i>	I-W-D.dentex-4	23,5	82,6
28	<i>Dentex dentex</i>	I-W-D.dentex-10	19,9	82,5
29	<i>Dentex dentex</i>	I-W-D.dentex-9	22,4	82,6
30	<i>Dentex dentex</i>	I-W-D.dentex-3	23	82,7
31	<i>Dentex dentex</i>	I-W-D.dentex-2	21,7	82,5
33	<i>Dentex dentex</i>	I-W-D.dentex-7	18,5	82,7
34	<i>Dentex dentex</i>	IV-W-D.dentex-1	23,7	82,6
35	<i>Dentex dentex</i>	IV-W-D.dentex-4	22,4	82,7
36	<i>Dentex dentex</i>	IV-W-D.dentex-6	19,4	82,6
37	<i>Dentex dentex</i>	IV-W-D.dentex-2	24,8	82,7
38	<i>Dentex dentex</i>	IV-W-D.dentex-5	24	82,7
357	<i>Dentex dentex</i>	VI-W-D.dentex-1	24,1	81,8
358	<i>Dentex dentex</i>	VI-W-D.dentex-2	22,1	83,2
359	<i>Dentex dentex</i>	VI-W-D.dentex-3	23,5	82,8
360	<i>Dentex dentex</i>	VI-W-D.dentex-4	24,6	82,9
361	<i>Dentex dentex</i>	VI-W-D.dentex-5	23,8	82,8
362	<i>Dentex dentex</i>	VI-W-D.dentex-6	24,8	82,5
363	<i>Dentex dentex</i>	II-W-D.dentex-1	25,7	82,8
364	<i>Dentex dentex</i>	II-W-D.dentex-2	22,1	82,8
365	<i>Dentex dentex</i>	II-W-D.dentex-3	23,7	82,7
366	<i>Dentex dentex</i>	II-W-D.dentex-4	25,2	82,8
367	<i>Dentex dentex</i>	II-W-D.dentex-5	24,5	82,7
368	<i>Dentex dentex</i>	V-W-D.dentex-1	23,5	82,7
369	<i>Dentex dentex</i>	V-W-D.dentex-2	24,8	82,9
370	<i>Dentex dentex</i>	V-W-D.dentex-3	26,1	82,9
371	<i>Dentex dentex</i>	V-W-D.dentex-4	24,4	82,9
372	<i>Dentex dentex</i>	VII-W-D.dentex-1	23,6	82,9
373	<i>Dentex dentex</i>	VII-W-D.dentex-2	23,2	82,9
374	<i>Dentex dentex</i>	VII-W-D.dentex-3	23,4	82,7
375	<i>Dentex dentex</i>	VII-W-D.dentex-4	24,3	82,7
376	<i>Dentex dentex</i>	VII-W-D.dentex-5	22,9	82,6

Varyans analizi sonucu gruplar arasında istatistik açısından önemli bir Ct değeri farkı bulunmasa da ($p > 0,05$) en düşük Ct değeri I-W-*D.dentex* grubunda 18,5 ve en büyük Ct değeri ise III-W ile V-W gruplarında 26,1 olarak ölçülmüş olup tüm verilerin genel ortalaması 23,5 bulunmuştur. En fazla Ct değişimi IV-W grubunun içinde görülürken en az değişim ise VII-W grubu içinde Çizelge 4.2’de gösterilmiştir.

Çizelge 4.2. *D.dentex* türüne ait Ct değerlerinin varyans analizi.

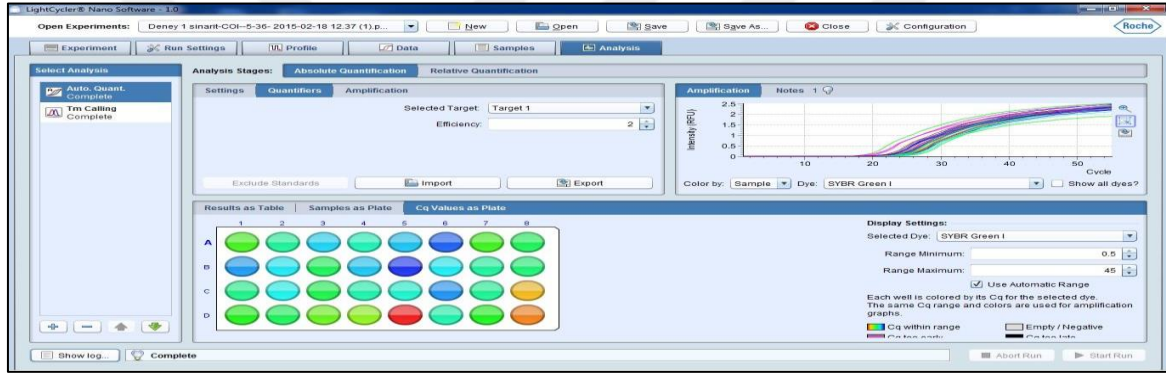
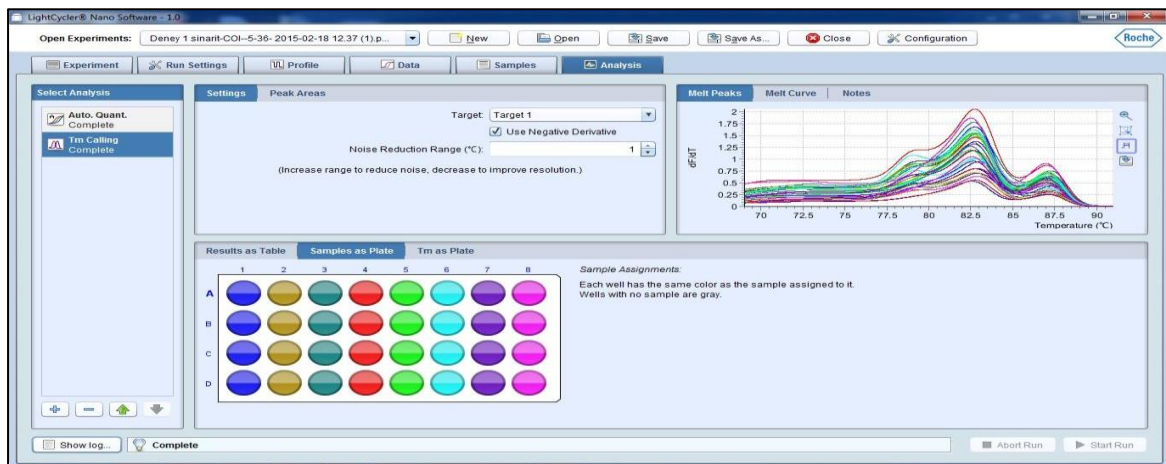
Gruplar	Say	Toplam	Ortalama	Varyans		
I-C- <i>D.dentex</i>	9	213	23,6	2,231111		
III-W- <i>D.dentex</i>	10	240,2	24,02	0,990667		
I-W- <i>D.dentex</i>	9	201,9	22,43	4,032333		
IV-W- <i>D.dentex</i>	5	114,3	22,86	4,488		
VI-W- <i>D.dentex</i>	6	142,9	23,81667	0,941667		
II-W- <i>D.dentex</i>	5	121,2	24,24	1,998		
V-W- <i>D.dentex</i>	4	98,8	24,7	1,166667		
VII-W- <i>D.dentex</i>	5	117,4	23,48	0,277		
Varyans Kaynağı	df	SS	MS	F	P-değeri	F ölçütü
Gruplar Arasında	7	27,5612	3,943731	1,837861	0,102051	2,211827
Gruplar İçinde	46	100,8173	2,19152			
Toplam	53	128,3785				

Dentex dentex türüne ait COI hedef geninin Tm değerleri açısından da gruplar arasında bir fark bulunmamıştır ($p > 0,05$). Ancak ilginç olarak en düşük **81,8** Tm değeri ile en yüksek **83,2** Tm değeri VI-W grubunda görülmüştür. En fazla Tm değişimi VI-W grubunda gözlenirken en az değişim ise II-W ve IV-W grubunda Çizelge 4.3’te sergilenmiştir.

Yapılan varyans analizinde, Tm değerleri ile Ct değerleri arasında herhangi bir önemli ilişki bulunmamıştır ($r = 0,132$; $p > 0,05$). Sinarit örneklerine ait Tm ve Ct değerleri Qpcr cihazının yazılımında görünümü Şekil 4.1 ve Şekil 4.2’de sergilenmektedir. Sivriburun Karagöz örneklerine ait Tm ve Ct değerleri Çizelge 4.4 ve Çizelge 4.5’te sergilenmektedir.

Çizelge 4.3. *D.dentex* türüne ait Tm değerlerinin varyans analizi.

Gruplar	Say	Toplam	Ortalama	Varyans		
I-C-D.dentex	9	744,8	82,75	0,017		
III-W-D.dentex	10	827,9	82,79	0,014		
I-W-D.dentex	9	743,7	82,63	0,012		
IV-W-D.dentex	5	413,3	82,66	0,003		
VI-W-D.dentex	6	496,0	82,67	0,231		
II-W-D.dentex	5	413,8	82,76	0,003		
V-W-D.dentex	4	331,4	82,85	0,010		
VII-W-D.dentex	5	413,8	82,76	0,018		
Varyans Kaynağı	df	SS	MS	F	P-değeri	F ölçütü
Gruplar Arasında	7	0,237939	0,033991	0,957025	0,473094	2,211827
Gruplar İçinde	46	1,669333	0,03629			
Toplam	53	1,907272				

Şekil 4.1. *Dentex dentex* türüne ait COI hedef geni için örnek 5-36 arasına yapılan QPCR deneylerine ait döngü sayısı (Ct) görüntüsü.Şekil 4.2. *Dentex dentex* türüne ait COI hedef geni için örnek 5-36 arasına yapılan QPCR ait erime sıcaklığı (Tm) görüntüsü.

Çizelge 4.4. *Diplodus puntazzo* türüne ait COI hedef geni için yapılan QPCR deneylerine ait döngü sayısı (Ct) ve erime sıcaklığı (Tm) verileri.

İndeks No	Organizma adı	Örnek adı	Ct	Tm (COI)
39	<i>Diplodus puntazzo</i>	IV-W-D.puntazzo-2	22,4	81,8
40	<i>Diplodus puntazzo</i>	V-W-D.puntazzo-1	23,1	81,7
42	<i>Diplodus puntazzo</i>	V-W-D.puntazzo-3	22,5	81,6
43	<i>Diplodus puntazzo</i>	V-W-D.puntazzo-4	23	81,8
44	<i>Diplodus puntazzo</i>	V-W-D.puntazzo-5	22,5	81,7
45	<i>Diplodus puntazzo</i>	V-W-D.puntazzo-6	21,9	81,8
46	<i>Diplodus puntazzo</i>	V-W-D.puntazzo-7	25,8	81,2
47	<i>Diplodus puntazzo</i>	V-W-D.puntazzo-8	22,5	81,7
48	<i>Diplodus puntazzo</i>	V-W-D.puntazzo-9	20,5	81,6
49	<i>Diplodus puntazzo</i>	V-W-D.puntazzo-10	23,3	81,7
50	<i>Diplodus puntazzo</i>	III-W-D.puntazzo-1	22,2	81,7
51	<i>Diplodus puntazzo</i>	III-W-D.puntazzo-2	20,9	81,9
52	<i>Diplodus puntazzo</i>	III-W-D.puntazzo-3	19,3	81,8
53	<i>Diplodus puntazzo</i>	III-W-D.puntazzo-4	18,1	81,5
54	<i>Diplodus puntazzo</i>	III-W-D.puntazzo-5	18	81,5
55	<i>Diplodus puntazzo</i>	III-W-D.puntazzo-6	18,6	81,5
56	<i>Diplodus puntazzo</i>	III-W-D.puntazzo-7	20,4	81,5
57	<i>Diplodus puntazzo</i>	III-W-D.puntazzo-8	18,3	81,5
58	<i>Diplodus puntazzo</i>	III-W-D.puntazzo-9	17,4	81,5
59	<i>Diplodus puntazzo</i>	III-W-D.puntazzo-10	20,7	81,5
60	<i>Diplodus puntazzo</i>	I-W-D.puntazzo-1	20,2	81,5
61	<i>Diplodus puntazzo</i>	I-W-D.puntazzo-2	20,4	81,6
62	<i>Diplodus puntazzo</i>	I-W-D.puntazzo-3	21,6	81,6
63	<i>Diplodus puntazzo</i>	I-W-D.puntazzo-4	20,4	81,5
64	<i>Diplodus puntazzo</i>	I-W-D.puntazzo-5	21,8	81,9
65	<i>Diplodus puntazzo</i>	I-W-D.puntazzo-6	21,1	81,5
66	<i>Diplodus puntazzo</i>	I-W-D.puntazzo-7	19,7	81,7
67	<i>Diplodus puntazzo</i>	I-W-D.puntazzo-8	19,3	81,5
68	<i>Diplodus puntazzo</i>	I-W-D.puntazzo-9	23,2	81,3

Çizelge 4.4. (Devam) *Diplodus puntazzo* türüne ait COI hedef geni için yapılan QPCR deneylerine ait döngü sayısı (Ct) ve erime sıcaklığı (Tm) verileri

İndeks No	Organizma adı	Örnek adı	Ct	Tm (COI)
70	<i>Diplodus puntazzo</i>	I-C-D.puntazzo-1	22,6	81,8
71	<i>Diplodus puntazzo</i>	I-C-D.puntazzo-3	19,5	81,8
72	<i>Diplodus puntazzo</i>	I-C-D.puntazzo-4	24,3	81,8
73	<i>Diplodus puntazzo</i>	I-C-D.puntazzo-5	18,4	81,8
74	<i>Diplodus puntazzo</i>	I-C-D.puntazzo-6	22,4	81,8
75	<i>Diplodus puntazzo</i>	I-C-D.puntazzo-7	20,9	81,7
76	<i>Diplodus puntazzo</i>	I-C-D.puntazzo-8	20,9	81,7
77	<i>Diplodus puntazzo</i>	I-C-D.puntazzo-9	21,2	81,8
78	<i>Diplodus puntazzo</i>	I-C-D.puntazzo-10	24,7	81,8
80	<i>Diplodus puntazzo</i>	IV-W-D.puntazzo-2	18,2	81,9
81	<i>Diplodus puntazzo</i>	IV-W-D.puntazzo-3	20,5	81,7
82	<i>Diplodus puntazzo</i>	IV-W-D.puntazzo-4	21,3	81,7
83	<i>Diplodus puntazzo</i>	IV-W-D.puntazzo-5	20,4	81,8
84	<i>Diplodus puntazzo</i>	IV-W-D.puntazzo-6	20,8	81,8
85	<i>Diplodus puntazzo</i>	IV-W-D.puntazzo-7	23,3	81,7
86	<i>Diplodus puntazzo</i>	IV-W-D.puntazzo-8	21,3	81,9
87	<i>Diplodus puntazzo</i>	II-W-D.puntazzo-1	23,6	81,8
88	<i>Diplodus puntazzo</i>	II-W-D.puntazzo-2	23	81,6
89	<i>Diplodus puntazzo</i>	II-W-D.puntazzo-3	24,1	81,8
90	<i>Diplodus puntazzo</i>	II-W-D.puntazzo-4	20,6	81,5
378	<i>Diplodus puntazzo</i>	VI-W-D.puntazzo-2	20,4	81,5
379	<i>Diplodus puntazzo</i>	VI-W-D.puntazzo-3	18,3	81,5
380	<i>Diplodus puntazzo</i>	VI-W-D.puntazzo-4	17,4	81,5
381	<i>Diplodus puntazzo</i>	VI-W-D.puntazzo-5	20,7	81,5
382	<i>Diplodus puntazzo</i>	VII-W-D.puntazzo-1	20,2	81,5
383	<i>Diplodus puntazzo</i>	VII-W-D.puntazzo-2	20,4	81,6
384	<i>Diplodus puntazzo</i>	VII-W-D.puntazzo-3	21,6	81,6
385	<i>Diplodus puntazzo</i>	VII-W-D.puntazzo-4	20,4	81,5
386	<i>Diplodus puntazzo</i>	VII-W-D.puntazzo-5	21,8	81,9

Çizelge 4.5. *Diplodus puntazzo* türüne ait Ct değerlerinin varyans analizi.

<i>Gruplar</i>	<i>Say</i>	<i>Toplam</i>	<i>Ortalama</i>	<i>Varyans</i>		
I-C- <i>D.puntazzo</i>	10	219	21,90	4,409		
I-W- <i>D.puntazzo</i>	9	187,7	20,85	5,065		
II-W- <i>D.puntazzo</i>	4	91,3	22,82	1,802		
III-W- <i>D.puntazzo</i>	10	193,9	19,39	2,477		
IV-W- <i>D.puntazzo</i>	8	168,2	21,02	2,401		
V-W- <i>D.puntazzo</i>	9	205,1	22,78	2,239		
VI-W- <i>D.puntazzo</i>	4	76,8	19,2	2,007		
VII-W- <i>D.puntazzo</i>	5	104,4	20,88	0,572		
<i>Varyans Kaynağı</i>	<i>df</i>	<i>SS</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-değeri</i>	<i>F ölçütü</i>
Gruplar Arasında	7	108,5	15,51	5,281	0,0001	2,178
Gruplar İçinde	52	164,4	2,936			
Toplam	59	273,0				

D.dentex türünden farklı olarak *Diplodus puntazzo* türünde türlerin alındığı bölgeleri temsil eden gruplar arasında Ct değerleri açısından istatistik olarak çok önemli fark bulunmuştur ($p<0,01$). En düşük Ct değeri **17,4** ile VI-W-*D.puntazzo*-4 ve III-W-*D.puntazzo*-9 ; en yüksek Ct değeri ise **25,8** ile V-W-*D.puntazzo*-7 tespit edilmiştir. En düşük Tm değişimi VII-W grubunda gözlenirken en fazla değişim ise I-W grubunda görülmüştür. En düşük Tm değeri **81,2** ile V-W-*D.puntazzo*-7’de , en yüksek Tm değeri **81,9** ile VII-W-*D.puntazzo*-5, IV-W-*D.puntazzo*-8, IV-W-*D.puntazzo*-2 gözlemlenmiştir (Çizelge 4.4). Çizelge 4.6’te ilginç olarak I-C kültür grubundaki değişim ile aynı bölgeyi temsil eden doğal grup I-W değerine oldukça yakın bulunmuştur.

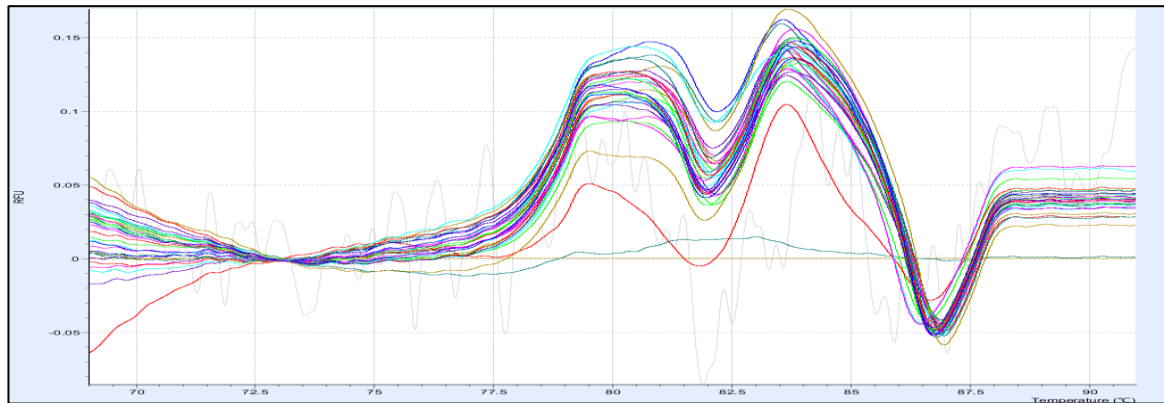
Öte yandan Tm değerleri açısından da bölgeleri temsil eden gruplar arasında da istatistiki olarak çok önemli fark olmuştur ($p<0,01$). En düşük Tm değeri V-W grubundan elde edilirken en fazla Tm değerleri I-W, II-W, III-W, IV-W bölgelerindeki örneklerden alınmış, VI-W grubunda ise Tm değerlerinde hiç değişime rastlanmamıştır. İlginç olarak I-W grubundaki değişim değeri (0,027) I-C grubuna (0,002) göre on kattan fazla olduğu Çizelge 4.6 ‘da ortaya konmuştur.

Çizelge 4.6. *D. puntazzo* türüne ait Tm değerlerinin varyans analizi.

Gruplar	Sayı	Toplam	Ortalama	Varyans		
I-C-D.puntazzo	10	817,8	81,78	0,002		
I-W-D.puntazzo	9	815,5	81,55	0,027		
II-W-D.puntazzo	4	408,5	81,7	0,02		
III-W-D.puntazzo	10	815,9	81,59	0,023		
IV-W-D.puntazzo	8	736,1	81,79	0,006		
V-W-D.puntazzo	9	816,5	81,65	0,029		
VI-W-D.puntazzo	4	407,5	81,5	0		
VII-W-D.puntazzo	5	408,1	81,62	0,027		
Varyans Kaynağı	df	SS	MS	F	P-değeri	F ölçütü
Gruplar Arasında	7	0,607	0,087	4,994	0	2,178
Gruplar İçinde	52	0,972	0,017			
Toplam	59	1,579				

4.2. HRM Bulguları

HRM profillerinin benzerliklerine göre mtDNA COI dizilerinin gruplandırılması ise Çizelge 4.7, 4.8 ve 4.9’da verilmiştir. Farklı türler ayrı gruplar oluşturmuştur. Bu durum, COI hedefli HRM analizinin, DNA dizi analizine gereksinim duymadan tür ayırımı yapabileceğini göstermektedir. Aynı türe ait diziler ise *Dentex dentex* için 2 farklı genotipik grup oluşturmuştur. Bu durum, HRM analizinin türler arasındaki farklılıkları yansıtacak çözünürlükte sonuçlar verdiğini fakat türler içi varyasyonu yansıtmakta yetersiz kaldığını göstermektedir. Şekil 4.3’de *Dentex dentex* örneklerine ait erime grafiği gösterilmektedir.

Şekil 4.3. Sinarit (*Dentex dentex*) örnek 1 ile 53 arası HRM profilleri

Çizelge 4.7. HRM analizi ile *Dentex dentex* COI DNA dizilerinin benzerliklerine göre gruplandırılması (genotipleme)

Numune Adı	Tür	HRM Grubu
I-C-D.dentex-9	<i>Dentex dentex</i>	1
I-C-D.dentex-5	<i>Dentex dentex</i>	1
I-C-D.dentex-3	<i>Dentex dentex</i>	1
I-C-D.dentex-8	<i>Dentex dentex</i>	1
I-C-D.dentex-7	<i>Dentex dentex</i>	1
I-C-D.dentex-2	<i>Dentex dentex</i>	1
I-C-D.dentex-10	<i>Dentex dentex</i>	1
I-C-D.dentex-4	<i>Dentex dentex</i>	1
I-C-D.dentex-1	<i>Dentex dentex</i>	1
III-W-D.dentex-8	<i>Dentex dentex</i>	1
III-W-D.dentex-7	<i>Dentex dentex</i>	1
III-W-D.dentex-6	<i>Dentex dentex</i>	1
III-W-D.dentex-10	<i>Dentex dentex</i>	1
III-W-D.dentex-3	<i>Dentex dentex</i>	1
III-W-D.dentex-1	<i>Dentex dentex</i>	1
III-W-D.dentex-2	<i>Dentex dentex</i>	1
III-W-D.dentex-4	<i>Dentex dentex</i>	1
III-W-D.dentex-9	<i>Dentex dentex</i>	1
III-W-D.dentex-5	<i>Dentex dentex</i>	1
I-W-D.dentex-5	<i>Dentex dentex</i>	1
I-W-D.dentex-1	<i>Dentex dentex</i>	1
I-W-D.dentex-8	<i>Dentex dentex</i>	1
I-W-D.dentex-4	<i>Dentex dentex</i>	1
I-W-D.dentex-10	<i>Dentex dentex</i>	1
I-W-D.dentex-9	<i>Dentex dentex</i>	1
I-W-D.dentex-3	<i>Dentex dentex</i>	1
I-W-D.dentex-2	<i>Dentex dentex</i>	1
I-W-D.dentex-7	<i>Dentex dentex</i>	1
IV-W-D.dentex-1	<i>Dentex dentex</i>	1
IV-W-D.dentex-4	<i>Dentex dentex</i>	1
IV-W-D.dentex-6	<i>Dentex dentex</i>	1
IV-W-D.dentex-2	<i>Dentex dentex</i>	1
IV-W-D.dentex-5	<i>Dentex dentex</i>	1
VI-W-D.dentex-1	<i>Dentex dentex</i>	1
VI-W-D.dentex-2	<i>Dentex dentex</i>	1
VI-W-D.dentex-3	<i>Dentex dentex</i>	1
VI-W-D.dentex-4	<i>Dentex dentex</i>	1
VI-W-D.dentex-5	<i>Dentex dentex</i>	1
VI-W-D.dentex-6	<i>Dentex dentex</i>	1
II-W-D.dentex-1	<i>Dentex dentex</i>	2
II-W-D.dentex-2	<i>Dentex dentex</i>	1
II-W-D.dentex-3	<i>Dentex dentex</i>	2
II-W-D.dentex-4	<i>Dentex dentex</i>	1
II-W-D.dentex-5	<i>Dentex dentex</i>	1
V-W-D.dentex-1	<i>Dentex dentex</i>	1
V-W-D.dentex-2	<i>Dentex dentex</i>	1
V-W-D.dentex-3	<i>Dentex dentex</i>	2
V-W-D.dentex-4	<i>Dentex dentex</i>	1
VII-W-D.dentex-1	<i>Dentex dentex</i>	2
VII-W-D.dentex-2	<i>Dentex dentex</i>	2
VII-W-D.dentex-3	<i>Dentex dentex</i>	2
VII-W-D.dentex-4	<i>Dentex dentex</i>	2
VII-W-D.dentex-5	<i>Dentex dentex</i>	2

Çizelge 4.8. HRM analizi ile *Dentex dentex* COI DNA dizilerinin benzerliklerine göre grup (genotipleme) ve örnek sayısı

Grup No	Örnek Sayısı
1	45
2	8
Toplam	53

Elde edilen HRM profilleri *D.dentex* türünde iki farklı grupta toplamıştır. Antalya bölgesinden alınan örnekleri temsil eden VII-W grubu diğer gruplardan HRM değeri bakımından keskin bir biçimde ayrılmış olup ikinci grubu oluştururken II-W (Çeşme) ve V-W (Bodrum) hem birinci hem de ikinci gruptan örnekleri içermiştir. Diğer bölgelerden alınan örnekler ise HRM değerleri yönünden değişim göstermeyip ayrı bir grup oluşturduğu Çizelge 4.7, Çizelge 4.8 ve Çizelge 4.9’da gösterilmiştir.

Çizelge 4.9. HRM analizi ile *Dentex dentex* ait genotip grubu, birey ve popülasyon sayısı

Tür	Genotip	Birey Sayısı (n)	Popülasyon Sayısı (N)
<i>Dentex dentex</i>	1	45	I-C (9) / I-W (9) / II-W (3) / III-W (10) / IV-W (5) / V-W (3) / VI-W (6)
	2	8	II-W (2) / V-W (1) / VII-W (5)
Toplam	2	53	

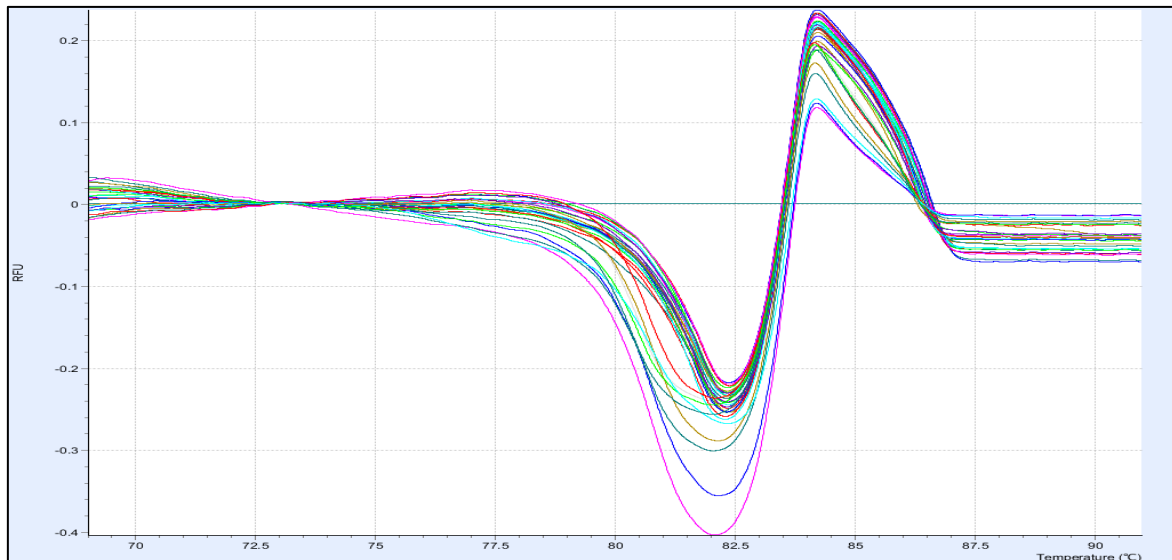
Diplodus puntazzo’ya ait elde edilen HRM profilleri şekil 4.4’te gösterilmiştir. HRM profillerinin benzerliklerine göre COI DNA dizilerinin gruplandırılması ise Çizelge 4.10, Çizelge 4.11 ve Çizelge 4.12’de verilmiştir. Farklı türler ayrı gruplar oluşturmuştur. Bu durum, COI hedefli HRM analizinin, DNA dizi analizine gereksinim duymadan tür ayırımı yapabileceğini göstermektedir. Aynı türe ait diziler ise *Diplodus puntazzo* için 4 farklı genotipik grup oluşturmuştur. Bu durum, HRM analizinin türler arasındaki farklılıkları yansıtmak için çözümde sonuçlar verdiğini fakat türler içi varyasyonu yansıtmakta yetersiz kaldığını göstermektedir. Şekil 4.4’te *Diplodus puntazzo* örneklerine ait erime grafiği gösterilmektedir.

Çizelge 4.10. HRM analizi ile *Diplodus puntazzo* COI DNA dizilerinin benzerliklerine göre gruplandırılması (genotipleme)

Grup No	Örnek Sayısı
1	30
2	17
3	3
4	8
Toplam	58

Çizelge 4.11. HRM analizi ile *Diplodus puntazzo* ait genotip grubu, birey ve popülasyon sayısı

Tür	Genotip	Birey Sayısı (n)	Popülasyon Sayısı (N)
<i>D. puntazzo</i>	1	30	I-W (5) / I-C (2) / II-W (3) / III-W (5) / IV-W (3) / V-W (8) / VII-W (4)
	2	17	I-W (4) / I-C (4) / III-W (5) / IV-W (3) / V-W (1)
	3	3	VI-W (2) / VII-W (1)
	4	8	I-C (3) / II-W (2) / IV-W (2) / VI-W (2)
Toplam	(4)	58	



Şekil 4.4. Sivriburun Karagöz (*Diplodus puntazzo*) türüne ait örnek 1 ile 58 arası HRM profilleri

Çizelge 4.12. HRM analizi ile *Diplodus puntazzo* COI DNA dizilerinin benzerliklerine göre gruplandırılması (genotipleme)

Numune Adı	Tür	HRM Grubu
I-C-D.puntazzo-10	<i>Diplodus puntazzo</i>	1
I-C-D.puntazzo-6	<i>Diplodus puntazzo</i>	1
I-W-D.puntazzo-1	<i>Diplodus puntazzo</i>	1
I-W-D.puntazzo-2	<i>Diplodus puntazzo</i>	1
I-W-D.puntazzo-3	<i>Diplodus puntazzo</i>	1
I-W-D.puntazzo-4	<i>Diplodus puntazzo</i>	1
I-W-D.puntazzo-8	<i>Diplodus puntazzo</i>	1
II-W-D.puntazzo-2	<i>Diplodus puntazzo</i>	1
II-W-D.puntazzo-3	<i>Diplodus puntazzo</i>	1
II-W-D.puntazzo-4	<i>Diplodus puntazzo</i>	1
III-W-D.puntazzo-1	<i>Diplodus puntazzo</i>	1
III-W-D.puntazzo-2	<i>Diplodus puntazzo</i>	1
III-W-D.puntazzo-3	<i>Diplodus puntazzo</i>	1
III-W-D.puntazzo-6	<i>Diplodus puntazzo</i>	1
III-W-D.puntazzo-9	<i>Diplodus puntazzo</i>	1
IV-W-D.puntazzo-4	<i>Diplodus puntazzo</i>	1
IV-W-D.puntazzo-5	<i>Diplodus puntazzo</i>	1
IV-W-D.puntazzo-6	<i>Diplodus puntazzo</i>	1
V-W-D.puntazzo-10	<i>Diplodus puntazzo</i>	1
V-W-D.puntazzo-3	<i>Diplodus puntazzo</i>	1
V-W-D.puntazzo-4	<i>Diplodus puntazzo</i>	1
V-W-D.puntazzo-5	<i>Diplodus puntazzo</i>	1
V-W-D.puntazzo-6	<i>Diplodus puntazzo</i>	1
V-W-D.puntazzo-7	<i>Diplodus puntazzo</i>	1
V-W-D.puntazzo-8	<i>Diplodus puntazzo</i>	1
V-W-D.puntazzo-9	<i>Diplodus puntazzo</i>	1
VII-W-D.puntazzo-2	<i>Diplodus puntazzo</i>	1
VII-W-D.puntazzo-3	<i>Diplodus puntazzo</i>	1
VII-W-D.puntazzo-4	<i>Diplodus puntazzo</i>	1
VII-W-D.puntazzo-5	<i>Diplodus puntazzo</i>	1
I-C-D.puntazzo-1	<i>Diplodus puntazzo</i>	2
I-C-D.puntazzo-8	<i>Diplodus puntazzo</i>	2
I-C-D.puntazzo-7	<i>Diplodus puntazzo</i>	2
I-C-D.puntazzo-5	<i>Diplodus puntazzo</i>	2
I-W-D.puntazzo-9	<i>Diplodus puntazzo</i>	2
I-W-D.puntazzo-7	<i>Diplodus puntazzo</i>	2
I-W-D.puntazzo-6	<i>Diplodus puntazzo</i>	2
I-W-D.puntazzo-5	<i>Diplodus puntazzo</i>	2
III-W-D.puntazzo-8	<i>Diplodus puntazzo</i>	2
III-W-D.puntazzo-7	<i>Diplodus puntazzo</i>	2
III-W-D.puntazzo-5	<i>Diplodus puntazzo</i>	2
III-W-D.puntazzo-4	<i>Diplodus puntazzo</i>	2
III-W-D.puntazzo-10	<i>Diplodus puntazzo</i>	2
IV-W-D.puntazzo-8	<i>Diplodus puntazzo</i>	2
IV-W-D.puntazzo-2	<i>Diplodus puntazzo</i>	2
IV-W-D.puntazzo-2	<i>Diplodus puntazzo</i>	2
V-W-D.puntazzo-1	<i>Diplodus puntazzo</i>	2
VI-W-D.puntazzo-5	<i>Diplodus puntazzo</i>	3
VI-W-D.puntazzo-3	<i>Diplodus puntazzo</i>	3
VII-W-D.puntazzo-1	<i>Diplodus puntazzo</i>	3
I-C-D.puntazzo-9	<i>Diplodus puntazzo</i>	4
I-C-D.puntazzo-4	<i>Diplodus puntazzo</i>	4
I-C-D.puntazzo-3	<i>Diplodus puntazzo</i>	4
II-W-D.puntazzo-1	<i>Diplodus puntazzo</i>	4
IV-W-D.puntazzo-7	<i>Diplodus puntazzo</i>	4
IV-W-D.puntazzo-3	<i>Diplodus puntazzo</i>	4
VI-W-D.puntazzo-4	<i>Diplodus puntazzo</i>	4
VI-W-D.puntazzo-2	<i>Diplodus puntazzo</i>	4

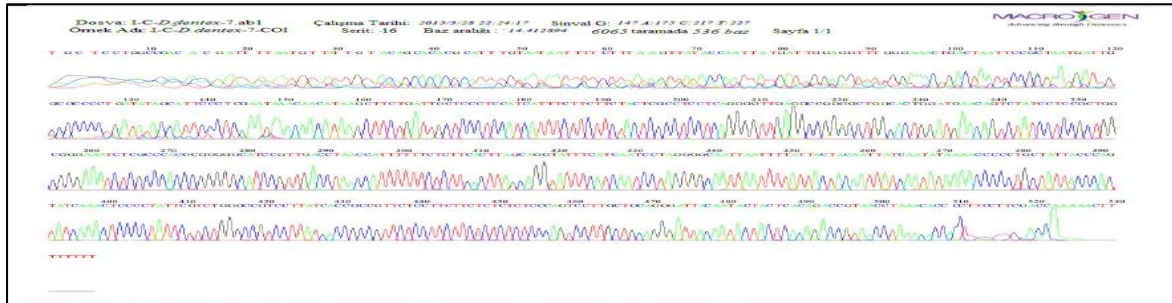
Diğer bir tür olan *D.puntazzo* türünde HRM değerlerine göre 4 farklı grup oluşturmuştur. Gen bölgesi olarak COI gen bölgesine göre sınıflandırmada HRM analizine göre her grup içinde en az 2 en fazla 7 farklı genotip yer almıştır. Kültür grubu I-C içinde 3 farklı genotip bulunurken aynı bölgeden alınan I-W grubunda 2 farklı genotip gözlenmiştir.

4.3. MtDNA COI Bölgesinin Dizi Analizi Sonuçları

Sinarit (*Dentex dentex*) ve Sivriburun Karagöz (*Diplodus puntazzo*) türleri için tüm DNA'ların dizileme PCR reaksiyonunun ardından elde edilen dizi analizi sonuçları alt alta hizalanıp Şekil 4.5'te incelenmiştir. Elde edilen MtDNA COI dizilerinin gen bankasında en çok benzediği DNA dizileri fasta formatında hazırlanarak ekte verilmiştir. Elde edilen DNA dizilerinin tümü, gen bankasında en çok ilgili türün COI gen dizisine benzemektedir. Bu durum, DNA dizi analizinin başarıyla gerçekleştiğini Şekil 4.6'da göstermektedir.

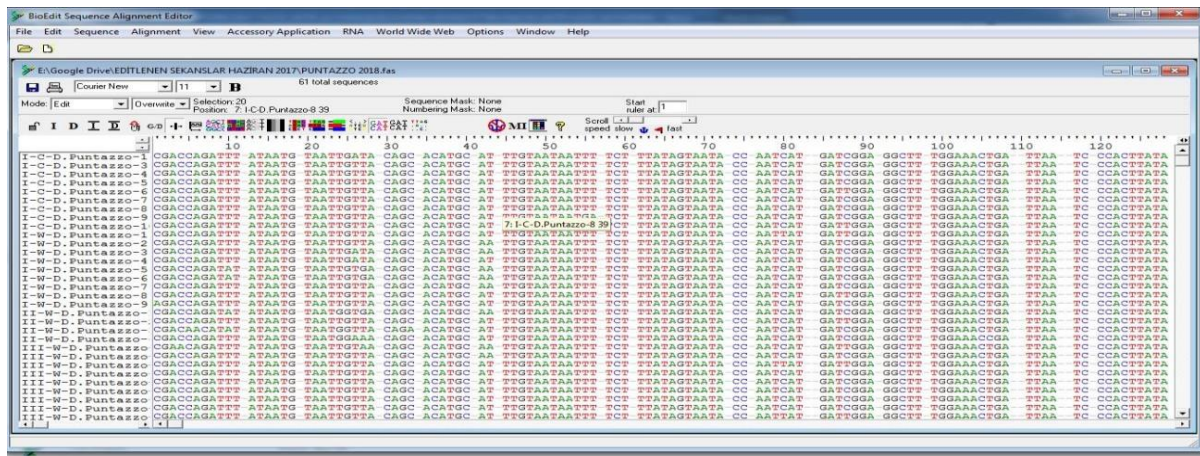


Şekil 4.5. Sinarit (*Dentex dentex*) türüne ait örneklerden elde edilen sekans sonuçları örneği.

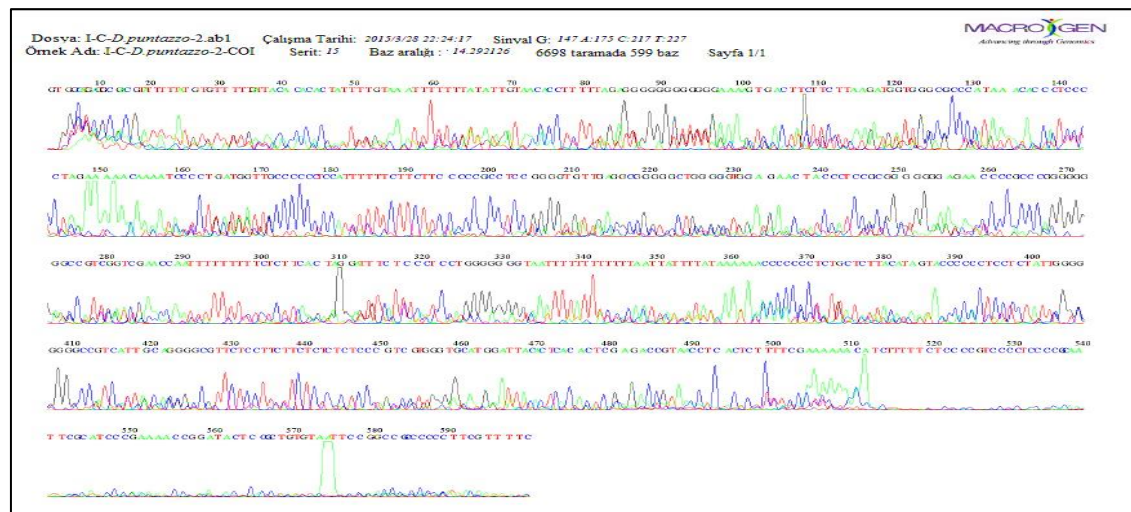


Şekil 4.6. Karaburun kültür *Dentex dentex*-2 no'lu sinarit (*Dentex dentex*) örneğinin sekanslamaya ait veri örneği.

D.dentex'e ait örneklerin dizi eşleşmelerine bakıldığında en fazla nükleotid değişimlerinin gen bölgesinin başlangıç kısımlarında olduğu görülmektedir. Örneklerin yarısına yakınında (%47) baz değişimi görülmemiş olup diğer örneklerdeki baz değişimi ise 1 ile 6 arasında değişmiştir. En fazla baz değişimi II-W-*D.dentex*-2 örneğinde görülmüştür (6 baz değişimi). Kültür örneklerinde (I-C-*D.dentex*) baz değişimi ise diğer örneklerle göre daha fazla olmuş toplam 9 örnekte 28 baz değişimi görülmüştür. En fazla baz dönüşümü A-C (7 örnek) ve T-C (7 örnek) şeklinde olduğu Çizelge 4.13'de gösterilmiştir. Örneklerin COI bölgesinde G-T ve C-G dönüşümü hiç olmamıştır.



Şekil 4.7. Sivriburun Karagöz (*Diplodus puntazzo*) türüne ait örneklerden elde edilen sekans sonuçları örneği.



Şekil 4.8. Karaburun- kültür 2 no'lu Sivriburun Karagöz (*Diplodus puntazzo*) örneğine ait dizileme PCR reaksiyonundan elde edilen dizi analizine ait veri örneği.

Çizelge. 4.14. *D.puntazzo* türüne ait örneklerden elde edilen COI gen bölgesinin alignment analizi

	1	4	5	7	10	14	28	33	37	44	46	50	59	60	74	75	95	106	114	132	135	139	161	165	177	214	241	244	249	290	307	392	411	418	487	509	517	543	652	653	654		
D.puntazzo-KY17646	C	C	C	G	T	T	T	T	T	A	C	A	A	T	T	T	T	C	T	T	A	T	A	T	T	T	G	C	G	A	G	G	T	T	C	A	T	G	G	C	G	G	
I-C-D.puntazzo-1	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	C	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	A	A
I-C-D.puntazzo-3	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	
I-C-D.puntazzo-4	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	
I-C-D.puntazzo-5	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	C	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	
I-C-D.puntazzo-6	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	
I-C-D.puntazzo-7	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	T	.	.	.	.	G	A	A		
I-C-D.puntazzo-8	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	C	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	A	A		
I-C-D.puntazzo-9	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	A	.	C	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	
I-C-D.puntazzo-10	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	
I-W-D.puntazzo-1	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	C	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	
I-W-D.puntazzo-2	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	C	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	A		
I-W-D.puntazzo-3	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	A	.	.	.	C	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	G	A	A		
I-W-D.puntazzo-4	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	G	A	A		
I-W-D.puntazzo-5	.	.	.	.	A	.	.	.	G	.	.	.	.	A	.	.	.	C	C	.	.	.	.	.	.	.	.	T	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	A	A		
I-W-D.puntazzo-6	.	.	.	.	A	.	.	.	G	.	.	.	.	A	.	.	.	C	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	G	A	A		
I-W-D.puntazzo-7	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	C	C	.	.	.	.	.	.	.	.	T	A	.	.	.	.	.	.	.	.	G	A	A			
I-W-D.puntazzo-8	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	A	A		
I-W-D.puntazzo-9	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.		
II-W-D.puntazzo-1	.	.	.	.	A	.	G	.	G	.	.	.	.	A	.	.	.	C	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	G	A	A		
II-W-D.puntazzo-2	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A		
II-W-D.puntazzo-3	.	.	A	C	A	.	G	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	C	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	A		
II-W-D.puntazzo-4	.	.	.	.	.	.	G	A	A	.	.	.	.	.	.	.	.	C	C	.	.	C	.	C	C	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	G	A	A		
III-W-D.puntazzo-1	.	A	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	A	.	.	.	C	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	A	A		
III-W-D.puntazzo-2	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	C	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	G	A	A			
III-W-D.puntazzo-3	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	C	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	G	A	A			
III-W-D.puntazzo-4	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	G	A	A			
III-W-D.puntazzo-5	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	A		
III-W-D.puntazzo-6	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.			
III-W-D.puntazzo-7	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.			
III-W-D.puntazzo-8	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	G	A	A			
III-W-D.puntazzo-9	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	C	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	-	.	A			
III-W-D.puntazzo-1	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	G	A	A			
IV-W-D.puntazzo-2	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A		
IV-W-D.puntazzo-3	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	A	.	.	.	C	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	G	A	A			
IV-W-D.puntazzo-4	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	C	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	G	A	A			

Çizelge. 4.14. (Devam) *D.puntazzo* türüne ait örneklerden elde edilen COI gen bölgesinin alignment analizi

	1	4	5	7	10	14	28	33	37	44	46	50	59	60	74	75	95	106	114	132	135	139	161	165	177	214	241	244	249	290	307	392	411	418	487	509	517	543	652	653	654		
D.puntazzo-KY17646	C	C	C	G	T	T	T	T	T	A	C	A	A	T	T	T	T	C	T	T	A	T	A	T	T	T	G	C	G	A	G	G	T	T	C	A	T	G	G	C	G	G	
IV-W-D.puntazzo-5	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	A	A
IV-W-D.puntazzo-6	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	-	.	A
IV-W-D.puntazzo-7	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	G	A	A	
IV-W-D.puntazzo-8	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	A	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	T	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	
V-W-D.puntazzo-1	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	
V-W-D.puntazzo-3	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	
V-W-D.puntazzo-4	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	
V-W-D.puntazzo-5	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	G	A	A	
V-W-D.puntazzo-6	.	.	.	.	A	C	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	A	A	
V-W-D.puntazzo-7	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	T	C	.	.	.	G	.	.	.	T	.	G	.	.	.	.	T	.	.	.	A	.	.	A		
V-W-D.puntazzo-8	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	A	
V-W-D.puntazzo-9	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	G	A	A		
V-W-D.puntazzo-10	.	.	.	.	A	.	.	.	.	G	.	.	.	A	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	A	
VI-W-D.puantazzo-1	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	A	C	.	.	T	C	A	.	A	.	.	A		
VI-W-D.puantazzo-2	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	
VI-W-D.puantazzo-3	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	
VI-W-D.puantazzo-4	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	-	.	.	A	
VI-W-D.puantazzo-5	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	G	A	A		
VII-W-D.puantazzo-1	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	G	.	G	.	.	.	T	A	G	.	.	.	.	T	.	.	A	A	.	.	A		
VII-W-D.puantazzo-2	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	C	.	A	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	A	
VII-W-D.puantazzo-3	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	A	
VII-W-D.puantazzo-4	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	C	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	A	
VII-W-D.puantazzo-5	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	C	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	

D.dentex türüne ait 53 örneğin COI dizi analiz sonuçlarına göre toplam 26 adet farklı haplotip grubu olduğu Çizelge 4.16’te gösterilmiştir. Örneklerin çoğu H1 grubu 25 örnekten oluşmaktadır. Her bir coğrafi grup içindeki haploid sayıları da hesaplanmış genetik çeşitlilik bilgileri de Çizelge 4.17’te sunulmuştur.

Çizelge 4.16. *Dentex dentex* türüne ait tespit edilen haplotipler ve belirlendiği örnek kodları

Haplotipler	Belirlendiği Örnek Kodu
H 1	I-W- <i>D.dentex</i> -1, I-W- <i>D.dentex</i> -2, I-W- <i>D.dentex</i> -3, I-W- <i>D.dentex</i> -7, I-W- <i>D.dentex</i> -8, I-W- <i>D.dentex</i> -9, I-W- <i>D.dentex</i> -10, I-C- <i>D.dentex</i> -9, II-W- <i>D.dentex</i> -4, II-W- <i>D.dentex</i> -5, III-W- <i>D.dentex</i> -2, III-W- <i>D.dentex</i> -4, III-W- <i>D.dentex</i> -8, III-W- <i>D.dentex</i> -9, III-W- <i>D.dentex</i> -10, IV-W- <i>D.dentex</i> -2, IV-W- <i>D.dentex</i> -4, IV-W- <i>D.dentex</i> -5, IV-W- <i>D.dentex</i> -6, V-W- <i>D.dentex</i> -2, V-W- <i>D.dentex</i> -4, VI-W- <i>D.dentex</i> -2, VI-W- <i>D.dentex</i> -4, VI-W- <i>D.dentex</i> -5, VII-W- <i>D.dentex</i> -5
H 2	I-W- <i>D.dentex</i> -4
H 3	I-W- <i>D.dentex</i> -5
H 4	I-C- <i>D.dentex</i> -1
H 5	I-C- <i>D.dentex</i> -2
H 6	I-C- <i>D.dentex</i> -3
H 7	I-C- <i>D.dentex</i> -4
H 8	I-C- <i>D.dentex</i> -5
H 9	I-C- <i>D.dentex</i> -7, IV-W- <i>D.dentex</i> -1
H 10	I-C- <i>D.dentex</i> -8
H 11	I-C- <i>D.dentex</i> -10
H 12	II-W- <i>D.dentex</i> -1
H 13	II-W- <i>D.dentex</i> -2
H 14	II-W- <i>D.dentex</i> -3
H 15	III-W- <i>D.dentex</i> -1, III-W- <i>D.dentex</i> -5
H 16	III-W- <i>D.dentex</i> -3, VI-W- <i>D.dentex</i> -3
H 17	III-W- <i>D.dentex</i> -6
H 18	III-W- <i>D.dentex</i> -7
H 19	V-W- <i>D.dentex</i> -1
H 20	V-W- <i>D.dentex</i> -3
H 21	VI-W- <i>D.dentex</i> -1
H 22	VI-W- <i>D.dentex</i> -6
H 23	VII-W- <i>D.dentex</i> -1
H 24	VII-W- <i>D.dentex</i> -2
H 25	VII-W- <i>D.dentex</i> -3
H 26	VII-W- <i>D.dentex</i> -4

Çizelge 4.17. İstasyonlara göre *D.dentex* haplotip ve genetik çeşitlilik bilgileri

Populasyon	Örnek sayısı (n)	Haplotip sayısı (H)	Gen çeşitliliği (h)	P.B. (S)	P.S.B.V (PiS)	Nükleotid çeşitliliği (π)
I-C- <i>D.dentex</i>	9	9	1,0000	6	13	0,00967(+0,00122)
I-W- <i>D.dentex</i>	9	3	0,4167	4	7	0,00140 (+0,00074)
II-W- <i>D.dentex</i>	5	4	0,9000	1	6	0,00755 (+0,00206)
III-W- <i>D.dentex</i>	10	5	0,7556	0	1	0,00307 (+0,00050)
IV-W- <i>D.dentex</i>	5	2	0,4000	0	2	0,00084 (+0,00071)
V-W- <i>D.dentex</i>	4	3	0,8333	0	7	0,00210 (+0,00071)
VI-W- <i>D.dentex</i>	6	4	0,8000	0	7	0,00489 (+0,00144)
VII-W- <i>D.dentex</i>	5	5	1,0000	0	3	0,00587 (+0,00144)

Çalışmayı oluşturan Sinarit türüne ait toplam 53 bireyde toplam haplotip sayısı $h = 26$ olarak belirlenmiş, ortalama haplotip çeşitliliği $Hd = 0,7632$ olduğu tespit edilmiştir. Toplam belirlenen haplotiplerin 22'si istasyonlardan temin edilen ve çalışmayı oluşturan bireylerde sadece bir hayvanda bulunduğu tespit edilmiştir. Haplotipler gruplandırıldığında haplotip 1'in değişik istasyonlardan birçok örnekte gözlenmiştir.

Sinarit türünde istasyonlara göre bakıldığında ise en fazla haplotip grup I-C (Karaburun kültür) bölgesinde olup tüm bireyler COI dizisi bakımından birbirinden farklı bulunmuş genetik çeşitlilik bu bölgede en fazla bulunmuştur. Örnek sayısı daha az olsa da VII-W Antalya doğal ortamından tutulan balıklarda da genetik çeşitlilik en üst seviyede olmuştur. Kültür türüyle karşılaştırıldığında I-W (Karaburun) içindeki doğal çevrede yetişen sinaritlerde ise genetik çeşitlilik kültürdekilerin yarısından daha az bulunmuştur. En az genetik çeşitlilik ise IV-W Güllük Doğal bölgesinde gözlenmiştir. Genetik çeşitlilik değerleri nükleotid çeşitliliğine paralel olarak seyretmiş ve Çizelge 4.15'te gösterilmiştir.

Ege ve Akdeniz'in farklı bölgelerinden alınan *D.puntazzo* örneklerinde de genetik çeşitlilik ve nükleotid çeşitliliği benzer şekilde yüksek olmuştur.

D.puntazzo türüne ait toplam 58 örnekte 45 farklı haplotip grup elde edilmiştir. En fazla nükleotid değişimi H38 grubundan (10 nükleotid değişimi) en az ise H3 ve H6 grubundan (2 nükleotid) elde edilmiştir. Her haplotip grubunda ortalama 5,4 baz değişim göstermiştir. Haplotip gruplarda en fazla görülen baz değişimi T-C (7 nükleotid bölgesi) olurken G-T dönüşümü tespit edilmemiş olup Çizelge 4.16'da gösterilmiştir. Haplotip gruplar ve içerdiği örnek grupları ise Çizelge 4.18'da verilmiştir.

Çizelge 4.19. *Diplodus puntazzo* türüne ait tespit edilen haplotipler ve belirlendiği örnek kodları

Haplotip	Belirlendiği Örnek Kodu	Haplotip	Belirlendiği Örnek Kodu
H 1	I-C-D.puntazzo-1	H 24	III-W-D.puntazzo-5
H 2	I-C-D.puntazzo-3, I-C-D.puntazzo-4	H 25	III-W-D.puntazzo-6
H 3	I-C-D.puntazzo-5	H 26	III-W-D.puntazzo-7
H 4	I-C-D.puntazzo-6, I-C-D.puntazzo-10, II-W-D.puntazzo-2, V-W-D.puntazzo-3	H 27	III-W-D.puntazzo-9
H 5	I-C-D.puntazzo-7	H 28	IV-W-D.puntazzo-2, V-W-D.puntazzo-1, V-W-D.puntazzo-4, VI-W-D.puntazzo-3
H 6	I-C-D.puntazzo-8	H 29	IV-W-D.puntazzo-4, V-W-D.puntazzo-9
H 7	I-C-D.puntazzo-9	H 30	IV-W-D.puntazzo-5
H 8	I-W-D.puntazzo-1	H 31	IV-W-D.puntazzo-6
H 9	I-W-D.puntazzo-2, VII-W-D.puntazzo-3	H 32	IV-W-D.puntazzo-7
H 10	I-W-D.puntazzo-3, IV-W-D.puntazzo-3	H 33	IV-W-D.puntazzo-8
H 11	I-W-D.puntazzo-4	H 34	V-W-D.puntazzo-6
H 12	I-W-D.puntazzo-5	H 35	V-W-D.puntazzo-7
H 13	I-W-D.puntazzo-6	H 36	V-W-D.puntazzo-8
H 14	I-W-D.puntazzo-7	H 37	V-W-D.puntazzo-10
H 15	I-W-D.puntazzo-8	H 38	VI-W-D.puntazzo-1
H 16	I-W-D.puntazzo-9	H 39	VI-W-D.puntazzo-2
H 17	II-W-D.puntazzo-1	H 40	VI-W-D.puntazzo-4
H 18	II-W-D.puntazzo-3	H 41	VI-W-D.puntazzo-5
H 19	II-W-D.puntazzo-4	H 42	VII-W-D.puntazzo-1
H 20	III-W-D.puntazzo-1	H 43	VII-W-D.puntazzo-2
H 21	III-W-D.puntazzo-2	H 44	VII-W-D.puntazzo-4
H 22	III-W-D.puntazzo-3	H 45	VII-W-D.puntazzo-5
H 23	III-W-D.puntazzo-4, III-W-D.puntazzo-8, III-W-D.puntazzo-10, V-W-D.puntazzo-5		

Çizelge 4.20. Çalışılan *D. Puntazzo* popülasyonlarında belirlenen genetik çeşitlilik parametreleri

Populasyon	Örnek sayısı (n)	Haplotip sayısı (H)	P.B. (S)	P.S.B.V (PiS)	Gen çeşitliliği (h)	Nükleotid çeşitliliği (π)
I-W-D.puntazzo	9	4	13	10	1,000	0,01099
I-C-D.puntazzo	9	7	11	5	0,944	0,00777
II-W-D.puntazzo	4	4	16	4	1,000	0,01935
III-W-D.puntazzo	10	8	10	7	0,933	0,00771
IV-W-D.puntazzo	7	7	9	5	1,000	0,00800
V-W-D.puntazzo	9	8	15	6	0,972	0,01051
VI-W-D.puntazzo	5	5	10	3	1,000	0,00991
VII-W-D.puntazzo	5	5	8	3	1,000	0,00817

Çizelge 4.18' te veriler ışığında Sivriburun Karagöz popülasyonunda en yüksek haplotip çeşitliliği $H= 1,000$ ile I-C (Karaburun kültür), II-W (Çeşme doğal), IV-W (Güllük doğal) VI-W (Çanakkale doğal) ve VII-W (Antalya doğal) popülasyonları belirlenmişken en düşük haplotip çeşitliliği ise $H=0,933$ ile III-W (Kuşadası doğal) olarak gözlenmiştir. Nükleotid çeşitlilik verilerine bakıldığında en yüksek değer II-W (Çeşme doğal) $\pi= 0,01935$ ve en düşük değer ise $\pi= 0,00771$ ile III-W (Kuşadası doğal) popülasyonunda gözlenmiştir.

Çalışmayı oluşturan Sivriburun Karagöz türüne ait toplam 58 bireyde toplam haplotip sayısı $h= 45$ olarak belirlenmiş, toplam ortalama haplotip çeşitliliği **$Hd= 0,9816$** olduğu tespit edilmiştir. Toplam belirlenen haplotiplerin 38'i istasyonlardan temin edilen ve çalışmayı oluşturan bireylerde sadece bir hayvanda bulunduğu tespit edilmiştir. Haplotipler gruplandırıldığında haplotip 4, haplotip 23 ve haplotip 28'in 4'er örnekten oluştuğu gözlenmektedir.

Çalışmada DNA hizalama ve haplotiplerin belirlenmesinde bütün haplotiplere ait nükleotid dizileri ortaya konulmuş olup parmosonik bilgi verici bölümler belirginleştirilerek listelenmiştir (Çizelge 4.13, Çizelge 4.16). Haplotip 1 referans olarak belirlenen Karaburun istasyonundan Sivriburun karagöz balığında kültür, sinarit balığında doğal örneğinin 1, Balık örnekleri referans olarak kullanılıp analizler yapılmıştır. Referans dizi ile aynı nükleotid dağılımını göstermek için (.) nokta işareti, farklı olan nükleotid içinde nükleotid harf (A-T-C-G) kullanılmıştır.

4.5. Nükleotit Yer Değiştirme Oranlarına Ait Bulgular

Çalışmada kullanılan örneklerden elde edilen nükleotid dizileri Kimura 2P modeli kullanılarak nükleotid yer değişim oranları hesaplanmıştır. Çizelge 4.21 ve Çizelge 4.23'de türlere ait nükleotid yer değişim oranları verilmiştir. Ayrıca transisyonel ve transversiyonel yer değişime oranları Timura ve Kimura 2P yöntemleri kullanılarak hesaplanmış ve Çizelge 4.20 ve Çizelge 4.22' de sunulmuştur.

Çizelge 4.21. Sinarit türü örneklerine ait nükleotid yer değişim oranları (Kimura 2P Methodu).

Toplam Nükleotid Sayısı	Nükleotidler, %			
	T	C	A	G
477	30,7	28,6	23,9	16,8

Çizelge 4.22. Sinarit türü örneklerine ait transisyonel ve transversiyonel yer değişim oranları (Kimura 2P Methodu).

Transisyonel ve transversiyonel nükleotid yer değişim oranı				
	A	T	C	G
A	-	6,24	6,24	12,52
T	6,24	-	12,52	6,24
C	6,24	12,52	-	6,24
G	12,52	6,24	6,24	-

Sinarit örnekleri için toplam transisyon/transversiyon eğilimi (bias) **R= 0,70** olarak hesaplanmıştır.

Çizelge 4.23. Sivriburun Karagöz türü örneklerine ait nükleotid yer değişim oranları (Tamura Methodu ve Kimura 2p Methodu)

Toplam Nükleotit Sayısı	Nükleotitler, %			
	T	C	A	G
465	31,6	27,3	25,0	16,1

Çizelge 4.24. Sivriburun Karagöz türü örneklerine ait nükleotit yer değişim oranları (Tamura Methodu ve Kimura 2p Methodu)

Transisiyonel ve transversiyonel nükleotid yer değişim oranı					Transisiyonel ve transversiyonel nükleotid yer değişim oranı				
	A	T	C	G		A	T	C	G
A	-	9,65	8,98	9,41	A	-	7,35	7,35	10,3
T	7,51	-	6,93	5,28	T	7,35	-	10,3	7,35
C	7,51	7,44	-	5,28	C	7,35	10,3	-	7,35
G	13.3 8	9,65	8,98	-	G	10,3	7,35	7,35	-
TAMURA'S METHODUYLA					KİMURA 2P				

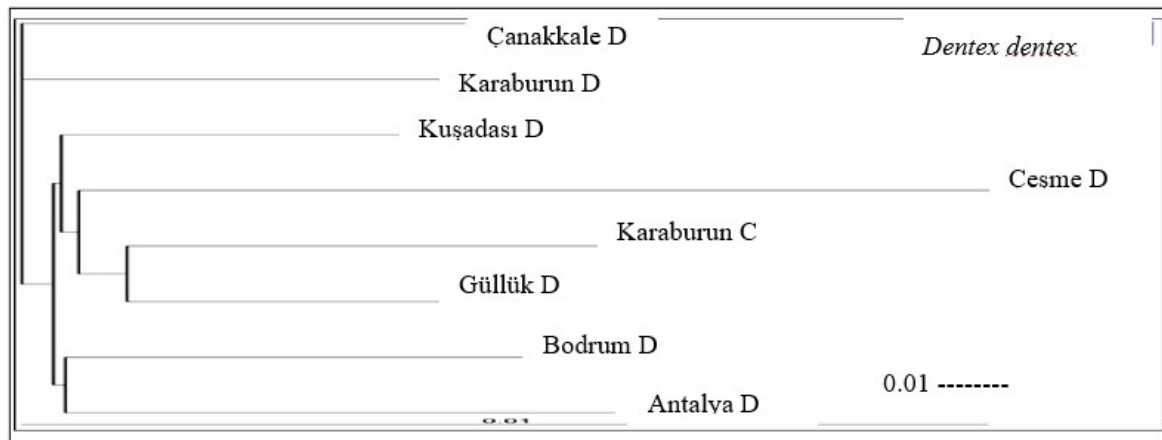
Sivriburun karagöz örnekleri için toplam transisyon/transversiyon eğilimi (bias) **R= 1,419** olarak hesaplanmıştır. Değerlerin kabul edilir sınırlar içerisinde olduğu görülmektedir.

4.6. İstasyonlar Arası Genetik Mesafe Bulguları

Çalışmadaki istasyonlar arasındaki genetik mesafe matriksi, Nei tarafından bulunan genetik mesafe ölçüm metoduna uygun olarak hesaplanmış olup, Sinarit türüne ait veriler Çizelge 4.23 de ve Sivriburun karagöz türüne ait veriler Çizelge 4.24’de verilmiştir. Bulguların daha anlaşılır olması için Çizelge 4.25 ‘te istasyonlar arası mesafe gösterilmiştir. Dxy (Da), burada Dx, popülasyonlar arasında bölge başına ortalama nükleotid ikamesi sayısını gösterir (yüzde), Da ise popülasyonlar arasında bölge başına ortalama net nükleotid ikamesi sayısını gösterir (Nei 1987). Sinarit türüne ait istasyon veriler için genetik Nei’nin dxy uzaklığına göre çizilen Phylogram ağacı Şekil 4.9’da ve Sivriburun karagöz türüne ait istasyon veriler için Nei’nin dxy genetik uzaklığına göre çizilen Phylogram ağacı Şekil 4.10’da gösterilmiştir.

Çizelge 4.25. Sinarit (*Dentex dentex*) ait istasyon veriler için genetik mesade ölçümü methodu (Nei’nin dxy ve da)

Dxy/Da	I-C	I-W	II-W	III-W	IV-W	V-W	VI-W	VII-W
I-C	■	0,00148	-0,00045	0,00080	0,00141	0,00169	0,00060	0,00160
I-W	0,00701	■	0,00056	0,00009	0,00000	0,00000	-0,00008	0,00000
II-W	0,00815	0,00503	■	0,00014	0,00050	0,00084	0,00000	0,00084
III-W	0,00717	0,00233	0,00545	■	0,00006	0,00014	-0,00028	-0,00004
IV-W	0,00666	0,00112	0,00470	0,00201	■	0,00000	0,00000	0,00000
V-W	0,00757	0,00175	0,00566	0,00273	0,00147	■	0,00000	0,00000
VI-W	0,00788	0,00307	0,00622	0,00370	0,00287	0,00349	■	-0,00042
VII-W	0,00936	0,00363	0,00755	0,00444	0,00335	0,00398	0,00496	■
<i>Dentex dentex</i>			*** <i>P</i> <0,001, ** <i>P</i> <0,01, * <i>P</i> <0,05					



Şekil 4.9. Sinarit türüne ait istasyon veriler için genetik Nei’nin dxy uzaklığına göre çizilen Phylogram ağacı

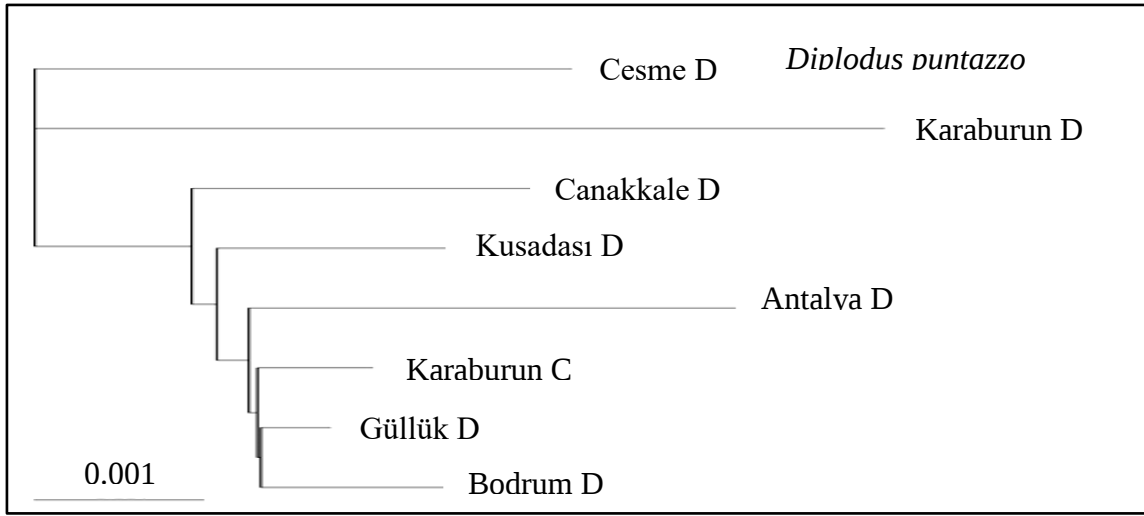
Popülasyonlar arasındaki uzaklığın bulunması için Wright tarafından F istatistiği kullanılarak uzaklık matrisleri oluşturuldu. İstasyonlar arasındaki *Fst* verileri sinarit türü için uzaklık matriksi tablo 4.26’de, Treeview ile oluşturulan cladogram NJ ağacı şekil 4.11 ve şekil 4.12’ de; Sivriburun karagöz için uzaklık matriksi tablo 4.27’ de, şekil 4.13’te ve şekil 4.14’de gösterilmektedir.

Çizelge 4.26. Sivriburun Karagöz türüne ait istasyon veriler için genetik mesafe ölçümü metodu (Nei’nin dxy ve da) ***P<0,001, **P<0,01, *P<0,05

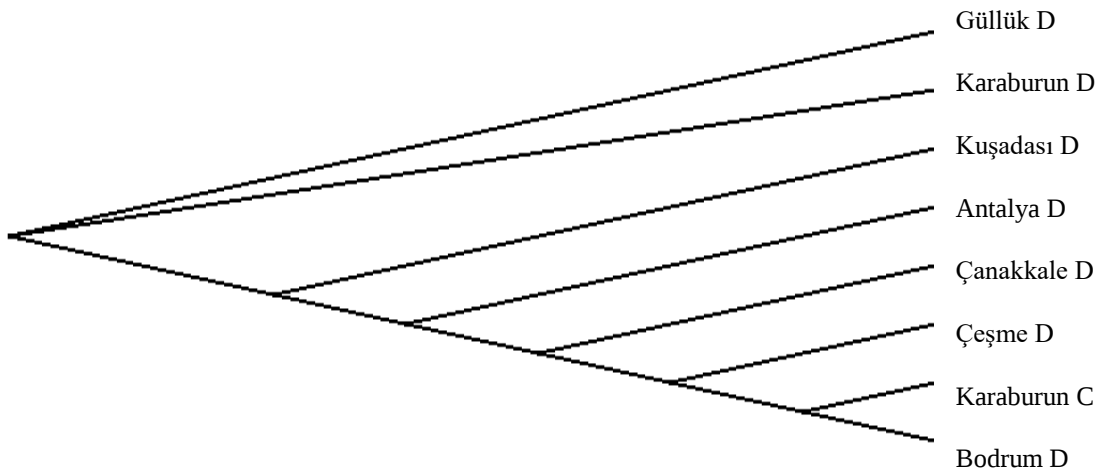
<i>D. puntazzo</i>	I-C	I-W	II-W	III-W	IV-W	V-W	VI-W	VII-W
I-C		0,00116	0,00119	0,00060	0,00106	0,00060	0,00038	0,00269
I-W	0,01054		0,00006	-0,00004	-0,00076	-0,00019	0,00066	0,00237
II-W	0,01476	0,01541		0,00080	0,00064	0,00006	0,00104	0,00226
III-W	0,00793	0,00879	0,01363		0,00024	-0,00004	0,00011	0,00158
IV-W	0,00852	0,00821	0,01362	0,00810		-0,00042	-0,00020	0,00114
V-W	0,00983	0,01057	0,01499	0,00855	0,00831		-0,00020	0,00108
VI-W	0,00889	0,01058	0,01498	0,00892	0,000948	0,00948		0,00138
VII-W	0,01066	0,01195	0,01602	0,00953	0,00924	0,01042	0,01043	

Çizelge 4.27. İstasyonlar arası mesafe (km)

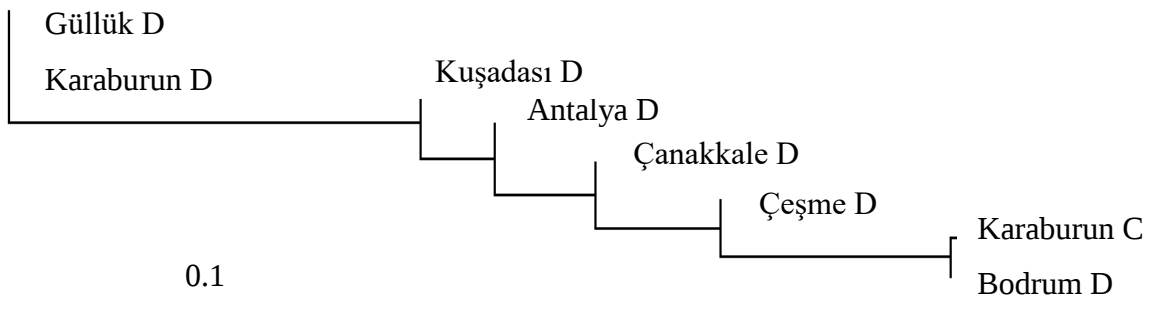
İstasyonlar Arası Mesafe (Km)								
	Karaburun-C	Karaburun-W	Çeşme	Kuşadası	Güllük	Bodrum	Çanakkale	Antalya
Karaburun-C	0	56	18	177	287	367	253	812
Karaburun-W	56	0	63	139	249	329	197	774
Çeşme	18	63	0	121	231	311	260	756
Kuşadası	177	139	121	0	110	190	336	635
Güllük	287	249	231	110	0	80	446	525
Bodrum	367	329	311	190	80	0	526	445
Çanakkale	253	197	260	336	446	526	0	971
Antalya	812	774	756	635	525	445	971	0



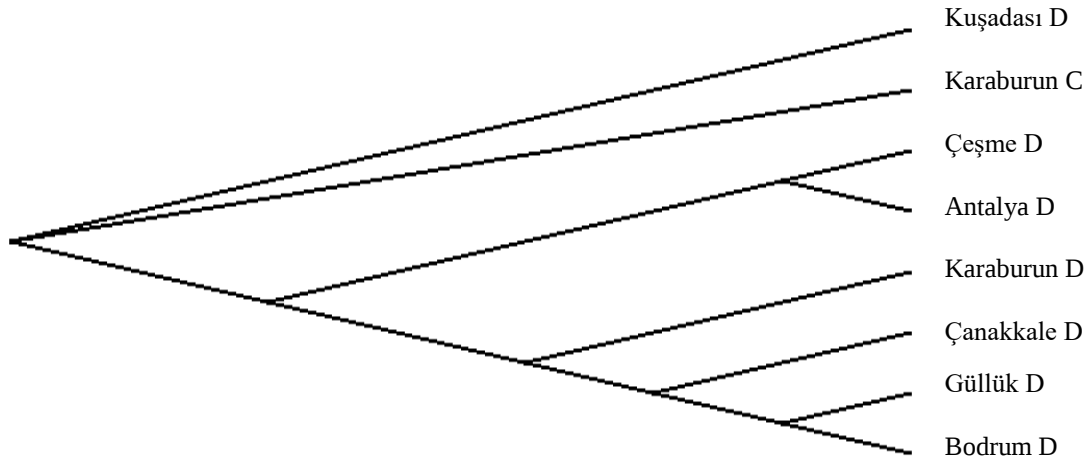
Şekil 4.10. Sivriburun karagöz türüne ait istasyon veriler için Nei'nin dxy genetik uzaklığına göre çizilen Phylogram ağacı



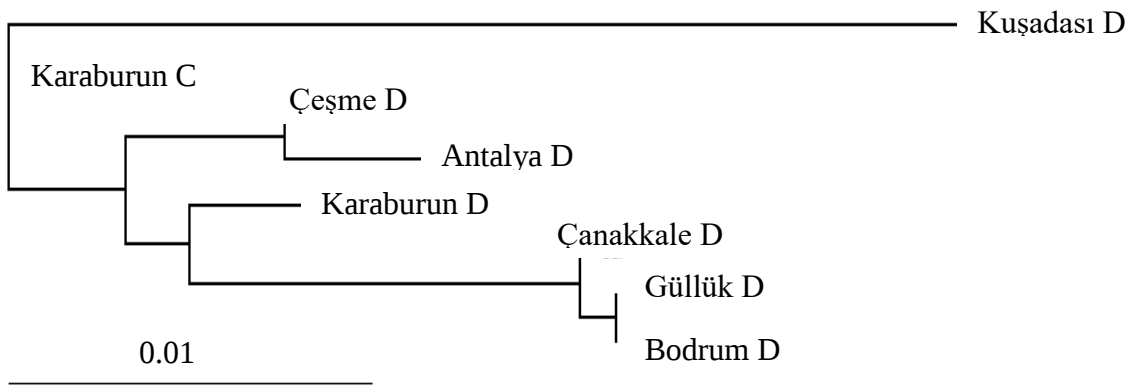
Şekil 4.11. Çalışmadaki istasyonlardaki Sinarit (*Dentex dentex*) örnekleri için Wright'ın F istatistiğine göre elde edilen Treeview ile oluşturulan cladogram NJ ağacı



Şekil 4.12. Çalışmadaki istasyonlardaki Sinarit (*Dentex dentex*) örnekleri için Wright'ın F istatistiğine göre elde edilen Treeview ile oluşturulan phylogram NJ ağacı



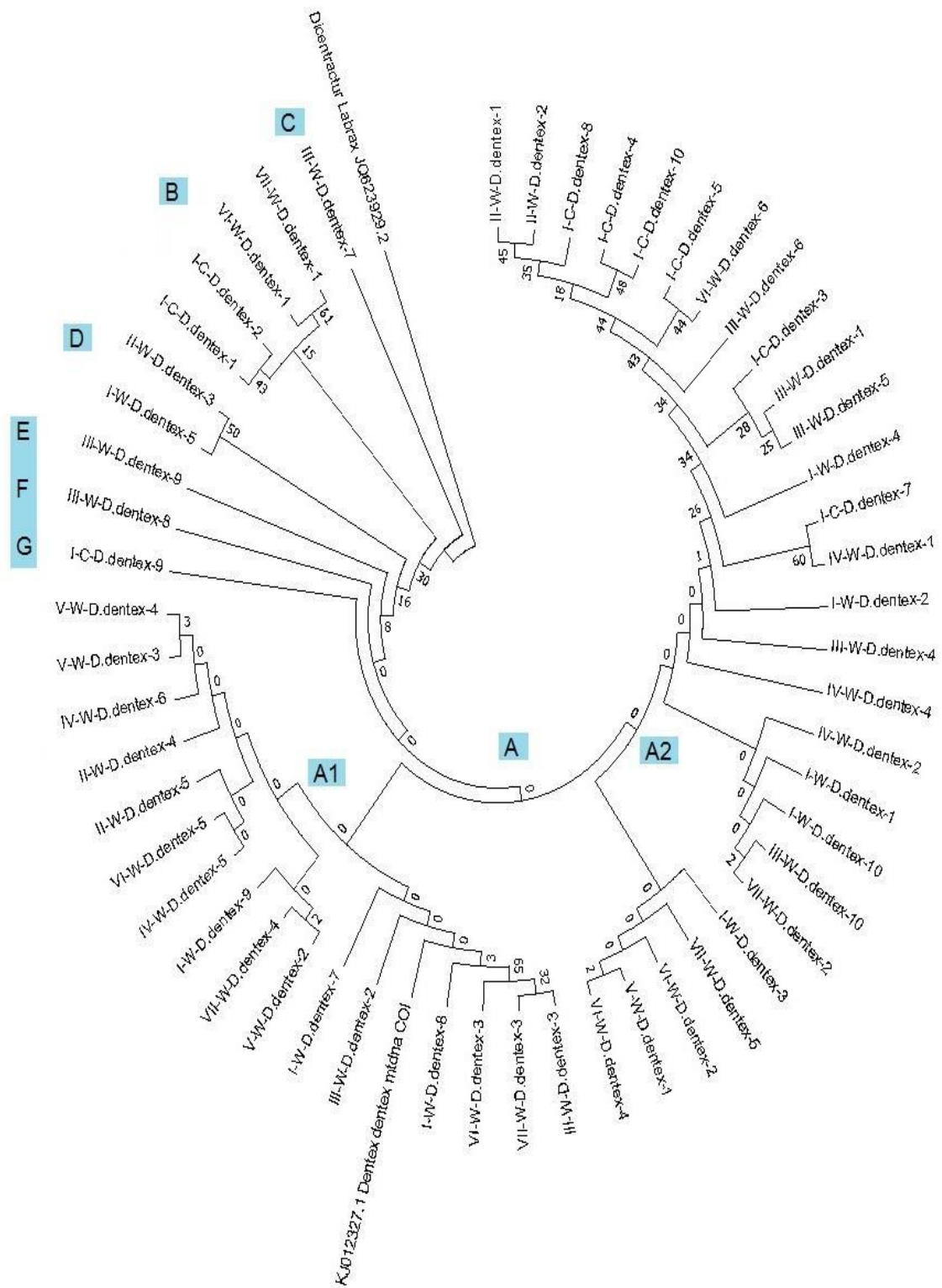
Şekil 4.13. Çalışmadaki istasyonlardaki Sivriburun Karagöz (*Diplodus puntazzo*) örnekleri için Wright'ın F istatistiğine göre elde edilen Treeview ile oluşturulan cladogram NJ ağacı



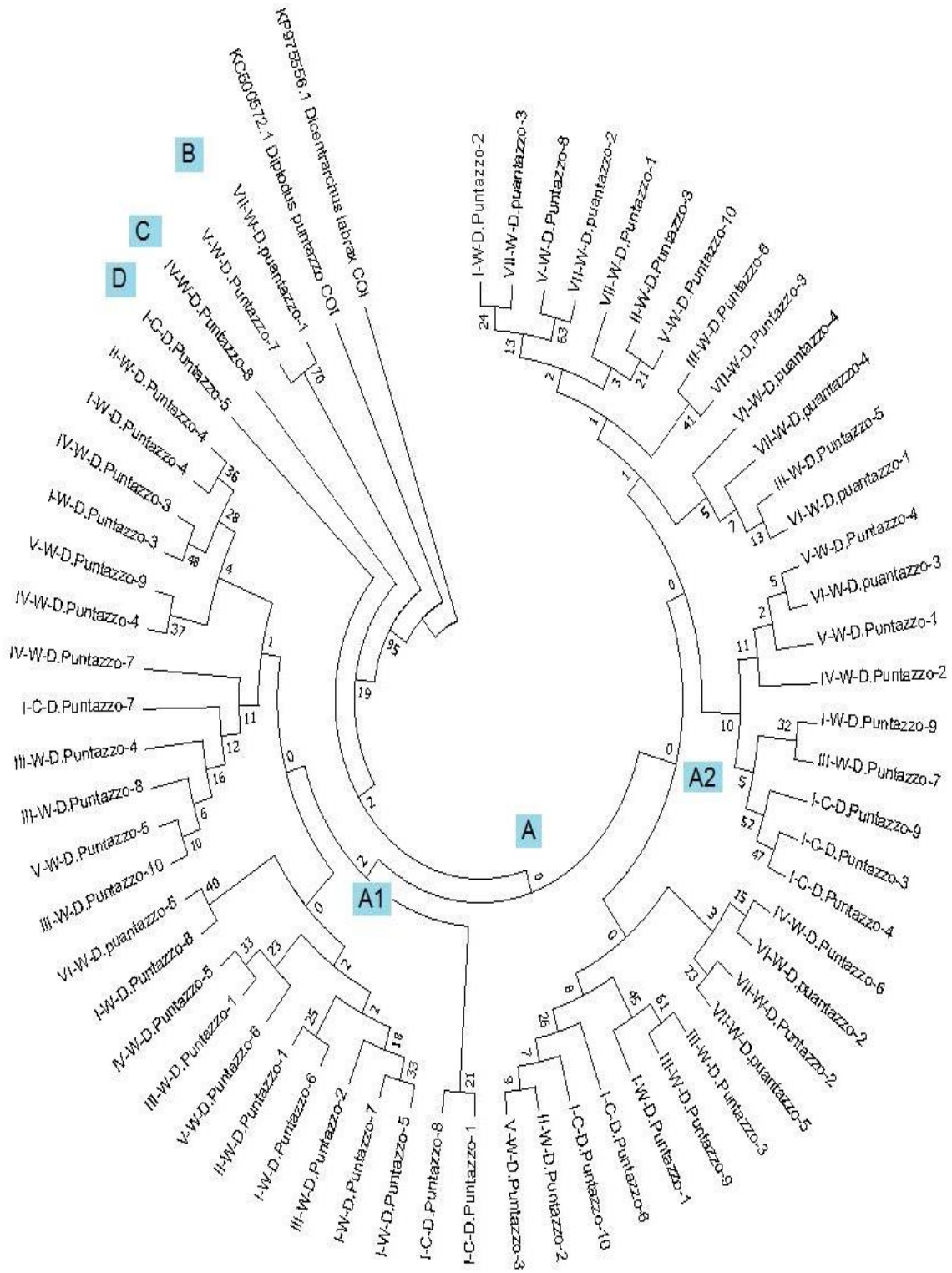
Şekil 4.14. Çalışmadaki istasyonlardaki Sivriburun Karagöz (*Diplodus puntazzo*) örnekleri için Wright'ın F istatistiğine göre elde edilen Treeview ile oluşturulan phylogram NJ ağacı

4.7. Filogenetik Ağaç Oluşturulması

Çalışmayı oluşturan sinarit ve sivriburun karagöz türlerinin tür içi etkileşimlerinin ve haplotip yapılarının görsel olarak ortaya konulması amacıyla, DNA sekanslamalarıyla elde edilen verilerin neighbour joining ağacı ve minimum evolution ağaçları kimara 2 parametresi çiftler bazında veri silme (pairwise deletion) özelliği aktif edilip 1000 bootstrap yapılarak filogenetik ağaçlar oluşturulmuştur. Şekil 4.15'te Sinarit türüne ait örneklerin NJ ağacı verilmiştir. Şekil 4.16'da Sivriburun Karagöz türüne ait örneklerin NJ ağacı verilmiştir.

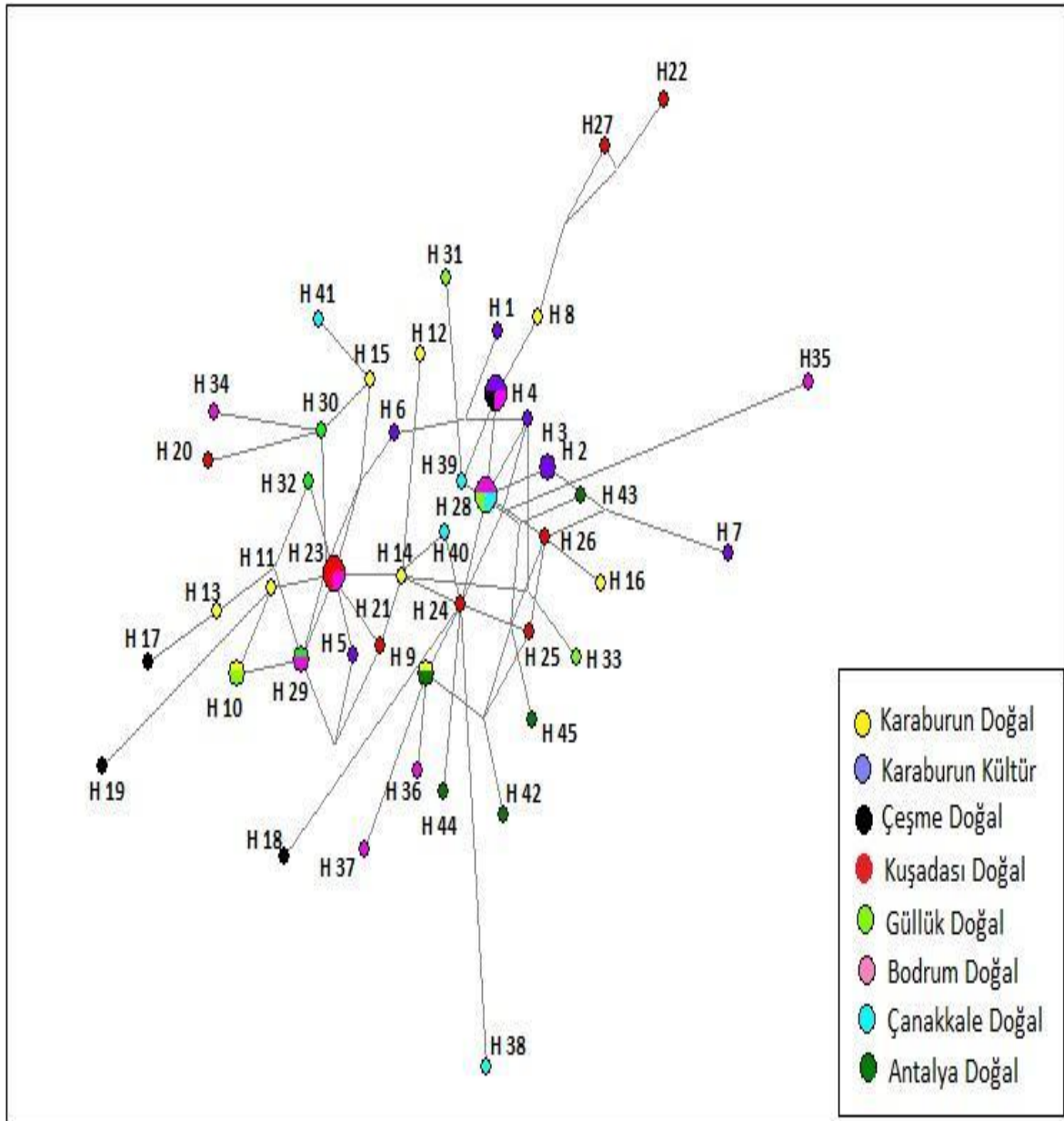


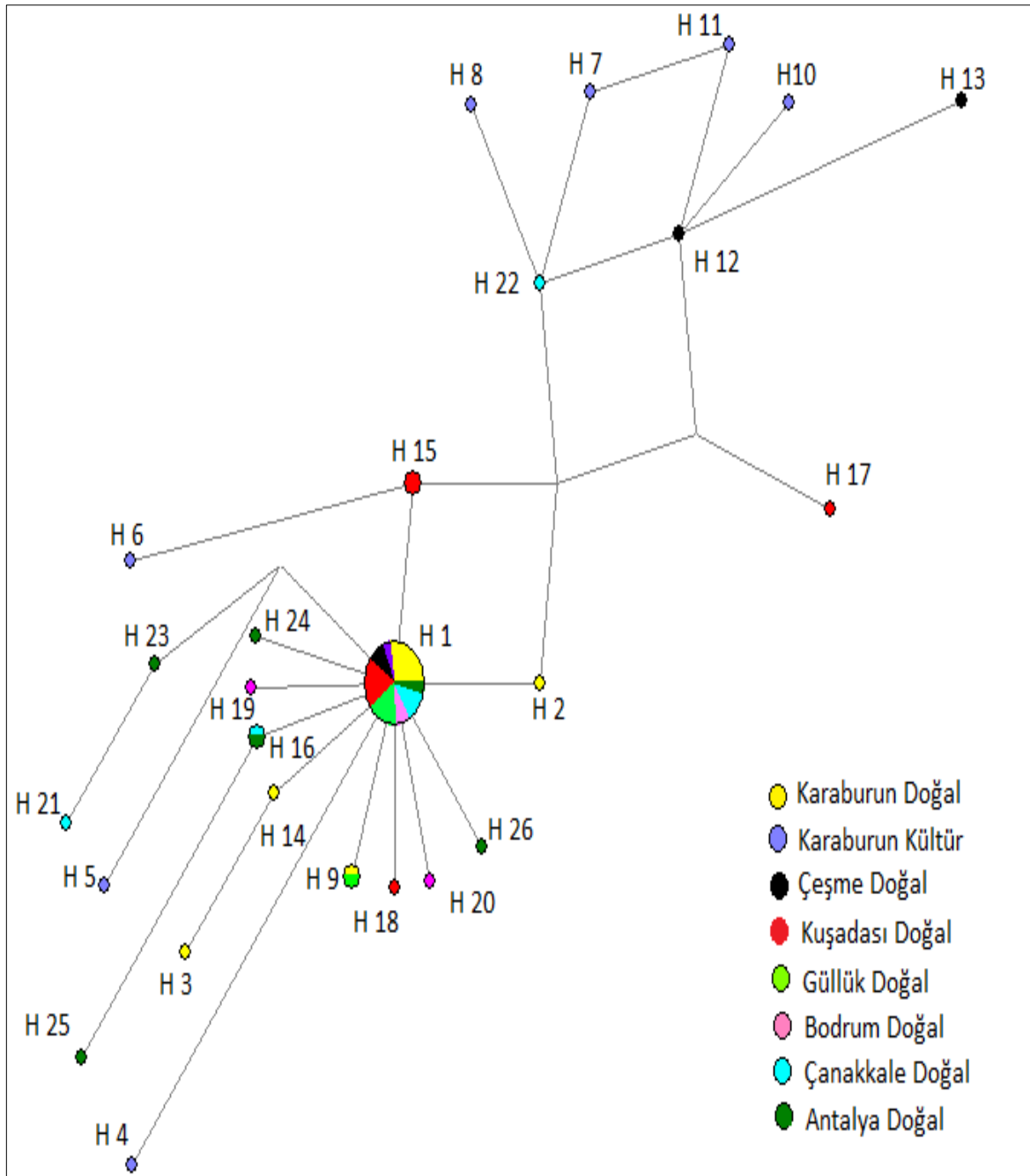
Şekil 4.15. Sinarit türüne ait örneklerin NJ ağacı (Levrek ve Ncbi *Diplodus puntazzo* ilaveli)



Şekil 4.16. Sivriburun Karagöz türünün CO-I bölgesi için çizilen NJ (Neighbor Joining) dendrogramı.

Çalışmada kullanılan Sinarit türüne ait örneklerle elde edilen haplotiplerden elde edilen Median joining network ağı incelendiğinde haplotiplerin H1 haplotipin etrafında dağılım gösterdiği görülmektedir. Çalışmada kullanılan Sivriburun karagöz türüne ait örneklerle elde edilen haplotiplerden elde edilen Median joining network ağı incelendiğinde haplotiplerin H4, H23 ve H28 haplotiplerinin etrafında dağılım gösterdiği görülmektedir. Network ağında daireler haplotipler oluştururken, renk dağılımı örnekleme yapılan istasyonları ifade etmektedir. Ayrıca network ağındaki dairelerin büyüklükleri haplotipin frekans ile doğru orantılıdır. Şekil 4.17’de Sinarit türüne ait örneklerin NJ ağacı verilmiştir. Şekil 4.18’de Sivriburun Karagöz türüne ait örneklerin NJ ağacı verilmiştir.





Şekil 4.18. Sinarit türüne ait örneklerin Haplotiplerine göre Median Joining networku ve haplogrupların gösterimi

4.8. Nötralite Testleri Bulguları

Çalışmayı oluşturan Sinarit ve Sivriburun karagöz türüne ait örneklerin nötralite teorisinin denenmesi amacıyla, hesaplanan $F_u - L_i$ 'nin D^* testi ve $F_u - L_i$ 'nin F^* testi, F_u 'nun F_s testi ait veriler sinarit verileri tablo 4.28'da, Sivriburun karagöz verileri tablo 4.29'da verilmiştir.

Çizelge 4.28. Çalışmadaki istasyonlardaki Sinarit (*Dentex dentex*) örnekleri için Wright'ın F istatistiğine göre elde edilen uzaklık matrisi

<i>Dentex dentex</i>	I-C	I-W	II-W	III-W	IV-W	V-W	VI-W	VII-W
I-C	0,00000							
I-W	0,22466	0,00000						
II-W	0,08522	0,00077	0,00000					
III-W	0,03716	0,07255	-0,02564	0,00000				
IV-W	-0,08257	0,16667	0,04412	0,00474	0,00000			
V-W	0,21178	-0,02273	-0,03261	0,04085	0,16667	0,00000		
VI-W	0,03226	0,01562	-0,08541	-0,05174	-0,00737	-0,02362	0,00000	
VII-W	0,02463	0,04000	-0,06047	-0,05882	-0,01205	0,00415	-0,08711	0,00000

Çizelge 4.29. Çalışmadaki istasyonlardaki Sivriburun Karagöz (*Diplodus puntazzo*) örnekleri için Wright'ın F istatistiğine göre elde edilen uzaklık

	I-C	I-W	II-W	III-W	IV-W	V-W	VI-W	VII-W
I-C	0,00000							
I-W	-0,01414	0,00000						
II-W	-0,02273	0,00000	0,00000					
III-W	0,00507	0,03378	0,03919	0,00000				
IV-W	-0,02283	-0,01613	0,00000	0,03504	0,00000			
V-W	-0,02316	0,01389	-0,01217	0,01462	-0,03498	0,00000		
VI-W	-0,02035	0,00000	0,00000	0,03727	-0,02941	-0,03068	0,00000	
VII-W	-0,01313	-0,02273	0,00000	0,03727	0,00000	0,01528	0,00000	0,00000

Çizelge 4.30. Sinarit türüne ait örneklerin nötralite testleri sonuçları

Populasyon	Taijma's D	Fu&Li's D	Fu&Li's F	Fu's Fs
I-W-D.dentex	-1,51297	-1,68268	-1,82046	-0,380
I-C-D.dentex	-0,17613	-0,45575	-0,43324	-5,174
II-W-D.dentex	0,49788	0,49788	0,51896	-0,036
III-W-D.dentex	-1,27616	-1,51001	-1,62963	-1,320
IV-W-D.dentex	-0,81650	-0,81650	-0,77152	0,090
V-W-D.dentex	-0,70990	-0,70990	-0,60427	-0,887
VI-W-D.dentex	-1,39031	-1,42394	-1,52011	-0,219
VII-W-D.dentex	-1,16172	-1,16172	-1,21090	-2,371

Çizelge 4.31. Sivriburun Karagöz türüne ait örneklerin nötralite testleri sonuçları.

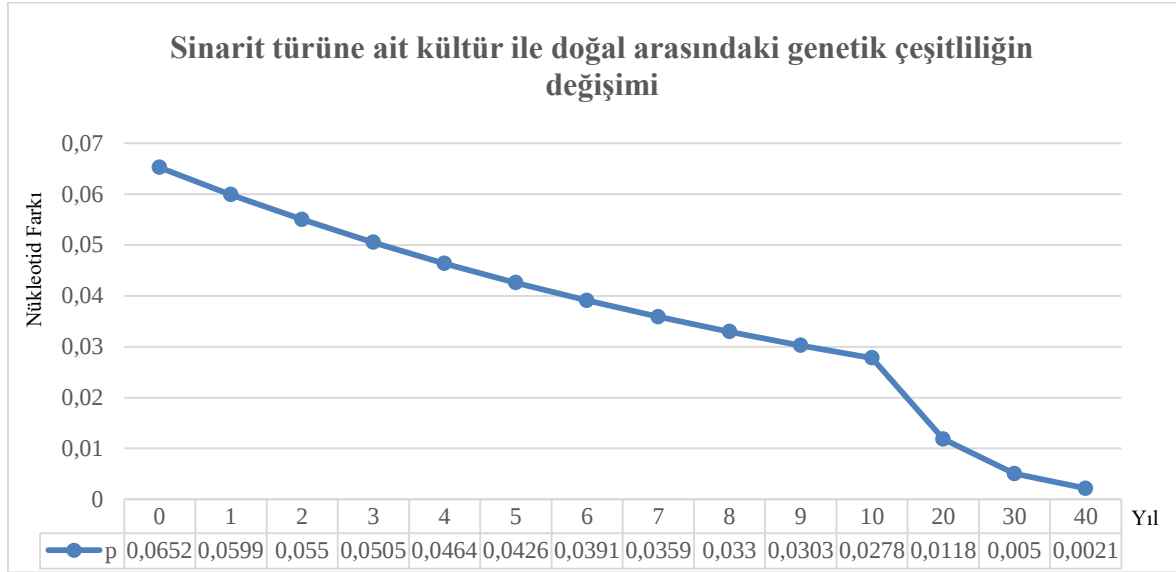
Populasyon	Taijma's D	Fu&Li's D	Fu&Li's F	Fu's Fs
I-W-D.puntazzo	0,32710	0,67031	0,65732	-4,804
I-C-D.puntazzo	-0,50652	-0,47335	-0,53802	-2,040
II-W-D.puntazzo	-0,30020	0,11674	-0,15448	-0,210
III-W-D.puntazzo	0,05382	0,34366	0,30593	-2,974
IV-W-D.puntazzo	0,05905	0,10222	0,10135	-3,784
V-W-D.puntazzo	-0,55096	-0,68964	-0,73443	-2,785
VI-W-D.puntazzo	-0,29817	-0,29817	-0,31445	-1,481
VII-W-D.puntazzo	-0,07339	-0,07339	-0,07686	-1,805

4.9. Genetik Farklılaşmanın Belirlenmesi ve Modelleme Kullanılarak Geleceğe Ait Projeksiyon

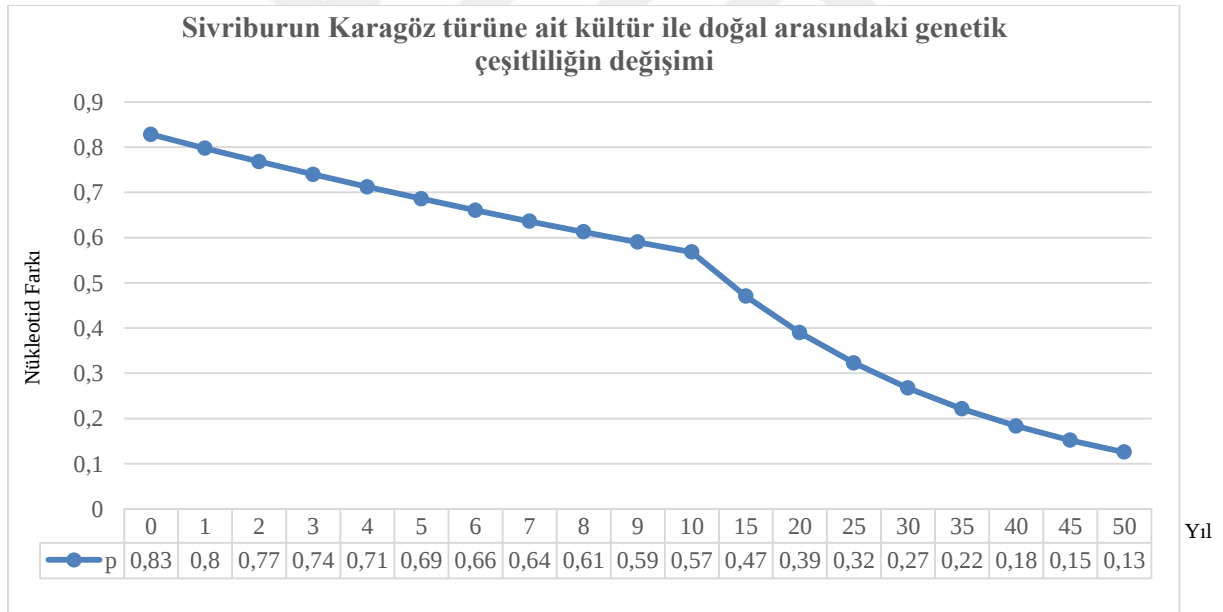
Kültür ortamından çeşitli sebeplerle kaçan balıkların farklı büyüklüklerde olması ve doğada kaldıkları süre zarfında zamanla doğal ortamda yaşayan balıklarla etkileşime girebilecek birçok döl verebilme ihtimali bulunmaktadır. Bu durum doğal ortamdaki genetik çeşitliliğin zamanla değişmesi oranı doğrusal olmayacaktır. Elde edilen genetik farklılık veriler kullanılarak modelleme kullanılarak hazırlanan modellemede, genetik değişim zamanın bir fonksiyonu olarak eksponansiyel olarak azalan bir trend göstermiştir

Sinarit (*Dentex dentex*) türüne ait kültür ve doğal örnekler arasında modelleme kullanılarak hazırlanan modele göre, genetik etkileşim süresi $t = 2,1584$ yıl olarak hesaplanır. Üretim rejimi ve çeşitli nedenlerden dolayı (kaçma vs.) doğal ile kültür balıkları arasındaki etkileşim devam etmesi durumunda, yaklaşık 5 yıl sonra, doğal ortamda yer alan balıklar ile kültür ortamında yer alan balıkların baz çifti farklılık oranı ortalama **0,78436** düşmesi beklenmektedir. Buna bağlı olarak genetik çeşitlilik değişimi ise beşinci yılın sonunda **0,0426** ile başlayan ve 10. yıldan sonra ise her 5 yılda bir ortalama 0,016 düzeyinde azalacağı hesaplanmıştır. **40** yıl içerisinde genetik çeşitlilik ortalaması **0,0652**'den, **0,0021** seviyelerine düşeceği ve genetik çeşitliliğin son derece azalacağı düşünülmektedir. Şekil 4.19'da sinarit (*Dentex dentex*) türüne ait kültür ile doğal arasındaki genetik çeşitliliğin değişimi grafiği verilmiştir.

Sivriburun Karagöz (*Diplodus puntazzo*) türüne ait kültür ve doğal örnekler arasında modelleme kullanılarak hazırlanan modele göre, genetik etkileşim süresi $t = 5,1367$ yıl olarak hesaplanır. Üretim rejimi ve çeşitli nedenlerden dolayı (kaçma vs.) doğal ile kültür balıkları arasındaki etkileşim devam etmesi durumunda, yaklaşık 5 yıl sonra, doğal ortamda yer alan balıklar ile kültür ortamında yer alan balıkların baz çifti farklılık oranı ortalama **1,00516** düşmesi beklenmektedir. Buna bağlı olarak genetik çeşitlilik değişimi ise beşinci yılın sonunda **0,69** ile başlayan ve 10. yıldan sonra ise her 5 yılda bir ortalama **0,14** oranda azalacağı hesaplanmıştır. Sivriburun karagöz (*Diplodus puntazzo*) türü yaklaşık 40 yıl içerisinde genetik çeşitlilik ortalaması 0,83 ten 0,13 seviyelerine düşeceği ve genetik çeşitliliğin son derece azalacağı düşünülmektedir.



Şekil 4.19. Sinarit (*Dentex dentex*) türüne ait kültür ile doğal arasındaki genetik çeşitliliğin değişimi



Şekil 4.20. Sivriburun karagöz (*Diplodus puntazo*) türüne ait kültür ile doğal arasındaki genetik çeşitliliğin değişimi

5. TARTIŞMA

5.1. Ct ve Tm Bulgularını Değerlendirilmesi

Yaptığımız bu çalışmada, varyans analizi sonucu *Dentex dentex* grupları arasında istatistik açısından önemli bir Ct değeri farkı bulunmasa da ($p > 0,05$) en düşük Ct değeri I-W-*D.dentex* grubunda **18,5** ve en büyük Ct değeri ise III-W ile V-W gruplarında **26,1** olarak ölçülmüş olup tüm verilerin genel ortalaması **23,5** bulunmuştur. En fazla Ct değişimi IV-W grubunun içinde görülürken en az değişim ise VII-W grubu içinde görülmüştür (Çizelge 4.2). *Dentex dentex* türüne ait COI hedef geninin Tm değerleri açısından da gruplar arasında bir fark bulunmamıştır ($p > 0,05$). Ancak ilginç olarak en düşük **81,8** Tm değeri ile en yüksek **83,2** Tm değeri VI-W grubunda görülmüştür. En fazla Tm değişimi VI-W grubunda gözlenirken en az değişim ise II-W ve IV-W grubunda olduğu Çizelge 4.3'te gösterilmiştir. Yapılan korelasyon analizinde de Tm değerleri ile Ct değerleri arasında herhangi bir önemli ilişki bulunmamıştır ($r = 0,132$; $p > 0,05$)

D.dentex türünden farklı olarak *Diplodus puntazzo* türünde türlerin alındığı bölgeleri temsil eden gruplar arasında Ct değerleri açısından istatistik olarak çok önemli fark bulunmuştur ($p < 0,01$). En düşük Ct değeri **17,4** ile VI-W-*D.puntazzo*-4 ve III-W-*D.puntazzo*-9; en yüksek Ct değeri ise **25,8** ile V-W-*D.puntazzo*-7 tespit edilmiştir. En düşük Tm değişimi VII-W grubunda gözlenirken en fazla değişim ise I-W grubunda görülmüştür. En düşük Tm değeri **81,2** ile V-W-*D.puntazzo*-7'de, en yüksek Tm değeri **81,9** ile VII-W-*D.puntazzo*-5, IV-W-*D.puntazzo*-8, IV-W-*D.puntazzo*-2 gözlemlenmiştir. Çizelge 4.6'te ilginç olarak I-C kültür grubundaki değişim ile aynı bölgeyi temsil eden doğal grup I-W değerine oldukça yakın bulunmuştur. Öte yandan Tm değerleri açısından da bölgeleri temsil eden gruplar arasında da istatistiki olarak çok önemli fark olmuştur ($p < 0,01$). En düşük Tm değeri V-W grubundan elde edilirken en fazla Tm değerleri I-W, II-W, III-W, IV-W bölgelerindeki örneklerden alınmış, VI-W grubunda ise Tm değerlerinde hiç değişime rastlanmamıştır. İlginç olarak Çizelge 4.6'da I-W grubundaki değişim değeri (0,027) I-C grubuna (0,002) göre on kattan fazla olduğu tespit edilmiştir.

Gerçek zamanlı bir PCR'de birçok tür içinden *D. dentex* tanımlamasında uygun olup olmadığını doğrulamak için PCR amplifikasyonunu test etmişler. Analiz edilen tüm *D. dentex* örneklerinde spesifik bir amplifikasyonunu gözlemlemişlerdir (beklendiği gibi, 28 ve 34 arasında bir Ct ve 80 °C civarında bir ürün Tm'si), test edilen diğer tüm türler ise bir

Ct değeri 40 olarak tespit etmişlerdir (Ceruso ve diğerleri, 2021). Eğer örnekleme konsantrasyonları aynı ise, Ct değeri bize PCR amplikasyonun başarılı olduğu ve genetik farklılık olabileceğini anlatmaktadır.

Tm ve Ct değerlerine ilişkin ANOVA analizimizde, bazı bireyler diğerlerinden net bir şekilde ayrılıyor olsa da Tm'nin sonuçları ve Ct değerleri daha önce türleri ayırt etmek için verimli bir şekilde kullanılabilir. Gerçek zamanlı PCR kullanımı, türler arası varyasyonu ortaya koyabildiği halde, tür içi varyasyonu için çok yeterli seviyede olmadığı görülmüştür. Her bölgedeki Ct ve Tm değerleri açısından genetik değişimin genelde ve gruplar arasında birbirinden bağımsız şekilde seyrettiği anlamına gelebilir. Örnekleme konsantrasyonlarında bir farklılık bulunmuyorsa, sonuçlar bize incelenen tür içinde genetik yakınlık veya farklılık olabileceğinin ilk sinyali vermektedir.

5.2. HRM Analizlerin Değerlendirilmesi

Elde edilen HRM profilleri *D.dentex* türünde iki farklı grupta toplamıştır. Antalya bölgesinden alınan örnekleri temsil eden VII-W grubu diğer gruplardan HRM değeri bakımından keskin bir biçimde ayrılmış olup ikinci grubu oluştururken II-W (Çeşme) ve V-W (Bodrum) hem birinci hem de ikinci gruptan örnekleri içermiştir. Diğer bölgelerden alınan örnekler ise HRM değerleri yönünden değişim göstermeyip ayrı bir grup oluşturmuştur. Diğer bir tür olan *D.puntazzo* türünde HRM değerlerine göre 4 farklı grup oluşturmuştur. Gen bölgesi olarak COI gen bölgesine göre sınıflandırmada HRM analizine göre her grup içinde en az 2 en fazla 7 farklı genotip yer almıştır. Kültür grubu I-C içinde 3 farklı genotip bulunurken aynı bölgeden alınan I-W grubunda 2 farklı genotip gözlenmiştir. Kültür grubundaki genetik çeşitliliğin daha fazla olması kuluçkahanelerde bulunan anaçların farklı popülasyonlardan toplanmış olması sebep olabileceği düşünülmektedir.

Wittwer ve diğ., (2003), Hidroksitriptamin reseptörü 2A (HTR2A) geni (T102C), beta-globin (hemoglobinler S ve C) geni ve kistik fibroz (F508del, F508C, I507del) geninde polimorfizmler belirlemek için, realtime polimer zincir reaksiyonu hedef DNA 'nın LC-Green boyası kullanılarak boyadıklarını ve yüksek çözünürlüklü erime eğrilerini elde ettiklerini bildirmişlerdir. Yaptıkları çalışmanın sonucunda 110 baz çifti yükseltgenmesinde 6 yaygın beta-globin genotiplerinin (AA, AS, AC, SS, CC vs SC) birbirinden ayrıldığını bildirmiş, LCGreen boya ile boyanan PCR ürünlerinin yüksek

çözünürlüklü erime analizinde hem heterozigot dizi hem de homozigot dizi varyantlarının tanımlayabilir olduğunu gözlemlemişlerdir. Ayrıca mutasyonların taranmasında da umut verici olduğu beyan etmişlerdir.

Bates (2014), yayınlamış olduğu makalede (HRM) (High resolution melting) yüksek çözünürlüklü erime noktası analizinin DNA'daki Tek Nükleotid Polimorfizmlerini (SNP'ler) ayırmak için nasıl bir çözünürlüğe sahip olduğunu bildirmiştir. PCR ürünlerinin ergime sıcaklığının (T_m) uzunluğa ve DNA dizisine bağlı olarak değişebileceğini ve bu değişimin "G" ve "C" bazları birbirine bağlanan 3 hidrojen bağına sahipken "A" ve "T" bazları sadece 2 olmasından kaynaklandığı beyan etmiştir. Bu küçük fark, daha büyük miktarlarda GC içeriğine sahip DNA için daha yüksek bir erime sıcaklığı gerektirerek bağın kırılacağı erime sıcaklığını etkilediğini göstermiş. T_m 'deki farklılıkları ve erime eğrisi grafiğini analiz ederek, genetik yapı tespitinde kullanışlı olduğunu bildirmiştir.

Genel olarak bakıldığında *D.dentex* türünde genotipik olarak önemli bir varyasyon göstermemekle birlikte HRM analizi özellikle bölgesel ayrışma konusunda önemli ipuçları verebildiği söylenebilir. Sinarit türünün diğer genetik çeşitliliği fazla olan balıklara kıyasla daha düşük aktiveye sahip olması HRM verilerine göre yapılan grup sayısının az olmasını açıklayabilir.

Popülasyonların veya bireylerin ayrımının sekans analizinde olduğu kadar başarılı olup olmadığı konusunda bir HRM analizi yaptık. HRM analizinin gerçekleştirilmesi kolay ve çok daha ucuz olmasına rağmen ve dizi analizinden daha zaman kazandıran, ayırt etme gücü o kadar etkili değildi. Bununla birlikte, HRM analizi, *Dentex dentex* popülasyonu diğer lokasyondan uzak olan Antalya VII-W' den açıkça ayırırken, tür içi varyasyonu ayırt etmede yetersiz kalmıştır. Sonuçlar, benzer bulgulara işaret eden önceki çalışmalarla iş birliği içindedir (Behrens-Chapuis ve diğerleri, 2018, Valente ve diğerleri 2013).

HRM profillerinin benzerliklerine göre COI DNA dizilerinin gruplandırılması farklı türler ayrı gruplar oluşturmuştur. Bu durum, COI hedefli HRM analizinin, DNA dizi analizine gereksinim duymadan tür ayırımı yapabileceğini göstermektedir. Aynı türe ait diziler ise *Dentex dentex* için 2, *Diplodus puntazzo* için 4 farklı genotipik grup oluşturmuştur. Çalışmamızın HRM analizi sonuçlarına bakıldığında, diğer çalışmalarda paralel sonuçlar içerdiği ve HRM'nin türler arası ayırmada kullanışlı olduğu görülmüştür. Ancak HRM analizinin tür içi ayırmada yetersiz kaldığı sonucunda ortaya koymuştur.

5.3. MtDNA dizi Analizlerini Değerlendirilmesi

DNA barkodlama, bir organizmayı belirli bir türe ait olup olmadığını belirlemek amacıyla kısa DNA dizisi kullanan taksonomik bir araç olarak kullanılabilmektedir (Hebert, De Waard ve Ratnasingham 2003). Seçilen markör için nükleotid dizisi elde edilir ve referans dizilerinin veri tabanındakine en çok benzeyeni ile kıyaslandırılmaktadır. DNA barkodlama hassasiyeti, referans veri tabanını oluşturmak için kullanılan örneklerin türünün doğru taksonomik tanımlanmasına ve kullanılan genetik işaretlerin ayırmacı gücüne dayanmaktadır. Barkodlu balıklarda tür tanımlaması için yaygın olarak kullanılan DNA işaretleyicisi, sitokrom c oksidaz alt birimi I (COI) olarak adlandırılan mitokondriyal mtDNA'nın 648 bp'lik bir bölgesidir. Barkodlama referans verileri, çevrimiçi global veri tabanlarında (ör. BOLDsystem veya NCBI vb) saklanmakta ve yönetilmektedir. Birçok çalışmadan elde edilen sekansların ulusal veya uluslararası veri tabanlarına yüklenmiş olduğu bilinmektedir (Ward ve diğ., 2005; Spies ve diğerleri, 2006; Salini ve diğerleri, 2007; Blanco, Pérez-Martín ve Sotelo, 2008; Connell, Holmes, Ward ve Zemlak 2009; Rodrigues-Filho ve diğerleri, 2009; Coulson ve diğerleri, 2011).

Bu çalışmada, mtDNA COI bölgesi hedef markır olarak seçilmiştir. Sinarit türü için 477 bp uzunluk, Sivriburun karagöz türü için 465 bp uzunluk bölge sekansı kullanılmıştır.

5.4. Haplotip Çeşitliliği ve Haplotip Sayısının Değerlendirilmesi

Çalışmayı oluşturan Sinarit türüne ait toplam 53 bireyde toplam haplotip sayısı $h = 26$ olarak belirlenmiş, toplam ortalama haplotip çeşitliliği $H = 0,7632$ olduğu tespit edilmiştir. Toplam belirlenen haplotiplerin 22'si istasyonlardan temin edilen ve çalışmayı oluşturan bireylerde sadece bir hayvanda bulunduğu tespit edilmiştir. Haplotipler gruplandırıldığında haplotip 1'in değişik istasyonlardan birçok örnekte gözlenmiştir.

İstasyonlara göre bakıldığında ise en fazla haploit grup I-C (Karaburun kültür) bölgesinde olup tüm bireyler COI dizisi bakımından birbirinden farklı bulunmuş genetik çeşitlilik bu bölgede en fazla bulunmuştur. Örnek sayısı daha az olsa da VII-W Antalya doğal ortamından tutulan balıklarda da genetik çeşitlilik en üst seviyede olmuştur. Kültür türüyle karşılaştırıldığında I-W (Karaburun) içindeki doğal çevrede yetişen sinaritlerde ise genetik çeşitlilik kültürdekilerin yarısından daha az bulunmuştur. En az genetik çeşitlilik ise IV-W Güllük Doğal bölgesinde gözlenmiştir.

Sivriburun Karagöz popülasyonunda en yüksek haplotip çeşitliliği $H = 1,000$ ile I-C (Karaburun kültür), II-W (Çeşme doğal), IV-W (Güllük doğal) VI-W (Çanakkale doğal) ve VII-W (Antalya doğal) popülasyonları belirlenmişken en düşük haplotip çeşitliliği ise $H = 0,933$ ile III-W (Kuşadası doğal) olarak gözlenmiştir. Nükleotid çeşitlilik verilerine bakıldığında en yüksek değer II-W (Çeşme doğal) $\pi = 0,01935$ ve en düşük değer ise $\pi = 0,00771$ ile III-W (Kuşadası doğal) popülasyonunda gözlenmiştir.

Çalışmayı oluşturan Sivriburun Karagöz türüne ait toplam 58 bireyde toplam haplotip sayısı $h = 45$ olarak belirlenmiş, toplam ortalama haplotip çeşitliliği $H = 0,9816$ olduğu tespit edilmiştir. Toplam belirlenen haplotiplerin 38'i istasyonlardan temin edilen ve çalışmayı oluşturan bireylerde sadece bir hayvanda bulunduğu tespit edilmiştir. Haplotipler gruplandırıldığında haplotip 4, haplotip 23 ve haplotip 28'in 4 'er örnekten oluştuğu gözlenmektedir.

196 bireyden oluşan Atlanto-Scandian göçebe ringa (*Clupea harengus*) popülasyonlarının mekânsal genetik yapısının araştırmak için mtDNA ND5/6 gen bölgeleri hedef alınarak yaptıkları çalışmada 96 haplotip gözlemlemiş ve haplotip çeşitliliğini ortalama 0,92 olarak hesaplamıştır (Carvalho, Mork ve Turan, 1998).

Alaska, Kaliforniya ve Japonya'da toplam 71 adet kayabalığı (*Sebastes spp.*) örneklerinin mtDNA ND3/ND4 ve 12S/16S bölgesinde üzerinde yapılan çalışmada, iki farklı mtDNA bölgede toplam 132 bileşik haplotip tespit etmişlerdir. ND3 / ND4 bölgesinin 141 bölgesi, 12S / 16S bölgesindeki 74 bölge belirlemişlerdir. ND3 / ND4 bölgesindeki tüm haplotiplere 36 site yayginken, 46 tek haplotip saptamışlardır (Heifetz Gharret ve Gray, 2001).

Akdeniz'de yaşayan çizgili kırmızı kefal (*Mullus surmuletus*) ve kırmızı kefal (*Mullus barbatus*) türlerine ait 6 farklı popülasyonlarının genetik farklılıklarının belirlenmesi amacıyla her bir türe ait örnekler mtDNA'nın (kontrol bölgesi, COI ve 12S–16S ribozomla RNA) 3 segmenti yükseltmişlerdir. Çalışma sonucu, *M. surmuletus* için 71 haplotip ve *M. barbatus* için 30 haplotip tespit ettiklerinin bildirmişlerdir. Ayrıca, *M. surmuletus* için gözlemlenen haplotiplerin %81,69' u benzersiz iken, *M. barbatus* bireylerin %70,29'u 3 ortak haplotip içinde gruplandırmışlardır (Apostolidis, Mamuris, Moutou, Stamatis ve Triantaphyllidis, 2001).

Alahiotis, Kiliyas, Klossa-Kilia, Prassa ve Papasotiropoulos (2002), Yunanistan'da bulunan 8 gümüş balığı popülasyonunun genetik farklılaşması ve filogenetik ilişkileri mtDNA segmentinin RFLP analizi (12 sn. rRNA, 16s rRNA ve D-loop) düzeyinde araştırmışlardır. Çalışmada incelenen popülasyonlar arasında 21 farklı haplotip tespit ettiklerine değinmiş olup, haplotip değişim oranının %0,000- %15,890 arasında olduğunu bildirmişlerdir.

Yunanistan'ın Ionia denizinde bulunan Mesolongi Laguna bölgesinden temin ettikleri Kefal balığı (*Mugilidae* ailesi) ailesinin 5 türüne (*Mugil cephalus*, *Chelon labrosus*, *Liza aurata*, *Liza ramada* ve *Liza saliens*) ait 20'şer örnekle, genetik farklılık ve filogenetik ilişkiler belirlemeyi hedefledikleri çalışmışlardır. Çalışmada mtDNA bölgesi 12s rRNA, 16s rRNA ve COI bölgesi kullanılmış ve 7 farklı haplotip tespit ettiklerini, türlerin haplotip çeşitliliğinin ise *L.aurata* %0,01849, *L. ramada* %0,0974 ve diğer üç türün ise %0,00 olarak bildirmişlerdir (Papasotiropoulos ve diğ., 2002).

İstavrit (*Trachurus* sp.) türünün Akdeniz ve Atlantik Denizi'nde genetik çeşitliği üzerine yapılan bir çalışmada, Akdeniz'den 5 bölge ve Atlantik Denizi'nden 6 bölgeden 666 adet örnekleme yapılmış, mtDNA'nın D-loop bölgesi hedef alınmış ve RFLP yöntemiyle genetik analizleri yapılarak barkodlama çalışmasını tamamlamışlardır. Çalışma sonunda istavrit balığına ait 3 adet *Trachurus trachurus*, *T. mediterraneus* ve *T. picturatus* türüne ait sırayla 27, 25 ve 25 haplotip tespit ettiklerini bildirmişlerdir. İstarvit türüne ait alttürleri haplotip çeşitliliğinin is sırayla 0,64; 0,26 ve 0,24 olarak tespit etmişlerdir (Karaïskou, Apostolidis, Triantafyllidis, Kouvatsi ve Triantaphyllidis, 2003).

İstavrit (*Trachurus* sp.) cinsine ait 3 Avrupa türün (*T. trachurus*, *T. mediterraneus*, ve *T. picturatus*) mtDNA'nın cytb ve 16s rRNA hedeflenerek genetik sınıflandırma ve filogeni araştırmışlardır. Çalışmada cytb analizi sonucu, 3 türe ait 84 örnekte, 22 farklı haplotip (*T. trachurus* 6 haplotip, *T. mediterraneus* 5 haplotip ve *T. picturatus* 11 haplotip) ve 16S rRNA analizi sonucu, sadece 10 farklı haplotip (*T. trachurus* 2 haplotip, *T. mediterraneus* 3 haplotip ve *T. picturatus* 5 haplotip) tespit ettiklerini bildirmişlerdir. 16S rRNA bölgesinin cytb bölgesine göre daha yavaş bir evrimleşme oranına sahip olduğunu düşünmüşlerdir. Haplotip çeşitliliğinin *T. trachurus*'ta (%22,66), *T. mediterraneus*' ta (%24,10) ve *T. picturatus* 'ta ise en yüksek değer (%64,48) olduğu bildirilmişlerdir (Karaïskou ve diğ., 2003).

Türkiye kıyılarında levrek (*D. labrax*) popülasyonlarında incelenen 4 enzim sisteminde toplam 9 losi belirlenmiştir. Bu 9 losi'de toplam 11 allel gözlemlenmiştir. Her bir

popülasyon için gözlenen 9 losi'den 7' si monomorfik olarak bulmuştur. Diğer 2 lokus (G3PDH-1, PGI-3) ise poliformik olarak bulmuştur. Çalışmada Akdeniz örneğinde G3PDH-1 lokusunun poliformik olduğu gözlemiştir. Bu lokusta iki allel bulmuş ve bunların oranını 0,9833 ve 0,0167 olarak tespit etmiştir. Karadeniz örneğinde ise PGI-3 lokusu poliformik olarak gözlemlemiş bu lokusta da iki allel tespit edilmiş ve oranları 0,9833 ile 0,0167 olduğu bildirilmiştir (Ergüden ve Turan 2005).

Bardakçı, Değerli, Özdemir ve Başbüyük (2006)'da yaptıkları Türkiye'deki alabalıkların (*S. Trutta L.*) moleküler filogenisi konulu çalışmada 27 ayrı lokasyondan toplam 377 adet örneğin mtDNA üzerindeki NADH 5/6 bölgesi hedef alınarak filogenetik ve filo coğrafik analizler yapmışlardır. Yapılan çalışma sonucu, başlıca üç önemli filogenetik topluluğa ayrılmış toplam 27 haplotip tespit etmişlerdir. Popülasyonlara ait ortalama haplotip oranını HD: 0,1397 olarak bildirmişlerdir.

Avrupa'da bulunan iki farklı tirs (Alosa alosa ve Alosa fallax) türüne ait popülasyonları arasındaki evrimsel ilişki araştırmışlardır. Araştırmada kullanılan tirs türlerine ait 70 yetişkin örneklerin mtDNA üzerindeki 448 bp uzunluğundaki Cytb bölgesi hedef alınmış ve toplam 6 haplotip, 11 poliformik site tespit etmişlerdir. A. fallax türüne ait haplotip çeşitlilik oranı h: 0,581 ve A. alosa türüne ait haplotip çeşitlilik oranı h: 0,227 ve paylaşılan haplotipler göz ardı bırakıldığında ortalama haplotip çeşitlilik oranı h: 0,501 olduğunu bildirmişlerdir (Alexandrino ve diğerleri, 2006).

Ergüden (2007) ülkemiz denizlerindeki Tirsilerin moleküler sistematigi konulu yapmış olduğu doktora tez çalışmasında, beş farklı türe ait 20'ser örnek kullanılarak mtDNA 'da bulunan ND5/6 gen bölgeleri üzerinde çalışmışlardır. RFLP yöntemiyle örneklerden toplam 13 haplotip tespit etmişlerdir. Aynı çalışmada haplotip çeşitliliği A. pontica'da 0,6579, A. tanaica'da 0,8158, A. fallax nilotica'da 0,7947, A. maeotica'da 0,7316 olarak belirlenirken; A. caspia'nın popülasyonunda haplotip çeşitlilik olmadığı bildirilmişlerdir. En yüksek haplotip çeşitliliği A. tanaica örneklerinde, en düşük ise 'da olarak bildirilmiştir. Tek haplotip görülen A. caspia'da tür içi bireylerin genetik benzerliğinin %100 olduğu şeklinde yorumlamışlardır. Tüm türlerin popülasyonları arasındaki haplotip çeşitliliği ise ortalama 0,6000 ($\pm 0,02326$) olarak tespit etmişlerdir.

Çalışma sonucu elde ettiğimiz haplotip sayısı ve haplotip çeşitliliği oranları incelendiğinde daha önce yapılan çalışmalara büyük bir oranda benzerlik gösterdiği görülmektedir. Muhtemelen kuluçkahaneye getirilen farklı genetik yapıdaki anaçlar bu kültür ortamındaki

yüksek genetik çeşitliliği açıklayabilir. Popülasyonlarda yüksek düzeyde haplotip çeşitliliği (Hd) ve düşük düzeyde nükleotid çeşitliliği (π) gözlenmesi, bölgelere göre hızlı nüfus artışına işaret etmektedir (Zink ve Barrowclough, 2008).

2005-2007 yılları arasında Karadeniz'in Türkiye kıyısında 3 türe ait (*Acipenser stellatus*, *A. gueldenstaedtii*, *Huso huso*, *A. baerii*/benzeri) 82 birey ilk olarak analizlerde kullanılmış ve Genetik veri olarak mtDNA Cyt-b (1114 bp) ve tRNA D-loop (250-600 bp) gen bölgeleri sekansladıklarını bildirmişlerdir. 28 örnek ise Cytb gen bölgesi sekanslamış, genetik mesafeler ve filogenetik ağaçlar oluşturmuşlardır. Cytb geninde 19 haplotip ve %81,8- %96,4 arasında değişen haplotip çeşitliliği bildirmişlerdir (Eroğlu, 2009).

Diplodus puntazzo türüne ait örneklerden elde edilen veriler bize kültür ortamında yetiştirilen (I. istasyon Karaburun) örneklerin doğadan avcılık yöntemiyle elde edilen örnekleri arasında haplotip çeşitliliğinin aralarında 0,030-0,040 arasında bir fark görülmekte olup, bu fark COI gen bölgesi açısından önemli bir fark olduğu söylenemez. Elde edilen tür içi ortalama genetik uzaklık değerlerinin tamamı tür içi genetik varyasyon sınırı olarak kabul edilen (Hebert ve diğ., 2009) %3 seviyesinin üstünde bulunmuştur.

Ülkemizde bulunan yerli keçi ırklarının mitokondriyal DNA çeşitliliği ve filo coğrafya konulu doktora tez çalışmasında, 5 bölgeden yapılan toplam 252 örnekleme mtDNA d-loop bölgesinin sekanslama ve dizi analizleri sonucu, haplotip sayısının 208 olduğu, haplotiplerin 174'ü özgün olduğu, 0,998 ile en yüksek haplotip çeşitliliğinin Kilis bölgesi örneklerinde, en düşük haplotip çeşitliliği ise 0,983 ile Norduz bölgesi örneklerinde görüldüğünü bildirmiştir (Kul. Ç. B., 2010).

Tanganika gölünde yaşayan Ciklid (*Altolamprologus compressiceps*) popülasyonunun genetik ve morfolojik farklılıkları üzerine yaptıkları çalışmada 119 balık örneği kullanıldığı, beş mikrosatellit bölgede 94 allel tespit etmişlerdir. Beş bölgenin tümünde yüksek genetik çeşitlilik (Mwese 0,780; Kasakalawe 0,783; Wonzye 0,820) görüldüğüne değinmişlerdir (Spreitzer, Mautner, Makasa ve Sturmbauer, 2012).

Türkiye'deki ekonomik öneme sahip su ürünlerinin DNA barkodlarını çıkarılması konulu doktora tezi çalışmasında; DNA barkodlaması ile tür altı filogenetik farklılığın ortaya konulması hedeflenmiş, 114 farklı tür ve 2265 örnekleme yapılarak türler kendi içinden araştırmıştır. Haplotip analizleri sonucu toplam 322 haplotip olduğu vurgulanmış, Her türe ait ortalama 1-6 arasında değişen sayıda haplotip olduğu gözlemlenmiştir. Türlerle göre

farklılık gösteren haplotip çeşitliliği oranı 0,1895 ile 0,8211 arasında değişiklik gösterdiğini tespit etmiştir. Hesaplanan türün kendi içinde haplotip çeşitlikleri ve haplotip sayıları incelenmiş; kıkırdaklı balıklar (*Chondrichthyes*) 6 haplotip sayısı ve 0,8211 haplotip çeşitlilik oranı ile *Zeus faber* türünde, eklemli ayaklılar ailesinde 5'er haplotip sayısı *Marsupenaeus japonicus*, *Scyllarides latus* ve en yüksek haplotip çeşitliliği 0,5842 *Maja squinado*; yumuşakcalar ailesinde 5 haplotip sayısı ve 0,7263 haplotip çeşitlilik oranı ile *Octopus vulgaris* olduğunu bildirmiştir (Keskin ve Atar 2013).

Brazil'daki sea-bob karides (*Xiphopenaeus kroyeri*) popülasyonları üzerinde yapılan coğrafik dağılım ve genetik çeşitlilik çalışmada, mtdna COI gen bölgesi üzerinde çalışılmıştır. 338 adet örnek üzerinde yaptıkları genetik analizde 20 yeni haplotip belirlemiştir (Gusmão, Piergiorgio, Tavares, 2013).

Türkiye'deki alabalıkların (*S. trutta L.*) moleküler filogenisi konulu doktora tezi çalışmasında 34 farklı bölgeden toplam 242 örnekleme yaptıklarını, Gen Bank karşılaştırmalı analiz sonucunda D-loop bölgesine ait toplam 58 haplotip tespit ettiklerini, tespit edilen haplotiplerin 33'ünün Türkiye'ye ait yeni haplotipler olduğundan bahsetmiştir. Aynı çalışmada elde edilen haplotipler için haplotip çeşitliliğinin HD: 0,9368 olduğu bildirilmiştir. Ayrıca çalışmada yer alan 34 alabalık popülasyonlarından ekseriyetle Karadeniz drenajına ait popülasyonların oluşturduğu ve 14 tanesi birden fazla haplotip ihtiva ettiğini bildirmiştir (Özen. N., 2013).

Bektaş, Aksu ve Kalaycı (2016) Mercangiller ailesinden olan İsparoz (*Diplodus annularis* Linnaeus, 1758) Türkiye'deki 7 farklı lokasyosyonda 105 bireyin mtDNA (977 bç) Cytb genine dayalı genetik analiz yaptıkları çalışma sonucunda toplam 18 haplotip tespit ettiklerini bildirmiştir. Tespit ettikleri haplotiplerin, Avrupa kıtasının Akdeniz kıyı bölgelerinde yaşayan ve yakın bölgelerdekinden farklı ve özgün olduklarını belirlemişlerdir. Örnekleme yapılan lokaliteler için haplotip çeşitliliği (h); en düşük $0,590 \pm 0,0802$ (İstanbul) ile en yüksek $0,914 \pm 0,1156$ (Adana) değerleri arasında değiştiğini ve ortalama $0,774 \pm 0,0120$ olduğunu belirlemişlerdir. Yaptıkları çalışmada ayrıca türler nükleotid pozisyonlarının 19'u değişken (% 1,9) ve 16'sının (% 1,6) parsimonik bilgi verici olduğu belirlemişlerdir.

Kuzeydoğu Akdeniz'de örneklenen *Dicentrarchus labrax* popülasyonlarının genetik yapısı tespiti amacıyla 5 istasyondan toplam 305 örnekleme yapmış ve 12 mikrosatlit bölgesi

analiz etmişlerdir. Mikrosatellit DNA bölgesinde toplam 184 allel tespit etmiş ve her lokusta 18.2 allel oranı olduğunu bildirmişlerdir (Bodur, Cagatay ve Tsigenopoulos 2017).

Capoeta T. popülasyonlarında mtDNA ile genetik varyasyonun belirlenmesine yönelik Adıyaman, Birecik ve Bismil bölgelerinde kapsayan yüksek lisans tez çalışmasında; Dört popülasyondan 47 örnek alınarak altı değişken bölge ve yedi haplotip tespit edilmiştir. Ortalama haplotip (h) 0,6420 olduğunu bildirmişlerdir (Ekşi ve Parmaksız, 2017).

Dentex dentex türüne ait örneklerden elde edilen veriler bize kültür ortamında yetiştirilen (I. istasyon Karaburun) örneklerin doğadan avcılık yöntemiyle elde edilen örnekleri arasında haplotip çeşitliliğinin aralarında 0,030-0,040 arasında bir fark görülmekte olup, bu fark COI gen bölgesi açısından önemli bir fark olduğu söylenemez. H1 haplotip en çok bireyin bulunduğu haplotip olması atasal haplotip olduğunun göstergesidir. Bununla birlikte H1 haplotip içinde sadece I-C (Karaburun kültür) istasyonundan 1 bireyin bulunduğu gözlemlenmiştir. Elde edilen tür içi ortalama genetik uzaklık değerlerinin tamamı, Hebert ve diğ., (2009) tarafından tür içi genetik varyasyon sınırı olarak kabul edilen %3 seviyesinin üstünde bulunmuştur.

5.5. Nükleotit Çeşitliliğinin Değerlendirilmesi

Sinarit popülasyonunda nükleotid çeşitlilik (π) verilerine bakıldığında ortalama nükleotid çeşitliliği: 0,004423-olarak belirlenmiştir. En yüksek değer I-C (Karaburun kültür) $\pi= 0,00967(+0,00122)$ ve en düşük değer ise $\pi= 0,00140 (+0,00074)$ ile I-W (Karaburun doğal) popülasyonunda gözlenmiştir.

Sivriburun Karagöz popülasyonunda nükleotid çeşitlilik (π) verilerine bakıldığında ortalama nükleotid çeşitliliği: 0,0103 olarak belirlenmiştir. En yüksek değer II-W (Çeşme doğal) $\pi= 0,01935$ ve en düşük değer ise $\pi= 0,00771$ ile III-W (Kuşadası doğal) popülasyonunda gözlenmiştir.

8 farklı lokasyondan temin etikleri 673 adet hamsi (*Engraulis encrasicolus*) karaciğerden alınan dokulara ait mitokondriyal DNA üzerinde yapmış çalışmada, 2 farklı mitotip tespit etmiş ve bunlara ait ortalama toplam nükleotid çeşitliliğini $P_i: 0,0171$ olarak bildirmişlerdir. Pelajik yumurtalara ve larvalara sahip olan deniz balıklarında olduğu gibi hamsi popülasyonlarında da coğrafi popülasyonlar arasındaki belirgin genetik

farklılaşmasının yaygın olmadığını gözlemlemişlerdir. Mitotiplerin iki bölüme ayrıldığını ve bu bölümün heterojen coğrafi dağılımının olağan dışı olduğuna değinmişlerdir (Magoulas ve diğ., 1996).

Alaska, Kaliforniya ve Japonya’da toplam 71 tür kayabalığı (*Sebastes spp.*) örneklerinin mtDNA ND3/ND4 ve 12S/16S bölgesinde üzerinde yapılan çalışmada, türler arasında 0,0024 nükleotid çeşitlilik bildirilmiştir (Gharret, Gray ve Heifetz, 2001).

Akdenizde yaşayan çizgili kırmızı kefal (*Mullus surmuletus*) ve kırmızı kefal (*Mullus barbatus*) türlerine ait 6 farklı popülasyonlarının genetik farklılıklarının belirlenmesi amacıyla herbir türe ait örnekler mtDNA’nın (kontrol bölgesi, COI ve 12S–16S ribosomal RNA) 3 segmenti yükseltmişlerdir. Çalışma sonucu, iki tür için nükleotid çeşitliliğinin sırasıyla *M. Surmuletus* için 0,545 ve *M. barbatus* için 0,500 olduğunu, popülasyonlar içinde ve arasında eşit olarak dağıldığını bildirilmişlerdir. Bununla birlikte, intrapopulasyon ve interpopülasyon genetik yapılanmaları, *M. surbulatus* ‘un *M. barbatus*’a göre yüksek (ortalama intrapopulasyon nükleotid çeşitliliğinin % 1,88 - % 0,46; ortalama interpopülasyon içerisindeki nükleotid çeşitliliğinin % 1,94 - % 0,47; net interpopülasyon farklılığı % 0,055 - % 0,002) olduğunu belirtmişlerdir (Mamuris ve diğ., 2001).

Yunanistan’ın Ionia denizinde bulunan Mesolongi Laguna bölgesinden temin ettikleri Kefal balığı (*Mugilidae* ailesi) ailesinin 5 türüne (*Mugil cephalus*, *Chelon labrosus*, *Liza aurata*, *Liza ramada* ve *Liza saliens*) ait 20’şer örnekle, genetik farklılık ve filogenetik ilişkiler belirlemeyi hedefledikleri çalışmışlardır. Çalışmada mtDNA bölgesi 12s rRNA, 16s rRNA ve COI bölgesi kullanmışlar, türlerin nükleotid çeşitliliğinin ise *L.aurata* % 0,08, *L. ramada* % 0,06 ve diğer üç türün ise % 0,00 olarak bildirmişlerdir. Elde edilen sonuçlar göz gönünde bulundurmuşlar ve son kümelenme Liza cinsinin monofiletik kökenli olduğu ve aydınlatılması gerektiğine değinmişlerdir (Papasotiropoulos ve diğ., 2002).

İstavrit (*Trachurus*) cinsine ait 3 Avrupa türün (*T. trachurus*, *T. mediterraneus*, ve *T. picturatus*) mtDNA’nın cytb ve 16s rRNA hedeflenerek genetik sınıflandırma ve filogeni araştırıldığı çalışma sonucu, türlere ait nükleotid çeşitliliği *T. picturatus* (ortalama % 0,475 ve % 0,556), *T. trachurus* (% 0,134 ve % 0,134) ve *T. mediterraneus* (% 0,114 ve % 0,114) olduğunu bildirmişlerdir (Karaiskou ve diğ., 2003).

Avrupa’da bulunan iki farklı tirs (*Alosa alosa* ve *Alosa fallax*) türüne ait popülasyonları arasındaki evrimsel ilişki araştırmışlardır. Araştırmada kullanılan tirs türlerine ait 70 yetişkin örneklerin mtDNA üzerindeki 448 bp uzunluğundaki Cytb bölgesi hedef alınmış, *A. fallax* türüne ait nükleotid çeşitliliği $Pi: 0,0045$ ve *A. alosa* türüne ait nükleotid çeşitliliği $Pi:0,0009$ ve paylaşılan haplotipler göz ardı bırakıldığında ortalama nükleotid çeşitliliği $Pi:0,0021$ olduğunu bildirmişlerdir (Alexandrino ve diğ., 2006).

Ülkemizdeki Tirsilerin moleküler sistematigi üzerine yapılan doktora tezi çalışmasında, türler içerisinde mtDNA’nın ND 5/6 bölgesinin nükleotid çeşitliliği incelemiş, *A. pontica* (0,006325), *A. tanaica* (0,006526) ve *A. fallax nilotica* (0,006147) yakın sonuçlar olduğu ancak *A. meaotica* (0,007667) diğerlerinden farklı olarak yüksek sonuç gösterdiğini bildirmiştir. Türler içerisinde ortalama nükleotid çeşitliliğinin 0,005331 olarak saptamıştır (Ergüden, 2007).

Türkiye’deki alabalıkların (*S. trutta L.*) moleküler filogenisi konulu doktora tezi çalışmasında 34 farklı bölgeden toplam 242 örnekle yaptıkları analiz sonucunda nükleotid çeşitliliğinin $Pi: 0,07786$ olarak bildirmiştir (Özen. N., 2013).

K2P yöntemine göre hesaplanan türün kendi içinden genetik mesafe değerlerine incelenmiş; balıklarda *Diplodus annularis* türünde en yüksek tür içi farklılık %2.71, eklemli ayaklılar ailesinde *Cancer pagurus*’ta %2,65 ve yumuşakçalar ailesinde *Octopus vulgaris*’te %2.06 olarak hesaplamıştır (Keskin ve Atar 2013).

Türkiye’de *Capoeta* cinsine ait tür ve alttürlerin moleküler sistematik yöntemler kullanılarak revizyonun yapıldığı doktora tez çalışmasında; toplam nükleotid çeşitliliği (π); 0,03614 olup standart sapması 0,00188 olarak belirlediklerini, *Capoeta* cinsine ait türler arasında en yüksek nükleotid çeşitlilik (π) *C. bergamae* (0,01331) popülasyonunda; en düşük çeşitlilik değeri ise 0,00154 olup, *C.pestai* ve *C.caelestis* popülasyonlarında bulduklarını bildirmişlerdir (Özdemir, 2013).

Capoeta T. popülasyonlarında mtDNA ile genetik varyasyonun belirlenmesine yönelik Adıyaman, Birecik ve Bismil bölgelerinde kapsayan yüksek lisans tez çalışmasında; Dört popülasyondan 47 örnek alınarak altı değişken bölge ve yedi haplotip tespit edilmiştir. Ortalama nükleotid çeşitliliği (π) sırasıyla 0,00138 olduğunu bildirmişlerdir (Ekşi ve Parmaksız, 2017).

Dentex dentex türüne ait örnekler üzerinden yapılan çalışma sonucu, Güllük-Doğal en düşük, Karaburun Kültür en yüksek nükleotid çeşitlilik bulunmuştur. Güllük-Doğal istasyonu aynı zamanda hem haplotip sayısı hem de gen çeşitliliği açısından da en düşük değerlere sahip olduğu tespit edilmiştir. Nükleotid çeşitliliğin az olması genetik farklılığın az olması ve olarak korunmuş olduğunu göstermektedir. Nükleotid çeşitliliği fazla olması genetik farklılığın fazla olması anlamına gelmektedir.

Diplodus puntazzo türüne ait örnekler üzerinden yapılan çalışma sonucu Çeşme Doğal ve Karaburun Kültür istasyonları ait bireylerin nükleotid çeşitliliği değerlendirilmiş ve istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur. Bu istasyon aynı zamanda hem haplotip sayısı hem de gen çeşitliliği açısından da en düşük değerlere sahip olduğu tespit edilmiştir. Nükleotid çeşitliliğin az olması genetik olarak korunmuş olduğunu göstermektedir. Nükleotid çeşitliliğin az olması genetik farklılığın az olması ve olarak korunmuş olduğunu göstermektedir. Nükleotid çeşitliliği fazla olması genetik farklılığın fazla olması anlamına gelmektedir.

5.6. Nükleotit Yer Değişim Oranlarının Değerlendirilmesi

Çalışmada kullanılan örneklerden elde edilen nükleotid dizileri Kimura 2P modeli kullanılarak nükleotid yer değişim oranları hesaplanmıştır.

Sinarit türünde incelenen toplam nükleotid sayısı 477 bç'tir. Sırayla T: %30,7; C: %28,6; A: %23,9; G: %16,8 olarak tespit edilmiştir. Sinarit örnekleri için toplam transisyon/transversiyon eğilimi (bias) **R= 0,70** olarak hesaplanmıştır.

Sivriburun karagöz türünde incelenen toplam nükleotid sayısı 465 bç'tir. Sırayla T: %31,6; C: %27,3; A: %25,0; G: %16,1 olarak tespit edilmiştir. Sivriburun karagöz örnekleri için toplam transisyon/transversiyon eğilimi (bias) **R= 1,419** olarak hesaplanmıştır. Değerlerin kabul edilir sınırlar içerisinde olduğu görülmektedir.

Ayrıca transisyonel ve transversiyonel yer değişime oranları Timura ve Kimura 2P yöntemleri kullanılarak hesaplanmıştır.

Türkiye’de ki mullidae türleri filogenetik yakınlıklarının tespitine yönelik yapılan yüksek lisans tez çalışmasında, örneklerin ortalama nükleotid kompozisyonu T: % 28,5; C: %26,5; A: %27,4; G: %17,6 olduğunu tespit etmiştir (Keskin, 2007).

Türkiye’de ki alabalıkların moleküler filogenisi konulu doktora tezi sonuçlarına göre, baz kompozisyonu A: %25,54; C: %27,36; G: 18,52; t: %28,58 olarak açıklamışlardır (Özen N, 2013)

Şen (2021) tarafından *Holothuria tubulosa*, *Holothuria polii* ve *Holothuria mammata* türleri arasında yapılan yüksek lisans tez analizi sonuçlarına göre baz kompozisyonları A: %27,98; C: %26,43; G: %18,93 ve T: %26,64 olarak belirlenmiştir. Çalışılan popülasyonlar için COI gen bölgesinin Adenin, Sitozin ve Timin bakımından zengin, Guanin bakımından ise fakir olduğu tespit edilmiştir. A+T oranının %54,62 olduğu gözlenmiştir. Ti/Tv oranı 2,60 olarak hesaplanmıştır.

Yaptığımız çalışma sonunda her iki türde G bazında oranın düşük olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuç Türkiye’de yapılan çalışmalar ile benzerlik taşımaktadır. Neden Guanin bazının azaldığı konusunda daha kapsamlı bir çalışma yapılması gerekmektedir.

5.7. İstasyonlar arası Genetik Mesafe Sonuçların Değerlendirilmesi

Çalışmadaki istasyonlar arasındaki genetik mesafe matriksi, Nei tarafından bulunan genetik mesafe ölçüm metoduna uygun olarak hesaplanmıştır.

Dentex dentex türüne ait istasyonlardan I-C (Karaburun Kültür) ile II-W (Çeşme Doğal) arasında genetik uzaklık -0,00045 olarak tespit edilmiştir. Ayrıca I-W (Karaburun Doğal) ile VI-W (Çanakkale Doğal) -0,00008, III-W (Kuşadası doğal) ile VI-W (Çanakkale Doğal) ve VII-W (Antalya Doğal) sırayla -0,00028 ve -0,00004 olarak hesaplanmıştır. Bu durum istasyonlarda bulunan popülasyonların benzerlik oranı yüksek olmasından kaynaklanabildiğinin göstergesidir.

Diplodus puntazzo türüne ait istasyonlardan I-W (Karaburun Doğal) ile III-W (Kuşadası doğal), IV-W (Güllük doğal) ve V-W (Bodrum doğal) sırayla genetik uzaklık -0,00004; -0,00076 ve -0,00019 tespit edilmiştir. IV-W (Güllük doğal) ile V-W (Bodrum doğal) ve VI-W (Çanakkale doğal) arasında genetik uzaklığın sırayla -0,00042 ve -0,00020 olduğu

hesaplandı. Ayrıca V-W (Bodrum doğal) ile VI-W (Çanakkale doğal) arasında genetik uzaklığın -0,00020 olduğu belirlendi.

Alaska’da dağılım gösteren zengin bir tür olan kayabalıklarının (*Sebastes spp.*) ile Japonya’dan temin ettikleri kayabalığı (*Helicolenus hilgendorfi*) Mitokondriyal ND-3/ND-4 ve 12S/16S rRNA bölgelerini kullanılarak, 15 kayabalığı türü arasındaki genetik farklılığı ve kimliklemeyi hedeflemişlerdir. Çalışma sonucu, türler arası ortalama genetik uzaklığın oranı 0,0249 olarak bildirmişlerdir. Buna karşılık, *Sebastes* ile diğer iki *scorpaenid* türü olan *Helicolenus hilgendorfi* ve *Sebastolobus alascanus* arasındaki nükleotid farklılıkları sırasıyla 0,0805 ve 0,1073 olduğunu tespit etmişlerdir (Gharret, Gray ve Heifetz, 2001).

Akdeniz’de yaşayan çizgili kırmızı kefal (*Mullus surmuletus*) ve kırmızı kefal (*Mullus barbatus*) türlerine ait 6 farklı popülasyonlarının genetik farklılıklarının belirlenmesi amacıyla her bir türe ait örnekler mtDNA’nın (kontrol bölgesi, COI ve 12S–16S ribosomal RNA) hedeflemişlerdir. Çalışma sonucu, *M. Surmuletus* ile *M. barbatus* popülasyonlar arası genetik uzaklığın sırayla 0,00055; 0,00002 ve haplotipler arası nükleotid farklılığın sırayla 0,02000; 0,00870 olduğunu tespit etmişlerdir (Mamuris ve diğ., 2001).

Yunanistan’ın Ionia denizinde bulunan Mesolongi Laguna bölgesinden temin ettikleri Kefal balığı (*Mugilidae* ailesi) ailesinin 5 türüne (*Mugil cephalus*, *Chelon labrosus*, *Liza aurata*, *Liza ramada* ve *Liza saliens*) mtDNA bölgesi 12s rRNA, 16s rRNA ve COI bölgelerinin kullanıldığı çalışma sonucu, Yedi haplotip arasında tahmin edilen nükleotid dizisi farklılığı; 0,32 ile % 15.12 arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Ayrıca incelenen beş tür arasından eşzamanlı dizi farklılık yaklaşık olarak % 1,61’den (*C. labrosus* ve *L. saliens*) % 15.12’ ye (*M. cephalus* ve *L. saliens*) değişim gösterdiğine değinmişlerdir (Papasotiropoulos ve diğ., 2002).

İstavrit (*Trachurus*) cinsine ait 3 Avrupa türünün (*T. trachurus*, *T. mediterraneus*, ve *T. picturatus*) mtDNA’nın cytb ve 16s rRNA hedeflenerek genetik sınıflandırma ve filogeni araştırıldığı çalışma sonucu, sitokrom b haplotipler arasındaki çift yönlü sekans farklılığı en düşük % 0,42, en yüksek %1,70 (*T. picturatus*) olduğunu; türler arasındaki haplotip farklılığın ise en düşük %2.13 (*T. picturatus* ile *T. mediterraneus* arası), en yüksek %5.25 (*T. trachurus* ile *T. mediterraneus* arası) tespit ettiklerini bildirmişlerdir (Karaïskou ve diğ., 2003).

Ilıman koşulları seven organizma olan hamsi türüne ait 7 türü üzerinde iki kutuplu (veya antitropik) dağılımın varlığının moleküler genetik ile değerlendirildiği çalışmada dişi bireylerden aktarılan mtdna 'nın cytb bölgesini hedeflenmiştir. Çalışma sonucu; gruplar arasındaki net mtDNA sekans farklılığı d_{net} : %15 olarak saptamışlardır (Grant, 2005).

Çiftçi, 2006 'da yapmış olduğu doktora tez çalışmasında, Türkiye'de (*Salmo trutta* Linnaeus, 1758 ve *Salmo platycephalus* Behnke, 1968) farklı istasyonlardan topladığı alabalık popülasyonlarının genetik yapısını mtDNA-RFLP analiz kullanarak incelemiştir. Popülasyonların birbiri ile arasındaki genetik mesafenin de ölçüldüğü çalışmada, genetik mesafenin (fst: 0,92) olmasının önemli bir bulgu olduğu ve dişi bireylerin göçünün düşük olmasına vurgu yapmıştır. Bunun yanında, tuzlu sudan tatlı suya göç aktivitesi ve yerel topluluklar arasında genetik uzaklık (fst: 0,084) istatistik açısından farklılık oluşturmadığı ve bu durumun göç faaliyetlerinin fazla olmasının etkili olduğunu bildirmiştir.

Alosa cinsine ait 8 farklı Tirsi (*Alosa sp*) türünün 1993 ile 2004 tarihleri arasında belirlemiş oldukları farklı istasyonlardan temin ettikleri örneklerle yaptıkları moleküler filogenetik ve evrimleşme sürecinin tespitine yönelik çalışmada, *A.Alosa* ile *Pomolobus sp* arasındaki genetik mesafenin 0,060; *A.immaculata* ile *Pomolobus sp* arasındaki genetik uzaklığın 0,066 ile en düşük olduğunu bildirmişlerdir. Bununla birlikte *A. caspia* 'nın genetik olarak en uzak akrabasının 0,008 ile *A. fallax* olduğunu belirlemişlerdir. Genetik uzaklıklarının sebebi olarak ise türlerin yaşadıkları Hazar denizi ve Karadeniz arasında bağlantının olmamasından kaynaklandığına değinmişlerdir (Faria ve diğerler., 2006).

Ergüden (2007), ülkemiz denizlerindeki Tirsilerin beş farklı türüne ait 20'ser örnek kullanılarak mtDNA 'da bulunan ND5/6 gen bölgeleri üzerinde moleküler sistematik konulu yapmış olduğu doktora tez çalışmasında, türler arası en düşük genetik uzaklığın 0,000007, en yüksek 0,009599 olarak belirlemiştir.

Türkiye ihtiyafaunasında bulunan mullidae familyasındaki türlere ait filogenetik yakınlığın ortaya koymak için mtDNA Cytb bölgesi hedef alınarak çalışma yapmışlardır. Örneklerle ait genetik mesafeler incelediklerinde, *Mullus barbatus ponticus*'un, Karadeniz ve Ege istasyonlarından alınan örneklerden (*M. barbatus*) genetik uzaklığın 0,000 olduğu yani farklılığın olmadığı ortaya koymuşlardır (Keskin, 2007).

Ülkemizdeki Tirsilerin moleküler sistematigi üzerine yapılan doktora tezi çalışmasında, tirsî türleri arasındaki nükleotid farklılığının en düşük 0,000007 ve en yüksek 0,009599 arasında değiştiğini bildirmiştir (Ergüden, 2007).

Özdemir, F. (2013) yapmış olduğu doktora tezi çalışmasında, Capoetta cinsinin alttürlerinin klasik sistematik ve moleküler sistematik yöntemiyle incelemiştir. Elde ettiği sonuca göre, *C. Damascina* ile *C. umbla* bireyleri arasındaki genetik mesafenin %0,3 ile %1,1 olduğunu bildirmiştir (Özdemir, 2013).

Endonezya aşırı avlanma baskısı altında olan Orfoz balık popülasyonlarının biyoçeşitliliği MtDNA COI bölgesinin 526 baz çifti hedeflenerek dizi analizi yapmışlardır. Yapılan çalışma sonucu, (*Epinephelus areolatus*, *E. merra*, *E. fasciatus*, *E. longispinis*, *E. coioides*, *E. ongus* ve *E.coeruleopunktatus*) olmak üzere toplam yedi tür karakterize etmişlerdir. Oluşturulan filogenetik ağaçta hepsinin 7 farklı klada ait olduğu bulmuşlardır. En yakın genetik mesafenin 0,091 (%9) *E.ongus* ile *E. coeruleopunctatus* arasında; en uzak genetik mesafenin ise "*E. ongus*" ile "*E. merra*" 0,178 (18%) olarak rapor etmişlerdir (Jefri, Zamani, Subhan ve Madduppa, 2015).

Kuzeydoğu Akdeniz'de örneklenen *Dicentrarchus labrax* popülasyonlarının genetik yapısı tespiti amacıyla 5 istasyondan toplam 305 örnekleme yapmışlar ve 12 mikrosatlit bölgesi analiz etmişlerdir. Levrek türünün yoğun olduğu Ege denizindeki Ege popülasyonlarından Homa ve Doğan Bey istasyonların yakın ilişkide (fst: 0,00347 p>0,01) olduğunu bildirmişlerdir. Bununla birlikte Yumurtalık ve Doğanbey istasyonlardan toplanan örneklerde (fst: 0,01148, p>0,01) de yakın ilişki tespit etmişlerdir. Bunun nedenin ise Yumurtalık bölgesinden Doğanbey'e 2000 yılına kadar yoğun yavru transferinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Aynı zamanda 2000 yılı ile 2010 yılları arasında, Yunan Kuluçkahanelerinden Ege'de ki kuluçkahanelere yoğun yavru transferinin yapıldığı ve genetik yakınlığın bir değer sebebi olabileceğini bildirmişlerdir (Bodur ve diğ., 2017).

Capoeta T. popülasyonlarında mtDNA ile genetik varyasyonun belirlenmesine yönelik Adıyaman, Birecik ve Bismil bölgelerinde yapılan yüksek lisans tez çalışmasında; Popülasyonlar arası pairwise Fst değerleri Adıyaman-Birecik (-0,05126) ve Batman-Bismil (-0,08700) arasında negatif değer aldığını, diğerlerinde ise düşük bulmuşlardır. Bu durumun; aynı nehir üzerinde bulunan popülasyonlarda benzerlik oranı fazla olmasından kaynakladığını ifade etmişlerdir. Adıyaman ve Birecik popülasyonları Fırat nehrinde, Batman ve Bismil popülasyonları ise Dicle nehrinde yaşamaktadırlar. Bismil ile Birecik

popülasyonları arasındaki değerin (0,10547) diğerlerine oranla daha yüksek olması da farklı nehir sistemlerinde yaşadıklarından kaynaklanmakta olup bu iki popülasyon arasında bir izolasyonun olduğunu belirtmişlerdir (Ekşi ve Parmaksız, 2017).

Yapılan çalışmamızın diğer çalışmalar göz önünde bulundurulduğunda, *Dentex dentex* türüne ait I-C (Karaburun Kültür) ile II-W (Çeşme Doğal) arasında coğrafik mesafenin kısadır. Yetiştirme bölgelerinden kaçışların popülasyonlar arasında genetik yakınlığa etkisi olabileceği düşünülmektedir. *D.puntazzo* türünde ise tamamen doğal istasyonlar arasında genetik yakınlık olduğu tespit edilmiştir. Coğrafik koşulların popülasyonların göçü açısından zorlu koşullara sahip olmaması bir etken olduğu düşünülmektedir.

5.8. Filogenetik Ağaç ve Haplogrup Dağılımların Değerlendirilmesi

Çalışmayı oluşturan sinarit ve sivriburun karagöz türlerinin tür içi etkileşimlerinin ve haplotip yapılarının görsel olarak ortaya konulması amacıyla, DNA sekanslamalarıyla elde edilen verilerin neighbour joining ağacı ve minimum evolution ağaçları kimara 2 parametresi çiftler bazında veri silme (pairwise deletion) özelliği aktif edilip 1000 bootstrap yapılarak filogenetik ağaçlar oluşturulmuştur.

Dentex dentex türüne ait 53 birey ile kontrol amacıyla evrensel gen havuzundan alınan levrek türüne ait (JQ623929.2) dizi ile DNA dizileme sonuçlarını içeren neighbour joining ağacı 7 gruptan oluşmaktadır. En büyük A Sınıfı, her biri 17 (Alt Grup A1) ve 27 (Alt Grup A2) içeren iki alt grup altında 44 kişiyi içermektedir. Grup B ve D, sırasıyla dört ve iki birey içermektedir. Diğer gruplar ise (C, E, F ve G) yalnızca bir birey bulunmaktadır. Alt grup A2, tüm lokasyonlardan bireyler içermesine rağmen, Alt grup A1, Karaburun kültürü I-C'yi içermemektedir, dolayısıyla A1, doğal (W) grupların en iyi bir temsilcisidir (Şekil 4.15).

Diplodus puntazzo türüne ait 58 birey ile kontrol amacıyla evrensel gen havuzundan alınan levrek türüne ait (KP975556.1) dizi ile DNA dizileme sonuçlarını içeren neighbour joining ağacı 4 gruptan oluşmaktadır. En büyük A Sınıfı, her biri 24 (Alt Grup A1) ve 30 (Alt Grup A2) içeren iki alt grup altında 54 kişiyi içermektedir. Grup B, C ve D, sırasıyla iki ve bir birey içermektedir. Alt grup A1 ve alt grup A2, tüm lokasyonlardan bireyler içermektedir, dolayısıyla bu iki grupta I-C (Karaburun kültür) ün yakın akrabalık bağı olduğu görülmektedir (Şekil 4.15).

Filogenetik ağaçlar; birbirine yakın nükleotid dizilimine sahip bireylerin, daha farklı nükleotid dizilimine sahip bireylere oranla, daha yakın zamana ait ortak bir ataya sahip olması prensibine dayanmaktadır. Filogenetik ağaçların unsurlarından birisi olan yatay çizgiler nükleotid farklılığı yüzdesel olarak ortaya koymaktadır. Dikine olan çizgiler ise ağacın oluşması dışında bir işlevi yoktur (Freeman ve Herron, 2007).

Türkiye ihtiyafaunasında bulunan mullidae familyasındaki türlere ait filogenetik yakınlığın ortaya koymak için mtDNA Cytb bölgesi hedef alınarak çalışma yapmışlardır. Örnekleme yapılan istasyonların tamamında *M.barbaratus* örneklerinin tümü aynı grupta yer aldığı halde alt tür olan *M. barbatus ponticus*'un da bu grup içerisinde olduğunu tespit etmişlerdir. *M. surmelatus* türünün de istasyon farkı gözetmeksizin tamamının aralarında grup oluşturduklarını bildirmişlerdir. NJ, ME ve UPGMA metotları kullanılan ağaç çizimlerinde, tür içini gösteren bootstrap sonuçları hariç, neredeyse birbirinin benzeri olduğu beyan etmişlerdir. Ancak Akdeniz'den toplanan örneklerin diğerlerinden farklı olduğunu bildirilmiştir. Bootstrap %99 ve üzeri bootstrap değerinin ortaya çıkan ağaçların doğruluğunu ortaya koyduğunu bildirmiştir (Keskin, 2007).

Lakra ve diğ., 2011 'de Hint denizi balıklarının DNA barkodlama çalışmasında, Hint deniz balıklarından 7 takım (*Perciformes*, *Clupeiformes*, *Mugiliformes*, *Siluriformes*, *Pleuronectiformes*, *Beloniformes* ve *Aulopiformes*) ait 115 tür ve *Carangidler*, *Clupeidler*, *Scombridler*, *Orfoz*, *Sciaenidler*, *Silverbellies*, *Mullids*, *Polynemids* ve *Siluridler* olmak üzere 37 familya DNA barkodlarının oluşturulması mtDNA COI bölgesinin 655 bç 'lik bölümünü incelemişlerdir. Aile içindeki türler arasında, bireylerin ortalama K2P mesafesinin % 9,91 ve cinslerin içindeki türlerin ortalama K2P mesafesinin % 16 olduğunu bildirmiştir. Varyasyon türdeş bireyler arasında daha fazla olduğunu bildirmiştir. Oluşturulan NJ ağaçlarının türler arasında özdeş filogenetik ilişkiyi düğümlerin %90-%100 doğrulukla bağlanmasıyla ortaya koymuşlardır. Barkod çalışmaları yalnızca türlerin sınırlarını belirlemeye çalışsa da COI sekans verileri filogenetik ilişkiyi açık şekilde ortaya koyduğunu teyit etmişlerdir. Çalışma sonucu türdeş türlerin NJ ağaçlarında her zaman bir arada kümелendiğini bildirilmişlerdir.

Sarawak, Sabah ve Malezya Yarımadasında bulunan Cyprinidae familyasına ait 23 tatlı su balığı türü arasındaki filogenetik ilişkinin mtDNA Cytb gen bölgesi incelenmiştir. Elde ettikleri sonuçlarda taksonomide bazı cinslerin birbirinden ayrıldığı ve yeni gruplar oluştuğunu bildirmişlerdir. Elde ettikleri veriler ışığında oluşturdukları NJ ve MP

topolojilerinde; Hampala cinsinde 2 önemli farklılık bildirmişlerdir. İlki, *H. macrolepidota* 'nın filogenetikaçından Borneo endemik türünden farklı en eski soydan bir taksonda olduğudur. İkincisi ise, Farklı coğrafik dağılımı olan iki monofiletik *H. Bimaculata* haplotipi tespit etmişlerdir. Başka bir deyişle, soylarının farklı mtDNA dan geldiğine vurgu yapmışlardır (Esa ve diğerleri, 2012).

Türkiye’de su ürünleri sektöründe ekonomik açıdan önemli olan 114 sucul türün DNA barkotlamasının yapıldığı çalışmada, NJ metot uygulanarak oluşturulan ağaçlar K2P bootstrap modeli kullanılarak oluşturmuşlardır. Türler arasındaki düğümlerin tamamının %100 olduğunu ve bootstrap ortalamasının %61,89 olarak bildirmişlerdir. Haplotipler arasında düğümlerdeki ayrımların bootstrap ortalaması %58,41 olarak bildirmişlerdir. Taksonomik açıdan türlerin açık bir şekilde ayrıldığı ve bootstrap ayrımlarının filogenetik ilişkilerin başarılı şekilde orta koymuşlardır (Keskin, 2013)

Türkiye’de *Capoeta* cinsine ait tür ve alttürlerin moleküler sistematik yöntemler kullanılarak revizyonun yapıldı doktora tez çalışmasında; *C. umbla* ve *C. damascina* türleri arasındaki elde edilen Nm verisinin, bu iki türün birbiriyle gen akışının çok uzak olmayan bir zaman dilimine kadar sürmesinin NJ ağacında iki türün birlikte dallanmaya neden olduğunu bildirmiştir. COI hedef bölgesinin ortalama % 0,7 oranındaki düşük farklılaşmanın sebebinin coğrafik varyasyondan kaynakladığını tespit etmişlerdir (Özdemir, 2013).

Capoeta trutta popülasyonlarında mtDNA ile genetik varyasyonun belirlenmesine yönelik Adıyaman, Birecik ve Bismil bölgelerinde kapsayan yüksek lisans tez çalışmasında; Dört popülasyondan 47 örneğe ait mtDNA analizi verileri kullanılmış ve genetik uzak verileri görsel açıdan anlaşılır olması için Komşu Birleştirme Ağacı (Neighbour Joining Tree) yönetimi ile filogenetik ağaçlar oluşturmuşlardır. Yaptıkları analizler sonucu çizilen NJ ağacında toplam 7 haplotip belirlediklerini ve bu haplotiplerin merkezinde diğer haplotiplerle bağlantılı H3 haplotipine ait bireylerin olduğunu bildirmiştir. H3 haplotipinin atasal bir haplotip olabileceğinden bahsetmiştir (Ekşi ve Parmaksız, 2017).

Tür içi genetik uzaklık ve coğrafik mesafe ile bağlantısı ortaya koymak için mtDNA Cytb analiz sonuçları ile Medyan ağı oluşturulmuştur. Network ağında daireler haplotipleri oluştururken, renk dağılımı örnekleme yapılan istasyonları ifade etmektedir. Ayrıca network ağındaki dairelerin büyüklükleri haplotipin frekans değerleri ile doğru orantılıdır.

Çalışmada kullanılan Sinarit türün ait örneklerle ait elde edilen haplotiplerden elde edilen Median joining network ağı incelendiğinde haplotiplerin H1 haplotipi etrafında dağılım gösterdiği görülmektedir. Merkezde bulunan H1 haplotipi tüm örneklerden bireyleri içermektedir. Araştırmanın temel konusu olan I-C (Karaburun_kültür) örneklerini de bünyesinde bulundurmaktadır. Bununla birlikte H1 haplotipi bünyesinde tüm istasyonlardan örnekleri ihtiva etmektedir. Sadece I-C (Karaburun_kültür) örneklerinin bulunduğu haplotipler H4 ve H5 ile H1 (tüm istasyonlar); H6 ile H15 (III-W istasyonu); H7, H8, H10, H11 ile H12 (II-W istasyonu) ve H22 (IV-W istasyonu) genetik mesafe olarak yakın olduğunu göstermektedir.

Çalışmada kullanılan Sivriburun karagöz türün ait örneklerle ait elde edilen haplotiplerden elde edilen Median joining network ağı oluşturulmuştur. Sinarit türünden farklı olarak H4, H9, H10, H28, H23 haplotiplerin büyüklük ve bulundurduğu istasyonlar olarak diğerlerinden farklılık göstermektedir. Araştırmanın temel konusu olan I-C (Karaburun_kültür) örneklerini H4 haplotipinin I-C (Karaburun kültür istasyonu), II-W (Çeşme Doğal) ve V-W (bodrum doğal) genetik yakınlığa sahip olduğu görülmektedir. Diğer I-C (Karaburun doğal istasyonu) içeren haplotiplerin merkezden uzak ancak birçok haplotipler bağlantılı olduğu görülmektedir.

Popülasyonlar arasında genetik yakınlık veya uzaklık demografik durumla ilişkili olduğu düşünülmektedir. Okyanus ve denizel ortamlarda meydana gelen güçlü atmosferik olaylar ve okyanusta meydana gelen kuvvetli doğa olayların popülasyonları ekosistemleri üzerinde etkilidir (Cury ve diğerleri, 2000).

Küçük pelajik balık türlerinin popülasyon büyüklüğü ve biyolojik rejimindeki değişiklikler El-Nino döngüsü, Pasifik-Decadal Salınımı ve daha ötesi bin yıllık ölçeklerde doğa olayları gibi farklı zamanlarda okyanus üretkenliğini etkileyen olaylarla ilişkilidir (Chavez, Ryan, Lluch-Cota ve Niquen, 2003).

Kuzeydoğu Atlantik ve Akdeniz'deki yaptıkları çalışmada Sparidae ailesine ait beş deniz teleost türlerinin nükleer ve mitokondriyal lokuslarındaki genetik varyasyonları incelemiştir. MtDNA dizi verisiyle oluşturduğu medyan ağlarında, haplotipler daireler ile temsil edildiğini ve dairelerin büyüklükleri frekanslarla orantılı olduğunu bildirmişlerdir. Haplotip eğer birden fazla popülasyonu içeriyorsa farklı renk tonları ile sergilendiği (siyah Portekiz; koyu gri, İspanya; açık gri İtalya ve beyaz ise Yunanistan) bildirmişlerdir. *D.dentex* elde ettikleri medyan ağında iki deniz havzasından alınan örnekler arasında

filocoğrafik ayırım olduğunu, Atlantik örneklerinin A1 no'lu dairede toplandığını, M dairesinde Akdeniz örneklerinin tümünün toplandığını bildirmiştir. Hem A1'den hem de M dairesinden büyük farklılık gösteren A2 (üç örnekli) olarak tanımlanan küçük bir sekans grubu tespit etmişlerdir. Bu iki genetik gruba bölünmesi, türün Atlantik ve Akdeniz mtDNA haplotipler arasında karşılıklı monofili olduğunu bildirmişlerdir (Bargelloni ve diğ., 2003).

Akdeniz'den doğu Atlantik kıyılarına kadar geniş bir dağılım gösteren benzer ekolojik davranış sergileyen ve evrimsel süreçte yakın ilişkili olan iki türe odaklanmışlardır: *Diplodus sargus* ve *Diplodus puntazzo*. Her iki türden toplanan örneklerde mtDNA de allosimiler incelemişlerdir. *D.puntazzo* da 111 haplotip ve *D.sargus*'ta 28 haplotip tespit etmişlerdir. *D.puntazzo* türünde Atlantik ve Akdeniz örnekleri arasında belirgin derece genetik farklılık tespit ettiklerini, *D.sargus* türünde çok az tür içi farklılık olduğunu belirtmişlerdir. Oluşturdukları medyan ağında, haplotip eğer birden fazla popülasyonu içeriyorsa farklı renk tonları ile sergilendiği (siyah Portekiz; koyu gri İspanya; açık gri İtalya ve beyaz ise Yunanistan) bildirmişlerdir. Elde edilen medyan ağı merkez toplanan daire etrafını oluşturan kollar ile yıldızı anımsatmaktadır. Örneklerin büyük bir çoğunluğu, merkezi tek bir haplotipi gösteren A dairesinde, yüksek frekansta toplandığını bildirmişlerdir. *D.puntazzo* 'ya ait medyan ağında 8-14 farklı kolla ayrılan 4 haplotip grubundan bahsettikleri ve bunların karmaşık modeller oluşturmalarının temelinde "derin" evrimsel geçmiş olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca, bireysel haplotipler coğrafik köken olarak ele aldıklarında, üç haplogrubun dört coğrafik bölgeden örnekler içerirken, dördüncü haplogrupta sadece Portekiz örneği içerdiğini bildirmişlerdir (Bargelloni ve diğ., 2005)

Güney Pasifik Okyanusu'nda yayılış gösteren Carangidae familyasına ait Şili uskumru (*Trachurus murphyi*) örneklerinden moleküler belirteçler (mitokondriyal DNA dizileri ve mikrosatellit) kullanarak popülasyon yapısını filogenetik açıdan incelemişlerdir. Elde ettikleri veriler ile oluşturdukları 20 haplotip gruptan oluşan medyan ağında, merkezde bulunan daire H_1 haplotipini temsil ettiğini ve tüm bölgelerden örnekler içerdiğini bildirilmiştir. Diğer bir büyük daire olan H_8 haplotipini içerdiği frekans sayısı daha az olmasına rağmen tüm bölgelerden örnek bulundurmasıdır. H_1 haplotip ile H_8 arasında tek kol ile genetik yakın bağ olduğunu sergilemişlerdir. Mitokondriyal DNA, Pasifik Okyanusu'ndaki *T.murphyi* popülasyonlarında farklı genetik bir yapı saptamadıklarını ve diğer küçük pelajik türlere kıyasla çok düşük haplotip çeşitliliği ve kısa bir soy geçmişi

tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Bu durum tür için önemli bir demografik varyasyonu yansıtabileceğine değinmişlerdir (Cárdenas ve diğerleri, 2009).

Fırat ve Dicle nehir ekosistemi yaşam alan olan ve ekonomik açıdan öneme sahip türlerden *Barbus grypus* mtDNA COI bölgesi incelenerek popülasyona ait genetik çeşitliliği incelemiştir. 36 örnekten elde ettikleri veriler ışığında, oluşturdukları Median-joining network ağında, 3 haplotip belirlemiştir. Bu ağın merkezinde H1 haplotipin bulunduğu frekans değeri olarak en büyük olduğunu ve diğer iki haplotipin H1 ile bağlantılı olduğuna değinmişlerdir (Parmaksız, Şeker, Aslan ve Oymak, 2017).

Akdeniz (17 istasyon), Korsika (5 istasyon) ve Atlantik (1 istasyon)'daki *D.dentex* popülasyonlarının genetik yapılarındaki kritik eksik bilgilerin tamamlanması amacıyla mtDNA COI ve D-loop bölgeleri hedef alınarak yaptıkları çalışmada hatalı tanımlanan halka açık dizilerin birleştirildiğini bildirmişlerdir. Çalışmada 19 lokasyondan 107 örnek üzerinde COI bölgesi sekansladıklarını, tüm verilerin COI median birleştirme ağı elde ettiler. Elde ettikleri medyan ağında 51 farklı haplotip oluştuğunu ve *D.dentex* tüm COI dizilerinin ve çalışmaya ait 17 lokasyonun (faro lokasyonu dışında) tek bir mavi dairede toplandığını bildirmişlerdir. *D.dentex* 'in tür içi genetik uzaklığın (%2'den düşük) olduğunu bildirmiştir (Viret ve diğerleri, 2018).

Yapılan çalışmamız, diğer çalışmalara benzer bir çerçevede olduğu görülmektedir. Özellikle sinarit türünde merkezde bulunan haplogrup dikkat çekmektedir. Bu grupta bulunan örneklerin yaklaşık her istasyondan ve özellikle I-C (Karaburun kültür) istasyonun genetik olarak yakınlık göstermiş olması önemli bir bulgudur. Sivriburun karagöz türünde tüm istasyonlar ile düşük veya yüksek frekanslı bir genetik yakınlık olduğu görülmüştür. İncelenen iki tür içinde NJ ağaçlarının dallanmaları ve alt gruplar açısından kültür balığı istasyonu örneklerinin genetik yakınlık içinde olduğu görülmektedir.

5.9. Nötralite Testlerinin Değerlendirilmesi

Yaptığımız çalışmada *Dentex dentex* türüne ait veriler ile Tajima'nın D değeri hesaplanmış ve II-W popülasyonunda pozitif (0,498), diğer popülasyonlarda negatif değere sahipken, toplam negatif ve istatistiksel olarak anlamsız bulundu ($p>0,05$). Fu'nun Fs testlerinde, IV-W popülasyonları pozitif değerlere sahipti (0,090), diğer popülasyonlar için değerler

negatif ve toplam değerler negatif olduğu ve bu nedenle istatistiksel olarak çoğunlukla anlamsız bulundu ($p>0,05$). Bu nedenle, bu araştırmada incelenen herhangi bir alel için nadiren seçici baskı vardır. Popülasyonlardaki negatif değerler popülasyonun büyümesi ile ilişkili olarak kabul edilirken, II-W popülasyonunda olduğu gibi pozitif değerler popülasyon büyüklüğündeki azalmadan kaynaklandığı düşünülmektedir.

Yaptığımız çalışmada *Diplodus puntazzo* türüne ait veriler ile Tajima'nın D değeri hesaplanmış ve I-W (Karaburun doğal; 0,3271), III-W (Kuşadası doğal; 0,05382) ve IV-W (Güllük doğal; 0,05905) popülasyonlarında pozitif (anlamlı) iken diğer popülasyonlarda negatif değere sahiptir. İstasyonların toplam değeri negatif olduğu için istatistiksel olarak anlamsız bulundu ($p>0,05$). Fu'nun Fs testlerinde, tüm popülasyonların değerleri negatif ve toplam değerler negatif olduğu ve bu nedenle istatistiksel olarak çoğunlukla anlamsız bulundu ($p>0,05$).

Elde edilen negatif değerler bize popülasyonunda tarihsel süreç içinde ani nüfus artışı gerçekleştirdiğini veya seçilime uğrayan bir allelin var olduğunu göstermektedir (Fu,1997).

Tajima's (1989) ve Fu'Fs (1997) değerlerinin farklı sonuçlar çıkmasındaki temel sebebi, iki nötralite testinin hesaplama temelindeki kullanmış olduğu formülasyon parametrelerinden kaynaklanmaktadır. Tajima's D hesaplamada odak noktasını nükleotid farklılık iken, Fu's Fs ise hesaplamada haplotip çeşitliliğini odak noktası olarak kullanmaktadır (Ramírez-Soriano, Ramos, Onsins, Rozas, Calafell ve Navarro, 2008)

Kuzeydoğu Atlantik ve Akdeniz'deki yaptıkları çalışmada Sparidae ailesine ait beş deniz teleost türlerinin nükleer ve mitokondriyal lokuslarındaki genetik varyasyonları inceledikleri çalışmada, elde ettikleri nötralite test sonuçlarına göre; *D.sargus* popülasyonun geçmişte ciddi bir darboğazdan geçtiğini ve bu durumu takiben bir genişleme süreci geçirdiğini tüm örneklerin negatif değer tespit edilmesiyle değerlendirmişlerdir (Bargelloni ve diğ.,2003).

Nötralite testlerinin anlamlı okunabilmesi Depaulis ve Veuille (1998) yapmış oldukları çalışma göz önünde bulundurularak yapılmıştır. Bu bağlamda; Fu ve Li'nin D* ve Fu ve Li'nin F* verilerin sıfırın altında olduğunda, ender haplotip bulunma olasılığının yüksek olduğunu ve genişleme eğilimindeki popülasyonu ya da geri planda seçilimin bulunduğunun bir belirtecidir. Fu'nun ve Fs değeri eğer negatif ise yeni haplotiplerin

ortaya çıkma olasılığının yüksek olduğunu ve genişleme eğiliminde ki popülasyonu ya da sürüklenme anlamına gelmektedir. Tajima'nın D Değeri eğer pozitif ise nötral hipotezin kabul edilir olduğunu ve seçilimin nötr olduğunu gösterir.

Nötralite testleri, haplotip dağılımları üzerindeki tarihsel, demografik geçmiş ve evrimsel süreci ayırt etmek için kullanılan en güçlü deneysel gösterge olarak kabul edilmektedir (Knowles ve Maddison, 2002; Templeton, 2004; Doğan ve Doğan, 2017).

Fırat ve Dicle nehir ekosistemi yaşam alan olan ve ekonomik açıdan öneme sahip türlerden *Barbus grypus* mtDNA COI bölgesi incelenerek popülasyona ait genetik çeşitliliği incelemiştir. Yaptıkları çalışmada Tajima D değerinin ve Fu'Fs değerini iki popülasyonun negatif değerde olduğunu ve toplam değerlerin de negatif çıkması sebebiyle istatistiksel olarak önemsiz ($p>0,10$) bulduklarını bildirmişlerdir (Parmaksız, Şeker, Aslan ve Oymak, 2017).

Capoeta T. popülasyonlarında mtdna ile genetik varyasyonun belirlenmesine yönelik Adıyaman, Birecik ve Bismil bölgelerinde yapılan yüksek lisans tez çalışmasında; Tajima's D nötralite test değeri; sadece Batman popülasyonunda pozitif değer (0,55902) alırken diğer popülasyonlarda negatif değerler aldığını, toplamda ise yine negatif değer olarak (-1,08945) istatistiksel olarak önemsiz bulmuşlardır ($p>0,10$). Fu' Fs testlerinde de Batman popülasyonunda pozitif değere (0,589) sahipken diğer popülasyonlarda negatif değerler sahip olup, toplamda ise yine negatif değer olarak (-2.946) istatistiksel olarak anlamsız bulmuşlardır ($p>0,10$). Nötralite testleri irdelendiğinde, üç popülasyonda genişleme, bir popülasyonda (Batman) ise daralma olup, elde edilen tüm değerler istatistiksel olarak anlamsız olduğunu bildirmişlerdir ($p>0,10$) (Ekşi ve Parmaksız, 2017).

Kuzey Pasifik ve Arktik denizde yaygın olarak bulunan *Osmerus dentex* popülasyonlarının mtDNA'nın Cytb ve COI bölgeleri hedeflenerek, küresel iklim değişimi ve jeolojik değişimlerin türün popülasyon genetiğine etkilerini incelemiştir. Tajima's D değeri en yüksek -1,895, en düşük ise -2,439 ve Fu's Fs değerinin en yüksek -7,129, en düşük -28.823 olarak hesaplamış ve oldukça anlamlı bulduklarını bildirmişlerdir. Bu durum popülasyonun demografik genişlemeye meyilli olduğu yönünde değerlendirmişlerdir (Skurikhina ve diğerleri, 2018).

5.10. Genetik Farklılaşmanın Belirlenmesi ve Modelleme Kullanılarak Geleceğe Ait Projeksiyon (Modelleme)

Sinarit (*Dentex dentex*) türüne ait kültür ve doğal örnekler arasında modelleme kullanılarak hazırlanan modele göre, genetik etkileşim süresi $t = 2,1584$ yıl olarak hesaplanır. Üretim rejimi ve çeşitli nedenlerden dolayı (kaçma vs.) doğal ile kültür balıkları arasındaki etkileşim devam etmesi durumunda, yaklaşık 5 yıl sonra, doğal ortamda yer alan balıklar ile kültür ortamında yer alan balıkların baz çifti farklılık oranı ortalama **0,78436** düşmesi beklenmektedir. Buna bağlı olarak genetik çeşitlilik değişimi ise beşinci yılın sonunda **0,0426** ile başlayan ve 10. yıldan sonra ise her 5 yılda bir ortalama 0,016 düzeyinde azalacağı hesaplanmıştır. **40** yıl içerisinde genetik çeşitlilik ortalaması **0,0652**'den, **0,0021** seviyelerine düşeceği ve genetik çeşitliğin son derece azalacağı düşünülmektedir. Şekil 4.19'da sinarit (*Dentex dentex*) türüne ait kültür ile doğal arasındaki genetik çeşitliliğin değişimi grafiği verilmiştir.

Sivriburun Karagöz (*Diplodus puntazzo*) türüne ait kültür ve doğal örnekler arasında modelleme kullanılarak hazırlanan modele göre, genetik etkileşim süresi $t = 5,1367$ yıl olarak hesaplanır. Üretim rejimi ve çeşitli nedenlerden dolayı (kaçma vs.) doğal ile kültür balıkları arasındaki etkileşim devam etmesi durumunda, yaklaşık 5 yıl sonra, doğal ortamda yer alan balıklar ile kültür ortamında yer alan balıkların baz çifti farklılık oranı ortalama **1,00516** düşmesi beklenmektedir. Buna bağlı olarak genetik çeşitlilik değişimi ise beşinci yılın sonunda **0,69** ile başlayan ve 10. yıldan sonra ise her 5 yılda bir ortalama **0,14** oranda azalacağı hesaplanmıştır. Sivriburun karagöz (*Diplodus puntazzo*) türü yaklaşık 40 yıl içerisinde genetik çeşitlilik ortalaması 0,83 ten 0,13 seviyelerine düşeceği ve genetik çeşitliğin son derece azalacağı düşünülmektedir.

Mitokondriyal DNA belirteçlerin türlerin, tarihsel demografisinin tanımlanması açısından çok faydalığı olduğunu göstermişlerdir (Avise, 2012).

Zaman ve mekana bağlı olarak gen akışları etkilendiği, filocoğrafik bir sınırın bu tür zaman dilimi (erken Pleistosen dönemi (buz devri)) ve mekânsal (Cebelitarık Boğazı) bölgesinin, tüm 4. Jeolojik zaman (Kuvaterner) boyunca, sert iklim geçişlerinin, habitatların parçalanması ve farklı bölümler üretmesi nedeniyle türlerin gen akışının ciddi etkilendiği bildirilmiştir (Nilsson, 1982; Bargelloni ve diğ., 2003)

Kuzeydoğu Atlantik ve Akdeniz'deki yaptıkları çalışmada Sparidae ailesine ait beş deniz teleost türlerinin nükleer ve mitokondrial lokuslarındaki genetik varyasyonları incelemiştir. *D.dentex* türünde iki ayrı coğrafya ayrıldığını ancak aynı tarihsel biyocoğrafik faktörlerin bu türlerdeki tür içi genetik farklılaşma modellerini muhtemelen etkilediğini bildirmişlerdir. Buna ilaveten Atlantik ve Akdeniz kuşakları arasındaki sapma süresi tahmin edilirken, Cebelitarık Boğazı boyunca *D. dentex* ve *L.mormyrus*'ta gen akışının son 1,2 - 1,8 Myr için düşük olduğunu veya hiç olmadığını düşünmüşlerdir (Bargelloni ve diğ., 2003).

Bargelloni ve diğ., (2005), Akdeniz'den doğu Atlantik kıyılarına kadar geniş bir dağılım gösteren, benzer ekolojik davranış sergileyen ve evrimsel süreçte yakın ilişkili olan iki tür olan *Diplodus sargus* ve *Diplodus puntazzo* 'nun genetik yakınlıklarını incelemiştir. MtDNA analiz verileri sonucunda, elde edilen filogenetik uzaklıkların genellikle filoğrafik süreksizliklerle ilişkili olacağı düşünülse de, *D.puntazzo* mtDNA ağında Atlantik ve Akdeniz haplotiplerinde karşılıklı monofili bulunmadığını bildirmişlerdir. Bunun temelinde iki hipotez olduğunu belirtmişlerdir. Ya Atlantik ve Akdeniz bölgeleri arasında gen akışı çok düşük veya yok denecek kadar az seviyelerde olduğundan ve bu sürenin monofili için yetersiz olduğundan, ya da popülasyon büyüklüğü göz önünde bulundurulduğu ve 25 nesil sonra alt türlerin genetik yakınlık göstereceğini hesaplamışlardır. İki soy arasında ortama dizi sapması 0,068 olduğunu yani balık kontrol bölgesini geleneksel evrimleşme oranının altında olduğu ve *D.puntazzo* yeni nesil oluşturma döneminin 2-3 yıl kabul edilirse 34000-187000 nesilde ancak monofiletik kuşağa tam ayrılacağı anlamına geldiğini hesaplamışlardır.

Yaptığımız bu çalışmada incelenen her iki tür 40 yıl gibi çok uzak olmayan bir gelecekte kültür ile doğal türler arasında genetik çeşitliliği giderek azalacağı düşünülmektedir.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Tez çalışması kapsamında Ege Denizi'ndeki Sivriburun karagöz (*D.puntazzo*) ve Sinarit (*Dentex dentex*) balıklarının doğal ve kültür popülasyonları arasındaki genetik etkileşimi ve varyasyonların moleküler markır ile belirlenmesi ve gelecekteki durum tahmini yapılması amaçlanmıştır.

Tez çalışması kapsamında incelenen Sivriburun karagöz (*D. puntazzo*) ekonomik değerinin yüksekliği nedeniyle balıkçılık için önemli bir tür olmasının yanında ülkemizde ve

Dünya’da yeni üretilmeye başlanan yeni bir türdür. Bu tez çalışması kapsamında incelenen, Sivriburun karagöz (*D. puntazzo*) türüne ait örneklerin toplandığı popülasyonları temsil eden istasyonlar arasında Ct değerleri açısından istatistik olarak çok önemli fark bulunmuştur ($p<0,01$). En düşük Tm değişimi VII-W grubunda gözlenirken en fazla değişim ise I-W grubunda görülmüştür. İlginç olarak I-C kültür grubundaki değişim ile aynı bölgeyi temsil eden doğal grup I-W değerine oldukça yakın bulunmuştur (Çizelge 4.5). Öte yandan Tm değerleri açısından da bölgeleri temsil eden gruplar arasında da istatistiki olarak çok önemli fark olmuştur ($p<0,01$). En düşük Tm değeri V-W grubundan elde edilirken en fazla Tm değerleri I-W, II-W, III-W, IV-W bölgelerindeki örneklerden alınmış, VI-W grubunda ise Tm değerlerinde hiç değişime rastlanmamıştır. İlginç olarak I-W grubundaki değişim değeri (0,027) I-C grubuna (0,002) göre on kattan fazla olmuştur. MtDNA ‘nın COI bölgesinde 465 baz çifti üzerinde yapılan dizi analizi sonucunda 7 popülasyonda 58 örnek üzerinde yapılan çalışmada, HRM değerlerine göre 4 farklı grup oluşturmuştur. Kültür grubu I-C içinde 3 farklı genotip bulunurken aynı bölgeden alınan I-W grubunda 2 farklı genotip gözlenmiştir. Kültür grubundaki genetik çeşitliliğin daha fazla olması kuluçkahanelerde bulunan anaçların farklı popülasyonlardan toplanmış olması sebep olabileceği düşünülmektedir. *D. puntazzo* türünde, 45 haplotip ve ortalama haplotip çeşitliliği Hd: 0,9816 olarak belirlenmiş ve ortalama haplotip en düşük genetik çeşitliliğin 0,933; nükleotid çeşitliliğin ortalama 0,0103; en düşük 0,00771 ile III-W (Kuşadası Doğal) olarak saptanmıştır. *Diplodus puntazzo* türüne ait örnekler üzerinden yapılan çalışma sonucu Çeşme Doğal ve Karaburun Kültür istasyonları ait bireylerin nükleotid çeşitliliğine değerlendirilmiş ve istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur. Bu istasyon aynı zamanda hem haplotip sayısı hem de gen çeşitliliği açısından da en düşük değerlere sahip olduğu tespit edilmiştir. Nükleotid çeşitliliğin az olması genetik olarak korunmuş olduğunu göstermektedir. Nükleotid çeşitliliğin az olması genetik farklılığın az olması ve olarak korunmuş olduğunu göstermektedir. Nükleotid çeşitliliği fazla olması genetik farklılığın fazla olması anlamına gelmektedir. Sivriburun karagöz türünde incelenen toplam nükleotid sayısı 465 bç’tir. Nükleotid oranları sırayla, T: %31,6; C: %27,3; A: %25,0; G: %16,1 olarak tespit edilmiştir. Sivriburun karagöz örnekleri için toplam transisyon/transversiyon eğilimi (bias) **R= 1,419** olarak hesaplanmıştır. Değerlerin kabul edilir sınırlar içerisinde olduğu görülmüştür. *Diplodus puntazzo* türüne ait istasyonlardan I-W (Karaburun doğal) ile III-W (Kuşadası doğal), IV-W (Güllük doğal) ve V-W (Bodrum doğal) sırayla genetik uzaklık -0,00004; -0,00076 ve -0,00019 tespit edilmiştir. IV-W (Güllük doğal) ile V-W (Bodrum doğal) ve VI-W (Çanakkale doğal) arasında genetik uzaklığın sırayla -0,00042 ve

-0,00020 olduğu hesaplandı. Ayrıca V-W (Bodrum doğal) ile VI-W (Çanakkale doğal) arasında genetik uzaklığın -0,00020 olduğu belirlenmiştir. *D.puntazzo* türünde tamamen doğal istasyonlar arasında genetik yakınlık olduğu tespit edilmiştir. Coğrafik koşulların popülasyonların göçü açısından zorlu koşullara sahip olmaması bir etken olduğu düşünülmektedir. Filogenetik ağaçlar, *D. puntazzo* türüne ait 58 birey ile kontrol amacıyla evrensel gen havuzundan alınan levrek türüne ait (KP975556.1) dizi ile DNA dizileme sonuçlarını içeren neighbour joining ağacı 4 gruptan oluşmuştur. En büyük A Sınıfı, her biri 24 (Alt Grup A1) ve 30 (Alt Grup A2) içeren iki alt grup altında 54 kişiyi içermektedir. Grup B, C ve D, sırasıyla iki ve bir birey içermektedir. Alt grup A1 ve alt grup A2, tüm lokasyonlardan bireyler içermektedir, dolayısıyla bu iki grupta I-C (Karaburun kültür) ün yakın akrabalık bağı olduğu görülmektedir. Sivriburun karagöz türünde tüm istasyonlar ile düşük veya yüksek frekanslı bir genetik yakınlık olduğu görülmüştür. İncelenen iki tür içinde NJ ağaçlarının dallanmaları ve alt gruplar açısından kültür balığı istasyonu örneklerinin genetik yakınlık içinde olduğunu sergilemektedir. *Diplodus puntazzo* türüne ait veriler ile Tajima'nın D değeri hesaplanmış ve I-W (Karaburun doğal; 0,3271), III-W (Kuşadası doğal; 0,05382) ve IV-W (Güllük doğal; 0,05905) popülasyonlarında pozitif (anlamlı) iken diğer popülasyonlarda negatif değere sahip olduğu tespit edilmiştir. İstasyonların toplam değeri negatif olduğu için istatistiksel olarak anlamsız bulunmuştur ($p>0,05$). Fu'nun Fs testlerinde, tüm popülasyonların değerleri negatif ve toplam değerler negatif olduğu ve bu nedenle istatistiksel olarak çoğunlukla anlamsız olduğu görülmüştür. Sivriburun Karagöz (*Diplodus puntazzo*) türüne ait kültür ve doğal örnekler arasında genetik etkileşimin yapay zekâ kullanılarak hazırlanan $t = 5,1367$ yıl olarak hesaplanır. Üretim rejimi ve çeşitli nedenlerden dolayı (kaçma vs.) doğal ile kültür balıkları arasındaki etkileşim devam etmesi durumunda, yaklaşık 5 yıl sonra, doğal ortamda yer alan balıklar ile kültür ortamında yer alan balıkların baz çifti farklılık oranı ortalama **1,00516** düşmesi beklenmektedir. Buna bağlı olarak genetik çeşitlilik değişimi ise beşinci yılın sonunda **0,14** ile başlayan ve 10 yıldan sonra ise her 5 yılda bir ortalama 0,3 oranda azalacağı hesaplanmıştır. 40 yıl içerisinde genetik çeşitlilik ortalaması 0,83'ten 0,13 seviyelerine düşeceği ve genetik çeşitliğin son derece azalacağı düşünülmektedir.

Tez çalışması kapsamında incelenen Sinarit (*D. dentex*) ekonomik değerinin yüksekliği nedeniyle balıkçılık için önemli bir tür olmasının yanında ülkemizde ve dünyada yeni üretilmeye başlayan yeni bir türdür. Bu tez çalışması kapsamında incelenen varyans analizi

sonucu *Dentex dentex* grupları arasında istatistik açısından önemli bir Ct değeri farkı bulunmasa da ($p > 0,05$) en düşük Ct değeri I-W-D.*dentex* grubunda **18,5** ve en büyük Ct değeri ise III-W ile V-W gruplarında **26,1** olarak ölçülmüş olup tüm verilerin genel ortalaması **23,5** bulunmuştur. En fazla Ct değişimi IV-W grubunun içinde görülürken en az değişim ise VII-W grubu içinde görülmüştür. *Dentex dentex* türüne ait COI hedef geninin Tm değerleri açısından da gruplar arasında bir fark bulunmamıştır ($p > 0,05$). Ancak ilginç olarak en düşük **81,8** Tm değeri ile en yüksek **83,2** Tm değeri VI-W grubunda görülmüştür. En fazla Tm değişimi VI-W grubunda gözlenirken en az değişim ise II-W ve IV-W grubunda görülmüştür. Yapılan korelasyon analizinde de Tm değerleri ile Ct değerleri arasında herhangi bir önemli ilişki bulunmamıştır ($r = 0,132$; $p > 0,05$). Çalışmayı oluşturan Sinarit türüne ait toplam 53 bireyde toplam haplotip sayısı **h = 26** olarak belirlenmiş, toplam ortalama haplotip çeşitliliği **Hd = 0,7632** olduğu tespit edilmiştir. Toplam belirlenen haplotiplerin 22'si istasyonlardan temin edilen ve çalışmayı oluşturan bireylerde sadece bir hayvanda bulunduğu tespit edilmiştir. Haplotipler gruplandırıldığında haplotip 1'in değişik istasyonlardan birçok örnekten oluştuğu görülmüştür. İstasyonlara göre bakıldığında ise en fazla haploit grup I-C (Karaburun kültür) bölgesinde olup tüm bireyler COI dizisi bakımından birbirinden farklı bulunmuş genetik çeşitlilik bu bölgede en fazla bulunmuştur. Örnek sayısı daha az olsa da VII-W Antalya doğal ortamından tutulan balıklarda da genetik çeşitlilik en üst seviyede olmuştur. Kültür türüyle karşılaştırıldığında I-W (Karaburun) içindeki doğal çevrede yetişen sinaritlerde ise genetik çeşitlilik kültürdekilerin yarısından daha az bulunmuştur. En az genetik çeşitlilik ise IV-W Güllük Doğal bölgesinde gözlenmiştir. Sinarit popülasyonunda nükleotid çeşitlilik (π) verilerine bakıldığında ortalama nükleotid çeşitliliği: **0,004423** olarak belirlenmiştir. En yüksek değer I-C (Karaburun kültür) $\pi = 0,00967$ (+0,00122) ve en düşük değer ise $\pi = 0,00140$ (+0,00074) ile I-W (Karaburun doğal) popülasyonunda gözlenmiştir. Sinarit türünde incelenen toplam nükleotid sayısı 477 bç'tir. Nükleotid oranları sırayla, T: %30; C: %28,6; A: %23,9 ; G: %16,8 olarak tespit edilmiştir. Sinarit örnekleri için toplam transisyon/transversiyon eğilimi (bias) **R = 0,70** olarak hesaplanmıştır. *Dentex dentex* türüne ait istasyonlardan I-C (Karaburun Kültür) ile II-W (Çeşme Doğal) arasında genetik uzaklık -0,00045 olarak tespit edilmiştir. Ayrıca I-W (Karaburun Doğal) ile VI-W (Çanakkale Doğal) -0,00008, III-W (Kuşadası doğal) ile VI-W (Çanakkale Doğal) ve VII-W (Antalya Doğal) sırayla -0,00028 ve -0,00004 olarak hesaplanmıştır. Bu durum istasyonlarda bulunan popülasyonların benzerlik oranı yüksek olmasından kaynaklanabildiğinin göstergesidir. *Dentex dentex* türüne ait 53 birey ile kontrol amacıyla

evrensel gen havuzundan alınan levrek türüne ait (JQ623929.2) dizi ile DNA dizileme sonuçlarını içeren neighbour joining ağacı 7 gruptan oluşmaktadır. En büyük A Sınıfı, her biri 17 (Alt Grup A1) ve 27 (Alt Grup A2) içeren iki alt grup altında 44 kişiyi içermektedir. Grup B ve D, sırasıyla dört ve iki birey içermektedir. Diğer gruplar ise (C, E, F ve G) yalnızca bir birey bulunmaktadır. Alt grup A2, tüm lokasyonlardan bireyler içermesine rağmen, Alt grup A1, Karaburun kültürü I-C'yi içermemektedir, dolayısıyla A1, doğal (W) grupların en iyi bir temsilcisidir (Şekil 4.15). Yaptığımız çalışmada *Dentex dentex* türüne ait veriler ile Tajima'nın D değeri hesaplanmış ve II-W popülasyonunda pozitif (0,498), diğer popülasyonlarda negatif değere sahipken, toplam negatif ve istatistiksel olarak anlamsız bulundu ($p>0,05$). Fu'nun F_s testlerinde, IV-W popülasyonları pozitif değerlere sahipti (0,090), diğer popülasyonlar için değerler negatif ve toplam değerler negatif olduğu ve bu nedenle istatistiksel olarak çoğunlukla anlamsız bulundu ($p>0,05$). Bu nedenle, bu araştırmada incelenen herhangi bir alel için nadiren seçici baskı vardır. Popülasyonlardaki negatif değerler popülasyonun büyümesi ile ilişkili olarak kabul edilirken, II-W popülasyonunda olduğu gibi pozitif değerler popülasyon büyüklüğündeki azalmadan kaynaklandığı düşünülmektedir.

Yaptığımız çalışma sonunda her iki türde G bazında oranın düşük olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuç Türkiye'de yapılan çalışmalar ile benzerlik taşımaktadır. Neden Guanin bazının azaldığı konusunda daha kapsamlı bir çalışma yapılması gerekmektedir. Yapılan çalışmamızın diğer çalışmalar göz önünde bulundurulduğunda, *Dentex dentex* türüne ait I-C (Karaburun Kültür) ile II-W (Çeşme Doğal) arasında coğrafik mesafenin kısadır. Bu sebeple yetiştirme bölgelerinden kaçışların popülasyonlar arasında genetik yakınlığa etkisi olabileceği düşünülmektedir. *D.puntazzo* türünde ise tamamen doğal istasyonlar arasında genetik yakınlık olduğu tespit edilmiştir. Coğrafik koşulların, popülasyonların göçü açısından zorlu koşullara sahip olmaması bir etken olduğu düşünülmektedir. Denizel ortamda ve kıyıda gerçekleştirilen su ürünleri yetiştiricilik faaliyetlerinin önemli bir etkisi biyoçeşitliliği üzerinedir. Kültür balığı üreten tesislerin çeşitli etmenlerle (deniz kazaları, fırtına, ağ değişimi vb.) doğaya balık kaçırdıkları bilinmektedir. Doğaya kaçan bu balıkların hepsinin yaşama şansı bulması mümkün çok düşüktür. Çünkü bu balıklar kısmen evcil ve ağdan kaçmayan, avcılık ile kolaylıkla yakalanan bireylerdir. Diğer yandan, evcilleştirilmiş kültür stokları yabani akrabalarına göre strese, hastalıklara karşı daha dayanıklı olabilmektedirler ve daha hızlı büyüyüp kısa sürede döl verebilmektedir. Su ürünleri yetiştiriciliğinde kullanılan türler için yukarıda sayılan tüm bu özellikler tercih

sebebidir ve bu özellikler evcilleştirilmiş kültür hatlarını potansiyel invaziv tür yapmaktadır. Böylece yabani stoklar ile kaçan kültür balıkları arasında genetik etkileşimler gerçekleşmekte ve evcilleşmiş balıkların ekosisteme yeni bir gen havuzu olarak veya çiftleşme neticesinde yabani stokların genetik olarak etkilemektedir. Bu nedenle akuakültürün çevresel etkisinin tam olarak ortaya konulabilmesi için moleküler araçlar kullanılarak kültür stokları ile yabani stoklar arasında genetik etkileşim olup olmadığı ortaya konulması sürdürülebilir yetiştiricilik için önem arz etmektedir. Bu çalışma sonucu denizlerimizde üretim yapılan sahalardan yapılan örneklemelerde ve genetik ve morfolojik analizlerde, doğaya kaçan balıklardan kaynaklanan genetik etkileşimin önemli düzeyde olduğu görülmektedir. Bu çalışmada yapılan modellemeyle, çok uzun olmayan bir zaman diliminde sinarit ve sivriburun karagözde, kültür-doğal balıkları arasında genetik farklılığın 40 yıl içerisinde çok azalacağı öngörülmektedir. Her on yılda bir bu araştırmanın yinelenmesi genetik farklılık boyutunun ortaya konulması ve müdahale yöntemlerinin uygulamaya alınması açısından önem arz edeceği düşünülmektedir. Doğal genetik havuzun korunması için yetiştiricilik yapan işletmelere, üretim izni veren ve denetleyen yetkili kuruluşlara, üniversitelere önemli görev düşmektedir. Kültürü yapılan herhangi bir türün doğal sulara bırakılmadan önce belirli protokollerin uygulanması gereğinin kabul edilmesi gerekir. Bazı işletmelerin veya kamu kuruluşlarının, doğal suları balıklandırmak adına, gelişigüzel doğaya balık bıraktığı bilinmektedir. Ancak bilimsel bir işleştikten yoksun bu balıklandırma faaliyetleri, doğal genetik kaynakların bozulmasına neden olmaktadır. Bu duruma, bu çalışmadaki en önemli örnek Karaburun bölgesindeki doğal sinarit ve sadece bir işletmede bulunan kültür sinaritin arasındaki genetik farklılaşma verilebilir. Doğadan yapılan örneklemede elde edilen sinaritler, çok büyük bir olasılıkla balık çiftliğinden bırakılanlar olmuştur. Bu yüzden çok düşük bir genetik farklılık ortaya çıkmıştır. Yeni üretime alınan türlerle ilgili olarak yapılacak balıklandırma çalışmalarının bir bilimsel program çerçevesinde daha titizlikle yapılması gerekmektedir.

Diğer yandan balık tesislerinden kaçan balıklar son yıllarda önemli düzeyde artış göstermiştir. Bu balık kaçışları özellikle deniz kazaları, fırtına etkisiyle kafeslerin parçalanması, ağlarda yırtıklar, ağ değişimi gibi olaylarla gerçekleşmektedir. Deniz kazalarının önlenmesi için kafes sistemlerinin gemilerce daha algılanabilir bir donanımına sahip hale getirilmesi gerekmektedir. Fırtına gibi doğal şartların kafes sistemlerinin yapısına zarar vermemesi için bölgeye ve hidrolojiye uygun malzemelerin kullanılması, bu malzemelerin deniz ortamında iyi konumlandırılması ve sürekli kontrollerinin yapılması,

kullanım süresi dolan malzemelerin değiştirilmesi, fırtınalara karşı sıralanabilecek tedbirler olabilir. Balık ağı değişimi sırasında meydana gelebilecek balık kaçışlarına dikkat etmek gerekir. Ağların günlük kontrolleri, tesislerde titizlikle yapılması gereken faaliyetlerden olmalıdır. Yeterli teknik donanımına sahip tesislerin yetkin su ürünleri mühendisleriyle birlikte üretim faaliyetlerinin çevreye duyarlı bir üretim modeliyle sürdürülmesi önem arz etmektedir.

Üretim tesislerin kalbi niteliğinde olan kuluçkahanelerde, damızlık yönetiminde sahip olunan gen havuzlarını oluşturan anaçların belirli periyotlarda yenilenmeleri ve değişik popülasyonlardan anaç seçimleri bilimsel olarak yapılarak genetik çeşitliliğin korunmasına önem verilmelidir.

Kafes yetiştiriciliği sistemlerinde balıkların çeşitli nedenlerde kaçarak doğaya karıştığı bilinen ve dünya genelindeki tüm balık çiftliklerinde yaşanan bir durumdur. Dolayısıyla bu balıkların doğal popülasyonlara karışması ya da kıyılarımızda yeni topluluklar oluşturmaları neticesinde örnek gruplarına dâhil olma ihtimalleri de bulunmaktadır. Nitekim bazı örneklem istasyonlarında doğal balıkları temsil eden bireylerde gözlenen sonuçlar bu olasılığı desteklemektedir.

Kültür balıkçılığının sürdürülebilirliğini sağlamak için doğal stokların korunmasını önceleyen bir yetiştiricilik politikasını oluşturmaya ihtiyaç bulunmaktadır. Artan dünya nüfusuna karşılık üretim azaltılamayacağına göre, ekosistemi bütüncül ele alarak tüm bileşenlerin etkilerinin ortaya konulması ve bu etkilerin en az düzeye getirilmesi, sürdürülebilir bir üretim için kaçınılmazdır.

ÖNERİLER;

1- **Genel ölçekte**, kültür balıkçılığının sürdürülebilirliğini sağlamak için doğal stokların korunmasını önceleyen bir yetiştiricilik politikasını oluşturulması gerekmektedir. **Özel ölçekte** ise, tür ve/veya bölgeye özgü bir ERP (Kurumsal Kaynak Planlama) modeli oluşturulabilir

2- Doğal stoklar ile kaçan kültür balıkları arasında;

Genetik etkileşimlerden dolayı zamanla doğal popülasyonlarda genetik çeşitliliğin azalması riski artabilmektedir, bu durum, doğal stokları daha kırılgan hale

getirebilmektedir. Su ürünleri üretimi ile, insanın ihtiyaç duyduğu hayvansal protein ihtiyacı arasındaki dengenin, doğal ortamın korunarak gerçekleştirilmesi gerekir. Bu nedenle; akuakültürün çevresel etkisinin tam olarak ortaya konulabilmesi için, moleküler araçlar kullanılarak kültür stokları ile yabani stoklar arasına genetik etkileşim olup olmadığı ile ilgili, daha kapsamlı ve periyodik programların yürütülmesine ihtiyaç vardır.

3- Bazı işletmelerin veya kamu kuruluşlarının,

Doğal suları balıklandırmak adına, gelişi güzel doğaya balık bıraktığı bilinmektedir. Kültürü yapılan herhangi bir türün, doğal sulara bırakılmadan önce belirli protokollerin uygulanması gerekir. Bu anlamda, doğal genetik havuzun korunması için;

- Yetiştiricilik yapan işletmelere,
- Üretim izni veren ve denetleyen yetkili kuruluşlara ve üniversitelere önemli görev düşmektedir

4- Balık tesislerinden kaçan balıklar son yıllarda önemli düzeyde artış göstermiştir. Bu balık kaçışları, özellikle deniz kazaları, fırtına etkisiyle kafeslerin parçalanması, ağlarda yırtıklar, ağ değişimi gibi olaylarla gerçekleşmektedir. Deniz kazalarının önlenmesi için kafes sistemlerinin gemilerce daha algılanabilir bir donanımına sahip hale getirilmesi gerekmektedir. Bu anlamda yapay zekâ, sensörler ve nesnelerin interneti temelli bütünleşik bir takip modülü oluşturulabilir.

5- Fırtına gibi, doğal şartların, kafes sistemlerinin yapısına zarar vermemesi için;

- Hidrolojiye uygun malzemelerin kullanılması,
- Bu malzemelerin deniz ortamında iyi konumlandırılması ve sürekli kontrollerinin yapılması, kullanım süresi dolan malzemelerin değiştirilmesi gerekmektedir.
- Ayrıca, yeterli teknik donanımına sahip tesislerin, yetkin su ürünleri mühendisleriyle birlikte üretim faaliyetlerinin, çevreye duyarlı bir üretim modeliyle sürdürülmesi önem arz etmektedir.

6- Üretim tesislerin kalbi niteliğinde olan kuluçkahanelerde; damızlık yönetiminde sahip olunan gen havuzlarını oluşturan anaçların, belirli periyotlarda yenilenmeleri ve değişik popülasyonlardan anaç seçimleri bilimsel olarak yapılarak genetik çeşitliliğin korunmasına önem verilmelidir.

KAYNAKLAR

Abdulsalam, G. Ü. N., ve KIZAK, V. (2019). Dünyada ve Türkiye’de su ürünleri üretiminde istatistiki durum. Menba Kastamonu Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Dergisi, 5(2), 25-36.

Alarcón, J. A., Magoulas, A., Georgakopoulos, T., Zouros, E., and Alvarez, M. C. (2004). Genetic comparison of wild and cultivated European populations of the gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *Aquaculture*, 230 (1-4), 65-80,

Alexandrino, P., Faria, R., Linhares, D., Castro, F., Le Corre, M., Sabatié, R., ... and Weiss, S. (2006). Interspecific differentiation and intraspecific substructure in two closely related clupeids with extensive hybridization, *Alosa alosa* and *Alosa fallax*. *Journal of Fish Biology*, 69, 242-259.

Anderson, S., Bankier, A. T., Barrell, B. G., de Bruijn, M. H., Coulson, A. R., Drouin, J., Eperon, I. C., Nierlich, D. P., Roe, B. A., Sanger, F., Schreier, P. H., Smith, A. J., Staden, R., and Young, I. G. (1981). Sequence and organization of the human mitochondrial genome. *Nature*, 290, 457–465.

Andreas Untergasser, Harm Nijveen, Xiangyu Rao, Ton Bisseling, René Geurts, and Jack A.M. Leunissen: Primer3Plus, an enhanced web interface to Primer3 Nucleic Acids Research 2007 35: 71-74.

Anuj, S. N., Whiley, D. M., Kidd, T. J., Ramsay, K. A., Bell, S. C., Syrmis, M. W., Grimwood, K., Wainwright, C. E., Nissen, M. D., and Sloots, T. P. (2011). Rapid single-nucleotide polymorphism-based identification of clonal *Pseudomonas aeruginosa* isolates from patients with cystic fibrosis by the use of real-time PCR and high-resolution melting curve analysis. *Clinical Microbiology and Infection*, 17(9), 1403–1408.

Asgharian, H., Sahafi, H. H., Ardalan, A. A., Shekariz, S., and Elahi, E. (2011). Cytochrome c oxidase subunit 1 barcode data of fish of the Nayband National Park in the Persian Gulf and analysis using meta-data flag several cryptic species. *Molecular Ecology Resources*, 11(3), 461-472.

Avise, J. C. (2012). Molecular markers, natural history and evolution. Springer Science & Business Media.

Baharum, S. N., and Nurdalila, A. W. A. (2012). Application of 16s rDNA and cytochrome b ribosomal markers in studies of lineage and fish populations structure of aquatic species. Molecular biology reports, 39, 5225-5232.

Bardakçı, F., Degerli, N. A. C. İ., Ozdemir, O., and Basibuyuk, H. H. (2006). Phylogeography of the Turkish brown trout *Salmo trutta* L.: mitochondrial DNA PCR-RFLP variation. Journal of Fish Biology, 68(A), 36-55.

Bargelloni, L., Alarcón, J. A., Alvarez, M. C., Penzo, E., Magoulas, A., Reis, C., and Patarnello, T. (2003). Discord in the family Sparidae (Teleostei): divergent phylogeographical patterns across the Atlantic–Mediterranean divide. Journal of evolutionary biology, 16(6), 1149-1158.

Bargelloni, L., Alarcón, J. A., Alvarez, M. C., Penzo, E., Magoulas, A., Palma, J., and Patarnello, T. (2005). The Atlantic–Mediterranean transition: discordant genetic patterns in two seabream species, *Diplodus puntazzo* (Cetti) and *Diplodus sargus* (L.). Molecular phylogenetics and evolution, 36(3), 523-535.

Barrett, R. D., and Hebert, P. D. (2005). Identifying spiders through DNA barcodes. Canadian Journal of Zoology, 83(3), 481-491,

Bates, J. (2014). Discrimination of single base pair mismatch. Genetic Engineering and Biotechnology News, 34(20), 24-25.

Behrens-Chapuis, S., Malewski, T., Suchecka, E., Geiger, M. F., Herder, F., and Bogdanowicz, W. (2018). Discriminating European cyprinid specimens by barcode high-resolution melting analysis (Bar-HRM)—A cost efficient and faster way for specimen assignment?. Fisheries Research, 204, 61-73.

Bektaş, Y., Aksu, İ., ve Kalaycı, G. (2016). Türkiye'deki İsparoz (*Diplodus annularis* Linnaeus, 1758) Populasyonlarının mtDNA Cyt b Genine Dayalı Genetik Analizi. Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences, 1(2), 37-43.

Bernatchez, L., Colombani, F. and Dodson, J.J., 1991, “Phylogenetic Relationship among the Subfamily Coregonidae as Revealed by Mitochondrial DNA Restriction Analysis”, Journal of Fish Biology. 39 (Supplement A): 283-290.

Bernatchez, L., Guyomard, R. ve Bonhomme, F. (1992). Coğrafi ve morfolojik olarak uzak Avrupa kahverengi alabalığı *Salmo trutta* popülasyonları arasında mitokondriyal kontrol bölgesinin DNA dizisi varyasyonu. *Moleküler Ekoloji*, 1 (3), 161-173.

Blanco, M., Pérez-Martín, R. I., and Sotelo, C. G. (2008). Identification of shark species in seafood products by forensically informative nucleotide sequencing (FINS). *Journal of agricultural and food chemistry*, 56(21), 9868-9874.

Bodington, P. (2000). Enterprise experiences in the culture of new sparids. *Cahiers Options Méditerranéennes*, 47, 135-139.

Bodur, T., Tsigenopoulos, C., ve Cagatay, I. T. (2017). Genetic structure of wild european sea bass (*Dicentrarchus labrax* L, 1758) populations in Aegean and Levantine Sea using microsatellite markers. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 17(1), 7-14.

Bradbury, I. R., Burgetz, I., Coulson, M. W., Verspoor, E., Gilbey, J., Lehnert, S. J., ... & McGinnity, P. (2020). Beyond hybridization: the genetic impacts of nonreproductive ecological interactions of salmon aquaculture on wild populations. *Aquaculture environment interactions*, 12, 429-445.

Brunner, P. C., Douglas, M. R., Osinov, A., Wilson, C. C., and Bernatchez, L. (2001). Holarctic phylogeography of Arctic charr (*Salvelinus alpinus* L.) inferred from mitochondrial DNA sequences. *evolution*, 55(3), 573-586.

Cárdenas, L., Silva, A. X., Magoulas, A., Cabezas, J., Poulin, E., and Ojeda, F. P. (2009). Genetic population structure in the Chilean jack mackerel, *Trachurus murphyi* (Nichols) across the South-eastern Pacific Ocean. *Fisheries Research*, 100(2), 109–115.

Cawthorn, D. M., Steinman, H. A., and Corli Witthuhn, R. (2011). Establishment of a mitochondrial DNA sequence database for the identification of fish species commercially available in South Africa. *Molecular Ecology Resources*, 11(6), 979-991,

Ceruso, M., Mascolo, C., De Luca, P., Venuti, I., Biffali, E., Ambrosio, R. L., Pepe, T. (2021). *Dentex dentex* Frauds: Establishment of a New DNA Barcoding Marker. *Foods* 2021, 10, 580.

Chaoui, L., Kara, M. H., Quignard, J. P., Faure, E., and Bonhomme, F. (2009). Forte différenciation génétique de la daurade *Sparus aurata* (L., 1758) entre les deux rives de la

Méditerranée occidentale. Comptes Rendus Biologies, 332(4), 329-335.

Chavez, F. P., Ryan, J., Lluch-Cota, S. E., and Niquen C, M. (2003). From anchovies to sardines and back: multidecadal change in the Pacific Ocean. science, 299(5604), 217-221,

Chomyn, A., Mariottini, P., Cleeter, M. W., Ragan, C. I., Matsuno-Yagi, A., Hatefi, Y., Doolittle, R. F., and Attardi, G. (1985). Six unidentified reading frames of human mitochondrial DNA encode components of the respiratory-chain NADH dehydrogenase. *Nature*, 314(6012), 592 - 597.

Clayton, D.A. (1982) Replication of animal mitochondrial DNA. *Cell*, Apr;28(4):693-705.

Coulson, M. W., Denti, D., Van Guelpen, L., Miri, C., Kenchington, E., and Bentzen, P. (2011). DNA barcoding of Canada's skates. *Molecular Ecology Resources*, 11(6), 968-978.

Cury, P., Bakun, A., Crawford, R. J., Jarre, A., Quinones, R. A., Shannon, L. J., and Verheye, H. M., (2000). Small pelagics in upwelling systems: patterns of interaction and structural changes in "wasp-waist" ecosystems. *ICES Journal of Marine Science*, 57(3), 603-618.

Cywinska, A., Hunter, F. F., and Hebert, P. D. (2006). Identifying Canadian mosquito species through DNA barcodes. *Medical and veterinary entomology*, 20(4), 413-424.

Çiftçi, Y., Eroğlu, O., and Firidin, Ş. (2013). Mitochondrial cytochrome b sequence variation in three Sturgeon species (*A. stellatus* Pallas, 1771, *A. gueldenstaedtii* Brandt, 1833, *H. huso* Linnaeus, 1758) from the Black Sea Coasts of Turkey. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 13(2).

Çiftçi, Y. (2006). Türkiye alabalık (*Salmo trutta* Linnaeus, 1758 ve *Salmo platycephalus* Behnke, 1968) popülasyonlarının genetik yapısının mtDNA-RFLP analiz yöntemiyle belirlenmesi. Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Balıkçılık Teknolojisi Mühendisliği Anabilim Dalı Doktora Tezi, 195s.

Çoğun, H. Y., Yüzereroğlu, T. A., Firat, Ö., Gök, G., and Kargin, F. (2006). Metal concentrations in fish species from the northeast Mediterranean Sea. *Environmental monitoring and assessment*, 121, 431-438.

De Innocentiis, S., Miggiano, E., Ungaro, A., Livi, S., Sola, L., and Crosetti, D. (2005). Geographical origin of individual breeders from gilthead sea bream (*Sparus auratus*) hatchery broodstocks inferred by microsatellite profiles. *Aquaculture*, 247(1-4), 227-232.

Depaulis, F., and Veuille, M. (1998). Neutrality tests based on the distribution of haplotypes under an infinite-site model. *Molecular biology and evolution*, 15(12), 1788-1790,

Dimitriou, E., Katselis, G., Moutopoulos, D. K., Akovitiotis, C., and Koutsikopoulos, C. (2007). Possible influence of reared gilthead sea bream (*Sparus aurata*, L.) on wild stocks in the area of the Messolonghi lagoon (Ionian Sea, Greece). *Aquaculture research*, 38(4), 398-408.

Doğan, I., and Doğan, N. (2017). Statistical tests for neutrality: review. *Turk. Klin. J. Biostat*, 9, 167-174.

Dupont-Nivet M, Karahan-Nomm B, Vergnet A, et al. Genotype byenvironment interactions for growth in European seabass (*Dicentrarchus labrax*) are large when growth rate rather than weight isconsidered. *Aquaculture*. 2010;306(1-4):365-368

Ebenezer, V., Medlin, L. K., and Ki, J. S. (2012). Molecular detection, quantification, and diversity evaluation of microalgae. *Marine biotechnology*, 14, 129-142.

El-Zaeem, S. Y., Ahmed, M. M. M., Salama, M. E. S., and Abd El-Kader, W. N. (2012). Phylogenetic differentiation of wild and cultured Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) populations based on phenotype and genotype analysis. *African Journal of Agricultural Research*, 7(19), 2946-2954.

Ergüden, D. (2007). Türkiye denizlerindeki tirsilerin (*Alosa spp.*) Moleküler Sistematiği. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi Su Ürünleri Anabilim Dalı, 94.

Ergüden, D., and Turan, C. (2005). Examination of genetic and morphologic structure of sea-bass (*Dicentrarchus labrax* L., 1758) populations in Turkish coastal waters. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 29(3), 727-733.

Eroğlu, O. (2009). Karadeniz'in Türkiye kıyılarında dağılım gösteren mersin balığı türlerinin mitokondriyal DNA sekans analizi yöntemiyle tanımlanması. *Aquaculture Studies*, 2009(3).

Esa, Y. B., Japning, J. R. R., Rahim, K. A. A., Siraj, S. S., Daud, S. K., Tan, S. G., and Sungan, S. (2012). Phylogenetic relationships among several freshwater fishes (Family: Cyprinidae) in Malaysia inferred from partial sequencing of the cytochrome b mitochondrial DNA (mtDNA) gene. *Pertanika J. Trop. Agric. Sci*, 35(2), 307-318.

Fang, D. A., He, M., Ren, Y. F., Luo, H., Zhou, Y. F., Jiang, S. L., and You, Y. (2022). Assessment of Genetic Diversity of the Salangid, *Neosalanx taihuensis*, Based on the Mitochondrial COI Gene in Different Chinese River Basins. *Biology (Basel)*, 11(7), 968.

FAO, Dünya Su ürünleri İstatistikleri, 2019.

Farias, I. P., Ortí, G., Sampaio, I., Schneider, H., and Meyer, A. (1999). Mitochondrial DNA phylogeny of the family *Cichlidae*: monophyly and fast molecular evolution of the Neotropical assemblage. *Journal of Molecular Evolution*, 48, 703-711,

Foighil, D. O., Gaffney, P. M., Wilbur, A. E., and Hilbish, T. J. (1998). Mitochondrial cytochrome oxidase I gene sequences support an Asian origin for the Portuguese oyster *Crassostrea angulata*. *Marine biology*, 131, 497-503.

Francis, C. M., Borisenko, A. V., Ivanova, N. V., Eger, J. L., Lim, B. K., Guillén-Servent, A., ... and Hebert, P. D. (2010). The role of DNA barcodes in understanding and conservation of mammal diversity in Southeast Asia. *PloS one*, 5(9), e12575.

Franicevic, V. (1989). Preliminary results on the larviculture of *Puntazzo puntazzo* (Gmelin 1789)(Pisces, Sparidae).

Freeland, J. (2005) *Molecular Ecology*. John Wiley and Sons, Ltd. New York.

Freeman, S., and Herron, J. C. (2007). *Darwinian natural selection. Evolutionary analysis*. 4th ed. Upper Saddle River, NJ: Pearson Education.

Fu, Y. X. (1997). Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection. *Genetics*, 147(2), 915-925.

Gatland, P. (1995). Growth of *Puntazzo puntazzo* in cages in Selonda bay, Corinthos, Greece. *Cahiers Options Mediterraneennes (CIHEAM)*.

- Gharrett, A. J., Gray, A. K., and Heifetz, J. (2001). Identification of rockfish (*Sebastes spp.*) by restriction site analysis of the mitochondrial ND-3/ND-4 and 12S/16S rRNA gene regions. *Fishery Bulletin*, 99(1), 49-49.
- Gibson, U. E., Heid, C. A., and Williams, P. M. (1996). A novel method for real time quantitative RT-PCR. *Genome Research*, 6, 995–1001,
- Goldstein, S., Moerman, E. J., and Porter, K. (1984). High-voltage electron microscopy of human diploid fibroblasts during ageing in vitro: morphometric analysis of mitochondria. *Experimental cell research*, 154(1), 101-111,
- Gkagkavouzis, K., Karaïskou, N., Katopodi, T., Leonardos, I., Abatzopoulos, T. J., and Triantafyllidis, A. (2019). The genetic population structure and temporal genetic stability of gilthead sea bream *Sparus aurata* populations in the Aegean and Ionian Seas, using microsatellite DNA markers. *Journal of Fish Biology*, 94(4), 606-613.
- Grant, W. S. (2005). A second look at mitochondrial DNA variability in European anchovy (*Engraulis encrasicolus*): assessing models of population structure and the Black Sea isolation hypothesis. *Genetica*, 125(2-3), 293-309.
- Grigorakis, K. (2010). Ethical issues in aquaculture production. *Journal of agricultural and environmental ethics*, 23, 345-370,
- Gusmão, J., Piergiorgio, R. M., and Tavares, C. (2013). The contribution of genetics in the study of the sea-bob shrimp populations from the Brazilian coast. *Bol. Inst. Pesca, São Paulo*, 39(3), 323-338.
- Hansen, L. P., Jacobsen, J. A., and Lund, R. A. (1999). The incidence of escaped farmed Atlantic salmon, *Salmo salar* L., in the Faroese fishery and estimates of catches of wild salmon. *ICES Journal of Marine Science*, 56(2), 200-206.
- Hartl, D. L. JONES. E. W. (1998) *Genetics: Principles and analysis*, 4th ed. Jones And Bartlett Publishers, Inc., US (Chapter 5)
- Hebert, P. D. N., Stoeckle, M. Y., Zemplak, T. S., and Francis, C. M. (2004). Identification of birds through DNA barcodes. *PLoS biology*, 2(10), e312.

Hebert, P. D., Ratnasingham, S., and De Waard, J. R. (2003). Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit I divergences among closely related species. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 270(suppl_1), S96-S99.

Hedrick, P. W. (2009). Genetics of populations. Jones and Bartlett Publishers.

Higuchi, R., Dollinger, G., Walsh, P. S., and Griffith, R. (1992). Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences. *Bio/Technology*, 10, 413–417.

Hindar, K., Fleming, I. A., McGinnity, P., and Diserud, O. (2006). Genetic and ecological effects of salmon farming on wild salmon: modelling from experimental results. *ICES Journal of Marine Science*, 63(7), 1234-1247.

Holmes, B. H., Steinke D. and Ward, R. D. (2009). Identification of shark and ray fins using DNA barcoding. *Fisheries Research* 95, 280–288.

Hubert, N., Hanner, R., Holm, E., Mandrak, N. E., Taylor, E., Burrige, M., ... and Bernatchez, L. (2008). Identifying Canadian freshwater fishes through DNA barcodes. *PLoS one*, 3(6), e2490,

İnternet : Microsoft Excel® Url: <https://www.microsoft.com>, Son Erişim Tarihi: 30.07.2023.

İnternet: Arlequine® Url: <http://cmpg.unibe.ch/software/arlequin35/Arl35Downloads.html> Son Erişim Tarihi: 30.07.2023.

İnternet: BioEdit® Url: <https://thalljiscience.github.io/>, Son Erişim Tarihi: 30.07.2023.

İnternet: Chromas® Url: <https://technelysium.com.au/wp/>, Son Erişim Tarihi: 30.07.2023.

İnternet: Clustal W application® Url: <http://www.clustal.org/clustal2/#Download>, Son Erişim Tarihi: 30.07.2023.

İnternet: DNAsp Software® Url: <http://www.ub.edu/dnasp/>, Son Erişim Tarihi: 30.07.2023.

İnternet: Phylip Software® <http://evolution.genetics.washington.edu/phylip.html>, Son Erişim Tarihi: 30.07.2023.

İnternet: Mega Software ® <https://www.megasoftware.net/>, Son Erişim Tarihi: 30.07.2023.

İnternet: NCBI Blast web application;

https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PROGRAM=blastn&PAGE_TYPE=BlastSearch&LINK_LOC=blasthome, Son Erişim Tarihi: 30.07.2023.

İnternet: Roche LightCycler® Nano Real-Time PCR. <https://lifescience.roche.com/global/en/products/product-category/lightcycler.html>, Son Erişim Tarihi: 30.07.2023.

İnternet: TÜİK, 2021, Türkiye Su Ürünleri İstatistikleri. <https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=Su-Urunleri-2021-45745>, Son Erişim Tarihi: 30.07.2023.

Jaafar, T. N. A. M. (2014). DNA barcoding and population genetic structure of Malaysian marine fishes. Bangor University (United Kingdom).

Jefri, E., Zaman, N. P., Subhan, B., and Madduppa, H. H. (2015). Molecular phylogeny inferred from mitochondrial DNA of the grouper *Epinephelus spp.* in Indonesia collected from local fish market. Biodiversitas Journal of Biological Diversity, 16(2).

Jin, D., Luo, Y., Zhang, Z., Fang, W., Ye, J., Wu, F., and Ding, G. (2012). Rapid molecular identification of *Listeria* species by use of real-time PCR and high-resolution melting analysis. *FEMS Microbiology Letters*, 330(1), 72–80,

Jobling, M. A., Hurles, M., Tyler-Smith, C. (2004). Human Evolutionary Genetics: Origins, Peoples and Disease Garland Science Publishing, London/NewYork.

Johnson, M., Zaretskaya, I., Raytselis, Y., Merezhuk, Y., Mc. Ginnis, S., and Madden, T. L. (2008). NCBI BLAST: a better web interface. *Nucleic acids research*, 36(suppl_2), W5-W9.

Jug-Dujaković, J., Dulčić, J., and Katavić, I. (1995). Embryonic and yolk-sac larval development of the sparide *Dentex dentex* (Linnaeus, 1758). *Fisheries research*, 24(2), 91-97.

Karaiskou, N., Apostolidis, A. P., Triantafyllidis, A., Kouvatsi, A., and Triantaphyllidis, C. (2003). Genetic identification and phylogeny of three species of the genus *Trachurus* based on mitochondrial DNA analysis. *Marine Biotechnology*, 5, 493-504.

Kartavtsev, Y. (2009). Analysis of sequence diversity at two mitochondrial genes on different taxonomic levels. Applicability of DNA based distance data in genetics of speciation and phylogenetics. Genetic diversity, 1st edn. NOVA, New York, 1-50,

Kartavtsev, Y. P., Batischeva, N. M., Bogutskaya, N. G., Katugina, A. O., and Hanzawa, N. (2017). Molecular systematics and DNA barcoding of Altai osmans, *oreoleuciscus* (pisces, cyprinidae, and leuciscinae), and their nearest relatives, inferred from sequences of cytochrome b (Cyt-b), cytochrome oxidase c (Co-1), and complete mitochondrial genome. *Mitochondrial DNA Part A*, 28(4), 502-517.

Kentouri, M., Papandroulakis, N., and Divanach, P. (1995). Specific diversification in Greek finfish mariculture. *Cahiers Options Mediterraneennes (CIHEAM)*.

Keskin E., Atar H. H. 2009. "Türkiye'nin Endemik Türü İnci Kefali'nin Filogenetik Analizi ve Sazansılar (Cypriniformes) Takımındaki Yeri", 15. Ulusal Su Ürünleri Sempozyumu, 01-04 Temmuz 2009, Rize, s. 117.

Keskin, E. (2007). Türkiye ihtiyofaunasındaki mullidae ailesindeki türlerin filogenetik yakınlıklarının morfolojik ve genetik farklarla korelasyonu (Yüksek lisans tezi, Biyoteknoloji Enstitüsü, Ankara Üniversitesi).

Keskin, E. (2013). Türkiyedeki ekonomik öneme sahip su ürünlerinin DNA barkodlarının çıkarılması Doktora Tezi, Biyoteknoloji Enstitüsü, Ankara Üniversitesi. Ankara

Keskin, E., and Atar, H. H. (2012). Türkiye'nin Akdeniz Kıyısındaki Mavi Yengeç (*Callinectes Sapidus*) Populasyonları Arasındaki Genetik Farklılığın COI Gen Dizileri Kullanılarak Degerlendirilmesi. *Journal of FisheriesSciences. com*, 6(2), 125.

Keskin, E., and Atar, H. H. (2013). DNA barcoding commercially important fish species of Turkey. *Molecular ecology resources*, 13(5), 788-797.

Klein, D. (2002). Quantification using real-time PCR technology: Applications and limitations. *Trends in Molecular Medicine*, 8, 257–260,

- Klossa-Kilia, E., Prassa, M., Papasotiropoulos, V., Alahiotis, S., and Kiliyas, G. (2002). Mitochondrial DNA diversity in *Atherina boyeri* populations as determined by RFLP analysis of three mtDNA segments. *Heredity*, 89(5), 363-370,
- Klug, W. S., and Cummings, M. R. (2002). Hardy-Weinberg Kanunu, Genetik Kavramlar, Çev. Ed.: Öner, C. Palme Yayıncılık., Ankara, 686-692.
- Knibb, W. (2000). Genetic improvement of marine fish—which method for industry?. *Aquaculture Research*, 31(1), 11-23.
- Knowles, L. L., and Maddison, W. P. (2002). Statistical phylogeography. *Molecular Ecology*, 11(12), 2623-2635.
- Koca, S. B., Didinen, B. I., Ekici, S., and Dullu, A. (2011). Su Ürünleri Yetiştiriciliğinde Probiyotik Uygulamaları/Applications of Probiotic in Aquaculture. *Journal of Fisheries Sciences. com*, 5(4), 326.
- Koumoundouros, G., Divanach, P., and Kentouri, M. (1999). Osteological development of the vertebral column and of the caudal complex in *Dentex dentex*. *Journal of Fish Biology*, 54(2), 424–436.
- Kul, B. Ç. (2010). Türkiye Yerli Keçi Irklarının Mitokondrial DNA Çeşitliliği ve Filocoğrafyası (Doctoral dissertation, Doktora Tezi. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara).
- Lakra, W. S., Verma, M. S., Goswami, M., Lal, K. K., Mohindra, V., Punia, P., ... and Hebert, P. (2011). DNA barcoding Indian marine fishes. *Molecular Ecology Resources*, 11(1), 60-71.
- Larkin MA, Blackshields G, Brown NP, Chenna R, McGettigan PA, McWilliam H, Valentin F, Wallace IM, Wilm A, Lopez R, Thompson JD, Gibson TJ, Higgins DG. (2007). Clustal W and Clustal X version 2.0, *Bioinformatics*, 23, 2947-2948.
- Lewin, B. (2004). [Published by Pearson Prentice Hall, Pearson Education, Inc. USA]. *Genes*, •••, VIII.
- Librado, P., and Rozas, J. (2009). DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*, 25(11), 1451-1452.

Lodish, H., and Baltimore, H. D., Berk, A., Zipursky, S. L., Matsudaira P., Darnell, J., (2003) Molecular Cell Biology. Publisher: W. H. Freeman Company, Usa.

Magoulas, A., Tsimenides, N., and Zouros, E. (1996). Mitochondrial DNA phylogeny and the reconstruction of the population history of a species: the case of the European anchovy (*Engraulis encrasicolus*). Molecular Biology and Evolution, 13(1), 178-190,

Mamuris, Z., Stamatis, C., Moutou, K. A., Apostolidis, A. P., and Triantaphyllidis, C. (2001). RFLP analysis of mitochondrial DNA to evaluate genetic variation in striped red mullet (*Mullus surmuletus* L.) and red mullet (*Mullus barbatus* L.) populations. Marine Biotechnology, 3, 264-274.

Mecklenburg, C. W., Møller, P. R., and Steinke, D. (2011). Biodiversity of arctic marine fishes: taxonomy and zoogeography. Marine Biodiversity, 41, 109-140,

Meusnier, I., Singer, G. A., Landry, J. F., Hickey, D. A., Hebert, P. D., and Hajibabaei, M. (2008). A universal DNA mini-barcode for biodiversity analysis. BMC genomics, 9(1), 1-4.

Meyer, C. P. (2004). Toward comprehensiveness: Increased molecular sampling within Cypraeidae and its phylogenetic implications. *Malacologia*, 46, 127–156.

Micale, V., Perdichizzi, F., and Basciano, G. (1996). Aspects of the reproductive biology of the sharpsnout seabream *Diplodus puntazzo* (Cetti, 1777). I. Gametogenesis and gonadal cycle in captivity during the third year of life. Aquaculture, 140(3), 281-291,

Miggiano, E., De Innocentiis, S., Ungaro, A., Sola, L., and Crosetti, D. (2005). AFLP and microsatellites as genetic tags to identify cultured gilthead seabream escapees: data from a simulated floating cage breaking event. Aquaculture International, 13, 137-146.

Monis, P. T., Giglio, S., and Saint, C. P. (2005). Comparison of SYTO9 and SYBR Green I for real-time polymerase chain reaction and investigation of the effect of dye concentration on amplification and DNA melting curve analysis. Analytical biochemistry, 340(1), 24-34.

Montgomery, J., Wittwer, C. T., Palais, R., and Zhou, L. (2007). Simultaneous mutation scanning and genotyping by high-resolution DNA melting analysis. Nature protocols, 2(1), 59-66.

Moritz, C., and Cicero, C. (2004). DNA barcoding: promise and pitfalls. *PLoS biology*, 2(10), e354.

Navarro A., Zamorano M.J., Hildebrandt S. et al. (2009). Estimates of heritabilities and genetic correlations for growth and carcass traits in gilthead seabream (*Sparus auratus* L.), under industrial conditions. *Aquaculture*, 289: 225–230,

Naylor, R., Hindar, K., Fleming, I. A., Goldberg, R., Williams, S., Volpe, J., ... and Mangel, M. (2005). Fugitive salmon: Assessing the risks of escaped fish from net-pen aquaculture. *BioScience*, 55(5), 427-437.

Nei, M., and Kumar, S. (2000). *Molecular evolution and phylogenetics*. Oxford University Press, USA.

Nei, M., and Tajima, F. (1981). DNA polymorphism detectable by restriction endonucleases. *Genetics*, 97(1), 145-163.

Nicolas, V. , Herbreteau, V. , Couloux, A., Keovichit , K. , Douangboupouha , B. ve Hugot , JP (2012). *Laonastes aenigmamus*'ta (Diatomyidae, Rodentia) nükleer ve mitokondriyal DNA dizisi verileriyle ortaya çıkan olağanüstü bir mikro-endemizm vakası. *PLoS Bir*, 7 (11), e48145.

Nilsson, T., 1982. *The Pleistocene: Geology and Life in the Quaternary Age*. Ridell Publishing Company, Dordrecht, Holland.

Noack, K., Zardoya, R., and Meyer, A. (1996). The complete mitochondrial DNA sequence of the bichir (*Polypterus ornatipinnis*), a basal ray-finned fish: ancient establishment of the consensus vertebrate gene order. *Genetics*, 144(3), 1165-1180.

Norris, D. E., Klompen, J. S. H., and Black, W. C. (1999). Comparison of the mitochondrial 12S and 16S ribosomal DNA genes in resolving phylogenetic relationships among hard ticks (Acari: Ixodidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 92(1), 117-129.

Orrell, T. M. (2000). *A molecular phylogeny of the Sparidae (Perciformes: Percoidae)*. The College of William and Mary.

Özdemir, F. (2013). Türkiye'deki *Capoeta* (Teleostei: Cyprinidae) cinsine ait tür ve alttürlerin klasik ve moleküler sistematik yöntemler kullanılarak revizyonu (Doktora Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü Hacettepe Üniversitesi, Ankara).

Özen. N., 2013. Türkiye'deki alabalıkların (*Salmo trutta* L.) moleküler filogenisi, Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Ana Bilim Dalı, 2013-DR-04, Doktora Tez, 2013.

Parmaksız, A., and Eksi, E. (2017). Genetic diversity of the cyprinid fish *Capoeta trutta* (Heckel, 1843) populations from Euphrates and Tigris rivers in Turkey based on mtDNA COI sequences. *Indian Journal of Fisheries*, 64(1), 18-22.

Parmaksız, A., Şeker, Ö., Aslan, N., and Oymak, A. (2017). Fırat ve Dicle Nehri'nde Yaşayan *Barbus grypus* (Heckel, 1843) Populasyonlarında Genetik Çeşitliliğin mtDNA COI Gen Dizileri Kullanılarak Belirlenmesi. *Yunus Araştırma Bülteni*, 17(1), 103-107.

Ramírez-Soriano, A., Ramos-Onsins, S. E., Rozas, J., Calafell, F., and Navarro, A. (2008). Statistical power analysis of neutrality tests under demographic expansions, contractions and bottlenecks with recombination. *Genetics*, 179(1), 555-567.

Reece, R. J. (2004). *Nucleic Acid Blotting. Analysis of Genes and Genomes*. John Wiley and Sons Ltd., England, 98-102.

Rodrigues-Filho, L. F. D. S., Rocha, T. C. D., Rêgo, P. S. D., Schneider, H., Sampaio, I., and Vallinoto, M. (2009). Identification and phylogenetic inferences on stocks of sharks affected by the fishing industry off the Northern coast of Brazil. *Genetics and Molecular Biology*, 32, 405-413.

Rossi A.R., Perrone E., Sola L. (2006). Genetic structure of gilthead sea bream *Sparus aurata* in the Central Mediterranean Sea. *Central European Journal of Biology*, 1: 636-647

Rossi, A. R., Miggianno, M., Franchini, P., Perrone, E., Crosetti, D., and Sola, L. (2009). Genetic comparison of temporal replicates of gilthead sea bream (*Sparus aurata*) from two Tyrrhenian coastal lagoons characterized by different management. *Journal of Applied Ichthyology*, 25(5), 603-605.

- S. Vittas, E. Drosopoulou, I. Kappas, CN Pantzartzi ve ZG Scouras, 2011, Avrupa yayın balığının mitokondriyal genomu. Silurus glanis (Siluriformes, Siluridae) *Journal of Biological Research- (2011) Thessaloniki* 15: 27
- Saara, F. (2000). Phylogenetic analysis of mitochondrial DNA: Detection of mutations in patients with an occipital stroke. Oulun Yliopisto, Mart. Oulu Üniversitesi.
- Salini, J. J., Giles, J. J., Holmes, B. B., Last, P. P., Marshall, L. L., Meekan, M. M., ... and Ward, B. B. (2007). Species Identification from sharks fins-Phase 1,
- Schiermeier, Q. (2003). Fish farms' threat to salmon stocks exposed. *Nature*, 425(6960), 753-753.
- Schwartz, M., and Vissing, J. (2002). Paternal inheritance of mitochondrial DNA. *The New England Journal of Medicine*, 347(8), 576–580,
- Singer-Sam J, Tanguay RL, Riggs A (1989). Use of Chelex to improve the PCR signal from a small number of cells. *Amplifications* 3:11,
- Skurikhina, L. A., Oleinik, A. G., Kukhlevsky, A. D., Kovpak, N. E., Frolov, S. V., and Sendek, D. S. (2018). Phylogeography and demographic history of the Pacific smelt *Osmerus dentex* inferred from mitochondrial DNA variation. *Polar Biology*, 41, 877-896.
- Spies, I. B., Gaichas, S., Stevenson, D. E., Orr, J. W., and Canino, M. F. (2006). DNA-based identification of Alaska skates (*Amblyraja*, *Bathyraja* and *Raja*: Rajidae) using cytochrome c oxidase subunit I (COI) variation. *Journal of Fish Biology*, 69, 283-292.
- Spreitzer, M. L., Mautner, S., Makasa, L., and Sturmbauer, C. (2012). Genetic and morphological population differentiation in the rock-dwelling and specialized shrimp-feeding cichlid fish species *Altolamprologus compressiceps* from Lake Tanganyika, East Africa. *Hydrobiologia*, 682, 143-154.
- Summerer, M., Hanel, R., and Sturmbauer, C. (2001). Mitochondrial phylogeny and biogeographic affinities of sea breams of the genus *Diplodus* (Sparidae). *Journal of Fish Biology*, 59(6), 1638-1652.
- Şen, O. (2021). Türkiye'deki Bazı Deniz Hıyarı (Aspidochirotida: Holothuroidea) Türlerinin Genetik Yapısının Mtdna Co1 Ve 16s Rrna Gen Bölgelerinin Dizi Analizi İle Belirlenmesi (Master's thesis, Fen Bilimleri Enstitüsü).

- Tajima, F. (1989). Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics*, 123(3), 585-595.
- Tanya, C., and Kumar, R. (2010). Molecular markers and their applications in fisheries and aquaculture. *Advances in Bioscience and Biotechnology*, 2010.
- Templeton, A. R. (2004). Statistical phylogeography: methods of evaluating and minimizing inference errors. *Molecular ecology*, 13(4), 789-809.
- Thorland I., Papaioannou N., Kottaras L. et al. (2006). The KEGO breeding programs for sea bream (*Sparus aurata*) and sea bass (*Dicentrarchus labrax*) in Greece. 8th Hellenic Symposium on Oceanography and Fisheries, Thessaloniki, Greece, 4-8 June 2006.
- Turan, C., Carvalho, G. R., and Mork, J. (1998). Molecular genetic analysis of Atlanto-Scandian herring (*Clupea harengus*) populations using allozymes and mitochondrial DNA markers. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 78(1), 269-283.
- Tyagi, S., and Kramer, F. R. (1996). Molecular beacons: Probes that fluoresce upon hybridization. *Nature Biotechnology*, 14(3), 303–308.
- Ude, G. N., Igwe, D. O., Brown, C., Jackson, M., Bangura, A., Ozokonkwo-Alor, O., ... and Das, A. (2020). DNA barcoding for identification of fish species from freshwater in Enugu and Anambra States of Nigeria. *Conservation Genetics Resources*, 12, 643-658.
- Valente, L. M., Moutou, K. A., Conceicao, L. E., Engrola, S., Fernandes, J. M., and Johnston, I. A. (2013). What determines growth potential and juvenile quality of farmed fish species?. *Reviews in Aquaculture*, 5, S168-S193.
- Viret, A., Tsaparis, D., Tsigenopoulos, C. S., Berrebi, P., Sabatini, A., Arculeo, M., ... and Durieux, E. D. (2018). Absence of spatial genetic structure in common dentex (*Dentex dentex* Linnaeus, 1758) in the Mediterranean Sea as evidenced by nuclear and mitochondrial molecular markers. *PLoS one*, 13(9), e0203866.
- Ward, R. D. (2006). The importance of identifying spatial population structure in restocking and stock enhancement programmes. *Fisheries Research*, 80(1), 9-18.

Ward, R. D., Zemlak, T. S., Innes, B. H., Last, P. R., and Hebert, P. D. (2005). DNA barcoding Australia's fish species. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 360(1462), 1847-1857.

Weigt, L. A., Driskell, A. C., Baldwin, C. C., and Ormos, A. (2012). DNA barcoding fishes. *DNA barcodes: Methods and protocols*, 109-126.

Weigt, L. A., Driskell, A. C., Baldwin, C. C., and Ormos, A. (2012). DNA barcoding fishes. *DNA barcodes: Methods and protocols*, 109-126.

Wheeler, T. J., and Kececioğlu, J. D. (2007). Multiple alignment by aligning alignments. *Bioinformatics*, 23(13), i559-i568.

Wittwer, C. T., Ririe, K. M., Andrew, R. V., David, D. A., Gundry, R. A., and Balis, U. J. (1997). The LightCycler: A microvolume multisample fluorimeter with rapid temperature control. *BioTechniques*, 22, 176–181,

Wittwer, C. T., Reed, G. H., Gundry, C. N., Vandersteen, J. G., and Pryor, R. J. (2003). High-resolution genotyping by amplicon melting analysis using LCGreen. *Clinical chemistry*, 49(6), 853-860,

Woksepp, H., Jernberg, C., Tärnberg, M., Ryberg, A., Brolund, A., Nordvall, M., Olsson-Liljequist, B., Wisell, K. T., Monstein, H. J., Nilsson, L. E., and Schön, T. (2011). High-resolution melting-curve analysis of ligation-mediated real-time PCR for rapid evaluation of an epidemiological outbreak of extended-spectrum-beta-lactamase-producing *Escherichia coli*. *Journal of Clinical Microbiology*, 49(12), 4032–4039.

Zemlak, T. S., Ward, R. D., Connell, A. D., Holmes, B. H., and Hebert, P. D. (2009). DNA barcoding reveals overlooked marine fishes. *Molecular Ecology Resources*, 9, 237-242.

Zink RM, Barrowclough GF (2008). Mitochondrial DNA under siege in avian phylogeography. *Mol Ecol* 17: 2107–2121, doi: 10.1111/j.1365-294X.2008.03737.x PMID:18397219.



DİZİN

A

Adıyaman, 90, 92, 97, 99, 103
Ağ-Kafes, 31
Akdeniz, İv, 1, 20, 21, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 31, 64, 85, 86, 87, 89, 90, 95, 96, 98, 100, 101, 102, 104, 105
Alabalık, 22, 89, 95, 115
Allel, 87, 88, 90
Amplifikasyon, 45
Anaç, 27, 28, 111
ANOVA, 82
Antalya, İv, 33, 54, 64, 67, 70, 82, 83, 84, 85, 94, 108
Aritmetik, 17
Arlequin, 42

Atlantik, 23, 24, 25, 26, 28, 86, 100, 101, 102, 104, 105
Atlantik Somon, 25
Avcılık, 1, 34, 88, 90, 110
Avrupa, 20, 22, 26, 86, 87, 89, 91, 92, 95, 114, 125
Avrupa Birliği, 20

B

Balık, İv, 3, 21, 22, 23, 26, 27, 28, 31, 39, 45, 88, 96, 100, 105, 110, 111
Balık Ağı, 111
Barbus, 101, 103, 125
Batman, 97, 103
Beslenme, 21, 27

Bias, 68, 93, 107, 109
Bilgisayar, 7, 19, 31
Bioedit, 42
Birecik, 90, 92, 97, 99, 103
Bismil, 90, 92, 97, 99, 103
Bisturi, 38, 39
Biyocoğrafik, 24, 104
Bodrum, 33, 34, 44, 54, 70, 82, 94, 107

C

Capoeta, 90, 92, 97, 99, 103, 124
Capoetta, 96
Cebelitarık, 104
Chelex, 38
Chromas, 42, 119

Cichlidae, 23, 117
COI, *Vii*, *İx*, *Xi*, *Xii*, 3, 6,
 25, 28, 29, 30, 31, 39,
 40, 41, 42, 45, 46, 47,
 48, 49, 50, 52, 53, 54,
 55, 56, 57, 58, 59, 60,
 61, 62, 63, 64, 81, 82,
 83, 84, 85, 86, 88, 89,
 90, 91, 94, 95, 96, 98,
 99, 101, 103, 106,
 108, 117, 121, 124,
 125, 126

Ç

Çanakkale, 33, 67, 70,
 85, 94, 107, 109
Çeşme, 33, 34, 54, 67,
 70, 82, 85, 90, 93, 94,
 97, 99, 106, 109
Çiftlik, 22, 24, 25, 26, 27
Çiftlik, 22
Çipura, 1, 20, 21, 26, 27,
 28, 30

D

D.Dentex, *Xi*, *Xii*, 34, 40,
 42, 45, 46, 47, 48, 51,
 53, 54, 58, 59, 62, 63,
 64, 78, 81, 82, 83,
 100, 101, 104, 108,
 150, 151
Damızlık, 21, 28, 111
Değişken, 13
Demografik, 100, 101,
 103
Denizel, 109
Dentex dentex, *İv*, *İx*, *X*,
Xi, *Xii*, *Xiii*, 1, 3, 20,
 31, 32, 45, 46, 47, 48,
 52, 53, 54, 57, 62, 63,
 69, 71, 72, 79, 81, 83,
 90, 93, 94, 97, 102,
 103, 106, 108, 109,
 114, 122, 127, 133,
 134, 135, 136, 137,
 138, 139, 150
Dicle, 97, 101, 103, 125

Dideoksi, *İx*, 11, 12
Dikkatsizlik, 21
Diplodus puntazzo, *İv*,
İx, *X*, *Xi*, *Xii*, *Xiii*, 1, 3,
 20, 25, 31, 32, 45, 49,
 50, 51, 54, 55, 56, 57,
 59, 62, 66, 72, 73, 81,
 83, 88, 93, 94, 97,
 100, 102, 104, 105,
 106, 113, 123, 140,
 141, 142, 143, 144,
 145, 146, 147, 148,
 149

Dizi Analizi, 3, 7, 10, 11,
 16, 29, 31, 45, 57, 96,
 106

D-Loop, 5, 25, 86, 88,
 89, 101

DNA, *Vii*, *Xi*, *Xii*, 3, 4, 5,
 6, 8, 9, 10, 11, 12, 13,
 16, 19, 22, 23, 24, 25,
 26, 28, 29, 31, 38, 39,
 40, 41, 45, 52, 53, 54,
 55, 56, 57, 67, 82, 83,
 84, 88, 89, 90, 91, 97,
 98, 101, 104, 113,
 114, 115, 116, 117,
 118, 119, 120, 121,
 122, 123, 124, 125,
 126, 127, 128

Doğa, 100

Doğal, *İv*, 31, 33, 34, 42,
 43, 64, 85, 93, 94, 97,
 99, 106, 108, 109

Doku, *İx*, 31, 38, 39

Doku, 38

Döllenme, 5

Düğüm, 16

Dünya, 111

E

Ege Denizi, *İv*, 26, 30,
 31, 106

Ekonomik, 20, 89, 98,
 101, 103, 106, 108,
 121

Ekosistemi, 21, 101, 103,
 111

Elektroforez, 11, 12, 45

Endonezya, 96

Epizodik, 25

Erime, *Vii*, 9, 10, 39, 40,
 45

Erime Eğrisi, *Vii*, 9, 39

Etkileşim, 12, 31, 79,
 103, 106, 110

Evrensel, 97, 107, 109

Excel, 42, 119

F

Fangri, 20

FAO, *İx*, 1, 2, 117

Farklılaşma, 25, 26, 27,
 28, 43, 104, 110

Fenotip, 28

Fırat, 21, 97, 101, 103,
 125

Fiksasyon, 15

Filogenetik, *İx*, 3, 6, 12,
 14, 16, 17, 18, 19, 22,
 23, 24, 28, 29, 41, 73,
 86, 87, 88, 89, 91, 94,
 95, 96, 97, 98, 99,
 101, 105, 121

Filogenetik Ağaçlar, 17,
 41, 98, 107

Floresan, 7, 9, 11, 12

Formülasyon, 102

Freeland, 7, 14, 117

Fst, 95, 96

Fst, 27, 71, 97

G

Gelişim, 20

Gen, *Xii*, 4, 7, 14, 15, 24,
 25, 27, 30, 57, 58, 59,
 60, 61, 62, 82, 85, 87,
 88, 89, 90, 93, 94, 96,
 97, 98, 99, 104, 105,
 106, 109, 110, 111,
 149, 150

Genetik, X, Xi, Xii, Xiii,
1, 3, 5, 6, 12, 13, 14,
15, 16, 21, 22, 23, 24,
25, 26, 27, 28, 29, 30,
31, 42, 43, 63, 64, 66,
69, 70, 71, 79, 80, 82,
83, 84, 85, 86, 87, 88,
89, 90, 91, 92, 93, 94,
95, 96, 97, 99, 100,
101, 102, 103, 104,
105, 106, 108, 109,
111, 115, 121
Genetik Uzaklık, 88, 90,
94, 95, 99, 107, 109
Genişleme, 102, 103
Genotip, Xi, Xii, 22, 28,
54, 55, 57, 82, 106
Green, İx, 8, 9, 11, 82,
123
Guanin, 7, 11
Güllük, 33, 34, 44, 64,
67, 70, 85, 93, 94,
102, 107, 108

H

Hamsi, 23, 91, 95
Haplogrup, Viii, 14, 97
Haplotip, Xii, 25, 42, 63,
64, 67, 73, 84, 85, 86,
87, 88, 89, 90, 93, 95,
97, 99, 100, 101, 102,
103, 106, 108
Haplotip, Vii, Viii, 14,
62, 64, 66, 67, 84, 86,
89, 100
Haplotip Çeşitliliği, 64,
67, 84, 85, 87, 88, 89,
101, 106, 108
Hardy-Weinberg, 15,
121
Harita, İx, 37
Hazar Denizi, 96
Hebert, 25, 28, 84, 88,
90, 113, 115, 117,
118, 122, 123, 127,
128
Heterozigot, 82

Hidrojen, 11, 83
Hidroliz, 8
Hint, 24, 98
Hint Okyanusu, 24
Homojenizasyon, 38
Homozigot, 82
Hrm, İx, X, 52, 55, 106
HRM, Vii, İx, Xi, Xii, 10,
11, 28, 29, 39, 41, 52,
53, 54, 55, 56, 57, 82,
83, 113
HRM Analizi, 10, 29, 53,
54, 55, 56, 83
HRM Eğrisi, 11
Hücre, 5, 38

I

Işıma, 8, 9, 11

İ

İnci Kefali, 28, 121
İnsan, 21
İnvaziv, 110
İspanya, 100
İsparoz, 89, 113
İstanbul, 89
İstasyon, X, Xii, Xiii, 69,
70, 71, 88, 90, 93, 98,
101, 106
İstiridye, 23
İtalya, 21, 27, 100
İyon Denizi, 30
İzole, 4, 31

J

Jobling, 14, 15, 16, 120

K

K2P, 92, 98
Kamera, 7
Kapiller, 11

Karaburun, X, 33, 42,
44, 57, 59, 64, 67, 70,
84, 85, 88, 90, 93, 94,
97, 99, 101, 102, 106,
108, 109
Karaciğer, 3
Karadeniz, 26, 87, 88,
89, 96, 115, 116
Karakter, 19
Karides, 89
Kayabalığı, 85, 91, 94
Kaza, 24
Kefal, 85, 91, 95
Kimura, Xii, 67, 68, 93
Korelasyon, 16, 26, 47,
81, 108
Kromotografi, 11
Kuşadası, 33, 44, 67, 70,
85, 90, 94, 102, 106,
109
Kültür, X, Xi, 1, 21, 23,
26, 28, 30, 31, 34, 42,
51, 57, 59, 64, 67, 79,
80, 81, 84, 85, 88, 90,
97, 99, 101, 103, 104,
105, 106, 108, 110
Kültür, İv, 23, 31, 33, 34,
43, 57, 59, 64, 79, 82,
84, 93, 94, 97, 106,
108, 109, 111
Kültür Balığı, 101, 107

L

Lateolabrax, 24

M

Malezya, 98
Manipüle, 22
Matematiksel, 43
Mavi Yengeç, 29
Median, X, 76, 77, 99,
101
MEGA, 41, 42
Membran, 7
Mercan, 20

Metilasyon, 11
 Mikrobiyal, 10
 Mikrosatalit, 25, 88, 90, 96, 101
 Mitokondri, 3, 4
 Monomorfik, 87
 Morfolojik, 22, 26, 27, 88, 110, 114, 121
 Moronidae, 24
 Mtdna, 3, 4, 5, 6, 14, 24, 25, 26, 27, 31, 42, 52, 62, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 103, 105, 113, 115, 116, 121, 124, 125
 Mtdna, Vii, Viii, Xi, 3, 4, 5, 7, 28, 31, 40, 41, 57, 84, 96, 100, 105, 106

N

NCBI, 41, 84, 119, 120, 149, 150
 Nei, X, Xii, Xiii, 13, 14, 69, 70, 71, 94, 124
 Neighbor, İx, X, 17, 18, 28, 41, 75
 Neo-Tropikal, 23
 Nesil, 27, 29, 105
 Network, 76, 99
 NJ, X, 17, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 98, 99, 101, 107, 117
 Nötralite, Vii, Viii, 77, 102, 103
 Nükleotid, Xii, 4, 11, 13, 16, 22, 23, 29, 42, 59, 62, 64, 65, 67, 68, 69, 84, 88, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 98, 102, 106, 108
 Nükleotit, Xii, 13, 42, 68

O

Orfoz, 96, 98

Ö

Ökaryotik, 10, 29
 Örnek, İv, İx, X, Xi, Xii, 3, 13, 17, 24, 26, 38, 39, 42, 48, 52, 54, 55, 59, 62, 63, 65, 66, 87, 88, 89, 90, 93, 96, 101, 106, 110, 111
 Özdeş, 23, 98

P

Parsimoni, 19
 Pasifik, 23, 24, 100, 101, 103
 PCR, Vii, İx, Xi, 3, 7, 8, 9, 10, 11, 22, 29, 39, 40, 41, 45, 57, 59, 81, 82, 83, 112, 113, 117, 120, 121, 126, 128
 PHYLIP, 19
 Poliformik, 27, 87
 Polimorfizm, 25, 26
 Popülasyon Genetiği, 15, 26
 Popülasyonlar, 3, 6, 12, 15, 26, 27, 28, 29, 30, 69, 86, 91, 94, 95, 97, 102, 109
 Portekiz, 23, 100
 Primer, 40
 Prokaryot, 3
 QPCR, Vii, İx, Xi, 39, 45, 46, 48, 49, 50

R

RAPD, 29
 Rekombinasyon, 6
 Ringa, 85
 RNA, 3, 4, 5, 28, 85, 91, 95

Rrna, 4, 5, 7, 28, 86, 91, 94, 95, 117

S

Sabah, 98
 Salmo Trutta, 22, 95, 113, 115, 124
 Sanger, 11, 31, 41, 112
 Santrifüj, 38
 Sarawak, 98
 Sinarit, İv, X, 1, 3, 20, 31, 57, 62, 67, 71, 73, 77, 79, 97, 101, 104, 110
 Sinarit, İv, Vii, İx, X, Xi, Xii, Xiii, 1, 20, 31, 32, 34, 44, 45, 47, 52, 57, 62, 64, 67, 68, 69, 71, 72, 73, 74, 76, 77, 78, 79, 83, 84, 90, 93, 94, 99, 103, 106, 108
 Site, 85, 87, 115, 117
 Sivriburun Karagöz, İv, İx, 1, 3, 20, 31, 32, 73, 97, 104
 Sparidae, 24, 100, 102, 104, 113, 117, 124, 126
 Sparidea, 1
 Stok, 21
 Stoklama, 22
 Su Ürünleri, İx, 1, 2, 3, 20, 21, 26, 98, 109, 111
 Sybr Green, 9

T

Teleost, 24, 100, 102, 104
 Tespit, Xii, 11, 13, 20, 22, 24, 25, 26, 42, 63, 64, 66, 67, 81, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 93, 94, 95, 96, 97, 98,

99, 100, 101, 102,
106, 108, 109
Tez, 87, 88, 90, 92, 94,
95, 96, 97, 99, 103,
106, 108
Thermocyclers, 7
Tm Değeri, 40, 47, 52,
81, 106, 108
Transisyonel, Xii, 67, 68,
93
Transversiyonel, Xii, 67,
68, 93
Treeview, X, 71, 72, 73
Trna, 4, 7, 11, 88
TUIK, İx, 2, 120
TÜBİTAK, İv, 31
Türdeş, 98
Türkiye, İx, 1, 2, 26, 86,
87, 88, 89, 92, 94, 95,
96, 98, 99, 109, 113,
115, 116, 120, 121,
122, 124, 126

Yabani, 21, 25, 26, 27,
28, 110
Yetiştiricilik, 1, 3, 20, 21,
22, 25, 28, 110, 111
Yunanistan, 86, 91, 95,
100
Yüksek Çözünürlüklü
Erime, ix, 10

Z

Zink, 88, 128

Ü

Üretim, 1, 21, 79, 103,
104, 107, 111
Üssel, 43

V

Vahşi, 3, 22, 23, 27, 28,
30
Viral, 10, 29
Vortex, 38

W

Wright, X, Xiii, 15, 71,
72, 73

Y

EK-1(h). *Dentex dentex* örneklerine ait sıralanmış sekanslar (491-510 baz çifti arası)

	
	500
I-W-D.dentex-1	ACCG-TAACC TAAACAC
I-W-D.dentex-2	ACCG-TAACC TAAACAC
I-W-D.dentex-3	ACCG-TAACC TAAACAC
I-W-D.dentex-4	ACCG-TAACC TAAACAC
I-W-D.dentex-5	ACCG-TAACC TAAACAC
I-W-D.dentex-7	ACCG-TAACC TAAACAC
I-W-D.dentex-8	ACCG-TAACC TAAACAC
I-W-D.dentex-9	ACCG-TAACC TAAACAC
I-W-D.dentex-10	ACCG-TAACC TAAACAC
I-C-D.dentex-1	ACCG-TAACC TAAACAC
I-C-D.dentex-2	ACCG-TAACC TAAACAC
I-C-D.dentex-3	ACCG-TAACC TAAACAC
I-C-D.dentex-4	ACCG-TAACC TAAACAC
I-C-D.dentex-5	ACCG-TAACC TAAACAC
I-C-D.dentex-7	ACCG-TAACC TAAACAC
I-C-D.dentex-8	ACCG-TAACC TAAACAC
I-C-D.dentex-9	ACCG-TAACC TAAACAC
I-C-D.dentex-10	ACCG-TAACC TAAACAC
II-W-D.dentex-1	ACCG-TAACC TAAACAC
II-W-D.dentex-2	ACCG-TAACC TAAACAC
II-W-D.dentex-3	ACCG-TAACC TAAACAC
II-W-D.dentex-4	ACCG-TAACC TAAACAC
II-W-D.dentex-5	ACCG-TAACC TAAACAC
III-W-D.dentex-1	ACCG-TAACC TAAACAC
III-W-D.dentex-2	ACCG-TAACC TAAACAC
III-W-D.dentex-3	ACCG-TAACC TAAACAC
III-W-D.dentex-4	ACCG-TAACC TAAACAC
III-W-D.dentex-5	ACCG-TAACC TAAACAC
III-W-D.dentex-6	ACCG-TAACC TAAACAC
III-W-D.dentex-7	ACCG-TAACC TAAACAC
III-W-D.dentex-8	ACCG-TAACC TAAACAC
III-W-D.dentex-9	ACCG-TAACC TAAACAC
III-W-D.dentex-10	ACCG-TAACC TAAACAC
IV-W-D.dentex-1	ACCG-TAACC TAAACAC
IV-W-D.dentex-2	ACCG-TAACC TAAACAC
IV-W-D.dentex-4	ACCG-TAACC TAAACAC
IV-W-D.dentex-5	ACCG-TAACC TAAACAC
IV-W-D.dentex-6	ACCG-TAACC TAAACAC
V-W-D.dentex-1	ACCG-TAACC TAAACAC
V-W-D.dentex-2	ACCG-TAACC TAAACAC
V-W-D.dentex-3	ACCG-TAACC TAAACAC
V-W-D.dentex-4	ACCG-TAACC TAAACAC
VI-W-D.dentex-1	ACCG-TAACC TAAACAC
VI-W-D.dentex-2	ACCG-TAACC TAAACAC
VI-W-D.dentex-3	ACCG-TAACC TAAACAC
VI-W-D.dentex-4	ACCG-TAACC TAAACAC
VI-W-D.dentex-5	ACCG-TAACC TAAACAC
VI-W-D.dentex-6	ACCG-TAACC TAAACAC
VII-W-D.dentex-1	ACCG-TAACC TAAACAC
VII-W-D.dentex-2	ACCG-TAACC TAAACAC
VII-W-D.dentex-3	ACCG-TAACC TAAACAC
VII-W-D.dentex-4	ACCG-TAACC TAAACAC
VII-W-D.dentex-5	ACCG-TAACC TAAACAC
KJ012327.1 Dentex de	ACCG-TAACC TAAACAC
Dicentractur_Labrax_	ACCG-AAATC TAAACAC

[illegible]

EK-2(h). *Diplodus puntazzo* örneklerine ait sıralanmış sekanslar (491-500 baz çifti arası)

	 500
I-C-D. Puntazzo-1	C---TGCCAA
I-C-D. Puntazzo-3	C---TGCCGA
I-C-D. Puntazzo-4	C---TGCCGA
I-C-D. Puntazzo-5	C---TGCCGA
I-C-D. Puntazzo-6	C---TGCCGA
I-C-D. Puntazzo-7	C---TGCGAA
I-C-D. Puntazzo-8	C---TGCGAA
I-C-D. Puntazzo-9	C---TGCCGG
I-C-D. Puntazzo-10	C---TGCCGA
I-W-D. Puntazzo-1	C---TGCCGA
I-W-D. Puntazzo-2	C---TGCCGA
I-W-D. Puntazzo-3	C---TGCGAA
I-W-D. Puntazzo-4	C---TGCGAA
I-W-D. Puntazzo-5	C---TGCGAA
I-W-D. Puntazzo-6	C---TGCGAA
I-W-D. Puntazzo-7	C---TGCGAA
I-W-D. Puntazzo-8	C---TGCGAA
I-W-D. Puntazzo-9	C---TGCCGG
II-W-D. Puntazzo-1	C---TGCGAA
II-W-D. Puntazzo-2	C---TGCCGA
II-W-D. Puntazzo-3	C---TGCCGA
II-W-D. Puntazzo-4	C---TGCGAA
III-W-D. Puntazzo-1	C---TGCGAA
III-W-D. Puntazzo-2	C---TGCGAA
III-W-D. Puntazzo-3	C---TGCGAA
III-W-D. Puntazzo-4	C---TGCGAA
III-W-D. Puntazzo-5	C---TGCCGA
III-W-D. Puntazzo-6	C---TGCCGG
III-W-D. Puntazzo-7	C---TGCCGG
III-W-D. Puntazzo-8	C---TGCGAA
III-W-D. Puntazzo-9	C---TGC-GA
III-W-D. Puntazzo-10	C---TGCGAA
IV-W-D. Puntazzo-2	C---TGCCGA
IV-W-D. Puntazzo-3	C---TGCGAA
IV-W-D. Puntazzo-4	C---TGCGAA
IV-W-D. Puntazzo-5	C---TGCGAA
IV-W-D. Puntazzo-6	C---TGC-GA
IV-W-D. Puntazzo-7	C---TGCGAA
IV-W-D. Puntazzo-8	C---TGCCGA
V-W-D. Puntazzo-1	C---TGCCGA
V-W-D. Puntazzo-3	C---TGCCGA
V-W-D. Puntazzo-4	C---TGCCGA
V-W-D. Puntazzo-5	C---TGCGAA
V-W-D. Puntazzo-6	C---TGCGAA
V-W-D. Puntazzo-7	C---TGCCGA
V-W-D. Puntazzo-8	C---TGCCGA
V-W-D. Puntazzo-9	C---TGCGAA
V-W-D. Puntazzo-10	C---TGCCGA
VI-W-D. puntazzo-1	C---TGCCGA
VI-W-D. puntazzo-2	C---TGCCGA
VI-W-D. puntazzo-3	C---TGCCGA
VI-W-D. puntazzo-4	C---TGC-GA
VI-W-D. puntazzo-5	C---TGCGAA
VII-W-D. Puntazzo-1	C---TGCCGG
VII-W-D. Puntazzo-2	C---TGCCGG
VII-W-D. puntazzo-3	C---TGCCGA
VII-W-D. puntazzo-4	C---TGCCGA
VII-W-D. puntazzo-5	C---TGCCGG

EK-3(a). *Diplodus puntazzo* örneklerine ait NCBI gen bank erişim kodları.

Örnek adı	Gen Bank Erişim Kodu	Örnek adı	Gen Bank Erişim Kodu
<i>I-W-D.puntazzo-1</i>	KX807269.1	<i>III-W-D.puntazzo-8</i>	KX807266.1
<i>I-W-D.puntazzo-2</i>	KX807270.1	<i>III-W-D.puntazzo-9</i>	KX807267.1
<i>I-W-D.puntazzo-3</i>	KX807271.1	<i>III-W-D.puntazzo-10</i>	KX807268.1
<i>I-W-D.puntazzo-4</i>	KX807272.1	<i>IV-W-D.puntazzo-2</i>	KX807289.1
<i>I-W-D.puntazzo-5</i>	KX807273.1	<i>IV-W-D.puntazzo-3</i>	KX807290.1
<i>I-W-D.puntazzo-6</i>	KX807274.1	<i>IV-W-D.puntazzo-4</i>	KX807291.1
<i>I-W-D.puntazzo-7</i>	KX807275.1	<i>IV-W-D.puntazzo-5</i>	KX807292.1
<i>I-W-D.puntazzo-8</i>	KX807276.1	<i>IV-W-D.puntazzo-6</i>	KX807293.1
<i>I-W-D.puntazzo-9</i>	KX807277.1	<i>IV-W-D.puntazzo-7</i>	KX807294.1
<i>I-C-D.puntazzo-1</i>	KX807279.1	<i>IV-W-D.puntazzo-8</i>	KX807295.1
<i>I-C-D.puntazzo-3</i>	KX807280.1	<i>V-W-D.puntazzo-1</i>	KX807249.1
<i>I-C-D.puntazzo-4</i>	KX807281.1	<i>V-W-D.puntazzo-3</i>	KX807251.1
<i>I-C-D.puntazzo-5</i>	KX807282.1	<i>V-W-D.puntazzo-4</i>	KX807252.1
<i>I-C-D.puntazzo-6</i>	KX807283.1	<i>V-W-D.puntazzo-5</i>	KX807253.1
<i>I-C-D.puntazzo-7</i>	KX807284.1	<i>V-W-D.puntazzo-6</i>	KX807254.1
<i>I-C-D.puntazzo-8</i>	KX807285.1	<i>V-W-D.puntazzo-7</i>	KX807255.1
<i>I-C-D.puntazzo-9</i>	KX807286.1	<i>V-W-D.puntazzo-8</i>	KX807256.1
<i>I-C-D.puntazzo-10</i>	KX807287.1	<i>V-W-D.puntazzo-9</i>	KX807257.1
<i>II-W-D.puntazzo-1</i>	KX807296.1	<i>V-W-D.puntazzo-10</i>	KX807258.1
<i>II-W-D.puntazzo-2</i>	KX807297.1	<i>VI-W-D.puntazzo-1</i>	KX807586.1
<i>II-W-D.puntazzo-3</i>	KX807298.1	<i>VI-W-D.puntazzo-2</i>	KX807587.1
<i>II-W-D.puntazzo-4</i>	KX807299.1	<i>VI-W-D.puntazzo-3</i>	KX807588.1
<i>III-W-D.puntazzo-1</i>	KX807259.1	<i>VI-W-D.puntazzo-4</i>	KX807589.1
<i>III-W-D.puntazzo-2</i>	KX807260.1	<i>VI-W-D.puntazzo-5</i>	KX807590.1
<i>III-W-D.puntazzo-3</i>	KX807261.1	<i>VII-W-D.puntazzo-1</i>	KX807591.1
<i>III-W-D.puntazzo-4</i>	KX807262.1	<i>VII-W-D.puntazzo-2</i>	KX807592.1
<i>III-W-D.puntazzo-5</i>	KX807263.1	<i>VII-W-D.puntazzo-3</i>	KX807593.1
<i>III-W-D.puntazzo-6</i>	KX807264.1	<i>VII-W-D.puntazzo-4</i>	KX807594.1
<i>III-W-D.puntazzo-7</i>	KX807265.1	<i>VII-W-D.puntazzo-5</i>	KX807595.1

EK-3 (b). *Dentex dentex* örneklerine ait NCBI gen bank erişim kodları.

Örnek adı	Gen Bank Erişim Kodu	Örnek adı	Gen Bank Erişim Kodu
I-W-D.dentex-1	KX807234.1	III-W-D.dentex-5	KX807232.1
I-W-D.dentex-2	KX807240.1	III-W-D.dentex-6	KX807225.1
I-W-D.dentex-3	KX807239.1	III-W-D.dentex-7	KX807224.1
I-W-D.dentex-4	KX807236.1	III-W-D.dentex-8	KX807223.1
I-W-D.dentex-5	KX807233.1	III-W-D.dentex-9	KX807231.1
I-W-D.dentex-7	KX807242.1	III-W-D.dentex-10	KX807226.1
I-W-D.dentex-8	KX807235.1	IV-W-D.dentex-1	KX807243.1
I-W-D.dentex-9	KX807238.1	IV-W-D.dentex-2	KX807229.1
I-W-D.dentex-10	KX807237.1	IV-W-D.dentex-3	KX807246.1
I-C-D.dentex-1	KX807222.1	IV-W-D.dentex-4	KX807244.1
I-C-D.dentex-2	KX807219.1	IV-W-D.dentex-5	KX807247.1
I-C-D.dentex-3	KX807216.1	IV-W-D.dentex-6	KX807245.1
I-C-D.dentex-4	KX807221.1	V-W-D.dentex-1	KX807577.1
I-C-D.dentex-5	KX807215.1	V-W-D.dentex-2	KX807578.1
I-C-D.dentex-7	KX807218.1	V-W-D.dentex-3	KX807579.1
I-C-D.dentex-8	KX807217.1	V-W-D.dentex-4	KX807580.1
I-C-D.dentex-9	KX807238.1	VI-W-D.dentex-1	KX807566.1
I-C-D.dentex-10	KX807220.1	VI-W-D.dentex-2	KX807567.1
II-W-D.dentex-1	KX807572.1	VI-W-D.dentex-3	KX807568.1
II-W-D.dentex-2	KX807573.1	VI-W-D.dentex-4	KX807569.1
II-W-D.dentex-3	KX807574.1	VI-W-D.dentex-5	KX807570.1
II-W-D.dentex-4	KX807575.1	VI-W-D.dentex-6	KX807571.1
II-W-D.dentex-5	KX807576.1	VII-W-D.dentex-1	KX807581.1
III-W-D.dentex-1	KX807228.1	VII-W-D.dentex-2	KX807582.1
III-W-D.dentex-2	KX807213.1	VII-W-D.dentex-3	KX807583.1
III-W-D.dentex-3	KX807227.1	VII-W-D.dentex-4	KX807584.1



TEKNOVERSİTE



teknoversite AYRICALIĞINDASINIZ

İSTE

