

TÜRKİYE'NİN AKDENİZ KIYISINDAKİ MAVİ YENGEÇ (*Callinectes sapidus*) POPULASYONLARI ARASINDAKİ GENETİK FARKLILIĞIN *COI* GEN DİZİLERİ KULLANILARAK DEĞERLENDİRİLMESİ**Emre Keskin^{*1,2}, Hasan Hüseyin Atar¹**¹Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Su Ürünleri Mühendisliği Bölümü²Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü**Özet:**

Türkiye'nin Akdeniz kıyılarında bulunan mavi yengeç (*Callinectes sapidus*) populasyonları arasındaki genetik çeşitliliğin ortaya çıkarılmasında mitokondriyal *sitokrom c oksidaz I (COI)* geninin nükleotid dizisi farklılıklarından yararlanılmıştır. Akdeniz kıyısı boyunca, 8 farklı populasyondan (Akyatan, Fethiye, Beymelek, Güllük, İskenderun, Köyceğiz, Mersin ve Taşucu) elde edilen 143 örnek nükleotid kompozisyonu ve nükleotid çifti frekansı bakımından incelenmiştir. DNA dizilerinin farklılığı kullanılarak tespit edilen genetik farklılığın belirlenmesinde Tamura 3-parameter modeli kullanılmıştır. DNA dizi analizi gerçekleştirilen 143 örnek göz önüne alındığında, 655 baz çiftlik bölgede 42 (%6.41) değişken bölge ve ortalama %1.9 varyasyon saptanmıştır. En yüksek genetik farklılık %2.5 ile Akyatan-Güllük populasyonları arasında tespit edilmiş ve ortalama R değeri tüm populasyonlar için 3.59 olarak hesaplanmıştır. Filogenetik ağacın oluşturulmasında unweighted pair-group method of arithmetic average (UPGMA) yöntemi kullanılmıştır. Dal uzunlukları toplamı= 0.07232 olarak hesaplanan filogenetik ağaç değerlendirildiğinde, mavi yengeç populasyonları arasında coğrafik uzaklıkla korele bir genetik gruplaşma olduğu sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: *Callinectes sapidus*, Mavi yengeç, Mitokondriyal DNA, Moleküler filogenetik, Populasyon genetiği, *Sitokrom oksidaz I*.

* Correspondence to:

Emre KESKİN, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Su Ürünleri Mühendisliği Bölümü
Ankara-TÜRKİYE

Tel: (+90 312) 596 17 22 Fax: (+90 312) 318 52 98

E-mail: keskin@ankara.edu.tr

Abstract: Determination of Genetic Variation Among Blue Crab (*Callinectes sapidus*) Populations Along Mediterranean Coast of Turkey Using COI Sequences

Nucleotide sequence divergence in mitochondrial *cytochrome c oxidase subunit I* (COI) gene was used to determine genetic variation of blue crab (*Callinectes sapidus*) populations found along Mediterranean coast of Turkey. 143 individuals from 8 distinct populations (Akyatan, Fethiye, Beymelek, Gulluk, Iskenderun, Koycegiz, Mersin and Tasucu) along Mediterranean coast were investigated by means of nucleotide composition and nucleotide pair frequency. Genetic divergence was estimated using DNA sequence variations, under Tamura 3-parameter model. Considering 143 individuals sequenced, 42 (6.41%) variable sites and an average variation of 1.9% were found in 655 base pair long fragment. Highest genetic divergence was found between Akyatan-Gulluk populations; with a genetic distance rate of 2.5% and an average value of R was estimated as 3.59 for all the populations. Phylogenetic tree was constructed using unweighted pair-group method of arithmetic average (UPGMA) method. When we evaluated the phylogenetic tree with the sum of branch length of 0.07232, results point out a genetic structuring between blue crab populations correlated with the geographic distance.

Keywords: Blue crab, *Callinectes sapidus*, *Cytochrome oxidase I*, Mitochondrial DNA, Molecular phylogeny, Population genetics

Giriş

Mavi yengeç (*Callinectes sapidus*), Atlantik Okyanusu'nun batısı boyunca bulunan nehir ağızları ve deniz ortamlarında dağılım gösteren, Decapoda takımından, ekolojik ve ekonomik öneme sahip bir türdür. Dağılımları Nova Scotia'dan Arjantin'in kuzeyine kadar uzanmakta, daha kuzey ve güneyinde ise mevsimsel olarak değişiklik göstermektedir (Williams 1984). Japonya ve Avrupa sularına gemilerin balast suları ile giriş yapan bu tür, CIESM raporlarına göre Baltık Denizi'nde, Kuzey Denizi'nde, Karadeniz'de ve Akdeniz'de yerleşik populasyonlar oluşturmuştur.

Mavi yengeçlerin jenerasyon süresi yaklaşık olarak bir yıldır (Williams 1984). En belirgin populasyon kayıpları ilk yıl içerisinde gözlemlenir ve yaşam süreleri en fazla 6 yıl olarak belirlenmiştir (Pellegrini et al. 2001). Türün yayılımı genel olarak yaşam evresine ve coğrafik konumuna göre değişiklik göstermektedir. Larval gelişimini kıyı bölgelerinde geçiren mavi yengeçlerin olası yayılımları üzerinde larval davranışlarının ve mevsimsel rüzgarların etkisinin büyük olduğu bilinmektedir (Epifanio and Garvine 2001). Doğal olarak buldukları Kuzey Amerika kıyılarındaki yetişkin mavi yengeçlerin dağılım alanı genel olarak birkaç nehir ağızı ve etraftaki kıyısız bölgelerle sınırlı kalmaktadır (Benefield ve Linton 1990).

Ekolojik ve ekonomik olarak büyük öneme sahip olan mavi yengeçlerin populasyon yapılarının genetik analizine yönelik çalışmaların, şaşırtıcı bir şekilde fazla üzerinde durulmaması ve bu

konuda, doğal populasyonlar dışında çok fazla çalışma yapılmamıştır. Oysa moleküler tekniklerin deniz canlılarının populasyon yapılarının genetik karakterizasyonunda başarıyla uygulandığı bilinmekte, fakat Decapoda takımından karidesler, ıstakozlar ve yengeçler üzerinde yoğunlaşan çalışmalara çok fazla rastlanmamaktadır.

Mitokondriyal DNA, rekombinasyon olmaması, maternal kalıtım özelliği ve nükleer genomla daha hızlı evrimsel değişim oranından dolayı, dekapodların filogenetik ilişkilerin ortaya koyulmasında ve tür tanımlanmasında en çok kullanılan moleküler belirteç olarak karşımıza çıkmaktadır (McMillen-Jackson and Bert 2004). Ayrıca bu belirteçler deniz canlılarının larval dağılımını ve gen akışını dolaylı olarak ortaya koymada başarılı sonuçlar vermiştir (Hamm and Burton 2000). Deniz canlılarında, mitokondriyal genomlar genellikle kompakt yapıda (15-20 kb), aynı gen sıralamasına sahip ve replikasyon ile transkripsiyonu kontrol eden kodlama yapmayan bir bölgeden oluşan dairesel bir DNA zincirinden meydana gelmektedir (Boore 1999). Birçok türün mitokondriyal DNA'sı, nükleotid değişiklikleri veya kısa dizi değişiklikleri içermesine rağmen gen dizilimleri uzun süreler boyunca stabil kalmıştır (Boore and Brown 1995).

Mitokondriyal genlerden *sitokrom c oksidaz I* (COI), tür ayrımında ve populasyon yapısının belirlenmesinde en çok kullanılan moleküler belirteçlerden biri olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu genin yaklaşık 655 baz çiftlik bölgesi "DNA bar-

kodu” olarak da bilinmektedir. DNA barkodlama son yıllarda birçok genetik çalışmada karşımıza çıkmaktadır (Undheim et al. 2010). Bu çalışmada amacımız, ilk olarak Türkiye'nin Akdeniz kıyıları boyunca dağılım gösteren mavi yengeç populasyonları arasında genetik bir farklılık olup olmadığının ortaya çıkarılması ve ardından bunun tespit edilmesinde COI gen dizilerinin analizinin uygun bir moleküler belirteç olup olmadığının belirlenmesidir.

Materyal ve Metot

Çalışmada, Akdeniz kıyısı boyunca belirlenen 8 istasyondan toplam 143 örnek elde edilmiştir. Örnekler buz üzerinde laboratuvara getirilmiş, kalp ve kas dokusu örnekleri alındıktan sonra DNA izolasyonları gerçekleştirilene kadar %95 etanol içerisinde -20°C’de saklanmıştır.

Doku örnekleri sıvı nitrojen ile dondurularak, porselen havan yardımıyla toz haline getirilmiştir. Toz haline getirilen dokulardan DNA izolasyonu Qiagen DNeasy Blood & Tissue Kit ile üreticinin protokolüne uygun olarak gerçekleştirilmiştir. Elde edilen DNA’ların kalite ve miktarını saptamak amacıyla NanoDrop ND – 1000 spektrofotometre’den yararlanılmıştır. Kalıp olarak kullanılacak DNA’lar bekletmeden polimeraz zincir reaksiyonunda (PCR) kullanılmıştır.

Mitokondriyal *COI* geninin yaklaşık 700 baz çiftlik bölümünün PCR ile çoğaltılmasında LCO1490f (5'-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3') ve HCO2198r (5'-TAAACTTCAGGGTGACCAAAAATCA-3') primer çiftinden yararlanılmıştır (Folmer et al. 1994). PCR reaksiyonları, son hacmi 50 µl olan reaksiyonlar halinde ve içeriği: 5 µl 10X Taq Buffer +KCl (100 mM Tris-HCl, 500 mM KCl, pH 8.8), 4µl MgCl₂ (25mM), 1.25 µl dNTP (10 mM), her primerden 2 µl (10 pM/µl), 2.5 U Taq polimeraz (5U/µl) ve 2 µl DNA (50 ng/µl) olacak şekilde ayarlanmıştır. PCR reaksiyonları MJ Research DNA Engine Tetrad2 termal döngü cihazında, negatif kontrol kullanılarak 95°C’de 2 dakikalık bir ön denatürasyon aşamasını takiben 35 döngülük 95°C’de 1 dakika, 50°C’de 1 dakika, 72°C’de 1 dakika ve son olarak 72’de 10 dakikalık program kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Elde edilen PCR ürünleri %2’lik agaroz jelde yürütüldükten sonra UV görüntüleyici altında incelenerek bant boyları kontrol edilmiştir. PCR ürünlerinin DNA dizi analizi reaksiyonları öncesinde pürifikasyonunda Wizard SV Gel and PCR Clean-

Up System, üreticinin sağladığı protokol doğrultusunda kullanılmıştır. Temizlenmiş PCR ürünlerinin dizi analizleri Beckman Coulter CEQ 8000 cihazında, Beckman Coulter CEQ Dye Terminator Cycle Sequencing Kit kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Dizi analizi sonrasında elde edilen nükleotid dizileri GenBank’dan elde edilen referans diziler kullanılarak Sequencher 5.0 programında hizalanmış, okuma hatası nedeniyle oluşabilecek insersiyon ve delesyonlar kontrol edilmiştir. Diziler hizalandıktan sonra GenBank veri tabanına kayıt ettirilmiştir (JN561325-JN561332). Her örnek için nükleotid kompozisyonu, korunmuş bölge, değişken bölge, tekrar bölgeleri ile parsimoni anlamlı bölgelerin analizi gerçekleştirilmiş ve nükleotid çifti frekansları hesaplanmıştır. Substitüsyon ile transisyon/transversiyon oranının (R) hesaplanmasında Tamura 3-parameter modeli kullanılmıştır. Pairwise genetik uzaklık matrisi oluşturulmuş ve populasyonlar arasındaki genetik uzaklık diziler arasındaki baz substitüsyonları göz önünde bulundurularak Tamura 3-parameter modeline uygun olarak hesaplanmıştır.

Filogenetik ağacın oluşturulmasında unweighted pair – group method of arithmetic average (UPGMA) yöntemi kullanılmıştır. Ağacın oluşturulmasında kullanılan evrimsel uzaklıkların hesaplanması Tamura 3-parameter modeline göre gerçekleştirilmiştir. Elde edilen filogenetik ağacın güvenilirliğinin tespitinde 1000 tekrarlı bootstrap testlerinden yararlanılmıştır. Tüm filogenetik analizler MEGA 5 programında gerçekleştirilmiştir.

Bulgular ve Tartışma

Toplam 143 örneğe ait *COI* gen dizisi analizi gerçekleştirilmiş ve 8 populasyon arasındaki genetik farklılık ortaya koyulmuştur. Aynı populasyona ait bireylerin dizi analizi sonuçları birbir örtüştüğünden her populasyon tek bir örneğin *COI* dizisi ile temsil edilmiştir. G-C oranlarına bakıldığında (Tablo 1) değerlerin %38.8-39.8 arasında değişkenlik gösterdiği saptanmış ve ortalama G-C oranı %39.3 olarak belirlenmiştir. Tüm örnekler göz önüne alındığında 655 baz çiftlik bölgede 42 nükleotidde değişiklik olduğu (%6.41) görülmüştür. Transisyon/transversiyon oranı (R), eş çiftler, tekrar bölgeleri ve parsimoni anlamlı bölgeler Tablo 2’de verilmiştir.

Tablo 1. Nükleotid kompozisyonu (%).**Table 1.** Nucleotide composition (%)

	T(U)	C	A	G	G-C	A-T
Akyatan	35.3	22.0	25.6	17.1	39.1	60.9
Beymelek	34.7	22.4	25.5	17.4	39.8	60.2
Fethiye	34.4	22.6	25.8	17.3	39.8	60.2
Güllük	35.0	22.1	25.6	17.3	39.4	60.6
İskenderun	35.3	21.8	26.0	16.9	38.8	61.2
Köyceğiz	34.8	22.1	25.8	17.3	39.4	60.6
Mersin	34.8	22.3	26.1	16.8	39.1	60.9
Taşucu	35.0	21.8	26.1	17.1	38.9	61.1
Ortalama	34.9	22.2	25.8	17.1	39.3	60.7

Tablo 2. Nükleotid çifti frekansları.**Table 2.** Nucleotide pair frequencies

Korunmuş Bölge	613/655 (%93.59)
Değişken Bölge	42/655 (%6.41)
Parsimoni Anlamalı Bölge	7/655 (%1.07)
Tekrar Bölgeleri	35/655 (%5.34)
Eş Çiftler (ii)	643
Transisyonel Çiftler (si)	10
Transversiyonel Çiftler (sv)	3
R (si/sv)	3.59

Substitüsyon oranlarının maximum likelihood yöntemiyle belirlenmesinde Tamura 3-parameter modeli kullanılmıştır (Tablo 3). Substitüsyon oranları bir bazdan diğerine substitüsyon geçiş ihtimalini temsil etmektedir. Transisyonel substitüsyon oranları A/G ve T/C için 15.34, C/T ve G/A için ise 23.71 olarak hesaplanmıştır. Transversiyonel oranlar Tablo 3'te verilmiştir. Bu sonuçlar ışığında hesaplanan transisyon/transversiyon oranı (R) 3.40 olarak hesaplanmıştır. Hesaplamaların yapılmasında kullanılan nükleotid frekansları A ve T için %30.35, G ve C için %19.65'dir.

Tablo 3. Substitüsyon matrisi*.**Table 3.** Nucleotide substitution matrix

	A	T	C	G
A	-	3.32	2.15	15.34
T	3.32	-	15.34	2.15
C	3.32	23.71	-	2.15
G	23.71	3.32	2.15	-

*Her sayı bir bazdan (sütun) diğerine (sütun) substitüsyon ihtimalini göstermektedir. Transisyonel substitüsyonlar koyu renkte, transversiyonel substitüsyonları ise italik olarak gösterilmiştir.

Pairwise genetik uzaklık matrisi Tamura 3-parameter modeline göre oluşturulmuştur (Tablo 4). Populasyonlar arasındaki evrimsel değişimin hesaplanmasında diziler arasındaki baz substitüsyon sayıları kullanılmıştır. Mavi yengeç populasyonları arasındaki ortalama genetik uzaklık 0.019 (1.9%) olarak bulunmuştur. Elde edilen sonuçlar populasyonlar arasındaki genetik farklılığın populasyonların bulunduğu coğrafik alanların uzaklığı ile korele olarak artış gösterdiğini işaret etmektedir. En yüksek nükleotid farklılığı Güllük ve Akyatan populasyonları arasında 0.025 (%2.5) olarak saptanmıştır. En düşük genetik farklılık ise birbirine daha yakın populasyonlar olan Köyceğiz ve Fethiye populasyonları arasında 0.012 (%1.2) olarak hesaplanmıştır. Diğer populasyonlardan en belirgin biçimde ayrılan mavi yengeç populasyonu ise 0.021 (%2.1) genetik uzaklık değeri ile Akyatan populasyonu olarak belirlenmiştir. Genetik uzaklık sonuçları 143 mavi yengeç örneğinin dizilerinin pairwise analizlerine göre hesaplanmış ve standart hataların hesaplanmasında 1000 tekrarlı bootstrap testlerinden faydalanılmıştır (Tablo 4).

Mavi yengeç populasyonlarının evrimsel ilişkilerinin hesaplanmasında ve filogenetik ağacın oluşturulmasında UPGMA yöntemi kullanılmıştır. Populasyonlar arası genetik uzaklıkların belirlenmesinde ise Tamura 3-parameter yönteminden yararlanılmıştır. Ağacın güvenilirliğini sağlamak için 1000 tekrarlı bootstrap testi gerçekleştirilmiştir. Evrimsel geçmiş analizlerinde tüm örneklerin nükleotid veri setlerinden yararlanılmıştır. Toplam dal uzunluğu 0.07232 olarak hesaplanan filogenetik ağaç Şekil 1'de gösterilmiştir.

Akdeniz boyunca farklı alanlarda populasyonlar oluşturan mavi yengeçlerin mitokondriyal *COI* dizilerinden elde edilen sonuçlar, türün Akdeniz'e yerleşmesinin ardından farklı coğrafik konumlarda genetik farklılıkları bulunan populasyonlar oluşturduğunu göstermektedir. Bu çalışmada belirteç olarak kullanılan *COI* geni, sıklıkla kullanılan *12S* ve *16S rRNA*'ya kıyasla kodonlarındaki üçüncü nükleotidin daha yüksek oranda substitüsyon göstermesinden dolayı 3 kat daha yüksek bir evrim hızına sahip olması (Knowlton and Weigt 1998) nedeni ile tercih edilmiştir. Bu evrim hızı, *COI* dizilerinin sadece birbirine yakın türlerin ayrımında değil, aynı zamanda bir türün farklı populasyonlarının ayrımında da başarılı bir moleküler belirteç olarak

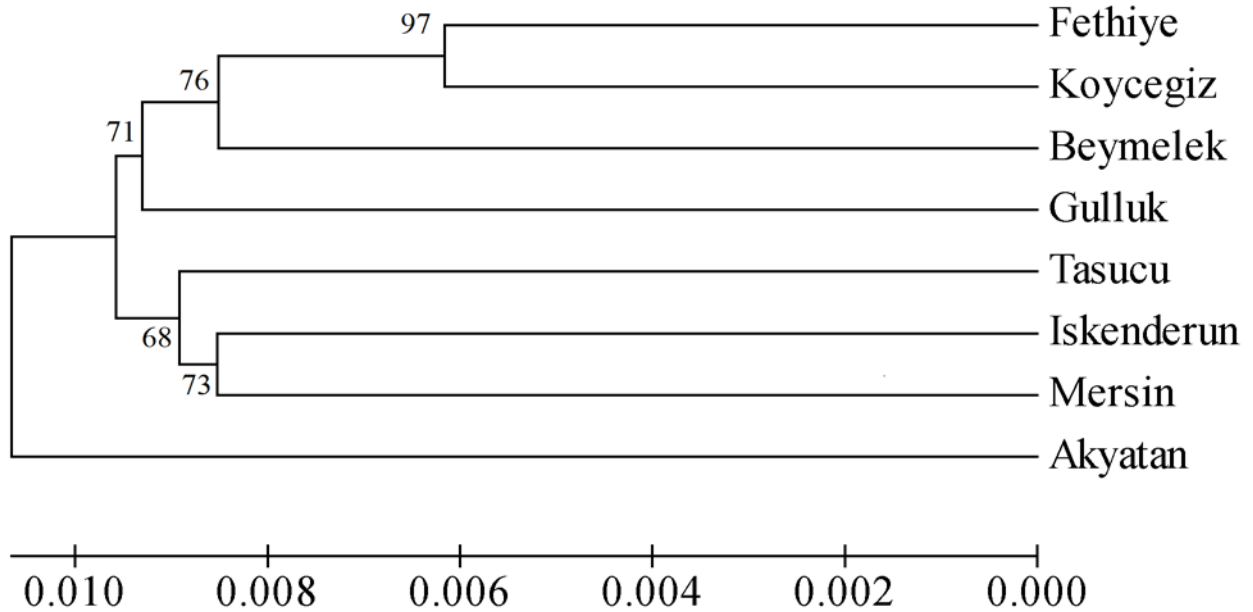
kullanılmasını sağlamaktadır (Cox and Hebert 2001).

Tablo 4. Genetik uzaklık matrisi*.

Table 4. Genetic distance matrix

	1	2	3	4	5	6	7	8
1 Akyatan		0.006	0.006	0.006	0.005	0.006	0.005	0.006
2 Beymelek	0.022		0.005	0.005	0.005	0.005	0.006	0.006
3 Fethiye	0.020	0.017		0.005	0.005	0.004	0.005	0.005
4 Güllük	0.025	0.019	0.020		0.005	0.005	0.006	0.005
5 İskenderun	0.019	0.019	0.017	0.019		0.005	0.005	0.005
6 Köyceğiz	0.020	0.017	0.012	0.017	0.017		0.005	0.005
7 Mersin	0.020	0.023	0.019	0.020	0.017	0.015		0.005
8 Taşucu	0.023	0.023	0.022	0.020	0.017	0.015	0.019	
Ortalama	0.019							

*Diziler arasındaki baz substitüsyonu sayıları verilmiştir. Standart hata hesaplamaları bootstrap testi (1000 tekrar) ile hesaplanmış ve diyagonalin üst kısmında verilmiştir.



Filogenetik ağacın oluşturulmasında UPGMA yöntemi kullanılmıştır. Populasyonlar arası genetik uzaklık Tamura 3-parameter modeline göre hesaplanmıştır. Ağacın güvenilirliğini sağlamak için 1000 tekrarlı bootstrap testi gerçekleştirilmiştir.

Şekil 1. Mavi yengeç populasyonları arasındaki evrimsel ilişki (UPGMA).

Figure 1. Evolutionary relationship among blue crab populations (UPGMA).

Çalışmadan elde edilen sonuçlar, mitokondriyal *COI* geninin amino asit dizilerinin mavi yengeç populasyonları arasındaki filogenetik sinyali tespit etmede başarılı olduğunu göstermektedir. Mavi yengeç örneklerinin ortalama nükleotid kompozisyonlarından da görüldüğü üzere (Tablo 1) *COI* geni yüksek A-T oranı bakımından bir seleksiyonun etkisi altında bulunmaktadır. Bu bölgedeki yüksek A-T içeriği *COI* genini populasyon seviyesinde bile hassas bir moleküler belirteç yapmaktadır (Sanchis et al. 2001). Bu çalışmada, mavi yengeç populasyonlarının ortalama A-T oranı %60.7 olarak tespit edilmiştir. Örneklem yapılan 8 populasyonun A-T değerlerinin farklı olması ise geçmişte meydana gelmiş olası coğrafik izolasyonlar ile açıklanabilmektedir.

COI geninin 655 baz çiftlik bu bölgesinin mavi yengeç populasyonlarının filogenetik farklılıklarını tespit etmede başarılı bir moleküler belirteç olduğunun bir başka göstergesi de nükleotid çifti frekansı analizi sonrasında tespit edilen %6.41'lik değişken bölge oranıdır (Tablo 2). Substitüsyon oranları incelendiğinde, en yüksek oranın C/T ve G/A değişimlerinde tespit edilen %23.71 olduğunu görmekteyiz. C-G den A-T'ye bu yüksek oranlı geçişlerin sonuçları, nükleotid kompozisyonu analizinde gördüğümüz yüksek A-T oranını açıklamaktadır. Substitüsyon matrisinin Tamura 3-parameter modeli kullanılarak yapılan tahmininde elde edilen transisyon/transversiyon oranının (R) 3.40 ile nükleotid çifti frekansı sonrası elde edilen 3.59'luk R değerinden küçük ve ona yakın çıkması sonuçların güvenilirliği açısından önemli bir detay olarak değerlendirilmiştir.

Türkiye'nin Akdeniz sahillerinden elde edilen mavi yengeç örnekleri arasında belirgin bir genetik uzaklık göze çarpmaktadır (Tablo 4). Mavi yengeç populasyonları arasındaki bu genetik uzaklık 0.012 ile 0.025 arasında, ortalama 0.019'luk bir değişkenlik göstermektedir. Genetik uzaklık bakımından birbirinden en çok ayrılan populasyonlar Akyatan-Güllük populasyonları olarak saptanırken (0.025), birbirine en yakın populasyonlar Köyceğiz-Fethiye populasyonları (0.012) olarak tespit edilmiştir. Akyatan populasyonu diğer tüm populasyonlara olan ortalama 0.021'lik genetik uzaklık değeri ile en farklı populasyon olarak görülmektedir.

Dal uzunluk toplamı 0.07232 olan ağaçtaki kümelenmeler dikkatli olarak incelendiğinde genetik uzaklık ile coğrafik uzaklık arasında korele bir ilişki göze çarpmaktadır (Şekil 1). Filogenetik

ağaç incelendiğinde 2 ana dala ayrıldığı görülmektedir. Birinci ana dalda genetik uzaklık analizleriyle uyumlu bir şekilde Akyatan populasyonunun diğerlerinden ayrıldığı, diğer 7 populasyonun ikinci bir dalda kümelendiği görülmektedir. İkinci ana dal kendi içinde 2 dala ayrılmaktadır. Birinci dalda Akyatan populasyonuna coğrafik olarak daha yakın olan İskenderun, Mersin ve Taşucu populasyonları kümelendiği görülmüştür. Bunlar da kendi arasında İskenderun ve Mersin ayrı bir alt dal, Taşucu ayrı bir alt dal oluşturacak şekilde kümelendiği görülmüştür. İkinci dalda ise daha batıda bulunan diğer 4 populasyon kümelendiği görülmüştür. Burada dikkat çeken nokta ise Güllük ve Beymelek populasyonlarının ayrı alt dallarda, Köyceğiz ve Fethiye populasyonları ise birbirinden belirgin biçimde ayrılmış olmakla beraber aynı alt dalda kümelendiği olmasıdır. Dallların yanlarında bootstrap testleri (1000 tekrar) sonucunda oluşturulan tekrar ağaçlarının yüzde oranı verilmiştir (Şekil 1). Hesaplanan tüm bootstrap değerlerinin %68 seviyesinde ve üzerinde olduğu görülmekte ve %70 in üzerindeki bootstrap değerlerinin oluşturduğu gruplandırmanın %95'in üzerinde bir doğruluğa sahip olduğunu bilinmektedir (Hillis and Bull 1993). Filogenetik ağaçta sadece bir bootstrap değeri %70'den küçük (%68) olarak bulunmuştur.

Sonuç

Türkiye'nin Akdeniz kıyısı boyunca 8 farklı istasyondan örneklem yapılan bu çalışmada, mavi yengeç populasyonlarının *COI* gen dizileri arasında belirgin farklılıklar tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlar hem mavi yengeç populasyonlarının genetik olarak değerlendirilmesinde ilk kez *COI* geni kullanılması bakımından, hem de Akdeniz kıyısında yerleşik populasyonlar oluşturan mavi yengeçlerin moleküler ayırımına yönelik ilk çalışma olması bakımından önem taşımaktadır. Gerek populasyonlar arasındaki A-T değerleri arasındaki farklılık, gerekse genetik uzaklık değerlerinin ve bununla ilişkili olarak populasyonların filogenetik ağaçtaki yerleşimlerinin coğrafik dağılımla uyumlu olması, mavi yengeçlerin uygun olmayan çevre koşullarında buldukları yerden çok fazla dağılım göstermemeleri sonucunda oluşan coğrafik izolasyonlar ile açıklanabilmektedir. Mavi yengeç populasyonlarına yönelik tüm Akdeniz'den örneklem yapılacak şekilde genişletilecek bir çalışma bu konuda daha detaylı sonuçlar elde etmemize yardımcı olacaktır.

Kaynaklar

- Benefield, R.L., Linton, T., (1990). Movement study of blue crabs in Trinity Bay. *Texas Parks and Wildlife Department, Coastal Fisheries Division, Management Data Series*, **16**: 1-11.
- Boore, J.L., (1999). Animal mitochondrial genomes, *Nucleic Acids Research*, **27**: 1767-1780.
doi: [10.1093/nar/27.8.1767](https://doi.org/10.1093/nar/27.8.1767)
- Boore, J.L., Brown, W.M., (1995). Complete sequence of the mitochondrial DNA of the annelid worm *Lumbricus terrestris*, *Genetics*, **141**: 305-319.
- Cox, A.J., Hebert, P.D.N., (2001). Colonization, extinction and phylogeographic patterning in a freshwater crustacean, *Molecular Ecology*, **10**: 371-386.
doi: [10.1046/j.1365-294x.2001.01188.x](https://doi.org/10.1046/j.1365-294x.2001.01188.x)
- Epifanio, C.E., Garvine, R.W., (2001). Larval transport on the Atlantic continental shelf of North America: a review, *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, **52**: 51-77.
doi: [10.1006/ecss.2000.0727](https://doi.org/10.1006/ecss.2000.0727)
- Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., Lutz, R., Vrijenhoek, R., (1994). DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates, *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, **3**: 294-299.
- Hamm, D.E., Burton, R.S., (2000). Population genetics of black abalone, *Haliotis cracherodii*, along the central California coast, *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, **254**: 235-247.
doi: [10.1016/S0022-0981\(00\)00283-5](https://doi.org/10.1016/S0022-0981(00)00283-5)
- Hillis, D.M., Bull, J.J., (1993). An empirical test of bootstrapping as a method for assessing confidence on phylogenetic analysis, *Systematic Biology*, **42**: 182-192.
- Knowlton, N., Weigt, L.A., (1998). New dates and new rates for divergence across the Isthmus of Panama. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B*, **265**: 2257-2263.
doi: [10.1098/rspb.1998.0568](https://doi.org/10.1098/rspb.1998.0568)
- McMillen-Jackson, A.L., Bert, T.M., (2004). Mitochondrial DNA variation and population genetic structure of the blue crab *Callinectes sapidus* in the eastern United States, *Marine Biology*, **145**: 769-777.
- Pellegrin, G.Jr., Guillory, V., Prejean, P., Perry, H., Warren, J., Steele, P., Wagner, T., Heath, S., (2001). Length-based estimates of total mortality for Gulf of Mexico blue crab, *Proceedings of the Blue Crab Mortality Symposium*, 28-29 May 1999, Lafayette. Louisiana Gulf States Marine Fisheries Commission, **90**: 42-49.
- Sanchis, A., Michelena, J.M., Lattore, A., Quicke, D.L., Gardenfors, U., Belshaw, R., (2001). The phylogenetic analysis of variable-length sequence data: elongation factor-1 alpha introns in European populations of the parasitoid wasp genus *Pauesia* (Hymenoptera: Braconidae: Aphidiinae), *Molecular Biology and Evolution*, **18**(6): 1117-1131.
doi: [10.1093/oxfordjournals.molbev.a003882](https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a003882)
- Undheim, E.A.B., Norman J.A., Thoen, H.H., Fry, B.G., (2010). Genetic identification of Southern Ocean octopod samples using mtCOI, *Comptes Rendus Biologies*, **333**: 395-404.
doi: [10.1016/j.crv.2010.02.002](https://doi.org/10.1016/j.crv.2010.02.002)
- Williams, A.B., (1984). Shrimps, lobsters, and crabs of the Atlantic coast of the eastern United States, Maine to Florida. Smithsonian Institution Press, Washington, D.C.