

**T.C.  
HALIÇ ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLER ENSTİTÜSÜ  
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI  
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK PROGRAMI**

**TÜRKİYE KIYILARINDA YAŞAYAN DENİZEL  
HOROZBİNA (BLENNIDAE, PERCIFORMES)  
TÜRLERİNİN FİLOGENETİK ANALİZİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Hazırlayan  
Serdar Deniz ERDOĞAN**

**Danışmanı  
Yrd.Doç.Dr.M. Baki YOKEŞ**

**İstanbul – 2011**

T.C.

HALIÇ ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE

Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı Moleküler Biyoloji ve Genetik Programı Tezli Yüksek Lisans öğrencisi Serdar Deniz ERDOĞAN tarafından hazırlanan “Türkiye Kıyılarında Yaşayan Denizel Horozbina (Blennidae, Perciformes) Türlerinin Filogenetik Analizi” adlı bu çalışma jürimizce Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Sınav Tarihi : 03.10.2011

( Jüri Üyesinin Ünvanı , Adı , Soyadı ve Kurumu ) :

İmzası :

Jüri Üyesi: Yrd.Doç.Dr.M.Baki YOKEŞ  
Danışman-HAL.Üniv.Mol.Biy.ve Gen.ABD Öğr.Üyesi

.....  
.....

Jüri Üyesi : Doç.Dr.Murat BİLECENOĞLU  
Adnan Menderes Üniv. Öğr.Üyesi

.....

Jüri Üyesi : Yrd.Doç.Dr.Nagehan ERSOY  
HAL.Üniv. Mol.Biy.ve Gen.ABD Öğr.Üyesi

.....

Jüri Üyesi : Yrd.Doç.Dr.Burcu Irmak YAZICIOĞLU  
HAL.Üniv. Mol.Biy.ve Gen.ABD Öğr.Üyesi (Yedek)

.....

Jüri Üyesi : Yrd.Doç.Dr.Ergül BERBER  
Arel Üniv. Öğr.Üyesi (Yedek)

.....

## TEŐEKKÜR

Yüksek lisans tezimin planlanmasında ve yürütülmesinde değerli deneyim ve katkılarını hiçbir zaman esirgemeyen danışman hocam Sayın Yrd.Doç.Dr.M.Baki YOKEŞ'e, Ege Üniversitesi Su Ürünleri bölümünden sayın hocam Prof.Dr. Murat KAYA'ya, Kaliforniya San Diego Üniversitesi'nden Prof.Dr. Philip A. Hastings'e, her zaman desteğini aldığım sevgili annem Gönül ERDOĞAN'a ve kardeşim Mustafa ERDOĞAN'a, çalışmamın yürütülmesi sırasında önemli katkılarda bulunan arkadaşlarım AraŐ. Gör. Deniz KANCA ve AraŐ. Gör. Ozan TİRYAKİOĞLU'na, doktora öğrencisi Hasan Serdar MUTLU'ya, arazi çalışmalarım sırasında gösterdiği katkılarından dolayı değerli abim Nihat YELTİRİK'e ve tez çalışmamın tamamlanmasında destek sağlayan herkese teşekkürlerimi bir borç bilirim.

İstanbul, 2011

Serdar Deniz ERDOĞAN

## İÇİNDEKİLER

Sayfa No.

<b>KISALTMALAR</b> .....	iii
<b>TABLO LİSTESİ</b> .....	iv
<b>ŞEKİL LİSTESİ</b> .....	v
<b>ÖZET</b> .....	vi
<b>ABSTRACT</b> .....	vi
<b>1. GİRİŞ</b> .....	1
1.1. Evrim Süreci .....	2
1.1.1. Doğal Seçilim .....	3
1.1.2. Genetik Sürüklenme .....	4
1.1.3. Yapay Seçilim .....	4
1.1.4. Birlikte Evrim .....	5
1.2. DNA ve Dizi Evrimi .....	6
1.2.1. Taksonomi .....	6
1.2.2. Moleküler Filogenetik .....	7
1.2.2.1. Dizilerin Hizalanması .....	8
1.2.2.2. Nükleotid Yer Değiştirme Modeli .....	9
1.2.2.3. Filogenetik Ağaç Oluşturma .....	12
1.2.2.4. Parsimoni Yöntemi .....	11
1.2.2.5. En Yüksek İhtimal (Maximum likelihood:ML) Yöntemi .....	12
1.2.2.6. Uzaklık Yöntemi .....	12
1.2.2.7. Ağaçların Güvenilirlik Dereceleri .....	13
1.3. Mitokondri .....	14
1.4. Mitokondri Genetiği .....	14
1.5. Mitokondrinin Kalıtımı .....	16
1.6. Mitokondriyal Genlerin Evrimi .....	18
1.7. Blennidae Ailesi .....	20
1.7.1. Fiziksel Tanımlama .....	20
1.7.2. Habitat ve Davranış .....	21
1.8. Türkiyedeki Blennidae Üyeleri .....	22
1.8.1. <i>Aidablennius sphyinx</i> .....	22
1.8.2. <i>Blennius ocellaris</i> .....	23
1.8.3. <i>Coryphoblennius galerita</i> .....	24
1.8.4. <i>Lipophrys adriaticus</i> .....	24
1.8.5. <i>Salaria basilisca</i> .....	25
1.8.6. <i>Lipophrys canevae</i> .....	25
1.8.7. <i>Lipophrys dalmatinus</i> .....	26
1.8.8. <i>Lipophrys nigriceps</i> .....	27
1.8.9. <i>Salaria pavo</i> .....	27

1.8.10. <i>Lipophrys trigloides</i> .....	28
1.8.11. <i>Scartella cristata</i> .....	28
1.8.12. <i>Parablennius gattorugine</i> .....	29
1.8.13. <i>Parablennius incognitus</i> .....	30
1.8.14. <i>Parablennius rouxi</i> .....	30
1.8.15. <i>Parablennius sanguinolentus</i> .....	31
1.8.16. <i>Parablennius tentacularis</i> .....	32
1.8.17. <i>Parablennius zvonimiri</i> .....	32
1.8.18. <i>Petroscirtes ancyllodon</i> .....	33
<b>2. AMAÇ</b> .....	<b>34</b>
<b>3. MATERYAL ve METOD</b> .....	<b>36</b>
3.1. Materyal.....	36
3.1.1. Araştırmada Kullanılan Örnekler .....	36
3.1.2. Genomik DNA İzolasyonu İçin Kullanılan Kimyasallar ve Tamponlar...37	
3.1.3. Polimeraz Zincir Reaksiyonu İçin Gerekli Enzim ve Kimyasallar .....	37
3.1.4. PZR Cihazı .....	37
3.1.5. Oligonükleotit Primerler.....	36
3.1.6. Elektroforez İçin Kullanılan Tamponlar ve Kimyasallar .....	38
3.1.7. DNA Büyüklük Markörleri .....	38
3.1.8. PZR Ürünlerinin Saflaştırılması .....	38
3.1.9. Cihazlar .....	39
3.2. Metod.....	40
3.2.1. Morfolojik Karakterlerin Kontrolü ve Tür Tayinleri .....	40
3.2.2. Doku Örneklerinin Elde Edilmesi .....	40
3.2.3. DNA İzolasyonu .....	40
3.2.4. Jel Elektroforezi .....	41
3.2.5. Polimeraz Zincir Reaksiyonu .....	42
3.2.5.1. Primer konsantrasyonunun ayarlanması.....	42
3.2.5.2. PZR optimizasyonu .....	42
3.2.6. Dizi Analizi.....	44
3.2.6.1. Saflaştırma (Pürifikasyon).....	44
3.2.7. Filogenetik analiz .....	45
<b>4. BULGULAR</b> .....	<b>46</b>
4.1. DNA İzolasyonu .....	46
4.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) .....	47
4.3. PZR Ürünlerinin Dizi Analizi İçin Saflaştırılması İşlemi .....	49
4.4. Dizi Analizi Sonuçları .....	49
4.5. Filogenetik Analiz .....	50
<b>5. SONUÇ</b> .....	<b>52</b>
<b>6. KAYNAKLAR</b> .....	<b>61</b>
<b>7. ÖZGEÇMİŞ</b> .....	<b>68</b>

## KISALTMALAR

<b>A</b>	: Adenin
<b>ATP</b>	: Adenozin Tri Fosfat
<b>bç</b>	: Baz çifti
<b>BPB</b>	: Brom Fenol Mavisi
<b>C</b>	: Sitozin
<b>DDBJ</b>	: Japonya DNA Veri Bankası
<b>EDTA</b>	: Etilendiamin tetraasetikasit
<b>EMBL</b>	: Avrupa Moleküler Biyoloji Laboratuvarı
<b>g</b>	: Gram
<b>G</b>	: Guanin
<b>HCl</b>	: Hidroklorik asit
<b>HVR</b>	: Hyper Variable Region (hiper değişken bölgesi)
<b>Kb</b>	: Kilobaz
<b>LRT</b>	: Likelihood Ratio Test
<b>mg</b>	: Miligram
<b>MgCl<sub>2</sub></b>	: Magnezyum Klorür
<b>ml</b>	: Mililitre
<b>µM</b>	: Mikro Molar
<b>mRNA</b>	: Mesajcı RNA
<b>MtDNA</b>	: Mitokondrial DNA
<b>NaCl</b>	: Sodyum klorür
<b>ND-5/6</b>	: Nikotin Amid Adenin Dehidrojenaz-5/6
<b>Ng</b>	: Nanogram
<b>PAGE</b>	: Poliakrilamid Jel Elektroforezi
<b>pmol</b>	: Pikomol
<b>POLG</b>	: Polimeraz Gama
<b>PZR</b>	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
<b>RFLP</b>	: Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi
<b>rRNA</b>	: Ribozomal RNA
<b>SDS</b>	: Sodyum Dodesil Sülfat
<b>T</b>	: Timin
<b>tRNA</b>	: Transfer RNA
<b>UPGMA</b>	: Tartılı Olmayan Çiftleştirilmiş Grup Metodu Aritmetik Ortalaması
<b>UV</b>	: Ultraviyole
<b>µl</b>	: Mikrolitre

## TABLO LİSTESİ

Sayfa No.

<b>Tablo 1.1:</b> Blenniidae Ailesi sistematikteki yeri .....	21
<b>Tablo 1.2:</b> Blenniidae ailesine ait olan tüm türler .....	21
<b>Tablo 1.3:</b> Blenniidae ailesinin Türkiye Denizlerinde yaşayan türleri .....	22
<b>Tablo 3.1:</b> Araştırmada kullanılan türler ve elde edildiği yerler.....	36
<b>Tablo 3.2:</b> Genomik DNA İzolasyonu İçin Kullanılan Kimyasallar.....	37
<b>Tablo 3.3:</b> Polimeraz Zincir Reaksiyonu İçin Gerekli Enzim ve Kimyasallar .....	37
<b>Tablo 3.4:</b> Çalışmada kullanılan 16S primerleri .....	38
<b>Tablo 3.5:</b> Elektroforez İçin Kullanılan Tamponlar ve Kimyasallar .....	39
<b>Tablo 3.6:</b> Araştırma için laboratuvarında kullanılan cihazlar ve markaları .....	38

## ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa No.
Şekil 1.1: Filogenetik ağaç çizimi.....	10
Şekil 1.2: Vertikal ağaçlar .....	11
Şekil 1.3: Balık Mitokondrisinde (mtDNA) Genlerin Dizilimi .....	11
Şekil 1.4: <i>Aidablennius sphyinx</i> .....	23
Şekil 1.5: <i>Blennius ocellaris</i> .....	23
Şekil 1.6: <i>Coryphoblennius galerita</i> .....	23
Şekil 1.7: <i>Lipophrys adriaticus</i> .....	24
Şekil 1.8: <i>Salaria basilisca</i> .....	25
Şekil 1.9: <i>Lipophrys canevai</i> .....	25
Şekil 1.10: <i>Lipophrys dalmatinus</i> .....	26
Şekil 1.11: <i>Lipophrys nigriceps</i> .....	26
Şekil 1.12: <i>Salaria pavo</i> .....	27
Şekil 1.13: <i>Lipophrys trigloides</i> .....	28
Şekil 1.14: <i>Scartella cristata</i> .....	29
Şekil 1.15: <i>Parablennius gattorugine</i> .....	29
Şekil 1.16: <i>Parablennius incognitus</i> .....	29
Şekil 1.17: <i>Parablennius rouxi</i> .....	30
Şekil 1.18: <i>Parablennius sanguinolentus</i> .....	31
Şekil 1.19: <i>Parablennius tentacularis</i> .....	31
Şekil 1.20: <i>Parablennius zvonimiri</i> .....	32
Şekil 1.21: <i>Petroscirtes ancyllodon</i> .....	33
Şekil 4.1: Toplam DNA izolasyonu sonucu elde edilen bantlar .....	46
Şekil 4.2: Diğer örneklerin ve doku deformasyonuna uğrayan B9,K4,K5 kodlu örneklerin izolasyonu .....	47
Şekil 4.3: Toplam DNA izolasyonu işlemi sonrasında elde edilen örnek DNA'larının PZR işlemi .....	48
Şekil 4.4: Tuz kontaminasyonundan arındırılan örneklerin 16S PZR işleminin tekrarı.....	48
Şekil 4.5: 16S gen bölgesinin için tüm örneklerin PZR işlemlerinin tamamlanması	48
Şekil 4.6: Saflaştırma işlemi sonucunda elde edilen 16S bölgesi PZR ürünleri. ....	49
Şekil 4.7: <i>Coryphoblennius galerita</i> türünün dizi analizinin bir bölümünün kromatogramı. ....	50
Şekil 4.8: Mr Bayes programı ile oluşturulmuş filogenetik ağaç. ....	51
Şekil 5.1: Kombine 12S-16S rDNA parçalarından elde filogenetik bir ağaç. ....	55
Şekil 5.2: Maximum likelihood analizine göre PAUP programı ile çizilen filogenetik ağaç. ....	56
Şekil 5.3: Maximum parsimony analizine göre PAUP programı ile çizilen filogenetik ağaç. ....	57
Şekil 5.4: Neighbor joining analizine göre PAUP programı ile çizilen filogenetik ağaç. ....	58



## GENEL BİLGİLER

Adı ve Soyadı : Serdar Deniz ERDOĞAN  
Anabilim Dalı : Moleküler Biyoloji ve Genetik  
Programı : Moleküler Biyoloji ve Genetik  
Tez Danışmanı : Yrd.Doç.Dr.M.Baki YOKEŞ  
Tez Türü ve Tarihi : Yüksek Lisans – Eylül 2011

### TÜRKİYE KIYILARINDA YAŞAYAN DENİZEL HOROZBİNA (BLENNIDAE, PERCIFORMES) TÜRLERİNİN FİLOGENETİK ANALİZİ

#### ÖZET

Bu çalışma kapsamında, Blennidae ailesine ait Türkiye denizlerinden elde edilen *Aidablennius sphynx*, *Coryphoblennius galerita*, *Lipophrys adriaticus*, *Lipophrys canevai*, *Lipophrys dalmatinus*, *Lipophrys trigloides*, *Scartella cristata*, *Parablennius gattorugine*, *Parablennius incognitus*, *Parablennius rouxi*, *Parablennius sanguinolentus*, *Parablennius tentacularis*, *Parablennius zvonimiri*, türlerinin mitokondriyal 16S rRNA gen dizileri incelenmiştir. Elde edilen gen dizileri ile birlikte Akdeniz ve Kuzey Atlantik Denizi'nde dağılım gösteren aynı aileye ait türlerin NCBI gen bankasında bulunan diziler karşılaştırmalı olarak analiz edilmiş ve söz konusu türlerin filogenetik ilişkileri ortaya konulmuştur.

Bu çalışma, özellikle Türkiye denizlerindeki horozbina türleri üzerinde moleküler teknikler kullanılarak yapılan ilk filogenetik çalışmadır. Çalışma sonuçları literatürde yer alan diğer çalışmalarla karşılaştırıldığında benzerliklerle beraber bazı farklılıklar da görülmüştür. *S. pavo* türüne ait veriler diğer hiçbir türle yakın benzerlik göstermemiştir. *A. sphynx* ve *B. ocellaris* türlerinin bazı *Parablennius* türleri ile yakın ilişkili olduğu bulunmuştur. *Parablennius* cinsinin açık bir şekilde monofiletik bir grup olmadığı, *Lipophrys* cinsinin ise parafiletik bir cins olduğu ve *Coryphoblennius galerita* ile yakın olduğu sonucu elde edilmiştir. *Salaria* cinsine ait eldeki taksonomik veriler ise bu cinsin konumunu belirleme konusunda yetersiz kalmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Blennidae, mtDNA, 16S rRNA, filogenetik.

## GENERAL KNOWLEDGE

Name and Surname : Serdar Deniz ERDOĞAN  
Field : Molecular Biology and Genetics  
Program : Molecular Biology and Genetics  
Supervisor : Assist.Prof.Dr.M. Baki YOKEŞ  
Degree Awarded and Date : Master of Science – September 2011

## PHYLOGENETIC ANALYSIS OF MARINE BLENNIES (BLENNIDAE, PERCIFORMES) LIVING ON THE COASTS OF TURKEY

### ABSTRACT

In the frame work of this study, mitochondrial 16S rRNA gene sequences of the members of Blennidae family native to Turkish seas; *Aidablennius sphynx*, *Coryphoblennius galerita*, *Lipophrys adriaticus*, *Lipophrys canevai*, *Lipophrys dalmatinus*, *Lipophrys trigloides*, *Scartella cristata*, *Parablennius gattorugine*, *Parablennius incognitus*, *Parablennius rouxi*, *Parablennius sanguinolentus*, *Parablennius tentacularis*, *Parablennius zvonimiri* were investigated. In order to figure out phylogenetic relationship between the species, the obtained sequences were compared with the NCBI genbank sequences of the same family members, which show Mediterranean and North Atlantic distribution.

The is the first phylogenetic study which was conducted on the blenny species of the Turkish seas, using molecular techniques. Similarities, as well as some dissimilarities were observed, when the result of this study was compared with the previous studies found in the literature. The genetic data of *S. pavo* were not similar with any other species. *A. sphynx* and *B. ocellaris* were found to be in close relation with some *Parablennius* species and *Parablennius* genus was evidently not a monophyletic group. *Lipophrys* genus was also paraphyletic and close to *Coryphoblennius galerita*. Present data related to *Salaria* genus is not sufficient to define the taxonomical position of this genus.

**Keywords:** Blennidae, mtDNA, 16S rRNA, phylogenetics

## 1. GİRİŞ

Moleküler tekniklerin gelişimi ile birlikte canlıların tür ve populasyonları arasındaki çeşitlilik bu teknikler kullanılarak kesin bir şekilde sonuçlandırılmaktadır. Ekolojik ve biyolojik açıdan canlılar arasındaki çeşitliliği korumak oldukça önemlidir. Biyolojik kaynakların yönetiminde mevcut canlıların tür ve populasyonlarındaki genetik değişimlerin ve farklılıkların bilinmesi yapılacak çalışmalarda büyük önem taşımaktadır. Günümüzde bazı genetik teknikler kullanılarak, türler için belirli düzeyde bilgilere ulaşılabilmektedir. Fakat bir canlı kaynağının populasyonu için yapılması gereken araştırmalarda genom dizileme ve kantitatif karakter lokuslarının belirlenmesi gibi ek bilgilere de ihtiyaç duyulmaktadır.

Genetik tekniklerin günümüzde de sıkça kullanılan önemli uygulamaları, denizlerde gözlenen davranış ve göç modellerinin araştırılmasıyla ilgilidir. Deniz canlılarından olan balık türlerinde yapılan filogenetik çalışmalarda, genetik tekniklerden uzun zamandan beri yararlanılmaktadır (Utter, 1991). Moleküler biyoloji ve genetik olarak yapılan ilk çalışmalar uzak balık populasyonları arasındahemoglobin polimorfizminin araştırılmasına dayanmaktadır (Sick, 1961; Ward ve Grewe, 1994). Örneklerin birbirinden ayrımı sırasında karşılaşılan problemlerde özel histokimyasal boyama yöntemleri kullanılmıştır (Hunter ve Markert, 1957). Bilinen genetik belirteçlerin çeşidini ve sayısını artırabilmek için araştırmacılar 1980'li yıllarınbaşında Deoksiribo Nükleik Asit (DNA)'ten yararlanmaya başlamışlardır. Bu alanda yapılan ilk çalışmalar Mitokondriyal DNA (mtDNA) ile başlamıştır ve bu araştırmalarda Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi (RFLP) analizi kullanılmıştır (Lansman ve ark., 1981). Daha sonraki çalışmalar ise genetik materyale ait belirli bir bölgelerin dizi analizi üzerindeki çalışmalardan oluşmaktadır (Bernartchez ve ark., 1992).

Dünyada moleküler biyoloji düzeyinde yaşanan yenilikler ve çalışmalara karşın ülkemizde denizel canlılar üzerine yapılan çalışmaların bu teknikler

kullanılarak araştırılması hakkında çok fazla çalışma bulunmamaktadır. Moleküler biyolojideki bu gelişmelerden faydalanılarak, Türkiye ihtiya faunasındaki Blennidae ailesine ait türler hakkında yapılan bu filogenetik araştırma, bilimsel bir çalışma olarak ülkemizdeki Blennidae ailesine ait türlerin tanınması açısından yararlı olacaktır.

### **1.1. Evrim Süreci**

Evrin, biyolojide canlı türlerinin nesilden nesile kalıtsal değişime uğrayarak ilk halinden farklı özellikler kazanma sürecidir. Evrim, modern biyolojinin temel taşıdır (Encyclopædia Britannica, 2011). Buna göre hayvanlar, bitkiler ve Dünya'daki diğer tüm canlıların kökeni kendilerinden önce yaşamış türlere dayanır ve ayırdedilebilir farklılıklar, başarılı nesillerde meydana gelmiş genetik değişikliklerin bir sonucudur (Encyclopædia Britannica, 2011).

Evrin, bir canlı popülasyonunun genetik kompozisyonunun zamanla değişmesi anlamına gelir. Genlerdeki mutasyonlar, göçler veya çeşitli türler arasında yatay gen aktarımları sonucu türün bireylerinde yeni veya değişmiş özelliklerin ortaya çıkması, evrim sürecini yürüten temel etmendir. Evrim, bu yollarla oluşan değişimlerin popülasyon genelinde daha sık veya daha nadir hale gelmesiyle işler.

Dünya'daki canlı türlerinden henüz sadece 2 milyondan biraz fazlası tanımlanabilmiş ve sınıflanabilmiştir. Bazı tahminlere göre henüz tanımlanmamış 10 ila 30 milyon canlı türü vardır. Bir milimetrenin binde birinden kısa bakterilerden, yerden yüksekliği 100 metreyi, ağırlığı binlerce tonu bulan sequoia servi ağaçlarına kadar dünyadaki canlı türleri, cüsse, biçim ve yaşayış biçimi açısından çok büyük farklılıklar gösterirler. Sıcak su kaynaklarında kaynama sıcaklığına yakın derecelerde yaşayan bakteriler olduğu gibi, Antarktika'daki buzullarda ya da tuz göllerinde -23 °C'ye varan sıcaklıklarda yaşayan algler ve mantarlar vardır. Aynı şekilde karanlık okyanus tabanlarındaki hidrotermal çatlakların kenarlarında yaşayan devasa boru kurtçukları olduğu gibi, Everest Dağı'nın yamaçlarında, 6 bin metre yükseklikte yaşayan hezaren çiçekleri ve örümcekler vardır (Encyclopædia Britannica, 2011).

Dünyadaki bu neredeyse sınırsız sayıdaki yaşam biçimi, evrimsel sürecin bir sonucudur. Tüm canlılar, ortak atalardan geldikleri için akrabadırlar. İnsan ve diğer tüm memeliler, yaklaşık 150 milyon yıl önce yaşamış sivrifaremsi bir canlıdan

evrimleşmişlerdir. Memeliler, kuşlar, sürüngenler, iki yaşamlılar ve balıkların ortak atası 600 myö yaşamış su solucanlarıdır. Tüm hayvanlar ve bitkiler, yaklaşık 3 milyar yıl önce yaşamış bakterimsi mikroorganizmalardan türemişlerdir (Encyclopædia Britannica, 2011). Biyolojik evrim, canlı nesillerinin ortak atadan değişerek türeme sürecidir. Yeni nesiller, eski nesillere göre farklılıklar taşırlar ve ortak atadan uzaklaştıkça çeşitlilik artar.

Evrimi sürdüren iki temel süreç vardır; doğal seçim ve genetik sürüklenme. Bu süreçlerin ilki olan doğal seçim, bulunduğu ortama en iyi uyum sağlayan bireylerin hayatta kalmasını ve kendi genlerini yavrularına aktarmasını, diğer bireylerin ise üreme şansı bulamayıp genlerinin ortadan kalkması sonucunu doğurur. Doğal seçim ile hayatta kalmaya yardımcı olan yeni özellikler sağlayan mutasyonlara sahip bireyler hayatta kalarak popülasyonda baskın hale gelir, hayatta kalma şansını azaltan mutasyonlara sahip bireyler ise yok olur. Bu sayede sonraki nesildeki bireyler, atalarından aldıkları genler ile ortama daha iyi uyum sağlar ve hayatta kalmakta daha başarılı olurlar (Futuyma ve Douglas, 2005).

Birçok nesil sonrasında, çok sayıda başarılı, küçük, rasgele değişikliğin birikmesi ile adaptasyonlar belirgin hale gelir, bu sayede türler çevrelerine olası en iyi uyumu sağlamış olurlar (Ayala, 2007). İkinci temel süreç ise genetik sürüklenmedir. Genetik sürüklenme, popülasyonda genlerin görülme sıklığında rasgele değişimlere yol açar. Bir nesilde görülen rasgele bir genetik sürüklenme, daha sonraki nesillerde birikim sağlayarak organizmada belirgin değişimlere yol açar.

### **1.1.1. Doğal Seçim**

Evrime göre canlılığın devamı ve çeşitliliği doğal seçimle sağlanır. Doğal seçimin üç temel bileşeni bulunur: Genetik karakterlerin devamını sağlayan kalıtım, farklı karakterlerin popülasyondaki zenginliğini sağlayan çeşitlilik, ve bu çeşitli karakterlerden doğadaki koşullara en uygun olanının hayatta kalmasını sağlayan seçim.

Bu temellere göre Darwin, her popülasyonda birçok bireyin hayatta kalamadığı, kurtulamadığı veya üreyemediğini belirtmiştir. Varolma mücadelesinde sınırlı birçok kaynak için ve mevcut riskler (yırtıcı hayvanlar vb.) yüzünden popülasyonun her bireyi bir diğeriyle yarışmaktadır. Bu varolma mücadelesinde,

ortama en iyi adapte olabilmiş bireyler seçici bir avantaja sahip olmakta, daha çok yaşamakta ve daha çok üreyebilmektedir.

### **1.1.2. Genetik Sürüklenme**

Genetik sürüklenme ya da "Sewall Wright etkisi", küçük bir grup canlının genetik havuzunda tamamen şans eseri oluşmuş değişikliklerdir. Genetik sürüklenme bir popülasyondaki genetik bir karakteristiğin yok olmasına ya da güçlü olanın hayatta kalmasına ve alellerin değerinden "bağımsız olarak" yaygın hale gelmesine neden olur ( Encyclopædia Britannica, 2011 ).

Popülasyonda üremeyi gerçekleştiren canlıların sayısı arttıkça, genetik sürüklenmenin etkisi azalır. Bu durum yazı-tura örneğine benzer. Art arda iki kere tura gelmesi doğal karşılanırken 20 kere tura gelmesi tuhaftır. Yazı-tura işlemi tekrarlandıkça, tuların oranı 0.5'e yaklaşır ( Encyclopædia Britannica, 2011).

Genetik sürüklenmenin etkisi en çok, bir canlı türünün kaderi birkaç bireye bağlı olduğunda ortaya çıkar. Bu duruma kurucu prensibi denir. Göl, ada gibi izole olmuş ortamlara rüzgar veya başka canlıların vücudu gibi herhangi bir vasıtayla ulaşan tohumlar ve hayvan türleri, genellikle ulaştıkları yeni ortamda koloniler oluştururlar. Bu birkaç kurucu bireydeki alellerin görülme sıklığı, genellikle geride bıraktıkları popülasyondaki lokusların çoğundan farklıdır. Bu farklılıklar, yeni ortamda türeyen popülasyon üzerinde uzun süreli evrimsel etkiler yaratırlar. Hawaii Adaları gibi takım adalarda görülen tür çeşitliliğinin, birbirine temas eden anakaralardan fazla olmasının nedeni, kurucu prensibidir ( Encyclopædia Britannica, 2011).

### **1.1.3. Yapay Seçilim**

Yapay seçilim, evcil hayvan ve bitkilerin kontrollü olarak yetiştirilmesi sonucu gerçekleşir. İnsan eliyle hangi hayvan ya da bitkinin üretileceğine karar verildiğinde, hangi genlerin gelecek nesillere aktarılacağına da karar verilmiş olunur. Yapay seçilimin en büyük etkisi evcil hayvanlarda gözlenir. Örneğin Danua ve Çivava köpek cinslerinin arasındaki cüsse farkı yapay seçilimin bir sonucudur. Çok farklı görünmelerine rağmen, her iki köpek cinsinde diğer tüm evcil köpek cinsleri gibi günümüzden yaklaşık 15.000 yıl önce Çin'e denk gelen bölgede evcilleştirilmiş

olan birkaç kurdun soyundan gelir (McGourty ve Christine, 2002).

#### 1.1.4. Birlikte Evrim

Birlikte evrim , iki veya daha fazla canlı türünün, birbirlerinin evrimini karşılıklı olarak etkilemesidir. Örneğin bir bitkinin morfolojisindeki evrimsel bir değişiklik, o bitkiyle beslenen bir otçulun morfolojisini etkileyebilir. Otçulda meydana gelen değişiklik de tekrar bitkiyi etkileyebilir ve bu süreç karşılıklı devam eder (Berkeley Üniversitesi, 2008 ).

Birlikte evrim, farklı türlerin ekolojik etkileşimleri arttığında gerçekleşme eğilimindedir. Bu ekolojik etkileşimler şöyle sıralanabilir:

- Avcı - av
- Parazit - ev sahibi (konak)
- Mücadele halindeki türler
- Ortak yaşamlı türler

Birlikte evrimin en bariz örnekleri çoğunlukla ortak yaşamlı olan bitki-böcek çiftlerinde görülür. Birçok bitki ve onların polen taşıyıcıları olan böcekler varlıklarını devam ettirebilmek için birbirlerine bağımlıdırlar. Ancak polen taşıyıcısı olmayan hayvanlarla eşleşmiş bitki türleri de mevcuttur (Berkeley Üniversitesi, 2008 ). Bazı Orta Amerika akasyaları, içi boş dikenlere ve yapraklarının sapında nektar salgılayan gözeneklere sahiptir. *Acacia sphaerocephala* (boğa boynuzlu akasya), dikenlerinin içine yuva yapan ve nektarla beslenen *Pseudomyrmex* karıncalarına ev sahipliği yapar. Karıncalar da akasyayı çeşitli otçullara karşı korur. Bu ilişki birlikte evrimin bir sonucudur. Bitki karıncaların barınabilmesi için içi boş dikenleri ve nektar salgılayan gözenekleri oluşturmuş, karıncalar da bitkiyi otçullardan koruyan davranış biçimini geliştirmişlerdir. Karıncalar bitkiye zarar veren her türlü böcek ve tırtılı öldürmenin yanı sıra bitkinin civarındaki araziye yabancı otlardan temizlemekte, gölge yapan yakındaki ağaçlara zarar vermektedirler. Boğa boynuzlu akasya ve karınca arasındaki bu ilişki ilk kez 1874'te doğa tarihçisi Thomas Belt tarafından gözlenmiştir (Hölldobler ve Wilson, 1990).

## 1.2. DNA ve Dizi Evrimi

Organizmaların genomları, birçok kuşak boyunca, evrim denilen olgu ile sonuçlanmak üzere, değişebilirler. Mutasyonlar ve mutasyonların yararlı olanları için olan seçim sonucunda, bir canlı türün çevresine daha uyumlu biçimlere dönüşerek evrimine neden olabilir. Bu sürece adaptasyon denir (Darwin, 1859). Yeni türler, türleşme denilen süreçle oluşur. Türleşme genellikle, farklı popülasyonların coğrafi olarak ayrı düşmelerinin neden olduğu genetik farklılaşmadan ortaya çıkar (Gavrilets, 2003).

Evrime esnasında DNA dizileri birbirinden uzaklaştığı ve değiştiği için, diziler arasındaki bu farklılıklar, aralarındaki evrimsel uzaklığı hesaplamada bir “moleküler saat” gibi kullanılabilir. Genetik kıyaslamalar genellikle, türler arasındaki evrimsel akrabalığı nitelemede en doğru yöntem olarak kabul edilir, bu yöntem, fenotipik kıyaslamalarla edinilmiş bazı yanıltıcı değerlendirmeleri de düzeltir. Türler arasındaki evrimsel uzaklıklar “evrim ağacı” ya da “filogenetik ağaç” denilen şemalarla temsil edilir, bu şemalarla türlerin ortak bir atadan inişini ve zaman boyunca türlerin birbirinden uzaklaşmalarını gösterir. Ancak, bu ağaç şemaları türler arasındaki yatay gen transferi olaylarını gösteremez (Wolf ve ark., 2002).

DNA dizi gelişiminin 24 farklı modeli vardır. Bu yer değiştirme modelleri, nükleotidlerin oranları ve gelişim esnasında birbirleriyle yer değiştirmesi gibi parametreler bakımından birbirlerinden ayrılır. Bu modeller sık sık, moleküler filogenetik analizlerinde kullanılır. Özellikle bir ağacın olasılığının hesabı esnasında kullanılan bu modeller, dizilerin arasında gözlenen farklardan dizilerin arasındaki evrimsel mesafeyi tahmin etme prensibine dayanmaktadır.

### 1.2.1. Taksonomi

Taksonomi, canlıların benzerlik, akrabalık ya da köken ilişkisiyle sınıflandırılması olarak tanımlanır. Bugüne kadar taksonomide kullanılan morfolojik karakterlere dayalı taksonominin yanı sıra, moleküler genetiğin gelişmesiyle canlıların genetik yapılarından yola çıkılarak yapılan taksonomi çalışmalarıyla da evrimsel sürece dair çok önemli bilgiler elde edilmektedir (Qi ve ark., 2007).



### 1.2.2. Moleküler Filogenetik

Organizmaların evrimsel tarihi filogeni olarak adlandırılır. Farklı türler arasındaki ilişkiyi ortaya koymak amacıyla filogenetik analizlerden yararlanılmaktadır. Moleküler düzeyde gerçekleştirilen filogenetik çalışmalar, DNA ve proteinlerde meydana gelen değişikliklerin hızını ve karakterini belirlemeye ve böylece genler ile organizmaların evrimsel tarihini araştırmaya yöneliktir. Filogenetik analizlerde türler arasındaki evrimsel ilişkiyi ortaya koymada en uygun yaklaşım, elde edilen verilerin çeşitli akış şemaları ve istatistiksel analizler yoluyla filogenetik ağaçlara dönüştürülmesidir (Saitou ve Imanishi 1989). Balıklarda yürütülen sistematik çalışmalar, diğer birçok canlı türünde de olduğu gibi klasik olarak morfolojik karakterlerden yola çıkılarak yapılmaktadır. Bugüne kadar oluşturulan taksonomik sınıflandırmalarda genellikle morfolojik karakterlerden yararlanılmıştır. Moleküler genetik alanındaki gelişmeler sonrasında genetikçiler ve taksonomistler, türleri tanımlamada, her bir türün sahip olduğu farklı genetik yapıdan yararlanma yolunu seçmişlerdir.

Canlıların taksonomik yerlerinin kesin olarak belirlenebilmesi için kimi zaman değişik türler arasında morfolojik ve anatomik özelliklerin farklılıkları yeterli olmamaktadır. Ayrıca canlıların yaşadıkları farklı habitatlar da morfolojik ve anatomik yapılarında farklı değişimler meydana gelmesine neden olacağından, aynı türlere ait bireyler morfolojik ve anatomik olarak birbirinden farklılıklar gösterebilirler. Taksonomik çalışmalarda bizi genetik yapıdan faydalanmaya iten en önemli neden de genotipin fenotipten daha üstün, kararlı bir yapıya sahip olmasıdır. Bir karakteri birden fazla lokusun belirlemesi, bir genin birden fazla karakteri etkilemesi ve genotip-çevre etkileşimi gibi ilişkiler morfoloji yoluyla elde edilen bilgilerin tek başına yeterli olmasını engellemektedir (Klug ve Cummings, 2000). Bu sebeple günümüzde taksonomi ve filogeni çalışmalarında DNA'yı, özellikle de mitokondriyal DNA'yı hedef alan moleküler teknikler sıklıkla kullanılmaya başlanmıştır.

Filogenetik ilişkilerin analizinde sadece morfolojik veya biyokimyasal yöntemler gibi geleneksel yöntemlerin kullanılması yanında günümüzde moleküler yöntemlerinde kullanılması kaçınılmazdır. Ayrıca geleneksel yöntemlerle sonuçlar zaman zaman araştırmacılara göre farklılıklar gösterebilmektedir. Bu nedenlerle artık

geleneksel yöntemlerin yanı sıra moleküler yöntemler de filogenetik analizlerde yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. DNA düzeyinde yapılan çalışmalarla, daha güvenilir ve hızlı sonuçlar elde edilmektedir. DNA molekülünde organizmaların evrimini yansıtabilecek belirteç bölgeler olduğu için moleküler sistematik çalışmalarda tercih edilmektedir. DNA dizi analizi yöntemi ile varyasyon şeklinin gözlemlenebilmesi, bunun yanında farklı laboratuvar sonuçlarının direkt karşılaştırılabilmesi, dizilerin yayınlanması ve elektronik veri tabanlarında saklanması (GenBank, EMBL ve DDBJ), sonuçların doğrulanması ve deneylerin tekrarlanabilmesine izin verecek özellikte olması DNA dizi analizi yönteminin avantajları arasındadır. DNA dizi bilgilerini kullanarak filogenetik ağaçların oluşturulmasında başlıca aşamalar; dizilerin hizalanması (Multiple Sequences Alignment), nükleotid yer değiştirme modeli (substitution model) seçimi (Kimura-2-paremetre, Jukes-Cantor vs.), filogenetik ağaçların oluşturulması (Neighbor-Joining, UPGMA ağacı vs.) olarak sıralanmaktadır.

#### **1.2.2.1. Dizilerin Hizalanması**

Nükleotid ya da aminoasit dizilerinin ikili ya da çoklu karşılaştırılarak bu dizilerin homolog bölgelerinin hizalanması işlemidir. Hizalama dizilerin hangi pozisyonunda farklılaşmalar olduğunu gösterir. Hizalama dizilerin hangi pozisyonunun korunmuş olduğunu ve hangilerinin ortak diziden farklılaşmış olduğunu gösterir. Evrimsel ilişki gösteren diziler homolog olarak kabul edilir. Genel bir kural olarak iki DNA dizisi arasındaki farklılık ne kadar çoksa bunların ortak atalarından farklılaşma zamanları da o kadar eskiye dayanır.

Hizalama sonrasında eşlenen nükleotidler genellikle yıldız (\*), eşlenmeyen nükleotidler boşluk, boşluklar da (gap) (-) ile simgelenir. Hizalamadaki boşluk (gap) evrim süresince bir ya da daha fazla dizi karakterlerinin insersiyon (ekleme) ya da delesyonlarıdır (kayıp). Dizilerin hizalanması için popüler olan *Clustal W* ve *Clustal X* bilgisayar programları geliştirilmiştir (Thompson ve ark., 1994). Avrupa Biyoinformatik Enstitüsü (EBI: European Bioinformatics Institute) web portalında bulunan (<http://www.ebi.ac.uk/Tools/clustalw2>) *Clustal W*, nükleotid veya protein dizileri arasında homolog (benzer) bölgeleri hizalamak için yaygın olarak kullanılan programdır. İki DNA dizisi arasında uzaklık matrisine (DNA identity matrix) göre

veya iki protein dizisi uzaklık matrisine göre hizalama yapar ve bir homoloji skoru hesaplar.

### 1.2.2.2. Nükleotid Yer Değişirme Modeli

Mutasyonlar, normal dizide bazların yer değişmesiyle, diziyeye bazların eklenmesi veya bazların çıkarılmasıyla oluşmaktadır. DNA dizisinde görülen yer değişimi meler transisyon ( $\alpha$ ) ve transversiyon ( $\beta$ ) şeklinde gerçekleşebilir (Nei, 1987). Bu değişime ilişkin temel model Jukes-Cantor modeli, tüm nükleotid baz frekanslarını eşit kabul eder ( $\pi_A=\pi_T=\pi_G=\pi_C=1/4$ ) ve bütün yer değiştirmeler (transisyon/transversiyon oranı) eşit olasılığa sahiptir (Jukes and Cantor, 1969). Kimura-2-parametre model, tüm nükleotid baz frekanslarını eşit kabul eder ( $\pi_A=\pi_T=\pi_G=\pi_C=1/4$ ) fakat yer değiştirme oranlarının frekansları farklıdır (Kimura, 1980).

Kimura 2-parametre (K2P) modeli ile iki dizi arasında uzaklık,  $d$ ;

$$d = -\frac{1}{2} \ln(1 - 2D_S - D_V) - \frac{1}{4} \ln(1 - 2D_V)$$

formülü ile hesaplanır (Kimura, 1980).

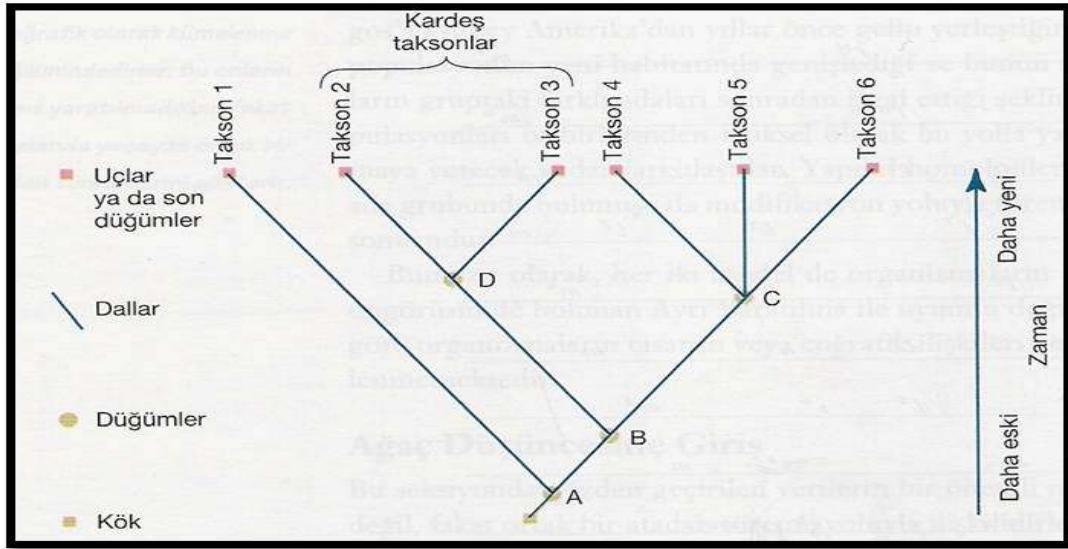
$D_S$ : polimorfik sitelerdeki transversiyonların sayısı

$D_V$ : polimorfik sitelerdeki transisyonların sayısı

Jukes and Cantor (JC69) ve Kimura 2-parametre (K2P)/Kimura, 1980 (K80) modellerin yanısıra Felsenstein, 1981 (F81), Hasegawa-Kishino-Yano (HKY ve ark., 1985), Symmetrical Model (SYM ve Zharkikh, 1994), General Time Reversible (GTR, Tavaré, 1986) gibi evrimsel modeller de kullanılmaktadır. Bu modellerle birlikte Gamma dağılışı ( $\Gamma$ ) ve değişmez bölge oranı (I: Invariable sites) faktörlerinin değerlendirmeye alınması ile en temel modelden (JC69), en komplike model ile (GTR +  $\Gamma$  + I) testler yapılabilmektedir (Posada ve Crandall, 2001). Modellerin karşılaştırılmasında Olabilirlik Oranı testi (likelihood ratio testi: LRT) kullanılmaktadır (Felsenstein, 1981).

### 1.2.2.3. Filogenetik Ağaç Oluşturma

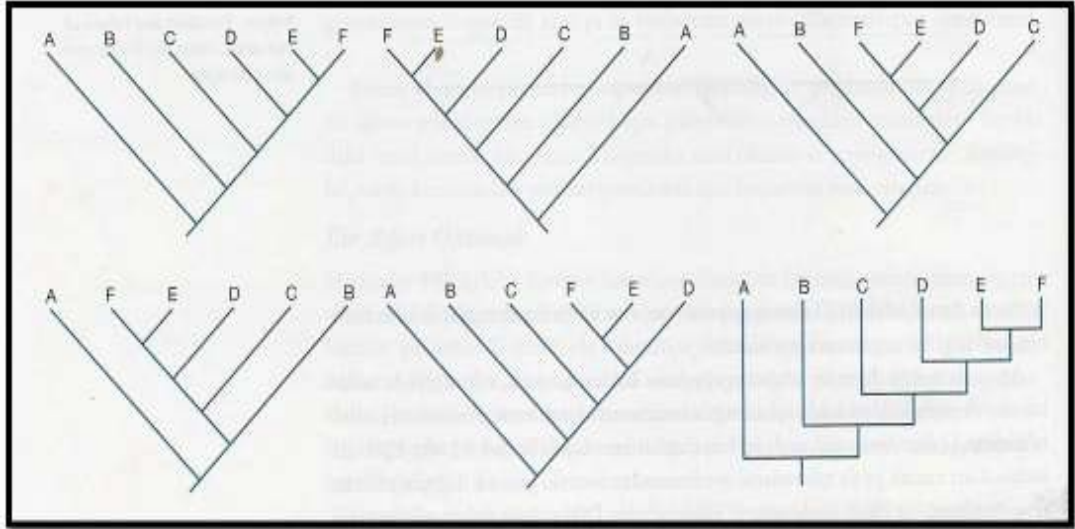
Dizi hizalanması sonucu elde edilen hesaplanmış evrimsel mesafeler (genetik uzaklık veya benzerlik), her bir takson çifti arasındaki mesafelerin bir matrisinin oluşturulmasında kullanılabilirler. Matristeki bu çifterli mesafe skorlarına dayanarak tüm taksonlar için bir filogenetik ağaç oluşturulabilir. Bu algoritmalar, aritmetik ortalamayı kullanarak ağırlıklı olmayan çift grup yöntemini (UPGMA: unweighted pair group method) ve komşu birleştirme (NJ: neighbor-joining) yöntemini içerirler (Saitou and Nei, 1987). Bir filogenetik ağaç, dallanma olaylarının modelini ve bazı durumlarda zamanını tanımlar. Türleşme sırasını ve hangi taksonların yakın ya da uzak akraba olduklarını kaydeder. Ağaç, başlıca bir düğüm ve dallardan oluşur. Dallar, türlerin atasal popülasyonlarının zaman içerisindeki durumlarını gösterir. Düğümler ise bir türün iki veya daha fazla türev popülasyona ayrıldığı noktaya karşılık gelir (Şekil 1.2.) (Freeman ve Herron, 1999).



**Şekil 1.1:** Filogenetik ağaç çizimi. Bu ağacı okumak için en alttan başlanıp yukarıya doğru devam edilir. A ile gösterilen düğümde bulunan popülasyon 1-6 taksonlarının ortak atasıdır. Bu gruptan biri Takson 1'e evrimleşmiş; diğeri ise 1-5 taksonlarının ortak atası olan düğüm B'de ki popülasyona evrimleşmiştir. (Freeman ve Herron, 1999).

Ağaç okumanın diğer bir anahtarı, ağaçları kökleri tabanda, uçları tepede vertikal olarak ya da kökleri solda, uçları sağda yatay olarak konumlanabileceklerini bilmektir. Dallar diyagonal ya da içi boş çizgilerden oluşabilir. Eğer dal uzunlukları zaman ya da taksonların ayrılmasından sonraki genetik değişim miktarı ile orantılıysa, bir ölçek ya da etiketli eksen verilir (Şekil 1.2.). Diğer türlü, dal uzunluğu keyfi olup okumayı kolaylaştırmak için çizilirler (Freeman ve Herron, 1999).

Son olarak evrimsel ağaçlar köklü ya da köksüz olabilirler. Köklü ağaçlar inceleme altındaki soy hattının nereden köklendiğini tanımladığı için ayrılma olaylarının açığa çıkma sırasını da ortaya koyarlar. Köksüz ağaçlar, bunun tersine, türler arasındaki ilişkiyi ortaya koymakla birlikte, hangi düğüm ya da dalların tarihte önce ya da sonra açığa çıktıklarına işaret etmezler (Şekil 1.3.) (Mayden ve Wiley, 1992).



**Şekil 1.2:** Vertikal ağaçlar. Bu diyagramlar, aynı evrimsel ilişkileri temsil eden altı farklı yolu göstermektedir. Burada tüm ağaçlar vertikal olarak konumlanmış köklü ağaçlar olup, bazal taksonlar aşağıda, türemiş olanlar ise uca doğru yer alırlar. (Mayden ve Wiley, 1992)

#### 1.2.2.4. Parsimoni Yöntemi

Parsimoni, bir gözlemin en basit (en az karmaşık) olarak açıklanması şeklinde tanımlanabilir. Parsimoni yöntemleri, her bir türün en az evrimsel değişikliklerine dayanan ağaçları karşılaştırır ve en basit muhtemel ağacı seçer (Klug ve Cummings, 2000). Parsimoniye göre en iyi ağaç, tüm karakterler için en az karakter durum değişimini ifade eden ağaçtır. Kelime anlamı tutumluluk olan parsimoni, evrimsel süreçte neler olduğuna ilişkin sonuca varılırken, karmaşık yerine basit açıklamaların seçilmesi olarak açıklanabilir (Freeman ve Herron, 1999).

Parsimoni, olası birçokları arasından hangi dallanma modelinin evrimsel tarihi en doğru biçimde yansıttığını tanımlamada bir yaklaşım sağlar. Parsimoniye göre tercih edilen ağaç, açığa çıkmış olan evrimsel değişimin toplam miktarını en aza indirgeyen ağaçtır. Parsimoniyi davet eden mantık basit ve zorlayıcıdır. Birçok durumda, konvergans ve geriye dönüşün, ortak bir atadan gelen değişime bağlı olan benzerliğe oranla daha az olacaklarını varsayabiliriz (Freeman ve Herron, 1999).

### 1.2.2.5. En Yüksek İhtimal (Maximum likelihood:ML) Yöntemi

Joseph Felsenstein tarafından 1981 yılında Maksimum Parsimoni'ye alternatif olarak ortaya konulmuş bir yöntemdir (Felsenstein, 1987). Araştırmacıya sunulan bütün bilginin daha etkili kullanmak ve olası birçok ağaç içerisinde en iyi ağacı seçmede istatistiksel testler kullanma olanağı yaratmak için ortaya konmuştur. Bu yöntem, farklı tipdeki nükleotit değişikliğinin açığa çıkma olasılıklarını tanımlayan bir matematiksel formül ve dal uzunlukları bilinen belli bir ağaç verildiğinde, bu belli DNA dizisi setini elde etme olasılığı nedir sorusunu sormaktadır. Bu yöntem için bir bilgisayar programı, her ağaç topolojisinin değerlendirir veya gözlenen verinin oluşturulması olasılığını hesaplar. Eğer ağaç doğruysa her dalın oluşturulma olasılığı toplamı, gözlenen verinin oluşturulması olasılığını temsil eder. Bu olasılık ağaçların olasılığı olarak temsil edilir. Böylece, yarışan ağaç topolojilerinin kabul ya da reddi için kriter en yüksek olasılığı olan ağacı seçmektir, en olası ağaç en iyi ağaçtır. Ancak olasılık metodları, hesaplamada yavaşlardır ve bu teknikle çok büyük veri setleri, parsimoni yöntemleriyle olduğu kadar kapsamlı analiz edilemezler.

### 1.2.2.6. Uzaklık Yöntemi

Genetik uzaklık yöntemi filogenetik ağacı oluşturmak için dizi grubunda her bir çift arasında değişikliklerin sayısını temel alır. Birbirlerine genetik uzaklığı en az olan türler birleştirilerek bir ağaç oluşturulur. Aralarında az sayıda nükleotid değişikliği olan bu dizi çiftleri komşu (neighbours) olarak adlandırılır. Uzaklık metodları ile hizalanan diziler arasındaki farklılıkların miktarına göre ağaç oluşturulur. Ağacın dalları boyunca ortaya çıkan değişiklik sayısı diziler arasındaki uzaklığı gösterir (Mount, 2001). Tercih edilen ağaç, taksonlar arasındaki mesafeyi enaza indirgeyen ağaçtır (Freeman and Herron, 1999). Bu yöntemler diğerlerinden daha kolay ve hızlı olup, çok sayıda dizi için kullanılabilir.

Bunlar içinde en çok kullanılanları şu şekilde sıralanabilir;

- Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean (UPGMA)
- Neighbour Joining (NJ)
- Fitch-Morgoliash (FM)

### 1.2.2.7. Ağaçların Güvenilirlik Dereceleri

En tutumlu ağaçların güvenilirlik derecelerini istatistiksel olarak değerlendirmek mümkündür (Bremer 1994, Swofford ve ark., 1996, Huelsenbeck ve Rannala, 1997). Bu probleme yönelik yaklaşımlardan biri seç-bağla testi (bootstrapping) olarak adlandırılır. Seç-bağla testi belli bir ağaç üzerindeki dallardan hangilerinin diğerlerine göre daha iyi desteklendiklerini değerlendiren bir tekniktir. Seç-bağla testinde, bilgisayar mevcut veri setinden tekrarlı örnekleme yoluyla yeni bir veri seti oluşturur. Örneğin, çalışmada 300 baz çiftlik bir dizi bulunuyorsa, bilgisayar bu pozisyonlardan birini rastgele seçmek ve bunu yeni veri setinde ilk öge olarak kullanmakla seç-bağla testine başlar. Daha sonra, rastgele seçtiği bir pozisyon, yeni veri setinin ikinci veri noktasını oluşturur (ikinci veri noktasının birincisinin aynı olma şansı 1/300'dür). Bilgisayar orijinal verinin rastgele bir örneklemesini temsil eden, 300 baz çifti içeren yeni bir veri seti oluşturuncaya kadar bu işleme devam eder. Sonra, bu yeni veri seti filogeniyi hesaplamak için kullanılır. Bu işlemi tekrarlamak suretiyle araştırmacı, yeniden örneklenmiş veri setinden oluşan ağaçlarda belli bir dalın açığa çıkma yüzdesini %50, %80 ya da %100 şeklinde ortaya koyabilir. Seç-bağla tahmininde bir dal ne kadar çok kere açığa çıkarsa, bu dalın gerçekte var olduğu konusundaki güvenimiz artmaktadır. Eğer belli bir dal için seç-bağla desteği az ise, örneğin %50'nin altında, araştırmacı genellikle ağacın bu kısmındaki dallanma modelini belirleyemediği sonucuna varacak ve bunun sonucunda da yayınladığı ağaçta bu dalı tek düğümden çok çatallı (politomi) (belirsizlik noktası) olarak verecektir (Freeman ve Herron, 1999).

İkinci bir yaklaşım ise sade parsimoniden başka bir filogenetik metot kullanmaktır. Maksimum olasılık (maximum likelihood) ve genetik uzaklık (genetic distances) gibi alternatif metotlar kullanılabilir. Bu metotlar, karakterlerin nasıl evrimleştikleri konusunda farklı varsayımlar ve en iyi filogeni araştırmasında benzer taksonları bir araya getirmede farklı metotlar kullanırlar. Oldukça farklı olan bu metotlar, aynı en iyi filogeni üzerinde anlaşılırsa, bu durum en iyi ağacın gerçekten de bulunduğu konusunda bir dereceye kadar güven verir (Huelsenbeck ve Hillis 1993, Hillis ve ark., 1994). Çatıştıkları zaman, analiz edilen durumun ağaçları içerisinde en geçerli olanın seçilmesinde, hangi kriterlerin kullanılacağı üzerinde bir yargıya varmak durumunda kalırız. Benzer bir durumla, tamamen farklı veri

setlerinden çıkarsanan ağaçları karşılaştırırken de yüz yüze kalırız. Farklı çalışmalardan elde edilen ağaçlar, yarışan tahminler olarak işlem görürler. Çatışmaları durumunda, araştırmacılar karakterleri homoplasiye daha az açık olduğu düşünülen ve daha büyük veri setlerinden hesaplanan ağaçlara daha fazla güvenirler (Freeman ve Herron, 1999).

### **1.3. Mitokondri**

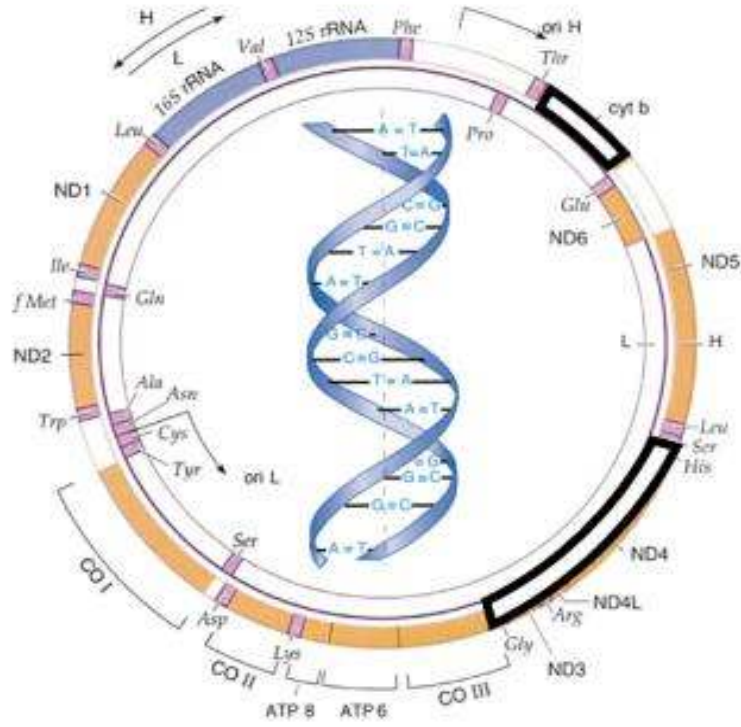
Mitokondri hücrenin ihtiyaç duyduğu enerjinin büyük bölümünü üreten ve başka birçok işlevleri olan yaklaşık 0.5-1 µm çapında silindirik bir organeldir. Mitokondri sözcüğü “ipliksi granül” anlamına gelmektedir. Hücre içindeki sayı, yapı ve yerleşimleri hücre tipine göre değişir ve temelde hücrenin enerji ihtiyacına göre belirlenir. Dış ve iç zar olmak üzere 2 zar yapısı vardır. Bu iki zar arasında zarlar arası boşluk, iç zarın içinde de matriks bulunur. Dış zar 5kDa'dan daha küçük molekülleri geçirirken iç zar geçirgen değildir. Bu nedenle zarlar arası boşluğun kompozisyonu sitozole çok benzer. İç zarın geçirgen olmamasını sağlayan özellikle kardiyolipindir. İçini zar yüzey alanını çokça artıran kristaller oluşturur. Oksidatif fosforilasyon kompleksleri iç zar üzerinde bulunurlar. Matriks sitrik asit siklusu ve yağ asitoksidasyonu gibi çok sayıda önemli biyokimyasal reaksiyonlara ev sahipliği yapar. Mitokondri DNA'sı (mtDNA) da matrikste bulunur (Tzagoloff 1982, Alberts 1994, Mannela 1997, Schatz 1995).

### **1.4. Mitokondri Genetiği**

Evrin çalışmaları genomin en çok çalışılan kısımlarından biri mtDNA'dır (Wilson ve ark., 1985). MtDNA nispeten yüksek evrimleşme hızından dolayı, yakın akraba türler ve bir türün populasyonlarını karşılaştırmada son derece yararlı olmuştur (Harrison, 1989). Çekirdek DNA'sı ile karşılaştırıldığında, efektif büyüklüğü dörtte biri kadar olduğundan genetik populasyonların kolayca farklılaşmasına neden olur. Genetik sürüklenme çekirdek DNA'sına göre mitokondriyal genom üzerinde daha etkili mekanizma olarak işlediğinden, populasyonlara özgü mtDNA belirteçleri geliştirmek daha olasıdır. Tür üstü sistematik birimlerin karşılaştırılmasında ise mtDNA genlerinin düzeni, belli sistematik birimleri birbirlerinden ayırmak için güçlü belirteçlerdir.



Mitokondri genomu, filogenetik çalışmalar için yararlı olan pek çok özelliklere sahiptir (Avice, 1994). En önemli özelliği klonal kalıtımıdır. Balık mitokondri genomu haploiyddir, yani her bir organizma sadece bir çeşit mtDNA içermektedir. Bununla birlikte, birkaç çalışmada heteroplazmi (bir fertte birden fazla mtDNA çeşidinin bulunuşu) olduğu rapor edilmiştir (Moritz ve ark., 1987; Bentzen ve ark., 1988; Moritz, 1991). Heteroplazmi, tirs balığı (Bermingham, ve ark., 1986), Atlantik ringası (Bentzen ve ark., 1988) ve hamsi (Magoulas ve Zouros, 1993) olmak üzere birkaç balık türünde grlmştir. İkinci olarak, mtDNA pek çok çekirdek genlerinden daha hızlı evrimleşmiştir. Bu özelliğinden dolayı, yakın akraba tür ve populusyonların filogenetik ilişkilerini çalışmak için uygundur. MtDNA'nın anasal olarak kalıtımlanıyor olması, filogenetik analizler için avantaj olarak kabul edilir. Hayvan mtDNA'sı 15-20 kb uzunluğunda. 22 tRNA, 2 rRNA, 13 elektron transferi ve oksidatif fosforilasyonda görev yapan ve 13 mRNA'yı kodlayan toplam 37 genden oluşan kapalı halkasal bir molekdr (Wallace, 1986). Yaklaşık 1 kb uzunluğunda olan kontrol bölgesi replikasyonun başladığı bölgedir. MtDNA'da genlerin düzeni genellikle sabittir; ancak gen organizasyonu bazı hayvan taksonlarını ayırabilir (Desjardins ve Morais, 1990). MtDNA'nın ND bölgesi, populusyon genetiğinde yüksek taksonomik gruplara kadar değişen ilişkileri analiz etmek için kullanılmaktadır (Bermingham ve ark., 1997; Lydeard ve Roe, 1997). ND 5/6 geni muhtemelen balıklarda en iyi çalışılan genlerden biridir (şekil 1.4.). Mitokondri tarafından kodlanan pek çok diğer proteinler gibi, hücre metabolizmasının solunum zincirinde rol alan önemli bir transmembran proteindir. Her ne kadar yaygın olarak kullanılmaktaysa da bazı araştırmacılar filogeniyi çözmede bu dizilerin özelliğine şüphe ile bakmaktadır (Martin ve ark., 1990; Graybeal, 1993).



**Şekil 1.3:** Balık Mitokondrisinde (mtDNA) Genlerin Dizilimi  
<http://courses.washington.edu/fish340/Lab%20Project.htm>

### 1.5. Mitokondrinin Kalıtımı

1898'de Benda ilk kez tarif ettiği subsellüler organeli Yunanca iplik şeklinde granül; anlamına gelen mitokondri terimini kullanmıştır. Mitokondri ökaryotik hücrelerin, enerji üretimi görevini üstlenen ve kendi DNA'sına sahip sitoplazmik bir organeldir. Sayıları enerji ihtiyacına göre, hücreden hücreye değişen mitokondriler, 1-7 mikrometre uzunluğunda çubuk şeklinde veya 2-3 mikrometre çapında küresel yapılardır. Ultrastrüktürel yapıları: dış membran, iç membran, intramembranöz aralık ve matriksden oluşur. Mitokondrial proteinlerin % 2'si mitokondrial genom tarafından sentezlenirken, % 98'i nükleer gen tarafından sentezlenerek, mitokondriye taşınır. İç membranın geçirgen olmaması nedeniyle, nükleer genom tarafından sentezlenen proteinlerin ve metabolitlerin matrikse taşınımı için spesifik mekanizmalar mevcuttur. İç membrana gelen yağ asidi, aminoasit ve karbonhidratlardan oksidatif yıkımla yüksek enerjili ATP sentezlenerek, hücrenin enerji ihtiyacı sağlanır. Mitokondri nükleus dışında DNA'ya sahip tek organel olup, ilk kez 1963'de (Nass ve ark., 1963), mitokondri içerisinde DNA karakteristiğinde fiberlerin varlığını gösterdiler. 1981'de de (Anderson ve ark., 1981) genom dizisi tam olarak gösterildi.

MtDNA'nın çekirdek DNA'sından bağımsız replikasyon ve transkripsiyon sistemi vardır. Ancak mtDNA'nın replikasyon ve transkripsiyonu için gerekli enzimler çekirdek DNA'sı tarafından sentezlendiğinden, mtDNA tam bir otonomiye sahip değildir. Mitokondrial DNA replikasyonu D.loop adı verilen mekanizmaya göre oluşur. Önce ağır zincirin replikasyon orijininin 5'-3' yönüne doğru sentez başlar. Yeni sentezlenen ağır zincir, hafif zincirin replikasyon orijinine geldiğinde, ters yönde ilerler ve hafif zincir sentezlenir. MtDNA transkripsiyonu ise D.loop bölgesindeki promotordan birbirine ters yönde başlar ve iki zincir de, aynı anda tamamen transkripsiyona uğrar. Sonuçta, rRNA, tRNA ve mRNA'lar oluşur.

Mitokondriyal genom 37 gen içerir. Bunlardan 13'ü solunum zincirindeki yapısal proteinleri (Nikotinamid, Adenin, Dinükleotit, Dehidrogenaz, Sitokrom C oksidoredüktaz, sitokrom C oksidaz ATP sentetaz) kodlarken, 2'si RNA ve 22'si de tRNA genlerini kodlar. Mitokondriyal DNA çekirdek DNA'sına benzemekle birlikte belirgin farklılıklar da göstermektedir.

a) 3.5 milyon kb'lik çekirdek DNA'sı yanında, 16.5 kb'lik mtDNA çok küçük bir genoma sahiptir.

b) MtDNA kompakt bir yapıya sahip olup intron içermez. MtDNA'da kodlanmayan tek bölge yaklaşık 100 baz çift uzunluğundaki D.loop bölgesidir.

c) İnsan mtDNA'sı maternal kalıtımla geçer. Spermin sitoplazma içermemesi ve mitokondrilerinin fertilizasyona katılmayan kuyruk kısmında toplanması nedeniyle, zigotdaki mitokondriler sadece ovuma aittir. Anne tüm çocuklarına mtDNA'sını aktarırken, sadece kız çocuklar bunu ikinci kuşağa aktarır.

d) MtDNA'nın 4 kodonu nükleer DNA'dan farklı mesajlar taşır. Örneğin nükleer DNA'da DUR kodunu olarak görev alan AGA, mtDNA'da arjinin aminoasidini kodlar.

e) Bir hücre çekirdeğinde anne ve babaya ait 2 alel gen bulunurken, her mitokondri 2-10 adet mtDNA genomu içerir. Her bir insan hücresinde yüzlerce mitokondriyon olduğu düşünülürse, binlerce de mitokondriyal DNA mevcut olduğu söylenebilir. Normalde bunlar tamamen identik olup genotipleri homoplazmik'dir. Normal mtDNA yanında mutant tiplerde mevcutsa, hücre genotipi heteroplazmik

olarak adlandırılır. Heteroplazmik mtDNA'lar yavru hücrelere düzensiz dağılım göstererek geçer. Sonuçta tekrar tekrar bölünen hücreler, saf mutant veya saf normal mtDNA'lar içeren genotipe dönüşebilirler.

f) MtDNA'nın dönüşme hızı nükleer DNA'ya göre 10-20 kat daha fazladır. Bunun nedeni, oksijen radikallerine daha fazla maruz kalması, koruyucu ve tamir sistemlerinin yokluğu dolayısıyla. 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. MtDNA bu özelliklerinden dolayı 1987 yılından itibaren, modern insanın filogenetik çalışmalarında kullanılmaya başlanmıştır.

Her organ sisteminin yaş ve aktivitesiyle de ilişkili olarak, değişik oranlarda mitokondrial enerjiye ihtiyacı vardır ve farklı miktarlarda mitokondri içerir. Yine her doku farklı miktarlarda normal ve mutant mitokondrial DNA içerir. Bu değer, doku ve yaşa göre değişir.

## **1.6. Mitokondriyal Genlerin Evrimi**

MtDNA; POLG ve POLG2 isimli genlerin kodladığı DNA polimeraz gama kompleksinin varlığıyla çoğalır. Bu bölünme, çoğu zaman çekirdekteki DNA'dan bağımsızdır; ancak kimi durumlarda (hücre bölünmesi gibi) mtDNA'nın bölünmesi durdurulabilir veya gerektiği zamanlarda başlatılabilir.

MtDNA'nın kökenleri, Endosimbiyotik Kuram ile açıklanmaktadır. Yani ökaryotik (zarlı organellere sahip) canlılar, prokaryotik (zarlı organellere sahip olmayan) canlıların, başka prokaryotik canlıları endositoz ile içlerine almaları ancak sindirememeleri sonucu ve bazı diğer etmenler dahilinde simbiyotik yaşama geçmeleri sonucunda evrimleşmiştir. Mitokondri ve kloroplastların eskiden prokaryotik hücreler oldukları düşünülmektedir. Bu kuram, pek çok bulgu ile desteklenmektedir ve günümüzde en çok kabul edilen kuramlardan biridir. mtDNA tıpkı günümüzdeki modern prokaryotlar gibi halka şeklindedir (ökaryotların çekirdeğinde bulunan çift sarmal DNA'dan farklıdır). Kısacası, mitokondri dediğimiz organel bir prokaryotun, diğeri ile simbiyotik ilişkisinin bir ürünüdür.

Her mitokondri'de 2 ila 10 arası mtDNA kopyası bulunur. Günümüz canlılarında, proteinlerin çok büyük bir kısmı çekirdekteki DNA tarafından kodlanır; ancak bulgular, bu kodların bir kısmının eskiden mtDNA'da bulunduğunu göstermektedir. Daha sonraki zamanlarda, transpozonal sıçrama denen olay sonucu mtDNA'daki bilgiler nükleer (çekirdekteki) DNA'ya taşınmıştır.

Çok hücrelilerin çoğunda mtDNA yalnızca anneden gelmektedir. Bunun çok basit birkaç sebebi vardır: Spermde 100-1000 arası mtDNA bulunurken, yumurtada 100.000 ila 1.000.000 arası mtDNA bulunur. Ayrıca döllenme sırasında meydana gelen biyokimyasal tepkimeler, sperm mtDNA'sının çok büyük bir kısmının yumurtaya geçmesine engel olur. Ayrıca yumurta döllendikten sonra sperm ve mtDNA yumurta tarafından "yabancı madde" olarak algılanarak yok edilir. Zaten spermdeki mtDNA'nın çoğu, mitokondrilerin yoğunlukla bulunduğu kuyruk kısmındadır ve kuyruk çoğu zaman döllenme sırasında, mtDNA'larla birlikte, kaybedilir. Bu sebeple yavruya geçen mtDNA'nın kaynağı, annedir.

Bu durum, mtDNA'nın izleri takip edilerek bir canlının anne tarafının tamamının haritalanabilmesini sağlamaktadır. Aynı olgu, sadece erkekten alınabilen Y-kromozomu ile de yapılabilir; bu durumda da erkek tarafı belirlenir. Bu işlem, temel olarak mtDNA üzerinde bulunan HVR1 ve HVR2 genleri (toplamda 440 baz bulunur) ve bunlarının değişiminin takibiyle yapılır. Bu şekilde yapılan analizler sonucu, açık bir şekilde, günümüzdeki bütün köpeklerin atasının vahşi kurtlar olduğu ispatlanmıştır.

Mitokondriyal Havva (Mitochondrial Eve) denen olgu, mtDNA'nın takibinin insanlara uyarlanmış versiyonudur. İnsandaki mtDNA geriye doğru takip edilerek, insanların atası aranmıştır. Bulgular açıkça göstermektedir ki, ortada birden bire meydana gelen bir erkek ve kadın yerine, sürekli olarak ileriye giden bir süreç görülmektedir. Geriye gidildikçe ise günümüz maymunlarının da atalarıyla yakınlaşan bir atadan evrimleşildiği görülmektedir. Yani bundan birkaç bin önceki nesil kesinlikle bir insan değildir. MtDNA, evrimin var olduğunun ve sürdüğünün çok açık bir ispatıdır.

MtDNA'daki bilgiler sadece değişmekle kalmaz, çok hızlı değişir. Çünkü mtDNA'nın mutasyon hızı çok yüksektir. Bunun sebebi de ökaryotik canlıların

çekirdeğinde bulunan çift sarmal DNA'ya göre çok daha az korunması ve kontrol mekanizmalarının prokaryotlardaki gibi daha az gelişmiş olmasıdır. Bu da filogenetik araştırmaların kolaylaşmasını sağlar çünkü mtDNA'da meydana gelen mutasyonlar ve bireyler ve türler arasındaki farklılıkların takibi kolaylaşır. Farklı canlıların mtDNA'sı kıyaslanır ve buna göre evrim ağacı çıkarılır.

Nadiren mtDNA'nın erkek tarafından aktarıldığı da gözlenmiştir. Örneğin birkaç bal arısı türünde, meyve sineklerinde bu durum gözlenmiştir. *In vivo* gerçekleştirilen döllenmelerde de erkekte mtDNA'nın geçmesi durumu gözlenebilir.

Farklı mtDNA genleri, farklı oranlarda evrimleştikleri için, genellikle yapılan çalışmaya ve türe uygun mtDNA geni seçilmektedir. ND (Turan, 1997; Turan ve ark., 1998; Avise ve Lansman, 1983, Carr ve Marshall, 1991; Chapman ve ark., 1994) ve sitokrom b genleri (Allendorf, ve ark., 1987; Cronin ve ark., 1993; Bembo ve ark., 1995) birçok tür ve popülasyon çalışmaları için incelenmiş ve bu genlerin tür ve popülasyonlar arasındaki farklılıkların tespitinde oldukça başarılı sonuçlar verdikleri rapor edilmiştir.

## **1.7. Blenniidae Ailesi**

Blenniidae ailesi perciformlardan (levreksiler) deniz balıklarını içeren türlere verilen genel isimdir. Temsil ettikleri 53 cins yaklaşık 371 tür ile (Tablo 1.2), en büyük balık ailelerinden birisidir. Horozbinalar Atlantik, Pasifik ve Hint okyanuslarında tropikal ve subtropikal sularda bulunur, bazı türleri de acı ve hatta tatlı su ortamlarında bulunurlar (Tablo 1.1).

### **1.7.1. Fiziksel Tanımlama**

Horozbina türlerinde arketipik olan bir gövde planı vardır, küt bir kafa yapısına ve büyük gözlere sahiptirler ayrıca büyük ve sürekli bir sırt yüzgeçleri vardır bu sırt yüzgecinde 3 ila 17 tane ışınal dikenlere sahip olabilirler. Vücutları sıkıştırılmıştır gibidir uzun ve pulsuzdur. Küçük ince pelvik yüzgeçleri (sadece iki tür de mevcut değildir) genişlemiş göğüs yüzgeçlerinden önce bulunmaktadır ve kuyruk yuvarlaktır. Bu isimlendirme ,combtooth blennies'lerin çenelerini kaplayan tarak benzeri dişlere sahip oldukları için yapılmıştır. En büyük türün uzunluğu 53 cm olan saç kuyruk blenny'dir, blenniidae ailesinin diğer üyelerinin çoğu çok küçüktür.

**Tablo 1.1:** Blenniidae Ailesi sistematikteki yeri (www.fishbase.com)

Alem	Animalia
Şube	Chordata
Alt Şube	Vertebrata
Üst Sınıf	Osteichthyes
Sınıf	Actinopterygii
Alt Sınıf	Neopterygii
Infraclass	Teleostei
Üst Takım	Acanthopterygii
Takım	Perciformes
Alt Takım	Blennioidei
Aile	Blenniidae

**Tablo 1.2:** Blenniidae ailesine ait olan tüm türler (www.fishbase.com)

<i>Aidablennius</i> (Tektip)	<i>Lipophrys</i> (8 Tür)
<i>Alloblennius</i> (4 Tür)	<i>Litobranchus</i> (Tektip)
<i>Alticus</i> (8 Tür)	<i>Lupinoblennius</i> (4 Tür)
<i>Andamia</i> (4 Tür)	<i>Meiacanthus</i> (25 Tür)
<i>Antennablennius</i> (7 Tür)	<i>Mimoblennius</i> (5 Tür)
<i>Aspidontus</i> (3 Tür)	<i>Nannosalarias</i> (Tektip)
<i>Atrosalarias</i> (2 Tür)	<i>Oman</i> (Tektip)
<i>Bathyblennius</i> (Tektip)	<i>Omobranchus</i> (23 Tür)
<i>Blenniella</i> (9 Tür)	<i>Omox</i> (2 Tür)
<i>Blennius</i> (4 Tür)	<i>Ophioblennius</i> (Tektip)
<i>Chalaroderma</i> (2 Tür)	<i>Parablennius</i> (Tektip)
<i>Chasmodes</i> (3 Tür)	<i>Parahypsos</i> (Tektip)
<i>Cirripectes</i> (22 Tür)	<i>Paralipophrys</i> (Tektip)
<i>Cirrisalarias</i> (Tektip)	<i>Paralticus</i> (Tektip)
<i>Coryphoblennius</i> (Tektip)	<i>Parenchelyurus</i> (Tektip)
<i>Crossosalarias</i> (Tektip)	<i>Pereulixia</i> (Tektip)
<i>Dodekablennos</i> (Tektip)	<i>Petroscirtes</i> (Tektip)
<i>Ecsenius</i> (53 Tür)	<i>Phenablennius</i> (Tektip)
<i>Enchelyurus</i> (5 Tür)	<i>Plagiotremus</i> (Tektip)
<i>Entomacrodus</i> (1+ Tür)	<i>Praealticus</i> (Tektip)
<i>Exallias</i> (Tektip)	<i>Rhabdoblennius</i> (Tektip)
<i>Glyptoparus</i> (Tektip)	<i>Salaria</i> (Tektip)
<i>Haptogenys</i> (Tektip)	<i>Salarias</i> (Tektip)
<i>Hirculops</i> (Tektip)	<i>Scartella</i> (Tektip)
<i>Hypoleurochilus</i> (10 Tür)	<i>Scartichthys</i> (Tektip)
<i>Hypsoblennius</i> (16 Tür)	<i>Spaniblennius</i> (Tektip)
<i>Istiblennius</i> (14 Tür)	<i>Stanulus</i> (Tektip)
<i>Laiphognathus</i> (2 Tür)	<i>Xiphasia</i> (Tektip)

### 1.7.2. Habitat ve Davranış

Genel olarak bentik bir balık ailesidir, zamanlarının çoğunu yaşam alanlarının taban kısmında veya yakınında geçirirler. Bu aile temsilcileri kayalık resiflerde, çatlak kumlu ya da çamurlu yüzeylerde yuvalanırlar, hatta boş kabuklar yaşama alanları olabilir. Sıklıkla sığ sularda bulunurlar, bazı türler büyük göğüs yüzgeçlerini "ayak" gibi kullanarak bunun yardımıyla düşük gelgit sırasında kısa

süreler için su terk yeteneğine sahiptir. Küçük bentik kabuklular, yumuşakçalar ve diğer sesil omurgasızlar bu ailedeki çoğu tür için temel besin öğeleridir, bunun dışında diğer türler ise yosun veya plankton ile beslenirler.

Dişiler, yapışkan yumurtalarını kabuklara ya da kaya çıkıntlarına bırakırlar, erkekler yumurtaların çatlamasına kadar yuvalarını korurlar. Bazı türde yumurtalar, çatlayana kadar dişinin yumurta kanalında kalabilir. Bazı türlerin yavrularının bir ophioblennius aşamasına geçmesi ile balık pelajik (ortasuda yaşayan) olur, genişlemiş büyük pektoral yüzgeçlere ve çengel dişlere sahip olur (Sepkoski ve Jack, 2002).

## 1.8. Türkiyedeki Blennidae Üyeleri

Blennidae ailesinin Türkiye Denizlerin'de yaşayan türleri Tablo 1.3'te gösterilmiştir.

**Tablo 1.3:** Blennidae ailesinin Türkiye Denizlerinde yaşayan türleri (Fricke R. ve ark., 2007).

• <i>Aidablennius sphynx</i>	• <i>Scartella cristata</i>
• <i>Blennius ocellaris</i>	• <i>Parablennius gattorugine</i>
• <i>Coryphoblennius galerita</i>	• <i>Parablennius incognitus</i>
• <i>Salaria basilisca</i>	• <i>Parablennius rouxi</i>
• <i>Salaria fluviatilis</i>	• <i>Parablennius sanguinolentus</i>
• <i>Lipophrys canevae</i>	• <i>Parablennius tentacularis</i>
• <i>Lipophrys adriaticus</i>	• <i>Parablennius zvonimiri</i>
• <i>Lipophrys dalmatinus</i>	• <i>Petroscirtes ancyllodon</i>
• <i>Lipophrys nigriceps</i>	
• <i>Lipophrys pavo</i>	
• <i>Lipophrys trigloides</i>	

### 1.8.1. *Aidablennius sphynx*

*Aidablennius sphynx* (Şekil 1.4), doğu Atlantik Okyanusun'da ve Akdeniz'de bulunan bir blenny türüdür. Monotipik bir tür olarak *Aidablennius* aittir. 1836 yılında Achille Valenciennes tarafından tanımlanmıştır ve uzunluğu 8 cm'ye kadar ölçülmüştür. Kıyı bölgesinde bulunan çok sığ kayalık, güneş ışığı ve sörfeye maruz kalan, yatay, yosun kaplı deniz zemini üzerinde yaşarlar. Bentik omurgasızlar ve algler ile beslenirler (Zander, 1986).





Şekil 1.4: *Aidablennius sphynx* (www.fishbase.com)

### 1.8.2. *Blennius ocellaris*

Kelebek Horozbina olarakta adlandırılan *Blennius ocellaris* (Şekil 1.5), Kuzey ve Batı Avrupa'da görülen blennidae familyasına ait küçük bir deniz balığıdır, Akdeniz ve Karadeniz'de ve Fas'da yaşama alanları arasındadır. Bu türün uzunluğu 20 cm'ye kadar ulaşabilir. Genellikle kayalık bir zemin olan yerlerde yaşar ve 1-40 metre arası derinliktedir. Özellikle gece, küçük omurgasızlarla beslenir.



Şekil 1.5: *Blennius ocellaris* (www.fishbase.com)

### 1.8.3. *Coryphoblennius galerita*

*Coryphoblennius galerita* (Şekil 1.6) doğu Atlantik Okyanusu'da bulunur. İlk olarak 1758 yılında Linnaeus tarafından adlandırılmıştır, sıkça Montagu Blenny olarak bilinir. *Coryphoblennius* cinsinin tek türüdür (Almada ve ark., 2005). En fazla 7.6 cm kadar büyür (Bath, 1990).

Gelgit (Martin ve Bridges, 1999), dalgalarla hırpalanmış kayalıklı kıyılarda bulunabilir (Bath, 1990). Kayalar ve yosunlar altında su dışında kalabilir (Martin ve Bridges, 1999). Zaman zaman su dışında hava soluyabilir. Küçük dalga havuzlarında genç bireylere rastlanır (Nieder, 1993).



Şekil 1.6: *Coryphoblennius galerita* (www.fishbase.com)

### 1.8.4. *Lipophrys adriaticus*

Adriyatik Horozbinası, *Lipophrys adriaticus* (Şekil 1.7) Steindachner ve Kolombatovic (1883) tarafından adlandırılmıştır ve ilk önce *Blennius adriaticus* olarak *Blennius* cinsi altına alınmıştır. Yaygın olarak Akdeniz'de : Marmara Denizi ve Karadeniz'de dağılım gösterir, Adriyatik Denizi ve Ege Denizi'nde de rastlanır. Maksimum uzunluğu 4cm'dir (Patzner, 1999).



Şekil 1.7: *Lipophrys adriaticus* (www.fishbase.com)

#### 1.8.5. *Salaria basilisca*

*Salaria basilisca* (Şekil 1.8). Subtropikal (18°C – 22°C) denizlerin 2 ile 15 m derinliklerinde yaşayan (Baensch ve Riehl, 1997) demersal bir türdür. Maksimum uzunluk erkek bireyde 18.0 cm'dir (Zander, 1986). Kayalık dipleri bazen de deniz çayırlarının bulunduğu yerleri tercih eder. Birçok dişi tarafından üretilen yumurtalar erkek tarafından korunmaktadır. Bireyler ilk olarak dişidir daha sonra erkek bireylere dönüşürler.



Şekil 1.8: *Salaria basilisca* (www.fishbase.com)

#### 1.8.6. *Lipophrys canevae*

*Lipophrys canevae* (Şekil 1.9) kuzeydoğu Atlantik Okyanusunda ve Akdeniz'de bulunur. İlk olarak 1880 yılında Vinciguerra tarafından adlandırılmıştır. Erkek bireyler 7.5 cm maksimum uzunluğa ulaşabilir. Demersaldir, denizlerin 0-2 m arasındaki derinliklerinde yaşar (Zander, 1986). Yaşam alanı olarak sarp kayalık duvarları tercih eder. Küçük omurgasızlar özellikle kabuklular ve aynı zamanda alg ağırlıklı beslenirler.



Şekil 1.9: *Lipophrys canevae* (www.fishbase.com)

### 1.8.7. *Lipophrys dalmatinus*

*Lipophrys dalmatinus* (Şekil 1.10), kuzeydoğu Atlantik Okyanusu'nda ve Akdeniz'de bulunan bir türdür. İlk kez 1883 yılında Steindachner ve Kolombatovic tarafından bulundu, maksimum uzunluğu 4.1 cm ulaşabilir. Denizlerin 1-2 m kadar derinlerinde ve subtropikal sularda yaşar.

İpliksi yosun kaplı kayalıklar üzerinde yaşar; bazen de acı sularda görülür. Güneş ışığı sırasında ağırlıklı olarak aktif hareket eder aksi halde delik veya midye kabukları içine gizlenir, ayrıca algler; bentik meiofauna, özellikle harpaktikoidler ile beslenir (Zander, 1986 ).



Şekil 1.10: *Lipophrys dalmatinus* (www.fishbase.com)

### 1.8.8. *Lipophrys nigriceps*

*Lipophrys nigriceps* (Şekil 1.11) 1883 yılında Vinciguerra tarafından adlandırılmıştır. Yaygın olarak siyah-başlı blenny olarak bilinir. Maksimum uzunluğu 4.3 santimetredir ve ticari değeri olan bir akvaryum balığıdır (Hastings ve Springer, 2009). Mağaralar ve diğer loş yerler biyotopları oluşturur. Gündüz aktiftir. Esas olarak, harpacticoids daha az oranda küçük omurgasızlar ve yosunlarla beslenir (Zander, 1986).



Şekil 1.11: *Lipophrys nigriceps* (www.fishbase.com)

### 1.8.9. *Salaria pavo*

*Salaria pavo* (Şekil 1.12), tavuskuşu horozbina olarak bilinir. Doğu Atlantik, Akdeniz ve Karadenize'de yaygın olarak bulunur. Maksimum 13 cm boya erişir. Gelgit bölgesi ve sığ dipler, kaya veya kum, çakıl taşları ve bitki örtüsü olan yerlerde yaşar. Genellikle tuzlu sularda, yarıklar veya piddock deliklerinde yaşayan erkekler düşük gelgit sırasında su seviyesinden dolayı dışarıda kalabilir. Ayrıca, özellikle bentik omurgasızlar yumuşakçalar, alglerle beslenirler (Zander, 1986).



Şekil 1.12: *Salaria pavo* (www.fishbase.com)

### 1.8.10. *Lipophrys trigloides*

Fransa, İber Yarımadası, Fas, Akdeniz ve Senegal, Kanarya Adaları ve Madeira, Marmara Denizi kıyıları boyunca görülebilen horozbina türüdür (Şekil 1.13). Maksimum 13cm büyüklüğe ulaşabilir (Zander, 1986). Kıyı sularında dalgalarca hırpalanmış kayalık kıyılarda yaşarlar (Martin ve ark., 1999). Dik kıyı duvarlarında yarıklar ve dip kısımları tercih eder (Bath, 1990). Yumurtlama sırası haricinde çok aktif değildirler. Midye, diğer bentik omurgasızlar ve yosunlar ile beslenirler (Zander, 1986). Zaman zaman su dışında hava soluyabilir. Sadece geceleri aktif combtooth blenny olarak bilinir.



Şekil 1.13: *Lipophrys trigloides* (www.fishbase.com)

### 1.8.11. *Scartella cristata*

*Scartella cristata* (Şekil 1.14) Atlantik, Akdeniz ve Kuzeybatı Pasifik'te yaygın bir dağılım gösterir (Bath, 1990). Vücut ve yüzgeçlerini kapsayan benekler ve beyaz siyah deri rengine sahiptir. Bu balığın kafasında, kısa saç benzeri uzantılar mevcuttur ve iki çok büyük göze sahiptir. Erkek bireyler 12 cm uzunluğa ulaşabilir (Cervigón, 1994). Yüzeyin altında 0-10 metre derinliklerde kaya ve mercan resiflerinde yaşayan tropikal deniz balıklarındandır (Lieske ve Myers, 1994). Mercan resifleri onlara barınak oluşturma ve de gizleme açısından mükemmel yerlerdir, omnivordur diyetini oluşturanlar küçük kabuklular, balıklar ve yosunlardır (Robins ve ark., 1986).



Şekil 1.14: *Scartella cristata* (www.fishbase.com)

#### 1.8.12. *Parablennius gattorugine*

*Parablennius gattorugine* (Şekil 1.15), yaklaşık 30 santimetre kadar büyüyen bir orta büyüklükte horozbina türüdür (Bauchot, 1987). Kayalık alanlarda, sığ sularda, deniz dibinin (20 metre) derinliklerinde yaşar (Zander, 1986). Büyük Britanya'nın kuzey, batı ve güney kıyılarında bulunan ve Kuzey Norfolk kıyılarının batıklarında görülmüş olmasına rağmen, doğu kıyısında görülmemiştir. Bu tür Akdeniz, Karadeniz, Marmara Denizi, Azor Adaları ve Madeira çevresinde sıklıkla görülür (Oliveira ve ark., 1992). Ağırıklı olarak alacakaranlıkta ve şafak sırasında aktiftir. Genç bireyler denizin yosunlu bölgesindeki sığ sularda bulunur. Yetişkinler ise kayalık alanlarda yaşarlar (Wheeler, 1992).



Şekil 1.15: *Parablennius gattorugine* (www.fishbase.com)

### 1.8.13. *Parablennius incognitus*

*Parablennius incognitus* (Şekil 1.16) doğu Atlantik Okyanusu ve Akdeniz'de bulunan bir türdür. Marmara Denizi, Karadeniz, Akdeniz de dahil olmak üzere Fas, İber Yarımadası, Madeira, Kanarya Adaları, Limbe ve Kamerun'da yaygındır. Maksimum uzunluğu 5.8 cm ulaşabilir. Kıyı sularında kayalık kıyılarda yaşar. Alt omurgasızlar, özellikle krustase ve alglerle beslenir (Bath, 1990).



Şekil 1.16: *Parablennius incognitus* (www.fishbase.com)

### 1.8.14. *Parablennius rouxi*

Kuzeydoğu Atlantik, Portekiz, ve Akdenizde yaşayan bir horozbina türüdür (Şekil 1.17). Denizlerin derinlikleri 42 m'ye kadar olan subtropikal sularında görülür. Maksimum 8.0cm'ye kadar büyür (Zander, 1986). Alglerin bulunduğu hafif kaya veya çakıl üzerinde ve sığ bölgelerde yaşar. Periphyton, harpaktikoidler ve yosun ile beslenir. Erkekler genellikle kaya üzerindeki deliklerde yaşarlar. Rakiplerine, lateral gösterge olarak esneme ve kendini daire içine alarak tehdit ve sıkıştırma anında ısırma ile tepki verir (Zander, 1986).





Şekil 1.17: *Parablennius rouxi* (www.fishbase.com)

### 1.8.15. *Parablennius sanguinolentus*

*Parablennius sanguinolentus* (Şekil 1.18), Doğu Atlantik, Akdeniz ve Karadeniz kıyılarında bulunur (Zander, 1986 ). Maksimum 20 cm kadar büyüyen bir türdür ortalama 12.5 cm boydadır (Bauchot, 1987). Çakıl taşları arasında ya da dik bir boşlukta bulunurlar. Bu klasik davranış yerleşik türlerde görülür, güneş ışığına maruz ipliksi yosun kaplı kayalar da yaşam alanları arasındadır (Gibson, 1999). Neredeyse sadece algler üzerinden beslenir.



Şekil 1.18: *Parablennius sanguinolentus* (www.fishbase.com)

#### 1.8.16. *Parablennius tentacularis*

*Parablennius tentacularis* (Şekil 1.19), Marmara Denizi, Karadeniz ve Akdeniz'de (Suriye, Lübnan, İsrail ve Mısır hariç), Portekiz, İspanya, Kanarya Adaları kıyılarına yakın Doğu Atlantik ve Fas'ta ayrıca güneyde Gine'de dağılım gösterir (Zander, 1986 ). Maksimum 15 cm kadar büyür (Bauchot, 1987). Demersaldır, denizler ve acı suların derinliği 3-15 m arasındaki bölümlerinde yaşar. Yetişkinler kumlu diplerde, kayalar ve ışık gören bitki örtüsü üzerinde yaşarlar. Bu kısımlardaki yarıklara yapılan yuvalar erkek tarafından korunur. .



Şekil 1.19: *Parablennius tentacularis* (www.fishbase.com)

#### 1.8.17. *Parablennius zvonimiri*

*Parablennius zvonimiri* (Şekil 1.20) Akdeniz ve Karadeniz'de bulunur. Demersaldır, 6 - 12 m arasındaki derinlikleri tercih eder (Kovacic ve Golani, 2007). Dorsal dikenler(toplam): 12; Dorsal yumuşak ışınları (toplam): 18; Anal dikenler: 2; Anal yumuşak ışınları: 19–20 adettir. Sarkan kayalar ve mağaralar gibi loş biyotoplarda yaşarlar.



Şekil 1.20: *Parablennius zvonimiri* (www.fishbase.com)

#### 1.8.18. *Petroscirtes ancylodon*

*Petroscirtes ancylodon* (Şekil 1.21), Batı Hint Okyanusunda: Kuzey Kızıldeniz, Basra Körfezi'nde dağılım gösterir. Süveyş Kanalı aracılığıyla Doğu Akdeniz'e girmiştir. Kıyılarımızda İskenderun Körfezinde kaydedilmiştir. Maksimum uzunluğu erkek bireylerde 11.5 cm dişi bireylerde 7.86 cm'ye ulaşır (Randall, 1995).



Şekil 1.21: *Petroscirtes ancylodon* (www.fishbase.com)

## 2. AMAÇ

İnsanların denizleri, gölleri, nehirleri ve bu ortamlarda yaşayan canlılara merakı, onları tanıma ve yararlanma çabaları Milattan yüzyıllarca öncesine dayanmaktadır. Bilimsel yönden bu konu Batı’ da 18.yy. da ağırlığını koymaya başlamıştır. 20.yy.’ın ikinci yarısından sonra balık bilimi, balıkçılık bilimi, deniz bilimi ve tüm pozitif bilimlerdeki aşamalar ve gelişen teknoloji ile beraber ilgili birikimleri ve uygulamalar açısından doruk noktasına erişmiştir.

Türkiye'deki balık ve bofa balıkları toplam 155 aile (45’i özgün olmayan türler de dahil olmak üzere) 694 türden oluşmaktadır. Tatlı sularda 248 tür yaşamaktadır ve en büyük tatlı su balık aileleri Cyprinidae, Balitoridae ve Cobitidae’dir. 279 tür ise transizyonel sularda yaşarlar. Deniz habitatında ise 434 tür (bunlara 46 tane göç eden tür tanımlandı) bulunur. Gobiidae ve Sparidae en büyük deniz balıkları ailelerini oluşturmaktadır (Fricke R. ve ark., 2007). Ege ve Akdenizdeki balıkların bir bölümü 1869’ da Süveyş kanalının açılmasıyla Hint Okyanusundan gelerek kıyılarımıza yerleşmişlerdir.

Bu canlılar arasında Blennidae ailesine ait türler ekonomik olarak önem taşımazlar fakat ekolojik olarak önem taşırlar. Blennidae ailesi, içerisinde 53 cins yaklaşık 371 tür barındırır ve bunlardan sadece 8 cins 19 türü Türkiye ihtiyofaunasında bulunmaktadır (Fricke R. ve ark., 2007).

Ekolojik olarak öneme sahip bu türlerin biyolojileri ve ekolojileri ile ilgili birçok araştırma yapılmasına rağmen bu türlerin genetik yapıları ile ilgili yapılan çalışmalar çok kısıtlıdır. Özellikle ülkemizde bulunan Blennidae ailesine ait türlerin genetik yapıları, birbirleri ile ve Atlantik’teki ve Akdeniz’deki türlerle olan genetik yakınlıkları ve bu türlerle ilişkileri sonrası oluşan genetik farklılıklar hakkında bir araştırma bulunmamaktadır.

Bu çalışmada; Türkiye ihtiyofaunasında bulunan *Aidablennius sphyinx*, *Blennius ocellaris*, *Coryphoblennius galerita*, *Lipophrys adriaticus*, *Lipophrys*

*basiliscus*, *Lipophrys canevai*, *Lipophrys dalmatinus*, *Lipophrys nigriceps*, *Lipophrys pavo*, *Lipophrys trigloides*, *Scartella cristata*, *Parablennius gattorugine*, *Parablennius incognitus*, *Parablennius rouxi*, *Parablennius sanguinolentus*, *Parablennius tentacularis*, *Parablennius zvonimiri*, türleri ile Atlantik kökenli aynı türlerin morfolojik ve moleküler düzeyde ayrılmasıyla bu türlerin filogenetik ilişkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla Akdeniz'in çeşitli noktalarından örnekler toplanmış, örneklerin morfolojik ayırmda sıkça kullanılan karakterleri incelenmiş ve tür ayırım anahtarları yardımıyla morfolojik ayrımları yapılmıştır. Moleküler incelemelerde ise örneklerin mitokondriyal DNA'larından filogenetik çalışmalarda anlam ifade eden bölgeleri (16S rRNA) polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ile çoğaltılıp, incelenen türler arasındaki benzerlik ve farklılıkların ortaya çıkarılması amacı ile dizi analizi uygulanmıştır.

Blennidae ailesi ile ilgili benzer çalışmalar farklı araştırmacılar tarafından yapılmış olsa da, Türkiye ihtiyofaunasında bulunan Blennidae ailesine ait türlerin moleküler olarak incelendiği kapsamlı bir çalışma daha önce yapılmamıştır.

### 3. MATERYAL ve METOD

#### 3.1. Materyal

##### 3.1.1. Araştırmada Kullanılan Örnekler

Bu araştırmada kullanılan örnekler Kekova Adası (Kaş, Antalya), Hidayet Koyu (Kaş, Antalya) ve Boncuk Koyu (Gökova Körfezi, Muğla) sahillerinden (Tablo 3.1.) serbest dalış yöntemi ile toplandı. Toplanan örnekler morfolojik tayinde de kullanılabilmesi için bütün olarak %70 etanol içerisinde muhafaza edildi. Her bir örneğe üzerinde tür adı, toplama tarihi ve toplanan yerin bilgilerini taşıyan etiketlere göre sayısal kodlama yapıldı.

**Tablo 3.1:** Araştırmada kullanılan türler ve elde edildiği yerler

Örnek Kodu	Bilimsel İsimlendirme	Örneğin Elde Edildiği Yer
B1	<i>Lipophrys trigloides</i>	Gökova, Boncuk Koyu
B2	<i>Parablennius incognitus</i>	Gökova, Boncuk Koyu
B3	<i>Scartella cristata</i>	Gökova, Boncuk Koyu
B4	<i>Parablennius zvonimiri</i>	Gökova, Boncuk Koyu
B5	<i>Coryphoblennius galerita</i>	Gökova, Boncuk Koyu
B6	<i>Parablennius sanguinolentus</i>	Gökova, Boncuk Koyu
B7	<i>Aidablennius sphynx</i>	Gökova, Boncuk Koyu
B8	<i>Aidablennius sphynx</i>	Gökova, Boncuk Koyu
B9	<i>Lipophrys canevae</i>	Gökova, Boncuk Koyu
B10	<i>Lipophrys dalmatinus</i>	Gökova, Boncuk Koyu
B11	<i>Lipophrys dalmatinus</i>	Gökova, Boncuk Koyu
H1	<i>Lipophrys trigloides</i>	Kaş, Hidayet Koyu
H2	<i>Lipophrys trigloides</i>	Kaş, Hidayet Koyu
H3	<i>Aidablennius sphynx</i>	Kaş, Hidayet Koyu
H4	<i>Parablennius zvonimiri</i>	Kaş, Hidayet Koyu
H5	<i>Lipophrys trigloides</i>	Kaş, Hidayet Koyu
H6	<i>Parablennius rouxi</i>	Kaş, Hidayet Koyu
K1	<i>Parablennius gattorugine</i>	Kaş, Kekova Adası
K2	<i>Parablennius zvonimiri</i>	Kaş, Kekova Adası
K3	<i>Parablennius zvonimiri</i>	Kaş, Kekova Adası
K5	<i>Parablennius incognitus</i>	Kaş, Kekova Adası
K6	<i>Aidablennius sphynx</i>	Kaş, Kekova Adası
K7	<i>Parablennius incognitus</i>	Kaş, Kekova Adası
K8	<i>Parablennius zvonimiri</i>	Kaş, Kekova Adası
K9	<i>Parablennius tentacularis</i>	Kaş, Kekova Adası

### 3.1.2. Genomik DNA İzolasyonu İçin Kullanılan Kimyasallar ve Tamponlar

Genomik DNA izolasyonu işlemi için Tablo 3.2’de verilen kimyasallar kullanıldı.

**Tablo 3.2:** Genomik DNA İzolasyonu İçin Kullanılan Kimyasallar

Genomik DNA İzolasyonu İçin Kullanılan Kimyasallar	Kimyasalların İçeriği
SDS-Lizis Tamponu (pH 8,0)	50 mM Tris (pH 8,0), 50 mM sükröz, 100 mM NaCl, 50 mM Na <sub>2</sub> EDTA (pH 7,4), %1 SDS
5M NaCl	NaCl
Low-TE Tamponu (pH 8,0)	10 mM Tris (pH 8,0), 0,1 mM EDTA (pH 8,0)
Proteinaz K	Steril suda 10 mg/ml
% 70 Etanol	Distile su içinde % 70 EtOH
Abzolüt Etanol	

### 3.1.3. Polimeraz Zincir Reaksiyonu İçin Gerekli Enzim ve Kimyasallar

Araştırmada kullanılan PZR enzim ve kimyasalları Tablo 3.3’de verildi.

**Tablo 3.3:** Polimeraz Zincir Reaksiyonu İçin Gerekli Enzim ve Kimyasallar

PZR İçin Gerekli Enzim ve Kimyasallar	Kimyasalların İçeriği
10X MgCl <sub>2</sub> süz Tampon	200 mM (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , 750 mM Tris-HCl (pH 8,8), % 0,1 Tween 20 (Fermentas, LİTVANYA)
MgCl <sub>2</sub>	dH <sub>2</sub> O’da 25 mM (Fermentas, LİTVANYA)
Deoksiribonükleotitler (dNTP)	100 mM dATP, dCTP, dGTP ve dTTP (Fermentas, LİTVANYA)
Taq DNA Polimeraz	Rekombinant Taq DNA Polimeraz (Fermentas, LİTVANYA)

### 3.1.4. PZR Cihazı

16S DNA bölgesini çoğaltmak için 96 kuyucuklu Techne TC-512 model PZR cihazı kullanılmıştır.

### 3.1.5. Oligonükleotit Primerler

Çalışmada kullanılan primerler İONTEK A.Ş. (Türkiye) firmasından temin edildi. 16S gen bölgesinin çoğaltan 16Sar-L ve 16Sbr-H primerleri kullandı (Tablo 3.4).

**Tablo 3.4:** Çalışmada kullanılan 16S primerleri

<b>PRİMER</b> (Palumbi 1996)	<b>GEN</b>	<b>BAZ DİZİSİ</b>
16Sar-5'	16S rRNA	5'-CGCCTGTTTATCAAAAACAT-3'
16Sbr-3'	16S rRNA	5'-CCGGTCTGAACTCAGATCACGT-3'

### 3.1.6. Elektroforez İçin Kullanılan Tamponlar ve Kimyasallar

Araştırmada kullanılan kimyasallar ve içerikleri Tablo 3.5'de verildiği gibi kullanıldı.

**Tablo 3.5:** Elektroforez İçin Kullanılan Tamponlar ve Kimyasallar

<b>Araştırmada Elektroforez İçin Kullanılan Kimyasallar</b>	<b>Kimyasalların İçeriği</b>
10X TBE (Tris-Borik Asit-EDTA) (pH 8,3)	890 mM Tris-Baz, 890 mM Borik Asit, 20 mM Na <sub>2</sub> EDTA.2H <sub>2</sub> O
6X DNA yükleme boyası	2,5 mg/ml BPB 10Mm TrisHCl 2,5mg/ml Ksilen Siyanol 5mg/ml Gliserol 60Mm EDTA
Etidyum Bromür (EtBr)	10 mg/ml
Agaroz Jel	0,5X TBE tamponunda %0,7 ve %1'lik agaroz

### 3.1.7. DNA Büyüklük Markörleri

GeneRuler 1 kbç DNA Markörü : 250, 500, 750, 1000, 1500, 2000, 2500, 3000, 3500, 4000,5000, 6000, 8000, 10000 baz çiftlik fragmanlar içeren DNA markörü (Fermentas, LİTVANYA).

### 3.1.8. PZR Ürünlerinin Saflaştırılması

Dizileme işlemi için PZR ürünlerinin saflaştırılması gerekmektedir. Bu işlem için“High Pure PCR Product Purification Kit (Roche, ALMANYA)” firmanın önerdiği protokole uygun olarak kullanıldı.



### 3.1.9. Cihazlar

Araştırmada kullanılan cihazlar marka ve modelleri Tablo 3.5'te ayrıntılı şekilde gösterildi.

**Tablo 3.6:** Araştırma için laboratuvarıda kullanılan cihazlar ve markaları

<b>KULLANILAN CİHAZ</b>	<b>CİHAZIN MARKASI ve MODELİ</b>
Otoklav	Dik Tip Otoklav (BES, TÜRKİYE)
Mikro Pipetler	Thermo (A.B.D.)
Hassas Terazı	XB220 A (Presica, İSVİÇRE)
Santrifüjler	MiniSpin Plus (Eppendorf, ALMANYA)
Derin Dondurucular	-20C, Arçelik 2021 D (TÜRKİYE) -80C Thermo Fisher Scientific (A.B.D.)
Görüntüleme Sistemleri	Bio-RAD Universal Hood II (BIO-RAD, İTALYA)
Yatay Elektroferez Sistemleri	MultiSub Midi (Cleaver Scientific, İNGİLTERE)
Isı Bloğu	DB 2D (Techne, İNGİLTERE)
Güç Kaynakları	EPS301 (AmershamPharmaciaBiotech, İSVEÇ) PowerPac Basic (BIO-RAD, İTALYA)
Manyetik Karıştırıcılar	MR3001 (Heidolph, ALMANYA)
Buzdolapları	Beko 8742 (TÜRKİYE) Arçelik 3061 Plus (TÜRKİYE)
Spektrofotometreler	Schimadzu UV (JAPONYA)
Thermo Cycler	Techne TC-512 (İNGİLTERE)
Vorteks	Heidolph REAX (ALMANYA)
Su Banyoları	Nüve BM 402 (TÜRKİYE)
Su Arıtma Sistemi	Millipore Milli Q Synthesis A10 (FRANSA)

## 3.2. Metod

### 3.2.1. Morfolojik Karakterlerin Kontrolü ve Tür Tayinleri

Mikroskop altında örneklerin kafa porlarına özellikle bakılmak sureti ile pelvik pektoral yüzgeçleri, kuruk yapıları, yüzgeç ışın sayıları, ağız morfolojileri, lateral kısımdaki renk ve desenleri dikkate alınarak, Whitehead ve ark., (1986) tayin anahtarı olarak kullanıldı.

### 3.2.2. Doku Örneklerinin Elde Edilmesi

Morfometrik ölçümler tamamlandıktan sonra örneklerden DNA izolasyonunda kullanmak üzere kuyruk kısmına yakın lateral bölgeden neşter ve pens ile kas dokusu örnekleri alındı. Örnekler %70 etanol bulunan steril tüplere yerleştirilerek +4°C'de saklandı. Gerekliğinde neşter yardımıyla doku örneği alındı ve tekrar aynı koşullarda saklanmaya devam edildi.

### 3.2.3. DNA İzolasyonu

Blennidae familyası üyelerinden alınan kas doku örnekleriyle, fenol/kloroform içermeyen manuel DNA izolasyon protokolü kullanılarak toplam genomik DNA elde edildi. İzolasyon aşamalarını gösteren protokol aşağıda verildi.

- 1,5 ml'lik eppendorf tüpleri örnek sayısına göre belirlenip tüplüğe dizildi ve örnek koduna göre isimlendirilmesi yapıldı.
- Her tüpe az miktarda (1 gr) Chelex 100 sodium form (Sigma) koyuldu.
- Üzerine bir miktar (3 gr) elde edilen kas dokusu örneği koyuldu.
- Tüplerin herbirine 250µl SDS Liziz Tampon Çözelti eklendi.
- Tüplerdeki sıvı kısma pipetin ucu sokularak her bir tüpe 10µl Proteinaz K bırakıldı ve her işlemde pipet ucu değiştirildi.
- Bu işlemlerin ardından tüpler inkübatöre koyuldu ve 56°C'de dokular tamamen çözülene kadar (1,5 saat) beklendi.
- Dokular tamamen çözüldükçe tüpler inkübatörden alınıp 10 dakika maksimum hızda (14,1 ref) santrifüj edildi.
- Santrifüj sonrası 260µl olan tüpteki hacmin 200µl'si üstten yavaşça çekilerek yeniden kodlanan yeni eppendorf tüplerine aktarıldı.

- Her bir tüpteki 200µl sıvı üzerine 100µl saf su 100µl 5M NaCl çözeltisi eklendi.
- Ardından 10 dakika maksimum hızda santrifüj yapıldı.
- Santrifüj sonrası tekrar yeni eppendorf tüpleri hazırlanarak isimlendirildi ve yeni tüplerin üzerine santrifüjü tamamlanmış tüpteki sıvılardan 350µl'şer hacimde sıvı süpernetanttan çekilerek yeni hazırlanan tüplere aktarıldı.
- Her bir tüpte bulunan 350µl hacmin üzerine 700µl %96'lık etil alkol eklendi ve tüpler DNA'ların toplanması için 5-6 kez ters düz edildi.
- Maksimum hızda 10 dakika santrifüj yapıldı.
- Santrifüj bitiminde süpernetantta kalan sıvı tek hamlede dökülerek tüpler ters şekilde bir kaba dizilerek etil alkolün tamamen uçması beklendi (minimum 4 saat-1 gün).

Kurutma işlemi tamamlandıktan sonra her bir tüpün üzerine 50µl Low TE Tampon Çözelti koyularak el ile vurarak karıştırma yapıldı ve DNA çözdürülerek hazır kullanıma hazır hale getirildi.

#### **3.2.4. Jel Elektroforezi**

DNA varlığını görüntülemek için jel elektroforezi yöntemi kullanıldı. Jel Elektroforezine başlamadan önce agaroz jel ve gerekli çözeltiler hazırlandı. Agaroz jelin hazırlanış basamakları aşağıdaki gibi yapıldı;

- 0,5X TE hazırlamak için 10X TE'den 100ml alınarak üzeri 900 ml saf su ile tamamlandı.
- %1'lik agaroz jelden 50ml hazırlamak için hassas terazide 0,5 gr toz agaroz (PRONA-Basica Le) tartıldı.
- Tartılan agaroz (Prona) 200ml'lik erlen'in içersine boşaltıldı.
- Üzerine 50ml 0,5X TE boşaltıldı.
- Erlen'in üzeri streç film ile kapatılarak üzerinde birkaç delik açıldı ve mikrodalgada yaklaşık 2 dakika boumca kaynatıldı. Kaynama sırasında işlem durdurularak agarazon tamamen eriyip erimediği kontrol edildi ve hafifce çalkalandı.
- Agaroz tamamen eriyince üzerine 1,5 µl Etidyum Bromür koyularak

karıştırıldı ve hazırlanan agaroz jel tabağına döküldü. Agaroz jelin donma süresi oda sıcaklığında yaklaşık 30 dakikadır.

%1'lik agaroz jel içerisinde 0,5X TBE bulunan elektroforez tankına yerleştirildi. 3 µl DNA, 1 µl 6X Loading Dye ile karıştırılarak jele yüklendi. Jel'deki ilk kuyuya DNA Ladder yüklendi. Örnekler 120 voltta 25 dakika yürütülür ve görüntülenmek üzere UV görüntüleme sistemine aktarıldı. Burada UV ışık altında görüntülenerek bütünlüğü saptanan DNA'nın görüntüsü,Quantity One® yazılımı ile çekilerek, yazıcıdan (HP-P1102) çıktı alındı.

### **3.2.5. Polimeraz Zincir Reaksiyonu**

#### **3.2.5.1. Primer konsantrasyonunun ayarlanması**

Çalışmada kullanılacak primerler PZR analizinde kullanılmak üzere uygun konsantrasyonlara ayarlandı. PZR'da kullanılacak olan primerler üretici firma tarafından verilen nmol değerlerinin 10 misli distile su ile sulandırılarak 100 pmol/µl'lik stok primer elde edildi. Daha sonra stok primer 1/10 oranında distile su ile sulandırılarak PZR reaksiyonunda kullanılacak 10 pmol/µl'lik stok primer oluşturuldu.

#### **3.2.5.2. PZR optimizasyonu**

Çalışmaya başlamadan önce primerlerin hesaplanan erime sıcaklığında çalışıp çalışmadığını kontrol etmek amacı ile optimizasyon reaksiyonu kuruldu. Bu amaçla primer çifti ile, gradient thermocycler (Thermo Cycler: Techne TC-512) kullanılarak, 50–66°C sıcaklık aralığında 1.5 ve 2 mM MgCl<sub>2</sub> konsantrasyonlarında, reaksiyon protokolüne uygun şekilde optimizasyon için reaksiyon kuruldu.

Reaksiyon protokolü;

- MgCl<sub>2</sub> (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>: 1,5 ve 2 µl
- 10X Taq Tampon Çözelti : 2,5 µl
- dNTP : 0,2 µl
- Primer Geri : 0,1 µl

- Primer İleri : 0,1 µl
- Taq Polimeraz : 0,2 µl
- dH<sub>2</sub>O : 19,4 µl
- Genomik DNA : 1 µl

Reaksiyon protokolü sonucu her bir PZR tüpünde toplamda 25 µl hacminde PZR Reaksiyon sıvısı oluştu. Değişken olarak genomik DNA miktarı, magnezyum konsantrasyonu (1,5 ve 2 µl olmak üzere) ve primer miktarları (0,1 ve 0,05 µl olmak üzere) değiştirildi.

PZR Döngü Koşulları;

16S rRNA için

- 94°C'de 2 dakika
- 94°C'de 30 saniye, 50°C'de (Gradient) 30 saniye, 72°C'de 1 dakika (40döngü)
- 72°C'de 5 dakika

Belirtilen reaksiyon koşulları ve PZR döngü koşullarında çoğaltılan DNA'lar %1'lik agaroz jele yüklenerek, 120 voltta 25 dakika boyunca yürütüldü ve görüntülenmek üzere UV görüntüleme sistemine aktarıldı. Burada UV ışık altında görüntülenerek yazıcı yardımı ile çıktı alındı. İstenilen büyüklükte ışıma veren banda sahip örneklerin erime sıcaklığı ve MgCl<sub>2</sub> konsantrasyonları kaydedilerek, ilgili primer çifti için optimum reaksiyon protokolü ve PZR döngü koşulları belirlendi.

Erime sıcaklıkları ve MgCl<sub>2</sub> konsantrasyonları optimize edilen primer çifti, daha önce verilen reaksiyon protokolü ve belirtilen PZR döngü koşullarına uygun olarak kullanılarak reaksiyonlar gerçekleştirildi.

Belirtilen PZR koşullarında çoğaltılan DNA'lar %1'lik agaroz jel'de, 120 voltta 25 dakika yürütülür ve görüntülenmek üzere UV görüntüleme sistemine aktarıldı. Burada UV ışık altında görüntülenerek yazıcı yardımı ile çıktı alındı. İstenilen büyüklükte bant elde edilemeyen örnekler, aynı koşullarda tekrar edildi.

### 3.2.6. Dizi Analizi

PZR sonucu elde edilen gen bölgeleri saflaştırma işlemi gerçekleştirilerek Kore Cumhuriyeti Seul kentinde bulunan MACROGEN adlı firmaya yollandı ve sonuçlar internet aracılığı ile alındı.

#### 3.2.6.1. Saflaştırma (Pürifikasyon)

PZR ürünlerinin saflaştırılma işlemi Roche High Pure PCR Product Purification Kit adlı ürün ile gerçekleştirildi. PZR ürünleri saflaştırma işlemi aşağıdaki gibi yapıldı;

- Her bir PZR tüpünde bulunan 20 µl PZR ürünü üzerine 100 µl bağlanma sıvısı ilave edildi.
- Eppendorf tüpleri dizme kabına toplama tüpleri ve üzerlerinede filtreli tüpler yerleştirilerek her bir örnek için belirlenen tüpler adlandırıldı.
- Bağlanma sıvısı eklenen ve hacmi 125 µl olan tüpteki sıvı mikropipet ile çekilerek filtreli tüplere aktarıldı.
- Tüpler santrifüj cihazına dizildi ve 14,1 ref hızında 1 dakika santrifüj edildi.
- Santrifüj bitiminde tüpler tekrar dizildi ve her bir filtreli tüp üzerlerine 100 µl yıkama sıvısı eklendi.
- Tüpler santrifüj cihazına dizildi ve 14,1 ref hızında 1 dakika santrifüj edildi.
- Tüpler tekrar dizildi ve her bir filtreli tüp üzerlerine yeniden 100 µl yıkama sıvısı eklendi.
- Tüpler santrifüj cihazına dizildi ve 14,1 ref hızında 1 dakika santrifüj edildi.
- Tüp dizme kabına yeni toplama tüpleri dizildi ve santrifüj sonrası filtreli tüpler bu tüplerin üzerine yerleştirilerek 30 saniye 14,1 ref hızında santrifüj edildi.
- Tüp dizme kabına 1,5 ml'lik tüpler dizildi ve üzerlerine örneklerin kodları yazıldı.
- Dizilen 1,5 ml'lik tüplerin üzerine filtreli tüpler kodlamalarına göre yerleştirilerek filtreli tüplerin her birine tam ortasına gelecek şekilde 20 µl elüsyon sıvısı aktarıldı.
- Tüpler santrifüj cihazına dizildi ve 14,1 ref hızında 1 dakika santrifüj edildi.

- Filtreli tüpler çıkarıldı, 1,5 ml'lik tüplerde kalan sıvı saflaştırılmış PZR ürünü olarak dizi analizi için hazır hale getirilmiş oldu.

Saflaştırılan PZR ürünleri %1'lik agaroz jel'de, 120 voltta 25 dakika yürütüldü ve görüntülenmek üzere UV görüntüleme sistemine aktarıldı. Burada UV ışık altında görüntülenerek yazıcı yardımı ile çıktı alındı. Parlaklığı yeterli olan bantlar seçildi yetersiz parlaklığa sahip olanlar için tekrar PZR ve saflaştırma işlemleri yapıldı.

### **3.2.7. Filogenetik analiz**

Dizi analizi sonrası elde edilen kromatogramlar Chromas Pro 1.5 programı kullanılarak incelendi, hatalı harflendirmeler düzeltildi. Elde edilen diziler MEGA5 platformunda eşleştirilerek, eşleştirmeler PAUP ve MrBayes platformlarında filogenetik analiz için nexus formatına çevrildi. Eşleştirmeler oluşturulurken GenBank veri tabanında kayıtlı dizilerden de yararlandı. Daha önce GenBank'ta dizi kaydı bulunmayan 16S bölgesine ait diziler GenBank'a kaydedilmek üzere ayırıldı. Maksimum likelihood ve Bayesian analizleri için MrModeltest v2.3 (Nylander, 2004) ve PAUP programları kullanılarak en uygun sekans evrim modeli (SYM+G) tespit edildi.

PAUP platformunda uygulanan Maksimum likelihood analizi için kullanılan parametreler: Lset Base=equal Nst=6 Rmat=(4.7147 10.3243 3.0991 0.0000 15.9298) Rates=gamma Shape=0.2624 Pinvar=0;

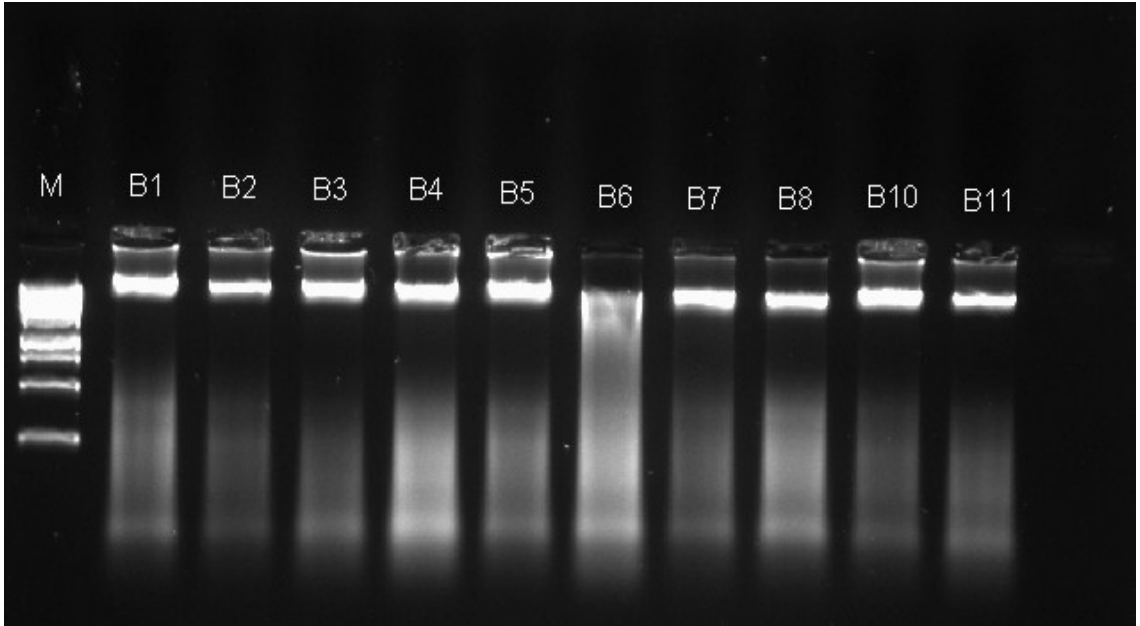
MrBayes platformunda uygulanan Bayesian analizi için kullanılan parametreler: Lset nst=6 rates=gamma; Prset statefreqpr=fixed(equal);

## 4. BULGULAR

### 4.1. DNA İzolasyonu

Türkiye denizlerinden elde edilen; *Lipophrys trigloides*, *Parablennius incognitus*, *Scartella cristata*, *Parablennius zvonimiri*, *Coryphoblennius galerita*, *Parablennius sanguinolentus*, *Aidablennius sphyinx*, *Lipophrys canevae*, *Lipophrys dalmatinus*, *Parablennius rouxi* ve *Parablennius gattorugine* türüne ait örneklerin DNA izolasyon sonuçları, bazı değişkenler doğrultusunda farklılıklar gösterdi.

Kullanılan, manuel fenol/kloroform içermeyen DNA izolasyon yöntemiyle yapılan izolasyon sonucunda toplam DNA eldesi (Şekil 4.1) başarılı ve yeterli miktarlarda oldu. Fakat bazı örneklerde DNA degradasyonuna rastlandı ve PZR işleminde tuz kontaminasyonu gibi problemlerle karşılaşıldı.

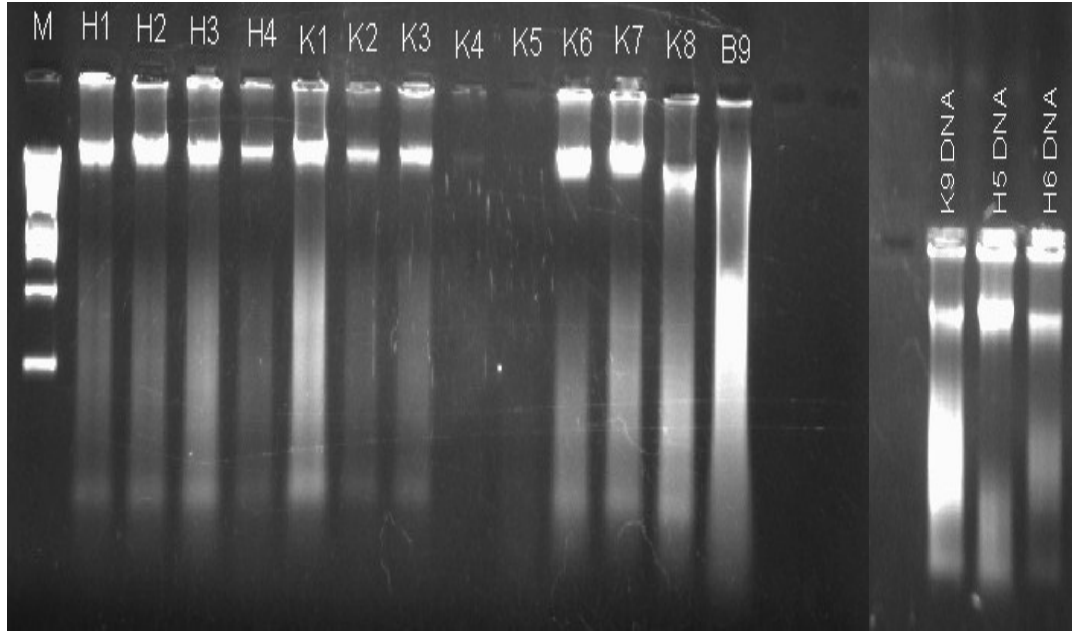


Şekil 4.1: Toplam DNA izolasyonu sonucu elde edilen bantlar

Toplam DNA eldesini etkileyen başka bir faktör ise DNA izolasyonuna başlamadan önce kullanılan, dokuyu saklama yöntemi oldu. Saklama koşullarında, %95 ve %70 etanol içeren ve hiç etanol içermeyen tüplerde bulunan doku örneklerinden DNA izolasyonu gerçekleştirildi. %95 ve %70 etanol içerisinde



saklanmış örneklerden daha çok miktarda (ng/μl) DNA elde edildi. Bu nedenle çalışmada, %95'lik etanol içeren tüpler içerisinde saklama yöntemi kullanılmasına karar verildi. Ayrıca bu gibi bir duruma maruz kalan B9 kodlu örnek doku deformasyonuna uğradığından bir gün liziz solüsyonunda bekletilerek daha sonra DNA izolasyon işlemine tabii tutuldu (Şekil 4.2).

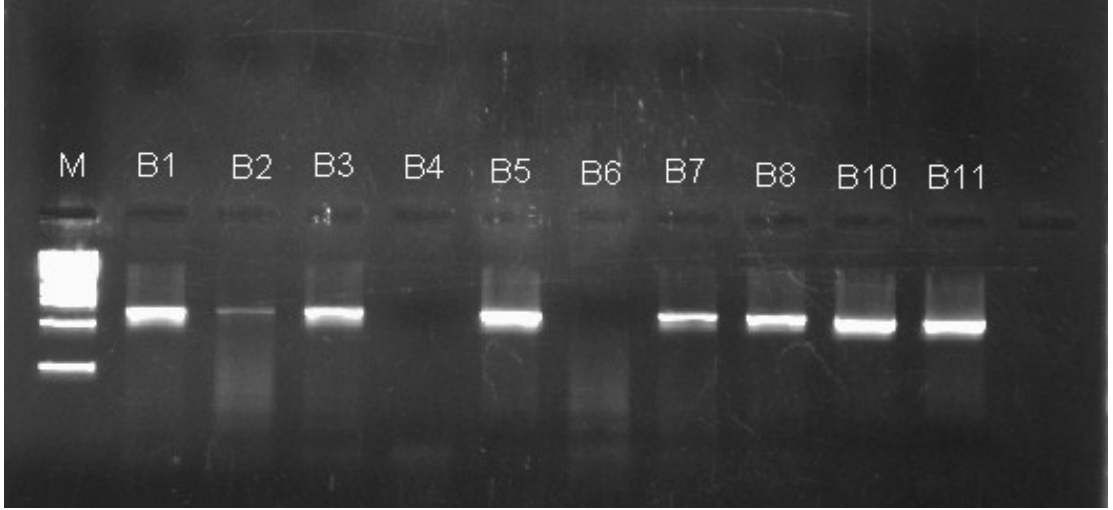


**Şekil 4.2:** Diğer örneklerin ve doku deformasyonuna uğrayan B9,K4,K5 kodlu örneklerin izolasyonu

DNA izolasyonunda kullanılan doku, kuyruk kısmı lateral bölgeden elde edilen dokulardan elde edildi. Doku deformasyonuna uğramayan tüm türlerden bu şekilde doku elde edildi ve kullanıldı. B9, K4 ve K5 kodlu örneklerde doku deformasyonu olduğundan DNA izolasyonu sonucu farklı sonuçlar elde edildi. Fakat bu durum PZR işlemi için sorun teşkil etmedi bu örneklerde yeterince DNA elde edildi.

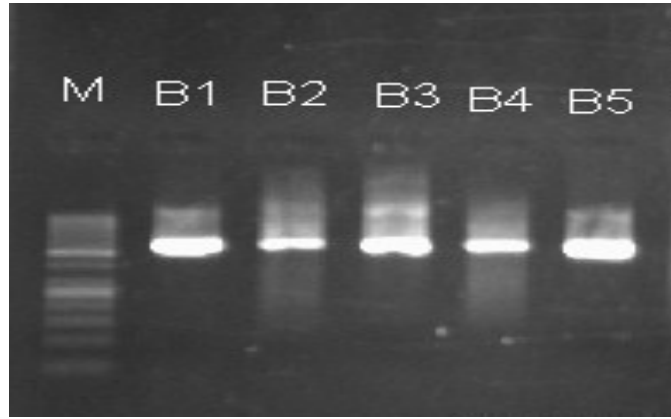
#### **4.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)**

PZR optimizasyonu tamamlandıktan sonra tüm örneklerin 16S rRNA mtDNA bölgeleri çoğaltıldı (Şekil 4.3). %1'lik agaroz jel kullanılarak yapılan elektroforetik analiz sonrasında görüntülenen örneklerden bant vermeyen veya zayıf bant veren örnekler tekrarlandı (Şekil 4.4). Tüm örneklerden yeterli miktarda bant elde edildi (Şekil 4.5).

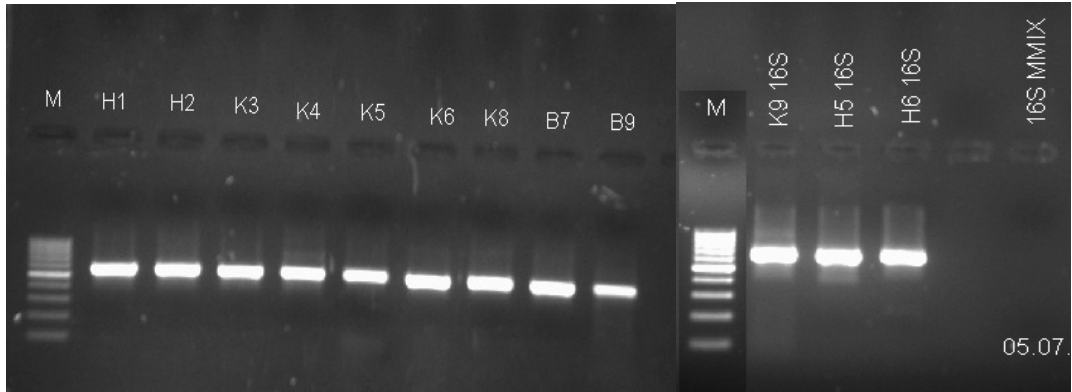


**Şekil 4.3:** Toplam DNA izolasyonu işlemi sonrasında elde edilen örnek DNA'larının PZR işlemi

PZR aşamasında çıkmayan örnekler saf etanol ile yıkanarak tuzdan arındırılmış ve PZR işlemi tekrar edildi.



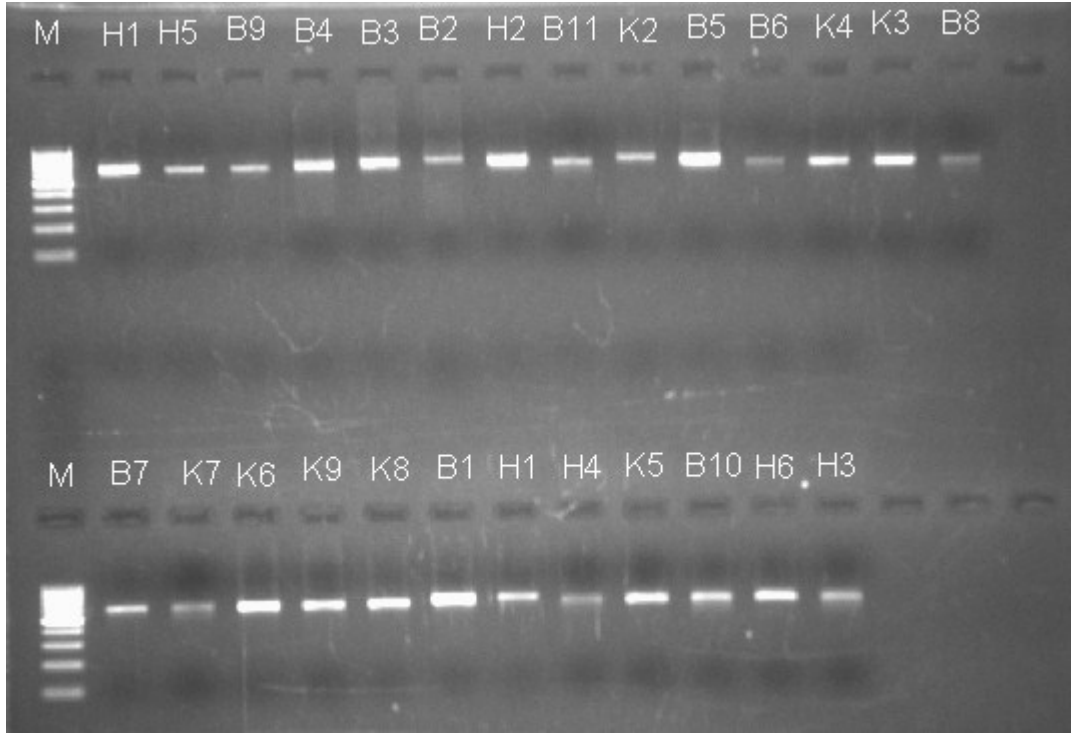
**Şekil 4.4:** Tuz kontaminasyonundan arındırılan örneklerin 16S PZR işleminin tekrarı



**Şekil 4.5:** 16S gen bölgesinin için tüm örneklerin PZR işlemlerinin tamamlanması

### 4.3. PZR Ürünlerinin Dizi Analizi İçin Saflaştırılması İşlemi

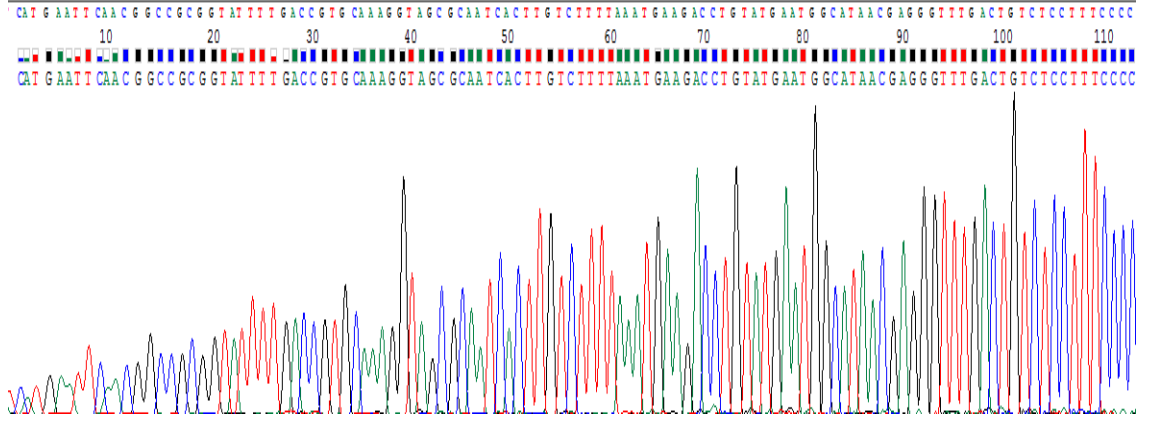
Dizi analizi öncesindeki PZR ürünlerinin saflaştırılma işlemi ‘‘Roche High Pure PCR Product Purification Kit’’ adlı ürün ile gerçekleştirildi. Tüm örneklerden saflaştırma işlemi sonucunda dizi analizi işlemi için yeterince bant elde edildiği görüldü. Bazı PZR ürünlerinin bantları zayıf olduğundan aynı örnekten farklı sayılarda tekrarlanan ve PZR işlemi sonucu elde edilen ürünler birleştirilerek saflaştırma işlemi gerçekleştirildi (Şekil 4.6).



Şekil 4.6: Saflaştırma işlemi sonucunda elde edilen 16S bölgesi PZR ürünleri.

### 4.4. Dizi Analizi Sonuçları

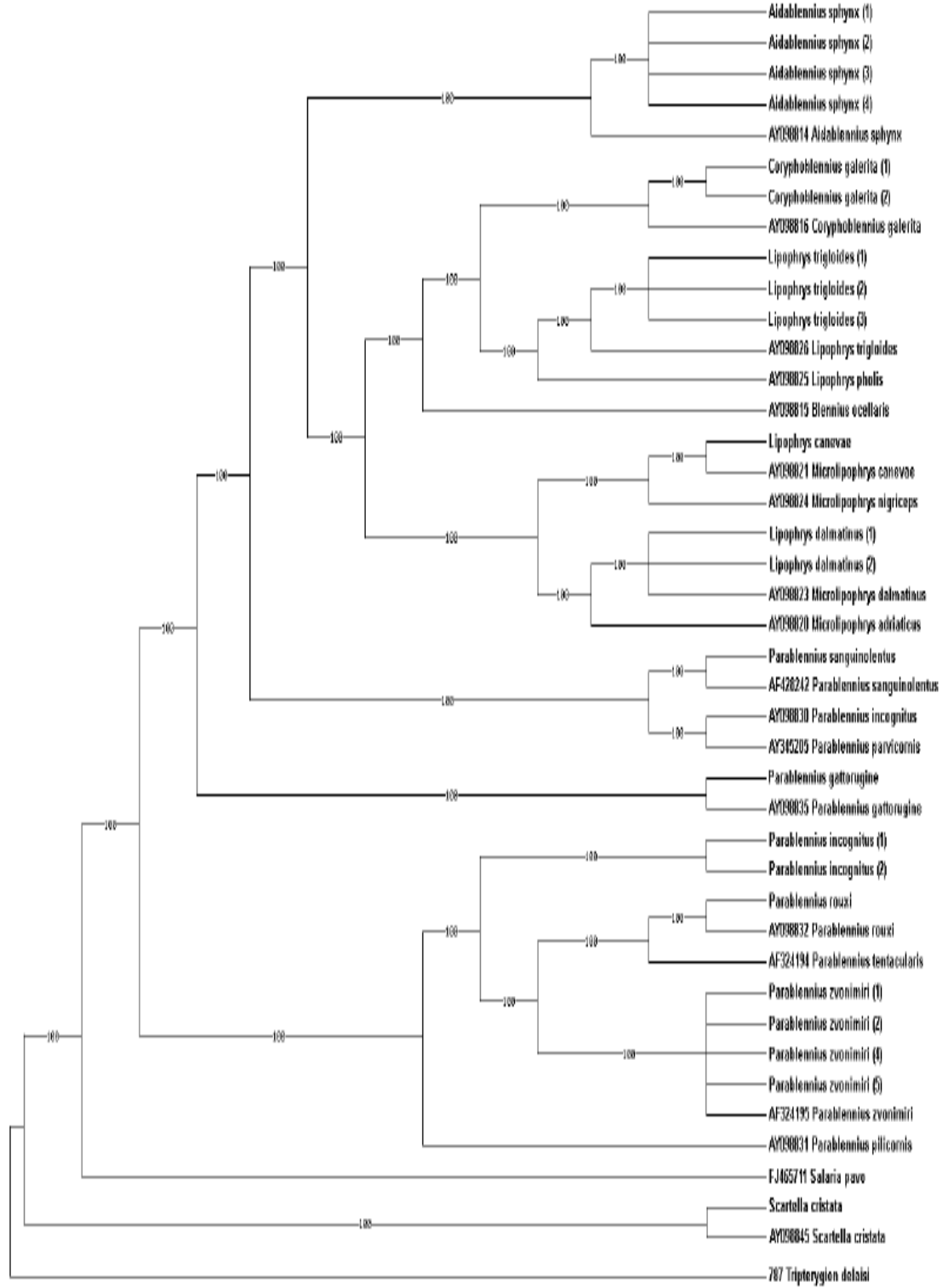
PZR sonucu elde edilen 16S gen bölgesi saflaştırma işlemi gerçekleştirilerek Kore Cumhuriyeti Seul kentinde bulunan MACROGEN adlı firmaya yollandı (Şekil 4.7).



Şekil 4.7: *Coryphoblennius galerita* türünün dizi analizinin bir bölümünün kromatogramı.

#### 4.5. Filogenetik Analiz

Dizi analizi sonrasında elde edilen DNA dizileri, Chromas Pro programında kromatogramlara bakılarak düzeltilmiştir. MEGA5 programıyla ise diziler hizalanmıştır. MEGA5 programı ile hizalanan diziler Mr.Bayes ve PAUP programları kullanılarak 3 farklı analiz metodu ile filogenetik ağaçlar oluşturulmuştur (Şekil 4.8).



Şekil 4.8: MrBayes programı ile oluşturulmuş filogenetik ağaç.

## 5. SONUÇ

Blennidae ailesine ait türlerin biyolojileri, ekolojik özellikleri ve mevcut popülasyonlarına ait çalışmalar çeşitli araştırmacılar tarafından gerçekleştirilmiştir (Almada V.C. ve ark., 2009; Almada F. ve ark., 2005; Domingues V.S. ve ark., 2007). Tüm dünyada çok geniş bir alanda yayılım gösteren ve ülkemizdeki denizlerin tamamında bulunan horozbina ailesine ait türlerle ilgili bu araştırmaların yapılmasının çeşitli nedenleri vardır. Bu nedenlerin başında tabii ki yüksek ekolojik değerleri gelmektedir. Akdeniz ihtiyofaunasında bulunan Blennidae ailesine ait türleri ilginç kılan ise Süveyş Kanalı ile Akdeniz’de doğal olarak bulunmayan türlerin göç yoluyla gelerek, Akdeniz’de popülasyonlar oluşturmaya başlaması ile meydana gelen değişimdir.

Blennidae ailesine ait türlerin sınıflandırmasında, yakın geçmişe kadar, sadece morfolojik analizler sonucu elde edilmiş bilgiler vardı. Türkiye’de ise yapılan bu çalışma ile birlikte bu aileye ait türler ilk kez genetik ve moleküler teknikler kullanılarak analiz edilmiş oldu. Dünyada yapılan çalışmalarda Blennidae ailesine ait türlerin filogenetik analizleri ve filocoğrafyaları üzerinde durulmuş ve bu çalışmalar genetik teknikler ile 16S, COI ve 12S gen bölgeleri kullanılarak morfolojik analizlerden daha kesin sonuçlar elde edilerek tamamlanmıştır.

Vera S. Domingues ve arkadaşları 2007 yılında yayınlanan çalışmalarında, Kuzeydoğu Atlantik Okyanusu ve Batı Akdeniz’deki *Parablennius parvicornis* ve kardeş tür olan *P. Sangiolentus*’un filocoğrafyası ve demografisini incelemişlerdir.

Almada V.C. ve arkadaşları ise 2009 yılında yaptıkları çalışmada, Akdeniz’de yaşayan horozbinalardan *salarias* cinsinin filogenetik analizini tatlı sulardan klonizasyonuna genetik yaklaşımları getirerek yapmışlardır.

Blennidae ailesinin türleri için yapılan en kapsamlı filogenetik çalışma ise Almada F. ve ark. (2005) tarafından gerçekleştirilen, Kuzey Doğu ve Atlantikte yaşayan Blennidae ailesi türlerinin filogenetik ilişkileri isimli çalışmadır.

Almada F. ve ark. (2005) tarafından yapılan çalışmada Blennidae ailesine ait 21 tür ve her türe ait farklı bölgelerden toplanan örnekler kullanılmıştır. Bu örneklerin 12S ve 16S gen bölgeleri PZR tekniği ile çoğaltılarak dizi analizi yapılmış ve bu diziler maximum parsimony, maximum-likelihood and neighbour-joining evrim modelleri ile PAUP programında bu türlerin karşılaştırılmasıyla filogenetik ağaç oluşturmuştur. Bu çalışmada yapılan temel DNA fragment analizi gösteriyor ki, diğer balıklarda ribozomal mtDNA olarak tanımlanan 12S ve 16S parçalarının her ikisi de diğer bazlara göre Adenin açısından zengindir. Saturasyon analizi ne 12S ve 16S ne de 12S+16S kombine fragmentlerinde mutasyonel doygunluk gösterememiştir (Almada F. ve ark., 2005).

12S rDNA'dan olan fragmentler 16S rDNA'dan olan fragmentlere göre ortalama 1.26 kere daha hızlı evrimleşmektedir. (SD=0.34, Min=0, Max=3.84, N=593). Hizalama, 12S rDNA da %4 indel (9) 16S rDNA da %5 indel (16) göstermiştir. Bu indellerin biri *S.pavo*'da ekleme ile sonuçlanmış ve 11 nükleotide ulaşmıştır. *S. pavo*'nun 12S ve 16S parçalarının her ikisi de bu analizdeki hiçbir başka türde gözlenmeyen birkaç ekleme göstermiştir (Almada F. ve ark., 2005).

Farklı coğrafi bölgelerden örnekler olduğundan türler arasındaki farklılıklar analiz edilmiştir. Tür içi genetik farklılık, analiz edilen her bir parça içinde düşük saptanmış (Mean<sub>12S</sub>=0.006 ve Mean<sub>16S</sub>=0.017). En yüksek genetik farklılık tek bir tür haplotiplerinde, *C. galerita*'nın Azores ve Hırvatistan'dan olan örneklerinde görülmüştür ve 12S rDNA için 0.015, 16S rDNA için 0.043'dür. İlginç olarak bu tür içi genetik uzaklıklar bazı Blenniid türlerindeki kadar yüksektir (Almada F. ve ark., 2005).

Parablenniini'ye ait birey *A. sphyinx* ve Blenniini'ye ait birey *B. ocellaris* ve Salariaini'ye ait birey *O. atlanticus* Parablenniini ile ilişkili bulunmuştur. *Lipophrys* cinsinin türleri 2 adet uzak ve çok iyi desteklenmiş monofiletik gruplar oluşturmuştur. Bu grupların birincisi *L.pholis*, *L. (Paralipophrys) trigloides* ve *C.galerita*'yı içerir. Diğerleri ise küçük boylu *Lipophrys*'leri (erkeklerinde üreme zamanında yüz maskesi olan) *L.canevoi*, *L. nigriceps*, *L. caboverdensis*, *L. adriaticus* ve *L. dalmatinus* içerir. Bu iki gruptaki türlerin genetik uzaklığı *L.pholis* ve *L.trigloides*'in *C.galerita* ile olan uzaklığından daha fazladır (0.047 *L.pholis*-

*L.trigloides*, 0.068 *L.pholis-C.galerita* ve 0.075 *L.trigloides-C.galerita*). Sonuçlar mevcut kabul edilmiş taksonomik durum ile test etmek için *Lipophrys* türlerinin *C.galerita* haricinde tek grup halinde sınırlandırılması yapılmıştır. Kishino-Hasegawa testi göstermiştir ki oluşturulan ağac sınırlandırılmış ağaçtan 23 adım daha kısadır (Almada F. ve ark., 2005).

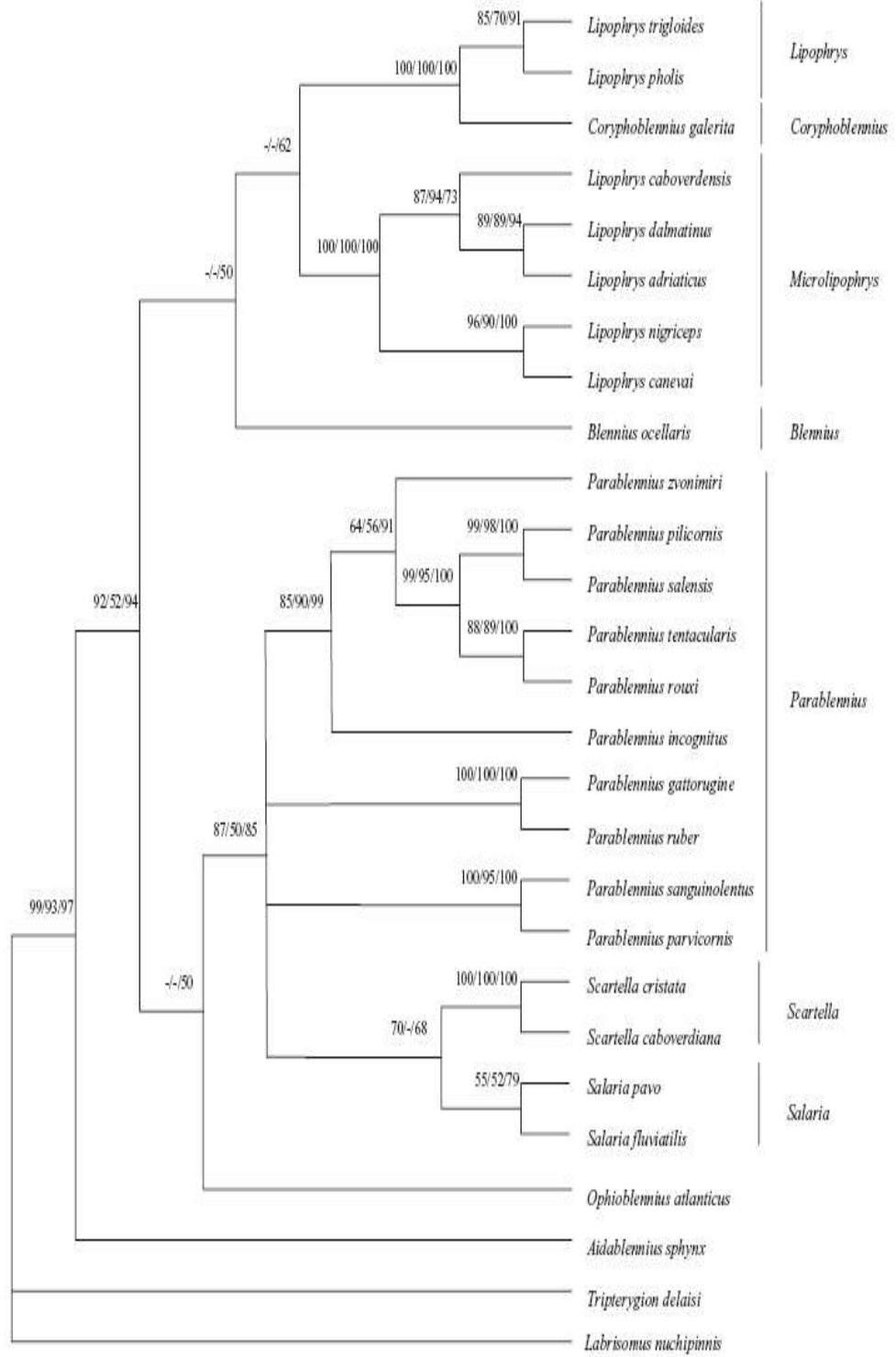
*Salaria* cinsine ilişkin olarak, tek bir tür *Salaria basilisca* türünden örnek elde edilememiş bu monofili'ye karşı uygun kanıt elde edilememiştir. *Parablennius* açık bir şekilde monofiletik bir grup değildir. Bunun yerine analizde en az 3 grup ortaya çıkmıştır. i) *Parablennius sanguinolentus* ve *P. parvicornis* ii) *P. gattorugine* ve *P. ruber* iii) *P. pilicornis*, *P. salensis*, *P. tentacularis*, *rouxi*, *P. incognitus* ve *P. zvonimiri* (Şekil 5.1.) (Almada F. ve ark., 2005).

Türkiye denizlerindeki blennidae familyası türleri için yapılan bu filogenetik çalışmada 16S Gen bölgesi kullanılmıştır. 16S gen bölgesi için DNA dizi analizleri gerçekleştirilen *Aidablennius sphyinx*, *Blennius ocellaris*, *Coryphoblennius galerita*,

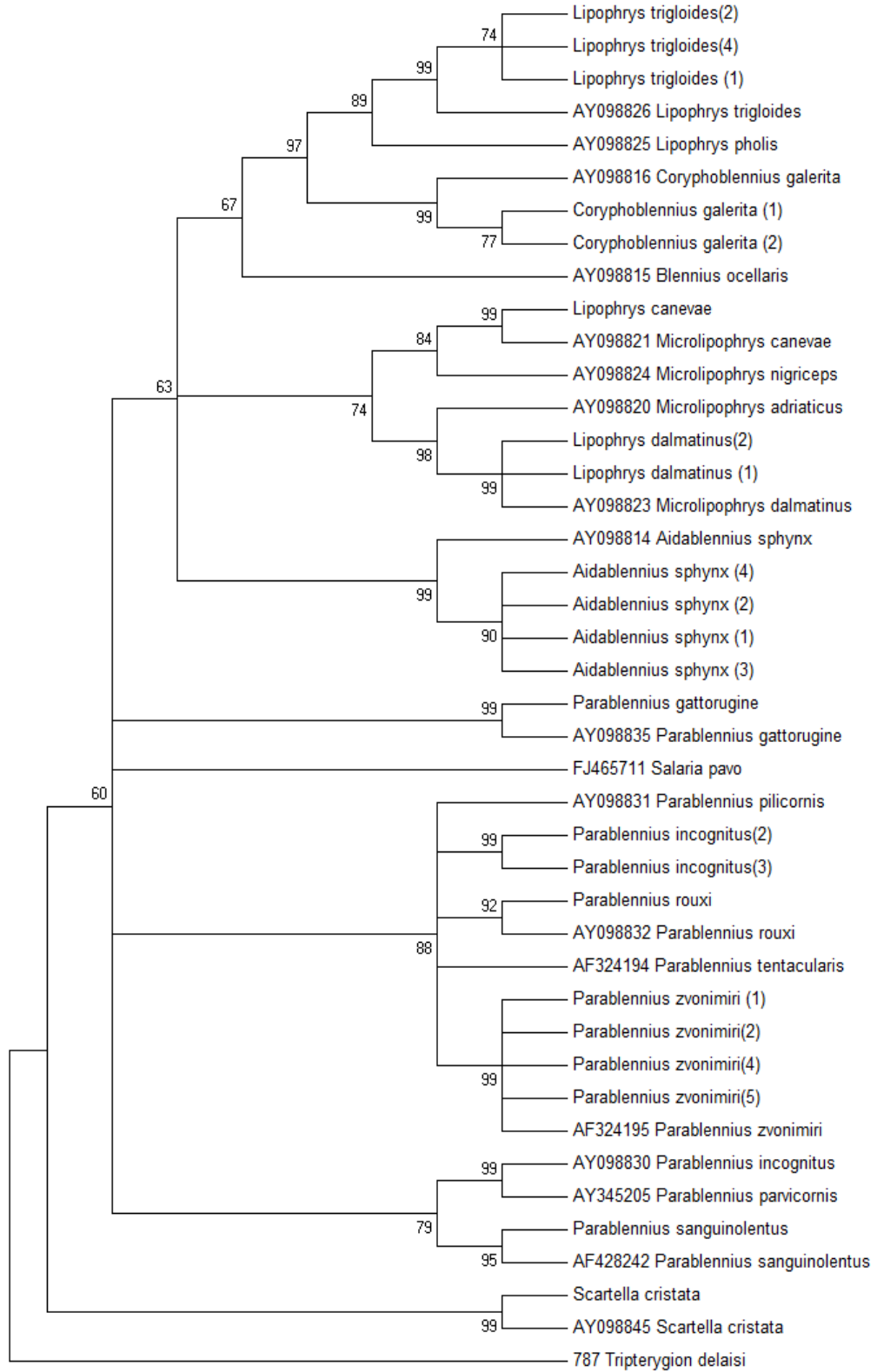
*Lipophrys adriaticus*, *Lipophrys basiliscus*, *Lipophrys canevai*, *Lipophrys dalmatinus*, *Lipophrys nigriceps*, *Lipophrys pavo*, *Lipophrys trigloides*, *Scartella cristata*, *Parablennius gattorugine*, *Parablennius incognitus*, *Parablennius rouxi*, *Parablennius sanguinolentus*, *Parablennius tentacularis* ve *Parablennius zvonimiri* türlerinin daha sonra maximum likelihood, maximum parsimony ve neighbor joining analiz modelleri kullanılarak PAUP programı ile 3 farklı ağaç çizilmiştir. Bu ağaçlar çizilirken *Tripterygion delaisi* türü dışarı grup olarak kullanılmıştır (Şekil 5.2., Şekil 5.3. ve Şekil 5.4.) Çalışmada kullanılan *Lipophrys trigloides*(3), *Parablennius incognitus*(1), *Parablennius zvonimiri*(3) isimli örnekler dizi analizinde yaşanan sorunlardan dolayı daha sonra çalışmadan çıkarılmış ve filogenetik analizde kullanılmamıştır.

Çalışma sonucunda, Akdeniz Blenniidleri familya içinde yalnızca küçük bir bölüm oluştururlar. Bununla birlikte, bu subfamilia veya kabile olması için yeterli değildir. Fakat bazı kabileler arasındaki ilişkiler, özellikle Blenniini ve Parablenniini'ye ait *A.sphyinx* ve *B.ocellaris*'in geleneksel olarak kabul edilmiş durumundan bazı şüpheler duyulmasından dolayı bu türler yeniden analiz edilmelidir. Geçmiş kaynaklarda belirtilen bilgilere göre Salariini ve Parablenniini'

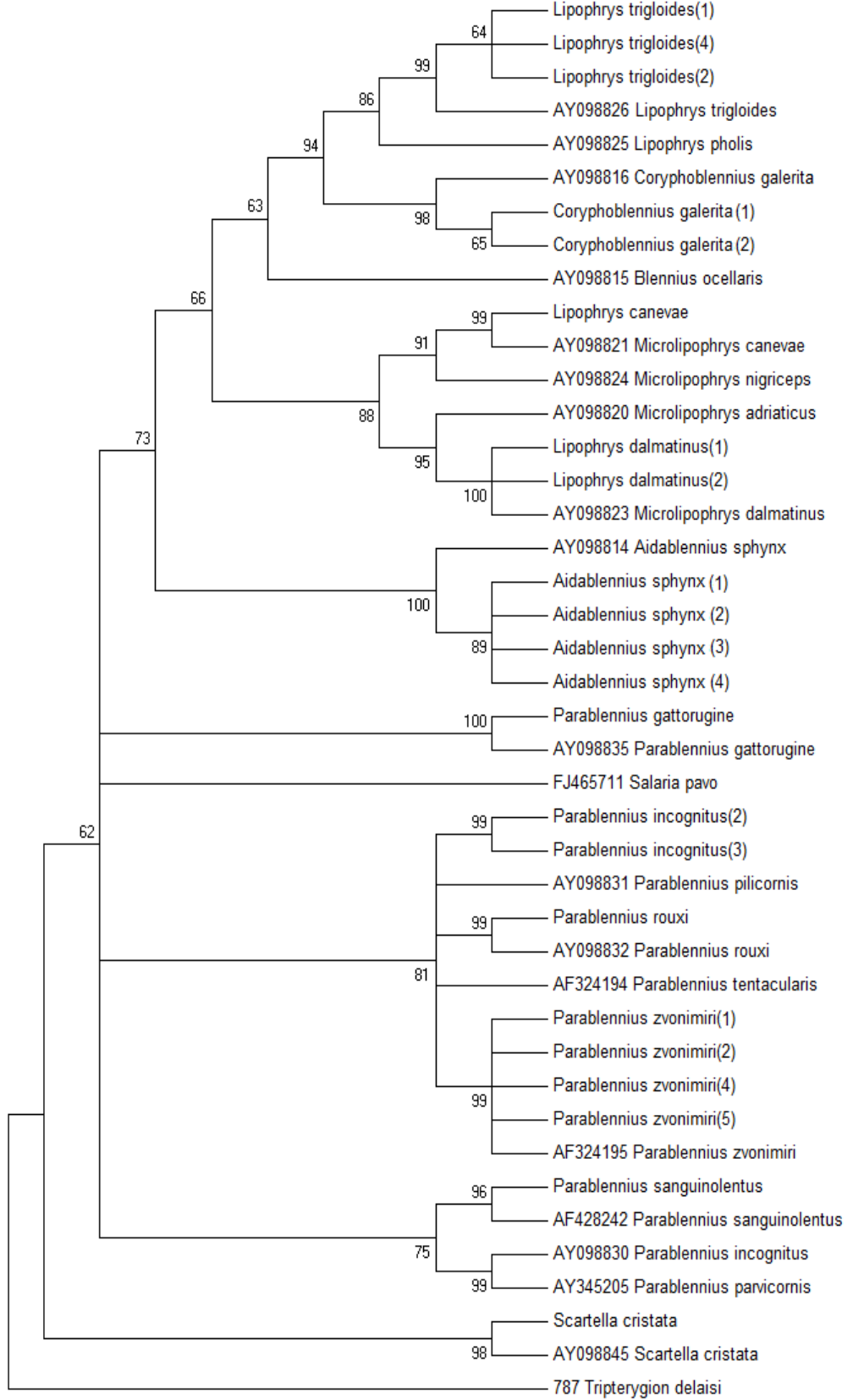




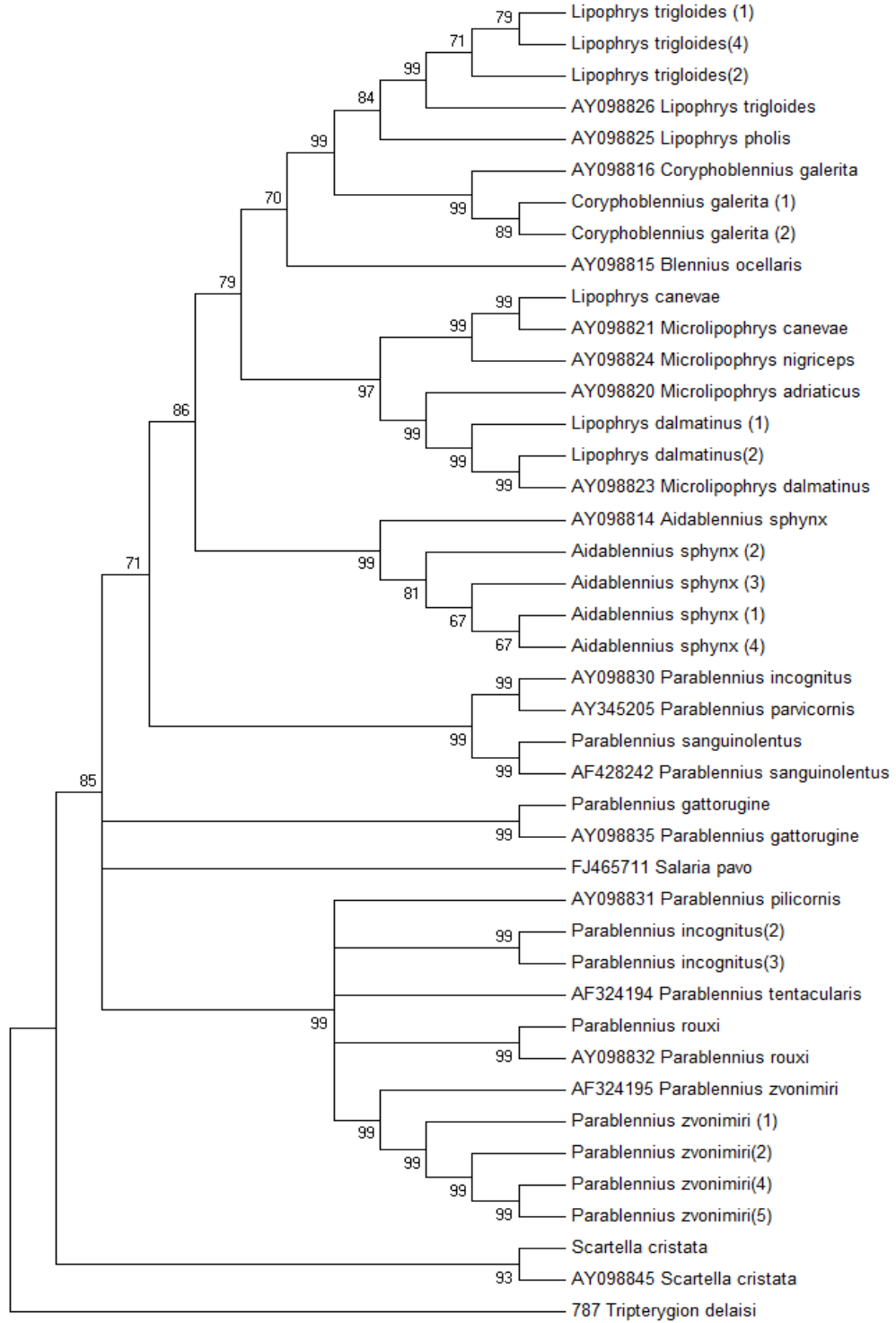
**Şekil 5.1:** Kombine 12S-16S rDNA parçalarından elde filogenetik bir ağaç. *Labrisomus nuchipinnis* ve *Tripterygion delaisi* dışarı gruplar olarak kullanılmıştır. (Almada F. ve ark., 2005)



Şekil 5.2: Maximum likelihood analizine göre PAUP programı ile çizilen filogenetik ağaç.



Şekil 5.3: Maximum parsimony analizine göre PAUP programı ile çizilen filogenetik ağaç.



Şekil 5.4: Neighbor joining analizine göre PAUP programı ile çizilen filogenetik ağaç.

nin kardeş grup oldukları not edilmiştir. Son yapılan çalışmalarda da, Bath (2001) Salaria ve Parablennius'yi ayırt eden karakterlerin geçersiz olduğunu çünkü birkaç cinsde intermediyer durumların varlığını göstermiştir. Bu çalışmada yapılan çalışmada elde edilen verilerde bu durumu desteklemektedir. Fakat Blenniidae familyasının alt aile veya kabile taksonomisi için daha fazla veriye ihtiyaç vardır.

*Lipophrys* parafiletik bir cinistir. *L.pholis*, kendi monofiletik gruplarını oluşturan diğer küçük *Lipophrys* türlerine göre *L. trigloides* (*Paralipophrys*) ve *Coryphoblennius galerita* ile yakın görülmektedir. *L. pholis*, *L. trglloides* ve *C. galerita* arasındaki yakın ilişki bazı yazarlar tarafından karyolojik ve osteolojik verilerle de desteklenmiştir. Bu üç tür kayalık intertidial zonda yaşadığı ve Blenniidler içinde soğuk sulara daha toleranslı oldukları için için ekolojik özellikleri paylaşırlar. Yukarıda sunulan kanıtlarla, küçük *Lipophrys* türlerinin eto-ekolojik türleşmesiyle ayrı cinse yerleşmeleri gerekmektedir. Çalışmalarda *Microlipophrys* yeni bir cins olarak tanımlanmıştır. Bu yeni cins *adriaticus*, *bauchote*, *caboverdensis*, *canevai*, *dalmatinus*, *nigriceps*, ve *velifer* türlerini de içerir. Tip türü ilk tanımlanmış tür olan *Microlipophrys canevai* dir. Bu çalışmada da bu fikiri destekleyici sonuçlar bulunmuştur. Yapılan filogenetik analizde *Lipophrys* cinsinin *pholis*, *trigloides*, cinslerini içerdiği ve tip türün ise *L.pholis* olduğu görülmüştür.

Güçlü kanıt yok ise biyolojik sınıflandırmanın stabilitesini korumak için taksonomik değişiklik yapmaktan kaçınmamız gerekmektedir. *Microlipophrys* cinsi balık sistematğinde monofiletik grupları, morfoloji ve eto-ekolojiyi belirtmeye yardım ederse ortaya atılmalıdır.

Alternatif bir hipotez ise *Microlipophrys* cinsinin geleneksel olarak *Lipophrys* cinsine ait tüm türleri içermesi durumudur. Bu şekilde de *Lipophrys* ile parafiletik olan *C.galerita*'nın bu cinse girmesi gerekir fakat *Coryphoblennius* cinsi önemli morfolojik farklar göstermektedir. *Coryphoblennius*, *Parablenniini*'nin supraorbital tentakülleri olmayan ve yumuşak dorsal yüzgeç ışınlarının ucunda bez olan tek cinsidir. O, etli olması ve ense kısmında üçgen apendiksini olması gibi otoapomorfilerle karakterize edilir. *Coryphoblennius*'un ayrı bir cins olmasından dolayı *Microlipophrys*'de *Lipophrys*'den ayrı olmalıdır. Türkiye denizinden elde edilen *C.galerita* örnekleri ile NCBI veri tabanından elde edilen dizi analizi sonuçlarına göre yapılan filogenetik analizde genetik farklılıklar tesbit edildi. bu meselenin açığa kavuşması için populasyon genetiği çalışmalarına ihtiyaç vardır.

*Scartella* ve şu anda *Parablennius* olarak isimlendirilen bazı soy hatları Indo-Pasific ve Atlantik'de geniş yayılış göstermektedirler. *Aidablennius*, *Blennius*,

*Salaria*, *Lipophrys*, *Coryphoblennius* ve *Microlipophrys* soy hatları dogu Atlantik ve Akdeniz için endemiktir. Son olarak diğer bir ilginç dağılış özelliği orta Akdeniz ve tropik-subtropik orta Atlantikte dağılış gösteren balıklarındır. Akdeniz ve komşu Atlantik sularının *Microlipophrys*'leri (*M.dalmatinus*, *M.adriaticus*, *M.canevai*, *M.nigriceps*), Akdeniz merkezli ve Atlantikte Fas ile Biscay koyu arasında bulunabilen *P.sanguinolentus* ve Batı Afrikalı, Cape Verde, Kanarya adaları Madeira ve Azores'de bulunan *P.parvicornis*. *P.rouxi* ve *P.tentacularis*, Akdeniz ve komşu Atlantik suları merkezlidir.

Ekolojik yapısı Türkiye Denizlerin'den çok farklı olan ve NCBI veri tabanından elde edilen türlerin DNA dizi analizi sonuçları Türkiye Denizlerin'den elde edilen örneklerin ayrı bir grup oluşturması, ekolojik uzaklıkla genetik uzaklığın doğru orantılı olması mantığını doğrular bir düşünce uyandırmaktadır.

Sonuç olarak, genetik veriler kullanılarak yapılan analizler sonucu ortaya çıkarılan filogenetik ağaçlar ile dünyada blennidae ailesi ile yapılan diğer filogenetik çalışmalarla birbirlerini doğrular niteliktedir. Morfolojik olarak birbirinden çok belirgin biçimde ayrılan blennidae ailesi türlerinin genetik analizleri göstermiştir ki, bu türler çok daha önce birbirlerinden farksız sonradan evrilerek ayrılmış türler olabilirler.

Blennidae ailesi, Türkiye ihtiyofaunasının biyoçeşitlilik anlamında çok değerli bir ailesidir. Nadir bulunan türlerin filogenetik analize dahil edilerek yapılacak bir çalışma şüpesizki Türkiye kıyılarında yaşayan horozbina türlerinin taksonomik araştırması bakımından faydalı olacaktır. Bu çalışma daha detaylı bir morfolojik analiz ve daha fazla mitokondriyal gen bölgesine ait filogenetik analiz ile de devam ettirildiği takdirde, Blennidae türleri arasındaki ilişkiler daha kesin olarak ortaya koyulabilecektir.

## KAYNAKLAR

Alberts, B., Bray, D., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K. and Watson, J. D. (1994). *Molecular Biology of The Cell*, Third Edition, Garland Publishing Inc., USA, 653-720.

Allendorf, F.W., Ryman, N., And Utter, F. (1987). *Genetics And Fishery Management: Past, Present And Future In Pop. Gen. Fish. Man.* (Ryman N. and Utter F., Eds.), University Of Washington Press, Seattle And London, 1-20.

Almada F., Almada V.C., Guillemaud T., Wirtz P., (2005). Phylogenetic relationships of the north-eastern Atlantic and Mediterranean blenniids. *Biological Journal of the Linnean Society*, 86, 283–295

Almada V.C., Robalo J.I., Levy A., Freyhof J., Bernardi G., Doadrio I., (2009). Phylogenetic analysis of Peri-Mediterranean blennies of the genus *Salaria*: Molecular insights on the colonization of freshwaters. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 52, 424–431.

Anderson S., Bankier A.T., Barrell B.G., De Bruijn M.H., Coulson A.R., Drouin J., Eperon I.C., Nierlich D.P., Roe B.A., Sanger F., Schreier P.H., Smith A.J., Staden R., Young I.G., (1981). Sequence And Organization Of The Human Mitochondrial Genome. *Nature Science Publishers*, 290 (5806), 457-65.

Avise, J. C. and Lansman, R.A., (1983). *Polymorphism Of Mtdna In Populations Of Higher Animals. Evolution Of Genes And Proteins* M. Nei and R.K. Koeh, Sinauer, Sunderland, Ma, 147-164.

Avise, J.C., (1994). *Molecular Markers, Natural History and Evolution*. Chapman and Hall, New York, USA, 511.

Ayala, F.J. (2007). "Darwin's greatest discovery: design without designer. *Sci. U.S.A.*, 104, 8567–8573.

Baensch, H.A. and Riehl R., (1997). *Aquarien Atlas, Band 5*. Mergus Verlag, Melle, Germany. 1148 p.

Bath, H., (1990). Blenniidae. p. 905-915. In J.C. Quero, J.C. Hureau, C. Karrer, A. Post and L. Saldanha (eds.) *Check-list of the fishes of the eastern tropical Atlantic (CLOFETA)*. JNICT, Lisbon; SEI, Paris; and UNESCO, Paris. Vol. 2.

Bauchot, M.L., (1987). Poissons osseux. p. 891-1421. In Fischer W., Bauchot M.L. and Schneider M. (eds.) Fiches FAO d'identification pour les besoins de la pêche. (rev. 1). Méditerranée et mer Noire. Zone de pêche 37. Vol. II. Commission des Communautés Européennes and FAO, Rome.

Bembo, D.G., Carvalho, G.R., Snow, M., Cingolani, N., and Pitcher, T.J., (1995). Stock Discrimination Among European Anchovies, *Engraulis encrasicolus*, by means of PCR-Amplified Mitochondrial DNA analysis. *Fisheries Bulletin*, 94, 31-40.

Bentzen, P., Legget, W.C., And Brown, G.G., (1988). Length And Restriction Site Heteroplasmy In The Mitochondrial Dna Of American Shad (*Alosa Sapidissima*). *Genetics*, 118, 509-518.

Bermingham, E., Lamb, T. And Avise, J.C., (1986). Size Polymorphism And Heteroplasmy In The Mitochondrial Dna Of Lower Vertebrates. *J. Heredity*, 77, 249-252.

Bermingham, E., McCafferty S. and Martin A., (1997). Fish biogeography and molecular clocks: perspectives from the Panamanian Isthmus. In Kocher, T.D. and C. Stepien (eds) *Molecular Systematics of Fishes*, Academic Press, NY, 113-138.

Bernartchez, L., Guyomard, R., And Bonhomme, F., (1992). Dna Sequence Variation Of The Mitochondrial Control Region Among Geographically and Morphologically Remote European Brown Trout. *Salmo trutta* Populations. *Molecular Ecology*, 1, 161-173.

Bremer, K., (1994). Branch support and tree stability. *Cladistics* 10, 295-304.

Carr, S.M. and Marshall, H.D., (1991). A Direct Approach To The Measurement Of Genetic-Variation In Fish Populations - Applications Of The Polymerase Chain Reaction To Studies Of Atlantic Cod, *Godus Morhua* L. *J. Fish Biol.*, 39, 101-107.

Cervigón, F., (1994). Los peces marinos de Venezuela. Volume 3. Fundación Científica Los Roques, Caracas, Venezuela. 295 p.

Chapman, R.W., Patton, J.C., and Eleby, B., (1994). Comparison Of Mitochondrial Dna Variation In Four Alosid Species As Revealed By The Total Genome, The Nadh Dehydrogenase I And Cytochrome B Regions. In *Genetics And Evolution Of Aquatic Organisms* (A.R. Beaumont, Ed.). Chapman & Hall, London, Pp. 249-262.

Cronin, M.A., Spearman, W.J., Wilmot, R.L., Patto, J.C., and Bickham, J.W., (1993). Mitochondrial Dna Variation In Chinook (*Oncorhynchus Tsawytscha*) and Chum Salmon (*O.Keta*) Detected By Restriction Enzyme Analysis Of Polymerase Chain Reaction (Pcr) Products. *Canadian Journal Of Fisheries And Aquatic Sciences*, 50, 708-715.

Darwin, C., (1859). *On the Origin of Species by Means of Natural Selection, or the Preservation of Favoured Races in the Struggle for Life*. John Murray, London, 1, 502.



Desjardins, P. and Morais, R., (1990). Sequence And Gene Organization Of Chicken Mitochondrial Genome, *J. Mol. Biol.*, 212, 599-634.

Domingues V.S., Stefanni S., Brito A., Santos R.S., Almada V.C., (2008). Phylogeography and demography of the Blenniid *Parablennius parvicornis* and its sister species *P. sanguinolentus* from the northeastern Atlantic Ocean and the western Mediterranean Sea. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 46, 397–402.

Ergüden, D., (2007). Türkiye Denizlerindeki Tirsilerin (*Alosa* Spp.) Moleküler Sistematiği. Yayınlanmış Doktora Tezi. Adana: ÇÜ. Fen Bilimleri Enstitüsü.

Felsenstein, J., (1981). Evolutionary Trees From Dna Sequences: A Maximumlikelihood Approach. *Journal Of Molecular Evolution*, 17, 368–376.

Freeman, S. and Herron, J. C., (1999). Evrimsel Analiz. Çıplak, B., Başbüyük, H. H., Karaytuğ, S., Gündüz, İ. (eds), Palme Yayıncılık, Ankara, 708 s.

Fricke R. ,Bilecenoğlu M. ,Sarı H.M., (2007). Annotated checklist of fish and lamprey species of Turkey, including a Red List of threatened and declining species ,*Stuttgarter Beitrage zur Naturkunde*, 706, Serie A, 1-169.

Futuyma, D.J. (2005). *Evolution*. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts, 603 pp.

Fukao, R., (1985). An annotated list of blenniid fishes from Shirahama, Wakayama Prefecture, Japan. *Publ. Seto Mar. Biol. Lab.* 30, 81-124.

Gavrilets, S., (2003). Perspective: models of speciation: what have we learned in 40 years?. *Evolution* 57 (10), 2197–2215.

Gibson, R.N. (1999). Movement and homing in intertidal fishes. p. 97-125. In M.H. Horn, K.L.M.Martin and M.A. Chotkowski (eds.) *Intertidal fishes. Life in two worlds*. Academic Press. 399 p.

Graybeal, A., (1993). The Phylogenetic Utility Of Cytochrome B: Lessons From Bufonid Frogs. *Molecular Phylogenetics And Evolution*, 2, 256-269.

Harrison, R.G., (1989). Animal Mitochondrial Dna As A Genetic Marker In Population And Evolutionary Biology. *Trends Ecol. Evol.*, 4, 6-11.

Hasegawa, M., Kishino, H., Yano., T., (1985). Dating Of Human-Ape Splittingby A Molecular Clock Of Mitochondrial Dna. *Journal Of Molecular Evolution*, 22, 160–174.

Hastings, P.A. and Springer V.G., (2009). Recognizing diversity in blennioid fish nomenclature (Teleostei: Blennioidei). *Zootaxa* 2120, 3-14.

Hillis, D.M., Huelsenbeck, J.P., Cunningham, C.W., (1994). Application and accuracy of of molecular phylogenies. *Science*, 264, 671-677.

Hölldobler, B. and Wilson, E.O., (1990). *The Ants*. Science, 248, 732pp.

Huelsenbeck, J.P., Hillis, D.M. (1993). Success of phylogenetic methods in the four-taxon case. *Systematic Biology*, 42, 247-264.

Huelsenbeck, J.P., Rannala, B., (1997). Phylogenetic methods come of age: Testing hypotheses in an evolutionary context. *Science*, 276, 227-232.

Jukes, T. H., Cantor, C., (1969). *Mammalian Protein Metabolism, Chapter Evolution Of Protein Molecules*, Academic Press, New York, 1969, 21-132.

Kimura, M., (1980). A Simple Method For Estimating Evolutionary Rate Of Basesubstitutions Through Comparative Studies Of Nucleotide Sequences. *Journal Of Molecular Evolution*, 16, 111-120.

Klug, W.S. and Cummings, R.M., (2003). *Genetik Kavramlar*. Öner, C. (eds.), Palme Yayıncılık, Ankara, 816 s.

Kovacic, M. and Golani D., (2007). First record of *Papillogobius melanobranchus* in the Mediterranean Sea and new data on geographic distributions, bathymetric ranges and morphology of several small benthic fishes in the Levant. *Cybius* 31(4), 417-425.

Lande, R., Arnold, S.J. (1983). "The measurement of selection on correlated characters". *Evolution*, 37, 1210-1226.

Lansman, R.A., Shade, R.O., Shapiro, J.F., and Avise, J.C., (1981). The Use of Restriction Endonucleases To Measure Mitochondrial Dna Sequencer Elatedness In Natural Populations. *Techniques And Potential Applications. Journal Of Molecular Evolution*, 17, 214-226.

Lieske, E. and Myers R., (1994). *Collins Pocket Guide. Coral reef fishes. Indo-Pacific & Caribbean including the Red Sea*. Haper Collins Publishers, 400 p.

Lydeard, C. And Roe, K.J., (1997). The Phylogenetic Utility Of The Mitochondrial Cytochrome B Gene For Inferring Relationship Among Actinopterygian Fishes. In *Molecular Systematics Of Fishes* (T.D. Kocher And C.A. Stepien, Eds.), Academic Press, San Diego, 285-311.

Magoulas, A. And Zouros, E., (1993). Restriction Site Heteroplasmy In Anchovy (*Engraulis encrasicolus*) Indicates Incidental Biparental Inheritance Of Mitochondrial Dna. *Mol. Biol. Evol.* 10, 319-325.

Mannela, C.A., Marko, M. and Buttle, K., (1997). Reconsidering mitochondrial structure: new views of an old organelle. *Trends in Biochemical Sciences*, 22, 37-38.

Martin, .A.P., Kessing, B.D., And Palumbi, S.R., (1990). Accuracy Of Estimating Genetic Distance Between Species From Short Sequences Of Mitochondrial Dna. *Molecular Biology And Evolution*, 7, 485-488.

Martin, K.L.M. and Bridges C.R., (1999). Respiration in water and air, 54-78. In Horn M.H., Martin K.L.M. and Chotkowski M.A., *Intertidal fishes. Life in two worlds*. Academic Press., 399.

Masuda, H. and Allen G.R. (1993). Meeresfische der Welt - Groß-Indopazifische Region. Tetra Verlag, Herrenteich, Melle. 528 p.

Mayden, R.L., Wiley, O.E., (1992). The Fundamentals of phylogenetic systematics. In Mayden R.L., ed. Systematics, Historical Ecology and North American Freshwater Fishes. Stanford, CA: Stanford University Press, 114-185.

Meyer, A., (1993). Evolution Of Mitochondrial Dna In Fishes. In Biochemistry And Molecular Biology Of Fishes, Vol. 2 (Hochaka & Mommsen, Eds.), Elsevier Science Publishers, New York, 1-38.

Moritz, C., (1991). Evolutionary Dynamics Of Mitochondrial Dna Duplications In Parthenogenetic Geckos, *Heteronotia Binoei*. Genetics, 129, 221-230.

Moritz, C., Dowling, T.E. and Brown, W.M., (1987). Evolution Of Animal Mitochondrial Dna: Relevance For Population Biology And Systematics. Ann. Rev. Ecol. Syst., 18, 269-292.

Mount, D.W., (2001). Bioinformatics. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, Chapter 3. Alignment of pairs of sequences, 52-137.

Mount, D.W., (2001). Bioinformatics. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, Chapter 7. Phylogenetic prediction, 281-324.

Nass M., and Nass S., (1963). Intramitochondrial Fibers With Dna Characteristics. I. Fixation And Electron Staining Reactions, 19, 593-611.

Nei, M., (1987). Molecular Evolutionary Genetics. Columbia University Press, New York. American Journal of Physical Anthropology, 75, 428-429.

Nieder, J., (1993) Distribution of juvenile blennies (Pisces, Blennioidei) in small tide-pools: result of low-tide lottery or strategic habitat selection?. Bonn. Zool. Beitr. 44(3-4), 133-140.

Nylander J.A., Ronquist F., Huelsenbeck J.P., Nieves-Aldrey J.L., (2004). Bayesian phylogenetic analysis of combined data, Systematic Biology, 53, 47-67.

Oliveira, R.F., Almada V.C., Almeida A.J., Santos R.S. and Gonçalves E.J., (1992). A checklist of the blennioid fishes (Teleostei, Blennioidei) occurring in Portuguese waters. Arquipélago. Ciências da Natureza 10, 23-37.

Palumbi, S.R., (1996). Nucleic acids II: the polymerase chain reaction. In: Molecular Systematics (eds Hillis DM, Moritz C, Mable BK), Sinauer & Associates Inc., Sunderland, Massachusetts, 205-247.

Posada, D., Crandall, K.A., (2001). Selecting The Best-Fit Model Of Nucleotidesubstitution. Systematic Biology, 50, 580-601

Qi, D., Guo, S., Tang, J., Zhao, X., Liu, J., (2007). Mitochondrial DNA phylogeny of two morphologically enigmatic fishes in the subfamily Schizothoracinae (Teleostei: Cyprinidae) in the Qinghai-Tibetan Plateau. Journal of Fish Biology, 70, 60-74.

Randall J.E., (1995). Coastal fishes of Oman. University of Hawaii Press, Honolulu, Hawaii, 439 p.

Robins, C.R. and Ray G.C., (1986). A field guide to Atlantic coast fishes of North America. Houghton Mifflin Company, Boston, U.S.A., 354 p.

Saitou N., Imanishi, T., (1989). Relative efficiencies of the Fitch-Margoliash, Maximum Parsimony, Maximum-Likelihood, Minimum-Evolution and Neighbour-Joining methods of phylogenetic tree construction in obtaining the correct tree. *Mol Biol Evol*, 6, 514-525.

Saitou, N., Nei, M., (1987). The Neighbor-Joining Method: A New Method Forreconstruction Phylogenetic Trees. *Molecular Biology And Evolution*, 4, 406-425.

Schatz, G., (1995). Mitochondria: beyond oxidative phosphorylation. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*, 1271, 123-126, Issue 1, 24 May 1995, Erişim Tarihi: 10 Ağustos 2011, Sciencedirect veritabanı.

Sepkoski, J., (2002). "A compendium of fossil marine animal genera". *Bulletins of American Paleontology* 364, 560.

Sick, K., (1961). Haemoglobin Polymorphism In Fishes. *Nature*, London. 192, 894-896.

Swofford, D.L., Olsen, G.J., Waddell, P.J., Hillis, D.M., (1996). Phylogenetic Inference. In D. M. Hillis, C. Moritz, and B. K. Mable, eds. *Molecular Systematics*. Sunderland, MA: Sinauer, 407-514.

Tavare, S., (1986). Some Probabilistic And Statistical Problems On The Analysis Of DNA Sequences. *Lect. Math. Life Sci.*, 17, 57-86.

Thompson, J.D., Higgins, D.G., Gibson, T.J., (1994). Clustal W: Improving The Sensitivity Of Progressive Multiple Sequence Alignment Throughsequence Weighting, Positions-Specific Gap Penalties And Weight Matrix Choice. *Nucleic Acids Res.*, 22, 4673-4680.

Turan C., Carvalho, G. R., and Mork, J., (1998). Molecular Genetic Analysis Of Atlanto-Scandian Herring (*Clupea Harengus*) Populations Using Allozymes And Mitochondrial Dna Markers. *Journal Of Marine Biological Association Of Uk*, 78, 269-283.

Turan, C., (1997). Population Structure Of Atlantic Herring, *Clupea Harengus* L., In The Northeast Atlantic Using Phenotypic and Molecular Approaches, Ph.D. Thesis, University Of Hull, U.K., 298 P.

Tzagoloff, A. (1982). Mitochondria. *Biochemical Education*, 12, Issue 1, page 42.

Utter, F.M., (1991). Biochemical Genetics and Fishery Management: An Historical Perspective. *Journal Of Fish Biology*, 39, 1-20.

Wallace, D.C., (1986). Mitochondrial Genes And Diseases. Hospital Practice, 21(10), 77-87, 90-2.

Ward, R.D. and Grewe, P., (1994). Appraisal Of Molecular Genetic Techniques İnfisheris. Reviews İn Fish Biology And Fisheries, 4, 300-325.

Wheeler, A., (1992). A list of the common and scientific names of fishes of the British Isles. J. Fish Biol. 41(1), 1-37.

Wilson, A.C., Cann, R.L., Carr, S.M., George, M., Gyllensten, U.B., Helmbychowski, K.M., Higuchi, R.G., Palumbi, S.R., Prager, E.M., Sage, R.D. and Stoneking, M. (1985). Mitochondrial-Dna And Two Perspectives On Evolutionary Genetics. Biological Journal Of The Linnean Society, 26, 375-400.

Wolf, Y.I., Rogozin, I.B., Grishin, N.V., Koonin, E.V., (2002). Genome trees and the tree of life. Trends Genet, 18 (9), 472–479.

Zander, C.D. (1986). Blenniidae. pp. 1096-1112. In Whitehead, P. J. P., Bauchot, M.L., Hureau, J.-C., Nielsen, J. and Tortonese, E. (eds.) Fishes of the North-eastern Atlantic and the Mediterranean, volume 3. UNESCO, Paris.

Zharkikh, A., (1994). Estimation Of Evolutionary Distances Between Nucleotidesequences. J. Mol. Evol., 39, 315-329.

### **Yazarsız Alıntılar**

Berkeley Üniversitesi, Coevolution. Erişim Tarihi: 23 Temmuz 2011. [http://evolution.berkeley.edu/evolibrary/article/0\\_0\\_0/evo\\_33](http://evolution.berkeley.edu/evolibrary/article/0_0_0/evo_33)

Encyclopedia Britannica Online, Evolution. Erişim Tarihi: 22 Temmuz 2011. <http://www.britannica.com/EBchecked/topic/197367/evolution>

Köpeklerin kökeni. BBC Haberler; (2007-12-14). Erişim Tarihi: 25 Temmuz 2011. <http://news.bbc.co.uk/2/hi/science/nature/2498669.stm>

## ÖZGEÇMİŞ

1985 yılında İstanbul'da doğdu. İlk ve orta eğitimini Pendik Merkez İlköğretim'de lise öğrenimini İstanbul Semiha Şakir Anadolu Lisesin'de tamamladı. 2005 yılında yılında girmiş olduğu Karadeniz Teknik Üniversitesi Sürmene Deniz Bilimleri Fakültesi Balıkçılık Teknolojisi Mühendisliği bölümünden 2009 yılında mezun oldu. 2009 – 2011 yılları arasında, Haliç Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı'nda yüksek lisans öğrenimini tamamladı.