

**T.C.**  
**ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**  
**2014-DR-011**

**MİTOKONDİRİ VE MİKROSATELLİT DNA**  
**ANALİZLERİYLE TÜRKİYE DENİZLERİNDEKİ HAMSİ**  
**(*Engraulis encrasicolus*, L.) POPULASYONLARININ**  
**GENETİK YAPISININ BELİRLENMESİ**

**Serap ŞENOL TUNCAY**

**Tez Danışmanı:**  
**Prof. Dr. Fevzi BARDAKCI**

**AYDIN**



**T.C.**  
**ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE**  
**AYDIN**

Biyoloji Anabilim Dalı Doktora Programı öğrencisi Serap ŞENOL TUNCAY tarafından hazırlanan (Mitokondri ve Mikrosatellit DNA Analizleriyle Türkiye Denizlerindeki Hamsi (*Engraulis encrasicolus*, L.) Populasyonlarının Genetik Yapısının Belirlenmesi) başlıklı tez, 15 Eylül 2014 tarihinde yapılan savunma sonucunda aşağıda isimleri bulunan jüri üyelerince kabul edilmiştir.

	Ünvanı, Adı Soyadı	Kurumu	İmzası
Başkan	: Prof. Dr. Fevzi BARDAKCI	ADÜ	
Üye	: Prof. Dr. Cemal TURAN	MKÜ	
Üye	: Prof. Dr. Celal ÜLGER	ADÜ	
Üye	: Doç. Dr. Deniz ÇOBAN	ADÜ	
Üye	: Doç. Dr. Yusuf BEKTAŞ	RTEÜ	

Jüri üyeleri tarafından kabul edilen bu Doktora Tezi, Enstitü Yönetim Kurulunun .....Sayılı kararıyla ..... tarihinde onaylanmıştır.

Prof. Dr. Cengiz ÖZARSLAN  
Enstitü Müdürü



**T.C.**  
**ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE**  
**AYDIN**

Bu tezde sunulan tüm bilgi ve sonuçların, bilimsel yöntemlerle yürütülen gerçek deney ve gözlemler çerçevesinde tarafımdan elde edildiğini, çalışmada bana ait olmayan tüm veri, düşünce, sonuç ve bilgilere bilimsel etik kuralların gereği olarak eksiksiz şekilde uygun atıf yaptığımı ve kaynak göstererek belirttiğimi beyan ederim.

...../...../20...

Serap ŞENOL TUNCAY



## ÖZET

### MİTOKONDİRİ VE MİKROSATELLİT DNA ANALİZLERİYLE TÜRKİYE DENİZLERİNDEKİ HAMSİ (*Engraulis encrasicolus*, L.) POPULASYONLARININ GENETİK YAPISININ BELİRLENMESİ

Serap ŞENOL TUNCAY

Doktora Tezi, Biyoloji Anabilim Dalı  
Tez Danışmanı: Prof. Dr. Fevzi BARDAKCI  
2014, 95 sayfa

Avrupa hamsisi *Engraulis encrasicolus* (Linnaeus, 1758) Actinopterygii sınıfına dahil balıkçılıkta ekonomik değere sahip küçük pelajik bir balıktır. Avrupa hamsisinin yayılış alanı Karadeniz, Azak Denizi, Akdeniz ve Avrupa-Kuzey Afrika Atlantik kıyılarında bulunan sığ sulardır. Bu çalışmada mikrosatellit lokuslarının genotip verileri ve mtDNA kontrol bölgesi dizi verileri kullanılarak Türkiye denizlerindeki Avrupa hamsisinin populasyon genetik yapısı ve genetik çeşitlilik düzeyi belirlenmiştir. Hamsi örneklerinin toplandığı lokaliteler: Doğu Akdeniz (İskenderun ve Mersin), Batı Akdeniz (Antalya), Ege Denizi (Kuşadası), Marmara Denizi (Bandırma ve İstanbul), Batı Karadeniz (Zonguldak), Orta Karadeniz (Terme, Perşembe, Fatsa) ve Doğu Karadeniz (Trabzon, Ardeşen, Gürcistan)'dir. Sonuç olarak her iki moleküler belirteçin ortalama alel sayıları ve haplotip çeşitliliklerine dayalı olarak populasyonlar arasında yüksek bir genetik varyasyon olduğu saptanmıştır. Hem mtDNA hem de mikrosatellit analizi sonuçları hamsi populasyonlarının denizler arasında farklı bir genetik yapılanma sergilediğini göstermiştir. Türkiye karasularında dört adet olası genetik grup bulunduğu tespit edilmiştir. Genetik uzaklık analizleri sonuçları Doğu ve Orta Karadeniz örneklerinin Ege Denizi ve Akdeniz populasyonlarından farklı olduklarını göstermiştir.

**Anahtar sözcükler:** Hamsi, *Engraulis encrasicolus*, Türkiye Denizleri, Mikrosatellit, mtDNA, Kontrol Bölgesi





## ABSTRACT

### DETERMINATION OF POPULATION GENETIC STRUCTURE OF EUROPEAN ANCHOVY (*Engraulis encrasicolus* L.) IN THE TURKISH SEAS USING MITOCHONDRIAL AND MICROSATELLITE DNA ANALYSES

Serap ŞENOL TUNCAY

Ph. D. Thesis, Department of Biology  
Supervisor: Prof. Dr. Fevzi BARDAKCI  
2014, 95 pages

The European anchovy *Engraulis encrasicolus* (Linnaeus, 1758) is a small pelagic fish included Actinopterygii has considerable economical importance in fisheries. Distribution area of European anchovy is shallow waters of Black and Azov seas, Mediterranean and Atlantic coastline of Europe. In this study population genetic structure and genetic diversity of European Anchovy (*Engraulis encrasicolus* L.) in the Turkish Seas was determined using microsatellite loci genotype data and sequence data of mitochondrial DNA control region. Localities where anchovy samples collected were as follows: the eastern Mediterranean Sea (İskenderun and Mersin Bay), the western Mediterranean Sea (Antalya), the Aegean Sea (Kuşadası), the Marmara Sea (İstanbul and Bandırma), the Western Black Sea (Zonguldak), Mid-Black Sea (Terme, Perşembe and Fatsa) and the Eastern Black Sea (Trabzon, Ardeşen and Georgia). As a result the genetic variability was high among the population based on average alleles numbers and haplotype diversities of both molecular markers. Result of both mtDNA and microsatellite analysis results showed genetic structuring among anchovy population among seas. The existence of four possible genetic groups in the Turkish territorial waters was identified. Genetic distance analyses showed up Eastern and mid Black Sea specimens were distinct from Aegean Sea and Mediterranean Sea populations.

**Key words:** European Anchovy, *Engraulis encrasicolus*, Turkish Seas, microsatellites, mtDNA, Control region



## ÖNSÖZ

Doktora eğitimin süresince ve tez çalışmamın her aşamasında, benden yol gösterici önerilerini ve bilgi birikimini hiçbir zaman esirgemeyen, tez danışmanım Prof. Dr. Fevzi BARDAKCI'ya saygı ve en içten teşekkürlerimi sunarım.

Tez süresince yaptıkları eleştiri ve yönlendirmelerinden dolayı tez izleme komitesi üyeleri Prof. Dr. Cemal TURAN ve Prof. Dr. Celal ÜLGER'e teşekkür ederim.

Tez çalışmam için gerekli olan örneklerin temininde yardımcı olan Prof. Dr. Cemal TURAN, Prof. Dr. Hasan SEVGİLİ, Doç Dr. Yusuf BEKTAŞ, Prof. Dr. Süphan KARAYTUĞ, Prof. Dr. Battal ÇIPLAK, Prof. Dr. İslam GÜNDÜZ, Yrd. Doç. Dr. Yılmaz ÇİFTÇİ ve Yrd. Doç. Dr. Mehmet AYDIN'a, çok teşekkür ederim.

Bu tez çalışmasının gerçekleşmesi için maddi kaynak sağlayan TÜBİTAK (111T461 no'lu proje) ve Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (FEF12014)'ne teşekkür ederim.

Doktora tezimin laboratuvar çalışmalarının bir döneminde, örneklerin analize hazırlanması aşamasında ettikleri yardımlardan dolayı Biyoloji Bölümü mezunu öğrenciler Utku YILMAZ ve Uğur Hüseyin ERCİNS' e teşekkür ederim.

Doktora eğitimim süresince iyi ve kötü zamanlarıma ortak olan Uzman Emel SEVGİLİ'ye teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans ve doktora eğitimimin her aşamasında desteğiyle her zaman yanımda olan, doktora tezimin yazım aşamasında bıkmadan bana yardımcı olan sevgili eşim Doğan TUNCAY'a teşekkürü bir borç bilirim.

Bu tez çalışmasını: tüm eğitimim süresince beni destekleyerek benim bu günlere gelmemi sağlayan, tez çalışmam süresince meydana gelen olumsuzluklara karşı her zaman sabırlı ve yapıcı nasihatlarıyla bana güç veren, sonsuz minnet duyduğum ve teşekkür ettiğim değerli annem ve babam Nebile ŞENOL ve Ramadan ŞENOL'a atfediyorum.



## İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY SAYFASI .....	iii
BİLİMSEL ETİK BİLDİRİM SAYFASI .....	v
ÖZET .....	vii
ABSTRACT .....	ix
ÖNSÖZ .....	xi
SİMGELER DİZİNİ.....	xv
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xvi
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	xix
1. GİRİŞ .....	1
1.1. Hamsi ( <i>Engraulis encrasicolus</i> , Linnaeus, 1758) Balığının Morfolojisi .....	1
1.1.1. Familya Tayini .....	2
1.1.2. Türün Taksonomik Durumu.....	2
1.2. Hamsi ( <i>E. encrasicolus</i> , L.) Balığının Biyolojisi .....	2
1.3. Hamsi ( <i>E. encrasicolus</i> , L.) Balığının Türkiye’deki Tüketimi .....	6
1.4. Türkiye Denizlerinin Özellikleri .....	8
1.4.1. Karadeniz’in Özellikleri.....	8
1.4.2. Akdeniz’in Özellikleri .....	9
1.5. Mitokondriyal DNA (mtDNA) .....	10
1.6. Nükleer Satellit DNA.....	11
1.6.1. Mikrosatellitler .....	12
2. KAYNAK ÖZETLERİ .....	13
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	21
3.1. Hamsi Örneklerinin Toplanması .....	21
3.2. Total Genomik DNA İzolasyonu .....	22
3.3. Genomik DNA’nın Miktarının Belirlenmesi ve Görüntülenmesi.....	23

3.4. Mitokondriyal DNA Kontrol Bölgesi.....	23
3.4.1. Mitokondriyal DNA Kontrol Bölgesinin PCR ile Çoğaltılması.....	23
3.4.2. Mitokondriyal DNA Kontrol Bölgesinin Dizi Analizi.....	25
3.4.3. Mitokondriyal DNA Kontrol Bölgesinin Veri Analizi.....	26
3.5. Mikrosatellit Lokusları.....	27
3.5.1. Mikrosatellit Lokuslarının PCR ile Çoğaltılması.....	27
3.5.2. Mikrosatellit Lokuslarının Genotiplenmesi.....	29
3.5.3. Mikrosatellit Lokuslarının Veri Analizi.....	30
4. BULGULAR.....	32
4.1. mtDNA Kontrol Bölgesi Dizilerinin Analizi.....	32
4.2. Mikrosatellit Lokuslarının Analizi.....	46
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	66
KAYNAKLAR.....	81
ÖZGEÇMİŞ.....	93

## SİMGELER DİZİNİ

DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
mtDNA	Mitokondriyal Deoksiribo Nükleik Asit
nDNA	Nükleer Deoksiribo Nükleik Asit
tRNA	Transfer Ribo Nükleik Asit
rRNA	Ribozomal Ribo Nükleik Asit
TÜİK	Türkiye İstatistik Kurumu
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RFLP	Restriksiyon Fragment Uzunluk Polimorfizmi
NJ	Neighbour Joining
UPGMA	Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean
bç	Baz çifti
kb	Kilobaz
km	Kilometre
m	Metre
nm	Nanometre
m <sup>3</sup>	Metre küp
km <sup>2</sup>	Kilometre kare
km <sup>3</sup>	kilometre küp
kg	Kilogram
g	Gram
ng	Nanogram
mg	Miligram
pmol	Pikomol
mM	Milimolar
ml	Mililitre
µl	Mikrolitre
dk	Dakika
sn	Saniye
K	Kuzey
B	Batı
D	Doğu
°C	Santigrad Derece
TL	Türk Lirası





## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. <i>Engraulis encrasicolus</i> (L.).....	1
Şekil 1.2. <i>E. Encrasicolus</i> (L.) türünün yayılış alanı.....	3
Şekil 1.3. Akdeniz’de hamsi balığının 2003-2008 (Temmuz) yılları arasındaki potansiyel üreme bölgesi.....	3
Şekil 1.4. Karadeniz hamsisi üremesi, kışlaması, beslenmesi ve göçü.....	4
Şekil 1.5. Hamsi göçünün genel şeması.....	5
Şekil 1.6. Türkiye’de türlere göre avcılık miktarları.....	7
Şekil 1.7. Karadeniz’de üst tabaka su sirkülasyonunun ana görünümü.....	9
Şekil 1.8. Akdeniz’deki üst tabaka su sirkülasyonunun ana görünümü.....	10
Şekil 3.1. Tez kapsamındaki örneklerin toplandığı lokaliteler.....	22
Şekil 3.2. PCR ile çoğaltılmış mtDNA kontrol bölgesi 1220 bp uzunluğundaki ampliconları.....	24
Şekil 3.3. Bioedit 7.1.3.0 programında DNA dizilerinin görüntülenmesi.....	25
Şekil 3.4. Bioedit 7.1.3.0 programında Clustal W kullanılarak hizalanmış veri seti.....	25
Şekil 3.5. Genemarker 2.2.0 programında mikrosatellit alel büyüklüklerinin görüntülenmesi.....	30
Şekil 4.1. Örnekleme lokalitelerine göre hamsi türünün mtDNA kontrol bölgesi dizi verileri $\gamma_{ST}$ değerlerine dayalı olarak oluşturulmuş Neighbour-Joining ağacı.....	43
Şekil 4.2. mtDNA kontrol bölgesi dizileri kullanılarak oluşturulmuş köksüz NJ ağacı.....	45
Şekil 4.3. Mikrosatellit lokuslarının lokaliteler arasındaki alelik dağılım grafiği.....	49
Şekil 4.4. Türkiye denizlerinde yayılış gösteren hamsi popülasyonlarında mikrosatellit analizi sonucu elde edilen popülasyon yapılanması.....	61
Şekil 4.5. On üç lokaliteden örneklenen 541 birey arasındaki ilişkiyi gösteren FCA sonuçları.....	62

Şekil 4.6. Nei (1978) uzaklık metoduna dayalı olarak çizilmiş UPGMA ağacı.....	63
Şekil 4.7. Genetik farklılık ve coğrafik uzaklık arasındaki ilişkinin grafiği.....	65
Şekil 5.1. Genbank 387178092 ve 316990521 no'lu populasyon setleri ve bu çalışmada kullanılan dizi verileri kullanılarak oluşturulmuş köksüz NJ ağacı.....	72
Şekil 5.2. Adriyatik ve Türkiye denizlerinde yayılış gösteren hamsilerin mikrosatellit genotip verileri kullanılarak, Nei (1978) uzaklık metoduna dayalı olarak çizilmiş UPGMA ağacı.....	75
Şekil 5.3. Adriyatik ve Türkiye denizlerinde yayılış gösteren hamsilerin (Zonguldak ve Bandırma örnekleri ilk yıl) mikrosatellit genotip verileri kullanılarak, Nei (1978) uzaklık metoduna dayalı olarak çizilmiş UPGMA ağacı.....	75
Şekil 5.4. Adriyatik ve Türkiye denizlerinde yayılış gösteren hamsilerin (Zonguldak ve Bandırma örnekleri ikinci yıl) mikrosatellit genotip verileri kullanılarak, Nei (1978) uzaklık metoduna dayalı olarak çizilmiş UPGMA ağacı.....	76

## ÇİZELGELER DİZİNİ

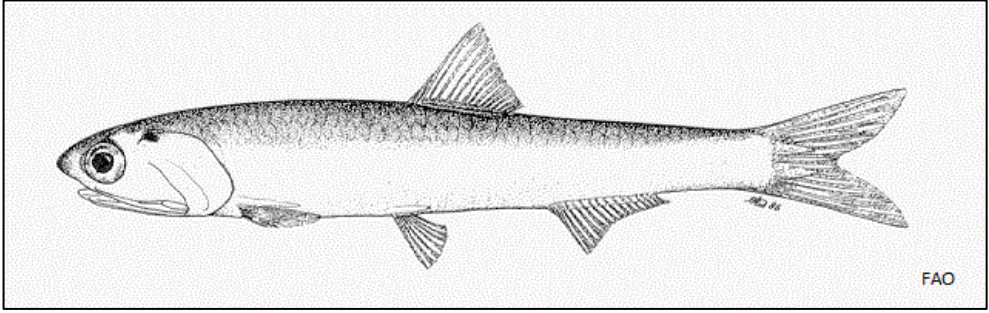
Çizelge 1.1. Hamsi Balığı avcılık miktarları.....	6
Çizelge 1.2. Niteliklerine göre balıkçılık faaliyetleri yürüten balıkçı gemileri.....	7
Çizelge 1.3. Hamsinin bölgelere göre avcılık miktarları.....	8
Çizelge 3.1. Örnekleme yapılan lokaliteler, toplanan birey sayıları ve örnekleme tarihleri.....	21
Çizelge 3.2. mtDNA kontrol bölgesi primerleri ve özellikleri.....	24
Çizelge 3.3. Mikrosatellit analizinde kullanılan lokuslar, primerlerin dizileri ve Tm.....	27
Çizelge 3.4. Mikrosatellit lokuslarının tekrar motifleri, uzunluk aralıkları, floresan etiketleri ve dahil oldukları PCR grupları.....	28
Çizelge 3.5. Multipleks PCR reaksiyon karışımları ve sıcaklık döngü koşulları.....	29
Çizelge 4.1. Örnekleme lokalitelerinde gözlenen haplotipler ve dağılımları.....	32
Çizelge 4.2. Hamsi balığının mtDNA kontrol bölgesi için çalışılan her bir lokalite için tespit edilen haplotip ve nükleotid çeşitliliği, etkili populasyon büyüklüğü değerleri .....	41
Çizelge 4.3. Hamsi türünün genetik uzaklık değerleri ile lokalitelerin ikiyeşerli karşılaştırmaları.....	42
Çizelge 4.4. Mitokondriyal DNA analizi sonucunda hamsi populasyonları arasındaki göç oranları.....	43
Çizelge 4.5. Gruplar ve lokaliteler arasında Moleküler varyans analizi.....	46
Çizelge 4.6. Hamsi populasyonlarında 13 mikrosatellit lokusu için Hardy-Weinberg dengesi analizi sonuçları.....	51
Çizelge 4.7. Mikrosatellit DNA analizi sonucunda populasyonlar arasındaki gen akışı.....	57
Çizelge 4.8. Lokaliteler arasındaki genetik uzaklık karşılaştırması.....	58

Çizelge 4.9 Hamsi populasyonlarının FreeNA program ile hesaplanmış $F_{ST}$ değerleri. ....	59
Çizelge 4.10. AMOVA analizinde alternatif gruplandırmalar yapılarak hesaplanmış fiksasyon indeksleri.....	60
Çizelge 4.11. Hamsi populasyonları arasında GeneClass programıyla saptanan göç sayıları.....	64
Çizelge 5.1. Batı Atlantik Okyanusu, Akdeniz, Ege Denizi ve Karadeniz’de hamsi balığında mtDNA kontrol bölgesi haplotip ve nükleotid çeşitliliği Atlantik, Adriyatik, İyonya, Lyon Körfezi, Mersin ve bu çalışmaya dahil edilen lokalitelerde incelenen mikrosatellit lokuslarının alel büyüklükleri ve alel sayıları .....	66
Çizelge 5.2. Farklı pelajik türlerde mtDNA kontrol bölgesi haplotip ve nükleotid çeşitlilik değerleri.....	67
Çizelge 5.3. Atlantik, Adriyatik, İyonya, Lyon Körfezi, Mersin ve bu çalışmaya dahil edilen lokalitelerde incelenen mikrosatellit lokuslarının alel büyüklükleri ve alel sayıları.....	68

## 1. GİRİŞ

### 1.1. Hamsi (*Engraulis encrasicolus*, Linnaeus, 1758) Balığının Morfolojisi

Vücut ince uzun fusiform, enine kesitte oval şekillidir. Standart boy, vücut yüksekliğinin 6 katıdır. Burun sivri, maksilla kısa neredeyse operkuluma kadar ulaşır. Alt çene üst çeneye oranla daha kısadır, alt çene burun deliğine kadar ulaşır. Gözler, baş boyuna oranla oldukça büyüktür. Dorsal yüzgeç küçük olup, tektir. Kaudal yüzgeç çatallı, vücut kolay dökülebilen sikloit pullarla kaplıdır. Dorsal ve ventral yüzgeçlerinin başlangıç noktaları aynı hizadadır. Anal yüzgeç kısadır ve dorsal yüzgecin gerisinden köken alır. Tür için yüzgeç formülü: D 16–18, A 13–15 şeklindedir. Sırt mavi-gümüşü ya da yeşilimsi mavi, karın beyaz gümüşü renktedir (Şekil 1.1) (Whitehead vd., 1988).



Şekil 1.1. *Engraulis encrasicolus* (Linnaeus, 1758) (Schneider, 1990)

#### 1.1.1. Familya Tayini

*Engraulis* cinsine dahil olan ve dünya denizlerinde ekonomik olarak değere sahip 8 adet hamsi türü bulunmaktadır. Bunlar; *Engraulis anchoita* (Arjantin hamsisi); *E. australis* (Avustralya hamsisi); *E. capensis* (Güney Afrika hamsisi); *E. encrasicolus* (Avrupa hamsisi); *E. eurystole* (Gümüş hamsi); *E. japonicus* (Japon hamsisi); *E. mordax* (Kaliforniya hamsisi), *E. ringens* (Peru hamsisi) ve *E. albidus* türleridir. Tüm Akdeniz’de ve ülkemizin sularında *Engraulis* cinsine ait *E. encrasicolus* ve *E. Albidus* (Borsa vd., 2004) türleri yaşamaktadır. Bunun yanı sıra *Engraulidae* familyasına ait Hint Okyanusu hamsisi (*Stolephorus insularis*) Akdeniz’de yeni kayıt olarak bildirilmiştir (Dalyan vd., 2014).

Tayin anahtarında türün dahil olduğu aile ve en yakın aile olan Clupeidae arasındaki ayırım aşağıda belirtilmiştir:

Dorsal yüzgeç anal yüzgeç başlangıcının önünde, dorsal yüzgecin arkadaki son uç kaidesi ile kaudal yüzgecin başlangıcı arasından mesafe baş boyundan uzun... **172**

172a Burun çıkıntı yapmamış, ağız terminal, çene kıvrımı (birleştiği yer) gözün altında ya da önünde biter.....**Clupeidae**

172b Burun alt çenenin önünde belirgince çıkıntı yapmış, ağız subterminal ya da inferior, çene kıvrımı gözün arkasında.....**Engraulidae**  
(Whitehead, 1986)

### 1.1.2. Türün Taksonomik Durumu

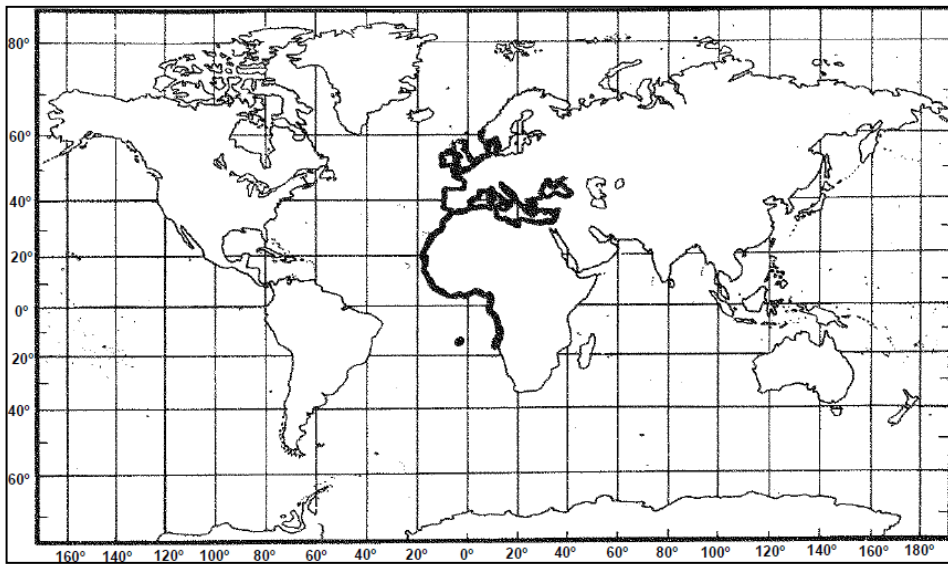
Şube: Chordata  
Altşube: Vertabrata  
Üst sınıf: Gnathostomata  
Sınıf: Osteichthyes  
Takım: Clupeiformes  
Aile: Engraulidae  
Tür: *Engraulis encrasicolus* (Linnaeus, 1758)

### 1.2. Hamsi (*E. encrasicolus*, L.) Balığının Biyolojisi

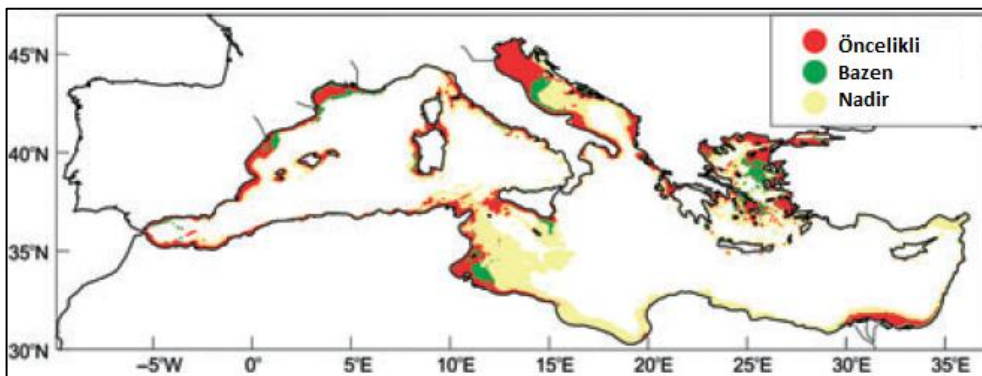
Hamsi, *Engraulis encrasicolus* (Linnaeus, 1758) pelajik ve sığ sularda (0-400 m) yaşayan küçük bir balık türüdür. Doğu Atlantik (Avrupa ve Afrika'nın batısı) Akdeniz, Karadeniz ve Azak Denizi'nde yayılış gösterir (Whitehead vd., 1986) (Şekil 1.2). Hamsi eurihalin (tuzluluk oranı % 5-41) bir tür olup, genellikle epipelajik bölgede büyük sürüler oluştururlar. Denizlerden lagünlere girebilirler. Ovipardırlar, üremeleri çoğunlukla ilkbahar ve sonbahar aylarında gerçekleşir. Planktonla beslenirler (Calanoid, Copepod, Cirrepede, Mollusca larvaları ve balık yumurtaları ve larvaları). Yumurtaları elips şeklinde oval ve pelajiktir. 0-50 m seviyede yüzen yumurtaların kuluçka süresi 25-65 saattir (Whitehead vd., 1986; Whitehead vd., 1988).

Hamsi balığı genellikle ilkbahara doğru hem yumurtlamak hem de beslenmek için planktonik organizmaların bol olduğu kuzey kıyı bölgelerine, sonbaharda ise

kışlamak için güneye sürüler halinde göç eder. Ömürleri 2-3 yıl olan bu tür bir yaşında eşeyssel olgunluğa erişir ve Nisan-Kasım aylarında sığ sularda yumurtlar. Bu türün Akdeniz’de potansiyel yumurtlama alanı Şekil 1.3’de gösterilmiştir (Giannoulaki vd., 2013).



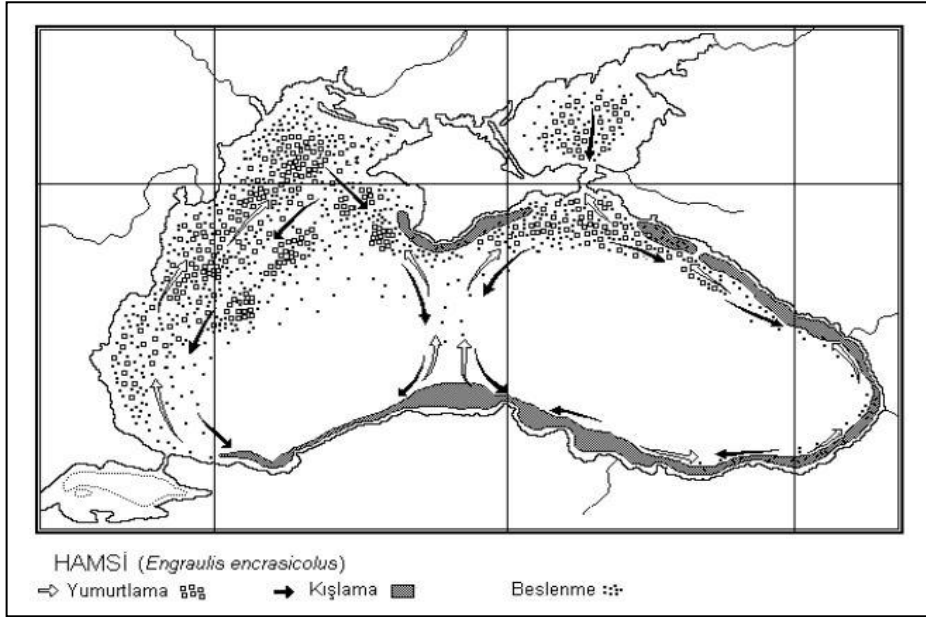
Şekil 1.2. *E. encrasicolus* türünün yayılış alanı (Whitehead vd., 1988)



Şekil 1.3. Akdeniz’de hamsi balığının 2003-2008 (Temmuz) yılları arasındaki potansiyel üreme bölgesi (Giannoulaki vd., 2013)

Bazı araştırmacılarca Karadeniz’de bolca tüketilen hamsi balığının Azak (*Engraulis encrasicolus maeticus*) ve Karadeniz (*Engraulis encrasicolus ponticus*) hamsisi olarak iki alt türü olduğu kabul edilir (Alexandrov, 1927; Pusanov, 1936).

Azak hamsisi Karadeniz hamsisine göre daha yavaş bir büyüme oranına sahiptir (Gubanov ve Limansky, 1968; Shevchenko, 1980). Azak hamsisinin boyu en fazla 15 cm iken, Karadeniz hamsisinin boyu 18-20 cm'ye ulaşabilir (Bingel ve Gücü, 2010). İki alt türün ayrımı için en uygun yöntem otolit şekliyle ortaya konmaktadır (Skazkina, 1965). Karadeniz hamsisinin otolit indeksi (uzunluk/genişlik) 2,15 iken Azak hamsisinin 1,96'dır (Chashchin, 1996). Ayrıca 1963 yılında Altukhov vd. (1969), normal domuz ve at kan serumunda hemaglutinasyon deneylerini yürütürlerken, hamsi eritrositlerinin antijenik özelliklerinin bireyler arasında farklılık gösterdiğini bulmuşlardır. A1 grubuna ait (pozitif) kan hücreleri, her iki tipteki serumla da reaksiyona girerken, A2 grubu kan hücreleri (intermediate-orta) sadece domuz serumuyla ve A0 kan hücreleri (negatif) ise her iki serumla da reaksiyona girmemiştir. Azak hamsisi, tüm bu A0, A1 ve A2 kan tiplerinin de varlığıyla karakterize edilirken, Karadeniz hamsisi sadece A1 ve A2 gruplarını taşımaktadır. Kan gruplarının sıklığı sırasıyla; Karadeniz hamsisi: A1 – %96, A2 – %4; Azak hamsisi: A1– %63, A2 – %16, A0 – %21.

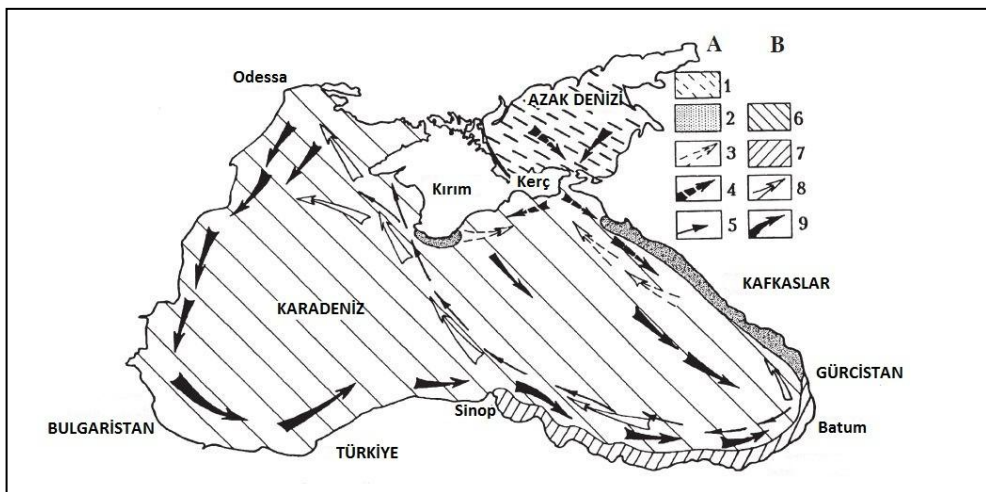


Şekil 1.4. Karadeniz hamsisi üremesi, kışlaması, beslenmesi ve göçü (Bingel ve Gücü, 2010)

Daha önce de belirtildiği gibi hamsi üremek ve beslenmek için kuzeye, kışlamak için güneye göç eder (Şekil 1.4). Şekil 1.5'de Karadeniz'de 2 alt tür olarak kabul



edilen *E. encrasicolus maeticus* ve *E. encrasicolus ponticus*'un göç yolları gösterilmiştir (Chashchin, 1996). Sıcaklığa bağlı olarak genellikle Kasım ayı olmak üzere Ekim, Kasım ve Aralık aylarında güneye Doğu Karadeniz kıyılarına göç eden Karadeniz hamsisi burada kışı geçirir. Şubat, Mart ve Nisan (genellikle Nisan) aylarında sıcaklığa bağlı olarak kıyılardan ya da direk denizin ortasından kuzeye göç ederler. Nisan ortası ve Ekim arası kuzey sularında ürer ve beslenirler (Bingel ve Gücü, 2010).



Şekil 1.5. Hamsi göçünün genel şeması. A- Azak hamsisi: 1. Üreme ve beslenme bölgesi; 2. Kışlama bölgesi; 3. İlkbahar göçü; 4. Güz göçü; 5. Karışık popülasyonların periyodik göçü. B- Karadeniz hamsisi: 6. Üreme ve beslenme bölgesi; 7. Kışlama bölgesi; 8. İlkbahar göçü; 9. Güz göçü (Chashchin, 1996)

Eylül-Ekim aylarında güneyin soğuk sularına inen Azak hamsisi, kışı Kafkasya, Gürcistan (kışlamanın güney sınırı Suchumi) ve Kırım'ın güney kıyılarında (Kasım başlarında gözlemlenirler) geçirir. Bazen balık gruplarının Türkiye kıyılarına kadar geldiği bulunmuştur (Bingel ve Gücü, 2010). İlkbahar göçü Nisan'ın ortalarında başlar Mayıs ayının sonuna kadar devam eder. Kerç boğazından Azak Denizi'ne giren Azak hamsileri, Mayıs ayından Ağustos'a kadar Azak Denizi'nde beslenir ve ürerler (Chashchin, 1996; Bingel ve Gücü, 2010). Batıda Marmara Denizi hamsileri beslenmek ve yumurtlamak için Karadeniz'e çıkmakta, kışlamak için Marmara'ya dönmektedir (Bingel ve Gücü, 2010).

Sürü yoğunluğu gündüz oluşan sık sürülerde 500-800 birey/m<sup>3</sup>, seyrek sürülerde 200-400 birey/m<sup>3</sup> iken, geceleri 20-100 birey/m<sup>3</sup> tür (Chashchin,1996).

Ayrıca bu mevsimsel göçün yanı sıra, bu tür gündüz-gece dikey göçler de yaparlar. Gündüz 70-90 m kadar derinliklere, gece ise 10-40 m kadar yüzeysel sulara ve sahile doğru göçerler (Ivanov ve Beverton, 1985).

### 1.3. Hamsi (*E. encrasicolus*, L.) Balığının Türkiye'deki Tüketimi

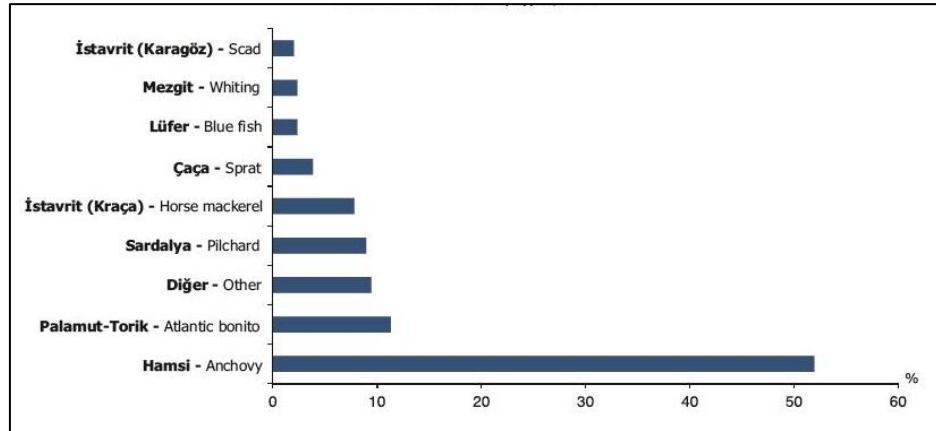
Günümüzde gerek iklim değişikliği gerekse artan nüfusa yönelik aşırı tüketimin ve kirliliğin sonucunda hamsi balığının avlanabilir miktarında değişimler olmuştur. Hamsi ülkemizde en çok avlanan ve tüketilen balık türüdür (Şekil 1.6). T.C. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı'nca belirlenen rakamlara göre, hamsi üretimi 1988 yılında 295 bin ton iken, 1989'da 97 bin ton ve 1990'da 66 bin ton seviyelerine inmiş, 2000–2009 yılları arasında ise artmaya başlamış ve 250–300 bin ton civarlarında avlanmıştır (Bat vd., 2007). Son 10 yıl içerisinde hamsi avlanma verileri Çizelge 1.1'de belirtilmiştir.

Çizelge 1.1. Hamsi Balığı avcılık miktarları (TÜİK, 2014)

Yıllar	Miktar ( ton)	Fiyat (TL/kg)	Değer (TL)
2004	235.000,0	1,500	352.500.000
2005	108.569,0	2,500	271.422.500
2006	210.000,0	2,750	577.500.000
2007	215.000,0	1,750	376.250.000
2008	155.933,0	1,800	280.679.400
2009	114.488,0	1,090	124.791.920
2010	115.892,0	1,530	177.314.760
2011	100.883,5	1,840	185.625.640
2012	81.074,3	2,040	165.391.572
2013	103.424,8	2,390	247.185.272

Bu yıllık dalgalanmalar nedeniyle sürdürülebilir bir balıkçılık sağlamak, balıkçılarımızın kar miktarını arttırabilmek ve ülkemizde hamsi avcılığı için düzenli balıkçılık stratejileri geliştirilmelidir. Bunun yapılabilmesi için avlanmada kullanılan ağ ölçüleri, gırgır avı ve tekne sayısı kotaları gibi durumlarda denetim tam olarak sağlanmalıdır. Tekne sayısı ve tonaj kapasiteleri Çizelge 1.2'de gösterilmiştir. Günümüzde tekne tonaj kapasiteleri geçmişe oranla yüksek olup, tek seferde tonlarca hamsi sürüsü avlanabilmektedir. Bu durum kısa vadede hamsi

sürülerini etkilemiyormuş gibi görünse de, uzun vadede diğer ekolojik ve iklimsel etmenlerle birleştiğinde hamsi popülasyonları üzerinde etkisini göstereceği öngörülebilir.



Şekil 1.6. Türkiye’de türlere göre avcılık miktarları (TÜİK, 2013)

Hamsi tüm Türkiye’de tüketilen balıkların %63’ünü, Karadeniz’de ise %80’ini oluşturmaktadır (Cihangir ve Tıraşın, 1991). TÜİK (2014) verilerine dayanarak oluşturulan ([http://www.tuik.gov.tr/PreTablo.do?alt\\_id=1005](http://www.tuik.gov.tr/PreTablo.do?alt_id=1005)) bölgelere göre hamsi avcılık miktarları Çizelge 1.3’de belirtilmiştir. Görüldüğü üzere avcılığın en çok yapıldığı bölge Karadeniz’dir.

Çizelge 1.2. Niteliklerine göre balıkçılık faaliyetleri yürüten balıkçı gemileri (TÜİK, 2013)

	2008	2009	2010	2011	2012
<b>Kullanım Şekli</b>					
Trol gemisi	543	552	669	700	686
Gırgır gemisi	526	505	485	485	440
Trol-Gırgır gemisi	469	431	337	241	219
Taşıyıcı gemi	213	156	130	201	213
Diğer	15410	15201	15029	12673	12766
<b>Tonaj Grubu</b>					
1-4	13155	12783	12423	10154	10639
5-9	1753	2033	2132	2014	1632
10-29	1054	902	952	1004	985
30-49	393	376	273	372	333
50-99	371	368	413	381	373
100-199	291	272	247	248	234
200-499	127	97	98	113	114
500+	17	14	12	14	14

Çizelge 1.3. Hamsinin bölgelere göre avcılık miktarları (Ton) (TÜİK, 2014)

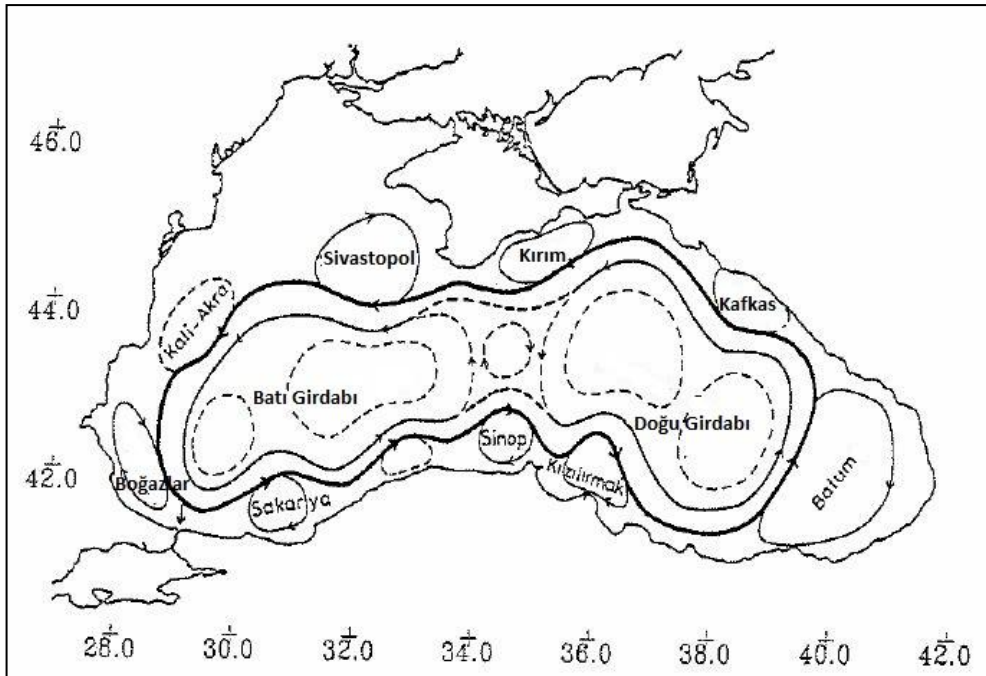
Yıllar	Toplam	Doğu Karadeniz	Batı Karadeniz	Marmara Denizi	Ege Denizi	Akdeniz
2004	340000,0	214572,0	92084,0	23372,0	9972,0	-
2005	138569,0	114308,0	4947,0	15178,0	4136,0	-
2006	270000,0	182722,0	29359,0	43238,0	12935,0	1746,0
2007	385000,0	304445,0	52644,0	19362,0	8390,0	159,0
2008	251675,0	215539,0	9805,0	20876,0	5430,0	25,0
2009	204699,0	165357,0	20249,0	10984,0	7782,0	327,0
2010	229023,0	173059,0	29967,0	17960,0	7885,0	152,0
2011	228491,4	184417,1	20826,3	14663,0	8509,0	76,0
2012	163981,9	104738,0	21593,1	26231,6	11141,4	277,8
2013	179615,2	129484,6	24070,3	17568,8	8.406,5	85,0

## 1.4. Türkiye Denizlerinin Özellikleri

### 1.4.1. Karadeniz'in Özellikleri

Karadeniz ortalama derinliği 1240 m (maksimum 2300 m) olan yarı kapalı bir iç denizdir. 40°- 46° K enlemleri, 27°- 41 D boylamları arasında  $4,2 \times 10^5 \text{ km}^2$  alana yayılmış ve hacmi  $5,3 \times 10^5 \text{ km}^3$ 'tür. 150 m derinlere kadar toplam hacminin %15'i kadar oksijen barındırırken, daha derinleri ise neredeyse oksijensiz durumdadır ve hidrojen sülfür barındırır. Tuzluluk oranı ortalama ‰18, yüzey sularının az tuzlu, derin sularının Akdeniz etkisiyle tuzlu olduğu bilinmektedir (Bat vd., 2007).

Oğuz vd. (1993) yayımladığı çalışmaya göre, siklonik bir sınır akıntısı Karadeniz genelinde merkezi kısmını işgal etmektedir. Bu akıntı çevresi boyunca antisiklonik dolaşım (Batum, Boğaz, Kırım ve Sivastopol girdapları) barındıran karmaşık bir sistem oluşturmuştur (Bat vd., 2007) (Şekil 1.7).



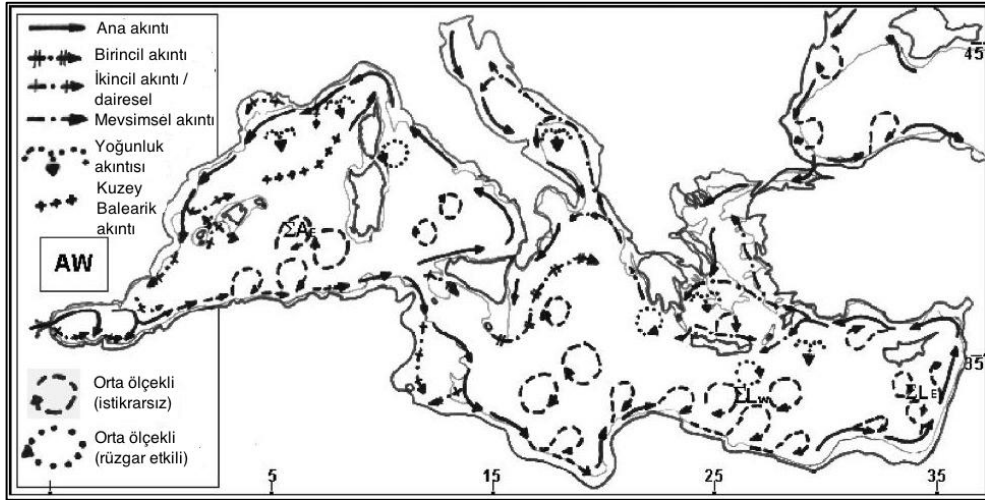
Şekil 1.7. Karadeniz’de üst tabaka su sirkülasyonunun ana görünümü. Kalın çizgiler sınır (sırt) akıntısını; Kesikli çizgiler yarı-sürekli akıntıyı temsil etmektedir (Oğuz vd., 1993; Bat vd., 2007)

#### 1.4.2. Akdeniz’in Özellikleri

Akdeniz 30°- 45° K enlemleri ile 06° B - 35° D boylamları arasında  $2.5 \times 10^6$  km<sup>2</sup> alan boyunca uzanan yarı büyük yarı kapalı bir denizdir. Atlantik okyanusuna 13 km genişliğinde 300 m derinliğindeki Cebelitarık Boğazı aracılığıyla bağlanmıştır (Drakopoulos ve Lascaratos, 1999). Ortalama derinliği 1,5 km olan Akdeniz’de en derin nokta İyonya Denizi’nde 5,1 km olduğu saptanmıştır (Pinte, 2003). Ülkemizi çevreleyen Doğu Akdeniz; İyonya, Levant, Adriyatik ve Ege Denizi olarak 4 alt deniz havzası barındırmaktadır. Ülkemizin güneyinde bulunan Levant Denizi 2500-3000 m derinlikte maksimum 4500 m derinliğe sahiptir (Horvat vd., 2003). Ege Denizi ise Rodos, Girit adaları arasından Levant Denizi ile birleşmektedir. Maksimum derinliği 1500 m kadardır (El-Geziry ve Bryden, 2010).

Akdeniz’deki yüzey akıntıları Atlantik okyanusu sularının Cebelitarık Boğazı’ndan Akdeniz’e girmesiyle oluşmaktadır. Atlantik yüzey akıntıları, İspanya ve Fas arasındaki Alboran Denizi’nde saat yönünde girdaplar oluşturarak Akdeniz’in

güney sahilleri boyunca devam eder. Akıntı sistemi Şekil 1.8’de detaylı bir şekilde gösterilmiştir (El-Geziry ve Bryden, 2010).



Şekil 1.8. Akdeniz’deki üst tabaka su sirkülasyonunun ana görünümü (El-Geziry ve Bryden, 2010)

### 1.5. Mitokondriyal DNA (mtDNA)

Bazı istisnalar dışında, hayvan mitokondri genomu, kapalı halkasal yapıda ve 15-20 kilobaz (kb) büyüklüğündedir. 22 tRNA, 2 rRNA, 13 adet elektron taşıması ve oksidatif fosforilasyonda görev alan proteinleri kodlayan genler olmak üzere toplam 37 gen içermektedir (Wallace, 1986). Fonksiyonel olarak mtDNA 37 gen içeriyor olmasına rağmen, tek bir birim olarak kalıtılan, çok alelli bir birim (süpergen) olarak kabul edilir (Avisé, 1994). mtDNA genomunun hemen hemen tümü kodlama yapmaktadır. Bunun yanı sıra intron, tekrarlı diziler ve pseudogenler çok az bulunur ya da hiç bulunmaz. Replikasyon ve transkripsiyonu başlatan, kontrol bölgeleri yaklaşık bir kb büyüklüğündedir. Gen düzeninde bazı farklılıklar taşımasına rağmen, mtDNA genleri ve dizilişi oldukça korunmuştur. Bu farklılıklar yüksek hayvan taksonlarının ayırt edilmesinde kullanılmaktadır (Bardakçı ve Karataş, 2005).

Hayvan mtDNA genomunun evrimi daha önceden yapılan populasyon çalışmalarında iyi anlaşılmıştır (Avisé vd., 1987; Moritz vd., 1987; Wilson vd., 1985). Her ne kadar geniş ölçüde intraspesifik dizi varyasyonu içerse de, çoğu birey hemen hemen her zaman homoplaziktir. Homoplazi bireyin tüm hücre ve

dokularında tek tip mtDNA bulunmasıdır. Eğer mtDNA sadece anasal (maternal) ya da sadece babasal (paternal) olarak kalıtılmışsa bu durum homoplazmiyi tanımlar. Memelilerde mtDNA sadece maternal (anasal) olarak kalıtılır (homoplazmi). Hem anasal hem de babasal olarak kalıtıldığı durumda ise bireyler heteroplazmiktir (Skibinski vd., 1994).

mtDNA etkin DNA tamir mekanizmasına sahip olmadığından (Wilson vd., 1985), tek kopya çekirdek DNA'sına göre daha hızlı evrimleşir (Brown vd., 1979). Özellikle kontrol bölgesindeki bazı dizilerin mutasyon hızı oldukça yüksektir. Bu nedenle bu bölge populasyon düzeyinde farklılaşmayı çalışmak için oldukça uygundur (Stoneking vd., 1991). mtDNA üzerinde insersiyon ve delesyonlar oldukça nadirken, oluşan mutasyonların çoğu nokta mutasyondur.

Çekirdek DNA'sına göre mtDNA daha hızlı evrimleştiğinden, yakın akraba türler ve bir türün populasyonlarını karşılaştırmada son derece yararlıdır (Harrison, 1989). Çünkü farklı mtDNA'lar arasında genetik rekombinasyon olmadığından, çekirdek DNA'sı ile karşılaştırıldığında genetik sürüklenme ile populasyonların daha hızlı farklılaşmasına neden olur. Genetik sürüklenme çekirdek DNA'sına göre mtDNA üzerinde daha güçlü bir evrimsel mekanizma olarak işlediğinden, populasyonlara özgü moleküler belirteç üretmek mümkündür (Başbüyük vd., 2000; Bardakçı ve Karataş, 2005). Yine tür üstü taksonların karşılaştırılmasında mtDNA genlerinin düzeni, belirli taksonları birbirinden ayırmak için etkili bir belirteçtir. Fakat uzak taksonlar arasında mtDNA uzunlukları farklıdır. Bu nedenle böyle bir karşılaştırma taksonlar arasındaki ilişkiyi göstermesinden ziyade, taksona özgü ayırt edici olarak kullanılırlar. mtDNA haplotiplerinin populasyon içi varyasyonu, populasyonlar arasına göre daha düşük olması ve daha önce sayılan nedenlerden dolayı, mitokondriyal genom karşılaştırmaları, populasyon düzeyindeki çalışmalar için oldukça uygundur (Avice, 1994).

## 1.6. Nükleer Satelit DNA

Ökaryotik organizmaların genomlarında satelit DNA adı verilen bazı özdeş ya da benzer dizilerin bloklar şeklinde tekrarlar mevcuttur. Bu tekrar dizileri iki ya da binlerce baz uzunluğunda olabilmektedir. En büyük tekrarlı birimlerden (core) oluşan DNA'ya satelit DNA adı verilmektedir. Satelit DNA yoğunluk gradient santrifüjleme sonucunda genomik banttı ayrı bir bant oluşturma özelliğiyle

(Britten ve Kohne, 1968) tüm genoma nazaran biraz daha farklı baz içeriğine sahiptir. İkinci ardıl tekrarlanan DNA dizisi, insülin geninin dizi analizi sırasında keşfedilmiştir (Bell vd., 1982). Bu bölgede tekrarlanan birimlerin uzunluğu satellit DNA'ya göre daha kısa olduğundan minisatellit olarak anılırlar (Jeffreys vd., 1985). Tekrarlanan birimlerin uzunluğu 10–64 baz arasında değişen lokuslar “değişken sayılı ardıl diziler (variable number of tandem repeats = VNTR)” olarak da adlandırılırlar (Nakamura vd., 1988). Diğer bir sınıf ardıl diziler mikrosatellit olarak isimlendirilir. Bu grup tekrar birimlerinin uzunluğu 1–6 bç arasında değişen, kısa ardıl dizilerdir (short tandem repeats DNA = STRs DNA).

Mayoz sırasında eşit olmayan parça değişimleri sonucu tekrarlı dizilerde duplikasyonlar oluşabilmektedir. Bu durum sonucunda her nesilde bireye özgü yeni uzunluk polimorfizmi oluşmaktadır (Bardakcı ve Karataş, 2005).

### 1.6.1. Mikrosatellitler

Mikrosatellitler 1–6 bazlık core dizilerinin 20–200 bç uzunluğunda tekrarlarından oluşan ardıl dizilerdir.

Kısa olmalarından dolayı klonlama, dizi analizi ve PCR işlemleri minisatellitlere göre daha kolaydır. Bugün pek çok tür için çok sayıda mikrosatellit primeri mevcuttur. Floresan etiketli primerler kullanılarak otomatik DNA dizi analizi cihazı aracılığıyla mikrosatellit parça uzunluk analizleri kolay ve etkili olarak yapılmaktadır.

Mikrosatellit lokusları da oldukça polimorfiktir, ancak tekrarlanan birimleri oldukça korunmuştur. Bu nedenle bunlar arasında gözlenen varyasyon sadece tekrar sayılarının farklılığından kaynaklanmaktadır. Bazı ardıl tekrar dizileri milyonlarca yıllık evrim süresince korunmuş olduklarından, farklı zaman periyotları için belirteç olarak iş görebilmektedir (Avise, 1994).

Omurgalılar arasında balıklarla yapılan çalışmada Atlantik somon balığının (*Salmo salar*) birkaç tekrarlı dizisi kullanılarak, familya, altfamilya ve cinsleri arasındaki akrabalık derecesi ortaya konulmuştur (Goodier ve Davidson, 1998). Yapılan bu ve buna benzer çalışmalarda ardıl DNA tekrarlarının evrimle ilişkili olduğu açıkça ortaya konmuştur.



## 2. KAYNAK ÖZETLERİ

Komşu ülkelerle ortak tükettiğimiz ve ekonomik olarak önemi büyük olan bu türün, Türkiye kıyılarındaki stok durum tespitleri ve genetik çeşitlilik çalışmalarının, özellikle balıkçılığın yoğun olarak yapıldığı bölgelerde her yıl rutin olarak yapılması gerekir. Her ne kadar bizim sahillerimiz dışında Karadeniz, Ege ve Akdeniz'in diğer alanlarında yayılış gösteren hamsi balığının genetiği ve stok durumu komşu ülkelerde biliniyor olsa da, gezici olan ve komşu ülkelerle stok paylaşımı olabilecek bu türün tüm yayılış alanlarında araştırılması, küresel anlamda daha etkin politikalar geliştirmek adına önemlidir. Özellikle kendi ülkemizin balıkçılık politikalarını iyileştirilmesi ve bu tür ile ilgili daha çok bilgi elde edilmesi gerekmektedir.

Farklı araştırmacılarca yürütülen çalışmalarda, Akdeniz'deki hamsi türünün genetik yapısı ve stok durumu allozim, mitokondriyal DNA (mtDNA) ve morfolojik karakterler kullanılarak açıklanmaya çalışılmıştır.

Magoulas ve Zouras (1993) İyonya ve Ege Denizi'nden örneklediği 435 hamsinin mtDNA'larını RFLP yöntemiyle inceleyerek heteroplazmi varlığını test etmişlerdir. Çalışmalarının sonucunda üç adet bireyde heteroplazmi saptanmış ve hamsilerde nadiren hem anasal hem de babasal kaynaklı mtDNA kalıtımının varlığı tespit edilmiştir.

Bembo vd. (1995) yaptığı bir çalışmada Adriyatik Denizi'ni temsilen 3 farklı bölgeden, İyonya Denizi, Tiren Denizi, Ege Denizi ve Sicilya kanalından 140 adet hamsi örneği toplamıştır. Hamsi genetik stoklarını mtDNA NADH dehidrogenaz kompleksinin ND5 ve ND6 bölgeleri PCR-RFLP metodu kullanarak tespit etmeyi amaçlamışlardır. Çalışma sonucunda 39 adet eşsiz, 53 adet paylaşılan haplotip olduğunu saptamışlardır. Populasyonlarda yüksek bir genetik varyasyon olduğu ve Ege Denizi örneklerinin diğer denizlerden genetik olarak farklı olduğunu ileri sürmüşlerdir.

Yapılan başka bir çalışmada (Magoulas vd., 1996) Biskay Körfezi, Lyon Körfezi, İyonya Denizi, Adriyatik, Ege Denizi ve Batı Karadeniz'i temsil eden 8 farklı lokaliteden hamsi örneği toplamışlardır. mtDNA-RFLP analizi sonucunda iki farklı filogenetik grup tespit edilmiştir. Bunlardan birinin (Klad A) yaygın bir mitotip ve bu yaygın mitotipten bir mutasyonel basamakla farklılaşan nadir mitotipler

taşıdığını saptamışlardır. Bu filogenetik grubun nükleotid çeşitliliğinin ve homoplazilerin düşük olduğunu belirtmişlerdir. Diğer grubun (Klad B) ise karmaşık bir mitotip örüntüsü sergilediğini ve nükleotid çeşitliliği ile homoplazilerin yüksek olduğunu saptamışlardır. İki kladın birbirinden izole olarak evrim geçirdiğini ve ikinci bir bağlantıyla şuan birlikte bulduklarını ileri sürmüşlerdir. Klad A'nın yıldız şekilli filogenisinin darboğaz sonrası populasyon büyüklüğündeki artışı ifade ettiğini belirtmişlerdir. Sonuçta Karadeniz'de sadece klad A bulunmaktadır. Klad A'nın Karadeniz'i takiben azalan oranlarda %85 Ege Denizi ve %40 Akdeniz'in geri kalanı ve Biskay Körfezi'nde bulunduğu ortaya konulmuştur. Klad A grubunun büyük olasılıkla Karadeniz kökenli olduğu saptanmıştır. Son buzul çağında Karadeniz örneklerinin darboğaz geçirmesi sonucunda Klad A'nın bu bölgede biriktiğini ve buzulların erimesiyle birlikte bariyerin ortadan kalkması sonucunda Klad A'nın Ege Denizi'ne aktarıldığı sonucuna varmışlardır.

Bembo vd. (1996a) Adriyatik Denizi'nde yaptığı çalışmada morfometrik verileri ve allozim elektroforezi verilerini kullanarak hamsi populasyonlarında stok yapılanması olup olmadığını incelemişlerdir. Allozim analizinde 24 enzim lokusu incelenmiş ve 200 balığa ait morfometrik veriler test edilmiştir. Çalışma sonucunda Adriyatik'in kuzey batısında ve merkeze yakın güney kısımda lokalize olduğu öne sürülen 2 adet stok olduğunu tespit etmişlerdir.

Bembo vd. (1996b) allozim elektroforezi aracılığıyla, Kuzey Akdeniz'de bulunan hamsi populasyonlarının stok yapılanmasını araştırmışlardır. Örnekleme lokaliteleri Adriyatik, İyonya, Tiren, Ege Denizi, Sicilya Kanalı ve Biskay Körfezi olan çalışmada, 634 balık örneğinde 24 enzim kodlayan lokus incelenmiştir. Çalışma sonucunda 8 lokusun tüm örneklerde monomorfik olduğu, diğer 8 lokusun zayıf şekilde polimorfik olduğu, kalan 8 lokusunda yaygın bir alel frekansı taşıdığını tespit etmişlerdir.

Borsa (2002) yaptığı çalışmada, Akdeniz'den, Lyon Körfezi, Adriyatik, İyonya, Ege Denizi'nden ve Karadeniz'den toplanan hamsi balığını araştırmıştır. Bunun için örnekleri morfolojik, allozim ve mtDNA analizleriyle incelemiş ve veriler ışığında habitata özgü balık toplulukları olduğunu belirtmiştir. Özellikle Akdeniz'deki balık gruplarının üreme açısından birbirinden izole topluluklar oluşturduğunu saptamıştır.

Yine aynı araştırmacı yaptığı başka bir çalışmada *Engraulis encrasicolus* türünün kıyı ve açık denizde yaşayan iki farklı formunun olduğunu ileri sürmüştür. Kuzeybatı Akdeniz ve Doğu Atlantik kıyılarını temsilen toplanan örneklerde, morfometrik ölçümler yapılarak ve Kreatin kinaz çoklu gen ailesi intronik PCR primerleri kullanarak analizler gerçekleştirmişlerdir. Sonuçta, açık deniz ve kıyı formlarının arasında gen akışının sınırlı olduğunu ve bu formların *Engraulis albidus* ve *E. encrasicolus* olarak iki farklı biyolojik tür olduğu sonucuna varmışlardır (Borsa vd., 2004).

Turan vd. (2004) Orta ve Doğu Karadeniz, Ege ve Kuzeybatı Akdeniz'i temsil eden 4 lokaliteden toplanan 160 hamsi örneklerini morfometrik karakterlere dayalı olarak incelemişlerdir. Çalışma sonucunda her bir denizdeki hamsi populusyonları arasında anlamlı bir morfometrik farklılaşma tespit etmişlerdir. Ayrıca Akdeniz hamsilerinin Ege ve Karadeniz hamsilerinden izole bir grup olduğunu belirtmişler ve Karadeniz hamsilerinin de genetik bir yapılanma sergilediğini tespit etmişlerdir.

Grant (2005); Magoulas vd.'nin (1996) yaptıkları çalışmada kullandığı veri setini, iki filogrubun zoocoğrafik kökenini ve populusyonların alt yapılanmalarını belirlemek için yeniden analiz etmiştir. Haplotip ve nükleotid çeşitliliğinin en yüksek İyonya'da, en düşük ise Ege ve Karadeniz'de olduğunu belirlemiştir. İki filogenetik grubun Akdeniz'de geç buzullar arası dönem (Eemian) (Filogenetik grup B) ve Weichselian plenibuzul dönem (Filogenetik grup A) olmak üzere birbirinden ayrı olarak kolonize olduğunu belirtmiştir. Buzul ağı süresince iklim değişimi sonucu oluşmuş ekstrem hava koşulları nedeniyle, filogenetik grup A'nın Karadeniz'de uzun süreli ve devamlı izolasyon neticesinde ortaya çıkmasının mümkün olmadığı belirtmişlerdir. Her iki filogrubunda geç Pleistosen'de Atlantik okyanusundan köken alıp, Akdeniz'de kolonize olduğunu tespit etmiştir.

Magoulas vd. (2006) yılında yayımladığı çalışmada, Karadeniz'de Ukrayna, Bulgaristan, Gürcistan kıyılarından 3 ve Ege Denizi'nde Yunanistan kıyılarından 4 lokaliteninde dahil olduğu toplam 17 farklı lokaliteden (Adriyatik ve Atlantik'te çeşitli bölgelerden) rnekleme yapmışlardır. mtDNA-RFLP tekniği sonucunda, birbirlerinden %3,2'lik dizi farklılığı olan iki klad (Klad A ve B) olduğu belirlenmiştir. Klad A'nın yıldız şekilli görüntüsünün populusyonların yakın zamanda bir büyüme geçirdiğine işaret ettiğini savunmuşlardır. Bu kladlardan biri Karadeniz ve Ege'de hakim olsa da, Batı Akdeniz sularında da bulunduğunu ve aralarında gen akışı olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca Klad A'nın Portekiz'den

Senegal'e kadar Atlantik boyunca yüksek frekansta bulunduğunu saptamışlardır. Sonuçta Atlantik, Orta Akdeniz, Ege Denizi ve Karadeniz arasında büyük bir genetik farklılaşma saptamışlardır. Klad A'nın oluşumunu darboğaz sonrası, populasyon büyüklüğünün artması olarak açıklanırken, Klad B'nin dağılımıyla ilgili böyle bir kanıt saptanmamıştır.

Diğer bir çalışmada (Ivanova ve Dobrovlov, 2006) 22 protein lokusu incelenmiş ve bunların altısında polimorfizm saptanmıştır. Örneklem alanı, Atlantik, Akdeniz, Ege Denizi, Marmara Denizi, Karadeniz ve Azak Denizi'ni kapsayan çalışmada, Ege Denizi populasyonlarının Afrika ve Avrupa populasyonlarının hibriti olduğu belirtilmiştir. Araştırmacılar, Karadeniz ve Azak Denizi'ndeki populasyonlar arasındaki genetik farklılık nedeniyle bunları ayrı iki populasyon olarak değerlendirmişlerdir.

Chairi vd. (2007) Kuzeydoğu Atlantik (Punta, Umbria, Barbate, Larache) ve Batı Akdeniz (Almeria ve Nador) kıyılarından toplam 5 adet lokaliteden elde edilen örnekleri, mtDNA NADH dehidrogenaz kompleksinin ND5/ND6 bölgesini RFLP analizi ile incelemişlerdir. Çalışma sonucunda populasyonlar arası genetik varyasyon %16,97, populasyonlar içi genetik varyasyon %83,3 olarak tespit edilmiştir. Atlantik'ten Akdeniz'e doğru gidildikçe İspanya populasyonlarında genetik varyasyonun arttığını, fakat Fas populasyonlarında azaldığını saptamışlardır. Araştırmacılar beş populasyonun üç coğrafik küme halinde gruplandığını belirtmişlerdir. Bu üç kümeden biri, iki İspanya populasyonu (Almeria-Akdeniz ve P. Umbria- Atlantik); ikincisi iki Fas populasyonu (Nador-Akdeniz, Larache-Atlantik); sonuncu grubun ise İspanya populasyonu (Barbate-Atlantik) olduğunu belirtmişlerdir. Bu genetik yapının gen akışı ve deniz zonlarının hidrolojik özellikleri, habitat ve hamsilerin biyolojisi gibi birçok etmene bağlı olabileceğini ileri sürmüşlerdir.

Kristoffersen ve Magoulas (2008) hamsi balığının populasyon yapılanmasını vücut şekli, otolit şekli ve büyüme varyasyonlarını inceleyerek belirlemeye çalışmışlardır. Bu amaçla İyonya ve Ege Denizi'nden 5 lokaliteden 535 birey incelenmiştir. Ayrıca bu lokalitelerden elde edilen örneklere ek olarak, kuzey Adriyatik ve Lyon Körfezi'nden birer lokaliteden elde edilen toplam 100 bireyi, nDNA intron uzunluk polimorfizmi ve mtDNA varyasyonları bakımından incelemişlerdir. Sonuçta Magoulas vd.'nin (1996) saptadığı iki kladın, vücut-otolit şekli veya büyüme bakımından bir farklılık göstermediğini saptamışlardır. mtDNA klad yüzdeleri

dikkate alınacak olunursa, bölgeler arasında nükleer alel frekansları, vücut-otolit şekilleri bakımından önemli farklılıklar olduğu, Kuzey Akdeniz’de üreme bakımından birçok izole populasyon olabileceğini ileri sürmüşlerdir.

Bouchenak-Khelladi vd. (2008) yaptıkları çalışmada, Kuzey ve Güneydoğu Atlantik, Batı Akdeniz, Adriyatik, Kuzey Ege, Doğu ve Batı Karadeniz’den birer lokalite olarak toplam 13 lokaliteden toplanan hamsi örneklerinin, iki kreatinkinaz geninin 6. intron bölgesini incelemişlerdir. Topladıkları 735 *E. encrasicolus* ve *E. albidus* örneklerini karşılaştırarak, coğrafik yapılanmayla ilgili yeni bilgiler edinmeyi amaçlamışlardır. Sonuçta Afrika’nın Atlantik kıyılarında ve Alboran Denizi’nde bulunan hamsilerin, Akdeniz hamsilerinden coğrafik izolasyon neticesinde farklılaşmış olduğunu tespit etmişlerdir. İyonya/Ege Denizi hamsileri ile Karadeniz hamsilerinin genetik olarak farklı olduklarını saptamışlardır. Güneybatı Akdeniz hamsilerinin *E. albidus* ve *E. encrasicolus*’un hibritleşmesi sonucu oluşan bir genetik yapı sergilediğini ileri sürmüşlerdir.

Karadeniz, Ege Denizi ve Marmara Denizi’nden örnekleme yapılan farklı bir çalışmada ise (Erdoğan vd., 2009), morfometrik ve allozim analizleri uygulanmıştır. Morfometrik analiz sonucunda *E. encrasicolus* türünde morfolojik olarak farklı dört grup saptamışlar ve Ege ile Marmara populasyonlarının diğerlerine göre izole populasyonlar olduğunu belirtmişlerdir. Genetik analizler neticesinde, Karadeniz örneklerinde gözlenen düşük genetik farklılıkları ise Azak ve Karadeniz populasyonları arasında hibritleşme olmasıyla açıklanmıştır. Ancak araştırmacılar populasyon yapısının, farklılaşmaları net ortaya koyabilecek daha kullanışlı bir genetik belirteçle incelenmesi gerekliliğine işaret etmişlerdir.

Keskin ve Atar (2012) Türkiye denizlerinden 16 lokaliteden toplam 1529 bireyin mtDNA sitokrom oksidaz c alt ünite I (COI) bölgesini analiz ederek genetik yapılanmasını araştırmışlardır. Bireyler arasında toplam 19 (%2,9) değişken bölge olduğu ve toplam ortalama %1,2 genetik uzaklığa sahip 10 farklı populasyon olduğunu belirtmişlerdir. Doğu Akdeniz ve Kuzey Ege örneklerinin nükleotid farklılıklarının %2,2 değeriyle en yüksek farklılık olduğunu ve Akdeniz örneklerinin diğer denizlerden ayrı bir klad olarak ayrıldığını saptamışlardır.

Mitokondriyal DNA dizi analizi kullanılarak yapılmış bir başka çalışmada (Vinas vd., 2013) kontrol bölgesi incelenmiştir. Bu çalışmada Kuzey Atlantik, Biskay Körfezi ve Akdeniz’i temsil eden 13 lokaliteden 563 bireye ait dizi analizi verileri

sonucunda, toplam 9 adet genetik olarak farklılaşmış grup saptanmıştır: 1. Kanarya Adaları; 2. Cadiz; 3. Alboran Denizi; 4. Garona; 5. Arcachon ve Donostia; 6. Kuzeybatı Akdeniz 7. Güney Adriyatik; 8. Kuzey Adriyatik; 9. Ege Denizi. Ayrıca Magoulas vd. (1996)'nin saptadığı Klad A ve Klad B filogrupları ile örtüşen bir haplogrup örüntüsü bulmuşlardır. Araştırmacılar genetik olarak farklılaşmış her bir popülasyonun, ayrı birer birim olarak değerlendirilip, o birimlere özgü bağımsız bir yönetim stratejisi geliştirilmesi gerektiğini belirtmişlerdir.

Son on yıl içerisinde *E. encrasicolus* türü mikrosatellitlere dayalı olarak incelenmeye başlanmıştır. Gerek genetik yapı ve gerekse stok durumunun belirlenmesi için araştırmacılar birçok polimorfik mikrosatellit belirteci tanımlamışlardır (Landi vd., 2005; Pakaki vd., 2009; Chiu vd., 2002).

Zarraonaindia vd. (2009) yaptıkları çalışmada, İspanya'nın Atlantik ve Akdeniz kıyılarında, *E. encrasicolus* popülasyonlarının biyocoğrafik kökenini tespit etmek için 7 mikrosatellit lokusunu analiz etmişlerdir. Yapılan çalışmada tüm örneklerde rastgele olmayan çiftleşmeden kaynaklandığı düşünülen heterozigot eksikliği bulunmuş ve Biskay Körfezi'ne ait iki popülasyonda genetik heterojenite oranı önemli derecede yüksek bulunmuştur.

Borrell vd. (2011) hamsi yetiştiriciliği ile ilgili bir pilot çalışma gerçekleştirmek ve doğal popülasyonları destekleyebilecek üreme programı oluşturabilmek için 7 mikrosatellit lokusunu incelemişlerdir. Biskay Körfezi'nden toplanan 183 doğal hamsi, Kasım 2009'dan Ocak 2010'a kadar yetiştiricilik çiftliklerinde üretilmiştir. Bu üretim sahalarından dört farklı zamanda elde edilmiş toplam 288 yumurtayı analiz etmişlerdir. Çalışma sonucunda genetik varyasyon oldukça yüksek bulunmuş fakat her bir nesilde giderek azaldığını gözlemişlerdir. Ayrıca araştırmacılar etkili üreme sayısını (Effective breeding number,  $N_e$ ) ve soy içi üreme katsayısını (inbreeding coefficient) hesaplamışlar ve bu sayede doğal hamsi stoklarını desteklemek için yapılacak yetiştiricilik çalışmalarına katkı sağlamışlardır.

Borrell vd. (2012) Biskay Körfezi'ne ait 5 lokaliteden ve Adriyatik Denizi'nden bir lokaliteden toplanan 359 örneğin mtDNA (sitokrom b ve 16S) ve 14 adet mikrosatellit lokusu incelenerek aralarındaki genetik farklılaşmayı araştırmışlardır. mtDNA analizi sonucunda %1,7 dizi farklılaşması ve 15 mutasyonel adımla değişime uğramış, yaklaşık 1,5 milyon yıl önce birbirinden ayrılmış iki ana klad

saptamışlardır. Hem mtDNA hem de mikrosatellit verileri genetik olarak farklılaşmış üç grubun olduğuna işaret etmiştir. Bunlar; 1. Biskay Körfezi'ndeki bir lokalite olan Batı Cantrabian Denizi, 2. Biskay Körfezi'ndeki orta kalan dört lokalite 3. Akdeniz'dir. Batı İberya Atlantik popülasyonlarının, Biskay Körfezi'nde bulunanlardan genetik olarak farklı olduğu bilinmesine karşın, elde edilen sonuçlar birbirine 100 km kadar mesafede olan bu iki grup arasında gen akışı olduğunu ve Biskay Körfezi'nin doğu alanında muhtemelen yeni bir genetik homojenizasyon sürecinin başlamış olabileceğini öne sürmüşlerdir.

Bir başka çalışmada ise Ülkemiz kıyılarından Mersin Körfezi'nden elde edilen örnekler incelenmiş ve sonuçta iki farklı hamsi türünün varlığı tespit edilmiştir (Karahan vd., 2014). Bu çalışmada otolit şekli ve vücut ölçümlerinin yanı sıra, 2 intronik bölge ve 9 mikrosatellit lokusu uzunluk farklılıkları analiz edilmiştir. Sığı sularda yaşayan gümüş hamsinin (*E. albidus*) iki intron lokusunun analizi sonucunda her iki türden de ayırd edilebildiğini, mikrosatellit analizi sonucunda ise referans *E. albidus*'a benzediğini saptamışlardır. Morfometrik ve genetik analizler sonucunda Levant Denizi'nde *E. albidus* türünü yeni kayıt olarak tespit etmişlerdir.

Son yıllarda çekirdek DNA ya da mtDNA üzerinde belirli bölgelerin Tek Nükleotid Polimorfizmleri (Single Nucleotide Polymorphisms; SNPs) analiz edilerek popülasyonların genetik yapılanmaları incelenmeye başlanmıştır (Montes vd., 2013). Zarraonaindia vd. (2012) bu yeni metodu kullanarak Avrupa hamsilerinin popülasyon ve filocoğrafik yapılanmalarını belirlemeye çalışmışlardır. Avrupa hamsilerinin tüm yayılış alanından örneklemeler yaparak (Levant Denizi ve Karadeniz hariç), 626 bireyden 47 nDNA ve 15 mtDNA tek nükleotid değişimleri tespit edilmiş ve analiz sonuçları iki filogenetik grubun varlığını belirlemişlerdir. Bir grubun İberya-Atlantik diğer grubun ise kuzeybatı Atlantik (Biskay Körfezi dahil) ve Akdeniz hamsileri olduğunu saptamışlardır.

Yukarıda değinildiği üzere Türkiye'de *E. encrasicolus* türünün popülasyon yapılanması ile ilgili morfometrik, allozim analizleri, mtDNA restriksiyon analiziyle ve mtDNA barkotlama bölgesi olan COI dizi analiziyle yapılmış çalışmalar mevcuttur. Literatürde Türkiye denizlerindeki hamsilerin popülasyon genetik yapısını mikrosatellit lokusları ve mtDNA kontrol bölgesi kullanılarak incelemiş bir çalışma bulunmamaktadır. Restriksiyon analizi ve allozimler genetik yapının çıkarsamasında yetersiz kalmıştır. Bu anlamda günümüzde DNA dizi analizi yönteminin de katkısıyla, moleküler araştırmacılar daha detaylı bilgiler

sağlayan yeni gen bölgeleri kullanılmaktadır. Bilindiği üzere mtDNA COI bölgesi ise son dönemde moleküler tür teşhisi amacıyla kullanılan, ancak populasyonlar arası farklılığı ortaya koymada kullanışsız bir bölgedir (Meyer, 1993; Hebert vd., 2003). Günümüzde mitokondri genomunun kontrol bölgesi ve mikrosatellitler populasyon düzeyinde genetik çeşitlilik alanında sıklıkla kullanılan güvenilir belirteçlerdir. Türkiye’de hamsi balığı üzerine yapılan çalışmalar populasyonların genetik yapısını ve aralarındaki ilişkiyi bir dereceye kadar ortaya koymuş, ancak yeterli olduğu söylenemez. Bu çalışmada Türkiye denizlerindeki hamsi (*Engraulis encrasicolus*) balığının genetik yapısı mitokondriyal DNA kontrol bölgesinin dizileri ve nükleer DNA mikrosatellit lokuslarının uzunluk polimorfizmleri analizleri ile belirlenerek, populasyonların olası genetik stoklarının ve bunların genetik çeşitliliklerinin saptanması amaçlanmıştır. Böylelikle, ülkemiz sularındaki hamsi balığının genetik yapısı ve çeşitliliği üzerine balıkçılık, kirlilik ve uzun sürede küresel ısınma gibi etmenlerin etkilerinin belirlenebilmesi ayrıca kısa ve uzun vadeli balıkçılık stratejilerinin geliştirilmesi için önemli çıktılar sağlaması öngörülmektedir.



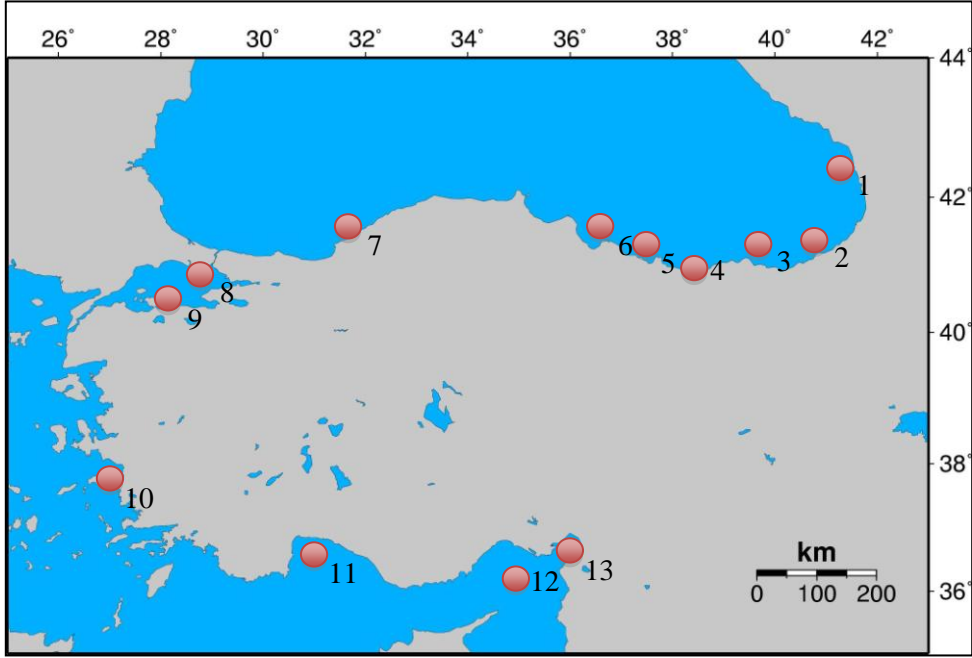
### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1. Hamsi Örneklerinin Toplanması

Tez çalışması kapsamında incelenen örnekler avlanma sezonu içerisinde ticari olarak avlanan kıyı balıkçılarından ve gırgır teknelerinden temin edildi. Örnekleme yapılan lokaliteler: Akdeniz’de İskenderun, Mersin ve Antalya; Ege Denizi’nde Kuşadası; Marmara Denizi’nde Bandırma ve İstanbul; Karadeniz’de Zonguldak, Terme, Fatsa, Perşembe, Trabzon, Ardeşen ve Gürcistan (Batum) kıyılarıdır (Şekil 3.1). Her bir lokaliteden yaklaşık 40’ar adet hamsi örnekleri toplanarak laboratuvar analizi gerçekleştirilene kadar %96’lık etanolde tespit edildi ve doku örnekleri kataloglanarak bir doku bankası oluşturuldu (Çizelge 3.1).

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

Populasyon Kodu	Lokalite	Deniz	Birey Sayısı	Örnekleme tarihleri
GÜR	Gürcistan	Doğu Karadeniz	40	12.01.2012
ARD	Ardeşen	Doğu Karadeniz	39	12.01.2012
TRA	Trabzon	Doğu Karadeniz	40	12.01.2012
PER	Perşembe	Orta Karadeniz	40	11.01.2012
FAT	Fatsa	Orta Karadeniz	40	11.01.2012
TER	Terme	Orta Karadeniz	40	11.01.2012
ZON	Zonguldak	Batı Karadeniz	19	14.02.2012
ZON	Zonguldak	Batı Karadeniz	40	01.12.2012
İST	İstanbul	Marmara Denizi	15	14.02.2012
BAN	Bandırma	Marmara Denizi	33	15.02.2012
BAN	Bandırma	Marmara Denizi	42	13.01.2013
KUŞ	Kuşadası	Ege Denizi	45	14.01.2013
ANT	Antalya	Akdeniz	40	01.03.2013
MER	Mersin	Akdeniz	28	01.03.2013
İSK	İskenderun	Akdeniz	40	01.03.2013



Şekil 3.1. Tez kapsamındaki örneklerin toplandığı lokaliteler (1. Batum / Gürcistan, 2. Ardeşen, 3. Trabzon, 4. Perşembe, 5. Fatsa, 6. Terme, 7. Zonguldak, 8. İstanbul, 9. Bandırma, 10. Kuşadası, 11. Antalya, 12. Mersin, 13. İskenderun)

### 3.2. Total Genomik DNA İzolasyonu

Dorsal yüzgecin altındaki sırt kas dokusundan ya da kuyruk yüzgecinden alınan doku (~25-50 mg) kullanılarak her bir bireyin total genomik DNA'sı saflaştırıldı. Total genomik DNA saflaştırma işlemi Purelink Genomik DNA Mini Kit (Invitrogen) kullanılarak üretici firmanın önermiş olduğu protokol doğrultusunda gerçekleştirildi. İlk olarak doku örneklerinden alkol uzaklaştırıldı. Mikrosantrifüj tüpüne konulan örnek üzerine 180 µl PureLink™ Genomic Digestion Buffer ve 20 µl Proteinaz K (kit içerisinde) eklendi. Tamamen tampon karışımı içine batmış doku steril bir makas yardımıyla çok küçük parçalara ayrıldı. Lizis işlemi, tampon içerisindeki parçalanmış dokunun 55°C'de 4-5 saat kadar inkübasyonu ile gerçekleştirildi. İnkübasyon tamamlanana kadar arada vorteks yapılarak lizatın homojenizasyonu sağlandı. Parçacık halinde olan maddeleri (Protein gibi) uzaklaştırmak için, lizat oda sıcaklığında 3 dakika maksimum hızda santrifüjlendi ve oluşan süpernatant yeni bir steril mikrosantrifüj tüpe aktarıldı. Süpernatanta 20 µl RNaz A (kit içerisinde) eklendi, kısa bir vorteks ile iyice karıştırıldı ve 2 dakika

oda sıcaklığında inkübe edildi. Daha sonra kit solüsyonu olan PureLink™ Genomik Lizis/Bağlama tamponundan (Lysis/Binding Buffer) 200 µl eklenip mikrosantrifüj tüpler vorteks yardımıyla iyice karıştırıldı. Lizatın üzerine 200 µl %96-100 etanol eklendi ve 5 saniye vorteks ile karıştırıldı. Üretici firmanın kit kutusunda bulunan spin kolona, PureLink™ Genomik Lysis/Binding Buffer, etanol ve lizat karışımı (yaklaşık 640 µl) eklendi. Kolon oda sıcaklığında 1 dakika boyunca 10,000 x g'de santrifüjlendi. Toplama tüpü atıldı ve spin kolon temiz bir toplama tüpü içine yerleştirildi. Kolona, Wash Buffer 1 (yıkama tamponu) (500 µl) eklendi. Kolon 1 dakika 10,000 x g'de, oda sıcaklığında santrifüjlendi. Toplama tüpü atıldı ve spin kolon temiz bir toplama tüpüne yerleştirildi. Kolona, 500 µl Wash Buffer 2 eklendi. Kolon oda sıcaklığında 3 dakika maksimum hızda santrifüjlendi ve toplama tüpü atıldı. Spin kolonu steril olan 1.5 ml mikrosantrifüj tüpüne yerleştirildi. Kolona PureLink™ Genomik Elüsyon Tamponundan (Genomic Elution Buffer) 100 µl eklendi. Daha sonra 1 dakika boyunca oda sıcaklığında inkübe edilerek yine oda sıcaklığında 1 dakika maksimum hızda santrifüjlendi. Spin kolon tüp içerisinden çıkarılarak atıldı. İzole edilmiş DNA'lar PCR reaksiyonu yapılana kadar 4°C'de buzdolabında saklandı.

### **3.3. Genomik DNA'nın Miktarının Belirlenmesi ve Görüntülenmesi**

İzole edilen genomik DNA'nın saflık derecesi ve kantitesi Nanodrop 2000/2000c marka spektrofotometre aracılığıyla belirlendi. 260 ve 280 nm absorbans değerleri göz önüne alınarak DNA'nın saflığı ve 260 nm absorbans değerleri ile her bir DNA'nın konsantrasyonu belirlendi. DNA'lar 50 ng/µl olacak şekilde seyreltildi. Son olarak genomik DNA %0,8'lik agaroz jel elektroforezinde yürütülerek, görüntüleme cihazında fotoğraflandı.

### **3.4. Mitokondriyal DNA Kontrol Bölgesi**

#### **3.4.1. Mitokondriyal DNA Kontrol Bölgesinin PCR ile Çoğaltılması**

mtDNA kontrol bölgesini çoğaltmak için kullanılacak olan oligonükleotidler NCBI Genbank AP009137 numaralı DNA dizisinde bulunan korunmuş tRNA dizileri baz alınarak Primer3Plus programıyla (<http://primer3.sourceforge.net/>) dizayn edildi

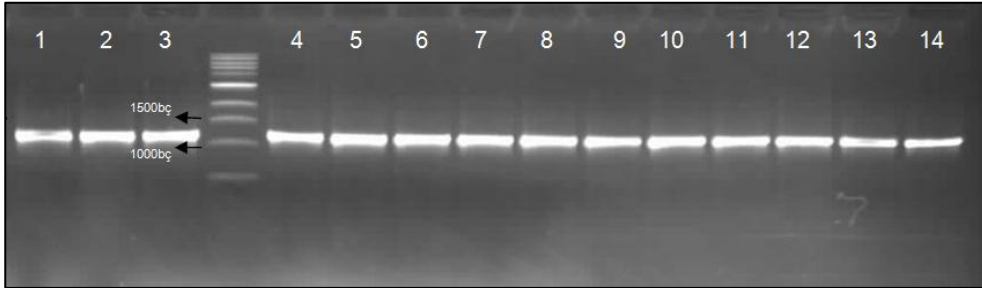
(Çizelge 3.2). Tüm mtDNA kontrol bölgesini içine alacak şekilde oluşturulmuş primerler kullanılarak 1220 baz çifti (bç) uzunluğunda bölge başarıyla çoğaltıldı.

Çizelge 3.2. mtDNA kontrol bölgesi primerleri ve özellikleri (T<sub>m</sub>; Melting Temperature; Erime sıcaklığı)

Primer	Primer Dizisi	Nükleotid numarası	T <sub>m</sub> (°C)
Ee-SRP-F	GTTTTAAAGCGCCGGTCTTGT	15524-15544	60 °C
Ee-SRP-R	ACCCTGAAAAGTTCCGTAAGCA	48-70	60 °C

Hamsi örneklerinin mtDNA kontrol bölgesi, 1x *Taq* polimeraz tamponu [10x *Taq* Buffer; 100 mM Tris-HCl (pH 8,8)], 2 mM MgCl<sub>2</sub> (25 mM; Fermentas, MBI), 2,5 mM dNTP karışımı (her bir dATP, dTTP, dCTP, dGTP 0,5 mM; Fermentas, MBI), 0,5 U/μl *Taq* DNA polimeraz (5 U/μl; Fermentas, MBI), 0,3 pmol/μl her bir primer, 25 μl reaksiyon hacminde steril saf su ile tamamlanarak PCR ile son hacimde 50 ng/μl kalıp DNA ile çoğaltıldı.

Sıcaklık döngü koşulları başlangıç denatürasyonu 94°C 5 dk, denatürasyon 94°C 45 sn, primer bağlanma (annealing) 68°C 45 sn, uzama (extention) 72°C 1 dk 35 döngü ve 72°C 5 dk son uzama olarak belirlendi. Çoğaltılan PCR ürünleri %1'lik agaroz jelde görüntülendi (Şekil 3.2).

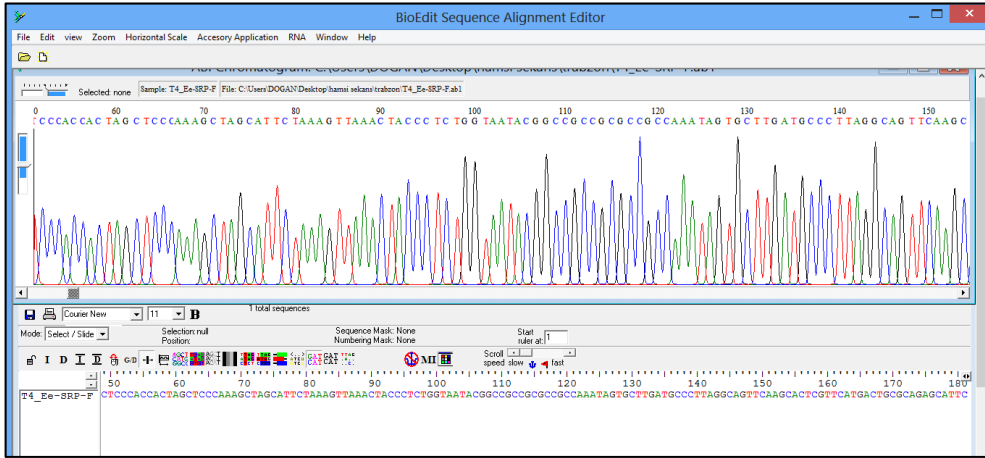


Şekil 3.2. PCR ile çoğaltılmış mtDNA kontrol bölgesi 1220 bç uzunluğundaki ampliconları. Her kuyucukta bir hamsi örneğine ait kontrol bölgesi ampliconu bulunmaktadır

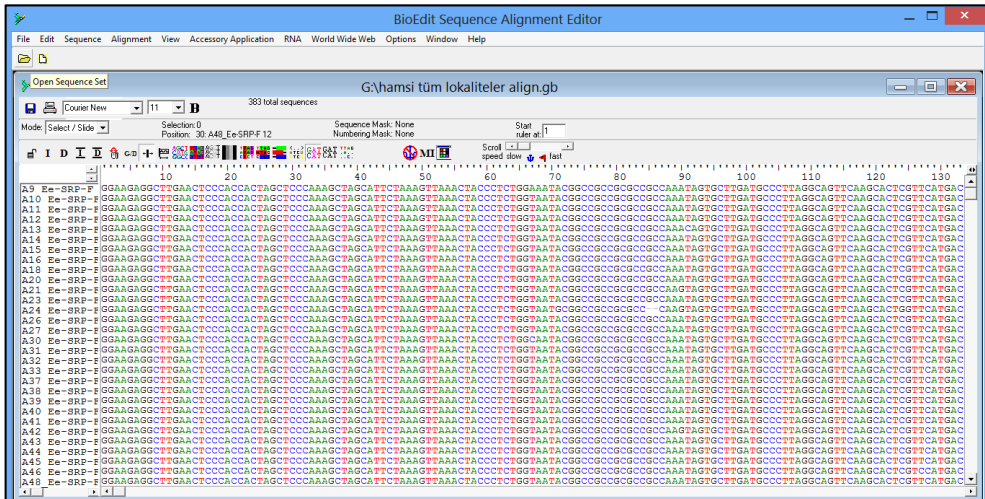
Agaroz jelde kontrol edilen PCR ürünleri PCR temizleme kiti (Gen Elute PCR Clean-Up Kit, Sigma, Germany) kullanılarak temizlendi. Kitle temizlenen örnekler %1'lik agaroz jelde yürütülerek kontrol edildi.

### 3.4.2. Mitokondriyal DNA Kontrol Bölgesinin Dizi Analizi

Kontrol bölgesi ampliconlarının dizilerinin belirlenmesi için hizmet alımı yoluyla (Macrogen, Güney Kore) ve Big Dye Terminator Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems) aracılığıyla dizilendi (ABI 3730XL).



Şekil 3.3. Bioedit 7.1.3.0 programında DNA dizilerinin görüntülenmesi



Şekil 3.4. Bioedit 7.1.3.0 programında Clustal W kullanılarak hizalanmış veri seti

Elde edilen DNA dizileri BioEdit versiyon 7.1.3.0 (Hall, 1999) bilgisayar programı kullanarak hizalandı. Bu diziler her bir birey için ayrı ayrı ve her bir baz dikkatle

kontrol edilerek değerlendirildi (Şekil 3.3). Bireylere ait dizi verileri Bioedit programında bulunan Clustal W (Multiple sequence alignment, çoklu dizi hizalama) ile hizalanarak istatistiksel analizlere hazır hale getirildi (Şekil 3.4).

### 3.4.3. Mitokondriyal DNA Kontrol Bölgesinin Veri Analizi

Çalışma sonucunda elde edilen 383 adet 1036 bp uzunluğunda (Genbank AP009137 numaralı referans diziye göre kontrol bölgesinin son 55 bazı hariç) mtDNA kontrol bölgesi dizileri analiz edilerek, haplotipleri belirlendi. Çalışılan lokalitelerdeki hamsilerin mtDNA kontrol bölgesinin analizi ile haplotip çeşitliliği ( $h$ ), nükleotid çeşitliliği ( $\pi$ ) ile popülasyon çiftleri arasındaki genetik uzaklık ( $\gamma_{ST}$ ,  $\text{Gamma}_{ST}$ ) DNAsp ver 5.10 (Rozas vd., 2003) programı kullanılarak hesaplandı.

Popülasyonlar arasındaki filogenetik ilişkiyi ortaya koymak amacıyla, elde edilen genetik uzaklık karşılaştırmaları ve de dizi verileri kullanılarak MEGA 6 (Tamura vd., 2013) programı aracılığıyla Neighbour Joining (NJ) ağaçları oluşturuldu. Dizi verileri kullanılarak elde edilen köksüz NJ ağacını oluştururken kullanılan uzaklık metodu (Tamura ve Nei, 1993) yine MEGA 6 programında bulunan model seçimi ile belirlendi.

Örnekleme lokaliteleri arasında coğrafik uzaklıklara dayalı lokalite gruplamaları yapılarak, Arlequin ver. 3.5.1.3 (Excoffier ve Lischer, 2010) programı ile gruplara AMOVA (Excoffier vd., 1992) uygulandı. Hamsi örneklerinin toplandığı lokalitelere göre gruplandırılarak gruplar arası ve gruplar içindeki genetik varyasyonun dağılımı AMOVA analizi ile test edildi. Bu test sonucunda mtDNA haplotiplerinin sıklıklarına dayanarak, genetik varyasyonun ne kadarının grup içinde, aynı grup içindeki popülasyonlar ya da çalışılan popülasyonlar arasında olduğunu ve istatistiksel önem dereceleri ortaya konuldu. Akdeniz ve Atlantik genelinde (Genbank UID: 387178092 ve 316990521; Vinas vd., 2013) karşılaştırma yapmak ve paylaşılan haplotipleri saptamak için Arlequin ver. 3.5 programı kullanıldı.

Popülasyonlar arasındaki göç oranı ( $Nm$ ); genetik uzaklık değerleri kullanılarak,  $Nm = 0,5 (1 / \gamma_{ST} - 1)$  (Takahata ve Palumbi, 1985) formülü aracılığıyla hesaplandı.

Etkili popülasyon büyüklüğü kedi yayın balığı (*Ameiurus nebulosus*) mtDNA kontrol bölgesi için saptanmış mutasyon oranı ( $\mu = 1,29 \times 10^{-5}$ ) kullanılarak  $\pi = 2Ne\mu$  (Chen ve Herbert, 1999) formülü aracılığıyla hesaplandı.

### 3.5. Mikrosatellit Lokusları

#### 3.5.1. Mikrosatellit Lokuslarının PCR ile Çoğaltılması

Bu tez çalışmasında mikrosatellit lokusları multipleks PCR ile 13 primer çifti kullanılarak çoğaltıldı (Çizelge 3.3). Bu amaçla çiftinden biri floresan etiketli olan primerler kullanılarak, bir reaksiyonda 2 veya 3 mikrosatellit lokusu çoğaltıldı. PCR optimizasyon çalışmalarında, primerlerin erime sıcaklıkları ve floresan etiketleri, referans çalışmalarda belirtilen  $MgCl_2$  değerleri dikkate alınarak roma rakamıyla I-V arası isimlendirilmiş 5 adet PCR reaksiyonu kuruldu. Çalışmada analiz edilen lokuslar, tekrar sayıları, primerlerin etiketlendiği floresan boyalar ve lokusların çoğaltılmasında dahil oldukları multipleks PCR grupları Çizelge 3.4’de verildi. Mikrosatellit lokuslarının PCR ile çoğaltılmasında kullanılan reaksiyon karışımları ve sıcaklık döngü koşulları Çizelge 3.5’te verilmiştir.

Çizelge 3.3. Mikrosatellit analizinde kullanılan lokuslar, primerlerin dizileri ve Tm (melting temperature; erime sıcaklıkları)

Lokus	Primerler	Tm	
Ee2	F: TCGCTAGGACGCTTTACGAC	62 °C	Landi vd., 2005
	R: CCGGAGGTTTCAGTGTCATT	60 °C	
Ee10	F: GGTGGATGAAGTGGCAATCT	60 °C	
	R: CTGGGGTGGCATAACTGAAG	62 °C	
Ee2-91a	F: AGAGCAGGTTCTTGCTGTGG	62 °C	Pakaki vd.,2009
	R: TGTGGTGCCTACTATCAGG	62 °C	
Ee2-483b	F: ATGAGAAGGAGGACGGTGTG	62 °C	
	R: AATGGGATAGCTCGTTGTGC	60 °C	
Ee2-508	F: CACATGCTCGCTAAACATTG	58 °C	
	R: ACCTGATGCTGCTTGGTAGC	62 °C	
Ee2-452a	F: CCCAACCCCTAGGGAGACATC	64 °C	
	R: TCGTTCAGCAAGCATACACC	60 °C	
Ee2-507	F: GGAAGGGACCTAGATGGAGTG	66 °C	
	R: ATCCCATTGATGTCCTGAGC	60 °C	
Ee5-376	F: CCACACCTACGGTGAGTGAC	64 °C	
	R: GCAAAGAGAATAGCACATGCAG	64 °C	
Ee2-135	F: AGGGCAGTGACAGGAGAGTC	64 °C	
	R: TCGTTACCCTGCGTTTATACTG	64 °C	

Çizelge 3.3. devamı

Ee2-407	F: AGGAATCTCCTTCCCGTCTC R: GTGGGTCTGTGGGTGTTTTG	62 °C 62 °C
Ee2-477	F: TTGGTGAGGAAGCAACAGTG R: TAAGATGGCACGCTGACTTG	60 °C 60 °C
Ee2-91b	F: GGTCTTGAGCTTGGCATAGG R: CCGGAAGACACTCTGCACAC	62 °C 64 °C
Ee2-165b	F: GGGTGGGTAAAGATGAAGC R: AGGGATCTTCAGGGAACCG	60 °C 62 °C

Çizelge 3.4. Mikrosatellit lokuslarının tekrar motifleri, uzunluk aralıkları, floresan etiketleri ve dahil oldukları PCR grupları

Lokus	Tekrar Sayısı	Alel uzunluğu	Floresan etiket	Multipleks PCR grupları
Ee2	(CA)4GA(CA)12	210-284	FAM	I
Ee10	[(GT)9CT]2[(GT)2CT]3	176-272	NED	I
Ee2-91a	tri- (AGG)12	205-256	NED	II
Ee2-483b	tri- (AGG)11	190-241	FAM	II
Ee2-508	tri- (AGG)8	159-192	HEX	II
Ee2-452a	di- (AC)13	251-305	HEX	III
Ee2-507	tetra- (GAAA)14GAAC(GAAA)6GAGA(GAAA)4	244-384	NED	III
Ee5-376	di- (TG)11	172-258	FAM	III
Ee2-135	penta- (ATTAG)10	110-165	HEX	IV
Ee2-407	di- (CA)13	136-264	FAM	IV
Ee2-477	mono- (AGG)7	212-336	NED	IV
Ee2-91b	penta- (CCGCA)8	113-158	FAM	V
Ee2-165b	tri- (CCT)7	181-202	NED	V



Çizelge 3.5. Multipleks PCR reaksiyon karışımları ve sıcaklık döngü koşulları (M; Multipleks)

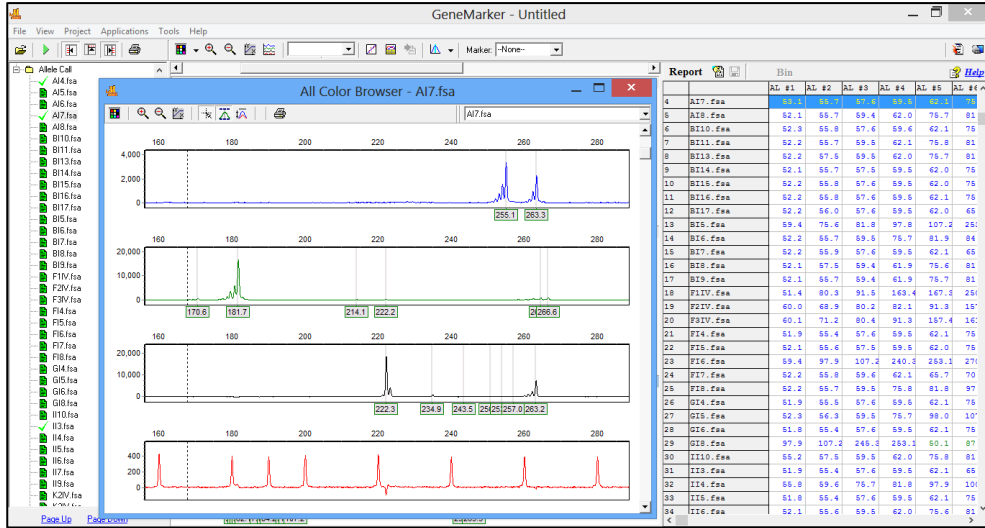
Multipleks Reaksiyon Bileşenleri	Son konsantrasyon	Hacim (µL)				
		MI	MII	MIII*	MIV	MV*
dH <sub>2</sub> O		13,3	11,3	10,8	11,3	12,8
10X Taq buffer+KCl	1X	2,5	2,5	2,5	2	2,5
MgCl <sub>2</sub>	1,5mM	1,5	1,5	2	1,5	2
dNTP mix	0,2mM	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5
Her bir Primer	0,5uM	1	1	1	1	1
Taq DNA polimeraz	1U	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Kalıp DNA	50ng/µl	1	1	1	1	1
Toplam hacim		25	25	25	25	25

Multipleks PCR sıcaklık döngü koşulları					
Multipleks I	94 °C	3 dk	Multipleks III ve V	94 °C	2 dk
	94 °C	30 sn		94 °C	45 sn
	55 °C	1 dk		60 °C	45 sn
	72 °C	30 sn		72 °C	45 sn
	35 döngü			35 döngü	
	72 °C	3 dk		72 °C	10 dk
Multipleks II ve IV	94 °C	2 dk			
	94 °C	45 sn			
	55 °C	45 sn			
	72 °C	45 sn			
	35 döngü				
	72 °C	10 dk			

\*MgCl<sub>2</sub> 2mM

### 3.5.2. Mikrosatellit Lokuslarının Genotiplenmesi

Mikrosatellit alelleri ABI3730 otomatik DNA analiz cihazı ile saptandı (Macrogen Inc., S. Korea). Her bir lokusa ait genotipler, Genemarker v 2.2.0 (Soft Genetics LLC) programı aracılığıyla belirlendi (Şekil 3.5) ve bir veri seti oluşturuldu. Bu veri daha sonra kullanılması planlanan uygun analiz programlarının girdi dosyaları formatına dönüştürüldü.



Şekil 3.5. Genemarker 2.2.0 programında mikrosatellit alel büyüklüklerinin görüntülenmesi

### 3.5.3. Mikrosatellit Lokuslarının Veri Analizi

Toplam 13 lokaliteden elde edilmiş 541 adet hamsi örneğinin 13 mikrosatellit lokusuna ait genotip verileri analiz edildi. Arlequin ver. 3.5.1.3 (Excoffier ve Lischer, 2010) programı kullanılarak lokus başına düşen alel sayısı, gözlenen ve beklenen heterozigotluk ( $H_o$ ,  $H_e$ ) değerleri hesaplandı ve populasyonlarda tüm lokusların *Hardy-Weinberg* (HW) dengesinde olup olmadığı test edildi. Populasyonların genetik bir yapılanma gösterip göstermediğini saptamak için 10000 değişimli moleküler varyans analizi (AMOVA) uygulandı (Arlequin versiyon 3.5.1.3). Ayrıca mikrosatellit verileri “ $F_{ST}$ -like” (Weir ve Cockerham, 1984) ve “ $R_{ST}$ -like” (Slatkin, 1995) metotlarının her ikisi de kullanılarak populasyonlar içi, grup içi populasyonlar arası ve gruplar arası genetik uzaklıklar hesaplandı.

Mikrosatellit null alellerinin oluşturabileceği hataları test edebilmek için FreeNA programında genetik uzaklıklar yeniden hesaplandı (Chapuis ve Estoup, 2007).

FSTAT v 2.9.3.2 (Goudet, 2001) kullanılarak hamsi populasyonları arasındaki  $F_{ST}$  (Weir ve Cockerham, 1984) değerleri ve alelik zenginlik değerleri hesaplandı. GenAlEx v 6.5 (Peakall ve Smouse, 2012) programı kullanılarak populasyonlara has (private) alellerin varlığı test edildi.

Genepop v. 4.2 (Raymond ve Rousset, 1995; Rousset, 2008) programı ağ servisi kullanılarak mikrosatellit lokuslarındaki null aleller hesaplandı. Ayrıca ağ servisindeki ISOLDE programı aracılığıyla coğrafik mesafenin örnekler arasındaki genetik uzaklığa olan etkisini belirlemek için 10000 tekrarlı Mantel test yapıldı (Mantel, 1967). Bu amaçla coğrafik uzaklıklar örnekleme yapılan lokaliteler arasında kara parçası dikkate alınıp, düz bir çizgi yolu izlenerek hesaplandı.

Populasyonlar arasındaki ilişkiyi ortaya koymak için Nei'nin (1978) genetik uzaklık metoduna dayalı olarak UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean) ağacı oluşturuldu. Bu amaçla TFGA v 1.3 (Felsenstein, 1985) programında bootstrap güvenilirlik değeri her bir dal için 10000 değişimli olarak ele alındı. Ayrıca Türkiye denizlerinde yayılış gösteren hamsi balığının populasyon genetik yapılanmasını geniş perspektiften görebilmek için, Adriyatik örnekleriyle birlikte (Turan vd., Acta Adriatica (Baskıda) UPGMA ağacı oluşturuldu.

Bireyler arasındaki genetik farklılıkları grafik olarak ortaya koymak için Genetix 4.05.2 (Belkhir vd., 2004) programında FCA (Fractional Correspondance Analyses) uygulandı.

Analiz edilen tüm balık örneklerinin lokalitelerine bakılmaksızın olası populasyonların (bu çalışmada stokların) sayısını belirlemek için STRUCTURE ver 2.3 (Pritchard vd, 2000) programındaki Bayesian kümeleme metodu kullanıldı. Tahmini populasyon sayısı 1-13 arasında ele alınarak 20 tekrarlı analiz sonucunda K değeri analiz edildi. 10000 tekrarlı yazdırma sonrası (burn-in period), 100000 tekrarlı simülasyon (MCMC replicate after burn-in) uygulandı. K değeri olasılık değişimleri arasından en uygun K değerini bulmak için  $\Delta K$  metodu kullanıldı (Evanno vd., 2005).

Mikrosatellit genotiplerine dayalı olarak, populasyonlar arasındaki göç etmiş bireylerin varlığı ve hangi populasyondan köken aldıklarını test etmek için GeneClass 2.0 kullanıldı (Piry vd., 2004). Ayrıca populasyonlar arası göç oranını hesaplamak için lokaliteler arasındaki genetik uzaklık değerleri kullanılarak  $N_m = 1 / [1 / F_{ST} - 1]$  (Wright, 1949) denklemi kullanıldı.



---

H17	1				
H18	2		1		1
H19	1				
H20	1				
H21	1		1	1	
H22	1				
H23	1	1			
H24	1			1	
H25	2				1
H26	1				
H27	1				
H28	1				1
H29	2				
H30	1				
H31	1				
H32	1	1	1		1
H33	1				
H34	1				
H35		1			
H36		1			
H37		1			
H38		1			
H39		1			
H40		1			
H41		1			
H42		1			
H43		1			
H44		1			
H45		1			
H46		1			1
H47		1			
H48		1			
H49		1			
H50		1			
H51		1			
H52		1			
H53		1			
H54		1			

---

---

H55	1		
H56	1		
H57	1		
H58	1		
H59	1		
H60	1		
H61	1		
H62	1		
H63	1		
H64	1		
H65	1		
H66	1		
H67	1		
H68	1		
H69	1		
H70	1		
H71	1		
H72		1	
H73		1	
H74		1	
H75		1	
H76		1	
H77		1	
H78		1	
H79		1	
H80		1	
H81		1	
H82		1	
H83		1	
H84			1
H85		1	1
H86			1
H87			1
H88			1
H89			1
H90			1
H91		1	2
H92			1

---

---

H93	1				
H94	1		1		
H95	1			1	
H96	1				
H97	1				
H98	1				
H99	1				
H100	1				
H101	1				
H102	1		1		
H103	1				
H104	1				
H105	1				
H106	1				
H107	1				
H108	1				
H109	1				
H110	1				
H111	1				
H112		1			
H113		1	1		
H114		1			
H115		1			
H116		1			
H117		1			
H118		1			
H119		1			
H120		1			
H121		1			
H122		1			
H123		1			
H124		1		3	
H125		1			
H126		1			
H127		1			
H128		1			
H129		1		2	1
H130		1			

---

---

H131	1		
H132	1		
H133	1		
H134	1		
H135	1		
H136	1		
H137	1		
H138	1		1
H139		1	
H140		1	
H141		1	
H142		1	
H143		1	
H144		1	
H145		1	
H146		1	
H147		1	
H148		1	
H149		1	
H150		1	
H151		1	
H152		1	
H153		1	
H154		1	
H155		1	
H156		1	
H157		1	
H158		1	
H159		1	
H160		1	
H161		1	
H162		1	
H163		1	
H164		1	
H165		1	1
H166		1	
H167		1	
H168		1	

---



---

H169	1	
H170	1	
H171	1	
H172	1	
H173	1	
H174	1	
H175		1
H176		1
H177		1
H178		1
H179		1
H180		1
H181		1
H182		1
H183		1
H184		1
H185		1
H186		1
H187		1
H188	1	1
H189	1	
H190	1	
H191	1	
H192	1	
H193	1	
H194	1	
H195	1	
H196	1	
H197	1	
H198	1	
H199	1	
H200	1	
H201	1	
H202	1	
H203	1	
H204	1	
H205	1	
H206	1	

---

---

H207		1			
H208		1			
H209		1			
H210			1		
H211			1		
H212				1	
H213				1	
H214				1	
H215				1	
H216				1	
H217				1	
H218				1	
H219				1	
H220				1	
H221				1	
H222				1	
H223				1	
H224				1	
H225				1	
H226				1	
H227				1	
H228				1	
H229			1	2	
H230				1	
H231				1	
H232				1	
H233				1	
H234				1	
H235				1	
H236				1	
H237				1	
H238				1	
H239				1	1
H240				1	
H241	1				
H242	1				
H243	1				
H244	1				

---

---

H245	1		
H246	1		
H247	1		
H248	1		
H249	1		
H250	2		
H251	1		
H252	1		
H253	1		1
H254	1		
H255		1	
H256		1	
H257		2	
H258		1	
H259		1	
H260		1	
H261		1	
H262		1	
H263		1	
H264		1	
H265		1	
H266		1	
H267		1	
H268		1	
H269		1	
H270		1	
H271		1	
H272		1	1
H273		1	
H274		1	
H275		1	
H276		1	
H277		1	
H278		1	
H279		1	
H280		1	
H281			1
H282			1

---

---

H283		1
H284		1
H285		1
H286		1
H287		1
H288		1
H289		1
H290		1
H291		1
H292		1
H293		1
H294	1	
H295	1	
H296	1	
H297	1	
H298	1	
H299	1	
H300	1	
H301	1	
H302	1	
H303	1	
H304	1	
H305	1	
H306	1	
H307	1	
H308	1	
H309	1	
H310	1	
H311	1	
H312	1	
H313	1	
H314	1	
H315	1	
H316	1	

---

H; Haplotip

Hamsi balığının mtDNA kontrol bölgesi dizilerinin moleküler analizleri sonucunda 383 örneğin, haplotip (*h*) ve nükleotid ( $\pi$ ) çeşitliliği değerleri Çizelge 4.2’de sunulmuştur. Elde edilen sonuçlara göre haplotip çeşitliliği haplotip sayısına

paralel olarak yüksek bulundu. Haplotip çeşitliliğinin en fazla Antalya, İskenderun ve Kuşadası'nda olduğu ( $h$ ; 1,00) tespit edildi. Bunların dışında haplotip çeşitliliğinin tüm lokalitelerde benzer olduğu söylenebilir. Tüm populasyonlarda ortalama haplotip çeşitliliği 0,99717 ve ortalama nükleotid çeşitliliğinin 0,00770 olduğu saptandı. Nükleotid çeşitliliği en fazla Kuşadası lokalitesinde ( $\pi$ ; 0,01124) bulunurken, en düşük Perşembe lokalitesinde ( $\pi$ ; 0,00630) olduğu saptandı.

Çizelge 4.2. Hamsi balığının mtDNA kontrol bölgesi için çalışılan her bir lokalitede tespit edilen haplotip ve nükleotid çeşitliliği ve etkili populasyon büyüklüğü değerleri

Lokaliteler	N	Nh	$h$	$\pi$	Ne
Gürcistan	35	32	0,98992	0,00642	249
Ardeşen	38	34	0,99431	0,00778	302
Trabzon	39	38	0,99865	0,00773	300
Perşembe	29	25	0,98768	0,00630	344
Fatsa	33	32	0,99811	0,00726	281
Terme	22	20	0,98701	0,00674	261
Zonguldak	36	34	0,99683	0,00665	258
Bandırma	36	34	0,99683	0,00754	292
Kuşadası	38	38	1,00000	0,01124	436
Antalya	38	38	1,00000	0,00866	336
İskenderun	39	39	1,00000	0,00685	266
Toplam	383	316	0,99717	0,00770	298

N, örnek sayısı; Nh, Haplotip sayısı;  $h$ , Haplotip Çeşitliliği;  $\pi$ , Nükleotid çeşitliliği; Ne, Etkili populasyon büyüklüğü

Örnekleme lokalitelerinin ikişerli karşılaştırılmalarıyla elde edilen genetik uzaklık derecesini ifade eden  $F_{ST}$  ve  $\gamma_{ST}$  değerleri Çizelge 4.3'de verildi.  $F_{ST}$ , haplotip çeşitliliği ve  $\gamma_{ST}$  nükleotid çeşitliliği üzerinden hesaplandı. Lokalitelerin ikişerli karşılaştırmaları sonucunda Ardeşen-Bandırma lokalite çiftinin, diğer lokalite çiftlerine göre genetik olarak birbirlerinden daha çok benzedikleri saptandı ( $\gamma_{ST}$ : 0,00935). Genetik farklılaşmanın en fazla olduğu dolayısıyla gen akışının en az gözlemlendiği populasyonlar ise İskenderun-Terme ( $\gamma_{ST}$ : 0,02979; Nm: 16,17); Kuşadası-Terme ( $\gamma_{ST}$ : 0,03139; Nm: 15,63); Antalya-Perşembe ( $\gamma_{ST}$ : 0,03049; Nm: 16,17); Perşembe-Kuşadası ( $\gamma_{ST}$ : 0,02806; Nm: 17,36) ve Trabzon-Antalya ( $\gamma_{ST}$ : 0,02816; Nm: 17,36) populasyonlarıdır (Çizelge 4.3 ve 4.4).

Çizelge 4.3. Hamsi türünün genetik uzaklık değerleri ile lokalitelerin ikişerli karşılaştırılmaları

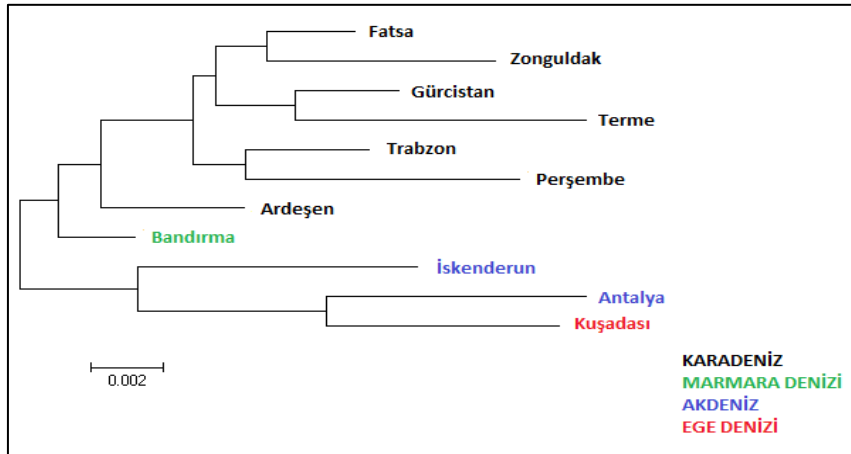
	Gür	Ard	Tra	Per	Fat	Ter	Zon	Ban	Kuş	Ant	İsk
Gür		-0,00731	-0,00436	-0,00027	-0,01157	-0,01458	-0,00422	-0,00638	<b>0,02666</b>	<b>0,02454*</b>	0,01781
Ard	0,01024		0,00085	-0,00264	-0,00501	0,00124	0,00454	-0,00895	0,00728	0,01011	0,00790
Tra	0,01153	0,01358		-0,00787	-0,00812	-0,00456	-0,00478	-0,00342	<b>0,02878*</b>	<b>0,02932*</b>	0,01200
Per	0,01572	0,01385	0,01105		-0,00781	0,00525	0,00690	-0,00367	0,02665	<b>0,03007</b>	0,01565
Fat	0,00918	0,01179	0,01007	0,01249		-0,01185	-0,01182	-0,00757	<b>0,02281</b>	<b>0,02427*</b>	<b>0,01586</b>
Ter	0,01100	0,01759	0,01457	0,02051	0,01287		0,00098	-0,00322	<b>0,03081</b>	<b>0,03401*</b>	<b>0,02805</b>
Zon	0,01218	0,01599	0,01113	0,01905	0,00884	0,02002		-0,00150	<b>0,02232</b>	<b>0,02538</b>	<b>0,01822</b>
Ban	0,01107	0,00935	0,01178	0,01394	0,01091	0,01610	0,01333		0,00803	0,01233	0,00068
Kuş	0,02687	0,01679	0,02725	0,02806	0,02526	0,03139	0,02440	0,01760		0,00123	<b>0,02054</b>
Ant	0,02643	0,01865	0,02816	0,03049	0,02665	0,03331	0,02668	0,02027	0,01368		0,00713
İsk	0,02266	0,01715	0,01902	0,02265	0,02202	0,02979	0,02269	0,01384	0,02289	0,01676	

Koyu rakamlar  $p < 0.05$ ; \*  $p < 0.001$ ; Alt diyagonal  $\gamma_{ST}$ ; Üst diyagonal Haplotip frekanslarına dayalı olarak hesaplanmış  $F_{ST}$  değerleri

Populasyon  $F_{ST}$  karşılaştırmaları incelendiğinde genetik farklılaşmanın en yüksek olduğu populasyon çifti Antalya-Terme ( $F_{ST}$ : 0,03401), bu çifti takiben Terme-Kuşadası ( $F_{ST}$ : 0,03081) populasyonlarıdır. Bazı lokaliteler haricinde hem  $\gamma_{ST}$  hem de  $F_{ST}$  değerlerinin yüksekliği Kuşadası örneklerinin hem Akdeniz hem de Karadeniz ile olan genetik yakınlığını ortaya koymaktadır (Çizelge 4.3). Her iki metodda da Kuşadası populasyonları Antalya'ya göre İskenderun lokalitesine genetik olarak daha uzak olduğu saptandı. Gen akışımının en fazla olduğu lokalite çiftleri Fatsa-Gürcistan, Bandırma-Ardeşen ve Fatsa-Zonguldak lokaliteleridir (Çizelge 4.4).

Çizelge 4.4. Mitokondriyal DNA analizi sonucunda hamsi populasyonları arasındaki göç oranları (Nm)

	Gür	Ard	Tra	Per	Fat	Ter	Zon	Ban	Kuş	Ant
Ard	49,50									
Tra	41,17	35,21								
Per	30,75	35,21	44,95							
Fat	55,06	41,17	49,50	41,17						
Ter	44,95	27,28	32,83	23,31	37,96					
Zon	41,17	30,75	44,95	25,82	55,06	24,5				
Ban	44,95	55,06	41,17	35,21	44,95	30,75	37,96			
Kuş	18,02	28,91	18,02	17,36	19,50	15,63	20,33	27,28		
Ant	18,73	25,82	17,36	16,17	18,02	14,65	18,02	24,50	35,21	
İsk	21,24	28,91	25,82	21,24	22,23	16,17	21,24	35,21	21,24	28,91



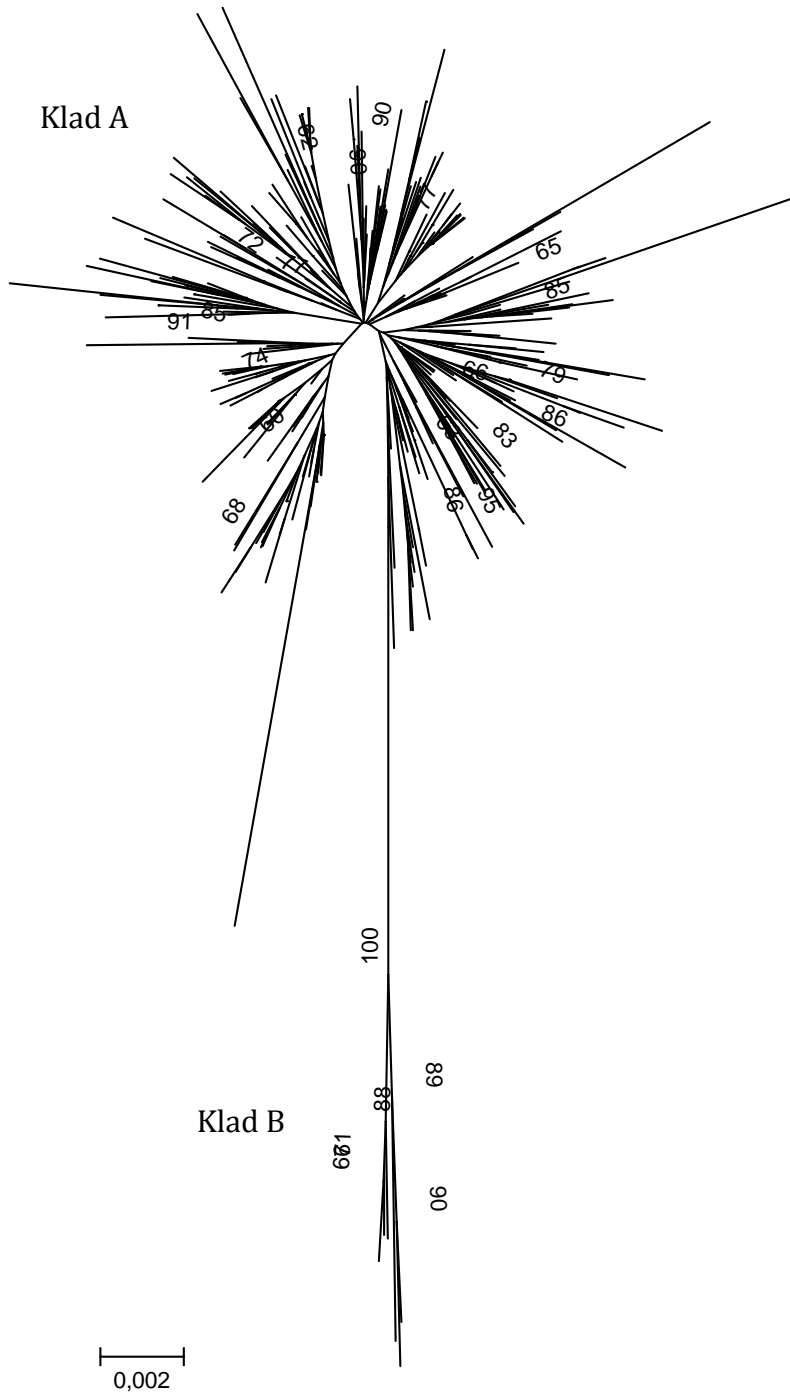
Şekil 4.1. Örnekleme lokalitelerine göre hamsi türünün mtDNA kontrol bölgesi dizi verileri  $\gamma_{ST}$  değerlerine dayalı olarak oluşturulmuş Neighbour-Joining ağacı

Çalışma sonucunda, *E. encrasicolus* türünün kontrol bölgesi lokaliteler arasındaki genetik uzaklıklar verileri kullanılarak MEGA programıyla NJ ağacı oluşturuldu (Şekil 4.1). Ağaç üzerinde Karadeniz ve Marmara Denizi'nin bir klad, Ege Denizi ve Akdeniz'in ayrı bir klada ayrıldığı saptandı. Genetik uzaklık verilerine paralel olarak Bandırma ve Ardeşen lokalitelerinin Karadeniz'de genetik bir yapılanma sergilediği ve ağaç topolojisinin lokaliteler arasındaki coğrafik uzaklık ile örtüşmediği gözlemlendi (Şekil 4.1).

Hamsi balığı genetik uzaklık değerleriyle ( $\gamma_{ST}$ ) oluşturulan NJ ağacına ek olarak, dizi verileri kullanılarak oluşturulan köksüz NJ ağacı oluşturuldu (Şekil 4.2). Bu ağaç Türkiye denizlerinde yüksek bootstrap değeriyle (%100) desteklenen iki haplotip kladı (Klad A ve B) olduğunu gösterdi. Bu kladların içerdikleri haplotiplerin dağılımı türün coğrafik dağılımıyla ilişkili bulunmadı. Her iki kladda da her denizden toplanan hamsilere ait mtDNA haplotipleri vardır. Örneğin, ana kladdan ayrı yer alan nispeten az sayıda haplotipten oluşan klad, dört adet Kuşadası, bir Ardeşen, bir Antalya ve bir Bandırma lokalitesine ait mtDNA haplotiplerinden oluşmaktadır (Şekil 4.2).

Mitokondriyal DNA verilerinden elde edilen genetik varyasyonun dağılımını belirlemek amacıyla coğrafik uzaklık derecelerine göre gruplamalar yapılarak AMOVA analizi yapıldı. Hamsi türü popülasyonlarının farklılıklarının kaynağını ortaya koymak için yapılan AMOVA sonucunda gruplar arasında, grupları oluşturan popülasyonlar arasında ve popülasyonlar içinde olmak üzere üç düzeyde varyasyon tespit edildi. Gruplar arası varyasyon en yüksek 2. sıradaki gruplandırmada (Karadeniz ve Marmara Denizi / Ege Denizi / Akdeniz) 2,50 ( $p < 0.05$ ) olarak saptanmışken, onu takiben 4. sıradaki gruplandırmada (Karadeniz ve Marmara Denizi / Ege Denizi ve Akdeniz) 1,99 ( $p < 0.05$ ) ve 1. sıradaki gruplandırmada (Karadeniz / Marmara Denizi / Ege Denizi ve Akdeniz) 1,98 ( $p < 0.05$ ) değerinde gruplar arası varyasyon saptandı (Çizelge 4.5). Bu sonuçlara göre Ege Denizi popülasyonlarının hem Akdeniz hem de Karadeniz popülasyonları ile aralarında tarihsel dönemde sınırlı bir gen akışı olduğuna işaret ettiği, bunun yanı sıra Karadeniz, Ege Denizi ve Akdeniz popülasyonları arasında genetik bir yapılanma oluştuğunu göstermektedir. Tekrar belirtilecek olunursa Çizelge 4.4'de verildiği gibi, Kuşadası lokalitesi en fazla Antalya (Nm; 35,21) onu takiben Ardeşen (Nm: 28,91) lokalitesi ile aralarında gen akışı olduğu saptandı.





Şekil 4.2. mtDNA kontrol bölgesi dizileri kullanılarak oluşturulmuş köksüz NJ ağacı (10000 Bootstrap permütasyonu, dal güvenilirliği % 60 ve üzeri)

Çizelge 4.5. Gruplar ve lokaliteler arasında Moleküler varyans analizi

Gruplandırma	Va	Vb	F <sub>ST</sub>	F <sub>SC</sub>	F <sub>CT</sub>
1. GÜR, ARD, TRA, FAT, ZON, PER, TER / BAN / KUŞ, ANT, İSK	1,98	-0,40	<b>0,01573</b>	-0,00413	<b>0,01978</b>
2. GÜR, ARD, BAN, TRA, FAT, ZON, PER, TER / KUŞ / ANT, İSK	2,50	-0,43	<b>0,02075</b>	-0,00438	<b>0,02502</b>
3. GÜR, ARD, TRA, PER, FAT, TER, ZON / BAN, KUŞ / ANT, İSK	1,58	-0,12	<b>0,01912</b>	-0,00122	<b>0,01580</b>
4. GÜR, ARD, TRA, PER, FAT, TER, ZON, BAN / KUŞ, ANT, İSK	1,99	-0,08	<b>0,01912</b>	-0,00080	<b>0,01990</b>
5. GÜR, ARD, BAN / TRA, FAT, ZON, PER, TER / KUŞ, ANT / İSK	1,74	-0,49	<b>0,01253</b>	-0,00498	<b>0,01743*</b>
6. GÜR, ARD, BAN / TRA, FAT, ZON / PER, TER / KUŞ, ANT / İSK	1,58	-0,49	<b>0,01086</b>	-0,00500	<b>0,01578*</b>
7. GÜR, ARD, BAN / TRA, FAT, ZON / PER / TER / KUŞ, ANT / İSK	1,55	-0,49	<b>0,01068</b>	-0,00494	<b>0,01554</b>

Koyu rakamlar  $p < 0,05$ ; \*  $p < 0,001$ . F<sub>ST</sub>, Populasyon içi; F<sub>SC</sub>, Grup içi Populasyonlar Arası; F<sub>CT</sub>, Gruplar arası; Va, Gruplar arası Varyasyon Yüzdesi; Vb, Grup içi Populasyonlar arası Varyasyon Yüzdesi

## 4.2. Mikrosatellit Lokuslarının Analizi

Toplam 541 örnek için 13 adet mikrosatellit lokusunun lokaliteler arasında alellerinin dağılım grafiği Şekil 4.3'de belirtildi. Alel sayıları lokalitelere göre 4-44 arasında değiştiği saptandı (Çizelge 4.6). Lokuslara göre alelik zenginlik ortalamaları en yüksek Ee2-507 lokusunda 19,906, en düşük Ee2-165b lokusunda 4,007 değerlerinde bulundu. Çok sayıda lokus ve populasyonun HW dengesinden sapmalar gösterdiği saptandı. Özellikle Ee2-376 lokusunda hiçbir lokaliteye ait grubun HW dengesinde olmadığı gözlemlendi (Çizelge 4.6). Bu durum bu lokusun tüm lokalitelerde toplam alel sayısının (75) ve buna bağlı olarak null alel değerlerinin yüksek olması ve de çalışılan lokaliteler arasında gen akışının fazla olması ile ilişkili olabilir. Hamsi ülkemizde yoğun olarak avcılığı yapılan bir balık türüdür. Dolayısıyla, aşırı avcılığın hamsilerin gen havuzunda değişmeler ve populasyonlarının HW dengesinden sapma göstermesinin bir başka nedeni olabilir. Genepop v 4.2 programı vasıtasıyla heterozigot fazlalığına (heterozygote deficit) dayanarak hesaplanan HW Global test sonucunda Ee2-165b lokusu hariç tüm lokusların ve tüm populasyonların HW dengesinden sapmalar gösterdiği saptandı ( $p < 0,05$ ).

Populasyonlara özgü (private) aleller Çizelge 4.6'da belirtildi. Çalışılan lokaliteler arasında özgül alel sayısı en yüksek Bandırma hamsilerinde, en düşük ise İstanbul ve onu takiben Antalya hamsilerinde olduğu saptandı.

Her bir populasyona ait ortalama gözlenen heterozigotluk değerleri en düşük Mersin (0,612), en yüksek Ardeşen (0,745) populasyonlarında olduğu saptandı (Çizelge 4.6). Bir populasyondaki genetik çeşitliliğin göstergesi olan bir lokustaki alel sayısı ve ortalama heterozigotluk değerlerinin, Bandırma ve onu takiben Zonguldak hamsi populasyonlarında nispeten yüksek olduğu saptanmışsa da, bu durum bu lokalitelere ait örneklem büyüklüğündeki farklılıklardan da kaynaklanıyor olabilir (Bandırma 75, Zonguldak 59). Bu lokaliteler göz ardı edilecek olursa yüksek alel sayısı ve heterozigotluk değerleriyle Kuşadası populasyonu üçüncü sırada yer almaktadır. Antalya, İskenderun ve Mersin alel sayıları ile karşılaştırıldığında bu durum Ege populasyonlarının Karadeniz ve Marmara populasyonları ile aralarında gen akışı olduğuna işaret etmektedir (Çizelge 4.7).

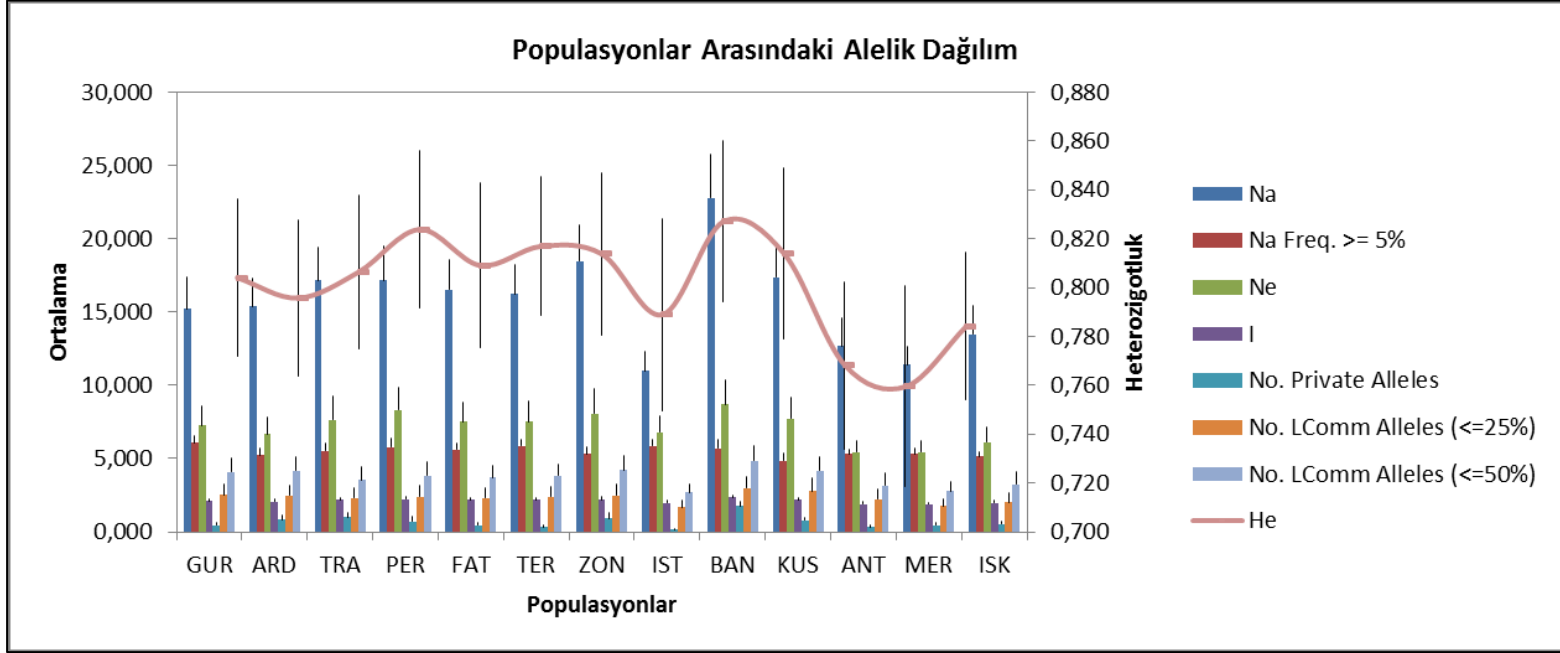
Populasyonlara ait  $R_{ST}$  değerleri incelendiğinde; Gürcistan-Terme, Trabzon-Perşembe, İstanbul-Bandırma, İstanbul-Kuşadası, İskenderun-Antalya, İskenderun-Mersin ve Antalya-Mersin populasyonları hariç ( $p > 0.05$ ), tüm populasyonlarda anlamlı bir farklılaşma ( $p < 0.05$ ) saptandı (Çizelge 4.8).  $F_{ST}$  değerlerine göre düzeltilmiş  $p$  değerleri (Bonferroni Correction) ile bu ikili gruplara ek olarak Perşembe-Terme, Fatsa-Terme, Fatsa-Gürcistan, Zonguldak-Bandırma, Fatsa-Ardeşen ve İstanbul-Fatsa lokaliteleri arasında anlamlı bir genetik farklılık saptanmadı ( $p > 0,05$ ). Null alel doğrulaması yapılmış ikili karşılaştırma sonuçları da bu sonuçlarla örtüşmektedir (Çizelge 4.9). Gen akışının en düşük olduğu buna bağlı olarak farklılaşmanın en yüksek olduğu populasyon çifti Antalya ve Trabzon lokaliteleri iken ( $F_{ST}$ ; 0,06949, Nm; 56,91 /  $R_{ST}$ ; 0,0680, Nm; 58,25), özellikle Akdeniz ve Doğu Karadeniz örneklerinin Batı Karadeniz, Marmara ve Ege Denizi'ne oranla birbirinden daha farklı olduğu görülmektedir (Çizelge 4.7 ve 4.8).

Genetik farklılaşmayı gruplandırmak ya da başka bir ifadeyle hangi gruplardan kaynaklandığını anlamak için populasyonlar dört alternatif gruba ayrılarak AMOVA analizi gerçekleştirildi (Çizelge 4.10). Hem IAM metoduna göre hem de SMM metoduna göre gruplar arası varyasyon en yüksek 1. sıradaki gruplandırmada (Karadeniz, Marmara Denizi / Ege / Akdeniz; SMM: 7.06,  $p < 0,001$ ; IAM: 3.13,  $p < 0,05$ ) olduğu saptandı. Bu gruplandırmaları takiben 4.

sıradaki gruplandırmada (ARD / KUŞ, İST / Akdeniz / BAN, ZON, TER, FAT, PER, TRA, GÜR; SMM: 5.79,  $p < 0,001$ ; IAM: 2.74,  $p < 0,001$ ) gruplar arasındaki varyasyon derecesinin yüksek olduğu saptandı.

Populasyonların coğrafik ve genetik yapılanmasını ortaya koymak için ülkemiz denizlerinden 13 adet lokaliteye ait hamsi örneklerinde 13 adet mikrosatellit lokusunun STRUCTURE ver 2.3 (Pritchard vd., 2000) programında analizi sonucunda olası grup 4 olduğu belirlendi (1. grup, Yeşil; 2. grup, Sarı; 3. grup, Kırmızı; 4. grup, Mavi; Şekil 4.4). Populasyon yapılanmasını ortaya koymak için oluşturulan bar grafikte populasyonlara ait her bireyin belirlenen 4 grup içerisinde nasıl bir dağılım sergilediği gösterildi (Şekil 4.4). Dikey eksen benzerlik durumunu (Bireylerin genotiplerinin hangi genetik kümeyi barındırdığı) yatay ekseninde her bir çizgi bir bireyi temsil etmektedir. Akdeniz'e ait populasyonların (Mavi) genetik olarak diğer bölgelerden oldukça farklı olduğu Ege örnekleri ile arasında sınırlı bir gen akışının varlığı dışında, gen akışının oldukça az olduğu söylenebilir. Ege, Marmara ve Karadeniz populasyonları arasında ise gen akışının daha yoğun olduğu hesaplanan gen akışı tablosundan da gözlemlenebilir (Çizelge 4.7). Özellikle Ege Denizi'nin coğrafik olarak konumunu destekler bir şekilde, Akdeniz ve Karadeniz arasında paylaşılan bir genetik yapılanma sergilediği görülmektedir (Şekil 4.4).

FCA analizi sonucunda 541 bireyin alelleri değerlendirildiğinde, bireyler arasındaki coğrafik dağılımları ile örtüşecek şekilde bir genetik yapılanmanın olduğu söylenebilir. Akdeniz, Ege Denizi ve Karadeniz bireylerinin konumlanması bu bölgelerde genetik bir yapılanmanın olduğunu desteklemektedir. Karadeniz hamsilerinin daha karmaşık ve aralarında daha sık gen akışı olan bir yapılanma sergilediği belirlendi. Moleküler varyasyon yüzdeleri eksen 1'de 29,07, eksen 2'de 10,12 ve eksen 3'de 8,85 olarak belirlendi (Şekil 4.5).



Şekil 4.3. Mikrosatellit lokuslarının lokaliteler arasındaki alelik dağılım grafiği. (Na = Farklı Alellerin sayısı; Na (Freq >= 5%) = Frekansı %5 ve daha fazla olan aleller; Ne = Etkili Aleller =  $1 / (\sum \pi^2)$  ; I = Shannon's Information Indeks =  $-1 * \sum (\pi * \ln(\pi))$ ; No. Private Alleles = Bir populasyona özgü olan Aleller; No. LComm Alleles (<=25%) = Frekansı % 25 ve daha az paylaşılan Aleller; No. LComm Alleles (<=50%) = Frekansı %50 ve daha az paylaşılan Aleller; He = Beklenen Heterozigotluk

Çizelge 4.6. Hamsi populasyonlarında 13 mikrosatellit lokusu için Hardy-Weinberg dengesi analizi sonuçları

Lokuslar	Populasyonlar													
	GUR	ARD	TRA	PER	FAT	TER	ZON	İST	BAN	KUS	ANT	MER	İSK	Tümü
<b>Ee2</b>														
N	40	39	40	40	40	39	59	15	73	43	40	27	39	534
AZ	7,653	7,904	9,118	10,714	10,438	9,351	8,196	5,000	9,131	7,525	8,782	7,124	6,417	8,823
AS	10	11	15	17	17	13	14	5	17	12	9	8	14	29
<i>Ho</i>	0,625	0,641	0,625	0,675	0,725	0,615	0,644	0,200	0,479	0,488	0,350	0,333	0,513	0,532
<i>He</i>	0,785	0,769	0,751	0,815	0,823	0,808	0,726	0,540	0,756	0,649	0,633	0,474	0,664	0,707
Fis	<b>0,206</b>	<b>0,168</b>	<b>0,170</b>	<b>0,173</b>	0,121	<b>0,240</b>	<b>0,114</b>	<b>0,638</b>	<b>0,367</b>	<b>0,249</b>	<b>0,230</b>	<b>0,450</b>	<b>0,300</b>	<b>0,240*</b>
<i>p</i> (HW)	0,006	0,037	0,023	0,189	0,023	0,023	0,087	0,000	0,000	0,000	0,000	0,017	0,038	0,000
NA	0,080	0,050	0,081	0,101	0,064	0,106	0,059	0,223	0,160	0,119	0,184	0,105	0,089	-
<b>Ee10</b>														
N	40	39	40	40	40	40	59	15	74	45	40	28	40	540
AZ	10,453	9,690	12,487	11,114	10,131	11,463	11,783	11,000	13,140	12,747	9,184	9,597	11,415	12,424
AS	19	15	24	20	17	20	23	11	29	22	14	16	16	48
<i>Ho</i>	0,775	0,769	0,725	0,675	0,650	0,700	0,610	0,600	0,784	0,756	0,700	0,786	0,825	0,720
<i>He</i>	0,757	0,715	0,731	0,724	0,675	0,770	0,740	0,828	0,834	0,880	0,749	0,873	0,792	0,774
Fis	-0,024	-0,078	0,008	0,069	0,037	0,092	<b>0,176</b>	<b>0,282</b>	0,060	<b>0,142</b>	-0,042	0,067	0,101	<b>0,065*</b>
<i>p</i> (HW)	0,332	0,317	0,382	0,082	0,440	0,026	0,005	0,027	0,075	0,025	0,083	0,647	0,472	0,000
NA	0,000	0,000	0,000	0,000	0,012	0,000	0,050	0,100	0,021	0,055	0,000	0,037	0,000	-

Çizelge 4.6 devamı

Lokuslar	Populasyonlar													
	GUR	ARD	TRA	PER	FAT	TER	ZON	İST	BAN	KUS	ANT	MER	İSK	Tümü
<b>Ee2-483b</b>														
N	40	39	40	40	40	40	59	15	75	44	40	27	40	539
AZ	7,155	7,682	8,281	6,568	7,016	6,963	8,277	7,000	8,945	9,775	8,798	8,779	7,617	8,784
AS	9	11	12	8	9	10	13	7	17	14	12	9	11	27
Ho	0,700	0,769	0,775	0,725	0,700	0,600	0,746	0,667	0,733	0,773	0,600	0,778	0,800	0,720
He	0,769	0,779	0,803	0,809	0,797	0,801	0,821	0,763	0,815	0,865	0,835	0,835	0,844	0,810
Fis	0,091	0,013	0,035	0,105	0,123	<b>0,235</b>	0,093	0,130	<b>0,100</b>	0,108	0,052	<b>0,284</b>	0,070	<b>0,112*</b>
p (HW)	0,356	0,349	0,159	0,237	0,548	0,111	0,037	0,104	0,011	0,024	0,000	0,558	0,123	0,000
NA	0,008	0,000	0,006	0,050	0,043	0,099	0,044	0,048	0,064	0,061	0,121	0,011	0,042	-
<b>Ee2-508</b>														
N	40	39	40	39	40	40	58	15	75	44	40	27	40	537
AZ	6,727	5,412	7,962	8,982	7,615	7,201	7,173	6,000	6,929	4,902	5,591	5,879	4,098	7,053
AS	10	9	12	13	12	9	10	6	15	8	9	5	8	24
Ho	0,525	0,513	0,475	0,513	0,375	0,375	0,431	0,467	0,600	0,409	0,625	0,444	0,425	0,475
He	0,625	0,617	0,701	0,747	0,580	0,634	0,728	0,543	0,628	0,593	0,664	0,573	0,610	0,634
Fis	0,162	0,171	<b>0,325</b>	<b>0,316</b>	<b>0,356</b>	<b>0,412</b>	<b>0,410</b>	0,144	0,045	<b>0,313</b>	<b>0,306</b>	0,060	0,228	<b>0,254*</b>
p (HW)	0,142	0,005	0,000	0,000	0,002	0,000	0,000	0,318	0,825	0,027	0,001	0,284	0,001	0,000
NA	0,047	0,070	0,126	0,153	0,153	0,174	0,211	0,050	0,021	0,108	0,039	0,079	0,107	-

Çizelge 4.6 devamı

Lokuslar	Populasyonlar													
	GUR	ARD	TRA	PER	FAT	TER	ZON	İST	BAN	KUS	ANT	MER	İSK	Tümü
<b>Ee2-91a</b>														
N	40	39	40	40	40	40	59	15	75	44	40	27	40	539
AZ	7,993	10,345	10,226	8,014	9,326	8,555	10,040	9,000	10,592	9,777	7,027	7,386	9,731	9,544
AS	9	14	14	10	11	10	15	9	16	13	8	12	8	28
<i>Ho</i>	0,700	0,744	0,775	0,775	0,700	0,650	0,763	0,867	0,760	0,773	0,775	0,444	0,675	0,7232
<i>He</i>	0,853	0,884	0,880	0,858	0,889	0,847	0,883	0,855	0,892	0,894	0,815	0,848	0,836	0,864
Fis	<b>0,181</b>	<b>0,161</b>	<b>0,121</b>	0,098	<b>0,215</b>	<b>0,235</b>	0,137	-0,014	<b>0,149</b>	<b>0,137</b>	<b>0,194</b>	0,050	<b>0,481</b>	<b>0,165*</b>
<i>p</i> (HW)	0,039	0,012	0,022	0,189	0,044	0,008	0,057	0,307	0,011	0,097	0,155	0,000	0,056	0,000
NA	0,077	0,052	0,059	0,031	0,091	0,109	0,077	0,000	0,082	0,066	0,014	0,207	0,079	-
<b>Ee5-376</b>														
N	40	39	40	38	40	38	57	15	75	45	40	26	40	533
AZ	14,057	13,799	16,599	16,486	17,024	15,793	14,275	14,000	15,414	15,432	16,493	15,309	15,599	17,100
AS	21	24	28	29	31	27	34	14	40	29	23	20	26	75
<i>Ho</i>	0,425	0,718	0,575	0,632	0,650	0,474	0,544	0,667	0,373	0,600	0,425	0,346	0,450	0,529
<i>He</i>	0,910	0,876	0,937	0,909	0,932	0,919	0,875	0,897	0,880	0,907	0,931	0,932	0,942	0,911
Fis	<b>0,536</b>	<b>0,182</b>	<b>0,389</b>	<b>0,308</b>	<b>0,305</b>	<b>0,488</b>	<b>0,381</b>	<b>0,263</b>	<b>0,578</b>	<b>0,341</b>	<b>0,526</b>	<b>0,547</b>	<b>0,633</b>	<b>0,438*</b>
<i>p</i> (HW)	0,000	0,023	0,000	0,002	0,002	0,001	0,000	0,006	0,000	0,001	0,000	0,000	0,000	0,000
NA	0,252	0,093	0,199	0,138	0,140	0,224	0,166	0,112	0,269	0,160	0,258	0,297	0,249	-



Çizelge 4.6 devamı

Lokuslar	Populasyonlar													
	GUR	ARD	TRA	PER	FAT	TER	ZON	İST	BAN	KUS	ANT	MER	İSK	Tümü
<b>Ee2-452a</b>														
N	40	37	40	40	40	38	57	15	75	45	40	26	40	533
AZ	16,352	13,714	17,818	18,152	14,407	14,694	15,334	14,000	15,397	12,241	10,892	10,864	9,264	15,886
AS	26	21	28	29	22	20	26	14	27	19	16	11	15	49
<i>Ho</i>	0,850	0,919	0,925	0,900	0,825	0,868	0,825	1,000	0,893	0,800	0,825	0,769	0,750	0,858
<i>He</i>	0,948	0,919	0,949	0,959	0,929	0,934	0,939	0,917	0,936	0,883	0,874	0,802	0,849	0,911
Fis	<b>0,105</b>	0,000	0,026	0,062	<b>0,113</b>	0,071	<b>0,123</b>	-0,094	0,046	0,095	<b>0,118</b>	0,056	0,042	<b>0,069*</b>
<i>p</i> (HW)	0,024	0,000	0,643	0,076	0,028	0,312	0,021	0,733	0,148	0,153	0,318	0,500	0,023	0,000
NA	0,040	0,011	0,013	0,023	0,048	0,030	0,055	0,000	0,023	0,037	0,011	0,020	0,034	-
<b>Ee2-507</b>														
N	40	38	40	40	40	38	57	15	75	45	40	26	39	518
AZ	17,958	18,974	19,329	19,018	18,435	19,329	19,590	21,000	20,060	19,799	17,990	16,151	14,336	19,906
AS	29	32	32	30	29	31	35	21	44	34	29	18	28	68
<i>Ho</i>	0,900	0,895	0,925	0,875	0,850	0,947	0,895	0,933	0,813	0,822	0,825	0,731	0,821	0,864
<i>He</i>	0,957	0,957	0,965	0,964	0,960	0,965	0,968	0,972	0,967	0,967	0,889	0,897	0,941	0,951
Fis	0,060	0,065	0,042	<b>0,094</b>	<b>0,116</b>	0,019	<b>0,076</b>	<b>0,042</b>	<b>0,160</b>	<b>0,151</b>	<b>0,130</b>	0,072	<b>0,188</b>	<b>0,099*</b>
<i>p</i> (HW)	0,227	0,056	0,173	0,019	0,034	0,546	0,047	0,466	0,001	0,000	0,149	0,086	0,034	0,000
NA	0,037	0,037	0,009	0,042	0,050	0,014	0,033	0,000	0,076	0,068	0,035	0,092	0,062	-

Çizelge 4.6 devamı

Lokuslar	Populasyonlar													
	GUR	ARD	TRA	PER	FAT	TER	ZON	İST	BAN	KUS	ANT	MER	İSK	Tümü
<b>Ee2-407</b>														
N	40	39	40	40	40	40	59	15	75	45	40	28	40	541
AZ	13,358	8,352	9,392	12,463	9,993	10,999	9,285	13,000	11,772	13,013	10,886	9,385	10,157	12,167
AS	20	12	16	21	16	18	16	13	29	24	15	13	18	53
<i>Ho</i>	0,800	0,667	0,775	0,825	0,675	0,675	0,814	0,867	0,680	0,667	0,700	0,750	0,800	0,746
<i>He</i>	0,883	0,816	0,837	0,883	0,837	0,870	0,843	0,910	0,868	0,839	0,761	0,832	0,771	0,842
Fis	0,095	<b>0,185</b>	0,075	0,066	<b>0,196</b>	<b>0,226</b>	0,036	0,050	<b>0,218</b>	<b>0,207</b>	-0,038	0,081	0,100	<b>0,126*</b>
<i>p</i> (HW)	0,035	0,000	0,220	0,008	0,000	0,003	0,000	0,091	0,000	0,040	0,398	0,128	0,021	0,000
NA	0,040	0,093	0,036	0,052	0,097	0,106	0,047	0,033	0,089	0,095	0,034	0,028	0,011	-
<b>Ee2-135</b>														
N	39	39	40	39	40	40	59	15	75	45	40	28	40	539
AZ	10,958	10,118	8,639	9,529	10,131	11,257	13,828	13,000	13,838	10,120	8,193	7,246	8,803	13,128
AS	18	15	12	12	14	16	21	13	22	14	8	11	9	28
<i>Ho</i>	0,718	0,744	0,725	0,795	0,775	0,675	0,847	0,867	0,840	0,844	0,775	0,750	0,750	0,777
<i>He</i>	0,874	0,844	0,851	0,879	0,867	0,878	0,930	0,926	0,930	0,885	0,853	0,842	0,856	0,878
Fis	<b>0,181</b>	0,120	<b>0,150</b>	0,097	0,107	<b>0,234</b>	<b>0,089</b>	0,067	<b>0,097</b>	0,046	0,126	0,093	0,111	<b>0,116*</b>
<i>p</i> (HW)	0,022	0,105	0,186	0,049	0,050	0,001	0,010	0,689	0,000	0,279	0,069	0,737	0,490	0,000
NA	0,077	0,056	0,077	0,050	0,019	0,128	0,046	0,024	0,052	0,018	0,038	0,033	0,044	-

Çizelge 4.6 devamı

Lokuslar	Populasyonlar													
	GUR	ARD	TRA	PER	FAT	TER	ZON	İST	BAN	KUS	ANT	MER	İSK	Tümü
<b>Ee2-477</b>														
N	39	39	39	38	40	40	59	15	75	45	40	28	40	537
AZ	11,179	10,745	10,343	13,254	12,103	11,598	10,761	15,000	11,693	12,023	7,258	7,765	8,976	12,783
AS	16	17	16	18	19	18	17	15	19	19	11	12	9	36
<i>Ho</i>	0,718	0,795	0,821	0,737	0,675	0,675	0,661	0,733	0,747	0,600	0,725	0,607	0,650	0,703
<i>He</i>	0,857	0,852	0,852	0,914	0,884	0,873	0,877	0,922	0,897	0,892	0,840	0,823	0,822	0,870
Fis	<b>0,165</b>	0,068	0,038	<b>0,196</b>	<b>0,239</b>	<b>0,229</b>	<b>0,248</b>	<b>0,210</b>	<b>0,168</b>	<b>0,330</b>	<b>0,211</b>	<b>0,138</b>	<b>0,266</b>	<b>0,195*</b>
<i>p</i> (HW)	0,006	0,000	0,641	0,029	0,001	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,133	0,068	0,265	0,000
NA	0,075	0,061	0,031	0,084	0,104	0,090	0,118	0,084	0,063	0,144	0,056	0,110	0,080	-
<b>Ee2-91b</b>														
N	40	39	40	40	40	40	59	15	74	45	40	28	40	540
AZ	6,136	10,361	7,034	8,707	9,270	8,466	7,030	11,000	9,543	9,760	6,734	5,974	7,875	8,881
AS	7	14	9	11	12	14	11	11	17	13	7	9	9	22
<i>Ho</i>	0,800	0,846	0,750	0,725	0,700	0,925	0,881	0,867	0,784	0,778	0,750	0,857	0,800	0,805
<i>He</i>	0,808	0,894	0,812	0,863	0,867	0,836	0,824	0,880	0,860	0,873	0,796	0,821	0,800	0,841
Fis	0,010	0,055	0,077	<b>0,162</b>	<b>0,195</b>	-0,108	-0,070	0,016	<b>0,089</b>	<b>0,110</b>	0,000	0,058	-0,045	<b>0,047</b>
<i>p</i> (HW)	0,849	0,000	0,343	0,012	0,001	0,069	0,044	0,658	0,008	0,008	0,382	0,233	0,816	0,0005
NA	0,000	0,020	0,022	0,078	0,080	0,000	0,000	0,000	0,050	0,040	0,028	0,004	0,000	-

Çizelge 4.6 devamı

Lokuslar	Populasyonlar													
	GUR	ARD	TRA	PER	FAT	TER	ZON	İST	BAN	KUS	ANT	MER	İSK	Tümü
<b>Ee2-165b</b>														
N	40	39	40	40	40	40	59	15	74	45	40	28	40	540
AZ	3,766	3,961	4,436	4,125	4,679	4,304	3,612	4,000	3,866	3,840	3,958	3,368	3,918	4,007
AS	4	5	5	5	6	5	5	4	4	5	4	4	4	6
Ho	0,575	0,667	0,500	0,525	0,725	0,575	0,508	0,800	0,568	0,622	0,525	0,357	0,575	0,579
He	0,558	0,558	0,547	0,523	0,610	0,621	0,516	0,655	0,561	0,575	0,474	0,506	0,597	0,562
Fis	-0,031	-0,198	0,087	-0,004	-0,191	0,074	0,014	-0,231	-0,012	-0,084	0,037	-0,110	<b>0,299</b>	-0,025
p (HW)	0,113	0,188	0,345	0,505	0,939	0,514	0,668	0,007	0,115	0,729	0,115	0,030	0,091	0,1457
NA	0,000	0,000	0,044	0,009	0,000	0,033	0,022	0,022	0,015	0,000	0,000	0,109	0,031	-
<b>Tümü</b>														
AS	15,231	15,385	17,154	17,154	16,538	16,231	18,452	11,000	22,769	17,385	12,692	11,385	13,462	
Ho	0,701	0,745	0,721	0,721	0,694	0,673	0,705	0,733	0,697	0,687	0,662	0,612	0,679	-
He	0,814	0,806	0,817	0,834	0,819	0,827	0,821	0,816	0,833	0,823	0,778	0,774	0,794	-
Fis	<b>0,141</b>	<b>0,077</b>	<b>0,119</b>	<b>0,137</b>	<b>0,154</b>	<b>0,188</b>	<b>0,142</b>	<b>0,105</b>	<b>0,164</b>	<b>0,167</b>	<b>0,146</b>	<b>0,151</b>	<b>0,212</b>	<b>0,149</b>
p	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,00010
PA	0,462	0,846	1,000	0,692	0,462	0,308	0,923	0,154	1,769	0,769	0,308	0,462	0,538	

N, Örneklem büyüklüğü; AZ, Alelik Zenginlik; AS, Alel Sayısı; Ho, Gözlenen Heterozigotluk; He, Beklenen Heterozigotluk; NA, Null Aleller; PA, Özgül Aleller, p, Hardy-Weinberg p değeri; Koyu rakamlar p<0,05; \* p<0,001.

Çizelge 4.7. Mikrosatellit DNA analizi sonucunda populasyonlar arasındaki gen akışı (Nm) (Alt diyagonal  $R_{ST}$ , Üst diyagonal  $F_{ST}$  değerleri kullanılarak hesaplandı)

	GÜR	ARD	TRA	PER	FAT	TER	ZON	İST	BAN	KUS	ANT	MER	İSK
GÜR		299,32	259,73	514,04	577,94	-	457,71	325,21	420,75	242,84	66,94	67,66	85,79
ARD	273,89		208,25	325,21	570,07	264,74	312,91	233,18	284,87	254,90	60,83	60,44	77,32
TRA	240,28	200,18		2356,86	335,75	280,98	305,97	233,18	254,90	159,84	58,25	65,31	72,19
PER	426,35	296,53	1253,15		782,79	845,75	630,08	229,27	473,28	225,48	63,21	70,57	78,76
FAT	461,25	477,61	299,76	600,30		1007,65	533,72	288,85	484,26	279,08	61,13	64,74	81,26
TER	-	232,39	253,64	621,67	683,45		484,26	248,73	396,69	226,73	61,74	68,77	82,31
ZON	396,32	280,98	284,47	529,67	448,36	389,63		290,89	1843,58	301,51	88,95	93,00	120,75
İST	263,21	208,78	204,49	192,05	236,00	197,08	237,36		1630,37	2232,59	91,69	97,18	131,10
BAN	370,20	263,38	234,25	413,24	410,79	344,11	1179,59	710,04		611,69	121,49	131,53	178,94
KUS	222,42	237,23	151,83	209,64	251,93	203,88	274,44	723,49	507,80		126,52	125,32	185,48
ANT	64,96	59,23	56,91	61,44	59,38	59,18	85,62	85,41	115,00	118,87		1032,34	-
MER	66,82	59,01	65,13	69,48	63,87	64,99	91,56	87,72	130,76	117,39	758,77		10620,75
İSK	82,97	74,92	70,13	76,27	78,52	77,97	114,76	118,12	167,68	169,29	42495,75	1945,29	

Çizelge 4.8. Lokaliteler arasındaki genetik uzaklık karşılaştırması (Alt diyagonal  $R_{ST}$ , üst diyagonal  $F_{ST}$  değerleridir)

	GÜR	ARD	TRA	PER	FAT	TER	ZON	İST	BAN	KUS	ANT	MER	İSK
GÜR		<u>0,0140**</u>	<u>0,0161**</u>	<u>0,0082**</u>	0,0073	-0,0022	<u>0,0092**</u>	<u>0,0129*</u>	<u>0,0100**</u>	<u>0,0172**</u>	<u>0,0597**</u>	<u>0,0591**</u>	<u>0,0472**</u>
ARD	0,01528		<u>0,0200**</u>	<u>0,0129**</u>	0,0074	<u>0,0158**</u>	<u>0,0134**</u>	<u>0,0179*</u>	<u>0,0147**</u>	<u>0,0164**</u>	<u>0,0653**</u>	<u>0,0657**</u>	<u>0,0521**</u>
TRA	0,01738	0,02079		0,0018	<u>0,0125**</u>	<u>0,0149**</u>	<u>0,0137**</u>	<u>0,0179**</u>	<u>0,0164**</u>	<u>0,0259**</u>	<u>0,0680**</u>	<u>0,0611**</u>	<u>0,0556**</u>
PER	0,00987	0,01413	0,00338		0,0054	0,0050	<u>0,0067**</u>	<u>0,0182*</u>	<u>0,0089**</u>	<u>0,0185**</u>	<u>0,0630**</u>	<u>0,0568**</u>	<u>0,0512**</u>
FAT	0,00913	0,00882	0,01398	0,00703		0,0042	<u>0,0079**</u>	0,0145	<u>0,0087**</u>	<u>0,0150**</u>	<u>0,0650**</u>	<u>0,0616**</u>	<u>0,0497**</u>
TER	-0,00041	0,01796	0,01648	0,00679	0,00618		<u>0,0087**</u>	<u>0,0168**</u>	<u>0,0106**</u>	<u>0,0184**</u>	<u>0,0644**</u>	<u>0,0582**</u>	<u>0,0491**</u>
ZON	0,01061	0,01490	0,01472	0,00796	0,00939	0,01079		<u>0,0144**</u>	0,0023	<u>0,0139**</u>	<u>0,0456**</u>	<u>0,0437**</u>	<u>0,0340**</u>
İST	0,01589	0,01995	0,02036	0,02165	0,01769	0,02111	0,01759		0,0026	0,0019	<u>0,0443**</u>	<u>0,0419**</u>	<u>0,0314**</u>
BAN	0,01135	0,01588	0,01782	0,01018	0,01024	0,01220	0,00359	0,00595		<u>0,0069**</u>	<u>0,0338**</u>	<u>0,0313**</u>	<u>0,0232**</u>
KUS	0,01875	0,01760	0,02723	0,01987	0,01659	0,02042	0,01525	0,00584	0,00830		<u>0,0325**</u>	<u>0,0328**</u>	<u>0,0224**</u>
ANT	0,06141	0,06695	0,06949	0,06470	0,06679	0,06700	0,04729	0,04740	0,03564	0,03452		0,0041	-0,0019
MER	0,05980	0,06718	0,06126	0,05764	0,06239	0,06138	0,04436	0,04621	0,03148	0,03494	0,00557		0,0004
İSK	0,04873	0,05368	0,05714	0,05278	0,05135	0,05169	0,03571	0,03473	0,02472	0,02449	0,00010	0,00218	

Koyu rakamlar  $p < 0.05$ , Altı çizili rakamlar  $p < 0.001$ ; \* Bonferroni doğrulaması sonrasında  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.001$

Çizelge 4.9. Hamsi populasyonlarının FreeNA programı ile hesaplanmış  $F_{ST}$  değerleri

	GÜR	ARD	TRA	PER	FAT	TER	ZON	İST	BAN	KUS	ANT	MER	İSK
GÜR		0,0142	0,0157	0,0086	0,0081	-0,0012	0,0106	0,0127	0,0095	0,0169	0,0578	0,0545	0,0460
ARD	0,0140		0,0201	0,0125	0,0074	0,0175	0,0149	0,0179	0,0155	0,0165	0,0644	0,0617	0,0518
TRA	0,0159	0,0199		0,0019	0,0127	0,0159	0,0137	0,0184	0,0170	0,0253	0,0665	0,0574	0,0544
PER	0,0081	0,0128	0,0018		0,0047	0,0046	0,0066	0,0184	0,0092	0,0175	0,0619	0,0537	0,0500
FAT	0,0073	0,0074	0,0124	0,0053		0,0055	0,0086	0,0145	0,0081	0,0151	0,0638	0,0578	0,0486
TER	-0,0022	0,0160	0,0149	0,0049	0,0042		0,0096	0,0185	0,0105	0,0183	0,0624	0,0540	0,0483
ZON	0,0093	0,0135	0,0136	0,0066	0,0079	0,0088		0,0163	0,0041	0,0141	0,0442	0,0391	0,0329
İST	0,0129	0,0179	0,0178	0,0183	0,0145	0,0168	0,0144		0,0038	0,0032	0,0442	0,0400	0,0310
BAN	0,0100	0,0147	0,0164	0,0088	0,0087	0,0107	0,0023	0,0026		0,0072	0,0334	0,0281	0,0228
KUS	0,0172	0,0164	0,0259	0,0185	0,0150	0,0185	0,0140	0,0019	0,0070		0,0316	0,0307	0,0225
ANT	0,0597	0,0654	0,0679	0,0629	0,0650	0,0646	0,0456	0,0443	0,0338	0,0326		0,0058	-0,0010
MER	0,0592	0,0661	0,0612	0,0569	0,0618	0,0586	0,0436	0,0420	0,0312	0,0331	0,0042		0,0011
İSK	0,0471	0,0522	0,0557	0,0512	0,0497	0,0494	0,0341	0,0314	0,0232	0,0225	-0,0019	0,0005	

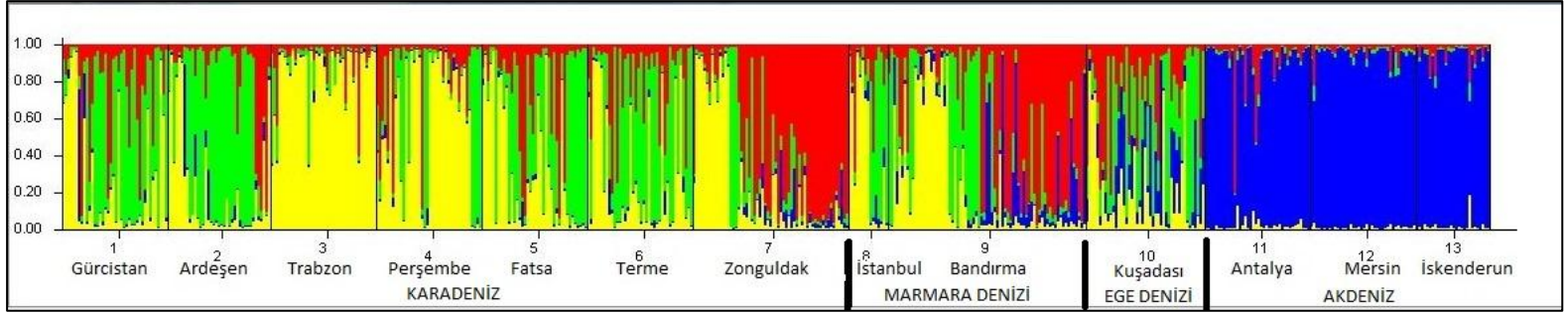
(Alt diyagonal null alel doğrulaması yapılmamış  $F_{ST}$  değerleri, üst diyagonal ENA null alel doğrulaması yapılmış  $F_{ST}$  değerleridir.)

Çizelge 4.10. AMOVA analizinde alternatif gruplandırmalar yapılarak hesaplanmış fiksasyon indeksleri

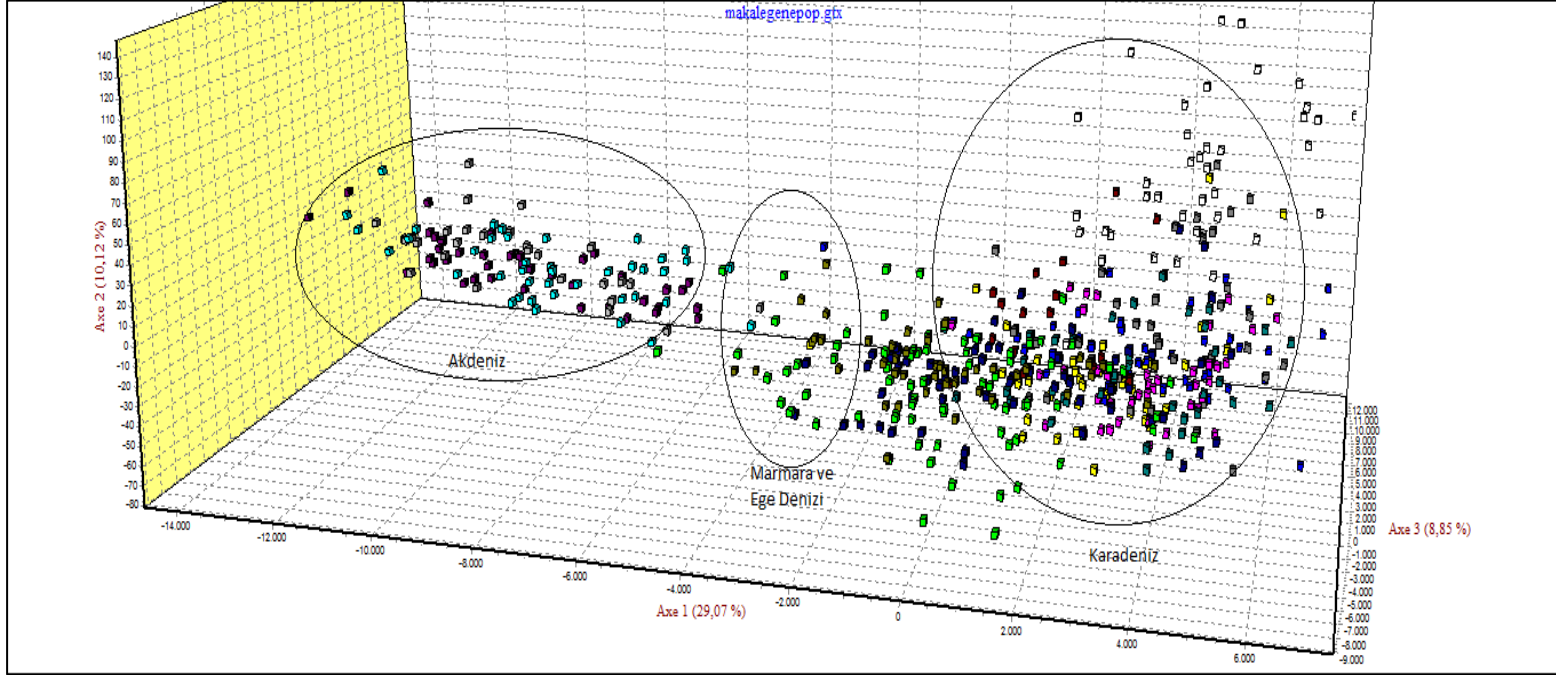
Gruplandırma		Va	Vb	F <sub>ST</sub>	F <sub>SC</sub>	F <sub>CT</sub>
1.GÜR, ARD, TRA, PER, FAT, TER, ZON, İST, BAN / KUŞ / ANT, MER, İSK	IAM (FST)	3,13	0,98	<b>0,04110*</b>	<b>0,01010*</b>	<b>0,03132</b>
	SMM (RST)	7,06	0,53	<b>0,07588*</b>	0,00571	<b>0,07057*</b>
2.GÜR, ARD, TRA, PER, FAT, TER, ZON / İST, BAN, KUŞ / ANT, MER, İSK	IAM (FST)	2,50	0,87	<b>0,03376*</b>	<b>0,00897*</b>	<b>0,02501*</b>
	SMM (RST)	4,71	0,94	<b>0,05648*</b>	<b>0,00984</b>	<b>0,04710</b>
3.GÜR, ARD, TRA, PER, FAT, TER, ZON / İST, BAN, KUŞ, ANT, MER, İSK	IAM (FST)	1,74	1,56	<b>0,03300*</b>	<b>0,01589*</b>	<b>0,01739*</b>
	SMM (RST)	3,02	2,37	<b>0,05397*</b>	<b>0,02447*</b>	<b>0,03025</b>
4.ARD / KUŞ, İST / İSK, MER, ANT / BAN, ZON, TER, FAT, PER, TRA, GÜR	IAM (FST)	2,74	0,82	<b>0,03552*</b>	<b>0,00839*</b>	<b>0,02736*</b>
	SMM (RST)	5,79	0,42	<b>0,06210*</b>	0,00449	<b>0,05787*</b>

Koyu rakamlar  $p < 0.05$ , \*  $p < 0.001$ ; F<sub>ST</sub>, Populasyon içi; F<sub>SC</sub>, Grup içi Populasyonlar Arası; F<sub>CT</sub>, Gruplar arası; Va, Gruplar arası Varyasyon Yüzdesi; Vb, Grup içi Populasyonlar arası Varyasyon Yüzdesi



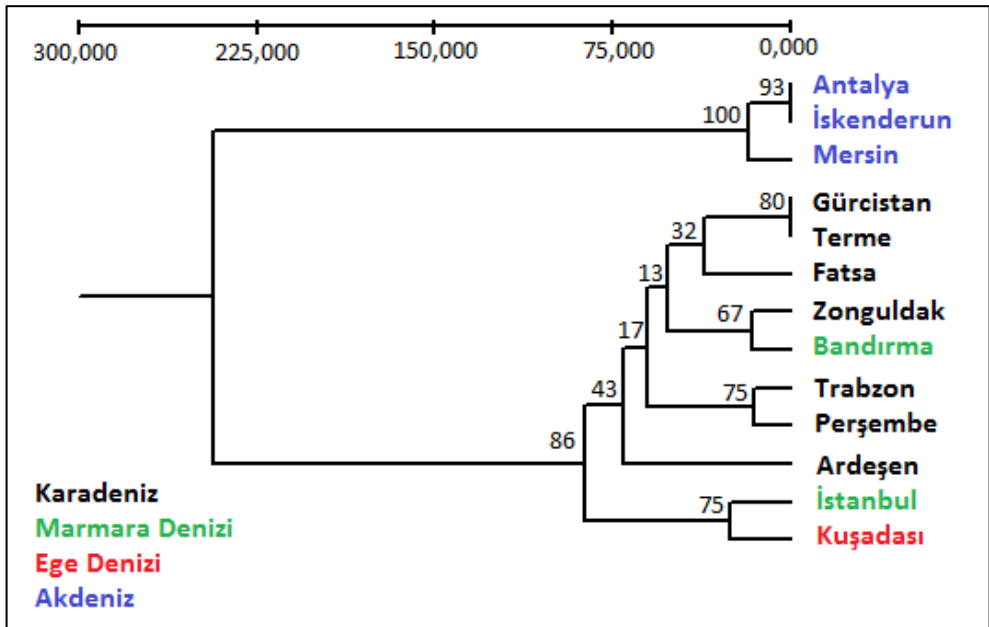


Şekil 4.4. Türkiye denizlerinde yayılış gösteren hamsi populasyonlarında mikrosatellit analizi sonucu elde edilen populasyon yapılanması



Şekil 4.5. On üç lokaliteden örneklenen 541 birey arasındaki ilişkiyi gösteren FCA (Factorial correspondence analyses) sonuçları. Mor, Antalya; Açık Gri, Mersin; Koyu Gri, Perşembe; Koyu Yeşil, Kuşadası; Açık Yeşil; Bandırma; Bordo, İstanbul; Lacivert, Zonguldak; Sarı, Gürcistan; Mavi Ardeşen; Açık mavi İskenderun; Beyaz, Trabzon; Pembe, Fatsa; Petrol Mavis, Terme

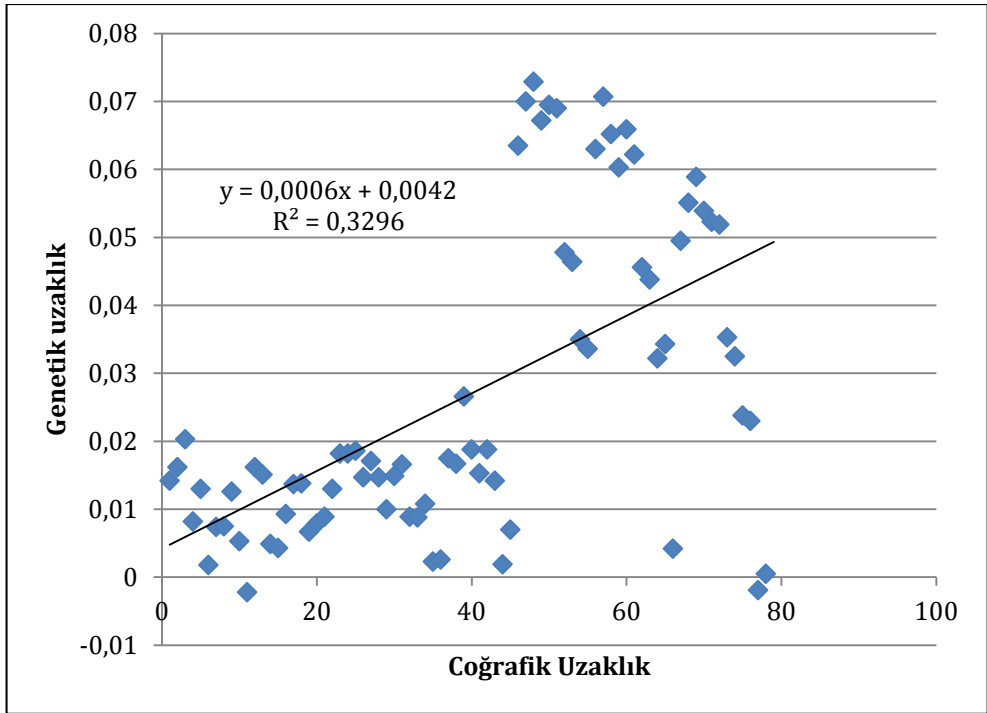
Nei'nin (1978) genetik uzaklık metoduna dayalı olarak oluşturulmuş UPGMA ağacı, Marmara, Ege ve Karadeniz popülasyonlarını bir klad olarak, Akdeniz popülasyonlarını ayrı bir klad olduğunu göstermiştir. Bu durum tarihi bir dönemde Ege popülasyonlarının Akdeniz'e nazaran, Marmara ve Karadeniz popülasyonlarına daha yakın olduklarına işaret etmektedir (Şekil 4.6). Geneclast programıyla frekansa dayalı metot (Paetkau vd., 1995) ve Paetkau vd. (2004) simülasyon algoritması kullanılarak birinci nesil göçmen birey sayısı hesaplandı. Analiz sonucunda Ege popülasyonlarının hem Karadeniz hem de Akdeniz lokaliteleri arasında bir gen akışı olduğunu doğrulamıştır (Çizelge 4.11).



Şekil 4.6. Nei (1978) uzaklık metoduna dayalı olarak çizilmiş UPGMA ağacı (Bootstrap 10000)

Çizelge 4.11. Hamsi populasyonları arasında Genececlass programıyla saptanan göç sayıları

Potansiyel Kaynak populasyon (Göçmen sayısı)	Genececlass çıkarsamasıyla saptanan göç alan yerli populasyon	Birinci nesil (F0) göçmen birey sayısı
Trabzon (3)	Gürcistan	3
Zonguldak (1)	Ardeşen	
Fatsa (1)	Ardeşen	3
İskenderun (1)	Ardeşen	
İstanbul (1)	Trabzon	
Gürcistan (2)	Trabzon	5
Perşembe (1)	Trabzon	
Fatsa (1)	Trabzon	
Terme (1)	Perşembe	
Ardeşen (1)	Perşembe	3
Gürcistan (1)	Perşembe	
Kuşadası (1)	Fatsa	
Terme (1)	Fatsa	3
Gürcistan (1)	Fatsa	
Ardeşen (2)	Terme	
Perşembe (1)	Terme	5
Fatsa (1)	Terme	
Gürcistan (1)	Terme	
Trabzon(3)	Zonguldak	
Gürcistan (1)	Zonguldak	6
Terme (1)	Zonguldak	
Fatsa (1)	Zonguldak	
Trabzon (2)	İstanbul	3
Ardeşen (1)	İstanbul	
İstanbul (2)	Bandırma	
Perşembe (1)	Bandırma	6
Kuşadası (2)	Bandırma	
Antalya (1)	Bandırma	
İstanbul (1)	Kuşadası	
Fatsa (1)	Kuşadası	3
Terme (1)	Kuşadası	
Mersin (1)	Antalya	3
İskenderun (2)	Antalya	
Kuşadası (1)	Mersin	1
Antalya (1)	İskenderun	1
Toplam		45



Şekil 4.7. Genetik uzaklık ( $F_{ST} / (1-F_{ST})$ ) ve coğrafik uzaklık (km) arasındaki ilişkinin grafiği

Mantel test sonucunda lokaliteler arasındaki mesafe ile genetik uzaklık arasında bir korelasyon olduğu saptandı ( $p < 0,05$ ;  $r = 0,5741$ ) (Şekil 4.7).

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Tez çalışması kapsamında hamsi balığının genetik çeşitliliği Türkiye denizlerinde ilk kez mtDNA kontrol bölgesi ve mikrosatellit lokusları kullanılarak değerlendirilmiştir. Mitokondriyal DNA analizleri sonucunda hamsi popülasyonlarında genetik çeşitlilik oldukça yüksek bulunmuştur. İncelenen 383 örnekte 316 haplotip olduğu saptanmış ve haplotip çeşitliliğinin 0,98701 ve 1,0000 değerleri ile lokaliteler arasında benzer olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuçlar Atlantik ve Batı Akdeniz (Güney Ege, Yunanistan kıyıları) hamsilerinin genetik çeşitliliği ile örtüşmektedir (Vinas vd. 2013). Vinas vd. (2013) inceledikleri 563 bireyde, 419 haplotip olduğunu ve ortalama haplotip çeşitliliğinin 0,996, nükleotid çeşitliliğinin ise 0,031 olduğunu belirtmişlerdir. Çeşitlilik değerleri karşılaştırıldığında Türkiye denizlerinde Atlantik ve Batı Akdeniz hamsilerine oranla ortalama haplotip çeşitliliği benzer bulunmuşken ( $h$ ; 0,997), nükleotid çeşitliliğinin ise daha az olduğu ( $\pi$ ; 0,007) saptanmıştır (Çizelge 5.1). Vinas vd. (2013)'nin yaptığı bu çalışmada haplotip dağılımlarının coğrafik dağılımla bir ilişkisi olmadığı saptanmıştır. Aynı şekilde Türkiye'deki haplotip frekanslarının dağılımları lokaliteler arasında heterojen bir örüntü sergilemektedir.

Çizelge 5.1. Batı Atlantik Okyanusu, Akdeniz, Ege Denizi ve Karadeniz'de hamsi balığında mtDNA kontrol bölgesi haplotip ve nükleotid çeşitliliği

	Mevcut tez çalışması	Vinas vd., 2013
Coğrafik Bölge	Kuzey Doğu Akdeniz, Ege Denizi, Karadeniz	Batı Atlantik Okyanusu, Batı Akdeniz, Güney Ege Denizi
Kontrol bölgesi uzunluğu (bç)	1036	400
Çalışılan birey sayısı	383	563
Haplotip sayısı	316	419
Haplotip çeşitliliği	0,996	0,997
Nükleotid çeşitliliği	0,007	0,031

Türkiye ve Atlantik-Batı Akdeniz örneklerinin mtDNA kontrol bölgesi dizileri (400 bç) birlikte hizalanmış ve paylaşılan haplotipler belirlenmiştir (Vinas vd., 2013; UID: 387178092 ve UID: 316990521 no'lu popülasyon veri setleri kullanıldı). 400 bç DNA dizisinde, 42 adet haplotipin paylaşıldığı saptanmıştır

(Sites with alignment gaps / missing; not considered). Akdeniz ve Karadeniz hamsileri üzerinde yapılan diğer bir çalışmada mtDNA–RFLP metodu sonucunda nükleotid çeşitliliği en yüksek Batı Akdeniz’de ( $\pi$ ; 0,016750), onu takiben Ege Denizi’nde ( $\pi$ ; 0,010177) ve en düşük Karadeniz’de ( $\pi$ ; 0,001838) saptamışlardır (Magoulas vd., 2006). Gerçekleştirilen bu tez çalışmasında ise nükleotid çeşitliliği en yüksek Ege Denizi’nde ( $\pi$ ; 0,01124), onu takiben Doğu Akdeniz ( $\pi$ ; 0,007755) ve en düşük Karadeniz’de ( $\pi$ ; 0,00698) bulunmuştur. Bu bulgular Karadeniz’in hamsi stoğunun büyük olmasına rağmen yapılan aşırı avcılık faaliyetlerinin, balığın genetik çeşitliliğinin azalmasında etkili olabileceğini düşündürmektedir.

Mevcut tez çalışmasında ve Vinas vd. (2013)’nin yaptıkları çalışmada hamsi balığında haplotip çeşitliliğinin 1,00 değerine yakın olduğu görülmektedir. Farklı pelajik türler göz önüne alındığında, haplotip çeşitliliğinin pelajik türlerde benzer olduğu söylenebilir ( Çizelge 5.2).

Çizelge 5.2. Farklı pelajik türlerde mtDNA kontrol bölgesi haplotip ve nükleotid çeşitlilik değerleri

Tür	<i>h</i>	$\pi$	Coğrafik Bölge	Referans
<i>E. encrasicolus</i>	0,996	0,007	Türkiye Denizleri	Mevcut tez çalışması
<i>Sprattus sprattus</i>	0,924	-	Atlantik, Akdeniz	Limborg vd., 2012
<i>Thunnus thynnus thynnus</i>	0,991	0,015	Akdeniz	Carlsson vd., 2004
<i>Sardinops sagax</i>	1,00	0,02	Güney Afrika	Grant ve Bowen, 1998
<i>S. sagax</i>	1,00	0,02	Avusturalya	Grant ve Bowen, 1998
<i>S. sagax</i>	1,00	0,03	Şili	Grant ve Bowen, 1998
<i>S. sagax</i>	1,00	0,03	Kaliforniya	Grant ve Bowen, 1998
<i>S. sagax</i>	0,96	0,01	Japonya	Grant ve Bowen, 1998
<i>Sarda sarda</i>	0,993	0,063	Akdeniz	Vinas vd., 2004

*h*, Haplotip çeşitliliği;  $\pi$ , nükleotid çeşitliliği

Türkiye denizlerinde yapılan bir çalışmada mtDNA COI bölgesi analiz edilmiştir (Keskin ve Atar, 2012). Çalışma sonucunda 1529 örnekte 10 haplotip saptanmıştır. mtDNA COI bölgesi kodlama yapan bir gen bölgesi olduğundan dolayı kontrol bölgesine göre daha korunmuş bir bölgedir. Bu nedenle günümüzde barkotlama amacıyla kullanılmaktadır. Tüm dünyadan araştırmacılar türlerin moleküler olarak tanımlanmasını sağlayan bu gen bölgesinin türe özgü dizi verilerini kataloglayarak bir veri bankası oluşturmaktadırlar. Korunmuş bir bölge olmasından dolayı genetik çeşitlilik ve haplotip sayısı, şuan ki çalışmamıza göre oldukça düşük çıkmıştır.

Türkiye denizlerindeki hamsi balığının mikrosatellit lokuslarının genotipik verileri de, mtDNA kontrol bölgesi gibi yüksek bir genetik çeşitlilik olduğunu göstermektedir. Genetik çeşitliliğin bir göstergesi olan alel sayıları değerlendirildiğinde, çalışma alanımızda yayılış gösteren hamsilerin genetik çeşitliliğinin yüksek olduğu bulunmuştur. Diğer denizlerle (Batı Akdeniz ve Atlantik Okyanusu) karşılaştırma yapıldığında, çoğu lokus için alel sayılarının daha yüksek olduğu görülmektedir (Çizelge 5.3).

Çizelge 5.3. Atlantik, Adriyatik, İyonya, Lyon Körfezi, Mersin ve bu çalışmaya dahil edilen lokalitelerde incelenen mikrosatellit lokuslarının alel büyüklükleri ve alel sayıları

Lokus	Mevcut Çalışma	<sup>a</sup> Adriyatik	<sup>b</sup> Atlantik, İyonya	<sup>c</sup> Atlantik, Adriyatik	<sup>d</sup> Mersin	<sup>e</sup> -	<sup>f</sup> Atlantik, Lyon
Ee2	238-288 " 29	244-278 "14	-	-	-	210-284 "25	"63
Ee10	202-278 " 48	190-270 "27	-	169-279 "36	200-268	176-272 "25	"34
Ee2-483b	167-246 "27	169-237 "14	190-241 "15	195-240 "15	-	-	-
Ee2-508	154-191 " 24	154-191 "14	159-192 "13	153-192 "14	154-199	-	-
Ee2-91a	218-291 "28	244-283 "16	205-256 "13	-	250-292	-	-
Ee5-376	162-265 "75	168-268 "43	172-258 "28	-	-	-	-
Ee2-452a	250-306 "49	254-290 "19	251-305 "22	253-301 "24	250-298	-	-
Ee2-507	240-366 " 68	231-358 "43	244-384 "28	241-385 "34	-	-	-
Ee2-407	141-230 " 53	147-197 "20	136-264 "20	-	136-196	-	-
Ee2-135	110-162 "28	110-160 "16	110-165 "10	110-163 "13	110-165	-	-
Ee2-477	211-336 " 36	196-332 "15	212-336 "23	212-335 "15	-	-	-
Ee2-91b	111-157 "22	107-167 "11	113-158 "10	106-177 "13	115-170	-	-
Ee2-165b	180-199 "6	187-206 "7	181-202 "8	-	-	-	-

a, Turan vd., baskıda (*Acta Adriatica*); b, Pakaki vd., 2009; c, Borrell vd., 2012; d, Karahan vd., 2014; e, Landi vd., 2005; f, Zarraonaindia vd., 2009

Ancak bu durumun örneklem büyüklüğü farklılığından kaynaklanması kuvvetle muhtemeldir. Ortalama gözlenen heterozigotluk değerleri çalışmamızda 0,612-



0,745 değerleri arasında saptanmış iken, Atlantik ve İyonya Denizi'ni temsil eden 100 örnek (Pakaki vd., 2009) için bu değerler 0,440-0,920 arasında olduğu bildirilmiştir. Çalışmamızda Ee2 ve Ee10 lokuslarının gözlenen heterozigotluk değerleri sırasıyla 0,531-0,720 bulunmuşken, Landi vd. (2005) çalışmalarında gözlenen değerlerin 0,58-0,89 olduğunu belirtmişlerdir. Bu lokuslar baz alındığında ülkemiz denizlerindeki grupların genetik çeşitliliğinin daha az olduğu söylenebilir. Karahan vd. (2014) yürüttükleri çalışmalarında Mersin Körfezi'nde bulunan mavi hamsi (*Engraulis encrasicolus*) ve gümüş hamsi (*Engraulis albidus*) gruplarının karşılaştırmasını yapmışlardır. Her iki hamsi türünün lokus başına düşen alel sayıları, mevcut yaptığımız çalışmanın alel sayılarından daha yüksek bulunmuştur. Karahan vd. (2014)'nin Mersin Körfezi'nden 48 bireyle gerçekleştirdikleri çalışmayla, mevcut çalışmamızda ortak olarak kullanılan lokusların (Ee10, Ee2-91a, Ee2-91b, Ee2-135, Ee2-407, Ee2-452a ve Ee2-508) alel sayıları verileri karşılaştırıldığında; Mersin örneklerinin genetik çeşitliliklerinin daha az bulunduğu söylenebilir (Karahan vd., 2014). Çalışmamızda Mersin lokalitesine ait hamsi örnekleri arasında, morfolojik özellikleri ve otolit şekli gibi karakterler dikkate alınmamıştır. Bu çalışmada örneklenen bireyler arasında *E. albidus* türünün moleküler olarak varlığını destekleyen bir kanıt bulunmamaktadır. Ülkemiz denizlerinde yayılış gösteren hamsi balığının mikrosatellit lokuslarının alel büyüklükleri ve alel sayılarının diğer çalışmalarla olan karşılaştırması Çizelge 5.3'de özetlenmiştir.

Bölgelere göre genetik çeşitlilik dereceleri karşılaştırıldığında, mtDNA sonuçlarına göre Karadeniz'de ( $h$ ; 0,9) bu türün haplotip çeşitliliği, Ege Denizi ve Akdeniz'e ( $h$ ; 1,0) nazaran daha düşük bulunmuştur. Nükleotid çeşitliliğinin (ortalama  $\pi$ : 0,007) ise Ege Denizi örneklerine göre düşük ( $\pi$ ; 0,01), Akdeniz'e göre ( $\pi$ ; 0,008) benzer olduğu saptanmıştır.

Mikrosatellit DNA analizi sonucunda, populasyonların alel sayıları değerlendirildiğinde Karadeniz hamsileri Ege Denizi ve Marmara Denizi hamsilerine göre düşük; Akdeniz hamsilerine göre ise yüksek bir genetik çeşitlilik sergilediği gözlemlenmiştir. Akdeniz hamsilerinin genetik olarak Ege Denizi ve Karadeniz hamsilerinden farklı olduğu ve genetik çeşitliliğinin oldukça düşük olduğu belirlenmiştir. Her iki metodda Ege Denizi hamsileri ile karşılaştırıldığında, Karadeniz hamsisinin aşırı avlanma ya da başka ekolojik ve tarihsel nedenlerden dolayı genetik çeşitliliğinin azaldığı sonucuna varılabilir. Her ne kadar Karadeniz hamsi populasyonunun Ege Denizi hamsileriyle karşılaştırıldığında genetik

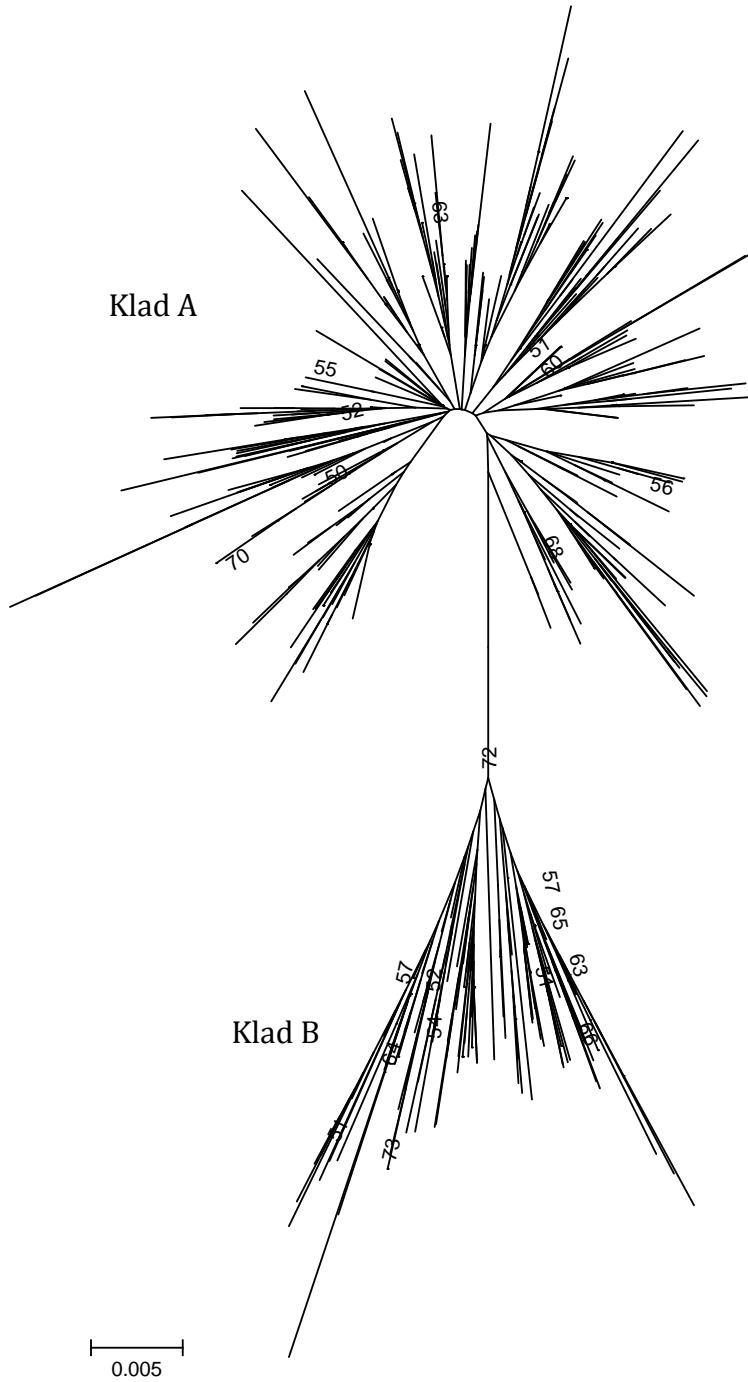
çeşitliliği nispeten düşük ise de, genel olarak genetik çeşitliliğinin yüksek olduğu söylenebilir. Bu sonuçlar Erdoğan vd. (2009)'nin Ege Denizi ve Karadeniz hamsileri üzerine yaptığı çalışmayla da örtüşmektedir. Araştırmacılar allozim analizi sonucunda özellikle Doğu Karadeniz hamsilerinin yüksek genetik varyasyon gösterdiğini saptamışlardır. Karadeniz'deki hamsi balığının, aşırı avcılığa rağmen zengin stoklar oluşturmasını Bingel ve Gücü (2010) hamsinin ekolojik ve biyolojik özelliklerine bağlamışlardır. Hamsinin zooplankton ve fitoplanktonik beslenme diyetinin neticesinde, zengin bir besin kaynağı ile güçlü stoklar oluşabileceği sonucuna varmışlardır.

Çalışmamızda hem mtDNA hem de nDNA kullanılarak lokaliteler arasındaki genetik uzaklık dereceleri hesaplanmıştır. Elde edilen sonuçlar incelendiğinde Akdeniz hamsilerinin ve Karadeniz hamsilerinin birbirinden genetik olarak uzak genetik stoklar olduğu saptanmıştır. Bu sonuçlar Keskin ve Atar (2012)'in yaptıkları çalışma sonucuyla uyuşmaktadır. Tüm Türkiye kıyılarından hamsi örneklemeleri yapılan bu çalışmada, mtDNA COI bölgesi dizilerinin analizi sonucunda ayrıca Ege Denizi hamsilerinin Karadeniz hamsileri ile genetik olarak daha yakın oldukları tespit edilmiştir. Yaptığımız bu çalışmada mtDNA analizi sonuçlarında Ege Denizi hamsileri ile Akdeniz hamsilerinin, mikrosatellit lokuslarının analizinde ise Ege Denizi hamsileri ve Karadeniz hamsilerinin genetik olarak daha yakın olduğu bulunmuştur. Bu durumda; Ege Denizi hamsilerinin farklı tarihsel ve jeolojik oluşumlar süresinde farklı zamanlarda Karadeniz ve Akdeniz ile arasında gen akışı yaşadığı söylenebilir. Her iki moleküler belirteç kullanılarak gerçekleştirilmiş AMOVA analizi sonucunda denizler arasında genetik bir yapılanma olduğu (mtDNA  $F_{ST}$ : 0,0275,  $p < 0,001$ ; Mikrosatellit DNA  $F_{ST}$ : 0,0411,  $p < 0,001$ ;  $R_{ST}$ : 0,0758,  $p < 0,001$ ;) saptanmıştır.

Türkiye denizlerinde yayılış gösteren hamsi balığının, mtDNA kontrol bölgesi dizileri kullanılarak NJ, mikrosatellit belirteçlerinin genotip verileri vasıtasıyla ise UPGMA ağaçları oluşturulmuştur. UPGMA ve NJ filogenetik çıkarımda uzaklığa dayalı metodlardır. İki metod arasında bazı farklılıklar vardır. UPGMA, nükleotid değişimlerinin sabit oranda olduğunu kabul eder. Fenotipik karakterlerin hepsini kabul eder ve meydana gelen ağaca Fenogram adı verilir. NJ ise bir kuşaktan diğerine nükleotid değişimlerinin oranının farklı olduğu prensibine dayanır (Nei ve Kumar, 2000). Bu nedenle bu iki metodun sonuçları birbiriyle uyuşmayabilmektedir. mtDNA kontrol bölgesinin lokaliteler arası genetik uzaklık matrisi kullanılarak oluşturulmuş NJ ağacına göre Ege Denizi ve Akdeniz bir klad;

Karadeniz ve Marmara Denizi ayrı bir klad olarak konumlanmışlardır. Mikrosatellit DNA genotip verileri ile oluşturulan UPGMA ağacında ise Akdeniz ve diğer denizler olacak şekilde iki klad gözlenmiştir. Bu durum, kullanılan farklı uzaklık metodundan dolayı olaşabileceği gibi, her iki ağaçta da aynı lokalitelerin karşılaştırılmaması neticesinde oluşmuş olabilir. Mikrosatellit DNA analizlerinin aksine, mtDNA kontrol bölgesi dizi analizlerine İstanbul ve Mersin lokaliteleri dahil edilmemiştir. Bu lokalitelere ait örneklerin mtDNA analizlerine dahil edilmemelerinin sebebi, kontrol bölgesinin (1220 bç) mikrosatellitlere göre (100-300 bç) daha uzun olması ve de örneklerde oluşan DNA kırılmalarının etkisiyle PCR reaksiyonlarının çalışmamasıdır. İki metod sonrasında farklı sonuçlar elde etmemizdeki diğer bir etmen de kullanmış olduğumuz farklı iki belirtecin özelliklerinden kaynaklanıyor olabilir. Diğer bir deyişle bu sonuçlar mitokondriyal DNA'nın ve mikrosatellit DNA'nın mutasyon hızı ile açıklanabilir. Mitokondriyal DNA çekirdek DNA'ya oranla 2-4 kat daha hızlı evrimleşir (Meyer, 1993). Bu durumda mitokondriyal DNA analiz sonuçları mikrosatellit belirteçlerine nazaran daha yakın bir tarihsel dönemdeki etkileşimleri gözlemlememizi sağladığı söylenebilir.

Hamsi balığının mtDNA kontrol bölgesi dizi verileriyle (haplotip verileri) elde edilen NJ ağacında iki klad olduğu saptanmıştır (Şekil 4.2). Bu sonuç daha önce Atlantik, Batı Akdeniz, Kuzey Karadeniz ve Kuzeybatı Ege hamsileriyle yapılmış çalışmalarla örtüşmektedir (Magoulas vd., 1996; Grant, 2005; Magoulas vd., 2006; Vinas vd., 2013). Bu tez çalışmasında Doğu Akdeniz (Levant Denizi), Doğu Ege Denizi ve Güney Karadeniz hamsilerinin bu iki filogenetik gruptan hangisine dahil olup olmadığını saptanmıştır (Şekil 5.1). Bu amaçla Genbank 387178092 ve 316990521 no'lu populasyon setleri (Vinas vd., 2013) ve bu tez çalışmasında kullanılan mtDNA kontrol bölgesi dizileri birlikte hizalanmış ve köksüz NJ ağacı oluşturulmuştur. Sonuçta, Türkiye denizlerindeki hamsi populasyonlarında saptanan mtDNA haplotiplerinin %97,78'inin A kladına, %2,22'sinin ise B kladına dahil olduğu belirlenmiştir. Bu tez çalışmasına dahil edilen lokalitelere ait örneklerde B kladına dahil olan 7 adet haplotip bulunmaktadır; dört adet Kuşadası bireyi (Ege Denizi), birer adet Ardeşen (Karadeniz), Bandırma (Marmara Denizi) ve Antalya (Akdeniz) bireyleridir. Bu sonuçlar Magoulas vd. (1996), Grant (2005) ve Magoulas vd. (2006) yaptıkları çalışmalarla örtüşmektedir. Magoulas vd. (1996) Biskay Körfezi, Lyon Körfezi, İyonya Denizi, Adriyatik, Ege Denizi ve batı Karadeniz'i temsil eden 8 farklı lokaliteden hamsi örneği toplamışlardır.

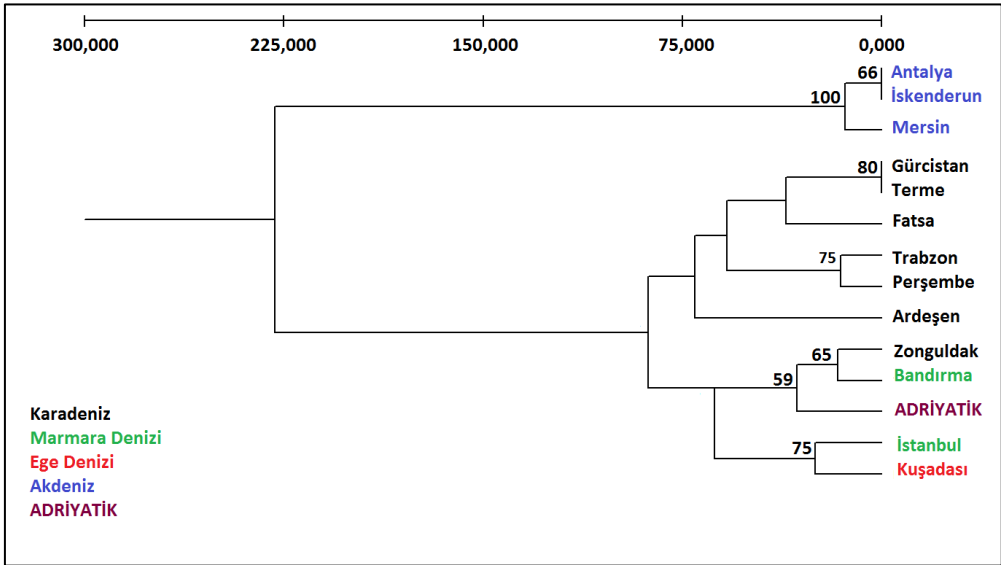


Şekil 5.1. Genbank 387178092 ve 316990521 no'lu populasyon setleri (Vinas vd., 2013) ve bu çalışmada kullanılan dizi verileri ile oluşturulmuş köksüz NJ ağacı (Bootstrap permütasyonu 1000, dal üzerinde %50 ve üzeri dal güvenilirliği mevcuttur)

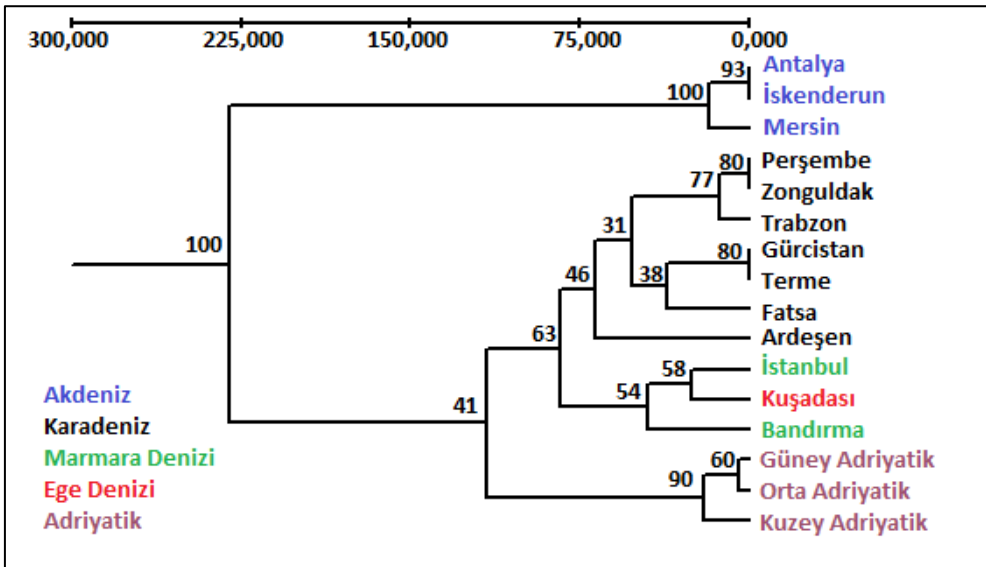
mtDNA-RFLP analizi sonucunda iki farklı filogenetik grup tespit edilmiştir. Karadeniz hamsilerinde Klad A'nın %100 bulunduğunu; Ege Denizi'nde ise %85 sıklıkta bulunduğunu tespit etmişlerdir. Magoulas vd. (2006) Karadeniz'de Ukrayna, Bulgaristan, Gürcistan kıyılarından 3 ve Ege Denizi'nde Yunanistan kıyılarından 4 lokalitenin dahil olduğu toplam 17 farklı lokaliteden (Adriyatik ve Atlantik'te çeşitli bölgelerden) örnekleme yapmışlardır. Çalışma sonucunda Karadeniz'de 228 bireyin 227'sinin Klad A'ya dahil olduğu, Kuzey Ege popülasyonlarının %85, Güney Ege popülasyonlarının %35 oranında A Kladına dahil olduklarını saptamışlardır. Mevcut tez çalışmasında ise Ege popülasyonlarında Klad A %89,5 oranında bulunmaktadır. Akdeniz'de %98,7, Marmara Denizi'nde %97,1 ve Karadeniz'de %99,6 frekanslarında Klad A bulunmaktadır. Araştırmacılar A Kladının yıldız şekilli yapısını yakın zamanda oluşmuş bir darboğaz sonrası, popülasyon büyüklüğünde oluşan genişlemeyle açıklamışlardır (Magoulas vd., 1996; Magoulas vd., 2006). Bilindiği üzere dünya tarihinde canlıların coğrafik yayılışlarını etkileyen döngüsel iklimsel değişimler bulunmaktadır. Pleistosenin son yıllarında günümüzden 120.000 yıl önce başlayan ve 8.000 yıl önce sona erdiği düşünülen bir buzul dönemi mevcuttur. Günümüzden 180.000 yıl önce biten eski bir buzul dönemi daha mevcuttur. Bu iki buzul dönemi arasındaki döneme buzullar arası dönem denmektedir. Eemian adı verilen son ve ondan önceki buzul dönemleri arasındaki buzullar arası dönemin günümüzden 180.000-120.000 yıl önce başlayıp bittiği düşünülmektedir (Demirsoy, 2002). Araştırmacılar son buzul dönemi ve bir önceki buzullar arası dönemin (Eemian) hamsi popülasyonlarının yayılışını ve dolayısıyla genetik yapısını etkilediğini öne sürmüşlerdir. Eemian döneminde denizleri ayıran kara bağlantılarının ortadan kalkması neticesinde Atlantik ve Akdeniz arasında bağlantı oluştuğunu ve her iki Kladın da bu dönemde Atlantik'ten köken alarak Akdeniz'e yayıldığını belirtmişlerdir (Grant, 2005). Son buzul döneminde ise denizler arasında bağlantı sağlayan boğazların kapanması nedeniyle denizler kapalı havza haline gelmiştir. İskandinavya ve Kuzey Avrupa'daki buzul dönemini ifade eden Weichselian plenibuzul dönemde (son buzul dönemi), Klad A'nın Karadeniz'in kapalı havza haline dönüşmesi neticesinde Karadeniz'de izole olarak kaldığı düşünülmektedir (Magoulas vd., 1996). Bu dönemde Karadeniz'in tuzluluğu azalmıştır ve birçok tuzlu su formunun nesli tükenerek, daha çok tatlı su formlarına uygun bir özellik kazanmıştır (Demirsoy, 2002). Hamsi balığı ise tuzluluğa toleransı geniş olan bir balık olduğu için hayatta kalmış fakat popülasyon sayısı azalarak darboğaz geçirmiştir. Bu dönemde popülasyonların uzun süre izole olarak kaldığı

düşünülmektedir (Magoulas vd., 1996). Günümüzde içinde olduğumuz buzullar arası dönemin başında ise Boğazların açılmasıyla, Populasyon büyüklüğünün arttığını ve Ege Denizi ile bağlantı sağlanarak A Kladı Karadeniz'den Ege Denizi ve Akdeniz'e yayılmıştır (Magoulas vd., 1996). Sonraki yıllarda yapılan çalışmalarda ise Klad A'nın Karadeniz kökenli olamayacağı, çünkü buzul döneminde hamsi populasyonlarının hayatta kalamayacağı ileri sürülmüştür (Grant, 2005). Magoulas vd. (2006) örnekleme alanını genişleterek yeniden gerçekleştirdikleri çalışma sonucunda ise Atlantik (Afrika kıyıları) hamsilerinde Klad A hakimiyeti olduğunu saptamışlar. Bu durumda Klad A'nın Karadeniz kökenli olmayabileceği, Atlantik kökenli olabileceğini bildirmişlerdir. Karadeniz'de kurucu etkisiyle bir darboğaz yaşandığı sonucuna varmışlardır. Klad A'ya dahil hamsilerin günümüzden 100.000 yıl önce Atlantik Okyanusundan Akdeniz'e ve Karadeniz'e göç ederek kolonize olduklarını belirtmişlerdir (Magoulas vd., 2006).

Populasyon yapılanmasını daha iyi ortaya koyabilmek için mikrosatellit genotip verileri kullanılarak Adriyatik Denizi örnekleriyle (Turan vd., Acta Adriatica, baskıda) birlikte UPGMA ağacı oluşturulmuştur (Şekil 5.2). Elde edilen ağaç Akdeniz ve diğer denizler olarak iki ana klad taşımaktadır. Bu sonuçlar, bu tez çalışmasında belirlenen lokaliteler arasındaki genetik uzaklığa dayalı olarak oluşturulmuş UPGMA ağacıyla örtüşmektedir (Şekil 4.6). Adriyatik populasyonlarını veri setine katılması sonucunda ikinci klad Doğu-Orta Karadeniz ve Batı Karadeniz, Marmara Denizi, Ege Denizi, Adriyatik Denizi olacak şekilde iki alt klada ayrılmıştır. Elde edilen veriler ışığında Türkiye denizlerinde hamsi populasyonlarının denizler arasında genetik bir yapılanma sergilediği bir kez daha ortaya konmuştur. Adriyatik Denizi hamsilerinin ağaç üzerinde Marmara Denizi (Bandırma) ve Batı Karadeniz (Zonguldak) hamsilerine yakın çıkmasının nedeni örnekleme tarihlerinin farklılığından kaynaklanıyor olabilir. Tablo 3.1'de görüldüğü gibi Zonguldak ve Bandırma'dan farklı yıllarda iki defa örnekleme yapılmıştır. İlk yıl örneklenen hamsiler, ikinci yıl örneklenen hamsilere göre farklı bir genetik yapı sergilemektedir. Şekil 4.4'de belirtilen Structure grafiğinde bu genetik farklılık gözlemlenebilir. Zonguldak ve Bandırma'dan ikinci yıl örneklenen hamsilerin genetiği kırmızı ile belirtilen farklı bir genetik yapı sergilemektedir. Bu nedenle ilk yıl ve ikinci yıl örneklenen bu hamsilere ait genotip verileri, veri setinde ayrılarak iki farklı girdi dosyası oluşturuldu. Bu dosyalar kullanılarak iki farklı UPGMA ağacı elde edildi (Şekil 5.3 ve 5.4).

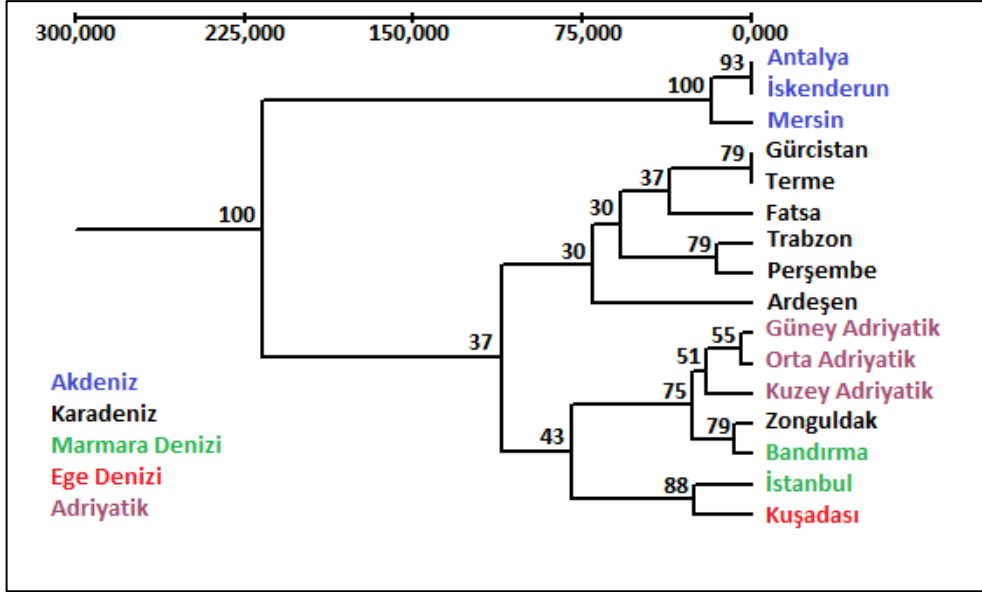


Şekil 5.2. Adriyatik (Turan vd., Acta Adriatica, baskıda) ve Türkiye denizlerinde yayılış gösteren hamsilerin mikrosatellit genotip verileri kullanılarak, Nei (1978) uzaklık metoduna dayalı olarak çizilmiş UPGMA ağacı (Bootstrap 10000, %50 ve üzeri)



Şekil 5.3. Adriyatik (Turan vd., Acta Adriatica, baskıda) ve Türkiye denizlerinde yayılış gösteren hamsilerin (Zonguldak ve Bandırma örnekleri ilk yıl) mikrosatellit genotip verileri kullanılarak, Nei (1978) uzaklık metoduna dayalı olarak çizilmiş UPGMA ağacı (Bootstrap 10000)

Ağaçlar üzerinde de görüldüğü gibi bu sonuçlar Karadeniz’ farklı hamsi stokları olduğunu destekler niteliktedir. Şekil 5.4’de görülen Adriyatik hamsileri ile Batı Karadeniz hamsileri ve Marmara Denizi hamsileri arasındaki benzerliği açıklamak için ek analizlerin yapılması gerekmektedir.



Şekil 5.4. Adriyatik (Turan vd., Acta Adriatica, baskıda) ve Türkiye denizlerinde yayılış gösteren hamsilerin (Zonguldak ve Bandırma örnekleri ikinci yıl) mikrosatellit genotip verileri kullanılarak, Nei (1978) uzaklık metoduna dayalı olarak çizilmiş UPGMA ağacı (Bootstrap 10000)

Daha önce yapılan çalışmalarda Adriyatik populasyonlarının Ege populasyonlarından genetik olarak farklı olduğu saptanmıştır. Bembo vd. (1996b) allozim elektroforezi sonuçlarına göre Adriyatik hamsilerinin Ege Denizi’nden çok Tiran Denizi hamsileri ile yakın olduğunu belirlemişlerdir. Magoulas vd. (1996, 2006) Adriyatik hamsilerinin Kuzey ve Orta Ege Denizi örneklerinden genetik olarak farklı olduğunu; İyonya ve Güney Ege Denizi (Mora Yarımadası) hamsilerine genetik olarak daha yakın olduklarını saptamışlardır. Kontrol bölgesi sekans analizi sonucunda Vinas vd. (2013) Adriyatik hamsilerinin, Ege Denizi hamsilerinden genetik olarak farklılaşmış olduğunu istatistik olarak ortaya koymuşlardır. Ayrıca Adriyatik örneklerinde Klad A %22,5 oranında bulunduğunu, Ege Denizi örneklerinde ise %79,6 oranında bulunduğunu belirtmişlerdir. Adriyatik hamsileri genetik olarak Lyon Körfezi ve Elbo Adasına daha yakın olduğunu saptamışlardır. Bu tez çalışmasında Adriyatik hamsilerinin Ege Denizi hamsileri



ile farklılığı, bu çalışmalarla da desteklenmiştir. Ayrıca bu sonuç Marmara Denizi hamsileri ile Batı Karadeniz hamsilerinin arasındaki gen akışı olduğunu, Doğu-Orta Karadeniz örneklerinin ayrı bir genetik yapılanma gösterdiğine işaret etmektedir. Marmara Denizi hamsileri beslenmek ve üremek için Karadeniz'e göç etmektedir ya da Karadeniz hamsileri kışlamak için Marmara Denizi'ne göç etmektedir. Yapılan çalışmalarda hamsinin bilinen yumurtlama alanı Kuzey Karadeniz olarak bilinmesine rağmen (Ivanov ve Beverton, 1985) ülkemiz kıyılarında yani güney Karadeniz kıyılarında da hamsi yumurtası ve larvaları tespit edilmiştir (Niermann vd., 1994). Çalışma sonucunda 0-3 m en çok larva gözlenen tabaka iken, 1992 Temmuz ayında 45-70 m arasında da canlı larva ve yumurta olduğunu saptamışlardır. Bu larva ve yumurta topluluklarının Karadeniz akıntılarının dışında ve iki akıntının kavuştuğu noktalarda olduklarını saptamışlardır (Niermann vd., 1994).

Ardeşen örneklerinin mtDNA ve her iki mikrosatellit ağaçları üzerindeki (Şekil 4.1, 4.6 ve 5.2) konumu coğrafik konumu itibariyle de bu örneklerin Azak hamsisi (*Engraulis encrasicolus maeticus*) olma ihtimalini düşündürmektedir. Bilindiği üzere Azak hamsisi Azak Denizi'nde yaşayan ve bazı araştırmacılarca alt tür olarak kabul edilen bir taksondur. Yumurtlamak için Azak Denizi'nden başlayarak Doğu Karadeniz kıyı şeridi boyunca Türkiye'nin Doğu Karadeniz kıyılarına kadar inen bir göç yolu izlemektedirler. Ancak yine de Azak hamsisi ve Karadeniz hamsisi arasındaki genetik farklılıkları ortaya koymak için, Azak Denizi'nden elde edilen örneklerle karşılaştırma yapmak daha doğru olacaktır.

Türkiye denizlerindeki hamsilerin olası genetik grup sayısını saptamak için Structure programında Bayesian analizi gerçekleştirildi. Analiz sonucunda 4 adet genetik stok olduğu belirlendi. Bu dört gruptan birini Akdeniz hamsileri oluşturmaktadır. Diğer grupları bölgelere göre ayırd etmek zor da olsa; yoğunlukla Gürcistan, Ardeşen, Fatsa, Terme bir grup; Trabzon ve Perşembe ayrı bir grup, son olarak Zonguldak ve Bandırma ayrı bir genetik grup olarak karşımıza çıkmaktadır. Bandırma ve Zonguldak örneklem büyüklüğünün diğer lokalitelere göre fazla olması ve örnekleme tarihlerinin farklı olması neticesinde; farklı genetik gruba dahil olan hamsi stoklarının avlandığı ve birlikte analiz edildiği söylenebilir. Hamsinin genetik yapılanmasını morfometrik ve allozim analizleriyle araştıran Erdoğan vd. (2009) Ege Denizi ve Karadeniz hamsilerini morfometrik ve allozim analiziyle incelemişlerdir. Morfometrik ölçümler sonucunda iki denizde 4 adet morfolojik olarak farklılaşmış grup olduğunu tespit etmiştir. Ege Denizi ve

Marmara Denizi örneklerinin morfometrik olarak en farklı gruplar olduğunu saptamışlardır. Yapılan bu tez çalışmasında ise Ege Denizi ve Marmara Denizi örneklerinin kompozit bir genetik yapı sergilediği saptanmıştır. Mikrosatellit ve mtDNA analizleri sonucunda Akdeniz hamsilerinin genetik olarak farklı bir yapılanma sergilediği tespit edilmiştir. Bu sonuç Turan vd. (2004)'nin Orta ve Doğu Karadeniz, Ege Denizi ve Kuzeybatı Akdeniz hamsilerini morfometrik karakterlerine göre incelediği çalışmanın sonuçlarıyla uyumaktadır. Çalışma sonucunda her bir denizdeki hamsi popülasyonları arasında morfometrik bir yapılanma tespit etmişlerdir. Ayrıca Akdeniz hamsilerinin Ege Denizi ve Karadeniz hamsilerinden izole bir grup olduğunu belirtmişler ve Karadeniz hamsilerinin de genetik bir yapılanma sergilediğini tespit etmişlerdir (Turan vd., 2004).

Sonuç olarak Türkiye denizlerinde yayılış gösteren hamsi popülasyonları denizlere göre genetik bir yapılanma sergilemektedir. Bu balığın, aşırı avcılığa rağmen pelajik bir tür olması, beslenme şekli ve üreme biçimi genetik çeşitliliğini bir şekilde korumasına yardımcı olabilir. Bu durum tarihi jeolojik ve iklimsel engellerle başa çıkarak, neslini devam ettirmesini sağlamıştır. Ancak günümüzde yaşanan küresel ısınma nedeniyle ekolojik etmenler, popülasyonların başa çıkamayacağı hızda değişmektedir. Mikrosatellit ve mtDNA alel ve haplotip çeşitlilikleri Doğu Karadeniz'deki hamsilerin diğer denizlere (Mikrosatellit, Ege ve Marmara; mtDNA Ege, Marmara ve Akdeniz) göre daha az bir genetik çeşitlilik barındırdıklarını göstermiştir. Bu durum uzun vadede bu türün geleceği ile ilgili soru işaretleri doğurmaktadır. Ayrıca artan nüfusa paralel olarak dünya gün be gün biraz daha küreselleşmekte, bu durumda hem aşırı avcılığın hem de kirliliğin artmasına ve yabancı denizlerden egzotik türlerin taşınarak yerel ekolojik dengenin hızla bozulmasına neden olabilmektedir. Hamsi tüketimindeki dalgalanmalar, artan nüfusla paralel olarak meydana gelen aşırı avlanma neticesinde oluşabileceği gibi, kirlilikten dolayı da meydana gelebilir. Artüz (2003) yapmış olduğu çalışmada, Karadeniz'de hamsi boyunun ve ağırlığının, buna bağlı olarak da üremesinin ve sayısının düştüğünü belirlemiştir. Fakat bu sonucun nedeninin artan avlanma değil, denizel kirlilik sonucunda ortaya çıkan oksijen azalmasıyla ilişkilendirmiştir. 1996 yılında Chashchin tarafından yapılmış çalışmada 1988 yılından beri Karadeniz'deki hamsi stoklarında büyük dalgalanmalar yaşanmasının nedenini Rusya ve Türkiye kıyılarında yapılan aşırı avlanma sonucuna bağlamıştır. Buna ek olarak *Mnemiopsis leidy* olarak bilinen ktenofor türünün, Karadeniz'i istila

etmesinin hamsi stoklarını olumsuz etkilediğini öne sürmüştür. Bu ktenofor türü 1980'lerin başında Amerika Birleşik Devletleri'nin doğusundan kargo gemilerinin balast suyuyla Karadeniz'e taşınmış ve orada istilacı bir tür olmuştur (Bat vd., 2007). Hamsinin beslenme alışkanlığında olup besin rekabeti ile ve de hamsi yumurta ve larvalarını yiyerek hamsi popülasyonlarının azalmasına yol açmıştır. Görüldüğü gibi besin kaynağı olarak kullandığımız denizel canlıların mevcut doğal popülasyonlarının durumunun hangi ekolojik ve buna bağlı olarak genetik etkenlere maruz kaldığı araştırmak önemlidir. Balık popülasyon büyüklüğündeki bu değişimlerin nedeni ne olursa olsun, genetik açıdan düşünüldüğünde, zayıf bir genetik çeşitlilik gösteren bir grup, bu olumsuz etkilerden sağ çıkamayabilir. Bir canlının genetik çeşitliliği ne kadar yüksekse, o türün gelecekte olası iklim ve ekolojik değişimlere uyum sağlayarak ayakta kalma olasılığı o kadar yüksektir. Dünyada birçok ülke balık stoklarının genetik yapısını saptayarak, ülkelerinde balıkçılık yönetimlerini ve ileride nesli tehdit altına girebilecek türler için gerekli koruma stratejilerini geliştirmek için önceden bilgi sağlamaktadırlar. Gerçekleştirilen bu çalışmada hamsi gibi sadece ülkemiz kıyılarında değil, komşu ülke kıyılarında da avcılığı yapılan önemli bir türün popülasyon genetik yapısı belirlenmiştir. Bu ve buna benzer çalışmaların belirli aralıklarla tekrarlanıp elde edilen verilerin balıkçılık yönetimi stratejilerinin oluşturulmasında temel alınması önemlidir. Böylece bu tür üzerindeki çevre baskısını azaltılabilir ve sürdürülebilir olarak tüketilebilir.



## KAYNAKLAR

- Alexandrov, A.I. 1927. The anchovy of the Azov-Black Sea region, its origin and taxonomic designation. **Trudy Kerch Nauch. Ryb. Stant.**, 1: 37-93.
- Altukhov, Y.P., Limansky, V.V., Payusova, A.N., Truveller, K.A. 1969. Immunogenetic assay of intraspecies differentiation of the European anchovy inhabiting the Black Sea and the Sea of Azov. **Genetika**, 5: 50-64.
- Artüz, M.L. 2003. Hamsi balıkları (*Engraulis* Cuvier, 1816) populasyonlarındaki inceleme ve incelenin sebepleri. **Fisheries Advisory Comission Technical Paper**, 147.
- Avise, J.C. 1994. Molecular Markers. Natural History and Evolution, Chapman and Hall, New York.
- Avise, J.C., Arnold, J., Ball, R.M., Bermingham, E., Lamb, T., Neigel, J.E., Reeb, C.A., Saunders, N.C. 1987. Intraspecific phylogeography: the mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics. **Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics**, 18: 489–522.
- Bardakçı, F., Karataş, M. 2005. Moleküler belirteçler ve sistematikte kullanımı. Balık Biyolojisi Araştırma Yöntemleri (Mehmet Karataş), Nobel Yayın Dağıtım, pp.421-458, Ankara.
- Başıbüyük, H.H., Bardakçı, F., Belshaw, R., Quicke, D.L.J. 2000. Phylogenetic Systematics, Sivas.
- Bat, L., Şahin, F., Satılmış, H.H., Üstün, F., Özdemir, Z.B., Kıdeyş, A.E., Shulman, G.E. 2007. Karadeniz'in değişen ekosistemi ve hamsi balıkçılığına etkisi. **Journal of Fisheries Sciences**, 4: 191- 227.
- Bell, G.I., Selby, M.J., Rutter, W.J. 1982. The highly polymorphic region near the human insulin gene is composed of simple tandemly repeating sequences. **Nature**, 295: 31-35.
- Belkhir, K., Borsa, P., Chikhi, L., Raufaste, N., Bonhomme, F. 2004. Genetix 4.05, logiciel sous Windows pour la genetique des populations. Laboratoire

Genome, Populations, Interactions, CNRS UMR 5000, Université de Montpellier II, Montpellier, France.

- Bembo, D.G., Carvalho, G.R., Snow, M., Cingolani, N., Pitcher, T.J. 1995. Stock discrimination among European anchovies, *Engraulis encrasicolus*, by means of PCR-amplified mitochondrial DNA analysis. **Fishery Bulletin**, 94: 31–40.
- Bembo, D.G., Carvalho, G.R., Cingolani, N., Arneri, E., Giannetti, G., Pitcher, T.J. 1996a. Allozymic and morphometric evidence for two stocks of the European anchovy *Engraulis encrasicolus* in Adriatic waters. **Marine Biology**, 126: 529-538.
- Bembo, D.G., Carvalho, G.R., Cingolani, N., Pitcher, T.J. 1996b. Electrophoretic analysis of stock structure in northern Mediterranean anchovies, *Engraulis encrasicolus*. **ICES Journal of Marine Science**, 53: 115–128.
- Bingel, F., Gücü, A.C. 2010. Karadeniz hamsisi stok tahmini çalışmaları. **1. Ulusal Hamsi Çalıştayı**, (17-18 Haziran 2010), pp.38-57.
- Borrell, Y.J., Alvarez, J., Blanco, G., Martínez de Murguía, A., Lee, D., Fernández, C., Martínez, C., Cotano, U., Álvarez, P., Sánchez Prado, J.A. 2011. A parentage study using microsatellite loci in a pilot project for aquaculture of the European anchovy *Engraulis encrasicolus* L. **Aquaculture**, 310: 305-311.
- Borrell, Y.J., Pinera, J.A., Prado, J.S., Blanco, G. 2012. Mitochondrial DNA and microsatellite genetic differentiation in the European anchovy *Engraulis encrasicolus*. **ICES Journal of Marine Science**, 69: 1357-1371.
- Borsa, P. 2002. Allozyme, mitochondrial-DNA, and morphometric variability indicate cryptic species of anchovy (*Engraulis encrasicolus*). **Biological Journal of the Linnean Society**, 75: 261–269.
- Borsa, P., Collet, A., Durand J.D. 2004. Nuclear-DNA markers confirm the presence of two anchovy species in the Mediterranean. **Comptes Rendus Biologies**, 327: 1113-1123.

- Bouchenak-Khelladi, Y., Durand, J.D., Magoulas, A., Borsa, P. 2008. Geographic structure of European anchovy: A nuclear-DNA study. **Journal of Sea Research**, 59: 269-278.
- Britten, R.J., Kohne, D.E. 1968. Repeated sequences in DNA. Hundreds of thousands of copies of DNA sequences have been incorporated into the genomes of higher organisms. **Science**, 161: 529-540.
- Brown, W.M., George, M., Wilson, A.C. 1979. Rapid evolution of animal mitochondrial DNA. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 76: 1967-1971.
- Carlsson, J., McDowell, J.R., Diaz-Jaimes, P., Carlsson J.E.L., Boles, S.B., Gold, J.R., Graves, J.E. 2004. Microsatellite and mitochondrial DNA analyses of Atlantic bluefin tuna (*Thunnus thynnus thynnus*) population structure in the Mediterranean Sea. **Molecular Ecology**, 13: 3345 – 3356.
- Chairi, H., Idaomar, M., Rebordinos, L. 2007. Mitochondrial DNA Analysis of the European Anchovy in the Southern Mediterranean and Northern Atlantic Coasts. **Journal of Fisheries and Aquatic Science**, 2: 206-215.
- Chashchin, A.K. 1996. The Black Sea populations of anchovy. **Scientia Marina**, 60: 219-225.
- Chapuis, M.P., Estoup, A. 2007. Microsatellite null alleles and estimation of population differentiation. **Molecular Biology and Evolution**, 24: 621-631.
- Chen, J.Z., Herbert, P.D.N. 1999. Intraindividual sequence diversity and a hierarchical approach to the study of mitochondrial DNA mutations. **Mutation Research**, 434: 205-217.
- Chiu, T.S., Lee, Y.J., Huang, S.W., Yu, H.T. 2002. Polymorphic microsatellite markers for stock identification in Japanese anchovy (*Engraulis japonica*). **Molecular Ecology Notes**, 2: 49–50.
- Cihangir, B., Tirasin, E.M. 1991. Assessment of sardine and anchovy fisheries in Turkish waters of the Black Sea, the Sea of Marmara, the Aegean Sea and

- the Mediterranean. International Council for the exploration of the Sea, CM/H: on pelagic fish Committee session, 57-64.
- Dalyan, C., Yemişken, E., Erguden, D., Turan, C., Eryilmaz, L. 2014. First record of the Indian Ocean anchovy *Stolephorus insularis* Hardenberg, 1933 from the northeastern Mediterranean coast of Turkey. **Journal of Applied Ichthyology**, 30: 1039-1040.
- Demirsoy, A. 2002. Genel Zoocağrafya ve Türkiye Zoocoğrafyası “Hayvan Coğrafyası”. Genişletilmiş 5. Baskı, METEKSAN, Ankara.
- Drakopoulos, P.G., Lascaratos, A. 1999. Modelling the Mediterranean Sea: climatological forcing. **Journal of Marine Systems**, 20: 157-173.
- El-Geziry, T.M., Bryden, I.G. 2010. The circulation pattern in the Mediterranean Sea: issues for modeler consideration. **Journal of Operational Oceanography**, 3: 39-46.
- Erdogan, Z., Turan, C., Koc, H.T. 2009. Morphologic and allozyme analyses of European anchovy (*Engraulis encrasicolus* (L. 1758)) in the Black, Marmara and Aegean Seas. **Acta Adriatica**, 50: 77-90.
- Evanno, G., Regnaut, S., Goudet, J. 2005. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. **Molecular Ecology**, 14: 2611–2620.
- 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., Lischer, H.E.L. 2010. Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. **Molecular Ecology Resources**, 10: 564-567.
- Felsenstein, J. 1985. Phylogenies and the comparative method. **The American Midland Naturalist**, 125: 1–15.
- Giannoulaki, M., Iglesias, M., Tugores, M.P., Bonanno, A., Patti, B., de Felice, A., Leonori, I., Bigot, J.L., Ticina, V., Pyrounaki, M.M., Tsagarakis, K.,



- Machias, A., Somarakis, S., Schismenou, E., Guinci, E., Basilone, G., Cuttitta, A., Campanella, F., Miquel, J., Onate, D., Roos, D., Valavanis, V. 2013. Characterizing the potential habitat of European anchovy *Engraulis encrasicolus* in the Mediterranean Sea, at different life stages. **Fisheries Oceanography**, 22: 69-89.
- Goodier, J.L., Davidson, W.S. 1998. Characterization of novel minisatellite repeat loci in Atlantic salmon (*Salmo salar*) and their phylogenetic distribution. **Journal of Molecular Evolution**, 46: 245-255.
- Goudet, J. 2001. FStat, a Program to Estimate and Test Gene Diversities and Fixation Indices (version 2.9.3.2), [<http://www2.unil.ch/popgen/softwares/fstat.htm>], Erişim Tarihi: 21.06.1983.
- Grant, W.S., Bowen, B.W. 1998. Shallow population histories in deep evolutionary lineages of marine fishes: Insights from sardines and anchovies and lessons for conservation. **Heredity**, 89: 415-426.
- Grant, W.S.A. 2005. Second look at mitochondrial DNA variability in European anchovy (*Engraulis encrasicolus*): Assessing model of population structure and the Black sea isolation hypothesis. **Genetica**, 125: 293-309.
- Gubanov, A.P., Limansky, V.V. 1968. A morphological analysis of different groups of the Azov-Black Sea and Atlantic anchovy holding the difference in the antigenic structure of blood. **Voprosy Ikhtiologii**, 8: 799-806.
- Hall, T.A. 1999. Bioedit: a user friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. **Nucleic Acids Symposium Series**, 41: 95-98.
- Harrison, R.G. 1989. Animal mitochondrial DNA as a genetic marker in population and evolutionary biology. **Trends in Ecology and Evolution**, 4: 6-11.
- Hebert, P.D.N., Ratnasingham, S., deWaard, J.R. 2003. Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species. **Proceedings of the Royal Society of London**, 270: 96-99.

- Horvat, M., Kotnik, J., Logar, M., Fajon, V., Zvonaric, T., Pirrone, N. 2003. Speciation of mercury in surface and deep-sea waters in the Mediterranean Sea. **Journal of Atmospheric Environment**, 37: 93-108.
- Ivanov, L., Beverton, R.J.H. 1985. The Fisheries Resources of the Mediterranean. Part two: Black Sea. General Fisheries Commission for the Mediterranean, Studies and Reviews, FAO, Rome.
- Ivanova, P.P., Dobrovoly, I.S. 2006. Population-genetic structure on European anchovy (*Engraulis encrasicolus*, Linnaeus, 1758) (Osteichthyes: Engraulidae) from Mediterranean Basin and Atlantic Ocean. **Acta Adriatica**, 47: 13-22.
- Jeffreys, A.J., Wilson, V., Thein, S.L. 1985. Hypervariable 'minisatellite' regions in human DNA. **Nature**, 314: 67-73.
- Karahan, A., Borsa, P., Gucu, A.C., Kandemir, I., Ozkan, E., Orek, Y.A., Acan, S.C., Koban, E., Togan, I. 2014. Geometric morphometrics, Fourier analysis of otolith shape, and nuclear-DNA markers distinguish two anchovy species (*Engraulis* spp.) in the Eastern Mediterranean Sea. **Fisheries Research**, 159: 45-55.
- Keskin, E., Atar, H.H. 2012. Genetic structuring of European anchovy (*Engraulis encrasicolus*) populations through mitochondrial DNA sequences. **Mitochondrial DNA**, 23: 62-69.
- Kristoffersen, J.B., Magoulas, A. 2008. Population structure of anchovy *Engraulis encrasicolus* L. in the Mediterranean Sea inferred from multiple methods. **Fisheries Research**, 91: 187-195.
- Landi M., Garoia F., Piccinetti C., Tinti F. 2005. Isolation of polymorphic microsatellite loci from the European anchovy, *Engraulis encrasicolus*. **Molecular Ecology Notes**, 5: 266–268.
- Limborg, M.T., Hanel, R., Debes P.V., Ring, A.K., Andre, C., Tsigenopoulos, C.S., Bekkevold, D. 2012. Imprints from genetic drift and mutation imply relative divergence times across marine transition zones in a pan-European small pelagic fish (*Sprattus sprattus*). **Heredity**, 109: 96-107.

- Linnaeus, C. 1758. *Systema Naturae Per Regna Tria Naturae, Secundum Classes, Ordinus, Genera, Species, Cum Characteribus, Differentiis, Synonymis, Locis*. Tomus I. Editio decima, reformata. Impensis Direct. Laurentii Salvii, Holmiae.
- Magoulas, A., Zouros, E. 1993. Restriction-site heteroplasmy in anchovy (*Engraulis encrasicolus*) indicates incidental biparental inheritance of mitochondrial DNA. **Molecular Biology and Evolution**, 10: 319-325.
- Magoulas, A., Tsimenides, N., Zouros, E. 1996. Mitochondrial DNA phylogeny and the reconstruction of the population history of a species: The case of the European anchovy (*Engraulis encrasicolus*). **Molecular Biology and Evolution**, 13: 178-90.
- Magoulas A., Castilho R., Caetano, S., Marcato S., Patarnello T. 2006. Mitochondrial DNA reveals a mosaic pattern of phylogeographical structure in Atlantic and Mediterranean populations of anchovy (*Engraulis encrasicolus*). **Molecular Phylogenetics and Evolution**, 39: 734–746.
- Mantel, N.A. 1967. The detection of disease clustering and a generalized regression approach. **Cancer Research**, 27: 209-220.
- Meyer, A. 1993. Evolution of mitochondrial DNA in fishes. In: Hochachka and Mommsen, *Biochemistry and molecular biology of fishes*, vol.2. Elsevier Science Publishers, pp.1-38, New York.
- Montes, I., Conklin, D., Albaina, A., Creer, S., Carvalho, G.R., Santos, M., Estonba, A. 2013. SNP discovery in European anchovy (*Engraulis encrasicolus*, L.) by high-throughput transcriptome and genome sequencing. **Plos One**, 8: 1-12.
- Moritz, C., Dowling, T.E., Brown, W.M. 1987. Evolution of animal mitochondrial DNA: Relevance for population biology and systematics. **Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics**, 1: 269-292.
- Nakamura, Y., Carlson, M., Krapcho, K., Kanamori, M., White, R. 1988. New Approach for Isolation of VNTR markers. **American Journal of Human Genetics**, 43: 854-859.

- Nei, M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. **Genetics**, 89: 583–590.
- Nei, M., Kumar, S. 2000. *Molecular Evolution and Phylogenetics*. OXFORD University Press, New York.
- Niermann, U., Bingel, F., Gorban, A., Gordina, A.D., Gücü, A.C., Kideys, A.E., Konsulov, A., Radu, G.A., Subbotin, A., Zaika, V.E. 1994. Distribution of anchovy eggs and larvae (*Engraulis encrasicolus* Cuv.) in the Black Sea in 1991 and 1992 in comparison to former surveys. **ICES Journal of Marine Science**, 51: 395-406.
- Oguz, T., Latun, V., Latif, M.A., Vladimirov, V., Sur, H.I., Markov, A., Ozsoy, E., Kotovshchikov, B., Eremeev, V., Unluata, U. 1993. Circulation in the surface and intermediate layers of the Black Sea. **Deep Sea Research**, 40: 1597-1612.
- Paetkau, D., Calvert, W., Stirling, I., Strobeck, C. 1995. Microsatellite analysis of population structure in Canadian polar bears. **Molecular Ecology**, 4: 347-354.
- Paetkau, D., Slade, R., Burden, M., Estoup, A. 2004. Direct, real-time estimation of migration rate using assignment methods: A simulation-based exploration of accuracy and power. **Molecular Ecology**, 13: 55-65.
- Pakaki, V., Magoulas A., Kasapidis, P. 2009. New polymorphic microsatellite loci for population studies in the European anchovy, *Engraulis encrasicolus* (L.), **Molecular Ecology Resources**, 9: 1406–1409.
- 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.
- Pinte, P.P. 2003. *Invitation to Oceanography*. St Jones & Bartlett Publishers, 3<sup>rd</sup> Ed.
- Piry, S., Alapetite, A., Cornuet, J.M., Paetkau, D., Baudouin, L., Estoup, A. 2004. GENECLASS 2, a software for genetic assignment and first-generation migrant detection. **Journal of Heredity**, 95: 536–539.

- Pritchard, J. K., Stephens, M., Donnelly, P. 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. **Genetics**, 155:945–959.
- Pusanov, I.I. 1936. The Anchovy. Uchanyaia zapiski Gorkovskogo Gos. Unta.
- Raymond, M., Rousset, F. 1995. GENEPOP (version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism. **Journal of Heredity**, 86: 248-249
- Rousset, F. 2008. Genepop'007: a complete reimplementation of the Genepop software for Windows and Linux. **Molecular Ecology Resources**, 8: 103-106.
- Rozas, J., Sanchez-Del Barrio, J.C., Messeguer, X., Rozas, R. 2003. DnaSP, DNA polymorphism analyses by the coalescent and other methods. **Bioinformatics**, 19: 2496-2497.
- Rozen, S., Skaletsky, H. (02.08.2012). Primer3 (v. 0.4.0) Pick primers from a DNA sequence, [<http://primer3.sourceforge.net/>], Erişim Tarihi: 10.12.2013.
- Schneider, W. 1990. FAO Species Identification Sheets for Fishery Purposes. Field Guide to the Commercial Marine Resources of the Gulf of Guinea. Prepared and Published with the Support of the FAO Regional Office for Africa. Rome.
- Shevchenko, N.F. 1980. Geographical variability of the anchovy in the seas of the Mediterranean. **Voprosy Ikhtiology**, 20: 20-31.
- Skibinski, D., Gallagher, C., Beynon, C. 1994. Sex-limited mitochondrial DNA transmission in the marine mussel *Mytilus edulis*. **Genetics**, 138: 801–809.
- Slatkin, M. 1995. A measure of population subdivision based on microsatellite allele frequencies. **Genetics**, 139: 457–462.
- Stoneking, M., Hedgecock, D., Higuchi, L., Vigilant, L., Erlich, H.A. 1991. Population variation of human mtDNA control region sequences detected by enzymatic amplification and sequence-specific oligonucleotide probes. **The American Journal of Human Genetics**, 48: 370-382.

- Skazkina, Y.P. 1965. Distinguishing Azov anchovy *Engraulis encrasicolus maeoticus* Pusanov from the Black Sea anchovy *Engraulis encrasicolus ponticus* Alexandrov by otoliths. **Voprosy Ikhtiology**, 5: 600-605.
- Takahata, N., Palumbi, S.R. 1985. Extranuclear differentiation and gene flow in the finite island model. **Genetics**, 109: 441-457.
- Tamura, K., Nei, M. 1993. Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. **Molecular Biology and Evolution**, 10: 512-526.
- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., FilipSKI, A., Kumar, S. 2013. MEGA6: Molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. **Molecular Biology and Evolution**, 30: 2725-2729.
- Turan, C., Ergüden D., Gürlek M., Basusta N., Turan F. 2004. Morphometric structuring of the anchovy (*Engraulis encrasicolus* L.) in the Black, Aegean and Northeastern Mediterranean Seas. **Turkish Journal of Veterinary and Animal Science**, 28: 865-871.
- Turan, C., Senol Tuncay, S., Soldo, A., Bosnić, N., Bardakci, F. Baskıda. Microsatellite analysis of anchovy, *Engraulis encrasicolus* in the Adriatic Sea. **Acta Adriatica**.
- Türkiye İstatistik Kurumu. 2013. Su Ürünleri İstatistikleri 2012. TÜİK, 4119: 1-59.
- Türkiye İstatistik Kurumu. (TÜİK) (01.07.2014). İstatistiksel Tablolar ve Dinamik Sorgulama, Deniz Ürünleri, Avlanan Deniz Balıkları Miktarları, [[http://www.tuik.gov.tr/PreTablo.do?alt\\_id=1005](http://www.tuik.gov.tr/PreTablo.do?alt_id=1005)], Erişim Tarihi: 01.07.2014.
- Vinas, J., Alvarado, B.J., Pla, C. 2004. Phylogeography of the Atlantic bonito (*Sarda sarda*) in the northern Mediterranean: The combined effects of historical vicariance, population expansion, secondary invasion, and isolation by distance. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, 33: 32-42

- Vinas, J., Sanz, N., Penarrubia, L., Araguas, R.M., Garcia-Marin, J.L., Roldan, M.I., Pla, C. 2013. Genetic population structure of European anchovy in the Mediterranean Sea and the Northeast Atlantic Ocean using sequence analysis of the mitochondrial DNA control region. **ICES Journal of Marine Science**, 71: 391–397.
- Wallace, D.C. 1986. Mitochondrial genes and diseases. **Hospital practice**, 21: 77-92.
- Weir, B.S., Cockerham, C.C. 1984. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. **Evolution**, 38: 1358–1370.
- Whitehead, J.P., Bauchot, M.L., Hureau, J.C., Nielsen, J., Tortonese, E. 1986. Fishes of the North-Eastern Atlantic and the Mediterranean. Vols, I-III UNESCO, Paris.
- Whitehead, J.P., Nelson, G.J., Wongratana, T. 1988. FAO species catalogue; vol 7 clupeoid fishes of the world (Suborder CLUPEOIDEI), an annotated and illustrated catalogue of the herrings, sardines, pilchards, sprats, shads, anchovies and wolf-herrings, Part 2 – Engraulididae. FAO Fisheries Synopsis No. 125, Volume 7, Part 2, pp.305-579, FAO, Rome.
- Wilson, A.C., Cann, R.L., Carr, S.M., George, M., Gyllensten, U.B., Helmychowski, K.M., Higuchi, R.G., Palumbi, S.R., Prager, E.M., Sage, R.D., Stoneking, M. 1985. Mitochondrial DNA and two perspectives on evolutionary genetics. **Biological Journal of the Linnean Society**, 26: 375-400.
- Wright, S. 1949. The genetical structure of populations. **Annals of Eugenics**, 15: 323-354.
- Zarraonaindia, I., Pardo, M.P., Iriondo, M., Manzano, C., Estonba, A. 2009. Microsatellite variability in European anchovy (*Engraulis encrasicolus*) calls for further investigation of its genetic structure and biogeography. **ICES Journal of Marine Science**, 66: 2176-2182.

Zarraonaindia, I., Iriondo, M., Albaina, A., Pardo, M.A., Manzano, C., Grant, W.S., Irigoien, X., Estonba, A. 2012. Multiple SNP markers reveal fine-scale population and deep phylogeographic structure in European anchovy (*Engraulis encrasicolus* L.). **Plos One**, 7: 1-10.



## ÖZGEÇMİŞ

### KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Serap ŞENOL TUNCAY

Doğum Yeri ve Tarihi : Torbalı/İZMİR 21.06.1983

### EĞİTİM DURUMU

Lisans Öğrenimi: Adnan Menderes Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü (2002-2006)

Yüksek Lisans Öğrenimi: Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Bölümü (2006-2008)

Bildiği Yabancı Diller: İngilizce

Aldığı Ödüller: Adnan Menderes Üniversitesi Biyoloji Bölüm Birinciliği (2006), Fen Edebiyat Fakültesi Fakülte Üçüncülüğü (2006).

### BİLİMSEL FAALİYETLERİ

a) Makaleler

-SCI

Tuncay, S.S., Okyay, P., Bardakci, F. 2010. Identification of NF-kappa B1 and NF-kappa BIA polymorphisms using PCR-RFLP assay in a Turkish population. **Biochemical Genetics**, 48: 104-112.

Simsek, F.M., Ulger, C., Akiner, M.M., Tuncay, S.S., Kiremit, F., Bardakci, F. 2011. Molecular identification and distribution of *Anopheles maculipennis* complex in the Mediterranean region of Turkey. **Biochemical Systematics and Ecology**, 39: 258-265.

Turan, C., Senol Tuncay, S., Soldo, A., Bosnić, N. ve Bardakci F. Baskıda. Microsatellite analysis of anchovy, *Engraulis encrasicolus* in the Adriatic Sea. **Acta Adriatica**.

-Diğer

b) Bildiriler

-Uluslararası

Tuncay, S.S., Simsek, F.M., Ulger, C., Bardakci, F. 2009. Molecular identification and distribution of *Ochlerotatus mariae* complex across Northern

Mediterranean coast. 11<sup>th</sup> ICZEGAR, 21-25 September 2009, Herakleio, Crete, Greece.

Şimşek, F.M., Ülger, C., Tuncay, S.S., Akiner, M.M., Bardakcı, F. 2009. Molecular identification and distribution of Palearctic members of *Anopheles maculipennis* complex in southern Turkey. Proceedings of the 5<sup>th</sup> International Congress of Vector Ecology, 11-16 October 2009, p. 155, Antalya, Turkey.

Tuncay, S.S., Bardakci, F. 2014. Population genetics of European Anchovy (*Engraulis encrasicolus* L.) in the seas of Turkey based on microsatellite DNA. International Meeting on Marine Research, 10-11 July 2014, p. 154, Peniche, Portugal.

Tuncay, D., Tuncay, S.S., Yilmaz, C., Bardakci, F. 2014. Population Genetic Structure of red mullet (*Mullus barbatus* L.) in Turkish Sea Based on Mitochondrial DNA. International Meeting on Marine Research, 10-11 July 2014, p. 152, Peniche, Portugal.

#### -Ulusal

Şimşek, F.M., Ülger, C., Akiner, M.M., Sevgili, E., Tuncay, S.S., Kaynaş, S., Bardakcı, F. 2009. Burdur ve Isparta illerinin sivrisinek (Diptera: Culicidae) faunası. IX. Ulusal Ekoloji ve Çevre Kongresi, 7-10 Ekim 2009, p.39, Ürgüp, Nevşehir.

Tuncay, S.S., Okyay, P., Bardakcı, F. 2009. Aydın ili populasyonunda NF-kappaB1 (Nükleer Faktör-kappaB1) ve NF-kappaBIA (Nükleer faktör-kappaB İnhibitör Alfa) genlerinin polimorfizminin PCR-RFLP yöntemi ile belirlenmesi. XI. Ulusal Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi, 28-31 Ekim 2009, p. 129, Bodrum.

Tuncay, S.S., Bardakci, F. 2014. Mikrosatellit DNA analiziyle Türkiye denizlerindeki hamsi populasyonlarının (*Engraulis encrasicolus* L.) genetik yapısının belirlenmesi. 22. Ulusal Biyoloji Kongresi, 23-27 Haziran 2014, Eskişehir.

## c) Katıldığı Projeler

Bardakçı, F., Senol Tuncay S. Aydın ili populasyonunda *Nükleer faktör-kappaB1* (*NF-κB1*) ve *NF-κB1α* genlerinin polimorfizminin PCR-RFLP yöntemi ile belirlenmesi. 2008. Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri, BAP.

Şimsek, F.M., Ülger, C., Bardakçı, F. Türkiye Akdeniz Bölgesi Sivrisineklerinin (Diptera: Culicidae) Sistematiği ve Biyolojik Ekolojik Özellikleri 15.01.2007-15.01.2010. TÜBİTAK-TOVAG (6 ay Bursiyer).

Bardakçı, F. Türkiye Denizlerindeki Hamsi Balığının (*Engraulis encrasicolus* L.) Populasyon Genetik Yapısı. 15.10.2012 - TÜBİTAK-TBAG (36 ay Bursiyer).

Bardakçı, F., Senol Tuncay, S. Mikrosatellit DNA Analiziyle Türkiye Denizlerindeki Hamsi (*Engraulis encrasicolus* L.) Populasyonlarının Genetik Yapısının Belirlenmesi. Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri, BAP.

**İŞ DENEYİMİ**

Çalıştığı Kurumlar ve Yıl :

**İLETİŞİM**

E-posta Adresi : srpsenol@gmail.com

Tarih :