

**ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**YUKARI CEYHAN NEHRİ VE GÖKSU NEHRİ (SEYHAN)'NDE DAĞILIM
GÖSTEREN *Garra rufa* (Heckel, 1843)'NİN MORFOMETRİK VE GENETİK
VARYASYONLARI**

Ahmetcan SERBESTOĞLU

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**ANKARA
2019**

Her hakkı saklıdır

TEZ ONAYI

Ahmetcan SERBESTOĞLU tarafından hazırlanan “Yukarı Ceyhan Nehri ve Göksu Nehri (Seyhan)’nde Dağılım Gösteren *Garra rufa* (Heckel, 1843)’nın Morfometrik ve Genetik Varyasyonları” adlı tez çalışması 05/09/2019 tarihinde jüri tarafından oy birliği ile Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı’nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Dr. Öğr. Üyesi Saniye Cevher ÖZEREN
Ankara Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı



Jüri Üyeleri :

Başkan: Prof. Dr. Ali GÜL
Gazi Üniversitesi Biyoloji Eğitimi Anabilim Dalı



Üye : Prof. Dr. Sibel ATASAGUN
Ankara Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı



Üye : Dr. Öğr. Üyesi Saniye Cevher ÖZEREN
Ankara Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı



Yukarıdaki sonucu onaylarım.

Prof. Dr. Özlem YILDIRIM
Enstitü Müdürü Vekili

ETİK

Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez içindeki bütün bilgilerin doğru ve tam olduğunu, bilgilerin üretilmesi aşamasında bilimsel etiğe uygun davrandığımı, yararlandığım bütün kaynaklardan atıf yaparak belirttiğimi beyan ederim.

05/09/2019



Ahmetcan SERBESTOĞLU

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

YUKARI CEYHAN NEHRİ VE GÖKSU NEHRİ (SEYHAN)'NDE DAĞILIM GÖSTEREN *Garra rufa* (Heckel, 1843) MORFOMETRİK VE GENETİK VARYASYONLARI

Ahmetcan SERBESTOĞLU

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi S. Cevher ÖZEREN

Bu çalışmada, Yukarı Ceyhan Nehri ve Göksu Nehri (Seyhan) üzerinde dağılım gösteren *Garra rufa*'nın morfometrik ve genetik varyasyonlarının araştırılmıştır. Çalışma kapsamında 2013-2016 yılları arasında Yukarı Ceyhan Nehri havzasında Ceyhan Nehri ve bu nehre karışan yan kollar (Pamucak, Esendere, Nergele); Seyhan Nehri'nin önemli kollarından biri olan Göksu Nehri ile bu nehre karışan yan kollarda (Balıklı Dere, Zamantı, Doğançay) seçilen noktalardan örnekleme yapılmıştır.

Çalışma sonucunda Göksu Nehri (Seyhan) ve Yukarı Ceyhan bölgesindeki popülasyonlar arasında seçilen 28 morfometrik karakterlerden 11 tanesi (SB/PreV, SB/P-V, BU/BY, SB/KSU, BU/GÇ, BU/InterO, GÇ/InterO, DYY/DYU, DYY/AYY, PreD/PreV, EG/VG) arasında önemli farklılık bulunmazken, diğer karakterler arasındaki farklılığın önemli olduğu bulunmuştur ($P<0,05$).

Moleküler çalışmalar sonucunda ise Göksu Nehri (Seyhan Havzası) ve Yukarı Ceyhan Nehri (Ceyhan Havzası) arasındaki genetik uzaklığın 0,005 ile 0,016 arasında değişiklik gösterdiği ve farklılığın önemli olduğu belirlenmiştir.

Eylül 2019, 50 sayfa

Anahtar Kelimeler: Göksu Nehri (Seyhan), Yukarı Ceyhan Nehri, *Garra rufa*, genetik uzaklık, morfometrik varyasyon

ABSTRACT

M.S.c. Thesis

MORPHOMETRIC AND GENETIC VARIATIONS OF *Garra rufa* (Heckel, 1843) DISTRIBUTING IN THE UPPER CEYHAN RIVER AND IN THE GÖKSU RIVER (SEYHAN)

Ahmetcan SERBESTOĞLU

Ankara University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology

Supervisor: Asst. Prof. Dr. S. Cevher ÖZEREN

In this study, morphometric and genetic variations of *Garra rufa* which are distributed on Upper Ceyhan River and Göksu River (Seyhan) were investigated. Within the scope of the study, Ceyhan River and its side tributaries (Pamucak, Esendere, Nergele) in the Upper Ceyhan River basin between 2013-2016; The Göksu River, which is one of the important tributaries of Seyhan River and its side tributaries (Balıklı Dere, Zamantı, Doğançay) were sampled from selected points. As a result of the study, it was found that there were no significant differences between 11 of the 28 morphometric characters selected among the populations in Göksu River (Seyhan) and Upper Ceyhan region (SB/PreV, SB/P-V, BU/BY, SB/KSU, BU/GÇ, BU/InterO, GÇ/InterO, DYY/DYU, DYY/AYY, PreD/PreV, EG/VG) but the difference between the other characters was significant. ($P < 0.05$). As a result of molecular studies, it was determined that genetic distance between Göksu River (Seyhan Basin) and Upper Ceyhan River (Ceyhan Basin) varied between 0.005 and 0.016 and the difference was important.

September, 2019, 50 pages

Key Words: Göksu (Seyhan) River, Yukarı Ceyhan River, *Garra rufa*, DNA barcoding, morphometric variation

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresince çalışmalarımı yönlendiren, araştırmalarımın her aşamasında bilgi, öneri ve yardımlarını esirgemeyen değerli danışman sayın Dr. Öğr. Üyesi Saniye Cevher ÖZEREN'e (Ankara Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı) teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Labaratuvar çalışmalarım sırasında teknik desteklerini esirgemeyen arkadaşlarım Pınar ARSLAN, Eda AKDAĞ ve Daniel NASSOUHI'ye ayrı ayrı teşekkür ederim.

Varlıklarını her an yanımda hissettiğim maddi ve manevi desteklerini bir an olsun esirgemeyen nişanlım Damla Elif DİLEK'e, sevgili annem Semiha GÖKTAŞ, babam Ahmet SERBESTOĞLU'ya, ablamlarım Bahar ÇAKIRHAN ve Oya YILMAZ'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez çalışması, "Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 16L0430003 numaralı "Yukarı Ceyhan Nehri ve Göksu Nehri (Seyhan)'nde Dağılım Gösteren *Garra rufa* (Heckel, 1843)'nın Morfometrik ve Genetik Varyasyonları" konulu projesi tarafından desteklenmiştir.

Ahmetcan SERBESTOĞLU

Ankara, Ağustos 2019

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAY SAYFASI

ETİK.....	i
ÖZET.....	ii
ABSTRACT	iii
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR.....	iv
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ	x
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	3
2.1 Cyprinidae Familyasının Genel Özellikleri	3
2.2 <i>Garra</i> cinsinin Sistematik Durumu.....	4
2.3 <i>Garra rufa</i> Heckel, 1843'nin Biyometrik ve Ekolojik Özellikleri	4
2.3.1 Dünya'daki yayılışı.....	5
2.3.2 Türkiye'deki yayılışı.....	6
2.4 Taksonomik Çalışmalar	7
2.4.1 Morfolojik taksonomi	7
2.4.2 Moleküler taksonomi	8
3. MATARYEL VE YÖNTEM.....	13
3.1 Materyal	13
3.2 Yöntem	14
3.2.1 Örneklerin yakalanması	14
3.2.2 Örneklerin taşınması ve saklanması	15
3.2.3 Morfometrik analizler	15
3.2.4 Moleküler analizler	18
3.2.4.1 Doku örneklerinin temin edilmesi	18

3.2.4.2 Doku örneklerinin DNA izolasyonu	18
3.2.4.3 DNA'nın spektrofotometrik analizi.....	18
3.2.4.4 DNA konsantrasyonunun ayarlaması	18
3.2.4.5 Jel elektroforezi	19
3.2.4.6 Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR).....	20
3.2.4.7 Saflaştırma (pürifikasyon).....	21
3.2.4.8 DNA dizi analizi	22
3.2.4.9 Dizilerin hizalanması	22
3.2.4.10 Tür tanımlama ve filogenetik analiz.....	22
4. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	23
4.1 Morfometrik Analiz	23
4.1.1 Ölçüm ve analiz bulguları	26
4.2 Moleküler Analiz.....	37
4.2.1 DNA izolasyonu	37
4.2.2 Polimeraz zincir reaksiyonu.....	38
4.2.3 Filogenetik analiz	39
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	40
KAYNAKLAR	46
ÖZGEÇMİŞ.....	50

SİMGELER DİZİNİ

°C	Santigrat Derece
A	Adenin
C	Sitozin
cm	Santimetre
G	Guanin
g	Gram
mg	Miligram
MgCl ₂	Magnezyum Klorür
ml	Mililitre
ng	Nanogram
nm	Nanometre
T	Timin
U	Ünite/Urasil
UV	Ultraviyole
µl	Mikrolitre
µm	Mikrometre

Kısaltmalar

AYI	Anal yüzgeçteki dallanmış ışın sayısı
AYU	Anal yüzgeç uzunluğu
AYY	Anal yüzgeç yüksekliği
BU	Baş uzunluğu
BY	Baş yüksekliği
ÇB	Çatal boy
DNA	Deoksiribonükleik asit
DYI	Dorsal yüzgeçteki dallanmış ışın sayısı
DYU	Dorsal yüzgeç uzunluğu
DYY	Dorsal yüzgeç yüksekliği

G.	<i>Garra</i>
GÇ	Boylamasına göz çapı
InterO	Gözler arası mesafe uzunluk
KSU	Kuyruk sapı uzunluğu
KSY	Kuyruk sapı yüksekliği
L. Lat.	Yanal çizgide bulunan pul sayısı
Ort.	Ortalama
P-A	Pektoral-anal yüzgeçler arası uzaklık
P-V	Pektoral-ventral yüzgeçler arası uzaklık
PYI	Pektoral yüzgeç ışın sayısı
PYY	Pektoral yüzgeç yüksekliği
PostO	Postorbital uzunluk
PreA	Preanal uzunluk
PreD	Predorsal uzunluk
PreO	Preorbital uzunluk
PreV	Preventral uzunluk
SB	Standart boy
TB	Toplam Boy
VY	Maksimum vücut yüksekliği
V-A	Ventral-anal yüzgeçler arası uzaklık
VYI	Ventral yüzgeçteki dallanmış ışın sayısı
VYY	Ventral yüzgeç yüksekliği
W	Ağırlık

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Dünya üzerindeki Cyprinidae dağılımı.....	3
Şekil 2.2 <i>Garra rufa</i> 'nın Dünya üzerindeki dağılımı	6
Şekil 2.3 <i>Garra rufa</i> 'nın Türkiye'deki dağılımı	7
Şekil 2.4 Bir balığın genel dış görünüşü	8
Şekil 2.5 Mitokondriyal DNA'da bulunan genler	9
Şekil 2.6 Jel elektroforezi	10
Şekil 2.7 DNA elektroforezi	11
Şekil 2.8 Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR)	12
Şekil 3.1 Yukarı Ceyhan Nehri ve Göksu Nehri örnekleme noktaları.....	13
Şekil 3.2 <i>Garra rufa</i> 'nın metrik ve meristik karakterleri.....	16
Şekil 3.3 DNA konsantrasyonun ayarlanması	19
Şekil 4.1 <i>Garra rufa</i> (Heckel, 1843)	24
Şekil 4.2 Seyhan Nehri havzasındaki <i>Garra rufa</i> popülasyonlarının dağılımını gösteren ayırma fonksiyonu analizi grafiği (Araştırma bölgeleri: Göksu, Doğançay, Zamantı)	35
Şekil 4.3 Seyhan Nehri ve Yukarı Ceyhan havzalarındaki <i>Garra rufa</i> popülasyonlarının dağılımını gösteren ayırma fonksiyonu analizi grafiği (Araştırma bölgeleri: Göksu, Doğançay, Zamantı, Yukarı Ceyhan)	36
Şekil 4.4 İzole edilen DNA örneklerinin deney düzeni	38
Şekil 4.5 COI gen bölgesinin PCR ürünlerinin %1,5'lük jel görüntüsü	38
Şekil 4.6 COI bölgesi için çizilen NJ (Neighbor Joining) dendrogramı	39

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1	<i>Garra rufa</i> morfometrik analizler.....	14
Çizelge 3.2	<i>Garra rufa</i> moleküler analizler.....	14
Çizelge 3.3	Standardize edilen karakter indisleri.....	17
Çizelge 3.4	Kullanılan primer çiftlerinin dizileri.....	20
Çizelge 3.5	PCR reaktifleri	21
Çizelge 3.6	PCR döngü koşulu	21
Çizelge 4.1	Göksu (Seyhan) Nehri ve Yukarı Ceyhan bölgesindeki <i>Garra rufa</i> popülasyonlarının meristik özelliklerinin karşılaştırılması.....	25
Çizelge 4.2	Göksu Nehri (Seyhan) bölgesindeki <i>Garra rufa</i> örneklerin morfometrik verileri.....	27
Çizelge 4.3	Göksu Nehri (Seyhan) bölgesindeki <i>Garra rufa</i> popülasyonlarının morfometrik karakterinin varyans analizi sonuçları	28
Çizelge 4.4	Göksu Nehri (Seyhan) ve Yukarı Ceyhan bölgesindeki <i>Garra rufa</i> örneklerin morfometrik verilerin ortalamaları	29
Çizelge 4.5	Göksu (Seyhan) Nehri ve Yukarı Ceyhan bölgesindeki <i>Garra rufa</i> popülasyonlarının morfometrik karakterlerinin varyans analizi sonuçları.....	31
Çizelge 4.6	Göksu (Seyhan) ve Göksu (Seyhan) Nehri - Yukarı Ceyhan Nehri bölgesindeki <i>Garra rufa</i> popülasyonlarının ayırma analizinde Wilk's lambda testi sonuçları	32
Çizelge 4.7	Göksu (Seyhan) Nehri popülasyonlarının ayırma analizinde kullanılan fonksiyonların değerleri	32
Çizelge 4.8	Göksu (Seyhan) Nehri ve Ceyhan Nehri popülasyonlarının ayırma analizinde kullanılan fonksiyonların değerleri	33
Çizelge 4.9	Göksu (Seyhan) Nehri popülasyonlarının ayırma analizinde iki fonksiyonda ayrılan karakterlerin katsayıları	33
Çizelge 4.10	Göksu (Seyhan) Nehri ve Yukarı Ceyhan Nehri popülasyonlarının ayırma analizinde iki fonksiyonda ayrılan karakterlerin katsayıları	34
Çizelge 4.11	Göksu (Seyhan) Nehri'inde bulunan örneklerin ayırma fonksiyonu analizinde sınıflandırma sonuçları.....	36

Çizelge 4.12	Seyhan Nehri ve Yukarı Ceyhan Nehri'ndeki popülasyonların ayırma fonksiyonu analizinde sınıflandırma sonuçları.....	37
Çizelge 4.13	COI gen bölgesine ait dizileri karşılaştırılan örneklerin birbirine uzaklık indeksleri (Pairwise Distance)	39



1. GİRİŞ

Türkiye'nin coğrafik yapısının çok kompleks olması ve nehirlerin dağlık bölgelerle birbirinden ayrılmış olmasının türlerin yayılmasını büyük ölçüde engellenmesi yüksek endemizm ve genetik çeşitliliğe neden olmuştur. Avrupa'nın toplamından daha yüksek tür çeşitliliğine ve endemizme sahip olan ülkemiz, farklı zoocoğrafik ve fitocoğrafik bölgelerin kesişim noktasında bulunması nedeniyle de küresel ölçekte son derece önemli bir konumda bulunmaktadır. Biyolojik çeşitlilik bakımından ülkemiz Avrupa ve Ortadoğu'nun en zengin ülkelerinden biridir ve Avrupa kıtasında dokuzuncu sırada yer almaktadır (Anonim, 2003).

Türkiye'deki tatlısu balıklarının yüksek tür çeşitliliği, farklı su sistemleri arasındaki habitat çeşitliliğine ve çeşitli izolasyonlara (coğrafik, genetik, vb.) bağlıdır. Canlıların yaşadıkları çevre ile etkileşimleri göz önüne alındığında, bir türe ait popülasyonlar arasında özellikle üreme birliğinin çeşitli bariyerlerle kesilmesi ve farklı ekolojik koşullar nedeniyle, zamanla morfolojik ve genetik farklılıklar ortaya çıkabilmektedir. Bunun yanı sıra son yıllarda nehir sistemleri üzerinde elektrik üretme, sulama ve içme suyu temini için kurulan ve balık geçidi bulunmayan barajlar nehirlerin üst bölgesi ve alt bölgesi arasında bariyer oluşturmakta ve bu durum zamanla nehir sisteminde mevcut olan türlerin alt popülasyonlara ayrılmasına neden olabilmektedir. Tez çalışmasının yer aldığı Seyhan havzasındaki Göksu Nehri, bu nehre karışan Zamantı Irmağı ve Doğançay ile Yukarı Ceyhan nehri üzerinde ardarda kurulan ve yüksek gövdeye sahip olan barajların bazılarında balık geçidi bulunmamaktadır.

Yapılan bilimsel çalışmalarda, Himalayalar'dan batıya kadar yayılım gösteren *Garra* cinsinin, bulunduğu bölgelere uyum sağlarken farklı adaptasyonlar geliştirdiği ve yeni türler oluşturduğu ortaya konmuştur (Kiabi ve Abdoli 2001). Bu adaptasyonların yansıması olarak fenotipik karakterlerin, çevresel faktörlerden etkilenebilir olmasından dolayı popülasyonlar ya da stoklar arasındaki varyasyonları belirlemek ve daha güvenilir bir taksonomik pozisyon oluşturmak için morfolojik verilerin, moleküler veriler ile desteklenmesi gerekmektedir. Ekolojik toleransı oldukça yüksek olan *Garra rufa* popülasyonu ile bulunduğu habitat arasındaki ilişkiyi değerlendirirken, morfolojik

farklılaşmanın genetik yapısına olan katkısının belirlenmesi, türe ait popülasyonların varyasyonlarını ortaya koymak açısından önemlidir (Keivany 2015).

Ülkemizde Fırat, Dicle, Seyhan, Ceyhan ve Asi havzalarında dağılım gösteren ve IUCN Kırmızı Liste (2018)'ye göre, küresel ölçekte "Asgari Endişe Verici Yaygın Türler-LC" kategorisinde yer alan bu türün ekonomik önemi olmamasına karşın, Sivas ili Kangal ilçesindeki kaplıçalarda, sedef hastalığının tedavisinde kullanılması nedeniyle ekonomi ve turizm açısından büyük öneme sahiptir.

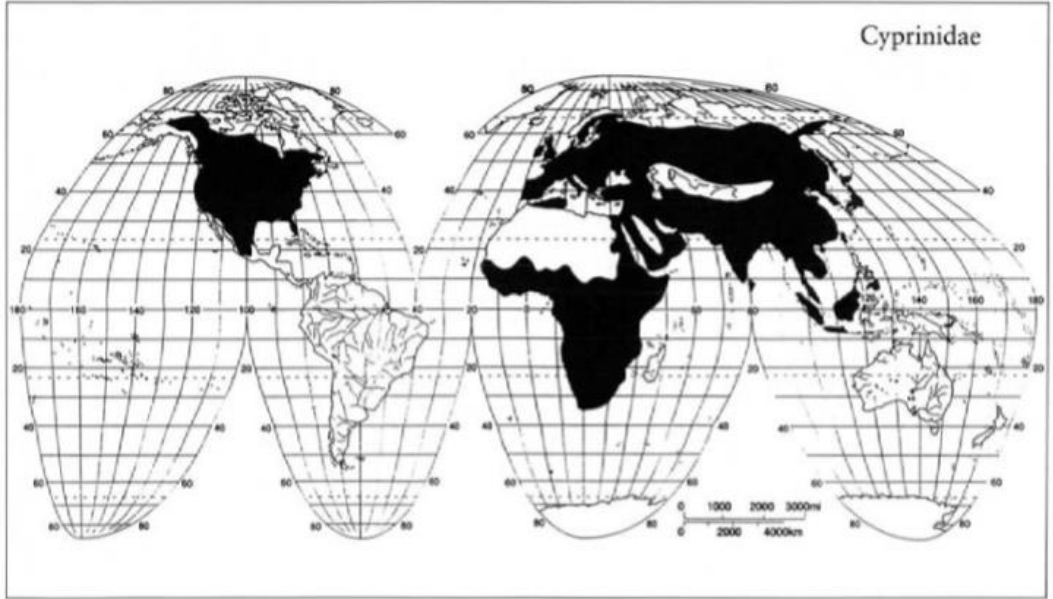
Ülkemizde, *Garra* cinsine yönelik yapılan filogenetik ve filocoğrafik araştırmalar kısıtlı sayıdadır (Durna vd. 2010). İran'da, *Garra* cinsi ile ilgili yapılmış morfolojik ve moleküler çalışmalar, yeni türlerin varlığını ortaya koymaktadır (Segherloo vd. 2012; Hamidan vd. 2014). Bugüne kadar Seyhan Nehri ve Ceyhan Nehri üzerine dağılım gösteren *Garra rufa*'ya ilişkin yapılan çalışmalar, genellikle biyo-ekolojik özellikleri ve biyocoğrafik özellikleri (Kara vd. 2010, Ergene ve Çavaş 2002, Ergüden ve Goksu 2012, Koyun 2011) kapsamaktadır.

Bu tez kapsamında Seyhan Nehir havzasının önemli kollarından biri olan Göksu Nehri ve bu nehre karışan Zamantı, Doğançay ile Yukarı Ceyhan Nehri'nde dağılım gösteren *Garra rufa*'nın, morfometrik ile genetik varyasyonlarının ortaya konması amaçlanmıştır. Barkoding Life Data Systems (BOLD) veri tabanına popülasyon seviyesinde, resmi olarak DNA barkod kaydının başvurusu yapılmıştır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1 Cyprinidae Familyasının Genel Özellikleri

Cyprinidae (Sazangiller) tatlısu balıkları içerisinde en çok türün bulunduğu familyadır (Berra 2007). Kuzey Amerika, Afrika, Avrupa ve Asya'da dağılım gösteren bu familyaya ait balıklar yaklaşık olarak 2420 türün olduğu bilinmektedir (Nelson 2006). Türkiye tatlısu balık faunasında ise bu familyaya ait 188 tür tespit edilmiştir (Çiçek vd. 2015). Bu familya, dünya üzerinde de geniş coğrafyalara dağıldığından dolayı (Şekil 2.1), önemli bir yere sahiptir (Winfield ve Nelson 1991). Cyprinidae (Sazangiller) familyasına ait türler genel olarak omnivor beslenme özelliği gösterir ve besinlerini genel olarak büyük su bitkileri, plankton, çamur içerisindeki organik maddeler ve küçük hayvanlar oluşturmaktadır (Nelson 2006).



Şekil 2.1 Dünya üzerindeki Cyprinidae dağılımı (Berra 2007)

2.2 *Garra* Cinsinin Sistematik Durumu

Alem	: Animalia (Hayvanlar)
Şube	: Chordata (Kordalılar)
Altşube	: Vertebrata (Omurgalılar)
Üst Sınıf	: Actinopterygii (Işınsal Yüzgeçliler)
Sınıf	: Teleostei (Gerçek Kemikli Balıklar)
Takım	: Cypriniformes
Familya	: Cyprinidae (Sazangiller)
Cins	: <i>Garra</i>

IUCN Kırmızı Liste (2018)'ye göre 92 türle temsil edilen *Garra* cinsi, Cyprinidae (Sazangiller) familyası içerisinde yer almaktadır ve Pleistosen döneminden itibaren Afrika ve Güney Asya'dan, Batı Asya'ya geniş bir dağılım göstermektedir (Goren ve Ortal 1999). Son dönemlerde yapılan taksonomik çalışmalarda ve IUCN Kırmızı Liste (2018)'ye göre Türkiye'de *Garra* cinsine ait, *Garra rufa*, *Garra variabilis*, *Garra turcica*, *Garra kemali*, *Garra culiciphaga* ve *Garra klatti* olmak üzere toplam 6 türün yaşadığı tespit edilmiştir (Alp vd. 1998; Ergene 1998, Dağlı ve Erdemli 2008, Sungur 2009, Esra vd. 2018).

Önceki çalışmalarda, *Garra rufa obtusa* alt türü olarak tanımlanan *Garra rufa*, Afrika, Arabistan, Güney İran ve Hindistan'da ortaya çıktıktan sonra Anadolu'ya yayılmıştır (Goren ve Ortal 1999, Koyun 2011).

2.3 *Garra rufa* Heckel, 1843'nin Biyometrik ve Ekolojik Özellikleri

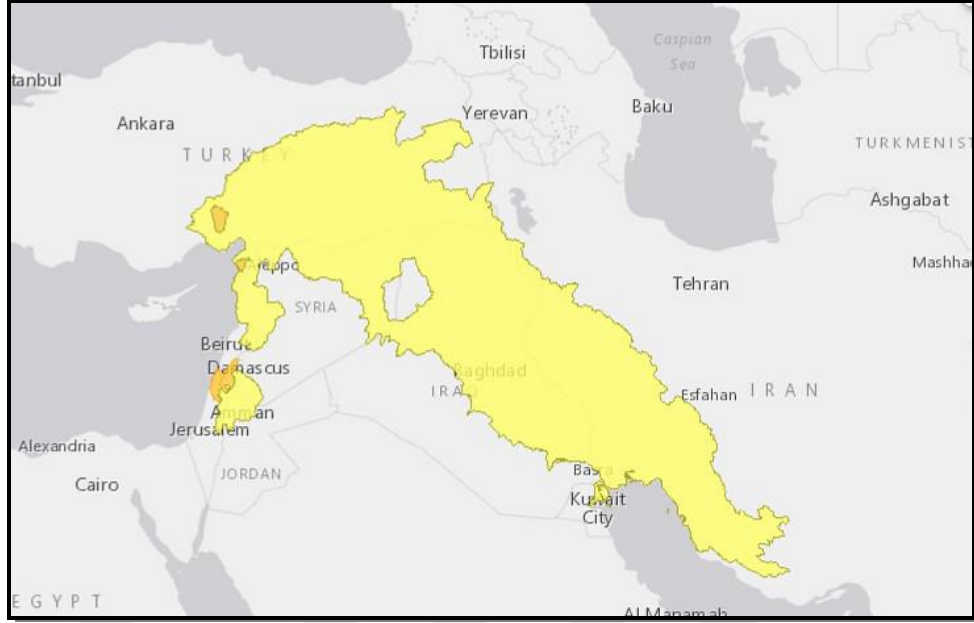
Sinonimleri: *Discognathus crenulatus* Heckel, 1846-49; *Discognathus obtusus* Heckel, 1843); *Discognathus rufus* Heckel, 1843; *Garra rufa crenulata* Heckel, 1844; *Garra rufa gymnothorax* Berg, 1949; *Garra rufus* Heckel, 1843.

Vücut şekilleri, ince uzun ve silindirik yapılı; ağız bölgesi, ventral konumda olup; baş bölgesi, pulszudur ve gayet iyi gelişmiş alt dudaklara sahiptir. Alt kısmında, ağız hilal şeklinde, etrafında 1-2 çift kısa bıyık bulunmaktadır ve burun delikleri iyi gelişmiş kapaklarla kaplıdır. Başının altında yer alan, alt dudağına bitişik tutunma organı (vantuz) bulunur. Dorsal yüzgeç, ventral yüzgecin önünden başlar. Genellikle anal yüzgeç, ventral ve kaudal yüzgeç arasında olup, dorsal yüzgeçten daha kısa gözükmetedir (Geldiay ve Balık 1999).

Ekolojik toleransı oldukça yüksek olan *G. rufa*, hızlı akıntılı akarsularda, yavaş akıntılı nehirlerde, rezervuarlarda, kirlenmiş kanal sularında, kaynak sularında yaşayabilir. Genellikle durgun suları çok tercih etmez, ancak bu alanlarda da dağılım gösterebilir.

2.3.1 Dünya'daki yayılışı

Anavatanı Güney Çin ve Afrika olan *Garra rufa* zamanla Batı Asya'ya kadar yayılım göstermiştir. Günümüzde doğal dağılım alanı İsrail, Ürdün, Suriye, Irak, İran ve Doğu Anadolu'dur (Şekil 2.2). Ancak son yıllarda özellikle tedavi amaçlı kullanımından dolayı başta Güney İngiltere olmak üzere birçok ülkede görülmeye başlanmıştır. Düşük verimlilik ve çevre koşulları nedeniyle nehir sistemleri içinde nispeten yavaş yayılma sahip olan bu tür insan eliyle birçok ülkenin sularına aşıl原因mıştır ancak düşük fekondite nedeniyle doğal popülasyonlar oluşturmamıştır (NNSS 2015).



Şekil 2.2 *Garra rufa*'nın Dünya üzerindeki dağılımı (NNS 2015, IUCN 2018)

2.3.2 Türkiye'deki yayılışı

Garra rufa, Afrika, Arabistan, Güney İran ve Hindistan'da ortaya çıktıktan sonra Anadolu'ya yayılmıştır (Goren ve Ortal 1999, Koyun 2011). Ülkemizde Fırat, Dicle, Seyhan, Ceyhan ve Asi havzalarında dağılım gösteren ve IUCN Kırmızı Liste (2018)'ye göre, küresel ölçekte "Asgari Endişe Verici Yaygın Türler-LC" kategorisinde yer almaktadır (Şekil 2.3). Koyun (2011) yapmış olduğu çalışmada türün Kosswig (1952)'e göre Aras havzasında da dağılım gösterdiğini belirtmiştir, ancak bugüne kadar yapılan çalışmalarda Aras havzasında bu türe rastlanılmamıştır.

Sivas ili Kangal ilçesindeki kaplıçalarda, sedef hastalığının tedavisinde kullanılması nedeniyle ekonomi ve sağlık turizm açısından büyük öneme sahiptir.



Şekil 2.3 *Garra rufa*'nın Türkiye'deki dağılımı

2.4 Taksonomik Çalışmalar

Taksonomi, organizmaların çeşit ve farklılıkları ile evrimsel gelişim dizisine göre yukarıdan aşağı doğru sınıflandırılmasında kullanılan yöntemin kuramı ve uygulaması olarak tanımlanmaktadır. Taksonomik araştırmalar canlılarda; morfolojik, anatomik, biyokimyasal, kalıtsal ve evrimsel açıdan önemli bilgiler elde etmemizi sağlamaktadır (Bat vd. 2008).

2.4.1 Morfolojik taksonomi

Morfolojik taksonomi araştırmalarında, iki önemli basamak bulunmaktadır. Bunlardan birinci basamak olan, çalışılan örneğin tanımlanma aşamasıdır. Morfolojik karakter açısından değerlendirilerek, daha önceden sınıflandırılma yapılmış canlılarla kıyaslanmaktadır. Morfolojik karakterler belirlenirken bireylerin genel dış morfolojisi, özel yapılar (genital organ vs), embriyolojik ve karyolojik özelliklerine bakılmaktadır

(Bat vd. 2008). Böylece taksonlar, morfolojik karakterlerine bakılarak kesin olarak birbirinden ayırmaktadır. İkinci önemli basamak ise taksonların sınıflandırılmasıdır. Canlıların çeşitli özellikleri kıyaslanarak akrabalık derecelerine göre tür, cins, aile gibi kategorilerle sınıflandırılmaktadır (Şekil 2.4)



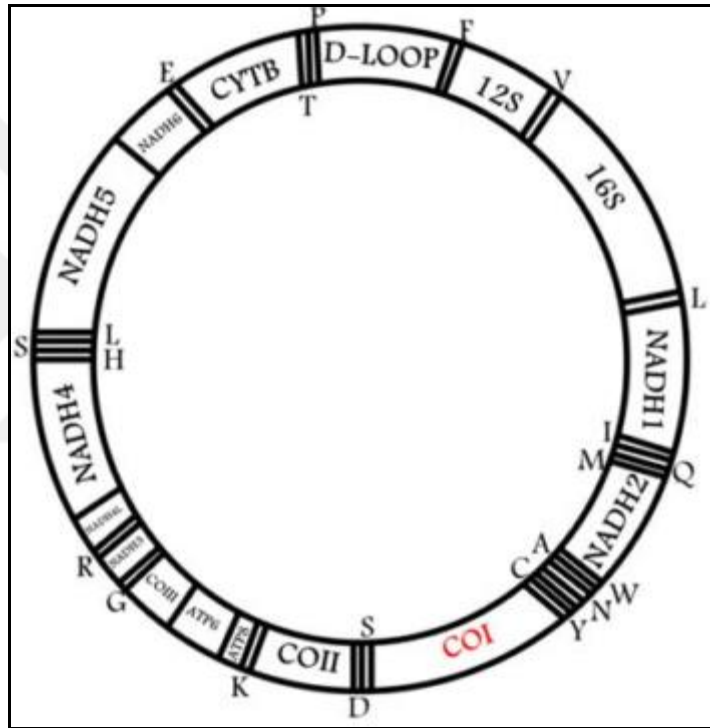
Şekil 2.4 Bir balığın genel dış görünüşü (orjinal, Yukarı Ceyhan Nehri'nden)

2.4.2 Moleküler taksonomi

Geçmişten günümüze kadar yapılan tüm sistematik çalışmalarda, türlerin tanımlanması ve cinslerine göre düzenlenmesi için canlıların morfolojik karakterlerine bakılmaktadır. Moleküler tekniklerin gelişmesiyle birlikte, her bir bireyin sahip olduğu farklı genetik yapıardan yararlanılarak, balık sistematigi çalışmalarına hız kazandırılmıştır. Bu çalışmalar içerisinde, moleküler yaklaşımlarla, morfometrik çalışmaların doğrulandığı literatürde kanıtlanmıştır (Stepien ve Kocher 1997). Araştırmacılar, bu şekilde sistematik problemlere karşı bağımsız veri kümelerinden türetilen ilişkilerin birlikte sınanmasıyla sağlam bir yaklaşım oluşturmaktadır (Miyamoto ve Fitch 1995).

Genel olarak morfolojik araştırmalar, cinsleri tanımlamada başarılı olmasına rağmen, aynı türe ait bireylerin yaşadıkları farklı habitatlara adapte olabilmesi için morfolojik farklılıklar gösterebilmektedir. Moleküler verilerin güçlü yanlarından biri, canlıların genotip-fenotip çevre ilişkilerini hızla test edip aydınlatmasıdır. Moleküler veriler, popülasyonlar arasında filocoğrafik ilişkilerin değerlendirilmesi, zoocoğrafik alt bölümlerin sorgulanması ve alanlar arasında ilişkilerin incelenmesinde birincil araçtır (Stepien ve Kocher 1997).

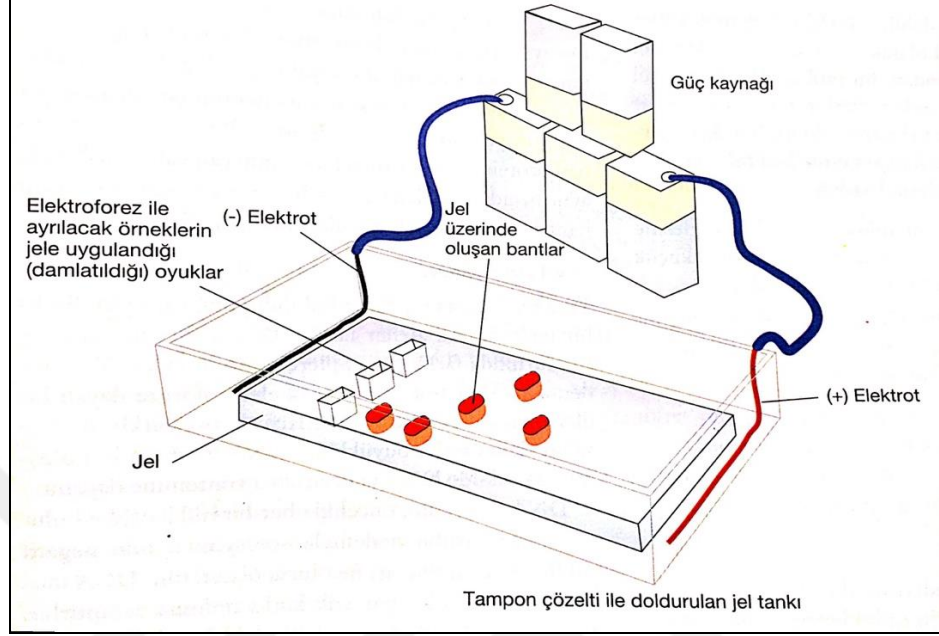
Sucul canlılarda yapılan çalışmalarda, canlı türlerinin belirlenmesi için moleküler yöntemlerden biri olan, DNA barkodlama tekniği uygulanmaktadır. Bu yöntem, mitokondriyal DNA'nın 600-700 baz çifti uzunluğundaki sitokrom c oksidaz alt ünite 1 (*COI*) gen bölgesine bakılarak, türlerin tanımlanmasına dayanmaktadır (Hebert ve Gregory 2005). Araştırmacılar, türler arası ve türler içi varyasyonları da içeren birçok çalışma sonucu elde etmiş ve veri setleri ile *COI* geninin standart bir belirteç olarak benimsenmesinde önemli bir rol oynamıştır (Şekil 2.5). Günümüzde, GenBANK, Boldsystem, Fish-bol gibi geniş veri tabanlı gen kütüphaneleri oluşturulmuştur.



Şekil 2.5 Mitokondriyal DNA'da bulunan genler

Popülasyonlardaki genetik çeşitlilik miktarını anlamak için yaygın olarak kullanılan bir diğer yöntem ise Jel Elektrofrezidir. Elektrofrez tekniğinde, molekülleri birbirinden ayırmada kullanılan bir yöntemdir. Elektrofrez seti, Şekil 2.6'da görüldüğü gibidir. Jelin bileşiminde nişasta, agar veya poliakrilamid maddelerinden birisi kullanılarak jelatin benzeri bir levha elde edilir. Araştırmacılar, jelin başında veya ortasında bulunan oyuklara araştırılacak molekül karışımını, pipet yardımıyla doldurur. Jelin elektrik

akımını iletmesi ve ıslak kalması için jel, tampon çözeltiye koyulur. Elektriksel alan oluşturmak için ortamdaki elektrotlara bağlanmış bir güç kaynağına bağlanmıştır.



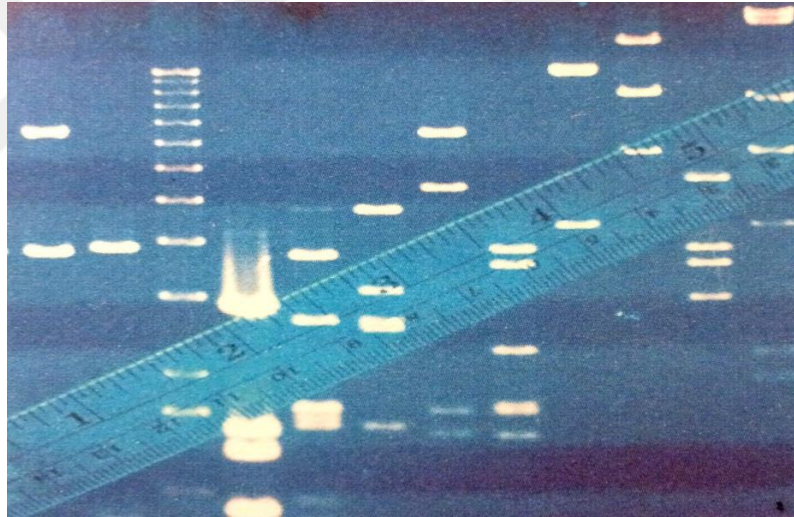
Şekil 2.6 Jel elektroforezi (Freeman ve Herron 1999)

Protein ve DNA'nın içerisinde bulunduğu çoğu biyolojik moleküller, çözeltilerde elektriksel olarak yüklüdürler. Elektriksel alanın etkisiyle yüklü olan bu moleküller, jelde hareket etmeye başlarlar. Örneğin, negatif yüklü moleküller pozitif elektronlara doğru hareket ederler. Başlıca bir molekülün jelde hareket etme hızını etkileyen faktörler şunlardır:

1. Molekülün elektrik yükünün, molekülün kütlesine olan oranı. Elektriksel yükü fazla, kütlesi küçük olan moleküller daha hızlı hareket ederler.
2. Molekülün fiziksel büyüklüğü. Büyük moleküller, jeldeki gözeneklerden daha zor geçer ve daha zor hareket ederler.

Eğer jelin içerisine yerleştirilen biyolojik moleküller, farklı yük-kütle oranı ve/veya farklı büyüklüklere sahip molekül içeriyorsa, bu moleküller jelde farklı hızlarda hareket edecekleri için birbirinden ayırt edilebilir (Freeman ve Heron 1999).

DNA molekül yapısı, her bir nükleotidte bulunan fosfat grubu nedeniyle solüsyon içerisinde negatif yüklüdür. Uzunlukları ne olursa olsun, tüm DNA molekülleri yaklaşık olarak aynı yük/kütle oranına sahiptirler. Fakat büyük DNA molekülleri, elektroforez jelinde daha yavaş hareket ederler. Eğer bir jel üzerine değişik uzunluğa sahip DNA fragmentleri içeren bir karışım yürütülürse, bu DNA fragmentleri büyüklüklerine göre birbirinden ayrılır. Eğer jel üzerindeki bantları boyanır veya floresans hale getirerek görünür kılınırsa, bu bantları fragment büyüklüğüne göre ayırt edebiliriz (Şekil 2.7) (Freeman ve Heron 1999).

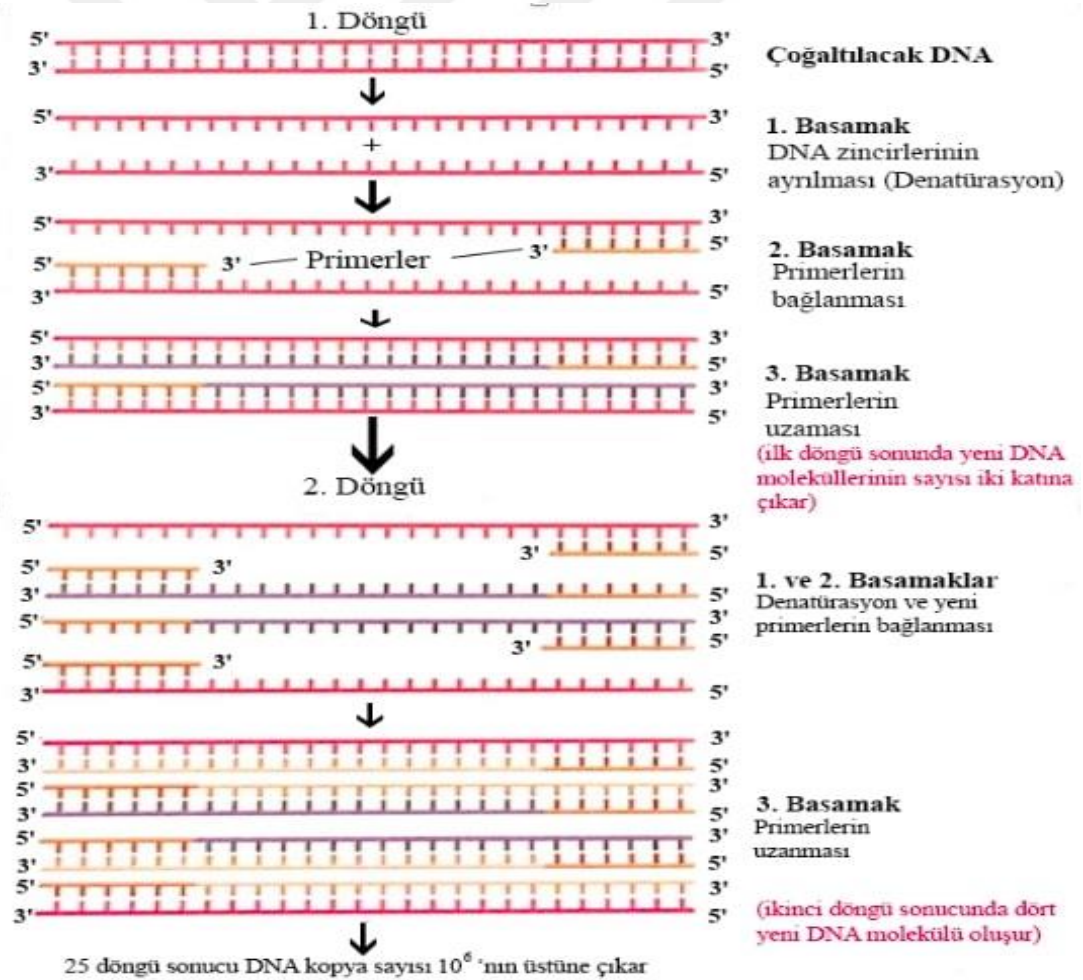


Şekil 2.7 DNA elektroforezi

Moleküler çalışmalarda 1986 yılında, polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) adında bir yöntem daha geliştirilmiştir. Günümüzde PCR; moleküler biyoloji, insan genetiği, evrim, gelişim, koruma ve adli tip gibi birçok alanda kullanmak için tercih edilen bir araçtır (Klug vd. 2003).

PCR üç aşamadan oluşmaktadır (Şekil 2.8). Çoğaltılan DNA'nın miktarı teorik olarak sadece bu adımların tekrarlanma sayıları ile sınırlıdır.

1. DNA denatüre edilerek tek zincir haline getirilir. Çift zincirli DNA'nın 90-95°C'de ısıtılması onu tek zincirli hale getirerek denatüre eder (genellikle yaklaşık 5 dakika süreyle).
2. Sıcaklık 50°C ila 70°C arasında bir değere düşürülür ve bu birleşme (annealing) sıcaklığında, primerler tek zincirli DNA'ya bağlanır. Primerler, yapay oligonükleotitlerdir (15-30 nükleotit uzunluğunda) ve çoğalacak DNA'nın uçlarındaki dizilere eşleniklerdir (komplementer).
3. Karışıma DNA polimeraz'ın ısıya dayanıklı formu (Taq polimeraz) reaksiyonu eklenilir. DNA sentezi 70°C ile 75°C arasındaki sıcaklıkta gerçekleşir. Taq polimeraz, nükleotitleri 5'ten 3'e doğru ekleyerek, primerlerin uzamasını sağlar ve hedef DNA'nın iki zincirli kopyasını yapar.



Şekil 2.8 Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR)

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Materyal

Çalışmada kapsamında, 2013-2016 yılları arasında Yukarı Ceyhan Nehri ve Göksu Nehri (Seyhan)'nde bulunan *Garra rufa*'ya ait popülasyonlar arasındaki çeşitliliğin morfometrik ve genetik varyasyonlarının belirlenmesi için seçilen örnekleme noktaları ile koordinatları Şekil 3.1 ve Çizelge 3.1'de verilmiştir. Morfometrik analizler için örneklenmiş 4 istasyondan toplamda 120 adet birey kullanılmıştır. Moleküler analizler için ise 4 istasyondan toplamda 38 adet birey kullanılmıştır. Örneklenen türlerin temin edildiği istasyonların temin edildiği bölge Şekil 3.1'de harita üzerinde gösterilmiş; ilgili istasyon numaralarına gelen istasyon adları, örnek sayısı ve koordinatlarına ilişkin bilgiler Çizelge 3.1-3.2'de gösterilmiştir.



Şekil 3.1 Göksu (Seyhan) Nehri ve Yukarı Ceyhan Nehri örnekleme noktaları

Çizelge 3.1 *Garra rufa* morfometrik analizler

Numara	İstasyon Adı	Örnek Sayısı	Koordinatlar
Göksu (Seyhan) Nehri			
1	Göksu	52	730310D/4165137K; 714228D/416284K
2	Doğançay	24	715019D/4160411K
3	Zamantı	14	710401D/4195817K
Yukarı Ceyhan Nehri			
4	Yukarı Ceyhan	30	320990d/4196425K; 339292D/4210587K

Çizelge 3.2 *Garra rufa* moleküler analizler

Numara	İstasyon Adı	Örnek Sayısı	Koordinatlar
Göksu (Seyhan) Nehri			
1	Göksu	15	730310D/4165137K; 714228D/416284K
2	Doğançay	8	715019D/4160411K
3	Zamantı	10	710401D/4195817K
Yukarı Ceyhan			
4	Yukarı Ceyhan	5	320990D/4196425K; 339292D/4210587K

3.2 Yöntem

3.2.1 Örneklerin yakalanması

Balık örneklerinin yakalanmasında çeşitli yöntemler (kepçe, ıgırıp, fanyalı ağ, fanyasız ağ, serpme, pinter, olta ve elektroşoker gibi) kullanılmakla birlikte, yakalanacak örneklerin küçük ya da büyük boylu olması, bentik (dipte yaşayan) ya da pelajik (yüzeyde yaşayan) yaşam sürmesi, gececi ve ya gündüzcü olması, yaşadıkları habitat özellikleri (derinlik, akıntı hızı, vejetasyon durumu, berraklık, v.b.) göz önüne alınmıştır (Bohlin vd 1989; Geldiay ve Balık 1999).

Araştırma sahasında *Garra rufa* örnekleri temin etmek için özellikle sığ sularda, Samus 725 MP 12 volt, 300-500 watt gücünde taşınabilir elektroşoker cihazı, serpme ve pinter ağlar kullanılmıştır.

3.2.2 Örneklerin taşınması ve saklanması

Garra rufa örnekleri yakalandıktan sonra moleküler analizlerin yapılması amacıyla bir kısmı %95-96'lık etil alkol, morfolometrik ve meristik ölçümlerinin yapılması için bir kısmı ise %4 formaldehite alınarak Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Hidrobiyoloji Laboratuvarı'na getirilmiştir.

3.2.3 Morfolometrik analizler

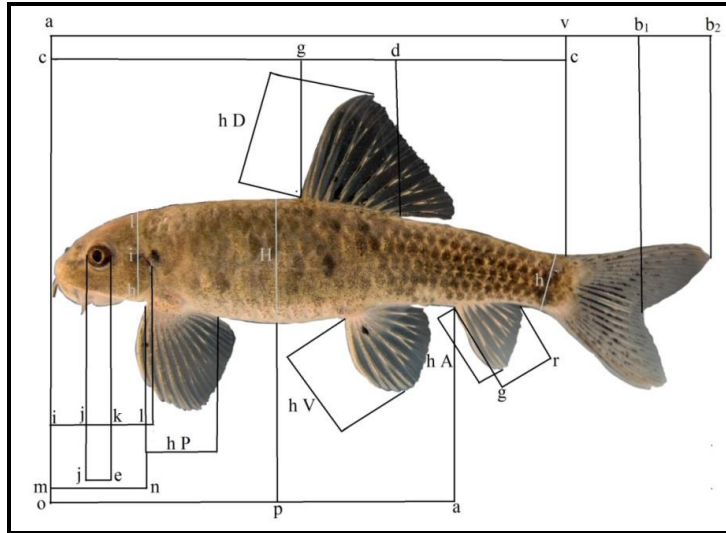
Klasik sistematik çalışmalarda kullanılan morfolometrik analizler için %4'lük formaldehite alınarak laboratuvara getirilen örnekler 24-48 saat temiz suda yıkanarak %70'lik alkole alınmış ve incelemeye hazır duruma getirilmiştir.

Balık taksonomisinde metrik (ölçülebilir), meristik (sayılabilir) karakterler kullanılmaktadır. Kullanılan metrik karakterler; standart boy, predorsal mesafe, preanal mesafe, postdorsal mesafe, dorsal yüzgeç uzunluğu, anal yüzgeç uzunluğu, ventral yüzgeç uzunluğu, pektoral yüzgeç uzunluğu, pektoral yüzgeç-ventral yüzgeç arası uzunluk, pektoral yüzgeç-anal yüzgeç arası mesafe, kuyruk sapı yüksekliği, maksimum ve minimum vücut yükseklikleri, baş uzunluğu, baş yüksekliği, bıyık uzunlukları, göz çapı, interorbital uzunluktur. Meristik karakterler ise dorsal yüzgeç ışını, pektoral yüzgeç ışını, anal yüzgeç ışını, ventral yüzgeç ışını, yanal çizgideki (Line lateral) pul sayısı, 1. Solungaç diken sayısıdır.

Balık taksonomisinde kullanılan bu morfolometrik karakterler ne kadar fazla olursa elde edilen sonuçlar da o kadar güvenilir olmaktadır (Hubbs ve Lagger 1958; Moyle ve Cech 2004; Ekingen 1988). Çalışma kapsamında ele alınan metrik ve meristik karakterler Şekil 3.2'de verilmiştir.

Garra rufa örneklerinde çalışma için gerekli morfometrik ölçümler, milimetrik cetvel ve 0,01 mm duyarlılıkta dijital kumpas kullanılarak yapılmıştır. Lateral yüzgeçte bulunan pul sayısı, yüzgeçlerindeki dallanmış ışın sayıları gibi meristik karakterler, stereo mikroskop ile bakılmıştır. Balık örneklerinin ağırlıklarını ise 410 g kapasiteli ve 0,01 g hassasiyetinde hassas terazi kullanılmıştır.

Bu araştırmada, Keivany ve diğerleri (2015) çalışmasından yola çıkılarak belirlenen maksimum vücut yüksekliği, baş uzunluğu, baş yüksekliği, baş genişliği, burun uzunluğu, göz çapı, postorbital uzunluk, interorbital uzunluk, dudak uzunluğu, dorsal yüzgeç uzunluğu, dorsal yüzgeç yüksekliği, anal yüzgeç uzunluğu, anal yüzgeç yüksekliği, pektoral yüzgeç uzunluğu, ventral yüzgeç uzunluğu, predorsal uzunluk, postdorsal uzunluk, preanal uzunluk, pekto-ventral mesafe, ventro-anal mesafe, pektoral-anal mesafe, kuyruk sapı uzunluğu ve kuyruk sapı yüksekliği gibi morfometrik ölçümler ve bu uzunlukların birbirlerine ve standart boy ile baş uzunluğuna olan oranları ve dorsal yüzgeç, anal yüzgeç, pektoral yüzgeç, ventral yüzgeç ve kuyruk yüzgecindeki dallanmış ve dallanmamış ışın sayıları, yanal çizgi pul sayısı göz önüne alınmıştır (Şekil 3.2).



Şekil 3.2 *Garra rufa* 'nın metrik ve meristik karakterleri

a-b₂: Total boy, a-b₁: Çatal boy, a-v: Standart boy, c-g: Predorsal uzunluk, g-d: Dorsal yüzgeç uzunluğu, hD: Dorsal yüzgeç yüksekliği, i-l: Baş uzunluğu, i-j: Preorbital uzunluk, j-k: Göz çapı, k-l: Postorbital uzunluk, h-i-l: Baş yüksekliği, o-a: Preanal uzunluk, g-r: Anal yüzgeç uzunluğu, hP: Pektoral yüzgeç yüksekliği, hV: Ventral yüzgeç yüksekliği, hA: Anal yüzgeç yüksekliği, H: Maksimum vücut yüksekliği, h: Kuyruk sapı yüksekliği

Bu ölçümlerin dışında her popülasyondaki örneklerin renklenmesi ve deseni gibi çeşitli morfolojik özelliklere de bakılmıştır. Yakalanan, türe ait örneklerinin sayılabilir ve ölçülebilir karakterlerinin benzerlik ve farklılıkları Türkiye'nin diğer bölgelerinden yakalanmış aynı türe ait balık örnekleri ile karşılaştırılmıştır.

Elde edilen örneklerin morfometrik özellikleri içerisindeki varyasyonların anlamlılığını incelemek üzere varyans (ANOVA) analizi yapılmıştır. Popülasyonlar arasındaki farklılıkları ve popülasyonları ayırmak için elde edilen değerler Çizelge 3.3'de standardize edilmiştir.

Çizelge 3.3 Standardize edilen karakter indisleri

Karakter indisi	Kısaltmalar
Standart Boy/Baş Uzunluğu	SB / BU
Standart Boy/Baş Yüksekliği	SB / BY
Standart Boy/Vucüt yüksekliği	SB / VY
Standart Boy/Predorsal	SB / PreD
Standart Boy/Preventral	SB / PreV
Standart Boy/Preanal	SB / PreA
Standart Boy/Pekto-Ventral	SB / P-V
Standart Boy/Ventral-Anal	SB / V-A
Standart Boy/Kuyruk Sapı Uzunluğu	SB / KSU
Standart Boy/Kuyruk Sapı Yüksekliği	SB / KSY
Baş Uzunluğu/Baş yüksekliği	BU / BY
Baş Uzunluğu/Vücut Yüksekliği	BU / VY
Baş Uzunluğu/Kuyruk Sapı yüksekliği	BU / KSY
Baş Uzunluğu/Göz çapı	BU / GÇ
Baş Uzunluğu/İnterorbital	BU / İnterO
Baş Uzunluğu/Preorbital	BU / PreO
Baş Uzunluğu/Postorbital	BU / PostO
Preorbital Uzunluk/Postorbital Uzunluk	PreO / PostO
Göz çapı/İnterorbital Uzunluk	GÇ / İnterO
Dorsal Yüzgeç yükseliği/Dorsal Yüzgeç Uzunluğu	DYY /DYU
Dorsal Yüzgeç yüksekliği/Anal Yüzgeç Yüksekliği	DYY/AYY
Anal Yüzgeç Yüksekliği/Anal yüzgeç Uzunluğu	AYY/AYU
Ventral Yüzgeç Uzunluğu/PektoralYüzgeç Uzunluğu	VYY/PYY
Kuyruk Sapı Uzunluğu/Kuyruk Sapı Yüksekliği	KSU/KSY
Predorsal Uzunluk/Preanal Uzunluk	PreD/PreA
Predorsal Uzunluk/Preventral Uzunluk	PreD/PreV
Pekto-Ventral Mesafe/Ventral-Anal Mesafe	P-V/V-A
Ense Genişliği/Vantuz Genişliği	EG/VG

3.2.4 Moleküler analizler

3.2.4.1 Doku örneklerinin temin edilmesi

Moleküler analiz için ayrılan örnekler, morfolojik olarak tanımlandıktan sonra diseksiyon yöntemi ile kas dokusundan doku örnekleri alınmıştır. Örnekleri muhafaza etmek için %90-95'lik etil alkol bulunan steril tüplere koyulmuştur. DNA izolasyonu aşamasına kadar oda sıcaklığında örnekler dikkatli bir şekilde bekletilmiştir.

3.2.4.2 Doku örneklerinden DNA izolasyonu

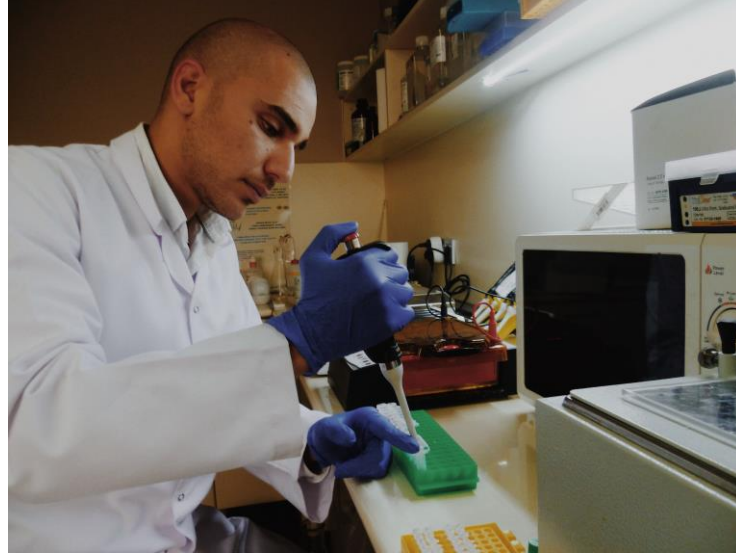
Garra rufa'ya ilişkin elde edilen doku örneklerinin DNA izolasyonu uygulanması için ticari DNA izolasyonu kiti (Genematrix Tissue DNA Purification Kit) kullanılmıştır. Üretici firmanın tavsiye ettiği protokollere uygun olarak yöntem uygulanmıştır.

3.2.4.3 DNA'nın spektrofotometrik analizi

İzolasyonu yapılan DNA'nın miktar ve saflık analizleri spektrofotometre'de (NanoDrop ND-1000) yapılmıştır. Cihazın içerisine pipet yardımıyla 2 µl DNA örneği koyulmuştur. DNA konsantrasyonu 260 nm'de 1 OD'nin 50 ng/ml çift zincir DNA'nın absorpsiyon değeri olduğu göz önüne alınarak hesaplanmıştır. DNA'nın saflığı değerlendirilirken 260 nm/280 nm (DNA'nın absorpsiyon değeri/ protein'in absorpsiyon değeri) ve 260 nm/230 nm (DNA'nın absorpsiyon değeri/Fenol'ün absorpsiyon değeri) göz önüne alınmıştır.

3.2.4.4 DNA konsantrasyonunun ayarlanması

Spektrofotometrik analiz ile konsantrasyonları belirlenecek örnekler, ana stokların kontamine olmaması ve tüm örneklerin DNA konsantrasyonlarını standardize edilmesi amacı ile DNA konsantrasyonu 50 ng/µl olacak şekilde sulandırılarak saklanmıştır.



Şekil 3.3 DNA konsantrasyonunun ayarlanması

3.2.4.5 Jel elektroforezi

İzole edilen DNA'nın varlığının görüntülemek için agaroz jel elektroforezi yöntemi uygulanmıştır. Bu işlem yapılmadan önce agaroz jel ve gerekli çözeltiler oluşturulmuştur:

- DNA Ladder
1 tüp DNA Ladder (Solis Biodyne 100bp DNA Ladder) üzerine 166 µl 6X Loading Dye (Solis Biodyne 0611) ve 734 µl distile su eklenerek vorteks yardımıyla karıştırılır.
- Ethidyum Bromid (10 mg/ml)
1 g Ethidyum bromid (Bioshop) 100 ml su içerisinde manyetik karıştırıcı kullanılarak boya karıştırılır.
- 5X Trisma Base (TBE):
5X Trisma Base (Bioshop), 27,5 G Borik Asit (Bioshop) VE 20 ml EDTA (5M, pH: 8,0) 900-1000 ml distile su içerisinde çözünür.

- %1'lik Agoroz Jel:

1 g agaroz (Bioshop) hassas terazi (BEL) ile tartıldı ve üzerine 100 ml 1X Trisma Base EDTA (TBE) eklendi. Mikrodalga fırın yardımı ile kaynatılarak agaroz'un çözülmesi sağlandı. Çözelti soğulduktan sonra, çeker ocak altında, içerisinde 5 µl Ethidyum Bromide eklendi ve yavaşça homojenize hale gelmesi sağlandı. Karışım son olarak jel tablasına dökülerek 20-30 dakika, oda sıcaklığında, donana kadar bekletildi.

1X TBE bulunan elektroforez tankına (Major Sciece) hazırlanmış olan %1'lik agaroz jel koyulur ve DNA örnekleri 6X Loading Dye ile karıştırılarak kuyulara yerleştirilir. DNA'ların büyüklüklerini belirlemek için ilk kuyuya DNA Ladder yüklenir. Kuyulara eklenen örnekler 80 voltta 45 dakika hareket ettirilir. Bundan sonra ki aşamada agaroz jeli görüntülemek üzere UV görüntüleyici sistemine (Biostep) yerleştirilir. Elde edilen DNA'nın görüntüleri GeneSnap 7.12.01 yazılımı ile DNA indeks numarası verilerek kayıt altına alınmıştır.

3.2.4.6 Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR)

Mitokondriyal *COI* gen bölgesini kapsayan 600-700 bp uzunluğunda bölgesi PCR (Kyratec KYRSC300G) ile çoğaltılmıştır. PCR işlemi için Fish F1-R1 ve Fish F2-R2 primerleri (Çizelge 3.4) kullanılmıştır.

Çizelge 3.4 Kullanılan primer çiftlerinin dizileri

Primer	Primer Dizisi
Fish F1 (Ward vd 2008)	5'-TCAACCAACCACACCGACATTGGCAC-3'
Fish R1 (Ward vd 2008)	5'-TAGACTTCTGGGTGGCCAAAGAATCA-3'
Fish F2 (Ward vd 2008)	5'-TCGACTAATCATAAAGATATCGGGAC-3'
Fish R2 (Ward vd 2008)	5'-ACTTCAGGGTGACCGAAGAATCAGAA-3'

Çalışmaya başlamadan önce primer çiftlerinin optimizasyon reaksiyonu için gradient termal döngü cihazında (Kyratec KYRSC300G), farklı sıcaklıklarda ve farklı MgCl₂

konsantrasyonları ile uygun koşullar ve kullanılacak reaktif miktarı belirlenmiştir (Çizelge 3.5-3.6).

Çizelge 3.5 PCR reaktifleri

Reaktif	Konsantrasyon	Hacim
PCR Buffer (Solis Biodyne)	1X	3 µm
MgCl ₂	2,5 µm	3 µm
dNTP mix (Solis Biodyne)	0,2 µm	0,3 µm
F Primer	0,5 µm	1,5 µm
R Primer	0,5 µm	1,5 µm
Taq polymerase (Solis Biodyne)	2 U	0,4 µm
PCR grade su		18,3 µm
DNA		2 µm
Toplam hacim		30 µm

Çizelge 3.6 PCR döngü koşulu

PCR Döngüsü		
Sıcaklık	Süre	Döngü
95°C	4 dakika	1
95°C	45 saniye	35
57°C	40 saniye	35
72°C	1 dakika	35
72°C	7 dakika	1

PCR ile negatif kontrol kullanılarak elde edilen amplifikasyon sonuçları %1,5 agaroz jelde 100 volt akımda 80 dakika elektroforez cihazında yürütülmüş ve ethidium bromide boyası kullanılarak UV ışığında görüntüsü alınmış ve örnek numarası verilmiştir. Negatif kontrolü ve uygun bant boyu değerlendirildikten sonra saflaştırma işlemi öncesinde -20°C’de muhafaza edilmiştir.

3.2.4.7 Saflaştırma (Pürifikasyon)

Dizi analizi öncesinde PCR ürünlerinin saflaştırma işlemleri için kolon yöntemi temelli ticari DNA pürifikasyon kiti (ExoSap-IT, Affimetrix) üretici firmanın protokolüne

uygun olarak hazırlanmıştır. Saflaştırılan PCR ürünleri DNA dizi analizinde kullanana kadar -20°C’de saklanmıştır.

3.2.4.8 DNA Dizi Analizi

DNA dizi analizi ABI 3730XL otomatik sekans cihazı (Applied Biosystems, Foster City, CA) ve Big Dye Terminator v3.1 Cycle Sequencing kiti (Applied Biosystems) kullanılarak üreticinin protokol ve döngü koşulları çerçevesinde standartize edilerek Dideoksinükloetit zincir sonlandırılması reaksiyonu gerçekleşmiştir.

DNA dizi analizi sonrası elde edilen nükleotid diziler ile her örnek için GenBank verileri kullanılarak kayıtlı diziler ile karşılaştırılmış, hizalanmış (alignment) ve filogenetik analizlerde kullanılmak üzere standart hale getirilmiştir.

3.2.4.9 Dizilerin hizalanması

Tüm örneklerle ilişkin DNA dizileri GenBank ve BOLD veri tabanlarından elde edilen referans diziler yardımı ile MultAlin programı kullanılarak dizi analiz sonuçları ile alignment (hizalanma) yapılarak baz mutasyonları tespit edilmiştir (Anonymous 2018).

3.2.4.10 Tür tanımlama ve filogenetik analiz

DNA barkodlama yöntemi ile elde edilen diziler NCBI (National Center for Biotechnology Information) veri tabanı kullanılarak sınıflandırılmıştır. NCBI BLAST algoritması kullanılarak NCBI nükleotid veri tabanındaki dizilerle karşılaştırılarak tür tanımlaması gerçekleştirilmiştir. Tür içi ve türler arası genetik uzaklık analizleri K2P modeli kullanılarak MEGA 7.1 yazılımları ile gerçekleştirilmiştir. Ağaçların güvenilirliğinin kontrolünde 1000 tekrarlı bootstrap testlerinden yararlanılmıştır.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1 Morfometrik Analiz

***Garra rufa* (Heckel, 1843)-Yağlı Balık-Kaya Balığı-Vantuzlu Balık-Doktor Balığı**

Cyprinidae familyasına ait olan *Garra rufa* bentopelajik bir türdür. Vücudu yuvarlak yapıda olup üzeri iri sikloid pullarla kaplıdır. Burun ucu küttür. Ağız alt konumludur (ventral) ve hilal şeklindedir. Dorsal yüzgeci ventral yüzgeçlerin önünden başlar ve serbest kenarı düzdür: Anal yüzgeç dorsal yüzgeçten daha kısadır ve genellikle ventral (karın) ile kaudal (kuyruk) yüzgeci arasındaki mesafenin tam ortasında bulunur. Ağızın alt tarafında, alt dudağa yapışık iyi gelişmiş tutunma vantuzu bulunur. Bu vantuz sayesinde çok akıntılı akarsulara adapte olabilmektedir (Geldiay ve Balık 1999).

Genel olarak omnivor beslenme özelliğine sahip olan bu tür taşlar üzerindeki yosunlarla ve planktonla beslenir. Üreme döneminde erkek ve dişi bireyler arasında eşeyssel dimorfizm görülür ve erkeklerin baş, burun üzerinde siville benzeri tüberküller bulunur.

Vücut rengi genellikle kahverengi-siyahdır. Dorsal yüzgecin kaidesinde ve kuyruk yüzgeci üzerinde siyah noktalar bulunur. Kuyruk sapı kaidesinde büyük siyah renkli bir bant, operkulumun sonunda ise belirgin siyah bir leke vardır. Yapılan çalışmalara göre 7 yaşına kadar yaşayan bireylere rastlanılmıştır (Abedi vd. 2000).

Tip yeri: Halep

Sinonimleri: *Discognathus crenulatus* (Heckel, 1846-49), *Discognathus lamta* (non-Hamilton, 1822), *Discognathus obtusus* (Heckel, 1843), *Discognathus rufus* (Heckel,1843), *Garra lamta* (non-Hamilton, 1822), *Garra rufa crenulata* (Heckel, 1844), *Garra rufa gymnothorax* (Berg 1949).

Tez çalışmasında incelenen *Garra rufa*'nın genel şekli Şekil 4.1'de verilmiştir.



Şekil 4.1 *Garra rufa* (Heckel 1843), (orjinal, Yukarı Ceyhan Nehri'nden)

***Garra rufa*'nın Bazı Meristik Özellikleri:** Heckel (1843)'e göre, D III/8; AII/5; P I/13; V I/8; L.lat.: 35; L. trans.: 4/3. Ekingen ve Sarieyyüboğlu (1981)'e göre, D III/8-9; A II/5; L. lat.: 35-40. Karaman (1971)'a göre, D III/7-8; A II/5; L. lat.: 32-37. Kuru (1975)'e göre, D III/7-9; A II-III/5; L.lat.: 34-38. Krupp ve Schneider (1989)'e göre, D IV/(7) 8 (9); L.lat.: (31) 33-35 (36); S.D.: 12-17. Geldiay ve Balık (1999)'a göre, D III/7-9; A II-III/5; P I/12-14; V I/7-8; L.lat.: 34-38; L.trans.: 4-5/3-4; F.D. 2.4.5-5.4.2.. Alagöz (2005)'e göre, D III/8; A III/4-5; P I/14; V I/7; L. lat.: 34-35. Bostancı (2006)'ya göre, D III/7-8; A III/5-6; P I/12-14; V I/7-8; L.lat.: 35-36; L. trans.: 4-5/3-4; F.D. 2.4.5-5.4.2. Dağlı (2008)'e göre, D III/ 8; A II/5; L. lat.: 36-38; F.D. 2.4.5-5.4.2. Dağlı ve Erdemli (2008)'e göre, D III/ 8; A II/5; L.lat.: 36-38; F.D. 2.4.5-5.4.2. Sungur (2009)'a göre, D III-IV/7-9; A II/5-6; P I/11-13; V I/7-8; L. lat.: 34-38; F.D. 2.4.5-5.4.2. Kara ve diğerlerine göre (2010)'e göre, D III/ 5-9; A II/4-5; P I/11-12; V I/7-8; L.lat.: 33-37; L. trans.: 4-6/3-4

Yukarı Ceyhan Havzası'ndan incelenen toplam 30 örneğe D III/ ($7^{1/2}$) $8^{1/2}$; A III/ ($4^{1/2}$) $5^{1/2}$; P I/ (10) 11-13; V I/7-8; L. lat.: 34-38; Solungaç dikenini 17-20; Farinks Dişi 2.4.5-5.4.2'dir.

Göksu (Seyhan) Havzası, Göksu Nehri, Doğançay ve Zamantı Irmağı'ndan incelenen toplam 90 örneğe göre; D III/ $8^{1/2}$; A III/ $5^{1/2}$; P I/ (11) 12-14 (15); V I/7-8; L. lat.: 34-37; Solungaç dikenini 18-20; Farinks dişi 2.4.5-5.4.2'dir.

Göksu Nehri (Seyhan) ve Yukarı Ceyhan Nehri'nde bulunan 4 istasyondan alınan *Garra rufa* örneklerinin meristik karakterleri (dorsal yüzgeçteki dallanmış ışın sayısı, anal yüzgeçteki dallanmış ışın sayısı, pektoral yüzgeçteki ışın sayısı, ventral yüzgeçteki ışın sayısı, yanal çizgideki pul sayısı) çizelge 4.1'de gösterilmiştir.

Yapılan araştırmada Göksu Nehri (Seyhan)'nde 3 istasyonda dorsal yüzgeçteki dallanmış ışın 7-10, anal yüzgeçindeki dallanmış ışın 5-8, pektoral yüzgeçteki ışın 11-14, ventral yüzgeçteki ışın 7-9, yanal çizgideki pul sayısı 34-37'dir (Çizelge 4.1).

Yukarı Ceyhan Nehri bölgesinde dorsal yüzgeçteki ışın sayısı 8-10, anal yüzgeçindeki dallanmış ışın 6-8, pektoral yüzgeçteki ışın 11-14, ventral yüzgeçteki ışın 7-9, yanal çizgideki pul sayısı 34-37'dir (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1 Göksu (Seyhan) Nehri ve Yukarı Ceyhan bölgesindeki *Garra rufa* popülasyonlarının meristik özelliklerinin karşılaştırılması. Araştırılma bölgeleri: 1- Göksu (52); 2- Doğançay (24); 3- Zamantı (14); 4- Yukarı Ceyhan (30) (n=120)

Karakter	Literatür	İstasyon			
		1	2	3	4
D.Y.I.	7-9	10 (16)	10 (11)	10 (13)	10 (13)
		9 (29)	9 (12)	9 (1)	9 (16)
		8 (6)	8 (1)		8 (1)
		7(1)			
A.Y.I.	5-7	7 (29)	8 (8)	8 (11)	8 (11)
		6 (21)	7 (12)	7 (3)	7 (12)
		5 (1)	6 (4)		6 (7)
P.Y.I.	12-14	14 (17)	14 (5)	14 (14)	14 (5)
		13 (14)	13 (13)		13 (17)
		12 (10)	12 (5)		12 (7)
		11 (10)	11 (1)		11(1)
V.Y.I.	7-8	9 (27)	9 (9)	9 (12)	9 (15)
		8 (31)	8 (15)	8 (2)	8 (14)
		7 (1)			7(1)
L. Lat.	34-38	37 (1)	37 (3)	36 (1)	37 (7)
		36 (4)	36 (7)	35 (13)	36 (8)
		35 (13)	35 (8)		35 (11)
		34 (34)	34 (6)		34 (4)

4.1.1 Ölçüm ve analiz bulgulari

Garra rufa örnekleri morfometrik ölçümleri oranları tek yönlü varyans analizi (One-Way ANOVA) ile karakterler arasındaki önemlilik değeri ölçülmüştür. P değeri 0,05'den küçük olan karakter indislerinin önemli derecede farklı olduğu kabul edilmiştir.

Göksu Nehri (Seyhan)'ndeki *Garra rufa* örneklerinin bazı morfometrik özelliklerinin standart boy (SB) ve baş uzunluğuna (BU) ve diğer oranları Çizelge 4.2'de verilmiştir.



Çizelge 4.2 Göksu (Seyhan) Nehri bölgesindeki *Garra rufa* örneklerin morfometrik verileri

İstasyon	1 (n=52)				2 (n=24)				3 (n=14)			
	Min	Maks	Ort.	SH	Min	Maks	Ort.	SH	Min	Maks	Ort.	SH
SB / BU	3,37	- 4,96	4,17	0,04	3,78	- 4,89	4,43	0,05	3,96	- 4,93	4,41	0,06
SB / BY	5,00	- 7,39	6,63	0,05	5,84	- 7,59	6,65	0,08	5,72	- 6,94	6,39	0,09
SB / VY	3,79	- 5,96	5,43	0,05	4,45	- 5,86	5,02	0,07	4,40	- 5,35	4,92	0,09
SB / PreD	1,60	- 2,25	2,14	0,01	2,07	- 2,27	2,18	0,01	2,04	- 2,29	2,16	0,02
SB / PreV	1,24	- 2,26	1,96	0,02	1,98	- 2,15	2,05	0,01	1,91	- 2,21	2,01	0,02
SB / PreA	0,96	- 1,42	1,34	0,01	1,34	- 1,46	1,39	0,01	1,32	- 1,40	1,36	0,01
SB / P-V	3,08	- 5,05	4,33	0,04	4,08	- 4,73	4,41	0,04	3,88	- 7,64	4,71	0,26
SB / V-A	3,71	- 6,21	5,43	0,05	5,25	- 6,44	5,87	0,07	5,14	- 7,79	6,01	0,19
SB / KSU	4,65	- 7,25	5,40	0,06	4,84	- 6,08	5,35	0,06	5,04	- 6,00	5,47	0,09
SB / KSY	5,61	- 8,88	8,21	0,07	7,84	- 9,46	8,53	0,07	6,98	- 9,29	8,43	0,14
BU / BY	1,26	- 1,61	1,48	0,01	1,35	- 1,66	1,50	0,02	1,33	- 1,56	1,45	0,02
BU / VY	1,01	- 1,37	1,21	0,01	0,99	- 1,39	1,14	0,02	0,98	- 1,25	1,12	0,02
BU / KSY	1,65	- 2,12	1,84	0,01	1,60	- 2,25	1,93	0,03	1,62	- 2,21	1,92	0,04
BU / GÇ	1,44	- 5,80	4,79	0,09	1,74	- 6,09	5,00	0,16	4,09	- 5,35	4,57	0,10
BU / İnterO	2,06	- 2,65	2,28	0,02	0,91	- 2,73	2,27	0,07	2,05	- 2,58	2,30	0,04
BU / PreO	1,73	- 2,60	1,99	0,02	1,80	- 2,35	2,04	0,03	1,85	- 2,47	2,08	0,04
BU / PostO	2,77	- 3,59	3,12	0,03	3,01	- 3,67	3,25	0,03	2,80	- 3,61	3,20	0,07
PreO / PostO	1,23	- 2,06	1,58	0,03	1,36	- 1,91	1,60	0,03	1,14	- 1,80	1,55	0,05
GÇ / İnterO	0,36	- 1,82	0,50	0,03	0,18	- 1,31	0,48	0,04	0,40	- 0,58	0,51	0,01
DYY / DYU	0,94	- 1,89	1,24	0,02	1,11	- 1,45	1,29	0,02	1,13	- 1,84	1,34	0,05
DYY / AYY	1,02	- 1,40	1,22	0,01	1,06	- 1,66	1,21	0,02	1,00	- 1,66	1,33	0,05
AYY / AYU	1,56	- 2,28	2,05	0,02	1,89	- 2,60	2,15	0,04	1,61	- 2,52	2,02	0,08
VYY / PYY	0,69	- 0,96	0,84	0,01	0,73	- 1,02	0,87	0,02	0,69	- 1,16	0,82	0,03
KSU / KSY	1,16	- 1,79	1,53	0,02	1,39	- 1,79	1,60	0,02	1,24	- 1,73	1,55	0,04
PreD / PreA	0,60	- 0,66	0,63	0,00	0,60	- 0,68	0,64	0,00	0,59	- 0,65	0,63	0,00
PreD / PreV	0,67	- 0,86	0,75	0,01	0,72	- 0,85	0,78	0,01	0,67	- 0,81	0,74	0,01
P-V / V-A	1,04	- 1,55	1,26	0,01	1,17	- 1,50	1,33	0,02	1,02	- 1,47	1,29	0,03
EG / VG	1,52	- 2,33	1,87	0,02	1,61	- 2,12	1,85	0,03	1,34	- 2,14	1,81	0,05

Analiz sonuçlarına göre, Göksu Nehri (Seyhan)'ndeki örnekleme noktalarından Zamantı Irmağı, Doğançay ve Göksu Nehri'ndeki populasyonlar arasında 28 morfometrik karakterlerden 13 tanesinde (SB/BU, SB/BY, SB/PreD, SB/KSU, BU/BY, BY/GÇ, BU/İnterO, BU/PreO, BU/PostO, PreO/PostO, GÇ/İnterO, VYY/PYY, EG/VG) önemli derecede farklılık ($P>0,05$) bulunmaz iken diğer karakterler açısından farklılığın önemli olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.3).

Çizelge 4.3 Göksu (Seyhan) Nehri bölgesindeki *Garra rufa* populasyonlarının morfometrik karakterinin varyans analizi sonuçları

Karakter	F değeri	P değeri	Karakter	F değeri	P değeri
SB/BU	0,587	0,558	BU/İnterO	0,07	0,932
SB/BY	2,422	0,095	BU/PreO	1,921	0,153
SB/VY	18,469	0,000*	BU/PostO	2,681	0,074
SB/PreD	1,199	0,306	PreO/PostO	0,302	0,74
SB/PreV	4,973	0,009*	GÇ/İnterO	0,107	0,899
SB/PreA	6,984	0,002*	DYY/DYU	3,661	0,030*
SB/P-V	4,018	0,021*	DYY/AYY	5,846	0,004*
SB/V-A	14,892	0,000*	AYY/AYU	3,265	0,043*
SB/KSU	0,466	0,629	VYY/PYY	2,356	0,101
SB/KSY	4,317	0,016*	KSU/KSY	3,273	0,043*
BU/BY	2,391	0,097	PreD/PreA	5,172	0,008*
BU/VY	14,01	0,000*	PreD/PreV	5,866	0,004*
BU/KSY	5,971	0,004*	P-V/V-A	5,121	0,008*
BU/GÇ	1,909	0,154	EG/VG	1,211	0,303

Yukarı Ceyhan Nehri'nden toplanan *Garra rufa* örneklerinin bazı morfometrik özelliklerinin standart boy (SB) ve baş uzunluğuna (BU) ve diğer oranları Çizelge 4.4'de verilmiştir.

Çizelge 4.4 Göksu (Seyhan) Nehri ve Yukarı Ceyhan bölgesindeki *Garra rufa* örneklerin morfometrik verilerin ortalamaları

İstasyon	1 (n=52)				2 (n=24)				3 (n=14)				4 (n=30)			
	Min	Maks	Ort.	SH	Min	Maks	Ort.	SH	Min	Maks	Ort.	SH	Min	Maks	Ort.	SH
SB / BU	3,37	- 4,96	0,26	0,04	3,78	- 4,89	0,22	0,05	3,96	- 4,93	0,23	0,06	4,50	- 5,20	4,69	0,03
SB / BY	5,00	- 7,39	0,39	0,05	5,84	- 7,59	0,37	0,08	5,72	- 6,94	0,32	0,09	5,57	- 7,66	6,98	0,08
SB / VY	3,79	- 5,96	0,36	0,05	4,45	- 5,86	0,32	0,07	4,40	- 5,35	0,34	0,09	4,65	- 6,05	5,36	0,08
SB / PreD	1,60	- 2,25	0,11	0,01	2,07	- 2,27	0,05	0,01	2,04	- 2,29	0,08	0,02	2,10	- 2,36	2,21	0,01
SB / PreV	1,24	- 2,26	0,15	0,02	1,98	- 2,15	0,05	0,01	1,91	- 2,21	0,08	0,02	0,06	- 2,18	1,97	0,07
SB / PreA	0,96	- 1,42	0,07	0,01	1,34	- 1,46	0,02	0,01	1,32	- 1,40	0,03	0,01	1,34	- 1,47	1,38	0,01
SB / P-V	3,08	- 5,05	0,31	0,04	4,08	- 4,73	0,20	0,04	3,88	- 7,64	0,96	0,26	3,84	- 4,79	4,27	0,04
SB / V-A	3,71	- 6,21	0,37	0,05	5,25	- 6,44	0,35	0,07	5,14	- 7,79	0,70	0,19	5,05	- 6,85	5,68	0,07
SB / KSU	4,65	- 7,25	0,45	0,06	4,84	- 6,08	0,30	0,06	5,04	- 6,00	0,33	0,09	4,56	- 6,08	5,32	0,07
SB / KSY	4,56	- 7,25	0,39	0,07	5,61	- 8,88	0,49	0,07	7,84	- 9,46	0,35	0,14	5,89	- 8,40	7,78	0,09
BU / BY	1,26	- 1,61	0,06	0,01	1,35	- 1,66	0,08	0,02	1,33	- 1,56	0,06	0,02	1,17	- 1,64	1,49	0,02
BU / VY	1,01	- 1,37	0,07	0,01	0,99	- 1,39	0,09	0,02	0,98	- 1,25	0,08	0,02	0,97	- 1,27	1,14	0,02
BU / KSY	1,65	- 2,12	0,10	0,01	1,60	- 2,25	0,14	0,03	1,62	- 2,21	0,16	0,04	1,22	- 1,80	1,66	0,02
BU / GÇ	1,44	- 5,80	0,65	0,09	1,74	- 6,09	0,80	0,16	4,09	- 5,35	0,38	0,10	2,48	- 5,80	4,93	0,11

Çizelge 4.4 Göksu (Seyhan) Nehri ve Yukarı Ceyhan bölgesindeki *Garra rufa* örneklerin morfometrik verilerin ortalamaları) (devam)

İstasyon	1 (n=52)				2 (n=24)				3 (n=14)				4 (n=30)			
	Min	Maks	Ort.	SH	Min	Maks	Ort.	SH	Min	Maks	Ort.	SH	Min	Maks	Ort.	SH
BU / İnterO	2,06	- 2,65	2,28	0,02	0,91	- 2,73	2,27	0,07	2,05	- 2,58	2,30	0,04	1,64	- 2,54	2,22	0,03
BU / PreO	1,73	- 2,60	1,99	0,02	1,80	- 2,35	2,04	0,03	1,85	- 2,47	2,08	0,04	1,71	- 2,31	1,96	0,02
BU / PostO	2,77	- 3,59	3,12	0,03	3,01	- 3,67	3,25	0,03	2,80	- 3,61	3,20	0,07	2,87	- 3,78	3,30	0,04
PreO / PostO	1,23	- 2,06	1,58	0,03	1,36	- 1,91	1,60	0,03	1,14	- 1,80	1,55	0,05	1,34	- 1,06	1,69	0,03
GÇ / İnterO	0,36	- 1,82	0,50	0,03	0,18	- 1,31	0,48	0,04	0,40	- 0,58	0,51	0,01	0,31	- 0,94	0,46	0,02
DYY /DYU	0,94	- 1,89	1,24	0,02	1,11	- 1,45	1,29	0,02	1,13	- 1,84	1,34	0,05	1,09	- 4,73	1,36	0,12
DYY/AYY	1,02	- 1,40	1,22	0,01	1,06	- 1,66	1,21	0,02	1,00	- 1,66	1,33	0,05	1,07	- 4,56	1,29	0,11
AYY/AYU	1,56	- 2,28	2,05	0,02	1,89	- 2,60	2,15	0,04	1,61	- 2,52	2,02	0,08	1,77	- 2,53	2,16	0,03
VYY/PYY	0,69	- 0,96	0,84	0,01	0,73	- 1,02	0,87	0,02	0,69	- 1,16	0,82	0,03	0,74	- 1,21	0,88	0,02
KSU/KSY	1,16	- 1,79	1,53	0,02	1,39	- 1,79	1,60	0,02	1,24	- 1,73	1,55	0,04	1,14	- 1,79	1,47	0,02
PreD/PreA	0,60	- 0,66	0,63	0,00	0,60	- 0,68	0,64	0,00	0,59	- 0,65	0,63	0,00	0,58	- 0,66	0,63	0,00
PreD/PreV	0,67	- 0,86	0,75	0,01	0,72	- 0,85	0,78	0,01	0,67	- 0,81	0,74	0,01	0,02	- 0,83	0,75	0,03
P-V/V-A	1,04	- 1,55	1,26	0,01	1,17	- 1,50	1,33	0,02	1,02	- 1,47	1,29	0,03	1,16	- 1,51	1,33	0,02
EG/VG	1,52	- 2,33	1,87	0,02	1,61	- 2,12	1,85	0,03	1,34	- 2,14	1,81	0,05	1,18	- 2,87	1,83	0,04

Göksu Nehri (Seyhan) ve Yukarı Ceyhan bölgesindeki populasyonlar arasında 28 morfometrik karakterlerden 11 tanesinin (SB/PreV, SB/P-V, BU/BY, SB/KSU, BU/GÇ, BU/InterO, GÇ/InterO, DYY/DYU, DYY/AYY, PreD/PreV, EG/VG) arasında önemli farklılık bulunmazken, diğer karakterler arasındaki farklılığın önemli bulunmuştur ($P<0,05$) (Çizelge 4.5) .

Çizelge 4.5 Göksu (Seyhan) ve Yukarı Ceyhan bölgesindeki *Garra rufa* popülasyonlarının morfometrik karakterlerinin varyans analizi sonuçları

Karakter	F değeri	P değeri	Karakter	F değeri	P değeri
SB/BU	8,670	0,000*	BU/InterO	0,780	0,507
SB/BY	8,451	0,000*	BU/PreO	2,443	0,068
SB/VY	11,736	0,000*	BU/PostO	4,835	0,003*
SB/PreD	4,727	0,004*	PreO/PostO	2,847	0,041*
SB/PreV	1,160	0,328	GÇ/İnterO	0,387	0,763
SB/PreA	8,153	0,000*	DYY/DYU	0,819	0,486
SB/P-V	4,088	0,008*	DYY/AYY	0,642	0,590
SB/V-A	10,569	0,000*	AYY/AYU	4,022	0,009*
SB/KSU	0,636	0,594	VYY/PYY	3,204	0,026*
SB/KSY	12,937	0,000*	KSU/KSY	5,142	0,002*
BU/BY	1,360	0,259	PreD/PreA	3,563	0,016*
BU/VY	10,404	0,000*	PreD/PreV	1,107	0,349
BU/KSY	27,093	0,000*	P-V/V-A	5,633	0,001*
BU/GÇ	1,575	0,199	EG/VG	1,041	0,377

Morfometrik indislerden yalnızca önemlilik değeri yüksek ($P<0,05$) olanları ayırma fonksiyonu analizine (Discriminant Function Analysis) alınarak bu analizler gerçekleştirilmiştir.

Ayırma analizlerinde uygulanan Wilk's lambda testleri, popülasyonların morfometrik karakterdeki önemli farklılıklarını belirtmektedir. Göksu (Seyhan) ve Yukarı Ceyhan popülasyonları $P\leq 0,01$ değerine sahip fonksiyonlar yüksek oranda önemli iken, $P>0,05$ değerine sahip fonksiyonlar önemsiz kabul edilmiştir.

Çizelge 4.6 Göksu (Seyhan) Nehri ve Göksu (Seyhan) Nehri - Yukarı Ceyhan Nehri bölgesindeki *Garra rufa* popülasyonlarının ayırma analizinde Wilk's lambda tesiti sonuçları

	Fonksiyonlar	Wilk's lambda	Ki-Kare	df	Sig.
Göksu (Seyhan)	1-2	0,173	140,227	30	0,000*
	2	0,729	25,277	14	0,032*
Göksu (Seyhan)- Yukarı Ceyhan Nehri	1-3	0,153	203,811	51	0,000*
	2-3	0,378	105,674	32	0,000*
	3	0,776	27,568	15	0,024*

Göksu (Seyhan) Nehri popülasyonlarının ayırma analizinde elde edilen özdeğer, değişken yüzdeleri, kümülatif değişken yüzdeleri ve kanonik korelasyon değerleri çizelge 4.7'da verilmiştir. Analiz sonucunda elde edilen iki fonksiyon (Değişken yüzdeleri; DA1 %89,6 ve DA2 %10,4) ayırma grafiği çiziminde kullanılmıştır.

Göksu (Seyhan) Nehri'ndeki popülasyonların asıl gruplarına sınıflandırılması oranı oldukça yüksektir (%90).

Çizelge 4.7 Göksu (Seyhan) Nehri popülasyonlarının ayırma analizinde kullanılan fonksiyonların değerleri

Fonksiyon	Özdeğer	Değişken %'si	Kümülatif Değişken %'si	Kanonik Korelasyon
DA1	3,20	89,6	89,6	0,873
DA2	0,37	10,4	100,0	0,520

Göksu (Seyhan) Nehri (Göksu, Doğançay ve Zamantı) ve Yukarı Ceyhan Nehri havzasındaki bütün popülasyonlarının ayırma analizi fonksiyonlarında elde edilen özdeğer, değişken yüzdeleri, kümülatif değişken yüzdeleri ve kanonik korelasyon

değerleri çizelge 4.8’de verilmiştir. Analiz sonucunda elde edilen (Değişken yüzdeleri; DA1 %52,3, DA2 %37,5, DA3 %10,3) ayırma grafiği çiziminde kullanılmıştır.

Göksu (Seyhan) Nehri (Göksu, Doğançay ve Zamantı) ve Yukarı Ceyhan Nehri havzasındaki tüm bireylerin asıl gruplarına sınıflandırılması oranı oldukça yüksektir (%83,3).

Çizelge 4.8 Göksu (Seyhan) Nehri ve Yukarı Ceyhan Nehri popülasyonlarının ayırma analizinde kullanılan fonksiyonların değerleri

Fonksiyon	Özdeğer	Değişken %'si	Kümülatif Değişken %'si	Kanonik Korelasyon
DA1	1,47	52,3	52,3	0,772
DA2	1,05	37,5	89,7	0,716
DA3	0,28	10,3	100,0	0,474

Göksu (Seyhan) Nehri ve Göksu (Seyhan) Nehri – Yukarı Ceyhan Nehri olmak üzere popülasyonların morfometrik karakterleri ile yapılan diskriminant analizinde kanonik eksene etki eden karakterler ve etki değerleri çizelge 4.9 - 4.10’da verilmiştir.

Çizelge 4.9 Göksu (Seyhan) Nehri popülasyonlarının ayırma analizinde iki fonksiyonda ayrılan karakterlerin katsayıları

Karakter	DA1	DA2
SB/VY	10,530	-0,532
SB/PreV	-0,639	0,137
SB/PreA	-0,536	0,199
SB/P-V	1,289	0,087
SB/V-A	-1,269	-0,653
SB/KSY	-8,070	0,398
BU/VY	-9,033	0,839
BU/KSY	8,862	-0,239
DYY/DYU	-0,052	-0,142
DYY/AYY	-0,212	-0,575
AYY/AYU	-0,302	0,118
KSU/KSY	-0,193	0,011
PreD/PreA	0,175	0,076

Çizelge 4.9 Göksu (Seyhan) Nehri popülasyonlarının ayırma analizinde iki fonksiyonda ayrılan karakterlerin katsayıları (devamı)

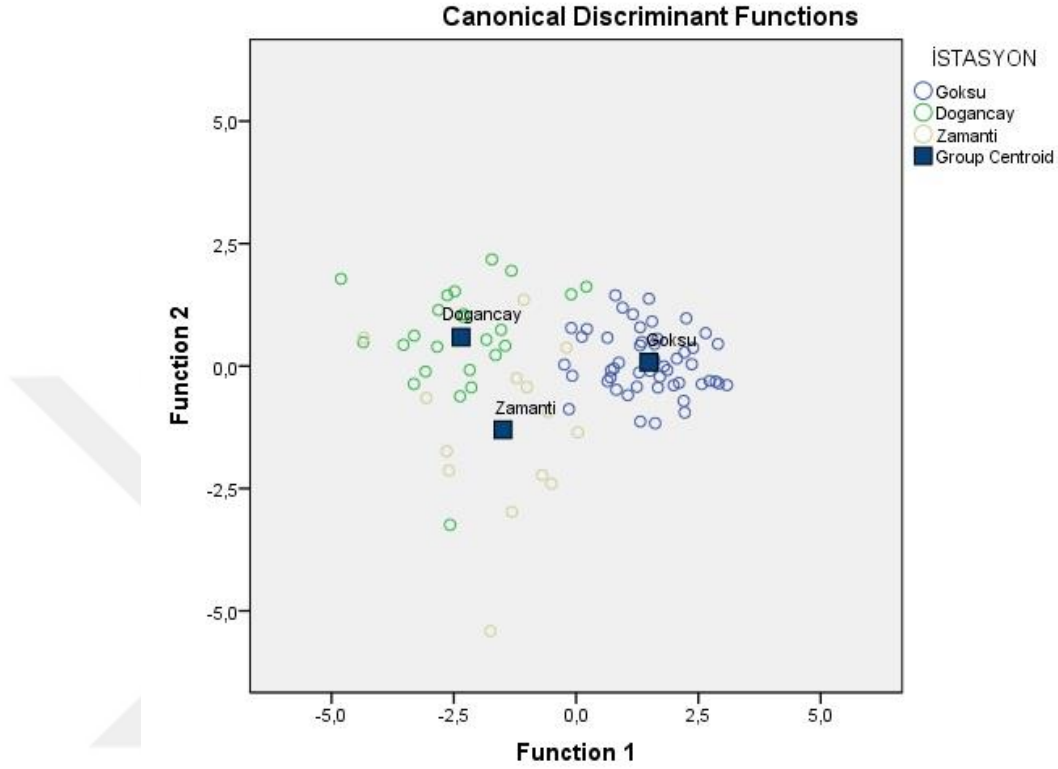
Karakter	DA1	DA2
PreD/PreV	-0,387	0,425
P-V/V-A	0,998	0,659
Özdeğer	3,200	0,370
Kümülatif Değişken %'si	89,6	100,0

Çizelge 4.10 Göksu (Seyhan) Nehri ve Yukarı Ceyhan Nehri popülasyonlarının ayırma analizinde iki fonksiyonda ayrılan karakterlerin katsayıları

Karakter	DA1	DA2	DA3
SB/BU	3,731	0,541	1,142
SB/BY	0,992	-0,154	0,465
SB/VY	-1,114	1,835	-3,437
SB/PreD	-2,047	0,555	-2,270
SB/PreA	2,656	-0,777	2,719
SB/PekV	-0,173	2,245	-0,781
SB/V-A	0,001	-2,160	-0,028
SB/KSY	-4,676	-1,603	0,577
BU/VY	0,053	-1,052	3,531
BU/KSY	4,889	1,027	-0,692
BU/PostO	0,201	0,136	-0,960
PreO/PostO	-0,222	-0,189	1,004
AYY/AYU	0,237	-0,099	0,117
VYU/PYU	0,114	0,221	0,198
KSU/KSY	0,142	-0,076	0,273
PreD/PreA	-1,390	0,497	-1,356
P-V/V-A	0,062	2,148	-0,226
Özdeğer	1,470	1,050	0,280
Kümülatif Değişken %'si	52,3	89,7	100,0

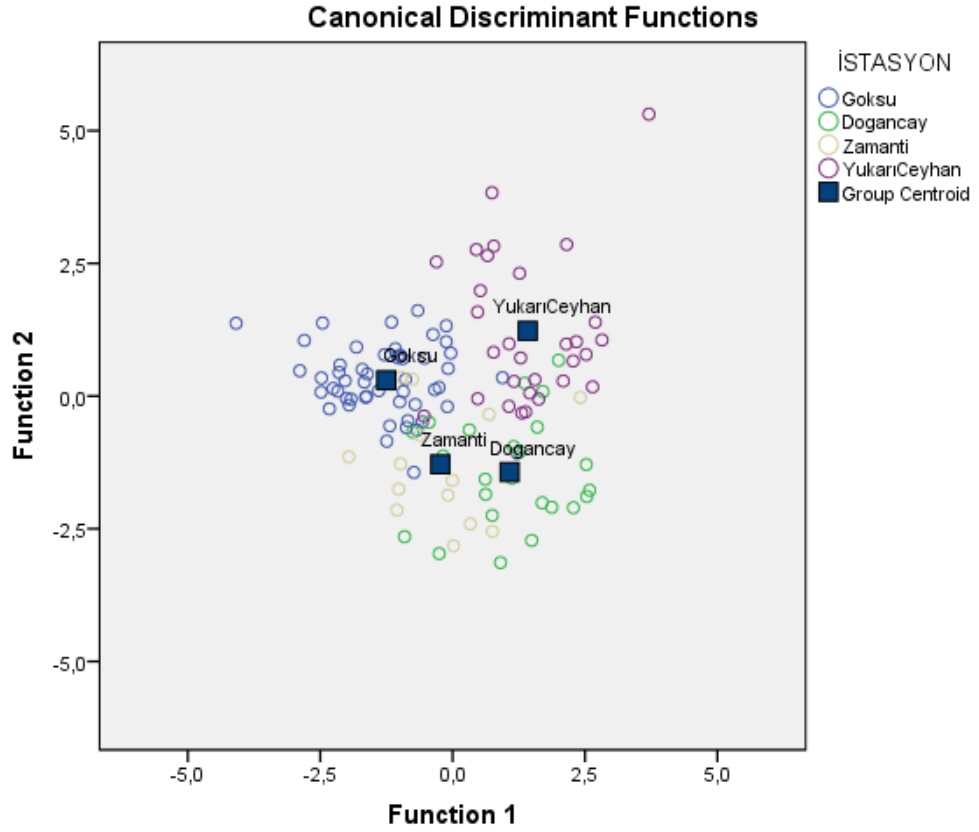
Göksu (Seyhan) Nehri bölgesinde bulunan araştırma bölgelerinde örneklerin dağılımı, ayırma fonksiyonu analizindeki 1. Kanonik fonksiyon (CF1) ve 2. Kanonik fonksiyon (CF2) grafikte çizilerek kanonik fonksiyon ekseninde görsel bir şekilde gösterilmiştir. Grafığe göre, 2 ve 3. araştırma bölgeleri arasında orta dereceli bir

örtüşme vardır ve 1. araştırma bölgesi kısmen 2. ve 3. bölgeler ile örtüşmektedir (Şekil 4.2).



Şekil 4.2 Göksu (Seyhan) Nehri havzasındaki *Garra rufa* popülasyonlarının dağılımını gösteren ayırma fonksiyonu analizi grafiği (Araştırma bölgeleri: Göksu, Doğançay, Zamanti)

Göksu (Seyhan) Nehri ve Yukarı Ceyhan bölgesinde bulunan tüm araştırma bölgelerinde örneklerin dağılımı, ayırma fonksiyonu analizindeki 1. Kanonik fonksiyon (CF1) ve 2. Kanonik fonksiyon (CF2) grafikte çizilerek kanonik fonksiyon ekseninde görsel bir şekilde ifade edilmiştir. Grafiğe göre, 4. (Yukarı Ceyhan) popülasyonunun diğerlerinden daha net bir şekilde ayrıldığı görülmüştür. Ayrıca, 1, 2 ve 3. popülasyonlar kendi aralarında çok az bir örtüşme göstererek ayrılmışlardır (Şekil 4.3).



Şekil 4.3 Göksu (Seyhan) Nehri ve Yukarı Ceyhan havzalarındaki Garra rufa popülasyonlarının dağılımını gösteren ayırma fonksiyonu analizi grafiği (Araştırma bölgeleri: Göksu, Doğancı, Zamanti, Yukarı Ceyhan)

Popülasyonların gruplandırılmasında, Göksu (Seyhan) Nehri'ndeki örneklerin %90'nı ve Göksu (Seyhan) Nehri – Yukarı Ceyhan Nehri'ndeki tüm örneklerinin %83,3'ü doğru sınıflandırılmıştır.

Çizelge 4.11 Göksu (Seyhan) Nehri'nde bulunan örneklerin ayırma fonksiyonu analizinde sınıflandırma sonuçları

Lokasyon		Öngörülen Grup Üyeliği			Toplam
		Göksu	Doğancı	Zamanti	
Asıl Sayım	Göksu	51	0	1	52
	Doğancı	2	20	2	24
	Zamanti	1	3	10	14
%	Göksu	98,1	0,0	1,9	100,0
	Doğancı	8,3	83,3	8,3	100,0
	Zamanti	7,1	21,4	71,4	100,0

Çizelge 4.12 Göksu (Seyhan) Nehri ve Yukarı Ceyhan Nehri'ndeki popülasyonların ayırma fonksiyonu analizinde sınıflandırma sonuçları

Lokasyon		Öngörülen Grup Üyeliği				Toplam
		Göksu	Doğançay	Zamantı	Yukarı Ceyhan	
Asıl Sayım	Göksu	45	1	4	2	52
	Doğançay	2	20	1	1	24
	Zamantı	3	1	9	1	14
	Yukarı Ceyhan	1	2	1	26	30
%	Göksu	86,5	1,9	7,7	3,8	100,0
	Doğançay	8,3	83,3	4,2	4,2	100,0
	Zamantı	21,4	7,1	64,3	7,1	100,0
	Yukarı Ceyhan	3,3	6,7	3,3	86,7	100,0

4.2 Moleküler Analiz

4.2.1 DNA İzolasyonu

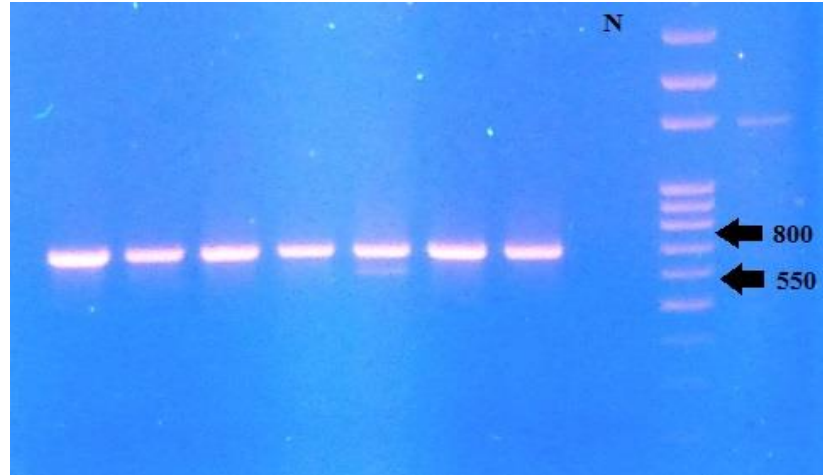
Göksu Nehri (Seyhan) ve Yukarı Ceyhan Nehri'nden elde edilen *Garra rufa* örneklerinin DNA izolasyon sonuçlarında çeşitli farklılıklar ortaya çıkmıştır. DNA'ların oda sıcaklığında %95-90 etanolde muhafaza edilen örneklerin saklama süreleridir. Saklama süreleri az olan örneklerde daha çok miktarda (ng/µl) ve optimuma daha yakın A260/280 nm saflık değerine sahip DNA'lar elde edilmiştir. Kullanılan Genematrix Tissue DNA Purification Kiti ile elde edilen DNA'ların jel elektroforezi sonrasında elde edilen görüntülerde DNA miktarı degrades olmamış ve yeterli miktarda sonuç alınmıştır.



Şekil 4.4 İzole edilen DNA örneklerinin deney düzeni

4.2.2 Polimeraz zincir reaksiyonu

DNA örneklerinin mitokondriyal *COI* gen bölgesini kapsayan 600-700 bp uzunluğunda bölgesi PCR ile çoğaltılmıştır. %1,5 agaroz jelde elektroforetik analiz sonrasında görüntülenen örneklerden bant vermeyen veya zayıf bant veren örnekler tekrarlanmıştır.



Şekil 4.5 *COI* gen bölgesinin PCR ürünlerinin %1,5'lük jel görüntüsü

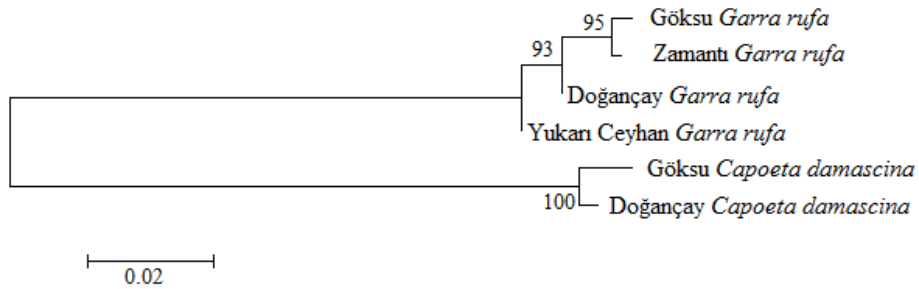
4.2.3 Filogenetik analiz

Dizi analizi sonrasında elde edilen DNA'lar GenBank verileri kullanılarak karşılaştırılmış ve MultAlin programı ile hizalanmıştır. Filogenetik ağaçların çiziminden önce, "Pairwise Distance" yöntemi kullanılarak dizi analizi yapılan örneklerin bölgesel varyasyonları ve alt türünün birbirine olan uzaklıkları çizelge 4.13 ile gösterilmiştir.

Çizelge 4.13 COI gen bölgesine ait dizileri karşılaştırılan örneklerin birbirine uzaklık indeksleri (Pairwise Distance)

	İstasyonlar	1	2	3	4	5	6
1	Göksu <i>Capoeta damascina</i>						
2	Doğançay <i>Capoeta damascina</i>	0,011					
3	Göksu <i>Garra rufa</i>	0,191	0,189				
4	Yukarı Ceyhan <i>Garra rufa</i>	0,180	0,174	0,014			
5	Zamantı <i>Garra rufa</i>	0,193	0,191	0,005	0,016		
6	Doğançay <i>Garra rufa</i>	0,184	0,183	0,011	0,006	0,010	
Ortalama		0,104					

Sıralanan DNA dizileri, NJ (Neighbor Joining) yöntemi kullanılarak MEGA 7.1 yazılımı ile analiz edilmiş ve dendrogram oluşturulmuştur (Şekil 4.6).



Şekil 4.6 COI bölgesi için çizilen NJ (Neighbor Joining) dendrogramı

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Aynı coğrafyada yaşayan tatlısu balıklarının farklı popülasyonları arasında yapılan morfometrik varyasyon çalışmaları, türün zoocoğrafik kökeni hakkında bilgi verdiği gibi coğrafyanın jeolojik tarihinin anlaşılmasına da yardımcı olmaktadır.

Tatlısu balıklarının evrimleşmesi ve dağılımları kara parçalarının jeolojik gelişimi ile yakından ilişkilidir (Bianco, 1990). Anadolu'nun coğrafik konumu ve jeolojik olayları incelendiğinde gerek Asya ile Avrupa arasında bir köprü görevi görmesi, gerekse coğrafik özellikleri tür çeşitliliğinin yüksek olmasına neden olmaktadır. Türkiye, zoocoğrafik açıdan incelendiğinde de bir kıta özelliği göstermektedir ve tür çeşitliliği açısından oldukça zengin bir ülkedir. Özellikle iç sular ve burada yaşayan tatlısu balık faunası bakımından zengin olan ülkemizde tatlısu balıklarının sistematikte türler arası ve tür içi yakınlıklar konusunda çeşitli sorunlar yaşanmaktadır (Kuru 1975, Banarescu 1991).

Taksonomi, organizmaların çeşit ve farklılıkları ile evrimsel gelişim dizisine göre yukarıdan aşağı doğru sınıflandırılmasında kullanılan yöntemin kuramı ve uygulaması olarak tanımlanır. Taksonomik araştırmalar canlıların; morfolojik, anatomik, biyokimyasal, kalıtsal ve evrimsel açıdan önemli bilgiler elde etmemizi sağlamaktadır (Bat vd. 2008).

Morfolojik taksonomi araştırmalarında iki önemli basamak bulunmaktadır. Bunlardan birincisi çalışılan örneğin tanımlanma aşamasıdır. Morfolojik karakter açısından değerlendirilerek daha önceden sınıflandırılma yapılmış canlılarla kıyaslanmaktadır. Geçmişten günümüze kadar yapılan sistematik çalışmalarında, türlerin tanımlanması ve cinslerine göre düzenlenmesi için canlıların morfolojik karakterlerine bakılmaktadır. Moleküler tekniklerin gelişmesiyle birlikte her bir bireyin sahip olduğu farklı genetik yapıdan yararlanılarak, balık sistematikte çalışmaları hız kazanmıştır. Bu çalışmalar içerisinde, moleküler yaklaşımlar ile morfometrik çalışmaların doğrulandığı literatürde kanıtlanmıştır (Stepien ve Kocher 1997). Araştırmacılar, bu şekilde sistematik

problemlere karşı bağımsız veri kümelerinden türetilen ilişkilerin birlikte sınanmasıyla sağlam bir yaklaşım oluşturmaktadır (Miyamoto ve Fitch 1995).

Genel olarak morfolojik araştırmalar cinsleri tanımlamada başarılı olmasına rağmen, aynı türe ait bireylerin yaşadıkları farklı habitatlara adapte olabilmesi için morfolojik farklılıklar gösterebilir. Moleküler verilerin güçlü yanlarından birisi, canlıların genotip-fenotip çevre ilişkilerini hızla test edip aydınlatmasıdır. Moleküler veriler, populasyonlar arasında filocoğrafik ilişkilerin değerlendirilmesi, zoocoğrafik alt bölümlerin sorgulanması ve alanlar arasında ilişkilerin incelenmesinde birincil araçtır (Stepien ve Kocher 1997).

Morfometrik ve moleküler disiplinlerin gelişmesi ile birlikte, *Garra rufa*'ya ait tür içi ve türler arasındaki çalışmalar yayınlanmaya başlanmıştır.

Bianco ve Banarescu (1982) yaptıkları çalışmada özellikle Güney İran 'da bulunan toplam 23 tür ve alt türleri araştırmışlardır. *Garra rufa crenulata* ve *Garra rufa persica* türlerini morfolojik olarak tanımlamayı amaçlamışlardır. Fırat-Dicle bölgesinde bulunan *Garra rufa obtusa* türünün *Garra rufa crenulata*'dan farklı olduğunu ortaya çıkarmışlardır. Ayrıca, Basra Körfezi ve üzerinde bulunan bu nehirlerin gelecekte bu popülasyona ait farklı alt türlerin olabileceğini bildirmişlerdir.

Menon (1994) 'a yaptığı çalışmada kapsamlı olarak *Garra* cinsinin monografisini incelemiştir. *Garra rufa*'nın morfolojik olarak tanımlamıştır. *Garra rufa*'nın, *Garra tibanica*'dan en belirgin farkının solungaç filamentleri sayısı olduğunu saptamıştır.

Kara ve diğerleri (2010) yaptıkları çalışmada, Yukarı Ceyhan ve Orta Ceyhan Nehri havzasında bulunan balık faunasının 10 familyaya ait 20 türün, dağılımı ve sistematik özelliklerini araştırmışlardır. Bu türler arasında bulunan *Garra rufa*'nın diagnostik özelliklerini belirtmişlerdir. Ayrıca, Ceyhan nehir sisteminde çok geniş bir alanda yaygınlık gösterdiğini öne sürmektedirler.

Kara ve Alp (2005) yaptıkları incelemede Ceyhan Nehir sisteminde bulunan *Garra rufa*'nın dağılımı ve morfolojik özelliklerini de incelemişlerdir. Yaptıkları çalışmada türün Ceyhan nehir sisteminde 126 m (Yarpuz Çayı) ve 1233 m (Ceyhan Nehri–Yağzıdere) rakımlarda yaşadığını tespit etmişlerdir. İstatistiksel analizler sonucunda farklı habitatlarda total boylar 45,43-130,4 mm, total ağırlıkları ise 1,10-39,11 g arasında değiştiğini, ölçülebilir morfometrik özelliklerin total boy arasında korelasyon olduğunu elde etmişlerdir.

Türkiye’de *Garra rufa* ile yapılan moleküler bir araştırmada olan ilk filogeni ve filocoğrafya ilişkilerini Durna ve ark. (2010) mitokondriyal NADH-3,4 dehidrojenaz (ND3/4) kullanılarak polimeraz zincir reaksiyonu-restriksiyon parça uzunluk polimorfizmi (PCR-RFLP) ile ortaya koymuşlardır. Dokuz farklı bölgeden alınan örneklerde sekiz restriksiyon enzimi, *Garra rufa* popülasyonu için birbirinden farklı toplam 20 kompozit haploit ortaya çıkarmış olup, RFLP verileri filogenetik analizleri uygulanarak, *Garra rufa* için beş mitokondriyal DNA soy hattının varlığını ortaya çıkarmıştır. Durna ve ark. (2010), Akdeniz’e akan nehirlerden alınan *Garra rufa* popülasyonlarının mtDNA haplotipleri arasındaki farklılık, bu türün muhtemel Messinien Tuzluluk Krizi öncesinde bu alanlara dağıldığı ve her bir Akdeniz popülasyonunun Messinien Tuzluluk Krizi esasına (yaklaşık 7.8-8.8 milyon yıl önce) izole olduğunu ileri sürmüşlerdir.

Segherloo ve diğerleri (2012) yaptığı araştırmada, *Iranocypris typhlops* iki simpatrik morfotip türü ve *Garra rufa* arasında DNA barkodlama yöntemi ile sitokrom c oksidaz I (COI) geninin 788 baz çifti dizileyerek ilk moleküler filogeni ilişkilerini incelemişlerdir. Morfolojik farklılıklara ek olarak moleküler veriler ile tür içi farklılıklar belirlemişlerdir. *I. typhlops* ve *G.rufa* arasında filogenetik olarak yakınlık olduğunu saptamışlardır.

Ergüden ve Göksu (2012) yaptıkları çalışmada, Seyhan Gölü’nde 9 familya (Salmonidae, Cyprinidae, Cobitidae, Siluridae, Clariidae, Cyprinodontidae, Poeciliidae, Percidae, Blennidae) ait 23 türün yaşadığını tespit etmişlerdir. Bu türler arasında *Garra rufa*'nın morfolojik özelliklerini de vermişlerdir.

Hamidan ve diğeri (2014) yaptığı çalışmada Ürdün ve Suriye bölgesinde bulunan Kuzey Ölü Deniz havzasında *Garra jordanica* yeni bir tür olarak tanımlamışlardır. Bu bölgede bulunan *G. ghorensis* türü ile morfolojik olarak ayırt edici özelliklerin olduğunu saptamışlardır. Ayrıca, *G. jordanica*'yı ile *G. ghorensis* türleri arasındaki COI barkod bölgesine bakılarak %4,1 K2P uzaklığı ile birbirlerinden farklı oldukları moleküler verilerle ortaya konulmuştur. Ayrıca, *G. rufa* ile *G. ghorensis* arasında yakın bir ilişkisi olduğunu bulmuşlardır.

Keivany ve diğeri (2015) yaptıkları çalışmada, İran'da bulunan Dicle, Karkheh, Karun, Persis, Hürmüz, Mahurlu olmak üzere altı adet nehir sistemi ve havzasında toplanılan 485 adet *Garra rufa* popülasyonunun morfolojik olarak varyasyonlarını araştırmışlardır. 28 morfolojik özellik, 25 morfometrik oran ve 10 meristik özellikleri inceleyerek istatistiksel analizler kullanmışlardır. Söz konusu altı havzada bulunan popülasyonlar arasında dorsal yüzgeç/SB ve pektoral yüzgeç/SB oranları arasında anlamlı bir farklılık olduğunu bulmuşlardır. Meristik özelliklerinde ise, kuyruk yüzgeci ve yutak dişleri arasında popülasyonda anlamlı farklılık saptamışlardır.

Bu çalışmada, Seyhan (Göksu) Nehri ve Yukarı Ceyhan Nehri arasındaki *Garra rufa* popülasyonunda morfometrik ve moleküler olarak varyasyonlar olduğu tespit edilmiştir. Yapılan çalışma sonucunda Göksu (Seyhan) Nehri ile Ceyhan Nehri arasında meristik ölçümler açısından önemli farklılık olmadığı saptanmıştır (Çizelge 4.1). Ancak Göksu Nehri (Seyhan) popülasyonunun diğer popülasyonlara göre daha az sayıda dorsal yüzgeç ışın sayısı (7-10) ve anal yüzgeç ışını sayısına (5-7) sahip olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.1).

Bununla birlikte Göksu Nehri ile Yukarı Ceyhan havzasındaki *G. rufa* popülasyonları arasında hem morfometrik hem de moleküler analiz sonuçlarına göre önemli farklılıklar bulunmuştur (Çizelge 4.5; Çizelge 4.6; Çizelge 4.13). Seyhan Nehri'nin önemli kollarından biri olan Göksu Nehri ile bu nehre karışarak Seyhan Nehri'ni oluşturan Zamantı ve Doğançay'daki *Garra rufa* bireylerinin gerek morfometrik gerekse moleküler analizler sonucunda farklılık gösterdiği belirlenmiştir (Çizelge 4.3; Çizelge 4.6; Çizelge 4.13).

Durna ve diğeri (2010) Anadolu'daki *Garra rufa* popülasyonlarının genetik farklılığı ile ilgili yapmış oldukları çalışmada Ceyhan, Asi, Dicle ve Fırat nehir sistemlerinde dağılım gösteren popülasyonları karşılaştırmışlardır. Araştırmada, incelenen popülasyonların hepsinin mtDNA haplotiplerinin birbirinden farklı olduğunu saptamışlar ve her soyun tek genetik profili olduğunu belirtmişlerdir. Ancak yapmış oldukları bu çalışmalarında Seyhan Nehri ve bu nehre karışan Göksu Nehri ile ilgili bir çalışma bulunmamaktadır. Yapılan bu çalışma ile önemli eksiklik giderilmiş ve Türkiye'de dağılım gösteren *Garra rufa* popülasyonlarının genetik açıdan farklılık olduğu ortaya konmuştur.

Göksu (Seyhan) Nehri ile Ceyhan Nehri popülasyonları arasında belirgin bir genetik uzaklık olduğu görülmüştür (Çizelge 4.13). *Garra rufa* popülasyonu arasındaki bu uzaklık 0,016 ile 0,005 arasında değişiklik göstermektedir. Genetik uzaklık bakımından Zamantı-Doğançay popülasyonlarının en çok ayrıldığı (0,016), Zamantı-Göksu popülasyonlarının (0,005) birbirine en yakın olduğu saptanmıştır.

Sitokrom c oksidaz alt ünitesi 1 (*COI*) gen bölgesinden elde edilen veriler kullanılarak NJ (Neighbor Joining) yöntemi ile 1000 tekrarlı bootstrap testi kontrolü yapılarak çizilen dendrogramın (Şekil 4.2) ise 2 ana dala ayrıldığı görülmektedir. Genetik uzaklık analizine paralel olarak, birinci ana dalda 4 örnek noktası olan Göksu, Zamantı, Yukarı Ceyhan ve Doğançay *Garra rufa*, ikinci ana dalda kontrol grubunun olan *Capoeta damascina* kümelendiği görülmektedir. Birinci dalda Göksu ve Zamantı kendi aralarında aynı alt dalda kümelenecek olup, coğrafik olarak kuzey batıda olan Yukarı Ceyhan ayrı bir dalda gözükmektedir. *Garra rufa* popülasyonunun bulunduğu coğrafik uzunluklara göre farklılıklar ortaya çıkmaktadır. Ayrıca, Anadolu'daki jeolojik olaylarla beraber popülasyonları arasında izolasyonların oluşmasından kaynaklandığı düşünülmektedir (Durna 2010).

Türkiye'deki tatlısu balık biyoçeşitliliğindeki eksiklerin belirlenmesi ve ortaya konması açısından önemli olan bu çalışma sonucunda, Göksu ve Ceyhan Nehir sistemlerinde dağılım gösteren *Garra rufa* popülasyonlarının genetik olarak farklılaşmaya başladığı, bu durumun fenotipik özellikte de kendini gösterdiği belirlenmiştir. Morfolojik veriler

kullanılarak elde edilen varyasyonlar, moleküler veriler kullanılarak oluşturulan filogenetik ağaçlar birbirini destekler niteliktedir.

Garra cinsine ait türlerin türler arası ve tür içi varyasyonlarının daha iyi anlaşılabilmesi ve bu cinsine ait türlerin sistematik ile taksonomik durumlarının net olarak ortaya çıkarılması açısından bu cinse ait türlerle ilgili morfometrik ve genetik çalışmaların türün Türkiye’de dağılım gösterdiği tüm havzalarda araştırılması ve *Garra* cinsine ait türlerin hem dağılımlarının hem de taksonomik durumlarının ortaya konması büyük önem taşımaktadır.



KAYNAKLAR

- Abedi, M., Shiva A.H., Mohammadi H., Malekpour R. 2010. Reproductive biology and age determination of *Garra rufa* Heckel, 1843 (Actinopterygii:Cyprinidae) in central Iran. *Tubitak Turk J Zool.* (34) 810-11.
- Alagöz, S. 2005. Seyhan Baraj Gölü (Adana) Balık Faunasının Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Su Ürünleri Anabilim Dalı, Adana.
- Alp, A., Kara, C., Büyükçapar, H.M., 1998. Sır Baraj Gölü'nde Yaşayan Tatlısu Balıkları Üzerine Faunistik Bir Araştırma. II. Uluslararası Kızıllırmak Fen Bilimleri Kongresi, Kırıkkale.
- Anonim. 2003. Çevre ve Sürdürülebilir Kalkınma Tematik Paneli. Vizyon 2023 Bilim ve Teknoloji Stratejileri Teknoloji Öngörülü Projesi, 19 s, Ankara.
- Anonymous. 2018. Web Sitesi: <http://multalin.toulouse.inra.fr/multalin> Erişim Tarihi: 05.05.2018.
- Banarescu, P. 1991. Zoogeography of Fresh Waters, Volume 2: Distribution and Dispersal of Fresh Water Animals in North America and Eurasia. Aula-Verlag, 1091, Wiesbaden.
- Bat, L., Erdem, Y., Tırıl, U.S., Yardım, Ö. 2008. Balık Sistematığı. Nobel Bilim ve Araştırma Merkezi, 270, Ankara.
- Berra, T.M. 2007. Freshwater fish distribution. Academic Press, 603, Chiago and Londra.
- Bianco G. P. 1990. Potential role of the palaeohistory of the Mediterranean and Paratethys basins on the early dispersal of Euro-Mediterranean freshwater fishes. *Ichthyological Exploration of Freshwaters*, 1 (2): 167.
- Bianco, P . G. and Banarescu, P . 1982. A contribution to the knowledge of the Cyprinidae of Iran (Pisces, Cypriniformes). *Cybium*, 6(2):75-96.
- Bohlin, T., Harrin S., Heggberget, T. G., Rasmussen, G. 1989. Electrofishing – Theory and Practice With Special Emphass on Salmonids. *Hydrobiologia*. 173, 9-43. Belgium.
- Bostancı, Z. 2006. Seyhan, Ceyhan ve Asi Nehirlerinde Yaşayan Balıkların Sistematiik Yönden İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 126, Trabzon.

- Çiçek, E., Sungur, S. and Frickle, R. 2015. Freshwater fishes of Turkey: A revised and updated annotated checklist. *Biharean Biologist* 9(2):141-157
- Dağlı, M., Erdemli, A. Ü. 2008. A Taxonomical Study on the Fish of Sabun Suyu and Deliçay Stream (Kilis, Turkey). *International Journal of Science and Technology*, 3 (1): 19-25.
- Dağlı, M. 2008. Kınacık Deresi ve Afrin Çayı'nın Balık Faunası (Kilis, Türkiye). *Journal of Fisheries Sciences*, 2 (4): 632-638.
- Durna, S., Bardakçı, F., Degerli, N. 2010. *Garra rufa* Heckel, 1843 (Teleostei: Cyprinidae) Anadolu'daki Genetik Çeşitliliği. *Biochemical Systematics and Ecology*, 38, 83-92.
- Ergene, S., 1998. Zamantı Irmağı'nda bulunan Balık Türleri. II. Kızılırmak Uluslar arası Fen Bilimleri Kongresi, Kırıkkale, 20-22 Mayıs 1998; 434-439.
- Ergene, S. ve Çavaş, T. 2002. Türkiye'nin Doğu Akdeniz Nehirlerinde Bulunan *Garra rufa* (Heckel,1843) (Pisces, Cyprinidae)'nın Bir Karyolojik Analizi. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 28, 497-500.
- Ekingen, G., Sarıyyüpoğlu, M. 1981. Keban Baraj Gölü Balık Faunası, Fırat Üniv. Vet. Fak. Dergisi, Cilt 6, No: 1-3, Sayfa 7-22, Elazığ.
- Ekingen, G. 1988. Balık Sistematiği, 225 s. Elazığ, Türkiye.
- Ergüden, S. A., Göksu, M. Z., 2012. Seyhan Baraj Gölü (Adana) Balık Faunası. *Journal of Fisheries Sciences*, 6(1), 39-52.
- Esra, B., Cüneyt, K., Davut T., Sibel, A. E. 2018. Redescription of *Garra turcica* From Southern Anatolia (Teleostei: Cyprinidae), *Zootaxa*, 227-236, Türkiye.
- Freeman, S., Herron, J. C. 1999. Evrimsel Analiz. Palme Yayıncılık, 708, Ankara.
- Gedilay, R., Balık S. 1999. Türkiye Tatlısu Balıkları Ders Kitabı Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Kitaplar Serisi, 97, Bornova. İzmir.
- Goren, M., Ortal, R. 1999. Biogeography, diversity and conservation of the inland water fish communities in Israel. *Biological Conservation* 89, 1-9, Israel.
- Hamidan, N. A., Matthias, F. G., Jörg, F. 2014. *Garra jordanica*, a new species from the Dead Sea basin with remarks on the relationship of *G. ghorensis*, *G. tibanica* and *G. rufa*. *Ichthyological Exploration of Freshwaters*, 223-23, Iran.

- Hebert, P. D. N., Gregory, T. R. 2005. The Promise of DNA Barcoding for Taxonomy. *Systematic Biology*, 54(5), 852-859, Canada.
- Hubbs C. K., Lager K. F. 1958. *Fishes of the Great Lakes Region*, University of Michigan Regional, America.
- Heckel, J.J. 1843. Ichthyologie. In: Russegger, J. (ed.), *Reisen in Europa, Asien und Afrika, mit besonderer Rücksicht auf die naturwissenschaftlichen Verhältnisse der betreffenden Länder, unternommen in den Jahren 1835 bis 1841 von Joseph Russegger*. Schweitzerbart'sche Verlagsbuchhandlung, Stuttgart 1(2): 991-1099
- IUCN, 2018. IUCN Red List “Threatened Fish Species”.
- Kara, C., Alp A. 2005. *Garra rufa* 1843'nın Ceyhan Nehir Sisteminde Dağılımı ve Bazı Biyolojik Özellikleri, *Türk Sucul Yaşam Dergisi*, (3), 25-33.
- Kara, C., Alp, A., Şimşekli, M. 2010. Distribution of fish fauna on the upper and middle basin of Ceyhan River. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 111-122, Türkiye.
- Karaman, M.S. 1971. Süßwasserfische der Turkei. 8.Teil. Revision der Barben Europas, V orderasiens und Nordafrikas.(Freshwater Fishes of Turkey. 8. Part. Revision of the barbs of Europe, the Middle East and North Africa) *Mitteilungen aus dem hamburgischen Zoolog. Museum und Institut*, (67), 175-254.
- Keinvany, Y., Nezamoleslami, A., Dorafshan, S. 2015. Morphological diversity of *Garra rufa* (Heckel,1843) populations in Iran. *Iran Society of Ichthyology*, 2(3), 148-154, Iran.
- Kiabi, B. H., Abdoli, A. 2001. Fish distribution and abundance in the inland waters of Hormuzgan Province, Iran, with particular reference to endemic species in rivers. *Polskie Archiwum Hydrobiologii*, 47 (1), 87-98, Iran.
- Klug, W. S., Cummings, R. M., Spencer, C. A. 2003. *Genetik Kavramlar*, Palme Yayıncılık, 816, Ankara.
- Kosswig, C. 1952. The zoogeography of Turkish freshwater fishes. *Istanbul Üniversitesi Fen Fakültesi Hidrobiyoloji Araştırma Enstitüsü Yayınları*, Seri B, 1(29):85-101.
- Koyun, M. 2011. *Garra rufa* (Heckel, 1843)'nın Türkiye Tatlısu Kaynaklarındaki Biyocoğrafik Dağılımı. *Bingöl Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 1(1), 5-8, Türkiye.

- Krupp, F., Schneider W. 1989. The fishes of the Jordan River drainage basin and Azraq Oasis. In Fauna of Saudi Arabia. (10), p 347- 416.
- Kuru, M., 1975, Dicle-Fırat, Kura-Aras, Van Gölü ve Karadeniz Havzası Tatlısularında Yaşayan Balıkların (Pisces) Sistematiik ve Zoocoğrafik Yönden İncelenmesi (Doçentlik Tezi).
- Menon, A. G. K. 1994. Monograph Of The Cyprinid Fishes Of The Genus *Garra Hamilton*, 203-205. Iran.
- Miyamoto, M. M., Fitch, W. M. 1995. Testing species phylogenies and phylogenetic methods with congruence. *Systematic biologist*, 44(1), 64-76.
- Moyle, P. B., Cech J.J. 2004. *Fishes An Introduction To Ichthyology*. Prentice Hall, 233. USA.
- Nelson, J. S. 2006. *Fishes of the World*. Third Edition. John Wiley & Sons Inc., 600, New York.
- NNSS (GB Non-native Species Secretariat), 2015. Rapid Risk Assessment Summary: *Garra rufa* (Doctor Fish).
- Segherloo, H., Bernatcher L., Golzarianpour, K., Abdoli, A., Primmer, C. R., Bakhtiary, M. 2012. Genetic differentiation between two sympatric morphs of the blind Iran cave barb *Iranocypris typhlops*, *Journal of Fish Biology*. 81, Iran.
- Stepien, C. A., Kocher, D. T. 1997. *Molecular Systematics of Fishes*. Academic Press, 1-2, London.
- Sungur, S. 2009. Gaziantep İli Tatlısu Balık Faunası. Yüksek lisans Tezi, Gaziantep Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 106, Gaziantep.
- Ward, R. D., Costa, F.O., Holmes, B.H., Steinke, D. 2008. DNA barcoding of shared fish species from the North Atlantic and Australasia: minimal divergence for most taxa, but *Zeus faber* and *Lepidopus caudatus* each probably constitute two species. *Aquatic Biology*, 3, 71-78.
- Winfield, I. J., Nelson, J. S. 1991. *Cyprinid fishes systematics, biology and exploitation*. Chapman and Hall, London.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Ahmetcan Serbestoğlu

Dođum Yeri : Ankara

Dođum Tarihi : 27.06.1990

Medeni Hali : Bekar

Yabancı Dili : İngilizce

Eđitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise : Mimar Kemal Lisesi (2008)

Lisans : Çanakkale Onseki Mart Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Sü Ürünleri Mühendisliđi (2012)

Yüksek Lisans: Ankara Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji (2019)

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl

Aykon Akademi (2016-2019)

Kurumsal Projeler

Yukarı Ceyhan Nehri ve Göksu Nehri (Seyhan)'nde Dağılım Gösteren *Garra rufa* (Heckel, 1843)'nın Morfometrik ve Genetik Varyasyonları, Ankara Üniversitesi 16L0430003 nolu BAP yüksek lisans projesi, Araştırmacı, 2016-2017.