

**T.C.**  
**ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLER ENSTİTÜSÜ**  
**BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**  
**2013-YL-065**

**HAMSİNİN (*Engraulis encrasicolus*) MARMARA VE GÜNEY  
KARADENİZ'DEKİ GENETİK STOKLARININ SAPTANMASI**

**Erinç ŞEN**

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

**AYDIN**



**ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE**  
**AYDIN**

Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı öğrencisi Erinç ŞEN tarafından hazırlanan “Hamsinin (*engraulis encrasicolus*) Marmara ve Güney Karadeniz’deki genetik stoklarının saptanması” başlıklı tez, 22.10.2013 tarihinde yapılan savunma sonucunda aşağıda isimleri bulunan jüri üyelerince kabul edilmiştir.

	Ünvanı, Adı Soyadı	Kurumu	İmzası
Başkan	: Prof. Dr. Fevzi Bardakçı	ADÜ	.....
Üye	: Prof. Dr. Oğuz Türkozan	ADÜ	.....
Üye	: Doç. Dr. Deniz Çoban	ADÜ	.....

Jüri üyeleri tarafından kabul edilen bu Yüksek Lisans Tezi, Enstitü Yönetim Kurulunun .....Sayılı kararıyla ..... tarihin de onaylanmıştır.

Prof. Dr. Cengiz ÖZARSLAN

Enstitü Müdürü



**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.

...../...../201...

Erinç ŞEN



## ÖZET

### HAMSİNİN (*Engraulis encrasicolus*) MARMARA VE GÜNEY KARADENİZ'DEKİ GENETİK STOKLARININ SAPTANMASI

Erinç ŞEN

Yüksek Lisans Tezi, Biyoloji Anabilim Dalı  
Tez Danışmanı: Prof. Dr. Fevzi BARDAKCI  
2013, 47.sayfa

*Engraulis encrasicolus*, Actinopterygii sınıfına ait Clupeiformes takımı ve Engraulidae familyasına ait bir türdür. Tür, İskandinavya'dan Batı Afrika'ya kadar olan Doğu Atlantik sahilleri boyunca ve ayrıca Akdeniz, Karadeniz, Marmara Denizi ve Azak Deniz'ine kadar uzanan geniş bir alanda dağılım göstermektedir. Ülkemizin tüm denizlerinde yayılış göstermektedir. Bu çalışmada, Marmara ve Karadeniz popülasyonlarının genetik stoklarının ve genetik varyasyonlarının belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaç doğrultusunda, Bandırma, Zonguldak, Perşembe, Fatsa, Trabzon, Ardeşen ve Gürcistan'nın kıyısal bölgelerinden belirlenen 7 coğrafi bölgeden *E. encrasicolus* örnekleri toplanmıştır. Elde edilen 202 örnekten ilk olarak DNA izolasyonu yapılmıştır. DNA izolasyonundan sonra her coğrafi bölgeye ait örneklerin mtDNA *sitokrom\_b* ve *ND6* gen bölgesi uygun primerler kullanılarak polimeraz zincir reaksiyonu ile çoğaltılmıştır. *E. encrasicolus* örneklerinden elde edilen *sitokrom\_b* ve *ND6* gen bölgesinin dizileriyle yapılan analizler sonucunda, türün dağılım alanında *sitokrom\_b* ve *ND6* geninin 187 haplotipi tespit edilmiştir. Gamma<sub>st</sub> değerlerine bağlı olarak 4 gruba ayrılan coğrafi bölgelerden AMOVA analizi yapılarak gruplar arasındaki varyasyon % 5.28, grupları oluşturan popülasyonlar arasındaki varyasyon % 1.32 olarak bulunmuşken, coğrafi bölgeler içindeki varyasyon % 93.39 olarak tespit edilmiştir. Ayrıca popülasyonlar arasındaki gen akışı da hesaplanmış ve birbirlerine yakın coğrafi bölgeler arasında gen akışının yüksek olduğu saptanmıştır.

**Anahtar Sözcükler:** *Engraulis encrasicolus* L., mitokondrial DNA, genetik stok, *Sitokrom-b*, *ND6*, Marmara, Karadeniz





## ABSTRACT

### DETERMINATION OF THE GENETIC STOCKS OF ANCHOVY IN THE MARMARA SEA AND SOUTHERN BLACK SEA

Erinç ŞEN

MSc. Thesis, Department of Biology  
Supervisor: Prof. Dr. Fevzi BARDAKCI  
2013, 47.pages

*Engraulis encrasicolus* is placed in the family of Engraulidae belonging to the Actinopterygii class and the order Clupeiformes. The range of the species is wide, extending from Scandinavia along the Atlantic Coast of Europa to western Africa, as well as from Mediterranean Sea to the Black Sea and Azov Sea. The present study was aimed at determining and recording the genetic stocks and variations of the Sea of Marmara and Black Sea populations. Therefore, the samples of the species were collected from 7 different sampling areas of Bandırma, Zonguldak, Perşembe, Fatsa, Trabzon, Ardeşen and the coastal areas of Georgia. A total of 202 samples were then subjected to DNA extraction. Thereafter, mtDNA *cytochrome b* and *ND6* gene sites of the samples of each location were amplified through polymerase chain reaction using compatible polymers. In the consequence of the analyses performed, 187 haplotypes of *cytochrome-b* and *ND6* gene were found in the area of distribution of the species. In the localities divided into 4 groups based on the values of  $\Gamma_{st}$ , performing analysis of molecular variation (AMOVA), the variation among groups was found to be 5.28%, and among the populations constituting the groups 1.32%, whereas the inter-locality variation was found to be 93.39%. The interpopulation gene migration (flow) was estimated and the gene migration of similar localities was found to be higher.

**Key words:** *Engraulis encrasicolus* L., mitochondrial DNA, *Cytochrome b*, *ND6*, genetic stock, Marmara, Black Sea



## ÖNSÖZ

Tez çalışmamın her aşamasında bilgi birikimini, deneyimlerini ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen danışman hocam Prof. Dr. Fevzi BARDAKCI'ya en içten teşekkürlerimi sunarım.

Bu süreçte yardımlarını ve katkılarını hiçbir zaman esirgemeyen, bana bu yolda daima moral ve destek veren, her zaman ve her konuda değerli görüşleriyle bana ışık tutan Arş. Gör. Dr. Nazan ÖZEN'e çok teşekkür ederim.

Ayrıca laboratuvar çalışmalarım ve istatistiksel analizlerimde bilgi ve görüşlerinden yararlandığım, bu yolda her türlü desteğini aldığım Dr. Can YILMAZ'a teşekkür ederim.

Engin bilgi ve tecrübeleriyle, hayatımın her aşamasında olduğu gibi bu zorlu süreçte de yanımda olan ve her türlü desteğini arkamda hissettiğim Doç. Dr. Nejat AKSU'ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışmanın gerçekleşmesi için maddi kaynak sağlayan TÜBİTAK'a (Proje no: TBAG-111T461) teşekkür ederim.

Bu sürecin en başından beri manevi desteğini hiçbir zaman eksik etmeyen, her zaman ve her koşulda yanımda olan, bana daima moral ve güç veren Esra DEMİR'e çok teşekkür ederim.

Hayatım boyunca sonsuz sevgilerini, fedakârlıklarını ve emeklerini hiçbir zaman benden esirgemeyen, her anımda yanımda olan ve arkamda duran, her zaman ve her konuda bana yol gösteren, çalışmalarım boyunca da en büyük destekçilerim olan değerli annem Derya ŞEN ve değerli babam Adnan ŞEN'e en içten teşekkürlerimi sunarım.



## İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY SAYFASI .....	iii
BİLİMSEL ETİK BİLDİRİM SAYFASI .....	v
ÖZET .....	vii
ABSTRACT .....	ix
ÖNSÖZ .....	xi
SİMGELER DİZİNİ.....	xv
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xvii
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	xix
1. GİRİŞ .....	1
1.1. <i>Engraulis encrasicolus</i> 'un Biyolojisi ve Ekolojisi.....	1
1.2. Moleküler Belirteçler .....	5
1.2.1. Allozim Elektroforezi.....	6
1.2.2. Mikrosatellitler ve Diğer Tekrarlı DNA Dizileri .....	7
1.2.3. mtDNA ve nDNA .....	8
2. KAYNAK ÖZETLERİ .....	12
3. MATERYAL VE YÖNTEM .....	17
3.1. Hamsi Örneklerinin Toplanması .....	17
3.2. Total DNA İzolasyonu .....	19
3.3. DNA'nın Spektrofotometrik Analizi.....	20
3.4. DNA'nın Agaroz Jel Elektroforezi .....	20
3.5. Mitokondri <i>Sitokrom-b</i> ve <i>ND6</i> ' yı İçeren Bölgenin PCR ile Çoğaltılması.....	21
3.6. PCR Ürünlerinin Saflaştırılması, Dizi Reaksiyonu ve Dizilerin Elde Edilmesi .....	24
3.7. Dizilerin Okunması .....	24
3.8. mtDNA Dizi Analizi .....	24

3.9. mtDNA Veri Analizleri .....	25
4. BULGULAR .....	26
4.1. mtDNA <i>Sitokrom-b</i> ve <i>ND6</i> Gen Bölgesi Dizileri .....	26
4.2. mtDNA <i>Sitokrom-b</i> ve <i>ND6</i> Gen Bölgesi için Haplotip ( $H_d$ ), Nükleotit Çeşitliliği ( $\pi$ ) ve Nükleotit Farklılıklarının Ortalaması ( $K$ ) .....	26
4.3. Genetik Uzaklık ve UPGMA Ağacının Oluşturulması .....	30
4.4. Populasyonların Genetik Yapısı .....	32
5. TARTIŞMA ve SONUÇ .....	35
KAYNAKLAR.....	39
ÖZGEÇMİŞ.....	47

## SİMGELER DİZİNİ

$\pi$	Nükleotid Çeşitliliği
AMOVA	Moleküler Varyans Analizi
Cytb	Sitokrom b
DNA	Deoksiribonükleik Asit
dNTP	Deoksiribonukleotid Trifosfat
D-loop	Displacement loop
EDTA	Etilendiamin Tetra Asetik Asit
H <sub>d</sub>	Haplotip Çeşitliliği
K	Nükleotid Farklılıklarının Ortalaması
mtDNA	Mitokondrial DNA
ND5	Nikotinamid Adenin Dinükleotid Dehidrogenaz'ın 5. alt ünitesi
ND6	Nikotinamid Adenin Dinükleotid Dehidrogenaz'ın 6. alt ünitesi
nDNA	Nükleer DNA
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism
RNA	Ribonuklotid Asit
SDS	Sodyum Dodesil Sülfat
TBE	Tris Borik Asit EDTA
TUİK	Türkiye İstatistik Kurumu
UPGMA	Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean
UV	Ultraviyole Işını
VNTR	Variable Numbers of Tandem Repeats





## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Yaz aylarında hamsilerin yumurta verilerine dayanan potansiyel yumurtlama alanları.....	2
Şekil 1.2. Kış aylarında hamsi juvenillerinin bulunma olasılığını gösteren alanları ve olasılık değerleri.....	3
Şekil 1.3. Sonbahar aylarında genç bireylerin potansiyel habitatları.....	3
Şekil 1.4. Türkiye’de 2011 yılında avlanan deniz balıklarının yüzdelik dağılımı.....	4
Şekil 1.5. mtDNA.....	9
Şekil 3.1. Örneklerin toplandığı coğrafi bölgeler.....	18
Şekil 3.2. <i>Sitokrom-b</i> ve <i>ND6</i> gen bölgesi için PCR ürünleri.....	22
Şekil 3.3. PCR ile çoğaltılan <i>Sitokrom-b</i> ve <i>ND6</i> gen bölgesi.....	23
Şekil 3.4. BioEdit 7.1.3 programı kullanılarak dizilenen DNA dizisinin görüntüsü .....	24
Şekil 4.1. Örnekleme coğrafi bölgelerine göre <i>E. encrasicolus</i> türünün mtDNA <i>Sitokrom-b</i> ve <i>ND6</i> genleri haplotip frekanslarının Gamma <sub>ST</sub> ikili karşılaştırma değerlerine dayalı UPGMA uzaklık ağacı.....	32
Şekil 4.2. AMOVA analizi ile elde edilen gruplar arasında, populasyonlar arasında ve populasyonlar içindeki farklılaşma miktarının dağılımı.....	33



## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. Hamsi populasyonlarına ait coğrafi bölgeler.....	17
Çizelge 3.2. Kullanılan primerler.....	21
Çizelge 3.3. <i>Sitokrom-b</i> ve <i>ND6</i> gen bölgesi için PCR programı.....	22
Çizelge 4.1. Örnekleme coğrafi bölgelerinde gözlenen haplotipler ve sıklıkları...28	
Çizelge 4.2. <i>Engraulis encrasicolus</i> da mtDNA <i>Sitokrom-b</i> ve <i>ND6</i> gen bölgesi için tespit edilen haplotip ( $H_d$ ) ve nükleotid çeşitliliği ( $\pi$ ), nükleotid farklılıklarının ortalaması ( $K$ ) değerleri.....	30
Çizelge 4.3. <i>Engraulis encrasicolus</i> örnekleme coğrafi bölgelerine ait olan mtDNA <i>Sitokrom-b</i> ve <i>ND6</i> geni genetik uzaklık $\gamma_{ST}$ değeri ile coğrafi bölgelerin ikiyeşerli karşılaştırılmaları.....	31
Çizelge 4.4. <i>Engraulis encrasicolus</i> örnekleme coğrafi bölgelerine ait olan mtDNA <i>Sitokrom-b</i> ve <i>ND6</i> geni genetik uzaklık $F_{ST}$ değeri ile coğrafi bölgelerin ikiyeşerli karşılaştırılmaları.....	31
Çizelge 4.5. Gruplar ve coğrafi bölgeler arasında varyans analizi .....	33
Çizelge 4.6. Populasyonlar arasında gen akışının $\gamma_{ST}$ değeri üzerinden hesaplanan Nm değerleri.....	34



# 1. GİRİŞ

## 1.1. *Engraulis encrasicolus*'un Biyolojisi ve Ekolojisi

Ülkemizde doğal olarak bulunan ve yüksek ekonomik değere sahip olan hamsi balığı (*Engraulis encrasicolus* L., 1758) Actinopterygii sınıfına ait Clupeiformes takımı ve Engraulidae familyasına ait bir türdür. Engraulidae familyası dünyada 16 cins ve 139 türle temsil edilmektedir. Bunlardan sadece 8 türü dünya balıkçılığında ekonomik olarak öneme sahiptir. *E. anchoita*, *E. euristole*, *E. australis*, *E. japonicus*, *E. copensis*, *E. mordax*, *E. ringes* ve *E. encrasicolus*' tur (Tokdemir, Ö., 2006). *E. encrasicolus* Avrupa hamsisi olarak da adlandırılmaktadır. İğ şeklinde ve hafifçe yassılaştırmış olan vücudu büyük ve parlak pullarla kaplıdır. Bu pullar deriye iyice intibak etmediği için kolaylıkla dökülür. Sırtı mavi, yeşilimsi ve lacivert renkte olup yan tarafları gümüş renginde ve karnı beyazdır. Yanal çizgileri yoktur. Üst çenesi alt çenesine oranla daha uzundur. Vücuda göre ventral tarafta olan ağız oldukça geniştir. Çenelerinde çok yumuşak dişler batıcıdır ve kesme işlevi göstermez (Anonim, 2006).

Beslenme özellikleri bulunduğu çevreye göre değişiklik göstermekle birlikte ergin ve larvaların besinlerini genellikle planktonik organizmalar oluşturmaktadır. Ayrıca planktonların yanında kalanoid kopepodlar, sirripedler ve yumuşakça larvalarıyla da beslenmektedirler (Zaitsev, Y, 2000; Whitehead vd, 1988). Hamsi ayrıca sardalya, çaça, tirsi ve taraklılar gibi organizmalarla besin zincirinin aynı basamağındadır ve aynı besinleri almaktadır (Örek ve Bingel, 2000).

Bu tür, küçük pelajik bir balık türüdür. Oldukça geniş bir yayılış alanına sahip olan tür genellikle tüm tropik, subtropik denizlerde sürüler halinde yaşarlar ve kıyılara kesimlerde bulunurlar (Örek ve Bingel, 2000). Ayrıca 6-29°C sıcaklık aralığı ve binde 5-41,55 lik tuzluluk oranları arasındaki sularda yaşayabilmelerinden dolayı bu kadar geniş yayılışa sahiptirler (RÉ, 1996). Tür, İskandinavya'dan Batı Afrika'ya kadar olan Doğu Atlantik sahilleri boyunca ve ayrıca Akdeniz, Karadeniz ve Azak Deniz'ine kadar uzanan geniş bir alanda dağılım göstermektedir (Whitehead vd, 1988).

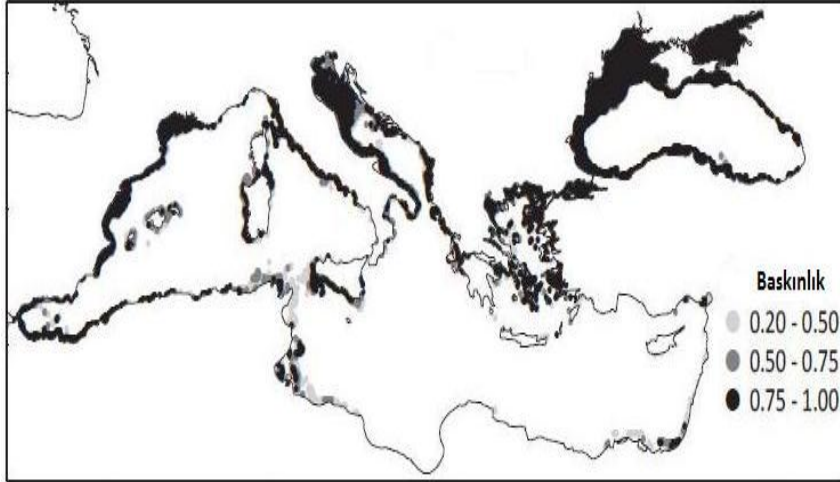
Hamsilerin doğal ömrü yaklaşık 4 yıldır. Üreme olgunluğuna geçirdikleri ilk yılın sonunda ulaşırlar ve yaşamları boyunca iki defa döl verirler (Satılmış ve Bat, 2010). Genellikle Mayıs-Eylül ayları arasında yumurta bırakırlar. Yumurtlama,

kıyı yakın sığ sularda (5-10 metre derinlikte) ve 17-27,5°C su sıcaklığında olur; yumurtanın bırakıldığı suyun tuzluluk oranı binde 12-18 ve pH'sı 8,3-8,4 arasında değişmektedir (Slastenenko, 1955). Birey başına yumurta verimi 10.000-40.000 arasında değişmektedir. Yumurtalar elips veya ovale yakın şekillidir (Slastenenko, 1955). Su sıcaklığına bağlı olarak 24 saat içerisinde larvalar oluşmaktadır. İlk yılın sonunda ürüme olgunluğuna ulaşan hamsiler üremek ve beslenmek için göç etmeye başlarlar (Petitgas, 2010)

Hamsi gece ile gündüz süreleri arasında dikey göç yapmaktadır. Gündüz derin sulara (70-90 m) inerken geceleri sahillere ve yüzeye doğru (10-40 m) çıkmaktadır (Örek ve Bingel, 2000).

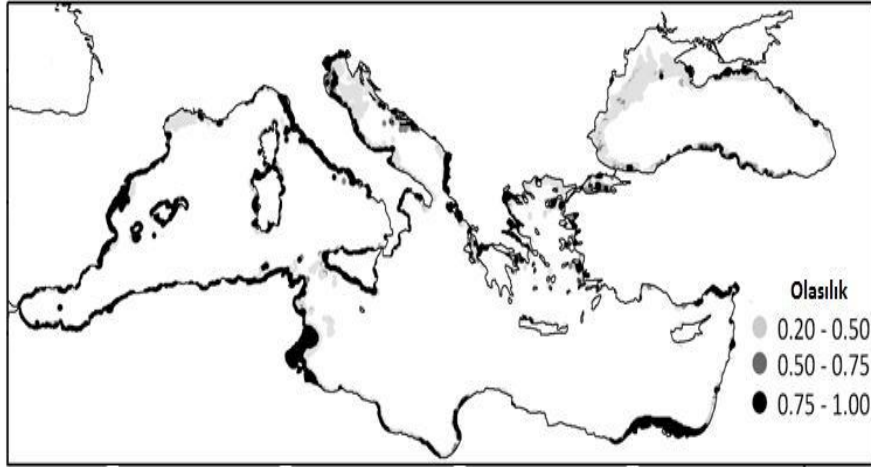
Pelajik olan bu tür, sonbahar ve kış aylarında buldukları bölgelerin kıyı kesimlerine kışlamak amacıyla büyük sürüler halinde göç ederler. Mart ayından başlayarak ilkbahar ve yaz aylarında kıyı kesimlerden ayrılarak daha açıklara, kuzeye doğru beslenmek ve üremek amacıyla göç ederler (Örek ve Bingel, 2000).

*E. encrasicolus* yaz aylarında üremek ve beslenmek için kıyılardan uzaklaşarak açık denizlere doğru göç eder. (Şekil 1.1).



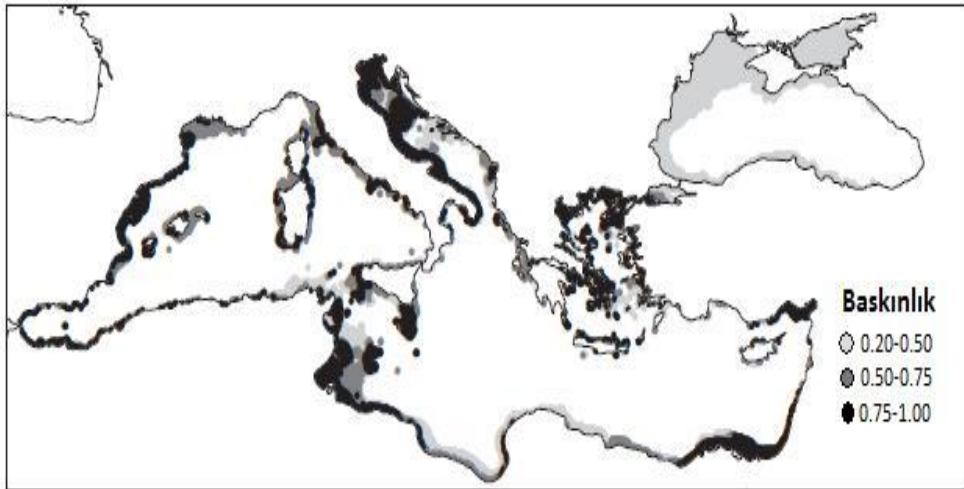
**Şekil 1.1.** Yaz aylarında hamsilerin yumurta verilerine dayanan potansiyel yumurtlama alanları (Giannoulaki, M., 2010).

Kış aylarında ise yumurtadan çıkan ve üreme olgunluğuna erişen juveniller erginlerle beraber kışlama için kıyı bölgeleri seçerler (Şekil 1.2).



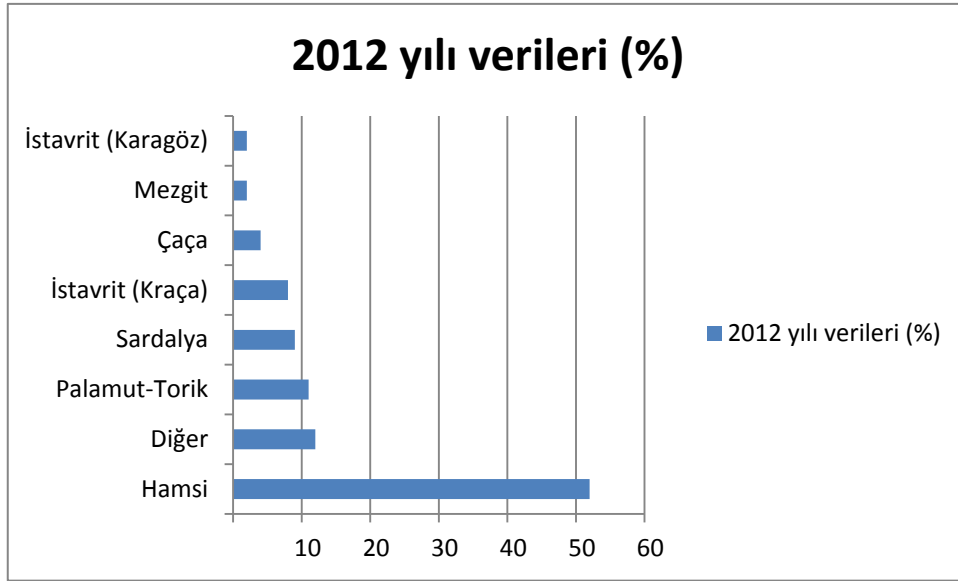
**Şekil 1. 2.** Kış aylarında hamsi juvenillerinin bulunma olasılığını gösteren alanları ve olasılık değerleri (Giannoulaki, M., 2010)

Sonbahar aylarında ise artık kıyıda ayrılmak için göç etmeye başlamaktadırlar (Şekil 1.3).



**Şekil 1. 3.** Sonbahar aylarında genç bireylerin potansiyel habitatları (Giannoulaki, M., 2010).

Hamsi balığı (*E. encrasicolus*) tüm denizlerimizde yayılış göstermektedir, en fazla bulunduğu ve avcılığının en fazla olduğu denizlerimiz Karadeniz ve Marmara Denizi'dir. Türkiye İstatistik Kurumu'nun (TÜİK) 2012 yılı su istatistiklerine göre, avlanan deniz balık miktarı toplam 315 636,5 ton iken aynı sene avlanan hamsi miktarı 163 981,9 tondur. Toplam avlanan deniz balığı miktarının %52'sini oluşturmaktadır.



**Şekil 1. 4.** Türkiye’de 2012 yılında avlanan deniz balıklarının yüzdelik dağılımı (TÜİK, 2012).

Türkiye İstatistik Kurumu'nun 2009 yılı su ürünleri istatistiklerine baktığımızda ise avlanan toplam 204 699 ton hamsinin 165 357 tonu Doğu Karadeniz, 20 249 tonu Batı Karadeniz, 10 984 tonu Marmara, 7 782 tonu Ege ve 327 tonu ise Akdeniz'dendir. Bu anlamda Karadeniz ve Marmara Denizi'nin önemi oldukça büyüktür. Gürcistanda avlanan hamsi miktarları da oldukça yüksektir. 2001-2009 yılları arasında avlanan hamsi miktarları sene başına 20 ile 50 bin ton arasında değişim göstermiştir. Gürcistan’ da 2009-2010 sezonunda avlanan toplam deniz balığı miktarı 39 993 tondur ve bunun 39 857 tonunun hamsi olduğu belirlenmiştir. 2010-2011 sezonunda ise avlanan 26 006 ton deniz balığından 25 919 tonu hamsi balığına aittir (Zengin vd., 2012). Buna bağlı olarak da bu bölgelerdeki hamsi



balığın popülasyon yapılanması ve genetik çeşitliliklerinin belirlenmesi önemlidir.

Ülkemizde özellikle Karadeniz bölgesinde yoğun olarak avlanma gerçekleşmektedir. Büyük ekonomik önemi olan bu türün genetik çeşitliliği, sağlıklı bir popülasyon için kritik öneme sahiptir. Yapılan yoğun avcılık balık popülasyonlarında azalmalara ve bunun sonucunda da genetik sürüklenme ile genetik çeşitliliğin düşmesine neden olabilir. Genetik çeşitlilikteki azalma popülasyonlarda ani çökmeler gerçekleştirebilmektedir.

Tüm bunların ışığında türün farklı lokal grupları arasında biyolojik farklılıklar ve bu farklılıklara etki eden genetik ve ekolojik süreçleri anlamak gereklidir. Bu amaçla bir türün lokal gruplarını tanımlamak için stok kavramı kullanılmaktadır. Bu tanım; balıkçılıkta, belirli bir bölgede belirli metotlarla yakalanan balık grubudur. Balıkçılık biyolojisinde stok; üreme bakımından az veya çok izole olan ve kendi aralarında üreyen aynı zamanda ortak bir gen havuzunu paylaşan bir türün lokal grupları olarak tanımlanmaktadır. Genetik stoktan bahsedilirse; birbirlerinden genetik olarak farklı olan izole birimlerdir. Eğer stok tanımı için genetik bir temel mevcut değilse, çevresel veya fenotipik stok tanımları kabul edilmektedir (Altukhov, 1981;Carvalho ve Hauser, 1994; Coyle, 1998).

Günümüzde, stok tayini gerçekleştirmek, bu stoklarla beraber bunları oluşturan grupları tanımlamak ve gruplar arası genetik farklılığı, genetik çeşitliliği ortaya koymak için kullanılan yöntemlerin başından genetik metotlar gelmektedir. Bunun için de pek çok moleküler belirteçler kullanılmıştır.

## **1.2. Moleküler Belirteçler**

Günümüzde canlılar arasındaki çeşitliliği ortaya koymada en çok kullanılan tekniklerin başında moleküler teknikler gelmektedir. 1980'li yılların başından itibaren gelişmeye başlayan ve günümüze kadar hızla ilerleme kaydeden moleküler teknikler, türler ve popülasyonlar arasında genetik çeşitliliğin belirlenmesinde artık yoğun bir şekilde kullanılmaya başlanmıştır.

Özellikle son birkaç yıldır en önemli konuların başında biyolojik kaynakların etkili kullanımı, yönetilmesi ve sürdürülebilirliği gelmektedir. Biyolojik kaynakların etkili olarak kullanmak ve sürdürülebilirliği sağlamak için türlerin ve popülasyonların genetik çeşitlilik düzeylerinin belirlenmesi önemlidir.

Günümüzde yapılan çalışmalarda farklı genetik belirteçler kullanılmaktadır. Bu çalışmalarda tür ve populasyonların genetik bilgilerine ulaşılabilmiş ve bu bilgiler populasyon genetiği, genom haritalama gibi alanlarda kullanılmaya başlanmıştır. Tüm çalışmalara rağmen gerek genom haritalama çalışmalarında gerek kantitatif karakter lokuslarının belirlenmesinde ilave bilgilere ihtiyaç duyulmaktadır.

Moleküler belirteçler; bir tür, populasyon veya bireyin genomunun belli bir bölgesinin diğer tür, populasyon veya bireyden farklılığını ortaya koyan protein veya DNA molekülleri olarak adlandırılır.

Balıklarda populasyon genetiği ve stok tanımlama çalışmalarında, moleküler tekniklerden ve moleküler belirteçlerden uzun süreden beri yararlanılmaktadır. Bu teknikler ilk olarak, denizlerde gözlenen göç modellerinin araştırılmasıyla ilgili yapılmıştır (Ward, 2008).

Moleküler genetik çalışmalar ilk olarak deniz balıklarında hemoglobin polimorfizminin araştırılmasıyla başlanmıştır. (Sick, 1965). Protein düzeyinde yapılan çalışmaları ilerletebilmek ve yapılan çalışmalardan daha çok verim elde edebilmek amacıyla genetik belirteçleri çeşitlendirmenin gerekliliği ortaya çıkmıştır. Buna bağlı olarak 1980'li yılların başında Deoksiribonükleik Asit (DNA)'dan yararlanmaya başlamışlardır. Bu alanda yapılan ilk çalışmalar mitokondriyal DNA (mtDNA) odaklı olup, restriksiyon parça uzunluk polimorfizmi (RFLP) analizi kullanılmıştır (Lansman vd., 1981).

*E. encrasicolus* türü için ilk çalışmalar morfometrik ve meristik karakterlerle beraber kullanılan allozim analizlerine dayanmaktadır. Çalışmada Azak ve Karadeniz hamsileri arasındaki farklılıklar ortaya konmuştur (Altuchov, 1974). Sonraki yıllarda yapılan pek çok stok tanımlama, populasyon genetiği ve filogenetik çalışmalar nuklear DNA (nDNA) ve mtDNA belirteçleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

### **1.2.1. Allozim Elektroforezi**

Alloenzim veya allozimler, aynı lokustaki farklı allelerce kodlanan bir enzimin farklı formları olarak adlandırılmaktadır. Buna karşı, farklı gen lokuslarında kodlanan fakat aynı fonksiyonu gösteren enzimlere izoenzimler adı verilir. Allozimler bir enzimin farklı varyantları oldukları için farklı amino asit içeriğine sahiptirler. Bu da allozimlerin farklı elektriksel yük ya da farklı moleküler

büyükükte olduğunu gösterir. Bu gibi allelik farklılıklar elektroforez ile ortaya çıkarılabilmektedir. Meydana gelen bu farklılıkları ortaya koymak bir lokustaki allelerin belirlenmesini sağlamaktadır.

Allozimlerde genetik varyasyonun sonucu veriler elde edilir. Genetik varyasyonun bir sonucu olduğu için de fenotipik özelliklerden etkilenmezler. Bu belirteçlerle hem homozigot hem heterozigot bireyler kolaylıkla ayırt edilebilir. Ayrıca elde edilen varyantlarla genom içerisinde farklı lokuslarda bulunan bağımsız Mendel polimorfizmlerini açığa çıkarır. Bununla beraber birçok avantajı vardır. Bunlardan biri diğer moleküler yöntemlere göre daha hızlı sonuç vermesidir. Diğer bir avantajı ise bu teknikte kullanılan kimyasalların daha ucuz olmasıdır. Bunların yanında pek çok dezavantajı da bulunmaktadır. Teknik için canlı veya taze dondurulmuş dokuya ihtiyaç duyulması bir dezavantajdır. Çünkü araştırılacak enzimin denatüre olmamış olması gerekmektedir. Bu teknikle sadece yapısal genler incelenebilir. Bazı enzimlerin ise sadece belli dokularda bulunması başka bir dezavantajıdır. Ayrıca genetik kodun dejenerasyonundan dolayı aminoasit değişimi gerçekleşmeyebilir. Bu da hatalı hesaplamalara neden olmaktadır. Bununla birlikte amino asit değişimleri sonucu oluşan yeni amino asitin elektrik yükü değişmeyebilir. Bunun sonucu yeni oluşan protein aynı elektriksel yüke sahip olur ve benzer protein olarak değerlendirilir. Bu da hesaplanan genetik varyasyon miktarının olması gerekenden daha az çıkmasına neden olur (Okumus, 2003).

### **1.2.2. Mikrosatellitler ve Diğer Tekrarlı DNA Dizileri**

Balıkları da içeren ökoryatik organizmaların, onlarca hatta yüzlerce ve binlerce kez tekrarlanan DNA segmentleri VNTR (variable number of tandem repeats) olarak adlandırılır (O'Reilly ve Wright, 1995). Oldukça polimorfik olan bu tekrarlı DNA'lar tekrar eden birimlerin büyüküklerine göre minisatellitler ve mikrosatellitler olmak üzere iki gruba ayrılır. Minisatellitler, tekrarlı dizileri 9-65 baz çiftinden (bç) oluşan gruptur. Mikrosatellitler ise 20-300 bç uzunluğundaki kısa 2-8 baz çiftli (1-6 bç) tekrarlı dizilerden oluşmaktadır (Okumus, 2003). Balık türlerinde minisatellitler her 1500 kilobazda (kb) bir bulunurken mikrosatellitler her 10 kb'da bir bulunmaktadır. Yani bu polimorfik lokuslar genomda bol miktarda gözlenmektedir ve genom haritalama çalışmalarında oldukça kullanışlıdır (Wright, 1993; O'Connell and Wright, 1997). Mikrosatellitler tipik olarak kısa dizilerdir ve bundan dolayı polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile

kolay bir şekilde çoğaltılabilirler. Çoğaltılan ürünler de hem otomatik dizilemeyle hem de jel elektroforeziyle manuel olarak analiz edilebilirler. Bir lokusta bulunan allel çiftinin her biri, kor zincirdeki tekrar sayısının farklılığıyla birbirinden ayrılır ve PCR ile bu aleller çoğaltılabilmektedir. Böylece bireylerin genotipi tespit edilebilir. Mikrosatellit belirteçler de kodominanttır.

Bazı mikrosatellit lokusları, lokus başına oldukça yüksek miktarda allel sayısına sahiptir. Bu tip mikrosatellitler karışık populasyonlarda anne-yavru tanımlamasıyla beraber populasyon biyolojisinin çeşitli alanları için çok kullanışlıdır. Allel sayıları diğer mikrosatellitlere göre daha az olanlar populasyon genetiği ve filogen çalışmaları için uygun olabilir (O'Connell ve Wright, 1997; Estoup ve Angers, 1998).

### **1.2.3. mtDNA ve nDNA**

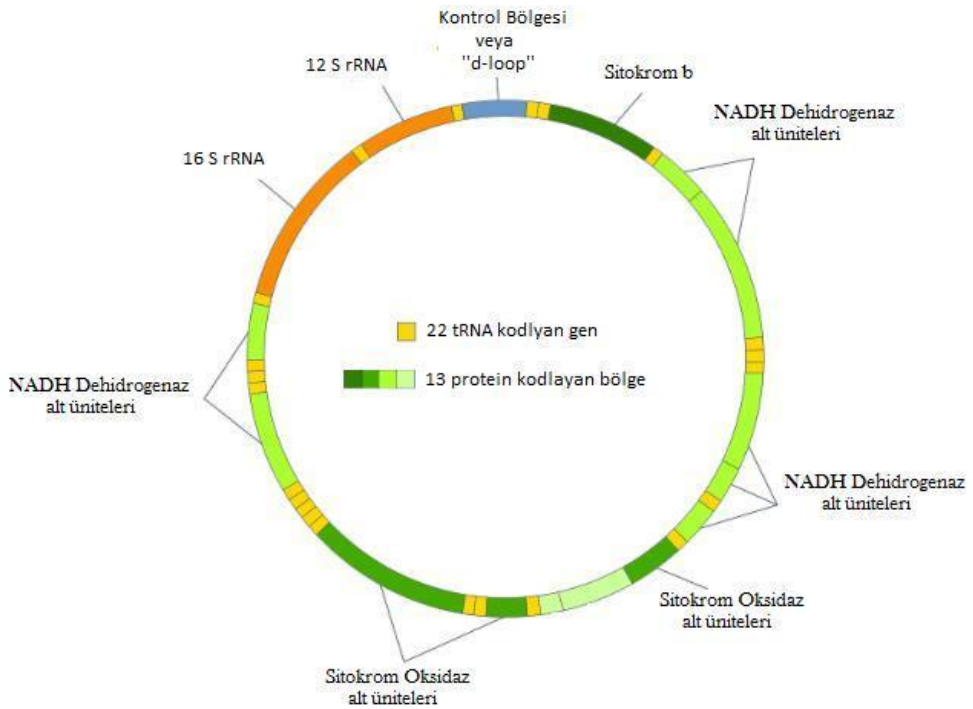
Genlerin DNA nükleotid dizisindeki farklılıklar 1980'li yılların başlarında doğrudan ya da dolaylı olarak saptanabilir hale gelmiştir. Ökaryotik hücrelerin DNA'sının küçük bir kısmı çekirdek dışındadır. Bu küçük kısım mitokondri adı verilen stoplazmadaki organel içerisinde bulunmaktadır.

mtDNA'nın bazı temel özellikleri vardır. Genel olarak haploit tek bir molekül şeklinde maternal olarak kalıtılır. Tüm genom tek bir birim olarak transkribe edilir. Rekombinasyon gerçekleşmez ve homolog belirteç olarak kabul edilir. Özellikle seçici olarak nötraldir. Her hücrede çoklu kopyaları bulunur. Tek yönlü ve görünürde herhangi bir düzenleme veya tamir mekanizması olmadan simetrik şekilde olan replikasyonu sürekli devam etmektedir (Billington, 2003).

mtDNA çekirdek DNA'sı gibi kodlama yapan ve yapmayan bölgeler içerir ve ayrıca DNA'nın kodlama yapan bölgelerinden daha hızlı evrimleşir. Maternal aktarımın önemli özelliklerinden biri, mtDNA için, etkili populasyon büyüklüğünün çekirdek DNA'sından daha küçük olmasıdır. Böylece mtDNA varyasyonlarını, darboğazlar ve melezlemeler gibi populasyon olaylarının çok hassas bir göstergesi haline getirir ve bunlar için pek çok veri üretilmesini sağlar. Gen akışında cinsiyete özgü farklılıklarda çekirdek DNA'sı ve mtDNA arasında zıtlıklar ortaya çıkabilmektedir (Okumus, 2003).

mtDNA'nın bir kısmındaki diziler türler arasında oldukça korunmuştur ve bu yüzden yoğun bir şekilde çalışılmıştır. mtDNA'nın D-loop (displacement loop)

bölgesi, omurgalıların tüm mtDNA'sının yalnızca kodlama yapmayan bölgesidir. D-loop bölgesini hedefleyen bazı belirteçler memeliler için oldukça değişkendir fakat bazı balık türlerinde D-loop küçük polimorfizmler gösterir. Birkaç balık türüyle yapılan çalışmalar (*Salmo trutta*, Hall ve Nawrocki, 1995; *S. salar* McConnell vd., 1995; *Anguilla anguilla*, Daemen vd., 1996) kodlama yapmayan D-loop bölgesinin mtDNA'daki başka bir yerden daha az değişkenlik göstermiştir. Böylece, *Sitokrom\_b* ve dehidrogenaz genleri daha verimli bir şekilde incelenebilir (Carr ve Marshall, 1991).



**Şekil 1.5.** mtDNA (Anonim)

mtDNA balıkçılık biyolojisi ve yönetiminde, yetiştiricilikte pek çok uygulamaya sahiptir. Son 15 yıl içerisinde pek çok türde özellikle populasyon ve evrimsel çalışmalar için çok ilgi çekmektedir (Awise, 1994). Ayrıca son 10 yıldan daha fazla sürede balıklarda populasyon yapısı ve filogenisindeki sorulara açıklık getirmek için çok popüler bir belirteç haline gelmiştir. mtDNA çalışmaları

özellikle stok tanımlamaları ve karışık populasyonların analizine katkıda bulunabilmekte, balıklar arasında melezleme ve bir türden diğerine gen hareketleri üzerine bilgiler sağlayabilmekte, son olarak da koruma ve iyileştirme programlarında kullanılmak üzere bilgiler sunabilmektedir.

Özetle küçüklüğü, haploit ve maternal kalıtımı, konservatif gen düzenlenişi ve nDNA ile kıyaslandığındaki hızlı evrimleşme oranı gibi önemli özellikleri mtDNA analizlerini populasyon genetiği ve evrimsel genetik çalışmalarında önemli derecede kullanışlı ve vazgeçilmez bir yöntem yapmaktadır. Ancak tüm bunlara ek olarak bazı sınırlamaları da vardır. Bunlar;

1- Her ne kadar hayvan mtDNA'sı 37 genden oluşuyorsa da tek bir birim olarak kalıtılır. Yani mtDNA yalnızca tek bir lokus temsil eder. Bu yüzden sadece tek bir evrim penceresinden bakabilirsiniz. Bu pencere bize sadece bir soydan diğer soya aktarılan maternal tarihi en iyi şekilde yansıtır. Türlerin ya da populasyonların genelini tarihi göstermeyecektir. Bu yüzden tür veya populasyonların tarihi için yapılan çıkarsamaların son derece ön yargılı olması muhtemeldir. Buna bağlı olarak da genomik moleküler belirteçlere olan ihtiyaç açıktır.

2- mtDNA'nın etkili populasyon büyüklüğü, nuklear otozomal dizilerin yalnızca dörtte biri kadardır. Bu mtDNA soylarının çok daha hızlı soya ayrılma oranına ve daha yüksek allel kaybı oranına sahip olması anlamına gelmektedir (Zhang ve Hewitt, 2003).

Tüm bu nedenlerden dolayı çalışmalarda nuklear ve mitokondrial genlerin birlikte kullanılması ve elde edilen verilerin birlikte değerlendirilmesi populasyon genetiği ve filogenetik çalışmalar için en doğrusudur.

*E. encrasicolus* ülkemizde Akdeniz, Ege Denizi, Marmara Denizi ve Karadenizde yayılış göstermektedir. Bu türün avcılığı özellikle Karadeniz ve Marmara Denizi'nde yoğun olarak yapılmaktadır. Bu türün stok tanımlaması ve genetik çeşitliliği üzerine gerek ülkemizde gerekse farklı denizlerde pek çok çalışma bulunmaktadır. Sadece bizim karasularımızı içeren çalışmalar az sayıdadır ve bunlar genellikle moleküler belirteçlerden allozimler kullanılarak yapılan çalışmalardır (Erdogan, 2009). Günümüzde populasyon genetiği çalışmalarında mtDNA belirteçlerinin önemi büyüktür. mtDNA maternal olarak kalıtılması, rekombinasyona uğramaması ve evrimleşme hızının fazla olması gibi pek çok

önemli özelliği barındırmaktadır. Bu bakımdan mtDNA belirteçleri, populasyonların genetik çeşitliliğinin belirlenmesi, karışık populasyonların analizini kolaylaştırması, stok tanımlanması, balıklar arasında melezlemeyi ortaya koyması ve özellikle de gen akışı hakkında bilgiler sağlaması açısından populasyon genetiği çalışmalarında sıkça kullanılmaktadır. Bu çalışmada Karadeniz ve Marmara Denizi'ndeki *E. encrasicolus* populasyonlarının genetik çeşitliliği, gen akışları, *Sitokrom\_b* ve nikotinamid adenin dinükleotid dehidrogenaz'ın 6. alt ünitesi (*ND6*) gen bölgelerini içeren mtDNA baz dizisi kullanılarak ortaya konacaktır. Yapılan bu çalışmayla Marmara ve Karadeniz'de populasyonların mtDNA belirteci ile genetik varyasyonlarının belirlenmesi ve ileri çalışmalara temel olması amaçlanmıştır.

## 2. KAYNAK ÖZETLERİ

*E. encrasicolus* Türkiye’de deniz balıkçılığı avcılığı yapılan ve ekonomik deniz balıkçılığında avcılığı yapılan ve ekonomik önemi çok büyük olan bir türdür. Bu tür ülkemiz denizlerinde özellikle Karadeniz’de önemli miktarda bulunmakla beraber İskandinavya’dan Batı Afrika’ya kadar olan Doğu Atlantik sahilleri boyunca ve ayrıca Akdeniz, Marmara, Ege Denizi ve Azak Denizi’ne kadar uzanan geniş bir alanda dağılım göstermektedir (Whitehead vd, 1988). Türkiye denizlerinde *E. encrasicolus*’a ait birçok çalışma yapılmıştır.

Alexandrov (1927), Azak ve Karadeniz hamsilerini incelemiştir. Sonuçta Karadeniz hamsisinin Karadeniz’in batısında yerleşik olduğunu belirtirken, üremek ve beslenmek için Azak Denizi’ne giren Azak hamsisinin ise Karadeniz’in doğusunda yerleşik olduğu ortaya koyulmuştur.

Pousanov (1936) yaptığı çalışmada Azak hamsisini *E. maeticus* olarak kabul etmiştir. Bunun dışında kalan Karadeniz ve Akdeniz hamsilerini tek bir soy altında birleştirmiştir. Karadeniz’de hamsi, Karadeniz hamsisi (*Engraulis encrasicolus ponticus*) ve Azak hamsisi (*Engraulis encrasicolus maeticus*) olmak üzere iki alt türle temsil edilmektedir. Bu sınıflandırma balıkçılık açısından olan balık stoklarının saptanmasında oldukça önemlidir.

Altuchov (1974) balıkların populasyon genetiği üzerine bir çalışmada gerçekleştirmiştir. Karadeniz ve Azak Denizi hamsileri arasındaki farklılıklar, morfometri ve meristiklerin oluşturduğu morfolojik karakterlere dayalı teknikler ve allozim analizleriyle ortaya koyulmuştur.

Whitehead vd. (1988) *E. encrasicolus*’ un yayılış alanının İskandinavya’dan Batı Afrika’ya kadar olan Doğu Atlantik sahilleri boyunca ve ayrıca Akdeniz, Karadeniz ve Azak Deniz’i olduğunu belirtmişlerdir.

Spanakis vd. (1989) Ege Denizi ve İyonya Denizi’nin hamsi stokları arasında morfometrik ve allozim analizleri sonucunda anlamlı genetik ve morfometrik farklar bulmuşlardır.

Magoulas ve Zouros (1993), mtDNA restriksiyon kesim bölgeleri heteroplazmalarını incelemiştir. mtDNA analizleri sonucu incelenen 435 bireyde 3 temel heteroplazmik birey ortaya çıktığı belirtilmiştir. Çalışmanın sonucunda



heteroplazmilerin hamsilerde biparental mtDNA kalıtımından sonuçlandığı gözlemlenmiştir.

Bembo vd. (1995) yaptığı çalışmada Avrupa hamsileri arasında stok tanımlaması yapmıştır. Bu çalışmada mtDNA' nın NADH dehidrogenaz kompleksinin *ND5* ve *ND6* kısımlarını içeren 2,5 kb uzunluğundaki bölgesini kullanarak RFLP tekniğini uygulanmıştır. Adriatik Denizi'ni temsilen 3 farklı coğrafi bölgelerden, İyonya Denizi, İtalya açıklarında Akdeniz'in bir kolu olan Tiren Denizi ve Ege Denizi'nden örneklemeler yapılmıştır. Çalışma sonucunda 140 balık örneğinden 53 haplotip elde edilmiş, bu haplotiplerin 39 tanesinin tek haplotip olduğunu belirtmiştir. Bununla beraber analizler sonucu coğrafik heterojenite ve Monte Carlo  $X^2$  değerlerine bakarak Ege Denizi örneklerinin diğerlerinden anlamlı derecede farklılaştığı ortaya konmuştur. Ayrıca Adriatik Denizi içerisindeki örnekler arasında bir varyasyon olmamasına rağmen, Adriatik çevresindeki sularla arasında varyasyonun var olduğu belirtilmiştir.

Bembo vd. (1996a) Adriatik Denizi'nde yaptığı çalışmada stok yapılanması olup olmadığını incelemiştir. Bu çalışmada allozim elektroforezi ve morfometrik analizlerden yararlanmıştır. Morfometrik analiz için yaklaşık 200 balık örneği, allozim elektroforezi için 50-80 balık örneği incelenmiştir. Çalışma sonucunda Adriatik'te bir stok yapılanması olduğu tespit edilmiştir. Veriler, stoklardan birinin Adriatik'in kuzey batısında lokalize olduğunu, diğerinin merkeze yakın güney kısımda lokalize olduğunu göstermiştir.

Bembo vd. (1996b) Kuzey Akdeniz'de Avrupa hamsisinin stok yapılanmasını araştırmıştır. Bu çalışma Adriatik, İyonya, Tiren ve Ege Denizi'nden ayrıca Sicilya kanalından aldığı 634 balık örneğinde 24 enzim kodlayan lokusta elektroforetik analizle gerçekleştirilmiştir. Bu lokuslardan 8 tanesinde tüm örneklerin monomorfik olduğu, diğer lokusların zayıf şekilde polimorfik olduğunu tespit etmişlerdir. Sonuçta göçün hidrocoğrafik ve fiziksel bariyerlerle ilişkisini tartışılmıştır.

Magoulas vd. (1996) *E. encrusicolus* mtDNA'sında RFLP yöntemiyle polimorfizmleri incelemişlerdir. Ege Denizi, Karadeniz ve Akdeniz'in de içinde bulunduğu 8 farklı coğrafi bölgeden örneklemeler yapmıştır. Çalışma sonucunda iki farklı filogenetik grup tespit edilmiştir. Bunlardan birinin daha çok görülen yaygın bir mitotip olduğu, diğerinin bu gruptan bir mutasyonel basamakla

farklılaşp oluştuğunu belirtilmiştir. Yaygın olan filogenetik grubun nükleotid çeşitliliğinin ve homoplazi değişim sayısının dūřuk olduğunu diğer grubun aksine nükleotid çeşitliliğinin fazla homoplazi değişim sayısının yūksək olduğu sonucuna varılmıştır. Yaygın olarak gōrūlen grubun Karadeniz’de var olduğunu, Ege Denizi’ndekinin %85 oranında, Akdeniz ve Biscay Kōrfezi’ndeki grubun %40 oranında yaygın gruba benzerlik gōsterdiđi ortaya konulmuştur. Buna bağlı olarak da orjinlerinin Karadeniz olduğu sonucuna varılmıştır.

Borsa (2002) Ege Denizi ve Akdeniz’ den aldığı örneklerde morfometrik, allozim ve mtDNA analizleri gerçekleştirmiştir. Allozim analizlerinde 24 örnekte 3 polimorfik lokus tespit edilmiştir. Bunun yanında mtDNA’nın 2.5 kb uzunluğundaki ND5/6 bōlgesinin 6 restriksiyon enzimiyle kesimi sonucu oluşan bant profilleri incelenmiştir. Veriler 53 haplotip olduğu gōstermiřtir. mtDNA analizleriyle açık deniz veya okyanus populusyonlarıyla kıyıda bulunan populusyonların genetik olarak farklı oldukları belirtilmiştir. Ayrıca elde ettiği verilerle habitata özgū olan formlar tanımlamıştır.

Turan vd. (2004) Tūrkiye’nin Karadeniz, Ege ve Kuzey Dođu Akdeniz’deki hamsilerin morfometrik yapılanmasını incelemiřlerdir. Toplamda 159 örnek incelenmiř ve yapılan analizlerde Karadeniz ve Ege Denizi hamsileri arasında yūksək derecede farklılıklar gōzlenmiřtir. Populusyonlar arasında gōrūlen farklılıkların genellikle bař bōlgesinde olduđu belirtilmiřtir.

Ivanova ve Dobrovolov (2006) Akdeniz Havzasını ve Atlantik Okyanusu’ nu kapsayan 22 protein lokusu analizine dayalı bir çalışma yapmıştır. Bu çalışmada nişasta ve poliakrilamid jel elektroforez yōntemini kullanmıştır. Analiz edilen 22 lokustan 6’sında polimorfizm bulunmuştur. Genetik-biyokimyasal verilerine dayanarak hamsinin Avrupa ve Afrika olmak ūzere iki alttūrū olduğu hipotezi ortaya koyulmuştur. Bunlardan birincisinin Atlantik Okyanusu, Avrupa’nın Akdeniz kıyıları, Ege, Marmara, Karadeniz ve Azak Denizi’nde bulunduğunu, diğerinin ise Afrika’nın kuzey batı kıyıları boyunca Atlantik Okyanusu’nun Cape Blank bōlgesinde bulunduğu belirtilmiştir. Ege hamsisinin de Avrupa ve Afrika’nın melezmeleri sonucu ortaya çıktığı belirtilmiştir. Ayrıca Karadeniz ve Azak hamsisi arasındaki genetik uzaklık, bunların iki farklı populusyon olarak ayrılabilceğini gōsterilmiřtir.

Magoulas vd. (2006) *E. encrasicolus*'un Karadeniz' den Akdeniz boyunca Doğu Atlantik'de Senegal, Dakar'a kadar yayıldığı bölgedeki 17 coğrafi bölgeyi temsilen 24'er örnek toplamıştır. Bu örneklerin mtDNA-RFLP analizleri sonucunda birbirinden %3,2'lik dizi farklılığıyla ayrılan iki filogenetik grup olduğu belirlenmiştir. Bununla beraber bu iki farklı filogenetik grupta tanımlanan 88 haplotip tespit edilmiştir. Moleküler varyans analizi (AMOVA) sonuçları 4 ana coğrafik grup ortaya koymuştur; Atlantik, Akdeniz, Karadeniz ve Ege Denizi.

Chairi vd. (2007) Güney Akdeniz ve Kuzey Atlantik kıyılarını kapsayan bir çalışma yapmıştır. Bu çalışma mtDNA'nın NADH dehidrogenaz kompleksinin ND5 ve ND6 bölgelerinin RFLP analizine dayanmaktadır. Çalışmada Punta Umbria, Barbate ve Almeria (İspanya'nın güneyi) ile Larache ve Nador (Fas'ın kuzeyi) olan 5 doğal popülasyon kullanılmıştır. Popülasyonlar içi genetik varyasyon %83,3 bulunurken popülasyonlar arası varyasyon %16,97 olarak tespit edilmiştir. Ayrıca genetik varyasyonun İspanya popülasyonlarında Atlantik'ten Akdeniz'e arttığı fakat Fas popülasyonlarında azaldığı bildirilmiştir. Bu genetik yapının gen akışı, hamsilerin biyolojisi, habitat ve zonların hidrolojik özellikleri gibi pek çok faktöre bağlı olabileceğini ileri sürülmüştür.

Zarraonaindia (2009) mikrosatellit belirtecini kullanarak genetik yapılanma ve biyocoğrafya hakkında bir araştırma gerçekleştirmiştir. Araştırmada yedi mikrosatellit belirteci kullanılarak Biscay, Cadiz ve Lion Körfezlerindeki hamsi popülasyonlarının genetik yapısını incelemiştir. Çalışma sonucunda tüm örneklerin, null allellerin varlığı, Wahlund etkisi ve rastgele olmayan çiftleşmeden dolayı heterozigot eksikliği gösterdiği belirtilmiştir. Sadece Biscay körfezindeki iki popülasyon arasında anlamlı genetik heterojenite tespit edilmiştir. Ayrıca sonuçlar, Biscay körfezi ve batı Akdeniz hamsilerinin yeni bir ortak ata paylaştığını desteklediğini ortaya koymuştur.

Türkiye suları için yapılan bir çalışmada Erdoğan vd. (2009), Karadeniz, Marmara ve Ege Denizi'nden topladığı örneklerle bir çalışma gerçekleştirmiştir. Bu bölgelerden topladığı 300 hamsi örneğinde morfolojik ve allozim analizleri uygulamıştır. Morfometrik ve allozim analizi sonuçları birbirini desteklememektedir. Morfometrik ve meristik karakterlerin analizleri Türkiye denizlerindeki hamsilerde bir stok yapılanmanın olduğuna işaret etmekteyken, bu durum allozim verileri ile desteklenmemiştir. Sonuç olarak da bu karmaşıklığın

daha yüksek genetik polimorfizm gösteren genetik belirteçler kullanılarak çözülebileceği önerilmiştir.

Borrell (2012) Biscay körfezi kıyılarından ve Adriatik'ten topladığı örneklerle mtDNA ve mikrosatellit belirteçlerini kullanarak genetik farklılaşmayı tespit etmiştir. 14 nükleer mikrosatellit belirteciyle beraber kullandığı 16 S ve *Sitokrom\_b* nin olduğu mtDNA dizileriyle, genetik olarak farklılaşmış üç grubun olduğunu göstermiştir. Bunları Cantabrian Denizi, Biscay körfezindeki geri kalan populasyonlar ve Akdeniz. Iberian Atlantik populasyonlarının, Biscay körfezindekilerden genetik olarak farklı olduğu bilinmesine rağmen, elde edilen sonuçlar, bu grupların birbirine 100 km kadar yakın bölümleri arasında geçiş olabileceğini ve Biscay körfezinin doğuya doğru olan alanında yeni bir muhtemel genetik homojenizasyon sürecinin olduğunu desteklemektedir.

### 3.MATERYAL VE YÖNTEM

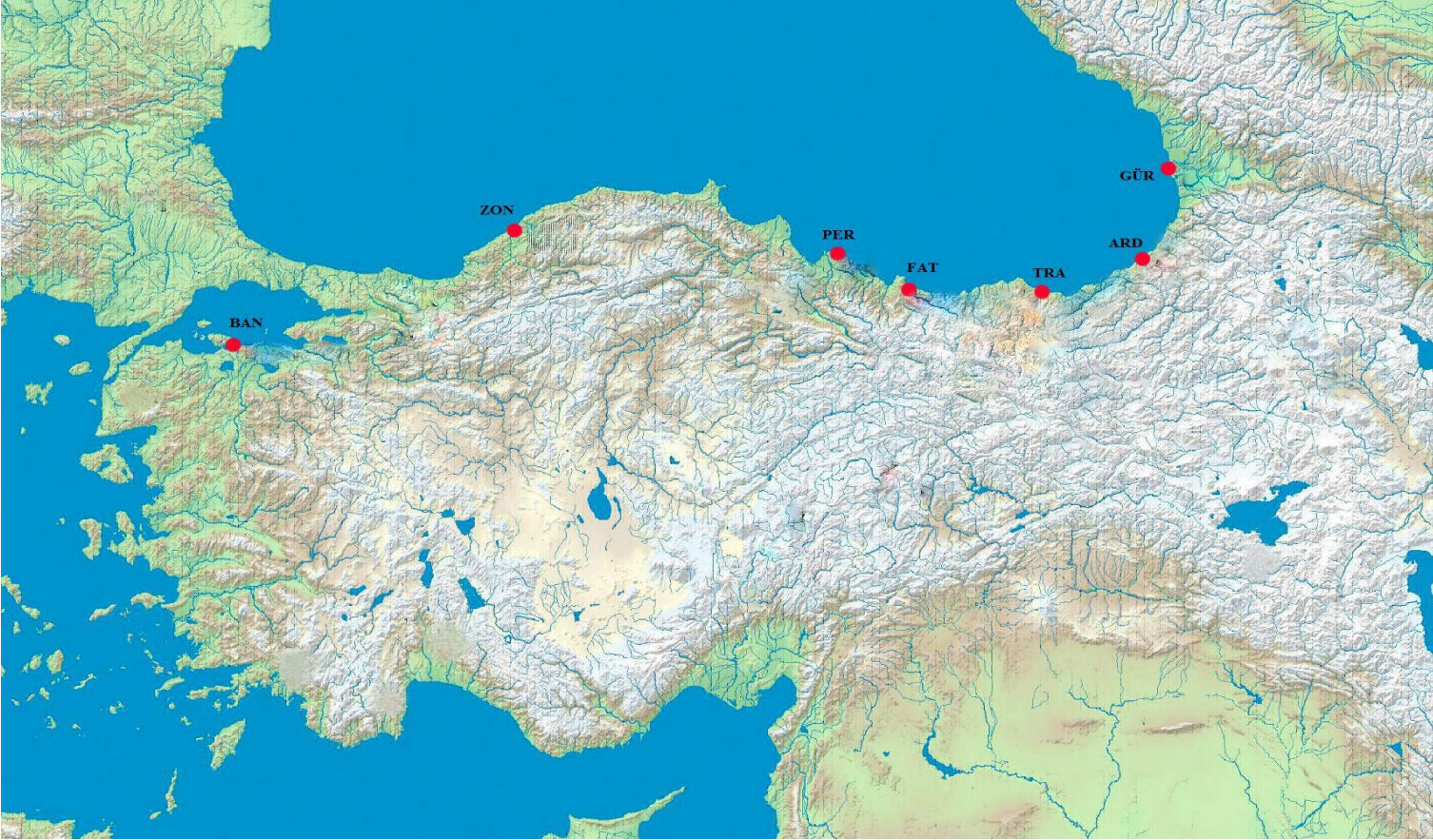
#### 3.1. Hamsi Örneklerinin Toplanması

Bu çalışmada, Gürcistan kıyıları, doğu Karadeniz, orta Karadeniz, batı Karadeniz ve Marmara Denizine ait toplam 7 farklı coğrafi bölgeden 202 örnek kullanılmıştır (Şekil 3.1). Araştırma materyali TÜBİTAK TBAG-111T461 nolu proje kapsamında toplanmıştır. Örneklerin toplandığı coğrafi bölgeler Çizelge 3.1 ile Şekil 3.1’de gösterilmiştir. Taze ve canlı balık örnekleri % 96’lık (v/v) etanol içinde fikse edilerek muhafaza edilmiştir.

Çizelge 3.1. Hamsi populasyonlarına ait coğrafi bölgeler

<i>POPULASYON</i>	<i>KISALTMA</i>	<i>BULUNDUĞU DENİZ</i>	<i>ÖRNEKLERİN TOPLAMA TARİHİ</i>	<i>BİREY SAYISI</i>
Bandırma	BAN	Marmara Denizi	01/2012	30
Zonguldak	ZON	Karadeniz	01/2012	27
Fatsa	FAT	Karadeniz	01/2012	30
Perşembe	PER	Karadeniz	01/2012	25
Trabzon	TRA	Karadeniz	10/2013	30
Ardeşen	ARD	Karadeniz	01/2012	30
Gürcistan	GUR	Karadeniz	10/2012	30
Toplam				202





Şekil 3.1. Örneklerin toplandığı coğrafi bölgeler.





### 3.2. Total DNA İzolasyonu

Total DNA kuyrukla beraber kuyruk kaidesindeki kas dokusundan izole edilmiştir. İlk olarak doku örneklerinden alkol uzaklaştırılmıştır. Mikrosantrifüj tüpüne konulan yaklaşık 100 mg örnek üzerine 180 µl PureLink™ Genomic Digestion Buffer ve 20 µl Proteinaz K (kit içerisinde) eklenmiştir. Tamamen tampon karışımı içine batmış doku steril bir makas yardımıyla çok küçük parçalara ayrılmıştır. Lizis işlemi, tampon içerisindeki parçalanmış dokunun 55° C'de 3-4 saat kadar inkubasyonu ile gerçekleştirilmiştir. İnkubasyon tamamlanana kadar arada vorteks yapılmıştır. Parçacık halinde olan maddeleri uzaklaştırmak için, lizat oda sıcaklığında 3 dakika maksimum hızda santrifüjlenmiş ve oluşan süpernatant yeni bir steril mikrosantrifüj tüpe aktarılmıştır. Süpernatanta 20 µl RNaz A (kit içerisinde) eklenmiş, kısa bir vorteks ile iyice karıştırılmış ve 2 dakika oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. Daha sonra kit solüsyonlarından PureLink™ Genomik Lizis/Bağlama tamponundan (Lysis/Binding Buffer) 200 µl eklenip mikrosantrifüj tüpler vorteks yardımıyla iyice karıştırılmıştır. Lizatin üzerine 200 µl % 96-100 etanol eklenmiş ve 5 saniye vorteks ile karıştırılmıştır. Kitin paketinden toplama tüpü ile birlikte spin kolonu çıkartılarak kolon toplama tüpünün içerisine yerleştirilmiştir. Spin kolona, PureLink™ Genomik Lysis/Binding Buffer ve ethanol ile hazırlanmış ve içinde diğer solüsyonlarında bulunduğu lizat (yaklaşık 640 µl) eklenmiştir. Kolon oda sıcaklığında 1 dakika boyunca 10,000 x g'de santrifüjlenmiştir. Toplama tüpü atılmış ve spin kolon temiz bir toplama tüpü içine yerleştirilmiştir. Kolona, kit içerisindeki, etanol ile hazırlanmış Wash Buffer 1'den 500 µl eklenmiştir. Kolon 1 dakika 10,000 x g'de ve oda sıcaklığında santrifüjlenmiştir. Toplama tüpünü atılmış ve spin kolon temiz bir toplama tüpüne yerleştirilmiştir. Kolona, yine kit içerisindeki, etanol ile hazırlanmış 500 µl (yıkama tamponu) Wash Buffer 2 eklenmiştir. Kolon oda sıcaklığında 3 dakika maksimum hızda santrifüjlenmiş ve toplama tüpü atılmıştır. Spin kolonu steril bir 1.5 ml mikrosantrifüj tüpüne yerleştirilmiştir. Kolona PureLink™ Genomik Elüsyon Tamponundan (Genomic Elution Buffer) 100 µl eklenmiştir. Daha sonra 1 dakika boyunca oda sıcaklığında inkübe edilmiş ve yine oda sıcaklığında 1 dakika maksimum hızda santrifüjlenmiştir. Spin kolon tüp içerisinden çıkarılarak atılmıştır. Artık tüp saflaştırılmış genomik DNA içermektedir.

### 3.3. DNA'nın Spektrofotometrik Analizi

İzole edilen DNA'ların konsantrasyonlarını belirlemek için 260 nm dalga boyunda absorbanslar ölçülmüştür. Yaklaşık DNA miktarının tespitinde aşağıdaki formülden yararlanılmıştır.

$$C_{DNA} = O.D._{260nm} \times S.K. \times 50$$

**O.D.-** Optik Dansite (260 nm'de okunan absorbans değeri).

**S.K.-** Sulandırma katsayısı.

**50** - 260 nm'de 1 optik dansite, çift iplikli DNA konsantrasyonunda 50 µg/ml'sine denk gelir.

Ayrıca stok DNA'nın 280 nm'de absorbansı ölçülerek protein kontaminasyonu olup olmadığı belirlenmiştir.

İzole edilen DNA'ların konsantrasyonunu ölçmek için NanoDrop 2000/2000c spektrofotometre ile ölçülmüştür. Örneklerden 1 µl alınarak nanodrop spektrofotometrede ölçüm yapılmış ve ölçüm sonuçları bilgisayar yazılımı yardımıyla anında elde edilmiştir. Bu yazılımla konsantrasyon ve kirlilikler belirlenmiş ve kaydedilmiştir. Daha sonra tüm örnekler 50 ng/µl ye seyreltilmiştir.

### 3.4. DNA'nın Agaroz Jel Elektroforezi

Tüm DNA örneklerinin agaroz jel elektrofrezinde % 0.8'lik agaroz jel kullanılmıştır. Kullanılan tankın boyutuna göre tartılan agaroz 1X TBE tamponunda (0.5 M Tris-Base, 0.5 M Borik Asit, 0.01 M EDTA, pH 8,13-8,23) çözülmüş ve yaklaşık 50-55 °C'ye kadar hafif hafif çalkalanarak soğutulmuştur. İçerisine safeview (her 100 ml'ye 5 µl) eklenerek tarak yerleştirilmiş olan kalıba dökülmüş ve soğumaya bırakılmıştır. Daha sonra jel, içerisinde 1X TB bulunan elektrofrez tankına yerleştirilmiştir. Jeldeki ilk kuyucuğa DNA büyüklük belirteci yüklendikten sonra yürütülecek örneklerden 5 µl alınarak 5 µl 6X yükleme tamponu (% 50 gliserol, 0,1M EDTA, % 1 SDS, % 0,1 bromfenol mavisi, % 0,1 ksilen siyanol) ile karıştırılıp sırasıyla diğer kuyucuklara yüklenmiştir. Güç kaynağı 100 Volt'a ayarlanarak jel içindeki

örnekler yaklaşık 1 saat yürütülmüştür. Daha sonra jel görüntüleme cihazına (Vilber Lourmat) yerleştirilmiş ve ultraviyole ışını (UV) altında fotoğrafı çekilmiştir. Sonuçta konsantrasyon, degradasyon ve kontaminasyon (RNA, protein) ile ilgili fikir edinilmiştir ve spektrofotometrik analiz sonuçlarına da bakılarak gereken seyreltme ve ayarlamalar yapılmıştır.

PCR için uygun DNA miktarı 100ng/μl olacak şekilde ana stokta bu değerden daha yoğun DNA içeren örneklerde gerekli seyreltmeler yapılmış ve reaksiyonlarda kullanılacak miktar ana stoktan seyreltilerek alınmıştır.

### 3.5. Mitokondri *Sitokrom-b* ve *ND6'* yı İçeren Bölgenin PCR ile Çoğaltılması

*Sitokrom-b* ve *ND6'* yı içeren gen bölgesi için primer dizayn programı olan Primer3 programıyla dizayn edilmiştir. Bu primer kullanılarak yaklaşık 1850 bç'lik bölge PCR ile çoğaltılmıştır. *Sitokrom-b* ve *ND6'* yı içeren gen bölgesi nin PCR ile amplifikasyonu ve dizi analizinde kullanılan primerler Çizelge 3.2'de verilmiştir.

**Çizelge 3.2.** Kullanılan primerler

<i>Sitokrom-b</i> ve <i>ND6</i>		
Primer	Primer Dizisi	T <sub>m</sub> (°C)
CYTB_ND6-F	5' CTC CGT TTC CGG ATT ACA AG 3'	59.56
CYTB_ND6-R	5' TTC TAT CAC CAG CGA CAT GC 3'	59.83

Çoğaltılacak gen bölgesi için optimizasyon çalışmaları yapılmış ve özellikle farklı primerlerin bağlanma sıcaklığı denemeleri yapılmıştır. Her bir PCR reaksiyonu toplam 25 μl hacimde hazırlanmıştır.

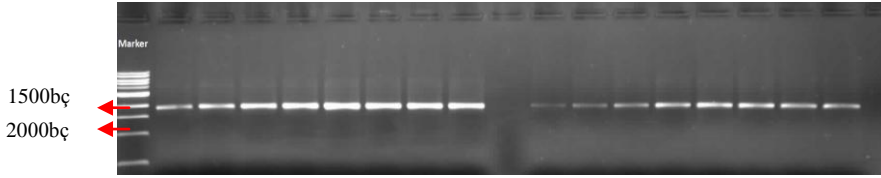
Son hacimde 2 ng/μl kalıp DNA (100 ng/μl), 1x Taq tamponu [10x Taq Buffer; 100 mM Tris-HCl (pH 8.8), 2 mM MgCl<sub>2</sub> (25 mM; Fermentas, MBI), 2.5 mM dNTP karışımı (herbir dATP, dTTP, dCTP, dGTP 0.5 mM; Fermentas, MBI), 0.2 U/μl Taq polimeraz (5 U/μl; Fermentas, MBI), 0.3 pmol/μl *Cytb\_ND6-F* ve *Cytb\_ND6-R* oligonükleotidleri (her biri 25 pmol/μl) 25 μl reaksiyon hacminde steril distile su ile tamamlanarak PCR ile çoğaltıldı.

**Çizelge 3.3.** Sitokromb-ND6 gen bölgesi için PCR programı

Reaksiyon basamağı	Sıcaklık	Süre
Başlangıç Denatürasyonu	94°C	2'
Denatürasyon	94°C	30''
Primer Bağlanma (Annealing)	58 °C	1'
Zincir Uzama (Extension)	72 °C	1'
Son uzama	72 °C	10'

} 30 DÖNGÜ

PCR ürünlerinin kalitesi ve büyüklüğünü kontrol etmek amacıyla ürünler % 1'lik agaroz jelde yürütülmüştür. Kullanılan DNA büyüklük belirteçleri amplicon boyutuna uygun olarak seçilmiştir. Daha sonra jel UV altında görüntülenmiştir (Şekil 3.2).

**Şekil 3.2:** Sitokrom-b ve ND6 gen bölgesi için PCR ürünleri

- Primer Bağlanma Bölgesi
- *ND6 Gen Bölgesi*
- *tRNA-Glu*
- *Sitokrom-b Gen Bölgesi*

```

1  ttctatcacc agogacatgc aacaggggat gatcaaaaacc tacctcaacta ctttctcat
61  caccctagcg ctgccaacac taatagtect aatctaaacg gctcggagag tegetcgatc
121 caccctcctgg acaatctcaa gcacaacaaa cagagttagt aacagaaccg cagcacaat
181 tactaacaag cctcccccca tggagtacat taccctaca ccaccagtat ctteggataa
241 cacaaagaat tecttgaag tgetcaccga gggtaacaga tagttatacc agtccccact
301 aaaataaacc ggggctaocg ctaccogaac taagtaacat accacatact ctaaacaccga
361 ggctccocat cagccctcog gatggggctc ggctgccaaa gctgcccagt aggcaaaacc
421 aaccagtatt cctcccaaat aaattaagaa taacaccago gccaggaaag aagctccgca
481 cccagccaag atagcgacc ctgctccago caccacaacc aacccaaggg ctgcaaagta
541 gggctctggg ttagacgcta ccctaccaa cctaaaatt aacagtaata gtcattccca
601 aaataagtaa gacataattt ccaactggac ttaaccaag actaatgact tgaaaaacca
661 cegtgttat tcaactatag aaactctaa tggcaagcct acgaaaaacc caccctctac
721 tcaagatcgc taacgacgca gtagtagacc tcccagcacc atccaacatt tcagtctgat
781 gaaattttgg atccccttta ggactatgct tggccacaca aatccttaca ggacttttcc
841 tagccaataca ctacacctca gacatcgcta ccgctttctc gtcagtggcc cacatttctc
901 gagacgtaaa ttacggatga ctaatccgaa atatgcatgc aaacggagcc tcattctctc
961 tcattctgcat ttatgcacac attgctcgag gactgtacta cggttcttat ctttaccatg
1021 aaactgaaa catcggagta gtactacttc ttttagttat gatgactgcc ttcgttgggt
1081 acgtacttcc ctgaggacaa atgtccttct gaggagcaac tgttataact aacettatgt
1141 ctgcagttcc ttactgtggc actgaattag tgcagtgaat ttgaggagcc tttctgctg
1201 acaacgcgac tcttaccocg ttcttgcctc tccacttctt attccccttc gttattgcag
1261 gtgttactat ccttccctt ttatttttac acgaaacagg gtctaacaac ccagcagggc
1321 tcaattctga cgcgataaaa atcgcatcc acccatactt ctcttataaa gatctcttag
1381 gattcgcagt aatgctgctg gcgctaacct cgctggcatt attctcccct aacttattag
1441 gagaccctga taattttacc ccagctaate cecttgteac cccaacctat attaagcctg
1501 agtgataact cctctttgct tacgctatcc tccgatccat cccaacaaa ctaggcggag
1561 taettgcect cctattttct atcctagtte ttatggctgt acctatcttg cacacctcta
1621 aacaacyagg aattactttc cgaccatta cgcagtctct attctgaacc cttgttgccc
1681 acgtcactat tcttacctga atcggaggta tgcagtcga acacccttc attattattg
1741 gtaagtagc atcgtactc taactctcta ttttcttctg actagctccc atggcaggat
1801 gattagagaa caaagcccta aactgaaact gcctagtag cttagcgttt taaagcgccc
1861 gtcttgaat ccgaaacgg ag

```

Şekil 3.3. PCR ile çoğaltılan *Sitokrom-b* ve *ND6* gen bölgesi

### 3.6. PCR Ürünlerinin Sıflaştırılması, Dizi Reaksiyonu ve Dizilerin Elde Edilmesi

Sıflaştırılan PCR ürünleri ve primerler, örneklerin sıflaştırılması ve dizi analizi için Güney Kore'deki Macrogen firmasına gönderilmiş, burada BigDye Terminator Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems) kullanılarak, dizi ürünleri ABI 3730XL kapillar otomatik dizileme aletinde yürütülmüş ve elde edilen ham dizi verileri mail yolu ile tarafımıza gönderilmiştir.

### 3.7. Dizilerin Okunması

Elde edilen DNA dizileri BioEdit versiyon 7.1.3.0 (Hall 1999) bilgisayar programı kullanarak hizalanmıştır (<http://www.mbio.ncsu.edu/bioedit/bioedit.html>). Bu diziler her bir birey için ayrı ayrı ve her bir baz dikkatle kontrol edilerek değerlendirilmiştir (Şekil 3.4).



Şekil 3.4. BioEdit 7.1.3 programı kullanılarak dizilenen DNA dizisinin görüntüsü

### 3.8. mtDNA Dizi Analizi

*Sitokrom-b* ve *ND6* gen bölgesine ait diziler her birey için ayrı ayrı incelenmiştir. Bireylere ait dizi dosyaları BioEdit 7.1.3 programına aktararak hizalama işlemi BioEdit içine yerleştirilmiş olan Clustal W (Thompson vd., 1994) modülü kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Gözle de kontrol edilen hizalama dizileri arasında uzunluk farklılıkları olması nedeniyle örneklerin başlangıç ve sonlanma noktalarından hizalamalar yapılmıştır. Her bir örneğin dizi uzunluğu 1790 baz çifti olarak düzenlenmiş ve hizalanmıştır.

### 3.9. mtDNA Veri Analizi

Örnekleme yerleri arasındaki popülasyonların haplotip çeşitliliği ( $h$ ), nükleotid çeşitliliği ( $\pi$ ) ile popülasyon çiftleri arasındaki genetik uzaklık ( $\gamma_{st}$ ,  $\text{Gamma}_{st}$ ) DNAsp ver 5.10 (Rozas vd., 2003) kullanılarak hesaplanmıştır.

Daha sonra elde edilen  $\gamma_{ST}$  değerleri kullanılarak MEGA 5.05 (Kumar vd., 2004) programı ile UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean) uzaklık ağacı oluşturulmuştur. Bu yaklaşımda, genetik uzaklık derecesini ifade eden ve bir lokusta iki alel olduğu zaman Wright (1949)'ın  $F_{ST}$  değerine eşit olan  $\gamma_{ST}$  (Nei, 1973) değerinin 0-0.05 arasında olması, iki popülasyon arasındaki genetik uzaklığın çok düşük; 0.05-0.25 arasında olması genetik uzaklığın orta düzeylerde ve 0.25'den daha yüksek olması ise genetik farklılaşmanın oldukça yüksek olduğunu ifade etmektedir.

Çalışmalar sonucunda elde edilmiş olan 210 adet hizalanmış olan mtDNA *Sitokrom-b* ve *ND6* geni dizi analizi veri seti ile haplotipleri belirlenmiştir.

Örnekleme yapılan bölgeler arasında coğrafik uzaklıklara dayalı gruplamalar yapılarak, Arlequin ver. 3.1 (Excoffier vd., 2006) programı ile gruplara AMOVA (Excoffier vd., 1992) uygulanmıştır. AMOVA ile alel sıklıklarına dayalı genetik varyasyonun gruplar arasında, grup içi popülasyonlar arasında ve popülasyonlar içindeki dağılımı, istatistiksel önem dereceleri belirlenerek (1023 permütasyon), tespit edilmiştir.

## 4. BULGULAR

### 4.1. mtDNA *Sitokrom-b* ve *ND6* Gen Bölgesi Dizileri

Laboratuvar çalışmaları sonucunda 7 coğrafi bölgeden elde edilmiş örneklerden toplamda 280 DNA izolasyonu yapılmıştır. Farklı coğrafi bölgelerden toplanan 280 balık örneğinden elde edilen DNA'lardan mtDNA *Sitokrom-b* ve *ND6* gen bölgesi dizileri elde edilmiştir. Bu çalışmada 7 coğrafi bölgeden toplam 202 örneğin dizi analizi başarılı bir şekilde gerçekleştirilmiştir. Bununla birlikte, bazı DNA'lardan moleküler analizlerde kullanılabilecek uygunlukta ve güvenilirlikte *Sitokrom-b* ve *ND6* gen bölgesi dizilerinin elde edilememesi nedeniyle *Sitokrom-b* ve *ND6* gen bölgesi dizi sayısı, izolasyonu yapılmış olan DNA sayısından daha az olmuştur. Çoğaltılan mtDNA *Sitokrom-b* ve *ND6* gen bölgesi dizi analizine gönderildikten sonra hizalanarak moleküler analizlere hazır hale getirilmiştir. Analize sokulan diziler, 1790 baz çifti uzunluğunda bir veri seti şeklindedir.

### 4.2. mtDNA *Sitokrom-b* ve *ND6* Gen Bölgesi için Haplotip ( $H_d$ ), Nükleotit Çeşitliliği ( $\pi$ ) ve Nükleotit Farklılıklarının Ortalaması ( $K$ )

Karadeniz ve Marmara Denizi'nden toplanan örneklerle yapılan mtDNA *Sitokrom-b* ve *ND6* gen bölgesi dizisi analizi sonucu 202 örnekten 187 haplotip olduğu belirlenmiştir. Tespit edilen bu haplotip dizileri 357 polimorfik ve 166 parsimoni informatif bölge içermektedir. Analizi yapılan 1790 baz çiftlik gen bölgesinin nükleotid oranları %28,54 Adenin (A); %17,32 Guanin (G); %24,98 Timin (T); %29,16 Sitozin (C) olarak tespit edilmiştir.

Çalışma sonucunda mtDNA *Sitokrom-b* ve *ND6* gen bölgesi dizilerinin moleküler analizleri sonucunda, *E. encrasicolus* için belirlenmiş olan 202 örneğin, haplotip ( $H_d$ ) ve nükleotid ( $\pi$ ) çeşitliliği ile nükleotit farklılıklarının ortalaması ( $K$ ) için elde edilen değerler Çizelge 4.2'de sunulmuştur. Elde edilen sonuçlara göre haplotip çeşitliliği 0 ile 1.000, nükleotid çeşitliliği ise 0 ile 0,01 arasındaki değerlerde kalmıştır. Haplotip çeşitliliği en fazla Zonguldak, Trabzon ve Ardeşen'de ( $H_d=1,00$ ) tespit edilmiştir. Bunun yanı sıra Hap32'nin Bandırma'da; Hap64'ün Fatsa'da; Hap90 ve Hap102'nin Gürcistanda; Hap117'nin Perşembe'de iki örnekte ortak olduğu görülmüştür. Ayrıca Hap4'ün, Ardeşen, Bandırma ve Trabzon'da, Hap23'ün Ardeşen ve Gürcistan'da; Hap31'in Bandırma, Zonguldak ve



Trabzon'da; Hap59'un Fatsa ve Perşembe populusyonlarında; Hap88 ve Hap96'nın Gürcistan ve Trabzon'da; Hap98'in ise Gürcistan ve Perşembe'de paylaşılan haplotipler olduğu belirlenmiştir. Populusyonlara ait haplotipleri ve sıklıklar çizelge 4.1'de gösterilmiştir.

**Çizelge 4.1.** Örnekleme yapılan coğrafi bölgelerde gözlenen haplotipler ve sıklıkları

No	Hap	Ard	Hap	Ban	Hap	Fat	Hap	Tra	Hap	Gür	Hap	Per	Hap	Zon
1	Hap1	0,005	Hap4	0,015	Hap59	0,015	Hap4	0,015	Hap23	0,01	Hap59	0,015	Hap31	0,015
2	Hap2	0,005	Hap31	0,015	Hap60	0,005	Hap31	0,015	Hap88	0,01	Hap98	0,01	Hap162	0,005
3	Hap3	0,005	Hap32	0,01	Hap61	0,005	Hap88	0,01	Hap89	0,005	Hap115	0,005	Hap163	0,005
4	Hap4	0,015	Hap33	0,005	Hap62	0,005	Hap96	0,01	Hap90	0,01	Hap116	0,005	Hap164	0,005
5	Hap5	0,005	Hap34	0,005	Hap63	0,005	Hap117	0,01	Hap91	0,005	Hap117	0,01	Hap165	0,005
6	Hap6	0,005	Hap35	0,005	Hap64	0,01	Hap137	0,005	Hap92	0,005	Hap118	0,005	Hap166	0,005
7	Hap7	0,005	Hap36	0,005	Hap65	0,005	Hap138	0,005	Hap93	0,005	Hap119	0,005	Hap167	0,005
8	Hap8	0,005	Hap37	0,005	Hap66	0,005	Hap139	0,005	Hap94	0,005	Hap120	0,005	Hap168	0,005
9	Hap9	0,005	Hap38	0,005	Hap67	0,005	Hap140	0,005	Hap95	0,005	Hap121	0,005	Hap169	0,005
10	Hap10	0,005	Hap39	0,005	Hap8	0,005	Hap141	0,005	Hap96	0,01	Hap122	0,005	Hap170	0,005
11	Hap11	0,005	Hap40	0,005	Hap69	0,005	Hap142	0,005	Hap97	0,005	Hap123	0,005	Hap171	0,005
12	Hap12	0,005	Hap41	0,005	Hap70	0,005	Hap143	0,005	Hap98	0,01	Hap124	0,005	Hap172	0,005
13	Hap13	0,005	Hap42	0,005	Hap71	0,005	Hap144	0,005	Hap99	0,005	Hap125	0,005	Hap173	0,005
14	Hap14	0,005	Hap43	0,005	Hap72	0,005	Hap145	0,005	Hap100	0,005	Hap126	0,005	Hap174	0,005
15	Hap15	0,005	Hap44	0,005	Hap73	0,005	Hap146	0,005	Hap100	0,005	Hap126	0,005	Hap174	0,005
16	Hap16	0,005	Hap45	0,005	Hap74	0,005	Hap147	0,005	Hap101	0,005	Hap127	0,005	Hap175	0,005
17	Hap17	0,005	Hap46	0,005	Hap75	0,005	Hap148	0,005	Hap102	0,005	Hap128	0,005	Hap176	0,005
18	Hap19	0,005	Hap48	0,005	Hap77	0,005	Hap150	0,005	Hap104	0,005	Hap130	0,005	Hap178	0,005

Çizelge 4.1. in devamı

No	Hap	Ard	Hap	Ban	Hap	Fat	Hap	Tra	Hap	Gür	Hap	Per	Hap	Zon
19	Hap20	0,005	Hap49	0,005	Hap78	0,005	Hap151	0,005	Hap105	0,005	Hap131	0,005	Hap179	0,005
20	Hap21	0,005	Hap50	0,005	Hap79	0,005	Hap152	0,005	Hap106	0,005	Hap132	0,005	Hap180	0,005
21	Hap22	0,005	Hap51	0,005	Hap80	0,005	Hap153	0,005	Hap107	0,005	Hap133	0,005	Hap181	0,005
22	Hap23	0,01	Hap52	0,005	Hap81	0,005	Hap154	0,005	Hap108	0,005	Hap134	0,005	Hap182	0,005
23	Hap24	0,005	Hap53	0,005	Hap82	0,005	Hap155	0,005	Hap109	0,005	Hap135	0,005	Hap183	0,005
24	Hap25	0,005	Hap54	0,005	Hap83	0,005	Hap156	0,005	Hap110	0,005	Hap136	0,005	Hap184	0,005
25	Hap26	0,005	Hap55	0,005	Hap84	0,005	Hap157	0,005	Hap111	0,005			Hap185	0,005
26	Hap27	0,005	Hap56	0,005	Hap85	0,005	Hap158	0,005	Hap112	0,005			Hap_186	0,005
27	Hap28	0,005	Hap57	0,005	Hap86	0,005	Hap159	0,005	Hap113	0,005			Hap_187	0,005
28	Hap29	0,005	Hap58	0,005	Hap87	0,005	Hap160	0,005	Hap114	0,005				
29	Hap30	0,005					Hap161	0,005						

Çizelge 4.2. *E. encrasicolus* da mtDNA *Sitokrom-b* ve *ND6* gen bölgesi için tespit edilen haplotip ( $H_d$ ) ve nükleotid çeşitliliği ( $\pi$ ), nükleotit farklılıklarının ortalaması ( $K$ ) değerleri

Coğrafi Bölge Adı	Haplotip çeşitliliği ( $H_d$ )	Nükleotid çeşitliliği ( $\pi$ )	Nükleotit farklılıklarının ortalaması ( $k$ )
Bandırma	0,99770	0,01106	19,8
Zonguldak	1,00000	0,00553	9,6
Perşembe	0,99667	0,00584	10,4
Fatsa	0,99770	0,00432	7,7
Trabzon	1,00000	0,00542	9,8
Ardeşen	1,00000	0,00939	16,8
Gürcistan	0,99540	0,00624	11,1
<b>Ortalama</b>	<b>0,99821</b>	<b>0,00682</b>	<b>12,17</b>

### 4.3. Genetik Uzaklık ve UPGMA Ağacının Oluşturulması

Örnekleme yapılan coğrafi bölgelerin ikili (pairwise) karşılaştırılmalarıyla elde edilen genetik uzaklık değerleri ( $\Gamma_{ST}$ ), bazı coğrafi bölgelerde yüksek derecede anlamlı farklılıkların varlığını göstermiştir. Coğrafi bölge çiftlerinin genetik uzaklık derecesini ifade eden  $F_{ST}$  ve  $\Gamma_{ST}$  değerleri Çizelge 4.3’de verilmiştir.

Coğrafi bölgelerin ikili karşılaştırmaları sonucunda Fatsa-Trabzon çiftinin diğer coğrafi bölge çiftlerine göre genetik olarak birbirlerinden farklı oldukları belirlenmiştir ( $\gamma_{ST}$ : 0,07609). Genetik olarak farklılaşmanın en az olduğu dolayısıyla birbirlerine en fazla benzeyen populasyonlar ise Ardeşen-Gürcistan; Ardeşen-Trabzon; Gürcistan-Trabzon; Fatsa-Perşembe populasyonlarıdır ( $\gamma_{ST}$ : <0.5;  $p<0,01$ ).

Çizelge 4.3. *E. encrasicolus* örnekleme yapılan coğrafi bölgelerine ait mtDNA *Sitokrom-b* ve *ND6* geni genetik uzaklık  $\gamma_{ST}$  değeri ile coğrafi bölgelerin ikiyeşerli karşılaştırılmaları

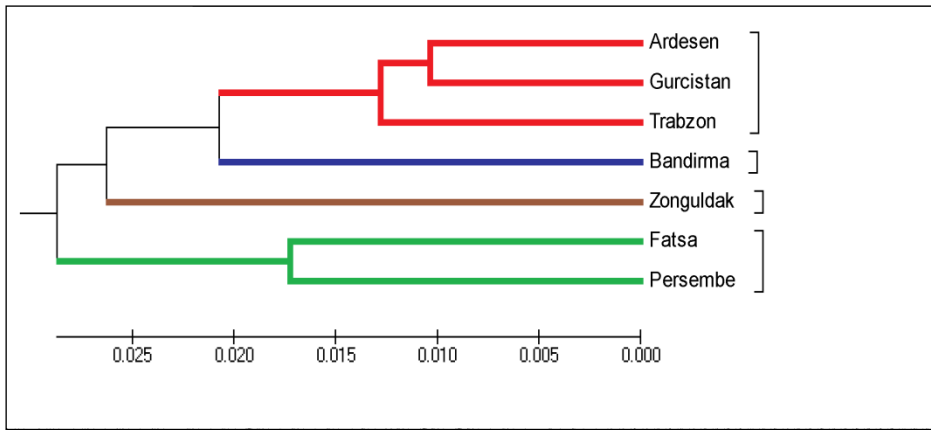
Populasyonlar	Bandırma	Fatsa	Gürcistan	Perşembe	Trabzon	Zonguldak
Ardeşen	0,03408	0,04026	0,02072	0,03495	0,02300	0,04055
Bandırma		0,06010	0,04414	0,05182	0,04615	0,05293
Fatsa			0,06197	0,03444	0,07342	0,07609
Gürcistan				0,05177	0,02807	0,05682
Perşembe					0,05980	0,06395
Trabzon						0,05977

Çizelge 4.4. *E. encrasicolus* örnekleme yapılan coğrafi bölgelerine ait mtDNA *Sitokrom-b* ve *ND6* geni genetik uzaklık  $F_{ST}$  değeri ile coğrafi bölgelerin ikiyeşerli karşılaştırılmaları

Populasyonlar	Bandırma	Fatsa	Gürcistan	Perşembe	Trabzon	Zonguldak
Ardesen	0,03370	0,04559	0,00752	0,03479	0,01203	0,04608
Bandırma		0,08282	0,05298	0,06862	0,05679	0,07032
Fatsa			0,08625	0,03023	0,10703	0,10954
Gürcistan				0,06531	0,02201	0,07577
Perşembe					0,07964	0,08491
Trabzon						0,08082

Analizler sonucunda, *E. encrasicolus* türünün mtDNA *Sitokrom-b* ve *ND6* geni haplotip frekanslarına dayalı  $\Gamma_{ST}$  ikili karşılaştırma değerleri kullanılarak MEGA programıyla coğrafi bölgelerin genetik uzaklıklarını gösteren UPGMA uzaklık ağaçları oluşturulmuştur (Şekil 4.1).

**Şekil 4.1.** Örnekleme yapılan coğrafi bölgelere göre *E. encrasicolus* türünün mtDNA *Sitokrom-b* ve *ND6* genleri haplotip frekanslarının  $\Gamma_{ST}$  ikili karşılaştırma değerlerine dayalı UPGMA uzaklık ağacı



Ağaca göre yapılan gruplandırmada; Ardeşen, Gürcistan ve Trabzon bir grup; Fatsa ve Perşembe bir grup; Bandırma ve Zonguldak ise ayrı iki grup şeklinde ayrılmıştır. Ortaya çıkan dallanma populasyonların coğrafik dağılımını tam anlamıyla yansıtmamaktadır. Ancak bu çalışmada yapılan analiz sonucunda Ardeşen, Gürcistan ve Trabzon aynı kladda yer almaktadır. Aynı şekilde Fatsa ve Perşembe de ağaç üzerinde bir grup şeklinde gözlenmektedir. Bunlara karşı Bandırma ayrı bir dal oluşturmaktadır. Analiz sonuçlarımızda elde edilen verilerle oluşturulan UPGMA ağacına göre gruplar oluşturulmuş ve bu gruplar göz önüne alınarak AMOVA analizi gerçekleştirilmiştir.

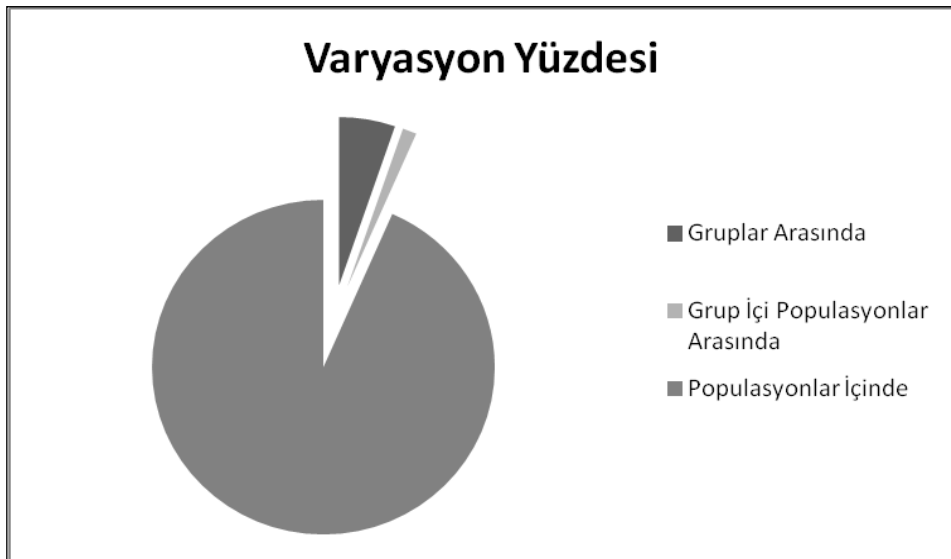
#### 4.4. Populasyonların Genetik Yapısı

*E. encrasicolus* UPGMA ağacına dayanarak oluşturulan gruplar ile yapılan AMOVA sonucunda gruplar arasında, grupları oluşturan populasyonlar arasında ve populasyonlar içinde olmak üzere üç düzeyde varyasyon tespit edilmiştir. Gruplandırma; Ardeşen, Gürcistan, Trabzon Grup1, Bandırma Grup2, Zonguldak

Grup3 ve Perşembe ile Fatsa Grup4 şeklinde gerçekleştirilmiştir. Buna göre, gruplar arasındaki varyasyon bütün varyasyonun % 5,28'ini ( $p<0.05$ ), grupları oluşturan populasyonlar arasındaki varyasyon % 1,32'sini ( $p<0.05$ ) ve populasyon içindeki varyasyon ise % 93,39'unu ( $p<0.05$ ) oluşturmaktadır (Çizelge 4.4). Farklılaşma miktarlarının grafik üzerindeki dağılımı da Şekil 4.2'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.5. Gruplar ve coğrafi bölgeler arasında varyans analizi (Grup sayısı:4; 1: Ardeşen, Gürcistan, Trabzon; 2: Bandırma; 3: Zonguldak; 4: Perşembe, Fatsa)

<i>E. encrasicolus</i>	Varyasyon	Varyasyon Yüzdesi	Fiksasyon İndeksi	P
<b>Gruplar Arasında</b>	0.34976	5.28	0.05283 $F_{CT}$	0.00587
<b>Grup İçi Populasyonlar Arasında</b>	0.08767	1.32	0.01398 $F_{SC}$	0.00000
<b>Populasyonlar İçinde</b>	6,18340	93.39	0.06607 $F_{ST}$	0.00000



Şekil 4.2. AMOVA analizi ile elde edilen gruplar arasında, populasyonlar arasında ve populasyonlar içindeki farklılaşma miktarının dağılımı

Gruplar arasında  $\gamma_{ST}$  ye dayalı olarak hesaplanan gen akışının göstergesi, Nm değeri 3,04 ile 11,82 arasında değişmiştir (Çizelge 4.5). Tabloda Nm değerlerinin hepsi 1'in üzerindedir ( $Nm > 1$ ). Gen akışının en yüksek değer olduğu populasyonlar Ardeşen ile Gürcistan ve Ardeşen ile Trabzon olarak bulunmuştur. Populasyonlar arasında tespit edilen en düşük gen akışı ise Fatsa ile Zonguldak arasında olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 4.6. Populasyonlar arasında gen akışının  $\gamma_{ST}$  değeri üzerinden hesaplanan Nm değerleri

Populasyonlar	Bandırma	Fatsa	Gürcistan	Perşembe	Trabzon	Zonguldak
Ardeşen	7,09	5,96	11,82	6,9	10,62	5,92
Bandırma		3,92	5,41	4,57	5,17	4,47
Fatsa			3,78	7,01	3,16	3,04
Gürcistan				4,58	8,66	4,15
Perşembe					3,93	3,66
Trabzon						3,93



## 5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Günümüzde doğal besin kaynaklarına zarar vermeden bunlardan sürdürülebilir bir yararlanma sağlanması en önemli konulardan biridir. Dünyada besin kaynaklarının önemli bir kısmını, başta balıklar olmak üzere, denizel canlılar oluşturmaktadır. Doğal balık popülasyonlarına zarar vermeden en iyi biçimde yararlanabilmeyi sağlamak için etkili balıkçılık yöntemlerinin geliştirilmesi gerekmektedir. Etkili balıkçılık yönetim stratejileri geliştirmek için türün farklı bölgesel gruplarının genetik yapılarını ve bu gruplar arasındaki biyolojik farklılıklar ve bu farklılıklara etki eden genetik, çevresel süreçleri ortaya koyma gereksinimi vardır.

Hamsi gerek ülkemizde gerekse dünyada önemli doğal besin kaynaklarının başında gelmektedir. Bu türün ülkemiz balıkçılığında da önemi oldukça büyüktür. Bu doğal besin kaynağının sürdürülebilir olabilmesi için de biyolojilerinin, yayılış alanlarının, habitat özelliklerinin ve özellikle de genetik yapılarının bilinmesi önem teşkil etmektedir. Buna karşın ülkemizde bu türe ilişkin allozim çalışmaları ve morfolojik araştırmalar yapılmış olmasına rağmen (Turan, 2004; Erdoğan 2009), moleküler belirteçlerin kullanıldığı çalışmaların eksikliği dikkat çekicidir.

Hamsi ile yapılan popülasyon genetiği çalışmalarında, popülasyonların genetik çeşitliliği ve genetik yapısı çoğunlukla mtDNA *ND5/6* bölgeleri incelenerek ortaya konulmuştur (Magoulas ve Zouros, 1993; Bembo vd., 1995; Magoulas vd., 1996; Borsa, 2002, Magoulas, 2006; Chairi vd., 2007). Son yıllarda yapılan çalışmalarda *sitokrom-b* gen bölgesi de analizlerde yaygın olarak kullanılan bir gen bölgesidir (YU, 2005; Qiqun, 2006, Carr,2011; Borrel, 2012). Çalışmamızda daha önce yapılan araştırmaların değerlendirilmesiyle *Sitokrom\_b* ve *ND6* gen bölgelerinin kullanılmasının uygun olacağı belirlenmiş ve bu bölgeyi çoğaltacak primerler tasarlanarak örneklerin genetik yapısının ortaya konulması amaçlanmıştır. Toplam 280 bireyden DNA elde edilmesine rağmen PCR sonucunda 202 örnekle diğer analizlere devam edilmiştir.

Çalışmamızda Bandırma, Zonguldak, Perşembe, Fatsa, Trabzon, Ardeşen ve Gürcistan olmak üzere 7 farklı coğrafi bölgeden toplam 202 örnek incelenmiştir. Yapılan analizler sonucunda 187 haplotip tespit edilmiştir. Haplotip çeşitliliği 0,99911, nükleotid çeşitliliği 0,00682 olarak tespit edilmiştir. Tüm örneklerden Hap4, Hap31 ve Hap59 haplotiplerinin sıklığı (%1,60) diğerlerine göre en yüksek olarak gözlenmiştir. Tüm popülasyonların paylaştığı bir haplotip

bulunmamaktadır. Magoulas vd. (2006) Ege Denizi ve Karadeniz'i içine alan bir çalışmada, mtDNA analizi ile Ege Denizi'nden toplanan 221 örnekten 24, Karadeniz'den toplanan 208 örnekten 17 haplotip tespit edilmiştir. Bu çalışmada haplotip çeşitlilikleri sırasıyla 0,5554 ve 0,3144; nükleotid çeşitliliği ise sırasıyla 0,010177 ve 0,001838 olarak bulunmuştur. Çalışmamızda genetik çeşitliliğin oldukça yüksek olmasının, örnekleme bölgelerinin birbirine yakın olmasına, türün sürekli göç yapabilme özelliğine, gen akışının fazla olmasına ve coğrafik bariyerin olmamasına bağlı olabileceği düşünülmektedir.

Magoulas vd. (1996) Karadeniz'de bulunan popülasyonların orjinlerinin Karadeniz olduğunu ve Ege Denizi'ndeki popülasyonların Karadeniz'deki popülasyonlardan farklılaştığını belirtmiş, Karadeniz ve Ege Denizi popülasyonları arasında %85 oranında benzerlik olduğunu vurgulamıştır. Yapılan diğer çalışmalarda da Marmara popülasyonlarının Karadeniz popülasyonlarına genetik olarak oldukça yakın olduklarını belirtilmiştir (Dobrovlov 1987, 1992; Ivanova ve Dobrovlov, 2006). Bu çalışmada analizler sonucunda  $\gamma_{st}$  değerlerine göre yapılan popülasyonların ikili karşılaştırmaları ve bu değerlerle çizilen UPGMA ağacına bakıldığında Bandırma popülasyonlarının diğer Karadeniz popülasyonlarına genetik olarak yakın olduğu görülmüştür. Bu değerler de Dobrovlov (1987, 1992) ve Ivanova'nın (2006) bulduğu sonuçları desteklemektedir.

Popülasyonların  $\gamma_{st}$  değerlerine dayanarak oluşturulan UPGMA ağacında Ardeşen, Gürcistan ve Trabzon aynı kladda yer almaktadır. Bu duruma benzer olarak Fatsa ve Perşembe de ağaç üzerinde bir grup şeklinde gözlenmiştir. Bunlara karşı Bandırma ve Zonguldak ayrı bir dal oluşturmaktadır. Fakat bu durum popülasyonların coğrafik dağılımıyla birebir uyuşmamaktadır. Erdoğan vd.'nin (2009) Trabzon, İstanbul, Bandırma ve İzmir'den alınan örneklerle yaptığı çalışmada allozim verilerine dayanarak UPGMA ağacı oluşturmuştur. Bu ağaçta İzmir, Bandırma ve İstanbul'un tek bir klad oluşturduğu, Trabzon'un ise ayrı bir dalda yer aldığı gösterilmiştir. Bu ağaç popülasyonların coğrafik dağılımıyla örtüşmektedir. Fakat Ivanova (2006) 22 allozim lokusu verilerine göre oluşturduğu UPGMA ağacında Marmara, Karadeniz ve Azak denizi örneklerini bir klad, Ege Denizi örneklerini ayrı bir klad olarak göstermiştir. Bu ağaç incelendiğinde ise Marmara Denizi popülasyonlarının Ege Denizi'ne göre Azak ve Karadeniz popülasyonları ile daha çok benzerlik gösterdiğini belirtmiştir. Oluşturulan bu ağaçta da tam bir coğrafik uyum görülmemektedir. Araştırmacı bunu Ege Denizi

populasyonlarının Afrika ve Avrupa hamsilerinin bir melezi şekline olduğunu, buna karşın Marmara, Karadeniz ve Azak Denizi populasyonlarının Avrupa hamsisiyle genetik olarak oldukça yakın olduğunu belirterek açıklamıştır. Bizim analiz sonuçlarımızla ortaya çıkan UPGMA ağacının coğrafik dağılımla uyuşmamasının sebebi örnek sayısının azlığından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Örnekleme yapıldığı 7 coğrafi bölgeye ait *E. encrasicolus* populasyonları, farklılaşma derecelerini ifade eden  $F_{ST}$  ve  $\gamma_{ST}$  değerlerine bağlı olarak oluşturulan UPGMA ağacında coğrafi bölgeler 4 gruba ayrılmıştır. Gruplandırılmaya dayanarak yapılan AMOVA analizi sonucu üç düzeyde moleküler varyans yüzdeleri elde edilmiştir. Gruplar arası varyasyon %5,28 ( $p<0.05$ ) ve grup içi populasyonlar arası varyasyon %1,32 ( $p<0.05$ ) şeklinde oldukça düşük bulunurken, diğer yandan populasyon içi varyasyon %93,39 ( $p<0.05$ ) gibi oldukça yüksek bir yüzdeyle karşımıza çıkmıştır. Gürcistan, Ardeşen ve Trabzon'u oluşturan gurubun, grup içinde birbirleriyle olan gen alışverişi oldukça yüksektir. Veriler bu coğrafi bölgelerin coğrafik dağılımlarını desteklemektedir. Bandırma'nın diğer tüm coğrafi bölgelerle arasındaki gen akışı hemen hemen aynıdır ve yüksek denilebilecek düzeydedir. Bu durum, çalışmalarda belirtildiği gibi Türk kıyısularındaki Karadeniz hamsisinin sonbaharda kışlamak için Marmara'ya ve bahar aylarında beslenmek ve yumurtlamak için tekrar Karadeniz'e göç etmesiyle, benzer şekilde Marmara'da bulunan hamsinin yaz aylarında yumurtlamak için Karadeniz içlerine göç etmesiyle açıklanabilir (Danilevsky, 1961; Demir, 1974; Gordina vd., 1997). Öte yandan Fatsa ve Perşembe arasında da gen akışı fazla olmasına rağmen diğer gruplarla arasında gen akışının düşük olması ağaçta bir dış grup olarak görülmelerine neden olmuştur.

Gerçekleştirilen bu çalışma, mtDNA *Sitokrom-b* ve *ND6* bölgesinin dizi analizleri kullanılarak Marmara ve Karadeniz populasyonlarının yapısını ve aralarındaki genetik çeşitliliği ortaya koymaktadır. AMOVA analizi ile elde edilen populasyon içindeki %93 lük oran, örnekleme bölgelerindeki hamsilerin genetik çeşitliliğinin oldukça yüksek olduğunu gösterirken, gruplar arasındaki %5 lik oran ve  $p=0.00587$  olması az da olsa bir stok yapılanmasının olduğunu göstermektedir. Çalışma sonucunda elde edilen veriler *E. encrasicolus* için ilk kez elde edilmiş verilerdir. Bu veriler Türkiye'de Karadeniz ve Marmara Denizi'ndeki genetik çeşitliliğin ne denli yüksek olduğunu göstermiştir. Çalışmayla populasyon genetiğine dair önemli sonuçlara ulaşılmış ve bu türün sürdürülebilir bir doğal

kaynak olarak kalabilmesi için dođru avcılık ve koruma stratejilerin geliřtirilmesine katkılar sađlayacađı dūřünölmektedir.

## KAYNAKLAR

- Adkison, M.D. 1995. Population differentiation in Pacific Salmon: Local adaptation, genetic drift or the environment? **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, 52: 2762-2767.
- 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. 1981. The stock concept from the viewpoint of population genetics. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, 38(12): 1523-1538.
- Anonim, [http://www.wikipremed.com/image\\_archive.php?code=040103](http://www.wikipremed.com/image_archive.php?code=040103).
- Anonim, 2006. Balıklar. MEGEP (Meslekî Eğitim ve Öğretim Sisteminin Güçlendirilmesi Projesi-Denizcilik), Milli Eğitim Bakanlığı, Ankara.
- Avise, J. C. 1994. Molecular Markers. **Natural History and Evolution**, 7: 766-767.
- 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. and Pitcher, T.J. 1996b. Electrophoretic analysis of stock structure in Northern Mediterranean anchovies, *Engraulis encrasicolus*. **ICES Journal of Marine Science**, 53: 115-128.
- Billington, N. 2003. Mitochondrial DNA. (Hallerman, E., M., Eds.), Population genetics: principles and applications for fisheries scientists, pp: 59-100, Bethesda, Maryland.

- Borrell, Y.J., Pinñera, J.A., Prado, J.S. and Blanco, G., 2012. Mitochondrial DNA and microsatellite genetic differentiation in the European anchovy *Engraulis encrasicolus*. **ICES Journal of Marine Science**, 69 (8): 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 (2): 261–269.
- Carr, S.M. and Marshall, H.D. 1991. Detection of intraspecific DNA sequence variation in the mitochondrial cytochrome *b* gene Atlantic cod (*Gadus morhua*) by the polymerase chain reaction. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, 48: 48-52.
- Carr, S.M., Marshall, H.D. 2011. Detection of Intraspecific DNA Sequence Variation in the Mitochondrial *Cytochrome b* Gene of Atlantic Cod (*Gadus morhua*) by the Polymerase Chain Reaction, **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, 48(1): 48-52.
- Carvalho, G.R., Hauser, L. 1994. Molecular genetics and the stock concept in fisheries. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, 4: 326-350.
- 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.
- Cheng, Q., Wen, J., Wang, Y., Han, J., Lu, D. 2006. Genetic diversity and genetic differentiation between *Coilia ectenes* and *Coilia ectenes taihuensis* inferred from cytochrome *b* gene segment sequence of mitochondrial DNA, **Journal of Lake Sciences**, 18: 425–430
- Coyle, T. 1998. Stock identification and fisheries management: the importance of using several methods in a stock identification study. In Taking Stock: defining and managing shared resources (Hancock D., A., Eds.) **Australian Society for Fishery Biology**, pp. 173-182, Sydney.

- Daemen, E., Volckart, F.A., M.J., Hellemans, B. and Ollevier, F.P. 1996. The genetic differentiation of the European eel (*Anguilla anguilla* L.) on the European continental shelf. **Royal Belgium Academy of Sciences**, 65(1): 39-42.
- Dobrovlov, I.S. 1987. Biochemical and population-genetic investigations of commercial fish species from Bulgarian Waters and world oceans. **Bulgarian Academy of Science**, pp. 533.
- Dobrovlov, I.S. 1992. Study of the intraspecific divergence of anchovy *Engraulis encrasicolus* L. **Comptes Rendus de l'Academie Bulgaredes Sciences**, 45(2): 63-65.
- 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(1): 77-90.
- Estoup, A. and Angers, B. 1998. Microsatellites and minisatellites for molecular ecology: theoretical and empirical considerations. (Carvalho, G., Eds.), *Advances in Molecular Ecology*, pp. 55-86, Erice.
- Excoffier, L., Laval, G., Schneider, S. 2006. Arlequin ver 3.1. **An Integrated Software Package for Population Genetics Data Analysis** [Electronic Journal], Erişim [<http://cmpg.unibe.ch/software/arlequin3>]
- 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.
- Hall, H.J. and Nawrocki, L.W. 1995. A rapid method for detecting mitochondrial DNA variation in the brown trout, *Salmo trutta*. **Journal of Fish Biology**, 46: 360-364.
- 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.

- Ivanov, L. and 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., Dobrovolov I.S. 2006. Population-genetic structure on European anchovy (*Engraulis encrasicolus*, Linnaeus, 1758) (Osteichthyes: Engraulidae) from Mediterranean Basin and Atlantic Ocean. **Acta Adriatica**, 47(1): 13-22.
- Kumar, S., Tamura, K., Nei, M. 2004. Mega 5: integrated software for molecular evolutionary genetics analyses and sequence alignment. **Briefings in Bioinformatics**, 5(2):150-163.
- Lansman, R.A., Shade, R.O., Shapiro, J.P., Avise, J.C. 1981. The use of restriction nucleases to measure mitochondrial DNA sequence relatedness in natural populations. III. Techniques and potential applications. **Journal of Molecular Evolution**, 17: 214-226.
- Magoulas, A., Zouros, E. 1993. Restriction-Site heteroplasmy in anchovy (*Engraulis encrasicolus*) indicates incidental biparental inheritance of mitochondrial DNA. **Molecular Biology and Evolution**, 10(2): 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(1): 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(3): 734-46.
- McConnell, S.K., O'Reilly, P., Hamilton, L., Wright, J.M. and Bentzen, P. 1995. Polymorphic microsatellite loci from Atlantic salmon (*Salmo salar*): genetic differentiation of North American and European populations. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, 52(9): 1863–1872.



- Mullis, K.B., Faloona, F.A. 1987. Specific synthesis of DNA *in vitro* via a polymerase- catalyzed chain reaction. **Methods in Enzymology**, 155: 335-350.
- Nei, M. 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 70: 3321–3323.
- Okumuş, İ., Çiftçi, Y. 2003. Fish population genetics and molecular markers: II- Molecular markers and their applications in fisheries and aquaculture. **Turkish J. Fisheries and Aquatic Sciences**, 3: 51-59.
- O’Connell, M. and Wright, J.M. 1997. Microsatellite DNA in fishes. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, 7: 331-363.
- O’Reilly, P. and Wright, J.M. 1995. The evolving technology of DNA ingprinting and its application to fisheries and aquaculture. **Journal of Fish Biology**, 47: 29-55.
- Örek, H., Bingel F. 2000. Karadeniz hamsimiz ve hamsigiller. **Bilim ve Teknik**, 4: 98-101.
- Petitgas, P. 2010. Resolving climate impacts on fish stocks (Rijnsdorp, A., D., Peck, M., A., Engelhard, G., H., Möllmann, C., Pinnegar, J., K., Eds.), ICES Cooperative Research Report No. 301, pp. 111-121, Copenhagen.
- Pusanov, I.I. 1936. The Anchovy. Uchanyia Zapiski Gorkovskogo Gos. Unta, Russian.
- Ré, P. 1996. Anchovy spawning in the Mira estuary. **Scientia Marina**, 60 (Suppl. 2): 141–153.
- Sick, K. 1965. Haemoglobin polymorphism of cod in the north sea and the North Atlantic Ocean. **Hereditas**, 54: 49-69.
- Satılmış, H.H., Bat, L. 2010. Planktondaki hamsi (Anchovy in plankton). **Yunus Araştırma Bülteni**, 10 (2): 1-3.
- Slastenenko, E. P. 1955. Karadeniz Havzası Balıkları (The Fishes of Black Sea Basin), EBK Yayınları, pp. 711, İstanbul.

- Spanakis, E., Tsimenides, N., Zouros, E. 1989. Genetic differences between populations of sardine, *Sardina pilchardus*, and anchovy, *Engraulis encrasicolus*, in the Aegean and Ionian Seas. **Journal of Fish Biology**, 35: 417-437.
- Templeton, A.R., Crandall, K.A. and Sing., C.F. 1992. A cladistic analysis of phenotypic associations with haplotypes inferred from restriction endonuclease mapping and DNA sequence data, Cladogram estimation. **Genetics**, 132: 619-633.
- Thompson, J.D., Higgins, D.G., Gibson, T. J. 1994. CLUSTALW: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position specific gap penalties and weight matrix choice. **Nucleic Acids Research**, 22: 49-55.
- Tokdemir, Ö. 2006, İzmir Körfezi'nde 2001 Yılında Avlanan Hamsi Balığı'nın "*Engraulis encrasicolus* (linn., 1758)" Büyüme Parametreleri Üzerinde Bir Araştırma. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, İzmir.
- 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 Sciences**, 28: 865-871.
- Ward, R.D. 2008. Genetics of fish population. Handbook of Fish Biology and Fisheries, Volume 1 (Hart, P.J.B. and Reynolds, J.D., Eds.), Wiley-Blackwell, pp.201-224, Oxford.
- Whitehead, J. P., Nelson, G.J. and Wongratana, T. 1988. FAO Species Catalogue Vol. 7. Clupeoid fishes of the World (Whitehead, P., J., P., Nelson, G., J. and Wongratana, T., Eds.), FAO Fisheries Synopsis, No. 125, Vol. 7, Part 2, pp. 546, Rome.
- Wright, S. 1949. The genetical structure of populations. **Annals of Eugenics**, 15: 323-354.

- Wright, J.M. 1993. DNA fingerprinting of fishes. (Hochachka, P., W. and Mommsen, T., Eds.), Biochemistry and molecular biology of fishes. Vol. 2. ElsevierPress, pp. 57–91, New York.
- Yu, Z., Kong, X., Guo, T., Jiang, Y., Zhuang, Z. and Jin, X. 2005. Mitochondrial DNA sequence variation of Japanese anchovy *Engraulis japonicus* from the Yellow Sea and East China Sea. **Fisheries Science**, 71: 299–307.
- Zaitsev, Y. 2000. Mediterranean - Black Sea Faunal Exchange. **Proceedings of the International Symposium “The Aegean Sea 2000”**, (Öztürk, B., Eds.), pp. 1-7, Bodrum.
- Zarraonaindia, I., Pardo, M.A., Iriondo, M., Manzano, C., and 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.
- Zengin, M., Genç, Y., Ak, O. 2012. Kuzeydoğu Karadeniz (Gürcistan, Abazya) Kıyılarında Hamsi Avlayan Türk Balıkçı Filosunun Durumu Üzerine Bir Ön Araştırma. **Yunus Araştırma Bülteni**, (4): 27-43.
- Zhang, D.X. and Hewitt, G.M. 2003. Nuclear DNA analyses in genetic studies of populations: Practice, problems and prospects. **Molecular Ecology**, 12(3): 563–84.



## ÖZGEÇMİŞ

### KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Erinç ŞEN  
Doğum Yeri ve Tarihi : İZMİR / 16.04.1987

### EĞİTİM DURUMU

Lisans Öğrenimi: Adnan Menderes Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü (2005-2009)  
Yüksek Lisans Öğrenimi : -  
Bildiği Yabancı Diller : İngilizce (ÜDS: 55.000)

### BİLİMSEL FAALİYETLERİ

- a) Makaleler  
-SCI  
-Diğer

- b) Bildiriler

- Katılımcı / 2. Ulusal Deniz Kaplumbağaları Sempozyumu / Dalyan / 25-27.10.2007

- Katılımcı / 19. Ulusal Biyoloji Kongresi / Trabzon / 23-27.06.2008

- Katılımcı / 2. Proje ve Bilim Şenliği / Aydın / 26-30.04.2010

- Katılımcı / 2. Ulusal Alabalık Sempozyumu / Karaman-Ermenek / 06-08.07.2010

- Katılımcı / 21. Ulusal Biyoloji Kongresi (Uluslar arası Katılımlı) / İzmir / 03-07.09.2011

- c) Katıldığı Projeler

-TUBİTAK/TBAG-111T461 nolu Türkiye Denizlerindeki Hamsi Balığının (Engraulis encrasicolus L.) Populasyon Genetik Yapısı adlı TUBİTAK projesi