



**T.C.
RECEP TAYYİP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
SU ÜRÜNLERİ ANABİLİM DALI**

**TÜRKİYE DENİZLERİNDEKİ *Scorpaena porcus* Linnaeus,
1758 POPULASYONLARININ GENETİK ANALİZİ**

(Yüksek Lisans Tezi)

Abdulrahman AKDENİZ

**Danışman
Dr. Öğr. Üyesi Gökhan KALAYCI**

**RİZE
2022**

KABUL VE ONAY

Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Su Ürünleri Anabilim Dalında, Dr. Öğr. Üyesi Gökhan KALAYCI danışmanlığında, Abdulrahman AKDENİZ tarafından hazırlanan *Türkiye Denizlerindeki Scorpaena porcus Linnaeus, 1758 Populasyonlarının Genetik Analizi* adlı bu tez çalışması, 03/10/2022 tarihinde yapılan savunma sınavı sonucunda oy birliği/oy çokluğuyla başarılı bulunarak jürimiz tarafından **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri	Unvanı, Adı Soyadı	İmza
Başkan	: Prof. Dr. Davut TURAN	
Üye	: Dr. Öğr. Üyesi Gökhan KALAYCI	
Üye	: Dr. Öğr. Üyesi Salim Serkan GÜÇLÜ	

ETİK BEYAN

Su Ürünleri Tezli Yüksek Lisans Programından mezun olmak üzere teslim ettiğim “Türkiye Denizlerindeki *Scorpaena porcus* Linnaeus, 1758 Populasyonlarının Genetik Analizi”adlı tezim, bilim ve araştırma etiği prensiplerine riayet edilerek tarafımdan yazılmıştır.

Tez çalışmamda, başka kaynaklardan aktarılan bütün bilgi ve alıntılar, Enstitünüz Tez Yazım Kılavuzuna uygun olarak açıkça gösterilmiştir. Kaynağı gösterilenler dışında kalan bütün bilgiler uygun araştırma yöntemi kullanılarak tarafımdan edinilmiş ve esere bu şekilde yansıtılmıştır. Şahsıma ait olmayan hiçbir bilgi, kasıt veya kusurlar, şahsıma aitmiş gibi gösterilmemiştir. İnternet kaynakları dâhil, sahibine/kaynağına atıf yapılmaksızın hiçbir bilgi kullanılmamıştır. Aksinin ortaya çıkması halinde doğacak bütün hukuki, idari, akademik ve etik sorumluluk tarafıma ait olacaktır. Eserin tesliminden sonra herhangi bir zamanda, bilim etiğine aykırılık tespit edilmesi ve / veya eserimle ilgili intihal veya intihal şeklinde anlaşılabilecek bir durumun ortaya çıkması halinde; Üniversiteniz ve eğitim kadronuzun hiçbir şekilde sorumlu tutulmayacağını hür irademle kabul, beyan ve taahhüt ederim.

03/10/2022

Abdulrahman AKDENİZ

ÖN SÖZ

Deniz biyoçeşitliliğinin ve genetik yapılanmasının değerlendirilmesi popülasyon yönetimi ve koruma biyolojisinin ana gayesidir. Bu çalışma ile İskorpit balığının dağılım gösterdiği 8 adet istasyondan elde edilen verilerle *Scorpaena porcus* türü için genetik veri sağlanmış ve özellikle Karadeniz için eksik istasyonlara ait literatüre bilgi temin edilmiştir.

Yüksek lisans tez danışmanlığımı üstlenen ve bu süre boyunca her türlü bilgi, beceri ve desteğini esirgemeyen danışman hocam Dr. Öğretim Üyesi Gökhan KALAYCI' ya yardımlarından dolayı sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans eğitimi ve tez çalışmam boyunca bana her türlü destek ve kolaylığı sunan başta eşim Güler YILMAZ AKDENİZ'e, sağlamış oldukları kolaylıklar sebebiyle Daire Başkanım Fatih EROL'a, Şube Müdürlerim Eşref SUNGUR ve İsmail YAPAR' a, Örnek toplama aşamasında yardımcı olan kıymetli dostlarım; Salih BOZALİ, Muhammet ENEZ, Adem ACAR, ve Dr. Öğr. Üyesi Rafet Çağrı ÖZTÜRK'e ayrı ayrı şükranlarımı sunuyorum.

Abdulrahman AKDENİZ

2022/RİZE

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	I
ETİK BEYAN.....	II
ÖN SÖZ	III
İÇİNDEKİLER	IV
ÖZET	VI
ABSTRACT.....	VII
KISALTMALAR.....	VIII
TABLolar LİSTESİ.....	X
ŞEKİLLER LİSTESİ	XI
GİRİŞ	1
1. GENEL BİLGİLER	3
1.1. Scorpaenidae Familyasındaki Türlerin Biyolojik Özellikleri	3
1.1.1. Türkiye’de dağılım gösteren Scorpaenidae ailesine ait türlerin taksonomik durumu	3
1.1.2. <i>Scorpaena porcus</i>	4
1.1.3. <i>Scorpaena elongata</i>	5
1.1.4. <i>Scorpaena notata</i>	6
1.1.5. <i>Scorpaena scrofa</i>	7
1.1.6. <i>Scorpaena maderensis</i>	8
1.2. Genetik Varyasyon	9
1.3. Populasyon Genetiği Uygulamaları	10
1.3.1. Populasyon Genetiğinde Kullanılan Teknikler	10
1.3.2. Tek Nükleotit Polimorfizmleri (SNP).....	11
1.3.3. PCR.....	12
1.3.4. DNA Dizi Analizi	15
1.4. Mitokondriyal DNA.....	16
1.4.1. COI.....	19
1.4.2. 16S rRNA	22
1.5. Önceki Çalışmalar.....	22
1.6. Çalışmanın Amacı ve Gerekçesi	23

2. YAPILAN ÇALIŞMALAR.....	24
2.1. Örnek Toplanması.....	24
2.2. DNA İzolasyonu	25
2.3. DNA Kalite ve Miktarının Belirlenmesi.....	26
2.3.1. Agoroz jel Elektforezi İle Toplam DNA’ nın Kontrolü	26
2.3.2. Nanodrop Spektrofotometre İle Miktar ve Kalite Belirlenmesi	26
2.4. PZR	27
2.5. PZR Ürününün Agoroz Jel Elektforezinde Kontrolü	28
2.6. DNA Dizin Analizi	28
2.7. Veri Analizi.....	28
2.7.1. Dizin Hizalama	28
2.7.2. Filogenetik ve Şebeke Analizi	29
2.7.3. Populasyon Genetiği Analizi	29
2.8. Bulgular	29
2.8.1. Genetik Çeşitliliğe İlişkin Bulgular	29
2.8.1.1. COI Genine Ait Bulgular	29
2.8.1.2. 16S rRNA Genine Ait Bulgular	34
2.8.2. Filogenetik Yapıya İlişkin Bulgular	38
3. TARTIŞMA VE SONUÇ	41
KAYNAKÇA.....	46

Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Ana Bilim Dalı : Su Ürünleri Ana bilim Dalı
Tez Türü : Yüksek Lisans Tezi
Danışmanı : Dr. Öğr. Üyesi Gökhan KALAYCI
Hazırlayan : Abdulrahman AKDENİZ
Yılı : 2022
Sayfa Sayısı : 57

ÖZET

**TÜRKİYE DENİZLERİNDEKİ *Scorpaena porcus* Linnaeus, 1758
POPULASYONLARININ GENETİK ANALİZİ**

Scorpaena porcus Linnaeus, 1758 ülkemizin tüm denizlerinde bulunan ekonomik bir türdür. Bu çalışmada, Ardesen (Rize), Fındıklı (Rize), Espiye (Giresun), Fatsa (Ordu), Alaçam (Samsun), Körfez (Kocaeli), Kefken (Kocaeli) ve Güllük (Muğla) lokalitelerinden *Scorpaena porcus* türü örneklenmiştir. Bu çalışmada iki mitokondriyal genin (COI: 617 bp, 16S rRNA: 803 bp) sekans analizi yöntemi kullanılarak populasyonların genetik yapısının ortaya konulması amaçlanmıştır. COI geni için 14 adet, 16S rRNA geni için ise 21 adet haplotip tespit edilmiştir. COI ve 16S rRNA gen bölgeleri için haplotip çeşitliliği, Hd: 0,7840 ve 0,7964; nükleotit çeşitliliği ise, Pi: 0,00269 ve 0,02706 olarak tespit edilmiştir. Populasyonlar arası ve populasyon içi genetik mesafe oldukça düşüktür. Filogenetik analizler sonucunda çalışılan tüm populasyonlara ait örneklerin aynı kladda toplandığı görülmektedir ve düşük bootstrap değerleriyle filogenetik ağaçta konumlanmışlardır. COI ve 16S rRNA genlerine dayalı çizilen maksimum olasılık ağaçları birbirleriyle uyumludur. Bu çalışma ile *Scorpaena porcus* türü için genetik çeşitlilik verisi sağlanmış ve özellikle Karadeniz için bazı eksik istasyonlara ait literatüre bilgi temin edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Scorpaena porcus*, İskorpit, DNA

Recep Tayyip Erdogan University Graduate Education Institute
Department : Department of Fisheries
Thesis Type : Master Thesis
Supervisor : Assistant Professor Gökhan KALAYCI
Author : Abdulrahman AKDENİZ
Year : 2022
Pages : 57

ABSTRACT

GENETIC ANALYSIS OF *Scorpaena porcus* LINNAEUS, 1758 POPULATIONS IN THE TÜRKİYE SEAS

Scorpaena porcus Linnaeus, 1758 is an economical species found in all seas of our country. In this study, *Scorpaena porcus* species was sampled from Ardesen (Rize), Fındıklı (Rize), Espiye (Giresun), Fatsa (Ordu), Alaçam (Samsun), Körfez (Kocaeli), Kefken (Kocaeli) and Güllük (Muğla) localities. In this study, it was aimed to reveal the genetic structure of populations by using the sequence analysis method of two mitochondrial genes (COI: 617 bp, 16S rRNA: 803 bp). 14 haplotypes were determined for the COI gene and 21 for the 16S rRNA gene. Haplotype diversity for the COI and 16S rRNA gene regions, Hd: 0.7840 and 0.7964; The nucleotide diversity was determined as Pi: 0.00269 and 0.02706. The genetic distance between and within populations is very low. As a result of the phylogenetic analyzes, the samples belonging to all the studied populations are nested in the same clade and are located in the phylogenetic tree with low bootstrap values. Maximum likelihood trees based on COI and 16S rRNA gene sequences are compatible with each other. With this study, genetic diversity data was provided for the *Scorpaena porcus* species and information was provided to the literature regarding the some missing stations, especially for the Black Sea.

Keywords: *Scorpaena porcus*, Scorpion Fish, DNA

KISALTMALAR

ANOVA	: Varyans Analizi
bç	: baz çifti
bp	: baz çifti
cm	: santimetre
COI	: Sitokrom Oksidaz alt ünite I
Cox	: Sitokrom Oksidaz
dA	: Net Nükleotit Çeşitliliği
Dr. Öğr. Üyesi	: Doktor Öğretim Üyesi
Doç. Dr.	: Doçent Doktor
EtBr	: Etidyum Bromür
Hd	: Haplotip Çeşitliliği
kb	: kilobaz
LEE	: Lisansüstü Eğitim Enstitüsü
µg	: Mikrogram
mg	: Miligram
MgCl ₂	: Magnezyum Klorür
ml	: Mililitre
µL	: Mikrolitre
ML	: Maximum Likelihood
mtDNA	: Mitokondriyal DNA
NaOH	: Sodyum Hidrooksit
NH	: Haplotip sayısı
NJ	: Komşu katılım
OD	: Absorbans Değeri
Ph	: Asitlik veya Bazlık Derecesini Tarif Eden Ölçü Birimi
Pİ	: Parsimonik bilgi verici
Prof.	: Profesör
PZR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
R	: Transversiyon Eğilimi

RAPD	: Random Amplified Polimorfic DNA (Rastgele Artırılmış Polimorfik DNA)
RFLP	: Restriction Fragment Lenght Polimorfism (Kesilmiş Parça Uzunluk Polimorfizmi)
RTEÜ	: Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi
Sn	: Saniye
SNP	: Single Nucleotide Polimorfism (Tek Nükleotit Polimorfizmi)
SSU	: mtDNA küçük alt birim
SSLP	: Simple Sequence Length Polymorphisms (Basit Dizi Uzunluğu Polimorfizmleri)
Std	: Standart
TE	: Tris-EDTA
Tİ	: Transisyon
URL	: Bir Örnek Kaynak Konumlayıcı (Uniform Resource Locator)
vd	: Ve Diğerleri
VNTR	: Variable Number Tandem Repeat
°C	: Santigrad Derece
%	: Yüzde

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1. Çalışmada kullanılan örneklerin toplandığı lokalitelere ait bilgiler	25
Tablo 2. Primerlerin dizileri ve PZR şartları.....	27
Tablo 3. PZR karışımındaki kimyasalların konsantrasyonları ve miktarları	28
Tablo 4. 16S rRNA ve COI haplotiplerinin popülasyonlara göre dağılımı ve frekansları	30
Tablo 5. COI geni için değişken nükleotit pozisyonları	31
Tablo 6. COI genine dayalı popülasyonlar arasındaki Kimura 2 parametresi modeline göre genetik mesafe	33
Tablo 7. COI geni için örnekleme lokaliteleri, havzaları, örnek ve haplotip sayıları, genetik çeşitlilik indeksleri, Tajima D ve Fu'nun Fs tarafsızlık testleri.....	34
Tablo 8. 16S rRNA geni için değişken nükleotit pozisyonları	35
Tablo 9. 16S rRNA genine dayalı popülasyonlar arasındaki Kimura 2 parametresi modeline göre genetik mesafe	37
Tablo 10. 16S rRNA geni için örnekleme lokaliteleri, havzaları, örnek ve haplotip sayıları, genetik çeşitlilik indeksleri, Tajima D ve Fu'nun Fs tarafsızlık testleri	37

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. <i>Scorpaena porcus</i> Linnaeus, 1758 (İskorpit)	4
Şekil 2. <i>Scorpaena porcus</i> Türünün Coğrafik Dağılımı	5
Şekil 3. <i>Scorpaena elongata</i>	5
Şekil 4. <i>Scorpaena elongata</i> Türünün Coğrafik Dağılımı	6
Şekil 5. <i>Scorpaena notata</i> Rafinesque, 1810	6
Şekil 6. <i>Scorpaena notata</i> Rafinesque, 1810 (Benekli İskorpit) Türünün Coğrafik Dağılımı	7
Şekil 7. <i>Scorpaena scrofa</i> Linnaeus, 1758	7
Şekil 8. <i>Scorpaena scrofa</i> Linnaeus, 1758 (İskorpit) Türünün Coğrafik Dağılımı	8
Şekil 9. <i>Scorpaena maderensis</i> Valenciennes, 1833	8
Şekil 10. <i>Scorpaena maderensis</i> Valenciennes, 1833 Türünün Coğrafik Dağılımı	9
Şekil 11. Hayvan Mitokondriyal Genomu	18
Şekil 12. Örnekleme yapılan bölgeler	24
Şekil 13. Sitokrom Oksidaz Alt Ünite I (COI) genine dayalı olarak populasyonlar arasındaki ilişkiyi gösteren köksüz haplotip ağları	32
Şekil 14. 16S rRNA genine dayalı olarak populasyonlar arasındaki ilişkiyi gösteren köksüz haplotip ağları	36
Şekil 15. COI geninin maksimum olasılık metotuna göre çizilmiş filogenetik ağacı	39
Şekil 16. 16S rRNA geninin maksimum olasılık metotuna göre çizilmiş filogenetik ağacı	40

GİRİŞ

İnsanoğlu tarihin ilk dönemlerinden beri hep bir arayış ve merak içerisinde olmuştur. Bu arayış onun yeryüzünde var olan kaynaklara ulaşma ve tanımlama konusunda itici bir güç olmasını sağlamıştır. Bilinmezliğin gizemini çözmek ve o bilinmeyenleri bilinir kılmak insanoğluna gurur kaynağı olurken diğer yandan yeni bilinmeyenlerin bilinir hale gelmesi için yol açma konusunda ilham kaynağı olmuştur.

Denizler ve içinde yaşayan zengin besin kaynakları insanoğlunun her dönemde ilgisini çekmiştir. Bu ilgi denizler ve içerisinde yaşayan canlılar üzerinde birçok çalışma yapılmasına olanak sağlamıştır. İnsanoğlunun hayatını devam ettirebilmek için ihtiyaç duyduğu besin miktarının önemli bir kısmı denizlerden karşılanmaktadır.

Balıklar, denizlerden elde edilen hayvansal besin kaynaklarının başını çekmektedir. Balıklar, günümüzde omurgalı hayvanlar içerisinde 32000'den fazla tür çeşitliliğine sahip gruplarından birisini oluşturmaktadır (Nelson vd., 2016).

Balıklar tanındığı günden beri insanlar için değerli bir besin kaynağı olmuştur (Brunner vd., 2009). Balık etinin sindirimi kolay olup yüksek protein içeriğine sahiptir ve yağ içeriği bakımından da mükemmel bir gıdadır. Ayrıca taşıdığı vitamin ve mineral maddeler ile diyetik özellikteki düşük enerjisi balık etinin önemini arttırmaktadır (Altun vd., 2004).

Scorpaenidae ailesine ait balıklar, ekonomik olarak önemli, demersal balıkların oluşturduğu hemen hemen dünyanın her bölgesinde (kutuplar hariç) bulunur. Littoral bölgelerde yaşayan bu familya oldukça çok sayıda cinsi bulunur. Nispeten yavaş büyüyen, kısa ömürlü olan, kumlu, çamurlu, kayalık gibi değişik habitatlarda yaşayan türlerden oluşmaktadır. Tüm denizlerin tropikal, ılıman ve soğuk sularında yayılım gösterebilirler. Bazı türleri 2000 metreden daha derin sularda da yaşayabilmektedir. Çoğu türü ise kıyı kesimlerde kayaların çevresinde, mercan kayalıklarında, yosunlu, kumlu veya çamurlu dip bölgelerde yaşarlar (Yedier, 2020). Scorpaenidae ailesine ait dünyada 25 cinste toplam 231 tür, *Scorpaena* cinsine ait ise 64 tür bulunmaktadır (Fishbase). *Scorpaena* cinsi ülkemiz denizlerinde ise 5 tür ile temsil edilmektedir. Bunlar, *S. elongata* Cadenat, 1943; *S. maderensis*

Valenciennes, 1833; *S. notata* Rafinesque, 1810; *S. scrofa* Linnaeus, 1758 ve *S. porcus* Linnaeus, 1758' dur (Bilecenoğlu vd., 2014). Bunlardan *S. notata* ve *S. porcus* tüm denizlerimizde rapor edilmesine rağmen, *S. elongatata*, *S. madarensis* Ege ve Levant Denizi; *S. scrofa* ise Karadeniz hariç tüm denizlerimizde yaşamaktadır (Bilecenoğlu vd., 2014).

Canlılarda olduğu gibi balıklarda da değişen çevre koşullarına uyum sağlamaları genetik varyasyonun bir etkisidir. Genetik çeşitlilik, karşılaşılan zorlu koşullar karşısında hayatta kalınabilmesi için adaptasyon geliştirmelerini sağlamaktadır. Türlerin devamı, sahip oldukları genetik varyasyonun etkisiyle doğru orantılıdır.



1. GENEL BİLGİLER

1.1. Scorpaenidae Familyasındaki Türlerin Biyolojik Özellikleri

Scorpaenidae familyası kutup kıyıları dışındaki bütün kıyılarda bulunurlar. En sığ bölgelerden 1000 m derinliğe kadar uzanan bölümde yaşarlar. (Akşiray, 1987). Sürü halinde dolaşmazlar. Yaz döneminde üreme ve beslenmek için sığ bölgeleri tercih ederken kış döneminde daha derin kısımları tercih ederler (Koca, 2002). Üremek için daha çok kayalıkları kullanırlar (Erbay, 2013)

Morfolojik özellik olarak büyük bir başa sahiptirler. Gözleri oldukça büyük ve baş kısmında diken görünümlü çıkıntılar mevcuttur. Ağız kısmı geniştir. Koyu ve açık kahverengi bu türün yoğun olarak görüldüğü renktir. Bunun yanı sıra sarı, beyaz ve kırmızı renklilere de rastlanır. Vücudun baş ve karın bölgesi hariç diğer kısımlarında stenoid pullar hakimdir. Sırt kısmında iki dorsal yüzgeç bulunur. Bunların ilki 12 adet sert ikincisi ise 10 adet yumuşak ışıktan oluşur. Ventral yüzgeçte 6 adet ışın bulunur bunlardan 1 tanesi sert 5 tanesi ise yumuşaktır. kaudal yüzgeç 14-16 adet yumuşak ışıktan oluşurken pektoral yüzgeçte ise 1 sert 15-16 yumuşak ışıktan oluşur. Anal yüzgeçte ise 8-9 adet ışın bulunurken bunlardan 3 tanesi sert, 5-6 tanesi yumuşak ışıktır (Ferri vd., 2010).

Karnivor bir balıktır (Bat vd. 2008). Beslenme diyetini küçük demersal balıklar, denizatları (*Hippocampus sp.*), kıyı yengeci (*Liocarcinus depurator*), çamur karidesi (*Upogebia pusilla*), çalı karidesi (*Crangon crangon*) ve bunların larvaları ile beslenir. Mevsimlere göre beslenmesi farklılık göstermektedir. Kışın balıklarla beslenen iskorpitler yaz sezonunda ağırlıklı olarak yengeçle beslenir. Bahar dönemlerinde ise çoğunlukla yengeçle beslenir (Pallaoro ve Jardas,1991).

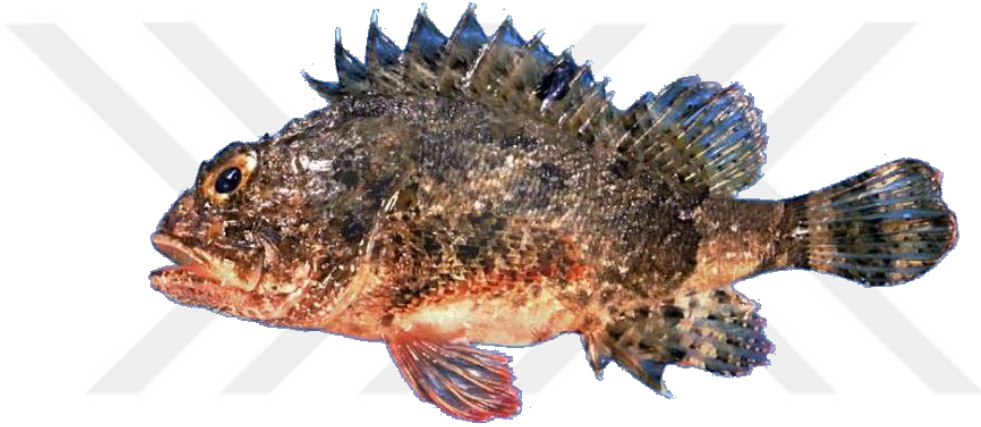
1.1.1. Türkiye’de dağılım gösteren Scorpaenidae ailesine ait türlerin taksonomik durumu

Scorpaenidae familyasının taksonomik sınıflandırılması şu şekilde belirtilmiştir (Froese ve Pauly, 2018) (Yedier, 2020).

Kingdom (Alem) : Animalia
Phylum (Şube) : Chordata
Subphylum (Alt Şube): Vertebrata

Superclass (Üstsınıf) : Pisces
Class (Sınıf) : Actinopterygii
Superorder (Üsttakım): Teleostei
Order (Takım) : Scorpaeniformes
Suborder (Alttakım) : Scorpaenoidei
Family (Familya) : Scorpaenidae
Genus (Cins) : *Scorpaena*

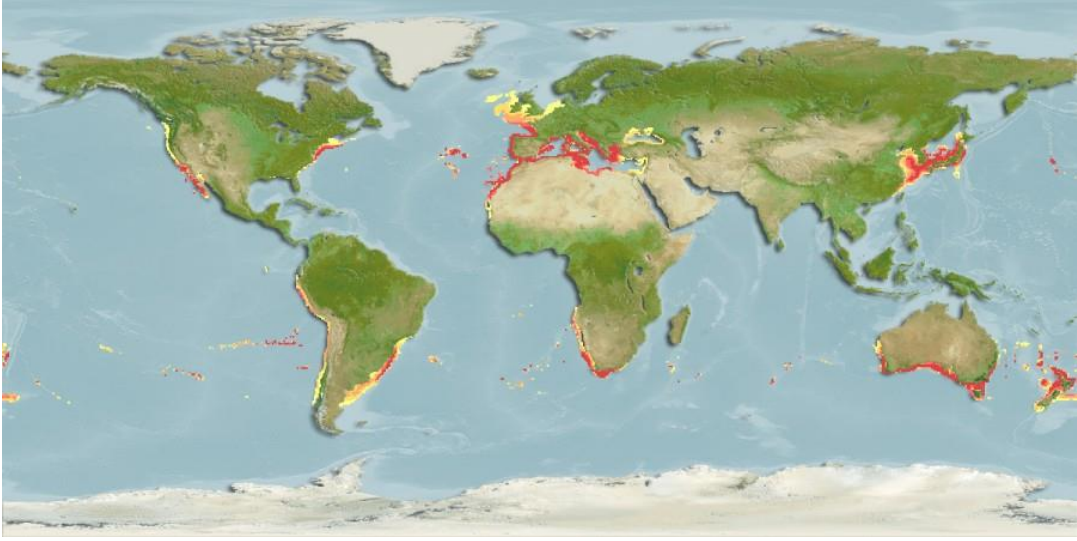
1.1.2. *Scorpaena porcus*



Şekil 1. *Scorpaena porcus* Linnaeus, 1758 (İskorpit)

Kaynak. D. Darom, 1987

Yaşam alanı olarak en sığ noktadan 800 metre derinliklerde bulunabilir. Ülkemizin bütün karasularının yanı sıra, Doğu Atlantik, Fas, Biritanya kıyıları, Azor ve Kanarya adaları kıyılarında dağılım gösterir. Ortalama 15 cm uzunluğunda olup maksimum 40 cm ye kadar büyüyebilirler. (URL-1)



Şekil 2. *Scorpaena porcus* Türünün Coğrafik Dağılımı

Kaynak. URL-9

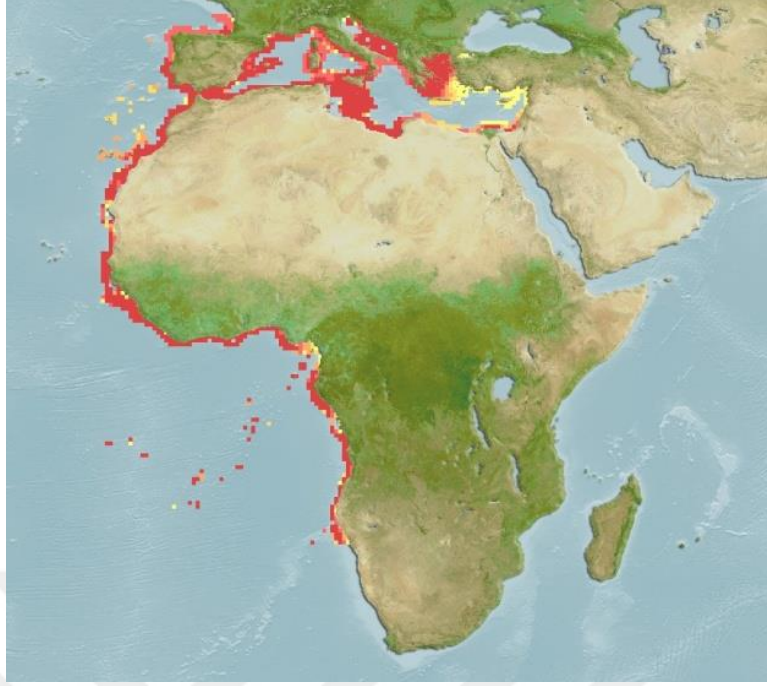
1.1.3. *Scorpaena elongata*

Yaşam alanları 75 ile 800 metre derinlik aralığında değişebilir. Akdeniz'in tamamında, Fas ve Kuzey Namibya'ya kadar uzanan kıyılarda dağılım gösterir. Ortalama 30 cm uzunluğunda olup maksimum 50 cm ye kadar büyüyebilirler.



Şekil 3. *Scorpaena elongata*

Kaynak. P. Duarte, 2000



Şekil 4. *Scorpaena elongata* Türünün Coğrafik Dağılımı

Kaynak. URL-7

1.1.4. *Scorpaena notata*

Yaşam alanları 10 ile 700 metre derinlik aralığında değişebilir. Biscay Körfezi'nden Madeira, Azor Adaları, Senegal, Akdeniz ve Karadeniz dahil Kanarya Adaları'na kadar yayılım gösterirler. Ortalama 12 cm uzunluğunda olup maksimum 26 cm ye kadar büyüyebilirler.



Şekil 5. *Scorpaena notata* Rafinesque, 1810

Kaynak. URL-3



Şekil 6. *Scorpaena notata* Rafinesque, 1810 Türünün Coğrafik Dağılımı

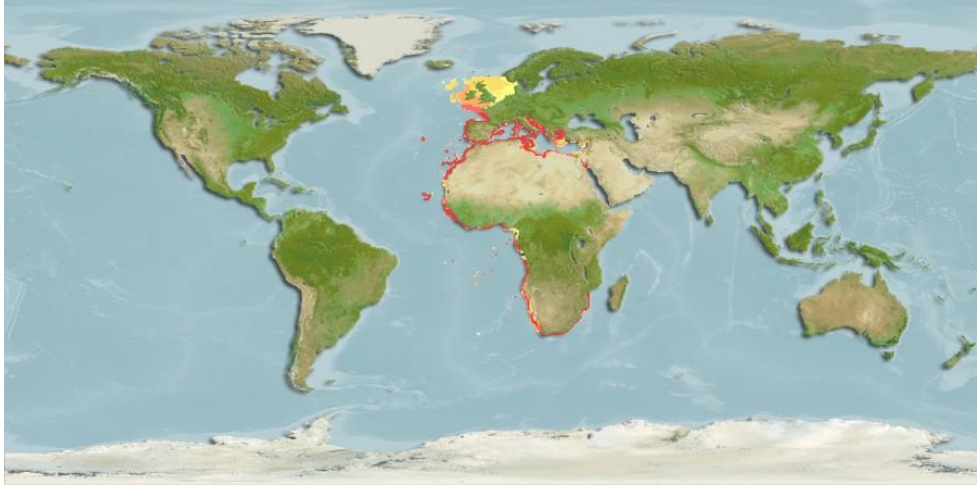
Kaynak. URL-7

1.1.5. *Scorpaena scrofa*

Yaşam alanları 20 ile 500 metre derinlik aralığında değişebilir. Genellikle 150 m civarında bulunurlar. Ortalama 30 cm uzunluğunda olup maksimum 50 cm ye kadar büyüyebilirler. Akdeniz, Kanarya ve Madeira Adaları, Britanya Adaları ve Cape Verde’de yayılım gösterir.



Şekil 7. *Scorpaena scrofa* Linnaeus, 1758



Şekil 8. *Scorpaena scrofa* Linnaeus, 1758 (İskorpit) Türünün Coğrafik Dağılımı

1.1.6. *Scorpaena maderensis*

Yayılım alanları; Akdeniz bazı bölgelerinde, Madeira ve Kanarya adaları, Azor Adaları, Yeşil Burun Adaları ve Senegal’ dir. Yaşam alanlarına bakıldığında ise genellikle 20- 40 metre derinlik aralığında yaşam alanları bulunur. Ortalama uzunlukları 10 cm civarında iken maksimum uzunluk 17,8 cm dir.



Şekil 9. *Scorpaena maderensis* Valenciennes, 1833

Kaynak. URL-5



Şekil 10. *Scorpaena maderensis* Valenciennes, 1833 Türünün Coğrafik Dağılımı

1.2. Genetik Varyasyon

Çevresel ve genetik faktörlerin biyolojik ve ekolojik olarak fenotipik varyasyonu etkilemesi ve bu etkilerin belirlenmesi önem arz etmektedir. Çevresel ve genetik faktörlerin etkisini geleneksel yöntem ve çalışmalarla ayırt edebilmek zorluk taşımaktadır. Genetik uygulamaların kullanımından evvel, morfolojik farklılıkların temel sebebinin genetik değişikliklerden kaynaklandığı sanılmaktaydı. Stokların tespiti, morfolojik özelliklerine bakılarak yapılmaktaydı. (Marr, 1957). Fakat sanılanın aksine sadece genetik yapının etkisiyle değil bunun yanında çevresel faktörlerin de etkili olduğu belirlenmiştir (Allendorf vd., 1987). Daha önce fenotipik olarak farklılık gösteren birçok türün genetik olarak benzer olduğu ortaya çıkmıştır (Ergüden, 2007).

Birçok türün genetik yapılarının belirlenmesinde kullanılan moleküler metotlar arasında mitokondriyal DNA (mtDNA)'nın nükleotit diziliminin belirlenmesi, Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA (RAPD: Randomly Amplified Polymorphic DNA), Kesilmiş Parça Uzunluk Polimorfizmi (RFLP: Restriction Fragment Length Polymorphism) analizi, Minisatellit ve Mikrosatellit DNA belirteç

çalışmalarıdır (Okumuş ve Çiftci, 2003). Bu teknikler sayesinde fenotipik olarak benzerlik gösteren türlerden farklı görünüm ve yaşam koşullarına sahip türlere kadar bir çok türün akrabalık ilişkilerinin tahmini ve yorumunu mümkün kılmıştır. Ayrıca, bu tarz çalışmaların artırılması ile türlerin korunması ve muhafazası için gerekli bilgi birikim ile daha etkin stratejiler geliştirilebilmektedir.

Doğal çeşitliliği muhafazanın ana unsuru popülasyonlardaki genetik varyasyonun korunması olmaktadır. Bunun yanında, küresel doğal rezervlerin ve park alanlarının oluşturulması ve işletim ilkelerinin vurgulanmasını olanak tanır.

1.3. Popülasyon Genetiği Uygulamaları

1.3.1. Popülasyon Genetiğinde Kullanılan Teknikler

Gen olmayan haritalanmış diziler, DNA belirteçleri olarak adlandırılır. Gen belirteçlerinde olduğu gibi bir DNA belirtecinin de en az iki aleli olması faydalıdır. Bu gereksinimi karşılayan üç tipte DNA dizi özelliği bulunmaktadır: restriksiyon parça uzunluk polimorfizimleri (RFLP'ler), basit dizi uzunluk polimorfizimleri (simple sequence length polymorphisms- SSLP'ler) ve tek nükleotit polimorfizimleri (single nucleotide polymorphisms-SNP'ler).

1960'lı yılların ortalarına kadar varyasyon tespiti için biyolojik ve ekolojik özellikler, fizyolojik ve davranış özellikleri, parazit dağılımı, markalama, morfolojik özellikler kullanılmaktaydı (Lewontin, 1964). Varyasyonun belirlenmesinde bu tür özelliklerin kullanılması genetik olarak etkili değildir. Bu sebepten dolayı balıkçılık alanında genetik çalışmalar tercih edilmeye başlanmıştır. Genetik çalışmalar DNA ve protein olarak iki temel genetik belirteç sistemi kullanılarak yapılmaktadır. Hızlı, ucuz ve fazla laboratuvar malzemesine ihtiyaç duyulmamasından dolayı protein elektroforezi avantajlı gibi görülse de örneklerin taze olması zorunluluğu bu tekniğin tercih edilmesinde olumsuz sonuç doğurmaktadır. Ayrıca, protein elektroforezinde örnek olarak alınan canlının genellikle öldürülmesi ve çok sayıda örneğe ihtiyaç duyulması bu tekniğin kullanımını sınırlandırmaktadır. DNA çalışmaları protein elektroforezine göre daha fazla tercih edilmektedir. Kullanılan örneklerin öldürülmesine gerek kalmaması, uzun süre saklanan, çok az miktardaki örneklerle bile çalışma yapılabilmesi tercih edilmesinde etkindir.

Polimeraz Zincir Reaksiyonunun (PZR) son dönemlerdeki kullanımı bu tekniğin gelişmesine kullanımını arttırmıştır (Çiftci, 2006). Son dönemde çoğunlukla kullanılan moleküler metotlar; mitokondrial DNA (mtDNA) dizilimi veya RFLP (Kesilmiş Parça Uzunluk Polimorfizmi) analizi, minisatellit ve mikrosatellit DNA belirteç teknikleridir. Bahsedilen teknikler fazla miktarda örnekle uygun laboratuvar koşullarında hızlı ve ucuz bir şekilde sonuç alınmasına olanak sağlamaktadır. Bu teknikler kullanılarak büyük miktarda gen bölgesi izlenebilir, taksonomik seviyede aynı ve farklı türler arasında ve içinde hatta bireyler arası ve içinde farklılık seviyesini tahmin edebilir, generasyonlar arasındaki allel frekansları değişiminden efektif popülasyon büyüklüğünü tahmin edebilir, kuluçkahanede yetiştirilmiş balıkların herhangi bir markalamaya gerek duymadan hangi anne ve babaya ait olduğunu tespit edebilir, genin kromozom üzerindeki yeri yani gen haritasını çıkarabilir, popülasyonlar arasındaki göç miktarları yani gen akışını belirleyebilir, kültürü yapılan tür için anaç seçimi yapılmasında kullanılarak yetiştiricilere yardım edebilir.

1.3.2. Tek Nükleotit Polimorfizmleri (SNP)

DNA dizileme tekniğindeki son dönem gelişimleri DNA dizi analizini popülasyonların filogenetik tarihinin yorumlanmasında önemli yaklaşımlar arasına sokmuştur (Hillis ve ark., 1990). Nükleotitleri içermesi bu tekniğin avantajlarından. Sistematik ve filogenetik çalışmalarda homolog dizilerin karşılaştırılması nükleotit dizilerinin kullanımıyla mümkün olur. Çalışmaların artmasıyla Nükleik asit dizi bilgileri artarak tertipli bir şekilde çeşitli bilgi bankalarında (Genbank, Avrupa Moleküler Biyoloji Laboratuvarı) giriş yapılır ve buralarda depolanır. Fakat toplanan bu sekans çalışmalarının çoğu tıbbi veya ticari olarak önemli türler üzerine yapılmaktadır. Böylece çalışma yapılan organizmalar için karşılaştırma amaçlı bu dizi bilgilerine ulaşmak mümkündür ve teknik bilgiye ihtiyaç duyulan sekans çalışmaları için fazladan zaman ve para sarfetmeye gerek kalmamaktadır. Fazla miktarda örneğe ihtiyaç duyulan üreme stratejisi, coğrafik varyasyon, hibriditasyon ve heterozigotluk tahmini gibi çalışmalar için dizi analizi dışındaki yöntemler tercih edilir. DNA sekansının kullanımındaki sınırlama tek başına sekans değildir. Dizi analizi gerçekleştirilecek gen kısmının da buna

eklenmesi şarttır. Önceki zamanlarda bu işlem gen klonlama işlemini gerektirmekteydi. Ayrıca, PZR tekniğindeki son ilerlemeler rekombinant DNA teknolojisine ihtiyaç duymadan spesifik gen bölgesinin yükseltgenmesini mümkün kılmıştır. İlk dönem çalışmaları daha çok yoğun ve küçük olarak çalışılan mitokondriyal genomun ortaya çıkarılması ve dizisinin alınması odaklı olmuştur. Sonraki dönemde fazla sayıda laboratuvarın nükleotit dizi bilgisi toplaması ve metotdaki otomasyonla birlikte yaşanan devamlı gelişmeler bu teknolojiyi standart şekle getirmiştir (Hillis vd., 1990).

Her genomda çok sayıda SNP bulunmaktadır. Bazıları RFLP sayısını da arttırmaktadır ama çoğu herhangi bir restriksiyon enzimi tarafından tanınan bir dizide olmadığı için RFLP sayısını arttırmaz.

Dört nükleotitten herhangi bir tanesi genomdaki herhangi bir pozisyonda bulunabilir, dolayısıyla her SNP'nin dört allele sahip olması gerektiği düşünülebilir. Teoride bu mümkündür ama pratikte birçok SNP yalnızca iki farklı şekilde bulunmaktadır. Bunun nedeni her SNP'nin genomda oluşan, bir nükleotiti diğerine dönüştüren bir nokta mutasyonundan köken almasıdır. Eğer mutasyon bir bireyin üreme hücrelerindeyse, bu bireyin çocuklarından bir ya da daha fazlası bu mutasyonu taşır ve nesiller sonra bu SNP popülasyonda yerleşir.

1.3.3. PCR

PCR, karmaşık bir DNA havuzundan belirli bir DNA fragmanının amplifikasyonuna izin veren basit ama zarif, enzimatik bir testtir. PCR testini keşfeden Dr. Kary Mullis bu tekniği, “İlgilendiğiniz DNA parçasını seçmenize ve istediğiniz kadar ona sahip olmanıza izin verir” olarak tanımlamıştır (Mullis, 1990). PCR, periferik kan, cilt, saç, tükürük ve mikroplar dahil olmak üzere çeşitli doku ve organizmalardan alınan kaynak DNA kullanılarak gerçekleştirilebilir. PCR'nin geleneksel laboratuvar yöntemleri kullanılarak analiz edilecek kadar kopya oluşturması için yalnızca eser miktarda DNA gereklidir. Bu nedenle PCR hassas bir testtir.

Her PCR testi, kalıp DNA, primerler, nükleotidler ve DNA polimerazın varlığını gerektirir. DNA polimeraz, PCR ürününü oluşturmak için tek tek nükleotitleri birbirine bağlayan anahtar enzimdir. Nükleotidler, DNA'da bulunan

adenin, timin, sitozin ve guanin (A, T, C, G) olmak üzere dört bazı içerir. Bunlar, elde edilen PCR ürününü oluşturmak için DNA polimeraz tarafından kullanılan yapı taşları görevini görür. Reaksiyondaki primerler, amplifiye edilecek kesin DNA ürününü belirtir. Primerler, saptanacak ve amplifiye edilecek hedef DNA'yı tamamlayıcı tanımlanmış bir diziye sahip kısa DNA parçalarıdır. Bunlar, üzerine inşa edilecek DNA polimeraz için bir uzatma noktası görevi görür.

PCR ürünlerini görselleştirmenin iki ana yöntemi vardır: (1) amplifiye edilmiş DNA ürününün, dupleksin iki ipliği arasına giren etidyum bromür gibi bir kimyasal boya ile boyanması veya (2) PCR amplifikasyonundan önce PCR primerlerini veya nükleotitlerini floresan boyalar ile etiketleme. İkinci yöntem, etiketlerin doğrudan PCR ürününe dahil edilmesini sağlar. PCR ürününü analiz etmek için en yaygın olarak kullanılan yöntem, DNA ürünlerini boyut ve yük temelinde ayıran agaroz jel elektroforezinin kullanılmasıdır. Agaroz jel elektroforezi, PCR ürününü görselleştirmenin ve analiz etmenin en kolay yöntemidir. PCR ürününün varlığının ve boyutunun belirlenmesini sağlar. Bilinen boyutları olan önceden belirlenmiş bir DNA ürünleri seti, ürünün boyutunun belirlenmesine yardımcı olmak için standartlaştırılmış moleküler işaretler olarak jel üzerinde aynı anda çalıştırılır.

PCR'ın birçok avantajı vardır. Birincisi, anlaşılması ve kullanılması basit bir tekniktir ve hızlı sonuç verir (Bologna vd., 2008). Sıralama, klonlama ve analiz için belirli bir ürünün milyonlarca ila milyarlarca kopyasını üretme potansiyeline sahip oldukça hassas bir tekniktir. PCR değerli bir teknik olmasına rağmen, sınırları vardır. PCR oldukça hassas bir teknik olduğu için, örneğin eser miktarda DNA ile kontaminasyonu yanıltıcı sonuçlar üretebilir (Bologna vd., 2008; Smith ve Osborn, 2009). Ek olarak, PCR için primerler tasarlamak için bazı önceki dizi verilerine ihtiyaç vardır. Bu nedenle, PCR yalnızca bilinen bir patojen veya genin varlığını veya yokluğunu belirlemek için kullanılabilir. Diğer bir sınırlama, PCR için kullanılan primerlerin, hedef DNA ile tamamen aynı olmayan ancak benzer olan dizilere spesifik olmayan bir şekilde bağlanabilmesidir. Ek olarak, DNA polimeraz tarafından çok düşük bir oranda da olsa yanlış nükleotidler PCR dizisine dahil edilebilir.

DNA klonlama güçlü bir tekniktir ve genleri ve genomları anlamamız

üzerindeki etkisi ölçülemez olmuştur. Ancak klonlamanın önemli bir dezavantajı vardır: zaman alıcı ve kısmen zor bir prosedürdür. DNA parçalarını bir klonlama vektörüne sokmak ve ardından bağlanmış molekülleri konakçı hücrelere sokmak ve rekombinantları seçmek için gereken manipölasyonları gerçekleştirmek birkaç gün sürer. Deney stratejisi, büyük bir klon kitaplığının oluşturulmasını ve ardından ilgili geni içeren bir klonu belirlemek için kitaplığın taranmasını içeriyorsa, o zaman işlemi tamamlamak için birkaç hafta, hatta bir kaç ay daha gerekebilir.

PCR, aynı sonucun belirli bir DNA parçasının saflaştırılmasının elde edilmesini, ancak çok daha kısa bir sürede, belki de sadece birkaç saat içinde elde edilmesini sağlayarak DNA klonlamasını tamamlar. PCR tamamlayıcıdır ve kendi sınırlamalarına sahip olduğundan, en önemlisi saflaştırılacak parçanın en azından bir kısmının sırasını bilme ihtiyacıdır. Bu kısıtlamaya rağmen, PCR moleküler biyoloji araştırmalarının birçok alanında merkezi bir önem kazanmıştır.

PCR, bir DNA molekülünün seçilmiş bir bölgesinin tekrar tekrar kopyalanmasıyla sonuçlanır. Klonlamanın aksine, PCR bir test tüpü reaksiyonudur ve canlı hücrelerin kullanımını içermez: kopyalama hücresel enzimler tarafından değil, *T. aquaticus*'un saflaştırılmış, termostabil DNA polimerazı tarafından gerçekleştirilir. Termostabil bir enzime neden ihtiyaç duyulduğu, PCR sırasında meydana gelen olaylara daha detaylı baktığımızda netleşecektir.

Bir PCR deneyi gerçekleştirmek için hedef DNA, Taq DNA polimeraz, bir çift oligonükleotit primeri ve bir nükleotit kaynağı ile karıştırılır. Hedef DNA miktarı çok küçük olabilir çünkü PCR son derece hassastır ve sadece tek bir başlangıç molekülü ile çalışacaktır. Taq polimeraz tarafından gerçekleştirilecek DNA sentez reaksiyonlarını başlatmak için primerlere ihtiyaç vardır. Kopyalanacak parçanın her iki tarafında hedef DNA'ya bağlanmaları gerekir: Bu nedenle, uygun dizilerin primerlerinin sentezlenebilmesi için bu bağlantı bölgelerinin dizileri bilinmelidir.

Primerlere Taq polimeraz tarafından gerçekleştirilecek DNA sentez reaksiyonlarının başlaması için ihtiyaç duyulur. PCR işlemi, karışımın 94 °C' ye ısıtılmasıyla başlar. Böylece sarmalları birbirine bağlayan hidrojen bağları ayrılır. Ardından sıcaklık 50 °C - 60°C 'ye düşürülerek tek iplikli hedef DNA'nın tek iplikli bir kısmının birleşmesi gerçekleşir. Aynı zamanda primerlerin bağlanma pozisyonlarına yapışmasına da izin verir. Ardından sıcaklık Taq polimeraz için

optimum olan 72 °C'ye yükseltilir. PCR'ın bu ilk aşamasında hedef DNA'nın her ipliğinden “uzun” ürünlerin bir dizisi sentezlenir. Bu polionükleotitler özdeş uçlara ve DNA sentezinin sonlandığı pozisyonları gösteren rastgele uçlara sahiptir. Denatürasyon-yapışma-sentez döngüsü tekrarlandığı zaman, uçların her ikisinin primer bağlanma pozisyonlarınca belirlendiği “kısa” ürünler veren uzun ürünler yeni DNA sentezi için kalıp olarak iş görürler. İlerleyen döngülerde kısa ürünler reaksiyon bileşenlerinin herhangi biri tükeninceye kadar üslü bir şekilde kısa ürünlerin sayısı çoğalır. 30 döngünün ardından 250 milyonun üzerinde kısa ürün oluşur.

1.3.4. DNA Dizi Analizi

Dizi analiz çalışmaları 1960'lı yılların başında 75-80 nükleotitlik tRNA'larla başlamıştır. Nükleotit dizilerinin belirlenmesinde iki temel teknik kullanılmaktadır. (URL-8). DNA dizilemesi için çeşitli prosedürler vardır, ancak açık ara en popüler olanı, 1970'lerin ortalarında Fred Sanger ve meslektaşları tarafından tasarlanan zincir sonlandırma yöntemidir. Zincir sonlandırma dizilimi, tekniğin otomatikleştirilebileceği göreceli kolaylık olmak üzere, birkaç nedenden dolayı üstünlük kazanmıştır. Bir genom projesi çok sayıda bireysel dizileme deneyi içerir ve bunların hepsini elle gerçekleştirmek uzun yıllar alacaktır. Bu nedenle, bir proje makul bir zaman diliminde tamamlanacaksa, otomatik sıralama teknikleri çok önemlidir. Barkodlama, numune parçalarından herhangi bir türü tespit edebilir. Böylece bir kez kurulduğunda, bu teknik gıda maddelerinde istenmeyen herhangi bir maddeyi tanıyabilecek ve böylece korunan türlerin ticari mallara dahil edilmesini ve sunulmasını önleyecektir. Bu sistemin kullanımıyla, benzer görünüm ayırt edilebilir. Bu maskeleye yardımcı olabilir

Zararsız olarak kamufle edilmiş tehlikeli organizmaları ortaya çıkarmak ve böylece biyolojik çeşitliliğin daha doğru bir şekilde görülmesini sağlamak. Yaşamın evrensel barkodu, bir organizmayı tanımlamadaki belirsizliği azaltan dört farklı nükleotid olan ATGC tarafından sağlanır. Böylece standart bir barkod kütüphanesi oluşturulabilirse, bu çok daha fazla kişinin gözlemledikleri deniz türlerini tanımlamasına ve isimleriyle adlandırmasına olanak sağlayacaktır. Sadece bol ve nadir türlerin değil, aynı zamanda yerli ve istilacı türlerin de tanımlanmasını kolaylaştıracak, böylece deniz biyoçeşitliliği hem yerel hem de küresel ölçekte dikkat

ekebilecek. Bu nedenle barkodlama, biyolojik tanımlamayı DNA dizilemesinin ilerleyen sınırlarına bağlayan böyle bir araçtır. Bu bağlantıları özümsemek, taşınabilir masaüstü cihazlara ve son olarak da el tipi barkod okuyuculara yol açacaktır. Bu bilgi sonunda deniz metazoan türlerinin genetik ayrıntılarını zenginleştirecek ve Dünya üzerindeki yaşam ağacının çizilmesine yardımcı olacaktır. Günümüzde, farklı yaşam öyküsü aşamalarını yumurta, larva ve böceklerdeki yetişkinler gibi farklı gelişim morfolojileriyle kolayca ilişkilendirmek için DNA barkodlarını kullanmak düzenli bir yaklaşım haline geliyor (Pinzon-Navarro vd., 2010).

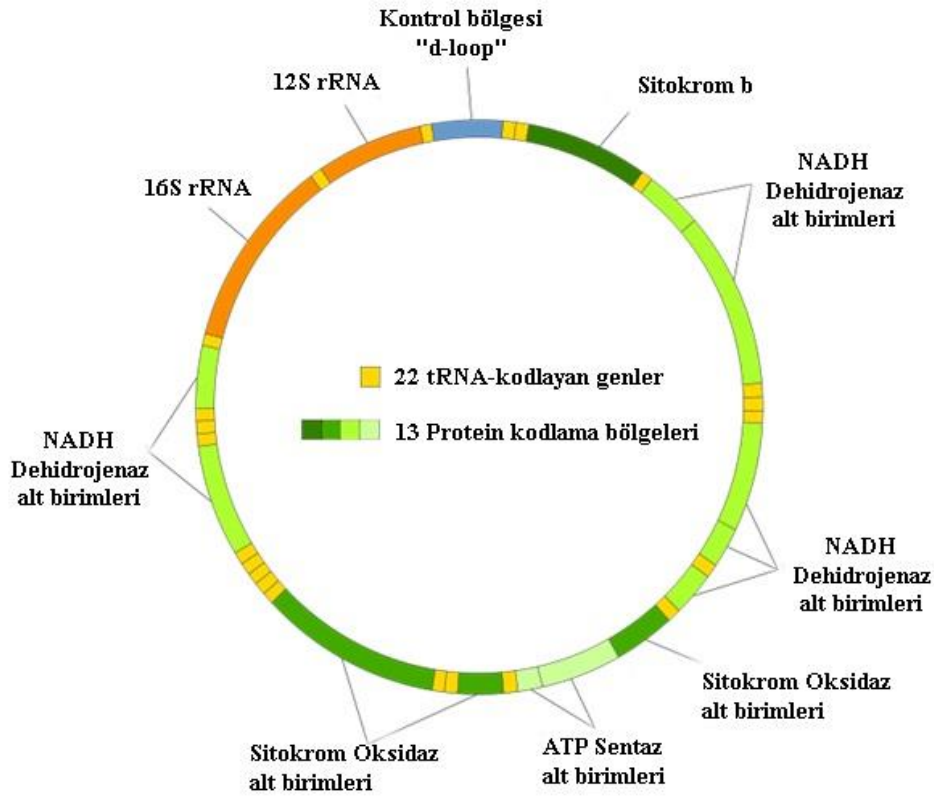
DNA dizisini belirlemek için tek yapmamız gereken zincirle sonlandırılmış her molekülün sonundaki dideksinükleotidi belirlemektir. Poliakrilamid jelin devreye girdiği yer burasıdır. DNA karışımı, bir poliakrilamid levha jelinin bir kuyusuna veya bir kılcal jel sisteminin bir tüpüne yüklenir ve molekülleri uzunluklarına göre ayırmak için elektroforez yapılır. Ayrıldıktan sonra moleküller, dideksinükleotidlere bağlı etiketleri ayırt edebilen bir floresan detektöründen geçirilir. Bu nedenle dedektör, her molekülün A, C, G veya T ile bitip bitmediğini belirler. Dizi, operatör tarafından incelenmek üzere yazdırılabilir veya gelecekteki analizler için doğrudan bir depolama cihazına girilebilir. Paralel olarak çalışan çoklu kapilerlere sahip otomatik sıralayıcılar iki saatlik bir süre içinde 96'ya kadar farklı diziyi okuyabilir, bu da bireysel deney başına ortalama 750 bp ile günde makine başına 864 kb bilgi üretilebileceği anlamına gelir. Bu, elbette, ideal olarak sıralama reaksiyonlarını hazırlamak ve reaksiyon ürünlerini sıralayıcılara yüklemek için kullanılan robotik cihazlarla, günün her saati teknik destek gerektirir. Böyle bir fabrika yaklaşımı oluşturulabilir ve sürdürülebilirse, tüm genomu sıralamak için gereken veriler birkaç hafta içinde oluşturulabilir.

1.4. Mitokondriyal DNA

Solunum olayındaki kimyasal tepkimelerin meydana geldiği güç santrali olarak adlandırılan organeldir. Mitokondri kritik fonksiyonlara sahip genleri içeren kendi DNA'sına sahiptir. Fiziksel olarak hücre DNA'sından ayrıdır. Çekirdeğin dışında bulunan bir DNA'dır. Genomun %1'den daha küçük, 16-17 kb büyüklüğünde olması popülasyon çalışmalarında mtDNA'nın tercih edilmesinde

etkendir (Davidson vd., 1989). Yüksek omurgalılarda, kalıtım yalnızca maternal yolla yani anneden olur (parental sızıntı veya uzunluk farklılıklarından dolayı bazı türlerde nadiren heteroplazmi olabilir). Rekombinasyonun olmaması filogenetik çalışmalar için (Avis vd., 1990; Harrison, 1989; Moritz vd., 1987), veya ortama aşıl原因an populasyonların etkisinin ortaya çıkarılması için (Ferris ve Berg, 1987; Gyllensten, 1985) mtDNA'yı önemli kılmaktadır. Cinsiyet oranının eşit olduğu düşünüldüğünde etkili populasyon miktarı nükleer genlerin $\frac{1}{4}$ 'ü kadardır ve mtDNA varyasyonunu, yakın dönemdeki populasyon olayları ve genetik varyasyondaki azalma gibi olaylara karşı duyarlıdır. Dişi bireylerin gen akışının ölçümüyle populasyonlar arası mitokondriyal farklılığın ölçümü sağlanır. Göç eden erkeklerin populasyonların mitokondriyal gen havuzuna katkısı yoktur.

Baz hareketliliğinin yüksek seviyede olmasından dolayı mitokondriyal genetik bilgi, kodlanan nükleer DNA ile kıyaslandığında yüksek değişim oranına sahiptir (Meyer, 1993). Mitokondriyal genomun farklı bölgeleri farklı seviyede değişim gösterir. Bundan dolayı çalışma metoduna bağlı olarak analiz için diziye odaklanmak mümkündür. Örneğin, bazı türlerde ND ve sitokrom b protein kodlayan genlerde populasyonlar arası varyasyon keşfedilmiştir (Park ve Moran, 1994). Mitokondriyal RNA genleri transfer ve ribozomal olmak üzere yüksek oranda farklılık gösterdiği keşfedilmiştir ve kendi nükleer eşlerinden 100 kat daha hızlı evrimleşirler (Meyer, 1993).



Şekil 11. Hayvan Mitokondriyal Genomu

Kaynak. URL-6

Hayvan mtDNA'sı 22 tRNA, 2 rRNA, 13 elektron transferi ve oksidatif fosforilasyonda görev yapan ve 13 mRNA'yı kodlayan toplam 37 gen den oluşan kapalı halkasal bir moleküldür (Wallace, 1986).

Tipik hayvan mtDNA'sı yüksek mutasyon oranına ve nadir kodlamayan segmentlere sahip istisnai bir organizasyon ekonomisine sahiptir. Hayvan mtDNA'sının hızlandırılmış evrimsel hızı, yakından ilişkili türlerde önemli miktarlarda dizi varyasyonunun gözlemlenebileceğini ima eder - tür tanımlama prosedürleri için yararlı bir özellik. Ayrıca, çoğu türde, sperm mtDNA'sının bir yumurta tarafından basit bir şekilde seyreltilmesi, döllenmiş yumurtadaki sperm mtDNA'sının bozulması veya sperm mtDNA'sının yumurtaya girememesi nedeniyle mtDNA maternal olarak iletilir. Bu maternal kalıtım, tür tanımlama sonuçlarının yorumlanmasını büyük ölçüde basitleştirir. mtDNA, nükleer DNA'nın yokluğunda saçtan izole edilebilir ve hücre başına birçok kopyada bulunduğundan, düşük

miktarda ve/veya bozulmuş DNA örneklerinden alınması daha kolaydır, böylece nükleer genom tabanlı yöntemlere göre açık bir avantaj sağlar.

Mitokondri genomunun boyutları çeşitlidir ve organizmanın karmaşıklık seviyesiyle ilgili değildir. Çoğu çok hücreli hayvan genleri aralarında fazla boşluk bırakmadan birbirlerine yakın halde yer aldığı, sıkı bir genetic organizasyona sahip küçük mitokondri genomlarına sahiptirler. İnsan mitokondri genomu 16569 bp'yle bu türün tipik bir örneğidir. *S. cerevisiae* gibi çoğu alt seviye ökaryotlar ve çiçekli bitkiler, intron içeren çok sayıda geni de bulunduran daha büyük ve sıkı olmayan mitokondri genomlarına sahiptir. Kloroplast genomları boyut açısından daha az çeşitlilik gösterir ve pek çoğu gösterilen pirinç kloroplast genomuna benzer bir yapıya sahiptir.

Farklı mtDNA genleri, farklı oranlarda evrimleştikleri için, genellikle yapılan çalışmaya ve türe uygun mtDNA geni seçilmektedir. Mitokondriyal DNA genleri birçok tür ve populasyon çalışmaları için incelenmiş ve bu genlerin tür ve populasyonlar arasındaki farklılıkların tespitinde oldukça başarılı sonuçlar verdikleri rapor edilmiştir.

1.4.1. COI

Hayvanlarda mitokondriyal DNA, 13 protein kodlayan gen, 2 ribozomal gen ve birkaç tRNA içeren tek bir çift sarmal dairesel molekül olarak ortaya çıkar. Mitokondriyal genler nükleer genlere göre tercih edilir çünkü mitokondriyal genler intronlar; genellikle haploiddirler ve sınırlı rekombinasyon sergilerler. Her hücrenin birkaç mitokondri vardır ve her mitokondri, birkaç tam mitokondriyal gen seti içerir. Bu nedenle, numune dokusu sınırlı olduğunda, mitokondri nispeten bol miktarda DNA kaynağı sunar. Mitokondriyal sitokrom c oksidaz alt birim 1 (COI) geni, hayvanlar için benzersiz bir barkod bölgesi olarak önerilmiştir (Hebert ve ark. 2003a). COI, mitokondriyal gen sitokrom c oksidaz 1'in 648 baz çiftli (bp) bir parçasıdır (COI; Hebert vd., 2003b). Hayvanlar için mitokondriyal sitokrom c oksidaz I (COI) lokusu çoğu grup için istenen kriterleri karşılıyor gibi görünmektedir.

COI geninin 5' ucundaki evrensel primerler, 648 bp'lik bir fragmanın geniş bir filum spektrumunda amplifiye edilmesini kolaylaştırır ve nükleotid ikame oranı,

yakın ve farklı türlerin tanımlanmasına izin verir. Bu DNA dizisi, türlerin çoğunu etkili bir şekilde tanımlar. Başlangıçta, hayvan türlerinin tanımlanması için “yaşamın barkodu” statüsüne yükseltilmiştir (Hebert vd., 2003b). Önceki 650 taban uzunluğuna kıyasla sitokrom c oksidaz geninin segmentinde, orijinal barkodun 100 bazlık bir fragmanının arşiv numunelerinin tanımlanmasında etkili olduğu ve ökaryot DNA barkodlamanın tüm taksonları için potansiyel olarak yararlı olduğu bildirildi. COI bölgesi, kriptik türleri tanımlamak ve deniz biyoçeşitliliğinin anlaşılmasını geliştirmek için iyi bir potansiyele sahip olduğundan, çeşitliliğin moleküler değerlendirmesi için artık yaygın olarak kullanılmaktadır. Diğer mitokondriyal barkod işaretleri olarak kullanılan genler şunları içerir: sitokrom b'yi kodlayan cob; sırasıyla sitokrom oksidaz alt birimleri 2 ve 3'ü kodlayan cox2 ve cox3; ve NADH dehidrojenaz alt birimi1 ve mitokondriyal 16S-rDNA genini kodlayan nad1.

2005 yılında, balıklarla yapılan barkodlama başarısının ardından (Savolainen vd., 2005; Ward vd., 2005) küresel bir girişim olan Fish Barcode of Life (FISH-BOL; <http://www.fishbol.org>) kuruldu. FISH-BOL, ticari balıkçılıkla ilgili sorunları çözmek için kullanılan, bilinen 30.000 balık türünün tümü için DNA barkod kayıtları toplar. Ayrıca balık türlerinin doğal tarihi ve ekolojik etkileşimleri kavramını genişletmek için güçlü bir araç olmayı vaat ediyor (Ward vd., 2009). Bu teknik sadece bütün balıkları, filetoları, yüzgeçleri, parçaları ve larvaları değil, yumurtaları bile tanımlamak için kullanışlıdır. Kuzey Avustralya sularında yasa dışı balıkçılardan ele geçirilen köpekbalığı yüzgeçleri bu süreçle tanımlanmıştır (Holmes ve diğerleri 2009).

Büyük bariyer resifi (Pegg vd., 2006), Karayipler (Victor 2007) ve Pasifik'ten (Hubert vd., 2010; Paine vd., 2008) bildirildiği gibi COI barkodlama ile dünyanın farklı yerlerinde oldukça başarılı olmuştur. Güney Afrika ve Avustralya sularını birbirine bağlayan balık türleri üzerinde yapılan bir araştırma, bu türlerin yaklaşık üçte birinin iki taksonu temsil ettiğini ortaya koydu (Zemlak vd., 2009). Benzer şekilde, COI barkodlama, kayabalığı (Victor 2008), vatoz, Antarktika ışıını Bathyrāja (Smith vd., 2008b), el balığı *Brachionichthys australis* (Last vd., 2007) ve 5 yeni tür dahil olmak üzere bir dizi yeni balık türünü doğruladı. (Pyle vd., 2008). Bununla birlikte, balıkların daha büyük ölçekli barkodlama çalışmalarından elde edilen bulgular, Hebert ve diğerleri (2004b) tarafından önerilen mesafe metriğine dayalı

olarak yaklaşık %2 türün göz ardı edildiğini göstermektedir. Bu nedenle, varsayılan türlerinden bu grup içindeki ortalama sapmanın on katı kadar sapan herhangi bir barkodun daha ileri çalışmaları hedeflenmelidir.

DNA barkodlama, (650 bp) mitokondriyal sitokrom c oksidaz alt birim I'in (COI) kısa bir parçasının daha önce tanımlanmış olan türleri tanımlamak için kullanıldığı bir yaklaşımdır (Hebert vd., 2003). Bu metodolojide, türdeş bireyler daha yüksek dizi benzerliğine ve daha düşük genetik mesafe değerlerine sahip olduğundan, numune COI dizi benzerliği temelinde bir türe/taksona atanır. A. Pavan-Kumar ve diğerleri tersine, farklı cins, familya ve düzendeki türler, nispeten düşük dizi benzerliğine ve yüksek genetik uzaklık değerlerine sahiptir. Buna göre, tür sınırlarını tanımlamak için önceden belirlenmiş türlerin barkodlarından hesaplanan tür içi ve türler arası ortalama genetik mesafeler bazında bir eşik değeri önerilmiştir (Hebert vd., 2003). Başlangıçta, bir örneği varsayılan yeni tür/şifreli tür olarak işaretlemek için eşik değeri olarak $> \%3$ 'lük bir genetik mesafe değeri önerilmiştir. Bununla birlikte, birkaç ampirik barkod makalesi, önerilen eşik değerinin tüm hayvan grupları için geçerli olmadığını ve potansiyel birey/popülasyon varyasyonu göz önüne alındıktan sonra, ortalama tür içi diverjans değerinin 10 katı olan genetik mesafe değeri, işaretleme için bir eşik değeri olarak tahsis edilmiştir (Hebert vd., 2004).

Ward vd., (2005), Avustralya'nın deniz balıklarını DNA barkodu kullanarak başarıyla tanımladı ve bu erken barkod başarısı, dünyadaki tüm balıklar için DNA barkodları üretme hedefiyle Balık Barkodu (FISH-BOL) konsorsiyumunun oluşumuna yönlendirilen balıklarla. FISH-BOL, Barcode of Life Veri Sisteminin (BOLD, Ratnasingham ve Hebert 2007) bir alt veritabanıdır ve analiz edilen numuneler için DNA barkodlarını, görüntüleri ve coğrafi koordinatları içerir. Tür tanımlamasında DNA barkodlamanın dikkate değer başarısı, balık türlerini tanımlamak/kataloglamak için Shark Barcode of Life (Shark-Bol), Polar Barcode of Life (PolBOL) ve Marine Barcode of Life (MarBOL) gibi çeşitli konsorsiyumların oluşmasına yol açmıştır.

1.4.2. 16S rRNA

Mitokondriyal genomda bulunan genlerden biri de 16S rRNA genidir. Moleküler tür teşhisi çalışmalarında, filogenetik ilişkilerin keşfedilmesi çalışmalarında kullanılmaktadır. 1540 nükleotidden oluşan 16S rRNA RNA'nın alt birimidir. Bu bölgeler tür için spesifiktir ve çok sayıda korunmuş bölge içerdiğinden tüm türlerin tanımlanmasında kullanılmaktadır (Brown-Elliott vd., 2006). 16S rRNA geni oldukça yavaş evrimleşen bir gendir. Bu özelliğinden dolayı taksonomik çalışmalarda karşılaştırmaların yapılmasında kullanılır. 16S rRNA gen bölgesine ait dizi bilgileri gen bankalarında kayıt altına alınmakta ve çalışmalarda bu verilere rahatlıkla ulaşılmaktadır (Tindall vd., 2010). 16S ribozomal RNA, bir prokaryotik ribozomun 30S alt biriminin RNA bileşenidir. Shine-Dalgarno dizisine bağlanır ve SSU (mtDNA küçük alt birim) yapısının çoğunu sağlar. Bunu kodlayan genler, 16S rRNA geni olarak adlandırılır ve genin bu bölgesinin yavaş evrim hızlarından dolayı filogenilerin yeniden yapılandırılmasında kullanılır.

1.5. Önceki Çalışmalar

Ülkemizdeki *Scorpeana* türleri birçok araştırmacının ilgisi çekmiş ve üzerinde çalışmalar yapmışlardır. Bu çalışmalar, türlerin sistematigi (Turan vd., (2009), Akalın (2011), Çınar (2002)); balıkçılık ve üreme biyolojisi (Koca, 1997), Çelik (2004), Erbay (2013)); beslenme rejimi (Başçınar ve Sağlam (2009)) üzerine yoğunlaşmıştır.

Turan vd., (2009) Akdeniz'in İskenderun Körfezi'nden örnekledikleri *Scorpaeniformes* türlerinin mitokondriyal 16S rDNA dizisi ve morfolojik verilerinden yararlanarak tür tanımlamalarını gerçekleştirmişlerdir.

Akalın vd., (2011) İzmir Körfezi'nde iki iskorpit türünün (*Scorpaena notata* ve *Scorpaena porcus*) boy-ağırlık ilişkisini ve metrik-meristik özelliklerini incelemişlerdir. *S. porcus* ve *S. notata* türlerinin yetişkin bireylerinde metrik-meristik karakterlerde bazı farklılıklar olmasından dolayı ayrımının yapılabildiğini ancak türlerin genç bireylerinde ise bu ayrımın yapılmasının oldukça zor olduğunu bildirmişlerdir.

Boissin vd., (2016) Karadeniz ve Adriyatik Denizinden toplamda on yedi istasyondan örneklenen *Scorpaena porcus* türünün genetik yapısını araştırmak için

genetik analizlerini gerçekleştirdiler. Nükleer ve mitokondriyal belirteçleri birleştirerek, Akdeniz ve Karadeniz'deki iskorpit balıklarının genetik yapısını ve demografik tarihini araştırdı.

Saju vd., (2014) Adriatik'ten üç akrep balığı türünün *Scorpaena scrofa*, *Scorpaena porcus* ve *Scorpaena notata* türlerini örneklemişlerdir. Bu örneklerle 16S rDNA bölgeyi kullanılarak PCR bazlı tür tanımlama çalışması yapılmıştır.

Yedier ve vd., (2021) *Scorpaena* cinsinin Türkiye denizlerinde dağılım gösteren türlerini, 4 farklı denizden 8 farklı lokasyon ve toplam 1865 örnekle moleküler yöntemler ve morfometric ölçümler kullanarak popülasyon ayrımları yapmışlardır. Ayrıca bu çalışmada, *scorpaena* cinsinin 5 farklı türünün COI gen bölgesinin 652 bp'lık kısmını araştırdı.

Stankovic vd, (2016) Antartika bölgesinden elde ettiği 21 türün filogenetik özelliklerini ortaya çıkarmak için 12s ve 16S rDNA dizilerini araştırdı.

1.6. Çalışmanın Amacı ve Gerekçesi

Ülkemiz denizlerinin iskorpit balıkları ve diğer deniz organizmaları için bir sığınma alanı olup olmadığının değerlendirilmesi, geçmişteki sığınakların yerini belirlemek ve gelecekteki iklim değişikliği senaryoları altında bu tür alanların kaderini (ve dolayısıyla barındırdıkları genetik çeşitliliğin kaderini) tahmin etmek evrimsel biyoloji ve koruma genetiğinde kritik düzeyde önemlidir. (Boissin vd., 2016; Pauls vd., 2013; Fordham vd., 2014). Bu bağlamda şu ana kadar Türkiye denizlerinde dağılım gösteren *S. porcus* türünün genetik çeşitliliği, filogenetik durumu ve popülasyonlarının genetik yapısı hakkında kapsamlı bir bilgi bulunmamaktadır. Bu boşluğu doldurmak ve eksikliği gidermek adına ülkemiz denizlerinden örneklenen *S. porcus* türünün mitokondriyal DNA (mt DNA) sitokrom c oksidaz (COI) ve 16S rRNA genlerinin dizin analizi yapılarak popülasyonların genetik yapıları hakkında karşılaştırmalı veriler ortaya konulmuştur. Bu çalışmada, genetik çeşitlilik ve filogenetik araştırmalarında şimdiye kadar en çok tercih edilen mtDNA genlerinin dizin analizi yapılarak popülasyonların genetik çeşitlikleri ortaya çıkarılmıştır.

2.YAPILAN ÇALIŞMALAR

2.1. Örnek Toplanması

Bu çalışmada kullanılan *S. porcus* türüne ait örnekler tüm denizlerimizi temsil edecek düzeyde örneklenmiştir. Bu amaçla, söz konusu türün dağılım gösterdiği Ardesen (Rize), Fındıklı (Rize), Espiye (Giresun), Fatsa (Ordu), Alaçam (Samsun), Körfez (Kocaeli), Kefken (Kocaeli) ve Güllük (Muğla) lokalitelerinden toplamda 78 birey örneklenmiştir (Şekil 12). Temin edilen örneklerin (Rize, Artvin, Giresun, Ordu, Samsun, Kocaeli, Muğla) dorsal yüzgeçlerinden bir parça doku diseksiyon yoluyla alınarak % 70'lık alkol içeren 50 ml lik tüplerde DNA izolasyonu yapılmaya kadar muhafaza edildi.

Laboratuar çalışmalarının ilk aşamasında doku örneklerinden DNA eldesi yapılarak primerlerin optimizasyonu gerçekleştirilerek, mtDNA gen bölgelerinin PZR çoğaltılması yapıldıktan sonra, PZR ürünlerinin saflaştırma ve DNA dizin analizleri ticari bir laboratuarda yaptırılmıştır. PZR ürünlerinin saflaştırılması ve DNA dizi analizi hariç bütün genetik çalışmalar, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Genetik Laboratuvarında yürütülmüştür. Her bir istasyondan çalışılan örnek sayıları Tablo 1' de verilmiştir.



Şekil 12. Örnekleme yapılan bölgeler

Tablo 1. Çalışmada kullanılan örneklerin toplandığı lokalitelere ait bilgiler

Sıra	Lokalite	Örnek Sayısı	Koordinat	
1	Rize-Fındıklı	1	41°18,442'N	41°11,933'E
2	Rize-Ardeşen	17	41°11'42.7"N	40°59'11.9"E
3	Giresun-Espiye	4	40°58'24.5"N	38°43'12.4"E
4	Ordu-Fatsa	16	41°04'39.0"N	37°29'07.7"E
5	Samsun-Alaçam	10	41°42'23.0"N	35°42'27.8"E
6	Kocaeli-Kefken	11	41°11'07.69"N	30°11'22.81"E
7	Kocaeli-Körfez	1	40°45'33.62"N	29°55'00.99"E
8	Muğla-Güllük	18	37°12' 11.66"N	27°30'08.88"E

2.2. DNA İzolasyonu

Alınmış olan yüzgeç dokularından gerçekleştirilen DNA izolasyonu, Promega Wizard® Genomic DNA Kiti kullanılarak üretici firma talimatlarına uygun olarak yapılmıştır. İzolasyon aşamaları şu şekilde takip edildi.

1. Ethanolde muhafaza edilen doku örneklerinden 10-20 mg alınıp santrifüj tüpüne koyuldu.
2. 500 µl Nuclei Lizis solusyonu ve 120 µl EDTA (pH=8) karıştırılıp buza konuldu ve 15 dakika bekletildi.
3. EDTA ve Nuclei Lizis karışımından 600 µl örneklerin içinde bulunduğu tüpe ilave edildi.
4. 15 µl Proteinaz K örneklerin içinde bulunduğu tüpe ilave edildi.
5. 55 C de ısıtılmalı çalkalayıcı cihazında gece boyu bekletildi.
6. Gece boyu işlem gören tüpe 3 µl RNase solusyonu eklenip 2-5 kere tersyüz edildi.
7. Ardından 25-30 dakika 37 C° 'de inkübe edildi ve 65 C°'de 15 dakika inkübe edildi.
8. Oda sıcaklığına inen örneğe 200 µl protein presipitation solusyonu eklendi ve 20 saniye yüksek hızda vorteksledikten sonra 5-10 dakika buza koyuldu.
9. 16000 rp' de 4 dakika boyunca santrifüj edildi.
10. Santrifüjden çıkarılan tüplerden supernatant alındı ve içerisinde 600 µl

izoproponal bulunan tüplere konuldu.

11. DNA'nın beyaz iplikçikli yapısı görününceye kadar nazikçe tersyüz edildi.
12. 1 dakika 16000 rpm'de santrifüj yapıldı.
13. Santrifüj edilen tüplerden supernatant döküldü ve 600 µl %70 Ethanol ilave edildi.
14. Tekrar 1 dakika 16000 rpm'de santrifüj yapıldı.
15. Etanolü tamamen ortamdan uzaklaştırmak için 37°C deki etüve tüpler ters çevrili halde kurumaya bırakıldı.
16. Tamamen kuruyan tüplere 100 µl DNA Rehidrasyon solusyonu eklenip 65 °C'de 1 saat inkübasyona bırakıldı. Solusyonun iyice karışması için periyodik olarak tüp nazikçe çalkalandı.
17. Kısa süreli muhafaza için 2-8 °C'de, uzun süreli muhafazada ise -20 °C'de tutuldu.

2.3. DNA Kalite ve Miktarının Belirlenmesi

2.3.1. Agoroz jel Elektroforezi İle Toplam DNA' nın Kontrolü

İzole edilen toplam genomik DNA % 0,8'lik agaroz jel elektroforezi ile kontrol edildi. % 0,8 agaroz jel elektroforezi hazırlamak için 0,56 g agaroz ve 70 ml 1X TAE tamponu erlenmayerde iyice karıştırıldıktan sonra mikrodalga fırında kaynatıldı. Soğumaya başladıktan hemen sonra 3 µl EtBr (10 mg/ml) konuldu. Döküm sıcaklığına soğutulan agaroz elektroforez küveti içine döküldü. Daha sonra taraklar yerleştirilerek soğumaya bırakıldı. Donduktan sonra jel üzerindeki taraklar çıkarılarak örnek yüklemeye hazır hale getirildi. Her bir kuyucuğa 7 µl örnek ve 1 µl yükleme tamponu konulmuş ve 90 V da 30 dakika yürütüldü.

2.3.2. Nanodrop Spektrofotometre İle Miktar ve Kalite Belirlenmesi

DNA örneklerinin konsantrasyonu ve saflığının tahmini UV/visible spektrofotometre (BIO-RAD, The SmartSpec Plus) kullanılarak, 260 ve 280 nm dalga boyunda absorbansının okunmasıyla tahmin edildi. 260 nm dalga boyundaki absorbans (OD) değeri nükleik asitlerin her ikisinin (DNA ve RNA) hesaplanmasını sağlar. 280 nm dalga boyu ise örnekteki protein miktarını belirler. 260 nm ve 280 nm

okumaları arasındaki oran ile izole edilen nükleik asitin saflığı tahmin edildi. Saf olan DNA için OD260/OD280 oranı 1,8–2,0 arasındadır. Eğer protein kontaminasyonu varsa bu oran 1,8’den küçüktür (Çiftçi, 2006).

2.4. PZR

Bu çalışmada mitokondriyal genlerden COI ve 16S rRNA genlerinin sekansları kullanılmıştır. Çalışılan genleri PZR ile çoğaltmak ve dizisini elde etmek için kullanılan primerlerin dizileri ve PZR şartları Tablo 2’de verilmiştir. PZR için BioRad T100 termal blok kullanılmıştır.

Tablo 2. Primerlerin dizileri ve PZR şartları

Gen	Primer adı	Primer dizisi	PZR şartları	Referans
COI geni	Fish F2	TCGACTAATCATAAAGATATCGGCA	95°C, 30 s	Ward vd., 2005
	Fish R2	ACTTCAGGGTGACCGAAGAATCAGA	30 döngü 95°C, 30 s.	
		A- 3’	54°C, 45 s	
			68°C, 50 s	
16S rRNA	16Fi140	(5’-	68°C, 5 dk.	Turan vd. 2009
	16Fi1524	CG(CT)AAGGGAA(ACT)GCTGAAA-	95°C, 30 s	
	(PCR	3’),	30 döngü 95°C, 30 s.	
	primeri)	(5’-	53°C, 50 s	
		CCGGTCTGAACTCAGATCACGTAG-	68°C, 1.15 s	
		3’)	68°C, 5 dk.	
	16Fiseq1	(5’-		Turan vd. 2009
	463	TGCACCATTAGGATGTCCRGATCCA		
	(Sekans	AC-3’)		
	primeri)			

Mitokondriyal DNA’nın sitokrom oksidaz geminin ve 16S rRNA geminin çoğaltılması amacıyla PZR karışımında, NEB Taq DNA polimeraz kiti kullanılmıştır. PZR karışımındaki kimyasalların konsantrasyonları ve miktarları Tablo 3’de verilmiştir.

Tablo 3. PZR karışımındaki kimyasalların konsantrasyonları ve miktarları

Kimyasallar	Konsantrasyon	Miktarı (µl)
10X PZR tampon		10
dNTP karışımı	10 mM	2
MgCl ₂	25 mM	5
Primer Karışımı	40 mM	1
Taq DNA polimeraz	5 u/µl	0,25
Kalıp DNA	50 mM (ng/ml)	5
dH ₂ O		26,75
Toplam		50

2.5. PZR Ürününün Agaroz Jel Elektroferezinde Kontrolü

PZR ürününün kontrolünde % 1'lik agaroz jelde 90 V 40 dk yürütülerek kontrol edilmiştir

2.6. DNA Dizin Analizi

Dizi analizi için yaklaşık 40 µl hacimdeki PZR ürünleri 16S rRNA ve COI gen bölgesi için ileri yönlü PZR primerleri ile birlikte PZR ürünlerinin saflaştırması ve aynı zamanda sekans analizi için ticari faaliyet gösteren bir laboratuvara gönderildi. PZR ürünün sekanslarının alınmasıyla her iki yönlü okuma yapıldı.

2.7. Veri Analizi

2.7.1. Dizin Hizalama

COI ve 16S rRNA geninin dizin verilerinin geçerliliğini kontrol etmek için elde edilen dizin sonuçlarından birkaç örnek NCBI veri tabanında BLAST edilerek benzer dizinler aranmış mevcut dizinlerin geçerliliği kontrol edilmiştir. Örneklerin DNA dizilerinin hizalanması BİÖEDİT (Hall, 1999) programı aracılığıyla yapılmıştır. Nükleotit kompozisyonu, haplotip çeşitliliği (Nei, 1987) ve nükleotit çeşitliliği (Nei ve Tajima, 1981) ve haplotiplerin popülasyonlara dağılımı DNASP v6 (Rozas vd., 2017) programı ile belirlenmiştir. Elde edilen sekanslar arasındaki ikili dizin uzaklıkları, nükleotit kompozisyonu,%A-T analizi, korunmuş bölgelerin analizi, değişken bölgelerin analizi, parsimony informative (Pi) analizi, transitional pair (Ti), transversional pair (Tv) ve transition/transversion rate (R) analizleri MEGA X (Kumar, 2018) yazılımı yardımı ile gerçekleştirildi.

2.7.2. Filogenetik ve Şebeke Analizi

Filogenetik analizler kapsamında, Kimura two-parameter (K2P) mesafe modeline (Kimura, 1980) göre MEGA X (Kumar vd., 2018) programı altındaki maksimum olasılık (ML) analizi gerçekleştirilmiştir. ML analizinde kullanılan nükleotit değişim modeli jModelTest 0.1.1. programı vasıtasıyla belirlenmiştir. COI geni için en uygun nükleotit değişim modeli HKY (-ln= 1377,4196), 16S rRNA geni için ise GTR+I+G (-ln=1710,73) seçilmiştir. Bireylerden elde edilen mitokondriyal COI ve 16S rRNA gen dizileri itibarıyla haplotipler arasındaki ilişkiler Network 5.0.0.1 (Bandelt vd., 1999) programları altındaki Median-joining ağı opsiyonu ile belirlenmiştir. Filogenetik analizlerde dış grup olarak Edirne- Enez den örneklenen *Scorpaena scrofa* türüne ait sekanslar kullanılmıştır.

2.7.3. Populasyon Genetiği Analizi

Populasyon analizleri, DNASP v6 (Rozas vd., 2017) ve Arlequin versiyon 2.0 (Schneider vd., 2000) programı kullanılarak gerçekleştirildi. Hiyerarşik genetik farklılaşma, grupların önemi, populasyon yapısı, haplotiplerin populasyonlara dağılımı, belirlenen haplotipler arasındaki mutasyon miktarını dikkate alarak ARLEQUIN (AMOVA, Excoffier vd., 1992)'de kullanılan moleküler varyans analizi yaklaşımı ve F statistics (Wright, 1951) seçenekleri kullanılarak test edildi.

2.8. Bulgular

2.8.1. Genetik Çeşitliliğe İlişkin Bulgular

2.8.1.1. COI Genine Ait Bulgular

S. porcus türünün dağılım gösterdiği 8 istasyondan örneklenen 58 bireyin mitokondriyal DNA COI gen bölgesinin 617 bç'lık kısmı analiz edilmiştir. Ardeşen, Alaçam ve Kefken örnekleri 5 haplotiple, Güllük örnekleri 6 haplotiple, Fatsa örnekleri 3 haplotiple, Espiye örnekleri 2 haplotiple ve Körfez populasyonlarına ait örnekler ise 1 haplotiple temsil edilmektedir (Tablo 4). Filogenetik analize dâhil edilen toplam 58 örnekte, 14 haplotip ve 5 adet parsimonik bilgi verici, 21 değişken bölge ve 596 adet korunmuş bölge olduğu saptandı (Tablo 5).

Tablo 4. 16S rRNA ve COI haplotiplerinin populasyonlara göre dağılımı ve frekansları

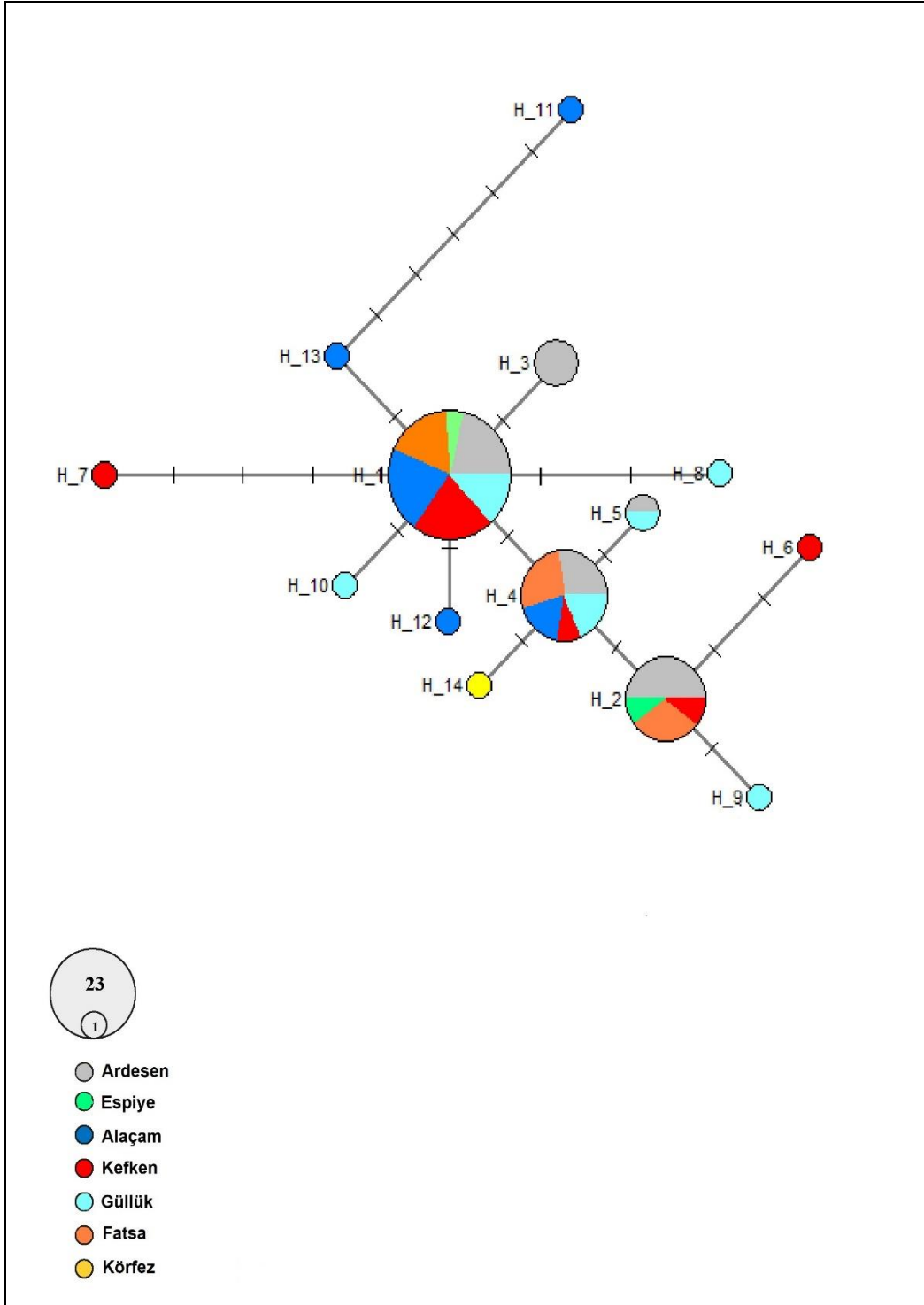
16S rRNA									COI								
Haplotip no	Populasyonlar								Haplotip no	Populasyonlar							
	Ardeşen	Fındıklı	Espiye	Fatsa	Alaçam	Körfez	Kefken	Güllük		Ardeşen	Espiye	Fatsa	Alaçam	Körfez	Kefken	Güllük	
H1	4		3	7	9		6	9	H1	5	1	4	5		5	3	
H2						1			H2	5	1	3			1		
H3				1			1		H3	3							
H4							1		H4	3		3	2		1	2	
H5	1			2			2	1	H5	1						1	
H6							1	1	H6						1		
H7	1								H7						1		
H8								1	H8							1	
H9								2	H9							1	
H10								1	H10							1	
H11				2				1	H11				1				
H12								1	H12				1				
H13								1	H13				1				
H14	1								H14					1			
H15	1																
H16	1																
H17				1	1												
H18				1													
H19				1													
H20			1	1													
H21		1															
Toplam	9	1	4	16	10	1	11	18		17	2	10	10	1	9	9	

COI gen bölgesi için haplotip çeşitliliği, Hd: 0,7840; nükleotit çeşitliliği ise, Pi: 0,00269 olarak tespit edildi. Bu gen bölgesi için nükleotit kompozisyon oranları T(U): 28.8; C: 29.2; A: 23.9; G: 18.1 olarak tespit edildi. Transisyon / transversiyon oranları $k1 = 16.64$ (purinler) ve $k2 = 1.306$ (pirimidinler), toplam transisyon / transversiyon eğilimi $R = 3.402$ olarak hesaplandı.

Tablo 5. COI geni için değişken nükleotit pozisyonları

	11111122344455556
	3112299069138367990
	580073824392748333677
Hap_1	TCGTAAATCAGGGAAAGGTAA
Hap_2	A.G.....
Hap_3	A.....
Hap_4	A.....
Hap_5	C.....A.....
Hap_6	C....A.G.T....
Hap_7	..TCCC.....
Hap_8	C...T...
Hap_9	A.G...C..
Hap_10	A.....
Hap_11	G....A...CA..CT
Hap_12	.A.....
Hap_13	G.....
Hap_14	G..A.....

Haplotip ağ analizinde mevcut 14 haplotip en az 1 en fazla 7 nükleotit farklılığıyla konumlanmıştır. En yaygın haplotip olan H1, 23 örnekle temsil edilirken 9 adet haplotip 1 örnekle temsile edilmektedir. Haplotip dağılım ve frekans analizleri, haplotiplerin birden fazla populasyon tarafından paylaşıldığı tespit edilmiştir. Örneğin H1 haplotipi Ardeşen, Espiye, Fatsa, Alaçam, Kefken ve Güllük populasyonlarına ait örnekler bulunmaktadır (Şekil 13).



Şekil 13. Sitokrom Oksidaz Alt Ünite I (COI) genine dayalı olarak populasyonlar arasındaki ilişkiyi gösteren köksüz haplotip ağı.

Populasyonlar arası genetik mesafe oldukça düşüktür ($< \%0.5$). Populasyonlar arası genetik mesafe 0.0016 (Fatsa- Espiye) ile 0,0042 (Alaçam- Körfez ve Kefken- Körfez) arasında değişmektedir. Populasyon içi genetik farklılık ise 0.0016 (Fatsa) ile 0,0036 (Kefken) arasında değişmektedir (Tablo 6).

Tablo 6. COI genine dayalı populasyonlar arasındaki Kimura 2 parametresi modeline göre genetik mesafe

	Ardeşen	Espiye	Fatsa	Alaçam	Kefken	Körfez	Güllük
Ardeşen	0,0023						
Espiye	0,0020	0,0033					
Fatsa	0,0019	0,0016	0,0016				
Alaçam	0,0030	0,0029	0,0027	0,0031			
Kefken	0,0029	0,0027	0,0026	0,0034	0,0036		
Körfez	0,0033	0,0033	0,0028	0,0042	0,0042	-	
Güllük	0,0026	0,0025	0,0023	0,0031	0,0032	0,0036	0,0031

Gri renkli olanlar populasyon içi genetik mesafeyi verir.

Populasyonlar için olası demografik değişimlerinin (tikanıklıklar veya genişlemeler) izlerini ve nötr bir evrim modeli için beklenen polimorfizm modelinden sapmaları tespit etmek için kullanılan COI geni için F_u 'nun F_s ve Tajima'nın nötralite testlerinin sonuçları Tablo 7 'de sunulmuştur. F_u 'nun F_s ve Tajima D tarafsızlık testi sonuçları Tajima D: -1,39868 (Alaçam) ve 1,33722 (Fatsa), F_u 'nun F_s değeri ise -2,329 (Güllük) ve 0,477 (Fatsa) değerleri aralığında olduğu belirlenmiştir. Espiye populasyonu için örnek sayıları yetersiz olduğundan F_u 'nun F_s ve Tajima D değerleri hesaplanamamıştır. (Tablo 7).

Tablo 7. COI geni için örnekleme lokaliteleri, havzaları, örnek ve haplotip sayıları, genetik çeşitlilik indeksleri, Tajima D ve Fu'nun Fs tarafsızlık testleri.

	N	NH	Hd	π	Tajima D	Fu's Fs
Ardeşen	17	5	0,809	0,00226	0,55320	-0,497
Espiye	2	2	1,000	0,00324	-	-
Fatsa	10	3	0,733	0,00162	1,33722	0,477
Alaçam	10	5	0,756	0,00310	-1,39868	-0,706
Körfez+Kefken	10	6	0,778	0,00371	-1,22839	-1,483
Güllük	9	6	0,889	0,00306	-1,18930	-2,329

N: Örnek sayısı, NH: Haplotip sayısı, Hd: Haplotip çeşitlilik, π = Nükleotit çeşitlilik

AMOVA analiz sonucuna göre % -0,05 populasyonlar arası farklılıktan % 100,05 ü ise populasyon içi farklılıktan kaynaklandığı belirlenmiştir. F_{ST} = -0.00054 olarak hesaplanmıştır. Alaçam ve Ardeşen populasyonları ile Alaçam ve Fatsa populasyonları arasında anlamlı farklılık mevcut olup diğer populasyonlar arası anlamlı farklılık yoktur.

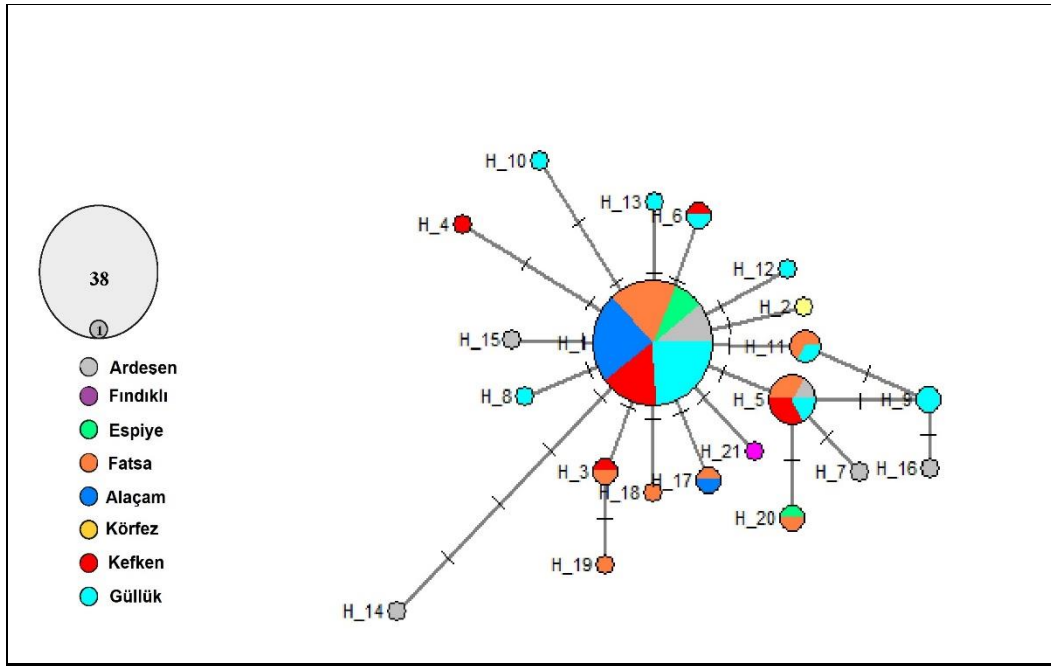
2.8.1.2. 16S rRNA Genine Ait Bulgular

S. porcus türünün dağılım gösterdiği 8 istasyondan örneklenen 70 bireyin mitokondriyal DNA 16S rRNA gen bölgesinin 803 bç'lık kısmı analiz edilmiştir. Ardeşen örnekleri 6, Fındıklı örnekleri 1, Kefken örnekleri 5, Güllük örnekleri 9, Alaçam örnekleri 2, Fatsa örnekleri 8, Espiye örnekleri 2, Körfez örnekleri 1 haplotip ile temsil edilmektedir (Tablo 4). Filogenetik analize dâhil edilen toplam 70 örnekte, 21 haplotip ve 6 adet parsimonik bilgi verici, 24 değişken bölge ve 779 adet korunmuş bölge olduğu saptandı (Tablo 8). 16S rRNA gen bölgesi için haplotip çeşitliliği, Hd: 0,7964; nükleotit çeşitliliği ise, π : 0,02706 olarak tespit edildi. Bu gen bölgesi için nükleotit kompozisyon oranları T(U): 22.5; C: 26.3; A: 30.9; G: 20.3 olarak tespit edildi. Transisyon / transversiyon oranları k_1 = 9,305 (pürinler) and k_2 = 5,892 pirimidinler, toplam transisyon / transversiyon eğilimi R = 3,732 olarak hesaplandı.

Tablo 8. 16S rRNA geni için değişken nükleotit pozisyonları

	111111112224555566678
	36011345782346078988920
	584301888412516151039302
Hap_1	TTGCCTCACGAATTTGTCAATGCG
Hap_2	C.....
Hap_3	A.....
Hap_4	AA.....
Hap_5	G.....
Hap_6	A.....
Hap_7	G....C.....
Hap_8	G.....
Hap_9	.C.....G.....
Hap_10	...A..G.....
Hap_11	.C.....
Hap_12	A.....
Hap_13	G.....
Hap_14	T....CG.A.....
Hap_15	..T.....
Hap_16	.C.....G.....C..
Hap_17	A
Hap_18	G.....
Hap_19	A.....G.....
Hap_20	G.....C...
Hap_21	T.

Haplotip ağı analizinde mevcut 21 haplotip en az 1 en fazla 7 nükleotit farklılığıyla konumlanmıştır. En yaygın haplotip olan H1, 38 örnekle temsil edilirken 26 adet haplotip 1 örnekle temsile edilmektedir. Haplotip dağılım ve frekans analizleri, haplotiplerin birden fazla popülasyon tarafından paylaşıldığı tespit edilmiştir. H1 haplotipinde Ardeşen, Espiye, Fatsa, Alaçam, Kefken ve Güllük popülasyonlarına ait örnekler bulunmaktadır (Şekil 14).



Şekil 14. 16S rRNA genine dayalı olarak popülasyonlar arasındaki ilişkiyi gösteren köksüz haplotip ağları.

16S rRNA genine göre popülasyonlar arası genetik mesafe oldukça düşüktür (< 0.005). Popülasyonlar arası genetik mesafe 0,0007 (Espiye ve Alaçam) ile 0,0028 (Ardeşen- Fındıklı ve Ardeşen- Körfez) arasında değişmektedir. Popülasyon içi genetik farklılık ise 0,0002 (Alaçam) ile 0,0028 (Ardeşen) arasında değişmektedir (Tablo 9).

Tablo 9. 16S rRNA genine dayalı populasyonlar arasındaki Kimura 2 parametresi modeline göre genetik mesafe

	Ardeşen	Fındıklı	Espiye	Fatsa	Alaçam	Kefken	Körfez	Güllük
Ardeşen	0,0028							
Fındıklı	0,0028	-						
Espiye	0,0019	0,0019	0,0012					
Fatsa	0,0022	0,0021	0,0013	0,0016				
Alaçam	0,0017	0,0014	0,0007	0,0010	0,0002			
Kefken	0,0021	0,0019	0,0012	0,0014	0,0008	0,0013		
Körfez	0,0028	0,0025	0,0019	0,0021	0,0014	0,0019	-	
Güllük	0,0022	0,0021	0,0014	0,0016	0,0010	0,0014	0,0021	0,0016

Gri renkli olanlar populasyon içi genetik mesafeyi verir.

Populasyonlar için olası demografik değişimlerinin (tikanıklıklar veya genişlemeler) izlerini ve nötr bir evrim modeli için beklenen polimorfizm modelinden sapmaları tespit etmek için kullanılan 16S rRNA geni için Fu'nun Fs ve Tajima'nın nötralite testlerinin sonuçları Tablo 10' da sunulmuştur. Fu'nun Fs ve Tajima D tarafsızlık testi sonuçları Tajima D: -1,60033 (Güllük) ve -0,70990 (Espiye), Fu'nun Fs: -5,926 (Güllük) ve 1,099 (Espiye) değerleri aralığında olduğu belirlenmiştir (Tablo 10).

Tablo 10. 16S rRNA geni için örnekleme lokaliteleri, havzaları, örnek ve haplotip sayıları, genetik çeşitlilik indeksleri, Tajima D ve Fu'nun Fs tarafsızlık testleri

	N	NH	Hd	π	Tajima D	Fu's Fs
Ardeşen+Fındıklı	10	7	0,867	0,00282	-1,59020	-2,875
Espiye	4	2	0,500	0,00125	-0,70990	1,099
Fatsa	16	8	0,808	0,00161	-1,36612	-4,614
Alaçam	10	2	0,200	0,00025	-1,11173	-0,339
Körfez+Kefken	12	5	0,709	0,00131	-1,46460	-1,929
Güllük	18	9	0,758	0,00156	-1,60033	-5,926

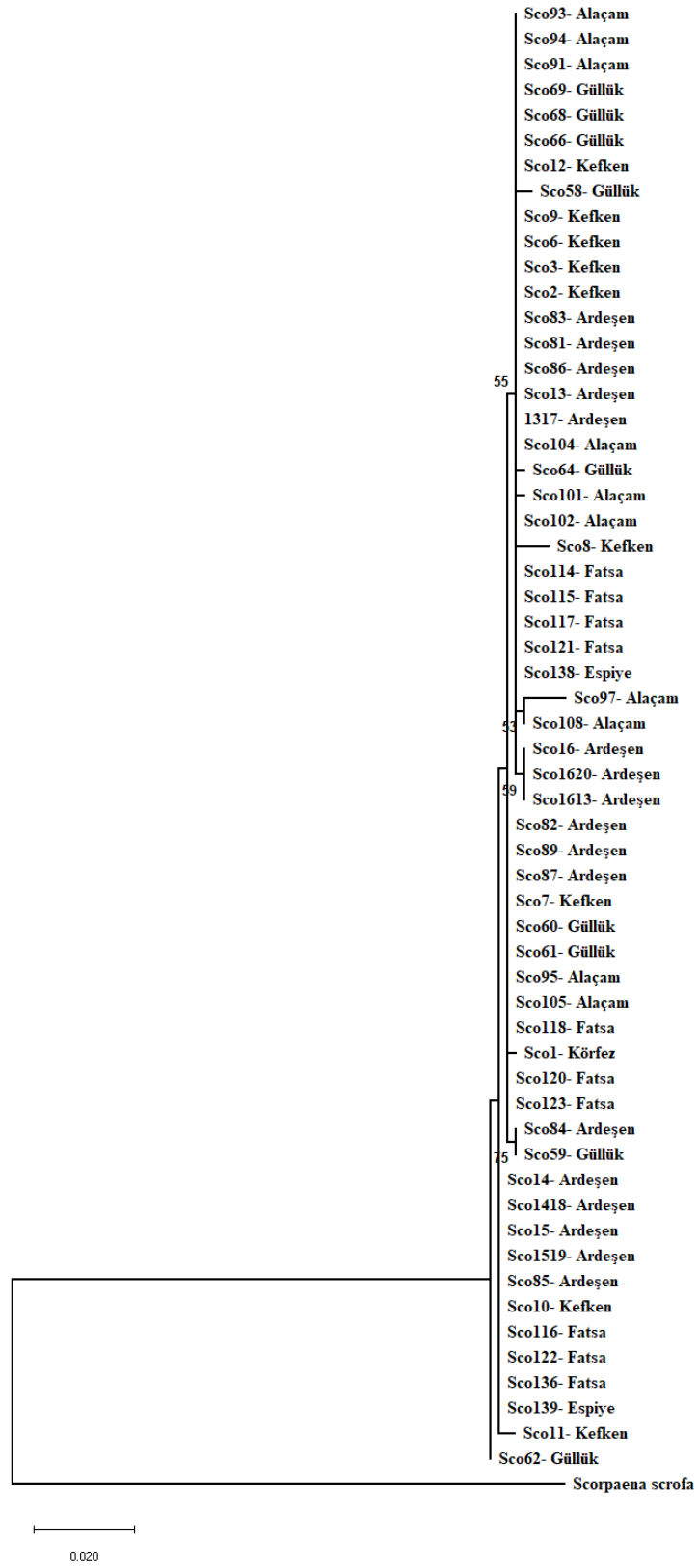
N: Örnek sayısı, NH: Haplotip sayısı, Hd: Haplotip çeşitlilik, π = Nükleotit çeşitlilik

16S rRNA geni veri setinin AMOVA analiz sonuçlarına göre varyasyonun % 101,15 ü ise populasyon içi farklılıktan % -1,15 populasyonlar arası farklılıktan kaynaklandığı belirlenmiştir. Popülasyonlar arası anlamlı farklılık yoktur. FST= -0.01155 olarak hesaplanmıştır.

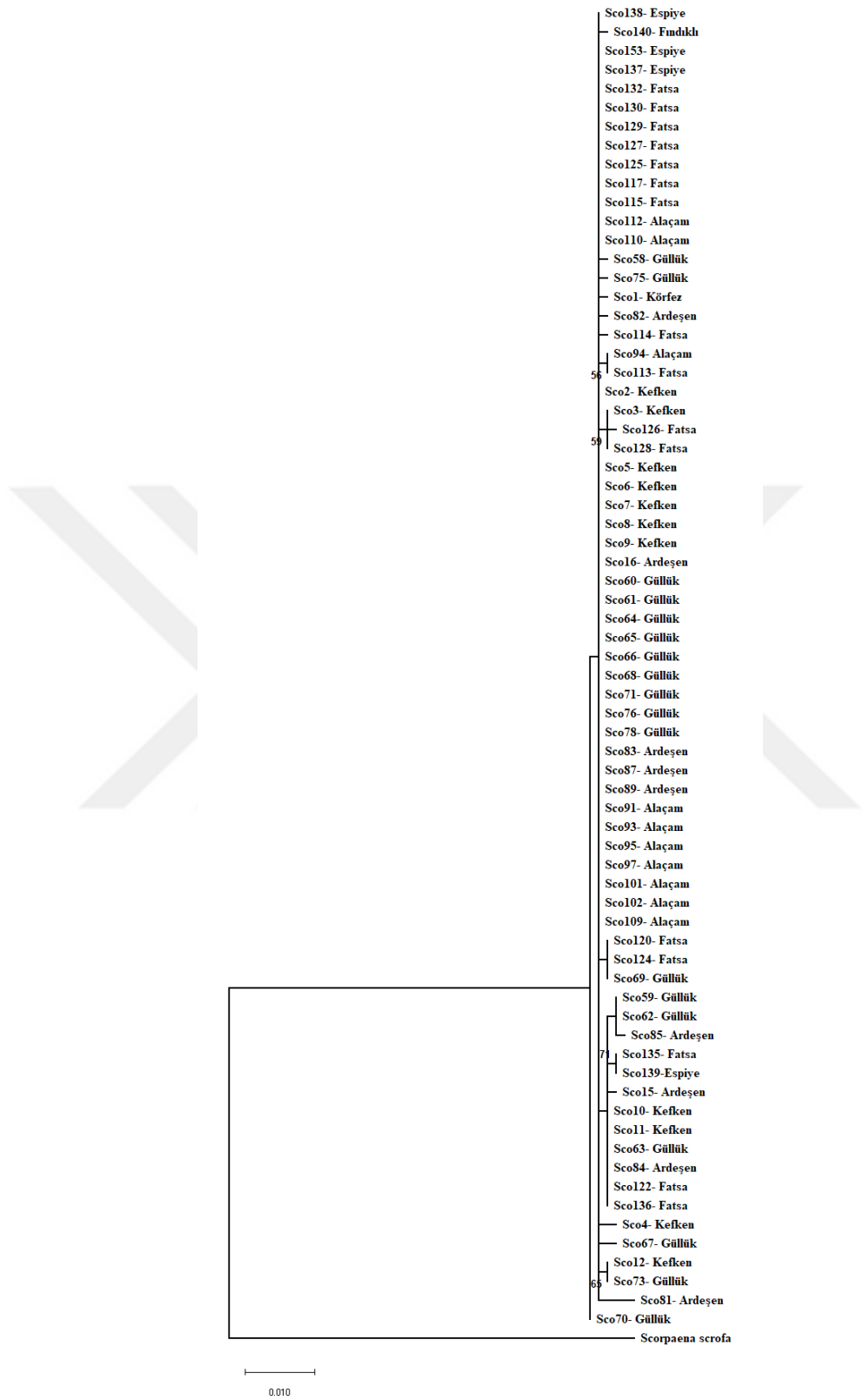
2.8.2. Filogenetik Yapıya İlişkin Bulgular

Filogenetik analizler sonucunda çalışılan popülasyonlara ait örneklerin aynı haplogrupta toplanmış olduğu görülmektedir. Ardeşen, Fındıklı, Espiye, Fatsa, Alacam, Körfez, Kefken ve Güllük popülasyonlarına ait örnekler düşük bootstrap değerleriyle filogenetik ağaçta konumlanmıştır (Şekil 15, 16). Sitokrom oksidaz ve 16S rRNA genlerine dayalı çizilen maksimum likelihood ağacı birbirleriyle uyumludur.





Şekil 15. COI geninin maksimum olasılık metotuna göre çizilmiş filogenetik ağacı



Şekil 16. 16S rRNA geninin maksimum olasılık metotuna göre çizilmiş filogenetik ağacı

3.TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada ülkemizden 8 farklı lokaliteden *Scorpaena porcus* türüne ait populasyonların COI ve 16S rRNA gen bölgesine dayalı genetik yapılanmaları ve arasındaki ilişki ortaya çıkarılmıştır. Bu çalışma *Scorpaena porcus* türüne ait ülkemiz Karadeniz populasyonları için geniş bir coğrafik aralığı kapsayan ilk çalışmadır.

Boissin vd. (2016) yaptıkları çalışmada *S. porcus*'un Akdeniz ve Karadeniz populasyonlarını mikrosatellit işaretleyiciler ile ayırırken; mitokondriyal DNA ile iki bölgeye ait populasyonların ayrılmadığından bahsetmiştir. Karadeniz için sadece iki populasyon genetik olarak heterojen bir yapı gösterirken bu durum mekânsal örnekleme göstermemiştir. Aynı araştırmacının sonuçlarına göre, Akdeniz ve Karadeniz populasyonları yakın zaman genişlemesi ile oluşmuştur. Karadeniz ve Akdeniz için genetik çeşitlilik seviyesi aynıdır. Geçmiş çalışmalarında ışığında Karadeniz populasyonunun yakın zamanda kolonize olduğu düşünülür. Fakat genetik çeşitlilik Akdeniz ile benzer özellik gösterdiği için (sonradan kurulmasına rağmen azalmış bir genetik çeşitliliğe sahip olmadığı için) göçün yoğun ve fazla bireylerle gerçekleştiği tahmin edilmektedir. Boissin vd. (2016) çalışmasına benzer olarak mevcut çalışmada da Karadeniz populasyonlarında tespit edilen yüksek haplotip ve nükleotid çeşitliliği bu hipotezi doğrular. Bununla birlikte 8000 yıl önceki tuzluluk krizinden bireylerin sığınakların varlığı ile kurtulduğu ihtimali varsayım dışı bırakılmamıştır. Sığınak populasyonları atasal genetik çeşitliliği korumuş ve sonra bu çeşitlilik Akdeniz populasyonu ile birlikte karşılaşmıştır. Boissin vd. (2016) çalışmasında nötralite testi ile populasyonda genişlemeyi ortaya çıkarmıştır. Bu çalışmada da Karadeniz populasyonları için tespit edilen negatif nötralite test değerleri yakın zaman populasyon yayılımını destekler. Ayrıca bu araştırmacı Karadeniz populasyonu için genetik verilerin hala yetersiz olduğundan bahsetmiştir. Mitokondriyal DNA ve nüklear DNA sonuçları birbirinden farklı çıkmıştır. Bunun sebebi mitokondriyal DNA'da mutasyonların genetik sürüklenme üzerinde kısıtlı rolü olmasıdır. Ayrıca mtDNA için genetik farklılığın tespit edilememesi, mtDNA için tamamlanmamış soy bağlanması da işareti olabilir. Boissin vd. (2016) yaptıkları çalışma da Karadeniz'den Şile ve Sinop populasyonları çalışılmış ve populasyonlar arası genetik farklılık tespit edilmemiştir. Yapılan çalışmada da

Karadeniz populasyonları arasında herhangi bir genetik farklılık tespit edilmemiştir. Karadeniz populasyonu Akdeniz populasyonuna göre daha homojen bir yapı göstermektedir.

Francisco vd. (2021) yaptıkları çalışmada *S. maderensis*'de tür için genetik çeşitliliği incelemiştir. Yaptıkları haplotip ağı analizine göre; çok sayıda tekil ve az sayıda paylaşılan haplotip ile karakterize edilen derin hiper çeşitli çalı benzeri soy yapısını tespit etmiştir. Benzer bir haplotip ağı mevcut çalışmada da ortaya konmuştur.

Scorpaena türlerine ait literatürde farklı karşılaştırmalı çalışmalar mevcuttur. Thode vd. (1985) *S. porcus* ve *S. notata* türlerini C bantı özellikleri ve DNA değerlerine göre çeşitliliğini incelemiştir. İki tür arası farklılıkları ortaya koymuştur. Turan vd. (2009) Akdeniz'den İskenderun körfezinden *Scorpaeniformes* takımına ait iki cins ve altı türü (*Helicolenus dactylopterus*, *Scorpaena maderensis*, *Scorpaena elongata*, *Scorpaena scrofa*, *Scorpaena porcus*, *Scorpaena notata*) morfolojik ve mitokondriyal 16S rRNA genine göre karşılaştırmalı olarak incelemiştir. Bahsi geçen çalışmada toplam 6 haplotip tespit edilmiş ve bunların 2'si *S. elongata*, diğer türler için birer haplotip bildirilmiştir. *Scorpaena* cinsleri arasında en düşük genetik farklılık (0,07) *S. porcus* ve *S. notata*, en yüksek genetik farklılık *S. maderensis* ile *S. notata* (0,11) arasında tespit edilmiştir. Ayrıca, aynı çalışmanın NJ ağacına göre *S. porcus* ve *S. notata* türleri aynı lineage de konumlanmıştır. Ayrıca çalışmada morfolojik farklılığın derecesi ve yapısı genetik farklılık ile uyumlu değildir. İnceledikleri 873 bç. içerisinde 64 değişken nükleotid, 79 parsimoni bilgi verici bölge tespit edilmiştir. Nükleotid kompozisyonları ise C:22,1 ve T:30,9 olarak bildirilmiştir. Bu çalışmada ise 16S rRNA gen bölgesi için 803 bç. içerisinde 70 adet parsimonik bilgi verici, 24 değişken bölge ve 779 adet korunmuş bölge olduğu saptandı. Nükleotit kompozisyon oranları T(U): 22,5; C: 26,3; A: 30,9; G: 20,3 olarak tespit edildi.

Trojette vd. (2014) Tunus'tan üç farklı *S. porcus* populasyonunu otolit yapılarına göre diskriminant analizi ile karşılaştırmıştır. Buna göre araştırmacılar, farklı çevrede yaşayan populasyonlar arası az da olsa örtüşmeye rağmen farklılık tespit etmiştir.

Ülkemizdeki *Scorpaena porcus* populasyonlarını inceleyen genetik yapılarını

ortaya koyan en güncel çalışma ise Yedier ve Bostancı (2022) tarafından gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada *Scorpaena* cinsinin moleküler ve otolit yapısına göre incelemiştir. Buna göre, Akdeniz, Ege, Karadeniz ve Marmara'dan beş farklı *Scorpaena* türünü (*S. maderensis*, *S. elongata*, *S. scrofa*, *S. porcus*, *S. notata*) moleküler (COI; 652 bp) ve otolit yapılarına göre ayırmışlardır. Çalışmadaki 5 tür için toplam 18 haplotip tanımlanmıştır: *S. elongata*, *S. maderensis* ve *S. scrofa* için 3 haplotip, *S. notata* için 4 haplotip ve *S. porcus* için 5 haplotip. Tür içi genetik farklılık *S. elongata* için 0-0,00307, *S. maderensis* için 0-0,02341, *S. notata* için 0-0,01084, *S. porcus* için 0-0,00618, *S. scrofa* için ise 0-0,00617 olarak bildirilmiştir. En yüksek türler arası farklılık *S. maderensis* ve *S. notata* (0,1569) arasında tespit edildi. Bahsi geçen çalışmaya benzer olarak bu çalışmada da tür içi genetik farklılık COI geni için 0,0016 ile 0,0036 arasında; 16S rRNA geni için ise 0,0002 ile 0,0028 arasında tespit edildi. Bu çalışmada coğrafik olarak en uzak populasyonlar için (Güllük-Ardeşen) bile düşük genetik farklılık (0,003) tespit edilmiştir. Benzer sonuçlar farklı bir *Scorpaena* türü olan *S. maderensis* için de bildirilmiştir. Francisco vd. (2021) mevcut coğrafik bariyerlere rağmen Atlantik ve Akdeniz populasyonları arasında genetik farklılık tespit edememiştir. Araştırmacılar bu sonucu, geniş ortalama pelajik larva süreci ve yüksek yetişkin yayılım kabiliyeti ile ilişkilendirmiştir.

Scorpaena cinsi renk benzerlikleri ve farklı habitatlarda yaşayanların morfolojik özelliklerinin çakışmasından dolayı birbirlerinden ayırımı zor olan türleri içerir (Hureau ve Livtinenko, 1986; Akalın vd., 2011; Froese ve Pauly, 2021). Özellikle *S. porcus* diğer *Scorpaena* türleri ile karıştırılmaktadır. Yedier ve Bostancı (2022) ülkemiz kıyılarında dağılım gösteren *Scorpaena* türleri için yapılan çalışmaların yetersiz olduğundan bahsetmiştir. Araştırmacılar yaptıkları çalışmada Ordu, Şile, Marmara Ereğlisi, Çanakkale, Balıkesir, İzmir, Antalya ve Hatay istasyonlarından bireyleri analizi etmişlerdir. Bu çalışmada ise Yedier ve Bostancı (2022)'nin çalışmasından farklı olarak Rize, Giresun, Samsun, Kocaeli, Edirne ve Muğla istasyonlarından bireyler analiz edilmiştir. Bu çalışma ile yeni istasyonlardan bireylere ait genetik çeşitlilik verileri literatüre sunulmuştur.

Deniz biyoçeşitliliğinin ve genetik yapılanmasının değerlendirilmesi populasyon yönetimi ve koruma biyolojisinin ana gayesidir. Bu çalışma ile

Scorpaena porcus türü için genetik veri sağlanmış ve özellikle Karadeniz için eksik istasyonlara ait literatüre bilgi temin edilmiştir.

Taksonomik, fonksiyonel ve filogenetik çeşitlilik ile birlikte genetik çeşitlilik biyoçeşitliliğin bir yapı taşıdır. Denizler Deniz koruma alanları üzerinden global değişimlerden ve insani etkilerden etkili bir şekilde korunabilir (Guidetti vd., 2014). Bununla birlikte, Akdeniz DKA'larının etkinliği koruma taksonomik, fonksiyonel ve filogenetik çeşitlilik açısından değerlendirildiğinde (Mouillot vd., 2011), genetik faktörler göz önünde bulundurularak biyoçeşitliliğin bileşeni ve onun mekansal örüntüleri hala esas olarak eksiktir. Dahası, Güneydoğu Akdeniz bölgesi için az veri mevcuttur. Evrimsel işleyiş ve mekansal evrimsel potansiyeli olan alanlar ile ilgili daha net bir resim için Akdeniz'den daha fazla genetik verinin sağlanması gerekir. Akdeniz genetik çeşitliliğine katkı sağlayan bu çalışma literature veri sağlamaktadır. Karadeniz için ise baktığımızda, Karadeniz'in biyoçeşitliliğinin Akdeniz ve Ege'den daha düşük olduğu bilinmektedir (Batet vd., 2011). Fakat benzersiz bir deniz olan Karadeniz Dünya üzerindeki en üretken bölgedir (Düzgüneş vd., 2014). Yüksek üretkenliğe rağmen Karadeniz stoklarının % 62,2 biyolojik olarak devamlılığını sürdürmez hale gelmiştir (FAO, 2018). Bu yüzden de Karadeniz'deki genetik biyoçeşitliliğin tayini elzemdir.

Bu çalışmanın sonuçlarına göre;

1. COI gen bölgesine göre, Ardeşen örnekleri 5 haplotipte, Kefken örnekleri 5 haplotipte, Güllük örnekleri 6 haplotipte, Alaçam örnekleri 5 haplotipte, Fatsa örnekleri 3 haplotipte, Espiye örnekleri 2 haplotipte, Körfez popülasyonuna ait örnekler ise 1 haplotipte temsil edildi.

2. COI gen bölgesine göre; 14 haplotip ve 5 adet parsimonik bilgi verici, 21 değişken bölge ve 596 adet korunmuş bölge olduğu saptandı. Haplotip çeşitliliği, Hd: 0,7840; nükleotit çeşitliliği ise, Pi: 0,00269 olarak tespit edildi.

3. COI gen bölgesi için nükleotit kompozisyon oranları T(U): 28.8; C: 29.2; A: 23.9; G: 18.1 olarak tespit edildi. Transisyon / transversiyon oranları $k1 = 16.64$ (purinler) ve $k2 = 1306$ (pirimidinler), toplam transisyon / transversiyon eğilimi $R = 3.402$ olarak hesaplandı.

4. COI gen bölgesine göre popülasyonlar arası genetik mesafe oldukça düşüktür ($< \%0.5$).

5. Fu'nun F_s ve Tajima D tarafsızlık testi sonuçları Tajima D: -1,39868 ve -1,33722, Fu'nun F_s : -2,329 ve 0,477 değerleri aralığında olduğu belirlenmiştir.
6. AMOVA analiz sonucuna göre % -0,05 populasyonlar arası farklılıktan % 100,05 ü ise populasyon içi farklılıktan kaynaklandığı belirlenmiştir. F_{ST} = -0.00054 olarak hesaplanmıştır.
7. COI geni için Maksimum olasılık metoduna göre çizilmiş ağaçta, tüm populasyonlara ait bireyler aynı dalda toplanmıştır. Ege ve Karadeniz örnekleri ise ağaçta birlikte konumlanmıştır.
8. 16S rRNA gen bölgesine göre Ardeşen örnekleri 6, Fındıklı örnekleri 1, Kefken örnekleri 5, Güllük örnekleri 9, Alacam örnekleri 2, Fatsa örnekleri 8, Esiye örnekleri 2, Körfez örnekleri 1 haplotip ile temsil edilmektedir.
9. 16S rRNA gen bölgesi için 21 haplotip ve 6 adet parsimonik bilgi verici, 24 değişken bölge ve 779 adet korunmuş bölge olduğu saptandı. Haplotip çeşitliliği, H_d : 0,7964; nükleotit çeşitliliği ise, P_i : 0,02706 olarak tespit edildi.
10. Bu gen bölgesi için nükleotit kompozisyon oranları T(U): 22.5; C: 26.3; A: 30.9; G: 20.3 olarak tespit edildi. Transisyon / transversiyon oranları k_1 = 9.305 (pürinler) and k_2 = 5.892 pirimidinler, toplam transisyon / transversiyon eğilimi R = 3.732 olarak hesaplandı.
11. 16S rRNA genine göre populasyonlar arası genetik mesafe oldukça düşüktür ($< \%0.5$).
12. 16S rRNA geni için Fu'nun F_s ve Tajima D tarafsızlık testi sonuçları Tajima D: -1,60033 ve -0,70990, Fu'nun F_s : -5,926 ve 1,099 değerleri aralığında olduğu belirlenmiştir.
13. AMOVA analiz sonucuna göre % -1,15 populasyonlar arası farklılıktan % 101,15 ü ise populasyon içi farklılıktan kaynaklandığı belirlenmiştir. F_{ST} = -0.01155 olarak hesaplanmıştır. Popülasyonlar arası anlamlı farklılık yoktur.
14. COI geni sonuçlarına benzer olarak 16S rRNA için Maksimum olasılık metoduna göre çizilmiş filogenetik ağaçta, Ege ve Karadeniz örnekleri birlikte konumlanmıştır.

KAYNAKÇA

- Allendorf, F. W., Ryman, N., Utter, F. M. (1987). Genetics and fishery management. *Population genetics and fishery management*, 1-19.
- Altun, S., Diler, O., ve Adiloglu, A. K. (2004). Genotyping of *Lactococcus garvieae* strains from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) by 16S rDNA sequencing. *Bulletin-European Association of Fish Pathologists*, 24(2), 119-125.
- Akalın, S., İlhan, D., Ünlüoğlu, A., Tosunoğlu, Z., Özaydın, O. (2011). İzmir Körfezi'nde İki Iskorpit Türünün (*Scorpaena Notata* Ve *Scorpaena Porcus*) Boy-Ağırlık İlişkisi Ve Metrik-Meristik Özellikleri/Length-weight relationship and metric-meristic characteristics of two scorpion fishes (*Scorpaena notata* and *Scorpaena porcus*) in İzmir Bay. *Journal of FisheriesSciences. com*, 5(4), 291.
- Aksiray, F. (1987). Türkiye deniz balıkları ve tayin anahtarı. İstanbul Üniversitesi Rektörlüğü Yayınları, İstanbul.
- Aksu I, Bektaş Y (2019) Mitochondrial phylogeny and biogeography of the genus *Gobio* (Teleostei: Cyprinidae) in Turkey. *Zoology in the Middle East* 65: 128–141. <https://doi.org/10.1080/09397140.2019.1586126>
- Bandelt HJ, Forster P, Röhl A (1999) Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular Biology and Evolution* 16: 37–48. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a026036>
- Bartáková V, Bryja J, Šanda R, Bektas Y, Stefanov T, Choleva L, Smith C, Reichard M (2019) High cryptic diversity of bitterling fish in the southern West Palearctic. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 133: 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2018.12.025>
- Başçınar, N. S., Sağlam, H. (2009). Feeding habits of black scorpionfish *Scorpaena porcus*, in the South-Eastern Black Sea. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 9(1).
- Bat, Levent, et al. "Heavy metal concentrations in ten species of fishes caught in Sinop coastal waters of the Black Sea, Turkey." *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 12.5 (2012): 371-376.
- Bate, J. (2011). Shakespeare and the English romantic imagination. Oxford University Press.
- Bektas Y, Turan D, Aksu I, Ciftci Y, Eroglu O, Kalayci G, Belduz AO (2017) Molecular phylogeny of the genus *Capoeta* (Teleostei: Cyprinidae) in Anatolia, Turkey. *Biochemical Systematics and Ecology* 70: 80–94. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2016.11.005>

- Bektas Y, Aksu I, Kaya C, Baycelebi E, Atasaral S, Ekmekci FG, Turan D (2019) Phylogeny and phylogeography of the genus *Alburnoides* (*Teleostei*, *Cyprinidae*) in Turkey based on mitochondrial DNA sequences. *Mitochondrial DNA Part A: DNA Mapping, Sequencing, and Analysis* 30: 794–805. <https://doi.org/10.1080/24701394.2019.1664493>
- Bilecenoglu, Murat; Kaya, Murat; Cihangir, Bülent; And Çiçek, Erdoğan (2014) "An updated checklist of the marine fishes of Turkey," *Turkish Journal of Zoology*: Vol. 38: No. 6, Article 10. <https://doi.org/10.3906/zoo-1405-60>
- Bilgin R (2011) Back to the suture: The distribution of intraspecific genetic diversity in and around Anatolia. *International Journal of Molecular Sciences* 12: 4080–4103. <https://doi.org/10.3390/ijms12064080>
- Brown-Elliott, B.A., Brown, J.M., Conville, P.S. and Wallace, R.J. (2006) “Clinical and laboratory features of the *Nocardia* spp. based on current molecular taxonomy”, *Clinical Microbiology Reviews*, 19, 259-282.
- Bogutskaya NG (1997) Contribution to the knowledge of leuciscine fishes of Asia Minor. Part 2. An annotated check-list of leuciscine fishes (*Leuciscinae*, *Cyprinidae*) of Turkey with descriptions of a new species and two new subspecies. *Mitt. Hamb. Zool. Mus. Inst.* 94: 161–186.
- Bolognia, J. L., Cooper, D. L., ve Glusac, E. J. (2008). Toxic erythema of chemotherapy: a useful clinical term. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 59(3), 524-529.
- Brunner, E. J., Jones, P. J., Friel, S., ve Bartley, M. (2009). Fish, human health and marine ecosystem health: policies in collision. *International journal of epidemiology*, 38(1), 93-100.
- Brown-Elliott, B. A., Brown, J. M., Conville, P. S., ve Wallace Jr, R. J. (2006). Clinical and laboratory features of the *Nocardia* spp. based on current molecular taxonomy.
- Bucklin A, Steinke D, Blanco-Bercial L. 2011. DNA Barcoding of Marine Metazoa. *Annual Reviews of Marine Science*. 3:471-508.
- Buj I, Šanda R, Zogaris S, Freyhof J, Geiger MF, Vukić J (2019) Cryptic diversity in *Telestes pleurobipunctatus* (Actinopterygii; Leuciscidae) as a consequence of historical biogeography in the Ionian Freshwater Ecoregion (Greece, Albania). *Hydrobiologia* 835: 147–163. <https://doi.org/10.1007/s10750-019-3935-6>
- Boissin, E., Micu, D., Janczyszyn-Le Goff, M., Neglia, V., Bat, L., Todorova, V., Planes, S. (2016). Contemporary genetic structure and postglacial demographic history of the black scorpionfish, *Scorpaena porcus*, in the Mediterranean and the Black Seas. *Molecular Ecology*, 25(10), 2195-2209.
- Bonné-Tamir, B., Johnson, M. J., Natali, A., Wallace, D. C., ve Cavalli-Sforza, L. L.

- (1986). Human mitochondrial DNA types in two Israeli populations--a comparative study at the DNA level. *American journal of human genetics*, 38(3), 341.
- Bowen, B. W., ve Avise, J. C. (1990). Genetic structure of Atlantic and Gulf of Mexico populations of sea bass, menhaden, and sturgeon: influence of zoogeographic factors and life-history patterns. *Marine Biology*, 107(3), 371-381.
- Chaichi AR, Vosoughi G, K K, Jamili S, Fazli H (2011a) Population dynamics of *Vimba vimba persa* in Iranian waters of the Caspian Sea. *Cybiuim: international journal of ichthyology* 35: 237–243.
- Chaichi AR, Vosoughi GH, Kaymaram F, Jamili S, Fazli H (2011b) Reproduction characteristics of the *Vimba vimba persa* (Pallas, 1811), in coastal waters of the Caspian Sea. *Iranian Journal of Fisheries Sciences* 10: 585–595.
- Crivelli AJ (1996) The Freshwater Fish Endemic to the Northern Mediterranean Region: An Action Plan for Their Conservation. *Tour du Valat*, 172 pp. Available from: <https://books.google.com.tr/books?id=SZIWAQAIAAJ>.
- Cooper JK, Sykes G, King S, Cottrill K, Ivanova NV, Hanner R, Ikononi P. 2007. Species identification in cell culture: a two-pronged molecular approach. *In Vitro Cellular ve Developmental Biology-Animal*. 43:344-351.
- Çelik, U. (2004). Marine Edilmiş Akivades (*Tapes decussatus* L., 1758)'in Kimyasal Kompozisyonu ve Duyusal Analizi. *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 21(3).
- Çiftci, Y. (2006). Türkiye'de Kahverengi Alabalık Populasyonlarının Genetik Yapısının Belirlenmesi. *Aquaculture Studies*, 2006(3).
- Drummond AJ, Suchard MA, Xie D, Rambaut A (2012) Bayesian phylogenetics with BEAUti and the BEAST 1.7. *Molecular Biology and Evolution*. <https://doi.org/10.1093/molbev/mss075>
- Durand JD, Tsigenopoulos CS, Ünlü E, Berrebi P (2002) Phylogeny and biogeography of the family cyprinidae in the Middle East inferred from cytochrome b DNA - Evolutionary significance of this region. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 22: 91–100. <https://doi.org/10.1006/mpev.2001.1040>
- Durand JD, Unlu E, Doadrio I, Pipoyan S, Templeton AR (2000) Origin, radiation, dispersion and allopatric hybridization in the chub *Leuciscus cephalus*. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 267: 1687–1697. <https://doi.org/10.1098/rspb.2000.1196>
- Duzgunes, E., Emral, H., ve Kasapoğlu, N. (2014). General outlines of the fisheries in the Turkish Black Sea. E. Düzgüneş, B. Öztürk, and M. Zengin (eds) *The State of The Turkish Fisheries*. Published by Turkish Marine Research

- Foundation, Istanbul, Turkey, 147-174.
- Emre K, H. Hüseyin A (2013) DNA Barkodlama: Mitokondriyal COI Geni Kullanılarak Moleküler Tanımlama
- Erbay M. 2013 Doğu Karadeniz'deki İskorpit (*Scorpaena Porcus*, Linnaeus, 1758) Balığının Popülasyon Yapisi Ve Üreme Biyolojisi Üzerine Araştırma
- Erguden, D., Turan, C., ve Cevik, C. (2007). The Growth Features of Pontic Shad *Alosa pontica* (Eichwald, 1838) in the Sea of Marmara, Turkey.
- Excoffier, L., Smouse, P. E., ve Quattro, J. (1992). Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics*, 131(2), 479-491.
- Excoffier L, Lischer HEL (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. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2010.02847.x>
- Evans, J., ve Hall, S. (Eds.). (1999). Visual culture: The reader. Sage.
- Ferri, Josipa, Mirela Petrić, and Sanja Matić-Skoko. "Biometry analysis of the black scorpionfish, *Scorpaena porcus* (Linnaeus, 1758) from the eastern Adriatic Sea." *Acta Adriatica: International Journal of Marine Sciences* 51.1 (2010): 45-53.
- Firestone, M. K., ve Davidson, E. A. (1989). Microbiological basis of NO and N₂O production and consumption in soil. *Exchange of trace gases between terrestrial ecosystems and the atmosphere*, 47, 7-21.
- Freyhof J (1999) Records of *Vimba vimba* (Teleostei, Cyprinidae) in the River Rhine and its tributaries. *Folia Zoologica* 48: 315–320.
- Geiger MF, Herder F, Monaghan MT, Almada V, Barbieri R, Bariche M, Berrebi P, Bohlen J, Casal-Lopez M, Delmastro GB, Denys GPJJ, Dettai A, Doadrio I, Kalogianni E, Kärst H, Kottelat M, Kovačić M, Laporte M, Lorenzoni M, Marčić Z, Özuluğ M, Perdices A, Perea S, Persat H, Porcelotti S, Puzzi C, Robalo J, Šanda R, Schneider M, Šlechtová V, Stoumboudi M, Walter S, Freyhof J (2014) Spatial heterogeneity in the mediterranean biodiversity hotspot affects barcoding accuracy of its freshwater fishes. *Molecular Ecology Resources* 14: 1210–1221. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12257>
- Guidetti, P., Baiata, P., Ballesteros, E., Di Franco, A., Hereu, B., Macpherson, E., ... ve Sala, E. (2014). Large-scale assessment of Mediterranean marine protected areas effects on fish assemblages. *PLoS One*, 9(4), e91841.
- Guindon S, Dufayard JF, Lefort V, Anisimova M, Hordijk W, Gascuel O (2010) New algorithms and methods to estimate maximum-likelihood phylogenies: Assessing the performance of PhyML 3.0. *Systematic Biology* 59: 307–321.

<https://doi.org/10.1093/sysbio/syq010>

- Gyllensten, U., ve Wilson, A. C. (1987). Interspecific mitochondrial DNA transfer and the colonization of Scandinavia by mice. *Genetics Research*, 49(1), 25–29.
- Hall TAA (1999) BIOEDIT: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/ NT. *Nucleic Acids Symposium Series* 41: 95–98.
- Hänfling B, DümpeImann C, Bogutskaya NG, Brandl R, Brändle M (2009) Shallow phylogeographic structuring of *Vimba vimba* across Europe suggests two distinct refugia during the last glaciation. *Journal of Fish Biology* 75: 2269–2286. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2009.02415.x>
- Hasegawa M, Kishino H, Yano T aki (1985) Dating of the human-ape splitting by a molecular clock of mitochondrial DNA. *Journal of Molecular Evolution* 22: 160–174. <https://doi.org/10.1007/BF02101694>
- Hebert PDN, Cywinska A, Ball SL, deWaard JR. 2003a. Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings Of The Royal Society B: Biological Sciences*. 270:313-321.
- Hebert PDN, Ratnasingham S, Dewaard JR. 2003b. Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species. *Proceedings Of The Royal Society B: Biological Sciences*. 270:96-99
- Hanner R. Gregory TR. 2007. Genomic diversity research and the role of biorepositories. *Cell Preservation Technology*. 5:93-103.
- Harrison, R. G. (1989). Animal mitochondrial DNA as a genetic marker in population and evolutionary biology. *Trends in Ecology ve Evolution*, 4(1), 6–11.
- Hewitt G (2000) The genetic legacy of the quaternary ice ages. *Nature* 405: 907–913. <https://doi.org/10.1038/35016000>
- Hewitt GM (2004) Genetic consequences of climatic oscillations in the Quaternary. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 359: 183–195. <https://doi.org/10.1098/rstb.2003.1388>
- Hillis, W. D. (1990). Co-evolving parasites improve simulated evolution as an optimization procedure. *Physica D: Nonlinear Phenomena*, 42(1-3), 228-234.
- Huang D, Meier R, Todd PA, Chou LM. 2008. Slow mitochondrial COI sequence evolution at the base of the metazoan tree and its implications for DNA barcoding. *Journal of Molecular Evolution*. 66:167-174
- Hubert, N., Meyer, C. P., Bruggemann, H. J., Guerin, F., Komeno, R. J., Espiau, B., ... ve Planes, S. (2012). Cryptic diversity in Indo-Pacific coral-reef fishes

revealed by DNA-barcoding provides new support to the centre-of-overlap hypothesis. *PLoS one*, 7(3), e28987.

- Kimura, M. (1980). A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of molecular evolution*, 16(2), 111-120.
- Koca, Habil Uğur (2002) "A Study on the Determination of Some Parameters of the Scorpion Fish (*Scorpaena porcus* Linne., 1758) Caught by Bottom Nets in the Area of Sinop in Terms of Fishery Biology," Turkish Journal of Veterinary ve Animal Sciences: Vol. 26: No. 1, Article 10. Available at: <https://journals.tubitak.gov.tr/veterinary/vol26/iss1/10>
- Koca, H. U. A Study on the Determination of Some Parameters of the Scorpion Fish (*Scorpaena porcus* Linne., 1758) Caught by Bottom Nets in the Area of Sinop in Terms of Fishery Biology. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 26(1), 65-69.
- Kosswig C (1955) Zoogeography of the near east. *Systematic Zoology* 4: 49–73. <https://doi.org/10.2307/sysbio/4.2.49>
- Kotlík P, Marková S, Choleva L, Bogutskaya NG, Ekmekçi FG, Ivanova PP (2008) Divergence with gene flow between Ponto-Caspian refugia in an anadromous cyprinid *Rutilus frisii* revealed by multiple gene phylogeography. *Molecular Ecology* 17: 1076–1088. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2007.03638.x>
- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C., ve Tamura, K. (2018). MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular biology and evolution*, 35(6), 1547.
- Last, P. R., Gledhill, D. C., ve Holmes, B. H. (2007). A new handfish, *Brachionichthys australis* sp. nov. (Lophiiformes: Brachionichthyidae), with a redescription of the critically endangered spotted handfish, *B. hirsutus* (Lacepède). *Zootaxa*, 1666(1), 53-68.
- Levin BA, Freyhof J, Lajbner Z, Perea S, Abdoli A, Gaffaroğlu M, Özuluğ M, Rubenyan HR, Salnikov VB, Doadrio I (2012) Phylogenetic relationships of the algae scraping cyprinid genus *Capoeta* (Teleostei: Cyprinidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 62: 542–549. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2011.09.004>
- Levin BA, Gandlin AA, Simonov ES, Levina MA, Barmintseva AE, Japoshvili B, Mugue NS, Mumladze L, Mustafayev NJ, Pashkov AN, Roubenyan HR, Shapovalov MI, Doadrio I (2019) Phylogeny, phylogeography and hybridization of Caucasian barbels of the genus *Barbus* (Actinopterygii, Cyprinidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 135: 31–44. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2019.02.025>
- Lewontin, R. C. (1964). The interaction of selection and linkage. I. General

- considerations; heterotic models. *Genetics*, 49(1), 49.
- Marr, J. C. (1957). *Contributions to the study of subpopulations of fishes* (No. 208). US Fish and Wildlife Service.
- Mellin, C., Bradshaw, C. J. A., Fordham, D. A., ve Caley, M. J. (2014). Strong but opposing β -diversity–stability relationships in coral reef fish communities. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 281(1777), 20131993.
- Meyers, S., Downing, J. R., ve Hiebert, S. W. (1993). Identification of AML-1 and the (8; 21) translocation protein (AML-1/ETO) as sequence-specific DNA-binding proteins: the runt homology domain is required for DNA binding and protein-protein interactions. *Molecular and cellular biology*, 13(10), 6336-6345.
- Mishra, U.K., Jacobs, S.E., Doyle, L.W. and Garland, S.M. (2006) “Newer approaches to the diagnosis of early on set neonatal sepsis”, *Archives of Disease in Childhood*, 91, 208-12.
- Mohamadian S, Rezavani Gilkolaei S, Rouhollahi S, Taghavi MJ, Nayerani M, Shirzad E, Taheri Mirghaed A (2012) Genetic characterization of *Vimba vimba persa* (Pallas, 1814) in Southern parts of the Caspian Sea using microsatellite markers. *Iranian Journal of Fisheries Sciences* 11: 347–357.
- Moritz, C. T. E. D., Dowling, T. E., ve Brown, W. M. (1987). Evolution of animal mitochondrial DNA: relevance for population biology and systematics. *Annual review of ecology and systematics*, 269-292.
- Mouillot, D., Villéger, S., Scherer-Lorenzen, M., ve Mason, N. W. (2011). Functional structure of biological communities predicts ecosystem multifunctionality. *PloS one*, 6(3), e17476.
- Nelson, J.S., Grande, T.C. ve Wilson, M.V.H. 2016. *Fishes of the World*. Fifth Edition. John Wiley ve Sons, Inc., Hoboken, New Jersey: [i]-xli, 1-707. ≡
- Nei, M., ve Tajima, F. (1981). DNA polymorphism detectable by restriction endonucleases. *Genetics*, 97(1), 145-163.
- Ninua L, Tarkhnishvili D, Gvazava E (2018) Phylogeography and taxonomic status of trout and salmon from the Ponto-Caspian drainages, with inferences on European Brown Trout evolution and taxonomy. *Ecology and Evolution* 8: 2645–2658. <https://doi.org/10.1002/ece3.3884>
- Okumuş, İ., ve Çiftci, Y. (2003). Fish population genetics and molecular markers: II-molecular markers and their applications in fisheries and aquaculture. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 3(1).
- Pallaoro, A., and I. Jardas. "Some biological parameters of the peacock wrasse, *Symphodus (Crenilabrus) tinca* (L. 1758)(Pisces: Labridae) from the middle

- eastern Adriatic (Croatian coast)." *Scientia Marina* 67.1 (2003): 33-41.
- Palomares, M. L., Froese, R., Derrick, B., Noël, S. L., Tsui, G., Woroniak, J., ve Pauly, D. (2018). A preliminary global assessment of the status of exploited marine fish and invertebrate populations.
- Pauls, S. U., Nowak, C., Bálint, M., ve Pfenninger, M. (2013). The impact of global climate change on genetic diversity within populations and species. *Molecular ecology*, 22(4), 925-946.
- Park, L. K., ve Moran, P. (1995). Developments in molecular genetic techniques in fisheries. In *Molecular genetics in fisheries* (pp. 1-28). Springer, Dordrecht.
- Pegg, G. G., Sinclair, B., Briskey, L., ve Aspden, W. J. (2006). MtDNA barcode identification of fish larvae in the southern Great Barrier Reef–Australia. *Scientia Marina*, 70(S2), 7-12.
- Perea S, Böhme M, Zupančič P, Freyhof J, Šanda R, Özulu M, Abdoli A, Doadrio I (2010). Phylogenetic relationships and biogeographical patterns in Circum-Mediterranean subfamily Leuciscinae (Teleostei, Cyprinidae) inferred from both mitochondrial and nuclear data. *BMC Evolutionary Biology* 10. <https://doi.org/10.1186/1471-2148-10-265>
- Pınar K. (2020). Türkiye’de yayılış gösteren bazı otbiçen (arachnida: opiliones) türlerinin 16S rRna ve mitokondriyal sitokrom oksidaz i (coi) genlerine dayalı moleküler analizi
- Paine, M. A., McDowell, J. R., ve Graves, J. E. (2008). Specific identification using COI sequence analysis of scombrid larvae collected off the Kona coast of Hawaii Island. *Ichthyological Research*, 55(1), 7-16.
- Pyle, R. L., Earle, J. L., ve Greene, B. D. (2008). Five new species of the damselfish genus *Chromis* (Perciformes: Labroidae: Pomacentridae) from deep coral reefs in the tropical western Pacific. *Zootaxa*, 1671(1), 3-31.
- Pinzón-Navarro, S., Barrios, H., Múrria, C., Lyal, C. H., ve Vogler, A. P. (2010). DNA-based taxonomy of larval stages reveals huge unknown species diversity in neotropical seed weevils (genus *Conotrachelus*): relevance to evolutionary ecology. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 56(1), 281-293z
- Reesink, H.W., Mohammadi, T., Pietersz, R.N. and Savelkoul, P.H. (2008) “Rapid screening by real-time 16s rDNA PCR for bacterial contamination of blood products”, *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 46, 954-62.
- Ronquist F, Huelsenbeck JP (2003) MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics* 19: 1572–1574. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btg180>
- Rozas, J., Ferrer-Mata, A., Sánchez-DelBarrio, J. C., Guirao-Rico, S., Librado, P.,

- Ramos-Onsins, S. E., ve Sánchez-Gracia, A. (2017). DnaSP 6: DNA sequence polymorphism analysis of large data sets. *Molecular biology and evolution*, 34(12), 3299-3302.
- Sachse, K and Frey, J. (2003) "Methods in molecular biology - PCR detection of microbial pathogens", Humana Press Inc, 216, 4-9.
- Saju, J., Németh, S., Szűcs, R., Sukumaran, R., Lim, Z., Wong, L., ... ve Bercsényi, M. (2014). PCR-based identification of Adriatic specimen of three scorpionfish species (Scorpaenidae, Teleostei). *Acta Biologica Hungarica*, 65(2), 132-143.
- Savolainen, V., Cowan, R. S., Vogler, A. P., Roderick, G. K., ve Lane, R. (2005). Towards writing the encyclopaedia of life: an introduction to DNA barcoding. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 360(1462), 1805-1811.
- Schönhuth S, Vukić J, Šanda R, Yang L, Mayden RL (2018) Phylogenetic relationships and classification of the Holarctic family Leuciscidae (Cypriniformes: Cyprinoidei). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 127: 781–799. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2018.06.026>
- Serpil K, Esra B, K.Tayfun C (2013) Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) Optimizasyonu Uludag Univ. J. Fac. Vet. Med. 32 (2013), 1: 31-38
- Shearer TL, Oppen MJ, Romano SL, Wörheide G. 2002. Slow mitochondrial DNA sequence evolution in the Anthozoa (Cnidaria). *Molecular Ecology*. 11:475-87.
- Smith, P. J., Steinke, D., Mcveagh, S. M., Stewart, A. L., Struthers, C. D., ve Roberts, C. D. (2008). Molecular analysis of Southern Ocean skates (Bathyraja) reveals a new species of Antarctic skate. *Journal of Fish Biology*, 73(5), 1170-1182.
- Smith, C. J., ve Osborn, A. M. (2009). Advantages and limitations of quantitative PCR (Q-PCR)-based approaches in microbial ecology. *FEMS microbiology ecology*, 67(1), 6-20.
- Schneider, S., Roessli, D., ve Excoffier, L. (2000). Arlequin: a software for population genetics data analysis. *User manual ver, 2*, 2496-2497.
- Stankovic, A., Spalik, K., Golik, P., Balushkin, A. V., Borsuk, P., Koper, M., ... ve Weglenski, P. (2005). Polyphyly of Scorpaeniformes and Perciformes: new evidence from the study of notothenioid's mitochondrial and nuclear rDNA sequence data. *Journal Of Ichthyology C/C Of Voprosy Ikhtiologii*, 45, S171.
- Stepien C, Taylor CD, Grigorovich I, Shirman S V, Wei R, Korniushev A V, Dabrowska KA (2003) DNA and systematic analysis of invasive and native dreissenid mussels: Is *Dreissena bugensis* really *D. rostriformis*? *Aquatic Invaders* 14: 8–18.

- S Yedier, D Bostanc, 2020 Molecular and otolith shape analyses of *Scorpaena* spp. in the Turkish seas Turkish Journal of Zoology 46 (1), 78-92
- 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. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a040023>
- Thompson JD, Higgins DG, Gibson TJ (1994) CLUSTAL W: Improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research* 22: 4673–4680. <https://doi.org/10.1093/nar/22.22.4673>
- Thode, G., Alvarez, M. C., Garcia, E., ve Giles, V. (1985). Variations in C-banding patterns and DNA values in two scorpion-fishes (*Scorpaena porcus* and *S. notata*, Teleostei). *Genetica*, 68(1), 69-74.
- Tindall, J., Rosselló-Móra, R., Busse, H.J., Ludwig, W. and Kampf, P. (2010) “Notes on the characterization of prokaryote strains for taxonomic purposes”, *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 60, 249-266.
- Tindall, B. J., Sikorski, J., Lucas, S., Goltsman, E., Copeland, A., Glavina Del Rio, T., ... ve Lapidus, A. (2010). Complete genome sequence of *Meiothermus ruber* type strain (21T). *Standards in genomic sciences*, 3(1), 26-36.
- Triantafyllidis A, Bobori D, Koliimitra C, Gbandi E, Mpanti M, Petriki O, Karaïskou N (2011) DNA barcoding analysis of fish species diversity in four north Greek lakes. *Mitochondrial DNA* 22: 37–42. <https://doi.org/10.3109/19401736.2010.542242>
- Trojetto, M., Fatnassi, M., Ben Alaya, H., Mahouachi, N. H., Chalh, A., Quignard, J. P., ve Trabelsi, M. (2014). Applying sagitta otolith shape in the discrimination of fish populations *Scorpaena porcus* (Linnaeus, 1758)(Scorpaenidae) in the Tunisian coasts. *Cahiers de biologie marine*, 55(4), 499-506.
- Tsigenopoulos CS, Kotlík P, Berrebi P (2002) Biogeography and pattern of gene flow among *Barbus* species (Teleostei: Cyprinidae) inhabiting the Italian Peninsula and neighbouring Adriatic drainages as revealed by allozyme and mitochondrial sequence data. *Biological Journal of the Linnean Society* 75: 83–99. <https://doi.org/10.1046/j.1095-8312.2002.00007.x>
- Turan, C., Gunduz, I., Gurlek, M., Yaglioglu, D., ve Erguden, D. (2009). Systematics of Scorpaeniformes species in the Mediterranean Sea inferred from mitochondrial 16S rDNA sequence and morphological data. *Folia biologica (Kraków)*, 57(3-4), 219-226.
- Turan D, Kalayci G, Kaya C, Bektaş Y, Küçük F (2018) A new species of

Petroleuciscus (Teleostei: Cyprinidae) from the Büyük Menderes River, southwestern Anatolia, Turkey. *Journal of Fish Biology* 92: 875–887. <https://doi.org/10.1111/jfb.13525>

URL-1: [http:// www.fishbase.de/summary/Scorpaena-porcus.html](http://www.fishbase.de/summary/Scorpaena-porcus.html) (20 OCAK 2022).

URL-2: <http:// www.fishbase.se/summary/Scorpaena-elongata.html> (20 OCAK 2022).

URL-3: <https://www.fishbase.de/summary/1760> (20 OCAK 2022).

URL-4: <https://www.fishbase.de/summary/scorpaena-scrofa> (20 OCAK 2022).

URL-5: <https://www.fishbase.se/summary/scorpaena-maderensis.html> (20 OCAK 2022).

URL-6: <https://tr.weblogographic.com/difference-between-mitochondrial-dna> (25.08.2022)

URL-7: https://www.aquamaps.org/receive.php?type_of_map=regular (25.08.2022)

URL-8: https://yunus.hacettepe.edu.tr/~mergen/derleme/d_dizi.pdf (25.08.2022)

URL-9: https://www.aquamaps.org/receive.php?type_of_map=regular (14.09.2022)

Ward, R. D., Zemlak, T. S., Innes, B. H., Last, P. R., ve Hebert, P. D. (2005). DNA barcoding Australia's fish species. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 360(1462), 1847-1857.

Vanhove MPM, Economou AN, Zogaris S, Larmuseau MHD, Giakoumi S, Kalogianni E, Volckaert FAM, Huyse T (2012) Phylogenetics and biogeography of the Balkan ‘sand gobies’ (Teleostei: Gobiidae): vulnerable species in need of taxonomic revision. *Biological Journal of the Linnean Society* 105: 73–91. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8312.2011.01781.x>

Victor, B. C. (2007). *Coryphopterus kuna*, a new goby (Perciformes: Gobiidae: Gobiinae) from the western Caribbean, with the identification of the late larval stage and an estimate of the pelagic larval duration. *Zootaxa*.

Victor, B. C. (2008). Redescription of *Coryphopterus tortugae* (Jordan) and a new allied species *Coryphopterus bol* (Perciformes: Gobiidae: Gobiinae) from the tropical western Atlantic Ocean. *Journal of the Ocean Science Foundation*.

Viñuela Rodríguez N, Šanda R, Zogaris S, Vukić J (2020) Distribution and genetic diversity of two species of *Pelagus* minnows (Leuciscidae) in southern Greece. *Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems* 2020-Janua. <https://doi.org/10.1051/kmae/2020019>

Von Wright, G. H. (1951). An essay in modal logic.

Yılmaz Ç, 2003 Balıkçılık Ve Su Ürünlerinde Kullanılan Genetik Markir Sistemleri-
li https://www.aquast.org/uploads/pdf_316.pdf

Zardoya R, Doadrio I (1999) Molecular evidence on the evolutionary and biogeographical patterns of European cyprinids. *Journal of Molecular Evolution* 49: 227–237. <https://doi.org/10.1007/PL00006545>

Zemlak, T. S., Ward, R. D., Connell, A. D., Holmes, B. H., ve Hebert, P. D. (2009). DNA barcoding reveals overlooked marine fishes. *Molecular Ecology Resources*, 9, 237-242.

