

**KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BALIKÇILIK TEKNOLOJİSİ MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

**AKDENİZ MİDYESİ (*Mytilus galloprovincialis*, Lam., 1819)**  
**POPULASYONLARININ GENETİK YAPISININ BELİRLENMESİ**

**DOKTORA TEZİ**

**Biyolog Şebnem ATASARAL ŞAHİN**

**EKİM 2011**  
**TRABZON**

**KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BALIKÇILIK TEKNOLOJİSİ MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

**AKDENİZ MİDYESİ (*Mytilus galloprovincialis*, Lam., 1819)**  
**POPULASYONLARININ GENETİK YAPISININ BELİRLENMESİ**

**Biyolog Şebnem ATASARAL ŞAHİN**

**Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsünde**  
**"DOKTOR (BALIKÇILIK TEKNOLOJİSİ MÜHENDİSLİĞİ)"**  
**Unvanı Verilmesi İçin Kabul Edilen Tezdir.**

**Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 30.09.2011**  
**Tezin Savunma Tarihi : 21.10.2011**

**Tez Danışmanı : Prof. Dr. İlhan ALTINOK**

**Trabzon 2011**

**Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü  
Balıkçılık Teknolojisi Mühendisliği Anabilim Dalında  
Şebnem ATASARAL ŞAHİN Tarafından Hazırlanan**

**AKDENİZ MİDYESİ (*Mytilus galloprovincialis*, Lam., 1819)  
POPULASYONLARININ GENETİK YAPISININ BELİRLENMESİ**

**Başlıklı bu çalışma, Enstitü Yönetim Kurulunun 04/10/2011 gün ve 1424 sayılı  
kararıyla oluşturulan jüri tarafından yapılan sınavda  
DOKTORA TEZİ  
olarak kabul edilmiştir.**

**Jüri Üyeleri**

**Başkan : Prof. Dr. İlhan ALTINOK  
Üye : Prof. Dr. Hamdi ÖĞÜT  
Üye : Prof.Dr. A. Muzaffer FEYZİOĞLU  
Üye : Prof. Dr. Bilal KUTRUP  
Üye : Prof.Dr. İsmet BALIK**

**Prof. Dr. Sadettin KORKMAZ  
Enstitü Müdürü**

## ÖNSÖZ

Bu tez çalışması Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Balıkçılık Teknolojisi Mühendisliği Anabilim Dalı Doktora programında yürütülmüştür. “Akdeniz Midyesi (*Mytilus galloprovincialis*, Lam., 1819) populasyonlarının genetik yapısının belirlenmesi” adlı proje KTÜ Araştırma Fonu (2006.117.001.30) tarafından desteklenmiş ve Sürmene Deniz Bilimleri Fakültesi, Genetik ve Moleküler Biyoloji Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

Tez danışmanlığımı üstlenerek bilgi ve desteklerini esirgemeyen, laboratuvar çalışmalarım ve yazım aşamasında göstermiş olduğu sonsuz sabrından dolayı danışmanım Sayın Prof. Dr. İlhan ALTINOK’a teşekkürlerimi bir borç bilirim. Tez izleme komitemde yer alan sayın Prof. Dr. Bilal KUTRUP’ a ve Prof. Dr. Hamdi ÖĞÜT ‘e, çalışmalarım sırasında maddi, manevi yardımı ile motivasyonumu güçlendiren Doç. Dr. Nadir BAŞÇINAR’a, lisansüstü eğitimimde ekip ruhu ile çalıştığım ve renkli anlara imza atan Yrd. Doç. Dr. Mehmet KOCABAŞ’a, doktora tezimin planlanmasında ve yürütülmesinde deneyim ve katkılarını esirgemeyen Yük. Müh. Oğuzhan EROĞLU’na, Yrd. Doç Yılmaz ÇİFTÇİ’ye ve Yrd. Doç Yusuf BEKTAŞ’a, haplotip değerlendirmelerinde önemli katkılarından dolayı Prof. Dr. Pawel BRZUZAN’a, laboratuvar çalışmalarımda yardımlarını esirgemeyen Yrd. Doç. Dr. Erol ÇAPKIN, Arş. Gör. Halis BORAN, Arş. Gör. Ertuğrul TERZİ, Arş.Gör. Recep PARLAK ve Arş. Gör. Kenan GEDİK ile Balıkçılık Teknolojisi Mühendisliği öğrencilerinden Hilmi SOLAK, Cansu FİDAN, Oğuzhan ARSLAN ve Serdar BAYRAKTAR’a, tez çalışmam süresince tecrübelerini benimle paylaşan ve desteğini hissettiren sevgili dostum Dr. Havva DİNÇ’e teşekkür ederim.

Lisansüstü eğitimime özverili yardımlarından dolayı, başta araştırma materyalimin temin edilmesi olmak üzere karşılaştığım tüm olumsuzlukları çözümleyici rol üstlenen sevgili eşim Dr. Ahmet ŞAHİN’e ve ailesine, varlığı ile hayatıma renk ve değer katan canım kızım Zeynep Saba’ya, eğitim hayatıma verdikleri önem ve gösterdikleri fedakarlıklarından dolayı değerli aileme ve akademik yaşantıma yön veren, yüksek lisans ile doktora eğitimimin ilk yıllarında danışmanlığımı devam ederek tezimin planlanmasında emeği geçen, öğrencisi olma onurunu yaşadığım, saygıdeğer hocam merhum Prof. Dr. İbrahim OKUMUŞ’a sonsuz şükranlarımı sunarım.

Şebnem ATASARAL ŞAHİN

Trabzon 2011

## TEZ BEYANNAMESİ

Doktora Tezi olarak sunduğum “Akdeniz Midyesi (*Mytilus galloprovincialis*, Lam., 1819) populasyonlarının genetik yapısının belirlenmesi” başlıklı bu çalışmayı baştan sona kadar danışmanım Prof. Dr. İlhan ALTINOK’un sorumluluğunda tamamladığımı, verileri ve örnekleri kendim topladığımı, analizleri ilgili laboratuvarlarda yaptığımı, başka kaynaklardan aldığım bilgileri metinde ve kaynakçada eksiksiz olarak gosterdiğimi, çalışma suresinde bilimsel araştırma ve etik kurallara uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim.  
30/09/2011

şebnem ATASARAL şAHİN

## İÇİNDEKİLER

### Sayfa No

ÖNSÖZ.....	III
TEZ BEYANNAMESİ.....	IV
İÇİNDEKİLER.....	V
ÖZET .....	VII
SUMMARY .....	VIII
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	IX
TABLolar DİZİNİ.....	X
SEMBOLLER DİZİNİ .....	XI
1. GENEL BİLGİLER .....	1
1.1. Akdeniz Midyesi'nin ( <i>M. galloprovincialis</i> ) Biyo-Ekolojisi.....	2
1.2. Genetik Varyasyon.....	3
1.3. Genetik Varyasyonu Belirleme Yöntemleri.....	6
1.3.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu Yöntemi.....	6
1.3.2. DNA Dizi Varyasyonu.....	7
1.3.2.1. DNA Dizi Analizi Yöntemi .....	7
1.3.2.2. Tek Nükleotid Polimorfizmi (SNPs).....	8
1.4. DNA Parça Uzunluğu Varyasyonu .....	9
1.4.1. Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi (RFLP) Yöntemi .....	9
1.4.2. Değişken Sayıda Ardışık Tekrar (VNTR) .....	10
1.4.3. DNA Parmak İzi (Fingerprinting).....	11
1.4.4. Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA (RAPD) Yöntemi.....	12
1.4.5. Çoğaltılmış Parça Uzunluk Polimorfizmi (AFLP) Yöntemi.....	12
1.5. Fenotipik Varyasyon .....	13
1.6. Mitokondriyal Genomun Biyolojisi .....	14
1.7.1. Uzaklık Temelli Metotlar .....	18
1.7.1.1. Aritmetik Ortalamalı Ağırlıksız Çift Grup Metodu (UPGMA).....	19
1.7.1.2. Komşu-Bağlantı Metodu (NJ).....	19
1.7.1.3. Fitch-Margoliash Metodu (FM) .....	20
1.7.1.4. Minimum Evrim Metodu (ME).....	20
1.7.2. Karakter Temelli Metotlar .....	20
1.7.3. Maksimum Sıklık (MP) .....	20

1.8.	Önceki Çalışmalar.....	21
2.	YAPILAN ÇALIŞMALAR .....	24
2.1.	Araştırma Sahası .....	24
2.2.	Örnekleme Yöntemi.....	24
2.2.1.	Cinsiyet Belirleme Yöntemi.....	25
2.2.2.	Morfometrik Ölçümler .....	25
2.3.	Toplam DNA'nın İzolasyonu.....	26
2.4.	16S rRNA, ND2-COIII ve COIII Gen Bölgelerinin PZR ile Çoğaltılması .....	27
2.5.	Sekans Yöntemi .....	29
2.6.	Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi (RFLP) Yöntemi .....	29
2.7.	RFLP Bantlarının Görüntülenmesi ve Kesim Şekillerinin Belirlenmesi .....	30
2.8.	Verilerin Değerlendirilmesi .....	31
2.8.1.	Morfolojik Verilerin Analizi.....	31
2.8.2.	Genetik Verilerin Analizi.....	31
3.	BULGULAR.....	33
3.1.	Morfometrik Analiz .....	33
3.2.	Genetik Analiz .....	38
3.2.1.	Mitokondriyal DNA Gen Bölgeleri .....	38
3.2.2.	Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi Sonuçları .....	38
3.2.3.	Nükleotid Farklılığı.....	45
3.2.4.	Haplotip ve Nükleotid Çeşitliliği .....	49
3.2.5.	Genetik Farklılık ve Gen Akışı .....	51
4.	TARTIŞMA .....	58
5.	SONUÇ VE ÖNERİLER .....	67
6.	KAYNAKLAR .....	70
7.	EKLER.....	79
	ÖZGEÇMİŞ	

Doktora Tezi

## ÖZET

AKDENİZ MİDYESİ (*Mytilus galloprovincialis*, LAM., 1819) POPULASYONLARININ  
GENETİK YAPISININ BELİRLENMESİ

Şebnem ATASARAL ŞAHİN

Karadeniz Teknik Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Balıkçılık Teknolojisi Mühendisliği Anabilim Dalı  
Danışman: Prof. Dr. İlhan ALTINOK  
2011, 78 Sayfa, 10 Sayfa Ek

Bu çalışmada, *Mytilus galloprovincialis*'i Türkiye sularında temsil eden 10 farklı popülasyondan dişi ve erkek midye örnekleri 8 morfolojik karaktere göre morfometrik yöntem ve Mitokondriyal DNA (mtDNA)'nın iki gen bölgesi (16S rRNA ve ND2-COIII) genetik yöntem bakımından PCR-RFLP ile incelenmiştir. Ayrıca COIII gen bölgesinde de DNA dizi analizi yapılmıştır. Mitokondriyal DNA gen bölgeleri PZR ile çoğaltıldıktan sonra 16S rRNA gen bölgesinde, dişi ve erkek midyelerin solungaç ve gonad dokularında 3 kesici enzim, ND2-COIII gen bölgesinde ise dişi midyelerin gonad ve solungaç dokularında 5 kesici enzim kullanılmıştır. 16S rRNA gen bölgesinde dişilerde 3, erkeklerde 2 haplotip, ND2-COIII gen bölgesinde ise sadece dişilerde (erkeklerde bu gen bölgesi çoğaltılamamıştır) 20 haplotip belirlenmiştir. En yüksek haplotip ve nükleotid çeşitliliği 16S rRNA gen bölgesi için Zonguldak ( $0.6667\pm 0.1318$ ,  $0.066024$ ) popülasyonunda belirlenmiştir. ND2-COIII gen bölgesi için ise en yüksek haplotip çeşitliliği Bodrum ( $0.6959\pm 0.06187$ ) popülasyonunda ve en yüksek nükleotid çeşitliliği Çeşme ( $0.046856$ ) popülasyonunda gözlenmiştir. Moleküler varyans analizi (AMOVA) sonuçlarına göre midye popülasyonları arasında düşük, popülasyonlar içinde yüksek oranda genetik yapılanma olduğu tespit edilmiştir. Popülasyon çiftleri arasındaki genetik farklılık değerleri ( $F_{st}$ ), popülasyonlar arasında önemli genetik farklılaşma olduğunu göstermiştir ( $p < 0,05$ ). Morfometrik karakterler için Mahalanobis uzaklık matrisi verilerine göre ve filogenetik analizler sonucunda UPGMA soy ağaçlarında midye popülasyonlarının Karadeniz ve Marmara-Ege olmak üzere iki ana dala ayrıldığı belirlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Çift ebeveynli kalıtım, mtDNA, RFLP, 16S rRNA, ND2-COIII, Sekans analizi, COIII, Genetik çeşitlilik, Morfometri, Türkiye.



PhD. Thesis

## SUMMARY

DETERMINATION OF GENETIC STRUCTURE OF  
MEDITERRANEAN MUSSELS (*Mytilus galloprovincialis*, L., 1819) POPULATIONS  
Şebnem ATASARAL ŞAHİN

Karadeniz Technical University  
The Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Fisheries Technology Engineering Graduate Program  
Supervisor: Prof. Dr. İlhan ALTINOK  
2011, 78 Pages, 10 Pages Appendix

In this study, 10 different populations of female and male mussel, *Mytilus galloprovincialis*, in the Turkish Coasts were surveyed for morphometric and genetic analyses. For this purpose, eight morphometric characters and molecular analysis techniques such as PCR-RFLP method on two mitochondrial DNA (mtDNA) gene segments (16S rRNA ve ND2-COIII) and DNA sequence analysis on COIII gene were used. After amplification of gonad and gill tissues of female and male mussels 16S rRNA and ND2-COIII gene segment, three and five restriction enzymes were used to cut 16S rRNA gene segment and ND2-COIII gene segment, respectively. Twenty haplotypes for only female (male not amplified) were determined for ND2-COIII region of mtDNA and three haplotypes for female and two haplotypes for male were determined 16S rRNA region of mtDNA. The highest haplotype and nucleotide diversity of 16S rRNA gene region was observed for the population of Zonguldak ( $0.6667\pm 0.1318$ ,  $0.066024$ ). The highest haplotype diversity of ND2-COIII gene region was observed for the population of Bodrum ( $0.6959\pm 0.06187$ ) and the highest nucleotide diversity of the same gen region was observed for the population of Çeşme ( $0.046856$ ). Based on analysis of molecular variance (AMOVA), genetic structure was found to be low among populations. Values of genetic differences between population pairs ( $F_{st}$ ) showed significant ( $p < 0.05$ ) genetic differentiation among populations. According to Mahalanobis matrix distance data which were calculated by discriminant analysis for morphometric characters and phylogenetic analysis with UPGMA tree, mussel populations were separated into two main branches as Black Sea and the Marmara and Aegean region.

**Key Words:** Doubly Uniparental Inheritance, mtDNA, RFLP, 16S rRNA, ND2-COIII, Sequence Analysis, COIII, Genetic Variation, Morphometrics, Turkey.

## ŞEKİLLER DİZİNİ

### Sayfa No

Şekil 1.	<i>Mytilus galloprovincialis</i> 'in kabuğunun iç (A) ve dış (B) yapısı.....	2
Şekil 2.	Avrupa'daki <i>Mytilus</i> cinsine ait midye türlerinin yayılış alanları (Kumlu, 2001)	3
Şekil 3.	Hayvan mtDNA'sı (Beaumont vd., 2010). ....	15
Şekil 4.	Örnekleme sahası .....	24
Şekil 5.	Gonad dokusuna göre renk değişimi (Sarı: erkek, Pembe: dişi) .....	25
Şekil 6.	Morfolojik karakterlerin ölçüm noktaları (Toro,1999). ....	26
Şekil 7.	<i>Mytilus</i> cinsine ait mtDNA gen bölgeleri (Breton vd., 2006). ....	27
Şekil 8.	Morfometrik karakterlere göre dişi ve erkek arasındaki istatistiki önemlilik ( $p < 0,05$ ).....	35
Şekil 9.	Morfometrik özelliklere ilişkin ilk iki kanonik fonksiyona göre popülasyonların dağılımı. ....	36
Şekil 10.	On popülasyon için mahalanobis uzaklıklarına göre çizilen dendrogram.....	37
Şekil 11.	Çalışmada kullanılan mtDNA'nın 16S rRNA, ND2 COIII ve COIII gen bölgelerine ait jel görüntüsü.....	38
Şekil 12.	Üç farklı enzimle kesilen mtDNA16S rRNA gen bölgesi için gözlenen modeller .....	39
Şekil 13.	Beş farklı enzimle kesilen mtDNA-ND2-COIII gen bölgesi (dişi) için gözlenen modeller .....	41
Şekil 14.	Evrimsel uzaklığa göre 16S rRNA bölgesi dişi haplotiplerinin UPGMA soy ağacı ile gösterimi .....	45
Şekil 15.	16Sr RNA gen bölgesinde dişi midyelerde popülasyonlar arası nükleotid farklılığına göre UPGMA soy ağacı .....	47
Şekil 16.	16Sr RNA gen bölgesinde erkek midyelerde popülasyonlar arası nükleotid farklılığına göre UPGMA soy ağacı .....	47
Şekil 17.	Evrimsel uzaklığa göre ND2-COIII bölgesi (dişi) haplotiplerinin UPGMA Soy Ağacı ile Gösterimi .....	48
Şekil 18.	ND2- COIII gen bölgesinde (dişi) popülasyonlar arası nükleotid farklılığına göre UPGMA soy ağacı ile gösterimi .....	48
Şekil 19.	Popülasyon çiftleri arasındaki genetik farklılık değerleriyle ( $F_{st}$ ) coğrafik mesafe arasında ilişki .....	55
Şekil 20.	COIII gen bölgesinde dişi (A) ve erkek (B) popülasyonlar arası sekans verilerine göre UPGMA ağacı. ....	57

## TABLULAR DİZİNİ

### Sayfa No

Tablo 1. Balıkçılık ve akuakültürde kullanılan bazı genetik tekniklerin karşılaştırılması (Beaumont vd., 2010) .....	7
Tablo 2. Çalışmada 16S rRNA ve ND2-COIII gen bölgeleri için kullanılan primerler....	28
Tablo 3. 16S rRNA, COIII ve ND2-COIII bölgelerinin çoğaltılması için PZR karışımının bileşen miktarları. ....	28
Tablo 4. Çalışmada kullanılan primerler için PZR programı. ....	29
Tablo 5. Çalışmada kullanılan kesici enzimler ve özellikleri.....	30
Tablo 6. Örnekleme ait morfometrik karakter değerleri ve varyasyon katsayıları (VK) ..	34
Tablo 7. Midye populasyonlarında 16S rRNA gen bölgesi için gözlenen kesim şekilleri ve yaklaşık kesim büyüklükleri .....	39
Tablo 8. Midye populasyonlarında ND2-COIII gen bölgesi için gözlenen kesim şekilleri ve yaklaşık kesim büyüklükleri.....	40
Tablo 9. Midye populasyonlarında 16S rRNA haplotiplerinin dağılımları.....	42
Tablo 10. ND2-COIII gen bölgesinde (dişi) mitokondriyal haplotipler .....	43
Tablo 11. Midye populasyonlarında ND2-COIII (dişi) haplotiplerinin dağılımları (G: Gonad, S: Solungaç) .....	44
Tablo 12. Mitokondriyal DNA'ya ait 16S rRNA haplotip çeşitliliği (HÇ) ve nükleotid çeşitliliği (NÇ) .....	50
Tablo 13. Dişi mtDNA'ya ait ND2-COIII haplotip çeşitliliği (HÇ) ve nükleotid çeşitliliği (NÇ). ....	51
Tablo 14. Populasyonlar arası moleküler varyans analizi (AMOVA) ve $\Phi$ istatistik değerleri .....	52
Tablo 15. Populasyon çiftleri arasındaki mtDNA varyasyonu için $F_{ST}$ istatistik değerleri. 53	

## SEMBOLLER DİZİNİ

AMOVA	Moleküler Varyans Analizi
Bç	Baz çifti (Base pair)
DNA	Deoksiribonükleik asit
DUI	Doubly Uniparental Inheritance
EDTA	Etilen diamin tetra asetik asit
Fst	Genetik farklılık değeri
F genom	Dişi genomu
Kbç	Kilo baz çifti
M genom	Erkek genomu
mtDNA	Mitokondriyal DNA
mm	Milimetre
PZR	Polimeraz Zincir Reaksiyon
RFLP	Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi
REAP	Resitriksiyon analiz programı
TE	Tris-EDTA
UPGMA	Unweighted Pair-Group Method Using Arithmetic Average
µl	Mikrolitre

## 1. GENEL BİLGİLER

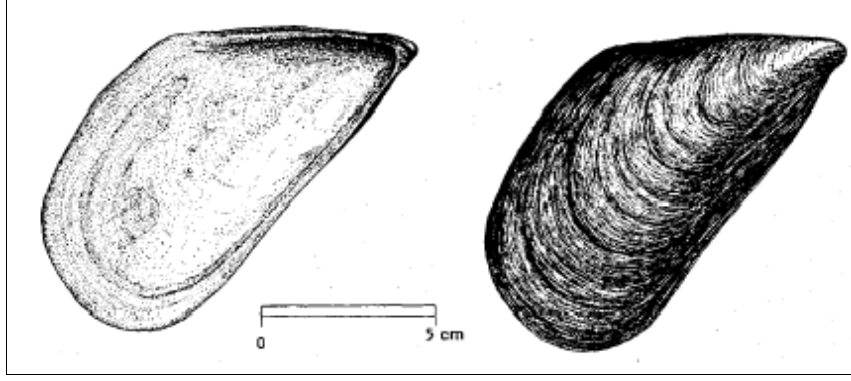
*Mytilus* cinsi midyeler, yaygın olarak, ılıman kıyı suları boyunca dağılım göstermektedir. Kayalar, bentler ve yüzer iskele gibi habitatlarda işgalci tür olarak görülmektedir. Midyeler kıyusal sularda bentik organizmalar içinde baskın tür olarak önemli ekolojik bir bileşen olup, aynı zamanda diğer organizmalar için habitat oluşturur (Tsuchiya ve Nishihira, 1985, 1986; Matsumasa vd., 1999) ve ekosistem için düzenleyicidir (Jones vd., 1994; Crooks, 1998, Matsumasa vd., 1999). Midyeler besin olarak insanlar için önemli bir protein kaynağıdır. Geniş coğrafi dağılım göstermeleri sayesinde kıyı sularının kalitesinin takibi için biyolojik indikatör olarak da kullanılırlar (Widdows ve Donkin, 1992; Tanabe, 1994).

Kuzey ve güney yarım kürede geniş yayılım alanlarına sahip olan midyeler, yüz yıllardan beri kültüre alınmaktadır. Deniz midyeleri (*Mytilus spp.*) yetiştiricilik açısından ve kıyusal ekosistemin bentik organizması olmasından dolayı önemli bir türdür. Dünyada *Mytilus* cinsine ait morfolojik ve genetik farklılıklara sahip *Mytilus californiensis*, *Mytilus edulis*, *Mytilus galloprovincialis* ve *Mytilus trossulus* türleri bulunmaktadır.

Midye kültürü; fitoplankton, stoğa katılım ve ekosistemin kullanım kapasitesi yönünden doğal kaynaklara bağlıdır. Midye spatları doğal yataklardan ya da kollektörler vasıtasıyla toplanarak büyötmek amacıyla farklı alanlara nakledilebilir. Bu nedenle doğal sürecin haricinde spat toplama ve midyelerin kültüre alınması, popülasyonların yeni alanlara tanıtımına ve yer değişimine yol açmaktadır. Geçmişte Baltık Deniz’inde *M. trossulus* popülasyonları bu değişimden çok fazla etkilenmemiştir. Baltık Deniz’indeki popülasyonlar Avrupa *Mytilus*’larının değerli genetik biyoçeşitlilik kaynağı olarak görölmektedir (Smietanka vd., 2004). Ancak, *M. trossulus* ve *M. edulis* arasında meydana gelen güçlü bir gen akışı Baltık popülasyonlarındaki doğal mtDNA’yı kaybolma tehlikesi ile yüzyüze getirmiştir (Smietanka vd., 2010). Bu nedenle midye popülasyonlarının ve genetik karakteristiklerinin tanımlanması biyoçeşitlilik ve yönetim açısından büyük önem arz etmektedir

### 1.1. Akdeniz Midyesi'nin (*M. galloprovincialis*) Biyo-Ekolojisi

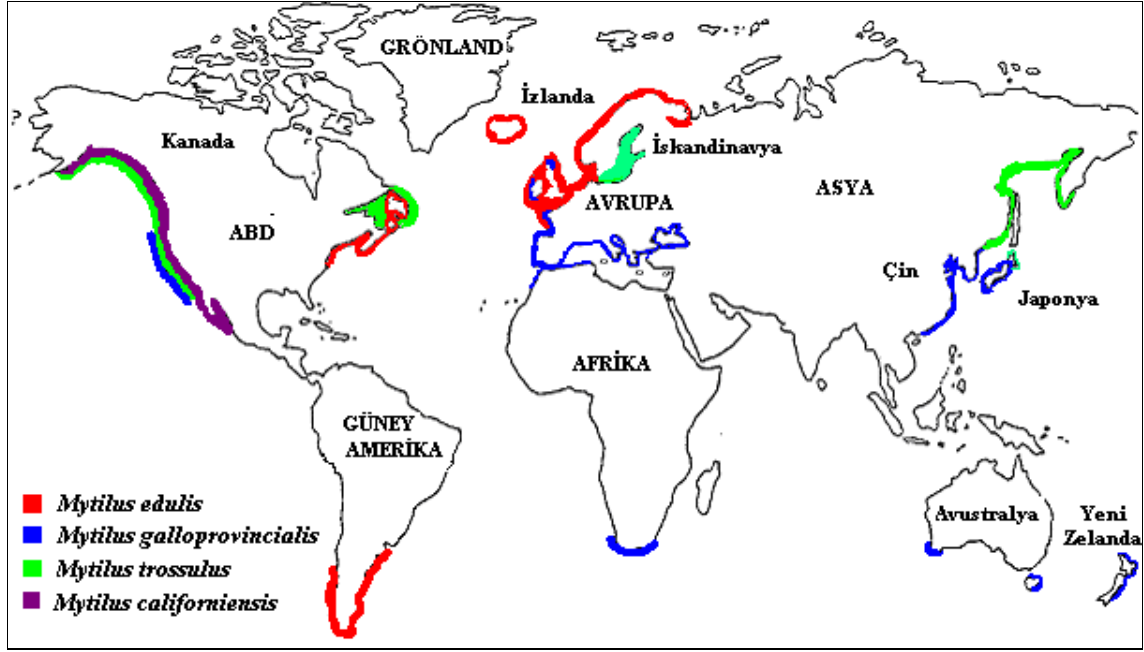
Midyeler, *Mytilidae* familyasına ait çift kabuklu (bivalve) yumuşakçalardır. Bu familya üyeleri tipik olarak birbirine benzer iki kabuk, eksternal bir ligament, kabukların birbirine tek noktada bağlanmasını sağlayan dişsiz menteşe benzeri bir yapı, ayrı filamentli solungaçlar, iki bağlayıcı kas (addüktör kas), uzamış bir ayak ve biysus ipliğiyle diğerlerinden ayrılırlar (Şekil 1).



Şekil 1. *Mytilus galloprovincialis*'in kabuğunun iç (A) ve dış (B) yapısı (Kumlu, 2001)

*Mytilus* cinsine ait midyeler dünyanın tropik sularından kutup bölgelerine kadar çok geniş bir yayılım gösterirler. Genellikle midyeler 6-9 m derinliklerde yaşamalarına rağmen, Kuzey Denizi'nde 17 m'ye kadar, Batlık Denizi'nde ise 30-40 m'ye kadar derinliklerde bulunabilmektedir. Dünya'da yetiştiriciliği yapılan pek çok midye türü vardır. Ancak bunlardan *M. edulis* ve *M. galloprovincialis* Avrupa'da yetiştirilmektedir (Kumlu, 2001).

*Mytilus edulis*, Avrupa'da İskandinav ülkeleri, İngiltere, Fransa, İzlanda kıyılarında, Kuzey Amerika'nın doğu kıyıları ve Güney Amerika'nın güney kıyılarında normal deniz tuzluluğunda ve acı sularda bulunurlar (Şekil 2). *Mytilus galloprovincialis* ise İngiltere, İspanya, Fransa'nın Atlantik kıyıları, Portekiz, Akdeniz'in güney kıyıları ve tüm Karadeniz'de bulunmaktadır. Son zamanlarda bu türün Çin, Kore, Japonya, ABD'nin batısı, Avustralya, Yeni Zelanda ve hatta Güney Afrika'da da bulunduğu bildirilmektedir. Ülkemiz sularında ise *M. galloprovincialis* Karadeniz'den Ege Denizi'ndeki Bodrum kıyılarına kadar dağılım göstermektedir (Kumlu, 2001).



Şekil 2. Avrupa'daki *Mytilus* cinsine ait midye türlerinin yayılış alanları (Kumlu, 2001)

## 1.2. Genetik Varyasyon

“Genetik çeşitlilik” terimi farklı amaçlara uygun olarak çeşitli şekillerde tanımlanmıştır. Populasyon araştırmalarında, tür içerisinde yer alan bireyler arasındaki bir özelliğe veya özellikler kümesine ait bir dizi kalıtsal farklılığı temsil eden ve başka populasyonlar arasında varyasyon içerdiği gibi populasyon içinde bireyler arasında tür içi genetik çeşitliliği olarak tanımlanmaktadır. Genetik çeşitlilik bireylerin değil populasyonların ve türlerin bir özelliği olarak dikkate alınmakta olup, “genetik varyasyon” veya “genetik varyans” olarak da adlandırılmaktadır (Bagley vd., 2002).

Genetik çeşitlilik geçmiş populasyon süreçleri tarafından şekillenmiş ve gelecek türlerin ve populasyonların sürdürülebilirliğini etkilemektedir. Değişen fiziksel, kimyasal ve biyolojik çevre koşullarına uyum sağlayabilmesi, doğrudan doğal seleksiyona uygun genetik çeşitliliğin miktarı ile bağlantılıdır. Adapte olmak için benzer etkilere maruz kalan iki populasyondan, uygun özellikleri için daha büyük genetik çeşitliliğe sahip olan populasyonun, daha çabuk adapte olması beklenir (Bagley vd., 2002).

Genetik varyasyon üzerinde durulan özellikler bakımından canlılar arasındaki genotipik yapıdan kaynaklanan farklılıkları ifade etmektedir. Genetik varyasyonun esas kaynağını DNA molekülündeki dört farklı baz çiftinin sayısı ve bunların dizilimlerindeki

farklılıklar oluşturmaktadır. Genetik materyal çeşitli faktörlere bağlı olarak değişikliğe uğrayabilir ve bunun sonucunda da bireyler arasındaki genotipik farklılıklar meydana gelebilir (Avisé, 2004). Tür içindeki genetik çeşitliliğin mevcut düzeylerini belirleyen ana etkenler mutasyon, göç, seleksiyon ve genetik sürüklenmedir. Genetik materyalde meydana gelen farklılıkların temel kaynağı mutasyondur. Mutasyon, genetik materyalde meydana gelen ani ve kararlı değişikliklerdir. Esas olarak nükleotid (nokta veya gen) ve kromozom seviyesinde meydana gelen mutasyonlar olarak iki sınıfta değerlendirilmektedir. Belirtilen mutasyonlara ilave olarak homolog olmayan kromozomlar arasındaki parça değişimleri (translokasyon) ile eşeyli çoğalan canlılarda üreme hücrelerinin meydana gelmesi sürecinde homolog kromozomlar arasında meydana gelen parça değişimleri (krosing-over) de canlılar arasındaki genetik farklılıkların temel nedenleri arasında yer almaktadır (Avisé, 2004).

Geniş alanlara yayılmış olan doğal populasyonlar nadiren homojen yapıdadır. Çoğu türlerde populasyonlar göç ya da aralarında gen akışı ile çeşitli alt gruplara ayrılırlar. Bu populasyonların genetik benzerliği her yeni nesil için döl veren göçmenlerin sayısına bağlıdır. Öte yandan, populasyonların değişimi göçten kaynaklanmıyorsa, genetik farklılaşma mutasyon ve genetik sürüklenme kuvvetleri (muhtemelen seçim) nedeniyle oluşur ve zamanla türleşmeyle sonuçlanır. Çoğu sessil ya da sınırlı hareket yeteneği gösteren deniz omurgasızları özellikle larval dönemde yayılım göstermektedir (Silva ve Russo, 2000). Göç veya gen akışı populasyonlar arasında üreyen bireylerin hareketini ifade eder ve düşük dağılıma yeteneğine sahip türler için zayıf olmasına rağmen; genellikle genetik çeşitlilik üzerinde çok güçlü bir kuvvettir. Göç rejiminde oluşacak bozukluklar, türün sürekliliği üzerinde önemli etkiler yapar. Göç, genel olarak populasyon içinde genetik çeşitliliği arttırıcı ve populasyonlar arasında genetik farklılıkları homojenleştirici etki yapar.

Doğal seleksiyon, genetik sürüklenme ile birlikte, ayrı populasyonların farklılaşmış hale gelmesine neden olan en önemli güçlerden biridir. Seleksiyon, gerçekleşmekte olan formuna bağlı olarak, genetik çeşitlilik üzerinde farklı etkilere sahip olabilir. Çevresel değişikliğin, farklı bir dizi gen veya optimal genotiplere neden olduğu durumlarda, seleksiyonun, seçilen lokuslarda, en azından populasyon ortalaması yeni bir genetik optimum değerine ulaşana kadar, genetik çeşitliliği azaltması beklenir (Bagley vd., 2002).

Genetik sürüklenme, her yeni neslin genetik frekanslarında, sınırlı sayıdaki anaçlardan kaynaklanan, rastgele oluşmuş değişiklikleri ifade eder (Bagley vd., 2002).



Genetik sürüklenme, bir populasyondaki genetik bir karakteristiğin yok olmasına ya da güçlü olanın hayatta kalmasından ve alellerin diğerinden bağımsız olarak yaygın hale gelmesine neden olur. Populasyonda üremeyi gerçekleştiren canlıların sayısı arttıkça, genetik sürüklenmenin etkisi azalır. Genetik sürüklenmenin etkisi en çok, bir canlı türünün kaderi birkaç bireye bağlı olduğunda ortaya çıkar (Hoelzel, 1992). Genetik sürüklenme küçük populasyonların, hatta aşırı seçilim olan bölgelerin, genetik çeşitliliği üzerinde çok güçlü bir kuvvet olma eğilimindedir. Sonuç olarak, zararlı alellerin rastgele tespitinin seleksiyon tarafından normal olarak kaldırılması daha muhtemel olunca, adaptasyon küçük populasyonlarda daha zorlaşır. Büyük populasyonlarda genetik sürüklenme etkisi daha zayıf olmakla birlikte seçilim altındaki bölgelerde baskın bir güç olmaktadır. Genetik sürüklenme populasyonlar içindeki genetik çeşitliliğin azalması ve populasyonlar arasında genetik çeşitliliğin artması yönünde etkiye sahiptir (Bagley vd., 2002).

Bir tür içinde, birçok karakter bakımından önemli ölçüde farklılıklar bulunmaktadır. Başka bir deyişle, aynı türün değişik alanlarda yaşayan populasyonları (populasyonlar arası) ve aynı yöredeki bir populasyonun bireyleri arasında (populasyonlar içi) pek çok özellik bakımından bir çeşitlilik vardır. Populasyon içinde her bir karakter, ya da karakter kümeleri bakımından farklı morfolojiye sahip bireyler bulunmaktadır (Hoelzel, 1992). Genetik varyasyon çeşitli seviyelerde ölçülebilir ve tanımlanabilir. İlk olarak DNA boyunun tam dizisi ve bireyler arasında nasıl değiştiği ile tanımlanabilir. İkinci olarak ise DNA'nın boyları arasındaki farklılıklar tanımlanabilir. Gelecek aşamada DNA kodlayan dizinin varyasyonu sonucunda protein farklılıkları tahmin edebilir.

Moleküler tekniklerin kullanımı, aynı populasyon içindeki bireyler arasında, aynı türün populasyonları arasında ve taksonomik seviyede farklı türler arasında genetik varyasyonun tahminini mümkün kılmıştır. Moleküler belirteçler kullanılarak yapılan çalışmalar sonucunda lokal populasyonların üreme farklılıkları gösteren, izole halde küçük gruplara bölünmüş olduğu gözlenmiştir. Böylece bir veya birden fazla ayrı üreme davranışı gösteren izole grupların kaybolması tür içindeki genetik varyasyonun seviyesinin düşmesine neden olmakta ve tamamıyla nadir bulunan genetik karakterlerin kaybolmasıyla sonuçlanabilmektedir (Çiftçi ve Okumuş, 2002).

### 1.3. Genetik Varyasyonu Belirleme Yöntemleri

Moleküler genetik belirteçlerin kullanımı akuakültür alanında son otuz yılda gittikçe artan öneme sahip olmuştur. Bu belirleyiciler akuakültür uygulamasının birçok alanında kullanılmaktadır. Örneğin kültür stoklarının genetik tanımlanması ve ayrışması, akuakültür stoklarının bulunuş ve yayılışlarının neticelerini izleme, damızlık stok yönetimi (selective breeding) programlarını destekleme, poliploidi ve gigogenez indüksiyonları gibi kromozomal ve gen manipülasyonlarını değerlendirmek şeklinde sıralanabilir. Genetik belirteçlerin su ürünleri alanındaki bir diğer önemli uygulaması ise kaçmış veya serbest bırakılmış kültür balıklarının doğal populusyona etkisini belirlemektir (Magoulas, 1998).

Genetik varyasyon çeşitli seviyelerde ölçülebilir ve tanımlanabilir. Bu amaçla geliştirilen ve akuakültürde yaygın olarak kullanılan yöntemler arasında polimeraz zincir reaksiyonu (PZR), mitokondrial DNA (mtDNA), restriksiyon parça uzunluk polimorfizmi (RFLP), rastgele çoğaltılmış polimorfik DNA (RAPD), çoğaltılmış parça uzunluk polimorfizmi (AFLP), tek nükleotid polimorfizmleri (SNP), mikrosatelitler, ifade edilmiş sekans işaretleri (ESTs) ve DNA dizi analizi gibi yöntemler yer almaktadır (Tablo 1). Bu belirteçler kullanılarak genetik varyasyonun tahmini, akrabalık, anne-babalık testi, tür ve ırk tespiti, hibrit bireylerin belirlenmesi ve genetik haritaların oluşturulması gerçekleştirilebilir (Beaumont vd., 2010).

#### 1.3.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu Yöntemi

PZR metodu ilk kez 1987'de tanımlanmış ve isimlendirilmiş olsa da, temelleri daha öncelere dayanır. PZR metodu nükleik asitlerin canlı organizma dışında, uygun koşullar altında çoğaltılmasına dayanır. PZR bir çeşit in vitro (canlı organizma dışındaki yapay ortam) klonlamadır. PCR ile hedef DNA parçasından milyonlarca çoğaltmak mümkündür. Reaksiyon başlatılmadan önce istenen sayıda döngünün tekrarlanması sağlanabilir. PCR'ın en önemli özelliği çok az miktarda DNA ile çalışmaya olanak sağlamasıdır. Bir PCR döngüsü için gerekli olan beş ana madde vardır: (i) DNA örneği, genelde genomik DNA, (ii) Çoğaltılacak bölgeyi sağdan ve soldan çevreleyen bir çift sentetik primer, (iii) Deoksi-nükleotit-trifosfatlar (dNTP), (iv) Yüksek ısıya dayanıklı DNA polimeraz enzimi, (v) Uygun pH ve iyon koşullarını ( $Mg^{+2}$ ) sağlayan tampon karışımıdır. PCR yöntemi kolay uygulanabilir olması ve hızlı sonuç vermesi gibi avantajları nedeniyle klinik örneklerde

patojen organizmaların saptanmasında, DNA dizi analizinde, büyük miktarda DNA örneklerinin oluşturulmasında, bilinmeyen dizilerin tayininde, geçmiş DNA'nın incelenmesi ve evrimin aydınlatılmasında ve RFLP analizi gibi birçok farklı alanda kullanılabilir (Beaumont vd., 2010).

Tablo 1. Balıkçılık ve akuakültürde kullanılan bazı genetik tekniklerin karşılaştırılması (Beaumont vd., 2010)

	DNA Sekansı	SNPs	RFLP	VNTR	RAPD	AFLP	Allozim
<b>Genom haritası</b>	+	+++	++	+++	+	+++	+
<b>Pedigree veya ebeveyn tahmini</b>	+	+	+	+++	+	+	++
<b>Türler içinde popülasyonlar</b>	+	+	+++	+++	++	++	+++
<b>Cins veya tür seviyesi ilişkiler</b>	+++	-	++	+	++	++	+++
<b>Kantitatif karakter lokusu (QTL)</b>	-	+++	-	++	+++	+++	+
<b>Maliyet</b>	Y	A	O	Y	O	Y	A/O
<b>Doku isteği</b>	B	A	O	A	A	A	O
<b>Kodominant veya dominant</b>	-	EB	B	EB	B	B	EB
<b>Kodlama</b>	B	B	B	H	B	B	E

SNPs, Tek Nükleotid Polimorfizmi; **RFLP**, Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi; **VNTR**, Değişken Sayıda Ardışık Tekrar; **RAPD**, Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA; **AFLP**, Çoğaltılmış Parça Uzunluk Polimorfizmi. +++: Yüksek oranda bilgi verici, ++: Bilgi verici, +: Çok az bilgi verici, -: Uygun değil, Y: Yüksek, M: Orta, A: Az, D: Değişken, EB: Eş Baskın, B: Baskın, E: Evet, H: Hayır

### 1.3.2. DNA Dizi Varyasyonu

#### 1.3.2.1. DNA Dizi Analizi Yöntemi

DNA dizi analizleri yada sekanslama; DNA birincil yapılarının tayininde ve nükleotid baz diziliminin belirlenmesinde kullanılan yöntemdir. Analiz bir nükleik asit dizisinin diğerine hibridizasyonuna dayanır. Bu hibridizasyon sırasında radyoaktif yada radyoaktif olmayan maddelerle işaretleme yapılır. Sıklıkla gen mutasyonları (delesyon,

insersiyon vb.) tespiti ya da rekombinant DNA oluşum yapılarının tayininde kullanılır. Ayrıca gen regülasyonunda yer alan genetik kontrol bölgeleri, konsensus dizileri, epistatik genler ve etkileri belirlenebilmektedir (Beaumont vd., 2010).

İlk dizi analiz çalışmaları 1960'lı yılların başında 75-80 nükleotitlik tRNA'larla başlamıştır. Nükleotit dizilerin belirlenmesinde Sanger dideoksi yöntemi ve Maxam-Gillbert kimyasal degradasyon yöntemi kullanılmaktadır. DNA dizi analizi, gen yapısı ve genetik kontrol mekanizmaları hakkında birçok bilgi edinmemizi sağlamıştır. Bireyler arasındaki genetik farklılıkların tespit edilmesinde yaygın olarak DNA dizi analizi yöntemlerinden biri olan Sanger-Coulson'un zincir sonlanma (Dideoksi) yöntemi kullanılmaktadır (Sanger vd., 1977). Bu yöntem enzimatik DNA sentezine dayanır ve günümüzün en yaygın kullanılan DNA dizi analizi tekniğidir. Bu yöntemde dizisi saptanacak olan DNA ipliği yeni sentezlenecek iplik için kalıp olarak kullanılır. DNA, dört çeşit deoksinükleotid trifosfatla sentezlenir. Her bir nükleotid 3' -OH ucundan bir sonraki nükleotide bağlanır. Dideoksi yöntemiyle sentetik oligonükleotid sentezinde 3' -OH molekülü kritik rol oynar. Sentez sırasında zincire bir dideoksinükleotid eklenmesi zincir uzamasını sonlandırır. Çünkü 3. karbon atomundaki 3' -OH molekülünün oksijen atomu bulundurmaması zincirin uzamasına izin vermez. Bu nedenle metot aynı zamanda zincir sonlandırma (chain termination method ) olarak da adlandırılır (Beaumont vd., 2010).

Reaksiyon sonrasında elektrokinetik enjeksiyon sistemiyle çalışan cihazlarda fragmentler kısıdan uzuna doğru ayrılırlar. Sonlandırıldıkları noktada dideoksinükleotid taşıdıkları için her bir fragment dört çeşit dideoxynükleotidten birine ait floresan boyada bulundurmaktadır. Kapillerde bulunan küçük cam pencerenin önünden geçerken cihazın lazer sistemi floresan boyaları uyararak her birinin kendine özgü dalga boyunda ışımaya yapmasını sağlar. Yine cihaza entegre bir kamera sistemiyle bu ışımalar kaydedilir, sıraya konup değişik bilgisayar değerlendirmeleri ve filtrasyon işlemlerinden geçirildikten sonra DNA dizi bilgisi (sequence) olarak bize ulaşır (Beaumont vd., 2010).

### **1.3.2.2. Tek Nükleotid Polimorfizmi (SNPs)**

Tek nükleotid polimorfizmleri, nokta mutasyonlardan kaynaklı olarak tanımlar, bu da lokus içerisinde verilen bir nükleotid durumunda alternatif kökler içeren farklı alellerin oluşmasına neden olur (Liu, 2007).

Tek nükleotid polimorfizmi, bir purin (A ve G) nükleotidinin diğer bir purin nükleotidine veya bir pirimidin (C ve T) nükleotidinin diğer bir pirimidin nükleotidine değişimi (transition) şeklinde olabileceği gibi, bir purin nükleotidinin bir pirimidin nükleotidine veya bir pirimidin nükleotidinin bir purin nükleotidine değişimi (transversion) şeklinde de oluşmaktadır. Ayrıca bir ya da birkaç nükleotidin eklenmesi (insertion) veya eksilmesi (deletion) de yeni SNPs markerlerinin ortaya çıkmasına neden olan diğer faktörlerdir (Liu, 2007).

Tek nükleotid polimorfizmlerinin avantajları, genom boyunca çok miktarda SNP bölgesi olması, yüksek oranda polimorfik olmaları ve SNP analizinin bireyler arasındaki çok biçimliliği veya her tekil farklılığı tanımlayan tek sistem olmasıdır. SNP analizi bilgi dizisi için gereksinim içermesi, problemlerin ve hibritleşmenin gerekliliği, aşırı sarfiyat ve zor genotipleme gibi pek çok dezavantaja sahiptir (Liu, 2007).

#### **1. 4. DNA Parça Uzunluğu Varyasyonu**

##### **1.4.1. Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi (RFLP) Yöntemi**

Bakteriyel kökenli restriksiyon enzimlerinin (restriction endonuclease) 1970'li yıllarda tanımlanması ile RFLP, 1980'lerin başlarında genetik varyasyon analizi için en popüler yaklaşım olmuştur. Bakteri hücresi, enfeksiyona neden olan organizmalara karşı savunma mekanizması olarak çeşitli restriksiyon enzimleri oluşturmaktadır. Restriksiyon enzimleri bakteri hücrelerinden izole edilebilen ve genomik DNA parçalarını ya da belirli DNA'yı küçük fragmentlere ayırmak için laboratuarlarda kullanılmaktadır (Liu, 2007).

Restriksiyon endonükleazlar en iyi bilinen, ticari olarak mevcut olan ve en kullanışlılardır. Bu enzimler özel DNA dizilerini tanıyarak 5' fosfat ve 3' hidroksil grupları oluşturmak için her bir DNA zincirini keserler. Bu sınıf içerisinde tanımlanan enzimlerin büyük çoğunluğu için, tanıma bölgesi normal olarak 4-8 baz çifti uzunluğunda ve palindromiktir. Kesim noktası, tanıma bölgesi içerisindedir.

Çoğu bakteri türünde kesici-modifikasyon sistemleri bulunmaktadır ve hücre içine yabancı DNA'ların girişine karşı savunma mekanizması oluşturur. Bunlar iki bileşene sahiptir. İlki kesici endonükleazdır: kısa ve simetrik DNA nükleotit dizilimini tanırlar ve DNA'nın ikili iplikçliğini tanıdıkları bölgeden keserler (hydrolyzes). Böylece yabancı DNA nispeten küçük parçacıklara ayrılır. Sistemin ikinci bileşeni metilaz'dır ki, bu da hücresel

DNA'nın tanınan bölgesinde bulunan C ve A nukleotitlerine metil grubunu ilave eder. Bu modifikasyon endonükleaz enzimlerine karşı DNA'nın direnç göstermesine yardımcı olur.

Restriksiyon enzimleri, rutin olarak gen haritalarının yapılması, RFLP analizleri, DNA dizin analizi ve rekombinant DNA metotlarını da içeren çeşitli çalışmalarda anahtar role sahip bir ayıraç olarak kullanılır.

Kesici enzimler genellikle 4-6 bp'den oluşan spesifik olarak tanıdığı yerlerden DNA'yı keser. Kesilen DNA parçaları jel elektroforezi kullanımıyla boylarına göre ayrıştırılabilir. Sonuçta karakteristik yapıları; ethidium bromid boyama yoluyla, parçacıkların uç kısımlarının florasan veya radyoaktif olarak boyanması veya ilgilenilen DNA sekansının radyoaktif olarak işaretlenmiş prob hibridizasyonu yoluyla görüntülemek mümkündür.

Popülerliğine rağmen RFLP sadece DNA parçacıklarında büyük boyutlarda ekleme (insersiyon) ve kopmaları (delesyon) saptayabilir ve restriksiyon bölgelerini kazanıp veya kaybedebilir. Nokta mutasyon ve kopmaların veya düşük çözünürlüklü agaroz jel elektroforezi kullanılışından dolayı küçük boyutta ki eklemeleri (insersiyon) saptamalarda çoğunlukla yetersizdir. RFLP tek bir lokustaki genetik varyasyonu bir seferde belirlemeye çalışır. Polimorfik oranlar, pahalı ve zahmetli süreçlerle birleşince RFLP uygulaması sınırlanmış olur. Sonuç olarak; polimorfik oranlar pek çok lokusta düşüktür. Şu nokta özellikle belirtilmelidir ki; RFLP bilgi dizisi veya problemlerin sağlanabilirliği gibi öncelikli genetik bilgiye ihtiyaç duyar; genellikle pek çok balık veya diğer su ürünü türleri için bilgi mevcut değildir (Beaumont vd., 2010).

#### **1.4.2. Değişken Sayıda Ardışık Tekrar (VNTR)**

DNA dizisindeki çeşitlilik nokta mutasyon metodu olmayan bir metot tarafından belirli bölgelerde ortaya çıkarılabilir. Genom boyunca yayılan bölgeler DNA dizisinin tekrar (zincir halinde) dizilerini içeren VTNR olarak adlandırılır. Diziler çok kısa veya çok uzun olabilir (1-10 bç arası), fakat bu tekrar dizilerinin anahtar özelliği tekrar sayısının bireyler arasında çeşitlilik gösterebilmesidir. Tekrar sayısındaki artma veya azalmanın yeniden birleşme sırasında oluşan engellemeden dolayı kopyalama sırasında veya çoğaltma farkından dolayı açığa çıktığı ve bu süreçlerin sadece nokta mutasyonlardan bağımsız değil aynı zamanda daha çabuk oranlarda ortaya çıktığı düşünülmektedir. Satelit (100-5000 bç tekrarlanan birim), minisatelit (5-100 bç tekrarlanan birim) veya mikrosatelit (2-4 bç

tekrarlanan birim) lokuslarındaki tekrar sayısının çeşitliliği popülasyonda çok yoğun olabilir ve yakın zamanda değişen popülasyon genetiğinin araştırılmasında faydalı veriler sağlayabilir (Beaumont vd., 2010).

İsim olarak benzer olmasına rağmen bu belirleyici sınıfları minisatelitlerden biraz farklıdır. Tekrarlama birimi çok basittir (genellikle iki, fakat üç ya da daha fazla nükleotid de), her tekrar lokusunun başarısız dizileri nadirdir ve “lokus”un toplam uzunluğu minisatelitlerden çok daha kısadır. En önemlisi, mikrosatelitler genomda (omurgalılara özgü) daha kalabalıktır ve  $10^{-3}$  ve  $10^{-4}$  arasında mutasyon oranına sahiptirler. Çapraz serilerdeki akrabalığı belirlemek için, doğal bir popülasyondan görüntülenen bireyler arasındaki akrabalığın tahmini katsayısını ve popülasyonlardan kaçan formları takip eden en iyi belirleyicilerdir. En temel eksiklikleri yüksek maliyette olmaları ve tekniğin ilk aşamasının zahmetsiz olması, öncüllerin gelişimi olarak sıralanabilir.

Minisatelit bir “lokus” her biri 12-16 civarında nükleotid baz ve çekirdeğe sınır iki dizinin bir “çekirdek” dizisi içeren tekrarlı “birimler”den oluşur. Aynı çekirdekli fakat farklı sınır dizili lokus genom etrafında dağınık haldedir. Bunlar, özel bir minisatelit lokusun (çekirdek ve iki sınır dizisi) tekrarlı birimindeki çekirdek dizisi sonuçlarıyla yapılan araştırmalar, çekirdeğin yalnız olmasındansa, melezleşme zorlayıcı koşullar altında iki bağlı profiller üretebilir, yani tekil-lokus alel sıklıkları işaretlenebilir. Minisatelitler, onları bireysel kimlikleme de mükemmel yapan çok yüksek bir oranda (%15 kadar) mutasyona uğrayabilir, fakat bir popülasyon içerisinde rastgele seçilmiş bireyler arasındaki genetik ilişkiden sonuç almak için, yararlılıklarını azaltır.

### **1.4.3. DNA Parmak İzi (Fingerprinting)**

Genomik DNA restiksiyon enziminin özel bir bölümü ile kesilir ve farklı boyutlardaki parçacıklar elektroforez tarafından dağıtılır. DNA, Southern Blotting olarak bilinen teknik tarafından ince jelden bir naylon membrana dönüşür ve bu sırada membran genellikle genom boyunca olan özel olarak sınıflandırılmış satelit tekrar dizisi ile problaşır (melezleşir). Parçacıklar, birkaç ayrı sınıflandırılmış şerit olarak ortaya çıkan tekrarları içerirler. Bu şeritleme örnekleri her bireye ayrı ayrı uygulanmasından dolayı çok çeşitlidir (akraba olmayan bireyler arasındaki seçilimin değişimi milyonda birdir). Polimorfik olan büyük bir lokus sınıfını ortaya çıkarmakta ve varyasyon tespit edici bir moleküler teknik olarak kullanılmaktadır. DNA parmak izi, arka arkaya dizilen, tekrarlı ve kısa DNA zincir

düzeni içeren losi'leri ortaya çıkarır (VNTR). Losi'ler de bulunan alleller arasındaki farklılık, tekrarlı kısa DNA zincirinin tekrar sayısının farklılığından kaynaklanmaktadır. DNA parmak izi çok doğru bir şekilde ebebeyn belirlemesinden dolayı adli polisin DNA verisinde ilk kullandığı yollardan biridir (Beaumont vd., 2010).

#### **1.4.4. Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA (RAPD) Yöntemi**

RAPD yöntemi, 8-10 bazlık primer çifti kullanılarak genomdaki rastgele bölgelerin çoğaltıldığı PZR temelli bir yöntemdir. Bu yöntemde özgün hedef DNA bölgesi ya da hedef gen yoktur. Yalnızca bir tip primer kullanılır. Ancak, bunlar her iki DNA ipliğinde de 5'→3' yönünde çalışır. Her bir primer kısa ve düşük bağlanma sıcaklığından (36-40°C) dolayı DNA molekülünün farklı bölgelerine tesadüfi bağlanabilmekte ve bu bölgelerin çoğaltılmasını sağlamaktadır. Diğer moleküler genetik yöntemlerle karşılaştırıldığında RAPD yönteminin çeşitli üstünlükleri ve de eksiklikleri bulunmaktadır.

Bu teknik için en önemli sorun oluşan bant yapısının kullanılan DNA'nın kalitesine, PZR sıcaklık profiline, kullanılan polimeraz enziminin tipine ve reaksiyon kondisyonuna bağlı olarak hassasiyet göstermesidir. Bu yöntem için bir diğer dezavantaj homozigotluk ve heterozigotluğun tespit edilememesidir. Belirtilen bu eksikliklerine rağmen günümüzde, farklı türler, alttürler ve popülasyonlara ait DNA molekülünde mevcut bulunan genetik varyasyon hakkında ön bilgilerin elde edilmesi ve popülasyonların birbirleri ile karşılaştırılması amacıyla yapılan çalışmalarda halen bu yöntem yaygın olarak kullanılmaktadır (Williams vd., 1990; Lui, 2007).

#### **1.4.5. Çoğaltılmış Parça Uzunluk Polimorfizmi (AFLP) Yöntemi**

AFLP tekniği RAPD ve RFLP yöntemlerinin zayıf yönlerinin üstesinden gelen ve güçlü yönlerini birleştiren çok lokuslu bir DNA parmak izi yöntemidir. AFLP yönteminin kullanılmasındaki esas amaç, iki restriksiyon endonükleaz enzimiyle muamele edilerek kesilmiş çok sayıda genomik DNA parçacığının bulunduğu bir karışımda yer alan restriksiyon parçacıklarının özel bir alt grubunun çoğaltılmasıdır.

Bu teknik ile polimorfizm elde etme olasılığı oldukça yüksektir ve genom hakkında herhangi bir ön bilgi olmadan bu teknik uygulanabilmektedir. AFLP, moleküler sistematik,



populasyon yapısı analizleri, hibritler, ırklar ve ebeveynlerin tanımlanması ile genetik haritalamaları yapabilmek için kullanılmaktadır. Elde edilen her bir marker oldukça güvenilir ve bilgi sağlayıcıdır. Masraf, işgücü gereksinimi ve güvenilirliği RAPD ve RFLP arasında yer almaktadır. Çok sayıda lokusu aynı anda ve etkili bir şekilde taraması nedeniyle parmak izi analizine çok uygundur. AFLP tekniğinin en önemli eksikliği dominant markerler vermesidir. Genetik haritalamada AFLP markerleri genellikle kromozomların sentromer ve telomer (uç bölgeleri) bölgelerinde toplanmaktadır. Bu durum kromozomların diğer bölgelerinin analizlerini güçleştirmektedir. (Liu, 2007)

### 1.5. Fenotipik Varyasyon

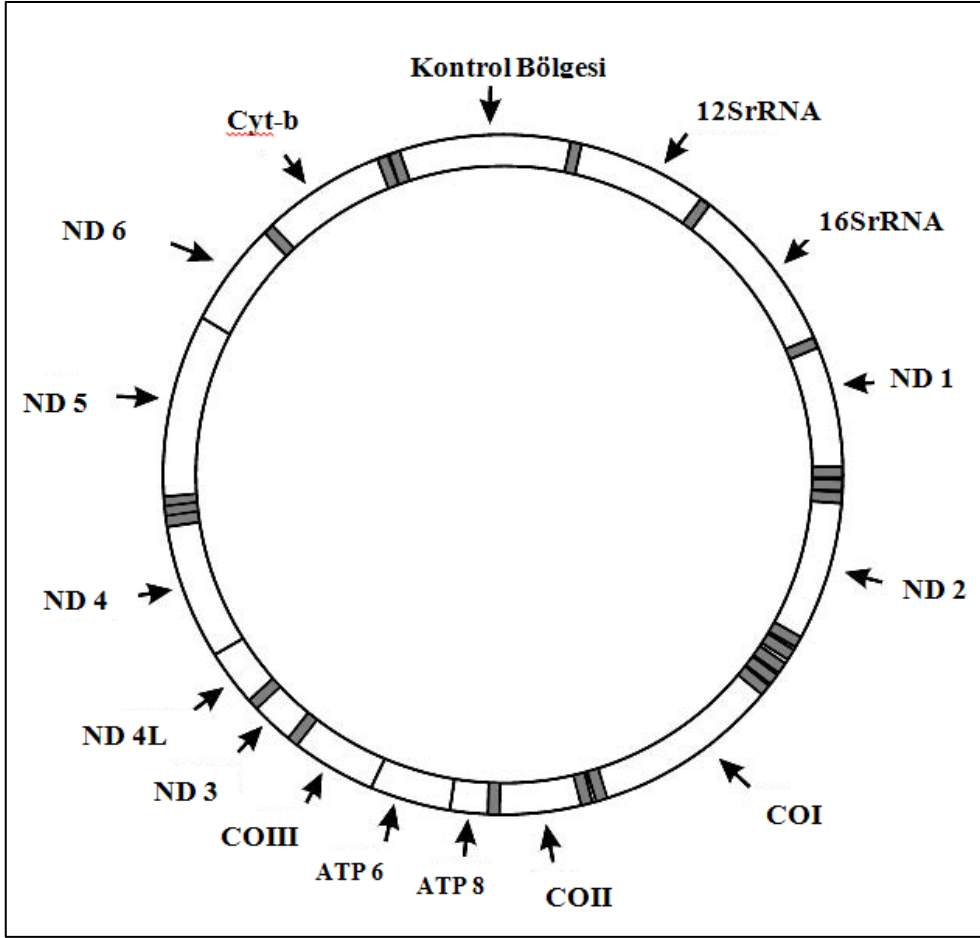
Sucul organizmalarda tek gen ya da gen çifti tarafından kontrol edilen ve kolayca tanımlanabilir fenotipik varyasyona sahip örnekler çok azdır. Buna en iyi örnek süs balıklarındaki renklenmedir. Küresel olarak, renkli fenotipte balık üretimi ekonomik önem arz etmektedir.

Tayvan Su Ürünleri Enstitüsü pek çok yılını dominant olmayan aleller tarafından kontrol edilen *Oreochromis mossambicus* kızıl çeşitlerinin potansiyelini geliştirmek için harcamıştır. *Oreochromis niloticus* ile melezleri geliştirmişler ve pek çok yapay seçilim neslini takip ederek, kararlı kızıl ve beyaz melez renkleri elde etmişlerdir. Şimdiye kadar kabuklu deniz hayvanlarındaki niteliksel özelliklerin ticari kullanımlarında birkaç örnek olmuştur. Örneğin Tazmania'da altın renkli Pasifik istiridyesi (*Crassostrea gigas*), Amerika'da sert kabuklu midyenin 'notata' formu (*Mercenaria mercenaria*) veya Fransa'da beyaz renkli Manila midyesi (*Ruditapes philippinarum*).

Mendel her biri tek gen tarafından kontrol edilen karakterlere (yuvarlak veya buruşuk tohum; uzun ya da kısa bitki) sahip olan bezelyeler üzerinde çalışmıştı. Böylesine kolayca tanımlanabilen tek genin belirlediği fenotipik özellikler çoğu organizmada gözlenmez. 1960'lardan günümüze protein ve DNA genetik belirteçlerin gelişimi nedeniyle tek gen fenotip varyasyonu belirleme günümüzde yaygın değildir. Oysaki bu çeşit fenotipik farklılıkları genetik laboratuvarı erişimi olmayan balık üretim tesisleri için oldukça önemlidir (Beaumont vd., 2010).

## 1.6. Mitokondriyal Genomun Biyolojisi

Çoğu kez hücrenin güç santrali olarak düşünülen mitokondriler, solunum olarak bilinen kimyasal tepkimelerin meydana geldiği bölgelerdir. Mitokondri hücre solunumu ve diğer fonksiyonlar için hayati öneme sahip genleri içermektedir. Mitokondri DNA'sı hücrenin DNA'sından fiziksel olarak ayrılmıştır, yani nükleusun dışında bulunur. Bu özelliğinden dolayı mitokondrinin endosimbiyoz teorisine dayanarak  $\alpha$ -Proteobakteri kökenli olduğu düşünülmektedir (Gray, 1992; Martion ve Müler, 1998; Cao, 2003). Mitokondriyal genom, ortak kökenli olmasına rağmen canlılar aleminde genomun boyutunda, gen içeriğinde ve diziliminde önemli oranda değişiklik sergiler. Protistalardan *Plasmodium falciparum* 5 gen kodlayan, 6 kbç doğrusal genoma sahipken (Wilson ve Williamson, 1997; Cao, 2003) *Reclimonas americana* 94 gen kodlayan, 64 kbç uzunluğunda halkasal bir genoma sahiptir (Cao, 2003). Fungilerde mitokondriyal genom, 24-43 gen kodlayan, büyüklüğü 19-100 kbç uzunluğunda halkasal ya da doğrusal yapıdadır. Bitkilerde halkasal ya da doğrusal olan mitokondriyal genom 50-70 gen kodlamasına rağmen genom boyutunda 180 ile 2400 kbç arasında önemli miktarda değişim göstermektedir. Hayvan mtDNA'sı bahsedilen diğer canlı gruplarındaki mtDNA'lara göre nispeten korunmuştur (Cao, 2003). Hayvan mtDNA'sı 16-20 kbç uzunluğunda çift zincirli, dairesel bir molekül olarak bulunur. Bu genom 13 protein (yedi NADH dehidrogenaz alt ünitesi, üç sitokrom oksidaz alt ünitesi, ATPase 6, ATPase 8 ve sitokrom b) 22 transfer RNA (tRNA) ve 2 ribozomal RNA (rRNA; 12S ve 16S, S: göreceli büyüklüğün ölçüsü olarak Svedberg birimi) kodlayan genler ile bir tane de mtDNA replikasyonu ve RNA transkripsiyonu için başlangıç olarak hareket eden DNA'nın kodlama yapmayan gen bölgesini taşır (Şekil 3). Bu da kontrol bölgesi olarak adlandırılır (Beaumont vd., 2010). Diğer hayvan mtDNA'larından farklı olarak nematodlar gibi *Mytilus* mtDNA'sında ATPase 8 geni bulunmamaktadır. Ayrıca metiyonin için iki tRNA geni gerekli olmasına rağmen *Mytilus* metiyonin için tek tRNA geni içerir (Hoffmann vd., 1992).



Şekil 3. Hayvan mtDNA'sı (Beaumont vd., 2010).

Mitokondriyal DNA kompakt bir yapıya sahip olmasının yanında haploittir. Sitoplazmik olarak kalıtsaldır ve yumurtanın sitoplazması dışıdan geldiği için mtDNA'da baskın olarak anneden (maternal) geçmektedir (Billington, 2003). Mitokondriyal DNA babadan (paternal) döllere çok az (bazı balık türleri, *Engraulis encrasicolus* ve midye), veya hiç geçmemektedir. Mitokondri genomları arasında rekombinasyon yoktur. Ayrıca intron bölgelerinin ve hemen hemen hiç tekrar dizilerinin bulunmaması ile nükleer DNA'ya göre 5-20 kat daha fazla mutasyon oranına sahiptir. Bir başka deyişle mtDNA genetik kaymaya karşı hassas ve büyük farklılıklar gösteren bir işaretleyici olarak gözükmemektedir ve böylece türler ve populasyonlar arasındaki farklılıkları görmek kolaylaşır ve bu da mtDNA'yı hem sistematik hem de populasyon genetiği çalışmaları için çekici kılar (Beaumont vd., 2010).

Mitokondriyal genomun farklı bölgeleri farklı oranlarda ortaya çıktığından bu bölgeler belirli tip çalışmalar için hedeflenmiştir. Cytochrome b ve ND genleri populasyon düzeyinde farklılık gösterdiği rapor edildiğinden birçok türde çalışılmaktadır. Ayrıca D-loop memelilerde yüksek oranda farklılıklar gösterdiği için populasyon çalışmaları için tercih edilmektedir, ancak bu durum balıklar için geçerli değildir. Mitokondriye ait ribozomal genler türler için ve hatta familya seviyesinde çalışmalarda kullanılmaktadır (Çiftci, 2003).

Spermatozoada mitokondri kuyrukta bol miktarda bulunup hücre içerisinde hemen hemen hiç yoktur (Beaumont vd., 2010). Döllenme sırasında spermatozoa kuyruğunu dışarıda bıraktığından dolayı mtDNA sadece dişi gamet (yumurta) yoluyla aktarılır. Organel DNA'nın izogamik türlerde (gametler arasında boyut açısından farklılık olmayan) neden uniparental kalıtıldığına cevap vermez. Örneğin *Chlamydomonas reinhardtii*'de mtDNA negatif tip gametle ve kloroplast DNA (cpDNA) pozitif tip gametle taşınır (Neale vd., 1989). Gerçekte geçerli bakış açısı anizogamiden ziyade tek ebebeynli organel kalıtımının so+nucu olmadığıdır (Hoekstra, 1987; Zouros, 2000).

Maternal mtDNA'nın kalıtımı neredeyse tüm hayvanlar aleminde aynı şekildedir (Beaumont vd., 2010). Ancak Skibinski vd. (1994) ile Zouros vd. (1994) Mytilidae familyasından *M. edulis*'de mtDNA'nın tam anlamıyla maternal kalıtım ilkesine uymadığını belirtmişlerdir. Zouros vd. (1994) midyelerdeki mtDNA kalıtımını iki ebebeynli kalıtım "doubly uniparental inheritance" (DUI) olarak adlandırılmıştır. Ayrıca Unionidae familyasındaki tatlı su midyesi türlerinde (Liu vd., 1996) ve bir kum midyesi türü olan *Tapes philippinarum* (Passamonti ve Scali, 2001) türünde mtDNA'nın standart maternal yolla döllere geçmediği belirlenmiştir. Adı geçen çift kabuklu canlılar 2 tip mitokondriyal genom taşırlar. Maternal (F tipi) ve paternal (M) olmak üzere mtDNA'nın iki şekilde diğer döllere aktarımı mevcuttur. F tipi dişiden hem erkek hem de dişi bireylere geçerken, M tipi erkekten sadece erkek döllere aktarılır. M genomu F genomundan daha fazla oranda evrim geçirir. Normal şartlarda F tipi için dişiler homoplazmiktir. Erkeklerde F ve M tipleri için heteroplazmiktir. Ancak bu heteroplazmiklik somatik dokularda maternal, gonadlardaysa paternal dominantlık şeklindedir (Ladoukakis vd., 2002). Sonuç olarak: F geni erkek kuşağa taşınır ve M geninin yerini aldığı düşünülebilir. Böyle değişimler cinsiyetler arasında (gender-associated lineages) uzaklaşmayı engeller ve bu da maskulinizasyon (erkekleşme) olarak adlandırılır (Simietanka vd., 2004).

M tipi mtDNA erkek gonadında yüksek konsantrasyonda vardır ve bu mtDNA'nın sadece spermatozoonda bulunduğu düşünülür. Spermatozoonda bulunan M mtDNA molekülleri yumurtaya girer ve henüz tam olarak anlaşılmamış bazı yollarla fertilizasyondan sonra yumurtada kalır. (Beaumont vd., 2010).

DUI olayı diğer familyalardan sadece tatlı su midyelerinde (Unionidae) görülmektedir (Liu vd., 1996). Mytilidae ve Unionidae familyaları "midye" olarak aynı ortak isimle anılmalarına rağmen bu midye familyaları 400 milyon yıl önce ayrılmış olan uzak akrabalarıdır. Kum midyesi, taraklar ve istiridyeler DUI'ya sahip değilmiş gibi görünse de onlar üzerinde de çalışmalar devam etmektedir. DUI'nın Mytilidae ve Unionidae familyalarında bulunması ya bu olayın çok eski olduğunu ya da bir çok kez bağımsız olarak ortaya çıkmış olduğunu ifade etmektedir (Hoeh vd., 1996). DUI'ya iki mtDNA neslinin kalıtımı ve cinsiyet belirlenmesi arasında karmaşık ilişkinin tersine basit genetik sisteme sahip olabileceği işaret edilir. Eğer DUI'nın sadece birkez ortaya çıktığını kabul edersek, o zaman onun bivalvelerin diğer gruplarında bulunmayışında, ikincil kaybın söz konusu olduğunu belirtebiliriz. Sitoplazmik kalıtımın geçişinin istisnai mekanizmasının detayları anlaşıldığında, Nasıl standart uniparental mekanizma evrim geçiriyor ve nasıl çalışıyor sorularının yanıtlarını çok daha iyi anlayacağımız açıktır (Zouros, 2000).

### **1.7. Filogenetik ve Filogenetikte Kullanılan Metotlar**

Filogenetik, çeşitli organizma grupları (örneğin türler veya topluluklar) arasındaki evrimsel ilişkinin araştırılmasıdır. Bu ilişkiler filogeni olarak adlandırılır. Filogenetik terimi Yunanca kökenlidir, takım veya tür anlamına gelen "phyl" ve köken anlamındaki "geny" terimlerinden türetilmiştir (Avice, 2006). Filogeniye göre tür ve tür üstü kategorisindeki taksonlar jeolojik dönemlerde türleşme süreçleri ile oluşmuşlardır. Bu türleşme süreçlerinin açıklanması ile taksonlar arasındaki evrimsel ilişki (akrabalık) açıklanmış olur. Bir takson veya takson grubunun filogenilerinin belirlenmesi demek, zamansal olarak (önce-sonra) onların birbirleri ve diğer taksonlarla ortak ata temelinde durumlarının ortaya konması demektir. Darwin'e göre; grupların her birinin sınıf (birim) halinde düzenlenmesi, bölünmeleri ve diğer gruplarla ilişkilerinin doğal olabilmesi için kesinlikle soy ilişkisi olmalıdır. Hennig (1999) filogeni ve sınıflandırma ilişkisini ile ilgili olarak "organik çeşitliliğin soy ilişkisini (kan bağı) ortaya koyan bir sistem, hem doğal bir

sınıf sistemdir ve hem de kendiliğinden doğal taksonların sınırlarını belirler” demektedir. Filogenetik sistematikte taksonları birbirinden ayırt etmek için sadece filogenetik ağaçlar ve evrimsel hayat ağacının araştırılması için filogenetik analiz yöntemleri kullanılmaktadır. Bu yöntemler sonuçlıcı olmasa da veya kullanılmakta olan metotlarla soy ilişkisi çok kesin olarak ortaya konamasa da doğal bir sınıflandırmaya ulaşmak, evrimsel sorunların incelenmesi ve gruplar arası evrimsel ilişkinin tahmini ile mümkündür.

Filogenetik metotlar uzaklık temelli ve karakter temelli olarak sınıflandırılabilir. Moleküler filogenetikteki tartışmaların çoğu uzaklık temelli ve karakter temelli metotların kullanımı üzerine sürmektedir (Brinkman ve Leipe, 2001). 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. En sık uygulanan uzaklık temelli metotlar; komşu-bağlantı metodu ve Fitch-Margoliash metodu, en sık uygulanan karakter temelli metotlar ise maximum parsimoni metodu ve olasılık metodudur.

### **1.7.1. Uzaklık Temelli Metotlar**

Uzaklık temelli metotlar türetme ağaçlarına hizalanmış iki dizi arasındaki uzaklığın mesafesini kullanırlar. Bir uzaklık metodu, eğer bütün genetik ayrılma durumları tam olarak dizi halinde kaydedilmişse doğru ağacı yeniden oluşturabilir (Swofford vd., 1996). Bununla beraber ayrılma, diziler mutasyonel olarak doygunluğa ulaştığında daha üst bir limitle karşılaşır. Ayrılmış çiftin bir dizisi özel bölümlere dönüştükten sonra, ardındaki dönüşümlerde dizi bölümleri “farklı” olarak tanımlanamaz. Aslında sonraki dönüşümler onları tekrar eşit yapabilir (örneğin, eğer bir valine bir isoleucine dönüşürse, tekrar bir valine dönüşür). Bu nedenle pek çok uzaklık temelli metot bu çeşit “görünmeyen” yer değiştirmeler için doğrudur. Gerçekte hücre arası madde oranı uygulamasının etkin olduğu varsayılır ki gözlenen ikili temel kimliklerin belirli oranı aslında mutasyonlarla yer değiştirir ve bu oran da toplu sıra ayrımı artışıyla artar. Bazı programlar belirsiz uzaklıkların hesabını en azından opsiyonel olarak sağlar, oysa, örneğin MEGA program (Kumar vd., 1994) kodon ve amino asit verileri için sadece belirsiz uzaklıkları sağlar. Bütün ayrımlar çok küçük değilse daha sonraki yaklaşımlar hatalı sonuçları neredeyse

garantiler. Çift yönlü uzaklık, yer değiştirme oranlarının maksimum olasılıkları kullanılarak hesaplanır. Uzaklık metotları sayısal olarak maksimum olasılık metodundan daha az yoğundur fakat dizi evriminin aynı modellerini kullanabilir. Bu onların en büyük avantajıdır. Dezavantaj ise asıl karakter verilerinin atılmış olmasıdır. En sık uygulanan uzaklık temelli metotlar ise aritmetik ortalamalı ağırlıksız çift grup metodu [Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean (UPGMA)], komşu-bağlantı metodu [Neighbor Joining (NJ)], uzaklık ağacının toplanılabilirliğini optimize eden metotlar ve minimum evrim (Minimum-Evolution ME) metodunu içerir. Bir filogenetik yazılım paketinden pek çok metot kullanılabilir fakat bütün sağlayıcılar aynı parametre şartlarına ve ağaç optimizasyon özelliklerine izin vermezler.

#### **1.7.1.1. Aritmetik Ortalamalı Ağırlıksız Çift Grup Metodu (UPGMA)**

Bu metot kümelenmiş veya genetik algoritma eklenmiş çiftlerin ortalaması ve çiftler arasındaki önemli benzerlik kriterine dayalı ağaç dallarına eklenir. Tam anlamıyla evrimsel bir uzaklık metodu değildir. UPGMA'dan, ayırım sadece moleküler zamana (ultrametric; Swofford vd, 1996) göre olduğunda veya olgunlaşmamış dizi benzeşmezliğine yaklaşık olarak eşit olduğunda doğru dal uzunlukları ile eksiksiz bir topoloji üretmesi beklenir. Daha önceden de söz edildiği gibi bu uygulamalara nadiren rastlanır.

#### **1.7.1.2. Komşu-Bağlantı Metodu (NJ)**

Komşu-bağlantı algoritması optimizasyon kriterini gözardı ederek uzaklık ağaç yapımı ile yaygın olarak uygulanır. Tamamen kararlı ağaçlar, tamamen kararsız “yıldız” ağaçlardan, yakın (aslında tamamen izole edilmiş) komşuların bir çifti ve ağaçta kalan bağlantılar arasındaki bağlantıların ard arda dallar eklemesi sayesinde “ayrılmıştır”. Yakın komşu ikilisi yıldız ağacı etkin bir biçimde düzelterek birleştirilir ve süreç tekrarlanır. Bu metot nispeten hızlıdır.

### **1.7.1.3. Fitch-Margoliash Metodu (FM)**

Fitch-Margoliash metodu bütün muhtemel gözlenen uzaklıkların ağaç üzerindeki bütün muhtemel yörünge uzunlukları ile bağıntılı olmasının karelenmiş sapması minimize edilerek gözlenen ikili uzaklıkları ağaca uygunluğunu maximize etmeyi ister (Felsenstein, 1997). Çeşitli varyasyonlar vardır ve bunlar hatanın nasıl ağırlıklı hale gelmesindeki değişiklikleri gösterir. Dağılım tahminleri tamamen bağımsız değildir çünkü dahili ağaç dallarındaki tüm hatalar en azından iki kere sayılmıştır (Rzhetsky ve Nei, 1992).

### **1.7.1.4. Minimum Evrim Metodu (ME)**

Minimum evrim FM'ye benzer davranışta ölçülen yörünge uzunlukları ile bulunan en kısa ağacı ister; yani; ME ağaç temelli uzaklık gözleminin karelenmiş sapmasını minimize ederek çalışır (Rzhetsky ve Nei, 1992; Swofford vd., 1996; Felsenstein, 1997). FM'den farklı olarak, ME bütün muhtemel ikili uzaklıkları kullanmaz ve bütün ilgili ağaç yörünge uzunluklarını kullanmaz. Daha ziyade, dış nodların uzaklığına bağlı iç ağaç boğumlarını düzenler ve sonra bu gözlemlenen noktalar arasındaki ölçüm hatasına göre iç dal uzunluğunu en uygun hale getirir. Böylece, FM ölçümlerinin non-bağımsızlığını ortadan kaldırmayı iddia eder.

### **1.7.2. Karakter Temelli Metotlar**

Karakter temelli metotlar analizdeki bütün adımlarda karakter verisi olarak kullanılmasının yanı sıra birbirleriyle pek az benzerler. Bu diğer temel pozisyonlara göre hizalamada her temel pozisyonun güvenilirliğinin değerlendirilmesini sağlar.

### **1.7.3. Maksimum Sıklık (MP)**

Maksimum sıklık veri tanımı basit olan ilkeye bağlı olan bir optimizasyon kriteridir ki bu varsayımlar için en azını gerektiren bir ilkedir. Pratik olarak, MS ağacı en kısasıdır, en az değişiklikle, tanım olarak da en az paralel değişikliği olandır. MS'nin karakter durum



değişimi yönlülüğüne izin verilenle alakalı farklılaşan çeşitlilikleri vardır. (Swofford vd., 1996).

İkame sapmasını yerleştirmek için MS ağırlıklandırma için uygundur; örneğin, değişimin dönüşümü değişime göre ağırlıklandırılabilir. Bunu yapmanın en kolay yolu, yukarıda tarif edildiği gibi, ML kullanılarak ağırlıkların karşılıklı oranlarının tahmin edildiği ağırlıklandırılmalı derece matrixi (step-matrix) oluşturmaktır.

Bununla birlikte, ağırlıklandırılmalı derece matrixi (step-matrix weighting) MS hesaplamasını yavaşlatabilir. MS metodu var olan mekan arası oran bileşimi söz konusuysen kötü bir performans gösterebilir (Huelsenbeck, 1995).

İlk yaklaşım olasılık tahmini ile belirlendiği gibi, data serisini biraz farklılık gösteren veya hiç göstermeyen bölgeler içerecek şekilde değiştirmektir. Diğer yaklaşım ise tekrarlanarak ağırlık değiştiren durumları eğilimlerine göre başlangıç ağaçlarında gözlemlendiği gibi değiştirmek. Bu “ardışık yakınlık” yaklaşımı başlangıç ağaçlarını yanlış yapabilecek derece hatalarını içermeye meyillidir.

## 1.8. Önceki Çalışmalar

Morfometri, organizmaların şeklinin kantitatif analizi ve birçok evrimsel, ekolojik ve gelişimsel biyoloji çalışmalarının bir parçasıdır. *Mytilus* cinsine ait kabukların çeşitli karakteristik özellikleri McDonald vd. (1991), Karakousis ve Skibinski (1992), Mallet ve Carver (1995), Gardner (1996), Bates ve Innes (1995) ve Innes ve Bates (1999) tarafından analiz edilmiştir.

Mitokondriyal DNA'nın izolasyonunun kolay olması çalışma açısından ekonomik boyuta sahip olması, maternal (dişi) kalıtımı, rekombinasyona uğramayı ve intron bölgelerinin bulunmaması gibi özelliklerinden dolayı populasyon genetiği, moleküler sistematik ve filogeni çalışmalarında yaygın olarak kullanılan genetik işaretleyicilerden biri olmasında önemli rol oynamaktadır (Billington, 2003).

Hoffman vd. (1992) ilk olarak mavi midye (*Mytilus edulis*) de 17,1 kb (kilobaz) olan mtDNA'nın 13,9 kb'lık sekansını belirlemişlerdir. Bu aynı zamanda Mollusca filumu içinde de ilk moleküler çalışma niteliğindedir.

Organel DNA'nın genel bir kural olan tek ebebeynli kalıtımına karşın *M. edulis*'in her iki ebeveyninin mtDNA'sını dölün geniş fraksiyonları halinde taşımaktadır (Zourous, 1992). Bu türlerin populasyonları arasında heteroplazminin daha yüksek olduğu

gözlenmiştir (Fisher ve Skibinski, 1990). Heteroplazmi bir çok hayvan türleri arasında meydana gelmektedir, ancak cinsiyete göre meydana gelme sıklığı yeni bir bulgudur. Diğer bir çalışma cinsiyete bağlı olarak heteroplazmiyi çalışmamış fakat moleküler farklılığın miktarı yerine bireysel olarak midyelerde heteroplazmik olan moleküller arası farklılığa odaklanmıştır (Hoeh vd., 1991). Dişi mtDNA (F)'sı erkeklerde bulunmakta ve bunun yanında dişilerde normal olarak bulunmayan M molekülünü erkekler içermektedir (Skibinski vd., 1994a, Skibinski vd., 1994b). Dişi gonadı doğal olarak F molekülü içerir ancak midyelerde erkek gonadı şaşırtıcı şekilde sadece M molekülü içerir. Dişilerin homoplazmisini ve erkeklerin heteroplazmisini açıklamak için, sperm mtDNA'sının bir çift olgunlaşan (a pair mating) dişiye/kızkardeşe kalıtılmadığını ancak erkek kardeşlere kalıtıldığı hipotezine sahipti. Bu hipotezi kanıtlamak için Zourous vd. (1994a) tarafından biri dişi diğerleri iki erkek olan ve birbirinden uzak olan 3 ebeveynli olgun çiftler oluşturuldu. Aynı zamanda erkek ebeveyn genomunun kendi babasından kalıtılmış olduğu bilgisine sahiplerdi. Çiftleştirildiklerinde ve bu çaprazlamanın genotipleri gözlemlendiğinde, neredeyse istisnasız, tüm dişi nesile annenin tek mtDNA genomu ve tüm erkek nesile iki genom kalıtıldığını ortaya koydular (anne ve babanın genomları). Babanın maternal genomu dişi yada erkek herhangi bir yavruya geçmediğini belirlediler. Böylece midyelerde mtDNA kalıtım sisteminde tek ebeveynli kalıtım kuralına uymayan tek şeyin bir cinsiyetten dolayı, erkek, gerçekleştiğini vurgulanmıştır (Zourous vd., 1994b).

*Mytilus edulis* türünde Stewart vd. (1995) ile Rawson ve Hilbish (1995) sırasıyla COIII ve 16S rRNA gen bölgelerinde erkek ve dişi de mtDNA kökenleri üzerine çalışmışlardır. Quesada vd. (1998) toplam 77 bireyde RFLP yöntemiyle COIII ve ND2 gen bölgelerini kullanarak F ve M genomlarının homolog segmentlerinde filogenetik ilişkiyi ve nükleotit farklılığı ile uzaklığını belirlemiştir.

Ladoukakis ve Zouros (2001), Karadeniz'de *M. galloprovincialis*'in homolog mtDNA (COIII gen kod bölgesi) rekombinasyonunun erkek midyelerin gonadlarında yaygın olduğunu bildirmişlerdir. Ladoukakis vd. (2002) tarafından Atlantik, Akdeniz ve Karadeniz'de *M. galloprovincialis* populasyonlarında dişi ve erkek mitokondriyal genomları arasındaki varyasyon miktarını ve genetik mesafe belirlenmiştir. Söz konusu denizlerde toplam 5 istasyondan örnek alınmıştır. Türkiye kıyılarından herhangi bir örnek alınmamış olup, Karadeniz'den sadece kuzeyden tek örnekleme yapılmıştır. Karadeniz'den alınan örnekte erkek midyenin M tipi mtDNA içermediği vurgulanmıştır.

Baltık Denizi'nde *M. trossulus*'un mtDNA'sında D-loop kontrol bölgesinde rekombinasyonun varlığına yönelik çalışmalar yapılmıştır (Burzynski vd., 2003). Bu bulgular midyelerde, özellikle Karadeniz midye popülasyonunda rekombinasyonla ilgili ilave çalışmalara olan gereksinimi ortaya koymaktadır.

Avrupa denizlerinin kuzey ve güney kıyılarını içeren geniş bir coğrafyada *Mytilus* popülasyonlarının mtDNA polimorfizmi üzerine yapılmış ilk çalışma Smietanka vd. (2004) tarafından gerçekleştirilmiştir. PZR-RFLP tekniği kullanılarak, her istasyondan toplanan 35-50 örnekte ND2- COIII gen ve kontrol bölgeleri çalışılmıştır. Karadeniz'i temsilen Azak Deniz'inden *M. galloprovincialis* örneği alınmış ve popülasyonlarında erkek mitokondri genomunda yüksek oranda farklılıklar olduğu ortaya konulmuştur.

Görüldüğü gibi Avrupa kıyısız sularında yayılım gösteren *Mytilus* popülasyonlarına yönelik yapılan araştırmalarda benzer yöntemler uygulanmıştır (Quesada vd., 1998; Ladoukakis vd., 2002; Smietanka vd., 2004). Kuzey Karadeniz'de tek noktadan alınan örneğin Karadeniz'i ve Türkiye sularını ne kadar temsil ettiği, Ladoukakis vd. (2002) tarafından ileri sürülen Karadeniz erkek midyelerinin M tipi mtDNA içermediğinin ne kadar yaygın olduğu ve ayrıca Ladoukakis ve Zouros (2001)'in rapor ettiği erkek midyelerde rekombinasyonun görülmesinin yaygınlığı cevaplanması gereken hususlardır.

*Mytilus galloprovincialis*'in popülasyon genetiği ile ilgili ülkemizde yapılmış bir araştırmada, Kurtuluş (2009) İstanbul Boğazı'nın kara midye (*M. galloprovincialis*) popülasyonları üzerinde gen akımını engelleyip engellemediğini anlamak için mitokondrial DNA COIII dizileri kullanılarak incelemiştir. Eldem (2010) tarafından yürütülen çalışmada Karadeniz'de 2 popülasyon ve Marmara Denizi'nde 3 popülasyon da toplam 50 midye örneğinde ribozomal DNA'da ITS lokusunu incelemiştir. Bu çalışmalara ek olarak Karadeniz'de sadece Azak Denizi (Smietanka vd., 2004) ve Sivastapol-Ukrayna (Ladoukakis, 2002), Odessa- Ukrayna (Kijewski, 2011) popülasyonları örneklenerek mtDNA çalışılmıştır.

Bu araştırmada, ülkemiz karasularında geniş dağılım alanı bulan doğal *M. galloprovincialis* stoklarında, cinsiyet ve doku ayrımı dikkate alınarak popülasyon içi ve popülasyonlar arası morfolojik ve genetik varyasyonun belirlenmesi amaçlanmıştır.

## 2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

### 2.1. Araştırma Sahası

Karadeniz’de, Hopa, Trabzon, Ordu, Sinop, Zonguldak, Marmara Denizi’nde İstanbul ve Çanakkale Boğazları ile Ege Denizi’nde Ayvalık, Çeşme ve Bodrum kıyılarında *M. galloprovincialis*’e ait populasyonlardan 2007-2009 tarihleri arasında 50 mm ve üzeri boya sahip, bu özellikteki midyeler elde edilemediği durumlarda anterior ve posterior mesafesi en fazla olan midye örnekleri toplanmıştır (Şekil 4). Örneklerin bir kısmı saha çalışması sırasında ayrı ayrı %95’lik etanol içeren sızdırmaz kaplarda bir kısmı da soğutucu kaplarda markalanarak muhafaza edilmiştir.



Şekil 4. Örnekleme sahası

### 2.2. Örnekleme Yöntemi

İstasyonlardan elde edilen 20 dişi 20 erkek midyenin gonad ve solungaçları (Ladoukakis vd., 2002) titizlikle ayrılarak içerisinde %95’lik etanol bulunan 1,5 ml’lik tüplerde -20°C ortamda DNA izolasyonu için muhafaza edilmiştir (Toro, 1999).

### 2.2.1. Cinsiyet Belirleme Yöntemi

Midyelerin gonad gelişimlerinin farklı evrelerde olmasından dolayı mikroskop ile cinsiyet tayininin tam olarak yapılamadığından midyelerin cinsiyetleri kolorimetrik yöntemle belirlenmiştir (Mikhailov vd., 1995; Mills ve Cote, 2003). Bunun için yaklaşık 20 mg midye gonad örneği bir cam tüpe aktarıldıktan sonra üzerine, 2 ml %20'lik trikloroasetik asit ve taze hazırlanmış 0,5 ml %0,75 tiobarbiturik asit karışımından eklenerek 100°C'de 20 dakika inkübe edilerek renk değişimi gözlenmiştir. Örneğin rengi sarıya dönüştüğünde cinsiyet erkek, pembeye dönüştüğünde ise dişi olarak belirlenmiştir (Şekil 5).



Şekil 5. Gonad dokusuna göre renk değişimi (Sarı: erkek, Pembe: dişi)

### 2.2.2. Morfometrik Ölçümler

Dokuları DNA izolasyonu için muhafaza edilen midyelerin kabukları morfometrik analiz amacıyla markalanmıştır. Kabuklarda morfometrik olarak 8 ayrı ölçüm yapılmıştır. Bunlar sırasıyla;

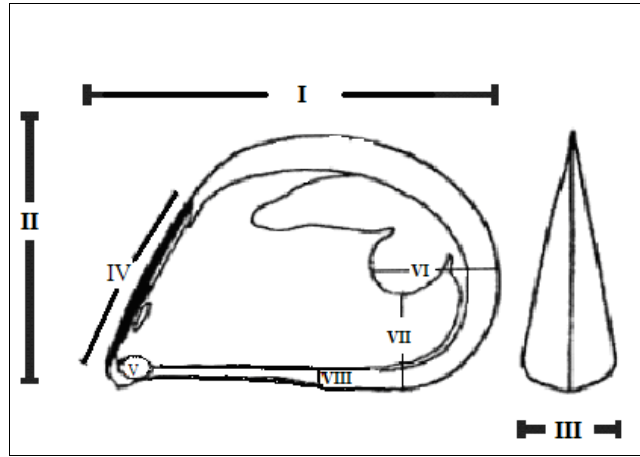
- I- Kabuk boyu,
- II- Yükseklik,
- III- Genişlik,
- IV- Ligament boyu
- V- Anterior kas izi uzunluğu (AKİU),

VI- Posterior adüktör kas izinin anterior kısmı ile posterior kenar arası mesafe (PAKİAKİPKAM),

VII- Posterior adüktör kas izi ile ventral kenar arası mesafe (PAKİİVKAM),

VIII- Yumuşak doku izi ile ventral kenar arası mesafe (YDİİVKAM)

şeklindedir (Şekil 3). Morfometrik ölçümlerden anterior kas izi uzunluğu ile yumuşak doku izi ile ventral kenar arası mesafe sterio diseksiyon mikroskobunda oküler mikrometre ile diğer ölçümler ise 0,1 mm hassasiyetli dijital kumpas ile yapılmıştır. Kabuk boyu, yükseklik ve genişlik ölçümleri her iki kabuk birleştirilerek, bunların dışındaki ölçümler ise sol kabuk üzerindeki izlerden yapılmıştır (Toro,1999).



Şekil 6. Morfolojik karakterlerin ölçüm noktaları (Toro,1999).

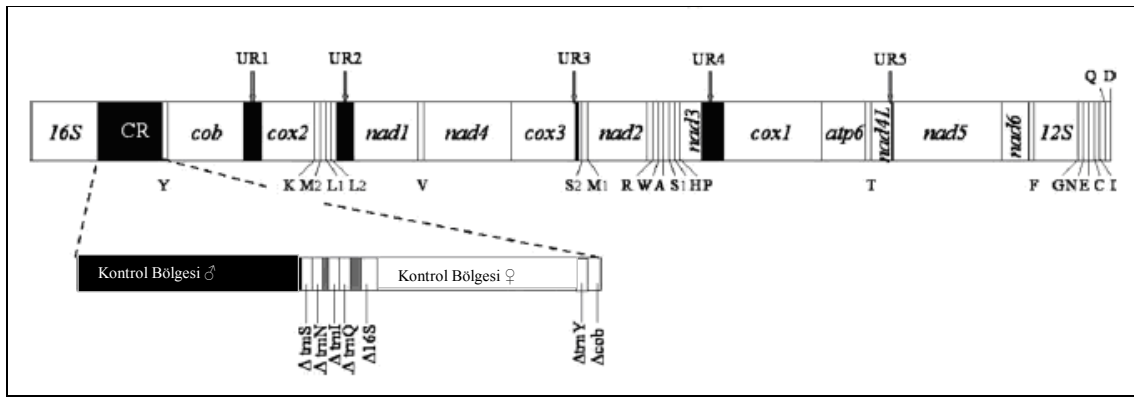
### 2.3. Toplam DNA'nın İzolasyonu

Midyelerin gonad ve solungaçlarından yaklaşık 15–20 mg doku örneği tartıldıktan sonra 3–4 parçaya bölünerek oda sıcaklığında 5 dakika bekletilmiş ve etanolun uçması sağlanmıştır. Dokular, lizis tamponu (200 mM NaCl, 10 mM Tris-HCl, pH 8,0, %1 sodyum dodesil sülfat ve 50 mM EDTA) içeren tüplere aktarılıp üzerine 5 µL proteinaz-K çözeltisi (20 mg/ml) ilave edilen örnekler 60°C'de bir gece inkübe edilmiştir. Ardından fenol-kloroform-isoamil alkol (50:49:1) karışımı kullanılarak toplam DNA eldesi sağlanmıştır. TE tampon (10 mM Tris-HCl ve 0,1 mM EDTA at pH 8,0) içerisinde çözülmüş olan DNA'nın yoğunluğu, 260/280 dalga boylarında ve 1.8-1.9 saflık derecesi kullanılarak UV spektrofotometrede (Shimatzu, 2550) belirlenmiştir. Yoğunlukları 100

ng/μl olacak şekilde ayarlanan DNA'lar PZR yapılarına kadar -20°C'de bekletilmiştir (Altınok vd., 2001).

#### 2.4. 16S rRNA, ND2-COIII ve COIII Gen Bölgelerinin PZR ile Çoğaltılması

Populasyonlar arasındaki genetik farklılığın derecesini belirlemek için mtDNA'nın 16S rRNA, ND2-COIII ve COIII gen bölgeleri PZR ile çoğaltılmıştır (Şekil 7).



Şekil 7. *Mytilus* cinsine ait mtDNA gen bölgeleri (Breton vd., 2006).

Midyelerde, erkek yavruya F ve M tipi mtDNA maternal ve paternal (sırası ile dişi ve erkek anaçtan), dişi yavruda ise F tipi mtDNA maternal olarak geçtiğinden erkek ve dişi bireylerde primerler de farklılık göstermektedir. Bu nedenle PZR amplifikasyonunda 16S rRNA gen bölgesi için M genomunda Palumbi vd. (1991) tarafından geliştirilen BR ve AR primerleri (Rawson vd., 1996), F genomu için AR primerinin yerine Rawson vd. (1996) tarafından geliştirilen PR-19 primerleri, Hoffman vd. (1992) tarafından geliştirilen primerler ise COIII gen bölgesi için kullanılmıştır (Tablo 2).

Tablo 2. Çalışmada 16S rRNA ve ND2-COIII gen bölgeleri için kullanılan primerler

Mt DNA bölgeleri	Cinsiyet	Boyut	Primer sekansları (Forward ve Reverse)
16S rRNA	Dişi	527 bp	F5'-CTGCCCAGTGCAACTAGAGTAAT -3' R5'-CCGGTCTGAACTCAGATCACGT-3'
	Erkek		F5'-CGCCTGTTTATCAAAAACAT-3' R5'-CCGGTCTGAACTCAGATCACGT-3'
ND2-COIII	Dişi	1300 bp	F5'-TCTTGGTACAACCTGCGGGAA-3' R5'-ACCAAGAAACGGAGGCATC-3'
	Erkek	1500 bp	F5'-AAACCCTTCGTCCACAAGG-3' R5'-AGCCTTTTTGTCATCATTCTGT-3'
COIII	Dişi	860 bp	F5'-GTA ACTCCAGCCCATAAGAG-3' R5'-ATGCTCTTCTTGAATATAAGCGTACC -3'
	Erkek		F5'-TATGTACCAGGTCCAAGTCCGTG -3' R5'-ATGCTCTTCTTGAATATAAGCGTACC -3'

16S rRNA, ND2-COIII ve COIII gen bölgeleri için PZR bileşenleri ve primerlerin yapısından dolayı PZR döngü şartları da farklılık göstermektedirler (Tablo 3). PZR işleminden sonra amplifikasyonun gerçekleşip gerçekleşmediğini belirlemek için her bir PZR ürünü %1,5'lik agaroz jelde 100 Volt'ta 40 dakika süre ile yürütülmüştür (Tablo 4).

Tablo 3. 16S rRNA, COIII ve ND2-COIII bölgelerinin çoğaltılması için PZR karışımının bileşen miktarları.

PZR Bileşenleri	Miktar		
	16S rRNA	ND2-COIII	COIII
PZR Master mix (Fermantas)	15 µ	25 µ	25 µ
İleri yönlü Primer (10 µM)	0.5 µ	0.5 µ	0.5 µ
Geri yönlü Primer (10 µM)	0.5 µ	0.5 µ	0.5 µ
Örnek midyenin DNA' sı	2 µ	2 µ	2 µ
Nükleaz içermeyen su	12 µ	22 µ	22 µ
Toplam	30	50	50



Tablo 4. Çalışmada kullanılan primerler için PZR programı.

Gen Bölgesi	Program	Dişi		Erkek		Döngü
		Sıcaklık (°C)	Süre	Sıcaklık (°C)	Süre	
16S rRNA	Birinci denaturasyon	95	3 dk	95	3 dk	1
	Denaturasyon	95	30sn	95	30sn	
	Annealing/ Bağlanma	50	45sn	45	45sn	30
	Extension/ Uzama	72	30sn	72	30sn	
	FinalExtension/Uzama	72	10dk	72	10dk	1
ND2-COIII	Birinci denaturasyon	95	3 dk	94	3 dk	1
	Denaturasyon	95	45sn	95	1dk	
	Annealing/ Bağlanma	51	45sn	53	30sn	30
	Extension/ Uzama	72	1.5dk	72	1.5dk	
	FinalExtension/Uzama	72	10dk	72	5dk	1
<b>Dişi-Erkek</b>						
COIII	Birinci denaturasyon	95		3 dk		1
	Denaturasyon	95		30sn		
	Annealing/ Bağlanma	48		45sn		30
	Extension/ Uzama	72		1 dk		
	FinalExtension/Uzama	72		10dk		1

## 2.5. Sekans Yöntemi

Hopa, Zonguldak, Ayvalık ve Bodrum örneklerinde 2 dişi ve 3 erkek midyenin solungaç ve gonad dokusundan, diğer istasyonlarda ise sadece gonad dokusunda olmak üzere toplamda 70 örneğin PZR ile çoğaltılan mtDNA'nın COIII gen bölgesine DNA dizi analizi yapılmıştır.

## 2.6. Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi (RFLP) Yöntemi

PZR ile çoğaltılan DNA segmentlerinden 16S rRNA geni 3 farklı (*EcoRV*, *HaeIII*, *SpeI*); ND2-COIII geni 5 farklı [*AluI*, *DdeI*, *RsaI* (*Afa*), *TaqI*, *Sau96I* (*Asp*)] Fermatas

marka enzimlerle kesilmiştir (Tablo 5). Toplam hacim 25 µl olup, bu karışımın içerisinde 5 µl PZR ürünü, 10-20 U kesici enzim, 2,5 µl kesici enzim tamponu ve distile su bulunmaktadır. Bu bileşenler *TaqI* için 65°C' de, diğer enzimler için ise 37°C de en az 3 saat inkübe edilmiştir. Ürün, kesim işlemi tamamlandıktan hemen sonra %1,5 agaroz jel elektroforezi üzerinde yürütülmüş ya da jelde yürütülmek üzere +4°C'de muhafaza edilmiştir.

Tablo 5. Çalışmada kullanılan kesici enzimler ve özellikleri.

Kesici Enzimler	Elde edildiği organizma	Tanınan sekans dizilimi	Sıcaklık (°C)
<i>EcoRV</i>	<i>Escherichia coli</i>	5'---GAT ATC---3' 3'---CTA TAG---5'	37
<i>HaeIII</i>	<i>Haemophilus aegyptius</i>	5'---GG CC---3' 3'---CC GG---5'	37
<i>SpeI</i>	<i>Sphaerotilus natans</i>	5'---A CTAGT---3' 3'---TGATC A---5'	37
<i>AluI</i>	<i>Arthrobacter luteus</i>	5'---AG CT---3' 3'---TC GA---5'	37
<i>DdeI</i>	<i>Desulfovibrio desulfuricans</i>	5'---C TNAG---3' 3'---GANT C---5'	37
<i>RsaI</i>	<i>Acidocella facilis</i>	5'---GT AC---3' 3'---CA TG---5'	37
<i>TaqI</i>	<i>Thermus aquaticus</i>	5'---T CGA---3' 3'---AGC T---5'	65
<i>Sau96I</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	5'---G GNCC---3' 3'---CCNG G---5'	37

## 2.7. RFLP Bantlarının Görüntülenmesi ve Kesim Şekillerinin Belirlenmesi

PZR ürünlerinin kesici enzimlerle inkübasyonu sonrasında kesilen örnekler Ethidium Bromid (1mg/100µl) ile 1xTAE buffer sisteminde %1,5–2,0 agaroz jel üzerinde koşturulmuştur. Jeller her bir fragment modeli için istenilen ayırıştırma ve jel konsantrasyonuna bağlı olarak yaklaşık olarak 100 V'da 40 dakika süre ile yürütülmüştür. Jel görüntüleri jel görüntüleme sistemi kullanılarak ultraviyole ışık altında kayıt edilmiştir.

## 2.8. Verilerin Değerlendirilmesi

### 2.8.1. Morfolojik Verilerin Analizi

Morfometrik analiz, bireysel organizmalar içinde farklı şekil değişkenleri arasındaki ilişkileri açıklamaya dayanmaktadır. Morfometrik karakterlerden elde edilen veriler kullanılarak çok değişkenli istatistiksel analizler yapılmaktadır. Bu sayede türler ve aynı türün farklı populasyonları arasındaki ayırım en iyi şekilde açıklanabilir.

Midye kabuklarına ait değerlerde aşağıdaki şekilde logaritmik dönüşümler yapılarak veriler kabuk boyu ölçümlerine bölünmesiyle standardize edilmiştir (McDonald vd., 1991).

$$M = \log_{10}(X) / \log_{10}(L) - 0$$

M : Standardize edilmiş ölçüm

X : Ölçülen karakter uzunluğu

L : Kabuk boyu

### 2.8.2. Genetik Verilerin Analizi

Haplotaların yapısına göre populasyonlar arasındaki genetik farklılığın ve ilişkinin derecesi tespit edilmiştir. Elde edilen kesici enzim ürünlerine ait verilerde; REAP (McElroy vd., 1992), PHYLIP (Felsenstein, 2002) ve ARLEQUİN 3.0 (Excoffier vd., 2005) genetik paket programları kullanılmıştır.

DNA dizilim sonuçlarının değerlendirilmesinde; BIOEDIT version 7.041 programı (Hall, 1999) ile dizilim düzenlendi, ClustalW seçeneği ile dizilim hizalandı ve uç kısımlarda kalan boşluklar atılarak analize hazır hale getirildi. Filogenetik analizi için MEGA 5.2 paket programı (Kumar vd., 2004) ile Kimura-2 Parametre Modeli'ne göre elde edilen değerlere UPMGA metodu kullanılarak dendogramları çizilmiştir.

GenBank veritabanındaki COIII geni analizi için *M. galloprovincialis* (Gen Bank No: AY130174.1 ve DQ445471.1) ve *M. edulis* (Gen Bank No: FJ549927.1 ve FJ549722.1) dış grup olarak kullanılmıştır.

Haplotalar, birlikte kalıtım sergileyen markerlar seti olarak tanımlanırken, Haplotalar çeşitliliği (Hd) paylaşılan haplotiplerin veya dizilerin oranını ya da frekansını göstermektedir ve aşağıdaki formüle göre hesaplanmaktadır (Nei and Tajima, 1981);

$$Hd = (1 - \sum xi^2) n / (n - 1),$$

n:örnek büyüklüğü ve

xi: haplotip frekansını göstermektedir.

Nükleotid çeşitliliği ( $\pi$ ) populasyon içerisinde pozisyon başına düşen nükleotid farklılıklarının veya diziler arasındaki nükleotid farklılıklarının ortalaması olup genetik varyasyonun ölçüsü olarak gösterilmektedir (Tajima, 1983; Nei, 1987).

Fst değeri populasyon çiftleri arasında ayrılma zamanı ile uzaklık arasındaki ilişkiyi açıklamaktadır. Populasyonları ikili karşılaştırarak, populasyon çiftleri arasındaki genetik farklılaşmanın istatistiksel olarak önemli olup olmadığı ( $p < 0,05$  önemli,  $p > 0,05$  önemsiz) test edildi.

### 3. BULGULAR

#### 3.1. Morfometrik Analiz

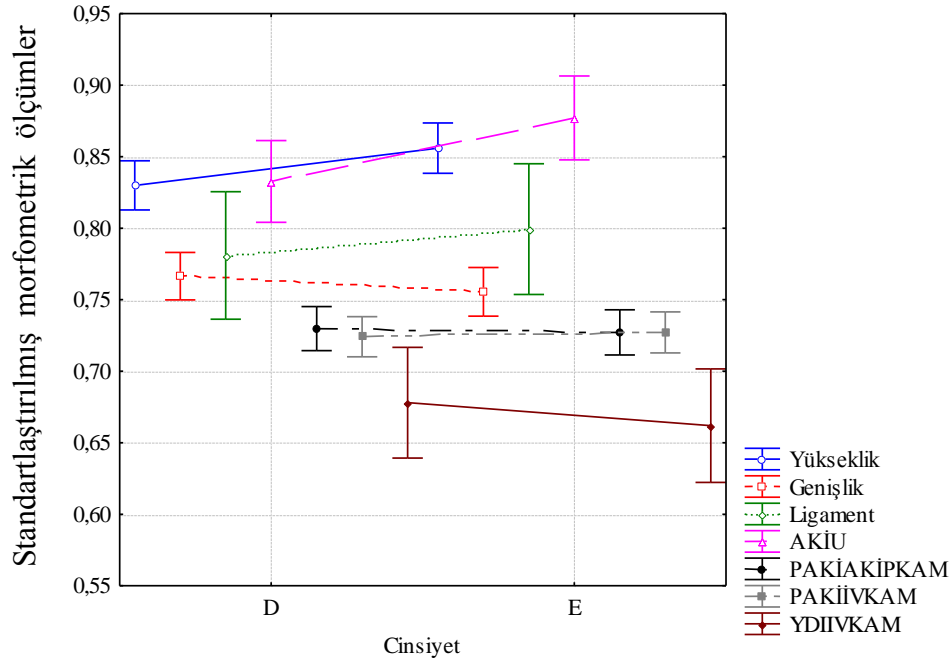
Türkiye sularında dağılım gösteren *M. galloprovincialis*'in 10 farklı populasyondan alınan örneklerde dişi ve erkek olmak üzere toplamda 402 adet midye örneklenmiştir. Her kabukta 8 ayrı morfometrik ölçüm sonuçlarında tanımlayıcı istatistikler gerçekleştirilmiştir (Tablo 6). Buna göre ortalama en kısa kabuk boyuna ( $47,22 \pm 7,71$  mm) Ayvalık populasyonu dişi midyeleri sahipken, Çanakkale populasyonuna ait dişi midyeler en uzun kabuk boyuna ( $68,80 \pm 6,62$  mm) sahip bulunmuştur. En fazla kabuk yüksekliği Sinop populasyonu dişi midyeler için  $34,34 \pm 2,47$  mm olarak tespit edilirken, en düşük kabuk yüksekliği ise Çanakkale populasyonuna ait erkek midyeler için  $24,41 \pm 3,94$  mm olarak bulunmuştur. Kabuk genişliği bakımından ise en düşük ortalama Ayvalık populasyonunda erkek midyelerde görülürken en yüksek ortalama Sinop populasyonunda ki dişi midyelerde görülmüştür. Logaritmik dönüşüm ile standadize edilen morfometrik ölçümlerde dişi ve erkek midyeler arasında değerlendirme yaptığımızda da morfometrik karakterler bakımından aralarında bir fark olmadığı ( $p > 0,05$ ) belirlenmiştir (Şekil 8).

Midyelerin morfometrik ölçüm sonuçlarının diskriminat fonksiyon analizinden elde edilen ilk iki kanonik değişken verileri esas alınarak dağılım grafiği (Şekil 9) çizilmiştir. Erkek midye populasyonlarının merkezlerinin dağınık bir kümeleşme olmasına rağmen birbiriyle örtüştüğü görülmektedir. Dişi midye populasyonlarında ise Sinop örneklerinde bir uzaklaşma görülsede sıkı kümeleşme gösteren diğer populasyonlar ile tam anlamıyla bir ayrılma görülmemektedir.

Tablo 6. Örnekleme ait morfometrik karakter değerleri ve varyasyon katsayıları (VK)

Populasyon	N	Kabuk boyu (mm)		Yükseklik (mm)		Genişlik (mm)		Ligament		AKİÜ		PAKİAKİPKAM		PAKİIVKAM		YDİIVKAM	
		Ort±S.Sp	V.K.(%)	Ort±S.Sp	V.K.(%)	Ort±S.Sp	V.K.(%)	Ort±S.Sp	V.K.(%)	Ort±S.Sp	V.K.(%)	Ort±S.Sp	V.K.(%)	Ort±S.Sp	V.K.(%)	Ort±S.Sp	V.K.(%)
İstanbul Dişi	22	58,06±6,19	38,35	29,58±3,20	10,22	21,23±2,42	5,84	23,77±2,58	6,68	36,05±6,37	40,62	18,20±2,20	4,84	18,85±2,47	6,11	16,00±3,83	14,67
İstanbul Erkek	22	57,65±7,48	56	29,96±3,79	14,39	20,85±3,36	11,3	23,85±3,27	10,69	33,18±5,53	30,54	18,10±2,44	5,96	18,40±2,28	5,19	15,73±4,20	17,64
Sinop Dişi	20	55,64±1,75	3,06	24,41±3,94	15,49	24,88±4,22	17,77	21,45±1,59	2,54	31,95±5,09	25,94	18,08±1,21	1,47	18,11±0,96	0,93	14,10±4,10	16,83
Sinop Erkek	20	56,39±3,75	14,06	27,40±3,52	12,37	22,14±2,75	7,57	23,10±2,62	6,87	31,30±5,04	25,38	18,08±1,54	2,36	17,93±1,40	1,97	14,95±5,19	26,89
Çanakkale Dişi	21	68,80±6,62	43,77	34,32±3,17	10,06	24,47±2,84	8,06	28,60±3,57	12,71	34,05±7,04	49,55	21,57±2,23	4,99	22,86±2,36	5,59	15,19±2,98	8,86
Çanakkale Erkek	22	68,24±5,48	30	34,34±2,47	6,09	24,51±3,08	9,46	28,19±3,43	11,79	32,77±8,25	68,09	22,01±1,91	3,66	22,91±2,26	5,13	13,41±3,54	12,54
Ayvalık Dişi	18	47,22±7,71	59,43	27,36±1,72	2,95	19,08±1,99	3,97	20,95±1,44	2,08	23,44±3,52	12,38	17,26±1,43	2,05	17,10±1,17	1,37	14,06±4,29	18,41
Ayvalık Erkek	18	48,17±4,67	21,81	25,89±2,57	6,61	19,04±1,94	3,78	20,79±2,25	5,08	26,00±6,99	48,82	16,76±2,13	4,52	16,50±1,81	3,29	12,39±3,81	14,49
Çeşme Dişi	20	59,16±4,39	19,26	33,16±2,02	4,09	22,84±5,52	30,47	23,88±1,99	3,95	28,95±4,31	18,58	22,29±1,98	3,91	20,85±1,47	2,15	12,90±3,86	14,94
Çeşme Erkek	20	59,11±4,66	21,69	32,01±2,59	6,69	22,10±2,05	4,18	23,59±2,44	5,96	34,05±9,24	85,31	23,41±3,23	10,41	20,21±2,29	5,24	15,35±3,82	14,56
Hopa Dişi	20	55,46±8,12	65,99	31,52±3,15	9,93	21,90±2,04	4,14	23,89±2,56	6,56	40,60±9,32	86,78	19,89±2,31	5,35	19,14±1,94	3,76	19,70±6,49	42,12
Hopa Erkek	20	59,01±4,57	20,91	31,80±2,42	5,88	22,55±2,03	4,1	25,24±2,43	5,92	35,90±8,45	71,36	20,35±2,19	4,78	19,39±2,29	5,26	18,05±4,43	19,63
Trabzon Dişi	20	54,53±4,75	22,59	28,67±2,41	5,8	20,02±1,92	3,68	25,56±2,82	7,96	32,05±5,57	31	16,93±1,61	2,59	17,20±1,73	2,99	16,10±3,80	14,41
Trabzon Erkek	19	51,61±5,43	29,54	28,51±7,60	57,74	19,26±2,01	4,04	22,91±2,91	8,5	33,89±5,28	27,88	15,68±1,85	3,41	15,94±1,68	2,81	15,89±4,51	20,32
Zonguldak Erkek	20	57,35±3,38	11,44	31,06±2,02	4,1	22,31±2,27	5,16	24,75±2,81	7,89	32,00±4,34	18,84	18,52±1,71	2,92	18,14±1,31	1,71	19,20±6,38	40,69
Zonguldak Dişi	20	57,14±5,02	25,18	29,96±2,51	6,32	22,74±2,94	8,65	24,37±2,30	5,28	31,95±5,48	30,05	19,36±2,17	4,71	17,73±1,93	3,73	16,45±4,25	18,05
Bodrum Erkek	20	54,57±8,33	69,34	30,62±4,40	19,33	21,23±3,72	13,82	23,05±4,28	18,32	29,70±7,09	50,22	18,11±3,09	9,55	18,58±2,51	6,32	14,90±4,02	16,2
Bodrum Dişi	20	59,10±6,95	48,27	32,71±2,81	7,87	22,59±3,11	9,64	24,46±3,29	10,84	28,25±4,15	17,25	20,22±2,70	7,28	20,16±2,33	5,43	14,50±3,93	15,42
Ordu Erkek	20	59,42±15,05	226,63	32,06±5,85	34,24	22,66±5,93	35,12	25,93±5,15	26,54	36,65±7,61	57,92	20,21±5,14	26,46	19,87±4,83	23,31	19,05±7,25	52,58
Ordu Dişi	20	55,53±7,43	55,17	32,81±12,14	147,42	20,61±3,04	9,26	24,45±4,59	21,09	33,40±5,73	32,88	18,74±2,66	7,06	18,97±2,65	7,05	20,05±4,73	22,37
D	201	57,23±7,85	61,66	30,49±5,43	29,47	22,07±3,57	12,75	24,19±3,41	11,66	32,20±7,21	52,02	19,27±2,66	7,06	19,13±2,59	6,71	15,92±4,76	22,66
E	201	57,38±8,59	73,77	30,45±4,62	21,33	21,72±3,45	11,92	24,22±3,75	14,05	32,61±7,38	54,48	19,18±3,48	12,08	18,86±3,06	9,38	15,90±5,20	26,99
Tüm gruplar	402	57,31±8,22	67,55	30,47±5,03	25,34	21,90±3,51	12,33	24,20±3,58	12,82	32,41±7,29	53,16	19,23±3,09	9,55	19,00±2,84	8,04	15,91±4,98	24,77

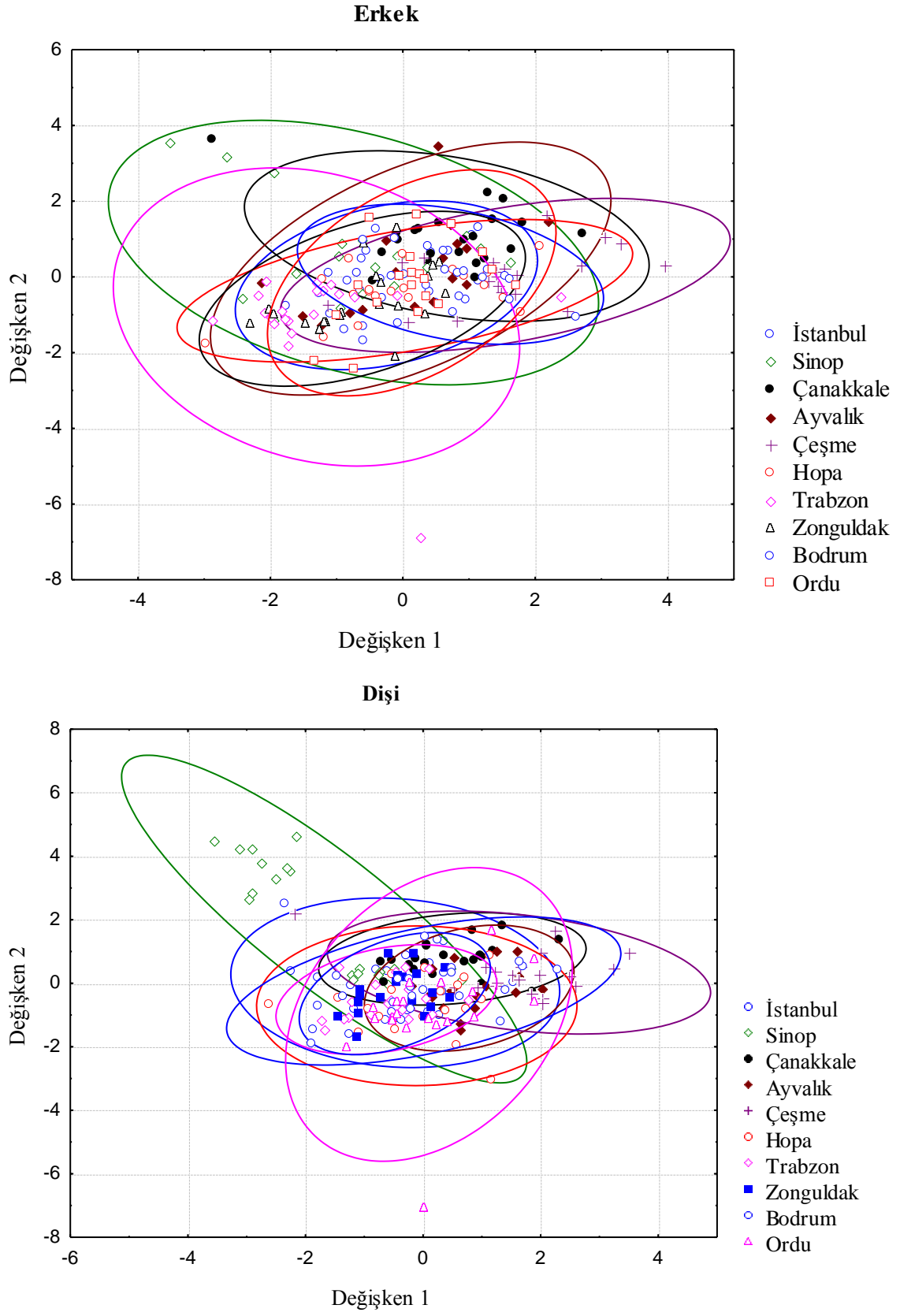
Anterior kas izi uzunluğu (AKİÜ), Posterior adüktör kas izinin anterior kısmı ile posterior kenar arası mesafe (PAKİAKİPKAM), Posterior adüktör kas izi ile ventral kenar arası mesafe (PAKİIVKAM), Yumuşak doku izi ile ventral kenar arası mesafe (YDİIVKAM)



Şekil 8. Morfometrik karakterlere göre dişi ve erkek arasındaki istatistiksel önemlilik ( $p < 0,05$ )

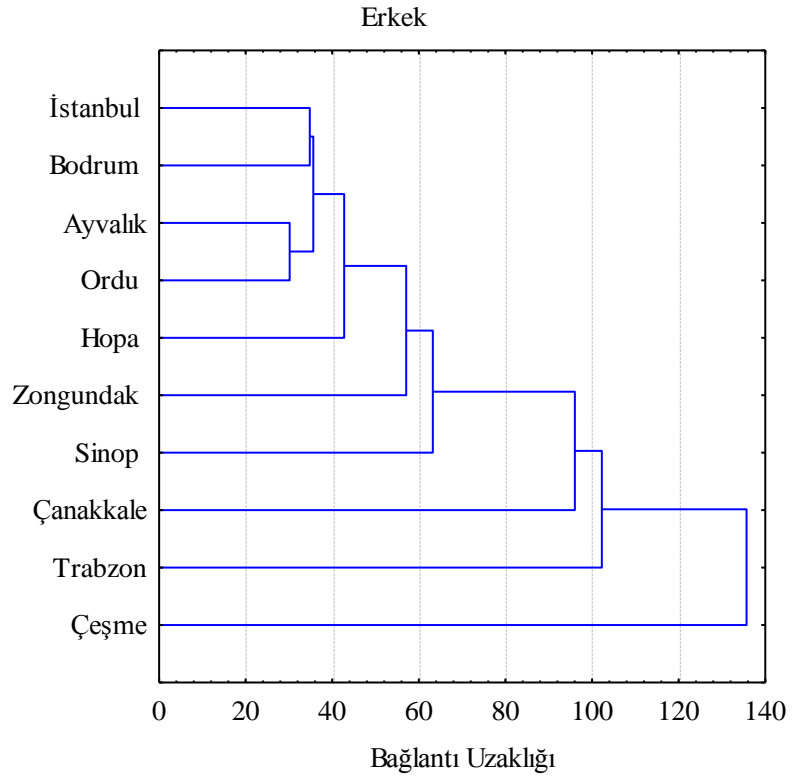
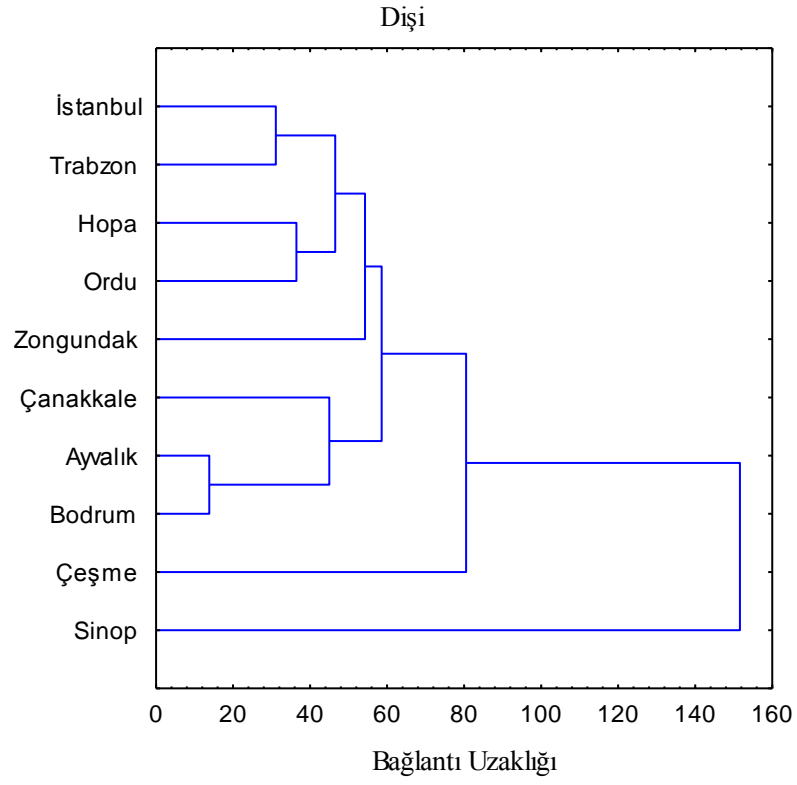
Midye kabuklarının morfometrik ölçüm sonuçlarından diskriminant analiz yöntemiyle hesaplanan Mahalanobins uzaklık matrisine göre UPGMA ağacı çizilmiştir. Buna göre dişi midyelerde Sinop popülasyonunun diğer popülasyonlardan farklılaştığı, Karadeniz ve Ege olmak üzere iki gruba ayrılan popülasyonlarda İstanbul örneklerinin Karadeniz, Çanakkale örneklerinin ise Ege grubuna dahil olduğu görülmektedir (Şekil 10).

Erkek midyelere ait Mahalanobins uzaklık matrisi sonuçlarıyla çizilen UPGMA ağacına göre; İstanbul-Bodrum ve Ayvalık-Ordu popülasyonlarının birbirine benzer özellikler gösterdiği, bu popülasyon çiftlerine yakınlıkları sırasıyla Hopa, Sinop, Zonguldak ve Çanakkale popülasyonları şeklinde olduğu belirlenmiştir. Çeşme popülasyonlarının ise tüm popülasyonlardan ayrıldığı görülmektedir (Şekil 10).



Şekil 9. Morfometrik özelliklere ilişkin ilk iki kanonik fonksiyona göre populasyonların dağılımı.



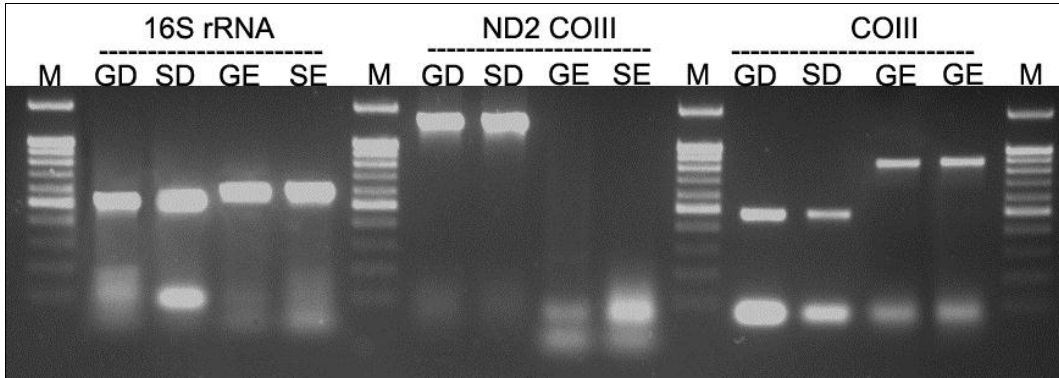


Şekil 10. On populasyon için mahalnobis uzaklıklarına göre çizilen dendrogram.

### 3.2. Genetik Analiz

#### 3.2.1. Mitokondriyal DNA Gen Bölgeleri

Dişi ve erkek midye örneklerinde, toplam DNA'dan mtDNA ya ait gen bölgeleri PZR ile çoğaltılmıştır (Şekil 11). İşlem sonucunda 16S rRNA gen bölgesi dişi gonad ve solungaçta 525 bç uzunluğunda, erkek gonad ve solungaçlarda ise 575 bç uzunluğunda elde edilmiştir. Hopa dişi populasyonlarında gonad dokusunda 16S rRNA gen bölgesi primerler çalışmadığı için amplifike edilememiştir. ND2-COIII gen bölgesi, sadece dişi midye örneklerinde 1270 bç uzunluğunda çoğaltılmıştır. Ayvalık populasyonuna ait dişi midyelerin solungaç dokularında bu bölge çoğaltılamamıştır. Erkek midyelerin ND2-COIII gen bölgesinde çoğaltılamamıştır. 867 bç uzunluğunda olan COIII gen bölgesi, ND2 ve ND4 bölgeleri arasında yer alır. Bu bölge PZR ile dizi analizi için dişi gonad ve solungaçlarında 485,7 bç'lik bölümü çoğaltılmıştır. Erkek gonad ve solungaçlarında ise 875 bç uzunluğunda yükseltgenmiştir.



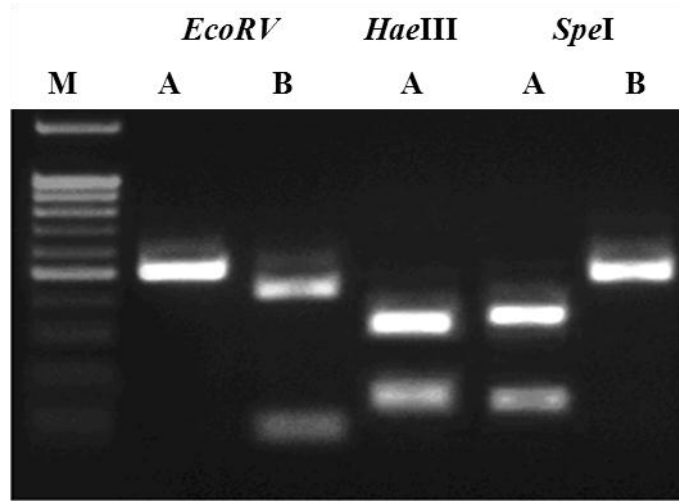
Gonad dişi (GD), Solungaç dişi (SD), Gonad erkek (GE), Solungaç erkek (SE).

Şekil 11. Çalışmada kullanılan mtDNA'nın 16S rRNA, ND2 COIII ve COIII gen bölgelerine ait jel görüntüsü

#### 3.2.2. Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi Sonuçları

16SrRNA geni için 10 farklı populasyonda iki farklı cinsiyet ve dokuya göre 3 farklı endonükleaz enzimi (*EcoRV*, *HaeIII*, *SpeI*) ile kesim yapılmıştır. *HaeIII* kesici enzimi 350 ve 175 bç uzunluğundaki parçalarla A kesim şeklini üretmiştir. Tüm populasyonlarda

herhangi bir kesim yerinin kaybı ya da yeni kesim yeri oluşması söz konusu olmadığından monomorfik yapı sergilenmiştir (Şekil 12). *EcoRV* ile kesim sonucunda A kesim şeklini sergileyen 525 bç uzunluğunda tek bant ile B kesim şeklini sergileyen 425 ve 100 bç uzunluğunda iki bant; *SpeI* ile kesim sonucunda 370 ve 155 bç uzunluğunda iki bantlı A kesim şekli ile 525 bç uzunluğunda tek bantlı B kesim şekli meydana gelmiştir (Tablo 7). *EcoRV* enzimi için gözlenen A kesim şekli ve *SpeI* enzimi için gözlenen B kesim şeklinde, bu enzimler için kesim yerinin oluşmadığı gözlenmiştir.



Şekil 12. Üç farklı enzimle kesilen mtDNA16S rRNA gen bölgesi için gözlenen modeller

Tablo 7. Midye popülasyonlarında 16S rRNA gen bölgesi için gözlenen kesim şekilleri ve yaklaşık kesim büyüklükleri

Kesim modelleri	<i>EcoRV</i>		<i>HaeIII</i>	<i>SpeI</i>	
	A	B	A	A	B
Parça	525	0	350	0	525
Büyüklikleri (bç)	0	425	175	375	0
Toplam	0	100	0	150	0
	525	525	525	525	525

ND2-COIII gen bölgesinde *AluI* enzimi kesiminde yaklaşık 750, 700, 400, 250 ve 120 bç uzunluğunda farklı bantlar tespit edilmiştir (Tablo 8). 400, 250 ve 120 bç'lerinin görüntülediği yapı A; 700, 400 ve 120 bç'nin görüntülediği yapı B ve 750, 400 ve 120

bç'nin birlikte görüldüğü yapı C kesim şekli olarak adlandırılmıştır (Şekil 13). A kesim şeklindeki 250 bç'lik kesim aynı uzunluktaki 3 parçanın üst üste gelmesiyle tek bantmış gibi görüntü vermektedir. Ayrıca tüm parça uzunlukları toplandığında B kesim şeklinin eksik olan 50 bç'lik parçası jelde görüntülenememiştir. A ve B kesim şekilleri tüm populasyonlarda gözlenirken, C kesim şekli sadece Bodrum örneklerinde görüntülenmiştir.

Tablo 8. Midye populasyonlarında ND2-COIII gen bölgesi için gözlenen kesim şekilleri ve yaklaşık kesim büyüklükleri

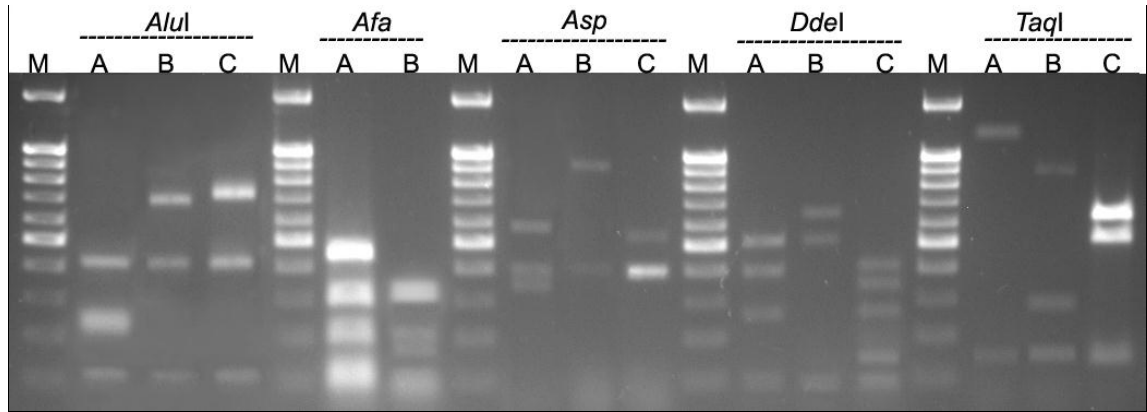
Kesici Enzimler	<i>AluI</i>			<i>RsaI (Afa)</i>			<i>Sau96I (Asp)</i>			<i>DdeI</i>			<i>Taq I</i>		
	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C
Kesim modelleri	0	0	750	470	0	0	900	0	0	650	0	1120	0	0	
	0	700	0	320	320	550	0	0	520	520	0	0	860	0	
	400	400	400	0	320	0	0	530	390	0	390	0	0	620	
	250	0	0	250	250	370	370	370	0	0	370	0	0	500	
	250	0	0	0	150	0	0	370	260	0	260	0	260	0	
	250	0	0	100	100	350	0	0	0	0	150	150	150	150	
	120	120	120	100	100				100	100	100				
<b>Toplam</b>	1270	1220	1270	1240	1240	1270	1270	1270	1270	1270	1270	1270	1270	1270	

*RsaI (Afa)* enzimi ile 1270 bç uzunluğundaki bölge boyutları 100- 470 bç arasında değişen A kesim şeklinde 5, B kesim şeklinde ise 6 farklı parçaya ayrılmıştır (Şekil 13). A kesim şeklindeki 470 bç'lik parçanın kaybolmasıyla B kesim şeklinde 320 ve 150 bç uzunluğunda iki bantın ortaya çıktığı görülmektedir. Ayrıca A kesim şekli 100 bç ile B kesim şeklindeki 100 bç ve 320 bç uzunluğundaki parçalar üst üste geldiğinden tek bant olarak görüntü vermiştir. A kesim şekli tüm populasyonlar için yaygınken B kesim şekli Sinop, Ayvalık, Bodrum ve Çeşme kesimlerinde ortaya çıkmıştır.

ND2-COIII gen bölgesinde 3 farklı kesim şeklinin gözlemlendiği *Sau96I (Asp)* enzim kesiminde bant uzunlukları 350-900 bç arasında değişmiştir (Tablo 8). Her üç kesim şeklinin ortak paylaştığı 370 bç'lik bant dışında B kesim şeklindeki 900 bç'lik bantın kesilmesiyle A kesim şeklinde 550 ve 350 bç uzunluğunda iki bant ve C kesim şeklinde 530 ve 370 bç uzunluğunda iki bant meydana gelmiştir (Şekil 13). Tüm populasyonlar A ve B kesim şekillerini sergilerken C kesim şekline yalnız Ayvalık populasyonunda rastlanmıştır.

DdeI enzimi ile ND2-COIII bölgesinin kesilmesiyle; B kesim şeklindeki 650 bp'lik bantın A ve C kesim şekillerinde 390 ve 260 bp'lik iki bant oluşturduğu, C kesim şeklindeki 370 ve 150 bp'lik iki bantın A ve B kesim şeklinde ortak bant olan 500 bp'lik bantın kesilmesiyle olduğu gözlenmiştir (Şekil 13). Ordu, Sinop, Zonguldak ve İstanbul popülasyonları A kesim şeklinde monomorfik yapı sergilerken, C kesim şekli sadece Ayvalık, Çeşme ve Bodrum popülasyonlarında gözlenmiştir.

ND2-COIII gen bölgesinin *TaqI* enzimi ile kesilmesiyle A kesim şekli için tek restriksiyon noktası, B ve C kesim şekilleri için 2 farklı restriksiyon noktası gözlenmiştir (Şekil 13). A kesim şeklinde 1120 bp uzunluğundaki bantın B kesim şeklinde 860 ve 260 bp'lik, C kesim şeklinde ise 620 ve 500 bp'lik iki bant oluşturduğu gözlenmiştir (Tablo 8). Tüm popülasyonlar A ve B kesim şeklini sergilerken, C kesim şekline sadece Hopa popülasyonunda rastlanmıştır.



Şekil 13. Beş farklı enzimle kesilen mtDNA-ND2-COIII gen bölgesi (dişi) için gözlenen modeller

16S rRNA gen bölgesinde tüm popülasyonlar dikakate alındığında 16 tanıma bölgesine sahip 3 enzim uygulaması sonucunda gözlenen kesim şekillerinin birleştirilmesiyle dişi midye örneklerinde 3, erkek midye örneklerinde 2 haplotip elde edilmiştir. Dişilerde AAA, BAA ve AAB haplotipler gözlenirken, erkeklerde AAA, BAA haplotipleri gözlenmiştir. AAB haplotipi sadece Zonguldak ve İstanbul popülasyonlarında hem dişi hem de erkek midyelerin her iki dokusunda da görülmüştür. Trabzon popülasyonlarından erkek midyenin solungaç dokusunda sadece 2 örnekte 16S rRNA bölgesi çoğaldığı için erkek gonad örneklerinde AAA haplotipi gözlenirken bahsi geçen

dokuda yalnız BAA haplotipi kayıt edilmiştir. Hopa popülasyonlarında erkek midyelerde solungaç dokusunda 2 örnekten AAA haplotipini sergileyen midyelerden aynı bireyin gonadında BAA haplotipi gözlenmiştir (Tablo 9).

Tablo 9. Midye popülasyonlarında 16S rRNA haplotiplerinin dağılımları

Haplotip	H1			H2		H3		Toplam
		AAA		AAB		BAA		
Hopa	DG	0	0	0	0	0	0	0
	DS	9	-	3	3	12	12	12
	EG	1	-	2	2	3	3	3
	ES	2	-	2	2	2	2	2
Trabzon	DG	6	-	14	14	20	20	20
	DS	6	-	14	14	20	20	20
	EG	9	-	6	6	15	15	15
	ES	2	-	2	2	2	2	2
Ordu	DG	7	-	13	13	20	20	20
	DS	10	-	10	10	20	20	20
	EG	4	-	14	14	18	18	18
	ES	8	-	10	10	18	18	18
Sinop	DG	10	-	10	10	20	20	20
	DS	10	-	10	10	20	20	20
	EG	6	-	10	10	16	16	16
	ES	13	-	6	6	19	19	19
Zonguldak	DG	11	2	7	7	20	20	20
	DS	5	2	2	2	9	9	9
	EG	6	-	14	14	20	20	20
	ES	8	-	7	7	15	15	15
İstanbul	DG	11	1	8	8	20	20	20
	DS	6	1	3	3	10	10	10
	EG	7	-	13	13	20	20	20
	ES	6	-	1	1	7	7	7
Çanakkle	DG	12	-	8	8	20	20	20
	DS	14	-	6	6	20	20	20
	EG	18	-	2	2	20	20	20
	ES	12	-	3	3	15	15	15
Ayvalık	DG	4	-	16	16	20	20	20
	DS	4	-	11	11	15	15	15
	EG	20	-	-	-	20	20	20
	ES	4	-	3	3	7	7	7
Çeşme	DG	3	-	17	17	20	20	20
	DS	3	-	17	17	20	20	20
	EG	17	-	3	3	20	20	20
	ES	5	-	7	7	12	12	12
Bodrum	DG	10	-	10	10	20	20	20
	DS	7	-	4	4	11	11	11
	EG	19	-	-	-	19	19	19
	ES	1	-	6	6	7	7	7
Genel		314	6	292	612	612	612	612

Dişi solungaç (DS), Dişi gonad (DG), Erkek solungaç (ES), Erkek gonad (EG).

ND2-COIII gen bölgesinde tüm populasyonlar dikakate alındığında 22 tanıma bölgesine sahip 5 enzim uygulaması sonucunda gözlenen kesim şekillerinin birleştirilmesiyle, genel olarak dişi midyelerin solungaç dokularında 13, gonadlarında 20 haplotip sergilenmiştir (Tablo 10). Populasyonlar arasında Hopa'da 5, Trabzon'da 3, Ordu'da 2, Sinop'ta 5, Zonguldak'ta 2, İstanbul'da 4, Ayvalık'ta 8 ve Çanakkale, Çeşme ve Bodrum'da 4'er haplotip görülmüştür (Tablo 11). Her populasyona özgü olarak Ayvalık'ta H1, H9, H10, H18 ve H19, Hopa'da H15 ve H17 ile Çeşme, Trabzon ve Bodrum'da sırasıyla H3, H16 ve H20 haplotipleri tespit edilmiştir. Ayvalık populasyonu hariç diğerleri arasında %34 değeriyle en yaygın görülen 13 nolu haplotip olmuştur. Karadeniz'in yanı sıra İstanbul populasyonlarında H2 haplotipinin görülme oranı %20 olarak belirlenirken, diğer haplotiplere ait oranlar %1-17 aralığında değişmiştir.

Tablo 10. ND2-COIII gen bölgesinde (dişi) mitokondriyal haplotipler

Haplotip No	Kesici enzimler				
	<i>AluI</i>	<i>Afa</i>	<i>Asp</i>	<i>DdeI</i>	<i>Taq I</i>
H1	A	A	A	A	A
H2	A	A	A	A	B
H3	A	A	A	B	B
H4	A	A	B	A	B
H5	A	A	B	B	B
H6	A	B	A	A	A
H7	A	B	A	C	B
H8	A	B	B	A	A
H9	A	B	B	B	B
H10	A	B	B	C	B
H11	B	A	A	A	A
H12	B	A	A	A	B
H13	B	A	B	A	A
H14	B	A	B	A	B
H15	B	A	B	A	C
H16	B	A	B	B	A
H17	B	A	B	B	B
H18	B	A	C	B	A
H19	B	B	B	A	A
H20	C	A	B	A	A

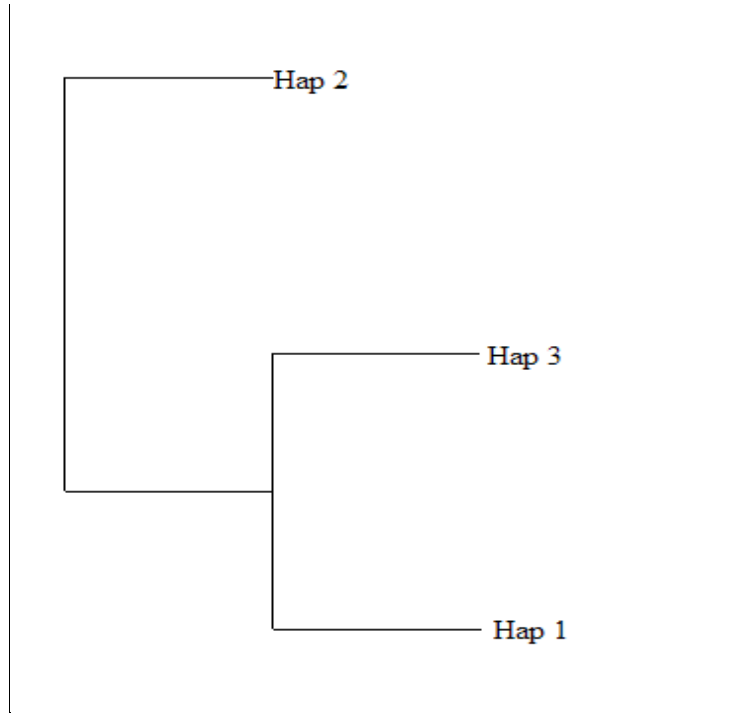
Tablo 11. Midye popülasyonlarında ND2-COIII (dişi) haplotiplerinin dağılımları (G: Gonad, S: Solungaç)

Haplotip	Hopa		Trabzon		Ordu		Sinop		Zonguldak		İstanbul		Çanakkale		Ayvalık		Çeşme		Bodrum		Genel
	G	S	G	S	G	S	G	S	G	S	G	S	G	S	G	S	G	S	G	S	
H1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2
H2	3	3	14	14	12	9	-	-	4	-	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	64
H3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	3	-	-	6
H4	-	-	-	-	-	-	4	4	-	-	-	-	4	3	-	-	-	-	-	-	15
H5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	1	-	-	-	-	-	3
H6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	10	10	8	3	31
H7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	1	-	3
H8	-	-	-	-	-	-	1	1	-	-	-	-	-	-	9	-	-	-	-	-	11
H9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	1
H10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	2
H11	-	-	-	-	-	-	13	13	-	1	1	13	13	1	-	-	-	-	-	-	54
H12	-	-	-	-	-	-	1	1	-	1	1	1	3	-	-	-	-	-	-	-	8
H13	13	12	5	5	8	11	1	1	15	5	11	4	1	-	-	4	4	4	7	4	111
H14	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2
H15	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2
H16	-	-	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2
H17	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
H18	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	1
H19	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	-	-	-	-	-	3
H20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	4
Toplam	20	16	20	20	20	20	20	20	19	5	18	5	20	20	20	0	18	18	19	8	326



### 3.2.3. Nükleotid Farklılığı

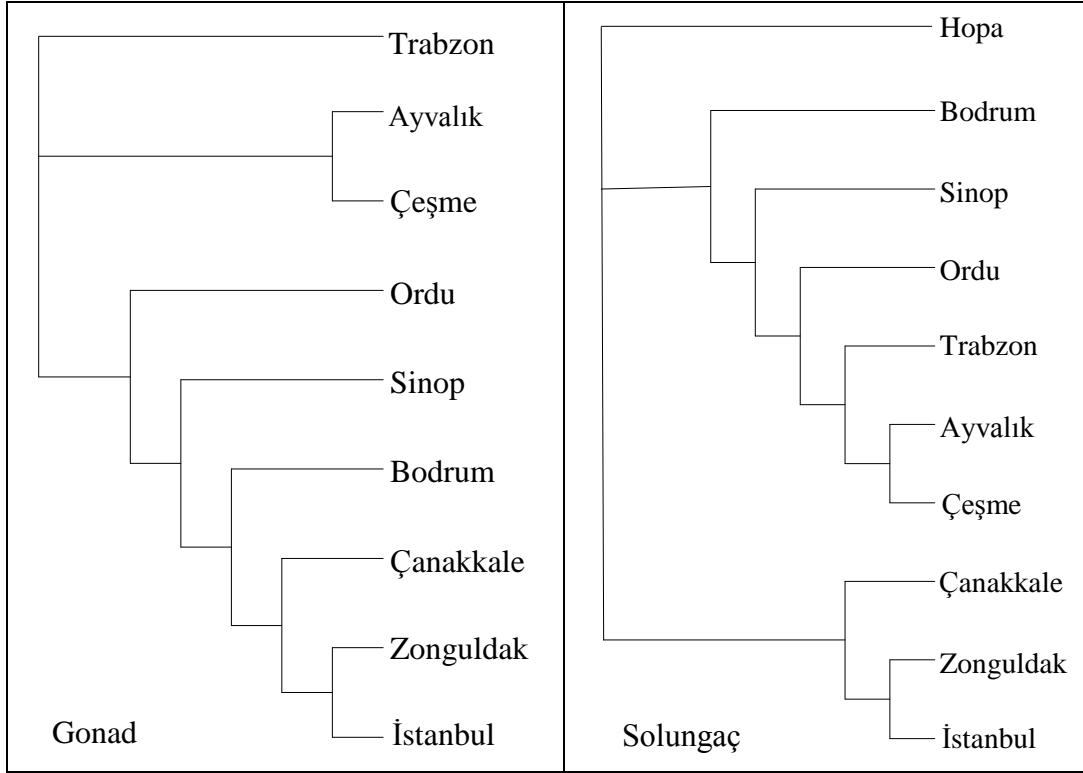
REAP programının DA seçeneği tarafından hesaplanan matris değerlerine göre nükleotid farklılıkları belirlenmiştir. Buna göre 16S rRNA bölgesi değerlerine bakıldığında, dişi midyelerin gonadlarında en yüksek değerin 0,027228 (Zonguldak-Çeşme), solungaçlarda ise 0,048648 (Zonguldak-Çeşme) olduğu, en düşük değerin gonadlarda -0,002621 (Sinop-Bodrum) ve solungaçlarda -0,004653 ise (İstanbul-Zonguldak) olduğu belirlenmiştir. Ortalama nükleotid farklılıkları ise gonad dokusuna ait populasyonlar arasında 0,005106 ( $\pm$  0,0000017), solungaç dokusu için ise 0,008209 ( $\pm$  0,0000036) olarak hesaplanmıştır. Hesaplanan matrislere göre soy ağacı ilişkilerine bakıldığında belirlenen 3 farklı haplotipten 1. ve 3. haplotipin yakın 2.'sinin ise onlardan farklılaştığı görülmektedir (Şekil 14). Populasyonlar arası nükleotid farklılıklarına göre gonad dokusu için oluşturulan ağaçta üç gruba ayrılma mevcuttur. Solungaç dokusu için oluşturulan ağaçta da gonad dokusu ile benzer gruplaşmalara rastlanmıştır (Şekil 15).



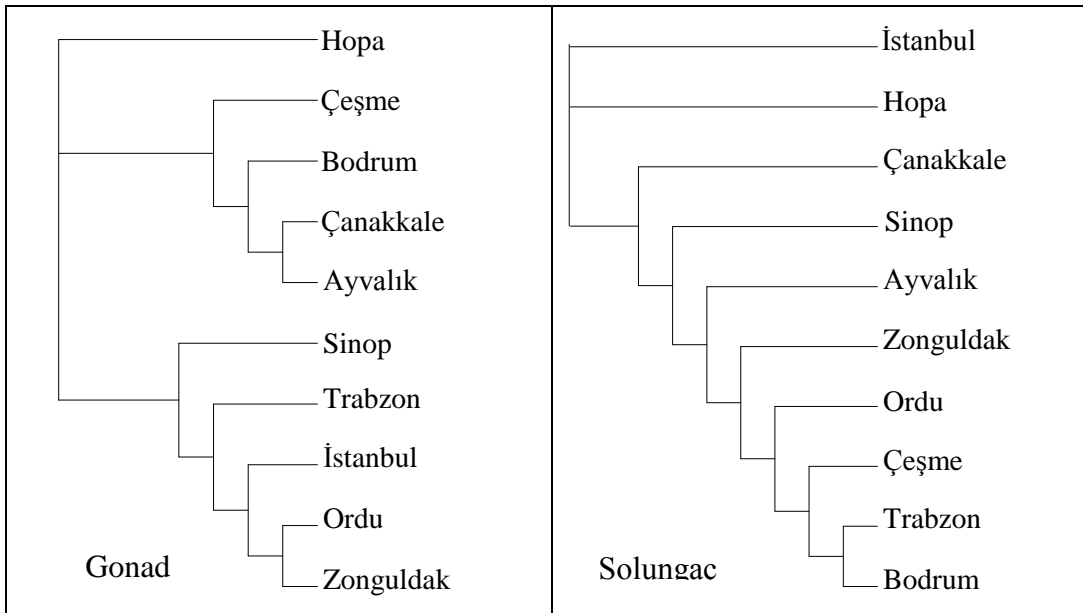
Şekil 14. Evrimsel uzaklığa göre 16S rRNA bölgesi dişi haplotiplerinin UPGMA soy ağacı ile gösterimi

16S rRNA genleriyle erkek midyelerin gonadlarında elde edilen populasyonlar arasındaki nükleotid farklılık değerlerine göre, en yüksek 0,059237 (Ordu-Bodrum) ve en düşük -0,012450 (Hopa- Sinop) olarak belirlenmiştir. Aynı gen bölgesinde solungaç dokusunda ise en yüksek değer Hopa-Trabzon (0,099597 ) en düşük değer Zonguldak Ayvalık (-0,0056919) populasyonları arasında gözlenmiştir. Ortalama nükleotid farklılıkları gonad ve solungaç dokuları için sırasıyla 0,015920 ( $\pm 0,0000092$ ) ve 0,016190 ( $\pm 0,0000124$ ) olarak bulunmuştur. Erkek midyeler için gonad dokusuna ait nükleotid farklılık verilerine göre çizilen ağaçta Hopa populasyonunun diğerlerinden ayrı yer aldığı 3 dallanma görülmektedir (Şekil 16). Çanakkale ve Ayvalık populasyonlarının benzer yapıda olduğu ve sırasıyla Bodrum ve Çeşme örneklerinin bunlara yakın olarak aynı grupta bulunduğu tespit edilmiştir. Diğer daldaki kümeleşmede Ordu ve Zonguldak populasyonlarının benzer olarak alt grup oluşturduğu ve sırasıyla İstanbul, Trabzon ve Sinop populasyonlarının bu alt gruba yakınlıkları belirlenmiştir. Solungaç dokusu örneklerine göre ise Trabzon ve Bodrum populasyonları benzer olup en farklı İstanbul populasyonunun olduğu görülmektedir (Şekil 16).

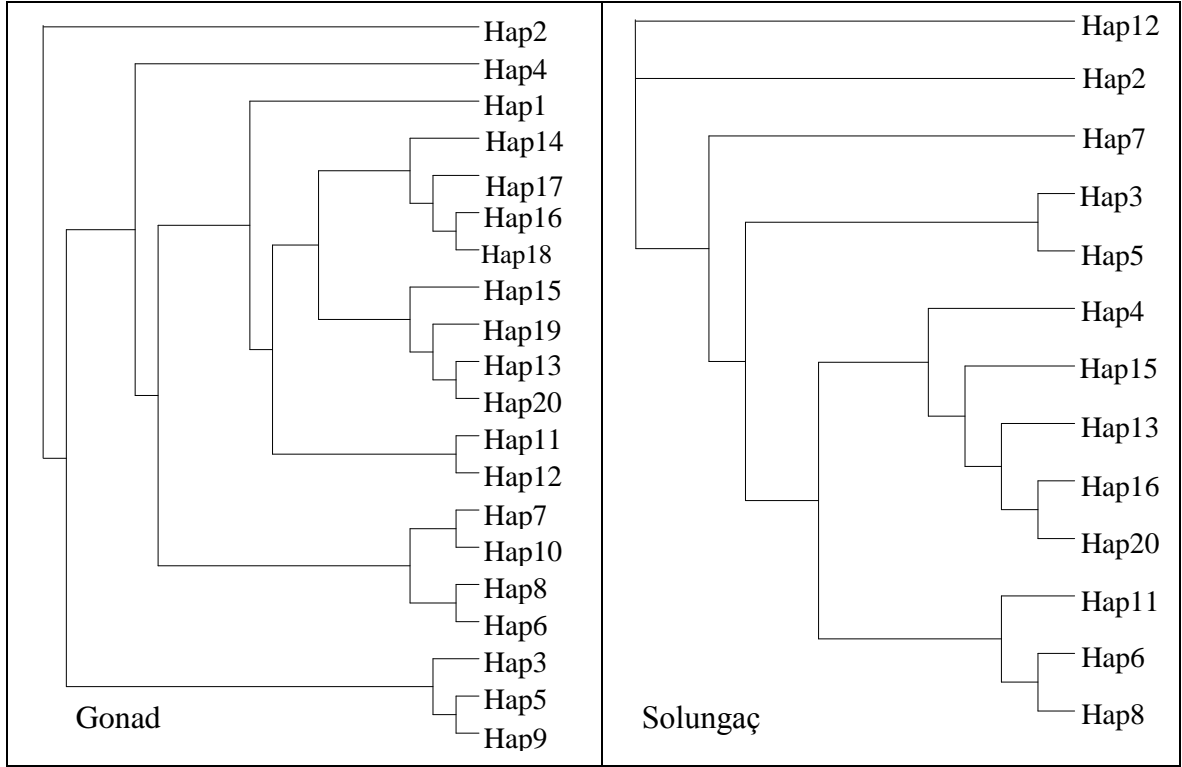
ND2-COIII gen bölgesi için solungaç dokusu örneklerinin mtDNA'sında Ayvalık populasyonu hariç diğer 9 populasyon arasında nükleotid farklılıkları -0,003997 (İstanbul-Bodrum) – 0,111458 (Zonguldak-Çanakkale) aralığında değişim göstermiş ve ortalama 0,029936 ( $\pm 0,0000300$ ) olarak bulunmuştur. Aynı bölgenin gonad dokusunda populasyonlar arası ortalama nükleotid farklılıkları değeri 0,009772 ( $\pm 0,0000016$ ) olarak hesaplanmıştır. Sinop ve Çanakkale populasyonları arasında en az (-0,001482) farklılık gözlenirken, en fazla (0,029129) farklılık ise Çeşme ve Hopa populasyonları arasında belirlenmiştir. Haplotipler arası genetik ilişkiye bakıldığında Çeşme, Çanakkale ve Ayvalık populasyonlarında görülen Haplotip 3, 5 ve 9'un bir grupta diğer Haplotip 2 hariç diğerlerinin de bir grupta toplanarak alt gruplara ayrıldığı anlaşılmaktadır (Şekil 17). En yaygın haplotiplerden 2. haplotipin ise tüm haplotiplerden uzaklaştığı görülmektedir. Populasyonlar arası ND2-COIII gen bölgesinde UPGMA ağacına baktığımızda belirgin bir kümeleşme gözlenmemiştir (Şekil 18). Gonad dokusu için Ayvalık ve Çeşme populasyonları benzer, Bodrum populasyonu bu ikisine yakın iken birbirine benzer Trabzon ve Ordu populasyonları aynı daldan alt gruplara ayrılmışlardır. Her iki doku içinde Zonguldak ve Hopa en uzak populasyonlar olarak ayrılma göstermiştir.



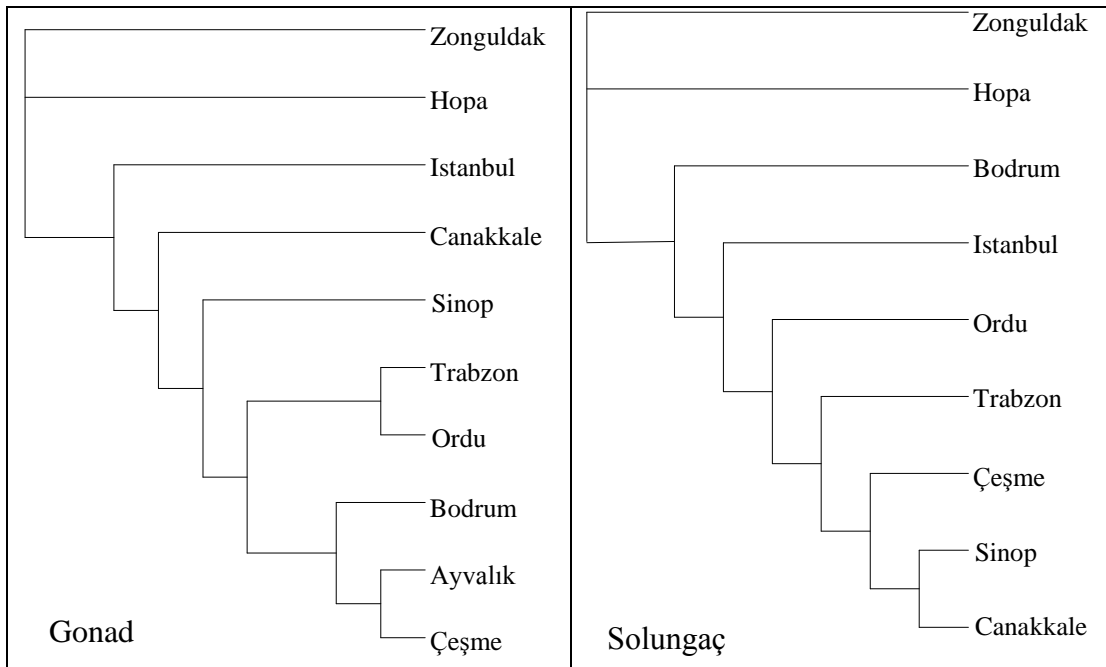
Şekil 15. 16Sr RNA gen bölgesinde dişi midyelerde populasyonlar arası nükleotid farklılığına göre UPGMA soy ağacı



Şekil 16. 16Sr RNA gen bölgesinde erkek midyelerde populasyonlar arası nükleotid farklılığına göre UPGMA soy ağacı



Şekil 17. Evrimsel uzaklığa göre ND2-COIII bölgesi (diş) haplotiplerinin UPGMA Soy Ağacı ile Gösterimi



Şekil 18. ND2- COIII gen bölgesinde (diş) populasyonlar arası nükleotid farklılığına göre UPGMA soy ağacı ile gösterimi

### 3.2.4. Haplotip ve Nükleotit Çeşitliliği

Populasyonlar içerisinde 16S rRNA gen bölgesi için cinsiyet ve dokuya göre haplotip çeşitliliğine bakıldığında, en yüksek populasyon içi haplotip çeşitliliğine 0,6667 değeriyle Hopa'da erkek midyelerde gonad ve Zonguldak'da dişi midyeler'de solungaç dokusunda belirlenmiştir. En düşük haplotip çeşitliliği ise  $0,1895 \pm 0,1081$  değeriyle Çanakkale populasyonunda erkek midyelerin gonad dokusunda gözlemlenmiştir. Erkek midyelerin Ayvalık ve Bodrum populasyonlarının gonad dokusu ile Hopa ve Trabzon populasyonlarına ait midyelerin solungaç dokularında haplotip çeşitliliğinin olmadığı görülmektedir. Dişi midyelerin gonad ve solungaç dokularında ortalama nükleotit çeşitliliği de sırasıyla  $0,0476 \pm 0,0000$  ve  $0,0480 \pm 0,0000$  ile erkek midyelerin gonad ve solungaçlarında sırasıyla  $0,0341 \pm 0,0000$  ve  $0,0351 \pm 0,00004$  olarak hesaplanmıştır (Tablo 12).

Populasyon içi haplotip çeşitliliği ND2-COIII gen bölgesinde, Ayvalık ve Zonguldak populasyonlarına ait gonad dokusu örneklerinde sırasıyla en yüksek  $0,7842 \pm 0,08401$  ve en düşük  $0,3509 \pm 0,11124$  olarak saptanmıştır (Tablo 13). Ortalama nükleotit çeşitliliği gonad ve solungaç dokularında sırasıyla  $0,0364 \pm 0,0000$  ve  $0,02674 \pm 0,0000$  olarak belirlenmiştir (Tablo 13).

Tablo 12. Mitokondriyal DNA'ya ait 16S rRNA haplotip çeşitliliği (HÇ) ve nükleotid çeşitliliği (NÇ)

	Dişi						Erkek					
	Gonad			Solungaç			Gonad			Solungaç		
	HÇ	NÇ	HÇ	NÇ	HÇ	NÇ	HÇ	NÇ	HÇ	NÇ	HÇ	NÇ
Hopa	-	-	0.4091±0.1333	0.0407	0.6667±0.3143	0.0664	0.0000±0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
Trabzon	0.4421±0.0875	0.0440	0.4421±0.0875	0.0440	0.5143±0.0690	0.0512	0.0000±0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
Ordu	0.4789±0.0720	0.0477	0.5263±0.0363	0.0524	0.3660±0.1124	0.0365	0.5229±.04766	0.05207	0.05207	0.5229±.04766	0.05207	0.05207
Sinop	0.5263±0.0363	0.0524	0.5263±0.0363	0.0524	0.5000±0.0741	0.0498	0.4561±.08524	0.0454	0.0454	0.4561±.08524	0.0454	0.0454
Zonguldak	0.5947±0.0726	0.0626	0.6667±0.1318	0.0660	0.4421±0.0875	0.0440	0.5333±.05152	0.0531	0.0531	0.5333±.05152	0.0531	0.0531
İstanbul	0.5632±0.0634	0.0584	0.6000±0.1305	0.0612	0.4789±0.0720	0.0477	0.2857±.19636	0.0284	0.0284	0.2857±.19636	0.0284	0.0284
Çanakkale	0.5053±0.0560	0.0503	0.4421±0.0875	0.0440	0.1895±0.1081	0.0189	0.3429±.12781	0.0341	0.0341	0.3429±.12781	0.0341	0.0341
Ayvalık	0.3368±0.1098	0.0335	0.4190±0.1132	0.0417	0.0000±0.0000	0.0000	0.5714±0.1195	0.0569	0.0569	0.5714±0.1195	0.0569	0.0569
Çeşme	0.2684±0.1133	0.0267	0.2684±0.1133	0.0267	0.2684±0.1133	0.0267	0.5303±.07636	0.0528	0.0528	0.5303±.07636	0.0528	0.0528
Bodrum	0.5263±0.0363	0.0524	0.5091±0.1008	0.0507	0.0000±0.0000	0.0000	0.2857±.19636	0.0284	0.0284	0.2857±.19636	0.0284	0.0284
<b>Ortalama</b>	<b>0.4713±0.0013</b>	<b>0.0476</b>	<b>0.4809±0.0012</b>	<b>0.0480</b>	<b>0.3426±0.0050</b>	<b>0.0341</b>	<b>0.3528±0.0045</b>	<b>0.0351</b>	<b>0.0351</b>	<b>0.3528±0.0045</b>	<b>0.0351</b>	<b>0.0351</b>

Tablo 13. Dişi mtDNA'ya ait ND2-COIII haplotip çeşitliliği (HÇ) ve nükleotid çeşitliliği (NÇ).

	Gonad		Solungaç	
	HÇ	NÇ	HÇ	NÇ
Hopa	0.5684±0.11885	0.0278	0.4250 ± 0.13263	0.0167
Trabzon	0.4684± 0.10446	0.0356	0.4684 ± 0.10446	0.0231
Ordu	0.5053± 0.05597	0.0368	0.5211 ± 0.04224	0.0243
Sinop	0.5579± 0.11436	0.0319	0.5579 ± 0.11436	0.0299
Zonguldak	0.3509± 0.11124	0.0256	0.0000 ± 0.00000	0.0000
İstanbul	0.5752± 0.10133	0.0337	0.4000 ± 0.23732	0.0489
Çanakkale	0.5579± 0.11436	0.0339	0.5579 ± 0.11311	0.0207
Ayvalık	0.7842± 0.08401	0.0460	-	-
Çeşme	0.6471± 0.09531	0.0468	0.6471 ± 0.09531	0.0372
Bodrum	0.6959± 0.06187	0.0457	0.6786 ± 0.12204	0.0396
<b>Ortalama</b>	0.5711± 0.00145	0.0364	0.4729 ± 0.00445	0.02674

### 3.2.5. Genetik Farklılık ve Gen Akışı

Populasyonların mtDNA gen bölgelerine göre genetik farklılıklarını ortaya koymak üzere AMOVA analizi yapılmıştır. Buna göre, populasyonlar arasında varyasyon (% 6,59-38,89) düşük oranlarda değişim sergilerken, populasyonlar içi varyasyon (%61,33-93,41) yüksek bir oranda değişim göstermiştir (Tablo 14). On populasyon için tahmini Fiksasyon indeksi (Fst) değerleri 0,06586 ile 0,38672 aralığında değişim göstermiş ve her gen bölgesi için istatistiki olarak önemli bulunmuştur ( $p < 0,05$ ).

Tablo 14. Populasyonlar arası moleküler varyans analizi (AMOVA) ve  $\Phi$  istatistik değerleri

Gen Bölgesi	Varyans bileşenleri		$\Phi_{ST}$ istatistik	p<0,05
	Populasyonlar arası ( $V_a$ ) %	Populasyonlar içi ( $V_b$ ) %		
16S rRNA DG	0.01779 (6.59)	0.25238 (93.41)	0.06586	0.01857
16S rRNA DS	0.03351 (12.20)	0.24124 (87.80)	0.12197	0.00196
16S rRNA EG	0.09489 (38.67)	0.15048 (61.33)	0.38672	0.00000
16S rRNA ES	0.02757 (10.97)	0.22371 (89.03)	0.10972	0.02639
ND2-COIII DG	0.21654 (22.63)	0.74028 (77.37)	0.22631	0.00000
ND2-COIII DS	0.19281 (21.86)	0.68921 (78.14)	0.21860	0.00000

Populasyonların ikili karşılaştırılması sonucunda populasyon çiftleri arasındaki genetik farklılaşmanın  $F_{st}$  değerleri küçük olan karşılaştırmalarda, populasyonlar aralarındaki farklılaşmanın önemsiz olduğu,  $F_{st}$  değeri büyük olan karşılaştırmalarda ise populasyonlar arasındaki genetik farklılaşmanın önemli ( $p<0.05$ ) olduğu belirlenmiştir (Tablo 15). 16S r RNA ve ND2- COIII gen bölgelerine ait verilerin analizinde Çeşme populasyonu ile Sinop, Zonguldak, İstanbul ve Çanakkale populasyonları tüm gen bölgelerinde ortak olmak üzere tüm populasyonlarla ikili  $F_{st}$  değeri karşılaştırmalarında önemli farklılıklar sergilemektedir.



Tablo 15. Populasyon çiftleri arasındaki mtDNA varyasyonu için  $F_{ST}$  istatistik değerleri

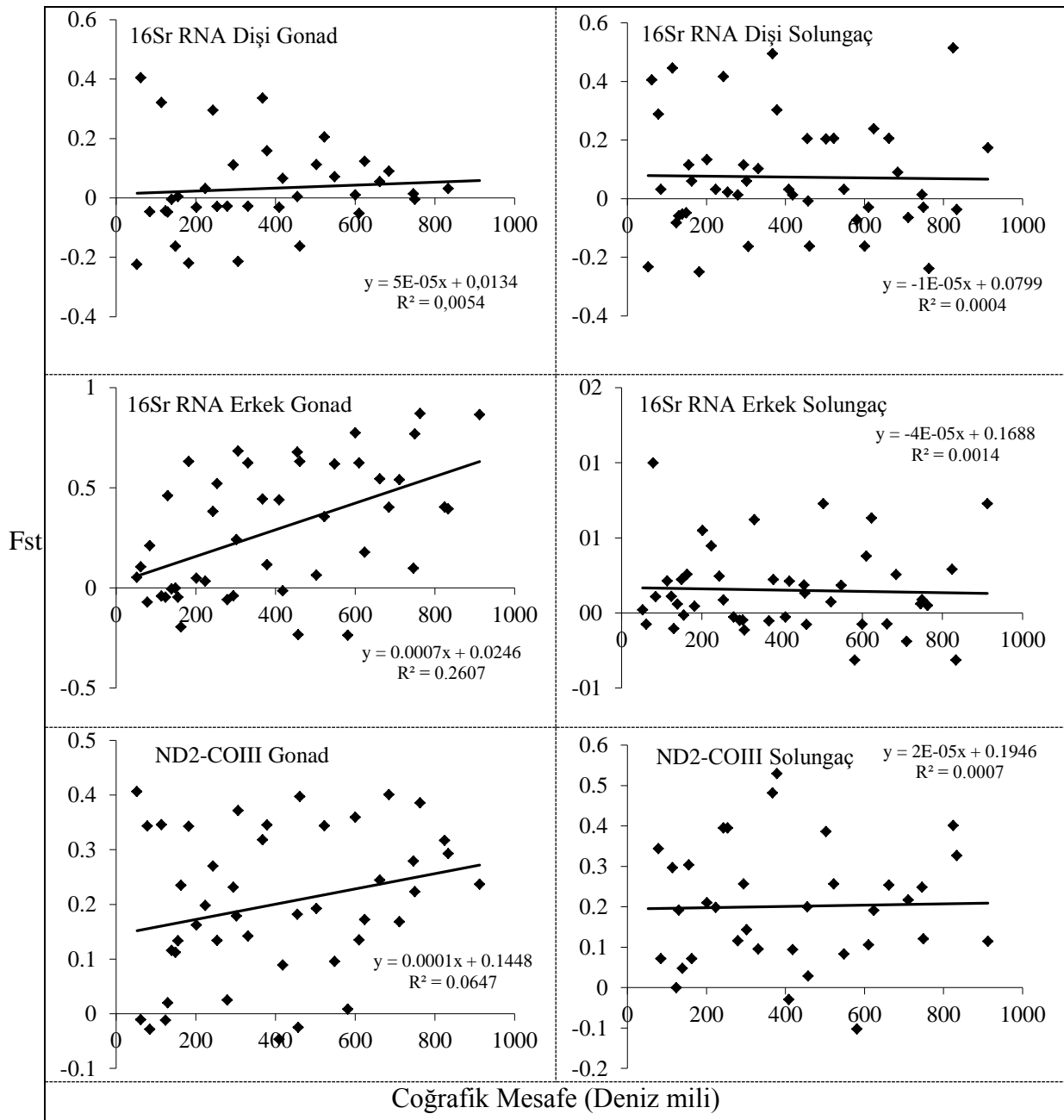
Populasyonlar	Gen Bölgesi	Hopa	Trabzon	Ordu	Sinop	Zonguldak	İstanbul	Çanakkale	Ayvalık	Çeşme	Bodrum
<b>Hopa</b>	16Sr RNADG										
	16Sr RNADS	0.00000									
	16Sr RNAEG	0.00000									
	16Sr RNAES	0.00000									
	ND2-COIII DG	0.00000									
	ND2-COIII DS	0.00000									
	16Sr RNADG	0.00000									
	16Sr RNADS	0.28788*	0.00000								
	16Sr RNAEG	-0.07143	0.00000								
<b>Trabzon</b>	16Sr RNAES	1.00000	0.00000								
	ND2-COIII DG	0.34313*	0.00000								
	ND2-COIII DS	0.34350*	0.00000								
	16Sr RNADG	-0.04665	0.00000	0.00000							
	16Sr RNADS	0.05895	0.03158	0.00000							
	16Sr RNAEG	-0.19531	0.21167*	0.00000							
<b>Ordu</b>	16Sr RNAES	0.25773	0.10891	0.00000							
	ND2-COIII DG	0.23501*	-0.02871	0.00000							
	ND2-COIII DS	0.07129	0.07159	0.00000							
	16Sr RNADG	0.03158	0.03158	-0.00526	0.00000						
	16Sr RNADS	0.05895	0.03158	-0.05263	0.00000						
	16Sr RNAEG	-0.24158	0.03409	-0.00462	0.00000						
<b>Sinop</b>	16Sr RNAES	-0.04772	0.44660	0.05978	0.00000						
	ND2-COIII DG	0.17874*	0.19829*	0.11572*	0.00000						
	ND2-COIII DS	0.14281*	0.19829*	0.04778	0.00000						
	16Sr RNADG	0.15869*	0.15869*	0.11057	0.00439	0.00000					
	16Sr RNADS	-0.00842	0.30174*	0.11509	0.11509	0.00000					
	16Sr RNAEG	-0.23346	0.11665	-0.03938	-0.04627	0.00000					
<b>Zonguldak</b>	16Sr RNAES	0.13357	0.22366	-0.04837	-0.01336	0.00000					
	ND2-COIII DG	-0.02494	0.34565*	0.23155*	0.13324*	0.00000					
	ND2-COIII DS	0.02815	0.52935*	0.25676	0.30380*	0.00000					

Tablo 15'in devamı

Populasyonlar	Gen Bölgesi	Hopa	Trabzon	Ordu	Sinop	Zonguldak	İstanbul	Çanakkale	Ayvalık	Çeşme	Bodrum
	16Sr RNADG		0.11240	0.06534	-0.02871	-0.04400	0.00000				
	16Sr RNADS	-0.07280	0.20354*	0.01235	0.01235	-0.08268	0.00000				
	16Sr RNAEG	-0.23626	0.06385	-0.01463	-0.05817	-0.04665	0.00000				
<b>İstanbul</b>	16Sr RNAES	-0.31250	0.72816	0.21275	-0.02609	0.11004	0.00000				
	ND2-COIII DG	0.00812	0.19273*	0.08885	0.02507	-0.01212	0.00000				
	ND2-COIII DS	-0.10295	0.38589*	0.09416	0.11600	-0.00000	0.00000				
	16Sr RNADG		0.12281	0.07150	-0.03158	-0.02955	-0.04767	0.00000			
	16Sr RNADS	-0.06480	0.23775*	0.03158	0.03158	0.02133	-0.05882	0.00000			
	16Sr RNAEG	0.54028	0.17808	0.61991*	0.44072*	0.52153*	0.46095*	0.00000			
<b>Çanakkale</b>	16Sr RNAES	-0.18812	0.63190	0.18379	-0.02740	0.08730	-0.10465	0.00000			
	ND2-COIII DG	0.16842*	0.17249	0.09539	-0.04654	0.13414*	0.01970	0.00000			
	ND2-COIII DS	0.21700*	0.1906*	0.08280	-0.02957	0.39502*	0.19162*	0.00000			
	16Sr RNADG		0.08959	0.01007	-0.16306	-0.21401	-0.21996	-0.22419	0.00000		
	16Sr RNADS	-0.23894	0.08959	-0.16306	-0.16306	-0.16350	-0.25000	-0.23346	0.00000		
	16Sr RNAEG	0.87193*	0.40299*	0.77514*	0.63162*	0.68421*	0.63158*	0.05263	0.00000		
<b>Ayvalık</b>	16Sr RNAES	0.05085	0.25664	-0.07423	-0.07702	-0.11371	0.04545	0.02174	0.00000		
	ND2-COIII DG	0.38578*	0.40116*	0.35945*	0.39748*	0.37164*	0.34307*	0.40666*	0.00000		
	ND2-COIII DS										
	16Sr RNADG		0.01316	0.05396	0.20526*	0.33557*	0.29542*	0.32133*	0.40466	0.00000	
	16Sr RNADS	0.51417*	0.01316	0.20526*	0.20526*	0.49419*	0.41633*	0.44490*	0.40466	0.00000	
	16Sr RNAEG	0.40466	0.09857	0.54552*	0.35591*	0.44490*	0.38234*	-0.04067	0.10526	0.00000	
<b>Çeşme</b>	16Sr RNAES	0.28994	0.06145	-0.07293	0.07393	-0.05198	0.24466	0.21290*	-0.07427	0.00000	
	ND2-COIII DG	0.31732*	0.27952*	0.24466*	0.34401*	0.31825*	0.27016*	0.34591*	-0.01063	0.00000	
	ND2-COIII DS	0.40113*	0.24803*	0.25394*	0.25668*	0.48144*	0.39497*	0.29639*	0.00000	0.00000	
	16Sr RNADG		0.03158	-0.00526	-0.05263	0.00439	-0.02871	-0.03158	-0.16306	0.20526*	0.00000
	16Sr RNADS	0.17371	-0.03735	-0.02968	-0.02968	0.20386	0.10151	0.13249	-0.04843	0.08898	0.00000
	16Sr RNAEG	0.86620*	0.39448*	0.77005*	0.62423*	0.67815*	0.62498*	0.04894	0.00000	0.10065	0.00000
<b>Bodrum</b>	16Sr RNAES	0.72816	-0.31250	0.08933	0.37924*	0.18526	0.62162*	0.54976*	0.22222	0.05282	0.00000
	ND2-COIII DG	0.23696*	0.29279*	0.22330*	0.13507*	0.18182*	0.14211*	0.16228*	0.11227*	0.12910*	0.00000
	ND2-COIII DS	0.11430	0.32658*	0.12088	0.10582	0.20000	0.09552	0.21026*	0.14304	0.00000	0.00000

\*p&lt;0,05

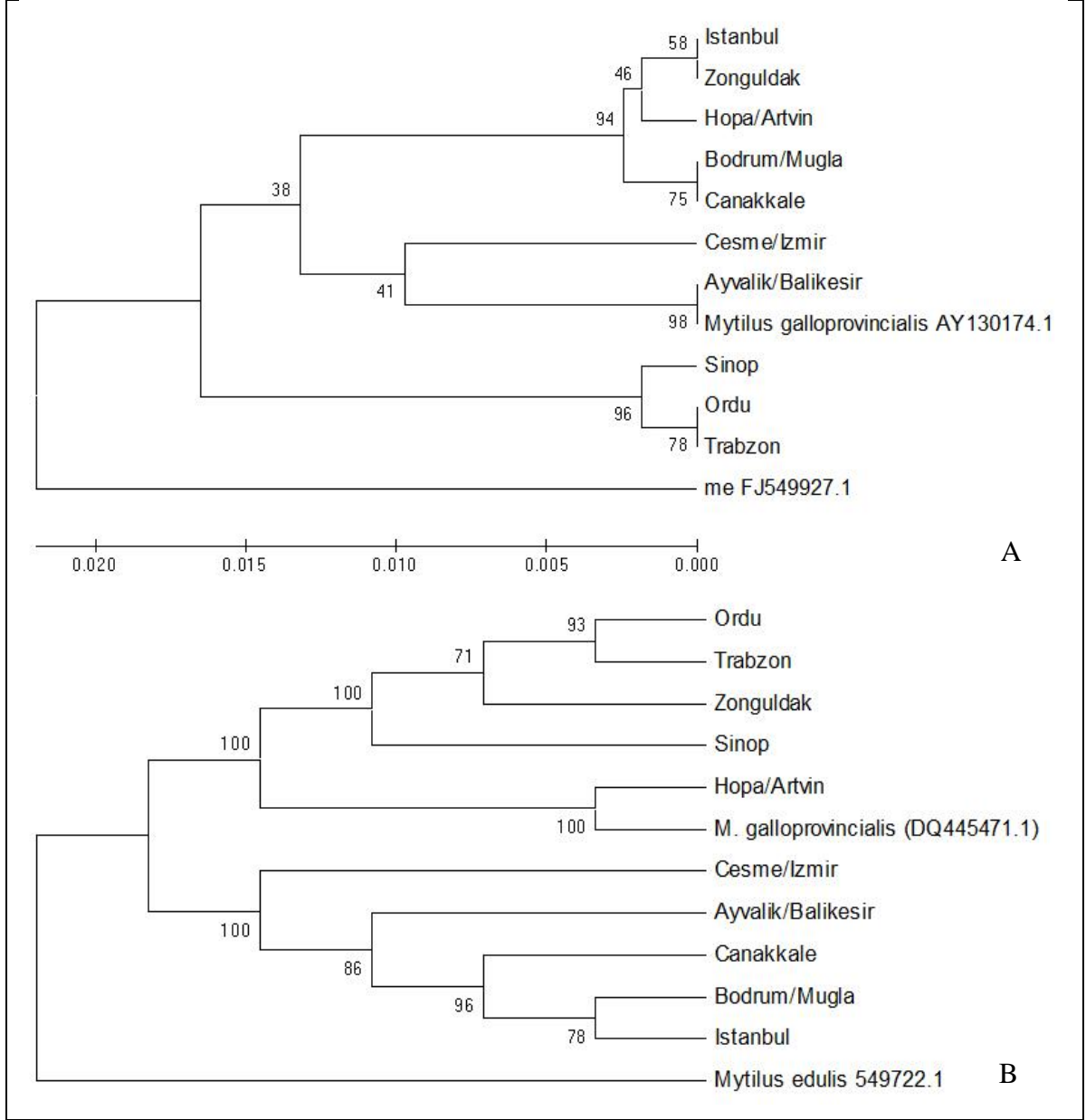
Morfolojik yapı bakımından populasyonların farklılaşmasında coğrafik konumun önemli etkisi olduğu bilinmektedir. Bu amaçla Karadeniz, Marmara ve Ege Denizinde belirlenen on populasyonun ikili karşılaştırmalarına ait Fst değerleri ile populasyonlar arasındaki coğrafik mesafeler (deniz mili) de regresyon analizi gerçekleştirilmiştir. Sonuç olarak midye populasyonlarında coğrafik mesafe ve genetik farklılık arasında ilişki olmadığı belirlenmiştir (Şekil 19).



Şekil 19. Populasyon çiftleri arasındaki genetik farklılık değerleriyle (Fst) coğrafik mesafe arasında ilişki

Midye populasyonları için yapılan filogenetik analizler sonucunda oluşturulan UPGMA soy ağaçlarında erkek midyelerin COIII bölgesi için % 71-100 oranında yüksek bir değerle Karadeniz ve Marmara-Ege olmak üzere iki ana gruba ayrıldığı görülmüştür (Şekil 20). Genbanktan alınan dış grup örneklerinden *M. galloprovincialis* (DQ445471.1)'in Hopa populasyonu ile %100 uyum ile aynı dalda olduğu ve *M. edulis* (FJ549927.1)'in ise tüm *M. galloprovincialis* populasyonlarından ayrıldığı görülmüştür.

Dişi midyelerin mtDNA'sının COIII bölgesinde gerçekleştirilen filogenetik analizler neticesinde UPGMA soy ağaçlarında erkek midyelerin soy ağacına benzer şekilde Karadeniz ve Marmara-Ege olmak üzere iki ana dala ayrılmaktadır (Şekil 20). Ancak Zonguldak örneklerinin İstanbul ile Hopa örneklerinin ise her ikisiyle benzerlik gösterdiği görülmektedir. Aynı grupta yer alan Ege ve Marmara grubunda birlerinden %41 ve %94 oranlarında farklılık sergilemektedirler. Dış grup örneklerinden *M. galloprovincialis* (AY130174.1)'in Ayvalık populasyonu ile % 98 uyum ile aynı dalda olduğu ve *M. edulis* (FJ549722.1)'in ise tüm *M. galloprovincialis* populasyonlarından farklı olduğu gözlenmiştir.



Şekil 20. COIII gen bölgesinde dişi (A) ve erkek (B) populasyonlar arası sekans verilerine göre UPGMA ağacı.

#### 4. TARTIŞMA

Aynı bölgeye ait midyelerin kabuk morfolojisinde farklılıklar görülebilmektedir. Kanada'nın Atlantik Okyanusu sahili boyunca yapılan bir çalışmada *M. edulis* ve *M. trossulus*'un kabuk morfolojisi incelendiğinde türler arasındaki morfolojik farklılıkların zayıf olduğu ve türler arasındaki ayırım için bir genetik belirteç olacak kadar güvenilir olmadığı bulunmuştur (Bates ve Innes, 1995). Bununla beraber farklı bölgelerden toplanan her türün bireyleri arasındaki morfolojik çeşitliliğe rağmen, iki tür arasındaki morfolojik farklılıklar tutarlı olmuştur. Her iki tür de alanlar arasında benzer bir morfolojik varyasyon ilişkisi sergilenmiştir.

McDonald vd. (1991) 18 kabuk karakteri kullanarak *M. edulis* ve *M. trossulus*'ün kabuk morfolojisini karşılaştırdığında kabuk morfolojisinin farklılık gösterdiğini tespit etmiş ve Innes ve Bates (1999) ise sekiz kabuk karakteriyle karşılaştırma yapmış ve *M. edulis* ve *M. trossulus* arasında daha büyük ölçekli bir morfolojik ayırım bulmuştur. Ek olarak McDonald vd. (1991) yerel çevresel durumların etkisi sebebiyle kabuk morfolojisindeki farklılıklara vurgu yapması beklenen tek tür popülasyon bireylerini örneklemiştir. Bununla beraber yerel çevresel durumlardaki farklılıklar, pek çok Kuzey yarımküredeki geniş çaplı incelenmesi sonucu örneklenen her tür için tür-özellik farklılıklarını belirsizleştirmeye yeterli değildir (McDonald vd., 1991). Innes ve Bates (1999)'ün araştırmasında örneklenen bölgelerin çoğu hem türlerin karışımını içermesiyle hem de yaygın çevresel şartların etkisiyle morfolojik benzerlik artışıyla sonuçlanabilir (Bates ve Innes 1995).

Üç kabuk karakteri (anterior adüktör kas izi ve hinge plate uzunluğu, kabuk yüksekliği) Kanada'nın hem Newfoundland, hem de Nova Scotia kıyılarında yapılan çalışmalarda *M. trossulus*'u *M. edulis*'dan ayırt edici en önemli özelliklerdendir (Mallet ve Carver 1995). Bununla beraber Mallet ve Carver (1995) *M. edulis* ve *M. trossulus* arasındaki kabuk morfolojisinde Innes ve Bates (1999)'a göre daha büyük farklılıklar bulmuşlardır, bu da muhtemelen Nova Scotia'da midyeleri türler arası morfolojik farklılıkları azaltan daha heterojenik çevre olan doğal ortamda yetişenden ziyade Lunenburg'da yetişen tek bir ticari midye alanından örneklemesinden kaynaklanmaktadır. Her türün ortalama uzunluklarındaki farklılıklar bildirilmemiştir ve uzunluk standartlı karakterlerin kullanılmış olmasına rağmen gözlenen farklılık derecesine katkı sağlamıştır.

Biraz daha büyük bir gelişim oranı Lunenburg bölgesinde gözlenen morfolojik farklılaşmaya katkı sağlayabilecek *M. trossulus* ile karşılaştırılan *M. edulis* için bulunmuştur.

Midyeler üzerinde yapılan çalışmaların çoğu taksaların ayırımı için morfolojik karakterleri değerlendirmeyi deneseler de, morfometrik analizler morfolojide potansiyel olarak adapte olan farklılıkları vurgulamada kullanılabilir. Karşılaştırmalı çalışmalar göstermiştir ki *Mytilus* türü bir epifaunal olmak için pek çok morfolojik adaptasyon göstermiştir (Stanley 1970, 1972, 1983). Örnek olarak indirgenmiş bir anterior, midyenin yüzeye bağlanması için iyi gelişmiş tutunma iplikçikleri sistemi ile birleşen düz karın yüzeyi şeklindedir. *Mytilus edulis* ve *M. galloprovincialis* kabuk şekillerindeki farklılıklar buldukları yerlerdeki dalgalara karşı geliştirdikleri adaptasyonundan kaynaklanmaktadır (Gardner ve Skibinski 1991). *Mytilus galloprovincialis* daha uzun kabuk, daha geniş ve düz karın kenarına sahiptir. Bu kabuk biçiminin daha güçlü bir bağ ile birleşmesi, *M. galloprovincialis*'in dalga etkisi ile sahildeki baskınlığı sayesinde açıklanabilir (Gosling ve Wilkins 1981; Skibinski 1983).

Karakousis ve Skibinski (1992) Yunanistan'ın kuzeyinde üç *M. galloprovincialis* popülasyonunda 6 morfometrik karakterlerde (kabuk boyu, genişliği, yüksekliği, hinge plate uzunluğu ile posterior ve anterior kas izi uzunlukları) diskiriminant analizi gerçekleştirmiştir. Kabuk morfometrik karakterlerinin diskiriminant analizi sonuçlarına göre üç popülasyonun birbirinden açıkça farklı olduğunu belirtmiştir. Popülasyonların ana ayırıcı karakterleri ilk ayırıcı fonksiyon için posterior adüktör kas izi uzunluğu ve ikincisi hinge plate boyudur. Her iki analiz içinde popülasyonlar içi ve arası farklılık belirlenmiştir. Bu farklılık mtDNA genotipi frekanslarında fark edilebilir düzeydedir. Bu çalışmada ise kanonik fonksiyonun ilk iki değişkeni dikkate alınarak çizilen dağılım grafiğinde, dişi midye popülasyonlarında Sinop popülasyonu örneklerinde diğer popülasyonlardan bir uzaklaşma görülsede tam olarak ayrılmadığı belirlenmiştir. Erkek midye popülasyonlarında ise ayırım görülmemiştir. Diskiriminant analiz yöntemi ile hesaplanan Mahalanobis uzaklık matrisine göre çizilen UPGMA ağacı sonuçları dişi popülasyonlarında Sinop popülasyonunu Ege Denizi örneklerine yakın olmak üzere Karadeniz ve Ege Denizi şeklinde iki gruplaşma gösterirken erkek popülasyonlarında ise gruplaşmaya rastlanmamıştır. Aynı tür içinde morfolojik karakterlere göre belirlenen farklılıkların doğrudan bölgesel alanlardaki önemli ölçüde kabuk morfolojisini etkileyen çevresel faktörlerin sonucu olduğu kanısına varılmıştır (Seed, 1968).

Önceki çalışmalar iki farklı türün kabuk morfolojisini değerlendirmeye yönelik olduğundan kanonikal analiz ile veriler değerlendirilmiştir. Sunulan çalışmada ise tek türün

kabuk morfolojisi üzerine araştırma yürütüldüğünden, değerlendirme diskriminant fonksiyon analizi ile gerçekleştirildiğinden, analiz sonuçlarını diğer çalışmalarla karşılaştırmak mümkün olmamıştır. Araştırma sonuçlarının değerlendirilmesi işleminde karşılaşılan bir diğer sorun ise çalışmalarda cinsiyet ayrımı gözetilmemesidir.

*Mytilus edulis*'in ilk olarak mitokondrial DNA F genomunun tamamına yakını Hoffmann vd. (1992) tarafından yayımlanmış olup, Boore vd. (2004) tarafından tamamlanmıştır. Daha sonra, *M. edulis*, *M. galloprovincialis* ve *M. trossulus*'un tam M ve F genom dizileri de çeşitli araştırmacılar tarafından çalışılmıştır (Breton vd., 2006; Zbawicka vd. 2007; Burzynski ve Smietanka, 2009; Mizi vd., 2005). F genomu (18.628 bp) CRS bölgesinin 1,914 bç farklılıkları nedeniyle, M genom'una (16.578 bç) göre önemli ölçüde daha uzundur.

Kurtuluş (2009) Karadeniz'den Marmara'ya uzanan sekiz örnekleme bölgesinden toplam 96 midyenin analizinde 813 bç uzunluğunda yükseltgenen COIII gen bölgesinin dizi analizi sonrası hizalanması ile 636 bç üzerinden değerlendirme yapmıştır. Bu çalışmada ise COIII gen bölgesinin, dişi gonad ve solungaçlarında 485 bç'lik uzunlukta, erkek gonad ve solungaçlarında ise 875 bç'lik uzunlukta yükseltgenen bölge için hizalanma gerçekleştikten sonra dişilerde 400 bç ve erkeklerde 675 bç üzerinden değerlendirme yapılmıştır. Kurtuluş (2009) araştırmasında toplamda dokuz haplotip bulmuş ve en yaygın olan, neredeyse bireylerin %90'ında bulunan haplotip, Karadeniz, Boğaz ve Marmara Denizi'nde görülmüştür. Haplotip ( $0,230 \pm 0,057$ ) ve nükleotid (0,00038) çeşitlilikleri düşük bulunmuştur. Filogenetik ağaç sonuçlarına göre ise dış drup olarak kullanılan Azak Denizi (Ukrayna) örneklerinden birisi Marmara Denizi'nde belirlenen bir haplotip ile daha yakın iken diğeri de geriye kalan 8 haplotip ile gruplaşma göstermiştir. Bununla birlikte Kurtuluş (2009)'un tespit ettiği diğer 8 haplotipin kendi içinde uyumu %55 olarak belirlenmiştir. Bu çalışmanın sonuçlarına göre haplotip çeşitliliğinde gözlemlendiği gibi genetik farklılıkların birikiminin başlangıcının kanıtı olmasına rağmen coğrafik bölgeler arasında genetik gruplaşmanın olmadığı fikri desteklenmektedir. İstanbul Boğazı'nın genetik koridor oluşturduğu bulgusu (Kurtuluş, 2009), bu çalışmadaki erkek ve dişi COIII gen bölgesinde Karadeniz ile Ege arasında meydana gelen gruplaşma sonucumuzla paralellik göstermemektedir. Bunun nedeninin de Kurtuluş'un (2009) örnekleme alanının sınırlı ve cinsiyet ayrımını dikkate alınmamış olmasından kaynaklanabilir.

Quesada vd. (1998) Avrupa *M.edulis*, Atlantik ve Akdeniz *M. galloprovincialis* popülasyonlarından toplam 77 bireyde RFLP yöntemiyle COIII ve ND2 gen bölgelerini



kullanarak F ve M genomlarının homolog segmentlerinde filogenetik ilişkiyi nükleotit farklılığı ve uzaklığını belirlemişlerdir. Bu çalışma ile ilk kez *Mytilus*'larda M genomunun F genomundan nükleotid çeşitliliğinin önemli derecede fazla olduğu kanıtlanmıştır. *M. galloprovincialis*'in Akdeniz'de spesifik olduğu ve diğer taksonlardan haplotip içerdiği Quesada vd. (1998) tarafından bildirilmiştir.

Ladoukakis vd. (2002) tarafından Atlantik, Akdeniz ve Karadeniz'de *M. galloprovincialis* populasyonlarında toplam 5 istasyondan alınan örneklerde dişi ve erkek mitokondriyal genomları arasındaki varyasyon miktarını ve genetik mesafeyi COIII ve 16S rRNA genleri üzerinde belirlemişlerdir. COIII gen bölgesi için 22, 16S rRNA için ise 4 haplotip belirlemişlerdir. Dişi midyeler de, Akdeniz ve Karadeniz örnekleri arasında ortak 3 haplotip gözlenmiştir. Erkek midyelerde ise Karadeniz'de sadece 14 numaralı haplotip belirlenirken aynı haplotip Akdeniz'de en yaygın haplotip olarak tespit edilmiştir.

*Mytilus galloprovincialis*'in Atlantik, Akdeniz ve Karadeniz (Sivastapol) populasyonlarında önemli farklılıklar olduğu, Ladoukakis vd. (2002) tarafından bildirilmiştir. Buna göre ND2- COIII dişi genom haplotipleri Akdeniz'de güney Fransa'da yaygındı. Portekiz de ise neredeyse hiç gözlenmemiştir. Dişi genom kontrol bölgesinde boy varyasyonu Akdeniz ve Karadeniz'de daha fazla bulunmuştur.

Smitienka vd. (2004) midyelerde ND2-COIII kodlama bölgesinin mtDNA'sında fazla sayıda dişi genom için 69, erkek genom için 47 haplotip gözlemlemişlerdir. Endonükleazlara göre farklı kesim şekillerine bakıldığında *Dde* ve *AluI* için 11, *Sau96I* için 10, *RsaI* için 20 ve *TaqI* için 5 olarak belirlenmiştir. Beyaz Deniz'de *M. edulis* örneklerinde F genomunun ortalama nükleotid (0,012) ve haplotip (0,70) çeşitliliği yüksek seviyede bulunurken Baltık midyelerinde (0,006 ve 0,506) önemli derecede düşük bulunmuştur. Akdeniz'de *M. galloprovincialis*'de en yüksek nükleotid çeşitliliği (0,026) gözlenmiş ve yine bu örnek için haplotip çeşitliliği (0,621) olmuştur. Ladoukakis vd. (2002) ile karşılaştırıldığında (Akdeniz ve Karadeniz (Sivastapol)'de *M. galloprovincialis*) Azak Denizi'nden *M. galloprovincialis* populasyonu (haplotip çeşitliliği 0,31) Kırım yarımadasının batısındaki Sivastapol populasyonları (haplotip çeşitliliği 0,65) ile karşılaştırıldığında daha az değişken olduğu görülmektedir. Azak Denizi'nden *M. galloprovincialis* populasyonu için izolasyonun fazla seviyede olduğu gözlenmiştir. Sadece 1 haplotipin yüksek frekansta olduğu (% 80), ayrıca Akdeniz'de (%30,6) yaygın olduğunu, Batı Akdeniz'den Karadeniz ve Azak Denizi'ne Boğazlar vasıtasıyla Azak Denizi'ndeki kalıcı etkisi dahil mtDNA gen akışında kısıtlamaları desteklemektedir. Geniş coğrafik

alandaki bulunan *Mytilus* taxaları arasındaki izolasyon ve mtDNA'nın farklılaşmasına rağmen popülasyonlar arasında ve hibrit zonlar arasındaki (introgression) güçlü mitokondriyal gen akışı Avrupa'da daha lokal coğrafik alanlarda meydana gelmiştir. Azak Denizi'nden Baltık Denizi'ne *Mytilus* popülasyonlarında düşük haplotip çeşitliliği değeri kalıcı etki ve popülasyon genişlemesiyle ilgili olabilir. Buzul çağından sonra haplotipler içinde büyük farklılıkların birikimi için yeterli zamanın olmadığı küçük popülasyondan büyük popülasyona genişlemeyi işaret edebilir.

Avrupa'da Kijewski vd. (2011) tarafından 22 alanda 928 bireyde ND2-COIII gen bölgesi için yetmiş birleşik RFLP haplotipi belirlenmiş ve bunların 34 tanesi sadece tek bireylerde gözlenmiştir. Bu çalışmada ise 10 popülasyonda dişi ve erkek olmak üzere toplam 326 bireyde toplam 20 haplotip tespit edilmiş ve bunların 10 tanesi her popülasyona özgü olarak belirlenmiştir. Endonükleazlara göre farklı kesim şekillerine bakıldığında Kijewski (2011) Dde için 6, Sau96I için 4 ve TaqI için 5 olarak belirlediği kesim şekilleri, bu çalışmada *Dde* ve *AluI*, *Sau96I* ve *TaqI* için 3, *RsaI* için ise 2 şeklinde belirlenmiştir. Haplotip çeşitliliği ve nükleotid çeşitliliğini sırasıyla  $0.684 \pm 0.00127$  ve  $0.0149 \pm 0.000002$  şeklinde belirlemişlerdir. Bu çalışmada gonad dokusunda ortalama haplotip çeşitliliği  $0.5711 \pm 0.001$  değeriyle önceki çalışmaya göre daha düşük, ortalama nükleotid çeşitliliği  $0.0364 \pm 0.0000$  değeri ile daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Kijewski vd. (2011)'nin bu çalışmadan, Smitienka vd. (2004)'nin ise her iki çalışmadan haplotip sayısı, enzimin tanıma bölgeleri sonuçları bakımından daha yüksek polimorfizm sergilediği anlaşılmaktadır. Bunun sebepleri ise kullanılan primer, gen bölgesinde meydana gelen mutasyonlar ya da kesim parçacıklarının belirlenmesindeki okuma hatalarından kaynaklanabilir. Ayrıca Akdeniz ve Karadeniz'den birkaç nokta ile Baltık Denizi ve Atlantik kıyısından yapılan örnekleme sahasının fazla olmasının yanı sıra *Mytilus* cinsine ait tür ayrımı gözetmeden çalışmanın yürütülmüş olması diğer nedenler olarak belirtilebilir.

Hoeh vd. (1991) Atlantik ve Pasifik kıyılarından 16 popülasyona ait 150 midye üzerinde mtDNA üzerinde yürüttüğü araştırmasında 85 bireyi heteroplazmik olarak belirlemiştir. Heteroplazmik bireyler içinde mtDNA tiplerinde büyük ölçüde farklılığın ve bu farkında diziler arasındaki farkın  $\%20 \pm 5$ 'i olduğu anlaşılmaktadır. Smitienka vd. (2004) araştırmalarında *Mytilus* erkeklerinde heteroplazmi gözlemlediği çalışmada erkek (M) genomun kesici enzim analizi, Kuzey Avrupa *M. edulis* popülasyonlarında dişi (F) genomuyla karşılaştırıldığında çok daha fazla güçlü coğrafik farklılık ve polimorfizmi

kanıtlamaktadır. Aynı zamanda Güney Avrupa'daki *M. galloprovincialis* populasyonları içinde M genomunda daha güçlü coğrafik farklılaşma belirlenmiştir. Kontrol bölgesinde CBM1-2 PZR ürününün bulunması, erkek (M) genomu için boy tanısıyla birlikte Azak Denizi'nde *M. galloprovincialis* erkekleri için %47,6 oranında gözlenmiştir. Bu F/M heteroplazmisinin Karadeniz'de *M. galloprovincialis* için Ladoukakis vd. (2002) tarafından belirtilenden çok daha fazla oranda olduğunu belirtmiştir.

*Mytilus edulis* F/M genomu için dört dişi birey heteroplazmik bulunmuştur. Bu durum iki ebeveyn genomun geçişiyle açıklanabilir. F/F heteroplazmisi Azak Denizi'nden sadece 1 *M. galloprovincialis* örneği bulunmuştur. Bununla birlikte Smitienka vd. (2004) bazı Baltık midyelerinde F/F heteroplazmisi gözlemlemişlerdir. Farklı dişi (F) kodlama bölgesi haplotipi ya da farklı boy değişimi kontrol bölgesinde heteroplazmik erkeklerde gözlenmiştir. Çoğu erkek için bir genom somatik dokuda baskın ve diğeri de gonad içinde ve babadan aktarılmıştır (Smitienka vd., 2004).

Bu çalışmada gonad ve solungaç dokularından her iki cinsiyete göre oluşturulan haplotipler arasında karşılaştırma yapılarak 16S rRNA bölgesi için 5 dişi ve 4 erkek birey ile ND2-COIII bölgesi içinde 6 bireyde heteroplazmiye rastlanmıştır. Bu çalışma Smitienka vd. (2004)'nin sonuçlarıyla paralellik göstermiştir. Ancak Hoeh vd. (1991)'e göre daha düşük heteroplazmik bireyin bulunmasının bir nedeni, araştırmalarını farklı *Mytilus* türlerinin bulunduğu çok geniş bir alanda yürütmesi olarak açıklanabilir. Bu durumda diğer bir neden de dokulardan elde edilen DNA örneklerinde toplamda her iki doku içinde uyumlu sayıda primer bağlanma noktasında mutasyondan ya da laboratuvar şartlarından kaynaklanabilecek sebeplerden dolayı amplifikasyon gerçekleşmemesidir. Bu da heteroplazminin dolaylı kanıtını işaret edebilir.

Quesada vd. (1998) M genomunun F genomundan fazla moleküler varyans göstermesine karşılık, her iki genom için Fst istatistiği verilerinin taxalar arasında yaklaşık olarak aynı olması bu varyasyonun parçalarını meydana getirir. *Mytilus* taksonunda mtDNA çeşitliliği ve uzaklaşması M genomu için F genomundan önemli derecede yüksek gözlenmiş olmasına rağmen evrimsel süreç bu farklılıkların çözümlenemeyişinden sorumludur. Stewart vd. (1995), Rawson ve Hilbish (1995) ile Skibinski vd. (1999) tarafından *Mytilus* M genomunun, yüksek polimorfizm ve hızlı ayrılma oranına katkısıyla F genomundan daha yüksek mutasyon oranına sahip olduğu tartışılmıştır.

Ladoukakis vd. (2002), denizlerdeki farklılaşmayı AMOVA sonuçları ile değerlendirdiğinde Akdeniz ve Karadeniz örneklerinde dişi ve erkek genom için daha

düşük olan Fst değerleri (sırasıyla 0,098- 0,133) Atlantik ve Karadeniz örneklerinde (0,235- 0,694) daha yüksek olduğunu bildirmiştir. Buradan da Akdeniz ve Karadeniz arasındaki dişi ve erkeklerde genetik çeşitliliğin Atlantik ve Karadeniz arasındakinden daha düşük olduğu, kendi içerisinde de dişlerin erkeklerden daha az genetik çeşitliliğe sahip olduğu görülmektedir. Atlantik ve Akdeniz’deki duruma baktığımızda ise erkeklerin dişilerden daha çok çeşitlilik gösterdiği ve her iki cinsiyet içinde Akdeniz ve Karadeniz’e göre farklılaşmanın fazla olduğundan söz edilebilir.

Avrupa’daki *Mytilus spp.* populasyonlarında ND2-COIII bölgesine dayalı yürütülmüş olan populasyon genetiği çalışmaları sonucunda (Smietanka vd., 2004) populasyonlar arasında grup içi farklılaşma ( Fst) 0,05'den daha az gözlenirken, gruplar arasında 0,3'den daha fazla, yani önemli genetik çeşitlilik gözlenmiştir. Atlantik ve Akdeniz'deki populasyonları oluşturan gruplar arasında ise 0,7 gibi yüksek oranda bir çeşitlilik söz konusudur.

Kurtuluş (2009), COIII gen bölgesi için populasyon çiftlerinin Fst değerlerini düşük ve önemsiz bulmuştur. AMOVA sonuçlarına göre ise populasyon içi değişim %97,65, grup içi populasyonlar arası ise %5,59 olarak belirlenmiştir. Bu çalışmada ise 0,10972 ile 0,38672 arasında değişen Fst değerleri gen bölgelerine istatistiki olarak önemli bulunmuştur. Kurtuluş (2009)’un çalışmasından anlaşıldığı üzerine yüksek gen akışı mevcudiyeti bu çalışmada düşük seviyelerde yer almakta bu da populasyonlar arasında gruplaşmaya yol açmaktadır.

Eldem (2010) ribozomal DNA’da ITS’e ait nükleotid dizilerinin evrensel primerler ile dizilenmesi ve analizi, yüksek nükleotid çeşitliliğini ( $\pi= 0,37539$ ) ortaya koymuştur. Moleküler varyasyon analizi (AMOVA) populasyon içi, populasyonlar arası ve populasyonlara ait gruplar arası genetik varyasyonun oranını hesaplamak için kullanılmıştır. Çalışılan populasyonlar arası düşük genetik farklılaşma (Fst: 0.02809) bulunmuştur ve populasyonlar arası gen akışı (Nm: 1.88) düzeyi yüksek olarak hesaplanmıştır. Beş lokal populasyon arasında önemli derecede alt bölüme ayrılma saptanamamıştır. Eldem (2010) *M. galloprovincialis* örneklerini, Atlantik ve Pasifik bölgesindeki diğer *M. galloprovincialis* örneklerinin ITS bölgesine dayalı olarak, UPGMA kümeleme yöntemi ile karşılaştırdığında, Marmara ve Karadeniz’deki *M. galloprovincialis* genotiplerinin, Pasifik bölgesindeki *M. galloprovincialis* genotiplerine göre birbirine daha yakın olduğu görülmüştür. Bu sonuçlara göre genetik mesafe ile coğrafik mesafe arasında güçlü bir bağlantı olmadığı belirlenmiştir. Bu çalışmada da Kurtuluş (2009) ve Eldem

(2010) gibi coğrafik mesafe ile genetik farklılık arasında bir ilişki bulunamamıştır. Kurtuluş ve Eldem (2010) çalışmalarında ülkemiz denizlerinde geniş ölçekte yayılım gösteren tür olması sebebiyle, *M. galloprovincialis* populasyonları arasındaki mevcut genetik çeşitliliğin daha iyi ortaya koyulabilmesi için, Ege Denizi'nden ve özellikle Orta ve Doğu Karadeniz'den örnekleme yapıp, farklı yöntemler kullanılarak değerlendirilmesi gerektiğini önermişlerdir.

Kijewski (2011), AMOVA sonuçlarına göre toplam varyasyonun (Vc) %61,94'ünü populasyon içi farklılaşma olarak, Atlantik, Baltık, Akdeniz ve Karadeniz grupları arasındaki farklılaşma da (Va) %33,82 olarak belirlemiştir. Grup içi populasyonlar arasındaki farklılıkta toplam varyasyonun %4,24 'ü olduğunu bildirmiştir. Akdeniz ve Karadeniz populasyonları arasında olmak üzere, farklı coğrafik grup oluşturan populasyonlarda önemli farklılıklar gözlenmiştir. Bu çalışmadaki populasyonlar arasındaki ND2-COIII gen bölgesi için hesaplanan varyans bileşenlerinden populasyonlar arası varyasyon düşük (gonad: %22,63, solungaç: %21,86), populasyonlar içi varyasyon yüksek (gonad: %77,37, solungaç: %78,14), bulunmuştur.

Hopa populasyonunda dişilerin gonad dokusundan 16S rRNA gen bölgesi çoğalmamıştır. Solungaç dokusundan populasyonların yakınlık durumuna baktığımızda, Hopa'nın Ege-Marmara ile birlikte kümeleşme gösterdiği görülmektedir. Diğer tüm gen bölgeleri için çizilen filogenetik ilişki diyagramlarında da benzer durum gözlenmektedir. Bu durum midye örneklerinin Hopa' da liman içerisinden toplanması ve Ege-Marmara kökenli midyelerin gemiler vasıtasıyla ya da başka bir şekilde bu bölgeye taşınmış olabileceği düşünülmektedir.

Mitokondriyal ND2-COIII bölgesine dayalı Quesada vd. (1998), Ladoukakis vd. (2002) ve Smietanka vd. (2004) tarafından gerçekleştirilmiş çalışmalardan farklı olarak yürütülen bu çalışmada adı geçen bu bölge, erkek midye örneklerinde amplifike edilememiştir. Bu nedenle önceki araştırmalarda da kullanılmış olan primer ve PZR programında çeşitli modifikasyonlar yapılmıştır. Öncelikli olarak annealing sıcaklığı üzerinde değişiklikler denenmiş ve bu değişimler 45°C ile 53°C arasında kademeli olarak gerçekleştirilmiştir. Metotta baz dizilimi belirtilen ileri ve geri yönlü primerler yerine universal bir başka primer kullanıldığında da sonuç değişmemiştir. Smietanka vd. (2004) tarafından yürütülen çalışmada da aynı problem yaşanmış ve problemin çözümüyle ilgili bir açıklamaya yer vermemişlerdir. Bu çalışmada, mitokondriyal ND2-COIII bölgesinin

amplifike edilememesi ülkemiz kıyılarında yaşayan midyelerin çalışılan gen bölgelerinde yüksek nükleotid çeşitliliği olmasından kaynaklanabilir.

## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu araştırmada, Türkiye denizlerinde var olan *M. galloprovincialis* populasyonlarının mtDNA molekölü bakımından genetik yapısının tanımlanması ve populasyonlar arasındaki ilişkinin/farklılıkların belirlenmesi amacıyla 16S rRNA ve ND2-COIII gen bölgelerinde farklı enzim kombinasyonlarından yararlanılarak PCR-RFLP analizi ile COIII gen bölgesinde ise DNA dizi analizi yapılmıştır.

- Türkiye denizlerini temsil edecek şekilde Karadeniz’de; Hopa, Trabzon, Ordu, Sinop ve Zonguldak kıyılarından, Marmara Denizin’de; İstanbul, Çanakkale kıyıları ve Ege Denizin’de; Ayvalık, Çeşme ve Bodrum kıyılarından olmak üzere *M. galloprovincialis*’e ait 20’şer adet dişi ve erkek olmak üzere toplam 400 adet midye örneği genetik ve morfometrik açıdan incelenmiştir.

- Midyelerin ortalama kabuk boyları dişilerde  $57,23 \pm 7,85$  mm, erkeklerde ise  $57,38 \pm 8,59$  mm olup, sırasıyla 47,22– 68,80 mm 48,17– 68,24 mm arasında değişim göstermiştir.

- Midye populasyonları arasındaki morfolojik farklılığı belirtmek için çok değişkenli araştırma tekniklerinden Diskriminant fonksiyon analizi uygulanmıştır. Diskriminant analiziyle hesaplanan Mahalanobis uzaklık matrisi verilerine göre oluşturulan UPGMA ağacı sonuçlarında dişi ve erkek morfometrik karakterlere göre farklı kümeleşme görölmüştür.

- 16S rRNA gen bölgesinde 4-6 baz tanıma bölgesine sahip 3 kesici enzim kullanıldığı çalışmamızda dizi üzerinde 6 tanıma bölgesiyle 32 baz çiftinin tanındığı, 525 bazlık bölge içerisinde yaklaşık %6’lık kısmının taranabildiği sonucuna ulaşılmıştır. ND2-COIII gen bölgesinde ise 4-5 baz tanıma bölgelerine sahip 5 enzim ile, 22 tanıma bölgesiyle 127 baz çiftinin tanındığı, bununla da 1270 bazlık bölge içerisinde yaklaşık %10’lik kısmı belirlenmiştir.

- Mitokondriyal DNA’nın RFLP analizi ile 16S rRNA gen bölgesi için her iki cinsiyette ortak 2, dişiler için özel 1 haplotip tespit edilmiştir. Dişi ND2-COIII gen bölgesi için ise toplam 20 haplotip belirlenmiş ve bunların 7 tanesi sadece gonad dokusunda gözlenmiştir. En yaygın olan haplotip (H13), 9 populasyonda ve tüm örneklerin %34’ünde gözlenmiştir. Haplotiplerden 12’si ise 5’den daha az örnekte görölmüş, populasyonlar için

nadir ve özel haplotipler olmuşlardır. Her bir popülasyondaki haplotip miktarı 1 ile 8 arasında değişim göstermiş ve ortalama olarak her bir popülasyon için 4,2 olarak gerçekleşmiştir.

- Popülasyonlar içerisinde 16S rRNA gen bölgesi için dişi midyelerin gonad ve solungaç dokularında ortalama nükleotit çeşitliliği de sırasıyla  $0,0476 \pm 0,0000$  ve  $0,048014 \pm 0,0000$  ile erkek midyelerin gonad ve solungaçlarında sırasıyla  $0,0341 \pm 0,0000$  ve  $0,035141 \pm 0,00004$  olarak hesaplanmıştır. Popülasyon içi ND2-COIII gen bölgesinde, ortalama nükleotit çeşitliliği gonad ve solungaç dokularında sırasıyla  $0,0364 \pm 0,0000$  ve  $0,02674 \pm 0,0000$  olarak belirlenmiştir. En yüksek haplotip ve nükleotit çeşitliliği 16S rRNA gen bölgesi için Zonguldak ( $0.6667 \pm 0.1318$ ,  $0.066024$ ) popülasyonunda, ND2-COIII gen bölgesi için ise haplotip çeşitliliği ve nükleotit çeşitliliği sırasıyla Bodrum ( $0.6959 \pm 0.06187$ ) ve Çeşme ( $0.046856$ ) popülasyonlarında gözlenmiştir.

- Moleküler varyans analizi (AMOVA) sonuçlarına göre midye popülasyonları arasında düşük, popülasyonlar içinde yüksek oranda genetik yapılanma olduğu tespit edilmiştir. Popülasyon çiftleri arasındaki genetik farklılık değerleri (Fst), popülasyonlar arasında önemli genetik farklılaşma olduğunu göstermiştir ( $p < 0,05$ ).

- Popülasyon çiftleri arasındaki coğrafik mesafe ile genetik farklılık karşılaştırıldığında, aralarında ilişki olmadığı ( $R^2 = 0,0004 - 0,2607$ ) tespit edilmiştir.

- Filogenetik analizler sonucunda 16S rRNA, ND2-COIII ve COII gen bölgeleri için oluşturulan UPGMA soy ağaçlarında midye popülasyonlarının Karadeniz ve Ege-Marmara olmak üzere iki ana dala ayrıldığı belirlenmiştir.

Bu araştırma, Türkiye’de, midye popülasyonlarında mtDNA düzeyinde yapılmış moleküler çalışmaların en kapsamlısı niteliğindedir. İncelenen PCR-RFLP yöntemiyle iki genetik bölgede ve COIII bölgesine uygulanan sekans analizleri ile genetik varyasyon oldukça yüksek bulunmuştur. Elde edilen sonuçlar, mevcut popülasyonlardaki polimorfizmin boyutlarını ortaya koyması yönünden yeterli sayılabilir. Araştırma sırasında dişilerde, gonad ve solungaç dokuları arasında heteroplazmiye düşük oranda rastlanmıştır. Gelecekte planlanacak çalışmalarda amaca göre erkeklerin her iki dokusu, dişilerde ise sadece gonad ya da solungaç dokuları kullanılarak çalışmalar yürütülebilir. Bu ve benzeri çalışmalara mtDNA yanında nükleer DNA varyasyonlarının da ortaya konulduğu çalışmalarla farklı genetik belirteçleri kullanılarak genetik veri tabanının genişletilmesi gerektiği önerilebilir.



Karadeniz'in güney kıyılarında yürütülen bu çalışmanın devamı olarak diğer kıyılardan da örnekler alınarak bir i deniz konumunda olan Karadeniz'de midye populasyonlarının genetik yapıları ortaya konulmalıdır.

Gen kaynaklarının muhafazasına yönelik tedbirlerin alınması gerekmektedir. Baltık Denizi'nde *M. trossulus*. populasyonunda yaşanan kaynakların korunamayışı örneğinde olduğu gibi ülkemizde de *Mytilus* populasyonları için midye kültürü faaliyetlerinin artması ile farklı bölgelere spat taşınması sırasında aynı sorunla karşılaşılabilir.

## 6. KAYNAKLAR

- Altinok, I., Grizzle, J.M. and Liu, Z., 2001. Detection of *Yersinia ruckeri* in Rainbow Trout Blood by Use of Polymerase Chain Reaction, Dis. Aquat. Org., 44, 29–34.
- Avise, J.C., 2004. Molecular Markers, Natural History, and Evolution, 2nd Edition. Sinauer, Sunderland, MA., 684 pp.
- Avise, J.C., 2006. Evolutionary Pathways in Nature: A Phylogenetic Approach. Cambridge Univ. Press, New York, 286 pp.
- Bagley, M.J., Franson, S.E., Christ, S.A., Waits, E.R. and Toht, G.P., 2002. Genetic Diversity as an Indicator of Ecosystem Condition and Sustainability. United States Environmental Protection Agency, Cincinnati, OH, 77 p.
- Bates, J.A. and Innes, D.J., 1995. Genetic variation among populations of *Mytilus* spp. in eastern Newfoundland. Mar. Biol., 124, 417-424.
- Beaumont, A., Gjedrem, T. and Moran, P., Blue Mussel - *M. edulis* and Mediterranean mussel - *M. galloprovincialis*, Genimpact Final Scientific Report. [http://genimpact.imr.no/\\_data/page/7650/mussels.pdf](http://genimpact.imr.no/_data/page/7650/mussels.pdf), 11 Kasım 2008.
- Beaumont, A. R., Boudry, P. and Hoare, K., 2010. Biotechnology and Genetics in Fisheries and Aquaculture, 2nd Edition. Wiley Blackwell, 216 p, ISBN: 978-0-632-05515-9
- Billington, N., 2003. Mitochondrial DNA, Pages 59-100, in E. M. Hallerman, editor. Population genetics: principles and applications for fisheries scientists, American Fisheries Society, Bethesda, Maryland, 475 p.
- Birky, C.W., 1995. Uniparental Inheritance of Mitochondrial and Chloroplast Genes - Mechanisms and Evolution. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 92,25, 11331-11338.
- Boore, J.L., Medina, M. and Rosenberg, L.A., 2004. Complete Sequences of the Highly Rearranged Molluscan Mitochondrial Genomes of The Scaphopod Graptacme Eborea and the Bivalve *Mytilus edulis*. Mol. Biol. E., 21, 1492-1503.
- Breton, S., Burger, G., Stewart, D.T. and Blier, P.U., 2006. Comparative Analysis of Gender-Associated Complete Mitochondrial Genomes in Marine Mussels (*Mytilus spp.*). Genetics, 172, 1107-1119.
- Brinkman, F.S.L. ve Leipe, D.D., 2001. Phylogenetic Analysis, pages 323-325, Bioinformatics A Practical Guide to the Analysis of Genes and Proteins, , in A. D. Baxevanis, ve B. F. F. Ouellette editor, Wiley Interscience, New York, , 457 p.

- Burzynski, A., Zbawicka, M., Skibinski, D.O.F. and Wenne, R., 2003. Evidence for Recombination of mtDNA in the Marine Mussel *Mytilus trossulus* from the Baltic. Molecular Biology and Evolution, 20,3, 388-392.
- Burzyński, A. and Smietanka, B., 2009. Is Interlineage Recombination Responsible for Low Divergence of Mitochondrial nad3 Genes in *Mytilus galloprovincialis*. Mol. Biol. E. 26, 1441-1445.
- Cao, L., 2003. Cellular, Molecular and Genetic Aspects of Gender Specific Mitochondrial Inheritance in The Marine Mussels *Mytilus* , Phd Thesis, Department of Biology, Dalhousie University, Nova Scotia, 208 p..
- Crooks, J.A., 1998. Habitat Alteration and Community-Level Effects of an Exotic Mussel, *Musculista senhousia*. Marine Ecology-Progress Series, 162, 137-152.
- Cruz, S., 2004. Population Genetics Structure of the California Sea Mussel, *Mytilus californianus*: Influence of the Pleistocene, Biogeography, and Microevolutionary Processes, PhD Thesis, University of California, 215 p.
- Çiftci, Y. ve Okumuş, İ., 2002. Fish Population Genetics and Applications of Molecular Markers to Fisheries and Aquaculture: I- Basic Principles of Fish Population Genetics. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 2,2, 145-155.
- Çiftci, Y., 2003. Balıkçılık ve Su Ürünlerinde Kullanılan Genetik Markır Sistemleri YUNUS Araştırma Bülteni, 3,3, 14-16.
- De la Rosa-Velez, J., Farfan, C. and Cervantes-Franco, M.A., 2000. Geographic Pattern of Genetic Variation in *Modiolus Capax* (Conrad, 1837) from the Gulf of California. Ciencias Marinas, 26,4, 585-606.
- De Matthaëis, E., Davolos, D., Cobolli, M. and Ketmaier, V., 2000. Isolation by Distance in Equilibrium and Nonequilibrium Populations of Four Talitrid Species in the Mediterranean Sea. Evolution, 54,5, 1606-1613.
- Distel, D.L., 2000. Phylogenetic Relationships among Mytilidae (Bivalvia): 18s Rrna Data Suggest Convergence in Mytilid Body Plans. Molecular Phylogenetics and Evolution, 15,1, 25-33.
- Esser, C., Ahmadinejad, N., Wiegand, C., Rotte, C., Sebastiani, F., Gelius-Dietrich, G., Henze, K., Kretschmann, E., Richly, E., Leister, D., Bryant, D., Steel, M.A., Lockhart, P.J., Penny, D. and Martin, W., 2004. A Genome Phylogeny for Mitochondria among Alpha-Proteobacteria and a Predominantly Eubacterial Ancestry of Yeast Nuclear Genes. Molecular Biology and Evolution, 21,9, 1643-1660.
- Felsenstein, J., 1997. An Alternative Least-Squares Approach to Inferring Phylogenies from Pairwise Distances. Syst. Biol., 46, 101-111.

- Fisher, C. and Skibinski, D.O.F., 1990. Sex-Biased Mitochondrial-DNA Heteroplasmy in the Marine Mussel *Mytilus*. Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences, 242,1305, 149-156.
- Gardner, J.P.A. and Skibinski, D.O.F., 1991. Biological and Physical Factors influencing genotype-dependent mortality in hybrid mussel populations. *Mar Ecol Prog Ser* 71: 235±243.
- Gardner, J.P.A., Skibinski, D.O.F. and Bajdik, C.D., 1993. Shell Growth and Viability Differences Between the Marine Mussels *Mytilus edulis* (L.), *Mytilus galloprovincialis* (Lmk.) and their Hybrids from Two Sympatric Populations in S.W. England. *Biol, Bull, Mar. Biol. Lab., Woods Hole*, 185, 405-416.
- Gardner J.P.A. 1996. The *Mytilus edulis* Species Complex in South-West England: Effects of Hybridization and Introgression upon Interlocus Associations and Morphometric Variation. Mar Biol. 125, 385-399.
- Garrido-Ramos, M.A., Stewart, D.T., Sutherland, B.W. and Zouros, E., 1998. The Distribution of Male-Transmitted and Female-Transmitted Mitochondrial DNA Types in Somatic Tissues of Blue Mussels: Implications for the Operation of Doubly Uniparental Inheritance of Mitochondrial DNA. Genome, 41,6, 818-824.
- Gosling, E.M. and Wilkins, N.P., 1981. Ecological Genetics of the Mussels *Mytilus edulis* and *M. galloprovincialis* on Irish Coasts. *Marine Ecology Progress Series*, 4, 221-227.
- Gray, M.V. 1992 The endosymbiont hypothesis revisited *Int Rev. Cytol* .141, 233-357.
- Grosberg, R. K. and Cunningham, C. W., 2001. Genetic Structure in the Sea: from Populations to Communities. 61-84 p. *Marine Community Ecology* (M. D. Bertness, S. Gaines, and M. E. Hay, eds.), Sinauer Associates, Sunderland, MA.
- 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.
- Hallerman, E.M., 2003. *Population Genetics : Principles and Applications for Fisheries Scientists*, American Fisheries Society, Bethesda, Md., xvii, 458 p. pp.
- Hennig, W., 1999. *Phylogenetic systematics* (3rd edition of 1966 book), Urbana: University of Illinois Press, ISBN: 0-252-06814-9.
- Hoeh, W.R., Black, M.B., Gustafson, R., Bogan, A.E., Lutz, R.A. and Vrijenhoek, R.C., 1998. Testing Alternative Hypotheses of Neotrigonia (Bivalvia : Trigonioida) Phylogenetic Relationships Using Cytochrome C Oxidase Subunit I DNA Sequences. Malacologia, 40,1-2, 267-278.

- Hoeh, W.R., Blakley, K.H. and Brown, W.M., 1991. Heteroplasmy Suggests Limited Biparental Inheritance of *Mytilus* Mitochondrial-DNA. Science, 251,5000, 1488-1490.
- Hoeh, W.R., Stewart, D.T., Sutherland, B.W. and Zouros, E., 1996. Multiple Origins of Gender-Associated Mitochondrial DNA Lineages in Bivalves (Mollusca: Bivalvia). Evolution, 50,6, 2276-2286.
- Hoeh, W.R., Stewart, D.T., Saavedra, C., Sutherland, B.W. and Zouros, E., 1997. Phylogenetic Evidence for Role-Reversals of Gender-Associated Mitochondrial DNA in *Mytilus* (Bivalvia: Mytilidae). Molecular Biology and Evolution, 14,9, 959-967.
- Hoekstra, R. F., 1987. The Evolution of Sexes. In: Stearns, S. C. (ed.) The Evolution of Sex and its Consequences, Birkhauser Verlag, Basel, 59-91p.
- Hoelzel, A.R., 1992. Molecular Genetic Analysis of Population; a Practical Approach. Oxford: Oxford University Press, UK.
- Hoffmann, R.J., Boore, J.L. and Brown, W.M., 1992. A Novel Mitochondrial Genome Organization for the Blue Mussel, *Mytilus-Edulis*. Genetics, 131,2, 397-412.
- Huelsenbeck, J. P., 1995. Performance of Phylogenetic Methods in Simulation. Syst. Biol. 44, 17-48.
- Innes, D.J. and Bates, J.A., 1999. Morphological Variation of *Mytilus edulis* and *Mytilus trossulus* in Eastern Newfoundland. Mar. Biol. 133, 691-699.
- Jabbar, A. and Davies, J.I., 1987. A Simple and Convenient Biochemical Method for Sex Identification in the Marine Mussel, *Mytilus edulis*-L. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 107,1, 39-44.
- Jones, C.G., Lawton, J.H. and Shachak, M., 1994. Organisms as Ecosystem Engineers. Oikos, 69,3, 373-386.
- Karakousis, Y. and Skibinski, D.O.F., 1992. An Analysis of Allozyme, Mitochondrial DNA and Morphological Variation in Mussel (*Mytilus galloprovincialis*) Populations from Greece. Experientia, 48, 878-881.
- Kijewski, T., Smietanka, B., Zbawicka, M., Gosling, E., Hummel, H., and Wenne, R., 2011. Distribution of *Mytilus* Taxa in European Coastal Areas as Inferred from Molecular Markers. Journal of Sea Research, 65,2, 224-234.
- Kumar, S., Tamura, K. and Nei, M., 1994. MEGA: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Software for Microcomputers. Comput. Appl. Biosci. 10, 189-191.
- Kumar, S., Tamura, K. and Nei, M., 2004. MEGA3: Integrated Software for Molecular Evolutionary Genetics Analysis and Sequence Alignment. Brief. Bioinform. 5, 150-163.

- Kurtuluş, A., 2009. Phylogeography of *Mytilus galloprovincialis* in the İstanbul Strait System, Msc Thesis, Environmental Sciences, Boğaziçi University, 49 p.
- Ladoukakis, E.D. and Zouros, E., 2001. Direct Evidence for Homologous Recombination in Mussel (*Mytilus Galloprovincialis*) Mitochondrial DNA. Molecular Biology and Evolution, 18,7, 1168-1175.
- Ladoukakis, E.D., Saavedra, C., Magoulas, A. and Zouros, E., 2002. Mitochondrial DNA Variation in a Species with Two Mitochondrial Genomes: The Case of *Mytilus Galloprovincialis* from the Atlantic, the Mediterranean and the Black Sea. Molecular Ecology, 11,4, 755-769.
- Liu, H.P., Mitton, J.B. and Wu, S.K., 1996. Paternal Mitochondrial DNA Differentiation Far Exceeds Maternal Mitochondrial DNA and Allozyme Differentiation in the Freshwater Mussel, *Anodonta Grandis Grandis*. Evolution, 50,2, 952-957.
- Liu, A.Y., Torchia, B.S., Migeon, B.R., and Siliciano, R.F. 1997. The Human NTT Gene: Identification of a Novel 17-kb Noncoding Nuclear RNA Expressed in Activated CD4- T Cells. Genomics, 39, 171-184.
- Liu, Z. J., 2007. Single Nucleotide Polymorphism (SNP), pp 59-73 in *Aquaculture Genome Technologies*, Edited by Z. J. Liu. Blackwell Publishing, Oxford, UK. 555 p.
- Magoulas A., Application of Molecular Markers to Aquaculture and Brood Stock Management with Special Emphasis on Microsatellite DNA. <http://ressources.ciheam.org/om/.../98606201.pdf>, 13 Şubat 2011.
- Mallet, A. L. and Carver, C. E., 1995. Comparative Growth and Survival Patterns of *Mytilus trossulus* and *Mytilus edulis* in Atlantic Canada. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 52,9, 1873-1880.
- Martin, W. and Müller, M. 1998 The hydrogen hypothesis for the first eukaryote. *Nature* 392, 37-41.
- Matsumasa, M., Hamaguchi, M. and Nishihira, M., 1999. Morphometric Characteristics and Length of the 'Variable Region' in the Nonrepetitive Domain of the Adhesive Protein of *Mytilus* species in the Asamushi Area, Northern Japan, *Zoological Science*, 16,6, 985-991.
- McDonald, J.H., Seed, R. and Koehn, R.K., 1991. Allozymes and Morphometric Characters of Three Species of *Mytilus* in the Northern and Southern Hemispheres. Mar Biol, 111, 323-333.
- McElroy, D., Moran, P., Bermingham, E. and Kornfield, I., 1992. REAP: an Integrated Environment for the Manipulation and Phylogenetic Analysis of Restriction Data. Journal of Heredity, 83, 157-158.

- Mikhailov, A.T., Torrado, M. and Mendez, J., 1995. Sexual-Differentiation of Reproductive Tissue in Bivalve Mollusks - Identification of Male Associated Polypeptide in the Mantle of *Mytilus-Galloprovincialis* Lmk. International Journal of Developmental Biology, 39,3, 545-548.
- Mills, S.C. and Cote, I.M., 2003. Sex-Related Differences in Growth and Morphology of Blue Mussels. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom, 83,5, 1053-1057.
- Mizi, A., Zouros, E., Moschonas and, N. and Rodakis, G.C., 2005. The Complete Maternal and Paternal Mitochondrial Genomes of the Mediterranean Mussel *Mytilus galloprovincialis*: Implications for the Doubly Uniparental Inheritance Mode of mtDNA. Mol. Biol. Evol. 22, 952-967.
- Neale, D B, Marshall, K A, and Sederoff, R R. 1989. Chloroplast and mitochondrial DNA are paternity inherited in *Sequoia sempervirens* D. Don Endl. Proc Natl Acad Sci USA, 86, 9347-9349.
- Nei, M. and Tajima F., 1981. DNA polymorphism detectable by restriction endonucleases, Genetics, 97, 145-163.
- Nei, M., 1987. Molecular Evolutionary Genetics. Columbia University Press, New York
- Okumuş, İ. and Çiftci, Y., 2003. Fish Population Genetics and Molecular Markers: II- Molecular Markers and Their Applications in Fisheries and Aquaculture. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 3,1, 51-79.
- Palumbi, S.R., Martin, A.P., Romano, S., Mcmillan, W.O., Stice, L. and Grabowski, G., 1991. The Simple Fool's Guide to PCR. Department of Zoology, University of Hawaii, Honolulu.
- Passamonti, M. and Scali, V., 2001. Gender-Associated Mitochondrial DNA Heteroplasmy in the Venerid Clam Tapes Philippinarum (Mollusca Bivalvia). Current Genetics, 39,2, 117-124.
- Quesada, H., Gallagher, C., Skibinski, D.A.G. and Skibinski, D.O.F., 1998. Patterns of Polymorphism and Gene Flow of Gender-Associated Mitochondrial DNA Lineages in European Mussel Populations. Molecular Ecology, 7,8, 1041-1051.
- Quesada, H., Wenne, R. and Skibinski, D.O.F., 1999. Interspecies Transfer of Female Mitochondrial DNA is Coupled with Role-Reversals and Departure from Neutrality in the Mussel *Mytilus trossulus*. Mol Biol Evol, 16,655-665.
- Rawson, P.D. and Hilbish, T.J., 1995. Distribution of Male and Female MtDNA Lineages in Populations of Blue Mussels, *Mytilus Trossulus* and *M-Galloprovincialis*, Along the Pacific Coast of North America. Marine Biology, 124,2, 245-250.

- Rawson, P.D., Secor, C.L. and Hilbish, T.J., 1996. The Effects of Natural Hybridization on the Regulation of Doubly Uniparental MtDNA Inheritance in Blue Mussels (*Mytilus spp.*). Genetics, 144,1, 241-248.
- Rzhetsky, A. and Nei, M., 1992. A Simple Method for Estimating and Testing Minimum Evolution Trees. Mol. Biol. Evol., 9, 945-967.
- Saavedra, C., Stewart, D.T., Stanwood, R.R. and Zouros, E., 1996. Species-specific Segregation of Gender-Associated Mitochondrial DNA Types in an Area Where Two Mussel Species (*Mytilus edulis* and *M. trossulus*) Hybridize. Genetics, 143, 1359-367.
- Saavedra, C., Reyero, M.I. and Zouros, E., 1997. Male-Dependent Doubly Uniparental Inheritance of Mitochondrial DNA and Female-Dependent Sex-Ratio in the Mussel *Mytilus Galloprovincialis*. Genetics, 145,4, 1073-1082.
- Sanger, F., Nicklen, S. and Coulson, A.R., 1977. DNA Sequencing with Chain-Terminating Inhibitors. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 74,12, 5463-5467.
- Seed, R., 1968. Factors Influencing Shell Shape in the Mussel *Mytilus edulis*. J. Mar. Biol.Assoc. U.K. 48, 561-584.
- Silva, E.P. and Russo, C.A.M., 2000. Techniques and Statistical Data Analysis in Molecular Population Genetics. Hydrobiologia, 420, 119-135.
- Skibinski, D.O.F., Beardmore, J.A. and Cross, T.F. 1983. Aspects of the Population Genetics of *Mytilus* (Mytilidae: Mollusca) in the British Isles. Biol J Linn Soc Lond, 19, 137-183.
- Skibinski, D.O.F., Gallagher, C. and Beynon, C.M., 1994a. Mitochondrial DNA Inheritance. Nature, 368, 817-818.
- Skibinski, D.O.F., Gallagher, C. and Quesada, H., 1999. On the Roles of Selection, Mutation and Drift in the Evolution of Mitochondrial DNA Diversity in British *Mytilus edulis* (Mytilidae; Mollusca) Populations. Biol. J. Linn. Soc. Lond., 68, 195-213.
- Skibinski, D.O.F., Gallagher, C. and Beynon, C.M., 1994. Sex-Limited Mitochondrial-DNA Transmission in the Marine Mussel *Mytilus-Edulis*. Genetics, 138,3, 801-809.
- Smietanka, B., Zbawicka, M., Wolowicz, M. and Wenne, R., 2004. Mitochondrial DNA Lineages in the European Populations of Mussels (*Mytilus Spp.*). Marine Biology, 146,1, 79-92.
- Smietanka, B., Burzynski, A. and Wenne, R., 2010. Comparative Genomics of Marine Mussels (*Mytilus spp.*) Gender Associated mtDNA: Rapidly Evolving *atp8*, J Mol Evol., 71, 385-400.



- Stewart, D.T., Saavedra, C., Stanwood, R.R., Ball, A.O. and Zouros, E., 1995. Male and Female Mitochondrial-DNA Lineages in the Blue Mussel (*Mytilus-Edulis*) Species Group. Molecular Biology and Evolution, 12,5, 735-747.
- Stirling, H.P., Okumuş, İ., 1994. Growth, Mortality and Shell Morphology of Cultivated Mussel (*Mytilus edulis*) Stocks Cross-Planted Between Two Scottish Sea Lochs. Mar. Biol. 119, 115-123.
- Svasand, T., Crosetti, D., Garcia-Vazquez, E., Verspoor, E., (eds). Genetic Impact of Aquaculture Activities on Native Populations. Genimpact Final Scientific Report (EU Contractn. RICA-CT-2005-022802). <http://genimpact.imr.no/>, 13 Şubat 2011
- Swofford, D.L., Olsen, G.J., Waddell, P.J., and Hillis, D.M. 1996. Phylogenetic Inference. In Molecular systematics, 2nd edition, chap. 5, 407-514 p. Sinauer and Associates, Sunderland, Massachusetts.
- Tajima, F., 1983. Evolutionary Relationship of DNA Sequences in Finite Populations. Genetics, 105, 437-460.
- Tanabe, S., 1994. International Mussel Watch in Asia-Pacific Phase. Marine Pollution Bulletin, 28,9, 518-518.
- Toro, E.J., 1999. Life History and Genetic Variation in *Mytilus edulis* (Linnaeus,1758) and *M. trossulus* (Gould, 1850) in a Hybrid Zone on the East Coast of Newfoundland. Memorial University. Newfoundland.
- Tsuchiya, M. and Nishihira, M., 1986. Islands of *Mytilus-Edulis* as a Habitat for Small Intertidal Animals - Effect of *Mytilus* Age Structure on the Species Composition of the Associated Fauna and Community Organization. Marine Ecology-Progress Series, 31,2, 171-178.
- Widdows, J. and Donkin, P., 1992. Mussels and Environmental Contaminants: Bioaccumulation and Physical Aspects. In "The Mussel *Mytilus*: Ecology, Physiology, Genetics and Culture" Ed by EM Gosling, Elsevier, Amsterdam, 383-424.
- Wilhelm, R. and Hilbish, T.J., 1998. Assessment of Natural Selection in a Hybrid Population of Mussels: Evaluation of Exogenous vs. Endogenous Selection Models. Mar. Biol., 131,505-514.
- Williams, J.G.K., Kubelik, A.R., Livak, K.J., Rafalski, J.A. and Tingey, S.V., 1990. DNA Polymorphisms Amplified by Arbitrary Primers Are Useful as Genetic-Markers. Nucleic Acids Research, 18,22, 6531-6535.
- Willis, G.L. and Skibinski, D.O.F., 1992. Variation in Strength of Attachment to the Substrate Explains Differential Mortality in Hybrid Mussel (*Mytilus galloprovincialis* and *Mytilus edulis*) Populations. Mar Biol., 112, 403-408.

- Wilson, R.J. ve Williamson, D.H. 1997 Extrachromosomal DNA in the apicomplexa. Mol. Biol. Rev. 61, 1-16.
- Zbawicka, M., Burzyński, A. and Wenne, R., 2007. Complete Sequences of Mitochondrial Genomes from the Baltic Mussel *Mytilus trossulus*. Gene, 406, 191-198.
- Zouros, E., Freeman, K.R., Ball, A.O. and Pogson, G.H., 1992. Direct Evidence for Extensive Paternal Mitochondrial-DNA Inheritance in the Marine Mussel *Mytilus*. Nature, 359,6394, 412-414.
- Zouros, E., Ball, A.O., Saavedra, C. and Freeman, K.R., 1994a. Mitochondrial-DNA Inheritance - Reply. Nature, 368,6474, 818-818.
- Zouros, E., Ball, A.O., Saavedra, C. and Freeman, K.R., 1994b. An Unusual Type of Mitochondrial-DNA Inheritance in the Blue Mussel *Mytilus*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 91,16, 7463-7467.
- Zouros, E., 2000. The Exceptional Mitochondrial DNA System of the Mussel Family Mytilidae. Genes & Genetic Systems, 75,6, 313-318.

## 7. EKLER

Ek Tablo 1. Örnekleme istasyonlarının koordinatları

Örnekleme Koordinatları		
Hopa	41 24 41 N	41 25 54 E
Trabzon	40 58 01 N	39 52 04 E
Ordu	41 02 42 N	37 29 55 E
Sinop	42 01 18 N	35 09 05 E
Zonguldak	41 27 19 N	31 47 11 E
İstanbul	40 59 31 N	29 01 02 E
Çanakkale	40 09 09 N	26 24 01 E
Ayvalık	39 18 59 N	26 41 25 E
Çeşme	38 19 17 N	26 18 09 E
Bodrum	37 12 31 N	27 34 40 E

Ek Tablo 2. Standardize olmuş morfometrik veriler

Populasyon	Yükseklik	Genişlik	Ligament	AKIU	PAKİakipkam	PAKİİVKAM	YDİİVKAM
İstanbul Dişi	0,84	0,77	0,75	0,86	0,68	0,73	0,72
İstanbul Dişi	0,83	0,77	0,81	0,87	0,71	0,70	0,76
İstanbul Dişi	0,83	0,73	0,78	0,81	0,72	0,68	0,69
İstanbul Dişi	0,83	0,76	0,77	0,83	0,73	0,74	0,59
İstanbul Dişi	0,84	0,76	0,79	0,93	0,73	0,69	0,67
İstanbul Dişi	0,85	0,73	0,76	0,94	0,71	0,72	0,66
İstanbul Dişi	0,84	0,74	0,76	0,93	0,71	0,77	0,60
İstanbul Dişi	0,84	0,74	0,76	0,88	0,72	0,71	0,63
İstanbul Dişi	0,84	0,73	0,77	0,87	0,72	0,73	0,69
İstanbul Dişi	0,78	0,75	0,78	0,92	0,66	0,75	0,70
İstanbul Dişi	0,81	0,75	0,77	0,75	0,71	0,72	0,74
İstanbul Dişi	0,85	0,75	0,79	0,89	0,73	0,74	0,64
İstanbul Dişi	0,82	0,75	0,78	0,88	0,72	0,73	0,63
İstanbul Dişi	0,83	0,78	0,79	0,94	0,69	0,72	0,63
İstanbul Dişi	0,83	0,76	0,79	0,85	0,71	0,72	0,66
İstanbul Dişi	0,85	0,74	0,78	0,89	0,72	0,72	0,68
İstanbul Dişi	0,86	0,74	0,78	0,93	0,69	0,72	0,78
İstanbul Dişi	0,85	0,75	0,78	0,81	0,75	0,73	0,65
İstanbul Dişi	0,83	0,74	0,79	0,84	0,73	0,71	0,70
İstanbul Dişi	0,85	0,76	0,83	0,92	0,70	0,73	0,59
İstanbul Dişi	0,81	0,78	0,76	0,92	0,75	0,73	0,80
İstanbul Dişi	0,83	0,74	0,79	0,91	0,73	0,69	0,69
İstanbul Erkek	0,83	0,76	0,81	0,87	0,71	0,69	0,66
İstanbul Erkek	0,86	0,76	0,81	0,91	0,70	0,73	0,76
İstanbul Erkek	0,84	0,78	0,79	0,85	0,74	0,73	0,74
İstanbul Erkek	0,84	0,73	0,77	0,77	0,72	0,71	0,72
İstanbul Erkek	0,85	0,76	0,81	0,87	0,72	0,69	0,66
İstanbul Erkek	0,84	0,74	0,77	0,89	0,71	0,72	0,57
İstanbul Erkek	0,83	0,73	0,77	0,92	0,67	0,71	0,79
İstanbul Erkek	0,84	0,73	0,76	0,95	0,71	0,71	0,77
İstanbul Erkek	0,87	0,75	0,80	0,80	0,72	0,72	0,64
İstanbul Erkek	0,84	0,75	0,77	0,79	0,72	0,75	0,61
İstanbul Erkek	0,81	0,71	0,77	0,90	0,70	0,69	0,68
İstanbul Erkek	0,82	0,74	0,75	0,85	0,70	0,71	0,77
İstanbul Erkek	0,86	0,75	0,77	0,97	0,74	0,72	0,75
İstanbul Erkek	0,86	0,78	0,80	0,86	0,71	0,72	0,61
İstanbul Erkek	0,86	0,78	0,80	0,80	0,73	0,75	0,63
İstanbul Erkek	0,82	0,75	0,79	0,82	0,68	0,71	0,75
İstanbul Erkek	0,83	0,72	0,79	0,85	0,73	0,72	0,65
İstanbul Erkek	0,86	0,72	0,77	0,90	0,71	0,72	0,58
İstanbul Erkek	0,83	0,75	0,78	0,83	0,72	0,72	0,60
İstanbul Erkek	0,83	0,74	0,79	0,87	0,69	0,72	0,55
İstanbul Erkek	0,83	0,75	0,75	0,92	0,72	0,73	0,65
İstanbul Erkek	0,81	0,77	0,78	0,81	0,73	0,72	0,63
Sinop Dişi	0,83	0,77	0,79	0,84	0,70	0,72	0,67
Sinop Dişi	0,84	0,76	0,75	0,91	0,70	0,73	0,66
Sinop Dişi	0,84	0,76	0,76	0,86	0,71	0,72	0,67

Ek Tablo 2'nin devamı

Populasyon	Yükseklik	Genişlik	Ligament	AKİU	PAKİakipkam	PAKİİVKAM	YDİİVKAM
Sinop Dişi	0,83	0,76	0,78	0,92	0,71	0,74	0,69
Sinop Dişi	0,83	0,76	0,77	0,85	0,71	0,73	0,67
Sinop Dişi	0,82	0,74	0,78	0,88	0,70	0,71	0,57
Sinop Dişi	0,84	0,76	0,78	0,89	0,74	0,74	0,63
Sinop Dişi	0,83	0,74	0,76	0,85	0,73	0,72	0,71
Sinop Dişi	0,83	0,76	0,76	0,94	0,71	0,71	0,58
Sinop Dişi	0,83	0,77	0,75	0,85	0,72	0,73	0,76
Sinop Dişi	0,75	0,84	0,75	0,74	0,74	0,70	0,70
Sinop Dişi	0,75	0,83	0,75	0,87	0,72	0,71	0,59
Sinop Dişi	0,75	0,84	0,76	0,85	0,72	0,73	0,62
Sinop Dişi	0,75	0,82	0,76	0,81	0,72	0,69	0,62
Sinop Dişi	0,75	0,82	0,74	0,87	0,72	0,72	0,40
Sinop Dişi	0,78	0,83	0,73	0,89	0,73	0,73	0,71
Sinop Dişi	0,75	0,83	0,74	0,85	0,75	0,72	0,70
Sinop Dişi	0,73	0,86	0,77	0,86	0,73	0,74	0,79
Sinop Dişi	0,76	0,84	0,76	0,83	0,71	0,73	0,57
Sinop Dişi	0,75	0,83	0,79	0,83	0,73	0,70	0,63
Sinop Erkek	0,82	0,77	0,75	0,82	0,71	0,72	0,63
Sinop Erkek	0,85	0,76	0,79	0,85	0,73	0,74	0,64
Sinop Erkek	0,83	0,74	0,80	0,82	0,72	0,72	0,48
Sinop Erkek	0,85	0,74	0,76	0,90	0,71	0,73	0,60
Sinop Erkek	0,86	0,74	0,77	0,83	0,74	0,75	0,57
Sinop Erkek	0,84	0,76	0,74	0,81	0,71	0,74	0,71
Sinop Erkek	0,84	0,77	0,74	0,87	0,71	0,71	0,55
Sinop Erkek	0,81	0,74	0,78	0,92	0,69	0,68	0,80
Sinop Erkek	0,85	0,77	0,77	0,89	0,73	0,72	0,67
Sinop Erkek	0,82	0,75	0,80	0,91	0,67	0,71	0,80
Sinop Erkek	0,82	0,74	0,81	0,88	0,71	0,69	0,75
Sinop Erkek	0,77	0,83	0,77	0,80	0,75	0,71	0,69
Sinop Erkek	0,83	0,76	0,78	0,81	0,71	0,71	0,67
Sinop Erkek	0,75	0,82	0,80	0,84	0,73	0,71	0,69
Sinop Erkek	0,75	0,83	0,79	0,92	0,73	0,70	0,57
Sinop Erkek	0,81	0,77	0,76	0,86	0,71	0,71	0,78
Sinop Erkek	0,84	0,78	0,77	0,85	0,70	0,72	0,50
Sinop Erkek	0,79	0,74	0,80	0,81	0,72	0,69	0,66
Sinop Erkek	0,84	0,76	0,81	0,86	0,73	0,71	0,69
Sinop Erkek	0,83	0,75	0,77	0,77	0,74	0,73	0,69
Çanakkale Dişi	0,83	0,76	0,78	0,79	0,71	0,73	0,72
Çanakkale Dişi	0,85	0,76	0,79	0,89	0,72	0,76	0,66
Çanakkale Dişi	0,84	0,78	0,80	0,86	0,74	0,75	0,65
Çanakkale Dişi	0,84	0,76	0,79	0,85	0,71	0,75	0,71
Çanakkale Dişi	0,84	0,78	0,78	0,87	0,72	0,73	0,60
Çanakkale Dişi	0,84	0,76	0,81	0,78	0,74	0,73	0,60
Çanakkale Dişi	0,86	0,76	0,82	0,81	0,71	0,76	0,72
Çanakkale Dişi	0,84	0,74	0,75	0,87	0,70	0,75	0,66
Çanakkale Dişi	0,81	0,75	0,78	0,84	0,72	0,70	0,64
Çanakkale Dişi	0,84	0,72	0,78	0,96	0,74	0,74	0,65

Ek Tablo 2'nin devamı

Populasyon	Yükseklik	Genişlik	Ligament	AKİU	PAKİakıpkam	PAKİİVKAM	YDİİVKAM
Çanakkale Dişi	0,82	0,75	0,78	0,76	0,72	0,73	0,59
Çanakkale Dişi	0,84	0,76	0,81	0,79	0,73	0,76	0,53
Çanakkale Dişi	0,85	0,77	0,82	0,80	0,73	0,75	0,67
Çanakkale Dişi	0,82	0,77	0,81	0,82	0,74	0,73	0,62
Çanakkale Dişi	0,83	0,75	0,78	0,80	0,72	0,74	0,67
Çanakkale Dişi	0,84	0,74	0,79	0,79	0,75	0,75	0,56
Çanakkale Dişi	0,83	0,75	0,79	0,80	0,72	0,73	0,64
Çanakkale Dişi	0,82	0,76	0,79	0,90	0,73	0,72	0,72
Çanakkale Dişi	0,84	0,71	0,78	0,84	0,74	0,71	0,58
Çanakkale Dişi	0,85	0,75	0,80	0,85	0,74	0,76	0,61
Çanakkale Dişi	0,84	0,76	0,80	0,79	0,73	0,74	0,63
Çanakkale Erkek	0,84	0,76	0,78	0,88	0,73	0,74	0,63
Çanakkale Erkek	0,41	0,37	0,39	0,40	0,36	0,37	0,29
Çanakkale Erkek	0,84	0,79	0,81	0,83	0,74	0,74	0,64
Çanakkale Erkek	0,85	0,75	0,78	0,86	0,74	0,77	0,73
Çanakkale Erkek	0,83	0,76	0,78	0,82	0,72	0,72	0,52
Çanakkale Erkek	0,83	0,77	0,84	0,88	0,74	0,75	0,64
Çanakkale Erkek	0,84	0,72	0,78	0,89	0,73	0,74	0,70
Çanakkale Erkek	0,83	0,77	0,78	0,85	0,73	0,72	0,60
Çanakkale Erkek	0,83	0,75	0,77	0,72	0,73	0,73	0,54
Çanakkale Erkek	0,85	0,76	0,80	0,92	0,73	0,73	0,65
Çanakkale Erkek	0,83	0,77	0,81	0,92	0,74	0,74	0,60
Çanakkale Erkek	0,84	0,76	0,80	0,77	0,72	0,72	0,64
Çanakkale Erkek	0,83	0,71	0,79	0,87	0,72	0,72	0,55
Çanakkale Erkek	0,84	0,74	0,78	0,88	0,74	0,75	0,64
Çanakkale Erkek	0,83	0,76	0,79	0,79	0,72	0,73	0,56
Çanakkale Erkek	0,83	0,79	0,79	0,73	0,75	0,75	0,57
Çanakkale Erkek	0,84	0,75	0,78	0,70	0,71	0,74	0,39
Çanakkale Erkek	0,85	0,74	0,78	0,73	0,72	0,73	0,57
Çanakkale Erkek	0,83	0,72	0,76	0,79	0,75	0,74	0,60
Çanakkale Erkek	0,84	0,76	0,78	0,83	0,73	0,75	0,64
Çanakkale Erkek	0,85	0,76	0,79	0,75	0,73	0,77	0,66
Çanakkale Erkek	0,85	0,77	0,78	0,79	0,74	0,76	0,64
Ayvalık Dişi	0,85	0,75	0,79	0,77	0,71	0,74	0,74
Ayvalık Dişi	0,84	0,74	0,79	0,84	0,73	0,72	0,69
Ayvalık Dişi	0,86	0,76	0,79	0,80	0,73	0,74	0,51
Ayvalık Dişi	1,09	1,03	0,99	1,06	0,95	0,94	0,65
Ayvalık Dişi	0,85	0,77	0,78	0,79	0,73	0,72	0,73
Ayvalık Dişi	0,87	0,75	0,80	0,90	0,75	0,72	0,68
Ayvalık Dişi	0,84	0,77	0,78	0,77	0,72	0,73	0,66
Ayvalık Dişi	0,85	0,73	0,80	0,74	0,74	0,73	0,65
Ayvalık Dişi	0,85	0,78	0,78	0,83	0,77	0,71	0,64
Ayvalık Dişi	0,86	0,73	0,75	0,80	0,69	0,74	0,73
Ayvalık Dişi	0,85	0,77	0,80	0,80	0,73	0,73	0,53
Ayvalık Dişi	0,87	0,76	0,78	0,85	0,74	0,74	0,59
Ayvalık Dişi	0,85	0,75	0,79	0,73	0,74	0,75	0,76
Ayvalık Dişi	0,84	0,76	0,77	0,79	0,76	0,75	0,66

Ek Tablo 2'nin devamı

Populasyon	Yükseklik	Genişlik	Ligament	AKİU	PAKİakıpkam	PAKİİVKAM	YDİİVKAM
Ayvalık Dişi	0,85	0,76	0,78	0,83	0,72	0,72	0,70
Ayvalık Dişi	0,87	0,75	0,79	0,90	0,75	0,74	0,77
Ayvalık Dişi	0,83	0,75	0,77	0,79	0,71	0,72	0,75
Ayvalık Dişi	0,86	0,74	0,79	0,85	0,73	0,74	0,73
Ayvalık Erkek	0,87	0,76	0,80	0,84	0,74	0,73	0,56
Ayvalık Erkek	0,84	0,75	0,79	0,82	0,72	0,71	0,54
Ayvalık Erkek	0,83	0,75	0,79	0,97	0,71	0,69	0,63
Ayvalık Erkek	0,85	0,76	0,78	0,83	0,74	0,73	0,65
Ayvalık Erkek	0,85	0,78	0,75	0,79	0,71	0,76	0,70
Ayvalık Erkek	0,86	0,76	0,77	0,91	0,71	0,72	0,76
Ayvalık Erkek	0,76	0,77	0,79	0,75	0,74	0,73	0,58
Ayvalık Erkek	0,83	0,76	0,76	0,76	0,74	0,72	0,63
Ayvalık Erkek	0,85	0,77	0,79	0,76	0,71	0,74	0,51
Ayvalık Erkek	0,84	0,76	0,80	0,71	0,75	0,72	0,46
Ayvalık Erkek	0,84	0,79	0,77	0,78	0,68	0,69	0,64
Ayvalık Erkek	0,85	0,76	0,78	0,84	0,72	0,73	0,62
Ayvalık Erkek	0,84	0,78	0,79	0,78	0,74	0,74	0,67
Ayvalık Erkek	0,83	0,75	0,77	0,91	0,76	0,71	0,71
Ayvalık Erkek	0,86	0,76	0,80	0,89	0,75	0,73	0,60
Ayvalık Erkek	0,84	0,72	0,77	0,88	0,71	0,72	0,69
Ayvalık Erkek	0,85	0,76	0,81	0,91	0,73	0,73	0,79
Ayvalık Erkek	0,83	0,74	0,76	0,89	0,71	0,71	0,76
Çeşme Dişi	0,84	0,78	0,77	0,80	0,76	0,73	0,67
Çeşme Dişi	0,87	0,74	0,80	0,84	0,75	0,74	0,61
Çeşme Dişi	0,86	0,76	2,46	0,80	0,76	0,77	0,75
Çeşme Dişi	0,88	0,76	0,81	0,82	0,75	0,75	0,58
Çeşme Dişi	0,86	0,77	0,78	0,83	0,75	0,76	0,67
Çeşme Dişi	0,85	0,75	0,77	0,88	0,77	0,75	0,56
Çeşme Dişi	0,86	0,77	0,78	0,79	0,75	0,73	0,69
Çeşme Dişi	0,86	0,75	0,80	0,79	0,77	0,74	0,59
Çeşme Dişi	0,84	0,74	0,78	0,87	0,75	0,72	0,62
Çeşme Dişi	0,86	0,76	0,79	0,80	0,74	0,76	0,62
Çeşme Dişi	0,86	0,77	0,78	0,74	0,76	0,74	0,43
Çeşme Dişi	0,86	0,92	0,77	0,82	0,79	0,75	0,56
Çeşme Dişi	0,84	0,73	0,76	0,78	0,78	0,73	0,59
Çeşme Dişi	0,86	0,74	0,76	0,86	0,76	0,74	0,70
Çeşme Dişi	0,85	0,74	0,76	0,86	0,75	0,74	0,56
Çeşme Dişi	0,86	0,74	0,78	0,78	0,77	0,76	0,51
Çeşme Dişi	0,85	0,76	0,79	0,82	0,75	0,75	0,73
Çeşme Dişi	0,86	0,76	0,77	0,86	0,73	0,75	0,69
Çeşme Dişi	0,88	0,77	0,78	0,81	0,79	0,75	0,64
Çeşme Dişi	0,86	0,75	0,75	0,92	0,77	0,74	0,59
Çeşme Erkek	0,87	0,75	0,78	0,79	0,78	0,73	0,72
Çeşme Erkek	0,86	0,77	0,77	0,83	0,78	0,74	0,69
Çeşme Erkek	0,86	0,78	0,80	0,86	0,78	0,75	0,71
Çeşme Erkek	0,85	0,76	0,80	0,86	0,80	0,74	0,58
Çeşme Erkek	0,87	0,75	0,77	0,94	0,77	0,75	0,68

Ek Tablo 2'nin devamı

Populasyon	Yükseklik	Genişlik	Ligament	AKİU	PAKİakıpkam	PAKİİVKAM	YDİİVKAM
Çeşme Erkek	0,84	0,76	0,76	0,78	0,81	0,73	0,58
Çeşme Erkek	0,84	0,76	0,77	0,79	0,75	0,74	0,69
Çeşme Erkek	0,84	0,75	0,78	0,86	0,77	0,72	0,63
Çeşme Erkek	0,85	0,74	0,78	0,78	0,77	0,75	0,55
Çeşme Erkek	0,86	0,76	0,78	0,83	0,76	0,73	0,63
Çeşme Erkek	0,83	0,75	0,75	0,84	0,77	0,71	0,60
Çeşme Erkek	0,83	0,76	0,78	0,78	0,77	0,69	0,63
Çeşme Erkek	0,86	0,78	0,80	0,79	0,77	0,77	0,55
Çeşme Erkek	0,83	0,77	0,76	0,93	0,76	0,74	0,71
Çeşme Erkek	0,86	0,77	0,78	0,99	0,72	0,74	0,75
Çeşme Erkek	0,86	0,74	0,79	0,92	0,75	0,73	0,76
Çeşme Erkek	0,85	0,74	0,76	0,87	0,74	0,75	0,71
Çeşme Erkek	0,85	0,76	0,75	0,87	0,86	0,74	0,66
Çeşme Erkek	0,84	0,77	0,77	0,88	0,75	0,74	0,70
Çeşme Erkek	0,85	0,76	0,75	0,98	0,77	0,71	0,73
Hopa Dişi	0,85	0,78	0,81	0,82	0,76	0,76	0,65
Hopa Dişi	1,04	0,95	0,96	1,12	0,94	0,87	1,03
Hopa Dişi	0,87	0,74	0,79	0,92	0,73	0,75	0,56
Hopa Dişi	0,84	0,78	0,80	0,93	0,70	0,71	0,74
Hopa Dişi	0,85	0,76	0,74	0,86	0,71	0,73	0,70
Hopa Dişi	0,84	0,73	0,80	0,99	0,73	0,73	0,86
Hopa Dişi	0,84	0,75	0,77	0,93	0,73	0,71	0,78
Hopa Dişi	0,86	0,76	0,80	0,89	0,75	0,73	0,75
Hopa Dişi	0,84	0,73	0,78	1,03	0,72	0,71	0,75
Hopa Dişi	0,87	0,76	0,80	0,95	0,77	0,73	0,82
Hopa Dişi	0,86	0,77	0,77	0,90	0,72	0,75	0,66
Hopa Dişi	0,86	0,74	0,76	0,95	0,75	0,75	0,70
Hopa Dişi	0,84	0,75	0,78	0,95	0,73	0,71	0,73
Hopa Dişi	0,86	0,77	0,79	0,92	0,75	0,76	0,74
Hopa Dişi	0,86	0,77	0,80	0,98	0,76	0,74	0,63
Hopa Dişi	0,87	0,77	0,80	0,82	0,75	0,72	0,65
Hopa Dişi	0,87	0,77	0,78	0,84	0,74	0,73	0,74
Hopa Dişi	0,85	0,80	0,79	0,89	0,74	0,72	0,76
Hopa Dişi	0,86	0,76	0,77	0,83	0,71	0,74	0,58
Hopa Dişi	0,83	0,78	0,78	0,92	0,75	0,71	0,86
Hopa Erkek	0,85	0,77	0,77	0,81	0,78	0,76	0,66
Hopa Erkek	0,85	0,74	0,80	0,87	0,74	0,74	0,59
Hopa Erkek	0,85	0,79	0,76	0,96	0,74	0,74	0,73
Hopa Erkek	0,86	0,78	0,77	0,92	0,74	0,76	0,65
Hopa Erkek	0,84	0,74	0,79	0,82	0,76	0,72	0,75
Hopa Erkek	0,87	0,78	0,80	0,89	0,73	0,75	0,74
Hopa Erkek	0,83	0,76	0,82	0,83	0,74	0,72	0,79
Hopa Erkek	0,84	0,76	0,79	0,85	0,72	0,71	0,70
Hopa Erkek	0,83	0,76	0,81	1,00	0,69	0,68	0,75
Hopa Erkek	0,84	0,77	0,79	0,98	0,75	0,70	0,58
Hopa Erkek	0,84	0,76	0,81	0,88	0,77	0,73	0,67
Hopa Erkek	0,85	0,75	0,80	0,91	0,71	0,69	0,72



Ek Tablo 2'nin devamı

Populasyon	Yükseklik	Genişlik	Ligament	AKİU	PAKİakıpkam	PAKİİVKAM	YDİİVKAM
Hopa Erkek	0,84	0,77	0,78	0,89	0,74	0,72	0,74
Hopa Erkek	0,86	0,76	0,76	0,87	0,73	0,74	0,72
Hopa Erkek	0,86	0,77	0,79	0,88	0,75	0,75	0,66
Hopa Erkek	0,84	0,79	0,79	0,84	0,73	0,71	0,60
Hopa Erkek	0,88	0,76	0,81	0,79	0,75	0,75	0,76
Hopa Erkek	0,82	0,77	0,79	0,80	0,73	0,69	0,72
Hopa Erkek	0,86	0,75	0,79	0,80	0,74	0,74	0,74
Hopa Erkek	0,85	0,75	0,79	0,90	0,72	0,72	0,78
Trabzon Dişi	0,82	0,73	0,80	0,92	0,69	0,69	0,76
Trabzon Dişi	0,84	0,75	0,80	0,85	0,69	0,72	0,67
Trabzon Dişi	0,82	0,76	0,81	0,85	0,72	0,68	0,75
Trabzon Dişi	0,84	0,78	0,83	0,89	0,70	0,73	0,66
Trabzon Dişi	0,85	0,76	0,81	0,86	0,71	0,72	0,76
Trabzon Dişi	0,84	0,74	0,83	0,87	0,72	0,71	0,68
Trabzon Dişi	0,84	0,74	0,83	0,82	0,70	0,70	0,72
Trabzon Dişi	0,85	0,76	0,81	0,82	0,71	0,73	0,58
Trabzon Dişi	0,86	0,76	0,82	0,85	0,69	0,72	0,68
Trabzon Dişi	0,84	0,74	0,79	0,83	0,71	0,70	0,73
Trabzon Dişi	0,83	0,74	0,81	0,81	0,69	0,71	0,61
Trabzon Dişi	0,85	0,75	0,80	0,84	0,72	0,71	0,71
Trabzon Dişi	0,84	0,76	0,82	0,78	0,70	0,70	0,69
Trabzon Dişi	0,85	0,77	0,77	0,91	0,73	0,73	0,57
Trabzon Dişi	0,84	0,76	0,83	0,90	0,73	0,73	0,72
Trabzon Dişi	0,85	0,75	0,83	0,80	0,69	0,72	0,73
Trabzon Dişi	0,84	0,74	0,82	0,90	0,72	0,72	0,76
Trabzon Dişi	0,84	0,72	0,79	0,92	0,73	0,71	0,59
Trabzon Dişi	0,82	0,73	0,81	0,95	0,70	0,68	0,64
Trabzon Dişi	0,84	0,73	0,80	0,92	0,68	0,70	0,77
Trabzon Erkek	0,85	0,76	0,76	0,91	0,70	0,74	0,72
Trabzon Erkek	0,84	0,74	0,80	0,83	0,71	0,70	0,65
Trabzon Erkek	0,82	0,73	0,80	0,90	0,69	0,70	0,67
Trabzon Erkek	0,82	0,76	0,79	0,94	0,68	0,69	0,76
Trabzon Erkek	0,83	0,75	0,78	0,96	0,68	0,70	0,60
Trabzon Erkek	0,84	0,77	0,83	0,90	0,71	0,71	0,58
Trabzon Erkek	0,83	0,76	0,81	0,88	0,68	0,70	0,62
Trabzon Erkek	0,85	0,76	0,82	0,87	0,69	0,71	0,63
Trabzon Erkek	0,83	0,75	0,79	0,84	0,71	0,70	0,75
Trabzon Erkek	0,83	0,77	0,79	0,90	0,71	0,73	0,80
Trabzon Erkek	0,82	0,75	0,80	0,85	0,67	0,68	0,74
Trabzon Erkek	0,84	0,76	0,75	0,90	0,71	0,71	0,76
Trabzon Erkek	0,84	0,76	0,81	0,91	0,69	0,70	0,69
Trabzon Erkek	0,82	0,73	0,80	0,96	0,69	0,67	0,68
Trabzon Erkek	0,84	0,74	0,79	0,98	0,69	0,70	0,63
Trabzon Erkek	0,84	0,73	0,77	0,85	0,78	0,73	0,71
Trabzon Erkek	0,83	0,73	0,78	0,90	0,68	0,68	0,79
Trabzon Erkek	1,02	0,76	0,80	0,80	0,70	0,71	0,75
Trabzon Erkek	0,84	0,74	0,80	0,89	0,67	0,68	0,60

Ek Tablo 2'nin devamı

Populasyon	Yükseklik	Genişlik	Ligament	AKİU	PAKİakipkam	PAKİİVKAM	YDİİVKAM
Zongundak Erkek	0,85	0,75	0,81	0,86	0,69	0,71	0,74
Zongundak Erkek	0,85	0,78	0,79	0,88	0,70	0,70	0,74
Zongundak Erkek	0,85	0,79	0,82	0,90	0,71	0,70	0,73
Zongundak Erkek	0,85	0,77	0,82	0,87	0,72	0,68	0,68
Zongundak Erkek	0,84	0,75	0,79	0,83	0,74	0,71	0,66
Zongundak Erkek	0,83	0,74	0,76	0,81	0,72	0,72	0,75
Zongundak Erkek	0,85	0,75	0,77	0,85	0,70	0,72	0,57
Zongundak Erkek	0,87	0,75	0,78	0,93	0,74	0,72	0,78
Zongundak Erkek	0,86	0,77	0,77	0,84	0,72	0,72	0,65
Zongundak Erkek	0,83	0,75	0,77	0,82	0,73	0,71	0,56
Zongundak Erkek	0,83	0,74	0,77	0,88	0,71	0,70	0,74
Zongundak Erkek	0,84	0,77	0,80	0,82	0,71	0,75	0,56
Zongundak Erkek	0,85	0,77	0,79	0,81	0,72	0,73	0,73
Zongundak Erkek	0,86	0,77	0,83	0,83	0,75	0,72	0,76
Zongundak Erkek	0,86	0,77	0,79	0,93	0,72	0,73	0,76
Zongundak Erkek	0,87	0,80	0,82	0,84	0,70	0,73	0,79
Zongundak Erkek	0,83	0,75	0,78	0,84	0,74	0,72	0,66
Zongundak Erkek	0,85	0,81	0,78	0,85	0,74	0,71	0,83
Zongundak Erkek	0,85	0,76	0,78	0,87	0,73	0,72	0,76
Zongundak Erkek	0,85	0,79	0,79	0,83	0,73	0,71	0,87
Zonguldak Dişi	0,83	0,80	0,79	0,80	0,75	0,72	0,70
Zonguldak Dişi	0,84	0,79	0,78	0,84	0,74	0,73	0,75
Zonguldak Dişi	0,84	0,77	0,81	0,90	0,72	0,69	0,70
Zonguldak Dişi	0,82	0,73	0,80	0,84	0,72	0,67	0,57
Zonguldak Dişi	0,85	0,75	0,80	0,89	0,71	0,69	0,75
Zonguldak Dişi	0,86	0,77	0,78	0,82	0,74	0,71	0,62
Zonguldak Dişi	0,84	0,77	0,81	0,88	0,72	0,69	0,58
Zonguldak Dişi	0,85	0,79	0,81	0,85	0,76	0,71	0,67
Zonguldak Dişi	0,86	0,77	0,77	0,80	0,73	0,71	0,75
Zonguldak Dişi	0,83	0,75	0,78	0,87	0,73	0,71	0,59
Zonguldak Dişi	0,88	0,80	0,80	0,90	0,74	0,74	0,73
Zonguldak Dişi	0,84	0,78	0,77	0,84	0,72	0,71	0,74
Zonguldak Dişi	0,82	0,78	0,74	0,87	0,75	0,73	0,67
Zonguldak Dişi	0,84	0,76	0,79	0,89	0,72	0,71	0,78
Zonguldak Dişi	0,83	0,77	0,79	0,80	0,73	0,70	0,64
Zonguldak Dişi	0,84	0,79	0,79	0,80	0,75	0,74	0,72
Zonguldak Dişi	0,84	0,77	0,77	0,97	0,73	0,71	0,68
Zonguldak Dişi	0,84	0,77	0,81	0,85	0,73	0,71	0,57
Zonguldak Dişi	0,85	0,75	0,78	0,80	0,72	0,72	0,72
Zonguldak Dişi	0,82	0,77	0,79	0,86	0,74	0,70	0,75
Bodrum Erkek	0,86	0,78	0,80	0,74	0,73	0,74	0,65
Bodrum Erkek	0,83	0,74	0,75	0,83	0,72	0,70	0,77
Bodrum Erkek	0,85	0,80	0,79	0,76	0,72	0,74	0,54
Bodrum Erkek	0,86	0,76	0,80	0,89	0,68	0,72	0,77
Bodrum Erkek	0,84	0,78	0,75	0,91	0,75	0,73	0,71
Bodrum Erkek	0,86	0,76	0,81	0,79	0,72	0,73	0,56
Bodrum Erkek	0,87	0,77	0,79	0,74	0,75	0,73	0,67

Ek Tablo 2'nin devamı

Populasyon	Yükseklik	Genişlik	Ligament	AKİU	PAKİakıpkam	PAKİİVKAM	YDİİVKAM
Bodrum Erkek	0,85	0,76	0,79	0,75	0,76	0,73	0,58
Bodrum Erkek	0,88	0,75	0,79	0,84	0,73	0,77	0,54
Bodrum Erkek	0,87	0,77	0,82	0,85	0,72	0,72	0,71
Bodrum Erkek	0,87	0,77	0,79	0,82	0,76	0,76	0,64
Bodrum Erkek	0,86	0,79	0,79	0,85	0,75	0,72	0,69
Bodrum Erkek	0,87	0,73	0,78	0,81	0,73	0,73	0,75
Bodrum Erkek	0,85	0,74	0,77	0,87	0,69	0,74	0,59
Bodrum Erkek	0,84	0,76	0,78	0,91	0,69	0,73	0,66
Bodrum Erkek	0,84	0,79	0,78	0,95	0,75	0,72	0,74
Bodrum Erkek	0,86	0,75	0,75	0,96	0,70	0,70	0,74
Bodrum Erkek	0,85	0,75	0,77	0,81	0,70	0,72	0,66
Bodrum Erkek	0,85	0,72	0,75	0,88	0,69	0,72	0,72
Bodrum Erkek	0,87	0,77	0,77	0,92	0,73	0,75	0,67
Bodrum Dişi	0,83	0,78	0,81	0,81	0,76	0,72	0,63
Bodrum Dişi	0,87	0,79	0,81	0,73	0,72	0,76	0,64
Bodrum Dişi	0,86	0,75	0,78	0,80	0,74	0,75	0,71
Bodrum Dişi	0,87	0,76	0,77	0,88	0,77	0,74	0,70
Bodrum Dişi	0,84	0,76	0,79	0,76	0,75	0,73	0,72
Bodrum Dişi	0,86	0,80	0,82	0,85	0,74	0,73	0,48
Bodrum Dişi	0,85	0,75	0,75	0,81	0,73	0,73	0,62
Bodrum Dişi	0,87	0,75	0,79	0,82	0,79	0,71	0,63
Bodrum Dişi	0,85	0,77	0,81	0,78	0,74	0,73	0,63
Bodrum Dişi	0,84	0,79	0,77	0,84	0,72	0,74	0,59
Bodrum Dişi	0,86	0,76	0,77	0,76	0,76	0,74	0,74
Bodrum Dişi	0,85	0,77	0,77	0,83	0,75	0,73	0,74
Bodrum Dişi	0,86	0,74	0,77	0,82	0,71	0,75	0,74
Bodrum Dişi	0,86	0,76	0,77	0,81	0,74	0,75	0,72
Bodrum Dişi	0,84	0,78	0,77	0,83	0,76	0,75	0,57
Bodrum Dişi	0,85	0,75	0,77	0,84	0,70	0,73	0,64
Bodrum Dişi	0,87	0,74	0,77	0,87	0,71	0,72	0,67
Bodrum Dişi	0,86	0,77	0,78	0,89	0,75	0,74	0,65
Bodrum Dişi	0,86	0,75	0,78	0,79	0,70	0,72	0,58
Bodrum Dişi	0,87	0,77	0,80	0,85	0,69	0,74	0,55
Ordu Erkek	0,87	0,77	0,78	0,89	0,73	0,75	0,61
Ordu Erkek	0,85	0,74	0,79	0,88	0,74	0,71	0,67
Ordu Erkek	0,88	0,78	0,82	0,90	0,72	0,75	0,69
Ordu Erkek	0,86	0,77	0,79	0,91	0,73	0,75	0,67
Ordu Erkek	0,87	0,78	0,79	0,82	0,70	0,73	0,60
Ordu Erkek	0,86	0,78	0,82	0,88	0,76	0,69	0,57
Ordu Erkek	0,83	0,77	0,78	0,88	0,75	0,76	0,66
Ordu Erkek	0,82	0,72	0,78	0,89	0,71	0,70	0,61
Ordu Erkek	0,86	0,75	0,81	0,85	0,69	0,70	0,60
Ordu Erkek	0,85	0,74	0,79	0,86	0,72	0,72	0,68
Ordu Erkek	0,86	0,75	0,83	0,94	0,78	0,77	0,75
Ordu Erkek	0,85	0,73	0,80	0,89	0,71	0,70	0,89
Ordu Erkek	0,83	0,74	0,78	0,83	0,73	0,72	0,55
Ordu Erkek	0,88	0,77	0,79	0,87	0,73	0,75	0,57

Ek Tablo 2'nin devamı

Populasyon	Yükseklik	Genişlik	Ligament	AKİU	PAKİakıpkam	PAKİİVKAM	YDİİVKAM
Ordu Erkek	0,86	0,75	0,84	0,88	0,70	0,69	0,80
Ordu Erkek	0,82	0,75	0,80	0,80	0,77	0,70	0,66
Ordu Erkek	0,86	0,78	0,80	0,86	0,75	0,75	0,71
Ordu Erkek	0,84	0,77	0,79	0,86	0,74	0,74	0,68
Ordu Erkek	0,84	0,80	0,79	0,87	0,76	0,75	0,61
Ordu Erkek	0,84	0,81	0,79	0,85	0,74	0,75	0,60
Ordu Dişi	0,85	0,78	0,82	0,90	0,74	0,75	0,71
Ordu Dişi	0,85	0,75	0,82	0,88	0,75	0,74	0,76
Ordu Dişi	0,86	0,75	0,84	0,91	0,75	0,73	0,78
Ordu Dişi	0,85	0,75	0,81	0,88	0,76	0,71	0,73
Ordu Dişi	0,83	0,74	0,83	0,87	0,71	0,72	0,86
Ordu Dişi	0,85	0,75	0,82	0,88	0,71	0,74	0,77
Ordu Dişi	0,84	0,75	0,72	0,86	0,74	0,75	0,49
Ordu Dişi	0,86	0,74	0,78	0,88	0,77	0,75	0,78
Ordu Dişi	0,85	0,74	0,71	0,85	0,75	0,77	0,68
Ordu Dişi	0,83	0,76	0,80	0,85	0,72	0,69	0,68
Ordu Dişi	0,85	0,75	0,82	0,87	0,72	0,72	0,78
Ordu Dişi	0,84	0,74	0,79	0,90	0,71	0,72	0,83
Ordu Dişi	1,07	0,80	0,79	0,91	0,73	0,75	0,79
Ordu Dişi	0,87	0,75	0,79	0,92	0,72	0,75	0,76
Ordu Dişi	0,88	0,77	0,79	0,92	0,71	0,73	0,79
Ordu Dişi	0,85	0,76	0,79	0,90	0,74	0,76	0,76
Ordu Dişi	0,86	0,76	0,80	0,84	0,72	0,72	0,76
Ordu Dişi	0,86	0,73	0,78	0,86	0,71	0,72	0,76
Ordu Dişi	0,85	0,73	0,78	0,91	0,72	0,72	0,78
Ordu Dişi	0,82	0,73	0,78	0,84	0,70	0,70	0,72

## ÖZGEÇMİŞ

1980 yılında Trabzon'da doğdu. İlk ve orta öğrenimini Sürmene'de tamamladı. 1997 yılında Ankara Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü'nde lisans öğrenimine başladı. 2001 yılında lisans öğrenimini tamamlayarak Biyolog unvanı aldı. Aynı yıl Karadeniz Teknik Üniversitesi, Sürmene Deniz Bilimleri Fakültesi, Balıkçılık Teknolojisi Mühendisliği Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimine başlayarak bir yıl İngilizce hazırlık programına devam etti. 2005 yılında yüksek lisans eğitimini tamamlayarak aynı yıl doktora eğitimine başladı. 2002 yılında Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından araştırma görevlisi olarak atandı. Halen Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü'nde araştırma görevlisi olarak görevine devam etmektedir. Evli ve bir çocuk sahibidir.