

DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**TÜRKİYE'DEKİ PARTENOGENETİK
KERTENKELE TÜRLERİNDE (*Darevskia*
ARRIBAS, 1997) DNA BARKODLAMA YÖNTEMİ
KULLANARAK GENETİK ÇEŞİTLİLİĞİN
ARAŞTIRILMASI**

Sevdenur ABLAY

Kasım, 2023

İZMİR

**TÜRKİYE'DEKİ PARTENOGENETİK
KERTENKELE TÜRLERİNDE (*Darevskia*
ARRIBAS, 1997) DNA BARKODLAMA YÖNTEMİ
KULLANARAK GENETİK ÇEŞİTLİLİĞİN
ARAŞTIRILMASI**

Dokuz Eylül Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü

Yüksek Lisans Tezi

Biyoloji Anabilim Dalı

Sevdenur ABLAY

Kasım, 2023

İZMİR

YÜKSEK LİSANS TEZİ SINAV SONUÇ FORMU

SEVDENUR ABLAY, tarafından PROF. DR. ÇETİN ILGAZ yönetiminde hazırlanan “TÜRKİYE’DEKİ PARTENOGENETİK KERTENKELE TÜRLERİNDE (*Darevskia ARRIBAS*, 1997) DNA BARKODLAMA YÖNTEMİ KULLANARAK GENETİK ÇEŞİTLİLİĞİN ARAŞTIRILMASI” başlıklı tez tarafımızdan okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Çetin ILGAZ

Danışman

Prof. Dr. Aziz AVCI

Jüri Üyesi

Doç. Dr. Kamil CANDAN

Jüri Üyesi

Prof. Dr. Okan FISTIKOĞLU

Müdür

Fen Bilimleri Enstitüsü

TEŞEKKÜR

Bu araştırma konusunu bana veren ve çalışmalarım süresince bilgi ve deneyimini esirgemeyen sayın danışman hocam Prof. Dr. Çetin ILGAZ'a sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Gerek materyal teminindeki katkıları gerekse laboratuvar ve analiz çalışmalarım esnasında bana sürekli yardım eden ve yol gösteren, laboratuvar tecrübelerini aktaran kıymetli hocam Doç. Dr. Kamil CANDAN'a çok teşekkür ederim.

Çalışmada kullanılan kertenkele örneklerinin teminindeki katkılarından dolayı değerli hocalarım Prof. Dr. Yusuf KUMLUTAŞ'a, Prof. Dr. Mehmet Zülfü YILDIZ'a ve Dr. Öğretim Üyesi Bahadır AKMAN'a teşekkür ederim.

Bu tez çalışmasını FYL-2022-2573 kodlu BAP projesi ile destekleyen Dokuz Eylül Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Proje Birimine teşekkür ederim.

Sevdenur ABLAY

**TÜRKİYE’DEKİ PARTENOGENETİK KERTENKELE
TÜRLERİNDE (*Darevskia ARRIBAS*, 1997) DNA BARKODLAMA YÖNTEMİ
KULLANARAK GENETİK ÇEŞİTLİLİĞİN ARAŞTIRILMASI**

ÖZ

DNA barkodlama çalışmaları, mitokondriyal DNA’nın ağır zincir olarak adlandırılan bölgesinde bulunan sitokrom oksidaz altünite 1 (*COI*) geninin barkod gen olarak bilinen Folmer bölgesi ile gerçekleştirilir. Barkodlama çalışmaları popülasyon genetiği, filogenetik çalışmalar ve türlerin ayırt edilmesinde kullanılan oldukça etkili ve güvenilir bir yöntemdir. Bu çalışmada, DNA barkodlama çalışmaları ile türleri ayırt etmede barkodlama çalışmalarının güvenilirliğini test etmek ve genetik çeşitliliği ile soy akrabalığı belirlenmek amaçlanmıştır. *Darevskia* cinsinin 5 partenogenetik kertenkele türüne ait ve Türkiye’den 19 lokaliteden toplanılan 43 örnek, *COI* geni kullanılarak analiz edilmiştir. Analizlerde kullanılan veri setinin toplamda 4 farklı haplotip içerdiği tespit edilmiştir. Tespit edilen haplotiplerden biri *D. armeniaca* türünü temsil ederken, diğer iki haplotip dikkate alındığı zaman, *D. bendimahiensis* ile *D. sapphirina* ve *D. unisexualis* ile *D. uzzelli* türlerinin aynı haplotipi paylaştıkları görülmektedir. Son olarak Horasan, Erzurum civarında yayılış gösteren *D. unisexualis* türüne ait bir popülasyon da ayrı bir haplotip olarak görülmektedir. Türler arasındaki filogenetik yapılandırmayı oluşturmak için gen ağacı (*Neighbor-Joining*, *Maximum Likelihood* ve *Bayesian Inference*) analizleri gerçekleştirilmiştir. Filogenetik analizler sonucunda 3 monofiletik grubun varlığını destekleyen benzer ağaç topolojileri oluşmuştur. Bunlardan biri *D. armeniaca* türünü temsil ederken, diğer ikisinde sırasıyla *D. uzzelli* ile *D. unisexualis* ve *D. sapphirina* ile *D. bendimahiensis* türlerinin aynı soy hattını paylaştıkları görülmüştür. Mevcut soy hatlarının bir türü temsil etme potansiyellerini test etmek için tür ağacı analizleri (ABGD, bPTP, mPTP, GMYC ve TCS) gerçekleştirilmiştir. ABGD, bPTP ve TCS analizlerinin sonucunda 3 monofiletik grup olduğu görülmüştür. Bu analizlerin sonuçları mevcut grup içerisinde tespit edilen 3 monofiletik soy hattının ayrı türler olması gerektiğini göstermiştir. Elde edilen tüm sonuçlar içinde öne çıkan en önemli bulgulardan birisi halihazırda farklı taksonlar

oldukları kabul gören türlerden *D. bendimahiensis* ile *D. sapphirina* ve *D. unisexualis* ile *D. uzzelli* türlerinin aynı türler olarak kabul edilmesi durumudur.

Anahtar kelimeler: DNA barkodlama, *COI*, partenogenetik, genetik uzaklık, *Darevskia*, Türkiye.




**RESEARCH ON GENETIC DIVERSITY OF THE PARTHENOGENETIC
LIZARD SPECIES (*Darevskia ARRIBAS*, 1997) IN TÜRKİYE BY USING DNA
BARCODING METHOD**

ABSTRACT

DNA barcoding studies are conducted with the *COI* (cytochrome oxidase subunit 1) gene, located in the heavy chain region of mitochondrial DNA, known as the barcode gene's Folmer region. Barcoding studies are a highly effective and reliable method used in population genetics, phylogenetic studies, and species differentiation. In this study, the reliability of barcoding studies in species identification and the determination of genetic diversity and kinship was tested. This study aimed to assess the reliability of barcode studies in species differentiation using DNA barcoding and to determine genetic diversity and lineage relationships. For this purpose, 43 specimens of five parthenogenetic *Darevskia* species from 19 localities in Turkey were analyzed using the *COI* gene. It was determined that the data set used in the analyzes contained 4 different haplotypes in total. While one of the detected haplotypes represents the *D. armeniaca*, when the other two haplotypes are taken into consideration, it is seen that *D. bendimahiensis* and *D. sapphirina* and *D. unisexualis* and *D. uzzelli* share the same haplotype. Finally, a population belonging to the *D. unisexualis* distributed around Horasan, Erzurum is also seen as a separate haplotype. The results of this study showed that *D. bendimahiensis* and *D. sapphirina*, known to be closely related species, exhibited a close genetic relationship, while the DNA barcodes of *D. armeniaca* were found to be unique to itself and not shared with any other species. Samples of *D. unisexualis* and *D. uzzelli*, which are not known to be closely related, showed branching on the same branch in this study. Phylogenetic analyses (*Neighbor-Joining*, *Maximum Likelihood* ve *Bayesian Inference*) were performed to construct the phylogenetic structure among the species. The phylogenetic analysis resulted in the formation of similar tree topologies that support the presence of three monophyletic groups. One of these represents the *D. armeniaca*, while in the other two, *D. unisexualis* is sharing the same lineage with *D. uzzelli* and *D. bendimahiensis* is sharing the same lineage with *D. sapphirina*, respectively. To test

the potential of the current lineages representing a species, species tree analyses (ABGD, bPTP, mPTP, GMYC and TCS) were performed. The results of ABGD, bPTP, and TCS analyses revealed the formation of three monophyletic groups. The outcomes of these analyses indicated that the three monophyletic lineages identified within the existing group should be considered as separate species. One of the most important findings among all the results obtained is the acceptance of *D. bendimahiensis* with *D. sapphirina* and *D. unisexualis* with *D. uzzelli*, which are currently recognized as different taxa, as the same species.

Keywords: DNA barcoding, *COI*, parthenogenetic, genetic distance, *Darevskia*, Türkiye.



İÇİNDEKİLER

	Sayfa
YÜKSEK LİSANS TEZİ SINAV SONUÇ FORMU	ii
TEŞEKKÜR	iii
ÖZ	iv
ABSTRACT	vi
ŞEKİLLER LİSTESİ	xi
TABLolar LİSTESİ	xiii
SEMBOLLER LİSTESİ	xiv
KISALTMALAR	xv
BÖLÜM BİR - GİRİŞ	1
1.1 DNA Barkodlama Nedir?	1
1.1.1 Barkodlama Çalışmalarının Avantajları	2
1.1.2 Barkodlama Çalışmalarında Karşılaşılan Zorluklar	3
1.1.3 Barkodlama Çalışmalarında Kullanılan Genler	4
1.1.3.1 rDNA'yı Kodlayan Mitokondriyal Genlerin Barkodlama Çalışmalarındaki Dezavantajı	4
1.1.4 Mitokondriyal DNA (mtDNA) mı Çekirdek DNA'sı (nDNA) mı?	5
1.2 Hayvanlarda DNA Barkodlaması	6
1.2.1 Mitokondri ve mitokondriyal DNA	6
1.2.2 DNA Barkodu: <i>COI</i> Geni	6
1.2.2.1 <i>COI</i> Geninin Avantajları	9
1.2.2.2 Barkodlama Açıklığı	10

1.3 <i>COI</i> Geni ile Yapılan Barkodlama Çalışmaları	11
1.3.1 Dünya Genelinde Yapılan Barkodlama Çalışmaları.....	11
1.3.2 Türkiye Genelinde Yapılan Barkodlama Çalışmaları.....	15
1.4 <i>CBOL</i> (<i>Consortium for the Barcode of Life</i> , Hayatın Barkodu Konsorsiyumu)	20
1.5 <i>IBOL</i> (<i>International Barcode of Life</i> , Uluslararası Yaşam Barkodu Projesi).....	20
1.6 <i>BOLD</i> (<i>Barcode of Life Data System</i> , Yaşam Veri Sisteminin Barkodu)...	20
1.7 <i>Darevskia Arribas</i> ,1997	21
BÖLÜM İKİ - MATERYAL VE METOT	27
2.1 Türlerin Sistemik Durumu	27
2.2 Türlerin Morfolojik, Ekolojik ve Biyolojik Özellikleri.....	28
2.2.1 <i>Darevskia armeniaca</i> (<i>Mehely, 1909</i>) (<i>Hemşin Kertenkelesi</i>)	28
2.2.2 <i>Darevskia bendimahiensis</i> (<i>Schmidtler, Eiselt & Darevsky, 1994</i>) (<i>Bendimahi Kertenkelesi</i>).....	29
2.2.3 <i>Darevskia sapphirina</i> (<i>Schmidtler, Eiselt & Darevsky, 1994</i>) (<i>Van kertenkelesi</i>).....	30
2.2.4 <i>Darevskia unisexualis</i> (<i>Darevsky, 1966</i>) (<i>Ağrı Kertenkelesi</i>)	32
2.2.5 <i>Darevskia uzzelli</i> (<i>Darevsky & Danielyan, 1977</i>) (<i>Uzzel Kertenkelesi</i>)..	33
2.3 Örneklerin Temini	34
2.4 Laboratuvar Çalışması	36
2.4.1 Moleküler Analizler.....	36
2.4.1.1 DNA izolasyonu.....	37
2.4.1.2 Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR).....	38
2.4.1.3 Filogenetik Analizler.....	39

2.5 Barkodlama Analizi.....	41
BÖLÜM ÜÇ - BULGULAR	42
BÖLÜM DÖRT - TARTIŞMA	48
KAYNAKLAR	55

ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa

Şekil 1.1 DNA barkod bölgelerinin konumu.....	4
Şekil 1.2 İnsan mitokondriyal genomunda 3 sitokrom c oksidaz altünite genlerinin pozisyonları.....	8
Şekil 1.3 Mitokondriyal genomda <i>COI</i> geninin pozisyonu.....	8
Şekil 1.4 <i>COI</i> gen bölgesi üzerinde folmer bölgesinin pozisyonu.....	9
Şekil 1.5 Genetik uzaklığın tür içi ve türler arası dağılımı.....	11
Şekil 1.6 Ülkelere göre Barcode of Life Veri Sistemleri'nde (<i>BOLD</i>) yayınlanmış DNA barkodlarının sayısı.....	21
Şekil 1.7 <i>Darevskia</i> cinsi içerisindeki partenogenetik taksonların şematik kökeni...	23
Şekil 1.8 <i>Darevskia</i> cinsine ait türler arası hibridizasyon ağı.....	25
Şekil 1.9 Ploidi seviyesinin evrimsel süreci.....	26
Şekil 2.1 <i>Darevskia armeniaca</i> türüne ait bir örneğin dorsolateral görünümü.....	29
Şekil 2.2 <i>Darevskia bendimahiensis</i> türüne ait bir örneğin dorsolateral görünümü...	30
Şekil 2.3 <i>Darevskia sapphirina</i> türüne ait bir örneğin dorsolateral görünümü.....	31
Şekil 2.4 <i>Darevskia unisexualis</i> türüne ait bir örneğin dorsolateral görünümü.....	33
Şekil 2.5 <i>Darevskia uzzelli</i> türüne ait bir örneğin dorsolateral görünümü.....	34
Şekil 2.6 Çalışma kapsamında değerlendirilen popülasyonların lokaliteleri.....	35
Şekil 3.1 Gerçekleştirilen NJ analizi sonucunda bulunan filogenetik ağaç (Dallar üzerindeki sayılar bootstrap değerlerini ifade etmektedir).....	43

Şekil 3.2 Gerçekleştirilen ML analizi sonucunda bulunan filogenetik ağaç (Dallar üzerindeki sayılar bootstrap değerlerini ifade etmektedir).....	44
Şekil 3.3 Gerçekleştirilen BI analizi sonucunda bulunan filogenetik ağaç (Dallar üzerindeki sayılar posterior probabilities değerlerini ifade etmektedir).....	45
Şekil 3.4 Haplotipler arası soy akrabalığı	47



TABLULAR LİSTESİ

	Sayfa
Tablo 2.1 Türlerin yayılış gösterdiği lokaliteler ve DNA kodları.....	35
Tablo 2.2 <i>COI</i> gen bölgesinin çoğaltılmasında kullanılan primerler.....	38
Tablo 2.3 <i>COI</i> barkod bölgesinin PCR ile çoğaltımında kullanılan reaksiyon koşulları.....	38
Tablo 3.1 Türler arası genetik uzaklık ve standart sapması.....	42
Tablo 3.2 Tür ağacı analizlerinin sonuçları.....	46
Tablo 3.3 İncelenen <i>Darevskia</i> türleri içinde <i>COI</i> için K2P mesafeleri.....	46

SEMBOLLER LİSTESİ

°C	: Celsius ölçeği
%	: Yüzde
µL	: Mikrolitre
rpm	: Dakikadaki devir sayısı
g	: Yer çekimi ivmesi



KISALTMALAR

ABGD	: <i>Automatic Barcode Gap Diversity</i> (Otomatik Barkod Boşluğu Keşfi)
BERN	: <i>Berne Convention on the Conservation of European Wildlife and Natural Habitats</i> (Avrupa'nın Yaban Hayatı ve Doğal Yaşama Ortamlarının Korunması)
BI	: <i>Bayesian Inference</i> (Bayesian analizi)
BIN	: <i>Barcode Index Number</i> (Barkod dizin numarası)
Blast	: <i>Basic Local Alignment Search Tool</i> (Temel Yerel Aykırı Benzerlik Aracı)
BOLD	: <i>Barcode of Life Data System</i> (Yaşam Veri Sisteminin Barkodu)
bPTP	: <i>Bayesian Poisson Tree Processes</i> (Bayesian Poisson Ağaç Süreçleri)
CBOL	: <i>The Consortium for the Barcode of Life</i> (Hayatın Barkodu Konsorsiyumu)
CITES	: <i>Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora</i> (Yabani Hayvan ve Bitki Türlerinin Uluslararası Ticaret Konvansiyonu)
cm	: Santimetre
COI	: Sitokrom c oksidaz altünite1
Darm	: <i>Darevskia armeniaca</i>
Dben	: <i>Darevskia bendimahiensis</i>
dk	: Dakika
DNA	: Deoksiribo nükleik asit
Dsap	: <i>Darevskia sapphirina</i>
Duni	: <i>Darevskia unisexualis</i>

Duzz	: <i>Darevskia uzzeili</i>
EN	: <i>Endangered</i> (Nesli tükenme riski oldukça yüksek)
GMYC	: <i>Generalized Mixed Yule Coalescent</i> (Genelleştirilmiş Karışık Yule Birleşimi)
IBOL	: <i>International Barcode of Life</i> (Uluslararası Yaşam Barkodu Projesi)
ITS2	: <i>Internal transcribed spacer</i> (İçsel Transkribe Aralığı)
IUCN	: <i>International Union for Conservation</i> (Dünya Doğayı Koruma Birliği)
kDa	: KiloDalton
LC	: <i>Least concern</i> (En az endişe verici)
ML	: <i>Maximum Likelihood</i> (Maksimum Olasılık) analizi
mPTP	: <i>Multi rate Poisson Tree Processes</i> (Çoklu Hız Poisson Ağaç Süreçleri)
mtDNA	: Mitokondriyal Deoksiribo nükleik asit
NCBI	: <i>National Center for Biotechnology Information</i> (Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi)
NJ	: <i>Neighbor-Joining</i> analizi
NT	: <i>Near threatened</i> (Nesli tükenmekte olan veya tehdit altında)
PCR	: <i>Polymerase Chain Reaction</i> (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)
PTP	: <i>Poisson Tree Processes</i> (Poisson Ağaç Süreçleri)
rpm	: <i>Revolutions per minute</i> (Dakikadaki devir sayısı)
sn	: Saniye
TCS	: <i>Tight Cluster Species</i> (Sıkı Kümelenmiş Türler)

BÖLÜM BİR

GİRİŞ

Bilimsel yöntemler, teknolojinin ilerlemesine ayak uydurarak gelişmeye devam etmektedir. Taksonomi çalışmaları, çok daha basit yöntemlerle ikili isimlendirmenin mucidi olan Linnaeus'tan çok önce başlamıştır. Linnaeus tarafından da benimsenen morfolojik tür tanımlamasına göre, sınıflandırmanın zorluklarından kaynaklanan tanımlama yapılamamış ya da yanlış tanımlanmış türler oldukça fazladır. Morfolojik tanıma göre, birbirinden farklı iki türü ayırt etmenin kolay olmasına rağmen, ortama adaptasyon sağlamış ya da genetik varyasyona uğramış farklı görünen iki türün, aynı tür olabilme ihtimali bulunmaktadır. Bu durum dış görünüme göre tanımlama yapmanın yanlış sonuçlar doğurabileceğini göstermektedir. Bu tarz yanlış sonuçların önüne geçilmesi adına, bilim insanları daha modern yöntemler tercih etmektedirler. Söz konusu yöntemlerden biri de DNA barkodlama olarak isimlendirilen ve türlere özgü DNA dizilerinin ayırt edilmesine imkân veren yaklaşımdır. Bu yöntemin en önemli avantajlarından birisi bir genin kısa bir bölümünün teşhis amacıyla bir barkod olarak kullanılabilmesidir. Her bir organizma için, uygun bir barkod geni söz konusu olup, hayvan grupları için yaygın olarak mitokondriyal DNA (mtDNA)'da yer alan sitokrom oksidaz altünite 1 (*COI*) geninin tercih edildiği bilinmektedir (Folmer, Black, Hoeh, Lutz ve Vrijenhoek, 1994; Hebert, Cywinska, Ball ve deWaaard, 2003a; Hebert, Ratnasingham ve Dewaard, 2003b; Keskin ve Atar, 2013; Kress ve Erickson, 2008; Kress ve Ericson, 2012).

1.1. DNA Barkodlama Nedir?

Çalışılan organizmadan elde edilen DNA üzerinde yine o organizmaya uygun belirli bir genin bir kısmının kullanılmasına dayalı olarak yapılan tür tayini ve eşleştirmesi yöntemine DNA barkodlama denir (Hebert vd. 2003a; Keskin ve Atar, 2013). Barkodlama çalışmaları sonucunda, her bir türe özgü olan profiller ortaya çıkarılır. DNA barkodlaması sayesinde daha önce tanımlanmamış yeni bir tür tespit edilebilir ya da önceden farklı yöntemlerle yanlış teşhis edilmiş bir türün durumu

yeniden doğru bir şekilde ele alınabilir (Hebert vd. 2003a; 2003b; Keskin ve Atar, 2013).

Hebert (2003a) tarafından gerçekleştirilen çalışmada, morfolojik verilere dayalı olarak yapılan sınıflandırma sonucunda yanlış sonuçların ortaya çıkabileceği üzerinde durulmuş, bu nedenle de taksonomistlerin yeni bir tanı yöntemine ihtiyaç duydukları belirtilmiştir. Söz konusu ihtiyacı karşılamak üzere, DNA barkodlama terimi, 2003 yılında türleri tanımlamak için yeni bir yöntem olarak önerilmiştir. Önceki dönemlerde Folmer vd. (1994) tarafından üzerinde durulan sitokrom oksidaz altünite 1 (*COI*) geninden yola çıkarak, Hebert vd. (2003a) bu genin barkodlama çalışmaları için uygun bir belirteç olduğunu vurgulamışlardır.

Yeryüzündeki canlı taksonlarını tanımlamak adına, standart hale getirilmiş DNA dizilerinin kullanılması bu alanda çalışan bilim insanlarının dünya üzerinde var olan biyoçeşitliliği değerlendirme, analiz etme ve izleme üzerine önemli etkiler yapmıştır (Bush vd. 2020; Hebert vd. 2003a; Pennisi, 2019). DNA barkodlama yönteminin ilk uygulanmasından günümüze kadar geçen süreçte söz konusu metod, tür sınırlarını ve yeryüzündeki biyolojik toplulukların bileşimini anlamamıza önemli ölçüde katkıda bulunmuştur (DeSalle ve Goldstein, 2019). Ayrıca gerek ulusal gerekse de uluslararası ölçekte biyoçeşitliliğin tespitine yönelik araştırma programlarının önünün açılmasına imkân sağlamıştır (Taberlet, Bonin, Zinger ve Coissac, 2018). Diğer taraftan DNA barkodlama yöntemi, gıda ve bitkisel bazlı ilaç endüstrisinde de önemli ilerlemeleri beraberinde getirmiştir (De Boer, Ichim ve Newmaster, 2015; Galimberti vd. 2019).

1.1.1. Barkodlama Çalışmalarının Avantajları

Morfolojik belirteçlere dayalı teşhis ile gerçekleştirilen taksonomik sınıflandırmaya göre DNA barkodlamanın tercih edilmesi birçok avantaj sağlamaktadır. Söz konusu avantajlar şu şekilde sıralanabilir:

1) Taksonomik çalışmalara büyük katkı sağlar. Morfolojik özelliklere dayalı olarak tanımlama yapmanın mümkün olmadığı ya da tanımı yanlış yapılmış taksonların doğru bir şekilde tanımlanmasını sağlar.

2) Filogenetik araştırmalarda barkodlama çalışmalarından yararlanılabilir. Barkodlama yöntemi her zaman doğru sonuç vermemekle birlikte, filogenetik ağaçların oluşturulmasında kullanılabilir. Barkodlama alışmaları ile uygun takson seçimi yapılabilir ve filogenetik ağaç için başlangıç noktası bu Şekilde belirlenebilir.

3) Barkodlama, populasyon genetiği çalışmalarında da başvurulan bir yöntemdir. Hem tür içi hem de türler arası genetik farklılıkların ortaya çıkarılmasını sağlar.

4) Ekonomik açıdan katkı sağlayabilir. Örneğin, istilacı türlerin hızlı ve güvenilir bir Şekilde belirlenmesini sağlayarak bitki koruma programlarının etkinliğinin arttırılmasına yardımcı olabilir.

5) Diğer yöntemlere göre daha güvenilir sonuçlar elde edilir (Hebert vd. 2003a; Keskin ve Atar, 2013).

1.1.2. Barkodlama alışmalarında Karşılaşılan Zorluklar

1) Genomik DNA'nın izolasyonu sırasında yeterli miktarda DNA elde edilmemesi barkodlama çalışmasının sonraki basamaklarını olumsuz etkileyebilir.

2) Gen bankası gibi (*GenBank*), bir veri bankasına yanlış işlenen bir bilgi gerçekleştirilen çalışmanın sonucunda yanlış yorumlamalara sebep verebilir.

3) Normal Őartlarda mitokondriyal DNA'da maternal kalıtım homoplazi ile sonuçlanmaktadır. Somatik mutasyonlar ve psdogenlerin çoğalması gibi birtakım nedenler, birden fazla DNA'nın karışmasına neden olur ki bu durum da maternal kalıtımın heteroplazmi ile sonuçlanması beraberinde getirir. Söz konusu olumsuz durum, barkodlama çalışmalarının sonucunun yanlış yorumlanmasına neden olabilmektedir.

4) Bir canlı melez tür ise, maternal kalıtım sonucunda maternal tür ile aynı tür gibi tanımlanacağından sonucun yanlış yorumlanmasına neden olabilir. Bu olayın önüne geçmek adına, canlının melez tür olduğu biliniyorsa, türe özgü ekirdek DNA analizi gerçekleşmelidir (Hebert vd. 2003a; Keskin ve Atar, 2013).

1990). Barkod genlerinin keşfinden önce yapılan araştırmalarda rDNA'yı kodlayan ve mitokondriyal gen olan *12S* rRNA ve *16S* rRNA genleri üzerine yoğunlaşılmıştır. Söz konusu genlerin üzerinde yer alan indel yaygınlığının fazla olması dizi hizalamalarının yanlış sonuçlandırılmasına ve yorumlanmasına neden olduğu için kullanımı kısıtlanmıştır (Doyle ve Gaut, 2000; Hebert vd. 2003a). Bunun üzerine, 1980'li yıllarda mtDNA genlerine odaklanılmıştır (Aksöyek, 2015).

1.1.4. Mitokondriyal DNA (mtDNA) mı Çekirdek DNA'sı (nDNA) mı?

Mitokondriyal DNA, çekirdek DNA'ya göre çok daha küçüktür. İnsanlarda çekirdekte yaklaşık olarak 3,3 milyar baz çifti olduğu ve yalnızca 20.000 baz çiftinin gen kodladığı bilinmektedir. mtDNA'da ise 16.569 baz çift olmasına rağmen 37 tanesi gen kodlayabilmektedir. Bunların 13 tanesi solunumda görevli proteinlerin alt birimlerini oluşturan mRNA, 22 tanesi tRNA ve 2 tanesi ise rRNA üretiminde rol oynamaktadır. Tüm genom esas alındığında, çekirdek DNA'nın yaklaşık %1-2'sinin, mtDNA'nın ise %93'ünün gen kodladığı sonucu ortaya çıkmaktadır (Bakırcı, 2011). mtDNA intron bölge içermemesine karşın, çekirdek DNA'nın intron bölge içerdiği bilinmektedir. Buna istinaden mtDNA'yı izole etmek daha kolaydır.

Farklı türler arasında genetik karşılaştırma yaparken mtDNA kullanmanın daha avantajlı olduğu durumlar mevcuttur. Ancak melez türler için söz konusu durum geçerli değildir. Melez tür, maternal kalıtım sonucu anne ile aynı tür olarak tanımlanacaktır. Bu yüzden, canlının hibritleşme sonucu melez tür olduğu biliniyorsa mtDNA yerine çekirdek DNA'sı kullanılmalıdır. Aynı zamanda, yakın akraba türler arasında da çekirdek DNA kullanmak daha doğru bir yaklaşım olacaktır (Keskin ve Atar, 2013).

Mitokondriyal DNA, çekirdek DNA'ya nazaran daha yüksek evrim hızına sahip olduğu için hem tür tanımlama hem de tür içi genetik varyasyonu açıklamada daha fazla ön plana çıkmaktadır (Sunnuck, 2000). mtDNA'nın evrim ya da mutasyon hızının bu kadar yüksek olmasının nedeni, ökaryotik canlıların çekirdeğindeki çift sarmal DNA'ya göre çok daha az korunaklı olması ve kontrol mekanizmalarının

prokaryot canlılardaki gibi daha az gelişmiş olmasından kaynaklanmaktadır (Bakırcı, 2011).

1.2. Hayvanlarda DNA Barkodlaması

1.2.1. Mitokondri ve mitokondriyal DNA

Mitokondri ilk olarak 1840'lı yıllarda incelenmeye başlanmasına karşın 1894 yılında Richard Altmann tarafından keşfedilebilmiş ve o dönemde “bioblast” olarak adlandırılmıştır. Mitokondri kavramı ise 1898 yılında Carl Benda tarafından literatüre kazandırılmıştır (Mitokondri, b.t).

Her bir mitokondride sayısı 2-10 arasında değişiklik gösteren mtDNA kopyası bulunmaktadır. Mitokondri ve dolayısıyla mtDNA'nın kökeni endosimbiyotik kuram ile açıklanmaktadır. Bu teoriye göre, mitokondri simbiyotik bir ilişki sonucunda ortaya çıkmış olup, proteobakterilerden evrimleştiği düşünülmektedir. Bu teorinin kabul görmesinin en büyük nedeni, mtDNA'nın günümüz prokaryot canlıları gibi halka şeklinde olmasından kaynaklanmaktadır (Bakırcı, 2011).

Mitokondriyal DNA, çift iplikli ve halkasal yapıdadır. İki iplik yoğunluk olarak birbirinden farklı olduğu için ağır iplik (H) ve hafif iplik (L) olarak adlandırılmaktadır. Kodlanan genlerin 28 tanesi ağır zincirde bulunurken 9 tanesi ise hafif zincirde konumlanmıştır (Chinnery ve Hudson, 2013; Uğur, 2019) (Şekil 1.2 ve 1.3). mtDNA'nın çift sarmallı ve halkasal yapısının keşfi, Nass ve Nass (1963) tarafından gerçekleştirilen elektron mikroskobu incelemeleriyle ortaya konulmuştur. mtDNA, *POLG* ve *POLG2* alt birimleri tarafından oluşturulan DNA polimeraz gama tarafından kopyalanır ve çoğalır (Bakırcı, 2011).

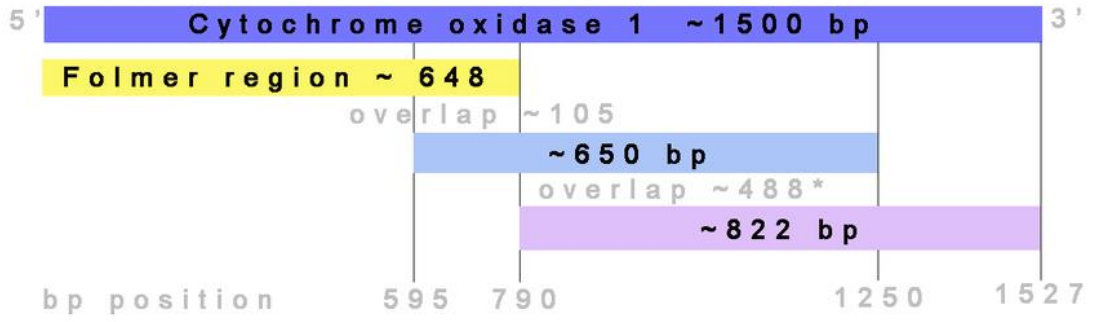
1.2.2. DNA Barkodu: COI Geni

Sitokrom oksidaz altünite 1 (*COI*) geni, sitokrom c oksidaz proteinini oluşturan alt birimlerden biridir. Sitokrom c oksidaz bakteri, arkea ve ökaryot canlıların mitokondrilerinde yer alan büyük bir mitokondriyal membran proteindir. Birçok

hücrel fonksiyonda yer almasına rağmen en önemli işlevi elektron taşıma zinciri olayında elektron taşıyan son enzim kompleksi olarak işlev görmesidir (Sareste, 1990).

37 mitokondriyal genden birini oluşturan *COI* ya da *MT-COI* (mitokondriyal *COI*), birçok farklı isimle bilinmekte olup, mtDNA'nın guanin açısından zengin ağır bölümünde yer almaktadır. 1545 baz çifti uzunluğuna sahip olan *COI* gen bölgesinin, başlama pozisyonunun 5351, sonlanma pozisyonunun ise 6895 baz çiftine denk geldiği bilinmektedir. Başlama kodonu ATG, sonlanma kodonu ise TAA'dır (Sareste, 1990; Zhong, Zhang, Sha, Zhang ve Chen, 2010). 513 amino asitten oluşan 57 kDa'lık bir proteindir.

Sitokrom oksidaz altünite 1, genelde hayvan türlerini tanımlamak için barkod gen olarak kullanılmaktadır. Barkod gen olarak seçilmesinin nedeni, yakın türler arasında dizinin yeterince iyi korunması ve mutasyon oranının yakın türleri ayırt etmede hızlı olmasıdır (Cytochrome, b.t; Sareste, 1990; Zhong vd). Bu barkod genin kısa ve standartlaştırılmış ideal gen bölgesi, türleri ayırt etmek için kullanılmaktadır. "Folmer bölgesi" adı verilen bu kısa ve standartlaştırılmış bölge, yaklaşık 650 baz çiftlik kısmı kapsamaktadır (Folmer vd. 1994). Yapılan pek çok araştırma, folmer bölgesinin tür tanımlamada, türleri ayırt etmede ve tür çeşitliliğini tespit etmede uygun olduğu sonucunu ortaya koymuştur (Hebert, Stoeckle, Zemplak ve Francis, 2004; Janzen vd. 2005; Yassin, Markow, Narechania, O'Grady ve DeSalle, 2010). Folmer bölgesinin tür tayin etmede uygunluğu ilk olarak farklı kuş türleri üzerinde gerçekleştirilen çalışmalarda ortaya konulmuştur (Hebert vd. 2003a; 2004; Sareste, 1990). Herhangi iki organizmanın aynı tür olarak kabul görmesi için barkodlama sonucunda genetik kodun %88-98 arasında paylaşım göstermesi gerekmektedir (Savolainen, Cowan, Vogler ve Roderick, 2005).



Şekil 1.4 Sitokrom oksidaz altünite 1 (*COI*) gen bölgesi üzerinde folmer bölgesinin pozisyonu. (Mckeeon, Lehr, Wilkerson ve Ruiz, 2010)

1.2.2.1. *COI* Geninin Avantajları

Hebert vd. tarafından Lepidoptera takımı üzerinde yapılan çalışmalar, *COI* geninin, farklı hayvan grupları üzerinde gerçekleştirilecek barkodlama çalışmaları için uygun olduğu sonucunu ortaya koymuştur (Hebert vd. 2003a). Lepidoptera takımına dahil familyalar arasındaki dizi farklılıkları oldukça düşük düzeyde olduğundan, söz konusu grupta tür tanımlaması yapmak oldukça zordur. Buna rağmen, yapılan çalışmada *COI* geni gruba ait taksonları ayırt etme hususunda tam bir başarı göstermiş ve barkodlama çalışmaları için en uygun barkod gen konumunda olduğu kanıtlanmıştır (Hebert vd. 2003a). Bu çalışmadan ortaya çıkan sonuçlar göz önünde bulundurularak, *COI* barkod genine dayalı tür tanımlama işleminin diğer hayvan grupları için de geliştirilebileceği belirtilmiş ve barkodlama çalışmaları sayesinde hayvanlar aleminde taksonomik açıdan sorunlu olan taksonların veya olayların çözüme kavuşabileceği vurgulanmıştır (Hebert vd. 2003a).

Bir genin, barkod gen olarak değerlendirilebilmesi için sahip olması gereken özellikler şu şekilde sıralanabilir;

1) İzolasyon ve PCR aşamalarında soruna neden olmayacak nükleotid dizi uzunluğuna sahip olmalıdır.

2) Tür içi ve türler arası genetik çeşitlilik ve ayırım gücüne sahip olmalıdır.

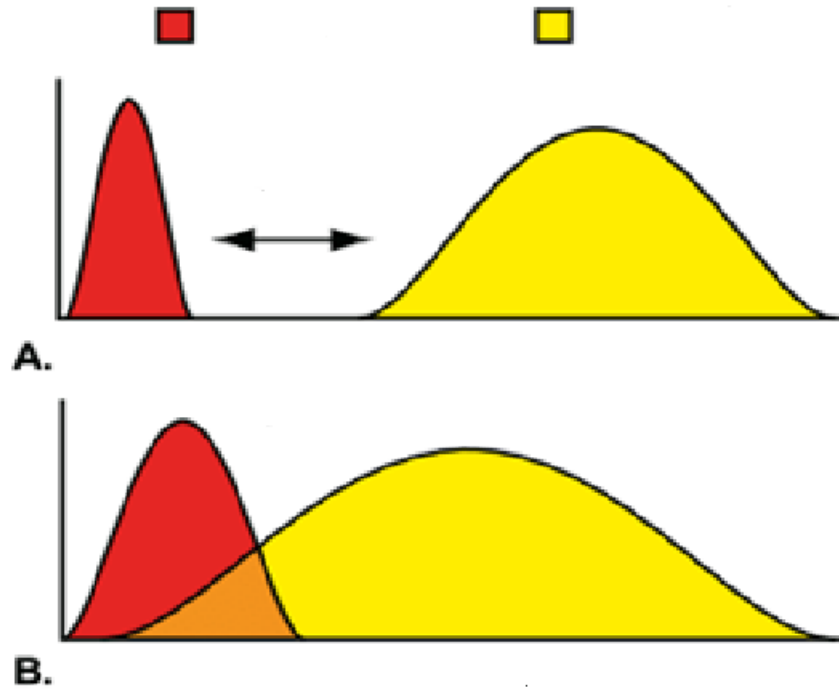
3) Evrensel primerler ile çoğaltılabilmeli ve taksonlar arası filogenetik sinyal aralığına sahip olmalıdır.

COI geni, bu üç özelliği de karşılayabildiğinden barkod gen olarak kabul görmektedir (Kress ve Erickson, 2008). Sitokrom oksidaz altünite 1 geni üzerindeki kodonların üçüncü pozisyonundaki nükleotidler yer değiştirebildiği için mitokondriyal rRNA genlerine göre daha yüksek evrim hızına sahiptir ve tür içi varyasyonların tespitini daha hızlı gerçekleştirebilmektedir (Bucklin, Steinke ve Blanco-Bercial, 2011; Keskin ve Atar, 2013).

1.2.2.2. Barkodlama Açıklığı

Bir genin barkod gen kabul edilebilmesi için farklı taksonlar arasında yapılan çalışmalarda belirgin bir düzeyde ayırım gücüne sahip olması gerekmektedir. Ayrıca tür içi ve türler arası uzaklık çakışmamalıdır. *COI* geni, bu özellikleri karşılamaktadır ve bu yüzden de ideal barkod gen olarak kullanılmaktadır. Yapılan barkodlama çalışmalarında, sonucun güvenilir olması bu çakışmanın olmadığı modele bağlıdır. Çakışmanın meydana gelmediği bu modele “barkodlama açıklığı” denir. Kısaca, barkodlama açıklığının olması güvenilirliği göstermektedir (Hebert vd. 2003b; Keskin ve Atar, 2013; Meyer ve Paulay, 2005) (Şekil 1.5).

Barkodlama çalışmalarında, *COI* geninin tüm başarı ve avantajlarına rağmen tanımlayamadığı ve teşhis edemediği canlı grupları da mevcuttur: Ctenophora (Taraklılar), Porifera (Süngerler) ve Anthozoa (Mercanlar). Bu yüzden, bu üç canlı grubunun mtDNA evrim hızının, diğer canlılara göre daha yavaş olduğu düşünülmektedir (Keskin ve Atar, 2013; Meyer ve Paulay, 2005).



Şekil 1.5 Genetik uzaklığın tür içi ve türler arası dağılımı. Kırmızı ile gösterilen tür içi, sarı ile gösterilen türler arası. (A) Tür içi ve türler arası varyasyonunun ayrı dağılımı sonucu görülen barkodlama açıklığı ve (B) tür içi ve türler arası varyasyonunun çakışması dağılımı sonucu barkodlama açıklığının görülmemesi (Bucklin vd. 2011)

1.3. COI Geni ile Yapılan Barkodlama Çalışmaları

1.3.1. Dünya Geneline Yapılan Barkodlama Çalışmaları

İçinde bulunduğumuz yüzyılın ilk yıllarında ortaya çıkan ve son 20 yıl içerisinde yoğun bir şekilde kullanılan DNA barkodlama ile taksonların tanımlanmasının temelini, tanımlanamayan organizmalardan elde edilen DNA dizilerinin, öncesinde tanımlanmış taksonlara ait dizilerle karşılaştırılmasını sağlama şeklinde işleyen bir metodoloji oluşturmaktadır (Grant vd. 2021). Günümüzde yüksek verimli dizileme teknolojilerinin benimsenmesi, maliyetlerin daha da azalmasını ve DNA barkodlama için uygulama aralığının artmasını beraberinde getirmiştir (Hebert ve Cristescu, 2018; Taberlet vd. 2018;). Halihazırda DNA markörü seçimindeki farklılıklara ve bazı taksonlar için barkod oluşturmadaki zorluklara rağmen, DNA barkodlama yöntemi

gerek takson tanımlama çalışmalarında gerekse de biyoçeşitlilik çalışmalarında standart bir metodoloji olarak işlev görmektedir ki (Kress, 2017) 2003-2020 yıllarını kapsayan dönemde söz konusu yöntemi uygulayan bilimsel çalışmaların sayısı 14.229'a ulaşmıştır (Grant vd. 2021).

Barkodlama çalışmalarına dünya genelinde çok fazla önem verilmektedir. Yalnızca taksonomik açıdan değil ekonomik açıdan da bu çalışmalara başvurulmaktadır. Bu yüzden barkodlama çalışmaları, özellikle gelişmiş ülkelerin sık başvurduğu bir yöntemdir. Örneğin, Kanada'da bir laboratuvarında tahıl ürünlerine zarar verebilecek organizmaların tek tek tespitine yönelik bir çalışma gerçekleştirilmiştir. Burada asıl amaç, ihracat sırasında tahıla zarar verebilecek organizmaları yok etmek ve oluşabilecek milyarlarca dolar değerinde ekonomik kaybın önüne geçmektir (Agriculture and Agri-Food Canada, 2014). Pek çok canlı grubunda klasik bir yöntem olarak başvuru DNA barkodlama çalışmalarından bazıları aşağıda özetlenmiştir.

Barkodlama ile ilgili ilk çalışmalardan biri, Hebert vd. (2003a) tarafından gerçekleştirilmiş olup, yedi hayvan filumuna ait *COI* profillerinin yanında sekiz böcek takımına ait *COI* profilleri ve yakın akraba konumunda olan Lepidoptera takımına ait türlerin *COI* profilleri ortaya konulmuştur. Araştırma sonucunda elde edilen sonuçlar, barkodlama yöntemine ait başarı oranının 7 filum için %96,4, Hexapoda sınıfına ait 8 takım için %100,0 ve Lepidoptera takımına ait 200 tür için %100,0 olduğuna işaret etmektedir. Çalışmada öne çıkan gereken önemli bir sonuç da Lepidoptera takımına ait familyalar arasında dizi farklılıklarının düşük seviyede olmasına karşın, *COI* geni ile yapılan barkodlama çalışmalarında %100,0 başarıya ulaşılması durumudur. Bu durum *COI* geninin uygun bir barkod geni olduğunun en önemli kanıtı olarak kabul görmektedir.

Sitokrom oksidaz altünite 1 geninin barkodlama yöntemi açısından uygunluğunu test etmek için, en büyük omurgalı gruplarından birini teşkil eden Aves sınıfına ait değişik kuş türleri üzerine gerçekleştirilen çalışmada ise, 260 kuş türünün birbirinden farklı ve her biri türe özgü *COI* profili olduğu anlaşılmış ve türler arasında *COI* profili açısından herhangi bir çakışmanın olmadığı saptanmıştır (Hebert vd. 2004).

Primates (primatlar, maymunsular) takımında, 56 türe ait 225 örnek üzerinde gerçekleştirilen bir çalışmada barkod gen olarak *COI* kullanılmış ve çıkan sonuca göre ortalama tür çeşitliliğinin %1,1 olduğu saptanmıştır. Ulaşılan sonuç, *COI* barkod geninin çalışılan türlerin teşhisinde uygun olduğu sonucuna ulaşılmıştır (Lorenz, Jackson, Beck ve Henner, 2005).

Yeni Zelanda’da barkodlama çalışmaları ile, daha önce belirsiz tür olarak tanımlanan çalı güvesi örneklerinin familya, cins ve tür bazında tanımları gerçekleştirilmiş ve bazı meyve sinekleri türleri arasında melez türler olduğu tespit edilmiştir (Armstrong ve Ball, 2005).

Barkodlama çalışmaları Kosta Rika’nın bir bölgesinde üç Lepidoptera familyasına dahil türlere uygulanmış ve farklı olduğu bilinen 521 türün %97,9’unun farklı *COI* profiline sahip oldukları sonucuna ulaşılmıştır. Birbirine çok yakın olduğu bilinen bazı türlerde ise çakışmaların olduğu tespit edilmiştir. Aynı tek bir tür (*Astrartes fulgurator* (Walch, 1775)) kabul edilen 13 türün içerisinde ise farklı barkod dizilimlerinin olduğu saptanmıştır (Hajibabaei, Janzen, Burns, Hallwachs ve Hebert, 2006).

DNA barkodlama çalışmaları, Kuzey Amerika’da 643 farklı kuş türüne yapılmış ve türlerin yaklaşık %94’ünün farklı *COI* profilleri olduğu tespit edilmiştir. Kalan %6’lık türlerin ise hibrit türler olduğu veya birbirine çok yakın türler olduğu saptanmıştır (Kerr vd. 2007).

Doğu Pasifik’te *Munidopsis* Whiteaves, 1874 istakozlarına yapılan barkodlama çalışmaları sonucu yeni türler tanımlanmış aynı zamanda, aynı türün uzak popülasyonları arasında yüksek gen akışının olduğu tespit edilmiştir (Jones ve Macpherson, 2007).

Brezilya’da *Caretta caretta* (Rafinesque, 1814), *Chelonia mydas* (Linnaeus, 1758), *Dermochelys coriacea* (Vandelli, 1761), *Eretmochelys imbricata* (Linnaeus, 1766) ve *Lepidochelys olivacea* (Eschscholtz, 1829) deniz kaplumbağalarının tür tayininin yapılabilmesi için barkodlama çalışmalarında *COI* geni kullanılmış ve çalışma olumlu sonuçlanmıştır. *COI* geninin uygun barkod geni olduğu kanıtlanmıştır ve bu çalışma

sonucunda nesli tehdit altında olan deniz kaplumbağalarının koruma altına alınıp korunması kolaylaşmıştır (Vargas, Araújo ve Santos, 2009).

Küba'da *Gambusia* ve *Lucifuga* tatlı su balığı cinsi ile tatlı ve deniz suyunda yaşayan *Lophogobius cyprinoides* (Pallas, 1770) türünün bireyleri ile barkodlama çalışmaları yapılmıştır. Çalışmada amaç yeni bir türün olup olmadığını kontrol etmek ve sorunlu olan taksonları çözüme kavuşturmaktır. Çalışma sonucu, Yaşam Veri Sisteminin Barkodu (*Barcode of Life Data System, BOLD*)'nda bulunan mevcut veriler ile %96,4 oranında uyumlu çıkmıştır, *Gambusia* cinsine ait yeni türlerin olabileceği sonucuna varılmıştır (Lara vd. 2010).

Sitokrom oksidaz altünite 1 barkod geni kullanıldığı memeli sınıfına dahil olan Bovidae (boynuzlular) 'den 18 farklı türden bireyler ile yapılan tür çeşitliliğinin araştırılmasında, tür içi çeşitliliğin %0,63 olduğu sonucuna ulaşılmıştır (Cai vd. 2011).

Sırbistan'da *Ixodes ricinus*, Linnaeus 1758 (sakırga) türünde genetik varyasyon tespiti için barkodlama çalışmaları yapılmış ve elde edilen sonuçlara göre tür içi çeşitliliğin çok düşük olduğu saptanmıştır (Ćakic vd. 2014).

Almanya'da Anura takımına mensup Alytidae, Bombinatoridae, Bufonidae, Eleutherodactylidae, Hylidae, Pelobatidae ve Ranidae; Caudata takımına mensup Salamandridae; Squamata takımına mensup Anguillidae, Colubridae, Natricidae, Viperidae ve Lacertidae ve Testudines takımına mensup Emydidae dahil olan bireyler ile barkodlama çalışmaları yapılmış ve 307 örneğin %80,8'i ve analiz edilen tüm türlerin %100,0 başarı oranı yakaladığı saptanmıştır. *COI* barkod geni, tek bir kurbağa türü hariç diğer türlerin güvenilir ve doğru biçimde tanımlandığını kanıtlamıştır (Hawlitschek vd. 2016).

Meksika'da Mammalia sınıfına mensup *Chaetodipus*, Merriam 1889 (Cep Faresi) ve *Heteromys*, Desmarest 1815 (Dikenli cep faresi) cinslerinden bireylerle yapılan barkodlama çalışmalarının sonucunda, *COI* geninin gizli olan türleri doğru tanımladığı ortaya çıkmıştır (Castañeda vd. 2019).

1.3.2. Türkiye Genelinde Yapılan Barkodlama Çalışmaları

Akdeniz kıyılarında yaşayan *Callinectes sapidus* (Rathbun, 1896) (mavi yengeç) popülasyonları arasındaki genetik farklılıklar incelenmiştir. 8 farklı popülasyondan 143 örnek toplanmış ve bu örnekler incelendiğinde her birinin barkod bölgesinde %6,41 oranında değişken bölge olduğu ve popülasyonlar arasında yaklaşık %1,90 oranında genetik farklılık olduğu saptanmıştır. Oluşturulan filogenetik ağaç incelendiğinde popülasyonlar arasında coğrafi uzaklıkla orantılı genetik gruplaşma olduğu belirlenmiştir (Keskin ve Atar, 2012).

Öziç (2012) tarafından *Orthrias* Jordan & Fowler, 1903 (çöpçü balığı) cinsi türleri ile gerçekleştirilen barkodlama çalışmalarında barkod gen olarak *COI* ve *18S* rRNA genleri kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre cinse mensup türlerin *O. angorae* (Steindachner, 1897), *O. tigris* (Heckel, 1843) ve *O. panthera* (Heckel, 1843) oldukları saptanmıştır.

Önel (2014) tarafından gerçekleştirilen çalışmada, *Scombridae* Rafinesque, 1815 (Uskumrugilller)'ye dahil türler ile yapılan barkodlama çalışmalarının sonucu ile daha önce yapılan başka bir çalışmanın sonucu karşılaştırıldığında benzer sonuçlar elde edildiği saptanmıştır. Bu çalışma ile Türkiye'de, ton balığı konserve üretiminde kullanılan hayvan türünün doğru belirlenmesi ile tüketicinin aldatılmasının ve ticari ve ekonomik açıdan kayıpların önüne geçilebileceği sonucuna varılmıştır.

Türkiye'de yayılış gösteren Canidae'ye mensup *Canis aureus* (Linnaeus, 1758) (altın çakal), *Canis lupus* (Linnaeus, 1758) (kurt) ve *Vulpes vulpes* (Linnaeus, 1758) (kızıl tilki) türlerinin barkodlama çalışmalarında *COI* geninden yararlanılmıştır. Çalışmadan elde edilen bulgulara göre, tür içi genetik uzaklık *C. lupus* (Linnaeus, 1758) için %0,23, *C. aureus* (Linnaeus, 1758) için %0,15 ve *V. vulpes* (Linnaeus, 1758) için %1,28 olarak saptanmıştır. Türler arası genetik uzaklık ise *C. aureus* (Linnaeus, 1758) ile *C. lupus* (Linnaeus, 1758) arasında %3,53, *C. lupus* (Linnaeus, 1758) ile *V. vulpes* (Linnaeus, 1758) arasında %16,23 ve *C. aureus* (Linnaeus, 1758) ile *V. vulpes* (Linnaeus, 1758) arasında %16,37 olarak saptanmıştır. Ortalama olarak, *Canis* ve *Vulpes* türleri arası genetik farklılaşma %16,28 olarak bulunmuştur. Elde

edilen bulgulara göre, üç türün de *COI* profillerinin kendine has olduğu ve barkod dizileri arasında çakışma olmadığı saptanmıştır (Aksöyek, 2015).

Sivrisinekler üzerine yapılan barkodlama çalışmalarının sonucunda, *Aedes annulipes* (Meigen, 1830), *Ae. Leucomelas* (Meigen, 1804), *Ae. Pullatus* (Couquillet, 1904), *Ae. Punctor* (Kirby, 1837), *Anopheles messeae* (Falleroni, 1926), *Culex quinquefasciatus* (Say, 1823) türlerinin ve *Cx. pipiens s. molestus* (Forsk. 1775) formunun Türkiye’de olduğu kanıtlanmıştır. Çalışmada kullanılan tüm türler için Türkiye’de ilk kez *COI* profilleri oluşturulmuştur ve tespit edilen bazı türlerin Türkiye’de olduğu kanıtlanmış ve kaydedilmiştir (Günay, 2015).

İskenderun’dan toplanan *Patella caerulea* (Linnaeus, 1758) (Çin şapkası) türü ile gerçekleştirilen barkodlama çalışmalarının sonucunda *COI* geninin, bu türü teşhis etmede ve tür içi genetik uzaklığın doğru hesaplanmasında doğru sonuçlar verdiği saptanmıştır (Aygen, Genç E., Genç M.A ve Keskin, 2016).

Daşer (2016) tarafından gerçekleştirilen çalışmada, *Halictus* Latreille, 1804 cinsine (arı) mensup 153 birey morfolojik ve moleküler yöntemler ile incelenip kıyaslanmıştır. Tez çalışmasında 25 farklı tür incelenmiş ve 15 farklı türün barkodlama çalışmaları sayesinde tür sınırı başarılı bir şekilde belirlenmiştir.

Aydoğan (2018) tarafından *Clupeonella* Kessler, 1877 cinsine (balık) dahil türler ile yapılan barkodlama çalışmalarında Büyükçekmece Gölü, Küçükçekmece Gölü, Lagünü Gölü, Sapanca Gölü ve Terkos Gölü’nden elde edilen *Clupeonella* Kessler, 1877 popülasyonlarının arasında farklılıklar olduğu saptanmış ve bu bölgelerden elde edilen bireylerin *Clupeonella cultriventris* (Nordmann, 1840) (tirsi balığı) türü olduğu anlaşılmıştır.

Budak (2018) tarafından gerçekleştirilen, hemimetabol (yarı başkalaşım) ve holometabol (tam başkalaşım) geçiren böcekler ile yapılan barkodlama çalışmalarında *COI* ve *ITS2* genleri kullanılmıştır. *Coleoptera* Linnaeus, 1758 takımı içinde yer alan türlerde *COI* barkod geninin tür içi genetik uzaklığı, *ITS2* barkod geninin tür içi genetik uzaklığından daha yüksek olduğu saptanmıştır. *Hymenoptera* Linnaeus, 1758, *Hemiptera* Linnaeus, 1758 ve *Orthoptera* Latreille, 1793 takımlarının da *COI* geni için

tür içi ve türler arası genetik varyasyonun *Coleoptera* Linnaeus, 1758 takımı ile aynı orantıda olduğu bulunmuştur. *COI* ve *ITS2* barkod genlerinin, yapılan bu çalışmada bu böcek takımları için kullanışlı bulunmadığı fakat *COI* geninin daha güvenilir sonuçlar verdiği bildirilmiştir.

Gürbüzer (2018) tarafından gerçekleştirilen çalışmada, Kaçkar ve Aladağlar'da bulunan göllerde yaşayan *Daphnia* Otto Friedrich Müller, 1785 (su piresi) türlerinin filogenetik analizleri için hem mtDNA hem de çekirdek DNA'sından yararlanılmıştır. Yukarıda adı geçen bölgelerden elde edilen örneklerin arktik kökenli *D. pulex* (Leydig, 1860) türüne mensup oldukları anlaşılmıştır. Her iki bölgedeki popülasyonların, çıkan analizler sonucunda *D. pulicaria* (Forbes, 1893) ve *D. tenebrosa* (Sars, 1898) türlerine ait gen taşıdıkları saptanmıştır. Elde edilen veriler ile mevcut veriler karşılaştırıldığında Kaçkar Dağları-Yedigöller *D. pulex* (Leydig, 1860) popülasyonunun Almanya ve Çekya'daki popülasyonlar ile benzerlik gösterdiği ortaya çıkmıştır. Sonuca göre, *D. pulex* (Leydig, 1860) popülasyonlarının *D. pulicaria* (Forbes, 1893) soylarına benzerlik gösterdiği ve *D. tenebrosa* (Sars, 1898) popülasyonları ile yakın akraba oldukları anlaşılmıştır.

Polat vd. (2018) tarafından Kocaeli ilinde gerçekleştirilen barkodlama çalışmalarında, bazı böcek türlerinin filogenetik analizi sonucu tür tayini yapılmıştır. Böceklerin hangi türe dahil olduğu bilinmeden, örnekler doğal ortamlarından toplanmış ve her bir böcek örneğine farklı bir kod verilmiştir. Örneklere ait elde edilen *COI* profilleri, *NCBI Blast* (*National Center for Biotechnology Information/Basic Local Alignment Search Tool*) veri tabanına girilip mevcut verilerle karşılaştırılmıştır. Barkodlama çalışmalarının sonucunda S12 kodu verilen örneğin %90 oranında *Rhamphomyia* Meigen, 1822 cinsine mensup olduğu saptanmış fakat tür bazında bir değerlendirme yapılamamıştır. S21 kodu verilen örneğin %99 oranında *Exechia seriata voucher* (Meigen, 1830), S22 kodu verilen örneğin %97 oranında *Phlebotomus neglectus* (Tonnoir, 1921), S23 kodu verilen örneğin %99 oranında *Chironomus riparius voucher* (Meigen, 1804), S24 kodu verilen örneğin %100 oranında *Chironomus riparius* (Meigen, 1804) ve S27 kodu verilen örneğin ise %87 oranında *Drosophila tsukubaensis* (Takamori, 1983) ile benzerlik gösterdikleri bulunmuştur.

S27 kodu verilen örneğin aynı zamanda başka cinse dahil türlerle de benzerlik gösterdiği saptandığı için daha detaylı bir analiz gerektiği sonucuna ulaşılmıştır.

Cevahir (2019) tarafından gerçekleştirilen çalışmada, Kayseri yöresinde yayılış gösteren hamam böceklerinin filogenetik analizi için *COI*, *COII* ve *ITS2* gen bölgeleri kullanılmıştır. Elde edilen bulgular neticesinde, çalışılan örneklerin *Blatta orientalis* (Linnaeus, 1758) (doğu hamam böceği), *Blattella germanica* (Linnaeus, 1767) (Alman hamam böceği) ve *Periplaneta americana* (Linnaeus, 1758) (Amerikan hamam böceği) oldukları saptanmıştır. *COI* gen bölgesinin kullanılması ile 5 haplotip saptanmıştır. Bu çalışma sonucu ile dünya genelindeki popülasyonlar arası filogenetik yakınlıklar belirlenmiştir. Elde edilen bulgulara göre kullanılan tüm barkod gen bölgelerinin hamam böceklerinin barkodlama çalışmalarında uygun barkod gen oldukları anlaşılmıştır.

Kocaeli Üniversitesi Umuttepe Yerleşkesi'nde sürekli rastlanan kertenkelelerin türlerinin belirlenmesi için yapılan barkodlama çalışmalarının sonucunda *Podarcis siculus* (Rafinesque & Schmaltz, 1810) (İstanbul kertenkelesi)'a ait oldukları tespit edilmiştir (Polat vd. 2019)

Rakıcı (2019) tarafından, Fırat Nehri drenajında yaşayan *Oxynoemacheilus* Bănărescu & Nalbant, 1966 cinsine (balık) dahil türler üzerine gerçekleştirilen barkodlama çalışmalarının sonucunda 6 *Oxynoemacheilus* Bănărescu & Nalbant, 1966 türünün hiçbirinde çakışma olmadığı saptanmıştır. Morfolojik olarak ayırt edilmesi zor olan *Oxynoemacheilus* Bănărescu & Nalbant, 1966 cinsine mensup türlerin *COI* geni ile kolay bir şekilde tanımlanması sonucunda, *COI* geninin bu cinsteki örnekler için uygunluğu kanıtlanmıştır.

Adli bilimler açısından önemli olan entomoloji alanında gerçekleştirilen bu çalışmada, *Calliphoridae* Brauer & Bergenstamm, 1889 familyasına mensup türlerden yararlanılmıştır. Elde edilen bulgular sonucunda, doğal ortamından toplanılan türler ile mevcut veriler karşılaştırıldığında %99-100 oranında eşleşme sağladığı saptanmıştır. Olay yerinde elde edilen böcek türlerinin doğru tayin edilmesi ölüm sonrası sürenin tahmin edilmesini kolaylaştırdığından adli bilimler açısından barkodlama çalışmaları oldukça önemlidir (Uğur, 2019).

Dede (2020) tarafından Kocaeli’de yaygınlık gösteren sivrisinek türleri üzerine gerçekleştirilen barkodlama çalışmalarının sonucunda, *Aedes* Meigen 1818, *Anopheles* Meigen, 1818 ve *Culiseta* Felt, 1904 cinsine mensup türleri teşhis etmede başarılı olunmuştur. Ancak, *Culex pipiens* (Linnaeus, 1758) kompleksinden yalnızca *Cx. torrentium* (Martini, 1925) teşhis edilmiş ve geri kalan 33 örneği ayırt etmede etkili bir sonuç saptanamamıştır. *COI* geninin *Cx. pipiens* (Linnaeus, 1758) kompleks türlerini teşhis etme ve ayırmada uygun ve güçlü bir barkod gen olmadığı anlaşılmış olsa da diğer türleri etkin bir şekilde ayırt etmiştir.

Okur (2020) tarafından gerçekleştirilen çalışmada, sığırlarda önemli bir ekto-endoparaziti konumunda olan ve önemli ekonomik kayıplara neden olan *Hypoderma bovis* (Linnaeus, 1758) (Büyük Nokra Sineği)’e ait örneklerin larvalarında, DNA barkodlama yöntemi tatbik edilmiştir. Söz konusu çalışmada morfolojik olarak *H. bovis* (Linnaeus, 1758)’e dahil olduğu saptanan toplam 52 örneğin *COI* gen bölgesini hedef alan barkodlama yöntemiyle elde edilen sonuçlar, birbirine oldukça yakın (genetik farklılık değeri %0,6) iki haplotipin varlığına işaret etmiştir. Çalışmada türe ait farklı coğrafyalardan elde edilen izolatlar arasındaki genetik farklılığın %0,2-0,8 arasında değişmesi grubun monofiletik bir yapılanma içerisinde olduğunu da göstermektedir. Diğer taraftan çalışma materyalini teşkil eden *H. bovis* (Linnaeus, 1758) ile ona en yakın akraba tür konumunda olan *H. lineatum* (Villers, 1789) arasındaki interspesifik farklılığın %4,1 olduğu belirlenmiş olup bu değer, *COI* barkodlamasının türlerin diaognosunda önemli bir belirteç olduğuna da işaret etmektedir.

Türkiye’de bulunan Agamidae (Gray, 1927)’ye mensup türler üzerine yapılan barkodlama çalışması sonucunda, *Stellagama stellio daani* (Linnaeus, 1758) (dikenli keler)’nin en doğu sınırının Antalya olduğu saptanmıştır. Bu çalışma ile, Türkiye’de bulunan Agamiade (Gray, 1927)’ye dahil türlerine (*Stellagama stellio* (Linnaeus, 1758) (dikenli keler), *Paralaudakia caucasia* (Eichwald, 1831) (Kafkas keleri), *Phrynocephalus horvathi* (Mehely, 1894) ve *Trapelus rawratus* (Olivier, 1804) (topbaş keler)) ilk kez tür sınırlama testi uygulanmış ve tür sınırları belirlenmiştir. Agamidae (Gray, 1927) içindeki türler arası genetik uzaklık %16,60-20,80 arasında değişkenlik gösterdiği saptanmıştır (Kalaycı, 2021).

1.4 CBOL (*Consortium for the Barcode of Life*, Hayatın Barkodu Konsorsiyumu)

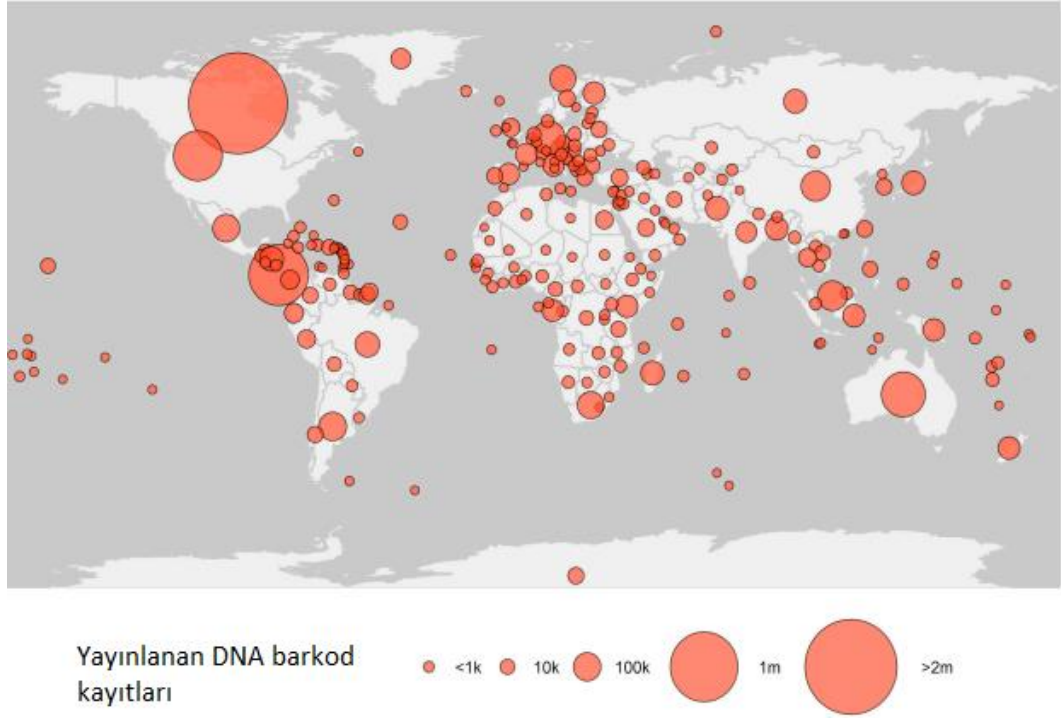
Tür tanımlama ve DNA barkodlama çalışmalarının geliştirilmesini destekleyen uluslararası bir girişimdir. 2003 yılında Paul Hebert'in yaptığı çalışma ile bilimde yankı uyandıran DNA barkodlama kavramından sonra, standart ve kısa bir gen sayesinde tür tanımlama ve ayırt etmenin önü açılmıştır. Bu çalışmaların hız kazanması adına *CBOL*, Nisan 2004'te kurulmuş ve DNA barkodlama topluluğuna yedi yıl destek verdikten sonra 2011'de fiilen sona ermiştir. Ardından da *IBOL* adını almıştır (*Consortium for the Barcode of Life*, b.t).

1.5. IBOL (*International Barcode of Life*, Uluslararası Yaşam Barkodu Projesi)

CBOL'un 2011'de sona eren görevini yerine getirmeye devam etmektedir. Direktörü Paul Hebert'dir (*International Barcode of Life*, b.t).

1.6. BOLD (*Barcode of Life Data System*, Yaşam Veri Sisteminin Barkodu)

BOLD, barkodlama çalışmalarının sonucunu barındıran çevrimiçi veri kütüphanesidir. Kanada'da bulunan Biyoçeşitlilik Genomik Merkezi bünyesinde geliştirilmiştir. Barkodlama yöntemi tatbik edilerek elde edilen veriler, önceki dönemlerde bu sisteme yüklenmiş olan mevcut veriler ile karşılaştırılır. En son sürümü olan 4, 2017 yılında piyasaya sürülmüştür. Güncel olarak sisteme kayıtlı olan yaklaşık 14 milyon 845 bin barkod bulunmaktadır. Aynı bakıldığında, 988 bin barkod dizin numarası (*BIN*), 252 bin hayvan türü, 72 bin bitki türü ve 25 bin mantar ve diğer türleri kapsamaktadır (*BOLD systems v4*, 2023). *BOLD* sistemine kayıtlı verilerin artış göstermesi, değişik canlı gruplarına ait taksonların, tanımlanma doğruluğu da o derecede artmaktadır ki bu durum yeryüzündeki yaşamın barkodlanmasını kolaylaştırmaktadır (Kress, Robledo, Uriarte ve Erickson, 2015) (Şekil 1.6).



Şekil 1.6 Ülkelere göre Barcode of Life Veri Sistemleri'nde (*BOLD*) yayınlanmış DNA barkodlarının sayısı (Grant vd. 2021)

1.7. *Darevskia Arribas, 1997*

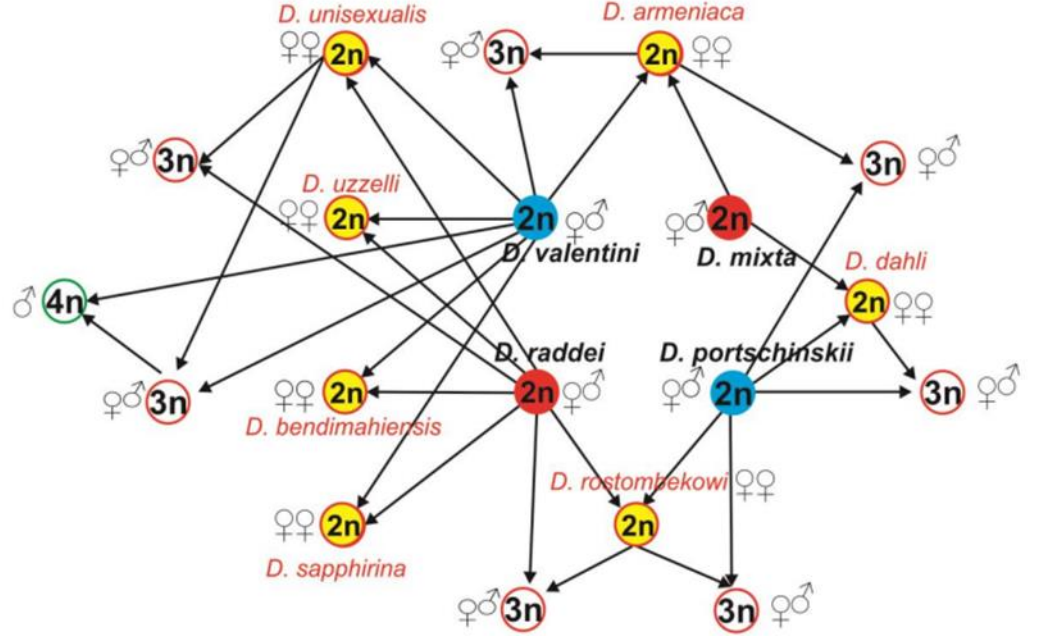
Sürüngenlerde eşeyli üremeden partenogenetik üreme tarzına geçiş, genellikle buzullaşma dönemleri, beslenme, doğal olarak ortaya çıkan yangınlar ve izolasyon gibi faktörlere bağlı olarak taksonların coğrafi dağılımda ortaya çıkan büyük değişiklikler sonucunda gerçekleşmektedir (Cuellar, 1977; Kearney, 2005). Bir yandan eşeyli, diğer taraftan ise partenogenetik üreme tarzına sahip taksonları içeren gruplar üzerinde gerçekleştirilen çalışmalar, her iki üreme biçimini karşılaştırma ve nihai ekolojik etkileşimlerini analiz etme fırsatı sağlamaktadır (Afonso vd. 2016). Sürüngen sınıfının alt takımlarından kertenkeleler, çok çeşitli üreme tarzları ve yaşam öyküsü stratejileri nedeniyle bu tür çalışmalar açısından iyi birer model organizma konumundadırlar (Camargo, Sinerve ve Sites, 2010). Halihazırda kertenkele grubu içerisinde toplamda 8 cins (*Aspidoscelis*, *Darevskia*, *Hemidactylus*, *Hemiphyllodactylus*, *Heteronotia*, *Lepidodactylus*, *Lepidophyma* ve *Nactus*) partenogenetik ve biseksüel türler içerir ki bu da onları üremenin evrimi ve işlevini

incelemek adına önemli bir konuma getirmiştir (Awise, 2008). Squamata takımına dahil türlerin yaklaşık %0,6'sının partenogenetik üreme tarzına sahip oldukları bilinmektedir (Kearney, Fujita ve Ridenour, 2009). Lacertidae'ye dahil Kafkas kaya kertenkeleleri grubunu oluşturan *Darevskia* Arribas, 1997, cinsinin dağılış sahasını Anadolu dışında Kafkasya, Güney Hazar Denizi, Kuzey İran, Doğu Avrupa (Balkanlar) ve Kırım Yarımadası teşkil etmektedir (Arribas vd. 2022). Orman ve çayırılık sahalardan kayalık bölgelere kadar çok çeşitli habitatları işgal eden 43 tür ile temsil edilmektedir (Uetz, Freed ve Hošek, 2023). Grup içerisinde değerlendirilen pek çok tür için net diagnostik morfolojik karakterlerin olmaması, bunlarla ilgili geçmişte yürütülen morfoloji bazlı çalışmaların taksonomik yapıda sorunlu ve çelişkili sonuçlar üretmekten öteye gidememesi sonucunu doğurmuştur (Candan vd. 2021; Tarknishvili vd. 2020). Omurgalı sınıfları içerisinde partenogenetik üreme ilk defa *Darevskia* cinsi içerisinde tanımlanmıştır. Lantz ve Cyren (1936) tarafından yapılan çalışmada Ermenistan'dan bazı *Lacerta saxicola armeniaca* (günümüzde *Darevskia armeniaca*) popülasyonlarında erkek bireylerin bulunmadığı belirtilmiştir. Darevsky (1977) Ermenistan'da sadece dişilerden teşekkül eden popülasyonların bulunduğu yerleri belirterek söz konusu popülasyonlara dahil bireylerin partenogenetik üreme tarzına sahip olduklarını öne sürmüştür. Darevsky (1967) tarafından Kafkasya bölgesinde yayılış gösteren kaya kertenkelesi grubundan taksonların taksonomik durumu, ekolojisi ve biyolojisine yönelik kapsamlı çalışmada, Ermenistan ve Gürcistan coğrafyalarında dört partenogenetik formun (ilerleyen dönemde tür statüsüne yükseltilmişlerdir) (*D. armeniaca*, *D. dahli*, *D. rostombekowi* ve *D. unisexualis*) bulunduğu belirtilmiştir. İlerleyen süreçte, Türkiye'den, öncelikle bir (*D. uzzelli*) (Darevsky ve Danielyan, 1977) sonrasında da iki (*D. bendimahiensis* ve *D. sapphirina*) partenogenetik form tanımlanmıştır (Schmidtler vd. 1994). *Darevskia* cinsine yönelik ilk moleküler filogenetik çalışmalar, üç farklı genetik soy (*rudis*, *caucasica* ve *saxicola*) hattına işaret etmektedir (Murphy, Fu, Macculloch, Darevsky ve Kupriyanova, 2000). Cins içerisinde ortaya çıkan 7 partenogenetik form, *caucasica* soy hattına dahil maternal türlerle (*D. mixta* ve *D. raddei*) *rudis* soy hattına dahil paternal türler (*D. valentini* ve *D. portchinskii*) arasında gerçekleşen hibritleşme neticesinde ortaya çıkmıştır (Afonso vd. 2016; Murphy vd. 2000; Fu, Murphy ve Darevsky, 1997; Tarknishvili vd. 2020). Partenogenetik türlerin ortaya çıkmasında en

Darevskia cinsi üzerine gerçekleştirilen çalışmalar, partenogenetik kaya kertenkelelerinin, günümüzden yaklaşık 22-140 bin yıl önce Geç Pleistosen döneminde meydana gelen buzullaşmanın ciddi şekilde biseksüel türlerin coğrafik dağılışlarını etkiledikleri bölgelerde ortaya çıktıklarına işaret etmekte birlikte (Afonso vd. 2016; Girnyk vd. 2018; Moritz vd. 1992), yakın zamanda türlere ait cinsiyet kromozomlarını konu edinen bir çalışmada partenogenetik türlerin kökenlerinin günümüzden 0.5 ile 1 Milyon yıl ötesine dayandığı sonucuna ulaşılmıştır (Yanchukov vd. 2022). Cinse dahil biseksüel türlerin, dağılış sahalarının çakışmasının yanında uygun olmayan çevresel koşullar, türler arasında melez formların ortaya çıkmasını tetiklemiştir (Arakelyan vd. 2023; Freitas vd. 2019; Tarkhnishvili, Murtskhvaladze ve Gavashelishvili, 2013). Bugüne kadar yapılan çalışmalar partenogenetik hibrit türlerin çoğunluğunun genç formlar olduğu sonucunu göstermiştir ki, bu da kısa vadede ortaya çıkan ekolojik yönde avantajlara rağmen, partenogenetik üreme tarzının evrimsel zaman ölçeği açısından çok uzun bir süre sürdürülebilmesinin çok da ihtimal dahilinde olmadığını akla getirmektedir (Moreira, Fonseca ve Rojas, 2021; Yanchukov vd. 2022). Omurgalılarda partenogenetik formların yakın akraba eşeyli türler arasındaki melezleşme sonucunda ortaya çıktıklarına dair pek çok kanıt söz konusu olmakla birlikte (Cuellar, 1974), türler arası melezleşmeye ve iki türe ait erkek ve dişi bireyler arasındaki prezigotik üreme engellerinin üstesinden nasıl geldiği konusu hala belirsizliğini korumaktadır (Arakelyan vd. 2023). Atasal formlarının önemli ölçüde çeşitlenmesinin (Murtskhvaladze, Tarkhnishvili, Anderson ve Kotorashvili, 2020) yanında genetik, morfolojik ve davranışsal adaptasyonların nasıl geliştiği göz önüne alındığında (Tarknishvili vd. 2020), bu durum *Darevskia* cinsi için oldukça şaşırtıcıdır. *Darevskia* cinsi içerisindeki partenogenetik formların oluşmalarında en az üç hibridogenezin yer aldığı düşünülmektedir (Fu, Murphy ve Darevsky, 2000). Cinsin çeşitlenmesindeki en büyük etkenler hibridizasyon ve poliploidizasyondur (Arakelyan vd. 2023). Poliploidizasyon, popülasyon içindeki bireylerden bazılarının kromozom sayısının artması olayı olarak tanımlanmaktadır (Şekil 1.8 ve 1.9).

Partenogenetik bireyler ve eşeyli türler arası çaprazlama sonucu triploid ve tetraploid bireyler ortaya çıkarken, *Darevskia* cinsine mensup hiçbir tür triploid değildir. Partenogenetik kertenkelelerin, eşeyli türler ile aynı ortamda yaşadıkları ve

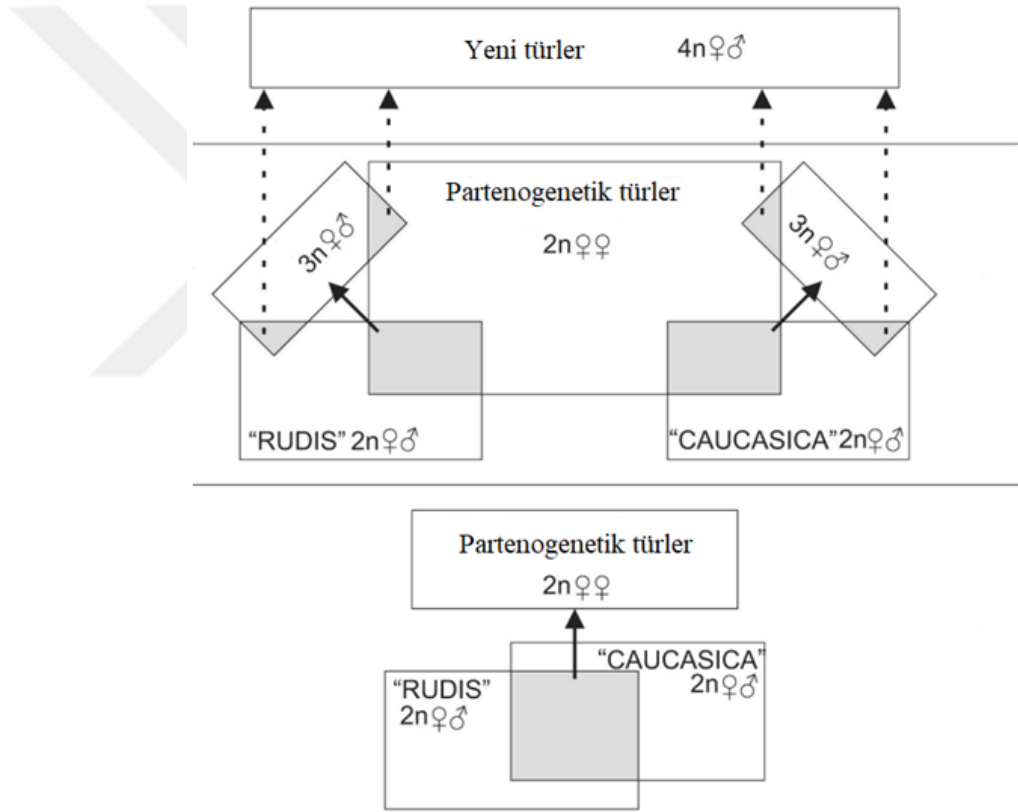
biyolojik özellikleri de birbirine benzediği için, incelenmesi oldukça zordur (Arakelyan vd. 2023).



Şekil 1.8 *Darevskia* cinsine ait türler arası hibridizasyon ağı. Kırmızı daireler *caucasica* soy hattından dişileri, mavi daireler *rudis* soy hattından erkekleri ve sarı daireler melezlenme sonucu ortaya çıkan partenogenetik türleri göstermektedir. Triploid (3n) bireyler partenogenetik ve eşeyli türler arası geri çaprazlama sonucunda ortaya çıkarken, tetraploid (4n) bireyler triploid bireyler ve eşeyli türler arası geri çaprazlama sonucu ortaya çıkarlar ve yalnızca erkek bireylerden oluşmaktadır (Arakelyan vd. 2023)

Lacertidae'de bulunan *Darevskia* Arribas, 1997 cinsinin 43 tür içerdiği bilinmektedir (Uetz vd. 2023). Bu cinse mensup türler için bilinen en önemli bulgulardan biri grubun partenogenetik türleri içermesidir. *Darevskia* cinsi içerisinde yer alan ve Türkiye'de de yayılış gösteren 5 farklı partenogenetik tür mevcuttur: *D. armeniaca* (Mehely, 1909), *D. bendimahiensis* (Schmidtler, Eiselt & Darevsky, 1994), *D. sapphirina* (Schmidtler, Eiselt & Darevsky, 1994), *D. unisexualis* (Darevsky, 1966) ve *D. uzzelli* (Darevsky & Danielyan, 1977). Mevcut tez çalışması kapsamında bu partenogenetik türler arasındaki filogenetik ilişkilerin moleküler düzeyde açıklanması,

her bir türe ait genetik çeşitliliğin tespit edilmesi ve barkodlama çalışmaları yapılarak tür isimlerinin tescillenmesi beklenmektedir. Örneklere ait mtDNA'nın *COI* gen bölgesi kullanılmak suretiyle partenogenetik formların hem daha öncesinde yapılmamış barkodlama yöntemi tatbikiyle taksonomik durumları netleştirilecek hem de genetik yapılarının ortaya çıkarılabilmesi mümkün olacaktır. Ayrıca mevcut tez çalışması tür dağılımları açısından hem doğal bir köprü hem de bir bariyer konumunda olan ülkemiz herpetofaunik zenginliğinin ortaya çıkarılmasına önemli bir katkı sağlayacaktır.



Şekil 1.9 Ploidi seviyesinin evrimsel süreci. Gri alanlar türler arası melez bölgeler. Oklar türler arası hibridizasyon sonucunu gösterirken, kesikli oklar hibridizasyonun tahmini sonucunu göstermektedir. *rudis* soy hattında erkek bireyler *D. valentini* ve *D. portchinskii*'ye aittir. *Caucasica* soy hattında dişi bireyler *D. raddei* ve *D. mixta*'ya aittir. Melezlenme sonucu ortaya çıkan partenogenetik türler, *D. armeniaca*, *D. bendimahiendis*, *D. dahli*, *D. rostombekowi*, *D. sapphirina*, *D. unisexualis* ve *D. uzzelli*'dir (Arakelyan vd. 2023)

BÖLÜM İKİ MATERYAL VE METOT

2.1. Türlerin Sistematik Durumu

ALEM: *Animalia*

ŞUBE: *Chordata*

ALTŞUBE: *Vertebrata*

ÜST SINIF: *Tetrapoda*

SINIF: *Reptilia*

TAKIM: *Squamata*

ALT TAKIM: *Sauria*

Familya: *Lacertidae*

Cins: *Darevskia* Arribas, 1997

Tür: *Darevskia armeniaca* (Mehely, 1909) (Hemşin Kertenkelesi)

Tür: *Darevskia bendimahiensis* (Schmidtler, Eiselt & Darevsky, 1994)
(Bendimahi Kertenkelesi)

Tür: *Darevskia sapphirina* (Schmidtler, Eiselt & Darevsky, 1994) (Van
kertenkelesi)

Tür: *Darevskia unisexualis* (Darevsky, 1966) (Ağrı Kertenkelesi)

Tür: *Darevskia uzzelli* (Darevsky & Danielyan, 1977) (Uzzel Kertenkelesi)

2.2. Türlerin Morfolojik, Ekolojik ve Biyolojik Özellikleri

2.2.1. *Darevskia armeniaca* (Mehely, 1909) (Hemşin Kertenkelesi)

Yedi partenogenetik kaya kertenkelesi türünden biri olan *Darevskia armeniaca* türü ilk kez 1909 yılında Mehely tarafından Sevan'dan (Ermenistan) *Lacerta saxicola* olarak tavsif edilmiştir. Dağılım sahasını Türkiye'nin kuzeydoğusu, kuzey ve kuzeybatı Ermenistan, güney Gürcistan ve batı Azerbaycan'ın teşkil ettiği bu tür, ülkemizde Trabzon, Ardahan ve Kars illerinde bulunmaktadır (Baran vd. 2021; Yaşar, Çiçek, Mulder ve Tok, 2021). Vücut boyu yaklaşık olarak 18 cm kadardır. Dorsal pullar düz veya hafif çıkıntılıdır. Masseterik çok büyük, tympanal plak ile aralarında bir sıra plak bulunur veya söz konusu plaklar temas eder, supraciliar granül sıraları daima kesiklidir (Darevsky, 1967; Ilgaz, 2004). Başının üstündeki zemin rengi sarımsı kahverengi olmakla birlikte üzerinde lekeler bulunur. Dorsal ortasının zemin rengi yeşil, yeşilimsi sarı veya yeşilimsi kahverengi renkleri arasında değişiklik gösterebilir. Bu zemin renginin üstünde de lekeler bulunur. Gövde yanlarında temporal şeritler koyu renkli ve lekeli. Bu şeritlerin orta bölümünde ön ayak hizasında bir iki tanesi mavi, geri kalanları beyaz renkte küçük yuvarlak lekeler mevcuttur. Başının alt kısmı beyazdır. Ventral plakları mavi renktedir, üzerinde koyu lekeler bulunur. Karın tarafının zemin rengi sarı, limon sarısı ve beyaz renklidir (Ilgaz, 2004; İret, 2004) (Şekil 2.1). Dağlık bölgelerde kayalık, taşlık kısımlarla kayalık yamaçlarda ve step bölgelerde yaşar. Yüksek steplerde otlar ve kayaların arasında görülür. Bazen harabelerde ve binaların duvarlarında rastlanılır. Böcek türleri ve yumuşakçalar ile beslenirler. Hibernasyondan çıkma süreleri yaşadıkları alanın yüksekliğine bağlı olmakla birlikte yaklaşık olarak mart ve mayıs aylarına denk gelmektedir. Dişi, yaklaşık olarak 3-4 kadar yumurta bırakmaktadır. Kuluçka süresinin 55 gün kadar sürdüğü bilinmektedir. Yavruların, yumurtadan çıkması ağustos başına denk gelmektedir (Baran vd. 2021). Maksimum ömür süreleri 8 yıl, cinsel olgunluğa ulaşma yaşları ise 3 yıl olarak belirlenmiştir (Arakelyan ve Ananjeva, 2001). Deniz seviyesinden 1800–2500 metre yükseklikler arasında yayılış gösterir. IUCN (*International Union for Conservation, Dünya Doğayı Koruma Birliği*) kriterlerine göre en az endişe verici (*Least concern, LC*) yani nesli tehlikede olmayan türler arasındadır. CITES (*Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora, Yabani Hayvan ve Bitki Türlerinin*

Uluslararası Ticaret Konvansiyonu) sözleşmesi eklerinde yer almazken BERN (*Berne Convention on the Conservation of European Wildlife and Natural Habitats*, Avrupa'nın Yaban Hayatı ve Doğal Yaşama Ortamlarının Korunması) sözleşmesi Ek 3'e göre koruma altındadır.



Şekil 2.1 *Darevskia armeniaca* türüne ait bir örneğin dorsolateral görünümü (Panner, 2006)

2.2.2. *Darevskia bendimahiensis* (Schmidtler, Eiselt & Darevsky, 1994) (*Bendimahi Kertenkelesi*)

Vücut boyu yaklaşık olarak 19 cm kadardır. Postocular plak, parietal plakla her zaman temas halindedir. Posttemporal plaklar 4 tanedir. Gövde yanlarında küçük mavi renkli lekeler mevcuttur ve bunlar en fazla üç tanedir. Başın üstünün zemin rengi açık kahverengimsi griye yakındır ve burada koyu lekeler bulunur. Bu lekeler, dorsal kısmın tamamını kaplamakta ve kuyruğa kadar devam etmektedir. Gövde yanlarının zemin rengi, dorsal kısmın renginden daha koyudur. Buradaki lekeler ise daha açıktır. Ventral kısım lekesiz kirli beyazdır. Dış ventral plak üzerinde, bu plakların dorsal pullara temas ettiği kısımlarda büyük mavi lekeler bulunur (Şekil 2.2). Taşlık ve yer yer kayalık olan suya yakın çayırılık kısımlarda yaşar. Sıkıştırıldıklarında dik kaya yüzeyinden aşağıya atlarlar. Böcek ve yumuşak omurgasız canlılarla beslenirler. Dişi, yaklaşık iki kadar yumurta bırakır. Nisan ve ekim ayları arasında aktiftirler.

Ülkemize endemik bir türdür (Baran vd. 2021; İret, 2004). Türe ait örnekler 3 yaşında cinsel olgunluğa ulaşmakta olup 7 yaşına kadar yaşamını sürdüren bireyler saptanmıştır (Yıldırım, Ilgaz, Kumlutaş ve Gül, 2021). Endemik olan bu tür, dar bir sahada yayılış göstermekte olup yurdumuzda Van'da Muradiye ve Çaldıran, Ağrı'da ise sadece Doğubeyazıt'dan bilinir. 1800–2300 metre yüksekliklerde yaşar (Baran vd. 2021). IUCN kriterlerine göre neslinin tükenme riski oldukça yüksek (*Endangered*, EN) türler arasındadır. CITES sözleşmesi eklerinde yer almazken BERN sözleşmesi Ek 3'e göre koruma altındadır.



Şekil 2.2 *Darevskia bendimahiensis* türüne ait bir örneğin dorsolateral görünümü (Panner, 2002)

2.2.3. *Darevskia sapphirina* (Schmidtler, Eiselt & Darevsky, 1994) (Van Kertenkelesi)

Vücut boyu diğer türlere nazaran daha küçük yapılı olmakla birlikte yaklaşık 16 cm kadardır. Postocular plak, parietal plağa genellikle temas eder. Posttemporal plak sayısı 4 tanedir. Gövdesinin yanlarında sayısı 3-7 arasında değişen büyük mavi lekeler bulunur (Akman, Yıldız, Göçmen ve İgci, 2016; İret, 2004; Schmidtler, Eiselt ve Darevsky, 1994). Başının üstünün zemin rengi gri kahverengidir. Üzerinde az sayıda

lekeler mevcuttur. Dorsal zemin rengi genellikle yeşilimsi gri olmakla birlikte bazen hafif sarımsı gri de olabilir. Bu zemin üzerinde düzensiz ve ince lekeler vardır. Gövde yanlarının zemin rengi, dorsal kısımdan koyudur. Ön bacaklarının gövdeye bağlandığı kısımlarda içleri mavi renkli olan sayısı 3-7 arasında değişen lekeler bulunur. Vücudun ventral kısmı kirli beyaz ve lekesizdir. En dıştaki ventral plakların dorsal pullarla temas ettiği kısımlarda mavi lekeler mevcuttur (Baran vd. 2021; İret, 2004) (Şekil 2.3). Ülkemize endemik türün günümüze kadar yapılan çalışmalar sonucunda, çok dar bir sahada 3 farklı lokalitede (Erciş'in 30 km kuzeybatısı, Derecik-Zallı köyleri ve 5 km Duracak-Ortayayla köyleri) varlığını sürdürdüğü belirlenmiştir (Akman vd. 2016). Yüksek step bölgelerdeki karstik ve volkanik–bazalt kayalıklarda yaşayan tür, böcek ve yumuşak omurgasız canlılarla beslenirler. Dişi yaklaşık 2-4 kadar yumurta bırakır. Haziranda bırakılan yumurtalardan ağustos ayı içerisinde yavrular çıkar (Akman vd. 2016). Türe ait en yaşlı bireyinin 6 yaşında olduğu ve eşeyssel olgunluğa üçüncü hibernasyon döneminden sonra eriştiği bilinmektedir (Arakelyan vd. 2013). IUCN kriterlerine göre en az endişe verici (LC) yani nesli tehlikede olmayan türler arasındadır. CITES sözleşmesi eklerinde yer almazken BERN sözleşmesi Ek 3'e göre koruma altındadır.



Şekil 2.3 *Darevskia sapphirina* türüne ait bir örneğin dorsolateral görünümü (Panner, b.t)

2.2.4. *Darevskia unisexualis* (Darevsky, 1966) (Ağrı Kertenkelesi)

Vücut boyu 20 cm'dir ve sırt pulları düzdür. Rostral plak internasal plak ile temas halindedir ve bu temas çizgisi uzundur. Postocular, parietal plağa genellikle temas eder. Subocular ile 1.supratemporal plak arasında en dar kısımda dört adet plak mevcuttur. Preanal plak sayısı 1-2 tanedir. Masseterik ile tympanik arasında 2-4 adet küçük pul bulunur (Darevsky, 1967; İret, 2004). Başın üstünün zemin rengi kahverengi, hafif yeşilimsi gri veya daha koyu kahverengimsi gri olabilir. Zemin üzerinde siyah lekeler mevcuttur. Bu lekeler sırt bölgesinde de devam eder. Gövde ve boyun yanlarının zemin rengi sırttan daha koyudur, üzerinde iç kısımları beyazımsı yuvarlak lekeler vardır. Bu lekelerden ön bacağıın üst tarafında yer alan lekelerden 1-3 tanesinin iç kısmı mavidir. Ön bacakların üst tarafında küçük siyah ve dağınık lekeler vardır. Arka bacağıın üst tarafındaki lekeler daha açık renklidir. Vücutun alt tarafı lekesiz beyazımsıdır. Zemin rengi diğer ventral plaklardan daha koyu olan dış ventral plaklar üzerinde koyu mavi lekeler mevcuttur. Bu lekeler, ventral plaklar üzerinde, sırt pullarına yakın bölgelerdedir (Şekil 2.4). Taşlık ve kayalık bölgelerde yaşarlar. Uçamayan böcek türleri ile beslenirler. Bir dişi temmuz ayında 5 kadar yumurta bırakır (Baran vd. 2021). İncelemeler sonucunda cinsel olgunluğa üçüncü hibernasyondan sonra ulaştığı ve 8 yaşında bireylere rastlanmıştır (Arakelyan vd. 2013). Nisan-mayıs aylarında aktiftirler. Hibernasyona ekim ayında girerler. Türkiye'de Doğu Anadolu Bölgesi'nde Erzurum, Kars, Ardahan ve Ağrı'da yayılış gösterirler. IUCN kriterlerine göre nesli tükenmekte olan veya tehdit altında (*Near threatened*, NT) statüsündedir. CITES sözleşmesi eklerinde yer almazken BERN sözleşmesi Ek 3'e göre koruma altındadır.



Şekil 2.4 *Darevskia unisexualis* türüne ait bir örneğin dorsolateral görünümü (Panner, 2005)

2.2.5. *Darevskia uzzelli* (Darevsky & Danielyan, 1977) (Uzzel Kertenkelesi)

Vücut boyu 18 cm'dir. Sırt pulları düzdür. Rostral plak ile internasal plak temas etmez veya eder. Subocular ile 1.supratemporal plak arasında en dar kısımda üç adet plak mevcuttur. Preanal plak sayısı genellikle 2 tanedir. Postocular, parietal plak ile temas etmez. Posttemporal plak sayısı üç tanedir. Sırttaki lekeler orta kısımda boyuna occipital bant şeklindedir (İret, 2004). Başın üstü grimsi kahverengidir ve genellikle lekesizdir. Sırt tarafın zemin rengi genellikle yeşilimsi gri, daha koyun tonda veya grimsi kahverengidir. Bu zemin üzerinde siyah lekeler bulunur. Lekeler, sırt ortasında birbirine daha yakın konumlanırlar. Bu durumda, sırt ortasının iki yanında lekesiz kısımlar görülür. Baş ve gövde yanlarının zemini sırt taraftan daha koyu renklidir. Boyun ve gövde yanlarında ortası sarımsı beyaz yuvarlak lekeler gövde ortasında belirgindir. Sırt ortasındaki koyu lekeler küçülerek kuyruğun başlangıç kısmına kadar devam eder. Ön bacakların üst tarafında küçük ve seyrek siyah lekeler vardır. Alt taraf yeşilimsi sarı veya beyazımsı renklidir. Dış ventral plaklar üzerinde açık mavi lekeler bulunabilir (Baran vd. 2021; İret, 2004) (Şekil 2.5). Bitkilerin seyrek olduğu taşlık ve kayalık bölgelerde yaşarlar. Böcek ve yumuşakça türler ile beslenirler (Baran vd. 2021). İncelemeler sonucunda, cinsel olgunluğa üçüncü hibernasyondan sonra ulaştığı ve 6 yaşında bireye rastlanmıştır (Arakelyan vd. 2013). Endemik bir türdür. Doğu Anadolu Bölgesi'nde Erzurum ve Kars illerinde yayılış gösterir. IUCN kriterlerine

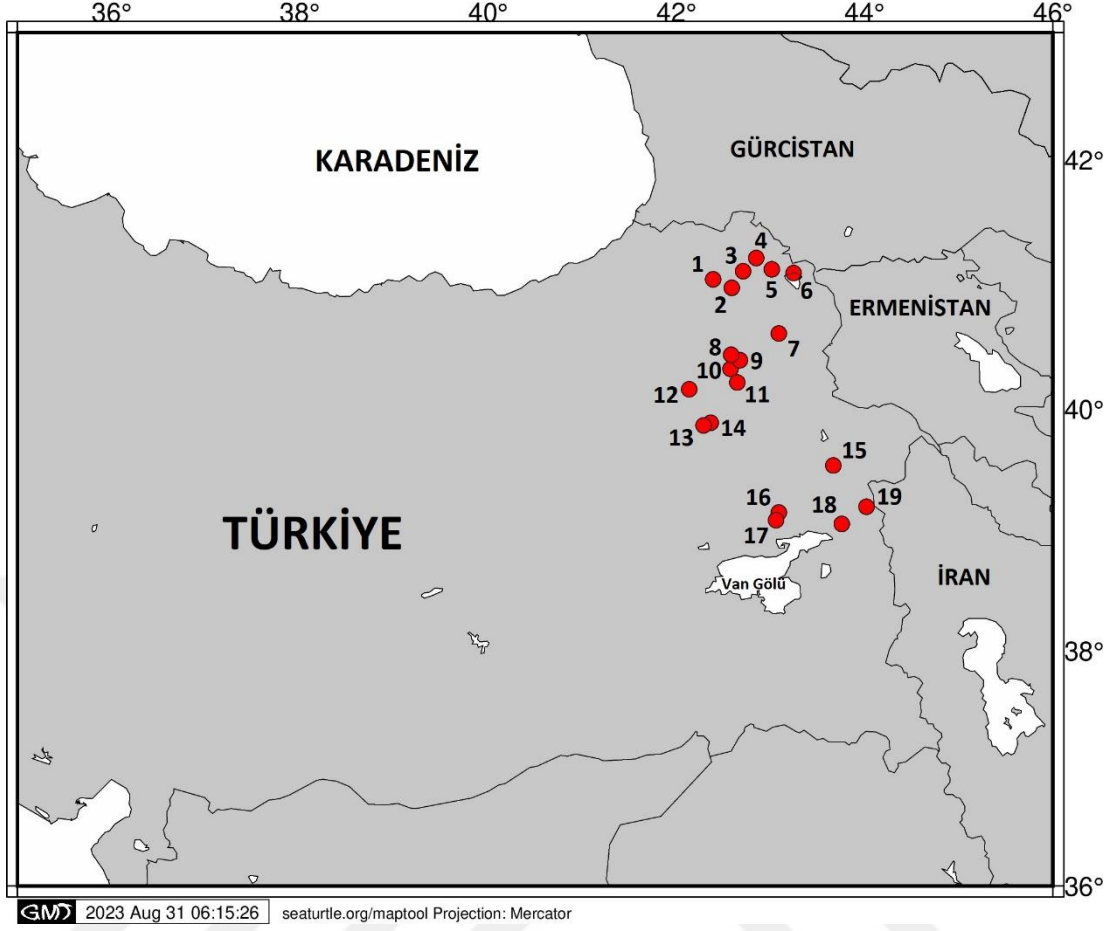
göre EN statüsündedir. CITES sözleşmesi eklerinde yer almazken BERN sözleşmesi Ek 3'e göre koruma altındadır.



Şekil 2.5 *Darevskia uzzelli* türüne ait bir örneğin dorsolateral görünümü (Panner, 2005)

2.3. Örneklerin Temini

Araştırma konusunu oluşturan *Darevskia* cinsine ait örnekler önceki yıllarda cinse ait partenogenetik türlerin yayılış gösterdiği bölgelerden toplanan ve Dokuz Eylül Üniversitesi Fauna ve Flora Araştırma ve Uygulama Merkezi bünyesinde yer alan hayvan koleksiyonundan temin edilmiştir. Çalışma kapsamında değerlendirilen örneklere ait lokaliteler Şekil 2.6'da gösterilmiş olup Tablo 2.1'de ayrıntılı olarak bilgi verilmiştir [Çalışmada kullanılan *Darevskia sapphirina* türüne ait örnekler Adıyaman Üniversitesi Zooloji Müzesi (ZMADYU) envanterine kayıtlı olup Prof. Dr. Mehmet Zülfü YILDIZ'dan temin edilmiştir].



Şekil 2.6 Çalışma kapsamında değerlendirilen popülasyonların lokaliteleri (Sayılar için Tablo 2.1'e bakınız)

Tablo 2.1 Türlerin yayılış gösterdiği lokaliteler ve DNA kodları

Tür	Harita Numarası	Lokalite	Toplanma Tarihi	DNA Kodu
<i>D. sapphirina</i>	17	Erciş, Van	11.07.2010	Dsap15, Dsap17, Dsap18, Dsap19
	16	Erciş-Patnos arası 24. km., Van	11.07.2010	Dsap20, Dsap21, Dsap23
<i>D. bendimahiensis</i>	18	Muradiye Şelalesi, Van	27.07.2015	Dben1, Dben2, Dben4
	19	Çaldıran-Doğubayazıt arası 10. km., Van	26.07.2015	Dben5, Dben6
	19	Çaldıran, Van	01.07.2015	Dben12, Dben13
<i>D. armeniaca</i>	3	Ardahan	18.07.2016	Darm1, Darm2
	1	Bağdaşan Köyü, Ardahan	26.05.2018	Darm5
	6	Çıldır Gölü, Ardahan	25.07.2015	Darm6, Darm7

Tablo 2.1'in devamı

<i>D. armeniaca</i>	2	Ardahan-Göle arası 10. km., Ardahan	24.07.2015	Darm10
	5	Meryem Köyü, Ardahan	03.07.2015	Darm14, Darm15
<i>D. uzzelli</i>	14	Aktaş Köyü, Ağrı	30.06.2015	Duzz2
	10	Katerina Köşkü, Sarıkamış, Kars	04.07.2015	Duzz3, Duzz4
	13	Yazılıtaş Köyü, Horasan, Erzurum	30.06.2015	Duzz7, Duzz8
	9	Çatak, Sarıkamış, Kars	22.07.2013	Duzz9
	7	Kars	22.07.2013	Duzz11, Duzz12
	8	Boyalı, Sarıkamış, Kars	22.07.2013	Duzz14
<i>D. unisexualis</i>	4	Hanak, Ardahan	03.07.2015	Duni1, Duni2
	14	Aktaş Köyü, Erzurum	30.06.2015	Duni3, Duni4
	15	Diyadin, Ağrı	01.07.2015	Duni5, Duni6
	11	Mescitli, Sarıkamış, Kars	22.07.2013	Duni7
	7	Kars	22.07.2013	Duni8, Duni9
	13	Yazılıtaş Köyü, Horasan, Erzurum	30.06.2015	Duni10, Duni11
	12	Hacıahmet Köyü, Horasan, Erzurum	21.07.2013	Duni12

2.4. Laboratuvar Çalışması

5 farklı partenogenetik kertenkele türüyle ilgili yapılması planlanan laboratuvar çalışmalarının gerçekleştirilebilmesi için her bir örneğin kuyruk kısmından yaklaşık 0,5 cm olacak şekilde bir doku parçası alınmıştır. Alınan parçalar %98'lik alkol içerisine yerleştirilmiş ve ardından -80°C'deki derin dondurucuda saklanarak bir doku kütüphanesi oluşturulmuştur. Her bir doku örneğine bir kod numarası verilmek suretiyle kayıt altına alınmıştır (Tablo 2.1).

2.4.1. Moleküler Analizler

Moleküler çalışma için her bir örneğe ait kuyruktaki kas dokusu kullanılmıştır. Moleküler çalışmaların ilk basamağı olarak DNA izolasyonu için her bir doku örneği yaklaşık 0,02 mg olacak şekilde steril bisturi yardımı ile mekanik olarak parçalanarak

1,5 ml'lik ependorf tüplerine aktarılmış ve laboratuvar çalışmalarının diğer basamaklarına geçilmiştir.

2.4.1.1. DNA izolasyonu

Küçültülmüş doku örneklerinden GeneAll DNA izolasyon kiti kullanılarak DNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Bu aşamada gerçekleştirilen basamaklar aşağıda sırasıyla verilmiştir:

1) Dokunun bulunduğu ependorf tüp içine 200 µL Buffer CL eklenerek vortekslenmiştir.

2) 20 µL proetinase K eklenerek vortekslenmiştir. Kapak parafilm ile kapatılarak 56 °C'de en az 3 saat inkübasyona bırakılmıştır.

3) İnkübasyonun sonunda 200 µL Buffer BL eklenerek vortekslenmiştir. 10 dakika boyunca 70 °C'de inkübe edilmiştir

4) 200 µL etanol eklenerek vortekslenmiştir.

5) Tüm ürün spin kolona aktarılarak 8000 rpm'de 1 dakika santrifüj yapılmıştır.

6) 600 µL Buffer BW eklenerek, 8000 rpm'de 1 dakika santrifüj yapılmıştır.

7) 700 µL Buffer TW eklenerek, 8000 rpm'de 1 dakika santrifüj yapılmıştır. Son olarak 13000g'de 1 dakika santrifüj yapılmıştır.

8) Spin kolon yeni bir ependorf tüpe alınmıştır.

9) 100 µL Buffer AE eklenerek, 13000g'de 1 dakika santrifüj yapılmıştır.

Bu şekilde elde edilen DNA numuneleri -20°C derin dondurucuda muhafaza edilerek sonraki aşamada Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) için kullanılmıştır.

2.4.1.2. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR)

Bu çalışma kapsamında değerlendirilmek üzere mitokondriyal DNA'da (mtDNA) yer alan sitokrom oksidaz subunit I (COI) gen bölgesinin kısmi dizisi moleküler belirteç olarak hedeflenmiştir. Bu gen bölgesinin Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) ile çoğaltılması için Tablo 2.2'de verilen primeler kullanılmıştır.

Tablo 2.2 COI gen bölgesinin PCR ile çoğaltılmasında kullanılan primerler

Primer Kodu	Primer Dizisi (5'...-3')	Kaynak
LCO1490	GGTCAACAAATCATAA AGATATTGG	Folmer vd. 1994
HCO2198	TAAACTTCAGGGTGACC AAAAAATCA	

Polimeraz Zincir Reaksiyonunun (PCR) başarılı bir şekilde gerçekleşmesi için gerekli reaksiyon şartları Tablo 2.3'de verilmiştir.

Tablo 2.3 COI barkod bölgesinin PCR ile çoğaltımında kullanılan reaksiyon koşulları (dk: dakika; sn: saniye).

Başlangıç Denatürasyonu	Denatürasyon	Bağlanma	Uzama	Son Uzama	Döngü
95 °C/5 dk	95 °C/1 dk	46 °C/1 dk	72 °C/45 sn	72 °C/5 dk	35

PCR işlemi sonrasında elde edilen ürünler agaroz jel elektroforezi ile görüntülenerek kontrol edilmiştir. Çoğaltma başarısının yüksek olduğu tespit edilen ürünler DNA dizilerinin elde edilebilmesi için sekanslama analizi yapılmak üzere bir firmaya gönderilmiştir.

2.4.1.3. Filogenetik Analizler

DNA dizi analizi sonucunda elde edilen tüm çıktı dosyaları tek tek incelenerek okuma başarısı düşük olan diziler tespit edilmiştir. Bu şekilde sonuç alınamayan örnekler için tüm laboratuvar işlemleri tekrarlanarak başarı sağlanmaya çalışılmıştır. DNA dizilime analizi sonucunda elde edilen *COI* gen bölgesine ait 586 baz çiftlik bölge genetik analizlerde kullanılmıştır.

Öncelikle DNA dizileri MAFFT v7 (Kazutaka ve Daron, 2013) programı kullanılarak hizalanmıştır. Haplotip sayısı ve çeşitliliği DnaSP v5 (Librado ve Rozas, 2009) programı kullanılarak belirlenmiştir. Ayrıca türler arasındaki genetik uzaklık değerleri MEGA X (Kumar, Stecher, Li, Knyaz ve Tamura, 2018) programı kullanılarak hesaplanmıştır. Filogenetik ağaç analizlerinin gerçekleştirilmesi için en iyi DNA değişim modeli IQ-TREE¹ (Trifinopoulos, Nguyen, von Haeseler ve Minh, 2016) kullanılarak tespit edilmiştir. Yürütülen analiz sonucunda en uygun değişim modeli Maksimum Olasılık analizi için TPM2 ve Bayesian Yaklaşımı için ise HKY+gamma olarak bulunmuştur.

¹IQ-TREE web: <http://iqtree.cibiv.univie.ac.at/>

Filogenetik ağaç topolojisini oluşturmak için Neighbor-Joining (NJ), Maximum Olasılık (ML) ve Bayesian Yaklaşımı (BI) uygulanmıştır. NJ analizi MEGA X programında p-distance evrim modeli altında ve bootstrap 1000 olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. ML analizi IQ-TREE (Trifinopoulos vd. 2016) programı ile bootstrap değeri 100 olacak şekilde standart algoritma ile yürütülmüştür. Son olarak Bayesian analizi MrBayes v3 (Ronquist vd. 2012) programı kullanılarak yapılmıştır. Bu analiz için her bir döngüde 2×10^7 jenerasyon yapılmış olup, her 100 jenerasyonda bir ağaç topolojisi kayıt altına alınmıştır.

Bulgular sonucu elde edilen filogenetik ağaçtaki dalların türleri temsil etme durumları tür ağacı analizleri (*species delimitation*) ile sınırlanmıştır. Bunun için farklı yaklaşımlar uygulanmıştır: (i) ABGD (Puillandre vd. 2012), (ii) bPTP (Yang vd. 2013), (iii) mPTP (Kapli vd. 2017), (iv) GMYC (Fujisawa ve Barraclough, 2013) ve (v) TCS (Clement, Posada ve Crandall, 2000).

ABGD¹ (*Automatic Barcode Gap Discoverly*) analizi, barkod boşluğuna dayalı olarak türleri sıralar ve bu şekilde aday tür sayısı elde edilir (Puillandre vd. 2012). ABGD analizi, Kimura-2-Parametresi (K2P) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Değişkenlik değeri (p) 0,001 (pmin) ve 0,1 (pmax) arasında ayarlanmıştır.

PTP (*Poisson tree processes*) yaklaşımı, ortaya çıkan dallar üzerinden tür sınırlarını tahmin etmek için kullanılır (Zhang, Kapli, Pavlidis ve Stamatakis, 2013). Bu amaçla hem bPTP² (*Bayesian poisson tree processes*) hem de mPTP³ (*multi rate poisson tree processes*) (Kapli vd. 2017) analizleri gerçekleştirilmiştir. Bu analizlerin yürütülebilmesi için ML analizi sonucu elde edilen filogenetik ağaç kullanılmış olup, dış gruplar dahil edilmemiştir.

GMYC (*Generalized Mixed Yule Coalescent*) analizi, R.4.2.2 (<http://www.R-project.org>) programında ‘ape’ paketi (Paradis, Claude ve Strimmer, 2004) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Analizi gerçekleştirebilmek için ihtiyaç duyulan ultrametrik ağaç topolojisi BEAST v1.10.4 (Rambaut, Suchard, Xie ve Drummond, 2018) programı ile elde edilmiştir. Bu analiz *uncorrelaed relaxed clock* modeli altında 10⁶ jenerasyon olacak şekilde dört tekrarlı gerçekleştirilmiştir. Her tekrar sonucunda elde edilen çıktıların güvenilirliği Tracer v1.7.2 (Rambaut vd. 2018) programı ile kontrol edilmiş ve LogCombiner v1.10.4 programı ile *burn-in* %25 olacak şekilde birleştirilmiştir. Son olarak bu birleştirilmiş doysa üzerinden TreeAnnotator v1.10.4 programı ile GMYC analizinde kullanılmak üzere bir konsensüs ağacı oluşturulmuştur.

Tür sınırlarının belirlenmesine yönelik son olarak TCS v.1.21 (Clement, Posada ve Crandall, 2000) programında bağlantı sınırı %90 olacak şekilde istatistiksel parsimoni analizi yürütülmüştür.

¹ abgd web: <https://bioinfo.mnhn.fr/abi/public/abgd/abgdweb.html>

² bPTP web: <https://species.h-its.org/>

³ mPTP web: <https://mptp.h-its.org/#/tree>

Haplotipler arasındaki soy akrabalığı örüntüsünün ortaya çıkarılması için PopART v1.7 (Leigh ve Bryant, 2015) programı kullanılmıştır.

2.5 Barkodlama Analizi

Barkod bölgesindeki dizi farklılıkları (tür içi ve türler arası varyasyonlar, en yakın komşu türe olan genetik uzaklık), Kimura-2-Parametre (K2P) metodu kullanılarak hesaplanmıştır ve bu hesaplamalar için "*Barcode Gap Analysis*" aracı (*BOLD*) (*BOLD systems v3, b.t*) kullanılmıştır.



BÖLÜM ÜÇ BULGULAR

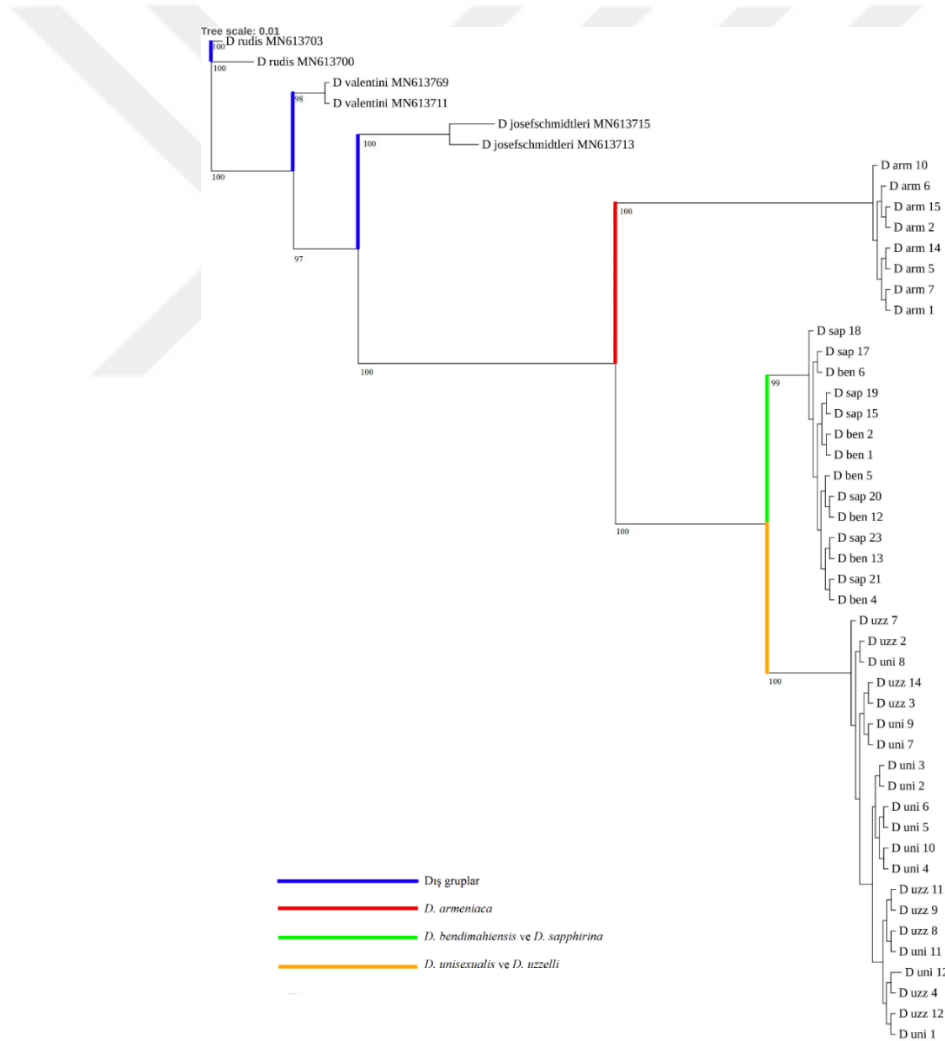
Gerçekleştirilen analizler sonucunda, veri setinin toplamda 4 farklı haplotip içerdiği tespit edilmiştir. Tespit edilen haplotiplerden biri *D. armeniaca* türünü, bir diğeri ise *D. bendimahiensis* ile *D. sapphirina* türlerinin her ikisini birden temsil etmektedir. Bununla birlikte *D. unisexualis* ile *D. uzzelli* türleri de aynı haplotipi paylaşırken, bir *D. unisexualis* popülasyonu (Horasan, Erzurum) ayrı bir haplotip olarak ortaya çıkmaktadır.

Türkiye’de yayılış gösteren ve çalışma konusunu oluşturan partenogenetik *Darevskia* türlerinin, hesaplanan genetik uzaklık değerleri Tablo 3.1’de verilmiştir. Tablo geneli göz önünde bulundurulduğunda, türler arası genetik uzaklığın en fazla olduğu *D. armeniaca*’nın ülkemizde dağılış gösteren diğer partenogenetik kertenkele formlarından genetik olarak daha farklı olduğu gözükmemektedir. En yüksek değer, *D. armeniaca*’nın %10,8 olarak *D. unisexualis* ve *D. uzzelli*’ye uzaklığıdır. En düşük değer ise %3,1 olarak hem *D. unisexualis* hem de *D. uzzelli*’nin, hem *D. bendimahiensis* hem de *D. sapphirina*’ya uzaklığıdır. Aynı haplotipi paylaşan *D. bendimahiensis* ile *D. sapphirina* ve *D. unisexualis* ile *D. uzzelli*’nin genetik olarak benzer oldukları sonucuna ulaşılmıştır.

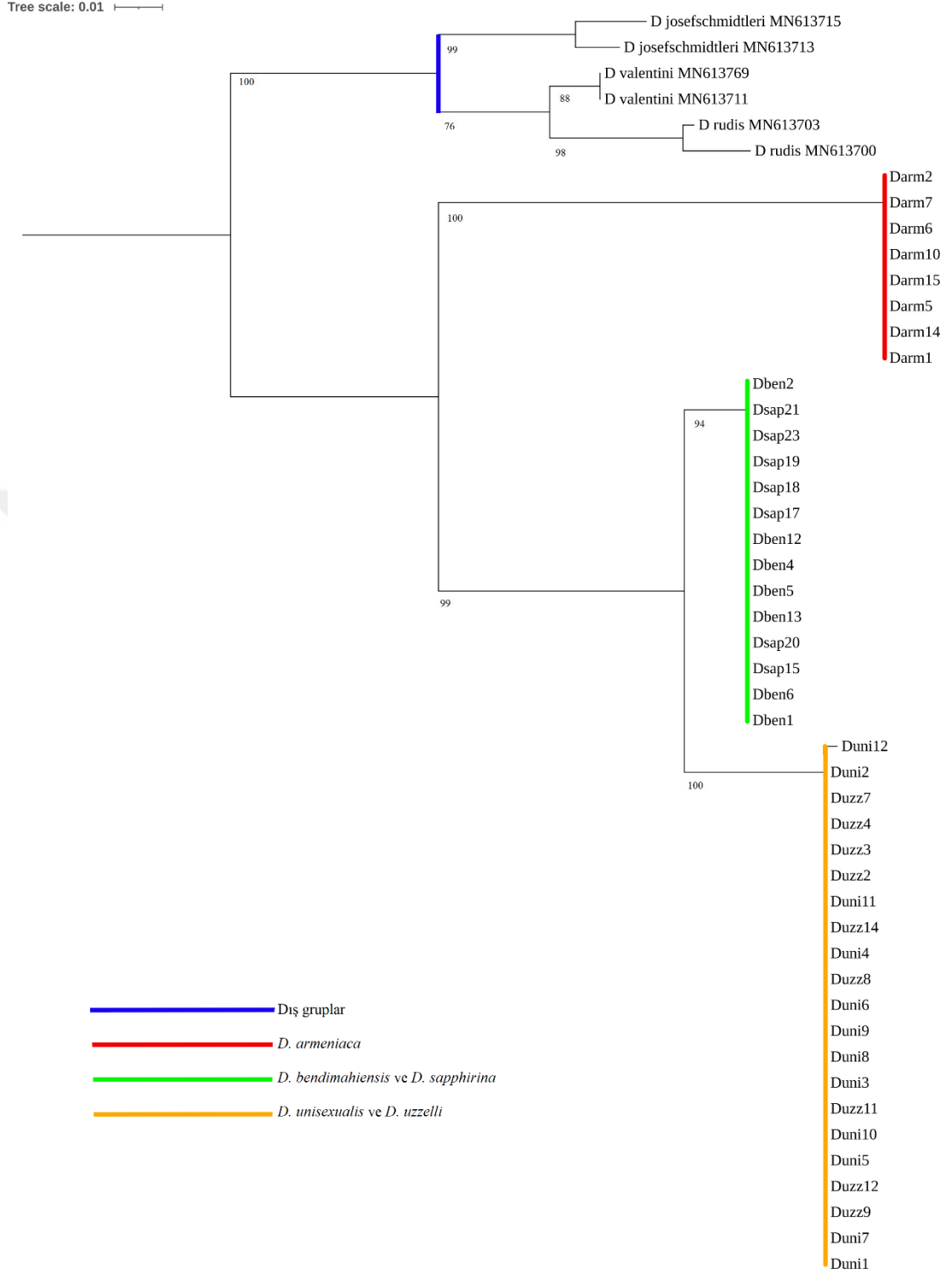
Tablo 3.1 Türler arası genetik uzaklık değerleri (sol-alt) ve standart sapması (sağ-üst)

	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)
(1) <i>D. armeniaca</i>		0,013	0,013	0,013	0,013
(2) <i>D. bendimahiensis</i>	0,102		0,000	0,007	0,007
(3) <i>D. sapphirina</i>	0,102	0,000		0,007	0,007
(4) <i>D. unisexualis</i>	0,108	0,031	0,031		0,000
(5) <i>D. uzzelli</i>	0,108	0,031	0,031	0,000	

Çalışma kapsamında gerçekleştirilen her bir gen ağacı analizi sonucunda 3 farklı monofiletik grubun varlığını destekleyen benzer ağaç topolojileri oluşmuştur. Buna göre çalışma konusunu oluşturan partenogenetik türler içinde en farklı olanı *D. armeniaca* olarak öne çıkmaktadır. Her bir ağaçta, bir dal *D. armeniaca* türünü temsil etmektedir. Analizler sonucunda elde edilen soy hatlarını temsil eden dalların güvenilirliğini gösteren bootstrap ve pp değerleri 100 ve 1.00 olarak karşımıza çıkmaktadır. Diğer türler dikkate alındığında *D. sapphirina* ile *D. bendimahiensis* ve *D. uzzelli* ile *D. unisexualis* türlerinin aynı dalları paylaştıkları görülmektedir (Şekil 3.1, 3.2 ve 3.3).



Şekil 3.1 Gerçekleştirilen NJ analizi sonucunda bulunan filogenetik ağaç (Dallar üzerindeki sayılar bootstrap değerlerini ifade etmektedir)



Şekil 3.2 Gerçekleştirilen ML analizi sonucunda bulunan filogenetik ağaç (Dallar üzerindeki sayılar bootstrap değerlerini ifade etmektedir)

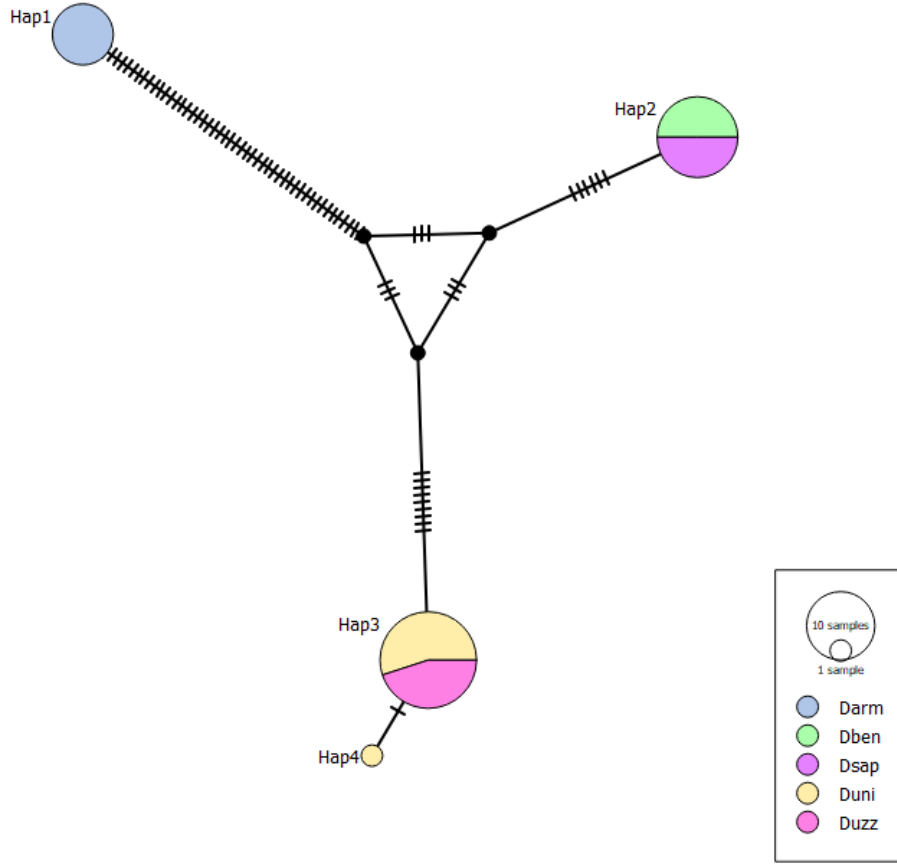
Tablo 3.2. Tür ağacı analizlerinin sonuçları

	ABGD	bPTP	mPTP	GMYC	TCS
<i>D. armeniaca</i>	1	1	1	1	1
<i>D. bendimahiensis</i>	2	2	1	2	2
<i>D. sapphirina</i>	2	2	1	3	2
<i>D. unisexualis</i>	3	3	1	4	3
<i>D. uzzelli</i>	3	3	1	5	3

Gerçekleştirilen tür ağacı analizleri arasından ABGD, bPTP ve TCS analizleri, çalışma grubunu 3 farklı türe ayırmaktadır. Bu analizlerde *D. armeniaca* türü ayrı bir grup olarak gösterilirken, *D. sapphirina* ile *D. bendimahiensis* ve *D. uzzelli* ile *D. unisexualis* türleri birbirinden ayrılmamış, tam tersine aynı tür olarak gruplanmışlardır. Gerçekleştirilen bir diğer tür ağacı analizlerinden mPTP ise, her tür için bir ayırım sağlamamış, aksine sadece tek bir tür grubu olduğunu göstermiştir. Son olarak GMYC analizi ise tüm türleri tek tek ayırmış ve çalışılan grubun 5 farklı tür içerdiğini göstermiştir. Haplotipler arasındaki soy akrabalığını göstermek için PopART programı ile elde edilen görsel aşağıda belirtildiği gibidir (Şekil 3.4).

Tablo 3.3 İncelenen *Darevskia* türleri içinde COI için K2P mesafeleri

Türler	BIN	N	I_{min}	I_{max}	En yakın komşu	En yakın tür	DNN
<i>D. armeniaca</i>	BOLD:AAE7437	1	N/A	0	DAREV-003-23	<i>D. sapphirina</i>	11,32
<i>D. bendimahiensis</i>	BOLD:AAE3688	1	N/A	0	DAREV-003-23	<i>D. sapphirina</i>	0
<i>D. sapphirina</i>	BOLD:AAE3688	1	N/A	0	DAREV-002-23	<i>D. bendimahiensis</i>	0
<i>D. unisexualis</i>	BOLD:AAJ4470	2	0.17	0.17	DAREV-006-23	<i>D. uzzelli</i>	0
<i>D. uzzelli</i>	BOLD:AAJ4470	1	N/A	0	DAREV-004-23	<i>D. unisexualis</i>	0



Şekil 3.4 Haplotipler arası soy akrabalığı

Tablo 3.3'e göre *BIN* (*Barcode Index Number* - Barkod Dizin Numarası), barkod kümeleri için *BOLD* tarafından tür içinde tanınan bir tanımlama numarası; *N*, barkod dizilerinin sayısı; I_{min} , tür içindeki minimum mesafe; I_{max} , tür içindeki maksimum mesafe; en yakın komşu, barkodlama süreciyle elde edilen en yakından ilişkili türü temsil etmektedir. *DNN*, en yakın komşuya olan ortalama genetik mesafeyi ifade etmektedir.

Tablo 3.3 göz önünde bulundurulduğunda, barkodlama analizinin sonucunda *D. armeniaca*'ya en yakın komşu tür olarak *D. sapphirina* bulunmuştur. Bu iki türün aralarındaki ortalama genetik mesafe 11,32 olarak hesaplanmıştır. Diğer yandan, *D. bendimahiensis* ile *D. sapphirina* ve *D. unisexualis* ile *D. uzzelli* arasında *COI* profilleri açısından genetik olarak farklılık tespit edilmemiştir.

BÖLÜM DÖRT

TARTIŞMA

Yeryüzündeki omurgalı grupları ele alındığında, henüz tanımlanmadığı veya kriptik türlerin tespiti tam anlamıyla ortaya konulamadığı için tür zenginliği hakkında geniş bir bilgiye sahip olamadığımız herpetofaunik çeşitlilik yok olma tehlikesi altındaki grupların başında gelmektedir (Chambers ve Hebert, 2016; Hoffmann vd. 2010). Türlerin tespiti ve tanımlanması için geleneksel morfolojiye dayalı olarak yürütülen yöntemler zaman alıcı olabilmektedir. Bu yavaş işleyiş, koruma stratejilerinin geliştirilmesi noktasında türlerin uygunsuz bir şekilde sıralanmasına neden olabilmekte ve bazen gizli kalmış bir türün tanımlanmasına imkan tanınmadan yok olmasını beraberinde getirebilmektedir (Chambers vd. 2016). Genomun belli bir bölümünün taksonların tanımlayıcısı olarak kullanılabileceği fikri Hebert vd. (2003a) tarafından yapılan ilk çalışmadan bu yana geniş çaplı bir şekilde kabul görmektedir (Drohvalenko vd. 2019). Günümüzde taksonların morfolojik ve moleküler tanımlamaları arasındaki boşluğu dolduran DNA barkodlama yöntemi, az bilinen veya morfolojik tanımlamada zorluklar içeren gruplarda, gelişmiş teknolojiler ve dizileme fiyatındaki ciddi düşüş sayesinde türlerin tanımlanması için basit, hızlı ve kesin bir yöntem olarak ön plana çıkmaktadır (de Carvalho vd. 2007). Moleküler düzeyde tür tayini yapmak amacıyla DNA barkod bölgesi olarak en çok kullanılan genler arasında mitokondriyal genom üzerinde bulunan ve yaklaşık 500-700 baz çiftlik uzunluğa sahip sitokrom c oksidaz alt birim 1 (*COI*) gen bölgesi gelmektedir (Kress ve Erickson, 2008). *COI* genine dayalı olarak yürütülen ve türlerin ön tanımlanmasını sağlayan DNA barkodlama, herpetofaunik dahil olmak üzere birçok organizmada türlerin tespitini ve keşfedilmesini kolaylaştırmıştır (Chambers vd. 2016). Her ne kadar yakın zamana kadar *COI* gen bölgesine dayalı olan ve çalışma grubunu oluşturan taksonların evrimsel geçmişini, dağılımları ile ilgili biyocoğrafik durumlarını ve filocoğrafik örüntülerini ortaya çıkarmak için yürütülen çalışmalar olsa da özellikle sürüngenler üzerinde DNA barkodlama yaklaşımının uygulandığı çok az sayıda çalışma mevcuttur (Vasconcelos vd. 2016; Vences, Nagy, Sonet ve Verheyen, 2012).

Mitokondriyal DNA dizisi ve allozim verileri kullanılarak yapılan bir çalışmada (Murphy vd. 2000) *Darevskia* cinsine mensup 15 biseksüel tür, *saxicola*, *rudis* ve *caucasica* olmak üzere 3 soy hattı içerisinde değerlendirilmiştir. İlk tanımlandıklarında *Darevskia caucasica* (Mehely, 1909)'nın birer alt taksonları olarak ele alınan *daghestanica* ve *alpina* formları (Darevsky, 1967) sonrasında tür seviyesine yükseltilmişlerdir (Darevsky, 1967; Fu vd. 1995; MacCulloch, Fu, Darevsky ve Murphy, 2000). Doronin vd. (2016) tarafından *Darevskia* cinsine dahil taksonlar arasında ilk kez *COI* gen bölgesinin kullanıldığı DNA barkodlama yöntemiyle yapılan çalışmada, *caucasica* tür kompleksi içerisinde yer alan [*D. alpina*, *D. caucasica* ve *D. daghestanica*] 3 formun tür düzeyinde ayrımının başarılı bir şekilde gerçekleştirildiğine vurgu yapılmıştır (Darevsky, 1967). Drohvalenko vd. (2019) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, *COI* gen bölgesi kullanılarak içlerinde *D. lindholmi* (Szczerbak, 1962) türünün de yer aldığı farklı hayvan gruplarından yedi takson üzerinde DNA barkodlama yöntemi kullanılmıştır. Kıırım Yarımadası'nda dar bir bölgede bulunan türün, *COI* dizisine ait veriler göz önünde bulundurularak oluşturulan ağacın cins düzeyinde topoloji bakımından Kaplı vd. (2011) çalışmasında ortaya konan ağaçtan farklılık gösterdiği sonucuna ulaşılmıştır. Kaplı vd. (2011) tarafından ulaşılan sonucun aksine Drohvalenko vd. (2019) tarafından gerçekleştirilen bu çalışmada, *D. lindholmi* (Szczerbak, 1962), *Darevskia* cinsinden çalışmada mevcut bulunan kertenkele örnekleri [*D. unisexualis* ve *D. valentini*], *Eremias* ve *Ophisops* ile monofiletik bir klad içinde olduğu görülmüştür. Diğer taraftan araştırmacılar, Kafkasya'dan yakından ilişkili türlerin daha yoğun örnekleme kullanılarak tür içi ilişkiler ortaya çıkarılabileceğine ve *D. lindholmi* türünün, Doğu Avrupa'daki dağılım modelini, hibritleşmesini ve filocoğrafyasını incelemek için kullanılabileceğine vurgu yapmışlardır.

Hemidactylus turcicus (Linnaeus, 1758) (geniş parmaklı keler) ile yapılan çalışmada, Çanakkale ve diğer dünya bölgelerinden toplanan örnekler karşılaştırıldığında %2,00 genetik farklılık oranı bulunmuştur (Kalaycı, Kurtul, Gül ve Tosunoğlu, 2023). *Darevskia valentini* (Boettger, 1892) türü ile yapılan çalışmada *COI* geni için standart sapma 0,93 ($\pm 0,016$) olarak bulunmuştur. Bu oran, *COI* haplotipleri arasında yüksek genetik çeşitliliği olduğunu göstermiştir ve bu sebeple haplotiplerin birbirinden oldukça farklı olduğu sonucuna ulaşılmıştır (Candan vd. 2021).

Apathya türlerinin anasoy hatları ve dış grup taksonları arasındaki genetik uzaklık *COI* geni için %4,00 ila %26,80 arasında değişmektedir. Bu çalışmada göze çarpan önemli bulgulardan birisi, Doğu Anadolu ve İran'dan örnekler içeren *urmiana* soy hattı arasındaki yüksek dizi farklılığı olup, *COI* geni için genetik uzaklık %13,20 olarak hesaplanmıştır. Doğu Anadolu'daki örnekler ile diğer bölgelerdeki örnekler kıyaslandığında minimum %13,20 maksimum %26,80 genetik uzaklık bulunmuştur (Kaplı vd. 2013). Anadolu'daki Agamidae üyeleri ile yapılan barkodlama çalışmalarının sonucunda türler arası genetik uzaklık minimum %16,60 maksimum %20,8 olarak belirlenmiştir (Kalaycı, 2021). Tarkhnishvili vd. (2020) tarafından yapılan bir çalışmada, *Darevskia* cinsi içinde yer alan partenogenetik türler için, anasal soy hattının *caucasica* kladında yer alan *D. mixta* veya *D. raddei*, babasal soy hattının ise *rudis* kladında yer alan *D. valentini* veya *D. portschinskii* biseksüel türlerinden birinin olduğu ve bu türlerin birbirleri ile hibritleşmesi sonucu söz konusu partenogenetik türlerin ortaya çıktığını göstermiştir. Ayrıca *D. armeniaca* ve *D. dahli*'nin Batı Kafkasya'da yayılış gösteren *D. mixta* ile aynı haplotipi paylaştıkları gösterilmiştir. Aynı zamanda partenogenetik olan *D. unisexualis*, *D. rostombekowi*, *D. uzzelli*, *D. bendimahiensis* ve *D. sapphirina* türlerinin de Küçük Kafkas Dağları'nın güneyinde yayılış gösteren *D. raddei* popülasyonundan türediklerine ilişkin bulgular ortaya konulmuştur. Bu tez çalışması ile elde edilen genetik uzaklık değerleri göz önünde bulundurulduğunda aynı haplotipi paylaşan *D. bendimahiensis* ile *D. sapphirina* ve *D. uzzelli* ile *D. unisexualis*'in genetik olarak benzer oldukları sonucuna ulaşılmıştır. Tablo 3.1 göz önüne alındığında, türler arası genetik uzaklığın en fazla olduğu tür *D. armeniaca* olarak görülmektedir. Aynı olarak değerlendirildiğinde *D. armeniaca* türünün *D. bendimahiensis* ve *D. sapphirina* türleri ile türler arası genetik uzaklığı %10,20 olarak hesaplanırken, *D. unisexualis* ve *D. uzzelli* türleri ile türler arası genetik uzaklığı %10,80 olarak hesaplanmıştır. Aynı zamanda, *D. bendimahiensis* ve *D. sapphirina* 'nın *D. unisexualis* ve *D. uzzelli*'ye genetik uzaklığı %3,10 olarak bulunmuştur. Sonuç olarak elde edilen veriler dikkate alındığında *D. armeniaca*'nın ülkemizde dağılış gösteren diğer partenogenetikler kertenkele formlarından genetik olarak daha farklı olduğu gözükmektedir (Tablo 3.1).

Filogenetik ağaçlar göz önüne alındığında *D. bendimahiensis* ile *D. sapphirina* ve *D. unisexualis* ile *D. uzzelli* ve *D. armeniaca* olmak üzere 3 monofiletik soy hattı

bulunmuştur. Gerçekleştirilen tür ağacı analizleri arasından ABGD, bPTP ve TCS analizleri de bu sonucu desteklemiş ve çalışma grubunu 3 farklı türe ayırmışlardır. Analizler sonucu elde edilen verilere göre *D. armeniaca* ayrı bir grup olarak gösterilirken, *D. sapphirina* ve *D. bendimahiensis* ile *D. uzzelli* ve *D. unisexualis* türleri birbirinden ayrılmamış ve aynı tür olarak gruplanmışlardır. Gerçekleştirilen diğer bir tür ağacı analizi mPTP ise tüm türleri tek bir tür grubunda toplamıştır. Son olarak GMYC analizi ise tüm türleri tek tek ayırmış ve çalışılan grubun 5 farklı tür barındırdığını göstermiştir. Tarkhnishvili vd. (2020) tarafından gerçekleştirilen çalışmada elde edilen bir diğer önemli bulgu da *D. sapphirina* ile *D. bendimahiensis* türlerinin birbirine yakın oldukları ve ortak genotip açısından yüksek oranda benzerlik gösterdiklerinin tespit edilmiş olmasıdır. Aynı şekilde, Erdolu vd. (2023) *D. bendimahiensis* ile *D. sapphirina* türlerinin soyundan gelen tüm partenogenetik bireylerin aynı monofiletik kökene sahip olduklarını, moleküler belirteçlere dayanarak bu iki türün açık bir şekilde ayırt edilemeyeceğini göstermişlerdir. Bu tez çalışması kapsamında da barkodlama analizleri neticesinde *D. bendimahiensis* ile *D. sapphirina* türlerinin bir farklılık barındırmadığı ve aynı türe mensup olmaları gerektiği sonucu desteklenmiştir. Öyle ki, her iki tür de aynı haplotipe sahip olup aralarında *COI* geni açısından bir genetik farklılık tespit edilememiştir (Şekil 3.4; Tablo 3.3). Çalışma grubunu oluşturan *D. unisexualis* ve *D. uzzelli* türleri için de benzer bir örüntü tespit edilmiştir. Her ne kadar *D. unisexualis* için iki farklı haplotip tespit edilmiş olsa da bunlardan birinin *D. uzzelli* ile paylaştığı görülmektedir (Şekil 3.4). Barkodlama analizleri sonucunda bu iki tür için de aynı taksonu temsil etme durumları ortaya çıkmıştır (Tablo 3.3). Her iki türün de *D. raddei* ile *D. valentini* türlerinin hibritleşmesi sonucu ortaya çıktığı düşünülmektedir (Freitas vd. 2019; tokavd. 2000; Tarknishvili vd. 2020). Freitas vd. (2019) yaptığı araştırmanın sonucunda, *D. uzzelli* ve *D. unisexualis* türlerinin genomlarının kendi içinde farklılıklar barındırsa da benzer şekilde kümелendiğini göstermiştir. Tüm bu açılardan değerlendirildiğinde *D. unisexualis* ve *D. uzzelli* türlerinin taksonomik olarak yapılandırılmasının ve farklı iki tür olarak kabul edilmesinde moleküler belirteçlere dayalı bir ayırımın mümkün olamayacağı ya da yetersiz kalabileceği anlaşılmaktadır. Bununla birlikte her iki türün morfolojik olarak birbirinden farklı oldukları açık bir şekilde ortaya konulmuştur (Baran vd. 2021).

Gerçekleştirilen analizler sonucunda, veri setinin toplamda 4 farklı haplotip içerdiği tespit edilmiştir. Haplotiplerden biri *D. armeniaca* türünü temsil ederken, diğer biri ise *D. bendimahiensis* ile *D. sapphirina* türlerinin her ikisini birden temsil etmektedir. Aynı zamanda *D. unisexualis* ve *D. uzzelli* türleri de aynı haplotipi paylaşırken, bir *D. unisexualis* popülasyonunun filogenetik ağaç topolojisinde aynı soy hattı içerisinde bulunmasına rağmen (Horasan, Erzurum) barkod bölgesi açısından polimorfik olduğu görülmekte ve bu yüzden ayrı bir haplotip olarak ortaya çıkmaktadır. Tokarskaya vd. (2004) *D. unisexualis* popülasyonlarını genetik olarak karşılaştırdığı çalışmada mikrosatellit lokusları açısından önemli bir genetik çeşitliliğin var olduğu üzerinde durmuşlardır. Bu açıdan değerlendirildiğinde, polimorfizm oranı düşük olsa bile partenogenetik türlerinin doğru bir şekilde barkodlanması için tüm dağılımlarını içeren daha kapsamlı bir örneklem yapmanın gerektiği gözükmektedir. Böylece olası tüm genetik çeşitliliklerin tespit edilebilmesi ve birbirleri arasındaki genetik bağlantıların kesin olarak oluşturulabilmesi sağlanabilir. Gerçekleştirilen bu çalışma ile, barkodlama tekniğinin ülkemizin biyolojik çeşitliliğinin önemli bir parçasını oluşturan herpetofaunik elemanları için oldukça kullanışlı olabileceği ve mevcut taksonomik durumları hakkında yeni öneriler sağlayabileceği kanıtlanmıştır. Sahip olunan tür zenginliğinin doğru bir şekilde tespit edilmesi ve oluşturulacak taksonomik yapılandırmalar ile türlerin korunmasına yönelik stratejilerin oluşturulması için sonraki yıllarda farklı canlı grupları üzerine yürütülecek barkodlama çalışmaları oldukça önem arz etmektedir.

Sürüngenler üzerinde yürütülen ve öne çıkan barkodlama çalışmalarına bakıldığında, Brezilya'daki deniz kaplumbağaları [*Caretta caretta* (Rafinesque, 1814), *Chelonia mydas* (Linnaeus, 1758), *Dermochelys coriacea* (Vandelli, 1761), *Eretmochelys imbricata* (Linnaeus, 1766) ve *Lepidochelys olivacea* (Eschscholtz, 1829)] üzerine yapılan bir araştırmada bu türler için *COI* dizilerinin barkodlama çalışmalarında etkili bir şekilde kullanılabileceği gösterilmiştir (Vargas vd. 2009). Almanya sınırları içerisinde bulunan farklı familyalara mensup 307 sürüngen ve amfibi örnekleri üzerine yapılan ilk kapsamlı DNA barkodlama çalışmasında, sürüngen ve amfibi türleri içerisinde herhangi bir *BIN* (barkod dizin numarası) paylaşımı olayı tespit edilmediği için başarı oranının diğer türlere nazaran daha yüksek olduğu ve bu araştırmada barkodlama çalışmalarının başarı oranının %80,80 olduğu

sonucuna ulaşılmıştır. Yalnızca *Pelophylax* Fitzinger, 1843 cinsi kurbağaların hibridojenetik tür olmalarından kaynaklı, güvenilir bir şekilde tanımlanmasının mümkün olmadığı da belirtilmiştir (Hawlitschek vd. 2016). Madagaskar'da bulunan sürüngenlerde farklı familyalara mensup toplam 489 örnek üzerine gerçekleştirilen çalışmada, ortalama %84,60 olarak başarı oranı sağlanmıştır. En düşük başarı oranı %60,00 ile *Pelomedusidae* Cope, 1868 familyası örneklerine aitken, en yüksek başarı oranı *Boidae* Gray, 1825 ve *Psammophiidae* Bourgeois, 1968'ye mensup örneklerde ortaya çıkmıştır (Nagy, Sonet, Glaw ve Vences, 2012). Sokotra Takımadasında, örnek tanımlama ve tür keşfi için kapsamlı DNA barkodlama çalışması gerçekleştirilen bir çalışmada, reptil türlerini tanımlamada orta ve yüksek bir başarı oranına ulaşılmış, ayrıca tüm yerel türler arasında türleri ayırt edebilecek seviyede barkod boşluğunun olduğu vurgulanmıştır (Vasconcelos vd. 2016). Katar'da kertenkele ve yılan türleri ile gerçekleştirilen barkodlama analizi çalışmalarında, dokuz veya on sürüngen türünün *COI* dizisi ilk kez raporlanmış ve bu türler arasında daha önce *GenBank*'te kaydı bulunmayan dört yılan türünün de olduğu vurgulanmıştır. Ayrıca, bu çalışmanın sonucunda *Phrynocephalus arabicus* (Anderson, 1894)'un Katar'daki kimliği doğrulanarak, daha önceki çalışmalarda kabul gören dağılım haritasının, Katar'ın güney bölgelerine kadar genişlediği açıklanmıştır (Al-Najjar, Cogălniceanu, Valdeó ve Chen, 2023). Ülkemizde benzer yaklaşımların uygulandığı çalışmalar henüz çok nadir olsa da son yıllarda gerçekleştirilen birkaç çalışma bu alanda öncü konumundadır. Bunlardan Kocaeli Üniversitesi kampüsünde bulunan bir kertenkele popülasyonunun tür teşhisi için *COI* geni üzerinden yürütölen analizler kullanılmıştır. Sonuç olarak, üniversite yerleşkesi içinde rastlanan bu kertenkelenin *Podarcis siculus* (Rafinesque & Schmaltz, 1810) (İstanbul Kertenkelesi) olduğu başarılı bir şekilde kanıtlanmıştır (Polat vd. 2019). Yine Türkiye'de bulunan ve *Agamidae* Gray, 1927 familyasına mensup türlerin taksonomik geçerliliklerini belirlemek için *COI* genine dayalı barkodlama analizleri yürütölmüş ve mevcut her bir türün varlığının tespiti başarılı bir şekilde gerçekleştirilmiştir. Barkodlama çalışmaları için kullanılan evrensel Folmer primerlerinin bu türleri ayırt etmede, diğere primerlere oranla daha başarılı olduğunun vurgulandığı çalışmada, *Stellagama stellio* (Linnaeus, 1758) için %92,31, *Paralaudakia caucasia* (Eichwald, 1831) için %80,00, *Phrynocephalus horvathi* (Méhely, 1894) için %80,00 ve *Trapelus ruderatus* (Olivier, 1804) için

%100,00 başarı oranı sağlanmıştır (Kalaycı, 2021). Mevcut çalışmada, morfolojik olarak 5 farklı tür olarak değerlendirilen taksonlara ait örneklerin *COI* gen bölgesi baz alınarak gerçekleştirilen barkodlama çalışmasının sonucuna göre 3 tür olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Çalışmanın sonucu göz önünde bulundurulduğunda, barkodlama çalışmasının başarı oranının %60,00 olduğu saptanmıştır. Diğer çalışmalara nazaran, bulunan sonuç daha düşük olmakla birlikte, her tür için sınırlı sayıda örnek kullanıldığından daha kapsamlı bir araştırma gerekmektedir.

Bu tez çalışması kapsamında barkodlama analizlerinden elde edilen sonuçlar dikkate alındığında, iki önemli bulgunun öne çıktığı görülmektedir: (i) morfolojik olarak birbirinden farklı oldukları kabul gören ve yakın akraba türler oldukları bilinen *D. bendimahiensis* ile *D. sapphirina* türlerinin ve (ii) morfolojik olarak birbirinden farklı oldukları kabul gören *D. unisexualis* ile *D. uzzelli* türlerinin aynı taksonları temsil etme durumlarının ortaya çıkması. Gerçekleştirilen hem gen ağacı (Şekil 3.1, 3.2 ve 3.3) hem de tür ağacı analizleri ülkemizde yayılış gösteren partenogenetik türlerin 3 farklı soy hattı ile temsil edildiğini desteklemektedir. Bu durum, söz konusu türlerin mevcut taksonomik yapısını yansıtmamakta olup bu türler açısından yeniden bir yapılandırmanın söz konusu olabileceğine işaret etmektedir.

Son olarak, bu gibi taksonomik çalışmalar türlerin korunma statüleri açısından oldukça önem arz etmektedir. Şu an bilinen bilimsel veriler neticesinde IUCN kriterlerine göre neslinin tükenme riski oldukça yüksek (*Endangered*, EN) kategorisinde bulunan *D. bendimahiensis*, çalışmanın sonucunda elde edilen veriler göz önünde bulundurulduğunda *D. sapphirina* ile aynı tür olduğu varsayıldığından, dağılış alanı genişleyeceğinden dolayı korunma statüsü değişme ihtimali vardır. Aynı şekilde şu an IUCN kriterlerine göre nesli tükenmekte olan veya tehdit altında (*Near threatened*, NT) kategorisinde olan *D. unisexualis* türünün de *D. uzzelli* ile aynı tür olduğu varsayıldığından dağılış alanı genişleyecek ve korunma statüsü değişme ihtimali vardır. Bu açıdan bakıldığında, ülkemize endemik olan ve nesli tükenme tehdidi ile karşı karşıya kalan türleri daha etkili stratejiler geliştirerek korumak için türlerin korunma statülerini doğru belirleyebilmek çok önemlidir.

KAYNAKLAR

- Afonso, C. L., Amarasinghe, G. K., Bányai, K., Bào, Y., Basler, C. F., Bavari, S., ... ve Kuhn, J. H. (2016). *Taxonomy of the order Mononegavirales: update 2016*. Archives of virology, 161, 2351-2360.
- Agriculture and Agri-Food Canada (2014). *DNA barcoding*. 16 Şubat 2021, <https://www.youtube.com/watch?v=9YGM6L8bzxg>
- Akman, B., Yıldız, M. Z., İğci, N., Tel, A. Z., Adızel, Ö., Bulum, E., ve Göçmen, B. (2016). *Van kertenkelesi Darevskia sapphirina'nin bazı ekolojik özellikleri*. ADYUTAYAM Dergisi, 4(1), 20-32.
- Aksöyek, E. (2015). *Türkiye'de yayılış gösteren üç Kanid türünün (Canis aureus, C. lupus, Vulpes vulpes) DNA barkodlaması*. Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kayseri (Danışman: Prof. Dr. Coşkun Tez).
- Al-Najjar, Y., Cogălniceanu, D., Valdeó, A., ve Chen, K. C. (2023). *DNA barcoding of Squamata fauna in Qatar*. QScience Connect, 2023(2), 4.
- Arakelyan, M., Petrosyan, R., Ilgaz, Ç., Kumlutaş, Y., Durmuş, S. H., Tayhan, Y., ve Danielyan, F. (2013). *A skeletochronological study of parthenogenetic lizards of genus Darevskia from Turkey*. Acta Herpetologica, 8(2), 99-104.
- Arakelyan, M., Spangenberg, V., Petrosyan, V., Ryskov, A., Kolomiets, O., ve Galoyan, E. (2023). *Evolution of parthenogenetic reproduction in Caucasian rock lizards: A review*. Current Zoology, 69(2), 128-135.
- Arakelyan, M., ve Ananjeva, N. B. (2001). *Development of ovaries in bisexual and parthenogenetic rock lizards of genus Darevskia*. In The Problem of Herpetology. Proceedings of the 1st Meeting of the Nikolsky Herpetological Society (pp. 21-22).
- Armstrong, K. F., ve Ball, S. L. (2005). *DNA barcodes for biosecurity: invasive species identification*. Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences, 360(1462), 1813-1823.

- Arribas, O., Candan, K., Kurnaz, M., Kumlutaş, Y., Caynak, Yıldırım E., ve Ilgaz, Ç. (2022) *A new cryptic species of the Darevskia parvula group from NE Anatolia (Squamata, Lacertidae)*. Organisms Diversity & Evolution volume 22, pages475–490 (2022).
- Avise J. (2008) *Clonality: The genetics, ecology, and evolution of sexual abstinence in vertebrate animals*. Oxford University Press, page 256 (2008).
- Aydoğan, K. (2018). *Marmara Bölgesi Clupeonella (Teleostei: Clupeidae) popülasyonlarının genetik ilişkilerinin DNA barkodlama yöntemi ile incelenmesi*. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul (Danışman: Prof. Dr. Müfit Özuluğ).
- Aygen, T., Genç, E., Genç, M.A., ve Keskin, E. (2016), *Patella caerulea türünün moleküler bir yöntem olan DNA barkodlama ile tanımlanması*. Türkiye Deniz Bilimleri Konferansı (31 Mayıs-3 Haziran 2016).
- Bakırcı, Ç. M. (2011) Mitokondriyal DNA (mtDNA) nedir? 19 Nisan 2022, <https://evrimagaci.org/mitokondriyal-dna-mtdna-nedir-nasil-kullanilir-74>
- Baran, İ., Avcı, A., Kumlutaş, Y., Olgun, K., ve Ilgaz, Ç. (2021) *Türkiye amfibi ve sürüngenleri* (5. Baskı) içinde (99-112). Ankara: Palme Yayınevi.
- Barateli, N., Tarkhnishvili, D., Iankoshvili, G., Kokiashvili, L., Dvali, N., ve Janiashvili, Z. (2021). *Fine-scale analysis of habitat occupancy by Kura lizard (Darevskia portschinskii) and its daughter parthenogenetic form (Darevskia dahli)*. Herpetozoa, 34, 71-81.
- BOLD systems v3* (b.t). 15 Temmuz 2023, <https://v3.boldsystems.org/>
- BOLD systems v4* (b.t). 10 Kasım 2023, <https://v4.boldsystems.org/>
- Bucklin A., Steinke D., ve Blanco-Bercial L., (2011) *DNA barcoding of marine metazoa*. Annual Reviews of Marine Science, 3: 471-508.
- Budak, M., Çıplak, B., Başbüyük, H.H., Kaydan, M.B., Keskin, B., ve Korkmaz, E.M. (2018), *Barkodlamada ikili belirteç (COI ve ITS2) sisteminin bazı hemimetabol ve holometabol böceklerde araştırılması*. Tübitak Projesi, Ankara (Proje Yürütücüsü: Doç. Dr. Mahir Budak).

- Bush, A.; Monk, A.W.; Compson, G.Z.; Peters, D.L.; Porter, M.T.; Shokralla, S.; Wright, G.T.M.; Hajibabaei, M. ve Baird, J.D. (2020) *DNA metabarcoding reveals metacommunity dynamics in a threatened boreal wetland wilderness*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 2020, 117, 8539–8545.
- Cai, Y., Zhang, L., Shen, F., Zhang, W., Hou, R., Yue, B., ... ve Zhang, Z. (2011). *DNA barcoding of 18 species of Bovidae*. Chinese Science Bulletin, 56, 164-168.
- Ćakić, S., Mojsilović, M., Mihaljica, D., Milutinović, M., Petrović, A., ve Tomanović, S. (2014). *Molecular characterization of COI gene of Ixodes ricinus (Linnaeus, 1758) from Serbia*. Archives of Biological Sciences, 66(2), 683-690.
- Camargo, A., Sinervo, B., ve Sites, J. W., Jr (2010). *Lizards as model organisms for linking phylogeographic and speciation studies*. Molecular ecology, 19(16), 3250–3270.
- Candan, K., Kornilios, P., Ayaz, D., Kumlutaş, Y., Gül, S., Caynak, E. Y., ve Ilgaz, Ç. (2021). *Cryptic genetic structure within Valentin's Lizard, Darevskia valentini (Boettger, 1892) (Squamata, Lacertidae), with implications for systematics and origins of parthenogenesis*. Systematics and Biodiversity, 19(7), 665-681.
- Castañeda, S. T. A., Monterrubio, A. M. D. C. L., Mendoza, E. P. R., Calva, P. C., Gutiérrez, M. E., Reyes, J. O., ve Reza, F. A. C. (2019). *DNA barcoding of mammals in Mexico: Implications for biodiversity*.
- Cevahir, F. (2019). *Kayseri yöresinde yaygınlık gösteren hamam böceklerinin filogenetik karakterizasyonu ve medikal önemi olan parazitler yönünden vektörlük potansiyellerinin belirlenmesi*. Doktora Tezi, Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kayseri, (Danışman: Doç. Dr. Önder Düzlü).
- Chambers, E. A., ve Hebert, P. D. (2016). *Assessing DNA barcodes for species identification in North American reptiles and amphibians in natural history collections*. PLoS One, 11(4), e0154363.
- Chinnery P. F, ve Hudson G. (2013) *Mitochondrial genetics*. British Medical Bulletin 2013; 106 (1): 135–159.
- Clement, M., Posada, D. C. K. A., ve Crandall, K. A. (2000). *TCS: a computer program to estimate gene genealogies*. Molecular ecology, 9(10), 1657-1659.

- Consortium for the Barcode of Life*, (b.t). 24 Nisan 2022,
https://en.wikipedia.org/wiki/Consortium_for_the_Barcode_of_Life
- Cuellar, O. (1974). *On the origin of parthenogenesis in vertebrates: the cytogenetic factors*. *The American Naturalist*, 108(963), 625-648.
- Cuellar, O. (1977). *Animal parthenogenesis: a new evolutionary-ecological model is needed*. *Science*, 197(4306), 837-843.
- Cytochrome c oxidase*, (b.t). 19 Nisan 2022,
https://en.wikipedia.org/wiki/Cytochrome_c_oxidase
- Darevsky, I. S. (1967). *Rock Lizards of the Caucasus (Systematics. Ecology*.
- Darevsky, I. S., ve Danielyan, F. (1977). *Lacerta uzzelli sp. nov. Sauria, Lacertidae)- a new parthenogenetic species of rock lizard from eastern Turkey*. *Trudy Zool. Inst*, 76, 55-59.
- Daşer, B. (2016). *Halictus Latreille, 1804 (Halictidae: Apoidea: Hymenoptera) cinsi türlerinde bütünleşik taksonomik yöntemlerin uygulanması*. Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, (Danışman: Prof. Dr. Ahmet Murat Aytekin).
- De Boer, H.J.; Ichim, M.C. ve Newmaster, S. (2015) *DNA barcoding and pharmacovigilance of herbal medicines*. *Drug Saf.* 2015, 38, 611–620.
- de Carvalho, M. R., Bockmann, F. A., Amorim, D. S., Brandão, C. R. F., de Vivo, M., de Figueiredo, J. L., ... ve Nelson, G. J. (2007). *Taxonomic impediment or impediment to taxonomy? A commentary on systematics and the cybertaxonomic-automation paradigm*. *Evolutionary Biology*, 34, 140-143.
- Dede, S. (2020). *Kocaeli’de yaygınlık gösteren sivrisinek (Diptera: Culiciade) türlerinin filogenetik analizi*. Yüksek Lisans Tezi, Kocaeli Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kocaeli (Danışman: Doç Dr. Fikriye Polat).
- DeSalle, R. ve Goldstein, P. (2019) *Review and interpretation of trends in DNA barcoding*. *Front. Ecol. Evol.*, 7, 302.
- Doronin, I.V., Melnikov, D.A. ve Melnikova, E.N. (2016). *Species differentiation of the rock lizard Darevskia (caucasica) complex (by DNA-barcoding data,*

- cytochrome oxidase subunit I sequences*). Journal of Saint Petersburg University, Series 3, Biology, 2016 (3): 42-49.
- Doyle, J. J., ve Gaut, B. S. (Eds.). (2000). *Plant molecular evolution* (Vol. 41). Springer Science & Business Media.
- Drohvalenko, M., Mykhailenko, A., Rekrotchuk, M., Shpak, L., Shuba, V., Trokhymchuk, R., Utevsky, S., ve Zinenko, O. (2019). *Application of DNA barcoding in taxonomy and phylogeny: An individual case of COI partial gene sequencing from seven animal species*. Vestnik Zoologii, 53(5): 375–384.
- Erdolu, M., Şahin, M. K., Somel, M., ve Yanchukov. (2023) *A single hybridization event but multiple parental individuals at the origin of parthenogenetic rock lizards (Darevskia Sapphirina and D. Bendimahiensis Schmidtler, Eiselt & Darevsky, 1994) endemic to the area of Lake Van in East Turkey*. Available at SSRN 4503532.
- Folmer O., Black M., Hoeh W., Lutz R., ve Vrijenhoek R. (1994) *DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates*. Molecular Marine Biology And Biotechnology, 3 (5): 294-299.
- Freitas, S. N., Harris, D. J., Sillero, N., Arakelyan, M., Butlin, R. K., ve Carretero, M. A. (2019). *The role of hybridisation in the origin and evolutionary persistence of vertebrate parthenogens: a case study of Darevskia lizards*. Heredity, 123(6), 795-808.
- Fu, J., Darevsky, I. S., MacCulloch, R. D., Kupriyanova, L. A., Roytberg, E. S., Sokolova, T. M., ve Murphy, R. W. (1995). *Genetic and morphological differentiation among Caucasian rock lizards of the Lacerta caucasica complex*. Russian Journal of Herpetology, 2(1), 36-42.
- Fu, J., Murphy, R.W., ve Darevsky, I.S. (1997). *Toward the phylogeny of caucasian rock lizards: implications from mitochondrial DNA gene sequences (Reptilia: Lacertidae)*. Zoological Journal of the Linnean Society, 120, 463-477.
- Fu, J., Murphy, R.W., ve Darevsky, I.S. (2000) *Divergence of the cytochrome b gene in the Lacerta raddei complex and its parthenogenetic daughter species: evidence for recent multiple origins*. Copeia, 2000 (2): 423-440.

- Fujisawa, T., ve Barraclough, T. G. (2013). *Delimiting species using single-locus data and the generalized mixed yule coalescent approach: a revised method and evaluation on simulated data sets*. Systematic Biology, 62(5), 707-724.
- Galimberti, A.; Casiraghi, M.; Bruni, I.; Guzzetti, L.; Cortis, P.; Berterame, N.M. ve Labra, M. (2019): *From DNA barcoding to personalized nutrition: The evolution of food traceability*. Current Opinion in Food Science, 28, 41–48.
- Girnyk, A. E., Vergun, A. A., Semyenova, S. K., Guliaev, A. S., Arakelyan, M. S., Danielyan, F. D., ... ve Ryskov, A. P. (2018). *Multiple interspecific hybridization and microsatellite mutations provide clonal diversity in the parthenogenetic rock lizard Darevskia armeniaca*. BMC Genomics, 19, 1-12.
- Grant, D. M., Brodnicke, O. B., Evankow, A. M., Ferreira, A. O., Fontes, J. T., Hansen, A. K., ... ve Ekrem, T. (2021). *The future of DNA barcoding: reflections from early career researchers*. Diversity, 13(7), 313.
- Günay, F. (2015). *Türkiye sivrisinek faunası üzerine DNA barkodlama yöntemiyle moleküler analizler*. Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, (Danışman: Prof. Dr. Salih Bülent Alten).
- Gürbüz, E. (2018). *Kaçkar ve Aladağlar'da bulunan bazı Alpin Göllerde zooplankton faunasının ve Daphnia sp. türlerinin filogenetik açıdan araştırılması*. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, (Danışman: Prof. Dr. Ahmet Altındağ).
- Hajibabaei, M., Janzen, DH., Burns, JM., Hallwachs, W., ve Hebert, PDN, (2006). *DNA barcodes distinguish species of tropical Lepidoptera*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 103(4): 968–971.
- Hawlitsek, O., Morinière, J., Dunz, A., Franzen, M., Rödder, D., Glaw, F., ve Haszprunar, G. (2016). *Comprehensive DNA barcoding of the herpetofauna of Germany*. Molecular Ecology Resources, 16(1), 242-253.
- Hebert P., ve Cristescu M. (2018) *Uses and misuses of environmental DNA in biodiversity science and conservation*. Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics, 49: 209-230.

- Hebert P.D.N., Cywinska A., Ball S.L., ve deWaard J.R. (2003a). *Biological identifications through DNA barcodes*. Proceedings of The Royal Society B: Biological Sciences, 270: 313-321.
- Hebert P.D.N., Ratnasingham S., ve Dewaard J.R. (2003b). *Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit I divergences among closely related species*. Proceedings Of The Royal Society B: Biological Sciences, 270: 96-99.
- Hebert, P. D. N., Stoeckle, M. Y., Zemplak, T. S., ve Francis, C. M. (2004). *Identification of birds through DNA barcodes*. PLoS Biology, 2(10), e312.
- Hoffmann, M., Hilton-Taylor, C., Angulo, A., Böhm, M., Brooks, T.M., Butchart, S.H., ... ve Stuart, S.N. (2010). *The impact of conservation on the status of the world's vertebrates*. Science, 330(6010):1503-9.
- Ilgaz, Ç., (2004). *Doğu Karadeniz Bölgesindeki (Trabzon, Rize, Artvin ve Ardahan) kaya kertenkelelerinin sistematik durumu, yayılışı ve ekolojisi üzerine araştırmalar (Sauria: Lacertidae)*. Fen Bilimleri Enstitüsü. Doktora Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir, (Danışman: Prof. Dr. Abidin Budak).
- International Barcode of Life*, (b.t). 24 Nisan 2022, <https://ibol.org/>
- İret, F. (2004). *Doğu Anadolu'da dağılışı gösteren tek eşeyli kertenkele türlerinin dağılışı, morfolojisi ve biyolojisi üzerine araştırmalar*. Doktora Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir, (Danışman: Yrd. Doç. Dr. Ahmet Mermer, Prof. Dr. İbrahim Baran)
- Janzen, D. H., Hajibabaei, M., Burns, J. M., Hallwachs, W., Remigio, E., ve Hebert, P. D. (2005). *Wedding biodiversity inventory of a large and complex Lepidoptera fauna with DNA barcoding*. Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences, 360 (1462), 1835–1845.
- Jones, WJ., ve Macpherson, E. (2007). *Molecular phylogeny of the East Pacific Squat Lobsters of the genus Munidopsis (Decapoda: Galatheidae) with the descriptions of seven new species*. Journal of Crustacean Biology, 27(3): 477-501.

- Kalaycı, TE., Kurtul, D., Gül, Ç., ve Tosunoğlu, M. (2023). *Genetic status of Hemidactylus turcicus (Linnaeus, 1758) from Çanakkale (Türkiye)*. Biology Bulletin, 1-11.
- Kalaycı, T. E. (2021). *First data on DNA barcoding of the Agamidae (Reptilia: Squamata) from Anatolia, Turkey*. Acta Zoologica Bulgarica, 73(2): 163-170.
- Kaplı, P., Botoni, D., Ilgaz, C., Kumlutaş, Y., Avcı, A., Rastegar-Pouyani, N., Fathinia, B., Lymberakis, P., Ahmadzadeh, F., ve Poulakakis, N. (2013). *Molecular phylogeny and historical biogeography of the Anatolian lizard Apathya (Squamata, Lacertidae)*. Molecular Phylogenetics and Evolution, 66(3), 992-1001.
- Kaplı, P., Lutteropp, S., Zhang, J., Kobert, K., Pavlidis, P., Stamatakis, A., ve Flouri, T. (2017). *Multi-rate poisson tree processes for single-locus species delimitation under maximum likelihood and Markov chain Monte Carlo*. Bioinformatics, 33(11), 1630-1638.
- Kaplı, P., Poulakakis, N., Lymberakis, P., ve Mylonas, M. (2011). *A re-analysis of the molecular phylogeny of Lacertidae with currently available data*. Basic Applied Herpetology, 25: 97-104.
- Katoh, K., ve Standley, D. M. (2013). *MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability*. Molecular biology and evolution, 30(4), 772-780.
- Kearney, M. (2005). *Hybridization, glaciation and geographical parthenogenesis*. Trends in Ecology & Evolution, 20(9), 495-502.
- Kearney, M., Fujita, M. K., ve Ridenour, J. (2009). *Lost sex in the reptiles: Constraints and correlations*. Lost sex: the evolutionary biology of parthenogenesis, 447-474.
- Kerr, K. C., Stoeckle, M. Y., Dove, C. J., Weigt, L. A., Francis, C. M., ve Hebert, P. D. (2007). *Comprehensive DNA barcode coverage of North American birds*. Molecular Ecology Notes, 7(4), 535-543.
- Keskin E. (2013). *Türkiye'deki ekonomik öneme sahip su ürünlerinin DNA barkodlarının çıkarılması*. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü, Ankara, (Danışman: Prof. Dr. Hasan Hüseyin Atar).

- Keskin, E., ve Atar, H. H. (2012). *Türkiye'nin Akdeniz kıyısındaki mavi yengeç (Callinectes sapidus) popülasyonları arasındaki genetik farklılığın COI gen dizileri kullanılarak değerlendirilmesi*. Journal of Fisheries Sciences.com, 6(2), 125-131.
- Keskin, E., ve Atar, H. H. (2013). *DNA barkodlama: mitokondriyal COI geni kullanılarak moleküler tanımlama*. Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi, 6(2), 1-8.
- Kress, W. J. (2017). *Plant DNA barcodes: Applications today and in the future*. Journal of Systematics and Evolution, 55(4), 291-307.
- Kress, W. J., García-Robledo, C., Uriarte, M., ve Erickson, D. L. (2015). *DNA barcodes for ecology, evolution, and conservation*. Trends in Ecology & Evolution, 30(1), 25-35.
- Kress, W. J., ve Erickson, D. L. (2008). *DNA barcodes: genes, genomics, and bioinformatics*. Proceedings of the National Academy of Sciences, 105(8), 2761-2762.
- Kress, W. J., ve Erickson, D. L. (2012). *DNA barcodes: methods and protocols* (pp. 3-8). Humana Press.
- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C., ve Tamura, K. (2018). *MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms*. Molecular Biology and Evolution, 35(6), 1547.
- Lara, A., Ponce de León, J. L., Rodriguez, R., Casane, D., Cote, G., Bernatchez, L., ve García-Machado, E. R. I. K. (2010). *DNA barcoding of Cuban freshwater fishes: evidence for cryptic species and taxonomic conflicts*. Molecular Ecology Resources, 10(3), 421-430.
- Leigh, J. W., ve Bryant, D. (2015). *POPART: full-feature software for haplotype network construction*. Methods in Ecology and Evolution, 6(9), 1110-1116.
- Librado, P., ve Rozas, J. (2009). *DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data*. Bioinformatics, 25(11), 1451-1452.

- Lorenz, J. G., Jackson, W. E., Beck, J. C., ve Hanner, R. (2005). *The problems and promise of DNA barcodes for species diagnosis of primate biomaterials*. Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences, 360(1462), 1869-1877.
- MacCulloch, R., Fu, J., Darevsky, I., ve Murphy, R. (2000). *Genetic evidence for species status of some Caucasian rock lizards in the Darevskia saxicola group*. Amphibia-Reptilia, 21(2), 169-176.
- Mckeon, N.S., Lehr, A.M., Wilkerson, R., ve Ruiz, F.J., (2010). *Additional file 1*, 19 Nisan 2022, https://www.researchgate.net/publication/293877824_Additional_file_1
- Méhely, L. V. (1909). *Materialien zu einer Systematik und Phylogenie der muralis-ähnlichen Lacerten*. In Annales Musei Nationalis Hungarici, 7, 409-621.
- Meyer, C. P., ve Paulay, G. (2005). *DNA barcoding: error rates based on comprehensive sampling*. PLoS Biology, 3(12), e422.
- Mitokondri, (b.t) (19 Nisan 2022), <https://tr.wikipedia.org/wiki/Mitokondri>
- Moreira, M. O., Fonseca, C., ve Rojas, D. (2021). *Parthenogenesis is self-destructive for scaled reptiles*. Biology Letters, 17(5), 20210006.
- Moritz, C., Uzzell, T., Spolsky, C., Hotz, H., Darevsky, I., Kupriyanova, L., ve Danielyan, F. (1992). *The material ancestry and approximate age of parthenogenetic species of Caucasian rock lizards (Lacerta: Lacertidae)*. Genetica, 87, 53-62.
- Murphy, R.W., Fu, J., MacCulloch, R.D., Darevsky, I.S., ve Kupriyanova, L.A. (2000). *A fine line between sex and unisexuality: the phylogenetic constraints on parthenogenesis in lacertid lizards*. Zoological Journal of the Linnean Society, 130: 527-549.
- Murtskhvaladze, M., Tarkhnishvili, D., Anderson, C. L., ve Kotorashvili, A. (2020). *Phylogeny of caucasian rock lizards (Darevskia) and other true lizards based on mitogenome analysis: Optimisation of the algorithms and gene selection*. PLoS One, 15(6), e0233680.

- Nagy, Z. T., Sonet, G., Glaw, F., ve Vences, M. (2012). *First large-scale DNA barcoding assessment of reptiles in the biodiversity hotspot of Madagascar, based on newly designed COI primers*. PloS One, 7(3), e34506.
- Nass, M. M., & Nass, S. (1963). Intramitochondrial fibers with DNA characteristics: I. Fixation and electron staining reactions. *The Journal of cell biology*, 19(3), 593-611.
- Okur, M. (2020). *Hypoderma bovis hypodermin rekombinant antijenlerinin karakterizasyonu, ekspresyon profilleri ve serolojik teşhisteki etkinliklerinin değerlendirilmesi*. Doktora Tezi, Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kayseri (Danışman: Prof. Dr. Abdullah İnci).
- Önel, C. (2014). *Türkiye denizlerinde yaşayan Scombridae türlerinin DNA barkodlaması*. Yüksek Lisans Tezi, Ordu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ordu (Danışman: Yrd. Doç. Dr. Yılmaz Çiftçi).
- Öziç, C. (2012). *Bazı Orthrias (Çöpçü Balığı) türlerinin biyoinformatik ve deneysel karakterizasyonu*. Doktora Tezi, Anadolu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir (Danışman: Doç. Dr. Filiz Susuz Alanyalı).
- Panner, T. (2006). *Darevskia armeniaca* (Mehely, 1909). 13 Eylül 2023, <https://www.lacerta.de/AS/Taxon.php?Genus=33&Species=118>.
- Panner, T. (2002). *Darevskia bendimahiensis* (Schmidtler et al., 1994). 13 Eylül 2023, <https://www.lacerta.de/AS/Taxon.php?Genus=33&Species=119>.
- Panner, T. (b.t). *Darevskia sapphirina* (Schmidtler et al., 1994). 13 Eylül 2023, <https://www.lacerta.de/AS/Taxon.php?Genus=33&Species=137>.
- Panner, T. (2005). *Darevskia unisexualis* (Darevsky, 1966). 13 Eylül 2023, <https://www.lacerta.de/AS/Taxon.php?Genus=33&Species=140>.
- Panner, T. (2005). *Darevskia uzzelli* (Darevsky & Danielyan, 1977). 13 Eylül 2023, <https://www.lacerta.de/AS/Taxon.php?Genus=33&Species=141>.
- Paradis, E., Claude, J. & Strimmer, K. (2004) *APE: analyses of phylogenetics and evolution in R language*. *Bioinformatics*, 20, 289–290.

- Pennisi, E. (2019). *DNA barcodes jump-start search for new species*. Science, 364, 920–921.
- Polat, F., Dede, S., Bingöl, S., ve Kekillioğlu A. (2018) *Kocaeli’de yayılış gösteren bazı böcek türlerinin mitokondriyal sitokrom oksidaz alt ünite 1 geni ile filogenetik analizi*. Kocaeli Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi, 1 (2): 62-66.
- Polat, F., Durgun, A.M., Olacam, A., İnci, G.S., Doğan, M.B., Uzun E.D., ve Işık E. (2019). *Kocaeli Üniversitesi Umuttepe Yerleşkesi’nde yayılış gösteren kertenkelelerin moleküler düzeyde tür tayini*. Kocaeli Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi, 2 (1): 1-6.
- Puillandre, N., Lambert, A., Brouillet, S., ve Achaz, G. (2012). *ABGD, Automatic Barcode Gap Discovery for primary species delimitation*. Molecular Ecology, 21(8), 1864-1877.
- Purty, R. S., ve Chatterjee, S. (2016). *DNA barcoding: an effective technique in molecular taxonomy*. Austin Journal of Biotechnology & Bioengineering, 3(1), 1059.
- Rakıcı, H. (2019). *Fırat Nehri drenajından Oxynoemacheilus (Teleostei: Nemacheilidae) türlerinin COI-barkod bölgesine dayalı genetik tanımlaması ve filogenetik ilişkileri*. Yüksek Lisans Tezi, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Rize, (Danışman: Prof. Dr. Yusuf Bektaş).
- Rambaut A, Drummond AJ, Xie D, Baele G and Suchard MA (2018) *Posterior summarisation in Bayesian phylogenetics using Tracer 1.7*. Systematic Biology.
- Ronquist, F., Teslenko, M., Van Der Mark, P., Ayres, D. L., Darling, A., Höhna, S., ... ve Huelsenbeck, J. P. (2012). *MrBayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space*. Systematic Biology, 61(3), 539-542.
- Sareste M., (1990) *Structural features of cytochrome oxidase*. Quarterly Reviews of Biophysics, 23 (4): 331-366.
- Savolainen, V., Cowan, R. S., Vogler, A. P., Roderick, G. K., ve Lane, R. (2005). *Towards writing the encyclopaedia of life: an introduction to DNA barcoding*.

- Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences, 360(1462), 1805-1811.
- Schmidtler, J. F., Eiselt, J., ve Darevsky, I. S. (1994). *Untersuchungen an Felseidechsen (Lacerta-saxicola-Gruppe) in der östlichen Türkei: 3. Zwei neue parthenogenetische Arten*. Salamandra, 30(1), 55-70.
- Sunnucks, P. (2000). *Efficient genetic markers for population biology*. Trends in Ecology & Evolution, 15(5), 199-203.
- Taberlet, P., Bonin, A., Zinger, L., ve Coissac, E. (2018). *Environmental DNA: For biodiversity research and monitoring*. Oxford University Press.
- Tarkhnishvili, D., Murtskhvaladze, M., ve Gavashelishvili, A. (2013). *Speciation in Caucasian lizards: climatic dissimilarity of the habitats is more important than isolation time*. Biological Journal of the Linnean Society, 109(4), 876-892.
- Tarkhnishvili, D., Yanchukov, A., Şahin, M. K., Gabelaia, M., Murtskhvaladze, M., Candan, K., ... ve Anderson, C. L. (2020). *Genotypic similarities among the parthenogenetic Darevskia rock lizards with different hybrid origins*. BMC Evolutionary Biology, 20(1), 1-25.
- Templeton, A. R., Crandall, K. A., ve Sing, C. F. (1992). *A cladistic analysis of phenotypic associations with haplotypes inferred from restriction endonuclease mapping and DNA sequence data. III. Cladogram estimation*. Genetics, 132(2), 619-633.
- Tokarskaya, O. N., Martirosyan, I. A., Badaeva, T. N., Malysheva, D. N., Korchagin, V. I., Darevsky, I. S., ... ve Ryskov, A. P. (2004). *Instability of (GATA) n microsatellite loci in the parthenogenetic Caucasian rock lizard Darevskia unisexualis (Lacertidae)*. Molecular Genetics and Genomics, 270, 509-513.
- Trifinopoulos, J., Nguyen, L. T., von Haeseler, A., ve Minh, B. Q. (2016). *W-IQ-TREE: a fast online phylogenetic tool for maximum likelihood analysis*. Nucleic Acids Research, 44(1), 232-235.

- Trivedi, S., Aloufi, A. A., Rehman, H., Saggu, S., ve Ghosh, S. K. (2016). *DNA barcoding: tool for assessing species identification in Reptilia*. Journal of Entomology and Zoology Studies, 4(1), 332-337.
- Uetz, P., Freed, P., ve Hošek, J. (2023). 10 Kasım 2023, *The reptile database*, <http://www.reptiledatabase.org>.
- Uğur, G. (2019). *İstanbul'da adli bilimler açısından önemli ergin Calliphoridae türlerinin DNA temelli yöntemlerle belirlenmesi*. Yüksek Lisans Tezi, Üsküdar Üniversitesi Bağımlılık ve Adli Bilimler Enstitüsü, İstanbul (Danışman: Prof. Dr. Sevil Atasoy).
- Vargas, S. M., Araújo, F. C., ve Santos, F. R. (2009). *DNA barcoding of Brazilian sea turtles (Testudines)*. Genetics and Molecular Biology, 32, 608-612.
- Vasconcelos, R., Montero-Mendieta, S., Simo-Riudalbas, M., Sindaco, R., Santos, X., Fasola, M., ... ve Carranza, S. (2016). *Unexpectedly high levels of cryptic diversity uncovered by a complete DNA barcoding of reptiles of the Socotra Archipelago*. PLoS One, 11(3), e0149985.
- Vences, M., Nagy, Z. T., Sonet, G., ve Verheyen, E. (2012). *DNA barcoding amphibians and reptiles*. DNA barcodes: Methods and Protocols, 79-107.
- Woese, C. R., Kandler, O., ve Wheelis, M. L. (1990). *Towards a natural system of organisms: proposal for the domains Archaea, Bacteria, and Eucarya*. Proceedings of the National Academy of Sciences, 87(12), 4576-4579.
- Yanchukov, A., Tarkhnishvili, D., Erdolu, M., Şahin, M. K., Candan, K., Murtskhvaladze, M., ... ve Galoyan, E. (2022). *Precise paternal ancestry of hybrid unisexual ZW lizards (genus Darevskia: Lacertidae: Squamata) revealed by Z-linked genomic markers*. Biological Journal of the Linnean Society, 136(2), 293-305.
- Yang, P., Li, M. X., Shao, M., Wang, M. S., Cao, S. X., Zhang, J. C., ve Zhang, H. H. (2013). *Porous and nanorod-like coordination polymers assembled from a new V-shaped bis (1, 2, 4-triazolyl) tripyridine ligand*. Crystal Growth & Design, 13(10), 4305-4314.

- Yassin, A., Markow, T. A., Narechania, A., O'Grady, P. M., ve DeSalle, R. (2010). *The genus Drosophila as a model for testing tree-and character-based methods of species identification using DNA barcoding*. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 57(2), 509-517.
- Yaşar, Ç., Çiçek, K., Mulder, J., ve Tok, C. V. (2021). *The distribution and biogeography of amphibians and reptiles in Turkey*. *North-Western Journal of Zoology*, 17(2): 232-275.
- Yıldırım, E., Ilgaz, Ç., Kumlutaş, Y., ve Gül, S. (2021). *Age determination and sexual size dimorphism in three populations of Darevskia valentini (Boettger, 1892) from Turkey*. *Biharean Biologist*, 15(2), 108-111.
- Zhang, J., Kapli, P., Pavlidis, P., & Stamatakis, A. (2013). *A general species delimitation method with applications to phylogenetic placements*. *Bioinformatics*, 29(22), 2869-2876.
- Zhong, H. M., Zhang, H. H., Sha, W. L., Zhang, C. D., ve Chen, Y. C. (2010). *Complete mitochondrial genome of the red fox (Vulpes vulpes) and phylogenetic analysis with other canid species*. *Zoological Research*, 31(2), 122-130.