

İZMİR KÂTİP ÇELEBİ ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TÜRKİYE KIYILARINDA DAĞILIM GÖSTEREN *Pomatoschistus*  
*marmoratus* (Risso, 1810) POPÜLASYONLARININ GENETİK YAPI ANALİZİ

DOKTORA TEZİ

Dilruba SEYHAN ÖZTÜRK

SU ÜRÜNLERİ ANABİLİM DALI

KASIM 2019



**İZMİR KATİP ÇELEBİ ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**TÜRKİYE KIYILARINDA DAĞILIM GÖSTEREN *Pomatoschistus*  
*marmoratus* (Risso, 1810) POPÜLASYONLARININ GENETİK YAPI ANALİZİ**

**DOKTORA TEZİ**

**Dilruba SEYHAN ÖZTÜRK**  
**D130107018**

**Su Ürünleri Anabilim Dalı**

**Tez Danışmanı: Prof. Dr. Semih ENGİN**

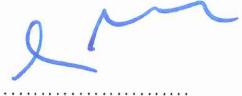
**KASIM 2019**



İKÇÜ, Fen Bilimleri Enstitüsünün D130107018 numaralı Doktora Öğrencisi Dilruba SEYHAN ÖZTÜRK, ilgili yönetmeliklerin belirlediği gerekli tüm şartları yerine getirdikten sonra hazırladığı “TÜRKİYE KIYILARINDA DAĞILIM GÖSTEREN *Pomatoschistus marmoratus* (RISSO, 1810) POPÜLASYONLARININ GENETİK YAPI ANALİZİ” başlıklı tezini aşağıda imzaları olan jüri önünde başarı ile sunmuştur.

**Tez Danışmanı :**

**Prof. Dr. Semih ENGİN**  
İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi



**Jüri Üyeleri :**

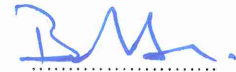
**Prof. Dr. Yusuf BEKTAŞ**  
Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi



**Prof. Dr. Mehmet ÇULHA**  
İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi



**Doç. Dr. Bahar BAYHAN**  
Ege Üniversitesi



**Dr. Öğr. Üyesi Erhan IRMAK**  
İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi



**Teslim Tarihi** : 19.11.2019

**Savunma Tarihi** : 26.11.2019



*Sevgili aileme,*





## ÖNSÖZ

Tez çalışmamın her aşamasında büyük bir titizlik, sabır ve özveriyle, değerli deneyim ve katkılarını hiçbir zaman esirgemeyen danışman hocam Sayın Prof. Dr. Semih ENGİN'e en derin saygı ve teşekkürlerimi sunarım. Desteğini esirgemeyen ekip arkadaşım Dr. Öğr. Üyesi Adnan Çağlar ORUÇ'a, tez izleme komitelerimde tezimin geliştirilmesinde katkıda bulunan sayın hocalarım Doç. Dr. Bahar Bayhan ve Dr. Öğr. Üyesi Erhan Irmak'a teşekkürlerimi sunarım. Değerli tecrübe ve bilgilerini benimle paylaşan ve desteğini her zaman hissettiğimiz sayın hocam Doç. Dr. Yusuf Bektaş'a teşekkürlerimi borç bilirim.

Tüm eğitim hayatım boyunca benden maddi/manevi desteklerini esirgemeyen, her zaman yanımda olan ve beni bugünlere getiren sevgili aileme ve iyi dilekleri ile birlikte desteğini her daim hissettiren sevgili eşime minnettarlığımı ifade etmek isterim ve teşekkürlerimi borç bilirim.

Bu tez İzmir Katip Çelebi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Su Ürünleri Anabilim Dalı doktora programında yapılmış olup, İKÇÜ Bilimsel Araştırmalar Koordinatörlüğü "2017-TDR-FEBE-0038" ve TÜBİTAK "111 T 924" nolu projeler tarafından desteklenmiştir.

KASIM 2019

Dilruba SEYHAN ÖZTÜRK



## İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
<b>ÖNSÖZ</b> .....	<b>vii</b>
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	<b>ix</b>
<b>TABLO LİSTESİ</b> .....	<b>xiii</b>
<b>ŞEKİL LİSTESİ</b> .....	<b>xv</b>
<b>ÖZET</b> .....	<b>xvii</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>xix</b>
<b>1. GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
1.1 Gobiidae Familyasının Genel Özellikleri .....	7
1.2 Kum Kaya Balıkları.....	8
1.2.1 Kum kaya balıklarının taksonomisi.....	11
1.3 Popülasyon Genetiği.....	14
1.3.1 Popülasyonlar üzerinde etkili olan evrimsel süreçler .....	15
1.3.1.1 Mutasyon.....	15
1.3.1.2 Genetik kayma.....	16
1.3.1.3 Gen akışı/Göç .....	18
1.3.1.4 Seçilim .....	19
1.3.1.5 Rastgele olmayan eşleşme.....	19
1.4 Popülasyon Genetiğinde ve Filogenetik Analizlerde Kullanılan Moleküler Teknikler.....	20
1.4.1 Polimeraz zincir reaksiyonu.....	20
1.4.2 DNA dizi analizi.....	21
1.4.3 Mitokondriyal DNA (mtDNA) .....	22
1.5 Filogenetik ve Kullanılan Metotlar .....	25
1.5.1 Uzaklık temelli metodlar .....	25
1.5.1.1 Komşu bağlama metodu (Neighbour joining/NJ) .....	25
1.5.1.2 Minimum evrim metodu (Minimum evolution/ ME) .....	26
1.5.2 Karakter temelli yöntemler .....	26
1.5.2.1 Maksimum tutumluluk metodu (Maximum parsimony/ MP).....	26
1.5.2.2 Maksimum olasılık metodu (Maximum likelihood/ML).....	26
1.5.2.3 Bayesian çıkarılma metodu (Bayesian Inference/BI) .....	27
1.6 Popülasyonların Yapı Analizlerinde Kullanılan Yöntemler.....	27
1.6.1 Nükleotit çeşitliliği ( $\pi$ ).....	27
1.6.2 Haplotip çeşitliliği ( $h$ ).....	28
1.6.3 Genetik mesafenin hesaplanması .....	28
1.6.4 Uyumsuzluk dağılımı analizleri .....	29
1.6.5 Mantel ve tarafsızlık testleri.....	30
<b>2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR</b> .....	<b>33</b>
2.1 Kum Kaya Balıklarını Konu Alan Moleküler Filogenetik Çalışmalar.....	33
2.2 Kum Kaya Balıkları ve <i>P. marmoratus</i> Türünün Popülasyonları ile İlgili Gerçekleştirilen Genetik Çalışmalar .....	37
2.3 <i>Pomatoschistus marmoratus</i> Türü ile İlgili Gerçekleştirilen Biyo-ekolojik Çalışmalar .....	40
<b>3. MATERYAL – YÖNTEM</b> .....	<b>43</b>
3.1 Materyal .....	43

3.2 <i>Pomatoschistus</i> Cinsinin Tür Tayin Anahtarı .....	43
3.2.1 <i>Pomatoschistus marmoratus</i> (Risso, 1810).....	46
3.2.2 <i>Pomatoschistus nanus</i> Engin & Seyhan, 2017 .....	46
3.2.3 <i>Pomatoschistus bathi</i> Miller, 1982 .....	47
3.2.4 <i>Pomatoschistus quagga</i> (Heckel, 1840).....	48
3.2.5 <i>Pomatoschistus adriaticus</i> Miller, 1973.....	48
3.2.6 <i>Pomatoschistus anatoliae</i> Engin & İnnal, 2017 .....	49
3.3 Örneklemeye Çalışmaları.....	49
3.4 Genetik Analizler .....	52
3.4.1 Total genomik DNA'nın ekstraksiyonu .....	52
3.4.2 Oligonükleotidler ve DNA amplifikasyonu .....	52
3.5 Verilerin Değerlendirilmesi.....	55
3.5.1 Filogenetik analizler.....	56
3.5.2 Popülasyon yapı analizleri.....	56
<b>4. BULGULAR .....</b>	<b>57</b>
4.1 COI Geni Temelli <i>P. marmoratus</i> Popülasyon Analizleri .....	57
4.2 cyt-b Geni Temelli <i>P. marmoratus</i> Popülasyon Analizleri.....	70
4.3 <i>Pomatoschistus marmoratus</i> ile Kum Kaya Balıkları Arasındaki Filogenetik İlişkiler .....	83
4.3.1 COI geni temelli filogenetik analizler.....	83
4.3.2 cyt-b geni temelli filogenetik analizler.....	88
<b>5. TARTIŞMA .....</b>	<b>91</b>
<b>6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....</b>	<b>103</b>
<b>KAYNAKLAR.....</b>	<b>105</b>
<b>EKLER .....</b>	<b>121</b>
EK A. Ülkemiz kıyılarında dağılım gösteren <i>P. marmoratus</i> popülasyonları arasındaki ilişkiyi gösteren COI genine dayalı minimum çoğalma haplotip ağı .....	121
EK B. Ülkemiz kıyılarında dağılım gösteren <i>P. marmoratus</i> popülasyonları arasındaki ilişkiyi gösteren COI genine dayalı TCS haplotip ağı .....	122
EK C. Ülkemiz kıyılarında dağılım gösteren <i>P. marmoratus</i> popülasyonları arasındaki ilişkiyi gösteren cyt-b genine dayalı minimum çoğalma haplotip ağı.. ..	123
EK D. Ülkemiz kıyılarında dağılım gösteren <i>P. marmoratus</i> popülasyonları arasındaki ilişkiyi gösteren cyt-b genine dayalı TCS haplotip ağı.....	124
EK E. COI geni kullanılarak gerçekleştirilen filogenetik analizlerde Genbank'tan temin edilen referans diziler.....	125
EK F. cyt-b geni temelli filogenetik analizlerde kullanılan referans diziler .....	128
EK G. <i>Pomatoschistus</i> türleri ile gerçekleştirilen analizlerden elde edilen NJ ağacı (COI) .....	129
EK H. <i>Pomatoschistus</i> türleri ile gerçekleştirilen analizlerden elde edilen ML ağacı (COI).....	130
EK I. COI geni temelli filogenetik analizlerde <i>Pomatoschistus</i> türlerinin K2P ikili uzaklıkları.....	131
<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>132</b>

## KISALTMALAR

<b><math>\mu</math>l</b>	: Mikrolitre
<b>ng</b>	: Nanogram
<b><math>\mu</math>M</b>	: Mikromolar
<b>mM</b>	: Milimolar
<b>TBE</b>	: Tris Borik Asit EDTA
<b>EDTA</b>	: Etilen Diamin Tetra Asetik Asit
<b>Si</b>	: Transisyonel Çiftler
<b>Vi</b>	: Transversiyonel Çiftler
<b>R</b>	: Baz değişimi Oranı
<b>SSD</b>	: Karesel Sapma Toplamı
<b>r</b>	: Harpending'in Raggedness İndeksi
<b>k</b>	: Nükleotid Farklılıklarının Ortalama Sayısı
<b>S</b>	: Değişken-Polimorfik-Ayırt Edici Bölgeler
<b>bp</b>	: Baz çifti
<b>h</b>	: Haplotip Sayısı
<b>Nm</b>	: Gen Akışı
<b><math>\tau</math></b>	: Tau
<b>NJ</b>	: Komşu Katılım (Neighbour Joining)
<b>ML</b>	: Maksimum Olasılık (Maximum Likelihood)
<b>MP</b>	: Maksimum Tutarlılık (Maximum Parsimony)
<b>ME</b>	: Minimum Evrim (Minimum Evolution)
<b>BI</b>	: Bayesian Çıkarsama (Bayesian Inference)
<b><math>F_{ST}</math></b>	: Wright'ın F İstatistiği
<b><math>D_a</math></b>	: Nei'nin Genetik Mesafesi
<b>T</b>	: Zaman
<b>Myö-Myr</b>	: Milyon Yıl Önce-Million Year ago
<b>Kyr</b>	: Bin Yıl Önce
<b>mtDNA</b>	: Mitokondriyal DNA
<b>COI</b>	: Sitokrom Oksidaz I
<b>cyt-b</b>	: Sitokrom b
<b>PZR-PCR</b>	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu-Polymerase Chain Reaction
<b>EGE</b>	: Ege Denizi
<b>LEV</b>	: Levant Denizi
<b>KARMAR</b>	: Karadeniz ve Marmara Denizi



## TABLO LİSTESİ

### Sayfa

<b>Tablo 1.1:</b> Kum kaya balığı cinsleri ile birlikte içerdikleri türler ve dağılım alanları..	8
<b>Tablo 1.2:</b> Farklı araştırmacıların Gobioide alt takımına ait familya ve alt familya sınıflandırmaları.....	13
<b>Tablo 3.1:</b> İstasyonlara göre <i>Pomatoschistus</i> örneklerinin dağılımı.....	50
<b>Tablo 3.2:</b> Çalışmada kullanılan oligonükleotidler.....	53
<b>Tablo 3.3:</b> PZR bileşenleri.....	54
<b>Tablo 3.4:</b> Termal döngü koşulları.....	54
<b>Tablo 4.1:</b> Nükleotid çifti frekansları analiz sonuçları.....	57
<b>Tablo 4.2:</b> AMOVA sonucuna göre belirlenen gruplar ve içerdikleri popülasyonlar.	58
<b>Tablo 4.3:</b> COI geni kullanılarak gerçekleştirilen AMOVA sonuçları. ....	59
<b>Tablo 4.4:</b> AMOVA sonuçlarına göre belirlenen grupların haplotip sayıları ve çeşitlilik indeksleri. ....	59
<b>Tablo 4.5:</b> Haplotiplerin gruplara göre dağılımı.....	61
<b>Tablo 4.6:</b> İncelenen 3 grup için Wright'in Fiksasyon indeksi $F_{ST}$ (alt diagonal) ve Nei'nin $D_a$ genetik mesafe ölçümü metodlarına (üst diagonal) göre elde edilen matris.....	62
<b>Tablo 4.7:</b> Gruplar arasındaki gen akışı miktarları.....	63
<b>Tablo 4.8:</b> Grupların Uyumsuzluk Dağılımı Analizi sonuçları. ....	65
<b>Tablo 4.9:</b> Gruplara ait Tarafsızlık Testi sonuçları.....	66
<b>Tablo 4.10:</b> K2P modeli altında belirlenen grup içi (üst diagonal, kalın) ve gruplar arası uzaklıklar (alt diagonal). ....	67
<b>Tablo 4.11:</b> Grupların mtDNA'nın yavaş (alt diagonal) ve hızlı (üst diagonal) evrilme değerleri altında tahmini farklılaşma zamanları (Milyon yıl önce). ....	67
<b>Tablo 4.12:</b> Nükleotid çifti frekansları analiz sonuçları.....	71
<b>Tablo 4.13:</b> AMOVA altında değerlendirilen iki olası kümelenme ve belirlenen grupların içerdikleri popülasyonlar. ....	72
<b>Tablo 4.14:</b> cyt-b geni kullanılarak gerçekleştirilen 3 haplogruplu AMOVA sonuçları.	73
<b>Tablo 4.15:</b> AMOVA sonuçlarına göre belirlenen grupların haplotip sayıları ve çeşitlilik indeksleri.....	73
<b>Tablo 4.16:</b> Haplotiplerin gruplara göre dağılımı.....	75
<b>Tablo 4.17:</b> İncelenen 3 grup için Wright'in Fiksasyon indeksi $F_{ST}$ (alt diagonal) ve Nei'nin $D_a$ genetik mesafe ölçümü metodlarına (üst diagonal) göre elde edilen matris.....	76
<b>Tablo 4.18:</b> Gruplar arasındaki gen akışı miktarları. ....	76
<b>Tablo 4.19:</b> Grupların Uyumsuzluk Dağılımı Analizi sonuçları. ....	77
<b>Tablo 4.20:</b> Gruplara ait Tarafsızlık Testi Sonuçları. ....	79
<b>Tablo 4.21:</b> Tamura- Nei modeli altında belirlenen grup içi (üst diagonal, kalın) ve gruplar arası uzaklıklar (alt diagonal). ....	82

<b>Tablo 4.22:</b> Grupların mtDNA'nın yavaş (alt diagonal) ve hızlı (üst diagonal) evrilme değerleri altında tahmini farklılaşma zamanları (Milyon yıl önce).....	82
<b>Tablo 4.23:</b> Cinsler arası (alt diagonal) ve cins içi türler arasındaki (üst diagonal, kalın) K2P genetik uzaklıkları.....	84
<b>Tablo 4.24:</b> Cinsler arası (alt diagonal) ve cins içi türler arasındaki (üst diagonal, kalın) Tamura-Nei genetik uzaklıkları.....	88



## ŞEKİL LİSTESİ

### Sayfa

Şekil 1.1: Kum Kaya Balığı ( <i>Pomatoschistus minutus</i> ) mitokondrisinde genlerin dizilimi.....	24
Şekil 3.1: Doğal habitatında fotoğraflanan <i>P.marmoratus</i> .....	46
Şekil 3.2: Doğal habitatında fotoğraflanan <i>P. nanus</i> .....	47
Şekil 3.3: Doğal habitatında fotoğraflanan <i>P. bathi</i> .....	47
Şekil 3.4: Fikse edilmiş <i>P. quagga</i> .....	48
Şekil 3.5: Doğal habitatında fotoğraflanan <i>P. adriaticus</i> .....	48
Şekil 3.6: Akvaryum içerisinde fotoğraflanmış <i>P. anatoliae</i> .....	49
Şekil 3.7: Örnekleme istasyonları A) Popülasyon analizlerinde kullanılan <i>P. marmoratus</i> bireylerinin örnekleme istasyonları B) Filogenetik analizlerde kullanılan <i>Pomatoschistus</i> spp. bireylerinin örnekleme istasyonları.....	51
Şekil 3.8: PZR ile çoğaltılmış mtDNA COI bölgesi.....	53
Şekil 4.1: Nei'nin $D_a$ ve Wright'ın F istatistiği $F_{ST}$ değerleri kullanılarak çizdirilen NJ ağaçları. a. Nei'nin $D_a$ ; b. Wright'ın F istatistiği $F_{ST}$ .....	60
Şekil 4.2: Analiz edilen gruplara ait uyumsuzluk dağılımı grafikleri.....	64
Şekil 4.3: COI geni haplotipleri arasındaki filogenetik ilişkiyi gösteren ML ağacı. .68	
Şekil 4.4: COI geni haplotipleri arasındaki filogenetik ilişkiyi gösteren NJ ağacı...69	
Şekil 4.5: Ülkemiz kıyılarında dağılım gösteren <i>P. marmoratus</i> popülasyonları arasındaki ilişkiyi gösteren COI genine dayalı medyan katılım haplotip ağı.....	70
Şekil 4.6: Nei'nin $D_a$ ve Wright'ın F istatistiği $F_{ST}$ değerleri kullanılarak çizdirilen NJ ağaçları.....	74
Şekil 4.7: Analiz edilen gruplara ait uyumsuzluk dağılımı grafikleri.....	78
Şekil 4.8: cyt-b geni haplotipleri arasındaki filogenetik ilişkiyi gösteren NJ ağacı...80	
Şekil 4.9: cyt-b geni haplotipleri arasındaki filogenetik ilişkiyi gösteren ML ağacı. 81	
Şekil 4.10: Ülkemiz kıyılarında dağılım gösteren <i>P. marmoratus</i> popülasyonları arasındaki ilişkiyi gösteren cyt-b genine dayalı medyan katılım haplotip ağı. ..83	
Şekil 4.11: Kum kaya balığı türlerininin mtDNA COI dizilerine ait NJ filogenetik ağacı.....	86
Şekil 4.12: Kum kaya balığı türlerininin mtDNA COI dizilerine ait ML metoduna dayalı filogenetik ağacı .....	87
Şekil 4.13: Kum kaya balığı türlerininin mtDNA cyt-b dizilerine ait NJ filogenetik ağacı.....	89
Şekil 4.14: Kum kaya balığı türlerininin mtDNA cyt-b dizilerine ait ML filogenetik ağacı.....	90
Şekil 5.1: Türk Boğazlar Sistemi yüzey ve dip suyu akıntılarının yönleri.....	94
Şekil 5.2: İlkbahar ve yaz aylarında kıyılarımızdaki Ekman Taşınımı.....	96
Şekil 5.3: İlkbahar ve yaz aylarında kıyılarımızdaki upwelling sahaları .....	97
Şekil 5.4: Akdeniz havzası yüzey suyu ana akıntı yönleri.....	98



## TÜRKİYE KIYILARINDA DAĞILIM GÖSTEREN *Pomatoschistus marmoratus* (Risso, 1810) POPÜLASYONLARININ GENETİK YAPI ANALİZİ

### ÖZET

Bu çalışmada Türkiye kıyılarında dağılım gösteren kum kaya balığı *Pomatoschistus marmoratus* (Risso, 1810) popülasyonlarının genetik yapıları, tarihsel demografik hikayeleri ve birbirleri ile olan genetik ilişkileri incelenmiştir. Ayrıca, diğer kum kaya balığı tür ve cinslerinin filogenetik ilişkileri irdelenmiş ve taksonomik durumları değerlendirilmiştir. Örneklem çalışmaları dalış marifetiyle gerçekleştirilmiş olup Türkiye kıyılarındaki tamamını temsil edecek şekilde Karadeniz’de 6, Marmara Denizi’nde 2, Ege Denizi’nde 4 ve ülkemiz Levant kıyılarında 4 istasyonda gerçekleştirilmiştir. İstasyonlar her bir popülasyonda en az 30 birey olacak şekilde gruplandırılarak; Karadeniz’de 3, Marmara Denizi’nde 1, Ege Denizi’nde 2 ve Levant kıyılarımızda 3 farklı popülasyon örneklenmiştir. Filogenetik analizlerde kullanılan diğer kum kaya balığı türleri ise en az 5 birey olmak üzere örneklenmiştir.

Genetik analizler mtDNA COI (652 bp) ve cyt-b (526 bp) bölgeleri kullanarak ayrı ayrı gerçekleştirilmiştir. Her iki gen bölgesi için yapılan analizlerde de popülasyon gruplarının yüksek haplotip sayısı ve haplotip çeşitliliğe sahip olduğu, ancak nükleotid çeşitliliğinin oldukça düşük olduğu tespit edilmiştir. Bununla beraber, Türkiye’nin Levant kıyılarına ait popülasyonların diğer tüm popülasyonlardan genetik olarak farklı olduğu ve gen akışımında çok sınırlı olduğu belirlenmiştir. Mitokondriyal COI verilerine dayalı moleküler varyans analizine (AMOVA) göre *Pomatoschistus marmoratus* popülasyonlarının Levant, Ege ve Karadeniz/Marmara olmak üzere üç ana grup altında kümelendiği gözlemlenmiş ancak, daha yavaş evrildiği bilinen cyt-b geninin bu varyasyonu desteklemediği tespit edilmiştir.

Popülasyon gruplarına uygulanan tarafsızlık ve uyumsuzluk dağılımı analiz sonuçları bir bütün olarak değerlendirildiğinde ise, Karadeniz ve Marmara denizlerini kapsayan haplogrubun dengede olduğunun ancak, Levant kıyılarından örneklenen popülasyonları kapsayan haplogrubun popülasyon dar boğazını takip eden ani demografik genişleme modeli altında olduğu tespit edilmiştir. Popülasyon dar boğazını takip eden ani demografik genişlemeye işaret eden genetik çeşitlilik indekslerini ve popülasyon yapılanmalarını “yıldız benzeri” yapıdaki haplotip ağları da desteklemiştir.

Popülasyonların birbirlerinden tahmini farklılaşma zamanlarına bakıldığında ise; cyt-b geni baz alınarak yapılarak analizlerde Levant ve Marmara/Karadeniz haplogrublarının tahmini ayrılma zamanları (19,3-9,65 myö) Paratetis’in Akdeniz’den ilk izole olduğu dönemlere denk geldiği saptanmıştır. Daha hızlı evrildiği ve mutasyon biriktirdiği bilinen COI analizlerinin sonuçlarına göre ise hem Ege ile Levant hem de Levant ile Karadeniz/Marmara popülasyonlarının tahmini ayrılışı (sırasıyla 6,95-3,48 ve 5,85-2,98 myö) Messiniyan tuzluluk krizinin Cebelitarık Boğazı’nın tekrar

açılmasıyla sonlandığı döneme denk geldiği tespit edilmiştir. Benzer şekilde, Ege ve Karadeniz/Marmara popülasyonlarının tahmini ayrılma zamanlarına (1,35-0,68 myö) bakıldığında ise 4. Jeolojik zamanda yaşanan ve Würm olarak bilinen son buzul çağına (0,12 – 0,011 myö) denk geldiği saptanmıştır.

Ülkemiz kıyılarından örneklenen *Pomatoschistus* türleri ile (*P. marmoratus*, *P. nanus*, *P. bathi*, *P. quagga*, *P. anatoliae* ve *P. adriaticus*) yakın ilişkili oldukları ve aynı soy hattını paylaştıkları bilinen *Ninnigobius*, *Knipowitschia*, *Orsinigobius*, *Economidichthys*, *Buenia*, *Deltentosteus*, *Lebetus*, *Speleogobius*, *Crystallogobius* ve *Pseudaphya* cinslerine dahil türlere ait diziler COI ve cyt-b geni kullanılarak filogenetik analizlere tabi tutulmuşlardır. Elde edilen sonuçlarda, *Pomatoschistus* ve *Knipowitschia* cinslerinin, ikinci nesil türler arasındaki ilişkilerin hala tam olarak aydınlatılmadığı ya da göreceli olarak yeni evrildiğinin göstergesi olan parafiletik yapıda olduğu, saptanan düşük seç bağla değerlerinin ve kısa dal uzunluklarının gözlemlenen bu parafiletik yapıyı desteklediği tespit edilmiştir. Filogenetik analizler sonucunda ise *Pomatoschistus pictus* türününün sinonimi olarak bildirilen *Pomatoschistus adriaticus*'un geçerli bir tür olduğu bu çalışma ile teyit edilmiştir.

Gerçekleştirilen çalışma ile, kum kaya balıklarının hem paleoiklimsel ve paleocoğrafik hem de güncel ekolojik stres faktörlerinin etkilerinin araştırıldığı popülasyon genetiği çalışmaları için oldukça elverişli organizmalar olduğu kanaatine varılmıştır.

## GENETIC STRUCTURE ANALYSIS OF *Pomatoschistus marmoratus* (Risso, 1810) POPULATIONS DISTRIBUTED IN TURKISH COASTS

### ABSTRACT

In this study, historical demographic stories, genetic relationships and structures of *Pomatoschistus marmoratus* (Risso, 1810) populations distributed along the Turkish coasts were investigated. In addition, the phylogenetic relationships of other sand goby species were examined and their taxonomic status was evaluated. Samplings were conducted with diving activities in 6 stations in Black Sea, 2 stations in Sea of Marmara, 4 stations in Aegean Sea and 4 stations in Levantine coasts of Turkey. The stations were grouped with at least 30 individuals in each population. Hereby, 3 populations in the Black Sea, one population in the Sea of Marmara, 2 populations in the Aegean Sea and 3 populations in the Levantine coasts of Turkey were sampled. The other sand goby species used in phylogenetic analyzes were sampled as at least 5 individuals.

Molecular analyzes were performed using the partial fragments of mtDNA COI (652 bp) and cyt-b (526 bp) regions. It was found that the population groups had high haplotype numbers and haplotype diversity while the nucleotide diversity was quite low for both gene regions. In addition, it was determined that the group consisting of Levantine populations (LEV) were genetically different from other populations and the gene flow between LEV and the other population groups was very limited. According to the results of the molecular variance analysis (AMOVA), it was observed that the populations were clustered under three main haplogroups (LEV / EGE / KARMAR) but the cyt-b gene, which is known to evolve more slowly than the COI gene, was insufficient to determine the variation between the EGE and KARMAR haplogroups. When the results of the analyzes of neutrality and mismatch distributions applied to the population groups were evaluated as a whole, it was determined that the KARMAR group that represents the Black Sea and Sea of Marmara was stable but that the LEV group which represents the Levantine populations was under the sudden demographic expansion model following the population bottleneck. The genetic variance indices and population structure which indicates sudden demographic expansion following population contraction were supported by star-shaped haplotype networks. The estimated differentiation times of the populations are indicated that; Based on the cyt-b gene analysis, the estimated separation times of Levant and Marmara / Black Sea haplogroups (19,3-9,65 myr) coincided with the periods when Paratethys was first isolated from the Mediterranean. According to the results of COI analyzes which are known to evolve faster and accumulate mutations, the estimated differentiation time of both Aegean and Levant and Levant and Black Sea / Marmara populations (6,95-3,48 and 5,85-2,98 myr respectively) was found to coincide with the period of reopening of the Straits of Gibraltar which ended with of the Messinian salinity crisis.

Similarly, when the estimated differentiation times of the Aegean and Black Sea/Marmara populations (1,35-0,68 myr) was found that they corresponded to the last glacial age known as Würm (0,12 - 0,011 myr) in the 4th geological time. Phylogenetic relationships of the *Pomatoschistus* species that were sampled from our coasts (*P. marmoratus*, *P. nanus*, *P. bathi*, *P. quagga*, *P. anatoliae* and *P. adriaticus*) and other closely related sandy gobies which share the same lineages (*Ninnigobius*, *Knipowitschia*, *Orsinigobius*, *Economidichthys*, *Buenia*, *Deltentosteus*, *Lebetus*, *Speleogobius*, *Crystallogobius* ve *Pseudaphya*) were also investigated using COI and cyt-b genes. The results indicated that *Pomatoschistus* and *Knipowitschia* genera are parafiletic structure, which indicates that the relations between the descendants are still not fully elucidated or relatively newly evolved, and that the observed low bootstrap values and short branch lengths support this observed parafiletic structure. As a result of phylogenetic analyzes, *Pomatoschistus adriaticus*, which is reported as synonym of *Pomatoschistus pictus*, has been confirmed as a valid species by this study.

In this study, it was concluded that sand gobies are suitable organisms for population genetics studies in which both paleoclimatic and paleogeographic and current ecological stress factors are investigated.

## 1. GİRİŞ

Dünyanın merkezindeki deniz ya da karaların arasındaki deniz olarak nitelendirilen Akdeniz; dünya okyanuslarının yüzey alanının sadece % 0,82'sini temsil etmesine rağmen tüm denizel biyoçeşitliliğin % 4–% 18'ine ev sahipliği yapmaktadır [1;2]. Avrupa, Afrika ve Asya kıtaları arasında yarı kapalı bir deniz olan Akdeniz'in yüzey alanı yaklaşık olarak 2,5 milyon km<sup>2</sup> ve ortalama derinliği 1500 m olup, Cebelitarık Boğazı ile Atlas Okyanusu'ndan; Süveyş Kanalı ile de Kızıldeniz'den ayrılır [2].

Cebelitarık Boğazı, Akdeniz'in verimliliği (organik madde) ve su sirkülasyonunda önemli bir rol oynar. Akdeniz'e giren Atlantik yüzey suları, saat yönünün tersi şeklinde Akdeniz içinde sirküle olduktan sonra daha yoğun bir şekilde ve daha derinden Akdeniz çıkış suyu olarak tekrar Atlantik'e dolmaktadır [3]. Sicilya adasını Tunus kıyılarından ayıran Sicilya Boğazı, Akdeniz'i, batı ve doğu olmak üzere iki ana alt bölgeye ayıran sınır bölgesi olarak kabul edilir. Bu iki ana alt bölge ise her biri birbirinden farklı hidrodinamik ve su sirkülasyon modellerine sahip dört alt bölgeye (Batı Akdeniz, Adriyatik Denizi, İyon Denizi, Ege-Levant Denizi) ayrılmaktadır [4]. Zengin ve çeşitli biyotaya sahip Akdeniz, insan kaynaklı bir çok farklı baskıya maruz kalmaktadır. Bunun yanı sıra iklimsel ve hidrolojik koşulları birbirinden farklı biyocoğrafyaları içinde barındırması ve geçirdiği karmaşık jeolojik olaylar da Akdeniz ekosistemini oldukça karmaşık bir hale getirmektedir.

Biyοçeşitlilik, çoğunlukla tür zenginliği ile eş anlamlı kullanılmakta ve sağlıklı ekosistemlerin en önemli indikatörü olarak kabul edilmektedir [4;5]. Akdeniz; ılıman, kozmopolit, subtropikal, Atlantik ve İndo-Pasifik kökenli yaklaşık 17000 türe ev sahipliği yapmakta ve bununla beraber barındırdığı türlerin %20-30 civarının ise havzaya özgü olduğu bilinmektedir. Tüm bu özellikleri ile Akdeniz sucul ekosistemler içerisinde biyoçeşitlilik bakımından sıcak nokta olarak kabul edilmektedir [1;2;6]. Batı Akdeniz daha çok Cebelitarık Boğazı ile Atlantik Okyanusunun etkisi altında kalırken doğu Akdeniz ise Süveyş Kanalı sebebi ile Kızıldeniz etkisi altında kalmakta ve Akdenizdeki yabancı türlerin varlığı araştırmacılar tarafından yakından izlenmektedir.

Akdeniz'in biyoçeşitliliğine yönelik başlıca tehditler; habitat tahribatları ve modifikasyonları, aşırı avcılık, yabancı türler, iklim değişikliği, kirlilik ve kentleşme olarak sıralanmaktadır [7]. İnsan kaynaklı etkenler nedeniyle yoğun baskı altında olan Akdeniz, ekosistem seviyesinde izlenmesi gereken denizlerin başında gelmektedir.

Akdeniz ekosisteminin bir parçasını oluşturan ve yüksek biyoçeşitliliğe sahip olan Türkiye kıyusal suları ekolojik ve coğrafik özellikler bakımından birbirinden farklılıklar göstermektedir.

Marmara Denizi, Ege Denizi ve Karadeniz arasında yer alan küçük (yaklaşık 11,500 m<sup>2</sup> yüzey alanına ve 1390 m maksimum derinliğe sahip) bir iç deniz olup 1189 km'lik kıyı şeridinde sahiptir [8]. Akdeniz ve Karadeniz'in etkisi altında olan bu havza farklı fiziko-kimyasal çevreleri ve habitatları bulundurmasıyla eşsiz bir ekosistemdir. Karadeniz'e İstanbul Boğazı, Ege Denizi'ne ise Çanakkale Boğazı ile bağlı olan Marmara denizinde iki farklı su kütlesi bulunmaktadır. Çanakkale Boğazı'nın genişliği 1,2-7 km arasında olup, 62 km uzunlukta ve ortalama 55 m derinliktedir. İstanbul Boğazı'nın ise genişliği 0,7-3,5 km arasında olup, 31 km uzunlukta ve ortalama derinliği 35 m' dir. Karadeniz kaynaklı düşük tuzluluktaki sular 15-20 m üst su tabakası, dipte ise Çanakkale Boğazı'ndan giren Akdeniz kaynaklı yüksek tuzluluktaki su tabakası yer almaktadır [8]. Ege Denizi'nden Marmara Denizi'ne giren oksijence zengin Akdeniz suları burada kendi yoğunluk düzeylerine kadar batmaktadır [9]. Yüzey sularını oluşturan ve nutrient bakımından zengin Karadeniz suları balıkçılık üretimini arttırırken, alt tabakadaki Akdeniz'in yüksek tuzluluktaki suları ise biyolojik çeşitliliğin artmasına katkı sağlamaktadır. Bu iki farklı su kütlesi ~20-25 m de kuvvetli bir piknoklin tabakası ile ayrılmaktadır [9]. Su sıcaklıkları yüzey tabakasında kışın 4-5 °C'ye kadar düşerken, yaz aylarında 25 °C'ye kadar yükselmektedir. Marmara Denizi'nin tuzluluk değerleri boğazlar sistemi boyunca meydana gelen karışımlar sebebiyle değişkenlik göstermekte olup İstanbul Boğazı'nda ‰16-18, Çanakkale Boğazı'nda ise ‰23-28 aralığındadır [10]. Marmara Denizi, yoğun nüfus ve sanayi tesislerinin yanı sıra deniz trafiğiyle de artan risk altındadır. Avrupa ve Asya kıtaları arasında yer alması sonucunda sahip olduğu ekonomik ve sosyal önem oldukça yüksektir. Denizlerimizin balıkçılık ekonomisine katkıları sıralanacak olursa, 2012 yılında ilk sırayı %71,33'lik oran ile Karadeniz Bölgesi'nin aldığını, bunu %12,26 ile



Marmara, %9,41 ile Ege ve %7 ile Akdeniz bölgelerinin izlediği bilinmektedir [11]. Ancak birim alandaki balıkçılık verimi hesaplandığında Marmara denizinin Karadeniz'e oranla yaklaşık 4 kat fazla üretkenliğe sahip olduğu görülmektedir.

Asya ve Avrupa Kıtaları arasında yarı-kapalı bir iç deniz olan Karadeniz'in yüzey alanı 423000 km<sup>2</sup> olup ortalama 1240 m ve maksimum derinliği 2200 m'dir. Karadeniz'in toplam su hacmi 537000 km<sup>3</sup> olup, bunun % 87'sini anoksik su kütleli oluşturmaktadır. Oksijence zengin yüzey suyunun altındaki derin dip suları oksijensiz ve tabana doğru artan yüksek oranda hidrojen sülfür içermektedir [12]. Canlı hayatı kısıtlayan hidrojen sülfürlü anoksik tabaka Karadeniz'in kıyısal kesimlerinde yaklaşık 160-180 m, iç kesimlerinde ise 100-120 m derinliklerde başlamakta, oksijence zengin yüzey tabakasından ise bir geçiş tabakası ile ayrılmaktadır [13-15]. Karadeniz, Kırım yarımadası dışında kalan kuzeybatı kıyıları oldukça sığdır. Güneybatıda "İstanbul Boğazı ile Marmara Denizi'ine, Çanakkale Boğazı ile Ege Denizi ve Akdeniz'e, kuzeyde "Kerç Boğazı" yolu ile Azak Denizi'ne bağlı durumdadır [16]. Mevsimsel ve bölgesel değişimler gösteren yüzey suyu sıcaklığı Karadeniz'de kış aylarında ortalama 2-9 °C iken yaz aylarında ise ortalama 20-25 °C'ye kadar yükselmektedir [17]. Kuzeyden Karadeniz'e dökülen Kuban, Dinyeper, Dinyester, Tuna ve Don nehirlerinin Karadeniz'in tuzluluğu ve akıntı şiddeti üzerinde etkili olmaktadır. Tuzluluk Karadeniz'de diğer denizlerimize oranla daha düşük olmakla birlikte en yüksek değerler orta kesimlerde yaklaşık %18 iken, akarsuların denize ulaştığı kıyı kesimlerde %4-5 seviyelerine kadar inebilmektedir [17]. Karadeniz'in tatlı su girdisi miktarının, buharlaşma yoluyla gerçekleşen kayıptan fazla olması nedeniyle düşük tuzlulukta Karadeniz suyu Ege Denizi'ne doğru yüzey suyu halinde taşınmaktadır [16].

Ege Denizi karmaşık taban topoğrafyası ve irili ufaklı yüzlerce adacık barındıran bir yapıya sahiptir. Yüzey alanı yaklaşık 180000 km<sup>2</sup> olan Ege Denizi üç derin çukurdan oluşmaktadır. En güney kesimde yer alan Girit havzası 2000 metreyi aşan derinliği ile Ege Denizi'nin en derin bölgesidir. Su sıcaklıkları yıl içerisinde 13-24 °C arasında değişmekte olup, tuzluluk ise kuzeyden güneye doğru artmakta ve %31-39 arasında değişmektedir. Ege Denizi birincil üretim ve besin elementleri açısından nispeten fakir olup akarsuların ve Çanakkale Boğazı'nın taşıdığı yüzey sularının etkin olduğu

bölgelerde belirgin besin tuzu ve fitoplankton yoğunluğuna sahip bir denizdir [18]. Ege Denizi tür çeşitliliği bakımından Akdeniz ile birlikte Marmara ve Karadeniz'e oranla daha zengindir.

Akdenizde tür sayısı bakımından dominant olan Gobioidi (Teleostei: Perciformes: Gobioidi) alt takımı, 270 cins ve 2210 türle omurgalıları arasında oldukça önemli bir yere sahiptir [19]. Dokuz familyadan oluşan Gobioidi alt takımının en kalabalık familyasını ise 210 cins ve yaklaşık 2000 türden oluşan Gobiidae familyası oluşturmaktadır [20]. Gobiid türleri Kuzeydoğu Atlantik, Akdeniz ve Karadeniz ihtiyofaunasının en kalabalık grubunu oluştururken [21], ülkemiz sularında ise 53 denizel türün varlığından söz edilmektedir [22-29].

Günümüze kadar yapılan gerek biyo-ekolojik gerek moleküler tabanlı çalışmaların konusunu genelde ticari türler oluşturmuşlardır. Kaya balıkları ise, henüz ekonomik değere sahip olmasalar da birçok ticari ve nesli tehtit altındaki balığın besinini oluşturmaları, aynı zamanda buldukları habitatların yerleşik canlıları olması ve bu yüzden ortam koşullarında oluşabilecek herhangi bir olumsuzluktan da öncelikli olarak etkilenecek omurgalı canlıları olmaları nedeniyle ekolojik olarak oldukça önemlidirler.

Günümüzde Akdeniz havzasının sürekli bir değişim içerisinde olmasının en büyük sebeplerinden biri Süveyş Kanalı olarak düşünölmektedir. Kanalin açılmasıyla birlikte Akdeniz'e sürekli bir canlı geçişi olmuş ve Levant havzası İndo-pasifik kökenli birçok türün istilasına uğramıştır [30]. Egzotik türlerin Akdeniz'de ilerleyişi ve yerleşik popölasyonlar oluşturabilmeleri; aşırı avcılık, habitat tahribatları, sıcaklık artışı vb. abiotik faktörlerle ilgili olduğu gibi, biyoçeşitlilik, tür içi ve türler arası ilişkiler, kalıtsal özellikler ve uyum gücü gibi biotik faktörlerle de doğrudan ilgilidir [31;32]. Lesepsiyen istilasının etkilerinden biri olarak Akdeniz biyoçeşitliliğindeki azalma en büyük tehditlerden biri olarak görülse de henüz bir tür kaybı tespit edilmemiştir [6]. Bununla beraber, yerli türler ve egzotik türler arasındaki ilişkiler ile yapılan çalışmalar ise oldukça kısıtlıdır.

Yapılan çalışmalar Gobiidae türlerinin besin zincirinde oldukça önemli bir pozisyonda olduğunu ve lesepsiyen balıkların besinlerini de oluşturduklarını göstermektedir [33-35]. Özellikle *Pomatoschistus* Gill, 1863 cinsine ait küçük boyutlu kum kaya

balıklarının *Alosa fallax* (Lacepède, 1803), *Chelidonichthys lucerna* (Linnaeus 1758), *Anguilla anguilla* (Linnaeus 1758), *Gadidae* Rafinesque, 1810 familyasına ait birçok birey ve hatta *Gobius niger* Linnaeus 1758 gibi türlerin besinini oluşturduğu bilinmektedir [33]. İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi bünyesinde yürütülen SUÜ2014-08 numaralı “Doğu Akdeniz’deki Leseptiyen Balıklar” isimli proje kapsamında yapılan ön çalışmalar da bu verileri destekler nitelikte olup, yine bir leseptiyen tür olan *Saurida lessepsianus* Russell, Golani & Tikochinski, 2015’un da kaya balıkları üzerinden beslendiği gözlemlenmiştir. Leseptiyen türlerin yerli türlerle olan etkileşimlerinin stres faktörü olduğu bilinmektedir [33; 35]. İstila sürecinin takibi yerli türlerin popülasyonlarına ve genel anlamda biyoçeşitliliğe olan etkisinin anlaşılması için oldukça önemlidir.

Türlerin ve doğal popülasyonların korunmasındaki temel unsur genetik çeşitliliğin korunmasından geçmektedir [36]. Bununla beraber, canlılar yaşadıkları ortamda insanların doğayı kötü kullanmasından kaynaklanan bir seçilime maruz kalmakta ve bu tip seçim baskılarına sadece genetik çeşitliliği yüksek popülasyonlar karşı koyabilmektedir. Genetik olarak güçlü popülasyonların varlığını sürdürmesi, ancak popülasyonların gen havuzlarının korunmasıyla mümkün olabilir. Popülasyonların devamlılığı için yapay seçim baskısının minimum seviyeye indirilmesi ve popülasyonlar arasındaki gen akışının devamlılığının sağlanması oldukça önemlidir. Aksi takdirde genetik çeşitlilikte meydana gelen azalmalar popülasyon yapılarında hasarlara sebep olabilmekte ya da popülasyonların yok olmasıyla sonuçlanabilmektedir.

Popülasyonlar arasında meydana gelen gen alışverişi popülasyonlar arasındaki genetik farklılıkların ortadan kalkmasını sağlar. Yani bir popülasyonda gen akışının sağlanması, bu popülasyonun gen havuzuna yeni allellerin katılmasını, var olan allellerin ve genotiplerin korunmasını sağlar. Bu anlamda aralarında gen akışı olmayan popülasyonların da tespit edilip gen akışının sürdürülebilirliğinin sağlanması oldukça önemlidir.

Biyoçeşitliliğin kaynağı makro ve mikro evrimsel mekanizmaların etkisi altında şekillenmektedir. Gen akışı, göç, rastgele genetik sürüklenme, doğal seleksiyon, mutasyon ve genetik rekombinasyon gibi mikro evrimsel mekanizmalar tür içi

farklılaşmadan sorumludur [37]. Bu faktörlere ek olarak, tür içi ve türler arası ilişkiler ve ekolojik faktörler gibi biyolojik faktörler de popülasyon farklılaşmasında kısmi bir rol oynar [38]. Birçok balık türünde popülasyon içi ve popülasyonlar arası ekolojik, davranışsal ve morfolojik farklılıklar gözlenebilmektedir [36]. Genel olarak popülasyonlar üzerinde etkili olan mikro evrimsel mekanizmaların etkisini araştırma konusu edinen popülasyon genetiği çalışmaları bu anlamda oldukça önemlidir.

Çalışmanın konusunu oluşturan *Pomatoschistus marmoratus* (Risso, 1810); Doğu Atlantik, Akdeniz, Karadeniz, Azak Denizi ve hatta Süveyş Kanalı'na kadar geniş dağılım alanına sahip olup; nehir ağızları, kıyısal lagünler ve denizlerle bağlantılı tatlı su habitatlarında da bulunabilen en yaygın kaya balığı türlerinden biridir [39-44]. *Pomatoschistus marmoratus* Akdeniz havzasında oldukça geniş bir dağılım alanına sahip olup diğer kum kaya balıklarından farklı olarak Türkiye kıyılarının tamamında dağılım göstermektedir. Göç davranışı göstermeyen *P. marmoratus* bireylerinin tercihen bütün hayat döngülerini yüksek tuzluluğa sahip lagünlerde geçirebilecekleri ifade edilmektedir [45].

*Pomatoschistus marmoratus* türünün biyolojisi ve genetik yapısı ile ilgili yapılan çalışmaların sayısı oldukça kısıtlı olmakla beraber henüz dağılım gösterdiği alanlardaki popülasyonlarının genetik ilişkileri tam olarak aydınlatılamamıştır [46]. Günümüze kadar kaya balıkları ile ilgili yapılan moleküler tabanlı çalışmaların çoğunluğunu ise genellikle taksonomik sorunlara odaklanan çalışmalar oluşturmuştur [47-54].

Besin zincirindeki kilit rolleriyle kıyısal biyoçeşitliliğin önemli bileşenleri olan kum *Pomatoschistus* popülasyonlarının Akdeniz'in paleocoğrafik evrimi süresince birçok farklı seçim baskısına maruz kaldığı ve dolayısıyla popülasyonlar arasında coğrafik varyasyonların olabileceği bilinmektedir. Ayrıca kıyı çizgisine oldukça yakın, sığ (0-3 m), stabil olmayan ve paleoiklimsel olaylardan en üst seviyede etkilenen habitatları tercih etmesi *P. marmoratus* türünü popülasyonlar arası genetik ilişkilerin araştırılması açısından ideal kılmaktadır.

Bu çalışmada; *Pomatoschistus marmoratus* popülasyonlarının genetik yapıları analiz edilerek popülasyon içi ve popülasyonlar arasındaki varyasyonun, olası izolasyonların

ve gen akışının tespiti ile, hangi evrimsel mekanizmanın ve tarihsel sürecin popülasyonlar üzerinde etkisi olduğu hakkında bilgi edinilmesi hedeflenmiştir.

Çalışma kapsamında ayrıca; ülkemizde dağılım gösteren *Pomatoschistus* türlerinin ve aynı soy hattını paylaşan diğer kum kaya balıkları ile olan filogenetik ilişkilerinin ortaya koyulması ve taksonomik açıdan değerlendirilmesine katkı sağlanması amaçlanmıştır.

### **1.1 Gobiidae Familyasının Genel Özellikleri**

Gobiidae (Gill ve Mooi, 2012 sens. str.) familyası 210 cins ve yaklaşık 2000 türden oluşmakta ve sucul ekosistemlerde Cyprinidae Rafinesque, 1815'den sonra en kalabalık grup olarak bilinmektedir [21;55]. Gobiidae familyası üyeleri tropikal ve subtropikal denizel ihtiyofaunanın, acısu habitatların ve hatta çoğu tatlı su habitatlarının baskın türleridir [56]. Akdeniz Gobiidae türleri değişik habitatlarda ve çok sığ suların 300 m derinliklere kadar yaşayabilmektedirler. Birçok türü bentik ve epibentik yaşam tarzındayken bazı türleri pelajiktir. Yumuşak zeminli bölgelere kolonize olabilecekleri gibi özellikle birçok türü kayalık habitatları tercih etmektedirler [57].

Kaya balıklarının en karakteristik özelliklerinden biri disk şeklinde olan birleşik ventral yüzgeçleridir. Bu özelliklerinin yanı sıra iki adet dorsal yüzgeç ile morfolojik ve ekolojik açıdan benzerlik gösteren horzobinalar ve karabaşlardan ayrılırlar. İlk dorsal yüzgeçleri genelde altı sert ışıktan oluşur.

Kaya balıkları genelde küçük boyutları ile karakterize olup sadece birkaç türün 20 cm total boyu geçtiği bilinmektedir [57]. Dünyanın en küçük ikinci omurgalı aynı zamanda denizel bir tür olan *Trimmaton nanus* Winterbottom & Emery, 1981 ve Akdeniz'in en küçük deniz balığı *Pomatoschistus nanus* Engin & Seyhan, 2017 bu familyanın üyeleridir. Vücutları genelde pulludur ancak yanal çizgiye sahip değildirler. Bunun yerine baş ve vücutta taksonomik sınıflandırmada da diagnostik olan porlar ve duysal papillalar bulunmaktadır. Yaşam döngüleri genelde 1-2 sene ile kısıtlı olmakla beraber büyük türlerin 10 sene civarı yaşadıkları da rapor edilmiştir [57]. Çoğu kaya balığı türü poliketler, gastropodlar, bivalvialar ve kabuklular gibi küçük bentik omurgasız canlılarla beslenmekte olup, bazı türlerinin de planktonik beslenme özelliği gösterdiği bilinmektedir [57]. Kaya balıkları ekonomik önem arz

etmeselerde besin zincirindeki anahtar rolleri ile ekolojik açıdan oldukça önemli türlerdir.

Kaya balıkları eş zamanlı ve ardıl hermafroditizm gibi çeşitli üreme stratejilerine sahiptirler. Birçok türü seksüel farklılığa sahip olmakla beraber erkekler dişilerden büyük ve üreme dönemlerinde farklı renktedirler. Tüm türler yumurtalarını bentik substrata yapıştırırlar ve daima erkekler yumurtaları korumaktadır. Bazı türleri deniz hıyarları, süngerler, mercanlar ve yuva kazan kabuklular ile kommensal ilişkiler kurabilmektedirler [58].

## 1.2 Kum Kaya Balıkları

Doğu Atlantik-Akdeniz, Karadeniz ve Hazar Denizi, Batı Balkan coğrafyalarında dağılım gösteren *Pomatoschistus* (denizel/acı su/tatlısu), *Knipowitschia* (acı su/tatlı su), *Economidichthys* (tatlı su), *Orsinogobius* (acı su/tatlı su), *Ninnigobius* (acı su/tatlı su) ve *Hyracanogobius* (Karadeniz endemiği) cinslerine dahil olan türler çoğunlukla kumul habitat tercihlerinden dolayı kum kaya balıkları (McKay & Miller, 1997) olarak bilinmektedirler. Bununla birlikte benzer morfolojileri ve habitat tercihleri ile yapılan moleküler çalışmalarla yakın ilişkili oldukları ve aynı soy hattını paylaştıkları bilinen *Buenia*, *Deltentosteus*, *Lebetus*, *Speleogobius*, *Crystallogobius* ve *Pseudaphya* cinslerinde son zamanlarda kum kaya balıkları olarak tanımlanmaya başlanmıştır [59]. Tablo 1.1’de kum kaya balığı cinsleri, bu cinslere ait türler ve buna ek olarak ülkemiz kıyılarında dağılım gösteren *Pomatoschistus* türleri listelenmiştir.

**Tablo 1.1:** Kum kaya balığı cinsleri ile birlikte içerdikleri türler ve dağılım alanları [55;60].

Cins/ Tür	Dağılım Alanları
<i>Pomatoschistus</i> Gill, 1864	
<i>Pomatoschistus minutus</i> (Pallas, 1770)*	Baltık Denizi, Kuzey Denizi, Kesikli olarak Kuzey Akdeniz havzası, Kuzeydoğu Atlantik, Kuzey Ege Denizi
<i>Pomatoschistus lozanoi</i> (de Buen, 1923)	Kuzeydoğu Atlantik: Kuzey Denizi, İngiliz adaları ve Portekiz
<i>Pomatoschistus norvegicus</i> (Collett, 1902)	Akdeniz, Doğu Atlantik

**Tablo 1.1:** Kum kaya balığı cinsleri ile birlikte içerdikleri türler ve dağılım alanları [55;60] (devam).

<i>Pomatoschistus quagga</i> (Heckel, 1837)*	Kuzey Afrika kıyıları hariç Akdeniz, Ege Denizi
<i>Pomatoschistus pictus</i> (Malm, 1865)	Batı Baltık Denizi, Kuzey Denizi, Akdeniz, Karadeniz, Kuzeydoğu Atlantik
<i>Pomatoschistus adriaticus</i> Miller, 1973*	Adriyatik, Marmara Denizi
<i>Pomatoschistus nanus</i> Engin & Seyhan, 2017*	Akdeniz'in Türkiye kıyıları: Kaş
<i>Pomatoschistus bathi</i> Miller, 1982*	Kuzey Afrika kıyıları hariç Doğu Akdeniz Havzası
<i>Pomatoschistus knerii</i> (Steindachner, 1861)	Batı Akdeniz, Adriyatik Denizi
<i>Pomatoschistus microps</i> (Krøyer, 1838)	Baltık Denizi, Kuzey Denizi, Kuzeydoğu Akdeniz, Doğu Atlantik
<i>Pomatoschistus marmoratus</i> (Risso, 1810)*	Karadeniz, Azak denizi, Akdeniz havzası, Doğu Atlantik kıyıları
<i>Pomatoschistus tortonesei</i> Miller, 1969	Güney Akdeniz
<i>Pomatoschistus anatoliae</i> Engin & Innal, 2017*	Türkiye: Göksu nehri ağzı
<i>Pomatoschistus flavescens</i> (Fabricius, 1779)	Doğu Atlantik: Baltık Denizi, Kuzey Denizi, Batı Akdeniz
<b><i>Ninnigobius Whitley, 1951</i></b>	
<i>Ninnigobius canestrinii</i> (Ninni, 1883)	Adriyatik Denizi: İtalya, Slovenya, Hırvatistan kıyıları
<i>Ninnigobius montenegrensis</i> Miller & Šanda, 2008	Skadar Gölü havzası: Karadağ ve Arnavutluk
<b><i>Knipowitschia Iljin, 1927</i></b>	
<i>Knipowitschia byblisia</i> Ahnelt, 2011	Türkiye: Köyceğiz Gölü
<i>Knipowitschia cameliae</i> Nalbant & Oğel, 1995	Romanya: Portita, Golovita-Sinoe-Razelm gölü kompleksi
<i>Knipowitschia caucasica</i> (Berg, 1916)	Aliakmon drenajını batısı (Yunanistan). Karadeniz, Azak, Hazar, Ege
<i>Knipowitschia caunos</i> Ahnelt, 2011	Türkiye: Köyceğiz Gölü
<i>Knipowitschia ephesi</i> Ahnelt, 1995	Türkiye: Efes antik şehir bölgesindeki iç sular
<i>Knipowitschia goerner</i> Ahnelt, 1991	Yunanistan: Corfu adası-Korissias lagünü

**Tablo 1.1:** Kum kaya balığı cinsleri ile birlikte içerdikleri türler ve dağılım alanları [55;60] (devam).

<i>Knipowitschia iljini</i> Berg, 1931	Hazar Denizi
<i>Knipowitschia longecaudata</i> (Kessler, 1877)	Karadeniz, Azak ve Hazar Denizi, Türkiye: Manyas Gölü
<i>Knipowitschia mermere</i> Ahnelt, 1995	Türkiye: Marmara Gölü
<i>Knipowitschia milleri</i> (Ahnelt & Bianco, 1990)	Yunanistan: Acheron Nehri
<i>Knipowitschia montenegrina</i> Kovačić & Šanda 2007	Karadağ: Moraca Nehri
<i>Knipowitschia mrakovcici</i> Miller, 2009	Hırvatistan: Krka Nehri havzası ve Visovac Gölü
<i>Knipowitschia panizae</i> (Verga, 1841)	Adriyatik ve İyon Denizleri, İtalya, Slovenya ve Hırvat sahilleri
<i>Knipowitschia radovici</i> Kovačić 2005	Hırvatistan: Neretva drenaj havzası
<i>Knipowitschia thessela</i> (Vinciguerra, 1921)	Yunanistan: Pinos nehir sistemi
<b><i>Orsinigobius Gandolfi, Marconato &amp; Torricelli, 1986</i></b>	
<i>Orsinigobius punctatissima</i> (Canestrini, 1864)	Veneto ve doğu Po havzası, kuzey-doğu İtalya
<i>Orsinigobius croatica</i> Mrakovcic, Kerovec, Misetic & Schneider, 1996	Bosna-Hersek, Hırvatistan
<b><i>Economidichthys Bianco, Bullock, Miller &amp; Roubal, 1987</i></b>	
<i>Economidichthys pygmaeus</i> (Holly 1929)	Yunanistan
<i>Economidichthys trichonis</i> Economidis & Miller 1990	Yunanistan
<b><i>Hyrceanogobius Iljin, 1928</i></b>	
<i>Hyrceanogobius bergi</i> Iljin 1928	Hazar Denizi
<b><i>Deltentosteus Gill, 1863</i></b>	
<i>Deltentosteus collonianus</i> (Risso 1820)	Akdeniz
<i>Deltentosteus quadrimaculatus</i> (Valenciennes 1837)	Akdeniz, Doğu Atlantik
<b><i>Pseudaphya Iljin, 1930</i></b>	
<i>Pseudaphya ferreri</i> (de Buen & Fage 1908)	Batı Akdeniz, Adriyatik ve Ege Denizi
<b><i>Speleogobius Zander &amp; Jelinek, 1976</i></b>	



**Tablo 1.1:** Kum kaya balığı cinsleri ile birlikte içerdikleri türler ve dağılım alanları [55;60] (devam).

<i>Speleogobius llorisi</i> Kovačić, Ordines & Schlieven 2016	İspanya, Türkiye
<i>Speleogobius trigloides</i> Zander & Jelinek 1976	Adriyatik Denizi, Türkiye
<b><i>Buenia</i> Iljin, 1930</b>	
<i>Buenia affinis</i> Iljin 1930	Akdeniz
<i>Buenia jeffreysii</i> (Günther 1867)	Batı Baltık Denizi, Kuzey Denizi, Kuzeybatı Akdeniz, Kuzeydoğu Atlantik
<i>Buenia lombartei</i> Kovačić, Ordines & Schlieven 2018	Balearic Adaları
<i>Buenia massutii</i> Kovačić, Ordines & Schlieven 2017	Batı Akdeniz
<b><i>Crystallogobius</i> Gill, 1863</b>	
<i>Crystallogobius linearis</i> (Düben, 1845)	Atlantik, Güney kıyıları hariç Akdeniz
<b><i>Lebetus</i> Winther, 1877</b>	
<i>Lebetus guilleti</i> (Le Danois, 1913)	Güney Fransa, Marmara Denizi, Adriyatik
<i>Lebetus scorpioides</i> (Collet, 1874)	Kuzeydoğu Atlantik

\* Ülkemiz kıyılarında dağılım gösteren *Pomatoschistus* türlerini göstermektedir.

### 1.2.1 Kum kaya balıklarının taksonomisi

Kum kaya balıkları gerek morfolojik benzerlikleri ve biyolojileri gerek diğer gobioid türleri olan ilişkileri bakımından oldukça önemlidir. Ancak geniş dağılım alanları, tür sayısının fazla olması, küçük boyutları, morfolojik benzerlikleri ve kriptik yaşam tarzları bu türlerle ilgili yapılan çalışmaları sınırlamaktadır. Kum kaya balıklarının birbirleriyle ve diğer gobioid türleriyle olan taksonomik ilişkileri ise tüm bu nedenlerden dolayı halen tartışılmaktadır [59;61-68].

Tanımlanan ilk gobioid türü *Gobius* (Linnaeus, 1758) cinsine ait olup, Gobioidi türlerine ait yapılan ilk sınıflandırma dış morfoloji esas alınarak Günther [69] tarafından yapılmıştır. Sonrasında gobioid türlerinin taksonomik durumlarına açıklık getirmek amacıyla pek çok çalışma yapılmış ve gerek alt familya gerek familya düzeyinde değişiklikler içeren birçok görüş ortaya konulmuştur [19;58;59;61-63;

68;70-79]. Bahsi geçen bu çalışmalarda kullanılan filogenetik yaklaşımların farklı olması, belirteç farklılıkları ve son olarak analizlere dahil edilen taksonların çeşitliliği özellikle Gobiidae familyası ve içerdiği alt familyalar üzerinde görüş farklılıkları oluşmasına yol açmıştır (Tablo 1.2). Buna göre ilk olarak Thacker [76] yaptığı çalışmada kum kaya balıklarını kendi ifade şekliyle “genişletilmiş monofiletik Gobionellinae” alt familyasına dahil etmiştir. Thacker daha sonra yaptığı çalışmada ise [61] 9 familyadan oluşan Gobioidae alt takımının 6 familyadan oluştuğunu, Gobiidae familyası içinde yer alan bir çok türün Gobionellidae familyasına dahil edilmesi gerektiğini ve kum kaya balıklarının da buna dahil olduğunu savunmuş ve sonraki çalışmalarında da bunu vurgulamıştır [62;63;68]. Thacker [62] Gobionellidae familyasını 4 ana soy üzerinde değerlendirmiş ve kum kaya balığı cinslerini *Mugilogobius* soyuna dahil etmiştir. Buna karşın Pezold [65] Avrupa kaya balıklarını Gobionellidae familyasına dahil etmemiştir. Bununla beraber Agorreta vd. [59] kum kaya balıklarını “Gobionellid-benzeri kaya balıkları” grubunun içinde değerlendirmiş ve kum kaya balıklarını “*Mugilogobius*” yerine “*Pomatoschistus*-soy hattı” olarak ayrı bir soy içinde değerlendirmiştir. Agorreta vd [59] aynı zamanda *Buenia*, *Deltentosteus*, *Lebetus*, *Speleogobius* ve hatta *Crystallogobius* ve *Pseudaphya* cinslerini de *Pomatoschistus* soyuna dahil ederek “genişletilmiş kum kaya balıkları” terimini kullanmaya başlamışlardır. Thacker vd. [68] kum kaya balıkları ile ilgili yaptığı çalışmada *Pomatoschistus* cinsi ile yakın ilişki içinde olduğu görülen monotipik *Gobiusculus* cinsini *Pomatoschistus* cinsi olarak kabul etmiş, buna karşılık *Pomatoschistus canestriini* ve *Pomatoschistus montenegrensis* türlerinin cinslerini ise *Ninnigobius* Whitley 1951 olarak değiştirilmesi gerektiğini vurgulamıştır. Thacker vd. yaptığı tüm çalışmalar arasından *Gobiusculus* ve *Ninnigobius* cinsleri ile ilgili görüşleri uluslararası veritabanları [55] tarafından kabul görürken, “Gobionellidae” familyası önermesi kabul görmemiş ve bahsi geçen türler “Gobionellinae” alt familyası altında değerlendirilmiştir. Esas gobioid olarak bilinen “Basal gobioids” balıklar; 6 branchiostegal ışın içeren Rhyacichthyidae, Odontobutidae, Eleotridae, Xenisthmidae familyaları ile temsil edilmekte ve türemiş gobioid olarak bilinen “derived gobioids” balıklar ise; 5 branchiostegal ışın içeren Gobiidae, Kraemeriidae, Microdesmidae, Ptereleotridae, Schindleriidae familyaları ile temsil edilmektedir. Buna göre 9 familyadan oluşan Gobioidae alt takımına ait familya ve alt familya sayıları

bazı çalışmalarda değişiklik göstermektedir ve kapsadıkları türler de buna göre değişmektedir (Tablo 1.2).

**Tablo 1.2:** Farklı araştırmacıların Gobioidae alt takımına ait familya ve alt familya sınıflandırmaları.

Miller 1973	Hoese 1984	Pezold 1993	Nelson 1994	Thacker 2003
Rhyacichthyidae	Rhyacichthyidae	Rhyacichthyoidae	Odontobutidae	Rhyacichthyidae
Gobiidae	Eleotridae	Rhyacichthyidae	Eleotridae	Odontobutidae
Eleotrinae	Kraemeriidae	Gobioidae	Eleotrinae	Eleotridae
Pirskeniinae	Microdesmeriidae	Eleotrididae	Butinae	Eleotrinae
Xenisthminae	Microdesminae	Kraemeriidae	Kraemeriidae	Butinae
Gobionellinae	Ptereleotrinae	Microdesmeriidae	Xenisthmidae	Xenisthmidae
Gobiinae	Xenisthmidae	Xenisthmidae	Gobiidae	Gobiidae
Kraemeriinae	Gobiidae	Gobiidae	Amblyopinae	Amblyopinae
	Amblyopinae	Amblyopinae	Gobiinae	Gobiinae
	Gobiinae	Gobiinae	Oxudercinae	Oxudercinae
	Oxudercinae	Oxudercinae	Sicydiinae	Sicydiinae
	Sicydiinae	Sicydiinae	Gobionellinae	Gobionellinae
		Gobionellinae		Kraemeriidae
				Microdesmeriidae
				Schindleriidae
				Ptereleotridae
Nelson 2006	Thacker 2009	Eschmeyer 2013	Eschmeyer 2018	
Rhyacichthyidae	Rhyacichthyidae	Rhyacichthyidae	Rhyacichthyidae	
Odontobutidae	Odontobutidae	Odontobutidae	Odontobutidae	
Eleotridae	Butidae	Milyeringidae	Eleotridae	
Eleotrinae	Eleotridae	Xenisthmidae	Eleotrinae	
Butinae	Eleotrinae	Eleotridae	Butinae	
Kraemeriidae	Xenisthmidae	Eleotrinae	Milyeringinae	
Xenisthmidae	Gobionellinae	Butinae	Thalasseleotriidae	
Gobiidae	Amblyopinae	Thalasseleotriidae	Gobiidae	
Amblyopinae	Oxudercinae	Gobiidae	Amblyopinae	
Gobiinae	Sicydiinae	Amblyopinae	Gobiinae	
Oxudercinae	Gobiidae	Gobiinae	Oxudercinae	
Sicydiinae	Gobiinae	Oxudercinae	Sicydiinae	
Gobionellinae	Kraemeriidae	Sicydiinae	Gobionellinae	
Microdesmeriidae	Microdesmeriidae	Gobionellinae	Kraemeriidae	
Schindleriidae	Schindleriidae	Kraemeriidae	Microdesmeriidae	
Ptereleotridae	Ptereleotridae	Microdesmeriidae	Ptereleotrinae	
		Ptereleotrinae	Microdesminae	
		Microdesmeriinae	Schindleriidae	
		Schindleriidae	Xenisthmidae	

Ancak, tüm bu çalışmaların ortak olarak vardığı sonuç kum gobiidi cinslerini “Gobiine-benzeri” yerine “Gobionelline-benzeri” balıklar olduğudur. Tür bakımından oldukça zengin olan ve dünya üzerinde tüm sucul habitatlarda geniş dağılım gösteren Gobioid türlerinin filogenetik ilişkilerinin tam anlamıyla çözülebilmesi ise tüm taksonların örneklenebileceği bütüncü çalışmalarla mümkün olacaktır.

### 1.3 Popülasyon Genetiği

Popülasyon genetiği, popülasyonlardaki bireylerin benzerlik ve farklılıklarının kaynaklarını, bunun yanında popülasyonlardaki allel frekansının dağılımlarını ve değişimlerini araştıran bir genetik altdalıdır. Popülasyon genetiği, dört temel evrimsel mekanizma ve etkileri üzerinden yola çıkarak araştırma yapar. Bu mekanizmalar, mutasyon, doğal seçilim, genetik sürüklenme, rastgele olmayan eşleşme, gen akışı ve rekombinasyondur.

Popülasyon genetiği, popülasyonları ilgilendiren 4 ana temel sorun üzerinde odaklanır [80].

Bunlar;

1. Popülasyonların zaman içerisindeki değişiminden sorumlu olan süreçler nelerdir ve doğal popülasyonlarda nasıl etkiler bırakırlar?
2. Bir popülasyon içindeki farklılaşmanın sebebi nedir ve hangi şartlar altında bu farklılaşmalar türleşme sürecine eşlik eder?
3. Doğal popülasyonlarda ne çeşit ve ne kadar genetik varyasyon gözlenmektedir?
4. Genetik varyasyonun korunmasından ya da tam tersi yok olmasından hangi evrimsel süreç sorumludur?

Popülasyon genetiği aynı zamanda popülasyon yapısı, biyolojisi ve ekolojik ilişkiler gibi faktörleri de dikkate aldığı gibi adaptasyon ve türleşme gibi fenomenleri açıklamak için de çalışır. Popülasyonların genetik yapısı zaman ve mekana bağlı olarak değişim gösterebilir. Bu nedenle türlerin kalıtsal özelliklerinin korunması ve evrimi üzerinde çalışmaların temel hareket noktasını genetik varyasyon

oluşturmaktadır. Popülasyonların genetik yapılarının değişimi üzerinde etkili olan süreçlerin belirlenmesi, genetik farklılaşmanın anlaşılması ve kontrolünü mümkün kılmaktadır.

Popülasyon genetiğinde en önemli sorulardan biri, doğal popülasyonlarda ne kadar genetik varyasyonun meydana geldiğidir. Popülasyonlarda meydana gelen genetik varyasyonların bilinmesi kritik öneme sahiptir. Öncelikle, bu sayede evrimsel değişim ve adaptasyon potansiyelinin hesaplanması mümkün olmakta diğer yandan varyasyon miktarının bilinmesi, varyasyonun artması ya da azalması üzerinde etkili değişik evrimsel süreçlerin anlaşılmasını kolaylaştırmaktadır. Türleşme kavramı popülasyonlardaki genetik varyasyonun miktarına bağlı olarak gelişen bir kavramdır. Son olarak bir popülasyonun zamana bağlı değişime karşı direnci bu popülasyonun değişik habitatlarda maruz kalabileceği varyasyonların tümünün bilinmesi ile belirlenebilir. Tüm bu nedenlerden dolayı genetik varyasyonların belirlenmesi büyük önem arz etmektedir.

### **1.3.1 Popülasyonlar üzerinde etkili olan evrimsel süreçler**

Bir popülasyonun dengede kalabilmesi aynı zamanda Hardy-Weinberg prensipleri olarak bilinen birkaç temel şarta bağlıdır. Popülasyonun yeterince büyük olması, mutasyon, seçim ve göç olaylarının meydana gelmemesi, erkek ve dişi birey sayılarının türe özgü dengede bulunması, popülasyonda çiftleşmelerin rastgele gerçekleşmesi ve bir jenerasyonda doğan bireyler ile çiftleşmemesi koşulları popülasyonları dengede tutan etmenlerdir. Bu koşulların birinin veya birkaçının olmaması halinde popülasyonların dengesi bozulur ve dolayısıyla genetik yapı zamana bağlı olarak değişir. Ancak birçok popülasyonda Hardy-Weinberg prensiplerinin geçerli olmasını sağlayan ön koşullar bulunmaz. Popülasyonlar göreceli olarak küçük olabilir, çiftleşmeler rastgele meydana gelmeyebilir ve doğal seçimin etkinliği söz konusu olabilir. Bu koşullar altında allel frekansları değişir ve popülasyonun gen havuzu bu etmenlerin karşılıklı etkileri sonucu değişime uğrayabilir.

#### **1.3.1.1 Mutasyon**

Kalıtsal materyal üzerinde meydana gelen ve dölden dölle aktarılan değişikliklerin tümüne mutasyon adı verilmektedir. Mutasyon oranı genellikle doğal popülasyonlarda

düşüktür ancak bu oran türler ya da değişik lokuslar arasında sabit değildir. Bazı genler tüm mutasyon oranlarının dışında davranış göstermektedir. Diğer yandan, kimyasallar, enfeksiyon ajanları ve radyasyon gibi birçok çevresel faktörün mutasyon oranını yükselttiği bilinmektedir.

Mutasyon genetik varyasyonun birincil kaynağını teşkil eder. Allellerin yeni kombinasyonları rekombinasyon yolu ile meydana gelirken yeni alleller yalnız mutasyon yolu ile oluşabilir. Yani mutasyon, evrimsel sürecin temel kaynağı olan genetik materyalin sağlanmasında temel araçtır. Mutasyonların çoğu organizma için ölümcül etkiye sahiptir ve popülasyondan elimine edilir. Ancak bazı mutasyonlar bireylere bazı avantajlar sağlayacak biçimde meydana gelir ve bu nedenle popülasyonda frekansları hızlı bir şekilde artar. Mutasyonun zararlı ya da avantajlı oluşu özel yaşam alanlarına bağlı olarak değişim gösterir. Eğer çevresel koşullar değişir ise daha önce zararlı ya da nötral kabul edilen mutasyonlar bu yeni koşullarda organizmaya yarar sağlayabilir. Diğer evrimsel süreçlerin allel frekansları üzerinde etkisi daha büyüktür ve mutasyon bir popülasyonda nadiren tek başına allel frekansları belirler.

### **1.3.1.2 Genetik kayma**

Hardy-Weinberg yasasının bir diğer önemli ön koşulu, popülasyonun tanımlanamayacak kadar büyük olması durumudur. Ancak gerçek popülasyonlar sınırsız büyüklükte olmayıp çoğu zaman beklenen oranların gerçekleşebileceği kadar büyüktürler. Bu durumda şans faktörünün allel frekansları üzerindeki etkisi çok düşüktür. Bununla beraber küçük olan bazı popülasyonlarda şans faktörü allel frekansları üzerinde önemli değişikliklere yol açabilir. Genetik kayma, küçük popülasyonlardaki allel frekanslarında rastgele (şansa bağlı olarak) ortaya çıkan artma ya da azalmaları ifade etmektedir. Popülasyon genetiği disiplininin kurucularından olan ve genetik kaymanın önemi üzerinde birçok çalışması bulunan Sewall Wright'e atfen bu etki Wright etkisi olarak ta adlandırılmaktadır.

Genetik kayma uzun süreçlerde popülasyon içi genetik varyasyonun azalmasına ve birbirinden farklılık gösteren izole popülasyonların oluşmasına sebep olurken süreç tamamen rastgele birbirinden bağımsız olarak gelişir. Yani popülasyon içi genetik

varyasyon azalırken popülasyonlar arası genetik varyasyon artar. Genetik kaymanın allelik frekanslarda yol açtığı değişimler popülasyonun genetik yapısı üzerinde değişik etkiler yapar. Genetik kayma, öncelikle, bir popülasyondaki allelik frekansların zamana bağlı değişimine yol açar. Tüm popülasyonlarda allelik frekans başlangıçta 0.50'dir. Ancak bu frekans örnekleme hatasından dolayı ve zamana bağlı olarak değişim gösterir. Her jenerasyonda allelik frekans artabilir ya da azalabilir ve bunun sonucunda da frekans 0.0 veya 1.0 değerine ulaşır. Bu durumda allellerin biri popülasyondan kaybolur. Böyle bir popülasyon; iki allel içeren bir gen lokusunda, 1.0 frekans değerine ulaşan allel için sabitlenmiş (fikse edilmiş) durumdadır. Bir allel sabit pozisyona (1.0) ulaştığında, göç ya da mutasyonun etkisi söz konusu değil ise bu lokusta daha ileri düzeyde allelik değişim meydana gelmez. Eğer başlangıç allelik frekansları eşit ise hangi allelin fikse edileceği tamamen rastlantıya bağlıdır. Ancak, allelik frekansların eşit olmaması halinde frekansı düşük olan allelin kaybı çok daha yaygın olarak görülen bir durumdur. Genetik kayma ve fiksasyon sürecinde; popülasyondaki heterozigotların sayısı azalır ve fiksasyon gerçekleştiğinde, söz konusu lokus için heterozigot oranı sıfır olur. Allellerin fiksasyonu ile heterozigotların azalması arasındaki bu ilişki genetik varyasyonun da indirgenmesine neden olur.

Tüm genetik kaymalar örnekleme hatalarından kaynaklanmaktadır. Örnekleme hatası beklenen oranlardan şansa bağlı sapmalar olarak ifade edilen genel bir olgudur. Ancak doğal popülasyonlarda örnekleme hatalarının ortaya çıkmasında etkili değişik nedenler bulunmaktadır. Bunların ilki çevrede bulunan popülasyonlara oranla, üzerinde çalışılan popülasyonun ardışık generasyonlarda da küçük kalmaya devam etmesidir. Bu durum söz konusu popülasyonun oldukça spesifik ve sınırlı bir habitatta yer alması ya da rekabetçi koşulların popülasyonu sınırlaması ile ilgilidir. Böyle popülasyonlarda genetik kayma allel frekanslarının değişimi üzerinde önemli rol oynamaktadır. Aşırı avcılık gibi insan kökenli etkiler sayesinde büyük popülasyonlar kesintiye uğrarlar ve küçük birkaç popülasyona dönüşebilirler. Bu durumda da genetik kayma allelik frekanslar üzerinde önemli değişimlere yol açar.

Örnekleme hatalarının meydana çıkmasında rol oynayan ikinci etki "kurucu etkisi"dir (founder effect). Kurucu etkisi, popülasyonun başlangıcında çok az sayıda döllenen yeteneğinde bireyin bulunması halinde ortaya çıkar. Daha sonraları bu popülasyon

yeterince büyüye bile, popülasyonun gen havuzu orijinal kurucularının genlerinden türeyecektir. Bu durumda kuruculara hangi genlerin bulunduğu rastlantısaldır. Eğer kurucuların gen sıklıkları özgün toplumdan farklı ise; bunlardan türeyecek popülasyonun gen sıklığı da farklı olacaktır.

Örnekleme hatasına yol açan üçüncü form darboğaz etkisidir (bottleneck effect). Darboğaz etkisi popülasyonun büyüklüğünde önemli oranda düşüşler meydana geldiği durumlarda görülmektedir. Bu tür bir azalma meydana geldiğinde rastlantısal olarak bazı genler gen havuzunda elemine olur. Bu etki aynı zamanda kurucu etkisinin bir tipi olarak ta kabul edilir çünkü hayatta kalan bireyler popülasyonun yeniden kurucuları olacaktır.

### **1.3.1.3 Gen akışı/Göç**

Hardy-Weinberg yasasının ön koşullarından biri, popülasyonun diğer popülasyonlar ile etkileşime kapalı olmasıdır. Birçok popülasyon tamamen izole durumda olsa da, bazı bireylerin diğer popülasyonlardaki bireyler ile gen alışverişi mümkün olabilir. Bir popülasyon içerisine göç yolu ile dahil olan yeni bireyler gen havuzuna yeni allellerin ilave olmasını ve var olan allellerin frekanslarının değişimini de beraberinde getirir.

Göç terimi genellikle organizmaların hareketini ifade eder. Ancak popülasyon genetiğinde ise organizmanın hareket edip etmemesinden çok genlerin hareketi esas alınır. Genlerin hareketi, organizmalar yanında gametlerin hareketi yolu ile de olabilir. Bu süreç aynı zamanda gen akışı olarak da adlandırılmaktadır. Gen akışının popülasyon üzerinde iki büyük etkisi olur. Bunların ilki, popülasyona yeni allellerin katılmasıdır. Mutasyon genellikle nadir bir olay olduğu için bir popülasyonda meydana gelen spesifik bir mutant allel diğer popülasyonlarda görülmez. Gen akışı sayesinde bu tür belirli popülasyonlara özgü alleller diğer popülasyonlara taşınabilir ve bu yolla mutasyon gibi popülasyonda genetik varyasyonun meydana gelmesine katkıda bulunur. Gen akışının popülasyon üzerindeki ikinci etkisi ise; göç eden bireylerin ve göç alan popülasyonun allelik frekansları farklı olması durumunda alıcı popülasyonun allelik frekansının değişimine yol açmasıdır. Farklı popülasyonlar arasında meydana gelen gen değişimi sayesinde, popülasyonlar arasındaki genetik farklılık ortadan kalkar, yani göçün bu biçimi popülasyonların homojenizasyonu



üzerinde etkili olur. Popülasyonlar arasındaki göç, ayrıca popülasyonların etkin popülasyon büyüklüğünün ve genetik kayma etkisinin azalmasına yol açmaktadır. Genetik kayma küçük popülasyonları etkilemekte ve bu popülasyonların farklılaşmasına yol açmaktadır. Diğer yandan göç, popülasyonlar arasındaki farklılıkları azaltmakta ve belirli popülasyonların etkin büyüklüğünü artırmaktadır.

#### **1.3.1.4 Seçilim**

Doğal seçilim, bir popülasyonda genetik ve fenotipik varyasyon dahilinde habitata en çok uyum sağlayabilme potansiyeline sahip bireylerin potansiyel olarak hayatta kalma becerisidir. Bu bireyler kendilerindeki avantajlı genleri yavrularına aktararak popülasyonlarda uyum gücü yüksek bireylerin bulunduğu bir yapıya doğru evrimleşmesini sağlayan mekanizmaya katkı sağlarlar.

Adaptasyon; bir organizmanın bulunduğu çevreye uyum sağlamasına yol açan özellikler olarak tanımlanır. Bu özellikleri, organizmanın değişen çevresel koşullarda hayatta kalma ve çoğalma yeteneğini artırmaktadır. Doğada görülen birçok sıradışı özellik adaptasyonun sonucu olarak ortaya çıkmıştır. Genetik kayma, mutasyon ve göç adaptasyonu etkiler, ancak adaptasyonun ortaya çıkmasında ana etmen doğal seçilimdir. Doğal seçilim, birçok özelliğin ve doğada görülen çok sayıda fenotipik varyasyonun evriminin arkasındaki ana mekanizmadır.

Doğal seçilim değişik sonuçlar doğurur; Yani, genetik varyasyonu elimine edebilir ya da genetik varyasyonun sürekliliğini sağlayabilir, allelik frekansların değişimine yol açabilir ya da allelik frekansları değişime karşı koruyabilir ve son olarak popülasyonlar arasında farklılaşmaya ya da tekdüzeliğe yol açabilir. Bu etkilerin hangisinin meydana geleceği, allellerin popülasyondaki frekansına ve genotiplerin nispi uygunluğuna bağlı olarak belirlenir ancak doğal seçilim genellikle fenotip üzerinde etkiye sahiptir.

#### **1.3.1.5 Rastgele olmayan eşleşme**

Hardy-Weinberg yasasının temel ön koşullarından bir diğeri ise popülasyondaki bireylerin rastgele çiftleşmesidir. Ancak birçok popülasyonda bazı özellikler bakımından rastgele çiftleşme meydana gelmez.

Rastgele olmayan çiftleşmenin bir örneği; benzer fenotipteki bireylerin çiftleşme önceliği olduğu pozitif rastgele olmayan çiftleşmedir. Bu tip çiftleşmeler doğal popülasyonlarda yaygındır. Rastgele olmayan çiftleşmenin ikinci örneği ise; benzer olmayan fenotipteki bireylerin çiftleşme önceliği olduğu negatif rastgele olmayan çiftleşmedir. Pozitif ve de negatif rastgele olmayan çiftleşme formları popülasyonun allel frekanslarını değiştirmez ancak, genetik bir özellik için meydana geliyor ise genotip frekansları üzerine etki eder.

Rastgele çiftleşmeden sapmaya neden olan diğer formlar ise aynı soydan çiftleşme (inbreeding) ve dış üreme'dir (outbreeding). Aynı soydan çiftleşmede, yakın akrabalar arasında çiftleşme önceliği vardır. Bu nedenle akrabalar için pozitif seçici olmayan çiftleşme olarak değerlendirilebilir. Dış üremede ise, akraba olmayan bireyler arasında çiftleşme önceliği söz konusudur. Dolayısı ile bu tip de, akrabalar için negatif rastgele olmayan çiftleşme olarak değerlendirilebilir. Aynı soydan çiftleşmenin en uç biçimi kendi kendini döllemedir. Bu durum birçok bitkide ve birkaç hayvan türünde (bazı salyangozlar gibi) görülmektedir. Aynı soydan çiftleşme, küçük popülasyonlarda genetik kaymanın meydana getirdiği etkinin aynısını oluşturur. Her iki koşulda da heterozigot oranı düşer ve homozigotlar yükselir. Büyük popülasyonlarda ise; homozigot oranlarının artmasına neden olurken allelik frekansları değiştirmez ancak, genetik kayma homozigot oranını artırırken allelik frekansları da değiştirir.

## **1.4 Popülasyon Genetiğinde ve Filogenetik Analizlerde Kullanılan Moleküler Teknikler**

### **1.4.1 Polimeraz zincir reaksiyonu**

Polimeraz zincir reaksiyonunun K. Mullis ve arkadaşları tarafından 1985 yılında geliştirilmesi ile birlikte moleküler biyoloji ve tıp alanında yeni bir dönem başlamıştır [81]. PZR uygulamasında DNA tüpler içerisinde çoğaltılmaktadır. İstenilen miktarda DNA elde edilene kadar kalıp olarak kullanılan ikili zincir açılmakta ve sentezlenen yeni tamamlayıcı DNA parçaları ile birleşmektedir. İlk olarak yüksek sıcaklıkta (92-95°C) çift zincirli DNA molekülünün denatürasyonu gerçekleştirilerek sarmalların birbirinden ayrılması sağlanmaktadır. İkinci basamakta oligonükleotidlerin (primerler) kalıp zincirlere 3'-OH ucundan bağlanır ve tamamlayıcı zincirlerin

oluşması sağlanır. Son olarak ısıya dayanıklı *Taq* DNA polimeraz enzimi yardımı ile DNA sentezi gerçekleşmektedir. *Taq* polimeraz 5' ucundan 3' ucuna doğru nükleotidlerin eklenmesini ve primerlerin uzamasını sağlamaktadır. Bu işlem genelde 30-50 döngü arasında tekrarlanır. Bir ısıl döngüleyici (thermal cycler) sayesinde süreç için gerekli olan sıcaklık değişimleri ayarlanabilir. Bu süreçte genellikle DNA polimeraz olarak termofilik bakteri *Thermus aquaticus*'dan izole edilen ve yüksek sıcaklıklarda çalışabilen *Taq* DNA polimeraz enzimi kullanılır. Bu enzim, PZR döngüleri arasında çift sarmalın açılması için gerekli olan yüksek sıcaklığa dayanabilir. Kopyalanan DNA boya eklenerek agaroz jel elektroforezi ya da poliakrilamid jel elektroforezi ile gözlemlenebilmektedir [82].

#### **1.4.2 DNA dizi analizi**

Bireyler arasındaki genetik farklılıkların tespit edilmesinde kullanılan etkin yöntemlerin başında DNA dizi analizi yöntemi gelmektedir. Dizileme metodu DNA düzeyinde değişim tespit etmede kullanılan en hassas tekniktir. DNA üzerinde ilgi duyulan bir bölgenin veya genin dizileme metodu ile nükleotid dizilerin ortaya çıkarılması, bu bölgede mevcut olan polimorfizmi, azami düzeyde tespit etme imkanı sağlamaktadır. DNA zincirinin test edilmesinde en yaygın metot zincir sonlandırma (dideoxy-termination) metodudur. Bu teknikte, bir primer kullanılmakta ve DNA sarmalının sadece biri sentezlenmektedir. DNA sentez reaksiyonlarında kullanılan normal nükleotidlere (dNTP) ek olarak, modifiye (dideoxy) nükleotidler (ddNTP) dizileme reaksiyonuna eklenmektedir. Bu nükleotidlerin modifikasyonu, fosfat bantlarının formasyonuna engel olmaktadır. Sentez, modifiye nükleotidlerin eklenmesiyle sonlanmaktadır (dideoxy-termination). Zincir reaksiyonu, birbiriyle aynı olan dört reaksiyondan oluşmakta ve her bir reaksiyon farklı tüpler içerisinde gerçekleşmektedir. Her bir tüp içerisinde normal nükleotidler (dATP, dTTP, dGTP, dCTP) ve çok düşük oranda reaksiyonu tamamlayıcı modifiye nükleotidler (ddATP, ddTTP, ddGTP, ddCTP) bulunmaktadır. Bu yöntem laboratuvar ortamında (in-vitro) gerçekleştirilen DNA replikasyonunun kontrollü bir şekilde sonlandırılması temeline dayanmaktadır. Çift zincirli DNA tek zincirli hale getirilmekte ve hedef DNA bölgesinin bir bölümü ile tamamlayıcı DNA zinciriyle eşleştirilmektedir. Bu primer/hedef DNA (template) karışımı DNA polimeraz enzimi tarafından katalize

edilen ve primere yeni nükleotidlerin ilave edilmesi temelinde 4 ayrı reaksiyon alt grubunda incelenmektedir. Her bir reaksiyona 4 tip deoksiniükleotid ve (dATP, dTTP, dGTP, dCTP) bunlara ilave olarak 3'-OH grubunu taşımayan dideoksiniükleotidler (ddATP, ddTTP, ddGTP, ddCTP) eklenmektedir. Yeni sentezlenen DNA molekülü, ya primerin uç kısmı etiketlenerek ya da sentez sırasında etiketli deoksiniükleotid ilave ederek radyoaktif etiketli hale getirilmektedir. Yeni DNA sarmalının sentezinin gerçekleşmesi nükleotidlerin serbest 3'-OH grubuna eklenmesi ile devam etmekte ddNTP eklendiği zaman ise sonlanmaktadır. Elektroforez sonucu parçalar büyüklüklerine göre jel içerisinde yerlerini almaktadır. Jel üzerinde her bir bant sağ tarafta verilen ilgili parçayı ifade eder ve jel üzerinde okuma yapılarak reaksiyona sokulan DNA parçasının tamamının nükleotid zinciri tespit edilmiş olur.

### **1.4.3 Mitokondriyal DNA (mtDNA)**

Moleküler çalışmalarda genomun en çok çalışılan kısımlarından biri mtDNA'dır [83]. Ökaryotların çoğunda mtDNA çift iplikli, kapalı halkasal yapıda bulunur (Şekil 1.1). Mitokondriyal DNA'nın %90'ından fazlası intron içermeyen yani kodlama yapan bölgedir. Büyüklükleri organizmalar arasında farklılık göstermekle beraber hayvan mtDNA'sı yaklaşık 15-29 kb uzunluğunda olup, 2 rRNA, 22 tRNA ve 13 mRNA'yı kodlayan protein olmak üzere toplam 37 genden oluşan bir moleküldür. Protein genleri; 7 adet NADH dehidrogenaz alt birimi, sitokrom b, 3 adet sitokrom c oksidaz alt birimi ve 2 adet ATPaz alt biriminden oluşur. Mitokondriyal DNA haploittir, çoğunlukla maternal kalıtılır ve doğal seçilime uğrar. Hayvan mtDNA'sı yüksek derecede korunmuş gen içeriği ve düzenine sahiptir [84], rekombinasyon göstermez ve intron içermez [85;86]. mtDNA'nın evrim hızı nükleer DNA'ya göre 10-20 kat daha fazladır. Mitokondriyal DNA'nın iç mitokondriyal membranda meydana gelen oksidatif fosforilasyon ile açığa çıkan ve oldukça yüksek mutajenik etkiye sahip oksijen radikalleriyle fiziksel ilişki içerisinde bulunması [88], etkili bir tamir mekanizmasından yoksun olması [87], histon gibi koruyucu proteinlerin görülmemesi, ayrıca mevcut mutant mitokondrinin etkisi ile mtDNA mutasyon hızının artması [89] gibi faktörler, mtDNA'da meydana gelen polimorfizmin nükleer DNA'dan daha yüksek oranda görülmesinin muhtemel sebeplerini oluşturmaktadır. Tüm bu sebepler mtDNA'yı mutasyonlara daha açık hale getirmektedir. Nükleer DNA'ya göre daha

hızlı evrimleşen mtDNA, yakın akraba türler ve bir türün popülasyonlarını karşılaştırmada yaygın olarak kullanılmaktadır. Farklı mtDNA'lar arasında genetik rekombinasyon görülmez ve bu durum, genetik sürüklenme ile popülasyonların daha hızlı farklılaşmasına neden olur bu da mtDNA'yı hem sistematik hem de popülasyon genetiği çalışmaları için çekici kılmaktadır [90].

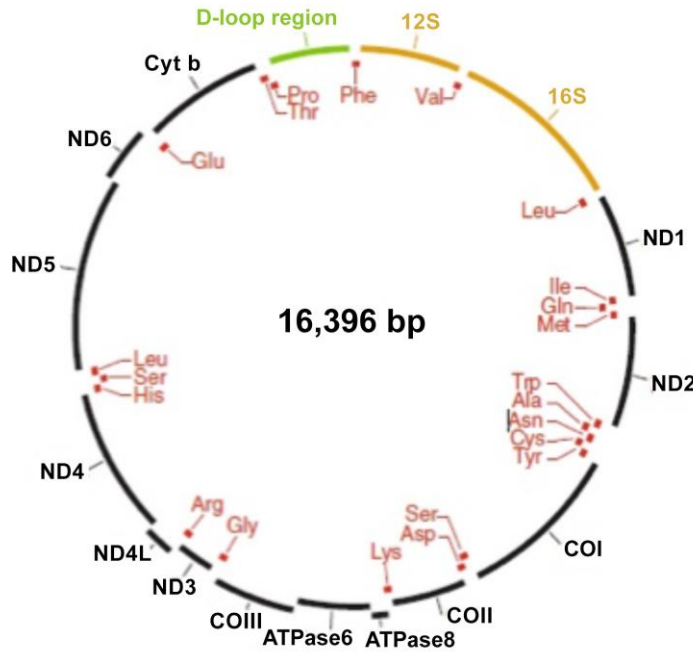
Mitokondriyal genomun farklı gen bölgeleri belirli tip çalışmalar için hedeflenmiştir. Bunlardan sitokrom b bölgesi (cyt-b); Sistematik ve filogenetik çalışmalarda taksonomik seviyelerin derecelerinin belirlenmesi için oldukça yaygın olarak kullanılan bir bölgedir [91]. cyt-b bölgesi hem yavaş hemde hızlı gelişen kodon pozisyonları ve çok sayıda değişken bölge içermektedir. cyt-b bölgesi mitokondride solunum ve elektron transferini kontrol eder 8 adet transmembran segmente sahiptir. Popülasyon seviyesindeki çalışmalar için yeterli düzeyde değişken yapıya sahip olup aynı zamanda daha derin filogenetik ilişkilendirmeler içinde yeterli düzeyde konservatif yapıya sahiptir. NADH Dehidrogenaz Genleri ise mitokondriyal DNA'nın protein kodlayan genlerinden olup ve 7 alt birimden oluşur (ND 1, ND 2, ND 3, ND 4, ND 4L, ND 5, ND 6). mtDNA'nın ND bölgesi, popülasyon genetiğinde yüksek taksonomik gruplara kadar değişen ilişkileri analiz etmek için kullanılmaktadır [92;93]. Mitokondriyal DNA kontrol bölgesi (D-Loop) ise popülasyon genetiği çalışmalarında sıklıkla kullanılan bir mtDNA bölgesi olup yaklaşık 1 kb uzunluğundadır ve replikasyonun başladığı bölgedir. Kontrol bölgesi, mitokondriyal DNA'nın protein kodlaması yapmayan tek bölgesidir ve yüksek evrim hızına sahiptir. Tüm bu özelliklerinden dolayı mitokondriyal DNA'nın kontrol bölgesi filogenetik ve tür tayini çalışmalarında sıklıkla kullanılmaktadır [94]. Sitokrom c oksidaz, mitokondrielerde bulunan büyük bir transmembran proteindir. Elektron taşıma zincirinin son elektron alıcısıdır. Mitokondriyal sitokrom c oksidaz geni üç alt birimden oluşmaktadır. Üç sitokrom oksidaz alt biriminden biri olan COI gen bölgesi; son yıllarda DNA barkodlama çalışmalarında kullanılan standartlaşmış bir gen bölgesidir. Hayvanlarda tür seviyesinde ayırım gücüne sahip ve barkod çalışmalarında sıklıkla kullanılan bu gen;

Tür seviyesinde belirgin bir genetik varyasyon ve ayırım gücüne sahip olması,

Geniş bir taksonomik ölçüde canlılar için uygun evrensel primerler ile çoğaltılabilen, korunmuş uç bölgelerine sahip olması,

DNA izolasyonu ve PZR sırasında sorun yaratmayacak kısa dizi uzunluğuna (652-658 bç) sahip olması sayesinde filogenetik ilişkilerin irdelenmesinde de etkin olarak kullanılabilme ve bu özelliklerinden dolayı barkod çalışmalarında tercih edilmektedir [95].

COI geninin diğer protein kodlayan mitokondriyal genlerden üstünlüğü birçok farklı taksonomik seviyede kullanılabilir olması ve metazoan türler için evrensel primer çiftleri kullanılarak çoğaltılabilmesidir [95]. COI geninde bulunan kodonların üçüncü pozisyonundaki nükleotidler yüksek oranda yer değiştirme (substitüsyon) göstermekte ve böylece mitokondriyal rRNA genlerine oranla üç kat daha yüksek moleküler evrim hızına sahip oldukları değerlendirilmektedirler. Ayrıca COI geninde gerçekleşen evrimin, yakın türlerin ayırımına imkân tanıyan ve coğrafik yapı ile ilişkilendirilebilen tür içi varyasyonu ortaya koyabilecek bir hızda gerçekleşmesidir [96].



**Şekil 1.1:** Kum Kaya Balığı (*Pomatoschistus minutus*) mitokondrisinde genlerin dizilimi [97].

## 1.5 Filogenetik ve Kullanılan Metotlar

Filogenetik terimi Yunanca kökenlidir, takım veya tür anlamına gelen "phyl" ve köken anlamındaki "geny" terimlerinden türetilmiştir [98]. Filogenetik türler arası genetik bağları ve ilişkileri araştıran bilim dalıdır. Organizmaların evrimsel akrabalık ilişkisi ise filogeni olarak tanımlanmaktadır. Belirli karakterleri (morfolojik ve/veya genetik) inceler ve benzer karakterleri taşıyan organizmaların genetik olarak birbirine yakın oldukları varsayımından yola çıkmaktadır. Moleküler filogenetik kavramı ise genomik bilgiyi kullanarak canlılar arasındaki ilişkileri ve moleküler düzeydeki benzerlikleri açıklamaya çalışır ve genleri kodlayan nükleotid dizilerini yada proteinleri kodlayan aminoasit dizilerinin sınıflandırılmasını temel alır. Bir takson veya takson grubunun filogenilerinin belirlenmesi demek, zamansal olarak onların birbirleri ve diğer taksonlarla ortak ata temelinde durumlarının ortaya konması demektir [99].

Filogenetik metotlar uzaklık ve karakter temelli olarak sınıflandırılabilir. Moleküler filogenetikteki tartışmaların çoğu uzaklık ve karakter temelli metotların kullanımı üzerine sürmektedir [100]. Uzaklık metotları bazı ölçümlere göre çift yönlü uzaklıkları hesaplar ve ağaçları oluşturmak için sadece belirlenmiş uzaklıkları kullanarak asıl veriyi gözardı eder. Karakter temelli metotlar ise ağaç oluşturmada her bir karakter için asıl verinin en iyi şekilde dağılımını sağlar. Çift yönlü uzaklıklar ağaç topolojisi tarafından belirlendiğinden dolayı sabit değildir [99]. En sık uygulanan uzaklık temelli metotlar; komşu-bağlama metodu (Neighbour joining) ve minimum evrim metodu (Minimum evolution), en sık uygulanan karakter temelli metotlar ise maksimum tutumluluk metodu (Maximum parsimony), maksimum olasılık (maximum likelihood) metodu ve Bayesian çıkarılma (Bayesian inference) metodudur.

### 1.5.1 Uzaklık temelli metotlar

#### 1.5.1.1 Komşu bağlama metodu (Neighbour joining/NJ)

Komşu-bağlama metodunda optimizasyon kriteri kısmen gözardı edilerek dallar boyunca moleküler değişikliklerin eşit olmayan oranları analiz edilmektedir. Analiz aşamalarında uzaklık matrisi düğümlerin her çifti arasında ayarlanan dal uzunluklarının etkisindedir. Olası tüm ağaç topolojilerinin değerlendirilmediği bu metotta tek bir ağaç oluşturulmakta ve geniş veri setlerinin analizi hızlı bir şekilde

yapılabilmektedir. Komşu katılım metodu bilgisayarlı hesaplama yoluyla hızlı ve yüksek kesinlikli filogenetik sonuçlar verdiği için ağaç oluşturmada çok yaygın olarak kullanılmaktadır [101].

#### **1.5.1.2 Minimum evrim metodu (Minimum evolution/ ME)**

Minimum evrim ölçülen dal uzunlukları ile bulunan en kısa ağacı gösterir; yani; ME metodu, uzaklık gözleminin karelenmiş sapmasını minimize ederek çalışır [102-104]. ME bütün muhtemel ikili uzaklıkları kullanmaz ve bütün ilgili ağaç dal uzunluklarını kullanmaz. Dış düğümlerin uzaklığına bağlı iç ağaç düğümlerini düzenler ve sonra bu gözlemlenen noktalar arasındaki ölçüm hatasına göre iç dal uzunluğunu en uygun hale getirir. Temelde komşu katılım metoduna benzemekle birlikte komşu katılım metoduna göre daha yavaş ancak daha tutarlı ağaçlar vermektedir.

### **1.5.2 Karakter temelli yöntemler**

#### **1.5.2.1 Maksimum tutumluluk metodu (Maximum parsimony/ MP)**

Bu yöntemde ortak bir atadan türediği için bütün dizilerin en az değişmiş olduğu ağaç MP ağacı olarak kabul edilir [105]. İki birim arasında en az değişiklik gerektiren ağaç en uygun olan ağaçtır. MP analizi en az mutasyonun saptanmasına dayanan bir yöntemdir ve en iyi sonuçlar dizi çiftleri arasındaki benzerliklerin çok güçlü olduğu ve az sayıda dizinin olduğu durumlarda alınır.

#### **1.5.2.2 Maksimum olasılık metodu (Maximum likelihood/ML)**

ML yöntemi de bir uyum içinde her pozisyonu kullanır ve olası tüm ağaçları değerlendirir. Bu yöntem olası tüm ağaç topolojileri için bütün olasılıkları hesaplar ve maksimum olasılığı kabul eder. Her bir dizi için olasılık hesabı oluşabilecek bütün ağaçları sağlamak için çarpılır. Çok iyi temellendirilmiş istatistiğe dayandığından matematiksel olarak daha zahmetli bir yöntemdir. En bilgilendirici ağacı vermesine rağmen ML yöntemi çok yavaş ve oldukça yoğun bir matematiksel işlem gerektirir [105].



### 1.5.2.3 Bayesian çıkarsama metodu (Bayesian Inference/BI)

Temelde ML metoduna benzemesine rağmen olasılık kullanımı şekli ile ML metodundan ayrılır. Bu yöntemin amacı tek bir doğru filogeniyi bulmayı değil, oluşabilecek bütün filogenilerin olasılık dağılımlarını hesaplamaktır. Bunun için evrimsel parametrelerin dağılımlarını kullanır.

## 1.6 Popülasyonların Yapı Analizlerinde Kullanılan Yöntemler

### 1.6.1 Nükleotit çeşitliliği ( $\pi$ )

Popülasyon genetiğinin temeli popülasyonlar içinde ve arasında ve hatta türler arasında bulunan nükleotit varyasyonunu anlaşılır kılmaktır [106]. İki tip ölçüm metodu bulunmaktadır; bunlardan ilki varyasyon gösteren nükleotit oranı ikincisi ise nükleotit düzeyinde popülasyonların çeşitliliğidir.

Nükleotit varyasyonunun belirlenmesindeki en hızlı yol incelenen bölgede değişken nükleotit bölgelerinin tespitidir ve ayırdedici bölgelerin diziyi oluşturan toplam nükleotit sayısına bölünmesi ile bulunmaktadır. Popülasyonda varyasyon oluşturan nükleotit bölgelerinin oranı denklem 1.1’de verilmiştir.

$$P_s = \frac{S}{N} \quad (1.1)$$

$S$ : (segregating) ayırdedici bölgeler,

$N$ : diziyi oluşturan toplam nükleotit sayısı

Nükleotit çeşitliliği ölçümü metodu ise sekans çiftleri arasındaki nükleotit farklılıklarının oranı belirlenerek, bu farklılıkların sekans frekanslarıyla ilişkilendirilmesidir. Çalışılan popülasyondan rastgele seçilen herhangi iki DNA dizisi arasındaki ortalama nükleotit sayısı hesaplanır ve  $\pi$  ile gösterilir. Bu istatistik değer popülasyonlar içi ve arasındaki çeşitliliği göstermek için kullanılır.  $\pi$  değeri denklem 1.2 ile elde edilebilmektedir [107].

$$\pi = \frac{n}{n-1} \sum_{ij} x_i x_j \pi_{ij} \quad (1.2)$$

$n$ : belirli bir DNA bölgesi için toplam örnek sayısı

$x_i$  ve  $x_j$ :  $i$  ve  $j$  dizilerinin frekansları

$\pi_{ij}$ :  $i$ . ve  $j$ . diziler arasındaki nükleotit farklılıklarının sayısıdır.

### 1.6.2 Haplotip çeşitliliği ( $h$ )

Haplotip, kromozom ya da mitokondriyal DNA üzerinde yakın mesafede bulunan birbirine bağlı genler ya da nükleotit bölgelerine verilen isimdir. Haplogrup ise, filogenetik ağaçlarda aynı kümede bulunan ve aynı ortak ataya sahip haplotipleri ifade etmektedir. Haplogrup frekansı bir popülasyonda bir haplogrupa ait oransal frekansın ölçüsüdür ve o türe ait genetik çeşitliliği ifade etmektedir.

### 1.6.3 Genetik mesafenin hesaplanması

Popülasyonlar arası genetik varyasyon ve bunun miktarı birçok farklı sebepten kaynaklanabilmektedir. Mutasyonlar, izolasyon mekanizmaları, genetik kayma, gen akışı gibi faktörler genetik varyasyonun oluşumunda oldukça etkili olup, popülasyonların benzerlikleri yada farklılaşmaları üzerinde etkiye sahiptirler. Popülasyonlar arası genetik mesafe ise yine popülasyonlar arasındaki benzerlik veya farklılıkların tespitiyle hesaplanabilmektedir [106]. Genetik mesafeyi hesaplamaya yönelik birbirinin analoğu bir çok algoritma geliştirilmiş olmasına rağmen çalışmalarda sıklıkla kullanılan metodlar  $F_{ST}$  ve Nei'nin genetik mesafe metodu,  $D_a$ 'dır [108; 109].

Fiksasyon indeksi adı da verilen Wright'ın  $F$  istatistiği ( $F_{ST}$ ) [110] allel frekanslarını temel alan ve popülasyonlar arasındaki genetik mesafenin ölçümünde sıklıkla kullanılan bir istatistiktir. Aynı zamanda gen akışı veya izolasyon olup olmadığının tespitini sağlamaktadır [111].  $F_{ST}$  değerinde "S" harfi alt popülasyonları (subpopulation), karşılaştırıldığı toplam popülasyon varyansı ise "T" harfi ile gösterilmektedir [112].  $F_{ST}$  değerleri 0 ve 1 arasında değişmekte ve daima pozitif değerler almaktadır.

Popülasyonlar arası farklılaşmaya sebep olan genetik kayma yüksek olduğunda  $F_{ST}$  de bu oranda yüksek olurken ( $F_{ST} \approx 1$ ), iki popülasyon arası gen akışı fazlaysa (ortak ataya sahiplerse veya iki popülasyon arasında gen akışı varsa)  $F_{ST}$  de bu oranda küçük olmaktadır ( $F_{ST} \approx 0$ ). Mitokondriyal DNA gibi haploid verilerin kullanıldığı çalışmalarda  $F_{ST}$  hesaplanırken haplotip çeşitliliğini ( $h$ ) temel alan bir hesaplama kullanılmaktadır.

#### 1.6.4 Uyumsuzluk dağılımı analizleri

İkili grup farklılıklarının dağılımı olarak da bilinen uyumsuzluk dağılımı (Mismatch) analizleri çeşitliliğin ölçülmesinde sık kullanılan yöntemlerden birisidir. Mismatch analizleri alleller arasındaki ikili farklılıkların frekansına dayanarak popülasyonun geçmişteki büyüklüğü hakkında bilgi verirler. Çeşitliliğin düzeyini dağılımın ortalaması ortaya koyarken, dağılımın şekli de popülasyonun demografik tarihi açısından fikir vericidir [113-115]. Çan eğrisi şeklinde ve unimodal (tek tepe noktasına sahip) düzgün bir dağılım tek bir haplotipten hızlı bir popülasyon büyümesi yaşandığını veya popülasyonun göç alarak büyüdüğünü işaret etmektedir. Bununla birlikte multimodal (birden fazla tepe noktasına sahip) düzgün olmayan bir dağılım ise popülasyonun genellikle sabit ve dengede kaldığını; bazende darboğaz geçirdiğini göstermektedir [113;114]. Ancak uyumsuzluk dağılımı grafikleri tek başına popülasyonun darboğaz geçirip geçirmediği hakkında yetersiz kalmakla birlikte sonuçlar mutlaka nötral teorisinin de test edilmesiyle birlikte değerlendirilmelidir.

Uyumsuzluk dağılımı grafiğinde komşu iki barın tepe noktaları arasındaki karelerin ortalaması olarak bilinen raggedness ( $r$ ) istatistiği dağılımların karşılaştırılmasında kullanılır [111;116]. Düzgün dağılımlar, düzgün olmayan dağılımlara oranla genellikle daha düşük  $r$  değerlerine sahiptir (DNA dizileri için  $< 0,03$ ) ve bu sonuç geçmişte popülasyonun genişlediğini göstermektedir. Bu genişlemenin zamanı dağılımın ortalamasının  $y$  ekseninden uzaklığı ile ilişkilendirilerek hesaplanabilmekte ve genişleme ne kadar eski bir zamanda yaşandıysa ortalama  $y$  ekseninden o kadar uzak olmaktadır [111;116;117]. Bununla birlikte uyumsuzluk dağılımı analizi grafiğinde; gözlenen eğrinin beklenen eğriden sapması olarak bilinen SSD (sum of square deviation) değeri ne kadar küçük ise iki eğri arasındaki sapma o derece az kabul edilir ve popülasyon için öne sürülen genişleme yada daralma hipotezi kabul edilir.

### 1.6.5 Mantel ve tarafsızlık testleri

Mantel testi, genetik çalışmalarda coğrafi uzaklık matrislerinin  $F_{ST}$  gibi genetik uzaklık matrisleri veya morfolojik ölçümler gibi matrislerin ile karşılaştırılmasında sıklıkla kullanılmaktadırlar [106]. Analizin sıfır hipotezi ( $H_0$ ) analiz matrisler arasında ilişki olmadığı ve herhangi bir bağıntı bulunmadığını göstermektedir. Test 1.000 ile 1.000.000 arasında değişebilen permutasyon değerleri altında elde edilen regresyon değeri ( $R$ ) ve  $X$  değişkeni yoluyla  $Y$  değişkenini belirleme katsayısının ( $r^2$ ) ölçülmesine dayanmaktadır.  $R$  değeri +1 ve -1 arasında değişmektedir. -1 güçlü bir negatif korelasyon durumunu, 0 korelasyonun olmadığını ve +1 ise güçlü bir pozitif korelasyonu ifade etmektedir [118;106].

Yüksek frekanslı allellerin sayısını arttıran yönlü seçilim gibi olaylar seçici süpürülmeye neden olmaktadır. Yani, seçilen genler kromozomal olarak yakın yerleşim gösteren (bağlı oldukları) allellerin ya da köken aldıkları paternal/maternal haplotipin oranının artmasına neden olmaktadır. Bu olaya genetik otostop (Genetic hitchhiking) denmektedir [119]. Nötral teori genetik çeşitliliğin büyük bölümünün seçilimle değil mutasyon ve genetik sürüklenme ile oluştuğunu ve bunun sonucunda da bazı allellerin rastgele nötral durumda kaldığını savunmaktadır [120] Bu teoriye göre allellerin sonraki jenerasyonlara katılımı seçilim nedeniyle değil mutasyon oranına ve genetik sürüklenmeyle ilişkili olduğu görüşü, evrimsel olayların zamanlamasının tespitinde ana prensiptir [111]. Geçmişte yaşanmış olan seçilim baskısının popülasyon üzerindeki etkisinin test edilmesinde tarafsızlık testleri kullanılmaktadır. Nötral teorisinin test edilmesinde sıklıkla  $F_u$  ve  $L_i$ 'nin  $D^*$  ve  $F^*$  testleri [121],  $F_u$ 'nun  $F_s$  [122] ve Tajima'nın  $D$  [123] testleri tercih edilmektedir. Çalışmalarda sıklıkla kullanılan bu testler, popülasyonların demografik hikayesi hakkında bilgi vermekte, her birinin duyarlı olduğu yönler bulunmakta ve yorumlamaları da buna göre değişmektedir.

Tajima  $D$  ayırt edici bölgelerin (Segregating sites) sayısının ve diziler arasındaki ortalama ikili farklılıkların tahminlerinin karşılaştırılmasını esas alırken;  $F_u$ 'nun  $F_s$  değeri ise, bir numunedeki gözlemlenen haplotip sayısını tarafsızlık altında beklenen sayıyla karşılaştırır [124].

Tarafsızlık altında Tajima'nın D değerinin sıfır olması beklenmektedir. Hem Tajima D'nin hem Fu'nun Fs değerinin istatistiki olarak önemli pozitif değerleri popülasyon azalmasını ya da dengeleyici seleksiyonu gösterirken, negatif değerler ise seleksiyonun varyasyonu azaltmasını ve popülasyon büyümesini işaret etmektedir. Tajima D değerinde gözlemlenen negatif değerler ayrıca düşük frekanslı polimorfizmlerin beklenen orandan daha fazla gözlemlendiğine işaret olarak kabul edilmektedir. [123;125]. Fu'nun Fs değeri ise yakın tarihte yaşanan popülasyon genişlemeleri ve rekombinasyona uğramayan genomik bölgelerin tespitinde en duyarlı test olarak kabul görmektedir [124]. Rekombinasyon seviyesinin bilinmediği durumlarda ise Tajima D ve Ramos-Onsins & Rozas  $R^2$  istatistiğinin [126] daha güvenilir sonuçlar verdiği bildirilmiştir [124]. Ramos-Onsins & Rozas  $R^2$  istatistiğinin örnek sayısının az olduğu durumlarda oldukça hassas sonuçlar verdiği bilinmektedir. Fu ve Li'nin  $D^*$  ve  $F^*$  testleri ise arka plan seçiliminin (negatif seçim nedeniyle bağlantılı zararlı alellere karşı, zararlı olmayan bir lokustaki genetik çeşitliliğin kaybını ifade eden genel isim) gözlemlendiği durumlarda Tajima D ve Fu'nun Fs değerinden daha hassas sonuçlar verdiği bildirilmiştir [122]. Yani, istatistiksel olarak önemli seviyede olan Fu ve Li'nin  $D^*$  ve  $F^*$  testleri arka plan seçilimini işaret etmekteyken; önemli seviyede gözlemlenen negatif Fs değeri ise daha çok popülasyon genişlemesi veya genetik otostop kanıtı olarak kabul edilmektedir [122].



## 2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Kum kaya balıkları, besin zincirindeki kilit rolleri, benzer morfolojik yapıları, küçük boyutları ve barındırdıkları muhtemel kriptomatik türler nedeniyle oldukça yoğun çalışılan balık gruplarından. Gerçekleştirilen çalışmalar ağırlıklı olarak türlerin dağılım alanları ve biyo-ekolojileri üstüne yoğunlaşmış olsa da, yeni türlerin tanımlandığı ve kum kaya balıklarının filogenisi üzerine yapılan çalışmalar son yıllarda artmaya başlamıştır.

### 2.1 Kum Kaya Balıklarının Konu Alan Moleküler Filogenetik Çalışmalar

Kum kaya balıklarının filogenisi araştırmacıların tüm dünyada oldukça yoğun çalıştığı bir konudur. Farklı türlerin ve farklı belirteçlerin çalışıldığı bir çok çalışma mevcut olsa da gerek örnekleme stratejisi gerekse kullanılan algoritmik teknikler farklılık göstermiş ve dolayısıyla türlerin sınıflandırmasında farklılıklar gösteren görüşler ortaya konmuştur.

Miller [70], Gobiodei alt takımının 2 familya (Gobiidae ve Rhyacichthyidae) ve 7 alt familyadan oluştuğu görüşünü ortaya koyarken Hoese [71] 6 familyadan oluşan bir sınıflandırmayı esas almış ve 4 alt familyadan oluşan Gobiidae familyasına Oxudercinae alt familyasını eklemiştir.

Birdsong vd. [78], osteolojik karakterleri inceleyerek gerçekleştirdiği çalışmada *Pomatoschistus* cinsini Gobiidae familyasının altında grup seviyesinde değerlendirmiştir.

Gobiodei alt takımındaki türlerden Genbank'a sekans verisi girilen ilk tür yine kum kaya balıklarından *P. minutus*'un 1410 bp Rhodopsin geni Archer vd. [127] tarafından Genbank'a yüklenmiştir.

Pezold [72] kaya balıkları için diagnostik olan duysal papilla ve por sistemlerinin esas alındığı çalışmasında Hoese [71]'nin sınıflandırması takip etmiş; Gobiodei alt takımının Xenisthmidae, Eleotrididae, Kraemeriidae, Gobiidae, Microdesmidae ve

Rhyacichthyidae olmak üzere 6 familyadan oluştuğunu öne sürmüştür. Buna ek olarak Akihito vd. [73;74] Gobiodei alt takımının Rhyacichthyidae, Odontobutidae, Xenisthmidae, Eleotrididae, Kraemeriidae, Gobiidae, Microdesmidae ve Schindleriidae olmak üzere 8 familyadan oluştuğunu bildirmiştir. Akihito vd. [74] aynı zamanda Gobioid türlerinin moleküler düzeyde ilişkilerini konu alan ilk çalışma olarak bilinmektedir.

Wang vd. [128], yaptıkları çalışmada Gobioid alt takımına dahil 5 familyadan 43 türü 12S rRNA and tRNA<sup>VAL</sup> genlerini kullanarak filogenetik ilişkilerin morfolojik sınıflandırmalarla olan uyumunu incelemişlerdir.

Huyse vd. [52], kum kaya balıklarının filogenisi ile yaptıkları çalışmada ITS ile 12s ve 16s rDNA bölgelerini kullanmışlardır. Elde ettikleri sonuçlarda gözlemledikleri yıldız benzeri filogenetik yapının geç miyosen döneminde Messinian tuzluluk krizi sonrasında Akdenizde yaşanan değişiklikler neticesinde ve çok kısa bir sürede evrildiklerinin göstergesi olarak bildirmişlerdir.

Thacker & Hardman [129], mitokondriyal ND1, ND2, COI, ve cyt-b kullanarak gerçekleştirdikleri çalışmada basal gobioid olarak bilinen Rhyacichthyidae, Odontobutidae, Eleotridae ve Xenisthmidae familyalarına ait türlerin filogenetik ilişkilerini incelemişlerdir.

Thacker [76], mitokondriyal ND1, ND2 ve COI genlerini kullanarak Gobiodei türlerinin moleküler filogenisini çalışmıştır. Xenisthmidae familyasını Eleotrididae familyasının bir parçası olduğunu öne sürmüş ve Gobiodei alt takımının 9 familyadan oluştuğunu (Rhyacichthyidae, Xenisthmidae, Odontobutidae, Eleotrididae, Kraemeriidae, Gobiidae, Microdesmidae, Schindleriidae ve Ptereleotridae) bildirmiştir.

Neilson & Stepien [130], COI gen bölgesini kullanarak Karadeniz-Hazar neogobioid türlerinin gobiodei türleri ile ilişkilerini incelemişlerdir.

Thacker [61], yaptığı çalışmada 2003 yılında yaptığı araştırmadaki sonuçlarına eklemeler ve düzenlemeler yapmıştır. Buna istinaden örneklenen taksonların sayısını genişletmiş ve cyt-b genini de araştırmasına ekleyerek Gobiodei alt takımının Acanthomorph'lar arasındaki durumunu incelemiştir. Araştırmacı elde ettiği



sonuçlarda Gobiidae familyası içindeki Gobionellinae alt familyasını familya düzeyine taşıyarak önceki çalışmasında 8 familya olarak önerdiği Gobiodei alt takımındaki familya sayısını 6 (Eleotrididae, Rhyacichthyidae, Odontobutidae, Gobiidae, Butidae, Gobionellidae) olarak düzeltmiştir.

Pezold [65], Gobioid türleri ile yapılan sistematik çalışmaları derlediği çalışmasında Thacker [61] tarafından önerilen klad temelli sınıflandırmanın varsayımsal monofili gruplarını belirttiğini ancak Gobionellidae familyası veya tanınan diğer familyalarda herhangi biri için sinapomorfi verilmediğini belirtmiştir.

Rüber & Agorreta [64], Gobioid türleri hakkında yapılan moleküler araştırmaları derlemiş ve Gobiodei alt takımının 9 familya (Rhyacichthyidae, Odontobutidae, Eleotridae (Butinae, Eleotrinae), Xenisthmidae, Gobiidae (Oxudercinae, Amblyopinae, Sicydiinae, Gobionellinae, Gobiinae), Kraemeriidae, Microdesmidae, Ptereleotridae, ve Schindleriidae) olarak değerlendirmişlerdir.

Thacker & Roje [63], Gobiidae soy hatlarını inceledikleri çalışmada mitokondriyal DNA ND1, ND2, COI, nukleer DNA RAG2, Rodopsin ve RNF213 genlerini kullanmışlar ve kum kaya balıkları *Economidichthys*, *Gobiusculus*, *Hyrceanogobius*, *Knipowitschia*, *Pomatoschistus* türlerinin Gobionellidae familyası içerisinde değerlendirilmesi gerektiğini vurgulamışlardır.

Agorreta & Rüber [66], Gobioid filogenisi ile ilgili yapılmış moleküler çalışmaları aynı dış grup ve filogenetik çıkarsama ile standardize ederek tekrar analiz etmişlerdir. Elde ettikleri sonuçların orjinal çalışmalarda elde edilen sonuçlarla benzerlik gösterdiğini vurgulamışlar ancak topolojik uyumsuzluklara da dikkat çekmişlerdir. Sınıflandırma da ise Thacker [61]'i takip etmişler ve Gobioid türlerinin filogenisinin ciddi bir revizyona ihtiyaç duyduğunu belirtmişlerdir.

Malavasi vd. [54], kum kaya balıklarının filogenisi üzerine yaptıkları çalışmada bu balıklara ait 27 davranışsal karakteri ve türe özgü karakteristik özellikleri esas almışlardır. Elde ettikleri sonuçların ise türlerle ilgili yapılan moleküler sonuçlarla uyumlu olduklarını bildirmişlerdir.

Vanhove vd. [131], Balkanlarda dağılım gösteren 8 nominal kum kaya balığını örnekleyerek gerçekleştirdikleri çalışmada kum kayabalıklarının filogenetik ilişkileri

üzerine yorumlar getirmişlerdir. 12S ve 16S rDNA genleri kullanarak elde ettikleri sonuçlar diğer moleküler çalışmalarla uyum göstermekle birlikte özellikle *Knipowitschia* cinsinin revizyona ihtiyacı olduğu sonucuna varmışlardır.

Thacker [62], önceki çalışmalarında kullandıkları veri setlerine yeni takson örneklemeleri dahil ederek Avrupa kum kaya balıklarının gobioid filogenisi içerisindeki yerini incelemişlerdir. Elde ettikleri sonuçlarda kum kaya balıklarının Gobiidae familyası üyeleri değil Gobionellidae familyası üyeleri oldukları hipotezlerini yenilemişlerdir. Bununla beraber *Pomatoschistus* cinsini *Mugilogobius* soy hattı içine dahil etmiş ve kum kaya balıklarının diğer Avrupa kaya balıkları ile yakın akraba olmadıklarını vurgulamışlardır.

Tornabene vd. [67], RAG1 ve Rhodopsin genini kullanarak yaptıkları filogenetik çalışmada ise Thacker [61] ile benzer sonuçlara ulaştıklarını belirtmişlerdir. Bununla beraber Gobiidae familyasının *Gobiines*, *Microdesmines*, *Ptereleotrinus* ve *Kraemeriines* türlerini; Gobionellidae familyasının ise *Gobionellines*, *Oxudercines*, *Amblyopines*, *Sicydiines*, ve Avrupa kum kaya balığı türlerini içerdiğini belirtmişlerdir.

Agorreta vd. [59]'nin nükleer ve mitokondriyal belirteçler kullanarak gerçekleştirdikleri çalışmada Gobiodei alt takıma ait türlerin filogenetik ilişkilerini incelemişlerdir. Elde ettikleri bulgular altında Gobiodei alt takımının 5 familyadan oluştuğunu (*Rhyacichthyidae*, *Odontobutidae*, *Eleotrididae*, *Butidae*, *Gobiidae*) öne sürmüşlerdir. Ayrıca Avrupa kaya balıklarının *Pomatoschistus*, *Aphia* ve *Gobius* olmak üzere üç ana soy hattı içinde toplandığını; *Pomatoschistus* soy hattı içindeki türleri “Gobionelline-benzeri” türler olarak nitelendirirken *Aphia* ve *Gobius* soy hatları içindeki türleri ise “Gobiine-benzeri” türler olarak nitelendirmişlerdir.

Thacker [132] Gobioid soylarının biyocoğrafik kökenlerini incelediği çalışmasında Akdeniz’de bulunan Gobionellidae soylarının Kuzey-Doğu Atlantik’in ötesine yayılmadığını rapor etmiştir.

Thacker vd. [68], COI gen bölgesini kullanarak yaptığı son çalışmada kum kaya balıklarının Gobionellidae familyasına dahil olduklarını tekrar vurgulamıştır. Bununla birlikte; *Gobiusculus* cinsini *Pomatoschistus* cinsi olarak kabul etmiş ve ek olarak

*Pomatoschistus canestrinii* ve *Pomatoschistus montenegrensis* türlerinin cinslerini ise *Ninnigobius* olarak değiştirilmesi gerektiğini vurgulamıştır.

## 2.2 Kum Kaya Balıkları ve *P. marmoratus* Türünün Popülasyonları ile İlgili Gerçekleştirilen Genetik Çalışmalar

Bu çalışmanın konusunu oluşturan *P. marmoratus* üzerine yapılan ilk genetik tabanlı çalışma Wallis & Beardmore [47] tarafından yapılmıştır. *Pomatoschistus canestrinii* (Ninni, 1183), *Pomatoschistus lozanoi* (de Buen, 1923), *P. marmoratus*, *Pomatoschistus microps* (Krøyer, 1838), *Pomatoschistus minutus* (Pallas, 1770), *Pomatoschistus norvegicus* (Collet, 1902), *Pomatoschistus pictus* (Malm, 1865), *Knipowitschia caucasica* (Berg, 1916), *Neogobius melanostomus* (Pallas, 1814) türleri arasındaki genetik ilişki 31 losi'nin incelendiği protein elektroforezi ile incelenmiş, *P. lozanoi*, *P. minutus* ve *P. norvegicus* türlerinin birbirine oldukça yakın türler olduğu ve bununla beraber benzer bir yakınlığın *P. marmoratus* ve *P. microps* türleri arasında  $D= 0.218$  var olduğunu bildirmişlerdir.

Arculeo vd. [51], yine allozim kullanarak yaptıkları çalışmada birbirlerine oldukça benzer morfolojik özellikler gösteren *P. marmoratus* ve *P. tortonesei* türleri arasındaki genetik farklılıkları araştırmışlardır. Çözümlemesini yaptıkları 21 lokus içerisinde 7 losinin türler arasında farklı alleller barındırdıklarını ve iki tür arasındaki genetik mesafenin ( $D= 0.413$ ) olduğunu bildirmişlerdir.

Stefanni ve Thorley [133], Kuzey Doğu Atlantik, Kuzey Denizi, Adriyatik Denizi ve Batı Akdenizden örnekledikleri *P. minutus* popülasyonlarının genetik yapılarını allozimleri kullanarak incelemişlerdir. Elde ettikleri sonuçlarda ise Adriyatik popülasyonunun diğer popülasyonlardan oldukça farklı olduğunu ve diğer popülasyonlar arasında yüksek gen akışı ve düşük genetik farklılıklar gözlemlendiğini bildirmişlerdir.

Gysels vd. [134], Atlantik ve Akdeniz kıyılarında 14 lokaliteden topladıkları *P. minutus* popülasyonlarının genetik yapıları üzerine yaptıkları çalışmada mitokondriyal cyt-b genini kullanmışlardır. Elde ettikleri sonuçlarda tüm lokasyonlar arasında az ama önemli bir seviyede olan genetik farklılaşma tespit etmişlerdir. Çalışmada ayrıca özellikle batı Akdeniz popülasyonlarında gözlemlenen özgün haplotiplere bağlı olan

atasal Atlantik haplotiplerinin, Akdeniz'deki tarihsel süreçte allopatrik olarak evrilen iki farklı maternal soyun varlığına işaret ettiğine dikkat çekmişlerdir.

Pampoulie vd. [135], Kuzey denizinde dağılım gösteren *P. minutus* popülasyonları arasındaki genetik ilişkiyi mikrosatellit ve allozimler kullanarak araştırmışlardır. Orta seviyede belirledikleri genetik farklılaşmayı ise paleocoğrafik süreçler ve lokal akıntılarla bağdaştırmışlardır.

Berrebi vd. [53], yaptıkları çalışmada morfolojik olarak oldukça benzer olan *P. marmoratus* ve *P. microps* türlerinin Fransa lagünlerindeki varlıklarını allozimleri kullanarak doğrulamışlardır. Buna göre bazı lagünlerde verilen dağılım bilgilerini güncellemişler ve *P. marmoratus* ve *P. microps* türlerinin üretken hibritler oluşturduklarını rapor etmişlerdir.

Berrebi vd. [136], yaptıkları çalışmada *P. marmoratus* ve *P. microps* türleri için 7 yeni polimorfik lokus tanımlamışlardır.

Larmuseau vd. [137], *P. minutus* türünün dağılım alanlarında 7 farklı lokaliteden örneklediği popülasyonlar üzerinde Rhodopsin (RH1) geni kullanarak popülasyonların genetik yapılarını incelemişlerdir. Elde ettikleri sonuçlarda örnekledikleri tüm popülasyonlar RH1 geni için yüksek tür içi polimorfizm tespit etmişlerdir. Bunun yanı sıra incelenen bireylerin coğrafik olarak kümelenmek yerine habitatlarının fotik (ışık ile ilgili) koşullarına göre kümelenmediğini tespit etmişlerdir. Sonuç olarak, çevresel uyumun irdelendiği çalışmalarda RH1 gibi duyuşal genlerin kullanılabilirliğini vurgulamışlardır.

Berrebi vd. [44], Güney Fransa ve Korsika lagünlerinden elde ettikleri *P. marmoratus* ve *P. microps* popülasyonları arasındaki genetik farkları belirlemek için RFLP metodunu kullanmışlardır. Elde ettikleri sonuçlarda *P. microps* popülasyonları arasında paylaşılan haplotip olmadığını ve popülasyonlar arasında izolasyon olduğunu tespit etmişlerdir. Bununla birlikte *P. marmoratus* popülasyonları arasında herhangi bir genetik farklılık tespit edememişlerdir.

Vergara-Chen vd. [138], Güney-Batı İspanya kıyılarında lagün ve denizel habitatlardan örnekledikleri *P. marmoratus* popülasyonları arasında ki genetik çeşitliliği mitokondriyal kontrol bölgesini kullanarak araştırmışlardır. Elde ettikleri

sonuçlarda popülasyonlar arasında yüksek gen akışı ve buna bağlı yüksek genetik çeşitlilik tespit ederlerken denizel ve lagün popülasyonlarının genetik olarak birbirinden farklı olmadıkları sonucuna varmışlardır.

Mejri vd. [139] *P. tortonesei* popülasyonlarının genetik yapıları üzerine yaptıkları çalışmalarında Sicilya-Tunus hattının Akdeniz'deki gen akışı üzerindeki etkilerini ortaya koymuslardır. Sicilya-Tunus hattını batimetrik değişimler ve akıntı sistemleri sebebiyle Akdeniz'deki gen akışının kırılma noktası olarak tanımlamışlar; dolayısıyla hattın doğusu ve batısındaki lokasyonlardan örneklenen *P. tortonesei* popülasyonlarının birbirinden genetik olarak izole ve farklı popülasyon olduklarını öne sürmüşlerdir.

Larmuseau vd. [140], bölgesel fotik koşulların *P. minutus* popülasyonları arasındaki genetik varyasyonu etkilediğini yine RH1 geni kullanarak test etmişler ve elde ettikleri sonuçlarda seçilimin çeşitlendirici ya da dengeleyici yönde ilerleyişinin ışık gibi faktörlerle alakalı olabileceğini vurgulamışlardır.

Mejri vd. [46], *P. marmoratus* popülasyonları arasındaki genetik çeşitliliği mitokondriyal 16S rDNA ve COI belirteçlerini kullanarak araştırmışlardır. Elde ettikleri sonuçlarda 16S rDNA'nın popülasyonlar arasındaki çeşitliliğe dair sinyali yakalamada zayıf kaldığını buna karşılık COI'nin bu sinyali kısmen yakaladığı ancak çalışmada örnekleminin yetersiz kaldığını bildirilmişlerdir. Araştırmacılar aynı zamanda *P. marmoratus* popülasyonları arasında belirlenen Negatif Tajima D değerinin yakın zamanda oluşan demografik genişlemeye işaret olduğunu, *P. marmoratus* popülasyonları arasında gizli türleşme olabileceğini ve birey sayısının artırılarak popülasyonlarının detaylı incelenmesi gerektiğini vurgulamışlardır.

Boissin vd. [141], Akdeniz ve Atlantik kıyılarında 14 farklı lokaliteden örnekledikleri *P. minutus* popülasyonları ile gerçekleştirdikleri çalışmada türün gizli türler içerdiğini; Akdeniz ve Atlantik popülasyonlarının farklı demografik hikayelere sahip olduğunu ve tüm bunlara tarihsel olayların ve habitat kesintilerinin yol açabileceğini vurgulamışlardır.

Marquez vd. [142], Portekiz kıyısında ki 3 farklı haliçte *P. microps* popülasyonları ile gerçekleştirdikleri çalışmalarda mikrosatelitleri kullanmışlar ve popülasyonlar arası

genetik farklılıkların sebeplerini ağır metal kontaminasyonu, türlerin üreme stratejileri ve habitat çeşitliliği gibi ekolojik koşullarla ilişkilendirmişlerdir.

Mejri vd. [143], *P. tortonesei* popülasyonlarının genetik yapıları üzerine yaptıkları çalışmalarında Sicilya-Tunus hattının ayırdığı Doğu Akdeniz ve Batı Akdeniz popülasyonlarının coğrafik izolasyon nedeniyle farklılaştığını ve bununla birlikte farklı habitat ve ekolojik baskılara maruz kalan bu popülasyonlarda örtüşen ve farklılaşan morfolojik karakterlerin varlığını ortaya koymuşlardır.

Gonzales-Wangüemert ve Vergara-Chen [144], Güney-Doğu İspanya kıyılarında lagün ve denizel habitatlardan örnekledikleri *P. marmoratus* popülasyonları arasındaki genetik çeşitliliği 8 mikrosatelit lokus kullanarak araştırdıkları çalışmalarında incelenen tüm popülasyonlarda yüksek genetik çeşitlilik ve benzer allel çeşitliliğini gözlemlenmelerine karşın aynı zamanda yüksek genetik farklılık da tespit etmişlerdir. Araştırmacılar inceledikleri lokasyonlar arasındaki habitat kesintisinin, sıradışı lagünel koşulların ve hatta türün üreme stratejilerinin gen akışı için bariyer oluşturabildiğini rapor etmişlerdir.

Tougaard vd. [145], *P. microps* türünün Atlantik ve Akdeniz popülasyonları arasındaki genetik ilişkileri inceledikleri çalışmalarında türe ait popülasyonların Holosen döneminde 4 ana gruba ayrıldığını, popülasyonlardan bazılarının demografik genişleme gösterirken bazılarının ise dengeleyici seleksiyon baskısı altında olduğunu bildirmişlerdir.

Locatello vd. [146], *P. marmoratus* türünü model organizma olarak kullandıkları çalışmada, türün tüm hayat döngüsünü deney ortamında tamamlamasını sağlamışlar ve *P. marmoratus*'un deneysel evrim ve genetik çalışmalarında kullanılabilecek uygun model organizmalardan biri olduğunu bildirmişlerdir.

### **2.3 *Pomatoschistus marmoratus* Türü ile İlgili Gerçekleştirilen Biyo-ekolojik Çalışmalar**

Fouda [147], Süveyş kanalında içlerinde *P. marmoratus*'unda bulunduğu 4 küçük boyutlu balığın yaşam stratejileri üzerine inceleme yapmıştır. *P. marmoratus*'un tuzluluğun %7,8–41,6 olduğu Timsah Gölü'nde bol miktarda bulunduğunu, 2 seneden

fazla yaşamadığını, maksimum büyümenin hayat döngülerindeki ilk sene gözlendiğini ve harpacticoid copepod, poliket, demersal yumurtalar, diatom ve mavi yeşil aglerle beslendiğini bildirmiştir.

Mirto vd. [148], üreme dönemlerinde *P. marmoratus* ve *P. tortonesei* türlerinin renklenmelerini araştırmıştır. Ergin olmayan *P. tortonesei* dişileri ve *P. marmoratus* erkek bireylerinin renklenmelerinin aynı olduklarını rapor etmişlerdir.

Mazzoldi ve Rasotto [149], Venedik lagününde *P. marmoratus*'un hayat döngüsünü incelemişlerdir. Elde ettikleri sonuçlarda bireylerin en fazla 17 ay yaşadıklarını, juvenil bireyleri Temmuz-Kasım ayları arasında gözlemlediklerini, yuvaların Nisan-Temmuz ve Ağustos- Eylül aylarında gözlenildiğini ve son olarak 35–62 mm olan bireylerin tüm çiftleşme periyodu boyunca çiftleşirken daha küçük bireylerin ikinci periyot da çiftleştiklerini bildirmişlerdir.

Mazzoldi vd. [150], *P. marmoratus* türünün üreme biyolojisi üzerine yaptıkları çalışmada erkek bireylerin genelde boş bivalvia kabuklarını yuva olarak seçtiklerini, yuva ve yumurta büyüklüğünün ise dişi ve erkek bireyin büyüklüğü ile doğru orantılı olduğunu ayrıca türde boyuta bağlı tercihli çiftleşme stratejisi olduğunu bildirmişlerdir.

Verdiell-Cubedo vd. [151], Mar Menor Lagününde yaptıkları çalışmada *P. marmoratus*'un pozitif alometrik büyüme gösterdiğini bildirmişlerdir.

Verdiell Cubedo vd. [43], *P. marmoratus* türünün çevresel değişkenler (sıcaklık, tuzluluk, kirlilik, vejetasyon, potansiyel rekabetçi türler, tür çeşitliliği) ile olan uyum gücünü araştırmışlar ve *P. marmoratus*'un özellikle ekoloji ve reaminasyon çalışmalarında indikatör tür olarak kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

Rigal vd. [45], *P. marmoratus* ve *P. microps* türlerinin osmoregülatör kapasiteleri arasındaki farkları araştırmışlardır. Araştırma sonucunda *P. microps*'un tuzluluk değişimlerine ve özelliklede düşük tuzluluğa *P. marmoratus* 'tan daha fazla toleranslı olduğunu tespit etmişlerdir.

Koutrakis ve Tsikliras [152], Strymon Nehri (Kuzey Ege/ Yunanistan) ağzındaki yaptıkları çalışmada *P. marmoratus*'un ilk cinsi olgunluğa erişme boyunu dişilerde 3,82 mm erkeklerde ise 4,66 mm olarak bildirmişlerdir.

Altın vd. [153], *P. marmoratus*'un beslenme biyolojisi ile ilgili yaptıkları çalışmada türün daha çok kopepod, bivalvia ve amfipodlarla beslendiğini; juvenil ve ergin bireylerin beslenme tercihleri arasında istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmadığını rapor etmişlerdir.

Locatello vd. [154], *P. marmoratus*'un eş seçimi ile ilgili araştırmalarında rekabet ortamı olmadığında dişi bireylerin kendinden daha küçük erkek bireyleri tercih ettiklerini bildirmişlerdir.



### 3. MATERYAL – YÖNTEM

#### 3.1 Materyal

Bu çalışmada, ülkemiz kıyılarında dağılım gösterdiği bilinen *Pomatoschistus* türlerinin tamamının çalışma materyalini oluşturması hedeflenmiştir. *Pomatoschistus marmoratus* popülasyon genetiği çalışmaları için hedef organizma olarak belirlenmiştir. Ülkemiz kıyılarının tamamında gerçekleştirilen örnekleme çalışmalarında elde edilen *Pomatoschistus minutus*, *Pomatoschistus quagga*, *Pomatoschistus adriaticus*, *Pomatoschistus nanus*, *Pomatoschistus bathi* ve *Pomatoschistus anatoliae* türleri ise filogenetik analizlerde çalışma materyalini oluşturmaktadır. Tür teşhisleri Miller [39] ve Kovačić [155]'e göre gerçekleştirilmiş ve kaya balıkları için tanılayıcı olan baş bölgesinde bulunan duyusal papilla ile por sistemi [156] esas alınmıştır. Buna göre, Miller [39]'in oluşturduğu *Pomatoschistus* tür tayin anahtarı yeni keşfedilen türlerin diagnostik özellikleriyle güncellenerek aşağıdaki tayin anahtarı oluşturulmuştur.

#### 3.2 *Pomatoschistus* Cinsinin Tür Tayin Anahtarı

- 1a. Gözler lateral konumlu, inter-orbit geniş ve yanak dar. Kaudal yüzgeç düz veya hafifçe girintili. Sub-orbital a papilla sırası 2 transversal sıradan oluşmakta ve hiçbirinde 2 adetten fazla papilla bulunmamakta.....2
- 1b. Gözler lateral konumlu, inter-orbital mesafe dar ve yanak derin. Kaudal yüzgeç yuvarlağa yakın. Sub-orbital a papilla sırası 1 yada daha fazla transversal sıradan oluşmakta; eğer 2 transeversal sıra varsa por  $\delta$  bulunmamakta.....3
- 1c. D1 VII-VIII. Lateral seride 35-40 pul bulunmakta. Sub-orbital a papilla sırası tranversal sıralar içermiyor.....*P. flavescens*
- 2a. Lateral seride 35 pul. Predorsal alan ilk dorsal yüzgeç kaidesinin sonuna kadar pulsuz. Pektoral yüzgeç ışıını 15. Vücutta 4'den fazla vertikal çizgi yok. Omur 33 adet.....*P. quagga*

- 2b. Lateral seride 40-45 pul. Predorsal bölge ilk dorsal yüzgecin orjinine kadar pulsuz. Pektoral yüzgeç ışın sayısı 17-19. Erkek bireyler vücutta çok sayıda vertical koyu çizgi, dişi bireylerde vücutta 3-4 vertikal koyu çizgi. Omur 31 adet.....*P. knerii*
- 3a.  $\omega$  ve  $\delta$  porları mevcut. İkinci dorsal yüzgeçte tek sıra şeklinde nokta sırası. İkinci nokta sırasının sadece posterior kısmı mevcut. Occipital *g* papilla sırası 3-6 papilla içermekte ve occipital *h* papilla sırası 10-13 papilla içermekte. Omur 30-31 adet.....*P. pictus*
- 3b. İkinci dorsal yüzgeçte iki tam sıra şeklinde nokta sırası. Occipital *g* papilla sırası 6-10 papilla ve occipital *h* papilla sırası 9-10 papilla içermekte ..... *P. adriaticus*
- 3c. Geniş, yoğun ve koyu renk noktalar bulunmayan ikinci dorsal yüzgeç. Ergin erkek bireylerde ilk dorsal yüzgeçte 1-2 belirgin nokta bulunmakta.....4
- 4a. Lateral seride 29-52 pul. Predorsal bölge ilk dorsal yüzgecin orjinine kadar pulsuz. Branchiostegal membran istmusa pektoral yüzgeç lobundan önce bağlanmış. Sub-orbital *a* sırası 1 ya da 2 transversal sıradan oluşmakta.....5
- 4b. Lateral seride 55-75 pul. Predorsal bölge ilk dorsal yüzgecin orjininden önce pullu. Branchiostegal membran istmusun anterior ucunun yarısından daha fazlasına bağlı değil. Sub-orbital *a* papilla sırası çok sayıda transversal sıradan oluşmakta.....9
5. Vücut ve kafada siyah nokta pigmentasyonu yok. Sub-orbital *a* papilla sırası 1 transeversal sıradan oluşmakta, por  $\delta$  bulunmamakta. Omur 30-33 adet.....6
- 6a. Göğüs genellikle pullu. Anterior pelvik membranın arka ucu genellikle ufak silli yapıda. Erkek bireylerde 3-4 lateral çizgi ve ilk dorsal yüzgecin arka ucunda belirgin koyu benek. Dişi bireyler çenede belirgin siyah çizgi ve kafanın alt tarafında solgun renklenme. Omur 33 adet.....*P. marmoratus*
- 6b. Göğüs pulsuz. Anterior pelvik membranın arka ucu genellikle düz yada girintili çıkıntılı. Eğer göğüs pulsuzsa; dişilerde belirgin lateral çizgiler bulunduran sarı renkli boğaz. Omur 30-31 adet.....7
- 7a. Lateral seride 39-52 pul. Predorsal alan ilk dorsal yüzgec kaidesinin sonuna kadar pulsuz. Erkek bireylerde ilk dorsal yüzgecin 5. ve 6. ışın membranında belirgin siyah nokta. Dişilerde vücutta ve kafada lateral çizgiler yok.....*P. microps*

- 7b. Lateral seride 30-38 pul. Predorsal alan ilk dorsal yüzgeç kaidesinin yarısına kadar pulsuz. Erkek bireylerde ilk dorsal yüzgecin arka ucunda belirgin benek yok. Dişi bireylerde vücudun yan tarafında irili ufaklı dikey çizgiler.....8
- 8a. Pektoral yüzgeç ışın sayısı 18 (17-20). Erkek bireylerde çok sayıda ama belli belirsiz lateral çizgiler ve kafanın altında sarı renge yakın koyu renk pigmentasyon. Dişi bireylerde vücudun yanlarında 3 uzun vertikal çizgi, boğaz parlak sarı, çenede geniş çizgi ve koyu renk pelvik yüzgeç.....*P. tortonesei*
- 8b. Pektoral yüzgeç ışın sayısı 14-16 (13-17). Erkek bireylerde kafanın alt kısmı koyu renk ve vücutta kısa lateral çizgiler. Dişi bireylerde vücutta çoğu lateral hattın altında kalan 3-4 adet üçgen şeklinde benek, kafanın altı branchiostegal membranın arka ucundan çeneye kadar ventral hatta koyu renk pigmentasyon, göğüs ve pelvik yüzgeç açık renk. Por  $\delta$  mevcut. Predorsal bölge, göğüs ve ilk dorsal yüzgeç kaideisin yarısı pulsuz. Derinlik tercihi 2-20 m.....*P. bathi*
- 8c. Pektoral yüzgeç ışın sayısı 15-16. Por  $\delta$  bulunmamakta. Predorsal bölge, göğüs ve ilk dorsal yüzgeç kaidesinin tamamı pulsuz. Derinlik tercihi 29-41 m. ....*P. nanus*
- 9a. Sub-orbital sıra *b* gözün yarsının arka ucunun önünde sonlanıyor. Göğüs genellikle pulsuz. Erkek bireylerde vücutta 10-12 adet ince koyu renk ve vertical çizgi. Pektoral yüzgeç ışın sayısı 16-18. Branchiostegal membran istmusun anterior ucunun çeyreğinden daha fazlasına bağlı değil. Omur 32 (30-33) adet.....*P. norvegicus*
- 9b. Çoklu trasversal papillalardan oluşan sub-orbital *a* papilla sırası. Sub-orbital *b* papilla sırası gözün yarsını geçiyor. Pektoral yüzgeç ışın sayısı 17-21 adet.....10
- 10a. Sub-orbital transversal papilla sıralarından 2 tanesi ve *cp* papilla sırası yatay *d* papilla sırasının altına kadar uzanıyor. Göğüs genellikle pullu. Lateral seride 57-65 pul. Omur 32 (30-33) adet.....*P. lozanoi*
- 10b. Sub-orbital transversal papilla sıralarından sadece *cp* papilla sırası yatay *d* papilla sırasının altına kadar uzanıyor. Göğüs genellikle pullu. Lateral seride 55-75 pul. Omur 33 (32-34) adet.....*P. minutus*
- 10c. Sub-orbital transversal papilla sıralarından sadece *cp* papilla sırası yatay *d* papilla sırasının altına kadar uzanıyor. Predorsal bölge ve göğüs pulsuz. Lateral seride 32-37 pul bulunmakta.....*P. anatoliae*

### 3.2.1 *Pomatoschistus marmoratus* (Risso, 1810)

Çalışma konusu olan *P. marmoratus*, tüm Akdeniz havzası kıyısal ekosisteminde yoğun olarak dağılım göstermekte olup, Kızıldeniz’de de varlığı rapor edilmiş «antilesepsiyen» bir balık türüdür [39]. Yumurtaları bentik olmasına rağmen 40-50 günlük bir pelajik larval aşama geçirdikleri bilinmektedir [145;157]. Genelde 3-4 cm boylarda olan bu tür 5-7 cm boya kadar büyüyebilir [39]. Genelde ince taneli ve tozsuz nadiren ise iri taneli kum zeminleri tercih eder. Yoğun olarak buldukları bölge 0-2 m derinlik aralığı olmakla birlikte nadiren 5-10 m derinliklerde de rastlanabilmektedir (Şekil 3.1).



Şekil 3.1: Doğal habitatında fotoğraflanan *P.marmoratus* (Orijinal).

### 3.2.2 *Pomatoschistus nanus* Engin & Seyhan, 2017

Bu tez çalışması kapsamında ülkemiz Levant kıyılarında *Pomatoschistus cf. bathi* olarak örneklenmiştir ve filogenetik analizlere tabi tutulmuştur. Levant Denizi’nin ülkemiz kıyılarından tanımlanan *P. nanus* (Şekil 3.2) türü için henüz gerçekleştirilen biyo-ekolojik bir çalışma bulunmamaktadır. 29-41 m derinliklerde dağılım gösterdiği ve 14,6-16,9 mm standart boyu ile Akdeniz ve Avrupa kıtasının en küçük deniz balığı olarak bilinmektedir [25].



Şekil 3.2: Doğal habitatında fotoğraflanan *P. nanus* (Orijinal).

### 3.2.3 *Pomatoschistus bathi* Miller, 1982

Kuzey Afrika kıyıları hariç tüm Akdeniz havzasında kesikli olarak 2-12 m aralığında dağılım göstermektedir [39]. Tip lokalitesi Marmara Denizi (Erdek) olan *P. bathi* (Şekil 3.3) hakkında yapılan biyo-ekolojik çalışma bulunmamakla birlikte dağılımı ile ilgili yapılan çalışmalar incelendiğinde türün kısmen soğuk ve düşük tuzluluktaki suları tercih ettiği düşünülmektedir [158].



Şekil 3.3: Doğal habitatında fotoğraflanan *P. bathi* (Orijinal).

### 3.2.4 *Pomatoschistus quagga* (Heckel, 1840)

Kuzey Afrika kıyıları hariç tüm Akdeniz havzasında kesintili olarak dağılım gösteren bu tür 5-120 m derinlik aralığındaki kumul habitatları tercih etmektedir (Şekil 3.4). Türün biyo-ekolojisi hakkında yapılmış detaylı bir çalışma bulunmamaktadır.



Şekil 3.4: Fikse edilmiş *P. quagga* (Orijinal).

### 3.2.5 *Pomatoschistus adriaticus* Miller, 1973

Adriyatik Denizi ve Marmara denizinde 0-5 m aralığında kıyusal habitatlarda dağılım gösterir [39, 159]. Hakkında yapılan kapsamlı biyo-ekolojik çalışma bulunmamakla birlikte kumul- kısmen vejetasyonlu habitatları tercih ettiği bilinmektedir. Birçok çalışmada *Pomatoschistus pictus*'un sinonimi olarak kabul edilen *P. adriaticus* (Şekil 3.5) bu tez çalışmasında örneklenmiş ve taksonomik durumunun aydınlatılması amacıyla filogenetik analizlere dahil edilmiştir.



Şekil 3.5: Doğal habitatında fotoğraflanan *P. adriaticus* (Fotoğraf: Murat Kaptan).

### 3.2.6 *Pomatoschistus anatoliae* Engin & İnnal, 2017

Kumlu-çamurlu zeminlerde 60 cm ile 2 m derinlik aralığında dağılım göstermektedir. Göksu Nehri ağzında dağılım gösterdiği bilinmekte olup tür hakkında yapılan biyo-ekolojik çalışma bulunmamaktadır. (Şekil 3.6).



Şekil 3.6: Akvaryum içerisinde fotoğraflanmış *P. anatoliae* (Fotoğraf: Deniz İnnal).

### 3.3 Örneklemeye Çalışmaları

Araştırma konusunu oluşturan balık grubu oldukça küçük, hassas yapılı ve kıyısız bölgedeki (0-20 m) farklı habitat tiplerinde yayılış göstermesi nedeniyle genel ihtiyofaunaya yönelik araştırmalarda kullanılan klasik örnekleme araçlarıyla elde edilememektedir. Dolayısıyla çalışılacak materyalin temini dalış yolu ve el kepçeleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Örnekleme çalışmalarının gerçekleştirildiği istasyonlar tüm denizlerimizi temsil edecek şekilde belirlenmiş ve *Pomatoschistus* cinsine ait toplamda 367 birey örneklenmiştir (Şekil 3.7; Tablo 3.1). Filogenetik analizlerde kullanılan diğer türler ise en az 5 en fazla 15 birey olmak üzere lokasyon gözetmeksizin *P. marmoratus* için belirlenen mevcut istasyonlardan örneklenmiştir.

*Pomatoschistus minutus* (Pallas, 1770) türü hariç ülkemizde dağılım gösteren tüm *Pomatoschistus* türlerinin temini gerçekleştirilmiş olup örnekleme yapılamayan türler için referans diziler GenBank ve BOLD üzerinden temin edilmiş ve ayrıntıları ise Ek E ve Ek F 'da verilmiştir.

**Tablo 3.1:** İstasyonlara göre *Pomatoschistus* örneklerinin dağılımı.

	Karadeniz			Marmara	Ege		Levant		
	Batı	Orta	Doğu		Kuzey	Orta	Batı	Orta	Doğu
<i>P. marmoratus</i>	52	48	33	40	47	40	6	30	30
<i>P. nanus</i>							6		
<i>P. quagga</i>				5		5			
<i>P. adriaticus</i>				5					
<i>P. bathi</i>		5		5		5			
<i>P. anatoliae</i>								5	

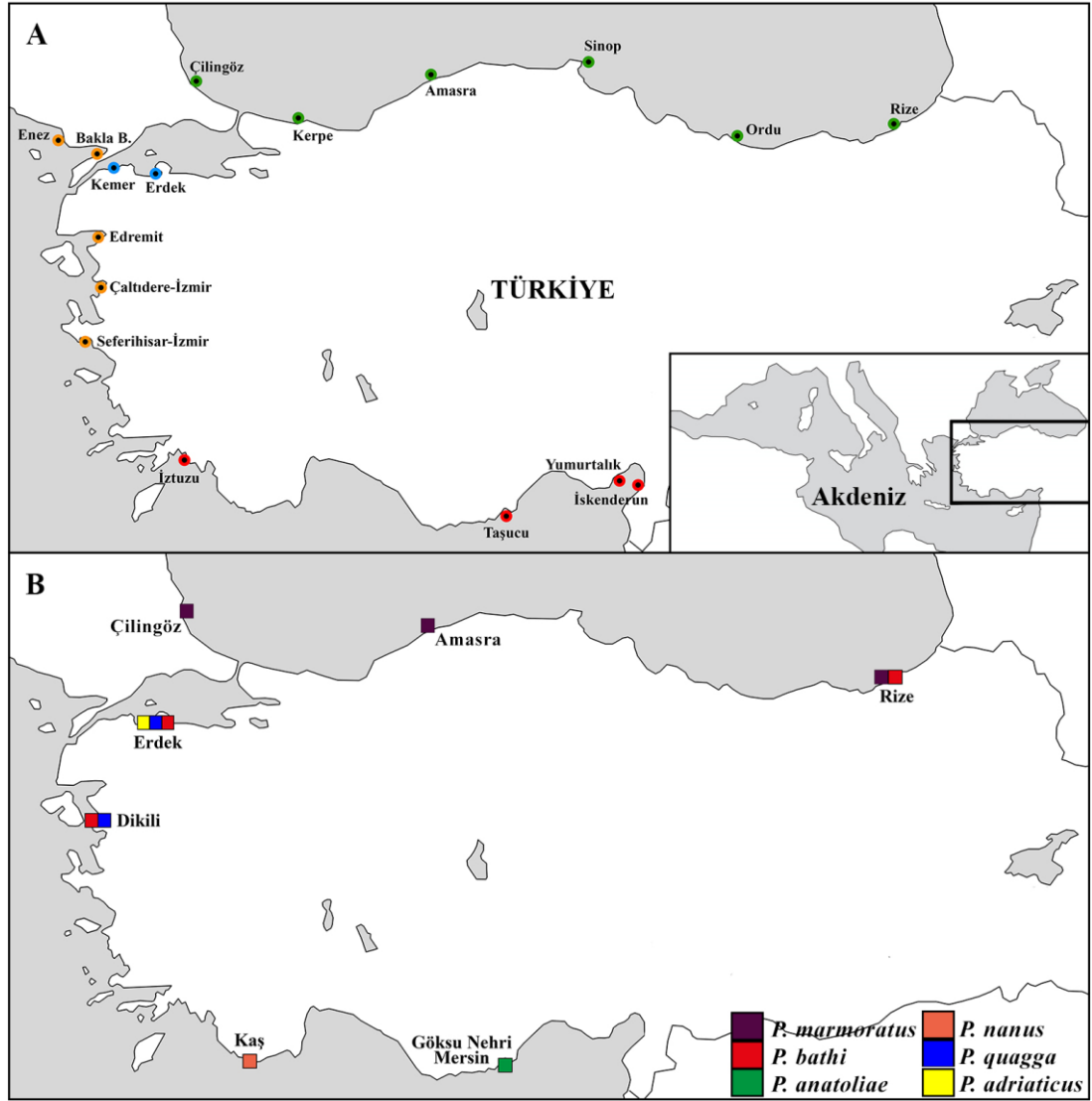
Popülasyon analizleri için *P. marmoratus* bireylerinin örneklendiği istasyonlar (Şekil 8A);

- Doğu Karadeniz (Rize/ RZ); Orta Karadeniz (Sinop/SNP-Ordu/ORD); Batı Karadeniz (Kerpe/KRP-Amasra/AMS- Çilingöz/CLN)
- Marmara Denizi (Erdek/ERD; Kemer/KMR)
- Kuzey Ege (Baklaburnu/SRZ- Enez/ENZ- Edremit/ED); Orta Ege (İzmir/IZM)
- Batı Levant (İztuzu/IZT), orta Levant; (Taşucu/ TSC); Doğu Levant (Yumurtalık/ YUM- İskenderun/ISK)

Filogenetik analizler için *Pomatoschistus spp.* bireylerinin örneklendiği istasyonlar (Şekil 8B);

- *P. bathi* için; Rize, Erdek, Dikili/İzmir
- *P. anatoliae* için, Göksu nehri ağzı/Mersin
- *P. nanus* için; Kaş/Antalya
- *P. quagga* için; Dikili/İzmir, Erdek
- *P. adriaticus* için Erdek
- *P. marmoratus* için Haplotip 20 (Karadeniz)





**Şekil 3.7:** Örneklem istasyonları A) Popülasyon analizlerinde kullanılan *P. marmoratus* bireylerinin örneklem istasyonları B) Filogenetik analizlerde kullanılan *Pomatoschistus* spp. bireylerinin örneklem istasyonları (Google haritalardan modifiye edilmiştir).

Örnekler %95'lik etanolde fikse edilerek tür teşhisi, doku diseksiyonu ve morfolojik inceleme işlemleri için laboratuvara getirilmiştir. *Pomatoschistus*, *Ninnigobius*, *Orsinigobius*, *Knipowitschia*, *Economidichthys*, *Hyrceanogobius*, *Buenia*, *Deltentosteus*, *Lebetus*, *Speleogobius*, *Crystallogobius* ve *Pseudaphya* cinslerine dahil olan tüm türler kum kaya balıkları olarak bilindiği için metin içerisinde incelenen türlerin bilimsel isimleri kullanılmıştır.

### 3.4 Genetik Analizler

#### 3.4.1 Total genomik DNA'nın ekstraksiyonu

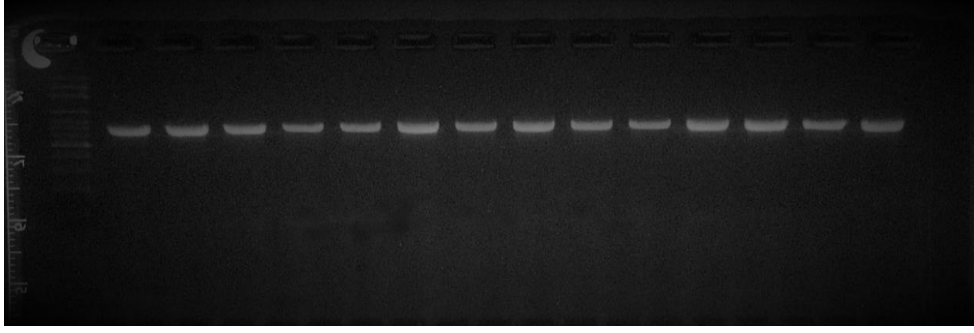
Örneklenen bireylerin total genomik DNA izolasyonu Purelink Genomik DNA Mini Kit (Invitrogen, Lifetechnologies), GeneJET Genomic DNA Purification Kit (Thermo Scientific) ve AMBRD Genomic DNA isolation kit (AMBRD Laboratories, Türkiye) kullanılarak üretici firmaların önermiş olduğu protokol doğrultusunda gerçekleştirilmiştir.

İzole edilen DNA'nın varlığı %1 lik TBE-agaroz jelde tespit edilmiştir. DNA örnekleri 6x DNA yükleme boyası ile karıştırılarak jeldeki kuyucuklara yerleştirilmiş ve 80 voltda yaklaşık 45 dk. yürütüldükten sonra UV transilluminatörde (BioRad, UVView™ Mini) görüntülenmiş ve fotoğraflanmıştır. Örnekler uygulama önceliğine göre +4 °C ya da -20 °C'de muhafaza edilmiştir.

#### 3.4.2 Oligonükleotidler ve DNA amplifikasyonu

*Pomatoschistus marmoratus* popülasyonları arasındaki genetik farklılığın derecesini belirlemek ve aynı zamanda *Pomatoschistus* cinsine ait kum kaya balıkları arasındaki filogenetik ilişkilerin tespiti için daha önce kum kaya balığı çalışmalarında kullanılan mtDNA'nın cyt-b ve evrensel COI bölgeleri polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ile çoğaltılmıştır (Tablo 3.2).

PZR ile DNA amplifikasyonu; 5x master mix (12.5 mM MgCl<sub>2</sub>/ Solis Biodyne), 10 µM ileri ve geri oligonükleotid, 40-50 ng/µl kalıp DNA toplam 25-30 µl son reaksiyon hacminde steril saf su ile tamamlanarak gerçekleştirilmiştir. DNA amplifikasyonu için gerçekleştirilen PZR koşulları ve bileşenleri cyt-b ve COI bölgeleri için Tablo 3.3 ve 3.4'de verilmiştir. Elde edilen PZR ürünlerinin kontrolü ise %2'lik TBE-agaroz jelde yapılmıştır (Şekil 3.8).



**Şekil 3.8:** PZR ile çoğaltılmış mtDNA COI bölgesi.

**Tablo 3.2:** Çalışmada kullanılan oligonükleotidler.

Oligonükleotid	Oligonükleotid Dizisi	Ref.	
COI	FishF1	5'-TCAACCAACCACAAAGACATTGGCAC-3'	[160]
	FishR1	5'-TAGACTTCTGGGTGGCCAAAGAATCA-3'	[160]
	FishF2	5'- TCGACTAATCATAAAGATATCGGCAC-3'	[160]
	FishR2	5'-ACTTCAGGGTGACCGAAGAATCAGAA-3'	[160]
	C_FishF2t1	5'-TGTA AAAACGACGGCCAGTCGACTAATCATAAAGATATCGGCAC-3'	[161]
	C_FishR2t1	5'-CAGGAAAACAGCTATGACACTTCAGGGTGACCGAAGAATCAGAA-3'	[161]
cyt-b	PomCB1F	5'- TTCCCCTTTGTAGTACTAGCAG-3'	[145]
	GobCB2R	5' -GGGAGGRDTTTAACCTCCG-3'	[145]

Elde edilen PZR ürünleri DNA dizileme analizleri yapılncaya kadar -20 °C'de muhafaza edilmiştir. PZR ürünlerinin saflaştırma ve DNA dizileme işlemleri ticari bir firmaya (Macrogen Inc, Amsterdam) hizmet alımı yoluyla gerçekleştirilmiştir. Dizi okumalarının doğruluğunu garanti altına alabilmek için DNA dizileme analizi çift yönlü yaptırılmıştır.

**Tablo 3.3:** PZR bileşenleri.

PZR bileşenleri	Miktar	
	COI	cyt-b
Master mix	6 µl	5 µl
İleri primer	1,5 µl	1 µl
Geri primer	1,5 µl	1 µl
Kalıp DNA	2 µl	2 µl
Su	18 µl	16 µl
Toplam	30 µl	25 µl

**Tablo 3.4:** Termal döngü koşulları.

Bölge	Program	Sıcaklık	Süre	Döngü
COI/Ward vd. [135]	İlk Denatürasyon	95 °C	2 dk	35
	Denatürasyon	94 °C	30 sn	
	Bağlanma	52 °C	30 sn	
	Uzama	72 °C	2 dk	
	Son Uzama	72 °C	10 dk	

**Tablo 3.4:** Termal döngü koşulları (devam).

Bölge	Program	Sıcaklık	Süre	Döngü
COI /Ivanova vd. [136]	İlk Denatürasyon	94 °C	2 dk	35
	Denatürasyon	94 °C	30 sn	
	Bağlanma	54 °C	40 sn	
	Uzama	72 °C	1 dk	
	Son Uzama	72 °C	10 dk	
cyt-b /Tougaard vd. [137]	İlk Denatürasyon	94 °C	5 dk	35
	Denatürasyon	94 °C	45 sn	
	Bağlanma	50 °C	1 dk	
	Uzama	72 °C	2 dk	
	Son Uzama	72 °C	10 dk	

### 3.5 Verilerin Değerlendirilmesi

Dizi analizi sonucu elde edilen dizileri analizlere hazır hale getirmek amacıyla öncelikle BioEdit 7.0.5.3 [162] programında göz ile kontrolleri sağlanmış sonrasında ise yine aynı program içinde entegre olan Clustal-W [162] eklentisi yardımıyla hizalanmıştır.

Elde edilen dizilerin %A-T, %G-C oranları, değişken ve korunmuş bölgelerin analizi ile transisyon/transversiyon oranları (R) MEGA 7.0 [140] programı ile belirlenmiştir. Her bir veri setinin analizlerinde kullanılacak olan model seçimi yine MEGA programı ile gerçekleştirilmiştir.

### 3.5.1 Filogenetik analizler

Türler arasındaki filogenetik ilişkiler MEGA 7.0 [164] programı ile yapılmış ve maksimum olasılık (ML), Komşu bağlama (NJ) yöntemleri kullanılarak ağaç topolojileri değerlendirilmiştir. Ağaç topolojilerinin güvenilirliği 1000 tekrarlı seç-bağla testi [165] ile belirlenmiştir. Filogenetik analizler COI ve cyt-b bölgeleri için ayrı ayrı gerçekleştirilmiştir.

### 3.5.2 Popülasyon yapı analizleri

Örneklenen bireylerin haplotip sayısı, nükleotid-haplotip çeşitliliği ve haplotiplerin popülasyonlara dağılımı DnaSP v5 [166] programı ile tespit edilmiştir. Haplotipler arasındaki ilişkileri gösteren haplotip ağları ise Network 5 [167-fluxus-engineering.com] ve PopArt [168] programları altında medyan katılım, minimum çoğalma ve TCS metodları ile [167;169] ile çizdirilmiştir. Popülasyonlar arasındaki genetik varyasyon, gen akışı ve izolasyonun test edilmesinde Wright'ın  $F_{ST}$  istatistiği ( $F_{ST}$ ) ve Nei'nin  $D_a$  metodu; istatistiksel önemlilik değerlerinin hesaplanmasında ise 1000 permütasyon kullanılmıştır. Gen akışının tespiti için Wright'ın  $N_m = [(1/F_{ST}) - 1]/4$  formülü esas alınmıştır [170]. Coğrafik olarak popülasyon farklılaşmasının tespiti için olası grupların belirlenmesinde ise moleküler varyans analizinin (AMOVA) [171] sonuçları dikkate alınmıştır. Buna göre popülasyonlar olası gruplar altında kümelenebilir ve Arlequin 3.1.5.3 [172] programı altında çalıştırılan AMOVA sonuçları ile moleküler varyansın ne kadarının gruplar arasında, grup içindeki popülasyonlar arasında ve popülasyonlar içindeki bireyler arasında olduğu hesaplanmıştır.

Popülasyonların tarihsel demografik hikayelerinin saptanması için gerçekleştirilen uyumsuzluk dağılım analizleri ve nötral teoreminin sınındığı tarafsızlık testleri ise Tajima'nın  $D$ , Fu'nun  $F_s$ , Fu ve Li'nin  $F$  ve  $D$  değerlerinin hesaplanması şeklinde yine Arlequin 3.1.5.3 ve DnaSP v5 programları yardımıyla gerçekleştirilmiştir.

## 4. BULGULAR

### 4.1 COI Geni Temelli *P. marmoratus* Popülasyon Analizleri

Gerçekleştirilen örnekleme çalışmalarında ülkemiz kıyılarındaki 16 istasyondan *P. marmoratus* türüne ait toplam 280 bireyden COI (652bç) barkod dizisi elde edilmiştir. Elde edilen barkod dizilerinin %83'ü korunmuş, %16'sı değişken ve %10,5'i ise polimorfik bilgi verici pozisyonda olduğu saptanmıştır. DNA dizilerinin nükleotid çifti frekansı analizi sonuçları Tablo 4.1'de gösterilmiştir.

Yapılan analiz sonucunda nükleotid kompozisyonunda T bazının oranı %27,3 ile %28,7 oranında değişirken ortalama oranı %28, A bazının oranı %20,7 ile %21,6 arasında olup ortalama %21,1 olduğu tespit edilmiştir. C bazının oranı %29,4 ile %31 oranında değişirken ortalama %30,2 ve G bazının oranları %19,8 ile %21,2 arasında değiştiği ve ortalama %20,7 olarak belirlenmiştir. A-T bazlarının ortalama oranı %49,1 olduğu, G-C bazlarının ortalama oranının ise %50,9 olduğu tespit edilmiştir.

**Tablo 4.1:** Nükleotid çifti frekansları analiz sonuçları.

Korunmuş Bölgeler	547/652
Değişken/ Ayırt Edici Bölgeler (Segregating sites)	105/652
Polimorfik Bilgi Verici Bölgeler	69/652
Nükleotid Farklılıklarının Ortalama Sayısı (k)	22,07
R (Si/Vi)	3,75
Toplam Mutasyon Sayısı	119

Analiz edilen 280 bireye ait toplamda 80 haplotip tespit edilirken haplotip (h) ve nükleotid ( $\pi$ ) çeşitlilikleri ise sırasıyla  $0,927\pm 0,009$  ve  $0,0339\pm 0,001$  olarak belirlenmiştir.

Özellikle coğrafik olarak popülasyon farklılaşmalarının tespitinde sıklıkla kullanılan AMOVA sonuçlarına göre popülasyonlar Levant (LEV), Ege (EGE) ve Karadeniz +Marmara Denizi (KARMAR) olmak üzere 3 ana grup altında kümelenmiştir. AMOVA sonuçlarına göre belirlenen gruplar ve içerdikleri popülasyonlar Tablo 4.2’de verilmiştir. Buna göre moleküler varyasyonun %93,40’ını belirlenen bu 3 ana grup arasında, %2,14’ünü grup içi popülasyonlar arasındaki ve %4,46’inin ise popülasyon içi bireyler arasında farklılıklardan kaynaklandığı tespit edilmiştir (Tablo 4.3).

**Tablo 4.2:** AMOVA sonucuna göre belirlenen gruplar ve içerdikleri popülasyonlar.

<b>Levant (LEV)</b>	<b>Ege (EGE)</b>	<b>Karadeniz+Marmara (KARMAR)</b>
İztuzu (IZT)	İzmir (IZM)	Erdek (ERD)
Taşucu (TSC)	Edremit (EDR)	Kemer (KMR)
Yumurtaılık (YUM)	Enez (ENZ)	Çilingöz (CLN)
İskenderun (ISK)	Baklaburnu (SRZ)	Amasra (AMS)
		Kerpe (KRP)
		Sinop (SNP)
		Ordu (ORD)
		Rize (RZ)

AMOVA analizi sonuçlarına göre belirlenen en uygun gruplama ve grupların içerdiği haplotip sayıları çeşitlilik indeksleriyle beraber Tablo 4.4’da verilmiştir. Haplotiplerin gruplara göre dağılımı ve kaç birey tarafından paylaşıldığı ise Tablo 4.5’de verilmiştir.



**Tablo 4.3:** COI geni kullanılarak gerçekleştirilen AMOVA sonuçları.

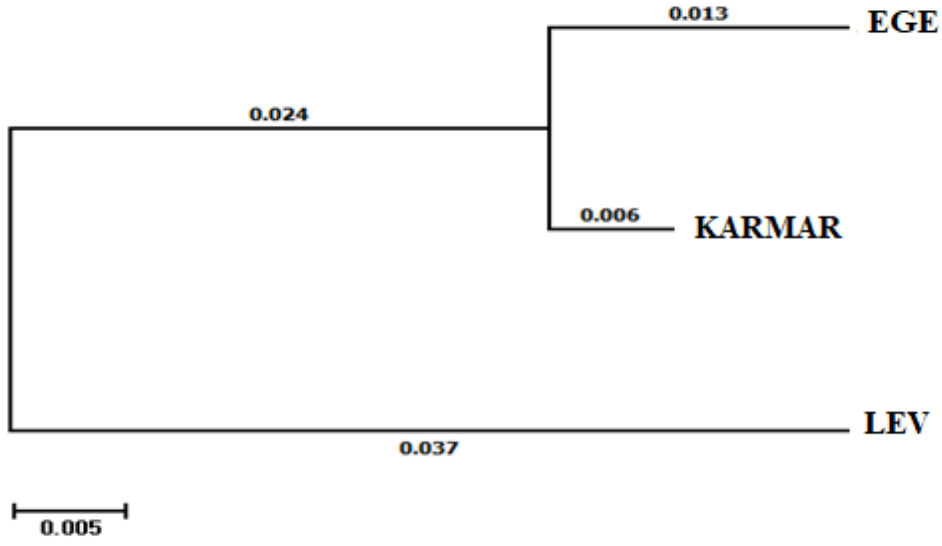
Varyasyon Kaynağı	Varyasyon Oranı (%)	Fiksasyon İndeksleri
Gruplar Arası	93,40	$\phi_{ct}= 0,934$
Grup İçi Popülasyonlar Arası	2,14	$\phi_{sc}=0,324$
Popülasyon İçindeki Bireyler Arası	4,46	$\phi_{st}=0,955$

**Tablo 4.4:** AMOVA sonuçlarına göre belirlenen grupların haplotip sayıları ve çeşitlilik indeksleri.

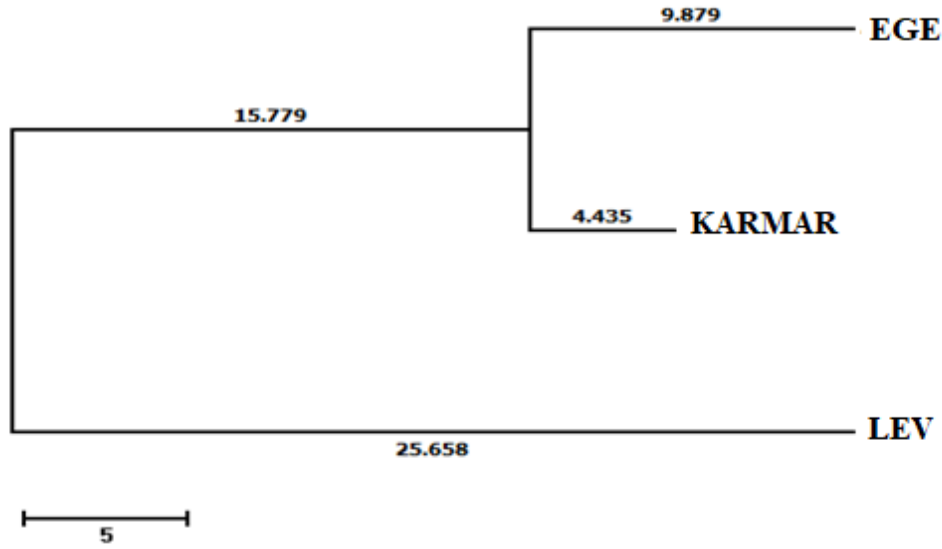
	LEV	EGE	KARMAR
Analiz Edilen Birey Sayısı	66	84	130
Korunmuş Bölgeler	622	622	625
Değişken Bölgeler (S=Segregating Sites)	30	29	27
Polimorfik Bilgi Verici Bölgeler	12	11	11
Nükleotid Farklılıklarının Ortalama Sayısı (k)	2,685	2,389	1,654
Toplam Mutasyon Sayısı	31	30	29
Haplotip Sayısı	24	26	30
Haplotip Çeşitliliği (h)	0,889+0,025	0,819+0,039	0,762+0,035
Nükleotid Çeşitliliği ( $\pi$ )	0,004+0,0004	0,003+0,0003	0,002+0,0001

Popülasyonlar arası genetik mesafenin tespitinde Nei'nin genetik mesafe ölçüm metodu  $D_a$ , Wright'ın fiksasyon indeksi  $F_{ST}$  ve ikili uzaklıkların karşılaştırılması metodları kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlarda  $F_{ST}$  değerinin 0,858-0,952 arasında;  $D_a$  değerinin ise 0,018-0,074 arasında değiştiği gözlemlenmiştir (Tablo 4.6). Nei'nin  $D_a$  ve Wright'ın F istatistiği ( $F_{ST}$ ) değerleri kullanılarak çizdirilen NJ ağaçları ise Şekil 4.1'de verilmiştir.

**a. Da**



**b. Fst**



**Şekil 4.1:** Nei'nin  $D_a$  ve Wright'ın F istatistiği  $F_{ST}$  değerleri kullanılarak çizdirilen NJ ağaçları. a. Nei'nin  $D_a$  ; b. Wright'ın F istatistiği  $F_{ST}$ .

**Tablo 4.5:** Haplotiplerin gruplara göre dağılımı.

<b>LEV</b>		<b>EGE</b>		<b>KARMAR</b>	
<b>Haplotip</b>	<b>Frekans</b>	<b>Haplotip</b>	<b>Frekans</b>	<b>Haplotip</b>	<b>Frekans</b>
Hap_16	2	Hap_1	10	Hap_20	59
Hap_17	1	Hap_2	2	Hap_21	20
Hap_18	6	Hap_3	1	Hap_22	2
Hap_19	1	Hap_4	4	Hap_23	1
Hap_61	2	Hap_5	3	Hap_35	2
Hap_62	1	Hap_6	1	Hap_36	11
Hap_63	12	Hap_7	4	Hap_37	9
Hap_64	1	Hap_8	2	Hap_38	1
Hap_65	1	Hap_9	1	Hap_39	1
Hap_66	1	Hap_10	2	Hap_40	1
Hap_67	1	Hap_11	1	Hap_41	1
Hap_68	6	Hap_12	2	Hap_42	1
Hap_69	1	Hap_13	1	Hap_43	1
Hap_70	1	Hap_14	1	Hap_44	3
Hap_71	1	Hap_15	1	Hap_45	2
Hap_72	1	Hap_24	2	Hap_46	1
Hap_73	2	Hap_25	1	Hap_47	1

**Tablo 4.5:** Haplotiplerin gruplara göre dağılımı (devam).

Hap_74	17	Hap_26	1	Hap_48	1
Hap_75	1	Hap_27	1	Hap_49	1
Hap_76	1	Hap_28	1	Hap_50	1
Hap_77	1	Hap_29	1	Hap_51	1
Hap_78	3	Hap_30	1	Hap_52	1
Hap_79	1	Hap_31	34	Hap_53	1
Hap_80	1	Hap_32	1	Hap_54	1
		Hap_33	1	Hap_55	1
		Hap_34	4	Hap_56	1
				Hap_57	1

$F_{ST}$  değerleri baz alınarak hesaplanan gruplar arasındaki olası gen akışı miktarı incelendiğinde, Levant popülasyonu ile diğer popülasyonlar arasındaki gen akışının oldukça düşük olduğu tespit edilmiştir (Tablo 4.7).

**Tablo 4.6:** İncelenen 3 grup için Wright'in Fiksasyon indeksi  $F_{ST}$  (alt diagonal) ve Nei'nin  $D_a$  genetik mesafe ölçümü metodlarına (üst diagonal) göre elde edilen matris.

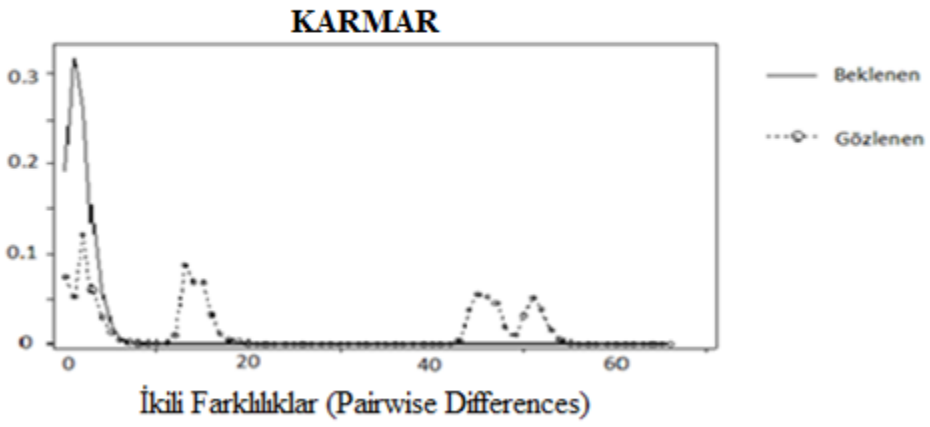
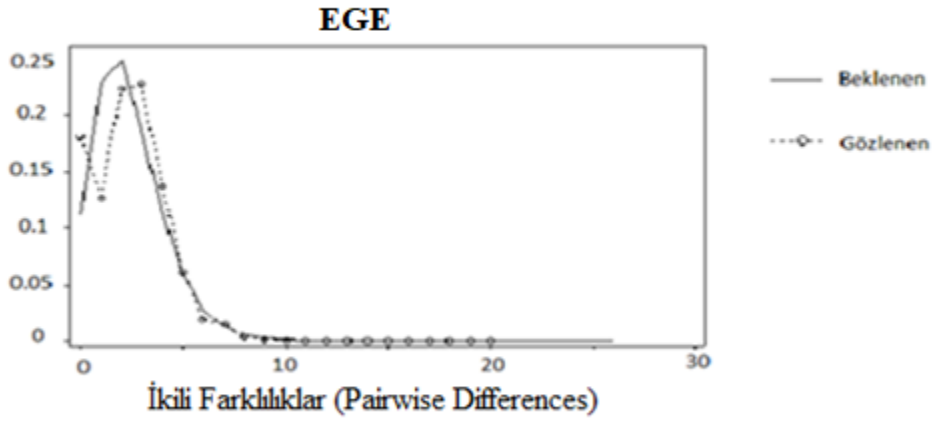
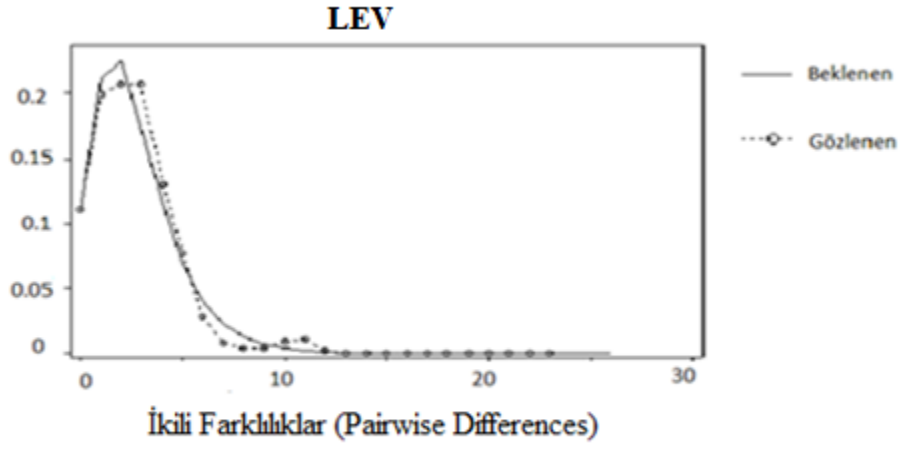
	LEV	EGE	KARMAR
LEV		0,074	0,067
EGE	0,950*		0,018
KARMAR	0,952*	0,858*	

\* $p < 0,05$

**Tablo 4.7:** Gruplar arasındaki gen akışı miktarları.

<b>Gruplar</b>		<b><i>N<sub>m</sub></i></b>
<b>EGE</b>	<b>LEV</b>	0,013
<b>EGE</b>	<b>KARMAR</b>	0,041
<b>LEV</b>	<b>KARMAR</b>	0,012

Ülkemiz kıyılarında dağılım gösteren *P. marmoratus* popülasyonlarının olası demografik değişimlerinin sonuçlarını gösteren uyumsuzluk dağılımı analizi sonuçları ve grafikleri Tablo 4.8 ve Şekil 4.2’de verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre Ege (EGE) ve Levant (LEV) grubuna dahil olan popülasyonların uyumsuzluk dağılımı grafiklerinde genetik darboğaz sonrasında gözlemlenen ani popülasyon genişlemelerine işaret eden asimetric unimodal (tek tepeli çan eğrisi) yapı gözlemlenmiştir. Karadeniz+Marmara (KARMAR) grubuna dahil olan popülasyonların uyumsuzluk dağılımı grafiklerinde ise popülasyonun dengede olduğuna işaret eden multimodal yapı gözlemlenmiştir.



Şekil 4.2: Analiz edilen gruplara ait uyumsuzluk dağılımı grafikleri.

**Tablo 4.8:** Grupların Uyumsuzluk Dağılımı Analizi sonuçları.

<b>Test</b>	<b>LEV</b>	<b>EGE</b>	<b>KARMAR</b>
<b>SSD</b>	0,0009 <sup>ns</sup>	0,0074 <sup>ns</sup>	0,0513*
<b>Raggedness İndeks (r)</b>	0,0195 <sup>ns</sup>	0,0283 <sup>ns</sup>	0,1806*
<b><math>\tau</math> (tau)</b>	2,531	3,078	2,069
<b>t (zaman: 10<sup>3</sup>yıl önce)</b>	97-194	118-236	79-158

ns: önemli değil, \*p<0,05

Yapılan analiz sonuçlarında elde edilen düşük SSD ve raggedness indeksi (r) (<0,03) değerleri Levant ve Ege popülasyonlarında ani demografik genişleme hipotezini destekler nitelikte olup, ani nüfus artışı modeli altında bu grupların sırasıyla 194000-97000 yıl ve 236000-118000 yıl önce genişlemeye başladıkları belirlenmiştir. Karadeniz+Marmara grubunun ise önemli derecede yüksek SSD değerine sahip olmasına rağmen yine önemli derecede yüksek raggedness indeksine (r) sahip olduğu gözlemlenmiş ve ani demografik genişleme hipotezi kabul edilmemiştir.

Tarafsızlık testlerinin sonuçları (Tablo 4.9) ise tüm grupların ve içerdikleri popülasyonların ani popülasyon genişlemesi modeli altında olduğunu göstermektedir. Analiz edilen tüm testlerin önemli seviyede p değerine sahip olduğu; Tajima'nın D değerinin -1,819 ve -1,946 aralığında ve popülasyonlardaki ani nüfus artışlarına oldukça duyarlı olan Fu'nun Fs değerinin ise -15,096 ve -27,447 aralığında olduğu belirlenmiştir.

Veri setine en uygun model olarak belirlenen K2P modeli [173] altında gerçekleştirilen filogenetik analizler sonucunda, elde edilen filogenetik ağaçların tümünde benzer topolojiler gözlemlenmiştir. Buna göre elde edilen NJ ve ML ağaçları beklendiği gibi 3 haplogrubun varlığını yüksek bootstrap değerleri ile ortaya koymuştur (Şekil 4.3, Şekil 4.4).

**Tablo 4.9:** Gruplara ait Tarafsızlık Testi sonuçları.

	<b>LEV</b>	<b>EGE</b>	<b>KARMAR</b>
<b>n</b>	66	84	130
<b>S</b>	30	29	27
<b>k</b>	2,685	2,389	1,654
<b>Test</b>			
<b>Tajima D</b>			
<b>Tajima D</b>	-1,837	-1,819	-1,946
<b>Önemlilik Sev.</b>	* p<0,05	* p<0,05	* p<0,05
<b>Fu Fs</b>			
<b>Fs</b>	-15,096	-18,019	-27,447
<b>Önemlilik Sev.</b>	* p<0,05	* p<0,05	* p<0,05
<b>Romas-Onsins &amp; Rozas R<sup>2</sup></b>			
<b>R<sup>2</sup></b>	0,0459	0,0401	0,0290
<b>Fu &amp; Li D*</b>			
<b>Fu &amp; Li D*</b>	-3,546	-4,089	-4,233
<b>Önemlilik Sev.</b>	**p<0,002	**p<0,002	**p<0,002
<b>Fu &amp; Li F*</b>			
<b>Fu &amp; Li F*</b>	-3,498	-3,876	-4,024
<b>Önemlilik Sev.</b>	**p<0,002	**p<0,002	**p<0,002

n: Birey sayısı, S: Değişken/ayırt edici bölgeler, k: Nükleotid farklılıklarının ortalama sayısı



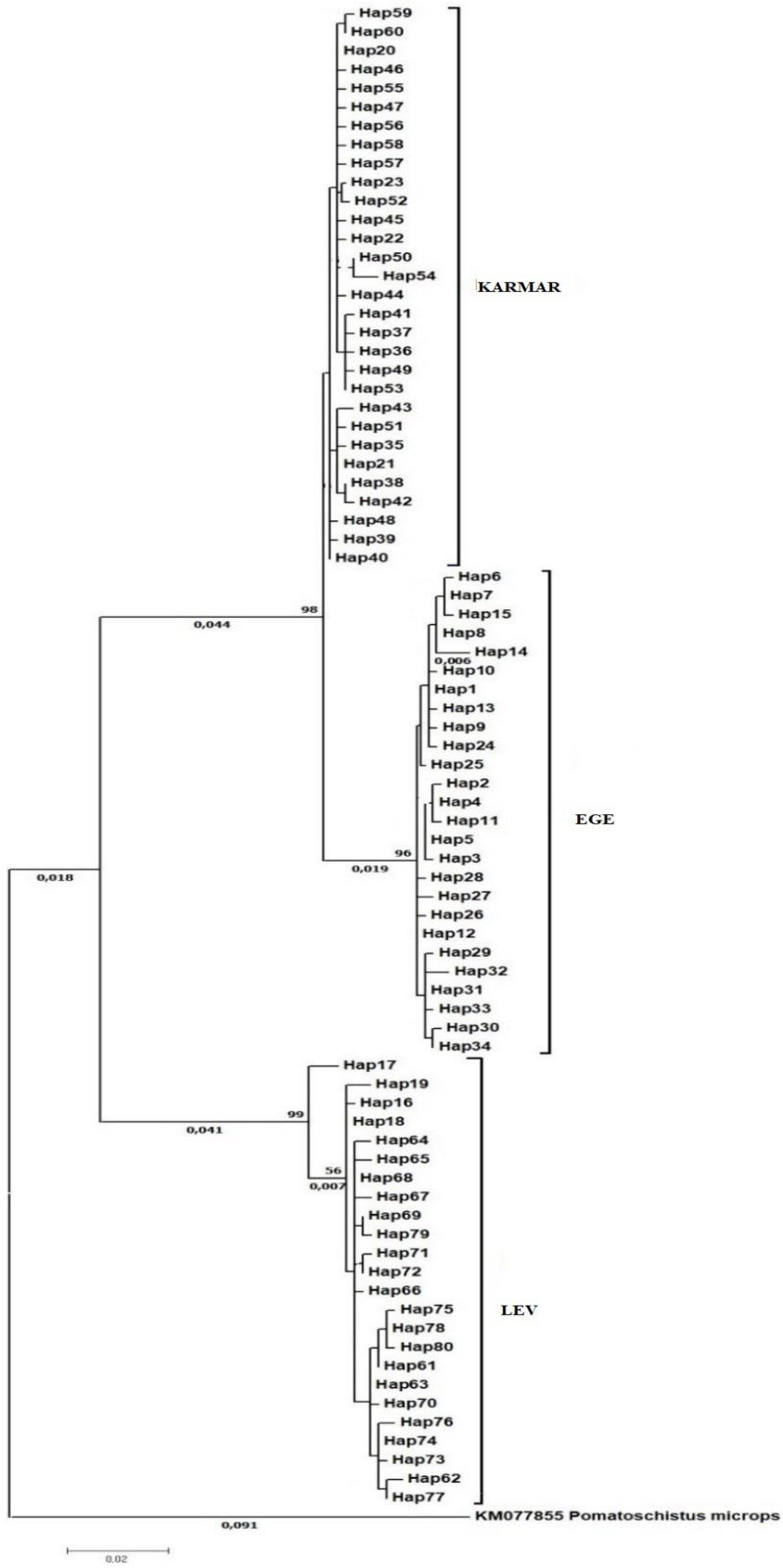
K2P modeli altında belirlenen gruplar arası ve grup içi genetik mesafeler ise Tablo 4.10'da verilmiştir. Buna göre gruplar arası genetik mesafe % 2,7 ile % 13,9 arasında değişirken, grup içi genetik farklılıkların ise % 0,5 ile % 0,7 arasında değiştiği belirlenmiştir. COI geninin evrilme ve mutasyon biriktirme hızıyla ilgili yapılan çalışmaların eksikliği nedeniyle grupların birbirlerinden tahmini ayrılma zamanı hesaplanırken hayvan mtDNA'sının yavaş ve hızlı evrilme oranları olan %2 ve %4 değerleri esas alınmıştır [174]. Buna göre grupların tahmini farklılaşma zamanları ise tablo 4.11'de verilmiştir.

**Tablo 4.10:** K2P modeli altında belirlenen grup içi (üst diagonal, kalın) ve gruplar arası uzaklıklar (alt diagonal).

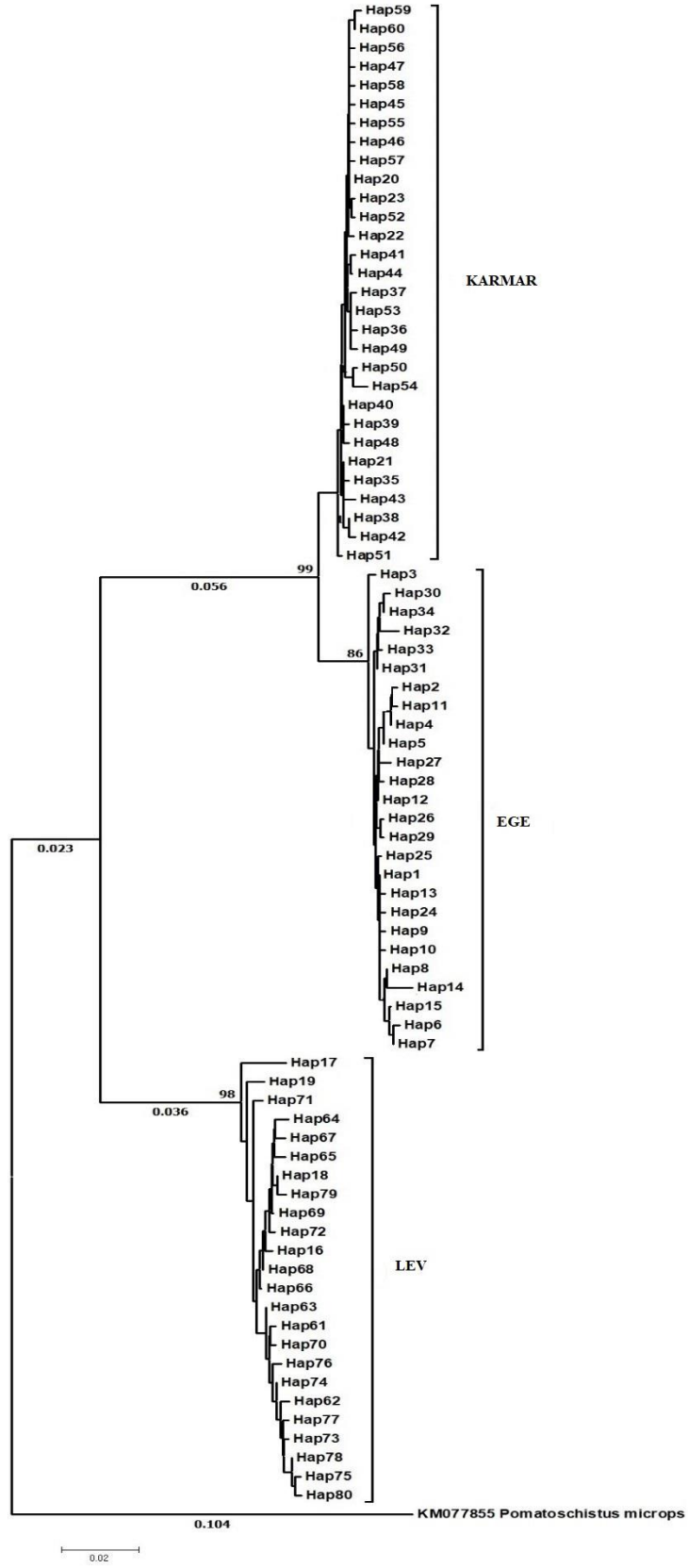
	<b>LEV</b>	<b>EGE</b>	<b>KARMAR</b>
<b>LEV</b>	<b>0,007</b>		
<b>EGE</b>	0,139	<b>0,006</b>	
<b>KARMAR</b>	0,117	0,027	<b>0,005</b>

**Tablo 4.11:** Grupların mtDNA'nın yavaş (alt diagonal) ve hızlı (üst diagonal) evrilme değerleri altında tahmini farklılaşma zamanları (Milyon yıl önce).

	<b>LEV</b>	<b>EGE</b>	<b>KARMAR</b>
<b>LEV</b>	-	3,48	2,98
<b>EGE</b>	6,95	-	0,68
<b>KARMAR</b>	5,85	1,35	-

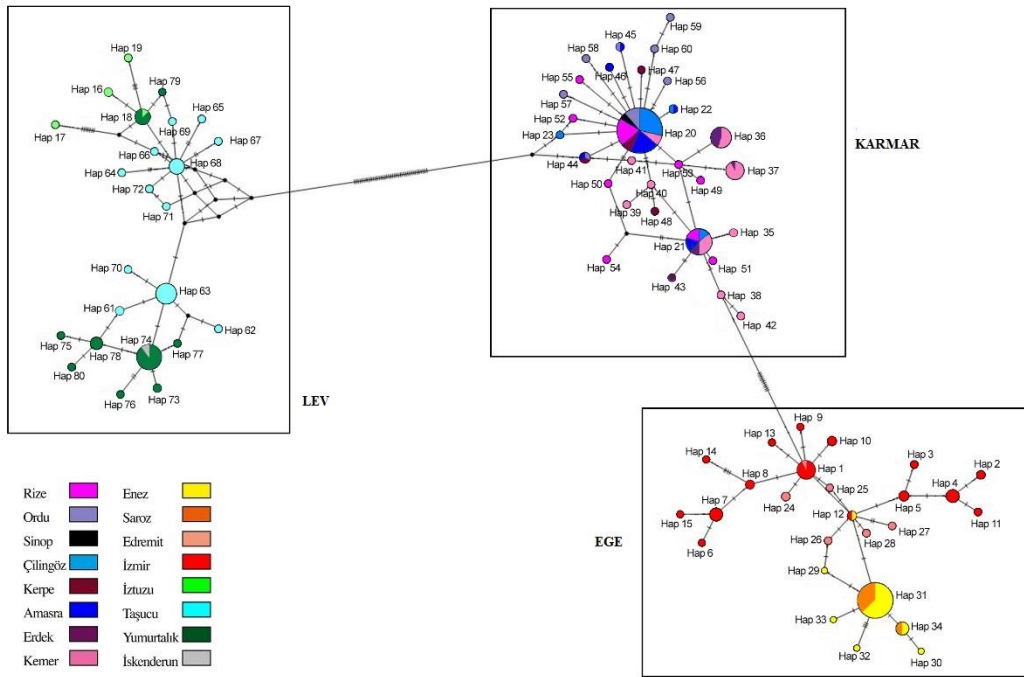


Şekil 4.3: COI geni haplotipleri arasındaki filogenetik ilişkiyi gösteren ML ağacı.



Şekil 4.4: COI geni haplotipleri arasındaki filogenetik ilişkiyi gösteren NJ ağacı.

COI geni haplotiplerinin bağlantı analizlerinde ise haplotiplerin en az 1 mutasyonel adımla birbirinden ayrıldığı, LEV grubunun KARMAR grubundan 39 mutasyonel adımla, KARMAR grubunun ise EGE grubundan 11 mutasyonel adımla ayrıldığı tespit edilmiştir (Şekil 4.5, EK A, EK B). TCS, medyan katılım ve minimum çoğalma metotları ile çizdirilen bağlantı analizlerinin tamamında benzer topolojiler gözlemlenmiş ve filogenetik ağaçlarda gözlemlenen 3 ana haplogrubun varlığı tespit edilmiştir. Haplotip bağlantı analizlerinde aynı zamanda demografik genişleme gözlemlenen popülasyonların karakteristik özelliği olan “yıldız benzeri” yapı gözlemlenmiştir (Şekil 4.5).



**Şekil 4.5:** Ülkemiz kıyılarında dağılım gösteren *P. marmoratus* popülasyonları arasındaki ilişkiyi gösteren COI genine dayalı medyan katılım haplotip ağı.

#### 4.2 cyt-b Geni Temelli *P. marmoratus* Popülasyon Analizleri

Gerçekleştirilen örnekleme çalışmalarında ülkemiz kıyılarındaki 16 istasyondan *P. marmoratus* türüne ait toplam 221 bireyden cyt-b (526 bç) dizisi elde edilmiştir. Elde edilen dizilerinin %85'i korunmuş, %14'sı değişken ve %11,2'i ise polimorfik bilgi verici pozisyonda olduğu saptanmıştır. DNA dizilerinin nükleotid çifti frekansı analizi sonuçları Tablo 4.12'de gösterilmiştir.

Yapılan analiz sonucunda nükleotid kompozisyonunda T bazının oranı %26 ile %25,3 oranında değişirken ortalama oranı %25,7, A bazının oranı %17,9 ile %19,2 arasında olup ortalama %18,6 olduğu tespit edilmiştir. C bazının oranı %36,9 ile %38,6 oranında değişirken ortalama %37,9 ve G bazının oranları %16,9 ile %19,2 arasında değiştiği ve ortalama %17,8 olarak belirlenmiştir. A-T bazlarının ortalama oranı %44,3 olduğu, G-C bazlarının ortalama oranın ise %55,7 olduğu tespit edilmiştir.

**Tablo 4.12:** Nükleotid çifti frekansları analiz sonuçları.

Korunmuş Bölgeler	452/526
Değişken/ Ayırt Edici Bölgeler (Segregating sites)	74/526
Polimorfik Bilgi Verici Bölgeler	59/526
Nükleotid Farklılıklarının Ortalama Sayısı (k)	24,16
R (Si/Vi)	3,20
Toplam Mutasyon Sayısı	81

Analiz edilen 221 bireye ait toplamda 33 haplotip tespit edilirken haplotip (h) ve nükleotid ( $\pi$ ) çeşitlilikleri ise sırasıyla  $0,854 \pm 0,012$  ve  $0,0458 \pm 0,002$  olarak belirlenmiştir.

Popülasyonların coğrafik farklılaşmalarını tespit etmek için olası iki kümelenemenin (Tablo 4.13) varlığı AMOVA yardımıyla değerlendirilmiştir. Buna göre gerçekleştirilen ilk analizde; İztuzu (IZT), Taşucu (TSC), Yumurtalık (YUM) ve İskenderun (ISK) popülasyonlarının oluşturduğu “LEV” grubu ile diğer tüm popülasyonları kapsayan ikinci bir grubun (EGE+KAR+MAR) arasındaki moleküler varyans hesaplanmıştır. Buna göre bu iki grup arasındaki varyans %95,29 olarak tespit edilmiştir.

**Tablo 4.13:** AMOVA altında değerlendirilen iki olası kümelendirme ve belirlenen grupların içerdikleri popülasyonlar.

		<b>Levant (LEV)</b>	<b>Ege+ Karadeniz+Marmara (EGE+KAR+MAR)</b>		
<b>I. Olası Kümelendirme</b>		İztuzu (IZT)	İzmir (IZM)		
		Taşucu (TSC)	Edremit (EDR)		
		Yumurталık (YUM)	Enez (ENZ)		
		İskenderun (ISK)	Baklaburnu (SRZ)		
			Erdek (ERD)		
			Kemer (KMR)		
			Çilingöz (CLN)		
			Amasra (AMS)		
			Kerpe (KRP)		
			Sinop (SNP)		
		Ordu (ORD)			
		Rize (RZ)			
		<b>Levant (LEV)</b>	<b>Ege (EGE)</b>	<b>Karadeniz+Marmara (KARMAR)</b>	
<b>II. Olası Kümelendirme</b>		İztuzu (IZT)	İzmir (IZM)	Erdek (ERD)	
		Taşucu (TSC)	Edremit (EDR)	Kemer (KMR)	
		Yumurталık (YUM)	Enez (ENZ)	Çilingöz (CLN)	
		İskenderun (ISK)	Baklaburnu (SRZ)	Amasra (AMS)	
				Kerpe (KRP)	
				Sinop (SNP)	
				Ordu (ORD)	
				Rize (RZ)	

Gerçekleştirilen ikinci analizde ise, COI analizlerinde saptanan 3 ana haplogrubun [Levant (LEV), Ege (EGE) ve Karadeniz+Marmara Denizi (KARMAR) ] varlığı yine

AMOVA altında değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlarda ise moleküler varyasyonun %97,19'unu belirleyen bu 3 ana grup arasında, %1,83'ünü grup içi popülasyonlar arasında ve %0,99'unun ise popülasyon içi bireyler arasında farklılıklardan kaynaklandığı tespit edilmiştir (Tablo 4.14). Sonuçları karşılaştırabilmek adına analizlere 3 haplogrup üzerinden devam edilmiştir (Tablo 4.15) Haplotiplerin gruplara göre dağılımı ise Tablo 4.16'da verilmiştir.

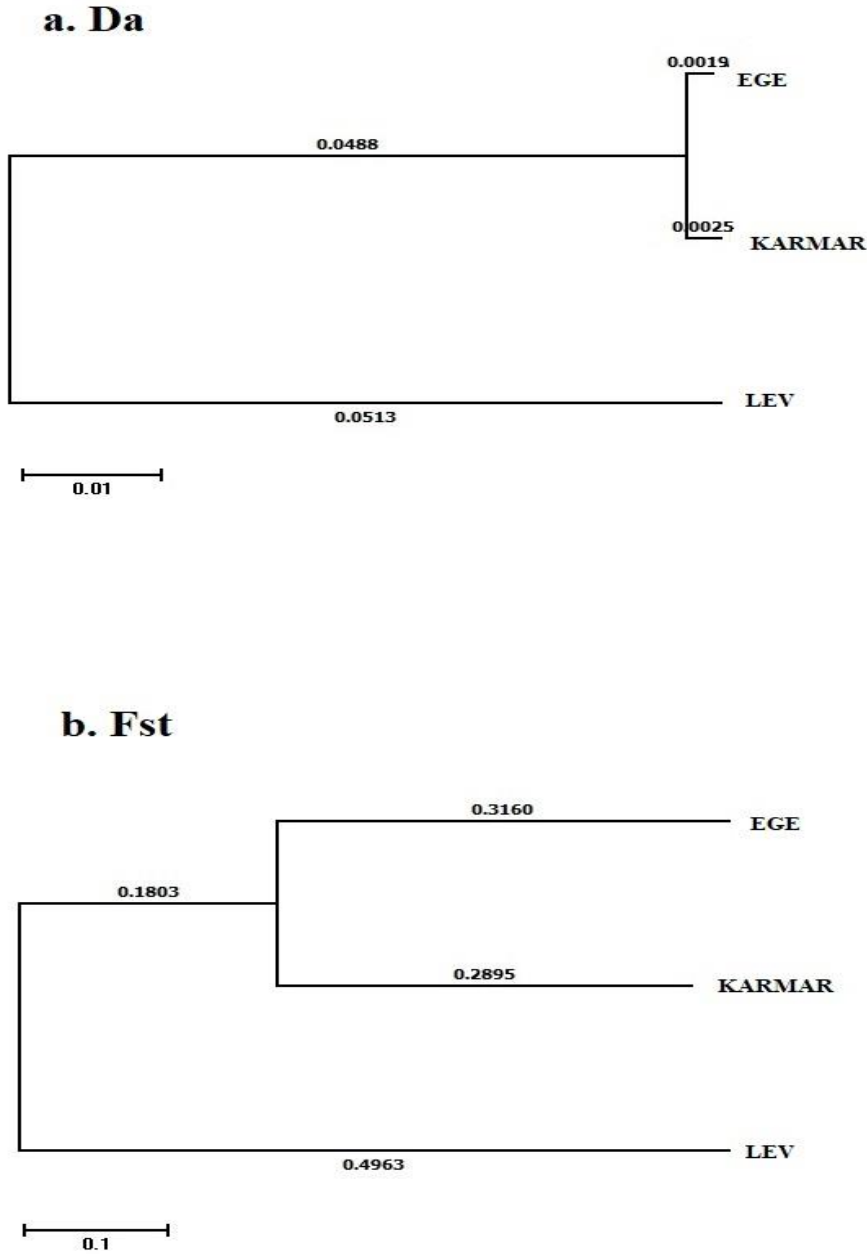
**Tablo 4.14:** cyt-b geni kullanılarak gerçekleştirilen 3 haplogruplu AMOVA sonuçları.

Varyasyon Kaynağı	Varyasyon Oranı (%)	Fiksasyon İndeksleri
Gruplar Arası	97,19	$\phi_{ct}=0,971$
Grup İçi Popülasyonlar Arası	1,83	$\phi_{sc}=0,649$
Popülasyon İçindeki Bireyler Arası	0,99	$\phi_{st}=0,990$

**Tablo 4.15:** AMOVA sonuçlarına göre belirlenen grupların haplotip sayıları ve çeşitlilik indeksleri.

	LEV	EGE	KARMAR
<b>Analiz Edilen Birey Sayısı</b>	62	32	127
<b>Korunmuş Bölgeler</b>	508	526	507
<b>Değişken Bölgeler (S=Segregating Sites)</b>	18	0	19
<b>Polimorfik Bilgi Verici Bölgeler</b>	3	0	8
<b>Nükleotid Farklılıklarının Ortalama Sayısı (k)</b>	0,791	0	2,988
<b>Toplam Mutasyon Sayısı</b>	19	0	20
<b>Haplotip Sayısı</b>	12	1	21
<b>Haplotip Çeşitliliği (h)</b>	0,401+0,080	0	0,802+0,028
<b>Nükleotid Çeşitliliği (<math>\pi</math>)</b>	0,001+0,0005	0	0,005+0,0002

Popülasyonlar arası genetik mesafenin tespitinde Nei'nin genetik mesafe ölçüm metodu  $D_a$ , Wright'ın fiksasyon indeksi  $F_{ST}$  değerleri sırasıyla 0,004-0,102 ve 0,605-0,992 arasında değiştiği gözlemlenmiştir (Tablo 4.17). Nei'nin  $D_a$  ve Wright'ın  $F$  istatistiği ( $F_{ST}$ ) değerleri kullanılarak çizdirilen NJ ağaçları ise şekil 4.16'da verilmiştir.



**Şekil 4.6:** Nei'nin  $D_a$  ve Wright'ın  $F$  istatistiği  $F_{ST}$  değerleri kullanılarak çizdirilen NJ ağaçları.



**Tablo 4.16:** Haplotiplerin gruplara göre dağılımı.

<b>LEV</b>		<b>EGE</b>		<b>KARMAR</b>	
<b>Haplotip</b>	<b>Frekans</b>	<b>Haplotip</b>	<b>Frekans</b>	<b>Haplotip</b>	<b>Frekans</b>
Hap_1	2	Hap_1	32	Hap_13	10
Hap_2	1			Hap_14	1
Hap_3	48			Hap_15	6
Hap_4	1			Hap_16	12
Hap_5	2			Hap_17	2
Hap_6	1			Hap_18	11
Hap_7	3			Hap_19	4
Hap_8	1			Hap_20	1
Hap_9	1			Hap_21	1
Hap_10	1			Hap_22	50
Hap_11	1			Hap_23	3
Hap_12	1			Hap_24	20
				Hap_25	1
				Hap_26	1
				Hap_27	1
				Hap_28	1
				Hap_29	1

**Tablo 4.16:** Haplotiplerin gruplara göre dağılımı (devam).

LEV		EGE		KARMAR	
Haplotip	Frekans	Haplotip	Frekans	Haplotip	Frekans
				Hap_30	1
				Hap_31	8
				Hap_32	2
				Hap_33	1

**Tablo 4.17:** İncelenen 3 grup için Wright'in Fiksasyon indeksi  $F_{ST}$  (alt diagonal) ve Nei'nin  $D_a$  genetik mesafe ölçümü metodlarına (üst diagonal) göre elde edilen matris.

	LEV	EGE	KARMAR
LEV		0,101	0,102
EGE	0,992*		0,004
KARMAR	0,966*	0,605*	

\* $p < 0,05$

$F_{ST}$  değerleri baz alınarak hesaplanan gruplar arasındaki olası gen akışı miktarının EGE- KARMAR grupları hariç oldukça düşük olduğu tespit edilmiştir (Tablo 4.18).

**Tablo 4.18:** Gruplar arasındaki gen akışı miktarları.

Gruplar		$Nm$
EGE	LEV	0,002
EGE	KARMAR	0,163
LEV	KARMAR	0,008

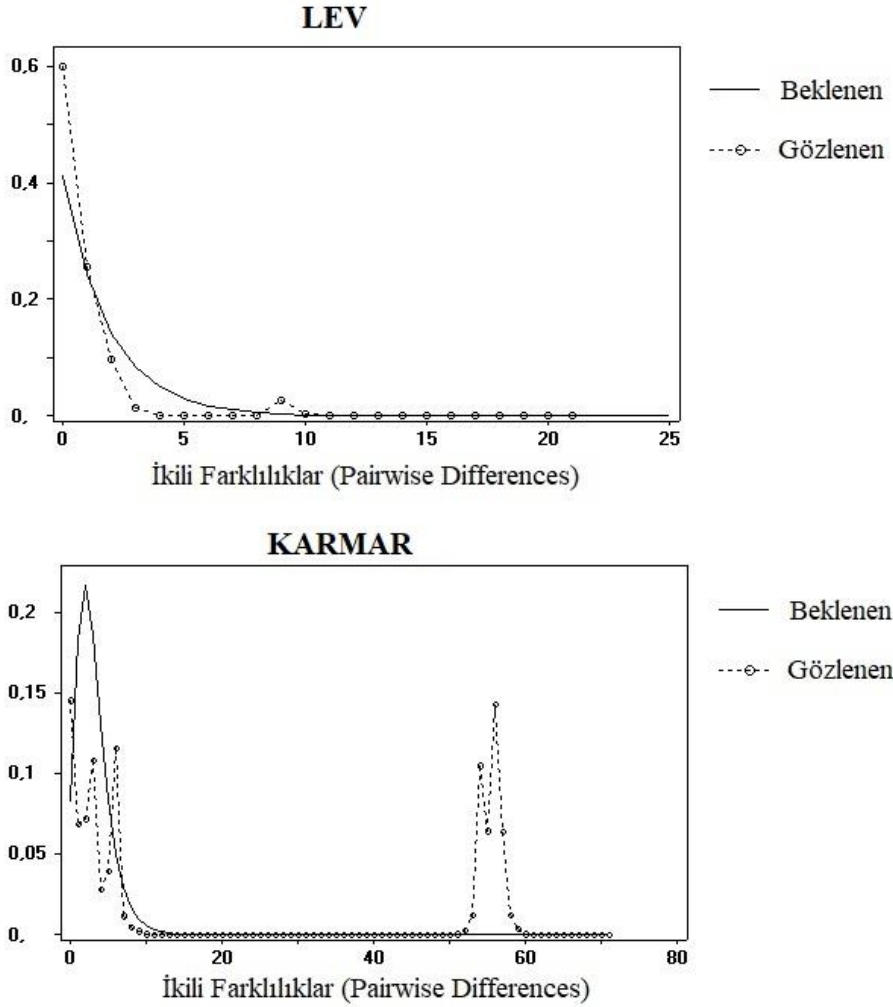
*Pomatoschistus marmoratus* popülasyonlarının olası demografik değişimlerinin sonuçlarını gösteren cyt-b genine dayalı uyumsuzluk dağılımı analizi sonuçları ve grafikleri Tablo 4.19 ve Şekil 4.7’de verilmiştir.

Elde edilen uyumsuzluk dağılımı grafiklerinde Karadeniz+Marmara (KARMAR) grubuna dahil olan popülasyonların dengede olduğuna işaret eden multimodal yapı gözlemlenirken Levant (LEV) grubuna dahil olan popülasyonların uyumsuzluk dağılımı grafiklerinde ise genetik darboğaz sonrası oluşan ani popülasyon genişlemelerine işaret eden asimetrik unimodal (tek tepeli çan eğrisi) yapı gözlemlenmiştir. Ege (EGE) grubunda ise polimorfizm gözlemlenmediği için tarafsızlık testleri ve uyumsuzluk dağılım analizleri bu popülasyon için gerçekleştirilememiştir.

**Tablo 4.19:** Grupların Uyumsuzluk Dağılımı Analizi sonuçları.

Test	LEV	EGE	KARMAR
SSD	0,0010 <sup>ns</sup>	-	0,0196 <sup>ns</sup>
Raggedness İndeks (r)	0,150 <sup>ns</sup>	-	0,059 <sup>ns</sup>
$\tau$ (tau)	0,5	-	4,7
t (zaman: 10 <sup>3</sup> yıl önce)	0,475-0,237	-	4,48-2,23

ns: önemli değil



**Şekil 4.7:** Analiz edilen gruplara ait uyumsuzluk dağılımı grafikleri.

Yapılan analizler sonucunda Levant popülasyonu için düşük SSD değeri gözlemlenirken raggedness indeksi ( $r$ )  $> 0,03$  olarak tespit edilmiş ve ani demografik genişleme hipotezi desteklenmiştir. Ancak, KARMAR grubunda gözlemlenen yüksek ancak istatistiksel olarak önemsiz SSD ve raggedness indeksi ( $r$ ) değerleri bu grup için ani demografik genişleme hipotezini desteklememiştir.

Tarafsızlık testlerinin sonuçları (Tablo 4.20) ise Ege (EGE) grubu hariç diğer iki grubun (LEV+ KARMAR) içerdikleri popülasyonların ani popülasyon genişlemesi modeli altında olduğunu göstermektedir. Analiz edilen gruplarda Tajima'nın D değerinin  $-0,413$  ve  $-2,415$  aralığında ve popülasyonlardaki ani nüfus artışlarına

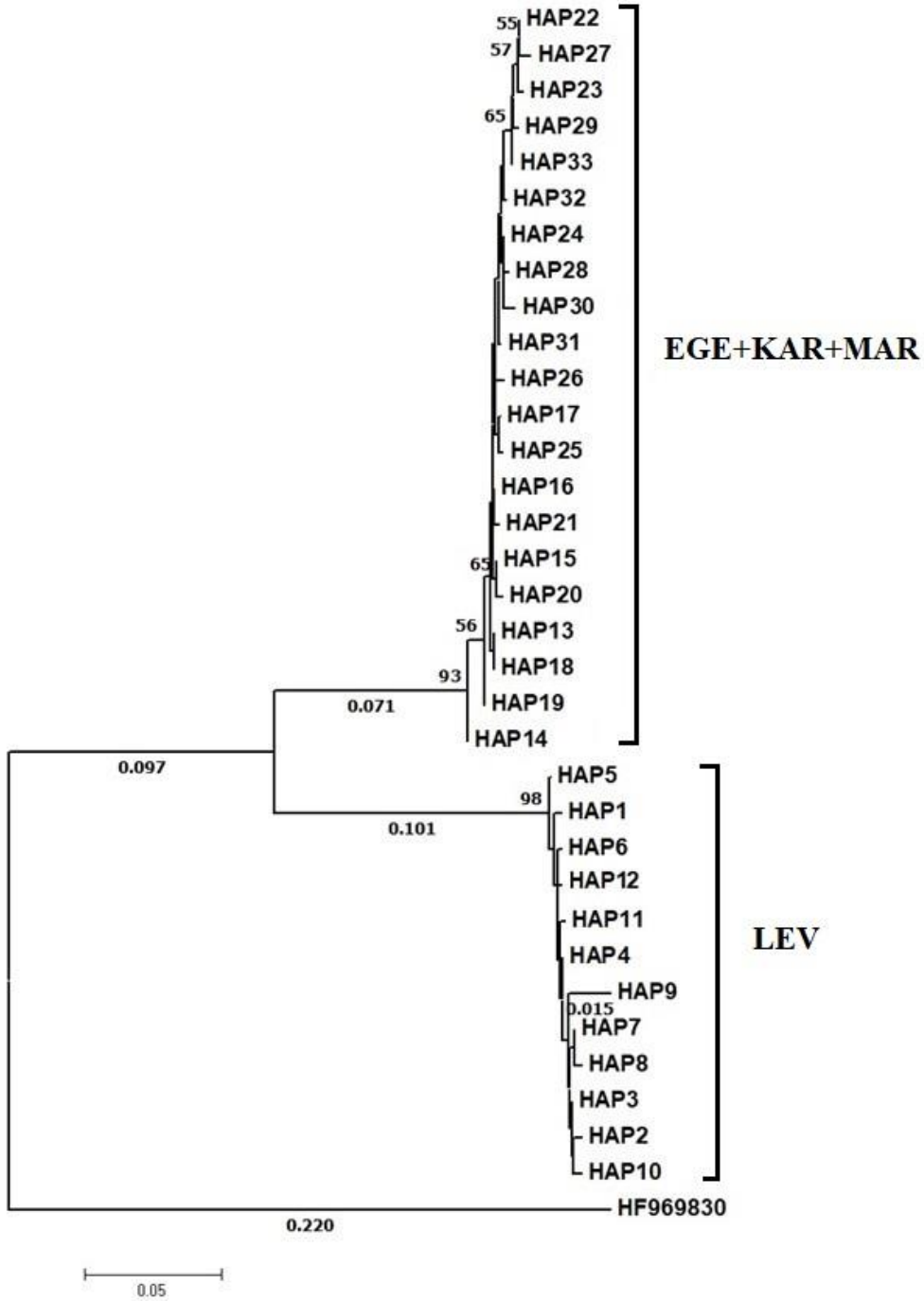
oldukça duyarlı olan Fu'nun Fs değerinin ise -5,937 ve -9,495 aralığında olduğu tespit edilmiştir.

**Tablo 4.20:** Gruplara ait Tarafsızlık Testi Sonuçları.

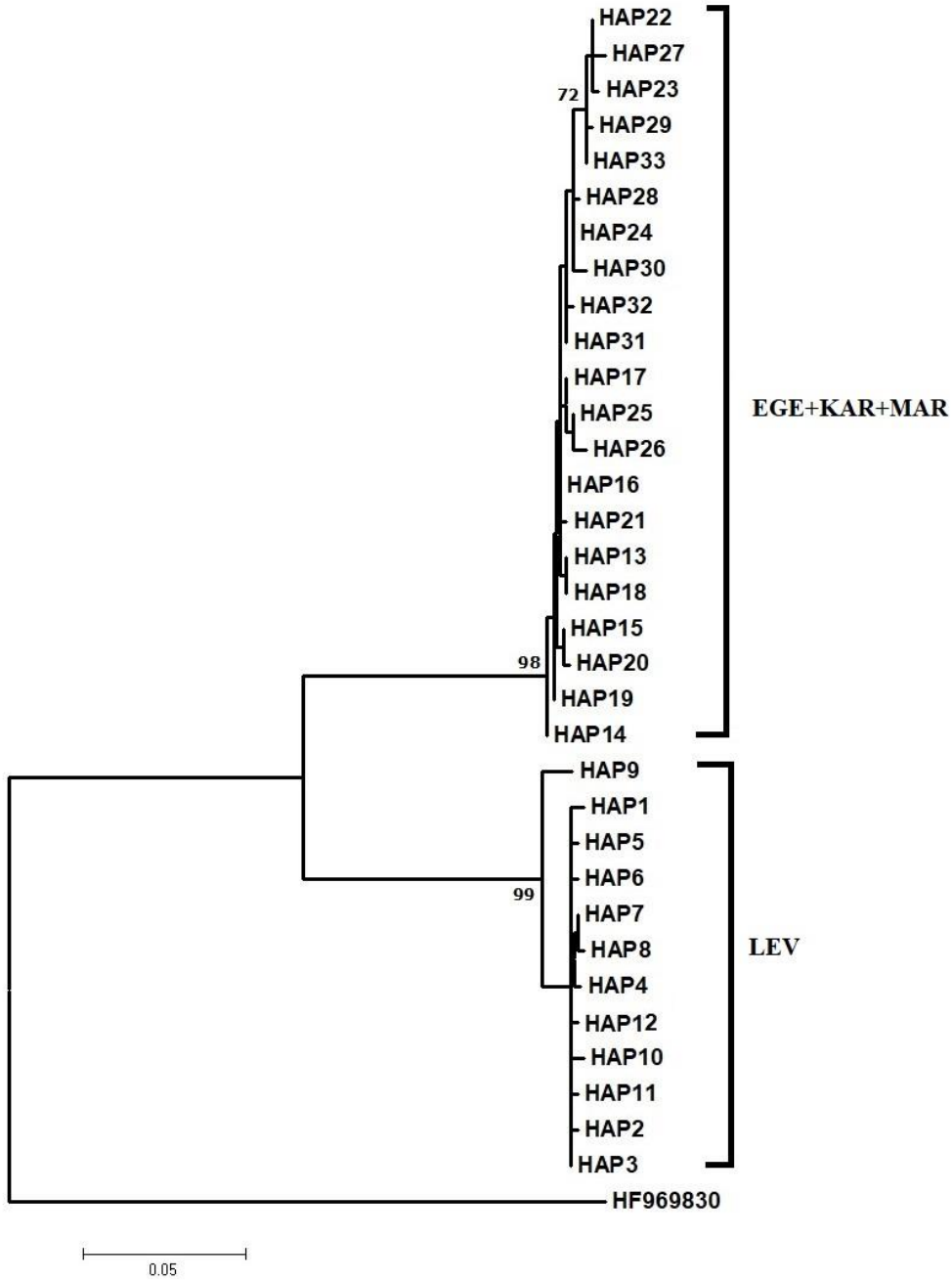
	LEV	EGE	KARMAR
<b>n</b>	62	32	127
<b>S</b>	18	0	19
<b>k</b>	0,791	0	2,988
<b>Test</b>			
<b>Tajima D</b>			
<b>Tajima D</b>	-2,415	-	-0,413 <sup>ns</sup>
<b>Önemlilik Sev.</b>	* *p<0,01	-	p>0,10
<b>Fu Fs</b>			
<b>Fs</b>	-9,495	-	-5,937
<b>Önemlilik Sev.</b>	* p<0,05	-	* p<0,05
<b>Romas-Onsins &amp; Rozas R<sup>2</sup></b>			
<b>R<sup>2</sup></b>	0,053	-	0,076
<b>Fu &amp; Li D*</b>			
<b>Fu &amp; Li D*</b>	-4,869	-	-3,414
<b>Önemlilik Sev.</b>	**p<0,002	-	**p<0,002
<b>Fu &amp; Li F*</b>			
<b>Fu &amp; Li F*</b>	-4,776	-	-2,768
<b>Önemlilik Sev.</b>	**p<0,002	-	*p<0,05

n: Birey sayısı, S: Değişken/ayırt edici bölgeler, k: Nükleotid farklılıklarının ortalama sayısı

Veri setine en uygun model olarak belirlenen Tamura-Nei [175] modeli altında gerçekleştirilen filogenetik analizler sonucunda, elde edilen filogenetik ağaçların tümünde benzer topolojiler gözlemlenmiştir. Buna göre 2 haplogrubun varlığı elde edilen NJ ve ML ağaçlarında yüksek seç-bağla değerleri ile ortaya koymuştur (Şekil 4.8, Şekil 4.9).



**Şekil 4.8:** cyt-b geni haplotipleri arasındaki filogenetik ilişkiyi gösteren NJ ağacı.



**Şekil 4.9:** *cyt-b* geni haplotipleri arasındaki filogenetik ilişkiyi gösteren ML ağacı.

Tamura-Nei modeli altında belirlenen gruplar arası ve grup içi genetik mesafeler ise Tablo 4.21’de verilmiştir. Buna göre gruplar arası genetik mesafe % 2,7 ile % 13,9 arasında değişirken, grup içi genetik farklılıklar ise % 0,5 ile % 0,7 arasında değiştiği belirlenmiştir. *cyt-b* geninin evrilme ve mutasyon biriktirme süreciyle ilgili yavaş ve hızlı evrilme hızları [134] olan %1 ve %2 değerleri esas alınmıştır. Buna göre grupların tahmini farklılaşma zamanları ise Tablo 4.22’de verilmiştir.

**Tablo 4.21:** Tamura- Nei modeli altında belirlenen grup içi (üst diagonal, kalın) ve gruplar arası uzaklıklar (alt diagonal).

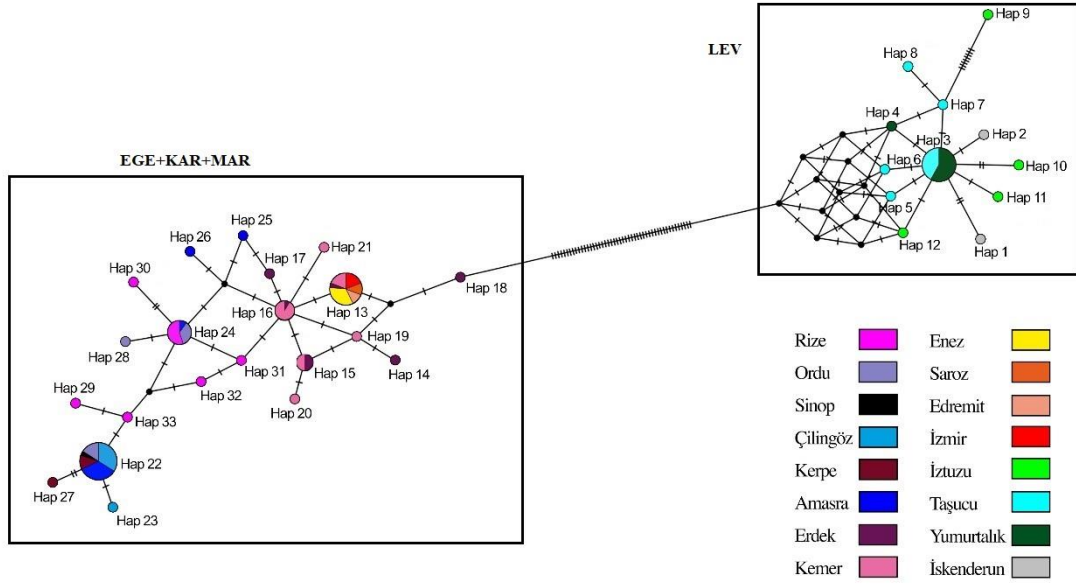
	<b>LEV</b>	<b>KAR+MAR+EGE</b>
<b>LEV</b>	<b>0,007</b>	
<b>KAR+MAR+EGE</b>	0,193	<b>0,008</b>

**Tablo 4.22:** Grupların mtDNA'nın yavaş (alt diagonal) ve hızlı (üst diagonal) evrilme değerleri altında tahmini farklılaşma zamanları (Milyon yıl önce).

	<b>LEV</b>	<b>KAR+MAR+EGE</b>
<b>LEV</b>	-	9,65
<b>KAR+MAR+EGE</b>	19,3	-

cyt-b geni haplotiplerinin bağlantı analizlerinde ise LEV grubuna dahil haplotiplerin en az 1 mutasyonel adımla birbirinden ayrıldığı ve demografik genişleme gözlemlenen popülasyonların karakteristik özelliği olan “yıldız benzeri” yapılanma gösterdiği gözlemlenmiştir. Bununla beraber LEV grubunun Karadeniz, Ege ve Marmara Denizi haplotiplerini içeren gruptan 48 mutasyonel adımla ayrıldığı tespit edilmiştir (Şekil 4.10, EK C, EK D). TCS, medyan katılım ve minimum çoğalma metodları ile çizdirilen bağlantı analizlerinin tamamında benzer topolojiler gözlemlenmiş ve filogenetik ağaçlarda gözlemlenen 2 ana haplogrup desteklenmiştir.





**Şekil 4.10:** Ülkemiz kıyılarında dağılım gösteren *P. marmoratus* popülasyonları arasındaki ilişkiyi gösteren cyt-b genine dayalı medyan katılım haplotip ağı.

### 4.3 *Pomatoschistus marmoratus* ile Kum Kaya Balıkları Arasındaki Filogenetik İlişkiler

#### 4.3.1 COI geni temelli filogenetik analizler

Benzer morfolojileri ve habitat tercihleri ile yapılan moleküler çalışmalarla yakın ilişkili oldukları ve aynı soy hattını paylaştıkları bilinen *Pomatoschistus*, *Ninnigobius*, *Knipowitschia*, *Orsinigobius*, *Economidichthys*, *Buenia*, *Deltentosteus*, *Lebetus*, *Speleogobius*, *Crystallogobius* ve *Pseudaphya* cinslerine ait toplamda 41 diziye ait 652 bç uzunluğundaki COI geni analiz edilmiştir. Ülkemiz kıyılarından örneklenen *P. marmoratus*, *P. nanus*, *P. bathi*, *P. quagga*, *P. anatoliae* ve *P. adriaticus*'a ait diziler dışında analiz edilen diğer tüm diziler Genbanktan temin edilmiş ve kum kaya balıklarının filogenetik ilişkileri incelenmiştir. Karadeniz endemiği olan *Hyrceanogobius* cinsine ait referans dizi veri bankalarında mevcut olmadığı için analize eklenememiştir. Genbank'tan temin edilen referans diziler Ek E'de verilmiştir.

Veri setine en uygun model olarak K2P modeli olarak belirlenmiş ve filogenetik ağaçlar ile türler arasındaki genetik farklılıklar bu model altında hesaplanmıştır. ML ve NJ ağaçları benzer topoloji sergilemekle beraber, *Pomatoschistus* cinsinin topolojik olarak parafiletik yapıda olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 4.11, 4.12).

Türler arası genetik mesafe % 0,2 (*K. panizzae*- *K. radovici*) ile %35,5 (*C. linearis*- *P. marmoratus*) arasında değişirken aynı cinsde ait türler arasındaki genetik mesafeler ise %2,8 ile %22,7 arasında değişmiştir (Tablo 4.23). Minimum cins içi genetik mesafe ortalama %2,8 ile *Ninnigobius* cinsinde gözlemlenirken maksimum cins içi genetik mesafe %22,7 ile *Lebetus* türleri arasında gözlemlenmiştir. *Pomatoschistus* cinsine ait türlerin ortalama genetik uzaklıkları ise % 16,7 olarak belirlenmiştir. Sadece *Pomatoschistus* türleri ile gerçekleştirilen analizlerden elde edilen NJ ve ML ağaçları ile türler arası mesafeler ise EK G, Ek H ve Ek I'da verilmiştir. Genbanktan temin edilen KJ553514 erişim numaralı *K. mrakovcici* ve KJ553656 erişim numaralı *K. radovici* türlerinin birbirleri ile özdeş olduğu ve tür tayinlerinin yanlış yapılmış olabileceği tespit edilmiştir.

**Tablo 4.23:** Cinsler arası (alt diagonal) ve cins içi türler arasındaki (üst diagonal, kalın) K2P genetik uzaklıkları.

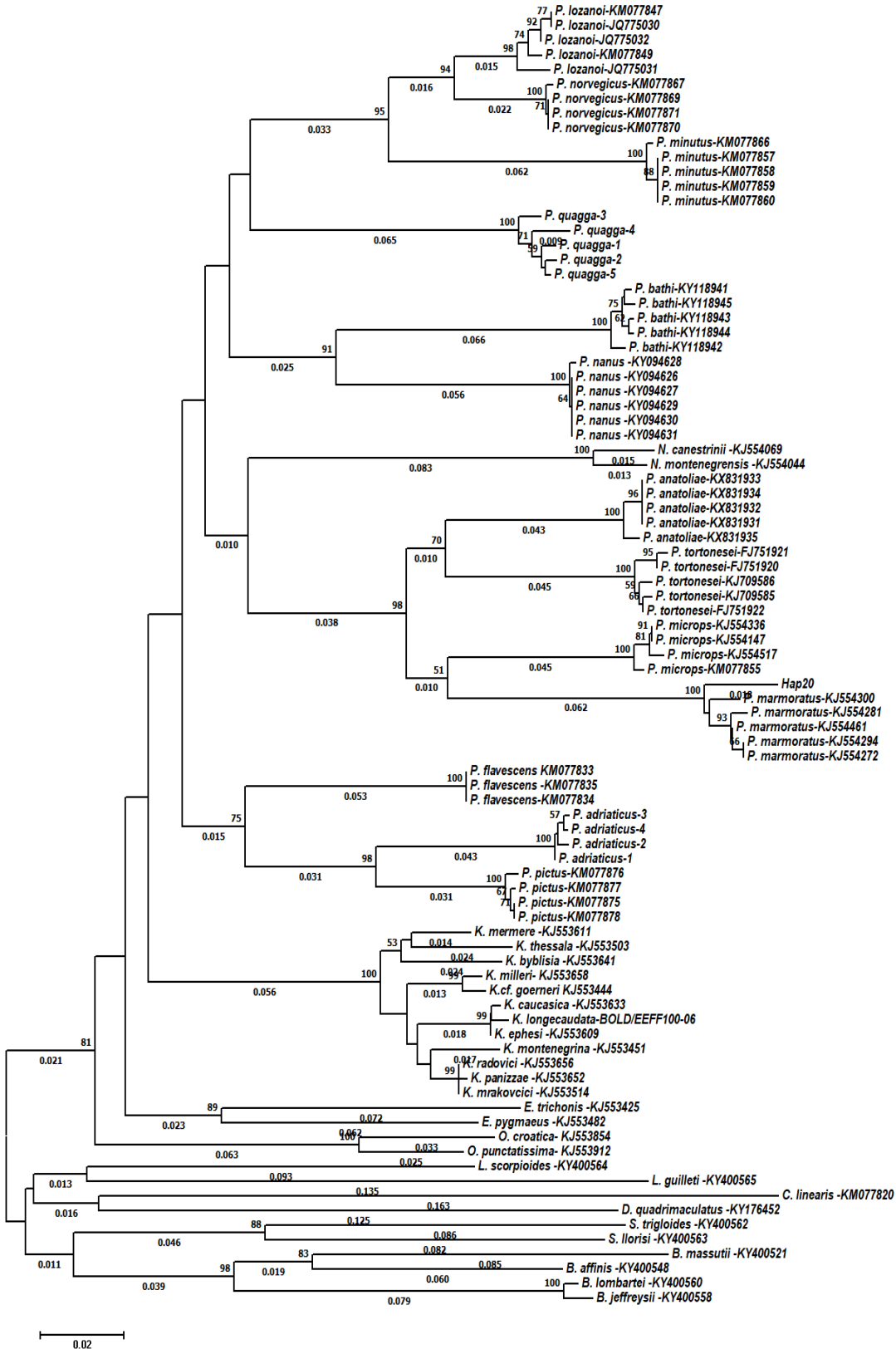
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<b>1</b> <i>Pomatoschistus</i>	<b>0,167</b>									
<b>2</b> <i>Ninnigobius</i>	0,191	<b>0,028</b>								
<b>3</b> <i>Knipowitschia</i>	0,190	0,205	<b>0,039</b>							
<b>4</b> <i>Orsinigobius</i>	0,213	0,200	0,186	<b>0,058</b>						
<b>5</b> <i>Economidichthys</i>	0,203	0,227	0,176	0,187	<b>0,133</b>					
<b>6</b> <i>Buenia</i>	0,259	0,285	0,257	0,271	0,282	<b>0,143</b>				
<b>7</b> <i>Speleogobius</i>	0,266	0,266	0,268	0,253	0,255	0,256	<b>0,168</b>			
<b>8</b> <i>Lebetus</i>	0,269	0,283	0,242	0,254	0,259	0,271	0,263	<b>0,227</b>		
<b>9</b> <i>Crystallogobius</i>	0,313	0,332	0,301	0,275	0,298	0,327	0,312	0,293	-	
<b>10</b> <i>Deltentosteus</i>	0,278	0,271	0,261	0,249	0,247	0,282	0,285	0,279	0,288	-

Bu çalışmada ayrıca, Miller'in Split & Vranjic ve Erdek kıyılarından incelediği ve alt tür olarak tanımladığı [176], ancak diğer birçok çalışmada *P. pictus*'un sinonimi olarak bilinen *P. adriaticus* bireyleri Erdek kıyılarından örneklenmiş ve analizlere dahil edilmiştir. Morfolojik olarak *P. pictus* türüne oldukça benzeyen ve aralarında oldukça sınırlı morfolojik farklar olan bu tür örnekleme çalışmaları esnasında *P. pictus*

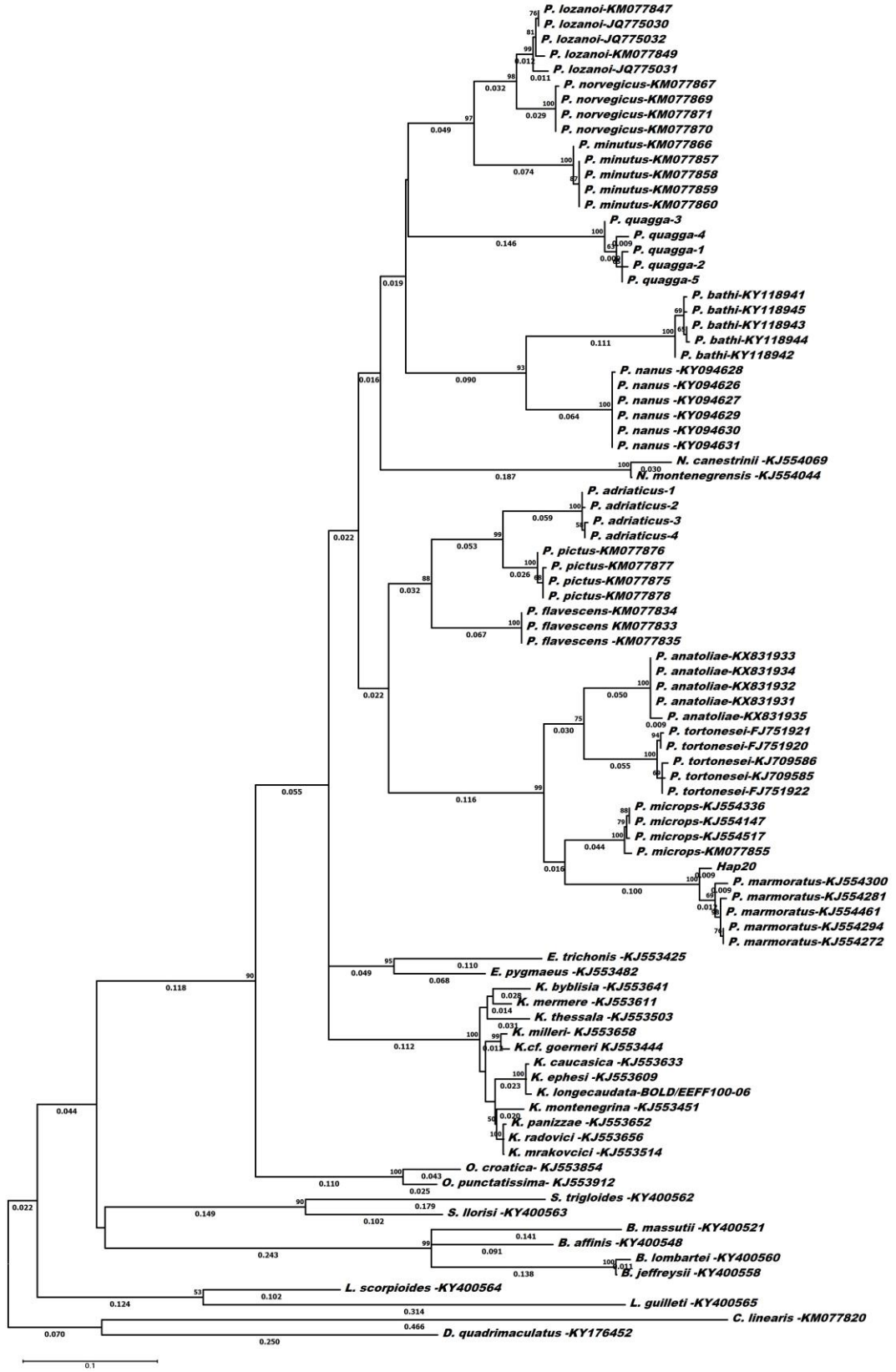
varsılayarak örneklenmiştir. Kum kaya balıkları türleri ile gerçekleştirilen analizlerde *Pomatoschistus* türleri içerisinde *P. lozanoi* ve *P. norvegicus*'un %4,3 genetik mesafe ile minimum türler arası mesafeye sahip olduğu; Erdek'ten örneklenen ve *P. pictus* olduğu düşünülen bireylerinin ise %7,8 K2P genetik uzaklığıyla en yakın ilişkili olduğu türün *P. pictus* olduğu belirlenmiştir.

*Pomatoschistus adriaticus* bireylerinin sadece *Pomatoschistus* türleriyle değerlendirildiği genetik analizlerde ise en uygun model K2P olarak belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlarda minimum tür içi ve türler arası ortalama genetik mesafe sırasıyla  $0,5 \pm 0,004$  ve  $17,6 \pm 0,04$  olarak tespit edilmiştir. Kum kaya balığı cinslerinin dahil edildiği analizlere benzer olarak *P. lozanoi* ve *P. norvegicus* türleri %4,3 K2P genetik mesafesi ile birbirlerine en yakın türler olarak belirlenirken *P. adriaticus*'a en yakın takson ise %7,8 K2P genetik mesafesi ile *P. pictus* olarak tespit edilmiştir. Elde edilen tüm bu sonuçlar neticesinde *P. pictus*'un sinonimi olarak kabul edilen *P. adriaticus*'un *P. pictus*'tan ayrı ve geçerli bir tür olduğu kanıtlanmıştır.

Gerçekleştirilen filogenetik analizlerde ayrıca, ülkemiz Levant kıyılarından *Pomatoschistus cf. bathi* olarak örneklenen bireylerin % 12,7 K2P genetik mesafeyle en yakın ilişkili olduğu taksonun *P. bathi* olduğu tespit edilmiştir. *P. cf. bathi* olarak örneklenen bireyler ve en yakın ilişkili olduğu takson *P. bathi* arasındaki genetik mesafenin, belirlenen minimum türler arası mesafenin (%4,3) üstünde olduğu tespit edilmiş ve bu bireylerin yeni bir taksona işaret ettiği saptanmıştır. *P. cf. bathi* bireyleri bu tez çalışmasındaki genetik analizler dışında gerçekleştirilen morfolojik analizlere tabi tutulmuş ve bu bireylerin yeni bir tür olduğu tespit edilerek *Pomatoschistus nanus* Engin ve Seyhan, 2017 olarak isimlendirilmiştir.



Şekil 4.11: Kum kaya balığı türlerininin mtDNA COI dizilerine ait NJ filogenetik ağacı.



Şekil 4.12: Kum kaya balığı türlerininin mtDNA COI dizilerine ait ML metoduna dayalı filogenetik ağacı.

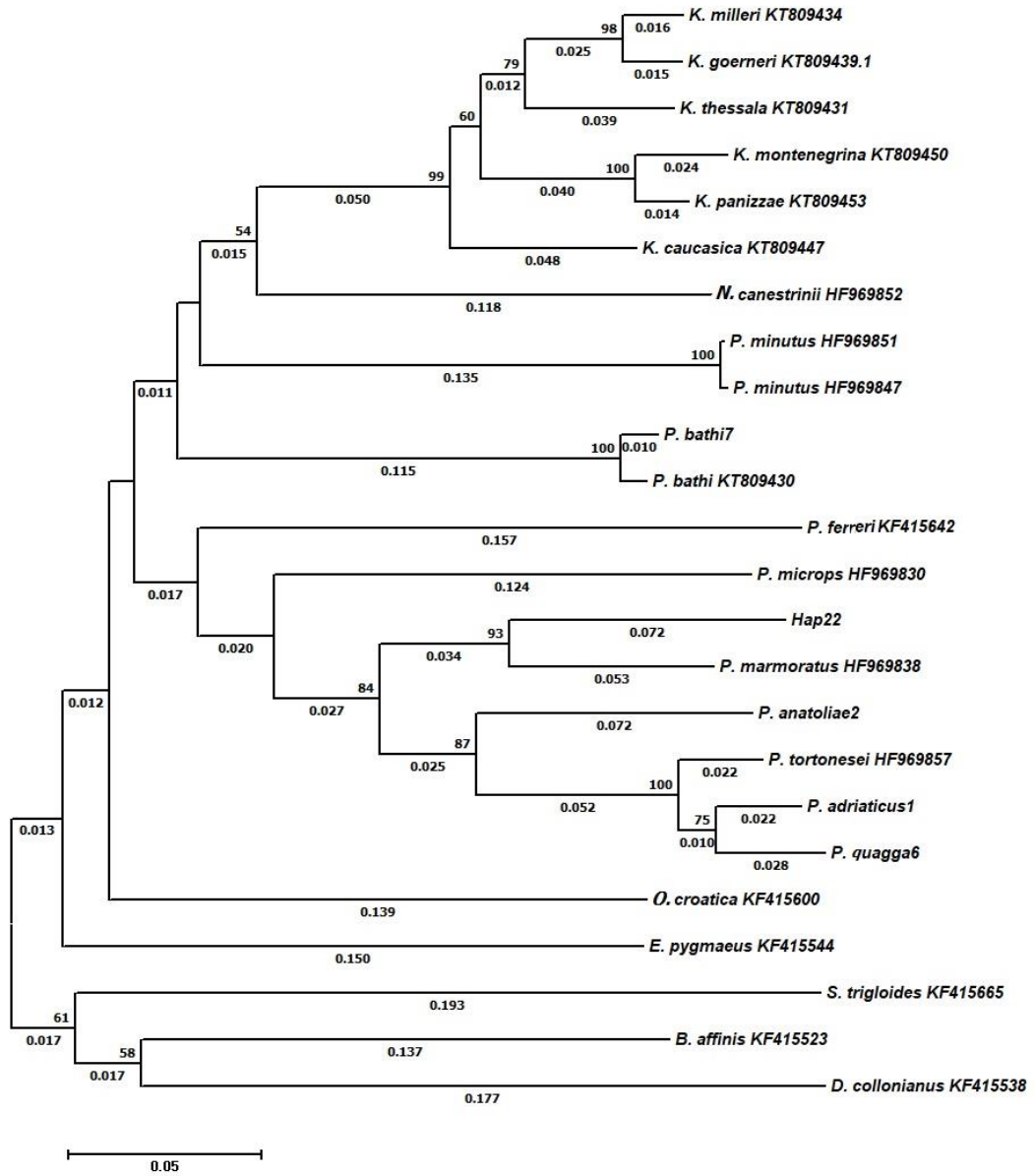
### 4.3.2 cyt-b geni temelli filogenetik analizler

cyt-b geni kullanılarak gerçekleştirilen filogenetik analizlerde yine ülkemiz kıyılarından örneklenen *P. marmoratus*, *P. bathi*, *P. quagga*, *P. anatoliae* ve *P. adriaticus*'a ait diziler dışında diğer tüm diziler Genbank'tan temin edilmiştir. Toplamda 24 kum kaya balığı bireyine ait 526 bç uzunluğundaki bölge analize tabi tutulmuştur. Genbank'tan temin edilen referans diziler Ek F'de verilmiştir. Tamura-Nei modeli veri setine en uygun model olarak belirlenmiş ve filogenetik ağaçlar ve türler arasındaki genetik farklılıklar bu model altında hesaplanmıştır. ML ve NJ ağaçları benzer topoloji sergilemekle beraber *Pomatoschistus* ve *Knipowitschia* cinslerinin parafiletik olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 4.13, Şekil 4.14). Türler arası genetik mesafe % 3,1 (*K. milleri*-*K. goernerii*) ile %49,9 (*S. trigloides*-*P. minutus*) arasında değişirken aynı cinse ait türler arasındaki mesafeler ise %9,5 ile %24,6 arasında değişmiştir (Tablo 4.24). Aynı cinse ait türler arası mesafeler veri eksikliği nedeniyle sadece *Pomatoschistus* ve *Knipowitschia* cinsleri için hesaplanabilmiştir.

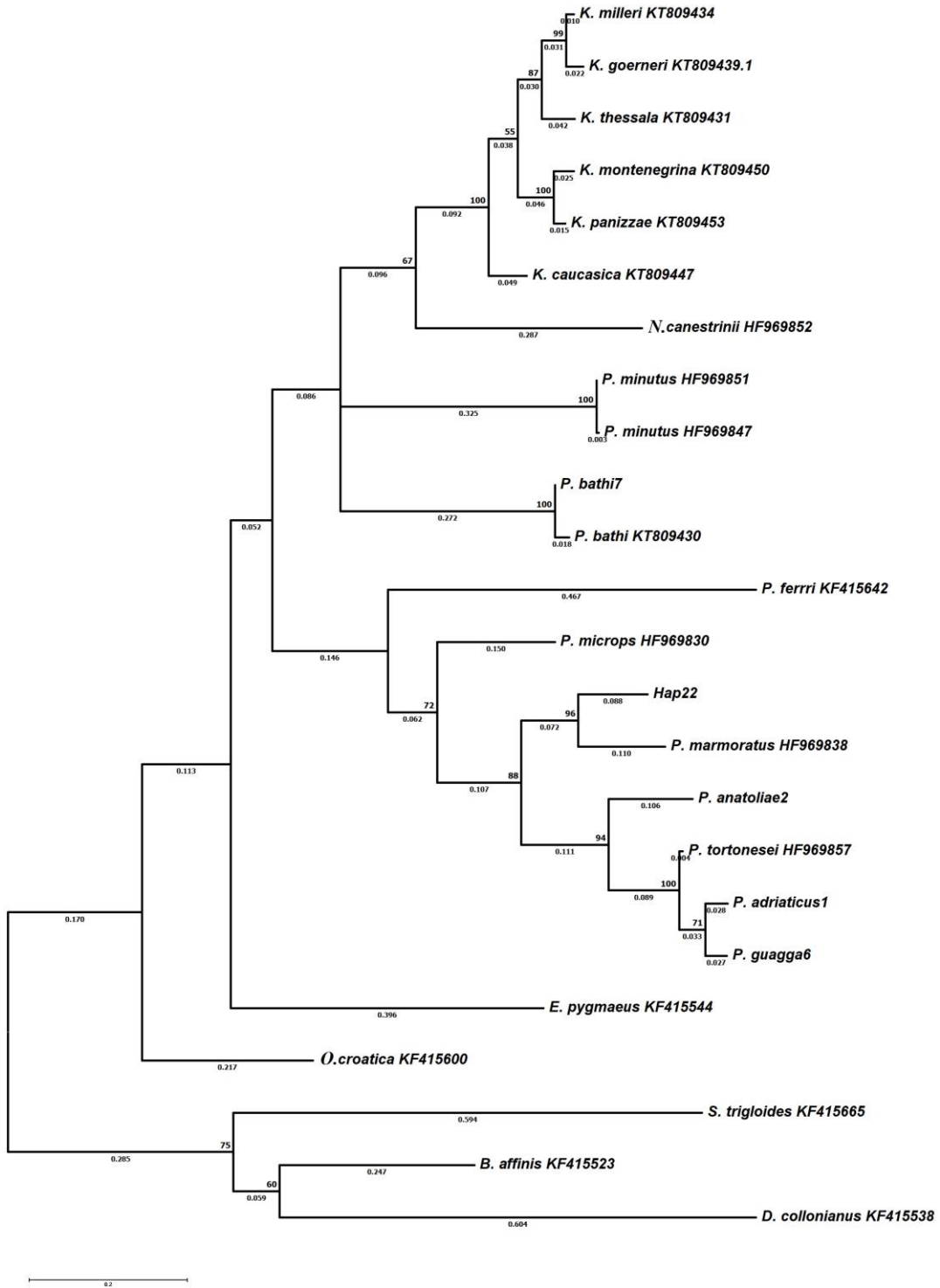
**Tablo 4.24:** Cinsler arası (alt diagonal) ve cins içi türler arasındaki (üst diagonal, kalın) Tamura-Nei genetik uzaklıkları.

	1	2	3	4	5	6	7
1 <i>Pomatoschistus</i>	<b>0,246</b>						
2 <i>Knipowitschia</i>	0,271	<b>0,095</b>					
3 <i>Orsinigobius</i>	0,288	0,293	-				
4 <i>Buenia</i>	0,361	0,371	0,268	-			
5 <i>Deltentosteus</i>	0,382	0,426	0,397	0,307	-		
6 <i>Speleogobius</i>	0,381	0,393	0,367	0,332	0,386	-	
7 <i>Pseudaphya</i>	0,317	0,328	0,326	0,339	0,406	0,376	-
8 <i>Economidichthys</i>	0,329	0,302	0,303	0,352	0,384	0,346	0,325

cyt-b bölgesi ile gerçekleştirilen analizlerde türler arası minimum genetik mesafe % 3,1 ile *K. milleri* ve *K. goernerii* arasında saptanırken *P. adriaticus*'un en yakın ilişkili olduğu takson %5 genetik mesafe ile *P. quagga* olarak saptanmıştır. *P. adriaticus* ve *P. quagga* arasında gözlemlenen %5 Tamura-Nei genetik mesafesi aynı zamanda analiz edilen *Pomatoschistus* türleri arasındaki minimum genetik mesafe olarak gözlemlenmiştir. Elde edilen sonuçlar COI gen bölgesi ile yapılan analizleri destekler nitelikte olup *P. adriaticus* 'un ayrı ve geçerli bir tür olduğunu desteklemiştir.



Şekil 4.13: Kum kaya balığı türlerininin mtDNA cyt-b dizilerine ait NJ filogenetik ağacı.



**Şekil 4.14:** Kum kaya balığı türlerininin mtDNA cyt-b dizilerine ait ML filogenetik ağacı.



## 5. TARTIŞMA

Bu çalışmada ülkemiz kıyılarında dağılım gösteren *P. marmoratus* popülasyonları arasındaki genetik ilişki araştırılmış ve elde edilen sonuçların hem Akdeniz’de gerçekleşen tarihsel olaylarla hem de günümüz ekolojik koşullarıyla değerlendirilerek izahı amaçlanmıştır. Bunun yanı sıra kum kaya balığı cinslerine ait türlerin evrimsel ilişkileri incelenerek taksonomik durumları değerlendirilmiştir.

Çalışma kapsamında olası popülasyon yapılanmaları arasındaki moleküler varyansın test edildiği AMOVA sonuçları ve haplotip ağları; COI gen bölgesi için üç haplogrubun (1-LEV/2-EGE/3-KAR+MAR) varlığına işaret ederken cyt-b gen bölgesi için ise iki haplogrubun (1-LEV/2-EGE+KAR+MAR) varlığı tespit edilmiştir. Buna ek olarak her iki gen bölgesi (COI ve cyt-b) ile gerçekleştirilen analizler sonucunda, Levant popülasyonlarının farklı olduğu ve Marmara ile Karadeniz istasyonlarından örneklenen popülasyonların ise tek haplogrupla temsil edildiği tespit edilmiştir. Ancak Ege popülasyonlarının Marmara ve Karadeniz popülasyonları ile arasındaki ilişki iki gen bölgesi için ayrı ayrı gerçekleştirilen analizlerde farklılıklar göstermiştir. Popülasyonlar arası ve popülasyonlar içi analiz sonuçları incelendiğinde genetik çeşitlik indeksleri olan  $h$ ,  $\pi$  ve  $k$  değerlerinin cyt-b ile gerçekleştirilen analizlerin tümünde COI geni ile elde edilenlerden farklılık gösterdiği ve bu ilişkileri aydınlatmaktaki başarısının COI genine nazaran daha düşük olduğu gözlemlenmiştir. Cyt-b geni aynı zamanda Ege popülasyonları içinde COI geni ile saptanan genetik çeşitliliği göstermekte yetersiz kalmış ve cyt-b geni analizlerinde Ege popülasyonlarının tamamı tek haplotip ile temsil edilmiştir. Ege popülasyonları için iki gen bölgesinin işaret ettiği bu farklı genetik çeşitlilik düzeylerinin ise bu iki bölgenin farklı evrilme ve mutasyon biriktirme hızıyla ilgili olduğu düşünülmektedir. Zira COI için belirlenen kesin bir evrilme hızı literatürde bulunmamakla beraber Meiri vd. [46;139;143] ve Gysels vd. [134], bu oranın hayvan mtDNA’sının yavaş ve hızlı evrilme oranıyla ilişkili olduğunu (%2-%4), cyt-b içinse bu değer %1-%2 olarak kabul gördüğünü ifade etmişlerdir.

Çalışmada popülasyonlar için tespit edilen nükleotid çeşitlilik ve haplotip çeşitliliği gibi genetik çeşitlilik indekslerinin kum kaya balıkları ile yapılan çalışmalarla uyum içinde olduğu tespit edilmiştir. Mejri vd. [46] *P. marmoratus* örnekleme lokaliteleri arasındaki haplotip çeşitliliğini COI için ortalama  $h = 0,951 \pm 0,015$  bildirirken bu çalışmada haplotip çeşitliliği  $h = 0,927 \pm 0,009$  olarak tespit edilmiştir. Örnekleme lokaliteleri arasındaki nükleotid çeşitliliği Mejri vd. [46] tarafından COI ile yapılan analizlerde  $\pi = 0,001-0,005$  arasında tespit edilirken bu çalışmada  $\pi = 0,002-0,004$  arasında değiştiği saptanmıştır. Benzer şekilde, Tougard vd [145], Stefanni & Thorley [133] ve Mejri vd. [139;143]'nin yine diğer kum kaya balığı türlerine ait popülasyonlarla elde ettiği sonuçların bu çalışmada tespit edilen sonuçlarla uyum içinde olduğu görülmektedir.

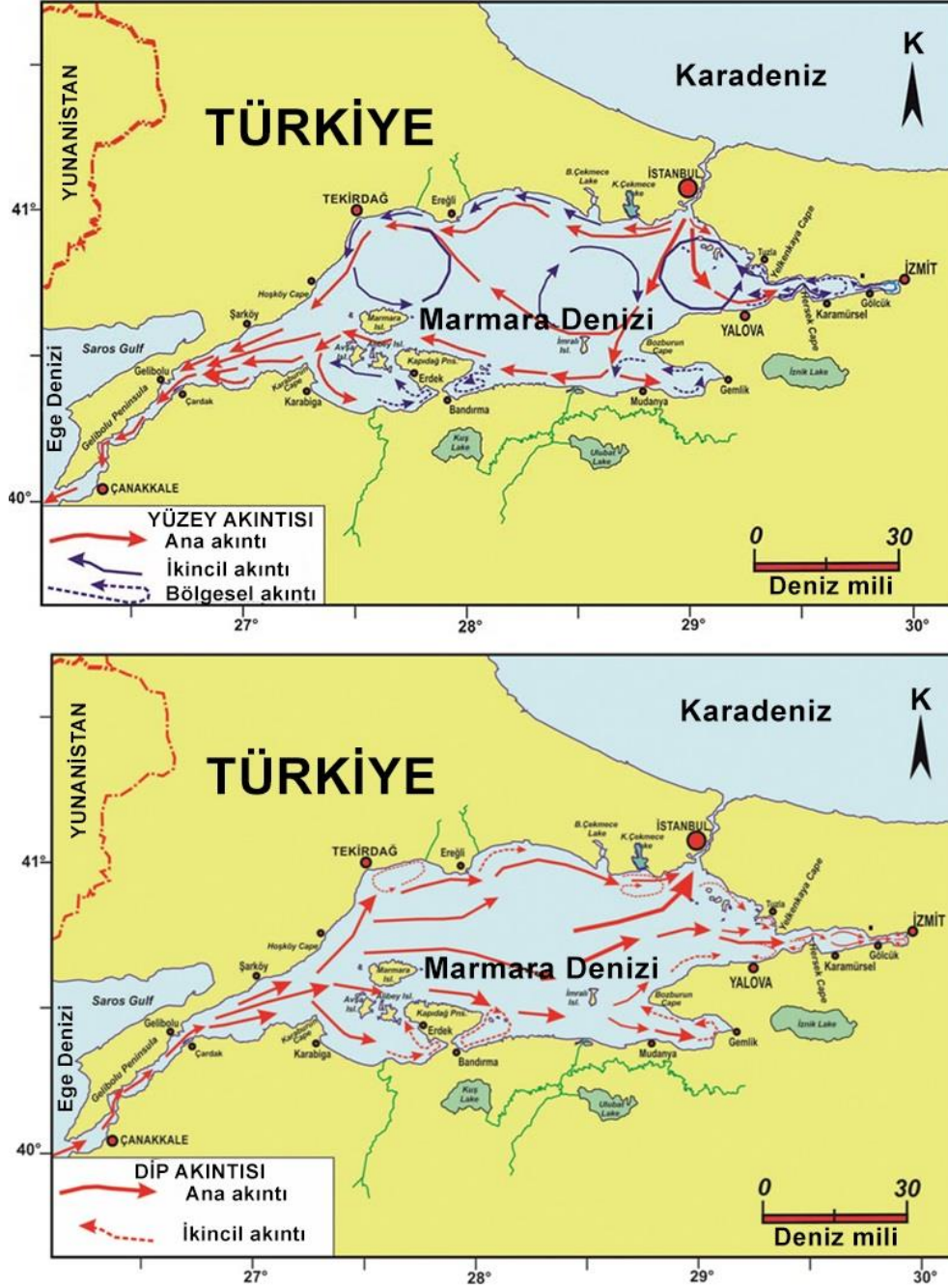
Denizel bir çok tür ve özellikle *Pomatoschistus* spp. ile gerçekleştirilen çalışmalarda, sınırlı gen akışının popülasyonların farklılaşmasında oldukça önemli bir faktör olduğu ortaya konmuştur [44;46;133-135;137-139;141-144;177-184]. Gerçekleştirilen bu çalışmada, popülasyonlar arası genetik mesafenin tespitinde kullanılan Nei'nin genetik mesafe ölçüm metodu  $D_a$  ve Wright'ın fiksasyon indeksi  $F_{ST}$  değerlerine göre *P. marmoratus*'un Levant popülasyonunun Ege, Marmara ve Karadeniz popülasyonlardan farklı olduğu tespit edilmiştir. Popülasyonlar arası gen akışı incelendiğinde ( $F_{ST}$  değerleri üzerinden hesaplanmıştır) ise, Ege, Marmara ve Karadeniz popülasyonları arasında gen akışı gözlemlenirken bu popülasyonların Levant popülasyonu ile gen alışverişinin sınırlı olduğu saptanmıştır. Bunun yanı sıra, Levant kıyılarımızdan örneklenen popülasyonların yüksek haplotip çeşitliliği ve sayısı ile düşük nükleotid çeşitliliğe sahip olduğu tespit edilmiştir. Genetik çeşitlilik indekslerinde gözlemlenen bu durum popülasyon darboğazını takip eden hızlı demografik büyümeyi ve mutasyon birikimini ifade etmektedir. Popülasyonların ve türlerin genetik kompozisyonlarına etki eden faktörler ise araştırmacılar tarafından çevresel koşullardaki değişiklikler ile ekosistem üzerindeki biyotik ve abiyotik stres faktörleriyle ilişkilendirilmiştir [185-188]. Bu tür etkenler, popülasyonların farklı stres kaynaklarına farklı adaptif tepkiler vermesine ve en nihayetinde ise popülasyon farklılaşmalarına sebep olmaktadır. Nişe özgü gelişen adaptasyon potansiyelinin ve üreme stratejilerinin gen akışının olduğu durumlarda dahi popülasyonları farklılaşmaya yönlendirdiği öngörülmektedir [189-193]. Benzer şekilde, *P.*

*marmoratus*'un farklı fiziko-kimyasal koşullara sahip lagünlerde dağılım gösteren popülasyonları arasında da farklılıklar gözlenmesi [46;53;144] bu durumu desteklemektedir. Tüm bunların yanı sıra makro ve mikro evrimsel mekanizmaların etkisi altında şekillenmekte olan biyoçeşitlilik, popülasyonlardaki genetik varyasyonun korunmasıyla doğrudan alakalıdır. Genetik varyasyonun yüksek olduğu popülasyonlardaki bireylerin ekolojik değişikliklere karşı daha dirençli olduğu ve bu sayede nesillerini sağlıklı bir şekilde devam ettirebildikleri, ancak stres faktörlerinin genetik çeşitliliği azalttığı bilinmektedir [194;195]. Bu bilgiler ışığında; Ege, Marmara ve Karadeniz popülasyonları ile sınırlı gen alışverişi olan ve aynı zamanda popülasyon içi genetik varyasyonun düşük olduğu Levant popülasyonunun tehdit altında olabileceği sonucuna varılmıştır.

Deniz ekosisteminde gen akışına etki eden faktörler; fiziksel bariyerler, larva yayılımı, göç, upwelling ve kıyısal akıntılarının yanı sıra, yaşam öyküsü (habitat tercihi, üreme stratejisi vb.) ve habitat kesintileri olarak belirtilmiştir [144;184;196]. Düşük mobilitedeki ergin *P. marmoratus* popülasyonlarında ise gen akışının esas olarak larval aşamada şekillendiği düşünülmektedir.

Karadeniz yüzey suları siklonik hareket eden bir ana akıntı sistemine sahiptir [197;198]. İstanbul Boğazı'ndaki akıntı sistemi ise üst akıntı ve alt akıntı olarak temelde iki unsura dayanmaktadır. Üst akıntı iki deniz arasındaki batimetri ve meteorolojik olaylardan etkilenirken alt akıntı ise iki deniz arasındaki yoğunluktan etkilenmektedir [198]. Karadeniz ana akıntı sisteminden ayrılarak İstanbul Boğazı aracılığıyla Marmara denizine erişen üst akıntı ise, ilkbahar sonu ve yaz aylarında kuzeyli rüzgarların artmasıyla hızlanmaktadır [198]. Marmara denizinin yüzey sularını besin bakımından zengin Karadeniz suyu oluştururken alt tabakada ise yüksek tuzluluktaki Akdeniz suyu bulunmaktadır. Bu iki farklı su kütlesi yaklaşık 20-25 m de kuvvetli bir piknoklin tabakası ile ayrılmaktadır [9]. Marmara Denizi'nin yüzey suyunu oluşturan düşük yoğunluktaki Karadeniz suyu Çanakkale Boğazı aracılığı ile Ege denizine ulaşırken yüksek yoğunluktaki Akdeniz suyu ise Marmara denizine dip suyu olarak giriş yapmaktadır [9;199]. Türk Boğazlar Sisteminin ana akıntı yönleri incelendiğinde ise yüzey suyu akıntılarının Karadeniz'den Ege Denizi'ne, dip akıntılarının ise Ege Denizi'nden Karadeniz'e doğru olduğu görülmektedir

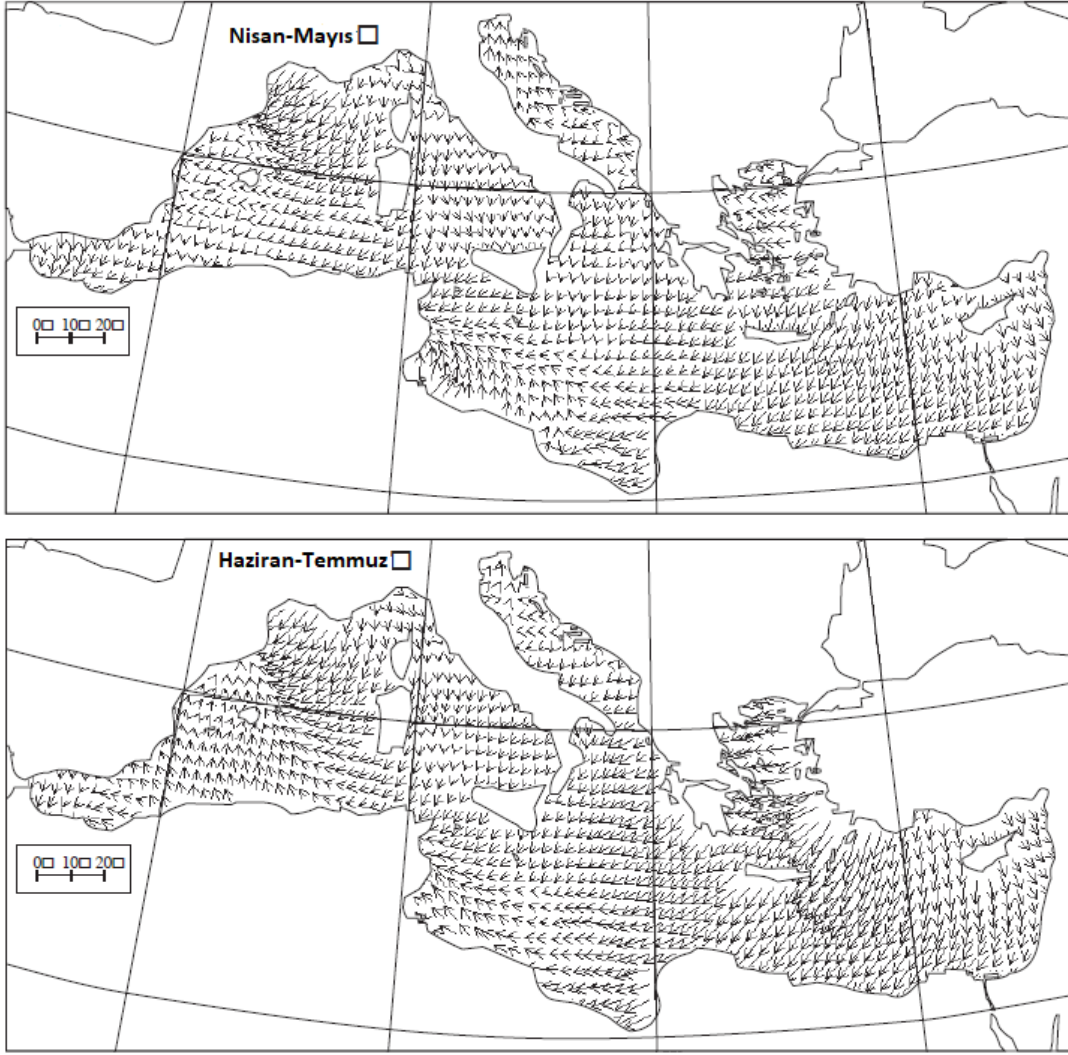
[8;9;16;200] (Şekil 5.1). Tüm bu veriler dikkate alındığında; Karadeniz, Marmara ve Ege popülasyonları arasında tespit edilen gen akışının Karadeniz ve Marmara denizinin hidrografik yapısıyla doğrudan ilişkili olduğu düşünülmektedir.



Şekil 5.1: Türk Boğazlar Sistemi yüzey ve dip suyu akıntılarının yönleri (Meriç vd. [200]'den modifiye edilmiştir).

Benzer şekilde, Levant popülasyonu ile diğer popülasyonlarımız arasında tespit edilen sınırlı gen alışverişinin de hidrografik olaylardan etkilendiği düşünülmüştür. Bakun ve Agostini [201] Ege ve Batı Levant kıyılarımızın (Yaklaşık olarak Teke Yarımadası), karadan denize doğru esen güçlü rüzgarların etkisinde olduğunu ve buna bağlı olarak yüzey suyu hareketlerinin Ekman taşınımı ve Coriolis kuvveti etkisiyle kıyılarımızdan açık denize doğru yönlendiğini bildirilmişlerdir. Araştırmacılar, ilkbahar ve yaz aylarında bu taşınımın daha da güçlendiğini (bu dönem *P. marmoratus*'un yumurtlama ve larval aşamasına denk gelmektedir [149]) ve buna bağlı olarak Ege ve Batı Levant kıyılarımızda güçlü upwelling sahaları oluştuğunu ifade etmişlerdir [201] (Şekil 5.2, Şekil 5.3). Bahsi geçen durum tüm Türkiye kıyılarını kapsayan saha çalışmalarının yürütüldüğü iki senelik periyot boyunca da tespit edilmiştir.

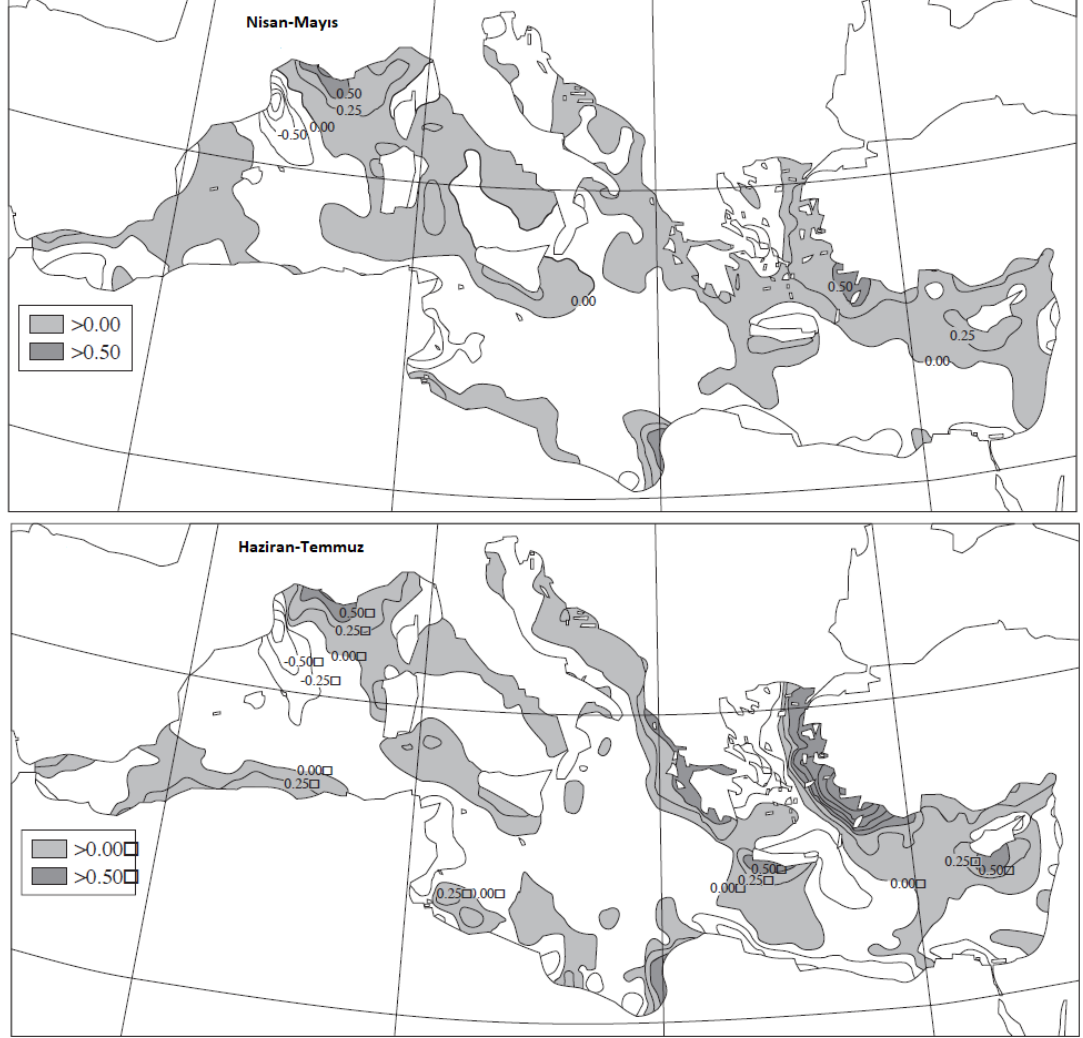
Tüm bunlar değerlendirildiğinde, Levant popülasyonu ile diğer popülasyonlar arasındaki sınırlı gen akışının, Ege ve Levant kıyılarımızda kıyıda açık denize doğru olan taşınımdan etkilendiği sonucu ortaya çıkmaktadır. Bu taşınımın ise, larvaların bentik forma geçiş aşamasında derin su habitatlarındaki yaşam şansını engelleyerek gen akışını sınırladığı düşünülmektedir. Benzer bir durum güney Afrika kıyılarında dağılım gösteren kaya balıklarında gözlemlenmiştir [202]. Araştırmacılar Güney Afrika kıyılarında hakim rüzgarların kıyıda açığa doğru olduğunu, larvaların kıyı sularından upwelling ve ekman taşınımı nedeniyle uzaklaştığını ve bu durumun stoğa katılım oranını düşürerek gen akışını sınırladığını ifade etmişlerdir [202]. Rüzgarların etkisiyle oluşan upwelling ve ekman taşınımının larvaları korunaklı kıyı sularından uzaklaştırarak stoğa katılım oranını düşürdüğü ve böylelikle gen akışını sınırladığı başka çalışmalarda da tespit edilmiştir [203-206].



**Şekil 5.2:** İlkbahar ve yaz aylarında kıyılarımızdaki Ekman Taşınımı (Bakun ve Agostini [201]’dan modifiye edilmiştir).

Ana akıntı sistemlerinin Türkiye kıyılarındaki yönleri incelendiğinde, Levant kıyılarımızda hakim olan kıyasal akıntılarının yönünün Fethiye ve Rodos Adası önlerinde yön değiştirdiği ve Levant kıyılarımızdan Ege denizine doğru uzanan ana akıntı sisteminin olmadığı görülmektedir [196;207]. Ege Denizindeki ana akıntı sistemlerinin ise genellikle güney yönlü olup Levant Denizine ulaşmadan İyon denizi açıklarına doğru yöneldiği Hamad vd. [207] ile Patarnello vd [196] tarafından ifade edilmiştir (Şekil 5.4). Ayrıca, Güney Ege ve Batı Levant kıyılarımızın kesişimine (Dalaman-Fethiye civarı) yakın konumda bulunan Datça yarımadasının fiziksel bir bariyer işlevi görüp gen akışını sınırlayabileceği, yarımada boyunca sıklıkla bulunan

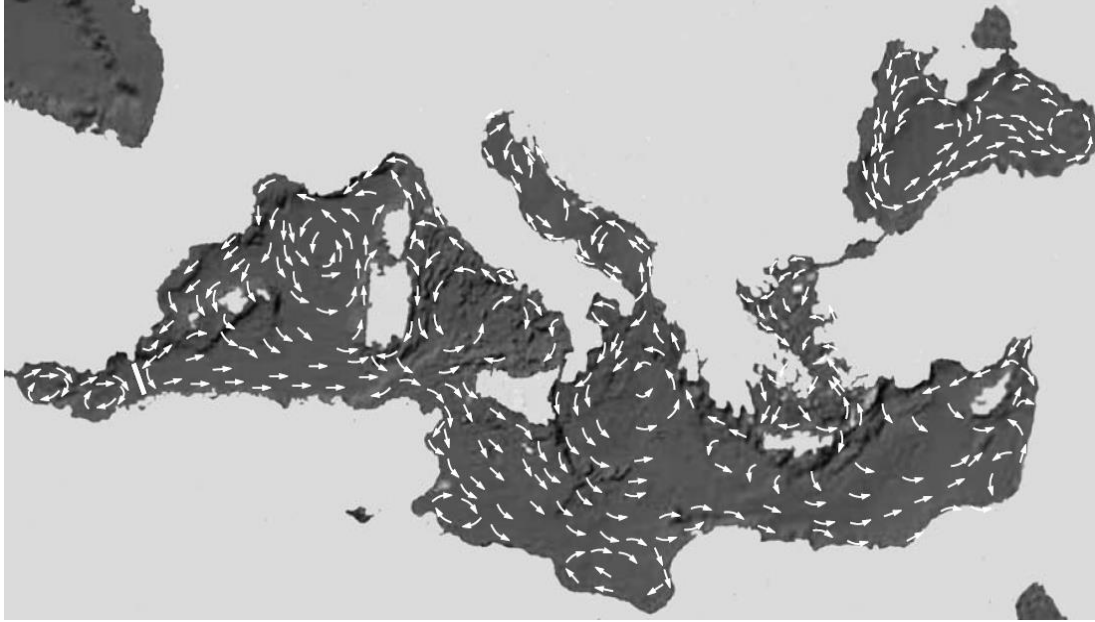
kayalık habitatların ise *P. marmoratus*'un habitatlarını kesintiye uğrattığı saha çalışmalarında gözlemlenmiştir.



**Şekil 5.3:** İlkbahar ve yaz aylarında kıyılarımızdaki upwelling sahaları (Bakun ve Agostini [201]'dan modifiye edilmiştir).

Benzer habitat kesintileri Levant kıyılarımız boyunca, Fethiye-Antalya ve Antalya-Mersin arasındaki kıyı şeridinin genellikle dik falez yapıda oluşu ve sığ kumul alanların azlığı şeklinde açıklanabilir. Bununla beraber, Silifke kıyılarından İskenderun Körfezi'ne kadar uygun habitatlar gözlenmesine rağmen *P. marmoratus* popülasyonlarının bu habitatlarda da ya hiç tespit edilemediği ya da çok düşük yoğunlukta oldukları saha gözlemleri arasında yer almıştır. Bunun nedeninin ise bölgedeki yoğun lesepsiyen istila ya da daha yüksek deniz suyu sıcaklığı olabileceği sonucuna varılmıştır. Bahsi geçen tüm bu etkenlerin Ege ve Levant popülasyonları

arasındaki gen akışını sınırladığı, dolayısıyla popülasyon içi ve arası genetik çeşitliliği azaltarak popülasyonları olumsuz etkilediği Ege (COI) ve Levant (COI+ cyt-b) popülasyonlarının uyumsuzluk dağılımı analizi sonuçlarındaki asimetric unimodal yapıyla da desteklenmiştir.



**Şekil 5.4:** Akdeniz havzası yüzey suyu ana akıntı yönleri [196].

Bunun yanı sıra gerçekleştirilen saha çalışmaları kıyılarımızda dağılım gösteren *P. marmoratus* popülasyonlarının güncel durumlarının sualtı gözlemlerine dayalı olarak karşılaştırılmasına da imkan tanımıştır. Buna göre, Levant kıyılarımızdaki popülasyonlarının yoğunluğunun ve rastlanma sıklığının düşük olduğu tespit edilmiştir. Bunun yanısıra, düşük yoğunluktaki bu popülasyonlar sadece sonbahar döneminde (stoğa katılım aşamasında) gözlemlenmiş olup, ergin bireylerin oluşturduğu popülasyonlar ise nadiren gözlemlenmiştir. Ancak, Ege, Marmara ve Karadeniz popülasyonlarının uygun habitatlar bulunduğu takdirde yüksek yoğunluklara ulaştığı tespit edilmiştir.

Lagünler gibi küçük coğrafik ölçeklerin yanı sıra Akdeniz'in tamamını kapsayan daha büyük coğrafik ölçeklerde kum kaya balığı popülasyonları üzerine yapılan çalışmalar, farklı habitatlarda dağılım gösteren *Pomatoschistus* türlerinin eşsiz haplotiplere sahip olduğunu göstermiştir [44;46;133;134;139;143;145]. Doğal habitatların sürekliliği ve habitatlar üzerindeki olumsuz etkilerin önlenmesi, hareket kabiliyetleri sınırlı ve



buldukları habitatların yerleşik canlıları olan bu türler için oldukça önemlidir. Farklı habitatlarda bulunan popülasyonların eşsiz haplotip sayılarında görülen artış, sınırlı sayıdaki bireyin gen havuzundaki genlerin devamlılığını sağladığı “kurucu etkisi” durumunu ortaya çıkarmakta ve genetik çeşitlilik sınırlandırılmaktadır. Kıyasal ekosistemlerde meydana gelen habitat kesintileri ve popülasyon izolasyonları türlerin mikroevrimsel süreçlerini dolaylı olarak etkilemektedir [183]. Bunun yanı sıra, aynı soydan çiftleşme gibi üreme stratejilerinin genetik çeşitliliği azaltarak coğrafik olarak ayrılmış popülasyon yapılanmalarına sebep olduğu ve benzer bir durumun polijini (tek bir erkek bireyin birden fazla dişinin yumurtasını döllemesi) gözlenen *P. marmoratus* türünde de etkili olabileceği ifade edilmiştir [144;185].

Popülasyonların birbirlerinden farklılaşmasının öncelikli sebeplerinden biri sınırlı gen akışı olarak bilinse de bölgesel paleocoğrafik olayların ve güncel ekolojik koşulların popülasyonların farklılaşma süreçlerinde etkili olduğu bilinmektedir [46;134;139;143] ve genetik kayma nedeniyle oluşan popülasyon farklılaşmalarının ise denizel türler için oldukça düşük olduğu bildirilmiştir [208]. Akdeniz havzası yaklaşık 20 milyon yıllık bir süreç boyunca oldukça karmaşık hidrografik ve jeolojik değişimlere uğramıştır. Afrika ve Asya kıtalarının çarpışması sonucu Tetis denizinin kapanması (18-12 myö) birçok denizel tür için vikaryant türleşmesinin (coğrafik bariyerlerin yardımıyla popülasyonların farklılaşması/ayrılması) orjinini olmuştur [209]. Bu süreç içinde yüksek endemizm teşkil eden Paratetis de aralıklarla izole olmuştur [210]. Miyosen ortalarında ortaya çıktıkları düşünülen kum kaya balığı cinslerinin (*Pomatoschistus* 18,3 myö, *Knipowitschia* 13,3 myö ve *Economidichthys* 15,5 myö) tür içi farklılıklarının ise Pleyistosen (~ 1,8 myö-11,7 kyr) boyunca meydana gelen iklimsel değişikliklerle meydana geldiği düşünülmektedir [68;132]. Akdeniz faunasında köklü değişikliklere sebep olan Messiniyan Tuzluluk krizinin (6,14- 5,96 myö) [211;212] ve döngüsel buzul çağlarının kaya balıklarının türleşmesindeki önemi ise birçok çalışma tarafından irdelenmiştir [50;67;68;71;132;133].

Bu çalışmada incelenen popülasyon gruplarının (LEV/EGE/KARMAR) birbirlerinden tahmini farklılaşma zamanları hesaplanmıştır. Buna göre LEV ve KARMAR grubunun cyt-b geni baz alınarak yapılan analizlerde tahmini ayrılma zamanları (19,3-3-9,65 myö) Paratetis’in Akdeniz’den ilk izole olduğu [209;210] dönemlere denk

gelmektedir. Daha hızlı evrildiği ve mutasyon biriktirdiği düşünülen COI analizlerinin sonuçlarına göre ise hem EGE-LEV hem de LEV-KARMAR popülasyonlarının tahmini ayrılışı (sırasıyla 6,95-3,48 ve 5,85-2,98 myö) Messiniyan tuzluluk krizinin Cebelitarık Boğazı'nın tekrar açılmasıyla sonlandığı döneme karşılık gelmektedir. Tespit edilen bu veriler Huyse vd. [52], Tougard vd. [145] ve Mejri vd. [139]'nin kum kaya balığı türleri ve popülasyonları ile gerçekleştirdikleri çalışmalar ile benzerlik göstermektedir. Messiniyan Tuzluluk krizi boyunca Atlantik ile bağlantısı kesilen Akdeniz hızlı bir buharlaşma sürecine girmiştir [212]. Geç Miyosen kuruması olarak da bilinen bu dönemin başında Paratetis'den Akdeniz'e dolmaya başlayan sular Akdenizde Lago Mare (Göl Denizleri) denilen ve tuzlulukları oldukça değişken olan büyük göllerin oluşmasına sebep olmuş [213;214] ve bugünkü güncel kaya balığı faunasınının (özellikle tatlı su ve acısu) atasal türlerinin bu yapılar da tuzluluk krizini atlattığı ifade edilmiştir [52;215]. EGE-KARMAR popülasyonlarının tahmini ayrılma zamanları (1,35-0,68 myö) incelendiğinde ise 4. Jeolojik zamanda yaşanan ve Würm [216] olarak bilinen son buzul çağına (0,12 – 0,011 myö) denk geldiği görülmektedir. Elde edilen tüm bu sonuçlar incelendiğinde en geç farklılaşmanın EGE ve KARMAR (1,35-0,68 myö) grupları arasında olduğu tespit edilmiştir.

Deniz seviyelerinde ciddi düşüşlerin yaşandığı döngüsel buzul çağlarının ve Akdeniz havzasındaki biyoçeşitliliğin orjinini etkileyen tuzluluk krizinin kaya balıkları popülasyonları üzerinde oldukça etkili olduğu birçok araştırmacı tarafından belirtilmiştir [46;52;133;134;139;141;143]. Popülasyonları ve biyoçeşitliliği olumsuz yönde etkileyen paleocoğrafik ve paleoiklimsel olaylardan sonra düşük genetik çeşitliliğe sahip popülasyonların ani demografik genişleme göstermesi ve yeniden kolonize olma durumları birçok çalışmada özellikle kaya balıkları için son buzul çağının etkisi olarak nitelendirilmiştir [217-221]. Bu çalışma kapsamındaki popülasyonların  $\tau$  (tau) değerleri incelendiğinde ise LEV ve EGE gruplarında popülasyon darboğazını takip eden demografik genişlemenin tahmini zamanlamasının (sırasıyla  $97-194 \times 10^3$  ve  $118-236 \times 10^3$  yıl önce) yine Würm buzul çağına denk geldiği görülmektedir. Benzer şekilde Mejri vd. [46] kuzey Ege kıyılarından örneklediği ve COI geni kullandığı analizlerinde, tarafsızlık ve uyumsuzluk dağılımı analizi sonuçlarının *P. marmoratus* popülasyonlarının ani demografik genişleme modelini desteklediğini bildirmiştir. Araştırmacılar, popülasyon darboğazını takip eden

demografik genişlemenin tahmini zamanlamasını ise  $248 \times 10^3$  yıl olarak hesaplamışlardır [46]. KARMAR grubuna ait tarafsızlık ve uyumsuzluk dağılımı analizi sonuçları incelendiğinde birbirleriyle tam bir uyum içinde olmadığı görülmektedir. Her iki gen bölgesi için yapılan analizlerde de ani demografik genişleme modeline oldukça duyarlı olan  $F_u$ 'nun  $F_s$  testinin önemli derecede negatif çıkmasına rağmen uyumsuzluk dağılımı analizleri gruba ait popülasyonların dengede olduğunu göstermektedir. Tarafsızlık testleri ve uyumsuzluk dağılımı analizi sonuçlarının birbirini desteklemediği senaryolar Tougard vd. [145] ve Mejri vd. [46] tarafından *Pomatoschistus* cinsi ile gerçekleştirilen çalışmalarda da tespit edilmiştir. Araştırmacılar uyumsuzluk dağılımı analizinde ortaya çıkan modeli destekleyen en az 3 testin sonucuna göre nötral teorinin sonucunu değerlendirmişlerdir.

Ülkemiz kıyılarında diğer deniz balıkları ile gerçekleştirilen popülasyon genetiği çalışmaları incelendiğinde ise bu çalışmaların çoğunlukla pelajik ve ekonomik değer taşıyan türlerle yapıldığı görülmektedir. Farklı denizlerimizden örneklenen popülasyonların genellikle genetik olarak birbirlerinden farklı olduğu ancak, bazı türlerde devam eden gen akışının tam tersi sonuçlara sebep olabileceği tespit edilmiştir. Hareket kabiliyetleri yüksek olan pelajik türlerin popülasyonları arasında genel olarak yüksek gen akışı beklenmektedir [222]. Bektaş & Beldüz [223] ile Bektaş vd. [224] bu bilgiyi destekler şekilde ülkemiz kıyılarındaki istavrit ve izmarit popülasyonları arasında coğrafik, biyotik ve abiyotik bariyerler olmasına rağmen devam eden gen akışına dikkat çekmişlerdir. Uyan ve Turan [225] bentik bir tür olan kırlangıç ile gerçekleştirdikleri çalışmalarında tüm denizlerimizden örneklenen popülasyonlar arasında genetik farklılıklar olduğunu, özellikle Marmara popülasyonunun diğer popülasyonlardan izole olduğunu ifade etmişlerdir. Çeşitli moleküler belirteçler aracılığı ile ülkemiz kıyılarında gerçekleştirilen diğer çalışmalarda ise yine pelajik türlerle çalışılmış olmasına rağmen popülasyon farklılıkları tespit edilmiş ancak bu farklılıkların sınırlı gen akışından ziyade özellikle tarihsel izolasyon süreçleri ve bazı popülasyonların yoğun av baskısına maruz kalmasıyla açıklanmıştır [226-234].

Bu çalışma kapsamında ayrıca kum kaya balığı türlerinin filogenetik ilişkileri de incelenmiş ve taksonomik durumlarının değerlendirilmesi yapılmıştır. Çalışma

kapsamında daha önce Saros Körfezi'nde varlığı rapor edilen [235] *P. minutus* hariç Türkiye kıyılarında dağılım gösteren tüm *Pomatoschistus* türleri örneklenmiştir. Farklı mevsimlerde Saros Körfezi'nde gerçekleştirilen saha çalışmalarına rağmen *P. minutus* türüne rastlanılmamıştır. Çalışmada aynı zamanda *P. pictus*'un sinonimi olarak kabul gören *P. adriaticus*'un taksonomik durumunun da netleştirilmesi amaçlanmıştır. Bir kum kaya balığı türü olan *P. adriaticus*'un Akdenizdeki ilk varlığı Miller [176]'in Kolombatovic tarafından Dalmaçya kıyılarından tanımlanan *Gobius affinis* Kolombatovic, 1891 sınıflarını incelemesine dayanmaktadır. Split ve Vranjic limanlarından toplanan bu *G. affinis* sınıflarının aslında *P. pictus* olduğunu öne süren Miller daha sonra Erdek kıyılarından toplanan örnekleri de inceleyerek yaptığı detaylı morfolojik çalışmalar sonucunda *P. pictus*'un Atlantik popülasyonları ve Akdeniz popülasyonları arasında da farklılıklar olduğunu bildirmiş ve bu farklılıklara dayanarak Akdeniz popülasyonlarını alt tür olarak tanımlamıştır. Miller'in [176] çalışmasından sonra *P. pictus*'un Atlantik ve Akdeniz popülasyonları arasındaki farklılıkları konu alan başka bir çalışma gerçekleştirilmemiş ve Akdeniz popülasyonlarının taksonomik durumu belirsizliğini korumuştur. Miller'in sınırlı morfolojik farklılıklara dayandırarak yaptığı bu alt tür tanımlaması bu çalışmada genetik metodlar kullanılarak irdelenmiştir. Gerek COI gerek cyt-b analizlerinde *P. adriaticus* türünün en yakın ilişkili olduğu taksonla arasındaki genetik mesafenin belirlenen türler arası minimum mesafenin üstünde kaldığı saptanmış ve Marmara popülasyonunun geçerli bir tür olduğu sonucuna varılmıştır [159].

Çalışma kapsamında gerçekleştirilen diğer filogenetik analizler sonucunda; hem COI, hemde cyt-b geni ile elde edilen filogenetik ağaçlarda *Pomatoschistus* ve *Knipowitschia* cinslerinin parafiletik olduğu tespit edilmiştir. COI geni kullanılarak gerçekleştirilen analizlerde gözlemlenen düşük seç bağla değerlerinin ve kısa dal uzunluklarının bu parafiletik yapıyı desteklediği ve bu grubun göreceli olarak yeni evrildiğinin göstergesi olabileceği düşünülmektedir. Akihito vd. [73] benzer gözlemleri Asya gobioid türleri ile yapılan çalışmada da tespit etmiş ve bu durumu başarılı adaptif yayılma ile açıklamışlardır. Penzo vd [50], Huyse vd. [52], McKay ve Miller [236] ve Thacker vd. [68] ise Kum kaya balıkları ile gerçekleştirdikleri çalışmalarında *Pomatoschistus* cinsinin parafiletik olduğu ve ikinci nesil türler arası ilişkilerin hala tam olarak aydınlatılmadığını bildirmişlerdir.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Günümüz bilimsel bakış açısına göre balıkçılık kaynaklarının sürdürülebilirliğinin ekosistem temelli yaklaşımlarla mümkün olabileceği anlaşılmıştır. Sadece biyolojik çeşitliliğin korunmasının yeterli olmadığı, mevcut tür ve popülasyonların genetik varyasyon düzeyinin ve bununla beraber popülasyonların değişim süreçlerinin mutlaka bilinmesi gerektiği anlaşılmıştır. Gerçekleştirilen bu çalışma ile ülkemiz kıyılarının tamamında dağılım gösteren *P. marmoratus* popülasyonlarının genetik yapıları araştırılarak popülasyon içi ve arası farklılıklar ortaya konulmuştur. Bunun yanı sıra, kum kaya balıklarının filogenetik ilişkileri irdelenerek genetik olarak tür seviyesinde ayrımlar yapılmıştır.

Ekolojik toleransı yüksek olmasına rağmen buldukları habitatların yerleşik canlıları olan ve bu nedenle de habitatlarında meydana gelebilecek olumsuzluklardan öncelikli olarak etkilenen türler olması nedeniyle seçilen *P. marmoratus*'un, Levant popülasyonunun diğer denizlerimizden örneklenen popülasyonlardan genetik olarak farklı olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, Ege ve Marmara-Karadeniz (EGE ve KARMAR) popülasyonları arasında gen akışı gözlemlenirken Levant popülasyonunun diğer popülasyonlarla arasındaki gen akışının çok sınırlı olduğu tespit edilmiştir. Araştırma bölgesindeki hedef organizmaya ait popülasyonların gen akışında; hakim rüzgarların neden olduğu kıyısal akıntılar ve ekman taşınımı gibi hidrografik etkenlerle birlikte habitat kesintilerinin etkili olduğu sonucuna varılmıştır. Yüzme kabiliyeti düşük epibentik kaya balığı türlerinin gen akışını; ergin dönemde habitat kesintileri sınırladığı, larval aşamada ise hidrografik etkenlerin gen akışını doğrudan etkilediği görülmektedir.

Elde edilen bulgularda, kullanılan dişi kalıtmı belirteçler gereği popülasyonlar arasındaki dinamiklerin paleoklimsel ve paleocoğrafik etkileşimleri hakkında önemli veriler elde edilmiştir. Ancak, popülasyonlar arasında ki gen akışı ve izolasyon süreçlerinin güncel ekolojik stres faktörleriyle olan ilişkilerinin aydınlatılması, polimorfizm oranları daha yüksek olan nükleer genler ile test edilmelidir.

Filogenetik analizlerden elde edilen bulgularda ise kullanılan her iki belirteç içinde *Pomatoschistus* ve *Knipowitschia* cinslerinin parafiletik olduğu tespit edilmiştir. Bununla beraber, Genbank gibi veri bankalarında hatalı girişler olabileceği, birbirleri ile özdeş olan dizilerin farklı tür etiketleriyle girişlerinin yapıldığı saptanmıştır. Bu durum, oldukça küçük ve morfolojik olarak birbirine benzeyen bu türlerin taksonomik ilişkilerinin tam olarak aydınlatılabilmesi için genetik yöntemlerle birlikte kullanılan morfolojik analizlerin önemini vurgulamaktadır.

Gerçekleştirilen bu çalışma ile kum kaya balıklarının gerek güncel ekolojik koşulların incelenmesi gerekse bölgesel tarihsel süreçlerin türler üzerindeki etkilerinin araştırılması için uygun indikatör bir tür olabileceği kanaatine varılmıştır.

## KAYNAKLAR

- [1] Bianchi, C.N., & Morri, C. (2000). Marine biodiversity of the Mediterranean Sea: Situation, problems and prospects for future research. *Marine Pollution Bulletin*, 40, 367-376.
- [2] Coll, M., Piroddi, C., Steenbeek, J., Kaschner, K., Ben Rais Lasram, F., Aguzzi, J., Ballesteros, E., Bianchi, C.N., Corbera, J., Dailianis, T., & et al. (2010). The biodiversity of the Mediterranean Sea: Estimates, patterns, and threats. *PLoS ONE*, 5, e11842.
- [3] Dugdale, R.C., & Wilkerson, F.P. (1988). Nutrient sources and primary production in the Eastern Mediterranean. *Oceanologica Acta*, 9, 179-184.
- [4] Baltanás, A. (1992). On the use of some methods for the estimation of species richness. *Oikos*, 65, 484-492.
- [5] Grime, J.P. (1997). Biodiversity and ecosystem function: The debate deepens. *Science*, 277, 1260-1261.
- [6] Boudouresque, C.F. (2004). Marine biodiversity in the Mediterranean: Status of species, populations and communities. *Scientific Reports of Port-Cros National Park*, 20, 97-146.
- [7] Mannino, A. M., Balistreri, P. & Deidun, A. (2017). The Marine Biodiversity of the Mediterranean Sea in a Changing Climate: The Impact of Biological Invasions. In *Mediterranean Identities. Chapter 5*, DOI: 10.5772/intechopen.69214.
- [8] Beşiktepe, Ş., Sur, H.I., Özsoy, E., Latif, M.A., Oğuz, T., & Ünlüata, U. (1994). The circulation and hydrography of the Marmara Sea. *Progress in Oceanography*, 34, 285–334.
- [9] Beşiktepe, Ş., Özsoy, E., & Ünlüata, Ü. (1993). Filling of the Marmara Sea by the Dardanelles lower layer inflow. *Deep Sea Research, Part 1*, 40(9), 1815- 1838.
- [10] Oğuz, T., & Tuğrul, S. (1998). “Denizlerimizin Genel Oşinografik Özelliklerine Toplu Bir Bakış” (Editör: Görür, N.). *Türkiye Denizlerinin ve Çevre Alanlarının Jeolojisi*, İstanbul, 1-21.
- [11] TÜİK, 2013. Türkiye İstatistik Kurumu. <http://www.tuik.gov.tr/Start.do>. Ağustos, 2014.
- [12] Yılmaz, A. (2002). Türkiye Denizlerinin Biyo jeokimyası: Dağılımlar ve Döngüler, *Turkish J. Eng. Env. Sci.*, 26, 219 – 235.
- [13] Tuğrul, S., Baştürk, O., Saydam, C., & Yılmaz, A. (1992). Changes in hydrochemistry of the Black Sea inferred from water density profiles. *Marine Chemistry*, 41, 265-270.
- [14] Saydam, C., Tuğrul, S., Baştürk, O., & Oğuz, T. (1993). Identification of the oxic/anoxic interface by isopycnal surfaces in the Black Sea. *Deep Sea Research, Part 1*, 40(7), 1405-1412
- [15] Baştürk, O., Saydam, C., Salihoğlu, I., Eremeeva, L.V., Kononov, S.K., Stoyanov, A., Dimitrov, A., Cociasu, A., Dorogan, L., & Altabet, M. (1994). Vertical variations in the principle chemical properties of the Black Sea in the autumn of 1991. *J. Marine Chem.*, 45, 149–165.

- [16] Ünlüata, Ü., Oğuz, T., Latif, M.A., & Özsoy, E. (1990). On the Physical Oceanography of the Turkish Straits, L.J. (ed.). In: *On the Physical Oceanography*.
- [17] Balkaş, T., Dechev, G., Mihnea, R., Serbanescu, O., & Ünlüata, Ü. (1990). State of the marine environment in the Black Sea Region, *UNEP Regional Seas Reports and Studies, No: 124*.
- [18] Küçüksezgin, F., Balcı, A., Konaş, A., & Altay, O. (1995). Distribution of nutrients and chlorophyll-a in the Aegean Sea. *Oceanologica Acta*, 18 (3), 343-352.
- [19] Nelson, J. 2006. *Fishes of the World*. John Wiley and Sons, Inc., New York. 4th edition.
- [20] Van Tassell, J.L., Tornabene, L., & Taylor, M.L. (2011). A History of Gobioid Morphological Systematics. R.A. Patzner, J.L. Van Tassell, M. Kovačić and B.G. Kapoor (eds.), In: *The Biology of Gobies*. Science Publisher Inc., Enfield, pp. 23-50.
- [21] Kovačić, M. & Patzner, R.A. (2011). North-Eastern Atlantic and Mediterranean Gobies. R.A. Patzner, J.L. Van Tassell, M. Kovačić and B.G. Kapoor (eds.), In: *The Biology of Gobies*. Science Publisher Inc., Enfield, pp. 177-206.
- [22] Bilecenoğlu, M., Kaya, M., Cihangir, B., & Çiçek, E. (2014). An updated checklist of the marine fishes of Turkey. *Turk J Zool.*, 38, DOI: 10.3906/zoo-1405-60.
- [23] Engin, S., Keskin A. C., Akdemir, T., & Seyhan, D. (2014). First record of the goby *Buenia affinis* Iljin, 1930 (Gobiidae) from the Aegean Sea and Sea of Marmara. *Zoology in the Middle East*, 60, 4, DOI: 10.1080/09397140.2014.970380.
- [24] Engin, S., Keskin A. C., & Akdemir, T. (2015). First record of *Lebetus guilleti* (Le Danois, 1913) (Gobiidae) from the Sea of Marmara. *Acta Ichthyologica et Piscatoria*, 45, (1): 85–87.
- [25] Engin, S. & Seyhan, D. (2017). A new species of *Pomatoschistus* (Teleostei, Gobiidae): the Mediterranean's smallest marine fish. *Journal of Fish Biology*, 91, 1208–1223.
- [26] Engin, S. & İnnal, D. (2017). A new species of *Pomatoschistus* (Teleostei: Gobiidae) from Southern Anatolia, *Zoology in the Middle East*, DOI: 10.1080/09397140.2017.1361187.
- [27] Engin, S., Irmak, E. Seyhan, D., Akdemir, T., & Keskin, A.C. (2018). Gobiid fishes of the coastal zone of the Northeastern Aegean Sea. *Mar Biodiv*, 48, 1073–1084.
- [28] Engin, S., Oruç, A.Ç., Seyhan, D., & Irmak, E. (2017). New records of *Speleogobius trigloides* Zander & Jelinek, 1976 and *S. llorisi* Kovačić, Ordines & Schliewen, 2016 (Osteichthyes: Gobiidae) in the Aegean Sea. *Journ. App. Ich.*, 33, 5, 1015-1017.
- [29] Engin, S., Larson, H., & Irmak, E. (2018). *Hazeus ingressus* sp. nov. a new goby species (Perciformes: Gobiidae) and a new invasion in the Mediterranean Sea. *Mediterranean Marine Science*, 0, 316-325.
- [30] Fox, H.M. (1927). Introduction. Zoological Results of the Cambridge Expedition to the Suez Canal 1924. *Transactions of the Zoological Society of London*, 22, 1–89.



- [31] Kalogirou, S., Azzurro, E., & Bariche, M. (2012). The ongoing shift of Mediterranean coastal fish assemblages and the spread of non-indigenous species. Gbolagade Akeem Lameed (ed.) In: . *Biodiversity Enrichment in a Diverse World*. InTech. 263-280.
- [32] Irmak, E., & Engin, S. (2015). A newly established population of the Indian Ocean Twospot Cardinalfish, *Cheilodipterus novemstriatus* (Rüppell, 1838), in the Northern Levantine Sea (Osteichthyes: Apogonidae). *Zoology in the Middle East*, DOI: 10.1080/09397140.2015.1035009.
- [33] Hamerlynck, O. & Gattirjsse, A. (1994). The food of *Pomatoschistus minutus* (Pisces, Gobiidae) in Belgian Coastal waters, and a comparison with the food of its potential competitor *P. lozanoi*. *Journal of Fish Biology*, 44, 753-771.
- [34] Irmak, E. (2012). *Türkiye kıyılarındaki Leseptiyen balon balıkları ve beslenme özelliklerinin araştırılması*. (yayımlanmamış doktora tezi/PhD thesis/91). Çanakkale Onsekiz Mart University. 84pp.
- [35] Kalogirou, S., Corsini, M., Kondilatos, G., & Wennhage, H. (2006). Diet of the invasive piscivorous fish *Fistularia commersonii* in a recently colonized area of the eastern Mediterranean. *Biol Invasions.*, DOI 10.1007/s10530-006-9088-3.
- [36] Bektaş, Y. (2008). *Türkiye Kıyısız Sularındaki İstavrit (Trachurus mediterraneus Steindachner, 1868, Trachurus trachurus Linnaeus, 1758 ve Trachurus picturatus Bowdich, 1825) Popülasyonlarının Genetik ve Morfolojik Analizi*. (Doktora tezi/PhD thesis). Karadeniz Technical University.
- [37] Bardakçı, F. (2007). Evrim ve işlevsellik: Evrim Bilinmeden Küresel Değişimlerin Etkileri Anlaşılamaz. *Biyoloji eğitiminde Evrim Sempozyumu*, 93-103, Malatya.
- [38] Avise, J. C. (1994). *Molecular Markers, Natural History and Evolution*. Chapman and Hall, Inc. New York, 511 pp.
- [39] Miller, J.P. (1986). The Family of Gobiidae. Whitehead, P.J.P., Bauchot, M.L., Hureau, J.C., Nielson, J., Tortonese, E. (Eds.), In: *Fishes of the North Eastern Atlantic and of the Mediterranean*, UNESCO, Paris, pp. 1019–1085.
- [40] Fouda, M.M., Hanna, M.Y., & Fouda, F.M. (1993). Reproductive biology of a Red Sea goby, *Silhouettea aegyptia*, and a Mediterranean goby, *Pomatoschistus marmoratus*, in Lake Timsah, Suez Canal. *Journal of Fish Biology*, 43, 139–151
- [41] Koutrakis, E.T., Kokkinakis, A.A., Eleftheriadis, E.A., & Argyropoulou, M.D., (2000). Seasonal changes in distribution and abundance of the fish fauna in the two estuarine systems of Strymonikos Gulf (Macedonia, Greece). *Belgian Journal of Zoology*, 130, (Suppl.), 41–48.
- [42] Malavasi, S., Fiorin, R., Franco, A., Franzoi, P., Granzotto, A., Riccato, F., & Mainardi, D. (2004). Fish assemblages of Venice Lagoon shallow waters: an analysis based on species, families and functional guilds. *Journal of Marine Systems*, 51, 19–31.
- [43] Verdiell-Cubedo, D., Oliva-Paterna, F.J., & Torralva, M. (2007). The effects of competitors on fitness of marbled goby *Pomatoschistus marmoratus* (Pisces: Gobiidae) in the Mar Menor coastal lagoon (SE Iberian Peninsula). *Italian Journal of Zoology*, 74, (2), 169–177.
- [44] Berrebi, P., Rodriguez, P., Rooney, C., D’Aloya, S., & Cattaneo-Berrebi, G. (2009). Haplotypic confinement in two cryptic and closely-related species of

- sedentary gobies, *Pomatoschistus microps* and *P. marmoratus* in French Mediterranean lagoons. *Folia Zoologica*, 58 (1), 123–131.
- [45] Rigal, F., Chevalier, T., Lorin-Nebel, C., Charmantier, G., Jean-Antoine Tomasini, J.A., Aujoulat, F., & Berrebi, P. (2008). Osmoregulation as a potential factor for the differential distribution of two cryptic gobiid species, *Pomatoschistus microps* and *P. marmoratus* in French Mediterranean lagoons. *Scientia Marina*, 72 (3), 469–476
- [46] Mejri, R., Arculeo, M., Ben Hassine, O.K., & Lo Brutto, S. (2011). Genetic architecture of the marbled goby *Pomatoschistus marmoratus* (Perciformes, Gobiidae) in the Mediterranean Sea. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 58, 395–403.
- [47] Wallis, G.P., & Beardmore, J.A. (1984). An electrophoretic study of the systematic relationships of some closely related goby species (Pisces, Gobiidae). *Biological Journal of the Linnean Society*, 22 (2), 107–123,
- [48] Wallis, G.P., & Beardmore, J.A., 1984. Genetic variation and environmental heterogeneity in some closely related goby species. *Genetica*, 62(3), 223-237
- [49] Miller, J.P., Serventi, M., Soregaroli, D., Torricelli, P., & Gandolfi, G. (1994). Isozyme genetics and the phylogeny of Italian freshwater gobies (Teleostei: Gobioidae). *Journal of Fish Biology*, 44, 439–451.
- [50] Penzo, E., Gandolfi, G., Bargelloni, L., Colombo, L., & Patarnello, T. (1998). Messinian salinity crisis and the origin of freshwater lifestyle in Western Mediterranean gobies. *Molecular Biology and Evolution*, 15, 1472–1480.
- [51] Arculeo, M., Mauro, A., Lo Brutto, S., Cammarata, M., Mazzola, A., & Parrinello, N., 1999. Biochemical genetic differentiation between *Pomatoschistus marmoratus* and *P. tortonesei*. *Journal of Fish Biology*, 54, 190–195.
- [52] Huysse, T., Houdt, J.V., & Volckaert, F.A.M. (2004). Paleoclimatic history and vicariant speciation in the “sand goby” group (Gobiidae, Teleostei). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 32, 324–336.
- [53] Berrebi, P., Rodriguez P., Tomasini J.A., Cattaneo-Berrebi, G., & Crivelli, A.J. (2005). Differential distribution of the two cryptic species, *Pomatoschistus microps* and *P. marmoratus*, in the lagoons of southern France, with an emphasis on the genetic organisation of *P. Microps*. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 65, 708-716.
- [54] Malavasi, S., Gkenas, C., Leonardos, I., Torricelli, P., & McLennan, D.A. (2012). The phylogeny of a reduced ‘sand goby’ group based on behavioural and life history characters. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 165, 916–924.
- [55] Eschmeyer, W.N., Fricke, R., & van der Laan, R. (eds). 2018. Catalog of Fishes: Genera, Species, References. Available at <http://researcharchive.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/fishcatmain.asp>. Erişim: Ekim 2018
- [56] Tornabene, L.M. (2014). Patterns Of Evolution In Gobies (Teleostei: Gobiidae): A Multi-Scale Phylogenetic Investigation. *PhD Thesis*. Texas A&M University-Corpus Christi, Texas
- [57] Patzner, R.A. (2018). MEditerranean Gobies. Available at <http://www.patzner.sbg.ac.at/Gobiidae/GobiidaeGeneral.htm> Erişim tarihi: Eylül 2018.

- [58] Nelson, J.S. (1994). *Fishes of the world*. Third edition. John Wiley & Sons, Inc., New York. 600 p.
- [59] Agorreta, A., San Mauro, D., Schliewen, U., Van Tassell, J.L., Kovačić M., Zardoya, R., & Rüber, L. (2013). Molecular phylogenetics of Gobioidae and phylogenetic placement of European gobies. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 69, 619–633.
- [60] Froese, R. & Pauly, D. (2018). FishBase. World Wide Web electronic publication. www.fishbase.org, version. Erişim: Ekim 2018
- [61] Thacker, C.E., (2009). Phylogeny of Gobioidae and placement within Acanthomorpha, with a new classification and investigation of diversification and character evolution. *Copeia*, 2009, 93–104.
- [62] Thacker, C.E. (2013). Phylogenetic placement of the European sand gobies in Gobionellidae and characterization of gobionellid lineages (Gobiiformes: Gobioidae). *Zootaxa*, 3619, 369–382.
- [63] Thacker, C.E., & Roje, D.M. (2011). Phylogeny of Gobiidae and identification of gobiid lineages. *Syst. Biodivers.*, 9, 329–347
- [64] Rüber, L., & Agorreta, A. (2011). Molecular systematics of gobioid fishes. Patzner, R.A., Van Tassell, J.L., Kovačić, M., Kapoor, B.G. (Eds.), In: *The Biology of Gobies*. Science Publishers, Enfield, NH, pp. 23–50.
- [65] Pezold, F. (2011). Systematics of the family Gobionellidae. Patzner, R.A., Van Tassell, J.L., Kovačić, M., Kapoor, B.G. (Eds.), In: *The Biology of Gobies*. Science Publishers, Enfield, NH, pp. 87–97
- [66] Agorreta, A., & Rüber, L. (2012). A standardized reanalysis of molecular phylogenetic hypotheses of Gobioidae. *Syst. Biodivers.*, 10, 375–390.
- [67] Tornabene, L., Chen, Y., & Pezold, F. (2013). Gobies are deeply divided: phylogenetic evidence from nuclear DNA (Teleostei: Gobioidae: Gobiidae). *Syst. Biodivers.*, DOI: 10.1080/14772000.2013.818589.
- [68] Thacker, C.E., Gkenas, C., Triantafyllidis, A., Malavasi, S., & Leonardos, I. (2018). Phylogeny, systematics and biogeography of the European sand gobies (Gobiiformes: Gobionellidae). *Zoological Journal of the Linnean Society*, XX, 1–14.
- [69] Günther, A. (1861). Catalogue of the fishes in the British Museum. *Catalogue of the acanthopterygian fishes in the collection of the British Museum*. 3. Gobiidae, Discoboli, Pediculati, Blenniidae, Labyrinthici, Mugilidae, Notacanthi. British Museum, London
- [70] Miller, P.J. (1973). The osteology and adaptive features of *Rhyacichthys aspro* (Teleostei: Gobioidae) and the higher classification of gobioid fishes. *J. Zool.* 171, 397–434.
- [71] Hoese, D.F. (1984). Gobioidae: relationships. Moser, H.G. (Ed.). In: *Ontogeny and systematics of fishes*, Spec. Pub. Amer. Soc. Ichthyol. Herpe, vol. 1. Allen Press, Lawrence, KS, pp. 588–591.
- [72] Pezold, F. (1993). Evidence for a monophyletic Gobiinae. *Copeia*, 3, 634–643.
- [73] Akihito, Iwata, A., Kobayashi, T., Ikeo, K., Imanishi, T., Ono, H., Umehara, Y., Hamamatsu, C., Sugiyama, K., Ikeda, Y., Sakamoto, K., Fumihito, A., Ohno, S., & Gojobori, T. (2000). Evolutionary aspects of gobioid fishes based upon a phylogenetic analysis of mitochondrial cytochrome b genes. *Gene*, 259, 5–15.

- [74] Akihito, Sakamoto, K., Ikeda, Y., & Iwata, A., (2000). Suborder Gobioidi. Nakabo, T. (Ed.). In: *Fishes of Japan with Pectorial Keys to the Species*, second ed. Tokai University Press, Tokyo, Japan, pp. 5–15.
- [75] Hoese, D.F., & Gill, A.C. (1993). Phylogenetic relationships of eleotridid fishes (Perciformes: Gobioidi). *Bull. Mar. Sci.*, 52, 415–440.
- [76] Thacker, C.E. (2003). Molecular phylogeny of the gobioid fishes (Teleostei: Perciformes: Gobioidi). *Mol. Phylogenet. Evol.*, 26, 354–368.
- [77] Van Tassell, J.L., Tornabene, L., & Taylor, M.S. (2011). A history of gobioid morphological systematics. Patzner, R.A., Van Tassell, J.L., Kovačić, M., Kapoor, B.G. (Eds.). In: *The Biology of Gobies*. Science Publishers, Enfield, NH, pp. 3–22.
- [78] Birdsong, R.S., Murdy, E.O., & Pezold, F.L. (1988). A study of the vertebral column and median fin osteology in gobioid fishes with comments on gobioid relationships. *Bull. Mar. Sci.*, 42, 174–214.
- [79] Gill, A.C., & Mooi, R.D. (2012). Thalasseleotrididae, new family of marine gobioid fishes from New Zealand and temperate Australia, with a revised definition of its sister taxon, the Gobiidae (Teleostei: Acanthomorpha). *Zootaxa*, 3266, 41–52.
- [80] Halliburton, R. (2004). *Introduction to Population Genetics*. Upper Saddle River, NJ: Pearson/Prentice Hall.
- [81] Saiki, R.K., Gelfand, D.H., Stoffel, S.S., Scharf, J.R. Higuchi, G.T. Horn, K. B. Mullis, & Erlich, H.A. (1988). Primer-directed enzymatic amplification of DNA with thermostable DNA polymerase. *Science*, 239, 487–491.
- [82] Mullis, K.B., & Faloona, F. (1987). Specific synthesis of DNA in vitro via polymerase chain reaction. *Methods Enzymol*, 155, 350–355.
- [83] Wilson, A.C., Cann, R.L., Carr, S.M., George, M., Gyllensten, U.B., Helmychowski, K.M., Higuchi, R.G., Palumbi, S.R., Prager, E.M., Sage, R.D. & Stoneking, M. (1985). Mitochondrial-DNA and two perspectives on evolutionary genetics. *Biological Journal of the Linnean Society*, 26, 375-400.
- [84] Boore, J.L. (1999). Animal mitochondrial genomes. *Nucleic Acid Research*, 27, 1767-1780.
- [85] Moore, W.S., (1995). Inferring phylogenies from mtDNA variation; Mitochondrial Gene trees versus nuclear gene trees. *Evolution*, 49, 718-726.
- [86] Sunnuck, P., (2000). Efficient genetic markers for population biology. *Trends in Ecology and Evolution*, 15,199-203.
- [87] Bogenhagen, D.F., (1999). Repair of mtDNA in vertebrates. *Am.J.Hum.Genet.*, 64, 1276-1281.
- [88] Richter, C., (1988). Do mitochondrial DNA fragments promote cancer and aging. *FEBS lett*, 241:1-5.
- [89] Lightowers, R.N., Chinnery, P.F., Turnbull, D.M. & Howell, N. (1997). Mammalian mitochondrial genetics: heredity, heteroplasmy and disease. *Trends in Genetics*, 13(11), 450-455.
- [90] Beaumont, A. R., Boudry, P. & Hoare, K. (2010). *Biotechnology and Genetics in Fisheries and Aquaculture*, 2nd Edition. Wiley Blackwell, 216 p, ISBN: 978-0-632-05515-9.
- [91] Meyer, A., & Wilson, A.C. (1990). Origin of Tetrapods Inferred from Their Mitochondrial DNA Affiliation to Lungfish. *Journal of Molecular Evolution*, 31, 359-364.

- [92] Bermingham, E., Mccafferty, S.S., & Martin, J.C. (1997). Fish biogeography and molecular clocks: perspectives from the Panamanian isthmus. T.D. Kocher and C.A. Stepien (eds). In: *Molecular Systematics of Fishes*. Academic Press, San Diego.
- [93] Lydeard, C., & Roe, K.J. (1997). The phylogenetic utility of the mitochondrial Cytochrome b gene for inferring relationship among Actinopterygian fishes. T.D. Kocher and C.A. Stepien (eds). In: *Molecular Systematics of Fishes*. Academic Press, San Diego.
- [94] Saccone, C., Pesole, G., & Sbisà, E. (1991). The main regulatory region of mammalian mitochondrial DNA: Structure-function model and evolutionary pattern. *J. Mol. Evol.*, 33, 83–91.
- [95] Keskin, E. & Atar, H.H. (2013). DNA barkodlama: Mitokondriyal COI geni kullanılarak moleküler tanımlama. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 6 (2), 1-8.
- [96] Bucklin A., Steinke D., & Blanco-Bercial L. (2011). DNA barcoding of marine metazoa. *Annual Reviews of Marine Science*, 3, 471-508.
- [97] Adrian-Kalchhauser, I., Svensson, O., Kutschera, V.E., Rosenblad, M.A., Pippel, M., Winkler, S., Schloissnig, S., Blomberg, A., & Burkhardt-Holm, P. (2017). The mitochondrial genome sequences of the round goby and the sand goby reveal patterns of recent evolution in gobiid fish. *BMC Genomics* (2017), 18, 177
- [98] Avise, J.C. (2006). *Evolutionary Pathways in Nature: A Phylogenetic Approach*. Cambridge University Press, New York (286 pp.).
- [99] Atasaral Şahin, Ş. (2011). *Akdeniz Midyesi (Mytilus galloprovincialis, Lam., 1819) Popülasyonlarının Genetik Yapısının Belirlenmesi*. (Yayımlanmamış Doktora Tezi. Karadeniz Teknik Üni. Fen Bilimleri Enstitüsü
- [100] Brinkman, F.S.L. & Leipe, D.D. (2001). Phylogenetic Analysis. A.D. Baxevanis, & B.F.F. Ouellette (eds), In: *Bioinformatics A Practical Guide to the Analysis of Genes and Proteins*. P. 323-325. Wiley Interscience, New York, 457 p.
- [101] Kumar, S., & Gadagkar, S.R. (2000). Efficiency of the Neighbor-Joining Method in Reconstructing Deep and Shallow Evolutionary Relationships in Large Phylogenies. *J. Mol. Evol.*, 51, 544-553. DOI: 10.1007/s002390010118.
- [102] Rzhetsky, A. & Nei, M. (1992). A Simple Method for Estimating and Testing Minimum Evolution Trees. *Mol. Biol. Evol.*, 9, 945-967
- [103] Swofford, D.L., Olsen, G.J., Waddell, P.J., & Hillis, D.M. (1996). Phylogenetic Inference. In: *Molecular systematics*, 2. edition, chap. 5, 407-514 p. Sinauer and Associates, Sunderland, Massachusetts.
- [104] Felsenstein, J. (1997). An Alternative Least-Squares Approach to Inferring Phylogenies from Pairwise Distances. *Syst. Biol.*, 46, 101-111.
- [105] Li, Y. (2004). How to Build a Phylogenetic Tree. *Phycs498BIO Assignment2*. Mary Ann Liebert, Inc., 195-212. DOI: 10.3133/of2007-1047.srp003.
- [106] Çınar Kul, B. (2010). *Türkiye Yerli Keçi Irklarının Mitokondriyal DNA Çeşitliliği ve Filocoğrafyası*. (Yayımlanmamış Doktora Tezi). Türkiye Cumhuriyeti Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- [107] Nei, M., & Kumar, S. (2000). *Molecular Evolution and Phylogenetics*. Oxford University Press, New York

- [108] Lavery, S. (2009). Shane's Simple Guide to F-statistics; *Molecular Ecology and Evolution Lectures*.
- [109] Nei, M., Tajima, F. & Tateno, Y. (1983), Accuracy of estimated phylogenetic trees from molecular data. II. Gene frequency data. *J. Mol. Evol.* 19, 153-170.
- [110] Wright, S. (1965). The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating. *Evolution*, 19, 355-420.
- [111] Jobling, M. A., Hurles, M., & Tyler-Smith, C. (2004). Human Evolutionary Genetics: Origins, Peoples and Disease Garland Science Publishing, London/New York.
- [112] Hedrick, P.W. (2005) Genetics of Population. Jones & Bartlett Publishers London UK.
- [113] Rogers, A. R., & Harpending, H. (1992). Population growth makes waves in the distribution of pairwise genetic differences. *Mol. Biol. Evol.* 9:552-569.
- [114] Slatkin, M. & Hudson, R.R. (1991). Pairwise comparisons of mitochondrial DNA sequences in stable and exponentially growing populations. *Genetics*, 129(2), 555-562
- [115] Ray N, Currat M, & Excoffier L. (2003). Intra-Deme Molecular Diversity in Spatially Expanding Populations. *Mol Biol Evol.*, 20 (1), 76-86.
- [116] Harpending, H. (1994). Signature of ancient population growth in low-resolution mitochondrial DNA mismatch distribution. *Human Biology*, 66, 591-600.
- [117] Rogers, A., 1995 Genetic evidence for a Pleistocene population explosion. *Evolution*, 49, 608-615.
- [118] Manly, B.F.J. (2004). Multivariate Statistical Methods: A *Primer*. (3.edition) Chapman & Hall/CRC Press LLC, Florida, US
- [119] TÜRKHAYGEN-I Popülasyon Genomiği-II Çalıştay1, (2008). Erişim:[[http://www.turkhygen.gov.tr/doc/Popülasyon\\_Genomigi\\_Calistayi\\_II.pdf](http://www.turkhygen.gov.tr/doc/Popülasyon_Genomigi_Calistayi_II.pdf)] Erişim tarihi:27.09.2018
- [120] Kimura M. (1968). Evolutionary rate at the molecular level. *Nature*. 17; 217(5129):624–626.
- [121] Fu, Y. X. & Li, W.H. (1993). Statistical tests of neutrality of mutations. *Genetics*, 133, 693-709.
- [122] Fu, Y. X. (1997). Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection. *Genetics*, 147, 915–925.
- [123] Tajima, F. (1989). Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics*, 123, 585-595.
- [124] Ramirez-Soriano, A., Ramos-Onsins, S.E., Rozas, J., Calafell, F., & Navarro, A. (2008). Statistical Power Analysis of Neutrality Tests Under Demographic Expansions, Contractions and Bottlenecks With Recombination. *Genetics*, 179, 555–567.
- [125] Fu, YX. (1996) New statistical tests of neutrality for DNA samples from a population. *Genetics*; 143, 557–570.
- [126] Ramos-Onsins, S.E. & Rozas, J. (2002). Statistical properties of new neutrality tests against population growth. *Mol. Biol. Evol.*, 19, 2092-2100.
- [127] Archer, S., J. Lythgoe & L. Hall. (1992). Rodopsin cDNA sequence from the sand goby (*Pomatoschistus minutus*) compared with those of other vertebrates. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 248, 19-25.

- [128] Wang, H.-Y., Tsai, M.-P., Dean, J., & Lee, S.C. (2001). Molecular phylogeny of gobioid fishes (Perciformes: Gobioidae) based on mitochondrial 12S rRNA sequences. *Mol. Phylogenet. Evol.*, 20, 390–408.
- [129] Thacker, C.E., & Hardman, M.A. (2005). Molecular phylogeny of basal gobioid fishes: Rhyacichthyidae, Odontobutidae, Xenisthmidae, Eleotridae (Teleostei: Perciformes: Gobioidae). *Mol. Phylogenet. Evol.*, 37, 858–871.
- [130] Neilson, M.E. & Stepien, C.A. (2009). Escape from the Ponto-Caspian: Evolution and biogeography of an endemic goby species flock (Benthophilinae: Gobiidae: Teleostei). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 52, 84–102
- [131] Vanhove, M.P.M., Economou, A.N., Zogaris, S., Larmuseau, M.H.D., Giakoumi, S., Kalogianni, E, Volckaert, F.A.M, & Huyse, T. (2012). Phylogenetics and biogeography of the Balkan ‘sand gobies’ (Teleostei: Gobiidae): vulnerable species in need of taxonomic revision. *Biological Journal of the Linnean Society*, 105, 73–91.
- [132] Thacker C.E. (2015). Biogeography of goby lineages (Gobiiformes: Gobioidae): origin, invasions and extinction throughout the Cenozoic. *Journal of Biogeography*, 42, 1615–1625
- [133] Stefanni, S. & Thorley, J.L. (2003). Mitochondrial DNA phylogeography reveals the existence of an Evolutionary Significant Unit of the sand goby *Pomatoschistus minutus* in the Adriatic (Eastern Mediterranean). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 28, 601–609.
- [134] Gysels, E.S., Hellemans, B., Pampoulie, C., & Volckaert, F.A.M. (2004). Phylogeography of the common goby, *Pomatoschistus microps*, with particular emphasis on the colonization of the Mediterranean and the North Sea. *Mol Ecol.*, 13, 403–417.
- [135] Pampoulie, C., Gysels, E.S., Maes, G.E, Hellemans, B., Leentjes, V., Jones, A.G., & Volckaert, F.A.M. (2004). Evidence for fine-scale genetic structure and estuarine colonisation in a potential high gene flow marine goby (*Pomatoschistus minutus*). *Heredity*, 92, 434–445.
- [136] Berrebi, P., Laserre, B., Barbisan, F., & Zane, L. (2006) Isolation of microsatellite loci and cross-species amplifications in three gobiid fish of the genus *Pomatoschistus*. *Mol. Ecol. Notes*, 6, 724–727.
- [137] Larmuseau, M.H.D., Raeymaekers, J.A.M., Ruddick, K.G., Van Houdt, J.K.J, & Volckaert, F.A.M. (2009). To see in different seas: spatial variation in the rhodopsin gene of the sand goby (*Pomatoschistus minutus*). *Mol Ecol.*, 18, 4227–4239.
- [138] Vergara-Chen, C., Gonzalez-Wangüemert, M., Marcos, C., & Perez-Ruzafa, A. (2009). High gene flow promotes the genetic homogeneity of the fish goby *Pomatoschistus marmoratus* (Risso, 1810) from Mar Menor coastal lagoon and adjacent marine waters (Spain). *Marine Ecology*, 31, 270–275
- [139] Mejri, R., Lo Brutto, S., Ben Hassine, O.K., & Arculeo, M. (2009). A study on *Pomatoschistus tortonesei* Miller 1968 (Perciformes, Gobiidae) reveals the Siculo-Tunisian Strait (STS) as a breakpoint to gene flow in the Mediterranean basin. *Mol Phylogenet Evol.* 53, 596–601.
- [140] Larmuseau, M.H.D, Raeymaekers, J.A.M, Hellemans, B., Van Houdt, J.K.J, & Volckaert, F.A.M. (2010). High molecular diversity in the rhodopsin gene in

- closely related goby fishes: a role for visual pigments in adaptive speciation? *Mol Phylogenet Evol.*, 55, 689–698.
- [141] Boissin, E., Hoareau, T.B., & Berrebi, P. (2011). Effects of current and historic habitat fragmentation on the genetic structure of the sand goby *Pomatoschistus minutus* (Osteichthys, Gobiidae). *Biol J. Linn Soc.*, 102, 175–198.
- [142] Marques, J., Fonseca, V., Shao, Z., Cabral, H., Tougard, C., & Berrebi, P. (2012). Genetic diversity of *Pomatoschistus microps* (Perciformes: Gobiidae) in ecologically differentiated estuarine systems. *Folia Zool.*, 61, 106–117.
- [143] Mejri, R., Lo Brutto, S., Hassine, N., Arculeo, M., & Ben Hassine, O.K. (2012). Overlapping patterns of morphometric and genetic differentiation in the Mediterranean goby *Pomatoschistus tortonesei* Miller, 1968 (Perciformes, Gobiidae) in Tunisian lagoons. *Zoology*, 115, 239–244.
- [144] Gonzales-Wangüemert, M. & Vergara-Chen, C. (2014). Environmental variables, habitat discontinuity and life history shaping the genetic structure of *Pomatoschistus marmoratus*. *Helgol Mar. Res.*, 68, 357–371.
- [145] Tougard, C., Folly, J., & Berrebi, P. (2014). New Light on the Evolutionary History of the Common Goby (*Pomatoschistus microps*) with an Emphasis on Colonization Processes in the Mediterranean Sea. *PLoS ONE*, 9(3), e91576. doi:10.1371/journal.pone.0091576
- [146] Locatello, L., Santon, M., Mazzoldi, C., & Rasotto, M.B. (2017). The marbled goby, *Pomatoschistus marmoratus*, as a promising species for experimental evolution studies. *Org. Divers. Evol.*, 17, 709. <https://doi.org/10.1007/s13127-017-0339-1>
- [147] Fouda, M.M. (1995). Life history strategies of four small-size fishes in the Suez Canal, Egypt. *Journal of Fish Biology*, 46, 687–702
- [148] Mirto, S., Scilipoti, D. & La Rosa, T. (1996). Osservazioni sulla morfologia dei due sessi di *Pomatoschistus tortonesei* (Miller, 1968) nello stagnone di Marsala (Sicilia occidentale). *Biologia Marina Mediterranea*, 3, 557–558.
- [149] Mazzoldi, C. & Rasotto, M. B. (2001). Extended breeding season in the marbled goby, *Pomatoschistus marmoratus* (Teleostei: Gobiidae), in the Venetian Lagoon. *Environmental Biology of Fishes*, 61, 175–183.
- [150] Mazzoldi, C., Poltronieri, C. & Rasotto, M.B. (2002). Egg size variability and mating system in the marbled goby *Pomatoschistus marmoratus* (Pisces: Gobiidae). *Marine Ecology Progress Series*, 233, 231–239.
- [151] Verdiell-Cubedo, D., Oliva-Paterna, F.J., & Torralva, M., (2006). Length–weight relationships for 22 fish species of the Mar Menor coastal lagoon (western Mediterranean Sea). *J. Appl. Ichthyol.*, 22, 293–294
- [152] Koutrakis, E. T., & Tsikliras, A.C. (2009). Reproductive biology of the marbled goby, *Pomatoschistus marmoratus* (Pisces, Gobiidae), in a northern Aegean estuarine system (Greece). *Folia Zool.*, 58(4), 447–456.
- [153] Altın, A., Özen, Ö., Ayyıldız H., & Daban, B. (2015). Feeding Habits Of The Marbled Goby, *Pomatoschistus marmoratus* (Actinopterygii: Perciformes: Gobiidae), In The Çanakkale Strait, Northern Aegean Sea, Turkey. *Acta Ichthyologica Et Piscatoria*, 45, (1): 95
- [154] Locatello, L., Mazzoldi, C., Santon, M., Sparaciari, S., & Rasotto, M.B. (2016). Unexpected female preference for smaller males in the marbled goby *Pomatoschistus marmoratus*. *Journal of Fish Biology*, 89, 1845–1850.



- [155] Kovačić, M. (2008). The key for identification of Gobiidae (Pisces: Perciformes) in the Adriatic Sea. *Acta Adriat.*, 49(3), 245- 254.
- [156] Sanzo, L. (1911). Distribuzione delle papille cutanee (organi ciatiforme) e suo valore sistematico nei Gobi. *Mitt. Zool. Stat. Neapel*, 20, 249-328.
- [157] Miller, P.J. (1984). The tokology of gobioid fishes. In: Potts, G.W., Wootton, J.R. (Eds.), *Fish Reproduction: Strategies and Tactics*. Academic Press, London, pp. 119– 153.
- [158] Giacobbe, S., Spinelli, A., Malteo, S.D., & Kovačić, M. (2017). First record of the Bath's goby, *Pomatoschistus bathi* Miller 1982, from central-south Italy: a southern proof of fragmented distribution restricted to the north? *Mar Biodiv.*, DOI 10.1007/s12526-017-0741-0.
- [159] Seyhan Öztürk, D., & Engin, S. (2019). Taxonomic status of the Mediterranean endemic goby *Pomatoschistus adriaticus* Miller, 1973 inferred with genetic data. *Zoology in the middle east*, 65(2): 142-150.
- [160] Ward, R.D., Zemlak, T.S., Innes, B.H., Last, P.R., & Hebert, P.D.N. (2005). DNA barcoding Australia's fish species. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.*, 360, 1847–1857. <http://dx.doi.org/10.1098/rstb.2005.1716>
- [161] Ivanova, N.V., Zemlak, T.S., Hanner, R.H., & Hebert, P.D.N. (2007). Universal primer cocktails for fish DNA barcoding. *Molecular Ecology Resources*. 7(4), 544-548
- [162] 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.
- [163] Thompson, J.D., Higgins, D.G., & Gibson, T.J. (1994). CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, positions-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research*, 22, 4673–4680.
- [164] Kumar, S., Stecher, G., & Tamura, K. (2016). MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets, *Molecular Biology and Evolution*, 33,(7), 1870–1874, <https://doi.org/10.1093/molbev/msw054>
- [165] Felsenstein, J. (1985). Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution*, 39, 783–791.
- [166] Librado, P., & Rozas, J. (2009). DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data, *Bioinformatics*, 25 (11), 1451–1452, <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp187>
- [167] Bandelt, H.J., Forster, P., & Röhl, A. (1999). Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular biology and evolution*, 16, 37–48.
- [168] Leigh, J.W., & Bryant, D. (2015). PopART: Full-feature software for haplotype network construction. *Methods Ecol Evol.*, 6 (9),1110–1116.
- [169] Clement, M., Snell, Q., Walker, P., Posada, D., & Crandall, K. (2002). TCS: Estimating gene genealogies. Parallel and Distributed Processing Symposium, *International Proceedings*, 2, 184.
- [170] Wright, S. (1951). The genetical structure of populations. *Ann. Eugenics*, 15, 323-354.
- [171] Excoffier, L., Smouse, P.E., & Quattro, J.M. (1992). Analyses of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics*, 131, 479-491.

- [172] Excoffier, L. & H.E.L. Lischer. (2010). Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*, 10, 564-567.
- [173] Kimura, M. (1980). A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of Molecular Evolution*, 16, 111-120.
- [174] Brown, V.M., M. George, Jr., & Wilson, A.C. (1979). Rapid evolution of mitochondrial DNA. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 76, (4), 1967-1971.
- [175] Tamura, K., & Nei, M. (1993). Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. *Molecular Biology and Evolution*, 10, 512-526.
- [176] Miller, P. J. (1973). The identity of *Gobius affinis* Kolombatovic, with notes on the systematics and biology of *Pomatoschistus pictus* (Malm) (Pisces: Gobiidae). *Annali Mus Civ Stor Nat Giacomo Doria*, 79, 53-88.
- [177] Larsson, L.C, Laikre, L., Palm, S., Andre, C., Carvalho, G.R., & Ryman, N. (2007). Concordance of allozyme and microsatellite differentiation in a marine fish, but evidence of selection at a microsatellite locus. *Mol Ecol*, 16, 1135-1147.
- [178] Larmuseau, M.H.D., Raeymaekers, J.A.M., Hellemans, B., Van Houdt, J.K.J., & Volckaert, F.A.M. (2010). Mitonuclear discordance in the degree of population differentiation in a marine goby. *Heredity* 105, 532-542
- [179] Bahri-Sfar, L., Lemaire, C., Ben Hassine, O.K., & Bonhomme, F., (2000). Fragmentation of sea bass populations in the western and eastern Mediterranean as revealed by microsatellite polymorphism. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B.*, 267, 929-935.
- [180] Zardoya, R., Castilho, R., Grande, C., Favre-Krey, L., Caetano, S., Marcato, S., Krey, G., & 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.
- [181] Natoli, A., Birkun, A., Aguilar, A., Lopez, A., & Hoelzel, A.R. (2005). Habitat structure and the dispersal of male and female bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*). *Proceeding of the Royal Society B*, 272, 1217-1226.
- [182] Zitari-Chatti, R., Chatti, N., Fulgione, D., Caiazza, I., Aprea, G., Elouaer, A., Said, K., & Capriglione, T. (2009). Mitochondrial DNA variation in the caramote prawn *Penaeus (Melicertus) kerathurus* across a transition zone in the Mediterranean Sea. *Genetica*, 136, 439-447.
- [183] Watts, R.J., & Johnson, M.S. (2004). Estuaries, lagoons and enclosed embayments: habitats that enhance population subdivision of inshore fishes. *Mar Freshw Res.*, 55, 641-651.
- [184] Pascual, M., Rives, B., Schunter, C., & Macpherson, E. (2017). Impact of life history traits on gene flow: A multispecies systematic review across oceanographic barriers in the Mediterranean Sea. *PLoS ONE* 12 (5), e0176419.
- [185] Gonzalez-Wangüemert, M. & Perez-Ruzafa, A. (2012). In two waters: Contemporary evolution of lagoonal and marine white seabream (*Diplodus sargus*) populations. *Mar Ecol.*, 33, 337-349.

- [186] Bilton, D.T., Paula, J., & Bishop, J.D.D. (2002). Dispersal, genetic differentiation and speciation in estuarine organisms. *Estuar Coast Shelf Sci.*, 55, 937–952.
- [187] Trabelsi, M., Maamouri, F., Quignard, J.P., Boussaid, M., & Faure, E. (2004). Morphometric or morpho-anatomical and genetic investigations highlight allopatric speciation in Western Mediterranean lagoons within the *Atherina lagunae* species (Teleostei, Atherinidae). *Estuar Coast Shelf Sci.*, 61, 713–723.
- [188] Gonzalez-Wangüemert, M., Canovas, F., Perez-Ruzafa, A., Marcos, C., & Alexandrino, P. (2010). Connectivity patterns inferred from the genetic structure of white seabream (*Diplodus sargus* L.). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 383, 23–31.
- [189] Crow, K. D., Munehara, H., & Bernardi, G. (2010). Sympatric speciation in a genus of marine reef fishes. *Molecular Ecology*, 19, 2089–2105.
- [190] Puebla, O., Bermingham, E., & Guichard, F. (2012). Pairing dynamics and the origin of species. *Proceedings of the Royal Society B*, 279, 1085–1092.
- [191] Taylor, M. S., & Hellberg, M. E. (2005). Marine radiations at small geographic scales: Speciation in neotropical reef gobies. *Evolution*, 59, 374–385.
- [192] Streebman, J.T., Alfaro, M., Westneat, M.W., Bellwood, D.R., & Karl, S.A. (2002). Evolutionary history of the parrotfishes: Biogeography, comorphology, and comparative diversity. *Evolution*, 56, 961–971.
- [193] Rocha, L.A., Robertson, D.R., Roman, J., & Bowen, B.W. (2005). Ecological speciation in tropical reef fishes. *Proceedings of the Royal Society B*, 272, 573–579.
- [194] Nevo, E., Beiles, A. & Ben-Shlomo, R. (1984). The evolutionary significance of genetic diversity: ecological, demographic and life history correlates. G.S. Mani (ed). In: Evolutionary Dynamics of Genetic Diversity. *Lecture Notes in Biomathematics* 53, 13±213.
- [195] Nevo, E., Noy, R. & Lavie, B. (1987). Levels of genetic diversity and resistance to pollution in marine organisms. *FAO/UNEP Meeting On The Effects Of Pollution On Marine Ecosystems*, Blanes, Spain, 7±11 October, 1985, pp. 175±82.
- [196] Patarnello, T., Volckaert, F.A.M.J. & Castilho, R. (2007). Pillars of Hercules: is the Atlantic–Mediterranean transition a phylogeographical break? *Molecular Ecology*, 16, 4426–4444.
- [197] O. N. Bogatko, S. G. Boguslavskii, Yu. M. Belyakov, & vd., (1979). “Surface Currents of the Black Sea,” in Multidisciplinary Studies of the Black Sea (Morsk. gidrofiz.int AN USSR, Sevastopol, 1979), pp. 26–33 [Rusça].
- [198] Alpar, B., Altıok, H., Doğan, E., Yüce, H., & Kurter, A. (1998). İstanbul boğazı ve Karadeniz çıkışındaki akıntı durumu. *Büyük şehirlerde atıksu yönetimi ve deniz kirlenmesi kontrolü sempozyumu*. 18- 20 Kasım 1998 İstanbul p 33-45.
- [199] Gerin, R., Poulain, P.M., Beşiktepe, Ş.T., & Zanasca, P. (2013). On the surface circulation of the Marmara Sea as deduced from drifters. *Turkish J Earth Sci*, 22: 919-930.
- [200] Meriç, E., Yokeş, M.B., Yümün, Z.Ü., Eryılmaz, M., & Yücesoy-Eryılmaz, F. (2018). Alien Benthic Foraminifers from Turkish Strait System. *International Journal of Environment and Geoinformatics*, 5(1):68-75.

- [201] Bakun, A., & Agostini, V.N. (2001). Seasonal patterns of wind-induced upwelling/downwelling in the Mediterranean Sea. *SCI. MAR.*, 65 (3): 243-257.
- [202] Drost, E., Golla, T.R., von der Heyden, S., & Teske, P.R. (2015). No divergent evolution, despite restricted connectivity, between Atlantic and Indian Ocean goby populations. *Mar Biodiv.* DOI 10.1007/s12526-015-0389-6.
- [203] Waters, J.M., & Roy, M.S. (2004). Molecular Ecology (2004). Phylogeography of a high-dispersal New Zealand sea-star: does upwelling block gene-flow? *Molecular Ecology*, 13, 2797–2806.
- [204] Apte, S., Gardner, J.P.A. (2002). Population genetic subdivision in the New Zealand greenshell mussel (*Perna canaliculus*) inferred from single-strand conformation polymorphism analysis of mitochondrial DNA. *Molecular Ecology*, 11, 1617–1628.
- [205] Asplin, L., Salvanes, A.G.V., & Kristofferson, J.B. (1999). Nonlocal wind driven fjord-coast advection and its potential effect on plankton and fish recruitment. *Fisheries Oceanography*, 8, 255–263.
- [206] Bucklin, A. (1991). Population genetic responses of the planktonic copepod *Metridia pacifica* to a coastal eddy in the California current. *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 96, 14799–14808.
- [207] Hamad, N., Millot, C., & Taupier-Letage, I. (2006). The surface circulation in the eastern basin of the Mediterranean Sea. *Scientia Marina*, 70 (3), 457-503.
- [208] Hauser, L., & Carvalho, G. (2008). Paradigm shifts in marine fisheries genetics: ugly hypotheses slain by beautiful facts. *Fish Fish*, 9, 333–362.
- [209] Liu, H., Li, S., Ugolini, A., Momtazi, F., & Hou, Z. (2018). Tethyan closure drove tropical marine biodiversity: Vicariant diversification of intertidal crustaceans. *J. Biogeogr.*, 45, 941–951.
- [210] Rögl, F. (1999). Mediterranean and Paratethys. Facts and hypotheses of an Oligocene to Miocene paleogeography (Short Overview). *Geologica Carpathica*, 50 (4), 339–349.
- [211] Rouchy, J.M. & Caruso, A. (2006). The Messinian salinity crisis in the Mediterranean basin: a reassessment of the data and an integrated scenario. *Sediment Geol.*, 188–189, 35–67.
- [212] Hsü, K.J., Ryan, W.B.F., Cita, M.B. (1973). Late Miocene desiccation of the Mediterranean. *Nature*, 242, 240–244.
- [213] Roveri, M., Flecker, R., Krijgsman, W., & vd., (2014). The Messinian Salinity Crisis: Past and future of a great challenge for marine sciences: *Marine Geology*, doi:10.1016/j.margeo.2014.02.002.
- [214] Cita, M.B., Wright, R.C., Ryan, W.B.F., & Longinelli, A. (1978). Messinian Paleoenvironments. *Initial Reports of the Deep Sea Drilling Project*, pp. 1003–1035.
- [215] Miller, P.J. (1990). The endurance of endemism the Mediterranean fresh-water gobies and their prospects for survival. *J. Fish. Biol.*, 37, 145–156.
- [216] Emiliani, C. (1955). Pleistocene temperature variations in the Mediterranean. *Quaternaria*, II, 87–98.
- [217] Hewitt, G.M. (1996). Some genetic consequences of ice ages, and their role in divergence and speciation. *Biol. J. Linn. Soc.* 58, 247–276.
- [218] Hewitt, G.M. (1999). Post-glacial re-colonization of European biota. *Biol. J. Linn. Soc.* 68, 87–112.

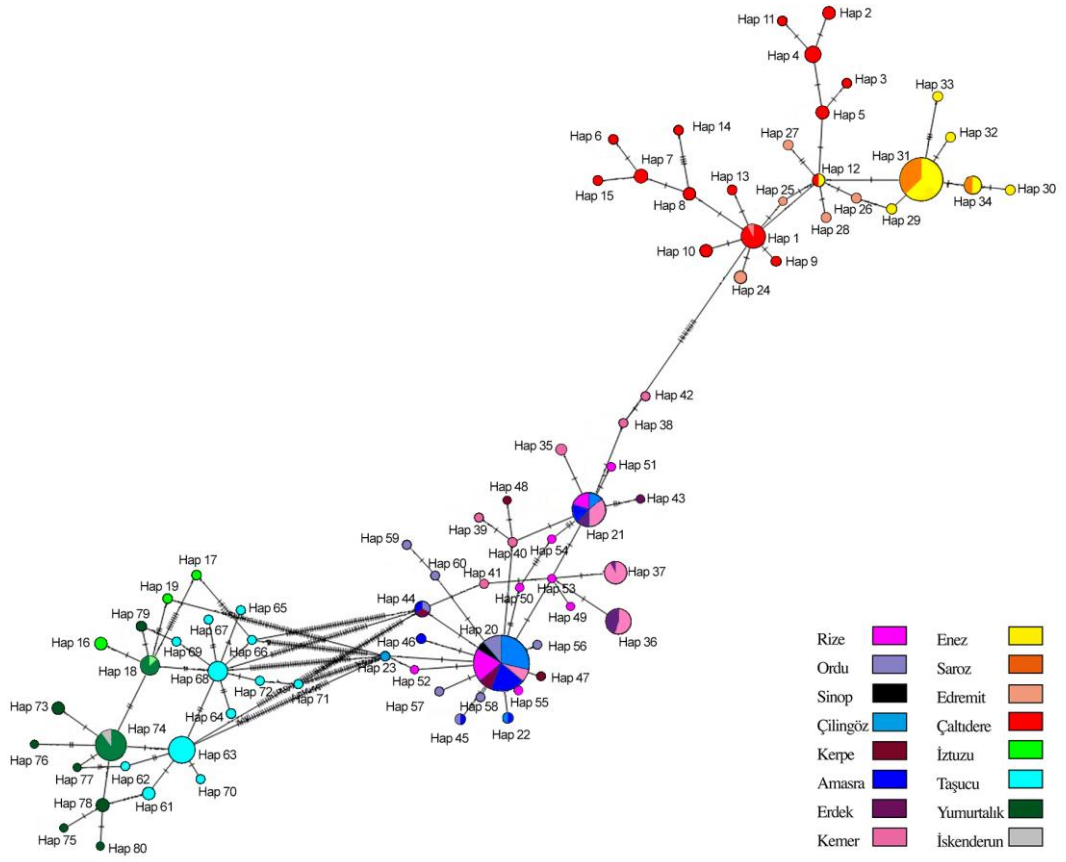
- [219] Hewitt, G.M. (2000). The genetic legacy of the Quaternary ice ages. *Nature*, 405, 907–913.
- [220] Taberlet, P., Fumagalli, L., Wust-Saucy, A.G., & Cosson, J.F. (1998). Comparative phylogeography and postglacial colonization routes in Europe. *Mol. Ecol.*, 7, 453–464.
- [221] Bennett, K.D. & Provan, J. (2008). What do we mean by “refugia”? *Quaternary Sci Rev.*, 27, 2449–2455.
- [222] Grewe, P. M. & Hampton, J. (1998). An assessment of bigeye (*Thunnus obesus*) population structure in the Pacific Ocean, based on mitochondrial DNA and DNA microsatellite analysis. *Joint Institute for Marine & Atmospheric Research*, Contr. 98–320. University of Hawaii.
- [223] Bektaş, Y., & Beldüz, A.O. (2008). Molecular phylogeny of Turkish *Trachurus* species (Perciformes: Carangidae) inferred from mitochondrial DNA analyses. *Journal of Fish Biology*, 73, 1228–1248.
- [224] Bektaş, Y., Aksu, İ., Kalaycı, G., Irmak, E., Engin, S., & Turan, D. (2018). Genetic Differentiation of Three Spicara (Pisces: Centracanthidae) Species, *S. maena*, *S. flexuosa* and *S. smarís*: and Intraspecific Substructure of *S. flexuosa* in Turkish Coastal Waters. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 18: 301-311.
- [225] Uyan, A., & Turan, C. (2017). Genetic and morphological analyses of tub gurnard *Chelidonichthys lucerna* populations in Turkish marine waters. *Biochemical Systematics and Ecology*, 73, 35e40.
- [226] Turan, C., & Turan, F. (2018). Genetic Differentiation of Twaite Shad (*Alosa fallax nilotica*) Populations. *I. International Mediterranean Symposium*, 212-220.
- [227] Turan, C., Gurlek, M., Yaglioglu, D., & Ozturk, B. (2009). Genetic differentiation of Mediterranean horse mackerel (*Trachurus mediterraneus*) populations as revealed by mtDNA PCR-RFLP analysis. *Journal of Applied Ichthyology*, 25(2), 142-147.
- [228] Keskin, E., & Atar, H.H. (2012). Genetic structuring of European anchovy (*Engraulis encrasicolus*) populations through mitochondrial DNA sequences. *Mitochondrial DNA*, 23:2, 62-69
- [229] Turan, C., Öztürk, B., Çalışkan, M., Düzgüneş, E., Gürlek, M., Yağlıoğlu, D., Hazar, D., & Sevenler, S. (2009). Genetic variation of Atlantic horse mackerel (*Trachurus trachurus*) in the Turkish waters. *Cah. Biol. Mar.*, 50: 207-213
- [230] Turan, C., Ivanova, P., & Soldo, A. (2016). Population Structuring and Migration Pathway of Atlantic bonito *Sarda sarda*. *Natural and Engineering Sciences*, 1(3), 56-65.
- [231] Senol Tuncay, S., & Bardakci, F. (2014). Population Genetics of European Anchovy (*Engraulis encrasicolus* L.) in the Seas of Turkey Based on Microsatellite DNA. *Front. Mar. Sci. Conference Abstract: IMMR International Meeting on Marine Research*. doi: 10.3389/conf.FMARS.2014.02.00154
- [232] Tuncay, D., Senol Tuncay, S., Yılmaz, Ç., & Bardakci, F. (2014). Population Genetic Structure of red mullet (*Mullus barbatus* L.) in Turkish Sea Based on Mitochondrial DNA. *Front. Mar. Sci. Conference Abstract: IMMR*

*International Meeting on Marine Research.* doi:  
10.3389/conf.FMARS.2014.02.00152

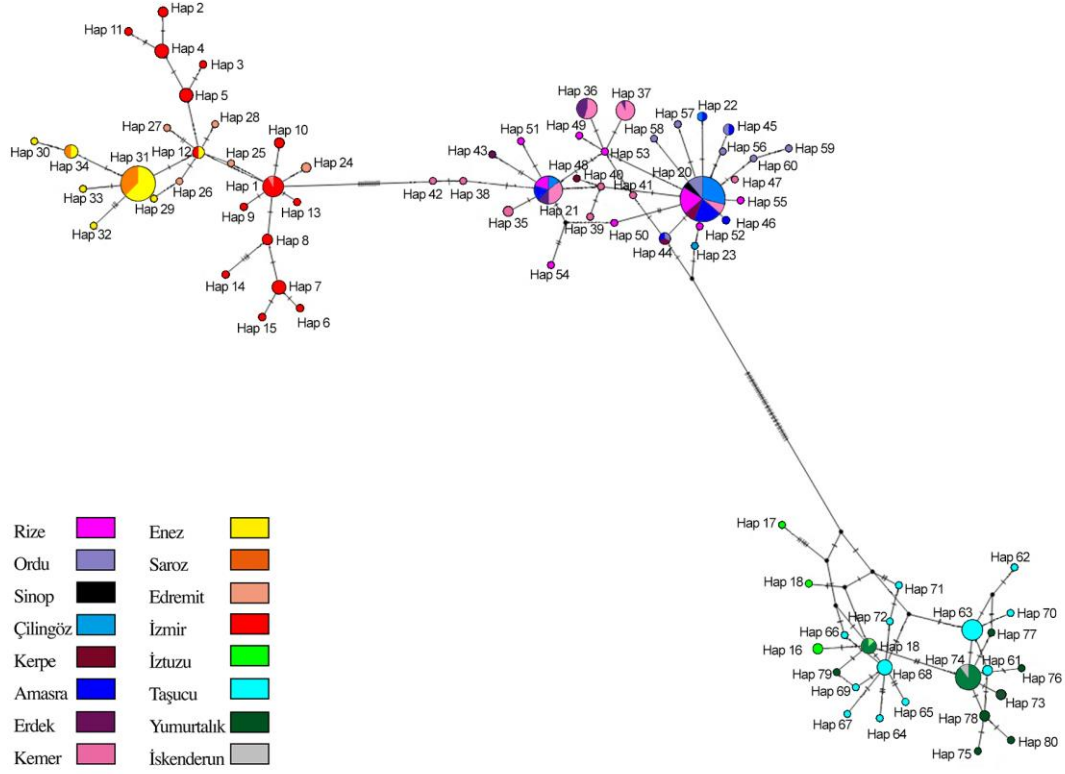
- [233] Erdoğan, Z., Turan, C., & Torcu Koç, H. (2009). Morphologic and Allozyme Analyses of European anchovy (*Engraulis encrasicolus* (L. 1758)) in the Black, Marmara and Aegean Seas. *Acta Adriat.*, 50(1): 77 – 90.
- [234] Turan, C., Gurlek, M., Erguden, D., Yaglioglu, D., Uyan, A., Reyhaniye, A.N., Ozbalcilar, B., Ozturk, B., Erdogan, Z.A., Ivanova, P., & Soldo, A., 2015. Population genetic analysis of Atlantic bonito *Sarda sarda* (Bloch, 1793) using sequence analysis of mtDNA D-loop region. *Fresenius Environ. Bull.*, 24, 3148e3154.
- [235] Özen, Ö., Irmak, E., & Bilecenoğlu, M. (2007). Occurrence of *P. minutus* (Pallas, 1770) (Pisces: Gobiidae) along the North Aegean Coast of Turkey. *Anneles Ser. Hist. Nat.*, 17, 161-164.
- [236] McKay, S.I., & Miller, P.J. (1997). The affinities of European sand gobies (Teleostei: Gobiidae). *J. Nat. Hist.*, 31, 1457–1482.

## EKLER

### EK A. Ülkemiz kıyılarında dağılım gösteren *P. marmoratus* popülasyonları arasındaki ilişkiyi gösteren COI genine dayalı minimum çoğalma haplotip ağı

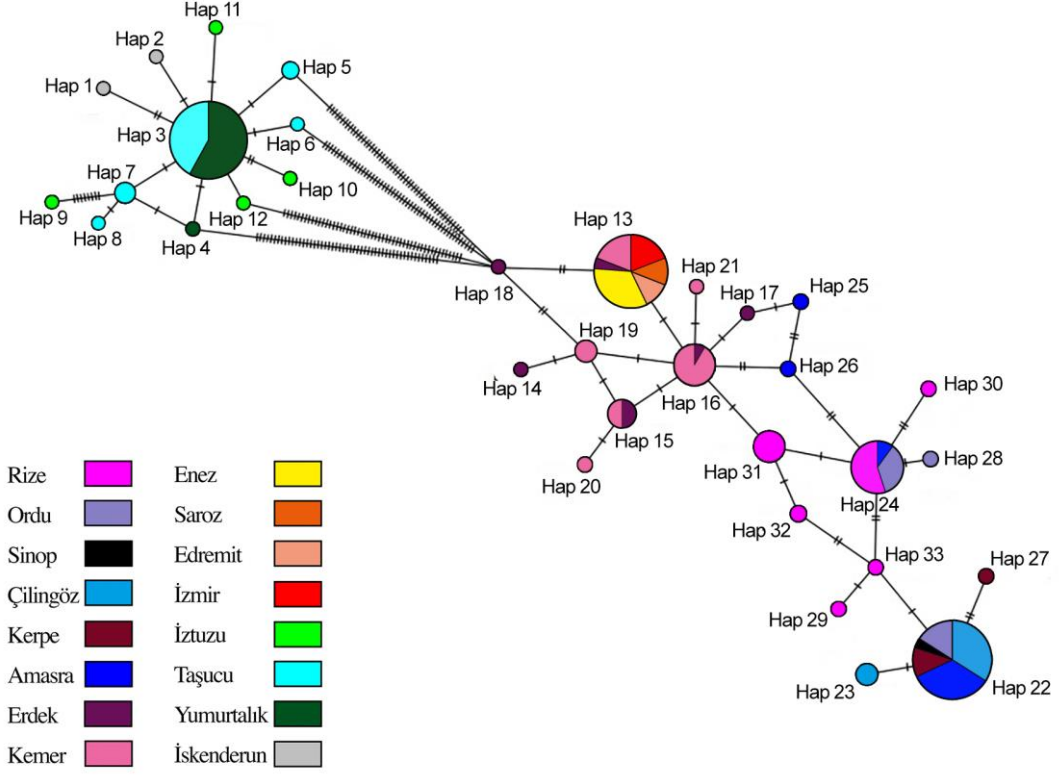


**EK B. Ülkemiz kıyılarında dağılım gösteren *P. marmoratus* popülasyonları arasındaki ilişkiyi gösteren COI genine dayalı TCS haplotip ağı**

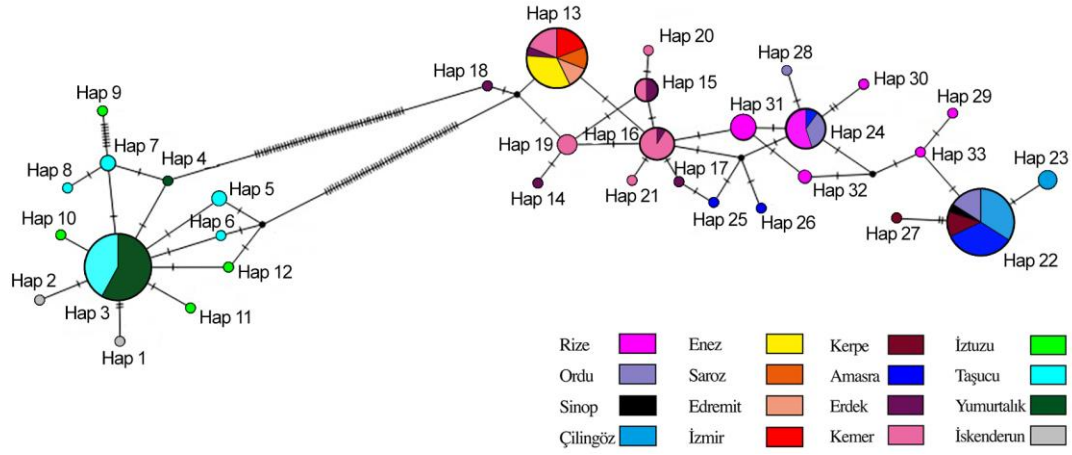




**EK C. Ülkemiz kıyılarında dağılım gösteren *P. marmoratus* popülasyonları arasındaki ilişkiyi gösteren *cyt-b* genine dayalı minimum çoğalma haplotip ağı**



**EK D. Ülkemiz kıyılarında dağılım gösteren *P. marmoratus* popülasyonları arasındaki ilişkiyi gösteren *cyt-b* genine dayalı TCS haplotip ağı**



**EK E. COI geni kullanılarak gerçekleştirilen filogenetik analizlerde Genbank'tan temin edilen referans diziler**

Species	GenBank accession numbers	Locality	Country	Reference
<i>Pomatoschistus adriaticus</i>	MH729194, MH729195, MH729196, MH729197	Erdek	Turkey	Bu çalışma
<i>Pomatoschistus pictus</i>	KM077875, KM077878, KM077876, KM077877	North Sea	Germany	Knebelsberger & Thiel, 2014
<i>Pomatoschistus lozanoi</i>	JQ775031, JQ775032, JQ775030	South continental coast	Portugal	Costa et al. 2012
	KM077847, KM077849	Balje, Wilhelmshaven	Germany	Knebelsberger & Thiel, 2014
<i>Pomatoschistus quagga</i>	MK302484, MK302485, MK302486, MK302487, MK302488	Dikili	Turkey	Bu çalışma
<i>Pomatoschistus minutus</i>	KM077857, KM077858, KM077859, KM077860, KM077866	Wilhelmshaven	Germany	Knebelsberger & Thiel, 2014
<i>Pomatoschistus norvegicus</i>	KM077869, KM077871, KM077870, KM077867	North Sea, Baltic Sea	Germany	Knebelsberger & Thiel, 2014
<i>Pomatoschistus tortonesei</i>	FJ751921, FJ751920, FJ751922, KJ709585, KJ709586	Bizerta, Ghar El Melh, El Bibans lagoons Sicily	Tunisia Italy	Mejri et al. 2009
<i>Pomatoschistus microps</i>	KJ554336, KJ554147, KJ554517	Montpellier	France	Geiger et al. 2014
	KM077855	Wilhelmshaven	Germany	Knebelsberger & Thiel, 2014
<i>Pomatoschistus anatoliae</i>	KX831931, KX831932, KX831933, KX831934, KX831935	Göksu River estuary	Turkey	Engin & İnnal 2017
<i>Ninnigobius canestrinii</i>	KJ554046, KJ553809, KJ554069	Tiber drainage Ricica drainage	Italy Croatia	Geiger et al. 2014
<i>Ninnigobius montenegrensis</i>	KJ554044, KJ554070, KJ553759	Skadar drainage	Montenegro	Geiger et al. 2014
<i>Pomatoschistus bathi</i>	KY118941, KY118942, KY118943, KY118946, KY118947, KY118948, KY118951, KY118952, KY118953	Black Sea, Sea of Marmara, Aegean Sea	Turkey	Engin & Seyhan 2017
<i>Pomatoschistus nanus</i>	KY094626, KY094627, KY094628, KY094629, KY094630, KY094631	Kaş -Antalya	Turkey	Engin & Seyhan 2017
<i>Pomatoschistus flavescens</i>	KM077833, KM077834, KM077835	North Sea	Germany	Knebelsberger & Thiel, 2014
<i>Economidichthys trichonis</i>	KJ553425	Trichonis drainage	Greece	Geiger et al. 2014
<i>Economidichthys pygmaeus</i>	KJ553482	Louros drainage	Greece	Geiger et al. 2014
<i>Knipowitschia byblisia</i>	KJ663641	Dalaman drainage	Turkey	Geiger et al. 2014
<i>Knipowitschia mermere</i>	KJ553611	Gediz drainage	Turkey	Geiger et al. 2014

<i>Knipowitschia thessela</i>	KJ553503	Pinios drainage	Greece	Geiger et al. 2014
<i>Knipowitschia milleri</i>	KJ553658	Acheron drainage	Greece	Geiger et al. 2014
<i>Knipowitschia</i> cf. <i>goemeri</i>	KJ553444	Trichonis drainage	Greece	Geiger et al. 2014
<i>Knipowitschia caucasica</i>	KJ553633	Simav drainage	Turkey	Geiger et al. 2014
<i>Knipowitschia ephesi</i>	KJ553609	Kuecuk drainage	Turkey	Geiger et al. 2014
<i>Knipowitschia longicaudata</i>	BOLD/EEFF100-06	Borisovka	Russia	-
<i>Knipowitschia montenegrina</i>	KJ553451	Skadar drainage	Montenegro	Geiger et al. 2014
<i>Knipowitschia panizzae</i>	KJ553452	Morinjaska drainage	Montenegro	Geiger et al. 2014
<i>Knipowitschia radovici</i>	KJ553656	Neretva drainage	Croatia	Geiger et al. 2014
<i>Knipowitschia mrakovcici</i>	KJ553514	Krka drainage	Croatia	Geiger et al. 2014
<i>Orsinigobius punctatissima</i>	KJ553854	Neretva drainage	Bosnia Herzegovina	Geiger et al. 2014
<i>Orsinigobius croatica</i>	KJ553912	Stella drainage	Italy	Geiger et al. 2014
<i>Speleogobius trigloides</i>	KY400562	Baleares	Spain	Kovačić et al. 2017
<i>Speleogobius llorisi</i>	KY400563	Baleares	Spain	Kovačić et al. 2017
<i>Buenia massutii</i>	KY400521	Baleares	Spain	Kovačić et al. 2017
<i>Buenia affinis</i>	KY400548	Selce	Croatia	Kovačić et al. 2017
<i>Buenia lombartei</i>	KY400560	Baleares	Spain	Kovačić et al. 2017
<i>Buenia jeffreysii</i>	KY400558	Baleares	Spain	Kovačić et al. 2017
<i>Lebetus guillei</i>	KY400565	Selce	Croatia	Kovačić et al. 2017
<i>Crystallogobius linearis</i>	KM077820	North Sea	-	Kneibelsberger & Thiel, 2014
<i>Deltentosteus quadrimaculatus</i>	KY176452	Mersin	Turkey	-

Costa, F.O., Landi, M., Martins, R., Costa, M.H., Costa, M.E., Carneiro, M., Alves, M.J., Steinke, D. and Carvalho, G.R. (2012). A ranking system for reference libraries of DNA barcodes: application to marine fish species from Portugal. PLoS ONE 7 (4), E35858

Engin, S. & Innal, D. (2017). A new species of *Pomatoschistus* (Teleostei: Gobiidae) from Southern Anatolia, Zoology in the Middle East, DOI: 10.1080/09397140.2017.1361187

Engin, S., & Seyhan, D. (2017). A new species of *Pomatoschistus* (Teleostei, Gobiidae): the Mediterranean's smallest marine fish. Journal of Fish Biology, 91(4), 1208–1223. <https://doi.org/10.1111/jfb.13455>

- Geiger, M.F., Herder, F., Monaghan, M.T., Almada, V., Barbieri, R., Bariche, M., Berrebi, P., Bohlen, J., Casal-Lopez, M., Delmastro, G.B., Denys, G.P., Dettai, A., Doadrio, I., Kalogianni, E., Karst, H., Kottelat, M., Kovacic, vd. (2014). Spatial heterogeneity in the Mediterranean Biodiversity Hotspot affects barcoding accuracy of its freshwater fishes. *Mol. Ecol. Resour.*, 14 (6), 1210-1221
- Knebelsberger, T.&Thiel, R. (2014). Identification of gobies (Teleostei: Perciformes: Gobiidae) from the North and Baltic Seas combining morphological analysis and DNA barcoding. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 172, 831–845.
- Kovačić, M., Ordines, F. & Schliewen, U.K. (2017) A new species of *Buenia* (Teleostei: Gobiidae) from the western Mediterranean Sea, with the description of this genus. *Zootaxa*, 4250 (5), 447–460. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4250.5.3>.

## EK F. cyt-b geni temelli filogenetik analizlerde kullanılan referans diziler

*P. marmoratus*: HF969838 /country="France:Golfe du Lion, Thau"

*P. tortonesei*: HF969857 /country="Tunisia:Bizerta Lagoon"

*P. minutus*: HF969851 /country="Italy:Venezia Lagoon, Venezia"

*P. minutus*: HF969847 /country="France:Golfe du Lion, Berre"

*P. microps*: HF969830 /country="Portugal:Guadiana River"

*N. canestrinii*: HF969852 /country="Italy:Venezia Lagoon, Venezia"

*P. bathi*: KT809430 /country="Montenegro: Adriatic Sea, Becici"

*K. thessala*: KT809431 /country="Greece: Pinios drainage, Litheos River, Trikala"

*K. croatica*: KF415600 TITLE: Molecular phylogenetics of Gobioidae and phylogenetic placement of European gobies, JOURNAL Mol. Phylogenet. Evol. 69 (3), 619-633 (2013)

*K. milleri*: KT809434 /country="Greece: Acheron, River, Ammoudia"

*K. goernerii*: KT809439 /country="Greece: Kerkyra Island, Korission Lagoon"

*K. caucasica*: KT809447 /country="Greece: Volvi Lake, Apollonia"

*K. montenegro*: KT809450 /country="Montenegro: Moraca River, Ponari"

*K. panizzae*: KT809453 /country="Croatia: Adriatic Sea, Privlaka"

*B. affinis*: KF415523 / Direct Submission, Submitted (10-JUL-2013) Department of Life Sciences, The Natural History Museum, Cromwell Road, London SW7 5BD, United Kingdom

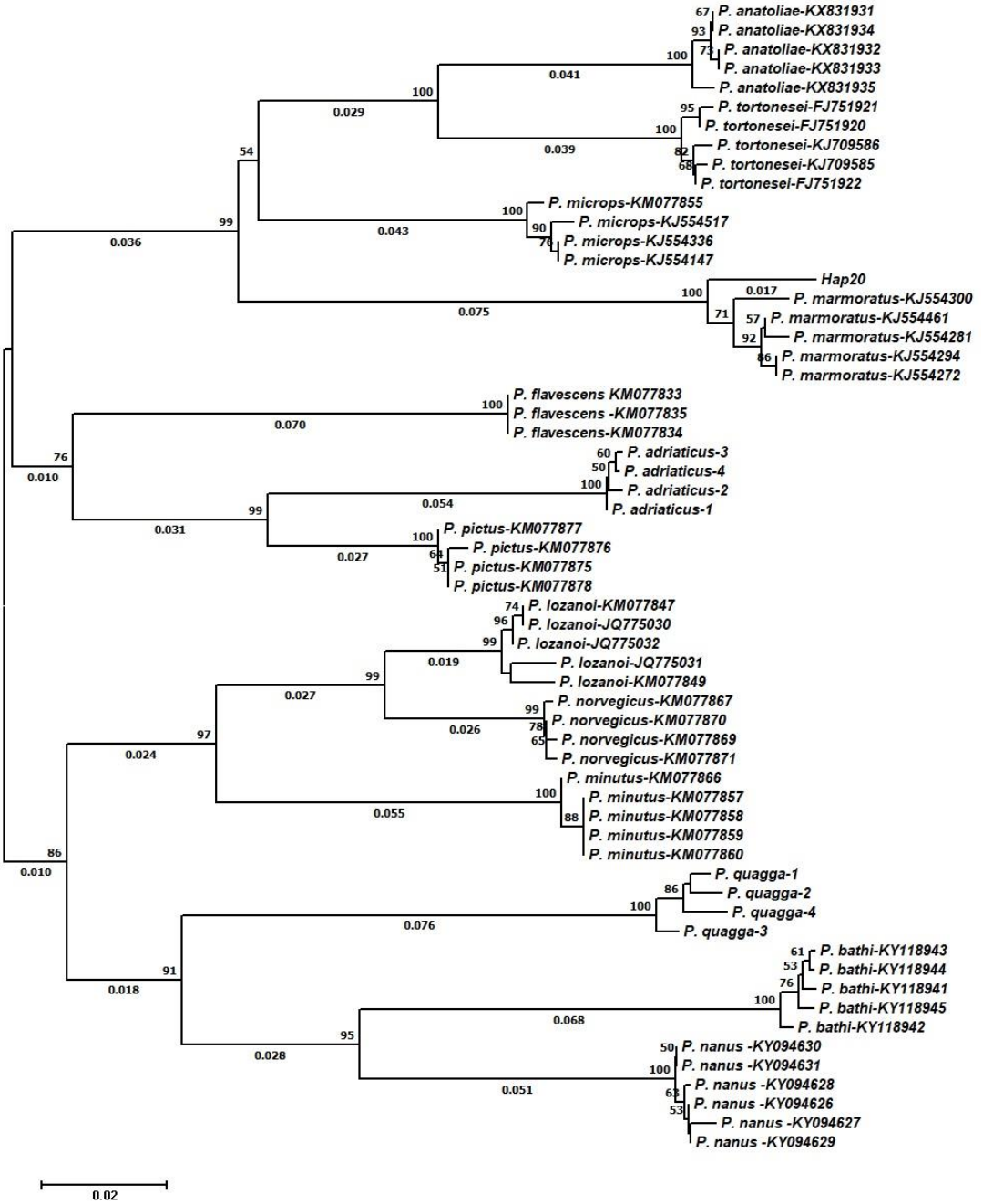
*D. collonianus*: KF415538 /Direct Submission, Submitted (10-JUL-2013) Department of Life Sciences, The Natural History Museum, Cromwell Road, London SW7 5BD, United Kingdom

*S. trigloides*: KF415665 TITLE: Molecular phylogenetics of Gobioidae and phylogenetic placement of European gobies, JOURNAL: Mol. Phylogenet. Evol. 69 (3), 619-633 (2013)

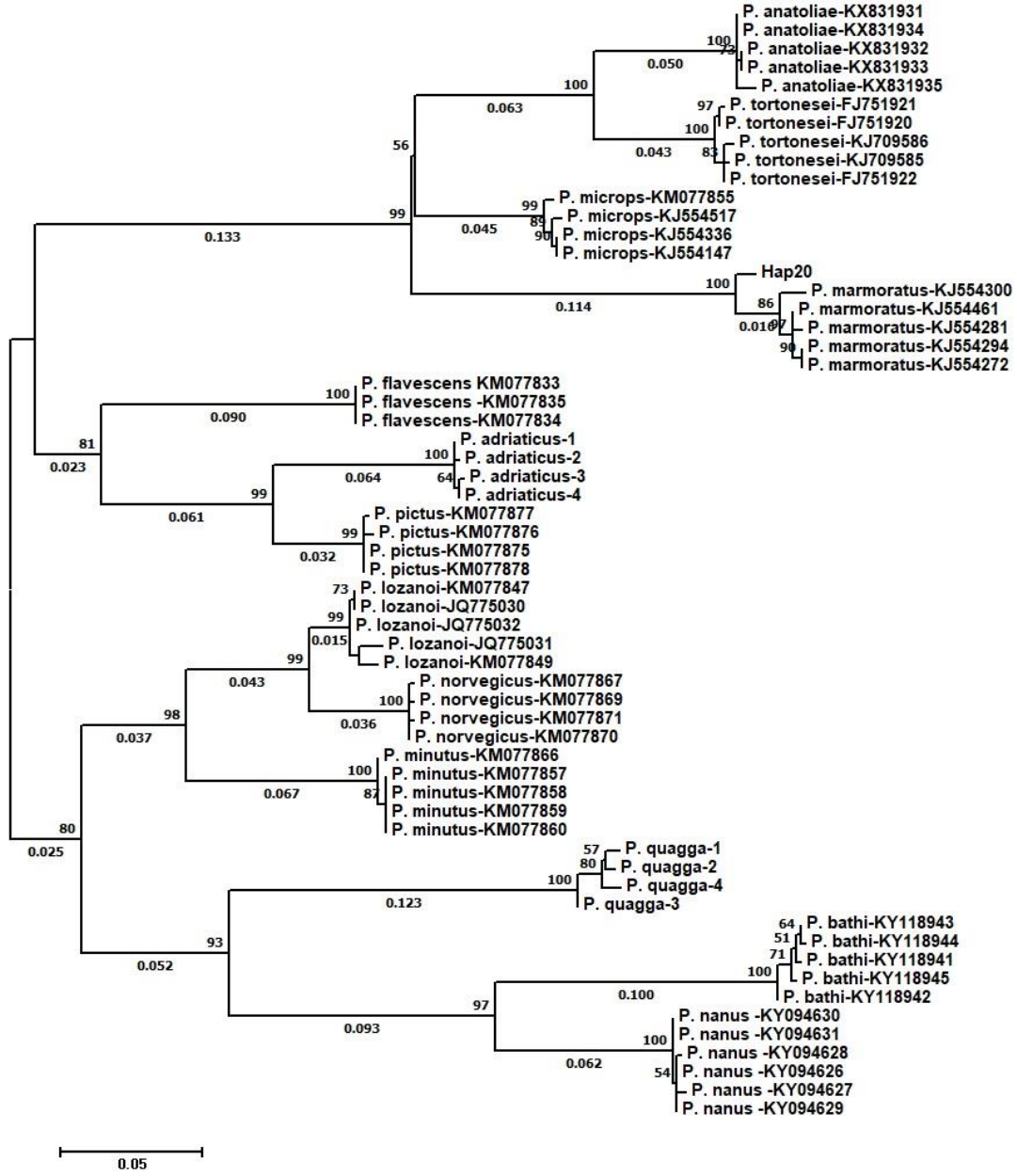
*P. ferreri*: KF415642 TITLE Molecular phylogenetics of Gobioidae and phylogenetic placement of European gobies, JOURNAL: Mol. Phylogenet. Evol. 69 (3), 619-633 (2013)

*E. pygmaeus*: KF415544 TITLE: Molecular phylogenetics of Gobioidae and phylogenetic placement of European gobies, JOURNAL: Mol. Phylogenet. Evol. 69 (3), 619-633 (2013)

EK G. *Pomatoschistus* türleri ile gerçekleştirilen analizlerden elde edilen NJ ağacı (COI)



EK H. *Pomatoschistus* türleri ile gerçekleştirilen analizlerden elde edilen ML ağacı (COI)





**EK I. COI geni temelli filogenetik analizlerde *Pomatoschitus* türlerinin K2P ikili uzaklıkları**

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<b>1</b> <i>P. adriaticus</i>												
<b>2</b> <i>P. pictus</i>	0,079											
<b>3</b> <i>P. quagga</i>	0,207	0,195										
<b>4</b> <i>P. anatoliae</i>	0,198	0,176	0,220									
<b>5</b> <i>P. nanus</i>	0,180	0,166	0,178	0,227								
<b>6</b> <i>P. bathi</i>	0,208	0,205	0,162	0,216	0,127							
<b>7</b> <i>P. microps</i>	0,178	0,157	0,196	0,106	0,213	0,219						
<b>8</b> <i>P. lozanoi</i>	0,172	0,130	0,163	0,190	0,155	0,181	0,166					
<b>9</b> <i>P. minutus</i>	0,199	0,170	0,153	0,225	0,166	0,189	0,173	0,106				
<b>10</b> <i>P. norvegicus</i>	0,187	0,152	0,159	0,192	0,171	0,180	0,174	0,043	0,103			
<b>11</b> <i>P. tortonesei</i>	0,192	0,156	0,243	0,095	0,203	0,228	0,116	0,209	0,221	0,199		
<b>12</b> <i>P. marmoratus</i>	0,204	0,200	0,226	0,144	0,214	0,211	0,128	0,227	0,235	0,209	0,151	
<b>13</b> <i>P. flavescens</i>	0,130	0,120	0,196	0,186	0,167	0,190	0,173	0,163	0,172	0,163	0,169	0,169

## ÖZGEÇMİŞ

**Adı Soyadı:** Dilruba SEYHAN ÖZTÜRK

**Doğum Yeri ve Tarihi:** Ünye/ ORDU- 13/03/1989

**T.C. Kimlik No:** 26312450968

**E-mail:** seyhandilruba@gmail.com

Derece	Bölüm/Program	Üniversite	Yıl	Derece/ GPA
Lisans	Su Ürünleri	Mustafa Kemal Üniversitesi	2007- 2011	3.51/4
Y. Lisans	Su Ürünleri Anabilim Dalı	Mustafa Kemal Üniversitesi	2011- 2013	98.5/100
Doktora	Su Ürünleri Anabilim Dalı	İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi	2013-2019	3.70/4.00

**Yüksek Lisans Tez Başlığı:** Türkiye Denizleri'nde Bulunan Scombridae Familyasına ait Türlerin Filogenetiği

## ÖDÜLLER/ PROJELER

**Haziran, 2011.** Mustafa Kemal Üniversitesi Yüksek Onur Öğrencisi

**2009, Güz Yarıyılı.** Erasmus Öğrenim Hareketliliği

### A. Ulusal Projeler

**Araştırmacı;**

Fethiye Bölgesi Kıyısal Ekosisteminde Kriptobentik ve Epibentik İhtiyofaunanın Belirlenmesi İKÇÜ-BAP- 2018-GAP-SUÜF- 0004 (2018- Devam ediyor).

Lesepsiyen cüce balan balığı *Torquigener flavimaculosus* Hardy & Randall, 1983'un bazı biyo-ekolojik özelliklerinin araştırılması İKÇÜ-BAP- 2018-GAP-SUÜF- 0006 (2018- Devam ediyor).

Kıyusal Bölge Balık Biyoçeşitliliğinin Görsel Sayım Yöntemiyle Belirlemede, Açık Devre (Scuba) İle Kapalı Devre (Rebreather) Dalış Sistemlerinin Verimliliğinin Karşılaştırılması. İKÇÜ-BAP- (2016-2017).

Küresel İklim Değişikliği Sonunu Akdeniz'e Göç Eden Lesepsiyen Türlerin Stok Yoğunluğunun ve Endemik Türlerle Olan Etkilerinin Araştırılması TAGEM Projesi, Proje No: TAGEM-09/AR-GE-11 (2009-2012)

Karadeniz Kıyılarında Dağılım Gösteren *Pomatoschistus* (Gobiidae, Cuvier, 1816) Cinsine ait Türlerin Moleküler Filogenisi. İKÇÜ-BAP- 2014-1-ÖDÜL-40 (2015-2016).

Doğu Akdeniz'de Dağılım Gösteren Lesepsiyen Balıklar. İKÇÜ/BAP-2014-SUÜ-08 (2015-2017).

### **Bursiyer;**

Güney Karadeniz Kıyusal Ekosisteminde Kriptobentik ve Epibentik İhtiyofaunanın Belirlenmesi TÜBİTAK 1001, PROJE NO: 112T924 (2013-2015)

Türkiye Denizlerinde Bulunan Palamut *Sarda sarda* (Bloch, 1793) Popülasyonlarının Genetik Yapı Analizi, TUBİTAK 1001, PROJE NO: 111T481 (2011-2013).

### **ESERLER**

#### **A.Science Citiation Index Expanded (SCI-Expanded) Kapsamındaki Dergilerde Yayımlanan Makaleler:**

**Seyhan Öztürk, D. & Engin, S.** 2019. Taxonomic status of the Mediterranean endemic goby *Pomatoschistus adriaticus* Miller, 1973 inferred with genetic data. *Zoology in the Middle East*, 65(2): 142–150

Engin, S. & **Seyhan, D.** 2017. A new species of *Pomatoschistus* (Teleostei, Gobiidae): the Mediterranean's smallest marine fish. *Journal of Fish Biology*, 91, 1208–1223

Engin S., Oruç, A.Ç., **Seyhan, D.** 2017. New records of *Speleogobius trigloides* Zander & Jelinek, 1976 and *S. llorisi* Kovačić, Ordines & Schliewen, 2016 (Osteichthyes:Gobiidae) in the Aegean Sea. *J Appl Ichthyol.* 00:1–3.

**Seyhan, D.**, Irmak, E., Fricke, R. 2017. *Diplogrammus randalli* (Pisces:Callionymidae), a new Lessepsian migrant recorded from the Mediterranean Sea. *Mediterranean Marine Science* DOI: 10.12681/mms.1948 (Baskıda).

Engin, S., Irmak, E., **Seyhan, D.**, Keskin, A.C., Akdemir, T. 2016. Gobiid fishes of the Northeastern Aegean Sea. *Marine Biodiversity*. DOI 10.1007/s12526-016-0550-x

Engin, S., Irmak, E., **Seyhan, D.** 2016. New record of the thermophilic *Cephalopholis taeniops* (Osteichthyes: Serranidae) in the Aegean Sea. *Zoology in the Middle East*. 62(2):184-186.

Engin, S., Keskin, A.C., Akdemir, T., **Seyhan, D.** 2015. Occurrence and new geographical record of Striped Seabream *Lithognathus mormyrus* (Linnaeus, 1758) in the Turkish Coast of Black Sea. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 15: 937-940.

Irmak, E., Engin, S., **Seyhan, D.**, Özden, U. 2015. First record of the Slender Pony Fish, *Equulites elongatus* (Günher ,1874) (Osteichthyes: Leiognathidae) from the Turkish Coast of Levantine Sea. *Zoology in the Middle East*, Vol. 61 (4): 386-388.

Engin, S., Keskin, A.C., Akdemir, T., **Seyhan, D.** 2014. First record of the *Buenia affinis* Iljin, 1930 (Gobiidae) from the Aegean Sea and Sea of Marmara. *Zoology in the Middle East* 60 (4): 368-371.

#### **B. Uluslararası hakemli dergilerde yayımlanan makaleler:**

**Seyhan, D.**, Turan, C. 2016. DNA Barcoding of Scombrid Species in the Turkish Marine Waters. *Journal of Black Sea/ Mediterranean Environment*. 22(1): 35-45.

Engin, S., **Seyhan, D.**, Akdemir, T., Keskin, A.C. 2015. New distribution data of the two cryptobenthic gobiid fishes (Gobiidae) from Turkish coasts. Journal of Black Sea/ Mediterranean Environment 22(1): 110-118.

Turan, C., Gürlek, M., Yağlıoğlu, D., **Seyhan, D.** 2011. A new alien jellyfish species in the Mediterranean Sea- *Aequorea globosa* Eschscholtz, 182 (*Cnidaria: Hydrozoa*). Journal of Black Sea/ Mediterranean Environment. Vol.17(3): 282-286.

**C. Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında (Proceedings) basılan bildiriler:**

**Seyhan, D.**, Oruç, A.Ç. & Engin S. 2017. Distribution and Some Ecological Features of the Bath's goby *Pomatoschistus bathi* Miller, 1982 along the Turkish coasts. XIII. Congress of Ecology and Environment with international participation UKECEK 12-15 September 2017 / Edirne / 193.

**Seyhan, D.**, Oruç, A.Ç. & Engin S. 2017. Callionymid species of the Turkish Seas with a the third Lessepsian Migrant Record. XIII. Congress of Ecology and Environment with international participation UKECEK 12-15 September 2017 / Edirne /196.

Oruç, A.Ç., **Seyhan, D.** & Engin, S. 2017. Morphological comparison of frequently misidentified two Mediterranean pipefish. XIII. Congress of Ecology and Environment with international participation UKECEK 12-15 September 2017 / Edirne /195.

Oruç, A.Ç., Engin, S., **Seyhan, D.** 2016. Balık biyoçeşitliliğini belirlemede elektronik tam kapalı devre dalış teknolojilerinin (eCCR) kullanımı. 19. Sualtı Bilim ve Teknoloji Toplantısı (SBT 2016). 21-23 Ekim 2016/Sinop

**Seyhan, D.**, Engin, S. 2016. Distribution, habitat preference and threats on rare Blenniid Fish *Coryphoblennius galerita* (Linnaeus, 1758) in the Southern Black Sea. SEAB 2016. Symposium on EuroAsian Biodiversity.631p. 23-27 May. Antalya/TURKEY.

Engin, S., **Seyhan, D.**, Irmak, E., Özden, U. 2016. Some ecological features and distribution of the Black Sea Endemic Cling Fish *Diplecogaster euxinica* Murgoci, 1964 (Gobiesocidae). SEAB 2016. Symposium on EuroAsian Biodiversity. 632p. 23-27 May. Antalya/TURKEY.

Irmak, E., Özden, U., **Seyhan, D.**, Engin, S. 2016. Established population of lessepsian dragonet *Synchiropus sechellensis* Regan, 1908 (Callionymidae) in the Northern Levantine Coast. SEAB 2016. Symposium on EuroAsian Biodiversity. 23-27 May. Antalya/TURKEY.

Turan, C., **Seyhan, D.** 2014. Phylogenetic relationship of the nine Scombrid species inferred from the mtDNA sequences analysis of COI. 49<sup>th</sup> European Marine Biology Symposium. 8-12<sup>th</sup> September 2014, St Petersburg, Russia.

Turan, C., Gürlek, M., Ergüden, D., **Seyhan, D.**, Reyhaniye, A.N., Uyan, A. 2013. Microsatellite Loci For Atlantic Bonito *Sarda sarda*. 40<sup>th</sup> CIESM International Congress, 28<sup>th</sup> October -1<sup>st</sup> November 2013, Marseille, France. 704.

Gürlek, M., Yağlıoğlu, D., Özbalcılar, B., Özcan, T., Turan, F., **Seyhan, D.**, Turan, C. 2012. Stomach content analysis of Lessepsian *Apogon quaketti* Gilchrist 1903 (Apogonidae). International Symposium on Fisheries and Aquatic Sciences FABA 2012. 63

**D. Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında basılan bildiriler:**

**Seyhan, D.**, Engin, S., Irmak E., Özden, U. 2015. Protection of Marine Biodiversity. Genomic workshop in Aquaculture. (In Turkish). 11-13 November/Antalya

Irmak, E., Engin, S., Özden, U., **Seyhan, D.**, Akdemir, T. 2015. Lessepsian Apogonid species of Eastern Mediterranean and their distribution. (In Turkish). Ecology Symposium 2015. 6-9 May/Sinop.

Engin, S., Gözler, A.M., Ağırbaş, E., Irmak, E., **Seyhan, D.**, Akdemir, T., Özden, U. 2015. The Endemic Gobiidae species and their distribution in Coastal Ecosystem of Southern Black Sea. (In Turkish). Ecology Symposium 2015. 6-9 May/Sinop.

Turan, F., Güragaç, R., **Seyhan, D.**, Turan, C., 2012. Triploidy Induction by Combination of Caffeine- Thermal Shock Treatments in the Trout. First National

Workshop on Marine Biotechnology and Geneomics. Published by: Turkish Marine Research Foundation. İstanbul- Turkey, 36: 212-217.

## **YETKİNLİKLER**

### **Bilgisayar**

Windows, Ms Office, Bioedit, Squencher, MEGA, DNAsp, Arlequin, Network, Popart, Peak Scanner gibi genetik paket programları, SPSS istatistik paket programları

### **Yabancı Diller**

İngilizce (İleri seviye) – ÜDS: 67.5; IELTS: 6.5; YÖKDİL: 78,5

### **Sertifikalar**

Deney Hayvanları Kullanımı Sertifikası/ Dokuz Eylül Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu – 07/12/2016-674

Türkiye Su Altı Sporları Federasyonu /CMAS 1 Yıldız Dalıcı Belgesi

İSO 22000:2005 Gıda Güvenliği Yönetim Sistemleri -UP2U – 25/05/2010