T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

CARASOBARBUS LUTEUS (HECKEL, 1843) POPULASYONLARINDA mtDNA GENETİK VARYASYONUNUN BELİRLENMESİ

Hatice Kübra ESKİCİ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ŞANLIURFA
2017

T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

CARASOBARBUS LUTEUS (HECKEL, 1843) POPULASYONLARINDA mtDNA GENETİK VARYASYONUNUN BELİRLENMESİ

Hatice Kübra ESKİCİ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ŞANLIURFA
2017

Yrd. Doç. Dr. Arif PARMAKSIZ danışmanlığında, Hatice Kübra ESKİCİ'nin hazırladığı "***Carasobarbus luteus* (Heckel, 1843) Populasyonlarında mtDNA Genetik Varyasyonunun Belirlenmesi**" konulu bu çalışma 07/04/2017 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Harran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı'nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

İmza

Danışman : Yrd. Doç. Dr. Arif PARMAKSIZ ……

Üye : Prof. Dr. S. Ahmet OYMAK ……

Üye : Prof. Dr. Erhan ÜNLÜ ……..…….

Bu Tezin Biyoloji Anabilim Dalında Yapıldığını ve Enstitümüz Kurallarına Göre Düzenlendiğini Onaylarım

Prof. Dr. Halil Murat ALĞIN

Enstitü Müdürü

Bu Çalışma HÜBAK Tarafından Desteklenmiştir.
Proje No: 16041

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖZET…… i
ABSTRACT…….. ii
TEŞEKKÜR…….. iii
ŞEKİLLER DİZİNİ…….. iv
ÇİZELGELER DİZİNİ…… v
SİMGELER DİZİNİ……. vi
1. GİRİŞ…… 1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR…… 7
3. MATERYAL ve YÖNTEM……. 10
3.1. Çalışılan Balık Türü ve Sistematikteki Yeri…….. 10
3.2. Balık Örneklerinin Toplanması……. 12
3.3. Total DNA İzolasyonu……... 13
3.4. Hedef mtDNA Bölgesinin Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ile Çoğaltılması…… 16
3.4.1. Denatürasyon…….. 17
3.4.2. Bağlanma (Annealing)…… 17
3.4.3. Uzama (Extension)…… 17
3.5. mtDNA COI Dizilerinin Analizi…… 24
3.6. mtDNA İstatistik Veri Analizleri……... 24
3.6.1. DnaSP……. 24
3.6.2.F_{ST} ……..... 25
3.6.3. Medyan birleştirme ağı (Median Joining Network) analizi…… 25
3.6.4. Komşu birleştirme ağacı (Neighbour Joining Tree) analizi…… 26
3.6.5. Tajima's test…… 26
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA……. 28
4.1. Araştırma Bulguları……... 28
4.1.1. mtDNA COI-625 bölgesine ait bulgular……. 28
4.1.2. *Carasobarbus luteus* bireylerinin COI-625 dizileri…… 33
4.1.3. Populasyonların genetik yapısı……... 49
4.1.4. Komşu birleştirme ağacı (Neighbour Joining Tree) analizi…… 50
4.1.5. Medyan birleştirme ağı (Median Joining Network) analizi…… 52
4.1.6. Nötralite testleri…….. 52
4.2. Tartışma…… 53
5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER……... 58
5.1. Sonuçlar…… 58
5.2. Öneriler……. 59
KAYNAKLAR……. 60
ÖZGEÇMİŞ…….. 64

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

CARASOBARBUS LUTEUS (HECKEL, 1843) POPULASYONLARINDA mtDNA GENETİK VARYASYONUNUN BELİRLENMESİ

Hatice Kübra ESKİCİ

Harran Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Arif PARMAKSIZ
Yıl: 2017, Sayfa: 64

Carasobarbus luteus (Heckel, 1843) Fırat ve Dicle Nehirlerinde doğal olarak yaşayan bir balık türüdür. Gıda olarak yüksek talep gördüğü için ekonomik olarak önemlidir. Bu çalışmanın amacı *C. luteus* populasyonlarında mtDNA COI gen bölgesinin dizi analizleri yapılarak genetik çeşitliliğin belirlenmesidir. Toplamda 4 populasyondan 48 bireyin total DNA izolasyonu Ticari bir kit kullanılarak yapılmıştır. Hedef mtDNA Bölgesi Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ile Çoğaltıldıktan sonra 3500 XL Genetic Analyzer cihazında dizi analizi yaptırılmıştır. mtDNA COI bölgesi dizi analizi yapılarak, 9 değişken bölge ve 4 haplotip tespit edilmiştir. Haplotip ve nükleotid çeşitliliği sırasıyla 0.409 ile 0.535 ve 0.00089 ile 0.00534 arasında hesaplanmıştır. Pairwise F_{ST} değerleri -0.16880 ila 0. 33181 arasında değişmekte olup Diyarbakır popülasyonu diğer tüm populasyonlarla arasındaki değerler istatiksel olarak önemli çıkmıştır. Median-Joining Network haplotip ağında, toplam 4 haplotip belirlenmiştir. Tajima's D ve Fu' Fs test değerleri tüm populasyonlarda istatistik olarak önemsizdir ($p>0.05$). Yapılan bu çalışma ile elde edilen sonuçların tamamı *C. luteus* türü için ilk kez elde edilmiş verilerdir. mtDNA COI 625 gen bölgesi için belirlenen haplotipler literatür açısından yeni sonuçlar olup, bu türün genetik çeşitliliği açısından önemli bir veri seti oluşturmuştur.

ANAHTAR KELİMELER: *Carasobarbus luteus*, Genetik çeşitlilik, mtDNA COI, Fırat Nehri, Dicle Nehri

ABSTRACT

MSc Thesis

DETERMINATION OF mtDNA GENETIC VARIATION IN *CARASOBARBUS LUTEUS* (HECKEL, 1843) POPULATIONS

Hatice Kübra ESKİCİ

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

Supervisor: Assist. Prof. Dr. Arif PARMAKSIZ
Year: 2017, Page: 64

The aim of this study is to determine genetic variation of *C. luteus* populations by conducting gene sequence analysis of mtDNA COI locus. Total DNA of 48 individuals from 4 populations in total was isolated using a commercial kit. Sequence analysis was conducted through 3500 XL Genetic Analyzer device following the amplification of target mtDNA locus via Polymerase Chain Reaction (PCR). With sequence analysis of mtDNA COI locus, 9 polymorphic sites and 4 haplotypes were determined. Haplotype and nucleotide diversity were calculated between 0.409 - 0.535 and 0.00089 - 0.00534, respectively. Pairwise F_{ST} results ranged between -0.16880 and 0. 33181, values of Diyarbakır population were found to be statistically significant compared to all of the other populations. Totally 4 haplotypes were detected in Median-Joining Network haplotype network. Tajima's D and Fu' Fs tests values were statistically insignificant for all populations ($p>0.05$). All of the results obtained with this study are the data that were extracted for *C. luteus* species for the first time. Haplotypes determined for mtDNA COI 625 locus are new results for the literature, generated a critical data set in terms of genetic diversity of this species.

KEY WORDS: *Carasobarbus luteus*, Genetic diversity, mtDNA COI, Euphrates River, Tigris River

TEŞEKKÜR

Tez çalışmalarım boyunca, bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan, attığım her adımda bana destek olan ve beni cesaretlendiren yüksek lisans tez danışmanım, değerli hocam Yrd. Doç. Dr. Arif PARMAKSIZ'a teşekkür ederim.

Çalışmalarım sırasında beraber olduğum ve bana destek olan yüksek lisans laboratuar arkadaşlarım Esra EKŞİ, Hande ŞELLİ, Özlem ŞEKER, Nevin ASLAN ve diğer laboratuar arkadaşlarıma destekleri için teşekkür ederim.

Bu güne kadar her konuda olduğu gibi yüksek lisans yapmam konusunda da beni yüreklendiren ve bugünlere gelmemde maddi manevi desteği ve önemli payları olan ailem annem Emine ESKİCİ, babam Bahyeddin ESKİCİ ve canım kardeşimlerim Yunus Emre, Reyyan ve Abdulsamed ESKİCİ'ye sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca tezimin yazım aşamasından beri birlikte olduğum her zaman yanımda olduğunu hissettiren ve bana her konuda destek olan nişanlım Mehmet ALKAYA'ya teşekkür ederim.

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 3.1. mtDNA çalışmasında kullanılan *Carasobarbus luteus* türü……. 11
Şekil 3.2. *Carasobarbus luteus* türünden kas örneklerinin alınması…… 13
Şekil 3.3. Parçalanan doku örneklerine solüsyon eklenmesi…… 14
Şekil 3.4. Çalışmada kullanılan inkübasyon cihazı……. 14
Şekil 3.5. Örneklerin buz üzerinde bekletilmesi……... 15
Şekil 3.6. Çalışmada kullanılan santrifüj cihazı……... 15
Şekil 3.7. *Carasobarbus luteus* türüne ait bireylerin DNA örnekleri……... 16
Şekil 3.8. Çalışmada kullanılan PZR cihazı…… 18
Şekil 3.9. PZR işlemi için kullanılan sıcaklık ve döngü tekrarı Thermal Cycler cihazına programlanması……... 19
Şekil 3.10. Agaroz jel hazırlama……... 20
Şekil 3.11. Agaroz jelin mikrodalgada ısıtılması…….. 20
Şekil 3.12. Agaroz jele SYBR Green eklenmesi…….. 20
Şekil 3.13. Agaroz jelin tanka dökülüp dondurulması…….. 21
Şekil 3.14. Örneklerin agaroz jele yüklenmesi…… 21
Şekil 3.15. Örnekleri görüntüleme cihazı……. 22
Şekil 3.16. *C.luteus* türüne ait bazı bireylerin PZR sonrası jel görüntüleri…….. 23
Şekil 4.1. *C.luteus* mtDNA COI gen bölgesinin PZR sonrası agaroz jeldeki görüntüsü…….. 28
Şekil 4.2. *C.luteus* Bismil bireylerine ait COI-625 PZR sonuçları……... 29
Şekil 4.3. *C. luteus* Hilvan bireylerine ait mtDNA COI 625 PZR sonuçları…… 29
Şekil 4.4. mtDNA COI 625 bölgesine ait dizi analizi sonucunun Chromas - Pro'daki görüntüsü..... 30
Şekil 4.5. *C.luteus* bireylerine ait COI-625 bölgesinin bir kısmının referans diziyle beraber Bioedit programındaki görüntüsü…… 30
Şekil 4.6. COI bölgesine ait dizi analizi sonucunun Bioedit görüntüsü……... 31
Şekil 4.7. *C. luteus* haplotiplerine dayalı komşu birleştirme ağacı……... 51
Şekil 4.8. *C. luteus* haplotiplerinin ağ modeli……... 52

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa No

Çizelge 3.1. *C.luteus* bireyleri ve lokaliteleri…….. 12
Çizelge 3.2. mtDNA COI-625 primerinin yükseltgenmesinde uygulanan PZR koşulları…… 22
Çizelge 3.3. mtDNA COI-625 primerinin yükseltgenmesinde kullanılan PZR karışımı…….. 23
Çizelge 4.1. mtDNA COI bölgesine ait nükleotit farklılıkları ve haplotipler……... 31
Çizelge 4.2. *C. luteus* popülasyonlarının genetik çeşitliliği ve nötralite testleri……. 32
Çizelge 4.3. Populasyonların pairwise Fst değerleri……. 49
Çizelge 4.4. Dört *C. luteus* populasyonu için AMOVA analizi……... 49
Çizelge 4.5. Türkiye'de mtDNA COI 625 kullanılarak incelen balık türlerinin verileri…… 56
Çizelge 4.6. *C. luteus* toplam haplotip…… 57

SİMGELER DİZİNİ

A	Adenin nükleotiti
Ark	Arkadaşları
ATP	Adenozin trifosfat
bç	Baz çifti
C	Sitozin nükleotidi
C. luteus	Carasobarbus luteus
C. trutta	Capoeta trutta
COI	Sitokrom C oksidaz I
DNA	Deoksiribonükleikasit
D-loop	Displacement loop
dNTP	Deoksiribonükleotid
EDTA	Etilendiamintetraasetik asit
EtBr	Etidyum Bromid
F_{ST}	Populasyonlar arası standardize varyans
G	Guanin nükleotiti
HCl	Hidro klorik asit
mtDNA	Mitokondrial DNA
nDNA	Çekirdek DNA
PCR	Polymerase Chain Reaction
PZR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
T	Timin nükleotiti
TBE	Tris/ Borik asit/ EDTA Tamponu
rRNA	Ribozomal Ribo Nükleik Asit
tRNA	Taşıyıcı Ribo Nükleik Asit
UV	Ultraviyole
ml	Mililitre
µl	Mikrolitre

1.GİRİŞ

Cyprinidae familyası tür sayısı olarak zengin bir familyadır (Bilici, 2009). Ülkemizde yaşayan kemikli balıkların çoğu Cyprinidae familyasında tatlı su balıkları grubunda bulunmaktadır (Bilici, 2009). Bu familyaya ait bireyler dünyada 1500 civarı tür ile Türkiye'de ise 30 cins ve 70 türü bulunmaktadır. Baş kısımları çıplak, vücutları büyük pullarla kaplıdır (Bilici, 2009). Bu familyanın karakteristik özelliklerinden birisi ise farinks dişleri sıklıkla operkulumun alt tarafında bulunmaktadır (Bilici, 2009). Sırt kısımlarında tek dorsal yüzgeç bulunur. Hava keseleri bir boğumla iki loba ayrılmaktadır (Bilici, 2009). Genel olarak bıyıksız olmalarına rağmen bazen bir çift veya iki çift bıyık taşıyan üyeleri de bulunmaktadır (Bilici, 2009). Konum olarak ağızları terminal, dorsal ya da ventral şekilde olabilir (Geldiay ve Balık, 2002).

Cyprinidae familyası içerisinde bulunan *Carasobarbus luteus* türü ön Asya'nın endemik, monotipik ve karakteristik türlerindendir (Karaman, 1971). Genel olarak yayılış alanları Fırat ve Dicle nehir sistemleri olup, ülkemizin bilhassa Güneydoğu Anadolu bölgesinde bulunan *Carasobarbus luteus* (Geldiay ve Balık, 1999) ayrıca Atatürk barajında avlanan ekonomik balıklar içerisinde *Capoeta trutta*'dan sonra ikinci sıradadır (Şevik ve Yüksel, 1997).

Carasobarbus luteus türü besin olarak tüketildiklerinden dolayı ekonomik öneme sahiptir (Gökcek, 2008). Bundan dolayı bir bölgede yaşayan balık stoklarının devamının sağlanması için balığın genetik çeşitliliğinin çok iyi bilinmesi gerekir**.**

Birden fazla türün mitokondriyal DNA'sı, nükleotid farklılıkları ya da kısa dizi ihtiva etmesine karşın gen dizilimleri uzun süreler boyunca dengede kalmıştır (Boore ve Brown, 1995).

Mitokondri ve kloroplastlar kendi DNA'larına sahip organellerdir. Sitoplazmik DNA olarak bilinen bu ekstranüklear DNA'larda, çekirdek DNA'sından bağımsız olarak mutasyonlar meydana gelebilir. Sirküler yapıdaki çift zincirli mtDNA üzerindeki mutasyon, bireyler arasındaki farklılıkları belirleme olanağı sağlar ve bu şekilde soyağacı oluşturulalabilir.

Maternal kalıtım gösteren mitokondriyal DNA (mtDNA); halkasal yapıda, çift zincirli, ve aerobik solunumu yapan genleri bulundurmakla beraber toplam genetik materyalin %0.3'ünü oluşturmaktadır (Rokas ve ark., 2003; Başaran, 2004). Karakteristik bir somatik hücre 500-1000 arasında mitokondri ihtiva etmektedir (Rokas ve ark., 2003). Mitokondriyal DNA'da gözlenen mutasyon oranı nükleer DNA'ya (nDNA) oranla daha hızlıdır. Bu vaziyetin nedeni ise, mtDNA'da ortaya çıkan mutasyonların nDNA'da ortaya çıkan mutasyonlardan ortalama 10–20 kat daha ziyade olması ve mtDNA'nın onarım işleyişinin bulunmaması olduğu gösterilmektedir. Neticede oluşan mutasyon oranı, mtDNA'nın baz diziliminde çok farklı çeşitliliğin oluşmasına neden olmaktadır (Başaran, 2004).

mtDNA, evcilleştirme tarihinde de kullanılan önemli bir ölçüttür. Özellikle mtDNA kontrol bölgesi yüksek evrimleşme hızına sahip olduğundan ötürü yakın zamanda birbirlerinden ayrılmış türlerin karşılaştırmasında kullanılmaktadır. Memeli mtDNA'sının önemli özelliği hızlı ve çabuk evrimleşmesidir (Brown, 1985).

Ayrıca mtDNA rekombinasyona uğramadığından mitokondriyal diziler arasındaki farklar yalnızca mutasyonlar sonucu ortaya çıkmaktadır. Ancak, anneden kalıtıldığı için, mtDNA'nın sadece annesel kökenin tarihiyle ilgili bilgi elde edilir. Bununla beraber bu belirteçten elde edilen veriler bütün genomik çeşitliliğin evrimini yorumlamakta pek kullanılmaz. Çünkü mtDNA tek bir gen gibi davranır ve kendi evrimsel dinamiklerine sahiptir (Bruford ve ark., 2003).

mtDNA, canlıların kökenlerini, göç haritalarının oluşturulması, adli tıp, dejaneratif hastalıkların nedenlerinin incelenmesinde ve kanser araştırmalarında kullanılmaktadır (Rokas ve ark., 2003).

mtDNA, rekombinasyon noksanlığının belirlenmesi ve genetik açıdan klonlanan canlıların kalıtımının saptanmasında büyük çoğunlukla kullanılmaktadır (Rokas ve ark., 2003). mtDNA'nın kodlanan bölgesindeki çeşitliliğin iyi anlaşılması popülasyonların filogenetik geçmişinin belirlenmesinde faydalı olmaktadır (Finnilä ve ark., 2001). mtDNA hasarları hücreyi olumsuz etkileyerek farklı hastalıkların oluşmasına sebep olur. mtDNA'da meydana gelen bu hasarların, ilerleyen yaşla birlikte mühim dereceye ulaştığı ortaya koyulmuştur. Bu nedenle mtDNA mutasyonlarının yaşlanma aşamasında önemli bir faktör olduğu belirtilmiş, ayrıca yaşlanma sebebi olma olasılığını arttırmıştır. Maalesef bu hasarların meydana getirdiği hastalıklar için tedavi metodları geliştirilememiştir. Mitokondriyal işlev ve biyogenezi hücrenin besin ortamı yönünden denetlendiğinden, çoğunlukla bütün canlılarda benzer şekilde olan besin kavrama yollarında yapılacak türlü düzenlemelerin, mitokondriyal hastalıkları tedavi edebilmektedir.

Mitokondriyal DNA dizi analizleri, ribozomal RNA dizi analizlerinden daha fazla varyasyonun daha kısa sürede elde edilmesine olanak sağlar. Mitokondriyal DNA hızlı evrim geçirmesi, maternal olması ve hücrede çok fazla kopyasının bulunması gibi özellikleri sayesinde taksonomik ve filogenetik çalışmalarda tercih edilmektedir (Lazarova ve ark., 2006).

mtDNA'nın bir başka önemli özelliklerinden birisi yüksek kopya sayısına sahip olmasıdır. Hücre çekirdeğinden ayrı şe0kilde her bir mitokondri organeli birçok kopyalanmış mtDNA barındırır. Moleküler genetik çalışmalarında hayvansal dokulardan yeterli miktarda DNA izole etmenin muhtemel olduğu belirtilmiştir (Rokas ve ark., 2003).

Moleküler yöntemlerle olan çalışmalarda mtDNA'nın tercih edilmesinin başka bir sebebi ise küçük boyutta olmasıdır. Bu zamana kadar izolasyon yapılarak çalışılan mtDNA genomlarının 14.000-39.000 bp arasında değiştiği gözlenmiştir (Smith, 1991).

Mitokondrial genomdaki nükleotit yer değiştirmelerinin oranı çekirdek genom ile karşılaştırıldığında oldukça hızlıdır ve bu da genomun farklılık gösteren karakterlerce çok zengin olmasını sağlar (Brown ve ark., 1979; Meyer, 1993). Bunun nedeni, nokta ve parça mutasyonların oldukça yüksek miktarda gerçekleşmesidir. Ayrıca bu mutasyonlar üzerinde etkili bir tamir mekanizması bulunmamaktadır (Brown ve ark., 1979; Brown ve ark., 1982).

mtDNA genomu bir tek böceklerle değil tüm hayvanlar aleminde mühim benzer yapılar göstermektedir (Crozier ve Crozier 1992). Ayrıca mtDNA nDNA gibi kodlanmayan gen bölgeleri yani intron bölgeleri ihtiva etmediğinden dolayı farklı türler arasında mitokondriyal DNA genomu yönünden karşılaştırma yapılması daha basittir (Brown, 1985).

mtDNA'nın basit yapıda ve gen organizasyonu yönünden küçük bir genom olması, hemen hemen bütün hayvanlarda bulunması, çok sayıda kopyası olması, bu sebeple izole edilmesinin kolay olması, anneden kalıtılması, rekombinasyon göstermemesi, evrimsel değişim hızı (Bibb ve ark., 1981; Brown, 1985) gibi genel özellikleri mtDNA'yı populasyon yapı çalışmalarında, gen akışı, hibridizasyon, biyocoğrafya ve çeşitli taksonomik seviyedeki filogenetik ilişkilerde kullanılan mükemmel bir araç yapar.

COI gen bölgesi ise birbirine yakın türlerin ayrımında kullanılmasının yanında aynı türün populasyonları arasındaki farklılığın belirlenmesinde de en çok kullanılan moleküler belirteçlerden biridir (Croos ve Palsson, 2010; Keskin ve Atar, 2012).

Protein kodlayan COI geninin diğer protein kodlayan mitokondriyal genlerden avantajı, metazoan türler için evrensel primer çiftleri kullanılarak birçok farklı taksonomik düzeyde kullanılabilir, çoğaltılabilir ve bir filogenetik sinyale sahip olmasıdır (Keskin ve Atar, 2013).

COI geninde ki kodonların üçüncü pozisyonunda bulunan nükleotidlerin yüksek düzeyde substitüsyon göstermesi ve bundan dolayı mitokondriyal rRNA genlerine kıyasla üç kat daha fazla moleküler evrim hızına sahip olarak evrimin yakın türlerin ayrımına olanak tanıyan ve coğrafik yapı ile ilişkilendirilebilen tür içi çeşitliliği ortaya koyabilecek bir hızda meydana gelmesidir (Bucklin ve ark., 2011).

COI gen bölgesinin tür düzeyinde açıklamalarda aktif olarak kullanılabilirliği günümüzde bir hayli omurgalı ve omurgasız hayvan grubu için kabul edilmiştir (Waugh, 2007).

Moleküler biyoloji teknikleri süratla gelişmekte olduğu için günümüzde ekonomik olarak görülmeyen hibridizasyon ve mikroarray probları kullanılarak tek bir prob ile birçok türün moleküler olarak tür tespiti yapılabilmektedir. COI geni moleküler olarak tür tayini için değerlendirilince, bu zamana kadar olan çalışmalarda devamlı hata veren bir taksonla karşılaşılmamış ve yukarıda da söz edilen sebeplerden dolayı en mutabık moleküler markör olarak değerlendirilmektedir. Lakin populasyon ve filogenetik çalışmalarında COI geni ile beraber nükleer genlerden ise en az bir belirteç kullanılması, yalnızca mitokondriyal bir genle çalışmanın ortaya çıkaracağı hataları düşük düzeye indirmek yönünden göz önünde bulundurulması gereken sebeplerdendir (Keskin ve Atar, 2013).

Sunulan çalışmanın amaçları şu şekilde özetlenebilir;

1) Türkiye'den Fırat ve Dicle Nehir sisteminde yaşayan ve ekonomik öneme sahip *Carasobarbus luteus* (Heckel, 1843) türü balık populasyonlarının genetik yapısı mtDNA düzeyinde incelemek.

2) Ülkemiz sularında her iki nehir sisteminde yaşayan yaşayan bu balığın genetik analizi yapılarak populasyon içi ve populasyonlar arasındaki genetik çeşitliliğin ortaya konulmasını sağlamak

3) Genetik çeşitliliğin ortaya konulmasında COI-625 primerinin kullanılmasını öğrenmek.

4) mtDNA'dan DNA dizi analizi (sekanslama) çalışarak elde edilmiş verilerin istatistiksel analizlerini yapmak.

Türkiye tatlı sularında yaşayan *Carasobarbus luteus* türünün populasyon genetiğiyle ilgili şu an yapılmış herhangi bir araştırma mevcut değildir. Bu araştırma ile *Carasobarbus luteus*'un mtDNA'nın yurdumuzda ilk kez incelenmiş olması çalışmanın önemini artırmaktadır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Biro ve ark. (1988), Diyala Nehri'nde farklı lokalitelerde *Barbus luteus* türünün büyümesini von Bertalanffy büyüme modelini örnek alarak Walford büyüme eğrisi ile değerlendirildiği zaman olabildiğince değişik çıkarımlar almış ve Diyala Nehri'nde *Barbus luteus* populasyonunun büyümesi von Bertalanffy Büyüme Modeli kullanarak ifade edilemeyeceğini sunmuşlardır.

Bozkurt (1998), tarafından yapılan çalışmada Atatürk Baraj Gölünde yaşayan *Aconthobrama marmid* (Heckel, 1843), *Capoeta trutta* (Heckel, 1843) ve *Carasobarbus luteus* (Heckel, 1843)'un eşey dağılımı, ağırlık ve boy olarak büyüme ile büyüme oranları, yumurta verimi, üreme periyodu, eşeysel olgunluk yaşı, kondisyon faktörü, ve gibi biyolojik özellikleri belirlenmiştir.

Bilici (2013), yılında Dicle nehrinde yaşayan Bismil lokalitesinde dağılım gösteren bıyıklı balık türlerinden *Capoeta trutta* (Heckel, 1843), *Carasobarbus luteus* (Heckel, 1843) ve *Garra variabilis* (Heckel, 1843)'in eşey dağılımı, ağırlık ve boy olarak büyüme ile büyüme oranları, eşeysel olgunluk yaşı ve boyu, kondisyon faktörü, yumurta verimi, üreme zamanı, gibi bazı biyolojik özellikleri araştırılmıştır.

Saraç (2011), Atatürk Baraj Gölü'nde yaşayan *C. luteus* ve *C. trutta*' da balık tazeliğinin tespitini yapmıştır.

Aral ark. (2004), Atatürk Baraj Gölü'ndeki erkek *C.luteus* (Heckel, 1843)'un spermatolojik özelliklerinin belirlenmesinde üreme mevsiminde, 23 tane erkek *C. luteus*'tan sperma abdominal masaj tekniğiyle alınmış ve alınan spermalarda, miktar, yoğunluk, pH, motilite ve motilite süresi belirlenmeye çalışılmış. Bunlardan farklı olarak, total boy ile canlı ağırlık ölçüldü ve bu parametreler ile spermatolojik özellikler arasındaki korelasyonlar araştırılmıştır.

Çelik ve Saler (2016), Nisan 2011 - Mart 2012 tarihlerinde Atatürk Baraj Gölü'nden avlanan toplam 173 *Carasobarbus luteus* (Heckel, 1843)'un sindirim sistemi içerikleri incelenmiştir. İncelenen *Carasobarbus luteus* (Heckel, 1843)'ların sindirim sistemi içeriğini bitkisel organizmalardan Chlorophyta (6 tür), Bacillariophyta (29 tür), Dinophyta (1 tür); hayvansal organizmalardan ise Copepoda (2 tür), Rotifera (7 tür), Diptera (1tür), Cladocera (6 tür)'ün oluşturduğu bulunmuştur.

Pourkazemi (1999), Rus mersininin (*Acipenser gueldenstaedtii*) populasyon yapısı mtDNA D-loop bölgesi PZR ile çoğaltılmış ve farklı kesici enzimlerle morflar oluşturulmuştur. Bütün örnekler içerisinde 7 birleşik haplotip belirlenmiş ve ortalama nükleotid ve haplotip çeşitliliği 0,05 ±0.00 ve 0,75 ± 0.00 (SE) olarak hesaplanmıştır. mtDNA- D-loop bölgesinin enzimlerle kesilmesi sonucunda elde edilen iki morfun (A ve B) sırasıyla 0,5 ve 0,36 ile yüksek frekansa sahip olduğu tespit edilmiş ve Rus mersini için farklı biyolojik grupların (stok ya da mevsimsel grup, yaş grubu) için potansiyel genetik belirteç olabileceğine işaret edilmiştir.

Durna ve ark. (2010)'da, Fırat, Dicle nehirlerinden ve Akdeniz'den toplam 8 lokaliteden 86 *Garra rufa* türüne ait bireyden örnekleme yaparak çalışmışlardır. mtDNA'nın PZR ile çoğaltılan NADH ¾ dehidrojenaz (ND-3/4) gen bölgesi, değişik restriksiyon enzimleriyle kesilmiş ve neticede çalışmadaki bütün populasyonlar için 20 farklı haplotip ortaya çıkmıştır. Ayrıca 5 farklı mikrosatellit belirteçte kullanarak Anadolu'daki *Garra rufa* türünde genetik çeşitliliği tespit etmişlerdir.

Prat ve ark. (2009)'da, Atatürk Baraj'ında yaşayan *Capoeta trutta* (Heckel, 1843)'nın büyüme eğrileri, kimyasal bileşimi ve et veriminin belirlenmesine yönelik olarak yapılmıştır. Bu çalışmada 58 dişi, 85 erkek olmak üzere toplamda 143 balık örneği çalışılmıştır. Bu araştırmada örneklerinin yaş tayini, eşey dağılımı, boy-yaş, ağırlık-yaş, ağırlık-boy ilişkisi faktörleri saptanmıştır.

Turan (2000), Asi Nehri populasyonunun çatal boy değerleri yaşlara göre diğer populasyonlarla karşılaştırıldığında farklılıklar gözlemlemiştir. *B. luteus* bireylerinden farklı populasyonlarda aynı yaştaki bireylerinde çatal boy ve ağırlık farktörlerinin farklı değerler alması, bu populasyonların morfolojik yapıdan birbirinden farklı olduğunun göstergesidir. Bu farklılık ekolojik şartlarla alakalı olabilir genetik dayanağı bulunmayabilir. Balıklarda ki bu geniş morfolojik töleranstan ötürü populasyonlar arasında oluşan farklılık, genetik etkilerden ziyade çevresel etkilere dayandırılmaktadır.

Özdilek ve ark. (2004), Asi nehrinde yaşayan *B.luteus*'un büyüme özelliklerini incelemiştir. Haziran (1997) ile Nisan (1998) tarihleri arasında Asi Nehri'nden avlanan 248 *B.luteus* bireylerinin pullarından faydalanılarak yaş tayini yapmış ve büyüme parametrelerini belirlemiştir.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

Çalışmamızda Türkiye'nin Fırat ve Dicle Nehirlerinde Populasyonlarının çeşitli lokalitelerinde yaşayan *Carasobarbus luteus* (Heckel, 1843) türünün çeşitli bireylerinden alınan kas örneklerinden izole edilen DNA'lar materyal olarak kullanılmıştır.

3.1. Çalışılan Balık Türü ve Sistematikteki Yeri

Başlıca yayılış alanları Fırat ve Dicle Nehir sistemleridir. Ülkemizde özellikle Güneydoğu Anadolu Bölgesinde yayılış göstermekte olan *Carasobarbus luteus* (Geldiay ve Balık, 1999) aynı zamanda Atatürk Barajında avlanan ekonomik açıdan önemi olan balıklar arasında *Capoetta trutta*'dan sonra ikinci sıradadır (Şevik ve Yüksel, 1997). Mevsimsel değişikliklere göre üreme periyotları da değişmektedir. Mevsime göre değişen gün ışığı ve sıcaklık gonad üzerinde ki etkisini endokrin sistemi kontrol ederek gösterirler (Prat ve ark., 1999).

C.luteus 'un üreme zamanı suyun sıcaklık derecesi gibi etkenlere bağlı olarak 20 Haziran ile 20 Temmuz arasında gerçekleşmektedir (Şevik ve Yüksel, 1997).

Vücutları iri ve yuvarlak olan pullarla örtülüdür. Ağızları terminal veya yarı terminal olup büyük ve at nalı şeklindedir. Ağızlarında bir çift kısa bıyık bulundururlar. Dorsal yüzgecin ön tarafında kalan sırt bölgesi iyi gelişmiştir.

Boyları 30-40 cm kadar olup sırtları kahverengi sarı yan tarafları ise sarımsı renktedir.

Başlıca yayılma alanı Fırat ve Dicle Nehir sistemleri olup ülkemizde özellikle Güneydoğu Anadolu Bölgesinde bulunmaktadırlar. Eti lezzetli olduğundan bölge halkı tarafından sıklıkla tüketilmektedirler.

Çalışmamızda kullanılan balık türünün sistematikteki yeri aşağıda verilmiştir (Nelson, 2006).

Regnum : Animalia
Phylum : Chordata
Subphylum : Craniata
Superclassis : Gnathostomata
Classis : Actinopterygii
Division : Teleostei
Subdivision : Euteleostei
Superorder : Acanthopterygii
Order : Cypriniformes
Superfamily : Cyprinoidea
Family : Cyprinidae
Genus : Carasobarbus Karaman, 1971
Species : *C. luteus* (Heckel, 1843)



Şekil 3.1. mtDNA çalışmasında kullanılan *Carasobarbus luteus* türü

3.2. Balık Örneklerinin Toplanması

Fırat nehrine ait 2 populasyon ve 18 birey (Adıyaman:6, Hilvan:12), Dicle Nehrine ait 2 populasyon ve 30 birey (Bismil:22, Diyarbakır:8) toplam 4 populasyondan 48 birey avlama yapmak suretiyle yakalanmış, içinde buz parçaları bulunan koruyucu kaplara konularak laboratuvara getirilmiştir. Yakalanan örneklerden pektoral veya dorsal yüzgeçlerin kaidesindeki kas dokusu alınarak % 95'lik Etil alkol içeren 1,5 ml mikrosantrifüj tüplerine konulup DNA izolasyonu yapılana kadar +4 °C de buzdolabında muhafaza edilmiştir.

Çizelge 3.1. *C.luteus* bireyleri ve lokaliteleri

NO	BALIK TÜRÜ	LOKALİTE
53	*Carasobarbus luteus*	DİYARBAKIR BİSMİL-DİCLE
61	*Carasobarbus luteus*	DİYARBAKIR BİSMİL-DİCLE
62	*Carasobarbus luteus*	DİYARBAKIR BİSMİL-DİCLE
63	*Carasobarbus luteus*	DİYARBAKIR BİSMİL-DİCLE
64	*Carasobarbus luteus*	DİYARBAKIR BİSMİL-DİCLE
65	*Carasobarbus luteus*	DİYARBAKIR BİSMİL-DİCLE
84	*Carasobarbus luteus*	ADIYAMAN 18.BÖLGE TECİR KÖYÜ- FIRAT
87	*Carasobarbus luteus*	ADIYAMAN 18.BÖLGE TECİR KÖYÜ- FIRAT
89	*Carasobarbus luteus*	ADIYAMAN 18.BÖLGE TECİR KÖYÜ- FIRAT
90	*Carasobarbus luteus*	ADIYAMAN 18.BÖLGE TECİR KÖYÜ- FIRAT
93	*Carasobarbus luteus*	ADIYAMAN 18.BÖLGE TECİR KÖYÜ- FIRAT
98	*Carasobarbus luteus*	ADIYAMAN 18.BÖLGE TECİR KÖYÜ- FIRAT
152	*Carasobarbus luteus*	DİYARBAKIR BİSMİL-DİCLE
154	*Carasobarbus luteus*	DİYARBAKIR BİSMİL-DİCLE
157	*Carasobarbus luteus*	DİYARBAKIR BİSMİL-DİCLE
158	*Carasobarbus luteus*	DİYARBAKIR BİSMİL-DİCLE
159	*Carasobarbus luteus*	DİYARBAKIR BİSMİL-DİCLE
160	*Carasobarbus luteus*	DİYARBAKIR BİSMİL-DİCLE
161	*Carasobarbus luteus*	DİYARBAKIR BİSMİL-DİCLE
162	*Carasobarbus luteus*	DİYARBAKIR BİSMİL-DİCLE
163	*Carasobarbus luteus*	DİYARBAKIR BİSMİL-DİCLE
164	*Carasobarbus luteus*	DİYARBAKIR BİSMİL-DİCLE
165	*Carasobarbus luteus*	DİYARBAKIR BİSMİL-DİCLE
166	*Carasobarbus luteus*	DİYARBAKIR BİSMİL-DİCLE
167	*Carasobarbus luteus*	DİYARBAKIR BİSMİL-DİCLE
168	*Carasobarbus luteus*	DİYARBAKIR BİSMİL-DİCLE
243	*Carasobarbus luteus*	DİYARBAKIR-DİCLE
244	*Carasobarbus luteus*	DİYARBAKIR-DİCLE
245	*Carasobarbus luteus*	DİYARBAKIR-DİCLE
246	*Carasobarbus luteus*	DİYARBAKIR-DİCLE
247	*Carasobarbus luteus*	DİYARBAKIR-DİCLE
248	*Carasobarbus luteus*	DİYARBAKIR-DİCLE
250	*Carasobarbus luteus*	DİYARBAKIR –DİCLE
251	*Carasobarbus luteus*	DİYARBAKIR –DİCLE
275	*Carasobarbus luteus*	DİYARBAKIR BİSMİL-DİCLE

Çizelge 3.1. (**devam)**

NO	BALIK TÜRÜ	LOKALİTE
276	*Carasobarbus luteus*	DİYARBAKIR BİSMİL-DİCLE
280	*Carasobarbus luteus*	HİLVAN- FIRAT
281	*Carasobarbus luteus*	HİLVAN- FIRAT
282	*Carasobarbus luteus*	HİLVAN- FIRAT
284	*Carasobarbus luteus*	HİLVAN- FIRAT
288	*Carasobarbus luteus*	HİLVAN- FIRAT
289	*Carasobarbus luteus*	HİLVAN- FIRAT
290	*Carasobarbus luteus*	HİLVAN- FIRAT
293	*Carasobarbus luteus*	HİLVAN- FIRAT
294	*Carasobarbus luteus*	HİLVAN- FIRAT
295	*Carasobarbus luteus*	HİLVAN- FIRAT
296	*Carasobarbus luteus*	HİLVAN- FIRAT
297	*Carasobarbus luteus*	HİLVAN- FIRAT

3.3. Total DNA İzolasyonu

Bu çalışmada Total DNA izolasyonu; GeneJET Genomic DNA Purification Kit (Thermo Scientific) kullanılarak yapılmıştır. İzole edilen DNA örneklerinden 2 µl alınarak % 0.8’ lik agaroz jelde SYBR Green eklendikten sonra 120 Volt, 30 dakika elektroforezde yürütülerek görüntülenmiştir.



Şekil 3.2. *Carasobarbus luteus* türünden kas örneklerinin alınması

Bu yöntemde aşağıda ki yol izlenmiştir:

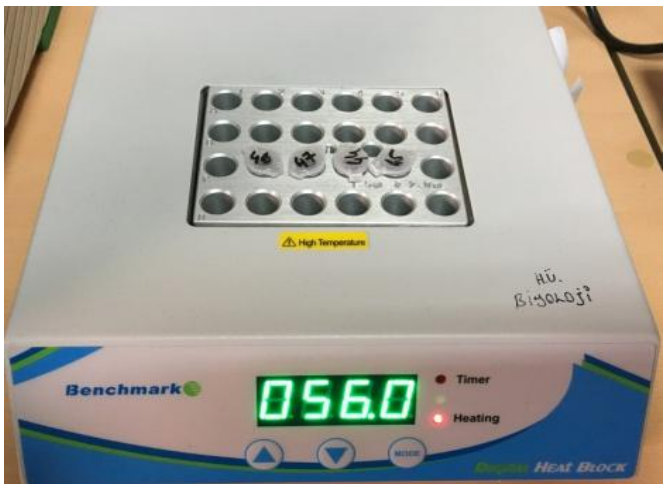
Kit protokolü;

1. 20 mg dokuyu tartılır, doku saf su içinde bekletilir. Doku kurutulduktan sonar parçalanır.
2. Parçalanan doku 1,5 ml lik mikrosantrifüj tüpe koyulur. 180 ml Digestion Solüsyon ve 20 ml Proteinaz K solüsyonu eklenir.



Şekil 3.3. Parçalanan doku örneklerine solüsyon eklenmesi

3. Doku tamamen parçalanana kadar 56 C de 3 saat inkübe edilir.



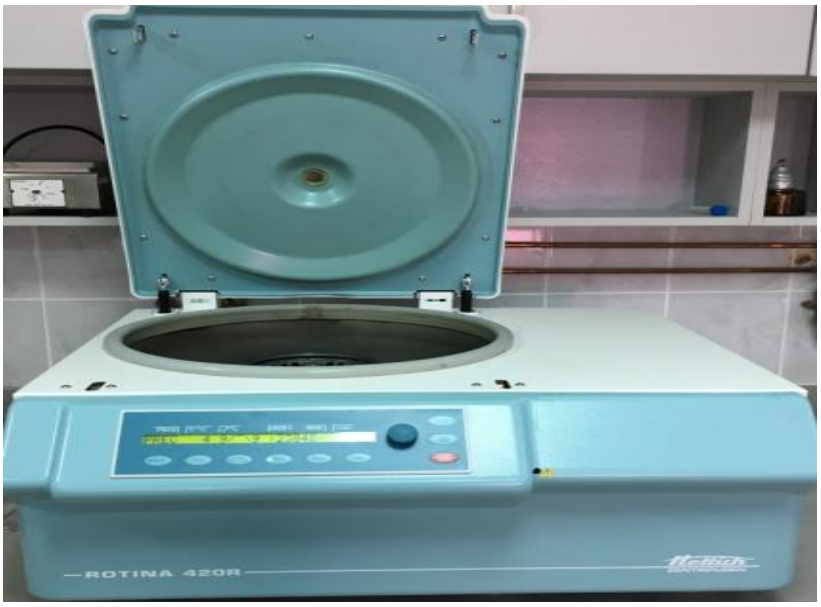
Şekil 3.4. Çalışmada kullanılan inkübasyon cihazı

4. 20 ml RNase eklenip vortekslenir ve 10 dk oda sıcaklığında bekletilir.
5. 200 ml Liziz Solüsyon eklenip 15 sn vortekslenerek homojen karışım elde edilir. Bu aşamadan sonar yarım saat buz üzerinde bekletilir.



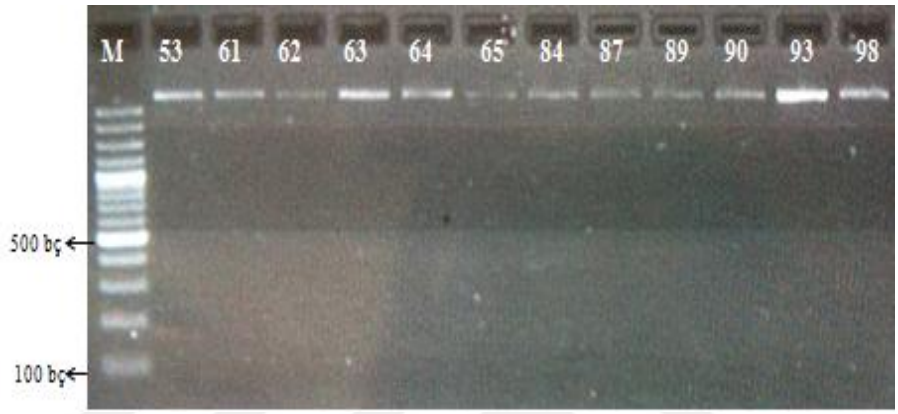
Şekil 3.5. Örneklerin buz üzerinde bekletilmesi

6. 400 ml %50 Etanol eklenerek vortekslenir.
7. Transfer lizaltı genomic DNA Prufication Colomun tüpüne aktarılır ve 1 dk 6000 g'de santrifüjlenir. 2 ml lik tüpe colomun tüpü yerleştirilir.



Şekil 3.6. Çalışmada kullanılan santrifüj cihazı

8. 500 ml Wash Buffer 1 eklenir. 1 dk 8000 g'de santrifüjlenir ve alttaki sıvı dökülür.
9. 500 ml Wash Buffer 2 eklenir 3 dk 12000 g'de santrifüjlenir ve 1,5 ml lik tüpe aktarılır.
10. 200 ml Elution Buffer eklenerek 1 dk 8000 g'de santrifüjlenir.
11. Purıfication colomn tüpü atılır ve elde edilen DNA -20 C de saklanır.



Şekil 3.7. *Carasobarbus luteus* türüne ait bireylerin DNA örnekleri

3.4. Hedef mtDNA Bölgesinin Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ile Çoğaltılması

Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) tekniği için çoğaltılacak olan bölgeyi sağdan ve soldan çevreleyen bir çift sentetik primer, dNTP'ler (A,T,G ve C); ısıya dayanıklı Taq polimeraz enzimi, uygun pH ve iyon koşullarını (Mg+2) sağlayan tampon karışımı gereklidir. PZR tekniğinde ilk birkaç döngü spesifik DNA parçalarının hedef DNA'da yapışacakları yerleri tarama fazıdır. Amplifikasyon daha sonra başlamaktadır. PZR tekniğinin tüm döngüleri bir önceki döngüde sentezlenen örneklerin denatürasyonu ile başlar. PZR tekniği ile çoğaltılan DNA bölgesi agaroz jel veya poliakrilamid jellerde yürütülür ve bantlar gözlemlenebilir. Hedef bölgelerinin çoğaltılmasında da yukarıda anlatılan PZR tekniği kullanılmaktadır. Bu durumda mtDNA bölgesine özgü hazırlanmış primerler denatüre olarak tek kollu hale getirilmiş DNA kitlesi içerisinde kendisine özgü komplementer bölgeye

bağlanmakta PZR süreci ile kontrol edebildiği uzunluktaki tek kollu molekülü çift kollu hale getirmektedir. Bu primer belirli uzunluktaki DNA kitlesi içerisinde kendine bütünler daha doğrusu işlev görebileceği ne kadar komplementer bölge varsa hepsinde yükseltgenme işlevini sürdürmektedir.

PZR reaksiyonunda üç basamak bulunmaktadır. Bunlar sırasıyla:

1-) Denatürasyon,

2-) Bağlanma (Annealing)

3-) Uzama (Extension) aşamalarıdır.

3.4.1. Denatürasyon: Çift zincirli yapıda olan DNA'nın tek zincir formuna getirildiği basamaktır. Buna göre ilk adımda, çoğaltılacak olan DNA, denatüre edilerek tek zincirli hale getirilir. İki oligonükleotid primer, ısıya dayanıklı bir DNA polimeraz ve 4 adet dNTP'den oluşan reaksiyon karışımı içinde bulunan DNA, 90–95ºC'de 5 dakika süreyle ısıtılarak denatüre edilir.

3.4.2. Bağlanma (Annealing): Primerlerin bağlandığı basamaktır. Sıcaklık 50 ila 70ºC arasında bir değere düşürülür ve primerlerin tek zincir haline getirilmiş DNA'ya bağlanması sağlanır. Bu primerler, 15–30 nükleotid uzunluğunda yapay oligonükleotidlerdir. Çoğaltılacak olan DNA bölgesinin uçlarındaki tamamlayıcı dizilere özgül olarak bağlanarak kalıp DNA'nın sentezi için başlangıç noktası görevi yaparlar.

3.4.3. Uzama (Extension): DNA Polimeraz enzimi tarafından zincir uzamasının gerçekleştirildiği basamaktır. DNA sentezi 65 ila 75ºC arasında gerçekleşir. Polimeraz enzimi, nükleotidleri 5′ ucundan 3′ ucuna doğru ekleyerek, primerlerin uzamasını sağlar ve hedef DNA'nın iki zincirli kopyasını oluşturur.

Üç basamaktan (denaturation, annealing, extension) meydana gelen bu işlem, bir PZR döngüsünü ifade eder. Bu işlem, 25 ile 40 defa arasında tekrar edilerek başlangıçtaki DNA dizisinden milyonlarca yeni DNA parçacığı çoğaltılır. PZR sonucunda elde edilen DNA parçacıkları agaroz veya poliakrilamit jellerde yürütüldükten sonra, gümüş nitrat (GN) veya ethidium bromide (EtBr) ile boyanarak incelenir.

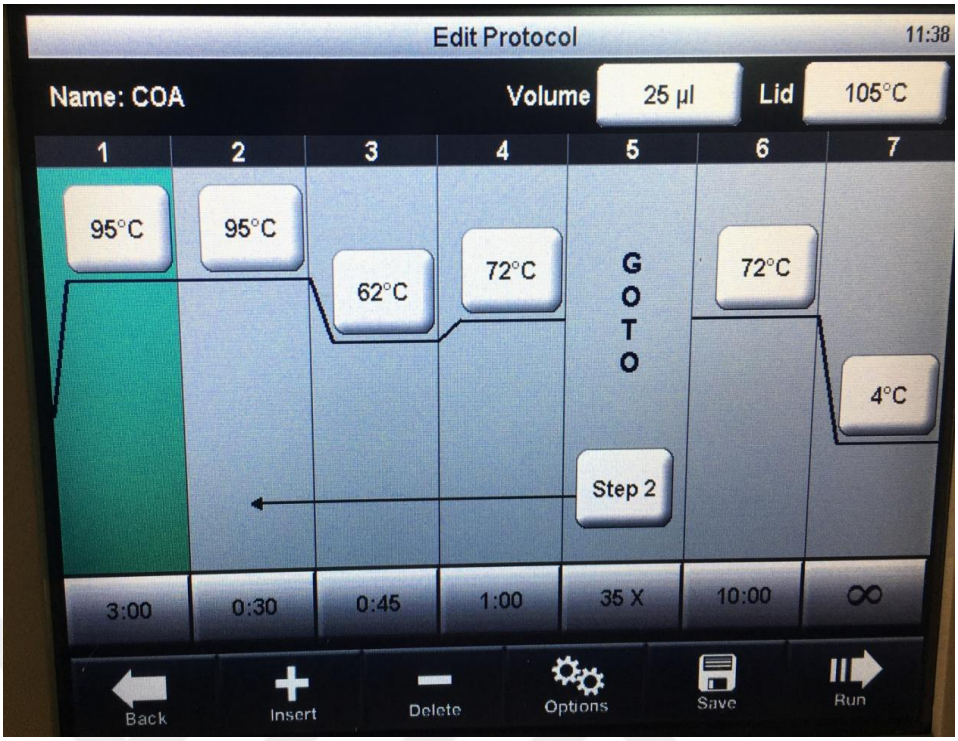
Çalışmamızda mtDNA COI gen bölgesinin çoğaltılması için kullanılan primer Darabi ve ark. (2014) çalışmasından alınmış olup dizileri aşağıda verilmiştir.

COI-625F:5'- TCAACCAACCACAAAGACATTGGCAC-3'
COI-625R:5'- GACTTCTGGGTGGCCAAAGAATCA-3'

Çalışmamızda PZR işlemi BIO-RAD T100^{TM} Thermal Cycler cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.8. Çalışmada kullanılan PZR cihazı



Şekil 3.9. PZR işlemi için kullanılan sıcaklık ve döngü tekrarı Thermal Cycler cihazına programlanması

PZR koşulları; 95°C'de 3 dakika ilk denatürasyon, 95°C'de 30 saniye denatürasyon, 62.0°C'de 45 saniye bağlanma ve 72°C'de 1 dakika uzama olmak üzere toplam 35 döngü gerçekleştirilmiş, son olarak örnekler 72°C'de 10 dakika tutularak sonlandırılmıştır. PZR ile çoğaltma (amplifikasyon) reaksiyonlarında kullanılan DNA miktarı, kimyasalların konsantrasyonları ve primerlerin bağlanma sıcaklıkları gradient PZR cihazında optimize edilmiştir. Bu bölgenin çoğaltılmasında kullanılan PZR karışımı ise; toplamda 25 µl olacak şekilde 15,9 µl dH_2O, 2,5 µl 1x PCR buffer, 2 µl $MgCl_2$, 0.5 µl dNTPs, 1 µl primer (F+R), 0.1 µl Taq polimeraz ve 30 ng/µl template DNA şeklindedir. PZR işleminden sonra oluşan ürünleri kontrol etmek amacıyla % 1,5 agaroz jel kullanılmıştır.



Şekil 3.10. Agaroz jel hazırlama

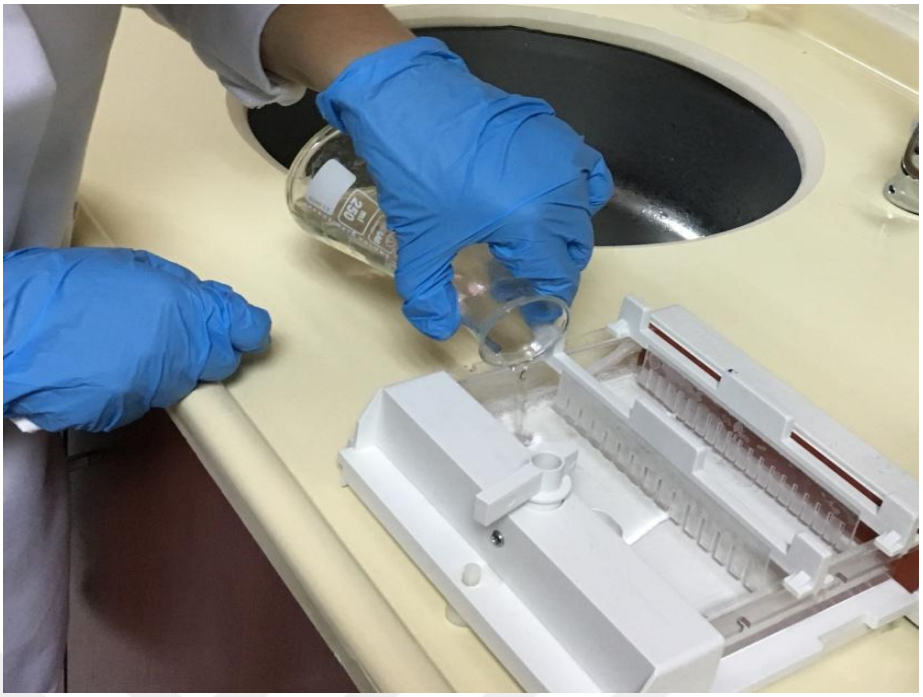
SYBR Green eklenen agaroz jel, 0.5x TBE (Tris/Borik asit/EDTA Tamponu) solüsyonunun bulunduğu tank içerisine yerleştirilip 2 µl PZR ürünleri kuyulara yüklendikten sonra 100V elektrik akımında 30 dakika boyunca yürütülerek ultraviyole (UV) ışık veren görüntüleme cihazında görüntülenmiştir



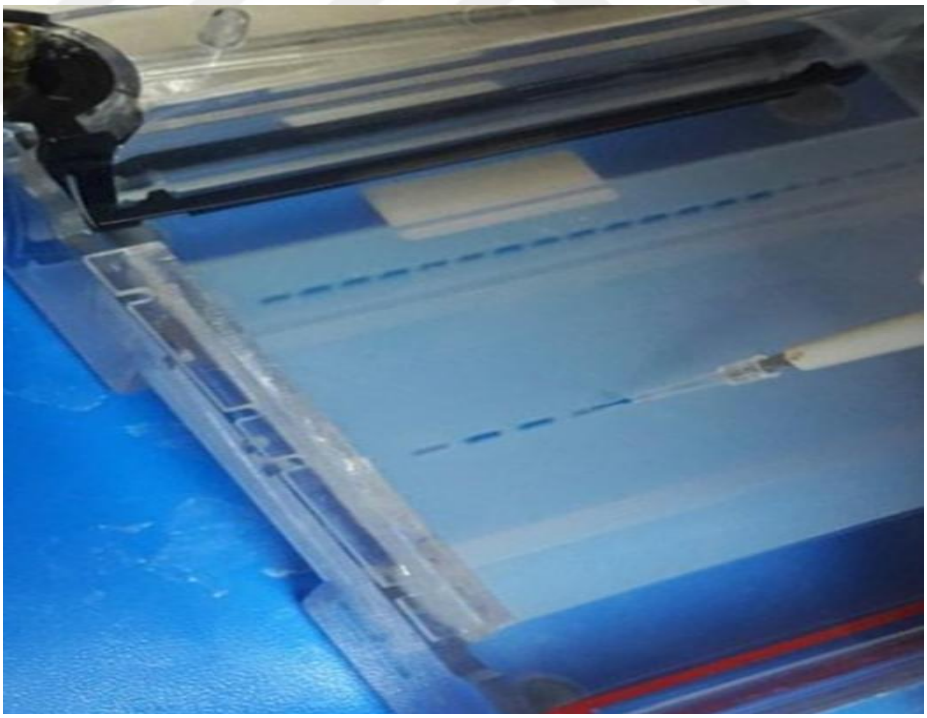
Şekil 3.11. Agaroz jelin mikrodalgada ısıtılması



Şekil 3.12. Agaroz jele SYBR Green eklenmesi



Şekil 3.13. Agaroz jelin tanka dökülüp dondurulması



Şekil 3.14. Örneklerin agaroz jele yüklenmesi



Şekil 3.15. Örnekleri görüntüleme cihazı

Elde edilen PZR ürünleri ticari bir firmaya gönderilerek 3500 XL Genetic Analyzer (Thermo Fisher Scientific) cihazında dizi analizi yaptırılmıştır.

Bu bölgenin yükseltgenmesinde kullanılan PZR koşulları Çizelge 3.2.'de ve PZR için kullanılan karışımlar ise Çizelge 3.3.' de sunulmuştur.

Çizelge: 3.2. mtDNA COI-625 primerinin yükseltgenmesinde uygulanan PZR koşulları

Basamak	Sıcaklık	Süre	Döngü sayısı
Denatürasyon	95°C	3 dakika	1
Denatürasyon	95°C	30 saniye	35
Bağlanma	62°C	45 saniye	
Uzama	72°C	1 dakika	
Final Uzama	72°C	10 dakika	1

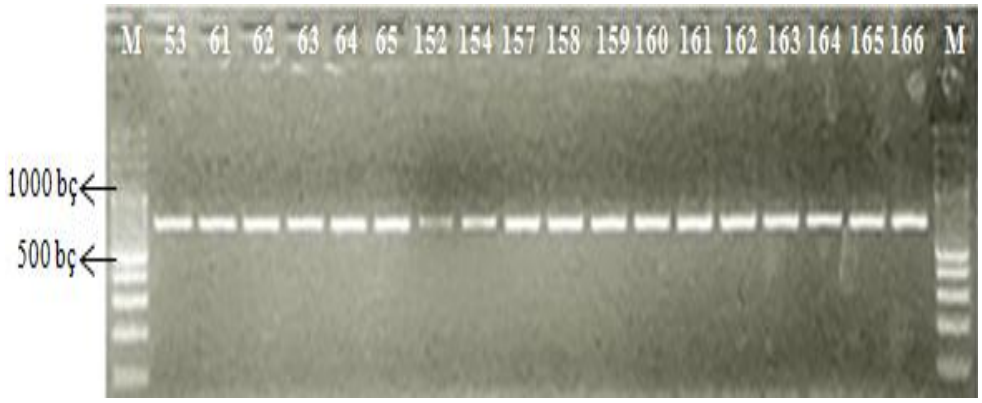
Çizelge 3.2.'deki koşullardan önce bağlanma sıcaklığının 62°C - 69°C arasında, döngü sayısının ise 30-40 arasında optimizasyonu yapılarak primerin en iyi

bağlandığı ve ürünün en fazla oluştuğu bağlanma sıcaklığının 62°C ve döngü sayısının ise 35 olduğu gözlemlenmiştir.

Çizelge 3.3. mtDNA COI-625 primerinin yükseltgenmesinde kullanılan PZR kanşımı

Kimyasallar	**1x**
dH_2O	15,9 µl
Buffer (Taq buffer)	2,5 µl
MgCİ2	2,0 µl
Dntp	0,5 µl
Primer (İ+G)	1,0 µl
DNA	3 µl
Taq polimeraz enzimi	0,1 µl
Toplam	25 µl

Farklı konsantrasyonlarda optimizasyon yapılarak en iyi ürünün oluştuğu konsantrasyonların Çizelge 3.3.'de ki gibi olduğu gözlemlenmiş



Şekil 3.16. *C. luteus* türüne ait bazı bireylerin PZR sonrası jel görüntüleri

3.5. mtDNA COI Dizilerinin Analizi

Öncelikli olarak, ticari firmadan tarafımıza gönderilen mtDNA dizileri ham verileri Chromas-Pro v2.0.1(Technelysium Pt Ltd) programı kullanılarak değerlendirilip ileri (forward) ve ters (reverse) PCR primerleri kullanılarak elde edilen mtDNA COI gen bölgesi dizileri, BioEdit software version 7.2.5 programı kullanılarak görüntülenmiştir. Daha sonra bu diziler Clustal W çoklu dizi hizalama programı (Clustal W multiple sequence alignment program) ile hizalanmıştır. Göz ile de kontrol edilen hizalama dizileri arasında uzunluk farklılıkları dikkate alınarak örneklerin başlangıç ile sonlanma noktalarından tekrar hizalama yapılarak diziler analizlere hazır duruma getirilmiş olup FASTA formatında kaydedilmiştir.

Populasyonlar için, haplotip sayısı, haplotip ve nükleotid çeşitliliği, polimorfik bölge sayısı DnaSP 5.10.01 programı kullanılarak belirlenmiştir. Haplotipler arasındaki filogenetik ilişki ise Network version 5.0 programı ile belirlenmiştir. Filogenetik analizler K2 parametresi kullanılarak Komşu birleştirme ağacı (Neighbor Joining Tree) modeline göre MEGA 7 programında gerçekleştirilmiş ve filogenetik ağaç oluşturulmuştur. Nodların (ağaç kolları) güvenirliğinin test edilmesinde Bootstrap testi (1000 tekrarlı) kullanılmıştır. Tajima D ve Fu's istatistikleri, populasyonların geçmişte bir seçilime uğrayıp uğramadıklarını analiz etmek için ARLEQUIN v.3.5 programı (1000 permütasyonlu) kullanılarak hesaplanmıştır.

3.6. mtDNA İstatistik Veri Analizleri

3.6.1. DnaSP

İlk olarak DnaSP (Rozas ve Rozas., 1999) programı kullanılarak türler arası ve tür içi haplotipler oluşturulmuştur. Bu şekilde elde edilen haplotiplerden Haplotip çeşitliliği (Hd) değeri hesaplanmıştır. Nükleotit çeşitliliği (Pi, π) ve nükleotit farklılığı (k) (Tajima,1983) değerlerinin hesaplanmasında DnaSP programı kullanılmıştır.

3.6.2. F_{ST}

F_{ST}, alt populasyonlardan gelişi güzel ele alınan iki gametin ortak atadan gelme ihtimali olup, alt populasyonlar arasında bulunan genetik farklılıkların belirtilmesi için kullanılan bir kriterdir (Wright, 1978). 0 ila 1 arasında bir değer almaktadır.

Belirlenen değerin 1'e yakınlığı alt populasyonların genetik olarak uzaklığını belirtmektedir. Birimler (çalışmamızda genellikle ırklar) arasındaki genetik uzaklıklar F_{ST} aracılığıyla ikili olarak karşılaştırılır. Bir de tüm birimler arasındaki farkın ortalamasını belirten F_{ST} değeri elde edilebilir.

F_{ST} değeri;
0 - 0.05 arasında ise küçük bir genetik farklılaşma;

0.05 - 0.15 arasında ise orta düzeyde farklılaşma;

0.15 – 0.25 arasında ise büyük bir genetik farklılaşma;

0.25'ten büyük ise çok büyük bir genetik farklılaşmanın geçerli olduğu söylenebilir (Özkan, 2005).

F_{ST} değeri küçük olduğu zaman populasyonların arasındaki varyasyonun küçük olduğu söylenebilir. Yani iki populasyon birbirine genetik olarak benziyor demektir. Bu çalışmada F_{ST} değerleri Arlequin 3.11 programında kullanılarak elde edilmiştir (Excoffier ve ark., 2005).

3.6.3. Medyan birleştirme ağı (Median Joining Network) analizi

Medyan Birleştirme Ağı (Bandelt ve ark., 1999) yöntemi, genel olarak birbirine yakın olan haplotipleri mutasyon ölçütlerini dikkate alarak bağlantılı olacak şekilde gösterilmesini sağlayan bir ilişkiler ağı oluşturmaktadır. Bu çalışmada Medyan Birleştirme Ağı; NETWORK 4.6.1.0 (http://www.fluxus-engineering.com) programı yardımıyla çizilmiştir.

3.6.4. Komşu birleştirme ağacı (Neighbour Joining Tree) analizi

Irklar arası genetik uzaklıkları belirlemek için farklı metodlar kullanılabilmekte ve bu metodlara göre komşu birleştirme dendogramları çizilebilmektedir. Komşu Birleştirme Ağacı (Neighbour Joining Tree) genetik uzaklıkların görsel olarak belirtilmesi amacıyla çizilmektedir

3.6.5. Tajima's test

DNA sekansları için uygun bir test yöntemi olan rekombinasyonun infinite site modeline dayalı Tajima'nın testi, DnaSP 4.0 (Rozas ve Rozas, 1999) paket programı kullanılarak yapılmıştır.

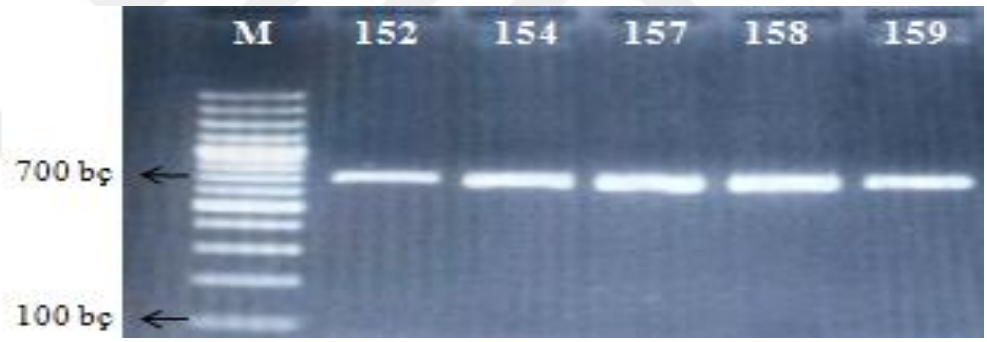
Populasyonların genetik yapısı ilk defa Cockerham (1973) tarafından tanımlanıp ve sonrasında Weir ve Cockerham (1984) tarafından geliştirilen varyans analizi ile incelenmiştir. Bunun için moleküler haplotipler arasındaki mutasyon miktarını dikkate alarak, diğer gen frekanslarının varyans analizi tekniklerinden ayrılan, fakat temelde benzerlik gösteren bilgisayar programı ARLEQUIN (AMOVA, Excoffier ve ark., 1992)'de kullanılan moleküler varyans analizi yaklaşımı kullanılmıştır. türler ve populasyon grupları tanımlandıktan sonra genetik yapı test edilmiştir. Varyansın hiyerarşik analizi gruplar veya populasyon arasındaki ve içindeki farklılıklardan dolayı toplam varyansı kovaryans bileşenlerine bölmüş ve bu varyans bileşenlerinin kullanımıyla fiksasyon indisleri hesaplanmıştır.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

4.1. Araştırma Bulguları

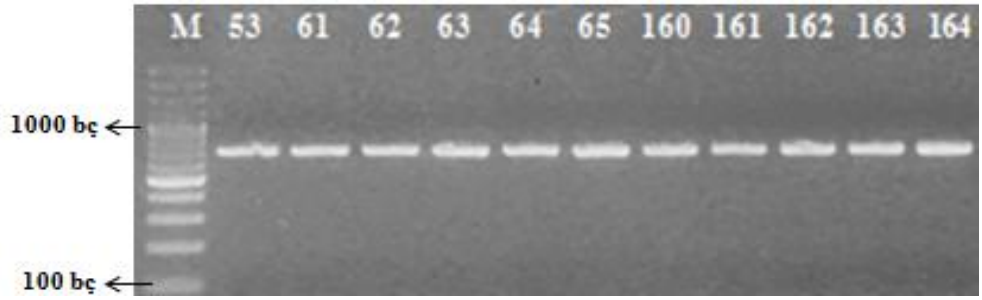
4.1.1. mtDNA COI-625 Gen Bölgesine Ait Bulgular

COI-625 promotor bölgesine ait 620 bç'lik bölge PZR koşulları optimize edildikten sonra Çizelge koşullarında çoğaltılmıştır. PZR sonucunda yükseltgenen COI-625 bölgesine ait bantların gözlenmesi için % 2'lik agaroz jeller kullanılmıştır. SYBR Green eklenen agaroz jel, 0.5x TBE (Tris/Borik asit/EDTA Tamponu) solüsyonunun bulunduğu tank içerisine yerleştirilip 2 µl PZR ürünleri kuyulara yüklendikten sonra 100V elektrik akımında 30 dakika boyunca yürütülerek ultraviyole (UV) ışık veren görüntüleme cihazında görüntülenmiştir.



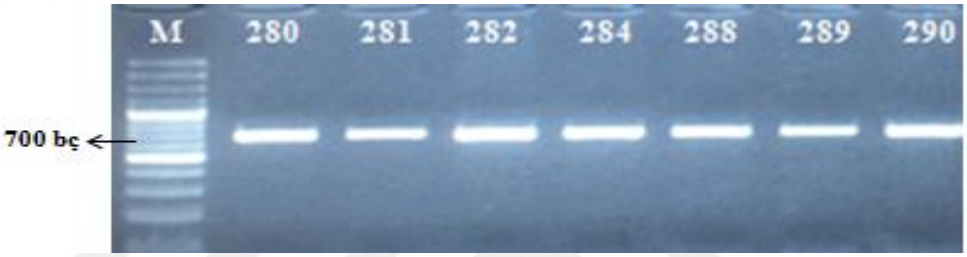
Şekil 4.1. *C.luteus* mtDNA COI gen bölgesinin PZR sonrası agaroz jeldeki görüntüsü
(M: Marker, bç: Baz Çifti)

Şekil 4.1.*Carasobarbus luteus* türüne ait Diyarbakır Bismil örneklerinden bazıları PZR sonrası agaroz jelde marker ile birlikte yürütülüp, marker sayesinde oluşan ürünlerin uzunluğu tahmin edilmiştir. Hedef bölge ortalama 600 - 700 bç uzunluğunda olduğundan doğru bölgenin yükseltgenmiş olduğuna karar verilmiştir.



Şekil: 4.2. *C.luteus* Bismil bireylerine ait COI-625 PZR sonuçları(M:Marker; bç:Baz çifti)

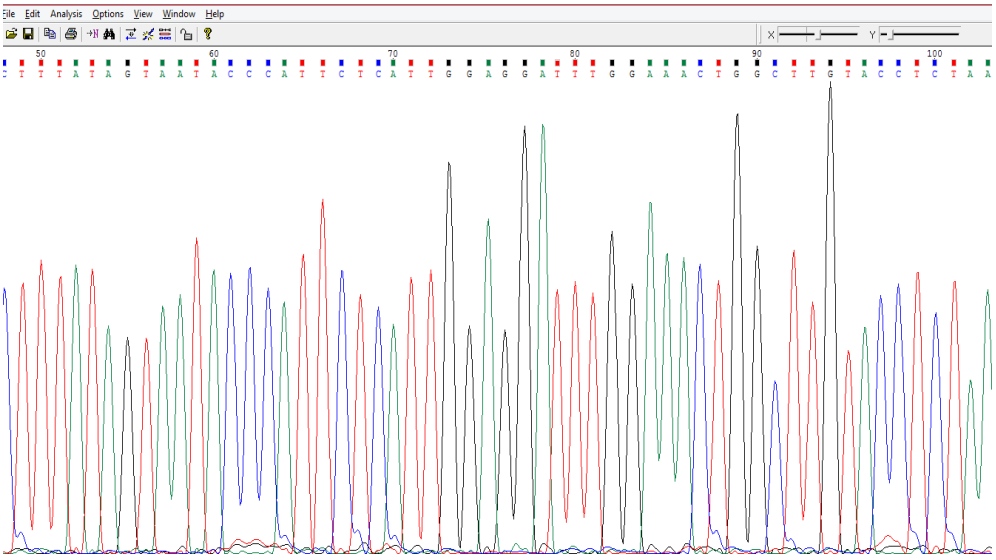
Şekil 4.2.'de *C. luteus*'un Bismil'den toplanan örnekleri PZR sonrası agaroz jelde marker ile görüntülenmiştir ve hedef bölge olduğuna karar verilmiştir.



Şekil 4.3. *C. luteus* Hilvan bireylerine ait mtDNA COI 625 PZR sonuçları(M:Marker; bç: Baz çifti)

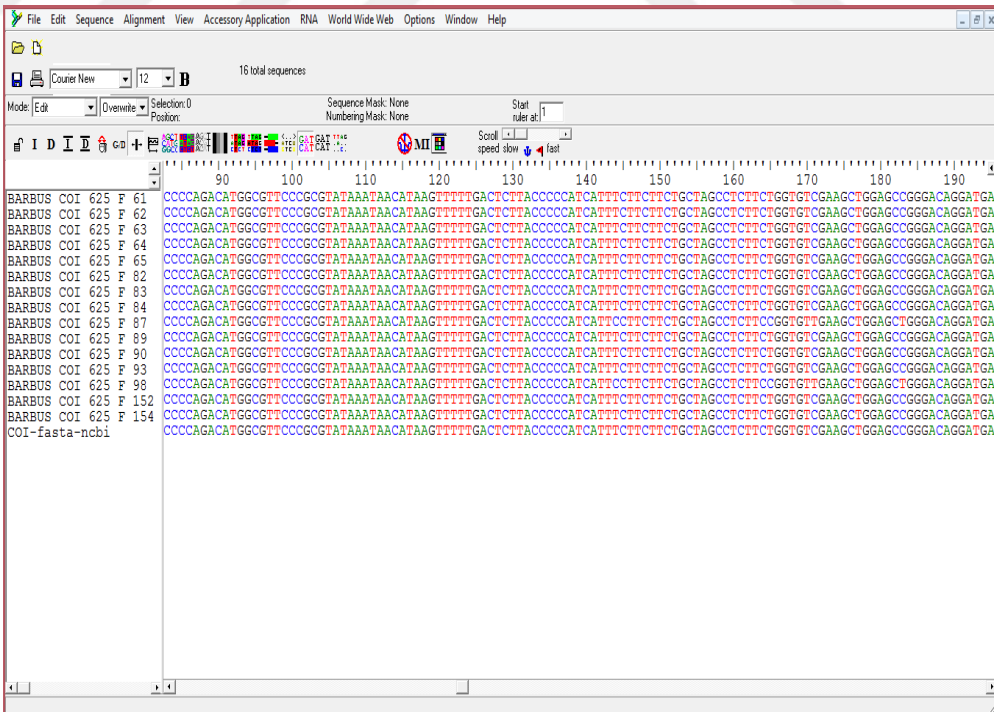
Şekil 4.3.'de *C. luteus*'un Hilvan'dan toplanan önekleri PZR sonrası agaroz jelde marker ile görüntülenmiştir. Marker sayesinde oluşan ürünlerin uzunluğu tahmin edilmiştir. Hedef bölge ortalama 600-700 baz çifti aralığında olduğu için hedef bölgesinin olduğuna karar verilmiştir.

Sonra örnekler dizi analizine gönderilip gelen sonuçlara ait bir örnek Şekil 4.4.'de sunulmuştur. Bu sonuçlar Chromas-Pro bilgisayar programı ile baz cinsinden dizilere dönüştürülmüştür. Bioedit bilgisayar programıyla bu dizile gen bankasından indirilen referans diziyle karşılaştırılmıştır.

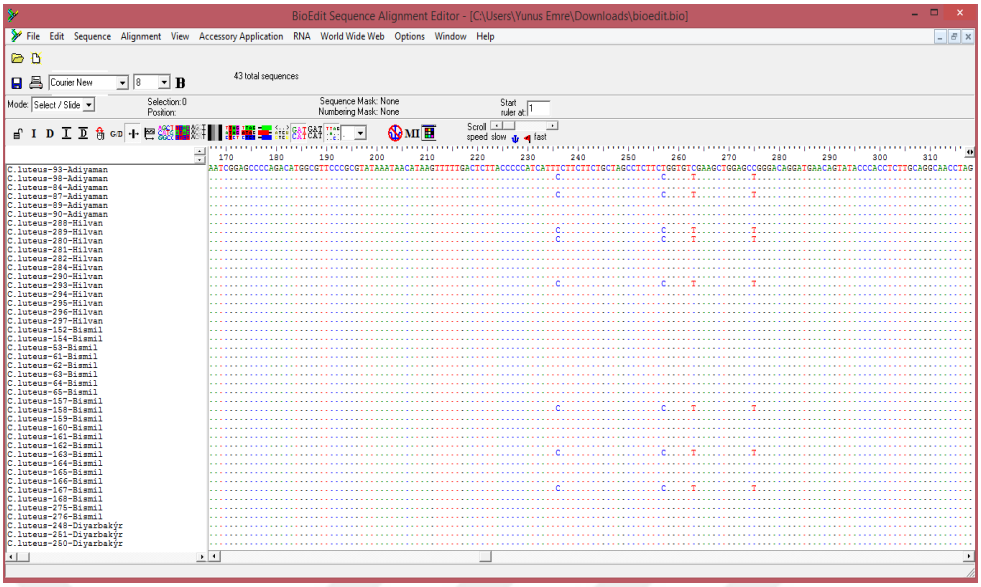


Şekil 4.4. mtDNA COI 625 bölgesine ait dizi analizi sonucunun Chromas-Pro'daki görüntüsü.

Şekil 4.4.'de *C.luteus* 90 numaralı bireyin gen dizi analizi sonucunun Chromas-Pro bilgisayar programındaki görüntüsü görülmektedir. Bu program aracılığıyla baz dizilerine ait pikler dikkatlice incelenmiştir.



Şekil 4.5. *C.luteus* bireylerine ait COI-625 bölgesinin bir kısmının referans diziyle beraber Bioedit programındaki görüntüsü.



Şekil 4.6. COI bölgesine ait dizi analizi sonucunun Bioedit görüntüsü

Şekil 4.6.'da C.luteus'un (C/T) farklılaşmaları gösterilmektedir.

Fırat nehrinden ve Dicle nehrinden toplam 4 populasyona ait 48 *C. luteus* örneğinde ortalama 600-700 bç'lik mtDNA COI bölgesi dizi analizi yapılarak, 9 değişken bölge ve 4 haplotip tespit edilmiştir. Bu bölgeye ait nükleotit farklılıkları çizelge 4.1.'de gösterilmektedir.

Çizelge 4.1. mtDNA COI bölgesine ait nükleotit farklılıkları ve haplotipler

Haplotipler	**236**	**257**	**263**	**275**	**344**	**362**	**491**	**504**	**587**
H1	T	T	C	C	G	C	G	T	G
H2	C	C	T	T	.	T	.	C	.
H3	.	.	.	.	A	.	A	.	.
H4	.	.	.	.	.	.	.	.	A

Her populasyon için haplotip çeşitliliği (h), nükleotid çeşitliliği (π) ve nötralite testleri Çizelge 4.2.'de verilmiştir.

Çizelge 4.2. *C. luteus* populasyonlarının genetik çeşitliliği ve nötralite testleri (N: Birey sayısı, Nh: haplotip sayısı, H: haplotip çeşitliliği, π: nükleotit çeşitliliği)

Nehir Sistemi	Lokalite	n	Nh	Haplotip Frekansı	Hd	π	Tajima's D	Fu's Fs
Fırat Nehri	Adiyaman	6	2	H1 (0.66) H2 (0.34)	0.533	0.00534	1.24649	4.184
Fırat Nehri	Hilvan	12	2	H1 (0.75) H2 (0.25)	0.409	0.00410	0.89777	5.083
Dicle Nehri	Bismil	22	4	H1 (0.68) H2 (0.14) H3 (0.04) H4 (0.14)	0.519	0.00319	-0.75999	1.799
Dicle Nehri	Diyarbakır	8	2	H1 (0.37) H4 (0.63)	0.535	0.00089	1.16650	0.866

Ortalama haplotip çeşitliliği (h) 0.538; Ortalama nükleotid çeşitliliği ise (π)0.00345 olarak hesaplanmıştır. Çalışılan populasyonlar arasında haplotip çeşitliliği Hilvan populasyonu dışındaki populasyonlarında birbirine oldukça yakın olarak hesaplanmıştır. Haplotip çeşitliliği (0.535) en yüksek olmasına rağmen nükleotid çeşitliliği en düşük (0.00089) olan Diyarbakır popülasyonudur.

Çizelge 4.2.'de görüldüğü gibi H1 haplotipi tüm popülasyonlarda ortak görülen haplotiptir. H2 haplotipi Diyarbakır hariç diğer populasyonlarda görülmektedir. H3 ise sadece Bismil populasyonunda, H4 sadece Dicle nehrindeki populasyonlarında görülmektedir. Sadece Bismil populasyonu 4 haplotipin tamamını içermektedir. Haplotip ve nükleotid çeşitliliği sırasıyla 0.409 ile 0.535 ve 0.00089 ile 0.00534 arasında hesaplanmıştır. Haplotip çeşitliliği değerleri en düşük olan Hilvan populasyonu olup diğer populasyonların değerleri birbirine yakındır. Nükleotid çeşitliliği en yüksek olan Adıyaman en düşük olan ise Diyarbakır populasyonudur.

4.1.2. *C.luteus* Bireylerinin COI 625 Dizileri

>C.luteus-93-Adiyaman

CCGCCTTAAGCCTTCTCATCCGGGCTGAACTAAGCCAACCCGGATCGCTTCTAGGCGATG
ACCAAATTTATAATGTTATCGTAACTGCTCACGCCTTCGTAATAATCTTCTTTATAGTAA
TACCCATTCTCATTGGAGGATTTGGAAACTGGCTTGTACCTCTAATAATCGGAGCCCCAG
ACATGGCGTTCCCGCGTATAAATAACATAAGTTTTTGACTCTTACCCCCATCATTTCTTC
TTCTGCTAGCCTCTTCTGGTGTCGAAGCTGGAGCCGGGACAGGATGAACAGTATACCCAC
CTCTTGCAGGCAACCTAGCCCATGCAGGAGCATCAGTAGATCTGACAATTTTTTCACTTC
ACTTAGCAGGTGTCTCATCAATCCTGGGAGCAATTAACTTTATTACTACAACAATTAATA
TAAAACCCCCAGCCATCTCCCAGTATCAAACACCCTTATTTGTTTGATCTGTACTCGTAA
CTGCCGTACTGCTACTCCTATCATTACCAGTTTTAGCCGCTGGAATTACAATACTTCTAA
CAGATCGAAACCTAAACACCACATTCTTTGATCCGGCAGGAGGAGGGGATCCAATTCTAT
ATCAACACCTATTCTGATTC

>C.luteus-98-Adiyaman

CCGCCTTAAGCCTTCTCATCCGGGCTGAACTAAGCCAACCCGGATCGCTTCTAGGCGATG
ACCAAATTTATAATGTTATCGTAACTGCTCACGCCTTCGTAATAATCTTCTTTATAGTAA
TACCCATTCTCATTGGAGGATTTGGAAACTGGCTTGTACCTCTAATAATCGGAGCCCCAG
ACATGGCGTTCCCGCGTATAAATAACATAAGTTTTTGACTCTTACCCCCATCATTCCTTC
TTCTGCTAGCCTCTTCCGGTGTTGAAGCTGGAGCTGGGACAGGATGAACAGTATACCCAC
CTCTTGCAGGCAACCTAGCCCATGCAGGAGCATCAGTAGATCTGACAATTTTTTCACTTC
ATTTAGCAGGTGTCTCATCAATCCTGGGAGCAATTAACTTTATTACTACAACAATTAATA
TAAAACCCCCAGCCATCTCCCAGTATCAAACACCCTTATTTGTTTGATCTGTACTCGTAA
CTGCCGTACTGCTACTCCTATCACTACCAGTTTTAGCCGCTGGAATTACAATACTTCTAA
CAGATCGAAACCTAAACACCACATTCTTTGATCCGGCAGGAGGAGGGGATCCAATTCTAT
ATCAACACCTATTCTGATTC

>C.luteus-84-Adiyaman

CCGCCTTAAGCCTTCTCATCCGGGCTGAACTAAGCCAACCCGGATCGCTTCTAGGCGATG
ACCAAATTTATAATGTTATCGTAACTGCTCACGCCTTCGTAATAATCTTCTTTATAGTAA
TACCCATTCTCATTGGAGGATTTGGAAACTGGCTTGTACCTCTAATAATCGGAGCCCCAG
ACATGGCGTTCCCGCGTATAAATAACATAAGTTTTTGACTCTTACCCCCATCATTTCTTC
TTCTGCTAGCCTCTTCTGGTGTCGAAGCTGGAGCCGGGACAGGATGAACAGTATACCCAC
CTCTTGCAGGCAACCTAGCCCATGCAGGAGCATCAGTAGATCTGACAATTTTTTCACTTC
ACTTAGCAGGTGTCTCATCAATCCTGGGAGCAATTAACTTTATTACTACAACAATTAATA
TAAAACCCCCAGCCATCTCCCAGTATCAAACACCCTTATTTGTTTGATCTGTACTCGTAA
CTGCCGTACTGCTACTCCTATCATTACCAGTTTTAGCCGCTGGAATTACAATACTTCTAA
CAGATCGAAACCTAAACACCACATTCTTTGATCCGGCAGGAGGAGGGGATCCAATTCTAT
ATCAACACCTATTCTGATTC

C.luteus-87-Adiyaman

CCGCCTTAAGCCTTCTCATCCGGGCTGAACTAAGCCAACCCGGATCGCTTCTAGGCGATG
ACCAAATTTATAATGTTATCGTAACTGCTCACGCCTTCGTAATAATCTTCTTTATAGTAA
TACCCATTCTCATTGGAGGATTTGGAAACTGGCTTGTACCTCTAATAATCGGAGCCCCAG
ACATGGCGTTCCCGCGTATAAATAACATAAGTTTTTGACTCTTACCCCCATCATTCCTTC
TTCTGCTAGCCTCTTCCGGTGTTGAAGCTGGAGCTGGGACAGGATGAACAGTATACCCAC
CTCTTGCAGGCAACCTAGCCCATGCAGGAGCATCAGTAGATCTGACAATTTTTTCACTTC
ATTTAGCAGGTGTCTCATCAATCCTGGGAGCAATTAACTTTATTACTACAACAATTAATA
TAAAACCCCCAGCCATCTCCCAGTATCAAACACCCTTATTTGTTTGATCTGTACTCGTAA
CTGCCGTACTGCTACTCCTATCACTACCAGTTTTAGCCGCTGGAATTACAATACTTCTAA
CAGATCGAAACCTAAACACCACATTCTTTGATCCGGCAGGAGGAGGGGATCCAATTCTAT
ATCAACACCTATTCTGATTC

>C.luteus-89-Adiyaman

CCGCCTTAAGCCTTCTCATCCGGGCTGAACTAAGCCAACCCGGATCGCTTCTAGGCGATG
ACCAAATTTATAATGTTATCGTAACTGCTCACGCCTTCGTAATAATCTTCTTTATAGTAA
TACCCATTCTCATTGGAGGATTTGGAAACTGGCTTGTACCTCTAATAATCGGAGCCCCAG
ACATGGCGTTCCCGCGTATAAATAACATAAGTTTTTGACTCTTACCCCCATCATTTCTTC
TTCTGCTAGCCTCTTCTGGTGTCGAAGCTGGAGCCGGGACAGGATGAACAGTATACCCAC
CTCTTGCAGGCAACCTAGCCCATGCAGGAGCATCAGTAGATCTGACAATTTTTTCACTTC
ACTTAGCAGGTGTCTCATCAATCCTGGGAGCAATTAACTTTATTACTACAACAATTAATA
TAAAACCCCCAGCCATCTCCCAGTATCAAACACCCTTATTTGTTTGATCTGTACTCGTAA
CTGCCGTACTGCTACTCCTATCATTACCAGTTTTAGCCGCTGGAATTACAATACTTCTAA
CAGATCGAAACCTAAACACCACATTCTTTGATCCGGCAGGAGGAGGGGATCCAATTCTAT
ATCAACACCTATTCTGATTC

>C.luteus-90-Adiyaman

CGGGCTGAACTAAGCCAACCCGGATCGCTTCTAGGCGATGACCAAATTTATAATGTTATC
GTAACTGCTCACGCCTTCGTAATAATCTTCTTTATAGTAATACCCATTCTCATTGGAGGAT
TTGGAAACTGGCTTGTACCTCTAATAATCGGAGCCCCAGACATGGCGTTCCCGCGTATAA
ATAACATAAGTTTTTGACTCTTACCCCCATCATTTCTTCTTCTGCTAGCCTCTTCTGGTGTC
GAAGCTGGAGCCGGGACAGGATGAACAGTATACCCACCTCTTGCAGGCAACCTAGCCCA
TGCAGGAGCATCAGTAGATCTGACAATTTTTTCACTTCACTTAGCAGGTGTCTCATCAATC
CTGGGAGCAATTAACTTTATTACTACAACAATTAATATAAAACCCCCAGCCATCTCCCAG
TATCAAACACCCTTATTTGTTTGATCTGTACTCGTAACTGCCGTACTGCTACTCCTATCAT
TACCAGTTTTAGCCGCTGGAATTACAATACTTCTAACAGATCGAAACCTAAACACCACAT
TCTTTGATCCGGCAGGAGGAGGGGATCCAATTCTATATCAACACCTATTCTGATTC

>C.luteus-288-Hilvan

CCGCCTTAAGCCTTCTCATCCGGGCTGAACTAAGCCAACCCGGATCGCTTCTAGGCGATG
ACCAAATTTATAATGTTATCGTAACTGCTCACGCCTTCGTAATAATCTTCTTTATAGTAA
TACCCATTCTCATTGGAGGATTTGGAAACTGGCTTGTACCTCTAATAATCGGAGCCCCAG
ACATGGCGTTCCCGCGTATAAATAACATAAGTTTTTGACTCTTACCCCCATCATTTCTTC
TTCTGCTAGCCTCTTCTGGTGTCGAAGCTGGAGCCGGGACAGGATGAACAGTATACCCAC
CTCTTGCAGGCAACCTAGCCCATGCAGGAGCATCAGTAGATCTGACAATTTTTTCACTTC
ACTTAGCAGGTGTCTCATCAATCCTGGGAGCAATTAACTTTATTACTACAACAATTAATA
TAAAACCCCCAGCCATCTCCCAGTATCAAACACCCTTATTTGTTTGATCTGTACTCGTAA
CTGCCGTACTGCTACTCCTATCATTACCAGTTTTAGCCGCTGGAATTACAATACTTCTAA
CAGATCGAAACCTAAACACCACATTCTTTGATCCGGCAGGAGGAGGGGATCCAATTCTAT
ATCAACACCTATTCTGATTC

>C.luteus-289-Hilvan

CCGCCTTAAGCCTTCTCATCCGGGCTGAACTAAGC-AACCCGGATCGCTTCTAGGCGATG
ACCAAATTTATAATGTTATCGTAACTGCTCACGCCTTCGTAATAATCTTCTTTATAGTAA
TACCCATTCTCATTGGAGGATTTGGAAACTGGCTTGTACCTCTAATAATCGGAGCCCCAG
ACATGGCGTTCCCGCGTATAAATAACATAAGTTTTTGACTCTTACCCCCATCATTCCTTC
TTCTGCTAGCCTCTTCCGGTGTTGAAGCTGGAGCTGGGACAGGATGAACAGTATACCCAC
CTCTTGCAGGCAACCTAGCCCATGCAGGAGCATCAGTAGATCTGACAATTTTTTCACTTC
ATTTAGCAGGTGTCTCATCAATCCTGGGAGCAATTAACTTTATTACTACAACAATTAATA
TAAAACCCCCAGCCATCTCCCAGTATCAAACACCCTTATTTGTTTGATCTGTACTCGTAA
CTGCCGTACTGCTACTCCTATCACTACCAGTTTTAGCCGCTGGAATTACAATACTTCTAA
CAGATCGAAACCTAAACACCACATTCTTTGATCCGGCAGGAGGAGGGGATCCAATTCTAT
ATCAACACCTATTCTGATTC

>C.luteus-280-Hilvan

CCGCCTTAAGCCTTCTCATCCGGGCTGAACTAAGCCAACCCGGATCGCTTCTAGGCGATG
ACCAAATTTATAATGTTATCGTAACTGCTCACGCCTTCGTAATAATCTTCTTTATAGTAA
TACCCATTCTCATTGGAGGATTTGGAAACTGGCTTGTACCTCTAATAATCGGAGCCCCAG
ACATGGCGTTCCCGCGTATAAATAACATAAGTTTTTGACTCTTACCCCCATCATTCCTTC
TTCTGCTAGCCTCTTCCGGTGTTGAAGCTGGAGCTGGGACAGGATGAACAGTATACCCAC
CTCTTGCAGGCAACCTAGCCCATGCAGGAGCATCAGTAGATCTGACAATTTTTTCACTTC
ATTTAGCAGGTGTCTCATCAATCCTGGGAGCAATTAACTTTATTACTACAACAATTAATA
TAAAACCCCCAGCCATCTCCCAGTATCAAACACCCTTATTTGTTTGATCTGTACTCGTAA
CTGCCGTACTGCTACTCCTATCACTACCAGTTTTAGCCGCTGGAATTACAATACTTCTAA
CAGATCGAAACCTAAACACCACATTCTTTGATCCGGCAGGAGGAGGGGATCCAATTCTAT
ATCAACACCTATTCTGATTC

>C.luteus-281-Hilvan

CCGCCTTAAGCCTTCTCATCCGGGCTGAACTAAGCCAACCCGGATCGCTTCTAGGCGATG
ACCAAATTTATAATGTTATCGTAACTGCTCACGCCTTCGTAATAATCTTCTTTATAGTAA
TACCCATTCTCATTGGAGGATTTGGAAACTGGCTTGTACCTCTAATAATCGGAGCCCCAG
ACATGGCGTTCCCGCGTATAAATAACATAAGTTTTTGACTCTTACCCCCATCATTTCTTC
TTCTGCTAGCCTCTTCTGGTGTCGAAGCTGGAGCCGGGACAGGATGAACAGTATACCCAC
CTCTTGCAGGCAACCTAGCCCATGCAGGAGCATCAGTAGATCTGACAATTTTTTCACTTC
ACTTAGCAGGTGTCTCATCAATCCTGGGAGCAATTAACTTTATTACTACAACAATTAATA
TAAAACCCCCAGCCATCTCCCAGTATCAAACACCCTTATTTGTTTGATCTGTACTCGTAA
CTGCCGTACTGCTACTCCTATCATTACCAGTTTTAGCCGCTGGAATTACAATACTTCTAA
CAGATCGAAACCTAAACACCACATTCTTTGATCCGGCAGGAGGAGGGGATCCAATTCTAT
ATCAACACCTATTCTGATTC

>C.luteus-282-Hilvan

CCGCCTTAAGCCTTCTCATCCGGGCTGAACTAAGCCAACCCGGATCGCTTCTAGGCGATG
ACCAAATTTATAATGTTATCGTAACTGCTCACGCCTTCGTAATAATCTTCTTTATAGTAA
TACCCATTCTCATTGGAGGATTTGGAAACTGGCTTGTACCTCTAATAATCGGAGCCCCAG
ACATGGCGTTCCCGCGTATAAATAACATAAGTTTTTGACTCTTACCCCCATCATTTCTTC
TTCTGCTAGCCTCTTCTGGTGTCGAAGCTGGAGCCGGGACAGGATGAACAGTATACCCAC
CTCTTGCAGGCAACCTAGCCCATGCAGGAGCATCAGTAGATCTGACAATTTTTTCACTTC
ACTTAGCAGGTGTCTCATCAATCCTGGGAGCAATTAACTTTATTACTACAACAATTAATA
TAAAACCCCCAGCCATCTCCCAGTATCAAACACCCTTATTTGTTTGATCTGTACTCGTAA
CTGCCGTACTGCTACTCCTATCATTACCAGTTTTAGCCGCTGGAATTACAATACTTCTAA
CAGATCGAAACCTAAACACCACATTCTTTGATCCGGCAGGAGGAGGGGATCCAATTCTAT
ATCAACACCTATTCTGATTC

>C.luteus-284-Hilvan

CCGCCTTAAGCCTTCTCATCCGGGCTGAACTAAGCCAACCCGGATCGCTTCTAGGCGATG
ACCAAATTTATAATGTTATCGTAACTGCTCACGCCTTCGTAATAATCTTCTTTATAGTAA
TACCCATTCTCATTGGAGGATTTGGAAACTGGCTTGTACCTCTAATAATCGGAGCCCCAG
ACATGGCGTTCCCGCGTATAAATAACATAAGTTTTTGACTCTTACCCCCATCATTTCTTC
TTCTGCTAGCCTCTTCTGGTGTCGAAGCTGGAGCCGGGACAGGATGAACAGTATACCCAC
CTCTTGCAGGCAACCTAGCCCATGCAGGAGCATCAGTAGATCTGACAATTTTTTCACTTC
ACTTAGCAGGTGTCTCATCAATCCTGGGAGCAATTAACTTTATTACTACAACAATTAATA
TAAAACCCCCAGCCATCTCCCAGTATCAAACACCCTTATTTGTTTGATCTGTACTCGTAA
CTGCCGTACTGCTACTCCTATCATTACCAGTTTTAGCCGCTGGAATTACAATACTTCTAA
CAGATCGAAACCTAAACACCACATTCTTTGATCCGGCAGGAGGAGGGGATCCAATTCTAT
ATCAACACCTATTCTGATTC

>C.luteus-290-Hilvan

CCGCCTTAAGCCTTCTCATCCGGGCTGAACTAAGCCAACCCGGATCGCTTCTAGGCGATG
ACCAAATTTATAATGTTATCGTAACTGCTCACGCCTTCGTAATAATCTTCTTTATAGTAA
TACCCATTCTCATTGGAGGATTTGGAAACTGGCTTGTACCTCTAATAATCGGAGCCCCAG
ACATGGCGTTCCCGCGTATAAATAACATAAGTTTTTGACTCTTACCCCCATCATTTCTTC
TTCTGCTAGCCTCTTCTGGTGTCGAAGCTGGAGCCGGGACAGGATGAACAGTATACCCAC
CTCTTGCAGGCAACCTAGCCCATGCAGGAGCATCAGTAGATCTGACAATTTTTTCACTTC
ACTTAGCAGGTGTCTCATCAATCCTGGGAGCAATTAACTTTATTACTACAACAATTAATA
TAAAACCCCCAGCCATCTCCCAGTATCAAACACCCTTATTTGTTTGATCTGTACTCGTAA
CTGCCGTACTGCTACTCCTATCATTACCAGTTTTAGCCGCTGGAATTACAATACTTCTAA
CAGATCGAAACCTAAACACCACATTCTTTGATCCGGCAGGAGGAGGGGATCCAATTCTAT
ATCAACACCTATTCTGATTC

>C.luteus-293-Hilvan

CCGCCTTAAGCCTTCTCATCCGGGCTGAACTAAGCCAACCCGGATCGCTTCTAGGCGATG
ACCAAATTTATAATGTTATCGTAACTGCTCACGCCTTCGTAATAATCTTCTTTATAGTAA
TACCCATTCTCATTGGAGGATTTGGAAACTGGCTTGTACCTCTAATAATCGGAGCCCCAG
ACATGGCGTTCCCGCGTATAAATAACATAAGTTTTTGACTCTTACCCCCATCATTCCTTC
TTCTGCTAGCCTCTTCCGGTGTTGAAGCTGGAGCTGGGACAGGATGAACAGTATACCCAC
CTCTTGCAGGCAACCTAGCCCATGCAGGAGCATCAGTAGATCTGACAATTTTTTCACTTC
ATTTAGCAGGTGTCTCATCAATCCTGGGAGCAATTAACTTTATTACTACAACAATTAATA
TAAAACCCCCAGCCATCTCCCAGTATCAAACACCCTTATTTGTTTGATCTGTACTCGTAA
CTGCCGTACTGCTACTCCTATCACTACCAGTTTTAGCCGCTGGAATTACAATACTTCTAA
CAGATCGAAACCTAAACACCACATTCTTTGATCCGGCAGGAGGAGGGGATCCAATTCTAT
ATCAACACCTATTCTGATTC

>C.luteus-294-Hilvan

CCGCCTTAAGCCTTCTCATCCGGGCTGAACTAAGCCAACCCGGATCGCTTCTAGGCGATG
ACCAAATTTATAATGTTATCGTAACTGCTCACGCCTTCGTAATAATCTTCTTTATAGTAA
TACCCATTCTCATTGGAGGATTTGGAAACTGGCTTGTACCTCTAATAATCGGAGCCCCAG
ACATGGCGTTCCCGCGTATAAATAACATAAGTTTTTGACTCTTACCCCCATCATTTCTTC
TTCTGCTAGCCTCTTCTGGTGTCGAAGCTGGAGCCGGGACAGGATGAACAGTATACCCAC
CTCTTGCAGGCAACCTAGCCCATGCAGGAGCATCAGTAGATCTGACAATTTTTTCACTTC
ACTTAGCAGGTGTCTCATCAATCCTGGGAGCAATTAACTTTATTACTACAACAATTAATA
TAAAACCCCCAGCCATCTCCCAGTATCAAACACCCTTATTTGTTTGATCTGTACTCGTAA
CTGCCGTACTGCTACTCCTATCATTACCAGTTTTAGCCGCTGGAATTACAATACTTCTAA
CAGATCGAAACCTAAACACCACATTCTTTGATCCGGCAGGAGGAGGGGATCCAATTCTAT
ATCAACACCTATTCTGATTC

>C.luteus-295-Hilvan

CCGCCTTAAGCCTTCTCATCCGGGCTGAACTAAGCCAACCCGGATCGCTTCTAGGCGATG
ACCAAATTTATAATGTTATCGTAACTGCTCACGCCTTCGTAATAATCTTCTTTATAGTAA
TACCCATTCTCATTGGAGGATTTGGAAACTGGCTTGTACCTCTAATAATCGGAGCCCCAG
ACATGGCGTTCCCGCGTATAAATAACATAAGTTTTTGACTCTTACCCCCATCATTTCTTC
TTCTGCTAGCCTCTTCTGGTGTCGAAGCTGGAGCCGGGACAGGATGAACAGTATACCCAC
CTCTTGCAGGCAACCTAGCCCATGCAGGAGCATCAGTAGATCTGACAATTTTTTCACTTC
ACTTAGCAGGTGTCTCATCAATCCTGGGAGCAATTAACTTTATTACTACAACAATTAATA
TAAAACCCCCAGCCATCTCCCAGTATCAAACACCCTTATTTGTTTGATCTGTACTCGTAA
CTGCCGTACTGCTACTCCTATCATTACCAGTTTTAGCCGCTGGAATTACAATACTTCTAA
CAGATCGAAACCTAAACACCACATTCTTTGATCCGGCAGGAGGAGGGGATCCAATTCTAT
ATCAACACCTATTCTGATTC

>C.luteus-296-Hilvan

-CGCCTTAAGCCTTCTCATCCGGGCTGAACTAAGCCAACCCGGATCGCTTCTAGGCGATG
ACCAAATTTATAATGTTATCGTAACTGCTCACGCCTTCGTAATAATCTTCTTTATAGTAA
TACCCATTCTCATTGGAGGATTTGGAAACTGGCTTGTACCTCTAATAATCGGAGCCCCAG
ACATGGCGTTCCCGCGTATAAATAACATAAGTTTTTGACTCTTACCCCCATCATTTCTTC
TTCTGCTAGCCTCTTCTGGTGTCGAAGCTGGAGCCGGGACAGGATGAACAGTATACCCAC
CTCTTGCAGGCAACCTAGCCCATGCAGGAGCATCAGTAGATCTGACAATTTTTTCACTTC
ACTTAGCAGGTGTCTCATCAATCCTGGGAGCAATTAACTTTATTACTACAACAATTAATA
TAAAACCCCCAGCCATCTCCCAGTATCAAACACCCTTATTTGTTTGATCTGTACTCGTAA
CTGCCGTACTGCTACTCCTATCATTACCAGTTTTAGCCGCTGGAATTACAATACTTCTAA
CAGATCGAAACCTAAACACCACATTCTTTGATCCGGCAGGAGGAGGGGATCCAATTCTAT
ATCAACACCTATTCTGATTC

>C.luteus-297-Hilvan

-CGCCTTAAGCCTTCTCATCCGGGCTGAACTAAGCCAACCCGGATCGCTTCTAGGCGATG
ACCAAATTTATAATGTTATCGTAACTGCTCACGCCTTCGTAATAATCTTCTTTATAGTAA
TACCCATTCTCATTGGAGGATTTGGAAACTGGCTTGTACCTCTAATAATCGGAGCCCCAG
ACATGGCGTTCCCGCGTATAAATAACATAAGTTTTTGACTCTTACCCCCATCATTTCTTC
TTCTGCTAGCCTCTTCTGGTGTCGAAGCTGGAGCCGGGACAGGATGAACAGTATACCCAC
CTCTTGCAGGCAACCTAGCCCATGCAGGAGCATCAGTAGATCTGACAATTTTTTCACTTC
ACTTAGCAGGTGTCTCATCAATCCTGGGAGCAATTAACTTTATTACTACAACAATTAATA
TAAAACCCCCAGCCATCTCCCAGTATCAAACACCCTTATTTGTTTGATCTGTACTCGTAA
CTGCCGTACTGCTACTCCTATCATTACCAGTTTTAGCCGCTGGAATTACAATACTTCTAA
CAGATCGAAACCTAAACACCACATTCTTTGATCCGGCAGGAGGAGGGGATCCAATTCTAT
ATCAACACCTATTCTGATTC

>C.luteus-152-Bismil

CCGCCTTAAGCCTTCTCATCCGGGCTGAACTAAGCCAACCCGGATCGCTTCTAGGCGATG
ACCAAATTTATAATGTTATCGTAACTGCTCACGCCTTCGTAATAATCTTCTTTATAGTAA
TACCCATTCTCATTGGAGGATTTGGAAACTGGCTTGTACCTCTAATAATCGGAGCCCCAG
ACATGGCGTTCCCGCGTATAAATAACATAAGTTTTTGACTCTTACCCCCATCATTTCTTC
TTCTGCTAGCCTCTTCTGGTGTCGAAGCTGGAGCCGGGACAGGATGAACAGTATACCCAC
CTCTTGCAGGCAACCTAGCCCATGCAGGAGCATCAGTAGATCTGACAATTTTTTCACTTC
ACTTAGCAGGTGTCTCATCAATCCTGGGAGCAATTAACTTTATTACTACAACAATTAATA
TAAAACCCCCAGCCATCTCCCAGTATCAAACACCCTTATTTGTTTGATCTGTACTCGTAA
CTGCCGTACTGCTACTCCTATCATTACCAGTTTTAGCCGCTGGAATTACAATACTTCTAA
CAGATCGAAACCTAAACACCACATTCTTTGATCCGGCAGGAGGAGGGGATCCAATTCTAT
ATCAACACCTATTCTGATTC

>C.luteus-154-Bismil

CCGCCTTAAGCCTTCTCATCCGGGCTGAACTAAGCCAACCCGGATCGCTTCTAGGCGATG
ACCAAATTTATAATGTTATCGTAACTGCTCACGCCTTCGTAATAATCTTCTTTATAGTAA
TACCCATTCTCATTGGAGGATTTGGAAACTGGCTTGTACCTCTAATAATCGGAGCCCCAG
ACATGGCGTTCCCGCGTATAAATAACATAAGTTTTTGACTCTTACCCCCATCATTTCTTC
TTCTGCTAGCCTCTTCTGGTGTCGAAGCTGGAGCCGGGACAGGATGAACAGTATACCCAC
CTCTTGCAGGCAACCTAGCCCATGCAGGAGCATCAGTAGATCTGACAATTTTTTCACTTC
ACTTAGCAGGTGTCTCATCAATCCTGGGAGCAATTAACTTTATTACTACAACAATTAATA
TAAAACCCCCAGCCATCTCCCAGTATCAAACACCCTTATTTGTTTGATCTGTACTCGTAA
CTGCCGTACTGCTACTCCTATCATTACCAGTTTTAGCCGCTGGAATTACAATACTTCTAA
CAGATCGAAACCTAAACACCACATTCTTTGATCCGGCAGGAGGAGGGGATCCAATTCTAT
ATCAACACCTATTCTGATTC

>C.luteus-53-Bismil

CCGCCTTAAGCCTTCTCATCCGGGCTGAACTAAGCCAACCCGGATCGCTTCTAGGCGATG
ACCAAATTTATAATGTTATCGTAACTGCTCACGCCTTCGTAATAATCTTCTTTATAGTAA
TACCCATTCTCATTGGAGGATTTGGAAACTGGCTTGTACCTCTAATAATCGGAGCCCCAG
ACATGGCGTTCCCGCGTATAAATAACATAAGTTTTTGACTCTTACCCCCATCATTTCTTC
TTCTGCTAGCCTCTTCTGGTGTCGAAGCTGGAGCCGGGACAGGATGAACAGTATACCCAC
CTCTTGCAGGCAACCTAGCCCATGCAGGAGCATCAGTAGATCTGACAATTTTTTCACTTC
ACTTAGCAGGTGTCTCATCAATCCTGGGAGCAATTAACTTTATTACTACAACAATTAATA
TAAAACCCCCAGCCATCTCCCAGTATCAAACACCCTTATTTGTTTGATCTGTACTCGTAA
CTGCCGTACTGCTACTCCTATCATTACCAGTTTTAGCCGCTGGAATTACAATACTTCTAA
CAGATCGAAACCTAAACACCACATTCTTTGATCCGGCAGGAGGAGGGGATCCAATTCTAT
ATCAACACCTATTCTGATTC

>C.luteus-61-Bismil

CCGCCTTAAGCCTTCTCATCCGGGCTGAACTAAGCCAACCCGGATCGCTTCTAGGCGATG
ACCAAATTTATAATGTTATCGTAACTGCTCACGCCTTCGTAATAATCTTCTTTATAGTAA
TACCCATTCTCATTGGAGGATTTGGAAACTGGCTTGTACCTCTAATAATCGGAGCCCCAG
ACATGGCGTTCCCGCGTATAAATAACATAAGTTTTTGACTCTTACCCCCATCATTTCTTC
TTCTGCTAGCCTCTTCTGGTGTCGAAGCTGGAGCCGGGACAGGATGAACAGTATACCCAC
CTCTTGCAGGCAACCTAGCCCATGCAGGAGCATCAGTAGATCTGACAATTTTTTCACTTC
ACTTAGCAGGTGTCTCATCAATCCTGGGAGCAATTAACTTTATTACTACAACAATTAATA
TAAAACCCCCAGCCATCTCCCAGTATCAAACACCCTTATTTGTTTGATCTGTACTCGTAA
CTGCCGTACTGCTACTCCTATCATTACCAGTTTTAGCCGCTGGAATTACAATACTTCTAA
CAGATCGAAACCTAAACACCACATTCTTTGATCCGGCAGGAGGAGGGGATCCAATTCTAT
ATCAACACCTATTCTGATTC

>C.luteus-62-Bismil

CCGCCTTAAGCCTTCTCATCCGGGCTGAACTAAGCCAACCCGGATCGCTTCTAGGCGATG
ACCAAATTTATAATGTTATCGTAACTGCTCACGCCTTCGTAATAATCTTCTTTATAGTAA
TACCCATTCTCATTGGAGGATTTGGAAACTGGCTTGTACCTCTAATAATCGGAGCCCCAG
ACATGGCGTTCCCGCGTATAAATAACATAAGTTTTTGACTCTTACCCCCATCATTTCTTC
TTCTGCTAGCCTCTTCTGGTGTCGAAGCTGGAGCCGGGACAGGATGAACAGTATACCCAC
CTCTTGCAGGCAACCTAGCCCATGCAGGAGCATCAGTAGATCTAACAATTTTTTCACTTC
ACTTAGCAGGTGTCTCATCAATCCTGGGAGCAATTAACTTTATTACTACAACAATTAATA
TAAAACCCCCAGCCATCTCCCAGTATCAAACACCCTTATTTGTTTGATCTGTACTCGTAA
CTGCCGTACTACTACTCCTATCATTACCAGTTTTAGCCGCTGGAATTACAATACTTCTAA
CAGATCGAAACCTAAACACCACATTCTTTGATCCGGCAGGAGGAGGGGATCCAATTCTAT
ATCAACACCTATTCTGATTC

>C.luteus-63-Bismil

CCGCCTTAAGCCTTCTCATCCGGGCTGAACTAAGCCAACCCGGATCGCTTCTAGGCGATG
ACCAAATTTATAATGTTATCGTAACTGCTCACGCCTTCGTAATAATCTTCTTTATAGTAA
TACCCATTCTCATTGGAGGATTTGGAAACTGGCTTGTACCTCTAATAATCGGAGCCCCAG
ACATGGCGTTCCCGCGTATAAATAACATAAGTTTTTGACTCTTACCCCCATCATTTCTTC
TTCTGCTAGCCTCTTCTGGTGTCGAAGCTGGAGCCGGGACAGGATGAACAGTATACCCAC
CTCTTGCAGGCAACCTAGCCCATGCAGGAGCATCAGTAGATCTGACAATTTTTTCACTTC
ACTTAGCAGGTGTCTCATCAATCCTGGGAGCAATTAACTTTATTACTACAACAATTAATA
TAAAACCCCCAGCCATCTCCCAGTATCAAACACCCTTATTTGTTTGATCTGTACTCGTAA
CTGCCGTACTGCTACTCCTATCATTACCAGTTTTAGCCGCTGGAATTACAATACTTCTAA
CAGATCGAAACCTAAACACCACATTCTTTGATCCGGCAGGAGGAGGAGATCCAATTCTAT
ATCAACACCTATTCTGATTC

>C.luteus-64-Bismil

CCGCCTTAAGCCTTCTCATCCGGGCTGAACTAAGCCAACCCGGATCGCTTCTAGGCGATG
ACCAAATTTATAATGTTATCGTAACTGCTCACGCCTTCGTAATAATCTTCTTTATAGTAA
TACCCATTCTCATTGGAGGATTTGGAAACTGGCTTGTACCTCTAATAATCGGAGCCCCAG
ACATGGCGTTCCCGCGTATAAATAACATAAGTTTTTGACTCTTACCCCCATCATTTCTTC
TTCTGCTAGCCTCTTCTGGTGTCGAAGCTGGAGCCGGGACAGGATGAACAGTATACCCAC
CTCTTGCAGGCAACCTAGCCCATGCAGGAGCATCAGTAGATCTGACAATTTTTTCACTTC
ACTTAGCAGGTGTCTCATCAATCCTGGGAGCAATTAACTTTATTACTACAACAATTAATA
TAAAACCCCCAGCCATCTCCCAGTATCAAACACCCTTATTTGTTTGATCTGTACTCGTAA
CTGCCGTACTGCTACTCCTATCATTACCAGTTTTAGCCGCTGGAATTACAATACTTCTAA
CAGATCGAAACCTAAACACCACATTCTTTGATCCGGCAGGAGGAGGAGATCCAATTCTAT
ATCAACACCTATTCTGATTC

>C.luteus-65-Bismil

CCGCCTTAAGCCTTCTCATCCGGGCTGAACTAAGCCAACCCGGATCGCTTCTAGGCGATG
ACCAAATTTATAATGTTATCGTAACTGCTCACGCCTTCGTAATAATCTTCTTTATAGTAA
TACCCATTCTCATTGGAGGATTTGGAAACTGGCTTGTACCTCTAATAATCGGAGCCCCAG
ACATGGCGTTCCCGCGTATAAATAACATAAGTTTTTGACTCTTACCCCCATCATTTCTTC
TTCTGCTAGCCTCTTCTGGTGTCGAAGCTGGAGCCGGGACAGGATGAACAGTATACCCAC
CTCTTGCAGGCAACCTAGCCCATGCAGGAGCATCAGTAGATCTGACAATTTTTTCACTTC
ACTTAGCAGGTGTCTCATCAATCCTGGGAGCAATTAACTTTATTACTACAACAATTAATA
TAAAACCCCCAGCCATCTCCCAGTATCAAACACCCTTATTTGTTTGATCTGTACTCGTAA
CTGCCGTACTGCTACTCCTATCATTACCAGTTTTAGCCGCTGGAATTACAATACTTCTAA
CAGATCGAAACCTAAACACCACATTCTTTGATCCGGCAGGAGGAGGGGATCCAATTCTAT
ATCAACACCTATTCTGATTC

>C.luteus-157-Bismil

CCGCCTTAAGCCTTCTCATCCGGGCTGAACTAAGCCAACCCGGATCGCTTCTAGGCGATG
ACCAAATTTATAATGTTATCGTAACTGCTCACGCCTTCGTAATAATCTTCTTTATAGTAA
TACCCATTCTCATTGGAGGATTTGGAAACTGGCTTGTACCTCTAATAATCGGAGCCCCAG
ACATGGCGTTCCCGCGTATAAATAACATAAGTTTTTGACTCTTACCCCCATCATTTCTTC
TTCTGCTAGCCTCTTCTGGTGTCGAAGCTGGAGCCGGGACAGGATGAACAGTATACCCAC
CTCTTGCAGGCAACCTAGCCCATGCAGGAGCATCAGTAGATCTGACAATTTTTTCACTTC
ACTTAGCAGGTGTCTCATCAATCCTGGGAGCAATTAACTTTATTACTACAACAATTAATA
TAAAACCCCCAGCCATCTCCCAGTATCAAACACCCTTATTTGTTTGATCTGTACTCGTAA
CTGCCGTACTGCTACTCCTATCATTACCAGTTTTAGCCGCTGGAATTACAATACTTCTAA
CAGATCGAAACCTAAACACCACATTCTTTGATCCGGCAGGAGGAGGGGATCCAATTCTAT
ATCAACACCTATTCTGATTC

>C.luteus-158-Bismil

CCGCCTTAAGCCTTCTCATCCGGGCTGAACTAAGCCAACCCGGATCGCTTCTAGGCGATG
ACCAAATTTATAATGTTATCGTAACTGCTCACGCCTTCGTAATAATCTTCTTTATAGTAA
TACCCATTCTCATTGGAGGATTTGGAAACTGGCTTGTACCTCTAATAATCGGAGCCCCAG
ACATGGCGTTCCCGCGTATAAATAACATAAGTTTTTGACTCTTACCCCCATCATTCCTTC
TTCTGCTAGCCTCTTCCGGTGTTGAAGCTGGAGCTGGGACAGGATGAACAGTATACCCAC
CTCTTGCAGGCAACCTAGCCCATGCAGGAGCATCAGTAGATCTGACAATTTTTTCACTTC
ATTTAGCAGGTGTCTCATCAATCCTGGGAGCAATTAACTTTATTACTACAACAATTAATA
TAAAACCCCCAGCCATCTCCCAGTATCAAACACCCTTATTTGTTTGATCTGTACTCGTAA
CTGCCGTACTGCTACTCCTATCACTACCAGTTTTAGCCGCTGGAATTACAATACTTCTAA
CAGATCGAAACCTAAACACCACATTCTTTGATCCGGCAGGAGGAGGGGATCCAATTCTAT
ATCAACACCTATTCTGATTC

>C.luteus-159-Bismil

CCGCCTTAAGCCTTCTCATCCGGGCTGAACTAAGCCAACCCGGATCGCTTCTAGGCGATG
ACCAAATTTATAATGTTATCGTAACTGCTCACGCCTTCGTAATAATCTTCTTTATAGTAA
TACCCATTCTCATTGGAGGATTTGGAAACTGGCTTGTACCTCTAATAATCGGAGCCCCAG
ACATGGCGTTCCCGCGTATAAATAACATAAGTTTTTGACTCTTACCCCCATCATTTCTTC
TTCTGCTAGCCTCTTCTGGTGTCGAAGCTGGAGCCGGGACAGGATGAACAGTATACCCAC
CTCTTGCAGGCAACCTAGCCCATGCAGGAGCATCAGTAGATCTGACAATTTTTTCACTTC
ACTTAGCAGGTGTCTCATCAATCCTGGGAGCAATTAACTTTATTACTACAACAATTAATA
TAAAACCCCCAGCCATCTCCCAGTATCAAACACCCTTATTTGTTTGATCTGTACTCGTAA
CTGCCGTACTGCTACTCCTATCATTACCAGTTTTAGCCGCTGGAATTACAATACTTCTAA
CAGATCGAAACCTAAACACCACATTCTTTGATCCGGCAGGAGGAGGGGATCCAATTCTAT
ATCAACACCTATTCTGATTC

>C.luteus-160-Bismil

CCGCCTTAAGCCTTCTCATCCGGGCTGAACTAAGCCAACCCGGATCGCTTCTAGGCGATG
ACCAAATTTATAATGTTATCGTAACTGCTCACGCCTTCGTAATAATCTTCTTTATAGTAA
TACCCATTCTCATTGGAGGATTTGGAAACTGGCTTGTACCTCTAATAATCGGAGCCCCAG
ACATGGCGTTCCCGCGTATAAATAACATAAGTTTTTGACTCTTACCCCCATCATTTCTTC
TTCTGCTAGCCTCTTCTGGTGTCGAAGCTGGAGCCGGGACAGGATGAACAGTATACCCAC
CTCTTGCAGGCAACCTAGCCCATGCAGGAGCATCAGTAGATCTGACAATTTTTTCACTTC
ACTTAGCAGGTGTCTCATCAATCCTGGGAGCAATTAACTTTATTACTACAACAATTAATA
TAAAACCCCCAGCCATCTCCCAGTATCAAACACCCTTATTTGTTTGATCTGTACTCGTAA
CTGCCGTACTGCTACTCCTATCATTACCAGTTTTAGCCGCTGGAATTACAATACTTCTAA
CAGATCGAAACCTAAACACCACATTCTTTGATCCGGCAGGAGGAGGGGATCCAATTCTAT
ATCAACACCTATTCTGATTC

>C.luteus-161-Bismil

CCGCCTTAAGCCTTCTCATCCGGGCTGAACTAAGCCAACCCGGATCGCTTCTAGGCGATG
ACCAAATTTATAATGTTATCGTAACTGCTCACGCCTTCGTAATAATCTTCTTTATAGTAA
TACCCATTCTCATTGGAGGATTTGGAAACTGGCTTGTACCTCTAATAATCGGAGCCCCAG
ACATGGCGTTCCCGCGTATAAATAACATAAGTTTTTGACTCTTACCCCCATCATTTCTTC
TTCTGCTAGCCTCTTCTGGTGTCGAAGCTGGAGCCGGGACAGGATGAACAGTATACCCAC
CTCTTGCAGGCAACCTAGCCCATGCAGGAGCATCAGTAGATCTGACAATTTTTTCACTTC
ACTTAGCAGGTGTCTCATCAATCCTGGGAGCAATTAACTTTATTACTACAACAATTAATA
TAAAACCCCCAGCCATCTCCCAGTATCAAACACCCTTATTTGTTTGATCTGTACTCGTAA
CTGCCGTACTGCTACTCCTATCATTACCAGTTTTAGCCGCTGGAATTACAATACTTCTAA
CAGATCGAAACCTAAACACCACATTCTTTGATCCGGCAGGAGGAGGGGATCCAATTCTAT
ATCAACACCTATTCTGATTC

>C.luteus-162-Bismil

CCGCCTTAAGCCTTCTCATCCGGGCTGAACTAAGCCAACCCGGATCGCTTCTAGGCGATG
ACCAAATTTATAATGTTATCGTAACTGCTCACGCCTTCGTAATAATCTTCTTTATAGTAA
TACCCATTCTCATTGGAGGATTTGGAAACTGGCTTGTACCTCTAATAATCGGAGCCCCAG
ACATGGCGTTCCCGCGTATAAATAACATAAGTTTTTGACTCTTACCCCCATCATTTCTTC
TTCTGCTAGCCTCTTCTGGTGTCGAAGCTGGAGCCGGGACAGGATGAACAGTATACCCAC
CTCTTGCAGGCAACCTAGCCCATGCAGGAGCATCAGTAGATCTGACAATTTTTTCACTTC
ACTTAGCAGGTGTCTCATCAATCCTGGGAGCAATTAACTTTATTACTACAACAATTAATA
TAAAACCCCCAGCCATCTCCCAGTATCAAACACCCTTATTTGTTTGATCTGTACTCGTAA
CTGCCGTACTGCTACTCCTATCATTACCAGTTTTAGCCGCTGGAATTACAATACTTCTAA
CAGATCGAAACCTAAACACCACATTCTTTGATCCGGCAGGAGGAGGGGATCCAATTCTAT
ATCAACACCTATTCTGATTC

>C.luteus-163-Bismil

CCGCCTTAAGCCTTCTCATCCGGGCTGAACTAAGCCAACCCGGATCGCTTCTAGGCGATG
ACCAAATTTATAATGTTATCGTAACTGCTCACGCCTTCGTAATAATCTTCTTTATAGTAA
TACCCATTCTCATTGGAGGATTTGGAAACTGGCTTGTACCTCTAATAATCGGAGCCCCAG
ACATGGCGTTCCCGCGTATAAATAACATAAGTTTTTGACTCTTACCCCCATCATTCCTTC
TTCTGCTAGCCTCTTCCGGTGTTGAAGCTGGAGCTGGGACAGGATGAACAGTATACCCAC
CTCTTGCAGGCAACCTAGCCCATGCAGGAGCATCAGTAGATCTGACAATTTTTTCACTTC
ATTTAGCAGGTGTCTCATCAATCCTGGGAGCAATTAACTTTATTACTACAACAATTAATA
TAAAACCCCCAGCCATCTCCCAGTATCAAACACCCTTATTTGTTTGATCTGTACTCGTAA
CTGCCGTACTGCTACTCCTATCACTACCAGTTTTAGCCGCTGGAATTACAATACTTCTAA
CAGATCGAAACCTAAACACCACATTCTTTGATCCGGCAGGAGGAGGGGATCCAATTCTAT
ATCAACACCTATTCTGATTC

>C.luteus-164-Bismil

CCGCCTTAAGCCTTCTCATCCGGGCTGAACTAAGCCAACCCGGATCGCTTCTAGGCGATG
ACCAAATTTATAATGTTATCGTAACTGCTCACGCCTTCGTAATAATCTTCTTTATAGTAA
TACCCATTCTCATTGGAGGATTTGGAAACTGGCTTGTACCTCTAATAATCGGAGCCCCAG
ACATGGCGTTCCCGCGTATAAATAACATAAGTTTTTGACTCTTACCCCCATCATTTCTTC
TTCTGCTAGCCTCTTCTGGTGTCGAAGCTGGAGCCGGGACAGGATGAACAGTATACCCAC
CTCTTGCAGGCAACCTAGCCCATGCAGGAGCATCAGTAGATCTGACAATTTTTTCACTTC
ACTTAGCAGGTGTCTCATCAATCCTGGGAGCAATTAACTTTATTACTACAACAATTAATA
TAAAACCCCCAGCCATCTCCCAGTATCAAACACCCTTATTTGTTTGATCTGTACTCGTAA
CTGCCGTACTGCTACTCCTATCATTACCAGTTTTAGCCGCTGGAATTACAATACTTCTAA
CAGATCGAAACCTAAACACCACATTCTTTGATCCGGCAGGAGGAGGGGATCCAATTCTAT
ATCAACACCTATTCTGATTC

>C.luteus-165-Bismil

CCGCCTTAAGCCTTCTCATCCGGGCTGAACTAAGCCAACCCGGATCGCTTCTAGGCGATG
ACCAAATTTATAATGTTATCGTAACTGCTCACGCCTTCGTAATAATCTTCTTTATAGTAA
TACCCATTCTCATTGGAGGATTTGGAAACTGGCTTGTACCTCTAATAATCGGAGCCCCAG
ACATGGCGTTCCCGCGTATAAATAACATAAGTTTTTGACTCTTACCCCCATCATTTCTTC
TTCTGCTAGCCTCTTCTGGTGTCGAAGCTGGAGCCGGGACAGGATGAACAGTATACCCAC
CTCTTGCAGGCAACCTAGCCCATGCAGGAGCATCAGTAGATCTGACAATTTTTTCACTTC
ACTTAGCAGGTGTCTCATCAATCCTGGGAGCAATTAACTTTATTACTACAACAATTAATA
TAAAACCCCCAGCCATCTCCCAGTATCAAACACCCTTATTTGTTTGATCTGTACTCGTAA
CTGCCGTACTGCTACTCCTATCATTACCAGTTTTAGCCGCTGGAATTACAATACTTCTAA
CAGATCGAAACCTAAACACCACATTCTTTGATCCGGCAGGAGGAGGGGATCCAATTCTAT
ATCAACACCTATTCTGATTC

>C.luteus-166-Bismil

CCGCCTTAAGCCTTCTCATCCGGGCTGAACTAAGCCAACCCGGATCGCTTCTAGGCGATG
ACCAAATTTATAATGTTATCGTAACTGCTCACGCCTTCGTAATAATCTTCTTTATAGTAA
TACCCATTCTCATTGGAGGATTTGGAAACTGGCTTGTACCTCTAATAATCGGAGCCCCAG
ACATGGCGTTCCCGCGTATAAATAACATAAGTTTTTGACTCTTACCCCCATCATTTCTTC
TTCTGCTAGCCTCTTCTGGTGTCGAAGCTGGAGCCGGGACAGGATGAACAGTATACCCAC
CTCTTGCAGGCAACCTAGCCCATGCAGGAGCATCAGTAGATCTGACAATTTTTTCACTTC
ACTTAGCAGGTGTCTCATCAATCCTGGGAGCAATTAACTTTATTACTACAACAATTAATA
TAAAACCCCCAGCCATCTCCCAGTATCAAACACCCTTATTTGTTTGATCTGTACTCGTAA
CTGCCGTACTGCTACTCCTATCATTACCAGTTTTAGCCGCTGGAATTACAATACTTCTAA
CAGATCGAAACCTAAACACCACATTCTTTGATCCGGCAGGAGGAGGGGATCCAATTCTAT
ATCAACACCTATTCTGATTC

>C.luteus-167-Bismil

CCGCCTTAAGCCTTCTCATCCGGGCTGAACTAAGCCAACCCGGATCGCTTCTAGGCGATG
ACCAAATTTATAATGTTATCGTAACTGCTCACGCCTTCGTAATAATCTTCTTTATAGTAA
TACCCATTCTCATTGGAGGATTTGGAAACTGGCTTGTACCTCTAATAATCGGAGCCCCAG
ACATGGCGTTCCCGCGTATAAATAACATAAGTTTTTGACTCTTACCCCCATCATTCCTTC
TTCTGCTAGCCTCTTCCGGTGTTGAAGCTGGAGCTGGGACAGGATGAACAGTATACCCAC
CTCTTGCAGGCAACCTAGCCCATGCAGGAGCATCAGTAGATCTGACAATTTTTTCACTTC
ATTTAGCAGGTGTCTCATCAATCCTGGGAGCAATTAACTTTATTACTACAACAATTAATA
TAAAACCCCCAGCCATCTCCCAGTATCAAACACCCTTATTTGTTTGATCTGTACTCGTAA
CTGCCGTACTGCTACTCCTATCACTACCAGTTTTAGCCGCTGGAATTACAATACTTCTAA
CAGATCGAAACCTAAACACCACATTCTTTGATCCGGCAGGAGGAGGGGATCCAATTCTAT
ATCAACACCTATTCTGATTC

>C.luteus-168-Bismil

CCGCCTTAAGCCTTCTCATCCGGGCTGAACTAAGCCAACCCGGATCGCTTCTAGGCGATG
ACCAAATTTATAATGTTATCGTAACTGCTCACGCCTTCGTAATAATCTTCTTTATAGTAA
TACCCATTCTCATTGGAGGATTTGGAAACTGGCTTGTACCTCTAATAATCGGAGCCCCAG
ACATGGCGTTCCCGCGTATAAATAACATAAGTTTTTGACTCTTACCCCCATCATTTCTTC
TTCTGCTAGCCTCTTCTGGTGTCGAAGCTGGAGCCGGGACAGGATGAACAGTATACCCAC
CTCTTGCAGGCAACCTAGCCCATGCAGGAGCATCAGTAGATCTGACAATTTTTTCACTTC
ACTTAGCAGGTGTCTCATCAATCCTGGGAGCAATTAACTTTATTACTACAACAATTAATA
TAAAACCCCCAGCCATCTCCCAGTATCAAACACCCTTATTTGTTTGATCTGTACTCGTAA
CTGCCGTACTGCTACTCCTATCATTACCAGTTTTAGCCGCTGGAATTACAATACTTCTAA
CAGATCGAAACCTAAACACCACATTCTTTGATCCGGCAGGAGGAGGGGATCCAATTCTAT
ATCAACACCTATTCTGATTC

>C.luteus-275-Bismil

CCGCCTTAAGCCTTCTCATCCGGGCTGAACTAAGCCAACCCGGATCGCTTCTAGGCGATG
ACCAAATTTATAATGTTATCGTAACTGCTCACGCCTTCGTAATAATCTTCTTTATAGTAA
TACCCATTCTCATTGGAGGATTTGGAAACTGGCTTGTACCTCTAATAATCGGAGCCCCAG
ACATGGCGTTCCCGCGTATAAATAACATAAGTTTTTGACTCTTACCCCCATCATTTCTTC
TTCTGCTAGCCTCTTCTGGTGTCGAAGCTGGAGCCGGGACAGGATGAACAGTATACCCAC
CTCTTGCAGGCAACCTAGCCCATGCAGGAGCATCAGTAGATCTGACAATTTTTTCACTTC
ACTTAGCAGGTGTCTCATCAATCCTGGGAGCAATTAACTTTATTACTACAACAATTAATA
TAAAACCCCCAGCCATCTCCCAGTATCAAACACCCTTATTTGTTTGATCTGTACTCGTAA
CTGCCGTACTGCTACTCCTATCATTACCAGTTTTAGCCGCTGGAATTACAATACTTCTAA
CAGATCGAAACCTAAACACCACATTCTTTGATCCGGCAGGAGGAGGAGATCCAATTCTAT
ATCAACACCTATTCTGATTC

>C.luteus-276-Bismil

CCGCCTTAAGCCTTCTCATCCGGGCTGAACTAAGCCAACCCGGATCGCTTCTAGGCGATG
ACCAAATTTATAATGTTATCGTAACTGCTCACGCCTTCGTAATAATCTTCTTTATAGTAA
TACCCATTCTCATTGGAGGATTTGGAAACTGGCTTGTACCTCTAATAATCGGAGCCCCAG
ACATGGCGTTCCCGCGTATAAATAACATAAGTTTTTGACTCTTACCCCCATCATTTCTTC
TTCTGCTAGCCTCTTCTGGTGTCGAAGCTGGAGCCGGGACAGGATGAACAGTATACCCAC
CTCTTGCAGGCAACCTAGCCCATGCAGGAGCATCAGTAGATCTGACAATTTTTTCACTTC
ACTTAGCAGGTGTCTCATCAATCCTGGGAGCAATTAACTTTATTACTACAACAATTAATA
TAAAACCCCCAGCCATCTCCCAGTATCAAACACCCTTATTTGTTTGATCTGTACTCGTAA
CTGCCGTACTGCTACTCCTATCATTACCAGTTTTAGCCGCTGGAATTACAATACTTCTAA
CAGATCGAAACCTAAACACCACATTCTTTGATCCGGCAGGAGGAGGGGATCCAATTCTAT
ATCAACACCTATTCTGATTC

>C.luteus-243-Diyarbakır

CCGCCTTAAGCCTTCTCATCCGGGCTGAACTAAGCCAACCCGGATCGCTTCTAGGCGATG
ACCAAATTTATAATGTTATCGTAACTGCTCACGCCTTCGTAATAATCTTCTTTATAGTAA
TACCCATTCTCATTGGAGGATTTGGAAACTGGCTTGTACCTCTAATAATCGGAGCCCCAG
ACATGGCGTTCCCGCGTATAAATAACATAAGTTTTTGACTCTTACCCCCATCATTTCTTC
TTCTGCTAGCCTCTTCTGGTGTCGAAGCTGGAGCCGGGACAGGATGAACAGTATACCCAC
CTCTTGCAGGCAACCTAGCCCATGCAGGAGCATCAGTAGATCTGACAATTTTTTCACTTC
ACTTAGCAGGTGTCTCATCAATCCTGGGAGCAATTAACTTTATTACTACAACAATTAATA
TAAAACCCCCAGCCATCTCCCAGTATCAAACACCCTTATTTGTTTGATCTGTACTCGTAA
CTGCCGTACTGCTACTCCTATCATTACCAGTTTTAGCCGCTGGAATTACAATACTTCTAA
CAGATCGAAACCTAAACACCACATTCTTTGATCCGGCAGGAGGAGGAGATCCAATTCTAT
ATCAACACCTATTCTGATTC

>C.luteus-244-Diyarbakır

CCGCCTTAAGCCTTCTCATCCGGGCTGAACTAAGCCAACCCGGATCGCTTCTAGGCGATG
ACCAAATTTATAATGTTATCGTAACTGCTCACGCCTTCGTAATAATCTTCTTTATAGTAA
TACCCATTCTCATTGGAGGATTTGGAAACTGGCTTGTACCTCTAATAATCGGAGCCCCAG
ACATGGCGTTCCCGCGTATAAATAACATAAGTTTTTGACTCTTACCCCCATCATTTCTTC
TTCTGCTAGCCTCTTCTGGTGTCGAAGCTGGAGCCGGGACAGGATGAACAGTATACCCAC
CTCTTGCAGGCAACCTAGCCCATGCAGGAGCATCAGTAGATCTGACAATTTTTTCACTTC
ACTTAGCAGGTGTCTCATCAATCCTGGGAGCAATTAACTTTATTACTACAACAATTAATA
TAAAACCCCCAGCCATCTCCCAGTATCAAACACCCTTATTTGTTTGATCTGTACTCGTAA
CTGCCGTACTGCTACTCCTATCATTACCAGTTTTAGCCGCTGGAATTACAATACTTCTAA
CAGATCGAAACCTAAACACCACATTCTTTGATCCGGCAGGAGGAGGAGATCCAATTCTAT
ATCAACACCTATTCTGATTC

>C.luteus-245-Diyarbakır

CCGCCTTAAGCCTTCTCATCCGGGCTGAACTAAGCCAACCCGGATCGCTTCTAGGCGATG
ACCAAATTTATAATGTTATCGTAACTGCTCACGCCTTCGTAATAATCTTCTTTATAGTAA
TACCCATTCTCATTGGAGGATTTGGAAACTGGCTTGTACCTCTAATAATCGGAGCCCCAG
ACATGGCGTTCCCGCGTATAAATAACATAAGTTTTTGACTCTTACCCCCATCATTTCTTC
TTCTGCTAGCCTCTTCTGGTGTCGAAGCTGGAGCCGGGACAGGATGAACAGTATACCCAC
CTCTTGCAGGCAACCTAGCCCATGCAGGAGCATCAGTAGATCTGACAATTTTTTCACTTC
ACTTAGCAGGTGTCTCATCAATCCTGGGAGCAATTAACTTTATTACTACAACAATTAATA
TAAAACCCCCAGCCATCTCCCAGTATCAAACACCCTTATTTGTTTGATCTGTACTCGTAA
CTGCCGTACTGCTACTCCTATCATTACCAGTTTTAGCCGCTGGAATTACAATACTTCTAA
CAGATCGAAACCTAAACACCACATTCTTTGATCCGGCAGGAGGAGGAGATCCAATTCTAT
ATCAACACCTATTCTGATTC

>C.luteus-246-Diyarbakır

CCGCCTTAAGCCTTCTCATCCGGGCTGAACTAAGCCAACCCGGATCGCTTCTAGGCGATG
ACCAAATTTATAATGTTATCGTAACTGCTCACGCCTTCGTAATAATCTTCTTTATAGTAA
TACCCATTCTCATTGGAGGATTTGGAAACTGGCTTGTACCTCTAATAATCGGAGCCCCAG
ACATGGCGTTCCCGCGTATAAATAACATAAGTTTTTGACTCTTACCCCCATCATTTCTTC
TTCTGCTAGCCTCTTCTGGTGTCGAAGCTGGAGCCGGGACAGGATGAACAGTATACCCAC
CTCTTGCAGGCAACCTAGCCCATGCAGGAGCATCAGTAGATCTGACAATTTTTTCACTTC
ACTTAGCAGGTGTCTCATCAATCCTGGGAGCAATTAACTTTATTACTACAACAATTAATA
TAAAACCCCCAGCCATCTCCCAGTATCAAACACCCTTATTTGTTTGATCTGTACTCGTAA
CTGCCGTACTGCTACTCCTATCATTACCAGTTTTAGCCGCTGGAATTACAATACTTCTAA
CAGATCGAAACCTAAACACCACATTCTTTGATCCGGCAGGAGGAGGAGATCCAATTCTAT
ATCAACACCTATTCTGATTC

>C.luteus-247-Diyarbakır

CCGCCTTAAGCCTTCTCATCCGGGCTGAACTAAGCCAACCCGGATCGCTTCTAGGCGATG
ACCAAATTTATAATGTTATCGTAACTGCTCACGCCTTCGTAATAATCTTCTTTATAGTAA
TACCCATTCTCATTGGAGGATTTGGAAACTGGCTTGTACCTCTAATAATCGGAGCCCCAG
ACATGGCGTTCCCGCGTATAAATAACATAAGTTTTTGACTCTTACCCCCATCATTTCTTC
TTCTGCTAGCCTCTTCTGGTGTCGAAGCTGGAGCCGGGACAGGATGAACAGTATACCCAC
CTCTTGCAGGCAACCTAGCCCATGCAGGAGCATCAGTAGATCTGACAATTTTTTCACTTC
ACTTAGCAGGTGTCTCATCAATCCTGGGAGCAATTAACTTTATTACTACAACAATTAATA
TAAAACCCCCAGCCATCTCCCAGTATCAAACACCCTTATTTGTTTGATCTGTACTCGTAA
CTGCCGTACTGCTACTCCTATCATTACCAGTTTTAGCCGCTGGAATTACAATACTTCTAA
CAGATCGAAACCTAAACACCACATTCTTTGATCCGGCAGGAGGAGGAGATCCAATTCTAT
ATCAACACCTATTCTGATTC

>C.luteus-248-Diyarbakır

CCGCCTTAAGCCTTCTCATCCGGGCTGAACTAAGCCAACCCGGATCGCTTCTAGGCGATG
ACCAAATTTATAATGTTATCGTAACTGCTCACGCCTTCGTAATAATCTTCTTTATAGTAA
TACCCATTCTCATTGGAGGATTTGGAAACTGGCTTGTACCTCTAATAATCGGAGCCCCAG
ACATGGCGTTCCCGCGTATAAATAACATAAGTTTTTGACTCTTACCCCCATCATTTCTTC
TTCTGCTAGCCTCTTCTGGTGTCGAAGCTGGAGCCGGGACAGGATGAACAGTATACCCAC
CTCTTGCAGGCAACCTAGCCCATGCAGGAGCATCAGTAGATCTGACAATTTTTTCACTTC
ACTTAGCAGGTGTCTCATCAATCCTGGGAGCAATTAACTTTATTACTACAACAATTAATA
TAAAACCCCCAGCCATCTCCCAGTATCAAACACCCTTATTTGTTTGATCTGTACTCGTAA
CTGCCGTACTGCTACTCCTATCATTACCAGTTTTAGCCGCTGGAATTACAATACTTCTAA
CAGATCGAAACCTAAACACCACATTCTTTGATCCGGCAGGAGGAGGAGATCCAATTCTAT
ATCAACACCTATTCTGATTC

>C.luteus-250-Diyarbakır

CCGCCTTAAGCCTTCTCATCCGGGCTGAACTAAGCCAACCCGGATCGCTTCTAGGCGATG
ACCAAATTTATAATGTTATCGTAACTGCTCACGCCTTCGTAATAATCTTCTTTATAGTAA
TACCCATTCTCATTGGAGGATTTGGAAACTGGCTTGTACCTCTAATAATCGGAGCCCCAG
ACATGGCGTTCCCGCGTATAAATAACATAAGTTTTTGACTCTTACCCCCATCATTTCTTC
TTCTGCTAGCCTCTTCTGGTGTCGAAGCTGGAGCCGGGACAGGATGAACAGTATACCCAC
CTCTTGCAGGCAACCTAGCCCATGCAGGAGCATCAGTAGATCTGACAATTTTTTCACTTC
ACTTAGCAGGTGTCTCATCAATCCTGGGAGCAATTAACTTTATTACTACAACAATTAATA
TAAAACCCCCAGCCATCTCCCAGTATCAAACACCCTTATTTGTTTGATCTGTACTCGTAA
CTGCCGTACTGCTACTCCTATCATTACCAGTTTTAGCCGCTGGAATTACAATACTTCTAA
CAGATCGAAACCTAAACACCACATTCTTTGATCCGGCAGGAGGAGGAGATCCAATTCTAT
ATCAACACCTATTCTGATTC

>C.luteus-251-Diyarbakır

CCGCCTTAAGCCTTCTCATCCGGGCTGAACTAAGCCAACCCGGATCGCTTCTAGGCGATG
ACCAAATTTATAATGTTATCGTAACTGCTCACGCCTTCGTAATAATCTTCTTTATAGTAA
TACCCATTCTCATTGGAGGATTTGGAAACTGGCTTGTACCTCTAATAATCGGAGCCCCAG
ACATGGCGTTCCCGCGTATAAATAACATAAGTTTTTGACTCTTACCCCCATCATTTCTTC
TTCTGCTAGCCTCTTCTGGTGTCGAAGCTGGAGCCGGGACAGGATGAACAGTATACCCAC
CTCTTGCAGGCAACCTAGCCCATGCAGGAGCATCAGTAGATCTGACAATTTTTTCACTTC
ACTTAGCAGGTGTCTCATCAATCCTGGGAGCAATTAACTTTATTACTACAACAATTAATA
TAAAACCCCCAGCCATCTCCCAGTATCAAACACCCTTATTTGTTTGATCTGTACTCGTAA
CTGCCGTACTGCTACTCCTATCATTACCAGTTTTAGCCGCTGGAATTACAATACTTCTAA
CAGATCGAAACCTAAACACCACATTCTTTGATCCGGCAGGAGGAGGAGATCCAATTCTAT
ATCAACACCTATTCTGATTC

4.1.3. Populasyonların genetik yapısı

C. luteus populasyonlarının genetik yapısını belirlemek için pairwise Fst değerleri ve Moleküler varyans analizi (AMOVA) kullanılmıştır.

Çizelge 4.3. Populasyonların pairwise Fst değerleri

Lokalite	Adiyaman	Hilvan	Bismil	Diyarbakir
Adiyaman	0.00000	0.99967±0.0000	0.45818±0.0089	0.01421±0.0023
Hilvan	-0.12296	0.00000	0.49686±0.0092	0.04992±0.0034
Bismil	0.01223	-0.16880	0.00000	0.04661±0.0034
Diyarbakir	0.33181*	0.25595*	0.12370*	0.00000

*p <0.05

Çizelge 4.3.'de görüldüğü gibi Pairwise F_{ST} değerleri -0.16880 ila 0. 33181 arasında değişmektedir. Adıyaman, Hilvan ve Bismil populasyonları arasındaki değerler istatistiksel olarak önemsiz olmasına rağmen Diyarbakır populasyonu diğer tüm populasyonlarla arasındaki değerler önemli olarak çıkmıştır.

Çizelge 4.4. Dört *C. luteus* populasyonu için AMOVA analizi

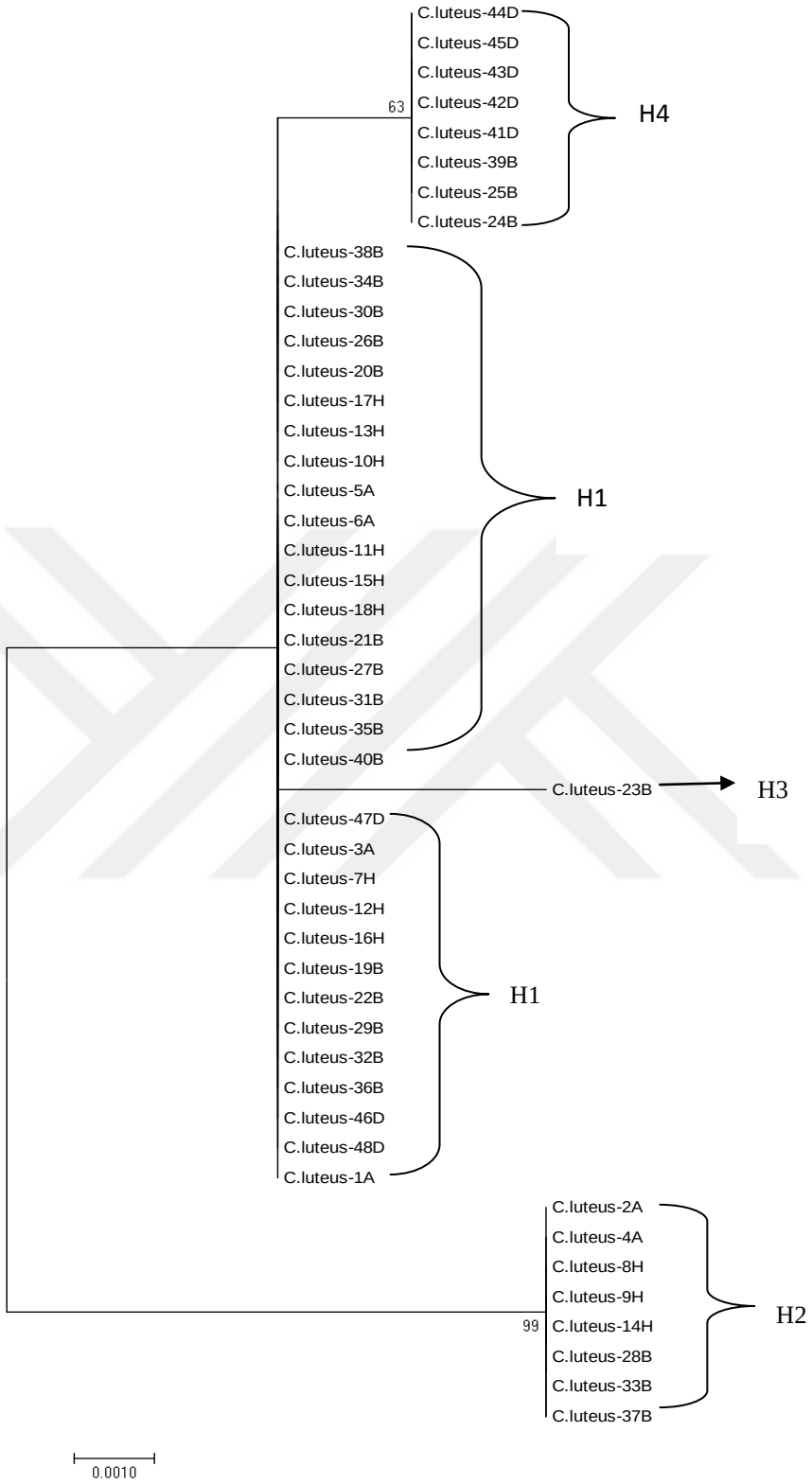
Varyasyon Kaynağı	D*f*	Karelerinin toplamı	Varyans bileşenleri	Varyasyon yüzdesi	F_{ST}	p-değeri
Gruplar arası	1	2.958	0.07958 Va	7.37		
Gruplarda ki populasyonlar arası	2	2.246	0.01381 Vb	1.28		
Populasyonlar içi	44	43.420	0.98683 Vc	91.35	**F_{ST}**: 0.08646	0.11535±0.00860
Toplam	47	48.625	1.08022			

Haplotip frekanslarına dayanarak yapılan AMOVA analizinde populasyonlar içi genetik varyasyon yüzdesi %91.35, populasyonlar arası % 1,28 olarak tespit edilmiştir. Ortalama Fiksasyon indeksi ise 0.08646 olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.4.).

4.1.4. Komşu birleştirme ağacı (Neighbour joining tree) analizi

mtDNA sonuçlarının analizinde ırklar arası genetik uzaklıkları belirlemek için farklı metodlar kullanılabilmekte ve bu metodlara göre komşu birleştirme dendogramları çizilebilmektedir. Komşu birleştirme ağacı (Neighbour joining tree) genetik uzaklıkların görsel olarak belirtilmesi amacıyla çizilmektedir.

Analiz edilen 48 *C.luteus* örneği için oluşturulan Neighbour - Joining Network haplotip ağında, toplam 4 haplotip belirlenmiş olup, elde edilen network evrimsel bir bağı gösteren merkezi bir haplotip (H1) varlığını göstermektedir. Tüm lokalitelerde de bu haplotipin en fazla haplotip olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca diğer tüm haplotiplerin H1 haplotipi ile bağlantılı olduğunu da söylemek mümkündür (Şekil 4.8.).



Şekil: 4.7. *C. luteus* haplotiplerine dayalı komşu birleştirme ağacı

4.1.5. Medyan birleştirme ağı (Median joining network) analizi

Bu çalışmada Medyan birleştirme ağı; NETWORK 4.6.1.0 (http://www.fluxus-engineering.com) programı yardımıyla çizilmiştir.



Şekil 4.8. *C. luteus* haplotiplerinin ağ modeli

Analiz edilen 48 *C. luteus* örneği için oluşturulan Median-Joining Network haplotip ağında, toplam 4 haplotip belirlenmiş olup, elde edilen network evrimsel bir bağı gösteren merkezi bir haplotip (H1) varlığını göstermektedir. Ayrıca diğer tüm haplotiplerin H1 haplotipi ile bağlantılı olduğunu söylemek mümkündür.

Tüm populasyonlardan elde edilen 4 haplotipin filogenetik ağacı Şekil 4.7.'de görülmektedir. Bu ağaç modelinde yine tüm haplotiplerin H1 haplotipi ile bağlantılı olduğu görülmektedir.

4.1.6. Nötralite testleri

Populasyonda bir alel için seçilim olup olmadığını gösteren nötralite testlerine ait olan Tajima D ve Fu'Fs istatistikleri hesaplama sonucunun negatif ya da pozitif olmasına göre değerlendirilmiştir. Nötralite testleri (Tajima's D and Fu' Fs tests) her bir populasyon için uygulanmıştır. Tajima's D değerleri Bismil populasyonunda

negatif, diğer populasyonlarda ise pozitif olarak tespit edilmiş olup, tüm populasyonlarda istatistik olarak önemsizdir ($p>0.05$).

Fu' Fs tests değerleri ise tüm populasyonlarda pozitif olarak hesaplanmış ve tüm populasyonlarda istatistik olarak önemsizdir ($p>0.05$)

4.2. Tartışma

Bu çalışmada, Fırat ve Dicle nehrinden toplamda 4 populasyondan 48 *C. luteus* örneğinin mtDNA COI 625 bölgesi dizi analizi yapılarak populasyonların genetik çeşitliliği araştırılmıştır. Çalışılan bu bölge için 9 değişken bölge ve 4 haplotip tespit edilmiştir. Toplamda 31 bireyle en fazla H1 haplotipi gözlenmiş olup tüm populasyonlarda ortak olmasından dolayı H1 haplotipin atasal olduğu söylenebilir. Ayrıca H2 haplotipi Diyarbakır populasyonu hariç diğer 3 populasyonda da temsil edilmektedir. H3 haplotipi sadece 1 bireyle Bismil populasyonunda gözlenmiştir. H4 haplotipi Bismil'de 3 birey ile Diyarbakır'da ise 5 bireyle temsil edilmiştir. H3 ve H4 Dicle Nehri'ne özgü haplotiplerdir. Çalışılan populasyonlar arasında haplotip çeşitliliği Hilvan populasyonu dışındaki populasyonlarında birbirine oldukça yakın olarak hesaplanmıştır. Haplotip çeşitliliği (0.535) en yüksek olmasına rağmen nükleotid çeşitliliği en düşük (0.00089) olan Diyarbakır popülasyonudur. Ortalama haplotip çeşitliliği ve nükleotid çeşitliliği sırasıyla 0.538 ve 0.00345 olarak tespit edilmiştir.

Parmaksız ve Ekşi (2017), çalışmasında aynı sistemlerde yaşayan *Capoetta trutta* populasyonlarında aynı primerle yaptıkları çalışmada ortalama haplotip çeşitliliğini 0.642; nükleotid çeşitliliğini ise 0.00138 olarak tespit edilmiştir.

Parmaksız ve ark., (2017), çalışmasında aynı sistemlerde yaşayan *Barbus grypus* populasyonlarında aynı primerle yaptıkları çalışmada ortalama haplotip çeşitliliğini; 0.246 nükleotid çeşitliliğini ise 0.00045 olarak tespit edilmiştir.

Bu çalışmada haplotip çeşitliliği *C.trutta*'ya göre daha düşük *B.grypus*'a göre daha yüksek olmasına rağmen nükleotid çeşitliliği değeri her iki türe göre daha yüksek bulunmuştur.

Çevresel heterojenlik ve geniş populasyon büyüklükleri populasyonlardaki yüksek haplotip çeşitliliğinin korunmasını destekleyebilir (Nei, 1987; Avise, 1998). Nükleotid çeşitliliği (π) değeri her popülasyondaki tüm haplotip çiftleri arasındaki ortalama sayı farklarını gösterir (Saraswat ve ark., 2014). Dolayısıyla, π değerleri, bir populasyon için genetik çeşitliliğin mantıklı bir indeksidir (Nei & Li, 1979). Balıkta düşük nükleotid çeşitliliği ve yüksek haplotip çeşitliliği, muhtemelen düşük etkili populasyon büyüklüğünden sonra nüfus genişlemesine maruz kalmıştır (Saraswat, 2014). Düşük nükleotid çeşitlilik değerleri de düşük popülasyon çeşitliliğinin göstergesidir ve genetik çeşitlilik, yerleşim yeri, tıkanıklık etkileri ve antropojenik aktivite gibi birçok faktörden etkilenir (Ma ve ark., 2010; Fennando ve ark., 2000).

Çalışmamızda örnek alınan dört lokalite yerleşim merkezlerine yakın oldukları için balıkçılar ve yöre insanları tarafından bu balık türü avlanmaktadır. Avlanan balıklar hem bölge halkı tarafından tüketilmekte hem de komşu illere satışı yapılmaktadır. Avlanmanın yüksek olmasından dolayı *C. luteus* populasyonlarının genetik çeşitliliğini azaltmaktadır.

Medyan birleştirme ağı (Median joining network) analizinde, H1 haplotipinin ağın merkezinde ve dominant olduğunu ayrıca tüm haplotiplerin H1 haplotipinden oluşmaktadır (Şekil 4.8.). Bu haplotipin tüm populasyonlarda bulunup dominant olması atasal haplotip olduğunun göstergesidir.

Populasyonlar arası pairwise Fst değerleri -0.16880 ile 0.33181 arasında değer almıştır (Çizelge 4.3.). Adıyaman, Hilvan ve Bismil populasyonları arasındaki farklar önemsiz olmasına rağmen Diyarbakır populasyonu diğer tüm populasyonlarla arasındaki farklar istatiksel olarak önemli olarak tespit edilmiştir.

Bu çalışmada, haplotip frekanslarına dayalı olarak yapılan AMOVA analizi, gruplar arasındaki varyasyon yüzdesinin % 7.37, gruplar içindeki nüfusun % 1.28 ve populasyonun % 91.35'inde olduğunu ortaya koymuştur (Çizelge 4.4.). Ortalama tespit endeksi 0.08646 olarak hesaplandı.

Parmaksız ve Ekşi (2017), çalışmasında populasyonlar içi ve populasyonlar arası genetik varyasyon yüzdesi sırasıyla % 90.14 ve % 9.86, ortalama fiksasyon indeksi ise 0.09865 olarak hesaplamışlardır. Çalışmamız bu çalışma sonuçlarına uyumluluk göstermektedir. Populasyonlar arasındaki genetik farklılığın düşük çıkması bu populasyonlar arasında yüksek miktarda bir gen akışının veya bu populasyonların en son birbirlerinden izole olduklarının bir göstergesidir. Dicle Nehri, Türkiye'de doğar ve Irak topraklarına geçip orada Fırat Nehri ile birleşerek Şattülarap'ta Basra Körfezi'ne dökülür (Zeybek ve ark., 2016). Bu nehir sistemleri üzerinde barajlar kurulmadan önce bu birleşmeden dolayı bu balık türünün populasyonları arasında gen alışverişinin gerçekleşmiş olduğu söylenebilir.

Populasyonlarda ki Tajima's D değerleri; Adıyaman, Hilvan ve Diyarbakır populasyonlarında pozitif değer almış, Bismil populasyonunda ise negatif değer almış olup elde edilen değerlerin tümü istatistiksel olarak önemli çıkmamıştır ($p>0.05$). Fu's değerleri ise tüm populasyonlarda pozitif değerler almış ve yine istatistiksel olarak önemli çıkmamıştır ($p>0.05$). Ortalama Tajima's D değeri 0.05729 ve Fu's Fs değeri ise 3.351 olarak tespit edilmiştir.

Parmaksız ve Ekşi (2017), çalışmasında ortalama Tajima's D ve Fu's Fs değeri sırasıyla -1.08945 ve -2.946 olarak hesaplanmış Parmaksız ve ark., (2017), çalışmasında ise Tajima's D ve Fu's Fs değeri sırasıyla -0.91306 ve -1.098 olarak hesaplanbmış olup her iki değer de negatif olmasına rağmen bu çalışmada pozitif değerler almıştır.

Çizelge 4.5. Türkiye'de mtDNA COI 625 kullanılarak incelen balık türlerinin verileri

Species	**n**	**Nh**	**h**	**π**	**Tajima's D**	**Fu's Fs**
Capoeta trutta	47	7	0.642	0.00138	-1.08945	-2.946
Barbus grypus	36	3	0.246	0.00045	-0.91306	-1.098
Carasobarbus luteus	48	4	0.53812	0.00345	0.05729	3.351

Türkiye'de mtDNA COI 625 primeri kullanılarak çalışılan *C.trutta, B.grypus* ve *C.luteus* türlerine ait haplotip çeşitliliği, nükleotit çeşitliliği, Tajima's D ve Fu's Fs istatistiklerine ait veriler çizelge 4.5.'de verilmiştir.

Tajima'nın D'si, ayrım yapan alanların sayısı ile çiftli genetik mesafe arasındaki ayrımı ölçmek için kullanılır (Li ve ark., 2015). Olumlu bir Tajima'nın D ve Fu'nun Fs Testi, düşük ve yüksek frekanslı polimorfizmlerin düşük seviyelerini belirtir ve populasyon büyüklüğünde bir azalma olduğunu gösterir (Hu ve ark., 2016).

Bu çalışmadaki nötralite testlerindeki değerler dikkate alındığında Adıyaman, Hilvan ve Diyarbakır populasyonlarında azalma görülürken Bismil populasyonunda bir azalma görülmemektedir. Ayrıca Bismil populasyonunda 4 haplotipinde görülmesi populasyonlarda azalma olmadığına işarettir.

Yapılan bu çalışma ile elde edilen sonuçların tamamı *C. luteus* türü için ilk kez elde edilmiş verilerdir. mtDNA COI 625 gen bölgesi için belirlenen haplotipler literatür açısından yeni sonuçlar olup, bu türün genetik çeşitliliği açısından önemli bir veri seti oluşturmuştur.

Daha sonra yapılacak çalışmalarda daha çok populasyonlarda ve farklı genetik belirteçler kullanarak çalışmalar yapılması bu türün populasyon genetiği için daha da açıklayıcı olacaktır.

Genel olarak bu çalışmada örnek alınan Fırat ve Dicle Nehir sistemlerinin üzerine barajların olması, yerleşim yerlerinin nehir kıyılarına yakın olması, nehir yatağından kum ve su alınmasıyla birlikte nehir yatağında meydana gelen değişimler nehrin fiziksel, kimyasal ve biyolojik bileşiminde önemli değişikliler meydana getirmektedir. Aynı zamanda aşırı avlama, yabancı balık aşılanması, habitatların tahrip edilmesi populasyonlara etki ederek genetik çeşitliliğin azalmasına neden olacağı düşünülmektedir.

COI 625 gen bölgesine ait dizilerle ilgili NCBI'de *Carasobarbus luteus* türüne ait 7 haplotip mevcuttur. Bu 7 haplotipten 4'ü bu çalışmada tespit edilmiştir (Çizelge 4.6.).

Çizelge 4.6. *C. luteus* toplam haplotip

Haplotip	GenBank verileri
H1	Bu çalışma
H2	Bu çalışma
H3	Bu çalışma
H4	Bu çalışma
H5	KM590426.1
H6	KM590425.1
H7	KM590424.1

5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

5.1. Sonuçlar

1. *C.luteus* türünde mtDNA dizi analizi yapılarak bu belirteçin kullanımı öğrenilmiştir.

2. Elde edilen sekans verilerinin istatistiksel analizlerinin yapılma becerisi kazanılmıştır.

3. Fırat nehrinden ve Dicle nehrinden toplam 4 populasyona ait 48 *C. luteus* örneğinde ortalama 620 bç'lik mtDNA COI bölgesi dizi analizi yapılarak, 9 değişken bölge ve 4 haplotip tespit edilmiştir

4. Ortalama haplotip çeşitliliği (h) 0.538; Ortalama nükleotid çeşitliliği ise (π) 0.00345 olarak hesaplanmıştır. Çalışılan populasyonlar arasında haplotip çeşitliliği Hilvan populasyonu dışındaki populasyonlarında birbirine oldukça yakın olarak hesaplanmıştır. Haplotip çeşitliliği (0.535) en yüksek olmasına rağmen nükleotid çeşitliliği en düşük (0.00089) olan Diyarbakır popülasyonudur.

5. Toplamda tespit edilen 4 haplotipten Adıyaman 2, Hilvan 2, Bismil 4 ve Diyarbakır örneklerinde ise 2 haplotip görülmüştür. Tüm lokalitelerde ortak görülen 31 birey ile H1 haplotipidir.

6. H3 haplotipi ise sadece Bismil'de temsil edilmiştir. H4 haplotipi sadece Bismil ve Diyarbakır lokalitelerinde bulunmaktadır.

7. *C. luteus* populasyonlarının genetik yapısını belirlemek için pairwise Fst değerleri ve Moleküler varyans analizi (AMOVA) kullanılmıştır. 4 populasyona ait Pairwise F_{ST} değerleri -0.16880 ila 0.33181 arasında değişmektedir. Adıyaman, Hilvan ve Bismil populasyonları arasındaki değerler istatistiksel olarak önemsiz olmasına rağmen Diyarbakır populasyonu diğer tüm populasyonlarla arasındaki değerler önemli olarak çıkmıştır.

8. Haplotip frekanslarına dayanarak yapılan AMOVA analizinde populasyonlar içi genetik varyasyon yüzdesi %91.35, populasyonlar arası % 1.28 olarak tespit edilmiştir. Ortalama fiksasyon indeksi ise 0.08646 olarak hesaplanmıştır

9. Analiz edilen 48 *C.luteus* örneği için oluşturulan Neighbour - Joining Network haplotip ağında, toplam 4 haplotip belirlenmiş olup, elde edilen network evrimsel bir bağı gösteren merkezi bir haplotip (H1) varlığını göstermektedir. Tüm lokalitelerde de bu haplotipin en fazla haplotip olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca diğer tüm haplotiplerin H1 haplotipi ile bağlantılı olduğunu da söylemek mümkündür

10. Tüm populasyonlardan elde edilen 4 haplotipin filogenetik ağacı belirlenmiştir. Bu ağaç modelinde yine tüm haplotiplerin H1 haplotipi ile bağlantılı olduğu görülmektedir.

5.2. Öneriler

Yapılan bu çalışma 4 lokalite bakımından değerlendirilmiştir. Daha sonra yapılacak çalışmalarda daha çok lokalitelerde, birey sayısı bakımından daha fazla bireyle ve farklı genetik belirteçler kullanılarak çalışmalar yapılması bu türün populasyon genetiği için daha da açıklayıcı olacaktır.

KAYNAKLAR

ARAL, F., DOGU, Z., SELÇUK, B., TAŞ, M. ve KILIÇ, S.Ö. 2004. Determination of the spermatological properties at first spawning season of the young malerain bow trouts (Oncorhynchus mykissW., 1792 reared in floatingcages in Ataturk Dam Lake, Şanlıurfa, Turkey. J. of Anim. and Veter. Adv., 3 (8): 542–546.

AVISE, J. C. 1998. The Genetic Gods: Evolution and Belief in Human Affairs., Harvard University Press, Cambridge, MA. 279 pp..

BABOLI, M., SAYAHI, NEJAD, M. 2013. Condition factor, diet and gonado somatik index of *C. luteus* (Heckel, 1843) in Karkheh River, İran. J. Bio. ve Env. Sci., 3(1): 83-87.

BANDELT, H. J., FORSTER, P., ROHL, A. 1999. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. Mol. Biol. Evol., 16:37-48

BAŞARAN A. 2004. Tıbbi biyoloji ders kitabı. Güneş & Nobel Tıp Kitapevleri, 7. Baskı. Bursa. 622 s.

BIBB, M.J., VAN ETTEN, R.A., WRIGHT, C.T., WALBERG, M.W., CLAYTON, D.A., 1981. Sequence and gene organization of Mouse mitochondrial DNA. Cell, 26: 167-180.

BİLİCİ, S., 2009. Dicle Nehri'nin farklı zonlarında yaşayan Cyprinidae familyasına ait *Cyprinion macrostomus* (Heckel, 1843) ve *Cyprinion kais*'e (Heckel, 1843) ait morfometrik ve meristik varyasyonların incelenmesi. Kafkas Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 93 s.

BİLİCİ, S. 2013. Dicle Nehrinde Yaşayan *Carasobarbus luteus*, *Capoeta trutta* ve *Garra variabilis* Türlerinin Biyolojisi Üzerine Araştırmalar. Dicle Üniversitesi, Doktora Tezi, 132 s.

BIRO, P., AL-JAFERY, A.R., SADEK, S.E. 1988. On stunted growth of *B. luteus* (Heckel1843) in Diyala river, Iraq. J. Biol. Sci. Res., 19 (1): 129-146

BROWN, W. M., GEORGE, M. and WİLSON, A., C. 1979. Rapid evolution of animal mitochondrial DNA. Proceedings of the National Academy of Sciences USA, 76: 1967-1971.

BROWN, WM., 1985. The mitochonrial genome of animals.In Molecular Evolutionary Genetics, MacInterre RJ, ed Plenum Pres: New York, 95-130.

BROWN, W.M., PRAGER, E., WANG, A., WİLSON, A.C. 1982. Mitochondrial DNA sequences of primers: tempo and mode of evolution. J. Mol. Evol., 18: 225-239

BRUFORD, M. W., BRADLEY, D. G., and LUIKART, G., 2003. DNA markers reveal the complexity of livestock domestication. Nature Review Genetics, Columbia Universty Pres, 4: 900-910.

BOORE, J.L., BROWN, W.M., 1995. Complete sequence of the mitochondrial DNA of the annelid worm Lumbricus terrestris, Genetics, 141: 305-319.

BOZKURT, R., 1998. Atatürk Baraj Gölü'ndeki Acanthobrama marmid (Heckel, 1843), *C. trutta* (Heckel, 1843) ve *C. luteus* (Heckel, 1843)'un biyolojik özellikleri üzerinde araştırmalar. Doktora Tezi, Harran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Şanlıurfa,116 s.

BUCKLIN, A., STEINKE, D., BLANCO-BERCIAL L., 2011. DNA Barcoding of Marine Metazoa. Annual Reviews of Marine Science. 3:471-508.

COCKERHAM, C. CLARK. 1973. Analyses of gene frequencies. Genetics., 74:679–700.

CROSS, D., M. PALSSON, S., 2010. Mitochondrial DNA variation and population genetic structure of white Shrimp Fenneropenacus indicus along the coastalbelt of Sri Lanka. Aquat Living Resour. 23:31-532.

CROZIER, R.H. and CROZIER, Y.C. 1992. The Cytochrome b and ATPase genes of honeybee mitochondrial DNA. Molecular Biology and Evolution, 9 3: 474- 482.

ÇELİK, B., SALER, S., 2016. Atatürk Baraj Gölü'nde Yaşayan Bizir, *Carasobarbus luteus* (Heckel, 1843)'un Columbia Universty Pres, Sindirim Sistemi İçeriği. Limnofish - Journal of Limnology and Freshwater Fisheries Research, 2(2): 83-93.

DARABI AR, KASHAN N, FAYAZI J, AMINAFSHAR M, CHAMANI M. 2014. Investigation of Phylogenetic Relationship Among two *Barbus* species (Cyprinidae) Populations with Mitochondrial DNA Using Pcr-Sequencing. IJBPAS, 4(2): 302-311

DURNA, S., BARDAKCI, F., DEGERLİ, N., 2010.Geneticdiversity of G. rufa Heckel, 1843 (Teleostei: Cyprinidae) in Anatolia. Bioc. Syst. and Eco., 38: 83-92.

EXCOFFIER, L., SMOUSE, P. E., QUATTRO, J. M., 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes application to human mitochondrial DNA restriction data. Genetics, 131(2):479-491

EXCOFFIER, L., LAVAL G., SCHNEİDER, S. 2005. Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. Evolutionary Bioinformatics Online, 1:47-50.

EXCOFFIER, L.,SCHNEIDER, S. 2006 Arlequin Version 3.11. An Integrated Software Package for Population Genetics Data Analysis. Computational and Molecular Population Genetics Lab (CMPG), Institute of Zoology University of Berne.

FENNANDO, P., PFRENDER, ME., ENCALADA, S.E. ve LANDE, R., 2000. Mitochondrial DNA variation, phylogeography and population structure of the Asian elephant. Heredity, 84:362-372.

FINNILA, S. LEHTONEN, M.S. Majamaa K. 2001.Phylogenetic Network for European mtDNA. Am J Hum Genet., 68: 1475– 1484.

GELDIAY, R. ve BALIK, S. 1999. Türkiye tatlısu balıkları. Ege Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi Yayınları, No: 46, İzmir, 532.

GELDIAY, R. ve BALIK,S., 2002 Türkiye Tatlı Su Balıkları, Ege Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi Yayınları, No:46 Ders Kitabı Dizisi No.16 Bornova İzmir, 301-302,

GOKCEK, K., AKYURT, I., 2008. Age and Growth Characteristics of Himri Barbel (*Barbus luteus* Heckel, 1843) in Orontes River, Turkey**.** Turk J Zool., 32:461-467.

HECKEL, J. J. 1843. Abildungen and Beschreibungen der fishe Syriens in Russenger. J. Reisen in Europa, Asien and Afrika, Bd. I-II,Stuttgart.

KARAMAN, M., S., 1971, Süsswasserfische der Türkei, 8. Teil, Revision der Barben Europas, Vorderaciens und Nordafrikas, Mitt. Hamburg. Zool. Mus. Inst., 67:175-254.

KESKIN, E. ve ATAR, H. H. 2012. Türkiye'nin Akdeniz Kıyısındaki Mavi Yengeç (*Callinectes sapidus)* Populasyonları Arasındaki Genetik Farklılığın COI Gen Dizileri Kullanılarak Değerlendirilmesi. Journal of Fisheries Sciences.com., 6(2): 125-131.

KESKİN, E., ve ATAR, H., 2013. DNA Barkodlama: Mitokondriyal COI Geni Kullanılarak Moleküler Tanımlama. Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi, 6 (2): 01-08.

LAZAROVA, S.S., G. MALLOCH, C.M.G., OLIVEIRA, J., HUBSCHEN & R. NEILSON, 2006. Ribosomal and mitochondrial DNA analyses of Xiphinema americanum group populations. Journal of Nematology, 38: 404-410.

MA, C., CHENG,Q., ZHANG, Q., ZHUANG, P. ve ZHAO, Y. 2010. Genetic variation of Coilia ecnetes (Clupeiformes: Engraulidae) revealed by the complete cytochrome b sequences of mitochondrial DNA. J. Exp. Mar. Bio. Ecol., 385,14-19.

MEYER, A. 1993. Evolution of mitochondrial DNA of fishes. Biochemistry and molecular biology of fishes. P.W. Hochachka, P. Mommsen, Elsevier Press. 1–38.

NEI, M., 1987. Molecular Evolutionary Genetics, New York, Columbia Universty,,512.

NEI, M. and LI, W. 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. Proc Natl Acad Sci., 76:5269–5273.

NELSON, J.S. 2006. Fishes of the World.4rd ed. New York,John Wiley & Sons., 622.

PARMAKSIZ, A. ve EKSİ, E. 2017. Genetic diversity of the cyprinid fish *Capoeta trutta* (Heckel,1843) populations from Euphrates and Tigris rivers in Turkey based on mtDNA COI sequences. Indian J. Fish., 64 (1): 18-22.

PARMAKSIZ, A., ŞEKER, Ö., ASLAN, N., ve OYMAK, A. 2017. Fırat ve Dicle Nehirlerinde Yaşayan Barbus grypus (Heckel,1843) Populasyonlarında Genetik Çeşitliliğin mtDNA COI Gen Dizileri Kullanılarak Belirlenmesi. Yunus Araştırma Bülteni, (1): 103-107.

POURKAZEMI, M., SIKIBINSKY, D.O.F. ve BEARDMORE, JA., 1999. Aplication of mtDNA dloop Region for the Study of Russian Sturgeon population Structure from Iranian Coastline of the Caspian Sea, J.App. Icht.,15:23-28.

PRAT, F., ZANUY, S., BROMAGE, N., CARRİLLO, M. 1999. Effects of constant short and long photo period regimes on the spawning performance and sex steroid levels of female and maleseabass. J. Fish Biol., 54:125–137.

ROKAS, A. LADOUKAKIS, E. ZOUROS, E. 2003. Animal mitochondrial recombination revisited. Trends in Ecology and Evolution, 18 (8): 411-417.

ROZAS, J. and ROZAS, R. 1999. DnaSP version 3 an integrated program for molecular population genetics and molecular evolution analysis. Bioinformatics,15: 174-175.

SARAÇ, A. 2011. Atatürk Baraj Gölü'nde yaşayan *C. luteus* ve *C. trutta*' da balık tazeliğinin tespiti. Harran Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 43 s.

SARASWAT, D., LAKRA, W.S., NAUTİYAL, P., GOSWAMİ, SHYAMAKANT, K. ve MALAKAR, A. 2014. Genetic characterization of *Clupisoma garua* (Hamilton 1822 from six Indian populations using mtDNA cytochrome b gene. Mitochondrial DNA, 25 (1):70-77.

SMITH, Dr. 1991. Mitochondrial DNA and honey bee biogeography in: Smith, Dr.(ed) Diversity in the genus Apis Boulder, CO Westview, 131-176.

ŞEVİK, R.,YÜKSEL, M. 1997. Atatürk Baraj Gölü'nde yaşayan C. luteus (Heckel, 1843) üzerine araştırmalar. II.,IX. Ulusal Su Ürünleri Sempozyumu, Isparta, 17–19 Eylül.

TAJIMA, F., 1983. Stataistical Method for Testing the Neutral Mutation Hypothesis by DNA Polymorphism. Genetics, 123: 585-595.

TURAN, C. 2000. Population structure of atlanticherring, Clupeaharengus L., in The Nort heast Atlantic using Phenotypic and Molecular Approaches, PhD.Thesis, The University of Hull, Hull, U.K.

ÖZKAN, E. 2005. Türkiye'de yetiştirilen yerli ve kültür sığır ırklarının genetik yapılarının mikrosatellitler ile incelenmesi. Doktora Tezi. Trakya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü. 235 s.

ÖZDİLEK, Ş., TURAN, C., SOLAK, K. ve AKYURT, İ. 2004. Asi Nehri'nde yaşayan *B. luteus* (Heckel 1843)'un büyüme özellikler, Türk. Suc. Yaş. Derg. 3, 164 -170.

WAUGH, J. 2007. DNA barcoding in animal species: progress, potential and pitfalls. Bioessays. 29:188-197.

WEİR, BS, COCKERHAM, C.C.. 1984 Estimating F-Statistics for the Analysis of Population-Structure. Evolution. 38: 1358-1370.

WRIGHT, S., 1978. Evolution and the Genetics of Populations. Vol. IV. Variability Within and among Natural Populastions. University of Chicago Press. Chicago.

ZEYBEK, M., AHSSKA, S. ve YILDIZ, S. (2016). A preliminary taxonomical investiation on the Oligochaeta (Annelida) fauna of Tigris River (Turkey). Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences. 33(1):47-53.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı **:** Hatice Kübra ESKİCİ

Uyruğu **:**T.C.

Doğum Yeri ve Tarihi **:** Şanlıurfa / 03.09.1989

Telefon **:** 0544 460 63 13

e-mail **:** haticekubraeskici@gmail.com

EĞİTİM DURUMU

Derece	Adı, İlçe, İl	Bitirme Yılı
Lise	: Orhangazi Lisesi / Haliliye / Şanlıurfa	2006
Üniversite	: Harran Üniversitesi / Fen-Edebiyat Fakültesi / Biyoloji Bölümü / Haliliye /Şanlıurfa	2012
Yüksek Lisans	: Harran Üniversitesi / Fen Bilimleri Enstitüsü / Biyoloji Anabilim Dalı / Haliliye / Şanlıurfa	2017

İŞ DENEYİMLERİ

YIL	KURUM	GÖREVİ
2015-2017	Özel Şanmed Hastanesi (Şanlıurfa)	Biyolog
2012-2014	Özel OSM Ortadoğu Hastanesi (Şanlıurfa)	Tüp Bebek Hemşiresi

UZMANLIK ALANI

Moleküler Biyoloji ve Genetik : PZR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu), Agaroz Jel Elektroforez, Genomik DNA İzolasyonu

Bilgisayar: Microsoft Office Word, Microsoft Office PowerPoint