



**T. C.**

**ORDU ÜNİVERSİTESİ**

**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**TÜRKİYE'DE DAĞILIM GÖSTEREN MEZGİT BALIĞININ  
(*Merlangius merlangus* Linnaeus, 1758) MOLEKÜLER  
YÖNTEMLER KULLANILARAK POPÜLASYON GENETİĞİ  
YAPISININ BELİRLENMESİ**

**ÜMİT GÜR**

**DOKTORA TEZİ**

**BALIKÇILIK TEKNOLOJİSİ MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

**ORDU 2023**

## 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.

ÜMİT GÜR

**Bu çalışma Ordu Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğünün A-2017 numaralı projesi ile desteklenmiştir.**

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

## ÖZET

### TÜRKİYE’DE DAĞILIM GÖSTEREN MEZGİT BALIĞININ (*Merlangius merlangus* Linnaeus, 1758) MOLEKÜLER YÖNTEMLER KULLANILARAK POPÜLASYON GENETİĞİ YAPISININ BELİRLENMESİ

ÜMİT GÜR

ORDU ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BALIKÇILIK TEKNOLOJİSİ MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ, 103 SAYFA

(TEZ DANIŞMANI: DOÇ. DR. YILMAZ ÇİFTÇİ)

Ekonomik öneme sahip ve aşırı av baskısı altında olan Gadidae türü *Merlangius merlangus*'un genetik çeşitliliği, genetik yapısı ve demografik geçmişi, Türkiye’de Karadeniz’in tamamında Marmara Denizi’nde ve Kuzey Ege’de dağılım gösteren beş farklı lokasyondan alınan örneklerle dayalı olarak mitokondriyal DNA markörü kullanılarak analiz edildi. *M. merlangus* popülasyonları, D-loop kontrol bölgesinin 781 bp'lik yüksek haplotip ve düşük nükleotid çeşitliliği gösterildiği gibi genetik olarak heterojendir (14 haplotip; 15 polimorfik bölge, haploid çeşitlilik (Hd)=1.0 ve nükleotid çeşitliliği,  $p=0.088$ ). Popülasyonları arasındaki genetik mesafeler %0.13 (Karadeniz Ereğli ve Ordu arasında) ile %8.023 (Kuzey Denizi ve Hopa arasında) arasında değişmektedir. Öte yandan *M. merlangus* popülasyonları içinde genetik uzaklıklar %0.088 (Ordu ve Marmaraereğlisi için) ve %0.422 (Hopa için) arasında değişmektedir. Temel Koordinatlar Analizi, Mezgıt popülasyonları arasında varyansın %75.53'ünü açıklayan birinci temel bileşene göre, Marmara (Marmaraereğlisi) ve Karadeniz (Hopa, İğneada, Ordu) ve (Karadeniz Ereğli) popülasyonları net bir şekilde ayrıldı. Bu bölünmeye dayalı olarak yapılan AMOVA analizi, varyasyonun %34.95'ünün gruplar arasında, %13.08'inin gruplar içindeki popülasyonlar arasında ve %51.97'sinin popülasyonlar içinde dağıldığı tespit edildi. İkili  $F_{ST}$  değerleri, veri seti için 0.1099 ile 0.6878 arasında değişerek popülasyonlar arasındaki yüksek genetik varyasyonu vurguladı. *M. merlangus* Karadeniz ve Marmara soy hattının Kuzey Denizi soy hattından 1.65 (1.08-2.29) milyon yıl önce ayrılırken Atlantik soy hattı arasındaki ayrılmanın yaklaşık 0.84 (0.51-1.2) milyon yıl önce gerçekleştiği tahmin edildi. Mezgıt popülasyonları için son popülasyon genişlemesi, tarafsızlık testleri ve uyumsuzluk dağılım analizleri ile belirlenmiştir. Bu çalışmanın sonuçları, bu türün genetik popülasyon yapısı, korunması ve yönetimi hakkında önemli bilgiler sağlamıştır.

**Anahtar Kelimeler:** D-Loop; Karadeniz; Genetik çeşitlilik; Tarihsel demografi; Mezgıt.

## ABSTRACT

### DETERMINATION OF POPULATION GENETIC STRUCTURE OF WHITING (*Merlangius merlangus* LINNAEUS, 1758) DISTRIBUTED IN TURKEY BY THE USING MOLECULAR METHODS

ÜMIT GÜR

ORDU UNIVERSITY INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

FISHERIES TECHNOLOGY ENGINEERING

PHD THESIS, 103 PAGES

(SUPERVISOR: Assoc. Prof. Dr. YILMAZ ÇİFTÇİ)

Genetic diversity, genetic structure, and demographic history of the Gadidae species *Merlangius merlangus*, which is economically important and under overfishing pressure, were analysed using mitochondrial DNA markers obtained from samples taken from five different sites in the Black Sea, the Sea of Marmara, and the northern Aegean Sea in Turkey. The populations of *M. merlangus* are genetically heterogeneous (14 haplotypes; 15 polymorphic regions, haploid diversity (Hd) = 1.0 and nucleotide diversity,  $p = 0.088$ ), as indicated by the high haplotype of 781 bp and the low nucleotide diversity of the D-loop control region. Genetic distances between populations range from 0.13% (between Karadeniz Ereğli and Ordu) to 8.023% (between North Sea and Hopa). On the other hand, genetic distances within *M. merlangus* populations vary from 0.088 % (for Ordu and Marmaraereğlisi) to 0.422 % (for Hopa). As a result of the Principle Coordinates Analysis, the Marmara (Marmaraereğlisi) and Black Sea (Hopa, İğneada, Ordu) populations and the Karadeniz Ereğli populations were clearly separated based on the first principal component, which explained 75.53% of the variance among the whiting populations. Based on this separation, AMOVA analysis revealed that 34.95% of the variance was distributed between groups, 13.08% between populations within groups, and 51.97% within populations. Pairwise  $F_{ST}$  values ranged from 0.1099 to 0.6878 for the data set, highlighting the high genetic variation among populations. The Black Sea and Marmara lineages of *M. merlangus* separated from the North Sea lineage 1.65 (1.08-2.29) million years ago, while the separation between the Atlantic lineage occurred about 0.84 (0.51-1.2) million years ago. By neutrality tests and mismatch distribution analyses, the recent expansion of the whiting population was determined. This study provides important insight into the genetic structure of this species, its conservation, and management.

**Keywords:** D-loop; Black Sea; Genetic diversity; Historical demography; Whiting.

## TEŞEKKÜR

Yüksek öğrenim hayatımın her anında yanımda olan ayrıca tez konumun belirlenmesi, çalışmanın yürütülmesi ve tez yazımı süresince daima yanımda olan ve beni destekleyen danışman hocam Sayın Doç. Dr. Yılmaz ÇİFTÇİ'ye sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Tez çalışmama gerek TİK gerekse bireysel anlamda katkılarını esirgemeyen değerli hocalarım sayın Prof. Dr. Derya BOSTANCI'ya ve Doç. Dr. Cem Tolga GÜRKANLI'ya ayrıca teşekkür ederim.

Örnekleme çalışmalarımda yardımcı olan arkadaşım Dr. Arş. Gör. Serdar YEDİER'e ve Celal GENÇ'e teşekkür ederim.

Ayrıca bu tezin gerçekleşmesinde maddi imkan sağlayan Ordu Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne katkılarından dolayı teşekkür ederim.

Aynı zamanda, manevi desteğini her an üzerimde hissettiğim sevgili babam Şemil Gazi GÜR'e ve sevgili eşim Dilek BATTAL GÜR'e, ayrıca doktora eğitimim sırasında ailemize dahil olan ve varlıklarıyla bizleri daima mutlu eden çocuklarımız Toprak Çağan ve Çağatay GÜR'e teşekkürü bir borç bilirim.

## İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
<b>TEZ BİLDİRİMİ</b> .....	I
<b>ÖZET</b> .....	II
<b>ABSTRACT</b> .....	III
<b>TEŞEKKÜR</b> .....	IV
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	V
<b>ŞEKİL LİSTESİ</b> .....	VIII
<b>ÇİZELGE LİSTESİ</b> .....	VIII
<b>SİMGELER ve KISALTMALAR LİSTESİ</b> .....	IX
<b>1. GİRİŞ</b> .....	1
<b>2. GENEL BİLGİLER</b> .....	6
2.1. Mezgit Balığının Genel Özellikleri.....	6
2.1.1. Taksonomik Durumu.....	6
2.1.2. Habitat ve Biyolojisi.....	7
2.1.3. Coğrafik Dağılımı.....	7
2.1.4. Balıkçılık Durumu.....	8
2.2. Karadeniz'in Biyocoğrafyası.....	9
2.3. Popülasyon Genetiği ve Etkili Olan Evrimsel Süreçler.....	11
2.3.1. Doğal Seçilim.....	12
2.3.2. Genetik Sürüklenme.....	12
2.3.3. Mutasyon.....	13
2.3.4. Gen Akışı ve Mutasyon.....	14
2.4. Filogenetik Analizde Kullanılan Moleküler Belirteçler.....	15
2.5. İstatistiksel Araçlar.....	16
2.5.1. Temel Koordinatlar Analizi (PCoA).....	16
2.5.2. Spatial Moleküler Varyans Analizi (SAMOVA).....	17
2.5.3. Genetik farklılaşma.....	18
2.5.3.1. Popülasyonlar Arasındaki Wright'ın F indeksi ve Gen Akışı (Nm).....	19
2.5.3.2. Genetik Verilerin Moleküler Varyans Analizi (AMOVA).....	20
2.5.3.3. Mantel Testi.....	21
2.5.3.4. Ayrılma Zamanı Tahmini.....	22
2.5.3.5. Popülasyonların Genetik Yapı Analizi.....	23
2.5.3.6. Demografik Geçmiş ve Nötralite Testi.....	24
2.5.4. Filogenetik Analiz.....	25
2.5.4.1. Filogenetik Ağaç Oluşturma Yöntemleri.....	25
2.5.4.1.1. Mesafe Temelli Yöntemler.....	26
2.5.4.1.1.1. Aritmetik Ortalama Kullanarak Ağırlıksız Gruplama (UPGMA) Yöntemi.....	26
2.5.4.1.1.2. Komşu Birleştirme Yöntemi (Neighbour-Joining - NJ).....	26
2.5.4.1.2. Karakter Temelli Yöntemler.....	27
2.5.4.1.2.1. Maksimum Tutumluluk Yöntemi (Maksimum Parsimoni - MP).....	27
2.5.4.1.2.2. Maksimum Olasılık Yöntemi (Maksimum Likelihood - ML).....	27
2.5.4.1.2.3. Bayesian Çıkarsama Yöntemi.....	27
2.5.5. Haplotip Ağı Analizi.....	27
2.6. Çalışmanın Amacı.....	28
2.7. Literatür Özeti.....	29

<b>3. MATERYAL VE YÖNTEM</b> .....	34
3.1 Örnekleme Çalışmaları.....	34
3.1.1 Çalışma Sahası .....	34
3.1.2 Arazi Çalışması .....	34
3.2 Laboratuvar Çalışması .....	35
3.2.1 Toplam DNA'nın Eldesi .....	34
3.2.2 DNA Dizin Analizi .....	35
3.3 Dizi Analizi Verilerinin Değerlendirilmesi.....	36
3.3.1 Haplotip Ağı ve Filogenetik Analizler .....	36
3.3.2 Temel Koordinatlar Analizi (PCoA).....	38
3.3.3 Genetik Verilerin Moleküler Varyans Analizi (AMOVA Analizi) .....	38
3.3.4 Ayrılma Zamanı Tahmini.....	39
3.3.5 Popülasyonların Genetik Yapısının Belirlenmesi .....	39
3.3.6 mtDNA Verilerinden Çıkarılan Demografik Geçmiş ve Nötralite testi.....	40
<b>4. BULGULAR VE TARTIŞMA</b> .....	41
4.1 Bulgular.....	41
4.1.1 Genetik Çeşitlilik .....	41
4.1.1.1 Sekans Kompozisyonu .....	41
4.1.1.2 Nükleotit ve Haplotip Çeşitliliği .....	42
4.1.2 Filogenetik Analizler.....	44
4.1.2.1 Baz Değişim Modeli .....	44
4.1.2.2 Komşu Birleştirme (NJ) Analizi .....	44
4.1.2.3 Maksimum Parsimoni (MP) Analizi .....	46
4.1.2.4 Maksimum Likelihood (ML) Analizi.....	48
4.1.2.5 Bayesian Analizi .....	48
4.1.3 Genetik Farklılaşma .....	50
4.1.3.1 Temel Koordinatlar Analizi (Principal Coordinates Analysis, Pcoa) .....	50
4.1.3.2 Spatial Moleküler Varyans Analizi (SAMOVA).....	51
4.1.3.3 Genetik Verilerin Moleküler Varyans Analizi (AMOVA) .....	52
4.1.3.4 Popülasyon Çiftleri Arasındaki $F_{ST}$ Değerleri ve Göç Oranları ( $N_m$ ) .....	53
4.1.4 Mesafeye Göre İzolasyon ve Mantel Test.....	54
4.1.5 Ayrılma Zamanı Tahmini.....	55
4.1.6 Popülasyonların Genetik Yapı Analizi .....	57
4.1.7 mtdna Verilerinden Çıkarılan Demografik Geçmiş ve Nötralite Testi .....	58
4.2 Tartışma.....	65
4.2.1 Genetik Çeşitlilik .....	65
4.2.2 Filogenetik ve Haplotip Ağı Analizleri.....	67
4.2.3 Popülasyonların Genetik Yapısı.....	69
4.2.4 Kladlar Arasında Ayrılma Zamanı Tahmini .....	70
4.2.5 Demografik Tarih.....	71
4.2.6 Koruma ve Yönetim İçin Çıkarımlar .....	74
<b>5. SONUÇ VE ÖNERİLER</b> .....	77
<b>6. KAYNAKLAR</b> .....	81
<b>ÖZGEÇMİŞ</b> .....	93

## ŞEKİL LİSTESİ

		<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1	<i>Merlangius merlangus</i> 'un dağılım Alanları.....	8
Şekil 3.1	Çalışma Kapsamında Örneklerin Toplandığı İstasyonlar....	34
Şekil 4.1	mtDNA D-loop Kontrol Bölgesi Haplotiplerine Dayalı Medyan Joining Haplotip Ağı.....	43
Şekil 4.2	Mezgit Balığı Popülasyonlarının mtDNA D-loop Kontrol Bölgesi Dizilerine Ait TPM3uf+G Baz Değişim Modeli ile Oluşturulan NJ Filogenetik Ağacı.....	45
Şekil 4.3	Mezgit Balığı Popülasyonlarının mtDNA D-loop Kontrol Bölgesi Dizilerine Ait MP Filogenetik Ağacı.....	47
Şekil 4.4	Mezgit Balığı Popülasyonlarının mtDNA D-loop Kontrol Bölgesi Dizilerine Ait TPM3uf+G Baz Değişim Modeli ile Oluşturulan ML Filogenetik Ağacı.....	49
Şekil 4.5	Mezgit Balığı Popülasyonlarının mtDNA D-loop Kontrol Bölgesi Dizilerine Dayalı BI Filogenetik Ağacı.....	50
Şekil 4.6	Mezgit Popülasyonlarının Temel Koordinatlar Analizine Dayalı Olarak Ayrıştırılması.....	51
Şekil 4.7	Mesafeye Göre İzolasyon için Mantel test.....	55
Şekil 4.8	D-loop veri setinin lognormal sıkı moleküler saat analizlerine dayalı Bayes Ayrılma süreleri (Ma) tahminleri	56
Şekil 4.9	Structure Harvester programı kullanılarak Mezgit balığı popülasyonlarının (K) tahmini.....	57
Şekil 4.10	STRUCTURE programı kullanılarak analiz edilen <i>M.</i> <i>merlangus</i> 'un beş popülasyonu arasındaki genetik ilişki....	58
Şekil 4.11-a/b	Üç haplogrup ve toplam popülasyon için gözlemlenen ve beklenen uyumsuzluk dağılımları.....	60
Şekil 4.11-c/d	Üç haplogrup ve toplam popülasyon için gözlemlenen ve beklenen uyumsuzluk dağılımları.....	61
Şekil 4.12-a/b	Üç haplogrup ve toplam popülasyon için D-loop veri. setinin BSP Analizi.....	63
Şekil 4.12-c/d	Üç haplogrup ve toplam popülasyon için D-loop veri setinin BSP Analizi.....	64



## ÇİZELGE LİSTESİ

	<b><u>Sayfa</u></b>
<b>Çizelge 3.1</b>	Örnekleme Yapılan Lokaliteler, Toplanan Birey Sayıları ve Örnekleme Tarihleri..... 35
<b>Çizelge 3.2</b>	D-loop PZR yükseltgemeleri İçin Kullanılan Protokol..... 36
<b>Çizelge 4.1</b>	Mezgit balığı veri setine ait değişken nükleotid Pozisyonları..... 41
<b>Çizelge 4.2</b>	<i>M. merlangus</i> 'a ait popülasyonların örnek sayıları (N), Haplotip sayıları (HN), Haplotip (gen) çeşitliliği (Hd), nükleotid çeşitliliği (Pi), Ortalama nükleotid farklılıkları sayısı (k) Bölgesi Dizilerine Ait TPM3uf+G Baz Değişim Modeli ile Oluşturulan NJ Filogenetik Ağacı..... 42
<b>Çizelge 4.3</b>	<i>M. merlangus</i> Popülasyonları İçin K2P Yöntemi Kullanılarak 1,000 bootstrap replikasyonuna dayalı D-loop Kontrol Bölgesi Veri Setinin Ortalama Popülasyonlar Arası ve Popülasyonlar İçi Genetik Uzaklık Değerleri..... 43
<b>Çizelge 4.4</b>	Türkiye'deki <i>Merlangius merlangus</i> Popülasyonları Üzerine Moleküler Varyans Analizinin (SAMOVA) Spatial Analiz Sonuçları..... 52
<b>Çizelge 4.5</b>	Beş Mezgit ( <i>Merlangius merlangus</i> ) Popülasyonunda Farklı Gruplar Arasında Moleküler Varyans (AMOVA) Analizi Sonuçları..... 53
<b>Çizelge 4.6</b>	Alt Popülasyonlar Arasında İkili $F_{ST}$ Değerleri..... 54
<b>Çizelge 4.7</b>	Popülasyonlar Arası Göç Değerleri ..... 54
<b>Çizelge 4.8</b>	Popülasyon çiftleri arası genetik (alt diyagonal) ve coğrafi (üst diyagonal) mesafe (km) matrisi..... 54
<b>Çizelge 4.9</b>	Structure Harvester Programı Kullanılarak Mezgit Balığı Popülasyonlarının Evanno Tablo Çıktısı..... 57
<b>Çizelge 4.10</b>	D-loop belirtecine dayalı olarak üç <i>M. merlangus</i> popülasyonları ve üç popülasyon grubu için Nötralite testlerine ait sonuçlar..... 59
<b>Çizelge 4.11</b>	Çizelge 4.11 Ani genişleme modeli altında D-loop belirtecine dayalı olarak <i>M. merlangus</i> popülasyonları için uyum iyiliği test sonuçları..... 59
<b>Çizelge 4.12</b>	D-loop Belirtecine Dayalı Olarak Üç <i>M. merlangus</i> Grubu İçin Uyumsuzluk Dağılım Analizi ve Genişleme Süresine Ait Sonuçlar..... 62

## SİMGELER ve KISALTMALAR LİSTESİ

---

<b>AIC</b>	:	Akaike Information Criterion
<b>AMOVA</b>	:	Varyans analizi
<b>bç</b>	:	Baz çifti
<b>BI</b>	:	Bayes çıkarımı
<b>BIC</b>	:	Bayesian Information Criterion
<b>BSP</b>	:	Bayesian skyline plot
<b>CI</b>	:	Consistency indeksleri
<b>cm</b>	:	Santimetre
<b>cm<sup>2</sup></b>	:	Santimetre kare
<b>d<sub>A</sub></b>	:	Net nükleotit çeşitliliği
<b>dk</b>	:	Dakika
<b>DNA</b>	:	Deoksiribonükleik asit
<b>d<sub>XY</sub></b>	:	Türler arası nükleotit çeşitliliği
<b>ESS</b>	:	Etkili örneklem büyüklüğü
<b>ESU</b>	:	Evrimsel olarak önemli birimler
<b>FASTA</b>	:	Metin tabanlı nükleotit dizi formatı
<b>F<sub>CT</sub></b>	:	Gruplar arası genetik çeşitlilik miktarı
<b>F<sub>IS</sub></b>	:	Gözlemlenen heterozigotların ortalama eksikliği
<b>F<sub>ST</sub></b>	:	Popülasyonlar arası genetik çeşitlilik miktarı
<b>Hd</b>	:	Haplotip çeşitliliği
<b>HI</b>	:	Homoplasy indeksleri
<b>HPD</b>	:	Highest posterior density
<b>HRI</b>	:	Harpending's raggedness index
<b>K</b>	:	Grup / Küme sayısı
<b>k</b>	:	Ortalama nükleotit farklılıkları sayısı
<b>K2T</b>	:	Kimura two parameter
<b>K<sub>ya</sub></b>	:	Bin yıl önce
<b>L</b>	:	Litre
<b>LGM</b>	:	Son buzul maksimumu
<b>m</b>	:	Metre
<b>M</b>	:	Molar
<b>MCMC</b>	:	Markov Chain Monte Carlo
<b>mg</b>	:	Miligram
<b>MJN</b>	:	Medyan joining ağı
<b>ml</b>	:	Mililitre
<b>ML</b>	:	Maximum Likelihood
<b>MP</b>	:	Maximum Parsimony
<b>MU</b>	:	Bağımsız popülasyonları temsil eden yönetim birimleri
<b>Mya</b>	:	Milyon yıl öne
<b>NCBI</b>	:	GenBank (Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi)
<b>N<sub>em</sub></b>	:	Popülasyonlar arasındaki etkili göçmen sayısı
<b>NFW</b>	:	Nükleazsız su (Nuclease Free Water)
<b>NJ</b>	:	Neighbour Joining
<b>Nm</b>	:	Göç oranı
<b>P</b>	:	Popülasyon içi varyans bileşenleri
<b>PCoA</b>	:	Temel koordinat analizi

---

---

<b>pH</b>	:	Asitlik veya bazlık derecesini tarif eden ölçü birimi
<b>Pi / <math>\pi</math></b>	:	Nükleotit çeşitliliği
<b>pmol</b>	:	Pikomol
<b>PZR</b>	:	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
<b>RC</b>	:	Rescaled consistency indeksleri
<b>rg</b>	:	Dağımlık indeksi
<b>RI</b>	:	Retention indeksi
<b>RNAaz</b>	:	Ribonükleaz
<b>rpm</b>	:	Devir/dakika
<b>rRNA</b>	:	Ribozomal Ribonükleik asit
<b>SAMOVA</b>	:	Varyasyonun spatial analizi
<b>sn</b>	:	Saniye
<b>SNP</b>	:	Single nucleotid polymorphism
<b>SSD</b>	:	Sum of squared deviation
<b>t</b>	:	Genişleme zamanı
<b><math>\tau</math> / tau</b>	:	Uyumsuzluk dağılım tepe noktası
<b>TBE</b>	:	Tris, Borik Asit, EDTA
<b>TE</b>	:	Tris, EDTA
<b>TEN</b>	:	Tris, EDTA, NaCl
<b>TL</b>	:	Ağaç uzunluğu
<b>tRNA</b>	:	Taşıyıcı Ribonükleik asit
<b>u</b>	:	DNA dizisi için nesil başına mutasyon oranı
<b><math>\mu</math>l</b>	:	Mikrolitre

---

## 1. GİRİŞ

Deniz ve içsularda bulunan balıklar, insanlar için en önemli besin kaynaklarından biridir. Balık sadece çok önemli bir protein kaynağı olmakla kalmaz, aynı zamanda birçok insan geçimini avcılık ve yetiştiricilik yoluyla sağlar. Aynı zamanda ülkeler arasındaki ticaretin gelişmesine de katkıda bulunur. Beslenmek için tüketilen balıkların çoğu avcılıktan gelir. Bu nedenle, ticari amaçlar için balık popülasyonlarının aşırı kullanımı, balık genetik kaynaklarının geri dönüşü olmayan bir sürece sokmaktadır. Aşırı avlanmaya ek olarak, birçok potansiyel tehdit vardır. Genetik kaynakların tükenmesine neden olan bu tehdit faktörleri sıralandığında; balıkların çeşitli nedenlerle çevreden kullandığı besinlere müdahale, doğal göç yollarının bir şekilde engellenmesi veya değiştirilmesi, su kaynakları arasındaki bağlantıların bozulması, istilacı türlerin yerel balık türlerinin yaşam alanına bir şekilde girmesi ve yerleşik balıkların besinine ortak olması, hastalık yapan farklı mikro organizmaların yaşam alanına girmesi, ayrıca çeşitli faaliyetler nedeniyle faunanın aşırı kirlenmesi ve habitat bozulması bunların başında gelmektedir. Bu faktörlerin sürekli artması, balık popülasyonlarının yok olmasına yol açan şaşırtıcı derecede ciddi bir durumu ortaya çıkarmaktadır. Bu nedenle, insan yaşamında önemli bir rol oynayan balık popülasyonlarından uzun vadeli faydalar elde etmek amacıyla moleküler genetik çalışmalara önem verilmektedir ve buda iki farklı yaklaşımı ortaya çıkarmaktadır. Bunlardan, birincisi gen havuzunun korunması, ikincisi ise genetik çeşitliliğin devamlılığının sağlanmasıdır. Burada türler içindeki genetik çeşitlilik, balıkların çevresel değişikliklere uyum sağlamasına yardımcı olan ana faktörlerden biridir. Bu genetik varyasyon, öncelikle balık popülasyonlarındaki gen mutasyonları ve popülasyonlar arasında genetik olarak farklı bireylerin transferi ile yönlendirilir ve gen frekanslarının belirlenmesiyle ölçülür.

Bir popülasyon, genlerin serbestçe dolaştığı ve bu genlerin gametler aracılığıyla rastgele bir araya geldiği bir havuza benzetilebilir. Bu popülasyonların gen havuzları, doğal seleksiyon, genetik sürüklenme, göç ve mutasyon gibi evrimsel güçler ve onları etkileyen çevresel faktörler tarafından nesilden nesile yeniden şekillenir. Alel frekansları buna göre artabilir veya azalabilir. Popülasyon genetiği çalışmaları, popülasyonlar içindeki ve arasındaki varyasyonun ne kadarının çevresel faktörlerden veya evrimsel güçlerden kaynaklandığını ve ne kadarının genetikten kaynaklandığını

gösterir. İlave olarak, bölgesel ölçekten yerel ölçeğe kadar balık popülasyonlarının (stokların) dağılımı ve çeşitliliği belirlenecektir. Örneğin, Türkiye sularında kaç mezgit popülasyonu bulunduğu, bölgesel popülasyonlar arasındaki genetik varyasyonların neler olduğu, bireysel popülasyonların dağılımı ve büyüklüğünün ne kadar olduğu gibi sorular, bu tür araştırmalar vasıtasıyla cevap bulacaktır.

Türler arasındaki genetik farklılıkların balıkların çevresel değişikliklere uyum sağlamasına yardımcı olduğu tespit edilmiş ve bu farklılıkların genellikle balık popülasyonlarındaki genetik mutasyonlara ve farklı popülasyonlardan yaşam ortamlarına olan genetik değişikliklere atfedilir ve farklı bireylerin göç etmesinden kaynaklanır (Çiftçi, 2006). Ülkemizin su kaynaklarını düşündüğümüzde, onların hem istilacı hem de yabancı türler tarafından tehdit edilebileceğini, farklı popülasyonlardan türlerin kolaylıkla diğer popülasyonlara göç edebileceğini ve göç ettikleri türlerin gen havuzunu etkilediğinin gözlemlenebileceğini görüyoruz. Dünya nüfusunun hızla artması ve sanayinin gelişmesinin bir sonucu olarak, balık türlerinin sayısı hızla azalmakta ve hatta nesli tükenmektedir. Ayrıca, popülasyonları azalan küçük balık popülasyonları, homozigotluk ve alel kaybı yoluyla genetik çeşitliliği kaybedebilir ve popülasyonlar genetik sürüklenmeyle karşı karşıya kalabilir (O' Brien, 1994).

Ekonomik açıdan önemli ve baskı altındaki türlerin popülasyon yapısının analiz edilmesinde; ekolojik, fizyolojik ve davranışsal, markalama, parazit dağılımı, morfolojik veya mitotik özelliklerin araştırılmasına ek olarak, son yıllarda balıkçılıkta moleküler genetik çalışmalara ilgi giderek artmaktadır. Şu anda, bu çalışmalar esas olarak protein ve DNA gibi iki farklı genetik belirteç sistemi kullanılarak yürütülmektedir. Protein elektroforezi çalışmalarının önemli bir avantajı, hızlı, ucuz olmaları ve çok fazla deneysel ekipman gerektirmemeleridir. Ancak dezavantajı, kullanılan numunelerin tamamen taze olması gerektiği ve DNA çalışmalarına göre çok sayıda numuneye ihtiyaç duyulduğu ve bu numunelerin genellikle öldürüldüğüdür. En önemlisi, polimorfik değildir ve bu yönüyle popülasyonlar ve türler üzerine yürütülen DNA çalışmalarıyla karşılaştırıldığında yetersiz olduğu görülmektedir. Sonuç olarak, son zamanlarda DNA belirteçleri kullanılarak çok sayıda çalışmalar yapılmıştır. Bu bağlamda, bu çalışmada günümüzde yaygın olarak kullanılan moleküler yöntemlerden biri olan mitokondriyal DNA dizi analizi yöntemi kullanılmıştır. Uygun laboratuvar koşulları göz önüne alındığında, bu teknik nispeten ucuzdur ve çok sayıda numunenin

çok kısa sürede incelenmesine olanak tanır. Moleküler genetik alanında uzman olan araştırmacı bu tekniği kullanarak çok sayıda örneğin farklı gen bölgesini lokus spesifik olarak takip edebilmekte ve taksonomik düzeyde, bireyler arasında ve içinde, aynı veya farklı türler arasında ve türler içindeki varyasyonun derecesi tahmin edilebilmektedir. Ek olarak, popülasyonlar arasındaki göçün boyutu veya gen akışını da belirleyebilmektedir.

Birçok ülkede, genetik kaynaklarını korumak ve geleceği planlamak için ticari önemi olan endemik ve tehdit altındaki türler üzerinde çok sayıda araştırma yapılmaktadır. Yapılan ilk çalışmalar ya aynı türün farklı bölgelerdeki durumu hakkında bilgi vermekte ya da sadece komşu türlerin filogenisine ışık tutmaktadır. Bu bilgilerin azlığı nedeniyle, bilim adamları izole olsun ya da olmasın birçok tür, alt tür, popülasyon ve alt popülasyon gibi farklı bölgeleri genetik çalışmalar yoluyla daha kesin olarak tanımlamak için çalışmaktadırlar. Bu bağlamda, su ürünleri yetiştiriciliğinde genetik uygulamalar yaygındır ve iç sularda Cypriniformes'ten denizlerde Pleuronectiformes'e kadar birçok tür üzerinde uygulanmış ve yaygın olarak kullanılmaktadır. Ülkemizde popülasyon genetiği ile ilgili sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Deniz ve tatlı su sistemlerindeki genetik kaynaklarımız, aşırı kullanım, istilacı türlerin etkisi, besin kaynaklarının çevreden uzaklaştırılması, doğal göç yollarının engellenmesi, kirlilik, hastalık, habitatların çeşitli faaliyetlerle yok edilmesi gibi faktörlere karşı hassastır. İnsanoğlunun geçim kaynakları için önemli bir besin kaynağı olan balık popülasyonlarından balık bolluğunu korumak ve uzun dönemli faydalar elde etmek için balık türlerinin moleküler genetik çalışmalarla daha yakından incelenmesi bilinci önem arz etmektedir. Ülkemiz'de Karadeniz, Marmara ve Kuzey Ege Denizlerinde yaygın olan mezigit balığı son yıllarda aşırı av baskısı altındadır. Ancak kromozom sayısı, avcılık ve biyoekoloji üzerine çok az araştırma yapılmıştır. Bugüne kadar yapılan genetik çalışmalardan, özellikle korumaya yönelik bir popülasyon genetiği çalışması bulunmamaktadır. Bu nedenle bu türün farklı popülasyon ve stokları üzerine moleküler genetik yöntemleri kullanılarak belirlenmesine ihtiyaç vardır. Ülkemizde yaygın olarak bulunan mezigit stokları üzerinde yapılan bu çalışmanın ekonomik önemi ve bu nedenle yoğun balıkçılık baskısı altında olması ve sadece ulusal literatüre değil dünya literatürüne de katkı sağlaması beklenmektedir.

Mezgit (*Merlangius merlangus* (Nordmann, 1840)) Avrupa'nın Karadeniz ve Akdeniz kıyılarında yayılış gösterir (Slastenenko, 1956; Fisher, 1973; Whitehead ve ark., 1986; Akşiray, 1987). Literatürde bu türün Adriyatik'teki dağılımını gösteren çalışmalar olmasına rağmen (Tortonese, 1975; Svetovidov, 1986; Whitehead ve ark., 1986; Akşiray, 1987), Milic ve Kraljević (2011) tarafından yapılan bir çalışma, Adriyatik ile ilgili morfolojik farklılıklara dikkat çekmiştir. Ayrıca, Milic ve Kraljević (2011) *Merlangius merlangus*'un alt türlerinin filogenetik durumunun tartışmalı olduğunu ve türler üzerine filogenetik çalışmaların yürütülmesi gerektiğini vurgulamışlardır. Tüm dünyada olduğu gibi Türkiye'de de önem kazanan genetik araştırmalar, daha çok tür tanımlaması için kullanılmaktadır. Genetik belirteçler kullanılarak yürütülen araştırmalardan elde edilen veriler henüz balıkçılık yönetimi kararlarına dahil edilmemiştir. Bu nedenle, aşırı avlanma baskısı altındaki mezgit popülasyonlarının genetik yapısını belirlemek için mitokondriyal DNA ile ilişkili gen bölgelerinin lokusa özgü dizileme teknikleri kullanılmış ve elde edilen verilerin etkili balıkçılık yönetimi kararların verilmesinde yardımcı olması hedeflenmiştir.

Yukarıda bahsedilen konular uluslararası bilim camiasında kabul edilmiştir ve bu türün Türkiye'deki dağılım alanları üzerine mitokondriyal D-loop kontrol bölgesi kullanımıyla henüz ayrıntılı olarak çalışılmamıştır. Ülkemizde mezgit popülasyonları ile ilgili sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Şalcıoğlu ve ark. (2020), *Merlangius merlangus*'un varsayılan iki alt türü, *M. m. euxinus* ve *M. m. merlangus* üzerine mitokondriyal sitokrom c oksidaz alt birim 1 ve sitokrom b genlerinin ve nükleer rekombinasyon aktive edici gen 1'in (RAG1) gen bölgelerini analiz ederek taksonomik ve filogenetik çözünürlüğünü araştırmıştır. Sonuçlarında, RAG1'in düşük çözünürlüğü ve/veya iki alt tür arasında potansiyel gen akışının varlığı ve net bir ayırım olmadığı ortaya çıkmıştır. Ayrıca Kuzey Ege Denizi'nden alınan örnekler ile Türk Boğazları Sistemi ve Karadeniz'den alınan örnekler arasında ve Türk Boğaz Sistemi ile Karadeniz örnekleme alanları arasındaki bazı önemli yapılar arasında önemli genetik farklılıklar gözlemlenmiştir. Ayrıca, Tayhan (2014), Orta ve Doğu Karadeniz'de bentik yayılışa sahip mezgit popülasyonlarını belirlemek için otolit şekil analizi ile birlikte, mitokondriyal kısmi sitokrom b gen bölgesi dizi analizi ve mikrosatellit lokuslarını kullanmış, otolitlerin morfolojisini, genetik özelliklerini ve potansiyellerini araştırmıştır. Çalışmanın sonucunda toplam 60 örnekle temsil edilen 2 bölge ve 5

lokusun allel frekanslarında lokaliteler arasında önemli farklılıklar tespit etmişlerdir. Araştırmacılar, Karadeniz mezigit balıkçılığının yönetimini ve popülasyon yapısını anlamak için örnek ve saha sayısının artırılmasının gelecekteki çalışmaların kalitesini artıracaklarını vurgulamaktadır. Balıklarla ilgili popülasyon genetiği çalışmaları sınırlıdır. Türkiye sularında yürütülen genetik çalışmalar; hamsi (*Engraulis encrasicolus* L.) (Bardakçı ve ark., 2014), Tekir (*Mullus surmuletus* L.) (Tuncay, 2015), Grouper türleri (*Epinephelus* spp) (Turan ve ark., 2016), Deniz levreği (*Dicentrarchus labrax* L, 1758) (Castilho ve Ciftci, 2005; Bodur ve ark., 2017) gibi birkaç tür ile gerçekleştirilmiştir. Türkiye’de gen kaynaklarının korunmasına yönelik ayrıntılı bir çalışma olması sadece Mezigit balığı için değil, av baskısına maruz kalan diğer balık türleri için de model oluşturabilir. Genetik çalışmalar su ürünlerinin ilgili olabileceği diğer konular olan ekoloji, hastalık, mikrobiyoloji, biyo-çeşitlilik ve gıda gibi araştırmalarda etkili bir bakış açısı sunacaktır.

Bu çalışmada, mezigit balığı popülasyonlarının genetik yapısı belirlendi ve tür içi varyasyon ve gen havuzlarının ayrıntılı bir değerlendirmesi yapıldı. Bu nedenle hem ülkemizde hem de Akdeniz, Ege ve Karadeniz’e kıyısı olan diğer ülkelerde yaygın olan mezigit balığı türleri ile çalışan araştırmacılar için bir bilgi kaynağı olacağı düşünülmektedir. Türkiye deniz balıklarının avcılığının büyük bir kısmını oluşturan ve avcılık yönünden kullanılan popülasyonların devamlılığının sağlanması için koruma ve yönetim planlarının oluşturulması yolu ile ülke ekonomisine katkı sağlanmasına yardımcı olacaktır. Bir anlamda günümüze kadar daha çok tür ayırımında kullanılan genetik çalışmalar, doğrudan ticari bir türün balıkçılık yönetimi kararlarının oluşturulmasında kullanılmış olacaktır.



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1 Mezgit Balığının Genel Özellikleri

#### 2.1.1 Taksonomik Durumu

Mezgit, *Merlangius merlangus* (Linnaeus, 1758) (Order: Gadiformes, Aile: Gadidae) morina benzeri balıklar familyasına aittir ve bu cinsin tek temsilcisidir. Akdeniz bölgesinde batı kesiminde *M. merlangus merlangus* ve Adriyatik, Ege ve Karadeniz'de *M. merlangus euxinus* olmak üzere iki alt tür tanımlanmıştır.

Kingdom: Animalia

Phylum: Chordata

Class: Actinopterygii

Order: Gadiformes

Family: Gadidae

Genus: *Merlangius* Garsault, 1764

Species: *M. merlangus*

Subspecies: *M. merlangus merlangus*

*M. merlangus euxinus*

#### **Binomial name**

***Merlangius merlangus***

(Linnaeus, 1758)

#### **Synonyms**

*Gadus merlangus* Linnaeus, 1758

*Odontogadus merlangus* Linnaeus, 1758

*Merlangus vulgaris* Fleming, 1828

*Gadus euxinus* Nordmann, 1840

*Merlangus linnei* Malm, 1877

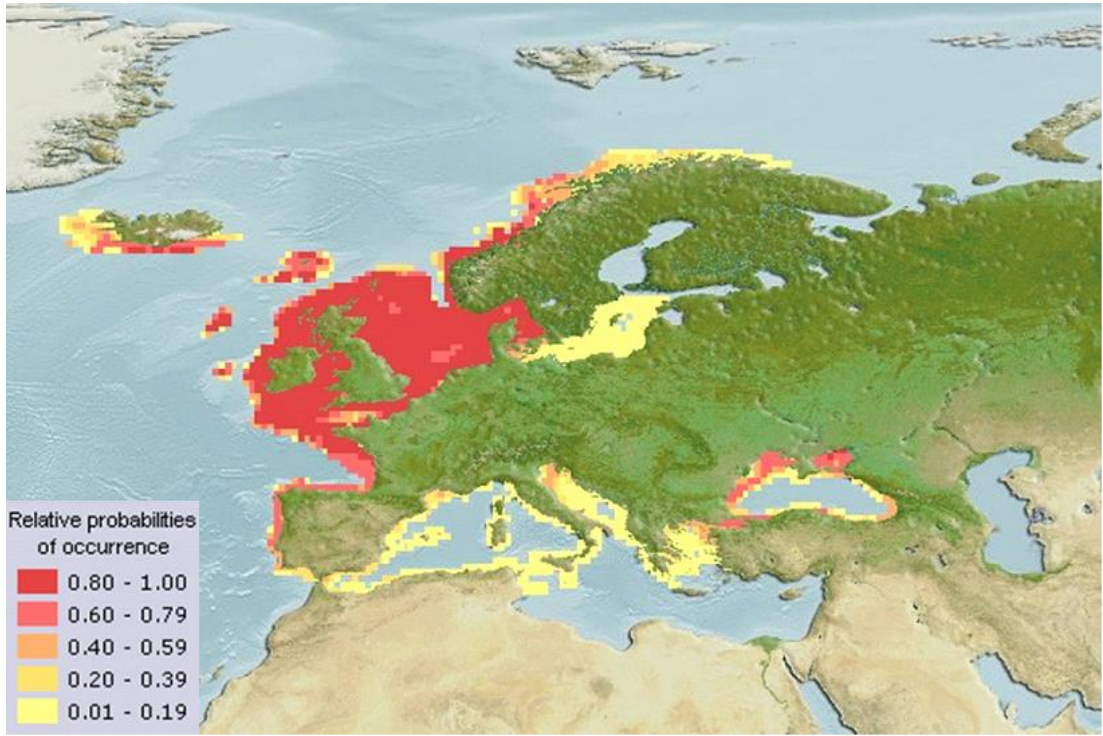
### 2.1.2 Habitat ve Biyolojisi

*Merlangius merlangus*, 10 ila 200 m derinliklerde bentopelajikde, ancak çoğunlukla 30 ila 100 m derinliklerde, özellikle çakıllı ve çamur zeminlerde ve aynı zamanda yaygın olarak kaya ve kum üzerinde bulunur. Yavrular ise, 5 ila 30 m derinlikteki daha sığ sularda bulunur. Mezgitler, ancak yaşamlarının ilk yılından sonra açık deniz için yuva alanlarından ayrıldıklarında göç ederler. İlk olgunluğa 3 veya 4 yaşında ulaşırlar. Fekondite tahminleri, küçük dişilerde 200 000 yumurtadan büyük bireylerde 1 milyondan fazla yumurtaya kadar değişir (FAO, 1990). Gruplar halinde yumurtlarlar (Murua, 2003). Yumurtlama 20 ila 150 m derinlikte, Britanya Adaları ile Biskay Körfezi arasındaki bölgede Ocak'tan Eylül'e, Akdeniz'de Ocak'tan ilkbahara kadar ve Karadeniz'de yıl boyunca gerçekleşir. Yumurtalar pelajiktir ve larvalar ve yavrular denizanası ile ilişkilidir (FAO, 1990). Medüz yumurtaları yavru mezgitler için besin kaynağı olmakla beraber, erken devredeki yeni yavrular korunmak amacıyla medüzlerin şemsiyeleri altında gizlenirler (Samsun, 1996). 5 ila 10 cm uzunluğa ulaşana kadar demersal hale gelmezler. Büyüme hızlıdır; bir yaşında balığın boyutu 15 ila 19 cm, 2 yaşında 22 ila 27 cm, 3 yaşında 30 ila 34 cm arasında değişir; dişiler erkeklerden daha hızlı büyür, yaşam beklentisi yaklaşık 10 yıldır (FAO, 1990). Türün yetişkin boyu 23 ile 70 cm arasındadır (Cohen ve ark., 1990). Yetişkinlerin beslenmesinde karidesler, yengeçler, yumuşakçalar, küçük balıklar, poliketler ve kafadanbacaklılar bulunur (FAO, 1990).

### 2.1.3 Coğrafik Dağılımı

*Merlangius merlangus*, Kuzey Atlantik'in doğusunda, İzlanda ile Portekiz arasındaki kıyı bölgelerinde yaşar ve ayrıca Karadeniz, Ege, Adriyatik ve komşu bölgelerde, kuzeybatı Akdeniz'de sınırlı bir dağılıma sahiptir (URL-1) (Şekil 2.1). California Bilimler Akademisi'ne (Catalog of Fishes) göre *Merlangius merlangus*'un tip lokalitesi Avrupa Denizi'dir (Linnaeus, 1758). *Merlangius merlangus*, *M. merlangus merlangus* ve *M. merlangus euxinus* olmak üzere iki alt türe ayrılır ve *Merlangius merlangus euxinus*'un tip lokalitesi Kırım, Karadeniz'dir (Nordmann, 1840). *M. merlangus merlangus*, İzlanda ve güneybatı Barents Denizi'nden Portekiz'in kuzey kıyıları ve batı Baltık'a kadar Avrupa kıyılarında ve batı Akdeniz'de sınırlı bir dağılımla bulunur. Öte yandan *M. merlangus euxinus*, Karadeniz'de, Azak Denizi,

Marmara Denizi, Ege Denizi ve Adriyatik'in bitişik bölgelerinde yaşar (Bilgin ve ark., 2012). İki *Merlangius merlangus* alt türünün en önemli teşhis özelliği, çenede küçük bir dikenin varlığı veya yokluğudur. Daha ayrıntılı olarak, iki alt tür bu tanısal özelliklerle tanımlanır: *Merlangius merlangus euxinus*'un (Nordmann, 1840) çenesinde bir bıyık vardır ve pektoral yüzgeci vücut uzunluğunun yaklaşık %15.4-18.2'sine ulaşır. *Merlangius merlangus merlangus*'un ise çenesinde bıyık yoktur ve pektoral yüzgeci vücut uzunluğunun yaklaşık %13.8-15.6'sı kadardır (Whitehead ve ark., 1986).



**Şekil 2.1** *Merlangius merlangus*'un dağılım alanları (AquaMaps (2019, October). Dağılım aralığı renkleri, oluşum olasılıkları olarak yorumlanabilecek habitatın uygunluk derecesini gösterir.

#### 2.1.4 Balıkçılık Durumu

2021 yılında su ürünleri avcılığı ve su ürünleri üretimi yıllık %1.8 artışla 799 851 tona ulaşmıştır. Üretimin %32.8'ini avlanan deniz balıkları, %4.1'ini avlanmadan elde edilen diğer deniz ürünleri, %4.1'ini tatlı su avcılık ürünleri ve %59'unu su ürünleri üretimi oluşturmaktadır. Deniz balığı avı 262 289.7ton olarak gerçekleşirken avlanan balıkların türlere göre dağılımı incelendiğinde ise en çok avlanan balık

türünün 151,598 tonla hamsi olduğu görülmektedir. Mezgit balığı 10,379.9ton ile sırasıyla hamsiden sonra gelen, çaça (28,040.6t), ıstarvit (19,590.1t) ve sardalya (15,800.3t) balıklarını takip ederek beşinci sırada en fazla av veren tür olmuştur (TÜİK, 2022). Mezgit, Türkiye'nin Karadeniz kıyılarındaki en önemli ticari dip balığı türlerinden biridir ve sonbahar ve kış aylarında dip trolü, yıl boyunca ise uzatma ağları ile avlanır. TÜİK (Türkiye İstatistik Kurumu) verilerine göre, son on yıllık ortalama mezgit avı (TÜİK, 2012-2021) 9,476.4±1,788.7ton (6,813.9-13,158.3ton arası) olup, bu miktar Türkiye'nin toplam deniz ürünleri üretiminin yaklaşık %3.29 oluşturmaktadır (TÜİK, 2022).

## 2.2 Karadeniz'in Biyocoğrafyası

Dünyanın en büyük ve en derin iç denizlerinden biri olan Karadeniz, kuzeyinde Kerç Boğazı ile Azak Denizi'ne, güneyinde ise Türkiye boğazlar sistemi ile Akdeniz'e bağlanır (Oğuz ve ark., 1990). Karadeniz'in korunan kütlesi ve tuzluluğunu, boğazlar sisteminin çift katmanlı akışı sağlamaktadır. Karadeniz'in az tuzlu suyu İstanbul Boğazı üzerinden Akdeniz'e, Akdeniz'in yüksek tuzlu suyu ise Çanakkale Boğazı üzerinden alt akıntı ile Karadeniz'e karışarak Karadeniz'in tuz dengesi sağlanır. Karadeniz için derin sularda tuz oranı ‰22.2- 22.4 iken, yüzey sularının tuzluluk oranı ‰13-18.5 civarındadır ve bu oran yağış, buharlaşma ve akarsu drenajlarından etkilenmektedir (Özsoy ve ark., 2002). Bunun bir sonucu olarak Karadeniz, acı yüzey sularını (~18‰) Akdeniz kökenli daha tuzlu derin sulardan (~22‰) ayıran, 100 ila 200 metre arasında sabit bir piknoklin ile karakterize edilir (Özsoy ve ark., 2002).

Tabakalaşma, ~150m derinliklerin altında anoksik koşullara yol açar. Karadeniz suları yıl boyunca özellikle kış aylarında karışma ve konveksiyona maruz kalmakta, ancak yaz aylarında sıcaklık tabakalaşması görülmektedir (Şalcıoğlu, 2018). Erken veya Orta Miyosen boyunca, Karadeniz havzası Akdeniz kökenli tuzlu sularla doluydu ve fauna Akdeniz faunasıydı. Diğer denizlerle bağlantısının kopması orta miyosenin sonunda gerçekleşmiştir (Kosswig, 1954).

50 milyon yıl kadar önce Modern Karadeniz'in bulunduğu yerde Romanya, Macaristan, Almanya'nın güneyi, İsviçre ve Fransa'nın bir kısmını da örten Paratethys

Denizi bulunmaktaydı. Bu deniz, Fransa'daki Ron vadisi üzerinden o zaman bugünkü Akdeniz'i kaplayan Tethys Denizi ile bağlantılıydı. Sonradan, 20 milyon yıl önce, bu denizin Tethys Denizi ile bağlantısı kesildi ve doğuda bugünkü Hazar Denizi'ni de içine alan ve batıda Romanya ve Macaristan'a kadar uzanan Sarmat iç denizini oluşturdu (Ermin, 1956).

Sarmatik Denizi'nin tuz oranı, okyanuslardan ayrılmış olması ve nehirlerden gelen akış nedeniyle çok düşüktü. Bu aşırı tatlı su koşulları nedeniyle, Sarmatik Denizi'nin faunası değişti ve Derisidikenliler ve Kafadanbacaklılar gibi deniz türleri yok oldu (Kosswig, 1954). Bu dönemde Ege Denizi mevcut değildi. Yaklaşık 25,000 bin yıl önce Ege kara parçasının çökmesi ile Çanakkale ve İstanbul Boğazları oluştu, bu sayede Akdeniz'in tuzlu suyu Karadeniz'e karışmaya ve suyun fizikokimyasal yapısının, dolayısıyla faunasının da yeniden şekillenmesine yol açtı (Zaitsev ve Mamaev, 1997). Karadeniz'in ihtiva ettiği balık türleri bu oluşum süreçleri göz önüne alınarak 3 farklı kategoride değerlendirilmiştir.

#### **1. Sarmatik kökenli balıklar:**

Sarmat iç denizinin Tethys Denizi ile bağlantılı olduğu dönemde yayılış gösteren ve tuz oranının düştüğü dönemlerde burada ki yaşama adapte olabilmiş türlerdir. Bunlara örnek olarak mersin balıkları verilebilir. Karadeniz'de yaşadıkları halde yumurtlama dönemlerinde nehirlere girerler. Ringa ve kayabalıkları da bu gruba girmektedir (Ermin, 1956).

#### **2. Tatlisu kökenli balıklar:**

Sarmat Denizi'nin okyanus ve Akdeniz'den izole olduğu dönemlerde tatlisu türleri burada yayılış göstermeye başlamışlardı. Ege kara parçasının çökerek boğazların oluşmasıyla yeniden tuzluluk oranı yükseldiğinde bu türler Karadeniz'i terk ederek Tuna, Dinyeper, Dinyester, Kızılırmak ve Yeşilirmak gibi tatlisulara sığınmışlardır. Bu türlere örnek sazanlar, yayın balıkları, ak balık, karabalık verilebilir. Yukarıda basedildiği gibi uyum yeteneği geliştiren mersin balıkları ise Karadeniz'de üreme dışında yaşamaya devam etmişlerdir (Ermin, 1956).

### 3. Akdeniz kökenli balıklar

Günümüzde Karadeniz balıklarının yaklaşık % 60'ını bu grup oluşturmaktadır. Akdeniz kökenli balıkları iki grup altında değerlendirilirse; Birinci gruptakiler, tüm yaşamını Karadeniz'de sürdüren ve Akdeniz'de ki akrabalarıyla morfolojik olarak da farklılaşmış türlerdir. Bunların en önemlisi özellikle Orta ve Doğu Karadeniz'de büyük ekonomik öneme sahip hamsidir. Diğer balıklar; gümüş balığı, tirsisi, barbunya, zargana, istavrit ve muhtemelen kefaldir. İkinci grubu ise Karadeniz'i sadece beslenmek için ziyaret eden balıklar oluşturur. Bu gruba dahil olanlar; uskumru, palamut, torik, lüfer, kılıç ve orkinos balıklarıdır (Ermin, 1956).

#### 2.3 Popülasyon Genetiği ve Etkili Olan Evrimsel Süreçler

Popülasyon genetiğinde, popülasyon kelimesi genellikle tüm türlere atıfta bulunmaz, daha ziyade yeterince sınırlı bir coğrafi alanda yaşayan aynı türden bir grup bireyi ifade eder, böylece herhangi bir üye potansiyel olarak karşı cinsten herhangi bir başka üyeye çiftleşebilir. Odak noktası, muhtemelen büyük ve coğrafi olarak yapılandırılmış popülasyonların lokal üreme birimleri üzerindedir. Bu tür lokal üreme birimleri genellikle lokal popülasyonlar veya alt popülasyonlar olarak isimlendirilir (Hartl, 2020). Popülasyon genetiği çalışmaları genellikle türe ait lokal popülasyonlar arasında yürütülmektedir. Bu bağlamda, popülasyonlar içinde ve popülasyonlar arasında genetik varyasyonun dağılımına ilişkin model, türün genetik popülasyon yapısı olarak adlandırılır (Laikre ve ark., 2005). Popülasyon genetiği, mikroevrim, popülasyon dinamikleri ve koruma genetiği çalışmaları için son derece yararlı bir araçtır. Bir popülasyonun genetik yapısı belirlenirken, fenotipik frekanslar, genotip frekansları, alelik frekanslar, gen akışı, kalıtsallık, genetik korelasyon, genetik çeşitlilik, heterozigotluk ve genetik dinamiklerin anlaşılmasını sağlayan diğer bazı göstergeler gibi çeşitli parametreler dikkate alınmaktadır. Genetik kaynakların tükenmesini önlemek, sürdürülebilir yönetim sağlamak, kontrol veya daha verimli koruma eylemleri için stratejiler geliştirmek bu bilgiler aracılığıyla yürütülmektedir (Maia ve de Araújo Campos, 2019). Popülasyonların gen havuzuna müdahale eden, genetik bileşenlerini değiştiren evrimsel süreçler arasında mutasyon, göç (gen akışı ve transfer), doğal seçilim ve genetik sürüklenme yer alır (Kimura, 1983).

### 2.3.1 Doğal Seçilim

Doğal seçim, bir organizmanın genotipin bir ürünü olan fenotipine (görünüşüne) ve gen ekspresyonu üzerindeki herhangi bir çevresel etkiye etki eder. Charles Darwin tarafından gözlemlenen bir süreç olan doğal seçim, organizmaların çevreye adaptasyonudur. Ayrıca, rekombinasyonun rastgele etkilerine sürekli olarak karşı koyabilen bir süreçtir (Hamilton, 2021) ve belirli bir popülasyondaki genotipik değişikliklerin seçimi yoluyla hareket eder (Maia ve de Araújo Campos, 2019). Genotiplerin farklı hayatta kalma oranlarına veya farklı uyum gücüne (fitnes) sahip olduğu bir durumda doğal seleksiyon, daha düşük uyum gücündeki genotiplerin sıklığını azaltacak ve bu genotiplerin bir sonraki neslin oluşmasına katkıda bulunan gamet sayısını da azaltacaktır (Hamilton, 2021). Doğal seçim, hayatta kalmayı ve/veya üremeyi iyileştiren alelleri, zararlı alellere karşı seçerek ve alellerin oranını bir nesilden diğerine değiştirerek mikroevrime neden olur. Doğal seleksiyon yoluyla, bireylerin hayatta kalma ve üreme şansını artıran mutasyonlar, popülasyonlarda korunma ve çoğalma (pozitif seleksiyon) eğiliminde iken popülasyonun uyum gücünü azaltan mutasyonlar (zararlı mutasyonlar) ise ortadan kalkma (saflaştırılmış seleksiyon) eğilimindedir (Maia ve de Araújo Campos, 2019).

### 2.3.2 Genetik Sürüklenme

Genetik sürüklenme, bir popülasyonda nesilden nesile tesadüfi olaylar nedeniyle meydana gelen alel frekanslarındaki değişikliklerdir (Maia ve de Araújo Campos, 2019). Her büyüklükteki popülasyonda olmasına rağmen, etkileri küçük popülasyonlarda daha güçlü olma eğilimindedir. Genellikle küçük popülasyonlarda bireylerin rastgele seçilmesi olayı nedeniyle gen frekansındaki değişiklik olarak tanımlanır. Genetik sürüklenme popülasyon için ciddi sonuçlar doğurabilir ve alellerin bir popülasyondan kalıcı olarak kaybolmasına neden olarak genetik varyasyonu azaltabilir. Sürüklenme iki şekilde meydana gelebilir: kurucu etki ve darboğaz etkisi. Kurucu etki, büyük bir popülasyondan az sayıda bireyin ayrılarak küçük bir koloni oluşturması nedeniyle çeşitliliğin azalmasıdır (Provine, 2004). Yeni koloni, orijinal popülasyondan izole olur ve kurucu bireyler, orijinal popülasyonun genetik çeşitliliğini tam olarak temsil etmeyebilir. Yani, kurucu popülasyondaki aleller, orijinal popülasyondakinden farklı frekanslarda mevcut olabilir ve bazı

aleller tamamen eksik olabilir. Kurucu etki, kavram olarak darboğaz etkisine benzer, ancak farklı bir mekanizma yoluyla gerçekleşir (felaketten ziyade kolonizasyon) (Wilkin ve Akre, 2016). Darboğaz etkisi ise, çevresel olaylar (deprem, kıtlık, sel, hastalık, yangın veya kuraklık) tarafından bir popülasyonun büyüklüğünün ciddi şekilde azalmasıyla meydana gelen aşırı bir genetik sürüklenme örneğidir (Catton Jr, 2009). Bu gibi çevresel olaylar, bir popülasyonu yok edebilir, çoğu bireyi öldürebilir ve tesadüfi küçük bir grubu geride bırakabilir. Bu gruptaki alel frekansları, olaydan önceki popülasyonunkinden çok farklı olabilir ve bazı aleller tamamen eksik olabilir. Küçük popülasyonlar, genetik sürüklenmenin etkilerine karşı daha hassasdırlar ve bu durum potansiyel olarak daha fazla alelin kaybolmasına neden olacaktır (Wilkin ve Akre, 2016).

### 2.3.3 Mutasyon

Mutasyon, bir popülasyonda yeni aleller üreten klasik genetik varyasyon kaynağıdır (Maia ve de Araújo Campos, 2019). Aleller, gametik dengesizliği artırabilen veya azaltabilen rastgele mutasyon süreciyle bir biçimden diğerine değişir. Mutasyon bir popülasyonda halihazırda bulunanlarla aynı alelleri veya popülasyonda daha önce bulunmayan yeni bir alel geni üretecektir. Bu durum düşünüldüğünde daha önce popülasyonda bulunmayan yeni alel tek bir kopya halinde, kromozom zincirindeki diğer alellerle birlikte bulunduğundan başlangıçta gametik dengesizliği artıracaktır. Sonrasında, yeni alelin frekansı arttığında rekombinasyon yeni alel ile bulunan diğer alelleri randomize etmek için çalışacak ve sonunda gametik dengesizlik seviyelerinin azalmasına katkıda bulunacaktır (Hamilton, 2021).

Mutasyonlar evrimi yönlendirirler ve tipine bağlı olarak farklı olasılıklara sahiptirler ve bunun genotiplerin evrimi üzerinde etkileri vardır. Örneğin, bir G-A mutasyonu, A nükleotidli A-G genotiplerinden daha sık meydana gelirse, popülasyonda daha yaygın olma eğilimindedir. Özetle, mutasyonlar sinonim ve sinonim olmayan, yani amino asitte değişiklik gerektiren ve peptit zincirinde değişikliğe neden olmayan, nötr mutasyon olarak da adlandırılan mutasyonlar olarak sınıflandırılabilir (Maia ve de Araújo Campos, 2019). Kimura tarafından önerilen tarafsızlık teorisine göre, popülasyonları bağlayan mutasyonların çoğu nötr tiptedir,



çünkü sinonim olmayan mutasyonların çoğu bireylerin fenotipleri üzerinde zararlı etkilere neden olur (Gillespie, 2004). Bununla birlikte, mutasyon oranlarının genellikle çok düşük olduğunu ve mutasyonun neden olduğu gamet frekansı değişikliklerinin popülasyon büyüklüğü ile ters orantılı olduğunu, böylece mutasyonun genellikle genel gametik dengesizlik seviyelerine mütevazı bir katkı yaptığını bilmek önemlidir (Hamilton, 2021).

#### **2.3.4 Gen Akışı ve Göç**

Gen akışı, aynı türün popülasyonları arasındaki yapılanma derecesini değerlendirmek için ana parametrelerden biridir (Maia ve de Araújo Campos, 2019). Alelik frekanslarda değişiklik meydana getirebilecek başka bir süreç, yaygın olarak göç veya gen akışı olarak adlandırılan diğer popülasyonlardan gen akışıdır. Hardy-Weinberg yasasının varsayımlarından biri, göçün gerçekleşmediğidir, ancak birçok doğal popülasyon diğer popülasyonlardan göç alır (Pierce, 2012). Üreme başarısı ile göç, popülasyona yeni alellerin girmesine izin verir, böylece genetik yapılarını değiştirir. Gen akışı, aynı türün popülasyonları arasındaki yapılanma derecesini değerlendirmek için ana parametrelerden biridir (Maia ve de Araújo Campos, 2019). Göç, diğer popülasyonlardan alelleri dahil ederek bir popülasyonun alelik frekansında değişikliklere neden olur. Göçe bağlı değişimin büyüklüğü, hem göçün boyutuna hem de kaynak ve alıcı popülasyonlar arasındaki alelik frekanslarındaki farka bağlıdır. Göç, popülasyonlar arasındaki genetik farklılıkları azaltır ve popülasyonlar içindeki genetik çeşitliliği artırır (Pierce, 2012). Göçün genel etkisi iki yönlüdür: (1) popülasyonlar arasındaki genetik farklılığı önler ve (2) popülasyonlar içindeki genetik çeşitliliği artırır (Pierce, 2012).

Birincisinde, popülasyonların gen havuzlarının daha benzer hale gelmesine neden olur. İki popülasyon arasında göç, başka hiçbir evrimsel güç olmadan birkaç nesil boyunca gerçekleşirse, alıcı popülasyonun alelik frekansının kaynak popülasyonunkine eşit olduğu bir dengeye ulaşılır. Göç, genetik sürüklenme ve doğal seçilimin popülasyonlar arasında genetik farklılıklara yol açtığı eğilimine karşı koyar ve popülasyonları alelik frekanslarında homojen tutma eğilimindedir. İkincisinde ise, göç, popülasyonlara genetik çeşitlilik katar. Nadir mutasyonel olaylar nedeniyle farklı popülasyonlarda farklı aleller ortaya çıkabilir ve bu aleller göç yoluyla yeni

popülasyonlara yayılarak alıcı popülasyondaki genetik varyasyonu artırabilir (Pierce, 2012).

#### **2.4 Filogenetik Analizde Kullanılan Moleküler Belirteçler**

Moleküler belirteçler, genotipleri ayırt etme yetenekleri nedeniyle genetik temelli araştırma alanlarında oldukça değerlidir. Balık popülasyonlarını incelemek için birçok moleküler yöntem mevcuttur ancak temelde protein ve DNA olmak üzere iki grup altında sınıflandırılır. Popülasyon genetiği ve filogenetik çalışmalarda rutin olarak kullanılan üç genel genetik belirteç sınıfı vardır: (1) allozimler, (2) mitokondriyal DNA ve (3) nükleer DNA (Okumuş ve Çiftci, 2003). Enzim belirteçleri (allozimler ve izozimler), DNA dizilerinde karşılaşılan polimorfizme dayalı olarak farklı bireyler arasındaki değişkenliği saptayan daha güçlü DNA belirteçlerinin bulunmasından kısa bir süre önce önem kazanmıştır (Grover ve Sharma, 2016). Allozim terimi, yalnızca lokusta farklı aleller tarafından üretilen ve genellikle protein elektroforezi ile saptanan bir enzimin genetik olarak farklı formlarını ifade eder (Okumuş ve Çiftci, 2003). Bu marker için, çalışılan doku örneğinin taze olması gerekliliğinin yanı sıra nükleotid dizisindeki belirli bir değişikliğin, amino asitte hiçbir değişiklikle sonuçlanmayabileceği ve dolayısıyla protein elektroforezi ile tespit edilememesi en büyük dezavantajdır (Okumuş ve Çiftci, 2003). Gen bazlı moleküler markörlerin geliştirilmesi, DNA markör sistemlerinin çözünürlüğü ve kullanılabilirliği, nükleik asit hibridizasyonu, polimeraz zincir reaksiyonu, son zamanlarda DNA dizileme tekniklerinin mevcudiyeti ve sağlam istatistiksel analiz yöntemlerinin geliştirilmesi bu alana yeni bir ivme kazandırdı (Grover ve Sharma, 2016). Bu bağlamda farklı nükleer kodlanmış genlerin (18S rRNA, 5S rRNA, 28S rRNA gibi), mitokondriyal (sitokrom oksidaz, mitokondriyal 16S, 12S, sitokrom b, kontrol bölgesi) ve birkaç kloroplast kodlu genin (rbcL, matK, rpl16 gibi) kullanımı artmıştır. Uygun moleküler belirteçlerin seçilmesi için kriterler ve filogenetik ağaçların oluşturulmasına yol açan adımlar hala tartışılmaktadır (Patwardhan ve ark., 2014). Hayvanlarda, mitokondrilerin genellikle maternal olarak nadir rekombinasyon olaylarıyla kalıtıldığı kabul edilir. Her organizma çok sayıda aynı haploid mitokondriyal DNA (mtDNA) kopyasına sahiptir ve bu durum homoplazmi olarak bilinir (Birky, 2001). Mitokondriyal belirteçlerin avantajları, filocoğrafik çalışmalar

için yeterli mutasyon oranlarını ve birçok türde evrensel primerlerle kolay amplifikasyonu içerir. Bununla birlikte, farklı evrimsel süreçler mtDNA dizilerini değiştirebilir ve tür çeşitliliğinin yanlış yorumlanmasına yol açabilir (Breton ve Stewart, 2015). Ayrıca, mitokondriyal marker genler üzerinde etkili olan doğrudan ve dolaylı seçim, popülasyon içindeki haplotip frekanslarını değiştirebilir ve bu nedenle türlerin gerçek demografik geçmişini göstermeyebilir (Ballard ve Whitlock, 2004). Bu nedenle, ek nükleer belirteçlerin bağımsız veri olarak seçilmesi ve mitokondriyal veri seti ile karşılaştırılması önerilmektedir. Öte yandan, popülerlik açısından nispeten yeni olmasına ve tamamen kusurlardan arınmış olmamasına rağmen moleküler belirteçlerin kullanımının filogenetik çalışmalar için geleneksel morfolojiye dayalı yöntemi tamamlayabildiği görülmektedir (Patwardhan ve ark., 2014). Ayrıca, Yeni Nesil Dizileme (NGS) tarafından desteklenen genomik ve transkriptomik tekniklerdeki gelişmeler klasik moleküler belirteçlere kıyasla benzer amaçlar için daha iyi çözünürlüğe sahip oldukları gerçeği göz önünde bulundurulmalıdır (Grover ve Sharma, 2016).

## **2.5 İstatistiksel Araçlar**

### **2.5.1 Temel Bileşen Analizi (PCA) ve Temel Koordinat Analizi (PCoA)**

Temel Bileşen Analizi (PCA) ve Temel Koordinat Analizi (PCoA), çok değişkenli analiz için kullanılan ana matematiksel prosedürlerden veya koordinasyon tekniklerinden ikisidir (Mohammadi ve Prasanna, 2003). PCA, büyük veri kümelerini, bilgilerin çoğunu koruyan daha küçük bir kümeye indirgeyen bir yöntemdir. Bir veri kümesindeki değişkenlerin sayısı azaltılır, böylece yalnızca yüksek oranda ilişkili değişkenler bir arada olur. 1 ila 3 değişkenli bir veri setini 1 boyutludan 3 boyutlu bir bakış açısına göre görselleştirmek oldukça kolaydır; ancak, 4 veya daha fazla değişkeniniz olduğunda analizler son derece karmaşık hale gelir (Mohammadi ve Prasanna, 2003). Bu nedenle araştırmacılar, işlenecek harici değişkenler olmadan verilerin görselleştirilmesini ve analiz edilmesini kolaylaştırmak için PCA gibi çok değişkenli analiz prosedürlerini kullanır (Peakall ve Smouse, 2012). Sonunda, çizimdeki noktalar arasındaki mesafelerin orijinal farklılıklara yakın olduğu verilerin düşük boyutlu bir grafik çizimi oluşturulur. Öte yandan Temel Koordinat Analizi (PCoA), düşük boyutlu bir uzayda ögeler arasındaki mesafelerle ilgili veri kümesinin

benzerliklerini keşfetmenin yanı sıra bu ögelerin harita tabanlı görselleştirilmesine yönelik çok değişkenli istatistiksel bir yöntemdir. Oluşturulan eşlemeler, hangi ögelerin birbirine yakın, hangilerinin farklı olduğunu daha iyi anlamak için kullanılabilir. Bunlar arasında PCoA Eksen 1, en büyük veri değişikliğini açıklayan ana koordinatı temsil eder ve PCoA Eksen 2, kalan veri değişikliklerinin en büyük oranını açıklayan ana koordinatı temsil eder. Örnek noktalarının uzamsal mesafesi, örnekler arasındaki mesafeyi temsil eder (Peakall ve Smouse, 2012). PCoA, temel bileşen analizinin (PCA) bir genellemesidir ve değişkenler arasındaki benzerliğin ölçülmesini içerir. PCoA ve PCA arasındaki temel farklar; (1) PCA değişkenlerdeki yapıyı araştırır, PCoA ögeler arasındaki benzerlikleri araştırır, (2) PCA değişken boyutunu azaltırken PCoA bir mesafe matrisini analiz eder ve (3) bir PCoA'nın çıktısı, bir dizi türetilmiş eksen üzerindeki bir dizi koordinattır öyle ki benzer durumlar birbirine yakındır (Sabaghnia ve ark., 2013). Bu eksenleri herhangi bir değişkenle ilişkilendirmek mümkün değildir (Tabachnick ve Fidell, 2012), son olarak (4) PCoA'nın bir avantajı da, çok fazla eksik veri olduğunda ve bireylerden daha fazla karakter olduğunda PCA'dan daha iyi kullanılabilmesidir (Zuur ve ark., 2007).

### **2.5.2 Spatial Moleküler Varyans Analizi (SAMOVA)**

Dupanloup ve ark. (2002), coğrafi olarak homojen ve birbirinden maksimum derecede farklı olan popülasyon gruplarını tanımlamak için yeni bir yaklaşım geliştirmiştir (yani, gruplar arasındaki farklılıklardan kaynaklanan toplam genetik varyans oranının maksimum olduğu popülasyonlar). Bu yöntem, simüle edilmiş bir annealing prosedürü yoluyla moleküler varyans (AMOVA) analizine dayanır ve önceden grup kompozisyonu varsayımı olmaksızın genetik olarak homojen ve birbirinden maksimum düzeyde farklılaşmış popülasyon gruplarının tanımlanmasına izin verir. Analiz ayrıca, ilave olarak bu gruplar arasındaki genetik engellerin tanımlanmasına yol açar. Amaç, bu engellerin hızlı genetik değişim bölgeleriyle örtüşüp örtüşmediğini test etmek ve popülasyonlar arasındaki gen alışverişi üzerindeki etkilerini nicel olarak değerlendirmektir (Dupanloup ve ark., 2002). Yöntem, popülasyon grupları arasındaki farklılıklar nedeniyle toplam genetik varyansın oranını maksimize etmeyi amaçlayan simüle edilmiş bir annealing prosedürüne dayanmaktadır (Spatial Moleküler Varyans Analizi; SAMOVA). Monte Carlo

simülasyonları, yaklaşımın performansını ve karşılaştırma için, bir coğrafi alandaki keskin genetik değişikliklerin bölgelerini belirlemek için yaygın olarak kullanılan bir prosedür olan Monmonier algoritmasının davranışını incelemek için kullanılır. Simülasyonlar, SAMOVA algoritması, özellikle tek bir lokustan gelen veriler mevcut olduğunda, mesafeye göre izolasyon varlığında her zaman simüle edilmiş grup yapısına karşılık gelmeyen maksimum düzeyde farklılaşmış gruplar bulunduğunu göstermiştir. Bu durumda, Monmonier algoritması önceden tanımlanmış genetik engelleri bulmada biraz daha iyi görünüyor, ancak genellikle genetik olarak farklılaşmamış popülasyon gruplarının tanımlanmasına yol açabilmektedir (Dupanloup ve ark., 2002). Genel olarak, SAMOVA algoritması kullanılarak tanımlanan gruplarla ilişkili  $F_{CT}$  değerleri, gruplar içindeki popülasyonlar arasındaki farklılaşmanın boyutunu temsil eden daha küçük  $F_{SC}$  değerleri ile uyumlu olarak, Monmonier algoritması kullanılarak tanımlananlardan çok daha yüksektir. Gruplar içindeki popülasyonların daha fazla homojenliği ile ilişkili gruplar arasındaki farklılaşmanın daha geniş olması, SAMOVA algoritması kullanılarak bulunan gruplamanın Monmonier algoritması kullanılarak elde edilenden daha güvenilir olduğu görüşünü desteklemektedir (Dupanloup ve ark., 2002).

### **2.5.3 Genetik Farklılaşma**

Popülasyonlar arasındaki genetik varyasyon ve farklılaşmanın ne ölçüde gözlemlenebileceği, büyük ölçüde kullanılan belirteçlere bağlıdır. Popülasyon farklılaşmasını araştırmak için yaygın olarak kullanılan F istatistiklerine ek olarak, ya F istatistiklerinden  $F_{IS}$  ve  $F_{ST}$  tahminlerinin önemini test eden ya da popülasyon farklılaşmasını test etmek için alternatif yöntemler kullanan istatistiksel prosedürler geliştirilmiştir (Rousset ve Raymond, 1997). Genellikle lokal farklılaşmayı belirleyebilmek için yeterli düzeyde polimorfizm gösteren belirteçler tercih edilir. Bunlar birçok popülasyon, birey ve lokus başına alel içeren veri setleri üzerinde istatistiksel testlerin hesaplanmasına izin veren bilgisayar programlarıyla birlikte, popülasyon çalışmaları için güçlü araçlar sunar (Luikart ve England, 1999).

Hemen hemen tüm türlerde, tamamen veya kısmen izole olmuş farklı popülasyonlardaki alel frekansı bir lokaliteden diğerine değişiklik gösterebilir. Alel frekansındaki bu farkın büyüklüğü, genetik farklılaşma ile ölçülür. Genetik farklılaşma

esas olarak (i) mesafeye göre izolasyon ve (ii) ayrıştırıcı yerel adaptasyondan etkilenir (Nosil, 2008). Başka bir deyişle, genetik farklılaşma, bireylerin popülasyon içindeki gen akışından etkilenir. Gen akışı, türün doğal seçim sürecinde fitness için evrimsel bir önem sağlar ve popülasyonlarındaki genetik çeşitliliğin devam etmesi için gereklidir.

### **2.5.3.1 Popülasyonlar Arasındaki Wright'ın F indeksi ve Gen Akışı ( $N_m$ )**

Popülasyon genetiğinde, F-istatistikleri (fiksasyon indeksleri olarak da bilinir) bir popülasyondaki heterozigotluk seviyesini tanımlar; daha spesifik olarak, Hardy-Weinberg beklentisiyle karşılaştırıldığında (genellikle) homozigotlukta azalmanın derecesidir. F-istatistikleri, (hiyerarşik olarak) alt bölümlere ayrılmış bir popülasyonun farklı düzeylerinde genler arasındaki korelasyonun bir ölçüsü olarak da düşünülebilir. Bu korelasyon, mutasyon, göç, akrabalı yetiştirme, doğal seçim veya Wahlund etkisi gibi birkaç evrimsel süreçten etkilenir, ancak başlangıçta genetik sürüklenmeden kaynaklanan alelik fiksasyon miktarını ölçmek için tasarlanmıştır. F istatistiği kavramı, 1920'lerde sığırlarda akrabalı çiftleştirmeyle ilgilenen Amerikalı genetikçi Sewall Wright tarafından geliştirildi. Bununla birlikte, tam baskınlık, homozigot baskınların ve heterozigotların fenotiplerinin aynı olmasına neden olduğundan, 1960'lardan itibaren moleküler genetiğin ortaya çıkışına kadar popülasyonlardaki heterozigotluğun ölçülebilmesi mümkün olmamıştır. Wright'ın (1969) F-istatistiklerinin, hayvan ve bitki türlerinin doğal popülasyonları içinde ve arasında bulunan genetik varyasyonun modelini ve kapsamını aydınlatmak için son derece yararlı bir araç olduğu kanıtlanmıştır.  $F_{IS}$ ,  $F_{ST}$  ve  $F_{IT}$  ölçümleri, popülasyon yapısının çeşitli seviyelerinde heterozigotluk miktarlarıyla ilgilidir. Hepsi birlikte, F-istatistikleri olarak adlandırılırlar ve akrabalı yetiştirme katsayısı olan  $F'$ den türetilirler. Pek çok alt popülasyona bölünmüş toplam bir popülasyon için Wright (1951), toplam popülasyon için beklenene göre bireyler arasında gözlemlenen heterozigotların ortalama eksikliği ( $F_{IT}$ ), toplam popülasyon için beklenene göre alt popülasyonlar arasında beklenen heterozigotların ortalama eksikliği ( $F_{ST}$ ) ve alt popülasyonlarda beklenene göre bireyler arasında gözlemlenen heterozigotların ortalama eksikliği ( $F_{IS}$ ) ilişkilendirmek için üç F istatistiği tanımlamıştır. Bu araçlar, bir popülasyondaki homozigotluk oranını gösteren akrabalı çiftleşme katsayısı ile

kolayca ilişkilendirilebildikleri için popülasyon biyologları tarafından sıklıkla kullanılmaktadır (Çiftci ve Okumuş, 2002).

Gen göçü olarak da adlandırılan gen akışı, genlerin popülasyonlar içinde ve popülasyonlar arasındaki hareketi olarak tanımlanır ve bu nedenle genlerin mekansal dağılımlarını değiştirmede etkili olan gametlerin ve bireylerin tüm hareketlerini içerir (Slatkin, 1985). Genetik materyalin bir türün bir popülasyonundan diğerine girmesi ve böylece alıcı popülasyonun gen havuzunun bileşimini değiştirmesidir. Gen akışı yoluyla yeni alellerin gen havuzuna girmesi, popülasyon içindeki varyasyonu artırır ve yeni gen kombinasyonlarını mümkün kılar. Gen akışı bir türün tamamı için alel frekanslarını değiştirmese de türün yerel popülasyonlarındaki alel frekanslarını değiştirebilir. Göç durumunda, yerleşik ve göç eden bireyler arasındaki alel frekanslarındaki fark ne kadar büyükse ve göç eden bireylerin sayısı ne kadar fazlaysa, göçmenlerin yerleşik popülasyonun genetik yapısını değiştirmedeki etkisi o kadar büyük olur (URL-2). Bununla birlikte, gen akışına engel teşkil eden bazı faktörler vardır. Gen akışının hızını etkileyen faktörlerden bazıları fiziksel engeller, jeolojik olaylar ve coğrafi engeller olarak sıralanabilir. Gen akışını doğrudan izlemek zordur, bu nedenle genetik belirteçler kullanarak istatistiksel yaklaşımlarla dolaylı olarak çıkarılmalıdır (Avice, 1994). Göç oranını ( $m$ ) ölçmek için etkin nüfus büyüklüğünün ( $N_e$ ) bilinmesi gerekir; bununla birlikte, bir popülasyona göç eden bireylerin mutlak sayısı ( $N_{em}$ ), kaynak ve yerli popülasyonlar arasındaki genetik farklılaşma düzeyi ile ilgilidir. Doğal popülasyonların gen akışının analizleri genellikle "island" veya "stepping stone" modellerine dayanır (Rousset, 1997). Wright (1951) tarafından geliştirilen "island" modeli, aralarında yalnızca sınırlı düzeyde gen akışı olan birkaç gruba bölünmüş bir popülasyonu tanımlar. Bu modeli kullanarak, genetik farklılaşma ( $F_{ST}$ ), yerel popülasyon büyüklüğü ve göç arasındaki ilişki  $F_{ST}=1/(1+4N_em)$  formülünde verildiği gibidir. Bu ilişki, çeşitli türlerdeki gen akışını veya daha spesifik olarak, popülasyonlar arasındaki etkili göçmen sayısını ( $N_{em}$  değerleri) tahmin etmek için yaygın olarak kullanılmaktadır (Çiftci ve Okumuş, 2002).

### **2.5.3.2 Genetik Verilerin Moleküler Varyans Analizi (AMOVA)**

Excoffier ve ark. (1992) tarafından geliştirilen moleküler varyans analizi (AMOVA), tipik olarak biyolojik olan tek bir türdeki moleküler algoritma için

istatistiksel bir modeldir. Yöntem, farklı moleküler veri türlerinin yanı sıra farklı evrimsel varsayım türlerine karşılık gelen birkaç alternatif girdi matrisini barındıracak kadar esneklik. İsim ve model, ANOVA'dan ilham almıştır. Moleküler Varyans Analizi (AMOVA), aleller arasındaki mutasyon mesafesini hesaba katarak moleküler verilerden popülasyon farklılaşmasını tahmin etmeye yönelik bir yöntemdir. Alel frekanslarına dayalı olarak genetik farklılaşmayı ölçen  $F_{ST}$ 'den farklı olarak AMOVA, moleküler verileri vektörler olarak ele alır ve aleller arasındaki Öklid mesafelerini (Euclidean distances) tahmin eder. Ayrıca, alt popülasyonları hiyerarşik bir yapıda gruplandırarak farklılaşma ile ilgili hipotezleri test etmek mümkündür (Excoffier ve ark., 1992). Farklı olası genetik yapı seviyeleriyle (gruplar arasında, popülasyon grupları içinde, popülasyonlar içinde, bireyler içinde) ilişkili olarak kovaryans bileşenlerinin önemi, anparametrik permütasyon prosedürleri kullanılarak test edilir (Excoffier ve ark., 1992). Moleküler varyans analizi, popülasyon ve/veya popülasyon grupları arasındaki farklılıkları ANOVA'ya benzer bir şekilde test eder. Fakat, analizin temel yapısını değiştirmeden farklı evrimsel varsayımlar içermesi ve normal dağılım varsayımını gerektirmeyen permütasyonel yöntemler kullanması ile varyans analizinden (ANOVA) farklılaşır.

### 2.5.3.3 Mantel Testi

Mantel testi, iki matris arasındaki ilişkiyi test etmek için 1967'de önerildi ve ilk olarak Sokal (1979) tarafından popülasyon genetiğinde uygulandı. İstatistiksel performansıyla ilgili son tartışmalara ve eleştirilere (örn. Harmon ve Glor, 2010; Legendre ve Fortin, 2010; Guillot ve Rousset, 2013) ve mekansal çok değişkenli verileri analiz etmek için daha sofistike ve karmaşık yaklaşımların varlığına rağmen, Mantel testi hala yaygın olarak kullanılmaktadır. Mantel testinin prensibi, iki mesafe matrisi arasında bir korelasyonun varlığını test etmeye dayanır (Mantel, 1967; Rousset ve Raymond, 1997). Örneğin, genetik uzaklık matrisi ile coğrafi uzaklık matrisi arasındaki ilişki, mesafeye göre izolasyonun varlığı açısından test edilebilir. Uygun istatistikleri kullanarak, iki matrisin öğeleri arasındaki ilişkiyi incelemek ve ayrıca permütasyon testi kullanarak sonuçların istatistiksel önemini kontrol etmek mümkündür (Koban, 2004).



#### 2.5.3.4 Ayrılma Zamanı Tahmini

Türlerin ayrılma sürelerinin doğru tahminleri, tarihsel biyocoğrafyayı anlamak, çeşitlenme oranlarını tahmin etmek ve moleküler evrim oranlarındaki değişimin nedenlerini belirlemek için hayati önem taşır. 1962 ile 1965 arasında, Kimura nötral evrim teorisini öne sürmeden önce (Kimura, 1968), moleküler ayrılma zamanının belirlenmesi fikri ilk olarak Zuckerkandl ve Pauling tarafından proteinlerin evrim hızı üzerine iki temel makale yayınlanmıştır (Zuckerkandl, 1962; Zuckerkandl ve Pauling, 1965). İlk olarak bu makalelerde moleküler ayrılma zamanının belirlenmesi ve iki tür arasındaki ayrılma süresinin moleküler diziler arasındaki farkın miktarıyla ölçülebileceği fikri ileri sürülmüştür. Bu çalışma, moleküler evrim hızının zaman içinde sabit kaldığını varsayan moleküler saate dayanmaktadır. Moleküler saatler türleşme zamanlarını tahmin etmek için moleküler evrimde yaygın olarak kullanılmaktadır. Eğer bir moleküler saat varsa ve bir genin evrim hızı hesaplanabiliyorsa, o zaman bu bilgi sadece DNA veya protein dizilerini karşılaştırarak iki tür arasındaki bilinmeyen ayrılma zamanını tarihlendirmek için kolayca kullanılabilir. Öte yandan, iki tür arasındaki ayrılma süresi hakkındaki bilgi (örneğin, fosil verilerinden tahmin edilen) biliniyorsa, o zaman belirli bir genin moleküler evrim hızı çıkarılabilir. Moleküler saat varsayımının ek avantajı, filogenetik yapılanmayı çok daha kolay ve daha doğru hale getirebilmesidir (Lemey ve Posada, 2009). Bununla birlikte, evrim hızı ki bunun altında yatan mutasyon hızı, bir türdeki metabolik hızlar, jenerasyon süreleri, popülasyon boyutları ve seçici baskı gibi çok sayıda faktöre bağlıdır. Bu nedenle, gerçek moleküler veriler sıklıkla katı bir moleküler saat varsayımına uymayabilir. Yakın zamanda, ayrılma zamanlarını tahmin ederken hız farklılıklarını barındırabilen rahat moleküler saat modellerinin geliştirildiğinin de bilinmesi gerekir. Thorne ve ark. (1998), evrim oranlarının zaman içinde değiştiği modellere Bayesçi bir yaklaşım sunmuştur (Kishino ve ark., 2001; Thorne ve ark., 1998). Bayes analizi, önceki dağılımların belirtilmesini gerektirir; bu durumda, her dalın, atalarından kalma oranını merkez alan bir lognormal dağılımdan elde edilen bir orana sahip olduğu varsayılır (Lemey ve Posada, 2009). Bayesian çerçevesinde ayrılma zamanının tahmin yöntemlerinin uygulanması, modellerin varsayımlarının yeterli olması koşuluyla, oran farklılıklarını modellemek ve türleşme sürelerine ilişkin güvenilir tahminler elde etmek için esnek bir yol sağlar. Ayrıca,

yakından ilişkili soy hatlarına benzer biyolojik özelliklere sahip olduğu ve bu nedenle benzer evrim oranlarına sahip olmalarının beklendiği ve bu oranlardaki önemli değişikliklerin daha uzun zaman dilimlerinde daha makul olduğu mantığından esinlenmiştir. Bu modellerdeki oransal dağılımlar, Markov Zinciri Monte Carlo (MCMC) entegrasyonu kullanılarak elde edilmiştir (Lemey ve Posada, 2009).

### **2.5.3.5 Popülasyonların Genetik Yapı Analizi**

Herhangi bir türün, bireyleri arasındaki genetik benzerlik, alt grupların varlığı ve coğrafi izolasyon tarafından yapılandırılır. Popülasyon yapısını anlamak, popülasyon genetik analizi için önemli bir adımdır. Bu bağlamda, farklı popülasyonların varlığının çıkarımının yapılması, bireylerin popülasyonlara atanması, hibrit bölgelerin incelenmesi, göç eden ve karışık bireylerin tanımlanması ve birçok bireyin göçmen veya karışık olduğu durumlarda popülasyon alel frekanslarının tahmin edilmesi için STRUCTURE olarak bilinen model tabanlı kümeleme yöntemi (Pritchard ve ark., 2000) kullanılmaktadır. SNP'ler, mikrosatellitler, RFLP'ler ve AFLP'ler dahil olmak üzere yaygın olarak kullanılan genetik belirteçlerin çoğuna uygulanabilir. STRUCTURE, temelde Bayesçi olasılıkları karşılaştırma ilkesini kullandığından, analizi daha fazla şekillendirmek için çalışma örnekleri hakkında önceden bilgi sağlanabilir. Örneğin, numune alma yeri hakkındaki bilgiler, genetik yakınlıklarıyla ilişkilendirilebilecek bireyler arasında paylaşılırsa, bir özellik olarak girdi olabilir. Popülasyonların tanımı coğrafi dağılımdan değerlendirilebilir, ancak aynı zamanda genellikle örneklenen bireylerin fenotipi, davranışı ve ekolojisi dahil olmak üzere alternatif özellikler de popülasyonları tanımlayabilir. Bu nedenle, bireylerin genetik olmayan kriterlerle popülasyonlara atanmasının popülasyonlar arasında tespit edilen genetik örüntülerle tutarlı olup olmadığının değerlendirilmesi önemlidir (Pritchard ve ark., 2000; Waples ve Gaggiotti, 2006). STRUCTURE, Markov Zinciri Monte Carlo (MCMC) tahminini uygulayan sistematik bir Bayes kümeleme yaklaşımı kullanır. MCMC süreci, bireyleri önceden belirlenmiş sayıda gruba rastgele atamakla başlar, ardından her gruptaki varyant frekansları tahmin edilir ve bireyler bu frekans tahminlerine göre yeniden atanır. Bu, her bir popülasyondaki güvenilir alel frekansı tahminlerine ve bireylerin bir popülasyona ait olma olasılıklarına doğru ilerleyen bir yakınsama ile sonuçlanan yanma sürecinde, tipik

olarak 100 000 yinelemeden oluşan birçok kez tekrarlanır. Her bir veride tanımlanan alel frekanslarının bir alt kümesiyle karakterize edilen K varsayılan popülasyon veya genetik grubu verilerine bir model uygular. Bu var sayılan popülasyon sayısı önceden seçilmesi gerekmesine rağmen, genellikle K örnek seti için kullanıcı tarafından kolayca tanımlanamaz. Bu nedenle, grup sayısını anlamak için, Pritchard ve ark. (2000) tarafından açıklanan tamamen Bayesci bir süreç olan, farklı küme sayısı (K) değerleri ile program çalıştırılır. STRUCTURE, veri (X) verildiğinde bir olasılık Pr (X/K) atfeder ve daha olası küme sayısını belirlemek için log Pr (X/K) kullanılır (Pritchard ve ark., 2000). Bununla birlikte, Pr (X/K)'yi hesapsal olarak tahmin etmek zordur ve Pritchard ve ark. (2000), genotiplenmiş verilerin K olasılığını yaklaşık olarak tahmin etmek için ( $\Delta K$ ) kullanımını önermiştir. Delta K ikinci dereceden değişim oranına göre hesaplanır (Evanno ve ark., 2005) ve  $\Delta K$ , K'nin gerçek değerinde net bir tepe noktası gösterir.

#### **2.5.3.6 Demografik Geçmiş ve Nötralite Testi**

Türler veya türlerin sahip olduğu popülasyonlar içindeki ve arasındaki nükleer veya mitogenomik DNA dizilerinin karşılaştırılması, yalnızca çalışılan gen bölgelerindeki etkin evrimsel güçleri belirlemek için değil, tür veya popülasyonlarının evrimsel tarihini belirlemek için de iyi bir yaklaşımdır. Bir popülasyondan alınan DNA dizi örneklerindeki polimorfizm miktarı ve yapısı, yalnızca dizilerin atalarındaki mutasyonları değil, bununla birlikte doğal seleksiyon ve genetik sürüklenmeyi de yansıtır (Doğan ve Doğan, 2017). Moleküler popülasyon genetiği çalışmalarında popülasyonların demografik ve doğal seleksiyonun varlığını tespiti, onlarca yıldır genetikte önemli bir araştırma konusudur. Kimura (1968), çoğu polimorfizmin seçici olarak nötr olduğunu ilk kez öne sürdüğünden beri, nötr hipotezi test etmek, moleküler popülasyon genetiğinin ana hedeflerinden biri olmuştur (Doğan ve Doğan, 2017). Bu amaçla, her grubun popülasyon geçmişini araştırmak için Tajima'nın D (Tajima, 1989) ve Fu'nun  $F_s$  (Fu, 1997) gibi istatistiksel tarafsızlık testleri kullanılmaktadır. Bu testler, mutasyon-sürüklenme dengesinde popülasyon büyüklüğünün değişmediği varsayımından türetilen nötraliteden sapmayı tahmin eder. Tajima'nın D'si, polimorfik bölgelerin sayısı ile veri setindeki ortalama nükleotit farklılıkları arasındaki korelasyonu test eder (Tajima, 1989). Fu'nun  $F_s$ 'leri, gözlemlenen haplotip sayısı göz

önüne alındığında daha büyük bir sayının bulunup bulunmadığını değerlendirir (Fu, 1997). Negatif ve önemli bir Tajima'nın D'si, son seçici sürüklenmeyi, nadir alellerin fazlalığını ve yakın zamandaki bir darboğazdan sonra popülasyon genişlemesini tanımlarken (Tajima, 1989; Simonsen ve ark., 1995), pozitif bir D, dengeleyici seleksiyonu, nadir alellerin eksikliğini ve ani popülasyon daralmasını tanımlar (Tajima, 1989). Anlamlı ve negatif bir Fu'nun Fs değeri, geçmişteki popülasyon artışının anlamlı bir teyididir ve bir popülasyon genişleme modeli oluşturan evrimsel güçleri dışlar (Fu ve Li, 1993; Fu, 1997). Öte yandan, Fu istatistiğinin pozitif Fs değerleri, dizilerin geçmişte karşılaşılan seleksiyonla tutarlı bir modelde nötr olmayan bir şekilde geliştiğini gösterir (Fu ve Li, 1993; Okello ve ark., 2005). Kısaca bu testler ile, popülasyonlar dengedemi/değilmi ve popülasyonlar içerisinde herhangi bir alele dair seçim varmı/yokmu soruları test edilir (Doğan ve Doğan, 2017).

İkili gruplara ait farklılıkların dağılımı da denen uyumsuzluk dağılımı (Mismatch) analizleri çeşitliliği ölçülmek için en sık kullanılan yöntemlerden biridir. Uyumsuzluk dağılımı, bir numunedeki DNA dizileri arasındaki ikili farklılıkların modelini gösteren bir frekans grafiği veya dağılım grafiğidir ve genellikle düşüşte veya demografik dengede olan popülasyonlardan alınan örnekler için çok modlu olarak sunulur. Buna karşılık, popülasyonlarda genellikle tek modlu bir dağılım gösterir; bu, popülasyonların son zamanlarda ani bir demografik genişleme (Slatkin ve Hudson, 1991; Rogers ve Harpending, 1992) veya komşu popülasyonlar arasında yüksek göç oranlarıyla alan genişlemesi (Excoffier, 2004; Ray ve ark., 2003) yaşadığı anlamına gelir. İncelenen verilerin ani genişleme modeline uyduğu hipotezi, sapmaların karesi (SSD) (Schneider ve Excoffier, 1999) ve Dağınıklık indeksi (rg) (Harpending, 1994) toplamı ile doğrulanır. Anlamlı olmayan SSD değerleri, gözlemlenen verilerin demografik genişleme hipotezini desteklediğini ve darboğaz olayını reddettiğini göstermektedir. Anlamlı olmayan rg değerleri de popülasyon genişlemesini gösterir.

## **2.5.4 Filogenetik Analiz**

### **2.5.4.1 Filogenetik Ağaç Oluşturma Yöntemleri**

Temel alınan yöntemlere göre “Mesafe temelli” ve “Karakter temelli” olarak iki gruba ayrılmaktadır.

#### **2.5.4.1.1 Mesafe Temelli Yöntemler**

Taksonların, aralarındaki uzaklıklara göre yerleştirildiği filogenetik ağaçlardır. Filogenetik ağaç, dizilerde bulunan her bir çift arasındaki değişikliklerin sayısı esas alınır. En az genetik uzaklığa sahip türler birleştirilerek, hizalanan dizilerin farklılık miktarına göre ağaç oluşturulur (Freeman ve Herron, 1999). Diğer yöntemlerden hızlı ve daha kolaydır (Mount, 2001).

##### **2.5.4.1.1.1 Aritmetik Ortalama Kullanarak Ağırlıksız Gruplama (UPGMA) Yöntemi**

Filogenetik analizlerde kullanılan küme analiz algoritması, tekil taksonla başlayarak hiyerarşik sonuçlar vermektedir (Rohlf, 1970). Kavramsal anlamda açık algoritmalarıdır. Taksonların birbirine olan çift yönlü mesafe (pairwise distance) matrislerinin verilmesiyle, bu yöntemlerin tümünde en az mesafede bulunan çiftten en uzak çiftlere doğru bağlanma gerçekleşir. Her basamakta iki takson veya bağlantılı grupları içeren taksonlar tek kümede birleşir. Elde edilen sonuç “dendogram” olarak adlandırılır. Dendogramlar ağaca benzeyen köklü ve tekrarlı çatal yapıdadır. Çok sayıdaki olası küme algoritmalarının haricinde sadece iki tanesi filogenetikte kullanılmaktadır. Bunlardan ilki Unweighted Pair-Group Method Using Arithmetic Average (UPGMA); ve diğeri ise Weighted Pair-Group Method Using Arithmetic Average (WPGMA) olarak isimlendirilir (Çiftci, 2006).

##### **2.5.4.1.1.2 Komşu Birleştirme Yöntemi (Neighbour-Joining - NJ)**

Bu metot, taksonların kökten eşit mesafede olduğunu varsaymaz, optimizasyon kriterleri kısmen görmezden gelinerek dallar boyunca moleküler farklılıkların eşit olmayan oranlara göre analizini gerçekleştirir. Verileri, genetik mesafeleri açısından kümeleyerek değerlendiren yöntem, köksüz filogenetik ağaç oluşturan en basit metottur. Olası tüm ağaç topolojilerinin değerlendirilmediği bu metotta, oluşturulan tek bir ağaç ile geniş veri setlerinin analizi hızla yapılabilmektedir. Bu metot hızlı ve yüksek kesinlikli sonuçlar verdiği için filogenetik ağaç oluşturmada oldukça yaygın kullanılmaktadır (Xiong, 2006).

#### **2.5.4.1.2 Karakter Temelli Yöntemler**

Atasal ilişkiler belirlenirken bilinen tüm evrimsel bilgiyi kullanan oldukça karmaşık ve uğraş isteyen metotlardır. Bunlar: Maksimum parsimoni (MP), Maksimum likelihood (ML) ve Bayesian analizleridir.

##### **2.5.4.1.2.1 Maksimum Tutumluluk Yöntemi (Maksimum Parsimoni - MP)**

Gözlenen bir durumun en sade şekilde açıklanması olarak ifade edilebilir. Bu yöntemde örnekler ortak bir atadan geldiği için, bütün dizilerin en az değişim gösterdiği ağaç MP ağacı olarak değerlendirilir. İki birim arasında minimum farklanma gerektiren ağaç en uygun olandır. Maksimum tutumluluk yöntemi minimum mutasyonu saptamaya dayalı bir yöntemdir. Bu nedenle en ideal sonuçlar, dizi setleri arasındaki benzerliğin maksimum miktarda olduğu ve az sayıda örneğin değerlendirildiği durumlar için etkili bir yöntemdir (Freeman ve Herron, 1999).

##### **2.5.4.1.2.2 Maksimum Olasılık Yöntemi (Maksimum Likelihood - ML)**

Birçok olası ağaç içerisinde en iyi ağacı seçmede istatistiksel testlerin kullanılmasına imkan veren bu metot ile her ağaç topolojisi değerlendirilir ve tüm topolojiler için maksimum olasılığı baz alır. Ortaya çıkan ağaç doğruysa, her bir dalın oluşturulma olasılıkları toplamı, gözlenen verilerin oluşturma olasılığını temsil eder ve bu değer ağaçların olasılığı olarak kabul edilir (Sarıçam ve Müştak, 2015).

##### **2.5.4.1.2.3 Bayesian Çıkarsama Yöntemi**

Temelde ML metoduna benzese de olasılık kullanımı şekli ile farklılık gösterir. Bu yöntemle, oluşabilecek bütün filogenilerin olasılık dağılımları hesaplanmaktadır. Bunu, evrimsel parametrelerin dağılımlarını kullanarak yapar. Bu teorem rastgele değişkenin koşullu olasılıklar ile arasındaki ilişkiyi olasılık dağılımı içinde gösterir. Model parametrelerinin sonsal dağılımını tahmin etmek için Markov Chain Monte Carlo (MCMC) yöntemlerini kullanır (Anonim, 2022).

#### **2.5.5 Haplotip Ağı Analizi**

Haplotip ağ yapısı, bir popülasyon veya tür içindeki DNA dizileri arasındaki ilişkileri analiz etmek ve görselleştirmek ve ayrıca popülasyonların biyocoğrafyası ve

tarihi hakkında çıkarımlarda bulunmak için yaygın olarak kullanılan bir yaklaşımdır. Literatürde haplotip ağlarını çıkarsamak için çeşitli yöntemler tarif edilmiştir. Bunların bazıları TCS (Clement ve ark., 2000), NETWORK (Bandelt ve ark.,1999), SPLITSTREE (Huson ve Bryant, 2006) ve PEGAS (Paradis, 2010) gibi yazılım paketlerinde uygulanmış ve bu yöntemler literatürde yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak, standart yöntemlerin tümünü uygulayan tek bir yazılım paketi bulunmamaktadır. Bu analizlerin önemli bir yönü, haplotipler arasındaki atasal ve kalıtsal ilişkilerin ortaya çıkarılmasıdır.

## 2.6 Çalışmanın Amacı

Dünyada son yıllarda su ürünlerinde genetik uygulamalar oldukça yaygınlaşmıştır. Gerek yetiştiricilik gerekse avcılık gibi çeşitli uygulamalarda genetik yaklaşım farklı şekillerde yer almaktadır. Özellikle bu tür çalışmaların yaygın olarak yürütüldüğü ülkelerde (ABD, Almanya, İngiltere vb.) populasyonların ileriye dönük planlamaları için populasyon genetiği çalışmaları yıllardır yoğun şekilde sürdürülmektedir. Özellikle bu çalışmaların alt yapılarının oluşturulmasına yönelik olarak da markır geliştirilmesi, mevcut bir markırın uygulanabilirliğinin artırılması, primerler, veri bankaları, konu laboratuvarları gibi konularda çalışmalar yürütülmektedir. Ülkemizdeki türlere yönelik spesifik markırlar (primerler) mevcut değildir. Popülasyon genetiği konusunda Karadeniz için sınırlı sayıda tür (alabalık, hamsi, barbun vb.) üzerine yürütülmüş çalışmalar dışında yapılan başka herhangi bir çalışma yoktur.

Bu çalışma ile, populasyonlar içi ve arası genetik yapının karşılaştırılmasında, popülasyonlar arası göç miktarının hesaplanmasında ve bundan dolayı stok tayini ve ayrımı çalışmalarında yaygın olarak kullanılan, güvenilir ve yüksek polimorfizm gösteren moleküler belirteçler kullanılarak, ekonomik öneme sahip ve aşırı av baskısına maruz kalan Mezgit balığının (*Merlangius merlangus* Linnaeus, 1758) popülasyonlarının genetik yapısı araştırılması planlanmıştır. Birçok ülke kendi gen kaynaklarını korumak ve geleceğe dönük planlamalar oluşturmak amacıyla özellikle ticari öneme sahip, endemik ve tehdit altındaki türler üzerine yoğun genetik çalışmalar yürütmektedir. Ülkemizde ise popülasyon genetiği konusunda çok az çalışma bulunmaktadır. Karadeniz, Marmara Denizi ve Kuzey Ege'de dağılım gösteren

ekonomik öneme sahip bir tür olan mezzit balığı uzun yıllardır aşırı avcılık baskısına maruz kalmaktadır. Buna rağmen bu konuda yalnızca kromozom sayısı, avcılık, üreme göçü ile ilgili sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Günümüze kadar genetik tabanlı, özellikle korumaya yönelik popülasyon genetiği çalışmaları yapılmamıştır. Bu nedenle moleküler genetik metotlarla bu türün farklı stoklarının belirlenmesi ve koruma stratejilerinin oluşturulmasına olan ihtiyaç nedeniyle bu çalışma yürütülmüştür.

Yürütülen bu çalışmayla, mezzit balığı stoklarının genetik yapıları belirlenmesi, tür içi varyasyonlarının ve gen havuzlarının detaylı bir şekilde değerlendirilmesi yapılmaktadır. Türkiye deniz balıklarının avcılığının büyük bir kısmını oluşturan ve avcılık yönünden kullanılan popülasyonlarının devamlılığının sağlanması için koruma ve yönetim planlarının oluşturulması yolu ile ülke ekonomisine katkı sağlanmasına yardımcı olması düşünülmektedir. Bir anlamda günümüze kadar daha çok tür ayrımında kullanılan genetik çalışmalar, doğrudan ticari bir türün balıkçılık yönetimi kararlarının oluşturulmasında kullanılmış olacaktır. Ayrıca, elde edilen veriler hem ülkemizdeki araştırmacılar için hem de Ege, Akdeniz ve Karadeniz'e kıyısı olan diğer ülkelerde de dağılım gösteren Mezzit balığı türleriyle çalışacak araştırmacılara kaynak olacaktır.

## 2.7 Literatür Özeti

Şalcıoğlu ve ark. (2020) *Merlangius merlangus*'un varsayılan iki alt türü olan *M. m. euxinus* ve *M. m. merlangus*'u araştırmışlar. Yine bu çalışmada Türkiye Boğazlar Sistemi'nin *M. merlangus*'un evrimsel ve tarihi genetik yapısı üzerindeki etkisini araştırmışlar. Bu çalışmada COI, Cytb ve RAG1 genlerini analiz etmişler ve RAG1'in düşük çözünürlüğü ve/veya 2 alt türün aralarında gen akışının varlığına vurgu yaparak bu türler arasında bir ayrım belirleyemediklerini ileri sürmüşlerdir. Buna karşın, Kuzey Ege örnekleri ile Karadeniz ve boğazlar sisteminden alınan örnekler arasında önemli genetik farklılıklar olduğunu rapor etmişler ve Doğu Akdeniz *M. merlangus*'unun Atlantik'tekilere kıyasla daha düşük genetik değişkenliği, bu sularda yaygın olarak bulunan bir eğilim olan son buzul döneminden önceki potansiyel bir popülasyon darboğazından kaynaklanabileceğini önermişlerdir.



Jørgensen ve ark. (2018) Kuzey Atlantik Okyanusu'nda aldıkları 124 morina örneğinin tüm mtDNA dizisini belirlemişler ve tüm örneklerin benzersiz mtDNA haplotipleri barındırdığını belirtmişlerdir. Protein kodlayan bölgelerde 109 eşanlamlı olmayan bölge dahil toplam 592 polimorfik bölge tanımlamışlardır. Doğu – Kuzey Atlantik ekotipleri arasında mitokondriyal genetik farkın yetersiz olduğunu tespit etmişler buna karşın doğu ve batı arasındaki çeşitliliğin bulunduğunu ve doğuda daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir. Mitokondriyal genoma ait bu varyasyonun coğrafi dağılımının ekotipler arasındaki demografik süreçler ve gen akışı tarafından yönetiliyor olabileceğini ileri sürmüşlerdir.

Süer (2016) doktora çalışmasında “Karadeniz’de avcılık baskısına maruz kalan mezgit stoklarında popülasyon dinamiği parametrelerinin yaş tabanlı yöntemler ile karşılaştırmalı analizi”ni gerçekleştirmiştir.

Tayhan (2014) tez çalışmasında Doğu ve Orta Karadeniz’de dağılım gösteren mezgit (*Merlangius merlangus euxinus* (Nordmann, 1840)) örneklerine ait otolit şekil analizi, mtDNA Cytb genine ait dizi analizi ve 5 mikrosatellit lokus bölgesi kullanarak örneklenen bölge arasındaki alansal varyasyonlar incelemiştir. Çalışmada, mtDNA Cytb gen için 15 haplotip tespit etmiştir. Doğu Karadeniz için haplotip çeşitliliği %70, Orta Karadeniz için %98 olduğunu belirtmiştir. Beş mikrosatellit lokusu içinse Doğu Karadeniz için allel çeşitliliği 12.6, Orta Karadeniz için 11.2 olarak hesaplamış, tüm örnekler içinse 16.2 olduğunu bildirmiştir. Her iki genetik yöntem için de, iki bölge arası bir farklılık gözlenmediğini, fakat mtDNA Cytb gen bölgesi için nükleotid farklılığı ile farklı 2 soy hattı tespit ettiğini bildirmiştir. Sonuç olarak, Orta ve Doğu Karadeniz bölgelerinde birbirinden bağımsız lokal mezgit stokları bulunmadığını ileri sürmüştür.

Coucheron ve ark. (2011) Gadidae üyesi 10 morina türünün mtDNA dizilerini ve 3 yeni türe (Pollack, Saithe ve *Micromesistius poutassou*) ait sekansları analiz etmişler ve yaptıkları bu çalışmanın, omurgalılarda mitokondriyal RNA işlemlerinde genel bir evrimsel korunmayı desteklediğini ileri sürmüşlerdir.

Breines ve ark. (2008) Gadidae üyesi Morina balığı *Arctogadus glacialis* (16 644bp) ve *Boreogadus saida*'nın (16 745bp) tam mitokondriyal genom dizilerini

belirlemişler ve şimdiye kadar analizi yapılmış tüm omurgalılarda bulunan aynı 37 yapısal gen setini içerdiğini söylemişlerdir. *A. glacialis*, *B. saida* ve temsili 4 Gadidae cinsine ait mitokondriyal kontrol bölgesinin incelenmesi ile *A. Glacialis*'te tandem tekrar motifleri içeren oldukça değişken bir alan tanımlandığını bildirmişlerdir.

Hubalkova ve ark. (2008) ekonomik değeri olan Gadoid türleri arasında hileli ikamenin ortaya çıkarılmasına yönelik rutin teşhis amaçlı geleneksel PZR yöntemi geliştirmişler ve bu yöntemle Alaska pollack (*Theragra chalcogramma*), mavi mezigit (*Micromesistis poutassou*), hake spp. (*Merluccius spp.*), Atlantik morina balığı (*Gadus morhua*), saithe (*Pollachius virens*) ve mezigit balığı (*Merlangius merlangus*) türlerinin tespitinin hızlı, basit ve güvenilir olduğunu belirtmişlerdir.

Bektaş ve Beldüz, 2007 yılında yaptıkları çalışmada, Karadeniz'in Türkiye kıyılarında yayılış gösteren mezigit popülasyonlarının stokları arasındaki farklılıkları ve genetik karakterizasyonunu RAPD tekniği ile incelenmiştir. Örnekleme yapılan 8 istasyon arasındaki genetik ilişkiler, benzerlik indeksi ve dendrogram ile hesaplanmıştır. Elde edilen verilerde en düşük benzerlik oranının (0.676) "Karasu" ile "Rize" arasında, en yüksek benzerlik oranının ise (0.836) "Kıyıköy" ile "Zonguldak" arasında bulunduğunu belirtmişlerdir. Cluster analizi ile, Türkiye kıyılarındaki mezigit popülasyonlarının tek bir stok olduğunu ileri sürmüşlerdir. RAPD verileri ile belirledikleri polimorfizmin, Karadeniz için daha önceden yapılan stok ayırım çalışmasının sonuçlarını doğruladığını bildirmişlerdir.

Roques ve ark. (2006), çalışmalarında ilk defa mezigit (*Merlangius merlangus*) ve haddock (*Melanogrammus aeglefinus*)'un tüm mtDNA sekansını almışlar ve Gadidae familyasının diğer türleriyle detaylı karşılaştırmışlardır. Mezigit için 16 569 bç haddock içinse 16 585bç olarak elde edilen mtDNA uzunluğunun; Atlantik morinası (*Gadus morhua*)'da 16,696bç, Walleye pollock (*Theragra chalcogramma*)'da ise 16 570 bç gibi için önceden bildirilen uzunluklar içinde yer aldığını belirtmişlerdir. Dört farklı Gadidae türüne (*M. aeglefinus*, *M. merlangus*, *T. chalcogramma* ve *G. morhua*) ait mitokondriyal genomun aminoasit ve nükleotitler arasındaki farklılara dayanarak, türler arasında benzerlik gösteren mtDNA üzerindeki mutasyon noktalarını araştırmış ve tüm genomu ait diziler üzerinde bu türler arasında

muhtemel filogeniyi gösteren, rRNA, tRNA ve protein kodlayan genlerin performansı test etmişlerdir.

Aranishi ve ark. 2005 yılında yaptıkları çalışma ile ticari deniz ürünleri ürünlerinde, yakından ilişkili 3 Gadoid türünün (Alaska pollack (*Theragra chalcogramma*), Pasifik morina (*Gadus macrocephalus*) ve Atlantik morinası (*Gadus morhua*)) varlığını belirlemek için hızlı bir PZR-RFLP analizi optimize etmişler, bu çalışma için Cytb geninin 558bç'lik bir fragmanının PZR amplifikasyonu için evrensel primerler tasarlamışlar ve PZR-RFLP analizinin basit, hızlı ve güvenilir olduğunu belirtmişlerdir.

Karlsson ve Mork (2005) Norveç'te yerel Atlantik morinası popülasyonlarında Hardy Weinberg dengesinden sapma ve mikrosatellit lokuslarındaki allel frekanslarındaki zamansal dengesizlik üzerine gerçekleştirdikleri çalışmada, morina'daki birkaç diğer mikrosatellit lokusuyla karşılaştırıldığında, Wahlund Etkisi'ne göre Gmo 2'nin en büyük farklılığı göstermesi beklenirken, bu farkın Gmo 132'de gözlemlendiğini bildirmişlerdir.

Ülkemizde balıklar üzerine yapılan genetik çalışmalar tatlı su ve denizler olarak iki farklı odakta gerçekleştirilmektedir. Turan ve Gürlek (2003), bireysel türlere odaklanarak, Marmara Denizi ve kuzeydoğu Akdeniz'deki Avrupa berlam balığının (*Merluccius merluccius*) genetik ve morfolojik yapısını protein elektroforezi ile araştırmışlar, örneklerde %100 morfometrik farklılaşma bulmalarına rağmen, Marmara Denizi ve Kuzeydoğu Akdeniz'deki berlam balığı stokları arasında allel frekans farkı saptamamışlardır.

Ruzzante (1998) hızlı mutasyon oranı ve çok sayıda allel elde edilmesinden dolayı, mikrosatellit DNA yönteminin balık popülasyonlarının genetik veya demografik yapısını incelemek için çok uygun olduğunu ve bununla birlikte, çok sayıda allelin genotipik frekanslarının doğru bir şekilde yansımaları için büyük örnek boyutlarının gerekli olduğunu, küçük örnek gruplarında genetik tahminlerin önyargıya neden olacağını belirtmiştir.

Bentzen ve ark. (1996) Batı Atlantik'teki *Gadus* türleri üzerinde yaptıkları mikrosatellit DNA çalışmasında 6 lokusta yüksek derecede (heterozigotluk %86) polimorfik varyasyon bildirmişlerdir. Ayrıca Kuzeybatı ve Güneydoğu *gadus* popülasyonları arasındaki genetik farklılığın diğer bölgelerdeki popülasyonlarla da olabileceğini ileri sürmüşlerdir.

Britten ve Kohne, 1968'de yaptıkları mikrosatellit DNA çalışmada Atlantik mezgitinde (*Gadus morhua*) her bir lokusta ortalama allel sayısının 41 ve heterozigotluğun %89'u aştığını bildirmişlerdir.

### 3. MATERYAL ve YÖNTEM

#### 3.1 Giriş ve Amaç

##### 3.1.1 Çalışma Sahası

Çalışma sahası türlerin dağılım gösterdiği Doğu, Orta ve Batı Karadeniz, Marmara ve Kuzey Ege Denizini kapsamaktadır. İstasyonların belirlenmesinde yoğun olarak avcılığının yapıldığı ve birbirinden coğrafi olarak son derece ayrılmış lokaliteler tercih edilmiştir. Örnekleme yapılan lokasyonlar sırasıyla Şekil 3.1’de verilmiştir.



**Şekil 3.1.** Çalışma kapsamında örneklerin toplandığı istasyonlar (1. Hopa, Artvin; 2. Perşembe, Ordu; 3. Ereğli, Zonguldak; 4. İğneada, Kırklareli; 5. Marmara Ereğlisi, Tekirdağ)

##### 3.1.2 Arazi Çalışması

Araştırmanın balık materyali Temmuz 2019 – Ocak 2020 tarihleri arasında özellikle mezgit avcılığı yapan ticari balıkçı teknelerinden temin edilmiştir. Mezgit Eylül-Ekim aylarında av sezonunun başlamasıyla yoğun şekilde trol tekneleri tarafından ve yılın büyük kısmında da uzatma ağı kullanan küçük tekneler tarafından avlanmaktadır. Örnekleme yapılan lokasyonlar ve koordinatları sırasıyla Çizelge 3.1’de verilmiştir. Örnekleme çalışmasında, her istasyondan 10 örnek tedarik edilmiştir. Yakalanan balıklardan genetik çalışmalarda kullanılmak üzere 2-3 cm<sup>2</sup>’lik kuyruk yüzgeci dokusu makas yardımı ile kesilerek 1.5 ml’lik mikrosantrifuj tüplerde %98’lik etanol ilave edilerek laboratuvar çalışması yapılana kadar derin dondurucuda saklanmıştır.

**Çizelge 3.1.** Örnekleme yapılan lokaliteler, toplanan birey sayıları ve örnekleme tarihleri

Popülasyon kodu	Lokalite	Deniz	Koordinatlar	Birey sayısı
HPA	Artvin (Hopa)	Doğu Karadeniz	41°23'59.7"N 41°23'58.4"E	10
ORD	Ordu (Perşembe)	Orta Karadeniz	41°04'14.8"N 37°47'22.4"E	10
KDE	Zonguldak (Ereğli)	Batı Karadeniz	41°14'40.4"N 31°23'07.9"E	10
IGN	Kırklareli (İğneada)	Batı Karadeniz	41°50'59.5"N 28°00'01.8"E	10
MME	Tekirdağ (Marmaraereğlisi)	Marmara Denizi	40°57'07.5"N 27°55'01.2"E	10

### 3.2 Laboratuvar Çalışmaları

Bu çalışmada genetik çeşitlilik araştırmalarında şimdiye yaygın kullanılan moleküler belirteçlerden olan mitokondriyal gen bölgelerinden D Loop kontrol bölgesi kullanılmıştır. Bunun için ilk olarak doku örneklerinden DNA izolasyonu yapılmış, primerlerin optimizasyonu gerçekleştirilmiş ve her iki gen bölgesinin PZR çoğaltımı yapılarak DNAdizilerinin belirlenmesi için ticari bir laboratuvara gönderilmiştir. Genetik çalışmalar Deniz Bilimleri Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik laboratuvarımda yürütülmüştür.

#### 3.2.1 Toplam DNA'nın Eldesi

Genomik DNA izolasyonu %98'lik etanol'de saklanan kaudal yüzgeç dokularından Invitrogen PureLink® Genomic DNA Mini Kit (Invitrogen, Carlsbad, CA, ABD) ticari kiti kullanılarak üretici firmanın direktifleri doğrultusunda yapılmıştır. Bu şekilde çok kısa sürede çok fazla sayıda örnekten DNA izolasyonu sağlanmıştır. Elde edilen genomik DNA'nın yaklaşık miktarı ve bütünlüğü agaroz jelde kontrol edilmiştir. Daha sonra DNA örnekleri -20°C'de saklanmıştır.

#### 3.2.2 PZR çoğaltımları ve DNA dizi analizi

Çalışılacak gen bölgesinin (D-loop) PZR ile çoğaltılmasında CR2F (5'- TCC CAC CAC TAG CTC CCA AAG C -3') /CR2R (5'- CGG GAC TTT CTA GGG CCC ATC CT -3') (Bu çalışma için dizayn edilmiştir) primer çifti kullanılmıştır. 50 µl PZR reaksiyon karışımı şu şekilde hazırlanmıştır; 25 µl GoTaq® Colorless Master Mix 2X

(Promega, Madison, ABD), her primerden 0.4 pmol (son konsantrasyon), kalıp DNA <1 µg ve ddH<sub>2</sub>O. PZR çoğaltması Techne (TC-Plus, Staffordshire, UK) thermal cycler kullanılarak Çizelge 3.2’de belirtilen PZR prosedürü ile yapılmıştır. PZR ürünleri TBE tamponu içerisinde hazırlanmış %1’lik agaroz jel de yürütülerek kontrol edilmiştir.

**Çizelge 3.2** D-loop PZR yükseltgemeleri için kullanılan protokol.

PZR Basamağı	Sıcaklık (°C)	Süre (Dk)	Döngü Sayısı
İlk denatürasyon	95	3	1
Denatürasyon	94	1	
Primer bağlanma	53	1	35
Uzama	72	2	
Son uzama	72	10	1

### 3.3 Dizi analizi verilerinin değerlendirilmesi

Amplifikasyonu yapılan D-loop gen bölgelerinin nükleotit dizilemeleri ticari olarak MacroGen (Europe) firmasına yaptırılmıştır. Dizileme işlemleri her iki zincir üzerinden PZR yükseltgemeleri için kullanılan primer çifti kullanılarak yaptırılmıştır. Her iki zincir üzerinden yapılan okumalar Geneious v.4.8.2 programı kullanılarak kontrol edilmiş ve birleştirilerek konsensüs dizileri elde edilmiştir. Elde edilen dizilerin homolog bazlarının çoklu hizalamaları Clustal X (Thompson ve ark., 1994) programı kullanılarak yapılmış ve BioEdit (Thompson ve ark., 1994) programı ile kontrol edilmiştir. Hizalanmış veri setindeki haplotip çeşitliliği (h), nükleotid çeşitliliği (π) DNAsp v. 5.10 (Rozas ve ark., 2003) kullanılarak hesaplanmıştır. Farklı popülasyonlar arasında ikili genetik mesafenin hesaplanması MEGA X (Kumar ve ark., 2018) kullanılarak Kimura Two Parameter (K2P) modeli ile gerçekleştirilmiştir.

#### 3.3.1 Haplotip Ağı ve Filogenetik Analizler

Filogenetik ağacın oluşturulması sırasında yinelenen diziler dikkate alınmadı. Filogenetik analizler daha sonra mitokondriyal D-loop kontrol bölgesi için polimorfik

alanlar içeren 781bç hizalı nükleotidler üzerinde gerçekleştirildi. En uygun nükleotid ikame modelleri, veri seti için Akaike bilgi kriteri (AIC, Akaike 1974) ve Bayes bilgi kriteri (BIC, Schwarz, 1978) kullanılarak jModelTest v. 0.1, paket programı (Guindon ve Gascuel, 2003; Posada, 2008) ile belirlendi. Haplotalar arasındaki evrimsel ilişkileri belirlemek için mesafe temelli komşu birleştirme (NJ) ve karakter temelli maksimum tutumluluk (MP), Bayes çıkarımı (BI) ve maksimum olasılık (ML) metotları kullanılarak filogenetik ağaçlar üretildi. D-loop dizisi veri setinin ML analizi, jModelTest v. 0.1 (Guindon ve Gascuel, 2003; Posada, 2008) yazılımında AIC ve BIC seçenekleriyle hesaplanan en uygun modeller altında 1000 önyükleme ile PhyML sürüm 3.0 (Guindon ve Gascuel, 2003) kullanılarak gerçekleştirildi. BI analizi veri seti için önerilen en uygun baz değişikliği modeli kullanılarak MrBayes 3.2 (Ronquist ve ark., 2012) programında, 1 milyon jenerasyondan oluşan 4 bağımsız Markov Chain Monte Carlo (MCMC) kullanıldı ve %25'lik burn-in değerine karşılık gelen ağaçlar veriden uzaklaştırıldı. NJ analizi yine hesaplanan en uygun model altında ve MP analizi, PAUP 4.0b10 (Swofford, 1998) kullanılarak uygulandı ve bir buluşsal arama ve 1000 rastgele adım ekleme kullanılarak bir filogenetik ağaç üretildi. Parsimony analizi buluşsal (Heuristic) arama algoritması ve 100 rastgele tekrar kullanılarak yapıldı. Birden çok eşit olası kısa ağaç olduğunda, ağaç uzunluğu (TL), Consistency indeksleri (CI), Retention indeksleri (RI), Homoplasy indeksleri (HI) ve Rescaled consistency indeksleri (RC) kesin bir %50 Majority Rule konsensus ağacı oluşturmak için her ağaç için belirlendi. Yapılan bu ağaçların bir özeti ve bir buluşsal arama ve 1000 rastgele adım ekleme kullanılarak bir filogenetik ağaç üretildi. Posterior olasılık ve bootstrap değeri > %50 olan tüm değerler ağaç nodlarında gösterildi. D-loop kontrol bölgesi dizilerinden elde edilen ağaçların tümü için, dış grup türü olarak *Melanogrammus aeglefinus* (Erişim No.: DQ020497.1) kullanılarak köklendirildi. Filogenetik ağaçlar PAUP 4.0b10 (Swofford, 1998) ve FigTree v.1.4.4'te (Rambaut, 2018) kullanılarak oluşturuldu. Mitokondriyal kontrol bölgesi haplotip verileri arasındaki genetik ilişki, kladların mutasyonel ilişkilerini ve coğrafi dağılımlarını göstermek için PopART (Leigh ve Bryant, 2015) yazılımında median-joining network (MJN) algoritması (Bandelt ve ark. 1999) kullanılarak gösterilmiştir.



### 3.3.2 Temel Koordinatlar Analizi (PCoA)

Popülasyonlar arasındaki genetik farklılığı göstermek için, GenALEX 6.5 (Peakall ve Smouse, 2012) genetik analiz programında uygulanan ve veri standardizasyonu ile kovaryans matrisine dayalı temel koordinat analizi (PCoA)'nde popülasyonlar arası ortalama genetik uzaklık matris değerleri kullanıldı.

SAMOVA programı (moleküler varyasyonun spatial analizi; Dupanloup ve ark., 2002), beklenen yapıya ilişkin önsel hipotezler olmaksızın, *M. merlangus* örnekleme alanlarının popülasyon yapısını araştırmak için kullanıldı. SAMOVA, popülasyonları, bir grup içindeki popülasyonların mümkün olduğunca genetik olarak homojen olduğu ( $F_{SC}$  minimize edilmiş) ve grupların birbirinden maksimum düzeyde farklılaştırıldığı ( $F_{CT}$  maksimize edilmiş) kullanıcı tanımlı sayıda gruba (K) bölmek için bir annealing prosedürü kullanır. Önceden tanımlanmış her bir K değeri için yöntem, bir AMOVA yaklaşımı kullanarak Wright'ın F istatistiklerini ( $F_{SC}$ ,  $F_{ST}$  ve  $F_{CT}$ ) üretir (Excoffier ve ark., 1992).  $F_{CT}$  ve  $F_{SC}$  endekslerinin farklı K değerleri için hesaplanması ile örnek popülasyonlar için en iyi popülasyon gruplanma şemasını belirlemek mümkündür (Dupanloup ve ark., 2002). Çalışmada yürütülen analiz için, K= 2'den K= 4'e kadar her bir K değeri için 100 simüle edilmiş annealing işlemi kullanılmıştır.

### 3.3.3 Genetik Verilerin Moleküler Varyans Analizi (AMOVA Analizi)

AMOVA analizi, popülasyonlar içindeki ve popülasyonlar arasındaki genetik varyasyonun dağılım düzeyini belirlemek için kullanıldı. Varyans bileşenlerinin hiyerarşik dağılımının analizi için ARLEQUIN bilgisayar programının (Excoffier and Lischer, 2010) AMOVA (Excoffier ve ark., 1992) alt seçeneği kullanılarak moleküler varyans analizi yapılmıştır.

Beş popülasyon çifti için  $F_{ST}$  (Weir ve Hill, 2002) değerleri hesaplandı ve ortalama gen akışı ve popülasyonlar arasındaki mutlak göç eden birey sayısı ( $M = Nm$ , haploid data için):  $Nm = (1/F_{ST}-1)/4$  (Whitlock ve Mccauley, 1999) formülü kullanılarak tahmin edildi. Önemlilik, 1,000 permütasyonla test edildi. Bu analizler, ARLEQUIN (Excoffier ve Lischer, 2010) bilgisayar programı kullanılarak gerçekleştirildi.

Populasyonlar arası ikili coğrafi mesafeler ve genetik mesafeler arasındaki korelasyonu değerlendirmek için, tüm popülasyonların 'Mesafeye Göre İzolasyon' değeri (Rousset, 1997)'nin anlamlılığının belirlenmesi, GenAlEx sürüm 6.502'deki MANTEL test (Mantel, 1967) ile, 10,000 permütasyon kullanılarak yapıldı. Örneklem konumları arasındaki coğrafi mesafe (km) matrisi, örneklenen yerler arasındaki kıyı şeridi mesafesi olarak Google Earth, sürüm 7.1.7.2606 kullanılarak oluşturulmuştur.

### 3.3.4 Ayrılma Zamanı Tahmini

Farklılaşma süreleri BEAST 2.6.2'deki Bayesian MCMC uygulaması kullanılarak hesaplanmıştır (Bouckaert ve ark., 2019). Sıkı bir saat kullanıldı ve korelasyonsuz ancak lognormal olarak dağılmış moleküler evrim oranlarına sahip bir model varsayıldı (Drummond ve ark., 2006). Yayınlanmış iki Gadidae filogenisinden iki kalibrasyon noktası filogenetik ağacımıza dahil edildi: *Trisopterus luscus* türünün diğer Gadid türlerinden tahmini ayrılma süresi, 17 (10–24 Mya) ve *M. merlangus*'un *Gadus* cinsi türlerden ayrılma süresi 7 (5–9) Mya olarak tahmin edilmiştir (Owens, 2015). Evrimsel oranlar için tür düzeyinde filogenetik süreçleri daha iyi temsil ettiğinden önceden “Kalibre Edilmiş Yule modeli” kullanıldı. Her 2000 nesilde örneklenen 20,000,000 nesil içeren MCMC analizi yapıldı. Markov zinciri ile örneklenen farklı parametreler için dağılımlar, Tracer sürüm 1.7.1 (Rambaut ve ark., 2018), tüm parametreler için etkili örneklem büyüklüğü (ESS) 200 kullanılarak incelenmiştir ve %10'luk bir yanma ile maksimum klad güvenilirliği ağacını oluşturmak için TreeAnnotator sürüm 2.6.0 (Bouckaert ve ark., 2019) kullanıldı. Son olarak, ağaç FigTree v.1.4.4 (Rambaut, 2018) kullanılarak görselleştirildi.

### 3.3.5 Populasyonların Genetik Yapısının Belirlenmesi

Popülasyon yapısı STRUCTURE v.2.2 (Pritchard ve ark., 2000) yazılımı kullanılarak sekans verilerinden Bayes kümeleme algoritması ile birlikte bireysel genetik ataları çıkarmak için kullanıldı. Küme sayısını (K) tahmin etmek için, her K= 2-4 değeri için, 50 000'lik bir yanma (Burn in) periyodundan sonra, 100 000 yineleme 10 kez tekrarlandı. STRUCTURE sonuçları, Evanno ve ark. (2005) tarafından önerilen geçici  $\Delta K$  istatistiğini hesaplamada, verilere en uygun küme sayısını seçmek için

verilerin log olasılığındaki değişikliği dikkate alan STRUCTURE HARVESTER v0.6.94 (Earl ve vonHoldt, 2012) programı kullanılarak değerlendirildi.

### 3.3.6 mtDNA Verilerinden Çıkarılan Demografik geçmiş ve Nötralite Testi

Üç grubun (1, 2 ve 3) demografik geçmişini izlemek için D-loop haplotip veri seti ile üç yöntem kullanıldı. *M. merlangus*'un demografik modelini tahmin etmek için, nötralite testlerinden Tajima'nın D (Tajima, 1989) ve Fu'nun Fs (Fu, 1997) testleri kullanıldı ve 10 000 permütasyon ile Arlequin 3.0'da (Excoffier ve ark., 2005) bir uyumsuzluk (Mismatch) dağılım incelemesi uygulandı. Nötralitenin null hipotezi Tajima'nın D'si için reddedildi (Tajima'nın D'si için  $p < 0.05$  ve Fu'nun Fs'leri için  $p < 0.02$ ). Beklenen ve gözlemlenen uyumsuzluk dağılımları ile Harpending düzensizlik indeksi (Harpending, 1994) arasındaki kareler toplamı sapmaları (SSD) Arlequin 3.0 (Excoffier ve ark., 2005) kullanılarak hesaplandı. Uyumsuzluk dağılımının incelenmesi, bir spatial veya demografik genişleme hipotezi altında demografik genişleme parametresinin/parametrelerinin hesaplanmasını da sağlamıştır. Bu parametre, popülasyonların her durumda %95'lik bir güven aralığı (CI) ile çok küçükten çok büyük bir boyuta genişlediğini gösterir. Tau değeri, ani popülasyon artışının başladığı zamanın kabaca bir tahminini sağladı. Genişleme zamanı (t),  $t = \tau/2u$  denklemine dayalı olarak tahmin edilmiştir (Rogers ve Harpending, 1992), burada u, çalışılan DNA dizisi için nesil başına mutasyon oranıdır, u değeri  $u = \mu k$  ile hesaplanır. Burada  $\mu$ , nükleotit başına mutasyon oranıdır ve k, dizideki nükleotitlerin sayısıdır. Daha önce deniz balıklarında D-loop kontrol bölgesi için uygulanan bir milyon yılda %3.0-10'luk bir mutasyon oranı kullanıldı (Dowling ve ark., 2002; Durand ve ark., 2002). Uyumsuzluk dağılımı için grafikler DnaSP v5 yazılımı kullanılarak oluşturulmuştur (Librado ve Rozas, 2009). Son olarak, BEAST 2.6.2'de (Bouckaert ve ark., 2019) uygulanan Bayesian skyline plot (BSP) analizleri (Drummond ve ark., 2005) kullanılarak zaman içinde mezzit popülasyonunun büyüklüğündeki değişiklikler tahmin edildi.

## 4. BULGULAR ve TARTIŞMA

### 4.1 Bulgular

#### 4.1.1 Genetik çeşitlilik

##### 4.1.1.1 Sekans kompozisyonu

*M. merlangus* türü bireylerine ait mtDNA D-loop kontrol bölgesinin toplam 781 baz çifti (bp) Karadeniz ve Marmara Denizi'nde 5 farklı lokaliteden örneklenen 38 birey için analiz edildi. 766 karakter sabittir (%98). Değişken karakterlerin 9 adeti parsimoni-bilgi vericidir. Çalışılan örneklerde kontrol bölgesi için 15 adet polimorfik nukleotit pozisyonu tespit edildi. Bu polimorfik baz dizilerinin 9 adetinin transisyon, 6 adetinin transversiyon ve indel sayısının sıfır olduğu belirlendi. Dizilerin nukleotid bileşimi ortalama %18.42 C, %24.92 T, %41.40 A ve %15.26 G olduğu görülmüştür. A + T içeriği (%66.32), G + C (%33.68) içeriğinden daha yüksektir (Çizelge 4.1).

**Çizelge 4.1** Mezgit balığı veri setine ait değişken nukleotid pozisyonları.

	494455566677777
	650759946811566
	8500722729567
Hap_1	CCAAGAACCATGTAA
Hap_2	.....TT...C..
Hap_3	.....TT.....
Hap_4	TT.....TT.AA...
Hap_5	T.....GTT.....C
Hap_6	.....T.TTT.....
Hap_7	.....T.TT.....
Hap_8	.....TT....C.
Hap_9	.....T.....
Hap_10	...TA..TT....C.
Hap_11	.....GTT.....
Hap_12	..G....TT...CCC
Hap_13	..G....TT...CC.
Hap_14	..G....TT....C.

#### 4.1.1.2 Nükleotit ve Haplotip çeşitliliği

mtDNA D-loop kontrol bölgesi baz dizileri arasında yapılan haplotip analizi sonucunda *M. merlangus* popülasyonlarında dağılım gösteren toplam 14 adet haplotip belirlenmiştir. Haplotiplerden H3, Marmaraereğlisi dışında diğer popülasyonlar tarafından paylaşılırken H2, Karadeniz Ereğli ve Ordu popülasyonları tarafından paylaşılmıştır. Bunların dışındaki haplotipler yalnızca bir popülasyon tarafından paylaşılmıştır. Çalışmamızda toplanan örneklerle ait örneklem alan bilgileri ve bu örneklem alanlarında tespit edilen haplotiplere ait veriler Çizelge 4.2’de verilmektedir. Analizler sonucunda belirlenen haplotipler için haplotip çeşitliliği tüm popülasyonlar için (Hd) 1.0 ve nükleotid çeşitliliği (Pi) 0.088-0.240 arasında hesaplanmıştır. Karadeniz ve Marmara lokaliteleri için yapılan genetik çeşitlilik analizinde tüm lokaliteler için yüksek haplotip çeşitliliği ve düşük nükleotid çeşitliliği gözlemlendi (Hd: 1.0 ve Pi: 0.088). Hopa popülasyonu en yüksek haplotip çeşitliliği (Hd: 1) ile birlikte yüksek nükleotid çeşitliliği (Pi: 0.240) görülen popülasyon olmuştur.

**Çizelge 4.2** *M. merlangus*’a ait popülasyonların örnek sayıları (N), Haplotip sayıları (HN), Haplotip (gen) çeşitliliği (Hd), nükleotid çeşitliliği (Pi), Ortalama nükleotid farklılıkları sayısı (k)

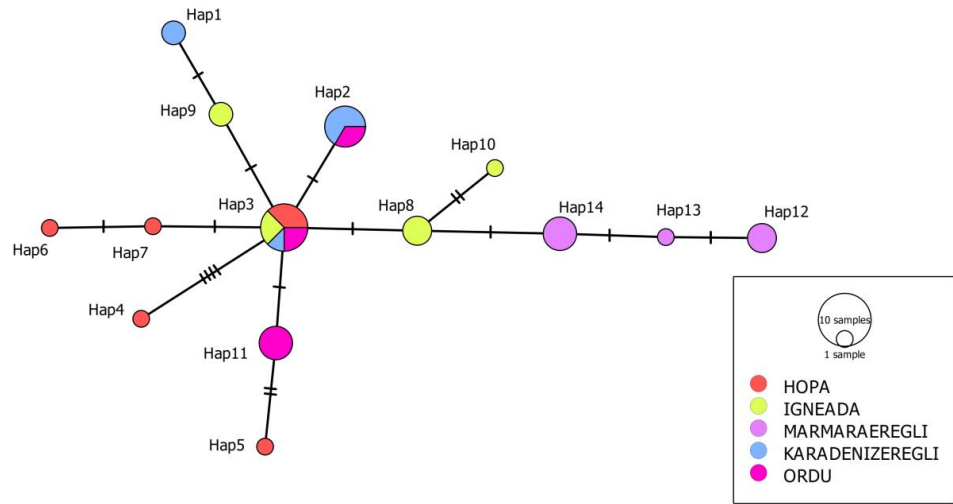
Haplotip / Pop.	N	H 1	H 2	H 3	H 4	H 5	H 6	H 7	H 8	H 9	H 10	H 11	H 12	H 13	H 14	HN	Hd	Pi	k
Hopa	7	0	0	3	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	5	1	0.240	3.60
İğneada	8	0	0	2	0	0	0	0	3	2	1	0	0	0	0	4	1	0.144	2.17
Marmaraereğlisi	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	1	4	3	1	0.088	1.33
Karadeniz Ereğli	7	2	4	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	1	0.133	2.00
Ordu	8	0	2	2	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0	0	3	1	0.088	1.33
Tüm Pop.	38	2	6	8	1	1	1	1	3	2	1	4	3	1	4	14	1	0.236	3.54

Medyan joining haplotip ağı (Şekil 4.1) *M. merlangus*'un yüksek bir haplotip ve düşük nükleotid çeşitliliğine sahip olduğunu gösterdi. D-loop ağı, merkezi bir haplotipten çıkan birçok haplotiple, aralarında birkaç mutasyonel adım bulunan, yıldız şeklinde bir filogeni gösterdi. Haplotip ağı coğrafi olarak farklı kümeler göstermedi fakat çoklu haplogruplar, farklı örnekleme bölgelerinden gelen haplotiplerden oluşmaktaydı. D-loop haplotip ağ analizi, en bol bulunan haplotip olan Hap3'ün, çoklu haplotipleri bağlayan merkezi oluşturduğunu ve dört popülasyon (İğneada, Karadeniz Ereğli, Ordu ve Hopa) tarafından paylaşıldığını gösterdi. Buna karşılık, Hap2 iki

popülasyon (Karadeniz Ereğli ve Ordu) tarafından temsil edildi ve diğer 12 haplotipin tamamının kendi popülasyonlarına özgü olduğu bulundu (Çizelge 4.3).

**Çizelge 4.3** *M. merlangus* popülasyonları için K2P yöntemi kullanılarak 1,000 bootstrap replikasyonuna dayalı D-loop kontrol bölgesi veri setinin ortalama Popülasyonlar arası ve popülasyonlar içi genetik uzaklık değerleri. Sol alt= Popülasyonlar arası genetik uzaklık değerleri, Sağ üst= Standart hata değerleri ve diyagonal= Popülasyon içi genetik uzaklık değerleri

	1	2	3	4	5	6	7	8
1 Hopa	0.00422	0.00107	0.00112	0.00135	0.00216	0.01018	0.00803	0.01288
2 Ordu	0.00264	0.00088	0.00074	0.00101	0.00198	0.01013	0.00796	0.01293
3 Karadeniz Ereğli	0.00325	0.00132	0.00176	0.00110	0.00203	0.01016	0.00797	0.01307
4 İğneada	0.00402	0.00209	0.00231	0.00285	0.00165	0.01015	0.00788	0.01307
5 Marmaraereğlisi	0.00528	0.00351	0.00396	0.00340	0.00088	0.01024	0.00794	0.01307
6 Kuzey Denizi	0.08023	0.07808	0.07858	0.07942	0.07805	n/c	0.00812	0.00726
7 Atlantik	0.04862	0.04657	0.04704	0.04715	0.04655	0.04887	n/c	0.01107
8 <i>M. aeglefinus</i>	0.11564	0.11452	0.11609	0.11697	0.11502	0.03915	0.09077	n/c



**Şekil 4.1** mtDNA D-loop kontrol bölgesi haplotiplerine dayalı Medyan Joining haplotip ağı. Sayılar ve her daire özgün haplotipleri temsil eder; daire boyutu frekanslarıyla orantılıdır, renkler popülasyonları belirtir; dallardaki kısa çizgiler mutasyon adımlarının sayısını temsil etmektedir.

## 4.1.2 Filogenetik Analizler

### 4.1.2.1 Baz Değişim Modeli

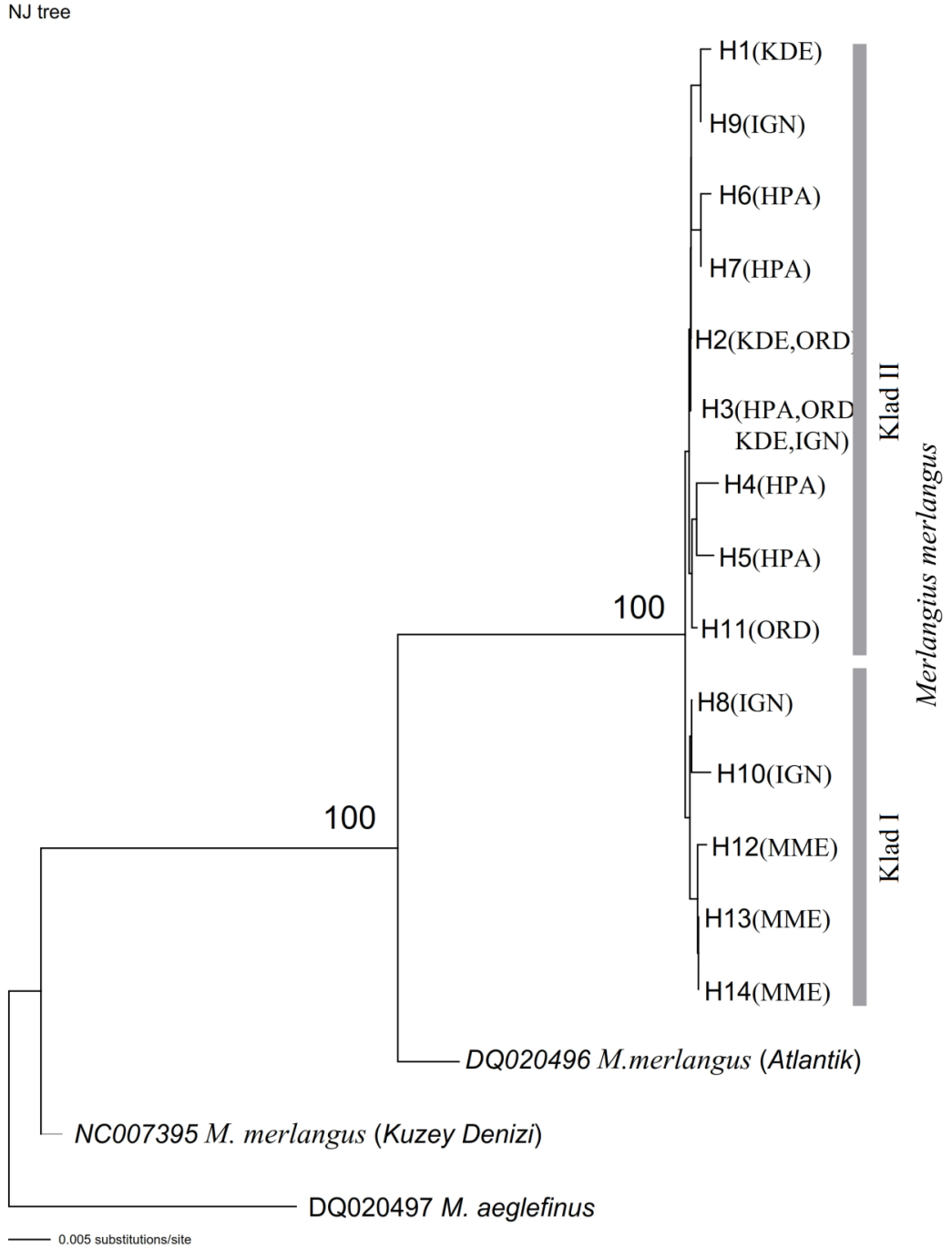
Komşu birleştirme (NJ), Maksimum olasılık ve Bayesian analizlerinde nükleotid ikamesinin en uygun modellerinin istatistiksel seçimini yapmak için jModeltest ver. 0.1.1 (Posada, 2008) programı kullanılmış ve Akaike Bilgi Kriteri (AIC) (Akaike, 1973, 1974) ve Bayesian Bilgi Kriteri (BIC) (Schwarz, 1978) model seçim stratejilerine göre mezgit balığı örneklerine ait DNA veri setine uyan en iyi baz değişim modeli tespit edilmiştir. Analiz sonucunda AIC ve BIC için TPM3uf+G modeli önerilmiştir. Bundan sonra yapılan NJ, ML ve BI analizlerinde önerilen baz değişim modeli kullanılmıştır. AIC ve BIC tarafından jModeltest 0.1.1 ile seçilen en uygun modelin (TPM3uf+G) olasılık ayarları: gama modeli kategori sayısı (ncat=4), gama doğrulama değeri (gamma shape= 0.5340), değişim göstermeyen pozisyon frekans değeri (pinvar= 0) tahmin edildi.

### 4.1.2.2 Komşu Birleştirme (NJ) Analizi

DNA veri seti için uygun baz değişim modeli belirlendikten sonra PAUP\* ver. 4.0 b10 (Swofford, 2003) filogenetik analiz programına girilen model bilgileri ile genetik mesafe tabanlı komşu birleştirme (NJ) algoritması kullanılarak ağaç oluşturulmuştur. Evrimsel ağaçdaki dalların bir araya geldikleri düğüm noktalarının istatistiksel olarak destek oranını belirlemek amacıyla, 1000 tekrarlı bootstrap analizi yapılmıştır. Ağaç çizimi için PAUP\* ver. 4.0 b10 (Swofford, 2003) programı kullanıldı. Yüzde 50 üzerinde olan tüm bootstrap değerleri ağaç nodları üzerinde gösterilmiştir.

TPM3uf+G baz değişim modeli ile oluşturulan NJ ağacı Şekil (4.2)'de verildi. Haplotip dizilerine dayalı filogenetik ağaç değerlendirildiğinde, Mezgit türüne ait beş örnekleme lokalitesinin yüksek bootstrap değeri ile desteklenen monofiletik gruplar oluşturduğu görülmektedir. Kuzey Denizi ve Atlantik mezgit balığı haplotipleri dış gruba (*Melanogrammus aeglefinus*) yakın ve ağacın tabanında yer alırken, %100 bootstrap değeri ile Türkiye haplotiplerinden ayrılmıştır. *M. merlangus* türünün Türkiye örneklerine bakılırsa, tüm haplotipler %100'lük bootstrap değeriyle desteklenmekte ve klad I ve II olarak adlandırılan iki klada ayrıldı görülmektedir. Klad

I, MME ve IGN örnekleme alanlarını temsil eden beş haplotipten (H8, H10, H12, H13 ve H14) oluşmuş, klad II ise HPA, ORD ve KDE örnekleme alanlarına karşılık gelen dokuz haplotipten (H1, H9, H6, H7, H2, H3, H4, H5, ve H11) oluşmuştur.



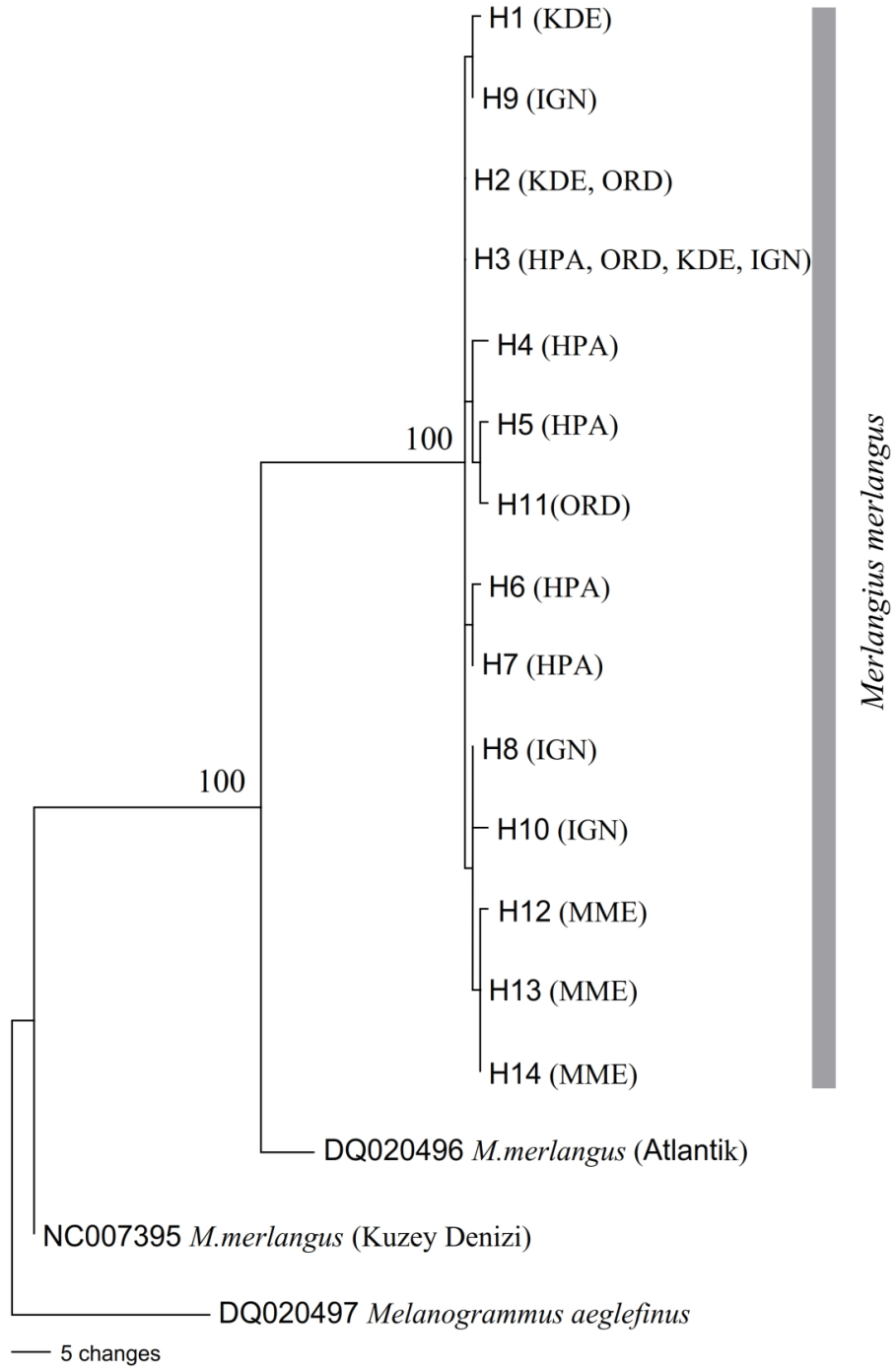
Şekil 4.2 Mezgit balığı popülasyonlarının mtDNA D-loop kontrol bölgesi dizilerine ait TPM3uf+G baz değişim modeli ile oluşturulan NJ filogenetik ağacı.



#### 4.1.2.3 Maksimum Parsimoni (MP) Analizi

Dış grubun da dahil olduğu toplam 761 karaktere sahip veri matrisi, karakter analizi yapılmak üzere PAUP programına aktarılmıştır. Veri matrisi incelendiğinde 761 karakterin 664'ünün (%87.3) değişmediği yani, tüm haplotiplerde aynı baz yapısına sahip olduğu görülmüştür. Değişim gösteren 97 karakterden 63 adedinin parsimonik bilgi içerici (informativ) olduğu tespit edilmiştir. Sonrasında parsimoni analizi bu 63 bilgi içerici karakter kullanılarak yapılmıştır. Heuristic araştırma algoritması ile yapılan analiz sonucunda ağaç uzunluğu (TL) 108, Consistency indeksi (CI) 0.926, Retention indeksi (RI) 0.916, Homoplasy indeksi (HI) = 0.074 ve Rescaled consistency indeksi (RC) = 0.8480 olan eşit olasılıkta en kısa parsimonik ağaç bulunmuştur. Bu ağaçların her birini ayrı ayrı incelemek ve topolojilerini göstermek zor olduğundan, bunların bir özeti olan %50 Majority Rule konsensus ağacı elde edilmiştir (Şekil 4.3). Ek olarak, sezgisel (Heuristic) araştırma algoritması kullanılarak elde edilen bootstrap değerleri, en kısa parsimonik ağaçların her birindeki kümelerin istatistiksel olarak nasıl desteklenebileceğini göstermek için katı bir konsensus ağacında görüntülenmiştir.

Şekil 4.3'de gösterilen MP ağacının incelenmesi sonucunda, Kuzey Denizi ve Atlantik haplotiplerinin ağacın tabanında olduğunu ve Türkiye örneklerinden belirlenen haplotiplerin NJ ağacı ile temsil edildiği gibi yüksek bootstrap değerleri ile karakterize edilen bağımsız filogenetik gruplara sahip olduğunu ortaya koymaktadır ve bu filogenetik gruplardan Türkiye örneklerinin kendi içerisinde alt grup içerdiği görülmektedir. Mezgıt balığı Türkiye kladı incelendiğinde tüm kladın %100 bootstrap değeriyle desteklendiği ve örneklerin ağaçta politomik bir yapı sergilediği belirlenmiştir. Ağaçta Marmara ve Batı Karadeniz'de görülen haplotiplerin (H8, H10, H12, H13 ve H14) de düşük bootstrap değerleriyle desteklenen bir başka alt kladı meydana getirdiği görülmektedir. Klad içerisinde çok sayıda politominin olması, verinin az sayıda baz çifti içermesinin ve yeterince varyasyon içermemesinin bir sonucu olarak değerlendirilebilir.



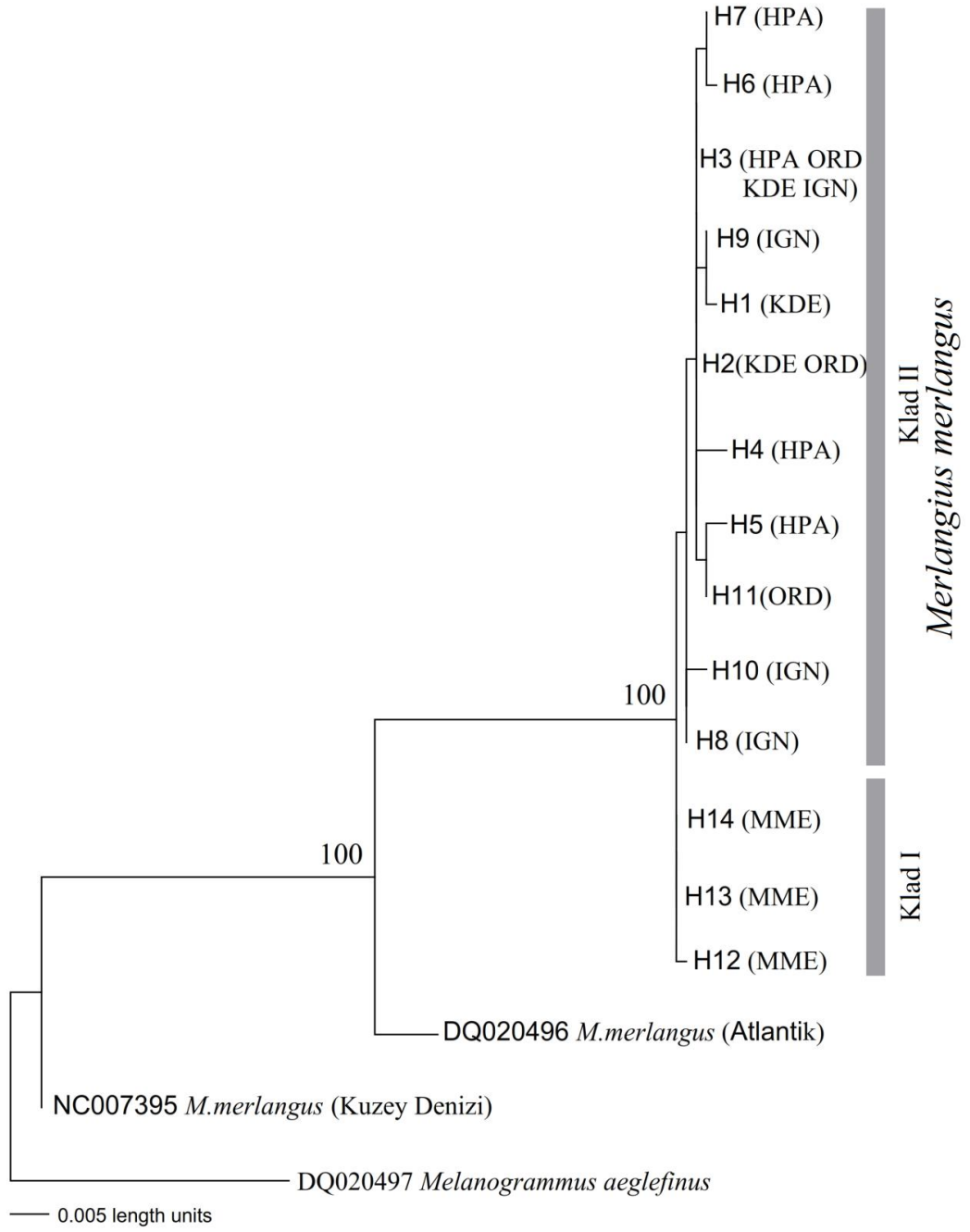
**Şekil 4.3** Mezgit balığı popülasyonlarının mtDNA D-loop kontrol bölgesi dizilerine ait MP filogenetik ağacı.

#### 4.1.2.4 Maksimum Likelihood (ML) Analizi

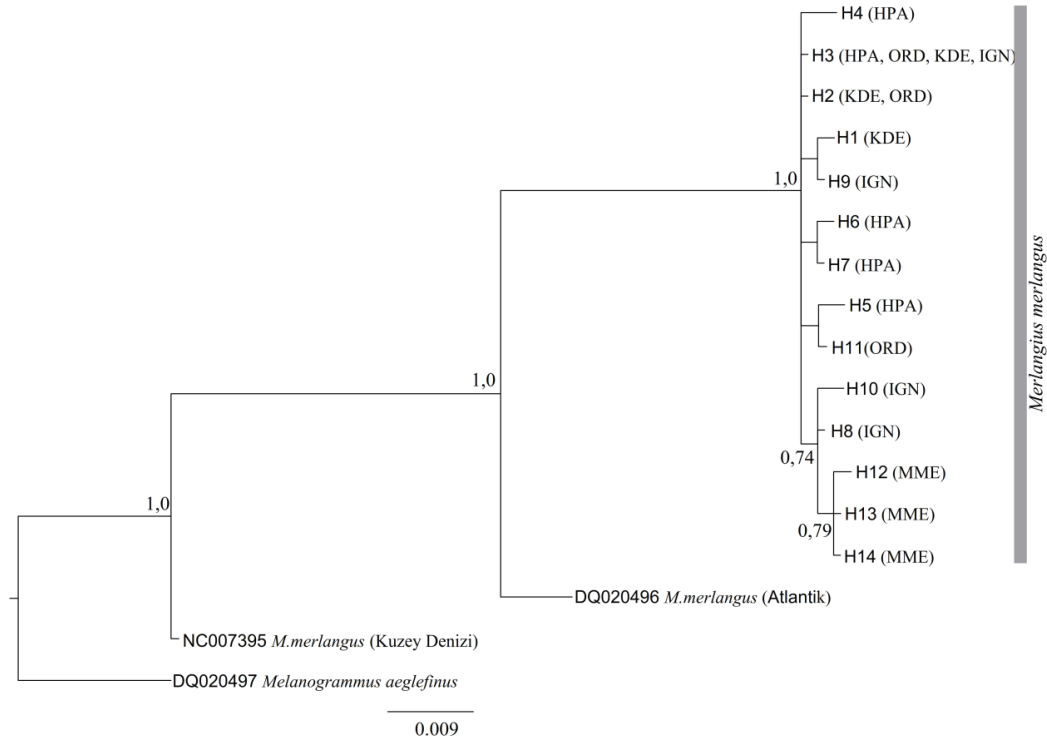
Analiz sonucunda AIC ve BIC için TPM3uf+G modeli önerilmiştir. Yapılan analizde önerilen baz değişim modeli kullanılarak elde edilen ML ağacı ve bootstrap değerleri Şekil 4.4'de verilmiştir. Ağaç incelendiğinde, Mezgıt türüne ait farklı lokalitelerden örneklere ait haplotiplerin farklı kladlar şeklinde gruplandığı görülmektedir. Türkiye haplotiplerine ait klad incelenirse ağaçtaki tüm haplotipler monofiletik olarak gruplanmakta ve %100 bootstrapla desteklenmektedir. Kuzey Denizi ve Atlantik haplotipleri diğer analiz yöntemlerinden elde edilen ağaçlarındaki topolojiye benzer şekilde %100 bootstrapla desteklenen diğer haplotiplerin tabanında yer almıştır. Ağaçta, NJ ve MP ağaçlarından farklı olarak Batı Karadeniz'de görülen haplotipler (H8 ve H10) hariç yalnızca Marmara haplotiplerinin (H12, H13 ve H14) yer aldığı ve düşük bootstrap değeriyle (%46) desteklenen bir başka alt klad görülmektedir.

#### 4.1.2.5 Bayesian Analizi

Bayesian analizi MrBayes programda yine TPM3uf+G baz değişim modeli kullanılarak yürütülmüş olup, elde edilen ağaç dosyaları FigTree ver.1.4.4 (Rambaut, 2018) programında açılarak %50 Majority Rule konsensus ağacı oluşturuldu ve bu ağaç üzerinde ana ya da alt soy hatlarına köken oluşturan düğümlerin istatistiksel olarak ne derece desteklendiğini göstermek için bunlara karşılık gelen posterior olasılık değerleri gösterildi. TPM3uf+G modeli kullanılarak oluşturulan %50 Majority Rule konsensus ve olasılık değerleri Şekil 4.5'te verilmiştir. BI ağacının topolojileri incelendiğinde NJ ve ML ağaç topolojilerinde de görülen benzer yapı görülmüştür. Kuzey Denizi ve Atlantik haplotipleri 1,00'lük olasılık değeri ile diğer haplotiplerin tabanında yer almıştır. Türkiye haplotipleri ise 1,00'lük olasılık değeriyle desteklenen ayrı bir klad oluşturmuştur. Bu ana klad içinde ML ağacından farklı olarak Marmara ve Batı Karadeniz'de görülen haplotiplerin (H8, H10, H12, H13 ve H14) 0,74'lük olasılık değeriyle desteklenen bir başka alt kladı meydana getirdiği görülmüştür.



**Şekil 4.4** Mezgit balığı popülasyonlarının mtDNA D-loop kontrol bölgesi dizilerine ait TPM3uf+G baz değişim modeli ile oluşturulan ML filogenetik ağacı.

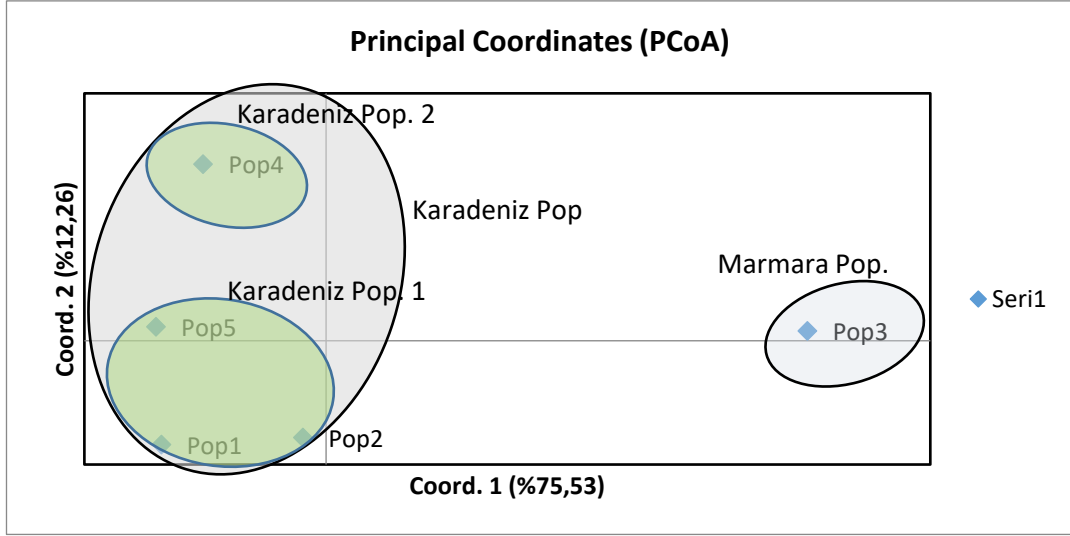


**Şekil 4.5** Mezgıt balığı popülasyonlarının mtDNA D-loop kontrol bölgesi dizilerine dayalı BI filogenetik ağacı. Dallardaki destek değerleri, Bayesian olasılık değeridir.

#### 4.1.3 Genetik Farklılaşma

##### 4.1.3.1 Temel Koordinatlar Analizi (Principal Coordinates Analysis, PCoA)

Popülasyonlar arası ortalama genetik uzaklık matris değerlerine dayalı olarak yapılan, Temel Koordinatlar Analizi, Mezgıt popülasyonları arasında genel farklılıklar gösterdi. Varyansın %75.53'ünü açıklayan birinci temel bileşene göre, Marmara (Marmaraereğlisi) ve Karadeniz (Hopa, İğneada, Ordu) ve (Karadeniz Ereğli) popülasyonları net bir şekilde ayrılmıştır (Şekil 4.6).



**Şekil 4.6** Mezgit popülasyonlarının Temel Koordinatlar analizine dayalı olarak ayrıştırılması.

#### 4.1.3.2 Spatial Moleküler Varyans Analizi (SAMOVA)

Tür dağılımı boyunca genetik yapı modellerini karakterize etmek için Spatial Moleküler Varyans Analizi (SAMOVA) kullanıldı. SAMOVA,  $K = 2$ 'e de  $F_{CT}$  en büyük değeri göstermiş,  $K$  değeri yükseldikçe  $F_{CT}$ 'de aşamalı bir düşüş olmuştur (Çizelge 4.4). Fakat,  $K = 3$  için grupların bileşimi, *M. merlangus* haplotiplerinin coğrafi dağılımına iyi şekilde karşılık geldiğinden en iyi gruplaşma şeması olarak  $K = 3$  olarak kullanılmıştır. İlk grup, yalnızca Karadeniz'den (Hopa, İğneada, ve Ordu) üç popülasyon ile karakterize edildi. İkinci grup, yine Karadeniz'den (Karadeniz Ereğli) bir popülasyon ile temsil edilmiştir. Üçüncü grup ise Marmara'dan (Marmaraereğlisi) bir popülasyonu içeriyordu.

**Çizelge 4.4** Türkiye'deki *Merlangius merlangus* popülasyonları üzerine moleküler varyans analizinin (SAMOVA) spatial analiz sonuçları (Popülasyon sayıları Tablo 1'de verilmiştir. K, analizlerde kullanılan önceden tanımlanmış grup sayısını ifade etmektedir. Wright fiksasyon indisleri  $F_{CT}$ ,  $F_{SC}$  ve  $F_{ST}$  sırasıyla gruplar arasındaki, gruplar içindeki popülasyonlar arasındaki ve toplamdaki popülasyonlar içindeki genetik çeşitliliği ölçer)

<b>K</b>	<b><math>F_{SC}</math></b>	<b><math>F_{ST}</math></b>	<b><math>F_{CT}</math></b>	<b>Grup kompozisyonu</b>
2	0.21343***	0.57401***	0.45842	(1, 2, 4, 5) (3)
3	0.20104***	0.48027***	0.34949	(1, 2, 5) (3) (4)
4	0.14109*	0.43775***	0.34540	(1, 5) (2) (3) (4)

\*\*\*;  $P < 0,001$ , \*\*;  $P < 0,01$ ; \*,  $P < 0,05$

#### 4.1.3.3 Genetik Verilerin Moleküler Varyans Analizi (AMOVA)

Varyans bileşenlerinin hiyerarşik dağılımını analiz etmek için, ARLEQUIN (Excoffier ve Lischer, 2010) bilgisayar programının alt seçeneği olan AMOVA kullanılarak moleküler varyans analizi yapılmıştır. Gruplar arası, grup içi, popülasyonlar arası ve popülasyon içi varyans bileşenleri 'P' değerini almak için 10 000 kez permutasyon kullanımıyla null dağılımına karşı test edilmiş ve sonuçlar Çizelge 4.5'de verilmiştir. Popülasyonların her birinin ayrı bir grup olarak kabul edildiği AMOVA analizinde varyasyonun %41.83'ünün popülasyonlar arasında ve %58.17'sinin de popülasyonlar içinde dağıldığı tespit edilmiştir. Karşılaştırmalar için varyans bileşenlerinin istatistiksel olarak değerlendirildiğinde önemli olduğu görülmüştür ( $P < 0.001$ ). Örnekleme yerlerinin ikinci gruplandırması ile yapılan moleküler varyans analizi (AMOVA) (Excoffier ve ark., 1992), SAMOVA (Dupanloup ve ark., 2002) moleküler varyasyonun spatial analizi ve STRUCTURE programı (Pritchard ve ark., 2000) ile oluşturulan kümeler arasındaki farklılıkları belirlemek için coğrafi bölgeye göre yapıldı. Burada; ikiadet Karadeniz alt popülasyonları ve Marmara popülasyonu olmak üzere üç grup için F değerleri ile doğrulanmıştır. Bu gruplandırmada, varyasyonun %34.95'ünün Gruplar arasında, %13.08'inin Gruplar içindeki popülasyonlar arasında ve %51.97'sinin Popülasyonlar içinde dağıldığı tespit edilmiştir. Karşılaştırmalar için varyans bileşenlerinin

istatistiksel olarak değerlendirildiğinde önemli olduğu görülmüştür ( $P < 0.001$ ) (Çizelge 4.5).

**Çizelge 4.5** Beş Mezgit (*Merlangius merlangus*) popülasyonunda farklı gruplar arasında moleküler varyans (AMOVA) analizi sonuçları.

Gruplar	Hiyerarşik seviye	d.f.	Kareler toplamı	Varyans bileşenleri	Varyasyon yüzdesi	Fiksasyon indeksleri
<b>Türkiye Mezgit pop.</b> (Hopa, İğneada, Marmaraereğlisi, Karadeniz Ereğli ve Ordu)	Popülasyonlar arasında	4	19.725	0.54894 Va	41.83	F <sub>ST</sub> : 0.41825*
	Popülasyon içinde	33	25.196	0.76353 Vb	58.17	
	Total	37	44.921	1.31247	100	
<b>Karadeniz pop.1</b> (Hopa, İğneada ve Ordu)	Gruplar arasında (Va)	2	15.257	0,51343 Va	34.95	F <sub>CT</sub> : 0.34949
	Gruplar içindeki popülasyonlar arasında (Vb)	2	4.467	0.19212 Vb	13.08	F <sub>SC</sub> : 0.20104*
<b>Karadeniz Pop.2</b> (Karadeniz Ereğli)	Popülasyon içinde (Vc)	33	25.196	0.76353 Vc	51.97	F <sub>ST</sub> : 0.48027*
	Total	37	44.921	1.46908	100	
<b>Marmara pop.</b> (Marmaraereğlisi)	Popülasyonlar arasında	4	19.725	0.54894 Va	41.83	F <sub>ST</sub> : 0.41825*
	Popülasyon içinde	33	25.196	0.76353 Vb	58.17	
Total	Total	37	44.921	1.46908	100	

#### 4.1.3.4 Popülasyon Çiftleri Arasındaki F<sub>ST</sub> Değerleri ve Göç Oranları (Nm)

Popülasyonlar arasındaki ikili F<sub>ST</sub> değerleri 0.1099 ile 0.6878 arasında değişmektedir (Çizelge 4.6). En büyük F<sub>ST</sub> değeri Ordu – Marmaraereğlisi popülasyon çiftleri arasında görülürken en düşük F<sub>ST</sub> değeri Ordu-Hopa popülasyonları arasında gözlenmiştir. Popülasyonlardan Ordu-Karadeniz Ereğli ve Ordu-Hopa arasındaki genetik farklılaşma değeri küçük ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $P > 0.05$ ). Fakat popülasyonlar arasındaki diğer tüm ikili F<sub>ST</sub> değerleri büyük ve istatistiksel olarak anlamlıdır ( $P < 0.05$ ). Popülasyonlar arasında hesaplanan göç değerleri (Nm) Çizelge 4.7’de verilmiştir. 4.05 ile en yüksek değer Ordu-Hopa arasında hesaplanırken, en düşük 0.23 ile Ordu-Marmara Ereğlisi arasında hesaplanmıştır.



**Çizelge 4.6** Alt popülasyonlar arasında ikili  $F_{ST}$  değerleri

	1	2	3	4	5
1 Hopa	0.0000				
2 İğneada	0.1488*	0.0000			
3 Marmaraereğlisi	0.5599*	0.5466*	0.0000		
4 Karadeniz Ereğli	0.1852*	0.2443*	0.6216*	0.0000	
5 Ordu	0.1099	0.2857*	0.6878*	0.2200	0.0000

\*; Önemli  $F_{ST}$  P değerlerinin matrisi ( $P < 0.0500$ )

**Çizelge 4.7** Popülasyonlar arası göç değerleri (haploid data için  $M=Nm= 1-F_{ST}/2F_{ST}$ )

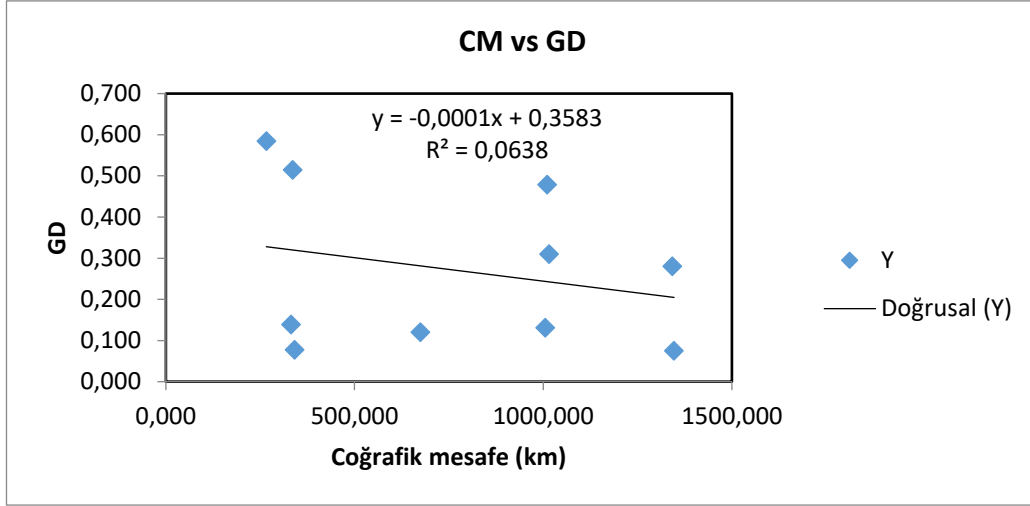
	1	2	3	4	5
1 Hopa	-				
2 İğneada	2.86	-			
3 Marmaraereğlisi	0.39	0.41	-		
4 Karadeniz Ereğli	2.20	1.55	0.30	-	
5 Ordu	4.05	1.25	0.23	1.77	-

#### 4.1.4 Mesafeye Göre İzolasyon ve Mantel Test

Popülasyonlar arasındaki önemli ölçüde yüksek genetik farklılaşma, fiziksel engellere ve mesafeye bağlanabilir. Genetik mesafe matrisi ile coğrafi mesafeler arasında (Çizelge 4.8) pozitif bir korelasyonun ( $R_{xy} > 0$ ) oluşumunu test etmek için GenAlEx kullanılarak Mantel test gerçekleştirilmiştir. Mesafeye göre izolasyon (IBD) hipotezinin test edildiği bu analiz sonucunda popülasyonlar arası genetik mesafe ile coğrafik uzaklık arasında ilişkinin anlamlı olmadığını ( $R^2 = 0.0638$ ,  $p = 0.21$ ) ortaya çıkardı, bu nedenle mesafeye göre izolasyon (Slatkin, 1993) modeli reddedildi (Şekil 4.7).

**Çizelge 4.8** Popülasyon çiftleri arası genetik (alt diyagonal) ve coğrafi (üst diyagonal) mesafe (km) matrisi

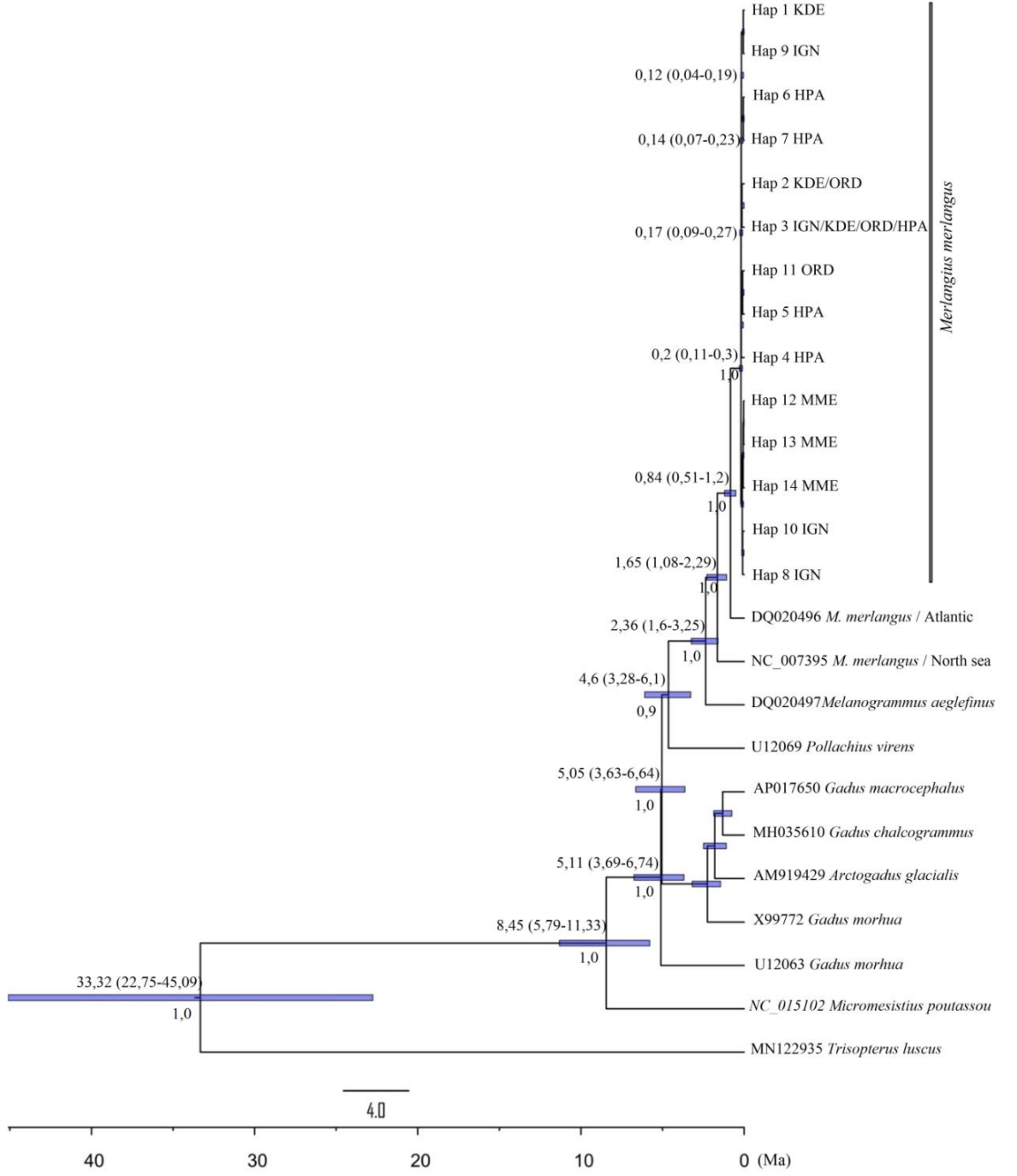
Popülasyonlar	1	2	3	4	5
1 Hopa	0.000	1342.0	1346.7	1005.6	331.6
2 İğneada	0.280	0.000	266.1	336.3	1010.4
3 Marmaraereğlisi	0.075	0.585	0.000	341.0	1015.1
4 Karadeniz Ereğli	0.131	0.514	0.077	0.000	674.1
5 Ordu	0.138	0.478	0.310	0.120	0.000



Şekil 4.7 Mesafeye Göre İzolasyon için Mantel test.

#### 4.1.5 Ayrılma Zamanı Tahmini

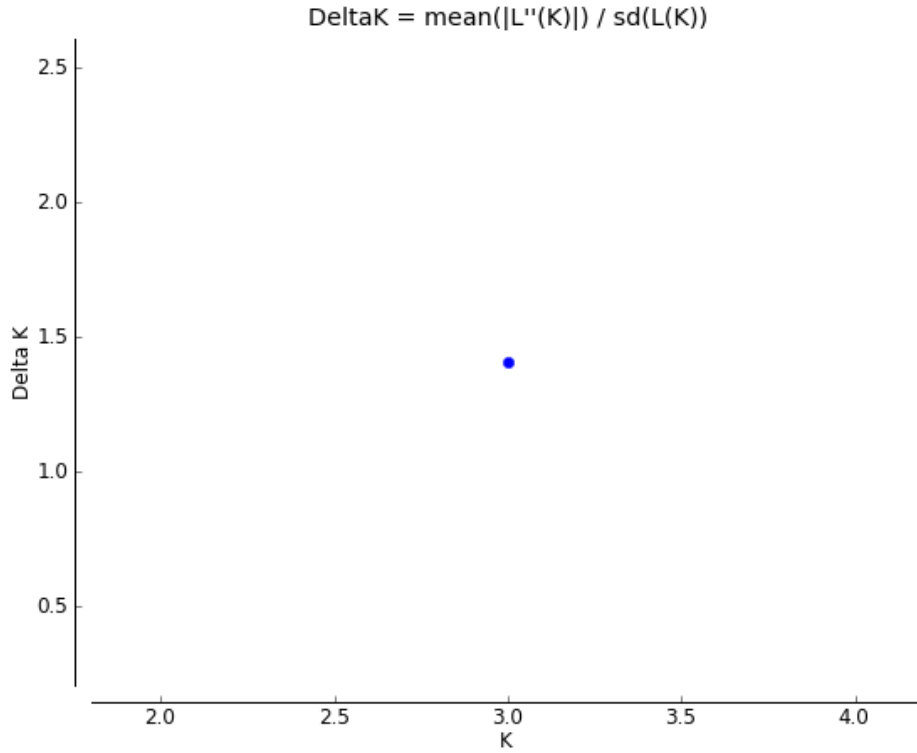
*M. merlangius*'un D-loop kontrol bölgesi veri setinin haplotipleri için tahmini evrimsel zaman ölçeği ve %95 HPD (Highest Posterior Density) aralıkları Şekil 4.8'de sunulmuştur. Yapılan analiz ile dış grup olarak kullanılan *Trisopterus luscus*'un *Gadus* ve *Merlangius* cinslerine ait türlerden ayrımının yaklaşık 33.32 milyon yıl (22.75 – 45.09 milyon yıl) önce gerçekleştiği görüldü. *Gadus* cinsinin *Merlangius*'dan ayrılması 5.05 (3.63-6.64) milyon yıl önce gerçekleşirken, *M. merlangius* ise *Melanogrammus aeglefinus*'tan 2.36 (1.6-3.25) milyon yıl önce ayrıldığı tespit edildi. *M. merlangius* örneklerinin kendi içerisinde kısmen bir ayrıma sahip olduğu, Karadeniz ve Marmara soy hattının Kuzey Denizi soy hattından 1.65 (1.08-2.29) milyon yıl önce ayrılırken Atlantik soy hattı arasındaki ayrılmanın yaklaşık 0.84 (0.51-1.2) milyon yıl önce gerçekleştiği tahmin edildi. *M. merlangius*'un Karadeniz ve Marmara örneklerinin kendi içinde ayrılma süreci yaklaşık 0.2 (0.11-0.3) milyon yıl önce gerçekleştiği görüldü.



**Şekil 4.8** D-loop veri setinin lognormal sıkı moleküler saat analizlerine dayalı Bayes ayrılma süreleri (Ma) tahminleri. Çubuklar, %95 HPD güvenilirlik aralıklarını temsil etmekte ve ortalama yaş tahminleri düğümlerde verilmiştir.

#### 4.1.6 Popülasyonların Genetik Yapı Analizi

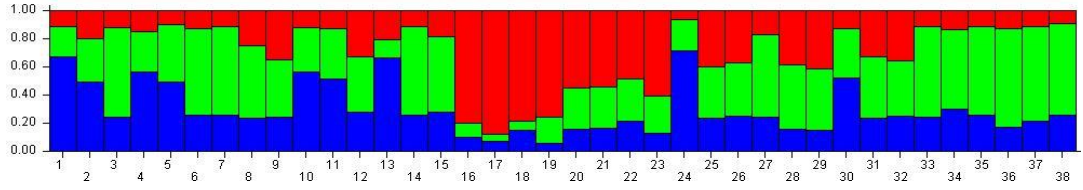
STRUCTURE sürüm 2.3.4 (Pritchard ve ark., 2000) kullanılarak genetik yapı analizi (Structure) yönteminde K= 2-4 değeri için 50 000'lik bir yanma (Burn in) periyodundan sonra, 100 000 yinleme 10 kez tekrarlandı (Earl ve VonHoldt, 2012). Bu analiz, en yüksek Delta K'ye (1.404) sahip en olası K değerinin 3 olduğunu gösterdi; bu, genel genetik varyasyonun 3 kümeye ayrıldığını gösterir (Şekil 4.9; Çizelge 4.9). Başka bir deyişle, Şekil 4.9, K= 3 kullanıldığında 5 popülasyonun kümelenme modelini temsil etmektedir.



**Şekil 4.9** Structure Harvester programı kullanılarak Mezgit balığı popülasyonlarının (K) tahmini

**Çizelge 4.9** Structure Harvester programı kullanılarak Mezgit balığı popülasyonlarının Evanno tablo çıktısı

K	Reps	Mean LnP(K)	Stdev LnP(K)	Ln'(K)	Ln''(K)	Delta K
2	10	-537.380000	109.280768	—	—	—
3	10	-839.160000	180.573310	-301.780000	253.520000	1.403973
4	10	-887.420000	327.170529	-48.260000	—	—



**Şekil 4.10** STRUCTURE programı kullanılarak analiz edilen *M. merlangus*'un beş popülasyonu arasındaki genetik ilişki.

#### 4.1.7 MtDNA Verilerinden Çıkarılan Demografik Geçmiş ve Nötralite Testi

Populasyonların demografik geçmişi, iki nötralite testi, uyumsuzluk dağılım analizi (Mismatch distribution) ve BSP (Bayesian Skyline Plot) analizi kullanılarak değerlendirildi. Herbir popülasyon ve Temel Koordinatlar Analizi (PCoA) ve SAMOVA tarafından tanımlanan mezzit popülasyon grupları için Tajima'nın ve Fu'nun nötralite testi sonuçları Çizelge 4.10'da sunulmuştur. Hopa ve İğneada popülasyonları için Tajima'nın D ve Fu'nun FS değeri negatif değerde fakat önemsizdi ( $P > 0.170$ ). Popülasyon grupları için Karadeniz pop\_1 ve tüm populasyonlara ait Tajima'nın D ve Fu'nun Fs testlerinin negatif ve anlamlı değerleri nötraliteden önemli sapmaları ortaya çıkardı bu da esas olarak popülasyonların geçmişte genişleme olaylarını düşündürdü. Ayrıca, Tajima'nın D ve Fu'nun Fs testlerinin negatif ve anlamlı değerlerinin yanı sıra tüm grupların ve toplam popülasyonun SSD ve Harpending'in rg düzensizlik indeksinin küçük ve önemsiz değeri, nötraliteden önemli sapmaları ortaya çıkardı (Çizelge 4.11). Bu durum, tüm veri seti için (Çizelge 4.10 ve Şekil 4.11-d), ani bir demografik genişleme senaryosu ile tutarlı bulundu. *M. merlangus*'un tüm grupları ve toplam popülasyon için elde edilen tek modlu uyumsuzluk dağılımı (Şekil 4.10-d) ayrıca yakın zamanda bir demografik genişleme olduğunu önerdi. *M. merlangus*'un uyumsuzluk dağılımları üç grup ve toplam örnek için ani genişleme modu altında tek modlu iken Arlequin 3.0 (Excoffier ve ark., 2005) kullanarak popülasyon genişlemesinin olası zamanlaması da tahmin edildi. Theta0 ( $\theta_0$ ) ve theta1 ( $\theta_1$ ) tahminleri, popülasyonların tüm durumlarda %95 güven aralığı (CI) ile çok küçük bir boyuttan (bazı durumlarda 0'a yakın) çok büyük bir boyuta genişlediğini göstermiştir (Çizelge 4.12). Uyumsuzluk dağılım tepe noktasını yansıtan tau değeri ( $\tau$ ), hızlı popülasyon genişlemesinin başladığı zamanın kabaca bir tahminini sağladı. Ani bir demografik genişleme varsayımı altında, tüm örnek için  $\tau$  değeri 2.409'dur (%95 güven aralığı: 1.273–3.061). *M. merlangus*'un tahmini genişleme süresi, D-loop geni için

%3-10/MY'lik bir mutasyon oranına (McMillan-Jackson ve Bert, 2003) ve  $\tau= 2$ ut denklemine göre hesaplandı. Mutasyon oranı %3 olarak kabul edildiğinde tahmini genişleme süresi 51.4 (24.3-67.2) yıl önce olarak, %10 olarak kabul edildiğinde 15.4 (7.3-20.2) olarak belirlendi (Çizelge 4.12).

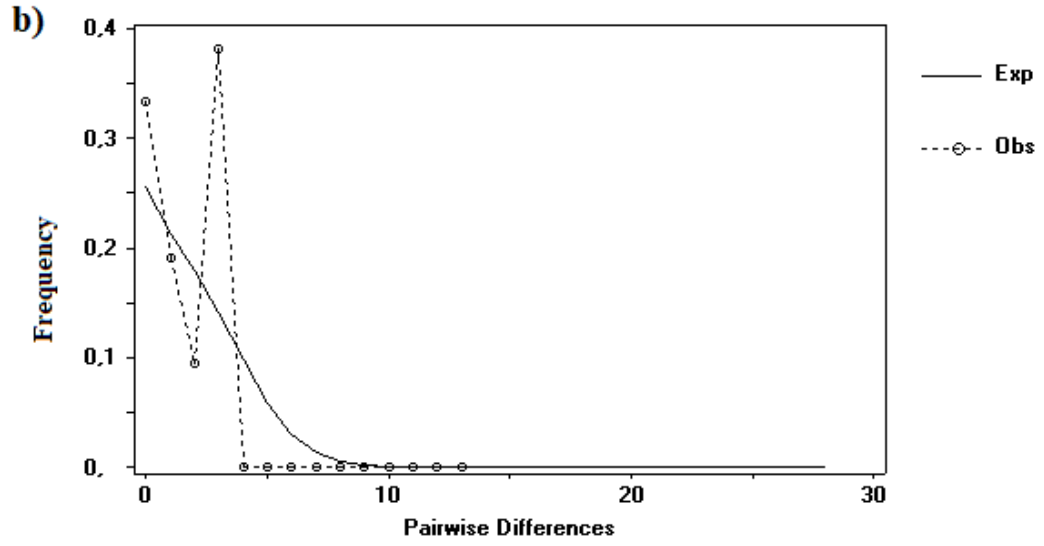
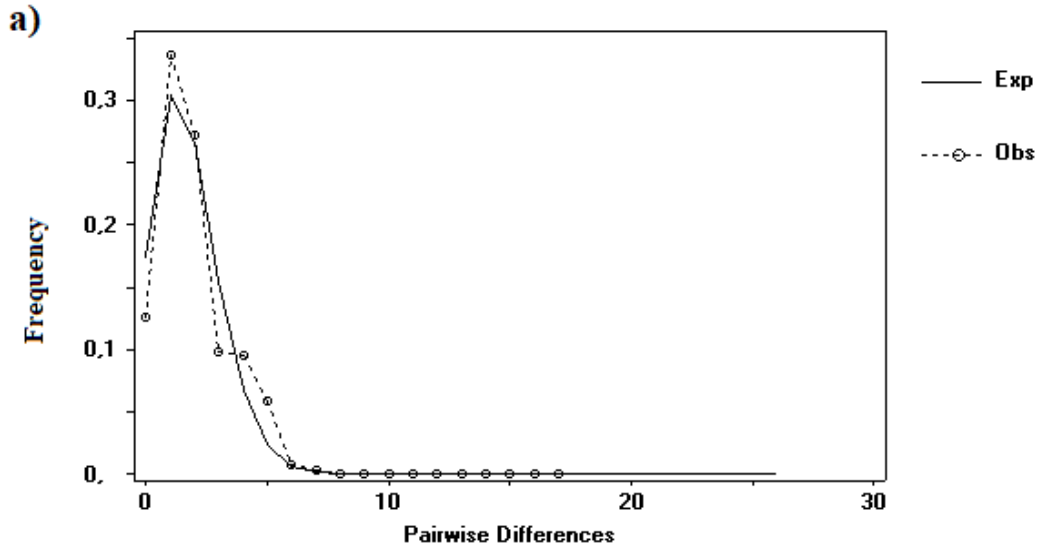
**Çizelge 4.10** D-loop belirtecine dayalı olarak üç *M. merlangus* popülasyonları ve üç popülasyon grubu için Nötralite testlerine ait sonuçlar

Nötralite testleri						
Populations	Sample size	No. of alleles	Tajima's D	Tajima's D p-value	Fu's F <sub>s</sub>	F <sub>s</sub> p-value
Hopa	7	5	-0.9631	0.2140	-0.9428	0.1700
İğneada	8	4	-0.1208	0.4520	-0.4216	0.2850
Marmaraereğlisi	8	3	1.6212	0.9770	0.3901	0.4980
Karadeniz Ereğli	7	3	1.1069	0.8540	0.7888	0.6250
Ordu	8	3	1.1039	0.8490	0.2043	0.4540
Karadeniz pop_1	23	10	-1.5850	0.0350	-4.2115	0.0110
Maramara pop.	8	3	1.6212	0.9760	0.3901	0.5190
Karadeniz pop_2	7	3	1.1069	0.8580	0.7888	0.6460
All pop.	38	14	-1.0292	0.1450	-5.6545	0.0070

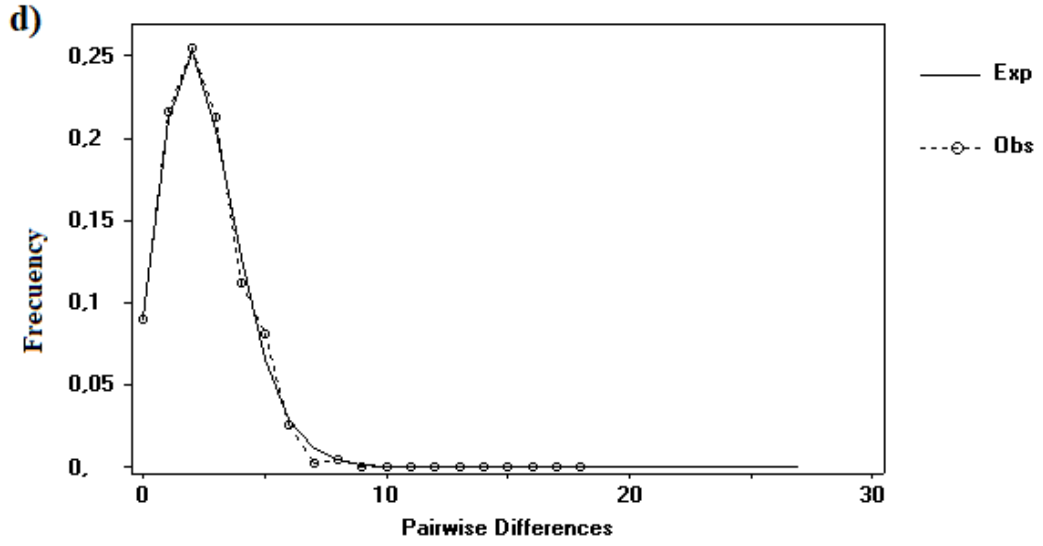
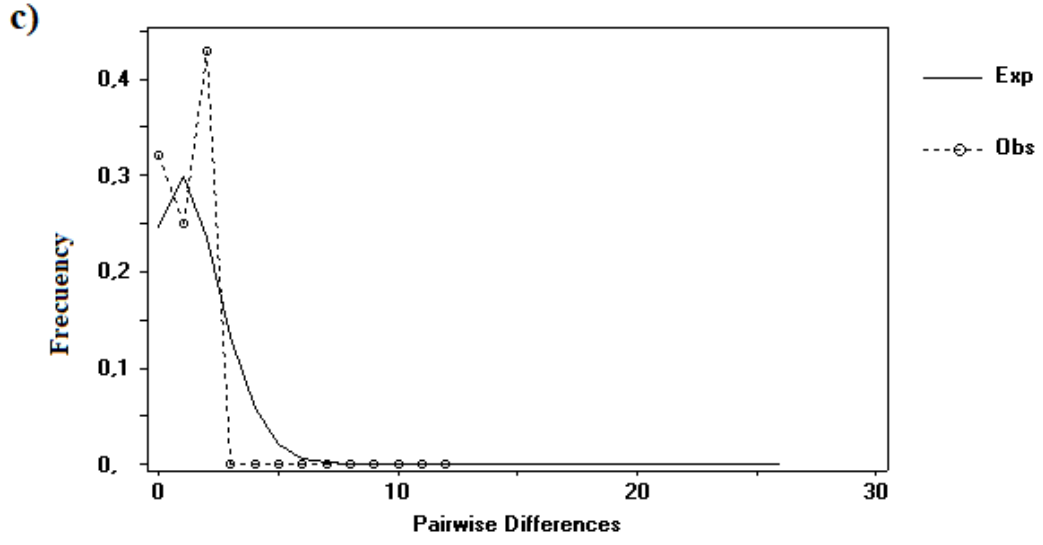
**Çizelge 4.11** Ani genişleme modeli altında D-loop belirtecine dayalı olarak *M. merlangus* popülasyonları için uyum iyiliği test sonuçları

Goodness of fit test				
Populations	SSD <sup>1</sup>	SSD p-value	HRI <sup>2</sup>	HRI p-value
Hopa	0.0067	0.9700	0.0204	1.0000
İğneada	0.0110	0.0000	0.1008	1.0000
Marmaraereğlisi	0.0450	0.1800	0.2207	0.3500
Karadeniz Ereğli	0.0710	0.1900	0.2562	0.3700
Ordu	0.0116	0.2700	0.1224	0.6000
Karadeniz pop_1	0.0100	0.2200	0.0821	0.1100
Maramara pop.	0.0404	0.2000	0.2207	0.5900
Karadeniz pop_2	0.0580	0.2700	0.2562	0.6700
All pop.	0.0007	0.7100	0.0340	0.1900

1: Sum of Squared deviation, 2: Harpending's Raggedness index



**Şekil 4.11-a / b** Üç haplogrup ve toplam popülasyon için gözlemlenen ve beklenen uyumsuzluk dağılımları. (a) Karadeniz pop\_1; (b) Karadeniz pop\_2; (c) Marmara pop.; ve (d) toplam popülasyon. Kesikli çizgi, gözlenen dağılım; düz çizgi, genişleyen bir popülasyon modeli altında teorik olarak beklenen dağılım.



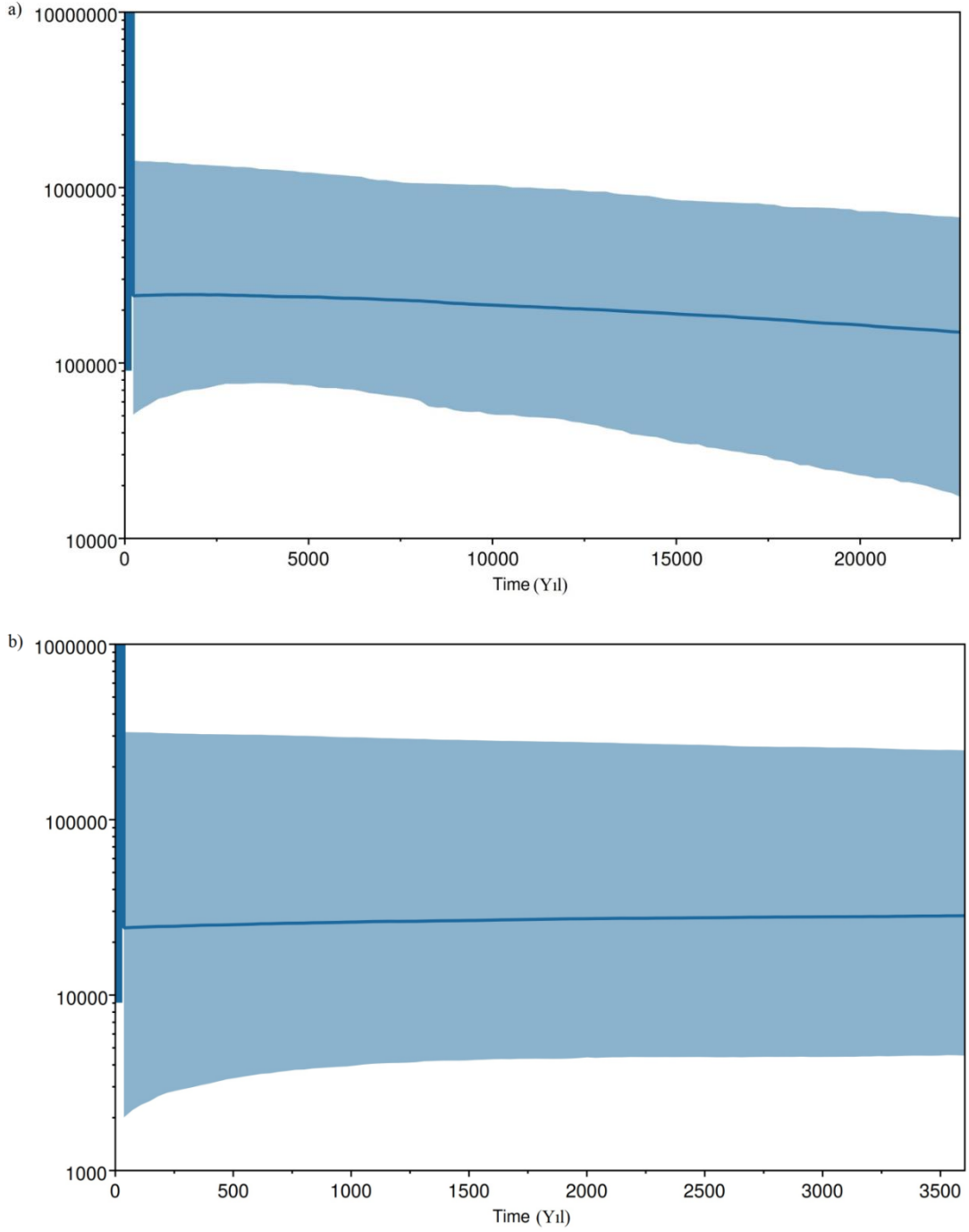
**Şekil 4.11-c / d** Üç haplogrup ve toplam popülasyon için gözlemlenen ve beklenen uyumsuzluk dağılımları. (a) Karadeniz pop\_1; (b) Karadeniz pop\_2; (c) Marmara pop.; ve (d) toplam popülasyon. Kesikli çizgi, gözlenen dağılım; düz çizgi, genişleyen bir popülasyon modeli altında teorik olarak beklenen dağılım (devamı).



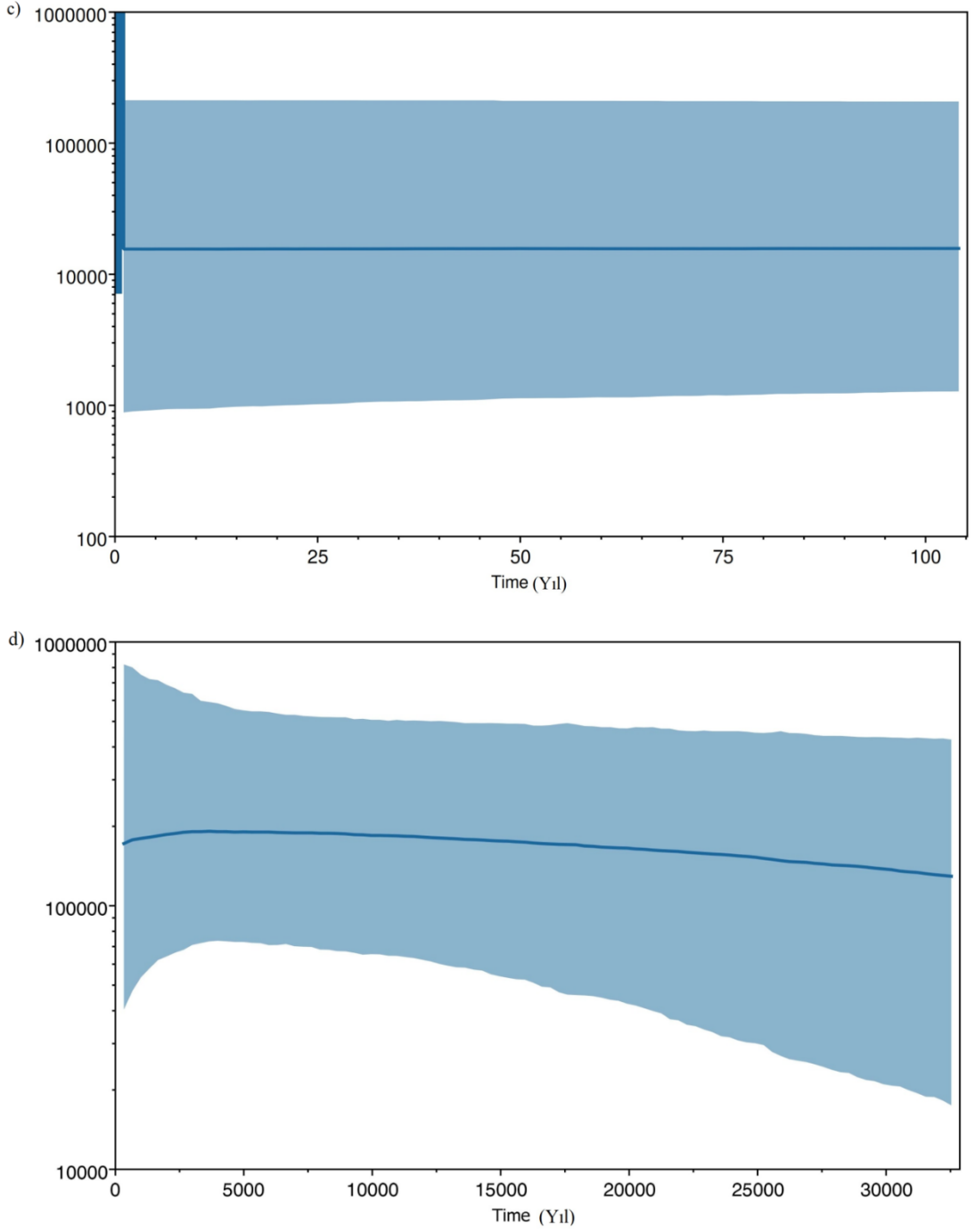
**Çizelge 4.12** D-loop belirtecine dayalı olarak üç *M. merlangus* grubu için uyumsuzluk dağılım analizi ve genişleme süresine ait sonuçlar

Populations	Mismatch distribution			$t = \tau/2u$ (kya)	
	Tau	Theta 0	Theta 1	Mutasyon oranı	
				(%3)	(%10)
<b>Hopa</b>	4.0780	0.0020	6.4310	87.03	26.11
<b>İğneada</b>	1.5000	0.0000	6829.3700	32.01	9.60
<b>Marmaraereğlisi</b>	1.7810	0.0040	6.2390	38.01	11.40
<b>Karadeniz Ereğli</b>	3.3750	0.0020	3.0420	72.02	21.61
<b>Ordu</b>	1.0000	0.4500	6838.1200	21.34	6.40
<b>Karadeniz pop_1</b>	1.7500	0.0000	6844.3700	37.35	11.20
<b>Marmara pop.</b>	1.7810	0.0040	6.2390	38.01	11.40
<b>Karadeniz pop_2</b>	3.3750	0.0020	3.0420	72.02	21.61
<b>All pop.</b>	2.409	0.4500	6849.9700	51.40	15.40

*M. merlangus*'un Karadeniz ve Marmara Denizi popülasyonlarının tarihsel demografisi BSP analizindeki birleştirici yaklaşım'dan (Coalescent Approach) çıkarılmıştır. Zaman içinde etkili popülasyon büyüklüğündeki değişiklik modeli dikkate değer ölçüde bir artış olduğu gösterildi (Şekil 4.12-b) ve geçmişte yaşanan darboğazın ardından olası popülasyonun demografik toparlanma senaryosunu çağrıştırdı (Hoffman ve ark., 2011). Karadeniz 1 ve toplam popülasyon için D-loop kontrol bölgesi veri seti ile yapılan BSP analizi, etkili popülasyon büyüklüğünde bir artış gösterdi, bu da popülasyonların son 5000 yıldır genişlediğini (Şekil 4.12-a ve d) ve büyüdüğünü gösterdi. Demografik genişlemenin tahmini zamanlaması, Karadeniz 1 ve toplam popülasyon için uyumsuzluk dağılım istatistiği kullanılarak elde edilen tahminle iyi bir uyum içinde oldu görüldü. Karadeniz 2 popülasyonu için *M. merlangus*'un 3 500 yıl öncesinden günümüze, Marmara popülasyonları için, 100 yıl öncesinden günümüze kadar uzun bir sabit popülasyon büyüklüğü geçmişi olduğu belirlendi (Şekil 4.12- b ve c).



**Şekil 4.12-a / b** Üç haplogrup ve toplam popülasyon için D-loop veri setinin BSP Analizi. (a) Karadeniz pop\_1; (b) Karadeniz pop\_2; (c) Marmara pop.; ve (d) toplam popülasyon. X eksen, günümüzden önceki zamanı (mya) temsil eder. Y eksen, etkin popülasyon büyüklüğünü temsil eder. Düz çizgi, medyan popülasyon boyutunu gösterir ve HPD'nin %95 aralığı mavi renkle gösterilir.



**Şekil 4.12 –c / d** Üç haplogrup ve toplam popülasyon için D-loop veri setinin BSP Analizi. (a) Karadeniz pop\_1; (b) Karadeniz pop\_2; (c) Marmara pop.; ve (d) toplam popülasyon. X eksenini, günümüzden önceki zamanı (mya) temsil eder. Y eksenini, etkin popülasyon büyüklüğünü temsil eder. Düz çizgi, medyan popülasyon boyutunu gösterir ve HPD'nin %95 aralığı mavi renkle gösterilir **(devamı)**.

## 4.2 TARTIŞMA

*M. merlangus* içindeki genetik çeşitliliği incelemek için, Artvin, Hopa (10), Ordu, Perşembe (10), Zonguldak, Ereğli (10), Kırklareli, İğneada (10) ve Tekirdağ, Marmara Ereğlisi (7) örneklerini içeren çalışma yürütülmüştür. Çalışılan popülasyonların genotipik verileri, *M. merlangus*'un gelecekteki avcılık yönetim çabalarını destekleyebilecek genetik çeşitliliği ve popülasyon genetiğini araştırmak için kullanılmıştır. Genetik çeşitliliğin popülasyonlar içinde ve arasında dağılımına ilişkin modele, türün genetik popülasyon yapısı denir. Genetik kaynakların tükenmesini önlemek için sürdürülebilir yönetim bu yapının bilgisine dayanmalıdır (Laikre ve ark., 2005).

Türkiye’de Karadeniz ve Marmara Denizinde yaygın ve ekonomik bir tür olan *M. merlangus* insanlar için önemli bir besin kaynağıdır. Bu çalışma, *M. merlangus*'un genetik çeşitliliğini, demografik tarihini ve genetik yapısını anlamak için D-loop kontrol bölgesi gen dizilerinin kullanımı ile gerçekleştirilmiş ve mezigit balığının korunması ve geliştirilmesi için iyi bir temele ve yüksek evrimsel potansiyele sahip olduğu gözlenmiştir. Avise (2000), D-loop kontrol bölgesinin çoğu türde hızla evrimleşen bir lokus olduğunu ve balıkların hem filogenetik analizi hem de tür içi filocoğrafik çalışmaları için kullanıldığını belirtmiştir.

Aşağıda, Türkiye'de Karadeniz ve Marmara Denizinde dağılım gösteren mezigit balığının popülasyonlarının genetik yapısının temel yönleri tartışılmakta ve bu tür için yeterli genetik bilginin eksik olduğu görülmektedir. Bu, özellikle ticari olarak sömürülen balık türlerinin popülasyonlarının aşırı av baskısı altında olduğu ve yok olma tehdidi altında olabileceği düşünüldüğünde ciddi bir sorun olarak karşımıza çıkmaktadır.

### 4.2.1 Genetik Çeşitlilik

Genetik çeşitlilik hangi türlerin gelecekte değişen ortam koşullarına uyum sağlama olasılığının daha yüksek olduğunu tahmin etmeye ve popülasyonların ve türlerin uzun süreli hayatta kalmasına yardımcı olabilecek bir ölçüm aracı olarak tanımlanabilir (Martinez ve ark., 2018). Genel olarak, genetik çeşitlilik, alternatif gen formlarında veya kodlama yapmayan lokuslarda popülasyon içi değişkenliği ölçen bir

araçtır (Lande ve Barrowdough, 1987; Hughes ve ark., 2008). Bir popülasyonun evrimleşme ve uyum sağlama yeteneği hem heterozigotluk hem de bir popülasyonda bulunan toplam alel sayısı ile ilişkili olabilir (Frankham ve ark., 2014). İlave olarak, genetik çeşitliliğin azalması, özellikle stresli çevresel koşullarla karşı karşıya kalan popülasyonlar için neslinin tükenme olasılığının artmasına neden olabilir (Lippe ve ark., 2006; Martinez ve ark., 2018). Mevcut araştırmada, Karadeniz ve Marmara Denizi'nden örneklenen *M. merlangus* popülasyonlarında nispeten yüksek düzeyde bir genetik varyasyon tahmin edilmiştir. Bu çalışmanın ilk göze çarpan sonucu, *M. merlangus*'un, kontrol bölgesi dizisi için büyük oranda yüksek frekanslı haplotip çeşitliliği ( $H_d$ : 1.0) ile düşük frekanslı nükleotit çeşitliliği ( $\pi$ : 0.236) ile karakterize edilmesinin bulunmasıdır. Şalcıoğlu ve ark. (2020), benzer şekilde Karadeniz'in Türkiye sularında örnekledikleri *Merlangius merlangus euxinus* türü üzerine yaptıkları çalışmada, kısmi COI gen bölgesi için yüksek haplotip ve düşük nükleotit çeşitlik değerlerini  $H_d$ = 0.1450 ve  $\pi$ = 0.0003 olarak hesaplamışlardır. Aynı çalışmada araştırmacılar çeşitlilik indekslerini Cytb için  $H_d$ = 0.8730 ve  $\pi$ = 0.0029 ve nükleer marker RAG1 için  $H_d$ = 0.4940,  $\pi$ = 0.0025 olarak hesaplamışlar ve bu değerlerin COI değerlerine göre daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmanın sonuçlarının, Şalcıoğlu ve ark. (2020) tarafından yürütülen ve COI, Cytb ve RAG 1 dizi verilerinden elde edilen sonuçlara benzer olduğu tespit edilmiştir. Yüksek haplotip ve düşük nükleotit çeşitliliği ilişkisi diğer deniz balığı türlerinde de sıklıkla gözlenmiştir. Önceden yapılan çalışmalara bakıldığında; Türkiye'den üç *Trachurus* türü (*T. trachurus*, *T. mediterraneus* ve *T. picturatus*) Cytb geni için sırasıyla haplotip çeşitliliği 0.426, 0.476 ve 0.652 ve nükleotit çeşitliliğinin 0.0020, 0.0023 ve 0.041 (Bektaş ve Beldüz, 2008) olarak hesaplandığı, Karadeniz Trabzon açıklarından örneklenen Atlantik palamutu *Sarda sarda* (Bloch, 1793) için haplotip ve nükleotit çeşitliliği değerleri sırasıyla COI gen bölgesi için 0.845 ve 0.00984, 16s rRNA gen bölgesi için 0.352 ve 0.00083, Rhodopsin gen bölgesi için 0.31 ve 0.00105 (Kasapoğlu ve ark., 2022) olarak hesaplandığı ve Karadeniz'de yayılış gösteren ve demersal balık türü olan *Mullus barbatus* türü için mtDNA'nın kısmi kontrol bölgesi nükleotid çeşitliliğinin ve haplotip çeşitliliğinin ortalaması sırasıyla 0.015 ve 0.963 (Tuncay ve ark., 2014) olarak hesaplandığı görülmüştür. Bu durum genellikle, mutasyon yoluyla haplotip sayılarını (H) artırmak için yeterli zamanın olduğunu, ancak büyük dizi

farklılıkları biriktirmediğini varsayarak, küçük bir etkili popülasyon büyüklüğünden ani demografik genişlemeye atfedilir (Rogers ve Harpending, 1992). MtDNA, nükleer genomdan daha hızlı evrimleşmiş olsa da mtDNA'nın farklı bölgeleri için evrim hızı farklıdır (Allio ve ark., 2017). Bu çalışmada kontrol bölgesinde gözlenen yüksek sayıda haplotip sayısı (H: 14) muhtemelen mtDNA genlerinin yüksek mutasyon oranından kaynaklanmaktadır. Benzer şekilde, Şalcıoğlu ve ark. (2020), Türkiye'deki mezgit balığının (*Merlangius merlangus*) filocoğrafyasını mitokondrial COI ve Cytb genleri ve nükleer RAG 1 geni verilerine dayalı olarak analiz etmiş ve sırasıyla 8, 22 ve 22 haplotip tanımlamıştır. Haplotiplerinin çoğunun belirli örnekleme bölgesine özgü olduğu tespit edilmiştir (Hopa için 4, İğneada için 3, Marmaraereğlisi için 3, Karadeniz Ereğlisi için 1 ve Ordu için 1 haplotip). Bu durum muhtemelen çalışılan bölgelerde ayrı kurucu popülasyonların varlığını gösteriyor olabilir. Freeland ve ark. (2011), birçok birey, özgün haplotiplere sahip olma eğilimindeyse, bir popülasyonda hızla gelişen bir genomdaki haplotip çeşitliliğinin genellikle 1.0'a yaklaştığını öne sürmüştür.

#### 4.2.2 Filogenetik ve Haplotip Ağı Analizleri

Genetik çeşitliliğin dağılımı ve gözlemlenen modeller filogenetik analiz ve haplotip ağları ile incelenmiştir. 781 bç'lik kontrol bölgesi için belirlenen haplotiplere dayalı olarak filogenetik yapı analiz edildi. Elde edilen sonuçlar, Şalcıoğlu ve ark. (2020)'nin COI ve Cytb ve RAG 1 gen bölgelerinin birleştirilerek yaptıkları analiz sonuçlarından farklı olarak, *M. melangus*'un mevcut dağılımının en az iki genetik olarak farklı klad içerdiğini ortaya çıkardı. İki klad arasında paylaşılan hiçbir haplotip bulunamadı. Birinci grup, Marnara Denizi Tekirdağ il sınırları içinde Marmaraereğlisi'nden örnekleri içerir (Şekil 4.2), ikinci grup ise, Türkiye Karadeniz açıklarından dört farklı lokaliteye (İğneada, Karadeniz Ereğlisi, Ordu ve Hopa) ait örnekleri içermektedir. Filogenetik ağaçlardaki haplotiplerin çoğunu içeren Klad II, düşük intraspesifik dizi farklılığı nedeniyle iyi çözülemedi. Şalcıoğlu ve ark. (2020) çalışmasında ayrıca çok derin olmayan iki coğrafik grup belirlenmiştir. Bunlardan ilki Kuzey Ege Yunanistan sahillerinden toplanan örnekler düşük bootstrap ve posterior probablity değeri ile Karadeniz ve Türk boğazlar sistemi örneklerinden ayrılmıştır. Bu

çalışmada Kuzey Ege Türkiye sularından örnek temin edilemediği için karşılaştırma yapılamamıştır.

Mitokondriyal haplotip ağı analizi bulgularına göre, kontrol bölgesi dizilerinden elde edilen tüm haplotiplerin tutarlı bir şekilde farklı grupları desteklediğini, 4 popülasyonun (İğneada, Karadeniz Ereğlisi, Ordu ve Hopa) üyelerinin birinci grup içinde birçok haplotip paylaştığını, oysa Marmaraereğlisi popülasyonundan bireylerin özgün haplogrup oluşturduğunu gösterdi. Özgün haplotiplerin çoğu, paylaşılan merkezi haplotiple yakından ilişkiliydi. Bu ilişki, Marmara ve Karadeniz’de dağılım gösteren *M. merlangus*’un filocoğrafik bir modelini ortaya çıkardı. En yaygın haplotip (Hap 3), bir veya iki mutasyon adımıyla merkez bağlantılı ayrılan çoklu haplotipleri oluşturdu. Medyan Joining ağının (MJN) yıldız şeklindeki yapısı, çoklu haplotiplerle çevrili sayısal olarak baskın bir merkezi haplotip göstermesi birkaç farkla yüksek haplotip çeşitliliği ve düşük nükleotit çeşitliliğini gösterir.

En son haplotipler, doğrudan veya dolaylı olarak soy haplotiplerinden evrimleşmiştir. Atasal haplotipin varlığı, Karadeniz ve Marmara Denizi’nde muhtemelen tek farklı kaynaktan geldiğini düşündürmektedir. Haplotip ağları, haplotipik varyasyonun soy geçmişi yeniden oluşturur ve veri setinde gözlemlenen farklı haploid genotipler arasındaki evrimsel ilişkiyi tanımlar. Birleşme ilkelerini takiben, en yaygın haplotipler ve bir ağda merkezi bir konumda bulunan haplotipin atasal olduğu kabul edilirken, üst haplotiplerin daha genç, yakın zamanda türemiş haplotipler olduğu varsayılır (Jenkins ve ark., 2018). Bu tür şecere ilişkisi, farklı bölgelerdeki *M. merlangus* popülasyonlarının yakın zamanda ayrıldığını göstermektedir. Bu merkezden yayılan yıldız şeklindeki haplotip deseninin ortaya çıkışı, *M. merlangus* popülasyonlarının son zamanlarda popülasyon büyüklüğünde önemli bir artış yaşadığını da gösterir (Jenkins ve ark., 2018). Benzer şekilde, *M. merlangus* alttürleri üzerine yapılan önceki çalışmalarda bulunan haplotip ağları, bazı mutasyonlarla ortak haplotiplerin yakın zamanda yayıldığını gösteren belirgin bir yıldız şeklinde model sunmuştur (Şalcıoğlu ve ark., 2020).

### 4.2.3 Popülasyonların Genetik Yapısı

Farklı gruplar arasındaki AMOVA sonuçları, mezigit popülasyonlarının genetik olarak farklılaştığını ve kontrol bölgesi için toplam genetik varyasyonun % 41.83'ünün populasyonlar arasında ve %34.95'inden fazlasında gruplar arasında mevcut olduğunu gösteren yüksek ve önemli  $F_{ST}$  ve  $F_{CT}$  sonuçları gösterdi. Popülasyonlar arasındaki önemli ölçüde daha yüksek genetik farklılaşma, fiziksel engellere ve mesafeye bağlanabilir. Mantel testi, coğrafi ve genetik mesafeler arasındaki korelasyonun önemli olmadığını ( $R^2= 0.064$ ,  $p= 0.21$ ) ortaya çıkardı, bu nedenle mesafeye göre izolasyon (Slatkin, 1993) modeli reddedildi. Moleküler varyans analizi sonuçları, popülasyonlar arasındaki genetik bağlantının azaldığını göstermektedir. Bu nedenle, üç farklı mezigit grubu arasındaki popülasyon farklılaşması için daha makul bir yorum, popülasyonları izole eden gen akışına yönelik mevcut engeller dahil olmak üzere çeşitli faktörlerin bir araya gelmesi olabilir. SAMOVA kullanılarak coğrafi olarak homojen ve birbirinden maksimum derecede farklı popülasyon grupları tanımlanmıştır. SAMOVA analizinin sonuçları, mezigit balığının 5 farklı coğrafi örnekleme bölgesi arasında güçlü genetik heterojenlik gösterdi. SAMOVA'da  $K= 3$  olduğunda  $F_{CT}$  değeri 0.3495 olarak hesaplanmıştır. *M. merlangus*'un mitokondriyal DNA (D-loop) veri seti için gruplar arasındaki ( $F_{CT}$ ) ve Spatial moleküler varyans analizi (SAMOVA) genetik değişkenlik oranı, 5 popülasyonun üç grub altında değerlendirilebileceğini gösterdi. Bu sonuçlara göre analiz Hopa, İğneada ve Ordu örnekleme lokasyonlarının Karadeniz pop.1 popülasyonunu, Karadeniz Ereğli lokasyonunun Karadeniz Pop.2 popülasyonunu ve Marmaraereğlisi örnekleme lokasyonunun Marmara popülasyonunu temsil ettiği görülmüştür. Bu şekilde mezigit balığının çalışma bölgesinde tek bir panmiktik stoğu temsil ettiği şeklindeki sıfır hipotezi, üç stok arasındaki yüksek ve önemli farklılaşma nedeniyle doğrulanmamaktadır. Hem AMOVA hem de SAMOVA analizleri, Temel Koordinatlar Analizi'ne (PCoA) dayalı olarak ayrıştırılması ve filogenetik analiz sonuçlarını destekler şekilde üç farklı grubun yapısını ortaya çıkardı. Popülasyonlar arasındaki genetik varyasyonun kapsamı, alellerin bir popülasyondan diğerine göçü olan  $F_{ST}$  tabanlı gen akışı tahmin edicileri kullanılarak açıklığa kavuşturulabilir. Genel olarak bu, alıcı popülasyonda başlangıçta mevcut olmayan alellerin göç eden bireyler tarafından aktarıldığı anlamına gelir (Çiftci ve ark., 2022). Bu çalışmada, beş



popülasyon arasındaki  $F_{ST}$  değeri, popülasyonlar arasında düşük bir gen akışını gösteren sıfırdan önemli ölçüde büyük bulunmuştur. Şalcıoğlu ve ark. (2020), COI + Cytb genlerini kullanarak Türk boğazlar sisitemi, Karadeniz ve Kuzey Ege popülasyonları üzerine yapmış olduğu moleküler varyans analizi sonucunda benzer şekilde varyasyonun %15.80 ( $F_{CT}=0.1580$ )'lik kısmının popülasyon grupları arasında paylaşıldığını tespit ederken, RAG 1 geni için ise AMOVA analizi, gruplar arasında anlamlı bir farklılık tespit etmemiştir ( $F_{CT}=0.0419$ , %4.18).

#### 4.2.4 Kladlar Arasında Ayrılma Zamanı Tahmini

Ayrılma zamanı tahmini, filogenetik analize benzer şekilde derin diverjans ortaya çıkardı. Sıkı saat kullanılarak ve korelasyonsuz ancak lognormal olarak dağılmış moleküler evrim oranlarına sahip bir model varsayılarak (Drummond ve ark., 2006) yapılan analizde *Merlangius* cinsinin ayrılması erken Pliyosen döneminde başlamış ve Pleistosen sırasında da devam ettiği görülmüştür. *Merlangius* cinsinin *Gadus*'dan (Ma) ayrılma zamanı geç Miyosen veya erken Pliyosen boyunca 5.05 (3.63-6.64) milyon yıl öncesine tekabül etmektedir. Bu dönemde tüm Akdeniz çevresinde 5.96 milyon yıl önce Akdeniz'in Atlantik'ten izole olarak kapanması ve eş zamanlı olarak Messiniyen Tuzluluk Krizi'nin başlaması gerçekleşmiştir. Akdeniz'in Atlas Okyanusu bağlantısının kopması 5.59 ve 5.33 milyon yılları arasında olmuştur (Krijgsman ve ark., 1999). Boğazın 5.6 milyon yıl civarında kapanmasından sonra, bölgenin o zamanki kuru iklimi, Akdeniz havzasını yaklaşık bin yıl içinde neredeyse tamamen kurutmuştur. Bu büyük kuruma, derin bir kuru havza bıraktı ve normal deniz seviyesinin 3 ila 5 km altına düşmesini ve bugünün Ölü Deniz'ine benzer birkaç hipersalin cep oluşumunu sağlamıştır. Cebelitarık Boğazı'nın tektonik çökmeye bağlı olarak açılması sonucu Akdeniz'de tuzluluk krizinin sonlanması 5.33 milyon yıl önce gerçekleşmiş olup (Govers, 2009), bu olay Plioseni, Miosen devresinden ayıran önemli bir kronolojik nokta olarak kabul edilmiştir. Yaklaşık olarak bu dönemde, Paratetis Deniz'i bugünkü Karadeniz, Hazar ve Aral Deniz'ine bölünmüştür (Bianco, 1990). Senozoik Zaman'ın sonuncusu olan Kuaterner periodunda, bugünkü Ege Denizi'nin bulunduğu bölgedeki Egeid karası çökmüş ve Akdeniz'in suları bu çöküntüyle dolarak Ege Denizi'ni oluşturmuştur. Bu dönemde buzullar eriyerek deniz seviyesini yükseltmişlerdir. Yaklaşık 25 000 yıl öncesi deniz suyu seviyesi muhtemelen bugünkü

seviyenin sadece 30 m altındadır ve Akdeniz sularının Karadeniz'e serbestçe girmesini sınırlayan İstanbul Boğazı'ndaki kritik eşik derinliği 50 m'dir (Scholten, 1974; Degens ve Ross, 1972). Bu aşamada, son buzullaşma döneminde, günümüzden yaklaşık 22 000 yıl önce, Karadeniz gerçek bir tatlı su özelliği kazanmıştır ve tüm su sütunu boyunca aerobik koşullar hüküm sürmektedir (Degens ve Ross, 1972). Bu göl evresi yaklaşık 12 000-13 000 yıl sürmüştür (Berner, 1973). Erken Holosen'de, buzullar eriyip, günümüz iklim koşulları oluşunca, deniz seviyeleri yükselmiş, Çanakkale ve İstanbul boğazları oluşmuştur. Bunun sonucunda, Akdenizden gelen tuzlu su Karadeniz havzasını istila etmiş ve Karadeniz'deki tatlı su faunası denizel türlerle yer değiştirmiştir (Ryan ve ark., 1997). Kuaterner'in ilk dönemi olan Pleistosen'de büyük ölçüde astronomik etkilere bağlı olarak yüzden fazla sıcak ve soğuk devir yaşanmış ve buna bağlı deniz seviyesi değişiklikleri, Akdeniz'deki balık türlerinin çeşitliliğini ve dağılımını etkilemiş gibi görünmektedir (Gibbard ve ark., 2009; O'Regan ve ark., 2011). *M. merlangus* örnekleri yaklaşık 2.6 Mya başlayan Kuaterner'in ilk dönemi olan Pleistosen'de kendi içerisinde kısmen bir ayrıma sahip olmuş, Karadeniz ve Marmara soy hattı Kuzey Denizi soy hattından 1.65 (1.08-2.29) milyon yıl önce, Atlantik soy hattından yaklaşık 0.84 (0.51-1.2) milyon yıl önce ayrılmıştır. Karadeniz ve Marmara örneklerinin kendi içinde ayrılma süreci ise yaklaşık 0.2 (0.11-0.3) milyon yıl önce gerçekleştiği tahmin edilmiştir. Şalcıoğlu ve ark. (2020) mezgit balığı alt türlerinin tahmini ayrılma sürelerini 219 Kya olarak hesaplamış ve bu ayrılmanın son buzul dönemi öncesinde gerçekleştiğini belirtmiştir. Bu sonuçların yürütülen bu çalışma ile uyumlu olduğu görülmektedir.

#### **4.2.5 Demografik Tarih**

Genetik varyasyon, bir popülasyonun demografik geçmişi hakkında çıkarım yapmak için kullanılabilir. Nükleotid uyumsuzluk analizi, haplotip ağaç yapılarını incelemek ve demografik geçmişe ilişkin tahminler yapmak için kullanılabilir. Derin soy bağları iki veya çok modlu uyumsuzluk dağılımları üretecek, ancak sığ soy bağı tek modlu olacaktır (Rogers ve Harpending, 1992). Daha yeni yöntemler, örneğin Pybus ve ark. (2000) tarafından tanıtılan sky line plot yöntemi, bir popülasyonun bireyleri arasındaki soy ilişkisine bağlı demografik geçmişi yeniden yapılandırma yeteneğini geliştirdi. Hangi yöntem kullanılırsa kullanılsın, araştırmacılar popülasyon

darboğazı gibi demografik olayların zamanlamasının kritik olarak moleküler saat hızına bağlı olduğunu vurgulamaktadırlar.

*M. merlangus* haplotip grupları için tarihsel demografik açılımlar, sekanslar arasındaki ikili farklılıkların frekans dağılımları değerlendirilerek incelenmiştir. Her grubun popülasyon geçmişi için Tajima'nın D'si (Tajima, 1989) ve Fu'nun  $F_s$  (Fu, 1997) testi gibi istatistiksel nötralite testleri kullanıldı. Bu testler, popülasyonların dengede olup olmadığını ve popülasyonlarda var olan çok sayıdaki alel içerisinde herhangi bir alel üzerinde seçim olup olmadığını test etmek amacıyla kullanılmaktadır. Ayrıca, mutasyon-sürüklenme dengesinde değişmeyen bir popülasyon büyüklüğü varsayımından türetilen tarafsızlıktan sapmayı tahmin etmektedir. Tajima'nın D'si, polimorfik bölgelerin sayısı ile veri setindeki ortalama nükleotid farklılıklarının sayısı arasındaki korelasyonu test eder (Tajima, 1989). Fu'nun  $F_s$  testi, gözlemlenen haplotiplerin sayısı göz önüne alındığında, daha büyük bir sayının mevcut olup olmadığını değerlendirir (Fu, 1997). Negatif ve anlamlı bir Tajima'nın D'si son zamanlardaki seçici süpürme, nadir alellerin fazlalığını ve yakın zamanda yaşanan bir darboğazdan sonra popülasyon genişlemesini tanımlarken (Tajima, 1989; Simonsen ve ark., 1995), pozitif bir D değeri ise dengeleyici seçimi, nadir alellerin eksikliğini ve ani olarak popülasyon daralmasını tanımlar (Tajima, 1989). Önemli ve negatif bir Fu'nun  $F_s$  değeri, geçmiş popülasyon genişlemesinin anlamlı bir onayıdır ve popülasyon genişleme modeli oluşturan evrimsel güçleri hariç tutar (Fu ve Li 1993; Fu, 1997). Ancak Fu istatistiğinin pozitif  $F_s$  değerleri, dizilerin arka plan seçimi ile tutarlı bir modelde nötr olmayan bir şekilde geliştiğini gösterir (Fu ve Li, 1993; Okello ve ark., 2005). Yürütülen bu çalışmada, Popülasyon grupları içinde Karadeniz pop\_1 ve tüm popülasyonlara ait Tajima'nın D ve Fu'nun  $F_s$  testlerinin negatif ve anlamlı değerleri nötraliteden önemli sapmaları ortaya çıkardı bu da bize popülasyonların geçmişte demografik değişiklikler geçirdiğini yani genişleme yaşadığını göstermektedir. Ayrıca, elde edilen sekans verileri için fazla sayıda nadir haplotip olduğu görüldü. Bu, darboğaz ve ardından demografik genişleme yaşayan popülasyonlara bağlanabilir. Grant ve Bowen (1998), bu çalışmanın sonuçlarını destekler şekilde düşük etkili popülasyon büyüklüğü dönemlerinden sonra ani

popülasyon artışı, popülasyonda yeni mutasyonların tutulmasına ve dolayısıyla nadir haplotiplerin fazlalığına yol açacağını belirtmektedir.

Uyumsuzluk dağılımı, bir numunedeki DNA dizileri arasındaki ikili farklılıkların modelini gösteren bir frekans grafiği veya dağılım grafiğidir ve genellikle azalmakta olan veya demografik dengede olan popülasyonlardan alınan örnekler için çok modlu olarak sunulur. Buna karşılık, genellikle popülasyonlarda tek modlu bir dağılım gösterir, bu da popülasyonların yakın zamanda ani bir demografik genişleme yaşadığını (Slatkin ve Hudson, 1991; Rogers ve Harpending, 1992) veya komşu popülasyonlar arasında yüksek göç oranlarıyla menzil genişlemesi yaşadığını (Ray ve ark., 2003; Excoffier, 2004) gösterir. İncelenen verilerin ani genişleme modeline uyduğu hipotezi SSD (Schneider ve Excoffier, 1999) ve düzensizlik indeksi (Harpending, 1994) aracılığıyla doğrulanmıştır. Anlamli olmayan SSD değerleri, gözlemlenen verilerin demografik genişleme hipotezini desteklediğini ve darboğaz olayını reddettiğini göstermektedir. Önemli Harpending'in  $r_g$  düzensizlik endeksleri de popülasyon artışına işaret etti. İncelenen tüm gruplar, son demografik genişlemeyi gösteren, uyumsuzluk dağılım eğrisinin tek modlu bir modelini ortaya çıkardı (Slatkin ve Hudson 1991; Rogers ve Harpending, 1992). Gruplar için hem SSD değeri (Schneider ve Excoffier, 1999) hem de düzensizlik (Harpending, 1994) istatistiklerinin anlamlı olmaması, *M. merlangus* popülasyonunun Karadeniz de menzil genişlemesinde olduğunu düşündürmektedir. *M. merlangus* için genişleme süresinin tau değerine ( $\tau$ : 2.409) göre mutasyon oranı %3 olarak kabul edildiğinde tahmini genişleme süresi 51.4 (24.3-67.2) kya, %10 olarak kabul edildiğinde 15.4 (7.3-20.2) kya olarak hesaplandı. Bu zaman ölçeği, Pleistosen döneminin sonu ve Holosen de meydana gelen Çanakkale ve İstanbul boğazlarının oluşmu sonrasında Akdenizden gelen tuzlu suyun Karadeniz havzasını istila etmesi ile birlikte denizel türlerin Karadenize geçmesine denk gelen olaylarla örtüşmektedir. Şalcıoğlu ve ark. (2020) çalışmasında benzer şekilde Doğu Akdeniz mezgit balığının önce Kuzey Ege Denizi'ne, ardından diğer balık türlerinde görüldüğü gibi (*Mugil cephalus*, Durand ve ark., 2013; *Trachurus trachurus*, *T. mediterraneus* ve *T. picturatus*, Bektaş ve Beldüz, 2008) boğazlar sistemi yoluyla Karadeniz'e dağılmış ve genişlemiş olabileceğini belirtmiştir. Ayrıca, Şalcıoğlu ve ark. (2020), hem TSS'nin hem de Karadeniz *M. m. euxinus* popülasyonlarının genişlemesinde önemli ölçüde son buzul

maksimumu (~18 Kya) sonrasında Karadeniz'in ve TSS (5–6 Kya) genişlemesi ile Çanakkale Boğazı'nın açılması (~8 Kya) arasındaki yaklaşık 2000 yıllık zaman farkını, yerleşim için uygun habitat koşulları yaratmak için gereken zamana bağlamıştır.

Bir popülasyonun demografik tarihini yeniden inşa etmek, örneğin demografik ve paleoiklimsel olaylar arasındaki korelasyonları test ederek çeşitli evrimsel ve popülasyon-genetik süreçler hakkında faydalı bilgiler edinmemizi sağlayabilir (Drummond ve ark., 2005; Campos ve ark., 2010). *M. merlangus*'un Karadeniz ve Marmara Denizi popülasyonlarının tarihsel demografisi BSP (Bayesian Skyline Plot) analizindeki birleştirici yaklaşım'dan (Coalescent Approach) çıkarılmıştır. Karadeniz 1 ve toplam popülasyon için D-loop kontrol bölgesi veri seti ile yapılan BSP analizi, etkili popülasyon büyüklüğünde bir artış olduğunu, bu da popülasyonların son 5 000 yıldır genişlediğini ve büyüdüğünü göstermiştir. Hoffman ve ark. (2011)'nin belirttiği gibi zaman içinde etkili popülasyon büyüklüğündeki değişiklik modeli dikkate değer ölçüde bir artış olduğunu ve geçmişte yaşanan darboğazın ardından olası popülasyonun demografik toparlanma senaryosunu çağrıştırdığı görülmüştür. Popülasyon artışının zamanlamasının demografik genişleme modelinden tahmin edilmesi, BSP'nin popülasyon artışının yaklaşık 5 000 yıl önce başladığı tahminiyle çok yakın bulunmuştur. Bu da genişlemenin Holosen de meydana gelen Çanakkale ve İstanbul boğazlarının oluşmu döneminden sonra meydana gelmiş olabileceğini gösteriyor. Bu varsayım, genişlemenin son buzul maksimumu (LGM)'dan sonra meydana geldiği öncülüne dayanıyor. Popülasyonlar sığınaklardan yeni habitatlara genişlediğinde, hipoksi ve sıcaklık gibi yeni ortam değişkenleri çoğu istilacı için uygun olmayabilir ve sadece birkaç birey hayatta kalabilir. Haplotiplerden çoklu haplotipleri bağlayan merkezi oluşturduğu görülen H3, bir popülasyon darboğazından veya bir seçilim döneminden sağ kalan ataların haplotiplerini temsil edebilir.

#### **4.2.6 Koruma ve Yönetim İçin Çıkarımlar**

Koruma, yönetim ve sürdürülebilir kullanım için temel birim, genetik olarak homojen bir birey grubudur. Farklı popülasyonların olması durumunda, yerel popülasyon bu gruba karşılık gelir. Fakat sürekli yaşanan genetik değişim ile birlikte birden fazla genetik olarak temel birim veya yerel popülasyon oluşur. Herhangi bir

farklılaşma olmaması durumunda, dikkate alınan tüm bölge üzerindeki türler koruma/yönetim birimini temsil eder. Belirli bir homojen grup tarafından işgal edilen coğrafi alan hem türler arasında hem de türler içinde ve aynı zamanda yılın mevsimlerinde önemli ölçüde değişebilir ve bu gerçek, yönetim rejimleri belirlenirken dikkate alınmalıdır (Laikre ve ark., 2005).

Mitokondriyal DNA'daki (mtDNA) varyasyon yapıları, tehdit altındaki veya yönetilen türlerde giderek daha fazla araştırılmaktadır. Moritz (1994a) yapmış olduğu derlemede, mtDNA analizinin genetik çeşitliliğin tanımlanması ve yönetimi için 'genlerin korunması' ve popülasyonların demografik yapılarını tanımlamak amacıyla 'moleküler çalışmalar'ın öneminden bahsetmiştir. Genlerin korunması, filogenetik bilginin kapsamlı bir şekilde kullanımı ve uzun vadeli planlamayla ilgilidir. Buradaki uygun kullanımlar, Evrimsel Olarak Önemli Birimlerin tanımlanmasını ve taksonların veya alanların koruma önceliğinin evrimsel bir bakış açısıyla değerlendirilmesini içine almaktadır. Moleküler ekoloji, alel frekanslarından daha fazla yararlanır ve popülasyonların kısa vadeli yönetimi için yararlı bilgiler sağlar.

Son yıllarda koruma için yaygın olarak kullanılan bağımsız birimlerin tanımı Moritz (1994b) tarafından yapılmıştır. Moritz (1994b) iki farklı koruma birimi tanımladı: demografik olarak bağımsız popülasyonları temsil eden "Yönetim Birimleri" (MU'ler) ve tarihsel olarak bağımsız popülasyonları temsil eden "Evrimsel Olarak Önemli Birimler" (ESU'lar). ESU'lar, mtDNA alelleri için karşılıklı monofilik olarak tanınırken, MU'ler, alel frekanslarındaki önemli farklılıklar ile karakterize edilir. Bu ayrı birimlere isim vermenin temel amacı, birimleri oluşturan popülasyonların ayrı yönetimine izin vermek ve türlerin uzun vadeli evrimsel çeşitliliğini sürdürmektir. Yürütülen bu çalışmada mitokondriyal D-loop kontrol bölgesi dizileri, popülasyonlar içindeki ve popülasyonlar arasındaki genetik varyasyonun tahmini ve popülasyonlar arasındaki etkileşimin derecesi hakkında önemli bilgiler sağlamıştır. Popülasyonlar arasındaki yüksek genetik çeşitlilik, onların uzun zaman önce ayrıldığını ve o zamandan beri bağımsız olarak evrimleştiğini gösterebilir. Genetik veriler, en az üç ESU'nun varlığını göstermektedir (Moritz, 1994): Karadeniz pop\_1, Marmara pop. ve Karadeniz pop\_2 popülasyonları. Bu gruplar, izole olmuş ve evrimsel olarak bağımsız soyları temsil eder. Gruplar

arasındaki genetik değişkenlik oranı ( $F_{CT}$ ) ve dizi verileri için SAMOVA ve STRUCTURE analizi de bu üç popülasyonun ayrı birimler olarak kabul edilmesi gerektiğini göstermiştir. Alves ve ark. (2001) belirtildiği gibi, bu üç izole grup kümesi, diğer yerel koşullara kıyasla kendi ortamlarında daha yüksek uyuma sahip olabilir. Bu nedenle, bu popülasyon kümeleri için koruma çabaları, ayırt edici stokların korunmasındaki başarısızlık türün evrimsel potansiyelini azaltabileceğinden, her grubun genetik bütünlüğünü korumaya yönelik olmalıdır.

Balıkçılık yönetimi için en uygun yargı düzeyinde, yani ulusal, bölgesel veya yerel çapta hem siyasi hem de bilimsel olarak devam eden bir tartışma vardır. Bazı ülkeler de farklı bir bakış açısıyla yerel yönetimin, yerel kullanıcılar tarafından yerel kaynakların kendi kendini yönetmesinin, balıkçılık kaynaklarının sürdürülebilir kullanımına fayda sağlayabileceği ve aşırı kullanım riskini azaltabileceği öne sürülmüştür (Bruckmeier ve Neuman, 2005). Koruma genetiği açısından temel hedef, doğal kaynakların sürdürülebilir kullanımını, yani yerel popülasyonların genel genetik yapıyı koruyacak bir ölçüde muhafaza edilmesi ve popülasyonların, sınırlı etkin popülasyon büyüklüğü nedeniyle aşırı genetik varyasyon kaybını önleyecek kadar büyük kalmasıdır (Laikre ve ark., 2005). Popülasyonların genetik yapısı hakkında yapılan çalışmalardan elde edilen bilimsel bilginin pratik yönetime sürekli olarak uygulanması çok önemlidir. Fakat, popülasyonların genetik yapısı hakkındaki mevcut bilgiler, yönetim olarak büyük ölçüde ihmal edilmektedir. Genetik koruma bağlamında, "aşırı bölünme" yani genetik olarak homojen bir balık grubunu birden fazla farklı popülasyondan oluşuyormuş gibi yönetmek temel olarak zararsızdır. Buna karşılık, genetik olarak farklı bir dizi popülasyonu tek bir panmiktik popülasyon oluşturuyormuş gibi yönetmek, genetik varyasyonun tükenmesine neden olabilir (Laikre ve ark., 2005).

## 5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışma, mtDNA D-loop kontrol bölgesi sekans verilerine göre ülkemizde Kuzey Ege, Marmara Denizi ve Karadeniz olmak üzere sınırlı yerel yayılış alanına sahip olan *M. merlangus* türünün genetik çeşitliliğine ve popülasyon yapısına ışık tutmuştur. Bu çalışmanın temel amacı, Türkiye'de doğal olarak yayılış gösteren mezigit balığı popülasyonlarının genetik yapısını ve çeşitlilik modelini belirlemeye yardımcı olacak genetik veriler elde etmektir. Haplotiplerden H3 Marmaraereğlisi dışında diğer popülasyonlar tarafından paylaşılırken H2 Karadeniz Ereğli ve Ordu popülasyonları tarafından paylaşılmıştır. Bunların dışındaki haplotipler yalnızca bir popülasyon tarafından paylaşılmıştır. Haplotip analizine dayalı sonuçlara göre; Marmaraereğlisi dışında diğer popülasyonlar tarafından paylaşılan en yaygın haplotip H3 olarak bulunmuştur. Karadeniz Ereğli ve Ordu popülasyonları tarafından paylaşılan H2 dışındaki haplotipler yalnızca bir popülasyon tarafından paylaşılmıştır. Çalışmada kullanılan primerler mezigit balığı için lokus spesifik olarak dizayn edilmiştir. Bu primerlerin sonraki mezigit balığı genetik çeşitliliğini anlamak için yürütülecek daha sonraki çalışmalarda kullanılması önerilmektedir. Bu tez çalışmasında elde edilen önemli sonuçlar şu şekilde özetlenebilir:

- Bu çalışmanın ilk göze çarpan sonucu, *M. merlangus*'un, kontrol bölgesi dizisi için büyük oranda yüksek frekanslı haplotip çeşitliliği ile düşük frekanslı nükleotit çeşitliliği ile karakterize edilmesidir. Bu durum genellikle, mutasyon yoluyla haplotip sayılarını (H) artırmak için yeterli zamanın olduğunu, ancak büyük dizi farklılıkları biriktirmediğini varsayarak, küçük bir etkili popülasyon büyüklüğünden ani demografik genişlemeye atfedilir.
- MtDNA, nükleer genomdan daha hızlı evrimleşmiş olsa da farklı bölgeleri için evrim hızı farklıdır. Bu çalışmada kontrol bölgesinde gözlenen yüksek sayıda haplotip sayısı muhtemelen mtDNA genlerinin yüksek mutasyon oranından kaynaklanmaktadır.
- Haplotiplerin çoğunun belirli örnekleme bölgesine özgü olduğunun tespit edilmesi muhtemelen çalışılan bölgelerde ayrı kurucu popülasyonların varlığını göstermektedir.



- Filogenetik yapı analizi sonucunda *M. melangus*'un mevcut dağılımının en az iki genetik olarak farklı klad içerdiğini ve iki klad arasında paylaşılan hiçbir haplotip bulunmadığını ortaya çıkarmıştır.
- Mitokondriyal haplotip ağı analizi bulgularına göre, kontrol bölgesi dizilerinden elde edilen tüm haplotiplerin tutarlı bir şekilde farklı grupları desteklediğini, 4 popülasyonun (İğneada, Karadeniz Ereğlisi, Ordu ve Hopa) üyelerinin birinci grup içinde birçok haplotip paylaştığını, oysa Marmaraereğlisi popülasyonundan bireylerin özgün haplogrup oluşturduğunu gösterdi.
- En yaygın haplotip (Hap 3), bir veya iki mutasyon adımıyla merkez bağlantılı ayrılan çoklu haplotipleri oluşturdu. Medyan Joining ağının (MJN) yıldız şeklindeki yapısı, çoklu haplotiplerle çevrili sayısal olarak baskın bir merkezi haplotip göstermesi birkaç farkla yüksek haplotip çeşitliliği ve düşük nükleotit çeşitliliğini gösterir. Atasal haplotipin varlığı, Karadeniz ve Marmara Denizi'nde muhtemelen tek farklı kaynaktan gelmektedir.
- Ayrıca, bu merkezden yayılan yıldız şeklindeki haplotip deseninin ortaya çıkışı, *M. merlangus* popülasyonlarının son zamanlarda popülasyon büyüklüğünde önemli bir artış yaşadığını da gösterir.
- Moleküler varyans analizi sonuçları, mezgit popülasyonlarının genetik olarak farklılaştığını ve kontrol bölgesi için toplam genetik varyasyonun %41.83'ünün popülasyonlar arasında ve %34.95'inden fazlasında gruplar arasında mevcut olduğunu gösterdi. Bu sonuçlar, popülasyonlar arasındaki genetik bağlantının azaldığını göstermektedir.
- Bu çalışmada, beş popülasyon arasındaki  $F_{ST}$  değeri, popülasyonlar arasında düşük bir gen akışını gösteren sıfırdan önemli ölçüde büyük bulunmuştur.
- Mantel testi, coğrafi ve genetik mesafeler arasındaki korelasyonun önemli olmadığını ( $R^2= 0.064$ ,  $p= 0.21$ ) ortaya çıkardı, bu nedenle mesafeye göre izolasyon (Slatkin, 1993) modeli reddedildi.
- SAMOVA analizinin sonuçları, mezgit balığının 5 farklı coğrafi örnekleme bölgesi arasında güçlü genetik heterojenlik gösterdi. Bu sonuçlara göre analiz Hopa, İğneada ve Ordu örnekleme lokasyonlarının Karadeniz pop.1 popülasyonunu, Karadeniz Ereğli lokasyonunun Karadeniz Pop.2 popülasyonunu ve Marmaraereğlisi örnekleme lokasyonunun Marmara popülasyonunu temsil ettiği tespit edildi.

- Bu şekilde mezgit balığının çalışma bölgesinde tek bir panmiktik stoğu temsil ettiği şeklindeki sıfır hipotezi, üç stok arasındaki yüksek ve önemli farklılaşma nedeniyle doğrulanamadı.
- Temel Koordinatlar Analizi (PCoA)'ne görede analiz sonuçlarını destekler şekilde üç farklı grubun yapısı ortaya çıkmıştır.
- *M. merlangus* örnekleri yaklaşık 2.6 Mya başlayan Kuaterner'in ilk dönemi olan Pleistosen'de kendi içerisinde kısmen bir ayrıma sahip olmuş, Karadeniz ve Marmara soy hattı Kuzey Denizi soy hattından 1.65 (1.08-2.29) milyon yıl önce, Atlantik soy hattından yaklaşık 0.84 (0.51-1.2) milyon yıl önce ayrılmıştır. Karadeniz ve Marmara örneklerinin kendi içinde ayrılma süreci ise yaklaşık 0.2 (0.11-0.3) milyon yıl önce gerçekleştiği tahmin edilmiştir.
- Yürütülen bu çalışmada, Populasyon grupları içinde Karadeniz pop\_1 ve tüm populasyonlara ait Tajima'nın D ve Fu'nun  $F_s$  testlerinin negatif ve anlamlı değerleri nötraliteden önemli sapmaları ortaya çıkardı bu da bize populasyonların geçmişte demografik değişiklikler geçirdiğini yani genişleme yaşadığını göstermektedir.
- Ayrıca, elde edilen sekans verileri için fazla sayıda nadir haplotip olduğu görüldü. Bu durum, darboğaz ve ardından demografik genişleme yaşayan populasyonlara bağlanmaktadır.
- Anlamlı olmayan SSD değerleri, gözlemlenen verilerin demografik genişleme hipotezini desteklediğini ve darboğaz olayını reddettiğini göstermektedir. Önemli Harpending'in  $r_g$  düzensizlik endeksleri de populasyon artışının işaretidir.
- Gruplar için hem SSD değeri (Schneider ve Excoffier, 1999) hem de düzensizlik (Harpending, 1994) istatistiklerinin anlamlı olmaması, *M. merlangus* populasyonunun Karadeniz de menzil genişlemesinde olduğunu düşündürmektedir.
- *M. merlangus* için genişleme süresinin tau değerine ( $\tau$ : 2.409) göre mutasyon oranı %3 olarak kabul edildiğinde tahmini genişleme süresi 51.4 (24.3-67.2) kya, %10 olarak kabul edildiğinde 15.4 (7.3-20.2) kya olarak hesaplandı. Bu zaman ölçeği, Pleistosen döneminin sonu ve Holosen de meydana gelen Çanakkale ve İstanbul boğazlarının oluşmu sonrasında Akdenizden gelen tuzlu suyun Karadeniz havzasını istila etmesi ile birlikte denizel türlerin Karadenize geçmesine denk gelen olaylarla örtüşmektedir.

- Karadeniz 1 ve toplam popülasyon için D-loop kontrol bölgesi veri seti ile yapılan BSP analizi, etkili popülasyon büyüklüğünde bir artış olduğunu, bu da popülasyonların son 5 000 yıldır genişlediğini ve büyüdüğünü göstermiştir.

Sonuç olarak, *M. merlangus*'taki mtDNA kontrol bölgesi çeşitliliği tarihsel süreçlere atfedilebilirken, sığ fakat önemli popülasyon yapısı hem tarihsel hem de günümüze ait sınırlı gen akışını yansıtabilir. Popülasyon yapısının sonuçları, genetik olarak alt bölümlere ayrılmış popülasyonların, uzun vadeli balıkçılık kullanımı ve korunması için bireysel olarak yönetilmesi gerektiğini göstermektedir.

Moleküler belirteçlerin seçimi, bir çalışma geliştirirken dikkate alınması gereken önemli bir kriterdir; ancak, farklı araştırma sorularını ele almak için farklı çözünürlük seviyeleri gereklidir. Moleküler belirteçlerin çözünürlüğü büyük ölçüde değişiklik gösterir. Bu çalışmada, mtDNA D loop kontrol bölgesi seçilmiştir, çünkü bu belirteçin hem tür içi filogenetik çalışmalarda hem de popülasyon düzeyi çalışmalarda mutasyon oranının yüksek olması ile iyi bir belirteç olduğu bilinmektedir. Mitokondriyal DNA genlerinin uzun süredir nötr belirteçler olduğu varsayılmıştır, ancak son çalışmalar bu belirteçlerin seçici baskıya yatkın olabileceği ve nötr belirteçler olarak kullanımlarının belirsiz olması gerektiğini düşündürmektedir (Galtier ve ark., 2009). Ayrıca, mtDNA anneden kalıtıldığı için erkek kaynaklı gen akışı hakkında hiçbir bilgi sağlamamaktadır. Bu bağlamda, ek bir nükleer belirteç, yukarıda bahsedilen endişelerin giderilmesine yardımcı olacaktır. Fakat bu çalışmanın bütçesi kısıtlı olduğu için ek olarak nükleer belirteç kullanılamamıştır. Genel bir genetik yapı seviyesi ortaya çıkarılmış olsa da daha da detaylı olarak popülasyon farklılaşmasının aydınlatılması için Marmara ve Kuzey Ege'den farklı lokalitelerden örneklemelerle nükleer belirteç kullanımı uygun olacaktır. Popülasyon genetiğinde, mikrosatellitler tercih edilen nükleer belirteçlerdendir ve rutin olarak mtDNA belirteçleri ile kombinasyon halinde kullanılmaktadır. Yürütülen bu çalışmaya ilaveten, mikrosatellit DNA belirteci kullanılması, popülasyon düzeyinde daha kapsamlı bilgi sağlayabilir. Mikrosatellitler, yüksek mutasyon oluşumuna sahip tekrarlayan, kodlamayan nükleer DNA dizileridir ve bu nedenle hızla gelişen belirteçlerdir. Bu belirteçler şu anda balıkçılıkta uygulanmaktadır ve balıkçılık yönetiminde önemli bir potansiyel sergilemektedir.

## 6. KAYNAKLAR

- Akaike, H. (1974). A new look at the statistical model identification. *IEEE transactions on automatic control*, 19(6), 716-723.
- Akaike, H. (1973). Maximum likelihood identification of Gaussian autoregressive moving average models. *Biometrika*, 60(2), 255-265.
- Akşiray F, (1987). Türkiye Deniz Balıkları ve Tayin Anahtarı. İstanbul: İstanbul Üniv. Rektörlüğü Yayınları. No: 3490.
- Allio R., Donega S., Galtier N. & Nabholz B. (2017). Large variation in the ratio of mitochondrial to nuclear mutation rate across animals: implications for genetic diversity and the use of mitochondrial DNA as a molecular marker. *Mol Biol Evol.* 34(11):2762–2772.
- Alves M.J., Coelho H., Collares-Pereira M.J. & Coelho M.M. (2001). Mitochondrial DNA variation in the highly endangered cyprinid fish *Anaocypris hispanica*: importance for conservation. *Heredity (Edinb)*. 87(Pt 4): 463–473.
- Anonim (2022) <https://nbisweden.github.io/MrBayes/index.html> Erişim tarihi 14.12.2022
- Aranishi, F., Okimoto, T. & Izumi, S. (2005). Identification of gadoid species (Pisces, Gadidae) by PCR-RFLP analysis. *J. Appl. Genet.* 46(1): 69-73.
- AquaMaps (2019, October). Computer generated distribution maps for *Merlangius merlangus* (Whiting), with modelled year 2050 native range map based on IPCC RCP8.5 emissions scenario. Retrieved from <https://www.aquamaps.org>.
- Avise J.C. (2000). *Phylogeography: the history and formation of species*. Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts.
- Avise, J.C. (1994). *Molecular markers, natural history, and evolution*. Chapman and Hall, New York, 511 pp.
- Ballard, J.W.O. & Whitlock, M.C. (2004). The incomplete natural history of mitochondria. *Molecular ecology*, 13(4), 729-744.
- Bandelt H.J. & Forster P. & Röhl A. (1999). Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular Biology and Evolution*, 16: 37-48
- Bardakçı, F., Tuncay, S. & Şen, E. (2014). Türkiye Denizlerindeki Hamsi Balığının (*Engraulis encrasicolus* L.) Populasyon Genetik Yapısı. TÜBİTAK 1001-111T461 nolu Proje Kesin Raporu, Aydın.
- Bektas, Y., & Beldüz, A.O. (2008). Molecular phylogeny of Turkish *Trachurus* species (Perciformes: Carangidae) inferred from mitochondrial DNA analyses. *Journal of Fish Biology*, 73(5), 1228-1248.
- Bektaş, Y., & Beldüz, A. O. (2007). Molecular characterization of the whiting (*Merlangius merlangus euxinus* nordmann, 1840) in Turkish Black Sea coast by RAPD analysis. *JOURNAL OF ANIMAL AND VETERINARY ADVANCES*, vol.6 , 739-744.

- Bentzen, P., Taggart, C.T., Ruzzante, D.E. & Cook, D. (1996). Microsatellite polymorphism and the population structure of Atlantic cod (*Gadus morhua*) in the northwest Atlantic. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 53: 2706–2721.
- Berner, R.A. (1973). Iron sulfides in the Pleistocene deep Black Sea sediments and their paleo-oceanographic significance. In: E.T. Degens and D.A. Ross (Editors), *The Black Sea: Its Geology, Chemistry, and Biology*. Mem. Am. Assoc. Pet. Geol.
- Bianco, P.G. (1990). Potential role of the palaeohistory of the Mediterranean and Paratethis basins on the early dispersal of Euro-Mediterranean freshwater fishes. *Ichthyol Explor Freshw.* 1:167–184.
- Bilgin, S., Bal, H., & Taşçı, B. (2012). Length based growth estimates and reproduction biology of whiting, *Merlangius merlangus euxinus* (Nordman, 1840) in the Southeast Black Sea.
- Birky Jr, C.W. (2001). The inheritance of genes in mitochondria and chloroplasts: laws, mechanisms, and models. *Annual review of genetics*, 35(1), 125-148.
- Bodur, T., Tsigenopoulos, C. & Cagatay, I.T. (2017). Genetik Structure of Wild European Sea Bass (*Dicentrarchus labrax* L, 1758) Populations in Aegean and Levantine Sea Using Microsatellite Markers. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 17(1), 7-14.
- Bouckaert, R., Vaughan, T.G., Barido-Sottani, J., Duchêne, S., Fourment, M., Gavryushkina, A. & et al. (2019). BEAST 2.5: An advanced software platform for Bayesian evolutionary analysis. *PLoS Comput Biol* 15(4): e1006650.
- Breines, R., Ursvik, A., Nymark, M. Johansen, S.D. & Coucheron, D.H. (2008). Complete mitochondrial genome sequences of the Arctic Ocean cod fishes *Arctogadus glacialis* and *Boreogadus saida* reveal oriL and tRNA gene duplications. *Polar Biol.*, 31:1245–1252.
- Breton, S. & Stewart, D.T. (2015). Atypical mitochondrial inheritance patterns in eukaryotes. *Genome*, 58(10), 423-431.
- Britten, R.I. & Kohne, D.E. (1968). Repeated sequences in DNA. *Science*. 161:529-40.
- Bruckmeier, K. & Neuman, E. (2005). Local fisheries management at the Swedish coast: biological and social preconditions. *AMBIO: A Journal of the Human Environment*, 34(2), 91-100.
- Campos PF, Willerslev E, Sher, A. & et al. (2010). Ancient DNA analyses exclude humans as the driving force behind late Pleistocene musk ox (*Ovibos moschatus*) population dynamics. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107, 5675–5680.
- Castilho, R. & Ciftci, Y. (2005). Genetik differentiation between close eastern Mediterranean *Dicentrarchus labrax* (L.) populations. *Journal of Fish Biology*, 67(6), 1746-1752.
- Catton Jr, W.R. (2009). *Bottleneck: Humanity's Impending Impasse: Humanity's Impending Impasse*. Xlibris Corporation.
- Clement, M., Posada, D.C.K.A. & Crandall, K.A. (2000). TCS: a computer program to estimate gene genealogies. *Molecular ecology*, 9(10), 1657-1659.

- Cohen, D.M., Inada, T., Iwamoto, T. & Scialabba, N. (1990). Gadiform fishes of the world. *FAO Fisheries Synopsis*, 10(125), I.
- Coucheron, D.H., Nymark, M., Breines, R., Karlsen, B.O., Andreassen, M. Jørgensen, T.E., Moum T. & Johansen S.D. (2011). Characterization of mitochondrial mRNAs in codfish reveals unique features compared to mammals. *Curr Genet*, 57:213–222.
- Çiftci, Y., Eroğlu, O., Firidin, Ş., Savaş, H. & Bektaş, Y. (2022). Genetik structure and demographic history of endangered *Alburnus tarichi* (Güldenstädt, 1814) populations from Lake Van basin in Turkey inferred from mtDNA analyses. *Mitochondrial DNA Part A*, 1-16.
- Çiftci, Y., (2006). “Türkiye Alabalık (*Salmo Trutta* Linnaeus, 1758 ve *Salmo platycephalus* Behnke, 1968) Populasyonlarının Genetik Yapısının Mtdna Rflp Analiz Yöntemiyle Belirlenmesi”, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Balıkçılık Teknolojisi Mühendisliği Anabilim Dalı Doktora Tezi, 195s
- Çiftci, Y., & Okumuş, İ. (2002). Fish population genetics and applications of molecular markers to fisheries and aquaculture: I-Basic principles of population genetics. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 2(2).
- Degens, E.T. & Ross, D.A. (1972). Chronology of the Black Sea over the last 25,000 years. *Chemical Geology*, 10(1), 1-16.
- Doğan, I. & Doğan, N. (2017). Statistical tests for neutrality. *Türkiye Klinikleri Biyoistatistik*, 9(2), 167-174.
- Dowling, T. E., Tibbets, C.A., Minckley, W.L. & Smith, G.R. (2002). Evolutionary relationships of the plagiopeterns (Teleostei: Cyprinidae) from cytochrome b sequences. *Copeia*, 2002(3), 665-678.
- Drummond, A.J., Ho, S.Y., Phillips, M.J. & Rambaut, A. (2006). Relaxed phylogenetics and dating with confidence. *PLoS Biol.* 4(5):e88.
- Drummond, A.J., Rambaut, A., Shapiro, B. & Pybus, O.G. (2005). Bayesian coalescent inference of past population dynamics from molecular sequences. *Mol Biol Evol.* 22(5):1185–1192.
- Dupanloup, I., Schneider, S. & Excoffier, L. (2002). A simulated annealing approach to define the genetic structure of populations. *Molecular ecology*, 11(12), 2571-2581.
- Durand, J.D., Blel, H., Shen, K.N., Koutrakis, E.T. & Guinand, B. (2013). Population genetic structure of *Mugil cephalus* in the Mediterranean and Black Seas: a single mitochondrial clade and many nuclear barriers. *Marine Ecology Progress Series*, 474, 243-261.
- Durand, S.V. & Lightner, D.V. (2002), Quantitative real time PCR for the measurement of white spot syndrome virus in shrimp. *Journal of Fish Diseases*, 25: 381-389. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2761.2002.00367.x>
- Earl, D.A. & VonHoldt, B.M. (2012). STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conservation genetics resources*, 4(2), 359-361.

- Ermin, R. (1956). Karadeniz ve Balıkları. Et ve Balık Kurumu Umum Müdürlüğü. Balık ve Balıkçılık, Ocak 1956, Cilt:4, Sayı:1, 2-8.
- Evanno, G., Regnaut, S. & Goudet, J. (2005). Detecting the number of clusters of individuals using the software structure: a simulation study. *Mol Ecol* 14:2611–2620.
- Excoffier, L. & Lischer, H.E. (2010). Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Mol Ecol Resour* 10: 564–567.
- Excoffier, L., Smouse, P.E. & Quattro, J.M. (1992). Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics* 131: 479–491.
- Excoffier, L. (2004). Patterns of DNA sequence diversity and genetic structure after a range expansion: lessons from the infinite-island model. *Mol Ecol.* 13(4):853–864.
- Excoffier, L., Laval, G. & Schneider, S. (2005). Arlequin (version 3.0): an integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary bioinformatics*, 1, 117693430500100003.
- FAO, (1990). FAO species catalogue. Vol.10. Gadiform Fishes of the world (Order Gadiformes). An Annotated and Illustrated Catalogue of Cods, Hakes, Grenadiers and other Gadiform Fishes Known to Date. Daniel M.Cohen Tadashi Inada Tomio Iwamoto Nadia Scialabba 1990. FAO Fisheries Synopsis. No. 125, Vol.10. Rome, 442p.
- Fisher, W. (1973). “FAO Species identification sheets for fishery purposes Mediterranean and Black Sea (fishing area 37). FAO, Rome.
- Frankham, R., Bradshaw, C.J. & Brook, B.W. (2014). Genetics in conservation management: revised recommendations for the 50/500 rules, Red List criteria and population viability analyses. *Biological Conservation*, 170, 56-63.
- Freeland, J.R., Kirk, H. & Peterson, S.D. (2011). *Molecular Ecology*. 2nd ed. UK: Wiley-Blackwell, p. 449.
- Freeman, S. & Herron, J.C. (1999). *Evrimsel Analiz*. Çıplak, B, Başbüyük H, Karaytuğ, S, Gündüz, İ. (eds). Palme Yayıncılık. Ankara. 28-29: 438-708.
- Fu, Y.X. & Li, W.H. (1993). Statistical tests of neutrality of mutations. *Genetics*. 133(3):693–709.
- Fu, Y.X. (1997). Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection. *Genetics*;147(2):915-25.
- Galtier, N., Nabholz, B., Glémin, S. & Hurst, G.D.D. (2009). Mitochondrial DNA as a marker of molecular diversity: a reappraisal. *Molecular ecology*, 18(22), 4541-4550.
- Gibbard, P.L., Head, M.J. & Walker, M.J.C. (2009). Formal ratification of the Quaternary system/period and the Pleistocene series/epoch with a base at 2.588 Ma. *J. Quat. Sci.* 25, 96–102. doi: 10.1002/jqs.1338
- Gillespie, J.H. (2004). *Population genetics: a concise guide*. JHU press.

- Govers, R. (2009). Choking the Mediterranean to dehydration: The Messinian salinity crisis. *Geology* 37, 2, 167–170. doi:10.1130/G25141A
- Grant, W.A.S. & Bowen, B.W. (1998). Shallow population histories in deep evolutionary lineages of marine fishes: insights from sardines and anchovies and lessons for conservation. *J Hered.* 89(5):415–426.
- Grover, A. & Sharma, P.C. (2016). Development and use of molecular markers: past and present. *Critical reviews in biotechnology*, 36(2), 290-302.
- Guillot, G. & Rousset, F. (2013) Dismantling the Mantel tests. *Meth Ecol Evol* 4:336-344.
- Guindon, S. & Gascuel, O. (2003). A simple, fast and accurate method to estimate large phylogenies by maximum-likelihood. *Systematic Biology*, 52, 696-704.
- Hamilton, M.B. (2021). *Population genetiks*. John Wiley & Sons.
- Harmon, L.J. & Glor, R.E. (2010). Poor statistical performance of the Mantel test in phylogenetic comparative analyses. *Evolution* 64:2173-2178.
- Harpending, H.C. (1994). Signature of ancient population growth in a lowresolution mitochondrial DNA mismatch distribution. *Hum Biol.* 591–600.
- Hartl, D.L. (2020). *A primer of population genetiks and genomics*. Oxford University Press.
- Hoffman, J.I., Peck, L.S., Linse, K. & Clarke, A. (2011). Strong population genetikk structure in a broadcast-spawning Antarctic marine invertebrate. *Journal of Heredity*, 102(1), 55-66.
- Hubalkova, Z., Kralik, P., Kasalova, J. & Rencova, E. (2008). Identification of gadoid species in fish meat by polymerase chain reaction (PCR) on genomic DNA. *J Agric Food Chem.* 28;56(10):3454-9. doi: 10.1021/jf703684w. Epub 2008 May 3. PMID: 18454544.
- Hughes, A.R., Inouye, B.D., Johnson, M.T., Underwood, N. & Vellend, M. (2008). Ecological consequences of genetikk diversity. *Ecology letters*, 11(6), 609-623.
- Huson, D.H. & Bryant, D. (2006). Application of Phylogenetic Networks in Evolutionary Studies, *Molecular Biology Evolution*, 23(2): 254-267.
- Jenkins, T.L., Castilho, R. & Stevens, J.R. (2018). Meta-analysis of northeast Atlantic marine taxa shows contrasting phylogeographic patterns following post-LGM expansions. *PeerJ*, 6, e5684. 6.
- Jørgensen, T.E., Karlsen B.O., Emblem Å., Breines R., Andreassen M., Rounge T.B., Nederbragt A.J., Jakobsen K.S., Nymark M., Ursvik A., Coucheron D.H., Jakt L.M., Nordeide J.T., Moum T. & Johansen S.D. Mitochondrial genome variation of Atlantic cod. *BMC Res Notes*. 2018 Jun 19;11(1):397.
- Karlsson, S. & Mork, J. (2005). Deviation from HardyWeinberg equilibrium, and temporal instability in allele frequencies at microsatellite loci in a local population of Atlantic cod. *e ICES Journal of Marine Science*, 62: 1588e1596.



- Kasapoğlu, N., Düzgüneş, Z. D. & İlhan, S. (2022). Morphometric, meristic and genetic characteristics of Atlantic bonito (*Sarda sarda*) in the Black Sea. *Journal of Fisheries*, 10(2), 102206-102206.
- Kimura, M. (1983). *The Neutral Theory of Molecular Evolution*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Kimura, M. (1968). Evolutionary rate at the molecular level. *Nature*, 217, 624–626.
- Kishino, H., Thorne, J.L. & Bruno, W.J. (2001). Performance of a divergence time estimation method under a probabilistic model of rate evolution. *Molecular Biology of Evolution*, 18(3), 352–361.
- Koban, E. (2004). Genetic Diversity of Native and Crossbreed Sheep Breeds in Anatolia. PhD Thesis. The Graduate School of Natural and Applied Sciences of Middle East Technical University, Ankara. 125p.
- Kosswig, C. (1954). Some biological aspects of fishery work in Turkey. *Hydrobiology*, 3, 215-223.
- Krijgsman, W., Hilgen, F.J., Raffi, I., Sierro, F.J. & Wilson, D.S. (1999). Chronology, causes and progression of the Messinian salinity crisis. *Nature* 400, 652–655.
- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C. & Tamura, K. (2018). MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Mol Biol Evol.* 35(6):1547–1549.
- Laikre, L., Palm, S. & Ryman, N. (2005). Genetic population structure of fishes: implications for coastal zone management. *AMBIO: A Journal of the Human Environment*, 34(2), 111-119.
- Lande, R. & Barrowdough, G. (1987). Effective population size, genetic variation, and their use in population management. In: Soule ME, editor. *Viable populations for conservation*. Cambridge: Cambridge University Press, p. 87–124.
- Legendre, P. and Fortin, M-J. (2010) Comparison of the Mantel test and alternative approaches for detecting complex multivariate relationships in the spatial analysis of genetic data. *Mol Ecol Res* 10:831-844.
- Leigh, J.W. & Bryant, D. (2015). PopART: Full-feature software for haplotype network construction. *Methods Ecol Evol.* 6(9):1110–1116.
- Lemey, P. & Posada, D. (2009). Molecular clock analyses in *The phylogenetic handbook: a practical approach to phylogenetic analysis and hypothesis testing*. Lemey, P., Salemi, M., & Vandamme, A. M. (Eds.). Cambridge University Press. 362-380p.
- Librado, P. & Rozas, J. (2009). DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data, *Bioinformatics*, Volume 25, Issue 11, 1 June 2009, Pages 1451–1452.
- Lippe, C., Dumont, P. & Bernatchez, L. (2006). High genetic diversity and no inbreeding in the endangered copper redhorse, *Moxostoma hubbsi* (Catostomidae, Pisces): the positive sides of a long generation time. *Molecular Ecology*, 15(7), 1769-1780.
- Luikart, G., & England, P.R. (1999). Statistical analysis of microsatellite DNA data. *Trends in Ecology & Evolution*, 14(7), 253-256.

- Maia, R. T. & de Araújo Campos, M. (2019). Introductory Chapter: Population Genetics-The Evolution Process as a Genetic Function. In *Integrated View of Population Genetics*. IntechOpen.
- Mantel, N. (1967) The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Res* 27:209-220.
- Martinez, A.S., Willoughby, J.R. & Christie, M.R. (2018). Genetic diversity in fishes is influenced by habitat type and life-history variation. *Ecology and Evolution*, 8(23), 12022-12031.
- McMillan-Jackson, A.L. and Bert, T.M. (2003). Disparate patterns of population genetic structure and population history in two sympatric penaeid shrimp species (*Farfantepenaeus aztecus* and *Litopenaeus setiferus*) in the eastern United States. *Mol Ecol* 12:275-288.
- Milic, D. & Kraljevic, M. (2011). “Biometry analysis of the whiting, *Merlangius merlangus* (Linnaeus, 1758) from the northern Adriatic Sea”, *Acta Adriatica*, 52(1), 125 – 136.
- Mohammadi, S.A. & Prasanna, B.M. (2003). Analysis of genetic diversity in crop plants—salient statistical tools and considerations. *Crop science*, 43(4), 1235-1248.
- Moritz, C. (1994a). Applications of mitochondrial DNA analysis in conservation: a critical review. *Molecular Ecology*, 3(4), 401-411.
- Moritz, C. (1994b). Defining ‘Evolutionarily Significant Units’ for conservation. *Trends Ecol Evol*. 9(10):373–375.
- Mount, D.W. (2001). *Bioinformatics* Cold Spring Harbor Laboratory Press. Cold Spring Harbor, New York. Chapter 3. Alignment of pairs of sequences: 52-137.
- Murua, H. & Saborido-Rey, F. (2003). Female reproductive strategies of marine fish species of the North Atlantic. *J. Northwest Atl. Fish. Sci.* 33:23-31.
- Nosil, P. (2008). Speciation with gene flow could be common. *Journal compilation* © 2008 Blackwell Publishing Ltd. doi: 10.1111/j.1365-294X.2008.03744.x
- O'Brien S.J. (1994). “Genetic and phylogenetic analyses of endangered species”, *Annual Review of Genetics* 28:467-89.
- Oğuz, T., Özsoy, E., Latif, M.A., Sur, H.I. & Ünlüata, U. (1990). Modelling of hydraulically controlled exchange flow in the Bosphorus Strait. *Journal of Physical Oceanography*, 20, 945- 965.
- Okello, J.B.A., Nyakaana, S., Masembe, C., Siegismund, H.R. & Arctander, P. (2005). Mitochondrial DNA variation of the common hippopotamus: evidence for a recent population expansion. *Heredity*. 95(3):206–215.
- Okumuş, İ. & Çiftçi, Y. (2003). Fish population genetics and molecular markers: II-molecular markers and their applications in fisheries and aquaculture. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 3(1).
- O’Regan, M., Williams, C.J., Frey, K.E. & Jakobsson, M. (2011). A synthesis of the long-term paleoclimatic evolution of the Arctic. *Oceanography* 3, 66–80.

- Owens, B. (2015). Addiction. *Nature*. 2015 Jun 25;522(7557):S45. doi: 10.1038/522S45a. PMID: 26107092.
- Özsoy, E., Rank, D. & Salihoğlu, I. (2002). Pycnocline and Deep Mixing in the Black Sea: Stable Isotope and Transient Tracer Measurements. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 54, 621–629.
- Patwardhan, A., Ray, S. & Roy, A. (2014). Molecular markers in phylogenetic studies—a review. *Journal of Phylogenetics & Evolutionary Biology*, 2014.
- Paradis, E. (2010). pegas: an R package for population genetics with an integrated—modular approach. *Bioinformatics*, 26(3), 419-420.
- Peakall, R. & Smouse, P.E. (2012). GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research—an update. *Bioinformatics*, 28, 2537 - 2539.
- Pierce, B.A. (2012). *Genetics: a conceptual approach*. Macmillan.
- Posada, D. (2008). jModelTest: phylogenetic model averaging. *Molecular biology and evolution*, 25(7), 1253-1256.
- Pritchard, J.K., Stephens, M. & Donnelly, P. (2000). Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155: 945–959.
- Provine, W.B. (2004). Ernst Mayr: genetics and speciation. *Genetics*, 167(3), 1041-1046.
- Pybus, O.G., Rambaut, A. & Harvey, P.H. (2000). An integrated framework for the inference of viral population history from reconstructed genealogies. *Genetics*, 155, 1429–1437.
- Rambaut, A. (2018). FigTree v.1.4.4. [accessed 25 October 2020]. <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>.
- Rambaut, A., Drummond, A.J., Xie, D., Baele, G. & Suchard, M.A. (2018). Posterior summarization in Bayesian phylogenetics using Tracer 1.7. *Systematic biology*, 67(5), 901-904.
- Ray, N., Currat, M. & Excoffier, L. (2003). Intra-deme molecular diversity in spatially expanding populations. *Molecular biology and evolution*, 20(1), 76-86.
- Rogers, A.R. & Harpending, H. (1992). Population growth makes waves in the distribution of pairwise genetic differences. *Molecular biology and evolution*, 9(3), 552-569.
- Rohlf, F.J. (1970). Adaptive hierarchical clustering schemes, *Systematic Zoology*, 18, 58-82.
- Ronquist, F., Teslenko, M., Van Der Mark, P., Ayres, D. L., Darling, A., Höhna, S. & Huelsenbeck, J.P. (2012). MrBayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Systematic biology*, 61(3), 539-542.
- Rousset, F. & Raymond, M. (1997) Statistical Analyses of Population Genetic Data: New Tools, Old Concept. *Trends in Ecology & Evolution*, 12, 313-317. [http://dx.doi.org/10.1016/S0169-5347\(97\)01104-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0169-5347(97)01104-X)
- Rousset, F. & Raymond, M. (1997). Statistical analyses of population genetic data: new tools, old concepts. *Trends in Ecology & Evolution*, 12(8), 313-317.

- Roques, S., Fox, C.J., Maria, I., Villasana, M.I. & Rico, C. (2006). The complete mitochondrial genome of the whiting, *Merlangiusmerlangus* and the haddock, *Melanogrammusaelefinus*: A detailed genomic comparison among closely related species of the Gadidae family. *Gene*, 383: 12–23.
- Rozas, J., Sanchez-DelBarrio, J.C., Messeguer, X. & Rozas, R. (2003). DnaSP DNA polymorphism analyses by the coalescent and other methods. *Bioinformatics*, 19: 2496-2497.
- Ruzzante, D.E. (1998). A Comparison Of Several Measures Of Genetic Distance And Population Structure With Microsatellite Data: Bias And Sampling Variance. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 55(1): 1-14.
- Ryan, W.B., Pitman III, W.C., Major, C.O., Shimkus, K., Moskalenko, V., Jones, G.A. & Yüce, H. (1997). An abrupt drowning of the Black Sea shelf. *Marine geology*, 138(1-2), 119-126.
- Sarıçam, S. & Müştak, H.K. (2015). Filogenetik ağaçlandırma metotları. *Etlik Vet Mikrobiyol Derg*; 26 (2): 58-64
- Sabaghnia, N., Mohammadi, M. & Karimizadeh, R. (2013). Principal coordinate analysis of genotype× environment interaction for grain yield of bread wheat in the semi-arid regions. *Genetika*, 45(3), 691-701.
- Samsun, N. (1996). “Sinop Yoresinde Dip Trolleri ile Avlanan Mezgit Balığının (*Gadus merlangus euxinus* Nordmann, 1840) Balıkçılık Biyolojisi Yönünden Bazı Parametrelerinin Araştırılması”, Yüksek Lisans Tezi, Ondokuz Mayıs Üniv. Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun, Türkiye, 43s.
- Schneider, S. & Excoffier, L. (1999). Estimation of past demographic parameters from the distribution of pairwise divergences when the mutation rates vary among sites: application to human mitochondrial DNA. *Genetiks* 152(3), 1079–1089.
- Scholten, R. (1974). Role of Bosphorus in Black Sea chemistry and sedimentation. In: Degens, E.T., Ross, D.A. (Eds.), *The Black Sea: Geology, Chemistry and Biology*. Am. Assoc. Pet. Geol. Mem. 20, 115–126.
- Schwarz, G. (1978). Estimation the dimension of a model. *Ann. Stat.* 6, 461–464, <https://www.jstor.org/stable/2958889>.
- Simonsen, K.L., Churchill, G.A. & Aquadro, C.F. (1995). Properties of statistical tests of neutrality for DNA polymorphism data. *Genetiks*. 141 (1): 413–429.
- Slastenenko, E. (1956). “Karadeniz Havzası Balıkları”, Et ve Balık Kurumu Umum Müdürlüğü Yayınları İstanbul, 90- 96;259-260 pp.
- Slatkin, M. (1993). Isolation by distance in equilibrium and non-equilibrium populations. *Evolution*. 47(1):264–279.
- Slatkin, M. & Hudson, R.R. (1991). Pairwise comparisons of mitochondrial DNA sequences in stable and exponentially growing populations. *Genetiks*, 129(2), 555-562.
- Slatkin, M. (1985). Rare Alleles as Indicators of Gene Flow. *Evolution*,39(1), 1985,pp.53-65

- Sokal, R.R. (1979). Testing statistical significance of geographic variation patterns. *Systematic zoology*, 28(2), 227-232.
- Svetovidov, A.N. (1986). Gadidae. Fishes of the Northeastern Atlantic and the Mediterranean. In Whitehead, P.J.P. et al. (eds.): Paris: UNESCO
- Swofford, D.L. (2003). PAUP: Phylogenetic Analysis Using Parsimony. Sinauer, Sunderland, Massachusetts, USA
- Swofford, D.L. (1998). PAUP\*: Phylogenetic Analysis Using Parsimony (\* and Other Methods), Version 4.0b 10. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.
- Swofford, D.L., Olsen, G.J., Waddell, P.J & Hillis, D.M. (1996). Phylogenetic inference. D. M. Hillis, C. Moritz, & B. K. Mable (Editors), *Molecular Systematics* (Second ed.). Massachusetts: Sinauer Associates, 407-514 pp.
- Şalcıoğlu, A., Gubili, C., Krey, G., Sönmez, A. Y. & Bilgin, R. (2020). Phylogeography and population dynamics of the Eastern Mediterranean whiting (*Merlangius merlangus*) from the Black Sea, the Turkish Straits System, and the North Aegean Sea. *Fisheries Research*, 229, 105614.
- Şalcıoğlu, A.Ş. (2018). Phylogeography and Evolutionary History of Whiting (*Merlangius merlangus*) and Picarel (*Spicara spp.*) Along The Turkish Coastal Waters. Doktora Tezi.
- Tabachnick, B.G., & Fidell, L.S. (2012). *Using Multivariate Statistics*. 6th ed. Pearson Education, Inc, New York, NY, U.S.A
- Tajima F. (1989). Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetiks*. 123 (3):585–595.
- Tayhan, Y. (2014). Doğu ve Orta Karadeniz Bentopelajijinde Dağılım Gösteren Mezgit (*Merlangius merlangus euxinus* (nordmann, 1840)) Popülasyonunun Ototlit Morfolojisi ve Genetik Özellikler İle Olası Alansal Varyasyonlarının İncelenmesi. Doktora Tezi. Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Samsun.
- Thompson, J.D., Higgins, DG. & Gibson, T.J. (1994). Clustal W: Improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research*, 22, 4637-4680.
- Thorne, J.L., Kishino, H. & Painter, I.S. (1998). Estimating the rate of evolution of the rate of molecular evolution. *Molecular Biology of Evolution*, 15(12), 1647–1657.
- Tortonese, E. (1975). Osteichthyes, (Pesci ossei) (2. Basım). Edizioni Calderini, Bologna. *Fauna Italia* (11):1-636.
- Tuncay, D., Senol Tuncay, S., Yılmaz, C. & Bardakci, F. (2014, July). Population Genetic Structure of red mullet (*Mullus barbatus* L.) in Turkish Sea Based on Mitochondrial DNA. In *Front. Mar. Sci. Conference Abstract: IMMR| International Meeting on Marine Research*.
- Tuncay, T. (2015). Türkiye Denizlerindeki Tekir (*Mullus surmuletus* L.) Türünün Genetik Stoklarının Belirlenmesi. Doktora Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Aydın.

- Turan, C., Erguden, D., Gurlek, M., Yaglioglu, D., Uyan, A. & Dogdu, S. (2016). Population Genetik Analysis of Grouper Species (*Epinephelus spp.*) in Turkish Seas. Natural and Engineering Sciences.
- Turan, C. & Gürlek, M., (2003). Genetic and Morphologic Structure of Hake (Merluccius merluccius) in the Marmara and Northeast Mediterranean Seas. International Symposium of Fisheries and Zoology, 2003, 43-51.
- TÜİK. (2022). TÜİK Haber Bülteni. Sayı: 45745. <https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=Su-Urunleri-2021-45745>. Retrieved 17 Kasım 2022.
- URL-1. *Merlangius merlangus* (Linnaeus, 1758): Whiting".[https://www.fishbase.se/summary/Merlangius merlangus.html#](https://www.fishbase.se/summary/Merlangius%20merlangus.html#) FishBase. Retrieved 17 Kasım 2022.
- URL-2. Britannica, The Editors of Encyclopaedia. "gene flow". *Encyclopedia Britannica*, 2 Jan. 2020, <https://www.britannica.com/science/gene-flow>. Accessed 16 November 2022.
- Waples, R.S. & Gaggiotti, O. (2006). INVITED REVIEW: What is a population? An empirical evaluation of some genetik methods for identifying the number of gene pools and their degree of connectivity. *Molecular ecology*, 15(6), 1419-1439.
- Weir, B.S. & Hill, W.G. (2002). Estimating F-statistics. Annual review of genetics, 36(1), 721-750.
- Whitehead, P.J.P., Bauchot, M.L., Hureau, J.C., Nilsen, J. & Tortonese, E. (1986). Fishes of the NorthEastern Atlantic and the Mediterranean. UNESCO: London, 1-510.
- Whitlock, M.C. & McCauley, D.E. (1999). Indirect measures of gene flow and migration:  $F_{ST} \neq 1/(4Nm + 1)$ . *Heredity*, 82(2), 117-125.
- Wilkin, D. & Akre, B. (2016). Size and Genetik Drift - Advanced in Chapter 10: Evolution of CK-12 Biology Advanced Concepts. <https://www.ck12.org/book/ck-12-biology-advanced-concepts/section/10.35/>. 04.11.2022
- Wright, B.S. (1951). The genetik structure of populations. Annual Eugenics, 15, 323-354.
- Wright, S. (1969). The Theory of Gene Frequencies. London: The University of Chicago Press.
- Xiong, J. (2006). Essential Bioinformatics: 127-169
- Yun-Xin Fu, Statistical Tests of Neutrality of Mutations Against Population Growth, Hitchhiking and Background Selection, *Genetiks*, Volume 147, Issue 2, 1 October 1997, Pages 915–925.
- Zaitsev, Y. & Mamaev, V. (1997). Marine Biological Diversity in the Black Sea. A Study of the Change and Decline, 1-208.
- Zuckermandl, E. (1962). Molecular disease, evolution, and genetik heterogeneity. *Horizons in biochemistry*, 189-225.
- Zuckermandl, E. & Pauling, L. (1965). Evolutionary divergence and convergence in proteins. In *Evolving genes and proteins* (pp. 97-166). Academic Press.

Zuur, A.F., Ieno, E.N. & Smith, G.M. (2007). Principal coordinate analysis and non-metric multidimensional scaling. *Analysing ecological data*, 259-264.

## ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı	Ümit GÜR
Doğum Yeri	
Doğum Tarihi	
Uyruğu	<input checked="" type="checkbox"/> T.C. <input type="checkbox"/> Diğer:
Telefon	
E-Posta Adresi	
Eğitim Bilgileri	
Lisans	
Üniversite	Ondokuz Mayıs Üniversitesi
Fakülte	Fen Edebiyat Fakültesi
Bölümü	Biyoloji
Mezuniyet Yılı	2006
Yüksek Lisans	
Üniversite	Ordu Üniversitesi
Enstitü Adı	Fen Bilimleri Enstitüsü
Anabilim Dalı	Balıkçılık Teknolojisi Mühendisliği Anabilim Dalı
Mezuniyet Tarihi	2014
Doktora	
Üniversite	Ordu Üniversitesi
Enstitü Adı	Fen Bilimleri Enstitüsü
Anabilim Dalı	Balıkçılık Teknolojisi Mühendisliği Anabilim Dalı
Mezuniyet Tarihi	2023