

T.C.
RECEP TAYYİP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ANADOLU'DAKİ *CARASOBARBUS* KARAMAN, 1971
(Actinopterygii: Cyprinidae) GENUSUNUN GENETİK ANALİZİ**

DİDEM BAHADIR

TEZ DANIŞMANI

PROF. DR. YUSUF BEKTAŞ

TEZ JÜRİLERİ

PROF. DR. DAVUT TURAN

DR. ÖĞR. ÜYESİ ŞEBNEM ATASARAL

YÜKSEK LİSANS TEZİ
SU ÜRÜNLERİ ANABİLİM DALI

RİZE-2019

Her Hakkı Saklıdır

T.C.
RECEP TAYYİP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ANADOLU'DAKİ *CARASO BARBUS* KARAMAN, 1971 (Actinopterygii:
Cyprinidae) GENUSUNUN GENETİK ANALİZİ**

Prof. Dr. Yusuf BEKTAŞ danışmanlığında, Didem BAHADIR tarafından hazırlanan bu çalışma, Enstitü Yönetim Kurulu kararıyla oluşturulan jüri tarafından 02/09/2019 tarihinde Su Ürünleri Anabilim Dalı'nda **YÜKSEK LİSANS** tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

Unvanı Adı Soyadı

İmzası

Başkan

: Prof. Dr. Yusuf BEKTAŞ

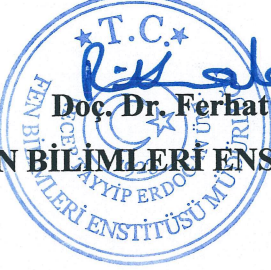
Üye

: Prof. Dr. Davut TURAN

Üye

: Dr. Öğr. Üyesi Şebnem ATASARAL

(Handwritten signatures of Prof. Dr. Yusuf BEKTAŞ, Prof. Dr. Davut TURAN, and Dr. Öğr. Üyesi Şebnem ATASARAL)


Doç. Dr. Ferhat KALAYCI
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRÜ

ÖNSÖZ

“Anadolu’daki *Carasobarbus* Karaman, 1971 (Actinopterygii: Cyprinidae) Genusunun Genetik Analizi” adlı bu çalışma, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Anabilim Dalı’nda “Yüksek Lisans Tezi” olarak hazırlanmıştır.

Çalışmam süresince Yüksek Lisans tez danışmanlığımı üstlenerek bu çalışmanın planlanıp değerlendirilmesinde desteğini ve bilgisini benden esirgemeyerek yetişmeye katkıda bulunan değerli hocam Prof. Dr. Yusuf BEKTAŞ’a;

Laboratuvar çalışmalarında bana yardımcı olan, araştırmalarımın her aşamasında beni engin fikirleriyle yönlendiren saygıdeğer hocam Öğr. Gör. İsmail AKSU’ya, yardımlarını esirmeyen, tecrübeleri ve manevi desteğiyle motive eden çok değerli hocam Arş. Gör. Cüneyt KAYA’ya teşekkürü bir borç bilirim.

Hayatım boyunca destek ve ilgilerini benden esirmeyen aileme çok teşekkür ederim.

Didem BAHADIR

TEZ ETİK BEYANNAMESİ

Tarafımdan hazırlanan “Anadolu’daki *Carasobarbus* Karaman, 1971 (Actinopterygii: Cyprinidae) Genusunun Genetik Analizi’ başlıklı bu tezin, Yükseköğretim Kurulu Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesindeki hususlara uygun olarak hazırladığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal işlemi kabul ettiğimi beyan ederim.
03/09/2019



Didem BAHADIR

Uyarı: Bu tezde kullanılan özgün ve/veya başka kaynaklardan sunulan içeriğin kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZET

ANADOLU'DAKİ *CARASOBARBUS* KARAMAN, 1971 (Actinopterygii Cyprinidae) GENUSUNUN GENETİK ANALİZİ

Didem BAHADIR

**Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Su Ürünleri Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi
Danışmanı: Prof. Dr. Yusuf BEKTAŞ**

Anadolu'daki üç *Carasobarbus* türünün 10 popülasyonundan 70 bireyin mitokondri sitokrom b geninin (1141 bp) DNA dizin analizi yapılmıştır. Toplamda sekiz haplotip tanımlandı. Sitokrom b veri analizi kullanılarak, tür içi genetik mesafenin % 0,00 ile % 0,21 arasında, türler arası için ise % 2,6 ile % 9,0 arasında değiştiği belirlenmiştir. Yeterli örneklem büyüklüğüne sahip olmayan Gaziantep örnekleri hariç yüksek haplotip çeşitlilik ($H_d = 0,590-0,833$) ve düşük nükleotit çeşitlilik ($P_i = 0,05-0,65$) değerleri, genetik sürüklenme ve kurucu etkilere karşı duyarlı olan küçük popülasyonların varlığı ile açıklanabilir. Komşu birleştirme, maksimum tutumluluk ve maksimum olasılık metodları yoluyla oluşturulan filogenetik analizler yüksek güvenilirlik değerleri ile desteklenen benzer topolojiler üretmiştir. Filogenetik ağaç topolojileri gösterdi ki *C. apoensis* haplotipleri *C. luteus* haplotipleri içinde konumlandığı için türün geçerliliği morfolojik olarak kontrol edilmelidir. Diğer taraftan, *C. luteus* içindeki Kahta popülasyonu dikkate değer düzeyde yüksek genetik çeşitliğe sahip olduğundan morfolojik olarak mutlaka yeniden değerlendirilmelidir. Pliyosen döneminde Afrika ve Avrupa levhaları arasındaki çarpışmadan kaynaklanan Anadolu Platosu'nun tektonik yükselişi muhtemelen Anadolu köşegeninin batısında *Carasobarbus*'un varlığını engellemiştir.

2019, 47 sayfa

Anahtar Kelimeler: *Carasobarbus*, mtDNA, Filogeni, Anadolu.

ABSTRACT

GENETIC ANALYSIS OF *CARASOBARBUS* KARAMAN, 1971 (Actinopterygii Cyprinidae) IN ANATOLIA

Didem BAHADIR

Recep Tayyip Erdogan University
Graduated School of Natural and Applied Sciences
Department of Fisheries
Master Thesis
Supervisor: Prof. Dr. Yusuf BEKTAŞ

We sequenced the complete mitochondrial cytochrome b gene (1141 bp) of 70 individuals from ten populations of three *Carasobarbus* species in Anatolia. Totally eight haplotypes were identified. The intraspecies genetic distance ranged from 0.00% to 0.21%, while it varied from 2.6% to 9.0% for interspecies. Except for Gaziantep samples with low sample size, high haplotype diversity ($H_d = 0,590-0,833$) and low nucleotide diversity ($P_i = 0,05-0,65$) values can be explained by the presence of small populations sensitive to genetic drift and constituent effects. Phylogenetic analyses conducted through the application of neighbour joining, maximum likelihood and maximum parsimony produced similar topologies supported by high bootstrap values. Phylogenetic tree topologies showed that the *C. apoensis* haplotype was located in the *C. luteus* species. Therefore, the validity of species status of *C. apoensis* should be checked morphologically. On the other hand, since the Kahta population in *C. luteus* has a remarkably high genetic diversity, it must be re-evaluated morphologically. The tectonic uplift of the Anatolian Plateau between the African and European plates during the Pliocene period may have probably prevented the presence of *Carasobarbus* in the west of the Anatolian diagonal.

2019, 47 pages

Keywords: *Carasobarbus*, mtDNA, Phylogeny, Anatolia

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	I
TEZ ETİK BEYANNAMESİ.....	II
ÖZET	III
ABSTRACT.....	IV
İÇİNDEKİLER	V
ŞEKİLLER DİZİNİ	VII
TABLolar DİZİNİ.....	VIII
SEMBOLLER ve KISALTMALAR DİZİNİ	IX
1. GENEL BİLGİLER	1
1.1. Giriş	1
1.2. Sazansı Ailesinin Genel Özellikleri.....	2
1.2.1. <i>Carasobarbus</i> Genusunun Genel Özellikleri.....	3
1.2.2. Habitat, Biyolojisi, Dağılımı ve Taksonomik Durumu.....	3
1.3. Sistematikte Kullanılan Genetik Teknikler.....	7
1.3.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)	7
1.3.2. DNA Dizi Analizi	8
1.3.3. Sanger Zincir Sonlandırma Yöntemi	9
1.4. Filogenetik Analizler	10
1.4.1. Filogenetik Ağaç.....	10
1.4.2. Haplotip Ağı Analizi.....	14
1.5. Mitokondri DNA (mtDNA)	15
1.6. Sitokrom b.....	17
1.7. Literatür özeti.....	17
2. YAPILAN ÇALIŞMALAR.....	20
2.1. Materyal	20
2.2. Yöntem.....	21
2.2.1. Total DNA Eldesi	21
2.2.2. Total DNA ve PZR Ürünlerinin Kalite ve Miktarının Belirlenmesi	21
2.2.3. PZR Uygulamaları	22
2.2.4. DNA Dizin Analizi	23
2.2.5. Dizi Hizalama ve Filogenetik Analiz.....	23

3.	BULGULAR.....	25
3.1.	Genetik Çeşitlilik	25
3.2.	Filogenetik Analizler	29
4.	TARTIŞMA ve SONUÇLAR.....	31
5.	ÖNERİLER.....	36
	KAYNAKLAR	37
	ÖZGEÇMİŞ	47



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. <i>Carasobarbus luteus</i> görünümü.	5
Şekil 2. <i>Carasobarbus kosswigi</i> görünümü.	6
Şekil 3. <i>Carasobarbus chantrei</i> görünümü.	7
Şekil 4. Mitokondri genomunun yapısı	16
Şekil 5. <i>Carasobarbus</i> türlerine ait mtDNA Cyt b haplotiplerinin komşu katılım (NJ) metodu yardımıyla oluşturulan filogenetik ağaç topolojisi.	29
Şekil 6. <i>Carasobarbus</i> türlerine ait mtDNA Cyt b haplotiplerinin maksimum tutumluluk (MP) metodu yardımıyla oluşturulan filogenetik ağaç topolojisi.	30
Şekil 7. <i>Carasobarbus</i> türlerine ait mtDNA Cyt b haplotiplerinin maksimum olasılık (ML) metodu yardımıyla oluşturulan filogenetik ağaç topolojisi.	30

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. <i>Carasobarbus</i> Genusunun Sistematigi	4
Tablo 2. <i>Carasobarbus</i> genusuna ait türlerin toplanıldığı istasyonlar, koordinatları ve örnek sayıları.....	20
Tablo 3. Polimeraz zincir reaksiyonunda kullanılan kimyasallar ve miktarları.....	22
Tablo 4. PZR döngü koşulları	23
Tablo 5. <i>Carasobarbus</i> genusuna ait türlerin örnek sayıları (N), haplotip kodları (HC), haplotip sayıları (HN), haplotip çeşitlilik (Hd) ve nükleotit çeşitlilik (Pi) değerleri.	26
Tablo 6. <i>Carasobarbus</i> genusuna ait tür içi ve türler arasındaki ikili dizin farklılığı değerleri.	27
Tablo 7. <i>Carasobarbus</i> genusuna ait 7 Orta Doğu türünün değişken nükleotit pozisyonları.....	28

SEMBOLLER ve KISALTMALAR DİZİNİ

A	Anal Yüzgeç Işın Sayısı
A	Adenin
ATP	Adenozin Trifosfat
Cyt <i>b</i>	Sitokrom <i>B</i>
D	Dorsal Yüzgeç Işın Sayısı
ddH ₂ O	İki Kere Distile Su
ddNTP	Dideoksiribonükleozit Trifosfat
D-Loop	Kontrol Bölgesi
DNA	Deoksiribonükleik Asit
dNTP	Deoksiribonükleozit Trifosfat
LL	Ligne Lateral Pul Sayısı
mg	Miligram
MgCl ₂	Magnezyum Klorür
ML	Maksimum Likelihood
ml	Mililitre
mM	Milimolar
MP	Maksimum Parsimoni
mtDNA	Mitokondriyal Deoksiribonükleik Asit
ng	Nanogram
NJ	Neighbor Joining
P	Pelvik Yüzgeç Işın Sayısı
PZR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RNA	Ribonükleik Asit
TAE	Tris-Asetik Asit-Etilendiamintetraasetik Asit
T _m	Primerlerin Erime Sıcaklığı
tRNA	Taşıyıcı Ribonükleik Asit
UPGMA	Aritmetik Ortalamayı Kullanan Ağırlıksız Çift Grup
V	Pektoral Yüzgeç Işın Sayısı
vd.	Ve Diğerleri
μl	Mikrolitre

1. GENEL BİLGİLER

1.1. Giriş

Dünya nüfusunun artmasıyla birlikte nitelik ve nicelik olarak tarım alanlarının azalmasına ek olarak oluşan ekonomik ve sosyal sebepler hayvansal gıdalara olan gereksinimi artırmıştır. Bu gereksinimin karşılanabilmesi için hayvan başına olan verimliliğin artırılması gerekmektedir. Bu artan insan yoğunluğu sebebiyle besin kaynakları sıralamasında üst sıralarda bulunan, hayvansal protein kaynaklarının doğal şartlarda yeterli düzeyde bulunamamasından dolayı yetiştiricilik üretimine yönelmek kaçınılmaz olmuştur. Bu sebepten dolayı yetiştiricilik çalışmalarında protein kaynağı yönünden daha elverişli ve kazanımı fazla olan türler üzerine bilimsel çalışmalar yoğunlaşmıştır. Buna dahil olarak genetik biliminden faydalanılarak hayvansal protein yönünden zengin, kısa sürede tüketim hacmine ulaşabilmek için benzer türler arası hibrit tür çalışması fazlalaşmıştır.

Türkiye doğal göl, barajlar, lagünler, akarsular ve göletler açısından oldukça zengin bir ülkedir. Bu özellikleri sebebiyle su ürünleri üretimi, hayvansal protein ve biyolojik gereksinimi karşılamak için kaçınılmaz olmuştur.

Tatlısular ekolojik ve biyolojik olarak büyük öneme sahip olan doğal kaynaklarımız içerisinde yer alır. Bu doğal kaynaklarımızdaki biyoçeşitliliği koruyabilmemiz ve sürdürülebilmesini sağlayabilmemiz için bu kaynaklarımızdaki canlıların tespit edilmesi gerekmektedir (Kence ve Bilgin, 1996). Batılı ülkelerde bu yönteki çalışmalar çok eskilere dayanmasına rağmen ülkemizde ise ilk kayıtları Abbolt tarafından sağlanmıştır (Geldiay ve Balık, 1996). Ülkemiz tür çeşitliliği ve endemiklik açısından çok zengin tatlı su balıklarına sahiptir. Bu tür çeşitliliği ve zenginliği çok çeşitli boyutlarda araştırma yapmaya yöneltmiştir. Türkiye’de su ürünleri açısından düşünüldüğünde farklı sebepler ortaya çıkmaktadır. Tatlısularda 100 bin ton alabalık üretilmekte olup, tuzlu sularda çipura levrek üretiminde bu rakam 200 bin tonlara çıkmaktadır. Ayrıca ekonomik olarak getirisi fazla olmaktadır. Üretimin çok büyük bir miktarı ihracata yönelik olmaktadır.

Yok olma tehdidi altında olan popölasyonların araştırılması ve bunlara uygun korumayı gerçekleştirebilmek için türün biyolojisi, habitatı ve genetik çeşitliliğini içeren çok kapsamlı bir araştırma yapmak gerekir (Frankham, 2002).

Taksonomi bilim dalına göre canlıları benzerlik ve akrabalık durumlarına göre sınıflandırmada morfolojik karakterlerle birlikte genetik karakterler de kullanılmış ve kayda değer sonuçlar elde edilmiştir (Qi vd., 2007). Taksonomide morfolojik ve moleküler çalışmalar yapılmaktadır. Morfolojik çalışmaların ilki teşhis yöntemidir. Bu yöntemle göre seçilen örnek yeri taksonomide belirlenmiş örnek ile karşılaştırılır. Diğerleri ise, sınıflandırmadır. Sınıflandırmaya göre canlılar, tür, cins, aile, takım gibi taksonomik olarak düzenlenir. Balıklar üzerinde yapılan çalışmalar genellikle morfolojik karakterlerden yararlanarak yapılmaktadır.

Aynı türün farklı alanlarda yaşayan bireyleri morfolojik ve anatomik olarak birbirinden farklı olabilir. Canlının gen yapısının dış görünüşüne göre baskın olması nedeniyle taksonomik çalışmalarda genetikten faydalanılmıştır (Klug ve Cummings, 2000). Sınıflandırmada yaşanan sorunlar sebebiyle filogeni ve taksonomi alanında mtDNA tercih edilmiştir. mtDNA belirteçleri çeşitli türlerde genetik çalışmalarda kullanılmaktadır (Xra vd., 2016).

1.2. Sazansı Ailesinin Genel Özellikleri

Sazansı ailesi, tüm dünyada tatlı su balıkları içinde yaklaşık 5000 tür içermektedir. Sazansı familyası Madagaskar, Avustralya, Yeni Zelanda ve Güney Amerika haricinde oldukça geniş bir yayılım alanına sahip olmasına rağmen (Kottelat ve Freyhof, 2007) familyaya ait çoğu cinsin dar bir yayılım alanlarına sahip olması zoocoğrafya açısından son derece önemlidir (Banarescu, 1991).

Sazansı ailesi; biyolojik araştırmalar, insan besini ve akvaryum balıkçılığı açısından dünyanın önemli tatlı su balık türlerini içermektedir. Ülkemizin çoğu bölgesinde bulunur ve iç su balıklarının büyük bir kısmını oluştururlar. Ilıman iklim bölgelerinde yaşayıp ekonomik öneme sahiptirler. Sıcaklığın yanında soğuğa karşı da dayanıklı türlerdir. 4-30 °C arasındaki su sıcaklıklarına kolayca adapte olabilirler.

20°C'nin üzerindeki su sıcaklıklarında da yaşayabilirler. ‰5 tuzlulukta 5-9 arasındaki pH aralıklarında yaşarlar (Balık, 1997).

Göl ve nehir sistemlerinde doğal olarak yayılım gösterirler. Su sıcaklığı ve besin bolluğuna bağılı olarak çok hızlı büyüyen balıklardır. Bulunduğı ortamın dip faunası ile beslenen hem etçil hem de otçul balıklardır. Yiyeceklerini dipteki su canlıları, mikroskobik canlılar ve bitkisel gıdalar oluşturur (Nelson, 1994).

Cyprinidae ailesi en büyük tatlı su balıkları ailesi ve tür bakımından zengin olan omurgalılar ailesidir (Nelson, 2006). Türkiye iç sularında 36 genus, 193 tür ile temsil edilmektedir. (Kuru vd., 2014). Demirsoy (1997)'a göre bunları ayırt etmekte kullanılan taksonomik ölçütler; dudakların yapısı, bıyık sırası ve sayısı, yutak kemikleri, yutak dişlerinin dizilimi ve durumu, birinci solungaç yayındaki solungaç dikiği sayısı ve yapısı, hava kesesi, pullar, yüzgeçlerin yeri gibi özelliklerdir.

1.2.1. *Carasobarbus* Genusunun Genel Özellikleri

1.2.2. Habitat, Biyolojisi, Dağılımı ve Taksonomik Durumu

Carasobarbus genusu 1971'de Karaman tarafından tanımlanmıştır. Genusun üyeleri Güneybatı Asya, Kuzeybatı Afrika, Mezopotamya ve Güneybatı Arap yarımadalarına dağılmıştır (Froese ve Pauly, 2016). *Carasobarbus* türleri bu coğrafyalarda ihtiyofauna için önemli bir unsurdur. Ülkemizdeki *Carasobarbus* genusu üyeleri Dicle, Fırat, Asi ve Keuik nehir sistemlerinde dağılım göstermektedirler.

Geldiay ve Balık (1988)'a göre, Karaman (1969) yaptığı revizyon ile Cyprinidae ailesine dahil edilmiş olan *Varicorhinus* genusunu, farklı kılan sebeplerden dolayı *Capoeta* olarak değiştirmiştir. Karaman 1971 yılında, Ladiges (1960)'in ülkemiz için öne sürdüğü 21 *Barbus* türünü 4 genus (*Barbus*, *Tor*, *Bertinius*, *Carasobarbus*) olarak bir araya getirmiş, türlerin birçoğunun sinonim olduklarını söylemiştir (Kuru, 2004).

Vücut iri ve yuvarlak olup sikloid pullarla örtülüdür. Ağızları subterminal veya ventral konumlu, at nalı veya hilal şeklinde olup, bir veya iki çift kısa bıyık taşırlar. Dudaklar genellikle ince olsada kalın dudaklı bireylerde rastlanmaktadır (örneğin,

Carasobarbus kosswigi). Dorsal yüzgecin önünde kalan sırt bölgesinde iyi gelişmiş bir karina görülür. Dorsal yüzgecin serbest kenarı hafif içeriye doğru girintilidir ve sonuncu basit ışını iyi kemikleşmiştir. Söz konusu kemik ışınının arka kenarında dişçikler bulunur. Dorsal ve ventral aşağı yukarı aynı hizadan başlar. Boyu yaklaşık olarak 30-40 cm dir. Renk, sırtlarda kahverengi sarı, yan taraflarda ise sarı beyaz veya sarımsıdır (Geldiay ve Balık, 1996).

Tablo 1. *Carasobarbus* Genusunun Sistematigi (Krupp, 2013)

Alem	Animalia (Hayvanlar)
Şube	Chordata (Kordalılar)
Grup	Craniata (Gerçek kafataslılar)
AltŞube	Gnathostomata (Gerçek çeneliler)
ÜstSınıf	Pisces (Balıklar)
Sınıf	Osteichthyes (Kemikli balıklar)
AltSınıf	Actinopterygii (Işınsal yüzgeçli)
ÜstTakım	Teleostei (Gerçek kemikli balıklar)
Takım	Cypriniformes
Aile	Cyprinidae
Cins	<i>Carasobarbus</i> (Bizir)
Tür	<i>C. luteus</i> (Heckel, 1843) <i>C. apoensis</i> (Banister ve Clarke, 1977) <i>C. canis</i> (Valenciennes, 1842) <i>C. chantrei</i> (Sauvage, 1882) <i>C. exulatus</i> (Banister ve Clarke, 1977) <i>C. fritschii</i> (Gunther, 1874) <i>C. harterti</i> (Gunther, 1901) <i>C. kosswigi</i> (Ladiges, 1960) <i>C. sublimus</i> (Coad ve Najafpour, 1997)

Bu türlerden üçü (*C. luteus*, *C. kosswigi* ve *C. chantrei*) ülkemiz tatlı sularında dağılım göstermektedir.

Tür: *Carasobarbus luteus* (Heckel, 1843)



Şekil 1. *Carasobarbus luteus* (Heckel, 1843) görünümü (Kaya vd., 2016).

Carasobarbus luteus (Heckel, 1843), Sazangiller familyasından bir türdür. Sarı halter balığı olarak bilinir. Dünyada Kor Nehri, Maharlu Gölü, Körfez ve Hürmüz havzaları, Irak ve Suriye yayılım gösterirler. Ülkemizde Dicle, Fırat ve Kueik nehirlerinde geniş bir dağılıma sahiptir. Mezopotamya’da doğal ve yapay göllerde bulunur (Kuru 1979; Unlü 1991; Gökçek ve Akyurt, 2008; URL-1).

Teşhis özellikleri; D IV 10–11, A III 5, P I 14–15, V I 7, GR 15–16, LL 28–30, L.trans. 5/4 (Kaya vd., 2016).

Vücut büyük ve yuvarlak ölçekler ile kaplıdır. Uzunluk ve ağırlık 9-35 cm, 20-250 gram arasında değişir. Renk kahverengi sarımsı, yanlarda sarımsı beyazdır. Ağız terminal veya yarı terminal konumludur. Eti lezzetli olduğu için halk tarafından gıda olarak kullanılır (Bilici 2013). Türe yüksek talep nedeniyle ekonomik değeri yüksektir (Borkenhagen vd., 2011; Bilici vd., 2013).

Tür : *Carasobarbus kosswigi* (Ladiges, 1960)



Şekil 2. *Carasobarbus kosswigi* (Ladiges, 1960) görünümü (Kaya vd., 2016).

Carasobarbus cinsinin bıyıklı bir balık türüdür. Başlangıçta *Cyclocheilichthys kosswigi* olarak tanımlanmıştır. Himri balığı olarak bilinir. İran, Irak, Suriye ve Türkiye de Dicle ve Fırat nehir sistemlerinde yaygın olarak yaşarlar (Abdoli 2000; URL-1). Daha sonra Basra Körfezi Havzası'nda varlığına rastlanmıştır (Esmaili vd., 2006).

Teşhis özellikleri; D IV 10, A II–III 6, P I 14–15, V II 7–8, GR 14–16, LL 32–37, L.trans. 6–7/5–6 (Kaya vd. 2016). Maksimum uzunlukları 15 cm'dir. Bentopelajik astropikal alanlarda ve huzlu akan nehirlerde yaşayıp küçük hayvanlarla beslenirler (Borkenhagen ve Krupp, 2013).

Tür: *Carasobarbus chantrei* (Sauvage, 1882)

Bizir balığı olarak bilinir. Türkiye ve Suriye'de nehir sularında yaşamlarını sürdürürler. Bentopelajik ve ılıman suları tercih ederler. Ülkemizde, Gaziantep, Asi Nehri ve Tahtalıköprü Barajında yaşarlar. Erkek bireylerde azami uzunlukları 56.1 cm'ye kadar çıkmaktadır. Vücut derinliği genellikle baş uzunluğundan daha büyüktür (Borkenhagen ve Krupp, 2016). Dorsal yüzgeç basit ışınları 3-4, yumuşak ışınları ise 9-10'dur. Dorsal yüzgecin son basit ışını, orta derecede kemikleşmiştir. Vücutlarının alt ve üst görünimleri benzerdir. Ağız subterminaldir (Ekmekçi ve Banarescu, 1998).



Şekil 3. *Carasobarbus chantrei* (Sauvage, 1882) görünümü (Borkenhagen ve Krupp, 2013).

1.3. Sistematikte Kullanılan Genetik Teknikler

1.3.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) hedef DNA bölgesinin artırılması esasına dayanmaktadır. Bu sistem ile DNA molekülünün kat ve kat kopyasını yapmak mümkündür. PCR, DNA Dizi Analizi ve DNA haritasının çıkarılmasında, Genetik hastalıkların teşhisinde, DNA parmak izinin belirlenmesinde, Adli tıptaki numunelerin genetik olarak isimlendirilmesinde, tarımsal alanda, sistematik ve evrim çalışmalarında yaygın olarak kullanılmaktadır (Çarhan vd., 2016).

Polimeraz Zincir Reaksiyonu 1985 yılında Cetus isimli bir biyoteknoloji firmasında çalışan Kary Mullis tarafından icat edilmiştir. Bu icadı, Kary Mullis'in 1993 yılında Nobel Ödülü almasına neden olmuştur.

Polimeraz Zincir Reaksiyonunun oluşturulabilmesi için nanogram büyüklüğündeki DNA bile yeterli gelmektedir. PCR tekniği ile belli bir DNA parçasını çoğaltabilmek amacıyla, hedef DNA'nın nükleotit sırası ile ilgili bilgi gerekir. Bu bilgi, tek zincirli hale getirilen DNA'ya bağlanacak oligonükleotit primerlerin sentezlenmesinde kullanılır. Bu primerler, çoğaltılacak DNA tek zincirindeki kendi ile komplementer olan dizilerle eşleşerek temas olur. Yüksek sıcaklığa uyum sağlamış bir DNA polimeraz (*Taq* DNA polimeraz olarak adlandırılır) ilgilenilen DNA'daki hedef

bölgenin DNA zincirinin sentezlenmesini sağlar. PCR reaksiyonunun üç temel safhası vardır (Kahya vd., 2013).

Polimeraz Zincir Reaksiyonunun ilk aşamasında, hedef DNA molekülü, protein ve nükleik asitlerin doğal yapısında mevcut olan fiziksel ve kimyasal ayrışma sonucu tek yapılı hale getirilir. Bu denatürasyon olarak adlandırılır. Denatürasyon olayının gerçekleşebilmesi için 90-94 °C'de 4-5 dakika ısıtma işlemi gerçekleştirilir. Bulunulan ortamın sıcaklığı primerlerin bağlanma sıcaklığına göre ayarlanarak 45-65 °C arasında tutularak tek zincirli olan DNA molekülüne bağlanır. Primerler 15-30 nükleotit uzunluğundadır ve kopyası yapılacak olan DNA molekülünün komşu dizisini tanıyıp bağlanır. Primer bağlanması gerçekleştikten sonra sıcaklık, zincirin uzaması gereken sıcaklığa ayarlanır. Polimeraz Zincir Reaksiyonunda DNA polimeraz enzimi zincirlerin arasında kalan bölgeyi 72 °C'de sentezler. DNA polimeraz enzimi primerlerin bağlanma bölgesinden itibaren nükleotitleri 5'→3' yönünde ekleyerek hedef DNA molekülünün kopyasını yapmış olur (Klug ve Cummings, 2000). Bu işlemin gerçekleşebilmesi için *Thermus aquaticus* isimli bakteriden elde edilen *Taq* DNA polimeraz enziminden yararlanılır. Bu üç yöntem ile oluşturulan Polimeraz Zincir Reaksiyonu; çift yapılı DNA molekülünün tek yapılı hale getirilmesi, primerlerin sıcaklığının uygun olup hedef DNA'ya bağlanması ve DNA polimeraz enzimiyle birlikte hedef DNA bölgesinin çoğalması polimeraz zincir reaksiyonu olarak adlandırılmaktadır. PCR bir zincirleme tepkimesidir, yeni DNA molekülü miktarı her döngü sonunda iki katına çıkar ve meydana gelen zincirler de bir sonraki döngüde kalıp görevi yaparlar. Bir PCR döngüsü 4-5 dakika sürebilir ve bu işlem genellikle 30-50 döngü arasında tekrarlanabilir (Kahya vd., 2013).

1.3.2. DNA Dizi Analizi

DNA dizilimi, bir DNA molekülü oluşturan nükleotid baz sıralarının veya DNA dizisinin 'okunması' sırasının belirlenmesidir. DNA sıralamasını gerçekleştirmek için kullanılabilecek birkaç yöntem vardır. 1970'lerde geliştirilen ilk sıralama yöntemlerinden biri olan Maxam-Gilbert yöntemi, DNA'nın kimyasal modifikasyonuna ve daha sonra belirli bazlarda ayrılmaya dayanır (Maxam ve Gilbert, 1977). Daha popüler olan erken yöntem olan Sanger dizilimi, DNA sentezi sırasında belirli

uzunluklarda ayrılmış farklı uzunluklarda etiketli DNA parçaları üretmek için spesifik DNA zinciri sonlandırıcılarının kullanılması içerir (Sanger ve Coulson, 1975).

DNA dizilimi; gen haritalarının ortaya çıkarılması, bireye ait genotipin tanımlanması, DNA polimorfizminin tespit edilmesi, genetik çeşitlilik uygulamaları, filogenetik çalışmalar, ebeveyn ve akrabaların tespiti, hastalık ve genetik bozuklukların teşhisi, adli tıp çalışmaları ve moleküler arkeolojide yaygın olarak kullanılmaktadır.

DNA Dizi Analizinde günümüzde yaygın olarak kullanılan Sanger zincir sonlanma yöntemidir (Sanger vd., 1977).

1.3.3. Sanger Zincir Sonlandırma Yöntemi

Sanger'ın “zincir sonlandırması” veya dideoksi tekniğinin gelişimi, DNA dizileme teknolojisinin ilerlemesini 1977'de sonsuza dek değiştirdi (Sanger ve Nicklen, 1977). Zincir sonlandırma tekniği, DNA iplikçiklerinin monomerleri olan deoksiribonükleotitlerin (dNTP'ler) kimyasal analoglarını kullanır. Dideoksinükleotitler (ddNTP'ler), DNA zincirlerinin uzatılması için gereken 3' OH grubundan yoksundur ve bu nedenle sonraki dNTP'nin 5' fosfat ile bir bağ oluşturamaz (Chidgeavadze ve Beabealashvili, 1984). Radyoaktif izotoplarla işaretli ddNTP'lerin, standart dNTP'lerin konsantrasyonunun bir kısmındaki bir DNA uzatma reaksiyonuna karıştırılması, dideoksi nükleotitler iplikçik uzadıkça rastgele dahil edildiklerinde, dideoksi nükleotitleri daha fazla ilerlemeyi durdurarak üretilebilecek her uzunluktaki DNA ipliği ile sonuçlanır. Her bir ddNTP bazını içeren dört paralel reaksiyon gerçekleştirerek ve sonuçların bir poliakrilamid jelin dört şeridi üzerinde çalıştırılmasıyla, ilgili şablonda bir radyoaktif bant olacağından, orjinal şablondaki nükleotit dizisinin ne olduğunu ortaya çıkarmak için otoradyografi kullanılabilir. Diğer tekniklerle aynı prensipte çalışırken (olası tüm artımlı uzunluk sekanslarının üretilmesi ve nihai nükleotidin etiketlenmesi), doğruluk, sağlamlık ve kullanım kolaylığı, dideoksi zincir sonlandırma yönteminin DNA'yı sıralamak için yıllarca kullanılan en yaygın teknoloji olmasına yol açtı (Heather ve Chain, 2016).

Takip eden yıllarda Sanger dizilemede bir dizi iyileştirme yapıldı; bunlar temelde florometrik tabanlı algılama ile fosfor veya tritium-radyo-etiketlemenin ve kılcal

temelli elektroforez yoluyla gelişmiş tespitidir. Bu gelişmelerin her ikisi de gittikçe daha da otomatikleştirilen otomatik DNA dizileme makinelerinin (Smith vd., 1985; Ansorge vd., 1986, Ansorge vd., 1987; Prober, 1987; Kambara vd., 1988; Swerdlow ve Gesteland, 1990; Luckey ve Drossman, 1990) ve ardından giderek artan karmaşık türlerin genomlarını dizmek için kullanılan ilk ticari DNA dizileme cihazının geliştirilmesine katkıda bulundu (Hunkapiller vd., 1991).

1.4. Filogenetik Analizler

1.4.1. Filogenetik Ağaç

İki veya daha fazla organizma grubu arasındaki ilişkileri belirlemeye yönelik mevcut yaklaşım filogenetik ağaçlar olarak adlandırılır. Filogenetik ağaçlar evrim tarihinin yeniden yapılanması hipotezi üzerine inşa edilir. Diğer bir deyişle filogenetik bir ağaç çizdiğimizde, bir tür kompleksinin veya grubunun ortak bir atadan nasıl evrimleştiğine dair en iyi hipotezimizi temsil edilmiş olur. Filogenetik ağaçlar, dallar ve düğümler olmak üzere iki bölümden oluşurlar. Dallar, atasal popülasyonlarının zamana bağlı hallerini incelemektedir. Her bir düğüm ise bir ayrışma olayını temsil eder veya tek bir grubun iki soy grubuna bölünmesiyle oluşur. Filogenetik ağaç topolojisinde ucunda iki farklı operasyonel taksonomik üniteler (OTU) olan iki kolun çıktığı her bir düğüm takip eden OTU'ların ortak bir atadan geldiğini göstermektedir (Purves vd., 2003; Reece vd., 2011).

Filogenetik bir ağaçta, iki türün birbiriyle olan ilişkisi çok özel bir anlama sahiptir. İki tür daha yeni bir ortak ataya sahipse daha fazla, daha az ortak bir ataya sahipse daha az ilişkili olduğu kabul edilir. Filogenetik bir ağaç oluşturmak için, bilim insanları sıklıkla türlerin veya ilgili diğer grupların birçok özelliğini karşılaştırır ve analiz eder. Bu özellikler dış morfoloji, iç anatomi, davranışlar, biyokimyasal yollar, DNA ve protein dizileri ve hatta fosillerin özelliklerini içerebilir (Purves vd., 2003; Baum, 2008; Reece vd., 2011).

Filogenetik ağaç yapma yöntemleri, mesafe temelli yöntemler ve ve karaktere dayalı yöntemler olarak iki gruba ayrılırlar.

1.4.1.1. Mesafe Temelli Yöntemler

Prensip olarak, mesafe yöntemleri bir ağacı çift yönlü genetik mesafeler matrisine sığdırmaya çalışır (Felsenstein, 1981). Her iki sekans için, mesafe, iki sekansın p mesafesi olarak tanımlanan farklılaştığı pozisyonların oranına dayanan tek bir değerdir. P-mesafesi gerçek genetik mesafenin küçümsenmesidir, çünkü bazı nükleotit pozisyonları çoklu baz değişimi olayları yaşamış olabilir. Nitekim, mutasyonlar genlerde sürekli olarak sabitlendiğinden, evrimsel zaman geçtikçe aynı sıra pozisyonunda meydana gelen çoklu baz değişimi şansı artmıştır. Bu nedenle, mesafeye dayalı yöntemlerde, evrimsel değişimlerin doğası hakkında özel varsayımlar yapan belirli bir evrimsel model uygulanarak gerçekte meydana gelen baz değişimi sayısı tahmin edilmeye çalışılmaktadır. Tüm çift yönlü mesafeler bir dizi için hesaplandığında, bir ağaç topolojisi daha sora çeşitli yöntemlerle çıkarılabilir (Van de Peer, 2009).

Genetik mesafelerin doğru tahmin edilebilmesi için belirli bir nükleotit veya amino asit dizisi için en uygun evrimsel model seçilmelidir. Belirlenen genetik mesafeler temelinde ağaç topolojilerini ortaya çıkarmak için kullanılabilecek mesafe temelli yöntemler; UPGMA ve Komşu Birleştirme (Neighbour joining) yöntemleri vardır.

1.4.1.1.1. Kümeleme yöntemi (UPGMA Aritmetik Olarak Ağırlıklandırılmamış Çift Grup Yöntemi)

Kümeleme yöntemleri, taksonomik fenogramların oluşturulması için başlangıçta geliştirilen ağaç oluşturma yöntemleridir ki (Sokal ve Michener, 1958; Sneath ve Sokal, 1973) genel olarak fenotipik benzerliğe dayalı ağaçlardır. Daha sonra, bu yöntemler ultrametrik ağaçlar oluşturmak için filogenetiğe uygulanmıştır. Ultrametrik ağaçlar, tüm OTU'ların ağacın kökünden eşit uzaklıkta olduğu ve sadece moleküler bir saatin varsayılmasıyla mümkün olan köklü ağaçlardır. Aritmetik olarak ağırlıklandırılmamış çift grup yöntemi (UPGMA) sıralı bir kümeleme algoritması kullanır. Bir ağaç, birbirlerine en çok benzeyen dolayısıyla genetik uzaklıkları en az olan OTU'lar olarak adlandırılan sekansları veya sekans gruplarını gruplandırmak suretiyle aşamalı olarak yapılır (Van de Peer, 2009).

1.4.1.1.2. Minimum Evrim ve Komşu Birleştirme Yöntemi

Sıradan kümelenme yöntemlerinin ciddi kısıtlamaları nedeniyle, ilave uzaklık ağaçlarını yeniden yapılandıran algoritmalar geliştirilmiştir. Minimum evrim (ME), Kidd ve Sgaramella-Zonta (1971) tarafından açıklanan ek ağaçları yapmak için kullanılan bir mesafe yöntemidir; Rzhetsky ve Nei (1992), sadece küçük bir farklılığa sahip bir yöntemi tanımlamıştır. ME'de, dalların toplamı olan ağacın uzunluklarını en aza indiren ağaç, filogeninin en iyi tahmini olarak kabul edilir.

ME ağacını tahmin etmek için iyi bir sezgisel yöntem, Saitou ve Nei (1987) tarafından geliştirilen ve Studier ve Keppler (1988) tarafından değiştirilen komşu birleştirme (NJ) yöntemidir. NJ, diziler (türler) arasındaki yolların dal uzunluklarının diziler arasında ikili mesafeleri matrisine uyacak bir ağaç bulur. NJ günümüzde mesafeli ağaçları inşa etmek için en yaygın kullanılan yöntemdir. Verileri, genetik uzaklıklarına göre sınıflandırarak analiz edilen bu sınıflandırma yöntemi, evrimsel saate göre olmadığı için köksüz ağaçlar oluşturulur. Köksüz filogenetik ağaç meydana getiren en kolay yöntemdir (Saitou ve Nei, 1987).

1.4.1.2. Karakter Temelli Yöntemler

Atadan gelen ilişkileri ortaya koymak için evrime dair her veriyi değerlendirir. Daha karışık ve kapsamlı olduğu için daha fazla zaman ve emek isteyen yöntemlerdir. (Li, 2004). Maksimum parsimoni (MP), Maksimum likelihood (ML) ve Bayesian çıkarsama (BI) karakter temelli yöntemlerdir.

1.4.1.2.1. Maksimum Parsimoni (Tutumluluk) Yöntemi

Maksimum parsimoni (MP) yöntemi başlangıçta morfolojileri karşılaştırmak için geliştirilmiştir. Bununla birlikte, gen ağaçlarından tür ağaçlarının çıkarılması için moleküler verilerde giderek daha fazla kullanılmaktadırlar. MP yönteminde, dört veya daha fazla hizalanmış nükleotit veya amino asit dizisi göz önünde bulundurulur. Hizalanmış dizideki her bölge için parsimoni analizi, mümkün olan her bir ağaç için gerçekleştirilir; burada, en az sayıda dönüşümle hizalamayı üreten ağaç, maksimum tutumlu olan ağaç olarak kabul edilir. Yöntemin teorik temeli, herhangi bir fenomenin

açıklamasının, açıklayıcı hipotezin veya teorinin gözlemlenebilir tahminlerinde hiçbir fark yaratmayan, elimine eden veya tıraşlayan mümkün olduğunca az varsayım yapması gerektiğini belirten Occam'ın usturasıdır. Bu nedenle, en basit açıklama en büyük olasılıkla doğru olanıdır (Singh, 2015).

MP yöntemleri diğer ağaç yapı yöntemlerine göre bazı avantajlar sunar. Birincisi, karakter dönüşümlerinin sayısını saymaya dayandıkları için, mesafe ve maksimum olabilirlik yöntemleri için gereken amino asit ve protein değişimi varsayımlarından muaftırlar. Diğer modellerde yapılan varsayımların sağlam olup olmadığı açık olmadığı için, bu tür varsayımlara sahip olmayan MP yöntemlerinden ağaç yapımı daha güvenilir olabilir. Ağaç çıkarımı için kullanılan sekanslar benzer olduğunda, nükleotit baz değişim oranının neredeyse sabit olduğu ve incelenen nükleotitlerin sayısının büyük olduğu deneysel olarak filogenetik ağacın topolojisini elde etmek için MP metodlarının daha güvenilir olduğu gösterilmiştir.

Bir gözlemin karışık biçimde olması parsimoni olarak adlandırılır. Bu nedenle bu ağaçlandırma yönteminde gözlemlenen dizi sıraları ile uyum sağlayan bir ağaç meydana getirmek için gerekli en az mutasyonların belirlenmesini temel alır (Singh, 2015).

Maksimum parsimoni yöntemi çok zaman alıcıdır ve çok sayıda örnek alındığında kullanıma uygun değildir. Maksimum tutumluluk yöntemine göre seçilen ağaç, evrimsel değişkenliğin toplam sayısını en aza indirgeyen ağaçtır. Diğer bir deyişle maksimum parsimoni mümkün olduğunca az evrimsel değişikliklerle birlikte verileri açıklayan filogenetik bir ağaç bulur (Freeman ve Herror, 1999).

1.4.1.2.2. Maksimum Olasılık Yöntemi

1981 yılında maksimum parsimoniye alternatif olarak Joseph Felsenstein tarafından ortaya konulmuştur. Bir çok farklı ağaç içerisinde en iyi ağacı belirlemede istatistiksel testler kullanma imkanı sağlamıştır. Bir parametrenin maksimum olasılık tahmini, olasılık fonksiyonunu en üst düzeye çıkaran değerdir. Bu yaklaşımın amacı, baz değişimi sürecinin parametrelerini ve her ağacın dal uzunluklarını tahmin etmek ve daha sonra nispi olasılıklarını göz önünde bulundurarak ağaç topolojileri arasından seçim yapmaktır. Seçilen bu ağaç, evrimsel tarihe dair temel bir modele göre büyük

olasılıkla ilgili sekans verilerinin ortaya çıkabileceği hipotezini temsil eder. Büyük olasılıkla bu ağaç topolojisi filogeninin maksimum olasılık tahmini olarak seçilir. Dolayısıyla, maksimum olabilirlik ağacı hesaplanırken, her bir ağaç için model parametreleri ve dal uzunlukları hesaplanmalı ve daha sonra en yüksek olasılığı veren ağaç seçilmelidir. (Felsenstein, 1981).

1.4.1.2.3. Bayesian Çıkarsama Yöntemi

İngiliz istatikçi Thomas Bayes tarafından oluşturulan Bayes teoremi, olasılık teorisi ve istatistiklerinde olayla ilgili olabilecek önceden edinilen bilgilere dayanarak bir olayın olasılığını tanımlar.

Çok boyutlu integrallerin sayısal bir algoritma olan Markov Zinciri Monte Carlo (MCMC) yöntemleri (Tanner, 1993), Bayesian çıkarımı için bir araç olarak kullanılır. Bir Monte Carlo entegrasyonu bağımsız örnekler üretir, ancak MCMC bir denge dağılımı sağlayan bir Markov zinciri aracılığıyla bağıntılı örnekler oluşturur. MCMC tabanlı bir sayısal entegrasyon örnekleme, bir modeldeki tüm parametrelerin ortak ve marjinal dağılımlarını tam koşullu ardıl dağılımlarından tahmin etmek için kullanılan rastgele belirlenen bir entegrasyon prosedürüdür (Gilks vd., 1995).

Bayesian çıkarımda fikir, veriye bakılmadan önce istatistik topluluğu hakkında bilinenleri (önceki olasılık dağılımları) veriden gelen bilgilerle birleştirmek, standart olasılık hesabı tekniklerini kullanarak çıkarımların yapıldığı bir ardıl dağılım elde etmektir (Bayes, 1991). Bayesian analizi, klasik yaklaşımlardan daha kapsamlı varsayımları ve geniş bir biyolojik problem yelpazesini çözme esnekliği nedeniyle popülerlik kazanmaktadır Dolayısıyla bu yöntemin amacı, doğru filogeniyi ve tüm filogenilerin ardıl olasılık dağılımlarını hesaplamaktır.

1.4.2. Haplotip Ağı Analizi

Genetik olarak birbirine bağlanmış gen gruplarındaki allellerin belirli bir kombinasyonlarıdır. Bu gruplar aynı kromozomdaki birbirine yakın yerlerde bulunan genlerin klonlanmasıyla meydana gelir. Haplotip ağları tür içi soylar arası ilişkileri

görsel hale getirmek, popülasyonların biyocoğrafyası ve tarihi ile ilgili bir sonuca varmak için genetik veri analizlerinde kullanılmaktadır (Leigh ve Bryant, 2015).

Minimum kapsayan ağaç (Minimum Spanning Network) algoritması kullanılarak oluşturulan ağlar, haplotipler arasındaki en düşük mutasyonal farklılıklara göre bağlantıların kurulduğu diğer bir deyişle dizilerin mümkün olan en kısa toplam uzunlukta haplotip ilişkilerini içeren bağlantı ağlarıdır. Median ağları ise oluşturulan ağın, tüm tutarlı (parsimonik) ağaçları kapsamasını garanti ederek, atadan gelen düğümlerin ortaya konmasında sistematik bir yöntem oluşturmaktadır (Bandelt, 1999).

1.5. Mitokondri DNA (mtDNA)

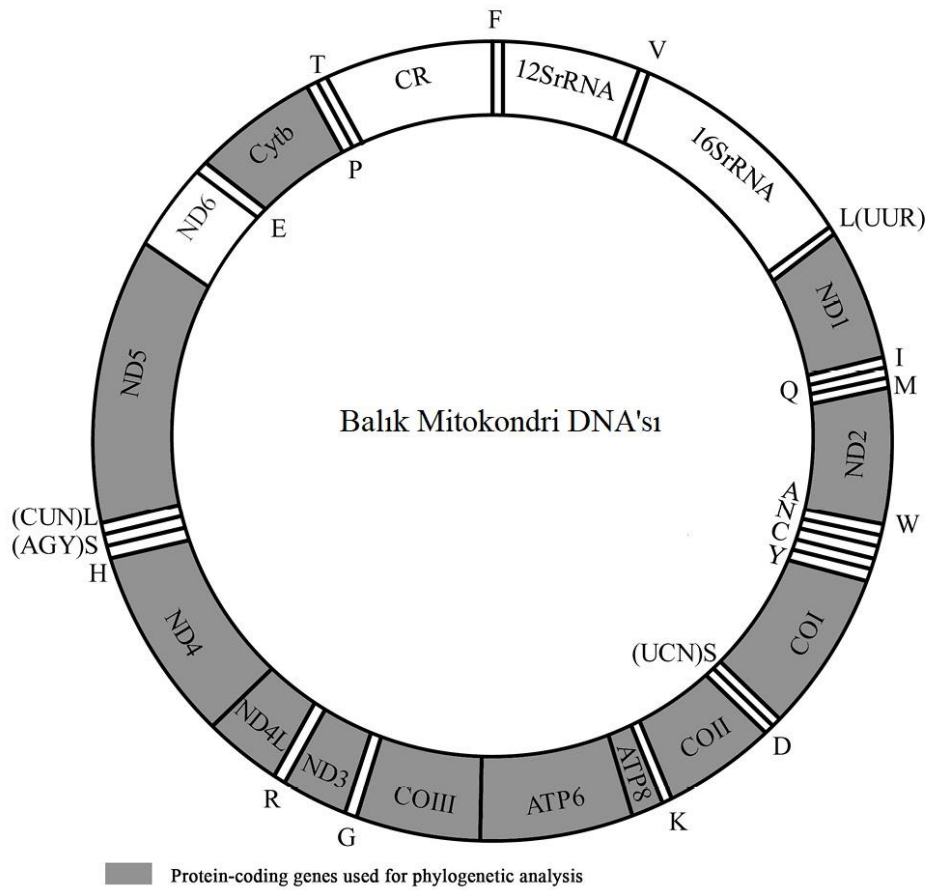
Mitokondri içerisinde kendine özgü özelliklere sahip olan bir DNA molekülü bulunur. 1960'lı yıllarda mitokondrial genetik sistemin (mtDNA) ve özel ribozomların ortaya çıkarılmasıyla mitokondrinin hem hücresel işlevleri hem de genetik olaylardaki rolü ayrıntıları ile araştırılmaya başlanmıştır (Anderson vd., 1981).

mtDNA çift yapılı bir moleküldür. Genom protein sentezi için 2 ribozomal RNA, 22 transfer RNA, ve 13 polipeptit kodlar içermektedir. Nükleer genomdan farkı ise mtDNA'nın kod dizileri intron içermez. Her mitokondri bir çok mtDNA kopyası içerir ve her hücrede bir çok mitokondri, dolayısıyla nükleer DNA'nın sadece iki kopyası ile kıyaslandığında bir hücrede yüzlerce mtDNA kopyası bulunur. mtDNA yapısında bulunan enzimlerin replikasyonu, transkripsiyonu, translasyonu ve onarımı nükleer genomlara bağlıdır (Taanman, 1999; Leonard ve Schapira, 2000).

Hücrenin güç merkezi olduğu varsayılan mitokondrilerde, oksijenli solunumun meydana geldiği kimyasal tepkimeler gerçekleşir. Mitokondrideki hücresel solunum ve diğer işlevler için hayati olan genleri kapsayan kendi DNA'sına sahiptir. Hücrenin DNA'sından fiziksel olarak ayrılmıştır. Yani nükleusun dışında bulunur. Popülasyon çalışmalarında mtDNA'nın tercih edilmesi için çok sayıda faktör bulunmaktadır. Ufak bir moleküldür, yaklaşık olarak 16-17 kb büyüklüğündedir ve genomun %1'den daha küçük olduğu hesaplanmıştır (Davidson vd., 1989) ve saf olarak izole edilmesi nispeten kolaydır. Yüksek omurgalılarda, kalıtım yalnızca maternal yolla yani anneden olur (parental sızıntı veya uzunluk farklılıklarından dolayı bazı türlerde nadiren heteroplazmi

olabilir). Rekombinasyonun olmaması filogenetik çalışmalar için (Avise vd., 1990; Harrison, 1989; Moritz vd., 1987), veya ortama aşıl原因an popülasyonların etkisinin ortaya çıkarılması için (Ferrid ve Berg, 1987; Gyllensten, 1985) mtDNA'yı önemli kılmaktadır.

Baz değişiminin yüksek seviyede olmasından dolayı mitokondri genom, kodlanan nükleer DNA ile karşılaştırıldığında yüksek evölüsyon oranına sahiptir (Meyer, 1993). mtDNA'nın D-loop bölgesinin mutasyon hızının diğer kısımlarına göre % 2-4 kat, Nükleer DNA'ya göre ise en az 10 kat daha hızlı olduğunu bildirmektedir (Avise, 1991). Mitokondri genomun farklı bölgeleri farklı oranda değişim gösterdiğinden, çalışma tipine bağlı olarak analiz için diziye hedeflenmek mümkündür.



Şekil 4. Mitokondri genomunun yapısı (Liu vd., 2017'den modifiye edilmiştir).

mtDNA gen bölgeleri balık türlerinin popülasyon içi ve popülasyonlar arasındaki genetik varvasyonlarının araştırmasında kullanılmaktadır (Saraswat vd., 2014). mtDNA

cyt b bölgesindeki çeşitlilik sazangiller familyasına ait balıklarda popülasyon yapısı hakkında bilgiler vermektedir (Fayazi vd., 2006).

1.6. Sitokrom b

Solunum zincirinde büyük öneme sahip olup transmembran bir proteini kodlar (Kacher vd., 1989; Meyer vd., 1990; Zhu vd., 1994). Sitokrom b, kinolün merkezi redoks katalitik alt birimidir. Kinon substratın bağlanmasında rol oynar ve redoks enerjisinin protonomik bir kuvvete dönüştürüldüğü transmembran elektron transferinden sorumludur. Sitokrom b ayrıca çeşitli inhibitörlerin ve kinon antagonistlerinin bağlandığı ve dolayısıyla oksidoredüktazı inhibe ettiği bölgeleri içerir (Esposti vd., 1993). Sitokrom b geni sistematik ve moleküler evrim uygulamalarında yaygın olarak kullanılan mtDNA genidir (Farisi, 2001).

1.7. Literatür özeti

Bozkurt vd. (1998), 1995-1997 yılları arasında yaptıkları çalışmada Atatürk Baraj Gölündeki *Acanthobrama marmid* (Heckel, 1843), *Capoeta trutta* (Heckel, 1843) ve *Carasobarbus luteus* (Heckel, 1843)'un eşey dağılımı, boy ve ağırlık olarak büyüme ile büyüme oranları, kondisyon faktörü, eşeysel olgunluk yaşı, üreme periyodu ve yumurta verimi gibi bazı biyolojik özellikleri üzerine çalışmalar yapmışlardır.

Oymak vd. (2011), Atatürk Baraj Gölü'nden avlanan *Carasobarbus luteus* ve *Capoeta trutta*'da buzda depolama süresince duysal değişimler ve Adenin Tri Fosfat (ATP) yıkımı sonucu oluşan ürünleri incelemişlerdir. *Carasobarbus luteus*'un 3. gününde orta tazelikte, 6. gününde kabul edilebilir ve 9.günde ise duysal olarak tüketim için uygun olmayan bir özelliğe sahip olduğu tespit edilmiştir.

Çelik ve Saler (2012), Atatürk Baraj Gölü'nden yakalanan toplam 173 *Carasobarbus luteus* (Heckel,1843)'un sindirim sistemi içeriklerini incelediler. İncelenen *C. luteus* (Heckel,1843) örneklerinin sindirim sistemi içeriğini bitkisel organizmalardan *Bacillariophyta* (29 tür), *Chlorophyta* (6 tür), *Dinophyta* (1 tür); hayvansal organizmalardan ise *Rotifera* (7 tür), *Copepoda* (2 tür) ve *Diptera* (1 tür)'nın oluşturduğunu ortaya çıkarmışlardır.

Bilici vd. (2013), Dicle nehir sistemi içerisindeki Bismil lokalitesinde yaygın olarak dağılım gösteren *Carasobarbus luteus* (Heckel, 1843), *Capoeta trutta* (Heckel, 1843) ve *Garra variabilis* (Heckel, 1843)'in eşey dağılımı, boy ve ağırlık olarak büyüme ile büyüme oranları, kondisyon faktörü, eşeysel olgunluk yaşı ve boyu, üreme zamanı, yumurta verimi gibi bazı biyolojik özelliklerini araştırmışlardır.

Borkenhagen ve Krupp (2013), *Carasobarbus* cinsini, çeşitli müzelerin koleksiyonlarından ve yeni toplanan materyallerden elde edilen yaklaşık 1300 korunmuş örneğin karşılaştırmalı morfolojik incelemelerine dayanarak revize etmişlerdir. *Carasobarbus apoensis*, *Carasobarbus canis*, *Carasobarbus chantrei*, *Carasobarbus exulatus*, *Carasobarbus fritschii*, *Carasobarbus harterti*, *Carasobarbus kosswigi*, *Carasobarbus luteus* ve *Carasobarbus sublimus*, karakter kombinasyonunu paylaşan monofilik bir grup oluşturduğunu, türlerin ayrıntılı olarak tarif edildiğini ve taksonomik durumları yeniden değerlendirilerek bir tanımlama anahtarı sağlamışlardır. Bir *Systomus luteus* Heckel, 1843 lektotipi belirlemişlerdir.

Eydizadeh vd. (2014), *Carasobarbus luteus*'un populasyon dinamikleri ve Hemeri'nin durumu hakkında Hoor Al-azim sulak alanlarındaki bilgiyi elde etmek için araştırma yaptılar. Bu çalışma sırasında 2011'den 2012'ye kadar 460 örnek ölçtüler. Ortalama $\pm$ S.D uzunluğu bu tür için sırasıyla 228 ± 15 , maksimum ve minimum toplam uzunluk 118 mm ve 362 mm olarak belirlediler. Bunun için ortalama $\pm$ S.D ağırlık değerleri türlerde 190 ± 91 gr idi ve maksimum ve minimum ağırlık 86- 416 gr. Uzunluk-ağırlık ilişkisi olarak hesapladılar.

Aral vd. (2014), *Carasobarbus luteus* (Heckel, 1843) ve *Carassius carassius* (L., 1758) balıklarının başlıca spermatolojik özelliklerini belirlediler. Bu söz konusu olan iki türün spermatozoa motilite oranı, motilite süresi, spermatozoa yoğunluğu ve sperma pH'ı arasında önemli farklılıklar gözlemlediler.

Abdul-Razak vd. (2017), *Carasobarbus sublimus*'un Shatt al-Arab Nehri'nin üst kesimlerinden ilk kayıtlarını aldılar. Bu tür, İran'a özgü bir tür olmasına rağmen Irak'tan kayıt almadılar. *C. sublimus* ile benzer bir tür *C.luteus*'u karşılaştırıp yeni

karakter dizisine ek olarak morfometrik ve meristik veriler de sağlamışlardır. Irak sularındaki *C. sublimus*'un varlığı ile ilgili olası bir açıklama yapmışlardır.

Jawad ve vd. (2018), *Carasobarbus* Karaman, 1971 cinsinin dokuz türünün aksenel iskeletinin morfolojik incelemesini, bu kemikli yapının morfolojik olarak ayrı beş bölgeye bölünmesini onaylamışlardır. Bu bölgeselleşme, abdominal ve kaudal bölgeler arasındaki bölünmeden daha yüksek düzeyde karmaşıklık göstermektedir.

Borkenhagen vd. (2011), İran ve komşu bölgelerdeki *Carasobarbus* türlerinin sitokrom b sekanslarının çeşitliliğini araştırdılar. *C. luteus* için iki farklı haplotip grubu buldular. Bunlardan ilki, son Pleistosen buzullaşmasının ardından yükselen deniz seviyelerinin bir sonucu olarak çeşitli populasyonlar arasında yeni bir izolasyonun biyocoğrafik hipotezi ile yaygın ve uyumludur. İkincisi Suriye'deki Khabur Nehri ile sınırlıdır. Bu gruplardan birinin *C. albus*'a karşılık gelme olasılığını tartışmışlar, ancak *C. luteus*'un iki farklı mitokondri soyunu temsil eden tek bir tür olması ihtimalinin daha yüksek olduğu sonucuna varmışlardır. *C. kosswigi* ve *C. sublimus*'daki mitokondri nükleotit çeşitliliği, muhtemelen küçük popülasyon büyüklüğü ve ortaya çıkan genetik kayma nedeniyle yüksektir.

Parmaksız ve Eskici (2018), *C. luteus* populasyonlarının genetik varyasyonunu belirlemek için toplam 4 populasyondan mtDNA COI lokusunun sekans analizini yaptılar. DNA dizi analizi ile mtDNA COI lokusu için 9 polimorfik bölge ve 4 haplotip belirlemişlerdir. Yapılan bu çalışma ile elde edilen verilerin tümü *C. luteus* için ilk kez elde edilmiş verilerdir. mtDNA COI 625 gen bölgesi için belirlenen haplotipler literatür açısından yeni sonuçlar olup, bu türün genetik çeşitliliği açısından oldukça önemlidir.

2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

2.1. Materyal

Ülkemiz iç sularında dağılım gösteren *Carasobarbus* genusuna ait türlerin örneklerinin toplanılması, Fırat, Dicle, Asi ve Kueik nehir sistemleri ve kollarından biyolojik ve ekolojik özellikleri dikkate alınarak her bir türü temsil edecek sayıda Kilis, Diyarbakır, Gaziantep, Şanlıurfa, Adıyaman ve Hatay olmak üzere 6 ilden toplamda 10 istasyondan gerçekleştirildi (Tablo 2).

Çalışma için toplamda 70 örnek elektroşoker yardımıyla toplandı. Her bir türün örnek sayıları ve örnekleme lokaliteleri Tablo 2’de verilmiştir. Örneklenen balıklar tür tayin anahtarına göre sınıflandırılarak etiketlenmiştir. 25-50 mg yüzgeç dokusu kesilerek % 96’lık etil alkolde fikse edildi ve çalışmanın yapılacağı Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Genetik Laboratuvar’ına getirildi.

Tablo 2. *Carasobarbus* genusuna ait türlerin toplanıldığı istasyonlar, koordinatları ve örnek sayıları (N)

Türler ve İstasyonlar	Koordinatlar	N
<i>Carasobarbus luteus</i>		
Kueik Nehri, Kilis	36°47'49.4"K 36°55'02.1"D	15
Anbar Deresi, Dicle Nehri, Hani, Diyarbakır	38°18'12.6"K 40°26'35.5"D	6
Merziman deresi, Fırat Nehri, Yavuzeli, Gaziantep	37°19'40.5"K 37°40'04.2"D	2
Karasu Çayı, Fırat Nehri, Araban, Gaziantep	37°24'23.6"K 37°41'12.9"D	2
Çamçayı Deresi, Fırat Nehri, Siverek, Şanlıurfa	37°39'05.5"K 39°13'50.8"D	10
Kahta Çayı, Fırat Nehri, Kocahisar Köyü, Adıyaman	37°57'48.9"K 38°39'44.7"D	9
Çataltepe Çayı, Fırat Nehri, Ziyaret Köyü, Kahta, Adıyaman	37°45'00.3"K 38°35'29.7"D	3
<i>Carasobarbus chantrei</i>		
Karasu Çayı, Tahtaköprü Barajı, Asi Nehri, Hatay	36°49'40.2"K 36°39'47.6"D	11
Muratpaşa Çayı, Asi Nehri, Gölbaşı Köyü, Kırıkhan, Hatay	36°29'15.6"K 36°28'04.1"D	6
Karasu Çayı, Asi Nehri, Kırıkhan, Hatay	36°27'55.0"K 36°22'45.0"D	6
<i>Carasobarbus kosswigi</i>		
SMF31325	KU524935	1
Toplam		71

2.2. Yöntem

2.2.1. Total DNA Eldesi

Carasobarbus örneklerinin yüzgeç dokusundan total DNA eldesi, DNeasy Blood & Tissue Kit (Qiagen, Hilden, Germany) protokolüne göre yapıldı. 10-25 mg yüzgeç dokusu alınıp 1,5 ml'lik eppendorf tüpüne konuldu. Örnek başına 180 µl Buffer ATL ve 20 µl proteinaz K çözeltileri tüpün içerisine ilave edilip ısıtmalı çalkalayıcı cihazında 55°C' de ve 1000 rpm'de doku tamamen parçalanıncaya kadar yaklaşık 3 saat inkübe edildi. 3 µl RNase solusyonu eklenip tüpün iyice karışması için birkaç defa ters düz edilip 30 dakika 37 °C'de inkübe edildi. İnkübasyondan sonra karışımın içerisine 200 µl Buffer AL çözeltisi eklenip yüksek hızda 20 saniye vortekslendikten sonra 10 dakika 80 °C'de bekletildi. Karışımın tamamı bir pipet yardımıyla filtreli tüpe aktarıldı ve 1 dakika 8000 rpm'de santrifüj edildi. Bu aşamada DNA filtrede tutunurken diğer hücre materyalleri filtreden geçerek tüpün alt kısmında toplandı. Akabinde 500 µl Buffer AW1 çözeltisi eklenip 5 dakika beklendikten sonra 1 dakika 8000 rpm'de santrifüj edildi. Bu işlemin ardından 500 µl Buffer AW2 çözeltisi eklenip 5 dakika beklendikten sonra 3 dakika 14000 rpm'de santrifüj edildi ve bu işlemler sonucunda DNA kalan safsızlıklardan temizlenmiş olmaktadır. En son aşamada ise 200 µl Buffer AE ilave edilerek 1 dakika 8000 rpm'de santrifüj edildi ve filtrede tutunan DNA'nın alt kısımda bulunan 1,5 ml'lik eppendorf tüpüne aktarılması sağlanmış oldu. İzole edilen DNA kısa süreli muhafaza için 2-8 °C'de, uzun süreli muhafaza için ise -20 °C'de saklandı.

2.2.2. Total DNA ve PZR Ürünlerinin Kalite ve Miktarının Belirlenmesi

Total DNA ve PZR ürünlerinin varlığı ve büyüklüğünün tespiti için % 0.8 ve 1.2'lik etidyum bromür ile boyanmış 1X TAE-Agaroz karışımı hazırlandı. 1X TAE tamponunu içeren elektroforez küvetinde 100 voltta 15 dakika elektrik alana maruz bırakıldı. Örneklerin yürütüldüğü agaroz jelin görüntülenmesi işlemi Quantum-Capt ST4 sistem (Vilber Lourmat, France)'deki ultraviyole transillüminatör cihazında gerçekleştirildi. Total DNA ve PZR ürünlerinin konsantrasyonunu, saflığı ve kalitesi Nanodrop 2000C model spektrofotometre (Thermo Fisher Scientific, Wilmington, DE, USA) cihazında belirlendi.

2.2.3. PZR Uygulamaları

Örneklerin izolasyonundan elde edilen total DNA'lardan mitokondriyal DNA'ya ait sitokrom b geninin (Cyt b) tamamının (1141 bp) kopyalanması için Polimeraz Zincir Reaksiyonunda gerekli kimyasallar ve konsantrasyonları Tablo 3'te verilmiştir. Polimeraz Zincir Reaksiyonunu gerçekleştirmek için T100TM PCR Gradient Thermal Cycler (Bio-Rad, Hercules, USA) model PZR cihazı kullanıldı.

Tablo 3. Polimeraz zincir reaksiyonunda kullanılan kimyasallar ve miktarları

Kimyasallar	Konsantrasyon	Cyt b
10X PZR tamponu		5µl
dNTP karışımı	10 mM	8µl
MgCl ₂	25 mM	5µl
Primerler*	10 pmol	1µl +1µl
Taq DNA polimeraz	5 U/µl	0.2µl
Total DNA	50 (ng/ml)	3µl
ddH ₂ O		26.8µl
Toplam		50µl

*İleri ve geri primerler

Primerlerin erime sıcaklığının (T_m) ve PZR için gerekli olan bileşenlerin miktarlarının optimizasyonu için gradient reaksiyonlar oluşturuldu. MtDNA Cyt b geni için L14724 5'-GTGACTTGAAAAACCACCGTTG-3'; H15915 5'-CAACGATCTCCGGTTTACAAGAC-3' (Anderson vd., 1981) erime sıcaklıkları (T_m) dikkate alınarak her iki çift primer için oluşturulan gradient reaksiyonlarda 61.0 °C değerinin uygun olduğu belirlendi. Reaksiyon için uygun erime sıcaklığı belirlendikten sonra Tablo 3'te verilen konsantrasyonlardaki kimyasallar ile Tablo 4'teki döngü koşulları kullanılarak Polimeraz zincir reaksiyonu gerçekleştirildi. PZR uygulamalarında oluşabilecek bir kirlenmenin olup olmadığını anlayabilmek amacıyla her uygulamada, total DNA içermeyen negatif kontroller kullanıldı.

Tablo 4. PZR döngü koşulları

	Sıcaklık (°C)	Zaman	Döngü Sayısı
İlk Ayrılma	94	3 dk	1
Ayrılma	94	30 sn	
Yapışma	61	30 sn	35
Uzama	72	1 dk	
Son Uzama	72	5 dk	1
	12	∞	

PZR ürünlerinin kontrolünü gerçekleştirmek için total DNA'nın kalitesinin belirlenmesinde yapılan işlemler % 1,2'lik agaroz jel hazırlanarak tekrarlandı. PZR ürünleri 100 bp'lik DNA Leader (Promega) ile yürütülerek büyüklükleri belirlendi. Bütün işlemler tamamlandıktan sonra istenilen konsantrasyon ve büyüklükte olduğu tespit edilen PZR ürünleri DNA dizin analizi işlemine kadar -20 °C de muhafaza edildi.

2.2.4. DNA Dizin Analizi

Carasobarbus türlerine ait mtDNA Cyt b geninden kopyalanan PZR ürünlerinin dizin analizleri BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Ready Reaction Kit (Applied Biosystem) kullanarak ABI PRISM 3730x1 Genetic Analyser (Applied Biosystem, USA) ile Macrogen Inc. (Amsterdam, Hollanda)'de gerçekleştirildi.

2.2.5. Dizi Hizalama ve Filogenetik Analiz

Mitokondri DNA Cyt b geni dizin analizi sonucunda elde edilen ham verileri filogenetik analizlerde kullanılmak üzere uygun hale getirmek için Bioedit versiyon 7.0.0 (Hall, 1999) programı kullanıldı. Haplotiplerin sayısı, haplotip çeşitlilik ve nükleotit çeşitlilik değerlerinin belirlenmesi işlemleri DNASP v5 (Librado ve Rozas, 2009) programı yardımıyla gerçekleştirildi. Haplotipler arasındaki filogenetik ilişkiler, tür içi ve türler arası genetik varyasyon ve polimorfizmin tüm ölçümleri MEGA versiyon X (Kumar vd., 2018) tarafından hesaplandı. Tür içi ve türler arası genetik mesafe Kimura 2-parameter (K2P) mesafe modeline göre hesaplandı.

En uygun evrimsel metodun tespitinin yapılabilmesi için Akaike Bilgi Kriteri (AIC) jModeltest 0.1.1 (Posada, 2008) programı yardımıyla belirlendi. HKY+G en uygun baz değişim modeli ile maksimum olasılık (ML Maximum Likelihood) metoduna göre oluşturulan filogenetik ağaçlar 1000 Seç-bağla (Bootstrap) testi ile analizlenmiştir. Komşu katılım (NJ Neighbour-Joining) metoduna göre oluşturulan filogenetik ağaçlar Kimura 2-parameter (K2P) mesafe modeline göre 1000 Seç-bağla (Bootstrap) testi ile analizlenmiştir. Maksimum tutumluluk (MP Maximum Parsimony) analizleri buluşsal metoda göre 10 rasgele ilave kopya, TBR (Tree-bisection-reconnection) yöntemi ve 100 tekrarlı seç-bağla testi ile analizlenmiştir. Tüm filogenetik analizler için *Barbus tauricus* (GenBank erişim numarası MH010350.1) dış grup olarak kullanılmıştır.



3. BULGULAR

3.1. Genetik Çeşitlilik

Carasobarbus türlerine ait mtDNA Cyt b geninin 1141 bç'lik dizin analizi, Anadolu'da dağılım gösterdikleri Fırat, Dicle, Asi ve Kueik nehir sistemleri ve kollarından toplam 10 istasyondan örneklenen 70 birey ve GenBank'tan alınan 1 birey için gerçekleştirildi (Tablo 5). Çalışılan türler için mtDNA Cyt b nükleotit dizisinin 1027'sinin korunmuş (% 89,9), 114'ünün değişken (% 10,1) ve 39'unun (% 3,5) parsimonik bilgi verici olduğu belirlenmiştir. Polimorfik nükleotit pozisyonları için transisyonun transversiyona oranı 13,3 olarak bulunmuştur.

Carasobarbus sitokrom b geni dizileri oldukça düşük G içeriğinden (ortalama % 13,6) ve hemen hemen eşit T, C ve A içeriğinden (ortalama sırasıyla % 28,6, % 27,5 ve % 30,3) oluştuğu tespit edilmiştir. Dolayısıyla, A + T içeriği (% 58,9) G + C içeriğinden (% 41,1) daha yüksektir.

Mitokondri DNA Cyt b geni dizinleri arasında yapılan haplotip analizi sonucu *C. luteus* için 7, *C. chantrei* için 1 ve *C. kosswigi* için ise 1 haplotip olmak üzere 3 türe ait haplotip sayıları Tablo 5' de verilmiştir. *Carasobarbus* türlerine ait toplamda 9 haplotipin olduğu belirlenmiştir.

Carasobarbus genusunun Anadolu'da dağılım gösteren türleriyle genetik çeşitlilik yönünden yapılan analizlerde *C. chantrei* ve *C. kosswigi* düşük haplotip ve nükleotit çeşitlilik göstermiştir ($H_d = 0.000$ ve $P_i = 0.000$; Tablo 5). *C. luteus* türü ise en yüksek haplotip çeşitlilik ($H_d = 0,70398$) ve nükleotit çeşitliliğin ($P_i = 0,00206$) görüldüğü tür olarak belirlenmiştir (Tablo 5). *C. luteus* popülasyonları arasında ise en yüksek haplotip çeşitlilik ($H_d = 0,83333$) ve nükleotit çeşitlilik ($P_i = 0,00657$) Kahta Çayı, Fırat Nehri, Kocahisar Köyü, Adıyaman popülasyonunda görülürken, en düşük haplotip çeşitlilik ($H_d = 0,00000$) ve nükleotit çeşitliliğin ($P_i = 0,00000$) Gaziantep popülasyonlarında olduğu belirlenmiştir (Tablo 5).

Tablo 5. *Carasobarbus* genusuna ait türlerin örnek sayıları (N), haplotip kodları (HC), haplotip sayıları (HN), haplotip çeşitlilik (Hd) ve nükleotit çeşitlilik (Pi) değerleri.

Tür, Nehir, Havza ve İstasyon	N	HC	HN	Hd	Pi
<i>Carasobarbus luteus</i>					
Kueik Nehri, Kilis	15	H1, H2, H3	3	0,590	0,0006
Anbar Deresi, Dicle, Hani, Diyarbakır	6	H1, H3	2	0,600	0,0005
Merzimen deresi, Fırat, Yavuzeli, Gaziantep	2	H4	1	0,000	0,0000
Karasu Çayı, Fırat, Araban, Gaziantep	2	H3	1	0,000	0,0000
Çamçayı Deresi, Fırat, Siverek, Şanlıurfa	10	H1, H3, H4	3	0,600	0,0006
Kahta Çayı, Fırat, Kocahisar, Adıyaman	9	H1, H3, H6, H7	4	0,833	0,0065
Çataltepe Çayı, Fırat, Kahta, Adıyaman	3	H1, H5	2	0,666	0,0005
Toplam	47		7	0,704	0,0020
<i>Carasobarbus chantrei</i>					
Karasu Çayı, Tahtaköprü Barajı, Asi, Hatay	11	H8	1	0,000	0,0000
Muratpaşa Çayı, Asi Nehri, Kırıkhan, Hatay	6	H8	1	0,000	0,0000
Karasu Çayı, Asi Nehri, Kırıkhan, Hatay	6	H8	1	0,000	0,0000
Toplam	23		1	0,000	0,0000
Genel Toplam	70	8			
<u>İç grup</u>					
<i>Carasobarbus kosswigi</i>					
Karkheh nehri, Khuzestan, İran	1	KU524935	1	0,000	0,0000
<i>Carasobarbus luteus</i>					
Khābūr nehri, Ghawat, Suriye		KU524927			
Khābūr nehri, Ash Shaddādah, Suriye		KU524928			
Khābūr nehri, Tall Tamr, Suriye		KU524929			
<i>Carasobarbus apoensis</i>					
Suudi Arabistan müze no SMF33517		KU525007			
<i>Carasobarbus chantrei</i>					
Suriye, müze no SMF31016		KU524914			
Suriye, müze no SMF31309		KU524921			
<i>Carasobarbus exulatus</i>					
Suudi Arabistan, müze no SMF30774		KU524903			
<i>Carasobarbus canis</i>					
İsrail, müze no SMF31314		KU524926			
<i>Carasobarbus sublimus</i>					
İran, müze no SMF31319		KU524930			
<i>Carasobarbus harterti</i>					
Fas, müze no SMF33366		KU524975			
<i>Carasobarbus fritschii</i>					
Fas, müze no SMF33481		KU524988			
<u>Dış grup</u>					
<i>Barbus tauricus</i>					
Terme deresi, Türkiye		MH010348			

Anadolu'nun önemli su kaynakları olan Fırat, Dicle, Asi ve Kueik nehirlerinde dağılım gösteren üç *Carasobarbus* türü arasındaki mtDNA Cyt b geni haplotiplerinin ikili dizin ayrımına bakıldığında türler arası genetik mesafenin en düşük %2,60 ile *C.*

luteus ve *C. chantrei* arasında ve en yüksek ise % 9,0 ile *C. luteus* ve *C. kosswigi* arasında olmak üzere geniş bir değer aralığında değiştiği belirlenmiştir (Tablo 6). Diğer bir taraftan *Carasobarbus* genusuna ait tür içi ikili dizin farklılığı değerleri ise en düşük % 0 (*C. kosswigi*) ile en yüksek % 0,21 (*C. luteus*) değerleri arasında değiştiği tespit edilmiştir (Tablo 6).

Ayrıca Genbankasında yer alan diğer *Carasobarbus* türleri ile yapılan analizlerde Cyt b geni ikili dizin ayrımına bakıldığında türler arası genetik mesafenin en düşük %0,35 ile *C. luteus* ve *C. apoensis* arasında ve en yüksek ise % 10,92 ile *C. harterti* ve *C. kosswigi* arasında olmak üzere geniş bir değer aralığında değiştiği belirlenmiştir (Tablo 6).

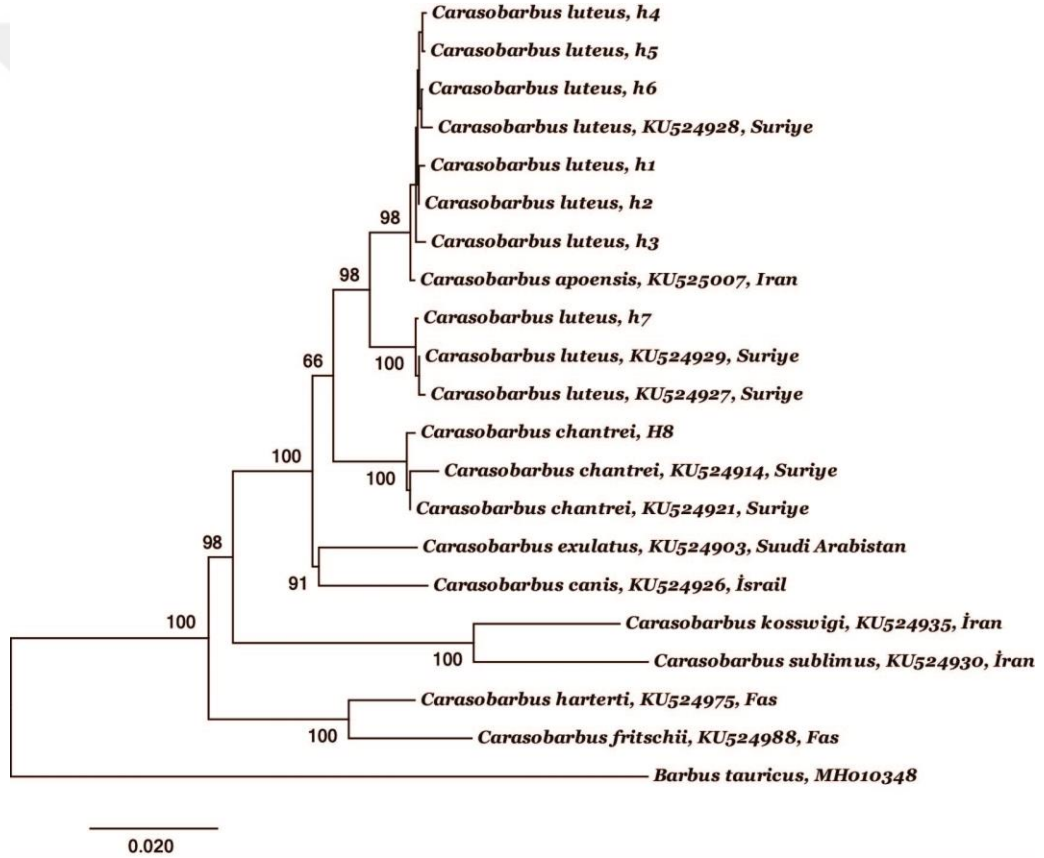
Tablo 6. *Carasobarbus* genusuna ait tür içi ve türler arasındaki ikili dizin farklılığı değerleri.

Türler	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1 <i>C. luteus</i>	0,0021								
2 <i>C. apoensis</i>	0,0035	0,0013							
3 <i>C. chantrei</i>	0,0260	0,0263	0,0000						
4 <i>C. exulatus</i>	0,0340	0,0324	0,0275	0,0010					
5 <i>C. canis</i>	0,0360	0,0341	0,0348	0,0313	0,0006				
6 <i>C. harterti</i>	0,0666	0,0635	0,0662	0,0636	0,0606	0,0000			
7 <i>C. fritschii</i>	0,0760	0,0737	0,0764	0,0739	0,0708	0,0317	0,0066		
8 <i>C. kosswigi</i>	0,0900	0,0890	0,0883	0,0864	0,0907	0,1092	0,1085	0,0000	
9 <i>C. sublimus</i>	0,0966	0,0957	0,1023	0,0940	0,1006	0,1063	0,1036	0,0516	0,0024

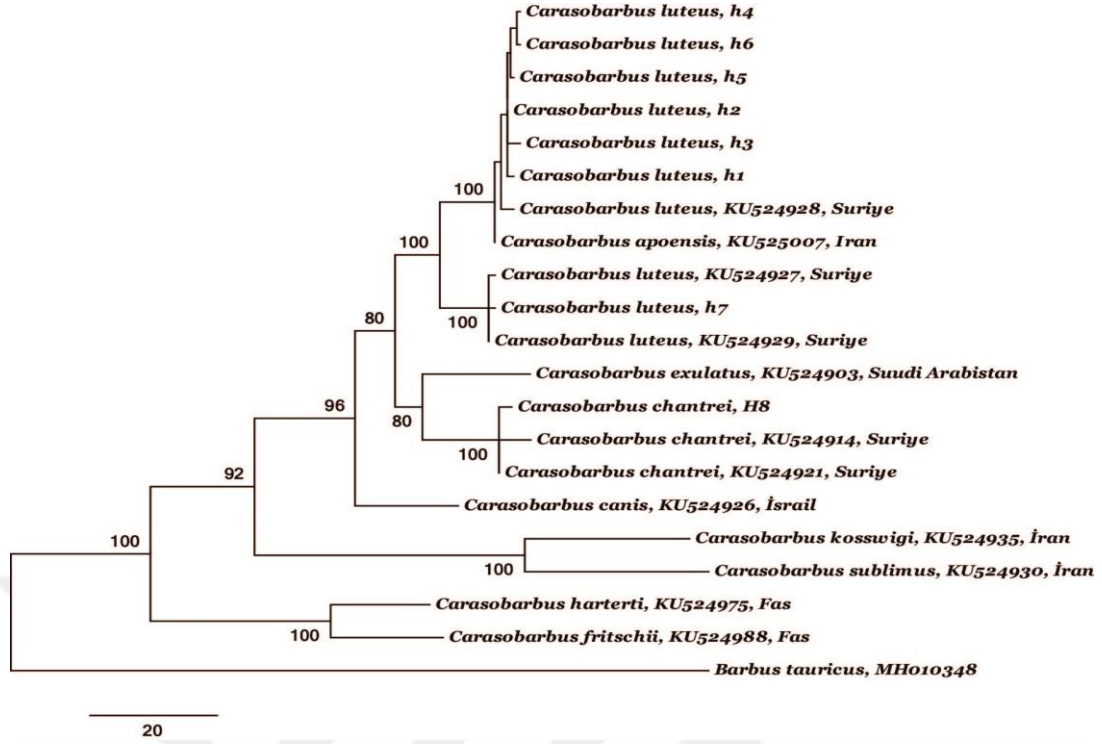
Carasobarbus türlerinin mtDNA Cyt b genine ait türe özgü ayırt edici nükleotit pozisyonları tablo da verilmiştir. Toplamda 1141 baz pozisyonunda türler birbirlerine göre ayırım göstermektedir.

3.2. Filogenetik Analizler

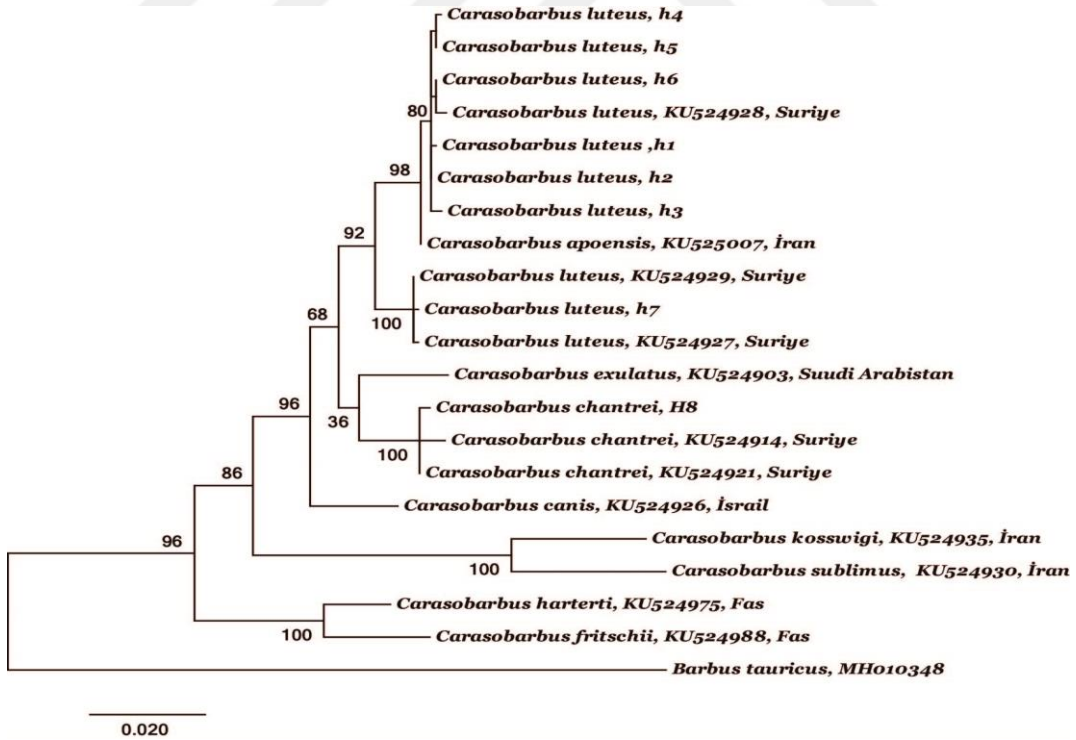
Carasobarbus'un Anadolu'da dağılım gösteren üç türü (*C. luteus*, *C. chantrei* ve *C. kosswigi*) ve GenBank'tan alınan diğer *Carasobarbus* türlerinin (*C. apoensis*, *C. fritschii*, *C. harterti*, *C. sublimus*, *C. canis* ve *C. exulatus*) mtDNA Cyt b haplotiplerinin komşu katılım (NJ), maksimum tutumluluk (MP) ve maksimum olasılık (ML) metotları kullanılarak gerçekleştirilen filogenetik analizlerinden elde edilen filogenetik ağaç topolojileri hemen hemen birbirinin aynı olup herbiri yüksek güvenilirlik değerleri (NJ100, MP100 ve ML100; Şekil) ile desteklenen monofiletik bir yapı göstermiştir.



Şekil 5. *Carasobarbus* türlerine ait mtDNA Cyt b haplotiplerinin komşu katılım (NJ) metodu yardımıyla oluşturulan filogenetik ağaç topolojisi.



Şekil 6. *Carasobarbus* türlerine ait mtDNA Cyt b haplotiplerinin maksimum tutumluluk (MP) metodu yardımıyla oluşturulan filogenetik ağaç topolojisi.



Şekil 7. *Carasobarbus* türlerine ait mtDNA Cyt b haplotiplerinin maksimum olasılık (ML) metodu yardımıyla oluşturulan filogenetik ağaç topolojisi.

4. TARTIŞMA ve SONUÇLAR

Türkiye'nin Asya kısmı, yani Anadolu, dünyanın 35 biyolojik çeşitliliğinin sıcak noktalarından Kafkaslar, İrano-Anadolu ve Akdeniz havzasının birleştiği ve etkileşimde bulunduğu bölgedir. Anadolu'nun biyolojik çeşitliliğini anlamamıza yardımcı olan en belirgin biyocoğrafik özelliklerden biri, uzun süredir orta ve doğu Anadolu faunası arasında biyocoğrafik sınır olarak kabul edilen Anadolu köşegenidir. Anadolu köşegeninin her iki tarafını faunal olarak doğu ve batı olmak üzere 2 gruba ayıran modellemeler en azından son buzullararası döngü sırasında, bir taraftaki popülasyonların ya da taksonların çoğunun Anadolu köşegeninin diğer tarafından çevresel nedenlerle izole oluklarını öne sürmüştür (Gür, 2016). Sazansı genusu *Carasobarbus* Karaman, 1971 'un türleri de güneybatı Asya ve Kuzey batı Afrika boyunca dağılım göstermekle birlikte Türkiye'deki dağılımı Anadolu köşegeninin doğusu olan Dicle, Fırat, Kueik ve Asi nehir havzalarını kapsamaktadır. *Carasobarbus luteus* Heckel, 1843 (Borkenhagen, 2005; URL-1; Kaya vd., 2016) ve *C. kosswigi* (Esmaili vd., 2006; Borkenhagen, 2011; Kaya vd., 2016) gibi Basra körfezine drene olan Fırat ve Dicle nehirlerinin yukarı havzasında, *C. chantrei* Türkiye ve Suriye topraklarını drene ederek Akdeniz'e dökülen Asi nehir havzasında dağılım göstermektedir (Esmaili vd., 2006; Borkenhagen, 2011). *Carasobarbus* türlerinin dağılımlarının Anadolu köşegeninin doğusu veya altı ile sınırlı kalmış olması dikkate değerdir.

Gerçekleştirilen bu tez kapsamında incelenen 3 *Carasobarbus* türünün sitokrom b gen dizilerindeki baz bileşimi, düşük G içeriği ve neredeyse eşit A, C ve T içerikleri şeklinde olup gerek *Carasobarbus* (Borkenhagen vd., 2011) gerekse diğer bazı balık türleri için daha önceden bildirilmiş olan sitokrom b dizilerine ait baz içeriklerine (Cantatore vd., 1994; Briolay vd., 1998; Tang vd., 2006) benzer olduğu belirlenmiştir.

Türlerin tanımlanması, DNA dizisindeki türe özgü genetik polimorfizmlerin tespitine dayanır (Liu ve Cordes, 2004). Göreceli olarak yüksek türler arası ve düşük tür içi varyasyonları nedeniyle cyt b dizileri yakından ilişkili türler için bile önemli farklılıklar gösterir (Aranishi vd., 2005). Bu nedenle mitokondri DNA sitokrom b gen dizilerinde türlere özgü nükleotit (SSN) pozisyonlarının varlığı (Tablo 7), Türk tatlı su

faunasındaki üç *Carasobarbus* türünün genetik tanımlanması/farklılaşması için kanıt sağlaması gerekirken *C. apoensis* ve *C. luteus* türlerini ayırt edebileceğimiz SNP'leri varlığı tespit edilememiştir. Aksine, Kahta çayının *C. luteus* popülasyonundan belirlenen bir haplotip (H7) için önemli sayıda özgün mutasyonun (4 adet SNP, Tablo 7) bu popülasyonun morfolojik olarak tekrar gözden geçirilmesinin gerekliliğini göstermektedir.

Mitokondri DNA sitokrom b geni dizinleri arasında yapılan haplotip analizi sonucu gerek *C. luteus* (7) gerekse *C. chantrei* (1) ve *C. kosswigi* için (1) belirlenen haplotip sayısı oldukça düşüktür (Tablo 5). Ek olarak, *Carasobarbus* türleri için belirlenen yüksek haplotip çeşitlilik (Tablo 5; Hd= 0,590-0,833) ve düşük nükleotit çeşitlilik (Tablo 5; Pi= 0,05-0,65) değerleri bir dereceye kadar genetik sürüklenme ve kurucu etkilere karşı duyarlı olan nadir bulunan küçük popülasyonları ile açıklanabilir ki bu tespit İran havzasındaki *C. kosswigi* ve *C. sublimus* için daha önceden Borkenhagen vd. (2011) tarafından rapor edilmiştir. *Carasobarbus kosswigi* küçük nehirlerde ve dağ akarsularında yaşar ve nehirlerin ova bölgelerinde *C. luteus*' a oranla daha az göç etme olasılığı vardır. Bu da popülasyonlar arasında gen akışı olasılığının çok daha düşük olmasını sağlar. Daha büyük örneklem büyüklüğüne sahip araştırmalar, nüfus dinamikleri ve *C. kosswigi* türü hakkında ilginç bilgiler verebilir. Gaziantep sınırları içerisindeki Merzimen ve Karasu nehri örneklerinde belirlenen düşük haplotipik ve nükleotitik çeşitlilik değerleri (Tablo 5; Hd= 0,00 ve Pi= 0,00) örneklem sayısındaki yetersizliğe atfedilebilir. Zira mevcut türlerin genetik çeşitliliğini karakterize etmek amacıyla mitokondri DNA belirteç varyasyonunu kullanan biyoçeşitliliğin moleküler genetik çalışmaları örnek boyutlarına özellikle duyarlı olduğu bilinmektedir. Maalesef, dizileme hatalarının dikkate değer varlığı nedeniyle düşük bilgi içeriğinin bir sonucu olarak, küçük örneklem büyüklükleri, örneklerin mtDNA genetik polimorfizm temelinde doğru tanımlanması için ihtiyaç duyulan ayrımcı güce sahip değildir (Phillips vd., 2019).

Doğu Anadolu'nun en önemli su kaynakları olan Fırat, Dicle, Asi ve Kueik nehirlerinde dağılım gösteren üç *Carasobarbus* türü arasındaki mtDNA Cyt b geni haplotiplerinin ikili dizin ayrımına bakıldığında türler arası genetik mesafenin en düşük *C. luteus* ve *C. chantrei* arasındaki %2,63'lik genetik mesafe türlerin örneklediği

lokasyonların yakınlığı ile açıklanabilir. Diğer taraftan çalışmamız kapsamında örneklediğimiz türler arasındaki % 8,98 (Tablo 6) ile mesafe ile en uzak türlerin coğrafik dağılımı çakışan *C. luteus* ve *C. kosswigi* olması farklı ekolojik tercihleri nedeniyle *Carasobarbus kosswigi* küçük nehirlerde ve dağ akarsularında yaşar ve nehirlerin ova bölgelerinde *C. luteus*' a oranla daha az göç etme olasılığı vardır. Bu da populasyonlar arasında gen akışı olasılığının çok daha düşük olmasını sağlar. Daha büyük örneklem büyüklüğüne sahip araştırmalar, nüfus dinamikleri ve *C. kosswigi* türü hakkında ilginç bilgiler verebilir. *Carasobarbus* genusuna ait tür içi ikili dizin farklılığı değerleri ise en düşük % 0,00 (*C. kosswigi*) ile en yüksek % 0,45 (*C. luteus*) değerleri arasında değişiyor olmasının (Tablo 6) örneklem büyüklüğü ile bağlantılı olduğu düşünülmektedir.

Carasobarbus türleri arasındaki ilişkileri daha iyi anlayabilmek için Genbank veri tabanında yer alan diğer coğrafyamızda dağılım göstermeyen *Carasobarbus* türleri de verisetimize dahil edilerek gerçekleştirilen analizlerde sitokrom b geni ikili dizin farklılaşmasına bakıldığında türler arası genetik mesafenin en düşük % 0,44 ile *C. luteus* ve *C. apoensis* (Kızıldenize drene olan Güneybatı Suudi Arabistan'daki nehirlerde) arasında ve en yüksek ise % 10,91 ile *C. harterti* (Fas, Afrika) ve *C. kosswigi* (Basra havzası) arasında olmak üzere geniş bir değer aralığında değiştiği belirlenmiş olması (Tablo 6) tür içi ve türler arasındaki genetik mesafelerin coğrafik uzaklıklarıyla doğru orantılı olduğu diğer bir deyişle coğrafi ölçek üzerindeki genetik uzaklık artışı ile varyasyonda artış olacağını öngören Wright (1943)'ın hipotezine uygun olduğu görülmektedir.

Carasobarbus apoensis, *C. canis*, *C. chantrei*, *C. exulatus*, *C. fritschii*, *C. harterti*, *C. kosswigi*, *C. luteus* ve *C. sublimus* türlerinin 10 farklı morfolojik karakterin kombinasyonunu paylaşan bir monofilik grup oluşturduğu bildirilmiştir (Borkenhagen ve Krupp, 2013). Borkenhagen (2017), yakın tarihte sitokrom b ve ND4 mitokondri genlerine dayalı olarak gerçekleştirdikleri moleküler filogenide de bu yapı işaret edilmiştir. Benzer şekilde, *Carasobarbus*'un Anadolu'da dağılım gösteren *C. luteus*, *C. chantrei* ve *C. kosswigi* ve GenBank'tan elde edilen *C. apoensis*, *C. fritschii*, *C. harterti*, *C. sublimus*, *C. canis* ve *C. exulatus* türlerinin mtDNA sitokrom b haplotiplerinin komşu katılım, maksimum tutumluluk ve maksimum olasılık metotlarına

dayalı filogenetik analizleri yüksek güvenilirlikte (Şekil 5-7) monofiletik bir yapılanma göstermiştir.

Borkenhagen (2017) tarafından Orta Doğu ve Kuzey Afrika'dan Torini Karaman, 1971 (Actinopterygii Cypriniformes) takımının moleküler filogenisinin yaptığı genetik çalışmada *Carasobarbus* gensunun doğu (*C. canis*, *C. exulatus*, *C. chanteri*, *C. luteus* ve *C. apoensis*) ve batı (*C. harherti* ve *C. fritschii*) olarak iki tür grubu altında sınıflandırıldığı ve *C. kosswigi* ve *C. sublimus* türlerinin birlikte konumlandığı gösterilmiştir. Doğu grubuna dahil olan Anadolu dağılımlı türleri içeren analizlerimizden elde ettiğimiz filogenetik ağaç topolojileri incelendiğinde Anadolu nehirlerinden örneklenen *C. luteus* türüne ait haplotiplerinden H7'nin Borkenhagen vd. (2011) tarafından rapor edilen iki gruplu yapıdaki Dicle-Fırat grubu ile birlikte kümelenmesidir. Burada ilginç olan *C. luteus* türü içindeki iki grubunun varlığı değil, Suudi Arabistan topraklarında Kızıldenize drene olan nehirlerdeki *C. apoensis* türünün bu gruplar arasında konumlanmış olmasıdır (Şekil 5-7). Mitokondri DNA sitokrom b geni dizilerine dayalı olarak gerçekleştirdiğimiz filegenetik analizlerde *C. apoensis* haplotiplerinin *C. luteus* grubu içerisinde yer alması nedeniyle *C. apoensis* türünün geniş büyük bir örneklem grubu üzerinden morfolojik olarak yeniden gözden geçirilmesinin/değerlendirilmesinin isabetli olacağı görüşündeyiz. Aynı zamanda, Kahta çayı (Fırat nehri)'nden elde edilen bir *C. luteus* haplotipinin (H7) çalışmamız kapsamında elde edilen (aynı lokasyonda belirlenen H1, H3 ve H6 dahil) diğer türdeş haplotiplere olan dikkate değer genetik uzaklığı, Kahta çayı örneklerinin de morfolojik olarak yeniden gözden geçirilmesini gerektirmektedir.

Çalışmamızda elde ettiğimiz filogenetik ağaç topolojilerine göre (Şekil 5-7), *C. kosswigi* ve *C. sublimus* ortak atadan köken alan *Carasobarbus* türlerinin sadece bir kısmını içerdiği için parafiletik bir grup olarak değerlendirilebilir. Kaldı ki bu görüş daha önce *Carasobarbus*'ların mitokondri genomuna dayalı olarak moleküler sistematigini yapan Borkenhagen vd. (2011) tarafından da ileri sürülmüştür.

Wang vd. (2013) *Carasobarbus* soyunu içeren Torini grubunun doğu'da yaklaşık 9.94 milyon yıl önce köken aldığını *Carasobarbus* soy grubunun ise yaklaşık 7.7 myö diğerlerinden ayrıldığını ileri sürmüştür. Zira, *Arabibarbus*, *Carasobarbus* ve

Mezopotamichthys cinslerinin muhtemelen geç Miyosen veya Pliyosen sırasında birbirlerinden ayrıldıkları tahmin edilmektedir (Tsigenopoulos vd., 2010, Borkenhagen, 2014). Tsigenopoulos vd. (2003), orta Miyosende Akdeniz ve Hint Okyanusu arasındaki deniz yolunun kapanması ve Afrika ile Asya arasındaki Gomphotherium kara köprüsünün ortaya çıkmasının ardından Afrika hekzaploid soyunun Geç Miyosende çeşitlenmeye başladığını belirlediler. Afrika ile Avrasya arasındaki ihtiyofaunal değişim Gomphotherium kara köprüsünün olduğu Miyosen'in başlarında (yaklaşık 19 myö) başladı (Harzhauser vd., 2007). Bu kara köprüsü, Avrasya'dan gelen sazansıların tarafından Arap Yarımadası ve Afrika'nın kolonileşmesini kolaylaştırdı (Tang vd., 2009). Torini sahnesinde, küçük Asya, Arap levhası ile doğuya bağlandı ve Ege Denizi'nin oluşumu ile batısındaki Avrupa'dan ayrıldı. Bu, Torini takımının Avrupa'da bulunmayışını açıklar (Tsigenopoulos vd., 2003).

Anadolu, Avrupa kolonizasyonunun kaynak bölgesi olmakla birlikte diğer bazı coğrafik bariyerlerle birlikte yüksek Anadolu köşegeni, yakın Doğu'dan canlıların Avrupayı kolonize etmesinin önündeki bir engeldir (Ansell vd., 2011). Pliyosen döneminde yaşanan Anadolu Platosu'nun Afrika ve Avrupa levhaları arasındaki temasla yükselmesi (orogenik aktivite) sonucu Anadolu'daki geniş nehir bağlantısının kopuşu ve iklim değişikliği nedeniyle (Fairbridge vd., 1997; Durand vd., 2000) Anadolu köşegeninin batısında *Carasobarbus*'un varlığını engelleyerek faunal kesintiye neden olması muhtemeldir.

Diğer taraftan, Orta Doğu'dan Akdeniz'in güney kenarı boyunca, muhtemelen Messinian tuzluluk krizinin "Lago Mare" aşamasında (5.5 ila 5.33 myö; Krijgsman vd., 1999) *Carasobarbus* türleri bugünkü Kuzeybatı Afrikada yer alan Fas'ı kolonize etmiştir. Bu, doğu ve batı *Carasobarbus* grubu arasındaki bölünmeye yol açmaktadır. *C. fritschii* ve *C. harterti* arasındaki bölünmenin nedenleri belirsiz olmakla birlikte bu türlerin ortaya çıkışında ikincil temaslı allopatrik türleşme ve simpatrik türleşme mekanizmalarının etkili olduğu tahmin edilmektedir (Borkenhagen ve Krupp 2013).

5. ÖNERİLER

Mitogenom veri analizine göre *C. apoensis*'in geçerli bir tür olup olmadığı, genus için geçerliliği kabul edilmiş olan morfoloik karakterler kullanılarak farklı lokasyondan yeterli sayıda örnek incelenerek kontrol edilmelidir. Diğer taraftan, *C. luteus* türünün Fırat nehri havzasındaki Kahta popülasyonuna ait örneklerin sergilediği sıradışı genetik varyasyon nedeniyle morfolojiye dayalı yeniden değerlendirilmesinin yanısıra mikrosatellit lokuslar gibi daha derinlemesine bilgi verebilecek karakterde belirteçler kullanılarak yeniden gözden geçirilmesini kuvvetle tavsiye ediyoruz.

Daha geniş bir coğrafik lokasyon grubuna ve daha büyük örnekleme sahip araştırmalar ile bölgeye endemik *Carasobarbus* türlerine ait popülasyonlarının nüfus dinamikleri ve türlerin ekolojik durumları gibi tehdit altındaki türlerin sürdürülebilirliği ve korunmasına katkı sağlayabilecek noktalar hakkında daha sağlıklı ve ilginç bilgiler elde edilebilir.

Ayrıca, Sazansı genusu *Carasobarbus*'un Avrupa'da bulunmayışı hatta Türkiye'deki dağılımının Dicle, Fırat, Kueik ve Asi nehir havzalarını içeren Anadolu köşegeninin doğusuna sınırlı kalmış olduğu gerçeğinin izahı, bölgenin jeobiyocoğrafik hikâyesinin irdelenmesi yoluyla yapılabilir.

KAYNAKLAR

- Abdoli, A., 2000.** The Inland Water Fishes of Iran. Iranian Museum of Nature and Wildlife, Tehran. 378 pp. In Farsi.
- Ahmed, H.A., Al-Hammar, M.A. and Al-Adhub, A.H.Y., 1984.** The reproductive biology of *Carasobarbus luteus* (Pisces, Cyprinidae) in Al-Hammar Marsh, Iraq. Cybium 8, 69–80.
- Ali, A.M., 1986.** Morphometric characteristics of the khimri, *Barbus luteus* (Cyprinidae), from Tartar Reservoir and the Tigris River (Iraq). Journal of Ichthyology, 25, 168–171.
- AlHazzaa, R. and Hussein, A., 2003.** Stickiness elimination of himri barbel (*Barbus lutes*, Heckel) eggs. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 3, 47–50.
- Anderson, S., Bankler, A.T. and Barrel, B.G., 1981.** Sequence and organization of the human mitochondrial genome. Nature, 290, 457-465.
- Ansell, S.W., Stenlien, H.K., Grundmann, M., Russell, S.J., Koch, M.A., Schneider, H. and Vogel, J.C., 2011.** The importance of Anatolian mountains as the cradle of global diversity in *Arabis alpina*, a key arctic – alpine species. Ann Bot-London 108, 241–252.
- Ansorge, W., Sproat, B.S., Stegemann, J. and Schwager, C., 1986.** A non-radioactive automated method for DNA sequence determination. Journal of Biochemical and Biophysical Methods, 13, 315–323.
- Ansorge, W., Sproat, B., Stegemann, J., Schwager, C. and Zenke, M., 1987.** Automated DNA sequencing ultrasensitive detection of fluorescent bands during electrophoresis. Nucleic Acids Research, 15, 4593–4602.
- Aral, F., Şahinöz, E., Doğu, Z. ve Demirkol, R., 2004.** Atatürk Baraj Gölü’ndeki *Carasobarbus luteus* (Heckel, 1843)’un spermatolojik özelliklerinin belirlenmesi. Süleyman Demirel Üniversitesi Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Dergisi, 2, 72-77.
- Aranishi, F., Okimoto, T. and Izumi, S., 2005.** Identification of gadoid species (pisces, gadidae) by PCR-RFLP analysis. Journal of Applied Genetics, 46, 69–73.
- Avise, J.C., 1994.** Molecular Markers, Natural History and Evolution. Chapman & Hall, New York.
- Banarescu, P. and Coad, B., 1991.** Cyprinids of Eurasia. In Winfield, IJ. and Nelson, J.S. (Eds), Cyprinid fishes Systematics, Biology and Exploitation. Chapman & Hall, London, 127-155.
- Bandelt, H., Forster, P. and Röhl, A., 1999.** Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. Molecular Biology and Evolution, 16, 37–48.

- Bardakci, F., Degerli, N., Ozdemir, O. and Basibuyuk, H.H., 2006.** Phyleogeography of the Turkish brown trout *Salmo trutta* L. mitochondrial DNA PCR-RFLP variation. *Journal of Fish Biology*, 68, 1–20.
- Battalgil, F., 1942.** Türkiye tatlısu balıkları hakkında. Contribution à la connaissance des poissons des eaux douces de la Turquie. *Revue de la Faculté des Sciences del'Université d'Istanbul, Série B Sciences Naturelles*, 7, 287–306.
- Baum, D., 2008.** Reading a Phylogenetic Tree The Meaning of Monophyletic Groups, *Nature Education*, 1, 1-190.
- Bayes, T., 1991.** An essay towards solving a problem in the doctrine of chances. 1763. *MD Computing* 8, 157-171.
- Bianco, P.G. and Banarescu, P., 1982.** A contribution to the knowledge of the Cyprinidae of Iran (Pisces, Cypriniformes). *Cybium*, 6, 75–96.
- Bilici, S., 2013.** The Investigations on the Biology of *Carasobarbus luteus*, *Capoeta Trutta* and *Garra Variabilis* Species Living in Tigris River. PhD Thesis. Institute of Natural and Applied Sciences University of Dicle, Diyarbakır.
- Bilici, S., Ünlü E., Çiçek, T. and Satıcı, Ö., 2016.** The reproductive biology of *Carasobarbus luteus* and *Capoeta trutta* in the Tigris River, Turkey. *Cybium*, 40, 147-153.
- Bilici, S., Cicek T. and Ünlü, E., 2017.** Observation on the age, growth and somatic condition of *Carasobarbus luteus* (Heckel, 1843) and *Capoeta trutta* (Heckel, 1843) (Cyprinidae) in the Tigris River, Turkey. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 16, 170-187.
- Billington, N. and Hebert, D.N., 1991.** Mitochondrial DNA diversity in fishes and its implications for introductions. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 48, 80-94. DOI :10.1139/f91-306.
- Borkenhagen, K., Esmaeili, HR., Mohsenzadeh S. and Shahryari, F.G.A., 2011.** The molecular systematics of the *Carasobarbus* species from Iran and adjacent areas, with comments on *Carasobarbus albus* (Heckel, 1843). *Environmental Biology of Fishes*, 91, 327–335. DOI: 10.1007/s10641-011-9787-1.
- Borkenhagen, K., and Krupp, F., 2013.** Taxonomic revision of the genus *Carasobarbus* Karaman, 1971 (Actinopterygii, Cyprinidae). *ZooKeys*, 339, 1–53.
- Borkenhagen, K., 2014.** A new genus and species of cyprinid fish (Actinopterygii, Cyprinidae) from the Arabian Peninsula, and its phylogenetic and zoogeographic affinities. *Environmental Biology of Fishes*, 97, 1179–1195.

- Bozkurt, R., 1998.** The investigation on biological characteristics of *Acanthobrama marmid* Heckel 1843, *Capoeta trutta* (Heckel, 1843) and *Carasobarbus luteus* (Heckel, 1843) in Atatürk Dam Lake. PhD Thesis. Harran University, Şanlıurfa.
- Briolay, J., Galtier, N., Brito, R.M. and Bouvet, Y., 1998.** Molecular phylogeny of Cyprinidae inferred from cytochrome b DNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 9, 100–108. DOI: 10.1006/mpev.1997.0441.
- Bruford, M.W. and Wayne, R.K., 1993.** Microsatellites and their application to population genetic studies. *Current Opinion in Genetics and Development*, 3, 939–943.
- Cantatore, P., Roberti, M., Pesole, G., Ludovico, A., Milella, F., Gadaleta, M. N. and Saccone, C., 1994.** Evolutionary analysis of cytochrome b sequences in some perciformes evidence for a slower rate of evolution than in mammals. *Journal of Molecular Evolution*, 39, 589–597.
- Cavalli-Sforza, L.L., 1998.** The DNA revolution in population genetics. *Trends in Genetics*, 14, 60–65.
- Cavender, T.M. and Coburn, M.M., 1992.** Phylogenetic Relationships of North American Cyprinidae. In Mayden, R.L. (Ed.), *Systematics, Historical ecology, and North American Freshwater Fishes*. Stanford University Press, Stanford, CA, 293–327.
- Chidgeavadze, Z., Beabealashvili, R.S. 1984.** 2', 3'-Dideoxy-3'-aminonucleoside 5'-triphosphates are the terminators of DNA synthesis catalyzed by DNA polymerases. *Nucleic Acids Research*, 12, 1671–1686.
- Coad, B.W., 1982.** A re-description and generic re-assignment of *Kosswigobarbus kosswigi* (Ladiges, 1960), a cyprinid fish from Turkey and Iran. *Mitteilungen aus dem Hamburgischen Zoologischen Museum und Institut*, 79, 263–265.
- Coad, B.W. and Najafpour, N., 1997.** *Barbus sublimus*, a new species of cyprinid fish from Khuzestan Province, Iran. *Ichthyological Exploration of Freshwaters*, 7, 273–278.
- Coad, B.W., 2010.** *Freshwater Fishes of Iraq*. Pensoft Publishers, Sofia & Moscow.
- Çarhan A., Ercan, E. ve Yalçinkaya T., 2016.** Dijital PZR ve kullanım alanları. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 73, 183–198.
- Çelik, B. ve Saler, S., 2016.** Atatürk Baraj Gölü'nde yaşayan bizir, *Carasobarbus luteus* (Heckel, 1843)'un sindirim sistemi içeriği. *Journal of Limnology and Freshwater Fisheries Research*, 2, 83–93.
- Ciftci, Y., Castilho, R. and Mcandrew, B.J., 2002.** More polymorphic microsatellite markers in the European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Molecular Ecology Notes*, 2, 575–576.

- Darabi, A.R., Kashan, N., Fayazi, J., Aminafshar, M. and Chamani, M., 2014.** Investigation of phylogenetic relationship among two *Barbus* species (Cyprinidae) populations with mitochondrial DNA using PCR sequencing. *IJBPAS*, 4, 302-311.
- Durand, J.D., Tsigenopoulos, C.S., Ünlü, E. and Berrebi, P., 2002.** Phylogeny and biogeography of the family Cyprinidae in the Middle East inferred from cytochrome b DNA – Evolutionary significance of this region. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 22, 91–100. DOI: 10.1006/mpev.2001.1040.
- Ekmekçi, F.G., Banarescu, P., 1998.** A Revision of the generic position of *barynotus* (systemus) *verhoeffi*, and the validity of the genera *carasobarbus*, *kosswigobarbus* and *mesopotamichthys* (pisces, cyprinidae). *Folia Zoologica*, 47 (Suppl. 1), 87–96.
- Esmaeili, H.R., Teimory, A., Hosseini, F., Gholami, Z., 2006.** Range extension report for *Barbus sublimus* Coad and Najafpoor, 1997 (Actinopterygii Cyprinidae) along with its sympatric species in southwest Iran. *Iranian Journal of Animal Biosystematics*, 2, 19–24.
- Esposti, M.D, De Vries, S., Crimi, M., Ghelli, A., Patarnello, T., Meyer, A., 1993.** Mitochondrial cytochrome b evolution and structure of the protein. *Biochim Biophys Acta*, 26, 243-271.
- Eydizadeh, A., Eskandary, G.R, Hashemi, S.A.R., 2014.** Some biological aspect of *Carasobarbus luteus* in Hoor Al-azim wetland. *Scientific Journal of Biological Sciences*, 3, 29-36.
- Fairbridge, R., Erol, O., Karaca, M., Yilmaz, Y., 1997.** Background to Mid-Holocene climatic change in Anatolia and adjacent regions. In Dalfes, H.N., Kukla, G., Weiss, H. (Eds.), *Third Millennium BC Climate Change and Old World Collapse* NATO ASI series I 149. Springer, Berlin, 595–609.
- Fayazi, J., Rahimi, G., Moradi, M., Ashtyani, R. and Galledari, H., 2006.** Genetic differentiation and phylogenetic relationships among *barbus xanthopterus* (cyprinidae) populations in southwest of Iran using mitochondrial DNA markers. *Pakistan Journal Of Biological Sciences*, 9, 2249–2254. DOI: 10.3923/Pjbs.2006.2249.2254.
- Felsenstei, J., 1981.** Evolutionary trees from DNA sequences a maximum likelihood approach. *Journal of Molecular Evolution*, 7, 368-376.
- Fennando, P., Pfrender, M.E., Encalada, S. E. and Lande, R., 2000.** Mitochondrial DNA variation, phylogeography and population structure of the Asian elephant. *Heredity*, 84, 62-72.

- Ferguson, M., 1995.** The role of molecular genetic markers in the management of cultured fish. G.R. Carvalho and T.J. Pitcher (Eds.), *Molecular Genetics in Fisheries*. London Chapman & Hall, 81-104.
- Frankham, R., Briscoe, D.A., and Ballou, J.D., 2002.** Introduction to conservation genetics. Cambridge University Press, New York, USA.
- Freeman, S., Herron J.C., 1999.** Evrimsel Analiz. Çıplak B., Başbüyük H., Karaytuğ S., Gündüz İ. (Ed.). Palme Yayıncılık, Ankara, 28, 438-708.
- Froese, R. and Pauly, D., 2015.** Fishbase. World Wide Web Electronic Publication. Available <http://www.fishbase.org> (May 30, 2019).
- Geldiay, R. ve Balık, S., 1996.** Türkiye Tatlısu Balıkları, II. Baskı, Ege Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi Yayınları, İzmir.
- Gilks, W.R., Richardson, S. and Spiegelhalter, D.J., 1995.** Markov Chain Monte Carlo in Practice. Chapman & Hall, London.
- Gokcek, C.K., Mazlum, Y. and Akyurt, I., 2008.** Effect of feeding frequency on the growth and survival of himri barbel *Barbus luteus* (Heckel, 1843), fry under laboratory conditions. *Pakistan Journal of Nutrition*, 7, 66-69.
- Gu, X., Zhu, J.Y., Jian, K.L., Wang, B.J., Peng, X.R., Yang, G.Y., Wang, T., Zhong, Z.J., Peng, K.Y., 2016.** Absence of population genetic structure in *Heterakis gallinarum* of chicken from Sichuan, inferred from mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I gene. *Mitochondrial DNA Part A*, 27, 3612-3617.
- Gür, H., 2016.** The Anatolian diagonal revisited testing the ecological basis of a biogeographic boundary. *Zoology in the Middle East*, 623, 189-199.
- Heather, J.M. and Chain, B., 2016.** The sequence of sequencers the history of sequencing DNA. *Genomics*, 107, 1-8.
- Harzhauser, M., Mandic, O., Piller, W.E., Reuter, M. and Kroh, A., 2008.** Tracing back the origin of the Indo-Pacific mollusc fauna – basal Tridacninae from the Oligocene and Miocene of the Sultanate of Oman. *Palaeontology*, 51, 199-213.
- Hunkapiller, T., Kaiser R., Koop, B. and Hood, L., 1991.** Large-scale and automated DNA sequence determination. *Science*, 254, 59–67.
- Imsiridou, A., Apostolidis, A.P., Durand, J.D., Briolay, J., Bouvet, Y. and Triantaphyllidis, C., 1998.** Genetic differentiation and phylogenetic relationships among Greek chub *Leuciscus cephalus* L. (Pisces, Cyprinidae) populations as revealed by RFLP analysis of mitochondrial DNA. *Biochemical Systematics and Ecology*, 26, 415–429. DOI:10.1016/S0305-1978, 00123-3.

- Kahya, S., Coven, F., Temelli, S., Eyigor, A. and Carli, K.T., 2013.** Presence of IS/1494/06 Genotype-related infectious bronchitis virus in breeder and broiler flocks in Turkey. Ankara Universitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi, 60, 27–31.
- Kambara, H., Nishikawa, T., Katayama, Y. and Yamaguchi, T., 1988.** Optimization of parameters in a DNA sequenator using fluorescence detection. Nature Biotechnology, 6, 816–820.
- Kaya, C., Turan, D. and Ünlü, E., 2016.** The latest status and distribution of fishes in upper tigris river and two new records for Turkish freshwaters. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 16, 545-562.
- Kelle, A., 1978.** Dicle Nehri Kollarında Yaşayan Balıklar Üzerinde Taksonomik ve Ekolojik Araştırmalar. Yayınlanmamış Doktora Tezi. Dicle Üniversitesi, Diyarbakır.
- Kence, A. ve Bilgin, C.C., 1996.** Türkiye Omurgalıları Tür Listesi, Nurol Matbaacılık, Ankara.
- Klug, S.W. and Cummings, W.R., 2000.** Concept of Genetics. Prentice Hall, New Jersey, 745.
- Kidd, K.K. and Sgaramella-Zonta, L.A., 1971.** Phylogenetic analysis Concepts and methods. American Journal of Human Genetics, 23, 235–252.
- Kosswig, C., 1954.** Türkiye tatlısu balıklarının zoocoğrafyası. İstanbul Üniversitesi Fen Fakültesi Hidrobioloji Araştırma Enstitüsü Mecmuası, 2, 1-19.
- Kottelat, M. and Freyhof, J., 2007.** Handbook of European Freshwater Fishes. Steven Simpson Books. Cornol & Freyhof, Berlin.
- Krijgsman, W., Hilgen, F.J., Raffi, I., Sierro, F.J. and Wilson, D.S., 1999.** Chronology, causes and progression of the Messinian salinity crisis. Nature, 400, 652-655.
- Kuru, M., 1971.** The freshwater fish fauna of eastern Anatolia. İstanbul Üniversitesi Fen Fakültesi Mecmuası, 36, 137–147.
- Kuru, M., 1975.** Dicle-Fırat, Kura-Aras, Van Gölü ve Karadeniz Havzası Tatlısularında Yaşayan Balıkların (Pisces) Sistemik ve Zoocoğrafik Yönden İncelenmesi. Doçentlik Tezi. Atatürk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Erzurum, 180pp.
- Kuru, M., 1979.** The freshwater fish of South-Eastern Turkey-2 (euphrates-tigris system). Hacettepe Bulletin of Natural Sciences and Engineering, 7, 105-114.
- Kuru, M., 1980.** Türkiye Tatlısu Balıkları Katalogu, Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi, Yayınları Yardımcı Kitaplar Dizisi-1, Ankara. 12-1980.

- Kuru, M., 2004.** Türkiye içsu balıklarının son sistematik durumu. Gazi Üniversitesi Gazi Eğitim Fakültesi Dergisi, 24, 1-21.
- Kuru, M., Yerli, S.V., Mangıt, F., Ünlü, E., and Alp, A., 2014.** Fish biodiversity in inland waters of Turkey. Journal of Academic Documents for Fisheries and Aquaculture, 3, 93-120.
- Ladiges, W., 1960.** Süßwasserfische der Türkei. I. Teil Cyprinidae. Mitteilungen aus dem Hamburgischen Zoologischen Museum und Institut, 58, 105–150.
- Leigh, J.W. and Bryant, D., 2015.** POPART full-feature software for haplotype network construction. Methods in Ecology and Evolution, 6, 1110-1116.
- Li, Y., 2004.** How to build a phylogenetic tree phycs498BIO assignment2. Mary Ann Liebert, Inc., 195-212. DOI: 10.3133/of2007-1047.srp003.
- Liu, Z.J. and Cordes, J.F., 2004.** DNA marker technologies and their applications in aquaculture genetics. Aquaculture, 238, 1–37.
- Liu, Z., Song, N., Yanagimoto, T., Han, Z., Shui, B. and Gao, T., 2017.** Complete mitochondrial genome of three fish species (perciformes amblyopinae) genome description and phylogenetic relationships. Pakistan Journal of Zoology, 49, 111-120.
- Luckey, J. and Drossman, H., 1990.** High speed DNA sequencing by capillary electrophoresis. Nucleic Acids Research, 18, 4417–4421.
- Maxam, A.M. and Gilbert, W., 1977.** A new method for sequencing DNA. Proceedings of the National Academy of Sciences, 74, 560-564.
- Nelson, J.S., 1994.** Fishes of the World. Third Edition. John Wiley 1994, New York.
- Okumuş, İ. ve Çiftci, Y., 2002.** Fish Population genetics and application of molecular markers to fisheries and aquaculture – I Basic principles of fish population genetics, Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 2, 145-155.
- Parmaksız, A., 2017.** Genetic variation in *Cyprinion macrostomus* Heckel, 1843 populations as revealed by partial COI sequences of mitochondrial DNA. Applied Ecology and Environmental Research, 16, 1899-1907.
- Parmaksız, A. ve Ekşi E., 2017.** Genetic diversity of the cyprinid fish *Capoeta trutta* (Heckel, 1843) populations from Euphrates and Tigris rivers in Turkey based on mtDNA COI sequences. Indian Journal of Fisheries, 64, 18-22.
- Parmaksız, A., Şeker, Ö., Aslan, N. and Oymak, A., 2017.** Determination of genetic diversity in *Barbus grypus* Heckel, 1843 populations by mtDNA COI gene sequences. Yunus Research Bulletin, 1, 103-107.

- Parmaksız, A. and Eskici, H.K., 2018.** Genetic variation of yellow barbell (*Carasobarbus luteus* Heckel, 1843) from four populations using mitochondrial DNA COI gene sequences. *Applied Ecology and Environmental Research*, 16, 1673-1682.
- Phillips, J.D., Gillis, D.J., Hanner, R.H., 2019.** Incomplete estimates of genetic diversity within species Implications for DNA barcoding. *Ecology and Evolution*, 9, 2996–3010.
- Prober, J.M., 1987.** DNA sequencing with rapid for system fluorescent chain-terminating dideoxynucleotides. *Science*, 238, 336–341.
- Purves, W.K., Sadava, D. Orians, G.H. and Heller, H.G., 2003.** "Reconstructing and Using Phylogenies." In *Life The Science of Biology*, 496-509. 7th ed. Sunderland, MA Sinauer Associates.
- Qi, D., Guo, S., Tang, J., Zhao, X., Liu, J., 2007.** Mitochondrial DNA phylogeny of two morphologically enigmatic fishes in the subfamily Schizothoracinae (Teleostei Cyprinidae) in the Qinghai-Tibetan Plateau. *Journal of Fish Biology*, 70 (Supplement A), 60–74.
- Reece, J.B., Urry, L.A., Cain, M.L., Wasserman, S.A., Minorsky, P.V. and Jackson, R.B., 2011.** Phylogeny and the tree of life. *Campbell Biology*, 547-558. 10th ed. San Francisco Pearson.
- Rzhetsky, A. and Nei, M. 1992.** A simple method for estimating and testing minimum-evolution trees. *Molecular Biology and Evolution*, 9, 945-967.
- Saitou, N. and Nei, M., 1987.** The neighbor-joining method a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*, 4, 406–25.
- Sambrook, J., Fritsch, E.F., Maniatis, T., 1989.** *Molecular Cloning a Laboratory Manual*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York. 3-1659. ISBN: 0 87969 309 6.
- Sanger, F. and Coulson, A.R., 1975.** A rapid method for determining sequences in DNA by primed synthesis with DNA polymerase. *Journal of Molecular Biology*, 94, 441-448.
- Sanger, F.S. and Nicklen, A.R.C., 1977.** DNA sequencing with chain-terminating. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 74, 5463–5467.
- Sanger, F., Nicklen, S. and Coulsan, A.R., 1977.** DNA sequencing with chain terminating inhibitors. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 74, 5463-5467.
- Smith, L.M., Fung, S., Hunkapiller, M.W., Hunkapiller, T.J. and Hood, L.E., 1985.** The synthesis of oligonucleotides containing an aliphatic amino group at the 5'

- terminus synthesis of fluorescent DNA primers for use in DNA sequence analysis. *Nucleic Acids Research*, 13, 2399–2412.
- Studier, J.A. and Keppler, K.L. 1988.** A note on the neighbor-joining algorithm of Saitou and Nei. *Molecular Biology and Evolution*, 5, 729–731.
- Swerdlow, H. and Gesteland, R., 1990.** Capillary gel electrophoresis for rapid, high resolution DNA sequencing. *Nucleic Acids Research*, 18, 1415–1419.
- Tanner, M.A., 1993.** Tools for Statistical Inference Methods for the Exploration of Posterior Distributions and Likelihood Functions. Springer Series in Statistics, New York, NY. 89, 1142–1144.
- Tang, Q., Liu H., Mayden, R. and Xiong, B., 2006.** Comparison of evolutionary rates in the mitochondrial DNA cytochrome b gene and control region and their implications for phylogeny of the cobitoidea (teleostei cypriniformes). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 39, 347–357.
- Tang, Z., Ding, Z., White, P. D., Dong, X., Ji, J., Jiang, H. 2011.** Late Cenozoic central Asian drying inferred from a palynological record from the northern Tian Shan. *Earth and Planetary Science Letters*, 302, 439–447.
- Tsigenopoulos, C.S., Durand, J.D., Unlu, E. and Berrebi, P., 2003.** Rapid radiation of the Mediterranean *Luciobarbus* species (Cyprinidae) after the Messinian salinity crisis of the Mediterranean Sea, inferred from mitochondrial phylogenetic analysis. *Biological Journal of the Linnean Society*, 80, 207–222.
- Tsigenopoulos, CS., Kasapidis, P., Berrebi, P., 2010.** Phylogenetic relationships of hexaploid large-sized barbus (genus *Labeobarbus*, Cyprinidae) based on mtDNA data. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 56, 851–856.
- URL-1, 2010.** <http://www.briancoad.com/Species%20Accounts/Cyprinidae%20Introduction%20and%20Abramis%20to%20Cyprinus.htm#Barbus> (17 Haziran 2019).
- Ünlü, E., 1991.** Investigation on the biological characteristics of *Capoeta trutta* (Heckel, 1843) living in Tigris River. *Turkish Journal Of Zoology*, 15, 12–38.
- Van de Peer, Y., 2009.** Phylogenetic Inference Based on Distance Methods Theory. In *The Phylogenetic Handbook a Practical Approach to Phylogenetic Analysis and Hypothesis Testing*, ed. Philippe Lemey, Marco Salemi, and Anne-Mieke Vandamme, Cambridge University Press, Cambridge, UK, 142–160.
- Wang, J., Wu, X. Y., Chen, Z., Yue, Z., Ma, W., Chen, S. Y., Xiao, H., Murphy, R. W., Zhang, Y. P., Zan, R. G. and Luo, J., 2013.** Molecular phylogeny of European and African Barbus and their West Asian relatives in the Cyprininae (Teleostei Cypriniformes) and orogenesis of the Qinghai-Tibetan Plateau. *Chinese Science Bulletin*, 58, 3738–3746.

- Wang, X., Li, J. and He, S., 2007.** Molecular evidence for the morphology of East Asian groups of Cyprinidae (Teleostei cypriniformes) derived from nuclear recombination activating gene 2 sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 42, 157-170.
- Wossughi, G., 1978.** Beitrag zur Systematik and Zoogeographieder Cyprinidae (Pisces, Teleostei) des Mittleren Ostens unter besonderer Berücksichtigung des Irans. Universität Hamburg, Hamburg.
- Wright, S., 1943.** Isolation by distance. *Genetics*, 28, 114–138.



ÖZGEÇMİŞ

Didem BAHADIR 17/04/1990 tarihinde Giresun’da doğdu. İlköğretimini 2004 yılında Güce ilköğretim okulunda ve Orta öğretimini 2009 yılında Güce Çok Programlı Lisesi’nde tamamladı. 2009 yılında başladığı lisans eğitimini 2013 yılında Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesinde tamamladı. 2014 yılında Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Anabilim Dalı’nda başladığı yüksek lisans öğrenimine halen devam etmektedir.

