



T.C.  
İSKENDERUN TEKNİK ÜNİVERSİTESİ  
MÜHENDİSLİK VE FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

İSKENDERUN KÖRFEZİ'NDE YETİŞTİRİCİLİĞİ YAPILAN ÇİPURA  
(*Sparus aurata* L. 1758)'NİN DOĞAL ÇİPURA POPULASYONLARI  
ÜZERİNE GENETİK ETKİLERİ

SERVET AHMET DOĞDU

SU ÜRÜNLERİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HATAY  
TEMMUZ-2017

T.C.  
İSKENDERUN TEKNİK ÜNİVERSİTESİ  
MÜHENDİSLİK VE FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

İSKENDERUN KÖRFEZİ'NDE YETİŞTİRİCİLİĞİ YAPILAN ÇİPURA  
(*Sparus aurata* L. 1758)'NİN DOĞAL ÇİPURA POPULASYONLARI  
ÜZERİNE GENETİK ETKİLERİ

SERVET AHMET DOĞDU

SU ÜRÜNLERİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HATAY  
TEMMUZ-2017

T.C.  
İSKENDERUN TEKNİK ÜNİVERSİTESİ  
MÜHENDİSLİK VE FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**İSKENDERUN KÖRFEZİ'NDE YETİŞTİRİCİLİĞİ YAPILAN ÇİPURA  
(*Sparus aurata* L. 1758)'NİN DOĞAL ÇİPURA POPULASYONLARI  
ÜZERİNE GENETİK ETKİLERİ**

SERVET AHMET DOĞDU  
SU ÜRÜNLERİ ANABİLİM DALI  
YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Prof. Dr. Cemal TURAN** danışmanlığında hazırlanan bu tez **18/07/2017** tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından **OYBİRLİĞİ** ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Cemal TURAN  
Başkan

Doç. Dr. Deniz YAĞLIOĞLU  
Üye

Yrd. Doç. Dr. Mevlüt GÜRLEK  
Üye

**Kod No: 56**

**Doç. Dr. Mustafa DEMİRCİ**  
**Enstitü Müdür V.**

Bu çalışma MKÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından desteklenmiştir.

Proje No: 14961

**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.**

18.07.2017

## TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını ve tez üzerinde Yükseköğretim Kurulu tarafından hiçbir değişiklik yapılamayacağı için tezin bilgisayar ekranında görüntülendiğinde asıl nüsha ile aynı olması sorumluluğunun tarafıma ait olduğunu beyan ederim.

Servet Ahmet DOĞDU

## ÖZET

### İSKENDERUN KÖRFEZİ'NDE YETİŞTİRİCİLİĞİ YAPILAN ÇİPURA (*Sparus aurata* L. 1758)'NİN DOĞAL ÇİPURA POPULASYONLARI ÜZERİNE GENETİK ETKİLERİ

Ülkemiz denizlerinde bulunan *Sparus aurata* (Çipura) hem avcılık hemde kültür balıkçılığı açısından son derece önemli bir türdür. Tüm Akdeniz ve Ege Denizi'nde yetiştiricilik faaliyetleri yoğun olarak yapılmaktadır ve doğal stoklarla olumsuz yönde etki etmektedir. Bu çalışmada, 16S rRNA geni dizin analizi tekniği ile İskenderun Körfezi'nde (Kuzeydoğu Akdeniz) açık deniz kafeslerinde kültür balıkçılığı yapılan çipura, *S. aurata*'nın doğal stokları üzerindeki genetik etkilerini belirlemek amaçlanmıştır.

Mitokondriyal DNA dizi analizi sonucunda kullanılan 830 bç'lik 16S rRNA gen bölgesinin 21 bç'lik kısmı değişen bölge olup, 3 bç'lik bölge ise populasyonlar arasında parsimoni anlamlı bölge görevi görmüştür. Nükleotid kompozisyonu T= %21.9, C=%24.1, A=%32.9 ve G=%21.1 olarak tespit edilmiştir. Populasyonlar içi ortalama genetik uzaklık ve genetik çeşitlilik değerleri sırasıyla 0.00316 ve -0.00088 olarak bulunmuştur. Doğal populasyonda 6, kültür populasyonunda 7 olmak üzere toplam 12 haplotip gözlemlenmiş olup, genel haplotip olan Haploit\_1 kültür populasyonunda 12, doğal populasyonunda ise 4 adet gözlemlenmiştir. Kültür populasyonunda haplotip çeşitliliği 0.6710, doğal populasyonlardaki ise 0.8333 olarak bulunmuştur. Populasyonlar arası ortalama haplotip çeşitliliği ise 0.7204 olarak bulunmuştur. Kültür populasyonu içi ortalama genetik uzaklık ve genetik çeşitlilik değerleri sırasıyla 0.00109 ve 0.00108 olarak bulunmuş, doğal populasyonu içi ortalama genetik uzaklık ve genetik çeşitlilik değerleri ise sırasıyla 0.00526 ve 0.00525 olarak bulunmuştur. Veri setinin tamamı kullanılarak UPGMA algoritması ile oluşturulan bireylerin genetik ilişkisi ağacında doğal ve kültür stoklarının İskenderun Körfezi'nde iç içe girdiği gözlemlenmiştir.

2017, 55 sayfa

**Anahtar Kelimeler:** *Sparus aurata*, mtDNA dizin analizi, 16S rRNA, doğal ve kültür stoklar, genetik etkileşim

## ABSTRACT

### GENETIC IMPACT OF CULTURED GILTHEAD SEA BREEM (*Sparus aurata* L. 1758) POPULATIONS ON NATURAL POPULATIONS OF GILTHEAD SEA BREEM IN ISKENDERUN BAY

*Sparus aurata* (gilthead sea bream) is a very important fish fisheries and aquaculture species. Intensive aquaculture activities in the Mediterranean Sea and the Aegean Sea have negative impact on natural stocks. In this study, we examined genetic impact of cultured gilthead sea bream *S. aurata* on natural stocks in the Iskenderun Bay (Northeastern Mediterranean) by mtDNA sequencing analysis using 16S rRNA region.

Mitochondrial DNA sequencing of 16S rRNA region was found to be 809 base pair and 21 bp variable and 3 bp parsimony informative sites between populations. The nucleotide composition was found to be 21.1%, 24.1%, 32.9% and 21.1% for T, C, A and G, respectively. Average value of genetic diversity and genetic distance within populations was found to be 0.00316 and -0.00088, respectively. A total of 12 haplotype were obtained of which 6 were in the natural population and 7 were in the cultured population. Haploit\_1 was found common haplotype of which 12 were in the cultured population and 4 were in the natural population. Haplotype diversity of the cultured population was found to be 0.6710 while the natural population was found to be 0.8333. Haplotype diversity between populations was found as 0.7204. The average value of genetic diversity and genetic distance within cultured population 0.00109 and 0.00108, respectively. The average value of genetic diversity and genetic distance within natural population 0.00526 and 0.00525, respectively. The genetic relationships of individual tree by the UPGMA algorithm of all dataset of natural and cultured stocks had overlapped distribution.

2017, 55 pages.

**Anahtar Kelimeler:** *Sparus aurata*, mtDNA sequence analysis, 16S rRNA, natural and cultured stock, genetic impact

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresince ve tez çalışmamın her aşamasında, benden yol gösterici önerilerini ve bilgi birikimini hiçbir zaman esirgemeyen, büyük bir titizlik ve özveriyle sahip olduğu bilgi birikimi ve tecrübesi ile çalışmayı yönlendiren danışman hocam Sayın Prof. Dr. Cemal TURAN'a sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Tez konusunun belirlenmesi ve çalışmalarım sırasında katkılarını esirgemeyen hocalarım Prof. Dr. Funda TURAN, Prof. Dr. Deniz ERGÜDEN, Doç. Dr. Deniz YAĞLIOĞLU ve Yrd. Doç. Dr. Mevlüt GÜRLEK'e, doktora öğrencisi arkadaşlarım Ali UYAN ve Serpil KARAN'a, yüksek lisans öğrencisi arkadaşlarım Mehmet Nur GÜNDÜZ ve Ferhat KABAKLI'ya desteklerinden dolayı en içten teşekkürlerimi sunarım.

Hayatımda bu noktaya gelmemde çok büyük katkıları olan ve maddi manevi hiçbir desteğini esirgemeyen sevgili annem Semiye DOĞDU, babam Adnan DOĞDU ve ağabeyim Serter DOĞDU'ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

14961 numaralı BAP projeleriyle gerekli teçhizatı, kimyasalları ve malzemeleri temin etmemizi sağlayan M.K.Ü. BAP'a teşekkürlerimi sunarım.

## İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	I
ABSTRACT.....	II
TEŞEKKÜR.....	II
İÇİNDEKİLER .....	IV
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	V
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	VI
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ .....	VII
1.GİRİŞ .....	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	10
3. MATERYAL VE YÖNTEM .....	14
3.1. MATERYAL .....	14
3.1.1. Örnekleme Bölgeleri .....	14
3.1.2. Kullanılan Araç ve Gereçler.....	16
3.2. Yöntem.....	17
3.2.1. Doku Örneklerin Elde Edilmesi ve Korunması .....	17
3.2.2. Mitokondrial DNA'nın Ekstrakte Edilmesi .....	17
3.2.3. DNA'nın Kalite Tayini .....	18
3.2.4. Polimeraz Zincir Reaksiyonu İle 16S rRNA Geninin Çoğaltılması .....	19
3.2.5. Dna Dizin Analizi (Sequencing) .....	20
3.2.5. Verilerin Analizi.....	21
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA .....	22
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER .....	32
6.KAYNAKLAR .....	35
7.ÖZGEÇMİŞ .....	45



## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.2. Balık mitokondrisindeki (mtDNA) genlerin dizilimi (Meyer, 1993) .....	8
Şekil 3.1. Çipura ( <i>Sparus aurata</i> ) örnekleme alanları .....	15
Şekil 3.3. Çipura örneklerinden ekstrakte edilen total DNA'nın %0.7'lik agaroz jel üzerinde kontrolü .....	18
Şekil 3.4. Çipura örneklerinden PCR sonrası elde edilen 16s rRNA PCR ürünlerinin %1.5'lik agaroz jel üzerinde kontrolü.....	19
Şekil 4.1. Populasyonların genetik ilişkisi ağacı (UPGMA tree) (Sneath ve Sokal, 1973) .....	31



## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. Çipura ( <i>Sparus aurata</i> )'nın populasyonlara göre örnekleme bilgileri.....	14
Çizelge 3.2. Kullanılan cihazların teknik özellikleri.....	16
Çizelge 4.1. En iyi model test sonuçları. En iyi (en düşük) BIC (Bayesian Bilgi Kriteri) skoruna sahip modeller dikkate alınmıştır .....	23
Çizelge 4.2. Çalışmada kullanılan 830 baz çifti uzunluğundaki 16S rRNA geninin ortalama nükleotid kompozisyonu (%) .....	23
Çizelge 4.3. Çalışmada kullanılan 830 baz çifti uzunluğundaki 16S rRNA geninin substitüsyon matrisi.....	24
Çizelge 4.4. <i>S.aurata</i> popülasyonlarındaki 16s rRNA haplotitlerinin frekansları ve populasyonlara göre dağılımı .....	25
Çizelge 4.5. <i>S.aurata</i> populasyonlarındaki 16S rRNA haplotitlerinin değişken nükleotid bölgeleri.....	26
Çizelge 4.6. <i>S.aurata</i> Populasyonlar içi ortalama genetik uzaklık, genetik çeşitlilik ve haplotip çeşitliliği değerleri.....	28
Çizelge 4.7. <i>S. aurata</i> doğal ve kültür populasyonlar arası ortalama genetik uzaklık değeri (alt diyagonal) ve populasyonlar arası ortalama haplotip çeşitliliği (kalın), populasyonlar arası ortalama genetik çeşitlilik değeri (üst diyagonal).....	29
Çizelge 4.8. Tajima nötralite testi sonuçları.....	32

## SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

### SİMGELER

bç : Baz Çifti

kb : Kilo Baz

g : Gram

mg : Miligram

mA : Mili Amper

µl : Makrolitre

A : Adenin

C : Sitozin

G : Guanin

T : Timin

### KISALTMALAR

DNA : Deoksiribonükleik asit

EDTA : Etilendiamin tetraasetikasit

HCl : Hidroklorik asit

HKY : Hasegawa-Kishino-Yano

JC : Jukes-Cantor

K2 : Kimura 2-parametresi

MgCl<sub>2</sub> : Magnezyum Klorür

NaCl : Sodyum klorür

PZR : Polimeraz Zincir Reaksiyonu

rRNA : Ribozomal RNA

T92 : Tamura 3-parametresi

TBE : Tris/Borate/EDTA

TE : Tris-EDTA

TN93 : Tamura-Nei

UPGMA : Tartılı Olmayan Çiftleştirilmiş Grup Metodu Aritmetik Ortalaması

## 1.GİRİŞ

Tarih boyunca denizler tükenmez gıda kaynağı olarak kabul edilmiş ve her geçen yıl hızla artan dünya nüfusunu besleyebileceği düşünülmüştür. Ancak son yıllarda dünya su kaynaklarındaki balık stoklarının her geçen gün artan talepleri karşılayamaz hale geldiği görülmüştür. Aşırı avcılıktan dolayı doğal stokların giderek azalması, dünya çapında hızla artan insan nüfusunun protein ihtiyacının karşılanmasında kültür balıkçılığının önemi de aynı hızda artırmıştır (Aydın, 2017). Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü'nün (FAO) istatistiklerine göre, 2000 yılında dünya kültür balıkçılığı üretimi 35,5 milyon ton, 2005 yılında 47,8 milyon ton, 2010 yılında 59 milyon ton ve 2013 yılında bir önceki yıla nazaran %5,3 artışla 70,2 milyon tona ulaşmıştır. Bu üretimin değer olarak 150 milyar dolar seviyesinde olduğu tahmin edilmektedir (FAO, 2016).

Ülkemiz su ürünleri üretimi ile ilgili su kaynakları potansiyeli açısından oldukça zengindir. Yakın zamana kadar ülkemizde su ürünleri üretimi avcılık yoluyla yapılırken, balıkçı teknelerinin sayılarındaki ve güçlerindeki artışlar ile birlikte aşırı avcılık sonucu balık stoklarında meydana gelen azalmalar avcılık yolu ile üretimin ekonomikliğini ve sürdürülebilirliğini ortadan kaldırmıştır (Çelikkale ve ark., 1999). Ülkemizin toplam su ürünleri üretim miktarı 2015 yılı verilerine göre 672.241 tondur ve bu üretimin 431.907 tonu avcılıktan, 240.334 tonu da yetiştiricilikten elde edilmiştir. Ülkemiz üretim miktarı bakımından dünyada 35'inci sırada, AB ülkeleri arasında ise 7'nci sırada yer almaktadır (TÜİK, 2016). Türkiye'de ilk ekonomik anlamda balık yetiştiriciliği 1970'li yıllarda gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792)) ve sazan (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758) üretimi ile başlatılmıştır. 1985'li yıllarda çipura (*Sparus aurata* Linnaeus, 1758) ve levrek (*Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758)), 2000'li yıllarda da orkinos balıklarının üretiminin yapılmaya başlanması ile kültür balıkları üretiminde ciddi bir artış meydana gelmiştir.

Sparidae familyasına ait mercan balıkları dünyada; Doğu Atlantik'te Britanya Adaları, Cebelitarık Boğazı, Yeşil Burun Adaları, Kanarya adalarına ve tüm Akdeniz'de dağılım göstermektedir. Sparidae familyası Dünya'da 38 cinse ait 154 tür ile temsil edilmektedir. Ülkemizde ise Sparidae familyası 10 cinse ait 21 tür ile temsil edilmektedir (Turan ve ark. 2007).

*S. aurata* türü sırtı gri ve koyu mavi renklidir, iki göz arasında altın sarı renkli bir bant vardır. Vücut oval ve yanlardan yassılaştırmıştır. Operkulumun üst kısmında büyük

siyah renkli bir benek bulunur. Dorsal yüzgeç 11 sert ışın ve 14 yumuşak ışın; anal yüzgeç; 3 sert ve 12 yumuşak ışın içerir (Turan ve ark. 2007). Deniz tabanlarının kumlu olduğu alanlarda ortalama 30 m derinlikte bulunan çipuranın yetişkin bireyleri 150 m derinliğe kadar yaşayabilmektedir. Sedanter bir tür olan çipura bireyleri küçük topluluklar halinde yaşamaktadırlar. Çipura düşük sıcaklıklara karşı oldukça hassas bir türdür. İlbahar aylarında yiyeceklerin daha bol ve sıcaklığın daha ılıman olduğu haliç ve kıyı lagünlerine doğru göç yaptıkları gözlemlenmiştir.

Ağırlıklı olarak karnivor beslenme biçimi gösteren bu tür zooplankton ile beslenir ancak nadir de olsa herbivor beslenme özelliği gösterebilirler (Bauchot ve ark., 1990; Stergiou ve Karpouzi, 2002; Froese ve Pauly, 2017). Sahil lagünlerinde ve denizlerde yaşayan bireyler arasında beslenme farklılıkları gözlemlenmiştir (Rosacchi, 1987).

Çipura türü hermafrodit bir türdür. Juvenil bireyler erkek olarak yetişir ve ikinci yumurtlama döneminde dişi bireye dönüşürler. Cinsler arası geçiş erkeklerde 4, dişilerde ise 6 yıldır. Erkek oldukları dönemde biseksüel bir gonad ve testis dokusuna sahiptirler (Mylonas ve ark., 2011). Dişiler toplu halde günde 20.000-80.000 yumurta üretir. Yumurtlama dönemi Aralık ayı sonundan Nisan ayı kadar sürmektedir (Zohar ve ark., 1995; Barbaro ve ark., 1997). Bu türün yumurtlama dönemine ait bilgilerin birçoğu kültür balıkçılığında ağ kafeslerinde yapılan gözlemlere dayanmaktadır (Akova 2015).

Dünyada çipura üretimi 2012 yılında 167.827 tona ulaşmış ve bu üretimin 159.731 (%95,17) tonunu yetiştiricilik çipurası oluşturmaktadır (FAO, 2014). Ülkemizde ise toplam çipura üretimi 2012 yılı itibarıyla 52.324,9 tona ulaşmış ve bunun 51.844 (%99,08) tonunu yetiştiricilik çipurası oluşturmaktadır (TUİK, 2016).

Ülkemizde *S. aurata* türü *D. labrax* türü ile birlikte denizlerimizde yetiştiriciliği yapılan en önemli türdür. Bu iki türün yetiştiriciliği genellikle polikültür olarak yapılmaktadır. Ülkemizdeki balık yetiştiriciliği son yıllarda yaşanan bilimsel, teknolojik ve ekonomik gelişmeler sayesinde büyük bir sıçrama kaydetmiştir. Ülkemiz sularında çipura yetiştiriciliği yapan 17 balık çiftliği bulunmaktadır. Bu çiftlikler ağırlıklı olarak Ege Denizi ve Akdeniz'de faaliyet göstermektedir (Akova, 2015).

Ülkemizde çipura yetiştiriciliği 80'li yıllarda doğadan yakalanıp büyütülmesi şeklinde başlamıştır (Alpbaz, 1990). Yetiştiricilik çalışmalarında doğaya bağımlılığı ortadan kaldırmak ve stokları korumak amacıyla çiftlikler, bünyesinde damızlık stoku oluşturup yumurtadan yavru elde etme sistemine dönmüştür (Atay ve Bekcan 2000).

Ancak bu yöntem çiftlik içerisinde kapalı bir gen havuzu (inbreeding) oluşturulmuştur. Bu durum stoklarda soy içi üreme oranının artmasına, balık populasyonundaki üretim veriminin düşmesine, deforme yavru oranının artmasına, populasyonda hastalıklara karşı dirençli olmayan genotiplerin ortaya çıkmasına ve buna bağlı olarak toplu ölümlere sebep olmaktadır (Tave, 1999). Çiftlikler bu durumu ortadan kaldırmak için doğadan veya başka çiftliklerden yeni anaç balıklar temin ederek mevcut populasyonun gen havuzunu zenginleştirirler (outbreeding) (Houde ve ark., 2011).

Çipura kültür populasyonlarından denizlerimizde bulunan doğal populasyonlara meydana gelebilecek bir geçiş ile yani gen alışverişi ile populasyonlar arasında oluşmuş olan genetik farklılıkların ortadan kalkmasını sağlar. Yani bir populasyona göç ile katılan bireyler, bu populasyonun gen havuzuna yeni alellerin katılmasını ve sularımızdaki doğal çipura populasyonlarında bulunan doğal seleksiyon ile oluşmuş genotiplerin yok olmasına neden olabilir (Şekil 1.1) (Turan, 2000; Araki ve ark.,2009).



Şekil 1.1. Kültür populasyonlarından doğal populasyonlara olası geçişin şematik gösterimi (Glover ve ark., 2017'den değiştirilmiştir.)

Populasyon genetiği çalışmaları genel olarak populasyonlar arasında meydana gelen alel frekans değişiklikleri ve populasyonlar arasında gerçekleşen göç olaylarının tespitine yöneliktir. Bu tespitin önemi, diğer populasyondan göç alarak taşıdığı genetik çeşitliliği her zaman sürdürebilen populasyonların, göç almayan populasyonlardan farklı olarak, doğada karşılaşılabilecekleri zorluklara karşı daha dirençli genetik yapıları içlerinde barındırdıklarının bilinmesinden kaynaklanmaktadır. Genetik çeşitlilikte meydana gelen azalmalar bir populasyonun suni veya doğal yolla çevrede meydana gelen değişmelere karşı daha zor adapte olmasına neden olabilmektedir. Bu durum, şiddetli

populasyon dalgalanmalarına veya populasyonun yok olmasıyla sonuçlanabilmektedir. Bundan dolayı mevcut olan genetik çeşitlilik, adaptasyona dayanan evrimsel değişiklik için hayati bir rol oynamaktadır (Turan, 2000). Bu sebeplerden yola çıkarak denizlerimizde bulunan doğal çipura populasyonları ile kültür populasyonları arasında herhangi bir sebepten genetik değişiklik varsa bunun tespit edilmesi çipura populasyonlarının devamlılığının sağlanması için hayati önem taşımaktadır (Carvalho ve Hauser, 1994).

Türler genellikle kendi içerisinde fenotipiksel veya genetiksel olarak farklılaşmış gruplara veya populasyonlara bölünmüştür, bunlara balıkçılık idaresinde stok denilmektedir. Stoklar genellikle yeni birey katılımı ve mortaliteyi de içine alan biyolojik karakterler bakımından birbirinden önemli derecede farklılıklar arz edebilmektedir. Bundan dolayı bu stoklar avcılığa birbirinden bağımsız bir şekilde cevap vermekte ve birbirinden bağımsız bir idare şekline ihtiyaç duymaktadırlar. Stokun tanımlanması balıkçılık idaresi ve koruması açısından zorunlu ve önemlidir. Bununla birlikte, balıkçılık yönetiminde asıl problem stokun tanımıdır. Özellikle, bir stokun nelerden oluştuğu üzerine bir fikir birliğine varmak oldukça zordur (Gauldie, 1991; Carvalho ve Hauser, 1994). Literatürlerde bir dizin halinde stok tanımlaması mevcuttur (Gulland, 1969; Larkin, 1972; Jamieson, 1973; Booke, 1981; Ihssen ve ark., 1981; Smith ve ark., 1990). "Stok" teriminin kullanımı ve tanımıyla ilgili birçok makale olduğu halde herkes tarafından kabul edilen evrensel bir tanımı bulunmamaktadır. Çünkü terimin tanımlanması, kim tarafından ve ne amaçla yapıldığına göre değişmektedir (Carvalho ve Hauser, 1994; Turan ve ark., 1997).

Genetik stok, yüksek derecede bütünlük gösteren ve üretime yönelik olarak kısmen farklılık gösteren ve genetiksel olarak diğer stoklarda farklı olan ünite olarak tanımlanmaktadır (Jamieson, 1973; Ovenden, 1990; Thorpe, 1983). Literatürlere biyologlar tarafından sunulan daha birçok stok tanımı mevcuttur. Bunlar birbirlerinden hasat stoktan genetik stoka kadar, stok bütünlük dereceleri ile ayrılmaktadır (Carvalho ve Hauser, 1994; Turan, 2000a).

Populasyonlardaki genetik frekansların değişmesine yol açan mikro evrimsel kuvvetler; mutasyon, gen akışı, genetik sürüklenme ve seleksiyon olmak üzere 4 e ayrılır. Populasyonun dengede kalabilmesi için populasyonun yeterince büyük olması, mutasyon, seleksiyon ve göç olaylarının meydana gelmemesi, eşit sayıda erkek ve dişi

bireylerin bulunması, popülasyonda çiftleşmelerin rastgele olması ve bir jenerasyonda doğan bireyler ile çiftleşmemesi koşullarına bağlıdır. Bu koşulların birinin veya birkaçının olmaması halinde popülasyonların dengesi bozulur ve genetik yapı zamana bağlı olarak değişir. Genetik yapının değişiminin büyüklüğüne ve şekillerine bağlı olarak yeni türler ortaya çıkabilir (Turan, 2002).

Seleksiyon, popülasyon içerisinde bazı genotiplerin diğerlerinden daha fazla çoğalma olanağı vermektedir. Bu doğal koşullar yoluyla olursa doğal seleksiyon, insan tarafından yapılırsa yapay seleksiyondan olarak adlandırılır. Doğal seleksiyon ortama adaptasyon gösteremeyen canlıların ortamdaki kaybolması şeklinde olur. Adaptasyon, ancak gen frekanslarında meydana gelen değişimlerin, bu canlıların bulunduğu ortama daha iyi uyum sağlamasına neden olan organların ya da diğer özelliklerin oluşmasına katkıda bulunmasıyla gerçekleşir. Seleksiyonda bazı genotipler diğerlerinden daha fazla oranda döl vereceğine göre, bu genotipte bulunan genlerin nispi frekansları jenerasyondan jenerasyona artar. Yapay seleksiyon ise insan elinden geldiği kadar sadece kendine yarayan genotiplerden döl almaya, diğerlerine çoğalma olanağı vermemeye çalışır (Turan, 2002). Kültür balıkçılığında yapılan da tam olarak budur. Kültür balıkçılığı yapan şirketler daha hızlı bir şekilde pazara sunabileceği genotipteki balıkların kültürünü yaptıkları için bu kültür popülasyonundaki balıkların doğal ortamda yaşama olanakları çok düşüktür.

Genetik tekniklerin kullanımından önce, morfolojik farklılığın tamamıyla genetik farklılaşmadan kaynaklandığı farz edilmekte ve stokların tespiti, genellikle morfolojik özellikler kullanılarak yapılmaktaydı (Marr, 1957). Ancak, fenotipik tekniklerin kullanımı, bir türe ait popülasyon tespitinde fenotipik varyasyonun direkt olarak genetik kontrolün etkisi altında olmayışı ve çevresel faktörlerin değişiminden etkilenmesinden dolayı sınırlanmıştır (Allendorf, ve ark., 1987). Çünkü genetik tekniklerin balıkçılıkta kullanımı ile daha önce fenotipik olarak farklı olan birçok popülasyon veya türün genetik olarak farklı olmadığı ortaya çıkmıştır. Bu nedenle popülasyon çalışmalarında moleküler genetik tekniklere başvurmak ihtiyacı doğmuştur. Popülasyon genetiği çalışmalarında kullanılan, Protein elektroforezi, Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) (Polymerase Chain Reaction), Sınırlama Parçalarının Uzunluk Polimorfizmi (RFLP), (Restriction Fragment Length Polymorphism), DNA Parmak izi Metodu (Genetic Fingerprinting), Mikrosatelit, Polimorfik DNA'nın Rastgele Çoğaltılması (RAPD), (Random Amplification of



Polymorphic DNA), Tek Nükleotid Polimorfizm (SNP) ve DNA Dizileme Metodu (DNA sequencing) gibi teknikler, günümüzde yaygın olarak tercih edilen tekniklerdir. Fenotipik teknikler, stok yapı analizinde genetik tekniklerle birlikte kullanıldığında, elde edilen veriler balıkçılık idaresinde stokların korunması ve sürekliliğin sağlanmasında önemli rol oynar (Turan ve ark., 1997).

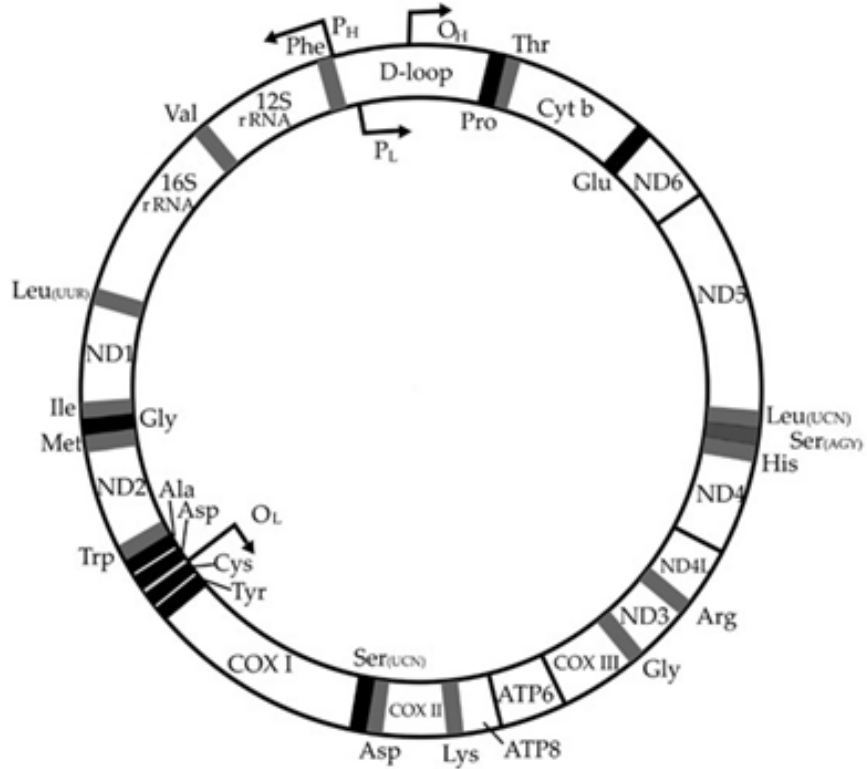
Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR), invitro koşullarda DNA dizilerinin çoğaltılması esasına dayanmaktadır. PCR; basit, spesifik ve hassas bir tekniktir (Saiki ve ark., 1985; Mullis, 1990). PCR tekniği, temelde üç aşamadan oluşmaktadır. İlk aşamada (denaturation), kalıp DNA (template DNA), 92-95°C'de 1-2 dakika tutularak çift sarmal yapıdaki DNA ipliklerini birbirlerinden ayrılmaktadır. DNA zincirini ayırmak için, bazı durumlarda 5-10 dakika ön ısıtma yapmak gerekebilir (Watson ve ark., 1992; Hadidi ve ark., 1995). İkinci aşamada (annealing), reaksiyon sıcaklığının, 37-65°C'ye düşürülerek oligonükleotid primerlerinin açılan DNA zincirlerinin kendi baz dizilerine karşılık gelen bölgeye yapışır. Bu işlem, üretilecek baz uzunluğuna bağlı olarak 30-60 saniyede gerçekleşmektedir (Innis ve ark., 2012). Üçüncü aşama (primer extention) ise, DNA zincirleri üzerine yapışan primerlerin DNA polimeraz enzimi (Taq DNA polymerase) vasıtasıyla uzatılır. Taq DNA polymerase 72°C sıcaklıkta daha iyi çalıştığı için genel olarak tüm çoğaltma işlemleri bu sıcaklıkta yapılmaktadır (Erlich ve ark., 1991). PCR sonucunda elde edilen ürün, çoğaltılması hedeflenen DNA parçası ile iki primerin toplam uzunluğu kadardır. Üç basamaktan (denaturation, annealing, primer extention) oluşan işlem, bir PCR devrini temsil eder. Bu işlem, genel olarak 25 ile 40 defa tekrar edilerek başlangıçtaki DNA dizisinden milyonlarca yeni DNA parçasığı çoğaltılmaktadır (Hadidi ve ark., 1995).

Populasyonlar arasındaki genetik farklılıkların tespit edilmesinde kullanılan etkin yöntemlerin başında DNA dizi analizi yöntemi gelmektedir. Bu metot DNA düzeyinde değişim tespit etmede kullanılan en hassas tekniktir. DNA üzerinde ilgi duyulan bir bölgenin veya genin zincirleme metodu ile nükleotid dizilerin ortaya çıkarılması, bu bölgede mevcut olan polimorfizimi azami düzeyde tespit etme imkânı sağlamaktadır. DNA zincirinin test edilmesinde en yaygın metot, dideoxy-termination metodudur (Avisé ve ark., 1979). Bu metotta bir primer, çift sarmallı DNA'nın bir sarmalının sentezlenmesini başlatmak için kullanılmaktadır. Bu teknikte bir primer kullanılmakta ve DNA sarmalının sadece biri sentezlenmektedir. DNA sentez reaksiyonlarında kullanılan

normal nükleotitlere (dNTP) ek olarak, modifike (dideoxy) nükleotidler (ddNTP) zincirleme reaksiyonuna eklenmektedir. Bu nükleotidlerin modifikasyonu, fosfat bantlarının formasyonuna engel olmaktadır, sentez, modifike nükleotidlerin eklenmesiyle sonlanmaktadır (dideoxy-termination). Zincir reaksiyonu, birbiriyle aynı olan dört reaksiyondan oluşmakta ve her bir reaksiyon farklı tüpler içerisinde gerçekleşmektedir. Her bir tüp içerisinde, normal nükleotidler (dATP, dTTP, dGTP, dCTP) ve çok düşük oranda reaksiyonu tamamlayıcı olarak modifike nükleotidler (ddATP, ddTTP, ddGTP, ddCTP) bulunmaktadır. Bu yöntem laboratuvar ortamında gerçekleştirilen DNA replikasyonu işleminin kontrollü bir şekilde yarıda kesilmesi temeline dayanmaktadır. İkili sarmal DNA tek eksenli hale getirilmekte ve hedef DNA bölgesinin bir bölümü ile komplementer olan kısa bir DNA parçacığı, bu bölge ile hibrit oluşturmaktadır. Bu primer/hedef DNA (template) karışımı DNA polimeraz enzimi tarafından katalize edilen ve primere yeni nükleotidlerin ilave edilmesi temeline 4 ayrı reaksiyon alt grubunda incelenmektedir. Her bir reaksiyonda 4 tip deoksinükleotidlere (dATP, dTTP, dGTP, dCTP) ilave olarak deoksinükleotidlerde var olan 3'OH grubunu taşımayan dideoksinükleotidler (ddATP, ddTTP, ddGTP, ddCTP) de bulunmaktadır. Yeni sentezlenen DNA molekülü, ya primerin uç kısmı etiketlenerek ya da sentez sırasında etiketli deoksinükleotid ilave ederek radyoaktif etiketli hale getirilmektedir. Yeni DNA sarmalının sentezinin yapılması nükleotidlerin serbest 3' OH grubuna eklenmesi ile devam etmekte ve uzayan eksene ddNTP eklendiği zaman eksen uzaması sonlanmaktadır. Polimeraz reaksiyonu, ddNTP'lerin nadir ve rastgele ilave edildiği durumlarda yürütülmekte ve ayrıca farklı bazlarda sonlandırılan farklı uzunluklarda DNA molekülleri seti elde edilmektedir. Elektroforez sonucu, parçalar büyüklüklerine göre jel içerisinde yerlerini almaktadır. Jel üzerinde her bir bant sağ tarafta verilen ilgili parçayı ifade eder ve jel üzerinde okuma yapılarak, reaksiyona sokulan DNA sarmalının tamamının nükleotid zinciri tespit edilmiş olur.

Populasyon genetiği çalışmalarında genomun en çok çalışılan kısımlarından biri mitokondriyal DNA (mtDNA)'dır (Wilson, ve ark.,1985). Büyüklükleri organizmalar arasında farklılık göstermekle beraber hayvan mtDNA 'sı 15-29 kb uzunluğunda olup, 22 tRNA, 2 rRNA ve oksidatif fosforilasyonda görev yapan ve 13 mRNA'yı kodlayan protein olmak üzere toplam 37 genden oluşan bir moleküldür (Şekil 1.2) (Wallace, 1986). Hayvan mtDNA'sı yüksek derecede korunmuş gen içeriği ve düzenine sahiptir (Boore,

1999), rekombinasyon göstermez ve intron içermez (Moore, 1995, Sunnuck, 2000). Mitokondriyal DNA'nın etkili bir tamir mekanizmasından yoksun olması (Bogenhagen, 1999), histon gibi koruyucu proteinlerin görülmemesi, iç mitokondriyal membranda meydana gelen oksidatif fosforilasyon ile açığa çıkan ve oldukça yüksek mutajenik etkiye sahip oksijen radikalleriyle fiziksel ilişki içerisinde bulunması (Richter, 1988), ayrıca mevcut mutant mitokondrinin etkisi ile mtDNA mutasyon hızının artması (Lightowlers ve ark., 1997) gibi faktörler, mtDNA'da meydana gelen polimorfizimi nükleer DNA'dan daha yüksek oranda görülmesinin muhtemel sebeplerini oluşturmaktadır. mtDNA'nın evrim hızı nükleer DNA'ya göre 10-20 kat daha fazladır. Bunun nedeni, oksijen radikallerine daha fazla maruz kalması ve koruyucu mekanizmalarının olmamasıdır. Bu yüzden mtDNA mutasyonlara daha açıktır. Nükleer DNA'ya göre daha fazla mutasyona uğrayan mtDNA mutasyonlarının hızı 1 milyon yıllık süreçte ortalama % 2-4 oranındadır. Eğer iki organizma arasında % 1 oranda mtDNA farklılığı varsa bu 250.000-500.000 yıl önce bu iki organizmanın farklılaşmaya başladığını gösterir. Ek olarak nükleer genin her jenerasyonda farklı rekombinasyon göstermesi popülasyon genetiği çalışmalarında zorluk yaratırken, mtDNA'nın homoplazmik oluşu kullanılabilirliğini arttırmaktadır.



Şekil 1.2. Balık mitokondrisindeki (mtDNA) genlerin dizilimi (Meyer, 1993)

16S rRNA prokaryotlarda ribozomun küçük alt birimini oluşturur. İnvitro koşullarda gerçekleştirilen PCR ile kısa sürede tüm gen kolaylıkla çoğaltılırken, genin uzunluğu da sekans analizindeki varyasyonlarda kayda değer bir analiz sağlar. Gendeki korunan bölgeler amplifikasyon için universal primer dizaynında kullanılabilirdiği gibi değişken bölgeleri de çeşitli türler veya populasyonlar arasındaki benzerlik ya da farklılıkları ayırt etmede kullanılabilir (Mylvaganam ve Dennis, 1992; Amann ve ark., 2000). mtDNA'nın 16S rRNA bölgesi, populasyon genetiğinde yüksek taksonomik gruplara kadar değişen ilişkileri analiz etmek için kullanılmaktadır (Birmingham ve ark., 1997; Lydeard ve Roe, 1997). 16S rRNA geninin balık türleri ve populasyonlarını ayırt etmek için iyi bir belirleyici olduğu da kabul edilmektedir (Ritchie ve ark., 1997; Tringali ve ark., 1999; Bernardi ve ark., 2000; Hanel ve Sturmbauer, 2000; Farias ve ark., 2000; Streelman ve ark., 2002).

MtDNA'nın maternal kalıtımı döllere anne tarafından aktarılır, efektif populasyon büyüklüğü ve genetik sürüklenmenin etkileri nükleer DNA'da mtDNA ya oranla 1/4 oranında daha az görülür. Az sayıda örnekleme yapılan genetik varyasyon, genetik çeşitlilik, haplotip çeşitliliği, genetik farklılık ve kültür stoklarının doğal stoklar üzerindeki genetik etkilerin incelendiği çalışmalarda mtDNA tıpkı alloenzim ve mikrosatellit moleküler dominant teknikleri gibi dominant teknik olarak kullanılabilir (Iguchi ve ark., 1999; Reilly ve ark., 1999; Seniko ve ark., 2002; Romana-Eguia ve ark., 2004).

Bu çalışmanın amacı, ülkemizde gerek avcılık gerek kültür balıkçılığı açısından son derece önemli bir tür olan ve İskenderun Körfezi'nde açık deniz kafeslerinde kültür balıkçılığı yapılan *Sparus aurata* (Çipura)'nın doğal stoklar üzerindeki genetik etkilerinin 16S rRNA geni kullanarak tespit etmektir.

## 2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Hindar ve ark., (1991), kültür balıkçılığının doğal stoklar üzerindeki genetik etkisini araştırdıkları litaretür çalışmasında, kültür balıkçılığı yapıp doğaya salınan veya kaçan balıklar ve doğal stoklar arasındaki gen akışının doğal stokları ciddi derecede etkilediği ve doğal seleksiyon sonucu elde edilen alellerin kaybına yol açtığı bildirilmiştir.

Zouros (1999), Yunanistan, İtalya, İspanya ve Portekiz kıyılarından örneklediği doğal ve kültür çipura balıklarında allozim, mikrosatellit ve mtDNA üzerinden yaptığı karşılaştırmada kültür stoklarında genetik varyasyonun az da olsa düştüğünü belirtmiş fakat Akdeniz ve Adriyatik örnekleri arasında herhangi bir coğrafik genetik heterojenlik bulunmadığını bildirmiştir. Paralel olarak bizim sonuçlarımızda da Akdeniz içerisindeki dağılımda herhangi bir genetik alt dal oluşumunu gözlenmemiştir.

Palma ve ark., (2001), çipura balıklarının doğal ve kültür stoklarında genetik heterozigotluk tespiti için yaptıkları araştırmada beş farklı ülkeden örnekleme yapmış ve kültür stoklarında nadir alellerin kaybı sonucu genetik varyasyonun azaldığına dair bulgular ortaya koymuştur. Yaptıkları çalışmada allozyme heterozigotluk doğal populasyonlarda düşük, kültür populasyonlarında ise yüksek çıkmıştır. Mikrosatellit DNA analizi de benzer sonuçlar vermiş fakat yunan örneklerinde heterozigotluk daha düşük çıkmıştır. Kültür populasyonlarında, doğal populasyonda bulunan ve doğal seleksiyonla elde edilen nadir alellerin kaybindan dolayı, bazı genetik varyasyonlarını kaybettiğini gösterdiğini bildirmişlerdir.

Alarcon ve ark., (2004), Avrupa kıyılarındaki doğal ve kültür çipura populasyonlarının genetik karşılaştırmalarına ilişkin çalışmalarında Güney Atlantik ve Akdeniz’de 6 doğal, 5 kültür populasyonundan örnekleme yaparak allozim, mikrosatellit ve mtDNA kontrol bölgesi varyasyonlarını incelemişlerdir. Mikrosatellitler allozim’lere göre daha fazla varyasyon ortaya koyarken mtDNA analizleri populasyonlar arasında hiçbir farklılık göstermemiştir. Doğal populasyonlarda mikrosatellitler, allozim’lere kıyasla ufak da olsa daha belirgin bir farklılık derecesi göstermektedir. Yetiştiricilik populasyonlarında ise yapay seleksiyon ve genetik sürüklenme sayesinde doğal populasyonlardan oldukça farklı gözükmekte olduğu tespit etmişler ve bunun sonucunda aynı bölgedeki kültür ve doğal populasyonlar arasındaki yüksek farklılaşma, iki populasyon arasında önemli miktarda genetik akışın olduğuna dair bir kanıt teşkil etmediği sonucuna varılmıştır.

Karaiskou ve ark., (2009), çipura balığının doğal ve kültür popülasyonlarının genetik çeşitliliğini, yedi mikrosatellit belirteç kullanılarak yaptıkları çalışmada yapay seleksiyonun çiftlik popülasyonları bileşiminde değişiklik yaparak, doğal ve kültür popülasyonları arasında alel zenginliğin azalmasına neden olduğunu saptamıştır.

Wang ve ark., (2011), Güney Çin Denizi ve Güneydoğu Asya kıyılarında mikrosatellit DNA yöntemiyle portakal benekli orfoz (*Epinephelus coioides*)'un doğal ve kültür stokları üzerindeki genetik çeşitlilik ve genetik uzaklığı üzerinde yaptıkları çalışmada, doğal popülasyonlarla kültür popülasyonları arasında önemli bir farklılaşma gözlemlenmiştir. Ancak uyguladıkları Mantel Testi sonucu genetik yapının farklılaşmasını reddetti, model; popülasyonlar arasındaki farklılığın tarihi dağılım, yerel çevre, okyanus akıntıları, nehir akışı gibi çeşitli faktörlerden kaynaklanabileceğini bildirdi.

Dogankaya ve Bekcan., (2012), Türkiye kıyılarındaki doğal çipura popülasyonları ile kültür popülasyonları arasındaki genetik çeşitliliği belirlemek için mitokondriyal DNA 12s rRNA, CytB ve COII gen bölgelerini kullanmıştır. Genetik çeşitliliği tespit etmek için genetik çeşitlilik, haplotip çeşitliliği ve nükleotid çeşitliliğini karşılaştırdıkları çalışmada, üç gen diziliminde de önemli bir farklılık saptanmamıştır. Maksimum genetik çeşitlilik Sitokrom b geninde (0.0050) saptanmıştır. Çalışmanın sonucu olarak doğal ve kültür stoklarında hiçbir farklılaşma gözlenmediği bildirilmiştir.

Franchini ve ark., (2012), İtalya kıyılarındaki çipura popülasyonlarının genetik yapısı üzerinde yaptıkları çalışmada, genetik popülasyon alt dağılımı F istatistikleriyle düşük de olsa  $F_{st} = 0.0072$ ) tespit edildi. Moleküler varyasyonun analizi ile elde edilen genetik varyansın coğrafi dağılım örneği elde edilen sonuçlarla kısmen uyumlu olduğu bildirilmiştir.

Glover ve ark., (2013), Norveç kıyılarındaki Atlantik salmon balıklarının doğal ve kültür popülasyonları arasındaki genetik etkileşimi Tek Nükleotid Polimorfizmi (SNP) ile inceledikleri çalışmada, incelenen 20 doğal popülasyondan 5 popülasyon anlamlı genetik değişiklik göstermiştir. Bu 5 popülasyon zamanla çiftlik balığı popülasyonuna daha çok benzemiş bunun nedeni olarak da balık çiftliklerinden kaçan balıkların bu 5 popülasyonla gen etkileşimine girmesi olarak gösterilmiştir. Kalan 15 popülasyonda ise anlamlı ve kalıcı değişiklikler gözlemlenmemiştir. Kültür popülasyonlarının her bir doğal popülasyon üzerindeki genetik etkisi Bayesian hesaplamasına göre tahmini olarak %2-47

arasında değişmektedir. Buna göre bazı populasyonlar yüksek derecede etkilenirken bazıları ise hiç etkilenmemiştir.

Loukovitis ve ark., (2014), Avrupa levrek *Dicentrarchus labrax*'ın genetik çeşitliliğini dört yunan ticari çiftliği populasyonu ve Yunanistan ve Fransa'dan üç doğal populasyonla beş polimorfik mikrosatellit belirteci kullanarak karşılaştırdı. Doğal ve kültür populasyonlarında aynı seviyede heterozigotluk gözlemlendi. Kültür populasyonları ile doğal populasyonları arasındaki genetik farklılığı  $F_{st}$  analizi ile gösterdi. İki yunan doğal populasyonu hariç tüm populasyonların ikili karşılaştırmaları (pairwise) anlamlıydı. Yapılan mikrosatellit DNA analizi sonucu Kültür populasyonlarının doğal populasyonlara oranla alel sayısı %37 oranında azaldığını ve bunun sebebi olarak genetik sürüklenme ve populasyon içi üreme olarak gösterildi.

Miralles ve ark., (2016), *P. saltatrix*'in İspanya kıyılarındaki kültür populasyonu ile, Doğu ve Batı Akdeniz'deki doğal populasyonların genetik çeşitliliğini yedi mikrosatellit lokusu ve mtDNA COI gen bölgesini çalışarak karşılaştırdığı çalışmada, beklendiği gibi balık çiftliklerinden alınan örnekler yerel genetik populasyonla paralellik göstermesine rağmen örneklerin %7,14- %11,9 'u Türkiye sularından alınan Doğu Akdeniz stokuyla eşleştirdi. Toplam 12 haploit bulunmuştur ve bunların yarısı sadece çiftlik balıklarında gözlemlenmiştir. Çalışma sonucunda kültür balıkçılığının doğal stokların genetik çeşitliliğini ve filocoğrafyasını etkileyebileceği sonucuna varmışlardır.

Kumar ve ark., (2016), Hindistan kıyılarındaki *Lates calcarifer* balıklarının 2 kültür populasyonu ile 5 doğal populasyon arasındaki nükleotid çeşitliliği ve haplotip çeşitliliğini mtDNA COI bölgesini kullanarak araştırdıkları çalışmada, doğal populasyonlardaki nükleotid ve haplotip çeşitliliği (0.653) daha yüksek bulundu. Kültür populasyonlarının genetik çeşitliliği doğal populasyonlara oranda 2.7 kat daha düşük olduğunu bildirmişlerdir. Doğal populasyonda 36 farklı haploit bulunmuşken kültür populasyonunda sadece 4 haploit bulunmuştur.

Turan ve ark., (2016), *Scophthalmus maximus*' un Karadeniz kıyılarındaki doğal populasyonu ile kültür populasyonu arasındaki genetik farklılığı mikrosatellite yöntemi kullanarak yaptığı çalışmada, tüm lokuslarda 4 ile 10 arasında toplam 24 alel tespit edildi. Kültür populasyonunda doğal populasyona oranla daha düşük sayıda alel tespit edilmiştir. Doğal ve kültür stokları arasındaki genetik farklılık 0.2282 olarak tespit edilmiş, Yapılan Garza-Williamson istatistikleri sonucunda doğal populasyon (0.37838) kültür

populasyonuna oranla (0.56818) daha düşük çıktı ve bu da doğal populasyonların olası bir genetik darboğaz etkisi gözlemlendiği sonucuna varılmıştır.





### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

Araştırma İskenderun Teknik Üniversitesi, Deniz Bilimleri ve Teknolojisi Fakültesi, Moleküler Ekoloji ve Balıkçılık Genetiği Laboratuvarı'nda yürütülmüştür.

#### 3.1. Materyal

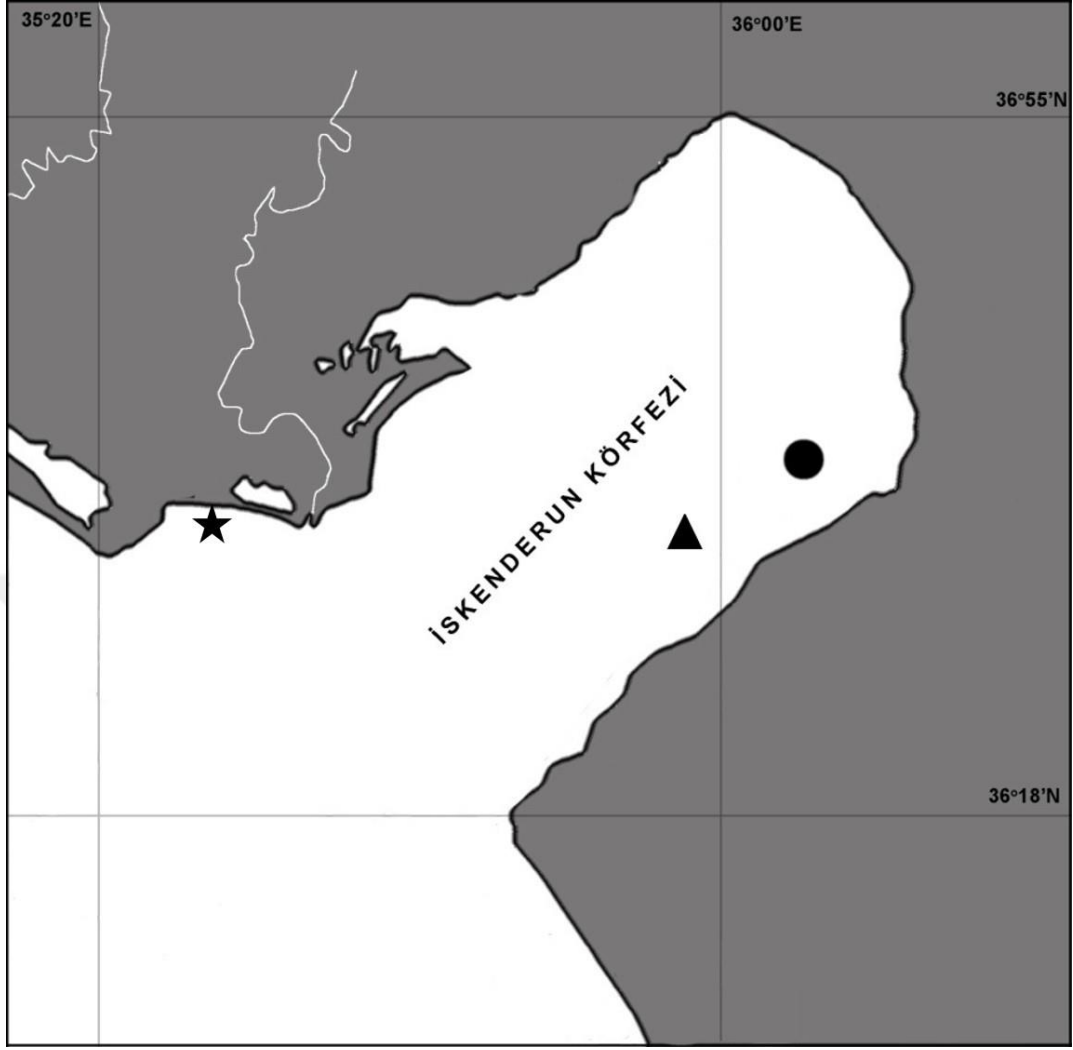
##### 3.1.1. Örneklemeye Bölgeleri

Çipura örneklerinde doğal populasyonu temsilen İskenderun Körfezi'nde gerek fanyalı uzatma ağıyla avcılık yapan balıkçılardan, gerekse trol avcılığı yapan teknelerle balığa çıkılarak veya satın alınarak populasyonu temsilen 25 adet, kültür populasyonunu temsilen İskenderun Körfezi'nde faaliyet gösteren Mazman Kültür ve Deniz Balıkçılığı'na ait açık deniz kafeslerinden 25 adet örnek alınmıştır. Bu tesiste bulunan çipuraların anaç kaynakları yani yumurtaların ve döllerin alındığı tesis Akuvatur Su.Ür.Tic. ve San.A.Ş.-Adana-Karataş olduğu belirtilmiştir (Şekil 3.1).

Örneklerin toplandığı istasyonlar Şekil 3.1'de harita üzerinde verilmiştir. Örneklerin kodu, avlandıkları ve topladıkları bölgelerin koordinatları, örneklemeye tarihleri Çizelge 3.1 'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Çipura (*Sparus aurata*)'nın populasyonlara göre örneklemeye bilgileri

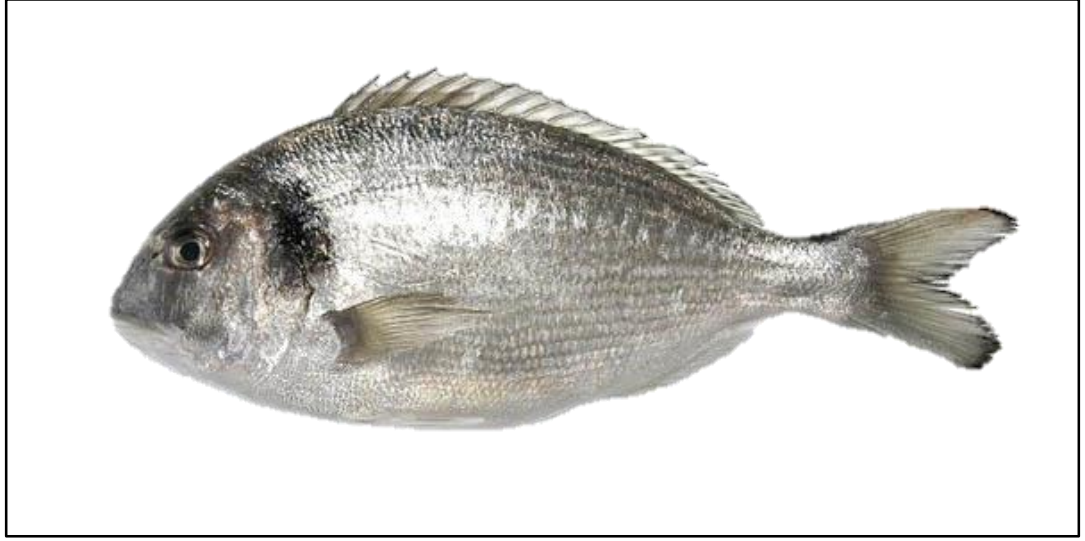
Örneklemeye Bölgesi	Populasyon Kodu	Örneklemeye Sayısı	Bölgelerin Koordinatları	Örneklemeye Tarihi
İskenderun Körfezi (Doğal)	İSK-D	25	36°37'23.0"N 36°05'00.9"E	05.04.2017
İskenderun Körfezi (Kültür)	İSK-K	25	36°30'34.5"K 35°49'12.1"D	15.06.2017



Şekil 3.1. Çipura (*Sparus aurata*) örnekleme alanları ● İSK-D: İskenderun Doğal Populasyonu, ▲ İSK-K: İskenderun Kültür Populasyonu (Mazman Kültür ve Deniz Balıkçılığı), ★ Anaç kaynaklarının alındığı işletme (Akuvatur Su.Ür.Tic.ve San.A.Ş.)

Çalışmada kullanılan çipura balığının genel görünümü (Şekil 3.2) ve sistematik sınıflandırılması Nelson (2006) ve Turan ve ark., (2007)' ye göre verilmiştir.

ÂLEM	: Animalia
ŞUBE	: Chordata
SINIF	: Actinopterygii
TAKIM	: Perciformes
FAMİLYA	: Sparidae
CİNS	: Sparus
TÜR	: <i>Sparus aurata</i> Linnaeus, 1758



Şekil 3.2. Çalışmada kullanılan *Sparus aurata* 'nın genel görünümü

### 3.1.2. Kullanılan Araç ve Gereçler

Çalışmada DNA elektroforezis tankı, güç kaynağı, UV transilluminatör cihazı, Vorteks cihazı, İnkübatör, Mikrosantrifüj cihazı, Hassas terazi, PCR cihazı ve otoklav kullanılmıştır. Kullanılan cihazların teknik özellikleri Çizelge 3.2'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.2. Kullanılan cihazların teknik özellikleri

Cihaz İsmi	Teknik Özellikler
DNA Elektroforezis Tankı	15 x 6 x 9 cm
UV görüntüleyici	24.1 x 33.7x 12.1 cm
Mikrosantrifüj	100-15000 rpm
Hassas Terazi	Hassasiyet 0.1 mg
İnkübatör	120lt / 80 °C
PCR Cihazı	98 Tüplük
Otoklav	Max. 120 °C

## 3.2. Yöntem

### 3.2.1. Doku Örneklerin Elde Edilmesi ve Korunması

Toplanan balık örnekleri, fiziksel ve biyolojik bozulmayı önleme amacıyla ayrı ayrı etiketlenmiş ve polietilen torbalara yerleştirilmiştir. Doğal popülasyondan avlanan örneklerin kıyıya ulaşınca kadar teknedeki dondurucuya veya buza konulmuş, kıyıya geldikten sonra ise laboratuvara ulaşınca kadar soğuk taşıma kabında (buzda) muhafaza edilerek laboratuvara getirilmiş ve derin donduruculara yerleştirilmiştir. Laboratuvara getirilen örneklerden doku örnekleri alınmış ve % 95'lik etil alkolde vida kapaklı tüpler içerisinde +4 °C'de muhafaza edilmiştir. Bunun dışında örneklerden yaş doku örnekleri alınıp bu örnekler derin dondurucuda (-20°C) muhafaza edilmiştir.

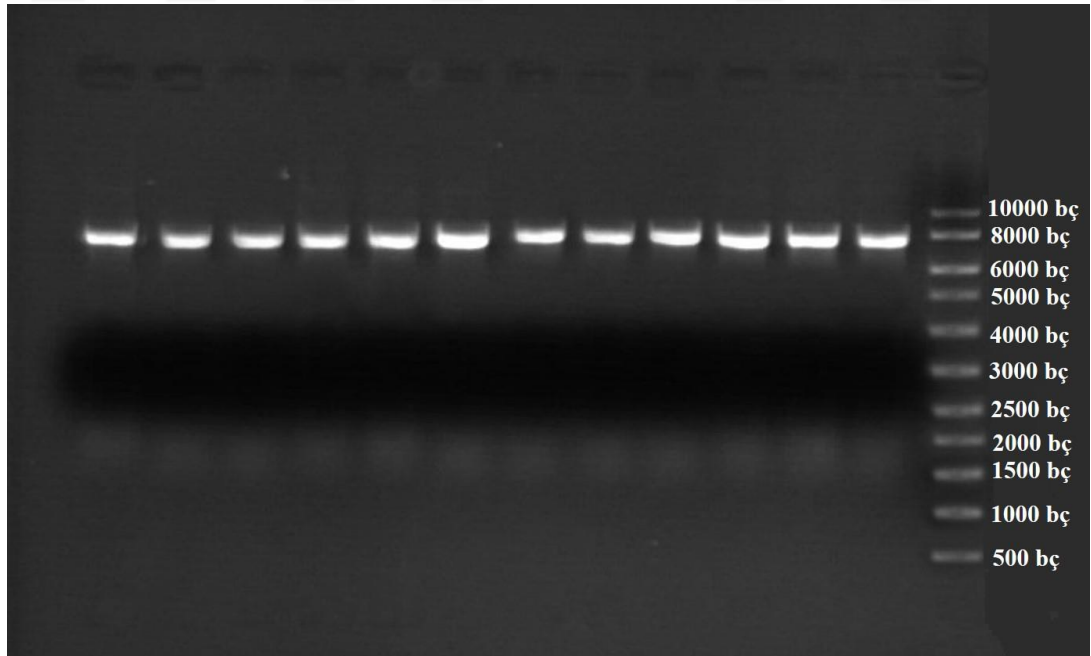
### 3.2.2. Mitokondriyal DNA'nın Ekstrakte Edilmesi

MtDNA'nın elde edilmesinde Blin ve Stafford (1976) tarafından verilen standart fenol kloroform yöntemi uygulanmıştır. Çipura örneklerinin kas dokusundan alınan ve %95'lik etil alkol içerisinde vida kapaklı tüplerde muhafaza edilen dokulardan yaklaşık 50 mg, otoklavlanan eppendorf tüpler içerisine alındıktan sonra üzerlerine sırasıyla 300 µl CTAB (20 g/l CTAB; 1.4 M NaCl; 100 mM Tris-HCl pH 8.0; 20 mM EDTA) tampon çözeltisi, 50 µl Proteinase K ve 30 µl RNase A ilave edilip cam çubuk aracılığıyla ezilmiştir. Daha sonra örnekler vortekslenip önceden 37.5°C'ye ayarlanan İnkübatör de 1 gece bekletilmiştir. Etüvden alınan örnekler vortekslenip 380 µl fenol kloroform isoamil alkol (25:24:1) ilave edilip 15 dakika ters düz edilmek suretiyle karıştırılmıştır. Daha sonra 12000 rpm' de 10 dakika santrifüj edilen örneklerin üst tabakaları farklı tüplere alınarak üzerlerine 380 µl kloroform isoamil alkol (24:1) ilave edilerek tekrar 15 dakika ters düz edilmek suretiyle karıştırılmıştır. Daha sonra örnekler 12000 rpm' de 10 dakika santrifüj edilerek üst tabakalar yeni eppendorf tüplere aktarılmıştır. Bu işlemden sonra örneklerin üzerlerine, derin dondurucuda muhafaza edilen %100'lük etanol den 1 ml eklenip derin dondurucuda 2 saat bekletilmiştir. Derin dondurucudan çıkarılan örnekler 12000 rpm' de 10 dakika santrifüj edilerek içlerindeki sıvı dikkatle boşaltılarak yine derin dondurucuda muhafaza edilen bu sefer %70'lik etanolden 1 ml eklenip 12000 rpm de 3 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj işleminden sonra dikkatlice tüplerdeki sıvı boşaltılarak tüpler peletlerin kuruması için desikatörde bir süre vakumlanmıştır. Daha

sonra kuruyan peletlerin üzerine 100 µl TE buffer eklenerek mitokondriyal DNA ekstraksiyonu tamamlanmıştır.

### 3.2.3. DNA'nın Kalite Tayini

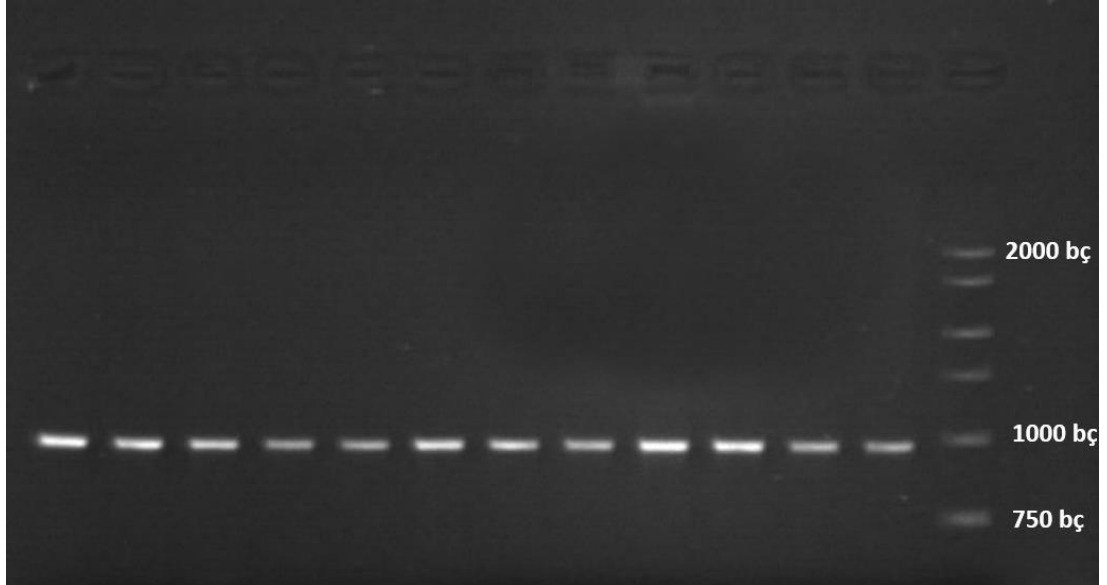
DNA örneklerinin miktarı belirlendikten sonra kalitesinin tespiti için % 0.7'lik agaroz jel hazırlanmıştır. Bunun için 0.175 gr agarose, 25 ml saf su ile karıştırılıp mikrodalga fırında köpürüp saydamlaşana kadar bekletilmiştir. Saydamlaşan jel üzerine 0.5 ml seyreltilmiş 1x TBE Buffer ve 1.5 µl Ethidium Bromür eklenerek 60°C' ye kadar soğutulan jel 15x6x9 cm ebatlarındaki elektroforez küveti içerisine dökülerek soğumaya bırakılmıştır. Jel soğuduktan sonra, içerisinde seyreltilmiş 1x TBE tamponu bulunan elektroforez tankına koyulmuş ve 3 µl DNA örneğinden 6 µl'lik yükleme tamponu çözeltisinden karıştırılarak sırasıyla jeldeki kuyucuklara yerleştirilmiştir. Elektrik akımının gerçekleşmesi için, güç kaynağı 10 dk süre ile 25 mA ve 50 V'a ayarlanmıştır. Elektroforetik göç tamamlandıktan jel, elektroforez tankından dikkatlice alınmış ve UV transilluminatör cihazında, UV koruyucu maske ile örneklerin DNA yapıları gözlenmiştir (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. Çipura örneklerinden ekstrakte edilen total DNA'nın %0.7'lik agaroz jel üzerinde kontrolü

### 3.2.4. Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile 16S rRNA Geninin oğaltılması

Çipura populasyonları arasındaki genetik farklılığın derecesini belirlemek amacıyla PZR Metodu ile mtDNA 16S rRNA ve Cyt-B genleri çoğaltılmıştır (Saiki ve ark. 1988), ancak kullanılan genlerden sadece 16S rRNA geninden sağlıklı sonuçlar alınmıştır. Sağlıklı sonuçlar vermediği için Cyt-B geni çalışmadan çıkarılmıştır. PCR uygulamasında; ilk önce 95°C’de 2 dakika denatürasyon (1 döngü) ve bunu takiben 94°C’de 15 saniye strand DNA denatürasyonu, 58°C’de 45 saniye primer bağlanma sıcaklığı, 72°C’de 1:30 dakika ilk uzama (30 döngü) ve 72°C’de 8 dakika (1 döngü) son uzama safhası izlenmiştir. PCR ürünleri %1.5’lik agaroz jel üzerinde kontrol edilmiştir (Şekil 3.4).



Şekil 3.4. Çipura örneklerinden PCR sonrası elde edilen 16S rRNA PCR ürünlerinin %1.5’lik agaroz jel üzerinde kontrolü

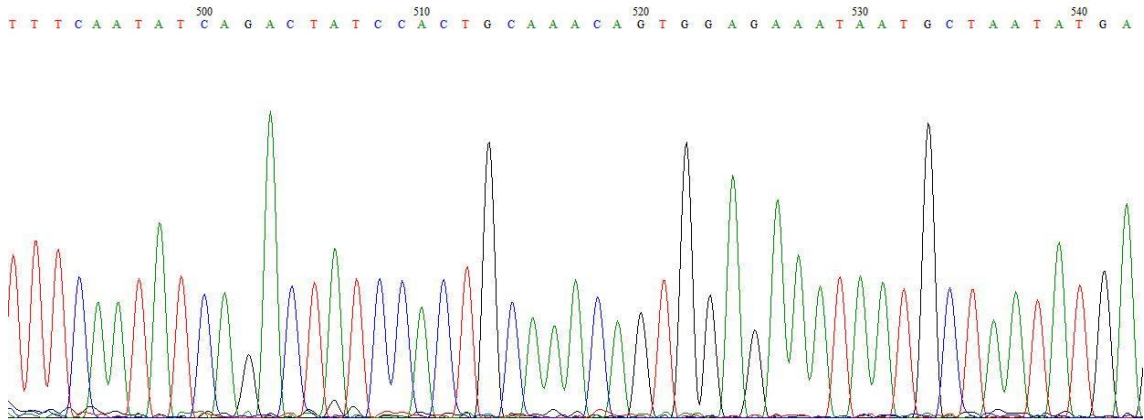
Bunun için aşağıda dizinleri verilen universal primerlerden yararlanılmıştır. Primerler INVITROGEN (ABD) firmasından sağlanmıştır.

16S rRNA-A: 5’-CG (CT) AAG GGA A (ACT) G CTG AAA-3’

16S rRNA-B: 5’-CCG GTC TGA ACT CAG ATC ACG TAG-3’

### 3.2.5. DNA Dizin Analizi (Sequencing)

Genom sekansının belirlenmesinde en yaygın kullanılan yöntem Sanger-Coulson zincir sonlama metodudur. Bu yöntem ile tek seferde dizi analizi yapılamayacak kadar büyük olan DNA'lar önce küçük parçalara bölünür. Elde edilen her bir parça bir plazmite klonlanır. Klonlanan plazmitler tek tek dizilenir. Bu dizilerin biyoinformatik analizlerle bir araya getirilmesiyle uzun DNA parçasının dizisi elde edilir. Bu diziler kapiller jel elektroforezi kullanılarak okunur. Dizi analiz yönteminin hassasiyeti ve verdiği güvenilir sonuçlar bu yöntemin kullanımı oldukça yaygınlaştırmıştır. Artan analiz sayısı, uzun zaman ve yüksek iş gücü gerektirir. Bu gelişmeler sonucunda otomasyon kaçınılmaz olmuş ve otomatik DNA dizi analizleri uygulamaları yaygınlaşmıştır. Otomatik analizde de Sanger'in enzimatik DNA sentezine dayanan zincir sonlanma yöntemi kullanılmıştır. Otomatik DNA dizi analiz cihazları basit olarak, sabit bilgisayarda yüklü programlar ile bu programların yönettiği elektroforez sistemini içerir. Elektroforetik ünitelerde bulunan lazer ışık kaynağı ile monokromatik bir ışık oluşturulur. Söz konusu DNA'nın bulunduğu jelmatriks bu monokromatik ışık ile taranır. Elektroforez süresince DNA'ya bağlanan floresan boya ışık ile taranan bölgeye geldiğinde uyarılır. Uyarılan boya kendi için karakteristik olan dalga boyunda ışığı geri yansıtır. Yansıyan bu ışık demeti bir detektör tarafından kaydedilir. Kaydedilen veriler bilgisayar programları ile değerlendirilerek sonuçlar grafiksel ya da matematiksel olarak bilgisayar ekranına aktarılır. DNA dizi analizi cihazlarında 6 bazdan 1000 baza kadar güvenli okuma yapılabilmektedir (Şekil 3.5.) (Sambrook ve ark., 1989).



Şekil 3.5. Çipura örneklerinin DNA dizin analizi sonucu elde edilen 16S rRNA gen bölgesinin parça kromotografisinden bir örnek

### **3.2.5. Verilerin Analizi**

Genetik verilerin analizinde BioEdit, Mega7, Arlequin 3.5 ve DnaSP bilgisayar paket programları kullanılmıştır (Hall, 1999; Librado,P ve Rozas J., 2009; Excoffier, L. ve H.E. L. Lischer., (2010); Kumar ve ark., 2016).

Populasyonlar arasındaki genetik çeşitlilik ve farklılaşmanın Nei (1978) ve Nei ve Tajima (1981)'ya göre belirlenmiştir.





#### 4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

Çoğaltılan mtDNA 16S rRNA bölgelerinin DNA dizileme reaksiyonlarının yapılması için ekstrakte edilen DNA'lar İstanbul'da bulunan Medsantek Laboratuar Hizmetleri firmasına gönderilmiştir. DNA dizilerinin görsel olarak gözden geçirilmesi için BioEdit programı kullanılmıştır (Hall, 1999). DNA dizilerinin kirlilik düzeyine bakılarak istenilen saflık düzeyinde olan dizilerde gerekli analiz işlemleri yapılarak diziler işlendi. Dizi hizalaması için Clustal W programı kullanıldı. Kopyalanan diziler Clustal W programına yapıştırılarak dizi hizalaması gerçekleştirildi (Thompson ve ark., 1994).

Populasyonların DNA Dizin Analizi tekniği ile genetik analizleri için mtDNA 16S rRNA ve CytB gen bölgeleri seçilmiş fakat yapılan PZR sonucunda CytB gen bölgesinden sonuç elde edilemediğinden çalışmadan çıkartılmıştır. 16S rRNA gen bölgesinde ise doğal populasyondan 25 örnekte 9 adet, kültür populasyonunda ise 25 örnekte 22 adet olmak üzere toplam 31 adet sekans dizileme sonucu elde edilmiştir.

Dizileri hizalanan *S. aurata* populasyonlarının Nei (1978) ve Nei ve Tajima (1981)'ya göre genetik çeşitlilik ve genetik uzaklık verileri kullanılarak populasyonlar arasındaki genetik çeşitlilik ve farklılaşmanın derecesi belirlenmiştir. Yapılan model test sonucu sekanslarımız için en iyi model Jukes-Cantor modeli bulunmuştur. En iyi yer değiştirme şablonunu oluştururken en düşük BIC (Bayesian Bilgi Kriteri) skoruna sahip modeller dikkate alınmıştır. (Çizerge 4.1) (Jukes ve Cantor, 1969).

Çizelge 4.1. En iyi model test sonuçları. En iyi (en düşük) BIC (Bayesian Bilgi Kriteri) skoruna sahip modeller dikkate alınmıştır

Model	#Param	BIC	AICc	lnL	R
<b>JC</b>	<b>59</b>	<b>3239.643</b>	<b>2758.749</b>	<b>-1320.237</b>	<b>0.5</b>
K2	60	3243.690	2754.650	-1317.182	1.449
HKY	63	3246.396	2732.919	-1303.302	1.448
T92	61	3247.236	2750.050	-1313.877	1.449
JC+G	60	3248.342	2759.303	-1319.508	0.5
JC+I	60	3248.870	2759.831	-1319.772	0.5
K2+G	61	3252.347	2755.162	-1316.433	1.467
K2+I	61	3252.907	2755.721	-1316.713	1.454
HKY+G	64	3255.074	2733.452	-1302.563	1.465
HKY+I	64	3255.618	2733.996	-1302.836	1.453

Analiz edilen 16S rRNA bölgesinin uzunluğu 830 bp olarak saptanmıştır. Dizi analizi sonucunda elde edilen nükleotid kompozisyonu Çizelge 4.2’de verilmiştir. Yapılan analizlerde T bazının oranı % 21.9, C bazının oranı % 24.1, A bazının oranı % 32.9, G bazının oranı ise % 21.1 olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4.2. Çalışmada kullanılan 830 baz çifti uzunluğundaki 16S rRNA geninin ortalama nükleotid kompozisyonu (%)

Ortalama Nükleotid Kompozisyonu (%)	
<b>T</b>	21.9
<b>C</b>	24.1
<b>A</b>	32.9
<b>G</b>	21.1

Santos ve ark., (2003), 16S rRNA geni ile yaptıkları DNA sekans analizi çalışmasında, *Macrodon ancylodon* populasyonlarındaki nükleotid kompozisyonunu; A= % 28.7, T= % 23.6, C= % 24.4 ve G= % 23.4 bulmuşlardır.

Guo ve ark., (2004), Çin kedi balıklarında (Sisoridae) mtDNA 16S rRNA geni ile gerçekleştirdikleri filogenetik analizde T bazının oranını % 22.5, C bazının oranını % 23.7, A bazının oranını % 31.2 ve G bazının oranını % 22.6 olarak bulmuşlardır.

Bañon ve ark., (2005), yassı balıklar (Pleuronectiformes) takımındaki türlerin 16S rRNA geni ile filogenetik analizini yaptıkları çalışmalarında A bazının oranını % 29.07, C bazının oranını % 25.83, G bazının oranını % 22.83 ve T bazının oranını da % 22.74 bulmuşlardır.

Ramanadevi ve Thangaraj (2013), Elopsidae familyasına ait 5 türün (*Elops saurus*, *E. affinis*, *E. smithi*, *E. machnata* ve *E. hawaiiensis*) filogenetik analizini mtDNA 16S rRNA geni ile yapmışlardır. Çalışmada 16S rRNA geninin nükleotid kompozisyonunu; A= % 31.63, T= % 13.99, C= % 30.99 ve G= % 23.39 bulmuşlardır.

Mitokondriyal DNA 16S rRNA geni ile yapılan diğer sekans analizi çalışmalarında Guo ve ark., (2004), Bañon ve ark., (2005) ve Ramanadevi ve Thangaraj (2013), da görüldüğü gibi adenin bazının diğer bazlara göre yüksek oranda çıkması çalışmamızdaki sonucu desteklemektedir.

DNA dizin analizi yapılarında gösterilen 830 bç'lik bölgesi çalışılan 16S rRNA geninin 809 bç'lik kısmı evrimsel süreçten etkilenmemiş bölgelerden oluşurken 21 bç'lik kısmı ise populasyonlar arasında çeşitli sebeplerden dolayı değişen bölge olarak tespit edilmiştir. 3 bç'lik bölge ise populasyonlar arasında parsimoni anlamlı bölge (belirteç) görevi görmüştür.

Substitüsyon oranlarının maximum likelihood yöntemiyle belirlenmesinde Jukes-Cantor metodu kullanılmıştır (Çizelge 4.3). Transisyonel substitüsyonlar koyu renkte, transversiyonel substitüsyonları ise italik olarak gösterilmiştir. Substitüsyon oranları bir bazdan diğerine substitüsyon geçiş ihtimalini temsil etmektedir. Transisyonel substitüsyon oranları A/G 0.0833, (T/U)/C 0.0833, C/(T/U) 0.0833 ve G/A 0.0833 olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.3. Çalışmada kullanılan 830 baz çifti uzunluğundaki 16S rRNA geninin substitüsyon matrisi

Nükleotid	A	T/U	C	G
A	-	<i>0.0833</i>	<i>0.0833</i>	<b>0.0833</b>
T	<i>0.0833</i>	-	<b>0.0833</b>	<i>0.0833</i>
C	<i>0.0833</i>	<b>0.0833</b>	-	<i>0.0833</i>
G	<b>0.0833</b>	<i>0.0833</i>	<i>0.0833</i>	-

16S rRNA geninin DNA dizin analizi ile doğal ve kültür popülasyonunda toplam 12 haplotip gözlemlenmiştir. Haplotip sayısı bakımından kültür popülasyonunda 7, doğal popülasyonunda 6 haplotip gözlemlenmiştir (Çizelge 4.4). Genel haplotip olan Haploit\_1 kültür popülasyonunda 12, doğal popülasyonunda ise 4 adet gözlemlenmiştir. Haploit\_2, Haploit\_3, Haploit\_4, Haploit\_5, Haploit\_6 ve Haploit\_7 sadece kültür popülasyonunda, Haploit\_8, Haploit\_9, Haploit\_10, Haploit\_11 ve Haploit\_12 ise sadece doğal popülasyonlarda gözlemlenmiştir. *S.aurata* popülasyonlarındaki 16S rRNA haploitlerinin değişken nükleotid bölgeleri Çizelge 4.5’de verilmiştir. Kültür popülasyonunda haplotip çeşitliliği 0.6710, doğal popülasyondaki haplotip çeşitliliği 0.8333 olarak bulunmuştur (Çizelge 4.6). Popülasyonlar arası ortalama haplotip çeşitliliği ise 0.7204 olarak bulunmuştur (Çizelge 4.7).

Çizelge 4.4. *S.aurata* popülasyonlarındaki 16s rRNA haploitlerinin frekansları ve popülasyonlara göre dağılımı

Haploit	Popülasyonlar	
	Kültür	Doğal
Hap1	12	4
Hap2	1	-
Hap3	5	-
Hap4	1	-
Hap5	1	-
Hap6	1	-
Hap7	1	-
Hap8	-	1
Hap9	-	1
Hap10	-	1
Hap11	-	1
Hap12	-	1
<b>Toplam</b>	<b>22</b>	<b>9</b>

Çizelge 4.5. *S.aurata* populasyonlarındaki 16S rRNA haplotitlerinin değişken nükleotid bölgeleri

	10 bç										20 bç										
<b>Hap1</b>	A	C	T	A	A	T	C	G	T	C	G	C	G	C	G	A	A	A	G	C	A
<b>Hap2</b>	G	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
<b>Hap3</b>	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
<b>Hap4</b>	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
<b>Hap5</b>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
<b>Hap6</b>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.
<b>Hap7</b>	.	.	.	.	.	C	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
<b>Hap8</b>	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
<b>Hap9</b>	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
<b>Hap10</b>	.	.	.	G	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
<b>Hap11</b>	.	.	A	G	G	.	.	.	C	.	.	G	C	G	.	.	.	G	A	.	.
<b>Hap12</b>	G	.	.	.	.	.	T	.	.	A	.	.	.	.	A	G	.	.	.	G	C

Iguchi ve ark., (1999), 3 doğal populasyondan ve 6 kültür populasyonundan aldıkları *Plecoglossus altivelis* örnekleriyle mtDNA Dloop bölgesini kullanarak yaptıkları dizi analizi çalışmasında, doğal populasyonların haplotip çeşitliliğini minimum 0.978, maksimum 1.0, kültür populasyonların haplotip çeşitliliğini ise minimum 0,356, maksimum 0.867 olarak bulmuşlardır.

Sekino ve ark., (2002), 3 doğal populasyondan ve 3 kültür populasyonundan aldıkları *Paralichthys olivaceus* örnekleriyle mikrosatalit ve mtDNA Dloop gen bölgesi dizi analizini yaptıkları çalışmalarında, kültür populasyonlarının haplotip çeşitliliğini minimum 0.672, maksimum 0.798, doğal populasyonların haplotip çeşitliliğini ise 0.998 olarak bulmuşlardır.

Romana-Eguia ve ark., (2004), 6 doğal populasyondan aldıkları Asya Nil tilapyası (*Oreochromis niloticus*) ve 5 kültür stokundan aldıkları kırmızı hibrit tilapyasını (*Oreochromis mossambicus* x *O. niloticus*) örnekleriyle mikrosatelit ve mtDNA-RFLP (DLoop) teknikleri kullanarak yaptıkları çalışmada kültür stoku olan kırmızı hibrit tilapyasının haplotip çeşitliliğini minimum 0.183, maksimum 0.499, doğal stok örnekleri

olan asya nil tilapyasının haplotip çeşitliliğini minimum 0.344, maksimum 0.805 bulmuşlardır.

Erteken ve ark., (2007), *Sciaena umbra* ve *Umbrina cirrosa* populasyonlarının genetik yapısını mtDNA 16S rRNA geninde incelemişlerdir. *S. umbra* ve *U. cirrosa* populasyonlarındaki haplotip çeşitliliği sırasıyla 0.526 ve 0.736 olarak bulunmuştur.

Domingues ve ark., (2007), Atlantik ve Akdeniz kıyılarındaki *Coryphoblennius galerita* populasyonunu 16S rRNA geni kullanarak inceledikleri çalışmalarında haplotip çeşitliliğini 0.676 olarak bulmuşlardır.

Mejri ve ark., (2011), Adriyatik Denizi'ndeki *Pomatoschistus marmoratus* populasyonlarını 16S rRNA geni ile inceledikleri çalışmalarında haplotip çeşitliliğini 0.70 olarak bulmuşlardır.

Uyan ve Turan., (2017), Türkiye denizlerindeki *Chelidonichthys lucerna* populasyonlarını mtDNA sekans analizi yöntemiyle 16S rRNA geni kullanarak yaptıkları populasyon genetiği çalışmasında, haplotip çeşitliliğini 0.7558 olarak bulmuşlardır.

Doğal ve kültür çalışmaları üzerinde yapılan haplotip çeşitliliği çalışmalarında Iguchi ve ark., (1999), *Plecoglossus altivelis* doğal populasyonların haplotip çeşitliliğini maksimum 1.0, kültür populasyonların haplotip çeşitliliğini ise maksimum 0.867, Sekino ve ark., (2002), *Paralichthys olivaceus* kültür populasyonlarının haplotip çeşitliliğini maksimum 0.798, doğal populasyonların haplotip çeşitliliğini ise maksimum 0.998, Romana-Eguia ve ark., (2004), kültür stoku olan kırmızı hibrit tilapyasının haplotip çeşitliliğini maksimum 0.499, doğal stok örnekleri olan asya nil tilapyasının haplotip çeşitliliğini maksimum 0.805 olarak bulmuşlardır. Kültür stoklarının haplotip çeşitliliklerinin çalışmamızda da olduğu gibi (0.6710) doğal populasyonlara göre (0.8333) çok düşük çıkması kültür populasyonlarındaki sınırlı sayıda anaç olmasından kaynaklanıyor gibi görünüyor. Haplotip çeşitliliğinin düşük çıkması kültür populasyonlarının genetik darboğaza girdiğinin göstergesi olabilir. 16S rRNA geni ile yapılan diğer deniz balığı çalışmalarında düşük haplotip çeşitliliği çevresel ve insan kaynaklı faktörlerin yanı sıra (Uyan ve Turan, 2017) mevcut türün özelliği (Palumbi,1994) ve 16S rRNA geninin karakteristik özelliği olabilir (Erteken ve ark., 2010).

Jukes-Cantor modeline göre (Jukes ve Cantor, 1969) gerçekleştirilen analizlerde, populasyonlar içi ortalama genetik uzaklık değerleri (Estimates of Average Evolutionary

Divergence over Sequence Pairs within Groups) kültür popülasyonu için 0.00109, doğal popülasyon için 0.00526 olarak bulunmuştur. Kültür popülasyonunun genetik çeşitliliği (diversity) 0.00108, doğal popülasyonun genetik çeşitliliği ise 0.00525 olarak bulunmuştur (Çizelge 4.6).

Çizelge 4.6. *S.aurata* Popülasyonlar için ortalama genetik uzaklık, genetik çeşitlilik ve haplotip çeşitliliği değerleri

Popülasyon	Genetik Uzaklık	Genetik Çeşitlilik	Haplotip Çeşitliliği
Kültür	0.00109	0.00108	0.6710
Doğal	0.00526	0.00525	0.7204

Wang ve ark., (2011), Güney Çin Denizi ve Güneydoğu Asya kıyılarında mikrosatelit DNA yöntemiyle portakal benekli orfoz (*Epinephelus coioides*)'un doğal ve kültür stokları üzerindeki genetik çeşitlilik ve genetik uzaklığı üzerinde yaptıkları çalışmada, kültür popülasyonlarındaki genetik çeşitliliğini 0.689, doğal popülasyonlardaki çeşitliliği 0.748 olarak bildirilmiştir.

Loukovitis ve ark., (2014), Avrupa levrek *Dicentrarchus labrax*'ın genetik çeşitliliğini dört Yunan ticari çiftliği popülasyonu ve Yunanistan ve Fransa'dan üç doğal popülasyonla beş polimorfik mikrosatelit belirteci kullanarak karşılaştırdıkları çalışmada kültür popülasyonlarının genetik çeşitliliğini 0.640, doğal popülasyonların genetik çeşitliliğini 0.738 olarak bildirilmiştir.

Kumar ve ark., (2016), Hindistan kıyılarındaki *Lates calcarifer* balıklarının 2 kültür popülasyonu ile 5 doğal popülasyon arasındaki nükleotid çeşitliliği ve haplotip çeşitliliğini mtDNA COI bölgesini kullanarak araştırdıkları çalışmada, kültür popülasyonlarının genetik çeşitliliğini 0.0010, doğal popülasyonların genetik çeşitliliğini ise 0.0052 olarak bildirilmiştir.

Çizelge 4.6'da ve yapılan benzer çalışmalar olan *Epinephelus coioides* Wang ve ark., (2011), *Dicentrarchus labrax* Loukovitis ve ark., (2014), ve *Lates calcarifer* Kumar ve ark., (2016)'nda da görüldüğü üzere kültür popülasyonlarındaki genetik çeşitlilik oranlarının doğal popülasyonlara oranla oldukça düşüktür. Bunun nedeni olarak kültür

populasyonlarının sadece kendi soylarından gelen bireylerle çiftleşmesi (inbreeding) olduğu düşünülmektedir.

Bütün populasyonların ortalama genetik çeşitliliği (Estimate of the Mean Evolutionary Diversity for the Entire Population) değeri 0.00229 olarak bulunmuştur. Populasyonlar arası ortalama genetik çeşitlilik değeri (Estimates of the Mean Interpopulational Evolutionary Diversity) -0.00088 olarak bulunmuştur (Çizelge 4.7).

Populasyonlar arası genetik uzaklık değeri (Estimates of Evolutionary Divergence over Sequence Pairs between Groups), 0.00316 olarak bulunmuştur (Çizelge 4.7)

Çizelge 4.7. *S. aurata* doğal ve kültür populasyonlar arası ortalama genetik uzaklık değeri (alt diyagonal) ve populasyonlar arası ortalama haplotip çeşitliliği (kalın), populasyonlar arası ortalama genetik çeşitlilik değeri (üst diyagonal)

Populasyon	Kültür	Doğal
Kültür	-	-0.00088
Doğal	0.00316/ <b>0.7204</b>	-

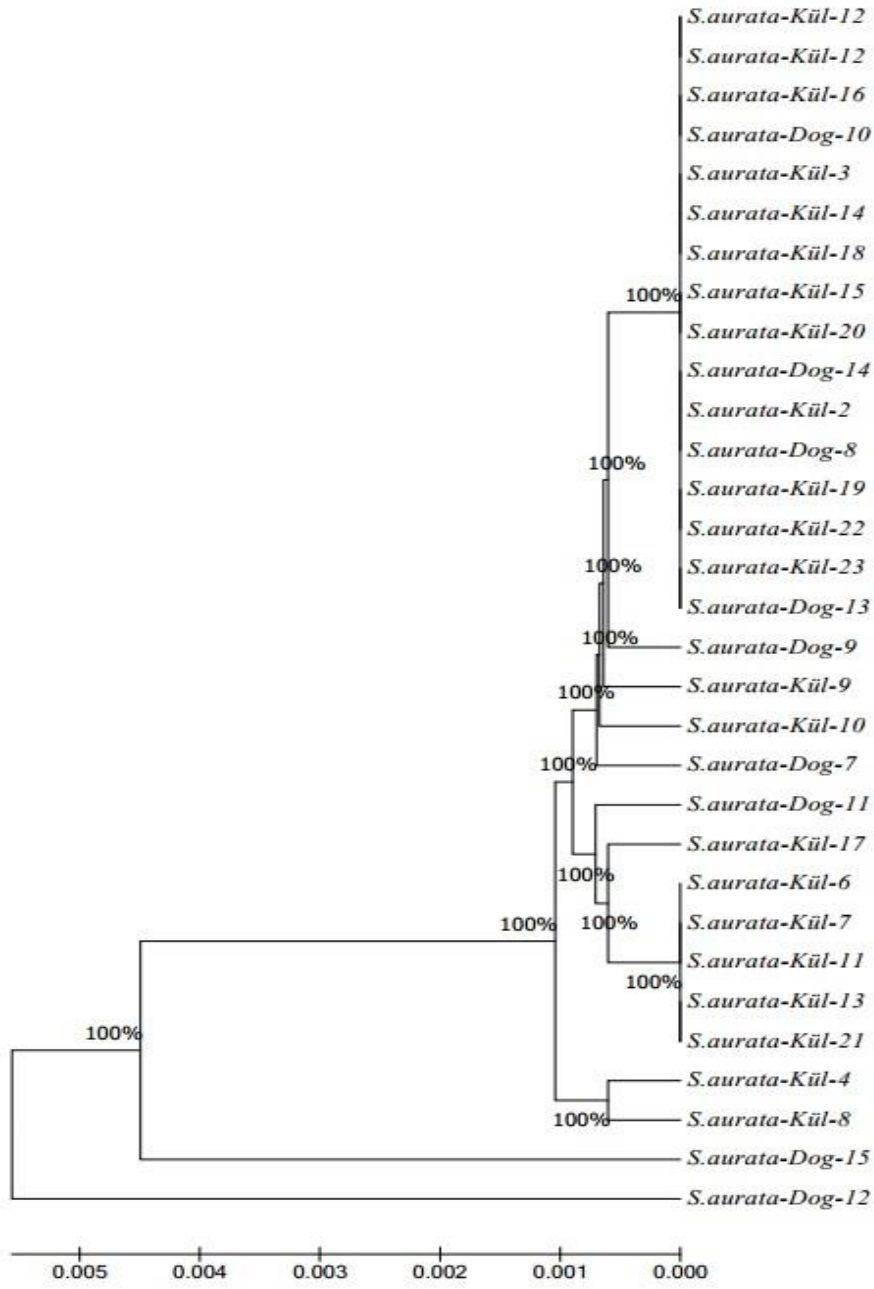
Dogankaya ve Bekcan., (2012), ülkemizin Akdeniz kıyılarında çipura balıklarının doğal ve kültür populasyonlarının genetik çeşitliliklerini mtDNA 12s rRNA, COII ve CytB gen bölgelerini kullanarak inceledikleri çalışmada, bütün örneklerin ortalama genetik çeşitlilik değerlerini 12s rRNA geninde 0.00594, COII geninde 0.00358 ve CytB geninde 0.00845 olarak bildirmiştir.

Çizelge 4.7’de ve Dogankaya ve Bekcan., (2012)’da görüldüğü üzere populasyonlar arasında düşük genetik çeşitliliğin görülmesi hatta genetik çeşitliliğin görülmemesi populasyonların gelecekte devamlılığının tehlikede olduğunun bir göstergesi olduğu düşünülmektedir.

Veri setinin tamamı kullanılarak UPGMA (Tartılı Olmayan Çiftleştirilmiş Grup Metodu Aritmetik Ortalaması) algoritması ve Jukes-Cantor modeli temel alınarak bir bireylerin genetik ilişkisi ağacı oluşturulmuştur. Bireylerin genetik ilişkisi ağacının güvenilirliğinin sağlanması için gerçekleştirilen 1000 tekrarlı bootstrap test değerlerinin tamamı %100 olarak tespit edilerek oluşturulan kümelerin doğruluğunu sağlamıştır. İki ana daldan oluşan UPGMA ağacı toplamda 10 farklı küme altında toplanan örneklerin



genetik farklılıklarını göstermektedir (Şekil 4.1). Birinci ana dalda doğal populasyonlarından alınan 12 numaralı çipura örneği ağacın diğer dallarından bariz bir şekilde farklı olduğu görülmektedir. İkinci ana dal ise iki alt dala ayrılmış ve ilk alt dalda kültür ve doğal populasyon örnekleri neredeyse birbirine çok yakın olarak çıkmıştır. İkinci dalda görünen doğal populasyondan alınan 15 numaralı çipura örneği ise aynı ana dalda bulunduğu doğal ve kültür stokları örneklerine göre yüksek farklılık göstermektedir. Oluşturulan UPGMA ağacından da anlaşılacağı üzere kültür populasyonları ile doğal stoklar İskenderun Körfezi'nde iç içe girdiği gözlemlenmiştir. Doğal populasyondan sadece iki örneğin kültür populasyonundan farklılık göstermesi bu iki örneğin kültür populasyonu ile etkileşime girmeyip onlardan gen akışı olmadığının göstergesi olabilir.



Şekil 4.1. UPGMA algoritmasına göre hazırlanmış bireylerin genetik ilişkisi ağacı

Populasyonların dengede olup olmadığını tespit etmek amacıyla nötralite testlerinden olan Tajima (1989)'nın nötralite testi uygulanmıştır. (Çizelge 4.8). Bu test ile doğal olarak gelişen bir DNA dizisi ile doğal olmayan süreç kapsamında gelişen DNA dizisi ayırt edilmektedir (Nei ve Kumar, 2000). Çalışmamızda Tajima nötralite değeri (D) -2.227268 bulunmuştur.

Çizelge 4.8. Tajima nötralite testi sonuçları

$m$	$S$	$P_s$	$\Theta$	$\pi$	$D$
31	21	0,025301	0.006333	0.002280	-2.227268

m: Sekans Sayısı, S:Toplam Polimorfik Bölge Sayısı, Ps: Polimorfik Bölge Oranı,  $\Theta$ : Grup Mutasyon Oranı,  $\pi$ : Nükleotid Farklılıkları, D: Tajima Nötralite Değeri

Froukh (2007), *Larabicus quadrilineatus* populasyonlarının mtDNA dizin analizi yöntemiyle genetik yapı analizini incelemiş olduğu doktora tezinde Tajima nötralite değerini -2.142 olarak bulmuştur.

Uyan ve Turan, (2017), Türkiye denizlerindeki *Chelidonichthys lucerna* populasyonlarını mtDNA sekans analizi yöntemiyle 16S rRNA geni kullanarak yaptıkları populasyon genetiği çalışmasında, Tajima nötralite değerini -1.703976 olarak bulmuşlardır.

Çalışmamızda negatif çıkan Tajima “D” değerinin (-2.227268) Froukh (2007) ve Uyan ve Turan, (2017)’nin yaptığı çalışmalarda da görüldüğü üzere “D” değerinin negatif çıkması benzer çalışmalardaki sonuçlar göz önüne alındığında, İskenderun Körfezi’nde bulunan doğal çipura populasyonlarının kültür populasyonlarından meydana gelen gen akışı ile ciddi şekilde baskı altında olduğu düşünülmektedir. Bunun yanı sıra populasyonlar üzerinde yüksek oranda mutasyonlar, seçici süpürme (Selective Sweep), populasyon genişlemesi (Population Expansion), aynı soydan üreme, avcılık baskısı ve kirlilik gibi nedenlerden dolayı seleksiyona uğradığına işaret edebilir (Innan, 2000; Mc Vean, 2002; Koban ve ark., 2008; Lenger, 2011; Karan, 2015).

## 5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Bu çalışmada, ülkemizde gerek avcılık gerek kültür balıkçılığı açısından son derece önemli bir tür olan ve İskenderun Körfezi'nde açık deniz kafeslerinde kültür balıkçılığı yapılan *Sparus aurata* (Çipura)'nın İskenderun Körfezi'nde ki doğal çipura balığı stokları üzerindeki genetik etkisini 16s rRNA geni kullanarak tespit etmek amaçlanmıştır.

Elde edilen tüm sonuçlar ışığında mtDNA 16S rRNA sekans analizi ile İskenderun Körfezi'nde ki yetiştiriciliği yapılan çipura popülasyonu ve doğal çipura popülasyonu arasında genetik farklılığın düşük olduğu söylenebilir. Bunun nedeni olarak da yetiştiricilik kafeslerinden kaçan ve doğal popülasyonlar arasına karışan bireylerin oranının yüksek olduğu düşünülmektedir.

Kültür stoklarındaki genetik çeşitliliğin doğal stoklara oranla beş kat daha düşük olmasının en büyük sebebinin soy içi üreme olduğu düşünülmektedir (inbreeding). Balık üretim tesislerinin anaç kaynak yönetimlerini yapmaması, geleneksel damızlık stok yönetimine devam etmesi, anaç kaynaklarını hep aynı bölgeden alması ve damızlık stokların yıllık yenileme oranının düşük olması gibi sebeplerden dolayı kültür balığı stoklarının durumu son derece kritik bir sürece girdiği düşünülmektedir.

Yetiştiricilik kafeslerinden kaçışların önlenmesinin son derece zor olduğu ve daha çok doğal koşullara bağlı olduğu göz önüne alındığında, bakanlığın ilgili birimleri vasıtası ile açık deniz kafeslerinde balık yetiştiriciliği yapan tesislerin balık kaçışları hakkında bilgilendirilmesi ve kaçışların kayıt altına alınıp veri tabanı oluşturulması hakkında çalışmaların başlatılması gerekmektedir.

Kültür balıkçılığı sektöründe dünyanın en önemli ekonomisi olan Norveç'te kafeslerden kaçan kültür balıklarının doğal stoklar üzerindeki genetik etkisini azaltmak için uyguladığı kurallar ve açık denizde kültür balıkçılığı yapan her tesisin anaç balıklarını genetik olarak inceleyerek çiftliğe özel genetik bir kod vermesi buna örnek olarak gösterilebilir (Jensen ve ark., 2009).

Norveç bu uygulamayla kaçan balıkların hangi tesisten kaçtığını takip edip ilgili tesise ciddi yaptırımlar uygulamaktadır. Bu uygulamalar sayesinde 2004 yılından 2009 yılına kadar çiftliklerden kaçan balık oranını %44 oranında düşürmüştür (Jensen ve ark., 2009).

Çin de Norveç gibi kültür stoklarının doğal stoklar üzerindeki baskısını azaltmak ve çiftliklerden kaçışları önlemek için çiftlik izleme sistemi oluşturmuş ve bu sistem sayesinde hem çiftlikleri sürekli denetim altında tutmuş ve kafeslerden kaçış olduğunda anında tespit etme ve izleme imkânı yakalamıştır (Xu ve Zhang, 2007).

Kültür balıkçılığı sektöründe dünyanın en önemli ekonomileri olan bu iki ülkede yapılan çalışmalarda da görüldüğü gibi kültür stoklarının doğal stoklar üzerindeki genetik etkilerinin önüne geçmek için yapılan bu çalışmalar son derece önemli ve yapılması gereken eylemlerdir. Ülkemizde de bu gibi çalışmaların acilen başlatılması gerekmektedir. Böylelikle denizlerimizde bulunan doğal stoklarının üzerindeki kültür stoklarından kaynaklanan genetik etkilerin minimuma inmesi sağlanabilir.

Ülkemizde çipura kültür stoklarının doğal stoklar üzerindeki genetik etkisi, nükleer DNA'ya bağlı mikrosatelit gibi tekniklerle örnek sayılarının daha da arttırılıp çalışılarak elde edilen bulgular daha da geliştirilebilir.

## 6.KAYNAKLAR

- Akova, S. B., 2015. Aquaculture and its distribution in Turkey. **Population (billions)**, 6(6.5), 7-1.
- Alarcón, J. A., Magoulas, A., Georgakopoulos, T., Zouros, E., & Alvarez, M. C., 2004. Genetic comparison of wild and cultivated European populations of the gilthead sea bream (*Sparus aurata*). **Aquaculture**, 230(1), 65-80.
- Allendorf, F.W., Ryman, N. ve Utter, F., 1987. Genetics and fishery management: past, present and future. (Ed. Ryman N. ve Utter F). In: **Pop. Gen. Fish. Man.** University of Washington Press, 1 -20, Seattle, London.
- Alpbaz, A.G., 1990. **Deniz balıkları yetiştiriciliği**. Ege Üniversitesi Su Ürünleri Yüksekokulu Yayınları, No:20, s:335, Bornova-İzmir.
- Amann, G., Sletter, K.O., Llobete-Brossa, E., Amann, R. ve Anton, J., 2000. Direct proof for the presence and expression of two 5 % different 16S rRNA genes in individual cells of *Haloarcula marismortui*. **Extremeophiles**, 4: 373-376.
- Araki, H., Cooper, B., & Blouin, M. S., 2009. Carry-over effect of captive breeding reduces reproductive fitness of wild-born descendants in the wild. **Biology Letters**, 5(5), 621-624.
- Atay, D. ve Bekcan, S., 2000. **Deniz balıkları ve üretim tekniği**. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ders Kitabı, Yayın no:1515. Ankara.
- Awise, J.C., Lansman, R.A. ve Shade, R.O., 1979. The use of restriction endonucleases to measure mitochondrial DNA sequence relatedness in natural populations. Population structure and evolution in the genus *Peromyscus*. **Genetics**, 92: 279-95.
- Aydın, H., 2017. Türkiye’de kültür balıkçılığı potansiyeli ve akuakültür sektörünün ekonomiye katkısı. **Balkan Journal of Social Sciences Balkan Sosyal Bilimler Dergisi**, 6(11).
- Bañon, R., Pardo, G., Machordom, B., Foresti, A., Porto-Foresti, F., FC Azevedo, M., Sanchez, L. ve Martinez, P., 2005. Phylogenetic analysis of flatfish (Order Pleuronectiformes) based on mitochondrial 16s rDNA sequences. **Scientia Marina**, 69(4): 531-543.
- Barbaro, A., Francescon, A., Bozzato, G., Merlin, A., Belvedere, P., ve Colombo, L., 1997. Induction of spawning in gilthead seabream, *Sparus aurata* L., by a long-

- acting GnRH agonist and its effects on egg quality and daily timing of spawning. **Aquaculture**, 154(3-4), 349-359.
- Bauchot M.-L. & Hureau J.-C. (1990). Sparidae. in: Quero J.C., Hureau J.C., Karrer C., Post A., Saldanha L. (eds.) Checklist of the fishes of the eastern tropical Atlantic (CLOFETA). **JNICT, Lisbon; SEI, Paris; and UNESCO, Paris**. Vol. 2, p.790-812.
- Bermingham, E., McCafferty, S.S., ve Martin, A.P., 1997. Fish biogeography and molecular clocks: perspectives from the Panamanian isthmus. (Ed. T. D. Kocher ve C. A. Stepien) In: **Molecular systematics of fishes**. Academic Press, 113- 128, New York.
- Bernardi, G., Robertson, D.R, Clifton, K.E. ve Azurro, E., 2000. Molecular systematics, zoogeography, and evolutionary ecology of the Atlantic parrotfish genus *Sparisoma*. **Mol Phylogenet Evol.**, 15(2): 292-300.
- Blin, N. ve Stafford, D.W., 1976. A general method for isolation of high Molecular weight DNA from eukaryotes. **Nucleic acids research**, 3(9): 2303-2308.
- Bogenhagen, D.F., 1999. Repair of mtDNA in vertebrates. **Am.J.Hum.Genet.**, 64: 1276-1281.
- Booke, H.E., 1981. The conundrum of the stock concept are nature and nurture definable in fishery science?. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, 38(12): 1479-1480.
- Boore, J.L., 1999. Animal mitochondrial genomes. **Nucleic Acid Research**, 27: 1767-1780.
- Carvalho, G.R. ve Hauser, L., 1994. Molecular genetics and the stock concept in fisheries. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, 4: 269-271.
- Çelikkale, M. S., Düzgüneş, E., ve Okumuş, İ., 1999. Türkiye su ürünleri sektörü potansiyeli, mevcut durumu, sorunları ve çözüm önerileri. **İstanbul Ticaret Odası**, Yayın no: 1999-2. ISBN 975-512-231-0. İstanbul: 53-64.
- Dogankaya, L., ve Bekcan, S., 2012. Genetic Diversity among Wild and Cultured Stocks of *Sparus aurata* on Turkish Mediterranean Coasts Revealed by Mitochondrial DNA Sequences. **Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh**, 64.
- Domingues, V.S., Faria, C., Stefanni, S., Santos, R.S., Brito, A., Almada, V.C., 2007. Genetic divergence in the Atlantic-Mediterranean Montagu's blenny,

- Coryphoblennius galerita (Linnaeus,1758) revealed by molecular and Morphological characters. **Mol. Ecol.** 16, 3592e3605.
- Erlich, H.A, Gelfand,D.H. ve Sninsky, J.J., 1991. Recent advances in polymerase chain reaction. **Science**, 252:1643-1650.
- Erteken A, Çiftci Y, Firidin Ş, et al. Mavruşgil (*Sciaena umbra*) ve kötek (*Umbrina cirrosa*) balıklarının biyoekolojik özelliklerinin belirlenmesi. Proje Sonuç Raporu, Trabzon: Su Ürünleri Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü; 2010. Proje No: Tagem/ Haysüd/2007 Alt Proje No: 6-4.
- Excoffier, L. ve H.E. L. Lischer., 2010. Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. **Molecular Ecology Resources**. 10: 564-567.
- FAO., 2014. The State of World Fisheries and Aquaculture Opportunities and Challenges, Rome.
- FAO., 2016. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). The state of world fisheries and aquaculture. Erişim tarihi: 1 Mayıs 2017, <http://www.fao.org/3/ai5555e>.
- Farias, I.P., Ortí, G. ve Meyer, A., 2000. Total evidence: molecules, morphology, and the phylogenetics of cichlid fishes. **Journal of Experimental Zoology**, 288(1) : 76-92.
- Franchini, P., Sola, L., Crosetti, D., Milana, V., & Rossi, A. R., 2011. Low levels of population genetic structure in the gilthead sea bream, *Sparus aurata*, along the coast of Italy. **ICES Journal of Marine Science**, 69(1), 41-50.
- Froese, R. ve Pauly, D. (Eds.), 2017. Fish Base (www Database). World Wide Web electronic publication. www.fishbase.org, version (02/2017).pdf
- Froukh, T., 2007. Genetic population structure, gene flow, and Evolutionary history of selected ornamental fish in the red sea. Faculty of Biology and Chemistry University of Bremen. Doktora tezi. 62 s.
- Gauldie, R.W., 1991. Taking stock of genetic concepts in fisheries management. **Can. J. Fish. aquat. Sci.**, 48: 722-731.
- Glover, K. A., Pertoldi, C., Besnier, F., Wennevik, V., Kent, M., ve Skaala, Ø., 2013. Atlantic salmon populations invaded by farmed escapees: quantifying genetic introgression with a Bayesian approach and SNPs. **BMC genetics**, 14(1), 74.



- Glover, K. A., Solberg, M. F., McGinnity, P., Hindar, K., Verspoor, E., Coulson, M. W., ve Svåsand, T., 2017. Half a century of genetic interaction between farmed and wild Atlantic salmon: Status of knowledge and unanswered questions. **Fish and Fisheries**. ISO 690
- Gulland, J.A., 1969. Manual of methods fish stock assessment. Fish population analysis. FAO Man. **Fish. Sci.**, 154 s.
- Guo, X., Zhang, Y., He, S. ve Chen, Y., 2004. Mitochondrial 16S rRNA sequences variations and phylogeny of the Chinese sisorid catfishes. **Chinese Science Bulletin**, 49(15): 1586-1595.
- Hadidi, A., Levy, L., Podleskis, E.V., 1995. Polymerase chain reaction technology in plant pathology. In: **Molecular Methods in Plant Pathology**, (Eds. R. P. Singh, U. S. Singh.) Boca Raton: CRS Press. pp. 167-187.
- 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.
- Hanel, R.ve Sturmbauer, C., 2000. Multiple recurrent evolution of trophic types in northeastern Atlantic and Mediterranean seabreams (Sparidae, Percoidei). **Journal of Molecular Evolution**, 50(3): 276-283.
- Hindar, K., Ryman, N., ve Utter, F., 1991. Genetic effects of aquaculture on natural fish populations. **Aquaculture**, 98(1-3), 259-261.
- Houde, A. L., Fraser, D. J., O'Reilly, P., ve Hutchings, J. A., 2011. Relative risks of inbreeding and outbreeding depression in the wild in endangered salmon. **Evolutionary applications**, 4(5), 634-647.
- Iguchi, K. I., Watanabe, K., & Nishida, M., 1999. Reduced mitochondrial DNA variation in hatchery populations of ayu (*Plecoglossus altivelis*) cultured for multiple generations. **Aquaculture**, 178(3), 235-243.
- Ihssen, P.E., Evans, D.O., Christie, W.J., Reckahn, J.A.ve Des Jardine, R.L., 1981. Life history, morphology, and electrophoretic characteristics of five allopatric stocks of lake whitefish (*Coregonus clupeaformis*) in the Great Lakes region. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, 38(12): 1790-1807.
- Innan, H., ve Stephan, W., 2000. The coalescent in an exponentially growing metapopulation and its application to *Arabidopsis thaliana*. **Genetics**, 155(4); 2015-2019.

- Innis, M. A., Gelfand, D. H., Sninsky, J. J., ve White, T. J. (Eds.), 2012. **PCR protocols: a guide to methods and applications**. Academic press.
- Jamieson, A., 1973. Genetic tags for marine fish stocks. **Sea fisheries research**, 91-99.
- Jensen, Ø., Dempster, T., Thorstad, E. B., Uglem, I., & Fredheim, A., 2009. Escapes of fishes from Norwegian sea-cage aquaculture: causes, consequences and prevention. **Aquaculture Environment Interactions**, 1(1), 71-83.
- Jukes, T.H. ve Cantor, C.R., 1969. Evolution of protein molecules. (Ed. H.N. Munro) In: **Mammalian protein metabolism III**. Academic Press, 21 -132, New York.
- Karaiskou, N., Triantafyllidis, A., Katsares, V., Abatzopoulos, T. J., & Triantaphyllidis, C., 2009. Microsatellite variability of wild and farmed populations of *Sparus aurata*. **Journal of Fish Biology**, 74(8), 1816-1825.
- Karan, S., 2015. Kalkan (*Scophthalmus maeoticus* Pallas, 1811) populasyonlarının moleküler genetik ve fenotipik tekniklerle analizi. Mustafa Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi. 71 s.
- Koban, M., Sita, L. V., Le, W. W., ve Hoffman, G. E., 2008. Sleep deprivation of rats: the hyperphagic response is real. **Sleep**, 31(7): 927.
- Kumar, P., John, B. A., ve Kanagasabapathy, V., 2016. Mitochondrial DNA diversity of wild and hatchery reared strains of indian *Lates calcarifer* (Bloch). **In DNA Barcoding in Marine Perspectives** (pp. 203-212). Springer International Publishing.
- Kumar, S., Stecher, G., ve Tamura, K., 2016. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets. **Molecular biology and evolution**, 33(7), 1870-1874.
- Larkin, P.A., 1972. The stock concept and management of Pacific salmon. The stock concept in Pacific salmon, 11-15.
- Lenger, Ö. F., 2011. Türkiye'deki yerli tavuk ırkları ve ticari tavuk tipleri arasındaki, mhc gen bölgesindeki, genetik farklılıkların belirlenmesi. Afyon Kocatepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi. 82 s.
- Librado, P., ve Rozas, J., 2009. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. **Bioinformatics**, 25(11): 1451-1452.

- Lightowlers, R.N., Chinnery, P.F., Turnbull, D.M. ve Howell, N., 1997. Mammalian mitochondrial genetics: heredity, heteroplasmy and disease. **Trends in Genetics**, 13(11): 450-455.
- Loukovitis, D., Ioannidi, B., Chatziplis, D., Kotoulas, G., Magoulas, A., ve Tsigenopoulos, C. S., 2014. Loss of genetic variation in Greek hatchery populations of the European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) as revealed by microsatellite DNA analysis. **Mediterranean Marine Science**, 16(1), 197-200.
- Lydeard, C. ve Roe, K.J., 1997. The phylogenetic utility of the mitochondrial cytochrome b gene for inferring relationships among actinopterygian fishes. **Molecular systematics of fishes**. Academic Press, 285-311, San Diego.
- Marr, J. C., 1957. The problem of defining and recognizing subpopulations of fishes. Marr JC. Contributions to the studies of subpopulations of fishes. **Special Scientific Report nu**, 208, 1-6.
- McVean, G. A., 2002. A genealogical interpretation of linkage disequilibrium. **Genetics**, 162(2): 987-991.
- Mejri, R., Arculeo, M., Hassine, O.K.B., Brutto, S.L., 2011. Genetic architecture of the marbled goby *Pomatoschistus marmoratus* (perciformes, gobiidae) in the mediterranean Sea. **Mol. Phylogenet. Evol.** 58, 395e403.
- Meyer, A., 1993. Evolution of mitochondrial DNA in fishes. (Ed. P. H. Hochachka ve T. P. Mommsen) In: **The biochemistry and molecular biology of fishes**. Elsevier, 2: 1 -38, Amsterdam.
- Miralles, L., Mrugala, A., Sanchez-Jerez, P., Juanes, F., ve Garcia-Vazquez, E., 2016. Potential Impact of Mediterranean Aquaculture on the Wild Predatory Bluefish. **Marine and Coastal Fisheries**, 8(1), 92-99.
- Moore, W.S., 1995. Inferring phylogenies from mtDNA variation; Mitochondrial Gene trees versus nuclear gene trees. **Evolution**, 49: 718-726.
- Mullis, K.B., 1990. The unusual origin of the polymerase chain reaction. **Scientific American**, 262(4): 56-61.
- Mylonas C., Zohar Y., Pankhurst N., Kagawa H., 2011. Reproduction and broodstock management. in: Pavlidis M. & C. Mylonas (eds). **Sparidae: biology and aquaculture of gilthead sea bream and other species**. Blackwell Publishing Ltd, 95-133, Oxford, UK.

- Mylvaganam, S. ve Dennis, P.P., 1992. Sequence heterogeneity between the two genes encoding 16S rRNA from the halophilic archaebacterium *Haloarcula marismortui*. **Genetics**, 130(3): 399-410.
- Nei M. ve Kumar S., 2000. **Molecular Evolution and Phylogenetics**. Oxford University Press, New York.
- Nei, M. ve Tajima, F., 1983. Maximum likelihood estimation of the number of nucleotide substitutions from restriction sites data. **Genetics**, 105(1): 207-217.
- Nei, M., 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. **Genetics**, 89(3): 583-590.
- Nelson, J. S., 2006. **Fishes of the World**. 4th eds. New York: John, 601.
- Ovenden, J.R., 1990. Mitochondrial DNA and marine stock assessment: A review. **Marine and Freshwater Research**, 41(6): 835-853.
- Palma, J., Alarcon, J. A., Alvarez, C., Zouros, E., Magoulas, A., ve Andrade, J. P., 2001. Developmental stability and genetic heterozygosity in wild and cultured stocks of gilthead sea bream (*Sparus aurata*). **Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom**, 81(2), 283-288.
- Palumbi, S.R., 1994. Genetic divergence, reproductive isolation, and marine speciation. **Annu. Rev. Ecol. Syst.** 25, 547e572.
- Ramanadevi, V. ve Thangaraj, M., 2013. Comparative Phylogenetic Study of Four Genes of Mitochondrial Genome in Tenpounder Fishes (Order: Elopiformes). **Notulae Scientia Biologicae**, 5(3): 282-289.
- Reilly, A., Elliott, N. G., Grewe, P. M., Clabby, C., Powell, R., & Ward, R. D., 1999). Genetic differentiation between Tasmanian cultured Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) and their ancestral Canadian population: comparison of microsatellite DNA and allozyme and mitochondrial DNA variation. **Aquaculture**, 173(1), 459-469.
- Richter, C., 1988. Do mitochondrial DNA fragments promote cancer and aging. **FEBS lett**, 241:1-5.
- Ritchie, P.A., Lavoue, S., Lecointre, G., 1997. Molecular phylogenetics and the evolution of Antarctic notothenioid fishes. **Comp. Biochem. Physiol. A.**, 118: 1009-1025.
- Romana-Eguia, M. R. R., Ikeda, M., Basiao, Z. U., & Taniguchi, N., 2004. Genetic diversity in farmed Asian Nile and red hybrid tilapia stocks evaluated from microsatellite and mitochondrial DNA analysis. **Aquaculture**, 236(1), 131-150.

- Rosecchi E. (1987). L' alimentation de *Diplodus annularis*, *Diplodus sargus*, *Diplodus vulgaris* et *Sparus aurata* (Pisces, Sparidae) dans le Golfe du Lion et les lagunes littorales. **Rev. Trav. Inst. Pêches Marit.**, 49: 125-141.
- Saiki, R.K., Gelfand, D.H., Stoffel, S., Scharf, S.J., Higuchi, R., Horn, G.T. ve Erlich, H.A., 1988. Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. **Science**, 239(4839): 487-491.
- Saiki, R.K., Scharf, S., Faloona, F., Mullis, K.B., Horn, G.T., Erlich, H.A. ve Arnheim, N., 1985. Enzymatic amplification of B-globulin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. **Science**, 230:1350-1354.
- Sambrook, J., Fritsch, E.F., Maniatis, T., 1989. **Molecular Cloning: A Laboratory Manual**, Second ed. Cold Spring Harbor Press, New York.
- Santos, S., Schneider, H. ve Sampaio, I., 2003. Genetic differentiation of Macrodon ancylodon (Sciaenidae, Perciformes) populations in Atlantic coastal waters of South America as revealed by mtDNA analysis. **Genetics and Molecular Biology**, 26(2): 151-161.
- Sekino, M., Hara, M., & Taniguchi, N., 2002. Loss of microsatellite and mitochondrial DNA variation in hatchery strains of Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. **Aquaculture**, 213(1), 101-122.
- Smith, P.J., Jamieson, A. ve Birley, A.J., 1990. Electrophoretic studies and stock concept in marine teleosts. **J. Cons. Int. Explor. Mer.**, 47: 231-245.
- Sneath, P. H., ve Sokal, R. R., 1973. **Numerical taxonomy**. The principles and practice of numerical classification. W.H. Freeman and Company. San Francisco
- Sokal, R. R., 1958. A statistical method for evaluating systematic relationships. **University of Kansas Scientific Bulletin**, 38, 1409-1438.
- Stergiou K.I. & Karpouzi V.S., 2002. Feeding habits and trophic levels of Mediterranean fish. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, 11: 217–254.
- Streelman, J.T., Alfaro, M., Westneat, M.W., Bellwood, D.R. ve Karl, S.A., 2002. Evolutionary history of the parrotfishes: biogeography, ecomorphology, and comparative diversity. **Evolution**, 56(5): 961 -971.
- Sunnuck, P., 2000. Efficient genetic markers for population biology. **Trends in Ecology and Evolution**, 15: 199-203.

- Tajima F., 1989. Statistical methods to test for nucleotide mutation hypothesis by DNA polymorphism. **Genetics** 123:585-595.
- Tave, D., 1999. **Inbreeding and brood stock management**. No. 392. Food & Agriculture Org.
- Thompson, J. D., Higgins, D. G., & 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(22), 4673-4680.
- Thorpe, R.S. 1983. A biometric study of the effects of growth on the analysis of geographic variation: Tooth number in Green geckos (Reptilia: Phelsuma). **Journal of Zoology**, 201(1): 13-26.
- Tringali, M.D, Bert, T.M., Seyoum, S., Bermingham, E. ve Bartolacci, D., 1999. Molecular phylogenetics and ecological diversification of the transisthmian fish genus *Centropomus* (Perciformes: Centropomidae). **Molecular Phylogenetics and Evolution**, 13: 193 – 207.
- TUİK, 2016. Su ürünleri istatistikleri, T.C. Başbakanlık Türkiye İstatistik Kurumu. Ankara
- Turan, C., Carvalho, G.R. ve Mork, J., 1997. Molecular genetic analysis of atlanto scandian herring (*Clupea harengus*) populations using allozymes and mitochondrial DNA markers. **J. Mar. Biol. Assoc.**, 78: 269-283.
- Turan, C., 2000. Balıkçılıkta stok kavramı ve genetik düşüncenin önemi. **IV. Su Ürünleri Sempozyumu**, 233-250, Erzurum.
- Turan, C., 2002. **Genetik**. Mustafa Kemal Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Ders Kitabı, Yayın No: 2, 169, .Hatay.
- Turan, C., Öztürk, B., Ergüden, D., Gürlek, M., Yağlıoğlu, D., Keskin, Ç., Uygur, N., 2007. Türkiye kemikli deniz balıkları atlası ve sistematığı. (C Turan). **Türkiye kemikli deniz balıkları atlası ve sistematığı**. Nobel Yayınevi, s 549, Adana, Turkey.
- Turan C., Yağlıoğlu, D., Gürlek, M., Ergüden, D., Turan, F., Emre, Y., Karan, S., Doğdu, S.A., Uyan, A., 2016. Microsatellite genetic differences between wild and hatchery populations of turbot, *Scophthalmus maximus*, 23-25 May 2016,

- Symposium on Euro Asian Biodiversity Proceeding Book.** Antalya, Turkey, pp. 458.
- Uyan, A., ve Turan, C., 2017). Genetic and morphological analyses of tub gurnard *Chelidonichthys lucerna* populations in Turkish marine waters. **Biochemical Systematics and Ecology**, 73, 35-40.
- Xu, X., ve Zhang, X. 2007. A remote acoustic monitoring system for offshore aquaculture fish cage. In *Mechatronics and Machine Vision in Practice. M2VIP 2007. 14th International Conference on* (pp. 86-90). IEEE.
- Wallace, D. C., 1986. Mitochondrial genes and diseases. **Hospital practice**, 21: 77-92.
- Wang, L., Meng, Z., Liu, X., Zhang, Y., ve Lin, H., 2011. Genetic diversity and differentiation of the orange-spotted grouper (*Epinephelus coioides*) between and within cultured stocks and wild populations inferred from microsatellite DNA analysis. **International Journal of Molecular Sciences**, 12(7), 4378-4394.
- Watson, J. D., M. Gilman, J. Witkowski ve M. Zoller. 1992. The polymerase chain reaction. In: **Recombinant DNA**. Second Edition. New York. 79-98.
- Wilson, A.C., Cann, R.L., Carr, S.M., George, M., Gyllensten, U.B., Helmychowski, K.M., Higuchi, R.G., Palumbi, S.R., Prager, E.M., Sage, R.D. ve Stoneking, M., 1985. Mitochondrial-DNA and two perspectives on evolutionary genetics. **Biological Journal of the Linnean Society**, 26: 375-400.
- Zohar, Y., Elizur, A., Sherwood, N. M., Powell, J. F. F., Rivier, J. E., ve Zmora, N., 1995. Gonadotropin-releasing activities of the three native forms of gonadotropin-releasing hormone present in the brain of gilthead seabream, *Sparus aurata*. **General and Comparative Endocrinology**, 97(3), 289-299.
- Zouros, E., 1999. A comprehensive genetic study of cultured and wild stocks of gilthead sea bream (*Sparus aurata*) and genetic assessment of several related species as candidates for aquaculture. **BBP/FAIP Workshop on Farm Animal Biodiversity** Friday, 4 June 1999. Veterinary Faculty, Utrecht University, Utrecht, The Netherlands 21

## 7. ÖZGEÇMİŞ

1991 yılında Balıkesir’ de doğdu. İlk, Orta ve Lise öğrenimini Balıkesir’ de tamamladı. 2010 yılında başladığı Mustafa Kemal Üniversitesi Deniz Bilimleri ve Teknolojisi Fakültesi’nden 2014 yılında Su Ürünleri Mühendisi ünvanıyla mezun oldu. 2014 yılında başladığı Mustafa Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Su Ürünleri (Temel Bilimler) Anabilim Dalı’nda yüksek lisans eğitime devam ederken üniversitelerin ayrılmasıyla İskenderun Teknik Üniversitesi, Mühendislik ve Fen Bilimleri Enstitüsü, Su Ürünleri (Temel Bilimler) Anabilim Dalı’na geçiş yapmış ve halen yüksek lisans eğitime devam etmektedir.

