



T. C.

ORDU ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ORTA KARADENİZ'DEN ÖRNEKLENEN BAZI YENGEÇ
TÜRLERİNİN 18S rDNA VE MİTOKONDRİYAL
SİTOKROM OKSİDAZ I (COI) GENLERİNE DAYALI
MOLEKÜLER ANALİZİ**

ALİ ALPER ERDEM


YÜKSEK LİSANS TEZİ

**BALIKÇILIK TEKNOLOJİSİ MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM
DALI**

ORDU 2020

TEZ BİLDİRİMİ

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


ALİ ALPER ERDEM

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

ÖZET

ORTA KARADENİZ'DEN ÖRNEKLENEN BAZI YENGEÇ TÜRLERİNİN 18S rDNA VE MİTOKONDRIYAL SİTOKROM OKSİDAZ I (COI) GENLERİNE DAYALI MOLEKÜLER ANALİZİ

ALİ ALPER ERDEM

ORDU ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BALIKÇILIK TEKNOLOJİSİ MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ, 63 SAYFA

TEZ DANIŞMANI: DOÇ. DR. YILMAZ ÇİFTÇİ

Bu tez çalışmasında, Orta Karadeniz'de dağılım gösteren *Liocarcinus navigator*, *Liocarcinus depurator* ve *Eriphia verrucosa* türlerinin genetik yapısı belirlenmiş, gen bankasındaki bu familyanın üyeleri arasındaki genetik ilişkinin derecesi mtDNA ve rDNA sekans analiz yöntemiyle analiz edilerek soyağacı çıkartılmıştır. Çalışılan gen bölgeleri PZR yöntem ile çoğaltılarak gen dizilimleri belirlenmiştir. Örnekleme yapılan yengeç türleri bölgede ticari olarak kullanılan farklı av araçları elde edilmiştir. 18S rDNA gen bölgesi 718 bç'nden 649 bç'nin (%90.4) pozisyonunun korunmuş ve 10 bç'nin (%14.5) polimorfik bilgi verici olan 69 bç'nin (%9.6) nükleotid pozisyonunda değişken olduğu belirlenmiştir. Çalışılan türler için 18S rDNA nükleotid çeşitlilik değeri (Pi) 0.02472 ve haplotip çeşitlilik değeri (Hd) 1 olarak hesaplanmıştır. mtDNA COI gen bölgesi 456 bç'nden 44 bç'nin (%9.6) pozisyonunun korunmuş ve 312 bç'nin (%75.7) parsominok bilgi verici olan 412 bç'nin (%90.4) nükleotid pozisyonunda değişken olduğu belirlenmiştir. Çalışılan türler için nükleotid çeşitlilik değeri (Pi) 0.3546 ve haplotip çeşitlilik değeri (Hd) 1 olarak hesaplanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Dekapoda, mtDNA COI, 18S rDNA, Orta Karadeniz, Yengeç

ABSTRACT

MOLECULAR ANALYSIS OF SOME CRAB SPECIES SAMPLED FROM THE MIDDLE BLACK SEA BASED ON 18S rDNA AND MITOCHONDRIAL CYTOCHROME OXIDASE I (COI) GENES

ALİ ALPER ERDEM

ORDU UNIVERSITY INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED
SCIENCES

FISHERIES TECHNOLOGY ENGINEERING

MASTER THESIS, 63 PAGES

SUPERVISOR: ASSOC. PROF. DR. YILMAZ ÇİFTÇİ

In this thesis, the genetic structure of the *Liocarcinus navigator*, *Liocarcinus depurator* and *Eriphia verrucosa* species distributed in the Middle Black Sea was determined, the genetic relationship between the members of this family in the gene bank was analyzed by mtDNA and rDNA sequence analysis method and the genealogical tree was extracted. The studied gene regions was determined by PCR amplification. The sampled crab species were obtained by different commercially fishing gear used in the region. For the 18S rDNA partial gene region, a total of 718 characters for each of the individuals sequenced were aligned, 649 (90.4%) characters were constant, 69 (9.6%) characters were variable and 10 (14.5%) variable characters were parsimony-informative under the MP optimality criterion. For the studied species, 18S rDNA nucleotide diversity (Pi) and haplotype diversity (Hd) values were calculated as 0.02472 and 1, respectively. For the mtDNA COI gene region, a total of 456 characters for the individuals sequenced were aligned, 44 (9.6%) characters were constant, 412 (90.4%) characters were variable and 312 bp (75.7%) variable characters were parsimony-informative under the MP optimality criterion. Also, mtDNA COI nucleotide diversity (Pi) and haplotype diversity (Hd) values were calculated as 0.3546 and 1, respectively.

Keywords: Decapoda, mtDNA COI, 18S rDNA, Middle Black Sea, Crab

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam boyunca her zaman bilgi ve deneyimleriyle yolumu aydınlatan, başarılı bir insan olmam için sürekli çabalayan değerli danışman hocam Doç. Dr. Yılmaz ÇİFTÇİ'ye, üniversite hayatım boyunca maddi ve manevi desteğiyle her zaman yanımda olan, hep bir adım daha ilerlemem için üstün çaba harcayan, aile şefkatini hissettiren değerli hocam Prof. Dr. Mehmet AYDIN'a, çalışmalarım boyunca yardımlarını eksik etmeyen değerli hocam Dr. Öğr. Üyesi Cem Tolga GÜRKANLI'ya, gerek laboratuvar çalışmalarım gerekse tez çalışmalarımda gece gündüz yardım eden, deneyimlerini aktaran, bilgileriyle pek çok yardımı dokunan, abi, arkadaş ve hocam Arş. Gör. Caner ŞİRİN'e, bu stresli yolculukta sürekli destek veren annem, babam ve kardeşime, örneklerin toplanması aşamasında fazlasıyla yardım eden, üniversite hayatımdaki tek dostum Barış BODUR'a teşekkürü bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
TEZ BİLDİRİMİ	I
ÖZET	II
ABSTRACT	III
TEŞEKKÜR	IV
İÇİNDEKİLER	V
ŞEKİL LİSTESİ	VI
ÇİZELGE LİSTESİ	VII
SİMGELER VE KISALTMALAR	VIII
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	9
3. MATERYAL ve YÖNTEM	12
3.1 Yengeç Materyalleri	12
3.1.1 <i>Liocarcinus navigator</i> (Herbst, 1794)	12
3.1.2 <i>Liocarcinus depurator</i> (Linnaeus, 1758)	13
3.1.3 <i>Eriphia verrucosa</i> (Forskål, 1775)	15
3.2 Örneklemeler	17
3.3 Yöntemler	17
3.3.1 Toplam DNA İzolasyonu	17
3.3.2 mtDNA COI ve 18S rDNA Gen Bölgelerinin Çoğaltılması	19
3.4 PZR Ürünlerinin Görüntülenmesi	22
3.5 TBE Tamponu Hazırlanması	25
3.6 PZR Ürünlerinin Saflaştırılması	25
3.7 PZR Ürünlerinin Sekansı	26
3.8 Veri Analizi	27
3.8.1 Sekans Verilerinin Analizi	27
3.8.2 Çoklu Sekans Hizalaması (Alignment)	28
3.8.3 Filogenetik Analizler	31
4. BULGULAR	33
4.1 18S rDNA	33
4.1.1 Dizi Özellikleri	33
4.1.2 Filogenetik İlişkiler	36
4.2 Sitokrom Oksidaz Alt Ünite I (COI)	41
4.2.1 Dizi Özellikleri	41
4.2.2 Filogenetik İlişkiler	44
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	50
6. KAYNAKLAR	54
ÖZGEÇMİŞ	63

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 3.1 <i>Liocarcinus navigator</i> (Herbst, 1794) türünün coğrafik dağılımı	13
Şekil 3.2 <i>Liocarcinus navigator</i> (Herbst, 1794)'ün genel görüntüsü	13
Şekil 3.3 <i>Liocarcinus depurator</i> (Linnaeus, 1758) türünün coğrafik dağılımı	14
Şekil 3.4 <i>Liocarcinus depurator</i> (Linnaeus, 1758) 'ün genel görüntüsü.....	15
Şekil 3.5 <i>Eriphia verrucosa</i> (Forskål, 1775) türünün coğrafik dağılımı	16
Şekil 3.6 <i>Eriphia verrucosa</i> (Forskål, 1775).....	16
Şekil 3.7 Örnekleme alanı ve lokaliteyi gösteren harita	17
Şekil 3.8 PZR işleminin gerçekleştirildiği termal cycler	21
Şekil 3.9 PZR ürünlerinin görüntülenmesinde kullanılan Elektroforez cihazı	23
Şekil 3.10 Jel görüntüleme ünitesi ve termal yazıcı	23
Şekil 3.11 <i>Liocarcinus depurator</i> türünün 18S rDNA bölgesinin NS1 ve NS4 primerleri ile çoğaltılmasının jel görüntüsü	24
Şekil 3.12 <i>Liocarcinus navigator</i> türünün 18S rDNA gen bölgesini NS1 ve NS4 primerleri ile çoğaltılmasının jel görüntüsü	24
Şekil 3.13 <i>Eriphia verrucosa</i> türünün mtDNA COI gen bölgesinin LCO1490 ve HCO2198 primerleri ile çoğaltılmasının jel görüntüsü	25
Şekil 3.14 PZR yükseltgeme ürününün saflaştırılması işlemi.	26
Şekil 3.15 Geneious programıyla <i>Liocarcinus depurator</i> türü için 18S rDNA gen bölgesi sekans analizi sonucunun ileri ve geri yönlü primer ile eşleştirilmesi ve kontrol edilen nükleotid dizisi	27
Şekil 3.16 Geneious programıyla <i>Liocarcinus navigator</i> türü için 18S rDNA gen bölgesi sekans analizi sonucunun ileri ve geri yönlü primer ile eşleştirilmesi ve kontrol edilen nükleotid dizisi	28
Şekil 3.17 Geneious programıyla <i>Eriphia verrucosa</i> türü için mtDNA COI gen bölgesi sekans analizi sonucunun ileri ve geri yönlü primer ile eşleştirilmesi ve kontrol edilen nükleotid dizisi	28
Şekil 3.18 BioEdit programı kullanılarak 18S rDNA gen bölgesi çoklu sekans hizalaması.....	30
Şekil 3.19 Bioedit programı kullanılarak mtDNA COI gen bölgesi çoklu sekans hizalaması.....	30
Şekil 4.1 18s rDNA Komşu Katılım Metodu Topolojisi.	38
Şekil 4.2 18s rDNA Maksimum Tutumluluk Metodu Topolojisi.	39
Şekil 4.3 18s rDNA Maksimum Olasılık Metodu Topolojisi.	40
Şekil 4.4 mtDNA COI Gen Bölgesi Komşu Katılım Metodu Topolojisi.	46
Şekil 4.5 mtDNA COI Gen Bölgesi Maksimum Tutumluluk Metodu Topolojisi.	47
Şekil 4.6 mtDNA COI Gen Bölgesi Maksimum Olasılık Metodu Topolojisi.	48

ÇİZELGE LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
Çizelge 3.1 <i>Liocarcinus navigator</i> 'ün Taksonomisi	12
Çizelge 3.2 <i>Liocarcinus depurator</i> 'ün Taksonomisi	14
Çizelge 3.3 <i>Eriphia verrucosa</i> 'nın Taksonomisi	15
Çizelge 3.4 Toplam DNA'nın izolasyon işlemi	18
Çizelge 3.5 Çalışmada kullanılan DNA segmentleri ve primer dizileri	20
Çizelge 3.6 PZR bileşenleri ve miktarları	20
Çizelge 3.7 18S rDNA gen bölgesi için PZR şartları	21
Çizelge 3.8 mtDNA COI gen bölgesi için PZR şartları	22
Çizelge 3.9 18S rDNA gen bölgesi için NCBI GenBank'tan karşılaştırma için alınan türler, GenBank erişim numaraları ve lokaliteleri	29
Çizelge 3.10 mtDNA COI gen bölgesi için NCBI GenBank'tan karşılaştırma için alınan türler, GenBank erişim numaraları ve lokaliteleri	30
Çizelge 4.1 Çalışılan yengeç türleri ile GenBank'tan alınan örneklerin 18S rDNA geni nükleotid frekansları	34
Çizelge 4.2 Yengeç türlerine ait 9 adet 18S rDNA gen bölgesi haplotiplerinin değişken pozisyonları. Noktalar, ilk örnek'deki nükleotitlerle özdeş pozisyonları temsil etmektedir.	35
Çizelge 4.3 18S rDNA dizi çiftleri arasında Kimura 2 parametrelili modeli kullanarak hesaplanan genetik mesafe değerleri (alt sol diyagonal: genetik mesafe, üst sağ diyagonal: Standart hata)	41
Çizelge 4.4 Tamura-Nei (1993) modeli altında substitution şekil ve oranları	42
Çizelge 4.5 Çalışılan yengeç türleri ile GenBank'tan alınan örneklerin mtDNA COI geni nükleotid frekansları	43
Çizelge 4.6 mtDNA COI dizi çiftleri arasında Kimura 2 parametrelili modeli kullanarak hesaplanan genetik mesafe değerleri	49

SİMGELER VE KISALTMALAR

µl	: Mikrolitre
µM	: Mikromolar
A	: Adenin
bç	: Baz çifti
C	: Sitozin
COI	: Sitokrom oksidaz alt ünite I
dATP	: Deoksiadenozin trifosfat
dCTP	: Deoksisitozin trifosfat
ddH₂O	: İki defa distile su
dGTP	: Deoksiguanozin trifosfat
dk	: Dakika
dNTP	: Deoksiribonükleozit trifosfat
dTTP	: Deoksitimidin trifosfat
EDTA	: Etilendiamin tetraasetik asit
G	: Guanin
m	: Metre
mg	: Miligram
MgCl₂	: Magnezyum Klorür
ml	: Mililitre
ML	: Maksimum Olasılık
MP	: Maksimum Parsimoni
mtDNA	: Mitokondriyal DNA
NCBI	: Ulusal Biyoloji Bilgi Merkezi
nDNA	: Nükleer DNA
ng	: Nanogram
NJ	: Komşu Katılım
°C	: Santrigrat derece
PZR	: Polimeraz Zincir Reaksiyon
rDNA	: Ribozomal DNA
rpm	: Dakikada dönüş hızı
rRNA	: Ribozomal RNA
T	: Timin
TBE	: Tris-borat-edta
UV	: Ultraviyole
V	: Volt

1.GİRİŞ

Dekapodlar, Malakostraka sınıfına ait geniş bir on ayaklı kabuklu takımıdır. Bu takım, değişen küresel hesaplamalar ile 110.000 kadar türü kapsayan, sonu olmayan çeşitlilikte deniz, tatlı su ve yarı karasal on ayaklı kabukluları barındırır. Dekapodlar habitat çeşitliliğine morfoloji, fizyoloji, davranış ve yaşam öyküsü çeşitliliğini yansıtır evrimsel zaman boyunca kolonize olmuştur. Dekapodlar epijen, su kütlesinde yaşayan, hipojen, ki bunlardan bazıları sucul mağaralarda yaşamak zorunda olan, ve diğer çukur açanları içerir. Birkaç tür ise tatlı sudan tuzlu suya kadar olan geniş bir tuzluluk toleransı gösteren eurihalindir (Hobbs ve Lodge, 2010).

Yengeçlerdeki değişik ve karmaşık vücut şekilleri onları farklı davranış biçimleriyle birlikte neredeyse tür sayıları kadar farklılaştıran yaşam biçimini ortaya çıkartmıştır. Yengeçler, yüzmeye, yürümeye, yan al koşma, tırmanma, bentik yapıya gömülme gibi davranışlar sergilediğinden çevre koşullarına adaptasyonları oldukça gelişmiştir. Aynı şekilde bazı türlerde görülen kamuflaj yeteneği ve simbiyotik yaşama özelliği sayesinde adaptasyonlarını oldukça arttırmıştır. Bu nedenlerden dolayı yengeçlerin her türlü karasal ve denizel habitatlarda yaşama şansları çok yüksek düzeylere çıkmıştır. Hemen hemen her tür denizel habitatta görebileceğimiz yengeçler, okyanuslarda yaklaşık 1.500m derinliklerde yaşadıkları gözlemlendiği gibi, karasal habitatta 2.000m yüksekliklerde bile gözlemlenmiştir. Dahası, sıcaklık ve tuzluluk gibi parametrelerin gün içerisindeki değişiminin çok yüksek olduğu haliçlerde bile bazı zamanlarda gruplar halinde oldukları da belirlenmiştir. Ayrıca, bazı türler karasal ortamda yaşamını sürdürürken sadece larvalarını bırakmak için denizel habitata dönerler. Bazı türler ise, gel-git bölgelerinde bulunan bitkilerin arasında, bu bölgelerdeki içleri su dolmuş boş kabuklarda ve küçük su birikintilerinin çamurlu kısımlarında bile yaşadıkları gözlemlenmiştir. Daha da fazlası, bazı türler çöllerin kenar kesimlerinde bile görülmüştür ve bu habitatta yaşayan türlerin kabuk kısımları kil ve çöl topraklarıyla örtülmüş olduğundan altı yıla varan süreler boyunca yağmur yağana kadar hareketsiz durdukları belirlenmiştir (Warner, 1977; Ng ve ark., 2008).

Endüstriyel gelişmelerin artması sonucunda türlerin hızlı bir biçimde yok olmasının farkına varılması, yok olma tehdidi altında olan türlere yönelik çalışmaların artmasını sağlamıştır. Ekolojik tehlikelerin yanında, nüfusun yoğun olarak artması ve bunun sonucunda doğadaki canlıların habitatları üzerine baskıların kurulması, küçük popülasyon içeren türlerin homozigotlaşmaları, allel kaybından dolayı genetik varyasyonun kaybolması, yakın akrabalık ve genetik sürüklenmeye maruz kalmaları gibi sorunlar ortaya çıkmıştır. Nesli tükenme tehlikesinde olan türler üzerine moleküler genetik analizlerin yapılması ile genetik varyasyonun seviyesinin belirlenmesi söz konusu olabilir. Ekolojik, demografik, fizyolojik verilerle desteklenen genetik sonuç verileri, bir türün popülasyonun azalma sürecine ışık tutabilir. Bir popülasyonun tarihsel sürecinin doğal göstergesi olan popülasyon genetiği, filogenetik ve filocoğrafyası ile ilgili bilgilerin ortaya çıkarılması ile o türün gelecekte neslinin tükenme tehlikesine karşı koruması kapsamında alınabilecek önlemleri ve planlamaları hakkında önemli veriler sağlamaktadır (O'Brien, 1994).

Yengeçler, birçok ülkede hem ekonomik hem de ekolojik olarak önemli organizmalardır ve birçok tür, koruma açısından önemlidir. Gen kaynaklarının korunması ve geleceğe dönük planlamalar oluşturmak amacıyla, birçok ülke tarafından endemik ve tehdit altındaki türlere yönelik yoğun genetik çalışmalar yürütülmektedir. Türlerin doğru, hızlı ve kesin bir şekilde tanımlanması biyolojik çeşitliliğin anlaşılması ve korunması açısından büyük önem taşımaktadır. Bu kapsamda ülkemizdeki canlı türlerinin kesin olarak bilinmesi ve bunlara yönelik çalışmaların arttırılması kaçınılmazdır.

Denizlerde bulunan yengeç türleri küresel bir dağılıma sahip olduklarından hem morfolojik hem de genetik olarak oldukça değişken olma eğiliminde bulunmakta, çeşitli coğrafi ölçeklerde ve taksonomik seviyelerde sistematikçiler için zorlu ve ilginç problemler ve sorular barındırmaktadır. Bu sınırlamalar nedeniyle taksonomistler tarafından klasik yöntemler kullanılarak tür tanımlaması yapmak her zaman kolay olmamaktadır. Bu bağlamda tür tanımlama işlemlerinin hızlanması ve kesinlik kazanması için destekleyici yeni yöntemlere ihtiyaç duyulmaktadır. Dünya genelinde son zamanlarda tür içi ve türler arası ilişkilerin belirlenmesi için hızlı ve güvenilir olan DNA barkodlama yöntemi yoğun bir şekilde kullanılmaktadır.

Dekapoda, üzerinde çok sayıda morfolojik araştırma yapılan, ekonomik olarak değerli ve morfolojik açıdan çok sayıda farklılık gösteren ve tür çeşitliliği bakımından zengin kabuklulardır. Aynı zamanda bu biyolojik çeşitliliği belirlemek için morfolojik araştırmalarla kesin sonuca ulaşmak mümkün olmamaktadır. Ekonomik öneme sahip olan ve baskı altında olan veya başka türleri baskı altına alan türlerin stok yapılarının analizinde ekolojik, morfolojik, meristik ve davranış biçimlerinin incelenmesi yeterli olmadığı gibi son yıllarda balıkçılık alanında moleküler genetik çalışmalarına olan ilgi artmıştır. Günümüzde bu çalışmalar temel olarak protein ve DNA olmak üzere iki tür genetik markır sistemi kullanılarak yapılmaktadır. Protein elektroforezi ile yapılan çalışmaların en büyük avantajı hızlı, düşük maliyetli ve çok fazla laboratuvar malzemesine ihtiyacın olmamasıdır. Ancak dezavantaj olarak ise kullanılan örneklerin kesinlikle taze olması gerekmektedir, DNA çalışmalarına göre çok sayıda örneğe ihtiyaç olmakta ve bu örneklerin genellikle öldürülmesi ve bunların içinde en önemlisi bazı popülasyon ve türlerde DNA çalışmalarına göre çok düşük seviyede polimorfik olması önemli derecede sınırlayıcı etki gösterir. Bunun sonucunda son dönemlerde çalışmaların çoğunluğu DNA markır sistemleri kullanılarak yapılmaktadır (Çiftci, 2006). Bu bağlamda günümüzde yaygın kullanılan ve moleküler metotlar arasında bulunan mitokondriyal DNA (mtDNA) ve ribozomal DNA (rDNA)'nın sekans analizi yöntemi bu çalışmada da kullanılmıştır.

Dekapodlar ve özellikle alttakımı olan Brachyura takımı en fazla çeşitlilik gösteren takım ve alttakımdır. Tüm kategorik düzeylerde günümüzdeki ve soyu tükenmiş grupların sayısında olağanüstü bir çeşitlilik sergilemektedir. Son dönemlerde, özellikle son yıllarda, yayın sayısı ve belirlenen taksonlar sayesinde sistematığın bilgisi hızla artmıştır. Ancak, veriler çok dağınık, farklı dillerde yazılmış ve yayınlardan verileri elde etmesi oldukça zordur. Brachyura taksonlarıyla ilgili artan hızlı bilgi akışı bilim insanlarının bu gruba artan ilgisiyle atfedilebilir. Yeni keşifler, sistematik karakterler ve sistematik teoriler hakkında daha iyi bilgi edinme yöntemlerini de geliştirmiştir. Uzmanların dikkati çoğunlukla türlere ve nesillere odaklanmıştır. Aynı zamanda grubun üst düzey sistematığı, süpergenetik taksonlar (alt aileler, aileler, süper aileler), karsinologların (kabukluları inceleyen bilim insanları) çoğunluğu tarafından ihmal edilmiş, böylece daha yüksek taksonlar genellikle belirsiz bir şekilde sınırlanmış, kusurlu olarak tanımlanmış ve uygunsuz bir şekilde kalıp

düzenlenememiştir. Araştırmacılar genellikle, bir asırdan daha uzun süre önce yazılmış olan Alcock (1895-1910)'tan daha yüksek taksonların tanımlarını, teorik ve pratik bilgiler olarak önemli ölçüde ilerlemiş olsa da, çok az iyileşme yaparak veya iyileştirme yapmayarak yeniden belirlemişlerdir. Bu nedenle, daha yüksek taksonların yeni tanımları genellikle sistematik durumlarını ve konumlarını atlamıştır ve yeniden sınıflandırma belirsiz bir geleceğe ertelenmiştir (Števcic, 2005).

Brachyura grubundaki yengeçler sık sık Anomura infratakımından geniş yengeçleri ve porselen yengeçleri ile karıştırılırlar. Bunun nedeni, evrimleşme sürecinin kontrol edilmemesi ve morfolojik olarak tür tanımlamalarının yapılmasıdır. Anomura takımındaki çoğu yengeçler açık şekilde görülebilen üç çift yürüme bacağı ile dışardan görülmesi zor olan, abdomenin altında kalan oldukça küçük son yürüme bacağına sahiptir. Dış görünüme bakıldığında her zaman görülemeyen bu son yürüme bacağı çoğu taksonomisti yanıltmayı başarmıştır. Bazı Brachyura türlerinde ise son yürüme bacağı Anomura türlerindeki gibi oldukça küçülüp körelmiş veya evrimsel süreçte tamamen ortadan kalkmış olabilir. Ayrıca yine bazı Brachyura türlerinde son yürüme bacağı evrimleşme sürecinde palet şeklinde yüzmeye yardımcı uzuv olarak değişmiştir. Bazı Anomura türlerinde evrimselleşme sürecinde abdomenleri Brachyura'daki gibi gövdenin altına katlanmış olabilir. Ancak uropodlarla çevrelenmiş bir telson bulunması bu türün Anomura takımına ait olduğunu göstermektedir (Ingle, 1996; Ng ve ark., 2008).

Bu ve bunun gibi bazı durumlarda dış görünüşler ile taksokomik sınıflandırma yapılması taksonomistleri her zaman doğru ve kesin bir sonuca ulaştıramamaktadır. Bilindiği üzere bir canlının dış görünüşünü olan fenotipi canlının genetik yapısından ve çevresel etkilerden oluşmaktadır. Yalnızca morfolojik ve meristik karakterler üzerinden yapılan tanımlamaların farklı ve yanıltıcı sonuçlar doğurabileceği bilinmektedir. Gözden kaçan veya yanlış sınıflandırmaya tabii tutulan türlerde biyolojik çeşitlilik kaybı söz konusu olup bunları takip eden çalışmalarda bu biyolojik çeşitliliğin kaybı katlanarak artma eğiliminde olacaktır.

Farklı organizmalarda morfolojik karakterler doğrudan karşılaştırılmasalar da yengeçlerin diğer canlılara göre fenotipik olarak farklılıklar gösterdiği gözlenir. Yengeçlerin ekolojisindeki, yaşama biçimlerindeki, davranışındaki ve

morfolojilerindeki farklılıkların, çoğu yengeç türleri için popülasyon içi ve popülasyonlar arasında değiştiği gözlenebilmektedir.

Balıkçılık yönetimi ve biyoloji açısından bakıldığında çevresel ve genetik faktörlerin etkisiyle oluşan fenotipik varyasyonun belirlenmesi büyük önem taşımaktadır. Morfolojik karakterlerin incelenmesine yönelik geleneksel çalışmalarda genel olarak çevre ve genetiğin etkisini ayırabilmek güçtür. Uzun süreli seleksiyon çalışmaları sonucunda fenotipik varyasyonun kalıtımı tahmin edilebilse de, bu sonuçlar canlının spesifik genleri hakkında bilgi vermez (Ryman, 1983). Örneğin, canlılardaki renk pigmentleri az sayıda (1-3) gen tarafından düzenlenir ve kontrol edilmektedir. Bu durumdaki bir genin popülasyondaki tüm genetik varyasyonu temsil ettiğini söylemek doğru olmayacaktır. Ancak, aile veya yaş sınıfı gibi ekolojik özellikleri gösterebilir. Bu karakterlerin takibi kolay olmasına rağmen genetik varyasyon hakkında yanlış bilgiler verir (FAO, 1981).

Son yıllarda, biyolojik çeşitliliğin kaybı büyük bir çevre sorunu olarak kabul edilmiş ve biyolojik çeşitliliğin korunmasına yönelik büyük çaba harcanmaya başlanmıştır (Wilson, 2003; Butchart ve ark., 2010). Bununla birlikte, insanın biyosfer üzerindeki etkisinin araştırılmasının önündeki en büyük engel, çoğu zaman 'taksonomik engel' olarak adlandırılmaktadır. Burada birçok canlı organizma grubu için dimorfizm veya fenotipik plastisite ile birlikte gelişen morfolojik varyasyon ve taksonomi alanında çalışan uzman eksikliği temel neden olarak gösterilmektedir (Minelli, 2003). Öncelikle morfolojik karakterlere dayanan biyoçeşitlilik değerlendirmeleri karmaşık ve nötr olmayan bir markör olduğu gibi, aynı zamanda biyoçeşitliliğin düşük veya aşırı tahmin edilmesi gibi riskler de barındırmaktadır (Lefebure ve ark., 2006). Bu gibi problemlerin üstesinden gelmek ya da en azından taksonomik, ekolojik ve evrimsel çalışmalar için tür sınırlamasını onaylamak için moleküler yöntemlere verilen önem artmıştır. Son zamanlarda yaygın olarak kullanılan ve barkodlama olarak bilinen (Sitokrom c oksidaz alt birim 1 (COI)) mitokondriyal DNA (mtDNA)'nın kısa, standartlaştırılmış 652 bç dizisi barkod olarak önerilmektedir (Hebert ve ark., 2003a; Gregory, 2005; Schindel ve Miller, 2005; Miller, 2007; Radulovici ve ark., 2010). Spesifik olarak, bir barkodlama aracı gibi kullanılan COI gen bölgesi, DNA sekans farklılıklarına bağlı olarak bir organizmanın

tanımlanmasına ve daha önce tanımlanan belirli bir türe atanmasına yardımcı olur (Lefebvre ve ark., 2006). Ayrıca, DNA barkod dizileri, potansiyel olarak yeni türlerin tahmin ve sınıflandırmasını gerçekleştirmek için bir DNA taksonomi aracı olarak kullanılabilir. Her ne kadar yaklaşım tartışmalı gibi gözükse de (Roe ve Sperling, 2007), barkodlama veri kümeleri küresel biyoçeşitliliğin envanterleri için dünya çapında kampanyanın bir parçası gibi hızla veri toplamaya devam etmektedir (Hebert ve ark., 2003b; Hajibabaei ve ark., 2007).

Moleküler genetik yaklaşımlar günümüzde çok çeşitli organizmaların popülasyon genetiğini, taksonomisini ve filogenisini incelemek için yaygın olarak kullanılmaktadır (Goulding ve ark., 1996). Bununla birlikte, incelenecek tekniğin ve gen bölgesinin seçimi her zaman net değildir ve genetik varyasyon seviyesinin ele alınan sistematik soru için uygun olması önemlidir. Kabukluların moleküler genetiği üzerine bilgi birikimimizde büyük ilerlemeler olmasına rağmen, belirli taksonomik gruplar ve gen bölgeleriyle ilgili olarak hala büyük boşluklar bulunmaktadır. Mitokondriyal veya nükleer DNA sekans analizi günümüzde, belirli popülasyonların ayırt edilmesi, filocoğrafyalarının çalışılması ve sistematik ilişkileri tahmin etmek için en yaygın kullanılan moleküler genetik yaklaşımlarından birisidir (Avice, 1994; Goulding ve ark., 1996). MtDNA, yüksek oranda evrim oranı, maternal kalıtım tarzı ve rekombinasyonun olmayışı gibi birçok benzersiz özelliğe sahiptir (Moritz ve ark., 1987). Mitokondriyal DNA'nın yüksek evrimleşme hızı, onarım mekanizmalarının olmayışı nedeniyle tek kopya nükleer DNA'nınkinden daha yüksek mutasyon oranına sahip olmalarından kaynaklanmaktadır. Sonuç olarak mtDNA ve gen bölgeleri, özellikle yakın türlerin ve popülasyonların, farklı evrim hızı sergileyebilir ve Crustacea ve Arthropoda'daki bazı derin dalları incelemek için genel olarak korunan gen bölgeleri daha fazla kullanılmaktadır (Ballard ve ark., 1992; Boore ve ark., 1995; Flook ve Rowell, 1997; Hanner ve Fugate, 1997; Garcia-Machado ve ark., 1999).

Temel biyokimyasal fonksiyonlara sahip bir dizi gen tüm türlerde bulunur ve bunlar soyağacının en derin kısımlarındaki filogenetik ilişkileri incelemek için sıralanabilir, hizalanabilir ve analiz edilebilir. Diğer genler morfolojik olarak ayırt edilemeyen fakat farklı türler arasındaki ilişkileri incelemek için kullanılabilir (Hillis

ve Moritz, 1990). Yaşamın başlangıcından itibaren nispeten yeni evrimsel olaylara kadar tüm bu uygulamalar, ribozomal RNA (rRNA) genleri ve bunların ortak olarak ribozomal DNA (rDNA) adı verilen ilişkili ara bölgeleri incelenerek ele alınmıştır (Appels ve Honeycutt, 1986; Mindell ve Honeycutt, 1990). rDNA'nın bazı özellikleri, diğer moleküler sekanslardan oldukça farklıdır ki bunlar sistematik çalışmalarında rDNA'nın kullanımı düşünüldüğünde bir dizi özel husus gerektirir (Hillis ve Dixon, 1991). Bununla birlikte ribozomal DNA'lar oldukça büyük, fonksiyonel olarak sabit ve araştırmacılar tarafından yaygın olarak kullanılan moleküllerdir ve tüm hücrelerde nükleotit dizisinin korunduğu çok sayıda bölge içerirler.

Filogenetik analiz için rDNA'nın yararlı olmasının nedenlerinden biri, tekrar biriminin farklı bölgelerinin çok farklı oranlarda gelişmesidir. Bu nedenle, rDNA dizilerinin hemen hemen her sistematik soru için bilgilendirici veri vermesi muhtemel bölgeleri analiz için seçilebilir. Ek olarak, çoğu rDNA genindeki yüksek oranda korunmuş sekans bölgeleri, birçok türden rRNA veya rDNA'nın sekanslanması, ilgili bölgelerin PZR kullanılarak çoğaltılması için kullanılan 'evrensel' primerlerin oluşturulması veya kısıtlayıcı enzim analizinde prob olarak kullanmak için oldukça faydalıdır (Kocher ve ark., 1989; Hillis ve ark., 1990; Simon ve ark., 1990). Bireyler arası uzunluk heterojenliği tekrarın bazı bölgelerinde amplifiye DNA'nın doğrudan sekanslanması için problemlere neden olsa da, amplifiye DNA nispeten klonlanabilir ve sekanslanabilir. Belirli bir sistematik soru için uygun olması muhtemel bir bölge seçme süreci, herhangi bir filogenetik analizde belki de en kritik adımdır. Seçilen bölge evrimsel olarak çok fazla korunuyorsa (tüm taksonlarda sekanslar hemen hemen aynı ise), değişmez verileri toplamak için önemli bir zaman harcanacaktır. Öte yandan, taksonlar arasında hizalamaların zor veya sorgulanabilir olduğu ölçüde farklılık gösteren bölgelerin de güçlü filogeni vermeleri olası değildir (Swofford ve Olsen, 1990). Son teknolojiler ile birlikte gelişen moleküler biyoloji, DNA'daki varyasyonun incelenmesini mümkün kılmaktadır. Genomdaki baz değişikliği, genomda bulunan ancak kodlanmayan kısımlardaki varyasyonun incelenmesiyle belirlenmektedir.

Birçok ülke kendi gen kaynaklarını korumak ve geleceğe dönük planlamalar oluşturmak amacıyla su kaynaklarındaki fiziksel ve kimyasal değişimlerden dolayı tür bazındaki farklılaşmalara, endemik ve tehdit altındaki türlere yönelik yoğun genetik

çalışmalar yürütmektedir. Türlerin doğru, hızlı ve kesin bir şekilde tanımlanması, tür koruması ve biyolojik çeşitliliğin anlaşılması açısından büyük önem taşımaktadır. Bu kapsamda ülkemizdeki canlı türlerinin kesin olarak bilinmesi ve bunlara yönelik çalışmaların artırılması gereklidir.

Sistemik ve filogenetik çalışmalar için en önemli gerekliliklerden biri, gen bölgelerinin ilgilenilen soruya uygun değişkenlik düzeyiyle tanımlanmasıdır. Yengeçlerin moleküler filogenetik ve sistemik çalışmalarında, esas olarak ribozomal genlerden, özellikle 18S rDNA gen bölgesi ve Sitokrom oksidaz I (COI) gen bölgesine ait DNA dizileri kullanılmıştır. Bu nedenle, bu hayvanlarda sistemik çalışmalar için potansiyel olarak faydalı diğer mitokondriyal gen bölgeleri hakkında az bilgi bulunmaktadır. Bu çalışmada, 18S rDNA ve COI'den çoğaltılmış ve sırasıyla yaklaşık 1061bp ve 652bp uzunluğunda fragman kullanılarak Karadeniz'de dağılım gösteren yengeç türleri arasındaki nükleotid varyasyonuna ve filogenetik ilişkilere bakılmıştır.

Yapılmış olan bu çalışmada, Orta Karadeniz'de örneklenen yengeç türleri ile Karadeniz'de dağılım gösteren dekapod familyaları üyeleri arasındaki ilişkileri belirlemek için moleküler verilere dayanan bir filojeni tahmini yapılmış ve sonuçların morfolojik olarak tanımlanan dekapod türlerinin çeşitliliğine ilişkin hipotezin test edilmesine yardımcı olması beklenmektedir. Elde edilen genetik verilerin gen bankasına girilmesiyle, dekapod kabuklularda ileriki çalışmalarda kullanım için bir moleküler markır veritabanı geliştirilmesine katkı sağlanmıştır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Bugüne kadar yapılan çalışmalara bakıldığında Akdeniz, Ege ve Marmara Denizi'nde pek çok ekolojik araştırmanın yapıldığı bilinmektedir (Karhan, 2015). Oysa ki her geçen yıl ekolojik dengesinde değişimlerin saptandığı Karadeniz'in özellikle Türkiye kıyılarındaki araştırma sayısının azlığı dikkat çekicidir.

Türkiye denizlerinde Brachyura grubundan bir yengeç türünün kaydedildiği ilk çalışmayı Forskål (1775) gerçekleştirmiştir. Forskål'ın *Cancer verrucosus* (Forskål,1775) ismiyle tanımlamış olduğu *Eriphia verrucosa*'nın tip lokasyonu İstanbul'dur. Forskål (1775) aynı zamanda İzmir ve İstanbul'dan *Nepinnotheres pinnotheres* (Linnaeus, 1758) (*Cancer pinnotheres* ismiyle) ve yine İstanbul'dan *Liocarcinus corrugatus* (Pennant,1777) (*Cancer pellitus* ismiyle) türlerini de rapor etmiştir.

Ondokuzuncu yüzyıla ait kayıtlar Stimpson (1861), Heller (1863), Colombo (1885), Ostroumoff (1894, 1896), Adensamer (1898) ve Marion (1898)'un çalışmalarında bildirdiği türlerden ibarettir. Stimpson (1861) İstanbul'dan *Pachygrapsus marmoratus* (Fabricius,1787), Heller (1863) ise İstanbul Boğazı'ndan *Xantho poressa* (Olivi, 1792) (*Xantho rivulosus* olarak) türlerini rapor etmişlerdir. Daha sonra Colombo (1885) Çanakkale Boğazı'ndan 13, Ege Denizi'nden 5, Ostroumoff (1894) İstanbul Boğazı'ndan ve Marmara Denizi'nin kuzeyinden 9, Ostroumoff (1896) Marmara Denizi genelinden 26, Adensamer (1898) Ege Denizi'nden 4 ve Levant Denizi'nden 2 ve Marion (1898) İstanbul Boğazı'ndan 6, Çanakkale Boğazı'ndan ise 1 Brachyura türü bildirmiştir.

Holthuis (1961)'in Türkiye ve Balkanlar'ın dekapod ve stamatopod faunalarıyla ilgili çalışmasına kadar geçen sürede Türkiye kıyılarında bulunan Brachyura türleriyle ilgili bilgi birikimi sınırlı düzeyde kalmıştır. Çalışma temel olarak Mart–Temmuz 1959 tarihlerinde Leiden Üniversitesi (Hollanda) himayesinde Türkiye kıyılarına gerçekleştirilen örnekleme gezisinde toplanan dekapod ve stomatopod materyalinin inceleme sonuçlarını içermektedir. Akdeniz'de varlığı bilinen pek çok türün Türkiye sularından ilk kez rapor edildiği çalışmada Holthuis (1961), Türkiye denizleri dekapod faunasıyla ilgili bilgi birikiminin son derece kısıtlı olduğunu ifade etmiştir.

Bu dönemdeki devam eden kayıtlar Ninni (1923), Devedjian (1926), Gruvel (1928, 1929, 1930, 1931), Santucci (1928), Monod 1930, 1931, 1932), Rathbun (1930), Demir (1952–1954), Holthuis ve Gottlieb (1956, 1958), Nalbantoğlu (1958) ve Tortonese (1959)’in çalışmalarında verilmiştir (Karhan, 2015). Bu çalışmaların orijinal metinlerine dijital ortamdan ulaşılamamaktadır. Ancak Balkıs ve ark. (2016)’nin yaptığı derleme çalışmasında Demir (1952-1954)’in Marmara Denizi’nden sadece *Spinolambrus macrochelos* (Herbst)’ un yazdığı kitabında bildirildiği belirtilmiştir.

Holthuis (1961)’in çalışmasının üzerinden geçen yaklaşık yarım yüzyılın ardından kıyılarımızda yapılan pek çok çalışma sayesinde günümüzde dekapod krustase faunası ve bu faunanın önemli bir bölümünü oluşturan Brachyura yengeçleri çok daha iyi tanımlanmış durumdadır. Yayımlanan dönemin son kontrol listesinde Türkiye denizlerinde 249 dekapod krustase türünün bulunduğu ve bunlar içerisindeki yengeç türlerinin sayısının 107 olduğu bildirilmiştir (Bakır ve ark., 2014). Takip eden yıl içerisinde yapılan çalışmada ilk kez rapor edilen türlerle birlikte bugüne kadar Türkiye kıyılarından kaydedilen yengeç türlerinin sayısı 114 olduğu bildirilmiştir (Karhan, 2015).

Bugüne kadar yapılan çalışmalar incelendiğinde Karadeniz genelinde yapılan çalışmaların diğer denizlerde yapılanlara nazaran oldukça az sayıda olduğu görülmüştür. Ayrıca Karadeniz’de yengeç türlerinin kaydedildiği çalışmaların çoğu Sinop bölgesinde gerçekleştirilmiştir (Ateş, 1999; Bilgin ve Çelik, 2004; Gönügür-Demirci ve Katağan, 2004; Gönügür ve ark., 2004; Bilgin ve ark., 2007; Ersoy Karaçuha ve ark., 2009; Bilgin, 2019).

Ateş (1999), Haziran 1995 ve Temmuz 1996 tarihleri arasında Türkiye’nin Batı Karadeniz Bölgesi’ndeki Sinop Yarımadası’nın dekapod faunası üzerine incelemeler sırasında 2 yeni yengeç türü keşfetmiştir. *Liocarcinus depurator* (Linnaeus, 1758) ve *Brachynotus sexdentatus* (Risso, 1827) olarak belirlediği türlerin teşhislerini sistematik ve morfolojik karakterler kullanarak belirlemiştir.

Selimoğlu (1997), Ekim 1995 – Kasım 1996 ayları arasında Trabzon kıyı sularında *Liocarcinus vernalis* (Risso, 1816) ve *Pachygrapsus marmoratus* (Fabricius,

1787) türlerinin var olduğunu tespit etmiş ve bu çalışmasında biyoeolojik özellikler kullanmıştır.

Gönlügür (2003), Batı Karadeniz (Sinop) sahillerinin üst infralittoral zonundaki bazı fasiesler üzerinde araştırma yapmış ve bu araştırmayı kalitatif ve kantitatif özelliklere göre incelemiştir.

Kocataş ve Katağan (2003), Türkiye denizlerinde yaptığı çalışmada Doğu Akdeniz için 2 yeni tür (*Pandalina profunda*, *Richardina fredericii*) ve Türkiye faunası için 8 yeni tür (*Acantephyra pelagica*, *Plesionika gigliolii*, *Stenopus spinosus*, *Goutetia denticulata*, *Bathynectes maravigna*, *Dorhynchus thomsoni*, *Latreillia elegans*, *Macropipus tuberculatu*) belirlemiştir. Yaptıkları çalışmada hidrolojik ve ekolojik parametreleri kullanmışlardır.

Bilgin ve Çelik (2004), Sinop kıyılarında dağılım gösteren yengeç türleri üzerine yaptığı çalışmada, Sinop sahillerinde 4 aile, 8 cinse ait toplam 11 tür tespit etmiştir. Yaptıkları çalışmada türleri makroskobik ve mikroskobik olarak incelemiş, ardından sistematik ve morfolojik özelliklerini fotoğraflarla analizleyip buldukları derinliğe göre tür tanımlaması yapmışlardır.

Gönlügür-Demirci ve Katağan (2004), Haziran (1999) – Nisan (2000) ayları arasında Karadeniz kıyı şeridi boyunca bulunan bir alg türünün biyotası ile ilgili yaptıkları çalışmada daha önceden kayıtlara geçen 4 yengeç türü (*Hippolyte leptocerus*, *Athanas nitescens*, *Psidia longimana*, *Pilumnus hirtellus*) bulmuşlardır. Bu çalışmada tür ayrımını kalitatif ve kantitatif niteliklere göre belirlemişlerdir.

Bilgin ve ark. (2007), Şubat (2002) – Ocak (2003) ayları arasında Sinop kıyıları boyunca yaptıkları çalışmada daha önceden kayıtlara geçen 9 yengeç türü (*Brachynotus sexdentatus*, *Carcinus aestuarii*, *Eriphia verrucosa*, *Liocarcinus depurator*, *Liocarcinus navigator*, *Liocarcinus vernalis*, *Macropodia rostrata*, *Pilumnus hirtellus*, *Xantho poressa*) belirlemişlerdir. Bu çalışmada tür tanımlamalarını kalitatif ve kantitatif niteliklere göre belirlemişlerdir.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1 Yengeç Materyalleri

Örnekleme yapılan yengeç türleri *Liocarcinus navigator* (Herbst, 1794), *Liocarcinus depurator* (Linnaeus, 1758) ve *Eriphia verrucosa* (Forskål, 1775) olarak belirlenmiştir.

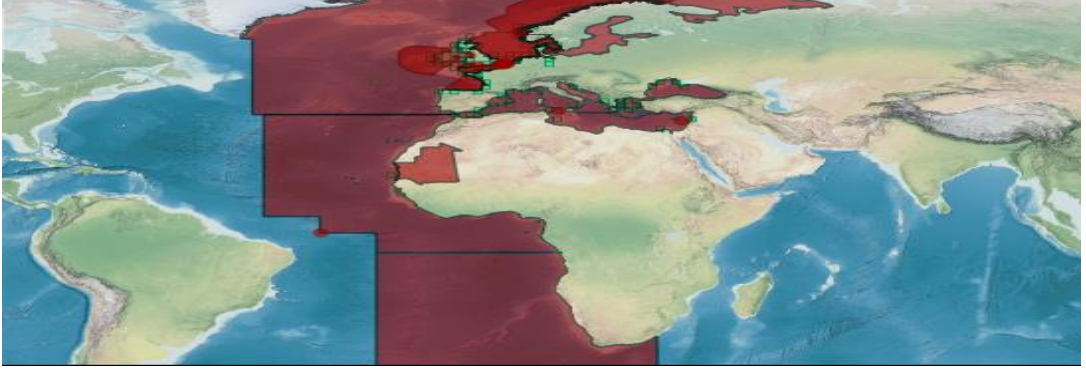
3.1.1 *Liocarcinus navigator* (Herbst, 1794)

Portunidae familyasından bir yengeç olan *Liocarcinus navigator* türünün sistematik kategorisi Çizelge 3.1’de verilmiştir.

Çizelge 3.1 *Liocarcinus navigator*’ün Taksonomisi

Alem	Animalia
Şube	Arthropoda
Altşube	Crustacea
Sınıf	Malacostraca
Takım	Decapoda
Alttakım	Pleocyemata
İnfratakım	Brachyura
Aile	Portunidae
Tür	<i>Liocarcinus</i>

Atlantik Okyanusu’nun Avrupa ve Afrika kıyıları boyunca kuzey-güney eksenini doğrultusunda, Akdeniz, Karadeniz ve Arktik Okyanusu’nun Grönland ve Rusya kıyıları boyunca geniş çaplı bir bölgede yaşayan türdür (Şekil 3.1). Karapas ovalimsi, genişliği uzunluğundan fazla, dorsal yüzeyinde konveks yapılar bulunup çok ince enine karinalıdır. Karapasın anterio-lateral kenarları 5 dişli olup, 4. diş diğerlerine göre çok az gelişmiştir. Karapas koyu kahverengi olup, pereopodlar daha açık renklidir (Şekil 3.2)(Aydın, 2013).



Şekil 3.1 *Liocarcinus navigator* (Herbst, 1794) türünün coğrafik dağılımı (Anonim, 2014a)



Şekil 3.2 *Liocarcinus navigator* (Herbst, 1794)'ün genel görüntüsü (Aydın ve ark., 2013)

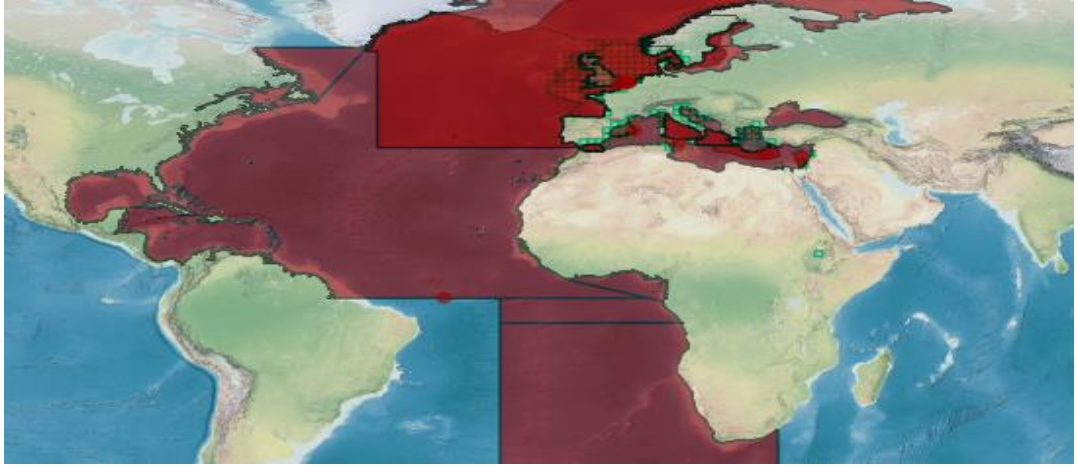
3.1.2 *Liocarcinus depurator* (Linnaeus, 1758)

Liman yengeci olarak da isimlendirilen ve Portunidae familyasından bir yengeç türü olan *Liocarcinus depurator*'ün sistematik kategorisi Çizelge 3.2'de verilmiştir.

Çizelge 3.2 *Liocarcinus depurator* 'ün Taksonomisi

Alem	Animalia
Şube	Arthropoda
Altşube	Crustacea
Sınıf	Malacostraca
Takım	Decapoda
Alttakım	Pleocyemata
İnfratakım	Brachyura
Aile	Portunidae
Tür	<i>Liocarcinus</i>

Atlantik Okyanusu'nun Güney Amerika'daki Brezilya, Uruguay, Arjantin kıyıları hariç tüm kıyılarında, Akdeniz, Karadeniz ve Arktik Okyanusu'nun Grönland ve Rusya kıyıları boyunca geniş çaplı bir bölgede yaşayan türdür (Şekil 3.3). Karapas ovalimsi ve yassı, genişliği uzunluğundan fazladır. Karapasın anterio-lateral kenarlarında 5 diş ve göz çukurları arasında 3 diş çıkıntıları vardır. Genellikle mezgit ve barbun avcılığında kullanılan uzatma ağlarında ve algarna ile rapana avcılığında ıskarta av olarak karşılaşılmaktadır (Aydın ve ark., 2013). Yaşam alanı olarak 3-20 m derinliklerde buldukları belirlenmiştir. En önemli tür farklılaşması, abdomene bağlı olan son yürüme bacağına evrimleşip yüzmeye yardımcı palet şeklinde uzuv oluşudur (Şekil 3.4)(Aydın ve ark., 2013).



Şekil 3.3 *Liocarcinus depurator* (Linnaeus, 1758) türünün coğrafik dağılımı (Anonim, 2014b)



Şekil 3.4 *Liocarcinus depurator* (Linnaeus, 1758) 'ün genel görüntüsü (Aydın ve ark., 2013)

3.1.3 *Eriphia verrucosa* (Forskål, 1775)

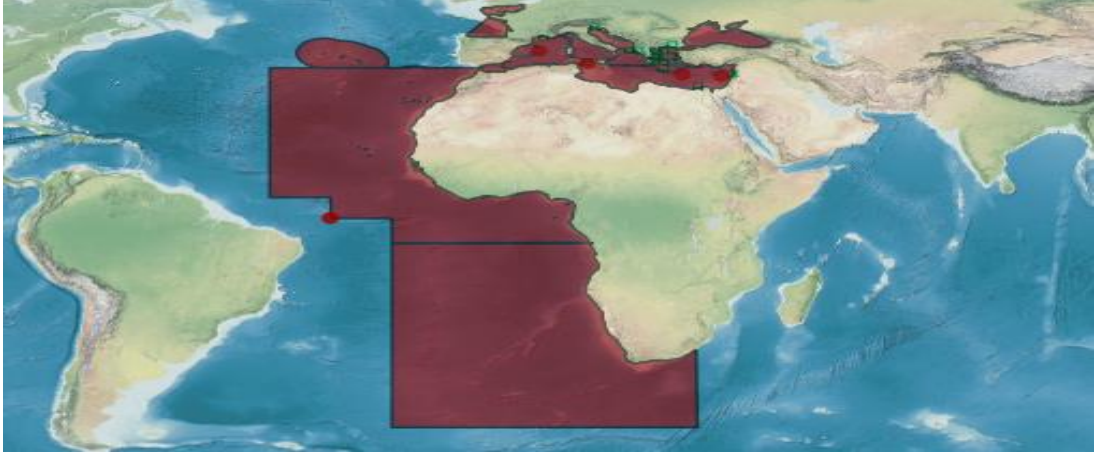
Bazen sarı yengeç olarak da adlandırılan ve Eriphiidae familyasının bir yengeç türü olan *Eriphia verrucosa* 'nın sistematik kategorisi Çizelge 3.3'de verilmiştir.

Çizelge 3.3 *Eriphia verrucosa* 'nın Taksonomisi

Alem	Animalia
Şube	Arthropoda
Altşube	Crustacea
Sınıf	Malacostraca
Takım	Decapoda
Alttakım	Pleocyemata
İnfratakım	Brachyura
Aile	Eriphiidae
Tür	<i>Eriphia</i>

Orta ve Güney Atlantik Okyanusu ortaları, Santa Cruz adaları kıyıları, Afrika kıyıları, Avrupa kıyıları, Akdeniz ve Karadeniz'de görülen bir türdür (Şekil 3.5). Ülkemizde pavurya olarak adlandırılır. Kayalık kıyı boyunca sığ suda, kaya ve yosunlar arasında, 15 m derinliğe kadar dağılım göstermektedir. Karapas kalın ve pürüzsüz, sarı lekeler ile kahverengimsi, kırmızımsı ve yeşilimsi renge değişen, ön kenarlarının iki tarafında 7, gözler arasında 5-6 diş bulunmaktadır. Karapasın dorsali hafifçe dış bükey, frontal sınır arasında ve yan bölgelerinde enine tanecikli kabartılar vardır. Kısaçlar güçlü ve genellikle eşit değildir. Bacaklarının üzerinde çok sayıda

keskin kıllar bulunur. Erkek bireyler dişilere göre daha büyüktür (Aydın ve ark., 2013). Kısaçlarının dorsalinde kahverengimsi çıkıntılar, ventralinde ise sarımtırak renge dönmüş kısaç yüzeyinde siyah benekler bulunur (Şekil 3.6).



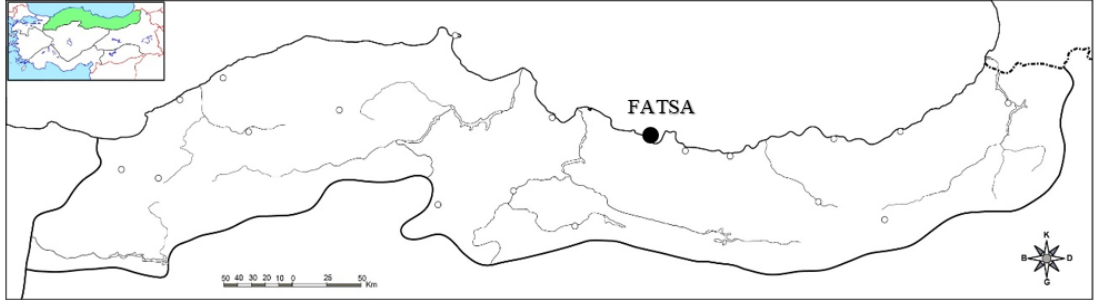
Şekil 3.5 *Eriphia verrucosa* (Forskål, 1775) türünün coğrafik dağılımı (Anonim, 2014c)



Şekil 3.6 *Eriphia verrucosa* (Forskål, 1775)(Aydın ve ark., 2013)

3.2 Örnekleme

Bu çalışmada kullanılan *Liocarcinus navigator*, *Liocarcinus depurator* ve *Eriphia verrucosa* örnekleri Orta Karadeniz Bölgesi Ordu ili Fatsa (41°02'32.6"K 37°29'44.7"D) açıklarından bölgede ticari faaliyet gösteren balıkçıların ağlarından alınmış ve Ordu Üniversitesi Fatsa Deniz Bilimleri Fakültesi'ne ait Araştırma 1 adlı tekne yardımıyla atılan ağlardan yakalanmıştır. Örnekleme alanının haritada gösterimi Şekil 3.7'de verilmiştir. Ağlara takılan yengeçlerin bir kısmı ölü durumda olmuş, yaşayan yengeçlerin ise karasal ortama çıkartılarak yaşamsal faaliyetinin bitmesi beklenmiştir. Yaşamsal faaliyetleri sona eren yengeçlerin et dokularının bozulmaması için laboratuvar ortamına götürülmüş, bu aşamada -80°C'de dokularının bozulmadan saklanması sağlanmıştır.



Şekil 3.7 Örnekleme alanı ve lokaliteyi gösteren harita




3.3 Yöntemler

3.3.1 Toplam DNA İzolasyonu








DNA izolasyonu, -80°C'de saklanan yengeçlerin et dokularından parçalar alınarak yapılmıştır. Yengeçlerin kısıkaçlarındaki etli dokuları ve karapasın altındaki bağ dokuları kullanılmıştır. Toplam DNA'nın izolasyonu INVITROGEN PureLink™ Genomik DNA Mini Kit (Cat. No. K182001) kiti kullanılarak firmanın belirttiği protokole göre yapılmıştır (Çizelge 3.4). 1.5 ml'lik Eppendorf tüpe konulan 25 mg ağırlığındaki doku parçalarına 180 µl PureLink™ genomik parçalama tamponu ve 20 µl Proteinaz K eklenmiştir. Ardından 1 gece 55°C'de sarsaklı inkübatörde bekletilip inkübe edilmiştir. Homojenize olmuş örnek 3 dakika boyunca 16.000 rpm'de santrifüj edilmiştir. Tüp içerisindeki sıvı kısım yeni bir 1.5 ml'lik Eppendorf tüpe alınmıştır. 20 µl RNase A eklenip hızlı ve kısa süreli santrifüj edilmiş olup 2 dakika inkübe olması beklenmiştir. Ardından 200 µl PureLink™ genomik lizis/bağlama tamponu eklenmiş ve homojen bir çözelti oluşana kadar vortekslenmiştir. Ardından 200 µl %98'lik etanol

tüpe eklenmiş ve saflaştırma protokolüne geçilmiştir. Her bir örnek 2 ml'lik PureLink™ toplama tüpüne takılan seramik filtreli spin kolona aktarılmıştır. Oda sıcaklığında 10.000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildikten sonra toplama tüpü içerisindeki sıvı dökülüp tekrar spin kolona yerleştirilmiştir. Her bir örneğe 500 µl Wash 1 yıkama çözeltisi eklenmiş ve 10.000 rpm'de 1 dakika santrifüj edilmiştir. Toplama tüpü boşaltılıp yeniden yerleştirilmiştir. Devamında 500 µl Wash 2 yıkama çözeltisi eklenmiş ve 16.000 rpm'de 3 dakika santrifüj edilmiştir. Toplama tüpü boşaltılıp yerine 1.5 ml'lik Eppendorf tüpü yerleştirilmiştir. Ardından 50 µl PureLink™ genomik elüsyon tamponu eklenip oda sıcaklığında 1 dakika inkübe edilmiştir. 16.000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildikten sonra 1.5 ml'lik Eppendorf tüp içerisinde saflaştırılan DNA bulunur. DNA -20°C'de saklanmıştır.

Çizelge 3.4 Toplam DNA'nın izolasyon işlemi (Şematik gösterim üreticini firmanın (INVITROGEN PureLink™ Genomik DNA Mini Kit; Cat. No. K182001) ürün protokolünden alınmıştır)

0.5 ila 1.2 cm uzunluğunda yaklaşık 25 mg ağırlığında doku örneği tartılarak iki ya da daha fazla parçaya ayrılır ve 1.5 ml'lik tüplere transfer edilir.	
Her bir tüpe 180 µl PureLink™ genomik parçalama tamponu ve 20 µl (20 mg/ml) Proteinaz K ilave edilir.	
Örnek tüplerini 55°C de sıcak blokta ya da sarsaklı su banyosunda 1 ile 4 saat arasında yada bir gece (16–18 saat) inkübe edilerek dokular parçalanır. Dokular belirli aralıklarla vorteks yapılmıştır.	
Parçacıklı maddeleri çıkarmak üzere, ilk olarak lizat oda sıcaklığında maksimum hızda 3 dakika santrifüj edilmiştir. Ardından yüzeyde kalan sıvı kısım, yeni bir steril mikro santrifüj tüpe aktarılmıştır.	
20 µl RNaz A lizata eklemiştir. Hızlı karıştırma ile iyice vortekslenmiştir. Oda sıcaklığında 2 dakika inkubasyon yapılmıştır. 200 µl PureLink™ genomik lizis/bağlama tamponu eklenmiş ve homojen bir çözelti elde etmek için iyice vortekslenmiştir.	
200 µl %96-100'lük etanol lizata eklenmiştir. Homojen bir çözelti elde etmek için iyice vortekslenmiştir. Hemen saflaştırma protokolüne geçilmiştir.	
Her bir örnek lizati (yaklaşık 640 µl) ayrı ayrı 2 ml'lik PureLink™ toplama tüpüne takılan Mini kolonlara transfer edilir.	
Oda sıcaklığında 10.000 rpm'de 1 dakika santrifüj yapılır.	

Çizelge 3.5 Toplam DNA'nın izolasyon işlemi (Şematik gösterim üreticini firmanın (INVITROGEN PureLink™ Genomik DNA Mini Kit; Cat. No. K182001) ürün protokolünden alınmıştır) (devamı)

<p>Minikolon uzaklaştırılır ve toplama tüpündeki sıvı dökülür. Minikolon toplama tüpüne yeniden takılır.</p>	
<p>Her bir örneğe 500µl WASH 1 yıkama çözeltisi (95% ethanol ilave edilmiş) ilave edilir ve oda sıcaklığında 10.000 rpm'de 1 dakika santrifüj yapılır ve toplama tüpündeki sıvı dökülür.</p>	
<p>2. yıkama için 500 µl WASH 2 yıkama çözeltisi yıkama çözeltisi ilave edilir ve oda sıcaklığında 3 dakika boyunca maksimum hızda santrifüj edilmiştir. Toplama tüpü atılmıştır.</p>	
<p>Minikolonlar yeni bir 1,5 ml'lik tüpe transfer edilir ve 25-200 µl PureLink™ genomik elüsyon tamponu eklenmiştir. Oda sıcaklığında 1 dakika inkübe edilir.</p>	
<p>Minikolon/tüp 10.000 rpm'de 1 dakika santrifüj yapılır. Tüp saflaştırılmış genomik DNA içerir ve tüpte toplanan sıvı dökülmez.</p>	
<p>Eğer istenirse 2. defa 25-200 µl oda sıcaklığında PureLink™ genomik elüsyon tamponu eklenir. Oda sıcaklığında 1 dak. İnkübe edilir. Minikolon/tüp 10.000 rpm'de 1 dakika santrifüj yapılır.</p>	
<p>Minikolonlar atılır ve saflaştırılmış DNA alınarak yakın zamanda kullanılacaksa +4°C veya uzun zaman sonra kullanılacaksa -20 °C de saklanır.</p>	

3.3.2 mtDNA COI ve 18S rDNA Gen Bölgelerinin Çoğaltılması

Liocarcinus navigator ve *Liocarcinus depurator* türleri için 18S rDNA bölgesinin 1061bp'lik kısmı NS1 ve NS4 (White ve ark., 1990) primerleri ile çoğaltılmıştır (Çizelge 3.5). *Eriphia verrucosa* türü için mtDNA COI bölgesinin 657bp'lik kısmı LCO1490 ve HCO2198 (Folmer ve ark., 1994) primerleri ile çoğaltılmıştır.

Çizelge 3.6 Çalışmada kullanılan DNA segmentleri ve primer dizileri

DNA Segmenti	Kodu	Primer Dizisi	Tm Değeri (°C)	Kaynaklar
18S rDNA	NS1	5'-GTAGTCATATGCTTGTCTC-3'	55 °C	White ve ark., 1990
	NS4	5'-CTTCCGTCAATTCCTTTAAG-3'		
COI	LCO1490	5'-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3'	40°C	Folmer ve ark., 1994
	HCO2198	5'-TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA-3'		

Çift iplikçikli DNA'nın yükseltgeme işlemi her bir örnek DNA'sı ile birlikte toplam 50 µl'lik PZR hacminde yürütülmüştür. Bu karışım içerisinde sırasıyla; DNA, ileri ve geri yönlü primerler, PZR Master Mix ve ddH₂O bulunmaktadır. Master mix içerisinde 2X (PROMEGA) Reaksiyon tamponu (pH 8.5) ve ddH₂O bulunmaktadır. 2X Reaksiyon tamponunda ise; 50 ünite/ml TaqDNA Polimeraz enzimi, 400 µM dATP, 400µM dGTP, 400 µM dCTP, 400µM dTTP, 3mM MgCl₂'dan oluşmaktadır. Hazırlanan karışım 0.5 ml'lik PZR tüplerine dağıtılmıştır (Çizelge 3.6).

Çizelge 3.7 PZR bileşenleri ve miktarları

PZR Bileşenleri	Miktar
2X Reaksiyon Tamponu 50u/ml Tag DNA Polimeraz 3mM MgCl ₂ 400µM dNTPs (dGTP, dCTP, dATP ve dTTP)	25µl
İleri yönlü primer (10µM)	5µl
Geri yönlü primer (10µM)	5µl
DNA (40ng/ml)	10µl
Nükleaz içermeyen saf su	5µl
Toplam	50µl

Örneklerin spesifik gen bölgesinin çoğaltılmasında Thermal Cycler (Techne TC-PLUS, Şekil 3.8) yardımıyla yapılmış ve Çizelge 3.7'de verilen PZR programları, tatmin edici sonuçlar vermiştir. 18S rDNA gen bölgesi için ilk adımda 95°C'de 3 dk.lık bir ilk denatürasyon işlemi yapılarak döngülere geçilmiştir. Döngü içerisinde 94°C'de 1 dk.lık denatürasyon, 51°C de 1 dk. annealing, ve 72°C de 1.5 dk. zincir uzama işlemi için uygulanmıştır. 40 döngü sonrasında 72°C de 5 dk. son uzama işlemi tamamlanmıştır.

ve 4 °C de örneklerin saklanması için program düzenlenmiştir. mtDNA COI gen bölgesi için ilk adımda 95°C’de 3 dk.lık bir ilk denatürasyon işlemi yapılarak döngülere geçilmiştir. Döngü içerisinde 95°C’de 1 dk.lık denatürasyon, 40°C’de 1 dk. annealing ve 72°C’de 1 dk. zincir uzama işlemi uygulanmıştır. 35 döngü sonrasında 72°C’de 5 dk. son uzama ile işlem tamamlanmış ve 4°C’de örneklerin saklanması için programlama yapılmıştır (Çizelge 3.8).



Şekil 3.8 PZR işleminin gerçekleştirildiği termal cyclers

Çizelge 3.8 18S rDNA gen bölgesi için PZR şartları

Aşama	Sıcaklık (°C)	Zaman (dk.)	Döngü Sayısı
İlk Denatürasyon	95°C	3	1
Denatürasyon			
Primer Bağlanma (Annealing)	94°C 51°C	1 1	40
Zincir Uzama (Extension)	72°C	1.5	
Son Uzama	72°C	5	1
Saklama	4°C	∞	

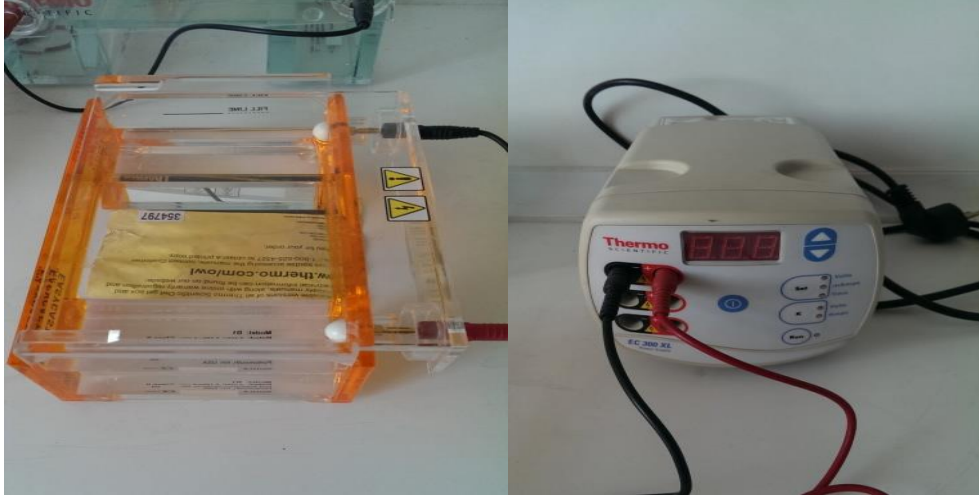
Çizelge 3.9 mtDNA COI gen bölgesi için PZR şartları

Aşama	Sıcaklık (°C)	Zaman (dk.)	Döngü Sayısı
İlk Denatürasyon	95°C	3	1
Denatürasyon	95°C	1	
Primer Bağlanma (Annealing)	40°C	1	35
Zincir Uzama (Extension)	72°C	1	
Son Uzama	72°C	5	1
Saklama	4°C	∞	

3.4 PZR Ürünlerinin Görüntülenmesi

PZR yükseltgemesi sonrası 5 µl PZR ürünü ile 1 µl 6X yükleme boyası (Loading dye), ethidium bromid yoğunluğu 0.01 mg (1mg/100µl) olacak şekilde hazırlanan %1'lik agaroz jel üzerinde 1xTBE tampon sisteminde koşturulmuştur. PZR ürünleri her bir fragment boyu için istenilen ayırıştırma ve jel konsantrasyonuna bağlı olarak yaklaşık 10V/cm'de 40-50 dk. elektroforez cihazında koşturulmuştur (Şekil 3.9). Ethidium bromid ile boyanan DNA parçaları UV illüminatör ile görüntülenmiştir. Jel görüntüleri jel dökümantasyon sistemi (Biostep, Darkhood DH-30/32) kullanarak kayıt edilmiş ve termal yazıcı (Mitsubishi, P91D) kullanılarak çıktısı alınmıştır (Şekil 3.10).

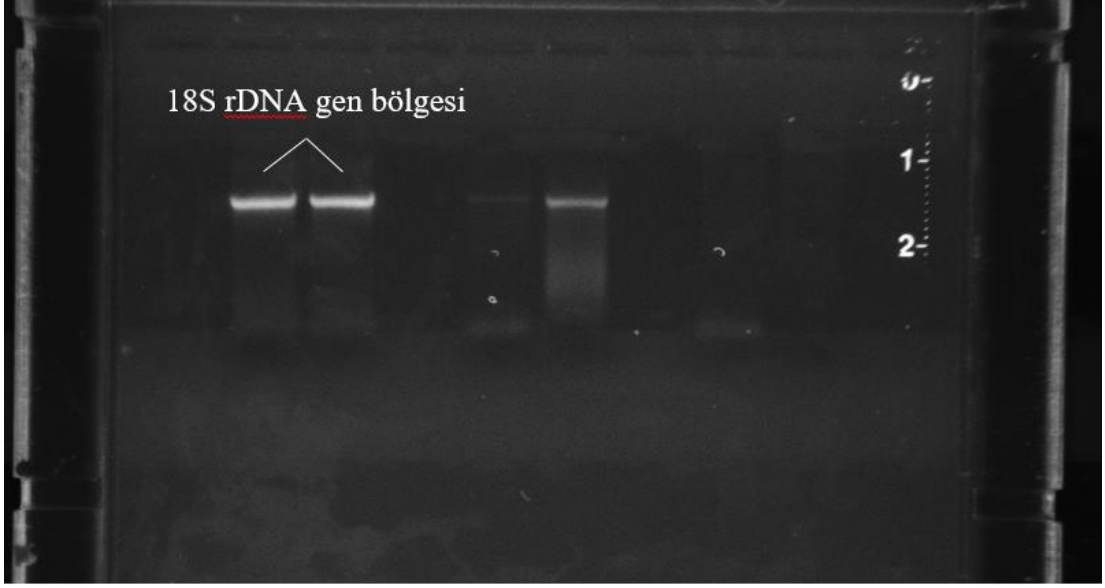
Bu görüntüler üzerinden PZR çoğaltmasının etkinliği kalitatif ve kantitatif olarak belirlenmiştir. Aynı zaman da PZR ürün boyu beklenen ürün boyu ile karşılaştırarak kontrol edilmiştir. 18S rDNA gen bölgesinin çoğaltılan yaklaşık ürün boyu 1000 bç büyüklükte olduğu bulunmuştur (Şekil 3.11-3.12). mtDNA COI gen bölgesinin çoğaltına yaklaşık ürün boyu ise 500 bç büyüklükte olduğu belirlenmiştir (Şekil 3.13). Kontrol sonrası başarılı bulunan PZR ürünleri yakın zamanda kullanılmak üzere 4°C'de tutulmuş veya daha uzun süreli kullanım için derin dondurucuya (-20 °C) konulmuştur.



Şekil 3.9 PZR ürünlerinin görüntülenmesinde kullanılan elektroforez cihazı



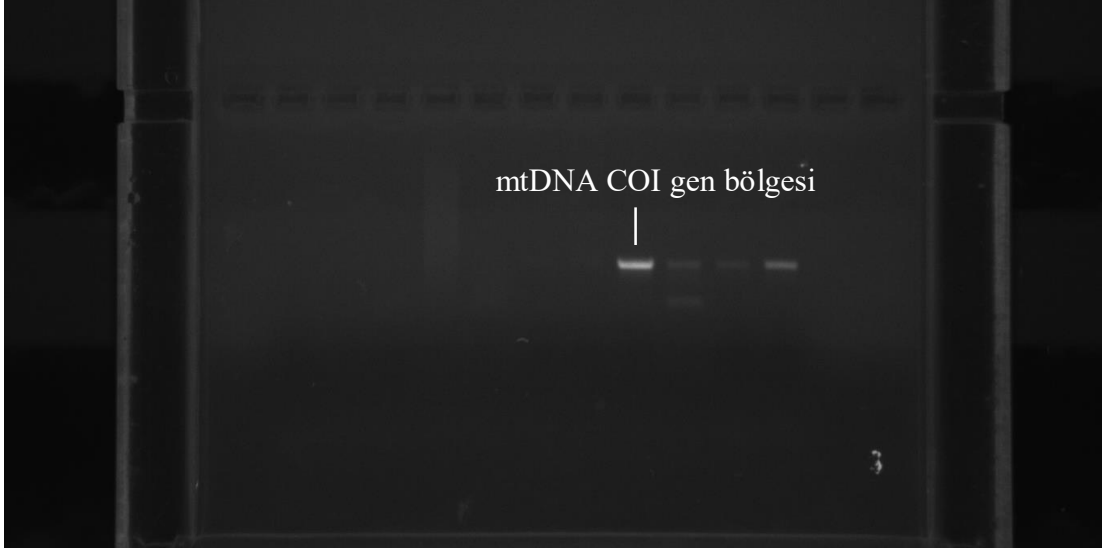
Şekil 3.10 Jel görüntüleme ünitesi ve termal yazıcı



Şekil 3.11 *Liocarcinus depurator* türünün 18S rDNA bölgesinin NS1 ve NS4 primerleri ile çoğaltılmasının jel görüntüsü



Şekil 3.12 *Liocarcinus navigator* türünün 18S rDNA gen bölgesini NS1 ve NS4 primerleri ile çoğaltılmasının jel görüntüsü



Şekil 3.13 *Eriphia verrucosa* türünün mtDNA COI gen bölgesinin LCO1490 ve HCO2198 primerleri ile çoğaltılmasının jel görüntüsü

3.5 TBE Tamponu Hazırlanması

TBE tamponu hazırlanırken Tris base, Borik asit, EDTA ve saf su kullanılır. Molekül ağırlıkları dikkate alınarak hazırlanan TBE için, 108 gram tris base, 55 gram borik asit ve 40 ml 0.5 molar EDTA (pH 8.0) 500 ml saf su içerisinde çözdürülüp toplam 1000 ml olacak şekilde üzerine saf su ilavesi yapılır. Yapılan TBE tamponu 10x olarak adlandırılır. Elektroforezde kullanılacak olan 1x tamponu için, 10x TBE'den 100 ml alınıp üzerine 900 ml saf su ilavesi yapılarak hazırlanmış olur.

3.6 PZR Ürünlerinin Saflaştırılması

PZR ürününün saflaştırma işleminde PureLink™PZR Saflaştırma Kiti (Cat.No.K310001) kullanılmıştır. Kit içerisinde 3 adet tampon bulunmaktadır: Bağlama tamponu (B2), bağlama tamponu (B3), yıkama tamponu (W1). Toplam 4 aşamadan oluşan ve Şekil 3.14'de ana başlıklar halinde gösterilen saflaştırma işlemi sırasında; 1) PZR ürünlerine izopropanol ilave edilmiş uygun bağlama tamponu eklenir, 2) PureLink PZR Spin Kolonu toplama tüplerine yerleştirilir ve PZR ürünleri minikolona transfer edilir, 3) PureLink PZR Spin Kolonu yıkama tamponu ile yıkanır, 4) DNA PureLink Elüsyon tüpüne alınır ve örnekler sekans için +4°C'de saklanır.



Şekil 3.14 PZR yükseltgeme ürününün saflaştırılması işlemi (Şematik gösterim üretici firmanın (INVITROGEN PureLink™ PZR Saflaştırma Kiti; Cat.No.K310001) ürün protokolünden alınmıştır)

3.7 PZR Ürünlerinin Sekansı

Saflaştırılan 100 µl'lik PZR ürünleri 50 µl hacim içerisinde sulandırılarak her iki gen bölgesi için ileri ve geri yönlü primerleri ile birlikte sekans analizi için ticari faaliyet gösteren Güney Kore'deki MacroGen adlı laboratuara gönderilmiştir. PZR ürününün sekanslarının alınmasında her iki primer ayrı ayrı kullanılmıştır. Bu şekilde her bir iplikçik diğeri ile tamamlayıcı olarak karşılaştırılarak kontrolü sağlanmıştır. BigDye Terminator Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems) kullanılarak, dizi ürünleri ABI 3730XL kapillar otomatik sekans aletinde yürütülmüş ve elde edilen ham veriler internet yoluyla alınmıştır.

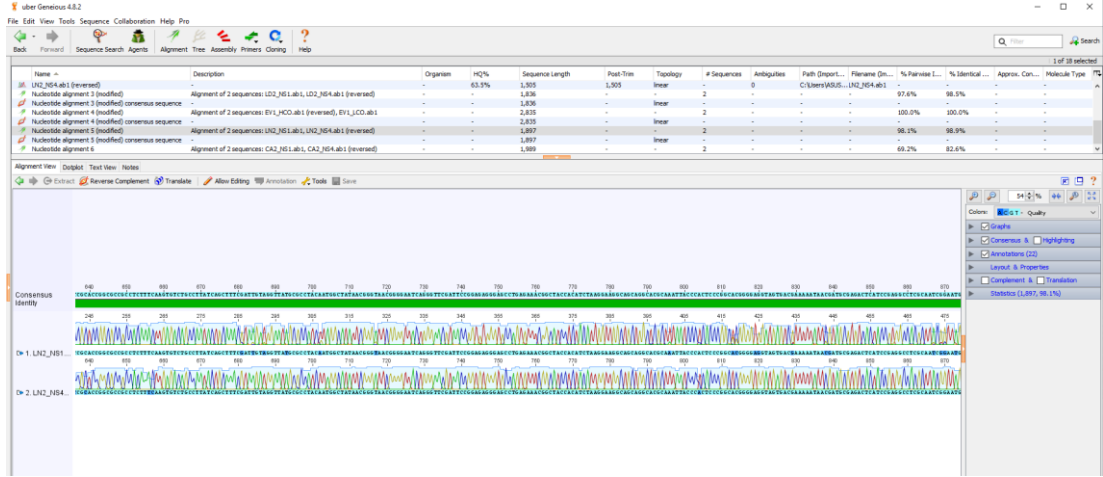
3.8 Veri Analizi

3.8.1 Sekans Verilerinin Analizi

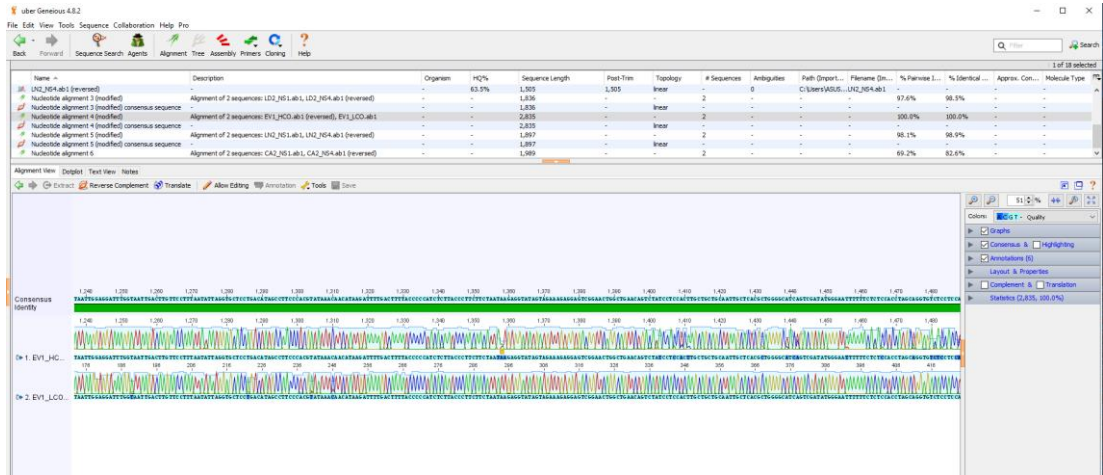
Şirket tarafından kromatogram olarak gönderilen sekans sonuçları, her iki iplikçikte yanlış okumayı önlemek için gözle kontrol edildi. Kontrol edilen sekanslar, BioEdit (Hall, 1999) ve Geneious programları kullanılarak 18S rDNA gen bölgesi ve mtDNA COI gen bölgesi için elde edilen ham diziler ayrı ayrı değerlendirilmiştir. Her bir birey için Forward ve Reverse okuma kromatogramları karşılıklı açılmış ve en doğru okumalar karşılaştırmalı olarak doğrulanmıştır. Doğrulama sonucunda her bir birey için consensus verisi elde edilmiş ve çalışmalar bu consensus dizilimleri üzerinden yürütülmüştür (Şekil 3.15-3.17). 18S rDNA gen bölgesi için 1061 bç, mtDNA COI gen bölgesi için ise 700 bç'lik diziler elde edilmiştir.



Şekil 3.15 Geneious programıyla *Liocarcinus depurator* türü için 18S rDNA gen bölgesi sekans analizi sonucunun ileri ve geri yönlü primer ile eşleştirilmesi ve kontrol edilen nükleotid dizisi



Şekil 3.16 Geneious programıyla *Liocarcinus navigator* türü için 18S rDNA gen bölgesi sekans analizi sonucunun ileri ve geri yönlü primer ile eşleştirilmesi ve kontrol edilen nükleotid dizisi



Şekil 3.17 Geneious programıyla *Eriphia verrucosa* türü için mtDNA COI gen bölgesi sekans analizi sonucunun ileri ve geri yönlü primer ile eşleştirilmesi ve kontrol edilen nükleotid dizisi

3.8.2 Çoklu Sekans Hizalaması (Alignment)

Moleküler biyolojide yaygın olarak kullanılan çoklu hizalamalar; protein ailelerini karakterize eden sekans motiflerini bulmak, bilinen veya bilinmeyen sekans aileleri arasındaki benzerlikleri (homoloji) ortaya çıkarmak, ikincil veya üçüncül yapıların ön tahminlerini desteklemek, gerekirse PZR primerlerinin dizaynını desteklemek ve oluşturulacak filogenetik analizlere yardımcı olmak için kullanılmıştır. Elde edilen diziler NCBI (National Center for Biotechnology Information) veri tabanında bulunan BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) seçeneği kullanılarak

Genbank'ra depolanmış benzer diziler taramak için kullanılmıştır. Ayrıca, filogenetik analizler için veri seti oluşturulması amacıyla, bir türün iki bireyine ait 18S rDNA (Çizelge 3.9) ve bir türe ait mtDNA COI (Çizelge 3.10) gen bölgelerinin farklı lokalitelerden gen dizileri NCBI veri tabanından bulunarak indirilmiştir. NCBI'den alınan örneklerin seçiminde, özellikle incelenecek türlerin dağılım gösterdiği bölgelerde çalışılan türler ile birlikte bu türlere yakın diğer türler göz önüne alınmıştır. Dış grup seçerken ise türün çalışılan taksa ile ilişkili olmasına ve bu taksa sınıflanmaya başlamadan daha önceki zamanda ortak bir ataya sahip olmasına dikkat edilmiş ve sonuçta *Diogenes pugilator* (GenBank erişim numarası: KJ193739.1) türü dış grup olarak belirlenmiştir. Veri setindeki homolog bazların hizalanması için Clustal X (Thompson ve ark., 1997) programı kullanılmıştır. Program tarafından hizalamaları yapılan veri setleri BioEdit (Hall, 1999) programı kullanılarak tekrar kontrol edilmiş, gerek görülen bölgeler düzeltilmiş ve indel bölgeleri içeren kolonlar uzaklaştırılmıştır. 18S rDNA (Şekil 3.18) ve mtDNA COI (Şekil 3.19) gen bölgeleri için hizalanmış sekanslar, BioEdit programıyla FASTA formatında kaydedilmiştir. Elde edilen dizilerin %A-T analizi, korunmuş bölgelerin analizi, değişken bölgelerin analizi ve transisyon/transversiyon oranı (R), MEGA 6.0 (Tamura ve ark., 2013) yazılımı yardımı ile gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 3.10 18S rDNA gen bölgesi için NCBI GenBank'tan karşılaştırma için alınan türler, GenBank erişim numaraları ve lokaliteleri

Genbank Erişim No	Türü	Lokalite
DQ079763	<i>Pachygrapsus marmoratus</i>	Kayıt Yok
KJ193762	<i>Liocarcinus navigator</i>	Kuzey Denizi - Almanya Körfezi
FJ174919	<i>Liocarcinus depurator</i>	Kayıt Yok
HM638001	<i>Eriphia verrucosa</i>	İspanya
FM161989	<i>Xantho poressa</i>	Kayıt Yok
KJ193739	<i>Diogenes pugilator</i>	Kayıt Yok
KF453156	<i>Macropodia parva</i>	Kayıt Yok

Çizelge 3.11 mtDNA COI gen bölgesi için NCBI GenBank'tan karşılaştırma için alınan türler, GenBank erişim numaraları ve lokaliteleri

GenBank Erişim No	Türü	Lokalite
MG798903	<i>Carcinus aestuarii</i>	Doğu Akdeniz
KX549331	<i>Pachygrapsus marmoratus</i>	Tunus
NC039109	<i>Pachygrapsus marmoratus</i>	İspanya
MG935346	<i>Liocarcinus navigator</i>	İsveç
DQ480363	<i>Liocarcinus depurator</i>	Kuzey Denizi - İskoçya
JQ306072	<i>Eriphia verrucosa</i>	Portekiz
AM076809	<i>Xantho poressa</i>	Batı Akdeniz
KT209297	<i>Diogenes pugilator</i>	Kuzey Denizi - Almanya Körfezi
MG935039	<i>Pilumnus hirtellus</i>	İsveç
MG935361	<i>Pisidia longicornis</i>	İsveç
MG935332	<i>Macropodia rostrate</i>	İsveç
KF452901	<i>Macropodia parva</i>	Kayıt Yok
JN671592	<i>Clibanarius erythropus</i>	İspanya



Şekil 3.18 BioEdit programı kullanılarak 18S rDNA gen bölgesi çoklu sekans hizalaması



Şekil 3.19 Bioedit programı kullanılarak mtDNA COI gen bölgesi çoklu sekans hizalaması

3.8.3 Filogenetik Analizler

Filogenetik analizler için mesafe, maksimum parsimony, maksimum likelihood analizleri kullanılarak türler arasındaki filogenetik ilişkiler tahmin edilmeye çalışılmış ve evrimsel ağaçlar elde edilmiştir. DNA dizilerinin analizinde, özellikle filogenetik ağaçların oluşturulmasında ve evrimsel parametrelerin tahmininde baz değişim modelleri sıkça kullanılmaktadır. Çalışılan 18S rDNA ve mtDNA COI gen bölgelerine ait veri setleri en iyi baz değişim modelinin belirlenmesi için öncelikle DnaSP programıyla açılıp PHYLIP formatına dönüştürülmüştür. Gen bölgelerine ait PHYLIP formatındaki veri setleri daha sonra jModelTest s. 0.1 (Guindon ve Gascuel 2003; Posada 2008) paket programına aktararak, programda bulunan Akaike bilgi kriteri (AIC, Akaike 1974) ve Bayesian bilgi kriteri (BIC) baz değişim model testleri ile veri matrislerine en iyi uyan baz değişim modeli saptanmıştır.

Belirlenen uygun baz değişim modelleri PHYML v.3.0 (Guindon ve Gascuel, 2003) programında PHYLIP formatında açılan veri seti kullanılarak AIC (Akaike, 1974) ML ağacı oluşturulmuştur. ML ağacındaki ana soy hatlarının istatistiksel olarak destek oranlarını belirlemek için 10.000 tekrarlı bootstrap analizi yapılmıştır. Elde edilen ağaç dosyaları TreeView programında açılarak bootstrap değerleri ağaç üzerinde % olarak gösterilmiştir. Maksimum-Likelihood analizinde en yüksek Bootstrap değerlerini veren evrimsel model ile oluşturulan ağaçlar kullanılmıştır.

Baz değişim modellerin belirlenmesinden sonra indel (insersiyon ve delesyon) bölgeleri çıkarılmış veri matrisi DnaSP programıyla açılıp NEXUS formatında tekrar kaydedilmiş ve PAUP versiyon 4.0b10 (Swofford, 2003) programına aktararak belirlenen baz değişim modellerine göre mesafe temelli analizi gerçekleştirilmiştir. Elde edilen her iki model ayrı ayrı kullanılarak NJ ağaçları oluşturulmuş ve aynı modellerle ağaçtaki soy hatlarının istatistiksel olarak ne kadar desteklendiğini göstermek amacıyla 10.000 tekrarlı bootstrap analizi yapılmıştır. Neighbor-Joining analizinde en yüksek Bootstrap değerlerini veren evrimsel model ile oluşturulan ağaçlar kullanılmıştır.

BioEdit (Hall, 1999) programı kullanılarak indel bölgeleri çıkarılarak oluşturulan ve NEXUS formatına dönüştürülen DNA veri matrisi PAUP versiyon 4.0b10 (Swofford, 2003) programına aktarılmıştır. Parsimoni analizi Heuristic

araştırma metodu (TBR swapping algorithm ve 1.000 rastgele replikasyon) kullanılarak yapılmıştır. Parsimoni analizi ile oluşturulan parsimonik ağağlar Kishino-Hesegawa Test kullanımı ile karşılaştırılmıştır (Kishino-Hesegawa, 1989). Kaydedilen ağağlar için, ağağ uzunlukları, consistency indeksleri (CI) ve retention indeksleri (RI) değerleri ile birlikte fazla sayıda ağağ elde edilmiştir. Elde edilen Parsimonik ağağların tümünü özetleyen %50 Majority Rule ve Stric Consensus ağağları oluşturulmuştur. MP (Maksimum Parsimoni) analizinde oluşturulan ağacının istatistiksel olarak destek miktarını görmek için bootstrap analizi 100 rastgele tekrar ve 10.000 replikasyon kullanılarak yapılmıştır. Elde edilen bootstrap değerleri strict konsensus ağacı üzerinde gösterilmiştir. Bu analizlerde, GenBank veri tabanındaki yakın ilgili 18S rDNA ve mtDNA COI gen blgeleri için sırasıyla Diogenidae üyesi *Diogenes pugilator* ve *Clibanarius erythropus* türleri dış grup olarak kullanılmıştır. Türler için çalışılan gen bölgelerine ait sekans verileri, Sequin (Sequin Application Version 15.50) programı yardımıyla GenBank veri tabanına girilmiştir.

4. BULGULAR

4.1 18S rDNA

4.1.1 Dizi Özellikleri

Nükleer 18S rDNA veri seti, bu çalışma da dizilenen Portunidae familyasının *L. navigator* ve *L. depurator* türlerine ait 2 örnek ile birlikte farklı araştırmacılar tarafından çalışılmış ve Gen Bankasına yüklenmiş çalışılan iki tür ve farklı yengeç türlerine ait toplam 9 örnekten oluşmuştur (Çizelge 4.1). Her bir örnek için belirlenen ortalama nükleotid oranları ve her bir kodon için miktarı Çizelge 4.1’de verilmiştir. Çalışılan türler için ortalama nükleotit dağılım frekansları yüzde değeri T-C-A-G sırasıyla 23.79, 25.30, 25.02 ve 25.89 olarak bulunmuştur. Tüm türler için ortalama A+T oranı ise % 48.81 olarak hesaplanmıştır. Mukayese edilen 18S rDNA geni kısmi dizisi (718 bç)’nin 649 (%90.4) pozisyonunun korunmuş ve 10 (%14.5)’u polimorfik bilgi verici olan 69 (%9.6) nükleotid pozisyonunda değişken olduğu belirlenmiştir. Çalışılan türler için nükleotit çeşitlilik değeri (Pi) 0.02472 ve haplotip çeşitlilik değeri (Hd) 1 olarak hesaplanmıştır. 18S rDNA geni için *Liocarcinus navigator* (H1) dizisi referans alınmak suretiyle tanımlanan toplam 69 değişken nükleotid pozisyonu (Çizelge 4.2) için transisyonlar transversiyonlardan daha yaygın olmakla birlikte transisyon/transversiyon oranı 1.43 olarak gerçekleşmiştir. 18S rDNA geninin dizin analizi farklı yengeç türlerine ait 9 farklı örnek toplamda 9 haplotip ortaya çıkarmıştır. Örneklerin hepsi ayrı haplotipler ile temsil edildiği belirlenmiştir.

Çizelge 4.1 Çalışılan yengeç türleri ile GenBank'tan alınan örneklerin 18S rDNA geni nükleotid frekansları

	T(U)	C	A	G	Toplam	T-1	C-1	A-1	G-1	Pos #1	T-2	C-2	A-2	G-2	Pos #2	T-3	C-3	A-3	G-3	Pos #3
<i>Liocarcinus navigator (1)</i>	23.54	25.77	24.65	26.04	718.00	23.75	29.58	22.92	23.75	240.00	24.69	23.85	25.94	25.52	239.00	22.18	23.85	25.10	28.87	239
<i>Liocarcinus depurator (1)</i>	23.40	25.77	24.79	26.04	718.00	23.33	30.00	22.92	23.75	240.00	24.27	23.85	26.36	25.52	239.00	22.59	23.43	25.10	28.87	239
<i>Liocarcinus navigator (2)</i>	23.54	25.63	24.79	26.04	718.00	23.75	29.17	23.33	23.75	240.00	24.69	23.85	25.94	25.52	239.00	22.18	23.85	25.10	28.87	239
<i>Liocarcinus depurator (2)</i>	23.54	25.63	24.79	26.04	718.00	23.33	29.58	23.33	23.75	240.00	24.69	23.85	25.94	25.52	239.00	22.59	23.43	25.10	28.87	239
<i>Pachygrapsus marmoratus</i>	23.82	25.49	24.93	25.77	718.00	24.17	28.75	23.33	23.75	240.00	24.69	23.85	25.94	25.52	239.00	22.59	23.85	25.52	28.03	239
<i>Eriphia verrucosa</i>	23.54	25.63	25.07	25.77	718.00	23.75	29.17	23.75	23.33	240.00	24.69	23.85	25.94	25.52	239.00	22.18	23.85	25.52	28.45	239
<i>Xantho porresa</i>	24.09	25.35	25.35	25.21	718.00	24.17	29.17	23.33	23.33	240.00	25.10	23.43	25.94	25.52	239.00	23.01	23.43	26.78	26.78	239
<i>Macropodia parva</i>	23.96	25.21	25.07	25.77	718.00	23.33	30.00	22.92	23.75	240.00	25.52	22.59	25.94	25.94	239.00	23.01	23.01	26.36	27.62	239
<i>Diogenes pugilator</i>	24.65	23.26	25.77	26.32	718.00	24.58	26.67	25.00	23.75	240.00	24.69	22.59	25.52	27.20	239.00	24.69	20.50	26.78	28.03	239
Ort.	23.79	25.30	25.02	25.89	718.00	23.80	29.12	23.43	23.66	240.00	24.78	23.52	25.94	25.76	239.00	22.78	23.25	25.71	28.27	239

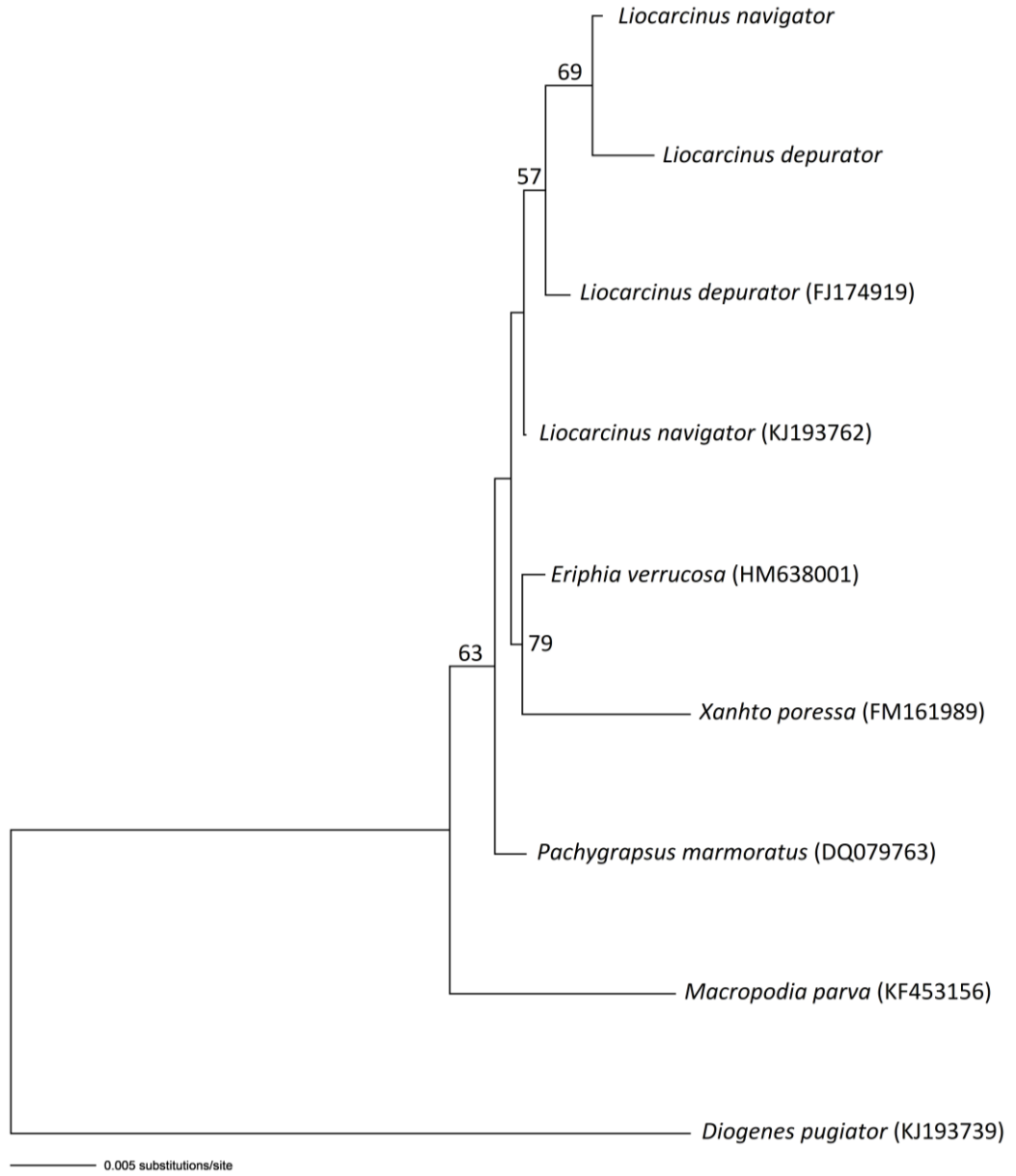
Çizelge 4.2 Yengeç türlerine ait 9 adet 18S rDNA gen bölgesi haplotiplerinin değişken pozisyonları. Noktalar, ilk örnek’deki nükleotitlerle özdeş pozisyonları temsil etmektedir.

	112244888899111111111111111111112222233344555555555666666666666667777777
	164535678904001244555566788890001537702366788999911134445678990111111
	231701267804312350165887877828605345846714688488799013467
<i>Liocarcinus navigator</i> (1)	TTGACCACCACTCAACGCCCCACTAGTCGCCCCGTACCGGTTCTGCACTGCAACTGCCGGAGCTGCGCC
<i>Liocarcinus depurator</i> (1)	A.....T.....C.....
<i>Liocarcinus navigator</i> (2)AAG.....
<i>Liocarcinus depurator</i> (2)T.....CAAG.....
<i>Pachygrapsus marmoratus</i>A.....T.AAG.....T.....
<i>Eriphia verrucosa</i>A.....A.....AAG.....
<i>Xantho porresa</i>A.....AAG...A..AT.A...TTT
<i>Macropodia parva</i>	..A...TA.....TT..A.....AT..A.G.TC.....GA.....
<i>Diogenes pugilator</i>	.A.TAA..AGACAGGTATATACTGGTGAA..TA.CCTTA.ACTATTTT.AAGC...AT..G.TGAT...

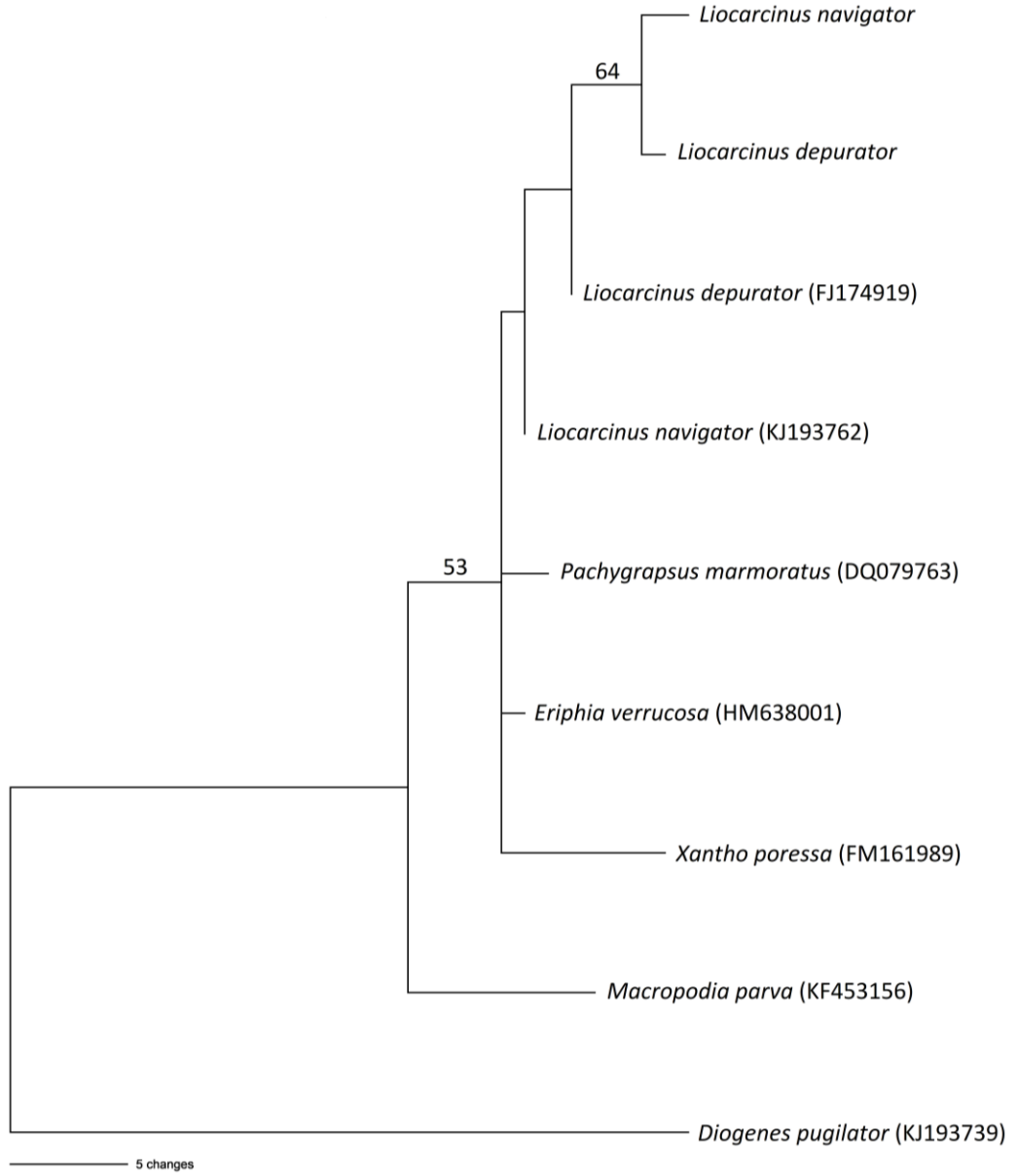
4.1.2 Filogenetik İlişkiler

Portunidae familyasının Türkiye kıyı sularında dağılım gösteren 2 türünün 18S rDNA bölgesi haplotiplerinin tüm filogenetik analizleri için dış grup olarak *Diogenes pugilator* seçilmiştir. DNA veri seti jModelTest s. 0.1 adlı programa tabi tutulmuştur ve veri setine en iyi uyan baz değişim modeli saptanmıştır. jModelTest programının Akaike bilgi kriteri (AIC) ve Bayesian bilgi kriteri (BIC) baz değişim model testlerinin her iki veri matrislerine en iyi uyan baz değişim modelleri sırasıyla, gama doğrulama değeri (G) 0.1800 olan TVMef+G ve gama doğrulama değeri (G) 0.1430 olan TPM1+G baz değişim modellerini önermiştir. Bu modelin saptanmasından sonra veri matrisi PAUP versiyon 4.0b10 programına aktarılarak belirlenen baz değişim modeline göre genetik mesafe (distance) analizi yapılmış ve model kullanılarak NJ ağacı oluşturulmuştur. Ağaçtaki düğümlerin istatistiksel olarak desteklenme oranını göstermek amacıyla 10.000 replikasyon analizi ile bootstrap (Felsenstein, 1985) analizi yapılmış ve %50 ve üzeri değerler ağaç üzerinde gösterilmiştir (Şekil 4.1). Çalışma da yüksek bootstrap değeri veren TVMef+G baz değişim modeli dikkate alınmıştır. Maksimum Parsimoni (MP) Analizi (Tutumluluk Analizi) için DNA veri matrisi PAUP* versiyon 4.0b10 (Swofford, 2003) programına aktarılmış ve parsimoni analizi yapılmıştır. Parsimoni olarak bilgi içeren 618 karakterin (indelsiz) kullanımı ile yürütülen parsimoni analizi sonucunda ağaç uzunlukları 77, Consistency index (CI) değeri: 0.922, Retention index (RI) değeri: 0.571, Rescaled consistency index (RC) değeri: 0.527 ve Homoplasy index (HI) değeri: 0.078 olan eşit olasılıkta 1 parsimoni ağacı üretilmiştir (Şekil 4.2). Maksimum Likelihood (ML) analizi için Heuristic araştırma algoritması ve gama doğrulama değeri (G) 0.1800 olan TVMef+G baz değişim modeli kullanılarak maksimum likelihood ağacı elde edilmiştir. 10.000 tekrarlı bootstrap analizi yapıp %50 ve üzeri değerler ağaç üzerinde gösterilmiştir (Şekil 4.3). NJ, MP ve ML analizleri sonucu ortaya çıkan ağaç topolojileri hemen hemen birbirinin aynısıdır ve yüksek seç-bağla değerleri (NJ:65-100, MP:58-100, ML:58-100) ile hem türlerin familya içerisindeki pozisyonlarını hem de alt ve üst familya düzeyindeki gruplanmayı desteklemektedir. Bütün filogenetik ağaçlarda monofiletik Portunidae iki ana grup ortaya çıkarmıştır. Birinci grup *Liocarcinus*, *Xantho*, *Eriphia*, *Pachygrapsus* genusuna ait türleri içermektedir. İkinci grup ise *Macropodia* genusuna ait türü kapsamaktadır.

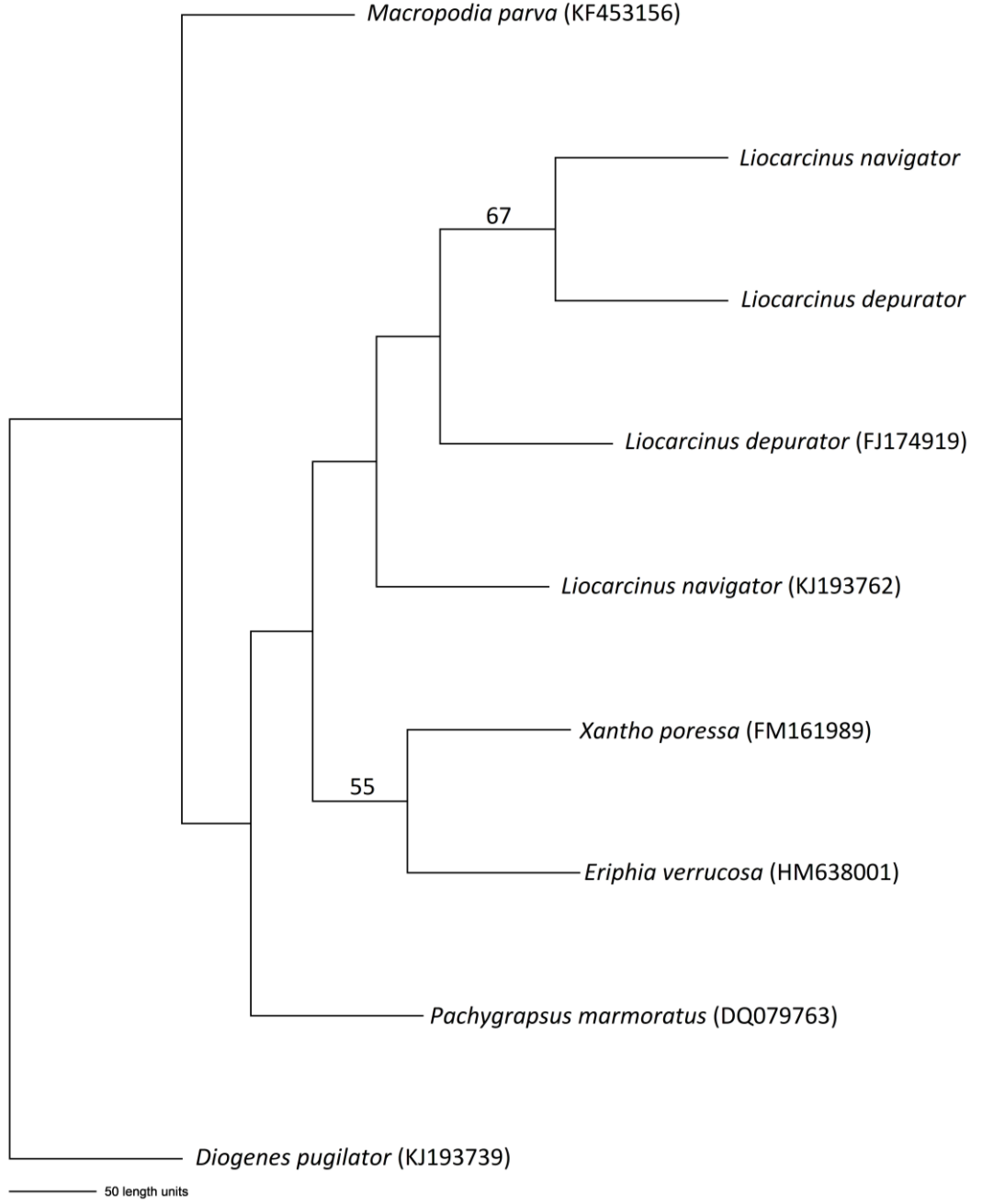
Türler arası genetik mesafe Kimura 2 parametresine göre MEGA X programı kullanılarak hesaplanmıştır. Elde edilen değerlere baktığımızda en düşük genetik uzaklık *Liocarcinus navigator* (1) - *Liocarcinus depurator* (1) arasında görülürken (0.004), en yüksek genetik uzaklık değeri ise *Diogenes pugilator* - *Xantho porresa* arasında hesaplanmıştır (0.083) (Çizelge 4.3).



Şekil 4.1 18S rDNA Komşu Katılım Metodu Topolojisi. (Portunidae familyasının *L. navigator* ve *L. depurator* türlerine ait bireylerin nükleer 18S rDNA dizilerinden belirlenen toplamda 7 farklı tür ile birlikte komşu katılım (NJ) metodu yardımıyla oluşturulan filogenetik ağaç topolojisi. *Diogenes pugilator* dış grup olarak kullanılmıştır. 100 tekrara dayalı seç-bağla değerleri %50'den yüksek olanlar verilmiştir.)



Şekil 4.2 18S rDNA Maksimum Tutumluluk Metodu Topolojisi. (Portunidae familyasının *L. navigator* ve *L. depurator* türlerine ait bireylerin nükleer 18S rDNA dizilerinden belirlenen toplamda 7 farklı tür ile birlikte maksimum tutumluluk (MP) metodu yardımıyla oluşturulan filogenetik ağaç topolojisi. *Diogenes pugilator* dış grup olarak kullanılmıştır. 100 tekrara dayalı seç-bağla değerleri %50'den yüksek olanlar verilmiştir.)



Şekil 4.3 18S rDNA Maksimum Olasılık Metodu Topolojisi. (Portunidae familyasının *L. navigator* ve *L. depurator* türlerine ait bireylerin nükleer 18S rDNA dizilerinden belirlenen toplamda 7 farklı tür ile birlikte maksimum olasılık (ML) metodu yardımıyla oluşturulan filogenetik ağaç topolojisi. *Diogenes pugilator* dış grup olarak kullanılmıştır. 10.000 tekrara dayalı seç-bağla değerleri %50'den yüksek olanlar verilmiştir.)

Çizelge 4.3 18S rDNA dizi çiftleri arasında Kimura 2 parametrelili modeli kullanarak hesaplanan genetik mesafe değerleri (alt sol diyagonal: genetik mesafe, üst sağ diyagonal: Standart hata)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1 <i>Liocarcinus navigator</i> (1)		0.002	0.002	0.003	0.003	0.003	0.005	0.005	0.011
2 <i>Liocarcinus depurator</i> (1)	0.004		0.003	0.003	0.004	0.004	0.005	0.006	0.011
3 <i>Liocarcinus navigator</i> (2)	0.004	0.008		0.002	0.002	0.002	0.004	0.005	0.010
4 <i>Liocarcinus depurator</i> (2)	0.007	0.006	0.003		0.003	0.003	0.005	0.005	0.010
5 <i>Pachygrapsus marmoratus</i>	0.008	0.013	0.004	0.007		0.002	0.004	0.005	0.010
6 <i>Eriphia verrucosa</i>	0.007	0.011	0.003	0.006	0.004		0.004	0.005	0.011
7 <i>Xantho porresa</i>	0.016	0.020	0.011	0.014	0.013	0.011		0.006	0.011
8 <i>Macropodia parva</i>	0.020	0.024	0.018	0.021	0.018	0.018	0.027		0.011
9 <i>Diogenes pugilator</i>	0.075	0.076	0.070	0.070	0.070	0.073	0.083	0.079	

4.2 Sitokrom Oksidaz Alt Ünite I (COI)

4.2.1 Dizi Özellikleri

Eriphiidae familyasının türlerine ait bireyin mitokondriyal DNA COI geninin kısmi baz dizilimi çalışılmış olup indel bölgeler çıkarıldıktan sonra 456 bç'lik kısmı üzerinde değerlendirmeler yapılmıştır. mtDNA COI gen bölgesi için oluşturulan veri seti, bu çalışma da dizilenen Eriphiidae familyasının *Eriphia verrucosa* türüne ait 1 örnek ile birlikte farklı araştırmacılar tarafından çalışılmış ve sekansları Gen Bankasına yüklenmiş farklı yengeç türlerine ait toplam 13 örnekten oluşmuştur. Substitution şekil ve oranları Tamura-Nei modeli altında tahmin edilmiş ve Çizelge 4.4'te sunulmuştur. Ayrıca, her bir örnek için belirlenen ortalama nükleotid oranları ve her bir kodon için miktarı Çizelge 4.5'de verilmiştir. Çalışılan türler için ortalama nükleotit dağılım frekansları yüzde değeri T-C-A-G sırasıyla 37.24, 19.21, 25.99 ve 17.56 olarak bulunmuştur. Tüm türler için ortalama A+T oranı ise % 63.23 olarak hesaplanmıştır. Mukayese edilen mtDNA COI geni kısmi dizisi (456 bç)'nin 44 (%9.6) pozisyonunun korunmuş ve 312 (%75.7)'si parsimonik bilgi verici olan 412 (%90.4) nükleotid pozisyonunda değişken olduğu belirlenmiştir. Çalışılan türler için nükleotit çeşitlilik değeri (Pi) 0.3546 ve Haplotip çeşitlilik değeri (Hd) 1 olarak hesaplanmıştır. COI geni için *E. verrucosa* (H1) dizisi referans alınmak suretiyle tanımlanan toplam 412

değişken nükleotit pozisyonu (Çizelge 4.2) için transisyonlar transversiyonlardan daha yaygın olmakla birlikte transisyon/transversiyon oranı 1.25 olarak gerçekleşmiştir. COI geninin dizin analizi farklı yengeç türlerine ait 14 farklı örneğin hepsi ayrı haplotip ile temsil edilmiş ve toplamda 14 haplotip belirlenmiştir.

Çizelge 4.4 Tamura-Nei modeli altında substitution şekil ve oranları (Farklı transisyonel substitution oranları bold harflerle ve transversiyonel substitution oranları italik olarak gösterilmiştir)

	A	T/U	C	G
A	-	7.8269	4.0369	8.1967
T/U	5.4627	-	12.8068	3.6912
C	5.4627	24.8302	-	3.6912
G	12.1306	7.8269	4.0369	-

Çizelge 4.5 Çalışılan yengeç türleri ile GenBank'tan alınan örneklerin mtDNA COI geni nükleotid frekansları

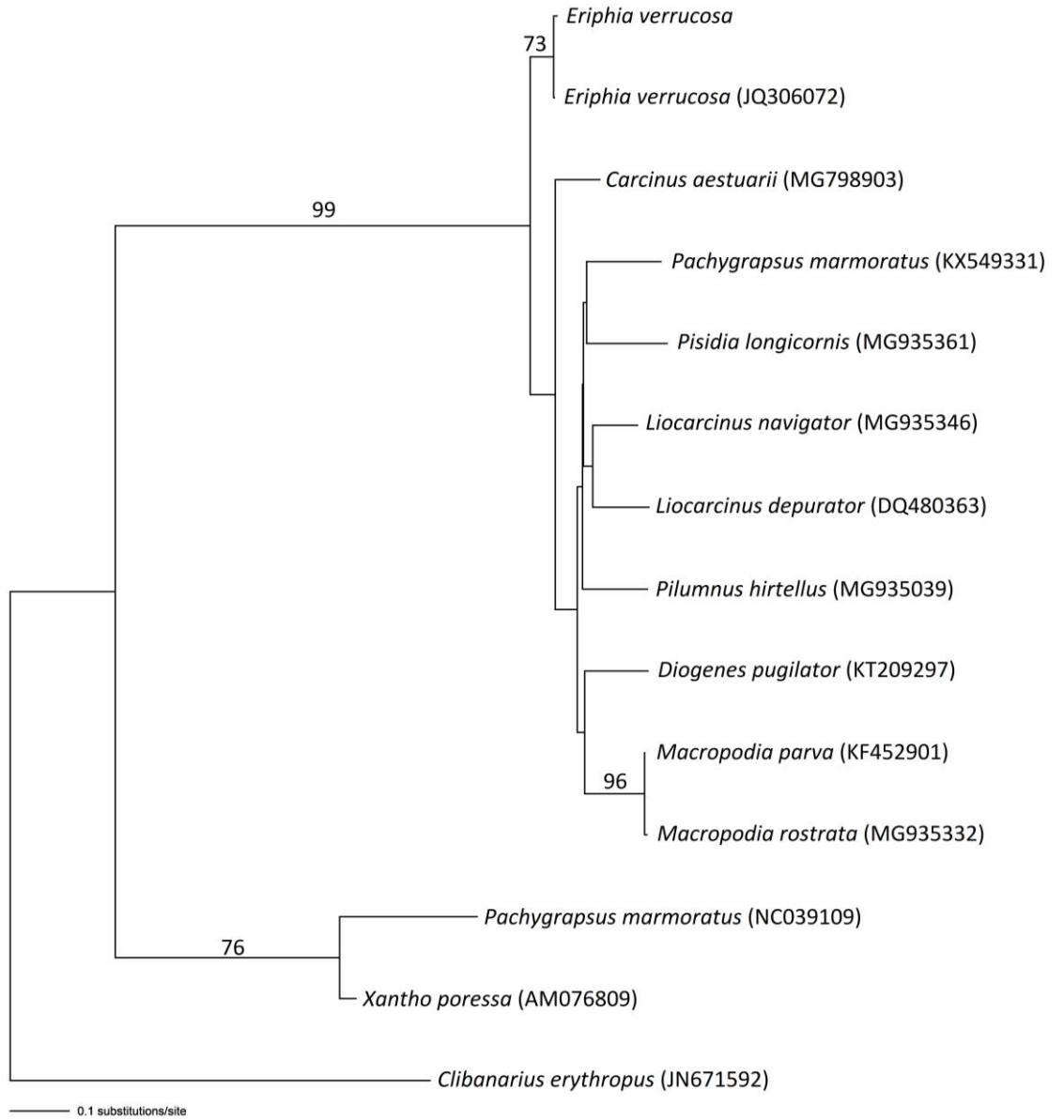
	T(U)	C	A	G	Toplam	T-1	C-1	A-1	G-1	Pos #1	T-2	C-2	A-2	G-2	Pos #2	T-3	C-3	A-3	G-3	Pos #3
Everrucosa(1)	35.96	21.05	26.32	16.67	456.00	36.84	23.68	27.63	11.84	152.00	32.89	20.39	30.92	15.79	152.00	38.16	19.08	20.39	22.37	152.00
Everrucosa(2)	36.18	20.83	26.32	16.67	456.00	37.50	23.03	27.63	11.84	152.00	32.89	20.39	30.92	15.79	152.00	38.16	19.08	20.39	22.37	152.00
Caestuarii	37.72	17.98	25.66	18.64	456.00	36.84	21.71	26.32	15.13	152.00	34.87	17.11	30.26	17.76	152.00	41.45	15.13	20.39	23.03	152.00
Lnavigator	39.91	19.52	21.71	18.86	456.00	36.84	23.68	23.03	16.45	152.00	38.82	18.42	26.32	16.45	152.00	44.08	16.45	15.79	23.68	152.00
Ldepurator	38.16	21.71	22.15	17.98	456.00	36.18	25.66	22.37	15.79	152.00	38.16	19.74	26.32	15.79	152.00	40.13	19.74	17.76	22.37	152.00
Dpugilatır	39.47	16.45	25.88	18.20	456.00	38.16	21.05	26.32	14.47	152.00	35.53	14.47	32.24	17.76	152.00	44.74	13.82	19.08	22.37	152.00
Phirtellus	37.72	18.64	25.88	17.76	456.00	32.89	25.66	28.29	13.16	152.00	35.53	17.11	29.61	17.76	152.00	44.74	13.16	19.74	22.37	152.00
Plongicorn	39.04	19.08	23.68	18.20	456.00	37.50	22.37	23.68	16.45	152.00	41.45	16.45	27.63	14.47	152.00	38.16	18.42	19.74	23.68	152.00
Mparva	38.16	16.67	30.26	14.91	456.00	34.87	19.74	31.58	13.82	152.00	37.50	15.79	34.21	12.50	152.00	42.11	14.47	25.00	18.42	152.00
Mrostrata	37.94	16.89	30.04	15.13	456.00	34.87	19.74	31.58	13.82	152.00	36.84	16.45	34.21	12.50	152.00	42.11	14.47	24.34	19.08	152.00
Pmarmorat1	36.62	21.93	23.90	17.54	456.00	38.82	24.34	21.71	15.13	152.00	32.24	23.03	29.61	15.13	152.00	38.82	18.42	20.39	22.37	152.00
Pmarmorat2	40.79	19.08	23.90	16.23	456.00	45.39	23.68	20.39	10.53	152.00	37.50	17.11	24.34	21.05	152.00	39.47	16.45	26.97	17.11	152.00
Xporessa	36.40	20.83	24.12	18.64	456.00	42.76	22.37	21.71	13.16	152.00	34.87	17.11	23.03	25.00	152.00	31.58	23.03	27.63	17.76	152.00
Cerythropros	27.25	18.24	34.07	20.44	455.00	26.97	15.79	38.16	19.08	152.00	26.97	21.05	32.24	19.74	152.00	27.81	17.88	31.79	22.52	151.00
Ort.	37.24	19.21	25.99	17.56	455.93	36.89	22.32	26.46	14.33	152.00	35.43	18.19	29.42	16.96	152.00	39.40	17.11	22.10	21.39	151.93

4.2.2 Filogenetik İlişkiler

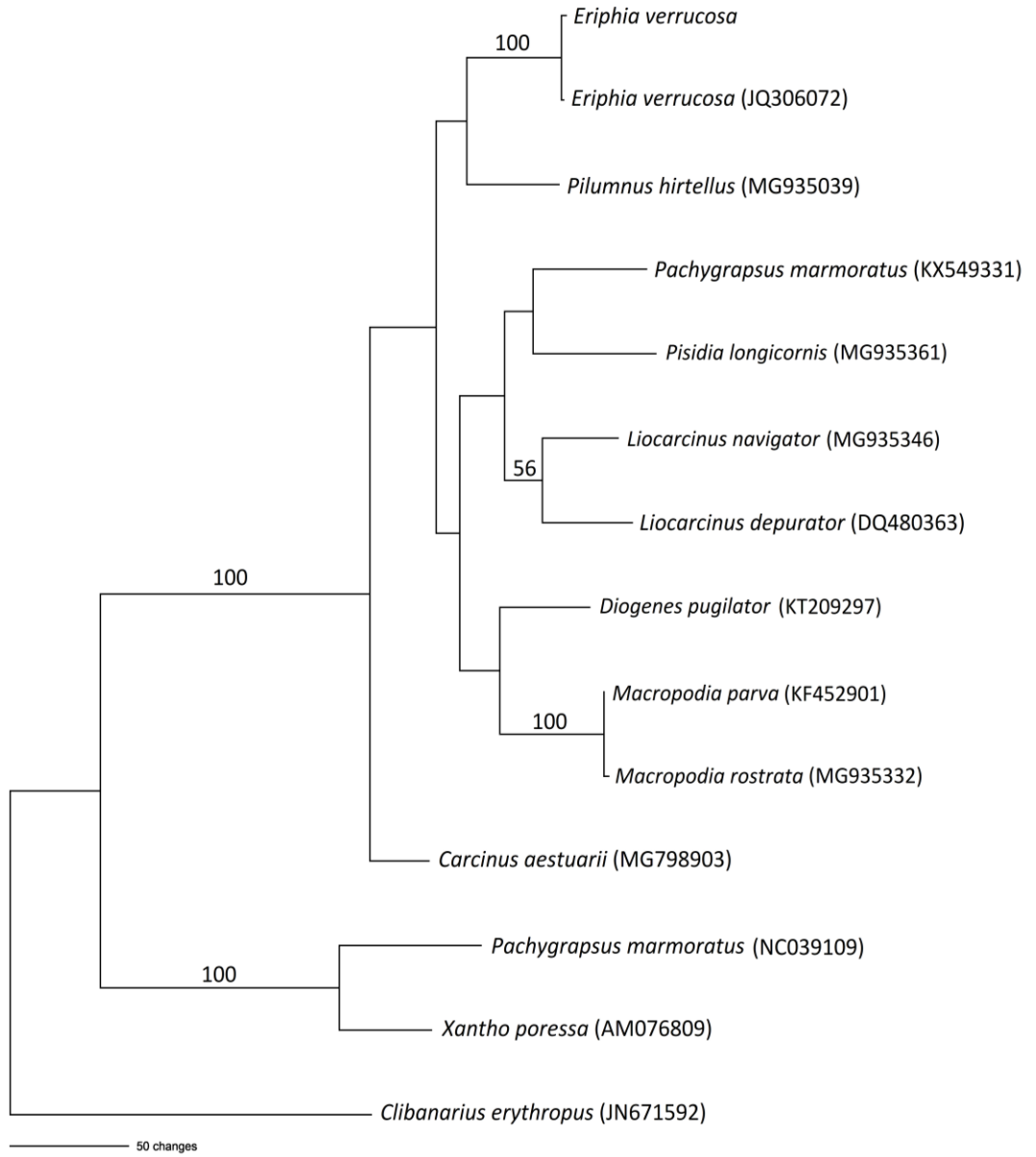
Eriphiidae familyasının Türkiye kıyı sularında dağılım gösteren *Eriphia verrucosa* türünün mtDNA COI gen bölgesinin tüm filogenetik analizleri için dış grup olarak *Clibanarius erythropus* seçilmiştir. DNA veri seti jModelTest s. 0.1 programında açılmış ve veri setine en iyi uyan baz değişim modeli saptanmıştır. jModelTest programının Akaike bilgi kriteri (AIC) ve Bayesian bilgi kriteri (BIC) baz değişim model testlerinin her ikisi için veri matrislerine en iyi uyan baz değişim modeli, gama doğrulama değeri (G) 0.4380 olan GTR+G baz değişim modelini önermiştir. Bu modelin saptanmasından sonra veri matrisi PAUP versiyon 4.0b10 programına aktarılarak belirlenen baz değişim modeline göre genetik mesafe (distance) analizi yapılmış ve model kullanılarak NJ ağacı oluşturulmuştur. Ağaçtaki topolojilerin desteklenme oranını göstermek amacıyla 10.000 replikasyon analizi ile bootstrap analizi yapılmıştır ve %50 ve üzeri değerler ağaç üzerinde gösterilmiştir (Şekil 4.4). Maksimum Parsimoni (MP) Analizi (Tutumluluk Analizi) için DNA veri matrisi PAUP versiyon 4.0b10 programına aktarılmış ve parsimoni analizi yapılmıştır. Parsimoni olarak bilgi içeren 456 karakterin (indelsiz) kullanımı ile yürütülen parsimoni analizi sonucunda ağaç uzunlukları 981, Consistency index (CI) değeri: 0.6755, Retention index (RI) değeri: 0.6030, Rescaled consistency index (RC) değeri: 0.4073 ve Homoplasy index (HI) değeri: 0.3245 olan eşit olasılıkta 1 parsimoni ağacı üretilmiştir (Şekil 4.5). Maksimum Likelihood (ML) analizi için Heuristic araştırma algoritması ve gama doğrulama değeri (G) 0.4380 olan GTR+G baz değişim modeli kullanılarak maksimum likelihood ağacı elde edilmiştir. 10.000 tekrarlı bootstrap analizi yapılmış ve %50 ve üzerindeki değerler ağaç üzerlerinde gösterilmiştir (Şekil 4.6). NJ, MP ve ML analizleri sonucu ortaya çıkan ağaç topolojileri hemen hemen birbirinin aynısıdır ve yüksek seç-bağla değerleri (NJ:65-100, MP:58-100, ML:58-100) ile hem türlerin familya içerisindeki pozisyonlarını hem de alt ve üst familya düzeyindeki gruplanmayı desteklemektedir. Bütün filogenetik ağaçlarda monofiletik Eriphiidae iki ana grup ortaya çıkarmıştır. Birinci grup *Liocarcinus*, *Pachygrapsus*, *Carcinus*, *Eriphia*, *Pilumnus*, *Pisidia*, *Macropodia* ve *Diogenes* genusuna ait türleri içermektedir. İkinci grup ise *Xantho* ve *Pachygrapsus* genusuna ait türlerini kapsamaktadır.

Türler arası genetik mesafe Kimura 2 parametresine göre MEGA X programı kullanılarak hesaplanmıştır. Elde edilen değerlere baktığımızda en düşük genetik

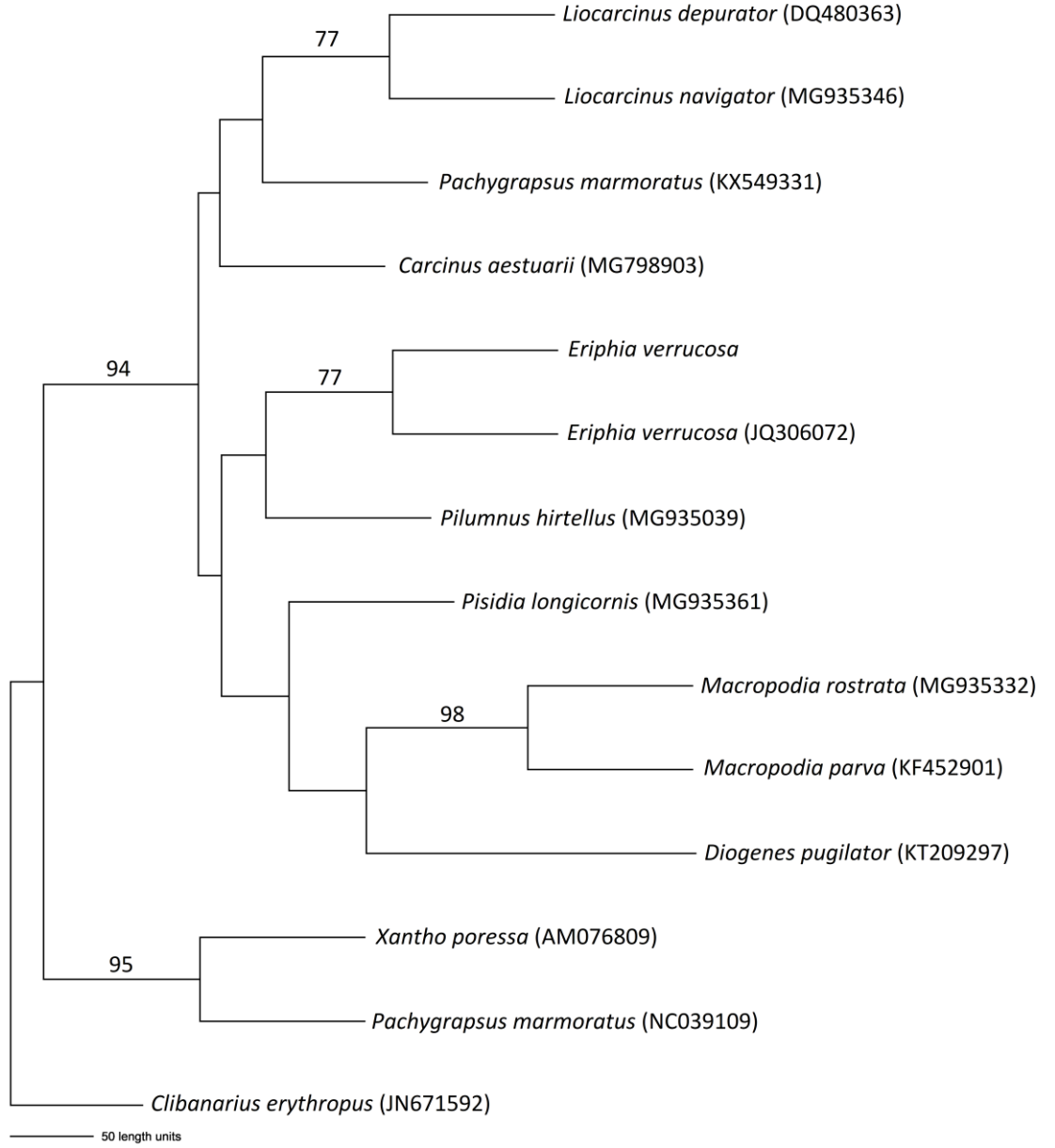
uzaklık *Macropodia parva* - *Macropodia rostrate* arasında görülürken (0.004), en yüksek genetik uzaklık ise *Liocarcinus depurator* - *Clibanarius erythropus* arasında hesaplanmıştır (1.708) (Çizelge 4.6).



Şekil 4.4 mtDNA COI Gen Bölgesi Komşu Katılım Metodu Topolojisi. (Eriphiidae familyasına ait *Eriphia verrucosa* türünün mtDNA COI dizilerinden belirlenen toplamda 13 farklı tür ile birlikte komşu katılım (NJ) metodu yardımıyla oluşturulan filogenetik ağaç topolojisi. *Clibanarius erythropus* dış grup olarak kullanılmıştır. 100 tekrara dayalı seç-bağla değerleri %50'den yüksek olanlar verilmiştir.)



Şekil 4.5 mtDNA COI Gen Bölgesi Maksimum Tutumluluk Metodu Topolojisi. (Eriphiidae familyasına ait *Eriphia verrucosa* türünün mtDNA COI dizilerinden belirlenen toplamda 13 farklı tür ile birlikte maksimum tutumluluk (MP) metodu yardımıyla oluşturulan filogenetik ağaç topolojisi. *Clibanarius erythropus* dış grup olarak kullanılmıştır. 100 tekrara dayalı seç-bağla değerleri %50'den yüksek olanlar verilmiştir.)



Şekil 4.6 mtDNA COI Gen Bölgesi Maksimum Olasılık Metodu Topolojisi. (Eriphiidae familyasına ait *Eriphia verrucosa* türünün mtDNA COI dizilerinden belirlenen toplamda 13 farklı tür ile birlikte maksimum olasılık (ML) metodu yardımıyla oluşturulan filogenetik ağaç topolojisi. *Clibanarius erythropus* dış grup olarak kullanılmıştır. 100 tekrara dayalı seç-bağla değerleri %50'den yüksek olanlar verilmiştir.)

Çizelge 4.6 mtDNA COI dizi çiftleri arasında Kimura 2 parametrelili modeli kullanarak hesaplanan genetik mesafe değerleri (alt sol diyagonal: genetik mesafe, üst sağ diyagonal: Standart hata)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
1 <i>Eriphia verrucosa</i> (1)		0.004	0.026	0.026	0.027	0.023	0.030	0.025	0.026	0.027	0.027	0.161	0.148	0.257
2 <i>Eriphia verrucosa</i> (2)	0.007		0.026	0.026	0.027	0.023	0.031	0.026	0.026	0.027	0.027	0.161	0.139	0.240
3 <i>Carcinus aestuarii</i>	0.217	0.217		0.025	0.026	0.026	0.028	0.027	0.026	0.024	0.028	0.146	0.116	0.280
4 <i>Liocarcinus navigator</i>	0.223	0.220	0.205		0.022	0.023	0.026	0.027	0.027	0.026	0.026	0.211	0.152	0.371
5 <i>Liocarcinus depurator</i>	0.238	0.235	0.227	0.177		0.024	0.029	0.027	0.026	0.026	0.027	0.129	0.111	0.514
6 <i>Pilumnus hirtellus</i>	0.205	0.202	0.239	0.210	0.219		0.027	0.024	0.025	0.027	0.027	0.238	0.164	0.388
7 <i>Pisidia longimana</i>	0.283	0.286	0.263	0.230	0.269	0.252		0.027	0.027	0.029	0.029	0.194	0.135	0.394
8 <i>Macropodia parva</i>	0.224	0.227	0.245	0.251	0.254	0.206	0.248		0.003	0.024	0.027	0.171	0.136	0.254
9 <i>Macropodia rostrate</i>	0.230	0.233	0.245	0.251	0.248	0.212	0.248	0.004		0.024	0.028	0.158	0.127	0.291
10 <i>Diogenes pugilator</i>	0.245	0.239	0.221	0.234	0.237	0.237	0.262	0.206	0.212		0.029	0.208	0.162	0.299
11 <i>Pachygrapsus marmoratus</i> (1)	0.251	0.244	0.246	0.222	0.239	0.244	0.261	0.265	0.272	0.268		0.160	0.125	0.521
12 <i>Pachygrapsus marmoratus</i> (2)	1.266	1.266	1.229	1.355	1.138	1.415	1.366	1.320	1.288	1.377	1.269		0.027	0.187
13 <i>Xantho porresa</i>	1.218	1.189	1.123	1.231	1.084	1.247	1.184	1.183	1.155	1.250	1.164	0.259		0.148
14 <i>Clibanarius erythropus</i>	1.446	1.426	1.476	1.608	1.708	1.584	1.628	1.432	1.476	1.531	1.746	1.410	1.245	

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada Orta Karadeniz'den örneklenen *Liocarcinus navigator* (Herbst, 1794), *Liocarcinus depurator* (Linnaeus, 1758) ve *Eriphia verrucosa* (Forskål, 1775) türlerinin mtDNA COI gen bölgesi ve ribozomal DNA 18S gen bölgesinin moleküler analizi yapılmıştır. Çalışılan türlerin filogenetik ağaç topolojilerinin ve familya düzeyindeki gruplaşmaların karşılaştırılabilmesi için GenBank veri sisteminden aynı familyaya ait diğer türlerin verileri alınmıştır.

Çalışmada ribozomal DNA'nın 18S gen bölgesinden moleküler analiz yapılmış, elde edilen sonuçlar karşılaştırıldığında bazlar arasındaki değişim miktarının beklenildiği gibi düşük olduğu saptanmıştır. 718 bç'lik bölgenin 69 (%9.6) nükleotit pozisyonunda değişken olduğu saptanmıştır. Ortalama nükleotit dağılım frekansları yüzde değerleri T-C-A-G sırasıyla 23.79, 25.30, 25.02, 25.89 olarak bulunmuştur. Çalışılan türler için nükleotit çeşitlilik değeri (Pi) 0.02472 ve haplotip çeşitlilik değeri (Hd) 1 olarak hesaplanmıştır. Değişken pozisyonu (69) için transisyonlar transversiyonlardan daha yaygın olmakla birlikte transisyon/transversiyon oranı 1.43 olarak gerçekleşmiştir. 18S rDNA geninin dizin analizinde 9 farklı örnek toplamda 9 farklı haplotip ortaya çıkarmıştır. Her bir örneğin ayrı birer haplotipler ile temsil edildiği belirlenmiştir.

Türlerin haplotiplerinin değişken pozisyonlarında en çok değişimin saptandığı türün *Diogenes pugilator* olduğu ve dış grup olarak seçilmesinin doğru olduğu belirlenmiştir. Türler arası hesaplanan genetik mesafe değerlerine göre en düşük uzaklığın *Liocarcinus navigator* ve *Liocarcinus depurator* arasında 0.004 değerinde olduğu belirlenmiştir. En yüksek uzaklığın ise *Diogenes pugilator* ve *Xantho poressa* arasında 0.083 değerinde olduğu belirlenmiştir. *Macropodia parva* ve *Xantho poressa*'nın nükleotit pozisyonlarında çalışılan türlerden farklılık göstermesi filogenetik ağaç topolojisinde çalışılan türlerden uzak bölgede gruplaştığı belirlenmiş ve familyalar arası gruplaşmanın beklenildiği gibi olduğu gözlemlenmiştir. Birbirine yakın değerler gösteren *Eriphia verrucosa* ve *Xantho poressa*'nın filogenetik ağaç topolojilerinde aynı bölgede gruplaşması iki türün benzer familya düzeyinde olduğunu göstermektedir. Birbiriyle genetik mesafe olarak uzakta olduğu komşu katılım ağaç topolojisinden net bir şekilde anlaşılmıştır. Programlar aracılığıyla oluşturulan filogenetik ağaç topolojilerinde 100 tekrara dayalı seç-bağla değerlerinde %79

oranında aynı grup içerisinde kümелendiği belirlenmiştir. Çalışılan türlerin *Liocarcinus navigator* ve *Liocarcinus depurator*'un 100 tekrara dayalı seç-bağla değerlerinde %69 oranında aynı grupta kümelendiği gözlemlenmiştir. Haplotiplerinin değişkenlik gösterdiği pozisyonlar birbirine oldukça yakın bulunmuştur. Genetik mesafe olarak birbirine yakın olduğu komşu katılım ağaç topolojisinde görülmüştür. Komşu katılım ağaç topolojisindeki dalların uzunlukları genetik mesafenin belirlenmesi açısından bilgi vericidir.

Maksimum tutumluluk ağaç topolojisinde en az farklılaşmanın olduğu türlerin bir arada kümelendiği, birbirine en yakın ve benzeyen türler olduğu bilinmektedir. *Liocarcinus navigator* ve *Liocarcinus depurator*'un %67 oranında aynı grupta kümelenmesi türlerin birbiryle benzer değişikliği gösterdiğinin kanıtıdır. *Eriphia verrucosa* ve *Xantho poressa*'nın %55 oranında aynı grupta kümelenmesi benzer farklılaşma oranlarına sahip olduklarını belirtmektedir.

Çalışmada mtDNA COI gen bölgesinin moleküler analizi yapılmış, elde edilen sonuçlar karşılaştırıldığında bazlar arası değişim miktarının yüksek olduğu belirlenmiştir. Çalışılan 456 bç'lik bölgenin 412 (%90.4) bazında değişkenlik olduğu saptanmıştır. Ortalama nükleotit dağılım frekansları yüzde değerleri T-C-A-G sırasıyla 37.24, 19.21, 25.99, 17.56 olarak bulunmuştur. Çalışılan türler için nükleotit çeşitlilik değeri (Pi) 0.3546 ve haplotip çeşitlilik değeri (Hd) 1 olarak hesaplanmıştır. Değişken pozisyonu (412) için transisyonlar transversiyonlardan daha yaygın olmakla birlikte transisyon/transversiyon oranı 1.25 olarak gerçekleşmiştir. mtDNA COI geninin dizin analizinde 14 farklı örnek toplamda 14 farklı haplotip ortaya çıkarmıştır. Her bir örneğin ayrı birer haplotipler ile temsil edildiği belirlenmiştir.

Türlerin haplotiplerinin değişken pozisyonlarında en çok değişimin saptandığı ve nükleotit dağılım frekanslarında en uzakta bulunan türün *Clibanarius erythropus* olduğu ve dış grup olarak seçilmesinin doğru olduğu belirlenmiştir. Türler arası hesaplanan genetik mesafe değerlerine göre en düşük uzaklığın *Macropodia parva* ve *Macropodia rostrata* arasında 0.004 değerinde olduğu belirlenmiştir. En yüksek uzaklığın ise *Liocarcinus depurator* ve *Clibanarius erythropus* arasında 1.708 değerinde olduğu belirlenmiştir. *Pachygrapsus marmoratus* (NC039109) ve *Xantho poressa*'nın nükleotit pozisyonlarda çalışılan türlerden farklılık göstermesi filogenetik ağaç topolojisinde çalışılan türlerden uzak bölgede gruplaştığı belirlenmiş ve

familyalar arası gruplaşmanın beklenildiği gibi olduğu gözlemlenmiştir. Birbirine yakın değerler gösteren *Macropodia parva* ve *Macropodia rostrata*'nın, *Liocarcinus navigator* ve *Liocarcinus depurator*'un, *Pachygrapsus marmoratus* (KX549331) ve *Pisidia longicornis*'in filogenetik ağaç topolojilerinde aynı bölgede gruplaşması ikili türlerin benzer familya düzeyinde olduğunu göstermektedir. Programlar aracılığıyla oluşturulan filogenetik ağaç topolojilerinde 100 tekrara dayalı seç-bağla değerlerinde çalışılan *Eriphia verrucosa* ile veri sisteminden alınan *Eriphia verrucosa* (JQ306072)'nin %73 oranında aynı grup içerisinde kümelendiği ve genetik mesafe olarak birbirine yakın olduğu belirlenmiştir. *Macropodia parva* ve *Macropodia rostrata*'nın 100 tekrara dayalı seç-bağla değerlerinde %96 oranında aynı grupta kümelendiği gözlemlenmiştir. Genetik mesafe olarak birbirine yakın olan türler komşu katılım ağaç topolojisinde bir arada kümelendiği görülmüştür. Sistem üzerinden alınan 2 farklı *Pachygrapsus marmoratus* türünün filogenetik ağaç topolojisinde birbirinden oldukça uzakta olduğu saptanmıştır. Ayrıca bu iki türün çalışılan *Eriphia verrucosa* türü ile genetik mesafe değerleri birbirinden oldukça fazladır. *Pachygrapsus marmoratus* (KX549331)'un çalışılan *Eriphia verrucosa* ile genetik mesafe değeri 0.251 (%25.1) olarak belirlenirken, diğer *Pachygrapsus marmoratus* (NC039109)'un çalışılan *Eriphia verrucosa* ile genetik mesafe değeri 1.266 (%126.6) olarak belirlenmiştir. Sistem içerisine kaydedilen bu iki türün birbirinden oldukça uzak mesafede konumlanması ve bazılar arasındaki farklarının fazla olması bu iki türden birinin yanlış verilerle kayıt altına alındığını göstermektedir. *Pachygrapsus marmoratus* (KX549331)'un tüm filogenetik ağaç topolojilerinde birinci büyük grup içerisinde yer alması ve *Pachygrapsus marmoratus* (NC039109)'un tüm filogenetik ağaç topolojilerinde ikinci büyük grup içerisinde yer alması türün yanlış tanımlanmış olabileceği veya analiz sürecinde hataların yapıldığının net bir göstergesi olmuştur.

Maksimum tutumluluk ağaç topolojisinde en az farklılaşmanın olduğu türlerin bir arada kümelendiği bilinmektedir. Bu sonuca göre çalışılan *Eriphia verrucosa* ve veri sisteminden alınan *Eriphia verrucosa* (JQ306072)'nin bir arada gruplaştığı, bunlara en yakın farklılaşmanın *Pilumnus hirtellus* (MG935039) türü olduğu belirlenmiştir. Türler arası farklılaşmanın sonucunda iki büyük grup oluşmuştur. Bu gruplar 100 tekrara dayalı seç-bağla değeri ile hesaplanmış ve %100 değerinde iki farklı grup olduğu gözlemlenmiştir. Bu grupların her ikisinde de *Pachygrapsus marmoratus*

türü olduğu gözlemlenmiş ve bu verilerden bir tanesinin kesinlikle yanlış olduğu belirlenmiştir.

Maksimum olasılık ağaç topolojisinde gözlenen verinin oluşturulması olasılığına dayandığı bilinmektedir. Birçok ağaç topolojisi içerisinde en verimli ve en uygun olan ağacın seçildiği yöntemdir. Maksimum olasılık ağaç topolojisi içerisinde birbirine yakın ilişkide olan türlerin bir arada kümelenildiği görülmektedir.

Sonuç olarak, her iki gen bölgesinin moleküler analizinin sonucunda ortaya çıkan ağaç topolojilerinin beklenildiği gibi doğru olduğu gözlemlenmiştir. Türlerin, familyanın diğer üyeleri arasındaki evrimsel uzaklığı gösterdiği ağaç topolojilerinde birbirine yakın türlerin bir arada kümelenildiği, grupların evrimsel süreçte birbiriyle ilişkili olduğu belirlenmiştir. Yapılmış çalışmalar içerisinde moleküler analiz kullanılsa dahi hataların olabileceği bu çalışma ile gün yüzüne çıkartılmıştır. Günümüze kadar yapılmış çalışmalardan da anlaşıldığı gibi, çalışmaların çoğunun morfolojik tür tanımlamalarını içerdiği ve bunun kesin ve net bir sonucu vermediği belirlenmiştir. Bu çalışmalar türlerin dış görünüşleri üzerine yapılmıştır ve bilindiği üzere bir canlının dış görünüşünü sağlayan veya etkileyen pek çok çevresel etki mevcuttur. Buradan anlaşılır ki bir canlının dış görünüşü olan fenotipi canlının genetik yapısından (genotipinden) ve çevresel etkilerden etkilenecek oluşmaktadır. Yalnız morfolojik ve meristik karakterler üzerinden yapılan tanımlamaların farklı ve yanıltıcı sonuçlar doğurabileceği bilinmektedir. Bundan dolayı moleküler yöntemler kullanılarak elde edilen veriler morfolojik özellikleri temel alarak yapılan tür tanımlamalarını da doğrulamaktadır. Orta Karadeniz için yapılan moleküler analiz çalışmalarının sınırlı olması sebebiyle çalışma sonucunda çıkan verilerin GenBank veri sistemine girilmiştir ve bu verilerin ilerleyen çalışmalara kaynak oluşturacağı düşünülmektedir.

6. KAYNAKLAR

- Adensamer, T. (1898). Decapoden. Gesammelt auf S.M. Schiff Pola in den Jahren 1890–1894, Zoologische Ergebnisse. XI. Berichte der Commission für Erforschung des östlichen Mittelmeeres. XXII. Denkschriften der kaiserlichen Akademie der Wissenschaften, Mathematisch-naturwissenschaftliche Classe, 65, 597-628.
- Akaike, H. (1974). A new look at the statistical model identification. *IEEE Transactions on Automatic Control*, 19(6), 716-723.
- Anonim, (2014a). <http://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=107392> (Erişim Tarihi: 10.06.2020).
- Anonim, (2014b). <http://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=107387> (Erişim Tarihi: 10.06.2020).
- Anonim, (2014c). <http://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=107409> (Erişim Tarihi: 10.06.2020).
- Anonim, (2020). Genbank. Development of a quick molecular based technique for identification of zooplankton in the Black Sea (Kolukırık, M., Karahan, A. & Öztürk, D.İ.). ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/KP136630.1 ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/KP136630.1 (Erişim Tarihi: 01.06.2020).
- Appels, R., & Honeycutt, R. L. (1986). rDNA: evolution over a billion years. *DNA Systematics: Plants*, 2, 81.
- Ateş, A.S. (1999). *Liocarcinus depurator* (Linnaeus, 1758) and *Brachynotus sexdentatus* (Risso, 1827) (Decapoda, Brachyura), two new records for the Turkish Black Sea Fauna. *Turkish Journal of Zoology*, 23, 115-118.
- Ateş, S. (1997). Gerze-Hamsaroz (Sinop) kıyı Decapod (Crustacea) faunası üzerine bir araştırma. Yüksek Lisans Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Sinop.
- Avise, J.C. (1994). Molecular markers, natural history and evolution. NY: Chapman and Hall. 511 p.
- Aydın, M., Karadurmuş, U. & Mutlu, C. (2013). Orta ve Doğu Karadeniz'deki (Türkiye) Yengeç Türleri. *The Black Sea Journal of Sciences*, 3 (9), 1-16.
- Bakır, A.K., Katağan, T., Aker, H.V., Özcan, T., Sezgin, M., Ateş, A.S., Koçak, C. & Kırkım, F. (2014). The marine arthropods of Turkey. *Turkish Journal of Zoology*, 38, 765-831.
- Balkıs, H., Mülayim, A. & Perçin-Paçal, F. (2012). Decapod crustacean fauna of the Black Sea coasts of Istanbul. *Crustaceana*, 85 (8), 897-908.
- Ballard, R. (1992). Short Forms of the Marlowe-Crowne Social Desirability Scale. *Psychological Reports*, 71(3), 1155–1160.
- Bilgin, S. (2019). Karadeniz Faunasındaki Yabancı Yengeçlerle Birlikte Yengeç (Crustacea: Decapoda: Brachyura) Türlerinin Güncel Listesi. *Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences*, 4(2), 211-215.

- Bilgin, S., Ateş, A.S. & Çelik, E.Ş. (2007). The Brachyura (Decapoda) community of *Zostera marina* meadows in the coastal area of the Southern Black Sea (Sinop Peninsula, Turkey). *Crustaceana*, 80 (6), 717-730.
- Bilgin, S. & Çelik, E.Ş. (2004). Karadeniz'in Sinop Kıyıları (Türkiye) Yengeçleri. *Fırat Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 16 (2), 337-345.
- Boore, J.L., Collins, T.M., Stanton, D., Daehler, L.L. & Brown, W.M. (1995). Deducing the pattern of arthropod phylogeny from mitochondrial DNA rearrangements. *Nature*, 376(6536), 163-165.
- Butchart, S.H., Walpole, M., Collen, B., Van Strien, A., Scharlemann, J.P., Almond, R.E. & Carpenter, K.E. (2010). Global biodiversity: indicators of recent declines. *Science*, 328(5982), 1164-1168.
- Colombo, A. (1885). Raccolte zoologiche eseguite dal R. Piroscapo Washington nella Campagna abissale talassografica dell'anno 1885, *Rivista Marittima*, 18, 22-53.
- Crescenti, N., Zaccone, D. & Lo Presti, C. (2008). *Eriphia Verrucosa* a preliminary analysis based on 18S rRNA sequence. *Dip Biologia ed Ecologia Mararina, Università degli Studi di Messina*, 1, 803.
- Daniels, S.R., Cumberlidge, N., Pérez-Losada, M., Marijnissen, S.A. & Crandall, K.A. (2006). Evolution of Afrotropical freshwater crab lineages obscured by morphological convergence. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 40(1), 227-235.
- Darling, J.A., Bagley, M.J., Roman, J., Tepolt, C.K. & Geller, J.B. (2008). Genetic patterns across multiple introductions of the globally invasive crab genus *Carcinus*. *Molecular Ecology*, 17 (23), 4992-5007.
- Deli, T., Kalkan, E., Karhan, S.U., Uzunova, S., Keikhosravi, A., Bilgin, R. & Schubart, C.D. (2018). Parapatric genetic divergence among deep evolutionary lineages in the Mediterranean green crab, *Carcinus aestuarii* (Brachyura, Portunoidea, Carcinidae), accounts for a sharp phylogeographic break in the Eastern Mediterranean. *BMC Evolutionary Biology*, 18 (1), 53.
- Demir, M. (1952-1954). Boğaz ve Adalar Sahillerinin Omurgasız Dip Hayvanları. *İstanbul Üniversitesi Fen Fakültesi Hidrobiyoloji Araştırma Enstitüsü Yayınları*, 3, 615 pp.
- Devedjian, K. (1926). Pêche et pêcheries en Turquie. *Constantinople: Imprimerie de l'Administration de la Dette Publique Ottomane*, 1, 649 pp.
- Dolgopolskaya, M.A. (1969). Determination key of the fauna Black and Azov Seas. *Kievskay Liyana Fabrika*, 2, 533.
- Ersoy Karaçuha, M., Sezgin, M. & Dağlı, E. (2009). Temporal and spatial changes of crustaceans in mixed eelgrass beds, *Zostera marina* L. and *Z. noltii* Hornem., at the Sinop peninsula coast (the southern Black Sea, Turkey). *Turkish Journal of Zoology*, 33, 375-386.
- Fabricius, J.C. (1787). *Mantissa Insectorum, sistens eorum species nuper detectas adjectis characteribus genericis, differentiis specificis, emendationibus, observationibus*. Hafniae: C.G. Proft., Vol. 1., XX, 348 pp.

- FAO, (1981). Conservation of the genetic resources of fish: Problems and recommendations. *FAO Fisheries Technical Paper*, No. 217, Food and Agriculture Organisation of the United Nations, Rome, 43 s.
- Felsenstein, J. (1985). Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution*, 39(4), 783-791.
- Flook, P.K. & Rowell, C.H.F. (1997). The phylogeny of the Caelifera (Insecta, Orthoptera) as deduced from mtrRNA gene sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 8(1), 89-103.
- Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., Lutz, R. & Vrijenhoek, R. (1994). DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 3(5), 294-299.
- Forskål, P. (1775). Descriptiones Animalium, Avium, Amphibiorum, Piscium, Insectorum, Vermium; quae in Itinere orientali observavit Petrus Forskål. Post Mortem Auctoris edidit Carsten Niebuhr. Adjuncta est materia medica Kahirina. Hafniae, 9:(XXXIV), 164pp.
- Fratini, S., Ragionieri, L., Deli, T., Harrer, A., Marino, I.A., Cannicci, S., Zane, L. & Schubart, C.D. (2016). Unravelling population genetic structure with mitochondrial DNA in a notional panmictic coastal crab species: sample size makes the Difference. *BMC Evolutionary Biology*, 16, 150.
- García-Machado, E., Pempera, M., Dennebouy, N., Oliva-Suarez, M., Mounolou, J.C. & Monnerot, M. (1999). Mitochondrial genes collectively suggest the paraphyly of Crustacea with respect to Insecta. *Journal of Molecular Evolution*, 49(1), 142-149.
- García-Merchán, V.H., Robainas-Barcia, A., Abelló, P., Macpherson, E., Palero, F., García-Rodríguez, M. & Pascual, M. (2012). Phylogeographic patterns of decapod crustaceans at the Atlantic–Mediterranean transition. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 62(2), 664-672.
- Gould, A.A. (1841). Report on the invertebrata of Massachusetts: comprising the Mollusca, Crustacea, Annelida, and Radiata. Folsom, Wells, and Thurston, Printers, 1-321pp.
- Goulding, S.E., Wolfe, K.H., Olmstead, R.G. & Morden, C.W. (1996). Ebb and flow of the chloroplast inverted repeat. *Molecular and General Genetics MGG*, 252(1-2), 195-206.
- Gönlügür, G. 2003. Batı Karadeniz (Sinop) sahillerinin üst infra-littoral zonundaki bazı fasiesler üzerinde kalitatif ve kantitatif araştırmalar. Doktora Tezi, Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- Gönlügür, G., Katağan, T., Sezgin, M. & Kırkım, F. (2004). Contributions to the knowledge on benthic crustaceans from Turkish Black Sea coast. Proceedings of the International Workshop on the Black Sea Benthos, 18-23 April 2004, Istanbul-Turkey.
- Gönlügür-Demirci, G. & Katağan, T. (2004). Qualitative and quantitative investigations on *Ulva rigida* facies from the upper infralittoral zone along

- Sinop coast, middle Black Sea. Proceedings of the International Workshop on the Black Sea Benthos, 18-23 April 2004, Istanbul-Turkey.
- Gregory, T.R. (2005). DNA barcoding does not compete with taxonomy. *Nature*, 434(7037), 1067.
- Gruvel, A. (1928). Répartition géographique de quelques crustacés comestibles sur les côtes d'Egypte et de Syrie. *Comptes Rendus de la Société de Biogéographie*, 5 (39), 45-46.
- Gruvel, A. (1929). De l'influence du percement du canal de Suez sur la faune marine des côtes de Syrie. *Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, 188, 1697-1699.
- Gruvel, A. (1930). Les Richesses marines et fluviales de Syrie, Exploitation actuelle-Avenir. *Revue Scientifique*, 68, 33-41.
- Gruvel, A. (1931). Partie générale et économique, In: Gruvel, A. (ed) Les états de Syrie, Richesses marines et fluviales, Exploitation actuelle-Avenir. *Bibliothèque de la Faune des Colonies Françaises*, 3, 1-453.
- Guindon, S. & Gascuel, O. (2003). A simple, fast, and accurate algorithm to estimate large phylogenies by maximum likelihood. *Systematic Biology*, 52(5), 696-704.
- Hajibabaei, M., Singer, G.A., Hebert, P.D. & Hickey, D.A. (2007). DNA barcoding: how it complements taxonomy, molecular phylogenetics and population genetics. *Trends in Genetics*, 23(4), 167-172.
- Hall, T.A. (1999). BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*, 41(41), 95-98.
- Hanner, R. & Fugate, M. (1997). Branchiopod phylogenetic reconstruction from 12S rDNA sequence data. *Journal of Crustacean Biology*, 17(1), 174-183.
- Hebert, P.D., Cywinska, A., Ball, S.L. & Dewaard, J.R. (2003a). Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 270(1512), 313-321.
- Hebert, P.D., Ratnasingham, S., & De Waard, J. R. (2003b). Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 270(1), 96-99.
- Heller, C. (1863). Die Crustaceen des südlichen Europa, Crustacea Podophthalmia, Mit einer Übersicht über die horizontale Verbreitung sämtlicher europäischer Arten, Wien, Wilhem Braumüller, 336 pp.
- Hillis, D.M. & Dixon, M.T. (1991). Ribosomal DNA: molecular evolution and phylogenetic inference. *The Quarterly Review of Biology*, 66(4), 411-453.
- Hillis, D.M. & Moritz, C. (1990). Molecular taxonomy. Sinauer Associates, Inc. Publishers, Massachusetts, USA, 1-300pp.
- Hillis, D.M., Larson, A., Davis S.K. & Zimmer, E.A. (1990). Nucleic Acids III: Sequencing, In: Molecular Systematics (D.M. Hillis ve C. Mortiz, Eds.). Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts, USA, 318-370pp.

- Hobbs, H.H. & Lodge, D.M. (2010). Decapoda. In *Ecology and Classification of North American Freshwater Invertebrates*, Academic Press, 901-967pp.
- Holthuis, L.B. (1961). Report on a collection of Crustacea Decapoda and Stomatopoda from Turkey and the Balkans. *Zoologische Verhandelingen*, 47, 1-67.
- Holthuis, L.B. & Gottlieb E. (1956). Two interesting crabs (Crustacea Decapoda, Brachyura) from Mersin Bay, S.E. Turkey. *Zoologische Mededelingen*, 34(21), 287-299.
- Holthuis, L.B. & Gottlieb, E. (1958). An annotated list of the decapod Crustacea of the Mediterranean coast of Israel, with an appendix listing the Decapoda of the Eastern Mediterranean. *Bulletin of the Research Council of Israel, Section B, Zoology*, 7B (1-2), 1-126.
- Ingle, R.W. (1996). Shallow-water crabs: keys and notes for identification of the species. Linnean Society of London and the Estuarine and Coastal Sciences Association, London, 206pp.
- Karhan, S.Ü. (2015). Türkiye denizleri littoral yengeçleri (crustacea, decapoda, brahcyura):Sistematik, dağılım ve habitat tercihleri. Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Kishino, H. & Hasegawa, M. (1989). Evaluation of the maximum likelihood estimate of the evolution- ary tree topologies from DNA sequence data, and the branching order in Hominoidea. *Journal of Molecular Evolution*, 29(2), 170-179.
- Kirby, R.R. & Lindley, J.A. (2018). Climate-induced changes in the abundance of decapod larvae of the North Sea. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 85, 451-460.
- Kocataş, A. (1981). Liste préliminaire et répartition des Crustacés Décapodes des eaux Turques. *Rapports et procès verbaux des réunions, Commission internationale pour l'exploration scientifique de la Mer Méditerranée*, 27 (2), 161-162.
- Kocataş, A. & Katağan, T. (2003). The decapod crustacean fauna of the Turkish seas. *Zoology in the Middle East*, 29, 63-74.
- Kocher, T.D., Thomas, W.K., Meyer, A., Edwards, S.V., Pääbo, S., Villablanca, F.X. & Wilson, A.C. (1989). Dynamics of mitochondrial DNA evolution in animals: amplification and sequencing with conserved primers. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 86(16), 6196-6200.
- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C. & Tamura, K. (2018). MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*, 35(6), 1547-1549.
- Lai, J.C., Thoma, B.P., Clark, P.F., Felder, D.L. & Ng, P.K. (2014). Phylogeny of eriphoid crabs (Brachyura, Eriphioidea) inferred from molecular and morphological studies. *Zoologica Scripta*, 43(1), 52-64.
- Lai, J.C.Y., Thoma, B.P., Clark, P.F., Felder, D.L. & Ng, P.K.L. (2014). Molecular Phylogeny of the Eriphioidea (Crustacea: Decapoda: Brachyura). *Journal of Zoology Sciences*, 43(1), 52-64.


- Lasley, R.M.Jr., Lai, J.C.Y. & Thoma, B.P. (2013). A new genus for *Chlorodiella longimana* (H. Milne Edwards) supported by morphology and molecular data, with a preliminary phylogeny of the Chlorodiellinae (Crustacea: Decapoda: Xanthidae). *Invertebrate Systematics*, 27, 379-390.
- Lefébure, T., Douady, C.J., Gouy, M. & Gibert, J. (2006). Relationship between morphological taxonomy and molecular divergence within Crustacea: proposal of a molecular threshold to help species delimitation. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 40(2), 435-447.
- Linnaeus, C. (1758). *Systema Naturae per Regna Tria Naturae, Secundum Classes, Ordines, Genera, Species, cum Characteribus, Differentiis, Synonymis, Locis*. Ed. 10, Vol. 1. Holmiae, Laurentii Salvii, III, 824 pp.
- Lobo, J., Costa, P.M., Teixeira, M.A., Ferreira, M.S., Costa, M.H. & Costa, F.O. (2013). Enhanced primers for amplification of DNA barcodes from a broad range of marine metazoans. *BMC Ecology*, 13(1), 34.
- Marino, I.A.M., Pujolar, J.M. & Zane, L. (2011). Reconciling Deep Calibration and Demographic History: Bayesian Inference of Post Glacial Colonization Patterns in *Carcinus aestuarii* (Nardo, 1847) and *C. maenas* (Linnaeus, 1758). *PLoS One*, 6(12), E28567.
- Marion, A.-F. (1898). Notes su la faune des Dardanelles et du Bosphore. *Annales du Musée d'Histoire naturelle de Marseille*, Série 2, 1(1), 163-182.
- Matzen da Silva, J., Creer, S., dos Santos, A., Costa, A.C. & Cunha, M.R. (2011). Systematic and Evolutionary Insights Derived from mtDNA COI Barcode, *PLoS One*, 6(5), e19449.
- Miller, S.E. (2007). DNA barcoding and the renaissance of taxonomy. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(12), 4775-4776.
- Milne Edwards, H. (1853). Mémoires sur la famille des Ocypodiens, suite. *Annales des Sciences Naturelles, Zoologie*, 20(3), 163-228.
- Mindell, D.P. & Honeycutt, R.L. (1990). Ribosomal RNA in vertebrates: evolution and phylogenetic applications. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 21(1), 541-566.
- Minelli, A. (2003). The status of taxonomic literature. *Trends in Ecology & Evolution*, 18(2), 75-76.
- Miralles, L., Ardura, A., Arias, A., Borrell, Y.J., Clusa, L., Dopico, E., de Rojas, A.H., Lopez, B., Muñoz-Colmenero, M., Roca, A., Valiente, A.G., Zaiko, A. & Garcia-Vazquez, E. (2016). Barcodes of marine invertebrates from north Iberian ports: Native diversity and resistance to biological invasions. *Marine Pollution Bulletin*, 112 (1-2), 183-188.
- Mohrbeck, I., Raupach, M.J., Arbizu, P.M., Knebelsberger, T. & Laakmann, S. (2015). High-throughput sequencing the key to rapid biodiversity assessment of marine metazoa. *PLoS One*, 10(10), e0140342.
- Monod, T. (1930). Über einige indo-pazifische Decapoden der Meeresfauna Syriens. *Zoologischer Anzeiger*, 92 (5/6), 135-141.

- Monod, T. (1931). Crustacés de Syrie, Richesses marines et fluviales, Exploitation actuelle-Avenir. *Bibliothèque de la Faune Colonies Françaises*, 3, 397-435.
- Monod, T. (1932). Crustacés exotiques en Méditerranée. *La Terre et la Vie - Revue d'Ecologie*, 2, 65-73.
- Moritz, C.T.E.D., Dowling, T.E. & Brown, W.M. (1987). Evolution of animal mitochondrial DNA: relevance for population biology and systematics. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 18(1), 269-292.
- Nalbantoğlu, Ü. (1958). Maskeliyengeç *Calappa granulata* FABR. (*Cancer granulatus* L.). *Hidrobiologi Mecmuası*, Ser. A, 4 (3-4), 125-129.
- Ng, P.K.L., Guinot, D. & Davie, P.J.F. (2008). Systema Brachyurorum: Part 1, An annotated checklist of extant brachyuran crabs of the world. *Raffles Bulletin of Zoology*, 17, 1-286.
- Ninni, E. (1923). Primo contributo allo studio dei Pesci e della Pesca nelle acque dell'Impero Ottomano, Materiali raccolti durante la campagna talassografica 1921-22 a bordo della R. Nave L.F. Marsigli. *Missione Italiana per l'esplorazione dei Mari di Lavante*, 5, 1-187.
- O'Brien, S.J. (1994). A role for molecular genetics in biological conservation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 91(13), 5748-5755.
- Oliveira Biener, U., Melzer, R.R. & Miller, M.A. (2010). Pilumnus Leach (1815) (Decapoda: Pilumnidae Samouelle, 1819) from Mediterranean and adjacent Atlantic waters: A COI Analysis. *Zoologische Staatssammlung Muenchen, Muenchhausenstr*, 21, 81247
- Olivi, G. (1792). Venecia Occurrence and Distribution of Crustacean Decapoda in Boka Kotorska Bay. *Zoologia Adriatica*, 1, 370-391pp.
- Ostroumoff, A. (1894). Further contributions to the natural history of the Bosphorus. *Zapisok Imperatorskoy Akademii Nauk*, 74(5), 1-46.
- Ostroumoff, A. (1896). Comptes-rendus des dragages et du plancton de l'expédition de "Selianik". *Bulletin de l'Académie Impériale des Sciences de St.-Petersbourg*, 5(5), 33-92.
- Palero, F., Crandall, K.A., Abelló, P., Macpherson, E. & Pascual, M. (2009). Phylogenetic relationships between spiny, slipper and coral lobsters (Crustacea, Decapoda, Achelata). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 50(1), 152-162.
- Pan, M., McBeath, A.J., Hay, S.J., Pierce, G.J. & Cunningham, C.O. (2008). Real-time PCR assay for detection and relative quantification of *Liocarcinus depurator* larvae from plankton samples. *Marine Biology*, 153(5), 859-870.
- Pascual, M., Palero, F., García-Merchán, V.H., Macpherson, E., Robainas-Barcia, A., Mestres, F. & Abelló, P. (2016). Temporal and spatial genetic differentiation in the crab *Liocarcinus depurator* across the Atlantic-Mediterranean transition. *Scientific Reports, Nature*, 6(1), 1-10.
- Pennant, T. (1777). Crustacea, Mollusca, Testacea. *British Zoology*. Benjamin White, London, England, 166 pp.,

- Plagge, C., Son, N.T., Ng, P.L.K., Turkay, M., Streit, B. & Klaus, S. (2016). *Liocarcinus corrugatus* (Pennant, 1777) (Crustacea: Brachyura: Portunidae): a cosmopolitan brachyuran species. *Raffles Bulletin of Zoology*, 64, 374-388.
- Porter, M.L., Pérez-Losada, M. & Crandall, K.A. (2005). Model-based multi-locus estimation of decapod phylogeny and divergence times. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 37(2), 355-369.
- Posada, D. (2008). jModelTest: phylogenetic model averaging. *Molecular Biology and Evolution*, 25(7), 1253-1256.
- Radulovici, A.E., Archambault, P. & Dufresne, F. (2010). DNA barcodes for marine biodiversity: moving fast forward. *Diversity*, 2(4), 450-472.
- Ragionieri, L. & Schubart, C.D. (2013). Population genetics, gene flow, and biogeographical boundaries of *Carcinus aestuarii* (Crustacea: Brachyura: Carcinidae) along the European Mediterranean coast. *Biological Journal of the Linnean Society*, 109(4), 771-790.
- Rathbun, M.J. (1930). The Cancroid crabs of America of the families Euryalidae, Portunidae, Atelecyclidae, Cancridae, and Xanthidae. *Bulletin of the United States National Museum*, 152, 1-609.
- Raupach, M.J., Barco, A., Steinke, D., Beermann, J., Laakmann, S., Mohrbeck, I., Neumann, H., Kihara, T.C., Pointner, K., Radulovici, A., Segelken-Voigt, A., Wesse, C. & Knebelsberger, T. (2015). The Application of DNA Barcodes for the Identification of Marine Crustaceans from the North Sea and Adjacent Regions. *PLoS One*, 10(9), e0139421
- Reuschel, S. & Schubart, C.D. (2007). Contrasting genetic diversity with phenotypic diversity in coloration and size in *Xantho poressa* (Brachyura: Xanthidae), with new results on its ecology. *Marine Ecology*, 28(2), 296-305.
- Roe, A.D. & Sperling, F.A. (2007). Patterns of evolution of mitochondrial cytochrome c oxidase I and II DNA and implications for DNA barcoding. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 44(1), 325-345.
- Ryman, N. (1983). Patterns of distribution of biochemical genetic variation in salmonids: differences between species. *Aquaculture*, 33(1-4), 1-21.
- Santucci, R. (1928). Alcuni Crostacei Decapodi delle isole Egee. Ricerche faunistiche nelle isole italiane dell' Egeo. *Archivio Zoologico Italiano*, 12, 345-354.
- Schindel, D.E. & Miller, S.E. (2005). DNA barcoding a useful tool for taxonomists. *Nature*, 435(7038), 17-18.
- Selimoğlu, A.Ş. (1997). Trabzon kıyı sularında bulunan yengeç türlerinden *Liocarcinus vernalis* (Risso, 1816) ve *Pachygrapsus marmoratus* (Fabricius, 1787)'un bazı biyo-ekolojik özelliklerinin belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
- Simon, C., Pääbo, S., Kocher, T.D. & Wilson, A.C. (1990). Evolution of mitochondrial ribosomal RNA in insects as shown by the polymerase chain reaction. *UCLA Symposia on Molecular and Cellular Biology*, 122, 235-244.

- Štević, Z. (2005). The reclassification of brachyuran crabs (Crustacea: Decapoda: Brachyura). *Natura Croatica: Periodicum Musei Historiae Naturalis Croatici*, 14(1), 1-159.
- Stimpson, W. (1861). Notes on certain Decapod Crustacea. *Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia*, 13, 372-373.
- Swofford, D.L. (2003). PAUP* ver 4.0. b10. Phylogenetic Analysis Using Parsimony and Other Methods. MA: Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts, USA 144 pp.
- Swofford, D.L. & Olsen, G.J. (1990). Phylogeny reconstruction. Molecular Systematics, Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts, USA, 501pp.
- Tamura, K. & Nei, M. (1993). Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. *Molecular Biology and Evolution*, 10(3), 512-526.
- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipowski, A. & Kumar, S. (2013). MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution*, 30(12), 2725-2729.
- Thompson, J.D., Gibson, T.J., Plewniak, F., Jeanmougin, F. & Higgins, D.G. (1997). The CLUSTAL_X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Research*, 25(24), 4876-4882.
- Tortonese, E. (1959). Osservazioni sul bentos del Mar di Marmara e del Bosforo. *Rivista di Scienze Naturali*, 50, 18-26.
- Warner, G.F. (1977). The Biology of Crabs. Van Nostrand Reinhold Company, New York, USA, 202 pp.
- White, T.J., Bruns, T.D., Lee, S.B. & Taylor, J.W. (1990). Analysis of phylogenetic relationships by amplification and direct sequencing of ribosomal DNA sequences. In PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications (ed. Innes, M.A., Gelfand, D.H., Sninsky, J.J. & White, T.J.), Academic Press: New York, 315-322pp.
- Wilson, E. O. (2003). On Global Biodiversity Estimates. *Paleobiology*, 29(1), 14-14.
- Yağlıoğlu, D., Turan, C. & Öğreden, T. (2014). First record of blue crab *Callinectes sapidus* (Rathbun 1896) (Crustacea, Brachyura, Portunidae) from the Turkish Black Sea coast. *Journal of the Black Sea/Mediterranean Environment*, 20(1), 13-17.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı	Ali Alper ERDEM
Doğum Yeri	Fatsa / ORDU
Doğum Tarihi	08.09.1995
Uyruğu	<input checked="" type="checkbox"/> T.C. <input type="checkbox"/> Diğer:
Telefon	0537 4235348
E-Posta Adresi	alperdem5295@gmail.com
	
Eğitim Bilgileri	
Lisans	
Üniversite	Ordu Üniversitesi
Fakülte	Fatsa Deniz Bilimleri Fakültesi
Bölümü	Balıkçılık Teknolojisi Mühendisliği
Mezuniyet Yılı	30.06.2017