

Cyprinion macrostomus (Heckel, 1843) Türünün Adıyaman ve Diyarbakır Populasyonlarının Mikrosatellit DNA Varyasyon Analizi

Arif PARMAKSIZ^{1*}, Burçak BATAN¹

¹Harran Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Şanlıurfa / TÜRKİYE.

*Sorumlu Yazar Tel.: +90 414 318 35 62

E-posta:aprmksz@gmail.com

Geliş Tarihi: 23.12.2017

Kabul Tarihi: 23.04.2018

Öz

C. macrostomus Dicle ve Fırat nehir sistemlerinde yaşayan bir balık türüdür. Bölge insanları tarafından tüketildiği için ekonomik öneme sahiptir. Ekonomik önemi olan türlerin yönetilmesi ve korunması için genetik çeşitliliği ve popülasyon yapısının bilinmesi gerekmektedir. Bu çalışmanın amacı; Fırat ve Dicle nehirlerinde yaşayan *C. macrostomus* popülasyonlarının genetik yapısının mikrosatellit DNA düzeyinde belirlenmesidir. Nehir sistemlerini temsilen Adıyaman ve Diyarbakır'dan toplam 64 bireyden kas dokusu örneklenmiş ve DNA izolasyonu yapılmıştır. Beş mikrosatellit belirteç (MFW-1, MFW-7, MFW-9, Barbus 27 ve Barbus 33) kullanılarak Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ile yükseltgenmiştir ve fragmant analizi yapılarak allel boyları tespit edilmiştir. Allel sayısı bakımından en fazla alele MFW-9 (22 alel), en az alele ise MFW-7 (3 alel) mikrosatellit lokusları olduğu tespit edilmiştir. Adıyaman ve Diyarbakır populasyonları arasındaki genetik uzaklık 0.024 olarak hesaplanmış ve istatistiksel olarak önemli olmadığı belirlenmiştir. Faktöriyel Birleştirici Analizi'nde her iki popülasyona ait bireyler birbirlerinden tam olarak ayrılmamaktadır. Bu yüzden coğrafik dağılımları ile örtüşecek şekilde bir genetik yapılanma ortaya çıkmamıştır. Yapılan bu çalışma ile elde edilen sonuçların tamamı *C. macrostomus* türü için ilk kez elde edilmiş verilerdir. Bu türün genetik çeşitliliği açısından önemli bir veri seti oluşturmuştur.

Anahtar Kelimeler: *Cyprinion macrostomus*, Genetik Çeşitlilik, Mikrosatellit, Fırat Nehri, Dicle Nehri.

Abstract

Microsatellite DNA Variation Analysis of *Cyprinion macrostomus* (Heckel, 1843) Population of Adıyaman and Diyarbakır

C. macrostomus thriving in river systems of Euphrates and Tigris is a fish. This species with economic importance because it is consumed by people. For the conservation and management of species with economic importance, it is considerable to have in depth understanding about the genetic diversity and population structure. The purpose of this study is; The genetic structure of *C. macrostomus* populations in the Euphrates and Tigris rivers is determined at the microsatellite DNA level. A total of 64 individuals were sampled from Adıyaman and Diyarbakır to represent the river systems and the DNA isolation was performed. Five microsatellite markers were amplified by Polymerase Chain Reaction (PCR) using the markers (MFW-1, MFW-7, MFW-9, Barbus 27 and Barbus 33) and fragments of alleles were identified by fragment analysis. In terms of number allele, MFW-9 (22 alleles) with the highest locus, at least allele is MFW-7 (3 alleles) were detected. The genetic distance between Adıyaman and Diyarbakır populations was estimated to be 0.024 and not statistically significant. In Factorial Correspondence Analysis, the individuals from both populations are not completely separated from each other. Thus, a genetic structure did not emerge to coincide with geographical distribution. All of the results obtained with this study were obtained for the first time for *C. macrostomus* species. This dataset constituted an important dataset in terms of genetic diversity.

Keywords: *Cyprinion macrostomus*, Genetic diversity, microsatellite, Euphrates River, Tigris River.

Giriş

Fırat ve Dicle Nehirleri önemli iç su kaynakları olup biyoçeşitlilik ve biyolojik yönlerden bilimsel olarak ele alınması, bu kaynakların en iyi nasıl kullanılabileceği hakkında bilgiler verebilmektedir (Çiçek, 2013). Fırat ve Dicle nehir sistemlerinde yaşayan balıklardan tür sayısı bakımından en zengin familya Sazanngiller'dir. Bu familyanın birçok türü besin olarak tüketildiği için ekonomik önemi bulunmaktadır (Parmaksız vd., 2016). Ekonomik özellikleri olan balık türlerinin stoklarının devamının sağlanması ve bu stoklardan yüksek verim elde edilebilmesi için balığın genetik çeşitliliğinin çok iyi bilinmesi gerekir. Bu çalışmada Fırat ve Dicle nehir sitemlerinde yaşayan, ekonomik önemi bulunan ve Cyprinidae familyasına ait olan *C. macrostomus* popülasyonlarının genetik yapısı mikrosatellit belirteçleri kullanılarak araştırılmıştır. Genetik belirteçler, balıkçılıkta doğal stok analizi, kültür balıkçılığı ve sistematik çalışmalarda etkin olarak kullanılmaktadır (Ateş, 2017). Bireylerin genotipinin belirlenmesi, popülasyonlardaki farklılıkların ve heterozigotluk düzeylerinin belirlenmesi çalışmalarında kullanılan moleküler genetik tekniklerinden en yaygın olanı mikrosatellit DNA polimorfizm tekniğidir. Bu teknik daha doğru, daha hassas ve daha kısa sürede bilgi verebilmektedir.

C. macrostomus ile birçok çalışma yapılmış olup bunlardan bazıları; Bu türün gonatlarındaki toplam yağ asidi ve lipid miktarını (Metin ve Akpınar, 2000), yaş tayinini (Aydın ve ark., 2009), Hematolojisini (Duman ve Şahan, 2014), filogenetiğini (Durna vd., 2012), geometrik ve morfometrik parametrelerle vücut şekli karşılaştırmasını (Nasri vd., 2013), morfometrik ve meristik özelliklerini (Dağlı, 2013; Kara ve Güneş, 2015), pankreas, kara-

ciğer, bağırsakların histolojik özelliklerini (Taysı, 2014) araştırmışlardır.

Fırat ve Dicle nehir sistemlerinde yaşayan bu balık türünün mikrosatellit düzeyinde genetik analizi yapılmamıştır. Yapılan bu çalışma ile elde edilen sonuçların tamamı *Cyprinion macrostomus* türü için ilk kez elde edilmiş verilerdir. Mikrosatellit bölgeleri için belirlenen aleller literatür açısından yeni sonuçlar olup, bu türün genetik çeşitliliği açısından önemli bir veri seti oluşturmuştur.

Materyal ve Metot

Örnekleme; Bu çalışmada Dicle Nehri'ni temsilen Diyarbakır'dan 40 birey, Fırat Nehri'ni temsilen ise Adıyaman'dan ise 24 birey olmak üzere toplamda 64 birey bölgedeki balıkçılardan temin edilmiştir. Örnekler aynı gün buz kabı içerisine konularak Harran Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Zooloji Laboratuvarına getirilmiştir. Bu örneklerden 1 gr kas dokusu alınarak etiketlenen mikrosantrifuj tüplerine konulmuş ve DNA elde edilene kadar -20°C de bekletilmiştir. Şekil 1'de örnek olarak alınan balıkların avlandığı yerler yıldız ile işaretlenmiştir.

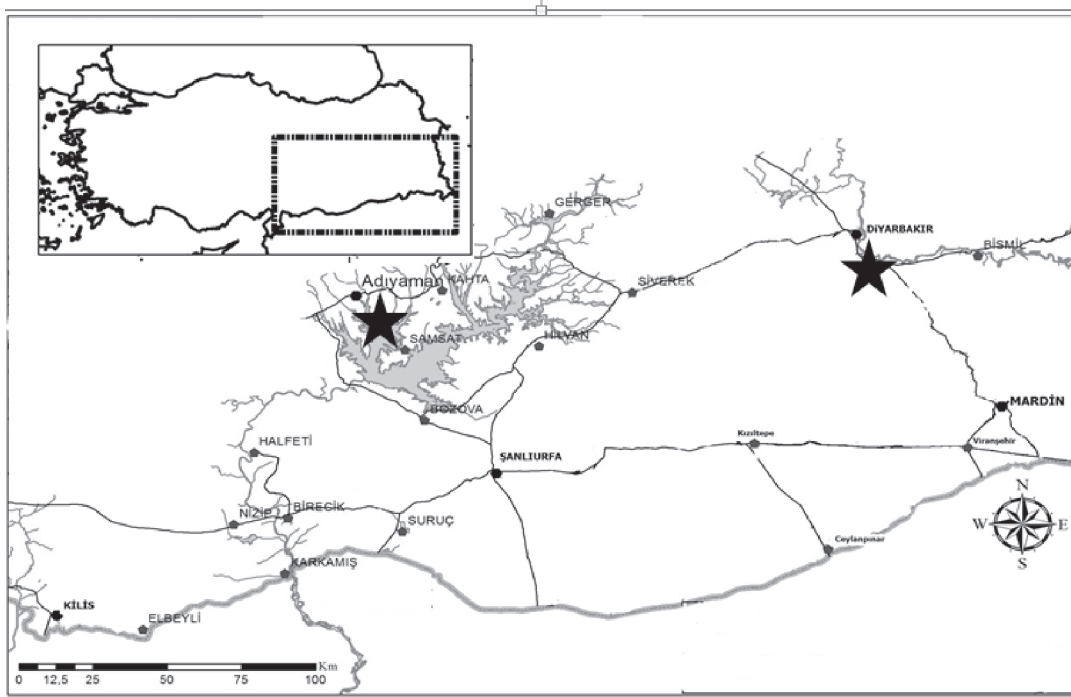
Adıyaman ve Diyarbakır şehirleri balıkçılığın yoğun yapıldığı ve balıkçıların en fazla faaliyet gösterdiği yerler olduğu için tercih edilmiştir.

DNA İzolasyonu; Balık örneklerinin kas dokusundan DNA izolasyonu GeneJET Genomic DNA Purification Kit (Thermo Scientific) ile yapılmıştır. SYBR Green eklenen % 0.8'lik agaroz jeldeki kuyucuklara 2 µl izole edilen DNA örnekleri yüklenip 120 Volt, 30 dakika elektroforezde yürütülerek ultraviyole (UV) ışık veren cihazda görüntülenmiştir (Smart View Pro Imager System, Major Science).

Mikrosatellit Lokuslarının Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ile çoğaltılması; Bu çalışmada PZR optimizasyonları (BIO-RAD T100™ Thermal Cycler) yapılmış ve MFW-1, MFW-7, MFW-9, Barbus 27, Barbus33 lokuslarında ürün elde edilmiştir. Bu primerlere ait bilgiler Tablo 1'de, kullanılan PZR kondisyonu ise Tablo 2'de verilmiştir.

PZR sonucunda yükseltgenmiş mikrosatellit bölgelerinin uzunluklarının belirlenmesinde kapiller elektroforezi (ABI 3100 Ge-

netic Analyzer) kullanılmış olup, genotipleme için gerekli ham veriler hizmet alımı ile gerçekleştirilmiştir. Her bir mikrosatellit bölgesi (FAM veya HEX) işaretlenmiş ve uzunlukları Tamra (Taqman®TAMRA™ Probe) isimli standart işaretleyici yardımı ile belirlenmiştir. Bu standart işaretleyiciye göre belirlenen uzunluk değerleri bilgisayara kaydedilmiştir. Elektroferogramlardan data analizi ve düzeltmesi için Applied Biosystems Peak Scanner™ Software v1.0 programı kullanılmıştır.



Şekil 1. Örnek alınan lokaliteler.

Tablo 2. Mikrosatellit lokusların yükseltgenmesinde kullanılan PZR kondisyonları

PZR Bileşenleri	Konsantrasyon	1X
dH ₂ O	-	9.54 µl
10x Taq Buffer+KCl	1x	1.5µl
MgCl ₂	2,5 mM	1.2 µl
dNTP mix	0.2 mM	0.3µl
Her bir Primer mix	10 pmol/il	0.36 µl
Taq DNA polimeraz	1 ü/iL	0.1 µl
Kahp DNA	30 ng/il	2 µl
Toplam Hacim	-	15µl

Mikrosatellit Lokuslarının Veri Analizi; İki popülasyona ait 64 birey için 5 mikrosatellit lokusuna ait genotip verileri analiz edilmiştir. Arlequin ver. 3.5.1.3 (Excoffier ve Lischer, 2010) programı kullanılarak alel sayıları, gözlenen ve beklenen heterozigotluk (Ho, He) değerleri hesaplanmış, Popülasyonların genetik bir yapılanma gösterip göstermediğini saptamak için ise 10000 değişimli moleküler varyans analizi (AMOVA) uygulanmıştır (Arlequin versiyon 3.5.1.3). FSTAT v 2.9.3.2 kullanılarak her iki popülasyon arasındaki Fis (Weir ve Cockerham, 1984) değerleri hesaplanmıştır. GenAlEx v 6.5 (Peakall ve Smouse, 2006) programı kullanılarak popülasyonlara özgün aleller test edilmiştir. Genepop v. 4.2 (Raymond ve Rousset, 1995; Rousset, 2008) programı kullanılarak mikrosatellit lokuslarındaki null aleller hesaplanmıştır. Tüm bireylerin arasındaki genetik farklılıkları ortaya koymak için Genetix 4.05.2 (Belkhir vd., 2004) programında FCA (Fractional Correspondance Analyses) uygulanmıştır.

Bulgular

Çalışılan popülasyonlarda gözlenen alel uzunlukları ve popülasyonlara özgün olan aleller Tablo 3'te belirtilmiştir.

Tablo 3'te alel sayısı bakımından MFW-9 mikrosatellit lokusunun (22 alel) en polimorfik lokus, en az alel sayısına sahip olan lokusun ise MFW-7 (3 alel) olduğu görülmektedir. Ayrıca

MFW-1 lokusunda 2 adet, MFW-7'de 1, MFW-9'da 10, Barbus 27'de 2 ve Barbus 33' te ise 10 adet özgün alel tespit edilmiştir. Tüm lokuslara ait beklenen, gözlenen heterozigotluklar, Fis istatistiği değerleri ve Null alellere ait frekanslar Tablo 4'te sunulmuştur.

Populasyonlarda lokuslara ait heterozigotluk düzeylerine bakıldığında gözlenen (H_o) ve beklenen heterozigotluk (H_e) düzeyleri sırası ile 0.1250 ile 0.9524 ve 0.1191 ile 0.9224 değerleri arasında olduğu tespit edilmiştir. Popülasyonların Hardy-Weinberg (HW) dengesinde olup olmadığı Fis değerleri ile gözlemlemek mümkündür. Çalışılan her iki popülasyon için hesaplanan Fis değerlerinin -0.017 ile 0.410 arasında değiştiği belirlenmiş olup, yapılan önemlilik testi sonucunda popülasyon Fis değerlerinin Barbus 33 lokusunun Diyarbakır popülasyonu dışında önemli olmadığı (nonsignificant) görülmüştür. Buna göre popülasyonların Hardy-Weinberg (HW) dengesine sahip olduğu söylenebilir. Fis bir popülasyonun HW dengesinden sapmayı verir -1, +1 arasındadır. Negatif değer alması heterozigot fazlalığını, pozitif değer alması ise heterozigot azlığını belirtir (Özkan, 2005).

Adıyaman ve Diyarbakır popülasyonları arasındaki genetik uzaklık 0.024 (genel F_{ST}) olarak tespit edilmiştir. Bu değer de istatistiksel olarak önemli olmadığı belirlenmiştir. Hesaplanan F_{ST} değeri; 0 - 0.05 arasında ise küçük bir genetik farklılaşma olduğu sonucu çıkarılmaktadır (Özkan, 2005).

Tablo 3. Çalışılan lokusların alel sayısı ve uzunlukları (A: Adıyaman popülasyonuna özgün, D: Diyarbakır popülasyonuna özgün aleller)

Mikrosatellit lokusu	Alel Sayısı	Alel Uzunlukları
MFW-1	10	172 ^A , 176, 178, 180 ^D , 184, 186, 188, 190, 192, 194
MFW-7	3	182, 184, 186 ^A
MFW-9	22	96 ^D , 98, 100, 102 ^A , 104 ^D , 106 ^A , 108, 110, 112, 114, 116, 118, 122 ^A , 126 ^D , 128, 130, 132 ^D , 136, 142 ^A , 144, 152 ^A , 162 ^D ,
Barbus27	4	112 ^D , 114, 116, 120 ^D
Barbus33	18	95, 123, 125 ^A , 127 ^A , 131 ^A , 133, 135, 137, 139 ^D , 141, 143, 145 ^D , 147 ^D , 149 ^D , 151 ^D , 153 ^D , 159, 185 ^A

Tablo 1. Çalışmada kullanılan mikrosatellit lokuslara ait özellikler

Mikrosatellit lokus	Floresan etiket	Primer sekansları	Tekrar motifi	Bağlanma sıcaklığı	Alel uzunluğu	Denaturasyon 94 °C	Bağlanma (Tm)	Uzama 72 °C	Final uzama 72 °C	Döngü	Kaynak
MFV-1	FAM	F: GTCCAGACTGTTCATCAGGAG R: GAGGTGTACACTGAGTCACGC	(CA) _n	55°C	175-212	35 sn	45 sn	60 sn	10 dk	35	Croojimans, vd. (1997)
MFV-7	HEX	F: TACTTTGCTCAGGACGGATGC R: ATCACCTGCACATGGCCACTC	(CA) _n	52°C	192-262	35 sn	45 sn	60 sn	10 dk	35	Croojimans, vd. (1997)
MFV-9	FAM	F: GATCTGCAAGCATACTGTCTG R: ATCTGAACCTGCAGCTCCTC	(CA) _n	59°C	92-144	35 sn	45 sn	60 sn	10 dk	35	Croojimans, vd. (1997)
Barbus27	FAM	F: ATATCCAGCCACCCTTACC R: TGCTTTAGCTGCCAGACAGA	(CA) _n	62°C	109-125	35 sn	45 sn	60 sn	10 dk	35	Gettova vd. (2013)
Barbus33	HEX	F: TGAATGCATCATGGGCTAGA R: CAGAGCGAATCAAAACATGGA	(CA) _n	56°C	101-154	35 sn	45 sn	60 sn	10 dk	35	Gettova vd. (2013)

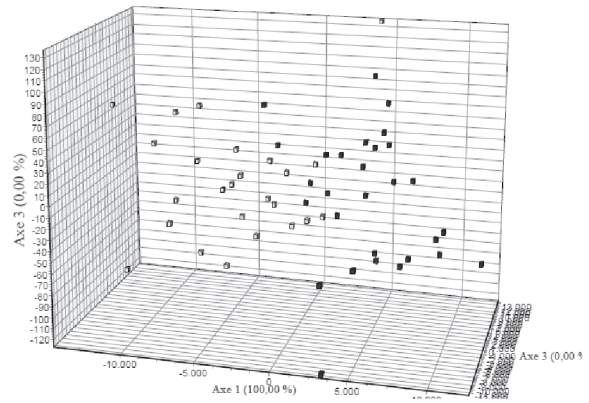
Tablo 4. Analiz edilen lokuslarda beklenen (He), gözlenen heterozigotlar (Ho), F istatistikleri (Fis) ve Null Alellere ait frekanslar (NA)

Lokuslar	Populasyon	Adıyaman	Diyarbakır	Ortalama
MFW-1	He	0.8537	0.8254	0.8395
	Ho	0.9048	0.9524	0.9286
	Fis	-0.035	-0.130	-0.082
	NA	0.0000	0.0000	
MFW-7	He	0.1191	0.1191	0.1191
	Ho	0.1250	0.1250	0.1250
	Fis	-0.017	-0.017	-0.017
	NA	0.0000	0.0000	
MFW-9	He	0.9048	0.9224	0.9136
	Ho	0.7143	0.7895	0.7519
	Fis	0.234	0.171	0.2025
	NA	0.0424	0.0346	
Barbus27	He	0.2778	0.3314	0.3046
	Ho	0.3333	0.3846	0.3589
	Fis	-0.143	-0.121	-0.132
	NA	0.0000	0.0000	
Barbus33	He	0.8532	0.8987	0.8759
	Ho	0.5789	0.5500	0.5644
	Fis	0.345	0.410*	0.3775
	NA	0.1673	0.1825	
Toplam	He	0.6017	0.6194	0.6105
	Ho	0.5313	0.5603	0.5458
	Fis	0.144	0.122	0.133

Null allel frekansı MFW-9 için 0.0424 ve 0.0346; Barbus 33 için 0.1673 ve 0.1825 olarak sadece iki lokusta hesaplanmıştır. Özellikle Barbus 33 lokusunda yüksek değer almıştır. Null allel frekansı 0.05'den yüksek hesaplandığında, heterozigotluk kaybına yönelik şüphe uyandırmaktadır (Yılmaz ve Karaca, 2012).

Faktöriyel birleştirici analiz (Factorial Correspondence Analysis=FCA), bireylerin birbirleriyle ilişkilerinin elde edilen veriler doğrultusunda çok boyutlu düzlemde incelenmesidir. Bu çalışmadaki FCA sonuçları Şekil 2'de görülmektedir.

Şekil 2'de Adıyaman ve Diyarbakır popülasyonlarına ait bireyler birbirlerinden tam olarak ayrılmamaktadır. Bu yüzden çoğ-

**Şekil 2.** İki lokaliteden örneklenen 64 birey arasındaki ilişkiyi gösteren FCA sonuçları.

rafik dağılımları ile örtüşecek şekilde bir genetik yapılanmanın olduğu söylenemez.

Tartışma

Bu çalışmada Fırat ve Dicle nehir sistemlerinde doğal olarak yaşayan *C. macrostomus* türünün genetik yapısı mikrosatellit düzeyinde araştırılmıştır. Fırat nehrini temsilen Adıyaman'dan, Dicle nehrini temsilen ise Diyarbakır'dan örnekleme yapılmıştır. Toplamda 2 popülasyon ve 64 bireyde 5 mikrosatellit lokus çalışılarak *C. macrostomus* türünün genetik yapısı mikrosatellit yönünden ilk kez araştırılmıştır. Mikrosatellit lokuslarının alel sayıları bakımından en çok polimorfizmi gösteren lokusun 22 allel ile MFW-9, en az polimorfizm gösteren lokusun ise 3 allel ile MFW-7 olduğu tespit edilmiştir. Lokuslardaki alel uzunlukları ve özgün aleler Tablo 3'te görülmekte olup, lokuslardaki ortak alellerin fazla olduğu tespit edilmiştir. Popülasyonlardaki bu ortak alellerin fazlalığı her iki nehrin geçmişteki jeolojik konumlanması ile ilgili olduğu tahmin edilmektedir. Çünkü Pleistosen'de Fırat ve Dicle'nin üst kesimleri, Miyosen sonlarında çekilen denizin arkasında kalan tatlı su göllerine, alt kesimleri ise başlangıçta iç göle, daha sonra Basra Körfezine akıyordu (Demirsoy, 1996). Bundan dolayı geçmişte bu iki popülasyon arasında gen alışverişinin olduğu söylenebilir. Ayrıca bu iki popülasyon arasındaki F_{ST} değerinde (0.024) de düşük ve önemsiz olması da bu savı desteklemektedir. FCA analizinde de her iki popülasyona ait bireyler birbirlerinden tam olarak ayrılmamakta ve coğrafik dağılımları ile örtüşecek şekilde bir genetik yapılanma söz konusu değildir.

Alel çeşitliliği bakımından Diyarbakır popülasyonunun Adıyaman'a göre daha çok alel içerdiği görülmekte olup, her iki popülasyonun çeşitliliğinin farklı olması örneklerin alındığı habitatın akarsu ya da baraj gölü olma-

sından kaynaklanmaktadır. Çünkü Adıyaman popülasyonunu temsil eden bireylerin tamamı Atatürk Baraj Gölü'nden, Diyarbakır popülasyonunu temsil eden bireylerin tamamı ise akarsudan temin edilmiştir. Akarsuların habitat zenginliği göllere göre fazla olduğu için Diyarbakır popülasyonunun genetik çeşitliliğinin fazla olması beklenen bir durumdur. Bu balık türünün Parmaksız (2018) çalışmasında mtDNA COI belirteci ile yapılan dizi analizinde Adıyaman popülasyonunda 2 haplotip, Diyarbakır popülasyonunda ise 8 haplotip tespit edilmiş ve Diyarbakır popülasyonunun genetik çeşitliliğinin daha yüksek olduğu bulunmuştur. Ayrıca aynı nehir sistemlerinde yaşayan, Parmaksız ve Eskici (2018) çalışmasında, *Carasobarbus luteus* türüne ait popülasyonlardaki mtDNA COI bölgesi ve Parmaksız ve Şeker (2018) çalışmasındaki *Arabibarbus grypus* mtDNA cyt b bölgesine ait dizi analizlerde de yine Dicle nehrinde yaşayan popülasyonların genetik çeşitliliği daha yüksek bulunmuştur. Bu çalışmamızdaki sonuçlarla uyum göstermektedir.

Çalışılan popülasyonlar için hesaplanan F_{IS} değerlerinin -0.017 ila 0.410 arasında değiştiği belirlenmiştir. F_{IS} değerlerinde sadece bir lokus (Barbus33) hariç popülasyonlarda dengeden sapma görülmemektedir. Bu da kullanılan lokusların uygunluğunu örneğin bir alelin yükseltgenememe durumunun olmadığına (allelic drop out) ve okumaların güvenilir olduğuna işaret etmektedir.

Bu çalışmada materyal olarak kullanılan birey sayısı ve popülasyon sayısı az olduğu için şansa bağlı değişimlerin ortaya çıkmış olma ihtimali vardır. Bu yüzden ileride yapılacak çalışmalarda daha fazla birey ve popülasyon araştırılması bu balık türünün genetik çeşitliliği için daha faydalı olacaktır.

Teşekkür

Bu çalışma Harran Üniversitesi Bilimsel Araştırma Komisyonu (HÜBAK) tarafından 15103 numaralı proje ile desteklenmiştir.

Kaynaklar

- Ateş, B. 2017. Fırat ve Dicle Nehirlerinde Yaşayan *Cyprinion macrostomus* (Heckel, 1843) Popülasyonlarının Mikrosatellit DNA Analizi. Harran Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 54 s.
- Aydın, R., Şen, D., Çalta, M. ve Canpolat, Ö. 2009. *Cyprinion macrostomus* (Heckel, 1843)'un Kemiksi Yapılardaki Magnezyum Elementinin Birlikte Düzeylerine Bağlı olarak yaş halkalarının okunabilirliği. Ulusal Su Ürünleri Sempozyumu, 09-01 Ocak, Elazığ, 50.
- Belkhir, K., Borsa, P., Chikhi L., Raufaste, N. ve Bonhomme, F. 2004. GENETIX 4.05, logiciel sous Windows pour la génetique des populations. Université de Montpellier II, Montpellier, France.
- Crooijmans, R. P. M. A., Van Der Poel, J. J., Groenen, M. A. M., Bierbooms, V. A. F. ve Komen, J. 1997. Microsatellite markers in common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Animal Genetics*, 28, 129-134.
- Çiçek, T. 2013. Dicle Nehri'nde Yaşayan *Carassius gibelio*, *Acanthobrama marmid* ve *Alburnus mossulensis* Türlerinin Biyolojisi Üzerine Araştırmalar. Dicle Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 139 s.
- Dağlı, M. 2013. *Barbus lacerta* Heckel, 1843 ve *Cyprinion macrostomum* Heckel, 1843'un Morfolojik Özellikleri. Düzce Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi, 1: 88-95.
- Demirsoy, A. 1996. General and Turkey Zoogeography "Animal Geography", 2nd edn.-Metaksan, Ankara.
- Duman, S. ve Şahan, A. 2014. Kangal (Sivas) Balıklı Çermik Termal Kaplıcası ile Topardıç Deresi'nde (Sivas) Yaşayan Benekli Sezen *Cyprinion macrostomus* (Heckel, 1843)'de Bazı Hematolojik Parametreler ve Non-Spesifik İmmün Yanıtın Belirlenmesi. Yunus Araştırma Bülteni (4): 21-28.
- Durna, S., Bardakçı, F. ve Deger, N. 2012. Genetic Diversity of *Cyprinion macrostomus* Heckel, 1843 (Teleostei: Cyprinidae) in Anatolia, Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 12: 651-659.
- Excoffier, L. ve Lischer, H. E. L. 2010. Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*, 10: 564-567.
- Gettova, L., Gilles, A., Berrebi, P. ve Simkova, A. 2013. The 454 GS-FLX isolation and characterisation of microsatellites in *Barbus meridionalis* and cross-species amplification in three European tetraploid *Barbus* species: a tool for studying population genetics in hybrid zones. Unpublished, (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>, Erişim tarihi; 01. 09. 2015).
- Kara, C. ve Güneş, H. 2015. Adıyaman Bölgesi Akarsu ve Göllerinde *Cyprinion macrostomum* Heckel, 1843 bireylerinin Dağılımı ve Bazı Morfometrik Özellikleri. Yunus Araştırma Bülteni, (4): 13-19.
- Metin, K. ve Akpınar, M. A. 2000. *Cyprinion macrostomus* (Heckel, 1843)'un Gonatlarında Total Lipid ve Yağ Asidi Miktarının Mevsimsel Değişimi. *Turk. J. Biol.* 24: 627-634.
- Nasri, M., Eagderi, S., Farahmand, H. ve Segherloo, I. H. 2013. Body shape comparison of *Cyprinion macrostomum* (Heckel, 1843) and *Cyprinion watsoni* (Day, 1872) using geometric morphometrics method. *International Journal of Aquatic Biology*, 1(5): 240-244.
- Parmaksız, A., Ateş, B. ve Toprak, Ş. 2016. Bazı Sazan Türlerinde Mikrosatellit DNA Markörlerinin Kullanılabilirliğinin Araştırılması, Harran Üniv Vet Fak Derg, 5 (1):1-4.
- Parmaksız, A. 2018. Genetic Variation in *Cyprinion macrostomus* Heckel, 1843 Populations As Revealed By Partial COI Sequences of Mitochondrial DNA. *Applied Ecology and Environmental Research* 16(2):1899-1907.
- Parmaksız, A. ve Eskici, H. K. 2018. Genetic Variation of Yellow Barbell (*Carasobarbus luteus* (Heckel, 1843)) From Four Populations Using Mitochondrial DNA COI Gene Sequences. *Applied Ecology And Environmental Research*, 16(2):1673-1682.
- Parmaksız, A. ve Şeker, Ö. 2018. Genetic Diversity of The Endemic Species Shabbout (*Arabibarbus grypus* (Heckel, 1843)) Based on Partial Cytochrome b Sequences of Mitochondrial DNA. *Aquatic Research*, 1(3), 103-109.

- Özkan, E. 2015. Türkiye'de Yetiştirilen Yerli Ve Kültür Sığır Irklarının Genetik Yapılarının Mikrosatellitler İle İncelenmesi. Doktora Tezi, Trakya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ. 238 s.
- Peakall, R. ve Smouse, P. E. 2006. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. Molecular Ecology Notes, 6: 288-295.
- Raymond, M. ve Rousset, F. 1995. GENEPOP (version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism. Journal of Heredity, 86: 248-249.
- Rousset, F. 2008. Genepop'007: a complete reimplementation of the Genepop software for Windows and Linux. Molecular Ecology Resources, 8: 103-106.
- Taysı, M. R. 2014. Benekli sazan *Cyprinion macrostomum* (Heckel, 1843) da Bağırsaklar, Karaciğer ve Pankreasın Histolojik ve Histokimyasal Özelliklerinin İncelenmesi. Fırat Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 50s.
- Weir, B. S. ve Cockerham, C. C. 1984. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. Evolution, 38: 1358-1370.
- Yılmaz, O. ve Karaca, O. 2012. Karya Koyunlarda Mikrosatellit İşaretleyicilerle Babalık Testi. Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg. 18(5): 807-813.