



Determination of genetic structure of Bald ibis population living in Birecik (Türkiye) using mtDNA COI sequences

Arif PARMAKSIZ^{*1}, Akin YİĞİN², Faruk BOZKAYA²
ORCID: 0000-0003-0321-8198; 0000-0001-9758-1697; 0000-0001-6423-8067

¹Harran University, Faculty of Science-Literature, Department of Biology, 63100 Şanlıurfa, Türkiye

²Harran University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Genetics, 63100 Şanlıurfa, Türkiye

Abstract

The rapid increase in the human population causes the expansion of urbanization and the need for food to increase day by day. As these needs lead to the formation of many agricultural activities, they change the habitats of natural and native species. Since this habitat change causes a decrease in the feeding and breeding areas of especially sensitive species, it may lead to the decrease or even extinction of the populations of these species. The endangered bald ibis (*Geronticus eremita*), bird species living in Birecik district, is one of the sensitive species and has been taken under protection in recent years. The endangered bald ibis (*Geronticus eremita*) bird species living in Birecik district in recent years is one of the sensitive species and has been taken under protection. The aim of this study is to perform genetic analysis of the genetic structure of the protected individuals, which live in Birecik, based on the mtDNA COI region. DNA was isolated from the feathers of these individuals, and the target mtDNA COI gene region was amplified by using the total DNAs obtained. Then, the genetic structure was determined by sequence analysis, and the analyzes were made by comparing them with the sequences in the gene bank. No variation was detected in the mtDNA COI gene region of all studied individuals. Comparisons were made with the sequences in the gene bank, a phylogenetic tree was drawn, and haplotypes were evaluated by comparing the results.

Key words: Bald ibis, genetic variation, *Geronticus eremita*, conservation, mtDNA COI

----- * -----

Birecik (Türkiye)'te yaşayan Kelaynak popülasyonunun genetik yapısının mtDNA COI dizileri kullanılarak belirlenmesi

Özet

İnsan nüfusunun hızla artması şehirleşmenin genişlemesine ve gıdaya olan ihtiyacın gün geçtikçe artmasına neden olmaktadır. Bu ihtiyaçlar birçok tarımsal faaliyetin oluşmasına yol açtığı için doğal ve yerli türlerin habitatlarını değiştirmektedir. Bu habitat değişimi özellikle hassas türlerin beslenme ve üreme alanlarının azalmasına neden olduğu için bu türlere ait popülasyonların azalmasına hatta yok olmasına neden olabilmektedir. Son yıllarda Birecik ilçesinde yaşayan ve nesli tehlike altında olan Kelaynak (*Geronticus eremita*) kuş türü hassas türlerden biri olup, koruma altına alınmıştır. Bu çalışmanın amacı, Birecik'te yaşayan ve koruma altına alınan bireylerin oluşturduğu popülasyona ait genetik yapının mtDNA COI bölgesine dayalı genetik analizinin yapılmasıdır. Bu bireylere ait tüylerden DNA izolasyonu yapılmış ve elde edilen total DNA'lar kullanılarak hedef mtDNA COI gen bölgesi çoğaltılmıştır. Daha sonra dizi analizleri yapılarak genetik yapı belirlenmiş ve gen bankasındaki sekanslar ile karşılaştırılarak analizler yapılmıştır. Çalışılan tüm bireylerin mtDNA COI gen bölgesine ait herhangi bir varyasyon tespit edilmemiştir. Gen bankasındaki dizilerle karşılaştırma yapılmış, filogenetik ağaç çizilmiş ve sonuçlar karşılaştırılarak haplotipler değerlendirilmiştir.

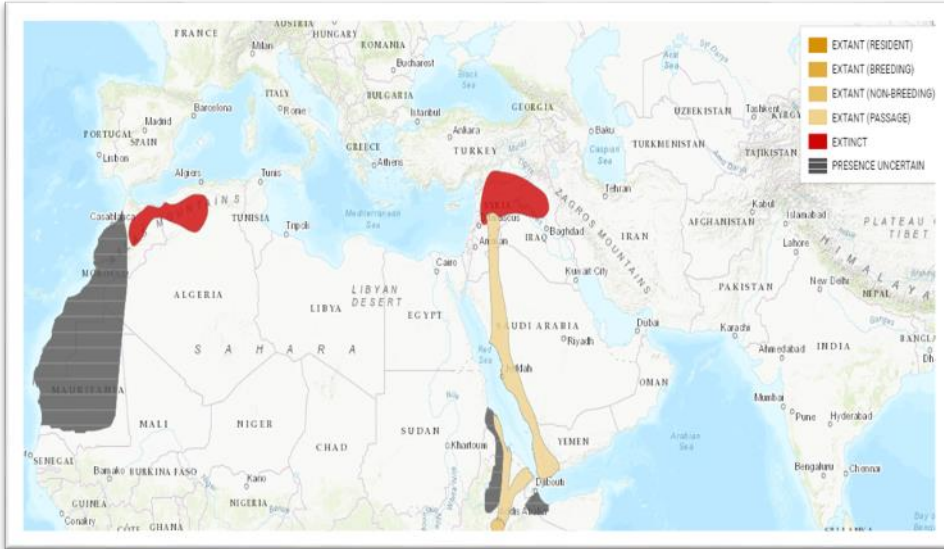
Anahtar kelimeler: kelaynak, genetik varyasyon, *Geronticus eremita*, koruma, mtDNA COI

* Corresponding author / Haberleşmeden sorumlu yazar: Tel.: +904143183562; Fax.: +904143183541; E-mail: aprmksz@gmail.com

1. Giriş

Biyçeşitlilik; genlerden popülasyonlara, türlere, işlevlere ve ekosistemlere kadar dünya üzerindeki tüm yaşamın çeşitliliği olup, günümüzde bir milyondan fazla tür yok olma tehlikesi altındadır ve bu yüzden biyçeşitliliğin korunmasını en üst düzeye çıkaran koruma politikalarına acil ihtiyaç bulunmaktadır [1]. Hızla büyüyen insan popülasyonlarının beslenme, barınma ve enerji elde etme gibi birçok ihtiyaçlardan dolayı, dünyadaki ekosistemler ve içerdikleri canlı türleri üzerinde muazzam bir baskı oluşturmaya devam etmektedir. Bu baskılara maruz kalan türlerin sayısı gün geçtikçe artmaktadır. Özellikle hassas türlere ait popülasyonlar hızlı bir şekilde küçülme ve bu türler büyük bir tehdit ile karşı karşıya kalmaktadır. Bu yüzden bazı hassas türler için acil önlemlerin alınması ve tür eylem planlarının gerçekleştirilmesi büyük önem arz etmektedir.

Günümüzde dünyadaki kuş popülasyonlarının yaklaşık %40'ı, çoğunlukla tarım, avcılık, istilacı türler ve iklim değişikliği nedeniyle tehdit altındadır [2,3] ve bu durum yeni koruma programlarının oluşturulması ve mevcut korumayı iyileştirme ihtiyacını vurgulamaktadır. Bu kuş türlerinden biri olan Kelaynaklar (Northern bald ibis, *Geronticus eremita*) için koruma çalışmaları yapılmakta olup neslin devamlılığı için planlamalar gerçekleştirilmektedir. Göçmen bir kuş türü olan Kelaynak bir zamanlar Orta Doğu ve Kuzey Afrika'ya yayılmıştır [4]. IUCN tarafından küresel olarak kritik tehlike altındaki (CR) türler arasında listelenmiş olmasına rağmen; 2018'de nesli tükenmekte olan (EN) türler şeklinde değişmiştir [5,6]. Doğada serbest olarak yaşayanlarının sayısı 1000'den az olup farklı hayvanat bahçelerinde ve istasyonlarda bulunan kelaynaklar Fas kökenlidir [5,6]. Kuzey Afrika'da (Fas) Atlantik Okyanusu kıyılarında yaşayan kuzey kelaynak popülasyonu en büyüğüdür [7,8]. Bu türe ait yaşam ve yayılışının güncel durumu IUCN web sitesinde bulunmakta olup Şekil 1'de görülmektedir.



Şekil 1. Kelaynak dünyadaki yaşam durumu (<https://www.iucnredlist.org/species/22697488/130895601>)

Türkiye'deki kelaynak popülasyonu, Fas'ta bulunan kelaynak kuşlarından sonraki ikinci büyük popülasyon olup sadece Şanlıurfa'nın Birecik ilçesinde yaşamaktadır [6,9]. Sayılarının azalması nedeniyle göç etmelerine izin verilmeyen kelaynaklar üreme döneminin başında kafeslerden doğaya salınırlar ve üremelerini tabiatta doğal olarak gerçekleştirdikten sonra yeniden kafeslere alınarak uzun yıllardan bir sonraki üreme dönemine kadar bu kafeslerde tutulmaktadır [9]. Özellikle bu türün soyunun tükenmesinin temel nedenleri çoğunlukla insan kaynaklı tehditler olup, başlıca aşırı avlanma ve habitat kaybının olmasıdır [10,11]. Habitatların yok olması veya değişmesi popülasyondaki birey sayısının azalmasına neden olabilmektedir. Diğer taraftan sayıları azalan kelaynaklar enfeksiyon hastalıkları tarafından da tehdit edilmektedir [12]. Doğal olarak yaşamakta olan popülasyonların küçülmesi, bireylerin ortadan kaybolması gibi bazı nedenler benzersiz olan bazı genotiplerin tükenmesine yol açabilir [13]. Genetik bir bilgi kaybolduğu zaman onu geri getirmek neredeyse imkânsızdır [13]. Bu yüzden öncelikle genetik kaybın durdurulması ve hedef türün geleceği için gerekli önlemlerin alınması önem arz etmektedir. Etkin bir şekilde koruma programlarının yapılması için öncelikle popülasyon veya popülasyonların genetik özelliklerine ait verilerin elde edilmesi gerekmektedir.

Popülasyonların devamlılığı ve nesli tükenmekte olan türlerin korunmasında genetik çeşitlilik veya polimorfizm önemli katkıda bulunmaktadır [14]. Birçok türün düşük genetik çeşitlilik seviyeleri, üreme başarısının azalmasıyla, bulaşıcı hastalıklara karşı artan duyarlılık ve çevresel zorluklara uyum sağlama zorluğu ile ilişkilendirilmiştir [15,16]. Bu nedenle koruma çalışmalarında popülasyonun devamlılığının sağlanması için genetik çeşitlilik seviyesinin maksimum olması hedeflenmektedir. Genetik çeşitliliğin, artan tehditler altında tür çeşitliliğinden daha hızlı azaldığı tahmin edilmekte ancak mekânsal dağılımı küresel ölçekte yeterince belgelenmemiş durumdadır

[17]. Genetik çeşitlilik, türlerin veya popülasyonların, değişen çevre şartlarına uyum sağlama yeteneğini doğrudan yansıtır [18,19]. Bir türün hem korunması hem de yönetimi için popülasyona ait genetik analizlerin yapılması oldukça etkili bir araçtır [20,21]. Bu araştırmalar için DNA'ya dayalı birçok genetik marker bulunmakta olup, günümüzde sekans tekniklerindeki gelişmeler mtDNA çalışmalarını ön plana getirmiş durumdadır [22]. Yaygın olarak kullanılan mtDNA, önemli bir moleküler marker olup çoğu organizmanın genetik özelliklerini bulmak amacıyla kullanılmaktadır [23].

Bu çalışmada, nesli tükenmekte olan *Geronticus eremita* türünün Birecik'te yaşayan popülasyonunun mtDNA COI bölgesi dizi analizleri yapılarak genetik çeşitliliği belirlenmiş ve gen bankasındaki sekanslar ile karşılaştırılarak analizler yapılmıştır.

2. Materyal ve yöntem

Bu çalışma, Türkiye Doğa Koruma ve Milli Parklar Genel Müdürlüğü'nün (Onay No: 198150/2015) izni ve desteği ile gerçekleştirilmiştir. Şanlıurfa ili Birecik ilçesindeki (37.01.29 N:37.58.38 D) Kelaynak yetiştirme istasyonunda koruma altında yetiştirilen kelaynaklardan (Şekil 2) rastgele seçilen 11 tanesinin kanat veya kuyruklarından alınan tüy örneklerinden DNA izolasyonu Potasyum Asetat kullanılarak gerçekleştirilmiştir.



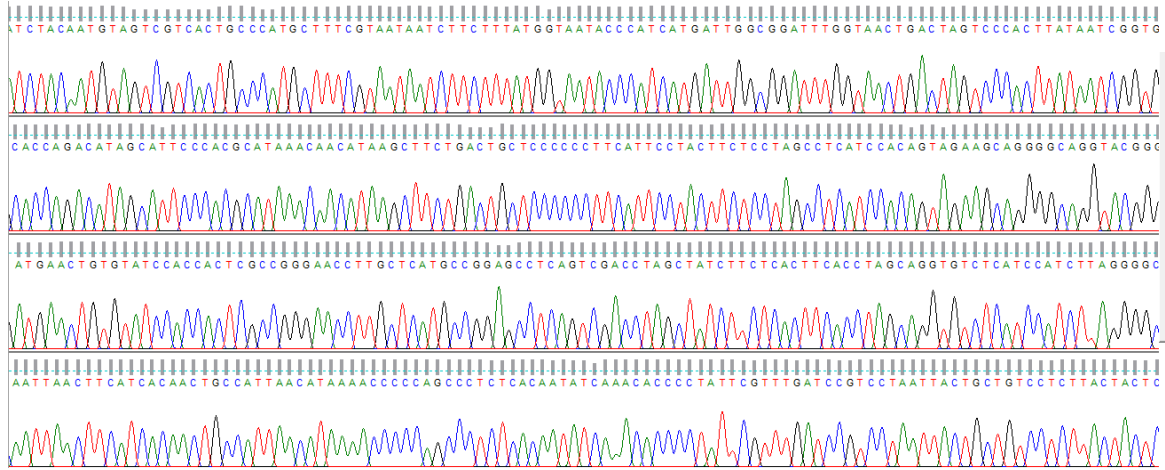
Şekil 2. Birecik'te Kelaynak yetiştirme istasyonunda yarı serbest olarak yetiştirilen kelaynaklar

İzole edilen DNA'lar mtDNA COI gen bölgesinin amplifikasyonu için kullanılmıştır. Kullanılan primer, Folmer [24] çalışmasından alınmıştır ve dizileri şöyledir; LCO1490 (5'-GGT CAA CAA ATC ATA AAG ATA TTG G-3'), HCO2198 (5'-TAA ACT TCA GGG TGA CCA AAA AAT CA-3'). Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR), BIO-RAD T100TM Termal Cykler cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Toplamda 35 döngü olacak şekilde çalıştırılmıştır. İlk denatürasyon 95°C'de 3 dakika, denatürasyon 95°C'de 30 saniye, bağlanma 48°C'de 45 saniye ve uzama 72°C'de 45 saniye olacak şekilde ayarlanmıştır. Örnekler daha sonra 72°C'de 10 dakika tutularak işlem sonlandırılmıştır. Bu bölgenin amplifikasyonu için kullanılan PZR karışımı 13.9 µl dH₂O, 1x PZR tamponu, 2.5mM MgCl₂, 0.2 mM dNTP'ler, 1 µl 0.5 mM primer (F+R), 0.1 µl Taq polimeraz ve 50 ng/µl total DNA'dan oluşmuştur. PZR sonrası oluşan ürünleri kontrol etmek için %2 agaroz jel kullanılmıştır. SYBR Green eklenmiş 0.5x TBE (Tris/Borik asit/EDTA Tamponu) ile hazırlanmış agaroz jelle PZR ürünleri yüklenmiş ve 100 V'de 30 dakika yürütülmüştür. Daha sonra ultraviyole ışık altında ürünler görüntülenmiştir. Hedef PZR ürünleri ticari bir firmaya gönderilmiş ve 3500 XL Genetic

Analyzer (Thermo Fisher Scientific) kullanılarak dizi analizi yapılmıştır. Ham sekans verileri FinchTV programı kullanılarak FASTA formatına dönüştürülmüştür. Elde edilen diziler ile benzer baz dizileri BLAST programı (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov>) yardımıyla taranmış yüksek düzeyde benzerlik gösteren baz dizileri filogenetik analizler için kullanılmıştır. Filogenetik analizler MEGA5 programı yardımıyla yapılmıştır. Analize dahil edilen baz dizileri arasındaki filogenetik ilişkilerin belirlenmesinde en yüksek olasılık yöntemi ve Jukes-Cantor modeli kullanılmıştır. Ağaç kolları (Nodların) güvenilirliğinin test edilmesinde Bootstrap testi (500 tekrarlı) kullanılmıştır.

3. Bulgular

Rastgele seçilmiş olan toplam 11 *G. eremita* örneğinde ortalama 604 bp'lik mtDNA COI bölgesi dizi analizi yapılmıştır. Bu analize ait bir bireyin FinchTV programına ait kromatogram görüntüsü Şekil 3'de gösterilmiştir.



Şekil 3. mtDNA COI bölgesine ait örnek bir dizi analizinin kromatogram görüntüsü

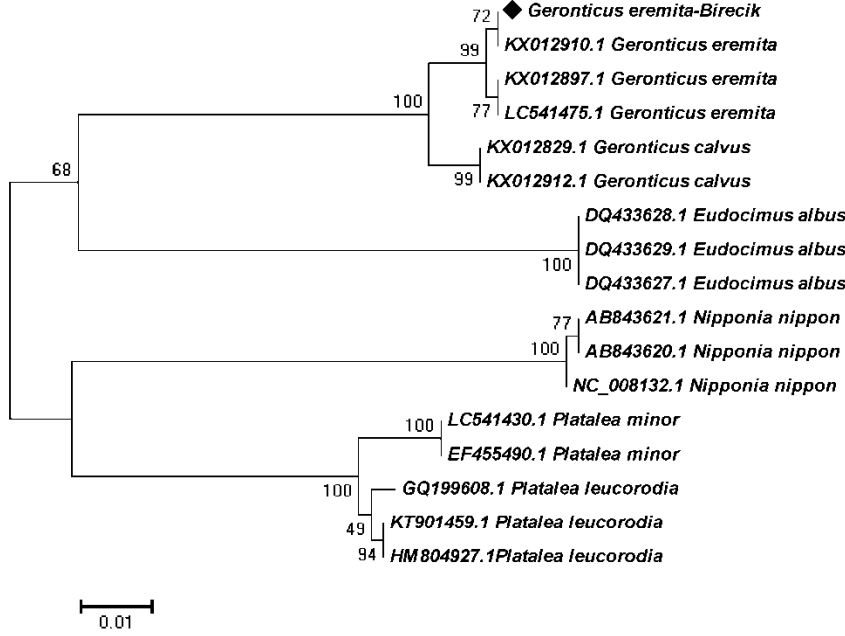
Bireylere ait dizilerde bir farklılık görülmemiştir ve tüm bireylere ait dizilerin tamamen aynı haplotipe sahip olduğu tespit edilmiştir. Tespit edilen haplotipin baz dizisi OP740519 kayıt numarası ile gen bankasına yüklenmiştir.

Gen bankasında BLAST tekniği uygulanarak *Geronticus* cinsine ait türlerin benzer sekansları tespit edilmiş ve bu çalışmada elde edilen sekanslarla karşılaştırılmıştır. Bu diziler arasındaki benzerlik oranları Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1. Bu çalışmada mtDNA COI geninde tespit edilen haplotip ile (OP740519) NCBI veri tabanındaki haplotiplerin baz dizileri arasındaki benzerlik ve örtüşme oranları

| Tür adı | Erişim Numarası | Benzerlik | Örtüşme Oranı |
|----------------------------|-----------------|-----------|---------------|
| <i>Geronticus eremita</i> | KX012910.1 | 100 | 100 |
| <i>Geronticus eremita</i> | KX012897.1 | 99.67 | 100 |
| <i>Geronticus eremita</i> | LC541475.1 | 99.67 | 100 |
| <i>Geronticus calvus</i> | KX012829.1 | 98.48 | 97 |
| <i>Geronticus calvus</i> | KX012912.1 | 98.47 | 97 |
| <i>Platalea leucorodia</i> | GQ199608.1 | 89.88 | 99 |
| <i>Platalea leucorodia</i> | KT901459.1 | 89.72 | 99 |
| <i>Platalea leucorodia</i> | HM804927.1 | 89.78 | 98 |
| <i>Platalea minor</i> | LC541430.1 | 89.72 | 98 |
| <i>Platalea minor</i> | EF455490.1 | 89.72 | 99 |
| <i>Eudocimus albus</i> | DQ433629.1 | 89.37 | 99 |
| <i>Eudocimus albus</i> | DQ433628.1 | 89.37 | 99 |
| <i>Eudocimus albus</i> | DQ433627.1 | 89.37 | 99 |
| <i>Nipponia nippon</i> | NC 008132.1 | 87.60 | 98 |
| <i>Nipponia nippon</i> | AB843621.1 | 87.44 | 98 |
| <i>Nipponia nippon</i> | AB843620.1 | 87.44 | 98 |

Gen bankasında BLAST programı ile yapılan taramada hedef bölgede iki farklı haplotipin bulunduğu tespit edilmiştir. Sunulan çalışmada tespit edilen baz dizisi Afrika kökenli kelaynaklarda tespit edilen KX012910 erişim numaralı haplotiple aynı dizilime sahiptir. Diğer taraftan sunulan çalışmadaki haplotipin KX012897 ve LC541475 erişim numaralı haplotiplerden farklı olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmada tespit edilen baz dizisi ile diğer ibis türlerine ait diziler arasındaki benzerlik oranı %87.44 ile %98.48 arasında değişmektedir.



Şekil 4. mtDNA COI sekanslarına dayalı *Geronticus* cinsine ait En Yüksek Olasılık yöntemine göre oluşturulmuş ağaç modeli. ◆Birecik Kelaynak Popülasyonunda tespit edilen baz dizisi

Şekil 4'te mtDNA COI bölgesine dayalı En Yüksek Olasılık yöntemine göre *G. eremita* ve *G. calvus* türlerinin gen bankasından alınan dizileri ile filogenetik ağaç oluşturulmuş ve bu çalışmada tespit edilen haplotipin diğer kelaynak haplotipleri ile aynı dal üzerinde yerleştiği görülmüştür. Filogenetik ağaç üzerinde *Geronticus eremita*, *Geronticus calvus* ve *Eudocimus albus*'a ait baz dizileri aynı grupta yer alırken, *Nipponia nippon*, *Platalea minor* ve *Platalea leucorodia* dizileri bir grupta yer almıştır. *Geronticus eremita* ile en yüksek benzerlik *Geronticus calvus* türünde gözlenmiştir.

4. Sonuçlar ve tartışma

Birecik'te yaşayan ve rastgele seçilen *G. eremita* örneklerinde ortalama 604 bç'lik mtDNA COI bölgesi ilk kez bu çalışmada dizi analizi yapılarak gen bankasındaki dizilerle karşılaştırılmıştır. Bulgular Afrika kökenli olan *G. eremita* mtDNA-COI dizilerinin Türkiye kökenli olanlarla hem benzer hem de farklı olduğunu ortaya çıkarmıştır. Pegoraro [25] cyt b gen bölgesi üzerinde yaptıkları dizi analizlerinde her iki popülasyonun farklı haplotiplere sahip olduğu gözlemlenmiştir. Pegoraro [25] cyt b genindeki nokta mutasyonunun, batı ve doğu popülasyonunda son birkaç bin yılda ayrı ayrı gelişmiş olup bölünme iklim sırasında meydana gelmiş insan yapımı çevresel değişiklikler sonucu olabileceğini bildirmiştir [25]. Ancak bizim çalışmamızda Türkiye'deki kelaynaklarda tespit edilen haplotipin Afrika kökenli kelaynaklarda da bulunması farklılığın göç ve popülasyon büyüklüğündeki azalma gibi popülasyon dinamiklerinden kaynaklandığını düşündürmektedir. Sunulan çalışmaya 11 adet bireye ait DNA örnekleri kullanılmıştır. Birecik'te yaşayan ve koruma altına alınan tüm kelaynakların çalışmaya dahil edilmesi ve genoma ait daha ayrıntılı çalışmaların özellikle mtDNA d loop ve mikrosatellit markörleri kullanılarak analizlerin yapılması başka farklılıkların belirlenmesini sağlayabilir. Çünkü Birecik popülasyonunun genetik çalışmaları popülasyon düzeyinde yetersiz kalmakta ve popülasyon devamı için bu çalışmaların devamının yapılması gerekmektedir.

Geronticus eremita ve *Geronticus calvus* aynı cinste sınıflandırıldıklarından bu iki türün diğer kelaynak türlerinden daha yüksek düzeyde benzerlik göstermesi beklenen bir durumdur. Sunulan çalışmanın bulguları ile benzer şekilde Pegoraro ve ark [26] 16S RNA ve cyt-b genlerinin baz dizilerini kullanarak yaptıkları çalışmada bu iki tür arasındaki yakın akrabalığı göstermişlerdir.

Kılıç ve Uysal [9] çalışmasında; Birecik'te yaşayan, markalanan ve takip altında olan kelaynakların bir kısmının ölüm, kaçma veya kaybolma nedeniyle yok olduğu ve muhtemelen Suriye ve diğer Ortadoğu ülkelerinde görülen kelaynakların bir kısmının Birecik'ten göç eden bireyler olduğu ifade edilmiştir. Bunun tespit edilmesi için yüksek düzeyde polimorfizm gösteren genetik markörler kullanılması gerekmektedir. Aynı şekilde başka yerde yaşayıp Birecik'e göç eden bireyler de bu yöntem kullanılarak tespit edilebilir. Örneğin, Boev [27] ilk kez bir kelaynak bireyinin Bulgaristan'da tespit edildiğini ortaya çıkarmışlardır. Bu bireyin hangi popülasyona ait olduğu yine aynı genetik yöntem uygulanarak bulunabilir ve göç yolları hakkında bilgi verebilir. Kelaynak popülasyonunun üreme potansiyeli yüksek olduğu için bilimsel metotlarla sağlanacak destekle sayılarının kısa sürede artırılması sağlanabilir [9]. Biyoçeşitlilik açısından, özellikle genetik çeşitlilik kayıplarının tespit edilmesi ile gelecekteki kayıpların tespiti mümkün olabilir [28]. Ayrıca yapılan düzenlemeler arasında genetik özelliklerinin dikkate alınması bu bakımdan önem arz etmektedir.

Teşekkür

Türkiye Doğa Koruma ve Milli Parklar Genel Müdürlüğüne, Birecik Kelaynak Üretim İstasyonu Çalışanlarına ve Alican GÜMÜŞ' e teşekkür ederiz.

Kaynaklar

- [1] Silvestro, D., Gorla, S., Sterner, T., & Antonelli, A. (2022). Improving biodiversity protection through artificial intelligence. *Nature sustainability*, 5(5), 415-424.
- [2] BirdLife International (2018). State of the world's birds: taking the pulse of the planet, Cambridge, UK: BirdLife International.
- [3] Rosenberg, K. V., Dokter, A. M., Blancher, P. J., ...& Marra, P. P. (2019). Decline of the North American avifauna. *Science*, 366(6461): 120–124.
- [4] Yılmaz, B., Demircioğlu, I., & Korkmaz, D. (2021). Macroanatomic, light and scanning electron microscopic structure of the pecten oculi in northern bald ibis (*Geronticus eremita*). *Anatomia, Histologia, Embryologia*, 2021;50: 73-378.
- [5] Böhm, C., Bowden, C. G., Seddon, P. J., Hatipoğlu, T., Oubrou, W., El Bekkay, M., ... & Unsöld, M. (2021). The northern bald ibis *Geronticus eremita*: history, current status and future perspectives. *Oryx*, 55(6), 934-946.
- [6] Kılıç, A., & Uysal, E. (2021). Incubation Sharing Of Northern Bald Ibis Partners. *Middle East Journal of Science*, 7(2), 167-181.
- [7] Bowden, C. G., Aghnaj, A., Smith, K. W., & Ribí, M. (2003). The status and recent breeding performance of the critically endangered Northern Bald Ibis *Geronticus eremita* population on the Atlantic coast of Morocco. *Ibis*, 145(3), 419-431.
- [8] Bowden, C. G., Smith, K. W., El Bekkay, M., Oubrou, W., Aghnaj, A., & Jimenez-Armesto, M. (2008). Contribution of research to conservation action for the Northern Bald Ibis *Geronticus eremita* in Morocco. *Bird Conservation International*, 18(S1), 74-S90.
- [9] Kılıç, A., & Uysal, E. (2015). Kelaynak Kuşlarının (*Geronticus eremita*) Türkiye'deki üreme başarısı – 2013. *Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 4(2), 87-94.
- [10] Böhm, C., & Pegoraro, K. (2011). Der Waldapp. Die Neue Brehmbücherei 659. Westarp, Hohenwarsleben.
- [11] Bowden, C.G.R. (2015). International Single Species Action Plan for the Conservation of the Northern Bald Ibis (*Geronticus eremita*). *AEWA Technical Series*, No. 55. Bonn.
- [12] Tel, O. Y., Bozkaya, F., & Keskin, O. (2013). Salmonella, Campylobacter, and Chlamydia in bald ibis (*Geronticus eremita*) feces in Turkey. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 44(1), 21-26.
- [13] Parmaksız, A. (2020). Population Genetic Diversity of Yellow Barbell (*Carasobarbus luteus*) from Kueik, Euphrates and Tigris Rivers Based on Mitochondrial DNA D-loop Sequences. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 20(1), 79-86.
- [14] Frankham, R., Ballou, J.D., & Briscoe, D.A. (2010). Introduction to conservation genetics. 2nd ed. New York, Cambridge University Press.
- [15] Reed, D.H., Frankham, R. (2003). Correlation between fitness and genetic diversity. *Conservation Biology*, 17(1), 230–7.
- [16] Vandewoestijne, S., Schtickzelle, N., & Baguette, M. (2008). Positive correlation between genetic diversity and fitness in a large, well-connected metapopulation. *BMC Biology*, 6, 46.
- [17] Manel, S., Guerin, P. E., Mouillot, D., Blanchet, S., Velez, L., Albouy, C., & Pellissier, L. (2020). Global determinants of freshwater and marine fish genetic diversity. *Nature communications*. 11 (1): 1–9.

- [18] Frankham, R., Briscoe, D.A., & Ballou, J. D. (2002). *Introduction to Conservation Genetics*. Cambridge University Press.
- [19] Spielman, D., Brook, B.W., & Frankham, R. (2004). Most species are not driven to extinction before genetic factors impact them. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101, 15261e15264.
- [20] Ryman, N. (1991). Conservation genetics considerations in fishery management. *Journal of Fish Biology*, 39, 211-224.
- [21] Ward, R.D. (2000). Genetics in fisheries management. *Hydrobiologia*, 420, 191-201.
- [22] Liu, G., & Zhou, L. (2016). Population genetic structure and molecular diversity of the red swamp crayfish in China based on mtDNA COI gene sequences. *Mitochondrial DNA Part A*, 28(6), 860-866.
- [23] Xu, Z.H., Chen, J.L., Cheng, D.F., Liu, Y., & Eric, F. (2011). Genetic variation among the geographic population of the Grain Aphid, *Sitobion avenae* (Hemiptera: Aphididae) in China inferred from mitochondrial COI gene sequence. *Agricultural Sciences in China*, 10(7), 1041-1048.
- [24] Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., Lutz, R., & Vrijenhoek, R. (1994). DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 3: 294–299.
- [25] Pegoraro, K., Föger, M., & Parson, W. (2001). First evidence of mtDNA sequence differences between Northern Bald Ibises (*Geronticus eremita*) of Moroccan and Turkish origin. *Journal für Ornithologie*, 142(4), 425-428.
- [26] Pegoraro, K., Föger, M., & Parson, W. (2001). Mitochondrial DNA sequence evidence for close relationship of Bald Ibis, *Geronticus calvus*, and Waldrapp Ibis, *G. eremita*. *Ostrich-Journal of African Ornithology*, 72(3-4), 215-216.
- [27] Boev, Z., Gradev, G., Klisurova, H., Klisurov, I., & Petrov, R. (2020). First record of the northern bald ibis *Geronticus eremita* (Linnaeus, 1758) in Bulgaria. *Historia Naturalis Bulgarica*, 41(3), 23-26.
- [28] Demir, A. (2021). The impacts of climate change on genetic diversity. *Biyolojik Çeşitlilik ve Koruma*, 14(3), 511-518.