

**T.C.  
ORDU ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**TÜRKİYE’DE DAĞILIM GÖSTEREN GADIDAE TÜRLERİNİN  
mtDNA SEKANS ANALİZ YÖNTEMİYLE MOLEKÜLER  
FİLOGENETİK YAPISININ BELİRLENMESİ**

**Ümit GÜR**

**Bu tez,  
Balıkçılık Teknolojisi Mühendisliği Anabilim Dalında  
Yüksek Lisans  
derecesi için hazırlanmıştır.**

**ORDU 2014**

## TEZ ONAY

Ordu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü öğrencisi Ümit GÜR tarafından hazırlanan ve Yrd. Doç. Dr. Yılmaz ÇİFTÇİ danışmanlığında yürütülen “ Türkiye’de Dağılım Gösteren Gadidae Türlerinin mtDNA Sekans Analiz Yöntemiyle Moleküler Filogenetik Yapısının Belirlenmesi ” adlı bu tez, jürimiz tarafından 14 / 08 / 2014 tarihinde oy birliği / oy çokluğu ile Balıkçılık Teknolojisi Mühendisliği Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Yrd. Doç. Dr. Yılmaz ÇİFTÇİ

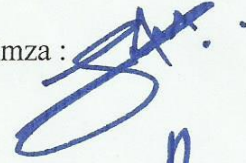
Başkan : Yrd. Doç. Dr. Yılmaz ÇİFTÇİ  
Balıkçılık Teknolojisi Müh.,  
Ordu Üniversitesi

İmza :



Üye : Yrd. Doç. Dr. Cem Tolga GÜRKANLI  
Balıkçılık Teknolojisi Müh.,  
Ordu Üniversitesi

İmza :



Üye : Yrd. Doç. Dr. Hasan TÜRE  
Deniz Bilimleri ve Teknolojisi Müh.,  
Ordu Üniversitesi

İmza :



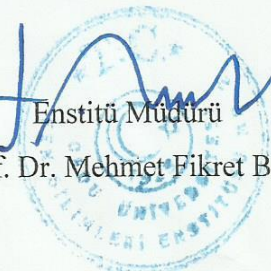

ONAY:

Bu tezin kabulü, Enstitü Yönetim Kurulu'nun 22.08.2014...tarih ve 2014/324..sayılı kararı ile onaylanmıştır.

22.10.8/2014..

Enstitü Müdürü

Prof. Dr. Mehmet Fikret BALTA



## TEZ BİLDİRİMİ

Tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu tezin yazılmasında bilimsel ahlak kurallarına uyulduğunu, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezin içerdiği yenilik ve sonuçların başka bir yerden alınmadığını, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, tezin herhangi bir kısmının bu üniversite veya başka bir üniversitedeki başka bir tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.

İmza  
Ümit GÜR

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

## ÖZET

### TÜRKİYE'DE DAĞILIM GÖSTEREN GADIDAE TÜRLERİNİN mtDNA SEKANS ANALİZ YÖNTEMİYLE MOLEKÜLER FİLOGENETİK YAPISININ BELİRLENMESİ

Ümit GÜR

Ordu Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Balıkçılık Teknolojisi Mühendisliği Anabilim Dalı, 2014  
Yüksek Lisans Tezi, 66s.

**Danışman: Yrd. Doç. Dr. Yılmaz ÇİFTÇİ**

Bu çalışmada, Gadidae ailesine ait ve ülkemiz denizlerinden örneklenen *Merlangius merlangus euxinus*, *Trisopterus minutus capelanus*, *Merluccius merluccius*, *Gaidropsarus mediterraneus*, *Gaidropsarus vulgaris*, *Phycis phycis* ve *Phycis blennoides* türleri incelenmiştir. Türlerin mtDNA üzerinde bulunan 12S rRNA ve 16S rRNA bölgeleri PZR ile amplifiye edilmiş ve dizi analizi gerçekleştirilmiştir. Elde edilen veriler GenBank'tan alınan verilerle birlikte değerlendirilerek filogenetik analizler gerçekleştirilmiş ve türler arası ilişkiler belirlenmiştir.

Çalışmada 12S rRNA gen bölgesi için 6 haplotip ve 16S rRNA gen bölgesi için 10 haplotip belirlenmiştir. 12S rRNA ve 16S rRNA gen bölgeleri için haplotip çeşitliliği ve nükleotit çeşitliliği sırasıyla Hd:0.823, Pi:0,09822; Hd:0.867, Pi:0.09822 olarak bulunmuştur. Elde edilen matrislerde baz kompozisyonları 12S rRNA gen bölgesi için A:%29.8, C:%25.8, G:%22.8 ve T:%21.6 ve 16S gen bölgesi için A: %27.98, C: %24.22, G: %22.45 ve T: %25.35 olarak belirlenmiştir.

Filogenetik analizlerde her iki gen bölgesi için de *Gaidropsarus vulgaris* ve *Gaidropsarus mediterraneus* türleri aynı haplotip içine dahil olmuşlar, *Phycis phycis* ve *Phycis blennoides* türleri ise 16S rRNA gen bölgesi için aynı haplotip içinde yer almışlardır. Oluşturulan filogenetik ağaçlar üzerinde, çalışılan türler arasında *Merlangius merlangus euxinus*' un atasal haplotip olduğu ve *Merluccius* türünün ise oluşturulan tüm ağaçlarda diğer haplotiplerden uzak durduğu görülmüştür.

Sonuç olarak bu çalışmada, ülkemiz sularında yayılış gösteren ve önemli ticari türleri de içerisinde barındıran Gadidae familyası hakkında oldukça yetersiz ve eksik olan moleküler filogenetik araştırmaların, çalışmada değerlendirilmiş 7 türün bireyleri için mtDNA üzerinde ki iki gen bölgesi açısından giderilmiştir. Ayrıca bu çalışmada bazı türler için ilk kez elde edilmiş ve sonraki çalışmalar için referans olabilecek sekans verileri GenBank'a yüklenecektir.

**Anahtar Kelimeler:** Gadidae, mtDNA, Sekans Analizi, Filogenetik, 12S rRNA, 16S rRNA

## ABSTRACT

### DETERMINATION OF MOLECULAR PHYLOGENETIC STRUCTURE OF GADIDAE SPECIES FROM TURKISH WATERS BY mtDNA SEQUENCE ANALYSIS

Ümit GÜR

University of Ordu  
Institute for Graduate Studies in Science and Technology  
Department of Fisheries Technology Engineering, 2014  
MSc. Thesis, 66p.

**Supervisor: Asst. Prof. Dr. Yılmaz ÇİFTÇİ**

In this study, the species belongs to the Gadidae family which sampled from Turkish waters; *Merlangius merlangus euxinus*, *Trisopterus minutus capellanus*, *Merluccius merluccius*, *Gaidropsarus mediterraneus*, *Gaidropsarus vulgaris*, *Phycis phycis* and *Phycis blennoides* have been examined. 12S rRNA and 16S rRNA gene regions which found on the mtDNA were amplified by PCR and sequence analysis has been performed. The obtained data were evaluated together with the data obtained from GenBank have been carried phylogenetic analysis and inter-species relationships were determined.

In the study, 6 haplotypes for 12S gene region, and 10 haplotypes for 16S rRNA gene region have been identified. Haplotype diversity and nucleotide diversity has been found for the region 12S rRNA and 16S rRNA gene, respectively; Hd:0.823, Pi:0.09822; Hd:0.867, Pi:0.09822. On the resulting matrices base compositions for the 12S gene region A:%29.8, C:%25.8, G:%22.8 ve T:%21.6 and for the 16S rRNA gene region: A: %27.98, C: %24.22, G: %22.45 ve T: %25.35 has been determined.

According to phylogenetic analysis, the species of *Gaidropsarus mediterraneus* and *Gaidropsarus vulgaris* incorporated into the same haplotype for both genes, but species of *Phycis phycis* and *Phycis blennoides* became incorporated into the same haplotype only for 16S rRNA gene region. On the all phylogenetic trees created, it has been observed that *Merlangius merlangus euxinus* was an ancestral haplotype and *Merluccius* haplotype stayed away from the other haplotypes.

As a result of the study, data deficiency of family of Gadidae which including the commercially important species from Turkish waters has been improved with this study in terms of two gene regions on mtDNA for 7 Gadoid species. In addition, sequence data obtained the first time for some species will be uploaded to the GenBank in order to be a reference for future studies.

**Key Words:** Gadidae, mtDNA, Sequence Analysis, Phylogenetics, 12S rRNA, 16S rRNA

## TEŐEKKÖR

Tüm çalıőmalarım boyunca her zaman bilgi ve deneyimleriyle yolumu ačan değerli hocam Yrd. Doç. Dr. Yılmaz ÇİFTCİ' ye içten teőekkürlerimi sunarım.

Yeniden eğitim olarak ideallerimi gerçekteőtirebilmem konusunda beni cesaretlendiren ve desteklerini her zaman yanımda hissettiğim, karşılaőtıęım tüm güçlükleri aőmamda kolaylık sağlayan ve yoluma ıőık tutan çok değerli annem İrfan GÖR'e ve babam őemil Gazi GÖR'e sonsuz teőekkürlerimi sunarım. Tez yazım sürecinde ki tüm stresli zamanlarımda enerjisi ve karşılıksız sevgisiyle beni rahatlatan yeğenim, ailemizin neőesi Zeynep-su GÖR'e de gönülden teőekkürlerimi sunuyorum.

## İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
<b>TEZ BİLDİRİMİ</b> .....	I
<b>ÖZET</b> .....	II
<b>ABSTRACT</b> .....	III
<b>TEŞEKKÜR</b> .....	IV
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	V
<b>ŞEKİLLER LİSTESİ</b> .....	VII
<b>ÇİZELGELER LİSTESİ</b> .....	IX
<b>SİMGELER VE KISALTMALAR</b> .....	X
<b>1. GİRİŞ</b> .....	1
1.1. Genel Bilgiler.....	4
1.2. Taksonomi.....	6
1.3. Çalışmada Analiz edilen Türlerin Biyolojik ve Ekolojik Özellikleri.....	8
1.3.1. <i>Merlangius merlangus euxinus</i> (Nordmann 1840), Mezgit.....	9
1.3.2. <i>Trisopterus minutus capelanus</i> (Linnaeus 1758), Tavuk Balığı.....	10
1.3.3. <i>Merluccius merluccius</i> (Linnaeus 1758), Bakalyaro.....	11
1.3.4. <i>Gaidropsarus mediterraneus</i> (Linnaeus 1758), Gelincik Balığı.....	12
1.3.5. <i>Gaidropsarus vulgaris</i> (Cloquet 1824), Gelincik Balığı.....	13
1.3.6. <i>Phycis phycis</i> (Linnaeus 1766), Gelincik balığı.....	14
1.3.7. <i>Phycis blennoides</i> (Brunnich 1768), Gelincik Balığı.....	16
1.4. Filogenetik.....	17
1.4.1. Filogenetik Analiz.....	18
1.4.2. Filogenetik Ağaç.....	18
1.5. Çalışmanın Gerekçesi ve Amacı.....	19

<b>2.</b>	<b>ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR</b> .....	20
<b>3.</b>	<b>MATERYAL ve YÖNTEM</b> .....	24
3.1.	Materyal.....	24
3.1.1.	Örnekleme Çalışmaları .....	24
3.2.	Yöntem.....	25
3.2.1.	Toplam DNA'nın Eldesi.....	25
3.2.2.	Elde Edilen DNA'nın Agaroz Jel Elektroforezi ile Kontrolü.....	26
3.2.3.	Mitokondriyal DNA 12S rRNA ve 16S rRNA Gen Bölgelerinin PZR ile Amplifikasyonu.....	27
3.2.4.	Agaroz Jel Elektroforezi ile Çoğaltılan Gen Bölgelerinin Gözlenmesi..	28
3.2.5.	PZR Ürünlerinin Dizi Reaksiyonu, Dizilerin Elde Edilmesi ve Hizalanması.....	29
3.2.6.	Genetik Verilerin Analizi.....	30
<b>4.</b>	<b>ARAŞTIRMA BULGULARI</b> .....	32
4.1.	DNA Dizin Analizi.....	32
4.2.	mtDNA 12s rRNA Gen Bölgesi.....	32
4.2.1.	12S rRNA Dizin Varyasyonu, Haplotip ve Nükleotit Özellikleri.....	32
4.2.2.	12S rRNA Gen Bölgesi Filogenetik Özellikleri.....	36
4.3.	mtDNA 16S rRNA Gen Bölgesi.....	43
4.3.1.	16S rRNA Dizin Varyasyonu, Haplotip ve Nükleotit Özellikleri.....	43
4.3.2.	16S rRNA Gen Bölgesi Filogenetik Özellikleri.....	48
<b>5.</b>	<b>TARTIŞMA ve SONUÇ</b> .....	55
<b>6.</b>	<b>KAYNAKLAR</b> .....	60
	<b>ÖZGEÇMİŞ</b> .....	66



## ŞEKİLLER LİSTESİ

<u>Şekil No</u>		<u>Sayfa</u>
Şekil 1.1.	<i>Merlangius merlangus euxinus</i> (Nordmann 1840), Mezgit balığının coğrafik dağılımı (Anonim 2014).....	9
Şekil 1.2.	<i>Merlangius merlangus euxinus</i> (Nordmann 1840), Mezgit (Orijinal).....	10
Şekil 1.3.	<i>Trisopterus minutus capelanus</i> (Linnaeus 1758), Tavuk Balığının coğrafik dağılımı (Anonim 2014).....	10
Şekil 1.4.	<i>Trisopterus minutus capelanus</i> (Linnaeus 1758), Tavuk Balığı (Østergaard 1999).....	11
Şekil 1.5.	<i>Merluccius merluccius</i> (Linnaeus 1758), Bakalyaro balığının coğrafik dağılımı (Anonim 2014).....	12
Şekil 1.6.	<i>Merluccius merluccius</i> (Linnaeus 1758), Bakalyaro (Orijinal).....	12
Şekil 1.7.	<i>Gaidropsarus mediterraneus</i> (Linnaeus 1758), Gelincik balığının coğrafi dağılımı (Anonim 2014).....	13
Şekil 1.8.	<i>Gaidropsarus mediterraneus</i> (Linnaeus 1758), Gelincik (Achille 2009)..	13
Şekil 1.9.	<i>Gaidropsarus vulgaris</i> (Cloquet 1824), Gelincik Balığı coğrafik dağılımı (Anonim 2014).....	14
Şekil 1.10.	<i>Gaidropsarus vulgaris</i> (Cloquet 1824), Gelincik Balığı (Meyer 2006)...	14
Şekil 1.11.	<i>Phycis phycis</i> (Linnaeus 1766), Gelincik Balığı coğrafik dağılımı (Anonim 2014).....	15
Şekil 1.12.	<i>Phycis phycis</i> (Linnaeus 1766), Gelincik Balığı (Duarte 2000).....	15
Şekil 1.13.	<i>Phycis blennoides</i> (Linnaeus 1766), Gelincik Balığı coğrafik dağılımı (Anonim 2014).....	16
Şekil 1.14.	<i>Phycis blennoides</i> (Linnaeus 1766), Gelincik Balığı (Duarte 2000).....	16
Şekil 3.1.	Örneklerin toplandığı lokalitler.....	24
Şekil 3.2.	Ekstraksiyon sonrası jelde yürütülen DNA örneklerinin UV altında görüntüsü.....	27
Şekil 3.3.	PZR sonuçlarının jel elektroforezinde 12S rRNA gen bölgesine ait jel görüntüsü.....	29
Şekil 4.1.	Gadidae türlerinin 12s rRNA geni için Network 4.6 (Fluxus Technology Ltd. 1999-2014) programı ile oluşturulan haplotip ağı.....	34
Şekil 4.2.	12S gen bölgesi PAUP (Swofford 1998)'da oluşturulan 243 ağaçtan elde edilen maksimum parsimoni consensus ağacı .....	38

<b>Şekil 4.3.</b>	12S Gen bölgesi için PHYML v. 3,0 (Guindon ve Gascuel 2003) programı üzerinde Maximum Likelihood filogramı.....	39
<b>Şekil 4.4.</b>	12S rRNA gen bölgesine ait MEGA 6 (Tamura ve ark. 2013)'da elde edilen NJ filogramı.....	40
<b>Şekil 4.5.</b>	Gadidae türlerinin 16S rRNA geni için Network 4.6 (Fluxus Technology Ltd. 1999-2014) programı ile oluşturulan haplotip ağı.....	45
<b>Şekil 4.6.</b>	16S gen bölgesi için PAUP (Swofford 1998)'da oluşturulan 345 ağaçtan elde edilen maksimum parsimoni consensus ağacı .....	50
<b>Şekil 4.7.</b>	16S Gen bölgesi için PHYML v. 3,0 (Guindon ve Gascuel 2003) programı üzerinde oluşturulan Maximum Likelihood ağacı.....	51
<b>Şekil 4.8.</b>	16S rRNA gen bölgesine ait MEGA 6 (Tamura ve ark. 2013)'da elde edilen NJ filogramı.....	52

## ÇİZELGELER LİSTESİ

<u>Çizelge No</u>		<u>Sayfa</u>
<b>Çizelge 1.1.</b>	<i>Merlangius, Trisopterus, Merluccius, Gaidropsarus</i> ve <i>Phycis</i> türlerine yönelik sınıflandırma geçmişi (Roa-Varón ve Orti 2009'dan modifiye edilmiştir).....	7
<b>Çizelge 3.1.</b>	Jele yüklemek için kullanılan çözelti ve örnek miktarları.....	26
<b>Çizelge 3.2.</b>	Çalışmada kullanılan mtDNA segmentleri ve primer sekansları.....	27
<b>Çizelge 3.3.</b>	12S ve 16S rRNA bölgelerinin çoğaltılması için belirlenen PZR karışımının bileşenleri ve miktarları.....	27
<b>Çizelge 3.4.</b>	Çalışmada kullanılan PZR programları.....	28
<b>Çizelge 4.1.</b>	Gadidae familyasına ait 7 türden 12s ve 16S rRNA genleri için dizin analizi yapılan birey sayısı.....	32
<b>Çizelge 4.2.</b>	12s rRNA gen bölgesi haplotip bilgileri.....	33
<b>Çizelge 4.3.</b>	Yedi Gadoid türüne ait 6 adet mtDNA 12s rRNA bölgesi haplotipinin değişken pozisyonları.....	35
<b>Çizelge 4.4.</b>	12S rRNA gen bölgesi türler arası nükleotit çeşitliliği ve net nükleotit çeşitliliği.....	36
<b>Çizelge 4.5.</b>	12S rRNA gen bölgesi için GenBank'tan (NCBI) alınan sekans verilerine ait accession numaraları.....	37
<b>Çizelge 4.6.</b>	12S Gen bölgesi pairwise uzaklık ilişkisi (Kimura 1980).....	41
<b>Çizelge 4.7.</b>	16S rRNA gen bölgesi haplotip bilgileri.....	44
<b>Çizelge 4.8.</b>	Yedi Gadoid türüne ait 10 adet mtDNA 16S rRNA bölgesi haplotipinin değişken pozisyonları.....	46
<b>Çizelge 4.9.</b>	16S rRNA gen bölgesi türler arası nükleotit çeşitliliği ve net nükleotit çeşitliliği.....	47
<b>Çizelge 4.10.</b>	16S rRNA gen bölgesi için GenBank'tan (NCBI) alınan sekans verilerine ait accession numaraları.....	49
<b>Çizelge 4.11.</b>	16S Gen bölgesi pairwise uzaklık ilişkisi (Kimura 1980).....	53

## SİMGELER ve KISALTMALAR

AIC	:	Akaike Information Criterion
bç	:	Baz çifti
BIC	:	Bayesian Information Criterion
cm	:	Santimetre
d <sub>A</sub>	:	Net nükleotit çeşitliliği
dk	:	Dakika
DNA	:	Deoksiribonükleik asit
d <sub>XY</sub>	:	Türler arası nükleotit çeşitliliği
FASTA	:	Metin tabanlı nükleotit dizi formatı
Hd	:	Haplotip çeşitliliği
L	:	Litre
m	:	Metre
M	:	Molar
mg	:	Miligram
ml	:	Mililitre
ML	:	Maximum Likelihood
MP	:	Maximum Parsimony
mm <sup>3</sup>	:	Milimetre küp
NCBI	:	GenBank (Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi)
NFW	:	Nükleazsız su (Nuclease Free Water)
NJ	:	Neighbour Joining
pH	:	Asitlik veya bazlık derecesini tarif eden ölçü birimi
Pi	:	Nükleotit çeşitliliği
pmol	:	Pikomol

PZR	:	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RNAaz	:	Ribonükleaz
rpm	:	Devir/dakika
rRNA	:	Ribozomal Ribonükleik asit
sn	:	Saniye
SDS	:	Sodyum dodesil sülfat
TBE	:	Tris, Borik Asit, EDTA
TE	:	Tris, EDTA
TEN	:	Tris, EDTA, NaCl
tRNA	:	Taşıyıcı Ribonükleik asit
UV	:	Ultra viyole
$\mu$ l	:	Mikrolitre

## 1. GİRİŞ

Moleküler genetik de uygun tekniklerin ve genetik bilgilerin önemi üzerine olan ilginin artmasıyla birlikte bu genetik tekniklerin balıkçılıkla ilgili alanlarda kullanımı 1950’li yıllardan başlayarak artış göstermektedir. Yapılan ilk çalışmalarda morinalar, Salmonid’ler ve ton balıklarında kan grubu farklılıklarına bakılmış ve popülasyon yapısının analizinde kullanılmak üzere genetik olarak kontrol edilen varyasyonların mevcudiyeti başarılı bir şekilde ortaya konulmuştur (Çiftci 2003).

Genetik markırların çalışılması özellikle doğal stok yapılarının analizi, kültür balıkçılığı, taksonomi veya sistematik çalışmalar olmak üzere balıkçılıkta üç alanda ana etkiye sahiptir. Ayrıca yok olmakta olan türlerin genetik yapıları, genetik farklılık üzerine kirlenmenin ve balıkçılığın etkisi ve ortama sonradan sokulan türlerin genetik yapıları üzerine çalışmalar yapılmaktadır (Çiftci 2003).

Günümüzde, moleküler biyoloji, hücre biyolojisi ve genom bilim alanlarındaki ilerlemeler sonucu, dünyada özellikle sağlık ve tarım alanlarındaki biyoteknolojik uygulamalarda bir patlama yaşanmaktadır. Bu gelişmeler, insanlığa daha sağlıklı ve daha kaliteli bir yaşam için eşi görülmemiş fırsatlar sunmaktadır (Tübitak 2004).

Tübitak (2004) tarafından hazırlanan vizyon 2023 strateji belgesine göre, Türkiye, Dünya’daki bu gelişmeler karşısında henüz kararlı ve tutarlı bir tavır almamıştır ve sağlık, tarım, hayvancılık ve endüstriyel üretim alanlarında ilerleyebilmesi için moleküler biyoloji, biyoteknoloji ve gen teknolojisi alanlarında gelişim sağlamak durumundadır.

İnsanlar tarafından oluşturulan endüstriyel gelişimin bir sonucu olarak türlerin hızlı bir şekilde tükenmesinin farkına varılması yok olma tehdidi altında bulunan türlerin tanımlanmasına yönelik ilgiyi artırmıştır. Ekolojik ve demografik tehlikelere ek olarak, demografik daralma ile yaşayan küçük popülasyonların homozigotlaşma ve allel kaybından dolayı genetik varyasyonun kaybolması, yakın akrabalık ve genetik sürüklenmeye maruz kalabilmeleri açık ve nettir. Yok olma tehdidi altında bulunan canlılar üzerine moleküler genetik analizleri ile genetik varyasyonun azalması ortaya çıkarılabilir. Fizyolojik, ekolojik ve etiyolojik verilerle birlikte genetik sonuçlar, bir

türdeki azalma sürecine çok yönlü bir bakış açısı sağlar. Bir popülasyonun doğal tarihinin göstergesi olarak popülasyon genetiği, Filogenetik ve Filocoğrafyası ile ilgili bilgilerin ortaya çıkarılması ve onun gelecekteki öngörüsü yok olma tehdidi altındaki türler için koruma yönetim planlarının geliştirilmesinde kullanılmak üzere önemli veriler sağlar (O'Brien 1994).

Son yirmi yılda, moleküler biyoloji, klinik tıp ve üreme fizyolojisi metotları tehlike altındaki birçok türün muhtemel durumunu tanımlamak için ayrıntılı bir şekilde kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlar kritik yönetim kararlarını etkilemekte ve çalışılan türler için somut faydalar üreten önemli bilgiler sağlamaktadır. Buna ek olarak, koruma uygulamaları kritik seviyede tehlike altındaki türlerin küresel yönetim kararların da doğal seleksiyonun ön planda tutulduğu akademik disiplinden popülasyon genetiğine değişmektedir (O'Brien 1994).

Doğal popülasyonların ve türlerin genetik surveyi bizlere i) genetik varyasyonun belirlenmesi, ii) taksalar arasındaki genetik farklılığın delillendirilmesi ve iii) coğrafik olarak izole olmuş popülasyonlar arasındaki filogenetik ilişkilerin belirlenmesi gibi konularda bilgiler sunmaktadır. Sonuç olarak, teknolojiyle birlikte genetik yöntemler sürekli olarak geliştirilmektedir. DNA dizi analizi artık rutin bir çalışma halini almıştır. DNA polimorfizmi 20 yıl önce allozim çalışmalarında olduğu gibi kolayca tespit edilmekte ve kompleks filogenetik ve popülasyon veri setlerinin analizinde kullanılan güçlü bilgisayar algoritmaları istatistiksel olarak daha sağlam analizler yapılmasını mümkün kılmaktadır (O'Brien 1994).

Gen kaynaklarının azalmasına neden aşırı avcılığın yanı sıra çok sayıda potansiyel tehdit de bulunmaktadır. Bu tehdit faktörlerin başında; balıklar tarafından kullanılan besin maddelerinin çeşitli nedenlerle ortamdaki uzaklaşması, su kaynakları arası bağlantıların kesilmesiyle doğal göç yollarının engellenmesi, bölgede yaşayan balığın besinine ortak olacak yabancı türlerin ve hastalık etmenlerinin ortama dahil olması, aşırı çevresel kirlilik ve çeşitli aktivitelerle habitatlarının bozulması gelir. Bu faktörlerin artan bir şekilde devam etmesi balık türlerinin yok olmasına kadar gidecek endişe verici ciddi bir durum göstermektedir. Böylece insan yaşamında önemli bir yeri olan balık popülasyonlarından uzun süre faydanın sağlanması için moleküler genetik çalışmalara ağırlık verilmektedir. Bu ise iki farklı yaklaşıma

dikkat çeker. Birincisi gen havuzunun korunması ikincisi ise genetik farklılığın korunmasıdır. Burada türler içindeki genetik farklılık, balığın çevresel değişimlere uyum sağlamasında yardımcı olan temel unsurlardandır. Bu genetik farklılık çoğunlukla balık popülasyonu içinde genlerin mutasyonu ve genetik olarak farklı bireylerin popülasyonlar arasında göç etmesiyle meydana gelir ve gen frekanslarının belirlenmesi ile ölçülür (Çiftci 2006).

Ekonomik öneme sahip olan ve baskı altında bulunan türlerin stok yapılarının analizinde; ekolojik, markalama, parazit dağılımı, fizyolojik ve davranış özellikleri, morfolojik veya meristik karakterlerinin incelenmesinin yanı sıra son yıllarda balıkçılıkta moleküler genetik çalışmalara büyük bir ilgi bulunmaktadır. Günümüzde bu çalışmalar temel olarak Protein ve DNA olmak üzere iki tür genetik markır sistemi kullanılarak yapılmaktadır. Protein elektroforezi ile yapılan çalışmaların en büyük avantajı hızlı, düşük maliyetli ve çok fazla laboratuvar malzemesine ihtiyacın olmamasıdır. Ancak dezavantaj olarak ise kullanılan örneklerin kesinlikle taze olması gerekmekte, DNA çalışmalarına göre çok sayıda örneğe ihtiyaç olmakta ve bu örneklerin genellikle öldürülmesi ve bunların içinde en önemlisi bazı popülasyon ve türlerde DNA çalışmalarına göre çok düşük seviyede polimorfik olması önemli derecede sınırlayıcı etki gösterir. Bunun sonucunda son dönemlerde çalışmaların çoğunluğu DNA markır sistemleri kullanılarak yapılmaktadır. Bu bağlamda günümüzde yaygın olarak kullanılan ve moleküler metotlar arasında bulunan mitokondrial DNA (mtDNA)'nın sekans analizi yöntemi bu çalışmada da kullanılacaktır (Çiftci 2006).

Bu teknikler uygun laboratuvar koşulları oluşturulduğunda nispeten ucuz ve çok kısa süre içerisinde çok fazla miktarda örnek çalışılmasına imkân vermektedir. Genetik konusunda uzman bir kişi bu teknikleri kullanarak büyük miktarda gen bölgesini izleyebilmekte, taksonomik seviyede aynı veya farklı türler arasında ve içinde hatta bireyler arası ve içinde farklılık seviyesini tahmin edebilmektedir. Ayrıca jenerasyonlar arasındaki allel frekansları değişiminden efektif popülasyon büyüklüğünü tahmin edebilmekte, popülasyonlar arasındaki göç miktarları yani gen akışını belirleyebilmektedir (Çiftci 2006).



Gadidae türleri çoğunluğu insan kaynaklı olan kirlilik, kaçak avcılık gibi baskılarla karşı karşıyadır. Bu gibi olumsuz nedenlerden dolayı bu tür için bir takım koruma stratejileri geliştirilmemiştir. Bu amaçla bu çalışmada Gadidae türlerinin mtDNA'nın farklı gen bölgelerinin sekanslarını alarak filogenetik ve filocoğrafik yapılarının ortaya çıkarılması ve elde edilecek verilerle populasyon yapısı üzerine bu çalışma vasıtasıyla daha detaylı çalışmalar için bir kaynak oluşturması hedeflenmiştir.

### **1.1. Genel Bilgiler**

Moleküler biyoloji son yıllarda önem kazanan genetik, biyokimya, hücre biyolojisi ve biyofizik gibi dalların gelişmesiyle ortaya çıkmıştır. Canlı organizmada hayati önemi oldukça fazla olan nükleik asitler, proteinler ve enzim yapılarının tamamen aydınlatılması moleküler biyolojinin ilgi alanıdır. Bu maksatla X ışınları difraksiyonu ve elektron mikroskobu gibi ileri tekniklerden faydalanılmıştır. İnsan ve diğer canlıların genomları aydınlanmaya başladıktan sonra moleküler biyolojinin genel ilgi alanı, canlılardaki proteinleri, bu proteinlerin üstlendikleri görevleri ve birbirleriyle olan etkileşimleri anlamaya yönelmiştir (Anonim 2007).

Mitokondri; nükleer DNA'dan fiziksel olarak farklı olan kendi DNA'sına sahiptir. mtDNA; büyüklükte 16.000-20.000 bp'dır, 30'dan fazla gen içerir ve rekombinasyon görülmediği için tek bir lokus gibi ele alınır (Carvalho ve Pitcher 1995).

Pek çok türde mtDNA oldukça değişkendir ve bununla birlikte muhtemel genetik farklılıkların tespiti için iyi bir işaretleyicidir. İlaveten; haploit (n kromozom) ve maternal (anasal) olduğu için allozimler veya mini/mikrosatellitler gibi yalnızca nükleer markırlar kullanılarak elde edilemeyen bilgileri içerir. Bu erkek ve dişi gen akışı arasında ayrımı sağlar ve mtDNA'nın uzunluğu nükleer genin yalnızca dörtte biri kadardır (Birky ve ark. 1983). Bundan dolayı, genetik farkların bulunması için iyi bir markırdır.

mtDNA; primerlerin kullanımı ve seçilmiş bölgelerin PZR uygulamasıyla mtDNA varyasyonunun incelenmesini oldukça hızlandırmış ve kolaylaştırmıştır. Bu avantajların tümü hem populasyon çalışmaları hem de sistematik çalışmalarda mtDNA'yı çekici hale getirmiştir. Böyle çeşitli avantajlara rağmen, bazı dezavantajlara da sahiptir. mtDNA analizinde kullanılan metotlar; uygulaması zor ve pahalıdır. Ancak bazen küçük bilgiler mtDNA çalışmalarının sonunda kazanılabilir.

Bir popülasyonu karakterize etmek için genetik açıdan mtDNA tek başına tüm bilgileri veremeyebilir (Bernatchez ve ark. 1992, Carvalho ve Pitcher, 1995, Ferguson ve ark. 1998).

Baskın annesel kalıtım, nispeten hızlı baz değiştirme oranı, rekombinasyonun (yeniden birleşme) azlığı ve kolay izolasyondan dolayı mitokondrial DNA, genetik varyasyon çalışmaları için yararlı bir moleküler markır olduğunu ispatlamıştır (Avisé ve ark. 1987, Wolstenholme 1992). mtDNA, popülasyon yapısı, coğrafik popülasyon ve tür karakterizasyonu çalışmaları için etkilidir (Agnese ve ark. 1997, Ferguson ve ark. 1998).

Mitokondrial DNA, alt veya üst türlerdeki biyocoğrafyaya bağlı olayları incelemek için mükemmel bir araç olduğunu kanıtlamıştır (Avisé 1994). Mitokondriyal genomun farklı bölgeleri farklı oranlarda ortaya çıktığından bu bölgeler belirli tip çalışmalar için hedeflenmiştir. Sitokrom b ve ND genlerinin popülasyon düzeyinde farklılık gösterdiği rapor edildiğinden birçok türde çalışılmaktadır. Oldukça az bireye ihtiyaç duyduğu ve coğrafik bölgeler arasında çeşitli haplotiplerin kaynağını herhangi bir nükleer markırdan daha hızlı bulacağından dolayı mtDNA özellikle kullanışlıdır (Maes ve ark. 2003). Mitokondrial DNA varyasyonu, balık türlerinin stoklarını ayırmak ve düzenlemek amacıyla sağlıklı bir şekilde kullanılabilir (Grewe ve Hebert 1988, Billington ve ark. 1992).

Mitokondrial DNA, annesel aktarımı ve haploit kalıtımından dolayı nadir karakterlere sahip olduğundan popülasyon genetiği analizinden bilgi elde etmek için etkili bir araç olabilir (Avisé 1994). Bu yüzden mtDNA'daki varyasyonlar; balık türlerinin stoklarının ayırımı için son derece yararlı olabilir (Grewe ve Hebert 1988, Billington ve ark. 1992). mtDNA kalıtımı annesel olduğundan dolayı; melezleştirilen dişi neslin geçmişi takip etmek içinde değerli bir araçtır (Hynes ve ark. 1989).

Son yıllardaki dizi metodolojisindeki gelişimler DNA dizi analizini popülasyonların filogenetik geçmişlerinin belirlenmesinde önemli yaklaşımlar arasına sokmuştur (Hillis ve ark. 1990). Bu tekniğin ana özelliği canlının çözümlenmiş temel birimi olan nükleotidleri içermesidir.

Filogenetik ve sistematik çalışmalarda nükleotid dizilerinin kullanımı, homolog dizilerin karşılaştırılmasını mümkün kılar. Nükleik asit dizinin bilgileri artarak

düzenli bir şekilde çeşitli bilgi bankalarında (Genbank, Avrupa Moleküler Biyoloji Laboratuvarı) toplanmaktadır. Fakat bu dizin çalışmalarının çoğu tıbbi veya ticari olarak öneme sahip türler üzerine yapılmaktadır (Hillis ve ark. 1990).

Türkiye kıyılarında dağılım gösteren Gadidae türleri üzerinde uluslararası standartlarda genetik farklılıkları gösteren detaylı çalışmalar henüz yapılmamıştır. Bu çalışmanın konusu kıyılarımızda yaşayan Gadidae türlerine ait mitokondriyal 12S rRNA ve 16S rRNA gen bölgelerine ait sekanslar elde edilerek genetik veri tabanına eklenmesidir. Çalışma kapsamında 7 tür ve her türden 5'er örnek ile çalışılması planlanmış olmasıyla birlikte, bazı türlerden bu sayıda örnek bulunamaması durumunda daha az sayıda örnek ile çalışma gerçekleştirilmiştir. Geniş dağılım gösteren türlere ait bireyler farklı lokalitelerden toplanarak türler arasındaki farklılıklar ve olası doğal bariyerler ortaya konmuştur. Bu kapsamda örnekler Karadeniz, Marmara, Ege ve Akdeniz bölgelerinden elde edilmiştir. Ayrıca diğer araştırmacılar tarafından bu familya üzerine yürütülmüş çalışmalara ait aynı gen bölgelerine ait gen dizilimleri NCBI (National Center for Biotechnology Information) gen bankasından alınarak, bu çalışmada elde edilen verilerle karşılaştırılıp, bu türler arasındaki genetik farklılıklar tespit edilmiştir.

Ülkemizde moleküler düzeyde taksonomik revizyon, türler arası ve türler içi genetik farklılıkları ortaya koyan çalışmalar henüz başlangıç aşamasındadır. Denizel türleri ve özellikle Gadidae türlerini içeren genetik çalışmaların çok az olduğu söylenebilir. Bu çalışma sonucunda elde edilmiş gen dizilerinden oluşturulacak veri bankası, ileride yapılacak olan birçok çalışmaya temel oluşturacaktır.

## **1.2. Taksonomi**

Gadidae familyası içinde, özellikle ülkemiz sularında yayılış gösteren türleri de içine alan taksonomik bir kargaşa uzun yıllardır mevcut olup, henüz bu karmaşa bitmiş değildir. *Merlangius merlangus euxinus* ve *Trisopterus minutus capelanus* türlerinin tüm araştırmacılar tarafından Gadidae familyasında sınıflandırılmasına karşın geriye kalan türler farklı familya veya alt familyalara dahil edilmektedirler.

Roa-Varón ve Orti (2009)'ye göre ise 2 familyaya ayrılmış, Gadidae kendi içinde Gadinae, Lotinae, Gaidropsarinae ve Phycinae olmak üzere 4 alt familyaya

ayrılmıştır. Bunun dışında 1948 – 2006 arasında yapılan sınıflandırmaya ilişkin bilgiler Çizelge 1.1.’de verilmiştir.

**Çizelge 1.1.** *Merlangius, Trisopterus, Merluccius, Gaidropsarus* ve *Phycis* türlerine yönelik sınıflandırma geçmişi (Roa-Varón ve Orti 2009’dan modifiye edilmiştir)

<b>Araştırmacı</b>	<b>Familya</b>	<b>Alt familya</b>
<b>Svetovidov (1948)</b>	Gadidae	Gadinae Lotinae Phycinae Merlucciinae
<b>Cohen (1984)</b>	Gadidae Lotidae Phycidae Merlucciidae	Merlucciinae
<b>Markle (1989)</b>	Gadidae Lotidae Phycidae Merlucciidae	
<b>Nolf ve Steurbaut (1989)</b>	Gadidae	Gadinae Lotinae Phycinae Merlucciinae
<b>Siebert (1990)</b>	Gadidae Lotidae	
<b>Howes (1989)</b>	Gadidae Lotidae Phycidae Merlucciidae	
<b>Howes (1993)</b>	Gadidae Lotidae Phycidae Gaidropsaridae Merlucciidae	
<b>Endo (2002)</b>	Gadidae  Merlucciidae	Gadinae Lotinae Phycinae Gaidropsarinae
<b>Nelson (2006a)</b>	Gadidae  Phycidae  Merlucciidae	Gadinae Lotinae Phycinae Gaidropsarinae
<b>Teletchea ve ark. (2006)</b>	Gadidae  Merlucciidae	Gadinae Lotinae Phycinae Gaidropsarinae

Genel olarak ise aşağıdaki gibi sınıflandırılır;

<b>Alem</b>	Animalia
<b>Filum</b>	Chordata
<b>Grup II</b>	Craniata
<b>Subfilum</b>	Gnathostomata
<b>Üstsinif</b>	Pisces
<b>Sınıf</b>	Osteichthyes
<b>Altsınıf</b>	Actinoptergii
<b>Üsttakım</b>	Teleostei
<b>Takım</b>	Gadiformes
<b>Familya</b>	Gadidae

**Cins** *Merlangius* (Garsault 1764)

**Tür** *Merlangius merlangus euxinus* (Nordmann 1840) (Mezgit)

**Cins** *Trisopterus* (Rafinesque 1814)

**Tür** *Trisopterus minutus capelanus* (Linnaeus 1758) (Tavuk Balığı)

**Cins** *Merluccius* (Rafinesque 1814)

**Tür** *Merluccius merluccius* (Linnaeus 1758) (Bakalyaro)

**Cins** *Gaidropsarus* (Rafinesque 1810) (Gelincik)

**Tür** *Gaidropsarus mediterraneus* (Linnaeus 1758)

**Tür** *Gaidropsarus vulgaris* (Cloquet 1824) (Gelincik Balığı)

**Cins** *Phycis* (Artedi 1792) (Gelincik)

**Tür** *Phycis phycis* (Linnaeus 1766) (Gelincik balığı)

**Tür** *Phycis blennoides* (Brunnich 1768) (Gelincik Balığı)

### 1.3. Çalışmada Analiz Edilen Türlerin Biyolojik ve Ekolojik Özellikleri

Gadidae familyasına dahil ve Türkiye sularında dağılım gösteren *Merlangius merlangus euxinus* (Nordmann 1840) (mezgit), *Trisopterus minutus capelanus* (Linnaeus 1758) (Tavuk balığı), *Merluccius merluccius* (Linnaeus 1758) (Bakalyaro), *Gaidropsarus mediterraneus* (Linnaeus 1758) (Gelincik), *Gaidropsarus vulgaris* (Cloquet 1824) (Gelincik Balığı), *Phycis phycis* (Linnaeus 1766) (Gelincik balığı), *Phycis blennoides* (Brunnich 1768) (Gelincik Balığı) türleri incelenmiş ve

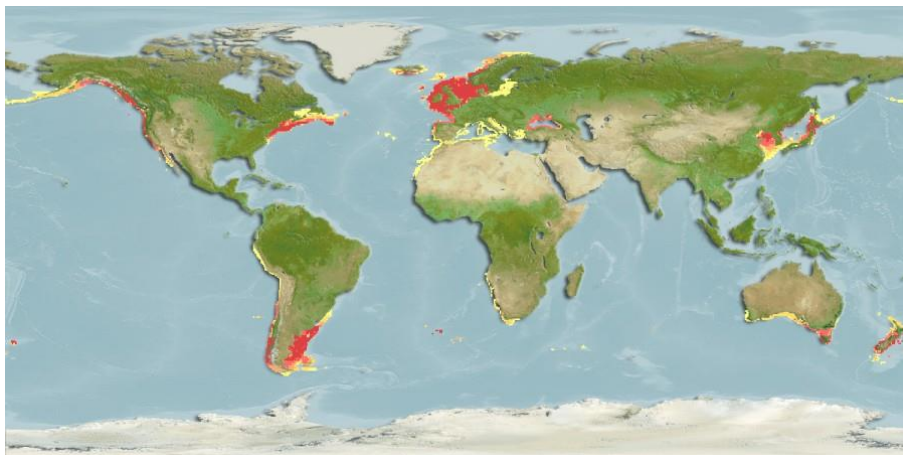
her bir tür için tanı özellikleri, coğrafik dağılımı ve habitat biyolojisi sırasıyla verilmiştir.

### 1.3.1. *Merlangius merlangus euxinus* (Nordmann 1840) Mezgit

Ilıman denizlerde yaşayan bentopelajik bir türdür (Riede 2004). Yaygın olarak 30 – 100 m derinlikte, başlıca çamur ve çakıllı zeminlerde aynı zamanda kum ve kaya üzerinde bulunurlar (Şekil 1.1). Besinlerini karides, yengeç, mollusklar, küçük balıklar, polychaetes ve cephalopodlar oluştururlar. Yumurtaları pelajiktir. Larva ve juvenil bireyler denizanaları ile ilişkilidir. Olgunluğa ulaştıklarında juvenil bireylere karakteristik olan küçük çene bıyıkları kaybolur (Prévost 2005).

İlk eşeyssel olgunluğa 28 – 30 cm boyda ulaşan mezgitler maksimum 70 cm boya ulaşabilirler. Rapor edilen maksimum ağırlık 3.1 kg ve en yaşlı birey 20 yaşındadır (Muus ve Nielsen 1999).

Dorsal dikenleri yoktur. Dorsal yumuşak ışınları (toplam): 30 – 40; anal yumuşak ışınları (toplam): 30 – 35 adettir. Kafaları küçük, vücutları uzunlamasındadır. Çenede küçük bir bıyık bulunur veya hiç bulunmaz. Yanal çizgi kanalları gözenekli baş üzerindedir. Renkleri değişkendir; sarımsı kahverengi; koyu mavi veya yeşil, yanlar sarımsı gri, karın beyaz veya gümüşüdür (Şekil 1.2). Genellikle pektoral yüzgecin dip kaidesinde koyu bir leke bulunur (Cohen ve ark. 1990).



Şekil 1.1. *Merlangius merlangus euxinus* (Nordmann 1840), Mezgit balığının coğrafik dağılımı (Anonim 2014)

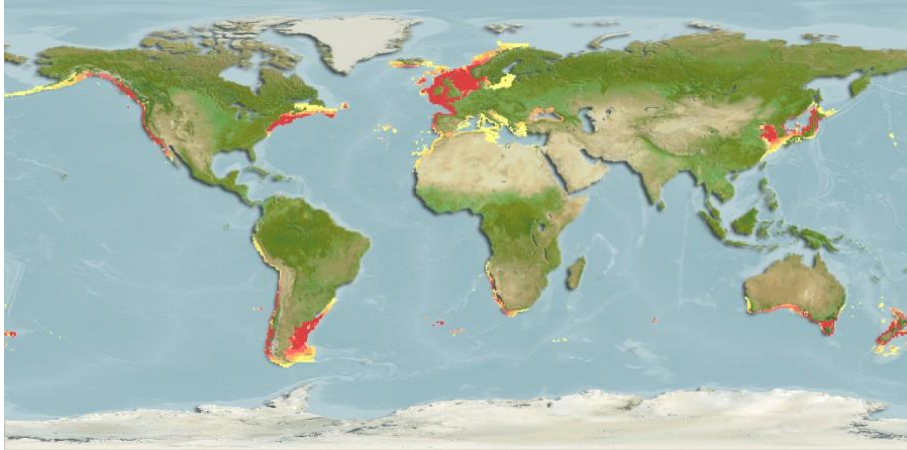


**Şekil 1. 2.** *Merlangius merlangus euxinus* (Nordmann 1840), Mezgit (Orijinal)

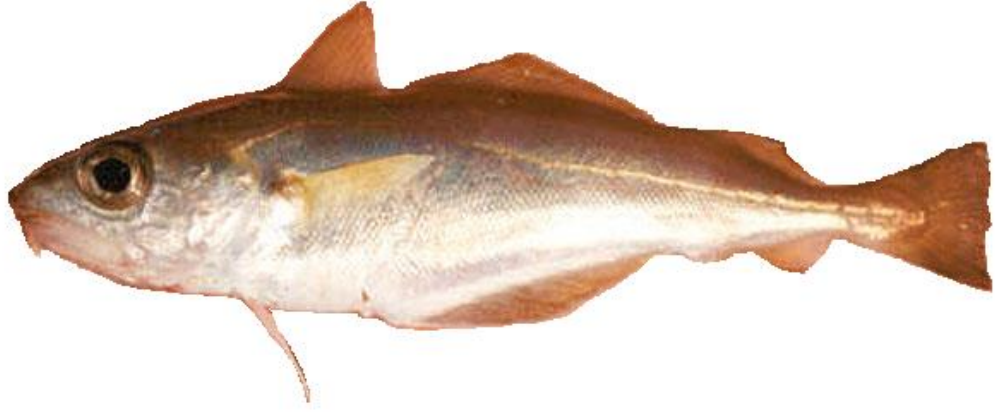
### **1.3.2. *Trisopterus minutus capelanus* (Linnaeus 1758), Tavuk Balığı**

Göç etmeyen bentopelajik bir tür olup çoğunlukla Atlantik ve Akdeniz’de, 15 – 200 m derinliklerde çamurlu veya kumlu zeminlerde yayılış gösterir (Şekil 1.3.). Besinlerini; Crustacealar, küçük balıklar ve polychaetes’ler oluşturur (Cohen ve ark. 1990). Maksimum 40 cm boya ulaşırlar. Rapor edilen en yaşlı birey 5 yaşındadır. Ortalama 13.4 cm boyda ergenliğe ulaşırlar (Menon 1951).

Dorsal ve anal dikenleri bulunmaz. Gelişmiş bir çene bıyığı bulunur. Vücut dorsalde kahverengimsi sarı iken ventrale doğru soluklaşır (Şekil 1.4.). Pektoral yüzgecin dip kısmında koyu bir leke vardır (Cohen ve ark. 1990).



**Şekil 1.3.** *Trisopterus minutus capelanus* (Linnaeus 1758), Tavuk Balığının coğrafik dağılımı (Anonim 2014)



**Şekil 1.4.** *Trisopterus minutus capelanus* (Linnaeus 1758), Tavuk Balığı (Østergaard 1999)

### **1.3.3. *Merluccius merluccius* (Linnaeus 1758), Bakalyaro**

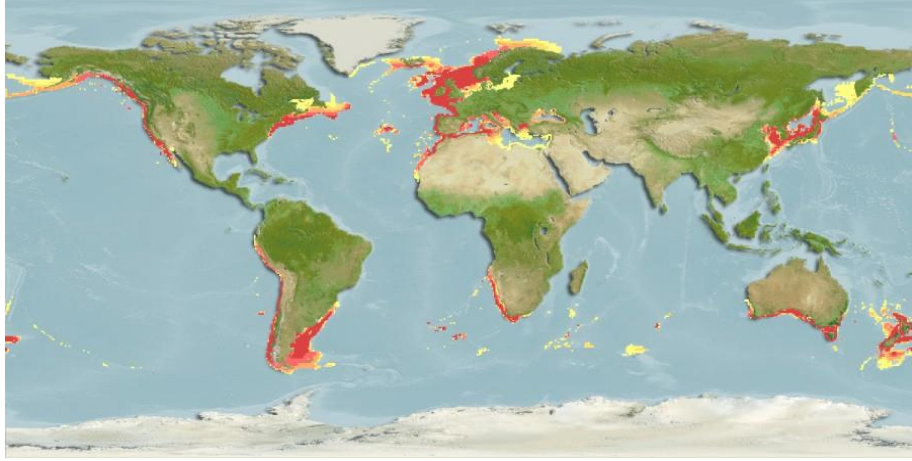
Doğu Atlantik'te Norveç ve İzlanda, Güneye doğru Moritanya ve Akdeniz'de yaygındır (Şekil 1.5.). Genellikle 70-370 m derinlikte yaşayan demersal bir türdür (Şekil 1.6.). Yetişkinler gün boyunca dibe yakın yaşarlar. Geceleri avlanmak üzere dipten uzaklaşırlar (Murua ve Saborido-Rey 2003).

Maksimum boyları 140 cm'ye ulaşabilir. Ergenliğe 42.8 cm'de ulaşırlar. Rapor edilen en yüksek ağırlık 15 kg (Cohen ve ark. 1990) ve en yaşlı birey 20 yaşındadır (Muus ve Nielsen 1999).

Dorsal dikenleri yoktur. Dorsal yumuşak ışınları (toplam): 43-51; anal yumuşak ışınları (toplam): 36-40 adettir. Ağız içi ve branşiyal kavite siyahtır. Birinci omur ve nöral omurga kafatasına bağlıdır. Omur sayısı 50-52 adettir (Cohen ve ark. 1990).

Yetişkinlerin ana besinlerini balıklar (küçük berlamlar, hamsi, ateş balığı, morinalar, sardalya ve gadoid türleri) ve kalamarlar oluşturur. Juvenil bireyler crustacealar ile özellikle euphausiid ve amphipodlarla beslenirler. Toplu yumurtlama görülür (Murua ve Saborido-Rey 2003).





**Şekil 1.5.** *Merluccius merluccius* (Linnaeus 1758), Bakalyaro balığının coğrafik dağılımı (Anonim 2014)



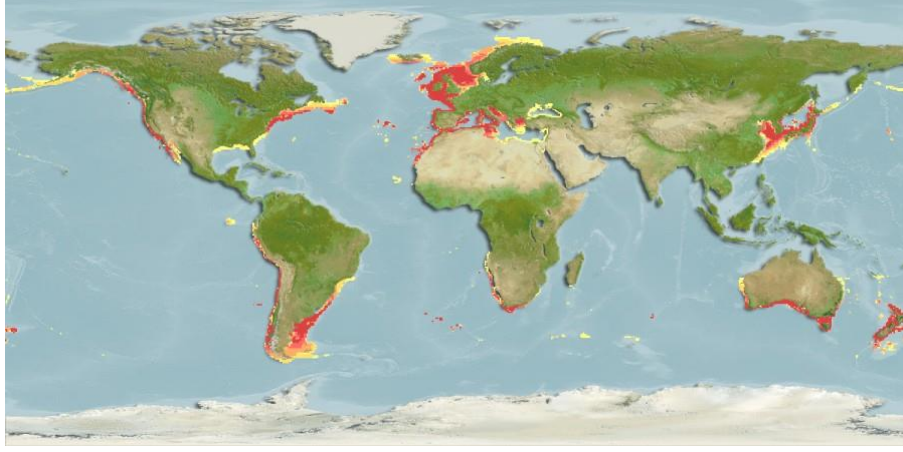
**Şekil 1.6.** *Merluccius merluccius* (Linnaeus, 1758), Bakalyaro (Orijinal)

#### **1.3.4. *Gaidropsarus mediterraneus* (Linnaeus 1758), Gelincik Balığı**

Doğu Atlantik'te: Güney Norveç, GüneyBatı Avrupa ve KuzeyBatı Afrika kıyılarında, Britanya Adalarının Batı kıyılarında ve Akdeniz'in Güney Avrupa kıyılarında ve Karadeniz'de yayılış gösterir (Şekil 1.7.). Genellikle 60 m'ye kadar, sucul bitki örtüsü ile kaplı kayalık alanlarda yaşarlar. Besinleri arasında: balıklar, crustacealar, solucanlar ve algler bulunur (Cohen ve ark. 1990).

Maksimum 50 cm uzunluğa kadar ulaşabilirler (Şekil 1.8.). Dorsal ve anal dikenleri yoktur. Birinci dorsal yüzgeç ışını, birkaç küçük etli filament izler. Renkleri değişkendir. Dorsal de, kahverengi bazen de kırmızımsı ve çizgili veya benekli desenler görülür. Ventral soluk renklidir. Pektoral yüzgeç kenarları koyu renklidir (Cohen ve ark. 1990).

Alt çene üzerinde 1, burun üzerinde 2 bıyık bulunur. Arka kısmında mermerimsi renklenme görülür (Muus ve Nielsen 1999).



**Şekil 1.7.** *Gaidropsarus mediterraneus* (Linnaeus 1758), Gelincik balığının coğrafi dağılımı (Anonim 2014)

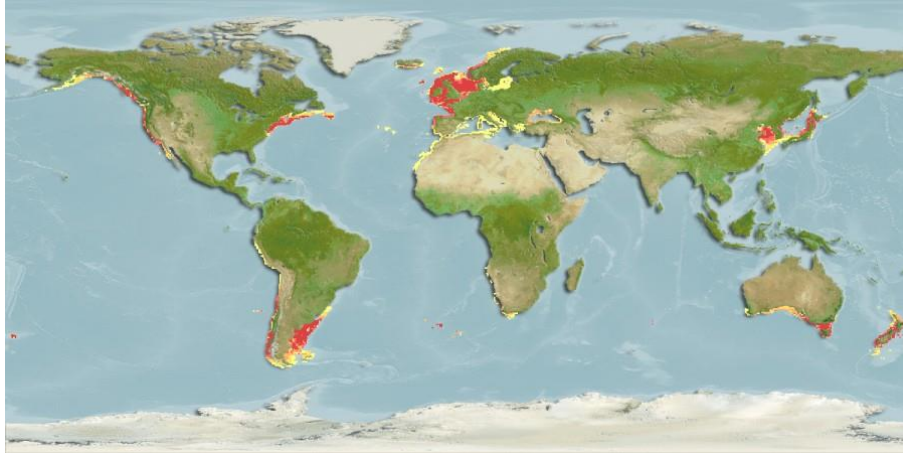


**Şekil 1.8.** *Gaidropsarus mediterraneus* (Linnaeus 1758), Gelincik (Achille 2009)

### **1.3.5. *Gaidropsarus vulgaris* (Cloquet 1824), Gelincik Balığı**

Kuzey Atlantik'te Norveç kıyıları; Güneye doğru: Faroe Adaları, Kuzey Denizi ve Britanya Adaları çevresinde, Cebelitarık Boğazı, Akdeniz ve Karadeniz'in Batı ve Güney kıyılarında (Şekil 1.9.) yayılış gösterir (Jonsson 1992). Göç etmeyen demersal bir tür olup 20-120 m derinlikte (Muus ve Nielsen 1999), yalnızca kaya diplerinde değil aynı zamanda çamur, kum ve çakıllı zeminlerde yaşarlar. Karides, yengeç, izopodlar, küçük balıklar, molluskalar ve polychaetes'lerle beslenirler. İlkbahar ve yaz aylarında yumurtlarlar. Yumurta ve yavruları pelajiktir (Cohen ve ark. 1990).

Dorsal ve anal yüzgeç dikenleri yoktur. Birinci Dorsal yüzgeç ışını, bir sıra küçük ve etli filament izler. Renkleri koyudan açığa doğrudur. Yüzgeç renkleri coğrafi olarak değişkenlik gösterir. Batı Atlantik ve Güney bireyleri Kuzey'dekilerden daha koyu lekelerle sahiptir (Cohen ve ark. 1990). Baş ve vücut üzerinde geniş çikolata kahvesi lekeleri vardır. Burunda 2, alt çenede 1 bıyık bulunur (Şekil 1.10.) (Muus ve Nielsen 1999).



Şekil 1.9. *Gaidropsarus vulgaris* (Cloquet 1824), Gelincik Balığı coğrafi dağılımı (Anonim 2014)



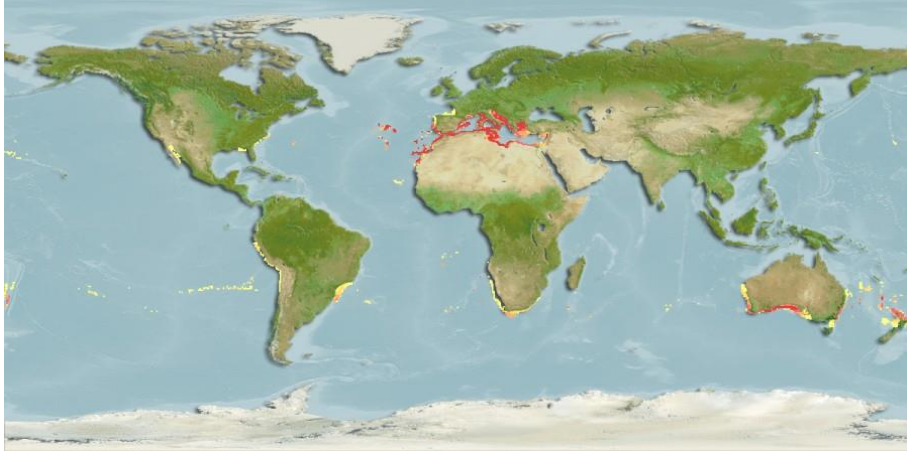
Şekil 1.10. *Gaidropsarus vulgaris* (Cloquet 1824), Gelincik Balığı (Meyer 2006)

### 1.3.6. *Phycis phycis* (Linnaeus 1766), Gelincik balığı

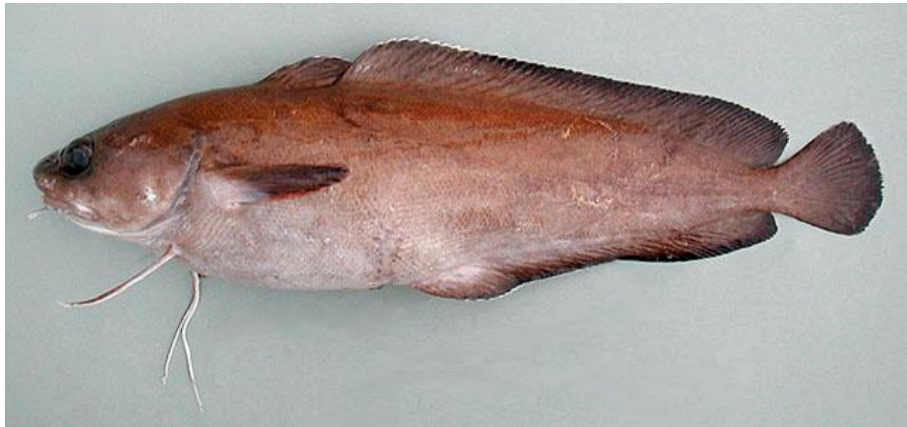
Kuzey Atlantik'te, Fas'ın Biscay Körfezi'nde, Verde Burnu'nun Güneyinde ayrıca Akdeniz'de yayılım gösterir (Şekil 1.11.) (Cohen ve ark. 1990). Göç etmeyen

bentopelajik bir tür olup 13-614 m derinlikte, sert ve kumlu-çamurlu zeminlerde yaşarlar (Hureau 1991). 65 cm'ye kadar büyüyebilir, rapor edilen maksimum ağırlık 3.9 kg'dır (Göthel 1992). Gececi türlerdendir, gün boyunca kayaların arasında saklanır. Küçük balıklar ve çeşitli omurgasızlarla beslenirler (Cohen ve ark. 1990).

Dorsal ve anal yüzgeç dikenleri yoktur. Uzamış pelvik yüzgeç ışınları anal yüzgeç tabanına kadar ulaşır. Gövde rengi dorsalde kahverengimsi kırmızı, ventrale doğru soluktur. Dikey yüzgeçler distalde koyu bazen kenarları soluktur (Şekil 1.12.) (Cohen ve ark. 1990).



**Şekil 1.11.** *Phycis phycis* (Linnaeus 1766), Gelincik Balığı coğrafik dağılımı (Anonim 2014)

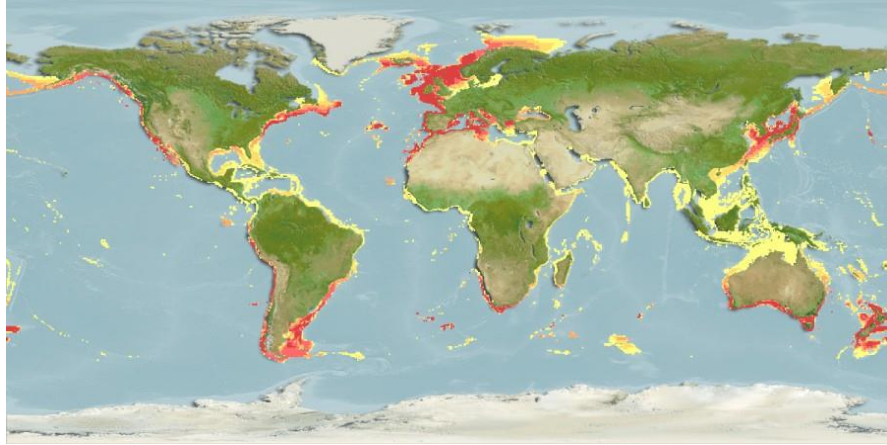


**Şekil 1.12.** *Phycis phycis* (Linnaeus 1766), Gelincik Balığı (Duarte 2000)

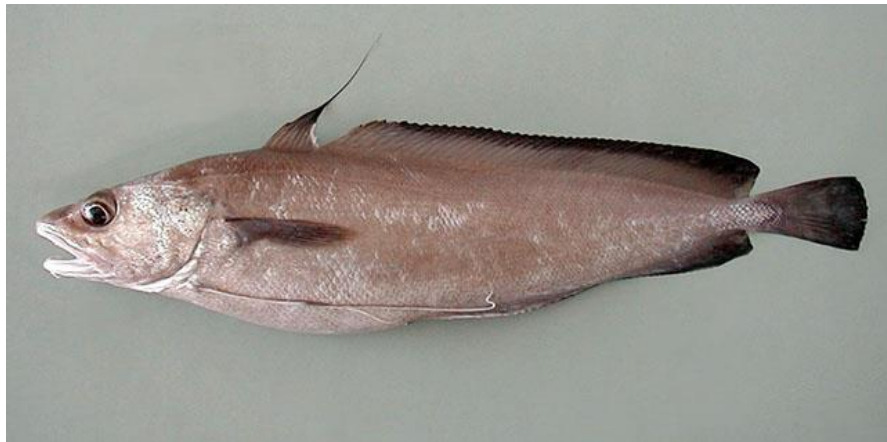
### 1.3.7. *Phycis blennoides* (Brunnich 1768), Gelincik Balığı

Doğu Atlantik'te Norveç ve İzlanda'nın Blanc Burnu'nda, Batı Afrika ve Akdeniz'de 10- 1047 m'de yayılış gösteren bentopelajik bir türdür (Şekil 1.13.) (Mytilineou ve ark. 2005). Kumlu ve çamurlu zeminlerde yaşarlar. Genç bireyler çoğunlukla kıyı kıta sahanlığında bulunurken yetişkin bireyler yamaç boyunca göç yaparlar. Ana besinlerini balıklar ve crustacealar oluşturur. 110 cm'ye kadar büyüyebilir. Rapor edilmiş en yaşlı birey 20 yaşındadır (Cohen ve ark. 1990).

Dorsal ve anal yüzgeç dikenleri yoktur. Pelvik yüzgeç ışınları anal yüzgeç tabanını geçecek derecede uzamıştır. Birinci Dorsal yüzgeç uzun bir ışınla başlar. Gövde dorsalde kahverengiden kırmızı-griye renklenme gösterirken, ventralde ise soluk renktedir (Şekil 1.14.) (Cohen ve ark. 1990).



Şekil 1.13. *Phycis blennoides* (Linnaeus 1766), Gelincik Balığı coğrafik dağılımı (Anonim 2014)



Şekil 1.14. *Phycis blennoides* (Linnaeus 1766), Gelincik Balığı (Duarte 2000)

#### 1.4. Filogenetik

Bir canlının diğerlerinden ayrılabilmesi için ilk olarak fenotipik özelliklerine bakılarak aralarındaki yakınlığa karar verilebilir. Bu yöntem klasik sistematik ve taksonomi çalışmalarında oldukça geçerli bir yöntem olarak araştırmacılar tarafından uygulanmıştır. Ancak morfolojik karakterlerle her zaman doğru sınıflandırma yapılamadığı gibi birbirine çok yakın veya morfolojik olarak incelenmesi zor olan larval, juvenil veya mikroskobik canlılar açısından bu yöntem son derece yetersizdir.

Moleküler biyoloji ve genetik çalışmaların son zamanlarda oldukça gelişmesi ve büyük bir bilgi bankasının oluşmasıyla genotipik analizler fenotipik analizlere göre çok daha doğru ve kesin sonuçlar vermektedir. Bu yöntemlerde canlıların moleküler düzeyde yakınlıkları incelenir. Materyal olarak genomik ve mitokondriyal DNA ve üzerindeki gen bölgelerinden biri veya bir kaç seçilerek çalışmaya başlanır. DNA dizilimleri belirlenip karşılaştırılarak filogenetik ve popülasyon genetiği üzerine birçok sonuca varılabilir.

Daha önceden bilinen ve klasik taksonomik yöntemlerle çözüme kavuşturulamayan birçok sistematik problem, moleküler verilerden elde edilen deliller sayesinde aşılabilmektedir. Bu amaçla kullanılan yöntemlerden birisi de mtDNA dizi Analizi'dir. Bu tür çalışmalarla, taksonların ilgili gen bölgeleri çoğaltılıp baz polimorfizmine bakılarak taksonlar arasındaki akrabalık dereceleri belirlenebilmektedir. Geleneksel taksonomik yöntemlerin verilerini desteklemek amacıyla kullanılan; anatomik, morfolojik, sitolojik ve karyolojik verilerin yanında, günümüzde moleküler veriler kullanılarak çok sayıda takson içeren grupların sistematik problemlerinin çözümüne katkı sağlanmaktadır.

Moleküler sistemikte; DNA-DNA hibridizasyonu, Protein markırları ve PZR'a dayalı teknikler kullanılmaktadır. Son zamanlarda PZR'a dayalı teknikler sistematik çalışmalarda daha çok kullanılmaya başlanmıştır. Bunlar RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA), AFLP (Amplified Fragments Length Polymorphisms), Mikrosatellit gibi özel tekniklerdir (Tez 2011). 12S ve 16S rRNA gen bölgeleri de PZR ile çoğaltılarak sistematik çalışmalarda kullanılan bölgelerden ikisidir.

### **1.4.1. Filogenetik Analiz**

Tür grupları arasındaki genetik bağları ve ilişkileri (evrimsel akrabalığı) araştıran Filogenetik, belirli karakterleri (morfolojik ve/veya genetik) inceler ve benzer karakterleri taşıyan organizmaların genetik olarak birbirine yakın oldukları varsayımından yola çıkar. Moleküler filogenetik kavramı ise günümüzde DNA ve protein dizilerini de içeren moleküler veriler, türler arası ilişkileri analiz etmek için kullanılır. Genomlar, mutasyonların birikmesi ile evrimleşirler ve farklı organizmaların genomları arasındaki nükleotid dizisi farkı, iki genomun birbirinden ayrılma zamanını yansıtabilir. Farklı genomları karşılaştırarak aralarındaki evrimsel ilişkileri ortaya çıkarmak mümkündür (Tez 2011).

### **1.4.2. Filogenetik Ağaç**

Dizileme çalışmaları ile elde edilen bilginin özetlenmesi, görsel olarak anlaşılabilmesi, evrimsel ilişkilerin görsel olarak ortaya koymak için filogenetik ağaçlar çok yaygın bir şekilde kullanılmaktadır.

Bir filogenetik ağaç, türleşme sırasını ve hangi taksonların yakın ya da uzak akraba olduklarını kaydeder. Ağaç, başlıca bir düğüm (node) ve dallardan (branch) oluşur. Dalları, türlerin atasal popülasyonlarının zaman içerisindeki durumlarını gösterir. Düğümler ise bir türün iki veya daha fazla türev popülasyona ayrıldığı noktaya karşılık gelir (Freeman ve Herron 1999). Ağaçtaki öncülü olmayan düğüm köktür. Kök ortak bir atayı temsil eder, ağacın herhangi bir yerinde yer alabilir (Mount 2001). Filogenetik ağaçta her bir düğüm evrimsel süreçte ayrılan taksonomik bir gruba karşılık gelir. Ağaçta dış dallar taksonları, iç dallar ve düğümler ise taksonlar arası ilişkiyi yansıtır. Birbiri ile yakın ilişkili türler ağaçta birbirine komşu dallarda yer almaları ile ayırt edilirler. Ağaç dallarının uzunlukları genellikle dalda oluşmuş değişikliklerin sayısını belirler (Mount 2001).

Filogenetik analizlerde ilk adım, incelenecek dizinin elde edilmesidir. Daha sonra bu diziler istenirse, dizi bilgi bankalarından alınan dizilerle karşılaştırılabilir. Bu dizilere, çok geniş arşivler içeren ve gün geçtikçe arşivleri büyüyen GenBank ve EMBL gibi özel veri tabanı sistemlerinden ulaşmak mümkündür (Mount 2001).

### **1.5. Çalışmanın Gerekçesi ve Amacı**

Gadidae türleri çoğunluğu insan kaynaklı olan kirlilik, kaçak avcılık gibi baskılarla karşı karşıyadır. Bu gibi olumsuz nedenlerden dolayı bu tür için bir takım koruma stratejileri geliştirilmemiştir. Bu yüzden bu çalışmada Gadidae türlerinin genetik yapısının belirlenmesi, mtDNA'nın farklı gen bölgelerinin sekanslarını alarak filogenetik yapılarının ortaya çıkarılması ve bu türleri birbirinden ayırt edici gen bölgelerinin bulunması amaçlanmıştır. Özellikle Gadidae hakkında filogenetik bir çalışma eksikliği mevcut olup yapılacak çalışma ile bu bağlamda bir referans çalışma ortaya konmak istenmiştir.

Bu çalışma ile elde edilecek verilerin en büyük katma değeri, Türkiye sularında yaygın olarak bulunan ve avcılığı yapılan Gadidae türlerinin uygun genetik belirteç (sekans dizilimi) kullanılarak filogenetik yapılanmalarını kapsayan konular (GenBank verileri de dahil) karşılaştırılarak ortaya konmuştur.

Gadidae türleri yalnız ülkemiz sularında değil Akdeniz, Ege ve Karadeniz'e kıyısı bulunan diğer ülkelerde de dağılım gösterdiğinden, bu çalışmanın sonuçları aynı zamanda bu ülkelerdeki araştırmacılara da kaynak oluşturacak ve ayrıntılı değerlendirmeler yapabileceklerdir.



## 2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Calo-Mata ve ark. (2003) çalışmalarında PZR tekniğini, gadoid türlerine ait mitokondriyal sitokrom b geninden 464 bp'lik ampikon elde etmek ve bu sekansların Gadoid türlerini ayırt etme yeteneğini tespit etmek için kullanılmıştır. On altı farklı türe ait bu fragmentin sekansı, genetik uzaklık metodu kullanılarak analiz edilmiş ve polimorfik bölgeler belirlenmiştir. Fragmentin orta derece polimorfik olduğu gözlenmiş ve bu durum da türlerin birçoğunun farklılaşmasına yol açmıştır. Tamura-Nei uzaklığı kullanılarak oluşturulan filogenetik soy ağacı Gadidae türlerinin tanımlanması için kullanılmış ve *Gadus ogac* ve *Gadus macrocephalus* dışındaki bütün türler net bir şekilde farklılaşmıştır. Ayrıca yazarlar elde edilen sekans sonuçlarına göre, üç restriksiyon enzimi (*Dde I*, *Hinc II* ve *Nla III*) belirli kesim morflarını tespit etmek için seçilmiş ve 15 Gadoid türünün farklılığını sekans analizinden daha hızlı ve ucuz bir şekilde ortaya koymuşlardır.

Aranishi ve ark. (2005), çalışmalarında ticari deniz ürünleri olan 3 yakın akraba Gadoid türünün (Alaska Pollack *Theragra chalcogramma*, Pasifik morinası *Gadus macrocephalus* ve Atlantik morinası *Gadus morhua*) varlığını tanımlamak amacıyla hızlı PZR-RFLP analizini optimize etmişlerdir. Mitokondriyal sitokrom b genini kodlayan 558 bp'lik kısmının PZR amplifikasyonu için Gadoid universal primerler dizayn edilmiştir. Bu PZR-RFLP analizinin, basit, hızlı ve güvenilir olduğundan ticari deniz ürünleri arasında ekonomik olarak önemli 3 Gadoid türünün hileli olarak birbirlerinin yerine kullanılmasını belirlemek için uygulanabileceği belirtilmiştir.

Bakke ve ark. (2005), Sitokrom b geni ve ribozomal RNA küçük ve büyük alt ünitelerinin seçilmiş bölgelerinin mitokondriyal DNA sekansını, Gadidae familyasına ait 8 genus'u temsil eden 10 tür ve 5 farklı Gadiform ailesini temsil eden 10 tür için karşılaştırmışlar ve yaptıkları filogenetik analizlerle *Gadiculus*'un en bazal Gadid cinsi olduğu ve *Trisopterus* ve *Micromesistius*'un nispeten daha alt bazal bir dalını oluşturduğunu ortaya çıkarmışlardır. Lotidae familyasının Gadidae ile en yakın ilişkili aile olduğu tespit edilmiştir. Yazarlar farklılaşma zamanının tahmini ile, *Gadiculus* ve diğer Gadid genusları arasındaki en eski Gadidae sapmasının 20 Milyon yıl önce gerçekleştiğini, *Gadus*, *Boreogadus*, *Merlangius*, *Melanogrammus*

ve *Pollachius* türlerini içine alan dalın yaklaşık 12 milyon yıl önce *Trisopterus* / *Micromesistius* dalından uzaklaştığını da tespit etmişlerdir.

Roques ve ark. (2006), çalışmalarında ilk defa Gadidae familyası üyelerinden mezgit (*Merlangius merlangus*) ve haddock'un (*Melanogrammus aeglefinus*) tüm mitokondriyal genomun sekansını almışlar ve Gadidae ailesinin diğer yakın akraba türleriyle detaylı karşılaştırmalar yapmışlardır. Mitogenomun tamamı yeni dizayn edilmiş spesifik internal primerler kullanarak çoğaltılmış ve sekans analizi yapılmıştır. Mezgit ve haddock için sırasıyla 16.569 bç ve 16.585bç olduğu tespit edilen Mitokondriyal genom uzunluğu Atlantik morinası (*Gadus morhua*, 16.696 bç), Walleye pollock (*Theragra chalcogramma*, 16.570 bç) için önceden bildirilen uzunluklar içinde yer almıştır. Çalışmada iki tür için elde edilen gen düzeninin çoğu omurgalıda gözlenen gen düzeniyle uyum içinde olduğu gözlenmiştir. Yazarlar, daha önceden Gadiformes'in diğer türleri için de açıklandığı gibi tRNA<sup>Thr</sup> ve tRNA<sup>Pro</sup> genleri arasında (sırasıyla mezgit ve haddock için 100 ve 70 bç uzunluğunda) yer alan ara bölgeler tespit etmişlerdir. Dört farklı türe (*M. merlangius*, *M. aeglefinus*, *G. morhua* ve *T. chalcogramma*) ait mitogenomun nükleotit ve aminoasit farklılıkları kullanılarak, Gadidae türleri arasında benzer mtDNA mutasyon bölgeleri araştırılmış, Gadidae türleri ve genler arasında karşılaştırmalı olarak mtDNA mutasyon yapıları ayrıntılı olarak incelenmiş ve tüm genoma ait veri kümesi ile karşılaştırıldığında, dört tür arasında beklenen filogeniyi gösteren, protein kodlayan, transfer RNA ve ribozomal RNA genlerinin performansı test edilmiştir.

Di Finizio ve ark. (2007) çalışmalarında, farklı biyocoğrafik kökeni ve ticari önemi olan yedi gadoid türünü (*Gadus morhua* (Atlantik Okyanusu); *Trisopterus minutus capellanus*, *Trisopterus minutus minutus*, *Molva elongata*, *Phycis blennoides*, *Micromesistius poutassou* (Atlantik Okyanusu ve Akdeniz); *Theragra chalcogramma* (Pasifik okyanusu) tanımlamak için PZR-RFLP analizi uygulamışlardır. Mitokondriyal 12S ve 16S rRNA genlerine ait olan sırasıyla 430 ve 630 bç'lik 2 DNA fragmenti, PZR ile yükseltgenmiş ve alınan direkt sekansları Gadoid türleri arasında önemli bir genotipik farklılık bulunduğunu ve tür ayrımının da kullanımının faydalı olduğunu göstermiştir. 16S rRNA geninin PZR ürününün *MvaI* veya *Bsh1285I* kesici enzimleriyle kesilmesi ve takibinde kesilen ürünler için yapılan agaroz jel elektroforezi spesifik kesim profili vermiş ve bu da analiz edilen türlerin

belirlenmesini mümkün kılmıştır. Yazarlar, PZR-RFLP yönteminin, çalışılan Gadoid türlerinin net ve hızlı bir şekilde ayırt edilmesini sağladığını ifade etmişlerdir.

Breines ve ark. (2008) yürütmüş oldukları çalışmada Morina balık türü olan *Arctogadus glacialis* ve *Boreogadus saida* (Ordo; Gadiformes, Familya; Gadidae)'da tüm Mitokondriyal genomun sekansını almışlar ve 16.644 ve 16.745 bç'lik toplam mitokondriyal genomun bu güne kadar analiz edilmiş tüm omurgalılarla aynı 37 yapısal gen seti içerdiğini tespit etmişlerdir. Yazarlar *A. glacialis*, *B. saida* ve ilave olarak Gadidae cinsinin 4 temsilcisinin mitokondriyal kontrol bölgelerinin incelenmesi sonucunda *A. glacialis* türünde tekrar bölgeleri de içeren son derece değişken bölgeler belirlemişlerdir. Tüm Mitokondriyal genomun sekansına bağlı olarak yapılan mitogenomik filogeny *A. glacialis* ve *B. saida* 'nın kardeş takson olduğunu desteklediğini ortaya koymuşlardır.

Bertoja ve ark. (2009) çalışmaların da, İtalya'nın bazı bölgelerinde geleneksel olarak tüketilen yüksek fiyatlı ve Norveç'te yakalanan ve kurutulmuş *Gadus morpha* türünün ticari değerini korumak için "kurutulmuş balık" terimini yalnızca bu tür için kullanılması zorunluluğunu getirmiştir. Bu çalışma ticari öneme sahip Gadiform türlerini dikkate alarak *Gadus morhua*'nın etkin bir şekilde tanımlanması için geliştirilmiş bir real-time PZR testinin sonuçlarını içermektedir. Geliştirilen bu PZR metodunun kullanımıyla, İtalya'nın çeşitli bölgelerinden toplanan 437 örnekte etiketleme yönetmeliğine uyulup uyulmadığını doğrulamak ve İtalyan kurutulmuş balık pazarında dolandırıcılık olaylarını rapor etmek üzere uygulanmış ve yüksek doğruluk oranıyla hızlı ve ekonomik tür tespiti yapılmıştır.

Roa-Varón ve Orti (2009) Gadiformes türleri arasındaki subordo, familya ve subfamilya seviyelerinde filogenetik hipotezlerin tartışmalı olduğunu ileri sürmüşler, bu sorunu çözmek için Ordo içindeki monotipik aile Lyconidae dışındaki tüm familya ve subfamilyaları temsil edecek şekilde örnekleme yapmışlar ve bu örnekler de nükleer ve mitokondriyal DNA (mtDNA)'nın, sırasıyla RAG 1, 12S ve 16S subunitlerinin sekanslarını analiz etmişlerdir. Bu çalışmada 46 cinsten 117 tür örneklenmiş, Ordo içinde tanımlanmış türlerin %20'sini içeren (Ordoda ki tüm cinslerin %60'ından fazlası) ve her tür için 2740 bç'lik DNA sekans verisi elde edilmiştir. Araştırmacılar yapmış oldukları analizin alternatif hipotez olan aileler arası

kardeş-grup ilişkileri haricinde, Ordo için önerilen ailelerin çoğu Gadiformes monofili doğrulamada başarılı olduğunu ortaya koymuşlardır.

Coucheron ve ark. (2011) Gadidae familyasından 10 morina balığının mitogenom sekanslarını ve 3 yeni türden (Saithe, Pollack ve Mavi mezigit) tüm sekanslarını analiz etmişlerdir. 10 poli (A) transkriptinden ve posttranskripsiyonel poliadenilasyon tarafından üretilen altı UAA stop kodonlarından oluşan bir set ile Saithe ve Atlantik morina balığında mitokondriyal mRNA karakterizasyonunu belirlemişlerdir. Bu çalışma omurgalılar arasında mitokondriyal RNA işlemlerinde genel bir evrimsel korunmayı desteklemektedirler.

Sonuç olarak, bu şekildeki karşılaştırmanın düşük seviyedeki farklılıklarda mtDNA'nın nükleotit değişim yapısının anlaşılmasında olduğu kadar, Gadidae familyasının filogenetik analizi için faydalı olacağı belirtilmiştir.

### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1. Materyal

Bu çalışmanın konusu kıyılarımızda yaşayan Gadoid türlerine ait mitokondriyal 12S rRNA ve 16S rRNA gen bölgelerine ait sekanslar elde edilerek filogenetik analizlerinin yapılmasıdır. Çalışma kapsamında ülkemizde dağılım gösteren 10 tür ve her türden 5'er örnek ile çalışılması planlanmış fakat bazı türlerden yeterli ya da hiç örnek bulunamaması nedeniyle 7 tür ve bazı türlerden daha az sayıda örnek ile çalışma gerçekleştirilmiştir.

##### 3.1.1. Örnekleme Çalışmaları

Örnekler Karadeniz'de Samsun, Ordu, Giresun, Sinop ve Trabzon balık hallerinden, Marmara'da İstanbul balık hali, Ege ve Akdeniz için ise İzmir Bornova balık halinden ticari amaçla yakalanmış balıklardan satın alınarak temin edilmiştir.

Türkiye'de Karadeniz, Akdeniz, Marmara ve Ege Denizi kıyılarından, 8 ayrı lokaliteden (Şekil 3.1.) 7 türe ait 109 örnek toplanmış ve *Phycis phycis* dışındaki türlerden 5'er örnek, *Phycis phycis* türünden ise elde edilebilen 1 örnek kullanılmıştır. Örnekleme yapılırken yalnızca uygun boyutlarda bulunan örnekler %98'lik etanole konarak fikse edilebilmiş, daha büyük olanlar sahada tür tayinleri yapıldıktan sonra yalnızca kaudal yüzgeçlerinden yaklaşık olarak 2cm<sup>2</sup> kesilerek 1,5ml'lik eppendorf tüplerde %98'lik etanole konularak laboratuvara taşınmıştır.



**Şekil 3.1.** Örneklerin toplandığı lokalitler. 1- Trabzon; 2- Giresun; 3- Ordu; 4- Samsun; 5- İstanbul (Marmara); 6- Çanakkale; 7- İzmir (Yeni Foça, Foça ve Karaburun); 8- Aydın (Kuşadası).

## 3.2. Yöntem

Örnekleme çalışmaları sonrası laboratuara getirilen doku örneklerinden sırasıyla;

- Toplam DNA'nın eldesi,
- Jel elektroforezi ile DNA kalite kontrolü
- PZR ile amplifikasyon
- PZR ürünlerinin jel elektroforezinde kontrolü
- Sekans analizi ve elde edilen verilerin değerlendirilmesi işlemleri uygulanmıştır.

### 3.2.1 Toplam DNA'nın Eldesi

DNA izolasyonu %98'lik etanol'de saklanan örneklerin kaudal yüzgeç dokularından yapılmıştır. Toplam DNA'nın ekstraksiyonunda fenol/kloroform yöntemi kullanılarak gerçekleştirildi. Kaliteli ve optimum DNA eldesi için yaklaşık olarak 2 mm<sup>3</sup> büyüklüğünde ve 100 mg doku örneği kullanıldı. Küçük parçalara bölünmüş doku örneği 1.5 ml'lik Eppendorf tüplere konulmadan önce kâğıt mendil üzerinde 1–2 dakika bekletilerek etanolun uçması sağlandı, daha sonra Eppendorf tüplere 500 µl Homojenizasyon çözeltisi eklenerek vorteks yardımıyla karıştırılıp santrifüj yapılarak 55°C'de 12 saat sarsaklı inkübatöre konarak homojenizasyon işlemi yapıldı.

Dokular 1 saat arayla kontrol edilerek vortekslendi. Homojenize olmuş örnekler santrifüj yapılarak üst kısım yeni tüplere aktarıldı. 500 µl bufferlanmış phenol ilave edilip elle tabakalaşma kaybolana kadar ters-düz edilerek karıştırıldı. 13.000 rpm'de 5 dk. Santrifüj yapılarak üstte oluşan faz, orta faza zarar verilmeden dikkatli bir şekilde pipet yardımıyla yeni tüplere alındı. Bu yeni tüplere 500 µl Kloroform:İsoamil alkol ( 24:1 ) ilave edilip yine elle ters düz edilerek karıştırılarak 3dk. oda sıcaklığında bekletildi ve yeniden ters düz edilerek 10.000 rpm'de 2dk. santrifüj edildi. Oluşan üst faz yine pipet yardımıyla dikkatli bir şekilde yeni tüplere aktarılarak, 1/10 oranında 3M NaOAc ( pH=5.2 ) çöktürme için eklendi. Daha sonra tüplere hacmin 2 katı kadar %98'lik soğuk ethanol eklenerek elle ters düz ederek veya parmakla vurarak karışması sağlanıp DNA gözlemlendi. Tüm tüplerde bu işlem tamamlandıktan sonra soğutmalı santrifüjde +4°C'de 12.000 rpm'de 20 dk. santrifüj edilerek DNA'nın peletlenmesi sağlanmış ve daha sonra tüplerin içerisindeki alkoller dikkatli bir şekilde dökülmüş ve kurumaları için 5 dk. oda sıcaklığında kâğıt havlu

üzerinde bekletilmiştir. Daha sonra orijinal hacmin iki katı (700 µl ) %80 soğuk ethanol ilave edilip oda sıcaklığında 5 dk. inkübasyona bırakılarak DNA yıkanması sağlanmış ve 12.000 rpm'de 5 dk. santrifüj yapıldıktan sonra tekrar alkol dikkatli bir şekilde dökülerek yeniden kurumaya bırakılmıştır. Son olarak tüplere 300 µl TE pH=8 ( 10mM Tris ve 0,1 mM EDTA) buffer ilave edilerek DNA'nın çözülmesi sağlanmış ve saklanmak üzere +4°C'de soğutucuya kaldırılmıştır (Çiftci 2006).

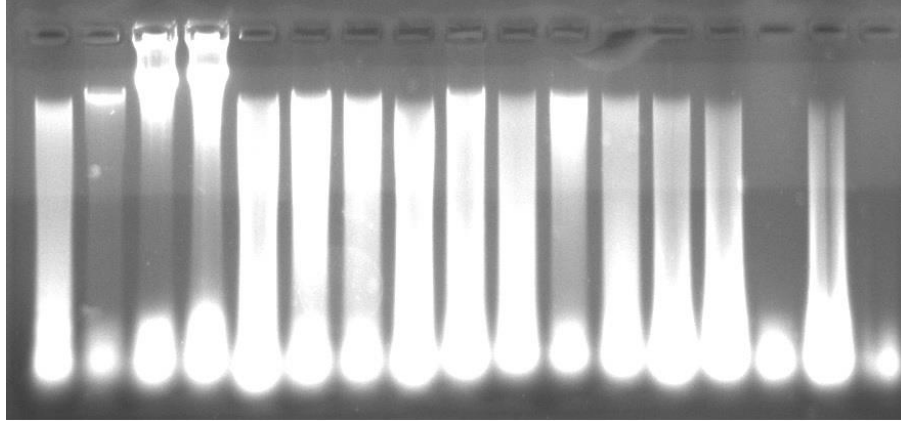
### 3.2.2. Elde Edilen DNA'nın Agaroz Jel Elektroforezi ile Kontrolü

Pelet halindeki DNA çözüldükten sonra agaroz jelde bütünlüğü kontrol edilmiştir. Kullanılacak tankın hacmi için yapılan hesaplamalara göre %0.8'lik 130 ml jel hazırlandı. Bunun için 123.5ml saf su 6,5ml 20x TBE ile karıştırılarak 1.04gr Agaroz homojen bir şekilde eriyinceye kadar mikrodalga fırına kondu. Agaroz tümüyle eridikten sonra 4µl ethidium bromide konarak karıştırıldı ve jel küvetine dökülerek tüm kabarcıklar temizlendikten sonra örnek sayısına uygun taraklar yerleştirilerek donmaya bırakıldı. Donma gerçekleştikten sonra jel üzerine az miktar 1xTBE buffer döküldükten sonra taraklar çıkarılarak küvet tank içine uygun şekilde yerleştirilip tank üzerinde belirtilen çizgiye kadar 1xTBE buffer ile dolduruldu.

+4°C'ye kaldırılan örnekler parafilm üzerinde distile su ve Loading Dye (Çizelge 3.1.) ile pipetajlanarak jel üzerindeki kuyucuklara yüklendi ve 100V'da 60 dakika yürütülerek UV görüntüleyici altında bantlar gözlenerek DNA varlığı ve kalitesi gözlemlendi (Şekil 3.2.). Uygun kalitede bant veren örnekler sekans için PZR'a hazırlanmak üzere ayrıldı, uygun bant vermeyen örnekler için farklı numunelerden ekstraksiyon yenilenecek bu işlemler tekrarlandı.

**Çizelge 3.1.** Jele yüklemek için kullanılan çözelti ve örnek miktarları

Her bir örnek için	Miktar
DNA örneği	3µl
Distile su	2µl
6xLoading Dye	1µl



**Şekil 3.2.** Ekstraksiyon sonrası jelde yürütülen DNA örneklerinin UV altında görüntüsü

### 3.2.3. Mitokondriyal DNA 12S rRNA ve 16S rRNA Gen Bölgelerinin PZR ile Amplifikasyonu

Gadidae örneklerinden elde edilen mitokondriyal DNA'nın 12S rRNA ve 16S rRNA bölgeleri, bu bölgeler için başka araştırmacılar tarafından geliştirilen primer setleri (Çizelge 3.2.) kullanılarak Thermal Cycler (TC PLUS, TECNE) yardımıyla çoğaltılmıştır. Yükseltgeme işlemi her bir örnek DNA'sı ile birlikte 50 µl'lik PZR karışımıyla yürütülmüş ve sırasıyla; forward ve reverse primerler, PZR Master Mix, 2X (PROMEGA) (Reaksiyonbuffer (pH 8,5) içinde, önceden karıştırılmış olarak; 50 ünite/ml TaqDNA Polimeraz enzimi, 400 µM dATP, 400 µM dGTP, 400 µM dCTP, 400 µM dTTP, 3 mM MgCl<sub>2</sub> bulunmaktadır) ve ddH<sub>2</sub>O karışımından oluşan kokteyl solüsyon hazırlanmış ve 0,5 ml'lik PZR tüplerine dağıtılmıştır (Çizelge 3.3.). Örneklerin spesifik gen bölgelerinin çoğaltılmasında Çizelge 3.4.'de verilen PZR programları, yapılan optimizasyon denemelerinde tatmin edici sonuçlar vermiştir.

**Çizelge 3.2.** Çalışmada kullanılan mtDNA segmentleri ve primer sekansları

mtDNA Segmenti	Primer Dizisi	Kaynaklar
12S rRNA	F: 5'-AAACTGGGATTAGATACCCCACTAT-3'	(Palumbi 1996, Di Finizio ve ark.2007)
	R: 5'-GAGGGTGACGGGCGGTGTGT-3'	
16S rRNA	F: 5'-GCCTGTTTATCAAAAACAT-3'	
	R: 5'-CCGGTCTGAACTCAGATCACGT-3'	



**Çizelge 3.3.** 12S ve 16S rRNA bölgelerinin çoğaltılması için belirlenen PZR karışımının bileşenleri ve miktarları

PZR Bileşenleri	Miktar	
	12S rRNA	16S rRNA
Reaksiyon Buffer 50u/ml Tag DNA Polimeraz 3mM MgCl <sub>2</sub> 400µM dNTPs (dGTP, dCTP, dATP, dTTP)	25µl	25µl
Forward Primers (10pmol/µl)	5µl	5µl
Reverse Primers (10pmol/µl)	5µl	5µl
DNA	10µl	10µl
Nuclease Free Water (NFW)	5µl	5µl
Toplam	50µl	50µl

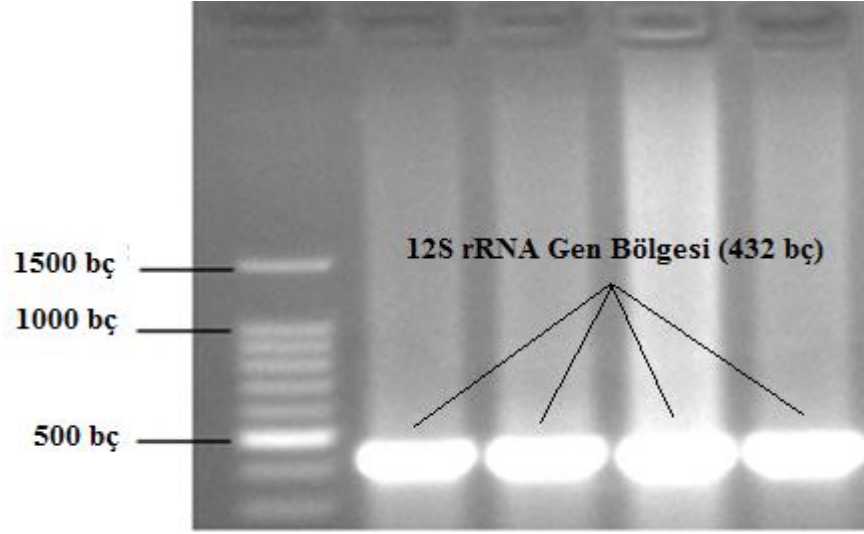
**Çizelge 3.4.** Çalışmada kullanılan PZR programları

PZR Kondisyonu	Segment		
	12S ve 16S rRNA		
	Sıcaklık (°C)	Süre	Döngü Sayısı
Birinci denatürasyon	95	2 dk	1
Denatürasyon	95	45 sn	} 30
Bağlanma	52	55 sn	
Yeni zincir sentezi	72	1.5 dk	
Final zincir sentezi	72	5 dk	1

### 3.2.4. Agaroz Jel Elektroforezi ile Çoğaltılan Gen Bölgelerinin Gözlenmesi

Gen bölgelerinin çoğaltılıp çoğaltılmadığı Agaroz Jel Elektroforeziyle kontrol edilmiştir. DNA parçaları büyüklüklerine göre jel içinde farklı hızla hareket ettiklerinden yürütülecek materyale göre jel konsantrasyonu ayarlanmıştır. PZR ürünlerinin istenilen görüntüyü vermesi için jel konsantrasyonu %1.2 olarak belirlenmiştir.

Ardından 3 µl PZR ürünü, 2 µl NFW ve 1 µl 6x Loading Dye parafilm üzerinde karıştırılmış ve agaroz jelin kuyucuklarına yükleme yapılmıştır. Tüm yüklemeler bittikten sonra 100V'da gerilimde 45dk yürütme yapılmış ve UV görüntüleyiciyle gözlenerek sekansa gönderilecek örnekler belirlenmiştir (Şekil 3.3.).



**Şekil 3.3.** PZR sonuçlarının jel elektroforezinde 12S rRNA gen bölgesine ait jel görüntüsü

### **3.2.5. PZR Ürünlerinin Dizi Reaksiyonu, Dizilerin Elde Edilmesi ve Hizalanması**

Mitokondrial gen bölgelerinin çoğaltılmasında doku örneklerinden elde edilmiş total DNA kullanılmıştır. Mitokondriyal DNA'nın farklı gen bölgeleri (12S rRNA ve 16S rRNA) PZR ile çoğaltılmıştır. PZR ile çoğaltımda reaksiyon başına kullanılacak DNA kalıp miktarı, MgCl<sub>2</sub>, primer ve dNTP konsantrasyonları optimize halde gelen çözelti kullanılarak sağlanmıştır. PZR ürünleri ve primerler dizi analizi yapılması için paketlenerek Güney Kore'deki Macrogen firmasına gönderilmiştir. Ürünün saflaştırılması ve okunması burada yapılmıştır. BigDye Terminator Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems) kullanılarak, dizi ürünleri ABI 3730XL kapillar otomatik sekans aletinde yürütülmüş ve elde edilen ham veriler internet yoluyla alınmıştır.

BioEdit (Hall 1999) programı kullanılarak her 2 gen bölgesi için elde edilen ham diziler her bir birey için ayrı ayrı değerlendirilmiştir. Her bir birey için Forward ve Reverse okuma grafikleri karşılıklı açılmış ve en doğru okumalar karşılaştırmalı olarak doğrulanmıştır.

Doğrulama sonucunda her bir birey için consensus verisi elde edilmiş ve çalışmalar bu consensus dizilimleri üzerinden yürütülmüştür.

### 3.2.6. Genetik Verilerin Analizi

Her gen bölgesi kendi içinde ayrı ayrı hizalanmıştır. Bireylere ait 12S ve 16S rRNA dizi dosyaları GenBank verileri ile BioEdit (Hall 1999) içindeki Clustal W (Thompson ve ark. 1994) modülü kullanılarak hizalanmıştır. 12S rRNA geninin *Phycis* türlerinde 436 bç, diğerlerinde 432 bç ve 16S rRNA geninin *Merlangius*, *Trisopterus* türlerinde 612 bç, *Merluccius*, *Phycis* türlerinde 613 bç ve *Gaidropsarus* türlerinde 618 bç'lik diziler elde edilmiştir.

mtDNA gen bölgelerine ait sekansların ilk mukayesesi BioEdit (Hall 1999) programı yardımıyla daha önceden GenBank veri tabanına girilen ilgili sekanslara karşılık yapılmıştır. Baz dizilerinin gerekli formatlara dönüştürülmesi ClustalW (Thompson ve ark. 1994) programları ve ağaç dosyalarını görüntülemek için TreeView programı kullanılmıştır. Elde edilen 12S ve 16S rRNA genlerine ait DNA baz dizileri önce Nexus (Maddison ve ark. 1997) formatına dönüştürülmüş, Network 4.6 (Fluxus Technology Ltd. 1999-2014) programı ile tür içi varyasyonu gösteren bir ağ oluşturulmuştur. Nükleotit içeriği ile ilgili istatistikler, haplotip sayısı, haplotip ve nükleotit değişim değerleri ve moleküler haplotipler arasındaki mutasyon miktarı DnaSP 3.15 (Rozas ve Rozas 1999) programı kullanılarak belirlenmiştir.

12S ve 16S rRNA gen bölgeleri için hizalanmış sekanslar, BioEdit programıyla FASTA olarak kaydedilmiş, DnaSP programıyla açılıp NEXUS formatında tekrar kaydedilmiştir. DnaSP programıyla haplotipler ve haplotip frekansları belirlenmiş ve kaydedilmiştir. Yine aynı program ile nükleotit çeşitliliği belirlenmiştir. jModeltest v.0.1 (Posada 2008) programında kullanılmak üzere veri setleri PHYLIP formatında kaydedilmiştir.

DNA dizilerinin analizinde, özellikle filogenetik ağaçların oluşturulmasında ve evrimsel parametrelerin tahmininde baz değişim modelleri sıkça kullanılmaktadır. Doğru modelin seçimi, jModeltest v.0.1 (Posada 2008) programıyla sağlanmıştır. Jmodeltest programında FASTA formatındaki veriler girilerek Maksimum Olasılık (Maximum Likelihood) analizi için iki gen bölgesine ayrı ayrı Modeltest uygulanmıştır. Her iki gen bölgesi için jModelTest v.0.1 (Posada 2008) programı kullanılarak yapılan Akaike Information Criterion (AIC) ve Bayesian Information Criterion (BIC) analizleri, veri seti için en uygun baz değişim modellerinin sırasıyla

12s rRNA gen bölgesi için TIM2+G ve TIM2ef+G, 16S rRNA gen bölgesi içinse her iki modelin de TIM3+G olduğunu ortaya koymuşlardır. Belirlenen modeller PHYML v. 3,0 (Guindon ve Gascuel 2003) programında PHYLIP formatında açılan belge kullanılarak AIC (Akaike 1974) ML ağacı çıkartılmıştır. Neighbor-Joining ve Maksimum-Likelihood analizlerinde en yüksek Bootstrap değerlerini veren evrimsel model ile oluşturulan ağaçlar kullanılmıştır.

Elde edilen baz dizileri, Genbank'tan alınan aynı ve yakın ilişkili türlere ait sekanslar da eklenerek PAUP 4.0b10 (Swofford 1998) paket programı kullanılarak Maksimum Parsimoni ve NJ ağaçları çıkarılmış, PHYML v. 3,0 (Guindon ve Gascuel 2003) programı ile Maximum Likelihood analizleri yapılmış ve Mega6 (Tamura ve ark. 2013) programı ile genetik uzaklık matrisleri hesaplanmıştır. Maksimum parsimoni analizi ile buluşsal (Heuristic Search) metoda göre 10000 rastgele ilave tekrarlar oluşturulup, seç bağla testi ile 1000 tekrar yapılmıştır. Bu analiz için, GenBank veritabanındaki yakın ilgili Gadidae üyesi *Physiculus japonicus* dış grup olarak kullanılmıştır. Belirlenen haplotipler, Sequin (Sequin Application Version 7.35) programı yardımıyla GenBank veri bankasına girilecektir.

## 4. ARAŞTIRMA BULGULARI

### 4.1. DNA Dizin Analizi

Bu çalışmada 5 İl'den temin edilen Gadidae familyasına ait toplam 7 türden 12S rRNA geninin *Phycis* türlerinde 436, diğerlerinde 432 bazlık kısmı ve 16S rRNA geninin *Merlangius* ve *Trisopterus* türleri için 612, *Merluccius* ve *Phycis* türleri için 613 ve *Gaidropsarus* türleri için 618 bç'lik sekansı için DNA dizi analizi yapılmıştır. Çalışılan gen bölgeleri için 7 Gadoid türünden dizi analizi yapılan birey sayısı Çizelge 4.1'de verilmiştir.

**Çizelge 4.1.** Gadidae familyasına ait 7 türden 12s ve 16S rRNA genleri için dizin analizi yapılan birey sayısı

Türler	12s rRNA	16s rRNA
<i>Merlanigus merlangus euxinus</i>	5	5
<i>Trisopterus minutus capelanus</i>	5	5
<i>Merluccius merluccius</i>	4	5
<i>Gaidropsarus vulgaris</i>	5	5
<i>Gaidropsarus mediterraneus</i>	5	3
<i>Phycis blennoides</i>	5	5
<i>Phycis phycis</i>	1	1
TOPLAM	30	29

### 4. 2. mtDNA 12s rRNA Gen Bölgesi

#### 4.2.1. 12S rRNA Dizin Varyasyonu, Haplotip ve Nükleotit Özellikleri

Yedi tür için mtDNA 12S rRNA gen bölgesi toplam 30 bireyden yükseltgenmiştir (Çizelge 4.1). Belirlenen nükleotit pozisyonlarının *Phycis* türleri için 349'u (%80.04) sabit, 87'si (%19.96) değişken, diğer türleri için 345'i sabit (%79.96), 87'si (%20.14) değişkendir. Değişken karakterlerin 52'si (%59.77) parsimonik bilgi verici karakterdir. Çalışılan tüm örneklerde 64-179 bazları arasında, 116 bç uzunluğunda korunmuş bölge tespit edilmiştir. Elde edilen matrikste baz kompozisyonları A:%29.8, C:%25.8, G:%22.8 ve T:%21.6 olarak belirlenmiştir.

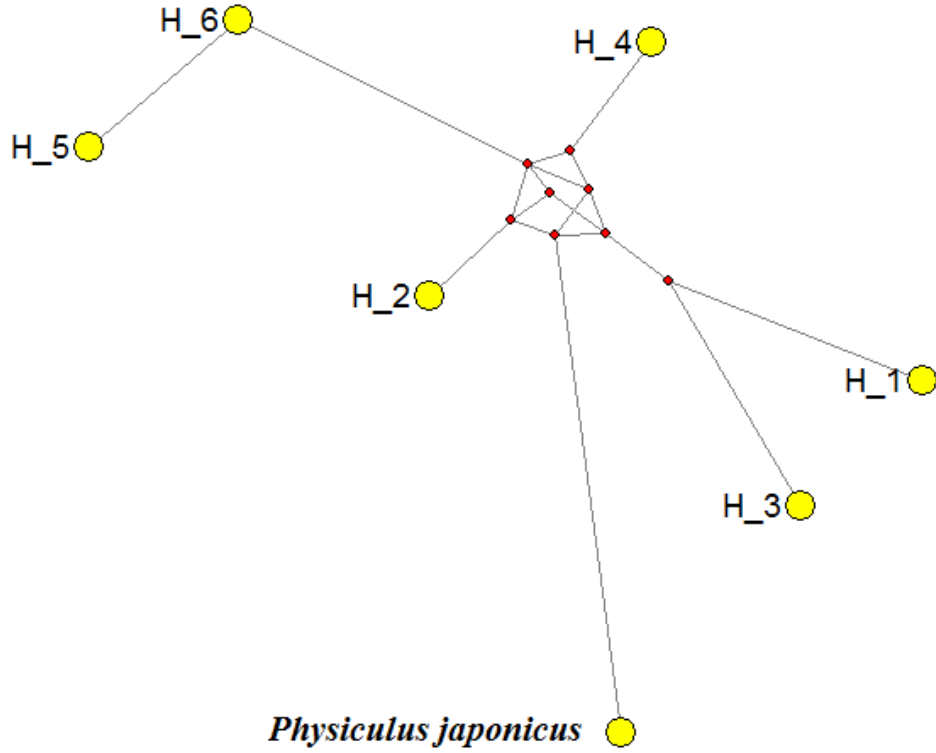
12S rRNA bölgesinin dizin analizi ile toplam 6 farklı haplotip belirlenmiştir. Network4.6 (Fluxus Technology Ltd. 1999-2014) programına girilen verilerle bir

network oluşturulmuştur. Haplotipler arası ilişkileri gösteren bir sonuç vermiştir (Çizelge 4.2. ve Şekil 4.1.). Beş adet *Merlangius merlangus euxinus* bireyinin analizi ile yalnız bir haplotip tespit edilmiştir. Benzer şekilde diğer türler için de çalışılan tüm haplotipler, aynı haplotipler içinden yalnız birer örnekle temsil edilmiştir.

**Çizelge 4.2.** 12S rRNA gen bölgesi haplotip bilgileri

Haplotipler	Türler (örnek no)	Örnek sayısı
<b>Hap1</b>	<i>M. merlangus euxinus</i>	5
<b>Hap2</b>	<i>T. minutus capelanus</i>	5
<b>Hap3</b>	<i>M. merluccius</i>	4
<b>Hap4</b>	<i>G. vulgaris</i> <i>G. mediterraneus</i>	10
<b>Hap5</b>	<i>P. phycis</i> <i>P. blennoides</i> (1,4)	3
<b>Hap6</b>	<i>P. blennoides</i> (2,3,5)	3

12S geni dizini ile elde edilen haplotipler *M. merlangus euxinus* Hap1 dizini referans olarak alınarak karşılaştırıldığında bu segmentle aynı polimorfizmi gösteren haplotiplerde 67'si transversiyonal 120'si transisyonal baz değişimi ile farklılaşan toplam 87 değişken nükleotit pozisyonu tanımlanmıştır (Çizelge 4.3.). Türler arasında, *Trisopterus minutus capelanus*'da 19 transisyonal ve 2 transversiyonal, *Merluccius merluccius*'da 25 transisyonal ve 20 transversiyonal, *Gaidropsarus vulgaris* ve *Gaidropsarus mediterraneus*'da 15 transisyonal ve 13 transversiyonal, *Phycis phycis* ve *Phycis blennoides*'de 2 örnekte 31 transisyonal ve 16 transversiyonal, 3 örnekte ise 30 transisyonal ve 16 transversiyonal değişim tespit edilmiştir. Sonuç olarak, 12S geni için transisyonlar transversiyonlardan daha yaygın olmakla birlikte transisyon/transversiyon oranı 1.791 olarak gerçekleşmiştir.



**Şekil 4.1.** Gadidae türlerinin 12s rRNA geni için Network 4.6 (Fluxus Technology Ltd. 1999-2014) programı ile oluşturulan haplotip ağı. (Hap1, *M. merlangus euxinus*; Hap2, *T. minutus capelanus*; Hap3, *M. merluccius*; Hap4, *G. vulgaris* ve *G. mediterraneus*; Hap5, *P. phycis* ve *P. blennoides* (1-4 no'lu örnekler); Hap6, *P. Blennoides* (2-3-5 no'lu örnekler) ve *P. japonicus* dış grup)

Ayrıca, *G. vulgaris*, *G. mediterraneus*, *P. phycis* ve *P. blennoides* dışında her bir tür için türe özgü nükleotit pozisyonları belirlenmiştir. Hap1'de 8 (4 adet C-T, 2 adet A-T, 1 adet T-A ve 1 adet G-T), Hap2'de 20 (4 ad. T-C, 4 ad. A-C, 3 ad. C-T, 2 ad. C-A, 2 ad. A-T, 2 ad. G-C, 1 ad. T-G, 1 ad. G-A ve 1 ad. A-G) ve son olarak Hap3'de 10 (3 ad. A-G, 2 ad. T-C, 2 ad. A-T, 1 ad. A-C, 1 ad. C-A ve 1 ad. C-T) nükleotit pozisyonunda, bu türleri diğerlerinden ayıran teşhis nükleotit pozisyonları tespit edilmiştir.

Analizler sonucunda elde edilen haplotipler için haplotip çeşitliliği Hd: 0.823 ve nükleotit çeşitliliği Pi: 0,09822 olarak bulunmuştur. Türler arası nükleotit çeşitliliği ve nükleotit farklılıkları (Çizelge 4.4.) DnaSP (Rozas ve Rozas 1999) programı ile hesaplanmıştır.





**Çizelge 4.4.** 12S rRNA gen bölgesi türler arası nükleotit çeşitliliği ve net nükleotit çeşitliliği (Alt diagonal  $d_{XY}$ , Üst diagonal  $d_A$ )

	Hap1	Hap2	Hap3	Hap4	Hap5	Hap6	<i>P. japonicus</i>
Hap1	0	0.04861	0.10648	0.06713	0.10905	0.10673	0.22970
Hap2	0.04861	0	0.11574	0.08796	0.11601	0.11369	0.24362
Hap3	0.10648	0.11574	0	0.12037	0.13225	0.12993	0.23202
Hap4	0.06713	0.08796	0.12037	0	0.11369	0.11137	0.24130
Hap5	0.10905	0.11601	0.13225	0.11369	0	0.00229	0.22633
Hap6	0.10673	0.11369	0.12993	0.11137	0.00229	0	0.22633
<i>P. japonicus</i>	0.15349	0.15349	0.20000	0.17907	0.20602	0.20370	0

#### 4.2.2. 12S rRNA Gen Bölgesi Filogenetik Özellikleri

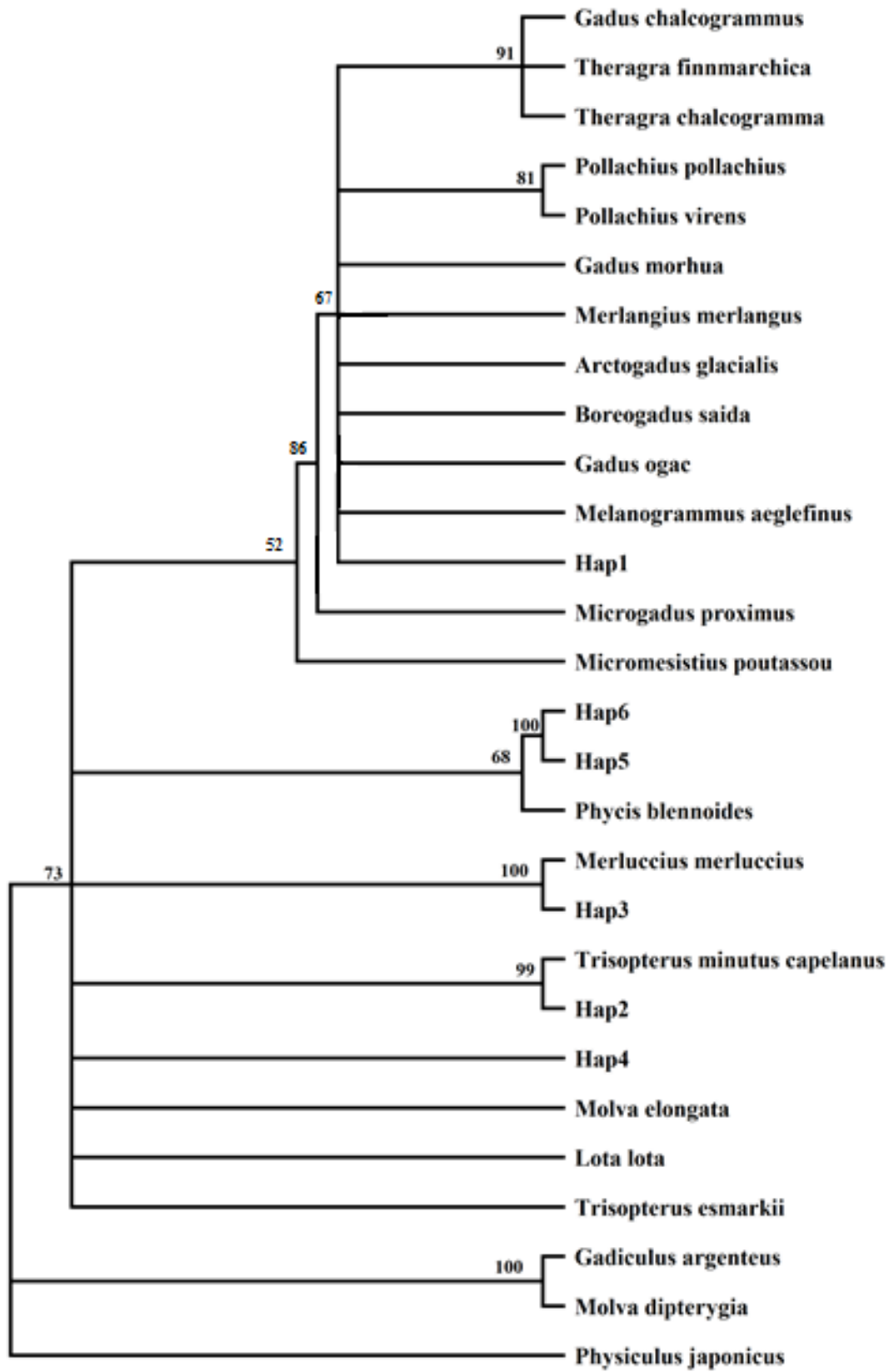
12S rRNA geni için gen bankasından (NCBI) alınan Gadoid örneklerine ait sekans verileri (Çizelge 4.5.) bu çalışmada Türkiye sularından elde edilmiş 6 haplotipin DNA dizileri birlikte değerlendirilmiş ve mevcut durum ortaya konulmuştur. jModelTest v.0.1 (Posada 2008) programında analiz edildiğinde hiyerarşik olasılık oran testlerine göre en uygun baz değişim modelinin AIC (Akaike 1974)'e göre TIM2+G olduğu ( $-\ln L = 2399.8301$ ,  $K=61$ ) ve gamma shape değerinin 0,4490 olduğu bulunmuştur. Ayrıca analiz sonucunda oluşan değerler filogenetik analizler için PAUP (Swofford 1998) ve PHYML v. 3,0 (Guindon ve Gascuel 2003) programları tarafından kullanılmıştır.

Parsimoni analizinde “Heuristic Search” algoritması kullanılmıştır (Şekil 4.2.). Bootstrap değeri 1000 olarak alınmıştır. ML analizinde ise jModelTest v.0.1 (Posada 2008) programı kullanılarak en uygun model belirlenmiş ve PHYML v. 3,0 (Guindon ve Gascuel 2003) programında bu model ve baz oranları kullanılarak ML ağacı çıkarılmıştır (Şekil 4.3.). NJ (Neighbour joining) (Şekil 4.4.) filogramı ve Kimura 2- parametre modeline (Kimura 1980)'ne göre türler arası genetik uzaklık ilişkisi MEGA 6 (Tamura ve ark. 2013) programında hesaplanmıştır (Çizelge 4.6.).

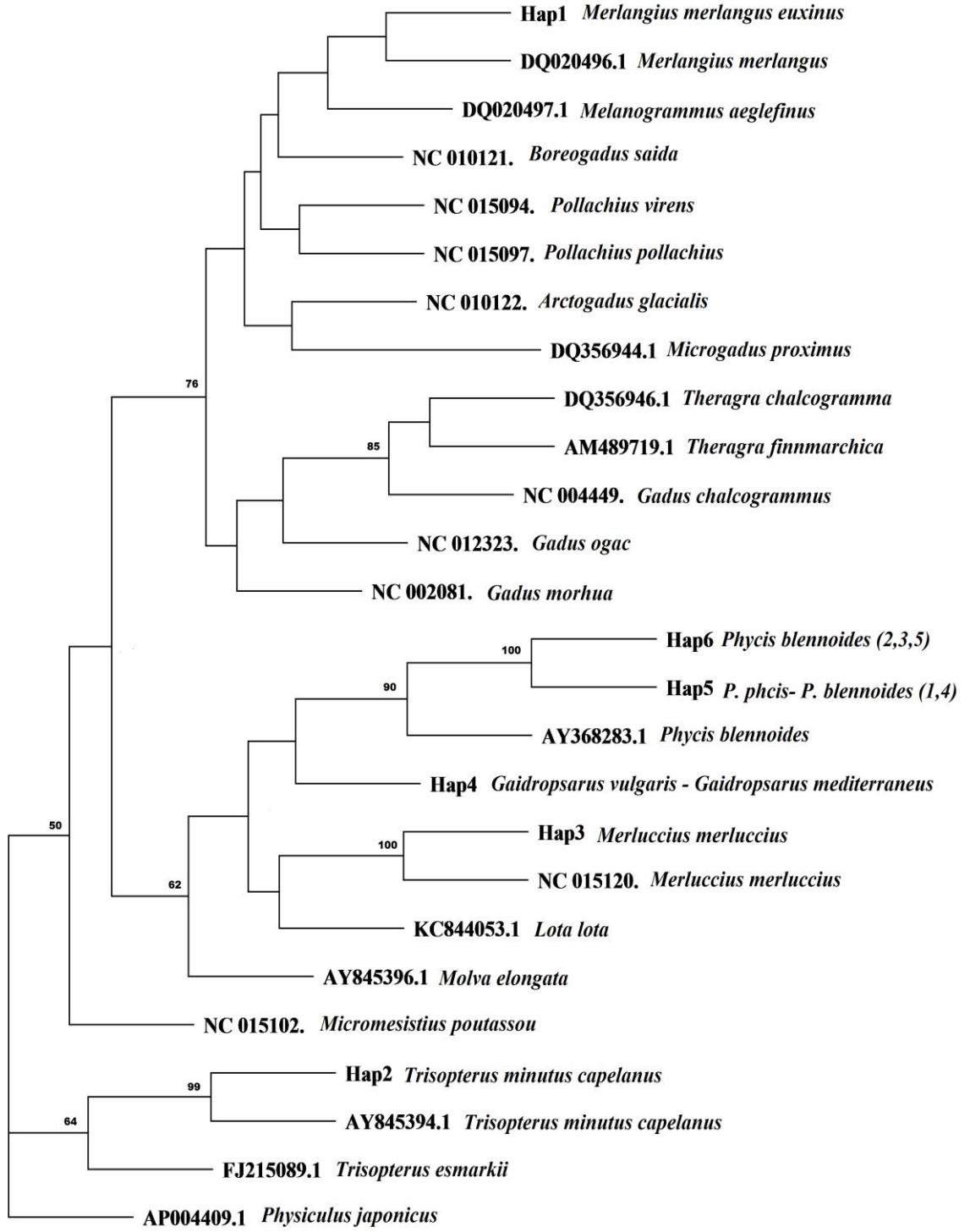
En düşük genetik uzaklık 0.005 ile Hap5-Hap6 arasında bulunurken en yüksek genetik uzaklık değeri ise 0.149 ile Hap4-Hap5 arasında bulunmuştur. Tüm türler için ortalama genetik uzaklık 0.210 olarak hesaplanmıştır.

**Çizelge 4.5.** 12S rRNA gen bölgesi için GenBank'tan (NCBI) alınan sekans verilerine ait accession numaraları

<b>Tür</b>	<b>Accession No</b>
<i>Physiculus japonicus</i>	AP004409.1
<i>Micromesistius poutassou</i>	NC_015102.1
<i>Merlangius merlangus</i>	DQ020496.1
<i>Trisopterus minutus capelanus</i>	AY845394.1
<i>Merluccius merluccius</i>	NC_015120.1
<i>Phycis blennoides</i>	AY368283.1
<i>Theragra chalcogramma</i>	DQ356946.1
<i>Gadus morhua</i>	NC_002081.1
<i>Trisopterus esmarkii</i>	FJ215089.1
<i>Microgadus proximus</i>	DQ356944.1
<i>Gadus ogac</i>	NC_012323.1
<i>Boreogadus saida</i>	NC_010121.1
<i>Molva elongata</i>	AY845396.1
<i>Lota lota</i>	KC844053.1
<i>Melanogrammus aeglefinus</i>	DQ020497.1
<i>Pollachius pollachius</i>	NC_015097.1
<i>Pollachius virens</i>	NC_015094.1
<i>Molva dipterygia</i>	AJ517764.1
<i>Gadiculus argenteus</i>	AJ517763.1
<i>Gadus chalcogrammus</i>	NC_004449.1
<i>Arctogadus glacialis</i>	NC_010122.1
<i>Theragra finnmarchica</i>	AM489719.1

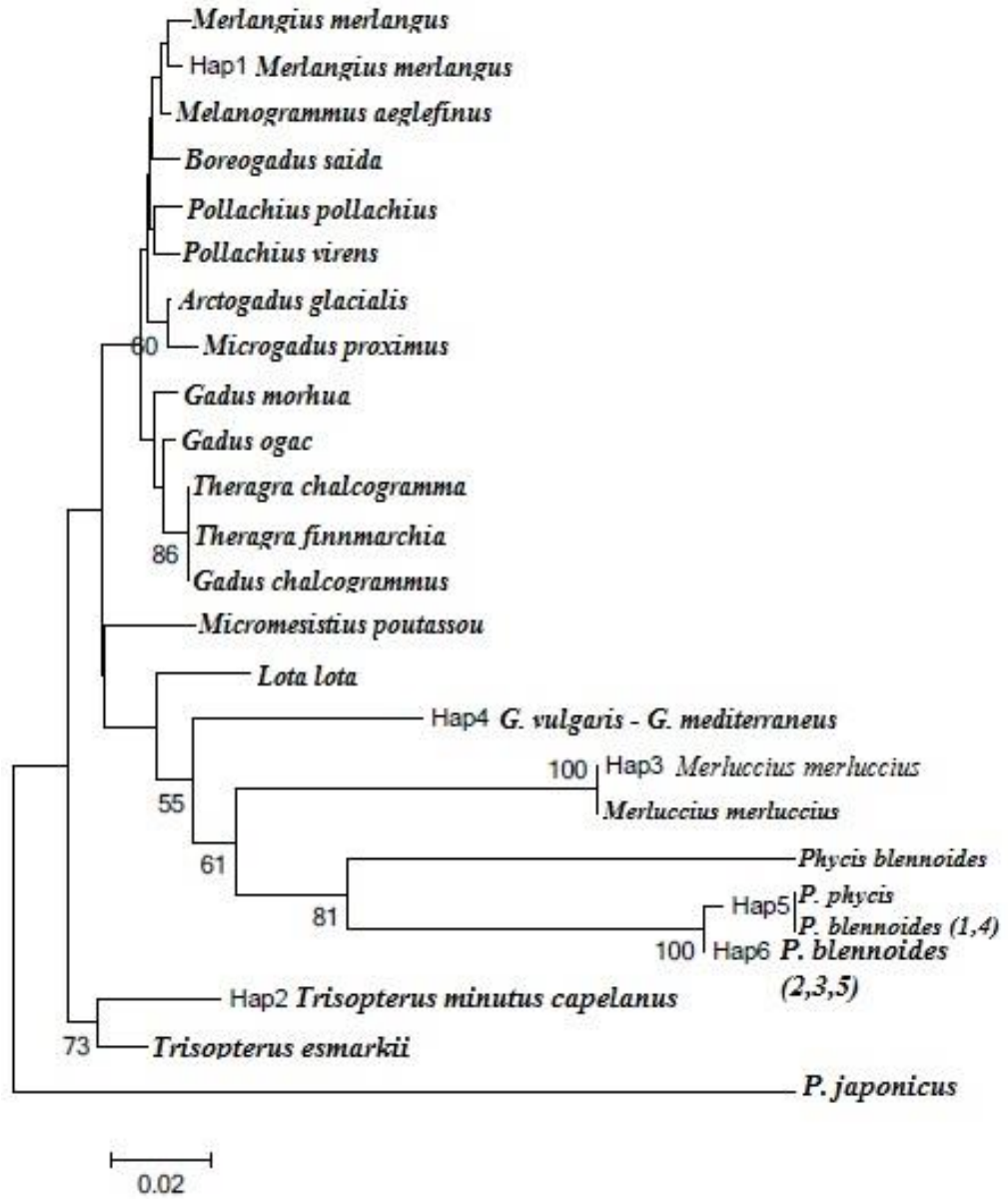


Şekil 4.2. 12S gen bölgesi PAUP (Swofford 1998)'da oluşturulan 243 ağaçtan elde edilen maksimum parsimoni consensus ağacı



10

**Şekil 4.3.** 12S Gen bölgesi için PHYML v. 3,0 (Guindon ve Gascuel 2003) programı üzerinde Maximum Likelihood filogramı



Şekil 4.4. 12S rRNA gen bölgesine ait MEGA 6 (Tamura ve ark. 2013)' da elde edilen NJ filogramı

Çizelge 4.6. 12S Gen bölgesi pairwise uzaklık ilişkisi (Kimura 1980)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1 Hap1 <i>Merlangius merlangus euxinus</i>	0											
2 Hap2 <i>Trisopterus minutus capellanus</i>	0.040	0										
3 Hap3 <i>Merluccius merluccius</i>	0.081	0.115	0									
4 Hap4 <i>Gaidropsarus vulgaris</i>	0.081	0.081	0.108	0								
5 Hap5 <i>Phycis phycis</i>	0.138	0.144	0.143	0.149	0							
6 Hap6 <i>Phycis blennoides</i>	0.132	0.138	0.137	0.143	0.005	0						
7 AP004409.1 <i>Physiculus japonicus</i>	0.184	0.198	0.234	0.226	0.254	0.247	0					
8 NC_015102.1 <i>Micromesistius poutassou</i>	0.024	0.040	0.081	0.070	0.139	0.133	0.197	0				
9 DQ020496.1 <i>Merlangius merlangus</i>	0.005	0.035	0.086	0.081	0.132	0.126	0.191	0.029	0			
10 NC_015120.1 <i>Merluccius merluccius</i>	0.081	0.115	0.000	0.108	0.143	0.137	0.234	0.081	0.086	0		
11 AY368283.1 <i>Phycis blennoides</i>	0.137	0.174	0.148	0.161	0.138	0.132	0.289	0.142	0.137	0.148	0	
12 DQ356946.1 <i>Theragra chalcogramma</i>	0.015	0.035	0.092	0.081	0.144	0.138	0.204	0.029	0.010	0.092	0.131	0
13 NC_002081.1 <i>Gadus morhua</i>	0.015	0.035	0.092	0.081	0.144	0.138	0.204	0.029	0.010	0.092	0.131	0.000
14 FJ215089.1 <i>Trisopterus esmarkii</i>	0.025	0.025	0.103	0.081	0.132	0.126	0.177	0.029	0.020	0.103	0.155	0.019
15 DQ356944.1 <i>Microgadus proximus</i>	0.019	0.040	0.086	0.081	0.138	0.132	0.211	0.034	0.015	0.086	0.131	0.010
16 NC_012323.1 <i>Gadus ogac</i>	0.015	0.035	0.092	0.081	0.144	0.138	0.204	0.029	0.010	0.092	0.131	0.000
17 NC_010121.1 <i>Boreogadus saida</i>	0.019	0.040	0.086	0.076	0.138	0.132	0.211	0.024	0.015	0.086	0.125	0.005
18 KC844053.1 <i>Lota lota</i>	0.029	0.050	0.076	0.081	0.121	0.115	0.202	0.034	0.029	0.076	0.149	0.029
19 DQ020497.1 <i>Melanogrammus aeglefinus</i>	0.010	0.030	0.086	0.086	0.138	0.132	0.198	0.024	0.005	0.086	0.137	0.005
20 NC_015097.1 <i>Pollachius pollachius</i>	0.005	0.045	0.086	0.076	0.144	0.138	0.190	0.029	0.010	0.086	0.131	0.010
21 NC_015094.1 <i>Pollachius virens</i>	0.010	0.040	0.086	0.081	0.150	0.144	0.197	0.024	0.015	0.086	0.131	0.005
22 NC_004449.1 <i>Gadus chalcogrammus</i>	0.015	0.035	0.092	0.081	0.144	0.138	0.204	0.029	0.010	0.092	0.131	0.000
23 NC_010122.1 <i>Arctogadus glacialis</i>	0.015	0.035	0.092	0.086	0.144	0.138	0.204	0.029	0.010	0.092	0.137	0.005
24 AM489719.1 <i>Theragra finnmarchica</i>	0.015	0.035	0.092	0.081	0.144	0.138	0.204	0.029	0.010	0.092	0.131	0.000

**Çizelge 4.6.** 12S Gen bölgesi pairwise uzaklık ilişkisi (Kimura 1980) (devamı)

	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
13 NC_002081.1 <i>Gadus morhua</i>	0											
14 FJ215089.1 <i>Trisopterus esmarkii</i>	0.019	0										
15 DQ356944.1 <i>Microgadus proximus</i>	0.010	0.024	0									
16 NC_012323.1 <i>Gadus ogac</i>	0.000	0.019	0.010	0								
17 NC_010121.1 <i>Boreogadus saida</i>	0.005	0.024	0.015	0.005	0							
18 KC844053.1 <i>Lota lota</i>	0.029	0.029	0.034	0.029	0.034	0						
19 DQ020497.1 <i>Melanogrammus aeglefinus</i>	0.005	0.015	0.010	0.005	0.010	0.024	0					
20 NC_015097.1 <i>Pollachius pollachius</i>	0.010	0.029	0.020	0.010	0.015	0.034	0.015	0				
21 NC_015094.1 <i>Pollachius virens</i>	0.005	0.024	0.015	0.005	0.010	0.029	0.010	0.005	0			
22 NC_004449.1 <i>Gadus chalcogrammus</i>	0.000	0.019	0.010	0.000	0.005	0.029	0.005	0.010	0.005	0		
23 NC_010122.1 <i>Arctogadus glacialis</i>	0.005	0.019	0.005	0.005	0.010	0.029	0.005	0.015	0.010	0.005	0	
24 AM489719.1 <i>Theragra finnmarchica</i>	0.000	0.019	0.010	0.000	0.005	0.029	0.005	0.010	0.005	0.000	0.005	0

### 4.3. mtDNA 16S rRNA Gen Bölgesi

#### 4.3.1. 16S rRNA Dizin Varyasyonu, Haplotip ve Nükleotit Özellikleri

Yedi tür için mtDNA 16S rRNA gen bölgesi (*Merlangius merlangus euxinus*, *Trisopterus minutus capelanus*, *Phycis blennoides* (2 numaralı örnek) ve *Phycis phycis* türleri için 612 bç, *Merluccius merluccius* ve *Phycis blennoides* (1-3-4-5 numaralı örnekler için) 613 bç, *Gaidropsarus vulgaris* ve *Gaidropsarus mediterraneus* türleri için 618 bç uzunluğunda) toplam 29 bireyden yükseltgenmiştir (Çizelge 4.7.). Belirlenen nükleotit pozisyonlarının *M. m. euxinus*, *T. m. capelanus* türleri için (Hap1-2-3-4 ve 5) 522'si (%85.29) sabit, 90'ı (%14.71) değişken, *M. merluccius*, *P. blennoides* ve *P. phycis* türleri için (Hap6-7-8 ve 10) 523'ü sabit (%85.32), 90'ı (%14.68) değişken, *G. vulgaris* ve *G. mediterraneus* türleri için ise (Hap10) 528'i sabit (%85.46), 90'ı (%14.56) değişkendir. Değişken karakterlerin 68'i (%75.55) parsimonik bilgi verici karakterdir. Çalışılan tüm örneklerde 38-173 bazları arasında 136 bç ve 495-620 bazları arasında 126 bç uzunluğunda iki farklı korunmuş bölge tespit edilmiştir. Elde edilen matrikste baz kompozisyonları A: %27.98, C: %24.22, G: %22.45 ve T: %25.35 olarak belirlenmiştir.

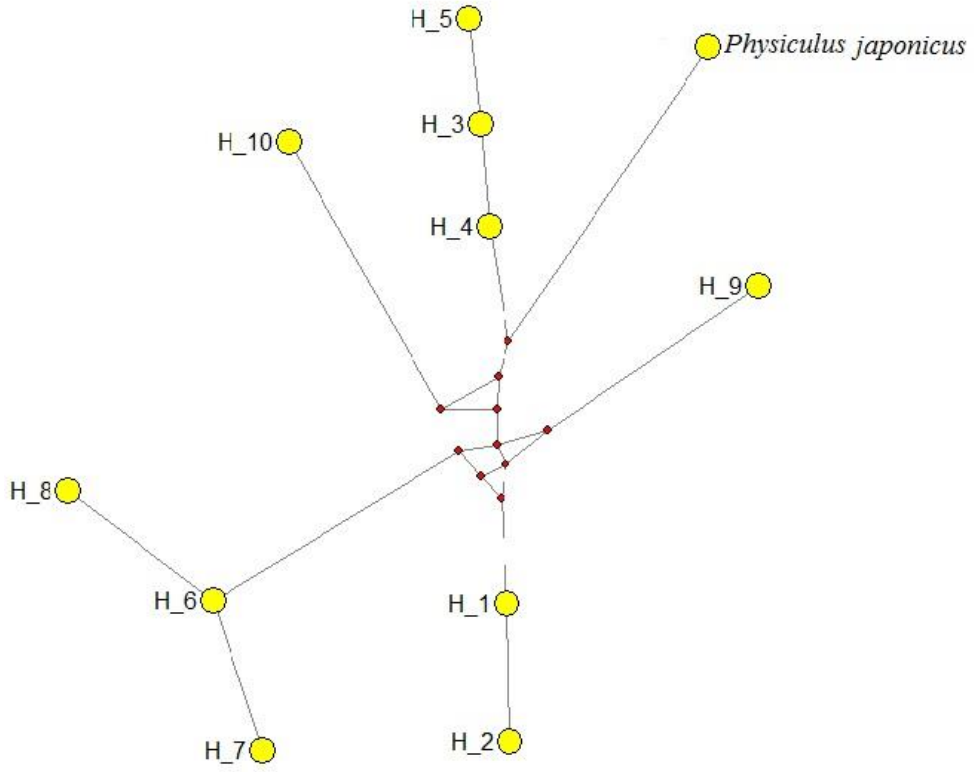
16S rRNA bölgesinin dizin analizi ile toplam 10 farklı haplotip belirlenmiştir. Network4.6 (Fluxus Technology Ltd. 1999-2014) programına girilen verilerle bir network oluşturulmuş ve haplotipler arası ilişkileri gösteren bir sonuç vermiştir (Çizelge 4.7. ve Şekil 4.5.). Beş adet *Merlangius merlangus euxinus* bireyinin analizi ile iki haplotip tespit edilmiştir. Benzer şekilde diğer türler için de çalışılan tüm haplotipler yalnız bir örnekle temsil edilmiştir.



**Çizelge 4.7.** 16S rRNA gen bölgesi haplotip bilgileri

Haplotipler	Türler (örnek no)	Örnek sayısı (Haplotip Frekans)
Hap1	<i>M. merlangus euxinus</i> (1)	1
Hap2	<i>M. merlangus euxinus</i> (2,3,4,5)	4
Hap3	<i>T. minutus capelanus</i> (1,2,3)	3
Hap4	<i>T. minutus capelanus</i> (4)	1
Hap5	<i>T. minutus capelanus</i> (5)	1
Hap6	<i>M. merluccius</i> (1,5)	2
Hap7	<i>M. merluccius</i> (2)	1
Hap8	<i>M. merluccius</i> (3,4)	2
Hap9	<i>G. vulgaris</i> <i>G. mediterraneus</i>	8
Hap10	<i>P. blennoides</i> <i>P. phycis</i>	6

16S geni dizini ile elde edilen haplotipler, *M. merlangus euxinus* örneklerinde gözlenen Hap 1 dizini referans olarak alınarak karşılaştırıldığında bu segmentle aynı polimorfizmi gösteren haplotiplerde 11'i transversiyonal 20'si transisyonal baz değişimi ile farklılaşan toplam 90 değişken nükleotit pozisyonu tanımlanmıştır (Çizelge 4.8.). Türler arasında, *M. merlangus euxinus* (2-3-4-5 no'lu örneklerde) 1 transisyonal, *Merluccius merluccius* (2 no'lu örnekte) 1 transisyonal, *Gaidropsarus vulgaris* ve *Gaidropsarus mediterraneus*'da 5 transisyonal ve 3 transversiyonal, *Phycis phycis* ve *Phycis blennoides*'de 13 transisyonal ve 8 transversiyonal değişim tespit edilmiştir. Sonuç olarak, 16S geni için transisyonlar transversiyonlardan daha yaygın olmakla birlikte transisyon/transversiyon oranı 1.818 olarak gerçekleşmiştir.



**Şekil 4.5.** Gadidae türlerinin 16S rRNA geni için Network 4.6 (Fluxus Technology Ltd. 1999-2014) programı ile oluşturulan haplotip ağı. (Hap1, *M. merlangus euxinus* (1 no'lu örnek); Hap2, *M. merlangus euxinus* (2,3,4,5 no'lu örnekler); Hap3, *T. minutus capelanus* (1,2,3 no'lu örnekler); Hap4, *T. minutus capelanus* (4 no'lu örnek); Hap5, *T. minutus capelanus* (5 no'lu örnek); Hap6, *M. merluccius* (1,5 no'lu örnekler); Hap7, *M. merluccius* (2 no'lu örnek); Hap8, *M. merluccius* (3-4 no'lu örnekler); Hap9, *G. vulgaris* ve *G. mediterraneus*; Hap10, *P. phycis* ve *P. blennoides* ve *P. japoninus* dış grup)

Ayrıca, Hap1, Hap3, Hap4, Hap5, Hap6 ve Hap8 dışında her bir tür için türe özgü nükleotit pozisyonları belirlenmiş (Çizelge 4.2.3.1.2.) ve diğer 3 haplotipi bunlardan ayıran, Hap2 için 1 (A-G); Hap7 için 1 (A-G); Hap9 için 8 (2 ad. T-C, 1 ad. C-T, 1 ad. C-A, 1 ad. A-C, 1 ad. A-G, 1 ad. G-A ve 1 ad. T-A); Hap10 içinse 21 (4 ad. A-G, 2 ad. A-T, 2 ad. A-C, 4 ad. T-C, 2 ad. T-A, 1 ad. T-G, 4 ad. C-T, 1 ad. C-A ve 1 ad. G-A) teşhis nükleotit pozisyonu belirlenmiştir.

Analizler sonucunda elde edilen haplotipler için haplotip çeşitliliği Hd: 0.867 ve nükleotit çeşitliliği Pi: 0,09822 olarak bulunmuştur. Türler arası nükleotit çeşitliliği ve nükleotit farklılıkları (Çizelge 4.9.) DnaSP (Rozas ve Rozas 1999) programı ile hesaplanmıştır.



**Çizelge 4.9.** 16S rRNA gen bölgesi türler arası nükleotit çeşitliliği ve net nükleotit çeşitliliği (Alt diagonal  $d_{XY}$ , Üst diagonal  $d_A$ )

	Hap1	Hap2	Hap3	Hap4	Hap5	Hap6	Hap7	Hap8	Hap9	Hap10	<i>P. japonicus</i>
Hap1	0	0.00163	0.03922	0.03758	0.04085	0.04085	0.07049	0.07049	0.04085	0.08347	0.15347
Hap2	0.00163	0	0.04085	0.03922	0.04248	0.07049	0.07213	0.07213	0.04248	0.08511	0.15512
Hap3	0.03922	0.04085	0	0.00163	0.00163	0.07705	0.07869	0.07869	0.06863	0.09820	0.16007
Hap4	0.03758	0.03922	0.00163	0	0.00327	0.07541	0.07705	0.07705	0.06699	0.09656	0.15842
Hap5	0.04085	0.04248	0.00163	0.00327	0	0.07541	0.07705	0.07705	0.07026	0.09984	0.16172
Hap6	0.04085	0.07049	0.07705	0.07541	0.07541	0	0.00163	0.00163	0.08020	0.10294	0.15537
Hap7	0.07049	0.07213	0.07869	0.07705	0.07705	0.00163	0	0.00326	0.08183	0.10458	0.15537
Hap8	0.07049	0.07213	0.07869	0.07705	0.07705	0.00163	0.00326	0	0.08183	0.10294	0.15537
Hap9	0.04085	0.04248	0.06863	0.06699	0.07026	0.08020	0.08183	0.08183	0	0.08987	0.16092
Hap10	0.08347	0.08511	0.09820	0.09656	0.09984	0.10294	0.10458	0.10294	0.08987	0	0.16007
<i>P. japonicus</i>	0.09360	0.09524	0.09360	0.09195	0.09524	0.09688	0.09852	0.09524	0.09672	0.12787	0

### 4.3.2. 16S rRNA Gen Bölgesi Filogenetik Özellikleri

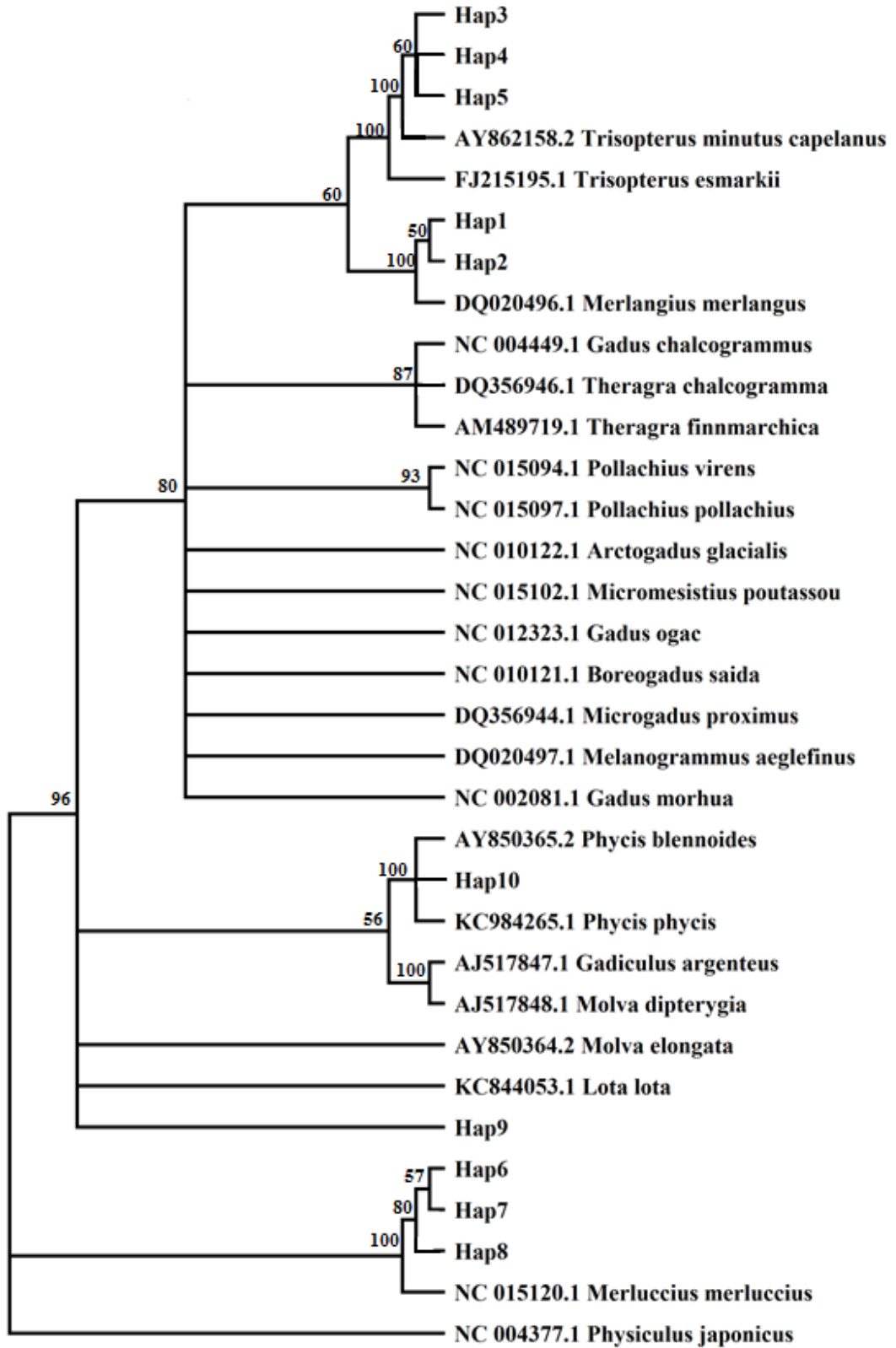
Bu çalışmada elde edilmiş 10 haplotipin DNA dizileri ve gen bankasından (NCBI) alınan sekans verileri (Çizelge 4.10.) birlikte değerlendirilmiş ve 16S rRNA gen bölgesine ait filogenetik özellikler ortaya konulmuştur. jModelTest v.0.1 (Posada 2008) programında analiz edildiğinde hiyerarşik olasılık oran testleri ile, en uygun baz değişim modelinin AIC (Akaike 1974)'e göre TIM3+G olduğu ( $-\ln L = 3476.5606$ ,  $K=71$ ) ve gamma shape değeri 0,5940 bulunmuştur.

Parsimoni analizinde PAUP (Swofford 1998) programı "Heuristic Search" algoritması kullanılmıştır (Şekil 4.6). Bootstrap değeri 1000 olarak alınmıştır. ML analizinde ise jModelTest v.0.1 (Posada 2008) programı kullanılarak en uygun model belirlenmiş ve PHYML v. 3,0 (Guindon ve Gascuel 2003) programında bu model ve baz oranları kullanılarak ML ağacı çıkarılmıştır (Şekil 4.7.). Bu çalışmada elde edilen diziler daha önceden başka araştırmacılar tarafından belirlenmiş dizilerle birlikte MEGA 6 (Tamura ve ark. 2013) programında değerlendirilerek NJ filogramı bulunmuştur (Şekil 4.8.).

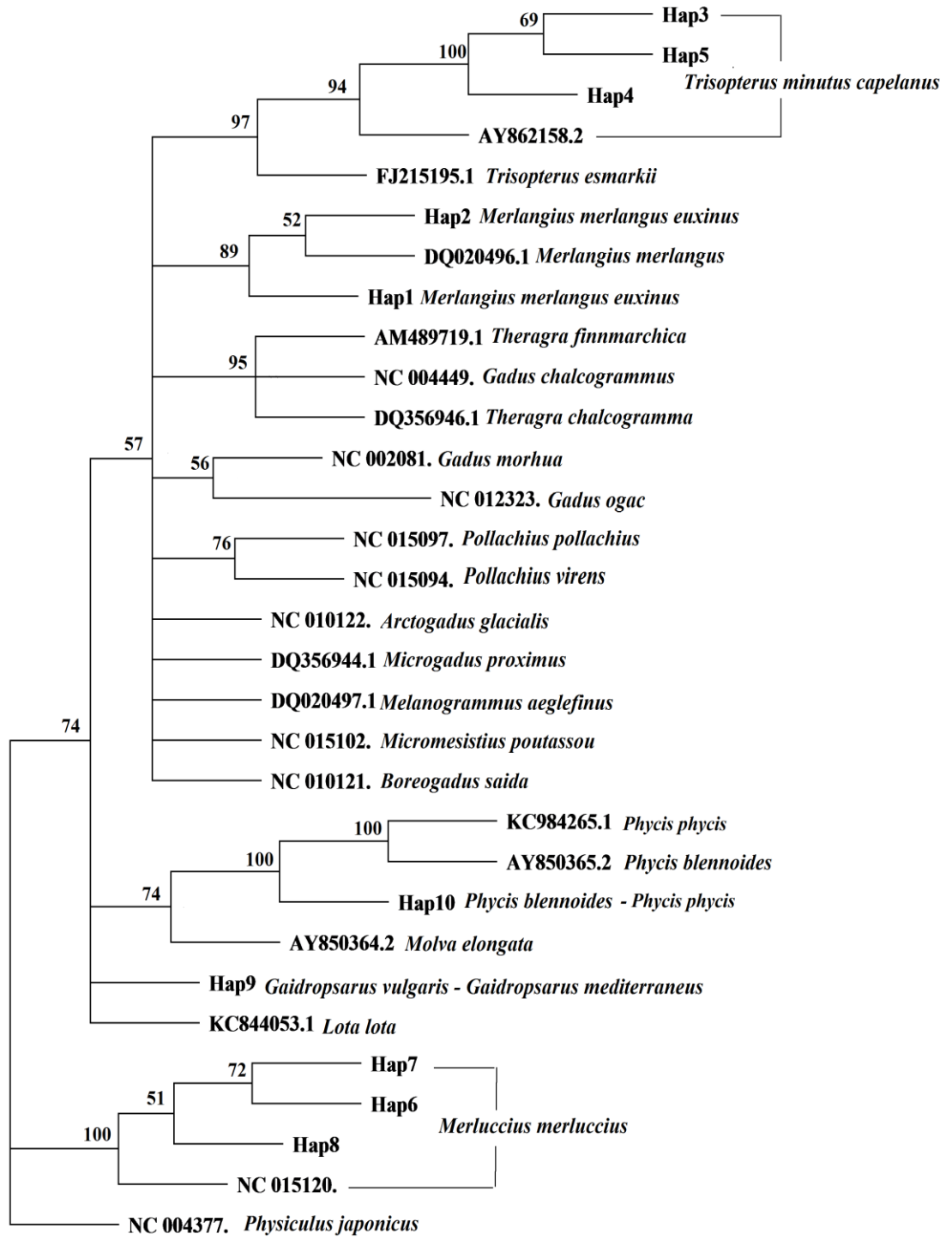
Türler arası genetik uzaklık ilişkisi Kimura 2-parametre modeli (Kimura 1980) kullanılarak MEGA 6 (Tamura ve ark. 2013) programında hesaplanmıştır (Çizelge 4.2.3.2.2.). En yüksek genetik uzaklık 0.225 ile Hap7 ve Hap10 arasında bulunmuştur. Tüm türler için ortalama genetik uzaklık 0.216 olarak hesaplanmıştır.

**Çizelge 4.10.** 16S rRNA gen bölgesi için GenBank'tan (NCBI) alınan sekans verilerine ait accession numaraları

<b>Tür</b>	<b>Accession No</b>
<i>Physiculus japonicus</i>	NC_004377.1
<i>Micromesistius poutassou</i>	NC_015102.1
<i>Merluccius merluccius</i>	NC_015120.1
<i>Theragra finnmarchica</i>	AM489719.1
<i>Arctogadus glacialis</i>	NC_010122.1
<i>Gadus chalcogrammus</i>	NC_004449.1
<i>Pollachius virens</i>	NC_015094.1
<i>Pollachius pollachius</i>	NC_015097.1
<i>Melanogrammus aeglefinus</i>	DQ020497.1
<i>Merlangius merlangus</i>	DQ020496.1
<i>Trisopterus minutus capelanus</i>	AY862158.2
<i>Phycis blennoides</i>	AY850365.2
<i>Phycis phycis</i>	KC984265.1
<i>Theragra chalcogramma</i>	DQ356946.1
<i>Gadus morhua</i>	NC_002081.1
<i>Trisopterus esmarkii</i>	FJ215195.1
<i>Microgadus proximus</i>	DQ356944.1
<i>Molva dipterygia</i>	AJ517764.1
<i>Gadiculus argenteus</i>	AJ517763.1
<i>Gadus ogac</i>	NC_012323.1
<i>Boreogadus saida</i>	NC_010121.1
<i>Molva elongata</i>	AY850364.2
<i>Lota lota</i>	KC844053.1



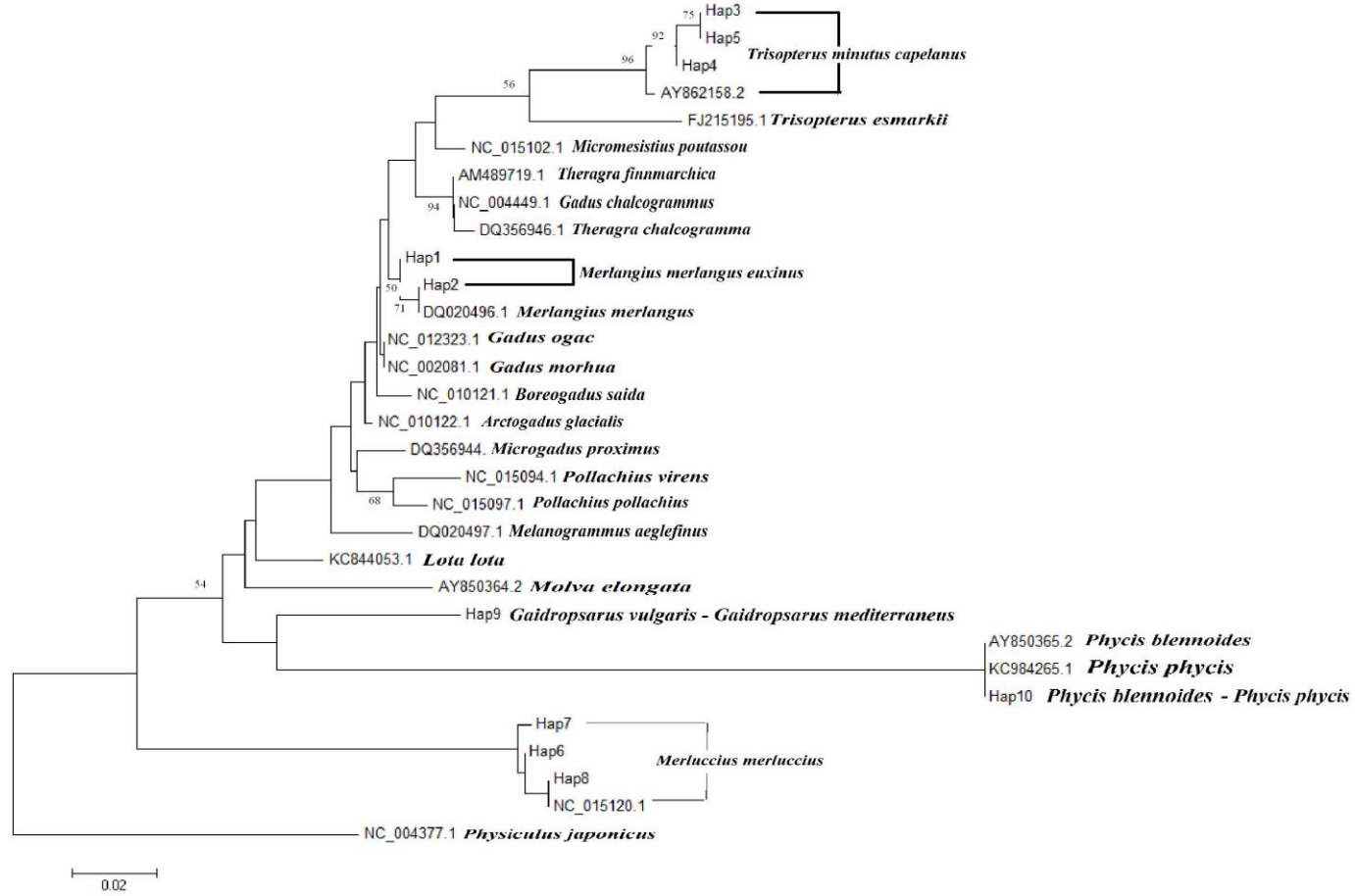
Şekil 4.6. 16S gen bölgesi için PAUP (Swofford 1998)'da oluşturulan 345 ağaçtan elde edilen maksimum parsimoni consensus ağacı



\_10

Şekil 4.7. 16S Gen bölgesi için PHYML v. 3,0 (Guindon ve Gascuel 2003) programı üzerinde oluşturulan Maximum Likelihood filogramı





Şekil 4.8. 16S rRNA gen bölgesine ait MEGA 6 (Tamura ve ark. 2013)'da elde edilen NJ filogramı

Çizelge 4.11. 16S Gen bölgesi pairwise uzaklık ilişkisi (Kimura 1980)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
1 Hap1	0															
2 Hap2	0.005	0														
3 Hap3	0.068	0.074	0													
4 Hap4	0.062	0.068	0.005	0												
5 Hap5	0.068	0.074	0.000	0.005	0											
6 Hap6	0.139	0.146	0.164	0.157	0.164	0										
7 Hap7	0.146	0.152	0.170	0.164	0.170	0.005	0									
8 Hap8	0.146	0.152	0.170	0.164	0.170	0.005	0.010	0								
9 Hap9	0.068	0.073	0.113	0.107	0.113	0.138	0.144	0.144	0							
10 Hap10	0.170	0.177	0.184	0.177	0.184	0.218	0.225	0.218	0.150	0						
11 NC_004377.1 <i>Physiculus japonicus</i>	0.147	0.153	0.166	0.159	0.166	0.151	0.158	0.145	0.138	0.219	0					
12 NC_015102.1 <i>Micromesistius poutassou</i>	0.025	0.031	0.052	0.046	0.052	0.133	0.139	0.139	0.079	0.178	0.141	0				
13 NC_015120.1 <i>Merluccius merluccius</i>	0.146	0.152	0.170	0.164	0.170	0.005	0.010	0.000	0.144	0.218	0.145	0.139	0			
14 AM489719.1 <i>Theragra finnmarchica</i>	0.015	0.020	0.068	0.062	0.068	0.121	0.127	0.127	0.079	0.184	0.139	0.025	0.127	0		
15 NC_010122.1 <i>Arctogadus glacialis</i>	0.010	0.015	0.068	0.063	0.068	0.134	0.140	0.140	0.068	0.164	0.147	0.025	0.140	0.025	0	
16 NC_004449.1 <i>Gadus chalcogrammus</i>	0.015	0.020	0.068	0.062	0.068	0.121	0.127	0.127	0.079	0.184	0.139	0.025	0.127	0.000	0.025	0
17 NC_015094.1 <i>Pollachius virens</i>	0.041	0.036	0.091	0.085	0.091	0.173	0.180	0.180	0.096	0.185	0.175	0.047	0.180	0.057	0.031	0.057
18 NC_015097.1 <i>Pollachius pollachius</i>	0.036	0.031	0.079	0.074	0.079	0.153	0.160	0.160	0.091	0.184	0.167	0.052	0.160	0.041	0.026	0.041
19 DQ020497.1 <i>Melanogrammus aeglefinus</i>	0.046	0.052	0.097	0.091	0.097	0.133	0.139	0.139	0.079	0.145	0.140	0.046	0.139	0.052	0.036	0.052
20 DQ020496.1 <i>Merlangius merlangus</i>	0.005	0.000	0.074	0.068	0.074	0.146	0.152	0.152	0.073	0.177	0.153	0.031	0.152	0.020	0.015	0.020
21 AY862158.2 <i>Trisopterus minutus capelanus</i>	0.057	0.063	0.015	0.010	0.015	0.152	0.158	0.158	0.102	0.177	0.154	0.041	0.158	0.057	0.057	0.057
22 AY850365.2 <i>Phycis blennoides</i>	0.170	0.177	0.184	0.177	0.184	0.218	0.225	0.218	0.150	0.000	0.219	0.178	0.218	0.184	0.164	0.184
23 KC984265.1 <i>Phycis phycis</i>	0.170	0.177	0.184	0.177	0.184	0.218	0.225	0.218	0.150	0.000	0.219	0.178	0.218	0.184	0.164	0.184
24 DQ356946.1 <i>Theragra chalcogramma</i>	0.020	0.025	0.073	0.068	0.073	0.127	0.133	0.133	0.084	0.190	0.145	0.030	0.133	0.005	0.030	0.005
25 NC_002081.1 <i>Gadus morhua</i>	0.005	0.010	0.063	0.057	0.063	0.140	0.147	0.147	0.062	0.170	0.141	0.020	0.147	0.020	0.005	0.020
26 FJ215195.1 <i>Trisopterus esmarkii</i>	0.068	0.074	0.069	0.063	0.069	0.133	0.139	0.139	0.114	0.183	0.146	0.068	0.139	0.057	0.074	0.057

**Çizelge 4.11.** 16S Gen bölgesi pairwise uzaklık ilişkisi (Kimura 1980) (devamı)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
27 DQ356944.1 <i>Microgadus proximus</i>	0.025	0.031	0.085	0.079	0.085	0.134	0.140	0.140	0.091	0.164	0.161	0.036	0.140	0.031	0.020	0.031
28 NC_012323.1 <i>Gadus ogac</i>	0.005	0.010	0.063	0.057	0.063	0.140	0.147	0.147	0.062	0.170	0.141	0.020	0.147	0.020	0.005	0.020
29 NC_010121.1 <i>Boreogadus saida</i>	0.015	0.020	0.074	0.068	0.074	0.152	0.159	0.159	0.073	0.177	0.141	0.031	0.159	0.030	0.015	0.030
30 AY850364.2 <i>Molva elongata</i>	0.073	0.079	0.102	0.096	0.102	0.144	0.138	0.151	0.085	0.170	0.158	0.079	0.151	0.079	0.062	0.079
31 KC844053.1 <i>Lota lota</i>	0.057	0.052	0.102	0.097	0.102	0.109	0.115	0.115	0.073	0.158	0.127	0.057	0.115	0.047	0.047	0.047

**Çizelge 4.11.** 16S Gen bölgesi pairwise uzaklık ilişkisi (Kimura 1980) (devamı)

	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31
17 NC_015094.1 <i>Pollachius virens</i>	0														
18 NC_015097.1 <i>Pollachius pollachius</i>	0.025	0													
19 DQ020497.1 <i>Melanogrammus aeglefinus</i>	0.052	0.052	0												
20 DQ020496.1 <i>Merlangius merlangus</i>	0.036	0.031	0.052	0											
21 AY862158.2 <i>Trisopterus minutus capelanus</i>	0.080	0.074	0.085	0.063	0										
22 AY850365.2 <i>Phycis blennoides</i>	0.185	0.184	0.145	0.177	0.177	0									
23 KC984265.1 <i>Phycis phycis</i>	0.185	0.184	0.145	0.177	0.177	0.000	0								
24 DQ356946.1 <i>Theragra chalcogramma</i>	0.063	0.046	0.057	0.025	0.062	0.190	0.190	0							
25 NC_002081.1 <i>Gadus morhua</i>	0.036	0.031	0.041	0.010	0.052	0.170	0.170	0.025	0						
26 FJ215195.1 <i>Trisopterus esmarkii</i>	0.097	0.092	0.085	0.074	0.063	0.183	0.183	0.062	0.069	0					
27 DQ356944.1 <i>Microgadus proximus</i>	0.041	0.026	0.036	0.031	0.080	0.164	0.164	0.036	0.026	0.074	0				
28 NC_012323.1 <i>Gadus ogac</i>	0.036	0.031	0.041	0.010	0.052	0.170	0.170	0.025	0.000	0.069	0.026	0			
29 NC_010121.1 <i>Boreogadus saida</i>	0.036	0.031	0.041	0.020	0.063	0.177	0.177	0.036	0.010	0.080	0.025	0.010	0		
30 AY850364.2 <i>Molva elongata</i>	0.091	0.085	0.085	0.079	0.090	0.170	0.170	0.084	0.068	0.113	0.085	0.068	0.079	0	
31 KC844053.1 <i>Lota lota</i>	0.069	0.052	0.063	0.052	0.091	0.158	0.158	0.052	0.052	0.097	0.058	0.052	0.063	0.057	0

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada Türiye'yi çevreleyen denizlerden (Akdeniz, Ege Denizi, Marmara Denizi ve Karadeniz) elde edilen Gadidae türleri (*Merlangius merlangus euxinus* (Nordmann 1840) mezgit, *Trisopterus minutus capelanus* (Linnaeus 1758) Tavuk balığı, *Merluccius merluccius* (Linnaeus 1758) Bakalyaro, *Gaidropsarus mediterraneus* (Linnaeus 1758) Gelincik, *Gaidropsarus vulgaris* (Cloquet 1824) Gelincik Balığı, *Phycis phycis* (Linnaeus 1766) Gelincik balığı, *Phycis blennoides* (Brunnich 1768) Gelincik Balığı) morfolojik karakterler yardımıyla teşhis edilmiş ve daha sonra laboratuvar çalışmaları ile 12S ve 16S rRNA gen bölgeleri PZR tekniğiyle çoğaltılarak, dizi analizi gerçekleştirilmiştir. Dizi analizleri sonucu elde edilen diziler BioEdit, MEGA, PAUP, DNASP, NETWORK ve Treeview programlarıyla analiz edilmiş ve türler arası genetik yakınlıklar ortaya çıkarılmıştır.

Bu çalışmada filogenetik ilişkilerde yaygın olarak kullanılan Cyt b geninin aksine 12S ve 16S rRNA gen bölgeleri çalışılmıştır. Bunun nedeni bu iki gen bölgesinin mitokondriyal genomun bütününe oranla daha az değişiklik göstermesi ve ayrıca 16S F ve 16S R primerlerinin amplifikasyon ürünlerinin 12S fragmentinden uzun olması filogenetik çalışmalarda yararlı olabileceğine dair, primer seçiminde referans alınan Di Finizio ve ark. (2006)'nın bulgularından yola çıkılmıştır. Son olarak, seçilen gadoid türlerinden 12S rRNA gen bölgesi için *G. vulgaris*, *G. mediterraneus* ve *P. phycis*, 16S gen bölgesi içinse *G. vulgaris* ve *G. mediterraneus* türlerine ait sekans verileri daha önce literatürde yayınlanmamıştır.

Dizi analizinde 12S F ve 12S R primerleri ile yaklaşık 432 bç, 16S F ve 16S R primerleri ile yaklaşık 612 bç uzunluğunda diziler elde edilmiştir. 12S rRNA gen bölgesi için 6 haplotipe ayrılan örneklerin nükleotit dizileri üzerinde ki korunmuş bölgeler belirlendikten sonra genetik farklılığın %19.96 (*Phycis* sp.) ve %20.14 (*Merlangius*, *Trisopterus*, *Merluccius*, *Gaidropsarus* sp.) olduğu ve değişken karakterlerin %59.77 (52)'sinin parsimonik bilgi verici olduğu; 16S rRNA gen bölgesi içinse 10 haplotipten *M. m. euxinus*, *T. m. capelanus* türleri için (Hap1-2-3-4 ve 5) %14.71, *M. merluccius*, *P. blennoides* ve *P. phycis* türleri için (Hap6-7-8 ve 10) 14.68%, *G. vulgaris* ve *G. mediterraneus* türleri için ise (Hap10) %14.56'sının

değişken olduğu ve değişken karakterlerin %75.55 (68)'inin parsimonik bilgi verici olduğu görülmüştür.

12S gen bölgesi için *Phycis phycis* ve *Phycis blennoides* türleri arasındaki bireylerin ortalama K2P genetik uzaklık değeri %0.001 olarak hesaplanmıştır. 16S gen bölgesi için *Gaidropsarus vulgaris* ve *Gaidropsarus mediterraneus* türleri için hesaplanan K2P genetik uzaklık değeri ise 0.000 bulunmuştur. Bu değerler ve elde edilen filogenetik ağaçlarda *Phycis* türlerinin haplotip olarak ayrıştığı ve dallanma yaptığı gözlenirken, *Gaidropsarus* türleri birbirinden ayrışmamış, hem haplotip hem de elde edilen filogenetik ağaçlarda aynı seviyede gözlenmiştir. Gözlenen, ortalama türler arası K2P genetik uzaklık değeri deniz (%0.24-0.39) (Zhang ve Hanner 2011) ve tatlı su türleri (%0.3-0.45) (Hubert ve ark. 2008) için bildirilen intraspesifik K2P uzaklığına oldukça uzak olduğu gözlenmiştir. Familya içi ve türler arası ortalama genetik farklılık %7.2'ye yükselmiştir. Bu veriler de artan genetik farklılıkla birlikte değişen taksonomik seviyenin gözlenmesi durumu, tür sınırında ki genetik uzaklıkta gözlenen farklılığı desteklemektedir. Ward ve ark. (2005) COI gen bölgesinin dizin analizi ile elde ettiği genetik uzaklık değerlerini aynı türler için %0.39, aynı cinsten balıklar için %9.93 ve aynı familyadan balıklar için ise %15.46 olduğunu bulmuş ve bu çalışmadan elde edilen tür içi ve familya içi genetik uzaklık değerlerine yakın olduğu gözlenmiştir.

NJ analizi ile türler arasındaki akrabalık ilişkileri açıkça oluşturulmuş (Şekil 4.3.2.3.) ve aynı türden bireylerin % 98-100 seç-bağla (bootstrap) değeri ile aynı taksonomik kümede gruplandığı tespit edilmiştir.

Bizim çalışmamızda tek örnekle temsil edilen *Phycis phycis* ile, *Phycis blennoides* türünün ayrı türler olarak sınıflandırılmasına rağmen elde edilen nükleotit pozisyonları verilerinde sadece 12S rRNA gen bölgesinde 247'inci baz pozisyonunda A-G transisyonu bulunmuştur. 16S gen bölgesinde ise tümüyle aynı haplotip içinde yer almışlardır.

NCBI GenBank'tan alınan Gadidae familyası üyelerine ait dizilerle, bu çalışmada elde edilen diziler birlikte analiz edildiğinde, türlerin ayrıldığı ve bu çalışma ile benzer olduğu tespit edilmiştir.

Roques ve ark. (2006) yaptığı çalışmada *Merlangius merlangus* ve *Melanogrammus aeglefinus* türleri için tüm mitokondriyal genom dizilerini çalışmış ve bu iki türle yakın ilişkili olan *Gadus morhua* ve *Theragra chalcogramma* türleriyle karşılaştırmışlardır. Bu çalışmada elde edilen ortalama nükleotit çeşitliliği %32.7 (A), %23.1 (C), %21.0 (G), % 23.3 (T) bulunmuş ve bizim çalışmamızda bulunan A: %28.9, C: %25, G: %22.6 ve T: %23.5 ortalama nükleotit değerleriyle yakın oldukları görülmüştür. Ayrıca Roques ve ark (2006) çalışmalarında elde ettikleri dizilerin 521 bç uzunluğundaki kısmını analizlerde kullanmış ve tür ayırımında verimli olduğunu ifade etmişlerdir. Bizim çalışmamızda da iki gen bölgesi için yaklaşık 412 ve 613 bç uzunluğunda dizilerle analiz gerçekleştirilerek tür ayırımının benzer şekilde gerçekleştiği görülmüştür.

Gen bölgeleri arasında nükleotit çeşitliliği değerlerine bakıldığında çalışılan tüm örnekler için 12S rRNA ve 16S rRNA gen bölgelerinde aynı olup 0.09822 olarak hesaplanmıştır. Tseng ve ark. (2011)'na göre düşük nükleotit çeşitlilik değeri örneklem küçüklüğünü veya aşırı avcılığı ifade etmektedir. Haplotip çeşitlilik değerlerinin çalışılan türler için gen bölgeleri arasındaki dağılımına bakıldığında 12S rRNA gen bölgesinde 0.823 ve 16S rRNA gen bölgesinde 0.867 olarak hesaplanmıştır. Rogers and Harpending (1992)'e göre orta düzeyde sekans farklılığı ile birlikte yüksek seviyedeki haplotip çeşitlilik değerleri hızlı büyüyen popülasyonlardaki mutasyon birikimini göstermektedir.

12S rRNA gen bölgesi için yapılan bir diğer çalışmada Wang ve ark. (2000) nükleotit kompozisyonları 33.5% (A), 25.5% (C), 19.1% (G) ve 22.0% (T) olarak vermiştir. Bizim çalışmamızda nükleotit kompozisyonları A: %29.8, C: %25.8, G: %22.8 ve T: %21.6 olarak belirlenmiştir. Oranların benzerliği ve Adenin değerinin yüksek olduğu görülmektedir. Ayrıca 12S gen bölgesinin, birbirinden genetik olarak uzak sınıfların (Chondrichthyes, Osteichthyes, Amphibia, Reptilia, Aves, Mammalia) ayırımında kullanılmış olması ve çalışmış olduğumuz Gadidae ailesinin ayırımında kullanılması çalışmamızın sonuçlarını destekler niteliktedir.

Di Finizio ve ark. (2007), 7 farklı Gadoid türünün tanımlanması üzerine bir çalışma gerçekleştirmişlerdir. Bu çalışmada ticari önemi olan *Gadus morhua*, *Trisopterus minutus capelanus*, *Trisopterus minutus minutus*, *Molva elongata*, *Phycis blennoides*,

*Micromesistius poutassou* ve *Theragra chalcogramma* örnekleriyle çalışılmıştır. Bu çalışmadan referans olarak aldığımız primerleri kullanmışlar ve mtDNA 12S gen bölgesi üzerinde 430bp, 16S gen bölgesi üzerinde de 630bp uzunluğunda olmak üzere bizim çalışmamızdaki ile yaklaşık aynı uzunlukta diziler elde etmişlerdir. Yaptıkları çalışmada benzer şekilde PZR ürünü elde ettikten sonra farklı PZR şartları kullanarak (94°C denatürasyon sıcaklığı 45sn süreyle) PZR ürünü elde etmişlerdir. Ardından elde edilen PZR ürünlerine RFLP yöntemiyle 12S ve 16S gen bölgelerinin başarılı sonuçlar verdiğini önermişlerdir.

Roa Varon ve ark. (2009)'un belirttiğine göre Gadiformes takımının kendi içinde ki sınıflandırma karmaşası uzun yıllardır süregelmektedir. Ülkemizde çalışmamıza konu olan türlerin tamamı Gadidae familyası içinde yer alırken, *Merluccius merluccius* türü TÜBİTAK tür listesinde henüz Merlucciidae familyası altına çekilirken diğer türler Gadidae familyası altında yer almaya devam etmektedir. Bizim çalışmamızda elde edilen bulgulara göre *Merlangius merlangus euxinus* ve *Trisopterus minutus capelanus* türlerinin Gadidae, *Gaidropsarus vulgaris* ve *Gaidropsarus mediterraneus* türlerinin Gaidropsaridae, *Phycis phycis* ve *Phycis blennoides* türlerinin ise Phycidae familyalarına dahil olduğu fikri diğer araştırmacıların (Cohen 1984, Markle 1989, Howes 1989, 1993 ve Nelson 2006b) bulguları ile karşılaştırıldığında desteklenmiştir.

Sonuç olarak, her iki gen bölgesi için yapılan genetik analizler sonucu ortaya çıkarılan filogenetik ağaçlar tür ayrımında oldukça başarılı olmuştur. Özellikle juvenil halleri birbirinden ayıramayan yavru bireylerde veya larvalarda morfolojik karakterlerle teşhis güvenilirliği son derece eksik olmasına karşın, genetik analizlerin tür ayrımında kesin sonuç verdiği bu çalışmada Gadoid türleri için başarılı bulunmuştur. Hem 12S gibi kısa baz uzunluğuna sahip farklı bir gen bölgesi hem de 16S rRNA gibi uzun baz uzunluğuna sahip gen bölgesinde oluşturulan ağaçlar tür ayrımında kullanışlı bulunmuştur. Gadidae ailesi yüksek ticari değerlere sahip türler içermektedir. Özellikle Mezgit, Tavuk ve Bakalyaro balıkları, avcılığının yapıldığı her yerde tüketiciler tarafından yüksek oranda tercih edilen türlerdendir. Bu çalışmada kullanılan yöntemlerle, Türkiye sularında Gadidae türlerine ait DNA dizileme çalışmasında, özellikle koruma ve yönetim uygulamaları ile ilgili, Gadoid genetik verilerinin eksikliği bir oranda giderilerek, bazı türler için diğer araştırmacılara

göre daha uzun baz girişi, bazıları için ise ilk kez veri girişi yapılarak gerek ülkemiz gerekse küresel araştırmacılar için katkı sağlamaktadır. Biyolojik çeşitlilikle ilgili veri birikiminin Türkiye’de sürdürülebilir avcılığın ve daha efektif politikalar üretilmesi ve uygulanması açısından katkı sağlayacağı öngörülmektedir. Dünya’da olduğu gibi ülkemiz sularında da artan ekolojik tehditler ve bozulmaya karşı son derece korunmasız olan biyolojik çeşitlilik açısından da, bu verilerle sadece Gadoid populasyon yapılanması üzerine değil aynı zamanda etkin yönetim stratejilerinin oluşturulmasına ve önemli ticari balıkçılık kaynaklarının korunmasına da deneysel ve bilimsel yaklaşımlarla destek sunulmaktadır.



## 6. KAYNAKLAR

- Achille, D.S. 2009. <http://www.fishbase.us/photos/UploadedBy.php?autoctr=7578&win=uploaded>. (Erişim tarihi: 07.07.2014)
- Agnese, J. F., Adepo-Gourene, B., Aban, E. K. and Fermon, Y., 1997. Genetic differentiation among natural populations of the Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (Teleostei, Cichlidae). *Heredity*, 79, 88-96.
- Akaike, H. (1974). A new look at the statistical model identification. *IEEE Transactions on Automatic Control*, 19, 716-723.
- Anonim, 2007. [http://tr.wikipedia.org/wiki/Biyoteknoloji\\_ve\\_gen\\_teknolojileri](http://tr.wikipedia.org/wiki/Biyoteknoloji_ve_gen_teknolojileri) (Erişim Tarihi: 20.06.2013)
- Anonim, 2009. <http://www.fishbase.us/photos/UploadedBy.php?autoctr=7578&win=uploaded> (Erişim tarihi: 07.07.2014)
- Anonim, 2011. [www.fao.org](http://www.fao.org) (Erişim tarihi: 06.04.2014)
- Anonim, 2014. [www.fishbase.org](http://www.fishbase.org) (Erişim tarihi: 07.05.2014)
- Aranishi, F., Okimoto, T. ve Izumi, S. 2005. Identification of gadoid species (Pisces, Gadidae) by PCR-RFLP analysis. *J. Appl. Genet.* 46(1): 69-73.
- Avise, J. C., 1994. *Molecular marker, natural history and evolution*. Chapman and Hall, New York.
- Avise, J. C., Arnold, J., Ball, R. M., Bermingham, E., Lamb, T., Neigel, J. E. ve ark., 1987. Intraspecific phylogeography: the mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics. *Annu Rev Ecol Syst*, 18, 489-522.
- Bakke, I. ve Johansen, S. D. 2005. Molecular Phylogenetics of Gadidae and Related Gadiformes Based on Mitochondrial DNA Sequences. *Marine Biotechnology*, 7:61-69.
- Bernatchez, L., Guyomard, R. ve Bonhomme, F., 1992. DNA sequence variation of the mitochondrial control region among geographically and morphologically remote European brown trout (*Salmo trutta*) populations. *Molecular Ecology*, 1, 161-173.
- Bertoja, G., Giaccone V., Carraro, L., Mininni, A. N. and Cardazzo, B. 2009. A rapid and high-throughput real-time PCR assay for species identification: application to stockfish sold in Italy. *Eur Food Res Technol* 229:191-195.
- Billington, N., Barrette, R.J. and Hebert, P. D. N., 1992. Management implications of mitochondrial DNA variation in walleye stocks. *North American Journal of Fisheries Management*, 12, 276-284.

- Birky, C. W., Jr, Maruyama, T. and Fuerst, P., 1983. An approach to population and evolutionary genetic theory for genes in mitochondria and chloroplasts, and some results. *Genetics*, 103, 513–527.
- Breines, R., Ursvik, A., Nymark, M. Johansen, S. D. ve Coucheron, D. H.2008. Complete mitochondrial genome sequences of the Arctic Ocean cod fishes *Arctogadus glacialis* and *Boreogadus saidae* reveal oriL and tRNA gene duplications. *Polar Biol.*, 31:1245–1252.
- Calo-Mata, P., Sotelo, C.G., Perez-Martin, R. I., Rehbein, H., Hold, G. L., Russell, V. J., Pryde, S., Quinteiro, J. Rey-Mendez, M. Rosa, C. ve Santos, A.T.2003. Identification of gadoid fish species using DNA-based techniques. *Eur Food Res Technol.*, 217:259–264.
- Carvalho, G. R., Pitcher, T. J., 1995. *Molecular genetics in fisheries*. First edition. Chapman and Hall, London.
- Cohen, D.M., 1984. Gadiformes: overview. In: Moser, H.G., Richards, W.J., Cohen, D.M., Fahay, M.P., Kendall, A.W., Jr., Richardson, S.L. (Eds.), *Ontogeny and Systematics of Fishes (Based on an International Symposium Dedicated to the Memory of Elbert Halvor Ahlstrom)*. American Society of Ichthyologists and Herpetologists, Lawrence, Kansas, USA, pp. 259–265.
- Cohen, D.M., T. Inada, T. Iwamoto ve N. Scialabba, 1990. *FAO species catalogue. Vol. 10. Gadiform fishes of the world (Order Gadiformes)*. An annotated and illustrated catalogue of cods, hakes, grenadiers and other gadiform fishes known to date. *FAO Fish. Synop.* 125(10). Rome: FAO. 442 p.
- Coucheron, D.H., Nymark, M. Breines, R., Karlsen, B.O., Andreassen, M. Jørgensen, T.E., Moum T., Johansen S.D. 2011. Characterization of mitochondrial mRNAs in codfish reveals unique features compared to mammals. *Curr Genet*, 57:213–222.
- Çiftci, Y. 2003. Balıkçılık ve Su Ürünlerinde Kullanılan Genetik Markır Sistemleri-I. *Yunus Araştırma Bülteni*, 3(3): 14-16
- Çiftci, Y., 2006. Türkiye Alabalık (*Salmo Trutta* Linnaeus, 1758 Ve *Salmo Platycephalus* Behnke, 1968) Populasyonlarının Genetik Yapısının Mtdna-Rflp Analiz Yöntemiyle Belirlenmesi. Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Balıkçılık Teknolojisi Mühendisliği Anabilim Dalı Doktora Tezi, 195s.
- Di Finizio, A., Guerriero, G., Russo, G. L. ve Ciarcia, G. 2007. Identification of gadoid species (Pisces, Gadidae) by sequencing and PCR–RFLP analysis of mitochondrial 12S and 16S rRNA gene fragments. *Eur Food Res Technol*, 225:337–344.
- Duarte, P.N.2000.<http://fishbase.org/Photos/PicturesSummary.php?StartRow=3&ID=1747&what=species&TotRec=7> (Erişim tarihi: 07.07.2014)

- Endo, H., 2002. Phylogeny of the order Gadiformes (Teleostei, Paracanthopterygii). Mem. Grad. Sch. Fish. Sci. Hokkaido Univ. 49, 75–149.
- Ferguson, A., Taggart, B., Prodöhl, P. A., McMeel, O., Thompson, C., Stone, C., Graves, J. E., 1998. Molecular insights into the population structures of cosmopolitan marine fishes. J. Hered, 89, 427-437.
- Freeman, S. ve Herron, J. C., 1999. “Evrimsel Analiz” Çıplak, B., Basıbüyük. H. H., Karaytuğ. S. ve Gündüz. İ. (eds.), Palme Yayıncılık, 28-29, 438-449.
- Göthel, H., 1992. Fauna marina del Mediterráneo. Ediciones Omega, S.A., Barcelona. 319 p.
- Grewe, P.M. ve Hebert, P. D. N., 1988. Mitochondrial DNA diversity among broodstocks of the lake trout, *Salvelinus namaycush*. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 45, 2114-2122.
- Guindon, S. ve Gascuel, O. 2003. A simple, fast and accurate method to estimate large phylogenies by maximum-likelihood. Systematic Biology, 52, 696-704.
- Hall, T.A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. Nucl. Acids. Symp. Ser. 41:95-98.
- Hillis, D. M., Larson, A., Davis, S. K. ve Zimmer, E. A., 1990. Nucleic Acids III: Sequencing, In: Molecular Systematics (D.M. Hillis ve C. Mortiz, Eds.), Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts, USA, 318–370.
- Howes, G.J. 1989. Phylogenetic relationships of macrourid and gadoid fishes based on cranial myology and arthrology. In: Cohen, D.M. (Ed.), Papers on the Systematics of Gadiform Fishes. Natural History Museum of Los Angeles County, Science Series No. 32, pp. 113–128.
- Howes, G.J., 1993. Anatomy of the Melanonidae (Teleostei: Gadiformes), with comments on its phylogenetic relationships. Bull. Nat. Hist. Mus. Zool. 59, 11–31.
- Hubert N., Hanner R., Holm E., Mandrak NE., Taylor E, ve ark. 2008. Identifying Canadian freshwater fishes through DNA barcodes. PLoS ONE 3: e2490. doi:10.1371/journal.pone.0002490.
- Hureau, J.-C., 1991. La base de données GICIM : Gestion informatisée des collections ichthyologiques du Muséum. p. 225-227. In Atlas Préliminaire des Poissons d'Eau Douce de France. Conseil Supérieur de la Pêche, Ministère de l'Environnement, CEMAGREF et Muséum national d'Histoire naturelle, Paris.
- Hynes, R.A., Duke, E.J. ve Joyce, P., 1989. Mitochondrial DNA as a genetic marker for brown trout (*Salmo trutta* L.) populations. J. Fish Biol, 35, 687-701.
- Jonsson, G., 1992. Islenskir fiskar. Fiolvi, Reykjavik, 568 pp.

- Kimura M. 1980. A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of Molecular Evolution* 16:111-120.
- Maddison, D.R., Swofford DL., ve Maddison W.P. 1997. NEXUS: an extensible file format for systematic information. *Syst Biol* Dec; 46(4): 590-621.
- Maes, G.E., Van Houdt, J.K.J., De Charleroy, D. Ve Volckaert, F.A. M., 2003. Indications for a recent Holarctic expansion of pike based on a preliminary study of mtDNA variation. *Journal of Fish Biology*, 63, 254–259.
- Markle, D.F., 1989. Aspects of character homology and phylogeny of the Gadiformes. In: Cohen, D.M. (Ed.), *Papers on the Systematics of Gadiform Fishes*. Natural History Museum of Los Angeles County, Science Series No. 32, pp. 59–88.
- Menon, M.D., 1951. Biomedics of the poor cod (*Gadus minutus* L.) in the Plymouth area. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.* 29:185-239.
- Meyer,T.,2006.<http://www.fishbase.us/photos/UploadedBy.php?autoctr=13423&win=uploaded>
- Mount, D., 2001. *Bioinformatics*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, Chapter 7 Phylogenetic prediction, 281-324.
- Murua, H. ve F. Saborido-Rey, 2003. Female reproductive strategies of marine fish species of the North Atlantic. *J. Northwest Atl. Fish. Sci.* 33:23-31.
- Muus, B. J. ve J.G. Nielsen, 1999. *Sea fish*. Scandinavian Fishing Year Book, Hedehusene, Denmark. 340 p.
- Mytilineou, C., C.-Y. Politou, C. Papaconstantinou, S. Kavadas, G. D'Onghia and L. Sion, 2005. Deep-water fish fauna in the Eastern Ionian Sea. *Belg. J. Zool.*, 135(2):229-233.
- Nelson, J.S., 2006(a). *Fishes of the World*. John Wiley and Sons, Hoboken, NJ.
- Nelson, J. S. 2006(b). *Fishes of the world*. John Wiley and Sons, Inc. New York. 4th edition. ISBN: 0-471-25031-7. 601 pp.
- Network, 1999-2014. Network 4.6 Fluxus Technology Ltd. England
- Nolf, D., Steurbaut, E., 1989. Evidence from otoliths for establishing relationships between gadiforms and other groups. In: Cohen, D.M. (Ed.), *Papers on the Systematics of Gadiform Fishes*. Natural History Museum of Los Angeles County, Science Series No. 32, pp. 37–45.
- O'Brien, S.J., 1994. *Proc. Nati. Acad. Sci. USA* Vol. 91, pp. 5748-5755

- Østergaard, T.A.S., 1999. <http://www.fishbase.us/photos/PicturesSummary.php?StartRow=5&ID=481&what=species&TotRec=8> (Erişim tarihi: 07.07.2014)
- Palumbi, S.R., 1996. Nucleic acids II: The polymerase chain reaction. In: Hillis DM, Moritz C, Mable BK (eds) *Molecular systematics*. Sinauer Associates, Inc, 205–247 pp.
- Prévost, C., 2005. The whiting. *Sea-River Newsletter*. Retrieved January 20, 2005 from [http://sea-river.com/158\\_2\\_gb.php](http://sea-river.com/158_2_gb.php).
- Riede, K., 2004. Global register of migratory species - from global to regional scales. Final Report of the R&D-Projekt 808 05 081. Federal Agency for Nature Conservation, Bonn, Germany. 329 p.
- Roa-Varón, A. ve Guillermo Ortí, G. 2009. Phylogenetic relationships among families of Gadiformes (Teleostei, Paracanthopterygii) based on nuclear and mitochondrial data. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 52:688–704.
- Rogers A.R. ve Harpending H. 1992. Population growth makes waxes in the distribution of pairwise genetic differences. *Mol Biol Evol* 9: 552–569.
- Roques, S., Fox, C. J., Maria I. Villasana, M. I. ve Rico, C. 2006. The complete mitochondrial genome of the whiting, *Merlangius merlangus* and the haddock, *Melanogrammus aeglefinus*: A detailed genomic comparison among closely related species of the Gadidae family. *Gene*, 383: 12–23.
- Rozas, J. ve Rozas, R. 1999. DNAsp Version 3: An Integrated Program for Molecular Population Genetics and Molecular Evolution Analysis, *Bioinformatics*, 15: 174-175.
- Siebert, D.J., 1990. Reviews. Papers on the systematics of gadiform fishes. *Copeia* 1990, 889–893.
- Svetovidov, A.N., 1948. Gadiformes. In *Fauna of USSR*, 9(4). Zoological Institute of the Academy of Sciences of the USSR (Translated by the Israel Program for Scientific Translations for the Natural Science Foundation and Smithsonian Institution as OTS 63-11071).
- Swofford, D.L. 1998. PAUP\*: Phylogenetic Analysis Using Parsimony (\* and Other Methods), Version 4.0b 10. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.
- Tamura K., Stecher G., Peterson D., Filipski A., ve Kumar S. 2013. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution* 30: 2725-2729.
- Teletchea, F., Laudet, V., Hanni, C., 2006. Phylogeny of the Gadidae (sensu Svetovidov, 1948) based on their morphology and two mitochondrial genes. *Mol. Phylogenet. Evol.* 38, 189–199.

- Tez, C., 2011. Türkiye’de Yayılış Gösteren Sideritis L. (Lamiaceae) Cinsinin Empedoclia Seksiyonuna Ait Taksonların Its Çekirdek Ribozomal Dna Dizilerine Dayalı Filogenetik Analizi. Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi 113s.
- Thompson J.D., Higgins D.G. ve Gibson T.J. 1994. Clustal W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice, Nucleic Acids Research, 22: 4637-4680.
- Tseng M. C., Shiao, J.C. ve Hung, Y.H. 2011. Genetic identification of Thunnus orientalis, T. thynnus, and T. maccoyii by a cytochrome b gene analysis. Environ Biol Fish 91: 103–115. DOI 10.1007/s10641-010-9764-0.
- Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) (2004). Ulusal bilim ve teknoloji politikaları: 2003-2023 Strateji belgesi. [http://www.tubitak.gov.tr/tubitak\\_content\\_files//vizyon2023/Vizyon2023\\_Strateji\\_Belgesi.pdf](http://www.tubitak.gov.tr/tubitak_content_files//vizyon2023/Vizyon2023_Strateji_Belgesi.pdf) Erişim tarihi: 25 Aralık 2010.
- Wang H. Y., Tsai M. P., Tu M. C. ve Lee S. C. 2000. Universal Primers for Amplification of the Complete Mitochondrial 12S rRNA Gene in Vertebrates. Zoological Studies 39(1) : 61-66
- Ward RD, Zemplak TS., Innes BH., Last PR. ve Hebert PDN. 2005. DNA barcoding Australia’s fish species. Phil Trans R Soc B. 360: 1847–1857.
- Wolstenholme, D. R., 1992. Animal mitochondrial DNA: structure and evolution. International Review of Cytology, 141, 173-216.
- Zhang J-B. ve Hanner R. 2011. DNA barcoding is a useful tool for the identification of marine fishes from Japan. Biochem Syst Ecol. doi:10.1016/j.bse.2010.12.017.

## ÖZGEÇMİŞ

**Adı Soyadı** : Ümit GÜR  
**Doğum Yeri** : Ordu  
**Doğum Tarihi** : 31.03.1982  
**Yabancı Dili** : İngilizce  
**E-mail** : umitgr@gmail.com  
**İletişim Bilgileri** : 0538 320 04 82

### Öğrenim Durumu :

Derece	Bölüm/ Program	Üniversite	Yıl
Lisans	Biyoloji	Ondokuz Mayıs Üniversitesi	2006
Y. Lisans	Balıkçılık Teknolojisi Mühendisliği	Ordu Üniversitesi	2014

### İş Deneyimi:

Görev	Görev Yeri	Yıl
Moleküler Biyolog	Nesiller Genetik Görüntüleme ve Tanı Ltd. Şti.	2013
Saç Ekim Teknisyeni	İstanbul Hair Center	2013
Biyolog	Analiz Patoloji ve Sitoloji Laboratuvarı	2011
Ücretli Sağlık Bilimleri Öğretmeni	Fatsa Halk Eğitim Merkezi	2010
Tıbbi Tanıtım Sorumlusu	Bilim İlaç A.Ş.	2009