

T.C.
RECEP TAYYİP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOĞU ANADOLU'DAKİ *Barbus* POPULASYONLARININ
GENETİK ANALİZİ

HAYRİYE MELEK

TEZ DANIŞMANI

DOÇ. DR. YUSUF BEKTAŞ

TEZ JÜRİLERİ

PROF. DR. DAVUT TURAN

DOÇ. DR. YILMAZ ÇİFTÇİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ
SU ÜRÜNLERİ ANABİLİM DALI

RİZE-2017

Her Hakkı Saklıdır

T.C.
RECEP TAYYİP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOĞU ANADOLU'DAKİ *Barbus* POPULASYONLARININ GENETİK ANALİZİ

Doç. Dr. Yusuf BEKTAŞ danışmanlığında, Hayriye MELEK tarafından hazırlanan bu çalışma, Enstitü Yönetim Kurulu kararıyla oluşturulan jüri tarafından 03/11/2017 tarihinde Su Ürünleri Anabilim Dalı'nda YÜKSEK LİSANS tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

Unvanı Adı Soyadı

İmzası

Başkan : Doç. Dr. Yusuf BEKTAŞ

Üye : Prof. Dr. Davut TURAN

Üye : Doç. Dr. Yılmaz ÇİFTÇİ

(Handwritten signatures of the jury members)

Doç. Dr. Ferhat KALAYCI

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRÜ



ÖNSÖZ

“Doğu Anadolu’daki *Barbus* Populasyonlarının Genetik Analizi” adlı bu çalışma, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Anabilim Dalı’nda “Yüksek Lisans Tezi” olarak hazırlanmıştır.

Çalışmam süresince Yüksek Lisans tez danışmanlığımı üstlenerek bu çalışmanın planlanıp değerlendirilmesinde desteğini ve bilgisini benden esirgemeyerek deneyimleri ile bana öncülük eden değerli hocam Doç. Dr. Yusuf BEKTAŞ’a;

Yüksek lisans eğitimim boyunca bilgi birikimi, öneri ve içten yardımları ile desteğini esirgemeyen, sayın hocam Prof. Dr. Davut TURAN’a ve laboratuvar çalışmalarında deneyimlerinden faydalandığım Uzm. İsmail AKSU’ya, ayrıca yardımlarını ve desteğini esirgemeyen Arş. Gör. Kübra AK’ a;

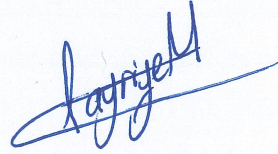
Hayatımın her anında ilgilerini ve sevgilerini esirgemeyen sevgili annem Şerife TAN ve babam Abdullah TAN’a, ayrıca tez süresince desteğini esirgemeyen sevgili eşim Hasan MELEK’e çok teşekkür ederim.

Hazırlanan bu Yüksek lisans tezi Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi BAP Birimi tarafından 2014.103.01.02 nolu proje ile desteklenmiştir.

Hayriye MELEK

TEZ ETİK BEYANNAMESİ

Tarafımdan hazırlanan “Doğu Anadolu’daki *Barbus* Populasyonlarının Genetik Analizi” başlıklı bu tezin, Yükseköğretim Kurulu Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesindeki hususlara uygun olarak hazırladığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal işlemi kabul ettiğimi beyan ederim. 09/10/2017



Hayriye MELEK

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

ÖZET

DOĞU ANADOLU'DAKİ *Barbus* POPULASYONLARININ GENETİK ANALİZİ

Hayriye MELEK

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

Doğu Anadolu'daki *Barbus* türlerinin filocoğrafyası ve filogenetik ilişkileri kısmi mitokondriyal sitokrom b geninde (936 bp) genetik çeşitlilik ile saptanmıştır. Yedi Anadolu drenaj sistemini temsil eden 15 lokasyondan 90 bireyin çalışılması toplamda 23 haplotip ve 5 mitokondriyal haplotip soyunu tanımlamamızı sağlamıştır. *B. escherichii* hariç her tür için belirlenen yüksek haplotip ($h = 0.760 - 0.879$) ve düşük nükleotit ($\pi = 0.214 - 0.395$) çeşitliliği değerleri ve her bir türde hemen hemen eşit sayıda bireyi temsil eden birkaç haplotipin 1 veya 2 mutasyonel adımla birbirlerine bağlı olması populasyon genişlemesinin ardından haplotiplerde büyük nükleotit farklılıkları biriktirmek için yeterli zaman olmadığını göstermektedir. Oluşturulan filogenide, Doğu Anadolu *Barbus*'ları içinde iyi desteklenmiş 3 ana klad (Karadeniz, Hazar Denizi ve Basra Körfezi göstermekte olup sazangiller için milyon yıl başına % 1'lik evrimsel orana göre, bu kladlar Doğu Anadolu'daki Pliosen-Pleistosen deniz seviyesi değişim ve orojenik aktivitelerinin zamanlamasıyla tutarlı olarak Geç Pliosen'den (3.34 ila 2.9 myö) birbirinden ayrılmıştır. Bu dönem, Pontidlerin oluşumunu takiben mevcut Çoruh, Aras ve Yukarı Fırat havzalarının kesiştiği bölgenin yükselmesi ile örtüşmektedir. Diğer yandan, sonuçlarımız Karadeniz'e dökülen Anadolu nehirlerindeki birbirlerinden yaklaşık 5,77 ila 1,37 milyon yıl önce izole olan mevcut 3 *Barbus* soyunun birkaç Karadeniz buzul barınağından köken aldığını, her bir barınak populasyonun ayrı bir evrimsel tarihi olabileceğini ve küresel iklim değişikliklerine ve geç Pleistosen'i ile özdeşleşen çevresel değişikliklere rağmen bugüne kadar çok fazla değişmeden ayakta kalabildiğini düşündürmektedir.

2017, 40 sayfa

Anahtar Kelimeler: *Barbus* sp., sitokrom b, filogenetik ilişkiler, Doğu Anadolu.

ABSTRACT

GENETIC ANALYSIS OF *Barbus* POPULATIONS IN EASTERN ANATOLIA

Hayriye MELEK

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

The phylogeography and phylogenetic relationships of *Barbus* species throughout the eastern Anatolia was established by genetic variation at the partial mitochondrial cytochrome b gene (936 bp). The study of 90 specimens from 15 localities representing seven Anatolian drainage systems served to identify a total 23 haplotypes and five main lineages of mitochondrial haplotypes. The high haplotype ($h = 0.760 - 0.879$) and low nucleotide ($\pi = 0.214 - 0.395$) variability values determined for each species except for *B. escherichii* and several haplotypes representing almost equal numbers of individuals in each species are linked together by 1 or 2 mutational steps show that there was not enough time to accumulate large nucleotide differences in haplotypes after population expansion. The constructed phylogeny shows three well supported main clades: Black sea, Caspian and Persian gulf basin within eastern Anatolian Barbels. According to evolutionary rate of 1% per million years for cyprinids, these clades diverged from each other Late Pliocene (3.34 to 2.9 mya) consistent with the timing of Pliocene-Pleistocene sea level changes and orogenic activities in East Anatolia. This period coincides with rise of the region, which is the intersection of the present Coruh, Aras and Upper Euphrates basins, following the formation of the Pontids. On the other hand, our results revealed that three *Barbus* lineages in Anatolia rivers flowing to the BlackSea diverged from each other about 5.77 to 1.37 Mya. We conclude that the *Barbus* lineages of the modern Black Sea originated from several Pontic glacial refugium, each of the refugee population may have a distinct evolutionary history and have survived until today without changing much despite global climatic fluctuations and environmental changes characterizing the late Pleistocene.

2017, 40 page

Keyword: *Barbus* sp., cytochrome b, phylogenetic relationships, Eastern Anatolia.

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	I
TEZ ETİK BEYANNAMESİ.....	II
ÖZET	III
ABSTRACT.....	IV
İÇİNDEKİLER	V
ŞEKİLLER DİZİNİ	VII
TABLolar DİZİNİ.....	VIII
SEMBOLLER ve KISALTMALAR DİZİNİ	IX
1. GENEL BİLGİLER	1
1.1. Giriş	1
1.2. Mitokondri DNA	1
1.3. Filogenetik Metotlar	2
1.3.1. Komşu Katılım Analizi.....	3
1.3.2. Maksimum Tutumluluk Analizi	3
1.3.3. Maksimum Olasılık Analizi.....	3
1.3.4. Bayesian Çıkarsama Analizi.....	4
1.4. <i>Barbus</i> Genusunun Genel Özellikleri.....	4
1.4.1. Filocoğrafyası ve Dağılımı	5
1.4.2. Habitat Kullanımı	5
1.4.3. Üreme	6
1.4.4. Hareket ve Faaliyetleri.....	6
1.4.5. Çevre Kirliliğinin <i>Barbus</i> 'a Etkileri	7
1.4.6. <i>Barbus</i> 'un Taksonomik Durumu ve Türlerin Sistematikteki Yeri	7
1.5. Literatür Özeti.....	8
1.6. Çalışmanın Amacı	10
2. YAPILAN ÇALIŞMALAR.....	11
2.1. Örnek Temini.....	11
2.2. <i>Barbus</i> bireylerinden DNA Eldesi.....	13
2.3. Primer Tasarımı ve Sentezi.....	13
2.4. Mitokondri Cyt b Geninin Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) Yardımı İle Artırımı	14
2.5. DNA ve PZR Ürünlerinin Kalite ve Miktarının Belirlenmesi.....	14

2.6.	DNA Dizin Analizi	15
2.7.	Veri Analizi	15
2.7.1.	Dizi Mukayesesi	15
2.7.2.	Filogenetik Analizler	16
3.	BULGULAR.....	17
4.	TARTIŞMA ve SONUÇLAR.....	25
5.	ÖNERİLER.....	30
KAYNAKLAR		31
ÖZGEÇMİŞ		40



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.	Mitokondri genomunun genel yapısı	2
Şekil 2.	Doğu Anadolu'daki Örnekleme İstasyonlarını Gösteren Harita	11
Şekil 3.	<i>Barbus escherichii</i> (Steindachner, 1897)	12
Şekil 4.	<i>Barbus</i> sp.1	12
Şekil 5.	<i>Barbus artvinica</i> (Komensky, 1899)	12
Şekil 6.	<i>Barbus cyri</i> (De Filippi, 1865)	12
Şekil 7.	<i>Barbus lacerta</i> (Karaman, 1971)	13
Şekil 8.	Anadolu'nun doğusunda dağılım gösteren <i>Barbus</i> türleri arasındaki ilişkiyi gösteren köksüz sitokrom b haplotip ağı	20
Şekil 9.	Mitokondri DNA Cyt b geni dizilerinin NJ metoduna dayalı filogenetik ağaç	22
Şekil 10.	Mitokondri DNA Cyt b geni dizilerinin MP metoduna dayalı filogenetik ağaç	23
Şekil 11.	Mitokondri DNA Cyt b geni dizilerinin ML metoduna dayalı filogenetik ağaç	24

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. <i>Barbus</i> türlerinin sistematigi	7
Tablo 2. PZR döngü koşulları	14
Tablo 3. Türlerle ait haplotipler arasındaki polimorfik nükleotit pozisyonları.....	17
Tablo 4. <i>Barbus</i> örneklerinin örnek lokaliteleri (P.I.; Şekil 2'ye bakınız), örnek sayıları (N), kısmi sitokrom b geni (936 bç) dizisine dayalı haplotip sayıları (H), haplotip çeşitlilik (<i>Hd</i>) ve nükleotit çeşitlilik (π) değerleri.	18
Tablo 5. <i>Barbus</i> türlerine ait haplotiplerin lokalitelere dağılımı.....	19
Tablo 6. Anadolu <i>Barbus</i> türleri ve tanımlanan soy grupları arasındaki ve içindeki ikili dizi farklılığı değerleri ve tahmini ayrılma zamanları	21

SEMBOLLER ve KISALTMALAR DİZİNİ

bç	Baz çifti
Cyt <i>b</i>	Sitokrom <i>b</i>
ddH ₂ O	Distile su
ddNTP	Dideoksiribonükleozit trifosfat
dNTP	Deoksiribonükleozit trifosfat
EDTA	Etilendiamin tetraasetikasit
M	Molar
mg	Miligram
MgCl ₂	Magnezyum klorür
ml	Mililitre
mM	Milimolar
µM	Mikromolar
mtDNA	Mitokondriyal deoksiribonükleik asit
Myö	Milyon yıl önce
ng	Nanogram
PZR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RNA	Ribonükleik asit
rpm	Dakika başına dönme hızı
TAE	Tris-Asetik asit-Etilendiamintetraasetik asit
Tm	Primerlerin erime sıcaklığı
U	Ünite
°C	Santigrad derece
µl	Mikrolitre

1. GENEL BİLGİLER

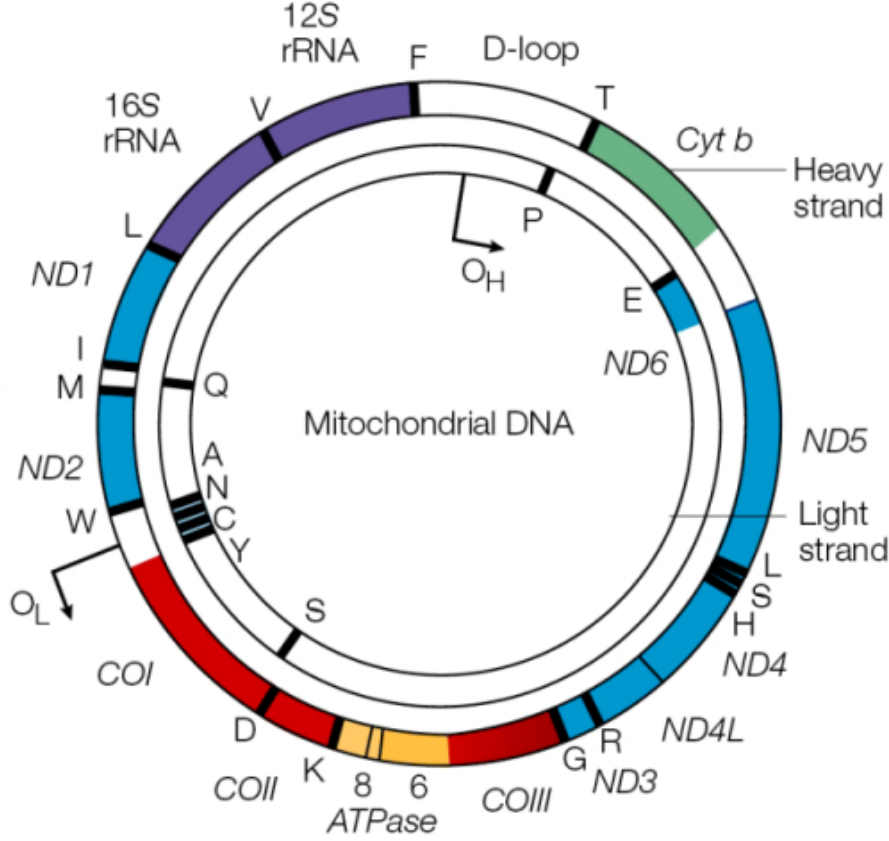
1.1. Giriş

Biyoçeşitlilik, türlerin içindeki genetik çeşitlilikten ekosistemlerdeki tür zenginliğine kadar biyolojik organizasyon ölçeklerinin tümünü içerir. Geleneksel olarak, balık biyologları balıkçılık araştırmalarında tür düzeyinde biyoçeşitliliğini incelemek üzerine yoğunlaşmışlardır (Carvalho ve Hauser, 1994). Modern genetik teknolojilerin uygulanması, gelecekte iç su balıklarının biyolojik çeşitliliğinin avcılık ve çevre değişikliklerine nasıl tepki verdiğinin daha iyi saptanabilmesine olanak sağlayacaktır. Böyle değişiklikleri saptamak için balık komünitelerinin uzun süreli takibi ve doğru tür tespiti için taksonomik ve genetik temel gerekir. Takip çalışmaları tür zenginliğinde meydana gelebilecek değişimlerin ve nedenlerinin tespit edilmesi noktasında temel sağlar. Biyoçeşitlilikteki değişimlerin ekosistemin yapısı ve işleyişi üzerine etkileri gün geçtikçe daha belirgin hale gelmektedir (Frank vd. 2005). Bu nedenle balıkçılık yönetiminde balık çeşitliliğinin yönetimine daha bir hassasiyetle yaklaşmalıdır. Ekosistemlerin, komünitelerin, populasyonların özellikle de türlerin biçimleri ve genetik yapılarındaki yüksek çeşitlilik onları çevresel stres faktörlerine (Ör. İklim değişikliği, kirleticiler, rekabet vs.) karşı korumakta ve hastalıklara daha dirençli hale getirmektedir. Dolayısıyla biyoçeşitlilik, ekonomik veya ekolojik önemi olan doğal kaynakların gelecekteki sürdürülebilirliği için önemlidir.

1.2. Mitokondri DNA

Mitokondri, kendi genomları olan farklı hücresel organellerdir. 13 protein kodlayan gen, 2 rRNA geni, 22 tRNA geni ile birlikte replikasyon ve transkripsiyon başlatıcı bölgeleri içeren bir kontrol bölgesi olmak üzere 38 benzersiz dizi kodlayan küçük, dairesel bir genomu (mtDNA) içerirler (Li, 1997). Mitokondrinin genellikle anasal olarak kalıtılıyor olması, rekombinasyonsuz oluşu ve nispeten yüksek mutasyon oranı nedeniyle, birçok türün yüzlerce nesil önceki atalarını takip edilebilmesi için güçlü bir araç haline gelmiştir. Filogenetik çalışmaların büyük çoğunluğu, kontrol bölgesi ve sitokrom b geninin analizlerini içerir. Bununla birlikte, mitokondrinin diğer

bölgeleri (örneğin ATP sentaz altbirim 6 ve 8), filogenetik çözünürlük açısından iyi hatta daha iyi olduğu gösterilmiştir (Ödeen, 2001).



Şekil 1. Mitokondri genomunun genel yapısı (URL-1, 2017)

1.3. Filogenetik Metotlar

Çeşitliliği açıklamak için araştırılan grubun evrimsel geçmişi hakkında yeterli bilgiye sahip olmak gerekir. Filogenetik çıkarım için veriler morfoloji, davranış ve coğrafi dağılım kaynak olarak kullanılabilir. 20. yüzyıldaki moleküler devrim sayesinde nükleotid dizi verileri ağırlıklı olarak kullanılmıştır. Bu çalışmada mitokondri sitokrom b için nükleotid sırası verileri elde edilmiştir. Aşağıdaki 4 yaklaşım [Komşu katılım (Neighbour joining), Maksimum tutumluluk (Maximum parsimony), Maksimum olasılık (Maksimum likelihood) ve Bayesian çıkarsama (Bayesian inference) metotları] filogenetik uygulamalarda yaygın olarak kullanılmakta ve moleküler verilere uygulanmaktadır.

1.3.1. Komşu Katılım Analizi

Evrimsel uzaklık verilerinden filogenetik ağaçları yeniden oluşturmak için “komşu katılım“ yöntemi denilen yeni bir yöntem önerilmiştir. Bu yöntemin prensibi, yıldız benzeri bir ağaçtan başlayarak OTU'ların kümelenmesinin her aşamasında toplam dal uzunluğunu en aza indirgeyen operasyonel taksonomik birimlerin (OTU'ların [= komşuları]) çiftlerini bulmaktır. Bilgisayar benzetimini kullanarak bu yönteme dayalı olarak dal uzunlukları ve en az mutasyonu gerektiren köksüz ağaç topolojisi hızlı bir şekilde elde edilebilir (Saitou ve Nei, 1987).

1.3.2. Maksimum Tutumluluk Analizi

Maksimum tutumluluk metodu belirli bir gerekli olan evrimsel adımların toplam sayısını en aza indirmek suretiyle bir filogenetik ağa dayanan bir karakter tabanlı (kladistik) bir yaklaşımdır. Diğer bir deyişle filogenetik çıkarımda azami azalanlık ilkesi, gözlemlenen farklılıkları açıklamak için en az değişiklik gerektiren bir ağaç topolojisinin tanımlanmasını içerir. Bunlara yol açan en kısa yol, en iyi ağaç olarak seçilir. Evrimsel basamaklar dizi verilerindeki nükleotit veya aminoasit değişimleridir (Kannan ve Wheleer, 2012).

1.3.3. Maksimum Olasılık Analizi

Maksimum olasılık (ML), eski bir istatistiksel yöntemdir (Edwards, 1972) ve filogenetik ilişkileri çıkarmak için istatistiksel olarak en güçlü yöntem olarak düşünülür. Filogenetik çıkarımda kullanılan olasılık değeri L, verilen özel bir evrimsel modelin ve belirli bir filogenetik ağacın altında verileri gözlemlene olasılığıdır. Ağaç, diziler arasındaki evrimsel ilişkilerin topolojisini açıklar ve bir dizi dal uzunluğu, ağacın farklı bölgelerinde evrimin nasıl oluştuğunu hesaplar. Model, evrimin kalıp ve süreçlerini, örneğin mutasyon oranını tanımlayan parametreleri içerir. ML yöntemlerinde en uygun topoloji en yüksek ihtimalle olan topolojidir ve bunun bulunması, tüm topolojilerin bireysel olarak olasılığını hesaplamayı gerektirir. ML ağacı için sezgisel araştırmalar yaygın olarak kullanılmaktadır ancak en uygun topolojiyi bulmak için kesin değildirler.

Maksimum olasılık kriteri, modelleme yeteneği de dâhil olmak üzere çeşitli nedenlerden dolayı avantajlıdır (Lewis, 1998).

1.3.4. Bayesian Çıkarsama Analizi

Bayesian analizi gibi model temelli yöntemlerde, filogeni çıkarımları filogenetik ağaçların ardıl (sonraki) olasılıklarına dayanmaktadır (Huelsenbeck ve Ronquist, 2001). Bayesian yöntemleri, önceden bilinen olasılıkları ("ön olasılık" olarak da adlandırılır) ve her bir hipotez altında veri elde etme ihtimallerini önsel olasılıklarla birleştirerek farklı hipotezlerin lehine birleştirerek kanıtların güncel tahminlerini birleştirir (McCarthy, 2007).

1.4. *Barbus* Genusunun Genel Özellikleri

Bıyıklı balıklar olarak bilinen *Barbus* türleri, tipik olarak "barbel bölgesi" olarak adlandırılan bölgelerdeki nehirlerin ortalarında karşılaşılan bir sazansı balıktır (Huet, 1949). Hızlı akan nehirlerde sürü halinde yaşayan ve bentikten beslenen bu türler Avrupa Asya ve Anadolu dağılımına sahiptirler (Kotlik ve Berrebi, 2001).

İnsan kaynaklı etkilere duyarlı, popülasyon oluşturabilen ve üreme gibi aktiviteler için uzun mesafelere göç edebilen bireylerden oluşur (Lelek, 1987; Baras ve Cherry, 1990; Lucas ve Batley, 1996). Tüm dağılım alanları boyunca durumları incelenmemiş olsa da genel de az endişe verici (Least Concern) olarak sınıflandırılmıştır (URL-2, 2017). Yine de *Barbus* bazı çalışmalarda tehdit altında veya nesli tükenmek üzere olarak sınıflandırılmıştır. Hatta bazı nehirlerde kimyasal/organik kirlenme, tarama ve kanalizasyonu içeren aktivitelerin neden olduğu habitat kaybı nedeniyle yokoluşlar rapor edilmiştir. Bugün iki nedenle bıyıklı balıkların nehirlerdeki varlığının önemi daha da artmıştır. İlki nehir balıkçılığında sportif amaçlı balıkçılığın önemli hedef türlerinden biri olmaları ikincisi ise varlıkları nispeten temiz akarsu yaşama ortamlarını belirtme eğiliminde oldukları için doğal yaşama ortamlarında korunması için gittikçe önem taşıyan bir "indikatör tür" olarak düşünölmeleridir (Britton ve Pegg, 2011).

1.4.1. Filocoğrafyası ve Dağılımı

Morfolojik plastisitesi ve ploidinin farklı seviyelerini sergilemesi ile bilinen *Barbus* genusuna ait diploid ve hekzaploid türler Asya ve Afrika'da dağılırken, tetraploid türler Afrika ve çoğunlukla Avrupa, Kuzey Afrika ve Batı Asya'yı da içeren Palearktik bölgede bulunur. Bu cinsin ploidisi seviyesinin son zamanlarda homoplazik olduğu yani evrimsel bir karşılığının olmadığı gösterilmiştir (Machordom ve Doadrio, 2001). Bu nedenle *Barbus* genusu'nun taksonomisini kromozom seti sayısına göre gerçekleştirmek pek olası değildir. Palearktik alan için farklı biyocoğrafik geçmişleri olan iki farklı monofiletik grup olduğu öne sürülmüştür (Doadrio, 1990; Tsigenopoulos ve Berrebi, 2000). Bu gruplardan biri İber Yarımadası'nı, güney Yunanistan'ı, yakın Doğu Asya'yı ve Kuzey Afrika'yı işgal eden *Luciobarbus*'ları içerirken Orta Avrupa'nın büyük bir bölümünde ve güney yarımadanın kuzeyinde ve Batı Asya'nın bir kısmında dağılmış olan *Barbus* tarafından temsil edildiği rapor edilmiştir (Berrebi, 1995).

Barbus genusunda (Berrebi, 1995), Avrupa sularında bilinen yedi türü vardır (*Barbus barbus*, *Barbus plebejus*, *Barbus ciscaucasicus*, *Barbus cyclolepis*, *Barbus peteniyi*, *Barbus haasi* ve *Barbus meridionalis*). Bunlar, biri merkezi Avrupa türlerinden (bugünkü *B. barbus*) diğeri ise dağ akarsu yollarında yaşayan (yok oldu *B. barbus*) Akdeniz türlerinden oluşan iki evrim hattı içerdiği bildirilmiştir (Berrebi, 1995). Yakın buzul döngülerinde, *B. barbus*, Doğu Tuna barınağı ve muhtemelen güney Fransa'da bulunan daha batılı bir barınak olmak üzere iki ayrı barınakta ayakta kaldı (Persat ve Berrebi, 1990). Bu nedenle *B. barbus* Akdeniz'den, Atlantik, Kuzey Denizi ve Güney Baltık Denizi ve Kuzey Karadeniz drenajlarına kadar geniş bir alanda dağılım gösterir (Kotlik ve Berrebi, 2001).

1.4.2. Habitat Kullanımı

Bıyıklı balıklar reofil oldukları için, diğer sazansız balıklarla karşılaştırıldığında nispeten hızlı akan suları tercih ederler (Huet, 1949; Baras ve Cherry, 1990). Bununla birlikte, yaşam alanları tercihlerinde yaşam döngüsü boyunca belirgin bir fark vardır; nispeten 50 mm'den daha büyük bireyler küçüklere göre daha hızlı akan suları tercih etmektedirler (Bischoff ve Freyhof, 1999).

1.4.3. Üreme

Barbus'un somatik büyümesi sıcaklığa bağlı ve mevsimsel olup büyüme temel olarak yaz dönemiyle sınırlıdır (Hunt ve Jones, 1975). Yavru gelişimi için optimum sıcaklık 21-25 °C aralığındadır (Kaminski vd., 2010) ve bu aralıkta artan sıcaklık artan büyüme oranlarına neden olur (Penaz ve Stouracova, 1991). Pullarından türetilen *Barbus* yaş tahminlerine göre maksimum 18 yaşında bireyler belirlenmiştir (Taylor vd., 2004). Litofillik bir balık olarak (Mills, 1991) *Barbus* geç ilkbaharda çakıl yatakları üzerinde 10-23 °C sıcaklıklarda gruplar halinde yumurta bırakır (Hancock vd., 1976; Baras, 1995b). Baras ve Philippart (1999), yumurtlama için kritik sıcaklık eşiğinin 13.5 °C olduğunu, bu sıcaklığın üzerindeki sıcaklıkların yumurtlamanın devam etmesini sağladığı, ancak sıcaklıklar bu eşiğin altına düştüğünde durduğunu öne sürmüştür. Bu nedenle üreme ısı eşiğinin (Baras ve Philippart, 1999) ve fotoperiyod yumurtlama zamanının önemli birer düzenleyicisi olarak rol oynayabilir (Poncin, 1992). Esaret koşullar dışında yumurtlama gündüz eğilimi gösterir (Hancock vd., 1976; Baras, 1993, 1994, 1995b). Yumurtlama öncesi dönemde, bireyler genelde belirli yumurtlama alanlarına doğru göç davranışları sergilerler (Hancock vd., 1976; Baras, 1995b). Olgunluk yaşı erkeklerde 4 ve kadınlarda 5 yıl olup (Maitland ve Campbell, 1992) popülasyondaki cinsiyet oranları erkekler lehinedir (Hunt ve Jones, 1975)

1.4.4. Hareket ve Faaliyetleri

Barbus barbus 'un hareket aktiviteleri mevsimsel olup genellikle yumurtlama ve öncesi dönemde olan bireyler tarafından yapılan 20 km'nin üzerindeki yer değiştirmeler en uzak mesafeli göçleridir (Ovidio vd., 2007; De Leeuw ve Winter, 2008). Yumurtlama periyodunda, balıkların ardışık günler arasında bir yerden diğerine geçme ihtimali % 50'nin üzerindedir (Baras ve Cherry, 1990; Baras vd., 1994). Yaz aylarında, bilinen üreme alanlarına olan sadakat arttıkça uzun mesafe göçleri de azalır (Baras ve Cherry, 1990). Kışın balık hareketleri ve aktiviteleri sıcaklık aktivite sınırlarına ulaşıncaya sona erer (4 °C; Baras, 1995a, b). *B. barbus* yüksek hareket etme kabiliyetine rağmen, "yerleşik" ve "hareketli" balıkların tanımlanmasını sağlayan önemli popülasyon içi farklılıklar içerdiği belirlenmiştir (Baras, 1997) (Hunt ve Jones, 1975; Penaz vd., 2002).

1.4.5. Çevre Kirliliğinin *Barbus*'a Etkileri

Barbus'u konu alan kirlilik çalışmaları, organik kirliliğin popülasyonlara olumsuz etkileri olduğuna dair elle tutulur herhangi bir kanıt bulunmayan birkaç tartışma dışında sınırlı kalmıştır. Gerçekleştirilen çalışmalarda *Barbus* yavru ve yumurtalarının ağır metal ve poliklorlu bifenil (PCB) gibi kirleticilere maruz bırakıldığında her iki metalin de larval büyümede yavaşlamaya neden olduğundan popülasyonu özellikle dişi üreme parametrelerini önemli ölçüde bozarak tehdit ettiği belirlenmiştir (Witeska vd., 2010).

1.4.6. *Barbus*'un Taksonomik Durumu ve Türlerin Sistematikteki Yeri

Eski Dünya tatlısu balık cinsi *Barbus* Cuvier ve Cloquet, 1816'nın evrimsel geçmişi ve sistematigi tartışmalıdır ve hala yeterince anlaşılamamıştır (Berrebi, 1995, Berrebi vd., 1996). Genusun polifiletik olduğu ve birçok diploid, tetraploid ve heksakropid soylarını (Berrebi vd., 1996, Tsigenopoulos ve Berrebi 2000, Tsigenopoulos vd., 2002) içerdiği bilinmektedir. *Barbus* cinsi, çok sayıda tür ve morfolojik elastikiyetten ötürü karmaşık bir taksonomik yapı ile karakterize edilirken aynı zamanda farklı ekolojik tercihlerin cins içindeki grupları tanımlamada büyük önemi olabileceğini ileri sürmektedir (Tsigenopoulos ve Berrebi 2000).

Tablo 1. *Barbus* türlerinin sistematigi.

Kategori	İsim
Alem	:Hayvanlar (Animalia)
Şube	:Kordalılar (Chordata)
Sınıf	:Işınsal Yüzgeçliler (Actinopterygii)
Takım	:Sazansılar (Cypriniformes)
Aile	:Sazangiller (Cyprinidae)
Cins	: <i>Barbus</i>
Tür	: <i>Barbus artvinica</i> (Komensky, 1899) : <i>Barbus cyri</i> (De Filippi, 1865) : <i>Barbus escherichii</i> (Steindachner, 1897) : <i>Barbus lacerta</i> (Karaman, 1971)

1.5. Literatür özeti

Dünya üzerinde yaklaşık 800 temsilcisi ile Avrupa, Güneybatı Asya ve Kuzey Afrika'ya kadar geniş bir alanda dağılım gösteren *Barbus* türlerinin bazıları soğuk sularda, bazıları ise sıcak sularda yaşamaktadırlar. Son yıllarda, yapılan ileri düzeyde moleküler ve morfolojik çalışmalar ile sadece Peri-Mediterranean türlerinin *Barbus* cinsine ait olduğu rapor edilmiştir. (Doadrio, 1990; Berrebi vd., 1996; Machordom vd., 2001a, b; Doadrio vd., 2002; Berrebi ve Tsigenopoulos, 2003). Bu türler genellikle hızlı akışlı, zemini çakıllı kumlu akarsuları tercih ederlerse de zaman zaman durgun sularda da görülebirlirler. Ekonomik önemi olan ve çok sayıda tür ve alttürleri olan bu cinsin asıl vatanı Doğu Asya olmakla beraber, bugün Doğu Asya'dan Batı Avrupa'ya kadar hatta Afrika'da bulunmaktadır. Türkiye sularında bu cinsin 7 türü ve 6 alttürü yaşamaktadır. Bunlar, *Barbus mursa*, *Barbus rajanorum*, *Barbus esiconus*, *Barbus xanthopterus*, *Barbus subquincuncinatus*, *Barbus capito*, *Barbus plebejus* tür olarak *Barbus capito capito*, *Barbus capito pectoralis*, *Barbus plebejus kosswigi*, *Barbus plebejus lacerta*, *Barbus plebejus ercisanus*, *Barbus plebejus escherichi* alttür olarak yurdumuzun İç Anadolu bölgesi hariç neredeyse bütün Anadolu'da bulunan akarsular ve bağlandıkları doğal ve yapay baraj göllerinde mevcuttur.

Türkiye'de dağılım gösteren *Barbus* türlerinin revizyonu 1971 yılında Karaman tarafından yapılmış olup, Türkiye de *Barbus capito capito*, *Barbus capito pectoralis*, *Barbus esocinus*, *Barbus mursa*, *Barbus plebejus ercisanus*, *Barbus plebejus escherichi*, *Barbus plebejus kosswigi*, *Barbus plebejus lacerta*, *Barbus plebejus pergamonensis*, *Barbus rajanorum mystaceus*, *Barbus rajanorum rajanorum*, *Barbus subquincuncinatus*, *Barbus xanthopterus* türü ve alttürlerinin dağılım gösterdiğini rapor etmiştir. Bu taksonomik revizyon uzun bir zaman Türk araştırmacılar tarafından takip edilmiştir (Kuru, 1975; Balık, 1975; Erk'akan, 1981; Kutrup, 1994; Turan, 2003; Kuru, 2004). Karaman tarafından 1971 yılında rapor edilen türlerin 8 tanesinin *Luciobarbus* (*B. capito*, *B. pectoralis*, *B. esocinus*, *B. mursa*, *B. mystaceus*, *B. subquincuncinatus*, *B. xanthopterus*) cinsine, 5 tanesinin ise *Barbus* (*B. plebejus ercisanus*, *B. plebejus escherichi*, *B. plebejus kosswigi*, *B. plebejus lacerta*, *B. plebejus pergamonensis*) cinsine ait olduğunu rapor edilmiştir (Turan vd., 2008; Turan vd., 2009).

Barbus cinsi ile ilgili son yıllarda yapılan çalışmalarda, *B. plebejus* türünün dağılım alanının Adriyatik Denizi havzası ile sınırlı olduğunu göstermektedir (Bogustkaya vd., 2003; Kottelat ve Freyhof, 2007). Dolayısıyla Türkiye’den kaydı verilen *B. plebejus* türünün alttürlerinin (*B. plebejus ercisanus*, *B. plebejus escherichi*, *B. plebejus kosswigi*, *B. plebejus lacerta*, *B. plebejus pergamonensis*) yeniden gözden geçirilmesini zorunlu kılmaktadır. Kotlik vd. (2004) Karadeniz havzasında dağılım gösteren *Barbus* populasyonları üzerine yaptıkları çalışmada Türkiye’nin Karadeniz kıyılarında moleküler düzeyde 3 farklı populasyon saptamışlardır. Turan vd. (2009) Batı Anadolu’nun bir kısmında (Marmara Bölgesi, Ege Bölgesi’nin kuzey kesimleri) dağılım gösteren *Barbus* popülasyonları üzerine yaptığı araştırmada, 5 türün (*B. escherichi* [Sakarya Nehri], *B. pergamonensis* [Ege kıyıları], *B. cyclolepis* [Trakya bölgesi], *B. oligolepis* [Marmara Bölgesi] dağılım gösterdiğini rapor etmiş ve *B. oligolepis* türünün yeniden tanımlanmasının yanında Marmara kıyılarından *B. niluferensis*’i yeni tür olarak rapor etmişlerdir.

Kotlik ve Berrebi, (2001) ülkemiz iç sularındaki *Barbus* populasyonlarının bir kısmını da içine alan çalışmalarında, filocoğrafik çerçeve kullanılarak geniş dağılım gösteren bir Avrupa sazan türü olan *Barbus barbus*’un dağılım alanı boyunca mitokondri sitokrom b genindeki DNA dizi varyasyonunu belirlemeye çalıştılar. Akdenizli olmayan Avrupa ülkeleri ile Balkan/Karadeniz populasyonlarının karşılıklı monofilisinin gen akışını engelleyen uzun süreli engel için delil olduğunu belirterek bu durumu buzul sonrası dönem boyunca iki ayrı barınakta hayatta kalmalarına bağlamışlardır. Sonuç olarak Balkan/Anadolu içindeki belirlenen düşük varyasyonu, temelde geç Pleyistosen ve erken Holosen boyunca Karadeniz’deki tatlı su şartlarına olanak tanıyan yakın dönem yayılımına bağlamışlardır.

Morfolojik plastisitesi ve ploidinin farklı seviyelerini sergilemesi ile bilinen *Barbus* genusuna ait diploid ve hekzaploid türler Asya ve Afrika’da dağılırken, tetraploid türler Afrika ve çoğunlukla Avrupa, Kuzey Afrika ve Batı Asya’yı da içeren Paleartik bölgede bulunur. Bu cinsin ploid seviyesinin son zamanlarda homoplazik olduğu yani evrimsel bir karşılığının olmadığı gösterilmiştir (Machordom ve Doadrio 2001). Bu nedenle *Barbus* genusu’nun taksonomisini kromozom seti sayısına göre gerçekleştirmek pek olası değildir. Paleartik alan için farklı biyocoğrafik geçmişleri

olan iki farklı monofiletik grup olduğu öne sürülmüştür (Doadrio, 1990; Tsigenopoulos ve Berrebi 2000). Bu gruplardan biri İber Yarımadası'nı, güney Yunanistan'ı, yakın Doğu Asya'yı ve Kuzey Afrika'yı işgal eden *Luciobarbus*'ları içerirken Orta Avrupa'nın büyük bir bölümünde ve güney yarımadasının kuzeyinde ve Batı Asya'nın bir kısmında dağılmış olan *Barbus* tarafından temsil edildiği rapor edilmiştir (Berrebi, 1995).

1.6. Çalışmanın Amacı

Günümüze kadar Türkiye'de dağılım gösteren *Barbus* cinsine ait populasyonların tanımlanmasını ve dağılım alanlarının sınırlarını ortaya koymayı amaçlayan herhangi bir bütünlük taksonomik revizyon çalışması yapılmamıştır. *Barbus* türlerinin tamamı *B. plebejus* türünün alttürü olarak rapor edilmiştir (Karaman, 1971; Kuru, 2004). Halbuki *Barbus plebejus* türünün dağılım alanının Adriyatik havzası ile sınırlı olduğu ve Türkiye'de dağılım göstermediği daha sonra bu cins üzerinde yürütülen bilimsel çalışmalarda (Boguskaya vd., 2003; Kottelat ve Freyhof, 2007) açık bir şekilde rapor edilmiştir. Dolayısıyla Anadolu'nun doğusundaki nehirlerini de içine alacak şekilde daha önce Türkiye'den kaydı verilen *Barbus plebejus* türüne ait olduğu ileri sürülen alttürlerin ve temsil edildikleri populasyonların yeniden gözden geçirilmesini zorunlu hale gelmiştir. Son yıllarda *Barbus* genus'una ait türlerin teşhisini yapmak, türleşmeyi sağlayan tarihi ve yakın dönem süreçleri değerlendirmek için evrensel düzeyde çok sayıda çalışma yapılmıştır. Sadece Kotlik vd., (2004)'nin Çoruh havzasını da içine alacak şekilde Karadeniz bölgesindeki *Barbus* balıklarının filocoğrafyasını değerlendirdikleri çalışma vardır. Fakat, Doğu Anadolu da dağılım gösteren *Barbus* populasyonlarının tanımlanması ve filogenetik analizi yapılmamıştır.

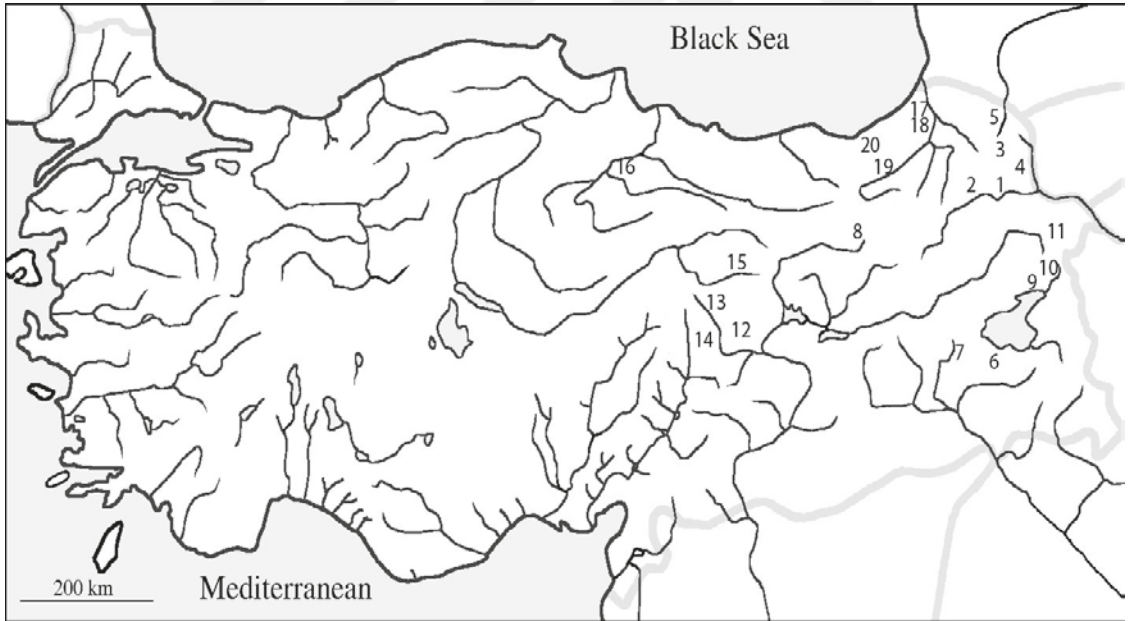
Bu çalışma kapsamında, mitokondri DNA sitokrom b gen dizileri kullanılarak daha önce moleküler genetik tekniklerle çalışılmamış olan *Barbus* genus'undan Anadolu'nun doğusundaki Çoruh, Kura, Aras, Fırat, Kızılırmak, Yeşilirmak ve Dicle havzası gibi önemli ve büyük nehir sistemlerindeki *Barbus* populasyonlarının varlığının tespiti, tür düzeyinde genetik teşhisi/ayrımının yanısıra çok sayıda endemik tür içeren *Barbus* cinsinin sistematik sorunlarının çözülmesine yardımcı olmak amacıyla genus içindeki filogenetik ilişkiler belirlenecektir.

2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

Bu çalışma, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Temel Bilimler Bölümü Moleküler Genetik Laboratuvarı'ndaki *Barbus* örnekleri ile gerçekleştirilmiştir.

2.1. Örnek Temini

Bu çalışmada kullanılan *Barbus* örnekleri dağılım gösterdikleri Çoruh, Fırat, Yeşilırmak, Kızılırmak, Dicle, Kura ve Aras nehirlerindeki 20 farklı istasyondan örneklenmiştir (Tablo 1). Toplam 90 birey yakalanmış olup örnekler arazide acilen % 96'lık alkole alınmış, teşhis ve diseksiyon için RTE Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Genetik laboratuvarına transfer edilmiş ve işlem yapılıncaya dek -20° C'de muhafaza edilmiştir.



Şekil 2. Doğu Anadolu'daki örnekleme istasyonlarını gösteren harita (istasyon bilgileri için tablo 4'e bakınız).



Şekil 3. *Barbus escherichii* (Steindachner, 1897)



Şekil 4. *Barbus* sp.1



Şekil 5. *Barbus artvinica* (Komensky, 1899)



Şekil 6. *Barbus cyri* (De Filippi, 1865)



Şekil 7. *Barbus lacerta* (Karaman, 1971)

2.2. *Barbus* Bireylerinden DNA Eldesi

Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Temel Bilimler Bölümü Moleküler Genetik Laboratuvarına getirilen ve % 96'lık etil alkolde muhafaza edilen 90 adet *Barbus* örneğinin tamamının beyaz kas dokusunun 10-20 mg'lık bir parçası veya yaklaşık 2 cm²'lik kuyruk yüzgeci dokusundan Qiagen DNeasy Blood & Tissue Kit (Qiagen, USA) protokolü uygulanarak genomik DNA eldesi gerçekleştirilmiştir. Proteinaz K, hücre lizisi ve hücrel proteinlerin parçalanması için kullanılmıştır. RNA'yı uzaklaştırmak için askıda DNA, 100 µL toplam hacim başına 1 µg RNaz A ile 37°C'de 30 dakika muamele edildi ve elde DNA, DNA rehidrasyon solusyonu ile çözülerek % 0,8'lik agaroz jel elektroforezi ile kontrol edilmiştir. DNA örneklerinin konsantrasyonu 1:50 oranında seyreltilerek NanoDrop 2000C spektrofotometrede 260 ve 280 nm dalga boyunda optik yoğunluğunun okunmasıyla belirlenmiştir.

2.3. Primer Tasarımı ve Sentezi

Mitokondri DNA sitokrom b geninin arttırılmasında kullanılacak ileri ve geri primerlerin tasarlanması için Genbank veri tabanına girilmiş olan *Barbus* genusuna ait türlerin gen dizileri BioEdit (Hall, 1999) programının ClustalW çoklu mukayese seçeneği kullanılarak belirlenmiş korunmuş bölgelerden en uygun olanlar FastPCR programı yardımıyla seçilen bir çift primerin (BCF: 5'-ATGGCAA GCCTACGAAAAACACCC-3' ve BCR: 5'-TTTCTARCCATCCTGCTAGTGG-3') MacroGen (MacroGen Inc, Hollanda) firmasına hizmet alımı yoluyla sentez ettirilmiştir.

2.4. Mitokondri Cyt b Geninin Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) Yardımı ile Artırılması

Mitokondri DNA sitokrom b geni kısmi dizisi (936 bç), web tabanlı Primer programı (URL-3, 2017) yardımıyla Genbank veri tabanındaki *Barbus* spp. sitokrom b geni dizilerinin mukayesesi sonucu tasarlanan BCF ve BCR primerleri ticari bir firmaya sentezlettirilecektir. Çift zincirli DNA artırımı, 5 ml 10x reaksiyon tamponu, 2,5 mM MgCl₂, herbirinden 0,2 mM dATP, dCTP, dGTP ve dTTP (Amersham-Pharmacia-Biotech), her birinden 1mM primer, 1 ünite Taq DNA polimeraz (Go Taq, Promega) ve kalıp olarak 0,4-0,5 mg genomik DNA eklemek suretiyle 50 µL son hacimde gerçekleştirilmiştir. DNA artırımı, Tablo 1’de verilen PCR döngü şartları altında BIORAD T100™ marka Gradient Thermal Döngü (Biorad, USA) cihazında gerçekleştirilmiştir.

Tablo 2. PZR döngü koşulları.

	Sıcaklık (°C)	Zaman (dk)	Döngü Sayısı
İlk Ayrılma	95	3	1
Ayrılma	94	1	
Yapışma	52	0,45	35
Uzama	72	1	
Son Uzama	72	7	1
	4	∞	

2.5. DNA ve PZR Ürünlerinin Kalite ve Miktarının Belirlenmesi

Total DNA eldesi yöntemiyle elde edilen genomik DNA ve PZR tekniği ile arttırılan sitokrom b geni ürünlerinin kalitesi etidyum bromür (0,5 mg/ml) içeren % 1’lik TAE-Agaroz jeli hazırlanarak elektroforezde yürütüldü ve jel görüntülenerek incelendi. Örneklerin yürütüldüğü agaroz jelin görüntülenmesi işlemi Quantum-Capt ST4 sistem (Vilber Lourmat, France)’deki ultraviyole transillüminatörde gerçekleştirildi. Arttırılan sitokrom b geni ürünleri yanında bir markır ile yürütüldü. Ayrıca hem genomik DNA’nın hemde PZR ürünlerinin saflığının ve kalitesinin tayini Nanodrop 2000C model spektrofotometre (Thermo Fisher Scientific, Wilmington, DE,

USA) kullanılarak belirlendi. Bütün işlemler tamamlandıktan sonra istenilen konsantrasyon ve büyüklükte olduğu tespit edilen PZR ürünleri DNA dizin analizi işlemine kadar -20 °C de muhafaza edilmiştir.

2.6. DNA Dizin Analizi

PZR ürünü olarak mitokondriyal sitokrom b geni nükleotit dizilerinin temizlenmesi ve takiben DNA dizilerinin analizi tarafımızdan tasarlanan BCF ve BCR isimli PZR primerleri kullanılarak BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Ready Reaction Kit (Applied Biosystem) kullanarak ABI PRISM 3730x1 Genetic Analyser (Applied Biosystem, USA) ile MacroGen Inc. (Amsterdam, Hollanda) 'de gerçekleştirilmiştir. Böylelikle *Barbus* türlerine ait 90 bireyin mitokondri DNA sitokrom b (cyt b) geni kısmi dizisinin (936 bç) baz dizilimi çıkartılmıştır.

2.7. Veri Analizi

2.7.1. Dizi Mukayesesi

Dizin analizi sonucunda elde edilen sitokrom *b* geni dizi verilerinin geçerliliğini kontrol etmek için her iki yönde dizin analizi yapılmıştır. Elde edilen diziler NCBI veritabanında bulunan BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) (URL-4, 2017) seçeneği kullanılarak benzer diziler Genbank'ı taramak için kullanılmıştır. BLAST araması ile elde edilen en yakın akraba genusa ait taksonların sitokrom *b* dizileri, veri setlerimizin filogenetik analizi için dış grup olarak *Barbus prespensis* (GenBank giriş numarası: AF090790) kullanılmıştır. Bu amaçla sitokrom *b* geni (1140 bç) baz dizilerinin ilk mukayesesi “ClustalW” ve “BIOEDIT” (Thompson vd., 1997) programı yardımıyla GenBank veritabanından elde edilen ilgili dizinlerle birlikte gerçekleştirilmiş ve nükleotid sıraları son olarak gözle kontrol edilmiştir.

Elde edilen dizilerin %A-T analizi, korunmuş bölgelerin analizi, değişken bölgelerin analizi ve transisyon/transversiyon oranı (R), MEGA 6.0 (Tamura vd., 2013) yazılımı yardımı ile gerçekleştirilmiştir.

2.7.2. Filogenetik Analizler

Verileri uygun formata dönüştürmek için DNA baz dizileri önce FASTA formatına dönüştürülmüştür. Haplotip sayısı, nükleotit kompozisyonu, haplotip çeşitliliği (Nei, 1987) ve nükleotit çeşitliliği (Nei ve Tajima, 1981) DnaSP v5 (Librado ve Rozas, 2009) ve MEGA 6.0 (Tamura vd., 2013) programları ile hesaplanmıştır.

PopART programı (URL-5, 2017) kullanılarak haplotipler belirlenerek bu program altındaki Medyan katılım ağı opsiyonu (Bandelt vd., 1999) ile haplotipler arasındaki baz farklılıkları esasına göre haplotip bağlantı ağı oluşturulmuştur.

Barbus türleri arasındaki genetik mesafeler Kimura's two-parameter (K2P) mesafe modeline (Kimura, 1980) göre MEGA sürüm 5.0 program altında hesaplanmıştır. Dowling vd. (2002) ve Smith vd. (2002), çok sayıda fosil verilerine ve dizi karşılaştırmalarına dayalı olarak Cyprinidlerin sitokrom b geni itibarıyla her bir soy grubu için milyon yıl başına yaklaşık % 0.5'lik bir farklılaşma oranı tahmin ettiler. Milyon yılda yaklaşık % 1'lik bu kalibrasyon oranı diğer sazansı filogeni çalışmalarında da kabul edilmiştir (Doadrio ve Carmona 2004; Durand vd., 2003). Bu kalibrasyonu ile, hem soy gruplarının ayrılma tarihlerini hem de bölgedeki *Barbus* türlerinin biyocoğrafik hikâyelerini şekillendiren başlıca olayların tahmininde kullanılmıştır.

Türler arasındaki ilişkileri gösteren filogenetik ağaçların oluşturulmasında ve evrimsel parametrelerin tahmininde baz değişim modelleri sıkça kullanılmaktadır. Belirlenen haplotiplerin DNA dizileri jmodeltest 2.0 (Darriba vd., 2012) programında analiz edilerek filogenetik analizler için en uygun baz değişim modelleri bulunmuştur. Elde edilen gen dizisi, PAUP* 4.0b10 (Swofford vd., 1998) paket programı altında çalıştırılan komşu birleştirme, maksimum tutumluluk ve maksimum olasılık metotlarına dayalı olarak genetik mesafe matrisleri ve bu matrislere dayalı olarak filogenetik ağaç topolojileri oluşturulmuştur. Maksimum tutumluluk analizi ile buluşsal metoda göre, daha önce belirlenen baz değişim modelini dikkate alarak 1000 rastgele ilave tekrarlar oluşturuldu ve seç-bağla testi ile 100 tekrar yapıldı. Türler ve populasyonlar arasındaki genetik ilişkileri anlamlandırılabilmesi için filogenetik analizlerde dış grup olarak *Barbus prespensis* (GenBank giriş numarası: AF090790) kullanılmıştır.

Tablo 4. *Barbus* örneklerinin örnek lokaliteleri (P.I.; Şekil 2’ye bakınız), örnek sayıları (N), kısmi sitokrom b geni (936 bp) dizisine dayalı haplotip sayıları (H), haplotip çeşitlilik (*Hd*) ve nükleotit çeşitlilik (π) değerleri.

Tür, nehir, havza, lokalite	P. I.	N	H	<i>Hd</i>	π (10^{-2})
<i>Barbus cyri</i>					
Gaziler Çayı, Aras nehri, Gaziler, Iğdır	1	6	4	0,86667 (± 0.046)	0,171 (± 0.00089)
Boyalı deresi, Aras nehri, Selim, Kars	2	3	1	0,00000 (± 0.000)	0,000 (± 0.00000)
Çıldır gölü, Aras, nehri, Ardahan	3	3	2	0,66667 (± 0.069)	0,374 (± 0.00057)
Digor Çayı, Aras nehri, Digor, Kars	4	3	1	0,00000 (± 0.000)	0,000 (± 0.00000)
Kura nehri, Ardahan, Kura	5	4	1	0,00000 (± 0.000)	0,000 (± 0.00000)
		19	5	0.76023 (± 0.021)	0.214 (± 0.00028)
<i>Barbus lacerta</i>					
Horoz dere, Dicle, Hizan, Bitlis	6	5	1	0,00000 (± 0.000)	0,000 (± 0.00000)
Aşağıölek, Dicle, Bitlis	7	4	1	0,00000 (± 0.000)	0,000 (± 0.00000)
Sırlı Deresi, Fırat, Toprakkale, Erzurum	8	3	1	0,00000 (± 0.000)	0,000 (± 0.00000)
Zilan çayı, Erciş, Van	9	4	1	0,00000 (± 0.000)	0,000 (± 0.00000)
Delice çayı, Erciş, Van	10	4	2	0,50000 (± 0.000)	0,053 (± 0.00000)
Murat nehri, Fırat, Doğubeyazıt, Ağrı	11	6	2	0,33333 (± 0.000)	0,036 (± 0.00000)
Murat nehri, Fırat, Mercimekkale, Muş	12	4	2	0,50000 (± 0.000)	0,107 (± 0.00000)
Delihacı deresi, Fırat, Kangal, Sivas	13	3	1	0,00000 (± 0.000)	0,000 (± 0.00000)
Mancılık deresi, Fırat, Kangal, Sivas	14	4	1	0,00000 (± 0.000)	0,000 (± 0.00000)
		37	9	0,87988 ($\pm 0,071$)	0,323 ($\pm 0,00035$)
<i>Barbus sp.1</i>					
Kızılırmak, Zara, Sivas	15	6	2	0,33333 ($\pm 0,000$)	0,036 ($\pm 0,00000$)
Yeşilirmak, Erbaa, Tokat	16	6	3	0,73333 ($\pm 0,000$)	0,292 ($\pm 0,00000$)
		12	5	0,78788 ($\pm 0,071$)	0,327 ($\pm 0,00035$)
<i>Barbus rionica</i>					
Çoruh nehri, Borçka, Artvin	17	6	2	0,33333 (± 0.000)	0,036 (± 0.00000)
Aralık deresi, Çoruh nehri, Artvin	18	6	2	0,60000 (± 0.028)	0,064 (± 0.00041)
Çoruh nehri, İspir, Artvin	19	6	2	0,53333 (± 0.000)	0,057 (± 0.00025)
		18	3	0,76623 (± 0.036)	0,395 ($\pm 0,00017$)
<i>B. escherichii</i>					
Kalkandere, Karadeniz, Kalkandere, Rize	20	4	1	0,00000 (± 0.000)	0,000 (± 0.00000)

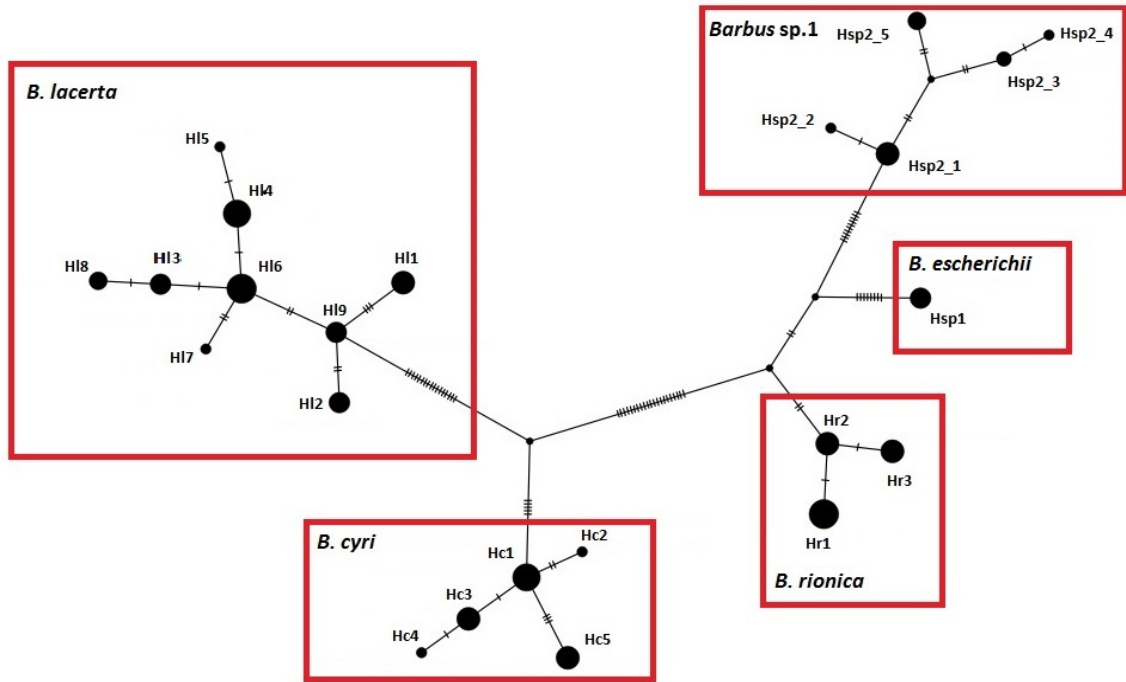
Haplotip sayısı ve belirlenen haplotiplerin popülasyonlara dağılımı Arlequin versiyon 3.5.2 programı yardımıyla belirlenmiştir (Tablo 4). Buna göre mitokondri sitokrom b geninin kısmi dizin analizi, toplamda 23 farklı haplotip ortaya çıkartmıştır (Tablo 4). Bu şekilde, 19 *B. cyri* bireyinin analizi ile 5 farklı haplotip bulunmuştur. Bunlardan haplotip c1 Aras ve Kura nehirlerinden bireyleri temsil etmektedir. Haplotip Hc2 ve Hc4 sadece bir lokalitede, Hc3 ve Hc5'in iki farklı lokalitede temsil edildiği belirlenmiştir (Tablo 4). *B. lacerta* türüne ait 37 birey için 9 farklı haplotip tanımlanmıştır. Bunlardan Hl3, l4 ve l6 iki farklı lokalite de, geri kalan diğer haplotipler sadece 1 lokalite de temsil edildiği belirlenmiştir. Ayrıca, Dicle ve Fırat havzalarındaki bireyler aynı haplotipler altında gruplanmamıştır (Tablo 4).

Tablo 5. *Barbus* türlerine ait haplotiplerin lokalitelere dağılımı.

	<i>B. cyri</i>					<i>B. lacerta</i>								<i>B. esc</i>	<i>B. sp.2</i>		<i>B. rionica</i>			
Haplotip numarası	IGD (6)	SLM (3)	CLD (3)	DGR (3)	KUR (4)	HRZ (5)	ASK (4)	TPK (3)	ZLN (4)	DLC (4)	DBZ (6)	MCK (4)	DCH (3)	MNK (4)	KDR (4)	ZAR (6)	YES (6)	BCK (6)	ARK (6)	ISP (6)
Hc1	2		1		4															
Hc2	1																			
Hc3	2			3																
Hc4	1																			
Hc5		3	2																	
HI1						5														
HI2							4													
HI3								3			1									
HI4									4	3										
HI5										1										
HI6											5	3								
HI7												1								
HI8													3							
HI9														4						
Hsp1															4					
Hsp2-1																5				
Hsp2-2																1				
Hsp2-3																	2			
Hsp2-4																	1			
Hsp2-5																	3			
Hr1																		1	3	4
Hr2																		5		
Hr3																			3	2

Kalkandere (Rize) deresinden örneklenen ve ayrı bir takson olarak değerlendirilen *B. escherichii* türüne ait 4 birey için 1 haplotip (He1), Kızılırmak (Zara, Sivas) ve Yeşilirmak (Erbaa, Tokat) nehrinden örneklenen ve ayrı bir takson olarak değerlendirilen *Barbus* sp.1 türüne ait 12 birey için 5 farklı haplotip tanımlanmış olup haplotipler lokaliteler arasında paylaşılmamıştır. *B. rionica* türüne ait 18 birey için 3 farklı haplotip tanımlanmıştır. Bunlardan sadece haplotip Hr2 bir lokalite de temsil edilirken haplotip Hr1 ve Hr3 aynı nehir sistemi içerisinde 1’den fazla lokalitede temsile edildiği belirlenmiştir (Tablo 3).

PopART programı altındaki sitokrom b geni haplotip bağlantı ağacı birbirlerinden en az 12 mutasyonal adım ile ayrılan 5 *Barbus* soy grubunun varlığını göstermiştir (Şekil 8).



Şekil 8. Anadolu’nun doğusunda dağılım gösteren *Barbus* türleri arasındaki ilişkiyi gösteren köksüz sitokrom b haplotip ağı.

Tür içi ortalama ikili dizin farklılığı değerlerinin *B. cyri* için %0.32, *B. lacerta* için %0.40, *B. escherichii* için %0.00, *Barbus* sp.1 için %0.43 ve *B. rionica* için %0.14 olduğu tespit edilmiştir. Diğer taraftan mitokondri sitokrom b haplotipleri itibarıyla söz konusu *Barbus* türleri arasındaki ikili dizin farklılığı değerleri %1.37-5.77 değerleri arasında değişmektedir (Tablo 4).

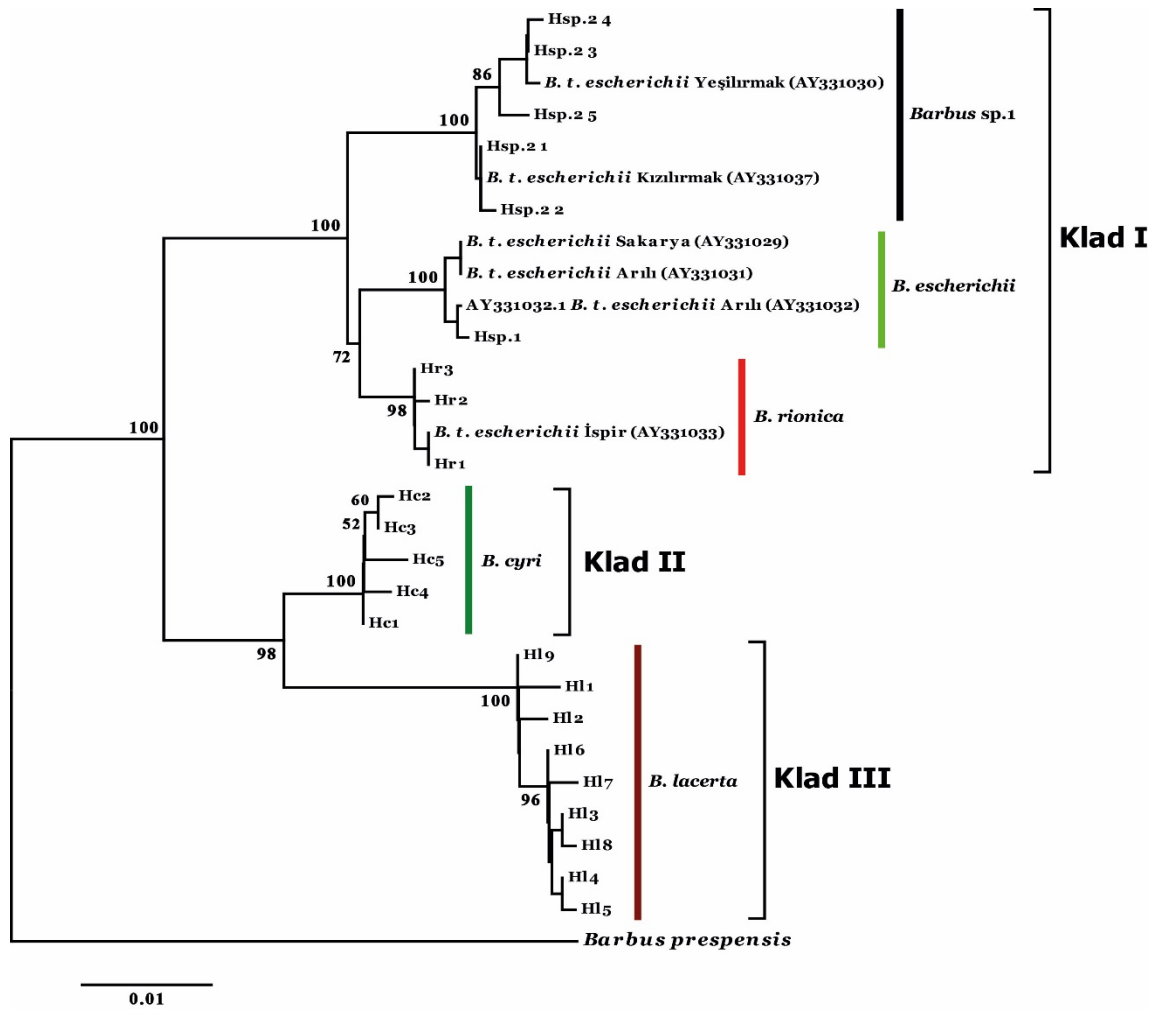
Smith vd., (2002) ve Dowling vd. (2002) tarafından çeşitli sazansı türlerini de içeren fosil verileri ve mitokondri DNA sitokrom b geni nükleotit dizileri yardımıyla oluşturulan ölçek kullanılarak kalibre edilen ve milyon yıl başına % 1'lik dizi farklılığını öngören moleküler saat dikkate alınarak bir hesaplama yapıldığında Anadolu'nun doğusunda dağılım gösteren *Barbus* populasyonları için bu çalışmada belirlenen Hazar, Karadeniz ve Basra havzalarına ait 3 ana kladın ayrılma zamanları 2.9 ile 4.4 milyon yıl öncesi olarak tarihlendirilmiştir. Soy grupları arasındaki ayrılma zamanlarının ise erken Pliyosen- orta Pleyistosen olarak (5.77-1.37 myö) hesaplanmıştır.

Table 6. Anadolu *Barbus* türleri ve tanımlanan soy grupları arasındaki ve içindeki ikili dizi farklılığı değerleri ve tahmini ayrılma zamanları.

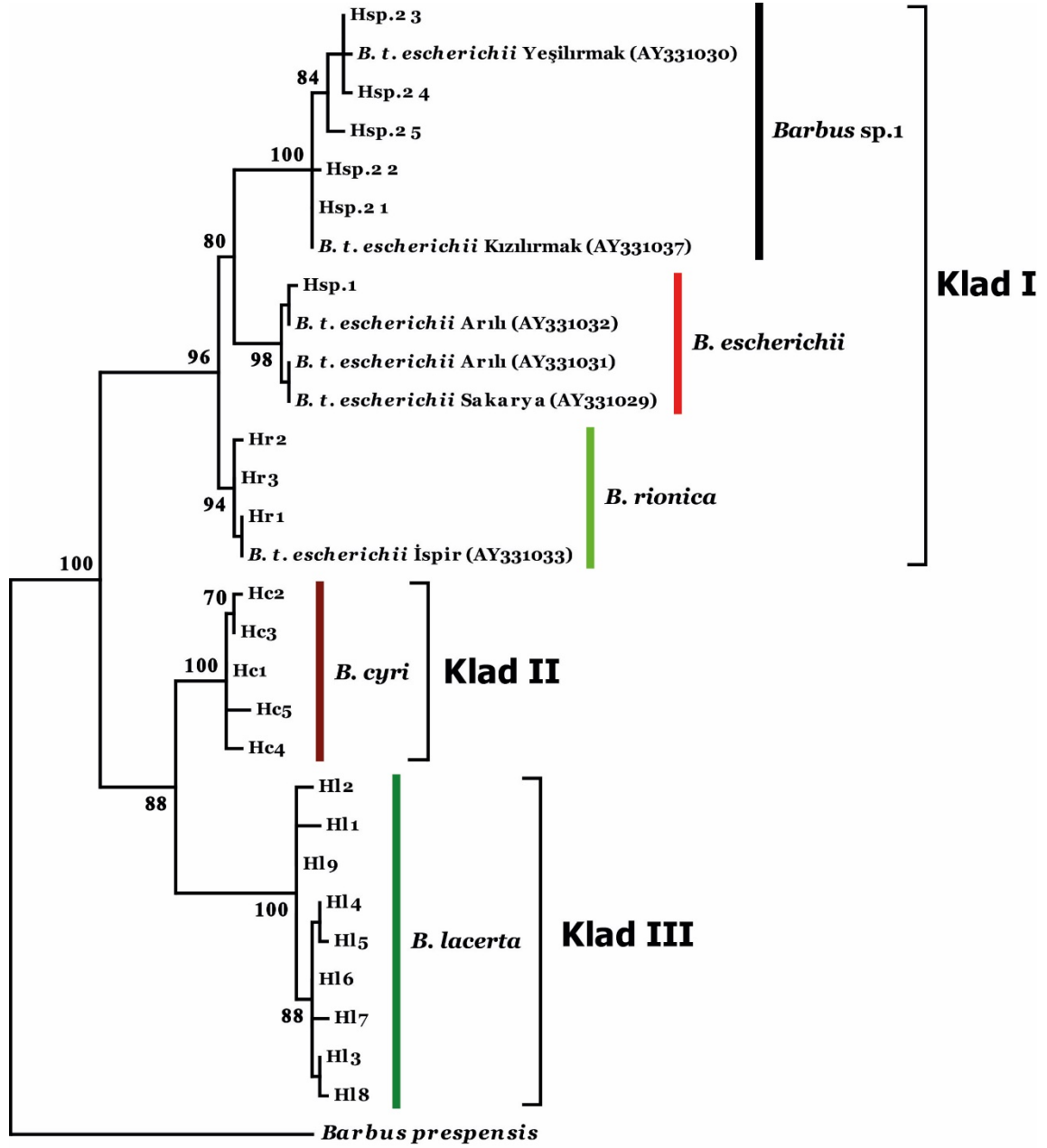
Kladlar	I: Karadeniz			II: Hazar	III: Basra
Soy grupları	A	B	C	D	E
Türler	<i>B. escherichii</i>	<i>Barbus</i> sp.1	<i>B. rionica</i>	<i>B. cyri</i>	<i>B. lacerta</i>
A <i>B. escherichii</i>	<u>0.00±0.00</u>				
B <i>Barbus</i> sp.1	2.18±0.41	<u>0.43±0.16</u>			
C <i>B. rionica</i>	1.37±0.14	1.90±0.54	<u>0.14±0.09</u>		
D <i>B. cyri</i>	4.18±0.22	4.60±0.30	3.34±0.36	<u>0.32±0.12</u>	
E <i>B. lacerta</i>	5.73±0.13	5.77±0.34	4.86±0.32	2.90±0.11	<u>0.40±0.11</u>

Barbus türlerine ait haplotipler arasındaki ilişkiler dış grup olarak *Barbus prespensis* varlığında Kimura's two-parameter (K2P) mesafe modeline (Kimura, 1980) göre MEGA sürüm 6.0 program altında çalıştırılan komşu birleştirme (NJ), maksimum tutumluluk (MP) ve maksimum olasılık (ML) metotları kullanılarak belirlenmiştir (Şekil 4, 5, 6). Her 5 türe ait bireyler kısmi sitokrom b geni itibarıyla *Barbus* cinsi içinde yer almıştır. Komşu birleştirme, maksimum tutumluluk ve maksimum olasılık metotları ile ayrı ayrı oluşturulan filogenetik ağaç topolojilerine bakıldığında öncelikle farklı filogenetik analiz metotlarının her biri için yüksek güvenilirlik değerlerine (NJ: 100, MP: 100, ML: 96) sahip olan 3 ana klad içeren bir topolojinin varlığından söz edilebilir. Şöyle ki I. klad yüksek güvenilirlik değerleri ile (NJ: 100, MP: 96, ML: 96) Karadeniz havzasındaki Kalkandere (A), Kızılırmak-Yeşilirmak (B) ve Çoruh (C) soy gruplarını oluşturan *B. rionica*, *B. escherichii* ve *Barbus* sp.1 haplotiplerini, II. klad yüksek

güvenirlilik değerleri ile (NJ: 100, MP: 100, ML: 98) Hazar havzasındaki Kura-Aras (D) soy grubunu oluşturan *B. cyri* haplotipini, III. Klad ise yine yüksek güvenirlilik değerleri ile (NJ: 100, MP: 100, ML: 100) Basra havzasındaki Fırat-Dicle (E) soy grubunu oluşturan *B. lacerta* haplotiplerini içermektedir. Klad I ve Klad II yine yüksek güvenirlilik değerleri ile (NJ: 98, MP: 88, ML: 86) filogenetik ağaç topolojilerinde konumlanmıştır (Şekil 9, 10, 11).

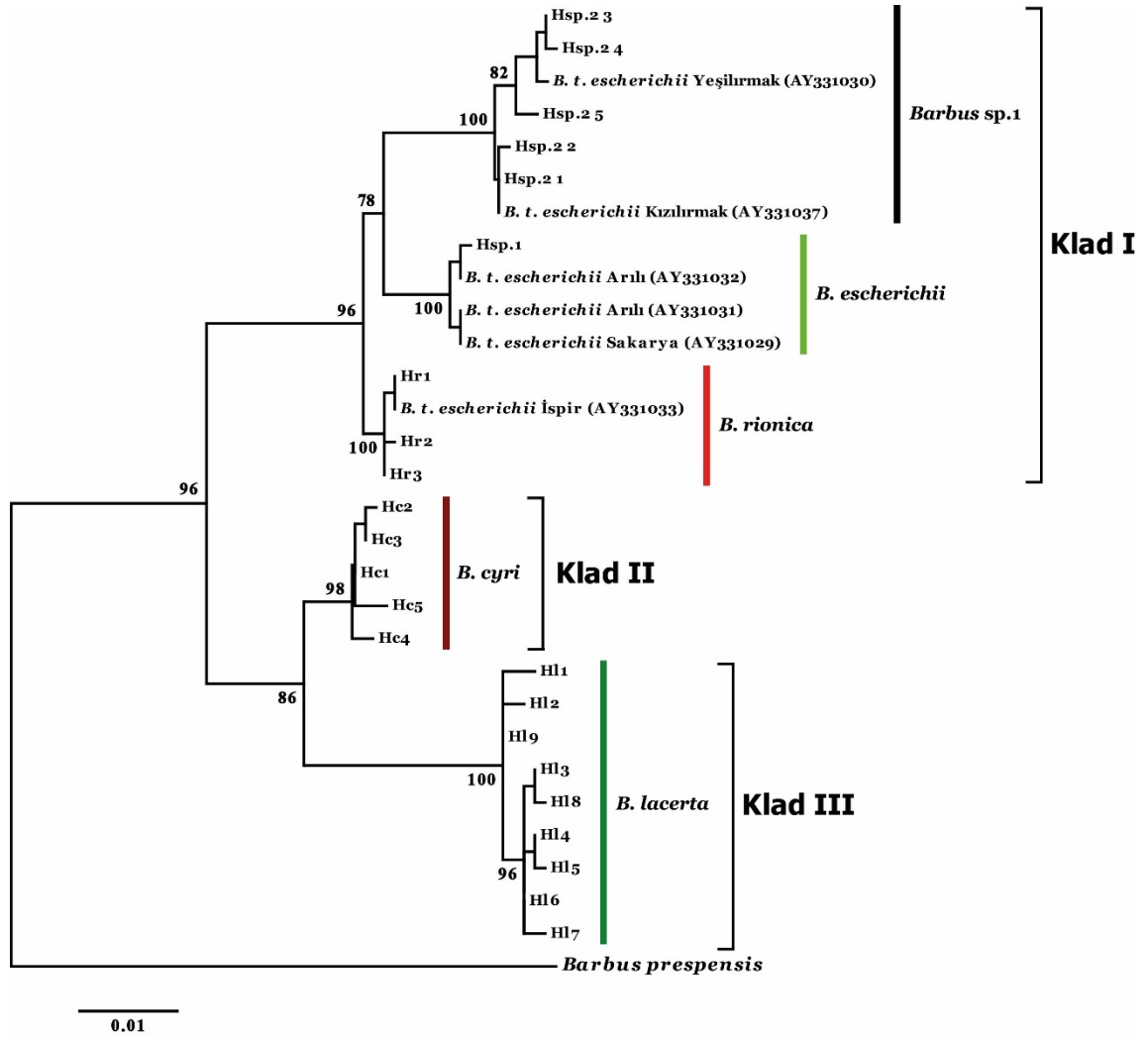


Şekil 9. Mitokondri DNA Cyt b geni dizilerinin NJ metoduna dayalı filogenetik ağaç.



5

Şekil 10. Mitokondri DNA Cyt b geni dizilerinin MP metoduna dayalı filogenetik ağaç.



Şekil 11. Mitokondri DNA Cyt b geni dizilerinin ML metoduna dayalı filogenetik ağaç.

4. TARTIŞMA ve SONUÇLAR

Coğrafik olarak Anadolu'nun doğusunda yer alan 7 farklı nehir sistemindeki 15 farklı *Barbus* popülasyonundan 90 birey için toplamda 23 haplotip tanımlanmıştır (Tablo 3). Muhtemelen az sayıda örnek ile çalışılmış olması nedeniyle sadece 1 haplotip ile temsil edilen *B. escherichii* haricinde tüm türlerin örneklendikleri coğrafik alanının örnekleme büyüklüğüyle orantılı olarak 3-9 adet haplotip ile temsil edildikleri belirlenmiştir (Şekil 3). Avise (1994) tarafından ileri sürülen bir ebeveynden köken alan örneklerin, mtDNA maternal olarak kalıtıldığı için tek bir popülasyona özgü haplotiplere neden olabileceğini görüşü ışığında belirlenen haplotiplerin hiçbiri aynı türün popülasyonları arasında paylaşılmamış olması diğer bir deyişle haplotiplerin popülasyonlara özgü olması *Barbus* türlerine ait popülasyonlar arasında gen akışının olmadığını dolayısıyla bu popülasyonların coğrafik izolasyonunu göstermektedir.

Anadolu'nun doğusundaki nehir havzalarında dağılıma sahip *Barbus* popülasyonlarının sitokrom b geni nükleotit dizilerinin analizi yardımıyla temsil ettikleri türler, dağılım alanları ve taksonomik pozisyonları ortaya konulmuştur. Bu kapsamda tespit edilen *Barbus* sp.1, *B. escherichii*, *B. rionica*, *B. cyri* ve *B. lacerta*, türlerini birbirlerinden kesin bir şekilde ayıran türe özgü nükleotit pozisyonlarının varlığı (Tablo 2) ortaya konulmuştur. Ayrıca sitokrom b geni kısmi dizilerine dayalı genetik çeşitlilik analizleri sadece Kalkandere lokasyonundan örneklendiği ve sadece 1 sitokrom b haplotipi belirlendiği için gerçek çeşitlilik değerleri belirlenememiş olan *Barbus* sp.1 popülasyonu hariç çalışılan *Barbus* türleri için belirlenen yüksek haplotip çeşitlilik ($h=0,760-0,879$) ve düşük nükleotit çeşitlilik değerleri ($\pi=0,214-0,395$) (Tablo 3) kombinasyonu popülasyon darboğazını yani etkili popülasyon büyüklüğünde bir azalmayı takiben yakın tarihli hızlı popülasyon büyümesi ile izah edilebilir. Yüksek haplotip çeşitlilik değeri ($Hd > 0.5$) ve düşük nükleotit çeşitliliğine ($\pi < 0.005$ veya % 0.5) sahip bir popülasyon, şişe boğazı etkisi yaşadığını gösterir (Grant ve Bowen, 1998). Öte yandan, yüksek haplotip çeşitlilik fakat düşük nükleotit çeşitlilik değerleri, popülasyon genişlemesinden sonraki zamanın, mutasyona bağlı haplotip oluşumu için yeterli ancak diziler arasında büyük mutasyonel farklar biriktirmek için yeterince uzun olmadığını göstermektedir (Avise, 2000). Zira, popülasyon darboğazlarının birçok balık popülasyonunda haplotip çeşitliliğinin derecesini ciddi şekilde etkilediği (Billington ve

Hebert, 1991) ve yüksek haplotip/düşük nükleotit çeşitliliğin populasyon darboğazını takiben hızlı nüfus artışı ve mutasyon birikimi izlemesi durumunda ancak birlikte görülebileceği (Avice, 1994; Grant ve Bowen, 1998) gerçeği ışığında Kuvarterner buzullaşması boyunca Ponto-Hazar havzasında yaşayan *Barbus* populasyonlarının darboğaza girmiş olması muhtemeldir. Diğer bir ifadeyle, Anadolu nehirlerindeki gözlenebilir nükleotit çeşitlilik eksikliği, bu bölgelerdeki soy gruplarını temsil eden populasyonların buzul barınaklarında sıkışıp kalmalarını takiben az sayıdaki kurucu bireyden hızlı bir nüfus genişlemesi akla getirmektedir.

Barbus'daki tür içi genetik varyasyonu göstermek için gerçekleştirilen haplotip bağlantı ağı analizi sonucu elde edilen ağaç topolojileri (Şekil 3) incelendiğinde hemen hemen eşit sayıda birey temsil eden birkaç haplotipin 1 veya 2 mutasyonla ile bağlantılı olduğu bir yapılanma tespit edilmiştir. Bu tip haplotip bağlantı ağı göstermektedir ki her bir türe ait farklı nehirler veya populasyonlar birbirlerinden uzun süredir izole oldukları için haplotipler paylaşılmamaktadır. Üstelik NJ, MP ve ML metotlarına dayalı olarak gerçekleştirilen filogenetik analizler sonucu elde edilen benzer topolojilere sahip filogenetik ağaçlarda (Şekil 9-11) bu modeli doğrulamaktadır. Ayrıca genetik mesafelere ve karakterlere dayalı filogenetik analizler ile oluşturulan ağaç topolojileri göstermiştir ki çalışılan *Barbus* haplotipleri monofiletik bir grup oluşturan ve Karadeniz, Hazar ve Basra havzalarından soy gruplarından oluşan üç klad içermektedir. Diğer taraftan haplotipler arasındaki ilişkileri gösteren ve yüksek seç-bağla değerleri (%100-86) (Şekil 9-11) ile desteklenen filogenetik ağaç topolojileri, türlerin dağılım alanları ile uyumlu olduğunu ve türlere ait haplotiplerin belirli bir coğrafik eğilim gösterdiğini ortaya koymuştur.

Geç Miyosen'de (yaklaşık 6.00 Mya) bugünkü Pontidlerin oluşumu (Robinson vd., 1995) ile muhtemelen Geç Miyosen ve erken Pliyosen'de Sakarya, Kızılırmak, Yeşilirmak ve Çoruh gibi büyük Anadolu nehirlerinin bugünkü havzalarını oluşturduğu ileri sürülmektedir (Doğan 2010, 2011; Yıldırım vd., 2011). Bu nedenle Anadolu'nun doğusundaki akarsularda dağılım gösteren *Barbus* populasyonlarının filogenetik analizleri sonucu elde edilen ağaç topolojilerinde (Şekil 9-11) de görülen 3 ana *Barbus* kladı arasındaki genetik ayrımı 3.34-2.9 milyon yıl öncesine (Tablo 5) karşılık gelmesi dikkate değerdir. Çünkü, Karadeniz ve Hazar havzası *Barbus*'ları arasındaki ilişkiyi

görselleştiren hem haplotip ağı ve filogenetik ağaç topolojileri hem de genetik ayrım zamanı (4.18-3.34 myö) açısından ortaya konulan bu nisbi daha yakın genetik ilişki Pliyosen dağ oluşumundan önce Hazar havzası ile Karadeniz drenaj sistemi arasında bir bağlantı olabileceğini (Por ve Dimentman, 1989) ancak bu bağlantının son zamanlarda kesintiye uğradığını akla getirmektedir. Bu hipotez daha önce diğer tatlı su türleri üzerine yapılmış olan çalışmalarda farklı gruplar için de (Naseka ve Bogustkaya, 2009) ortaya atılmıştır. Diğer bir açıklama ise Avrasya buzullarının eriyen suyun boşaltılmasının ardından periyodik olarak Kafkas Dağlarının kuzey yamacında meydana gelen ve günümüzde izole olan Karadeniz ve Hazar Denizleri arasındaki geçici Pleistosen bağlantısı (Arkhipov vd., 2005; Ryan ve Pitman, 2000) olabilir. Diğer taraftan, Pontidlerin oluşumunu takip eden dönemde Doğu Anadolu'nun bugünkü Çoruh, Aras ve Üst Fırat havzalarının kesişme noktası olan bölgenin yükselişinin meydana geldiği (Vasilyan vd, 2014) ve yükselen Doğu Anadolu'daki akarsuların bir kısmının Pliyosen sonları (3.6-2.58 myö) doğru tatlı su balıkları tarafından kolonize edilen paleo Fırat ve Dicle nehirlerine deşarj oldukları (Krupp, 1983; Hrbek vd., 2004) zaman dilimine denk gelmektedir. Çalışmamızda sırasıyla D ve E soy grupları olarak belirlediğimiz Kura-Aras (*B. cyri*) ve Dicle-Fırat haplotipleri (*B. lacerta*) arasındaki genetik mesafe (%2,90±0,11) Aras-Kura ve Dicle-Fırat nehir sistemi arasındaki muhtemel izolasyon hikayesinin desteklemektedir. Anadolu'nun Plio-Pleistosen balık faunasının bugünkü Anadolu ve Mezopotamya balık faunasına oldukça benzer olduğu Anadolu cyprinidlerinin filocoğrafyası konusundaki çalışmasında Böhme vd. (2003) tarafından da ifade edilmiştir.

Barbus genusunun Anadolu popülasyonlarının genetik analizini konu edinen günümüze kadar gerçekleştirilmiş tek çalışmada Kotlik vd., (2004) doğu Karadeniz'e dökülen bazı Anadolu nehirlerini de kapsayacak şekilde Karadeniz havzasından belirledikleri *Barbus* soy grupları arasındaki ayrılma zamanlarını (2.54-0.86 myö) Orta-Geç Pleistosen olarak tarihlendirilmiştir. Bu iddiaları destekleyecek şekilde Anadolu'nun Karadeniz'e dökülen nehirlerinde dağılım gösteren *Barbus* haplotiplerine ait coğrafik-genetik mesafe ilişkilerindeki farklılıklara rağmen belirlediğimiz filocoğrafik yapılanmanın A (*B. escherichii*; Kalkandere), B (*Barbus* sp.1; Yeşilırmak ve Kızılırmak) ve C (*B. rionica*; Çoruh nehri ve kollarında) olmak üzere 3 ayrı soy grubu içerdiğini göstermektedir (Tablo 5). Çalışmamızda belirlediğimiz bu 3 Karadeniz

soy grubu arasındaki ayrılma zamanları (2.18-1.37 myö, Tablo 5) erken-orta Pleyistosen (Gelasian-Calabrian) dönemini işaret etmekte olup Kotlik vd., (2004)'nin bildirdiği soy grupları arasındaki ayrılma zamanları ile uyumlu olduğu söylenebilir.

Ponto-Hazar Bölgesi'ndeki tuzluluk koşullarının dinamik geçmişine bakıldığında özellikle 2.58 milyon yıl önce başlayan Pleyistosen'deki şiddetli çevresel değişikliklerden etkilenen Karadeniz havzasının paleontolojik kayıtları, değişen tuzluluk koşullarına bağlı olarak denizel ve tuzlu/tatlısu faunal toplulukları arasında tekrarlanan değişikliklerin kanıtını sağlamaktadır (Fedorov, 1978; Zubakov, 1988). Boğazlar yoluyla Akdeniz ile bağlantı kurulduğunda Karadeniz'e giren deniz suları bugün olduğu gibi acı su faunası ya yok oldu ya da nehir deltalarına sıkıştı. Bu ardışık düşük tuzluluk dönemleri kıyısız ve nehir ağızlarında bulunan canlılara nehirler arasında dağılma olanağı sağlamış olabilir. Ortamda yaşayan balık taksonlarının yayılma kabiliyeti ve tuzluluk toleransı gibi biyolojik özelliklerinin Karadeniz'in çevresel geçmişine verdiği yanıt doğal olarak bu canlı gruplarının vikaryans ve dağılma senaryolarını şekillendirmiştir. Bu değişimler *Barbus* türleri gibi düşük ve dar bir tuzluluk aralığında yaşayabilen (Stenohalin) (Quigley, 2014) canlıların üzerinde daha da etkili olmuştur. Bu nedenle, *Barbus* populasyonlarından elde edilen filocoğrafik veriler uzak Karadeniz nehirleri arasında gen akışının olmadığını işaret eden genellikle küçük farklar gösterdiği bildirilmiştir (Kotlík vd., 2004). Dolayısıyla çalışmamızdan elde edilen bulgular sayesinde Karadeniz'in erken Pleyistosen'in sonundan bugüne kadar ki tatlı su dönemlerinin Karadeniz'e dökülen akarsulardaki tuzluluk toleransı dar olan *Barbus*'a ait populasyonlar arasında gen akışına imkan sağlamadığı tahmin edilmektedir.

Bu tahminimiz, Kotlik vd. (2004) tarafından ortaya konulan ve Karadeniz *Barbus* populasyonlarının Paleo-Karadeniz'de Orta ve Geç Pleistosen arasındaki tarihsel olaylar nedeniyle derin filocoğrafik farklılaşmalar gösterdiği için farklı atasal kökenlere sahip olduğu ve bölgesel populasyon grupları arasında coğrafya ve göç gibi nedenlerle meydana gelen genotipik farklılığın allopatrik türleşmeye yöneldiği görüşünü desteklemektedir. Dolayısıyla, Doğu Karadeniz *Barbus* soy gruplarının oluşumunu ve günümüzdeki dağılımını şekillendirdiği düşünülen erken/orta Pleyistosen zamanına ait ardışık ve şiddetli çevresel değişiklikler, Ponto-Hazar bölgesinin önemli buzul barınağı

ve kolonizasyon kaynakları arasında yer aldığını ve Karadeniz havzasında yaşayan organizmaların evrimi üzerinde büyük bir etkiye sahip olmalıdır. Zaten bölgenin paleocoğrafik hikayesinin modern popülasyonların kökenine katkıda bulunduklarını ortaya koyan tatlısu kefali (Durand vd., 1999), levrek (Nesbø vd., 1999), kahverengi alabalık (Bernatchez, 2001; Bernatchez ve Osinov, 1995) ve yayın balığı (Triantafyllidis vd., 2002) gibi tatlısu balıkları hakkında giderek artan sayıda filocoğrafik araştırma bulunmaktadır.

Modern Karadeniz *Barbus* soy gruplarının kökenini oluşturduğunu düşündüğümüz *Barbus* popülasyonlarının orta Pleyistosen'den günümüze kadar iklimsel olaylardan kaynaklanan ardışık buzul devirleri gibi ciddi bölgesel/ekolojik değişimlerden fazla etkilenmeden Karadeniz çevresinde birden fazla allopatrik barınakta hayatta kaldıklarını ve birbirlerinden bağımsız olarak evrilerek günümüze ulaştıklarını düşünüyoruz. Bu görüş, son buzul devirleri boyunca Karadeniz ve Kafkas Dağları'na yakın izole filocoğrafik soyların bulunduğu semender (Tarkhnishvili vd., 2000), kurbağa (Gvoždík vd., 2015), benekli kaplumbağa (Fritz vd., 2009) ve kurbağalar (Veith vd., 2003) dahil olmak üzere diğer ılıman türler için de ortaya atılmıştır. Dolayısıyla orta ve son Pleyistosen arasındaki tarihsel olaylar tarafından başlatıldığı ileri sürülen bu filocoğrafik model, muhtemelen çoklu atalara ait popülasyonların allopatrik farklılığını yansıtmaktadır.

5. ÖNERİLER

Ülkemizde biyoçeşitliliğimiz ve gen kaynaklarımızın ortaya konulmasına yönelik çalışmalar geç kalınmış olmakla birlikte gittikçe artan bir hızla gerçekleştirilmektedir. Günümüzde, bu biyoçeşitliliğin önemli bir kısmını oluşturan, ekonomik ve/veya ekolojik anlamda büyük önem arz edebilen ihtiyofaunal çeşitliliğin ortaya konulmasına katkı sağlayan araştırmalar devam etmektedir.

Bu çalışmada, balıklarda filogenetik durum ve populasyon yapısının ortaya konulmasında kullanışlılığı bilimsel olarak kanıtlanmış olan mitokondri sitokrom b geni nükleotit dizilerinin analizi yoluyla Doğu Anadolu'daki *Barbus* türlerinin varlığı, coğrafik dağılımı, genetik teşhisi, genetik çeşitliliği, filocoğrafyası ve filogenetik ilişkileri belirlenmiştir.

Anadolu'nun doğusundaki belli başlı nehir sistemlerini hedefleyen çalışmamızın devamı niteliğinde Türkiye'deki tüm nehir sistemlerinde dağılım gösteren *Barbus* populasyonlarının tespit edilerek geçerli ve olası yeni türlerin tespiti, türlerin coğrafik dağılım haritasının çıkartılması, sınırlarımız içindeki tüm taksonların katılımıyla genusun filocoğrafyası ve filogenetik ilişkileri aydınlatılabilir. Daha ayrıntılı ve geniş ölçekte bir arazi çalışması yapılarak bölgedeki *Barbus* türlerinin dağılım hatırası çıkartılarak bölgenin jeolojik veriler ışığı altında biyocoğrafik hikâyesini yansıtan bir dağılım modelleme çalışması yapılabilir.

Bu anlamda, doğu Karadeniz ve Basra populasyonları içindeki dikkate değer düzeydeki genetik varyasyon nedeniyle bu populasyonları oluşturan *Barbus* örneklerinin taksonomik pozisyonlarının tespiti amacıyla morfolojik olarak incelenmesi gerektiği düşünülmektedir.

Barbus genusundaki tür ve genetik motif mevcudiyetinin belirlenmesi ve mevcut genetik çeşitliliğin korunmasına yönelik koruma alanlarının belirlenmesi gerekmektedir.

KAYNAKLAR

- Arkhipov, S.A., Ehlers, J., Johnson, R.G. and Wright, H.E.Jr., 1995.** Glacial drainages towards the Mediterranean during middle and late Pleistocene. *Boreas*, 24: 196–206.
- Avise, J. C., 1994.** Molecular Markers, Natural History, and Evolution. Chapman & Hall, New York. 511 pp.
- Avise, J.C., 2000.** Phylogeography: The History and Formation of Species. Harvard University Press, Cambridge.
- Balık, S., 1975.** Batı Anadolu Tatlısu Balıklarının Taksonomik Durumu ve Bu Formların Bölgedeki Coğrafik Dağılımı. Tübitak V. Bilim Kongresi, 29 Eylül-2 Ekim 1975, İzmir, pp. 299-313.
- Bandelt, H., Forster, P. and Röhl, A., 1999.** Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular Biology and Evolution*, 16(1), 37–48.
- Baras, E. and Philippart, J.C., 1999.** Adaptive and evolutionary significance of a reproductive thermal threshold in *Barbus barbus*. *Journal of Fish Biology*, 55, 354-375. DOI:10.1111/j.1095-8649.1999.tb00684.x.
- Baras, E. and Cherry, B., 1990.** Seasonal activities of female barbel, *Barbus barbus* (L.) in the River Ourthe (Southern Belgium), as revealed by radio tracking. *Aquatic Living Resources*, 3, 283– 294. DOI: 10.1051/alr:1990029
- Baras, E., 1993.** A biotelemetry study of activity centres exploitation by *Barbus barbus* in the River Ourthe. *Cahiers d'ethologie appliquée*, 3, 173–174.
- Baras, E., 1994.** Constraints imposed by high densities on behavioural spawning strategies in the barbel, *Barbus barbus*. *Folia Zoologica*, 43, 255–266.
- Baras, E., 1995a.** Seasonal activities of *Barbus barbus* L.: Effect of temperature on time-budgeting. *Journal of Fish Biology*, 46, 816–828.
- Baras, E., 1995b.** Thermal related variations of seasonal and daily spawning periodicity in *Barbus barbus*. *Journal of Fish Biology*, 46, 915–917. DOI:10.1111/j.1095-8649.1995.tb01617.x.
- Baras, E., 1997.** Environmental determinants of residence area selection by *Barbus barbus* in the River Ourthe. *Aquatic Living Resources*, 10, 195–206. DOI:10.1051/alr:1997021.
- Baras, E. and Philippart, J.C., 1999.** Adaptive and evolutionary significance of a reproductive thermal threshold in *Barbus barbus*. *Journal of Fish Biology*, 55, 354–375. DOI:10.1111/j.1095-8649.1999.tb00684.x.

- Bernatchez, L., 2001.** The evolutionary history of brown trout (*Salmo trutta*) inferred from phylogeographic, nested clade, and mismatch analyses of mitochondrial DNA variation. *Evolution*, 55, 351–379. DOI:10.1111/j.0014-3820.2001.tb01300.x.
- Bernatchez, L. and Osinov, A., 1995.** Genetic diversity of trout (genus *Salmo*) from its most eastern native range based on mitochondrial DNA and nuclear gene variation. *Molecular Ecology*, 4, 285–29. DOI:10.1111/j.1365-294X.1995.tb00222.x.
- Berrebi, P., 1995.** Speciation of the genus *Barbus* in the North Mediterranean Basin: Recent advances from biochemical genetics. *Biological Conservation*, 72, 237–249.
- Berrebi, P., Kotlik, P., Skelton, P. and Rab, P., 1996.** Systematics of *Barbus*: state of the art and heuristic comments. *Folia Zoologica*, 45, 5-12.
- Berrebi, P. and Tsigenopoulos, C.S., 2003.** Phylogenetic organization of the genus *Barbus* sensu stricto: a review based on data obtained using molecular markers. In: *The Freshwater Fishes of Europe*, 5/II: Cyprinidae 2/II (eds Banarescu P, Bogutskaya NG), pp. 11–22. AULA-Verlag, Wiesbaden.
- Billington, N. and Hebert, P.D.N., 1991.** Mitochondrial DNA diversity in fishes and its implications for introductions. *Canadian Journal Fisheries and Aquatic Sciences*, 48, 80–94. DOI:10.1139/f91-306.
- Bischoff, A. and Freyhof, J., 1999.** Seasonal shifts in day-time resource use of 0+ barbel, *Barbus barbus*. *Environmental Biology and Fisheries*, 56, 199–212.
- Bogutskaya, N.G., Banarescu, P. and Almaça, C., 2003.** *Barbus capito* Cuvier, 1816 in *The freshwater fishes of Europe*. 5. Cyprinidae 2. Part II. *Barbus*. (Banarescu, P.M. & Bogutskaya, N.G. ed)147-162 pp, Aula, Wiesbaden.
- Böhme, M., Reichenbacher, B. and Schulz-Mirbach, T., 2003.** Neogene Süßwasserfischfauna Anatoliens – ein Schlüssel zum Verständnis der (Palaeo-) Biogeographie europäischer Süßwasserfische. *International Symposium of Fisheries and Zoology (In memory of Ord. Prof. Dr. Curt Kosswig in his 100th birth anniversary)*, 23-26 October 2003, Istanbul.
- Britton, J.R., Pegg, J. and Williams, C.F., 2011.** Pathological and ecological host consequences of infection by an introduced fish parasite. *PLoS One*, 6. DOI:10.1371/journal.pone.0026365.
- Carvalho, G.R. and Hauser, L., 1994.** Molecular genetics and the stock concept in fisheries. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 4, 326-350. DOI:10.1007/BF00042908.
- Darriba, D., Taboada, G.L., Doallo, R. and Posada, D., 2012.** ModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Natural Methods*, 9, 772.

- De Leeuw, J.J. and Winter, H.V., 2008.** Migration of rheophilic fish in the large rivers Meuse and Rhine, the Netherlands. *Fisheries Management Ecology*, 15, 409–415. DOI:10.1111/j.1365-2400.2008.00626.x.
- Doadrio, I., 1990.** Phylogenetic relationships and classification of western Palaearctic species of the genus *Barbus* (Osteichthyes, Cyprinidae). *Aquat Living Resources*, 3, 265–282. DOI: 10.1051/alr:1990028.
- Doadrio, I., Carmona, J.A. and Machordom, A., 2002.** Haplotype diversity and phylogenetic relationships among the Iberian barbels (*Barbus*, Cyprinidae) reveal two evolutionary lineages. *Journal of Heredity*, 93, 140–147. DOI: 10.1093/jhered/93.2.140.
- Doadrio, I. and Carmona, J.A., 2004.** Phylogenetic relationships and biogeography of the genus *Chondrostoma* inferred from mitochondrial DNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolutions*, 33, 802–815. DOI: 10.1016/j.ympev.2004.07.008.
- Doğan, U., 2010.** Fluvial response to climate change during and after the Last Glacial Maximum in Central Anatolia, Turkey. Elsevier, *Quaternary International*, 222: 221–229.
- Doğan, U., 2011.** Climate-controlled river terrace formation in the Kızılırmak Valley, Cappadocia section, Turkey: Inferred from Ar–Ar dating of Quaternary basalts and terraces stratigraphy. *Geomorphology*, 126: 66–81. DOI: 10.1016/j.geomorph.2010.10.028
- Dowling, T.E., Tibbets, C., Minckley, W.L. and Smith, G.R., 2002.** Evolutionary Relationships of the Plagopterins (Teleostei: Cyprinidae) from Cytochrome b Sequences. *Copeia*, 3, 665–678.
- Durand, J.D., Persat, H. and Bouvet, Y., 1999.** Phylogeography and post-glacial dispersion of the chub (*Leuciscus cephalus*) in Europe. *Molecular Ecology*, 8, 989– 997. DOI: 10.1046/j.1365-294x.1999.00654.x.
- Durand, J.D., Bianco, P.G., Laroche, J. and Gilles, A., 2003.** Insight into the origin of endemic Mediterranean ichthyofauna—Phylogeography of *Chondrostoma* genus (Teleostean, Cyprinidae). *Journal of Heredity*, 94, 315–328. DOI: 10.1093/jhered/esg062.
- Edwards, A.W.F., 1972.** *Likelihood*, Cambridge: Cambridge University Press, UK.
- Erk’akan, F., 1981.** Sakarya havzası balıklarının (Pisces) sistematığı ve biyo-ekolojik ilişkileri üzerine araştırmalar Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Ankara, 144 s.
- Fedorov, P.V., 1978.** Pleistotsen Ponto-Kaspiya. Moscow.
- Frank, K.T., Petrie, B., Choi, J.S. and Leggett, W.C., 2005.** Trophic cascades in a formerly cod-dominated ecosystem. *Science*, 308(5728), 1621-1623.

- Fritz, U., Ayaz, D., Hundsdörfer, A., Kotenko, T., Guicking, D., Wink, M., Tok, C.V., Çiçek, K. and Buschbom, J., 2009.** Anatolia and The Ponto-Caspian Region: Multiple Old Refuges, Hotspot of Extant Diversification and Critically Endangered Endemics. *Organisms, Diversity and Evolution*, 9(2): 100-114. DOI: 10.1016/j.ode.2009.02.002.
- Grant, W.S. and Bowen, B.W., 1998.** Shallow population histories in deep evolutionary lineages of marine fishes: Insights from sardines and anchovies and lessons for conservation. *Journal of Heredity*, 89, 415–427.
- Gvoždík, V., Canestrelli, D., García-París, M., Moravec, J., Nascetti, G., Recuero, E., Teixeira, J. and Kotlík, P., 2015.** Speciation history and widespread introgression in the European short-call tree frogs (*Hyla arborea* sensu lato, *H. intermedia* and *H. sarda*). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 83, 143-155.
- Hall, T.A., 1999.** BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*, Vol. 41, 95-98.
- Hancock, R.S., Jones, J.W. and Shaw, R., 1976.** A preliminary report on the spawning behaviour and nature of sexual selection of barbel, *Barbus barbus*. *Journal of Fish Biology*, 9, 21–28. DOI: 10.1111/j.1095-8649.1976.tb04658.x
- Hrbek, T., Stölting, K.N., Bardakci, F., Kucuk, F., Wildekamp, R.H. and Meyer, A., 2004.** Plate tectonics and biogeographical patterns of *Pseudophoxinus* (Pisces: Cypriniformes) species complex of central Anatolia, Turkey. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 32, 297-308.
- Hsü, K.J., Ryan, W.B.F. and Cita, M.B., 1973.** Late Miocene desiccation of the Mediterranean. *Nature*, 242, 240–244. DOI: 10.1038/242240a0
- Huelsenbeck, J.P. and Ronquist, F., 2001.** MRBAYES: Bayesian inference of phylogeny. *Bioinformatics*, 17, 754-755. DOI: 10.1093/bioinformatics/17.8.754
- Huet, M., 1949.** Aperçu des relations entre la pente et les populations piscicoles des eaux courantes [Overview of the relationship between the slope and fish populations in streams]. *Schweizerische Zeitschrift Fur Hydrologie*, 11, 333–351. DOI 10.1007/s00027-011-0224-5
- Hunt, P. C. and Jones, J.W., 1975.** A population study of *Barbus barbus* L. in the River Severn, England. *Journal of Fish Biology*, 7, 361–376. DOI:10.1111/j.1095-8649.1975.tb04611.x
- Kaminski, R., Kamler, E., Wolnicki, J., Sikorska, J. and Walowski, J., 2010.** Condition, growth and food conversion in barbel, *Barbus barbus* (L.) juveniles under different temperature/diet combinations. *Journal of Thermal Biology*, 35, 422–427. DOI: 10.1080/ 10641262.2011.599886

- Kannan, L. and Wheeler, W.C., 2012.** Maximum parsimony on phylogenetic networks. *Algorithms for Molecular Biology* 7 (1), 1. DOI: 10.1186/1748-7188-7-9
- Karaman, M. S., 1971.** Süßwasserfische der Türkei. 8. Teil: Revision der Barben Europas, Vorderasiens und Nordafrikas. *Mitteilungen aus dem Hamburgischen Zoologischen Museum und Institut* 67: 175-254.
- Kimura, M. A., 1980.** Simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal Molecular Evolution*, 16(2), 111-20. DOI:10.1007/BF01731581
- Kotlik, P. and Berrebi, P., 2001.** Phylogeography of the barbel (*Barbus barbus*) assessed by mitochondrial DNA variation. *Molecular Ecology*, 10, 2177–2185. DOI:10.1046/j.0962-1083.2001.01344.x
- Kotlik, P., Bogutskaya, G. and Ekmekçi, F.G., 2004.** Circum Black Sea phylogeography of *Barbus* freshwater fishes: divergence in the Pontic glacial refugium. *Molecular Ecology*, 13, 87-95. DOI:10.1046/j.1365-294X.2003.02021.x
- Kottelat, M. and Freyhof, J., 2007.** Handbook of European freshwater fishes. Kottelat, Cornol & Freyhof, Berlin, xii+660 pp.
- Krupp, F., 1983.** Freshwater fishes of Saudi Arabia and adjacent regions of the Arabian peninsula. *Fauna of Saudi Arabia* 5, 568-636.
- Kuru, M., 1975.** Dicle-Fırat, Kura-Aras, Van Gölü Karadeniz Havzası Tatlısularında Yaşayan Balıkların (Pisces) Sistematik ve Zoocoğrafik Yönden İncelenmesi (Doçentlik Tezi), Atatürk Üniv., Fen Fak., Erzurum, 180s.
- Kuru, M., 2004.** Recent Systematic Status of Inland Fishes of Turkey. *Gazi Üniversitesi, Gazi Eğitim Fakültesi Dergisi* 24(3),1-21.
- Kutrup, B., 1994.** Trabzon yöresindeki tatlısu balıklarının taksonomik ve ekolojik yönden incelenmesi Doktora Tezi. Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon, 64 s.
- Lelek, A., 1987.** The Freshwater Fishes of Europe, Vol. 9: Threatened Fishes of Europe. Wiesbaden: AULA-Verlag.
- Lewis, P.O., 1998.** A genetic algorithm for maximum-likelihood phylogeny inference using nucleotide sequence data. *Molecular Biology Evolution*, 15(3), 277-283.
- Li, W.H., 1997.** *Molecular Evolution*, Sinauer Associates, Sunderland Massachusetts.
- Librado, P. and Rozas, J., 2009.** DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics* 25, 1451-1452. DOI: 10.1093/bioinformatics/btp187

- Lucas, M.C. and Batley, E., 1996.** Seasonal movements and behaviour of adult barbel *Barbus barbus*, a riverine cyprinid fish: Implications for river management. *Journal of Applied Ecology*, 33, 1345–1358.
- Machordom, A., Doadrio, I., 2001.** Evidence of a Cenozoic Betic–Kabilian connection based on freshwater fish phylogeography (*Luciobarbus*, Cyprinidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 18, 252–263. DOI: 10.1006/mpev.2000.0876
- Maitland, P.S. and Campbell, R.N., 1992.** *Freshwater Fishes of the British Isles*. London: HarperCollins Publishers.
- McCarthy, M.A., 2007.** *Bayesian Methods for Ecology*. Cambridge University Press, Cambridge. DOI:10.1017/CBO9780511802454
- Mills, C.A., 1991.** Reproduction and life history, pp. 483–508. In: *Cyprinid Fishes: Systematics, Biology and Exploitation* (Winfield, I. J., and J. S. Nelson, Eds.). London: Chapman and Hall.
- Naseka, A.M. and Bogutskaya, N.G., 2009.** Fishes of the Caspian Sea: zoogeography and updated check-list. *Zoosystematica Rossica*, 18(2), 295–317.
- Nei, M., Tajima, F., 1981.** DNA polymorphism detectable by restriction endonucleases. *Genetics*, 97(1), 145–63.
- Nei, M., 1987.** *Molecular Evolutionary Genetics*. New York: Columbia University Press. 512 pp. DOI:10.1002/ajpa.1330750317.
- Nesbø, C.L., Fossheim, T., Vollestad, L.A. and Jakobsen, K.S., 1999.** Genetic divergence and phylogeographic relationships among European perch (*Perca fluviatilis*) populations reflect glacial refugia and postglacial colonization. *Molecular Ecology*, 8, 1387–1404. DOI: 10.1046/j.1365-294x.1999.00699.x.
- Ovidio, M., Parkinson, D., Philippart, J.C. and Baras, E., 2007.** Multiyear homing and fidelity to residence areas by individual barbel (*Barbus barbus*). *Belgium Journal of Zoology*, 13: 183–190.
- Ödeen, A., 2001.** Effects of post-glacial range expansions, *Acta Universitatis Upsaliensis*, Uppsala.
- Penaz, M. and Stouracova, I., 1991.** Effect of hydroelectric development on population dynamics of *Barbus barbus* in the River Jihlava. *Folia Zoologica*, 40, 75–84.
- Penaz, M., Barus, V., Prokes, M. and Homolka, M., 2002.** Movements of barbel, *Barbus barbus* (Pisces: Cyprinidae). *Folia Zoologica*, 5, 55–66.
- Persat, H. and Berrebi, P., 1990.** Relative ages of present populations of *Barbus barbus* and *Barbus meridionalis* (Cyprinidae) in southern France: Preliminary consideration. *Aquatic Living Resources*, 3, 253–263.

- Poncin, P., 1992.** Influence of the daily distribution of light on reproduction in the barbel, *Barbus barbus* (L.). *Journal of Fish Biology*, 41, 993–997.
- Por, F.D., Dimentman, C., 1989.** The Legacy of Tethysian Aquatic Biogeography of the Levant. In: *Monographiae Biologiae* (Dumont H.J. & Wergel M.J.A., eds.): 63 : xi + 214 p. Kluster Academic Publishers, Dordrecht.
- Robinson, A.G., Banks, C.J., Hirst, J.P.P. and Rutherford, M.M., 1995.** Stratigraphic and structural development of the Eastern Pontides, Turkey, *Journal of Geological Society*, 152, 861-872.DOI: 10.1144/gsjgs.152.5.0861.
- Ryan, W.B.F. and Pitman, W.C., 2000.** Noah's Flood: The New Scientific Discoveries About the Event That Changed History. Simon & Schuster, London.
- Saitou, N. and Nei, M., 1987.** The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology Evolution*, 4, 406–25.
- Smith, G.R., Dowling, T.E., Gobalet, K.W., Lugaski, T., Shiazawa, D. and Evans, R.P., 2002.** Biogeography and timing of evolutionary events among Great Basin fish. Pp. 175–234 in R. Hershler, D. B. Madsen, and D. R. Currey, eds. *Great Basin aquatic systems history*. Smithsonian Contr. Earth Sci., Washington, DC. 33, 405.
- Swofford, D.L., 1998.** PAUP* 4.0: Phylogenetic Analysis Using Parsimony (and Other Methods). Sinauer Associates, Sunderland, MA.
- Quigley, D.T.G., 2014.** Did melting ice sheets create temporary low-salinity corridors that facilitated the natural colonization of Ireland by stenohaline fishes? In: Sleeman, D.P., Carlsson, J. and Carlsson, J.E.L. *Mind the Gap II: new insights into the Irish postglacial*. Irish Naturalists' Journal, Belfast.
- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A. and Kumar, S., 2013.** MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0. *Molecular Biology Evolution*, 30, 2725–9 DOI:10.1093/molbev/mst197.
- Tarkhnishvili, D.N., Thorpe, R.S. and Arntzen, J.W., 2000.** Pre-Pleistocene refugia and differentiation between populations of the Caucasian salamander (*Mertensiella caucasica*). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 14, 414 – 422. DOI:10.1006 /mpev.1999.0718
- Taylor A.A., Britton J.R. and Cowx I.G., 2004.** Does the stock density of stillwater catch and release fisheries affect the growth performance of introduced cultured barbel ? *Journal of Fish Biology*, 65, 308-313. DOI:10.1111/j.1095-8649.2004.00548.x
- Thompson, J.D., Gibson, T.J., Plewniak, F., Jeanmougin, F. and Higgins, D.G., 1997.** The CLUSTAL_X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Research*, 25, 4876-4882. DOI:10.1093/nar/25.24.4876.

- Triantafyllidis, A., Krieg, F., Cottin, C., Abatzopoulos, T.J., Triantafyllidis, C. and Guyomard, R., 2002.** Genetic structure and phylogeography of European catfish (*Silurus glandis*) populations. *Molecular Ecology*, 11, 1039-1055.
- Tsigenopoulos, C.S. and Berrebi, P., 2000.** Molecular phylogeny of North Mediterranean freshwater barbs (genus *Barbus*, Cyprinidae) inferred from cytochrome b sequences: biogeographic and syystematic implicationjs. *Molecular Phylogenetic and Evolution*, 14, 165-179. DOI:10.1006/mpev.1999.0702
- Tsigenopoulos, C.S., Kotlík, P. and Berrebi, P., 2002.** Biogeography and pattern of gene flow among *Barbus* species (Teleostei: Cyprinidae) inhabiting the Italian Peninsula and neighbouring Adriatic drainages as revealed by allozyme and mitochondrial sequence data. *Biological Journal of the Linnean Society*, 75, 83–99.
- Turan, D., 2003.** Rize ve Artvin yöresindeki tatlısu balıklarının sistematik ve ekolojik yönden araştırılması Doktora Tezi. Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir, 179 pp.
- Turan, D., Ekmekçi, F.G., İlhan, A. and Engin, S., 2008.** *Luciobarbus kottelati*, a new species of barbel (Teleostei: Cyprinidae) from the Büyük Menderes River, Turkey, with rediagnose of *L. lydianus*. *Zootaxa*, 1824, 35-44.
- Turan, D., Kottelat, M. and Ekmekçi, F.G., 2009.** *Barbus niluferensis*, a new species of barbel (Teleostei: Cyprinidae) from Nilüfer River, Turkey, with re-description of *B. oligolepis*, *Zootaxa*, 1981, 15–28.
- URL-1, 2017.** http://www.nature.com/scitable/content/ne0000/ne0000/ne0000/ne0000/61848/10.1038_nrg1606-f1b_full.jpg (10 Temmuz 2017)
- URL-2, 2017.** <http://www.iucnredlist.org/search> (6 Temmuz 2017)
- URL-3, 2017.** <http://bioinfo.ut.ee/primer3-0.4.0/primer3/> (6 Temmuz 2017)
- URL-4, 2017.** <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi> (6 Temmuz 2017)
- URL-5, 2017.** <http://popart.otago.ac.nz>. (6 Temmuz 2017)
- Vasilyan, D., Schneider, S., Bayraktutan, M.S. and Sen, S., 2014.** Early Pleistocene freshwater communities and rodents from the Pasinler Basin (Erzurum Province, northeastern Turkey). *Turkish Journal of Earth Sciences*, 23, 293-307. DOI:10.3906/yer-1307-16.
- Veith, M., Schmidtler, J. F., Kosuch, J., Baran, I. and Seitz, A., 2003.** Palaeoclimatic changes explain Anatolian mountain frog evolution: a test for alternating vicariance and dispersal events. *Molecular Ecology*, 12, 185 –199. DOI:10.1046/j.1365-294X.2003.01714.x.

- Witeska, M., Bilska, K. and Sarnowski, P., 2010.** Effects of copper and cadmium on growth and yolk utilization in barbel (*Barbus barbus* L.) larvae. Polish Journal of Environmental Studies, 19, 227–230.
- Yıldırım, C., Schildgen, T.F., Echtler, H., Melnick, D. and Strecker, M.R., 2011.** Late Neogene orogenic uplift in the Central Pontides associated with the North Anatolian Fault - implications for the northern margin of the Central Anatolian Plateau, Turkey, Tectonics 30, TC5005.
- Zubakov, V.A., 1988.** Climatostratigraphic scheme of the Black Sea Pleistocene and its correlation with the oxygen-isotope scale and glacial events. Quaternary Research, 29, 1–24. DOI:10.1016/0033-5894(88)90067-1.



ÖZGEÇMİŞ

Hayriye MELEK 14/03/1985 tarihinde Antalya'nın Alanya ilçesinde doğdu. İlk ve orta öğrenimini Jülide Akça İlköğretim Okulu'nda ve liseyi Ayşe Melahat Erkin Anadolu Lisesi'nde tamamladı. 2005 yılında başladığı lisans eğitimini 2009 yılında Rize Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesinde tamamladı. 2012 yılında Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Anabilim Dalı'nda başladığı yüksek lisans öğrenimini halen devam ettirmektedir.

