

T.C.
RECEP TAYYİP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
SU ÜRÜNLERİ ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

**TÜRKİYE İÇ SULARINDA DAĞILIM GÖSTEREN *Gobio* Cuvier,
1816 CİNSİNE AİT TÜRLERİN FİLOGENETİK ANALİZİ**

İsmail AKSU

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Yusuf BEKTAŞ

JÜRİ ÜYELERİ

Prof. Dr. Davut TURAN

Prof. Dr. Nurhayat ÖZDEMİR

Prof. Dr. Semih ENGİN

Doç. Dr. Yılmaz ÇİFTÇİ

RİZE-2020

Her Hakkı Saklıdır

ÖNSÖZ

“Türkiye İç sularında Dağılım Gösteren *Gobio* Cuvier, 1816 Cinsine Ait Türlerin Filogenetik Analizi” isimli bu tez çalışması Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsünde Su Ürünleri Anabilim Dalında Doktora Tezi olarak hazırlanmıştır. Bu çalışma ile Türkiye iç su biyoçeşitliliğinin önemli bileşenlerinden ve bir çoğu ülkemiz için endemik olan, Dere kayası ismiyle bilinen *Gobio* türlerinin mitokondri DNA’sına ait sitokrom b (Cyt b), sitokrom oksidaz alt ünite I (COI) ve 16S ribozomal RNA genlerinin dizilenmesi, bu genler üzerinden türlerin filogenetik açıdan ilişkilerinin incelenmesi ve filocoğrafyası açıklanmaya çalışılmıştır.

Doktora eğitimim sürecinde benden tecrübelerini, bilgisini esirgemeyen tez konusunun belirlenmesinden, laboratuvar çalışmalarına kadar kısacası herşeyde emeği olan tez danışmanım, değerli hocam Prof. Dr. Yusuf BEKTAŞ’a,

Tez çalışmama tecrübe ve değerli bilgileri ile katkı sunan doktora tez jüri üyeleri Prof. Dr. Davut TURAN, Prof. Dr. Nurhayat ÖZDEMİR, Prof. Dr. Semih ENGİN ve Doç. Dr. Yılmaz ÇİFTÇİ’ye,

Arazi çalışmaları, balık örneklerinin tür tayinlerinin yapılması ve fotoğraflanması konusunda yardımlarını esirgemeyen Prof. Dr. Davut TURAN, Prof. Dr. Fahrettin KÜÇÜK, Arş. Gör. Dr. Cüneyt KAYA, Arş. Gör. Dr. Esra BAYÇELEBİ ve Arş. Gör. Dr. Salim Serkan GÜÇLÜ’ye,

Su Ürünleri Fakültesi akademik ve idari personeline,

Hayatımın her anında ilgilerini ve sevgilerini hiçbir zaman esirgemeyen sevgili ailem, canım annem, merhum babam, kardeşlerim, biricik eşim ve canım oğluma teşekkürlerimi sunarım.

Bu Doktora Tezi Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından 2015.53008.103.01.01 nolu proje ile desteklenmiştir.

İsmail AKSU

TEZ ETİK BEYANNAMESİ

Tarafımdan hazırlanan “Türkiye İç sularında Dağılım Gösteren *Gobio* Cuvier, 1816 Cinsine Ait Türlerin Filogenetik Analizi” başlıklı bu tezi, 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.
23/10/2020



İsmail AKSU

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

ÖZET

TÜRKİYE İÇ SULARINDA DAĞILIM GÖSTEREN *Gobio* Cuvier, 1816 CİNSİNE AİT TÜRLERİN FİLOGENETİK ANALİZİ

İsmail AKSU

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

Türkiye iç sularında 15 türle temsil edilen *Gobio* Cuvier 1816 cinsi Türkiye biyoçeşitliliği açısından önemli bir gruptur. Karadeniz, Marmara, Kuzey Ege, Doğu Akdeniz (sadece Göksu Nehri) ve İç Anadolu Bölgesi olmak üzere geniş bir dağılıma sahiptir. Son yıllarda Anadolu’da *Gobio* cinsinin tür sayısı artmasına rağmen taksonomik belirsizlikler henüz tam olarak çözülememiştir. Bu çalışma ile *Gobio* türlerinin filogenetik ilişkilerinin belirlenmesi, tarihsel biyocoğrafyasının açıklanması ve taksonlardaki karmaşıklığın genetik veriler ile giderilmesi amaçlanmaktadır. Bu kapsamda, 15 *Gobio* türünün (toplamda 333 birey) mitokondri DNA 16SrRNA (1693 bp), COI (1551 bp) ve Cyt b (1042 bp) genlerinin dizilenmesini gerçekleştirdik. Ayrıca analizlerde üç gen bölgesinin birleştirilmiş verisi de kullanıldı. Haplotip analizi sonucunda mtDNA 16SrRNA geni için 43, COI geni için 41, Cyt b geni için 69 ve birleştirilmiş veri için de 107 haplotip tespit edildi. MtDNA gen bölgelerine dayalı olarak Kimura two parametre (K2P) mesafe modeline göre tür içi ve türler arası genetik mesafeler hesaplandı. Filogenetik analizler kapsamında komşu birleştirme (NJ), maksimum tutumluluk (MP), maksimum olasılık (ML) ve bayes (BI) metodlarına göre analizler gerçekleştirildi. Haplotip ağı analizleri kapsamında median-joining metoduna göre haplotip ağı ağaçları oluşturuldu. Genetik mesafe sonuçları Anadolu *Gobio* türlerinin Kuzeybatı, Merkez ve Kuzeydoğu olmak üzere üç soy grubu oluşturduğunu göstermektedir. Filogenetik ve haplotip ağı ağaçları da coğrafik dağılımlarına uygun olarak üç soy grubunu desteklemektedir. Kuzeydoğu grubu, Batı Transkafkasya’dan sadece bir tür; Kuzeybatı grubu, Doğu Trakya’dan Batı Anadolu’ya kadar olan; Merkez grubu ise, İç Anadolu’da bulunan türleri içermektedir. Cyt b geni için milyon yıl başına % 1’lik orana dayalı, üç *Gobio* soy grubunun arasındaki ayrılma sürelerinin, Anadolu’nun tektonik yükselmesi ve küresel iklim dalgalanmalarının meydana geldiği Miyosen dönemine karşılık geldiğini düşündürmektedir.

2020, 96 sayfa

Anahtar Kelimeler: MtDNA, *Gobio*, Biyocoğrafya, Filogeni, Türkiye iç suları.

ABSTRACT

PHYLOGENETIC ANALYSIS OF THE SPECIES BELONG TO GENUS *Gobio* Cuvier, 1816 DISTRIBUTED IN TURKEY'S INLAND WATERS

İsmail AKSU

Recep Tayyip Erdogan University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Fisheries and Aquatic Sciences
Ph. D. Thesis
Supervisor: Prof. Dr. Yusuf BEKTAŞ

The genus *Gobio* Cuvier, 1816 represented by 15 species in Turkey inland waters an important group for Turkey biodiversity. It has a wide distribution in the Black Sea, Marmara, North Aegean, Eastern Mediterranean (only Göksu River) and Central Anatolia. In spite of the increase in number of *Gobio* species in Anatolia in recent years, the taxonomic uncertainties in the genus have not yet been exactly resolved. This study aims to determine the phylogenetic relationships of *Gobio* species, to explain the historical biogeography and to eliminate the complexity in taxa with genetic data. The mitochondrial 16SrRNA (1693 bp), COI (1551 bp) and Cyt b (1042 bp) genes were sequenced for a total of 333 individuals 15 species of the genus *Gobio*. In addition, combined data of three genes were used in the analyzes. As a result of haplotype analysis, 43 for 16S rRNA, 41 for COI, 69 for Cyt b and 107 haplotypes for combined data were identified. Based on the MtDNA genes, intraspecies and interspecies genetic distances were calculated according to the K2P distance model. The phylogenetic analyzes were performed according to NJ, MP, ML and BI methods. The haplotype network trees were created according to the median-joining method. The K2P genetic distance results show that Anatolian *Gobio* species are clustered into three groups as Northwest, Central and Northeast. Phylogenetic and haplotype network trees results revealed that the Anatolian *Gobio* species belongs to three well-supported groups in accordance with their geographic distribution. Northeastern group comprises only one species from Western Transcaucasia, northwestern group species ranging from Eastern Thrace to Western Anatolia and Central group species found in Central Anatolia. The estimated divergence times between the three *Gobio* groups, calculated using a conventional 1% rate of mutation for a fish mitochondrial Cyt b gene per million years, coincide with the late Miocene period in which the tectonic uplift of Anatolia and global climate fluctuations occurred.

2020, 96 pages

Keywords: MtDNA, *Gobio*, Biogeography, Phylogeny, Turkey's inland waters

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	I
TEZ ETİK BEYANNAMESİ.....	II
ÖZET	III
ABSTRACT	IV
İÇİNDEKİLER.....	V
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VII
TABLolar DİZİNİ	IX
SEMBOLLER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	X
1. GENEL BİLGİLER.....	1
1.1. Giriş	1
1.2. Literatür Özeti.....	4
1.3. <i>Gobio</i> Cuvier, 1816 cinsinin genel özellikleri	8
1.3.1. <i>Gobio artvinicus</i> Turan, Japoshvili, Aksu & Bektaş, 2016	10
1.3.2. <i>Gobio baliki</i> Turan, Kaya, Bayçelebi, Aksu & Bektaş, 2017	11
1.3.3. <i>Gobio battalgilae</i> Naseka, Erk'akan & Küçük, 2006	12
1.3.4. <i>Gobio bulgaricus</i> Drensky, 1926.....	13
1.3.5. <i>Gobio fahrettini</i> Turan, Kaya, Bayçelebi, Aksu & Bektaş, 2019	14
1.3.6. <i>Gobio gobio</i> Linnaeus, 1758.....	14
1.3.7. <i>Gobio gymnostethus</i> Ladiges, 1960.....	15
1.3.8. <i>Gobio hettitorum</i> Ladiges, 1960	16
1.3.9. <i>Gobio insuayanus</i> Ladiges, 1960.....	17
1.3.10. <i>Gobio intermedius</i> Battalgil, 1944.....	17
1.3.11. <i>Gobio kizilirmakensis</i> Turan, Japoshvili, Aksu & Bektaş, 2016	18
1.3.12. <i>Gobio kovatschevi</i> Chichkoff, 1937	19
1.3.13. <i>Gobio maeandricus</i> Naseka, Erk'akan & Küçük, 2006.....	20
1.3.14. <i>Gobio microlepidotus</i> Battalgil, 1942	20
1.3.15. <i>Gobio sakaryaensis</i> Turan, Ekmekçi, Luskova & Mendel, 2012.....	21
1.4. Balık Mitokondri Genomu	23
1.5. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)	26
1.6. DNA Dizi Analizi	27
1.7. Filogenetik Analiz Yöntemleri	30

1.7.1. Mesafe Temelli Yöntemler	31
1.7.1.1. Aritmetik Ortalamayı Kullanan Ağırlıksız Çift Grup (UPGMA) Yöntemi	31
1.7.1.2. Komşu Birleştirme (Neighbor-Joining / NJ) Yöntemi	32
1.7.1.3. Minimum Evrim (Minimum Evolution / ME) Yöntemi	32
1.7.1.4. Fitch-Margoliash (FM) Yöntemi	33
1.7.2. Karakter Temelli Yöntemler	33
1.7.2.1. Maksimum Tutumluluk (Maximum Parsimony / MP) Yöntemi	33
1.7.2.2. Maksimum Olasılık (Maximum Likelihood / ML) Yöntemi	34
1.7.2.3. Bayes Çıkarsama (Bayesian Inference / BI) Yöntemi	34
1.8. Moleküler Saat Hipotezi	35
2. YAPILAN ÇALIŞMALAR	37
2.1. Materyal	37
2.2. Yöntem	39
2.2.1. Total DNA Eldesi	39
2.2.2. Primer Tasarımı	39
2.2.3. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) Uygulamaları	40
2.2.4. DNA Dizi Analizi	41
2.2.5. Verilerin Analizi	41
3. BULGULAR	43
3.1. Genetik Çeşitlilik	43
3.1.1. Cyt b genine dayalı dizi özellikleri ve genetik çeşitlilik	45
3.1.2. COI genine dayalı dizi özellikleri ve genetik çeşitlilik	48
3.1.3. 16S rRNA genine dayalı dizi özellikleri ve genetik çeşitlilik	51
3.1.4. Birleştirilmiş veri setine dayalı genetik çeşitlilik	54
3.2. <i>Gobio</i> türleri arasındaki filogenetik ilişkiler	56
3.3. <i>Gobio</i> türleri arasındaki haplotip ağı ilişkileri	72
3.4. Anadolu <i>Gobio</i> Türlerinin Ayrılma Zamanları	76
4. TARTIŞMA ve SONUÇLAR	77
4.1. Genetik Çeşitlilik, Filogenetik ve Haplotip Ağı Analizleri	77
4.2. Anadolu <i>Gobio</i> Türlerinin Tarihsel Biyocoğrafyası	79
5. ÖNERİLER	83
KAYNAKLAR	84
ÖZGEÇMİŞ	96

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.	<i>Gobio</i> cinsine ait türlerin göğüs bölgesinin pulluluk derecesi.	9
Şekil 2.	<i>Gobio artvinicus</i> , Artvin: Borçka, Aralık Deresi, Çoruh Nehri.	10
Şekil 3.	<i>Gobio baliki</i> , Düzce: Yenitaşköprü Köyü, Büyükmelen Nehri.	11
Şekil 4.	<i>Gobio battalgilae</i> , Konya: Eyilikler, Sarıöz Deresi, Beyşehir Gölü.	12
Şekil 5.	<i>Gobio bulgaricus</i> , Kırklareli: Pınarhisar, Poyralı Deresi, Ergene Nehri.	13
Şekil 6.	<i>Gobio fahrettini</i> , Konya: Ilgın, Deliköyboğazı Deresi.	14
Şekil 7.	<i>Gobio gobio</i> , İstanbul: Çatalca, Kumluca Deresi.	14
Şekil 8.	<i>Gobio gymnostethus</i> , Aksaray: Kızılkaya Köyü, Melendiz Çayı.	15
Şekil 9.	<i>Gobio hettitorum</i> , Karaman: Taşkale Köyü, İbrala Deresi.	16
Şekil 10.	<i>Gobio insuayanus</i> , Konya: Cihanbeyli, İnsuyu Deresi.	17
Şekil 11.	<i>Gobio intermedius</i> , Afyon: İnli Köyü, Kali Deresi.	17
Şekil 12.	<i>Gobio kizilirmakensis</i> , Çankırı: Çerkeş, Ulusu Deresi.	18
Şekil 13.	<i>Gobio kovatschevi</i> , Kırklareli: Demirköy, Rezve (Mutlu) Deresi.	19
Şekil 14.	<i>Gobio maeandricus</i> , Afyon: Dinar, Suçikan Deresi, Büyük Menderes Nehri.	20
Şekil 15.	<i>Gobio microlepidotus</i> , Konya: Seydişehir, Sazlıoluk Deresi.	20
Şekil 16.	<i>Gobio sakaryaensis</i> , Eskişehir: Sivrihisar, Pürtek Deresi.	21
Şekil 17.	Balık mitogenomunun görsel bir temsidir (Hwang vd., 2013).	24
Şekil 18.	DNA dizi kromatogramı.	29
Şekil 19.	<i>Gobio</i> cinsine ait türlerin örneklediği istasyonları gösteren harita.	37
Şekil 20.	<i>Gobio</i> türlerine ait mtDNA Cytb için belirlenen toplam 69 adet haplotipin komşu katılım (NJ) metodu ile oluşturulan filogenetik ağaç topolojisi.	57
Şekil 21.	<i>Gobio</i> türlerine ait mtDNA Cytb için belirlenen toplam 69 adet haplotipin maksimum tutumluluk (MP) metodu ile oluşturulan filogenetik ağaç topolojisi.	58
Şekil 22.	<i>Gobio</i> türlerine ait mtDNA Cytb için belirlenen toplam 69 adet haplotipin maksimum olasılık (ML) metodu ile oluşturulan filogenetik ağaç topolojisi.	59
Şekil 23.	<i>Gobio</i> türlerine ait mtDNA Cytb için belirlenen toplam 69 adet haplotipin bayesian (BI) metodu ile oluşturulan filogenetik ağaç topolojisi.	60
Şekil 24.	<i>Gobio</i> türlerine ait mtDNA COI için belirlenen toplam 41 adet haplotipin komşu katılım (NJ) metodu ile oluşturulan filogenetik ağaç topolojisi.	61
Şekil 25.	<i>Gobio</i> türlerine ait mtDNA COI için belirlenen toplam 41 adet haplotipin maksimum tutumluluk (MP) metodu ile oluşturulan filogenetik ağaç topolojisi.	62
Şekil 26.	<i>Gobio</i> türlerine ait mtDNA COI için belirlenen toplam 41 adet haplotipin maksimum olasılık (ML) metodu ile oluşturulan filogenetik ağaç topolojisi.	63

Şekil 27. <i>Gobio</i> türlerine ait mtDNA COI için belirlenen toplam 41 adet haplotipin bayesian (BI) metodu ile oluşturulan filogenetik ağaç topolojisi.	64
Şekil 28. <i>Gobio</i> türlerine ait mtDNA 16S rRNA için belirlenen toplam 43 adet haplotipin komşu katılım (NJ) metodu ile oluşturulan filogenetik ağaç topolojisi.	65
Şekil 29. <i>Gobio</i> türlerine ait mtDNA 16S rRNA için belirlenen toplam 43 adet haplotipin maksimum tutumluluk (MP) metodu ile oluşturulan filogenetik ağaç topolojisi.	66
Şekil 30. <i>Gobio</i> türlerine ait mtDNA 16S rRNA için belirlenen toplam 43 adet haplotipin maksimum olasılık (ML) metodu ile oluşturulan filogenetik ağaç topolojisi.	67
Şekil 31. <i>Gobio</i> türlerine ait mtDNA 16S rRNA için belirlenen toplam 43 adet haplotipin bayesian (BI) metodu ile oluşturulan filogenetik ağaç topolojisi. .	68
Şekil 32. <i>Gobio</i> türlerine ait birleştirilmiş veri için belirlenen toplam 107 adet haplotipin komşu katılım (NJ) metodu ile oluşturulan filogenetik ağaç topolojisi.	69
Şekil 33. <i>Gobio</i> türlerine ait birleştirilmiş veri için belirlenen toplam 107 adet haplotipin maksimum tutumluluk (MP) metodu ile oluşturulan filogenetik ağaç topolojisi.	69
Şekil 34. <i>Gobio</i> türlerine ait birleştirilmiş veri için belirlenen toplam 107 adet haplotipin maksimum olasılık (ML) metodu ile oluşturulan filogenetik ağaç topolojisi.	70
Şekil 35. <i>Gobio</i> türlerine ait birleştirilmiş veri için belirlenen toplam 107 adet haplotipin bayesian (BI) metodu ile oluşturulan filogenetik ağaç topolojisi. .	71
Şekil 36. <i>Gobio</i> türlerine ait mtDNA Cytb genine dayalı median-joining metodu ile oluşturulan haplotip ağı topolojisi.	73
Şekil 37. <i>Gobio</i> türlerine ait mtDNA COI genine dayalı median-joining metodu ile oluşturulan haplotip ağı topolojisi.	74
Şekil 38. <i>Gobio</i> türlerine ait mtDNA 16S rRNA genine dayalı median-joining metodu ile oluşturulan haplotip ağı topolojisi.	75

TABLÖLER DİZİNİ

Tablo 1. Türkiye’de dağılım gösteren <i>Gobio</i> türlerinin sistematığı.	10
Tablo 2. Türkiye’de dağılım gösteren <i>Gobio</i> türlerinin tayin anahtarı.	22
Tablo 3. <i>Gobio</i> cinsine ait türlerin örneklendiği istasyonlar, örnek sayısı ve koordinatlar.	38
Tablo 4. MtDNA Cyt b, 16S rRNA ve COI genlerinin artırılması ve dizi analizinde kullanılan primerler.	40
Tablo 5. Polimeraz zincir reaksiyonunda kullanılan kimyasallar ve miktarları.	40
Tablo 6. PZR döngü koşulları.	41
Tablo 7. <i>Gobio</i> türlerine ait mitokondri DNA gen bölgelerinin analizi yoluyla incelenen her bir türün toplam örnek sayıları (N), haplotip sayıları (HS), haplotip çeşitlilik (HÇ) ve nükleotit çeşitlilik (NÇ) değerleri.	44
Tablo 8. MtDNA Cytb genine dayalı olarak hesaplanan <i>Gobio</i> cinsine ait türler arası ve tür içi ortalama genetik mesafeleri. Genetik mesafeler yüzde (%) olarak verilmiştir. Gri renkle işaretlenen kısımlar tür içi ortalama genetik mesafeleri göstermektedir.	47
Tablo 9. MtDNA COI genine dayalı olarak hesaplanan <i>Gobio</i> cinsine ait türler arası ve tür içi ortalama genetik mesafeleri. Genetik mesafeler yüzde (%) olarak verilmiştir. Gri renkle işaretlenen kısımlar tür içi ortalama genetik mesafeleri göstermektedir.	50
Tablo 10. MtDNA 16S rRNA genine dayalı olarak hesaplanan <i>Gobio</i> cinsine ait türler arası ve tür içi ortalama genetik mesafeleri. Genetik mesafeler yüzde (%) olarak verilmiştir. Gri renkle işaretlenen kısımlar tür içi ortalama genetik mesafeleri göstermektedir.	53
Tablo 11. Birleştirilmiş veriye dayalı olarak hesaplanan <i>Gobio</i> cinsine ait türler arası ve tür içi ortalama genetik mesafeleri. Genetik mesafeler yüzde (%) olarak verilmiştir. Gri renkle işaretlenen kısımlar tür içi ortalama genetik mesafeleri göstermektedir.	55

SEMBOLLER ve KISALTMALAR DİZİNİ

IUCN	Doğa Koruma Uluslararası Birliği
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
RNA	Ribo Nükleik Asit
ddNTP	Dideoksinükleotit
dNTPs	Deoksinükleotitler
A	Adenin Nükleotidi
C	Sitozin Nükleotidi
T	Timin Nükleotidi
G	Guanin Nükleotidi
MtDNA	Mitokondri DNA
Myö	Milyon Yıl Önce
16S rRNA	16S ribozomal RNA
COI	Sitokrom Oksidaz Alt Ünite I
Cyt b	Sitokrom b
T _m	Erime Sıcaklığı
MgCl ₂	Magnezyum Klorür
ddH ₂ O	Double Distile Su
K2P	Kimura 2-Parameter
AIC	Akaike Bilgi Kriteri
BIC	Bayesian Bilgi Kriteri
Hd	Haplotip Çeşitlilik
Pi	Nükleotit Çeşitlilik
Ts	Transisyon
Tv	Transversiyon
%	Yüzde
°C	Santigrad Derece
µl	Mikrolitre
vd	Ve diğerleri
U	Ünite
TAE	Tris-Asetik asit-Etilendiamintetraasetik asit
pmol	Pikomol

ml	Mililitre
mM	Milimolar
ng	Nanogram
bç	Baz çifti
dk.	Dakika
sn.	Saniye



1. GENEL BİLGİLER

1.1. Giriş

Biyoçeşitlilik, bir coğrafi bölgedeki ekosistemlerin, habitatların, türlerin, genlerin, ve ekolojik olayların bütünü olarak ifade edilir. Başka bir ifadeyle bir bölgedeki yaşam formlarının fenotipik ve genotipik yönden, tür, sayı ve çeşitlilik gösterdiği durumdur (Işık, 1998). Hem bilimsel olarak hem de insan ilgisini yakalama potansiyeli ile önemli olan tüm düzeylerde yaşamın doğal çeşitliliğini ifade eden geniş bir kavramdır (Arbeláez-Cortés, 2013). Bir ekosistemin sağlıklı olduğunu gösteren en önemli gösterge biyoçeşitliliğin zenginliğidir (Grime, 1997). Bir ekosistemin yüksek derecede canlı çeşitliliği göstermesi, çevrenin temizlenmesi gibi, canlılar için hayatsal önemi olan elementlerin döngüleri gibi durumlarla ekosisteme getirdikleri, doğal dengedeki rolü, besin kaynağı ve tıbbi olarak ekonomik açıdan önem arz etmektedir (Seçkin Kurumlu, 2008). Doğal ortamların tahribi, çevre kirliliği, aşırı avlanma ve iklim değişiklikleri gibi biyoçeşitliliğe zarar verecek durumların gerçekleşmesi durumunda ise birçok canlıyı olumsuz etkileyebilecek sonuçlara sebebiyet verebilecek hatta bazı türlerin yok olmasına neden olacaktır (Seçkin Kurumlu, 2008).

Dünya üzerinde yaklaşık olarak şu ana kadar 1,5 milyon tür tanımlanmış, 10.000-30.000 kadar da tanımlanamadığı düşünülen tür bulunmaktadır ve her bir canlının birbiri ile direkt veya dolaylı olarak etkileşimi bulunmaktadır (Campbell vd., 2009). Canlılar da ilk andan itibaren evrimsel süreçlere bağlı olarak tür çeşitliliğinde değişimler olmuştur. Eski jeolojik devirlerden itibaren gerçekleşen coğrafik değişimler ve iklim değişiklikleri gibi olaylarla türler çeşitlenmekte veya azalmakta hatta yok olmaktadır. İnsanoğlu da bu ekosistem içerisinde var olduğu günden itibaren hem varoluşunu sürdürmeye hemde etkileşim içinde olduğu canlıları tanımaya çalışmıştır. Özelliklerine göre her canlıyı kategorize edip, onları sınıflandırma yoluna gitmiş ve günümüzde taksonomi bilimi tarafından kabul gören ilk Linnaeus tarafından ortaya konan ikili isimlendirme (binomial nomenclatur) ile birçok canlıyı tanımlamışlardır.

Yaklaşık olarak 62839 türle omurgalılar şubesi içerisinde tür çeşitliliği bakımından ilk sırayı balıklar (yaklaşık olarak 31600 türle) almaktadır (Baillie vd., 2010). Fosil kayıtlarına göre, balıklar sınıfı erken kambrien döneminden (yaklaşık olarak 525 milyon yıl önce) köken almaktadır ve biyoçeşitlilik içerisinde yüksek tür sayısı ile önemli canlı

gruplarının başında gelmektedir.

Türlerin çok sayıda temsil edildiği coğrafi bölgeler o canlının köken merkezi olarak kabul görmektedir. Cypriniformes takımının köken merkezi olarak ta, çok sayıda türle temsil edildiği ve bu evrim merkezinden diğer coğrafi bölgelere dağılmış olduğu Asya kıtası kabul edilmektedir (Winfield ve Nelson, 2012). Bu takıma ait canlı grupları üzerine yıllarca çok sayıda çalışmalar yapılmıştır. Fosil kayıtları, Cypriniformes takımının Paleojen döneminde çeşitlilik göstermeye başladığını düşündürmektedir (Winfield ve Nelson, 2012). 1970'ler den sonra yapılan morfolojik, osteolojik ve moleküler çalışmalar sonucunda Cypriniformes takımına ait Cyprinidae ailesi içerisinde bir düzenlemeye gidilmiş ve alt aile olarak tanımlanan bazı grupların aile düzeyinde değerlendirilmesi gerektiği belirtilmiştir (Tan ve Armbruster, 2018).

Gobionidae ailesi bu araştırmalar sonucunda tanımlanan Cyprinidae alt ailelerinden Gobioninae olarak bilinmekteydi. 28 cins ile biyoçeşitlilik açısından önemli derecede tür çeşitliliği gösteren ailelerdendir (Tan ve Armbruster, 2018). Fosil kayıtlarına göre erken paleosen döneminden (yaklaşık olarak 63,5 milyon yıl önce) köken alan Gobionidlerin eosen - erken miyosen döneminde çeşitlenmeye başladığı belirtilmektedir ve dört klada ayrılmıştır. Bu kladlardan biri erken paleosenden pliyosene kadar bazı özel coğrafik ve iklimsel olayların sonucu olarak ortaya çıkmış olan *Gobio* Cuvier, 1816 cinsidir (Zhao vd., 2016). Bu süreç içerisinde diğer Gobionidae üyelerinin aksine *Gobio* cinsi, Asya, Avrupa, Sibirya, Anadolu, Karadeniz ve Kafkasya'da yayılım gösterirken, diğer Gobionidae cinsleri ise daha çok Doğu Asya dağılımı göstermektedir (Bănărescu ve Nalbant, 1973). *Gobio* cinsi Anadolu içerisinde ise Doğu ve Güneydoğu bölgeleri hariç diğer coğrafi bölgelerinin tatlı su gölleri ve nehirlerinde yaygın olarak dağılım görmektedir (Turan vd., 2016).

Avrupa ve Anadolu arasında, geç oligosen'den geç miyosene (23-5,33 myıl) kadar sürekli bir kara bağlantısı olmuştur (Popov vd., 2004). Birçok Sazan türünü içeren Tuna faunası, miyosen döneminde Akdeniz'den suların çekilmesi sırasında oluşan nehir ve göllerin yardımıyla Doğu Trakya ve Anadolu'ya dağılmıştır (Bănărescu, 1972). Bu nedenle geç miyosen-pliyosen döneminde oluşan Tuna Nehri havzası (Magyar vd., 1999; Angelova, 2003; Kovác vd., 2006), *Chondrostoma* (Robalo vd., 2007) ve *Rhodeus* (Bohlen vd., 2006) cinslerinde olduğu gibi *Gobio* içinde hem Avrupa'daki popülasyonunun kaynağı hemde buradan başka tatlı su sistemlerine taşınmasında etkili olmuştur (Sediva vd., 2008). *Gobio* büyük olasılıkla bu dönemde Merkez Avrupa'dan

(Tuna havzası) Anadolu'nun iç bölgelerine Balkanlar üzerinden yerleşmiştir. Erken miyosen döneminde (24-18 myıl) Anadolu'daki Gobionidlerin varlığını gösteren en eski fosil kayıtları (Böhme vd., 2003) bu hipotezi desteklemektedir. Türkiye iç sularında Karadeniz, Marmara, Kuzey Ege, Doğu Akdeniz (sadece Göksu Nehri) ve İç Anadolu Bölgesi'nde bulunan göller bölgesinde dağılım gösterdiği belirlenmiştir (Geldiay ve Balık, 2007). Yapılan son çalışmalar ile birlikte günümüze kadar Dünya'da 48 türü tanımlanmış olup (Fricke vd., 2019) Türkiye iç sularında 15 tür ile temsil edilmektedir (Turan vd., 2018) ve tüm *Gobio* türlerinin %31,3'ünü oluşturmaktadır. Bu durum Anadolu'nun *Gobio* türlerinin biyoçeşitliliği yönünden önemli bir coğrafi bölgesi olduğunu göstermektedir. Ayrıca birçok türü de bu coğrafya üzerinde iç su balıkları yönünden endemizmin yüksek görüldüğü bölgelerde bulunmaktadır (Küçük, 2006).

IUCN (International Union for Conservation of Nature) Kırmızı Listesi incelendiğinde, Türkiye iç sularında dağılım gösteren ve birçoğu endemik olan 15 *Gobio* türünün 7 tanesinin tehdit altında olduğu görülmektedir. Bunlardan 2 tanesinin duyarlı (VU) düzeyde, 2 tanesinin tehlikede (EN), 3 tanesinin kritik (CR) düzeyde olmak üzere nesillerinin tehdit altında olduğu, 3 tanesinin düşük risk (LC) içerdiği, 1 tanesinin hakkında yetersiz veri olduğu (DD) ve 4 tanesinin ise listede olmayıp değerlendirilmediği (NE) görülmektedir.

Canlılar arasında evrimsel soy ilişkilerinin araştırılması olarak tanımlanan filogenetik, sistematğin önemli dallarından biridir (Edwards ve Cavalli-Sforza, 1964). Son yıllarda klasik taksonomi ve filogenetik birlikte kullanılarak sistematik çalışmalar gerçekleştirilmektedir. DNA'nın yapısının aydınlatılması ve sonrasında gelişen moleküler teknikler son 30 yılda filogenetik ve taksonomi için temel araçlar haline gelmiştir (Miller, 2007). Günümüze kadar ökaryotik canlılara ait çekirdek içinde yer alan kromozomal DNA ve mitokondri DNA gibi nükleotit materyalleri tanımlanmış ve üzerlerinde bulunan genler hala aydınlatılmaya çalışılmaktadır. Bu DNA çeşitleri ve geliştirilen moleküler yöntemler, filogenetik ilişkilerin belirlenmesine, çeşitliliğin ortaya çıkarılmasına ve taksonomik belirsizliklerin çözümüne ışık tutmuşlardır. Özellikle ökaryotik canlılarda farklı grupların, populasyonların, türlerin arasındaki evrimsel ilişkinin anlaşılabilmesi için filogenetik çalışmalarda mitokondri DNA analizi sıklıkla tercih edilmektedir. Mitokondri DNA, canlıların biyocoğrafyaya bağlı olaylarını incelemek için mükemmel bir araçtır (Avise, 1994). Öte yandan, DNA dizi analizleri, canlıların farklı taksonomik düzeylerdeki genetik ilişkilerinin anlaşılmasına yardımcı olur

(Avice, 1994).

Biyoeeşitliliğin korunması ve canlı neslinin srdrlebilmesindeki ilk ve en önemli aşama, öncelikle doğal stokların morfolojik, ekolojik ve biyolojik özelliklerinin yanında genetik yapılarının belirlenmesi ve genetik yapının şekillenmesinde önemli rol oynayan tarihsel biyocoğrafik faktörlerle birlikte değerlendirilmesi gerekmektedir. Karmaşık taksonomiye sahip taksonların zm ve kriptik türlerin varlığının ortaya çıkarılması için genetik veriler klasik taksonomi ile elde edilen verilerle birlikte değerlendirilmelidir. Ayrıca, iki verinin birlikte değerlendirilmesi ile taksonlar arasındaki sınıflandırma da yanlış sonuçlara sebebiyet verebilecek çevresel faktörler, kalıtsal olmayan varyasyonların etkisi ve tür ayırımına neden olmayacak yanıltıcı fenetik farklılıkların önüne geçilebilecektir. Böylece soy ilişkileri yönünden de araştırılan taksonlardan gerçek türlerin belirlenmesi sağlanabilecektir.

Bu tez çalışması ile Türkiye biyoeeşitliliği içinde önemli yer tutan ve ülkemizde dağılım gösteren türler içerisinde bir çoğu endemik olan derekayası olarak bilinen *Gobio* Cuvier, 1816 cinsinin türlerinin ve dağılım alanlarının tespiti, mitokondriyal gen dizilerinin belirlenmesi, türlerin filogenetik yaklaşımlarının ortaya çıkarılması, tarihsel biyocoğrafyasının açıklanması ve taksonomisindeki karmaşıklığın genetik veriler ile giderilmesi amaçlanmaktadır. Bu alışma, bu cins üzerinde yapılacak sonraki çalışmalara temel oluşturabilir, türlerin dizisi belirlenen genler üzerinden takibi gerçekleştirilebileceği gibi, yeni türlerin literatüre kazandırılmasında etkili bir kaynak oluşturacaktır. Ayrıca moleküler teknikler ile hızlı ve güvenilir biyoeeşitlilik envanteri de oluşturulabilecektir.

1.2. Literatür zeti

Gobio Cuvier, 1816 cinsi fenotipik çeşitlilik göstermesi nedeniyle özellikle taksonomi açısından zengin ve karmaşık bir türdür ve bu nedenle de Avrupa'daki en değişken balık türlerinden biri olarak kabul edilir (Bnrescu vd., 1999). Taksonominin de çok sık yaşadığı problemlerden olan yetersiz örnek kullanımı, farklı tür kavramlarının kullanımındaki tutarsızlıklar, dil engelleri, detaylı yapılmayan morfolojik çalışmalar, türler arası ve hatta nesiller arası hibridizasyonun oluşumu gibi durumlar ile bu cins daha karmaşıklaşmaktadır (Kottelat ve Freyhof, 2007). Hatta bu taksonomik belirsizliklerin giderilmesi için yapılan son çalışmalar ile türlerin sayısında artışa da neden olmuştur

(Doadrio ve Maderia, 2004; Vasil'eva vd., 2004; Freyhof ve Naseka, 2005; Kottelat ve Persat, 2005; Vasil'eva vd., 2005; Yang vd., 2006; Kottelat ve Freyhof, 2007; Mendel vd., 2008; Nowak vd., 2008).

Palearktik bir dağılım gösteren *Gobio* cinsinin günümüze kadar, Avrupa ve Asya'da tespit edilen 48 türü bulunmaktadır (Fricke vd., 2019). Bu türlerin 15'i Anadolu biyocoğrafyasında dağılım göstermektedir (Kottelat ve Freyhof, 2007; Naseka, 2006, 2010; Turan vd., 2012). Anadolu'dan tanımlanan 15 *Gobio* türünün 11 tanesi Türkiye iç sularına endemik olup [*G. microlepidotus* (Battalgil, 1942), *G. intermedius* (Battalgil, 1944), *G. hettitorum* (Ladiges, 1960), *G. insyanus* (Ladiges, 1960), *G. gymnostethus* (Ladiges, 1960), *G. maeandricus* (Naseka vd., 2006), *G. battalgilae* (Naseka vd., 2006), *G. sakaryaensis* (Turan vd., 2012), *G. kizilirmakensis* (Turan vd., 2016), *G. baliki* (Turan vd., 2017), *G. fahrettini* (Turan vd., 2018)] diğer 4'ü de epidemik türlerdir [*G. gobio* (Linnaeus, 1758), *G. bulgaricus* (Drensky, 1926), *G. kovatschevi* (Chichkoff, 1937), *G. artvinicus* (Turan vd., 2016)]. Günümüze kadar morfolojik yönden yapılan bu çalışmaların yanında moleküler çalışmalardan da yararlanılmıştır. *Gobio* cinsinin filogenisini ve popülasyon yapısını çözmek için nükleer genomdan mikrosatellit bölgeleri, recombination activating protein 1 (RAG1) geni, interphotoreceptor retinoid-binding protein (IRBP2) geni, rhodopsin (RH) geni, S7 ribosomal protein geni, early growth response 3 (EGR3) geni, 28S ribosomal RNA geni ve mitogenomdan ise sitokrom b (cyt b) geni, sitokrom c oksidaz altünite I (COI) geni, kontrol bölgesi (Dloop) geni, 16S ribosomal RNA geni ve 12S ribosomal RNA geni kullanılmıştır (Gilles vd., 1998; Briolay vd., 1998; Zardoya ve Doadrio, 1999; Durand vd., 2002; Mendel vd., 2008; Tang vd., 2011; Geiger vd., 2014; Emecen vd., 2015; Zangl vd., 2020). *Gobio* cinsine ait bazı türler DNA barkodlama ve biyoçeşitliliğin tespit edilmesi üzerine yapılan çalışmalarda değerlendirilmiştir (Zardoya ve Doadrio, 1999; Thalinger vd., 2016; Knebelsberger vd., 2015; Triantafyllidis vd., 2011; Geiger vd., 2014). Bu çalışmaların yanısıra, *Gobio coriparoides*, *Gobio gobio*, *Gobio macrocephalus*, *Gobio acutipinnatus* ve *Gobio cynocephalus* türlerinin tüm mitogenomu tanımlanmıştır (Saitoh vd., 2006; Li vd., 2018; Ge vd., 2020). Bu tez çalışmasının konusuna yakın olarak gördüğümüz bazı *Gobio* türlerinin filogenisi üzerine çalışmalar şu şekildedir.

Yang vd., 2006 yapmış oldukları çalışmada, Gobioninae alt ailesinin filogenisi çözümlemeyi amaçlamışlardır. Asya ve Avrupa'dan 42 Gobioninae taksonundan örneklenen bireylerin mitokondri DNA Cytb geninin analizini gerçekleştirmişlerdir.

Maksimum tutumluluk (MP), Maksimum olabilirlik (ML) ve Bayes çıkarsama (BI) yöntemlerini kullanılarak filogenetik analizler gerçekleştirmişlerdir. Sonuç olarak, Gobioninae alt ailesinin monofiletik bir gruplanma gösterdiğini ve içerisinde *Gobio*, *Pseudogobio*, *Sarcocheilichthys* ve *Hemibarbus* olarak dört soy grubundan oluştuğunu ve bu durumun hem morfolojik karakterler hem de filogenetik ağaç topolojilerindeki gruplanma ile desteklendiğini belirtmişlerdir.

Mendel vd., 2008 yapmış oldukları çalışma ile 43 istasyondan topladıkları 139 *Gobio* bireyinden mitokondriyal (Kontrol bölgesi) ve nükleer genom (S7) üzerinde bulunan genleri kullanarak *Gobio* türlerinin ve alt türlerinin geçerliliğini değerlendirmek, varsa yeni türlerin taksonomik durumunu değerlendirmek, aralarındaki filogenetik ilişkileri tahmin etmek ve böylece *Gobio* taksonomisini net bir şekilde görmeyi amaçlamışlardır. Yapılan bu çalışma da Komşu katılım (NJ), Maksimum tutumluluk (MP), Maksimum olasılık (ML), Bayesian (BI) ve Haplotip ağı analizleri gerçekleştirilmiştir. Haplotip ağ analiz sonuçları *Gobio* cinsi içinde karmaşık bir ilişki modeli gösterdiği, mtDNA kontrol bölgesinin haplotip ağında 13 soydan oluşan beş bağlantısız grup olduğu ve S7 haplotip ağında ise 15 soydan oluşan onbir bağlantısız grup ortaya çıktığını belirtmişlerdir. Bu çalışma içerisinde Türkiye’den bazı türlere de yer verilmiştir. Çalışmada *Gobio* türlerinin üç soy grubu oluşturduğundan bahsedilmiştir. Bu çalışma ile *Gobio* türlerinin filogenetik ve filocoğrafik yaklaşımları ortaya çıkarılmaya çalışılmıştır. Bu çalışma ile bir de yeni bir tür olan *G. volgensis* türünü tanımlamışlardır.

Tang vd., 2011 yapmış oldukları çalışmada Gobioninae alt ailesine ait türlerin filogenisini önceki çalışmalara göre daha fazla veri kullanarak çözmeyi amaçlamışlardır. Mitogenom ve nükleer genomdan sitokrom b (cyt B ; 1140 bp), sitokrom c oksidaz I (COI; 658 bp), rekombinasyonu aktive eden gen bölgesi (RAG1; 1497 bp) ve opsin geni (rodopsin; 819 bp) olmak üzere 4 gen kullanmışlardır. Bu çalışmada, toplamda 162 taksonun analizini gerçekleştirmişlerdir. Bunların, 141 tanesi Cypriniformes takımına ait türler (94’ü Gobioninae alt ailesine ait türler, 47’si de diğer alt ailelere ait türler) kullanılmıştır. 21 tane taksonda Cyprinid olmayan türlerdir. Ayrıca, Gobioninae alt ailesine ait olan iki cinsten (*Paraleucogobio* ve *Parasqualidus*) örnek alamadıkları için analize dahil edememişlerdir. Filogenetik analizler kapsamında, maksimum tutumluluk (MP), maksimum olabilirlik (ML) ve Bayes çıkarsama (BI) yöntemleri kullanılarak Gobioninae alt ailesinin filogenisi hakkında sonuçlar elde edilmiştir. Sonuçlarında, Gobioninae alt ailesinin monofiletik olduğu ve Yang vd., 2006 tarafından belirtilen dört

alt soy grubun aksine üç alt soydan oluştuğunu belirtmişlerdir. Bu üç soy grubu Gobionini, Sarcocheilichthyini ve Hemibarbus – Squalidus soy grupları olarak tanımlamışlardır. Yang vd., 2006'nın belirtmiş olduğu *Gobio* ve *Pseudogobio* soy gruplarını Gobionini alt soy grubunda birleştirmişlerdir. Bunu hem filogenetik ağaç topolojilerinde iki grubu birbirine çok yakın gördükleri için hem de Cyprinidler arasında yüzme kesesinin evriminin türleşmede etkili olduğunu dikkate alarak belirtilen iki grupta da yüzme kesesi farklılaşmasının benzer olduğunu bu yüzden bu iki grubun tek bir alt soy grubu olarak ifade edilmesi gerektiğini belirtmişlerdir.

Takacs vd., 2014, Karpat bölgesinde dağılım gösteren *Gobio* türlerinin taksonomik durumunu ve dağılımını belirlemek için bir çalışma gerçekleştirmişlerdir. Ayrıca bu çalışma ile kriptik türlerin varlığında taksonomik ve filogenetik açıdan değerlendirilmiştir. Mitokondri DNA kontrol bölgesi (Dloop) geni kullanılarak 241 bireyin analizini gerçekleştirmişler ve bu gen bölgesi üzerinden AFLP (çoğaltılmış parça uzunluk polimorfizmi) tekniğini de kullanarak *Gobio* türlerinin genetik yapısını karakterize etmişlerdir. Ayrıca haplotip ağ analizi de *Gobio* türlerinin genetik ilişkilerinin belirlenmesinde kullanılmıştır. Filogenetik analizler kapsamında maksimum olasılık ve bayesian yöntemleri tercih edilmiştir. Çalışmanın sonuçlarında, *G. obtusirostris*, *G. gobio* ve *G. carpathicus* türlerinin varlığını tespit etmiş ve bilinmeyen bir türün varlığını ortaya koymuşlardır. Haplotip ağ analizinde gruplar arasında belirgin bir farklılaşma tespit etmelerine rağmen aralarındaki genetik mesafenin düşük olduğunu belirtmişlerdir. Filogenetik analizde bilinen türler ve yeni tespit edilen gruplar arasında dallanmanın kısmen düşük olduğunu belirtmişlerdir. AFLP analizi de *Gobio* içerisinde farklılaşan grupların varlığına işaret eden sonuçları ortaya çıkardığını belirtmişlerdir. Sonuç itibarıyla örnekleme gerçekleştirilen bölgede dağılım gösteren bilinen *Gobio* türleri ve tanımlaması yapılmamış grupların coğrafi bölgeyle uyumlu olarak filogenetik analizler kapsamında 3 soy grubu oluşturduğunu belirtmişlerdir.

Zangl vd., 2020 yapmış oldukları çalışma ile iki mitokondriyal (COI ve Kontrol bölgesi) ve bir tane de nükleer genom (S7) üzerinde bulunan genleri kullanarak Avusturya'da (Tuna nehrinin üst bölgesi, Rába ve Mur nehir sistemlerinde) dağılım gösteren *Gobio* türlerinin filogenetik ve filoğrafik modellerini açıklığa kavuşturmayı amaçlamışlardır. Bu çalışma içerisinde BOLD sistem ve GenBank'ta yeralan Avrupa'nın diğer bölgelerinden verileri içeren örnekleri de analizlerine dahil etmişlerdir. Maksimum olasılık (ML), Bayesian (BI), K2P genetik mesafe ve Haplotip ağı analiz sonuçlarına göre

Avusturya nehir sistemlerinde, *Gobio* türlerinin monofiletik yapılanma gösterdiğini ve *G. gobio*, *G. obtusirostris* ve Balkan soy grupları olarak isimlendirilen üç soy grubunun var olduğunu belirtmişlerdir. Üç soy grubunun K2P genetik mesafe hesaplamasına göre COI geni mesafeleri % 1,3 - % 2,2 arasında değişmektedir. Bu çalışma içerisinde Türkiye’de dağılım gösteren (*Triantafyllidis vd.*, 2011, *Geiger vd.*, 2014 ve *Knebelberger vd.*, 2015 GenBank’a girmiş olduğu COI genine ait veriler) bazı *Gobio* türlerinde verileri yer almıştır. Bu çalışma ile *Gobio* cinsine ait türlerin filogenileri açıklanmış, biyocoğrafyası hakkında bilgiler elde edilmiştir.

Bu çalışmalarla birlikte, son morfolojik (*Naseka vd.*, 2006; *Nowak vd.*, 2006, 2008; *Turan vd.*, 2012; *Turan vd.*, 2016; *Turan vd.*, 2017) ve moleküler çalışmalar (*Yang vd.*, 2006; *Mendel vd.*, 2008; *Zangl vd.*, 2020) bazı türlerin hala keşfedilmediğini ve bu nedenle *Gobio* grubunun taksonomisinin henüz tam olarak çözülmediğini göstermektedir. Bu karmaşıklığın giderilmesi için yalnızca morfolojik özelliklere dayanarak doğru bir şekilde tanımlanması zordur. Bu nedenle yapılan, filogenetik ve filocoğrafik çalışmaların sistematik belirsizliklerin bir kısmını çözdüğü düşünüldüğünde, morfolojik çalışmaların yanında moleküler çalışmalarında çok yararlı olabileceği görülmektedir.

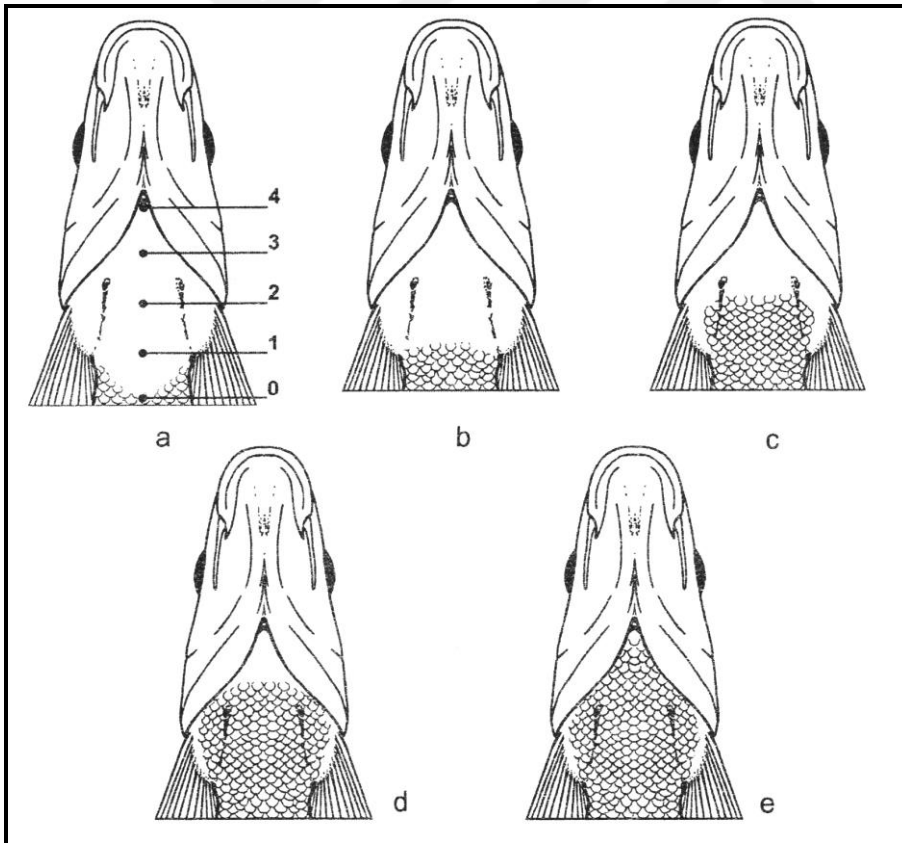
1.3. *Gobio* Cuvier, 1816 cinsinin genel özellikleri

Dere kayası olarak bilinen *Gobio* cinsine ait türler iç sularda dağılım gösterir. *Gobio* cinsinin üyeleri kısa ömürlü balık türleridir ve en fazla 8 yıla kadar yaşadıkları rapor edilmiştir (*Maitland ve Campbell*, 1992; *Kottelat ve Freyhof*, 2007). Ilıman özellik gösteren zemini taş ve çakıllarla kaplı hızlı akan nehir sistemlerinde yaşamaktadır (*Kottelat ve Freyhof*, 2007). *Gobio* cinsine ait bireylerin vücut şekli genellikle ince uzun olup, vücudu iri pullarla örtülmüştür. Göğüs bölgesinde ki pulluluk yoğunluğu tür ayrımında oldukça önemlidir. *Naseka vd.*, (2006) yaptıkları çalışma da göğüs bölgesinde ki pulluluk derecesini beşe ayırmışlardır. Bunlar:

1. Pullar pektoral yüzgeç kaidesinin arka hizasına kadar ulaşmazlar (Şekil 1a),
2. Pullar pektoral yüzgeç kaidesinin arka hizasına kadar ulaşır (Şekil 1b),
3. Pullar pektoral yüzgeç kaidesinin ön hizasına kadar ulaşır (Şekil 1c),
4. Pullar pektoral yüzgeç kaidesinin ön hizası ile istmusun orta seviyesine kadar ulaşır (Şekil 1d),

5. Pullar istmusa kadar olan göğüs bölgesini tamamen kaplar (Şekil 1e; Naseka vd., 2006).

Gobio cinsine ait türlerin genel özellikleri; Vücudunun yan kısımlarında genişliği göz çapından daha büyük olan ve sayıları 8-10 adet arasında değişen düzenli sıralanmış kahverengi benekler bulunur ve bu durum cins için karakteristik bir özelliktir. Ağız genellikle ventral veya subterminal konumludur ve at nalı şeklindedir. Ağız kenarlarında iyi gelişmiş bir çift bıyık bulunur. Solungaç dikenleri kısadır. Ligne lateral 39-63 puldan oluşur. Farinks dişleri iki sıralı olup değişik şekillerde dizilim gösterirler. Söz konusu dişlerin uç kısımları çengel şeklinde ve kıvrıktır. Dorsal yüzgecin başlangıç noktası daima pelvik yüzgecin önünden başlar. Pelvik yüzgeç kaidesinin arka kenarı ile anüs arasındaki pul sayısı ve anüs ile anal yüzgeç arasındaki pul sayısı tür ayrımında etkili bir meristik karakterdir. Kemik kılıfları bulunmayan yüzme keseleri vardır (Kottelat ve Freyhof, 2007).



Şekil 1. *Gobio* cinsine ait türlerin göğüs bölgesinin pulluluk derecesi (Naseka vd., 2006).

Şekil 1a'daki rakamlar *Gobio* türlerindeki tür ayrımını gösteren pulluluk derecesini sayısal olarak ifade etmede kullanılır.

Tablo 1. Türkiye’de dağılım gösteren *Gobio* türlerinin sistematigi.

Taksonomik hiyerarşi	
Alem	: Animalia (Hayvanlar)
Şube	: Chordata (Kordalılar)
Sınıf	: Actinopterygii (Işınsal yüzgeçliler)
Takım	: Cypriniformes (Sazansılar)
Aile	: Gobionidae
Cins	: <i>Gobio</i>
Türler	: <i>Gobio artvinicus</i> Turan, Japoshvili, Aksu & Bektaş, 2016 <i>Gobio baliki</i> Turan, Kaya, Bayçelebi, Aksu & Bektaş, 2017 <i>Gobio battalgilae</i> Naseka, Erk'akan & Küçük, 2006 <i>Gobio bulgaricus</i> Drensky, 1926 <i>Gobio fahrettini</i> Turan, Kaya, Bayçelebi, Aksu & Bektaş, 2019 <i>Gobio gobio</i> Linnaeus, 1758 <i>Gobio gymnostethus</i> Ladiges, 1960 <i>Gobio hettitorum</i> Ladiges, 1960 <i>Gobio insuayanus</i> Ladiges, 1960 <i>Gobio intermedius</i> Battalgil, 1944 <i>Gobio kizilirmakensis</i> Turan, Japoshvili, Aksu & Bektaş, 2016 <i>Gobio kovatschevi</i> Chichkoff, 1937 <i>Gobio maeandricus</i> Naseka, Erk'akan & Küçük, 2006 <i>Gobio microlepidotus</i> Battalgil, 1942 <i>Gobio sakaryaensis</i> Turan, Ekmekçi, Luskova & Mendel, 2012

1.3.1. *Gobio artvinicus* Turan, Japoshvili, Aksu & Bektaş, 2016



Şekil 2. *Gobio artvinicus*, Artvin: Borçka, Aralık Deresi, Çoruh Nehri.

Çoruh derekayası olarak bilinen bu türün maksimum boyu 10,0 cm’dir (Şekil 2). Bu türü diğer türlerden ayıran önemli özellikleri, burnunun sivri ve burun uzunluğunun postorbital mesafeden daha kısa olması, bıyığın uzunluğunun gözün arka kenarına kadar

ulaşması, pektoral yüzgeçler ve istmus arasındaki bölgenin yarısının pullu olması, başın kısa ve ince olması, baş boyunun standart boyun %24-26'sı kadar olması, pelvik yüzgeç kaidesinin arka kenarı ile anüs arasında 5-6 adet pul, anüs ile anal yüzgeç arasında ise 4-6 adet pul bulunmasıdır. Türün, ligne lateralde ki pul sayısı 38-40 + 1-2 'dir. Çoruh Nehri kollarında dağılım göstermektedir (Turan vd., 2016). IUCN Kırmızı Listesi'nde değerlendirilmesi yapılmamıştır.

1.3.2. *Gobio baliki* Turan, Kaya, Bayçelebi, Aksu & Bektaş, 2017



Şekil 3. *Gobio baliki*, Düzce: Yenitaşköprü Köyü, Büyükmelen Nehri.

Melen dere kayası (Şekil 3) olarak bilinen bu türü diğer türlerden ayıran önemli özellikler, göğüs yüzgeci ve istmus arasındaki bölgenin tamamının pullarla kaplı olması, bıyıkların gözün orta noktasına kadar ulaşması, burunun sivri olması ve uzunluğunun postorbital mesafeye eşit ya da biraz daha kısa olması, baş boyunun standart boyun %24-28'i kadar olması, dorsal yüzgecinde 3 basit ve 7½ dallanmış ışınlı, anal yüzgecinde ise 3 basit ve 6½ dallanmış ışınlı olması, ligne lateralde 40 - 42 adet arasında değişen pula sahip olması, pelvik yüzgeç kaidesinin arka kenarı ile anüs arasında 5-6 adet pul, anüs ile anal yüzgeç arasında 5-6 adet pul olmasıdır. Pektoral yüzgeçler erkek bireylerde dişi bireylerden daha uzundur (Turan vd., 2017). Karadeniz'e dökülen Büyük Melen Çayı ve kollarında dağılım göstermektedir (Turan vd., 2017). IUCN Kırmızı Listesi'nde değerlendirilmesi yapılmamıştır.

1.3.3. *Gobio battalgilae* Naseka, Erk'akan & Küçük, 2006



Şekil 4. *Gobio battalgilae*, Konya: Eyilikler, Sarıöz Deresi, Beyşehir Gölü.

Eyilikler derekayası (Şekil 4) olarak bilinen bu türün maksimum boyu 17,2 cm'ye kadar ulaşmaktadır (Erk'akan vd., 2014). Bu türü diğer türlerden ayıran önemli özellikler; göğüs yüzgeci ve istmus arasındaki bölgenin yarısına kadar pulların bulunması, neredeyse gözün arka kısmına kadar ulaşabilen uzun bir çift bıyığının olması, burun uzunluğunun postorbital mesafeden daha kısa olması, anüse kadar uzanan pektoral yüzgeçlerinin olması, anüs ile anal yüzgeç arasında 7-8 adet pul bulunmasıdır (Naseka vd., 2006). Dorsal yüzgecinde 3 tane basit ışın ve 7 ½ tane dallanmış ışınları vardır. Anal yüzgecinde ise 3 tane basit ışın ve 6 ½ tane dallanmış ışınları vardır. Ligne lateralde 41 - 44 adet arasında değişen pula sahiptir (Naseka vd., 2006). Türkiye'de Beyşehir Gölü havzasındaki tüm göl ve nehir sistemlerinde dağılım göstermektedir (Naseka vd., 2006). IUCN Kırmızı Listesi'nde bu tür hakkında yetersiz veri (DD) bulunmaktadır.

1.3.4. *Gobio bulgaricus* Drensky, 1926



Şekil 5. *Gobio bulgaricus*, Kırklareli: Pınarhisar, Poyralı Deresi, Ergene Nehri.

Ege dere kayası olarak bilinen bu türün maksimum boyu 10,8 cm'ye kadar ulaşırken ortalama boyu 9,5 cm'dir (Şekil 5). Küçük gruplar halinde, su kolonunun üst ve orta bölümlerinde yaşamaktadırlar. *G. bulgaricus* bireyleri omnivor beslenme özelliği gösteren, genellikle sucul böcekler ve küçük miktarda ki bitki ve hayvan parçaları ile beslenmektedirler. Yumurtlama dönemi Nisan ve Temmuz ayları arasındadır. Bir defa da çok sayıda yumurta bırakırlar ve bir mevsimde birden fazla yumurtlama yaparlar. Yaşam süreleri 5 yıl kadar sürmektedir (Saç ve Özuluğ, 2017).

Bu türü diğer türlerden ayıran önemli özellikleri, göğüs bölgesinde, pektoral yüzgeçlerin kaidesini biraz geçtiği kısmın pullarla kaplı olması, baş boyunun standart boyun %25-29'u kadar olması, anüs ile anal yüzgeç arasında 46 adet pul bulunmasıdır. Ligne lateraldeki pul sayısı 35-38+ 3'tür (Kottelat ve Freyhof, 2007). Türkiye, Bulgaristan, Yunanistan ve Makedonya'daki Meriç ve Aliakmon nehirleri ve kollarında dağılım göstermektedir (Kottelat ve Freyhof, 2007). IUCN Kırmızı Listesi'nde düşük risk (LC) grubunda değerlendirilmektedir.

1.3.5. *Gobio fahrettini* Turan, Kaya, Bayçelebi, Aksu & Bektaş, 2019



Şekil 6. *Gobio fahrettini*, Konya: Ilgın, Deliköyboğazı Deresi.

Ilgın dere kayası (Şekil 6) olarak bilinen bu türü diğer türlerden ayıran önemli özellikler, göğüs bölgesinde, pektoral yüzgeçlerin arasındaki bölgenin istmusun biraz gerisine kadar pullarla kaplı olması, bıyıkların neredeyse gözün arka kenarına kadar ulaşması, burun uzunluğunun postorbital mesafeden daha kısa olması, baş boyunun standart boyun %25-28'i kadar olması, dorsal yüzgeçtede 3 tane basit ışınlı ve 7½ tane dallanmış ışınlı olması, anal yüzgeçte ise 3 tane basit ışınlı ve 6½ tane dallanmış ışınlı olması, pelvik yüzgeç kaidesinin arka kenarı ile anüs arasında 6 - 8 adet pul bulunması, anüs ile anal yüzgeç arasında 4-6 adet pul bulunması ve ligne lateralde 39-42 adet arasında değişen pula sahip olmasıdır. Ilgın Gölü havzasında dağılım göstermektedir (Turan vd., 2018). IUCN Kırmızı Listesi'nde değerlendirilmesi yapılmamıştır.

1.3.6. *Gobio gobio* Linnaeus, 1758



Şekil 7. *Gobio gobio*, İstanbul: Çatalca, Kumluca Deresi.

Gobio cinsinin en çok bilinen türüdür. Dere kayası olarak bilinen bu türün maksimum boyu 21 cm'ye kadar ulaşırken ortalama boyu 12 cm'dir (Şekil 7). Ağırlığının maksimum 220 g. ve yaşının maksimum 8'e ulaşabildiği bildirilmiştir (Maitland ve Campbell, 1992). Koloniler halinde, çoğunlukla su kolonunun dibine yakın bölümlerinde yaşamaktadırlar. Böcek larvaları, yumuşakçalar ve kabuklular ile beslenmektedirler. Yumurtlama dönemi Mayıs ve Ekim ayları arasındadır. Sığ sularda taş, kum veya bitki üzerlerine yumurtalarını bırakırlar. Bu türü diğer türlerden ayıran önemli özellikler; göğüs bölgesinin pulsuz olması, burun uzunluğunun postorbital mesafeden daha uzun olması, baş boyunun standart boyun %26- 30' u kadar olması, anüs ile anal yüzgeç arasında 4-5 adet pul bulunmasıdır. Ligne lateralde 39-42 + 2 adet arasında değişen pula sahiptir (Kottelat ve Freyhof, 2007).

Bu tür, oldukça geniş bir dağılım alanına sahiptir. Avrupa'da yaygın olarak yayılış gösteren bu tür ülkemiz Trakya Bölgesi'nin Karadeniz'e dökülen akarsularında bulunmaktadır (Kottelat ve Freyhof, 2007). IUCN Kırmızı Listesi'nde düşük risk (LC) grubunda değerlendirilmektedir.

1.3.7. *Gobio gymnostethus* Ladiges, 1960



Şekil 8. *Gobio gymnostethus*, Aksaray: Kızılkaya Köyü, Melendiz Çayı.

Kapadokya dere kayası (Şekil 8) olarak bilinen bu türün maksimum boyu 14,5 cm'ye kadar ulaşmaktadır. Yumurtlama dönemi Nisan ve Temmuz ayları arasındadır (Özdemir, 2012). Bu türü diğer türlerden ayıran önemli özellikleri, başın üzerinde küçük siyah noktalar bulunmaması, baş boyunun standart boyun %25-28 kadar olması, pelvik yüzgeç kaidesinin arka kenarı ile anüs arasında 5-8 adet, anüs ile anal yüzgeç arasında ise

3-5 adet pul bulunmasıdır. Tuz Gölü'nü güneyden besleyen Melendiz Çayı'nda dağılım göstermektedir (Turan vd., 2018). IUCN Kırmızı Listesi'nde kritik risk (CR) grubunda değerlendirilmektedir.

1.3.8. *Gobio hettitorum* Ladiges, 1960



Şekil 9. *Gobio hettitorum*, Karaman: Taşkale Köyü, İbrala Deresi.

Toros dere kayası (Şekil 9) olarak bilinen bu türün boyu erkek bireylerde maksimum 15 cm'ye kadar ulaşırken dişi bireylerde 16,1 cm'ye kadar ulaşmaktadır. Ağırlığı erkek bireylerde maksimum 35,3 g. dişi bireylerde ise 64,1 grama ulaşabildiği bildirilmiştir. Yumurtlama dönemi mart ve haziran ayları arasındadır (Özdemir ve Erk'akan, 2012). Bu türü diğer türlerden ayıran önemli özellikler; baş boyunun standart boyun %24,7-28,7'si kadar olması, pelvik yüzgeç kaidesinin arka kenarı ile anüs arasında 9-11 adet pul, anüs ile anal yüzgeç arasında 4-7 adet pul bulunmasıdır. Ligne lateralde 45-49 adet arasında değişen pula sahiptir. Karaman civarındaki kapalı havzada dağılım göstermektedir (Turan vd., 2018). IUCN Kırmızı Listesi'nde kritik risk (CR) grubunda değerlendirilmektedir.

1.3.9. *Gobio insuyanus* Ladiges, 1960



Şekil 10. *Gobio insuyanus*, Konya: Cihanbeyli, İnsuyu Deresi.

Cihanbeyli dere kayası (Şekil 10) olarak bilinen bu türün boyu maksimum 13,6 cm'ye kadar ulaşırken ağırlığının ise maksimum 28,6 g.'a ulaşabildiği bildirilmiştir (Erk'akan vd., 2014). Bu türü diğer türlerden ayıran önemli özellikleri, baş boyunun standart boyun %25,3-30,1'i kadar olması, pelvik yüzgeç kaidesinin arka kenarı ile anüs arasında 8-10 adet, anüs ile anal yüzgeç arasında 4-6 adet pul bulunmasıdır. Ligne lateraldeki pul sayısı 39-44'tür. Tuz Gölü'nü batıdan besleyen İnsuyu Çayı'nda dağılım göstermektedir (Turan vd., 2018). IUCN Kırmızı Listesi'nde kritik risk (CR) grubunda değerlendirilmektedir.

1.3.10. *Gobio intermedius* Battalgil, 1944



Şekil 11. *Gobio intermedius*, Afyon: İnli Köyü, Kali Deresi.

Eber dere kayası (Şekil 11) olarak bilinen bu türü diğer türlerden ayıran önemli özellikler; pektoral yüzgeçler ve istmus arasındaki bölgenin tamamının pullarla kaplı olması, bıyıkların göz bebeğinin arka kısmına kadar ulaşması, baş boyunun standart boyun %28,4-32,0'si kadar olması, anüs ile anal yüzgeç arasında 5-7 adet pul bulunmasıdır. Ayrıca ligne lateralde 45-51 adet arasında değişen pula sahiptir. Eber ve Akşehir gölleri havzalarında dağılım göstermektedir (Naseka vd., 2006). IUCN Kırmızı Listesi'nde tehlikede (EN) olarak değerlendirilmektedir.

1.3.11. *Gobio kizilirmakensis* Turan, Japoshvili, Aksu & Bektaş, 2016



Şekil 12. *Gobio kizilirmakensis*, Çankırı: Çerkeş, Ulusu Deresi.

Kızılırmak dere kayası (Şekil 12) olarak bilinen bu türün boyu maksimum 11,1 cm'ye kadar ulaşmaktadır (Turan vd., 2016). Bu türü diğer türlerden ayıran önemli özellikleri, pulların büyüklüğünün göz bebeğinden daha küçük olması, burnunun yuvarlak olması ve burun uzunluğunun postorbital mesafeden belirgin bir şekilde daha kısa olması, bıyıkların göz bebeğinin arka kısmına kadar ulaşmaması, göğüs bölgesinin, istmusun biraz gerisine kadar pullarla kaplı olması, baş boyunun standart boyun %26-29'u kadar olması, pelvik yüzgeç kaidesinin arka kenarı ile anüs arasında 8-10 adet, anüs ile anal yüzgeç arasında 5-6 adet pula sahip olmasıdır. Ligne lateraldeki pul sayısı 38-42 + 1-3'tür. Pektoral yüzgeçler erkek bireylerde dişi bireylerden daha uzundur (Turan vd., 2016). Filyos Çayı'nın menba kısımlarında dağılım göstermektedir. IUCN Kırmızı Listesi'nde değerlendirilmesi yapılmamıştır.

1.3.12. *Gobio kovatschevi* Chichkoff, 1937



Şekil 13. *Gobio kovatschevi*, Kırklareli: Demirköy, Rezve (Mutlu) Deresi.

Varna dere kayası (Şekil 13) olarak bilinen bu türün boyu maksimum 10,5 cm'ye kadar ulaşmaktadır (İlhan vd., 2012). Bu türü diğer türlerden ayıran en önemli özellikleri, göğüs bölgesinin, pektoral yüzgeç kaide hizasına kadar pullarla kaplı olması, burun uzunluğunun postorbital mesafeden daha büyük olması, bıyıkların, göz bebeğinin arka kısmına kadar ulaşması, bıyık uzunluğunun baş boyunun %25-34'ü kadar olması ve baş boyunun standart boyun %26-28'i kadar olmasıdır (Kottelat ve Freyhof, 2007). Ligne lateraldeki pul sayısı 39-42 'dir (Turan vd., 2018).

Bu tür, Karadeniz'e dökülen Karamenderes ve Istranca dereleri ile Çorlu Çayı'nda Bulgaristan'da Varna yakınlarında Karadeniz'e dökülen Provadiya Nehri'nde dağılım göstermektedir (Kottelat ve Freyhof, 2007; Turan vd., 2016). IUCN Kırmızı Listesi'nde duyarlı (VU) olarak değerlendirilmektedir.

1.3.13. *Gobio maeandricus* Naseka, Erk'akan & Küçük, 2006



Şekil 14. *Gobio maeandricus*, Afyon: Dinar, Suçikan Deresi, Büyük Menderes Nehri.

Işıklı dere kayası (Şekil 14) olarak bilinen bu türü diğer türlerden ayıran önemli özellikler; göğüs yüzgeci ve istmus arasındaki bölgenin tamamının pullarla kaplı olması, bıyıkların gözün arka kenarına ya da daha ilerisine kadar ulaşması, burun uzunluğunun postorbital mesafeden daha kısa olması, anüs ile anal yüzgeç arasında 7 adet pul bulunmasıdır (Naseka vd., 2006). Dorsal yüzgeçte 3 basit ve 7½ dallanmış ışın vardır. Anal yüzgeçte ise 3 basit ve 6½ dallanmış ışın vardır. Ligne lateraldeki pul sayısı 48–49'dur (Naseka vd., 2006). Büyük Menderes Nehri ve kollarında dağılım göstermektedir (Naseka vd., 2006). IUCN Kırmızı Listesi'nde tehlikede (EN) olarak değerlendirilmektedir.

1.3.14. *Gobio microlepidotus* Battalgil, 1942



Şekil 15. *Gobio microlepidotus*, Konya: Seydişehir, Gökçeşhük Köyü, Sazlıoluk Deresi.

Beyşehir dere kayası (Şekil 15) olarak bilinen bu türün boyu maksimum 17,2 cm'ye

kadar ulaşmaktadır (Erk'akan vd., 2014). Bu türü diğer türlerden ayıran önemli özellikleri, hafif burun ucunun yuvarlak olması ve burnunun postorbital mesafeden kısa olması, bıyıkların göz bebeğinin arka kısmına kadar ulaşması, göğüs bölgesinin neredeyse istmusa kadar pullarla kaplı olması, başın uzun olması, pelvik yüzgeç kaidesinin arka kenarı ile anüs arasında 9-11 adet, anüs ile anal yüzgeç arasında 5-7 adet pulun bulunmasıdır. Ligne lateralde ki pul sayısı 43-46'dır. Erkek bireylerde başın üzerinde çok sayıda tüberkül mevcuttur. Ayrıca erkek bireylerin pelvik ve pektoral yüzgeçleri dişilerine göre daha uzundur. Pelvik yüzgeçler, erkeklerde anüse kadar ulaşır, fakat dişilerde ulaşmamaktadır. Türkiye'de Beyşehir Gölü havzasında yayılış göstermektedir. Yakın zamanda Aldeniz havzasında bulunan Göksu Nehri ve Limon Deresi'nde de dağılım gösterdiği bildirilmiştir (Turan ve Bayçelebi, 2019). IUCN Kırmızı Listesi'nde duyarlı (VU) olarak değerlendirilmektedir.

1.3.15. *Gobio sakaryaensis* Turan, Ekmekçi, Luskova & Mendel, 2012



Şekil 16. *Gobio sakaryaensis*, Eskişehir: Sivrihisar, Pürtek Deresi.

Sakarya dere kayası (Şekil 16) olarak bilinen bu türün boyu maksimum 11,5 cm'ye kadar ulaşmaktadır. Bu türü diğer türlerden ayıran önemli özellikleri, burun uzunluğunun postorbital mesafeden kısa olması, erkek bireylerde bıyıkların neredeyse gözün arka kenarına, dişilerde ise gözün orta noktasınakadar ulaşması, göğüs bölgesinin yaklaşık olarak istmusa kadar pullarla kaplı olması, başının uzun olması, baş boyunun standart boyun %27-30'u kadar olması, pelvik yüzgeç kaidesinin arka kenarı ile anüs arasında 6-8 adet, anüs ile anal yüzgeç arasında ise 4-6 adet pulun bulunmasıdır. Ligne lateralde ki pul sayısı 39-42'dir Pektoral yüzgeçler erkek bireylerde dişi bireylere göre daha uzun, erkeklerde standart boya oranla % 23,3 – 27,0'si kadar, dişilerde %21,8 – 24,5'i kadardır.

Sakarya Nehri ve kollarında dağılım göstermektedir (Turan vd., 2012). IUCN Kırmızı Listesi'nde düşük risk (LC) grubunda değerlendirilmektedir.

Tablo 2. Türkiye’de dağılım gösteren *Gobio* türlerinin tayin anahtarı (Turan vd., 2018).

1	- Ligne lateraldeki pul sayısı 44-63’tür	2
	- Ligne lateraldeki pul sayısı 39-44’tür	5
2	- Göğüs bölgesindeki pullar neredeyse ismusa kadar ulaşır.....	3
	- Göğüs bölgesindeki pullar pektoral yüzgeç kaidesinin biraz ilerisine ya da pektoral yüzgeç kaidesi ile ismusun yarısına kadar ulaşır.....	<i>G. microlepidotus</i>
3	- Baş boyu standart boyun %24-27’si kadardır.....	<i>G. hettitorum</i>
	- Baş boyu standart boyun %27-29’u kadardır.....	4
4	- Anüs ile anal yüzgeç arasındaki mesafe standart boyun %5-7’si kadardır, kuyruk sapı uzunluğu kuyruk sapı derinliğinin 1,7-2,2 katı kadardır.....	<i>G. intermedius</i>
	- Anüs ile anal yüzgeç arasındaki mesafe standart boyun %7-8’i kadardır, kuyruk sapı uzunluğu kuyruk sapı derinliğinin 1,4-1,7 katı kadardır.....	<i>G. maeandricus</i>
5	- Pelvik yüzgeç kaidesinin arka kenarı ile anüs arasındaki pul sayısı 8-12’dir	6
	- Pelvik yüzgeç kaidesinin arka kenarı ile anüs arasındaki pul sayısı 4-8’dir	7
6	- Vücut üzerindeki pulların çapı göz bebeğinin çapına yaklaşık olarak eşit.....	<i>G. insuayanus</i>
	- Vücut üzerindeki pulların büyüklüğü göz çapından daha küçüktür.....	<i>G. kizilirmakensis</i>
7	- İnterorbital mesafe göz çapının 1,6-2,2 katı kadardır.....	8
	- İnterorbital mesafe göz çapının 1,0-1,6 katı kadardır.....	10
8	- Başın üzerinde siyah noktalar yoktur.....	<i>G. gymnostethus</i>
	- Başın üzerinde çok sayıda küçük siyah nokta vardır.....	9
9	- Anüs ile anal yüzgeç arasındaki mesafe standart boyun %5-7’si kadardır, dorsal yüzgeç önünden vücut yüksekliği standart boyun %22-27’si kadardır.....	<i>G. fahrettini</i>
	- Anüs ile anal yüzgeç arasındaki mesafe standart boyun %7-10’u kadardır, dorsal yüzgeç önünden vücut yüksekliği standart boyun %18-22’si kadardır.....	<i>G. baliki</i>
10	- Göğüs bölgesi pulsuz, kısmen pullu ya da pektoral yüzgeç hizasına kadar pulludur, burun sivri ve burun deliğinin ön kısmı düz ya da hafifçe iç bükeydir.....	11
	- Göğüs bölgesi ismusa kadar tamamen pullarla kaplıdır, burun yuvarlak ve burun deliğinin ön kısmı belirgin bir şekilde iç bükeydir.....	12
11	- Baş boyu standart boyun %28-30’u kadardır.....	<i>G. kovatschevi</i>
	- Baş boyu standart boyun %24-26’sı kadardır.....	<i>G. artvinicus</i>
12	- Pelvik yüzgecin arka kenarı ile anüs arasında 4-5 adet pul bulunur, interorbital mesafe göz çapının 1,1-1,3 katı kadardır.....	<i>G. bulgaricus</i>
	- Pelvik yüzgecin arka kenarı ile anüs arasında 6-8 pul bulunur, interorbital mesafe göz çapının 1,4-1,6 katı.....	<i>G. sakaryaensis</i>

1.4. Balık Mitokondri Genomu

Mitokondri organelinin oluşumu hakkında simbiyotik teoriye göre, ilkel bir bakteri hücresinin ökaryot hücrelerini enfekte ederek simbiyotik bir yaşam sürmeleri sonucu oluştuğu savunulmaktadır (Demirsoy, 1999). İlk kez Benda tarafından 1898 yılında tanımlanan mitokondrinin başlıca görevi ökaryotik canlılarda enerji üretilmesinden sorumludur. Mitokondri üzerinde yapılan ayrıntılı çalışmalar sonucunda 1961’de Nass ve arkadaşları tarafından elektron mikroskopisi ile nükleer DNA’ya benzer yapıların bulunduğu tespit edilmiş ve sonrasındaki moleküler tekniklerin gelişimi ile 1981 yılında Anderson ve arkadaşları tarafından mitokondriyal DNA (mtDNA) olarak tanımlanan genomun nükleotid dizisi tam olarak aydınlatılmıştır (Nass ve Nass, 1963). MtDNA kromozomal DNA’dan fiziksel olarak farklıdır. Çift zincirli halkasal bir yapıda bulunmaktadır ve herbiri kendi başına replike olabilen hafif (L) ve ağır (H) zincirden oluşmaktadır. Uzunluğu canlılar arasında farklılık göstermektedir ve yapılan çalışmalarda balık mtDNA uzunluğunun yaklaşık olarak 16-17 kb olduğu belirlenmiştir. Balık mitogenomu, 13’ü protein kodlayan (ND1-6, *cyt b*, CO I-III, ATP 6 ve 8), 22’si tRNA, 2 tanesi rRNA (12S rRNA ve 16S rRNA) olmak üzere 37 gen bölgesi ve 1 tane de kodlama yapmayan replikasyon başlangıcının bulunduğu kontrol bölgesinden (D-loop) oluşmaktadır (Şekil 17; Hwang vd., 2013).

fiziksel teması nedeniyle mutasyon görülme sıklığı daha fazla olmaktadır. Replikasyon hızı yüksektir. Kromozomal DNA daki gibi histon proteini bulunmamaktadır. Tamir mekanizması olmaması da mitogenomun kromozomal genoma oranla daha hızlı evrimleşmesinin nedenlerinden biridir (Bogenhagen, 1999). Mitogenomun evrimsel sürecinde çoğunlukla doğal seçim etkili olmaktadır. Kromozomal DNA'nın her nesilde farklı rekombinasyona uğraması evrimsel sürecin takibini zorlaştırmaktadır. Fakat mitogenomun rekombinasyona uğramaması nedeniyle evrimsel sürecin soy ilişkilerinin daha doğru ve güvenilir açıklanabilmesini sağlamaktadır, bu durum filogenetik çalışmalarda tercih edilmesinin nedenlerindendir (Saara, 1999).

Canlıların taksonomik düzeyde sınıflandırılmasında kullanılan filogenetik çalışmaları gerçekleştirmek için mitogenom sıklıkla kullanılmaktadır (Kocher ve Stepien, 1997). Mitogenom üzerinde yeralan gen bölgeleri arasındaki evrim hızı farklılığı çalışmalarda hangi gen bölgesinin tercih edileceği konusunda önemli bir durumdur. Çalışmalar da kullanılan bazı gen bölgeleri şunlardır.

MtDNA Sitokrom b, mitokondrinin solunum zincirinde bulunan bir enzim olan ubiquinol sitokrom c redüktazın merkezi katalitik alt kümesidir (Esposti vd., 1993). Mitokondri DNA üzerinde yeralan sitokrom b geninin nükleotit uzunluğu organizmalara göre değişmekle beraber balıklarda 1140 baz çifti uzunluğundadır. Sitokrom b geni, çok sayıda organizmanın filogenetik ilişkilerin açıklanmasında kullanılmıştır (Johns ve Avise, 1998). Sitokrom b geninde görülen dizi değişkenliği, cins veya aile içerisindeki türlerin karşılaştırılmasını elverişli kılmaktadır. Sitokrom b geninin kullanıldığı filogenetik araştırmaların çoğunda elde edilen sonuçlar, incelenen türler arasındaki filogenetik ilişkileri daha iyi yansıtan yeni sınıflandırma şemalarının önerilmesine yol açmaktadır (Arnason vd., 1995). Canlıların evrimsel değişim sürelerinin araştırılmasında genellikle sitokrom b gen bölgesinden yararlanılmaktadır. Sitokrom b gen bölgesi içerisinde bazı kodon bölgeleri yavaş gelişirken, bazı kodon bölgeleri ise hızlı gelişmektedir.

Metazoanlar üzerinde yapılan genetik çalışmalarda en çok kullanılan ve en korunmuş gen bölgelerinden biri mitokondri sitokrom c oksidaz alt birim I (COI) genidir. Her organizmada farklı uzunluklarda görülen bu gen bölgesi balıklarda korunmuş bir yapıda olup uzunluğu 1551 baz çifti uzunluğundadır. Filogenetik ve özellikle barkodlama çalışmalarında tercih edilen bu gen bölgesi diğer protein kodlayan genlere benzer şekilde, üçüncü kodon konumu nükleotidleri, yüksek düzeyde substitüsyon göstermektedir ve bu

da mitokondriyal rRNA genlerinden yaklaşık üç kat daha yüksek bir moleküler evrim hızına yol açar. Daha da önemlisi, COI evrimi, çoğu grupta çok yakından ilişkili türlerin ve aynı zamanda coğrafi yapıyla ilişkili taksonomik olarak önemli tür içi varyasyonların ayrılmasına izin verecek kadar hızlıdır (Bucklin vd., 2011).

Mitokondriyal ribozomal RNA'nın büyük alt birimini kodlayan 16S ribozomal RNA geni, filogenetik analizler kapsamında kullanılan bir diğer gen bölgesidir. Balık türlerinde yaklaşık olarak 1693 baz çifti uzunluğundadır. Önceleri çalışmalarda sıklıkla tercih edilen bu gen, insersiyon-delesyon göstermesi sebebiyle dizilerin hizalanması ve karşılaştırılmasında analizlerde zorluklar çıkarmaktadır (Bucklin vd., 2011). Bu duruma rağmen 16S rRNA geninin balık türlerini ayırt etmek için iyi bir markır olduğu da kabul edilmektedir (Hanel ve Sturmbauer, 2000).

1.5. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)

Bir DNA dizisinin milyarlarca kopyasının kısa bir zaman içerisinde enzimatik olarak arttırılmasını sağlayan in vitro bir tekniktir (Saiki vd., 1988). 1985 yılında ABD'nin Cetus şirketinde çalışan Kary Mullis ve arkadaşları tarafından ilk uygulaması yapılmıştır. Bu tekniğin keşfinden dolayı 1993 yılında Nobel Kimya Ödülüne layık görülmüştür. PZR tekniği bir çok alanda kullanımı özgün ve uygulanması kolay olduğu için tercih edilen bir tekniktir. DNA dizi analizinde, bilinmeyen dizilerin belirlenmesinde, canlıların filogenetik ilişkilerinin belirlenmesinde, popülasyon yapılarındaki çeşitlenmenin ortaya çıkarılmasında, antik DNA'nın incelenmesi ve evrimin aydınlatılmasında, sınırlı parça uzunluk polimorfizm (restriksiyon fragment length polimorfizm, RFLP) analizinde, patojen organizmaların tespitinde, klonlamada ve gen ekspresyon araştırmalarında, mutasyonların araştırılmasında, kalıtsal hastalıkların tanısı ve taşıyıcının belirlenmesinde, doğum öncesi hastalıkların tanısında, adli tıpta, implantasyon öncesi genetik testlerin yapılması ve sonra implantasyon gerçekleştirilmesi ile bebeğin normal doğmasının sağlanması, DNA protein interaksiyonunun araştırılmasında (footprinting) kullanılabilir (URL 1).

PZR'nin gerçekleşmesi için gerekli olan temel bileşenler hedef DNA, taq DNA polimeraz enzimi, primerler, deoksinükleotitler, tampon çözelti ve Mg^{+2} iyonlarıdır. Hedef DNA'nın istenilen büyüklükteki dizisi, termofilik bir bakteri olan *Thermus aquaticus*'dan izole edilen ve yüksek sıcaklıklarda çalışabilen *Taq* DNA polimeraz

enzimi ile bir çift primerin uygun sıcaklıkta DNA üzerindeki hedef bölgenin uç kısımlarına bağlandıktan sonra 3' ucu yönünde serbest deoksिनुकлеотитleri hedef DNA dizisindeki baz sırasına karşılık gelecek şekilde birbirine bağlayarak kopya sayısı arttırılmaktadır. *Taq* DNA polimeraz enziminin uygun bir şekilde çalışabilmesi için çözeltinin pH'sının ayarlanmasında tampon çözelti ve enzimin kofaktörü olarak Mg^{+2} iyonları gereklidir. Belirtilen kimyasallar bir tüp içerisinde birleştirildikten sonra kopyalama ve arttırımın gerçekleşmesi belli aşamalardan oluşmaktadır. İlk adım DNA çift sarmalının ayrılmasıdır (denaturation). Bu adımda DNA'nın iki zinciri 90-95 °C arasında bir sıcaklıkta birbirinden ayrılır. İkinci adım primerlerin bağlanmasıdır (annealing). Bu adımda sıcaklık düşürülür ve oligonukleotid primerler (15-30 nükleotid uzunluğunda) arttırılacak olan DNA parçasının karşılıklı zincirlerindeki özgün dizilere primerlerin nükleotit içeriğine bağlı olarak 40-65 °C'de bağlanırlar. Son adımda ise primerlerin bağlanması sonrasında sıcaklık, enzimin polimerizasyonu (extension) için ideal düzeye çıkarılır ve enzim primerler arası bölgeyi kopyalar. *Taq* DNA polimeraz enzimi bu işlemi 72 °C de gerçekleştirmektedir. Takiben DNA çift sarmalı yeniden denature edilir, primerler bağlanır ve tekrar yeni zincir sentezlenir. Bu işlem genel olarak 30-40 döngü arasında tekrarlanabilir.

Bir ısı döngüleyici (thermal cycler) sayesinde süreç için gerekli olan sıcaklık değişimleri ayarlanabilmektedir. Yapılan işlemler oldukça basittir, fakat kontaminasyondan kaynaklı herhangi bir DNA da bu şekilde çoğaltılabilir (Zyskind ve Bernstein, 1992). DNA'nın yabancı bir DNA ile kirlenmesi araştırmacı için istenmeyen bir durumdur. Düşük miktarda DNA çalışılması gereken durumlarda, örnek hazırlanması sırasında yanlışlıkla karışan DNA'dan dolayı istenmeyen PZR ürününün elde edilmesi mümkündür (Zyskind ve Bernstein, 1992). Bunun gibi istenmeyen durumların önüne geçmek için kullanılan kimyasal ve malzemelerin steril olması önemlidir.

1.6. DNA Dizi Analizi

DNA'nın yapısının 1953'te aydınlatılması ile beraberinde araştırmacılar tarafından DNA üzerindeki çalışmalar daha da artarak ilerlemiştir. 1960'lı yıllarda başlayan DNA dizi analizi yönteminin amacı, DNA'nın nükleotid baz diziliminin belirlenmesi ve DNA birincil yapılarının aydınlatılmasının sağlanmasıdır. 1965 yılında ilk olarak Robert Holley ve arkadaşları tarafından maya hücresine ait alanin aminoasitini kodlayan 74 nükleotitlik

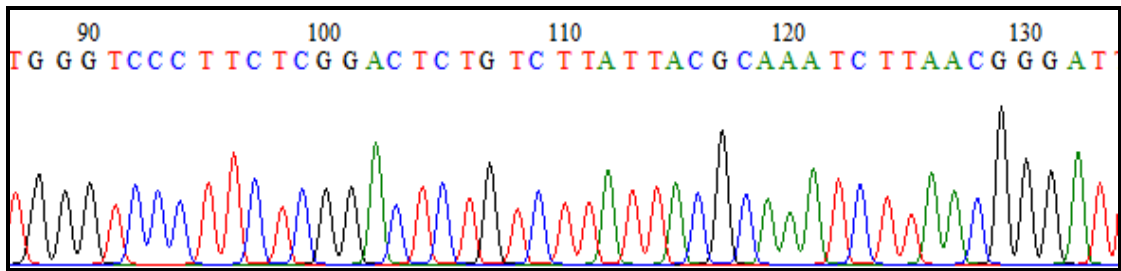
bir tRNA molekülünün dizin analizi yapılmıştır. Fakat bu araştırmacıların kullandıkları yöntem ile gerçekleştirilen dizin analizleri uzun bir zaman aldığı ve fazla iş gücü gerektirdiğinden dolayı çok fazla tercih edilmemiştir.

1960'tan günümüze kadar gelindiğinde 1. nesil DNA dizi analizi yöntemleri ve yeni nesil DNA dizi analizi yöntemleri geliştirilmiştir. 1977 yılında Maxam - Gilbert ve Sanger ve arkadaşları tarafından bulunan iki farklı teknik 1. nesil DNA dizi analizi yöntemleri olarak adlandırılmaktadır. Araştırmayı yapan bilim insanları, bu iki teknik sayesinde 1980 yılında kimya alanında Nobel ödülü kazanmışlardır. Bu tekniklerden ilki olan Maxam-Gilbert'in kimyasal kırılma yöntemi, hidrazin, dimetil sülfat ya da formik asitin, DNA'daki bulunan bazları özgül olarak değiştirmesi ve sonra eklenen piperidinin modifiye nükleotitlerin bulunduğu noktalardan zinciri kırması esasına dayanır (Sambrook vd., 1989). Bu yöntemde, nükleotit dizisi belirlenmek istenen DNA parçası önce 5'-ucundan ^{32}P ile ya da floresan boya ile işaretlenir, DNA uygun restriksiyon enzim ile kesiler ve DNA molekülleri dört tüpe ayrılarak A, C, G ya da T nükleotitlerini değiştirmek ve kırmak için gerekli reaksiyonlar gerçekleştirilir. Böylece herbir tüpte zincir kırılmasının olduğu baz pozisyona göre tümü 5' pozisyonlarından işaretli farklı uzunlukta DNA parçaları elde edilmiş olur. Elde DNA parçaları, jel elektroforezi ile birbirlerinden büyüklüklerine göre ayrılır ve otoradyografi uygulanarak bantlar görüntülenir (Klug ve Cummings, 2000).

1. nesil DNA dizin analizinde kullanılan diğer teknik ise Sanger ve arkadaşlarının geliştirdiği enzimatik DNA sentezine dayanan zincir sonlanma yöntemidir (Sanger vd., 1977). Bu yöntemin prensibi nükleotit sırası belirlenecek olan DNA'nın DNA polimeraz enzimi ile yeniden sentezlenmesi esnasında kullanılan dNTP'lerin (deoksiribonükleozit trifosfat) yanında deoksiribozun 3' ucunda OH grubu taşımayan ddNTP'lerin de (dideoksiribonükleozit trifosfat) substrat olarak kullanılmasıdır. Tekrar sentezlenirken DNA'ya bir ddNTP'nin katılması sonucu 3' ucunda hidroksi (OH) grubu olmadığı için sentez durur ve belirli uzunluklarda DNA parçaları oluşur. Dizi analizi için dört farklı reaksiyon karışımı hazırlanır. Her bir tüpte kalıp DNA zinciri, bir primer, dört farklı tip dNTP ve az miktarda sadece bir çeşit ddNTP içerir. Özgül zincir sonlanması için her bir reaksiyonda farklı bir ddNTP bulunur. Reaksiyon tüplerinden her birinde az miktarda modifiye nükleotit kullanıldığı için yeni zincir sentezi rastgele sonlanarak farklı uzunluklarda bir dizi DNA fragmenti meydana gelir (Klug ve Cummings, 2000). Reaksiyonlar sonucu elde edilen PZR ürünleri agaroz jeldeelektiriksel alana maruz

birakılınca DNA parçacıkları büyüklükleriyle ters orantılı olarak göç eder. İşaretleme yöntemine göre jel üzerinde, tespit edilen DNA parçacıkları reaksiyon karışımına konulan ddNTP' nin tipine göre okunur (Klug ve Cummings, 2000).

DNA dizin analizi yapılmasını gerektiren birçok araştırma çok sayıda örneğin analizi, iş gücü ve uzun zaman alması sebebiyle bu işlemin otomasyon ile gerçekleştirilmesi gereksinimine neden olmuştur. 1982 yılında Akiyoshi Wada DNA dizin analizinin otomasyonla gerçekleştirilebilmesi için gerekli araştırma ve geliştirme çalışmalarına başlamıştır. 1986 yılında ise Kaliforniya Teknoloji Enstitüsü'nden (Caltech) Hood ve Smith tarafından DNA dizi analizinde kullanılabilecek otomatik bir cihaz geliştirilmiştir. Otomatik DNA dizi analizi ile zamandan tasarruf sağlanmasının yanısıra çalışma koşullarının standardize edilmesi ve elde edilen sonuçların değerlendirilmesi noktasında da yarar sağlamaktadır. Otomatik DNA dizi analizi, Sanger ve arkadaşlarının geliştirdiği zincir sonlama yöntemine dayanır. Bu yöntemden farkı radyoaktif izotop yerine floresan boyaların kullanılması ve oluşan DNA parçalarının jel yerine kapiler elektroforez ile tayin edilmesidir. Otomatize DNA dizi analiz cihazları bir bilgisayara yüklü program ile yönetilen kapiler elektroforez operasyonunu içerir. Elektroforetik ünitelerde bulunan lazer ışık kaynağı ile monokromatik bir ışık oluşturulur. Söz konusu DNA'nın bulunduğu jel matriksi bu monokromatik ışık ile taranırken elektroforez boyunca floresan işaretli nükleotide geldiğinde uyarılır. Uyarılan boya kendi için karakteristik olan dalga boyunda ışığı geri yansıtır. Yansıyan bu ışık demeti bir detektör tarafından kaydedilir (Sambrook vd., 1989).



Şekil 18. DNA dizi kromatogramı.

Kaydedilen veriler bilgisayar programları ile değerlendirilerek sonuçlar Şekil 18'deki kromatogram olarak bilgisayar ekranına aktarılır. Kromatogram üzerinde dört ayrı renkte pik vardır. Burada her renk bir bazı işaret etmektedir. Adenin bazı yeşil, sitozin bazı mavi, timin bazı kırmızı ve guanin bazı siyah renkle gösterilir. DNA dizi analizi

cihazlarında 6 bazdan 1000 baza kadar güvenli okuma yapılabilmektedir (Sambrook vd., 1989).

İnsan genomunun haritalanması ve birçok projede tercih edilen Sanger ve arkadaşlarının geliştirdiği yönteme göre yapılan otomatik DNA dizi analizi çok başarılı işler çıkarmıştır. Fakat gelişen bilimin ihtiyaçlarına bazı alanlarda yetersiz kaldığı örneğin genom dizilemede çok zaman alması, iş gücü gibi durumlardan kaynaklı olarak bazı üniversiteler ve özel şirketler tarafından geliştirilen daha büyük DNA parçalarını daha az iş gücü, daha az zamanda, daha yüksek verimle, daha güvenilir ve daha az maliyetle yapabilen yeni nesil DNA dizi analiz yöntemleri olarak geliştirilen bu yöntemler, Kitlesel Paralel Dizilemesi, Poloni Dizilemesi, Solexa Dizilemesi, DNA Nanotop Dizilemesi, 454 Pirodizilemesi, SOLiD Dizilemesi, İyon Yarı İletken Dizilemesidir. Bu yöntemlerin belli ölçüde birbirlerine göre üstünlükleri bulunmakla birlikte genel olarak hala veri analizleri ve genomları açıklamada eksiklikleri bulunmaktadır.

1.7. Filogenetik Analiz Yöntemleri

Kurucusu Alman biyolog Hennig (1966) olarak kabul edilen filogenetik sistematik bilimi çeşitli canlı grupları arasındaki fenetik farklılıklarının yanı sıra evrimsel ata-soy ilişkilerinin araştırılmasını içermektedir. Filogenetik terimi Yunanca'dan köken almaktadır ve soy (file) ve doğumla ilişkili (genetikos) anlamına gelen terimlerden türetilmiştir (Edwards ve Cavalli-Sforza, 1964). Filogenetik sistematikte kullanılan analiz yöntemleri taksonları birbirinden ayırt etmek için çeşitli algoritmalar kullanarak filogenetik ağaçlar oluşturur. Canlıların evrimsel süreçlerinin araştırılması için filogenetik analiz yöntemleri vazgeçilmez hâle gelmiştir (URL 2).

Canlıların, fenetik ve genetik açıdan zamana bağlı değişimleri bir dallanma süreci olarak düşünülebilir ve farklı etkiler sonucu dallar halinde türleşir, birbiriyle melezlenir veya tükenerek son bulur. Bu süreçlerin görsel olarak sonucu bir filogenetik ağaç olarak gösterilebilir. Burada ki biyolojik evrimsel süreçler canlılar arasında bir ağ ilişkisini gösterir. Filogenetiğin ortaya çıkarmaya çalıştığı bu ağ ilişkisindeki önemli sorun, elde edilen genetik verilerin sadece bugüne ait olmasıdır ve elde edilen fosil genetik verilerin de kayıtlarının güvenilir olmasıdır. Filogenetik analiz yöntemleri, mesafe temelli ve karakter temelli olmak üzere iki ana başlıkta toplanmaktadır.

1.7.1. Mesafe Temelli Yöntemler

Öncelikle dizi hizalanması yapılarak dizi çiftleri karşılaştırılır ve sonrasında dizi çiftleri arasındaki farklılıkların sayısı hesaplanır. Bu farklılıkların sayısı evrimsel mesafeleri oluşturur. Bu farklılıklar her bir baz çifti arasındaki mesafelerin matrisinin oluşturulmasında kullanılabilirler. Hesaplanan dizi çiftleri arasındaki mesafe skorları ile tüm organizmalar için filogenetik ağaç oluşturulabilir (Felsenstein, 1987). Mesafeye dayalı oluşturulan filogenetik metotlar basit analiz gerektirir ve hızlıdır. Aritmetik Ortalamayı Kullanan Ağırlıksız Çift Grup (UPGMA), Komşu Birleştirme, Fitch-Margoliash ve Minimum Evrim yöntemleri mesafeye dayalı olarak filogenetik ağaç oluşturan yöntemlerdir.

1.7.1.1. Aritmetik Ortalamayı Kullanan Ağırlıksız Çift Grup (UPGMA) Yöntemi

Aritmetik ortalama ile ağırlıksız çift grup metodu bir kümelenme yöntemidir (Sneath ve Sokal, 1973). Kümeleme temelli yöntemlerin en basit uygulananı ve en hızlısıdır. Bu yöntem organizmaları algoritmik yönden düzenleyerek mesafeyi hesaplarken basit bir formül kullanarak kümeleme yapar (Sokal, 1958). Öncelikle her organizma grubunun bir kümeyi ifade ettiğini varsayar ve kendi içinde bir mesafe hesaplaması yapar (Sokal, 1958). Daha sonra mesafe olarak en yakın iki küme birleştirilir ve bu iki kümenin ortalaması alınıp tek bir küme şeklinde mesafesi hesaplanır (Sokal, 1958). Sonrasında bütün kümeler tek bir küme oluşturacak şekilde birleştirilinceye kadar mesafe hesaplaması yapılarak aynı işlemlere devam edilir (Sokal, 1958). Bu yöntemde göre yapılan analiz sonuçlarında köklü ve tek bir ağaç oluşturulur. Oluşan ağaç topolojisinde kökten uçlara doğru dalların değişim hızının sabit olduğunu varsayar ve dal uzunluklarını eşit kabul eder. Bu nedenle ağacın kökünü de hesaplamalara dahil eder (Li, 2004). Başlangıçta taksonomik fenogramlar, yani taksonlar arasındaki fenotipik benzerlikleri yansıtan ağaçlar oluşturmak için geliştirilmiştir. Bu yöntemde hesaplanan mesafeler ile gerçek evrimsel mesafeler uyuşmaması yöntemin yeterince güvenilir olmadığını göstermektedir. Hızlı ve kolay gerçekleştirilebilir olduğu için ön analizlerde tercih edilebilir (Li, 2004). Bu yöntemi uygulayabilmek için MEGA X (Kumar vd., 2018) yazılımı kullanılabilir.

1.7.1.2. Komşu Birleştirme (Neighbor-Joining / NJ) Yöntemi

Komşu birleştirme yöntemi olarak isimlendirilen bu metod Saitou ve Nei (1987) tarafından ortaya konmuş kümeleme temelli bir yöntemdir (Saitou ve Nei, 1987). Bu yöntemde ise UPGMA'da olduğu gibi organizmaların kökten eşit uzaklıkta olduğu varsayılmaz. Yani ağaç üzerindeki dal uzunlukları ile organizmaların evrimsel hesaplamasının arasında doğru orantılı bir ilişki vardır. Fakat soylar arasında sabit bir evrim hızı (yani bir moleküler saat) varsaymaz. Verileri genetik mesafe açısından kümeleyerek analiz eden bu yöntemin sonuçları evrimsel saate uygun olmadığı için köksüz filogenetik ağaçlar oluşturur (Saitou ve Nei, 1987). Bu yöntem yardımıyla gerçekleştirilen analizler sonucunda tek bir ağaç oluşturulur ve oluşabilecek diğer ağaç topolojileri değerlendirilmeye alınmaz. Bu problemin çözülebilmesi için genelleştirilmiş komşu birleştirme yöntemi geliştirilmiştir. Komşu birleştirme metodu bilgisayar ortamında yapılan hesaplamalar ile hızlı ve yüksek doğrulukta sonuçlar verdiği için yaygın olarak tercih edilmektedir (Kumar ve Gadagkar, 2000). Bu metod ile UPGMA metodundan daha iyi sonuçlar elde edilebilir. Bu yöntem ile geniş veri setlerinde analizler gerçekleştirilebilir fakat oluşabilecek tüm ağaç topolojileri incelenemez (Mihaescu vd., 2009). Bu yöntem MEGA X (Kumar vd., 2018) yazılımında uygulanabilmektedir.

1.7.1.3. Minimum Evrim (Minimum Evolution / ME) Yöntemi

Analizlerinde filogenetik ağaçları minimum evrim ilkesi altında tahmin etmek için basit bir yöntemdir (Rzhetsky ve Nei, 1992). Bu yöntem temel olarak, öncelikle komşu birleştirme yöntemine göre ağacı elde eder ve daha sonra bu ağaca en yakın olan tüm ağaçları inceleyerek dal uzunluklarının toplamının "S" minimum değerine sahip olan bir ağaç arar (Rzhetsky ve Nei, 1992). ME ağacı belirlendikten sonra, bu ağaç ile yakından ilişkili diğer ağaçlar arasındaki "S" farkı için istatistiksel bir test yapılır (Rzhetsky ve Nei, 1992). Bu test en küçük kareler yaklaşımı kullanılarak geliştirilmiş matematiksel bir yöntemdir (Rzhetsky ve Nei, 1992). Bilgisayar simülasyonu, incelenen nükleotidlerin sayısı yeterince büyük olduğu sürece bu yöntemin yüksek olasılıkla doğru ağacı tanımladığını göstermiştir. Ayrıca analiz sonucunda ME ağacının topolojisinin NJ ağacının topolojisiyle hemen hemen aynı olduğu görülmüştür. Belirli bir topoloji için dal uzunluklarının en küçük kareler tahminlerini standart hataları ile birlikte elde etmek için

bir yöntem de sunulmaktadır. Bu yöntem, ME ağacının dallanma düzeninin güvenilirliğini test etmek için kullanılabilir (Rzhetsky ve Nei, 1992). Bununla birlikte, S değerlerinin istatistiksel testi, yanlış ağaçların reddedilmesinde dal uzunluğu testi veya önyüklemeden daha güçlüdür. Ayrıca, hem NJ ağacından topolojik farkın belirli bir değeri olan ağaç sayısını hesaplamak için hem de tüm topolojileri tanımlamak için bir bilgisayar algoritması geliştirilmiştir (Rzhetsky ve Nei, 1992). Bu yöntemle geniş veri setlerinde aritmetik hesaplamalar yapılarak genetik uzaklığa dayalı çok sayıda ağaç elde edilebilir. Yöntem yavaş işlediği için zaman alabilmektedir.

1.7.1.4. Fitch-Margoliash (FM) Yöntemi

Fitch ve Margoliash, 1967 yılında filogenetik ağaçların mesafe matrislerine uydurulması için bir kriter önerdiler (Baxevanis ve Francis-Ouellette, 2005). Bu yöntem, bir ağacın beklenen mesafesine göre gözlemlenen tüm çift mesafelerin en küçük kareler yöntemine uyumunu araştırır (Li, 2004). NJ yöntemine yakın sonuçlar veren bu yöntem NJ'den çok daha yavaştır (Li, 2004).

1.7.2. Karakter Temelli Yöntemler

Karaktere dayalı yöntemler, mesafeye dayalı yöntemlere göre daha karmaşık algoritmalar kullanırlar bu yüzden bu yöntemlerin kullanımı zaman almaktadır (Li, 2004). Organizmaların filogenetik ilişkilerini ayrıntılı bir şekilde belirlemek için bilinen bütün evrimsel bilgiyi kullanırlar (Li, 2004). Bahsedilen evrimsel bilgi organizmalara ait gen dizileri arasındaki bireysel değişimler olabilir (Li, 2004). Maksimum parsimoni (MP), Maksimum likelihood (ML) ve Bayesian çıkarsama yöntemleri karaktere dayalı olarak filogenetik ağaç oluşturan yöntemlerdir.

1.7.2.1. Maksimum Tutumluluk (Maximum Parsimony / MP) Yöntemi

Maksimum tutumluluk olarak isimlendirilen bu yöntemde iki dizi arasında en az mutasyonla oluşturulan ağaç en kabul gören filogenetik ağaçtır (Fitch, 1971). Bu yöntemin hipotezine göre ortak bir atadan türediği varsayıldığından dolayı diziler arasında en az değişmiş olan ağaç MP ağacı olarak kabul edilir (Fitch, 1971). MP

analizleri az sayıda veri ile ve diziler arasındaki benzerliklerin yüksek olduğu durumlarda çok iyi sonuçlar verir (Li, 2004). MP yönteminin avantajları; az bir hipotez gerektirdiğinden dolayı basittir, moleküler ve morfolojik verilere uygulanabilirler, sinapomorfik, plesiomorfik, homoplasi gibi benzerlik çeşitlerini ayırt etmede kullanılabilir ve karakter ve orantı analizlerinde kullanılabilir (Li, 2004). Dezavantajı ise yüksek seviyede görülen homoplasilerde yanılabılır (Li, 2004). PHYLIP (Felsenstein, 1989) yazılımı bu yöntemin kullanılmasında en çok tercih edilen programlardan biridir. MEGA (Kumar vd., 2018) ve PAUP (Swofford, 2003) yazılımları da bu yöntemin kullanılmasında tercih edilebilir.

1.7.2.2. Maksimum Olasılık (Maximum Likelihood / ML) Yöntemi

Maksimum olasılık yöntemi, 1981 yılında Joseph Felsenstein tarafından maksimum tutumluluk yöntemine alternatif olması için ortaya konulmuş bir yöntemdir (Felsenstein, 1987). ML yöntemi de MP yönteminde olduğu gibi bir uyum içinde her türlü bilgi verici karakteri analizde kullanır ve oluşabilecek tüm filogenetik ağaçları değerlendirir. Olası ağaç için bütün olasılıkları hesaplar. Her bir veri için olasılık hesabı yapılır ve olası bütün ağaçları oluşturabilmek için her biri çarpılır. Hesaplanma yöntemi çok iyi temellendirilmiş istatistiğe göre yapıldığından matematiksel olarak zahmetli bir yöntemdir. Olası en iyi sonucu ve en bilgilendirici filogenetik ağaçları ürettiği için etkili bir yöntemdir fakat yoğun bir matematiksel işlem gerektirdiği için verilerin işlenmesi zaman almaktadır (Li, 2004). Karakter ve oran analizlerinde kullanılabilir. Sönmüş (hipotetik) ataların gen dizilerini tahmin etmede kullanılabilir. Nükleotid, aminoasit dizileri ve diğer veri tiplerine uygulanabilen avantajları bulunan bu yöntemin sezgisel olmayan ve yüksek homoplasiler de yanıması gibi dezavantajları da bulunmaktadır (Li, 2004). Bu yöntem için PhyML (Guindon vd., 2010) ve MEGA (Kumar vd., 2018) yazılımları kullanılabilir.

1.7.2.3. Bayes Çıkarsama (Bayesian Inference / BI) Yöntemi

Filogenetik ağaç oluşturmada popüler bir methodur. Thomas Bayes tarafından 1702-1761 yılları arasında oluşturulan “Bayes Teoremi” tek bir doğru filogeniyi bulmayı değil, oluşabilecek bütün filogenilerin sonraki olasılık dağılımlarını hesaplamayı amaçlar.

Model parametrelerinin sonraki dağılımını tahmin etmek için Markov zincir Monte Carlo (MCMC) yöntemlerini kullanır (Larget ve Simon, 1999). Geniş veri setlerinde yüksek nesnellik sağlamaktadır. Bu yöntemin uygulanabilmesi için MrBAYES (Ronquist ve Huelsenbeck, 2003) yazılımı kullanılabilir.

1.8. Moleküler Saat Hipotezi

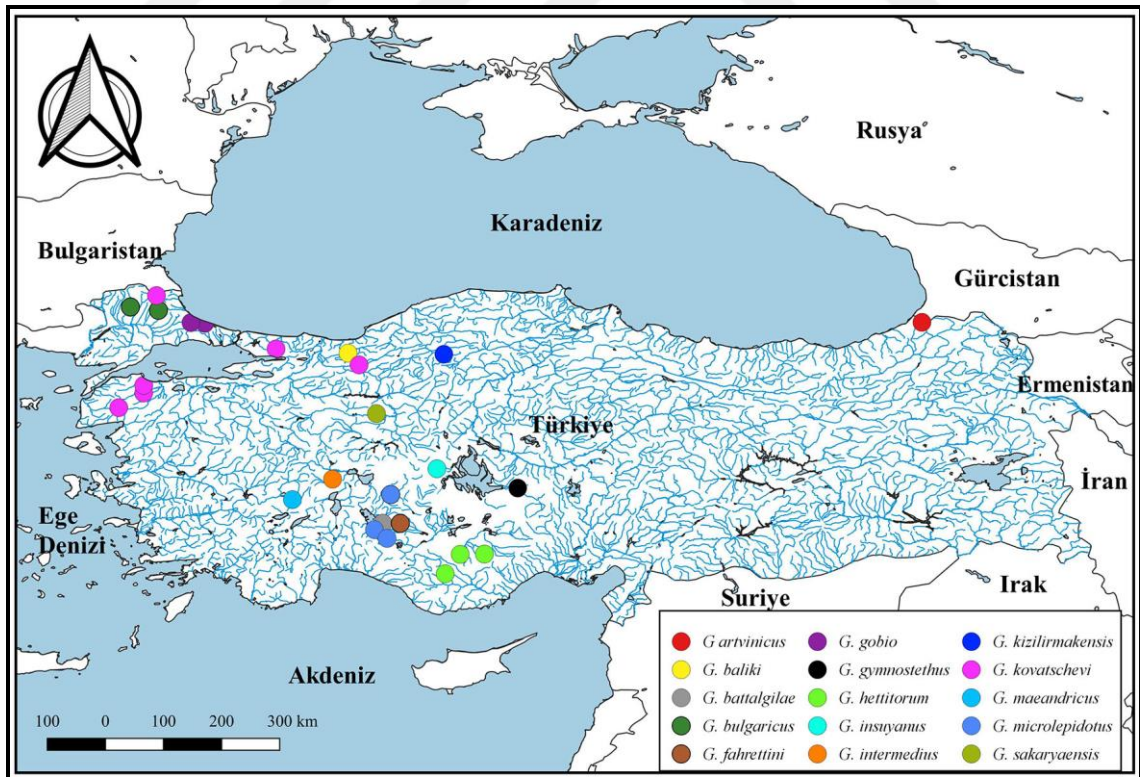
Moleküler saat, jeolojik geçmişte tüm organizmaların birbirinden ne zaman ayrıldıklarını tespit etmek için fosil sabitlerinin ve moleküler değişim oranlarının kullanıldığı bir tekniktir ve filogenetik olayların zamanlamasını araştırmada yaygın olarak kullanılan araçlardan biridir (Weir ve Schluter, 2008). Bu teknik, Zuckerkandl ve Pauling tarafından 1965 yılında, iki türün hemoglobin amino asitlerinin birbirinden farklılaşmasının, bu iki türün ne kadar süre önce birbirlerinden ayrıldığıyla ilişkili olduğunu fark etmeleriyle ortaya çıkmıştır (Morgan, 1998). Zuckerkandl ve Pauling aynı yada farklı soylar üzerindeki herhangi bir proteinin evrimsel olarak değişim hızının sabit olduğunu ve mutasyon biriktirme oranının her protein için sabit olduğunu belirtmişlerdir (Morgan, 1998). Sonrasında Kimura, 1968 yılında moleküler evrimin nötr teorisini (Nötral teori) geliştirdi ve bunu, ortaya çıkan yeni mutasyonların büyük bir bölümünün evrim üzerinde hiç bir etkisi olmadığını bu nedenle adaptif etki gösteremeyeceğinden dolayı doğal seçim ile desteklenemeyecektir. Oluşan nötr mutasyonlar tüm popülasyona yayılacak ve sabitlenerek genetik sürüklenme sonucu tamamen kaybolacaktır diyerek açıklamıştır. Kimura daha sonra bir popülasyonda nötr mutasyonların sabitlenme hızının (süstitüsyon oranı), popülasyonun her bir üyesinde yeni mutasyonların ortaya çıkma oranına (mutasyon oranı) eşdeğer olduğunu göstermiştir (Ho, 2008). Sonraki araştırmalar moleküler evrim oranlarının organizmalar arasında önemli ölçüde değişebilir olduğundan dolayı, Kimura'nın katı moleküler saat varsayımının çok basit olduğunu göstermiştir (Ho, 2008). Bunun yerine, araştırmacılar moleküler hızın sınırlı da olsa soylar arasında değişmesine izin veren "rahat" moleküler saat modelini tercih etmişlerdir (Ho, 2008). Araştırmacılar, moleküler saat oranındaki değişikliklerle başa çıkmak için rahat moleküler saat yöntemlerini kullanabilirler (Weir ve Schluter, 2008). Zaman içerisinde yapılan çalışmalar neticesinde organizmlara özgü kalibrasyonlar geliştirilmiştir. Örneğin, sazansılarda mitokondri DNA cyt b geninin milyon yıl başına %1'lik değişim oranı (Dowling vd., 2002) ve kuşlarda ise mitokondri DNA cyt b geninin milyon yıl başına

%2’lik değişim oranı (Weir ve Schluter, 2008) kabul edilmektedir. Ayrıca, moleküler saatler sadece taksonomik grupların kökenini belirlemek için değil, aynı zamanda iklimsel ve jeolojik olayların canlıların çeşitlenmesi üzerine etkilerini araştırmak (Weir ve Schluter, 2008), türleşme ve yok olma oranlarını tahmin etmek (Weir ve Schluter, 2008), yayılma olaylarının zamanlamasını belirlemek (Mercer ve Roth, 2003) ve gen ailelerinin kökenini belirlemek (Vandepoele vd., 2004) için de kullanılmaktadır. Canlıların moleküler saat hesaplamaları, mutasyonların gerçekleştiği amino asit ve nükleotit dizileri gibi moleküler veriler üzerinden yapılabilir. Bu hesaplamaları gerçekleştirmek için günümüzde çeşitli bilgisayar proglamları geliştirilmiştir. MEGA X (Kumar vd., 2018) ve BEAST v1.8.2 (Drummond vd., 2012) gibi yazılımlarla organizmaların birbirinden ne zaman ayrıldıkları hesaplanabilir.

2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

2.1. Materyal

Gobio cinsine ait 333 bireyin örneklenmesi, tip lokalitelerinde dahil olduğu Türkiye'nin nehir ve göl sistemlerinde yirmi altı istasyondan 2015-2018 yılları arasında gerçekleştirilmiştir. Örnekleme bu türleri temsil edecek sayıda ve belirlenen lokalitelerden elektroşoker cihazı ve serpme ağ kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Şekil 19; Tablo 3). Toplanan örneklerin tüm araştırmaları Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Genetik Laboratuvarında yapıldı. Toplanan örneklerin morfolojik tanımlanmaları Turan ve arkadaşlarının, 2018 (Tablo 2) yılındaki çalışmalarında kullandıkları tür tayin anahtarına göre yapılmıştır. Örneklenen balıkların fotoğrafları çekilerek etiketlenmiş ve bunlardan dokular alınarak % 96'lık etil alkolde fikse edilmiştir. Örnekleme çalışması için etik onayı, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Yerel Etik Kurulu'ndan alınmıştır (Karar No: 2014/72).



Şekil 19. *Gobio* cinsine ait türlerin örneklendiği istasyonları gösteren harita.

Tablo 3. *Gobio* cinsine ait türlerin örneklendiği istasyonlar, örnek sayısı ve koordinatlar.

Türler	İstasyonlar	Örnek Sayısı	Koordinatlar	
			Kuzey	Doğu
<i>G. artvinicus</i>	Artvin: Borçka, Aralık Deresi, Çoruh Nehri	19	41.403450	41.696717
<i>G. baliki</i>	Düzce: Yenitaşköprü Köyü, Büyükmelen Nehri	15	40.836933	31.094750
<i>G. battaligilae</i>	Konya: Eyilikler, Sarıöz Deresi, Beyşehir Gölü	24	37.710133	31.736717
<i>G. bulgaricus</i>	Kırklareli: Pınarhisar, Poyralı Deresi, Ergene Nehri	9	41.625783	27.592167
	Kırklareli: İnce Deresi, Ergene Nehri	11	41.685633	27.073967
<i>G. fahrettini</i>	Konya: İlgin, Deliköyboğazı Deresi	14	38.236470	31.882304
	Konya: İnlice Köyü, Gayhan Deresi	6	37.706209	32.060226
<i>G. gobio</i>	İstanbul: Çatalca, Kumluca Deresi	7	41.384418	28.448076
	İstanbul: Çatalca, Binkılıç Deresi	11	41.398317	28.192850
<i>G. gymnostethus</i>	Aksaray: Kızılkaya Köyü, Melendiz Çayı	25	38.355273	34.229696
<i>G. hettitorum</i>	Karaman: Taşkale Köyü, İbrala Deresi	14	37.141617	33.614000
	Karaman: Ermenek, Balkusan Deresi	5	36.779900	32.889617
	Karaman: Deliçay Barajı	4	37.136233	33.166367
<i>G. insuayanus</i>	Konya: Cihanbeyli, İnsuyu Deresi	15	38.710520	32.736793
<i>G. intermedius</i>	Afyon: İnli Köyü, Kali Deresi	15	38.519277	30.808749
<i>G. kizilirmakensis</i>	Çankırı: Çerkeş, Ulusu Deresi	15	40.816170	32.864725
<i>G. kovatschevi</i>	Çanakkale: Bayramiç, Karamenderes Deresi	11	39.834600	26.859267
	Çanakkale: Yenice, Balıklı Deresi	7	40.104200	27.319883
	Çanakkale: Biga, Bahçeli Köyü, Hoşap Çayı	2	40.244472	27.320778
	Kırklareli: Demirköy, Rezve (Mutlu) Deresi	6	41.895683	27.555800
	Kocaeli: Kutluca, Göksu Deresi	13	40.914592	29.764785
	Bolu: Abant Deresi	4	40.620767	31.297567
<i>G. maeandricus</i>	Afyon: Dinar, Suçikan Deresi, Büyük Menderes Nehri	16	38.142767	30.066783
<i>G. microlepidotus</i>	Konya: Beyşehir, Üstünler Deresi	13	37.590477	31.583202
	Konya: İlgin, Deliköyboğazı Deresi	13	38.236470	31.882304
	Konya: Seydişehir, Gökçeşhüyük Köyü, Sazlıoluk Deresi	12	37.429639	31.815778
<i>G. sakaryaensis</i>	Eskişehir: Sivrihisar, Pürtek Deresi	27	39.723806	31.619667

2.2. Yöntem

2.2.1. Total DNA Eldesi

Toplanan balık örneklerinin beyaz kas veya yüzgeç dokusundan DNA eldesi, DNeasy® Blood & Tissue DNA İzolasyon Kiti (Qiagen, Hilden, Germany) protokolüne göre Qiacube DNA İzolasyon Cihazında (Qiagen, Valencia, CA) yapılmıştır. PZR uygulamalarına geçilinceye kadar -20 °C de saklanmıştır. Total DNA'nın kalite ve miktarının tespiti için etidyum bromür ile boyanan 1X TAE- agaroz karışımı % 0,8 olarak hazırlanmış ve örnekler jele yüklenmiştir. 1X TAE tamponunu içeren elektroforez küvetinde 90 voltta 20 dakika elektrik alana maruz bırakılmıştır. Örneklerin yürütüldüğü agaroz jelin görüntülenmesi işlemi Quantum-Capt ST4 (Vilber Lourmat, France)'deki ultraviyole Jel görüntüleme sisteminde gerçekleştirilmiştir. Total DNA'nın konsantrasyonu, saflığı ve kalitesi ayrıca Nanodrop 2000C model spektrofotometre (Thermo Fisher Scientific, USA) kullanılarak da belirlenmiştir.

2.2.2. Primer Tasarımı

Mitokondri DNA dizilerinin kopyalanmasında kullanılacak olan primerleri tasarlamak için genbank (NCBI)'tan yararlanılmıştır. *Gobio* cinsine morfolojik yakınlığı olan türlerin DNA dizileri genbanktan bulunarak bu dizilerin korunmuş olan GC içeriği yüksek olan uç bölgeleri belirlenerek web tabanlı Primer3 software (URL 3) programı yardımıyla Tablo 4'teki primerler tasarlanmıştır ve ticari bir firmaya sentez ettirilmiştir.

Tablo 4. MtDNA Cyt b, 16S rRNA ve COI genlerinin artırılması ve dizi analizinde kullanılan primerler.

Primerin Adı	Nükleotid Dizisi (5'-3')	Tm Değeri (°C)	Kopyalanan Büyüklük (bp)	Kaynak
Cytb-F	CAACTACAAGAACATGGCAAGCC	62,9	1042	Bu çalışma
Cytb-R	CTTCGGATTACAAGACCGATGC	62,1		Bu çalışma
16S-F	CGTAACATGGTAAGTGTACCGG	62,1	1693	Bu çalışma
16S-R	GCAATTWACCATGCTCTGCCACCCC	69,1		Bu çalışma
COI-F	CTCGGCYACCCTACCTGTG	61,7	1551	Bu çalışma
COI-R	GTGACAGAGTGGTTATGTG	55,2		Bu çalışma

2.2.3. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) Uygulamaları

Örneklerin toplam DNA izolasyonu sonrasında belirlenen gen bölgelerinin kopyalanması için Tablo 5'teki kimyasallar ve Tablo 6'daki döngü koşulları ile polimeraz zincir reaksiyonları gerçekleştirilmiştir. Reaksiyonlar gradient özellikli Biorad T100 Isıl Döngü Cihazında (Bio-Rad, Hercules, USA) gerçekleştirilmiştir.

Tablo 5. Polimeraz zincir reaksiyonunda kullanılan kimyasallar ve miktarları.

Kimyasallar	Konsantrasyon	Cyt b	COI	16S
5X PZR tamponu		10µl	10µl	10µl
dNTP karışımı	20 mM	4µl	4µl	4µl
MgCl ₂	25 mM	3.5µl	3.5µl	3.5µl
Forward Primer	25 pmol	1µl	1µl	1µl
Revers Primer	25 pmol	1µl	1µl	1µl
Taq DNA polimeraz	5 U/µl	0,2µl	0.2µl	0.2µl
Total DNA	20-30 (ng/ml)	3µl	3µl	3µl
ddH ₂ O		27.3µl	27.3µl	27.3µl
Toplam		50µl	50µl	50µl

Verimli sonuçlar elde edebilmek adına PZR için gerekli olan bileşenlerin miktarlarının optimizasyonu ve primerlerin reaksiyonlar için gerekli olan uygun erime sıcaklıklarını (Tm) belirlemek için gradient reaksiyonlar oluşturulmuştur. Her bir reaksiyonda kontaminasyondan kaynaklı oluşabilecek hataların önüne geçebilmek için DNA içermeyen negatif kontroller kullanılmıştır.

Tablo 6. PZR döngü koşulları.

	Sıcaklık (°C)	Zaman	Döngü Sayısı
İlk Ayrılma	94	3 dk	1
Ayrılma	94	45 sn.	
Yapışma	58 ^a /52 ^b /58 ^c	45 sn.	35
Uzama	72	1 dk.	
Son Uzama	72	7 dk.	1
	4	∞	

Not: a. Sitokrom b primerleri için erime sıcaklığı (T_m)

b. COI primerleri için erime sıcaklığı (T_m)

c. 16S primerleri için erime sıcaklığı (T_m)

PZR ürünlerinin kontrolü için % 1'lik TAE-agaroz jel hazırlandı ve 100 bç'lik DNA Leader (Promega, USA) ile yürütülerek incelenmiştir. Bütün işlemler tamamlandıktan sonra istenilen konsantrasyon ve büyüklükte olduğu tespit edilen PZR ürünleri DNA dizi analizi işlemine kadar -20 °C de muhafaza edilmiştir.

2.2.4. DNA Dizi Analizi

PZR ürünlerinden dizi analizleri BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Ready Reaction Kit (Applied Biosystems, Inc., Foster City, California, USA) kullanarak ABI PRISM 3730x1 Genetic Analyser ile ticari bir firma olan MacroGen Inc. (Amsterdam, Hollanda)'de gerçekleştirilmiştir.

2.2.5. Verilerin Analizi

Dizi analizi ile elde edilen ham mtDNA gen dizileri Bioedit 7.2.5 (Hall, 1999) programı yardımıyla pikleri kontrol edilerek düzenlenmiştir. Her bir gen bölgesi için örneklerden elde edilen dizilerin karşılaştırmalarının yapılabilmesi için Bioedit 7.2.5 programındaki Clustal W metodu uygulanmıştır. Düzenleme sırasında elde ettiğimiz verileri hem kontrol amaçlı hemde kıyaslama yapmak için, GenBank üzerinde yer alan BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) kullanılarak ve BOLD (The Barcode of Life Data) Systems'de kayıtlı verilerle karşılaştırma yapılmıştır. Her bir dizinin düzenlenmesi gerçekleştirildikten sonra 3' ve 5' uçlarından kesilerek eş uzunluğa getirilmiş ve sonraki analizler için Fasta formatında kaydedilmişlerdir. Haplotaların belirlenmesi için DnaSP v5 (Librado ve Rozas, 2009) programı kullanılmıştır. Türler

arasındaki genetik mesafe MEGA X (Kumar vd., 2018) programında yer alan Kimura 2-parameter (K2P; Kimura, 1980) mesafe metodu kullanılarak hesaplanmıştır. Üç mtDNA gen dizisi ve bu gen dizileri birleştirilerek (Cytb+COI+16S) elde edilen veri seti için en uygun evrim modelleri Akaike (AIC) ve Bayesian (BIC) Bilgi Kriterleri jModeltest 0.1.1 (Posada, 2008) programı kullanılarak belirlenmiştir. Bahsedilen gen dizileri, MEGA X programında komşu birleştirme (NJ) yöntemiyle analizlenmiştir. PAUP versiyon 4.0b10 programında (Swofford, 2003) maksimum tutumluluk (MP) ve maksimum olasılık (ML) metodları ile analizlenmiştir. MP ağaçları, Macintosh bilgisayarda PAUP 4.0b10 parsimoni programının hōristik (buluşsal) seçeneğinin altında TBR (Tree-bisection-reconnection) dal değişimi kullanılarak oluşturulmuştur. ML ağaçları, Akaike (AIC) Bilgi Kriterine göre en uygun baz değişim modelinin seçiminden sonra PAUP 4.0b10 versiyonunda yapılmıştır. NJ, MP ve ML ağaçları için, düğüm noktalarının güvenilirliği sırasıyla 1000, 100 ve 100 tekrarlı olarak (Felsenstein, 1985) bootstrap yöntemi ile değerlendirilmiştir. Bayesian (BI) analizi, Bayesian (BIC) Bilgi Kriterine göre en uygun modelin seçildiği MrBayes 3.2.1 (Ronquist ve Huelsenbeck, 2003) programında gerçekleştirilmiştir. Bayesian analizi, ön olasılıkların Markov Chain Monte Carlo (MCMC) tekniği her 1000 nesilde örnekleme frekansı kullanılarak, 1 milyon nesil için gerçekleştirilmiştir. Tüm filogenetik analizlerde, Gobionidae ailesinden *Romanogobio tenuicarpus* (GenBank erişim numarası: NC022930) ve Cyprinidae ailesinden *Capoeta damascina* (GenBank erişim numarası: NC031522) türleri dış grup olarak kullanılmıştır. Gen bölgelerinden elde edilen dizileri kullanarak PopART version 1.7.2 (Leigh ve Bryant, 2015) programı yardımıyla Median-joining (Bandelt vd., 1999) metoduna göre tüm türler için haplotip ağ analizleri gerçekleştirilmiştir.

Cyprinid türlerinde Cyt b genine dayalı olarak milyon yıl başına %1’lik değişim oranı (Dowling vd., 2002) kabul edilerek, Türkiye’de dağılım gösteren 15 *Gobio* türü arasındaki tahmini ayrılma süreleri MEGA X programındaki maksimum olasılık (ML) metodu kullanılarak hesaplanmıştır.

3. BULGULAR

3.1. Genetik eşitlilik

Türkiye iç sularında dağılım gösteren 15 *Gobio* türünün mitokondri DNA 16S rRNA (1693 bp), COI (1551 bp) ve Cyt b (1042 bp) genlerinin dizilenmesi gerçekleştirilmiştir. Bu üç gen bölgesinin dizi analizi için 26 farklı istasyondan her bir türden en az 15 birey olmak üzere toplamda 333 birey analizlenmiştir.



Tablo 7. *Gobio* türlerine ait mitokondri DNA gen bölgelerinin analizi yoluyla incelenen her bir türün toplam örnek sayıları (N), haplotip sayıları (HS), haplotip çeşitlilik (HÇ) ve nükleotit çeşitlilik (NÇ) değerleri.

Türler	N	Cytb			COI			16S rRNA			Birleştirilmiş veri		
		HS	HÇ	NÇ	HS	HÇ	NÇ	HS	HÇ	NÇ	HS	HÇ	NÇ
<i>G. artvinicus</i>	19	2	0,515	0,0005	2	0,105	0,0001	2	0,526	0,0003	4	0,667	0,0003
<i>G. baliki</i>	15	1	0,000	0,0000	2	0,248	0,0002	3	0,648	0,0005	5	0,705	0,0002
<i>G. battalgilae</i>	24	10	0,906	0,0031	3	0,518	0,0004	3	0,540	0,0004	11	0,917	0,0010
<i>G. bulgaricus</i>	20	7	0,695	0,0013	2	0,395	0,0003	4	0,611	0,0005	11	0,921	0,0006
<i>G. fahrettini</i>	20	3	0,568	0,0010	2	0,442	0,0003	2	0,442	0,0008	4	0,758	0,0007
<i>G. gobio</i>	18	2	0,503	0,0015	2	0,503	0,0003	3	0,569	0,0016	3	0,569	0,0011
<i>G. gymnostethus</i>	25	3	0,353	0,0004	4	0,747	0,0006	2	0,480	0,0003	9	0,873	0,0004
<i>G. hettitorum</i>	23	3	0,312	0,0004	2	0,166	0,0001	3	0,245	0,0002	5	0,565	0,0002
<i>G. insuyanus</i>	15	5	0,562	0,0012	1	0,000	0,0000	1	0,000	0,0000	5	0,562	0,0003
<i>G. intermedius</i>	15	3	0,676	0,0008	2	0,343	0,0002	1	0,000	0,0000	4	0,771	0,0003
<i>G. kizilirmakensis</i>	15	5	0,781	0,0018	4	0,705	0,0009	2	0,514	0,0009	8	0,914	0,0011
<i>G. kovatschevi</i>	43	8	0,833	0,0052	6	0,744	0,0009	10	0,895	0,0023	18	0,939	0,0025
<i>G. maeandricus</i>	16	2	0,533	0,0021	1	0,000	0,0000	2	0,533	0,0006	2	0,533	0,0008
<i>G. microlepidotus</i>	38	13	0,842	0,0021	5	0,768	0,0008	3	0,569	0,0009	15	0,883	0,0012
<i>G. sakaryaensis</i>	27	2	0,359	0,0021	3	0,382	0,0011	2	0,359	0,0019	3	0,382	0,0017
TOPLAM	333	69			41			43			107		

3.1.1. Cyt b genine dayalı dizi özellikleri ve genetik çeşitlilik

Türkiye’de iç sularda dağılım gösteren 15 *Gobio* türüne ait 333 bireyin omurgalı mitokondri DNA sitokrom b (Cyt b) geninin yaklaşık olarak 1042 bp’lık dizi analizi gerçekleştirildi. Analizlenen Cyt b gen bölgesindeki nükleotitlerin yüzde frekans dağılımlarının T (30,1), C (28,3), A (24,7), G (16,9) olarak belirlenmiş ve guanin nükleotitinin en az orana sahip olduğu ve A+T (% 54,8)’nin C+G (% 45,2)’den daha yüksek bir değerde olduğu tespit edilmiştir. Nükleotit dizilerinin 833’ünün korunmuş (%79,9), 209’unun değişken (%20,1) ve 202’sinin (%19,4) parsimonik bilgi verici olduğu belirlenmiştir. Polimorfik nükleotit pozisyonları için 47 transisyon, 9 transversiyon belirlenmiş olup transisyonun transversiyona oranı Ts/Tv=5,1 olarak hesaplanmıştır.

Gobio türlerine ait bireylerden elde edilen mitokondri DNA Cyt b geni dizileri için gerçekleştirilen haplotip analizi sonucu toplamda 69 haplotipin olduğu belirlenmiştir. Analizde *G. baliki* türünün 1 haplotiple en az haplotip sayısına sahip olduğu ve en fazla haplotip sayısına 13 haplotiple *G. microlepidotus* türünün sahip olduğu belirlenmiştir. Türler için haplotip sayıları Tablo 7’de verilmiştir. Genetik çeşitlilik yönünden yapılan analizlerde *G. baliki* düşük haplotip ve nükleotit çeşitlilik göstermiştir ($H_C = 0,000$ ve $N_C = 0,0000$; Tablo 7). *G. battalgilae* türü ise en yüksek haplotip çeşitliliğin ($H_C = 0,906$) ve *G. kovatschevi* türü de en yüksek nükleotit çeşitliliğin ($N_C = 0,0052$) görüldüğü türler olarak belirlenmiştir (Tablo 7).

K2P mesafe modeline göre hesaplanan türler arası genetik çift mesafeleri için en düşük değer %0,17 ile *G. insuayanus* ve *G. gymnostethus* arasında ve bu değerle birlikte en düşük değer olarak %0,18 ile *G. hettitorum* ve *G. microlepidotus* türlerinde görülürken, en yüksek değer %10,37 ile *G. sakaryaensis* ve *G. artvinicus* arasında olduğu belirlenmiştir (Tablo 8). Göller bölgesi *Gobio* türlerinin (*G. insuayanus*, *G. hettitorum*, *G. microlepidotus*, *G. battalgilae* ve *G. gymnostethus*) genetik çift mesafelerinin %0,17 ve %0,76 arasında olduğu belirlenmiştir (Tablo 8). Göller bölgesinde dağılım gösteren *Gobio* türleri arasındaki genetik mesafelerin düşük olduğu hatta bu genetik mesafenin *G. kovatschevi* ve *G. bulgaricus* (%1,50) arasındaki değerden bile daha düşük olduğu belirlenmiştir. Göller Bölgesi’nde dağılım gösteren *Gobio fahrettini* türünün ise (İlgın ve İnlice popülasyonları) yukarı Sakarya Nehri havzası popülasyonu olan *G. sakaryaensis* türüne (%3,41; Tablo 8) genetik olarak daha yakın olduğu bulunmuştur. Ayrıca 15 *Gobio* türüne ait tür içi genetik mesafe farklılığı değerlerinin en düşük %0,00 ile *G. baliki*

türünde, en yüksek ise % 0,52 ile *G. kovatschevi* türünde olduğu belirlenmiştir (Tablo 8).

K2P genetik mesafe modeline göre, birbirlerinden %7,82-9,32 arasında genetik mesafeyle ayrılan Kuzeybatı, Merkez ve Kuzeydoğu olmak üzere üç iyi derecede farklılaşmış *Gobio* grubunun olduğu belirlenmiştir. Kuzeybatı ve Merkez gruplarının arasındaki ortalama genetik mesafe %8,01, Kuzeydoğu ve Merkez gruplarının arasında %9,32 ve Kuzeybatı ve Kuzeydoğu gruplarının arasındaki ortalama genetik mesafe ise %7,82 olarak bulunmuştur.



Tablo 8. MtDNA Cytb genine dayalı olarak hesaplanan *Gobio* cinsine ait türler arası ve tür içi ortalama genetik mesafeleri. Genetik mesafeler yüzde (%) olarak verilmiştir. Gri renkle işaretlenen kısımlar tür içi ortalama genetik mesafeleri göstermektedir.

Türler	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1 <i>G. artvinicus</i>	0,05														
2 <i>G. baliki</i>	7,94	0,00													
3 <i>G. battalgilae</i>	8,78	7,62	0,31												
4 <i>G. bulgaricus</i>	7,90	2,60	7,86	0,13											
5 <i>G. fahrettini</i>	9,99	7,90	5,64	7,83	0,10										
6 <i>G. gobio</i>	7,12	2,99	6,53	3,20	7,32	0,15									
7 <i>G. gymnostethus</i>	9,08	7,78	0,62	7,80	6,01	6,78	0,04								
8 <i>G. hettitorum</i>	8,86	7,59	0,27	7,84	5,51	6,37	0,52	0,04							
9 <i>G. insuayanus</i>	9,25	7,93	0,76	7,97	6,14	6,94	0,17	0,66	0,12						
10 <i>G. intermedius</i>	9,38	7,87	5,33	8,12	5,88	7,41	5,74	5,46	5,87	0,08					
11 <i>G. kizilirmakensis</i>	9,52	8,93	5,84	8,55	6,49	7,60	6,03	5,75	6,15	5,91	0,18				
12 <i>G. kovatschevi</i>	8,05	2,42	8,31	1,50	8,11	3,56	8,11	8,28	8,28	8,75	8,51	0,52			
13 <i>G. maeandricus</i>	9,86	8,35	5,48	8,48	6,23	7,88	5,77	5,59	5,90	1,24	5,53	8,94	0,21		
14 <i>G. microlepidotus</i>	8,70	7,48	0,33	7,72	5,48	6,31	0,62	0,18	0,76	5,35	5,66	8,18	5,49	0,21	
15 <i>G. sakaryaensis</i>	10,37	8,54	5,81	8,61	3,41	8,40	5,91	5,84	6,05	5,03	6,67	9,02	5,38	5,76	0,21

3.1.2. COI genine dayalı dizi özellikleri ve genetik çeşitlilik

Türkiye’de iç sularda dağılım gösteren 15 *Gobio* türüne ait 333 bireyin omurgalı mitokondri DNA sitokrom oksidaz alt ünite I (COI) geninin 1551 bç’lik dizi analizi gerçekleştirildi. Analizlenen COI gen bölgesindeki nükleotitlerin yüzde frekans dağılımları T (30,2), C (25,3), A (25,6), G (18,9) olarak belirlenmiş ve guanin nükleotitinin en az orana sahip olduğu ve A+T (% 55,8)’nin C+G (% 44,2)’den daha yüksek bir değerde olduğu belirlenmiştir. Nükleotit dizilerinin 1330’unun korunmuş (%85,8), 221’inin değişken (%14,2) ve 221’inin de (%14,2) parsimonik bilgi verici olduğu belirlenmiştir. Polimorfik nükleotit pozisyonları için 44 transisyon, 10 transversiyon belirlenmiş olup transisyonun transversiyona oranı Ts/Tv=4,4 olarak hesaplanmıştır.

Gobio türlerine ait bireylerden elde edilen mitokondri DNA COI geni dizileri için gerçekleştirilen haplotip analizi sonucu toplamda 41 haplotipin olduğu belirlenmiştir. Analizde *G. insuayanus* ve *G. maeandricus* türlerinin 1 haplotiple en az haplotip sayısına sahip olduğu ve en fazla haplotip sayısına 6 haplotiple *G. kovatschevi* türünün sahip olduğu belirlenmiştir. Türler için haplotip sayıları Tablo 7’de verilmiştir. Genetik çeşitlilik yönünden yapılan analizlerde *G. insuayanus* ve *G. maeandricus* düşük haplotip ve nükleotit çeşitliliği göstermiştir (HÇ= 0,000 ve NÇ= 0,0000; Tablo 7). *G. microlepidotus* türü ise en yüksek haplotip çeşitliliğinin (HÇ= 0,768) ve *G. sakaryaensis* türü de en yüksek nükleotit çeşitliliğinin (NÇ= 0,0011) görüldüğü türler olarak belirlenmiştir (Tablo 7).

K2P mesafe modeline göre hesaplanan türler arası genetik çift mesafeleri için en düşük değer %0,15 ile *G. microlepidotus*, *G. insuayanus* ve *G. battalgilae* türlerinde görülürken, en yüksek değer %6,72 ile *G. sakaryaensis* ve *G. artvinicus* arasında olduğu belirlenmiştir (Tablo 9). Göller bölgesi *Gobio* türlerinin (*G. insuayanus*, *G. hettitorum*, *G. microlepidotus*, *G. battalgilae* ve *G. gymnostethus*) genetik çift mesafelerinin %0,15 ve %0,52 arasında olduğu belirlenmiştir (Tablo 9). Göller bölgesinde dağılım gösteren *Gobio* türleri arasındaki genetik mesafelerin düşük olduğu hatta bu genetik mesafenin *G. kovatschevi* ve *G. bulgaricus* (%0,62) arasındaki değerden bile daha düşük olduğu belirlenmiştir. Göller Bölgesi’nde dağılım gösteren *Gobio fahrettini* türünün ise (İlgın ve İnlice popülasyonları) yukarı Sakarya Nehri havzası popülasyonu olan *G. sakaryaensis* türüne (%2,47; Tablo 9) genetik olarak daha yakın olduğu bulunmuştur. Ayrıca 15 *Gobio*

türüne ait tür içi genetik mesafe farklılığı değerlerinin en düşük % 0,00 ile *G. insuyanus* ve *G. maeandricus* türlerinde, en yüksek ise % 0,52 ile *G. sakaryaensis* türünde olduğu belirlenmiştir (Tablo 9).

K2P genetik mesafe modeline göre, birbirlerinden %4,89-6,11 arasında genetik mesafeyle ayrılan Kuzeybatı, Merkez ve Kuzeydoğu olmak üzere üç iyi derecede farklılaşmış *Gobio* grubunun olduğu belirlenmiştir. Kuzeybatı ve Merkez gruplarının arasındaki ortalama genetik mesafe %4,89, Kuzeydoğu ve Merkez gruplarının arasında %6,11 ve Kuzeybatı ve Kuzeydoğu gruplarının arasındaki ortalama genetik mesafe ise %5,42 olarak bulunmuştur.



Tablo 9. MtDNA COI genine dayalı olarak hesaplanan *Gobio* cinsine ait türler arası ve tür içi ortalama genetik mesafeleri. Genetik mesafeler yüzde (%) olarak verilmiştir. Gri renkle işaretlenen kısımlar tür içi ortalama genetik mesafeleri göstermektedir.

Türler	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1 <i>G. artvinicus</i>	0,01														
2 <i>G. baliki</i>	5,12	0,02													
3 <i>G. battalgilae</i>	5,96	4,73	0,04												
4 <i>G. bulgaricus</i>	5,69	1,20	4,88	0,03											
5 <i>G. fahrettini</i>	6,19	4,93	3,43	5,15	0,03										
6 <i>G. gobio</i>	5,20	1,67	4,74	1,94	4,94	0,03									
7 <i>G. gymnostethus</i>	6,16	4,91	0,34	5,06	3,75	4,92	0,06								
8 <i>G. hettitorum</i>	6,02	4,91	0,22	5,06	3,61	4,92	0,52	0,01							
9 <i>G. insuayanus</i>	6,10	4,85	0,15	4,99	3,55	4,86	0,32	0,33	0,00						
10 <i>G. intermedius</i>	5,60	4,43	3,80	4,58	3,46	4,42	4,10	3,98	3,92	0,02					
11 <i>G. kizilirmakensis</i>	6,29	5,05	3,25	5,12	3,60	5,11	3,57	3,43	3,37	3,72	0,09				
12 <i>G. kovatschevi</i>	5,49	1,01	4,53	0,62	4,80	1,62	4,71	4,71	4,65	4,43	4,78	0,09			
13 <i>G. maeandricus</i>	5,74	4,70	3,82	4,85	3,61	4,30	4,14	3,86	3,94	1,16	3,84	4,55	0,00		
14 <i>G. microlepidotus</i>	6,01	4,86	0,15	5,01	3,42	4,87	0,46	0,34	0,27	3,91	3,24	4,66	3,93	0,08	
15 <i>G. sakaryaensis</i>	6,72	5,49	4,25	5,85	2,47	5,71	4,53	4,29	4,36	4,55	4,67	5,60	4,67	4,23	0,11

3.1.3. 16S rRNA genine dayalı dizi özellikleri ve genetik çeşitlilik

Türkiye’de iç sularda dağılım gösteren 15 *Gobio* türüne ait 333 bireyin omurgalı mitokondri DNA 16S ribozomal RNA (16S rRNA) geninin 1693 bp’lik dizi analizi gerçekleştirildi. Analizlenen 16S rRNA gen bölgesindeki nükleotitlerin yüzde frekans dağılımlarının T (20,6), C (22,6), A (35,6), G (21,2) olarak belirlenmiş ve timin nükleotitinin en az orana sahip olduğu ve A+T (% 56,2)’nin C+G (% 43,8)’den daha yüksek bir değerde olduğu belirlenmiştir. Nükleotit dizilerinin 1526’sının korunmuş (%90,13), 167’sinin değişken (%9,87) ve 165’inin de (%9,74) parsimonik bilgi verici olduğu belirlenmiştir. Polimorfik nükleotit pozisyonları için 32 transisyon, 6 transversiyon belirlenmiş olup transisyonun transversiyona oranı Ts/Tv=5,3 olarak hesaplanmıştır.

Gobio türlerine ait bireylerden elde edilen mitokondri DNA 16S rRNA geni dizileri için gerçekleştirilen haplotip analizi sonucu toplamda 43 haplotipin olduğu belirlenmiştir. Analizde *G. insuayanus* ve *G. intermedius* türlerinin 1 haplotiple en az haplotip sayısına sahip olduğu ve en fazla haplotip sayısına 10 haplotiple *G. kovatschevi* türünün sahip olduğu belirlenmiştir. Türlerle ait haplotip sayıları Tablo 7’de verilmiştir. Genetik çeşitlilik yönünden yapılan analizlerde *G. insuayanus* ve *G. intermedius* düşük haplotip ve nükleotit çeşitlilik göstermiştir ($H_C = 0,000$ ve $N_C = 0,0000$; Tablo 7). *G. kovatschevi* türü ise en yüksek haplotip çeşitliliğin ($H_C = 0,895$) ve en yüksek nükleotit çeşitliliğin ($N_C = 0,0023$) görüldüğü tür olarak belirlenmiştir (Tablo 7).

K2P mesafe modeline göre hesaplanan türler arası genetik çift mesafeleri için en düşük değer %0,08 ile *G. microlepidotus* ve *G. battalgilae* türlerinde görülürken, en yüksek değer %4,07 ile *G. insuayanus* ve *G. artvinicus* arasında olduğu belirlenmiştir (Tablo 10). Göller bölgesi *Gobio* türlerinin (*G. insuayanus*, *G. hettitorum*, *G. microlepidotus*, *G. battalgilae* ve *G. gymnostethus*) genetik çift mesafelerinin %0,08 ve %0,84 arasında olduğu belirlenmiştir (Tablo 10). Bu gen bölgesinde Göller bölgesinin bir diğer türleri olan *G. intermedius* ve *G. maeandricus* türlerinin arasındaki genetik mesafe %0,59 olarak belirlenmiştir. Göller bölgesinde dağılım gösteren *Gobio* türleri arasındaki genetik mesafelerin düşük olduğu fakat bu gen bölgesinde bazı türlerin arasındaki genetik mesafenin *G. kovatschevi* ve *G. bulgaricus* (%0,71) arasındaki değerden biraz daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Bu türler; *G. battalgilae*–*G. insuayanus* (%0,73), *G. microlepidotus*–*G. insuayanus* (%0,77), *G. hettitorum*–*G. insuayanus* (%0,84). Göller

Bölgesi'nde dağılım gösteren *Gobio fahrettini* türünün ise (İlgın ve İnlice popülasyonları) yukarı Sakarya Nehri havzası popülasyonu olan *G. sakaryaensis* türüne (%1,44; Tablo 10) genetik olarak daha yakın olduğu bulunmuştur. Ayrıca 15 *Gobio* türüne ait tür içi genetik mesafe farklılığı değerlerinin en düşük % 0,00 ile *G. insuayanus* ve *G. intermedius* türlerinde, en yüksek ise % 0,23 ile *G. kovatschevi* türünde olduğu belirlenmiştir (Tablo 10).

K2P genetik mesafe modeline göre, birbirlerinden %3,00-3,66 arasında genetik mesafeyle ayrılan Kuzeybatı, Merkez ve Kuzeydoğu olmak üzere üç iyi derecede farklılaşmış *Gobio* grubunun olduğu belirlenmiştir. Kuzeybatı ve Merkez gruplarının arasındaki ortalama genetik mesafe %3,00, Kuzeydoğu ve Merkez gruplarının arasında %3,66 ve Kuzeybatı ve Kuzeydoğu gruplarının arasındaki ortalama genetik mesafe ise %3,63 olarak bulunmuştur.

Tablo 10. MtDNA 16S rRNA genine dayalı olarak hesaplanan *Gobio* cinsine ait türler arası ve tür içi ortalama genetik mesafeleri. Genetik mesafeler yüzde (%) olarak verilmiştir. Gri renkle işaretlenen kısımlar tür içi ortalama genetik mesafeleri göstermektedir.

Türler	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1 <i>G. artvinicus</i>	0,03														
2 <i>G. baliki</i>	4,01	0,05													
3 <i>G. battalgilae</i>	3,46	2,56	0,03												
4 <i>G. bulgaricus</i>	3,91	0,90	2,80	0,05											
5 <i>G. fahrettini</i>	3,86	3,43	2,27	3,65	0,08										
6 <i>G. gobio</i>	3,44	1,66	2,67	1,41	3,38	0,16									
7 <i>G. gymnostethus</i>	3,71	2,85	0,40	2,96	2,64	2,80	0,03								
8 <i>G. hettitorum</i>	3,57	2,71	0,15	2,93	2,38	2,78	0,50	0,01							
9 <i>G. insuayanus</i>	4,07	3,07	0,74	3,19	2,75	3,02	0,38	0,84	0,00						
10 <i>G. intermedius</i>	3,50	2,51	1,64	2,50	2,27	2,42	1,76	1,63	1,86	0,00					
11 <i>G. kizilirmakensis</i>	3,39	3,36	2,52	3,33	2,72	2,86	2,76	2,61	3,11	2,06	0,09				
12 <i>G. kovatschevi</i>	3,45	0,96	2,76	0,71	3,46	1,27	2,91	2,90	3,14	2,57	3,15	0,23			
13 <i>G. maeandricus</i>	3,56	2,82	1,82	2,78	2,33	2,72	2,07	1,81	2,29	0,59	2,24	2,87	0,06		
14 <i>G. microlepidotus</i>	3,51	2,63	0,08	2,87	2,32	2,72	0,44	0,19	0,78	1,68	2,56	2,82	1,86	0,09	
15 <i>G. sakaryaensis</i>	4,02	3,71	2,64	3,83	1,44	3,60	2,72	2,75	2,77	2,52	2,88	3,65	2,71	2,68	0,19

3.1.4. Birleştirilmiş veri setine dayalı genetik çeşitlilik

Türkiye iç sularında dağılım gösteren 15 *Gobio* türüne ait 333 bireyin mitokondriyal DNA 16S (1693 bp), COI (1551 bp) ve Cytb (1042 bp) genlerinin dizilenmesi gerçekleştirilmiştir ve bu genlerin uç uca eklenmesi ile 4286 bp uzunluğunda birleştirilmiş veri seti elde edilmiştir. Haplotip analizi sonucu toplamda 107 haplotipin olduğu belirlenmiştir. Analizde *G. maeandricus* türünün 2 haplotiple en az haplotip sayısına sahip olduğu ve en fazla haplotip sayısına 18 haplotiple *G. kovatschevi* türünün sahip olduğu belirlenmiştir. Türler için haplotip sayıları Tablo 7’de verilmiştir. Genetik çeşitlilik yönünden yapılan analizlerde *G. sakaryaensis* düşük haplotip çeşitlilik ($H_C=0,382$) ve *G. hettitorum* ve *G. baliki* düşük nükleotit çeşitlilik göstermiştir ($N_C=0,0002$). *G. kovatschevi* türü ise en yüksek haplotip çeşitliliğinin ($H_C=0,939$) ve en yüksek nükleotit çeşitliliğinin ($N_C=0,0025$) görüldüğü tür olarak belirlenmiştir (Tablo 7).

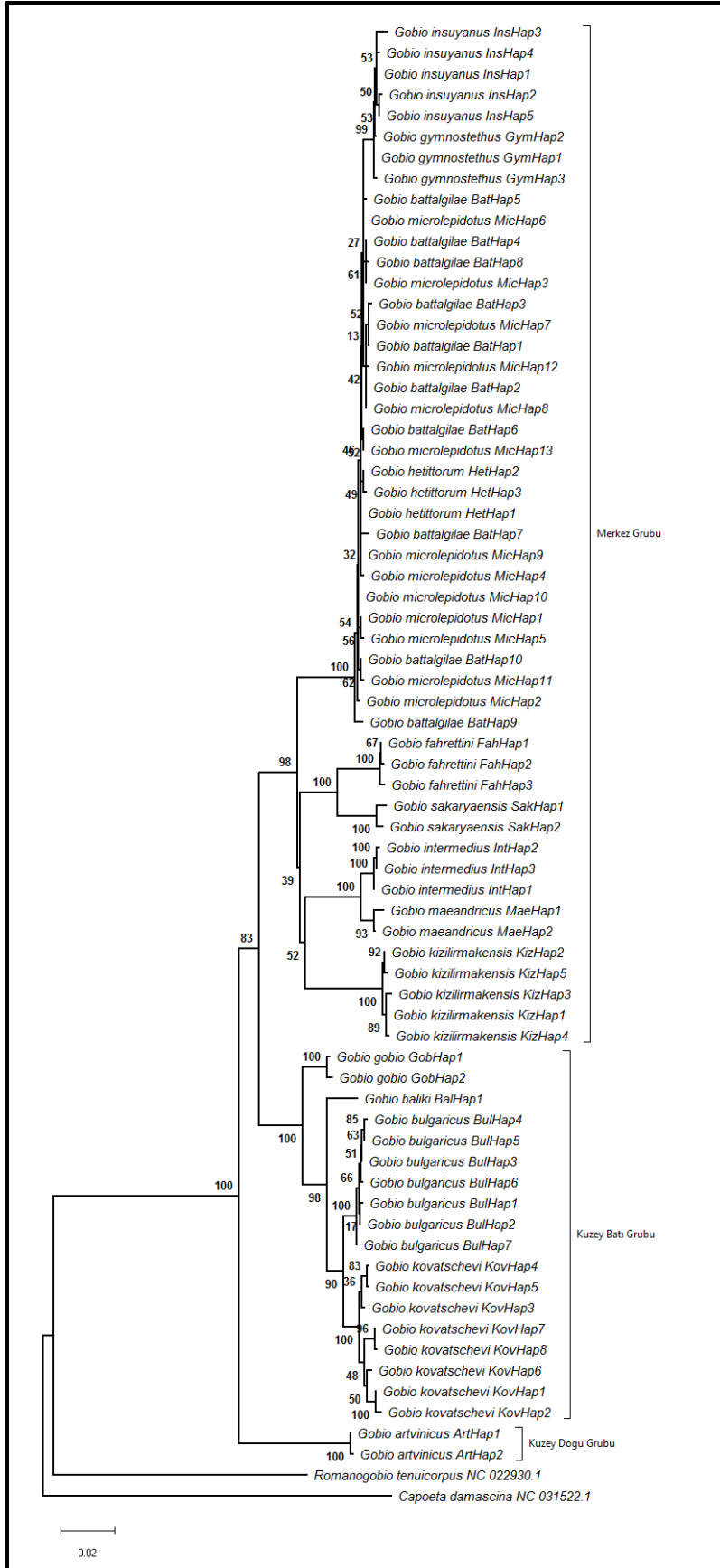
Türler arası genetik çift mesafeleri en düşük değer %0,15 ile *G. microlepidotus* ve *G. battalgilae* arasında ve en yüksek değer %6,46 ile *G. sakaryaensis* ve *G. artvinicus* arasında olduğu belirlenmiştir (Tablo 11). Göller bölgesi *Gobio* türlerine (*G. insuayanus*, *G. hettitorum*, *G. microlepidotus*, *G. battalgilae* ve *G. gymnostethus*) ait bireyler arasındaki dizi farklılık değerlerinin %0,15 ve %0,65 arasında olduğu belirlenmiştir (Tablo 11). Göller bölgesindeki türler arası genetik farklılığın diğer *Gobio* grupları arasındaki en düşük değere sahip olduğu hatta *G. kovatschevi* ve *G. bulgaricus* (%0,89) arasındaki farktan da daha düşük olduğu belirlenmiştir. Analizlenen tüm gen bölgelerinde olduğu gibi, birleştirilmiş veri setinde de *G. fahrettini* türünün (İlgin ve Inlice popülasyonları) yukarı Sakarya Nehrinde dağılım gösteren *G. sakaryaensis* türüne (%2,26; Tablo 11) genetik olarak Göller Bölgesi'ndeki diğer türlere göre daha benzer olduğu bulunmuştur. Ayrıca tür içi genetik mesafe farklılığı değerlerinin en düşük %0,04 ile *G. artvinicus*, *G. baliki* ve *G. intermedius* türlerinde, en yüksek ise %0,31 ile *G. sakaryaensis* türünde olduğu belirlenmiştir (Tablo 11). Dahası, K2P genetik mesafeleri, birbirlerinden %4,84-5,80 arasında genetik mesafeyle ayrılan Kuzeybatı, Merkez ve Kuzeydoğu olmak üzere üç iyi derecede farklılaşmış Türk *Gobio* grubunun varlığını ortaya koymaktadır. Kuzeybatı ve Merkez gruplarının arasındaki ortalama genetik mesafe %4,84, Kuzeydoğu ve Merkez gruplarının arasında %5,80 ve Kuzeybatı ve Kuzeydoğu gruplarının arasındaki ortalama genetik mesafe ise %5,33 olarak bulunmuştur.

Tablo 11. Birleştirilmiş veriye dayalı olarak hesaplanan *Gobio* cinsine ait türler arası ve tür içi ortalama genetik mesafeleri. Genetik mesafeler yüzde (%) olarak verilmiştir. Gri renkle işaretlenen kısımlar tür içi ortalama genetik mesafeleri göstermektedir.

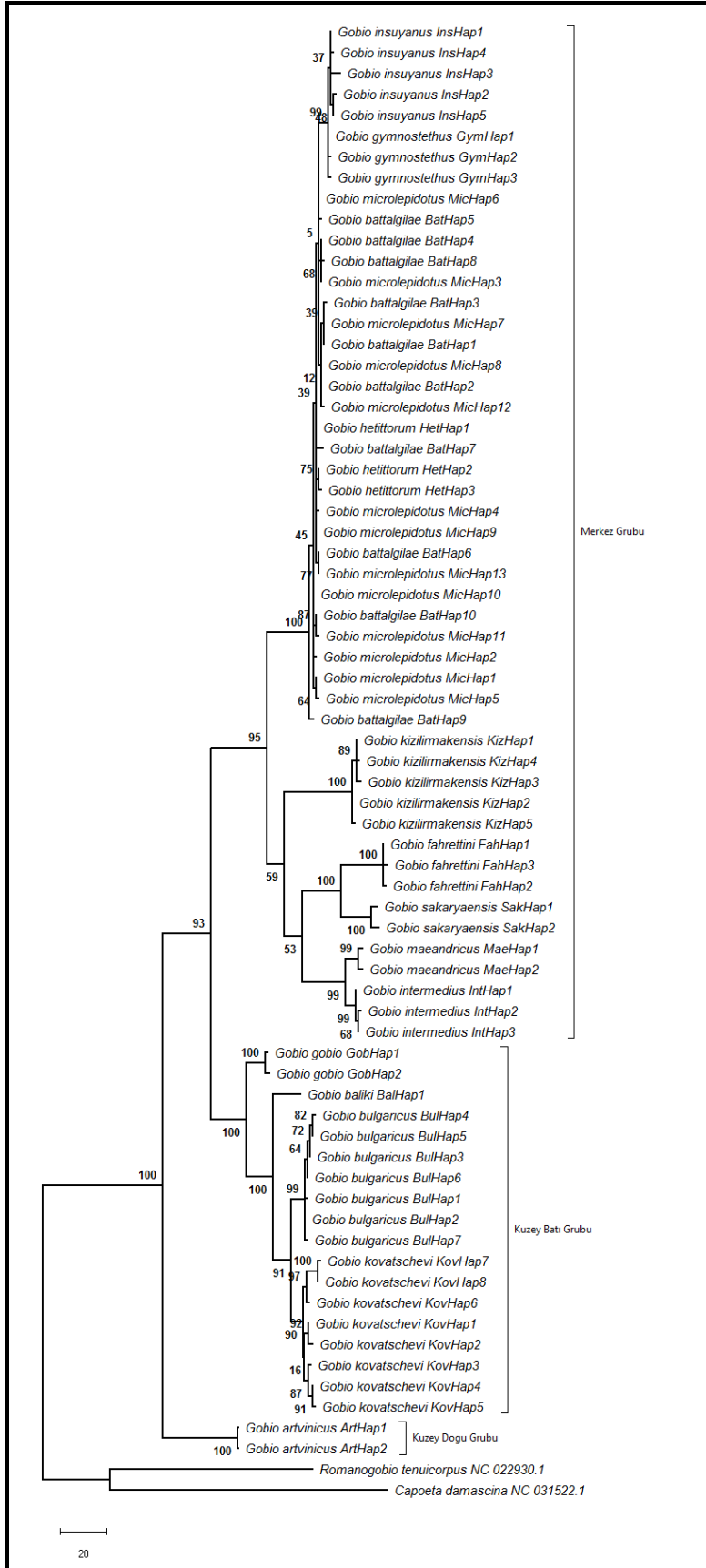
Türler	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1 <i>G. artvinicus</i>	0,04														
2 <i>G. baliki</i>	5,35	0,04													
3 <i>G. battalgilae</i>	5,61	4,56	0,13												
4 <i>G. bulgaricus</i>	5,50	1,43	4,76	0,08											
5 <i>G. fahrettini</i>	6,14	5,04	3,50	5,20	0,08										
6 <i>G. gobio</i>	4,95	2,01	4,34	2,06	4,89	0,16									
7 <i>G. gymnostethus</i>	5,86	4,77	0,44	4,87	3,84	4,53	0,05								
8 <i>G. hettitorum</i>	5,71	4,69	0,23	4,88	3,58	4,43	0,54	0,05							
9 <i>G. insuyanus</i>	6,04	4,89	0,56	5,00	3,85	4,65	0,33	0,65	0,07						
10 <i>G. intermedius</i>	5,63	4,49	3,30	4,59	3,56	4,33	3,55	3,40	3,56	0,04					
11 <i>G. kizilirmakensis</i>	5,87	5,29	3,57	5,22	3,92	4,81	3,82	3,65	3,93	3,57	0,11				
12 <i>G. kovatschevi</i>	5,29	1,34	4,72	0,89	5,04	1,97	4,80	4,85	4,93	4,70	5,00	0,28			
13 <i>G. maeandricus</i>	5,81	4,82	3,42	4,89	3,72	4,52	3,69	3,46	3,75	0,95	3,59	4,91	0,14		
14 <i>G. microlepidotus</i>	5,62	4,58	0,15	4,78	3,45	4,35	0,47	0,24	0,59	3,34	3,52	4,74	3,46	0,11	
15 <i>G. sakaryaensis</i>	6,46	5,48	3,97	5,68	2,26	5,47	4,11	4,05	4,16	3,87	4,46	5,61	4,05	3,95	0,31

3.2. *Gobio* türleri arasındaki filogenetik ilişkiler

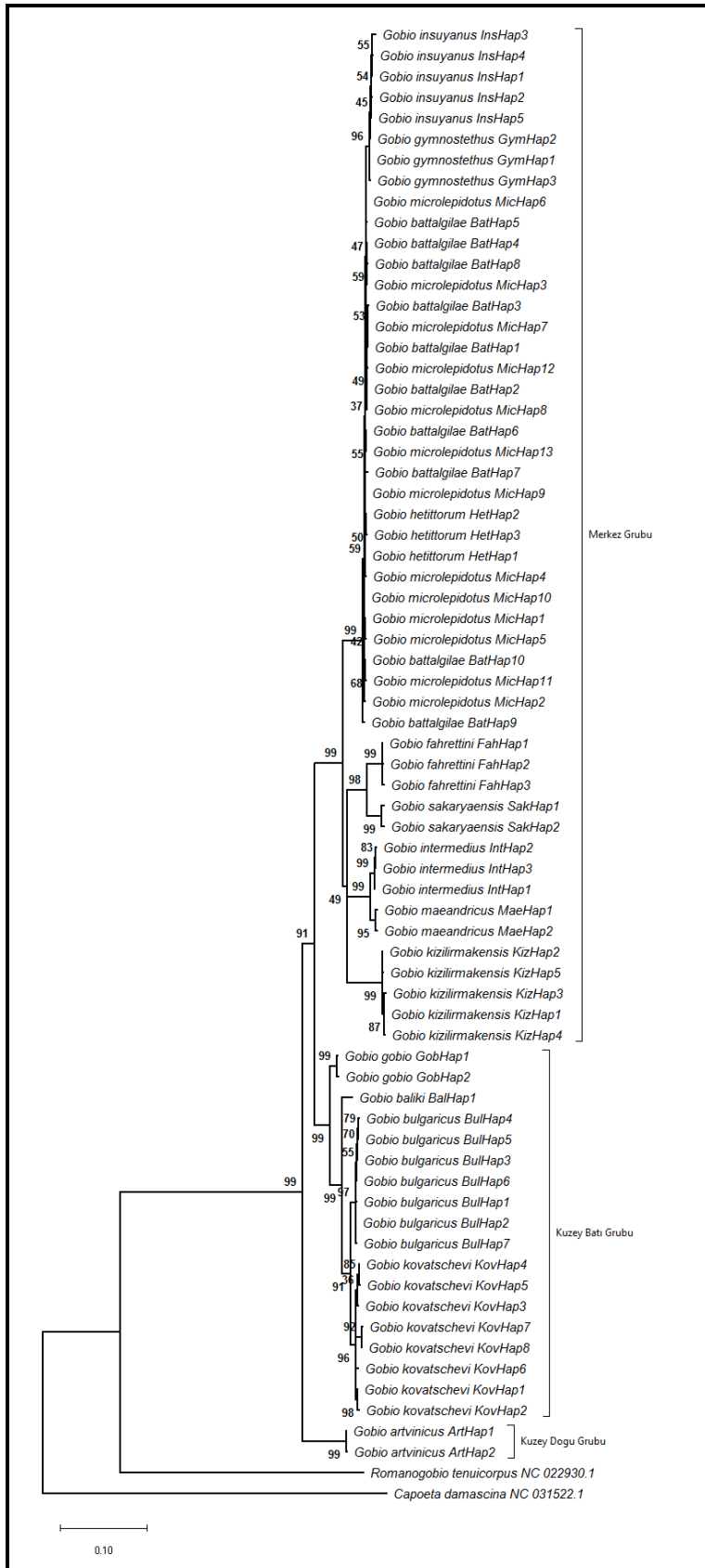
16S, COI, Cytb genleri ve birleştirilmiş veri setine dayalı NJ, MP, ML ve BI yöntemleriyle filogenetik ağaçlar oluşturulmuştur. NJ ağaçlarının tümü K2P metoduna göre, ML ağaçları Akaike (AIC) Bilgi Kriterine göre belirlenen en uygun evrimsel yöntemlere göre, 16S geni için TIM1+I+G, COI geni için TIM1+I+G, Cytb geni için TIM3+I+G ve Birleştirilmiş veri için TIM1+I+G metodlarına göre oluşturulmuştur. BI yöntemiyle oluşturulan filogenetik ağaçlar ise Bayesian (BIC) Bilgi Kriterine göre belirlenen en uygun evrimsel modelin 16S geni için TrN+I+G, COI geni için HKY+I+G, Cytb geni için TIM3+I+G ve Birleştirilmiş veri için TIM1+I+G metodlarına göre oluşturulmuştur. Tüm gen bölgeleri için oluşturulan tüm filogenetik ağaçlar Türkiye’de dağılım gösteren *Gobio* türlerinin monofiletik bir grup olduğunu göstermektedir (Şekil 20-35). Analizler sonucunda yüksek güvenilirlik değerleriyle desteklenen filogenetik ağaçlar bize Türkiye iç sularında dağılım gösteren 15 *Gobio* türünün Kuzeybatı, Merkez ve Kuzeydoğu olmak üzere üç alt gruba ayrıldığını ortaya koymuştur (Şekil 20-35). Merkez alt grubu Göller Bölgesi olarak bilinen coğrafyada dağılım gösteren örnekler (*G. microlepidotus*, *G. hettitorum*, *G. gymnostethus*, *G. insuyanus*, *G. battalgilae* ve *G. intermedius*), Sakarya nehrinin yukarı bölümü olan Pürtek deresi örnekleri (*G. sakaryaensis*), Ege’de Büyük Menderes örnekleri (*G. maeandricus*) ve Çerkeş deresi örneklerinden (*G. kizilirmakensis*) oluşmaktadır. Merkez alt grubu içerisinde yer alan beş türün (*G. microlepidotus*, *G. hettitorum*, *G. gymnostethus*, *G. insuyanus* ve *G. battalgilae*) filogenetik ilişkileri kesin olarak çözülememiştir (Şekil 20-35). Kuzeybatı alt grubu, Trakya havzasından (*G. gobio*, *G. bulgaricus* ve *G. kovatschevi*), batı Karadeniz havzasından (*G. baliki* ve *G. kovatschevi*), güney Marmara havzasından (*G. kovatschevi*) ve Ergene nehri havzasından (*G. bulgaricus*) örnekler içermektedir. Kuzeydoğu alt grubu ise Çoruh nehri havzasında (*G. artvinicus*) dağılım gösteren örneklerden oluşmaktadır ve bu gruba ait tür Türkiye iç sularında dağılım gösteren 15 *Gobio* türü içerisinde genetik olarak en farklı türdür (Şekil 20-35).



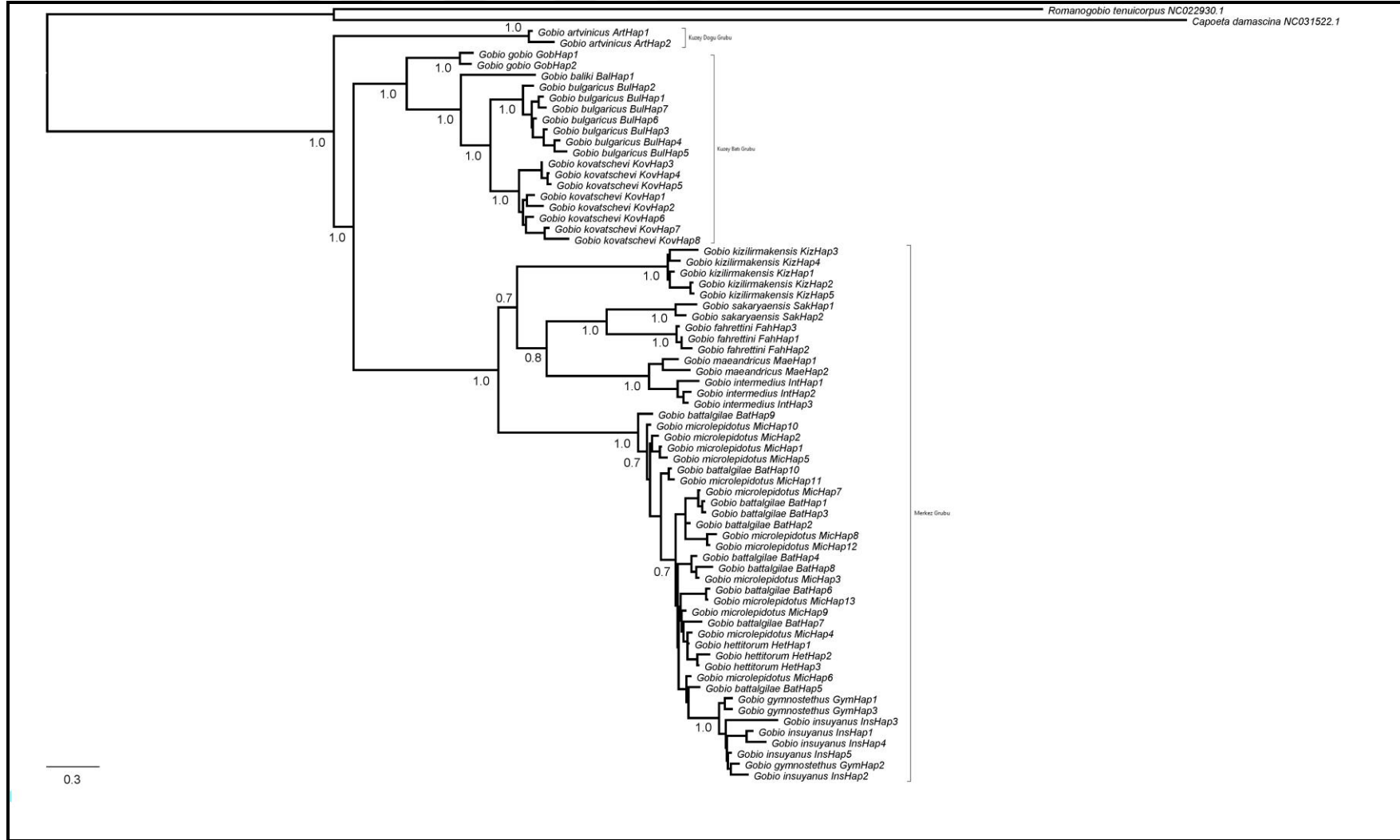
Şekil 20. *Gobio* türlerine ait mtDNA Cytb için belirlenen toplam 69 adet haplotipin komşu katılım (NJ) metodu ile oluşturulan filogenetik ağaç topolojisi.



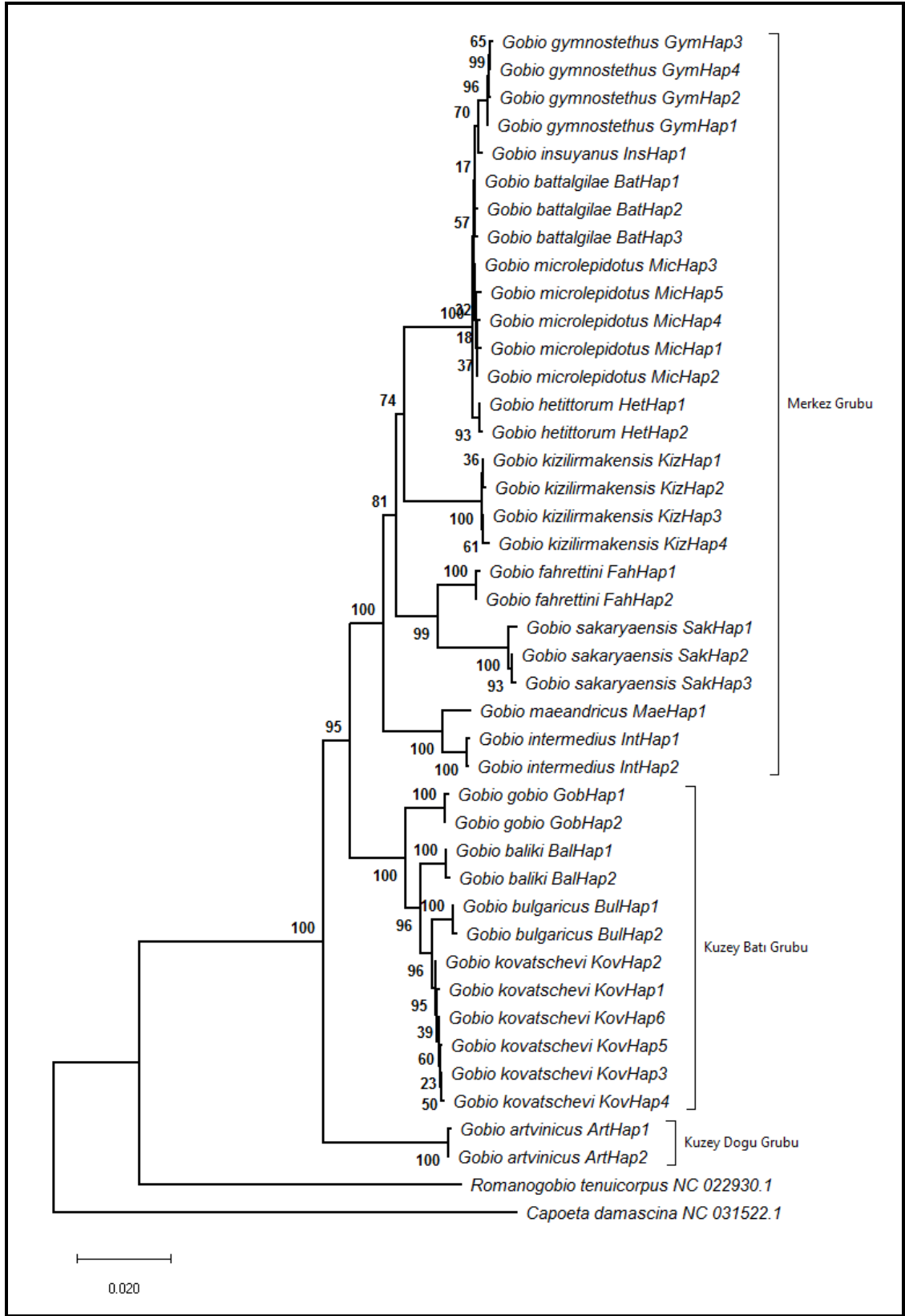
Şekil 21. *Gobio* türlerine ait mtDNA Cytb için belirlenen toplam 69 adet haplotipin maksimum tutumluluk (MP) metodu ile oluşturulan filogenetik ağaç topolojisi.



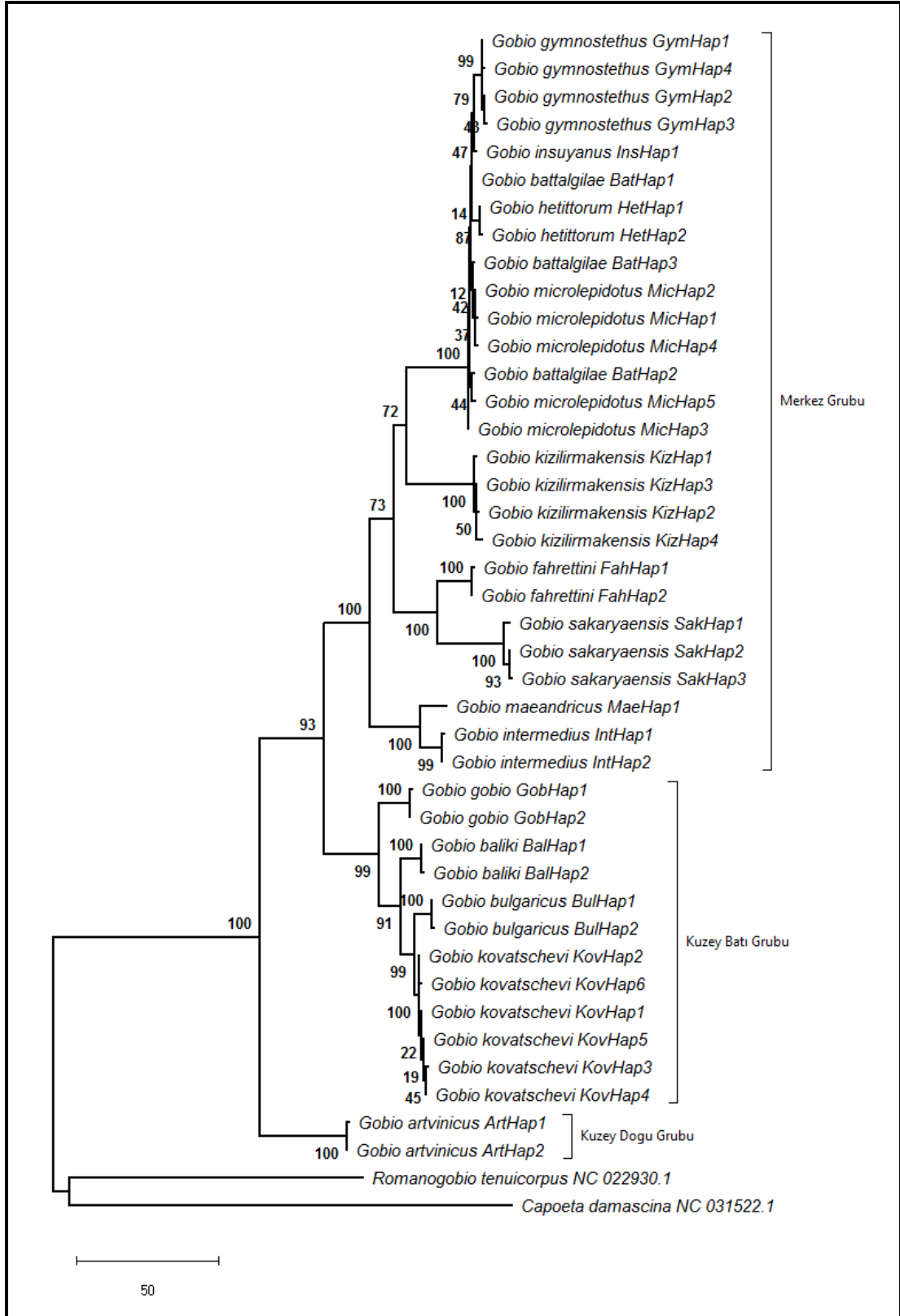
Şekil 22. *Gobio* türlerine ait mtDNA Cytb için belirlenen toplam 69 adet haplotipin maksimum olasılık (ML) metodu ile oluşturulan filogenetik ağaç topolojisi.



Şekil 23. *Gobio* türlerine ait mtDNA Cytb için belirlenen toplam 69 adet haplotipin bayesian (BI) metodu ile oluşturulan filogenetik ağaç topolojisi.



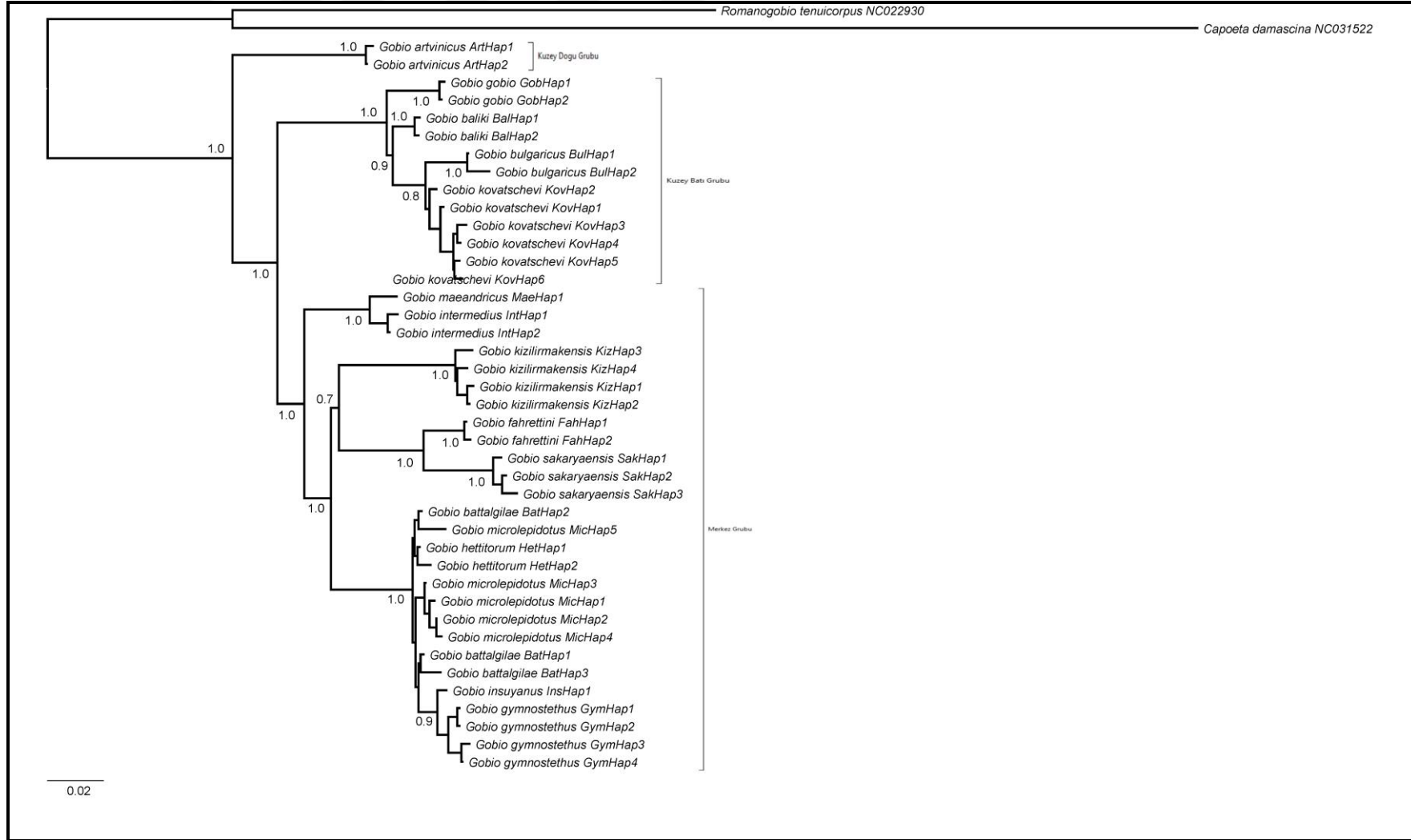
Şekil 24. *Gobio* türlerine ait mtDNA COI için belirlenen toplam 41 adet haplotipin komşu katılım (NJ) metodu ile oluşturulan filogenetik ağaç topolojisi.



Şekil 25. *Gobio* türlerine ait mtDNA COI için belirlenen toplam 41 adet haplotipin maksimum tutumluluk (MP) metodu ile oluşturulan filogenetik ağaç topolojisi.



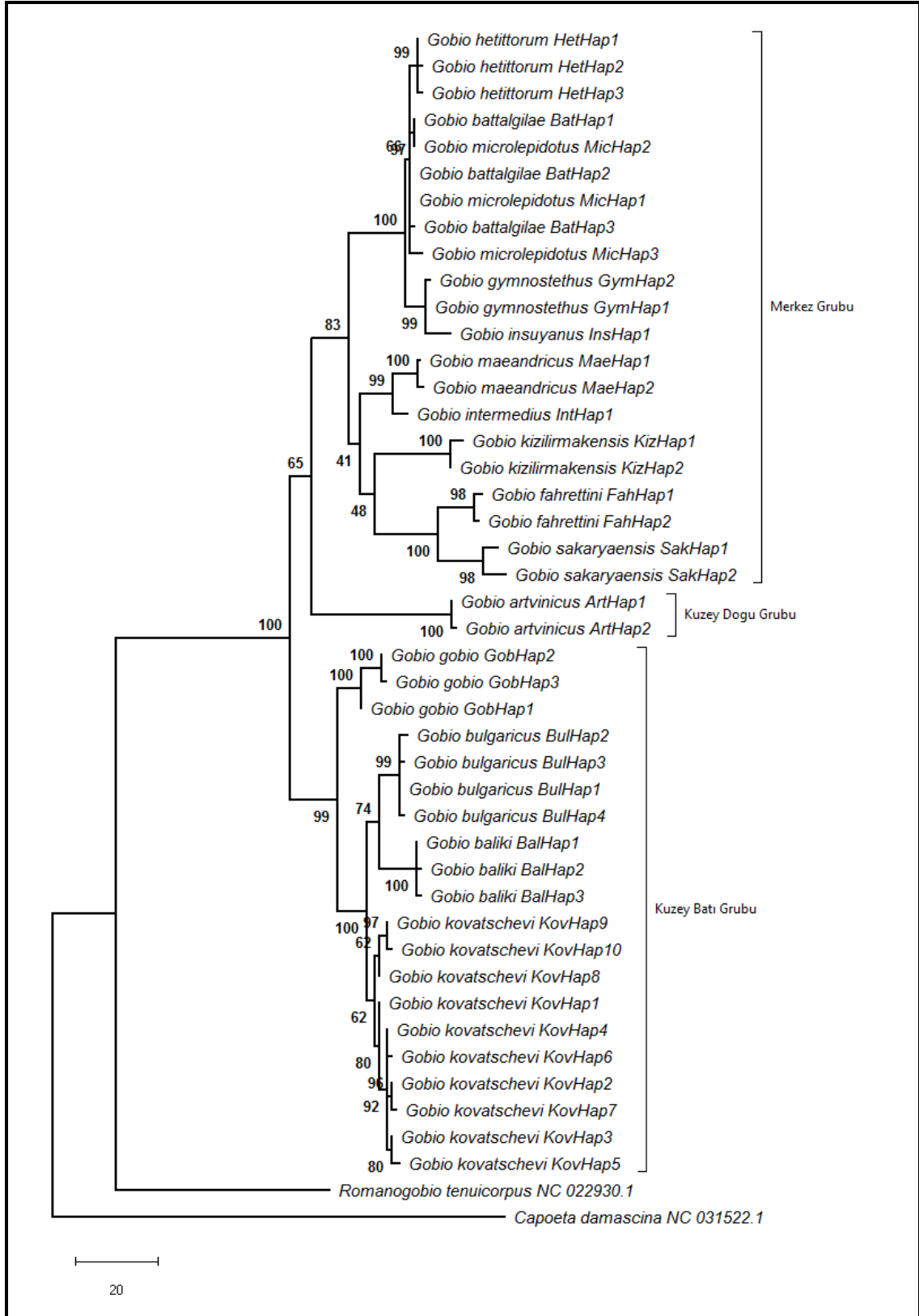
Şekil 26. *Gobio* türlerine ait mtDNA COI için belirlenen toplam 41 adet haplotipin maksimum olasılık (ML) metodu ile oluşturulan filogenetik ağaç topolojisi.



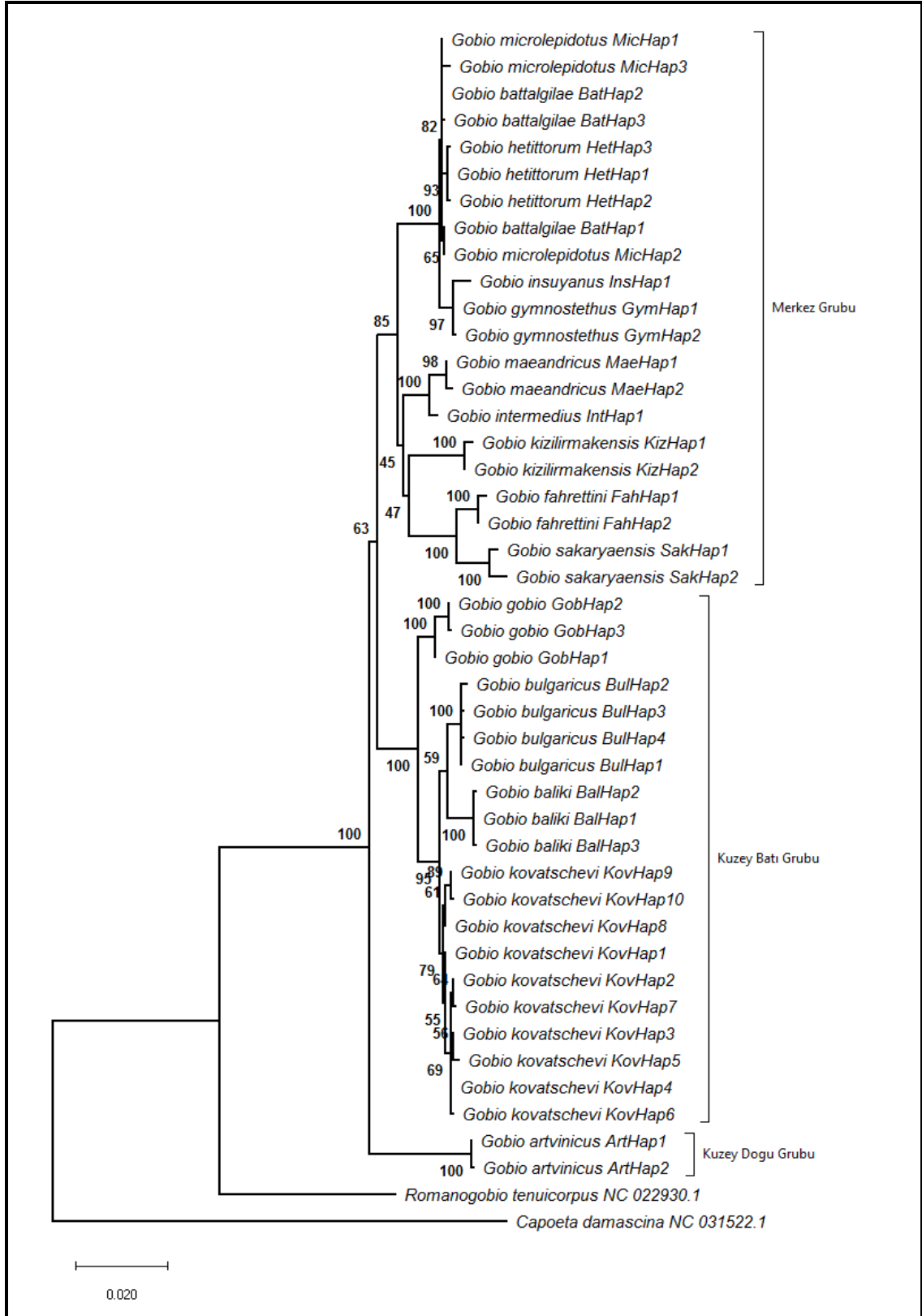
Şekil 27. *Gobio* türlerine ait mtDNA COI için belirlenen toplam 41 adet haplotipin bayesian (BI) metodu ile oluşturulan filogenetik ağaç topolojisi.



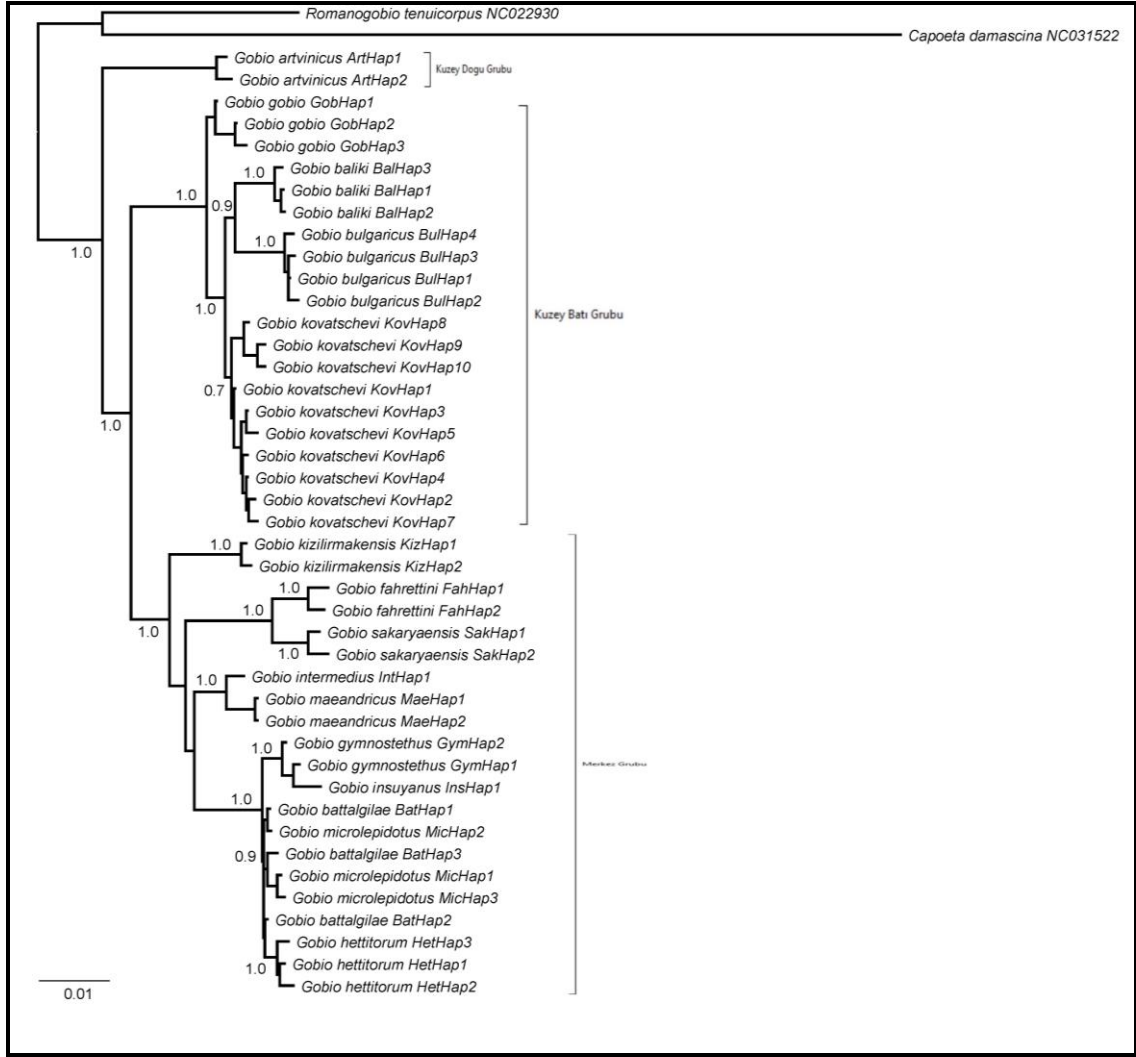
Şekil 28. *Gobio* türlerine ait mtDNA 16S rRNA için belirlenen toplam 43 adet haplotipin komşu katılım (NJ) metodu ile oluşturulan filogenetik ağaç topolojisi.



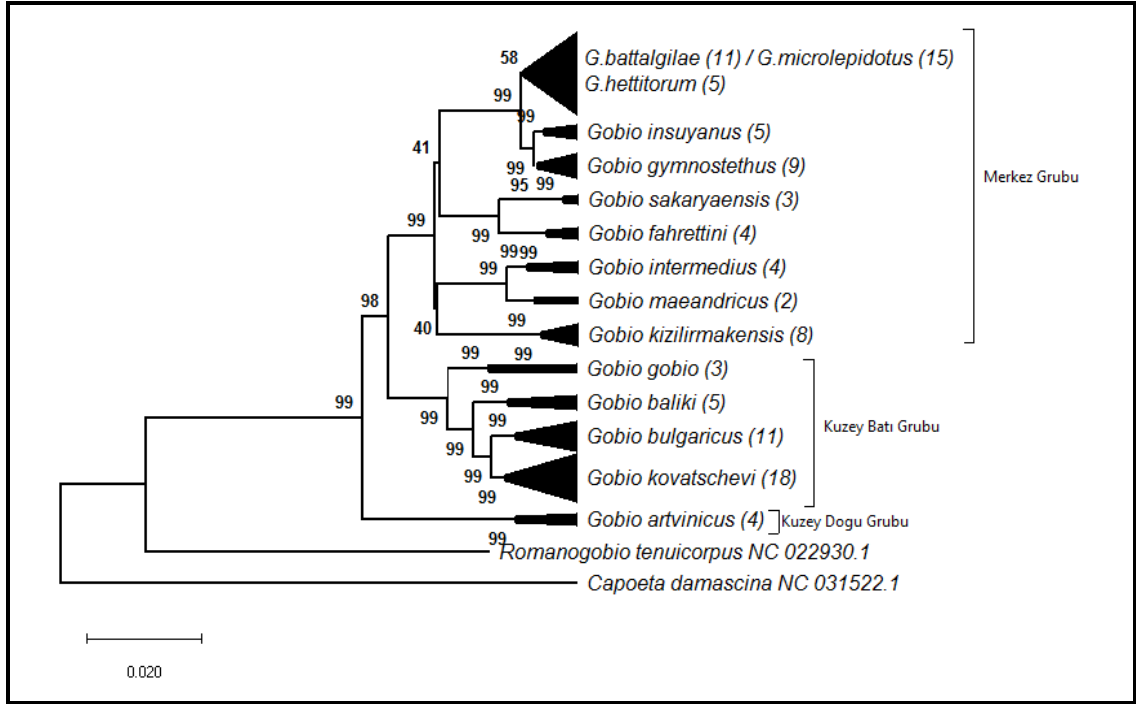
Şekil 29. *Gobio* türlerine ait mtDNA 16S rRNA için belirlenen toplam 43 adet haplotipin maksimum tutumluluk (MP) metodu ile oluşturulan filogenetik ağaç topolojisi.



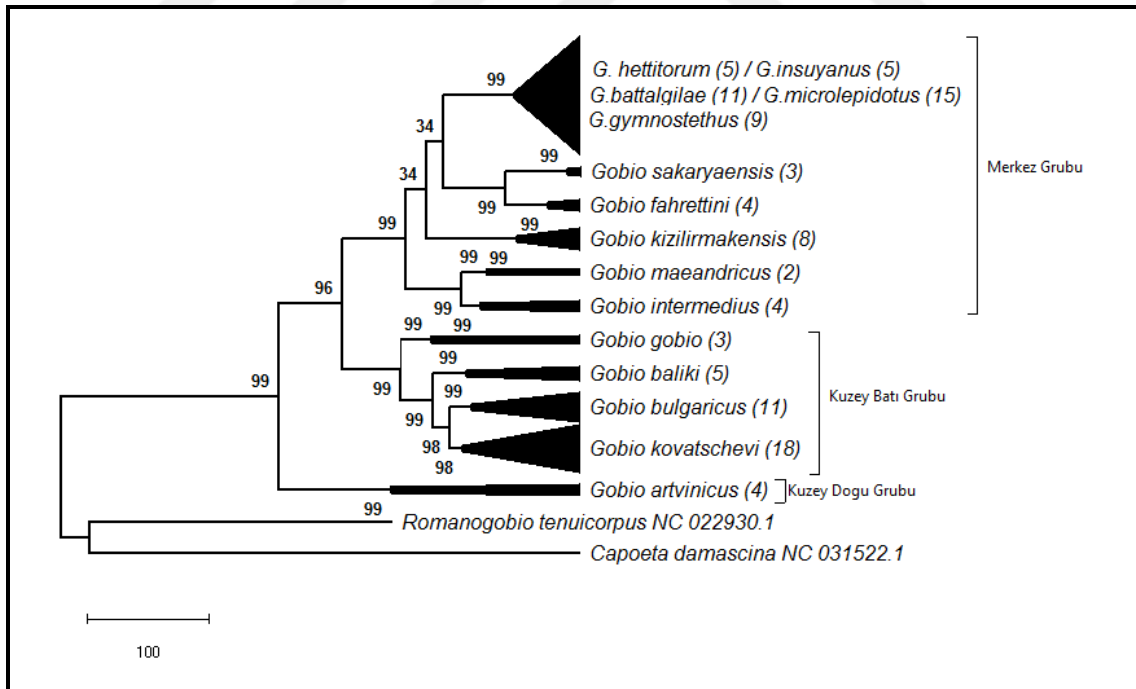
Şekil 30. *Gobio* türlerine ait mtDNA 16S rRNA için belirlenen toplam 43 adet haplotipin maksimum olasılık (ML) metodu ile oluşturulan filogenetik ağaç topolojisi.



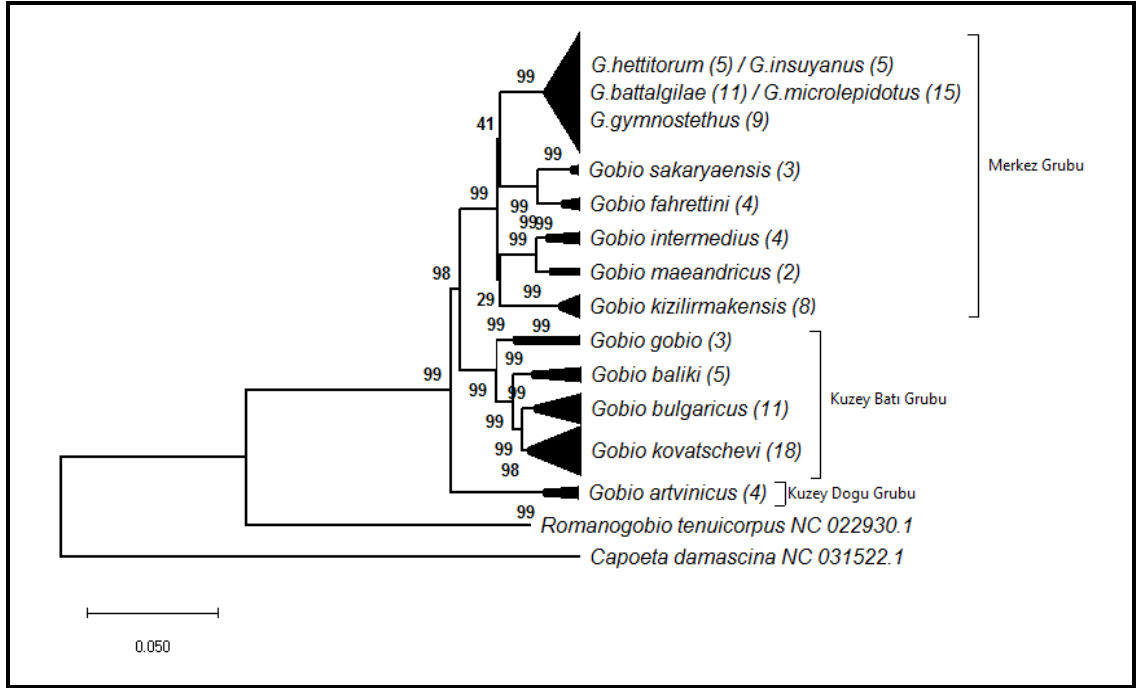
Şekil 31. *Gobio* türlerine ait mtDNA 16S rRNA için belirlenen toplam 43 adet haplotipin bayesian (BI) metodu ile oluşturulan filogenetik ağaç topolojisi.



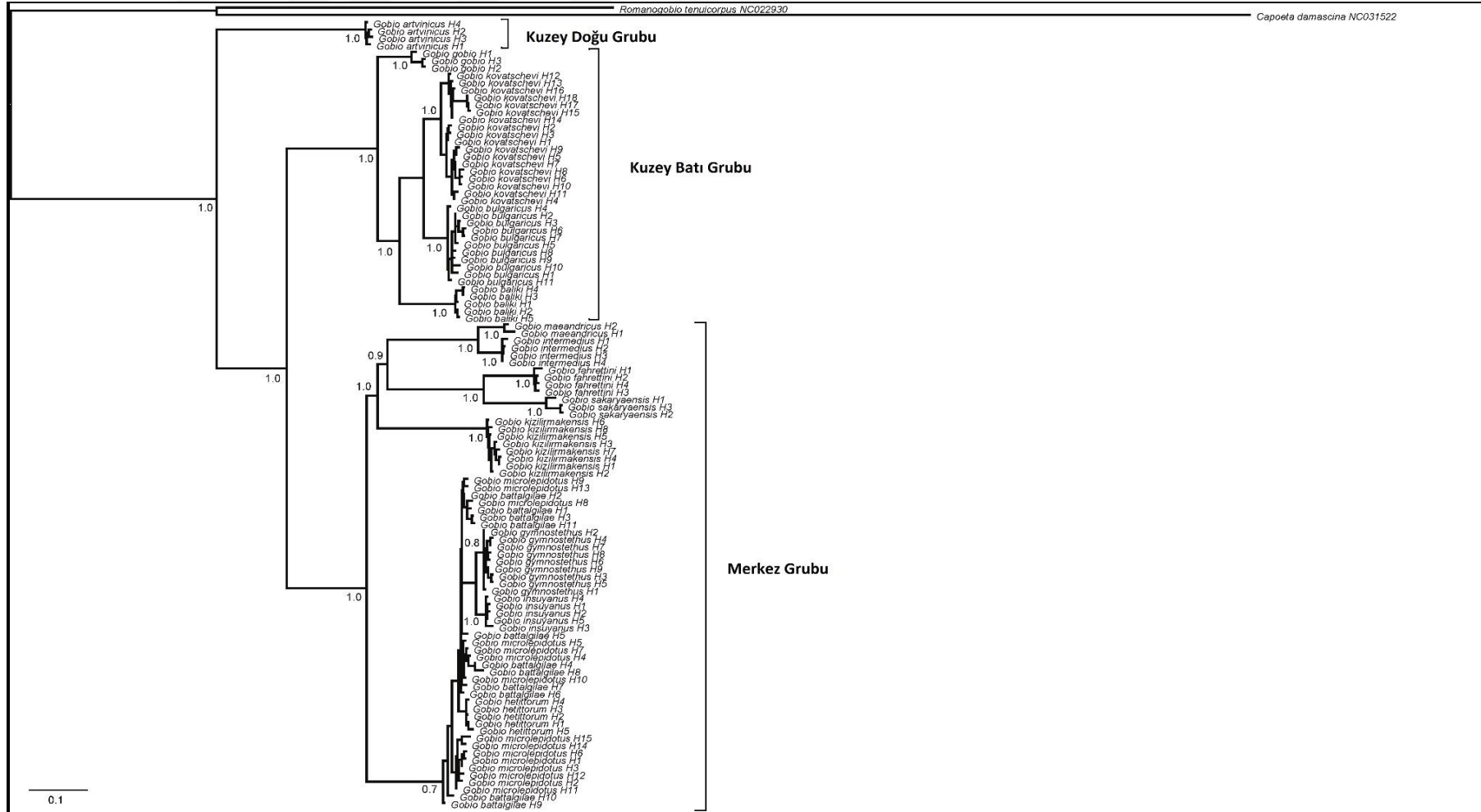
Şekil 32. *Gobio* türlerine ait birleştirilmiş veri için belirlenen toplam 107 adet haplotipin komşu katılım (NJ) metodu ile oluşturulan filogenetik ağaç topolojisi.



Şekil 33. *Gobio* türlerine ait birleştirilmiş veri için belirlenen toplam 107 adet haplotipin maksimum tutumluluk (MP) metodu ile oluşturulan filogenetik ağaç topolojisi.



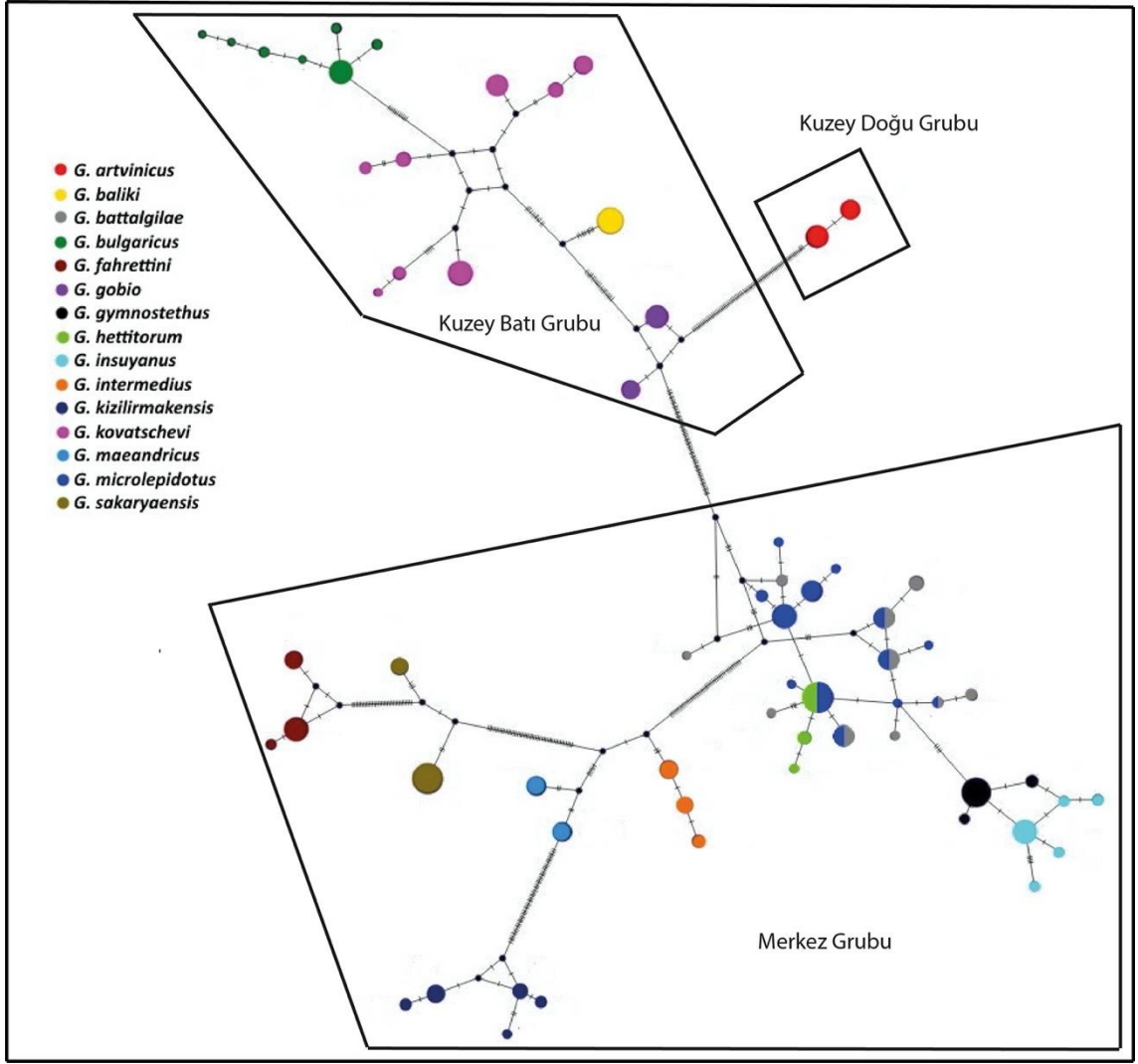
Şekil 34. *Gobio* türlerine ait birleştirilmiş veri için belirlenen toplam 107 adet haplotipin maksimum olasılık (ML) metodu ile oluşturulan filogenetik ağaç topolojisi.



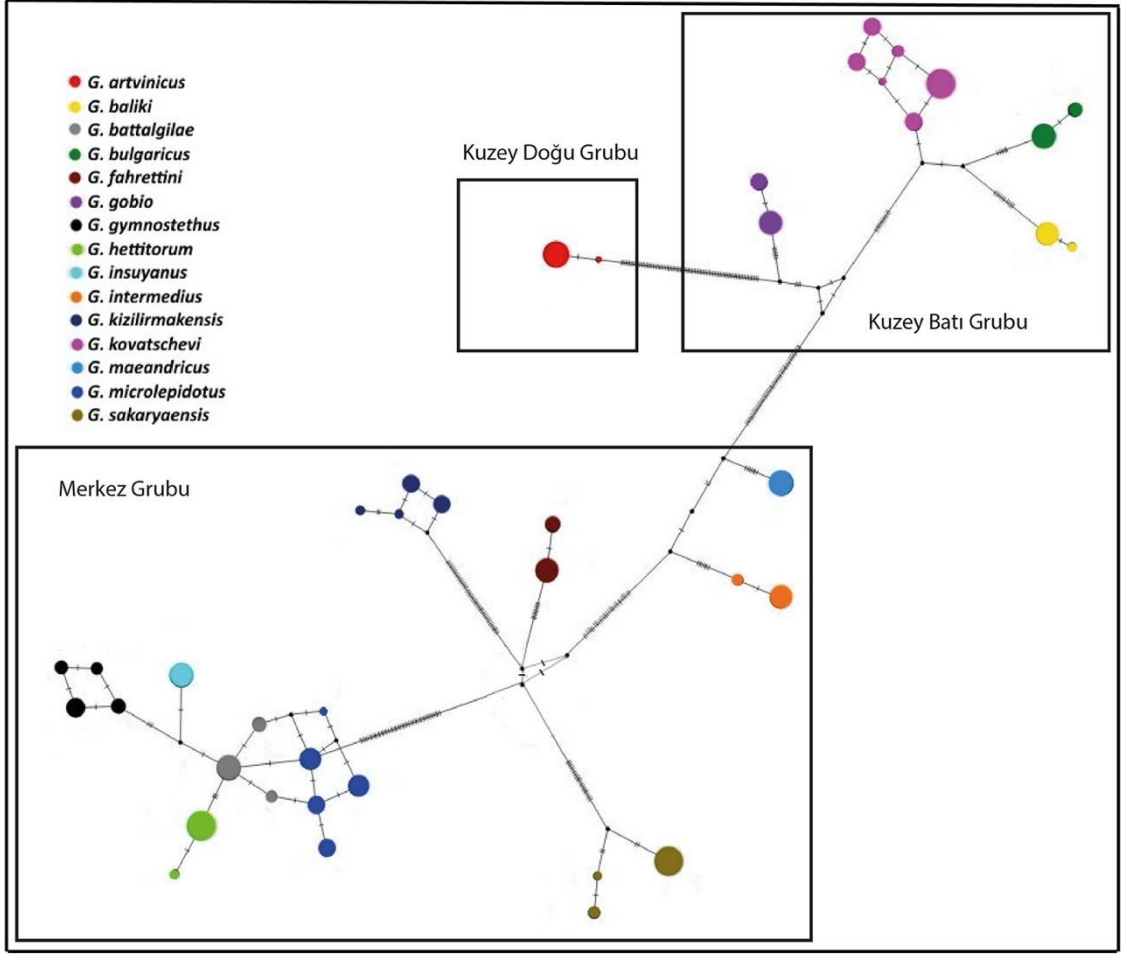
Şekil 35. *Gobio* türlerine ait birleştirilmiş veri için belirlenen toplam 107 adet haplotipin bayesian (BI) metodu ile oluşturulan filogenetik ağaç topolojisi.

3.3. *Gobio* türleri arasındaki haplotip ağı ilişkileri

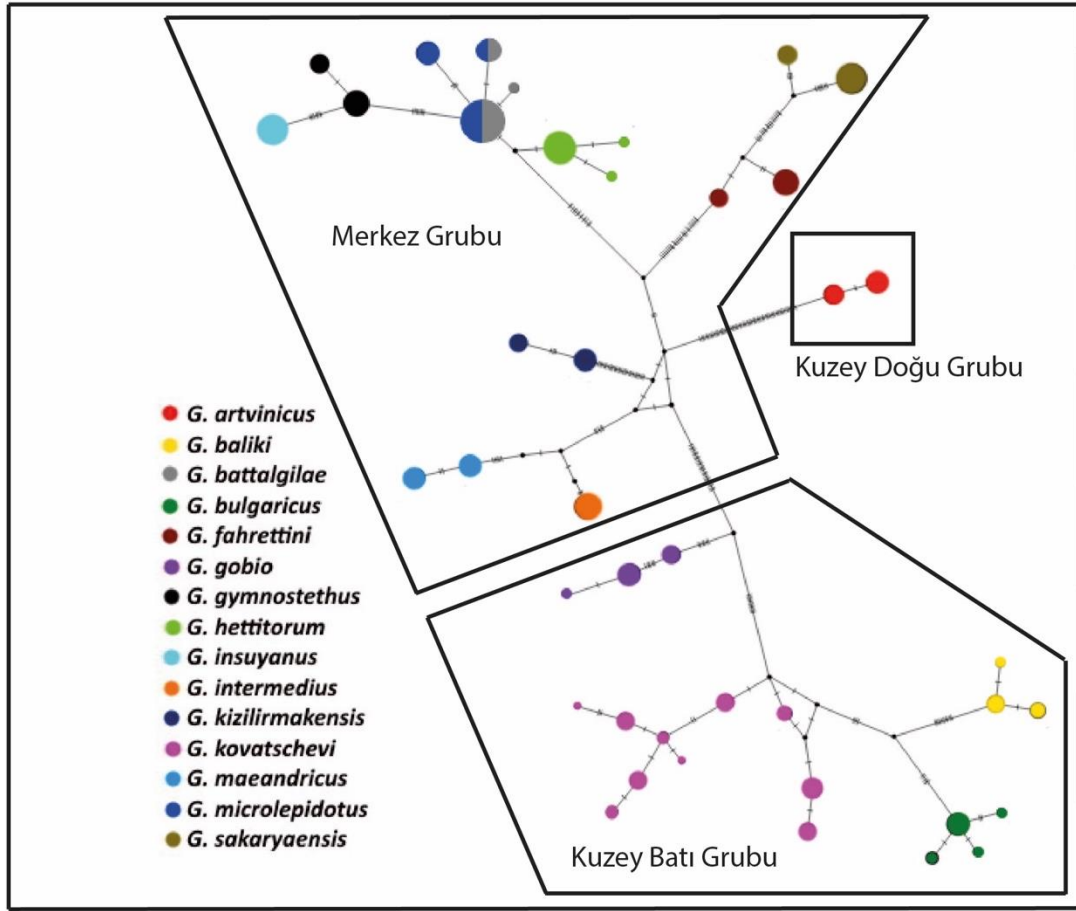
Cyt b, 16S rRNA ve COI gen dizi verileri kullanılarak median-joining metoduna göre *Gobio* türlerinin haplotip ağı analizleri gerçekleştirilmiş ve haplotip ağı sonuçlarını gösteren ağaçlar oluşturulmuştur (Şekil 36-38). Analiz sonuçlarında, Cyt b geni için, toplamda 64 haplotip tespit edilmiş ve 5 haplotipin iki tür arasında ortak olarak paylaşıldığı görülmüştür. Bu 5 haplotipin 4 tanesi *G. microlepidotus* ve *G. battalgilae* türleri arasında, 1 haplotipin ise *G. microlepidotus* ve *G. hettitorum* türleri arasında paylaşılmaktadır (Şekil 36). 16S rRNA geni için, toplamda 41 haplotip tespit edilmiş ve 2 haplotipin iki tür arasında ortak olarak paylaşıldığı görülmüştür. Bu 2 haplotipinde *G. microlepidotus* ve *G. battalgilae* türleri arasında paylaşılmaktadır (Şekil 38). COI geni için, toplamda 41 haplotip tespit edilmiş ve hiçbir haplotip türler tarafından paylaşılmamıştır (Şekil 37). Her haplotipin tek bir tür tarafından temsil edildiği belirlenmiştir. Haplotip ağı ağacında her renk bir türü temsil edecek şekilde oluşturulmuştur. Ayrıca analiz sonucunda üç *Gobio* grubunun (Kuzey doğu, Kuzey batı ve Merkez), Cytb geni için 55-68, COI geni için 47-70 ve 16S rRNA geni için 24-47 arasında değişen mutasyonel adımlarla ayrıştığı görülmüştür (Şekil 36-38).



Şekil 36. *Gobio* türlerine ait mtDNA Cytb genine dayalı median-joining metodu ile oluşturulan haplotip ağı topolojisi.



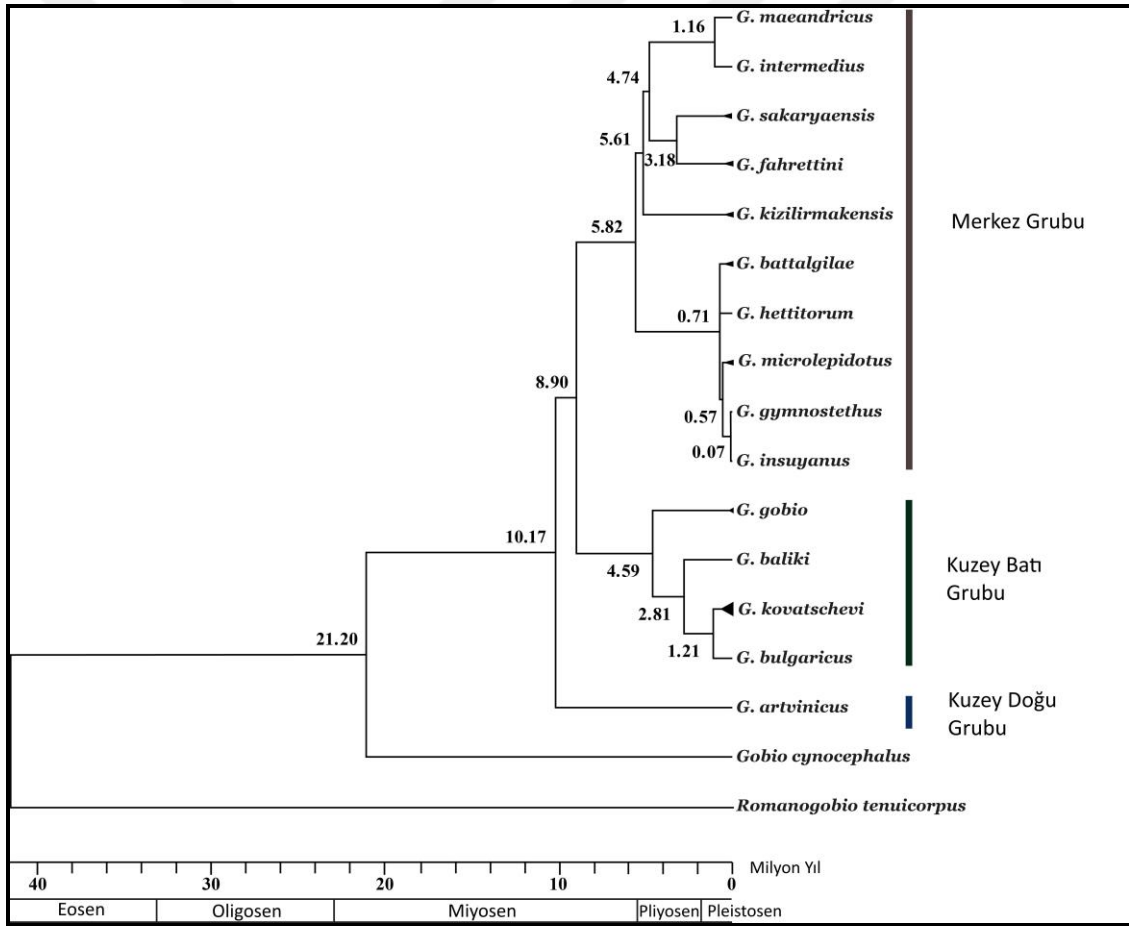
Şekil 37. *Gobio* türlerine ait mtDNA COI genine dayalı median-joining metodu ile oluşturulan haplotip ağı topolojisi.



Şekil 38. *Gobio* türlerine ait mtDNA 16S rRNA genine dayalı median-joining metodu ile oluşturulan haplotip ağı topolojisi.

3.4. Anadolu *Gobio* Türlerinin Ayrılma Zamanları

Türlerin ayrılma zamanlarını hesaplamak için, 15 *Gobio* türünün Cyt b geni dizilerinin TIM3+I+G model ile yapılan maksimum likelihood (ML) analizleri filogenetik üç alt grubun (Kuzeybatı, Merkez ve Kuzeydoğu) olduğu sonucunu desteklemektedir (Şekil 39). Sazansılarda Cyt b dizileri için milyon yıl başına % 1'lik tahmini ayrılma oranına bağlı olarak (Dowling vd., 2002) yapmış olduğumuz ML analizi bize Merkez grubu ile Kuzeybatı grubu arasındaki ayrılma zamanının 8,9 milyon yıl ve Merkez grubu ve Kuzeybatı gruplarının Kuzeydoğu grubundan ayrılma zamanının ise 10,17 milyon yıl önce gerçekleştiğini göstermiştir (Şekil 39).



Şekil 39. *Gobio* türlerinin Cyt b gen dizisi üzerinden oluşturulan ayrılma zaman grafiği.

4. TARTIŞMA ve SONUÇLAR

4.1. Genetik Çeşitlilik, Filogenetik ve Haplotip Ağı Analizleri

Türkiye’de dağılım gösteren *Gobio* cinsine ait 15 türün örneklenmesi için her bir türden en az 15 birey olmak üzere toplamda 333 örnek toplanmıştır. Arazi çalışmaları sırasında doğal stokları korumaya yönelik olarak mümkün olduğunca en az sayıda birey örneklemeye çalışılmıştır. Örneklemeye çalışmaları esnasında tespit edilen önemli bir husus, çoğu lokalite sadece bir türe ait popülasyonu barındırırken sadece Ilgın Gölü’nde *Gobio* genusuna ait iki simpatrik türün (*G. microlepidotus* ve *G. fahrettini*) bir arada yaşadığı belirlenmiştir. Dolayısıyla bu iki tür hariç diğer *Gobio* türlerin ortaya çıkışında coğrafik izolasyona dayalı allopatrik türleşme mekanizmasının etkili olduğunu düşünmekteyiz.

Gobio türlerine ait bireylerin mitogenomunda yer alan üç gen bölgesi ve bu genlerin birleştirilmesi sonucu oluşturulan birleştirilmiş veriler üzerinden filogenetik yaklaşımlar incelenmiştir. Öncelikle dizilemesi gerçekleştirilen genlerin bir değerlendirmesini yaptık. GenBank üzerinde yer alan BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) sekmesi kullanılarak *Gobio* türlerine ait örnekler GenBank veri tabanı ile karşılaştırıldı ve Türkiye’de ki 15 türden sadece *G. gobio* türüne ait Cyt b ve 16S rRNA gen verisine ulaşılabildi. GenBank’ta yer alan *G. gobio* verileriyle bizim elde ettiğimiz veriler uyumlu sonuçlanmıştır. Cyt b geni açısından bakıldığında Briolay vd., 1998, Madeira vd., 2005, Yang vd., 2006 ve Saitoh vd., 2006 çalışmalarında ki verilerle %99’un üzerinde bir benzerlik söz konusudur. 16S rRNA geni açısından bakıldığında ise Saitoh vd., 2006, Hänfling vd., 2016 ve Wang vd., 2012 çalışmalarında ki verilerle %99’un üzerinde bir benzerlik bulunmaktadır. Ayrıca 16S rRNA geni yönünden GenBank üzerinde çok az sayıda türe ait veri bulunmaktadır. COI geni itibariyle ise GenBank ve BOLD (The Barcode of Life Data) Systems incelenmiştir ve bu veri tabanlarına kayıtlı örneklerin daha çok barkod çalışmaları sonucunda girilen veriler olduğu görülmüştür. Bu çalışmalardan olan Geiger vd., 2014 yapmış oldukları çalışmada Türkiye *Gobio* türlerinden *G. gobio*, *G. kovatschevi*, *G. microlepidotus*, *G. hettitorum*, *G. maeandricus*, *G. intermedius*, *G. battalgilae*, *G. gymnostethus* ve *G. insuayanus* türlerinin verileri bulunmaktadır ve bizim çalışmamız sonucunda elde edilen dizilerin bu çalışmadaki türlerle %99’un üzerinde benzerlikte olduğu görülmüştür. *G. gobio* türü ile ilgili olarak Saitoh vd., 2006,

Knebelberg vd., 2015, Thalinger vd., 2016, Corse vd., 2017 ve Zangl vd., 2020'nin girmiş olduğu veriler ile de %99'un üzerinde benzerlik göstermektedir. Triantafyllidis vd., 2011 tarafından GenBankasına girilmiş olan *G. bulgaricus* türüne ait COI geni nükleotit dizileri ile bizim elde ettiğimiz diziler arasında %4,14 oranında bir fark olduğu dolayısıyla bizim verimizle örtüşmediği belirlenmiştir. Triantafyllidis vd., 2011 tarafından girilen veri ise Yunanistan'ın Doirani gölü popülasyona aittir. Oysaki *G. bulgaricus* türünün tip lokalitesi Meriç nehri olarak belirtilmiştir (URL 4). Bizim örneklerimiz ise *G. bulgaricus* türünün tip lokalitesi olan Meriç nehrinin kollarından Ergene popülasyonlarına aittir. Üstelik Triantafyllidis vd., 2011'nin nükleotit dizileri, tip lokalitesi Vardar nehri olan *Gobio balcanicus* Dimovski & Grupche, 1977 türüne ait dizilerle % 99' un üzerinde benzerlik göstermektedir. Vardar nehri ile Doirani gölü birbirlerine çok yakın su sistemleridir. Triantafyllidis vd., 2011'nin Genbankasına girmiş olduğu bu bilginin *G. bulgaricus* türüne ait olmadığını ve buradaki yanlışlığın türün hatalı tanımlanmasından veya introgresyondan kaynaklı olabileceğini düşünüyoruz.

Her üç gen bölgesi ve birleştirilmiş veri seti için K2P modeline göre hesaplanan türler arası genetik mesafe sonuçları birbiri ile tutarlı sonuçlar vermiştir (Tablo 8-11). *Gobio* türleri arasındaki genetik mesafeler göz önüne alındığında, dikkate değer durumlar söz konusudur. Bunlardan ilki, Göller bölgesinde yer alan türler arasındaki ortalama genetik mesafelerin Türkiye iç sularında dağılım gösteren 15 *Gobio* türünün birbirlerine kıyasla en düşük türler arası genetik mesafelere tekabül etmesidir (Tablo 8-11). Dolayısıyla, Göller bölgesindeki *Gobio* türleri (*G. battalgilae*, *G. microlepidotus*, *G. gymnotethus*, *G. insuayanus* ve *G. hettitorum*) arasındaki nispeten düşük genetik mesafeler (COI: %0,15-0,52, Cytb: %0,17-0,76, 16S: %0,08-0,84 ve Birleştirilmiş veri seti: %0,15-0,65; Tablo 8-11) iyi tanımlanmış türler olmadıklarını göstermektedir. Zira, Turan vd. (2018) yapmış oldukları çalışmada *G. battalgilae* türünün yüksek morfolojik benzerlikleri nedeniyle *G. microlepidotus* türünün sinonimi olabileceğini ileri sürdüler. Söz konusu morfolojik görüşleri destekler nitelikteki genetik bulgularımız Göller Bölgesindeki *Gobio* türlerinin taksonomik durumunu çözmek için daha fazla balık örneğinin morfolojik ve moleküler yönden incelenmesi gerektiğini düşündürmektedir.

Diğer bir durum ise, Göller Bölgesinin bir türü olan *Gobio fahrettini* (İlgın ve İnlice popülasyonları)'nin genetik olarak bu bölgede yer alan diğer türlerden daha çok *G. sakaryaensis* türüne yakın olmasıdır (Cytb:%3,41, COI:%2,41, 16S: %1,44, Birleştirilmiş veri: %2,26; Tablo 8-11). Bu duruma benzer olarak, Geiger vd. (2014) yapmış oldukları

çalışmada Göller Bölgesi örnekleri olan *Alburnus nassreddini* ve *Squalius recurvirostris* türlerinin Sakarya nehri havzasında dağılım gösteren *A. escherichii* ve *S. pursakensis* türleriyle genetik olarak yakın ilişkili olduğunu ve bu durumun iki havzanın biocoğrafiksel bağlantısının olduğunu gösterdiğini belirtmişlerdir. Turan vd. (2018) bu durumu, Sakarya ve Ilgın popülasyonları arasındaki faunistik ilişkinin, İç Anadolu'nun büyük bir tatlı su göl sistemi olduğu Geç Neojen döneminde Ilgın gölü ile Sakarya havzaları arasında sürekli bir bağlantının olduğu hipoteziyle açıklamışlardır (Popov vd., 2004). Bu çalışmada ulaştığımız bulgularımız yakın zamanlı paleocoğrafik bağlantı hipotezini desteklemektedir.

Üçüncüsü, *Gobio* türlerine ait üç mitokondri gen bölgesine ait nükleotit dizileri yardımı ile gerçekleştirilen Median-joining haplotip ağ analizi sonuçlarına göre belirlenmiş olan Cyt b ve 16S rRNA haplotiplerinin farklı türler tarafından paylaşıyor olmasıdır. Cyt b haplotiplerinde *G. microlepidotus*- *G. battalgilae* tarafından toplam 4 haplotip ve *G. microlepidotus*-*G. hettitorum* tarafından 1 haplotip paylaşılırken 16S rRNA geni haplotiplerinde ise *G. microlepidotus*- *G. battalgilae* tarafından toplam 2 haplotip paylaşılmaktadır. Burada belirlediğimiz sonuçlar dolayısıyla Turan vd., 2018' nin *G. battalgilae*'nin *G. microlepidotus* türünün sinonimi olduğu tezini desteklemektedir. Mitokondri cyt b ve 16S rRNA genlerinin aksine COI geni haplotiplerinin *Gobio* türleri arasında paylaşılmadığı bulgularımızda açıkça görülmektedir. Bu farklılık COI geninin 5' ucundaki barkod bölgesi dizisinde tür içi varyasyonun düşük ve türler arası varyasyonun daha yüksek olması karakteri ile açıklanabilir (Hebert vd., 2003). Zira, bu özelliği COI-barkod gen bölgesinin (655 bp) DNA barkodlama çalışmalarında tercih edilmesinin ana nedenidir.

Ayrıca bu çalışmada aynı bölgede dağılım gösteren ve Cyprinidae ailesine ait olan *Aphanius* (Hrbek vd., 2002; Hrbek ve Wildekamp, 2003), *Pseudophoxinus* (Hrbek vd., 2004) ve *Capoeta* (Bektaş vd., 2017) cinslerinde görülen yüksek tür çeşitliliği ve endemizm oranı *Gobio* cinsinde de belirlenmiştir. Bu durum, Türkiye iç sularında dağılım gösteren Sazans balıklarının önemli bir özelliği olarak karşımıza çıkmaktadır.

4.2. Anadolu *Gobio* Türlerinin Tarihsel Biyocoğrafyası

Avrasya'daki biyocoğrafik süreçler, Avrupa ve Asya tatlı su balık türlerinin iki bölge arasında yer değiştirmesi için fırsatlar sağlamıştır (Zardoya ve Doadrio, 1999;

Froufe vd., 2005). Avrupa balık faunası geç miyosen dönemine kadar Cyprinidae ailesi içerisinde *Gobio* cinsinde dahil olduğu birçok cinse çeşitlendi (Winfield ve Nelson, 2012). Orta Avrupa ve Anadolu geç Oligosen döneminden geç Miyosen dönemine kadar (23-5,33 myö) tek bir kıta olarak birbirine bağlıydı (Popov vd., 2004). *Gobio* cinsi bu süre içerisinde Tuna havzasının doğusundan Anadolu nehir sistemlerine dağılmış olabilir. Anadolu'daki erken Miyosen (24-18 myö) döneminden olduğu belirlenen Gobionid fosili kayıtları bu hipotezi desteklemektedir (Böhme vd., 2003). Fakat değişken iklim koşulları ve bölgenin sürekli değişen coğrafyası, zaman içinde bu eski kolonileşme hattını kesintiye uğratmış olmalıdır. Arap ve Anadolu levhalarının çarpışma aşamasını takiben Doğu Anadolu platosunun Geç Miyosen dönemindeki yükselmesi (Şengör vd., 2003), yaklaşık olarak 10 milyon yıl önce Anadolu'daki Kuzeydoğu *Gobio* populasyonlarının (*G. artvinicus*), Merkez ve Kuzeybatı *Gobio* populasyonlarından ayrılmasına sebep olmuş olabilir (Şekil 39).

Anadolu Orta Miyosen dönemine kadar Avrupa ile tek bir kıta halindeydi, fakat iki coğrafya arasındaki bu kara bağlantısı Orta-Geç Miyosen döneminde kırıldı ve Anadolu ile Merkez Avrupa olmak üzere iki bölge ortaya çıktı (Popov vd., 2004). Bu iki coğrafyanın birbirinden ayrılması durumu, yaklaşık olarak 8,9 milyon yıl önce İç Anadolu *Gobio* populasyonları ile Kuzeybatı Anadolu *Gobio* populasyonlarının birbirlerinden ayrılmasına denk gelmektedir (Şekil 39). Kuzeybatı grubuna ait *Gobio* türleri (*G. gobio* ve *G. baliki*) arasındaki ayrılma süreleri 4,59 milyon yıl ile 1,21 milyon yıl (*G. kovatschevi* ve *G. bulgaricus*) arasında değişmektedir. Bu ayrılma zamanları Doğu Balkanlar'daki *Gobio* cinsinin, Messinian döneminde (yaklaşık 5 myö) Anadolu ve Avrupa topraklarının Ege ve Marmara Denizi tarafından sular altında bırakılmasının ardından çeşitlenmeye başladığını göstermektedir (Popov vd., 2004; Neubauer vd., 2015). Bununla birlikte, Türkiye iç sularında dağılım gösteren *G. kovatschevi* populasyonu içerisindeki nispeten daha yüksek haplotip çeşitlilik, bu türe ait bireylerin erken holosen dönemindeki son buzul çağı sürecinde doğu Avrupa populasyonlarından ayrılarak Trakya ve batı Anadolu'ya kadar geniş bir coğrafyayı kolonileştirmesi ile açıklanabilir. İlaveten düşük genetik mesafe düzeyi (Tablo 8-11), Trakya ve Batı Anadolu populasyonları arasındaki gen akışının jeolojik olarak yakın zamana kadar devam ettiğini gösteriyor. Geç Pleistosen döneminde Marmara denizindeki havzanın daralması ve nehir uzunluklarının artması (Yaltırak vd., 2002), *Gobio*'nun Marmara denizine dökülen Trakya ve Batı Anadolu nehirleri arasında dağılmasını kolaylaştırmış olabilir. Karadeniz ve Marmara

denizinin kuzeyinde bulunan nehirlerde dağılım gösteren *G. kovatschevi* popülasyonlarına (Karamenderes, Göksu, Rezve, Balıklı, Hoşap ve Abant) ait bireylerin genetik benzerliklerinin, Geç pleistosen döneminde geçici nehir bağlantılarından kaynaklandığını düşünüyoruz. Bu nedenle, Kuzeybatı grubunu Marmara ve Karadeniz'e dökülen Karamenderes, Yenice, Göksu ve Büyükmelen nehirleri oluştururken, İç Anadolu grubunu Karadeniz'e dökülen Sakarya ve Kızılırmak nehirlerinin üst havzaları ve Ege denizine dökülen Büyük Menderes nehri oluşturmaktadır. Bu, Merkez ve Kuzeybatı gruplarını oluşturan türlerin farklı ekolojik tercihlerde bulunması ile açıklanabilir.

Büyük Menderes Nehrini oluşturan kaynaklardan Anadolu'nun doğu sınırına kadar bir alanı kapsayan Toroslar ve Karadeniz Dağları arasında yer alan İç Anadolu havzası ilk olarak Tersiyer zamanda oluşmuş ve bu oluşum Pliyosen'in sonuna kadar devam etmiştir (Bilgin, 2011). Ayrıca, eski göl sistemlerinin birçoğu Miyosen-Pliyosen sınırı tarafından ortadan kalktı ve daha sonra özellikle Ege-Anadolu bölgesinde, çok sayıda yeni ve bölgesel nehir sistemi gelişti (Neubauer vd., 2015). Miyosen-Pliyosen sınırından günümüze bu bölgede gerçekleşen bu jeolojik ve iklimsel olaylar, muhtemelen İç Anadolu'daki, özellikle Göller Bölgesi ve Konya havzasındaki mevcut yüksek tür çeşitliliğinin kaynağıdır. Merkez grubu *Gobio* türleri arasındaki ayrılma zamanı (5,82 myö; Şekil 39), İç Anadolu'daki jeolojik zamandan kalma büyük tatlı su gölünün (paleo-göl) yok olmaya başladığı ve çok sayıda bölgesel nehir sistemlerinin geliştiği Geç Miyosen erken Pliyosen sınırına (Neubauer vd., 2015) karşılık gelir. İç Anadolu'da dağılım gösteren *Gobio* türleri için ortaya konan çeşitlilik modeli muhtemelen *Pseudophoxinus* (Hrbek vd., 2004) ve *Aphanius* (Hrbek vd., 2002; Pflieger vd., 2014) türlerinde de önerilen Miyosen-Pliyosen dönemindeki bölgesel orojenik olaylar ve iklim değişikliklerinin neden olduğu allopatrik türleşmeye dayandırılabilir. Ege *Gobio* türleri (*G. maeandricus* ve *G. intermedius*) ve İç Anadolu'daki diğer *Gobio* türleri arasındaki ayrılma zamanının Miyosen sonlarında meydana geldiği tahmin edilmektedir (5,61-4,74 myö; Şekil 39). Bu Büyük Menderes Graben'in Güneybatı-Kuzeydoğu yönünde oluşturulduğu (Yılmaz vd., 2000; Popov vd., 2004) ve İç Anadolu'yu kapsayan geniş tatlı su paleo-göl'ünün ortadan kaybolduğu döneme denk gelmektedir (Neubauer vd., 2015). Benzer şekilde, *G. kızılırmakensis* türü ve İç Anadolu'daki diğer *Gobio* türleri arasındaki ayrılma zamanı, İç Anadolu'da aynı dönemdeki olayların etkisini yansıtan 5,82 ile 5,61 milyon yılları arasına denk gelmektedir. Sakarya ve Ege *Gobio* türlerinin birbirinden

ayrılma zamanı (4,74-3,18 myö; Şekil 39), Miyosen sonunda Sakarya Nehri'nin Pürtek popülasyonu ve Ege Nehri havzasının aynı dönem içerisinde birbirinden farklılaştığını göstermektedir. Öte yandan *G. fahrettini* türünün Göller Bölgesindeki diğer türlere oranla coğrafi olarak daha uzak olan *G. sakaryaensis* türünden yaklaşık olarak 3,18 milyon yıl önce ayrıldığı görülmektedir. Aslında *Aphanius villwocki* türünün hem Sakarya havzası hem de Ilgın havzasında dağılım göstermesi (Freyhof, 2014) iki *Gobio* türü arasındaki yakın genetik ilişkiyi desteklemektedir. Bu olgular, Neojen'in sonuna kadar devam eden dönemde İç Anadolu'daki büyük tatlı su paleo-gölü ile Sakarya havzasının, Ilgın Gölü havzasına bağlanmış olma durumu ile açıklanabilir (Popov vd., 2004).

Daha önce *G. gobio* (Ladiges, 1960; Erk'akan vd., 2005)'nin bir alt türü veya formu olarak bilinen Göller Bölgesi popülasyonu, Naseka vd., (2006)'nın bu popülasyon içerisinde morfometrik farklılıklar olduğunu gözlemlemesiyle altı farklı tür (*G. battalgilae*, *G. gymnotethus*, *G. hettitorum*, *G. insuayanus*, *G. intermedius* ve *G. microlepidotus*) olarak tanımlanmıştır. Genetik bulgular Göller bölgesindeki *G. intermedius* türü haricindeki diğer türlerin kendi içerisindeki ayrımlarının yaklaşık olarak 710 bin yıl önce gerçekleşmeye başladığını göstermektedir (Şekil 39). Göller Bölgesi'ndeki *Gobio* türleri arasındaki nispeten yakın genetik ilişkiler, bölgedeki popülasyonların izole olmasına sebebiyet veren son jeolojik olaylarla açıklanabilir. Ayrıca, Türkiye Göller Bölgesi'ndeki beş *Gobio* türü arasındaki nispeten düşük genetik mesafeler muhtemelen iyi birer tür olmadıklarını göstermektedir. Bu nedenle biz, Göller Bölgesi'nde izole olmuş olan bu popülasyonlardaki evrimin henüz aralarında yeterince farklılığa yol açmadığını ve tekrar gözden geçirilmeleri gerektiğini düşünüyoruz.

5. ÖNERİLER

Son yıllarda yapılan morfolojik ve moleküler çalışmalar (Freyhof ve Naseka, 2005; Mendel vd., 2008; Naseka vd., 2006; Nowak vd., 2008; Kottelat ve Freyhof, 2007, Turan vd., 2012) *Gobio* cinsinin çeşitliliğin tam olarak araştırılmamış olduğunu göstermektedir. En son Ilgın ve İnlice popülasyonlarından tanımlanan *G. fahrettini* (Turan vd., 2018) türünün türler arası genetik farklılığının yüksek olduğu görülmektedir ve bu bölgede tanımlanmamış yeni türlerin olabileceğine işaret etmektedir (Şekil 20, 38; Tablo 8-11). Bu nedenle, bu popülasyonların yakın bölgelerinden ve daha fazla sayıda örnekle morfolojik olarak yeniden incelenmesi gerekmektedir.

Diğer taraftan, Türkiye iç sularını Avrupa üzerinden kolonileştirdiği tahmin edilen *Gobio* türlerinin üç ana gruba ayrılıyor olması çalışma alanındaki orojenik ve iklimsel olayların etkisi altındaki coğrafik değişimlerin sonucu meydana gelen havza temelli izolasyondan kaynaklanıyor olabilir. Özellikle, İç Anadolu'daki yakın genetik ilişkili *Gobio* popülasyonlarının taksonomik durumunu açıklığa kavuşturmak için komşu bölgelerden gelen morfolojik verilerle karşılaştırılmalı değerlendirilmesinin yanı sıra nükleer genom üzerindeki amaca uygun gen bölgeleri (rhodopsin, RAG genleri vb.) kullanılarak daha derinlemesine filogenetik araştırmalar yapılması gerektiği kanaatindeyiz.

KAYNAKLAR

- Angelova, D. (2003). Endodynamic determination and rearrangement of the valley systems in Bulgaria at the Pliocene – Quaternary boundary. *Supplementi di Geografia Fisica e Dinamica Quaternaria*, 6, 19-24.
- Arbeláez-Cortés, E. (2013). Knowledge of Colombian biodiversity: published and indexed. *Biodiversity Conservation*, 22, 2875-2906. <https://doi.org/10.1007/s10531-013-0560-y>
- Arnason, U., Bodin, K., Gullberg, A., Ledje, C. and Mouchaty, S. (1995). A molecular view of pinniped relationships with particular emphasis on the true seals. *Journal of Molecular Evolution*, 40, 78-85.
- Avise, J.C. (1994) Molecular Markers, natural history and evolution. Chapman and Hall, New York. <http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4615-2381-9>
- Baillie, J.E.M., Griffiths, J., Turvey, S.T., Loh, J. and Collen, B. (2010). Evolution lost: status and trends of the World's vertebrates. Zoological Society of London. 10s.
- Bănărescu, P. (1972). The zoogeographical position of the East Asian freshwater fish fauna. *Revue Roumaine de Biologie. Série de Zoologie*, 17, 315-323.
- Bănărescu, P. and Nalbant, T. (1973). Pisces, Teleostei. Cyprinidae (Gobioninae). *Das Tierreich*, 93, 1-304.
- Bănărescu, P.M. (1999). *Gobio* Cuvier, 1816. In: The freshwater fishes of Europe. Vol. 5/I. Cyprinidae 2. Part 1. *Rhodeus* to *Capoeta*. Bănărescu P. M. (ed.), pp. 33-36, AULA Verlag, Wiebelsheim.
- Bandelt, H.J., Forster, P. and Röhl, A. (1999). Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular Biology and Evolution*, 16(1), 37-48. doi:10.1093/oxfordjournals.molbev.a026036
- Battalgil, F. (1942). Poissons nouveaux et peu connus de la Turquie. *Revue Istanbul Universitesi Fen Fakültesi Mecmuası, Seri B, Tabii İlimler*, 9, 299-305.
- Battalgil, F. (1944). Nouveaux poissons des eaux douces de la Turquie. *Istanbul Universitesi Fen Fakültesi Mecmuası, Seri B, Tabii İlimler*, 9, 126-133.
- Baxevanis, A.D. and Ouellette, B.F.F. (2005). Bioinformatics: a practical guide to the analysis of genes and proteins. Third Edition. Hoboken, NJ, Wiley-Interscience.
- Bektaş, Y., Turan, D., Aksu, I., Ciftci, Y., Eroglu, O., Kalayci, G. and Belduz, A.O. (2017). Molecular phylogeny of the genus *Capoeta* (Teleostei: Cyprinidae) in Anatolia, Turkey. *Biochemical Systematics and Ecology*, 70, 80-94.
- Bentzen, P., Legget, W.C. and Brown, G.G. (1988). Length and restriction site heteroplasmy in the mitochondrial DNA of American shad (*Alosa sapidissima*).

Genetics, 118, 509-518.

- Bermingham, E., Lamb, T. and Avise, J.C. (1986). Size polymorphism and heteroplasmy in the mitochondrial DNA of lower vertebrates. *Journal of Heredity*, 77, 249-252.
- Bilgin, R. (2011). Back to the suture: The distribution of intraspecific genetic diversity in and around Anatolia. *International Journal of Molecular Sciences*, 12, 4080-4103.
- Bogenhagen, D.F. (1999). Repair of mtDNA in vertebrates. *The American Journal of Human Genetics*, 64, 1276-1281.
- Bohlen, J., Slechtova, V., Bogutskaya, N. and Freyhof, J. (2006). Across Siberia and over Europe: Phylogenetic relationships of the freshwater fish genus *Rhodeus* in Europe and the phylogenetic position of *R. sericeus* from the River Amur. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 40, 856-865. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2006.04.020>
- Böhme, M. (2003). Miocene climatic optimum: evidence from lower vertebrates of central Europe. *Palaeogeography Palaeoclimatology Palaeoecology*, 195, 389-401. [https://doi.org/10.1016/S0031-0182\(03\)00367-5](https://doi.org/10.1016/S0031-0182(03)00367-5)
- 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. <https://doi.org/10.1006/mpev.1997.0441>
- Brown, W.M., George, M. and Wilson, A.C. (1979). Rapid concerted evolution of animal mitochondrial DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 76, 1967-1971. <https://doi.org/10.1098/rspb.2007.0169>.
- Bucklin, A., Steinke, D. and Blanco-Bercial, L. (2011). DNA barcoding of marine metazoa. *Annual Review of Marine Science*, 3 (1), 471-508.
- Campbell, N.A., Reece, J.B., Urry, L.A., Cain, M.L., Wasserman, S.A., Minorsky, P.V. and Jackson, R.B. (2009). Biology (8. Baskı). San Fransisco: Benjamin Cummings Press.
- Corse, E., Megléc, E., Archambaud, G., Ardisson, M., Martin, J.F., Tougaard, C., Chappaz, R. and Dubut, V. (2017). A from benchtop to desktop workflow for validating HTS data and for taxonomic identification in diet metabarcoding studies. *Molecular Ecology Resources*, 17, 146-159. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12703>
- Demirsoy, A. (1999). 4,5 Milyar yıl önceden günümüze canlılığın evrimi. *Bilim ve Teknik Dergisi*, 2, 34-45.
- Doadrio, I. and Madeira, M. J. (2004). A new species of the genus *Gobio* Cuvier, 1816 (Actynopterygii, Cyprinidae) from the Iberian Peninsula and southwestern France. *Graellsia*, 60, 107-116. <https://doi.org/10.3989/graellsia.2004.v60.i1.197>
- Dowling, T.E., Tibbets, C.A., Minckley, W.L. and Smith, G.R. (2002). Evolutionary relationships of the plagiopetrids (Teleostei: Cyprinidae) from cytochrome b

- sequences. *Copeia*, 3, 655-678.
- Drummond, A.J., Suchard, M.A., Xie, D. and Rambaut, A. (2012). Bayesian phylogenetics with BEAUti and the BEAST 1.7. *Molecular Biology and Evolution*, 29(8), 1969-1973.
- Durand, 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. <https://doi.org/10.1006/mpev.2001.1040>.
- Edwards, A.W.F. and Cavalli-Sforza, L.L. (1964). Systematics Assoc. Publ. No. 6: Phenetic and Phylogenetic Classification (Ed.). Reconstruction of evolutionary trees. ss. 67–76. Phylogenetics is that branch of life science which deals with the study of evolutionary relation among various groups of organisms, through molecular sequencing data.
- Erk'akan, F., Tatlidil, H. and Özeren, S.C. (2005). Biometric investigation on *Gobio gobio* subspecies from Turkey. *Folia Zoologica*, 54, 90-95.
- Erk'akan, F., Innal, D. and Özdemir, F. (2014). Length-weight relationships for five Cyprinid species in Turkey. *Journal of Applied Ichthyology*, 30(1), 212-213.
- Eroğlu, O. (2009). Karadeniz'in Türkiye kıyılarında dağılım gösteren Mersin Balığı türlerinin mitokondrial DNA sekans analizi yöntemiyle tanımlanması. *Sümae Yunus Araştırma Bülteni*, 9, 1-3.
- Esposti, M.D., Crimi, M., Ghelli, A., Patarnello, T., Meyer, A. and De Vries, S. (1993). Mitokondriyal sitokrom b: proteinin evrimi ve yapısı. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1143 (3), 243-271. [https://doi.org/10.1016 / 0005-2728 \(93\) 90197-N](https://doi.org/10.1016 / 0005-2728 (93) 90197-N)
- Felsenstein, J. (1985). Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution*, 39, 783-791.
- Felsenstein, J. (1987). Estimation of hominoid phylogeny from a DNA hybridization data set. *Molecular Evolution*, 26, 123-154. <https://doi.org/10.1007/BF02111286>.
- Felsenstein, J. (1989). Phylogeny inference package (Version 3.2). *Cladistics*, 5, 164-166.
- Fitch, W.M. (1971). Toward defining the course of evolution: minimum change for a specified tree topology. *Systematic Zoology*, 20 (4), 406-416. <https://doi.org/10.2307/2412116>. JSTOR 2412116.
- Freeman, S. and Herron, J.C. (2002). Evolutionary analysis, evrimsel analiz, B., Çıplak, H.H., Basıbüyük, S., Karayutug ve Gündüz, Ed., Palme Yayıncılık, Ankara, 708s.
- Freyhof, J. (2014). *Aphanius villwocki*. The IUCN red list of threatened species 2014: e.T19513595A19849296.
- Freyhof, J. and Naseka, A. M. (2005). *Gobio delyamurei*, a new gudgeon from Crimea, Ukraine (Teleostei: Cyprinidae). *Ichthyological Exploration of Freshwaters*, 16,

- Fricke, R., Eschmeyer, W.N. and Van der Laan, R. Eschmeyer's catalog of fishes: genera, species. (2019). <http://researcharchive.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/fshcatmain.asp>.
- Froufe, E., Knizhin, I. and Weiss, S. (2005). Phylogenetic analysis of the genus *Thymallus* (grayling) based on mtDNA control region and ATPase 6 genes, with inferences on control region constraints and broad-scale Eurasian phylogeography. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 34, 106-117.
- Ge, Y., Cheng, Q., Yan, Y., Duan, X., Wang, T., Zhang, Y., Lou, Z. and Du, Y. (2020). The complete mitochondrial genome sequence and phylogenetic position of *Gobiocoriparoides*. *Mitochondrial DNA Part B*, 5(1), 808-809. <https://doi.org/10.1080/23802359.2020.1715864>
- Geiger, M. F., Herder, F., Monaghan, M. T., Almada, V., Barbieri, R., Bariche, M., Berrebi, P., Bohlen, J., Casal-Lopez, M., Delmastro, G. B., Denys, G. P. J., Dettai, A., Doadrio, I., Kalogianni, E., Kärst, H., Kottelat, M., Kovačić, M., Laporte, M., Lorenzoni, M., Marčić, Z., Özuluğ, M., Perdices, A., Perea, S., Persat, H., Porcelotti, S., Puzzi, C., Robalo, J., Šanda, R., Schneider, M., Šlechtová, V., Stoumboudi, M., Walter, S. and Freyhof, J. (2014). Spatial heterogeneity in the Mediterranean Biodiversity Hotspot affects barcoding accuracy of its freshwater fishes. *Molecular Ecology Resources*, 14, 1210-1221.
- Geldiay, R. and Balık, S. (2007). Türkiye tatlısu balıkları (V. Baskı). Ege Üniv. Su Ürünleri Fakültesi Yayınları, No: 46, İzmir, 644 s.
- Gilles, A., Lecointre, G., Faure, E., Chappaz, R. and Brun, G. (1998). Mitochondrial phylogeny of the European Cyprinids: implications for their systematics reticulate evolution and colonization time. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 10, 132-143. <https://doi.org/10.1006/mpev.1997.0480>.
- Grime, J.P. (1997). Biodiversity and ecosystem function: The debate deepens. *Science*, 277, 1260-1261.
- Guindon, S., Dufayard, J.F., Lefort, V., Anisimova, M., Hordijk, W. and Gascuel, O. (2010). New algorithms and methods to estimate Maximum-Likelihood phylogenies: Assessing the performance of PhyML 3.0. *Systematic Biology*, 59(3), 307-321.
- Hall, T.A. (1999). Bioedit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*, 41, 95-98.
- Hanel, R. and Sturmbauer, C. (2000). Multiple recurrent evolution of trophic types in northeastern Atlantic and Mediterranean seabreams (Sparidae, Percoidei). *Journal of Molecular Evolution*, 50, 276-283. <https://doi.org/10.1007/s002399910032>.
- Hänfling, B., Lawson Handley, L., Read, D. S., Hahn, C., Li, J., Nichols, P., Blackman,

- R.C., Oliver, A. and Winfield, I.J. (2016). Environmental DNA metabarcoding of lake fish communities reflects long-term data from established survey methods. *Molecular Ecology*, 25(1), 3101-3119. <https://doi.org/10.1111/mec.13660>
- Hebert, P.D.N., Cywinska, A., Ball, S.L. and deWaard, J.R. (2003). Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 270 (1512), 313-321. <https://doi.org/10.1098/rspb.2002.2218>
- Ho, S. Y. W. (2008). Calibrating molecular estimates of substitution rates and divergence times in birds. *Journal of Avian Biology*, 38, 409-414.
- Hrbek, T. and Wildekamp, R.H. (2003). *Aphanius villwocki*, a new species from the Sakarya River Basin of Central Anatolian Plain, Turkey (Teleostei: Cyprinodontiformes). *Ichthyological Exploration of Freshwaters*, 14, 137-144.
- Hrbek, T., Küçük, F., Frickey, T., Stölting, K.N., Wildekamp, R.H. and Meyer, A. (2002). Molecular phylogeny and historical biogeography of the *Aphanius* (Pisces, Cyprinodontiformes) species complex of central Anatolia, Turkey. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 25, 125-137.
- Hrbek, T., Stölting, K.N., Bardakçı, F., Küçük, F., Wildekamp, R. H. and Meyer, A. (2004). Plate tectonics and biogeographical patterns of the *Pseudophoxinus* (Pisces: Cypriniformes) species complex of Central Anatolia, Turkey. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 32, 297-308.
- Hwang, D.S., Byeon, H.K. and Lee, J.S. (2013). Complete mitochondrial genome of the freshwater gudgeon, *Gobiobotia nakdongensis* (Cypriniformes, Gobioninae). *Mitochondrial DNA*, 24 (4), 409-410.
- Ilhan, A., Sari, H.M., Saygı, H. and Ustaoglu, M.R. (2012). Length-weight relationships of freshwater fishes in the Biga Peninsula (northwestern Anatolia, Turkey). *Journal of Applied Ichthyology*, 28, 857-858.
- Işık, K. (1998). Biyolojik çeşitlilik. Anadolu Üniversitesi, Açık Öğretim Fakültesi Yayını, Eskişehir (Ders kitapları Serisi) Ünite 1-2, 13-39.
- Johns, G.C. and J.C. Avise. (1998). A comparative summary of genetic distances in the vertebrates from the mitochondrial cytochrome b. *Molecular Biology and Evolution*, 15, 1481-1490.
- Kimura, M. (1980). A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of Molecular Evolution*, 16(2), 111-120.
- Klug, S.W. and Cummings, W.R. (2000). DNA structure and analysis. 238-265 s. S.W. Klug (ed), Concept of Genetics, 2000, Prentice Hall, ISBN: 0073525332, 745 s.
- Knebelsberger, T., Dunz, A.R., Neumann, D. and Geiger, M.F. (2015). Molecular diversity of Germany's freshwater fishes and lampreys assessed by DNA barcoding. *Molecular Ecology Resources*, 15(3), 562-572. <https://doi.org/>

10.1111/1755-0998.12322

- Kocher, T.D. and Stepien, C.A. (1997). Overview of the Classification and phylogeny of fishes. T.D. Kocher and, C.A. Stepien (ed), *Molecular Systematics of Fishes*, Academic Press, ISBN: 9780080536910, 314 s.
- Kottelat, M. and Freyhof, J. (2007). *Handbook of European freshwater fishes*. Publications Kottelat, Cornol and Freyhof, Berlin. 646 s.
- Kottelat, M. and Persat, H. (2005). The genus *Gobio* in France, with redescription of *G. gobio* and description of two new species (Teleostei: Cyprinidae). *Cybum*, 29, 211-234.
- Kováč, M., Baráth, I., Fordinál, K., Grigorovich, A. S., Halásová, E., Hudáčková, N., Joniak, P., Sabol, M., Slamková, M., Sliva, L. and Vojtko, R. (2006). Late Miocene to Early Pliocene sedimentary environments and climatic changes in the Alpine–Carpathian–Pannonian junction area: a case study from the Danube Basin northern margin (Slovakia). *Palaeogeography Palaeoclimatology Palaeoecology*, 238, 32-52. [https://doi.org/ 10.1016/j.palaeo.2006.03.015](https://doi.org/10.1016/j.palaeo.2006.03.015)
- Kumar, S. and Gadagkar, S.R. (2000). Efficiency of the neighbor-joining method in reconstructing deep and shallow evolutionary relationships in large phylogenies. *Journal of Molecular Evolution*, 51, 544-553.
- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C. and Tamura, K. (2018). MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*, 35(6), 1547-1549.
- Küçük, F. (2006). Türkiye’deki bazı endemik içsu balıklarının Dünya Doğayı Koruma Birliği (IUCN) ölçütlerine göre değerlendirilmesi. I. Balıklandırma ve Rezervuar Yönetimi Sempozyumu. Antalya. 151-159.
- Ladiges, W. (1960). Süßwasserfische der Türkei, 1. Teil Cyprinidae. *Mitteilungen aus dem Hamburgischen Zoologischen Museum und Institut*, 58, 105-150.
- Larget, B. and Simon, D. (1999). Markov chain Monte Carlo algorithms for the Bayesian analysis of phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*, 16, 750-759. <https://doi.org/10.1214/105051600000000538>.
- Leigh, J.W. and Bryant, D. (2015). Data from: 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. <https://doi.org/10.3133/of2007-1047.srp003>.
- Li, Y., Cao, K. and Fu, C. (2018). Ten fish mitogenomes of the tribe Gobionini (Cypriniformes: Cyprinidae: Gobioninae). *Mitochondrial DNA Part B*, 3(2), 803-804. [https://doi.org/ 10.1080/23802359.2018.1467236](https://doi.org/10.1080/23802359.2018.1467236)

- Librado, P. and Rozas, J. (2009). DnaSP v5. A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*, 25(11), 1451-1452.
- Madeira, M.J., Gomez-Moliner, B.J. and Doadrio, I. (2005). Genetic characterization of *Gobio gobio* populations of the Iberian Peninsula based on cytochrome b sequences. *Folia Zoologica*, 54(1), 5-12.
- Magoulas, A. and Zouros, E. (1993). Restriction site heteroplasmy in anchovy (*Engraulis encrasicolus*) indicates incidental biparental inheritance of mitochondrial DNA. *Molecular Biology and Evolution*, 10, 319-325.
- Magyar, I., Geary, D.H. and Müller, P. (1999). Paleogeographic evolution of the late miocene Lake Pannon in Central Europe. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 147, 151-167.
- Maitland, P.S. and R.N. Campbell, (1992). Freshwater fishes of the British Isles. Harper Collins Publishers, London. 368 p.
- Mendel, J., Lusk, S., Vasil'eva, E. D., Vasil'ev, V. P., Lusková, V., Ekmekci, F. G., Erk'akan, F., Ruchin, A., Kosco, J., Vetesník, L., Halacka, K., Sanda, R., Pashkov, A. N. and Reshetnikov, S. I. (2008). Molecular phylogeny of the genus *Gobio* Cuvier, 1816 (Teleostei: Cyprinidae) and its contribution to taxonomy. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 47, 1061-1075. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2008.03.005>
- Mercer, J.M. and Roth, V.L. (2003). The effects of Cenozoic global change on squirrel phylogeny. *Science*, 299, 1568-1572.
- Mihaescu, R., Levy, D. and Pachter, L. (2009). Why neighbor-joining works. *Algorithmica*. 54 (1), 1-24. <https://doi.org/10.1007/s00453-007-9116-4>
- Miller, S.E. (2007). DNA barcoding and the renaissance of taxonomy. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 104(12), 4775-4776.
- Morgan, G. J. (1998). Emile Zuckerkandl, Linus Pauling, and the molecular evolutionary clock, 1959–1965. *Journal of the History of Biology*, 31, 155-178.
- Moritz, C. (1991). Evolutionary Dynamics of Mitochondrial DNA duplications in parthenogenetic geckos. *Heteronotia binoei*. *Genetics*, 129, 221-230.
- Naseka, A. M. (2010). Zoogeographical freshwater divisions of the Caucasus as a part of the West Asian transitional region. *Proceedings of the Zoological Institute RAS*, 314, 469-492.
- Naseka, A. M., Erk'akan, F. and Küçük, F. (2006). A description of two new species of the genus *Gobio* from Central Anatolia (Turkey) (Teleostei: Cyprinidae). *Zoosystematica Rossica*, 15, 185-194.
- Nass, M.M. and Nass, S. (1963). Intramitochondrial fibers with DNA characteristics, *Journal of Cell Biology*, 19, 593-629.

- Neubauer, T.A., Harzhauser, M., Kroh, A., Georgopoulou, E. and Mandic, O. (2015). A gastropod-based biogeographic scheme for the European Neogene freshwater systems. *Earth-Science Reviews*, 143, 98-116.
- Nowak, M., Koščo, J. and Popek, W. (2008). Review of the current status of systematics of gudgeons (Gobioninae, Cyprinidae) in Europe. *AACL Bioflux*, 1, 27-38.
- Nowak, M., Popek, W. and Epler, P. (2006). The genus *Gobio* in Poland - historical review and present status (Teleostei: Cyprinidae). *Acta Ichthyologica Romanica*, 1, 203-214.
- Özdemir, F. (2012). Growth and reproduction biology of *Gobio gymnostethus* (Ladiges, 1960) in Melendiz stream, Anatolia, Turkey. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 11(18), 3452-3456. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1980.tb02750.x>
- Özdemir, F. and Erk'akan, F. (2012). Growth and reproductive properties of an endemic species, *Gobio hettitorum* Ladiges, 1960, in Yeşildere stream, Karaman, Turkey. *Hacettepe Journal of Biology & Chemistry*, 40(4), 457-468.
- Pfleiderer, S.J., Geiger, M. F. and Herder, F. (2014). *Aphanius marassantensis*, a new toothcarp from the Kızılırmak drainage in northern Anatolia (Cyprinodontiformes: Cyprinodontidae). *Zootaxa*, 3887, 569-582.
- Popov, S. V., Rögl, R., Rozanov, A. Y., Steininger, F. R., Shcherba, I. G., and Kovac, M. (2004). Lithological-paleogeographic maps of paratethys – 10 maps late eocene to pliocene. *Courier Forschungsinstitut Senckenberg*, 250, 1-46.
- Posada, D. (2008). jModelTest: phylogenetic model averaging. *Molecular Biology and Evolution*, 25(7), 1253-1256.
- Robalo, J. I., Almada, V. C., Levy, A. and Doadrio, I. (2007). Re-examination and phylogeny of the genus *Chondrostoma* based on mitochondrial and nuclear data and the definition of 5 new genera. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 42, 362-372. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2006.07.003>
- Ronquist, F. and Huelsenbeck, J.P. (2003). MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics*, 19, 1572-1574.
- Rzhetsky, A. and Nei, M. (1992). A simple method for estimating and testing minimum evolution trees. *Molecular Biology and Evolution*, 9, 945-967.
- Saara, F. (1999). Phylogenetic analysis of mitochondrial DNA: Detection of mutations in patients with occipital stroke. Oulu University Library, Finland. <http://jultika.oulu.fi/files/isbn9514255674.pdf>
- Saç, G. and Özuluğ, M. (2017). Life history pattern and feeding habits of *Gobio bulgaricus* (Drensky, 1926) (Pisces: Gobionidae) in an endorheic stream (Istranca Stream, Turkey). *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 1-14. <https://doi.org/10.22092/ijfs.2019.118805>

- Saiki, R.K., Gelfand, D.H., Stoffel, S.S., Scharf, J.R., Higuchi, G.T., Horn, K.B., Mullis, K. and Erlich, H.A. (1988). Primer-directed enzymatic amplification of DNA with thermostable DNA polymerase. *Science*, 239, 487-491.
- Saitoh, K., Sado, T., Mayden, R.L., Hanzawa, N., Nakamura, K., Nishida, M. and Miya, M. (2006). Mitogenomic evolution and interrelationships of the Cypriniformes (Actinopterygii: Ostariophysi): the first evidence toward resolution of higher-level relationships of the world's largest freshwater fish clade based on 59 whole mitogenome sequences. *Journal of Molecular Evolution*, 63 (6), 826-841.
- Saitou, N. and Nei, M. (1987). The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees., *Molecular Biology and Evolution*, 4 (4), 406-425. [https://doi.org/ 10.1093/oxfordjournals.molbev.a040454](https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a040454)
- Sambrook, J., Fritsch, E.F. and Maniatis, T. (1989). Molecular cloning, a laboratory manual. Cold spring harbor laboratory Press, yayın no: 1, 3. Baskı, ISBN: 0879693096, 626 s.
- Sanger, F., Nicklen, S. and Coulson, A.R. (1977). DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 74, 5463-5470.
- Seçkin Kurumlu, M. (2008). Biyoçeşitliliğimizi koruyabiliyor muyuz: Önemi ve koruma stratejileri üzerine biyoloji öğretmenlerinin yeterliliklerinin araştırılması. Yüksek lisans tezi. Gazi Üniversitesi, Eğitim Bilimleri Enstitüsü, Ankara, Türkiye.
- Sedivá, A., Janko, K., Slechtová, V., Kotlík, P., Simonović, P., Delic, A. and Vassilev, M. (2008). Around or across the Carpathians: colonization model of the Danube basin inferred from genetic diversification of stone loach (*Barbatula barbatula*) populations. *Molecular Ecology*, 17, 1277-1292. [https://doi.org/ 10.1111/j.1365-294X.2007.03656.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2007.03656.x)
- Sneath, P.H.A. and Sokal, R.R. (1973). Numerical taxonomy: the principles and practice of numerical classification. San Francisco: Freeman, 573 s.
- Sokal, M. (1958). A statistical method for evaluating systematic relationships. *University of Kansas Science Bulletin*, 38, 1409-1438.
- Swofford, D.L. (2003). PAUP. Phylogenetic analysis using parsimony. Version 4. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.
- Şengör, A.M., Özeren, C. S., Genç, T. and Zor, E. (2003). East Anatolian high plateau as a mantle-supported, north-south shortened domal structure. *Geophysical Research Letters*, 30(24), 8045-8049.
- Takács, P., Bihari, P., Eros, T. and Csoma, E. (2014). Genetic heterogeneity reveals ongoing speciation and cryptic taxonomic diversity of stream-dwelling Gudgeons (Teleostei, Cyprinidae) in the middle Danubian hydrosystem (Hungary). *PLoS ONE*, 9, 972-978. [https://doi.org/ 10.1371/journal.pone.0097278](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0097278)

- Tan, M. and Armbruster, J.W. (2018). Phylogenetic classification of extant genera of fishes of the order Cypriniformes (Teleostei: Ostariophysi). *Zootaxa*, 4476(1), 6-39.
- Tang, K. L., Agnew, M. K., Chen, W. J., Vincent, H. M., Raley, M. E., Sado, T., Schneider, L. M., Yang, L., Bart, H. L., He, S., Liu, H., Miya, M., Saitoh, K., Simons, A. M., Wood, R. M. and Mayden, R. L. (2011). Phylogeny of the gudgeons (Teleostei: Cyprinidae: Gobioninae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 61, 103-124. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2011.05.022>.
- Thalinger, B., Oehm, J., Mayr, H., Obwexer, A., Zeisler, C. and Traugott, M. (2016). Molecular prey identification in Central European piscivores. *Molecular Ecology Resources*, 16(1), 123-137. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12436>
- Triantafyllidis, A., Bobori, D., Koliamitra, C., Gbandi, E., Mpanti, M., Petriki, O. and Karaïskou, N. (2011). DNA barcoding analysis of fish species diversity in four north Greek lakes. *Mitochondrial DNA*, 1, 37-42. <https://doi.org/10.3109/19401736.2010.542242>
- Turan, D. and Bayçelebi, E. (2019) Range extension of *Gobio microlepidotus* Battalgil, 1942 in the Southern Anatolia (Pisces: Cyprinidae). *Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences*, 4(2), 156-160.
- Turan, D., Ekmekçi, F. G., Luskova, V. and Mendel, J. (2012). Description of a new species of the genus *Gobio* from Turkey (Teleostei: Cyprinidae). *Zootaxa*, 3257, 56-65. <https://doi.org/10.1080/09397140.2016.1182779>.
- Turan, D., Japoshvili, B., Aksu, I. and Bektaş, Y. (2016). Description of two new species of the genus *Gobio* (Teleostei: Cyprinidae) from the Black Sea coast of Turkey. *Zoology in the Middle East*, 62, 112-124.
- Turan, D., Kaya, C., Bayçelebi, E., Aksu, I. and Bektaş, Y. (2017). *Gobio baliki*, a new gudgeon from Turkey (Teleostei: Cyprinidae). *Zootaxa*, 4350, 284-290. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4350.2.4>.
- Turan, D., Kaya, C., Bayçelebi, E., Aksu, I. and Bektaş, Y. (2018). Description of *Gobio fahrettini*, a new gudgeon from Lake Ilgın basin, Central Anatolia (Teleostei: Gobionidae). *Ichthyological Exploration of Freshwaters*, 1073, 1-9.
- URL-1, (2018). http://biltek.tubitak.gov.tr/merak_ettikleriniz/index.php?kategori_id=2&oru_id=4949 (12 Şubat 2018).
- URL-2, (2020). <https://tr.wikipedia.org/wiki/Filogenetik> (21 Mayıs 2020).
- URL-3, (2019). <http://frodo.wi.mit.edu/primer3/> (13 Nisan 2019)
- URL-4, (2020). <https://www.fishbase.se/summary/Gobio-bulgaricus> (08 Haziran 2020).
- Vandepoele, K., de Vos, W., Taylor, J.S., Meyer, A. and Van de Peer, Y. (2004). Major events in the genome evolution of vertebrates: Paraneome age and size differ considerably between ray-finned fishes and land vertebrates. *Proceedings of the*

- National Academy of Sciences of the United States of America*, 101, 1638-1681. <https://doi.org/10.1073/pnas.0307968100>.
- Vasil'eva, E. D., Vasil'ev, V. P. and Boltachev, A. P. (2005). Taxonomic relationships among gudgeons (*Gobio*, Gobioninae, Cyprinidae) of Crimea. *Voprosky Ikhtiol*, 45, 768-781.
- Vasil'eva, E. D., Vasil'ev, V. P. and Kuga, T. I. (2004). On taxonomy of gudgeons of the genus *Gobio* (Gobioninae, Cyprinidae) of Europe: a new gudgeon species *Gobio kubanicus* from the basin of the Kuban River. *Journal of Ichthyology*, 44, 716-731.
- Wang, X., Gan, X., Li, J., Mayden, R.L. and He, S. (2012). Cyprinid phylogeny based on bayesian and maximum likelihood analyses of partitioned data: implications for Cyprinidae systematics. *Science China Life Sciences*, 55(9), 761-773. <https://doi.org/10.1007/s11427-012-4366-z>
- Weir, J.T. and Schluter, D. (2008). Calibrating the avian molecular clock. *Molecular Ecology*, 17, 2321-2329.
- Winfield, I., and Nelson, J. S. (2012). Cyprinid fishes: Systematics, biology and exploitation. Vol. 3. Heidelberg: Springer.
- Yaltırak, C., Sakınç, M., Aksu, A.E., Hiscott, R.N., Galleb, B. and Ülgen, U.B. (2002). Late Pleistocene uplift history along the southwestern Marmara Sea determined from raised coastal deposits and global sea-level variations. *Marine Geology*, 190, 283-305.
- Yang, J., He, S., Freyhof, J., Witte, K. E. and Liu, H. (2006). The phylogenetic relationships of the Gobioninae (Teleostei: Cyprinidae) inferred from mitochondrial cytochrome b gene sequences. *Hydrobiologia*, 553, 255-266. <https://doi.org/10.1007/s10750-005-1301-3>
- Yılmaz, Y., Genç, S.C., Gürer, F., Bozcu, M., Yılmaz, K., Karacık, Z., Altunkaynak, S. and Elmas, A. (2000). When did the western Anatolian graben begin to develop? *Geological Society*, 173, 353-384.
- Zangl, L., Daill, D., Gessl, W., Friedrich, T. and Koblmüller, S. (2020). Austrian gudgeons of the genus *Gobio* (Teleostei: Gobionidae): A mixture of divergent lineages. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, 58, 327-340. <https://doi.org/10.1111/jzs.12340>.
- Zardoya, R. and Doadrio, I. (1999). Molecular evidence on the evolutionary and biogeographical patterns of European cyprinids. *Journal of Molecular Evolution*, 49, 227-237. <https://doi.org/10.1007/PL00006545>
- Zhao, J., Xu, D., Zhao, K., Diogo, R., Yang, J. and Peng, Z. (2016). The origin and divergence of Gobionine fishes (Teleostei: Cyprinidae) based on complete mitochondrial genome sequences. *Journal of Applied Ichthyology*, 32(1), 32-39.
- Zyskind, J.W. and Bernstein, S.I. (1992). Recombinant DNA laboratory manual.

Academic Press, 187s.



ÖZGEÇMİŞ

İsmail AKSU 06/03/1984 yılında İstanbul'un Fatih ilçesinde dünyaya geldi. İlk ve orta eğitimini İstanbul'un Küçükçekmece ilçesinde Dr. Hulusi Behçet İlköğretim okulunda ve lise eğitimini de Mehmet Akif Ersoy Lisesinde tamamladı. 2003-2007 yılları arasında Karadeniz Teknik Üniversitesi Rize Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümünde Lisans eğitimini tamamladı. 2008-2013 yılları arasında yüksek lisans eğitimini Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Anabilim Dalı Temel Bilimler Deniz Biyolojisi Bölümünden başarıyla tamamlayarak mezun oldu. 2013 yılında aynı anabilim dalında doktora eğitimine başladı ve tez döneminde eğitime devam etmektedir. 2017 yılından itibaren Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Temel Bilimler Anabilim Dalında Öğretim Görevlisi olarak görev yapmaktadır. Orta düzeyde İngilizce bilmektedir, evli ve 1 çocuk babasıdır.