



T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



YÜKSEK LİSANS TEZİ

MARMARA BÖLGESİ *Clupeonella* (Teleostei: Clupeidae)
POPÜLASYONLARININ GENETİK İLİŞKİLERİNİN DNA
BARKODLAMA YÖNTEMİ İLE İNCELENMESİ

Kemal AYDOĞAN

Biyoloji Anabilim Dalı

Hidrobiyoloji Programı

DANIŞMAN
Prof. Dr. Müfit ÖZULUĞ

Haziran, 2018

İSTANBUL



T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



YÜKSEK LİSANS TEZİ

MARMARA BÖLGESİ *Clupeonella* (Teleostei: Clupeidae)
POPÜLASYONLARININ GENETİK İLİŞKİLERİNİN DNA
BARKODLAMA YÖNTEMİ İLE İNCELENMESİ

Kemal AYDOĞAN

Biyoloji Anabilim Dalı

Hidrobiyoloji Programı

DANIŞMAN
Prof. Dr. Müfit ÖZULUĞ

Haziran, 2018

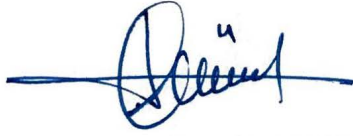
İSTANBUL

Bu çalışma, 6.06.2018 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Biyoloji Anabilim Dalı, Hidrobiyoloji Programında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi



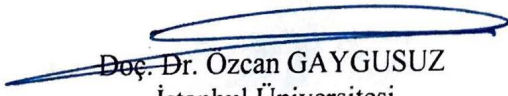
Prof. Dr. Müfit ÖZULUĞ(Danışman)
İstanbul Üniversitesi
Fen Fakültesi



Prof. Dr. Lutfiye ERYILMAZ
İstanbul Üniversitesi
Fen Fakültesi



Prof. Dr. Nagihan GÜLSOY
Marmara Üniversitesi
Fen-Edebiyat Fakültesi



Doç. Dr. Özcan GAYGUSUZ
İstanbul Üniversitesi
Su Bilimleri Fakültesi



Dr. Öğr. Üyesi Vahap ELDEM
Üniversite
Fen Fakültesi

20.04.2016 tarihli Resmi Gazete’de yayımlanan Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin 9/2 ve 22/2 maddeleri gereğince; Bu Lisansüstü teze, İstanbul Üniversitesi’nin aboneli olduğu intihal yazılım programı kullanılarak Fen Bilimleri Enstitüsü’nün belirlemiş olduğu ölçütlere uygun rapor alınmıştır.

Bu tez, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yürütücü Sekreterliğinin FYL-2016-21482 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

ÖNSÖZ

Öncelikle bu alanda bir çalışma yapabilmem adına desteğini benden esirgemeyen değerli hocam, danışmanım Prof. Dr. Müfit Özuluğ'a en içten saygı ve sevgilerimle teşekkür ederim.

Yüksek lisans hayatım boyunca motivasyonumu sürekli yüksek tutmamı sağlayan değerli hocam Araş. Gör. Dr. Emre Yemişken'e, tezim için gerekli olan tüm genetik analizleri yapabilmemi sağlayan, bilgi birikimini, laboratuvarını ve tüm imkanlarını benden esirgemeyen Ankara Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesinden, değerli hocam Doç. Dr. Emre Keskin'e, yüksek lisans eğitim ve öğrenimim boyunca öğrendiğim her şey için başta değerli hocam Prof. Dr. Lütfiye Eryılmaz olmak üzere Hidrobiyoloji anabilim dalındaki tüm hocalarıma, tüm arazi çalışmalarımdaya yanımda olan değerli arkadaşım Mert Kesiktaş'a,

Hayatım boyunca her anlamda desteklerini benden esirgemeyen sevgili annem Hülya Aydoğan'a ve sevgili babam Ali Aydoğan'a,

Ve çok değerli eşim, yoldaşım Gaye Aydoğan'a sonsuz teşekkürlerimle.

Haziran 2018

Kemal AYDOĞAN

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖNSÖZ	iv
İÇİNDEKİLER.....	v
ŞEKİL LİSTESİ	vi
TABLO LİSTESİ.....	vii
SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ	ix
ÖZET	xi
SUMMARY	xiii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL KISIMLAR.....	4
3. MALZEME VE YÖNTEM.....	9
3.1 MALZEME	9
3.2 YÖNTEM.....	10
3.2.1 Morfometrik Analiz.....	10
3.2.2 PCA Analizi.....	11
3.2.3 Moleküler Analizler.....	11
3.2.3.1 DNA İzolasyonu	11
3.2.3.2 DNA'nın Spektrofotometrik Analizi	12
3.2.3.3 Agaroz Jel Hazırlanması	12
3.2.3.4 Jel Elektroforezi.....	12
3.2.3.5 Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR).....	13
3.2.3.6 DNA Dizi Analizi	14
3.2.3.7 Veri Analizleri.....	14
4. BULGULAR.....	15
4.1 BÖLGELERİNE GÖRE MORFOMETRİK ÖZELLİKLER	20
4.2 FİLOGENETİK ANALİZLER	21
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	28
KAYNAKLAR.....	32
ÖZGEÇMİŞ	37

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

- Şekil 2.1:** Çalışmanın yapıldığı bölgelerden elde edilen *Clupeonella* bireyleri (A: Terkos Gölü, B: Büyükçekmece Gölü, C: Küçükçekmece Lagünü, D: Apolyont Gölü, E: Sapanca Gölü).4
- Şekil 3.1:** *Clupeonella* örnekleme yapılan göller.10
- Şekil 4.1:** *Clupeonella* popülasyonlarına ait morfometrik ölçüm sonuçlarına göre yapılan PCA analizi.21
- Şekil 4.2:** *Clupeonella* popülasyonlarına ait nükleotid dizileri. Aynı olan nükleotidler nokta ile, değişkenlik gösteren nükleotidler harf ile, Parsimony anlamlı (Swofford, 2002) bölgeler sarı renk ile gösterilmiştir.23
- Şekil 4.3:** *Clupeonella* popülasyonlarından elde edilen veri setine göre oluşturulan filogenetik ağaç.27

TABLO LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 3.1: Polimeraz zincir reaksiyonu prosedürü.	13
Tablo 4.1: Küçükçekmece Lagünü'nde yaşayan <i>Clupeonella cultriventris</i> popülasyonuna ait morfometrik ölçüm değerleri (MİN; minimum değer, MAKS; maksimum değer, STD; standart sapma değeri).....	15
Tablo 4.2: Küçükçekmece Lagünü'nde yaşayan <i>Clupeonella cultriventris</i> popülasyonuna ait meristik sayım değerleri.	16
Tablo 4.3: Büyükçekmece Gölü'nde yaşayan <i>Clupeonella cultriventris</i> popülasyonuna ait morfometrik ölçüm değerleri (MİN; minimum değer, MAKS; maksimum değer, STD; standart sapma değeri).	16
Tablo 4.4: Büyükçekmece Gölü'nde yaşayan <i>Clupeonella cultriventris</i> popülasyonuna ait meristik ölçüm değerleri.....	17
Tablo 4.5: Terkos Gölü'nde yaşayan <i>Clupeonella cultriventris</i> popülasyonuna ait morfometrik ölçüm değerleri (MİN; minimum değer, MAKS; maksimum değer, STD; standart sapma değeri).	17
Tablo 4.6: Terkos Gölü'nde yaşayan <i>Clupeonella cultriventris</i> popülasyonuna ait meristik ölçüm değerleri.....	18
Tablo 4.7: Sapanca Gölü'nde yaşayan <i>Clupeonella cultriventris</i> popülasyonuna ait morfometrik ölçüm değerleri (MİN; minimum değer, MAKS; maksimum değer, STD; standart sapma değeri).	18
Tablo 4.8: Sapanca Gölü'nde yaşayan <i>Clupeonella cultriventris</i> popülasyonuna ait meristik ölçüm değerleri.....	19
Tablo 4.9: Apolyont Gölü'nde yaşayan <i>Clupeonella cultriventris</i> popülasyonuna ait morfometrik ölçüm değerleri (MİN; minimum değer, MAKS; maksimum değer, STD; standart sapma değeri).	19
Tablo 4.10: Apolyont Gölü'nde yaşayan <i>Clupeonella cultriventris</i> popülasyonuna ait meristik ölçüm değerleri.....	20
Tablo 4.11: Veri setinin nükleotid kompozisyonu.	24
Tablo 4.12: Veri setinin Transisyon/Transversiyon oranı.	24
Tablo 4.13: Veri setinin analizi sonucunda oluşan kodonlar, frekansları ve RSCU oranları.....	25

Tablo 4.14: Nükleotid substitisyon modellerinin BIC ve AICc değerleri.....	26
Tablo 4.15: Veri setine göre oluşturulan genetik uzaklık değerleri.....	27

SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ

Simgeler **Açıklama**

µl	: Mikrolitre
°C	: Derece Selsiyus
%	: Yüzde birim

Kısaltmalar **Açıklama**

A	: Adenin
Ab	: Anal Yüzgeçte Dallanmış Işınlr
Aub	: Anal Yüzgeçte Dallanmamış Işınlr
C	: Sitozin
Db	: Dorsal Yüzgeçte Dallanmış Işınlr
dk	: Dakika
Dub	: Dorsal Yüzgeçte Dallanmamış Işınlr
G	: Guanin
g	: Ağırlık/Hızlanma kuvveti
gr	: Gram
K2P	: Kimura 2 Parameter
MAKS	: Maksimum Ölçüm Değeri
MIN	: Minimum Ölçüm Değeri
ml	: Mililitre
mm	: Milimetre
ng	: Nanogram
No.	: Numara
Pb	: Pektoral Yüzgeçte Dallanmış Işınlr
PCA	: Temel Bileşenler Analizi
Pelvik b	: Pelvik Yüzgeçte Dallanmış Işınlr
Pelvik ub	: Pelvik Yüzgeçte Dallanmamış Işınlr
Ppt	: Milyonda Bir Birim
Pub	: Pektoral Yüzgeçte Dallanmamış Işınlr
PZR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu

RSCU	: Göreli Eşanlımlı Kodon Kullanımı
Sn	: Saniye
STD	: Standart Sapma Değeri
T	: Timin
U	: Urasil

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**MARMARA BÖLGESİ *Clupeonella* (Teleostei: Clupeidae)
POPÜLASYONLARININ GENETİK İLİŞKİLERİNİN DNA BARKODLAMA
YÖNTEMİ İLE İNCELENMESİ**

Kemal AYDOĞAN

İstanbul Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Müfit ÖZULUĞ

Bu çalışmada Marmara Bölgesi'nde dağılım gösteren *Clupeonella* cinsinin genetik ve morfolojik tanımlamalarının gerçekleştirilmesinde DNA barkodlama yöntemi, morfolojik ve meristik karakterlerden yararlanılmıştır. Çalışma kapsamında Marmara Bölgesi'nden beş farklı gölden elde edilen bireylerin DNA barkodlama yöntemi ile tür içi ve türler arası genetik uzaklıklarının hesaplanması gerçekleştirilerek morfolojik ve meristik karakterlerle karşılaştırılması yapılmıştır.

Çalışmada DNA barkodlama yapılabilmesi için Terkos Baraj Gölü, Büyükçekmece Baraj Gölü, Küçükçekmece Lagünü ve Sapanca Gölü'nde yaşayan *Clupeonella* popülasyonlarından sade ağlarla canlı bireyler elde edilmiştir. Ayrıca morfolojik incelemelerde bu popülasyonlara ait daha önceki yıllarda toplanmış müze örneklerinden de yararlanılmıştır. Apolyont Gölü'nden canlı *Clupeonella* bireyi elde edilemediği için Apolyont Gölü popülasyonu üzerindeki incelemeler sadece müze örnekleri üzerinden yapılabilmektedir.

Çalışma sonucunda Terkos Gölü, Büyükçekmece Gölü, Küçükçekmece Lagünü ve Sapanca Gölü'nden yaşayan *Clupeonella* popülasyonlarının birbirleri arasındaki genetik uzaklıkları ile morfolojik ve meristik karakterlerinde görülen benzerlik ve farklılıklar değerlendirilmiştir. Bu dört bölgeden elde edilen bireyler *Clupeonella cultriventris* olarak tayin edilmiştir. Apolyont Gölü'nde yaşadığı bilinen *Clupeonella* popülasyonu morfolojik ve meristik karakterlerine göre değerlendirildiğinde, Neu tarafından 1934 yılında *Clupeonella muhlisi* adı ile farklı bir *Clupeonella* türü olarak yapılan tanımlamanın geçerli olduğu sonucuna varılmıştır.

Haziran 2018, 51 sayfa.

Anahtar kelimeler: *Clupeonella*, DNA barkodlama, Marmara Bölgesi, meristik karakterler, morfolojik karakterler.

SUMMARY

M.Sc. THESIS

INVESTIGATION OF GENETIC RELATIONSHIPS OF *Clupeonella* (Teleostei: Clupeidae) POPULATIONS IN THE MARMARA REGION BY DNA BARCODING METHOD

Kemal AYDOĞAN

İstanbul University

Institute of Graduate Studies in Science and Engineering

Department of Biology

Supervisor : Prof. Dr. Müfit ÖZULUĞ

In this study, genetic and morphological characterization of *Clupeonella* genus distributed in the Marmara region was made by DNA barcoding method and morphological and meristic characters. Within the scope of the study, five different freshwater lakes were selected from the Marmara region and the genetic distances between in species and species to species were calculated by DNA barcoding method of the individuals obtained from these regions and compared with morphological and meristic characteristics.

In the study, live individuals were obtained from *Clupeonella* populations living in Terkos Dam Lake, Büyükçekmece Dam Lake, Küçükçekmece Lagoon and Lake Sapanca. Morphological studies have also benefited from museum samples of these populations collected in previous years. Since no live *Clupeonella* individual could be obtained from Lake Apolyont, the observations on the Apolyont Lake *Clupeonella* population could only be made on museum samples.

As a result of the study, the similarities and differences in the genetic distances and morphological and meristic characteristics of *Clupeonella* populations of Terkos, Büyükçekmece, Sapanca lakes and Küçükçekmece lagoon were evaluated. The individual could not be obtained from the Apolyont lake for genetic analyses. Only morphological and meristic characterization has been made. Individuals from four other areas where land studies were conducted were identified as *Clupeonella cultriventris*. It is concluded that the

Clupeonella population thought to have lived in the lake could represent a different species when evaluated according to morphological and meristic characteristics.

When the population of *Clupeonella* known to live on Apolyont Lake was evaluated according to the morphological and meristic characteristics, it was concluded that the definition made by Neu in 1934 as a *Clupeonella* species with the name of *Clupeonella muhlisi* is valid.

June 2018, 51 pages.

Keywords: *Clupeonella*, DNA barcoding, Marmara region, meristic characters, morphological characters.

1. GİRİŞ

Sucul canlıların geleneksel olarak tanımlanmasında, isimlendirilmesinde ve sınıflandırılmasında morfolojik karakterler kullanılmaktadır. Her ne kadar günümüz taksonomik çalışmalarında anatomik özellikler, fizyolojik özellikler, davranışsal karakterler, izoenzim profilleri ve coğrafik veriler değerlendiriliyor olsa da taksonominin temelini morfolojik karakterler oluşturmaktadır.

Farklı sınıflara bölünmüş grupların aralarındaki benzerlik ve farklılıkların saptanabilmesinde morfolojik karakterler yaygın olarak kullanılmaktadır. Tür farklılıklarını göstermek için yapılmış birçok (Corti ve diğ., 1988; Shepherd, 1991; Haddon ve Willis, 1995; Bembo ve diğ., 1996; Turan, 1999) çalışma literatürde yerini almıştır. Meristik karakterler de birbirinden farklı türlerin belirlenmesi ve tanımlanabilmesi için popülasyonlar arasındaki farklılıkların belirlenmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Ihssen ve diğ., 1981; Casselman ve diğ., 1981; Bookstein, 1982; Bird ve diğ., 1986; Friedland ve Reddin 1994; Turan, 2000).

Günümüzde ihtiyolojide alttür kavramının kaldırılmasıyla birlikte özellikle tatlı su balıkları sistematüğinde oluşan karışıklıklar sonucunda geleneksel yöntemlere destek olarak genetik çalışmaların yapılması hız kazanmıştır. Geleneksel morfolojik taksonomi çalışmalarıyla birlikte bu çalışmaları destekleyici genetik tür tanımlama çalışmaları yapılmakta ve tatlı su balıkları sistematüğinde bizlere farklı bir bakış açısı kazandırmaktadır. Bu çalışmalardan türe özgü genetik profillerin çıkarılması konusunu ele alan DNA barkodlama yöntemi ilk kez 1993 yılında bilim dünyasının çok da dikkatini çekmeyen bir çalışmada (Arnot ve diğ., 1993) kullanılmıştır. Taksonomik çalışmalarla birlikte yürütölen DNA barkodlama çalışmalarının, örnek bireylerin tür seviyesinde tanımlanmalarında sağladığı yararlar ne kadar faydalı olsa da günümüzde ancak destekleyici bir yöntem olarak kullanılmaktadır.

Filogenetik analiz çalışmalarında, DNA barkodlama yöntemi, takson seçiminde yardımcı olmak amacıyla kullanılabildiğı gibi taksonların belirlenmesinde, detaylı filogenetik analiz çalışmalarında, ayrımı zor veya yeni türlerin ortaya çıkarılması amacıyla DNA barkodları moleküler bir araç olarak kullanılmaktadır. DNA barkodlama yöntemini diğör yöntemlerden ayıran en temel özellik tek bir gen bölgesi kullanılarak bütün hayvan türlerine özgü evrensel bir tanımlama yapılabilmesidir (Keskin ve Atar, 2013).

Temelde türe özgü DNA imzası oluşturmak için kullanılan DNA barkodlama, türün tanımlanmasını mümkün kılmak için geliştirilen bir yöntemdir. Bu yöntem organizmanın genomunun küçük parçalarındaki nükleotid çeşitliliğinin tür düzeyinde, türler arasındaki farklılık seviyesinden daha düşük olduğu önermesine dayanmaktadır. Yöntem canlılardan alınan doku örneklerinden DNA izolasyonunun yapılması ile başlar ve PZR ile istenen bölgenin çoğaltılması ve çoğaltılan bölgenin DNA dizi analizinin yapılması ile sonuçlanır. Bu işlemlerden elde edilen DNA dizilerinden barkodlar oluşturularak tür tanımlanmasında kullanılmak üzere veri bankalarına kayıt edilmektedir (Aravind ve diğ., 2007).

Clupeidae familyasında günümüze kadar gelinen süreçte türlerin isimlendirmelerinde çok sayıda değişiklik olmuş ve bu değişiklikler günümüze kadar devam etmiştir (Eschmeyer ve diğ., 2018). Clupeidae familyasından olan *Clupeonella* Karadeniz ve Hazar Denizi havzalarında yaşayan ve iç sulara girebilen bir balık cinsidir. Günümüzde bu havzalardan 7 türü (*Clupeonella abrau* (Maliatsky, 1930), *Clupeonella caspia* Svetovidov, 1941, *Clupeonella cultriventris*, *Clupeonella engrauliformis*, *Clupeonella grimmi*, *Clupeonella muhlisi*, *Clupeonella tscharchalensis*) bilinmektedir (Eschmeyer ve diğ., 2018). Bunlardan Karadeniz Havzası'nda yaşayan türler *C. abrau*, *C. cultriventris* ve *C. muhlisi*'dir.

Mevcut literatür incelendiğinde Marmara Bölgesi'nde Küçükçekmece, Büyükçekmece, Terkos ve Apolyont gölleri *Clupeonella* cinsine ait popülasyonların yaşadığı önemli su kaynakları olarak görülmektedir (Meriç, 1980; Whitehead, 1985; Özüluğ, 2008).

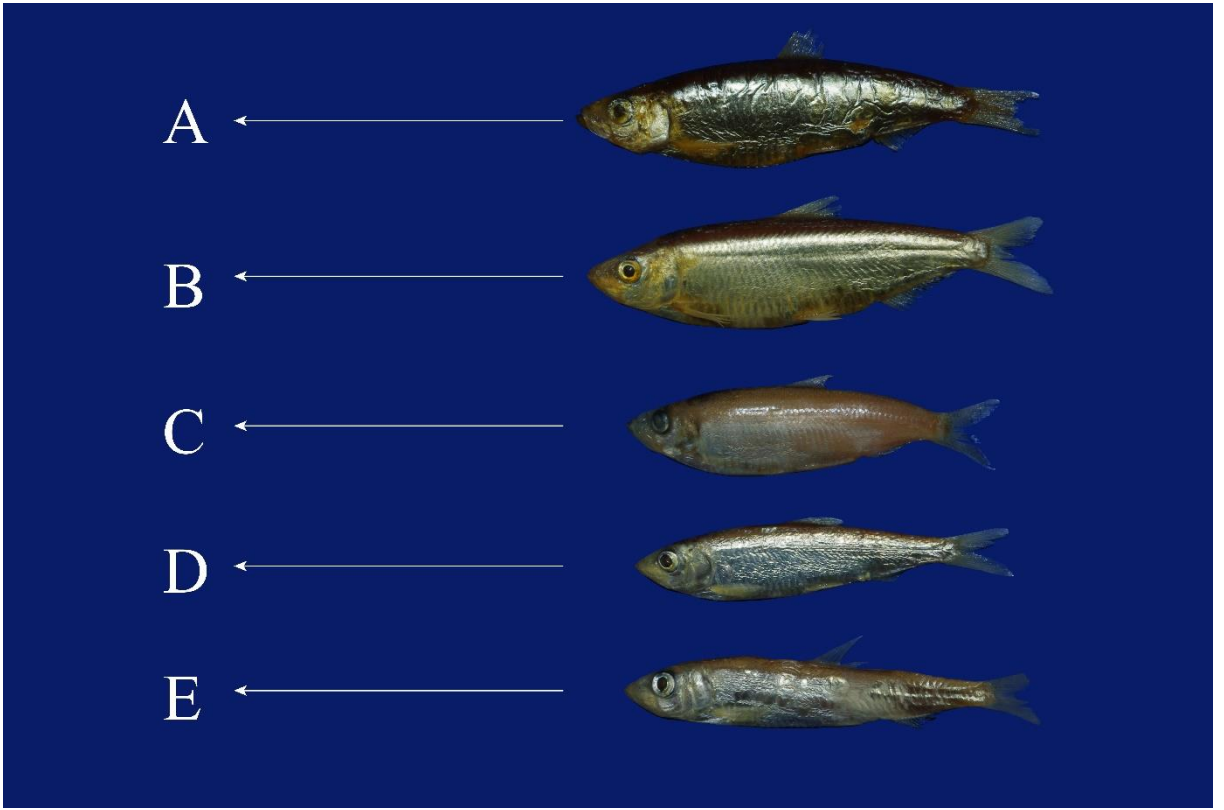
Ülkemiz sularından *Clupeonella* cinsine ait *C. cultriventris* ve *C. muhlisi* türleri rapor edilmiştir (Çiçek ve diğ., 2015). *C. muhlisi* (Neu, 1934) türü Whitehead (1985)'e göre *C. abrau*'nun sinonimi olarak kabul edilmiş fakat, günümüzde geçerli bir tür olarak kabul edilmektedir (Eschmeyer ve diğ., 2018, Çiçek ve diğ., 2015; Ficke ve diğ., 2007; Berber ve diğ., 2011). Bununla birlikte, Marmara Bölgesi'nde yaşayan *Clupeonella* cinsine ait popülasyonlar üzerinde yapılmış ayrıntılı bir sistematik çalışma yoktur.

Bu çalışma ile *Clupeonella* cinsinin Marmara Bölgesi'nde yaşayan tür ve popülasyonlarının moleküler ve morfolojik yöntemlerle ortaya konması ve literatürde karşılaşılan karışıklıkların giderilmesi amaçlanmıştır. Ayrıca Marmara Bölgesi'nde yaşayan *Clupeonella* cinsine ait popülasyonların filogenetik ilişkilerinin DNA barkodlama yöntemi ile ortaya çıkarılarak

günümüze kadar sadece morfolojik karakterler kullanılarak araştırılan *Clupeonella* cinsinin ilk defa genetik farklılıkları da araştırılarak yeni bilgilere ulaşılmıştır.

2. GENEL KISIMLAR

Clupeonella cinsinin genel karakteristik vücut yapısı Berg (1949)'e göre; vücut yanlardan basık, sayıları 24 ile 31 arasında değişen güçlü karinalı pullar gırtlaktan anala kadar uzanır. Anal yüzgecin son iki ışını öndekilerden daha uzundur. Ağız tamamen dişsizdir. Sol klavikülün solungaç boşluğuna bakan dikey kısmı çıkıntısızdır. Alt çene öne doğru çıkıntılıdır. Sayıları 38 ila 64 arasında değişen solungaç dikenleri bulunur. Çalışmanın yapıldığı bölgelerden elde edilen bireyler Şekil 2.1'de gösterilmektedir.



Şekil 2.1: Çalışmanın yapıldığı bölgelerden elde edilen *Clupeonella* bireyleri (A: Terkos Gölü, B: Büyükçekmece Gölü, C: Küçükçekmece Lagünü, D: Apolyont Gölü, E: Sapanca Gölü).

Ülkemizde yaşayan *Clupeonella* türlerinden biri olan *Clupeonella cultriventris* ilk olarak 1840'da Nordmann tarafından *Clupea cultriventris* olarak isimlendirilmiştir. Günümüzde Eschmeyer ve diğ. (2018)'ye göre geçerli isim *Clupeonella cultriventris* olarak bildirilmiştir. *C. cultriventris* türü ülkemizde Karadeniz, Marmara Denizi ve Marmara bölgesindeki Küçükçekmece, Büyükçekmece ve Terkos göllerinden bilinmektedir. Sularımızda yaşayan

ikinci *Clupeonella* türü olan *C. muhlisi* ise sadece Apolyont Gölü'nden bilinmektedir. Bu tür 1934 yılında yayınlandıktan sonra uzun bir süre *C. cultriventris* ve *C. abrau* türlerinin sinonimi olarak kabul edilmiştir. Fakat günümüzde Apolyont Gölü'nde yaşayan *Clupeonella* popülasyonu *C. muhlisi* olarak geçerli tür olarak değerlendirilmektedir. *C. cultriventris* pelajik ve anadrom olup 0-10m derinliklerde bulunur (Riede, 2004). Toplam boy maksimum 15 cm olarak görülmüştür (Hoestlandt, 1991). 10 cm üreme boyudur (Whitehead, 1985). Kış veya sonbaharda beslenme ve yazın ise yumurtlama alanları arasında göç yapar. *C. cultriventris*'in doğal yayılım alanı kuzeybatı Karadeniz ve Azak Denizi ile bu denizlere dökülen nehirler ve lagünlerdir (Kottelat ve Freyhof, 2007). Sürüler oluştururlar ve yaklaşık 34 ppt tuzluluk değerindeki sulara kadar tolerans gösterebilirler.

Balıklar üzerinde gerçekleştirilen DNA barkodlama çalışmaları ticari kaygıların (kota yönetimi, tür doğrulama, stok vb.) artması üzerine başlamıştır. Ardından türlerin ekolojik ilişkilerinin ve evrimsel değişimlerinin ortaya konması için kullanılmaya devam edilmiştir (Ward ve diğ., 2009).

Bugüne kadar gerçekleştirilmiş olan çalışmalardan özellikle balıklar için geliştirilen ve optimizasyonları tamamlanan protokoller oluşturulmuştur. Bunlar arasında yüksek kalitede DNA ekstraksiyonu ve PZR amplifikasyonu (Ivanova ve diğ., 2006, 2007), belirli gruplara özel primer tasarımları (Paine ve diğ., 2007; Ward ve diğ., 2005), primer karışımları (Ivanova ve diğ., 2007) ve taksonomik açıdan daha spesifik primer gerektiren bazı gruplara (Muraneidae ve Elasmobranchii) yönelik PZR protokolleri (Spies ve diğ., 2006) gösterilmiştir.

DNA barkodlama çalışması bütün halde bulunan balık dışında, balıkların; filetolarından, larvalarından, parçalarından, yüzgeçlerinden ve yumurtalarından da gerçekleştirilebilmektedir. Bu tip örneklerin tanımlanması durumunda morfolojik karakterler kullanılamayacağından DNA barkodlama çalışmalarının önemi daha da artmaktadır.

COI geninin standart barkod geni olmasının sebebi birden fazla türün tayininde gösterdiği belirgin ayırım kabiliyeti ve tür içi ile türler arasındaki uzaklığın birbirleriyle asla kesişmediği varyasyon şeklidir (Hebert ve diğ., 2003b). Tür içi ve türler arası çeşitliliklerde kesişme görülmemesi Meyer ve Paulay (2005) tarafından "barkodlama açıklığı" olarak isimlendirilmiş ve DNA barkod genlerin güvenilirliğinde ve hedef isabetlerinde en önemli nokta olarak bildirilmiştir.

Ward ve diğ. (2005), Avustralya'da çoğunluğu deniz balığı olan toplam 207 balık türünün mitokondriyal COI geninin DNA dizilerinin analizini yapmışlardır. Çalışma kapsamında elde edilen tüm türler birden fazla birey ile temsil edilmiş ve toplamda 754 DNA dizisi elde edilmiştir. Tür içi ortalama Kimura-2 parameter genetik uzaklık değeri %0,39 olarak hesaplanmıştır. Tüm türler COI dizilerine göre ayırım göstermiş ve bazı türlerin farklı örnekleri arasında haplotipler tespit edilmiştir.

Hubert ve diğ. (2008) Kanada faunasında bulunan yaklaşık 200 tatlı su balığı üzerinde bir çalışma gerçekleştirmişlerdir. Çalışmada, 190 balık türüne ait 1360 bireyin COI gen bölgesinin 652 baz çiftlik barkod bölgesinin DNA dizi analizleri gerçekleştirilmiştir. Türlerin çoğu ortalama 7 örnek ile temsil edilmiştir. Ortalama Kimura-2 parameter uzaklık türler arasında tahmini %8,3 olarak bulunmuş, tür içerisinde ise %0,3 olarak bulunmuştur.

Kuzeyde, Atlantik ve Akdeniz'de ve Güneyde, Avustralya ve Asya'da ki denizlerden toplanan 15 farklı balık türüne ait toplam 149 örneğin COI barkodlamalarını gerçekleştiren Ward ve diğ. (2008), çalışmada örneklenen türlerden ikisinin kuzey ve güney populasyonları arasında büyük bir farklılık olduğunu tespit etmişlerdir. Bu türler içerisinde birincisi *Lepidopus caudatus* olarak tanımlanmıştır. Güney ile kuzey de yaşayan populasyonlar arasında %2,75 oranında genetik uzaklık saptanmıştır. İkinci tür ise *Zeus faber* olarak tanımlanmıştır. Güney ile kuzey de yaşayan populasyonları arasında %7,44'lük bir genetik uzaklık olduğu belirtilmiştir.

Rasmussen ve diğ. (2009), Kuzey Amerika'da ticari öneme sahip 7 salmon ve alabalık türünün tayin edilebilmesi için DNA barkodlamanın yeterliliğini araştıran bir çalışma gerçekleştirmişlerdir. Geniş bir coğrafik alandan 1000'den fazla salmon ve alabalık örnekleme gerçekleştirmişlerdir. Örneklerin COI geninin standart barkod bölgeleri çoğaltılarak analiz edilmiştir. Tür içi farklılığın en düşük %0,04 ve en yüksek %1,09, farklı cinslerden türler arası farklılığın ise ortalama %8,22 olduğunu bildirmişlerdir.

Steinke ve diğ. (2009) DNA barkodlama yöntemini kullanarak Kanada'nın Pasifik kıyılarından elde ettikleri 201 balık türünün %98'inde ayırım gözlemlemişlerdir. Tür içerisindeki ortalama farklılığı %0,25, aynı cinsten türler arasındaki ortalama uzaklığı ise %3,75 olarak bulmuşlardır.

Valdez-Moreno ve diğ. (2009) Meksika ve Guatemala tatlı su faunasında toplam 600'den fazla balık türü yaşadığını bildirmişlerdir. Bu faunanın üyelerinin DNA dizi analizlerini yapabilmek için 36 farklı cins'ten toplam 61 farklı balık türünün sitokrom COI barkodlarını kullanmışlardır.

Ortalama tür içi farklılığı %0,45, türler arasındaki ortalama farklılığı ise %5,1 olarak tespit etmişlerdir.

Zemlak ve diğ. (2009), Hint Okyanusu'nun iki farklı ucundan hem kıyı hem de açık deniz popülasyonlarını temsil edebilecek toplamda 35 farklı balık türünün popülasyonları arasındaki farkı incelemek için sitokrom COI geninin standart DNA barkod bölgesindeki DNA dizi analizlerini gerçekleştirmişlerdir. Avustralya ile Güney Afrika denizlerinden elde edilen kıyı balıklarının büyük bir bölümünde ortalama %5,10 genetik uzaklık tespit edilmiştir. Fakat açık deniz türlerinde genetik uzaklıkların ortalama %0,26 olarak tespit edildiği ve kıyı balıklarına göre genetik uzaklığın çok düşük olduğu belirtilmiştir.

Ward ve diğ. (2009) daha önce yayınladıkları çalışmalarını (Ward ve diğ. 2005; Ward ve Holmes 2007; Ward ve diğ. 2007; Ward ve diğ. 2008) derleme yaptıkları çalışmalarında toplam 546 balık türüne ilişkin 1677 örneği kapsayan bir analiz gerçekleştirmişlerdir. İç su acı su türlerini de kapsayan fakat çoğunluğunu deniz balıklarının oluşturduğu birden fazla örnek ile temsil edilen 294 türde, Kimura 2 Parameter (K2P)'e göre tür içi ortalama uzaklık %0,35, yine birden fazla örnek ile temsil edilen 102 farklı cinsten, ortalama türler arası uzaklık ise %8,11 olarak hesaplanmıştır.

Lara ve diğ. (2010), Küba'da, 10 familya ve 17 cins altında toplanan daha önce tanımlanmış 27 balık türünü temsil eden 126 birey ile türlerin çeşitliliğinin saptanmasına yönelik gerçekleştirdikleri çalışmada mitokondriyal sitokrom COI geninin 652 baz çiftlik standart barkod bölgesini kullanmışlardır. Kimura-2 parameter kullanılarak gerçekleştirilen analiz sonuçlarına göre, tür içi ortalama genetik uzaklık değeri %0,6 olarak hesaplanmıştır.

Lakra ve diğ. (2011), Hint Okyanusu'ndan örnekledikleri 37 familyadan 79 cins altında olan 115 deniz balığı türüne ait mitokondriyal sitokrom COI barkodlarının ilk kez bu çalışma ile incelendiğini bildirmiştir. Çalışma kapsamında tüm türler birden fazla birey ile temsil edilmiş, 397 farklı DNA dizi verisi ortaya çıkartılmıştır. Araştırmacılar ortalama Kimura-2 parameter'a göre genetik uzaklıklarını sırasıyla tür, cins, familya ve takım içinde; %0,30, %6,60, %9,91 ve %16,00 olarak hesaplamışlardır.

Zhang ve Hanner (2011) Japonya'dan 158 farklı deniz balığı türüne ait 229 sitokrom oksidaz I DNA dizisini analiz etmişlerdir. Tür içi ortalama Kimura-2 parameter genetik uzaklığını %0,3, ortalama türler arası genetik uzaklığı ise %17,6 olarak bulduklarını bildirmişlerdir.

Nwani ve diğ. (2011), Güneydoğu Nijerya'da, 3 farklı nehirden örnekledikleri balıkları morfolojik olarak tanımlamışlar ve 38 cins altında toplanan 70 türe ait 363 örneğe ilişkin barkod kaydı oluşturmuşlardır. Ortalama tür içi genetik uzaklığı %0,17, türler arası ortalama genetik uzaklığı ise %10,29 olarak bildirmişlerdir.

Pereira ve diğ. (2011), Parana havzasından *Piabina argentea* bireylerinin farklı popülasyonlarını saptamak için DNA barkodlama yöntemini kullanmışlardır. Toplam 13 farklı istasyondan elde edilen 58 bireyin analizleri sonucunda 6 farklı *P. argentea* grubu tespit etmişlerdir. Gruplar arası Kimura-2 parameter genetik uzaklık analizleri sonrasında %2 ila %5,6 arasında değişkenlik tespit edilmiş ve bu değerler ortalama tür içi değerlerinden 9 kat daha fazla olarak hesaplanmıştır.

Zhang (2011), Çin'de deniz balıklarının tanımlanmasında mitokondriyal sitokrom COI geninin 652 baz çiftlik standart barkod bölgesi kullanmıştır. Ortalama Kimura-2 parameter genetik uzaklığını türler arasında %15,742, tür içerisinde %0,319 olarak hesaplamıştır.

Keskin ve Atar (2012) Akdeniz, Ege Denizi, Karadeniz ve Marmara Denizi'nden, *Engraulis encrasicolus* türüne ait toplamda 1529 örneğin moleküler analizlerini gerçekleştirmişlerdir. Çalışma kapsamında örnekleme yapılan 16 ayrı popülasyonun genetik farklarını tespit etmeye çalışmışlardır. 19 (%2,9) varyasyon gösteren bölge tespit edilmiş ve ortalama genetik farkı %1,2 olarak hesaplamışlardır.

Keskin ve diğ. (2013), Türkiye iç sularında en çok rastlanan yabancı balık türlerinin (*Carassius auratus*, *Carassius gibelio*, *Gambusia holbrooki*, *Lepomis gibbosus* ve *Pseudorasbora parva*) popülasyonları arasındaki genetik varyasyonların saptanması için bir çalışma gerçekleştirmişlerdir. Çalışma kapsamında mitokondriyal COI gen dizileri kullanılmıştır. Toplamda 145 farklı COI dizisi analiz edilmiş, Kimura-2 parameter genetik uzaklık değeri tür içi ortalama %0,9 ve türler arası %2,09 olarak hesaplanmıştır. Aynı türlerin farklı popülasyonlarına ilişkin COI dizilerindeki genetik çeşitlilik ise ortalama %0,7 olarak hesaplanmıştır.

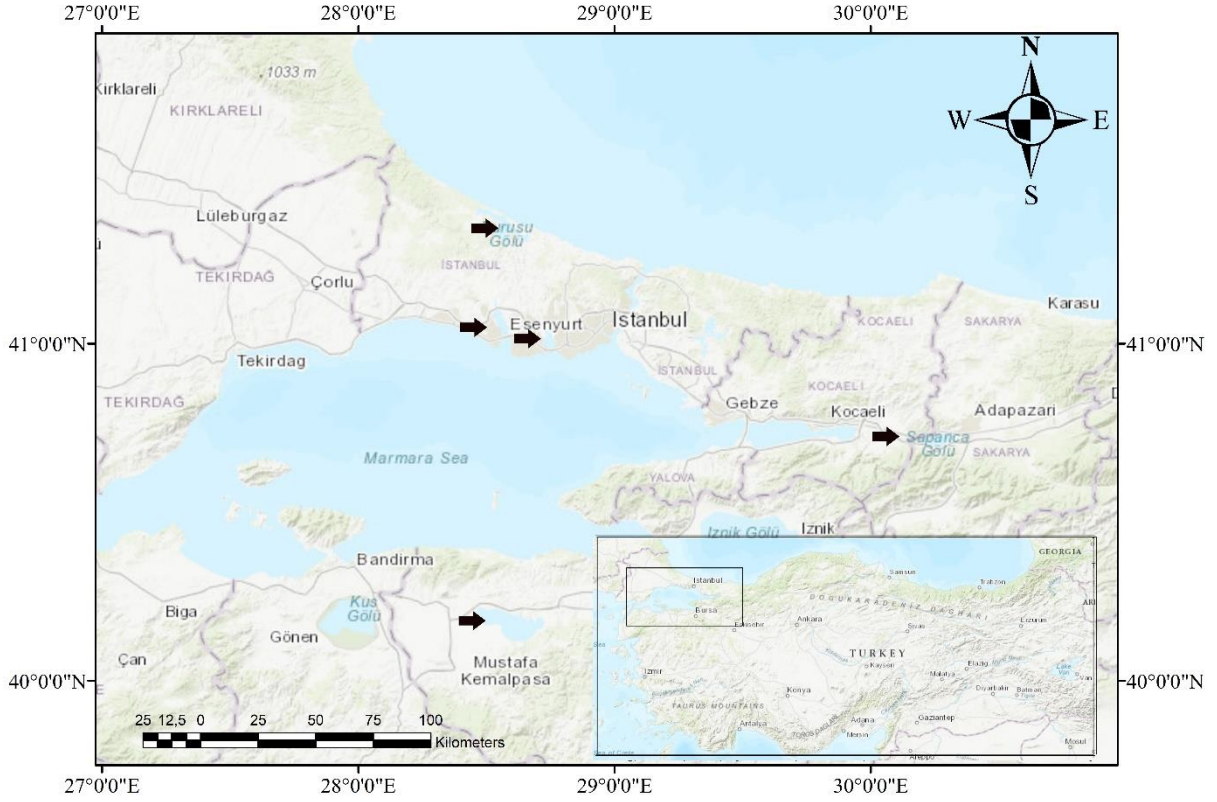
3. MALZEME VE YÖNTEM

3.1 MALZEME

Balık örnekleme, avcılık açısından en verimli olan aylarda yapılmıştır. Balık örneklerinin toplanması amacıyla literatür incelenmiş ve cinsin dağılım alanı olarak tespit edilen, Marmara Bölgesi'nde yer alan Büyükçekmece, Küçükçekmece, Apolyont, Terkos ve Sapanca göllerinde çalışılmıştır (Şekil 3.1).

Balık avcılığında uzatma ağı, elektroşok cihazı ve kepçe kullanılmıştır. 10 mm ağ gözü açıklığına sahip uzatma ağları göle bırakılarak avlanma yapılmıştır. Elektroşok cihazı ile göllerin sığ olan kıyı kesimlerinden balık avlanması gerçekleştirilmiştir. Kepçe ise özellikle Küçükçekmece Lagününün Marmara Denizi ile bağlantı kanalında kullanılmıştır.

Büyükçekmece Gölü'nde örnekleme çalışması 25/04/2016 tarihinde gerçekleştirilmiş olup örnekler fanyalı ağ atan balıkçılardan elde edilmiş ve toplam 11 birey sağlanmıştır. Küçükçekmece Lagünü'nde örnekleme çalışması 03/06/2016 tarihinde gerçekleştirilmiş olup Küçükçekmece Lagününün Marmara Denizi ile bağlantı kanalından balıkçı tarafından kepçe ile yakalanan toplam 26 birey elde edilmiştir. Apolyont Gölü'nde örnekleme çalışması 05/06/2016 ve 28/04/2018 tarihlerinde gerçekleştirilmiş olup göle 10 mm ağ gözü açıklığına sahip uzatma ağı bırakılmış fakat birey elde edilememiştir. Terkos Gölü'nde örnekleme çalışması 24/11/2016 tarihinde gerçekleştirilmiş olup sığ bölgelerde elektroşok cihazı ile Durusu yakınlarında 10 mm ağ gözü açıklığına sahip uzatma ağı ile avlanma denenmiş fakat örnek elde edilememiştir. Balıkçı tarafından elde edilen 3 adet örnek kullanılmıştır. Sapanca Gölü'nde örnekleme çalışması yapılmamış olup balıkçıdan 1 birey alınmıştır. Genetik materyal temini için kullanılan bu örneklerin yanı sıra morfolojik analizlerde kullanılmak üzere İstanbul Üniversitesi Fen Fakültesi Hidrobiyoloji Müzesinde bulunan balık örneklerinden de yararlanılmıştır.



Şekil 3.1: *Clupeonella* örnekleme yapılan göller.

3.2 YÖNTEM

3.2.1 Morfometrik Analiz

Morfolojik çalışmalar için bireyler genetik materyal alındıktan sonra %4'lük formaldehit çözeltisi bulunan saklama kaplarına konularak fikse edilmiştir. Balık örnekleri tamamen fikse olduktan sonra alkol serisinden geçirilerek %70'lik etil alkolde saklanmıştır. Taze örnekler üzerinden mümkün olduğu ölçüde fotoğraflama yapılmıştır. Morfolojik analizlerin yapılmasında müze örneklerinden de yararlanılmıştır. İstanbul Üniversitesi Hidrobiyoloji Anabilim Dalı laboratuvarına getirilen örneklerin boy ölçümleri yapılmıştır. Boy ölçümlerinde 0,1 hassasiyetindeki elektronik kumpas kullanılmıştır. Tüm ölçüm sonuçları için Excel dosyası oluşturulmuştur. Popülasyonlar arasındaki morfolojik farklılıkların ortaya çıkarılması için PCA analizi yapılmıştır.

3.2.2 PCA Analizi

Elde edilen değerler üzerinden Rstudio (Team R., 2015) programında PCA (Principle Component Analysis) analizi yapılmıştır. Bireyler elde edildiği bölgelere göre gruplanmış ve numaralandırılmıştır. Bölgelerden elde edilen birey sayıları birbirlerinden farklı olmadığı için veri setinin normalleştirilmesi geręekleřtirilmiřtir. Ardından .csv formatına dönüştürülen ölçüm değerleri dosyası Rstudio programına aktarılmıştır. Aktarılan dosyanın veri iğeren sütunları matris formatına çevrilmiş ve analiz yapılmıştır.

3.2.3 Moleküler Analizler

3.2.3.1 DNA İzolasyonu

Moleküler analiz için toplanan her bireyden alınan doku örneği, cryovial tüpleri içerisinde %96'lık etil alkolde saklanmıştır. Doku örneklerinin analizi Ankara Üniversitesi Evrimsel Genetik Laboratuvarında geręekleřtirilmiřtir. Örnekler, saf su ile yıkanarak alkolden uzaklaştırılmış ve kağıt havlu yardımıyla kurutulmuştur. DNA izolasyon çalışması için 25 mg'lık doku örnekleri, içinde metal boncuklar barındıran DNase Free ve RNase Free ependorf tüplere konmuş ve Bead Ruptor 12 Homojenizatör cihazına (OMNI international comp.) yerleştirilmiş ve 2 dakika boyunca homojenize edilmiştir. Homojenize edilen karışımın DNA izolasyonunda Gene Matrix BioTrace DNA izolasyon kitinin üretici tarafından belirtilen prosedürü kullanılmıştır. İzolasyon basamakları řu şekilde ilerlemektedir;

1. Spin kolonuna 40 uL aktivasyon tamponu koyulur. Tampon spin kolona aktarılanaya kadar (30 dakika) oda sıcaklığında tutulur. Bu aşama membranın aktivasyonunu sağlamaktadır.
2. DNA örneğine 400 ul Basic tamponu eklenir ve karıştırılır.
3. Basic tampon, oda sıcaklığında bekletilen spin kolona aktarılır.
4. 11000 g'de 1 dakika boyunca santrifüj edilir.
5. Spin kolon çıkartılır, süpernatant kısmı dökülür tekrar spin kolon yerine takılır üzerine 500 uL Wash UX1 tamponu eklenir ve 1 dakika boyunca 11000 g'de tekrar santrifüj edilir.
6. Spin kolonu çıkartılır süpernatant kısmı dökülür ve tekrar spin kolon takılarak üzerine 650 uL Wash UX2 tamponu eklenir 11000 g'de 1 dakika tekrar santrifüj edilir.

7. Spin kolonu çıkartılır süpernatant kısmı dökülür ve tekrar spin kolon takılarak 2 dakika 11000 g'de Wash UX2 tamponunun tamamını ortamdan uzaklaşması için tekrar santrifüj edilir
8. Spin kolon çıkartılır ve yeni alıcı tüpe (1,5-2 ml) yerleştirilir. Bağlanan DNA'yı elemek için üzerine 50-150 uL Elution tamponu eklenir.
9. Spin kolon yeni tüple birlikte oda sıcaklığında 2 dakika inkübe edilir.
10. Tekrar 11000 g'de 1 dakika santrifüj edilir.
11. Spin kolon çıkartılır, alıcı tüp kapatılır. İzole edilmiş DNA analize kadar -20°C'de saklanır.

3.2.3.2 DNA'nın Spektrofotometrik Analizi

İzole edilen DNA'nın miktar ve saflık analizleri nano spektrofotometre'de (Colibri Microvolume Spectro) gerçekleştirilmiştir. DNA konsantrasyonu 260 nm'de 1 OD'nin 50 ng/ml çift zincir DNA'nın absorpsiyon değeri olduğu göz önüne alınarak hesaplanmıştır. DNA'nın saflığını değerlendirirken 260 nm/280 nm ve 260 nm/230 nm değerleri göz önünde bulundurulmuştur.

3.2.3.3 Agaroz Jel Hazırlanması

%1 ve %2 agaroz konsantrasyonlarına sahip 2 ayrı jel hazırlanmıştır. %1 agaroz konsantrasyonuna sahip jel için 100 ml 1X TAE (Tris-Asetat-EDTA), 0.5 µl EtBr (Etidyum bromit), 1gr agaroz kullanılmıştır. Bu karışım için 500 ml hacme sahip erlen kullanılarak mikrodalga fırında çözünene kadar ısıtılmıştır. Karışım homojen hale gelinceye kadar her bir kaynama anında mikrodalga fırından çıkartılarak çalkalanmıştır. Homojen hale gelen çözelti donmak üzere jel tepsinine döküldükten sonra izole DNA'nın yüklenebilmesi için uygun aralıklara sahip tarak yerleştirilmiş ve polimerize olması için 30 dk beklenmiştir. Polimerize olan jel, elektroforez tamponu (1x TAE) tamamen üstünü kapatacak şekilde tank içerisine düzgünce yerleştirilmiştir.

3.2.3.4 Jel Elektroforezi

DNA varlığını görüntülemek için jel elektroforezi yönteminden yararlanılmıştır. %1'lik agaroz jel içerisinde 1X TAE bulunan elektroforez tankına yerleştirilmiş ve 2 µl DNA, 2 µl 6X Loading Dye ile karıştırılarak jele yüklenmiştir. Jel'deki ilk kuyuya biyobelirteç (Solis BioDyne - DNA

Ladder) yüklenerek örnekler 100 voltta 30 dakika yürütülmüş ve görüntülenmek üzere UV görüntüleme sistemine aktarılmıştır. Burada UV ışık altında görüntülenerek bütünlüğü saptanan DNA'nın görüntüsü kontrol edilmiştir. DNA izolasyonunun ardından tüm örneklerle bir DNA indeks numarası verilmiştir.

3.2.3.5 Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)

Sitokrom c oksidaz alt ünite I (COI) geninin PZR ile çoğaltılmasında evrensel HCO (5'-TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA-3') ve LCO (5'-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3') (Folmer ve diğ., 1994) primer çiftleri kullanılmıştır. Tüm PZR aşamalarının optimizasyonları ön bir çalışma ile gerçekleştirilmiştir. Bu optimizasyona göre 5µl Master mix, 0,5µl HCO primeri, 0,5µl LCO primeri ve 17µl saf su içerisine 2µl DNA konmuştur. Negatif kontrol olarak içerisine DNA konmayan karışım kullanılmıştır.

Belirtilen şartlarda gerçekleştirilen reaksiyonlar sonrasında çoğaltılan DNA'lar %2'lik agaroz jele yüklenerek 100 voltta 30 dakika yürütülmüştür. Ardından UV görüntüleme sisteminde uygun bant boyu ve negatif kontrol bakımından değerlendirilerek saflaştırma işlemi öncesinde 4°C'de saklanmıştır. Polimeraz zincir reaksiyonuna ait bilgiler Tablo 3.1'de gösterilmiştir.

Tablo 3.1: Polimeraz zincir reaksiyonu prosedürü.

Hedef Gen/Bölge	COI
Primer Çiftleri	HCO2198/ LCO1490 (Folmer ve diğ. 1994)
Primer Dizileri	F:GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG R:TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA
Çoğaltılan kısım	750 baz çifti
	Termal Döngü
	Reaksiyon Miktarı
	94 °C- 15 dk
	5 µl 5X Master Mix
	94 °C- 15 sn
	0.5 µl F primer
PZR Protokolü	50 °C- 30 sn X 30
	0.5 µl R primer
	72 °C- 2 dk
	2 µl Kalıp DNA
	72 °C- 10 dk
	17 µl F PZR su

3.2.3.6 DNA Dizi Analizi

Safılaştırma ve DNA dizi analizi aşamaları hizmet alımı şeklinde geręekleřtirilmiřtir.

3.2.3.7 Veri Analizleri

Dizilerin kalite kontrolü dizilerin dūřuk kaliteli uęları temizlenerek yapılmıř ve tūm diziler GenBank ve BOLD veri tabanlarından elde edilen referans diziler yardımıyla hizalanmıřtır. Hizalanan dizilerin nūkleotid kompozisyonları yūzde olarak analiz edilmiřtir. Nūkleotid ęifti frekansları her bir tūr ięin analiz edilmiř ve tabloları oluřturulmuřtur.

Kodon kullanımına bakılmıř ve stop kodonun oluřup oluřmadıęı analiz edilmiřtir. Substitūsyon matrisi ve transisyon/transversiyon oranı (R) hesaplamaları yapılmıř BIC (Bayesian Information Criterion) ve AICc (Akaike Information Criterion, corrected) skorlarına bakılmıřtır ve bu skora gōre hangi parametrenin kullanılacaęı deęerlendirilmiřtir. Veri setinin toplam genetik uzaklıęı belirlenmiř kendi aralarındaki en yūksek en dūřuk genetik uzaklıkları ve referansa olan genetik uzaklıkları hesaplanmıřtır. DNA barkodlaması yapılan tūrlerin, tūrler arası ve aynı tūrūn popūlasyonları arasındaki iliřkilerini gōsteren aęaęlar oluřturulmuřtur. Aęaęların gūvenilirlięinin kontrolūnde 1000 tekrarlı bootstrap testlerinden yararlanılmıřtır.

4. BULGULAR

Metrik ve meristik karakterlerin incelenmesi için her popülasyondan 10'ar birey incelenmiştir. Arazi çalışmalarında elde edilen örneklerin yanı sıra İstanbul Üniversitesi Fen Fakültesi Hidrobiyoloji Müzesi'nden sağlanan örneklerde ölçüm ve sayımlarda kullanılmıştır (Tablo 4.1-4.10).

İncelenen materyal: *Clupeonella cultriventris* (Nordman, 1840)

Küçükçekmece Lagünü, 10 birey, 03/06/2016.

Tablo 4.1: Küçükçekmece Lagünü'nde yaşayan *Clupeonella cultriventris* popülasyonuna ait morfometrik ölçüm değerleri (MİN; minimum değer, MAKS; maksimum değer, STD; standart sapma değeri).

STANDART BOYA ORANI (%)	MİN	MAKS	STD
Dorsal baş uzunluğu	14,3	20,45	2,57
Predorsal uzunluk	46,67	52,97	1,79
Prepectoral uzunluk	22,05	24,3	0,71
Prepelvic uzunluk	53,2	56,8	1,48
Preanal uzunluk	72,01	78,95	2,23
Dorsalde vücut yüksekliği	24,98	29,03	1,35
Kaudal pedonkül yüksekliği	7,99	10,55	0,91
Kaudal pedonkül uzunluğu	9,84	11,95	0,69
Pektoral yüzgeç uzunluğu	16,94	18,27	0,48
Pelvik yüzgeç uzunluğu	10,1	12,29	0,77
LATERAL BAŞ BOYUNA ORANI (%)			
Gözden baş yüksekliği	61,21	73,26	4,92
Ensedan baş yüksekliği	77,24	90,68	3,51
Göz çapı	26,91	40,34	4,05
Gözler arası mesafe	12,74	24,8	4,47
Burun uzunluğu	27,17	37,93	4,17
Postorbital uzunluk	35,51	52,59	5,7

Tablo 4.2: Küçükçekmece Lagünü'nde yaşayan *Clupeonella cultriventris* popülasyonuna ait meristik sayım değerleri.

No	Dub	Db	Aub	Ab	Pub	Pb	Pelvik ub.	Pelvik b.	Prepelvik karina	Postpelvik karina
1	3	11	4	15	1	10	1	7	17	10
2	3	12	3	16	1	13	1	7	18	10
3	3	12	2	16	1	13	1	7	18	11
4	3	12	2	16	1	13	1	7	18	11
5	3	11	3	16	1	13	1	7	18	11
6	3	11	3	16	1	13	1	7	18	11
7	3	11	3	16	1	13	1	7	18	11
8	3	11	3	16	1	13	1	7	18	11
9	3	11	3	16	1	13	1	7	18	11
10	3	11	3	16	1	13	1	7	18	11

İncelenen materyal: *Clupeonella cultriventris* (Nordman, 1840)

Büyükçekmece Gölü, 10 birey, 25/04/2016.

Tablo 4.3: Büyükçekmece Gölü'nde yaşayan *Clupeonella cultriventris* popülasyonuna ait morfometrik ölçüm değerleri (MİN; minimum değer, MAKS; maksimum değer, STD; standart sapma değeri).

STANDART BOYA ORANI (%)	MİN	MAKS	STD
Dorsal baş uzunluğu	18,94	21,67	0,81
Predorsal uzunluk	46,16	52,74	2,21
Prepectoral uzunluk	21,62	24,81	0,93
Prepelvic uzunluk	53,04	57,38	1,45
Preanal uzunluk	73,6	79,51	1,8
Dorsalde vücut yüksekliği	25,08	30,25	1,76
Kaudal pedonkül yüksekliği	8,34	9,97	0,54
Kaudal pedonkül uzunluğu	8,57	11,3	0,79
Pektoral yüzgeç uzunluğu	16,4	16,95	0,93
Pelvik yüzgeç uzunluğu	10,9	13,94	0,88
LATERAL BAŞ BOYUNA ORANI (%)			
Gözden baş yüksekliği	55,44	63,97	2,31
Ensedan baş yüksekliği	81,15	87,25	2,14
Göz çapı	29,08	35,8	1,85
Gözler arası mesafe	11,22	21,85	3,31
Burun uzunluğu	26,19	38,24	4
Postorbital uzunluk	35,11	45,48	3,17

Tablo 4.4: Büyükçekmece Gölü'nde yaşayan *Clupeonella cultriventris* popülasyonuna ait meristik ölçüm değerleri.

No	Dub	Db	Aub	Ab	Pub	Pb	Pelvik ub.	Pelvik b.	Prepelvik karina	Postpelvik karina
1	3	11	3	13	1	13	1	7	18	10
2	3	11	3	13	1	13	1	7	18	10
3	3	11	3	17	1	13	1	7	19	8
4	3	11	3	15	1	13	1	7	17	9
5	3	11	3	17	1	13	1	7	17	11
6	3	11	3	16	1	13	1	7	18	10
7	3	11	3	16	1	13	1	7	18	10
8	3	11	3	16	1	13	1	7	18	10
9	3	11	3	16	1	13	1	7	18	10
10	3	11	3	16	1	13	1	7	18	10

İncelenen materyal: *Clupeonella cultriventris* (Nordman, 1840)

Terkos Gölü, 10 birey, 06/06/2001.

Tablo 4.5: Terkos Gölü'nde yaşayan *Clupeonella cultriventris* popülasyonuna ait morfometrik ölçüm değerleri (MİN; minimum değer, MAKS; maksimum değer, STD; standart sapma değeri).

STANDART BOYA ORANI (%)	MİN	MAK	STD
Dorsal baş uzunluğu	19,79	23,26	1,04
Predorsal uzunluk	46,77	51,87	1,52
Prepectoral uzunluk	24,62	26,42	0,57
Prepelvic uzunluk	55,32	59,53	1,32
Preanal uzunluk	75,24	80,34	1,49
Dorsalde vücut yüksekliği	24,2	27,49	1,04
Kaudal pedonkül yüksekliği	8,6	9,96	0,44
Kaudal pedonkül uzunluğu	9,51	12,14	0,82
Pektoral yüzgeç uzunluğu	17,16	20,07	0,82
Pelvik yüzgeç uzunluğu	11,24	13,23	0,77
LATERAL BAŞ BOYUNA ORANI (%)			
Gözden baş yüksekliği	47,04	67,47	8,27
Ensedan baş yüksekliği	64,78	94,26	8,66
Göz çapı	26,58	33,22	1,91
Gözler arası mesafe	12,12	17,02	2,18
Burun uzunluğu	27,09	30,28	0,93
Postorbital uzunluk	31,58	38,07	1,76

Tablo 4.6: Terkos Gölü'nde yaşayan *Clupeonella cultriventris* popülasyonuna ait meristik ölçüm değerleri.

No	Dub	Db	Aub	Ab	Pub	Pb	Pelvik ub.	Pelvik b.	Prepelvik karina	Postpelvik karina
1	3	13	3	16	1	13	1	8	17	8
2	3	13	3	16	1	13	1	8	17	8
3	3	13	3	16	1	13	1	8	17	8
4	3	13	3	16	1	13	1	8	17	8
5	3	13	3	16	1	13	1	8	17	9
6	3	13	3	16	1	13	1	8	17	8
7	3	13	3	16	1	13	1	8	17	8
8	3	13	3	16	1	13	1	8	17	8
9	3	13	3	16	1	13	1	8	17	8
10	3	13	3	16	1	13	1	8	17	8

İncelenen materyal: *Clupeonella cultriventris* (Nordman, 1840)

Sapanca Gölü, 4 birey, 03/05/2003. 5 birey, 15/05/2003. 1 birey, 27/04/2005.

Tablo 4.7: Sapanca Gölü'nde yaşayan *Clupeonella cultriventris* popülasyonuna ait morfometrik ölçüm değerleri (MİN; minimum değer, MAKS; maksimum değer, STD; standart sapma değeri).

STANDART BOYA ORANI (%)	MİN	MAK	STD
Dorsal baş uzunluğu	14,76	24,25	2,76
Predorsal uzunluk	47,54	50,3	0,79
Prepectoral uzunluk	24,76	28,21	0,98
Prepelvic uzunluk	55,43	59,77	1,55
Preanal uzunluk	72,82	79,8	2,01
Dorsalde vücut yüksekliği	16,05	20,75	1,64
Kaudal pedonkül yüksekliği	6,16	7,88	0,49
Kaudal pedonkül uzunluğu	14,63	19,58	1,66
Pektoral yüzgeç uzunluğu	16,74	21,15	1,35
Pelvik yüzgeç uzunluğu	10,35	12,77	0,86
LATERAL BAŞ BOYUNA ORANI (%)			
Gözden baş yüksekliği	52,67	72,2	5,91
Ensedan baş yüksekliği	68,11	85,17	6,25
Göz çapı	31,08	40,62	3,04
Gözler arası mesafe	9,85	22,61	3,88
Burun uzunluğu	29,31	37,07	2,62
Postorbital uzunluk	24,83	44,08	6,4

Tablo 4.8: Sapanca Gölü'nde yaşayan *Clupeonella cultriventris* popülasyonuna ait meristik ölçüm değerleri.

No	Dub	Db	Aub	Ab	Pub	Pb	Pelvik ub.	Pelvik b.	Prepelvik karina	Postpelvik karina
1	3	13	?	?	1	13	1	7	18	9
2	3	13	?	?	1	13	1	7	19	9
3	3	13	3	?	1	13	1	7	18	10
4	3	13	?	?	1	13	1	7	19	9
5	3	13	3	15	1	13	1	7	18	9
6	3	13	3	17	1	13	1	7	18	9
7	3	13	3	18	1	13	1	7	18	9
8	3	13	3	14	1	13	1	7	18	10
9	3	13	3	?	1	13	1	7	18	9
10	3	13	3	?	1	13	1	7	18	9

İncelenen materyal: *Clupeonella muhlisi* (Neu, 1934)

Apolyont Gölü, 10 birey, 24/04/2006.

Tablo 4.9: Apolyont Gölü'nde yaşayan *Clupeonella cultriventris* popülasyonuna ait morfometrik ölçüm değerleri (MİN; minimum değer, MAK; maksimum değer, STD; standart sapma değeri).

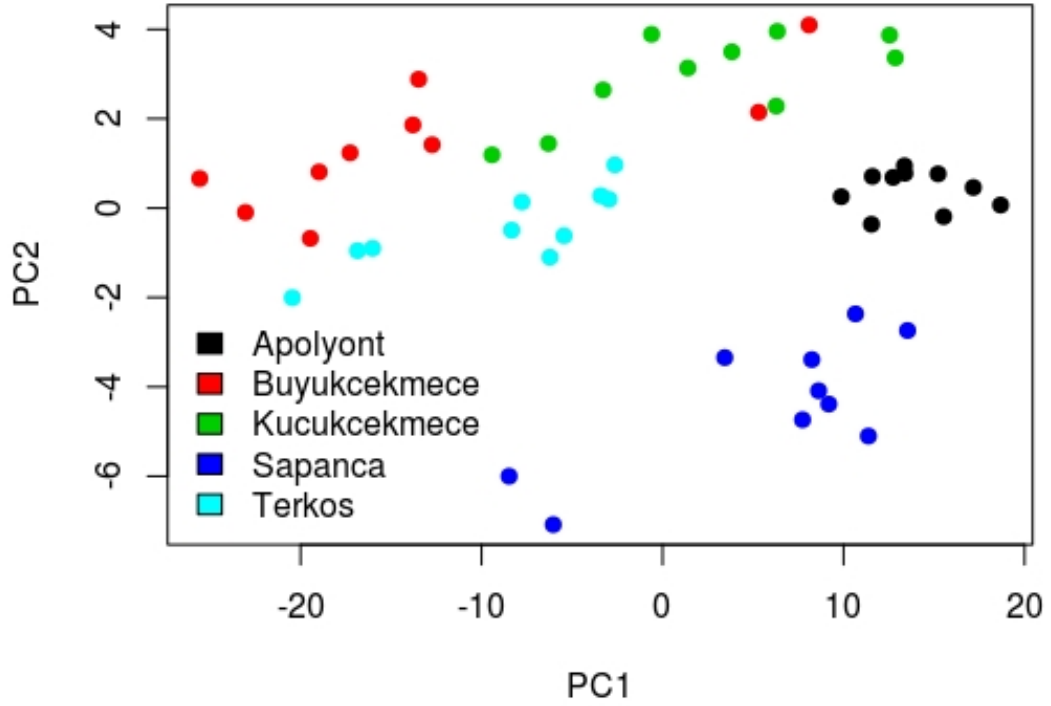
STANDART BOYA ORANI (%)	MİN	MAK	STD
Dorsal baş uzunluğu	16,84	19,21	0,67
Predorsal uzunluk	43,73	49,89	2,03
Prepectoral uzunluk	24,61	26,72	0,63
Prepelvic uzunluk	54,53	57,93	1
Preanal uzunluk	74,7	77,13	0,76
Dorsalde vücut yüksekliği	21,96	26,14	1,21
Kaudal pedonkül yüksekliği	7,23	9,55	0,91
Kaudal pedonkül uzunluğu	16,38	17,69	0,47
Pektoral yüzgeç uzunluğu	17,48	21,74	1,12
Pelvik yüzgeç uzunluğu	11,78	13,52	0,67
LATERAL BAŞ BOYUNA ORANI (%)			
Gözden baş yüksekliği	65,65	74,95	2,46
Ensedan baş yüksekliği	89,32	95,09	4,72
Göz çapı	34,57	41,18	1,84
Gözler arası mesafe	29,31	37,78	2,58
Burun uzunluğu	31,98	39,48	1,83
Postorbital uzunluk	37,52	49,78	4,3

Tablo 4.10: Apolyont Gölü'nde yaşayan *Clupeonella cultriventris* popülasyonuna ait meristik ölçüm değerleri.

No	Dub	Db	Aub	Ab	Pub	Pb	Pelvik ub.	Pelvik b.	Prepelvik karina	Postpelvik karina
1	3	11	1	17	2	13	1	8	16	8
2	3	11	1	17	2	13	1	8	16	8
3	3	11	1	17	2	13	1	8	16	8
4	3	11	1	17	2	13	1	8	16	8
5	3	11	1	17	2	13	1	8	16	8
6	3	11	1	17	2	13	1	8	16	8
7	3	11	1	17	2	13	1	8	16	8
8	3	11	1	17	2	13	1	8	16	8
9	3	11	1	17	2	13	1	8	16	8
10	3	11	1	17	2	13	1	8	16	8

4.1 BÖLGELERİNE GÖRE MORFOMETRİK ÖZELLİKLER

Morfometrik ölçüm sonuçlarına göre yapılan PCA analizinde Sapanca ve Apolyont popülasyonları kendi aralarında gruplanmış olup Büyükçekmece, Küçükçekmece ve Terkos popülasyonlarından farklı noktalarda konumlanmıştır. Büyükçekmece, Küçükçekmece ve Terkos popülasyonları birbiri içine geçmiş popülasyonlar olarak gruplanmışlardır. Sonuçlar Şekil 4.1'de verilmiştir.



Şekil 4.1: *Clupeonella* popülasyonlarına ait morfometrik ölçüm sonuçlarına göre yapılan PCA analizi.

4.2 FİLOGENETİK ANALİZLER

Filogenetik analiz için MEGA 6 (Tamura ve diğ. 2013) programında ortaya çıkan sonuçlarda 615/645 oranında korunmuş bölgeler, 30/645 oranında değişkenlik gösteren bölgeler ve 5/645 oranında Şekil 4.2’de sarı renk ile işaretlenmiş olan anlamlı değişken bölgeler bulunmuştur. Sonuçlar Şekil 4.2’de sunulmuştur.

Terkos 1	C C C C T A A T G A T C G G G G C G C C T G A T A T G G C A T T C C C T C G A A T G A A T A A T
Terkos 2
Terkos 3
Buyukcekmece 1
Buyukcekmece 2
Kucukcekmece 1
Kucukcekmece 2
Sapanca 1
Terkos 1	A T G A G C T T C T G A C T T C T C C C T C C A T C T T T C C T A C T T C T C C T T T C T T T C T
Terkos 2
Terkos 3
Buyukcekmece 1
Buyukcekmece 2
Kucukcekmece 1
Kucukcekmece 2
Sapanca 1
Terkos 1	T C A G G A G T C G A A G C C G G A G C T G G G A C T G G A T G A A C A G T C T A C C C C C C T
Terkos 2
Terkos 3
Buyukcekmece 1
Buyukcekmece 2
Kucukcekmece 1
Kucukcekmece 2
Sapanca 1
Terkos 1	C T G G C A G G G A A T T T G G C C C A C G C T G G A G C A T C A G T T G A T T T A A C G A T C
Terkos 2
Terkos 3
Buyukcekmece 1
Buyukcekmece 2
Kucukcekmece 1
Kucukcekmece 2
Sapanca 1

Domain: Data Coding Codon Start: 1	
Terkos 1	C T A G T G T T T G G T G C C T G A G C G G G A A T G G T A G G C A C A G C C C T G A G T C T A
Terkos 2
Terkos 3
Buyukcekmece 1
Buyukcekmece 2
Kucukcekmece 1
Kucukcekmece 2
Sapanca 1
Terkos 1	C T A A T C C G A G C A G A A C T T A G T C A A C C T G G A G C G A A A A A A A A A A A
Terkos 2
Terkos 3
Buyukcekmece 1
Buyukcekmece 2
Kucukcekmece 1
Kucukcekmece 2
Sapanca 1
Terkos 1	C A G A T C T A C A A T G T T A T C G T T A C T G C A C A T G C C T T C G T A A T G A T T T T C
Terkos 2
Terkos 3
Buyukcekmece 1
Buyukcekmece 2
Kucukcekmece 1
Kucukcekmece 2
Sapanca 1
Terkos 1	T T C A T A G T A A T G C C A A T C C T G A T C G G G G G C T T T G G A A A C T G A C T T A T T
Terkos 2
Terkos 3
Buyukcekmece 1
Buyukcekmece 2
Kucukcekmece 1
Kucukcekmece 2
Sapanca 1

Şekil 4.2: *Clupeonella* popülasyonlarına ait nükleotid dizileri. Aynı olan nükleotidler nokta ile, değişiklik gösteren nükleotidler harf ile, Parsimony anlamlı (Swofford, 2002) bölgeler sarı renk ile gösterilmiştir.

Terkos 1	T T C T C C C T C C A C C T A G C A G G G G T T T C T T C G A T C C T T G G G G C C A T T A A C
Terkos 2
Terkos 3 T
Buyukcekmece 1
Buyukcekmece 2
Kucukcekmece 1 C
Kucukcekmece 2
Sapanca 1
Terkos 1	T T T A T T A C T A C A A T C A T C A A C A T G A A A C C T C C C G C A A T T T C A C A G T A C
Terkos 2
Terkos 3
Buyukcekmece 1
Buyukcekmece 2
Kucukcekmece 1
Kucukcekmece 2
Sapanca 1
Terkos 1	C A A A C A C C C C T A T T T G T T T G A T C T G T C C T T G T T A C A G C T G T C C T C C T T
Terkos 2 C
Terkos 3
Buyukcekmece 1
Buyukcekmece 2 C
Kucukcekmece 1
Kucukcekmece 2
Sapanca 1 G
Terkos 1	C T C C T C T C C C T G C C C G T T C T A G C C G C A A G T A T T A C A A T A C T C C T T A C A
Terkos 2 G
Terkos 3 G
Buyukcekmece 1 G
Buyukcekmece 2 G
Kucukcekmece 1 G
Kucukcekmece 2 G
Sapanca 1 G
Terkos 1	G A C C G A A A T C T C A A T A C G A C T T T C T T C G A C C C A G C A G G A G G G G G A G A C
Terkos 2
Terkos 3
Buyukcekmece 1
Buyukcekmece 2
Kucukcekmece 1
Kucukcekmece 2 T
Sapanca 1
Terkos 1	C C A A T C C T G T A C C A A C A C C T C
Terkos 2 G
Terkos 3 C T T C
Buyukcekmece 1
Buyukcekmece 2
Kucukcekmece 1
Kucukcekmece 2
Sapanca 1

Şekil 4.2 (devam): *Clupeonella* popülasyonlarına ait nükleotid dizileri. Aynı olan nükleotidler nokta ile, değişkenlik gösteren nükleotidler harf ile, Parsimony anlamlı (Swofford, 2002) bölgeler sarı renk ile gösterilmiştir.

Nukleotid kompozisyonunda veri setinin ortalama G/C değeri %48,7, en yüksek G/C oranı %49,1 ve en düşük G/C oranı ise %48,3 olarak hesaplanmıştır. Tablo 4.11’de koyu yazı ile gösterilen en büyük ve en küçük G-C oranları gösterilmiştir.

Tablo 4.11: Veri setinin nükleotid kompozisyonu.

	T	C	A	G	G-C
Terkos 1	28,4	29,0	22,8	19,8	48,8
Terkos 2	28,6	28,9	22,4	20,1	49,0
Terkos 3	28,9	28,6	22,7	19,9	48,4
Buyukcekmece 1	28,6	29,0	22,7	19,7	48,8
Buyukcekmece 2	28,4	29,2	22,7	19,7	48,9
Kucukcekmece 1	28,6	28,9	22,4	20,2	49,1
Kucukcekmece 2	28,9	28,4	22,8	19,9	48,3
Sapanca 1	28,7	28,7	22,7	19,9	48,6
Ortalama	28,6	28,8	22,6	19,9	48,7

Transisyon/Transversiyon oranı hesaplanmış, analiz sonucu Tablo 4.12’de verilmiş, R değeri (Transisyonel iftler/Transversiyonel iftler) 2,60 olarak bulunmuştur.

Tablo 4.12: Veri setinin Transisyon/Transversiyon oranı.

Kodonlar	Eř iftler	Transisyonel iftler	Transversiyonel iftler	R
Ortalama	634,00	6,00	2,00	2,60
1. Kodon	212,00	1,00	0,00	5,00
2. Kodon	214,00	0,00	1,00	0,25
3. Kodon	208,00	5,00	1,00	4,09

Kodon kullanımı analizinde DNA dizilerinin oluşturduğu kodonlar analiz edilmiş ve kodon frekansları ile RSCU (Relative Synonymous Codon Usage) oranları çıkartılmıştır. RSCU oranları gözlenen kodon frekanslarının beklenen kodon frekanslarına oranı olarak hesaplanmıştır. Sonuç Tablo 4.13’de sunulmuştur. Tabloda sarı renk ile işaretli olanlar (UAA, UAG, AGA, AGG) omurgalı mitokondriyal genomdaki stop kodonları temsil etmektedir.

Tablo 4.13: Veri setinin analizi sonucunda oluşan kodonlar, frekansları ve RSCU oranları.

Kodon	Frekans	RSCU	Kodon	Frekans	RSCU
UUU(F)	3,9	0,6	UCU(S)	5	2,09
UUC(F)	9	1,4	UCC(S)	2,1	0,89
UUA(L)	1	0,17	UCA(S)	3	1,25
UUG(L)	1,1	0,19	UCG(S)	1	0,42
CUU(L)	8,9	1,53	CCU(P)	6,1	1,62
CUC(L)	11,1	1,91	CCC(P)	5	1,32
CUA(L)	7,6	1,31	CCA(P)	4	1,06
CUG(L)	5,1	0,88	CCG(P)	0	0
AUU(I)	6,1	0,72	ACU(T)	4	1,23
AUC(I)	11	1,28	ACC(T)	0	0
AUA(M)	2	0,42	ACA(T)	6,9	2,12
AUG(M)	7,5	1,58	ACG(T)	2,1	0,65
GUU(V)	7,8	2,07	GCU(A)	3,6	0,67
GUC(V)	3,4	0,9	GCC(A)	6,4	1,18
GUA(V)	3	0,8	GCA(A)	9,5	1,76
GUG(V)	0,9	0,23	GCG(A)	2,1	0,39
UAU(Y)	0	0	UGU(C)	0	0
UAC(Y)	3,9	2	UGC(C)	0	0
UAA(*)	0	0	UGA(W)	4,9	2
UAG(*)	0	0	UGG(W)	0	0
CAU(H)	1,1	0,58	CGU(R)	0	0
CAC(H)	2,8	1,42	CGC(R)	0	0
CAA(Q)	3,5	1,4	CGA(R)	3	4
CAG(Q)	1,5	0,6	CGG(R)	0	0
AAU(N)	6	1,33	AGU(S)	2,1	0,89
AAC(N)	3	0,67	AGC(S)	1,1	0,47
AAA(K)	1	2	AGA(*)	0	0
AAG(K)	0	0	AGG(*)	0	0
GAU(D)	3,1	0,89	GGU(G)	1,9	0,36
GAC(D)	3,9	1,11	GGC(G)	2	0,38
GAA(E)	2	2	GGA(G)	9,6	1,84
GAG(E)	0	0	GGG(G)	7,4	1,41

Veri setinin filogenetik analizlerinde kullanılacak olan modelin belirlenmesinde MEGA 6 yazılımı kullanılarak belirlenen BIC (Bayesian Information Criterion) skorlarından yararlanılmıştır. Substitisyon matrisine göre BIC (Bayesian Information Criterion) skorunun yanı sıra AICc (Akaike Information Criterion, corrected) skorlarına da bakılmış ve Kimura-2 parametresinin skoru en yüksek sonucu vermiştir. Sonuçlar Tablo 4.14’de verilmiştir. Bundan sonra gerçekleştirilen genetik uzaklık ve filogenetik ağaç çiziminde Kimura-2 parameter modeli kullanılmıştır.

Tablo 4.14: Nükleotid substitisyon modellerinin BIC ve AICc değerleri.

Model	BIC	AICc
Kimura 2	2329,844395	2238,331944
K2+G	2336,327204	2238,284035
K2+I	2336,983616	2238,940448
T92	2338,43788	2240,394711
HKY	2340,891328	2229,789086
JC	2341,104026	2256,12308
K2+G+I	2344,869674	2240,296576
T92+G	2344,895701	2240,322602
T92+I	2346,929753	2242,356655
HKY+G	2347,280426	2229,64983
JC+G	2347,691368	2256,178918
TN93	2347,90442	2230,273823
HKY+I	2349,343575	2231,712978
JC+I	2349,621719	2258,109268
T92+G+I	2353,438174	2242,335932
TN93+G	2354,418037	2230,259874
TN93+I	2355,054347	2230,896184
HKY+G+I	2355,822896	2231,664733
JC+G+I	2356,234598	2258,19143
TN93+G+I	2362,960508	2232,275568
GTR	2371,773413	2234,562486
GTR+G	2377,930112	2234,193987
GTR+I	2379,877031	2236,140906
GTR+G+I	2386,465028	2236,204496

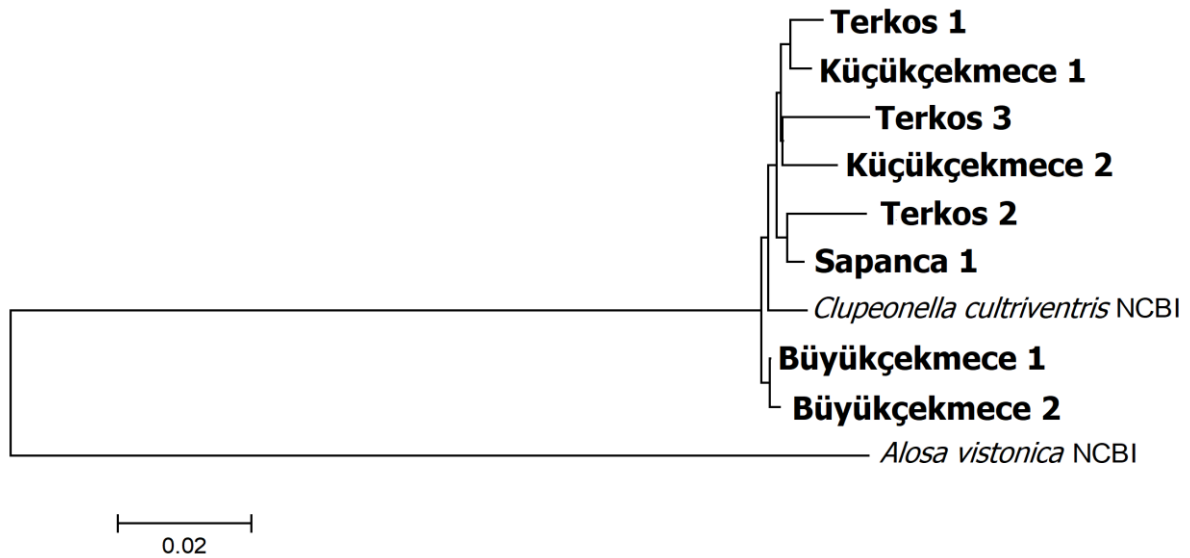
Kısaltmalar: GTR: General Time Reversible; HKY: Hasegawa-Kishino-Yano; TN93: Tamura-Nei; T92: Tamura 3-parameter; K2: Kimura-2 parameter; JC: Jukes-Cantor; +G gama dağılımı; +I evrimsel sabit.

Veri setindeki popülasyonların toplam genetik uzaklıkları hesaplanmış kendi aralarında en yüksek ve en düşük değerleri ile referans diziyeye olan genetik uzaklıkları Tablo 4.15’de verilmiştir. Tablo 4.15’de mavi renk ile belirtilen değerler standart hata değerlerini, koyu renk ile belirtilen değerler en yüksek ve en düşük genetik uzaklık değerlerini göstermektedir.

Tablo 4.15: Veri setine göre oluşturulan genetik uzaklık değerleri.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1 Terkos-1		0,005	0,005	0,004	0,004	0,003	0,005	0,004	0,005	0,020
2 Terkos-2	0,021		0,006	0,005	0,005	0,005	0,006	0,004	0,005	0,021
3 Terkos-3	0,019	0,027		0,005	0,005	0,005	0,005	0,005	0,005	0,020
4 Büyükçekmece-1	0,011	0,016	0,017		0,002	0,004	0,004	0,003	0,004	0,020
5 Büyükçekmece-2	0,013	0,017	0,019	0,002		0,004	0,005	0,003	0,004	0,020
6 Küçükçekmece-1	0,008	0,016	0,017	0,009	0,011		0,004	0,003	0,004	0,020
7 Küçükçekmece-2	0,014	0,022	0,021	0,013	0,014	0,013		0,004	0,005	0,021
8 Sapanca-1 <i>Clupeonella</i>	0,009	0,013	0,016	0,005	0,006	0,008	0,011		0,003	0,020
9 <i>cultriventr</i> is NCBI <i>Alosa vistonica</i>	0,014	0,019	0,021	0,009	0,011	0,013	0,016	0,008		0,020
10 NCBI	0,208	0,219	0,214	0,206	0,206	0,210	0,212	0,208	0,208	

Neighbor joining yöntemi ile çizilen filogenetik ağaçta Terkos 3 olarak isimlendirilmiş bireyin diğerlerinden daha fazla ayrıldığı görülmektedir. Referans dizisi, Büyükçekmece ve Sapanca popülasyonuna daha yakın olup kendi içinde gruplanma sadece Büyükçekmece popülasyonunda görülmektedir. Filogenetik ağaç Şekil 4.3’de verilmiştir.



Şekil 4.3: *Clupeonella* popülasyonlarından elde edilen veri setine göre oluşturulan filogenetik ağaç.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Morfolojik incelemeler sonucunda Marmara bölgesinde dağılım gösteren *Clupeonella* cinsinin farklı popülasyonlarında kimi farklılaşmalar gözlemlenmiştir. Buna en iyi örnek olarak Sapanca ve Apolyont popülasyonlarını temsil eden örnekler gösterilebilir. PCA analizinde verilen sonuca göre Sapanca ve Apolyont popülasyonları belirgin şekilde ayrılmıştır. Büyükçekmece, Küçükçekmece ve Terkos popülasyonları ise birbirleri içerisine geçmiş popülasyonlar olarak gözlemlenmektedir. Mevcut literatür bilgisine göre Apolyont popülasyonu *C.muhlisi* türü olarak adlandırılmakta diğer popülasyonlar *C. cultriventris* türünü temsil etmektedir. Bu çalışmanın bir çıktısı olarak morfolojik değerlendirme yapıldığında Sapanca popülasyonunun da farklı bir türü temsil edebileceği düşünülmektedir.

Çalışma boyunca toplamda 8 farklı genetik materyal elde edilmiştir. Bunlardan 3 tanesi Terkos'dan, 2 tanesi Büyükçekmece'den, 2 tanesi Küçükçekmece'den ve 1 tanesi ise Sapanca Gölü'ndendir. Çalışma boyunca Apolyont Gölü'nden istenilen tür için sürekli olarak genetik materyal elde edilmeye çalışılmış fakat başarılı olunamamıştır. Moleküler analizler COI gen bölgesi üzerinden gerçekleştirilmiştir. DNA barkodlarının oluşturulması için en uygun bölge olduğu düşünülen bu gen bölgesi ülkemizde daha önce yapılan birçok farklı çalışmaya konu olmuştur. Bu gen bölgesinin standart barkod geni olarak kabul görmesinin temel nedeni hem birden fazla tür için gösterebildiği ayırım gücü hem de tür içi farklılıkları ortaya koyabilmesidir. Analiz sonuçlarına göre 645 baz çiftine sahip veri setinde 5 bölgede anlamlı değişken baz çiftlerinin görülmesi popülasyonlar arasında farklılaşmaların olduğunu göstermektedir. Parsimony anlamlı değişkenler hesaplanırken kodonun 3. bazına denk gelen bölgelerde oluşan değişiklikler genellikle transisyonlardır ve aminoasit değişikliği söz konusu değilken kodonun 1. ve 2. bazında oluşan değişikliklerde aminoasit değişikliği görülür. Aminoasit değişimi oldukça nadir görülen ve tür içi farklılaşmanın bir sebebi olarak ifade edilen bir olaydır. Elde edilen sonuca göre değişimler kodonun 3. bazında gözlenmektedir ve bu durum popülasyonlar arasında tür farklılığının gözlenmediğini göstermektedir. Bu 5 bölgeden 2 tanesinin Büyükçekmece popülasyonunda olması ise Büyükçekmece popülasyonunun diğer popülasyonlardan daha fazla farklılaşma gösterdiğini ortaya koymaktadır. Veri setinin ortalama G-C değeri %48,7 olarak bulunmuştur. Balıklarda yapılan DNA barkodlama çalışmalarına bakıldığında bu değer Lakra ve diğ. (2011)'in yaptığı çalışmada %46,74 iken Ward ve diğ. (2005)'nin yaptığı çalışmaya göre de %47,1 olarak ortaya konmuştur. Genel literatür bilgisine

göre bu değer aralığı %47 ila %50 arasında kabul görmektedir. Veri setinin en yüksek ve en düşük yüzde G-C oranlarına da bakıldığında elde edilen sonuçlar balıklar için uygun yüzde G-C arasındadır ayrıca bu çalışmada tek bir tür ile çalışıldığı için en yüksek G-C oranı ve en düşük G-C oranı tek başlarına bir anlam taşımamaktadır. Veri setinin Transisyon/Transversiyon oranı (R değeri) 2,60 olarak hesaplanmıştır. Transversiyon türler arası farklılıkları ya da tür içerisinde oluşan değişiklikleri gösterir ve popülasyonda en az alttür seviyesinde bir farklılaşma gösterir. Transisyon ise doğal olarak gözlenen nokta mutasyonların oluşumunu popülasyonlar arasında meydana gelen bazı ufak değişimleri göstermektedir. Bu çalışmada veri seti tek türü ifade ettiği için Transisyon/Transversiyon oranının 1'den yüksek çıkması beklenmektedir. Elde edilen değerlere bakıldığında Transisyon oranının oldukça yüksek olduğunu ve popülasyonlar arası farklılaşmalar gözlenirken türleşmeye giden bir değişim gözlenmediği net biçimde ifade edilebilir.

DNA barkodlama yönteminin güvenilirliği konusunda duyulan endişelerin başında çalışılan mitokondriyal COI bölgesinin PZR analizi sırasında olası amplifikasyonların meydana gelmesidir. Venkatesh ve diğ. (2006) balıklarda meydana gelen bu amplifikasyonların kolayca tespit edilebileceğini çünkü bu hatalı dizilerin stop kodonlar içerdiklerini bildirmiş ve BOLD veri tabanında yükleme sırasında görülüp sistemin sizi uyardığını bildirmiştir. Mitokondriyal COI geni oksidasyondan sorumludur ve protein kodlayan bir genidir bu sebeple stop kodonunun oluşmaması gerekmektedir. Veri setinin sekansı sonucunda stop kodonun görülmemesi herhangi bir okuma hatasının olmadığını, okumaların güvenli olduğunu ve tüm dizilerin mitokondriyal COI dizilerinden türediği hipotezini doğrulamaktadır.

Balıklarda gerçekleştirilen DNA barkodlama çalışmalarında Kimura-2 parameter altın standart olarak kabul edilmektedir. Veri setinde de literatüre uygun biçimde en uygun model Kimura-2 parameter olarak bulunmuştur (Kimura, 1980).

Veri setinin kendi içindeki genetik uzaklık ortalaması %1,4 olarak bulunmuştur. Ward ve diğ. (2005) çoğunluğu deniz balığı olmak üzere toplam 207 balık türü ile gerçekleştirdikleri çalışmada ortalama tür, cins, familya, takım ve sınıf içi Kimura-2 Parameter modeline göre genetik uzaklıkları sırasıyla %0,39, %9,93, %15,46, %22,18 ve %23,27 olarak hesaplamışlardır. Hubert ve diğ. (2008) Kanada'da 190 farklı tatlı su balığı ile gerçekleştirdikleri çalışmada Kimura-2 Parameter modeline göre tür içi genetik uzaklığı %0,3 olarak tespit etmişlerdir. Rasmussen ve diğ. (2009) Kuzey Amerika'da ticari öneme sahip yedi

salmon ve alabalık türü ile yaptıkları çalışmada tür içi genetik uzaklığı en yüksek %1,09, en düşük %0,04 ve ortalama %0,26 olarak tespit etmişlerdir. Veri setinden elde edilen değer mevcut literatür bilgisine göre türleşme görülmediğini göstermektedir. En yüksek genetik uzaklık değeri %2,7 ile Terkos-2 ve Terkos-3 arasında görülmektedir. Bu sonuca göre Terkos popülasyonunun içerisinde farklı bir ya da birden fazla popülasyonun olabileceğini göstermektedir. Ayrıca Terkos-1, Terkos-2 ve Terkos-3'ün diğer bireylerle olan genetik uzaklıkları ve referans diziye olan genetik uzaklık değeri de dikkate alındığında *Clupeonella cultriventris* türünün Terkos Gölü'nde farklı popülasyonlarla temsil edilebileceğini düşündürmektedir. En düşük genetik uzaklık değeri ise %0,02 ile Büyükçekmece-1 ve Büyükçekmece-2 arasında görülmektedir.

Elde edilen PCA analizi ve Filogenetik ağaç doğrultusunda morfolojik olarak Büyükçekmece, Küçükçekmece ve Terkos bireyleri geniş bir düzlemde iç içe geçmiş popülasyonlar olarak görülürken Sapanca Gölü'nden elde edilen bireyin genetik olarak referans diziye en yakın birey olup morfolojik olarak farklı olduğu görülmektedir. Tür içinde görülen fenotipik varyasyonların sebebi sadece genetik farklılıklara dayalı olmayıp aynı zamanda çevresel farklılaşmanın da etkisi altındadır (Clayton, 1981). Balıklarda görülen fenotipik değişimler ya da farklılaşmalar, onların fizyoloji ve davranışlarında meydana gelen değişimler sayesinde çevresel farklılıklara adapte olabilmelerini sağlamaktadır. Bu değişimler, çevresel farklılaşmanın etkisini en aza indirerek, balıkların üreme, yaşam süreleri ve morfolojilerinde değişimlere yol açmaktadır (Stearns, 1983; Meyer, 1987).

Filogenetik ağaç ve genetik uzaklık analizleri, Marmara bölgesindeki çalışma yapılan bölgelerde *Clupeonella* popülasyonlarında Büyükçekmece ve Terkos olmak üzere 2 farklı popülasyon olduğunu göstermektedir. Büyükçekmece Gölü Karasu Çayı ve onun kolları tarafından beslenmektedir. Geçmişte bir lagün olan göl, 1988 yılında İSKİ'nin yapmış olduğu doldurma çalışmasıyla Marmara Denizi ile bağlantısını yitirmiştir ve günümüzde baraj gölü olarak devamlılığını sürdürmektedir (Karakuyu ve diğ., 2012). Büyükçekmece popülasyonu filogenetik ağaçta da görüldüğü gibi diğer tüm popülasyonlardan ayrılmaktadır (Şekil 4.3). Bunun sebebi Büyükçekmece'nin daha önce zoocoğrafik bariyerle ayrılarak diğer popülasyonlarla gen alışverişini kesmesi ve zaman içerisinde tamamen kendi gen havuzuna sahip olması ile ilişkilendirilebilir. İstanbul'un 15 km batısında bulunan Küçükçekmece Gölü ise lagün özelliğini halen korumaktadır. Küçükçekmece Lagünü son buzul döneminin sonunda

deniz seviyesinde meydana gelen yükselme ile önce bir koy sonra da bir lagün haline dönüşmüştür (Akçer Ön ve diğ., 2012). Marmara bölgesinde dağılım gösteren *Clupeonella* popülasyonları için Terkos Gölü önemli bir yaşam alanı olarak görülmektedir. Terkos Gölü, bir kıyı set gölü, lagün, özelliğinde iken 1800'lü yıllarda Karadeniz'den genişlikleri 250 m ile 5 km arasında değişiklik gösteren kum tepeleri ile ayrılmış ve Karadeniz ile bağlantısı kesilmiştir (Baylan ve Karadeniz, 2006). Terkos popülasyonunun Küçükçekmece ve Sapanca popülasyonu ile ilişkili halde olması Terkos popülasyonunun kurucu popülasyon olması ile ilişkilendirilebilir. Apolyont Gölü'nün Koca çay aracılığı ile Marmara denizi ile bağlantısı bulunmaktadır fakat bu bağlantı yeterli drenajı sağlamamakta ancak bazı özel durumlarda ters yönde gölün beslenmesini sağlamaktadır (Elmacı ve diğ., 2010). Apolyont popülasyonundan genetik veri elde edilemediği için PCA analizine göre değerlendirilmesi yapılmıştır. Apolyont popülasyonuna ait bireylerin morfolojik özellikler bakımından birbirlerine çok benzer ve *C. cultriventris* türünden farklı görülmesi, Neu tarafından 1934 yılında Apolyont popülasyonunu *C. muhlisi* türü olarak değerlendirmesinin doğru olduğunu göstermektedir. Nazik ve diğ. (2011) yaptıkları çalışmada Sapanca Gölü'nden 19 adet çökelti örneğinin fosfor mikrofaunal bileşimi araştırılmıştır. Sapanca Gölü'nün çökellerinde en az bir deniz ostrakod ve iki foraminifer türünün varlığı, bu gölün bir zamanlar (geç kuvarterner) dünya okyanusuna bağlanmış olması gerektiğini doğrulamaktadır. Bu göller ve Akdeniz arasındaki en belirgin ve en eski bağlantı, Gemlik ve İzmit koylarının doğuya doğru uzandığı Marmara Denizi üzerinden olurken, Sapanca Gölü'nün Sakarya Nehri'nin alt kısmına olan yakınlığı, bu nehir vadisi üzerinden Karadeniz ile geçici bir bağlantının olabileceği yönündeki önerileri de desteklemektedir. Bu sebeple Sapanca Gölü halen denizel türlerin de içerisinde yaşadığı bir göl olarak düşünülmektedir. Sapanca popülasyonu morfolojik olarak diğer popülasyonlardan çok farklı olmasına rağmen genetik olarak *Clupeonella cultriventris* referans dizisine en benzer sonucu vermesi çevresel etmenlerin ve sonrasında oluşan zoocoğrafik bariyerin Sapanca Gölü'nde yaşayan popülasyonda morfolojik değişimlere yol açmasına sebep olduğu söylenebilir. Bu çalışma, Marmara popülasyonlarının benzerlik ve farklılıklarını ortaya çıkartarak gelecek çalışmalara bir zemin hazırlamıştır.

KAYNAKLAR

- Akçer Ön, S., Çağatay, N., & Sakiç, M., 2012, Küçükçekmece Lagünü'nde (İstanbul)" Küçük Buzul Çağı" ve "Orta Çağ Ilık Dönemi" çökel kayıtları. *İTÜDERGİSİ/d*, 10(4).
- Aravind, K., Ravikanth, G., Shaanker, R.U., Chandrashekara, K., Kumar, A. R. V., Ganeshaiyah, K. N., 2007, DNA barcoding: An exercise in futility or utility? *Current Science*, 92(9), 1213-1216.
- Arnot, D. E., Roper, C., Bayoumi, R. A., 1993, Digital codes from hypervariable tandemly repeated DNA sequences in the *Plasmodium falciparum* circumsporozoite gene can genetically barcode isolates, *Molecular and biochemical parasitology*, 61(1), 15-24.
- Baylan, E., Karadeniz, N., 2006, Terkos Gölü (İstanbul) örneğinde doğal ve kültürel çevrenin korunması ve geliştirilmesi üzerine bir araştırma. *Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 12(2), 151-161.
- Bembo, D. G., Carvalho, G. R., Cingolani, N., Arneri, E., Giannetti, G., Pitcher, T. J., 1996, Allozymic and morphometric evidence for two stocks of the European anchovy *Engraulis encrasicolus* in Adriatic waters, *Marine Biology*, 126(3), 529-538.
- Berber, S., Hüseyin, Ş., Topkara, E. T., Cengiz, Ö., 2011, Apolyont Gölü (Bursa) balık faunasının belirlenmesi, *Turkish Journal of Aquatic Sciences*, 26(1), 27-55.
- Berg, L. S., 1949 *Freshwater Fishes of the U.S.S.R. and Adjacent Countries*, Volume 3, Israel Program for Scientific Translations 1965 (Translated from Russian), Jerusalem, Israel.
- Bird, J. L., Eppler, D. T., Checkley Jr, D. M., 1986, Comparisons of herring otoliths using Fourier series shape analysis, *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 43(6), 1228-1234.
- Bookstein, F. L., 1982, Foundation of Morphometrics, *Annual Review Ecology Systematics*, 13: 451-470.
- Casselman, J. M., Collins, J. J., Grossman, E. J., Ihssen, P. E., Spangler, G. R., 1981, Lake whitefish (*Coregonus clupeaformis*) stocks of the Ontario waters of Lake Huron, *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 38(12), 1772-1789.
- Clayton, J. W., 1981, The stock concept and the uncoupling of organismal and molecular evolution, *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 38(12), 1515-1522.
- Corti, M., Thorpe, R. S., Sola, L., Sbordoni, V., Cataudella, S., 1988, Multivariate morphometrics in aquaculture: a case study of six stocks of the common carp (*Cyprinus carpio*) from Italy, *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 45(9), 1548-1554.
- Çiçek, E., Birecikligil, S. S., Fricke, R., 2015, Freshwater fishes of Turkey: a revised and updated annotated checklist, *Biharean Biologist*, 9(2), 141-157.

- Elmacı, A., Topaç, F. O., Teksoy, A., Özengin, N., & Başkaya, H. S., 2010, Uluabat Gölü fizikokimyasal özelliklerinin yönetmelikler çerçevesinde değerlendirilmesi. *Uludağ University Journal of The Faculty of Engineering*, 15(1).
- Eschmeyer, W.N., R.Fricke, and R. Van der Laan (eds.), 2018, *Catalaog of Fishes: Genera, Species, References*, Electronic version, (<http://researcharchive.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/fishcatmain.asp>). [Ziyaret tarihi: Mayıs, 2018]
- Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., Lutz, R., Vrijenhoek, R., 1994, DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates, *Molecular Marine Biology And Biotechnology*, 3(5), 294-299.
- Fricke, R., Bilecenoğlu, M., Sarı, H.M., 2007, Annotated checklist of fish and lamprey species (Gnathostomata and Petromyzontomorphi) of Turkey, including a Red List of threatened and declining species. *Stuttgarter Beiträge zur Naturkunde*, 706, 1-169
- Friedland, K. D., Reddin, D. G., 1994, Use of otolith morphology in stock discriminations of Atlantic salmon (*Salmo salar*), *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 51(1), 91-98.
- Haddon, M., Willis, T. J., 1995, Morphometric and meristic comparison of orange roughy (*Hoplostethus atlanticus*: Trachichthyidae) from the Puysegur Bank and Lord Howe Rise, New Zealand, and its implications for stock structure, *Marine Biology*, 123(1), 19-27.
- Hebert, P. D. N., Cywinska, A., Ball, S. L., deWaard, J. R., 2003b, Biological identifications through DNA barcodes, *Proceedings Of The Royal Society B: Biological Sciences*, 270, 313-321.
- Hoestlandt, H., 1991, General introduction to Clupeidae, *The Freshwater Fishes of Europe: Clupeidae, Anguillidae*, 2, 13-31.
- Hubert, N., Hanner, R., Holm, E., Mandrak, N. E., Taylor, E., Burrige, M., Watkinson, D., Dumont, P., Curry, A., Bentzen, P., Zhang, J., April, J., Bernatchez, L., 2008, Identifying Canadian Freshwater Fishes through DNA Barcodes. *Plos one*, 3(6), 2490.
- Ihssen, P. E., Booke, H. E., Casselman, J. M., McGlade, J. M., Payne, N. R., Utter, F. M., 1981, Stock identification: materials and methods. *Canadian journal of fisheries and aquatic sciences*, 38(12), 1838-1855.
- Ivanova, N. V., Dewaard, J. R., Hebert, P. D. N., 2006, An inexpensive, automation-friendly protocol for recovering high-quality DNA, *Molecular Ecology Notes*, 6(4), 998-1002.
- Ivanova N.V., Zemplak T.S., Hanner R.H., Hebert P.D.N., 2007, Universal primer cocktails for fish DNA barcoding, *Molecular Ecology Notes*, 7(4), 544-548.
- Karakuyu, M., Karaburun, A., & Kara, F., 2012, Kentleşmenin Büyükçekmece Gölü havzasındaki arazi kullanım değişimleri üzerindeki etkisinin zamansal analizi, *MARMARA COĞRAFYA DERGİSİ*, 26, ISSN:1303-2429

- Keskin, E., Ağdamar, S., Tarkan, A.S., 2012, DNA Barcoding Common Non-Native Freshwater Fish Species in Turkey: Low Genetic Diversity but High Population Structuring, *Mitochondrial DNA*, 24(3), 276-287.
- Keskin, E., Atar, H.H., 2012, Genetic Structuring of European Anchovy (*Engraulis encrasicolus*) Populations through Mitochondrial DNA Sequences, *Mitochondrial DNA*, 23(2), 62-69.
- Keskin, E., Ağdamar, S., Tarkan, A. S., 2013, DNA barcoding common non-native freshwater fish species in Turkey: Low genetic diversity but high population structuring, *Mitochondrial DNA*, 24(3), 276-287.
- Kimura, M., 1980, A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences, *Journal of Molecular Evolution*, 16(2), 111–120.
- Kottelat, M., Freyhof, J., 2007, *Handbook of European Freshwater Fishes*, Cornol, Switzerland, xiii + 646 pp.
- Lakra, W. S., Verma, M. S., Goswami, M., Lal, K. K., Mohindra, V., Punia, P., Gopalakrishnan, A., Singh, K. V., Ward, R. D., Hebert, P., 2011, DNA barcoding Indian marine fishes, *Molecular Ecology Resources*, 11, 60–71.
- Lara, A., Ponce De León, J. L., Rodríguez, R., Casane, D., Côte, G., Bernatchez, L., García-Machado, E., 2010, DNABarcoding Of Cuban Freshwater Fishes: Evidence For Cryptic Species And Taxonomic Conflicts, *Molecular Ecology Resources*, 10, 421-430.
- Meriç, N., 1980, The Biology and Taxonomy of *Clupeonella Kessler, 1877* (Clupeidae, Pisces) in Küçükçekmece Lake, Turkey. *İstanbul Üniv. Fen Fak. Mec., B*, 45, 63-82.
- Meyer, A., 1987, Phenotypic plasticity and heterochrony in *Cichlasoma managuense* (Pisces, Cichlidae) and their implications for speciation in cichlid fishes, *Evolution*, 41(6), 1357-1369.
- Meyer, C. P., Paulay, G., 2005, DNA Barcoding: Error Rates Based on Comprehensive Sampling, *Plos Biology*, 3(12), 2229-2238.
- Nazik, A., Meriç, E., Avşar, N., Ünlü, S., Esenli, V., Gökaşan, E., 2011, Possible waterways between the Marmara Sea and the Black Sea in the late Quaternary: evidence from ostracod and foraminifer assemblages in lakes İznik and Sapanca, Turkey, *Geo-Marine Letters*, 31(2), 75-86.
- Nwani, C.D., Becker, S., Braid, H.E., Ude, E.F., Okogwu, O.I., Hanner, R., 2011, DNA barcoding discriminates freshwater fishes from southeastern Nigeria and provides river system-level phylogeographic resolution within some species, *Mitochondrial DNA*, 22(1), 43–51.
- Özuluğ, M., 2008, The fish fauna of the Durusu lake basin (İstanbul-Turkey), *IUFS Journal of Biology*, 67(1), 73-79.

- Paine, M. A., McDowell, J. R., Graves, J. E., 2007, Specific identification of Western Atlantic Ocean scombrids using mitochondrial DNA cytochrome c oxidase subunit I (COI) gene region sequences, *The Bulletin of Marine Science*, 80, 353-67.
- Pereira, L.H.G., Pazian, M.F., Hanner, R., Foresti, F., Oliveira, C., 2011, DNA barcoding reveals hidden diversity in the Neotropical freshwater fish *Piabina argentea* (Characiformes: Characidae) from the Upper Paraná Basin of Brazil, *Mitochondrial DNA*, 22(1), 87–96.
- Rasmussen, R. S., Morrissey, M. T., Hebert, P. D. N., 2009, DNA Barcoding of Commercially Important Salmon and Trout Species (*Oncorhynchus* and *Salmo*) from North America, *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*, 57, 8379-8385.
- Riede, K., 2004, The “Global Register of Migratory Species” First Results of Global GIS Analysis, In *Biological resources and migration*, 211-218.
- Shepherd, G., 1991, Meristic and morphometric variation in black sea bass north of Cape Hatteras, North Carolina, *North American Journal of Fisheries Management*, 11(2), 139-148.
- Spies, I. B., Gaichas, S., Stevenson, D. E., Orr, J. W., Canino, M. F., 2006, DNA-based identification of Alaska skates (*Amblyraja*, *Bathyraja* and *Raja*: Rajidae) using cytochrome c oxidase subunit I (COI) variation, *The Journal of Fish Biology*, 69, 283-92.
- Stearns, S. C., 1983, A natural experiment in life-history evolution: Field data on the introduction of mosquitofish (*Gambusia affinis*) to Hawaii, *Evolution*, 37(3), 601-617.
- Steinke, D., Zemlak, T. S., Hebert, P. D. N., 2009, Barcoding Nemo: DNA-Based Identifications for the Ornamental Fish Trade. *Plos one*, 4(7), 6300.
- Swofford, D., PAUP* Phylogenetic Analysis Using Parsimony (*and Other Methods), Version 4, Massachusetts, USA, Sinauer Associates, 2002:142 p.
- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A., Kumar, S., 2013, MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0, *Molecular biology and evolution*, 30(12), 2725-2729.
- Team, R., 2015, *RStudio: integrated development for R*. RStudio, Inc., Boston, MA URL <http://www.rstudio.com>.
- Turan, C., 1999, A note on the examination of morphometric differentiation among fish populations: the truss system, *Turkish Journal of Zoology*, 23(3), 259-264.
- Turan, C. 2000, Otolith shape and meristic analysis of herring (*Clupea harengus*) in the North-East Atlantic, *Archive of Fishery and Marine Research*, 48(3), 213-225.
- Valdez-Moreno, M., Ivanova, N. V., Elías-Gutiérrez, M., Contreras-Balderas, S., Hebert, P. D. N., 2009, Probing diversity in freshwater fishes from Mexico and Guatemala with DNA barcodes, *Journal Of Fish Biology*, 74, 377-402.

- Venkatesh, B., Dandona, N., Brenner, S., 2006, Fugu genome does not contain mitochondrial pseudogenes, *Genomics*, 87(2), 307-310.
- Ward, R. D., Zemlak, T. S., Innes, B. H., Last, P. R., Hebert, P. D. N., 2005, DNA barcoding Australia's fish species, *Philosophical Transactions Of The Royal Society B: Biological Sciences*, 360, 1847-1857.
- Ward, R.D., Holmes, B.H., 2007, An analysis of nucleotide and amino acid variability in the barcode region of cytochrome c oxidase I (cox1) in fishes, *Molecular Ecology Notes*, 7(6):899–907.
- Ward, R. D., Costa, F. O., Holmes, B. H., Steinke, D., 2008, DNA barcoding of shared fish species from the North Atlantic and Australasia: minimal divergence for most taxa, but *Zeus faber* and *Lepidopus caudatus* each probably constitute two species, *Aquatic Biology*, 3, 71-78.
- Ward, R. D., Hanner, R., Hebert, P. D. N., 2009, The campaign to DNA barcode all fishes, FISH-BOL, *Journal Of Fish Biology*, 74, 329–356.
- Whitehead, P.J.P., 1985, *FAO Species Catalogue*, Food and Agriculture Org., Clupeoid Fishes of the World. An Annotated and Illustrated Catalogue of the Herring, Sardines, Pilchards, Sprats, Anchovies and Wolf-herrings. Part 1. Chirocentridae, Clupeidae and Pristigasteridae, Rome, 7(125, Pt. 1), 303.
- Zemlak, T. S., Ward, R. D., Connell, A. D., Holmes, B. H., Hebert, P. D. N., 2009, DNA barcoding reveals overlooked marine fishes, *Molecular Ecology Resources*, 9(1), 237-242.
- Zhang, J., 2011, Species Identification of Marine Fishes in China with DNA Barcoding, *Evidence-Based Complementary And Alternative Medicine*, 2011, 10.
- Zhang, J. B., Hanner, R., 2011, DNA barcoding is a useful tool for the identification of marine fishes from Japan, *Biochemical Systematics And Ecology*, 39, 31-42.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı	Kemal Aydoğan
Doğum Yeri	Keçiören
Doğum Tarihi	25.04.1988
Uyruğu	<input checked="" type="checkbox"/> T.C. <input type="checkbox"/> Diğer:
Telefon	05347361923
E-Posta Adresi	kmlaydgn@gmail.com
Web Adresi	



Eğitim Bilgileri	
Lisans	
Üniversite	Muğla Üniversitesi
Fakülte	Fen Fakültesi
Bölümü	Biyoloji
Mezuniyet Yılı	13.08.2013

Yüksek Lisans	
Üniversite	İstanbul Üniversitesi
Enstitü Adı	Fen Bilimleri
Anabilim Dalı	Biyoloji Anabilim Dalı
Programı	Hidrobiyoloji Programı

Makale ve Bildiriler	
Gülşah, Saç., Aydoğan, K., Özuluğ, O., Özuluğ, M., 2016, Resettlement of <i>Atherina boyeri</i> Risso, 1810 in Büyükçekmece Reservoir (İstanbul, Turkey), <i>FishTaxa</i> , 1(1), 27-28.	