

T.C.
GÜMÜŞHANE ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

BİYOTEKNOLOJİ ANA BİLİM DALI

TÜRKİYE KIYILARINDAKİ LÜFER BALIĞININ (*Pomatomus saltatrix* L,
1766) GENETİK ÇEŞİTLİLİĞİNİN BELİRLENMESİ

DOKTORA

İlyas KUTLU

HAZİRAN-2025
GÜMÜŞHANE



T.C.

**GÜMÜŞHANE ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**

BİYOTEKNOLOJİ ANA BİLİM DALI

**TÜRKİYE KIYILARINDAKİ LÜFER BALIĞININ (*Pomatomus saltatrix* L, 1766)
GENETİK ÇEŞİTLİLİĞİNİN BELİRLENMESİ**

**DETERMINATION of GENETIC DIVERSITY of BLUEFISH (*Pomatomus
saltatrix* L, 1766) in TÜRKİYE COASTAL**

DOKTORA

İlyas KUTLU

**HAZİRAN-2025
GÜMÜŞHANE**



T.C.

GÜMÜŞHANE ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

BİYOTEKNOLOJİ ANA BİLİM DALI

TÜRKİYE KIYILARINDAKİ LÜFER BALIĞININ (*Pomatomus saltatrix* L, 1766)
GENETİK ÇEŞİTLİLİĞİNİN BELİRLENMESİ

DETERMINATION of GENETIC DIVERSITY of BLUEFISH (*Pomatomus*
saltatrix L, 1766) in TÜRKİYE COASTAL

DOKTORA

İlyas KUTLU

Danışman: Prof. Dr. İbrahim TURAN

HAZİRAN-2025

GÜMÜŞHANE



BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI

Doktora Tezi olarak hazırlamış olduğum “**Türkiye Kıyılarındaki Lüfer Balığının (*Pomatomus Saltatrix* L, 1766) Genetik Çeşitliliğinin Belirlenmesi**” isimli bu tezimin, tamamen kendi çalışmam olduğunu, her alıntıya kaynak gösterdiğimi, alıntı yaptığım tüm çalışmaları kaynakçada belirttiğimi ve Gümüşhane Üniversitesi’nin lisanslı kullanıcısı olduğu intihal yazılım programı ile Lisansüstü Eğitim Enstitüsü’nün belirlediği kıstaslara uygun olarak raporladığımı taahhüt ederim. Tezimin kâğıt ve elektronik kopyalarının Gümüşhane Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü arşivinde saklanmasına izin verdiğimi onaylarım.

Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği’nin ilgili maddeleri uyarınca gereğinin yapılmasını arz ederim.

24/06/2025

İlyas KUTLU

TEŞEKKÜR

“Türkiye Kıyılarındaki Lüfer Balığının (*Pomatomus Saltatrix* L, 1766) Genetik Çeşitliliğinin Belirlenmesi” adlı çalışma Gümüşhane Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Biyoteknoloji Anabilim Dalında “Doktora Tezi” olarak hazırlanmıştır. Bu çalışma, Türkiye Cumhuriyeti Tarım ve Orman Bakanlığı Tarımsal Araştırmalar ve Tarım Politikaları Genel Müdürlüğü tarafından desteklenmiştir (TAGEM/HAYSÜD /Ü/20/A6/P3/1814). Çalışma, Türkiye denizlerinde yaşayan ve ekonomik olarak önemli olan lüfer balığının genetik çeşitliliğini belirlemek için moleküler teknikler (DNA barkodlama ve mikrosatelit analizi) kullanarak DNA gen bölgelerinin kısmi dizi analizi ile lüfer balığının genetik çeşitliliğini araştırmayı amaçlamıştır.

Doktora eğitimi ve tez çalışması süresince çok değerli bilgi ve katkılarını paylaşılarak destek olan başta tez danışmanım Prof. Dr. İbrahim Turan, Dr. Öğr. Üyesi Kağan Kılınç, Dr. Öğr. Üyesi Cihan İnancı hocalarıma teşekkürlerimi sunarım.

Hopa’dan Adana’ya kadar belirlenen istasyonlardan örnekleme çalışmalarında destek sağlayan Cemil ALTUNTAŞ, Eyüp ÇAKMAK, Rafet Çağrı ÖZTÜRK, Salih İLHAN, Gökhan ERİK, Tuğba KAYA’ya ve örnek toplanmasında emekleri geçen İlkey ÖZCAN AKPINAR (İzmir), Habib BAL (Erdek), Hakan BAKİ (Çanakkale), Ferhat BÜYÜKDEVECİ (Adana-Mersin), Serkan TOZAKÇI (İğneada), Ogün TUNCA ’ya (Bodrum), toplanan örneklerin genetik analizlerinin yapıldığı Su Ürünleri Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü yönetimine, genetik analizlerin yapılmasında ve elde edilen verilerin değerlendirilmesinde emekleri geçen Şirin FİRİDİN, Z. Duygu DÜZGÜNEŞ, Melike ALEMDAĞ ve Ayşe CEBECİ ’ye, ayrıca bugünlere gelmemizde emeği geçen herkese teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

Bu çalışmanın yapılacak olan bilimsel çalışmalara katkı sağlamasını, bilim dünyasına ve insanlığa faydalı olmasını temenni ederim.

İlyas KUTLU
GÜMÜŞHANE – 2025

ÖZET

Lüfer (*Pomatomus saltatrix*), Türkiye kıyılarında dağılım gösteren ticari açıdan önemli bir balık türüdür. Lüfer popülasyonlarının korunması ve sürdürülebilirliği için genetik yapısının bilinmesi gerekmektedir. Dünyada lüferin genetik profili üzerine sınırlı sayıda çalışma varken Türkiye de herhangi bir çalışma bulunmamaktadır.

Çalışmada, 14 bölgeden toplanan lüfer örneklerinden DNA ekstraksiyonu yapıldı. 8 Mikrosatellit lokus için fragment analizi yapılarak analiz sonucuna göre alel büyüklükleri, her popülasyon içindeki alel sayıları, alel frekansları ve popülasyon genetiği parametreleri (N_e , N_m , H_o , H_e , F-istatistikleri, genetik mesafe, HWE vb.) hesaplandı. *COI*, *16S rRNA* ve *Rhodopsin* gen bölgeleri için ise dizi analizi yapılarak NCBI Genbank'tan alınan referans sekans diziler ile birlikte filogenetik analizler yapıldı.

Tüm istasyonlarda *COI* ve *16S rRNA* için düşük sayıda haplotip belirlenirken *Rhodopsin*'de tek haplotip tespit edilmiştir. *COI* gen bölgesinde toplam 18 haplotip bulunurken, *16S rRNA* gen bölgesinde 8 haplotip bulunmuştur. Hem *COI* hem de *16S rRNA* AMOVA analizinin sonuçları, popülasyon içi varyasyonun popülasyonlar arası varyasyondan daha az olduğunu ortaya koymuştur. Ege ve Akdeniz popülasyonları diğer popülasyonlara göre daha zengin genetik çeşitlilik göstermiştir. Türkiye kıyılarındaki lüfer popülasyonları arasındaki genetik farklılaşmanın çok düşük düzeyde olduğu ve tüm popülasyonlarda karışık bireylerin bulunduğu görülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Filogenetik, Lüfer, Mikrosatellit, *Pomatomus saltatrix*, , Popülasyon genetiği,

SUMMARY

Bluefish (*Pomatomus saltatrix*) are a commercially important fish species distributed along the Türkiye coastal. Knowing the genetic structure of bluefish is essential for the conservation and sustainability of bluefish populations. While there are limited studies on the genetic profile of bluefish globally, none exist in Türkiye.

In the study, DNA was extracted from bluefish samples collected from 14 regions. Fragment analysis was performed for eight microsatellite loci, and based on the analysis results, allele sizes, allele counts within each population, allele frequencies, and population genetic parameters (N_e , N_m , H_o , H_e , F-statistics, genetic distance, HWE, etc.) were calculated. Sequence analysis was performed for the *COI*, *16S rRNA*, and *Rhodopsin* gene regions, and phylogenetic analyses were performed using reference sequences from NCBI GenBank.

A low number of haplotypes were detected for *COI* and *16S rRNA* at all stations, while a single haplotype was detected for *Rhodopsin*. A total of 18 haplotypes were found in the *COI* gene region, while 8 haplotypes were found in the *16S rRNA* gene region. The results of both the *COI* and *16S rRNA* AMOVA analyses revealed that intra-population variation was less than inter-population variation. The Aegean and Mediterranean populations exhibited richer genetic diversity than other populations. Genetic differentiation among bluefish populations along the Turkish coast appears to be very low, with mixed individuals present in all populations.

Keywords: Phylogenetics, Bluefish, Microsatellite, *Pomatomus saltatrix*, Population genetics

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	III
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI.....	IV
TEŞEKKÜR.....	V
ÖZET.....	VI
SUMMARY	VII
İÇİNDEKİLER	VIII
TABLOLAR DİZİNİ	X
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	X
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	XII
1.GİRİŞ	1
1.1.Genel Bilgiler	1
1.2.Lüfer.....	2
1.3.Genetik Çeşitliliğin Belirlenmesi İçin Kullanılan Belirteçler	4
1.3.1.DNA Barkodlama.....	5
1.3.1.1.DNA Dizi Analizi	7
1.3.1.2.Mikrosatelit DNA Analizi.....	7
1.4.Araştırmanın Amacı ve Gerekçesi	9
2.GEREÇ VE YÖNTEM	10
2.1.Örneklerinin Toplanması	10
2.2.DNA'nın Elde Edilmesi	11
2.3.DNA'nın Çoğaltılması (Amplifikasyon).....	13
2.4.DNA Dizi Analizi	14
2.5.Mikrosatelit Fragment Analizi	15
2.6.Verilerin Analizi.....	19
2.6.1.DNA Gen Dizilerinin Analizi	19
2.6.2.Mikrosatelit Fragment Veri Analizi	20
3.BULGULAR.....	23
3.1.DNA Dizi Analizi	23
3.1.1.COI Gen Bölgesinin Dizi Analizi	23
3.1.2.16S rRNA Gen Bölgesinin Dizi Analizi	27
3.1.3.Rhodopsin Gen Bölgesinin Dizi Analizi	31
3.2.Mikrosatelit Veri Analizi	32

4.TARTIŞMA	45
5.SONUÇ VE DEĞERLENDİRME.....	54
KAYNAKLAR	56
ETİK KURUL KARARI	68
ÖZGEÇMİŞ	69



TABLolar DİZİNİ

Tablo 1. Örnekleme tablosu	11
Tablo 2. Çalışmada kullanılan primerler.....	13
Tablo 3. Kullanılan gen bölgelerinin PZR bileşenleri	13
Tablo 4. Gradient PZR termal döngü aşamaları.....	14
Tablo 5. Sekans protokolü.....	15
Tablo 6. Kullanılan mikrosatelit lokuslar ve primerler (Dos Santos vd., 2008)	16
Tablo 7. Mikrosatelit analizi için multipleks PZR bileşen miktarları.....	16
Tablo 8. Mikrosatelit analizi için multipleks PZR.....	18
Tablo 9. <i>COI</i> gen bölgesi haplotip değerleri.....	23
Tablo 10. Örneklerin haplotiplere göre dağılımı.....	24
Tablo 11. <i>COI</i> gen bölgesine ait AMOVA varyasyon testi sonuçları.....	27
Tablo 12. <i>16S rRNA</i> gen bölgesi haplotip değerleri.....	28
Tablo 13. Örneklerin haplotiplere göre dağılımı.....	28
Tablo 14. <i>16S rRNA</i> gen bölgesine ait AMOVA varyasyon testi sonuçları	31
Tablo 15. <i>Rhodopsin</i> gen bölgesi haplotip değerleri.....	31
Tablo 16. Mikrosatellit lokuslarının bazı parametrik özellikleri	33
Tablo 17. Popülasyonlarda görülen özel alel frekansları	33
Tablo 18. Popülasyonlar arasındaki Moleküler Varyans Analizi	34
Tablo 19. HW analiz sonuçlarına göre önemli sapmaların olduğu istasyonlar ve lokuslar	35
Tablo 20. Lüfer popülasyonlarında farklı lokuslarda Hardy-Weinberg test sonuçları ...	36
Tablo 21a. Örnekleme alanları arasındaki alel dağılımlarının ikili karşılaştırmaları için F_{ST} (Weir ve Cockerham, 1984) tahminleri	40
Tablo 21b. Örnekleme alanları arasındaki alel dağılımlarının ikili karşılaştırmaları için F_{ST} (Weir ve Cockerham, 1984) tahminleri (ENA düzeltmeli)	42
Tablo 22. Popülasyonların birbirlerine olan yakınlıklarının Pairwise Popülasyon Matriksi	43

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Lüfer'in dünya üzerinde dağılım haritası (URL-1).....	2
Şekil 2. Lüfer (<i>Pomatomus saltatrix</i> L, 1766) 'in genel görünüşü (orijinal resim).....	3
Şekil 3. Mitokondriyal DNA (Foncesa vd., 2008).....	6
Şekil 4. Farklı tekrar türlerini (STR'ler) gösteren diyagram (Saeed vd., 2016).....	7
Şekil 5. Lüfer örnekleme istasyonları	10
Şekil 6. İstasyonlardan örnekleme yapılması (orijinal resim).....	11
Şekil 7. Ticari kit ile DNA izolasyonu (orijinal resim).....	12
Şekil 8. Elde edilen DNA'nın jel görüntüsü (orijinal resim)	13
Şekil 9. Elde edilen PZR ürününün agaroz jel elektroforezi (orijinal resim).....	14
Şekil 10. ABI 3500'de dizi analizi elektroferogram görüntüsü (orijinal resim)	15
Şekil 11. ABI 3500 cihazında mikrosatelit örnek grafiği	18
Şekil 12. <i>COI</i> gen bölgesi için elde edilen filogenetik ağacı	25
Şekil 13. <i>COI</i> gen bölgesi haplotip ağı	26
Şekil 14. Mitokondriyal DNA (<i>COI</i>) F_{ST} istatistik değerler grafiği.....	27
Şekil 15. <i>16S rRNA</i> gen bölgesi için elde edilen filogenetik ağacı.....	29
Şekil 16. <i>16S rRNA</i> gen bölgesi haplotip ağı	30
Şekil 17. Mitokondriyal DNA (<i>16S rRNA</i>) F_{ST} istatistik değerler grafiği	30
Şekil 18. <i>Rhodopsin</i> gen bölgesi için elde edilen filogenetik ağacı.....	32
Şekil 19. Popülasyonlar için yapılan AMOVA analizi sonuçları	34
Şekil 20. Popülasyonların genetik ve coğrafik mesafesi arasındaki Mantel Testi.....	39
Şekil 21. Lüfer Popülasyonları için F_{ST} kullanılarak oluşturulan PCoA grafiği.....	39
Şekil 22. <i>Pomatomus saltatrix</i> 'in $K = 2$ ve $K = 3$ için Structure Popülasyon Yapısı	40

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AMOVA	: Moleküler Varyans Analizi (Analysis Of Molecular Variance)
Bç	: Baz çifti (Base Pair)
cm	: Santimetre
COI	: Sitokrom Oksidaz I
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
EDTA	: Etilen Diamin Tetra Asetik Asit
F_{st}	: Gruplar arası popülasyonlar arası fiksasyon indeksi
HE	: Beklenen heterozigosite
HKY+G	: Gamma parametrelili Hasegawa, Kishino ve Yano mutasyon modeli
HO	: Gözlenen heterozigosite
HW	: Hardy-Weinberg
MCMC	: Markov Chain Monte Carlo
mm	: Milimetre
NA	: Null alel sayısı
NJ	: Neighbour Joining
Nm	: Gen akışı
°C	: Santigrat derece
P değeri	: Olasılık değeri
PCoA	: Temel bileşen analizi (Principal Component Analysis)
PZR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
SUMAE	: Su Ürünleri Merkez Araştırma Enstitüsü
TE	: Tris-EDTA
μL	: Mikrolitre
π	: Nükleotid çeşitliliği

1. GİRİŞ

1.1. Genel Bilgiler

Hayvansal protein kaynaklarından biri olan su ürünleri, birçok ülkenin ekonomisine girdi sağlayan ve ticari olarak işlem gören gıda ürünlerindendir. Balık, besin olarak kullanılan önemli protein kaynaklarından biri olmakla birlikte avcılık ve yetiştiricilik vasıtasıyla da birçok insana kazanç sağlamaktadır. (TEPGE, 2023).

Türkiye denizlerinde farklı ekonomik değerlere sahip birçok balık türü bulunmakta olup 2022 yılında Türkiye'nin balıkçılıktaki üretiminin %90'ını avcılık oluşturmaktadır (TÜİK, 2022).

Türkiye denizlerinde son yıllarda en çok hamsi, çaça, sardalya, palamut, istavrit ve lüfer avlanmaktadır. 2023 yılı TÜİK verilerine göre; toplam 387.114 ton su ürünü içerisinde hamsi 273.914 ile ilk sırayı alırken çaça 45.764, sardalya 17.331, istavrit 14.374, mezgıt 9.073, lüfer 2.137, palamut 2.083 ton olarak bildirilmiştir (TÜİK, 2023b).

Bir coğrafik bölgedeki biyolojik çeşitliliğin korunabilmesi için ilk olarak, doğal kaynaklarda mevcut olan genetik çeşitliliğin tanımlanması gerekmektedir. Dünyada aşırı avlanma ve kirlilik sebebiyle su ürünleri türlerinde ve avlanma miktarında azalma görülmektedir (TEPGE, 2023). Sürdürülebilir balıkçılık için balık türlerinin korunması sadece su ekosistemleri için değil insanlar için de hayati önem taşımaktadır. Türkiye'deki balık türü sayısının denizlerimizde 512 (Bilecenoğlu, vd., 2014) ve iç sularda ise 391 olduğu bildirilmiştir. (Saygun, 2021). Özellikle balık popülasyonları üzerinde genetik araştırma yapılması, balıkçılık politikalarının oluşturulması, paylaşılan stokların ve tehdit altındaki türlerin korunması açısından önemlidir.

Lüfer, yüksek ticari değeri nedeniyle balıkçılık açısından büyük ilgi gören ve Türkiye'nin tüm denizlerinde avlanan bir türdür (Bal, 2015). Dünya genelinde yayılım gösteren lüfer balığı üzerine literatürde çok sınırlı genetik çalışma bulunmakla birlikte ülkemizde yapılan herhangi bir moleküler genetik araştırma mevcut değildir. Lüfer balığının genetik çeşitliliğinin ortaya çıkarılması, bu türün korunabilmesi ve sürdürülebilir avcılığı açısından önem arz etmektedir.

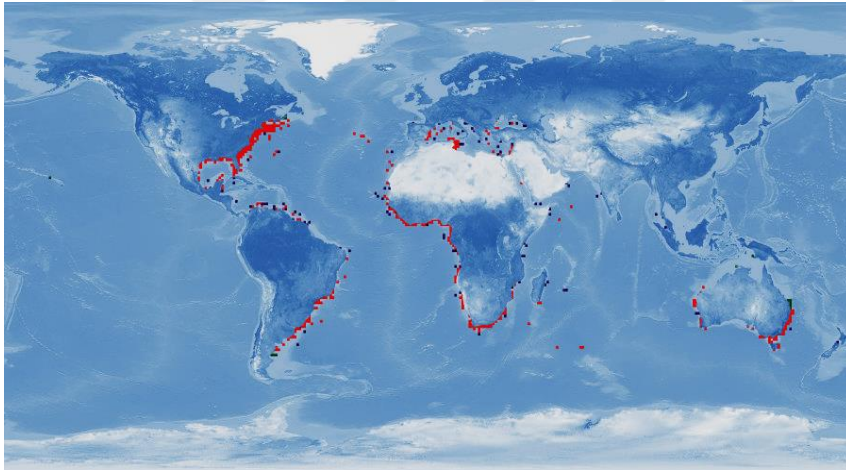
1960'lı yılların ortalarına kadar genetik çeşitliliğin ortaya çıkarılması için canlıların biyo-ekolojik, fizyolojik ve davranışsal özellikler, morfolojik ya da meristik karakterleri kullanılmaktaydı (Lewontin, 1964). Son zamanlarda DNA dizileme teknolojisindeki

hızlı gelişmeler sonucunda DNA barkodlama filogenetik çalışmalar da önemli bir analiz metodu olarak yerini almıştır. Bu metodun diğerlerine kıyasla en önemli avantajı DNA'nın temel birimi olan nükleotid dizilimini açığa çıkarmasıdır.

DNA barkodlaması, tüm genomu kullanmak yerine belirteç olarak DNA'nın kısa standart bölgelerini kullanarak bilinmeyen türlerin hızlı ve doğru bir şekilde tanımlanması için otomatikleştirilebilir bir sistemdir (Severins vd., 2018). DNA barkodlama ile diğer yöntemlerin farkı sadece bir gen bölgesi araştırılarak bütün canlı türlerine yönelik evrensel bir biyolojik tanımlama yapılabilmesidir (Hebert vd., 2003).

1.2. Lüfer

Lüfer balığı (*Pomatomus saltatrix* L, 1766), ılıman ve sıcak sularda yaşayan Pomatomidae familyasının tek üyesidir ve dünyanın her yerinde (Kuzey ve Orta Pasifik Okyanusu hariç) yaygın olarak görülmektedir (Briggs, 1960; Wilk, 1977; Juanes vd., 1996). Ülkemiz, dünyada ılıman iklim kuşağında bulunduğu için lüfer balığı bütün denizlerimizde bulunmaktadır (Şekil 1).



Şekil 1. Lüfer'in dünya üzerinde dağılım haritası (URL-1)

Lüfer balığının sistematikteki yeri;

Alem	: Animalia
Şube	: Vertebrata
Sınıf	: Actinopterygii
Takım	: Perciformes
Aile	: Pomatomidae
Cins	: <i>Pomatomus</i> <u>Lacépède</u> , 1802
Tür	: <i>Pomatomus saltatrix</i> (Linnaeus, 1766)

Lüfer (*Pomatomus saltatrix* L, 1766) morfolojik olarak incelendiğinde; vücudu uzun, yan tarafından yassılaşıp ve sikloid pul ile kaplıdır (Slastenenko, 1955-56). Sırt rengi koyu, yan taraflara doğru açılan parlak mavi-yeşilimsi-gümüşü renkte olup, karın tarafına doğru parlak beyazdır (Şekil 2). Üst çene alt çeneden daha kısadır (Akşiray, 1987).

Lüfer balıkları fırsatçı olarak kabul edilir ve bulundukları ortamdaki diğer balıklarla beslenirler (Juanes vd., 1993; Juanes ve Conover, 1994; Buckel vd., 1999). Bununla birlikte, lüferlerin 12 yıla kadar yaşayabildikleri (Salerno vd., 2001) ve 1 metre uzunluğa, 14 kilo ağırlığa kadar ulaşabildikleri bildirilmektedir (Tortonese, 1986).



Şekil 2. Lüfer (*Pomatomus saltatrix* L, 1766) "in genel görünüşü (orijinal resim)

Lüfer, genelde kumlu bir zemini tercih etmekte, kil ve çamur bulunan ortamlarda bulunabilmektedir. Yetişkin lüfer balıkları, açık denizlerde de bulunmakla beraber, körfez, koy ve sahil kısmına yaklaşmazlar. Yumurtlamaları bahar ve yaz ayları içinde olmaktadır. Lüfer balıkları denizler arasında sıcak sulara göç ederler (Bal, 2015). Yetişkin lüferler hızlı yüzen, mevsimsel değişikliklere tepki olarak göç eden balıklardır (Wilk, 1977).

Lüfer uzun mesafeli hareket etme yeteneğine sahiptir ve coğrafi olarak izole edilmiş popülasyonlarda oldukça kapsamlı mevsimsel göçler yaptığı bilinmektedir. Güney Afrika kıyılarında kış aylarında kuzeye, sıcak yaz aylarında ise kıyıya doğru göç ederler (Van der Elst, 1976). Yine Avusturalya kıyılarında lüferlerin sonbaharda kuzeye doğru hareket eden ve Eylül ayında güneye dönen mevsimsel bir göçü bildirilmektedir (Nurthen vd., 1992). Literatürde, ülkemiz denizlerinde bahar döneminde Ege'den Karadeniz'e, Eylül ayı sonunda ise tersine yani Karadeniz tarafından Marmara Denizi'ne ve oradan da Ege Denizi tarafına göç yaptığı bildirilmektedir (Türkan, 1959; Akşiray, 1987).

Ülkemizde lüfer üzerine genelde av-avcılık, büyüme-üreme, morfolojik yapılar üzerine çalışmalar yapılmıştır.

Ceyhan, (2005) yılında yapmış olduğu doktora tezinde, 31 adet istasyonda (Kuzey Ege, Batı Karadeniz ve Marmara Denizi) lüfer avlayan teknelerin özelliklerini ve av araç-gereçlerinin teknik planlarının çıkarıldığı bir çalışma yapmıştır (Ceyhan, 2005).

Turan vd. (2006) yılı çalışmasında Karadeniz, Marmara, Ege ve Akdeniz kıyılarından alınan örneklerden lüfer (*Pomatomus saltatrix*) stokları arasındaki morfometrik ve meristik farklılıkları incelemiştir. (Turan, vd. 2006).

Sümer vd. (2010); Sinop taraflarında yapmış oldukları çalışma ile lüfer avlamak için kullanılan mono ve multifilament galsama ağlarının 40-44 mm göz açıklığının seçicilik özellikleri ve av araçlarının etkinliklerini araştırmışlardır (Sümer vd., 2010).

Bal vd. (2018) yılı Ocak ve Aralık dönemlerinde Marmara Denizi'nde örneklenen 1023 adet lüfer'in (*Pomatomus saltatrix*, Linnaeus, 1766) büyümesi ve üreme özelliklerini araştırmışlardır (Bal vd., 2018).

Kalaycı vd. (2019); lüfer balığı (*Pomatomus saltatrix* L., 1766) ile yapmış oldukları çalışmalarında, 2012 Eylül ayı ile 2013 Ağustos ayı arasında Karadeniz ve Marmara denizlerinde balıkçı tekneleri tarafından avlanan lüferlerin boy dağılımı, boy-ağırlık ilişkisi, büyüme şekli, cinsiyet oranı, üreme dönemi, kondisyon faktörü gibi değerleri tespit etmişler (Kalaycı vd., 2019).

Lüfer (*Pomatomus saltatrix*) balığı ile ilgili yapılan en detaylı araştırma ise Trabzon Su Ürünleri Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğünce 2013-2016 yılları arasında yürütülen projedir (TAGEM/HAYSÜD/2013/A11/P-02/4). Karadeniz, Marmara Denizi ve Çanakkale Boğazı olmak üzere lüfer avcılığında kullanılan başlıca av araçları gırgır, dip trolü, pelajik trol ağları, uzatma, voli ağları ve olta ile avlanarak karaya çıkarılan lüfer avından elde edilen örnekler üzerinde temel popülasyon parametreleri ile aktüel balıkçılığa ilişkin genel çıktılar elde edilmiştir.

1.3. Genetik Çeşitliliğin Belirlenmesi İçin Kullanılan Belirteçler

DNA markörleri genetik çeşitliliğin tespit edilmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Genetik çeşitliliğin analizi için tercih edilen moleküler belirteçler; tür içinde farklı olan canlıların, DNA dizisinde polimorfizm gösteren DNA gen bölgeleridir (Liu, 1998). Genetik çeşitliliğin tespitinde yaygın olarak kullanılan genetik belirteçler genel olarak iki kategoriye ayrılır. Bunlar klasik ve DNA/moleküler belirteçler. Morfolojik, sitolojik ve biyokimyasal belirteçler klasik belirteç türleridir ve DNA belirteçlerine örnek olarak restriksiyon parça uzunluğu polimorfizmi (RFLP), amplifikasyon parça uzunluğu polimorfizmi (AFLP), basit dizi tekrarları (SSR'ler), tek

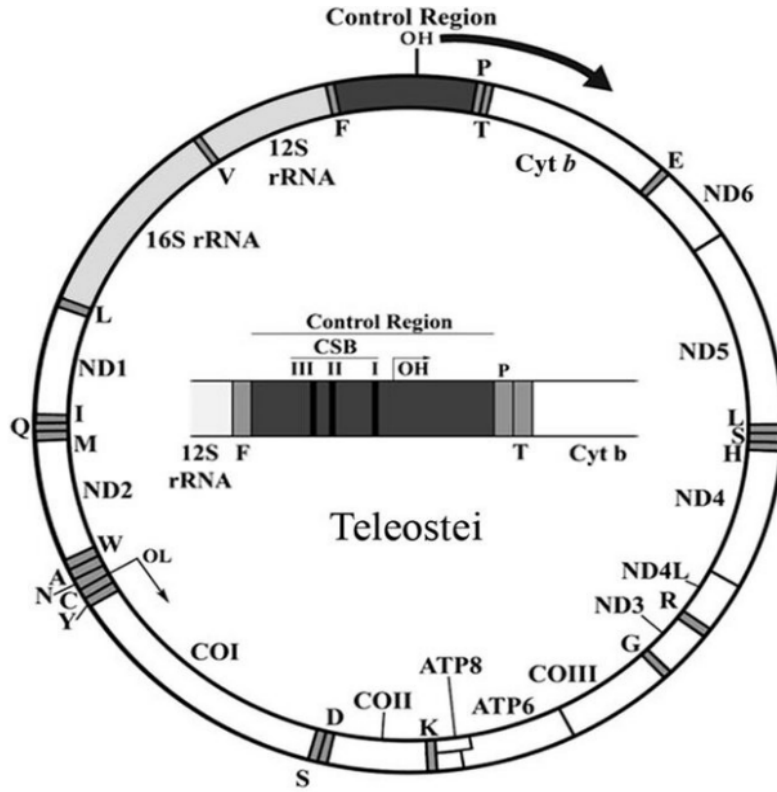
nükleotid polimorfizmi (SNP) ve çeşitlilik dizileri teknolojisi (DART) belirteçleri verilebilir (Nadeem vd., 2017).

1.3.1. DNA Barkodlama

Tür tanımlama, biyo-çeşitliliği tanımanın ve tanımlamanın temel bir parçasıdır. Türler morfoloji, ekoloji ve davranışlarında farklılıklar gösterdiği gibi, DNA dizilerinde de farklılıklar gösterirler (Wilson vd., 2019). Geniş anlamda kullanılan DNA barkodlaması türlerin tanınması için belirteç olarak kısa, standartlaştırılmış DNA dizilerinin kullanılmasını ifade eder. DNA barkodlama, taksonomik olarak bilinmeyen örneklerden mitokondriyal sitokrom c oksidaz alt birim I (*COI*) geninin kısa bir parçası olan DNA barkodlarının dizilenmesini ve bilinen taksonomiye sahip bir DNA barkod kütüphanesiyle karşılaştırmalar yapılmasını içerir (Wilson vd., 2019).

DNA barkodlama tekniğini diğer metotlardan ayıran en temel nitelik tek bir gen dizilimi kullanılarak bütün canlılara yönelik olarak dünya çapında bir biyolojik tanımlama sistemi ilkesine sahip olmasıdır (Hebert vd., 2003). DNA barkodlama yaklaşımı; hayvanlar için *COI* (Mitokondriyal DNA), bitkiler için *matK*, prokaryotlar için *16S rRNA* ve mantarlar için *ITS* bölgesi gibi türler arasında çeşitlilik gösteren ancak türler içinde korunum gösteren bir belirteç gen bölgesini hedefler. Bu DNA barkod bölgeleri, çok küçük veya bozulmuş örneklerden bile kolayca çoğaltılabilir ve dizilenebilir (Abdi vd., 2024). DNA barkodlamada standart olarak kullanılan *COI* gen bölgesi bir mitokondriyal gen olarak türlerin adlandırılmasında çok etkilidir (Hebert vd., 2003). Mitokondriyal *COI* gen bölgesi bu gene ait evrensel primerlerin oldukça stabil olması nedeniyle ideal bir barkodlama markörü olarak önerilmektedir (Hebert vd., 2003). *COI* gen bölgesi, aynı türe ait bireylerin adlandırılmasında kullanılabileceği gibi, farklı türlerdeki canlıları birbirinden ayırt etmek için de kullanılmaktadır.

Mitokondri, hayvan hücrelerinde bulunan en temel organellerden biridir ve hücre için enerji üretiminde önemli rol oynar (Cristina, 2023). Mitokondrinin kendine ait genomu bulunur; buna mitokondriyal DNA (mtDNA) denir. Enerji üretimi için gerekli 13 tane proteini, 2 tane rRNA ve 22 tane tRNA geni ile beraber toplamda 37 tane gen kodlayan ve halkasal bir yapı gösteren Mitokondriyal DNA'nın (mtDNA) mutasyon hızı oldukça yüksektir (Şekil 3, McCormick vd., 2018).



Şekil 3. Mitokondriyal DNA (Foncesa vd., 2008)

Nükleer DNA ile karşılaştırıldığında, mitokondriyal DNA'nın mutasyon hızı 5-10 kat daha yüksektir. Mitokondriyal DNA, nükleer DNA'dan çok daha küçüktür. Bir hücrenin içerisinde mitokondriyal DNA'nın birden fazla kopyası bulunur. Birçok su canlısının mitokondriyal DNA'sının tam dizisi bilinmektedir. DNA'nın büyük kodlamayan kısımları (intronlar) yoktur (Mackie vd., 1999). Mitokondride birçok proteini kodlayan genler ailesi, cins, tür ve popülasyon gibi filogenetik ilişkileri tespit etmede kullanılır (Semina vd., 2007).

DNA barkodlamanın birçok avantajı vardır. DNA barkodlamayı diğer yöntemlerden ayıran temel özellik tek bir gen bölgesi kullanılarak tüm hayvan türlerine yönelik evrensel bir biyolojik tanımlama sistemi prensibine sahip olmasıdır. Standart DNA barkodlama teknolojisinde kullanılan primer seti birçok canlı türüne ait olan *COI* gen bölgesinin kısa bir parçasının amplifikasyonuna yöneliktir (Folmer vd., 1994). Canlılara ait morfolojik veriyi ortaya çıkarmak genelde daha fazla vakit almakta iken DNA barkodlamanın hızlı ve otomatik olarak tür tanımlamasına olanak sağlamaktadır (Hebert vd., 2003). *COI* gen bölgesinin sekanslanmasından ortaya çıkan DNA dizilerinin karşılaştırılması ve hizalanması zor olmamaktadır. Referans olarak kullanılan DNA bilgi bankalarında araştırılan canlıya ait genetik verinin bulunmaması ya da yanlış verilerin mevcut olması ve gen bölgesine ait çok sayıda haplotiplerin yer alması DNA

barkodlamasının doğruluğunu kısıtlayan etkenler olarak sıralanabilir (Virgilio vd., 2010).

1.3.1.1.DNA Dizi Analizi

Watson ve Crick; (1953 yılında) DNA'nın çift sarmal yapısının açıklanmasıyla başlayan süreç nükleik asit dizileme sistemlerinin kökenini oluşturmuştur. Holley vd. 1965 yılında maya hücresinden izole ettikleri 77 nükleotitik tRNA dizilimini belirlemişler. Maxam ve Gilbert 1977 de kimyasal ayrışım yöntemini geliştirdi.

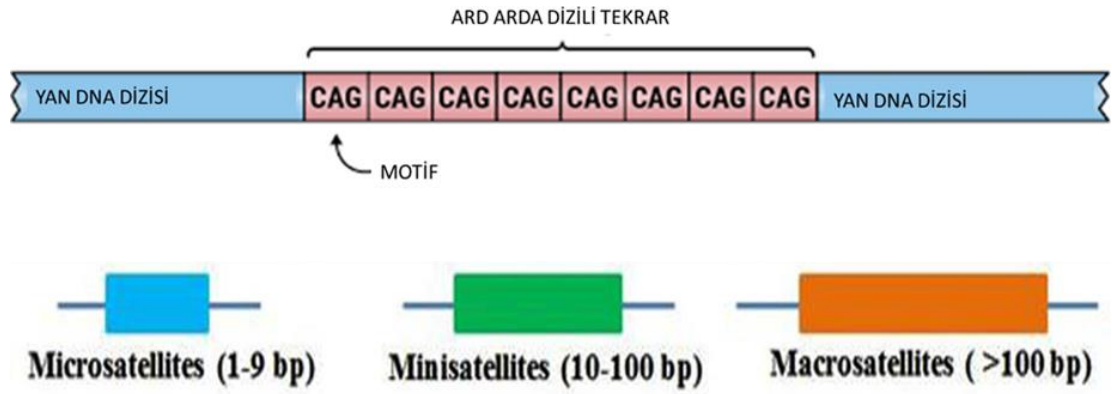
Aynı yıl Sanger vd. 1977 tarafından geliştirilen zincir sonlandırma yöntemi ABI tarafından ilk nesil otomatik DNA dizileme cihazında kullanılmaya başlanmasıyla hız kazanmıştır (Barba vd., 2014). 1996 yılında başlatılan İnsan Genom Projesi'nin yürütülmesi esnasında karşılaşılan zorluklar nedeniyle daha fazla dizileme yapabilen, daha ucuz yeni nesil DNA dizileme sistemleri geliştirilmiştir ve bu yöntem (Sanger dizileme) yerini yeni nesil dizileme olarak isimlendirilen daha gelişmiş sistemlere bırakmıştır (Guzvic, 2013).

Tür tanımlanarak biyoçeşitlilik tanımlanmaktadır. Geleneksel olarak tür tanımlama morfolojik teşhislere dayanmaktadır. Fakat son yıllarda DNA'nın diziliminin çıkarılmasındaki teknolojik gelişmelerle birlikte canlı türlerinin doğru, hızlı ve kolayca tanımlanması mümkün olabilmektedir.

Lüfer (*Pomatomus saltatrix*) balığı, ticari öneme sahip bir tür olmasına rağmen, moleküler genetik araştırmalar için çok az çalışma yapılmıştır. Aynı zamanda lüfer popülasyonlarını kapsamlı bir şekilde inceleyen moleküler araştırmalar ülkemizde hiç yapılmamışken, tüm dünyada çok az çalışma mevcuttur.

1.3.1.2.Mikrosatelit DNA Analizi

Ardıl olarak sıralanmış basit dizi tekrarlarıdır (Allendorf ve Luikart (2007). Tekrar eden nükleotit dizilimleri kromozom uçlarındaki kısımları çevreledikleri için "satelit" ismini almışlardır. Mikrosatelitler 1-9 nükleotid uzunluğunda 10-100 arası değişken sayıda tekrarlanırlar (Şekil 4).



Şekil 4. Farklı tekrar türlerini (STR'ler) gösteren diyagram (Saeed vd., 2016)

Mikrosatellitler yüksek derecede polimorfizm göstermekte ve genom boyunca bol miktarda bulunmaktadır. Lokuslara özgü markırlar olmasından dolayı gen haritalarının çıkartılmasında moleküler belirteç olarak kullanılır (Georges vd., 1990). Basit, ardışık olarak tekrarlanan di-, tri- nükleotid dizilimlerinin genomda değişken oldukları ortaya çıkarılmıştır. Bu tekrarlanan nükleotid dizilerinin frekansı yüksek oranda polimorfizm göstermektedir ve bu tekrarlayan nükleotid dizileri tüm genom boyunca rastgele dağılmıştır (Allendorf ve Luikart, 2007).

Mikrosatellitler ko-dominant kalıtım özelliği göstermeleri (Powell vd., 1996), her lokusa özgü olması, genom içerisinde homojen dağılıma sahip olmaları, mutasyon oranının yüksek olması, genomla ilgili daha çok bilgi sağlaması ve PZR'a dayalı bir yöntem olmasından dolayı genetik haritalama (Batendse vd., 1997), ebeveyn analizi (Bolormaa vd., 2008) ve soy ağacı araştırmaları, soy içi yetiştirmelerin (inbreeding) seviyesinin ve etkisinin hesaplanması (Canon vd., 2000), canlıların popülasyonlarının evrim tarihinin araştırılması, gen kaynaklarının korunma çalışmaları, genetik çeşitliliğin araştırılması (Liu vd., 2002) ve biyolojik örneklerin adli amaçlı olarak tanımlanmasında yaygın olarak tercih edilen bir DNA belirteçidir (Padar vd., 2001). Bu özellikler, mikrosatellitleri popülasyon genetik çeşitliliğini ve mesafe ölçümlerini tanımlamak için ideal genetik işaretler yapar (Queller vd., 1993).

Lüfer ile ilgili DNA temelli genetik çalışmalar; Nurthen vd. (1992) yılında Avustralya'da yaptıkları çalışmada; Türein Avustralya'nın doğu kıyısı boyunca toplanan balıkçılık örnekleri arasında dokuz polimorfik allosim lokusunun incelenmesi sonucunda, Doğu Avustralya kıyılarındaki üç coğrafi bölgeden gelen lüferler arasında önemli bir genetik farklılık olmadığını ortaya çıkardı (Nurthen vd., 1992).

Yine aynı şekilde John vd. (1992) yılında Amerika'da orta Atlantik kıyısı üzerinde seçilen istasyonlardan 3 yıllık süre içinde toplanan balıklarının mtDNA'sının

RFLP analizi ile yaptıkları araştırma sonuçlarına göre, aynı bölgeden farklı yıllarda toplanan lüfer örnekleri arasında önemli bir genetik farklılaşma tespit edilmemiştir.

Goodbred ve John (1996) yılında beş istasyondan toplanan lüfer örnekleri üzerinde yaptıkları mtDNA RFLP analizi ile haplotip dağılımı üzerine yaptıkları bir diğer çalışmaya göre; örnekler arasında nükleotid farklılıkları olduğu, coğrafi olarak izole edilmiş lüfer popülasyonları, genetik çeşitliliğin önemli ölçüde mekânsal bölümlenmesini göstermesine rağmen popülasyonlar arasında, ya bazı yerler arasında düşük düzeyde bir mevcut gen akışına ya da yakın geçmişteki tarihsel temasla işaret ettiğini bildirmektedir.

1.4. Araştırmanın Amacı ve Gerekçesi

Beslenme gayesiyle kullanılan en önemli sucul canlıların başında balıklar gelmektedir. Balıklar çok önemli ve ucuz protein kaynağı olmasının yanında, birçok insan için ekonomik olarak geçim kaynağı olmakta ve ayrıca ülkeler arasında ticaretin gelişmesine de katkıda bulunmaktadır. İnsanların beslenmede kullandıkları balıkların çoğu avcılık yapılarak elde edilmektedir.

Balık popülasyonları üzerinde artan insan nüfusundan kaynaklı tüm etkenler balık popülasyonlarının yapılarını etkiler ve bazı popülasyonların yok olma riskine yol açabilir. Bu durum, yerel popülasyonların yok oluşu, türlerde genel genetik değişim kaybına da neden olabilir. Biyolojik çeşitliliğin korunabilmesi için doğal kaynaklarda mevcut olan biyolojik çeşitliliğin-türlerin bilinmesi ve tanımlanması gerekmektedir. Tür tanımlamaya yönelik morfolojik metotlar yakından ilişkili organizmalar arasındaki morfolojik benzerliklerden dolayı onları birbirinden ayırt etmede yeterli kalmamaktadır. Bu yüzden morfolojik sınıflandırmalar yapısal benzerlikten başka metotlar kullanarak yapılmaktadır.

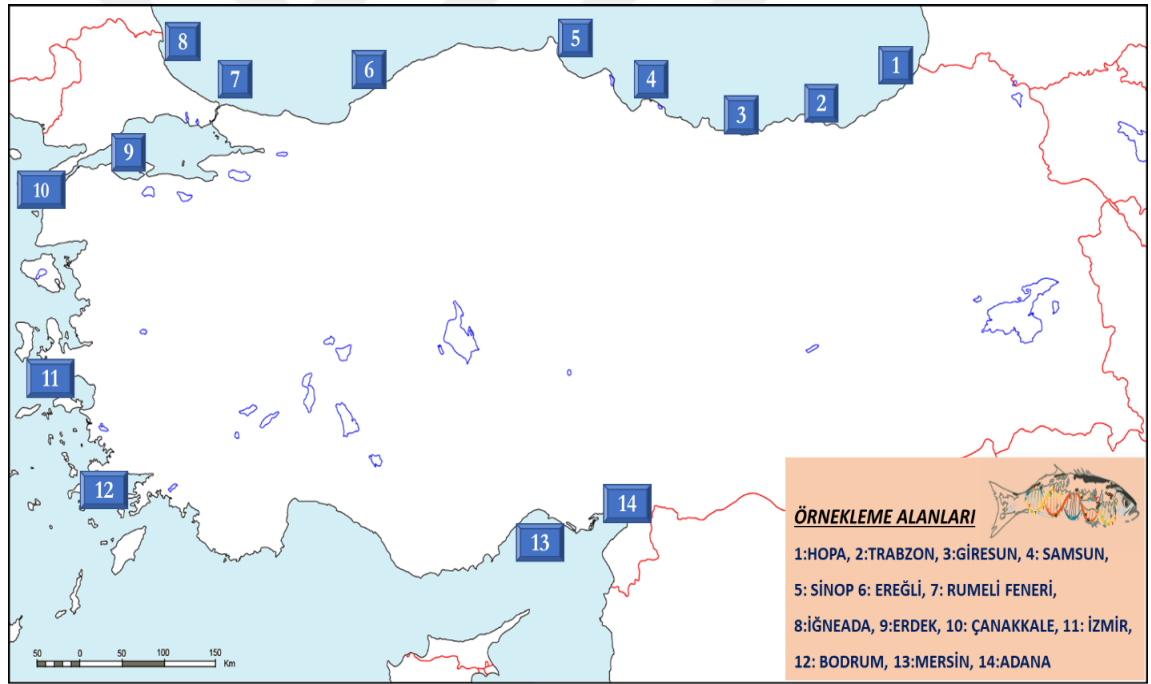
Bu çalışma, Türkiye kıyılarından belirlenen 14 istasyondan (Hopa, Trabzon, Giresun, Samsun, Sinop, Ereğli, İğneada, Erdek, Rumeli Feneri, Çanakkale, Bodrum, İzmir, Mersin ve Adana) örneklenen lüfer (*Pomatomus saltatrix*) balıkları için; popülasyonlarının genetik yapısının ortaya çıkarılması ve istasyonlar arasındaki genetik ilişkinin araştırılmasını kapsamaktadır. Bunun için lüfer balığına özgü ELF (17-19-37-39-44-46-49-50) olmak üzere sekiz mikrosatelit bölgenin analiz edilmesi, mitokondriyal DNA'nın *COI* ve *16S rRNA* ve nükleer DNA'nın *Rhodopsin* gen bölgelerinin dizi analizi yapılmıştır.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada genetik araştırmalarda en çok kullanılan iki moleküler belirteç olan mikrosatelit lokus analizi ve DNA dizi analizi kullanıldı. İşlem basamakları sırasıyla; doku örneklerinden DNA izolasyonu, mtDNA ve *Rhodopsin* bölgelerinin çoğaltılması, mikrosatelit bölgelerinin çoğaltılması, dizi analizi ve veri analizinden oluşmaktadır.

2.1. Örneklerinin Toplanması

Çalışma sahası olarak Doğu Karadeniz'den Hopa, Trabzon, Giresun, Orta Karadeniz'den Samsun, Sinop, Batı Karadeniz'den Ereğli, İğneada, Marmara Denizi'nden Erdek, Çanakkale ve Rumeli Feneri, Ege Denizinden, Bodrum ve İzmir, Akdeniz'den, Mersin ve Adana olmak üzere toplam 14 istasyon belirlendi (Şekil 5).



Şekil 5. Lüfer örnekleme istasyonları

Belirlenmiş örnekleme istasyonlarından 2019-2020 yılları arasında Trabzon-39, Giresun-43, Samsun-44, Sinop-40, Ereğli-38, Rumeli Feneri-50, İğneada-50, Hopa-78, Çanakkale-57, Erdek-40, İzmir-44, Bodrum-50, Mersin-26 ve Adana-37 adet olmak üzere 636 adet örnek temin edildi (Tablo 1). Örnekleme yapılırken farklı boy gruplarından örnekleme yapılmasına dikkat edildi. Balıkların kaudal yüzgeçlerinden alınan yaklaşık 1-2 cm lik parçalar %96 luk etil alkol içeren tüplere koyularak laboratuvara getirildi (Şekil 6).

Tablo 1. Örnekleme tablosu

İstasyon	Toplanan Örnek	İzole Edilen DNA	Veri Analizde Kullanılan Örnek Sayıları			
			COI	16s rRNA	Rhodopsin	Mikrosatelit
Adana	37	32	21	25	31	8 lokus 32
Ereğli	38	32	23	14	25	8 lokus 32
Bodrum	50	32	23	17	30	8 lokus 32
Çanakkale	57	32	20	16	32	8 lokus 32
Giresun	43	32	27	31	32	8 lokus 32
Hopa	78	32	30	21	32	8 lokus 32
İğneada	50	32	29	20	32	8 lokus 32
İzmir	44	32	30	29	32	8 lokus 32
Erdek	40	32	23	17	32	8 lokus 32
Mersin	26	26	22	14	23	8 lokus 15
R. Feneri	50	32	27	30	31	8 lokus 32
Samsun	44	32	28	22	32	8 lokus 32
Sinop	40	34	31	21	31	8 lokus 34
Trabzon	39	32	26	26	32	8 lokus 32
Toplam	636	444	360	303	427	433 örnek



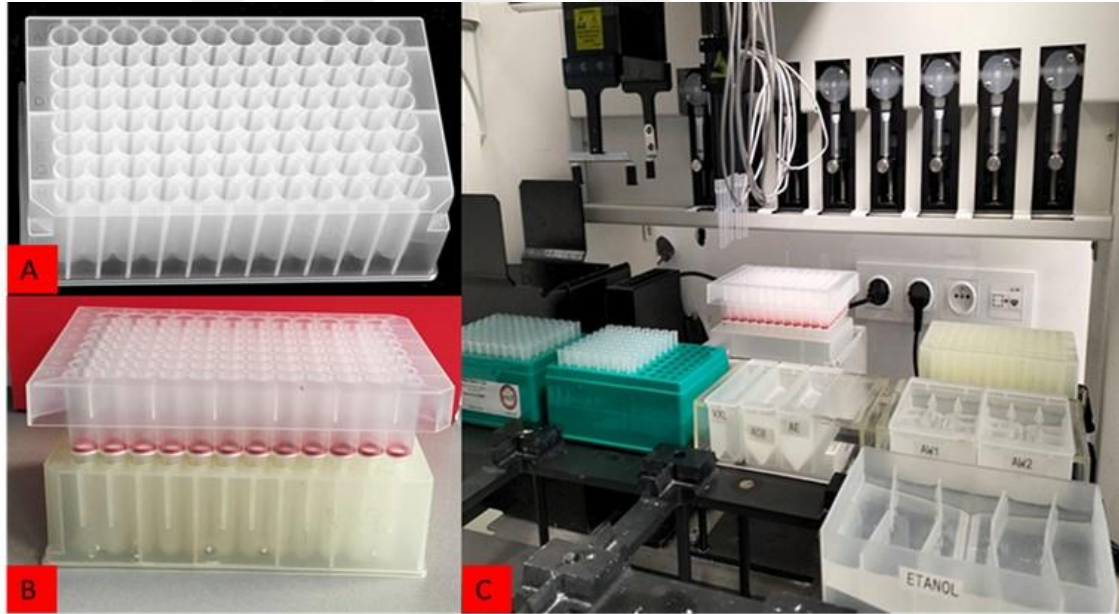
Şekil 6. İstasyonlardan örnekleme yapılması (orjinal resim)

2.2. DNA'nın Elde Edilmesi

DNA'nın elde edilmesi ticari kit (QIAamp DNA HT Kit Qiagen®, Germany) ile spin kolon yöntemine göre balıkların kaudal yüzgeç dokularından yapıldı.

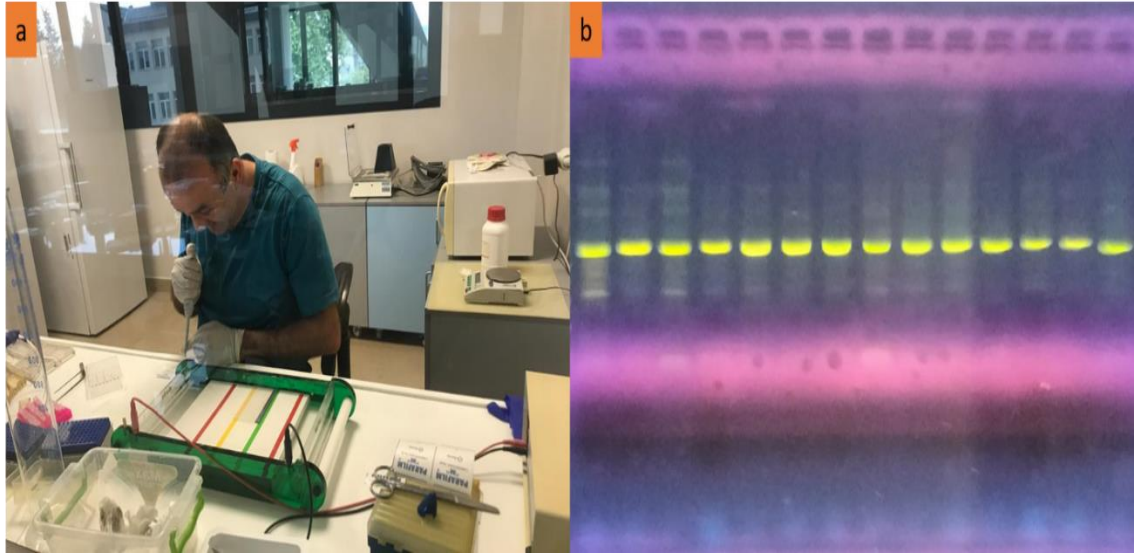
1. %96'luk etil alkolde saklanan doku örneklerinden yaklaşık 10-20 mg kuyruk yüzgeci steril 2 mL'lik kapaklı tüplere alınarak alkollerinin uçması için oda sıcaklığında 10 dk bekletildi.

2. Her bir örnek için 200 µl ATL çözeltisi, 20 µl ProteinazK ve 4 µl RNase A eklenerek örnekler 230 rpm hızda 55°C’de 15 saat inkübe edildi.
3. İnkübasyondan sonra santrifüj edilerek üst faz derin kuyucuklu pleytlere aktarıldı (Şekil 7a). Üzerine otomatik sistem kullanılarak 100 µl VXL çözeltisi ilave edilip karıştırıldı.
4. Örnekler spin kolona aktarılaraq (Şekil 7c) 350 µl ACB çözeltisi eklendi vakum ile kolondaki sıvı uzaklaştırıldı.
5. Spin kolona 600 µL AW1 çözeltisi eklenip karıştırıldı vakum ile kolondaki sıvı uzaklaştırıldı.
6. Örneklerin üzerine 600 µL çözelti AW2 eklenerek vakum ile kolondaki sıvı uzaklaştırıldı.
7. Örneklerin üzerine 600 µl etanol eklenerek yıkama aşamasına geçildi. Vakum ile kolondaki sıvı uzaklaştırıldı. Bu işlem 2 defa tekrarlandı.
8. Spin kolona 200 µL AE çözeltisi ilave edilip oda sıcaklığında 1-2 dk bekletilerek kolonda tutunan DNA pleyte aktarıldı. (Şekil 7b).



Şekil 7. Ticari kit ile DNA izolasyonu (orjinal resim)

•Görüntüleme Aşaması; Genomik DNA % 1,5’luk agaroz jelde elektroforez edilip (Şekil 8a) nükleik asitlerin boyanmasında kullanılan florasan boya ile (SafeViewTM, NBS Biologicals, UK) ile boyanıp kontrol edildi (8b) ve analiz yapılana kadar -20°C’de saklandı.



Şekil 8. Elde edilen DNA'nın jel görüntüsü (orjinal resim)

2.3. DNA'nın Çoğaltılması (Amplifikasyon)

Lüfer örneklerinden elde edilen toplam DNA'nın farklı bölgeleri (*16S rRNA*, *COI* ve *Rhodopsin*) literatür doğrultusunda belirlenmiş primer dizileri kullanılarak çoğaltıldı (Tablo 2).

Tablo 2. Çalışmada kullanılan primerler

DNA Geni	Primer	Primer Dizilimi	Referans
<i>COI</i>	COI-F	TCAACCAACCACAAAGACATTGGCAC	Ward vd., 2005
	COI-R	TAGACTTCTGGGTGGCCAAAGAATCA	
<i>16S rRNA</i>	16S ar	CGCCTGTTTATCAAAAACAT	Palumbi, 1996
	16S br	CCGGTCTGAACTCAGATCACGT	
<i>Rhodopsin</i>	Rod-F2B	GTCTGCAAGCCCATCAGCAACTTCCG	Sevilla vd., 2007
	Rod-5R	GGTGGTGATCATGCAGTGGCGGAA	

Gen bölgelerinin PZR ile çoğaltımı için reaksiyon başına kullanılacak bileşenlerin miktarları (Tablo 3) ve farklı tutunma sıcaklıkları denenerek (Tablo 4) gradient PZR tekniği ile her primer için optimize edildi.

Tablo 3. Kullanılan gen bölgelerinin PZR bileşenleri

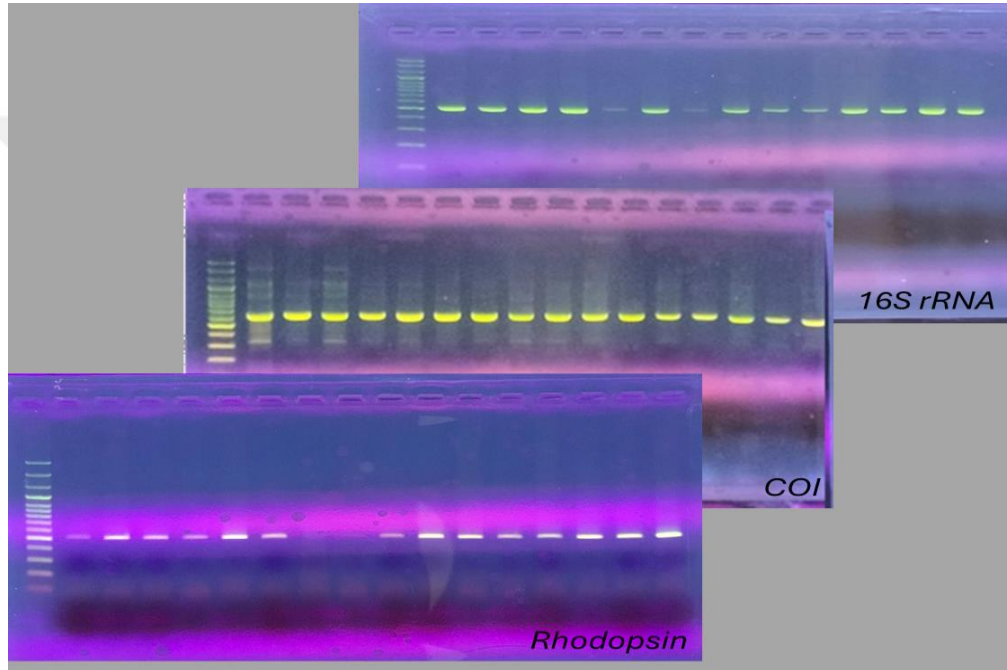
PZR Bileşenleri	Miktar		
	<i>COI</i>	<i>16S rRNA</i>	<i>Rhodopsin</i>
2x Master Mix	5µl	5µl	5µl
İleri Primer (10µM)	0,5µl	0,5µl	0,5 µl
Geri Primer (10µM)	0,5µl	0,5µl	0,5 µl
DNA (125ng/ml)	1µl	1µl	1µl
Nükleazsız Su	3µl	3µl	3µl
Toplam	10µl	10µl	10µl

Tablo 4. Gradient PZR termal döngü aşamaları

Sıcaklık	Süre	Döngü
94 °C	1 dk	
94 °C	60 s	
50-64 °C	45 s	30-35
72 °C	90 s	
72 °C	5 dk	
4 °C	∞	

Not: Bağlanma sıcaklıkları; *Rhodopsin*; 62 °C, *16S rRNA*; 54 °C, *COI*; 55 °C

PZR sonrası ürünler agaroz jelde yürütülüp ürün boyu kontrol edildi (Şekil 9).



Şekil 9. Elde edilen PZR ürününün agaroz jel elektroforezi (orjinal resim)

2.4. DNA Dizi Analizi

İlk aşamada etil alkol saflaştırması yapıldı. Bunun için her bir örneğin üzerine 6 µl 62,5 mM EDTA ve 50 µl %100'lük soğuk etil alkol eklenip örnekler 5000rpm'de 30 dk santrifüj edildi. Santrifüj sonrası örnekler ters çevrilerek içerisindeki sıvı uzaklaştırıldı. Örneklerin üzerine 50 µl %70'lik etil alkol ilave edilip tekrar 5000 rpm'de 30 dk santrifüj edildi santrifüj sonrası örnekler ters çevrilerek 37 °C'de kurumaya bırakıldı. (Fujikara, 2015).

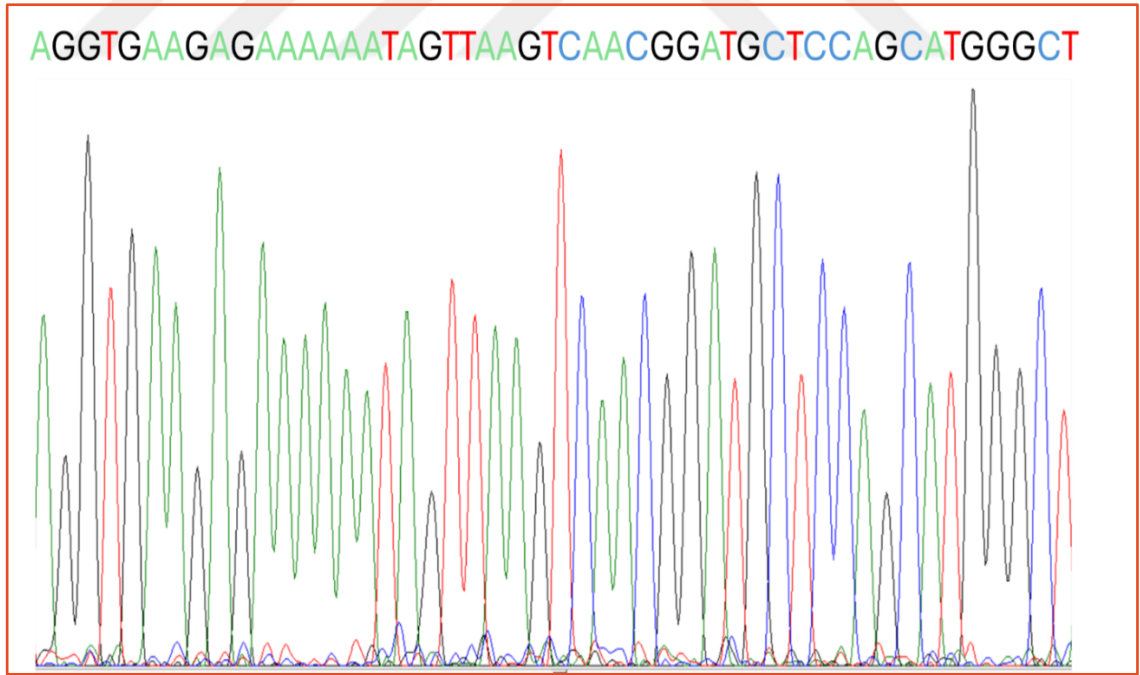
Kuruyan örnekler 10 µl saf su ile sulandırıldı. BigDye Terminator Cycle Sequencing Kiti (ABI Biosystems by Thermo Fisher Scientific) kullanılarak protokolde belirtilen şartlarda sekans PZR'ı yapıldı (Tablo 5).

Tablo 5. Sekans protokolü

Örnek Başına Sekans PZR Karışımı		Termal Döngü Basamakları		
5xSequencing Buffer	2 µl	96 °C	3 dk	
Primer (10 µM; İleri veya geri primer)	0,4 µl	96 °C	30 s	35-40
Big dye Terminatör	0,5 µl	55 °C	45 s	döngü
Nükleazsız su	6,1 µl	60 °C	4 dk	
DNA	1 µl	4 °C	∞	
Toplam	10 µl			

Sekans PZR ürünleri tekrar etil alkol saflaştırma işlemine (Fujikara, 2015) tabii tutuldu. Bunun için her bir örneğin üzerine 62,5 mM EDTA çözeltisinden 6 µl ve 50 µl %100'lük soğuk etil alkol eklenip örnekler 5000rpm'de 30 dk santrifüj edildi. Santrifüj sonrası örnekler ters çevrilerek içerisindeki sıvının uzaklaştırılması sağlandı. Örneklerin üzerine 50 µl %70'lik etil alkol ilave edilip tekrardan 5000 rpm'de 30 dk santrifüj edildi santrifüj sonrası örnekler ters çevrilerek 37 °C'de kurumaya bırakıldı.

Örnekler 10 µl HI-DI Formamid (ABI Biosystems by Thermofisher Scientific, UK) eklendikten sonra 95 °C'de denatüre edildikten sonra soğutulup ABI-3500 otomatik dizi analiz sistemleri kullanılarak gen bölgelerinin dizi analizleri yapılarak ham veriler belirlendi (Şekil 10).



Şekil 10. ABI 3500'de dizi analizi elektroferogram görüntüsü (orjinal resim)

2.5. Mikrosatelit Fragment Analizi

Mikrosatelit bölgelerin analizleri literatürdeki primerler (Tablo 6) kullanılarak yapıldı.

Tablo 6. Kullanılan mikrosatelit lokuslar ve primerler (Dos Santos vd., 2008)

Lokus Adı	Sıra	Primerler Dizilimi	Tekrar Motifi	Ürün Boyu (bp)
ELF 17	F1	F:TTCCACTTCCTCCTACTTTC	(TATC) ₂₁	136-216
	R1	R:GCAGGCTAATAATCGTTGAC		
ELF 19	F2	F:GCGACGGCTCTGTCTATGTG	(TATC) ₂₂	234-394
	R2	R:GAGGCTGAGACGGGTTCTTG		
ELF 37	F3	F:TGCTCGGCTACAATAACG	(TATC) ₂₈	216-324
	R3	R:GACCTGTCAGTGGAGATTC		
ELF 39	F4	F:TAGTGGTTCTGGGCAACAGG	(TATC) ₃₀	157-285
	R4	R:TATCCGGGCTGTACTGTTGG		
ELF 44	F5	F:ACTTGGGGTTGGGCAATATG	(TATC) ₃₄	216-320
	R5	R:ATTTCACAGCACAGGAAGAC		
ELF 46	F6	F:TCAGATTACCCTCCCTGTTC	(TATC) ₂₅	268-376
	R6	R:TGTAGATGTGCTGGTGATCC		
ELF 49	F7	F:TACACCATGAGTGAACAAAG	(TATC) ₁₄	158-234
	R7	R:ATGAGAAGAAGGAAGCTAAG		
ELF 50	F8	F:CTGCACAGGAACACGTCAGT	(TATC) ₀₉	130-218
	R8	R:ATCTGCCCCAAAACAGACAC		

PZR reaksiyonu için önerilen primerler ve bu primer çiftlerine uygun primer bağlanma sıcaklıklarını multipleks PZR ile tespiti için optimizasyon işlemi yapılarak ürünler agaroz jelde kontrol edildi. Sonuçlara göre bağlanma sıcaklıkları 55°C ve 58°C olarak belirlenerek iki grup oluşturuldu (Tablo 7). ELF 50 primerin sentezi sonradan tamamlandığı için bu lokus 56 °C de 3. grupta tek olarak çalışıldı.

Tablo 7. Mikrosatelit analizi için multipleks PZR bileşen miktarları

PZR Bileşenleri	1. grup için		2. grup için		3. grup için	
2x Master Mix	10µl		10µl		10µl	
İleri Primer (10µM)	F ₁	1µl	F ₄	1µl	F ₈	1µl
Geri Primer (10µM)	R ₁	1µl	R ₄	1µl	R ₈	1µl
	F ₂	1µl	F ₅	1µl		
	R ₂	1µl	R ₅	1µl		
	F ₃	1µl	F ₆	1µl		
	R ₃	1µl	R ₆	1µl		
	F ₇	1µl				
	R ₇	1µl				
DNA (125ng/ml)	1µl		1µl		1µl	
Nükleazsız su	1µl		3µl		7µl	
Toplam	20µl				20µl	

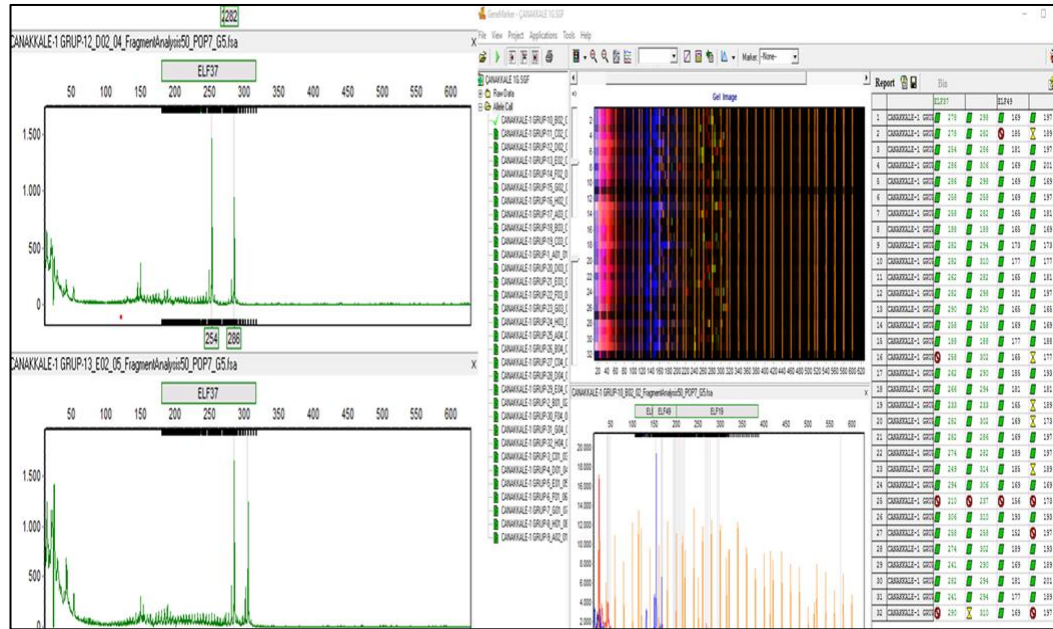
Kullanılacak mikrosatelit lokus spesifik primerler daha sonraki aşamada, farklı floresan işaretli boyalar eklenerek sentezletirildi (Tablo 8). Oluşturulan üç grubun Multipleks PZR yöntemiyle görüntülenen örnekler hazırlık 1/50 nispetinde sulandırıldı.

Dilüe edilen örnekten 0,5 µl alınıp üzerine 9 µl Formamid (ABI Biosystems by Thermofisher Scientific, UK) ve 0,05 µl fragment standart çözeltisi (LIZ-600 Genescan Size Standard, Applied Biosystems™, Lithuanian) eklendi. 95 °C'de 5 dk denatüre edilip buz üstüne koyuldu. Örnekler ABI 3500 genetik analiz cihazında okunarak mikrosatelit lokus için elde edilen ürün/aleller her popülasyonlar üzerinde belirlendi (Şekil 11).



Tablo 8. Mikrosatelit analizi için multipleks PZR

1. Grup: Bağlanma 55 °C			2. Grup: Bağlanma 58 °C			3. Grup: Bağlanma 56 °C		
Lokus	Floresan Boya	Ürün Boyu (bp)	Lokus	Floresan Boya	Ürün Boyu (bp)	Lokus	Floresan Boya	Ürün Boyu (bp)
ELF 17	FAM-mavi	136-216	ELF 39	FAM-mavi	157-285	ELF 50	FAM-mavi	130-218
ELF 19	PET-Kırmızı	234-394	ELF 44	VIC-Yeşil	216-320			
ELF 37	VIC-Yeşil	216-324	ELF 46	NED-Sarı	268-376			
ELF 49	NED-Sarı	158-234						



Şekil 11. ABI 3500 cihazında mikrosatelit örnek grafiği

2.6. Verilerin Analizi

Araştırma verilerini değerlendirmek için Bioedit (Hall, 1999), DnaSP 5.0 (Rozas ve Rozas, 1999), Mega X (Tamura vd., 2011), Arlequin (Schneider vd., 2000) ve Genmaker (V1,95) bilgisayar programları kullanıldı.

2.6.1. DNA Gen Dizilerinin Analizi

Diziler arasındaki benzerlikler daha önceden NCBI GenBank veri tabanına girilen ilgili sekanslarla karşılaştırılarak Mega X (Tamura vd., 2011) ve Bioedit (Hall, 1999) programlarının Clustal-W opsiyonu çalıştırılarak yapıldı.

DnaSP 5.0 (Rozas ve Rozas, 1999) programı ile popülasyonlar arası ve popülasyonlar içi haplotipler belirlendi. Elde edilen haplotiplerden aşağıda belirtilen değerler hesaplandı.

- Haplotip Sayısı (h): İstatistiksel olarak ilişkili olan bir kromozom üzerindeki tek nükleotid polimorfizm dizileri sayısını ifade eder.
- Haplotip Çeşitliliği (Hd): Analiz edilen popülasyon içinden seçilen gelişi güzel iki dizinin farklı haplotiplere sahip olabilirlik ihtimalini hesaplar. Bu ölçüte göre popülasyondaki heterozigotluk hesaplanabilmektedir.
- Nükleotit Çeşitliliği (P_i , π): Bir popülasyondan gelişi güzel seçilen iki dizi arasındaki ortalama nükleotid farkı sayısıdır. Bu ölçüt nükleotid düzeyinde bulunan heterozigotluk olarak da tanımlanabilir (Nei, 1987).
- Nükleotit Farklılığı (k): Bu değer nükleotit çeşitliliğinden değişik olarak oran yerine dizilerin arasındaki gerçek farklar kullanılarak hesaplanır (Tajima, 1983).

Filogenetik ağaç çizilmesinde model seçimi için Mega X (Tamura vd., 2011) programı kullanılarak değişik olasılık modelleri içinden Akaike Information Criterion-AIC (Akaike, 1974) ve Bayesian Information Criterion-BIC (Schwarz, 1978) değerine göre en makul model belirlendi. Filogenetik ağaç için güvenilirlik seç-bağla değeri 1000 olarak kullanıldı. Hesap edilen gamma düzeltme katsayısı ile topoloji oluşturuldu. Bunun için türlerin arasındaki filogenetik ilişkiler Kimura-2P mesafesine göre filogenetik ağaç elde etme algoritmaları olan ML, UPGMA, MP ve NJ vb. kullanıldı. Filogenetik ağaç oluşturulurken lüfer ailesinin tek üyesi olduğu için dış grup olarak NCBI GenBank'ta verisi olan bir tür seçildi.

Haplotip ağları, tür içi düzeyde soyağacı ilişkilerini görselleştirmek ve popülasyonların biyocoğrafyası ve geçmişi hakkında çıkarımlar yapmak için popülasyon genetik verilerinin analizinde kullanılır. Popart'ın temel işlevi, tür içi diziler arasındaki genetik ilişkilerin çıkarımı ve görselleştirilmesidir (Leigh ve Bryant, 2015).

Popülasyon genetiği analizleri Tajima'nın D istatistiği (Tajima 1989), AMOVA (Excoffier vd., 1992), nükleotit çeşitliliği, ayrıştırıcı bölgeler ve parsimoni bilgilendirici bölgeler de dahil olmak üzere en sık kullanılan istatistiklerden birkaçını sunmaktadır (Leigh ve Bryant, 2015). Dairenin büyüklüğü temsil ettiği örnek sayısı ile orantılıdır. Çizgilerin üzerindeki çizgiler ise haplotipler arası baz farklılıklarını belirtmektedir.

2.6.2. Mikrosatelit Fragment Veri Analizi

Mikrosatelit analizi yapılarak edilen işlenmemiş veri seti Convert (Glaubitz, 2004) programı çalıştırılarak mikrosatelit analiz programların veri formatlarına dönüştürüldü.

Analizler alel frekansları kullanarak yapıldığı için, popülasyonun Hardy-Weinberg dengesinin içinde olup olmadığının kontrol edilmesi gerekir. Bu kurala göre ancak mutasyon, doğal seçim, rastgele olmayan çiftleşme, genetik sürüklenme ve gen akışı dahil olmak üzere çeşitli faktörler HWE'den sapmalara neden olabilir (Abramovs vd., 2020). Doğal çevrede bulunan popülasyonlar Hardy-Weinberg dengesinin kabul ettiği bütün şartları karşılamayabilir. Böyle bir halde alel frekansları jenerasyondan jenerasyona değişir. Hardy-Weinberg dengesinden sapma, rastgele olmayan eşleşme, popülasyonun karışması veya seçilimin olduğunu göstermektedir (Graffelman vd., 2017).

Genotip oranlarının Hardy-Weinberg (HW) eşitliğine uyumu Genepop v.4.2 (Rousset, 2008) programı kullanılarak “exact test” metoduyla hesaplandı. Olasılık değerleri (P değeri) 10.000 dememorizasyon, 500 kümelenme ve her küme için 5.000 tekrarla belirlendi. Yanlış keşif değeri kontrol etmek için yeni olasılık eşik değerleri hesaplandıktan sonra, Bonferroni yöntemi kullanılarak düzeltme yapıldı. Genotipik oranlar Hardy-Weinberg eşitliğinde ise gensel karşılaştırma, eğer Hardy-Weinberg eşitliğinde çıkmaz ise genotipik karşılaştırma yapıldı. Genotipik ikili karşılaştırmalar Exact test ile Genepop v 4.2 (Raymond ve Rousset, 1995) programında değerlendirildi. Olasılık değerleri (P değeri) 10.000 dememorizasyon, 500 kümelenme ve her bir küme için 5.000 tekrar edilerek belirlendi.

Popülasyonlardaki özgün alellerin varlığı ve alel frekansları GenA1EX-6.5 (Peakal ve Smouse, 2006) programı ile belirlenmiştir. Bütün lokuslar için ayrı ayrı (NA) toplam alel sayısı, beklenen heterozigotluk (H_e), gözlenen heterozigotluk (H_o) ve polimorfik ilgi içeriği (PIC) Cervus-3.0.7 (Kalinowski vd., 2007) programıyla hesap edilmiştir.

Popülasyonlar arası genetik farklılıkları ortaya çıkarmak için, lokuslara ait popülasyonlar arası fiksasyon indeksleri (F_{ST}) (Weir ve Cockerham, 1984) GENEPOP

4.2. (Raymond ve Rousset, 1995) programında hesaplandı. Olası null alel varlığından dolayı F_{ST} değerleri ve null alel frekansı FreeNA (Chapuis ve Estoup, 2007) programı kullanılarak 10.000 tekrar ile hesap edildi. FreeNA programı ENA (excluding null alel) düzeltme yöntemi ile yüksek null alel frekansının F_{ST} değeri üzerine etkisini minimize edilmektedir.

- F_{ST} Analizi; F_{ST} analizi popülasyonlar arası oluşan farklılıklardan dolayı ortaya çıkan, bir tür içindeki toplam genetik farklılaşmanın miktarı sayısal değer olarak sunan bir metottur (Wright, 1965). F_{ST} 0 ile 1 arasında bir değer alır. Bu F_{ST} değeri; 0,000 – 0,050 arası ise küçük bir genetik farklılaşma; 0,050 – 0,150 arasında bir değer ise orta düzeyde farklılaşma; 0,150 – 0,250 arası bir değer ise büyük bir genetik farklılaşma ve ayrıca 0,25’ten büyük değerler ise çok büyük bir genetik farklılaşmanın olduğunu gösterir (Pritchard vd., 2000).

Araştırılan lokuslarda heterozigotluk eksikliği (heterozygote deficiency) ve heterozigot fazlalığı (heterozygote excess) test edilerek popülasyonların muhtemel genetik darboğaz varlığının ortaya çıkarılması için Bottleneck (Piry vd., 1999) programı kullanıldı. Popülasyonlardaki darboğazın varlığının tespiti de alel frekans dağılım biçimi ile (mode-shift) sınıandı (Luikart vd., 1998).

Araştırılan lokusların mutasyon-drift eşitliğine uyumu iki aşamalı mutasyon modeli (Two Phase model, TPM) ile sınıandı. Lokuslar için mutasyonlar çoğu zaman IAM ve SMM’de tutarlı değildir. TPM modeli mikrosatelit markörlerin kullanılırsa tavsiye edilen modeldir. (Rienzo vd., 1994; Piry vd., 1999). Popülasyonlarda hesaplanan gözlenen heterozigot fazlalığının istatistiksel açıdan önemli çıkıp çıkmadığı sınırlı sayıda lokusun kullanıldığı çalışmalarda uygunluğu nedeniyle Wilcoxon testi ile sınıandı.

Coğrafik mesafe ile genetik mesafe arasındaki ilişki GenAlEx 6.5 programında uygulanan Mantel testi ile sınıandı (Mantel, 1967).

- Mantel Testi ilke olarak, iki mesafe matrisi arasında bir bağılılığın varlığını test etmek için yapılır (Mantel, 1967; Rousset ve Raymond, 1997).

Coğrafik mesafe ile genetik mesafe arasındaki ilişkinin istatistiksel açıdan önemli çıkıp çıkmadığı ise permütasyon testi ile sınıandı. Ayrıca aynı program Temel Koordinat Analizi (PCoA) yapıldı (Liu ve Muse, 2005). PCoA; Çok boyutlu ölçeklendirme, verilerin benzerlik veya farklılıklarını görselleştirmek için kullanılan matematiksel bir yöntemdir. PCoA farklılıklar için kullanılır (Liu ve Muse, 2005)

Elde edilen veriler ışığında genetik açıdan birbirinden farklı olan popülasyonları ortaya çıkarmak için Structure v.2.3.4 (Falush vd., 2003) programı kullanılarak Bayesian çoklu-lokus kümelenme yöntemi çalışıldı.

- Structure analizi ile popülasyonların genetik yapıları ve popülasyondaki bireylerin biyocoğrafik soyuna ilişkin bilgiler elde edilmektedir. Structure analizinde popülasyonlar arasındaki gruplaşmanın oluşturulduğu merteye ortaya çıkmaktadır (Falush vd., 2003).

Structure (Falush vd., 2003) programı; hesaplanan lokuslara ait veriler ile Hardy-Weinberg eşitliğinin gerçekliğini çıkarım yapıp genetik yapılara göre bireyleri farklı kümelere yerleştirme yapar. Genetik olarak farklı bireyler içindeki kümelenmeleri ortaya çıkarmaya imkân verdiğinden örneklerin farklı kümelere yerleştirilmesi Markov Chain Monte Carlo (MCMC) aramaları ile yapılmaktadır. En ideal kümelenme sayısının belirlenmesi amacıyla 2 ile 7 arasında varsayılan kümelenmeler birbirinden bağımsız üç tekrür olacak şekilde test edilmiştir. MCMC aramaları 107 adımı yanma (burning) olmak üzere toplam 108 adım ile oluşturuldu. Muhtemel K değeri delta K (ΔK) istatistiği ile çevrimiçi bir yazılım olan Structure Harvester ile belirlendi.

- Moleküler Varyans Analizi (AMOVA); hiyerarşik gruplar arasındaki farklılığı hesap etmede kullanılır. Bu analizde incelenen bileşenler şunlardır. Birinci olarak popülasyonlar kullanılarak oluşturulan gruplar arasındaki genetik çeşitliliğin oranını, İkinci olarak oluşturulan gruplardaki popülasyonlar arasındaki genetik çeşitliliğin oranını, Üçünü olarak ta tüm örnekler tek bir popülasyon olarak kabul edildiği zaman ortaya çıkan genetik çeşitlilik oranını ölçer (Excoffier, vd., 1992). Gruplar arası ve grup içi genetik farklılığı ortaya çıkarmak için AMOVA testi Arlequin v3 (Excoffier ve Lischer, 2010) programları kullanılarak 10000 permutasyon ile belirlendi.

3. BULGULAR

3.1. DNA Dizi Analizi

3.1.1. COI Gen Bölgesinin Dizi Analizi

Tüm istasyonlardan 360 örneğin *COI* gen bölgesinin 704 bp uzunluğundaki kısmı analiz edilmiş olup toplam 18 haplotip tespit edilmiştir. İstasyonlara göre (h) haplotip sayıları, (Hd) haplotip çeşitliliği, (Pi) nükleotid çeşitliliği, (k) nükleotid farklılığı değerleri, (S) değişken bölge sayısı, (Eta) toplam mutasyon sayısı ve haplotip dağılımları Tablo 9’da verilmiştir.

Tablo 9. *COI* gen bölgesi haplotip değerleri

COI	h	Hd	Pi	k	S	Eta	Haplotip Dağılımları
Adana	4	0,414	0,00078	0,54286	4	4	1-2-3-4
Ereğli	2	0,166	0,00024	0,16601	1	1	1-7
Bodrum	4	0,249	0,00037	0,26087	3	3	1-3-5-6
Çanakkale	2	0,189	0,00027	0,18947	1	1	1-7
Giresun	3	0,145	0,00021	0,14815	2	1	1-7-8
Hopa	4	0,193	0,00028	0,2000	3	3	1-7-9-10
İğneada	3	0,135	0,00020	0,13796	2	2	1-7-9
İzmir	4	0,251	0,00037	0,26207	3	3	1-3-11-12
Erdek	2	0,087	0,00012	0,08696	1	1	1-13
Mersin	6	0,476	0,00076	0,53680	5	5	1-2-3-6-9-14
R. Feneri	5	0,279	0,00042	0,29345	3	4	1-10-15-16-17
Samsun	2	0,071	0,00010	0,07143	1	1	1-7
Sinop	3	0,127	0,00018	0,12903	2	2	1-7-18
Trabzon	2	0,212	0,00030	0,21231	1	1	1-7
Tüm İst.	18	0,209	0,00032	0,522482	16	17	

Hap-1: 14 istasyondan toplam 320 örnekte, Hap-7: 8 istasyondan 12 örnekte, Hap-3: 4 istasyondan 6 örnekte, Hap-2: 2 istasyondan 4 örnekte, Hap-9: 3 istasyondan 3 örnekte, Hap-6: 2 istasyondan 2 örnekte, Hap-10: 2 istasyondan 2 örnekte ve Hap-(4-5-8-11-12-13-14-15-16-17-18)1’er istasyonda 1’er örnekte rastlanmıştır.

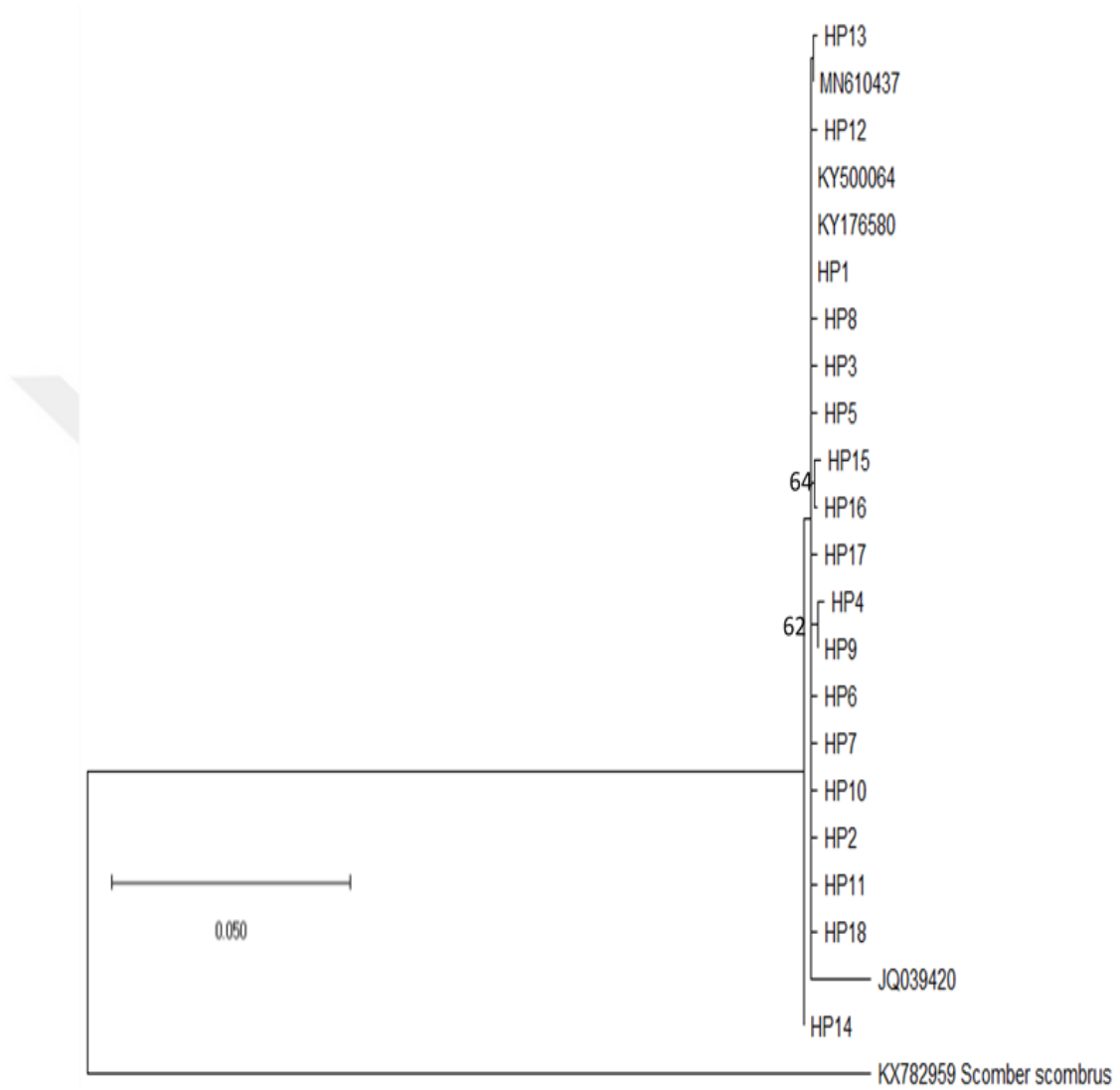
COI gen bölgesine ait örneklerin haplotiplere göre dağılım bilgileri Tablo 10 da verilmiştir.

Tablo 10. Örneklerin haplotiplere göre dağılımı

<i>COI</i>	N	H-1	H-7	H-3	H-2	H-10	H-9	H-6	H-4	H-5	H-8	H-11	H-12	H-13	H-14	H-15	H-16	H-17	H-18
Adana	21	16		1	3				1										
Bodrum	23	20		1				1		1									
Çanakkale	20	18	2																
Hopa	30	27	1			1	1												
İğneada	29	27	1				1												
İzmir	30	26		2								1	1						
Erdek	23	22												1					
Samsun	28	27	1																
Sinop	31	29	1																1
Trabzon	26	23	3																
R. Feneri	27	23				1										1	1	1	
Mersin	22	16		2	1		1	1							1				
Ereğli	23	21	2																
Giresun	27	25	1								1								
Tüm İst.	360	320	12	6	4	2	3	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

Not: N: Örnek sayısı, H: Haplotip numarası

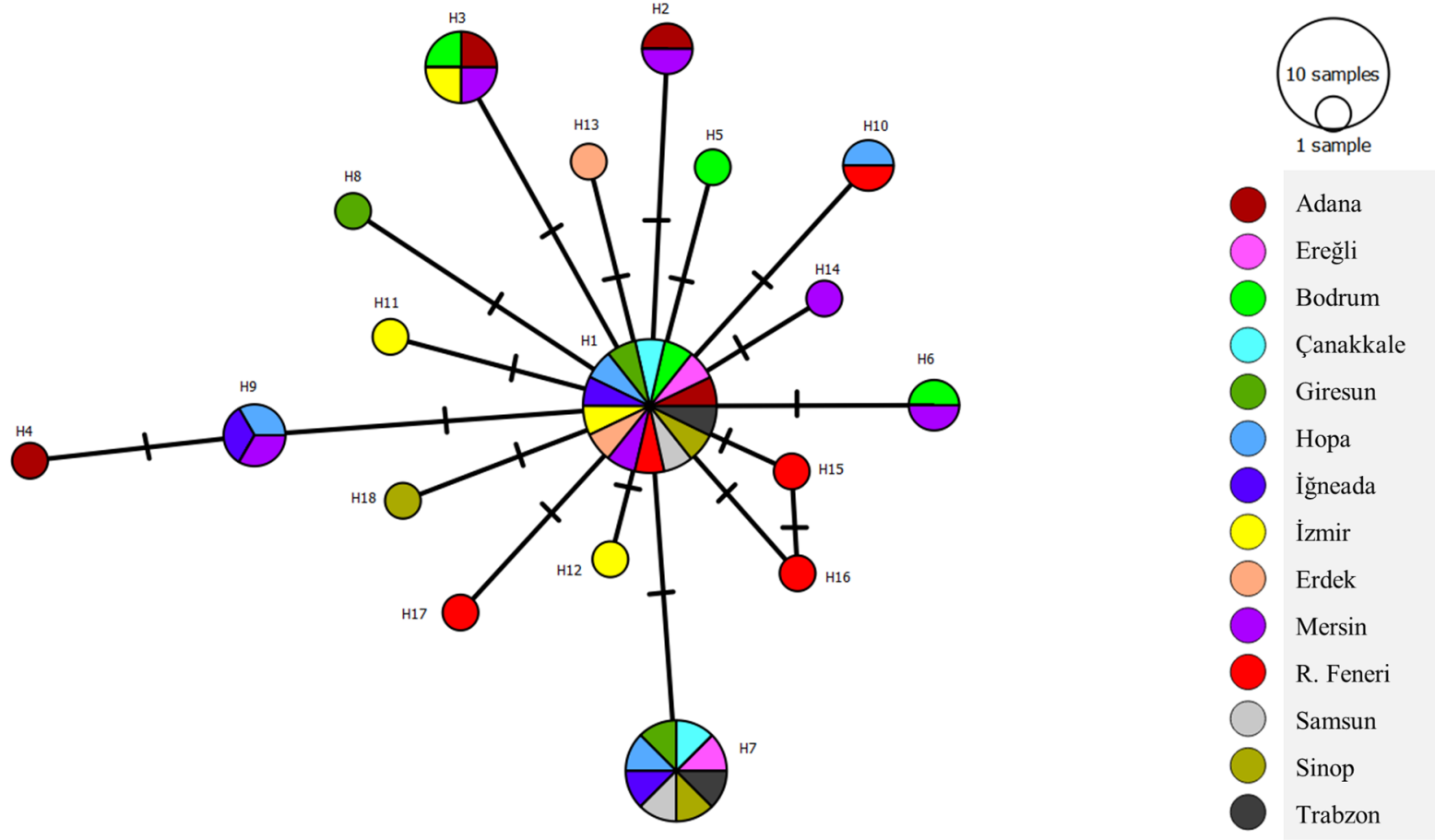
Elde ettiğimiz DNA dizileri ile birlikte GenBank’a (NCBI) kayıtlı olan veriler de eklenerek *COI* gen bölgesi için AIC ve BIC kriterlerini dikkate alarak önerilen nükleotid değişim modeli adına HKY+G seçilip Bootstrap özelliği kullanılarak (1000 değer ile) çizilen Maksimum Benzerlik Ağacı Şekil 12’de verilmiştir.



Şekil 12. *COI* gen bölgesi için elde edilen filogenetik ağacı

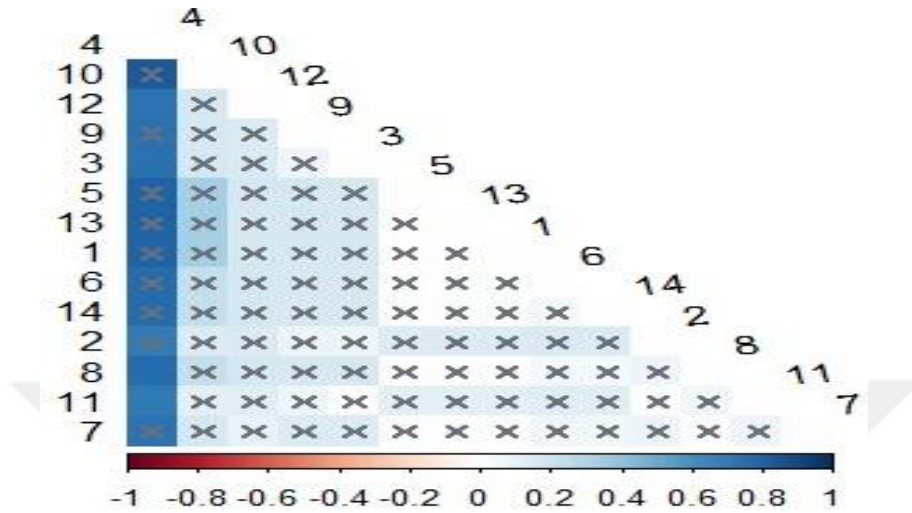
(MN610437: *P. saltatrix* -Karadeniz, KY176580: *P. saltatrix*-İstanbul, KY500064: *P. saltatrix*-Tunus, JQ039420: *P. saltatrix*-Akdeniz, KX782959-*S. scombrus*- Bremen, Almanya)

COI gen bölgesi haplotip analizlerine göre 14 istasyona ait 360 örnek dizisinden 18 haplotip ortaya çıkarılmıştır. Haplotip ağı analizine göre *COI*’nin en yaygın haplotipi (Hap-1), örneklem noktalarının alınan örneklerin çoğu tarafından paylaşılmakta olup, *COI* gen bölgesi için belirlenen haplotipler arasında en fazla 3 nükleotid farkı bulunmaktadır (Şekil 13). Dairenin büyüklüğü haplotipe ait örnek sayısı ile doğru orantılıdır.



Şekil 13. *COI* gen bölgesi haplotip ağı

mtDNA 'nın *COI* gen bölgesine ait popülasyonlar arasındaki genetik mesafe derecesini ifade eden F_{ST} değerlerinden elde edilen istatistik değerler grafiği Şekil 14'da verilmiştir. *COI* gen bölgesi için hesaplanan popülasyon çiftlerine ait F_{ST} değerleri; -0,33333-0,80952 arasında değişmektedir.



Şekil 14. Mitokondriyal DNA (*COI*) F_{ST} istatistik değerler grafiği

Not: P değeri=0,05, X; Anlamlı olmayan fark, 1-Trabzon, 2- Adana, 3- Bodrum, 4- Ereğli, 5- Çanakkale, 6- Giresun, 7- Hopa, 8- İğneada, 9- İzmir, 10- Erdek, 11- Mersin, 12- R. Feneri, 13- Samsun, 14- Sinop

Genetik varyasyonun dağılımını hesaplamak için AMOVA analizi yapılmış olup popülasyonlar arası ve popülasyon içi çeşitlilik değerleri elde edilmiştir. AMOVA analizi, popülasyonlar arası varyasyonun popülasyon içi varyasyona kıyasla az olduğu popülasyonlar arası varyasyon %1,49, popülasyon için varyasyon %98,51 olarak tespit edilmiştir (Tablo 11).

Tablo 11. *COI* gen bölgesine ait AMOVA varyasyon testi sonuçları

	Alan Toplamı	Varyans bileşenleri	Yüzde değişimi
Popülasyonlar Arası	1.5240	0.00167	1.49
Popülasyon İçi	38.832	0.11095	98.51
Toplam	40.356	0.11262	100

3.1.2. 16S *rRNA* Gen Bölgesinin Dizi Analizi

16s *rRNA* gen bölgesinin 521 bç uzunluğundaki kısmı dizilenmiş ve istasyonlardan 303 örneğe ait veri değerlendirilmeye alınmıştır. Bu verilerden toplam 8 haplotip tespit edilmiştir.

İstasyonlara göre haplotip sayıları (h), haplotip çeşitliliği (Hd), nükleotid çeşitliliği (Pi), nükleotid farklılığı (k), değişken bölge sayısı (S), toplam mutasyon sayısı (Eta) ve haplotip dağılımları Tablo 12'da verilmiştir.

Tablo 12. 16S rRNA gen bölgesi haplotip değerleri

16S rRNA	h	Hd	Pi	k	S	Eta	Haplotip Dağılımları
Adana	3	0.157	0.00031	0.16000	2	2	2-3-1
Ereğli	2	0.143	0.00027	0.1428	1	1	2-4
Bodrum	1	-	-	-	-	-	2
Çanakkale	1	-	-	-	-	-	2
Giresun	2	0.065	0.00012	0.0645	1	1	2-5
Hopa	1	-	-	-	-	-	2
İğneada	1	-	-	-	-	-	2
İzmir	2	0.069	0.00013	0.06897	1	1	2-6
Erdek	2	0.118	0.00023	0.11765	1	1	2-5
Mersin	1	-	-	-	-	-	2
R. Feneri	3	0.131	0.00026	0.1333	2	2	2-5-7
Samsun	1	-	-	-	-	-	2
Sinop	2	0.095	0.00018	0.09524	1	1	2-5
Trabzon	3	0.151	0.0003	0.15385	2	2	2-5-8
Tüm İst.	8	0.0663	0.000157	0.81333	7	7	

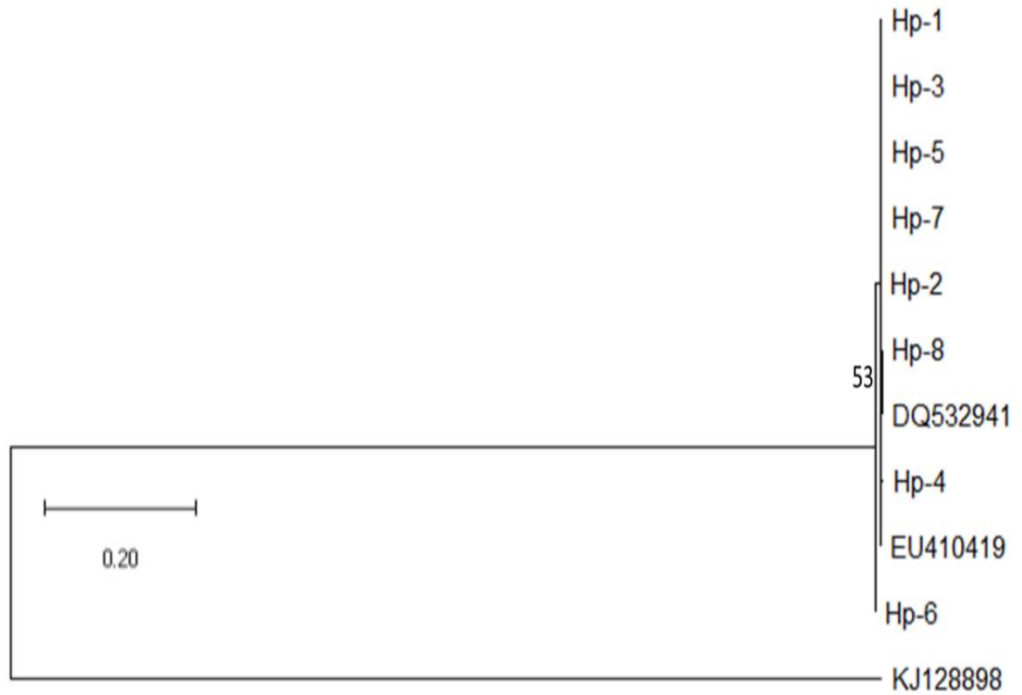
Toplam 303 veri setinden 292'sinin en yaygın haplotip olan Hap-2 bütün istasyonlarda rastlanılmıştır. 5 istasyonda Hap-5:5 örneğin paylaştığı ve Hap-(1-3-4-6-7-8) her istasyonda 1'er örnekte bulundu. 16S rRNA gen bölgesine ait örneklerin haplotiplere göre dağılım bilgileri Tablo 13'de verilmiştir.

Tablo 13. Örneklerin haplotiplere göre dağılımı

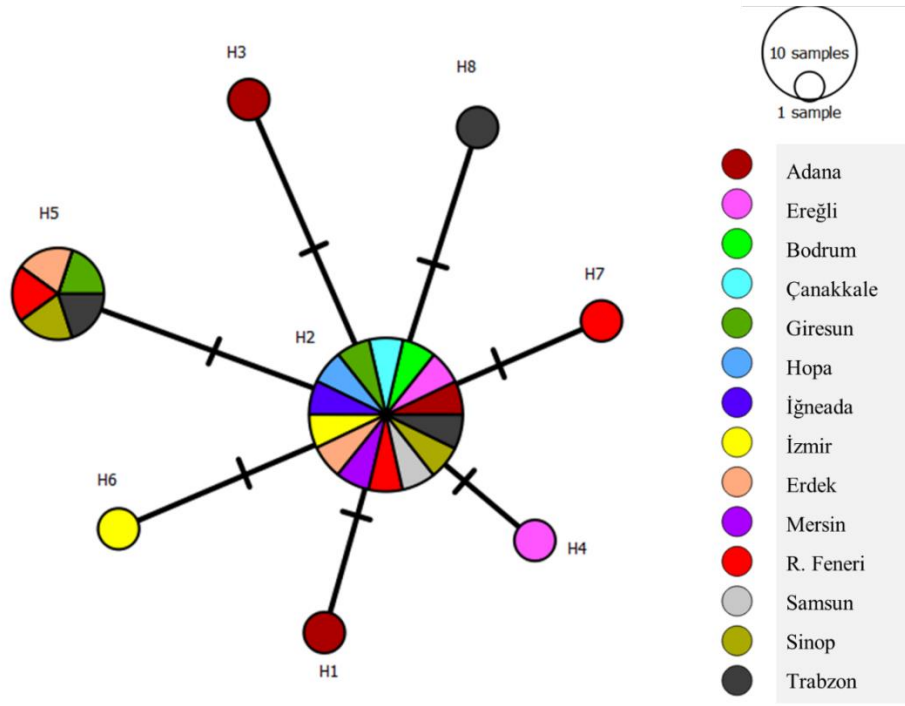
16S rRNA	N	H-2	H-5	H-1	H-3	H-4	H-6	H-7	H-8
Adana	25	23		1	1				
Bodrum	17	17							
Çanakkale	16	16							
Hopa	21	21							
İğneada	20	20							
İzmir	29	28					1		
Erdek	17	16	1						
Samsun	22	22							
Sinop	21	20	1						
Trabzon	26	24	1						1
R. Feneri	30	28	1					1	
Mersin	14	14							
Ereğli	14	13				1			
Giresun	31	30	1						
Tüm İst.	303	292	5	1	1	1	1	1	1

Analizlerden elde ettiğimiz DNA dizileri ile birlikte GenBank’a (NCBI) kayıtlı veriler eklenerek 16S *rRNA* gen bölgesi için AIC ve BIC kriterleri dikkate alınarak önerilen nükleotid değişim modeli adına HKY+G seçilip, Bootstrap özelliği kullanılarak (1000 değer ile) çizilen Maksimum Benzerlik Ağacı Şekil 15’de verilmiştir.

16S *rRNA* gen bölgesi haplotip analizlerine göre 14 istasyona ait 303 örnekten 8 haplotip tespit edilmiştir. 16S *rRNA*’nın en yaygın haplotipi (Hap-2), tüm örnekleme noktalarından alınan örnekler tarafından paylaşılmakta olup, 16S *rRNA* gen bölgesi için belirlenen haplotipler arasında en fazla 2 nükleotid farkı bulunmaktadır (Şekil 16). Dairenin büyüklüğü haplotipe ait örnek sayısı ile doğru orantılıdır.

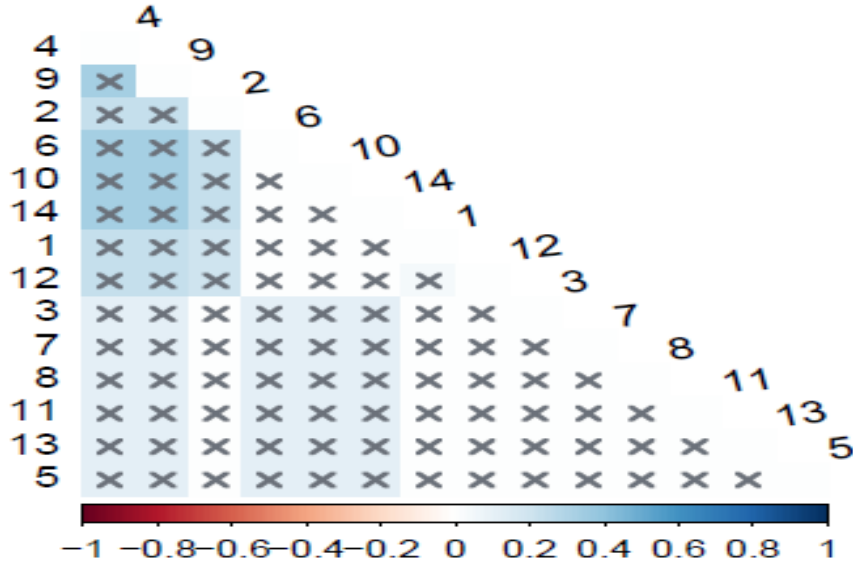


Şekil 15. 16S *rRNA* gen bölgesi için elde edilen filogenetik ağacı
(DQ532941: *P. saltatrix*-USA-New York, EU410419: *P. saltatrix*-İstanbul, J128898: *Scomber scombrus*-Sweden)



Şekil 16. 16S rRNA gen bölgesi haplotip ağı

mtDNA'nın 16S rRNA gen bölgesine ait popülasyonlar arasındaki genetik mesafenin derecesini ifade eden F_{ST} değerlerinden elde edilen istatistik değerler grafiği Şekil 17'da verilmiştir.



Şekil 17. Mitokondriyal DNA (16S rRNA) F_{ST} istatistik değerler grafiği

Not: P değeri=0,05, X; Anlamli olmayan fark, 1-Trabzon, 2- Adana, 3- Bodrum, 4- Ereğli, 5- Çanakkale, 6- Giresun, 7- Hopa, 8- İğneada, 9- İzmir, 10- Erdek, 11- Mersin, 12- R. Feneri, 13- Samsun, 14-Sinop

Genetik varyasyonun dağılımını hesaplamak için AMOVA analizi yapılmış olup popülasyonlar arası ve popülasyon içi çeşitlilik değerleri elde edilmiştir. AMOVA analizi, popülasyonlar arası varyasyonun popülasyon içi varyasyona kıyasla az olduğu ve popülasyonlar arası varyasyon %9,95 ve popülasyon için varyasyon %90,05 olarak tespit edilmiştir (Tablo 14). *16S rRNA* gen bölgesi için hesaplanan popülasyon çiftlerine ait F_{ST} değerleri; -0,15663-0,40741 arasında değişmektedir. Negatif F_{ST} değerleri genetik olarak çok yakın popülasyonlar arasında gözlenmiştir.

Tablo 14. *16S rRNA* gen bölgesine ait AMOVA varyasyon testi sonuçları

	Alan Toplamı	Varyans Bileşenleri	Yüzde Değişimi
Popülasyonlar Arası	6.520	0.03989	9.95
Popülasyon İçi	13.000	0.36111	90.05
Toplam	19.520	0.40101	100

3.1.3. *Rhodopsin* Gen Bölgesinin Dizi Analizi

Tüm istasyonlardan 427 örneğin *Rhodopsin* gen bölgesinin 513 bp uzunluğundaki kısmı analiz edilmiş olup istasyonların tamamında tek haplotip tespit edilmiştir (Tablo 15).

Tablo 15. *Rhodopsin* gen bölgesi haplotip değerleri

<i>Rhodopsin</i>	Dağılım
Hap-1	Adana, Ereğli, Bodrum, Çanakkale, Giresun, Hopa, Iğneada, İzmir, Erdek, Mersin, R. Feneri, Samsun, Sinop, Trabzon

Elde ettiğimiz DNA dizileri ile birlikte NCBI GenBank'a kayıtlı veriler de eklenerek *Rhodopsin* gen bölgesi için AIC ve BIC kriterlerine göre önerilen nükleotid değişim modeli adına K2 seçilmiş olup Bootstrap özelliği kullanılarak (1000 değer ile) çizilen Maksimum Benzerlik Ağacı Şekil 18'de verilmiştir.



Şekil 18. *Rhodopsin* gen bölgesi için elde edilen filogenetik ağacı

(EU036581: *P. saltatrix*-Yunanistan, DQ197884: *P. saltatrix*-İspanya, EU036580: *P. saltatrix*-Yunanistan, EF439426: *P. saltatrix*-İspanya, EU036627: *T. Thynnus*-Yunanistan)

3.2. Mikrosatelit Veri Analizi

Popülasyonlar içi-arası genetik varyasyonlar, Hardy- Weinberg dengesine uyum, heterozigotluk seviyeleri, F istatistiki değerleri (Wright, 1965), genetik yakınlık-uzaklık hesaplamaları, moleküler varyasyon analizi ve genetik yapı testi (Structure Test) gibi analizler hesaplanarak çalışma kapsamındaki popülasyonlar incelenmiştir.

Mikrosatelit analizi için 8 lokus (ELF 17, ELF 37, ELF 49, ELF 19, ELF 39, ELF 46, ELF 44, ELF 50) analiz edilmiştir. 433 örnek ve 14 popülasyon çalışılmıştır. Mikrosatelit lokusları üç multipleks panelde test edilmiştir. Her primer çiftinin ileri primerleri floresan boyalarla (FAM, VIC, NED, PET) etiketlenmiştir.

Bütün lokuslar için toplam 207 alel belirlenmiştir. Her lokusta en fazla görülen alel sayıları sırayla ELF 17: 22, ELF 37: 47, ELF 49: 27, ELF 19: 29, ELF 39: 52, ELF 46: 24, ELF 44:1 ve ELF 50: 5 şeklindedir. Gözlenen (H_o) heterozigot değerleri bakımından en yüksek ELF 50 (H_o : 0,991) iken en düşük değer ELF 19 (H_o : 0,716) dir. Beklenen (H_e) heterozigot değerleri bakımından en yüksek ELF 39 (H_e : 0,952) iken en düşük değer ELF 50 (H_e : 0,518) dir (Tablo 16).

Tablo 16. Mikrosatellit lokuslarının bazı parametrik özellikleri

Lokus	N	Na	HObs	HExp	PIC	HW	F (Null)	Fis	Fit	F _{st}
ELF 17	433	22	0.755	0.831	0.814	NS	0.0448	0.066	0.098	0.034
ELF 37	433	47	0.804	0.946	0.942	ND	0.0801	0.127	0.148	0.024
ELF 49	433	27	0.767	0.912	0.904	***	0.0867	0.132	0.152	0.023
ELF 19	433	29	0.716	0.923	0.916	***	0.1262	0.194	0.220	0.033
ELF 39	433	52	0.857	0.952	0.949	NS	0.0514	0.068	0.098	0.032
ELF 46	433	24	0.845	0.924	0.918	NS	0.0442	0.054	0.085	0.032
ELF 44	433	1	0.000	0.000	0.000	ND	ND	0.000	1.000	1.000
ELF 50	433	5	0.991	0.518	0.400	***	-0.3195	-0.888	-0.852	0.019

Not: NA: Alel sayısı; N: Numune adeti; HO: Gözlenen heterozigotluk; HE: Beklenen heterozigotluk; PIC: Polimorfik bilgi içeriği; F: Null alel frekansı. *** Hardy-Weinberg dengesinden yüksek oranda önemli sapma gösteren lokuslar.

Tüm popülasyonlarda 61 adet özel alel belirlenmiştir. Özel alel görülen popülasyonlar ise Adana; 9, Çanakkale ve İzmir; 8, R. Feneri;7, Mersin ve Sinop;5, Bodrum;4, İğneada ve Erdek;3 Ereğli, Samsun, Trabzon ve Hopa;2 ve Giresun;1 şeklindedir (Tablo 17).

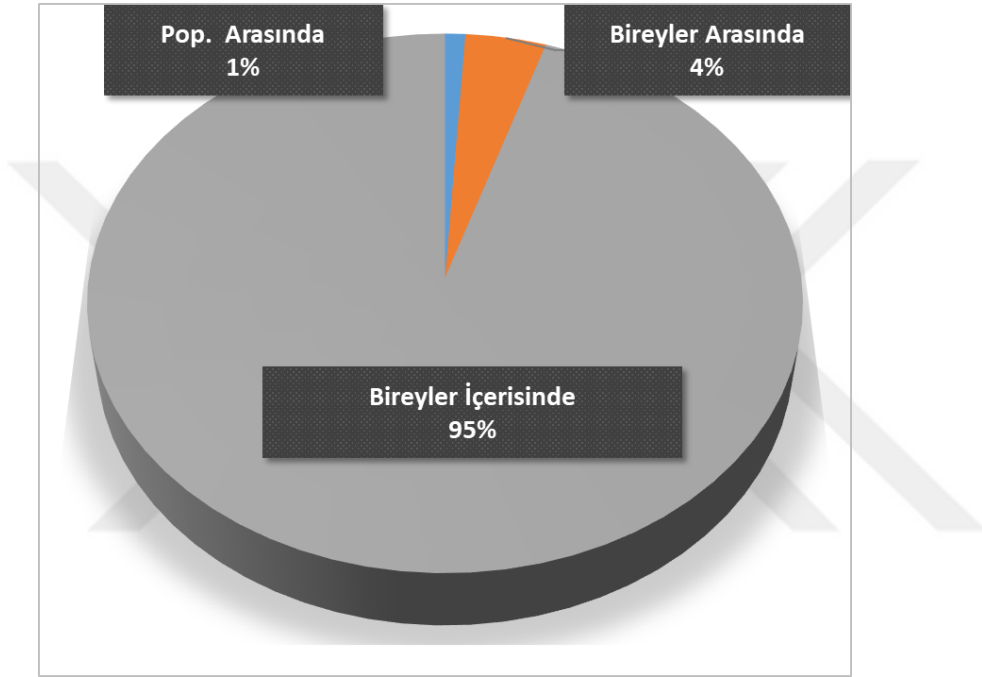
Tablo 17. Popülasyonlarda görülen özel alel frekansları

Popülasyon	Lokus	Alel	Freq.	Popülasyon	Lokus	Alel	Freq.
Çanakkale	ELF 17	132	0.016	Mersin	ELF 39	459	0.033
Çanakkale	ELF 17	183	0.016	Mersin	ELF 50	158	0.233
Çanakkale	ELF 37	210	0.016	İzmir	ELF 37	242	0.031
Çanakkale	ELF 19	379	0.016	İzmir	ELF 37	248	0.016
Çanakkale	ELF 39	466	0.016	İzmir	ELF 37	283	0.016
Çanakkale	ELF 46	240	0.047	İzmir	ELF 37	287	0.016
Çanakkale	ELF 46	257	0.016	İzmir	ELF 37	324	0.016
Çanakkale	ELF 46	269	0.031	İzmir	ELF 39	401	0.016
Erdek	ELF 37	292	0.016	İzmir	ELF 39	414	0.016
Erdek	ELF 49	214	0.016	İzmir	ELF 39	418	0.016
Erdek	ELF 39	411	0.016	Adana	ELF 17	114	0.031
R. Feneri	ELF 37	221	0.016	Adana	ELF 17	139	0.016
R. Feneri	ELF 37	281	0.016	Adana	ELF 37	229	0.047
R. Feneri	ELF 49	168	0.016	Adana	ELF 37	279	0.016
R. Feneri	ELF 49	198	0.016	Adana	ELF 49	204	0.031
R. Feneri	ELF 49	210	0.016	Adana	ELF 19	286	0.016
R. Feneri	ELF 39	446	0.031	Adana	ELF 39	387	0.031
R. Feneri	ELF 39	456	0.031	Adana	ELF 39	393	0.031
Giresun	ELF 37	215	0.016	Adana	ELF 46	303	0.031
Samsun	ELF 37	202	0.016	Sinop	ELF 37	264	0.015
Samsun	ELF 37	291	0.016	Sinop	ELF 37	366	0.015
Trabzon	ELF 39	455	0.016	Sinop	ELF 49	148	0.015
Trabzon	ELF 46	304	0.016	Sinop	ELF 19	297	0.015
Hopa	ELF 19	259	0.016	Sinop	ELF 19	365	0.015
Hopa	ELF 19	318	0.016	Ereğli	ELF 37	234	0.016
İğneada	ELF 37	256	0.016	Ereğli	ELF 37	318	0.016
İğneada	ELF 46	258	0.063	Bodrum	ELF 37	299	0.016
İğneada	ELF 46	278	0.063	Bodrum	ELF 19	244	0.016
Mersin	ELF 17	147	0.067	Bodrum	ELF 39	403	0.047
Mersin	ELF 17	162	0.033	Bodrum	ELF 46	261	0.031
Mersin	ELF 37	185	0.033				

Tablo 18. Popölasyonlar arasındaki Molekölör Varyans Analizi

Varyasyonun kaynağı	df	SS	MS	Est. Var.	%
Popölasyonlar Arasında	13	69.071	5.313	0.036	1
Bireyler Arasında	419	1286.958	3.071	0.102	4
Bireyler İçerisinde	433	1241.500	2.867	2.867	95
Toplam	865	2597.529		3.006	100

Bütün popölasyonlar için yapılan AMOVA analizi sonuçlarına göre varyans oranının %95,0 sı popölasyonlar içi olarak belirlenmiştir ve F_{ST} değeri ise 0,010 dur (Şekil 19, Tablo 18).



Şekil 19. Popölasyonlar için yapılan AMOVA analizi sonuçları

Genotipik oranların Hardy-Weinberg dengesine uyumu test edildiğinde yapılan 112 analizden 57'inde Hardy-Weinberg dengesinden sapma tespit edilmiştir. Hardy-Weinberg analizi sonuçlarına göre önemli derecede sapma olan istasyonlar ve lokuslar Tablo 19 da verilmiştir.

Tablo 19. HW analiz sonuçlarına göre önemli sapmaların olduğu istasyonlar ve lokuslar

	ELF 17	ELF 19	ELF 37	ELF 39	ELF 44	ELF 46	ELF 49	ELF 50
Adana								
Mersin								
Bodrum								
Çanakkale								
İzmir								
Erdek								
R. Feneri								
İğneada								
Ereğli								
Sinop								
Samsun								
Giresun								
Trabzon								
Hopa								

Not: Lokusların önemli derecede sapma gösterdiği popülasyonlar mavi ile renklendirilmiştir.

Tablo 20. Lüfer popülasyonlarında farklı lokuslarda Hardy-Weinberg test sonuçları

Pop.	Lokus	DF	ChiSq	Prob	Signif	Pop.	Lokus	DF	ChiSq	Prob	Signif
Çanakkale	ELF 17	91	95.928	0.342	ns	Hopa	ELF 17	78	91.452	0.142	ns
Çanakkale	ELF 37	231	307.038	0.001	***	Hopa	ELF 37	171	278.800	0.000	***
Çanakkale	ELF 49	78	96.831	0.073	ns	Hopa	ELF 49	105	144.488	0.006	**
Çanakkale	ELF 19	153	167.004	0.207	ns	Hopa	ELF 19	171	280.067	0.000	***
Çanakkale	ELF 39	253	255.431	0.445	ns	Hopa	ELF 39	231	191.127	0.974	ns
Çanakkale	ELF 46	171	192.889	0.121	ns	Hopa	ELF 46	78	88.989	0.186	ns
Çanakkale	ELF 44	Monomorfik					Hopa	ELF 44	Monomorfik		
Çanakkale	ELF 50	6	96.000	0.000	***	Hopa	ELF 50	1	32.000	0.000	***
Erdek	ELF 17	66	78.089	0.147	ns	İğneada	ELF 17	28	82.466	0.000	***
Erdek	ELF 37	231	288.524	0.006	**	İğneada	ELF 37	210	278.111	0.001	**
Erdek	ELF 49	91	91.738	0.459	ns	İğneada	ELF 49	55	76.829	0.028	*
Erdek	ELF 19	120	140.317	0.099	ns	İğneada	ELF 19	66	92.146	0.018	*
Erdek	ELF 39	276	321.564	0.031	*	İğneada	ELF 39	253	252.109	0.504	ns
Erdek	ELF 46	91	98.747	0.272	ns	İğneada	ELF 46	45	136.786	0.000	***
Erdek	ELF 44	Monomorfik					İğneada	ELF 44	Monomorfik		
Erdek	ELF 50	6	96.000	0.000	***	İğneada	ELF 50	1	32.000	0.000	***
Pop.	Lokus	DF	ChiSq	Prob	Signif	Pop.	Lokus	DF	ChiSq	Prob	Signif
R. Feneri	ELF 37	231	304.254	0.001	***	İzmir	ELF 37	300	388.996	0.000	***
R. Feneri	ELF 49	120	145.851	0.054	ns	İzmir	ELF 49	120	176.534	0.001	***
R. Feneri	ELF 19	91	94.733	0.374	ns	İzmir	ELF 19	136	200.851	0.000	***
R. Feneri	ELF 39	231	234.368	0.426	ns	İzmir	ELF 39	351	388.146	0.084	ns
R. Feneri	ELF 46	91	99.421	0.256	ns	İzmir	ELF 46	91	105.651	0.140	ns
R. Feneri	ELF 44	Monomorfik					İzmir	ELF 44	Monomorfik		
R. Feneri	ELF 50	1	32.000	0.000	***	İzmir	ELF 50	1	32.000	0.000	***
Giresun	ELF 17	28	29.888	0.369	ns	Adana	ELF 17	105	114.387	0.250	ns
Giresun	ELF 37	171	243.480	0.000	***	Adana	ELF 37	190	272.942	0.000	***
Giresun	ELF 49	91	119.352	0.025	*	Adana	ELF 49	105	121.837	0.125	ns
Giresun	ELF 19	120	144.091	0.066	ns	Adana	ELF 19	105	177.521	0.000	***
Giresun	ELF 39	231	265.939	0.057	ns	Adana	ELF 39	210	326.815	0.000	***
Giresun	ELF 46	91	104.698	0.155	ns	Adana	ELF 46	120	153.936	0.020	*
Giresun	ELF 44	Monomorfik					Adana	ELF 44	Monomorfik		
Giresun	ELF 50	1	32.000	0.000	***	Adana	ELF 50	1	32.000	0.000	***

Tabl
o
20.
(De
vam
ı)

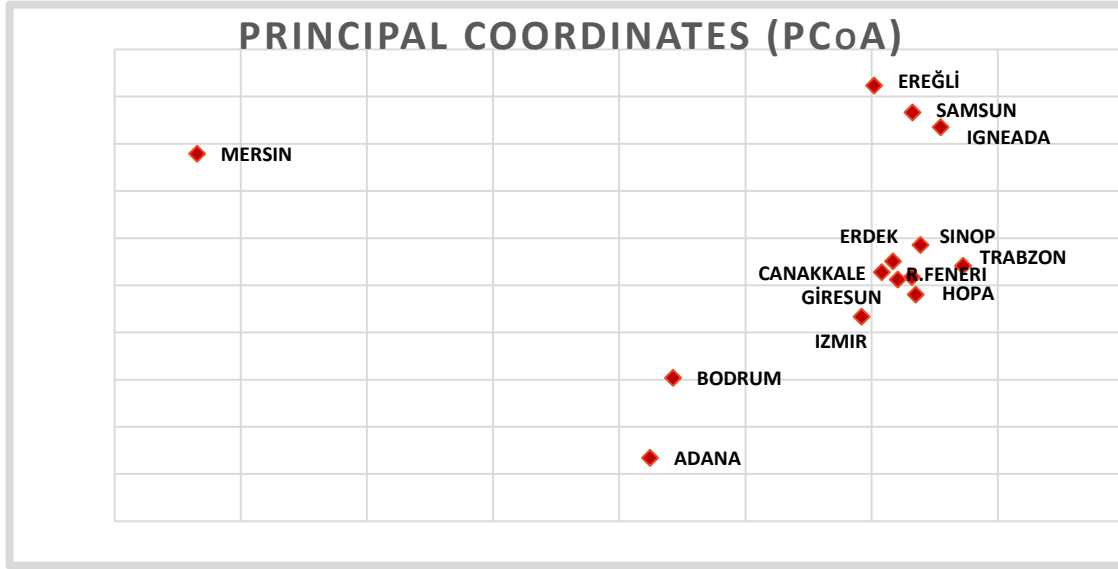
Samsun	ELF 17	66	31.964	1.000	ns	Sinop	ELF 17	36	53.074	0.033	*
Samsun	ELF 37	276	292.444	0.237	ns	Sinop	ELF 37	210	271.056	0.003	**
Samsun	ELF 49	91	108.604	0.101	ns	Sinop	ELF 49	105	189.283	0.000	***
Samsun	ELF 19	78	143.110	0.000	***	Sinop	ELF 19	171	347.952	0.000	***
Samsun	ELF 39	276	277.537	0.463	ns	Sinop	ELF 39	253	334.113	0.000	***
Samsun	ELF 46	105	110.154	0.346	ns	Sinop	ELF 46	78	139.759	0.000	***
Samsun	ELF 44	Monomorfik				Sinop	ELF 44	Monomorfik			
Samsun	ELF 50	1	32.000	0.000	***	Sinop	ELF 50	1	34.000	0.000	***
Trabzon	ELF 17	36	42.421	0.214	ns	Ereğli	ELF 17	21	53.034	0.000	***
Trabzon	ELF 37	171	238.507	0.000	***	Ereğli	ELF 37	253	340.010	0.000	***
Trabzon	ELF 49	120	121.873	0.435	ns	Ereğli	ELF 49	66	71.165	0.310	ns
Trabzon	ELF 19	120	121.064	0.456	ns	Ereğli	ELF 19	78	80.451	0.402	ns
Trabzon	ELF 39	231	323.370	0.000	***	Ereğli	ELF 39	105	257.760	0.000	***
Trabzon	ELF 46	91	122.585	0.015	*	Ereğli	ELF 46	78	160.978	0.000	***
Trabzon	ELF 44	Monomorfik				Ereğli	ELF 44	Monomorfik			
Trabzon	ELF 50	1	32.000	0.000	***	Ereğli	ELF 50	1	32.000	0.000	***

Tablo 20. (Devamı)

Pop.	Lokus	DF	ChiSq	Prob	Signif	Pop.	Lokus	DF	ChiSq	Prob	Signif
Mersin	ELF 17	28	52.150	0.004	**	Bodrum	ELF 17	66	97.709	0.007	**
Mersin	ELF 37	91	106.917	0.122	ns	Bodrum	ELF 37	120	148.801	0.038	*
Mersin	ELF 49	91	105.000	0.150	ns	Bodrum	ELF 49	105	114.780	0.242	ns
Mersin	ELF 19	21	54.583	0.000	***	Bodrum	ELF 19	66	115.899	0.000	***
Mersin	ELF 39	120	165.000	0.004	**	Bodrum	ELF 39	171	368.222	0.000	***
Mersin	ELF 46	66	76.308	0.181	ns	Bodrum	ELF 46	78	182.367	0.000	***
Mersin	ELF 44	Monomorfik				Bodrum	ELF 44	Monomorfik			
Mersin	ELF 50	6	20.587	0.002	**	Bodrum	ELF 50	1	32.000	0.000	***

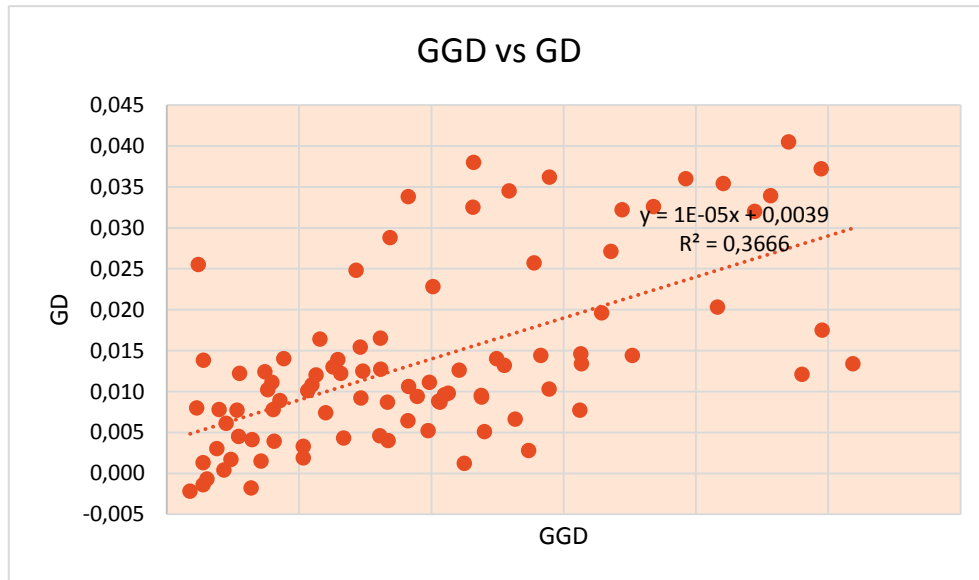
Not: Key: ns=not significant, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ Summary of Chi-Square Tests for Hardy-Weinberg Equilibrium

Genalex6 yazılımı ile temel koordinat analizi (PCoA) uygulanarak lüfer popülasyonları içerdiği filogenetik soylara göre kümelenmiştir. İlk üç eksen toplam genetik varyasyonun %94'ünü göstermektedir. En yüksek varyasyon değerleri ve Eigen değerleri 3. eksende bulunmuştur. Analiz sonuçlarına bakıldığında, Mersin lüfer popülasyonunun diğer popülasyonlardan farklı bir şekilde kümelendiği açıkça görülmektedir (Şekil 20).



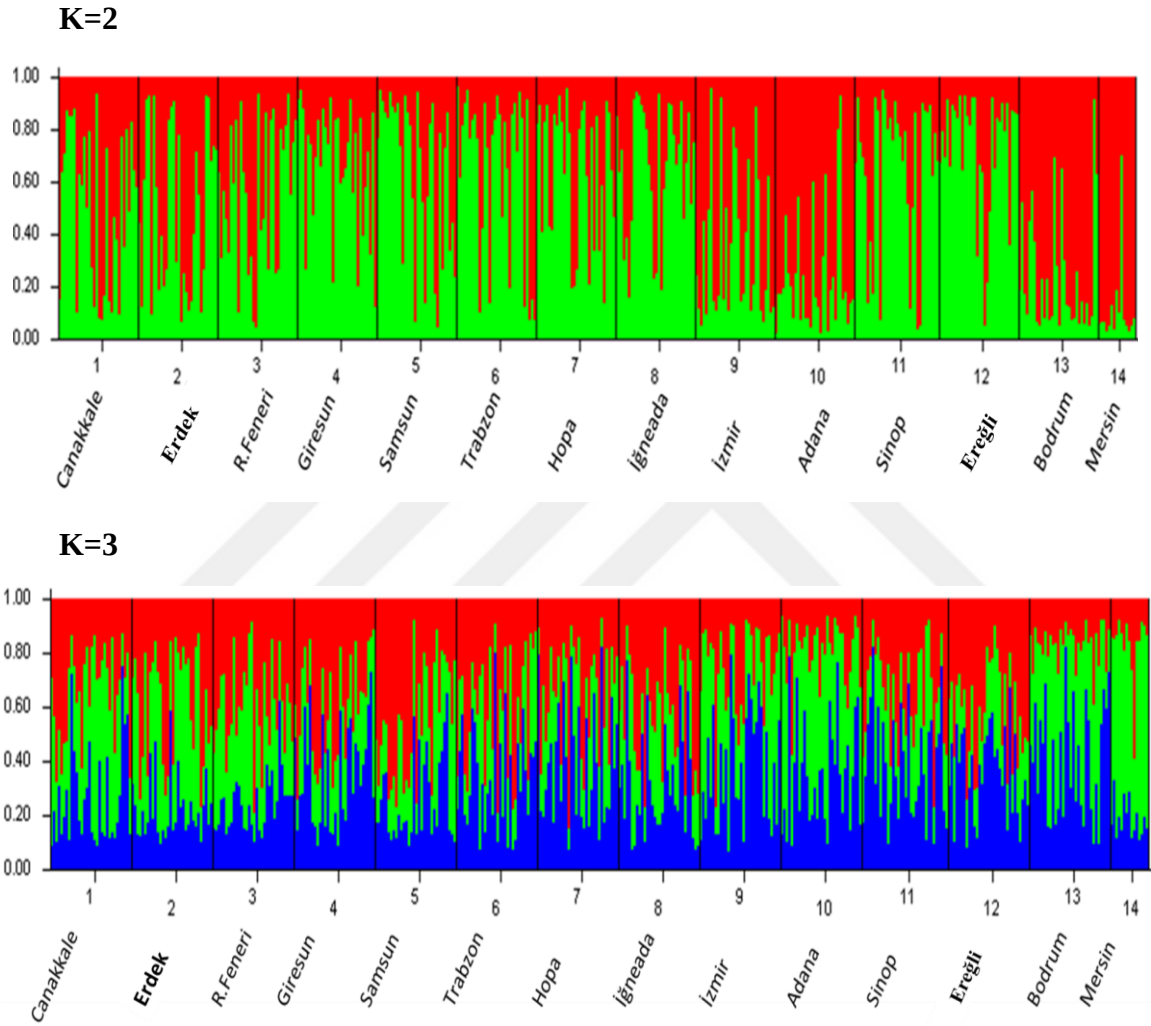
Şekil 20. Popülasyonların genetik ve coğrafik mesafesi arasındaki Mantel Testi

Mantel testine göre, genetik ve coğrafi mesafe arasında korelasyon ($R^2 = 0,3666$, $P = 0.01$) hesaplanmıştır (Şekil 21).



Şekil 21. Lüfer Popülasyonları için F_{ST} kullanılarak oluşturulan PCoA grafiği

Elde edilen veri setindeki genetik olarak birbirinden farklı popülasyonların varlığı STRUCTURE programında Bayesian çoklu-lokus kümelenme metoduyla incelenmiştir. En uygun kümelenme sayısının belirlenmesi için 2-7 arası varsayılan kümelenmeler birbirinden bağımsız olacak şekilde sınanmıştır. Muhtemel kümeleme denemelerinde olası kümeleme sayısı 3 olarak belirlenmiştir. **K = 2 ve K = 3** için, 14 bölgedeki bireyler farklı bir kümeye atanamamıştır. Her birey ince bir dikey çizgi ile temsil edilir ve her renk genetik kümelerden birine ait olma olasılığını temsil eder. Siyah çizgiler farklı örnekleme alanlarından bireyleri ayırmıştır (Şekil 22).



Şekil 22. *Pomatomus saltatrix*'in K = 2 ve K = 3 için Structure Popülasyon Yapısı

Null alel frekansları FreeNA'da (Chapuis ve Estoup, 2007) tahmin edilmiş ve null alellerin fiksasyon indeksi F_{ST} üzerindeki etkisi, null alelleri hariç tutarak ve hariç tutmadan F_{ST} hesaplanmıştır. İkili F_{ST} karşılaştırmaları düşük düzeyde genetik farklılaşma göstermiştir (Tablo 21).

F _{ST}	Çanakkale	Erdek	R. Feneri	Giresun	Samsun	Trabzon	Hopa	İğneada	İzmir	Adana	Sinop	Ereğli	Bodrum	Mersin
Çanakkale	0,0000													
Erdek	-0,001414	0,0000												
R. Feneri	-0,001755	-0,00066	0,0000											
Giresun	0,001223	0,00522	0,00402	0,0000										
		6	9											
Samsun	0,009449	0,01265	0,01222	0,002972	0,0000									
		2	3											
Trabzon	0,005123	0,00976	0,00641	-0,00217	0,004514	0,0000								
		8	1											
Hopa	0,006620	0,00948	0,00879	0,000440	0,011084	0,001306	0,0000							
		3	7											
İğneada	0,007795	0,00769	0,00804	0,010640	0,009168	0,011146	0,012595	0,0000						
		0	8											
İzmir	0,006098	0,01018	0,01006	0,002823	0,009323	0,010264	0,007655	0,013887	0,0000					
		1	4											
Adana	0,013216	0,01438	0,01464	0,012057	0,032007	0,017460	0,013414	0,027085	0,008713	0,0000				
		6	6											
Sinop	0,004559	0,00431	0,00190	0,004145	0,013752	0,003923	0,003326	0,007444	0,009646	0,020337	0,0000			
		8	1											
Ereğli	0,012014	0,00894	0,01217	0,010770	0,012389	0,012959	0,012495	0,001500	0,016499	0,032589	0,001704	0,0000		
		5	6											
Bodrum	0,013955	0,01644	0,01540	0,013428	0,025682	0,019623	0,014360	0,028764	0,007778	0,008690	0,014042	0,022788	0,0000	
		0	1											
Mersin	0,032540	0,03452	0,03622	0,033867	0,035409	0,040540	0,037184	0,038030	0,033751	0,025459	0,036032	0,032222	0,024779	0,00
		2	2											

Tablo 21a. Örnekleme alanları arasındaki alel dağılımlarının ikili karşılaştırmaları için F_{ST} (Weir ve Cockerham, 1984) tahminleri



F _{ST} +ENA	Çanakkale	Erdek	R. Feneri	Giresun	Samsun	Trabzon	Hopa	İğneada	İzmir	Adana	Sinop	Ereğli	Bodrum	Mersin
Çanakkale	0,0000													
Erdek	-0,000763	0,0000												
R. Feneri	-0,001842	-0,00042	0,0000											
Giresun	0,001941	0,00529	0,00408	0,0000										
		2	6											
Samsun	0,010623	0,01292	0,01247	0,002584	0,0000									
		4	1											
Trabzon	0,005927	0,01040	0,00722	-0,00097	0,005912	0,0000								
		5	5											
Hopa	0,006927	0,00975	0,00927	0,001297	0,011338	0,002531	0,0000							
		4	2											
İğneada	0,007683	0,00744	0,00801	0,009134	0,009432	0,010822	0,011950	0,0000						
		9	7											
İzmir	0,006235	0,00954	0,00918	0,002938	0,009143	0,010323	0,007740	0,012709	0,0000					

	Çanakkale	Erdek	R. Feneri	Giresun	Samsun	Trabzon	Hopa	İğneada	İzmir	Adana	Sinop	Ereğli	Bodrum	Mersin
Çanakkale	0,000													
Erdek	0,042	0,000												
R. Feneri	0,039	0,042	0,000											
Giresun	0,049	0,061	0,055	0,000										
Samsun	0,072	0,080	0,077	0,052	0,000									
Trabzon	0,059	0,073	0,061	0,037	0,055	0,000								
Hopa	0,067	0,075	0,071	0,047	0,076	0,048	0,000							
İğneada	0,066	0,065	0,065	0,073	0,068	0,074	0,080	0,000						
İzmir	0,067	0,079	0,076	0,055	0,072	0,076	0,071	0,085	0,000					
Adana	0,092	0,094	0,093	0,086	0,147	0,101	0,091	0,129	0,078	0,000				
Sinop	0,057	0,056	0,048	0,055	0,081	0,054	0,054	0,063	0,073	0,108	0,000			
Ereğli	0,075	0,066	0,074	0,071	0,075	0,076	0,077	0,046	0,090	0,142	0,046	0,000		
Bodrum	0,091	0,098	0,092	0,088	0,122	0,105	0,091	0,131	0,072	0,077	0,086	0,108	0,000	
Mersin	0,189	0,193	0,194	0,189	0,186	0,208	0,202	0,194	0,194	0,169	0,191	0,167	0,160	0,000

4. TARTIŞMA

Bu çalışmada, Türkiye kıyılarında yaşayan lüfer balığı popülasyonlarının genetik yapısının ve popülasyonlar arasındaki genetik ilişkinin ortaya çıkarılması için toplanan örneklerde *16S rRNA*, *COI* ve *Rhodopsin* gen bölgeleri analiz edilmiştir.

Lüfer popülasyonları üzerine Türkiye’de şimdiye kadar yapılan taksonomi çalışmaların çoğu morfometrik ve meristik özelliklere göre tamamlanmıştır. Literatürde ise dünyada yayılım gösteren lüfer balığı hakkında yapılan genetik çalışmalarda çok kısıtlı olup bunlardan birkaç tanesinde de ülkemizden (İstanbul ve Çanakkale’den) alınmış örnekler ile genetik çalışmaları (Miralles vd., 2014a/b) yapılmıştır. İstasyonlardan örneklenip analiz edilen bireylerin *Pomatomus saltatrix*’e ait herhangi bir alt türü tespit edilmemiştir. Lüfer üzerinde yapılan genetik çalışmalarda DNA dizi analizi yöntemli çalışmalar incelendiğinde;

Mirales vd. (2014b) tarafından, 2004 ile 2009 yılları arasında sekiz farklı konumdan toplanan 120 *Pomatomus saltatrix* örneğinde, *COI* ve *Cyt-b* gen bölgelerinin dizi analizinin yapıldığı, tüm bölgeler için genel olarak yüksek haplotip çeşitliliği ve düşük nükleotid çeşitliliği bulunduğu ve Atlantik Okyanusunun iki yakası arasındaki haplotip ağında farklılaşma olduğu bildirildi. Bu farklılaşma lüfer balığının hem mitokondriyal hem de nükleer DNA’ya dayanan haplotip ağına göre popülasyon yapısı üçe ayrılmaktadır. Kuzeybatı Atlantik grubu olarak (Florida, Maryland, Kuzey Carolina ve New Jersey), Batı Akdeniz kümesi Cadiz’i (Atlantik okyanusundan) ve Barselona’yı (Batı Akdeniz) kapsamakta, Doğu Akdeniz grubu (İstanbul ve Çanakkale) olmak üzere üç farklı genetik birim göstermiş olduğunu birbirlerinin hiçbir haplotipi paylaşmadığını, ancak aralarında orta düzeyde bir karışım olduğunu bildirmişlerdir (Mirales vd., 2014b).

Ana Sabates vd. (2012) yayınladıkları çalışmada ise; Kuzey Batı Akdeniz’de 1980’lerde ve 1997’lerde artan yüzey suyu sıcaklığından dolayı Batı Akdeniz’de lüfer dağılım alanının kuzeye doğru genişlediğini ve türlerin yeni dağılım alanlarında ürediğini bildirmişlerdir. Bu sonuç Batı Akdeniz ile Doğu Akdeniz stoklarının karışmış olduğunu göstermektedir. Miralles vd. (2016) yılındaki çalışmasına göre İspanyol sularında bulunan bir su ürünleri yetiştiriciliği çiftliğinde yakalanan yetişkin lüfer balıklarının genetik çeşitliliğini, açık denizden gelen Doğu ve Batı Akdeniz stoklarının referans bireyleriyle karşılaştırdıkları çalışmada balık çiftliği etrafından toplanan lüfer balıklarının, çok yüksek genetik çeşitlilik sergilediğini bildirmişlerdir. Lüfer balıklarının çok yüksek genetik çeşitlilik göstermesi Akdeniz havzasında bulunan popülasyonların

karışımından (Pardiñas et al. 2010; Miralles et al. 2014b) kaynaklandığını bildirmişlerdir (Ana Sabates vd., 2012).

Yine Miralles vd. (2016) da ki çalışmasında tesis etrafında yakalanan bireylerin çoğu genetik olarak yerel popülasyona ait olmasına rağmen bireylerin %7,14 ile %11,9'unun Türkiye sularında yaşayan genetik popülasyona ait olduğunu ve Batı Akdeniz'de Guardamar 'da bulunan çiftlikte Doğu ve Batı Akdeniz lüfer stokları arasında bir dereceye kadar melezleşme olduğunu ortaya çıkarmıştır (Mirales vd., 2016). Bizim yaptığımız çalışma sonuçlarına göre bütün istasyonlarda gerek *COI* ve gerekse de *16S rRNA* gen bölgesi için ortak haplotiplere rastlanması popülasyonların karışmış olduğunu, tüm popülasyonların tek bir genetik birim olduğunu (Doğu Akdeniz) desteklemektedir.

Mirales vd. (2014b) yaptıkları çalışmada, mtDNA'nın birleştirilmiş *COI* ve *Cyt-b* gen bölgesi dizi analizlerinden elde edilen ve genetik çeşitliliğin dağılımını belirlemek için yapılan AMOVA analizine göre, varyasyonun gruplar arasında %70,61 ve popülasyon içinde ise %29,30 olduğunu bildirmiştir. Bizim yaptığımız çalışmada ise *COI* gen bölgesine ait varyasyon popülasyonlar arasında %1,49 iken popülasyon içi varyasyon %98,51 olarak bulunmuştur. *16S rRNA* gen bölgesine ait varyasyon sonuçları ise popülasyonlar arası %9,95 ve popülasyon içi %90,05 olarak hesaplanmıştır. Ayrıca, Queiroz-Brito vd. (2022) de Venezuela istasyonundan aldığı örneklerden *COI* gen bölgesinden yaklaşık 570 bp dizi analizini çıkartarak uluslararası veri-tabanlarından ulaştığı 154 *COI* dizisi (Batı Kuzey Atlantik; Meksika Körfezi, Karayip Denizi; Batı Güney Atlantik, Akdeniz; Marmara Denizi; Doğu Güney Atlantik; Hint Okyanusu, Güney Pasifik) ile karşılaştırdı. 5 grup olarak değerlendirdiği çalışma AMOVA analiz sonucuna göre varyasyon kaynağının gruplar arasında %77,34, popülasyonlar arasında %4,03, popülasyonlar içi %18,63 bulunduğunu bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda ise *COI* gen bölgesine ait varyasyon sonuçları popülasyonlar arasında %1,49 ve popülasyon içi varyasyon %98,51 olarak bulunmuştur. Mirales vd. (2014b) çalışmasındaki yaptıkları standart AMOVA testine göre en yüksek varyasyon yüzdesi gruplar arasında gözlemlenmiş (%71), Bizim çalışmamızda ise hem *COI* gen bölgesine ait varyasyon sonuçları popülasyon içi (%98,51) hem de *16S rRNA* gen bölgesine ait popülasyon içi varyasyon oranıyla (%90,05) varyasyonun en çok popülasyon içinden kaynaklandığı görülmektedir (Miralles vd. (2014)

Mirales vd. (2014a) yayınlamış oldukları çalışmanın ikili F_{ST} karşılaştırmaları hem mitokondriyal hem de nükleer belirteçler için kümeler Amerika, İspanya ve Türkiye şeklinde üç farklı genetik dalı ortaya çıkardığını bildirmiştir. Fakat yapılan

mikrosatelit lokusların analiz sonuçları daha yoğun batıya göçü, mtDNA'nın ise doğuya göçü göstermektedir. Analiz sonuçları arasındaki farklılıklar yüzme yeteneklerine sahip olduklarından dolayı erkek aracılı gen akışını göstermekte olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca genetik analizlerden elde edilen dolaylı kanıtlar; lüfer balıklarının, köpek balığı ve ton balığı gibi Akdeniz ve Atlas okyanusu ötesi göç yaptığını ve sonuç olarak genetik ayrılmanın olmadığını bildirmişlerdir (Mirales vd., 2014a).

Diğer çalışmada ise; Akdeniz ve Atlantik Okyanusu havzalarındaki lüfer balığının (*Pomatomus saltatrix*) genetik yapısını değerlendirmek ve gen akışına yönelik transatlantik engellerin olası varlığını belirlemek amacıyla Kuzey Atlantik Okyanusu'nun ve Akdeniz'in her iki yakasından toplanan lüfer (*Pomatomus saltatrix*) örnekleri kullanılarak mitokondriyal dizilerdeki genetik çeşitliliği analiz edildi. 2006 ve 2008 yılları arasında Doğu Akdeniz'den (İstanbul ve Çanakkale), Batı Akdeniz'den (Alicante, İspanya), Doğu Atlantik Okyanusu kıyıları (Cadiz, Güney İspanya ve Kanarya Adaları) ve Batı Atlantik Okyanusu kıyılarını temsilen (New York ve Florida, ABD)' den toplanan lüfer (*Pomatomus saltatrix*) örneklerinden yaptıkları çalışmanın *Cyt-b* gen bölgesi dizi analizi sonuçlarından elde edilen haplotip ağacının güçlü coğrafi bağlılığa sahip iki grup haplotipi ortaya çıkardığını, Doğu Atlantik Okyanusu'nda bulunan popülasyonlar (Doğu Akdeniz dahil) ile Batı Atlantik Okyanusundaki popülasyonların herhangi bir haplotipi paylaşmadığını ve Kuzey Atlantik Okyanusu'nun iki yakası arasında tam bir genetik izolasyon olmasına rağmen; Doğu Atlantik Okyanusu (Cadiz ve Kanarya Adaları) ile Akdeniz örnekleri arasında önemli farklılıklar bulunamamış, bu da lüferin (*Pomatomus saltatrix*) diğer türler gibi biyocoğrafik engelleri aşabileceğini gösterdiğini bildirmiştir. Mevcut çalışmamızda da Türkiye'deki lüfer (*Pomatomus saltatrix*) stokları arasında genetik benzerliğin yüksek olduğu ve tüm denizlerde karışım halinde olduğu görülmektedir. Çalışmamız bu açıdan Mirales (2016), Mirales (2014a) ve Pardinas (2010) 'un çalışmalarıyla benzerlik göstermektedir (Pardinas vd. 2010)

Bir diğer çalışma ise Mirales vd. (2014a); 120 örnek (USA=65, İspanya=41, Türkiye=14) üzerinden yaptığı analizde tüm örnekleme bölgeleri için yüksek haplotip çeşitliliği ve yüksek nükleotid çeşitliliğine rastladığını bildirmiştir (COI:35 ve Cyt b: 29 haplotip). Bizim çalışmamızda ise düşük haplotip çeşitliliği ve düşük nükleotid çeşitliliği (COI için: Haplotip çeşitliliği: 0,209 ve nükleotid çeşitliliği: 0,00032 ve 16S rRNA için: Haplotip çeşitliliği: 0,0066 ve nükleotid çeşitliliği: 0,00016 hesaplanmıştır) bulunmuştur. COI gen bölgesi için hesaplanan popülasyon çiftlerine ait F_{ST} değerleri; -0,33333-0,80952 arasında değişmektedir. 16S rRNA gen bölgesi için hesaplanan

popölasyon çiftlerine ait F_{ST} değęleri; -0,15663-0,40741 arasında değışmektedir. Negatif F_{ST} değęleri genetik olarak çok yakın popölasyonlar arasında gözlenmiştir (Mirales vd. 2014a).

Villela vd. (2024) yakın zamandaki yayınlanan çalışmasına göre; Brezilya ve ABD'de 263 örnek toplamış ve tüm mitogenom dizilerini, nükleer (*Rhodopsin*) ve mitokondriyal (*COI* ve *Cytb*) genleri ve mikrosatelitleri kullanarak Batı Atlantik'teki lüfer balığının tarihsel ve güncel genetik popölasyon yapısını ve parametreleri araştırılmıştır. ABD, Avrupa, Güney Afrika ve Avustralya'dan alınan örnekler, nükleer ve mitokondriyal belirteçlerde özel haplotiplere sahip dört ayrı küme oluştururken Güneybatı Atlantik'te, yaklaşık 2500 km'lik bir alandaki örnekler ise iki ayrı grupta kümelenmiştir. Bu iki grup arasında sınırlı ölçüde gen akışına izin veren güçlü bir bariyerin varlığını göstermektedir. Ayrıca bu iki grubun tüm mitogenom dizilimi, Güney Amerika kıyısı boyunca evrimsel açıdan iki lüfer biriminin varlığını ortaya koymaktadır. Bizim çalışmamız da ise *COI* gen bölgesini analiz sonuçlarına göre oluşturulan filogenetik ağaç ta örneklerimizin hepsi bir arada kümelenmiştir (Villela vd. 2024).

Dünyanın farklı bölgelerinde deniz canlıları üzerinde yapılan popölasyon genetik çalışmalarını incelersek; bulduğumuz veriler genetik birimini destekleyen çalışmalara ek olarak genetik alt haplogruplarla ilgili çalışmalar da bulunmaktadır. Turan vd. (2015) tarafından Karadeniz, Marmara, Ege, Akdeniz ve Adriyatik Denizi'ndeki 11 palamut popölasyonunun genetik yapısını araştırmak için mtDNA *D-loop* gen dizilimi kullanılmıştır; Popölasyon içerisinde düşük genetik çeşitlilik gözlenmesine rağmen, Türkiye'nin Karadeniz ve Marmara Denizi popölasyonlarının Ege ve Akdeniz kıyı popölasyonlarından farklı bir birim olduğunu ortaya çıkarmıştır. Adriyatik Denizi popölasyonlarının ise Türkiye denizlerindeki popölasyonlardan farklı bir genetik birim olduğunu bildirmiştir (Turan vd.,2015).

Nomura vd. (2014) tarafından yapılan çalışmaya göre; Kuzey Pasifik Okyanusu'ndaki Pasifik mavi yüzgeçli orkinos ve sarı yüzgeçli orkinos'un genetik popölasyon yapısı mtDNA gen bölgesi analiz edilerek karşılaştırılmıştır. Nomura vd. Pasifik mavi yüzgeçli orkinos'un (Gölge balığı, lüfer gibi göçmen bir tür) veya okyanusun zıt kıyılarındaki sarı yüzgeçli orkinos'un coğrafi popölasyonları arasında türleri açısından genetik bir farklılaşma olmadığını bildirmiştir. Lüferin uzun mesafeler göç etmeye yeteneğinden dolayı da ülkemizdeki popölasyonların birbirine karışabildiği söylenebilir (Nomura vd. 2014)

Theisen vd. (2008) çalışmasına göre: 1998-2006 yılları arasında toplanan 322 adet vahu (*Acanthocybium solandri*) balık örneklerinin *Cyt-b* dizi analizinde düşük nükleotid çeşitliliği ($\pi = 0,005-0,007$) ile yüksek haplotip çeşitliliği bulunmuş, polimorfik vahu balığının tüm *Cyt-b* haplotiplerinin coğrafi bölge aralığında homojen olarak dağıldığını ve moleküler varyans analizine göre varyasyon kaynağının: okyanuslar arasında %0,91, ve bireyler arasında ise % 99,85 olarak hesaplandığını bildirmişlerdir. Bizim bulduğumuz AMOVA analiz sonuçlarıyla kıyaslanırsa hem *COI* (Tablo 11) hem de *16S rRNA* (Tablo 14) 'e ait sonuçlar ile çok yakın olduğu söylenebilir (Theisen vd., 2008)

Lüfer üzerinde yapılan genetik çalışmalarda Mikrosatelit analizleri incelendiğinde ise; lüfer popülasyonların genetik yapısının belirlenmesi için Dos Santos vd. (2008) un yaptığı 8 lokus üzerindeki çalışmadan yararlanılmıştır. Santos; G. Afrika sahillerinde Mozambikten Namibra'ya kadar geniş dağılım gösteren lüfer (*Pomatomus saltatrix*) balığı popülasyonları aralarındaki 8 polimorfik bölge üzerindeki mikrosatelit primer dizaynı yaparak uyguladıkları çalışmalarında 8 polimorfik bölgede (ELF-17-19-37-39-44-46-49-50) lokuslar arasında yüksek oranda polimorfik farklılık görüldüğünü, ELF-19-37-39-44-46-50 lokusları null alellerin varlığına aşırı miktarda homozigotluk gösterdiğini bildirmişlerdir. Lokusların 18-37 alel (ortalama 24 alel/lokus) ile oldukça polimorfiktir ve her iki popülasyonda da gözlenen heterozigotluk yüksekti (0,79). Bizim çalışmamızda 433 örnek üzerinden ve 14 popülasyonda 8 farklı mikrosatelit lokusu çalışılmıştır. Dos Santos çalışmasında 195 alel tespit etmiş. Bizim bulduğumuz bütün lokuslar için toplam 207 alel belirlenmiştir. Birbirine oldukça yakın bir değer. Elf-44 lokusunun 1 alel ile monomorfik olmasına rağmen diğer lokusların polimorfik olduğu belirlenmiştir. Dos Santos ortalama olarak 24,4 aleles/locus hesaplamıştır. Bizim değerimiz 29,4 aleles/locus çok yakın bir değer hesaplanmıştır (ELF 44 hariç tutulursa). Lokuslardan birisi hariç (ELF 44) diğerlerinin polimorfik olduğu (min. 5 ve max. 52 alel ile) tespit edilmiştir. 8 lokusun üçünde ise Hardy-Weinberg dengesinden sapma olduğu (ELF 19-49-50) ve sekiz lokusun altısında (ELF 44 ve 50 hariç) null alel varlığı tespit edilmiştir (Tablo 16). Her Lokusta en fazla görülen alel sayıları sırayla ELF 17: 22, ELF 37: 47, ELF 49: 27, ELF 19: 29, ELF 39: 52, ELF 46: 24, ELF 44:1 ve ELF 50: 5 şeklindedir. Gözlenen (H_o) heterozigot değerleri bakımından en yüksek ELF 50 (H_o : 0,991) iken en düşük değer ELF 19 (H_o : 0,716) dir. Beklenen (H_e) heterozigot değerleri bakımından en yüksek ELF 39 (H_e : 0,952) iken en düşük değer ELF 50 (H_e : 0,518)'dir (Dos Santos vd., 2008).

Mirales vd. (2014b) çalışmasındaki Bayesian analizi ($K=3$); lüferin genetik mesafelerle tespit edilen aynı üç kümeye karşılık gelen ancak aralarında orta düzeyde

bir karışım bulunan ($K=3$ Structure testinin mitokondriyal ve nükleer F_{ST} sonuçları ve AMOVA analiz sonuçlarına göre bu üç farklı genetik birim aralarında bir miktar geçirgenlik olduğunu ortaya çıkardığını) üç farklı genetik birime ait olduğunu doğruladığını bildirmişlerdir. Çalışmamızda elde edilen verilerden Structure programı ile yapılan kümeleme analizi ile de $K = 2$ ve $K = 3$ için 14 bölgedeki bireyler farklı bir kümeye atanmamıştır. Bu sonuç bizlere tüm kümelerde karışmış bireylerin olduğu ve düşük genetik farklılaşma olduğu göstermektedir (Şekil 20; Mirales vd. 2014b).

Mirales vd. (2014b) mikrosatelit lokus AMOVA testi sonuçlarına göre lokustaki en yüksek varyasyon yüzdesi popülasyonlar içindeydi (%93,72; $P < 0,001$). Mikrosatelit lokus AMOVA testi sonuçlarımızla (bireyler içerisinde %95, bireyler arasında %4) ile benzerlik göstermektedir (Tablo 18). Aynı çalışmanın bir başka sonucu da Cebelitarık Boğazı, Lüfer için gen akışına bir engel olmadığını çünkü boğazın iki yakasındaki İspanyol örnekleri (Cadiz ve Barselona) aralarında önemli bir farklılık göstermediğini bildirmiştir (Mirales vd. 2014b).

DNA dizi analizi sonuçlarına göre popülasyonlar içi genetik farklılığın popülasyonlar arasına göre daha fazla olduğu belirlenmiştir. Mikrosatelit AMOVA analizi sonucunda ise genetik farklılaşmanın bireyler içerisinde yüksek olduğu gözlemlenirken F_{ST} değeri 0,010 bulunmuştur. Dizi analizinden elde edilen varyasyon sonuçlarıyla mikrosatelit varyasyon sonuçlarının birbirine yakın olduğu görülmektedir (Şekil 19, Tablo 11-14).

Popülasyonlar arasındaki gen akışını belirleme metotlarından bir diğeri de özel alel hesaplamalarıdır. Gen akışının düşük olduğu hallerde mutasyon nedeniyle popülasyonlardaki özel alel frekansı yüksek çıkarken, gen akışının yüksek olduğu durumda ise popülasyonlardaki özel alel frekansı tam tersi düşük çıkmaktadır (Slatkin, 1985). İncelenen lüfer popülasyonlarının hepsinde toplam özgün alel sayısı 61 olarak belirlenmiş olup özel alel frekansları da 0-0,233 arasında değişmektedir (Tablo 17). Çalışmamızda; Popülasyonlara özgün alellerin sayısının genel olarak az olduğu (ortalama 4,4) görülmüştür. En fazla Adana'da 9, en az Giresun'da 1 alel belirlenmiştir. Öztürk, 2018 yılındaki beyaz kum midyesi üzerindeki çalışmasında bazı popülasyonlarda özgün alele rastlamadığını ya da sadece 1 alele rastlamış olduğunu bildirmiştir. Dolayısıyla popülasyonlar arasında gen akışının olduğu söylenebilir.

Öztürk; 2018 yılında yaptığı çalışmada, *C. gallina* midyesinin Karadeniz, Marmara Denizi, Akdeniz, Adriyatik Denizi ve Atlantik Okyanusu'ndaki popülasyonlarının 13 adet mikrosatelit bölgenin analizi ve mitokondriyal DNA'nın COI ve 16S rRNA gen bölgelerinin sekans analizi yapılarak popülasyonların genetik

yapısının tanımlanması ve popülasyonlar arasındaki genetik ilişkisi belirlenmiştir. 16S *rRNA* gen bölgesinde 8, *COI* gen bölgesine ait 14 haplotip elde etmiş. Ayrıca mikrosatelit lokusların alel sayılarının 4 ile 34 arasında değişim gösterdiği, popülasyonlar arasında genetik benzerliğin yüksek olduğunu, PCoA ve Bayesian kümelenme analiz sonuçlarına göre popülasyonlar arası anlamlı bir farklılaşma olmadığı, sadece Sinop popülasyonunun diğerlerinden yapısal olarak farklı olduğu, popülasyonlar arasında genetik benzerliğin yüksek olduğu, düşük özgün alel sayısının gen akışının olduğunu gösterdiği belirlenmiştir (Öztürk, 2018).

Mikrosatelit lokuslarındaki null alel varlığı nedeniyle popülasyonlar arası F_{ST} değerlerini hesaplar iken ENA metodu kullanılmıştır (Tablo 21a-b). Popülasyonlar arası F_{ST} değerlerinin 0,05'den düşük F_{ST} değeri dikkate alınmayacak seviyede bir genetik farklılığı, 0,25'den büyük değerler ise önemli bir genetik farklılığı (gen akışının az olduğunu) ifade etmektedir (Weir ve Cockerham, 1996). F_{ST} değerinin 0,0 ile 0,042 arası değerde düşük çıkmış olması popülasyonlar arası genetik farklılığın olmadığını göstermiş ve popülasyonlar arası gen akışının olduğu desteklemektedir (Tablo 21b).

F_{ST} Kullanılarak Oluşturulan PCoA Grafiğinde Mersin popülasyonunun diğer popülasyonlardan tamamen ayrı kümelendiği, Bodrum ve Adana'nın birlikte, Ereğli, Samsun ve İğneada'nın da ayrı kümelenecek diğerlerinden ayrıldığı söylenebilir (Şekil 18). Uzun mesafe boyunca göç etme yeteneği olan balık türleri için genetik farklılaşmanın nedeni genelde farklı yumurtlama bölgelerinin olması ve okyanuslarda oluşan akıntılar, girdap gibi hareketlerin yumurta ve larvaların yayılımını sınırlandırabilecek engeller gibi unsurlar olduğu bildirilmektedir (Alvarado-Bremer vd., 1998; Zardoya vd., 2004). Birbirine yakın bölgeler arasında su katmanının farklılığından dolayı gen alışverişi çok az olabiliyor iken, birbirinden uzak alanlar arasında deniz akıntılarının dolayı fazlaca gen alışverişi olabilir (Mitarai vd., 2009). Mersin örneklerinin elde edildiği konum nispeten larval yayılımı sınırlandıran korunumlu bir bölge olabilir ya da bunun nedeninin Mersin örneklerinin Mersin körfezinde kalıcı bir yerel popülasyon olabileceği düşünülmektedir.

Mersin popülasyonunun diğer popülasyonlardan farklı bir şekilde kümelendiği açıkça görülmesine rağmen Mantel testine göre, genetik ve coğrafi mesafe arasında düşük bir korelasyon ($R^2 = 0.366$, $P = 0.01$) tespit edilmiştir. Genetik ve coğrafik mesafe arasındaki regresyon eğiminin düşük oluşu mesafe ile popülasyonlar arası genetik olarak anlamlı bir farklılaşma olmadığı yani izolasyon olmadığını göstermektedir. PCoA analizine göre popülasyonlar arasında genetik olarak önemli

derecede bir farklılaşma meydana gelmediği, sadece Mersin popülasyonunun diğer popülasyonlara oranla yapısal anlamda farklı olduğu gözlenmiştir.

Sabates vd. (2012) yayınladıkları çalışmada Kuzey Batı Akdeniz’de 1980’ lerde ve 1997’lerde artan yüzey suyu sıcaklığından dolayı Batı Akdeniz’de lüfer dağılım alanı kuzeye doğru (Türkiye kıyıları) genişlemiş ve türler yeni dağılım alanlarında ürediğini bildirmişlerdir (Sabates vd., 2012). Bizim yaptığımız çalışmada ise *COI* gen bölgesinin Hap-1’in (GenBank erişim numarası: PP758548) çok yaygın olduğu (360 örnekten 320’sinde görüldüğü), *16S rRNA* gen bölgesinin de görülen hap-2’nin (GenBank erişim numarası: PP734703) 303 örnekten 292’sini temsil ettiği görülmektedir.

Bal’ın 2015’te yürüttüğü çalışmada; dört istasyonda 131 adet lüfer balığı üzerinde metrik ve meristik özellikler incelemiştir. Yapılan analiz sonuçlarına göre, farklı istasyonlardan alınan örneklerin morfolojik açıdan yüksek derecede benzerlik gösterdiği, bu türe ait alt türlerinin mevcut olmadığı ve tüm ülkemiz denizlerinde göçmen bir tür olduğu sonucuna varılmıştır (Bal, 2015).



5. SONUÇ VE DEĞERLENDİRME

Literatürdeki çalışmaları genel olarak değerlendirecek olursak sonuç olarak şunları söyleyebiliriz; lüfer, ailenin tek üyesidir ve yüksek göç oranı nedeniyle geniş coğrafi dağılım göstermektedir. Lüferlerin mevsimsel göç hareketleri farklı kıyı bölgelerindeki lüfer balıklarının karışmasına neden olduğunu göstermektedir. Çalışmamız; Akdeniz ve Ege bölgesindeki popülasyonlarda genetik çeşitliliğin daha fazla olduğu görülmesine rağmen, tüm kümelerde karışık bireylerin varlığı ve düşük genetik farklılaşmayı, gen akışının kapsamlı olduğunu ve genetik değişime yönelik engellerin asgari düzeyde olduğunu, Türkiye’deki lüfer popülasyonları arasında yüksek derecede genetik karışım olduğunu göstermektedir. Gerek *COI* gerek se *16S rRNA* dizi analizlerinden bulunan haplotip çeşitliğine değinecek olunursa; Akdeniz ve Ege bölgesindeki popülasyonlarda genetik çeşitliliğin daha fazla olduğu görülmektedir. Türkiye kıyılarındaki lüfer popülasyonları üzerindeki en çok avcılığın Boğazlar bölgesinde, özellikle de göç dönemlerinde meydana geldiği ve Marmara’dan Karadeniz’e doğru ters yönlü göçleri esnasında, göç yolları üzerinde aşırı kirlilik ve yoğun av baskısına maruz kalmaları sonucunda stokların giderek azaldığı bildirilmektedir (TAGEM/HAYSÜD/2013/A11/P-02/4). Bu nedenle sürdürülebilir bir lüfer balıkçılığı için göç yolları üzerinde lüfer avcılığının kontrol altına alınması Marmara ve Karadeniz’deki popülasyonların genetik çeşitliliği açısından da önemli görülmektedir.

Sürdürülebilir balıkçılık yönetiminin temellerinden biri de biyolojik birimlerin, yani popülasyonların doğru şekilde tanımlanmasıdır. Bu çalışma; ülkemizde doğal lüfer popülasyonları üzerine yapılan sınırlı sayıda çalışmaya öncülük ederek, genetik verilerin karşılaştırmalarda kullanılmasını mümkün kılan bir veri tabanının oluşturulmasına katkı sağlamıştır. Popülasyonlar içi ve arası genetik farklılık, genlerin frekansı ve buna etki eden mutasyon ve seleksiyon gibi kuvvet faktörlerinin de belirlenmesi ile ölçülen heterozigotluk, lüfer balığının genetik kaynaklarının işletilmesi ve korunması için planlama yapılmasına katkı sağlamasının yanı sıra lüfer balığının Türkiye’deki gen kaynaklarının korunmasına yönelik de ayrıntılı bir çalışmadır. Bu sayede sadece bu tür için değil diğer balık ve havza çalışmaları için de model oluşturulmuştur. Ayrıca elde edilen bulgular, son zamanlarda dünyada farklı çalışmalarda uygulamalarını gördüğümüz genetik metotların, koruma ve balıkçılık yönetimi bilgi birikimine katkı sağlayacaktır.

Bunun yanında lüfer popölasyon yapısını ve genetik bağlantısını tam olarak anlamak için de daha geniş coğrafi örnekleme ve gelişmiş genomik teknikleri içeren (tüm genom çalışmaları) daha fazla çalışmaya ihtiyaç olduğunu göstermektedir.



KAYNAKLAR

- Abdi, G., Singh, S., Selvakumar, S., Dhar, S. K., Mugdal, G., Swaminathan, P., ...ve Tarighat, M. A. (2024). DNA Barcoding and its Applications. *Advances in Genomics*. Springer, Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-97-3169-5_5
- Abramovs, N, Brass, A. ve Tassabehji, M. (2020). Hardy-Weinberg Equilibrium in the Large Scale Genomic Sequencing Era. *Frontiers in Genetics*.13;11:210. doi: 10.3389/fgene.2020.00210.
- Akaike, H. (1974). A new look at the statistical model identification. *IEEE Transactions on Automatic Control*, 19, 6, 716-723, doi: 10.1109/TAC.1974.1100705
- Akşiray, F. (1987). Pomatomidae. Türkiye Deniz Balıkları ve Tayin Anahtarı. *İstanbul Üniversitesi Rektörlüğü Yayınları*, 370-372.
- Allendorf, F. W. ve Luikart, G. (2007). Conservation and Genetics of Populations. *Blackwell. Journal of Heredity*, 97-6, 612-613 <https://doi.org/10.1093/jhered/esl039>
- Alvarado-Bremer, J. R., Mejuto, J., Gómez-Márquez, J., Viñas, J., Boán, F., Carpintero, P.,...ve Ely, B. (1999). “Hierarchical analysis of nucleotide diversity reveals extremely low levels of mitochondrial DNA gene flow between northeast Atlantic and Mediterranean swordfish populations”. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 327,2, 27
- Bal, H. (2015). *Türkiye Denizlerinde Yaşayan Lüfer Balığı (Pomatomus saltatrix, Linnaeus, 1766) Popülasyonlarının Morfolojik Bakımdan İncelenmesi ve Güney Marmara Denizi Popülasyonunun Bazı Biyolojik Özelliklerinin Araştırılması Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi, 2015*
- Bal, H., Yanık, T. ve Türker, D. (2018). Growth and reproductive characteristics of the Bluefish *Pomatomus saltatrix* (Linnaeus, 1766) in the Marmara Sea. *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 35(1): 95-101. doi:10.12714/egejfas.2018.35.1.15.

- Barba, M., Czosnek, H. ve Hadidi, A. (2014). Historical Perspective, Development and Appli-cations of Next Generation Sequencing in Plant Virology. *Viruses*.6(1), 106-136. <https://doi.org/10.3390/v6010106>
- Barendse, W., Vaiman, D., Kemp, S. J., Sugimoto, Y., Armitage, S. M., Williams, J. L., ...ve Zaragoza, P. (1997). A medium density Genetic linkage map of the bovine genome. *Mammalian Genome* 8, 21–28 (1997). <https://doi.org/10.1007/s003359900340>
- Bilecenoglu, M., Kaya, M., Cihangir, B. ve Cicek, E. (2014). An updated checklist of the marine fishes of Turkey. *Turkish Journal of Zoology*, 38, 901-929. <https://doi.org/10.3906/zoo-1405-60>
- Bolormaa, S., Ruvinsky, A., Walkden-Brown, S. ve Van Der Werf, J. (2008). DNA based Parentage verification in two Australian goat herds. *Small Ruminant Research*, 80:95-100. <https://doi.org/10.1016/j.mallrumres.2008.08.005>
- Briggs, J. C. (1960). Fishes of world-wide (circumtropical) distribution. *Copeia, American Society of Ichthyologists and Herpetologists*, 1960, 3, 171-180. <https://doi.org/10.2307/1439652>
- Buckel, J.A., Fogarty, M.J. and Conover, D.O. (1998) Foraging Habits of Bluefish, *Pomatomus saltatrix*, on the U.S. East Coast Continental Shelf. *Fisheries Bulletin*, 97, 758-775.
- Canon, J., Checa, M. L., Carleos, C., Vega-Pla, J. L., Vallejo, M. ve Dunner, S. (2000). The GeNetic structure of Spanish Celtic horse breeds inferred from microsatellite data. *Animal Genetics*, 31, 39-48. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2052.2000.00591.x>
- Ceyhan, T. (2005). *Kuzey Ege ve Marmara Bölgesinde (Pomatomus saltatrix L., 1766) Balığı Avcılığı ve Bazı Popülasyon Özellikleri Üzerine Araştırmalar. Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi, İzmir.*
- Chapuis, M., P. ve Estoup, A. (2007). Microsatellite Null Aleles and Estimation of Population Differentiation, *Molecular Biology and Evolution*, 24, 621-631. <https://doi.org/10.1093/molbev/msl191>

- Cristina, L. (2023). Role of Mitochondria in Energy Production and Metabolism. *Biology and Medicine*. 15:563.
- Da Fonseca, R. R., Johnson, W. E., O'Brien, S. J., Ramos, M. J. ve Antunes, A. (2008). The adaptive evolution of the mammalian mitochondrial genome. *BMC Genomics*, 9, 119. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-9-119>
- Di Rienzo, A., Peterson, A. C., Garza, J. C., Valdes, A. M., Slatkin, M. ve Freimer, N. B. (1994). Mutational Processes of Simple Sequence Repeat Loci in Human Populations, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 91,8, 3166–3170.
- Dos Santos, S. M., Klopper, A. W., Oosthuizen, C. J. ve Bloomer, P. (2008). Isolation and characterization of polymorphic tetranucleotide microsatellite loci in the pelagic perciform fish *Pomatomus saltatrix* (Linnaeus, 1766) from South Africa. *Molecular ecology resources*, 8 (5), 1065–1067. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2008.02156.x>
- Excoffier, L., Smouse, P. E. ve Quattro, J. M. (1992). Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics*, 131 (2), 479–491. doi.org/10.1093/genetics/131.2.479
- Excoffier, L. ve Lischer, H. E. (2010). Arlequin Suite ver 3.5: A New Series of Programs to Perform Population Genetics Analyses Under Linux and Windows, *Molecular Ecology Resource*, 10, 564–567.
- Falush, D., Stephens, M. ve Pritchard, P. J. (2003). Inference of Population Structure Using Multilocus Genotype Data: Linked Loci and Correlated Allele Frequencies, *Genetics*, 164, 1567–1587.
- Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., Lutz, R. ve Vrijenhoek, R. (1994). DNA primers for Amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*. 3, 294–299

- Fonseca, M. M., Posada, D. ve James Harris, D. (2008). Inverted Replication of Vertebrate Mitochondria, *Molecular Biology and Evolution*, 25, 5. 805–808, <https://doi.org/10.1093/molbev/msn050>
- Fujikura K. (2015). No-wash ethanol precipitation of dye-labeled reaction products improves DNA sequencing reads. *Analytical Biochemistry*, 468, 39–41. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2014.09.010>
- Georges, M., Mishra, A., Sargeant, L., Steele, M. ve Zhao, X. (1990). Progress towards a Primary DNA marker map in cattle. *Genome Research*; 14 (10a) :1987–1998. doi: 10.1101/gr.2741704
- Glaubitz, J. C. (2004). Convert: A User-Friendly Program to Re-Format Diploid Genotypic Data for Commonly Used Population Genetic Software Packages, *Molecular Ecology Notes*, 4, 2, 309-310.
- Graffelman, J., Jain, D. ve Weir, B. (2017). A genome-wide study of Hardy–Weinberg Equilibrium with next generation sequence data. *Human Genetics*. 136, 727–741. <https://doi.org/10.1007/s00439-017-1786-7>
- Goodbred, C. O. ve John, E. G. (1996). "Genetic relationships among geographically isolated populations of bluefish (*Pomatomus saltatrix*)". *Marine and Freshwater Research* 47.2 (1996): 347-355.
- Goudet, J. (2001). FSTAT, Version. 1.2: A computer program to calculate F-statistics. *Heredity*. 86. 485-486.
- Guzvic, M. (2013). The History of DNA Sequencing. *Journal of Medical Biochemistry*. 32 (4), 301-312
- Hajibabaei, M., Smith, M. A., Janzen, D. H., Rodriguez, J. J., Whitfield, J. B. ve Hebert, P. D. N. (2006). A minimalist barcode can identify a specimen whose DNA is degraded. *Molecular Ecology Notes*, 6, 959–964
- Hall, T. A. (1999). BioEdit: A User-Friendly Biological Sequence Alignment Editor and Analysis Program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*, 41, 95-98.
- Hebert, P. D. N., Cywinska, A, Ball, S. L. ve De Waard, J. R. (2003). Biological identifications through DNA barcodes. Proceedings of the Royal Society of London. Series B, *Biological Sciences*, 270, 313–322.

- Holley, R.W., Everett, G. A., Madison, J. T. ve Zamir, A. (1965). Nucleotide Sequences in the Yeast Alanine Transfer Ribonucleic Acid. *The Journal of Biological Chemistry*, 240 (5), 2122-2128.
- Juanes, F., Marks, R. E., Mckown, K. A. ve Conover, D. O. (1993). Predation by Age-0 Bluefish on Age-0 Anadromuous Fishes in Hudson River Estuary. *Transactions of the American Fisheries Society*, 122:348-356 p.
- Juanes, F. ve Conover, D. O. (1994). Rapid growth, high feeding rates and early piscivory in young-of-the year Bluefish (*Pomatomus saltatrix*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. <https://doi.org/10.1139/f94-176>
- Juanes, F., Hare, J. A. ve Miskiewicz, A. G. (1996). Comparing Early Life History Strategies of *Pomatomus saltatrix*: A global Approach. *Marine Freshwater Research*, 47, 365-379
- John, E. G., Jan, R. M., Ana, M. B. ve Daniel, R. S. (1992). Stock structure of the bluefish *Pomatomus saltatrix* along the mid-Atlantic coast. *Fishery Bulletin*. 90-4. 703-710
- Kalaycı, F., Yeşilçiçek, T. ve Şahin, C. (2019). Lüfer Balığı'nın (*Pomatomus saltatrix* L., 1766) Av Kompozisyonu, Gonadosomatik İndeks ve Kondisyon Faktörü. *Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences*, 4,2, 97-103
- Kalinowski, S. T., Taper, M., L. ve Marshall, T. C. (2007). Revising How The Computer Program Cervus Accommodates Genotyping Error Increases Success in Paternity Assignment, *Molecular Ecology*, 16, 1099-1106.
- Leigh, J. W. ve Bryant, D. (2015). POPART: full-feature software for haplotype Network Construction. *Methods in Ecology and Evolution*, 6 (9), 1110-1116. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12410>
- Lewontin, R. (1964). The Interaction of Selection and Linkage. I. General Considerations Heterotic Models. *Genetics*. 49 (1): 49-67. doi: 10.1093/genetics/49.1.49.
- Li, M. H., Zhao, S. H., Bian, C., Wang, H. S., Wei, H., Liu, B.,...ve Li, K. (2002). Genetic Relationships among twelve Chinese indigenous goat populations based on microsatellite analysis. *Genetics Selection Evolution* 34, 729-744. <https://doi.org/10.1186/1297-9686-34-6-729>

- Liu, B. H. (1998). Statistical genomics: Linkage, mapping, and QTL analysis. *CRC Press LLC, Boca Raton New York*. 1998.
- Liu, K. ve Muse, S. W. (2005). Power Marker: An Integrated Analysis Environment for Genetic Marker Analysis, *Bioinformatics*, 21, 2128–2129.
- Luikart, G., Allendorf, F. W., Cornuet, J. M. ve Sherwin, W. B. (1998). Distortion of Alele Frequency Distributions Provides a Test for Recent Population Bottlenecks, *Journal of Heredity*, 89,3, 238–247.
- Mackie, I. M., Pryde, S. E, Gonzales-Sotelo, C., Medina, I., Perez-Martin, R. I., Quinteiro, J., ...ve Rehbein, H. (1999). Challenges in the identification of species of canned fish. *Trends in Food Science & Technology*, 10, 1, 9-14. [https://doi.org/10.1016/S0924-2244\(99\)00013-8](https://doi.org/10.1016/S0924-2244(99)00013-8)
- Maxam, A. M. ve Gilbert, W. A. (1977). A New Method for Sequencing DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 74 (2), 560-564.
- McCormick, E. M., Muraresku, C. C. ve Falk, M. J. (2018). Mitochondrial Genomics: A Complex field now coming of age. *Current Genetic Medicine Reports*. 6 (2): 52-61. <https://doi.org/10.1007/s40142-018-0137-x>
- Miralles, L., Juanes, F. ve Garcia-Vazquez, E. (2014a). Interoceanic Sex-Biased Migration in Bluefish, *Transactions of the American Fisheries Society*, 143:5, 1308-1315, DOI: 10.1080/00028487.2014.935480
- Miralles, L., Juanes, F., Pardiñas, A. F. ve Vazquez, E. G. (2014b). Paleoclimate Shaped Bluefish Structure in the Northern Hemisphere, *Fisheries*, 39, 12, 578-586, DOI: 10.1080/03632415.2014.976701
- Miralles, L., Mrugala, A., Sanchez-Jerez, P., Juanes, F. ve Garcia-Vazquez, E. (2016). Potential Impact of Mediterranean Aquaculture on the Wild Predatory Bluefish, *Marine and Coastal Fisheries*, 8:1, 92-99, DOI: 10.1080/19425120.2015.1125977
- Mantel, N. (1967). The Detection of Disease Clustering and a Generalized Regression Approach, *Cancer Research*, 27, 209–220.
- Mitarai, S., Siegel, D. A., Watson, J. R., Dong, C. ve McWilliams, J. C. (2009). Quantifying Connectivity in The Coastal Ocean with Application to The Southern California, *Bight, Journal of Geophysical Research*, 114, C10026

- Nadeem, M. A., Nawaz, M. A., Shahid, M. Q., Doğan, Y., Comertpay, G., Yıldız, M., ...ve Baloch, F. S. (2017). DNA molecular markers in plant breeding: current status and recent advancements in genomic selection and genome editing. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 32 (2), 261–285. doi.org/10.1080/13102818.2017.1400401
- Nei, M. (1987). Molecular evolutionary genetics. *Columbia University Press*, New York, NY, USA, p. 180
- Nomura, S., Kobayashi, T., Agawa, Y., Margulies, D., Scholey, V., Sawada, Y. ve Yagishita, N. (2014). Genetic population structure of the Pacific bluefin tuna *Thunnus orientalis* and the yellowfin tuna *Thunnus albacares* in the North Pacific Ocean. *Fisheries Science*. 80. 1193-1204. 10.1007/s12562-014-0789-8.
- Nurthen, R. K., Cameron, R. ve Briscoe, D. A. (1992). Population genetics of Tailor, *Pomatomus saltatrix* (Linnaeus) (Pisces: Pomatomidae), in Australia. *Marine and Freshwater Research*. 43: 1481-1486.
- Özdemir, F. (2013). *Türkiye'deki Capoeta (Teleostei: Cyprinidae) Cinsine Ait Tür ve Alttürlerin Klasik ve Moleküler Sistemik Yöntemler Kullanılarak Revizyonu. Hacettepe Üniversitesi, Biyoloji Anabilim Dalı Doktora Tezi. Haziran 2013.*
- Öztürk, R. Ç. (2018). *Beyaz Kum Midyesi (Chamelea gallina, Linnaeus, 1758) popülasyonlarının genetik yapısının belirlenmesi. Doktora tezi. Karadeniz Teknik Üniversitesi / Fen Bilimleri Enstitüsü / Balıkçılık Teknolojisi Mühendisliği Ana Bilim Dalı-2018*
- Pádár, Z., Angyal, M., Egyed, B., Füredi, S., Woller, J., Zöldág, L. ve Fekete, S. (2001). Canine microsatellite polymorphisms as the resolution of an illegal animal death case in a Hungarian Zoological Gardens. *International Journal of Legal Medicine*, 115, 79–81. 10.1007/s004140100222

- Palumbi, S. R. (1996). Nucleic acids II: the polymerase chain reaction. *Molecular Systematics*, 2nd edition. 205-247. Sinauer & Associates Inc., Sunderland, Massachusetts.
- Pardiñas, A. F., Campo, D., Pola, I. G., Miralles, L., Juanes, F. ve Garcia-Vazquez, E. (2010). Climate change and oceanic barriers: genetic differentiation in *Pomatomus saltatrix* (Pisces: Pomatomidae) in the North Atlantic Ocean and the Mediterranean Sea. *Journal of Fish Biology*, 77 (8), 1993–1998. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2010.02774.x>
- Peakall, R. ve Smouse, P. E. (2006). GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research, *Molecular Ecology Notes*, 6, 288-295.
- Piry, S., Luikart, G. ve Cornuet, J. M. (1999). BOTTLENECK: A Computer Program for Detecting Recent Reductions in The Effective Population Size Using Allele Frequency Data, *Journal of Heredity*, 90, 502-503.
- Powell, W., Machray, G. C. ve Provan, J. (1996). Polymorphism Revealed by Simple Sequence Repeats. *Trends in Plant Science*, 1 (7), 215-221.
- Pritchard, J., Stephens, M. ve Donnelly, P. (2000). Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 2000 155: 945-959.
- Raymond, M. ve Rousset, F. (1995). GENEPOP (Version 1.2): Population Genetics Software for Exact Tests and Ecumenicism. *Journal Of Heredity*, 86 (3), 248-249. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.jhered.a111573>
- Reid, K., Hoareau, T. B., Graves, J. E., Potts, W. M., Dos Santos, S. M., Klopper, A. W. ve Bloomer, P. (2016). Secondary contact and asymmetrical gene flow in a cosmopolitan marine fish across the Benguela upwelling zone. *Heredity (Edinb)*. 117, 307–315 (2016). <https://doi.org/10.1038/hdy.2016.51>
- Rienzo, A. D., Peterson, A. C., Garza, J. C., Valdes, A. M., Slatkin, M. ve Freimer, N. B. 1994. Mutational Processes of Simple Sequence Repeat Loci in Human Populations, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 91,8, 3166–3170.

- Rousset, F. ve Raymond, M. (1997). Statistical Analyses of Population Genetic Data: New Tools, Old Concept. *Trends in Ecology & Evolution*, 12, 313-317. [http://dx.doi.org/10.1016/S0169-5347\(97\)01104-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0169-5347(97)01104-X)
- Rousset, F. (2008). Genepop'007: A Complete Re-implementation of the Genepop Software for Windows and Linux, *Molecular Ecology Resources*, 8, 103-106
- Rozas, J. ve Rozas, R. (1999). DnaSP version 3: an integrated program for molecular population genetics and molecular evolution analysis. *Bioinformatics*, 15: 174-175
- Sabatés, A., Martín, P. ve Raya, V. (2012). Changes in life-history traits in relation to climate change: bluefish (*Pomatomus saltatrix*) in the northwestern Mediterranean. *ICES Journal of Marine Science*, 69: 1000–1009.
- Saeed, A. F., Wang, R. ve Wang, S. (2016). Microsatellites in Pursuit of Microbial Genome Evolution. *Frontiers in Microbiology*. 6:1462. doi: 10.3389/fmicb.2015.01462
- Salerno, D. J., Burnett, J. ve Ibara, R. M. (2001). Age, growth, maturity and spatial distribution of bluefish, *Pomatomus saltatrix* (Linnaeus), off the Northeast coast of the United States, *Journal of Northwest Atlantic Fishery Science*, 29: 31-39.
- Sanger, F., Nicklen, S. ve Coulsen, A.R. (1977). DNA Sequencing with Chain-terminator Inhibitors. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 74 (12), 5463-5467.
- Saygun, S. (2021). The fishes of the Bolaman Stream, Northern Turkey. *Aquatic Research*, 4 (1), 38-54. <https://doi.org/10.3153/AR21004>
- Schneider, S., Roessli, D. ve Excoffier, L. (2000). ARLEQUIN, Version 2.0: A Software for population genetic data analysis, *Genetics and Biometry Laboratory*, University of Geneva, Switzerland.
- Schwarz, G. (1978). Estimating the Dimension of a Model. *The Annals of Statistics*, 6, 2. 461-464.
- Semina, A. V., Polyakova, N. E. ve Brykov, A. (2007). Analysis of Mitochondrial DNA: Taxonomic and Phylogenetic Relationships in Two Fish Taxa (Pisces: *Mugilidae* and *Cyprinidae*, *Biochemistry* (Moscow), 72-12:1355, 2007.

- Severins, I, Szczepaniak, M. ve Joo, C. (2018). Multiplex Single-Molecule DNA Barcoding Using an Oligonucleotide Ligation Assay. *Biophysical Journal*. 18;115(6):957-967. doi: 10.1016/j.bpj.2018.08.013.
- Sevilla, R. G., Diez, A., Noren, M., Mouchel, O., Jerome, M., Verrez-Bagnis, V., ... ve Bautista, J. (2007). Primers and polymerase chain reaction conditions for DNA barcoding teleost fish based on the mitochondrial cytochrome b and nuclear rhodopsin genes. *Molecular Ecology Notes* 7: 730-734.
- Slastenenko, E. (1955-1956). Pomatomidae. Karadeniz Havzası Balıkları. *Et ve Balık Kurumu Umum Müdürlüğü Yayınlarından*, 344-346.
- Slatkin, M. (1985). Rare Aleles as Indicators of Gene Flow, *Evolution*, 39, 53–65.
- Sümer, Ç., Özdemir, S. ve Erdem, Y. (2010). Farklı Göz Açıklıklarında Monofilament ve Multifilament Galsama Ağlarının Lüfer Balığı (*Pomatomus saltatrix* L., 1766) İçin Seçiciliğinin Hesaplanması. *E.Ü. Su Ürünleri Dergisi* 27, 3: 121-124
- TAGEM/HAYSÜD/2013/A11/P-02/4. Çanakkale Boğazı'ndan Hopa'ya: Lüfer (*Pomatomus Saltatrix* L, 1766) Popülasyonunu İzleme Projesi.
- Turan, C., Oral, M., Öztürk, B. ve Düzgüneş, E. (2006). Morphometric And meristic variation between stocks of Bluefish (*Pomatomus saltatrix*) in the Black, Marmara, Aegean and Northeastern Mediterranean Seas. *Fisheries Research*, 79. 139–147
- Tajima, F. (1983). Evolutionary relationship of DNA sequences in finite populations. *Genetics*, 105:437-460.
- Tajima, F. (1989) Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics*, 123, 585–595.
- Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Stecher, G., Nei, M. ve Kumar, S. (2011). MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. *Molecular Biology and Evolution* 28:2731-2739. <https://doi.org/10.1093/molbev/msr121>
- Theisen, T. C., Bowen, B. W., Lanier, W. ve Baldwin, J. D. (2008). High connectivity

on a global scale in the pelagic wahoo, *Acanthocybium solandri* (tuna family Scombridae). *Molecular Ecology*;17 (19):4233-47. doi: 10.1111/j.1365-294x.2008.03913.x. PMID: 19378403.

Turan, C., Gürlek, M., Ergüden, D., Yağlıoğlu, D., Uyan, A., Reyhaniye, A. N., ...ve Soldo, A. (2015). Population genetic analysis of Atlantic bonito *Sarda Sarda* (Bloch, 1793) using sequence analysis of mtDNA D-loop region. *Fresenius Environmental Bulletin*. 45. 231-237

TÜİK, (2022). Su Ürünleri İstatistikleri (Erişim tarihi: 2022)

TÜİK, (2023a). Dış Ticaret İstatistikleri (Erişim tarihi: 2023).

TÜİK, (2023b). Su Ürünleri İstatistikleri (Erişim tarihi: 2023).

TEPGE, (2023). Tarımsal Ekonomi ve Politika Geliştirme Enstitüsü Tepge Ürün Raporu Su Ürünleri, 2023.

Tortonese E. (1986). Pomatomidae. In: Whitehead et al., eds. *Fishes of the Northeastern Atlantic and Mediterranean*. II, 812-813. UNESCO,

Türkan, G. (1959). Lüfer Balıklarının (*Pomatomus saltatrix*, L.) Biyolojisi Hakkında, *Hidrobiyoloji Mecmuası*, İstanbul Ün. Fen Fak., Hidrobiyoloji Enstitüsü, A, V, 1-4, İstanbul, 144-180.

URL-1. www.fishbase.com (E.T. 2023)

Van der Elst, R. P. (1976). Game fish of the east coast of southern Africa.1. The biology of the elf, *Pomafomus saltatrrx* (Linnaeus) in the coastalwaters of Natal. *Investigational Report Oceanographic Research Institute* No. 44, 59 p

Villela, L. B., Rodríguez- Rey, G. T., Henning, F., De Vilasboa, A., Grothues, T., Solé-

Cava, A. M. ve Carvalho, P. H. (2024). Deep genetic divergence among bluefish (*Pomatomus saltatrix*) of the Southwestern Atlantic. *Zoologica Scripta*, 53 (5), 555–570. <https://doi.org/10.1111/zsc.12662>

Virgilio, M., Backeljau, T., Nevado, B. ve De Meyer, M. (2010). Comparative performances of DNA barcoding across insect orders. *Bioinformatics*, 11:1-10

- 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*. 29; 360 (1462):1847-57. doi: 10.1098/rstb.2005.1716.
- Weir, B. S. ve Cockerham, C. C. (1984). Estimating F-statistics for The Analysis of Population Structure, *Evolution*, 38, 1358-1370.
- Weir, B. S. ve Cockerham, C. C. (1996). Genetic Data Analysis II: Methods for Discrete Population Genetic Data, *Sinauer Associates. Inc.*, Sunderland, MA, USA.
- Wilk, S. J. (1977). Biological and fisheries data on bluefish, *Pomatomus saltatrix* (Linnaeus). *Sandy Hook Laboratory Technical Series Report*, No: 11, p. 56, U.S. 201 National Marine Fisheries Service, Northeast Fisheries Science Center, NOAA, Highlands, No: 11, p. 56.
- Wilson, J. J., Sing, K.W. ve Jaturas, N. (2019). DNA Barcoding: Bioinformatics Workflows for Beginners. *Encyclopedia of Bioinformatics and Computational Biology*. 3, 985-995. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809633-8.20468-8>
- Wright S. (1965). The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating. *Evolution*: 1965, 395-420. 3
- Queller, D. C., Strassmann, J. E. ve Hughes, C. R. (1993). Microsatellites and kinship. *Trends in ecology & evolution*, 8 (8), 285-288.
- Queiroz-Brito, M. C. G. de, Machado, C. B., Maia, D. de J. G., Jacobina, U. P., Nirchio, M., Rotundo, M. M.,...ve Torres, R. A. (2022). DNA barcoding reveals deep divergent molecular units in *Pomatomus saltatrix* (Perciformes: Pomatomidae): implications for management and global conservation. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 102 (1-2), 139-151. doi:10.1017/S0025315422000236
- Zardoya, R., Castilho, R., Grande, C., Favre-Krey, L., Caetano, S., Marcato, S.,...ve Patarnello, T. (2004). Differential population structuring of two closely related fish species, the mackerel (*Scomber scombrus*) and the chub mackerel (*Scomber japonicus*), in the Mediterranean Sea. *Molecular Ecology*, 13, 1785-1798.

ETİK KURUL KARARI



T.C.
TARIM VE ORMAN BAKANLIĞI
Su Ürünleri Merkez Araştırma Enstitüsü
Müdürlüğü - Trabzon



Trabzon 21/03/2022

Oturum : Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 2022 Yılı 3.Oturumu
Sayı : 325.04.02-12
Proje Başlığı : Türkiye Kıyılarındaki Lüfer Balığının (*Pomatomus saltatrix*) Genetik Çeşitliliğinin Belirlenmesi
Proje Yürütücüsü : İlyas KUTLU
Proje Ekibi : Şirin FİRİDİN, Zehra Duygu DÜZGÜNEŞ, Ayşe CEBECİ, Melike ALEMDAĞ, Asiye Nur SALTAN
Hayvan Çalışması : Bu çalışmanın hiçbir bölümünde:
İnsan embryosu ve fötüsü kullanılması
İnsan embryosu ve fötüsü dokularının kullanılması
Diğer insan doku ve hücrelerinin kullanılması
İnsanlarda araştırma
İnsan olmayan primatların kullanılması
Hayvanlarda genetik modifikasyon öngörülmemiştir.

Bu çalışma kapsamındaki işlemler balık tezgâhlarından satın alınacak ölü balıklar üzerinde yapılacağından dolayı SUMAE Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Çalışma Yönergesinin 2. maddesinin a bendine göre “Deneyisel olmayan tarımsal uygulamalar” kapsamında olduğundan etik kurul izni alınmasına gerek bulunmamaktadır.

Bu rapor sadece Su Ürünleri Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü birimlerinde yapılacak deneyler için geçerlidir.

Adres : Vali Adil Yazar Cad., 14 Kaşüstü, 61250 Yomra, TRABZON
Santral : (0462) 341 10 53-56
Faks : (0462) 341 11 52
Müdürlük : (0462) 341 10 54-55
E-Posta : sumae@tarimorman.gov.tr

Ayrıntılı Bilgi: Cemil ALTUNTAŞ
Tel: (0462) 341 10 53 – 3120
WEB: <https://arastirma.tarimorman.gov.tr/sumae>

ÖZGEÇMİŞ

Trabzon-Vakfıkebir’de .İlk, orta ve lise öğrenimini Vakfıkebir’de tamamladı. 1992 yılında girdiği KTÜ-Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü’nden 1997 yılında mezun oldu. 1997-1999 yılları arasında yedek subay olarak tamamladığı askerlik görevinden sonra 2000 yılında başladığı iş hayatına Trabzon Su Ürünleri Merkez Araştırma Enstitüsü’nde devam etmektedir. 2010 yılında Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyokimya Anabilim Dalında Yüksek Lisans Eğitimi tamamladı. 2019 yılında başladığı Gümüşhane üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Biyoteknoloji Bölümünde doktora öğrenimi devam etmektedir.

Yayınlar:

- Kutlu, İ., Cebeci, A., Alemdağ, M., Firidin, Ş. ve Düzgüneş, Z.D. (2024). Genetic Diversity of Bluefish Population in Türkiye Coastal. *Genetics of Aquatic Organisms*, 8, GA786. <http://doi.org/10.4194/GA786>
- Kutlu, I., Firidin, S., Duzgunes, Z.D., Alemdag, M., Cebeci, A., ve Turan, İ. (2025). Population Genetic Diversity of Bluefish (*Pomatomus saltatrix* L, 1766) in Coastal of Türkiye. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 25, TRJFAS26010. <http://doi.org/10.4194/TRJFAS26010>
- Kutlu, İ., Düzgüneş, Z.D., Firidin, Ş., Alemdağ, M., Cebeci, A., & Turan, İ. (2025). Population genetics of *Pomatomus saltatrix* (Linnaeus, 1766) in the seas of Türkiye based on microsatellite DNA. *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 42(2), 138-147. <https://doi.org/10.12714/egejfas.42.2.06>