

**DÜŞÜK VE YÜKSEK CANLI AĞIRLIĞA SAHİP
GÖKKUŞAĞI ALABALIKLARI (*Oncorhynchus
mykiss* (Walbaum, 1792)) ARASINDAKİ GENETİK
VARYASYONUN MİKROSATELİT MARKIRLAR
KULLANILARAK BELİRLENMESİ**

**Ercüment AKSAKAL
Doktora Tezi
Su Ürünleri Anabilim Dalı
Doç. Dr. Orhan ERDOĞAN
2009
Her hakkı saklıdır**

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

DÜŞÜK VE YÜKSEK CANLI AĞIRLIĞA SAHİP
GÖKKUŞAĞI ALABALIKLARI (*Oncorhynchus mykiss*
(Walbaum, 1792)) ARASINDAKİ GENETİK
VARYASYONUN MİKROSATELİT MARKIRLAR
KULLANILARAK BELİRLENMESİ

Ercüment AKSAKAL

SU ÜRÜNLERİ ANABİLİM DALI

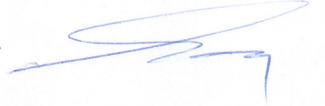
ERZURUM

2009

Her hakkı saklıdır

Doç. Dr. Orhan ERDOĞAN danışmanlığında, **Ercüment AKSAKAL** tarafından hazırlanan bu çalışma 21.12.2009 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Su Ürünleri Anabilim Dalı'nda Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Doç. Dr. Orhan ERDOĞAN.....İmza:



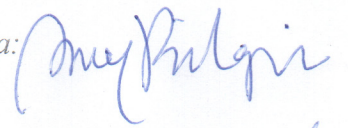
Üye : Doç. Dr. Abdulkadir ÇİLTAŞ.....İmza:



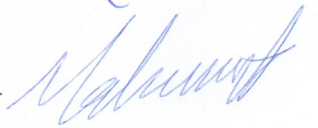
Üye : Doç. Dr. Şükrü BEYDEMİR.....İmza:



Üye : Doç. Dr. Ömer Cevdet BİLGİN.....İmza:



Üye : Yrd. Doç. Dr. Mahmut ELP.....İmza:



Yukarıdaki sonucu onaylarım

Prof. Dr. Ömer AKBULUT
Enstitü Müdürü

ÖZET

Doktora Tezi

DÜŞÜK VE YÜKSEK CANLI AĞIRLIĞA SAHİP
GÖKKUŞAĞI ALABALIKLARI (*Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792))
ARASINDAKİ GENETİK VARYASYONUN MİKROSATELİT
MARKIRLAR KULLANILARAK BELİRLENMESİ

Ercüment AKSAKAL

Atatürk Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Su Ürünleri Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Orhan ERDOĞAN

Bu çalışmada aynı yetiştirme koşullarında bulunan 8 aylık Gökkuşığı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) gruplarında yüksek ve düşük canlı ağırlığa sahip bireyler arasındaki genetik varyasyon mikrosatelit markırlar kullanılarak ortaya çıkarılmıştır. On üç lokusta genotipik varyasyon araştırılmıştır. Mikrosatelit bölgelere SSCP uygulamaları ile her lokustaki allel sayıları tespit edilmiştir. Çalışılan 13 adet mikrosatelit lokusta 19'u özgün olmak üzere toplam 90 adet allel gözlenmiştir. Faktöriyel benzerlik analizi sonucu grupların birbirlerinden ayrı gruplar oluşturduğu kaydedilmiştir.

Tüm lokuslar bazında beklenen heterozigotluğun (H_e) 0,7800-0,9419 arasında ve gözlenen heterozigotluğun (H_o) 0,8037-0,9628 değerleri arasında değiştiği saptanmıştır. Her iki grupta H_o değeri, H_e değerinden istatistiki olarak önemsiz bulunmuştur ($p>0.05$). Gruplar için gruplar içi fiksasyon indeksi (F_{IS}) değerleri 0,07655, tüm lokuslar için hesaplanan gruplar arası genetik çeşitlilik (F_{ST}) değerinin ise 0,05611 olduğu saptanmıştır. Gruplar arası hesaplanan F_{ST} değerlerine göre, gruplar arası genetik mesafe önemsiz bulunmuştur. Grupların Hardy-Weinberg dengesinde (HWE) olduğu belirlenmiştir. Gruplar içi genetik mesafe yüksek ve düşük canlı ağırlığa sahip gruplarda benzer olduğu görülmüştür.

2009, 116 sayfa

Anahtar Kelimeler: Gökkuşığı alabalığı, mikrosatelit, SSCP, genetik varyasyon

ABSTRACT

Ph. D. Thesis

THE DETERMINATION OF GENETIC VARIATION
BETWEEN LOW AND HIGH WEIGHT RAINBOW TROUT
(*Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792)) BY USING
MICROSATELLITE MARKERS

Ercüment AKSAKAL

Atatürk University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Fishery Sciences

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Orhan ERDOĞAN

In this study, genetic variation between low and high weight 8 months rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) groups as the same breeding condition were determined by using microsatellite markers. Allele numbers in each locus were determined by application of SSCP to the microsatellite sections. A total of 90 alleles and 19 private alleles were observed from 13 microsatellite locus. According to the results from factorial correspondence analysis, it was determined that each of the groups were formed different groups from each other.

Considering all locus, expected heterozygosity (H_e) and observed heterozygosity (H_o) values were changed from 0.7800-0.9419 and 0.8037-0.9628 respectively. H_o value was not significantly ($p>0.05$) higher than H_e value of each groups. Fixation index for subgroups (F_{IS}) values were 0.07655, in groups and the overall average diversity between groups (F_{ST}) value of the all locus was calculated as 0.05611. According to F_{ST} values calculated from between groups, genetic distances between groups were found no significant ($p>0.05$). It was determined that each groups were at the Hardy-Weinberg equilibrium. Considering genetically distance in groups, it was observed that the distance was the same in low and high weight groups.

2009, 116 pages

Keywords: *Oncorhynchus mykiss*, microsatellite, SSCP, genetic variation

TEŞEKKÜR

Doktora tezi olarak sunduğum bu çalışmanın yürütülmesi esnasında her konuda yardım ve desteğini gördüğüm hocam Sayın Doç. Dr. Orhan ERDOĞAN'a teşekkür ederim.

Bölüm başkanımız Sayın Prof. Dr. M. Sıtkı ARAS başta olmak üzere bölüm hocalarıma ve mesai arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Çalışma Atatürk Üniversitesi Fon Saymanlığı tarafından desteklenmiştir. Bu bağlamda projeye destek veren Atatürk Üniversitesi Rektörlüğü'ne teşekkürü bir borç bilirim.

Çalışmanın her aşamasında yardım ve desteklerini esirgemeyen fedakar meslektaşım ve arkadaşım Sayın Yrd. Doç. Dr. Saltuk Buğrahan CEYHUN'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Eğitimimin her aşamasında yanımda olan çok sevgili annem, babam ve kardeşlerime müteşekkirim.

Ercüment AKSAKAL

Aralık 2009

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGELER DİZİNİ.....	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	v
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	vii
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	12
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	26
3.1. Materyal.....	26
3.1.1. Balık materyalinin temin edildiği yer.....	26
3.1.2. Çalışmanın yürütüldüğü yer.....	26
3.1.3. Balık materyali.....	26
3.1.4. Çalışmada kullanılan mikrosatelit bölgelere ait bazı bilgiler.....	27
3.1.5. Kullanılan kimyasallar ve çözeltiler.....	34
3.1.5.a. DNA izolasyonunda kullanılan kimyasallar ve çözeltiler.....	34
3.1.5.b. PCR’da kullanılan kimyasallar.....	35
3.1.5.c. Agaroz jel elektroforezinde kullanılan kimyasallar ve çözeltiler.....	36
3.1.5.d. Poliakrilamid jel elektroforezinde (PAGE) kullanılan kimyasallar ve çözeltiler.....	36
3.1.5.e. Tek zincir konformasyon polimorfizminde (SSCP) kullanılan kimyasallar ve çözeltiler.....	36
3.1.6. Yararlanılan alet ve ekipmanlar.....	37
3.2. Yöntem.....	37
3.2.1. Balık materyallerinin metrik ve meristik ölçümleri.....	37
3.2.2. Kondüsyon Faktörü	38
3.2.3. Balık materyallerinin genotipik varyasyon analizi.....	38
3.2.3.a. Balıklardan doku örneklerinin alınması ve Genomik DNA izolasyonu.....	38

3.2.3.b. DNA'nın kalitatif tayini.....	40
3.2.3.c. DNA'nın kantitatif tayini.....	40
3.2.2.d. DNA üzerindeki mikrosatelit bölgelerin PCR ile amplifikasyonu.....	41
3.2.2.e. PCR ürününün agaroz jel elektroforezinde kontrolü.....	44
3.2.2.f. Tek Zincir Konformasyon Polimorfizmi (SSCP).....	45
3. 2. 2. g. Poliakrilamid Jel Elektroforezi (PAGE).....	46
3. 2. 2. h. Etidyum bromid ile boyama.....	47
3. 2. 2. i. Jel görüntüleme sisteminde PAGE görüntülerinin değerlendirilmesi.....	48
3. 2. 2. k. İstatistik analizler.....	48
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	51
4.1. Balık materyallerinin metrik ve meristik ölçümlerine ilişkin bulgular.....	51
4.2. Grupların Kondüsyon Faktörlerine ilişkin bulgular.....	54
4.3. DNA izolasyonuna ilişkin bulgular.....	54
4.3.1. Kalitatif bulgular.....	54
4.3.2. Kantitatif bulgular.....	55
4.4. PCR sonuçlarına ilişkin bulgular.....	57
4.5. SSCP ve PAGE sonuçlarına ilişkin bulgular.....	58
4.6. İstatistiki analiz sonuçları.....	71
5. TARTIŞMA ve SONUÇ.....	93
KAYNAKLAR.....	107
ÖZGEÇMİŞ	

SİMGELER DİZİNİ

AFLP	Amplified Fragment Length Polymorphism
APS	Amonyum-per-sulfat
bp	Baz çifti
dNTP	Deoksiribonuklezid trifosfat
EST	DNA dizilerinin belirlenmesi
F_{IS}	Populasyon içi fiksasyon indeksi
F_{IT}	Tüm populasyonlar için fiksasyon indeksi
F_{ST}	Populasyonlar arası genetik çeşitlilik
He	Beklenen heterozigotluk
Ho	Gözlenen heterozigotluk
IHNV	İnfeksiyöz hematopoetik nekrozis virus
kb	Kilo baz
KF	Kondüsyon faktörü
mA	Mili amper
mtDNA	Mitokondriyal DNA
mM	Mili molar
μ l	Mikro litre
OD	Optik Dansitite
PAGE	Poliakrilamid jel elektroforezi
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonunu
QTL	Kantitatif özellik lokusu
RAPD	Rastgele çoğaltılmış polimorfik DNA
RFLP	Restriksiyon parça uzunluk polimorfizmi
SNP	Tek nükleotid polimorfizmleri
SSCP	Tek zincir konformasyon polimorfizmi
SSR	Basit dizilim tekrarları
TEMED	N,N,N',N'- tetrametil-etilendiamin
UV	Ultraviyole

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. 2. Genomik DNA üzerindeki mikrosatelit tekrarlama bölgesi.....	8
Şekil 3. 1. Yüksek ve düşük canlı ağırlığa sahip Gökkuşuğu alabalığı (<i>Onchorhynchus mykiss</i>) gruplarına ait bireyler.....	26
Şekil 3. 2. Örneklerle ait allel uzunluklarının UltraQuant programı kullanılarak belirlenmesi.....	47
Şekil 4. 1. Gruplara ait ortalama boy değerleri.....	52
Şekil 4. 2. Gruplara ait ortalama ağırlık değerleri.....	52
Şekil 4. 3. Gruplar arası kondüsyon faktörü farklılığı.....	53
Şekil 4. 4. İzole edilen DNA peleti.....	54
Şekil 4. 5. İzole edilen genomik DNA'ların % 1'lik agaroz jel elektroforezindeki görüntüleri.....	54
Şekil 4. 6. OMM1308 nolu lokusa ait mikrosatelit bölgenin % 1'lik agaroz jel elektroforezindeki kontrolü.....	56
Şekil 4. 7. FGT1 nolu lokusa ait mikrosatelit bölgenin % 6'lık poli akrilamid jel elektroforezindeki kontrolü.....	57
Şekil 4. 8. Strutta-12 nolu lokusa ait mikrosatelit bölgenin % 6'lık poli akrilamid jel elektroforezindeki kontrolü.....	58
Şekil 4. 9. OMM1338 nolu lokusa ait mikrosatelit bölgenin % 6'lık poli akrilamid jel elektroforezindeki kontrolü.....	59
Şekil 4. 10. OMM1041 nolu lokusa ait mikrosatelit bölgenin % 6'lık poli akrilamid jel elektroforezindeki kontrolü.....	60
Şekil 4. 11. OMM1070 nolu lokusa ait mikrosatelit bölgenin % 6'lık poli akrilamid jel elektroforezindeki kontrolü.....	61
Şekil 4. 12. OMM1130 nolu lokusa ait mikrosatelit bölgenin % 6'lık poli akrilamid jel elektroforezindeki kontrolü.....	62
Şekil 4. 13. OMM1308 nolu lokusa ait mikrosatelit bölgenin % 6'lık poli akrilamid jel elektroforezindeki kontrolü.....	63
Şekil 4. 14. OMM1302 nolu lokusa ait mikrosatelit bölgenin % 6'lık poli	

akrilamid jel elektroforezindeki kontrolü.....	64
Şekil 4. 15. OMM1309 nolu lokusa ait mikrosatelit bölgenin %6'lık poli akrilamid jel elektroforezindeki kontrolü.....	65
Şekil 4. 16. OMM1310 nolu lokusa ait mikrosatelit bölgenin %6'lık poli akrilamid jel elektroforezindeki kontrolü.....	66
Şekil 4. 17. OMM1316 nolu lokusa ait mikrosatelit bölgenin %6'lık poli akrilamid jel elektroforezindeki kontrolü.....	67
Şekil 4. 18. OMM1312 nolu lokusa ait mikrosatelit bölgenin %6'lık poli akrilamid jel elektroforezindeki kontrolü.....	68
Şekil 4. 19. OMM1375 nolu lokusa ait mikrosatelit bölgenin %6'lık poli akrilamid jel elektroforezindeki kontrolü.....	69
Şekil 4. 20. Faktöriyel benzerlik analizi sonucu grupların 3 boyutlu düzlemdeki görüntüleri.....	70
Şekil 4. 21. Faktöriyel benzerlik analizi sonucu grupların 2 boyutlu düzlemdeki görüntüleri.....	71
Şekil 4. 23. Bireyler arası genetik mesafeyi gösteren dendogram.....	73
Şekil 4. 24. Gruplar arası genetik mesafeyi gösteren dendogram.....	74

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1. 1. Su ürünlerinde yaygın olarak kullanılan moleküler teknikler.....	6
Çizelge 2. 2. Gökkuşuğu alabalığında mikrosatelit markıra dayalı seleksiyon için çalışılan ve çoklu genler tarafından kontrol edilen bazı kantitatif özellikler.....	18
Çizelge 2. 3. Mikrosatellit dizilerin analizinde karşılaşılan ortak sorunlar ve muhtemel sebepleri.....	19
Çizelge 3. 1. OMM1308 (<i>Oncorhynchus mykiss</i> mikrosatelit).....	27
Çizelge 3. 2. OMM1041 (<i>Oncorhynchus mykiss</i> mikrosatelit).....	27
Çizelge 3. 3. OMM1070 (<i>Oncorhynchus mykiss</i> mikrosatelit).....	28
Çizelge 3. 4. OMM1130 (<i>Oncorhynchus mykiss</i> mikrosatelit).....	28
Çizelge 3. 5. OMM1302 (<i>Oncorhynchus mykiss</i> mikrosatelit).....	29
Çizelge 3. 6. OMM1309 (<i>Oncorhynchus mykiss</i> mikrosatelit).....	29
Çizelge 3. 7. OMM1310 (<i>Oncorhynchus mykiss</i> mikrosatelit).....	30
Çizelge 3. 8. OMM1316 (<i>Oncorhynchus mykiss</i> mikrosatelit).....	30
Çizelge 3. 9. OMM1312 (<i>Oncorhynchus mykiss</i> mikrosatelit).....	31
Çizelge 3. 10. OMM1375 (<i>Oncorhynchus mykiss</i> mikrosatelit).....	31
Çizelge 3. 11. OMM1338 (<i>Oncorhynchus mykiss</i> mikrosatelit).....	32
Çizelge 3. 12. FGT1 (<i>Oncorhynchus mykiss</i> mikrosatelit)	32
Çizelge 3. 13. Strutta-12 (<i>Salmo trutta</i> mikrosatelit)	32
Çizelge 3. 14. TNES (DNA ekstraksiyon solüsyonu)	33
Çizelge 3. 15. TE (Tris-EDTA) tampon çözeltisi.....	33
Çizelge 3. 16. CIA (kloroform:isoamilalkol)	33
Çizelge 3. 17. PCI (fenol:kloroform:isoamilalkol)	34
Çizelge 3. 18. TAE (Tris asetik asit EDTA)	34
Çizelge 3. 19. TBE (Tris borik asit EDTA)	34
Çizelge 3. 20. %30'luk akrilamid/bis karışımı.....	35
Çizelge 3. 21. APS (amonyumpersülfat)	35
Çizelge 3. 22. Denatürasyon solüsyonu.....	35

Çizelge 3. 23. PCR uygulamalarında kullanılacak mikrosatelit primerler ve Özellikleri.....	41
Çizelge 3. 24. PCR protokolleri.....	42
Çizelge 3. 25. PCR karışımları.....	43
Çizelge 4. 1. Balıklara ait boy ve ağırlık değerleri.....	51
Çizelge 4. 2. DNA örneklerine ait spektrofotometrik ölçümler.....	55
Çizelge 4. 3. OMM1041 lokusuna ait allel uzunlukları, gruplardaki allel frekansları, F_{IS} , F_{IT} ve F_{ST} değerleri.....	75
Çizelge 4. 4. OMM1070 lokusuna ait allel uzunlukları, gruplardaki allel frekansları, F_{IS} , F_{IT} ve F_{ST} değerleri.....	77
Çizelge 4. 5. OMM1130 lokusuna ait allel uzunlukları, gruplardaki allel frekansları, F_{IS} , F_{IT} ve F_{ST} değerleri.....	78
Çizelge 4. 6. OMM1308 lokusuna ait allel uzunlukları, gruplardaki allel frekansları, F_{IS} , F_{IT} ve F_{ST} değerleri.....	79
Çizelge 4. 7. OMM1302 lokusuna ait allel uzunlukları, gruplardaki allel frekansları, F_{IS} , F_{IT} ve F_{ST} değerleri.....	80
Çizelge 4. 8. OMM1309 lokusuna ait allel uzunlukları, gruplardaki allel frekansları, F_{IS} , F_{IT} ve F_{ST} değerleri.....	81
Çizelge 4. 9. OMM1310 lokusuna ait allel uzunlukları, gruplardaki allel frekansları, F_{IS} , F_{IT} ve F_{ST} değerleri.....	82
Çizelge 4. 10. OMM1316 lokusuna ait allel uzunlukları, gruplardaki allel frekansları, F_{IS} , F_{IT} ve F_{ST} değerleri.....	83
Çizelge 4. 11. OMM1312 lokusuna ait allel uzunlukları, gruplardaki allel frekansları, F_{IS} , F_{IT} ve F_{ST} değerleri.....	84
Çizelge 4. 12. OMM1375 lokusuna ait allel uzunlukları, gruplardaki allel frekansları, F_{IS} , F_{IT} ve F_{ST} değerleri.....	85
Çizelge 4. 13. OMM1338 lokusuna ait allel uzunlukları, gruplardaki allel frekansları, F_{IS} , F_{IT} ve F_{ST} değerleri.....	86
Çizelge 4. 14. FGT1 lokusuna ait allel uzunlukları, gruplardaki allel frekansları, F_{IS} , F_{IT} ve F_{ST} değerleri.....	87

Çizelge 4. 15. F_{IS} , F_{IT} ve F_{ST} değerleri.....	88
Çizelge 4. 16. Gruplar arası hesaplanan F_{ST} , F_{IT} ve F_{IS} değerleri.....	88
Çizelge 4. 17. Nei'ye göre hesaplanan gruplar arası genetik mesafeler (DA).....	89
Çizelge 4. 18. Beklenen heterozigotluk (He) değerlerinin her bir mikrosatelit lokus için gruplara göre dağılımı.....	89
Çizelge 4. 19. Gözlenen heterozigotluk (Ho) değerlerinin her mikrosatelit lokus için gruplara göre dağılımı.....	90
Çizelge 4. 20. Tüm gruplarda her bir mikrosatelit lokus için ortalama He ve Ho değerleri ve allel sayıları.....	90
Çizelge 4. 21. Tüm mikrosatelit lokuslarda gruplar için He ve Ho değerleri.....	91

1. GİRİŞ

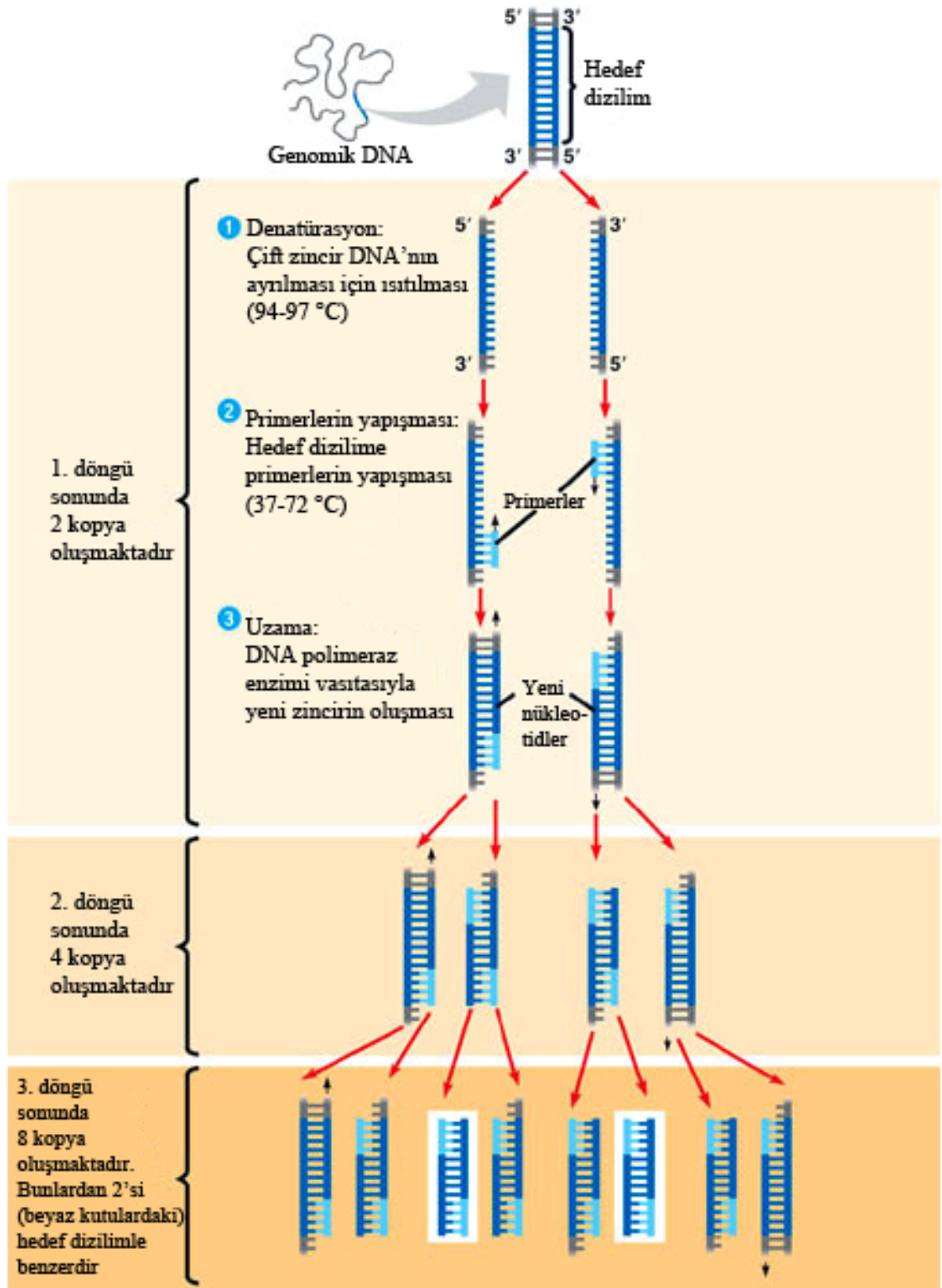
Gen teknolojisi, yaklaşık 40 yıl içinde tıp ve tarım başta olmak üzere ormancılıktan çevre mühendisliğine, enerji sektöründen kozmetik endüstrisine kadar yaşamın hemen her alanında etkisini göstermektedir (Çırakoğlu 2005). Bu teknolojide kullanılan genetik materyallerin diğer kullanılabilecek materyallere kıyasla birçok avantajının bulunması, tercih nedenlerini arttırmaktadır. Genetik materyal kullanılarak yapılan çalışmalardaki güvenilirlik oranı oldukça yüksektir. Farklı tanı yöntemlerinde kullanılan yağ asitleri, enzimler vb. materyallere nazaran ışık, sıcaklık, nem gibi çevre faktörlerinden etkilenme durumu söz konusu olmadığından daha hassastır (Dilmeç vd 1999). Yine günümüzde genetik materyal kullanılarak yapılan çalışmaların popülaritesinin ve bilim sahasındaki kabul edilebilirlik oranının oldukça yüksek oluşu dikkat çekicidir (Aksakal 2005).

Moleküler biyolojideki son teknolojik gelişmeler, özellikle *in vitro* şartlarda nükleik asit çoğaltılması ve tespitine imkân sağlayan yöntemler, tanı ve tedavi protokollerinde önemli reformlar sağlamıştır. Hemen hemen tüm alanlarda geniş kullanım alanı bulan nükleik asit çoğaltma ve tespit yöntemleri, genel anlamda iki farklı prensip üzerine oturtulmuştur. Bunlar; nükleik asit prob hibridizasyon ve nükleik asit amplifikasyon yöntemleridir. Nükleik asit prob hibridizasyon yöntemi, moleküler yöntemlerin en eski ve basit olanıdır. Örnekteki hedef nükleik asit dizisi, komplementeri olan işaretli bir prob ile hibritlenmekte ve tanı konmaktadır. Nükleik asit amplifikasyon teknolojisi ise nükleik asit teknolojisinin en karmaşık ve duyarlı olanıdır. Hedef DNA'yı çoğaltmak için enzim kullanılır ve teorik olarak pratikte her zaman mümkün olmamakla birlikte bir kopya DNA'yı tanımlayabilir. Nükleik asit amplifikasyon testlerinin çoğunda, ortaya çıkan ampikonu tespit için nükleik asit problemleri ve agaroz jelde ampikonların boyanarak gösterilmesi yoluna gidilmektedir (Lisby 1999). Her türlü materyalin örnek olarak değerlendirilebildiği, hedef genlerin veya nükleik asitlerin *in vitro* şartlarda çoğaltılabilmesi ve tanımlanmasına imkân sağlayan bu yöntemler, normal gen yapısının analizinin yanı sıra, genlerdeki inversiyon, delesyon veya nokta mutasyonlarının belirlenmesinde yardımcı olmaktadır (Schweitzer *et al.* 2001). Moleküler alanda bu

amaçlar doğrultusunda geliştirilen PCR yöntemi, yapılan çalışmaları daha hassas, kolay ve hızlı bir hale getirmiştir.

PCR, DNA'nın belli bir bölümünün DNA polimeraz enzimi yardımı ile çoğaltılmasıdır. Bu işlem için 10-30 nükleotidden oluşan primerler kullanılmaktadır. Dizayn edilen primerler, çoğaltılması arzu edilen DNA bölgesine spesifik olarak bağlanarak tepkimeyi başlatmaktadırlar (Kalender 2003). DNA polimeraz enzimi, DNA'ya bağlanmış primerlerin 3' ucuna ortamda bulunan deoksinükleotid trifosfatları (dATP, dCTP, dGTP ve dTTP) karşı DNA iplikçliğini kalıp olarak kullanarak ekleyip nükleotid zincirini uzatmaktadır. DNA polimerazın çalışabilmesi için ortamda tampon görevi yapacak olan çözeltiler, tuzlar ve Mg^{+2} , Mn^{+2} iyonları bulunmalıdır. Tepkimede üç değişiklik söz konusu olmaktadır. 94-97 °C üzeri sıcaklık DNA çift iplikçığının termal olarak ayrışmasını sağlamakta, 37-72 °C sıcaklık primerlerin kalıp DNA'ya spesifik olarak bağlanmasını sağlamaktadır. Son sıcaklık aşaması da 72 °C olup DNA polimeraz enziminin primerlerin 3' ucuna nükleotidleri eklemesi için gerekli olan sıcaklıktır. Bu üç sıcaklık bir döngü halinde yaklaşık 25-30 kez tekrarlanarak tek bir DNA parçası 2^n kadar çoğaltılmaktadır (n=döngü sayısı) (Şekil 1.1) (Mullis and Faloona 1987; Saiki *et al.* 1988; Küçüktaş 2005).

PCR teknolojisindeki gelişmelere bağlı olarak genomik DNA üzerindeki mikrosatelit adı verilen tekrarlı bölgelelerinin amplifikasyonu ve bunu takiben SSCP uygulamaları ile allel uzunluklarının tespiti, moleküler biyolojide kullanımı yaygın hale gelen yöntemlerin başında yer almaktadır.



Şekil 1. 1. PCR ile DNA üzerindeki bir bölgenin amplifikasyonu (Anonim 2009a)

Tüm yetiştiricilik alanlarında olduğu gibi su ürünleri yetiştiriciliğinde de temel amaç en az masrafla birim alandan maksimum ürün elde etmektir. Klasik ıslah ve seleksiyon metotlarıyla uzun zaman alan bu uygulama, yetiştiricilik programlarının oluşturulmasında tam anlamıyla istenilen sonucu vermemektedir. Bu sorunun çözümüne alternatif sunan moleküler tabanlı çalışmaların son yıllarda su ürünleri sahasında seleksiyon amaçlı kullanımına sıklıkla rastlanmaktadır. Ancak ülkemizde su ürünleriyle ilgili sistematik, morfoloji, anatomi, hastalık, besleme ve yetiştiricilik çalışmalarında şu ana kadar moleküler tabanlı metotların etkin kullanılmadığı aşıkardır. Ülkemizin mevcut gen kaynakları ve biyo çeşitliliği göz önüne alındığında, bu durumun üzerinde durulması gerekliliği gözlemlenebilir.

Son yıllarda moleküler tabanlı çalışmalardan mikrosatelitler veya basit dizilim tekrarları (SSR–Simple Sequence Repeat) (O'Connell and Wright 1997) su ürünlerinde en çok kullanılan metotlardan birisidir. Bununla birlikte; RFLP (Restriction fragment length polymorphism–Restriksiyon Parçacık Uzunluk Polimorfizmi) (Akasaki *et al.* 2006; Aksakal ve Erdoğan 2007), SNP (Single Nucleotide Polymorphism–Tek Nükleotid Polimorfizmleri) (Tao and Boulding 2003), AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism–Çoğaltılmış Parça Uzunluk Polimorfizmleri) (Kocher *et al.* 1998), RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA–Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA) (Partis and Wells 1996) ve EST (Expressed sequence tags–DNA dizilerinin belirlenmesi) (Naruse *et al.* 2000) gibi diğer moleküler teknikler su ürünleri sahasında yaygın olarak kullanılmaktadır.

Su ürünlerinde yaygın olarak kullanılan bazı moleküler teknikler ve özellikleri Çizelge 1.1’de verilmiştir. Bunlar içerisinde ilk kullanılanlar allozimler olmuştur. Farklı moleküler tekniklerin geliştirilmesiyle birlikte Mitokondriyal DNA, Restriksiyon Parçacık Uzunluk Polimorfizmi, Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA, Çoğaltılmış Parça Uzunluk Polimorfizmleri, DNA dizilerinin belirlenmesi, Tek Nükleotid Polimorfizmleri ve mikrosatelitler su ürünlerinde yaygın bir şekilde kullanılmaya başlamıştır. Özellikle bunlar içerisinde Çoğaltılmış Parça Uzunluk Polimorfizmleri (AFLP) ve mikrosatelitler polimorfizm oranlarının yüksek oluşu nedeniyle en çok tercih

edilen moleküler teknikler olmuştur (Liu and Cordesb 2004). Su ürünlerinde genetik kaynakların kontrol altında tutulması ve korunması için uygun genetik işaretleyicilerin kullanımı büyük bir öneme sahiptir (Nelson and Soule 1987). Bir türün popülasyonları gibi, yakın canlı gruplarının karşılaştırmalı olarak çalışılacağı ya da popülasyonlarda yakın zamanda oluşmuş olan bir olayın izlerinin aranacağı bir durumda, en çok kullanılan genetik işaretlerden birisi mikrosatellitlerdir (Togan vd 2003).

Çizelge 1. 1. Su ürünlerinde yaygın olarak kullanılan moleküler teknikler (Liu and Cordesb 2004)

Markır tipi	Kalıtım biçimi	Lokus	Allel sayısı	Polimorfizm	Uygulama alanı
Allozim	Mendel, kodominant	Tekli	2–6	Düşük	Gen bağlantı haritası, Populasyon çalışmaları
Mitokondriyal DNA	Anasal kalıtım	Tekli	Çoklu haplotip	–	Anasal nesil
Restriksiyon Parçacık Uzunluk Polimorfizmi	Mendel, kodominant	Çoklu	2	Düşük	Gen bağlantı haritası
Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA	Mendel, dominant	Çoklu	2	Orta	Populasyon çalışmalarındaki parmak izi analizi
Çoğaltılmış Parça Uzunluk Polimorfizmleri	Mendel, dominant	Tekli	2	Yüksek	Gen bağlantı haritası, Populasyon çalışmaları
Mikrosatelitler	Mendel, kodominant	Tekli	Çoklu	Yüksek	Gen bağlantı haritası, Populasyon çalışmaları, Ebeveyn tayini
DNA dizilerinin belirlenmesi	Mendel, kodominant	Tekli	2	Düşük	Gen bağlantı haritası, fiziksel gen haritalama, karşılaştırmalı gen haritalama
Tek Nükleotid Polimorfizmleri	Mendel, kodominant	Tekli	2–4	Yüksek	Gen bağlantı haritası, Populasyon çalışmaları

Mikrosatellitler basit olarak nükleotid dizi tekrarlarının rasgele düzenlenmiş çok sayıda kopyalarından meydana gelir (Şekil 1.2). Bu baz tekrarlarının sayısı 1-6 arasında değişmektedir (ACA, GATA gibi) (Tautz 1989; Litt and Luty 1989). Yüksek derecede polimorfiktirler ve önemli bir genetik işaretleme sistemini oluştururlar. Bu dizileri incelemek için iki aşama gereklidir. Bunlar; PCR ile çoğaltma ve elektroforez tekniğiyle görüntüleme işlemleridir.

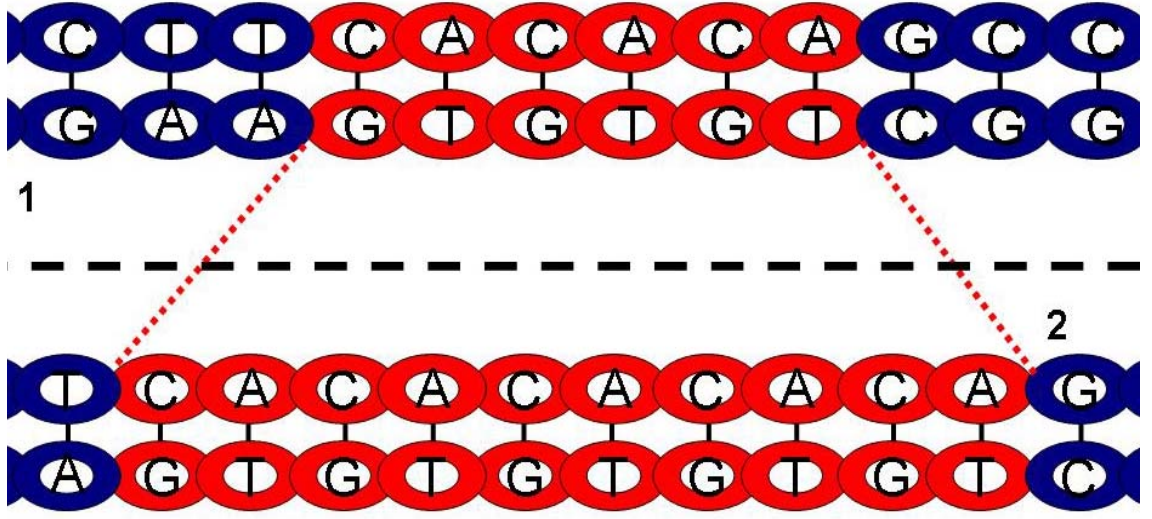
Mikrosatellitler tekrar dizilerine göre 4'e ayrılırlar (Oliviera *et al.* 2006);

- Mükemmel dizilime sahip mikrosatellitler: Tekrarlama dizisine ait olmayan herhangi bir baz tarafından kesilmez. Örneğin; TATATATATATATATA
- Kusurlu dizilime sahip mikrosatellitler: Tekrarlama dizisi ile eşleşmeyen bir baz çifti içermektedir. Örneğin; TATATATACTTATATA
- Kesikli dizilime sahip mikrosatellitler: Tekrarlama dizisi ile eşleşmeyen kısa bir baz dizilimini içermektedir. Örneğin; TATATACGTGTATATATATA
- Karışık dizilime sahip mikrosatellitler: Yan yana iki farklı mikrosatelit dizilimini içermektedir. Örneğin; TATATATATATAGTGTGTGTGTGT

Heterezigot mikrosatelit lokusu her bir allel için farklı sayıda tekrara sahip iken bir homozigot mikrosatelit lokusu her iki homolog kromozom üzerinde aynı sayıda tekrara sahiptir. Örneğin; 1 allel 9 tekrar dizilimi içerirken, diğer allel 10 tekrar dizilimi içerebilir. Yani;

- Allel- 1 (TA)₉=TATATATATATATATATATA
- Allel- 2 (TA)₁₀= TATATATATATATATATATATA şeklindedir (Oliviera *et al.* 2006).

Populasyondaki bireyler birbirine benzer ancak her biri farklı tekrarlama dizilerine sahip çeşitli alleller içermektedir. Bu da mikrosatellitlerin populasyon içerisindeki bireylerin ayırımında oldukça kullanışlı markılar olduğu anlamına gelmektedir. Mikrosatellitlerin populasyon genetiği çalışmalarında ve adli tıpta kullanımı, onun yüksek ayırım gücüne sahip olduğunu doğrulayan önemli bir kanıttır (Oliviera *et al.* 2006).



Şekil 1. 2. Genomik DNA üzerindeki mikrosatellit tekrarlar bölgesi (Anonim 2009b)

Balıklarda çoğunlukla bu baz tekrarları her 10 kilo baz'da bir meydana gelmektedir. Mikrosatellitler kromozomların bütün bölgelerinde dağılmışlardır. Bunlar genleri kodlayan bölgeler, intronlar ve gen olmayan nükleotid diziler içerisinde bulunur. Kodlanan bölge içerisinde mikrosatellitlerin en iyi bilinenlerine bir örnek insanda genetik hastalığa sebep olan CAG tekrarlarıdır (zekâ gerilemesi). Birçok mikrosatellit bölgesi bir kaç bazdan birkaç yüz baza kadar değişen küçük nükleotid dizi tekrarlarıdır. Mikrosatellitlerin nisbeten küçük bölgeleri PCR işlemini için önemlidir. Genellikle büyük bölgelerin daha polimorfik olduğu söylene de, mikrosatellit polimorfizmi beş kadar az tekrarda gözlenir (Karsi *et al.* 2002). Mikrosatellit polimorfizmi, bir lokusta allellerden meydana gelmiş tekrarların değişen sayıdaki büyüklüklerine bağlıdır. Mikrosatellit mutasyon oranının her nesil için 10^{-2} kadar yüksek olduğu bildirilmektedir (Weber and Wong 1993; Crawford and Cuthbertson 1996). Balıklarda birkaç türde mikrosatellit bölgelerinin tekrar sayılarında büyük farklılıklar olduğu bildirilmektedir. Bir populasyon içerisinde nükleotid dizi tekrarlarının sayısındaki değişiklik her mikrosatellit allellerinin sayısındaki farklılığa sebep olur. Mikrosatellitler genetik çeşitliliği belirlemedeki kolaylığı yüzünden son yıllarda en çok kullanılan genetiksel yöntemlerden biri olmuştur. Bu özellikleriyle populasyon genetiği çalışmalarında kullanılan ideal markırlardan biridir (Goldstein and Schlötterer 1998; Liu and Cordesb 2004).

Mikrosatellit dizileri incelenirken iki yol izlenebilir. Bunlardan birisi yalnızca baz çifti uzunluğunun tespitine yönelik olup, PCR ile çoğaltma ve elektroforez tekniğiyle görüntülemekten ibarettir. Bu amaçla balıktan izole edilen DNA üzerindeki ilgili mikrosatellit bölgeler PCR ile çoğaltılır. Bu bölgeler Tek Zincir Konformasyon Polimorfizmi (SSCP) gibi bir metotla denatüre edildikten sonra, denatüre edici poliakrilamid jel elektroforezinde yürütülerek ya da denatüre edici yoğun (genellikle %3) metafor jel elektroforezi uygulaması ile allellere ayrılır. Yürütülen örnekler görüntüleme sisteminde fotoğraflandıktan sonra GeneSnap, UltraQuant gibi programlarda mikrosatellitlere ait allellerin baz uzunlukları tespit edilir. Burada sıklıkla rastlanılan sorun PCR ile çoğaltılmış bir mikrosatellit allelinin tek bir bant değil de bir bantlar merdiveni şeklinde görüntü veriyor olmasıdır. Çoğaltılan mikrosatellit bölgesine ait allel bu bantlar içerisinde en yoğun olanıdır. Diğer bantlar, genellikle orijinal allelden küçüktür. Bunun nedeni PCR uygulamasıyla DNA zincirinde oluşan kaymalardır (*in vitro* DNA slippage). Eğer mikrosatellit bölgedeki baz tekrarları dinükleotit ise trinükleotitlere göre daha çok sayıda bant oluşmaktadır. Buda istenmeyen bir durum olduğu için mikrosatellit bölgeler için primer seçiminde dinükleotid tekrarları değil, trinükleotid tekrarlar tercih edilebilir. Yine, *Taq* DNA polimeraz enziminin terminal transferaz aktivitesi sonucu PCR ürünlerinde beklenenden bir baz daha fazla uzun ürünlerin oluşması ve buna bağlı olarak beklenen allel sayısından fazla bant görülebilir (Hoelzel 1998; Devrim ve Kaya 2004).

Diğer bir yol ise, DNA izolasyonu sonrasında genomik DNA'nın *AluI*, *HaeIII* ve *RsaI* restriksiyon enzimleriyle kesme ve sonrasında 300-500 bp'lik DNA parçacıklarının vektöre klonlanarak Rekombinant DNA'nın elde edilmesidir. Rekombinant DNA *Escherichia coli* bakteri hücresine ısı şoku ile sokulur ve bu bakteri hücreleri katı besiyerlerinde çoğaltılır. Bakteri hücresi içine girmiş olan rekombinant DNA'lı hücrelerin besiyerinde oluşturdukları koloniler beyaz renkte, diğerleri ise mavi renktedir. Bu beyaz renkli kolonilerden alınan örneklere direkt PCR yapılır. Sonuç veren bakteri kolonilerine ait ürünlerden vektör izolasyon kitiyle Rekombinant DNA'lar izole edilir ve DNA Sequencer'da baz dizisi ve uzunluğu belirlenir (Hoelzel 1998).

Elde edilen verilerin değerlendirilmesinde en çok kullanılan istatistikî programlardan biri olan Amova (Moleküler Varyans Analizi), Arlequin (<http://lgb.unige.ch/arlequin/>) isimli paket programında yapılabilmektedir (Excoffier *et al.* 1992). Ayrıca, Genetix (Belkhir *et al.* 2001), Genepop, GeneClass (Cornuet *et al.* 1999a) gibi istatistik programlar da kullanılmaktadır. Genetik mesafe değerlerinin dendogram çiziminde ise Phylip (Felsenstein 1993) ve Treeview (Page 1993) gibi programlar kullanılmaktadır. Bu analizlerle popülasyonlara ait; Faktöriyel Benzerlik Analizi (FCA), allel frekansları, özgün alleller ve frekansları, beklenen (H_e) ve gözlenen (H_o) heterozigotluk değerleri, F_{ST} , F_{IS} ve F_{IT} değerleri, Hardy–Weinberg dengesi ve genetik mesafeler belirlenebilir (Raymond and Rousset 1995; Cornuet *et al.* 1999b).

Gelişen gen teknolojisine paralel olarak biyomarkırların (AFLP, RFLP, RAPD, Mikrosatellit ve SNP) moleküler genetikte kullanımı her geçen gün daha fazla artmaktadır. Bu gen teknolojileri ile elde edilen genetik ilerleme ve ıslah çalışmaları dikkate değerdir.

Yapılan bu çalışma ile aynı yetiştirme koşullarında bulunan (işçilik, yemleme, su kriterleri, stok vb.) 8 aylık Gökkuşığı alabalığı (*Onchorhynchus mykiss*) gruplarında yüksek ve düşük canlı ağırlığa sahip bireyler arasındaki genetik varyasyonun mikrosatellit markırlar kullanılarak ortaya çıkarılması amaçlanmıştır. Bu amaçla, Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Su Ürünleri Bölümü bünyesinde bulunan Alabalık Üretim ve Araştırma Merkezindeki 40 adet (20'si düşük canlı ağırlığa sahip, 20'si yüksek canlı ağırlığa sahip) 8 aylık Gökkuşığı alabalığı (*Onchorhynchus mykiss*) kullanılmıştır. Balık dokularından genomik DNA fenol-kloroform metodu ile izole edilmiştir. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) yöntemiyle DNA üzerindeki ilgili mikrosatellit bölgeleri çoğaltılmıştır. Mikrosatellit bölgeler SSCP (Single Strain Conformation Polymorphism-Tek Zincir Konformasyon Polimorfizmi) uygulaması ile allellere ayrılmıştır. Poliakrilamit Jel Elektrofrezinde (PAGE) yürütülen örnekler görüntüleme sisteminde fotoğraflandıktan sonra GeneSnap version 6.05 programı ile örnekler ait allellerin baz uzunlukları tespit edilmiştir. Elde edilen veriler GENETIX 4.02 programında; Faktöriyel Benzerlik Analizi, allel frekansları, özgün alleller ve

frekansları, beklenen ve gözlenen heterozigotluk değerleri, F_{ST} , F_{IS} , F_{IT} değerleri, populasyonların Hary-Weinberg dengesinde olup olmadığı ve Nei (1983)'ye göre gruplar arası genetik mesafeler belirlenmiştir. Bulunan değerler permutasyon testine tabi tutularak istatistiksel olarak önemliliği test edilmiştir.

Su ürünleri yetiştiriciliği programlarının oluşturulmasında özellikle alabalık gibi yetiştiriciliği dünyada çok yaygın yapılan ekonomik öneme sahip türlerde, klasik ıslah metotlarına nispeten daha kısa zamanda ve güvenilir sonuç alınabilecek DNA düzeyindeki çalışmalar daha popüler ve kabul edilebilir niteliktedir. Islah ve yetiştirme programlarının oluşturulmasında, üstün verimli bireylerin anaç olarak seçilebilmesi için gerekli olan verilerin doğru olarak toplanmasına olanak verecek olan mikrosatelitlerin kullanımı; büyüme, hastalıklara dayanıklılık vb. yönlerden üstün verimli bireylerin oluşturacağı populasyonların oluşumunu mümkün kılacak ve birim alandan elde edilen ürün miktarını arttıracak potansiyele sahip bir biyomarkıdır.

Bu çalışma, Gökkuşığı Alabalığı (*Onchorhynchus mykiss*) yetiştiriciliğinin gelecekte ıslah ve yetiştirme programlarının oluşturulmasında, üstün verimli bireylerin anaç olarak seçilebilmesi için gerekli olan verilerin doğru olarak toplanmasına olanak verecektir. Bu biyomarkırların kullanılmasıyla ileride yapılacak ıslah çalışmalarında, büyüme yönünden üstün verimli bireylerin oluşturacağı populasyonların elde edilerek üretim kapasitesinin moleküler teknikler kullanılarak arttırılması amaçlanmıştır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Gökkuşığı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) Kuzey Amerika'nın önemli bir alabalık türüdür. Buradan birçok kıtaya yayılmıştır. Avrupa'ya 1880, ülkemize ise 1970'li yıllarda getirilmiştir. Denize göçen alttürleri vardır. Gökkuşığının taksonomik sınıflandırılması ile ilgili olarak 30'dan fazla tür ismi tanımlanmıştır. Uzun yıllar *Salmo gairdneri* R. ismiyle bilinmiştir. Ancak 1988'de Amerika Balıkçılık Derneği Balık İsimlendirme Komitesi, bütün Pasifik alabalık ve salmonlar için *Oncorhynchus*'un cins ismi olarak kullanılmasını ve böylelikle, Atlantik alabalık ve salmonlardan ayırt edilmesini kararlaştırılmıştır. Böylece gökkuşığının tür ismi olarak bilinen *Salmo gairdneri* yerine *Oncorhynchus mykiss* tür ismi olarak kullanılmaya başlanmıştır. Bu isim değişikliği uluslar arası düzeyde de kabul görmüştür (Emre 2004).

Gökkuşığı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*), ekonomik değerinin yüksek oluşu nedeniyle üzerinde en fazla araştırma yapılan balık türlerinden birisidir. Gall ve Crandell'e göre (1990) muhtemelen Sazan (*Cyprinus carpio*)'dan sonra kültürü yapılan ilk türdür. İlk yetiştiricilik çalışmaları, Kuzey Amerika'da 1874 yılında gökkuşığı alabalığı yumurtalarının, McCloud Irmağı'ndan Kuzey Kaliforniya'daki özel bir kuluçkahaneye taşınarak kuluçkalanmasıyla başlamıştır. Daha sonraları ise 1877 yılında Japonya'ya, 1885 yılında İngiltere'ye getirilmiştir (Akhan ve Canyurt 2005).

Türkiye'de gökkuşığı alabalığı üretimi, 1970'li yıllarda dışarıdan getirilen yumurtalarla başlamıştır (Canyurt 1985). Günümüzde ise gökkuşığı alabalığı kültürü yapılan en önemli tür konumundadır. Gökkuşığı alabalığı üretimi, gerek potansiyel su kaynaklarının üretime alınması, gerekse yetiştiricilikte karşılaşılan problemlerin (kaliteli yem, hastalıklara karşı mücadele, vb.) çözülmüş olması nedeniyle her geçen yıl artarak devam etmektedir. Türkiye'de gökkuşığı alabalığı yetiştiriciliği, başlangıçta yumurta ithal edilerek başlamıştır. Zaman içerisinde de üreticiler yavru ihtiyaçlarını kendi damızlıklarından yetiştirerek karşılamışlardır (Canyurt 1985). Şüphesiz, üreticiler damızlık seçimini yaparken üstün verime sahip bireyleri tercih etmişlerdir. Yani

farkında olmadan bilinçsiz bir ıslah yapmışlardır. Gökkuşaağı alabalığı yetiştiriciliğinde gözlenen genetik varyasyonun DNA düzeyinde ortaya konulması ileride yapılacak ıslah çalışmaları açısından büyük önem taşımaktadır. (Allendorf and Utter 1979; Yıldırım ve Kandemir 2001; Akhan ve Canyurt 2005).

Gökkuşaağı alabalığı genomu 58-64 kromozom (Thoorgaard 1983) ve yaklaşık $2,4 \times 10^9$ baz çifti içermektedir (Ohno and Atkin 1966; Ardren *et al.* 1999). Moleküler biyoloji alanındaki gelişmelere bağılı olarak son yıllarda gökkuşaağı alabalığı üzerinde yapılan araştırmalar oldukça artmıştır. Young *et al.* (1998) ve Sakamoto *et al.* (2000) gökkuşaağı alabalığına ait 2 genetik bağlantı haritası yayınlamışlardır ve daha detaylı haritalar geliştirilmektedir. Geçtiğimiz iki sene içerisinde gökkuşaağı alabalığı için 250'den fazla polimorfik mikrosatelit markır geliştirilmiştir. Atlantik salmonu için geliştirilen mikrosatelitlerin yaklaşık yarısının gökkuşaağı alabalığı için de kullanılabileceğı belirlenmiştir. Yine Pasifik salmon için geliştirilen birçok mikrosatelit markırın gökkuşaağı alabalıklarında mikrosatelit dizilerini yüksek oranda çoğaltabildiğı tespit edilmiştir. Bu da gökkuşaağı alabalığında şu anda toplamda 500'den fazla mikrosatelit markırın kullanıldığı anlamına gelmektedir (Thorgaarda *et al.* 2002).

Son yıllardaki NCBI veritabanına göre; 632'si EST (Express sequence tags) olmak üzere; gökkuşaağı alabalığına ait toplamda 2200 nükleotid dizisi bulunmaktadır. Bu veriler Zebra balığı için 245000 ve Medaka için ise 46700 nükleotid olup, gökkuşaağı alabalığından oldukça fazladır. Son yıllarda üzerinde en yoğun çalışma konusu gökkuşaağı alabalığının ESTs veritabanını arttırmaya yönelik çalışmalardır. Üzerinde durulan diğeri bir konu ise solungaç, karaciğer, beyin, böbrek, dalak ve kasa ait normalize edilmiş cDNA kütüphanesinden 45.000 klonun dizilenerek yeni EST bölgelerinin belirlenmesidir. Fransız Ulusal Ziraî Araştırma Enstitüsü'nün alabalık genom projesi 120000 ESTs bölgesini tamamlamayı hedeflemiştir. Bu cDNA kütüphaneleri; karaciğer, böbrek, beyin, kas, kan, bağırsak, yumurtalık, testis, gonadlar, adipoz dokusu, solungaç ve karaciğerden elde edilmiştir. Bu çalışmalar ESTs bölgelerinin genetik bağlantı haritalarının oluşturulmasında faydalı olacağını göstermektedir. şu ana kadar gökkuşaağı alabalığı genomuna ait 4 BAC (Bakteri Yapay

Kromozomları) kütüphanesi oluşturulmuştur. Bu kütüphaneler 58 kb ve 110 kb'lık büyüklüğe sahiptir ve haploid genomun sırasıyla 6,7 ve 5,3 kat'ını kapsamaktadır. Amerika'da oluşturulan diğer 2 BAC kütüphanesi ise 130 kb'dır (Thorgaarda *et al.* 2002).

Bugüne kadar genetik bağlantı haritalarının en çok QTL haritaları çalışılmıştır (Sakamoto *et al.* 1999; Ozaki *et al.* 2001; Perry *et al.* 2001; Robison *et al.* 2001). Genetik bağlantı haritalarının oluşturulması gökkuşağı alabalığı yetiştirme programları için markıra dayalı seleksiyon uygulamalarını da mümkün kılacaktır. Bu haritalar farklı sezonlarda yumurtlayan alternatif balıkların üretilmesinde yumurtlama zamanını kontrol eden gen allellerinin değiştirilmesinde kullanılabilir. Daha önceki yıllarda yapılan çalışmalarda gökkuşağı alabalığında gamet üretimi için yıl boyunca devam eden farklı zamanlarda yumurtlayan birçok nesil üretilmiştir. Yumurtlama zamanı genetik bileşenler tarafından güçlü bir şekilde kontrol edilir ve yüksek derecede poligeniktir. (Siitonen and Gall 1989; Sakamoto *et al.* 1999; Thorgaarda *et al.* 2002).

Ekonomik olarak istenilen özelliklerin bir popülasyondan diğerine aktarılmasında gen introgresyonu bitki ıslahında geniş çapta kullanılmaktadır (Stamova and Chetelat, 2000). Bu yaklaşımda, genetik işaretleyiciler geriye çaprazlama, döl seçimi için istenilen alellere sıkıca bağlanmıştır. Geriye çaprazlama istenilen özelliklere sahip popülasyonlar arasında kullanılmaktadır. Bu yaklaşım özellikle gökkuşağı alabalığı yetiştiriciliğinde farklı sezonlarda yumurtlayan ve popülasyonlar arasında çiftleşmeye imkan veren üstün üreme özellikleriyle ilişkili genlerin kesin seçimine de olanak tanımaktadır (Thorgaarda *et al.* 2002).

Alabalık genom projesi diğer Salmonid türlerin genetik haritalarının oluşturulmasında kullanılabilir. Ayrıca Fugu ve Zebra balığının yeni dizilenmiş genomu ile karşılaştırmalı genomik çalışmalar yapılmaktadır. Ancak Alabalık, Zebra balığı ve Fugu balığı arasındaki akrabalık uzaklığına bağlı olarak, bu türler arasındaki karşılaştırmalı çalışmalar gen haritalarının oluşturulmasında tek başına çok da yararlı olmayabilir. Gökkuşağı alabalığı, hızlı gelişebilen ve deneysel olarak kolay denetlenebilen bir model

organizmadır. Boyutları, kontrollü üremeleri, hakkında oldukça fazla bilginin olması hem doğal hem de klonal araştırmalardaki kullanılabilirliği ile diğer model balık türlerinden gökkuşağı alabalığını ayırmaktadır. Gökkuşağı alabalığı aynı zamanda modern moleküler tekniklerin uygulanabileceği bir model organizma vasfını da taşımaktadır (Thorgaard *et al.* 2002).

Günümüzde genetik mühendisliğinde kullanılan yeni teknikler, gelişmiş ülkelerde balık ıslahı ve genetiği alanında da kullanılmaya başlanmış, değişik balık türlerinde ırk içi ve ırklar arası genetik varyasyonlar belirlenmiştir. Alabalık yetiştiriciliği yapan işletmelerdeki farklı canlı ağırlığa sahip bireyler arasındaki varyasyonun DNA düzeyinde belirlenmesi, gerek ileride yapılacak ıslah gerekse moleküler genetik çalışmalarına temel oluşturacaktır. Özellikle son yıllarda balıklarda üstün verimli bireylerin seçilmesinde (hastalıklara dayanıklı, hızlı büyüyen) mikrosatellitlerin kullanımına literatürlerde sıklıkla rastlanmaktadır.

Mikrosatellit yüksek düzeyde polimorfik özelliğe sahip olduğu için kullanım amaçları oldukça çeşitlilik arz etmektedir (Özkan 2005);

- a) Populasyon genetiği çalışmalarında,
- b) Yüksek derecede polimorfizm göstermelerinden dolayı ve lokuslara özgü işaretleyiciler olması nedeniyle mikrosatellitler linkaj analizleri ve ebeveyn tayini çalışmalarında,
- c) Gen haritalarının çıkartılması çalışmalarında (Çizelge 2.1),
- d) Populasyonlar içi genetik çeşitliliğin ölçülmesine ilişkin çalışmalarda, populasyonlar arası genetik farklılık ya da benzerliklerin belirlenmesine ilişkin çalışmalarda,
- d) Akrabalı yetiştiriciliğin ölçülmesinde, kodominant kalıtımın belirlenmesinde ve akrabalık ilişkilerinin belirlenmesi çalışmalarında kullanılırlar.

Çalışma amacına göre kullanılacak mikrosatellit bölgelerinin seçiminde dikkate alınan bazı kriterler vardır. Çalışılan mikrosatellitlerin farklı kromozom bölgeleri üzerinde olmaları, polimorfizm düzeyinin yüksek olması, heterozigotluk düzeylerinin yüksekliği,

allel sayısı ve uzunluklarının birbirine olan uzaklıkları göz önüne alınarak seçilmelidir (Özkan 2005).

Çizelge 2. 1. Bazı sucul organizma türlerinde mikrosatelit markırlarla oluşturulan genetik bağlantı haritaları (Liu 2007)

Sucul organizma türü	Yaygın ismi	Kaynaklar
<i>Salmo trutta</i>	Alabalık	Gharbi <i>et al.</i> 2006
<i>Dicentrarchus labrax</i>	Deniz levreği	Chistiakov <i>et al.</i> 2005
<i>Oreochromis spp.</i>	Tilapia	Kocher <i>et al.</i> 1998, Agresti <i>et al.</i> 2000, McConnell <i>et al.</i> 2000, Lee <i>et al.</i> 2005
<i>Plecoglossus altivelis</i>	Ayu	Watanabe <i>et al.</i> 2004
<i>Xiphophorus</i>	Plati	Walter <i>et al.</i> 2004
<i>Salvelinus alpinus</i>	Kaynak alabalığı	Woram <i>et al.</i> 2004
<i>Salmo salar</i>	Atlantik salmonu	Gilbey <i>et al.</i> 2004, Moen <i>et al.</i> 2004
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	Gökkuşağı alabalığı	Sakamoto <i>et al.</i> 2000, Nichols <i>et al.</i> 2003
<i>Ictalurus punctatus</i>	Kanal kedi balığı	Waldbieser <i>et al.</i> 2001
<i>Danio rerio</i>	Zebra balığı	Knapik <i>et al.</i> 1998, Shimoda <i>et al.</i> 1999
<i>Crassostrea gigas</i>	Pasifik istiridyesi	Hubert and Hedgecock 2004
<i>Crassostrea virginica</i>	Amerika istiridyesi	Yu and Guo 2003
<i>Seriola quinqueradiata</i> <i>Seriola lalandi</i>	Sarı kuyruk	Ohara <i>et al.</i> 2005
<i>Cyprinus carpio</i>	Pullu sazan	Sun and Liang 2004
<i>Paralichthys olivaceus</i>	Japon Pisi Balığı	Coimbra <i>et al.</i> 2005

Moleküler markıra dayalı seleksiyon (MAS-Marker Assisted Selection) programlarının oluşturulmasında mikrosatelitler çok iyi bir potansiyele sahip olup, etkili kullanıldığı

takdirde klasik ıslah metotlarında kullanılan tekniklere nazaran kısa sürede çok iyi sonuçlar vermektedirler (Fjalestad *et al.* 2003). Özellikle balık yetiştiriciliğinde, sonraki generasyonların performans özelliklerinin iyileştirilmesi ve geliştirilmesinde önemli rol oynarlar (Spies *et al.* 2005). Mikrosatelitler, bir ıslah programı oluşturulurken populasyonların genetik çeşitliliği hakkında bilgi edinilebilecek en ideal markırlardan birisidir (Wolfus *et al.* 1997).

Mikrosatelitler gibi moleküler markırlar yetiştiricilik programlarının oluşturulmasında yeni imkanlar sunmaktadır. Bu sayede popülasyona ait bireylerin kantitatif özellik lokusları (QTL) tespit edilerek üstün verimli bireylerin tespiti mümkün olmaktadır. Su ürünlerinde markıra dayalı yetiştiricilikte en çok çalışılan konular; hastalığa dayanıklılık (özellikle viral hastalıklar), hızlı büyüme oranı, sıcaklığa tolerans, tuzluluğa tolerans, iyi bir vücut şekli, daha iyi et kalitesi ve yem değerlendirme oranı yüksek bireylerin elde edilmesini içermektedir (Fuji *et al.* 2007) .

Mikrosatelitlere özgü allellerin tespiti, yetiştiriciliği yapılan bir popülasyon içerisindeki bireylerde yüksek verim (canlı ağırlık, hastalıklara karşı dayanıklılık vb. yönlerden) özellikleriyle ilişkili allellerin bulunup bulunmadığı bilgisine ulaştırılabilir. Özellikle anaç olarak seçilecek balıklarda, fenotipik olarak üstün özelliklere sahip bireylerden hangilerinde yüksek ve düşük verim özellikleriyle ilişkili olabilecek mikrosatelit bölgelere özgü allellerin bulunduğu bilgisine ulaşılabilir. Böylece popülasyonda anaç olarak seçilecek ve elenecek bireylerin tespiti yapılarak kısa zaman içerisinde üretim kapasitesi artırılabilir (Wilson *et al.* 2003).

Çizelge 2.2.'de verilen gökkuşağı alabalığında tanımlanmış bu QTL'lerin çoğu LD (lymphocystis disease) gibi tek lokus değil, çoklu genler tarafından kontrol edilmektedir.

Çizelge 2. 2. Gökkuşığı alabalığında mikrosatellit markıra dayalı seleksiyon için çalışılan ve çoklu genler tarafından kontrol edilen bazı kantitatif özellikler (Fuji *et al.* 2007).

Kantitatif özellik	Kaynaklar
IPN (viral hastalık) hastalığına dayanıklı bireylerin eldesi	Ozaki <i>et al.</i> 2001
IHN (viral hastalık) hastalığına dayanıklı bireylerin eldesi	Khoo <i>et al.</i> 2004
Myxosporea (parazitik hastalık) hastalığına dayanıklı bireylerin eldesi	Nichols <i>et al.</i> 2003
Sıcaklığa dayanıklı bireylerin eldesi	Jackson <i>et al.</i> 1998, Danzmann <i>et al.</i> 1999, Perry <i>et al.</i> 2001
Yumurtlama zamanı	Sakamoto <i>et al.</i> 1999, Fishback <i>et al.</i> 2000
Embriyoların erken gelişiminin sağlanması	Robinson <i>et al.</i> 2001
Pilorik seka sayısının arttırılması	Zimmerman <i>et al.</i> 2005
Dominant albino balıkların eldesi	Nakamura <i>et al.</i> 2001

Su ürünlerinde yetiştiricilik programlarının oluşturulmasında mikrosatellitlerin kullanımına literatürlerde sıklıkla rastlanılabilir. Wolfus *et al.* (1997) Karideslerde (*Penaeus vannamei*), Garcia de Leon *et al.* (1998) Deniz levreğinde (*Dicentrarchus labrax*), Hulata (1995) ve Vandeputte (2003) Sazanda (*Cyprinus carpio*), Jackson *et al.* (2003) Atlantik pisi balığında (*Hippoglossus hippoglossus*), Waldbieser and Wolters (1999) Kanal kedi balığında, Hara and Sekino (2003) ve Sekino *et al.* (2003) Japon dere pisi balığında, Herbinger *et al.* (1995) ve Spies *et al.* (2005) Alabalıklarda yapmış oldukları çalışmalarda mikrosatellit markırları seleksiyon amaçlı kullanmışlardır (Chistiakov *et al.*, 2006). Bu tekrarlama dizilerinin analizinde bazı sorunlarla karşılaşmaktadır. Mikrosatellit dizilerin analizinde karşılaşılan ortak sorunlar ve muhtemel sebepleri Çizelge 2.3’de verilmiştir (Cook *et al.* 2006).

Çizelge 2. 3. Mikrosatellit dizilerin analizinde karşılaşılan ortak sorunlar ve muhtemel sebepleri (Cook *et al.* 2006)

Karşılaşılan problemler	Muhtemel sebepler
Dizi analizinde	
Zayıf bant oluşu veya hiç bant olmaması	Saf olmayan DNA
	Yetersiz DNA miktarı
	Düşük enzim aktivitesi
	Primer bağlanma sıcaklığının zayıflığı
	Dizileme reaksiyonunun tuz ile kontaminasyonu
	Elektroforez sıcaklığının çok yüksek oluşu
	Örneklerin jele yüklemeden önce denatüre edilmemiş olmaması
Jelin alt kısımlarında bulunan düşük moleküler ağırlığa sahip bantların	DNA konsantrasyonunun çok düşük oluşu
Bant hattı boyunca bulanık bir görüntü	Düşük kaliteli poliakrilamid jel
Boyamada	
Zayıf bant oluşu veya hiç bant olmaması	Boyamayı takiben yanlış durulama
	Düşük kalitede su kullanılması
Jel tabanında düşük bant yoğunluğu	Düşük kalitede su kullanılması
Yüksek arka plan boyanma	Yetersiz fiksasyon
	Cam plakaların yıkanması esnasında kalmış olabilecek deterjan artıklarının kahverengi bir
	Düşük kaliteli poliakrilamid jel
	Düşük kalitede sodyum karbonat (Na_2CO_3) kullanılması
Jel yüzeyinde koyu lekeler	Boyama adımları sırasında jelin yetersiz ajitasyonu (çalkalanması)

Çizelge 2.3. (devamı)

Sarı jel	Jelin yanlış sabitlenmesi
	Düşük kalitede sodyum karbonat (Na_2CO_3) kullanılması
Koyu griye karşı düşük kontrastlı sarımsı kahverengi bant	Saf olmayan DNA
Her iki cam plakaya jelin yapışması	Uzun cam plakalar ile tampon çözeltinin kontaminasyonu
Kurduğunda jelin plakalardan soyulması, dökülmesi	Jeldeki akrilamid yüzdesinin çok yüksek oluşu

Rexroad III *et al.* (2001); Palti *et al.* (2002); Rexroad III *et al.* (2002) ve Rodriguez *et al.* (2003) ise yapmış oldukları çalışmalarda, gökkuşağı alabalığına (*Oncorhynchus mykiss*) ait çok sayıda mikrosatelit bölge tespit etmişlerdir. Mikrosatelit bölgelere ait primer dizilimi, DNA'daki bulunduğu yer ve bazen de PCR protokolüne ait bilgilere online olarak kullanılabilen gen bankasından (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) ulaşılabilir (Anonim 2008).

O'Connell *et al.* (1997), Ontario gölündeki gökkuşağı alabalığı popülasyonları üzerinde yapmış oldukları çalışmada beklenen heterozigotluk değerlerini 0,740-0,956 arasında bulmuşlardır. Bütün lokuslarda allel frekansları arasında önemli derecede farklılıklar olduğunu bildirmişlerdir.

Batı Kanada Pasifik kıyılarındaki anadrom gökkuşağı alabalıkları üzerinde yapılan bir çalışmada gözlenen heterozigotluk değerinin 0,745-0,848 arasında olduğu bildirilmiştir (Daniel *et al.* 2001).

Ardren *et al.* (1999), 4 gökkuşağı alabalığı grubu üzerinde yapmış oldukları çalışmada ebeveynlerden yavrulara mikrosatelit dizilimlerin akışını izlemek amacıyla 12 mikrosatelit bölge çalışmışlardır.

Nielsen (1999a), 4 elikbaş gökkuşağı alabalığı populasyonunda 11 mikrosatelit lokus üzerinde yapmış olduğu çalışmada gözlenen heterezigotluk değerlerini 0,66-0,72 arasında, F_{ST} değerlerini 0,025-0,064, Nei (1972)'ye göre genetik mesafeyi 0,094-1,182 olarak tespit etmiştir.

Alaska gökkuşağı alabalığına ait 3 populasyon üzerinde yapılan bir çalışmada 10 mikrosatelit lokus kullanılmıştır. Gözlenen heterezigotluk değerini 0,46, F_{ST} değerlerini 0,087, Nei (1972)'ye göre genetik mesafeyi 0,289 olarak bildirmiştir (Nielsen 1999b).

Nielsen (1999c), 11 gökkuşağı alabalığı populasyonunda 12 mikrosatelit lokus çalışmıştır. Gözlenen heterezigotluk değerini 0,68, F_{ST} değerlerini 0,18, Nei (1972)'ye göre genetik mesafeyi 0,182 olarak bildirmiştir.

Amerika'da derelerde yaşayan gökkuşağı alabalığı populasyonları üzerinde 2 yıl süreyle mikrosatelit kullanarak yapılan çalışmada $H_e=0,88-0,90$ ve F_{IS} değerleri ise -0,003 ile 0,045 arasında bulunmuştur (Hauser *et al.* 2006).

Narum *et al.* (2004), Amerika'daki 14 anadrom gökkuşağı alabalığı populasyonunda 6 mikrosatelit markır kullanarak genetik farklılığı ortaya koymuşlardır. Populasyonlar Hardy-Weinberg dengesinde olup F_{ST} değerlerinin 0,001 ile 0,018 arasında olduğu bildirilmiştir.

Herbinger *et al.* (1995), bir işletmedeki gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) populasyonunda DNA parmak izi analizi ile birlikte, mikrosatelit markırlar kullanarak seleksiyon çalışması yapmışlardır. Mikrosatelit markırlardan elde edilen genetik profil verilerine bağlı olarak balıkların ebeveynlerinin akrabalık derecelerinin verim üzerine olan etkisini incelemişlerdir. 10 erkek ve dişi balık arasında çaprazlama yapmışlardır. Akrabalık derecesi en yüksek ve düşük olan balıklara ait yavrular bir yıl boyunca yetiştiriciliği yapılarak takip edilmiştir. Çalışma sonunda, akrabalık derecesi az olan balıkların çaprazlanmasından elde edilen bireylere göre yakın akraba

aprazlamalarından gelen bireylerin verim dereceleri, hayatta kalma ve büyüme oranları yönünden daha düşük özelliklere sahip olduğu tespit edilmiştir.

Dong *et al.*, (2008)  in karidesi üzerinde yapmış oldukları çalışmada, karideslerde viral bir hastalık olan Beyaz Nokta Sendromu (WSSV) ile mikrosatelitler arasındaki ilişkiyi incelemişlerdir. F₂ ailesinden toplam 163 birey, Beyaz Nokta Sendrom vir  s  ile oral enfekte edilmiş ve infeksiyon varlığını yuvalanmı  PCR ile tespit edilmiştir. İnfekte olan 80 bireyde, 18 mikrosatelit lokusu çalışılmıştır. Elde edilen allel bilgilerinin istatistiksel analizi Anova programında yapılarak Beyaz Nokta Sendromu hastalığına dayanıklı bireylerde mikrosatelit allellerin hastalığa dayanıklılıkla ilişkili olup olmadığı analiz edilmiştir. Ortalama allel sayısı, ortalama beklenen heterozigotluk ve ortalama PIC (Polimorphism Information Content) değerleri sırasıyla 2,50; 0,536 ve 0,446 olarak bulunmuştur. RS0622 mikrosatelit lokusundaki bir allel, Beyaz Nokta Sendromu hastalığına dayanıklılıkla ilişkili olduğu bulunmuştur. Beyaz Nokta Sendromu hastalığına dayanıklı QTL (kantitatif özellik taşıyan lokus veya bölge) bölgeleriyle ilişkili çok sayıda DNA markırlarının tespiti,  in karidesi yetiştiriciliğinde DNA markırlarına dayalı seleksiyon uygulamalarının çok yaygın kullanılacağını  ne sürmüşlerdir.

G kku ağı alabalığında yapılan bir çalışmada, genetik bağlantı haritası ve moleküler markırlarla IHNV'ye (İnfeksiyöz hematopoetik nekrozis virusu) dayanıklı QTL (kantitatif özellik taşıyan lokus veya bölge) bölgeleri tespit edilmiştir. Altı AFLP ve 6 mikrosatelit bölgenin infeksiyöz hematopoetik nekrozis virusuna dayanıklı olduğu bildirilmiştir (Rodriguez *et al.*, 2004).

Balıklarda pilorik keseler besinlerin sindirim ve absorpsiyonunun gerçekleştiği önemli bir yerdir. Bazı çalışmalarda, gökkuşağı alabalığı'nda yemden yararlanma etkinliğini arttıran kese sayısındaki artış ve hızlı büyüme arasında bir ilişkinin olduğu vurgulanmaktadır. Ancak herhangi bir balık türündeki pilorik kese gelişiminin altında yatan genetik temelle ilgili bilgi oldukça sınırlıdır. Bu konuya açıklık getirmek amacıyla yapılan bir çalışmada, farklı pilorik kese sayılarına sahip 2 gökkuşağı alabalığı hattı tanımlanmıştır. Çift haploide sahip gökkuşağı alabalıkları, toplam 54 bireydeki 330

AFLP ve 39 mikrosatelit bölge ile pilorik keselerin fenotipindeki ayırımı gösterebilmek için kullanılan bu hatların F₁ hibritlerinden üretilmişlerdir. Bu genotiplere bağlı olarak bir genetik bağlantı haritası oluşturulmuş ve kompozit aralığı haritası pilorik kese sayısı ile ilişkili 3 QTL bölgesini ortaya çıkarmıştır ve bunlar pilorik kese sayısındaki varyasyonu %19.2, %18.6 ve %13.5 oranında açıklamaktadır. Bu QTL bölgeleri 3 farklı bağlantı grubunu ölçtüğü için elde edilen sonuçların gökkuşağı alabalığı'nda pilorik kese sayısındaki fenotipin poligenik bir özelliğe sahip olduğu bildirilmiştir (Zimmerman *et al.* 2005).

Cruz *et al.* (2004), karides yetiştiricilik programlarındaki genetik varyasyonun seviyesini saptamak ve bir seleksiyon programı ile ilerleme kaydetmek amacıyla, Pvan1578 ve Pvan1815 nolu mikrosatelit DNA markırlarıyla Pasifik Beyaz Karideslerini (*Litopenaeus vannamei*) 2 jenerasyon süresince gözlemlemişlerdir. Hem G₀ hem de G₂ generasyonlarındaki bireylerin, mikrosatelit bölgelerindeki bazı allellerin frekansları ve sayısındaki artışa, dışarıdan katılan bazı damızlık karideslerin neden olduğunu saptamışlardır. Generasyonlar vasıtasıyla, ortak allellerin çoğu ve her lokusta yaklaşık %70'lere varan yüksek heterozigotluk oranı ıslah programındaki genetik çeşitliliğin önemli bir kayıba uğramadığını göstermiştir. Ancak diğer kültüre alınmış ve alınmamış stoklarla karşılaştırıldıklarında her 2 lokustaki toplam 4 ana allelin varlığı, bu allellerin başlangıçta kullanılan G₀ generasyonlarından geldiğini bildirmişlerdir. Bu nedenle karides yetiştiriciliğinde stoka populasyon dışından bireylerin getirilerek mevcut damızlıkların farklı bir hat ile çaprazlanmasının genetik varyasyonun zenginleştirilmesi açısından gerekli olduğu sonucuna varmışlardır.

Alabalık populasyonları üzerinde yapılan bir çalışmada; genetik yapının belirlenmesi için 5 farklı bölgeden alınan örneklerde 6 mikrosatellit lokus çalışılmıştır. Tüm populasyonlarda her bir lokustaki allel sayısı 10 (Ssa202) ile 22 (SsoSL311) arasında, her bir bölgedeki örnekler ayrı düşünüldüğünde ise 3 ile 18 arasında değişmektedir. Bu bölgeler arasındaki beklenen heterozigot seviyesinin 0.53 (SsoSL417) ile 0.95 (SsoSL311) arasında değiştiği belirlenmiştir. Sonuçlar, elde edilen heterozigotluk seviyesinin beklenen heterozigotluk seviyesinden daha düşük olduğunu ve

heterozigotluğun genelinde önemli bir eksiklik olduğunu göstermiştir. Genetik farklılığın farklı coğrafik bölgelerden alınan populasyon örnekleri arasında olduğu ortaya çıkmıştır (Nielsen *et al.* 1999).

Gökkuşluğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) üzerinde yapılan bir çalışmada 14 dinükleotit, 7 trinükleotit, 11 tetranükleotit ve 8 dinükleotit-tetranükleotit olmak üzere toplam 40 polimorfik mikrosatelit bölgesi kullanılmıştır. Bu markırların populasyon genetiği çalışmalarında, ebeveyn analizlerinde, gen bağlantı haritalarının oluşturulmasında ve moleküler markıra dayalı seleksiyon programlarının seçiminde etkin bir şekilde kullanılabilecek potansiyele sahip olduğu bildirilmiştir (Spies *et al.* 2005).

Poli9-8TUF mikrosatelit alleli tek lokusta dominant önemli bir etkiye sahiptir ve Japon pisi balığında (*Paralichthys olivaceus*) lymphocystis virüsünün neden olduğu lymphocystis hastalığına dayanıklılıktan (lymphocystis disease resistance, LD-R) sorumlu bir alleldir. Markıra dayalı yetiştiricilik programında bu allel kullanılarak Japon pisi balığının yeni bir populasyonu oluşturulmuştur. Lymphocystis hastalığıyla ilgili önemli homozigot alleli taşıyan bir dişi ve ticari stok yetiştiricilinden temin edilen hızlı büyüyen, iyi vücut şekline sahip bir erkek yeni bir jenerasyon elde etmek amacıyla ebeveyn olarak kullanılmıştır. Dişilerin rekombinasyon oranı LD-R lokusunun bulunduğu bölgede daha düşük olduğu için ebeveyn olarak kullanılmak üzere LD-R'ye dayanıklı bir dişi seçilmiştir. Bu ebeveynlerden elde edilen jenerasyonda hastalığa dayanıklılığın göstergesi olan allel (LD-R+) beklendiği gibi heterozigot olarak elde edilmiştir. Hastalığın bulunduğu 2 balık çiftliğinin kendi içindeki damızlıklarından (LD-R+ populasyonu kullanılmaksızın) elde edilen jenerasyonda hastalık oranı %4,5 ve %6,3 görünmesine karşın, LD-R+ populasyonu kullanılan gruplarda hastalık görülmemiştir. Bu sonuçlar ekonomik önemi olan özelliklerin eldesinde kullanılan moleküler markırların ve markıra dayalı seleksiyonun, yetiştiricilik için etkili bir strateji olduğunu göstermiştir (Fuji *et al.* 2007).

Çeşitli polimorfik lokuslardaki mikrosatelit varyasyonunun incelenmesi, gökkuşağı alabalığının ıslah programları içerisinde ebeveyn belirlenmesi ve genetik çeşitliliğin incelenmesi için oldukça kabul edilen bir yöntemdir. Genotiplendirme maliyeti pahalıdır; bundan dolayı, verimliliği artırmak ve maliyeti azaltmak için iki tane 6'lı reaksiyonlarda 12 mikrosatelitin tek bir adımda birlikte çoğaltılmasını sağlayan bir yöntem geliştirilmiştir. NCCCWA (Natural Centre for Cool and Coldwater Aquaculture)'da analiz edilen örneklerle daha önce çalışılan markır setleri sonuçlarının karşılaştırılması için bu protokol uygulanmıştır. Çoklu PCR sistemi içerisindeki her bir markır, duplikasyon, null alelleri, fiziksel bağlantılar; genotiplendirme hatalarının olasılığı için değerlendirilmiş, 12 markır'ın 4'ündeki veriler bu kriterlere dayanarak ebeveyn analiz için dahil edilmemiştir. Ebeveyn tayini, bağımsız bir şekilde çoğaltılan 5 mikrosateliti daha önceki çalışmalarda kullananlarla karşılaştırılmıştır. Ebeveynleri tayin edilen yavruların yüzdesi, çoklu sistemdeki 8 markırın alt setlerinin kullanılması önceki çalışmada kullanılan 5 markırdan daha yüksek oranda bulunmuştur (%92'e karşı %98). Çoklu PCR sistemi, PCR reaksiyon sayısının azaltırken verimliliğide geliştirdiği tespit edilmiştir. Aynı zamanda ekstra markırlar, ebeveyn allokalasyonları geliştirmek için kullanılmıştır. NCCCWA tesislerinde kuluçka süresinde genetik uzaklık ve küme analizleri F-istatistikleri ile değerlendirilmiştir. Bu ölçümler, daha önceki çalışmada bağımsız çoğaltılan 9 mikrosatelit ile karşılaştırılmıştır. Kuluçka zamanları arasında hesaplanan F sonuçları her iki markır setlerini kullanan genetik farklılıkta benzer değerleri göstermiştir. Bu değerler akraba türlerle genetik ağaçların üzerindeki ilişkilerin kurulmasında kullanılmıştır. Her iki markır seti, benzer alt populasyon yapılarını gösteren ağaçları oluşturmuştur. Populasyon yapısını ve bireylerdeki katkı bölümlerini belirlemek için kullanılan bu yaklaşımlar özellikle akrabalık ilişkiler bilinmeyen balıkların bulunduğu işletmelerde yeni ıslah programlarının oluşturulmasında oldukça yararlı olacağı düşünülmektedir (Johnson *et al.* 2007).

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Balık materyalinin temin edildiği yer

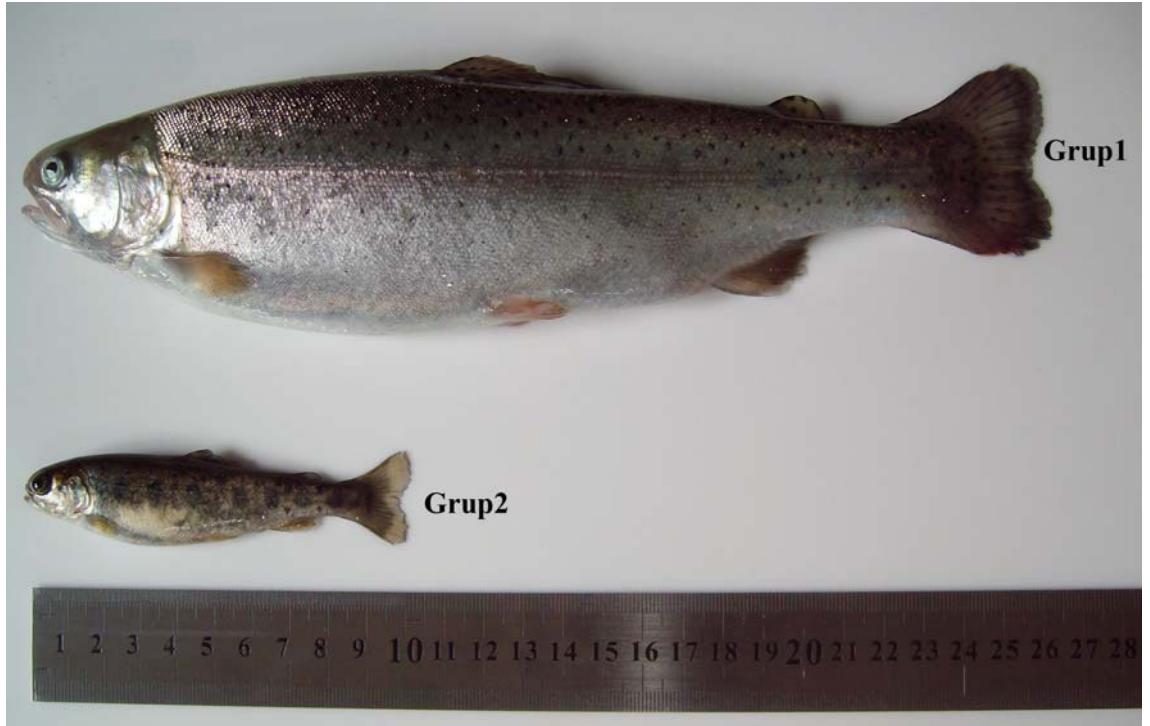
Çalışmada kullanılan balık materyalleri, Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Su Ürünleri Alabalık Üretim ve Araştırma Merkezindeki tek popülasyondan temin edilmiştir.

3.1.2. Çalışmanın yürütüldüğü yer

Çalışmalar, Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Su Ürünleri Bölümü Laboratuvarında yürütülmüştür.

3.1.3. Balık materyali

Araştırmada *Salmoniformes* formu, *Salmonidae* familyasına ait 20'si yüksek canlı ağırlığa sahip (Grup1) ve 20'si düşük canlı ağırlığa sahip (Grup2) toplam 40 adet 8 aylık gökkuşağı alabalığı (*Onchorhynchus mykiss*) kullanılmıştır (Şekil 3.1).



Şekil 3. 1. Yüksek ve düşük canlı ağırlığa sahip gökkuşağı alabalığı (*Onchorhynchus mykiss*) gruplarına ait bireyler

3.1.4.Çalışmada kullanılan mikrosatelit bölgelere ait bazı bilgiler

Çalışmanın genetiksel varyasyon analizlerinde, tür belirleme ve populasyonların genetik analizleri için kullanışlı ve yüksek derecede polimorfik olan mikrosatelit markırlar kullanılmıştır. Mikrosatelit markırların yeniden dizayn edilip geliştirilmesi oldukça zahmetli ve masraflı olduğundan çalışmada kullanılan markırlar çeşitli araştırmacıların gökkuşağı alabalıkları için kullandıkları markırlardan seçilmiştir.

Çalışmamızda, Genomik DNA üzerindeki 13 farklı lokusta bulunan mikrosatellit bölge çalışılmıştır. OMM1041, OMM1070 ve OMM1130 lokusları Rexroad III *et al.* (2001); OMM1308, OMM1302, OMM1309, OMM1310, OMM1316, OMM1312 ve OMM1338 lokusları Palti *et al.* (2002); OMM1375 lokusu Rodriguez *et al.* (2003); FGT1 lokusu Estoup *et al.* (1998); Strutta-12 lokusu ise Poteaux *et al.* (1999)'ın çalışmalarından alınmıştır. Mikrosatellitlere ait bilgilere internetteki gen bankasından da ulaşılabilir (Anonim 2008).

Çizelge 3. 1. OMM1308 (*Oncorhynchus mykiss* mikrosatelit)

Mikrosatelit markır	OMM1308	Ürün Uzunluğu	605 bp
Erişim numarası	G73548	Kaynak	Anonim 2008

Baz dizilimi

CCAGGGCTATAGAGCTGGGATATAGGGGCTGGTTTGTGTTGGTCTGGCTTGCGCTATAGAGCTGGGCTAT
AGGGGGTGGTTTGTGTTGGTCTGGCCTGGGCCTAGGGTCTTGGCTATAAGGGCTGGTGTGTGCTCTGGTT
CAAGTTGGTTTTGACCACATCTCACACACCTACCCACTCTCTGTACACACTTCACCCCAMCCCACTCTC
TCT**CAC**
ACACACACACACTTACTGCAATAAACTGCACCCCTTCATACAGACCCARTACCAACTMAGCAATTACC
ACACATAGAATCTGCTTGACAGGGGCTCTCCTCCTCCCTGTTGGCCTGTAGGCTATGACCGAATGATCAT
CTGATACCCTGGGACCTCAGTCATACTACCTCCTCTCCTCACCTCCTCTCCTGTCTCCTCCTCTCCTGTCT
CCTCTCCTCCTCTCCCCAGTCACACCAGCACACCCACACTTTTTTTTTGTGTCTTTTGATGTCCAGAATGG
CAGTAATGATGTCATCAACCTGAGTCAGCAGGTAAGGTCTTGTGT

Çizelge 3. 2. OMM1041 (*Oncorhynchus mykiss* mikrosatelit)

Mikrosatelit markır	OMM1041	Ürün Uzunluğu	526 bp
Erişim numarası	AF375014	Kaynak	Anonim 2008

Baz dizilimi

[illegible]

Çizelge 3. 5. OMM1302 (*Oncorhynchus mykiss* mikrosatelit)

Mikrosatelit markır	OMM1302	Ürün Uzunluğu	682 bp
Erişim numarası	G73542	Kaynak	Anonim 2008

Baz dizilimi

[illegible]

Çizelge 3. 6. OMM1309 (*Oncorhynchus mykiss* mikrosatelit)

Mikrosatelit markır	OMM1309	Ürün Uzunluğu	555 bp
Erişim numarası	G73549	Kaynak	Anonim 2008

Baz dizilimi

[illegible]

Çizelge 3. 7. OMM1310 (*Oncorhynchus mykiss* mikrosatelit)

Mikrosatelit markır	OMM1310	Ürün Uzunluğu	548 bp
Erişim numarası	G73550	Kaynak	Anonim 2008

Baz dizilimi

ACTATGTAAGTCACATATGCCATTTAGCAGTCAGCGTCAATGCTTTTCTACAATTATTGTCAGTACAAT
CCATACTATAAATCAGTATCAAGGAGTTTTGCCATTTAAAGGCCAGGCTATTATGTGTCAGTCAGTCAA
AAATAGGTGGTATAATGGTATCTCACTGCTTTGCACCGCGTGACAGTGAAAAGTAATAGCTACATAGTCA
AAAAAATCTATTAGATATGCACATCTTCTCACACCAAATGCACACAAACATGCACGCGCACGCACACGC
ACACG**CACACACACACACACGCACACGCACACACACACACACACACACAC**GACACAGACATACATACAAAT
AAACACAGCCACTCTACTGCAGCCAGCCACTCACCGGCCAGGGATCGATTGGTAGGGAATGATAAATTAA
CCAACACCTCAACAAAAGACGTTAAGCAGAGAGCCCAATGAACCATGCTGCTTTGTAATTACCATAACAA
ATGAAAAATTAGGCATGATGTAGCACCGCCACTGAGTGACATGTGTGTTGGGGTGGGT

Çizelge 3. 8. OMM1316 (*Oncorhynchus mykiss* mikrosatelit)

Mikrosatelit markır	OMM1316	Ürün Uzunluğu	742 bp
Erişim numarası	G73555	Kaynak	Anonim 2008

Baz dizilimi

CCCGCATCGACTCCGTTCTGGGTCCAGATCCGGACTGCGGTTTCGCTTTTGAGTGTAGGTGCTATACAGT
ATATTCACCCCATGTTGACCACTATTTCATTTTAGCATTGGATGCCAACTCTCAGTGGTGAGCCTTCTC
CTCAACAAAGAAATCACACATAATCTATTCCACTTTACAATGGCAAATTGTGCCACTCAAAAATGGGTTA
AATTCAGAGTGCACGAACCAATGTCTTTTTCGGGGAAGTCGTGACATCCATTGTCTTCCTGGGCTGGGAC
CCCTGCTGGGCACATCTCACTGCAGTTATTCGGAGGGAGACAGTTGTCACTTCACCAACAAAAGACCCCG
AGTTCCTCGTAGAAAAAGAACAGCTTTTAACTAGAAACCTAAGCCTGGAGTTGCCTTGGTTGAGGAGAGG
TGAAAGGGGGTGGATGGACAGACGGACGGATGAACG**GATGGATGGATGGATGGATGGATGGATGGATGGA**
TGGATGGATGGATGGATGGATGGATGGATGGATGGATGGATGGATGGATGGATGGATGGATGGATGGATGGA
GGTGACAAGAGTGGACAAGAGTAAGAACAAGACATGAGCATCACTCCCATTGCCATCCAATGAATCAAAC
AATCAATAAAGCATATTATAGTGGAGGGGAATTACCTTTCAGACTGATATTGATCGTAATCAATAGGGGA
GACTGGTGACCAATGCTTCTCTACAGTAAGCTTGGCGTAATC

3.1.5. Kullanılan kimyasallar ve çözeltiler

3.1.5.a. DNA izolasyonunda kullanılan kimyasallar ve çözeltiler

DNA izolasyonunda; Tris, NaCl, EDTA-2Na, Sodyum Dodesil Sülfat (SDS), Proteinaz K (10mg/ml), Fenol, Kloroform, İzamil alkol, Etanol, Sodyum Asetat ve DNA Ekstraksiyon solüsyonu (TNES) kullanılmıştır (Asahida *et al.* 1996).

Çizelge 3. 14. TNES (DNA ekstraksiyon solüsyonu) (Asahida *et al.* 1996)

Kimyasalın adı	Son konsantrasyon (pH=8,0)
Tris-HCl	100 mM
NaCl	100 mM
EDTA	10 mM
SDS (Sodyum Dodesil Sülfat)	% 0.1
β-Merkapto etanol	100 mM
dH ₂ O (Steril)	100 ml' ye tamamlanmıştır

Çizelge 3. 15. TE (Tris-EDTA) tampon çözeltisi (Asahida *et al.* 1996)

Kimyasalın adı	Son konsantrasyon (pH=8,0)
Tris-HCl	10 mM
EDTA	1 mM

(Karışım otoklavlanır).

Çizelge 3. 16. CIA (kloroform:isoamilalkol) (24:1) (Asahida *et al.* 1996)

Kimyasalın adı	Son hacim
Kloroform	24 ml
İsoamilalkol	1 ml

Çizelge 3. 17. PCI (fenol:kloroform:isoamilalkol) (25:24:1) (Asahida *et al.* 1996)

Kimyasalın adı	Son hacim
Fenol	25 ml
Kloroform	24 ml
İsoamilalkol	1 ml

Çizelge 3. 18. TAE (Tris asetik asit EDTA) (Asahida *et al.* 1996)

Kimyasalın adı	Son hacim/miktar (pH=8,0)
Tris base	242 g
Glacikal asetik asit	57,1 g
EDTA (0,5 M)	100 ml
dH ₂ O (Steril)	1000 ml' ye tamamlanmıştır

Çizelge 3. 19. TBE (Tris borik asit EDTA) (Asahida *et al.* 1996)

Kimyasalın adı	Son hacim/miktar (pH=8,0)
Tris base	108 g
Borik asit	55 g
EDTA (0,5 M)	40 ml
dH ₂ O (Steril)	1000 ml' ye tamamlanmıştır

3.1.5.b. PCR'da kullanılan kimyasallar

PCR uygulamalarında; Taq DNA polimeraz, dNTP mix, PCR tamponu, MgCl₂, Primerler ve dH₂O (steril) kullanılmıştır (Nguyen *et al.* 2006).

3.1.5.c. Agaroz jel elektroforezinde kullanılan kimyasallar ve çözeltiler

Elektroforezde; Agaroz, EtBr (10mg/ml), 1xTAE (tris-asetikasit-edta), DNA işaretleyici (100 bp-1000 bp) ve Yükleme tamponu (BFB; Brom Fenol Blue) kullanılmıştır (Nguyen *et al.* 2006).

3.1.5.d. Poliakrilamid jel elektroforezinde (PAGE) kullanılan kimyasallar ve çözeltiler

Çizelge 3. 20. %30'luk akrilamid/bis karışımı (Nguyen *et al.* 2006)

Kimyasalın adı	Son hacim/miktar
Akrilamid	29 g
Bis	1 g
dH ₂ O (Steril)	100 ml' ye tamamlanmıştır

Çizelge 3. 21. APS (amonyumpersülfat) (%10'luk) (Nguyen *et al.* 2006)

Kimyasalın adı	Son hacim/miktar
Amonyumpersülfat	1 g
dH ₂ O (Steril)	10 ml

3.1.5.e. Tek zincir konformasyon polimorfizminde (SSCP) kullanılan kimyasallar ve çözeltiler

Çizelge 3. 22. Denatürasyon solüsyonu (SSCP için) (Nguyen *et al.* 2006)

Kimyasalın adı	Son hacim/miktar
Formamid	9,5 ml
Brom fenol blue	0,01 gr

Çizelge 3.22. (devamı)

Kimyasalın adı	Son hacim/miktar
Ksilen siyanol	0,01 gr
NaOH (100 mM)	0,5 ml
dH ₂ O (Steril)	10 ml' ye tamamlanmıştır.

3.1.6. Yararlanılan alet ve ekipmanlar

Laboratuarda yapılan işlemler sırasında; PCR, UV Görüntüleme Sistemi, Dikey Elektroforez, Yatay Elektroforez, Mikrodalga Fırın, Etüv, Rotor Disk, Otoklav, Derin Dondurucu, Santrifüj, Mikrosantrifüj, Çeker Ocak, Saf Su Cihazı, Su trompu, Elektronik Terazı (0.001g-320g), Vorteks, pH metre, Otomatik pipetler, PCR tüpleri, Plastik tüp, cerrahi makas, pensetler, pensler, bisturi ve değişik ebatlarda cam malzemeler (beher, erlenmayer, ölçü silindiri vs.) kullanılmıştır.

3.2. Yöntem

3.2.1. Balık materyallerinin metrik ve meristik ölçümleri

İşletmedeki aynı yetiştirme koşullarına (işçilik, yemleme, su kriterleri, stok vb.) sahip balık gruplarındaki ağırlık 4 gr'dan 400 gr'a, boy ise 7 cm'den 32 cm'ye kadar varyasyon gösterdiği bilgisi mevcuttur. Çalışmada 20'si düşük, 20'side yüksek canlı ağırlığa sahip toplam 40 balık alınmıştır. Balık numunelerinin toplam ağırlıkları $\pm 0,001$ g hassasiyetteki elektronik terazi ile boylarının ölçümünde 1 mm hassasiyetteki boy ölçüm tahtası kullanılmış ve çatal boy ölçümü yapılmıştır. Her bir örneğin boy ve ağırlık değerleri Çizelge 4.1'de, gruplara ait ortalama boy ve ağırlık değerleri Şekil 4.1 ve 4.2'de verilmiştir.

3.2.2. Kondüsyon Faktörü

Balıkların içinde bulundukları ortamın beslenme kapasitesi hakkında bilgi veren kondüsyon faktörü aşağıdaki formül yardımı ile hesaplanmıştır (Ricker 1975; Atay 1989; Erkoyuncu 1995; Çetinkaya vd 2005). Gruplar arası kondüsyon farklılığı değerleri Şekil 4.3’de verilmiştir.

$$K = (W/FL^3) \times 100$$

Formüldeki; K: Kondüsyon faktörünü

W : Toplam ağırlığı (g)

FL: Çatal boyu (cm)

3.2.3. Balık materyallerinin genotipik varyasyon analizi

3.2.3.a. Balıklardan doku örneklerinin alınması ve Genomik DNA izolasyonu

Balıklardan alınan kas dokusu örneklerinden DNA izolasyonu Fenol/Kloroform Metodu ile gerçekleştirilmiş ve örnekler çalışılncaya kadar -20°C’de muhafaza edilmiştir (Asahida *et al.* 1996; Cocolin *et al.* 2000; Kai *et al.* 2005).

1) Balığın sırt yüzgeci ile linea lateral arasındaki bölgeden, deri kaldırılarak 0.2–0.4 g kas dokusu steril ependorf tüplerine alınmıştır. Örnekleri çalışılncaya kadar –20°C’de muhafaza edilmiştir.

2) Her bir tüpe 500 µL DNA ekstraksiyon solüsyonu (TNES) konulmuş ve steril bir makas yardımıyla iyice kıyılarak homojenize edilmiştir.

3) Üzerine 10 µL Proteinaz K (10mg/ml) eklenmiş ve 55°C’de, 2 saat rotor disk yardımıyla hafifçe alt üst olacak şekilde inkübasyona bırakılmıştır (Bu aşamada Proteinaz K tüm proteinleri parçalamaktadır).

- 4) 500 µL Fenol: Kloroform: İzamil alkol (PCI, 25:24:1) (4°C'deki) çeker ocak ortamında eklenmiş, rotor disk yardımıyla 10 dak nazik bir şekilde alt üst edilmiştir.
- 5) 24°C'de, 15.000 rpm'de 15 dak santrifüj yapılmış ve en üst tabaka başka bir tüpe aktarılmıştır.
- 6) 500 µL Kloroform: İzamil alkol (CIA, 24:1) (4°C'deki) çeker ocak ortamında eklenmiş, rotor disk yardımıyla 10 dak nazik bir şekilde alt üst edilmiştir.
- 7) 24°C'de, 15.000 rpm'de 15 dak santrifüj yapılmış ve en üst tabaka başka bir tüpe aktarılmıştır (7 ve 8. basamaklardaki işlemler iki kez tekrarlanmıştır).
- 8) 1 ml %99,9'luk Etanol (-20°C'de ki) ve 3 M Sodyum Asetattan 50 µL eklenmiştir.
- 9) Nazik bir şekilde birkaç kez alt üst edilmiş ve -20°C'de 1 saat inkübasyona bırakılmıştır (Bu aşamada DNA peleti gözlemlenmiştir).
- 10) 4°C'de, 15.000 rpm'de 20 dak santrifüj yapılmış ve su trompu yardımıyla süpernatant atılmıştır.
- 11) 1 ml %70'lik Etanol (-20°C'deki) eklenmiştir.
- 12) 4°C'de, 15.000 rpm'de 20 dak santrifüj yapılmış ve su trompu yardımıyla süpernatant atılmıştır (11 ve 12. basamaklardaki işlemler iki kez tekrarlanmıştır).
- 13) Tüp içerisindeki çökelek, etüvde 37°C'de 5 dak kurutulmuştur.
- 14) Çökelek 200 µL (çözünebileceği miktarda) TE tamponu ile çözülmüş ve örnekler çalışılınca kadar -20°C'de muhafaza edilmiştir.

3.2.3.b. DNA'nın kalitatif tayini

DNA'ların izolasyonunun son aşamalarında sodyum asetat eklendiğinde tüp içerisinde çok yoğun olmayan bir pelet gözlemlenir (Şekil 4.4). Toplam 40 adet balığa ait DNA örneğini, 7µl'lik miktarda Brom Fenol Blue ile birlikte jele yüklenmiştir. 80 mA, 90 voltta 1 saat yürütülmüş ve UV görüntüleme sisteminde fotoğraflanmıştır (Şekil 4.5) (Nguyen *et al.* 2006).

3.2.3.c. DNA'nın kantitatif tayini

dsDNA preparasyonlarının yaklaşık saflığı 260 ve 280 nm'deki absorbanların oranıyla (A_{260}/A_{280}) belirlemek mümkündür. Absorbsiyon spektrumunun şekli aynı zamanda ekstraksiyon katsayısı, bazların doğasıyla değişiklik arz eder. Şöyle ki, saf dsDNA için $A_{260}/A_{280}=1,8$ 'dir. Saf bir RNA'nın ki ise 2,0 civarındadır. Protein doğal olarak $\lambda_{max}=280$ olduğu için 260/280 oranı 1'den küçüktür (gerçekte $\approx 0,5$). Buna göre bir DNA örneğinde A_{260}/A_{280} değeri 1,8'den büyük ise RNA kontaminasyonuna 1,8'den küçük ise protein veya fenol kontaminasyonuna işaretir. A_{260}/A_{280} 1,5-1,8 arasında olması DNA izolasyonunun başarılı olduğu anlamına gelmektedir (Turner *et al.* 2004).

260 nm dalga boyundaki 1 Optik Dansitite (OD);

Çift zincir DNA için 50 ng/ul dsDNA

Tek zincir DNA için 20-33 ng/ul ssDNA

RNA molekülü için 40 ng/ul RNA anlamına gelmektedir (Anonim 2009c).

Buna göre izole edilen DNA'ların kantitatif tayini için spektrofotometrede 260 ve 280 nm de absorbanları ölçülmüştür. Spektrofotometrede yapılan ölçümler 5'er tekerrürlü olarak yapılmış olup Çizelge 4.2'de ortalama ölçüm değerleri verilmiştir.

Elde edilen değerler;

DNA Konsantrasyonu ($\mu\text{g}/\mu\text{l}$) = OD_{260} * Ekstriksiyon katsayısı (DNA için 50 ng/ μl) * Dilüsyon katsayısı formülünden veya direk olarak <http://www.pubquizhelp.34sp.com/other/dnacalculator.html> internet adresinde girilerek hesaplanmıştır (Çizelge 4.2). Elde edilen sonuçlar DNA izolasyonunun başarılı olduğunu göstermektedir.

3.2.2.d. DNA üzerindeki mikrosatelit bölgelerin PCR ile amplifikasyonu

Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) yöntemiyle DNA üzerindeki 13 mikrosatellit bölgesi (OMM1041; OMM1070; OMM1130; OMM1308; OMM1302; OMM1309; OMM1310; OMM1316; OMM1312; OMM1375; OMM-1338; FGT1; Strutta-12) çoğaltılmıştır. PCR uygulamalarında kullanılacak mikrosatelit primerlere ait bilgiler Çizelge 3.23, PCR protokolleri Çizelge 3.24 ve PCR karışımı Çizelge 3.25’de verilmiştir.

Çizelge 3. 23. PCR uygulamalarında kullanılacak mikrosatelit primerler ve özellikleri

Mikrosatelit Markır	Forward primer 5'--3' Reverse primer 5'--3'	Tekrar Bölgeleri	Tm (°C)	Allel Uzunluğu (bp)	MgCl ₂ Kon. (mM)	Allel Sayısı	Kaynak
OMM1041	TGATACCCTCCTGTTGTCACT TGAAGCACCATGTGAGCTAT	(TAGA) ₂₅	66	92-278	1,5	30	Rexroad III <i>et al.</i> 2001
OMM1070	GACAGGTTGTGTGCAATGGA GGTGGGATTTCAGTGTGTTAAAC	(TAGA) ₃₇	66	163-375	1,5	21	Rexroad III <i>et al.</i> 2001
OMM1130	GAGAGATCGAGGAAGAAGATAACA GCTGCTTCTCTTTTAGCCAC	(GATA) ₂₀	58	194-380	2	19	Rexroad III <i>et al.</i> 2001
OMM1308	GCTCTGGTTCAAGTTGGTTTG CATTCGGTCATAGCCTACA	CA	54	227-317	2,5	13	Palti <i>et al.</i> 2002
OMM1302	AGCCAGCCAATTAATACCCTG TTCTGTGTGGCCTAAACCTT	CATC/CT	58	192-272	2,5	15	Palti <i>et al.</i> 2002
OMM1309	ACACCCACACACTAGAGACTCATA CAAGGTCACAGTACGGTAACT	CT	54	164-226	2,5	10	Palti <i>et al.</i> 2002
OMM1310	CGCGTGACAGTGAAAAGTAATAGC TTATCATTCCTACCAATCGATCC	CA	54	175-289	2,5	16	Palti <i>et al.</i> 2002
OMM1316	TTCGGAGGGAGACAGTTGTCA CACCCAGAGGAAATTAGAC	GATG	58	232-376	2,5	11	Palti <i>et al.</i> 2002
OMM1312	AGGTCCAGACAGCAATCC GGTGAGTTTAGCGAGGTA	AC	54	119-219	2,5	19	Palti <i>et al.</i> 2002
OMM1375	GCTCAGCTTCACACAGATACG GTACACTCCCCCTTGTTAGCA	(CA) ₆₂	54	203-291	1,5	12	Rodriguez <i>et al.</i> 2003
OMM1338	TTCCCCTCAAACCTGATGCATA TTAGAATCCTCCGGTTC	ATG	58	230-260	2,5	4	Palti <i>et al.</i> 2002
FGT1	AGATTTACCCAGCCAGGTAG CATAGTCTGAACAGGGACAG	(GT) ₂₃ GC(GT) ₅ GC(GT) ₂ GCGTGC(GT) ₂ GC(GT) ₄	60	190-246	0,8	10	Estoup <i>et al.</i> 1998
Strutta-12	AATCTCAAATCGATCAGAAG AGCTATTTCAGACATCACC	(CA) ₄₃	55	151-231	1,5	27	Poteaux <i>et al.</i> 1999

Çizelge 3. 24. PCR protokolleri

Primerler	Ön Denatürasyon 95 °C	Denatürasyon 94 °C	Bağlanma Sıcaklığı (Tm)	Uzama 72 °C	Son Uzama 72 °C	Döngü Sayısı	Kaynak
OMM1041	10 dak.	30 sn	30 sn	30 sn	10 dak.	35	Rexroad III <i>et al.</i> 2001
OMM1070	10 dak.	30 sn	30 sn	30 sn	10 dak.	35	Rexroad III <i>et al.</i> 2001
OMM1130	10 dak.	30 sn	30 sn	30 sn	10 dak.	35	Rexroad III <i>et al.</i> 2001
OMM1308	10 dak.	30 sn	30 sn	30 sn	10 dak.	36	Palti <i>et al.</i> 2002
OMM1302	10 dak.	30 sn	30 sn	30 sn	10 dak.	36	Palti <i>et al.</i> 2002
OMM1309	10 dak.	30 sn	30 sn	30 sn	10 dak.	36	Palti <i>et al.</i> 2002
OMM1310	10 dak.	30 sn	30 sn	30 sn	10 dak.	36	Palti <i>et al.</i> 2002
OMM1316	10 dak.	30 sn	30 sn	30 sn	10 dak.	36	Palti <i>et al.</i> 2002
OMM1312	10 dak.	30 sn	30 sn	30 sn	10 dak.	36	Palti <i>et al.</i> 2002
OMM1375	15 dak.	1 dak.	45 sn.	45 sn.	10 dak.	30	Rodriguez <i>et al.</i> 2003
OMM-1338	15 dak.	1 dak.	45 sn.	45 sn.	5 dak.	35	Palti <i>et al.</i> 2002
FGT1	15 dak.	1 dak.	45 sn.	1 dak.	5 dak.	27	Estoup <i>et al.</i> 1998
Strutta-12	10 dak.	45 sn.	45 sn.	45 sn.	10 dak.	30	Poteaux <i>et al.</i> 1999

Çizelge 3. 25. PCR karışımları (Estoup *et al.* 1998; Poteaux *et al.* 1999; Rexroad III *et al.* 2001; Palti *et al.* 2002; Rodriguez *et al.* 2003'den modifiye edilmiştir)

Madde	Konsantrasyonu/Hacmi	Markası
F. Primer	10 pmol/μl	Alpha DNA
R. Primer	10 pmol/μl	Alpha DNA
MgCl ₂	0,8-2,5 mM	Sigma
PCR Buffer (10x)	2-3 μl	Sigma
Taq DNA Polimeraz (without MgCl ₂)	1 ünite	Sigma
dNTP Karışımı	200 μM (her biri için)	Sigma
DMSO (Dimetilsülfoksit)	Toplam hacmin %5'i	Sigma
DNA	200 ng	----
ddH ₂ O	20 μl'ye tamamlanır.	----

3.2.2.e. PCR ürününün agaroz jel elektroforezinde kontrolü

PCR ürününün kontrolünde %1'lik agaroz jeli kullanılmıştır (Şekil 4.6). Steril bir erlen içerisine gereği kadar agar hassas terazide tartıldıktan sonra üzerine gerekli hacimde 1xTAE (tris-asetikasit-edta) ilave edilmiştir. Kaynayınca kadar mikrodalga fırında ısıtılmıştır. Erlen daha sıcakken iyice çalkalanarak çözünmemiş agaroz parçacıklarının kalmamasına dikkat edilmiştir. Erlenmayerin dış kısmına musluk suyu akıtılarak soğutulmuş ve yaklaşık 45-50 °C'ye düştükten sonra (bu aşamada erlenin ısısı bileğe değdirilerek kontrol edilebilir) 10 mg/ml konsantrasyonundaki etidium bromide'den 14 μl/100 ml oranında ilave edilerek iyice karıştırılmıştır. Agar donmaya başlayacağından jel hemen önceden hazırlanmış hazne içerisine dökülmüş, hava kabarcıkları steril bir pipet yardımı ile uzaklaştırılmıştır. Örneklerin yüklenecekleri kuyucukları oluşturan tarak yerleştirildikten sonra jelin donması için 30 dak. kadar beklenilmiştir (Aksakal 2005; Ceyhun 2007).

Jel tamamen donduktan sonra tarak çıkarılmış ve kuyucukların oluşması sağlanmıştır. Daha sonra jel küvete yerleştirilmiştir. Küvet, jelin hazırlanmasında kullanılan 1xTAE

tamponu ile doldurulmuştur. Tamponun seviyesi jelin üzerini kaplayacak seviyede olmalıdır (Aksakal 2005; Ceyhun 2007).

PCR ürünü (5–10 µl) yükleme tamponu ile 1/10 oranında karıştırılarak kuyucuklara zarar vermeden ve taşırmadan yüklenmiştir. PCR ürünleri 90 volt–80 mA de jelin büyüklüğüne göre 45–150 dak. yürütüldükten sonra UV görüntüleme sisteminde fotoğraflanmıştır. Çalışmanın her aşamasında tüm PCR ürünleri agaroz jel elektroforezinde yürütülmüş ve UV görüntüleme sisteminde fotoğrafları alınmıştır (Aksakal 2005; Ceyhun 2007).

3.2.2.f. Tek Zincir Konformasyon Polimorfizmi (SSCP)

PCR işlemlerinden sonra her bir örneğe, tek zincir DNA'nın molekül içi etkileşimi sonucu her zincirin farklı formda katlanıp kıvrılması ile değişik konformasyonların oluşmasına ve poliakrilamid jel elektroforezinde farklı hızda hareket etmesi üzerine kurulmuş bir yöntem olan SSCP metodu uygulanmıştır. Farklı mikrosatelit dizilimlerini içeren alleller birbirlerinden farklı yerlerde bant oluşturacağı için nondenatüre jel elektroforezinde normalden farklı yerlerde bantlar gözlenmektedir. Gruplara ait örnekler bu yöntem ile karşılaştırıldığında birbirlerinden farklı bantları bulundurması örneklerdeki allellerin varlığını göstermektedir. Poliakrilamid jel elektroforezi ile yapılan çalışmalar sonucunda gruplar ve bireyler arası farkların olduğunun gözlenmesi üzerine, her bir bireye ait mikrosatelit lokusun bağlanma noktasındaki allel büyüklüklerinin belirlenmesi amacı ile tüm örnekler her bir mikrosatelit lokus ile ayrı ayrı SSCP yöntemi ile analiz edilmişlerdir. Mikrosatelitler kullanılarak yapılan varyasyon analizlerinde, allellerin fragment uzunluklarında gösterecekleri polimorfizmin tespiti analizin esasını teşkil etmektedir (Ceyhun 2007).

Bu amaçla PCR ürünlerinin 5'er µl si ile denatürasyon solüsyonunun 5 µl si küçük PCR tüpleri içerisinde karıştırılmıştır. Karışım PCR cihazında 95°C'de 10 dak. bekletilerek ürünlerin denatürasyonu sağlanmıştır. Daha sonra renatürasyonu önlemek amacı ile karışım hemen -20°C'lik ortama (soğutucu saklama kabına) aktarılarak 15 dak.

bekletilmiştir. Böylece SSCP işlemiş gerçekleştirilmiş olup PAGE'ye yüklenmeye hazır hale getirilmiştir. Tabi bu esnada PAGE'ye 10 µl denatürasyon solüsyonu yüklenerek 130 voltta yaklaşık 30 dak. ön yürütme yapılmış olması gerekmektedir (Ceyhun 2007).

3. 2. 2. g. Poliakrilamid Jel Elektroforezi (PAGE)

Gruplara ait bireyler arasındaki varyasyonun tespiti için %6'lık poliakrilamid jel elektroforezi kullanılmıştır. SSCP yönteminde değerlendirmenin yapılacağı bantların görüntülenmesi için ya primerler radyoaktif veya radyoaktif olmayan maddelerle işaretlenir yada jel bazı tekniklerle boyanmalıdır. Boyama teknikleri içerisinde en bilinen ve yaygın olarak kullanılanı gümüş boyama tekniğidir. Gümüş boyama tekniği kalınlığının 0,5–0,2 mm olduğu jellerde (kullanılan boyama kitinin özelliğinden dolayı) ve jelin UV transimilatöründe görüntülenemeyecek kadar büyük ölçülerde olması durumlarında kullanılmaktadır. Daha önce yapılan çalışmalarda da belirtildiği üzere çok daha düşük maliyetli ve daha kısa sürede tamamlanan etidium bromid ile boyama tekniğinin, gümüş boyama tekniği yerine kullanılabileceği test edilmiştir. Aralarındaki fark etidium bromidle boyama tekniği ile boyanan jelde bantların UV transimilatöründe, gümüş boyama tekniği ile boyanan jelde ise bantların çıplak gözle görülmesidir (Yeşilyurt 2007).

Her jel hazırlanırken cam plakalar, camlar arasına yerleştirilen şerit levhalar ve tarak %99'luk etil alkol yardımı ile iyice temizlendikten sonra jelin döküleceği düzenek hazırlanmıştır. Düzenek kurulduktan sonra manyetik karıştırıcı yardımı ile steril bir beher içerisinde ısıtılmadan; 60 ml dH₂O, 23,5 ml %30 akrilamid-bis karışımı, 10 ml 10x TBE ve 5 ml gliserol karıştırılıp homojenize edildikten sonra akrilamidin bis vasıtasıyla polimerizasyonunu katalizlemek amacıyla ard arda 1000 µl %10'luk APS ve 100 µl TEMED ilave edilmiştir. APS ve TEMED ilavesinden hemen sonra büyük bir enjektör yardımı ile karışım cam plakalar arasına hava kabarcığı bırakmadan seri bir şekilde boşaltılmış ve kuyucukları oluşturacak tarak yerleştirildikten sonra jelin donması için 35–40 dak. beklenmiştir. Jelin donduğundan emin olmak için küçük bir miktar karışım, jelin hazırlandığı beher içerisinde bırakılarak takip edilmiştir. Tarak

çıkarılmadan kuyucukların yerleri asetat kalem ile işaretlenmiştir. Bu işlem ürünlerin yüklenmesi aşamasında büyük kolaylık sağlamaktadır. Jel tamamen donduktan sonra düzeneğe sökülerek cam plakalar dikkatli bir şekilde küvete yerleştirilmiştir (Ceyhun 2007).

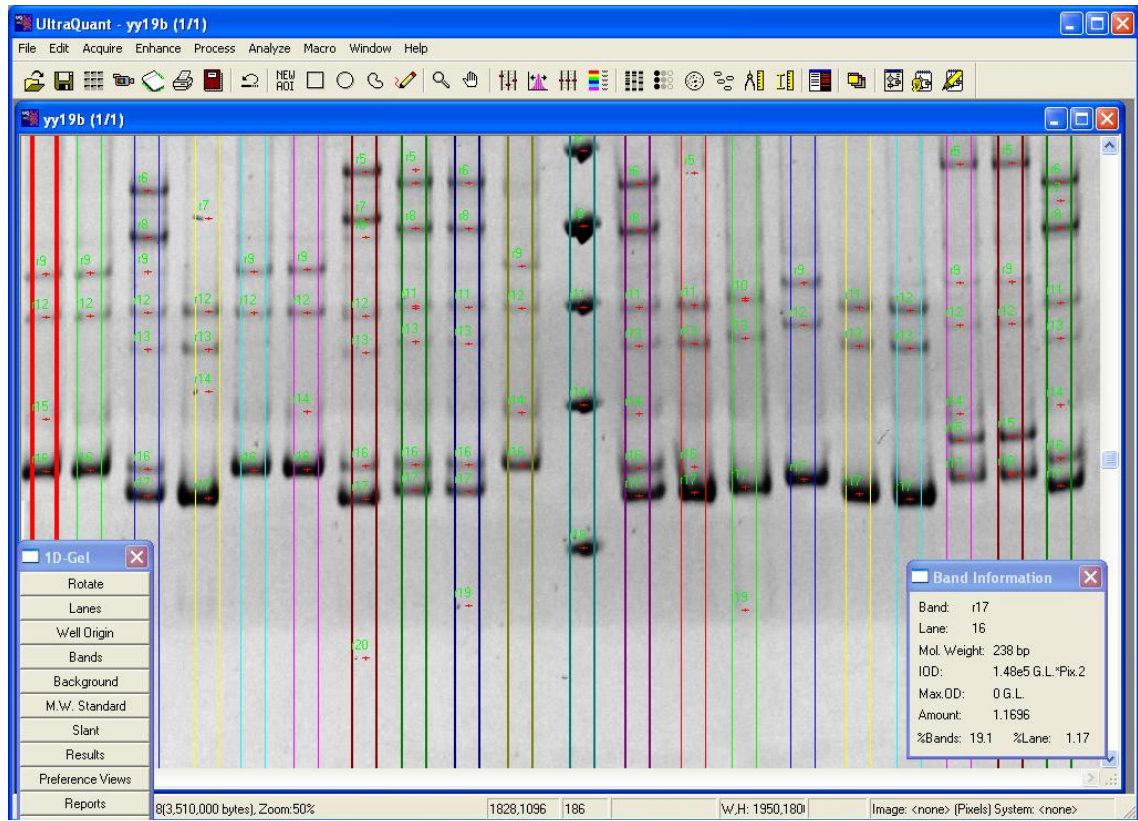
Küvet solüsyonu olarak 1xTBE tamponu kullanılmıştır. Tamponun kuyucukları hava kabarcığı bırakmaksızın doldurduğundan emin olduktan sonra yükleme yapılacak olan kuyucuklara 10'ar µl denatürasyon solüsyonu 0,2 mm kalınlığındaki yaprak uçlu pipet kullanılarak yüklenmiş, 130 voltta yaklaşık 30 dak. ön yürütme yapılmıştır. Daha sonra SSCP ürünlerinin uygun miktarları (5–10 µl) yükleme tamponu ile 1/10 oranında karıştırılarak dikkatli bir şekilde yüklenmiştir. Bir kuyuya da referans olarak kullanılmak üzere 100-1000 bp'lik DNA markır yüklenmiştir. Sistem bu aşamada 4–5 saat çalışacağından oluşacak ısıyı elemine etmek için soğutma tertibatı bağlanarak faaliyete geçirilmiştir. Sistem 120 voltta 4–5 saat yürütüldükten sonra jel etidium bromide ile boyandıktan sonra UV görüntüleme sisteminden görüntü alınmış ve değerlendirilmiştir (Ceyhun 2007).

3. 2. 2. h. Etidium bromid ile boyama

Poliakrilamid jelin boyanmasında gümüş boyama yöntemine göre daha ucuz olan etidium bromid ile boyama yapılmıştır. Jel, hacmi jelin büyüklüğüne göre değişmekle birlikte 300–500 ml %0,1'lik etidium bromid (1 mg/ml) çözeltisi bulunan kapalı bir kap içerisine alınmıştır. Boyama işlemi inkübatör çalkalayıcıda yavaşça çalkalanarak 30 dakikada tamamlanmıştır. Boyama bitiminde jel yırtılmamasına büyük özen gösterilerek görüntülenmek üzere UV transilimatörüne aktarılmıştır. Aktarım sırasında asetat kağıdı kullanımı kolaylık sağlamaktadır. Etidium bromid mutajenik bir madde olduğundan ve ışıktan etkilendiğinden boyama işlemi karanlık ortamda yapılmış, jel ile temasta bulunmamak için eldiven ve maske kullanılmıştır (Yeşilyurt 2007).

3. 2. 2. i. Jel görüntüleme sisteminde PAGE görüntülerinin değerlendirilmesi

PAGE görüntüsündeki örneklere ait allellerin baz uzunlukları Jel Görüntüleme sistemindeki GeneSnap version 6.05 ve UltraQuant programlarıyla tespit edilmiştir (Şekil 3.2).



Şekil 3. 2. Örneklere ait allel uzunluklarının UltraQuant programı kullanılarak belirlenmesi

3. 2. 2. k. İstatistik analizler

GeneSnap version 6.05 ve UltraQuant programları ile belirlenen allellerin fragment uzunlukları kullanılarak GENETIX 4.02 programında grupların dağılımının 3 boyutlu düzlemde görülebileceği faktöriyel benzerlik analizi, allel frekansları, özgün alleller ve frekansları, beklenen ve gözlenen heterozigotluk değerleri yanı sıra F_{ST} , F_{IS} ve F_{IT} değerleri hesaplanmış ve grupların Hary-Weinberg dengesinde olup olmadığı test edilmiştir. Yine aynı program yardımı ile Nei'ye göre gruplar arası genetik mesafeler

belirlenmiştir. Bulunan değerler permutasyon testine tabi tutularak istatistiksel olarak önemliliği test edilmiştir (Özkan 2005; Ceyhun 2007).

Genetix programına girilmiş olan veriler “*.pop” yada POPGEN formatında kaydedilerek Populations programında Nei’nin standart genetik mesafesine (D_A) göre komşu birleştirme analizi yapılmıştır. Analiz sonucu elde edilen dosya TreeView programına aktarılarak bireyler arası dendogram çizilmiştir.

Faktöriyel benzerlik analizi, hem gruplar arasındaki hemde gruplara ait bireyler arasındaki genetik mesafenin 2 ve 3 boyutlu düzlemde ortaya koyulması için yapılan bir analizdir. Gruba ait her birey için kullanılan her lokus başına elde edilen allel uzunlukları yardımı ile 2 ve 3 boyutlu grafik çizilmiş, gruplar ve bireyler arasındaki akrabalık bağları ve genetik mesafe değerlendirilmiştir (Özkan 2005).

Allel frekansı; bir mikrosatelit lokustaki herhangi bir allelin bireylerden hangisinde ne oranda görüldüğü yada bulunma sıklığı olarak bilinmektedir. Kullanılan mikrosatelit lokuslar içerisinde sadece bir tanesinde görülen diğerlerinde görülmeyen allellere ise özgün allel denilmektedir. Her bir bireye ait allel frekansı ve özgün alleller tespit edilerek tablo oluşturulmuştur (Özkan 2005).

Allel paylaşım uzaklıklarına göre Gruplar ve bireyler arası genetik mesafeyi gösteren dendogram ve komşu birleştirme ağacı çizmek üzere veriler Populations 1.2.28 programı yardımı ile analiz edilmiş ve TreeView 1.6.6 programı yardımı ile de dendogram ve ağaçlar çizilmiştir (Özkan 2005).

F istatistikleri popülasyonların yapılarının tanımlanmasında önemli bilgiler veren parametrelerdir. F istatistikleri Wright (1965) tarafından geliştirilmiş olup F_{IT} , F_{IS} ve F_{ST} olmak üzere üç alt parametreden ibarettir (Özkan 2005).

Bu parametrelerden F_{IS} alt populasyonlarda görülen ortalama akrabalık katsayısı olarak tanımlanır ve alt populasyonlarda birbirine akraba olan bireylerin içinde homolog alleller arasındaki korelasyonu tanımlar. Yani alt populasyonlarda rastgele birleşen iki gametin ortak atadan gelme ihtimalidir. F_{IS} değeri teorik olarak 0 ile 1 arasında değişmekte olup, negatif bulunması heterozigot fazlalığını, sıfır değerine yakın bulunması Hardy-Weinberg dengesinin varlığını, pozitif olarak bulunması ise homozigot fazlalığını ifade etmektedir.

F_{ST} alt populasyonlar arasındaki genetik farklılıkların bir ölçütü olup belirli bir lokus açısından populasyonları karşılaştırmada kullanılır. Değer 0 ile 1 arasında değişmekte olup 0-0,05 arasında olması küçük, 0,05-0,15 arasında olması orta, 0,15-0,25 arasında olması büyük, 0,25'ten büyük olması ise çok büyük bir genetik farklılaşmanın olduğunu göstermektedir (Dorak 2009).

F_{IT} ise tüm bireylerin bir arada düşünülmesi ile ortaya çıkan toplam populasyondaki Hardy-Weinberg dengesinden sapmanın ölçüsü olarak tarif edilebilir (Özkan 2005).

Hardy-Weinberg dengesine göre; belli koşullar altında, rastgele eşleştirmeden bir kuşak sonra tek bir gen bölgesinde, gen tipi frekansları belli bir denge değerinde sabitlenir. Hardy-Weinberg'e göre aynı zamanda denge frekansları bu bölgede allel frekanslarının basit bir fonksiyonu olarak gösterilebilir (Aksoy vd 2006).

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

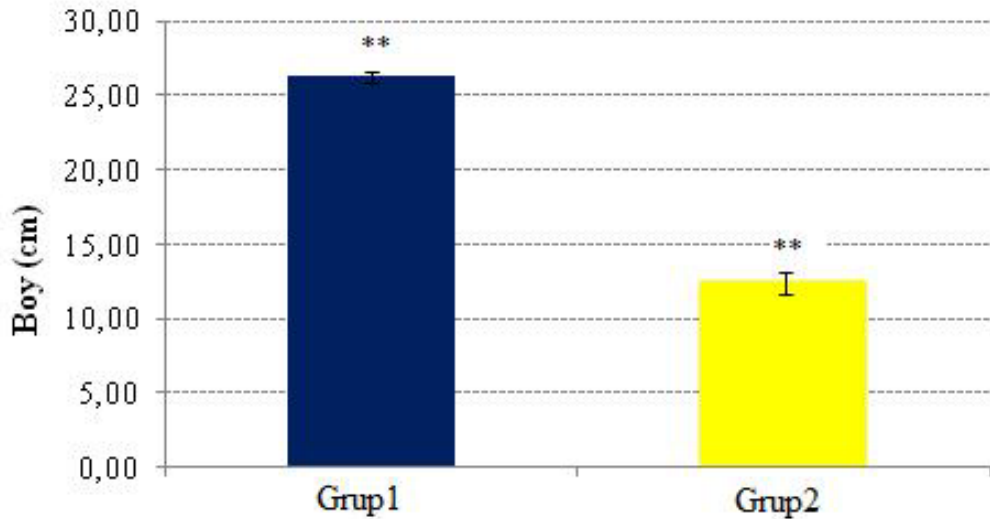
4.1.Balık materyallerinin metrik ve meristik ölçümlerine ilişkin bulgular

Çizelge 4.1’de Grup1 ve Grup2’ye ait bireylerin çatal boy ve toplam vücut ağırlık değerleri verilmiştir. Yüksek canlı ağırlığa sahip Grup1’e ait bireylerin çatal boy değerlerinin 24,5 cm’den 32 cm’e, Grup2’ye ait bireylerin çatal boy değerlerinin ise 7 cm’den 15 cm’ye kadar varyasyon gösterdiği görülmektedir. Yine Grup1’e ait bireylerin toplam vücut ağırlık değerlerinin 163 gr’dan 400 gr’a, Grup2’ye ait bireylerin toplam vücut ağırlık değerlerinin ise 2,9 gr’dan 35 gr’a kadar varyasyon gösterdiği görülmektedir.

Çizelge 4. 1. Balıklara ait boy ve ağırlık değerleri

Yüksek canlı ağırlığa sahip balıklar			Düşük canlı ağırlığa sahip balıklar		
No	Çatal boy (cm)	Ağırlık (gr)	No	Çatal boy (cm)	Ağırlık (gr)
1	27	220	21	15	31
2	26,5	215	22	15	32
3	26,5	201	23	11,5	17
4	24,5	163	24	14	29
5	25	170	25	12	19
6	24,5	185	26	14,5	32
7	25	183	27	14,5	35
8	25	176	28	13,5	25
9	29	286	29	12	21
10	25,5	184	30	12,5	19
11	24,5	159	31	12,5	16
12	25	180	32	14,5	33
13	25,5	196	33	13,5	29
14	27	206	34	14	26
15	24,5	163	35	12,5	19
16	26	207	36	12	22
17	24,5	168	37	14	28
18	30	310	38	7	2,9
19	32	400	39	7	4,5
20	27	240	40	7	5,1

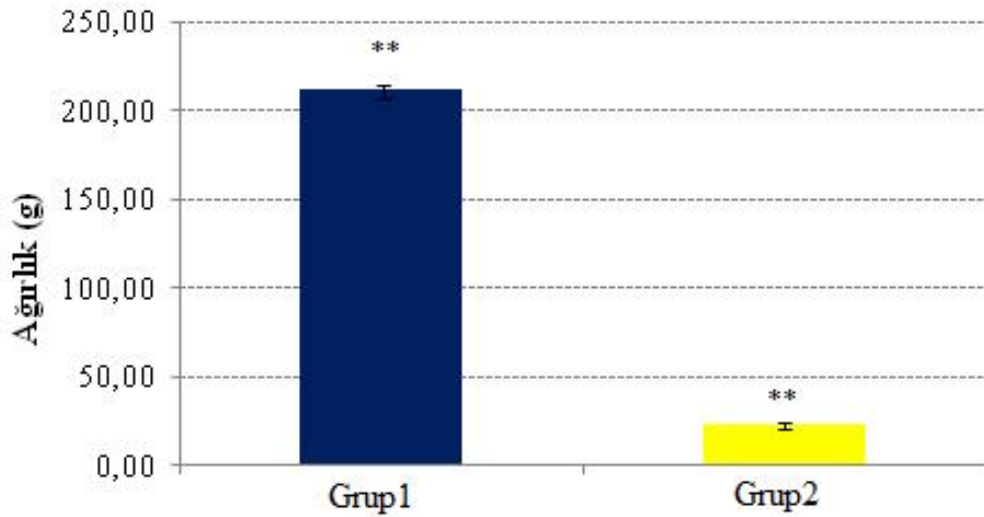
Şekil 4.1’de görüldüğü gibi gruplara ait ortalama boy değerleri verilmiştir. Grup1 için ortalama boy değeri 26,25 cm, Grup2 için ortalama boy değeri 12,43 cm olarak hesaplanmıştır. Gruplar arasındaki boy farklılıkları değerleri istatistiksel açıdan $p<0.01$ seviyesinde çok önemli bulunmuştur.



Şekil 4. 1. Gruplara ait ortalama boy değerleri

**= $p < 0.01$

Şekil 4.2’de görüldüğü gibi gruplara ait ortalama ağırlık değerleri verilmiştir. Grup1 için ortalama ağırlık değeri 210,60 gr, Grup2 için ortalama ağırlık değeri 22,28 gr olarak hesaplanmıştır. Gruplar arasındaki ağırlık farklılıkları değerleri istatistiksel açıdan $p < 0.01$ seviyesinde çok önemli bulunmuştur.

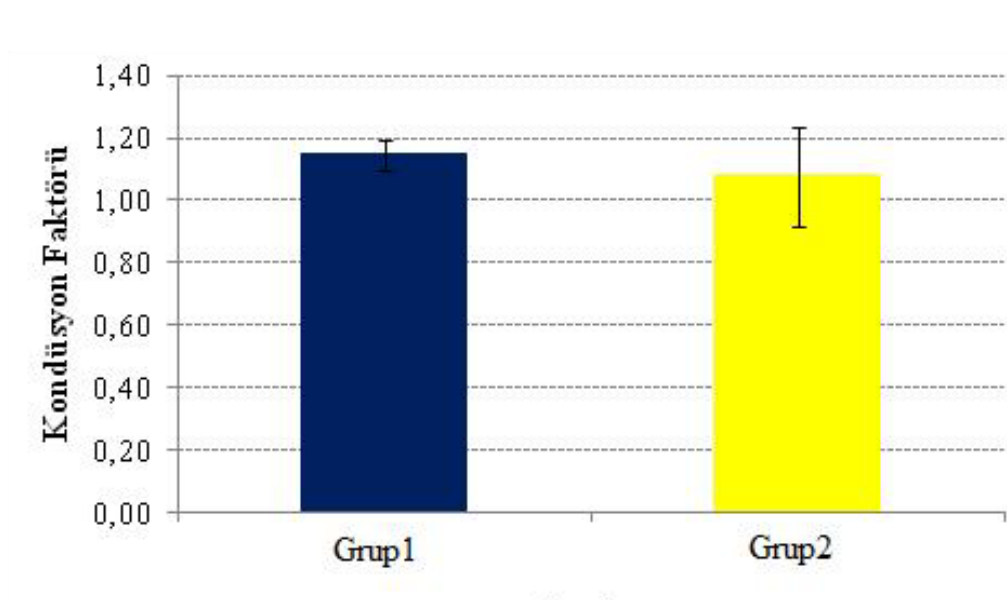


Şekil 4. 2. Gruplara ait ortalama ağırlık değerleri

**= $p < 0.01$

4.2. Grupların Kondüsyon Faktörlerine ilişkin bulgular

Şekil 4.3’de görüldüğü gibi gruplara ait kondüsyon faktörü (KF) değerleri verilmiştir. Grup1 için ortalama KF değeri 1,143, Grup2 için ortalama KF değeri 1,074 olarak hesaplanmıştır. Gruplar arasındaki kondüsyon faktörü değerleri istatistiksel açıdan $p>0.05$ seviyesinde önemsiz bulunmuştur.

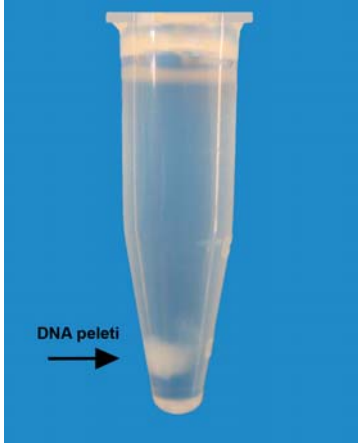


Şekil 4. 3. Gruplar arası kondüsyon faktörü farklılığı
ns=no significant ($p>0.05$)

4.3. DNA izolasyonuna ilişkin bulgular

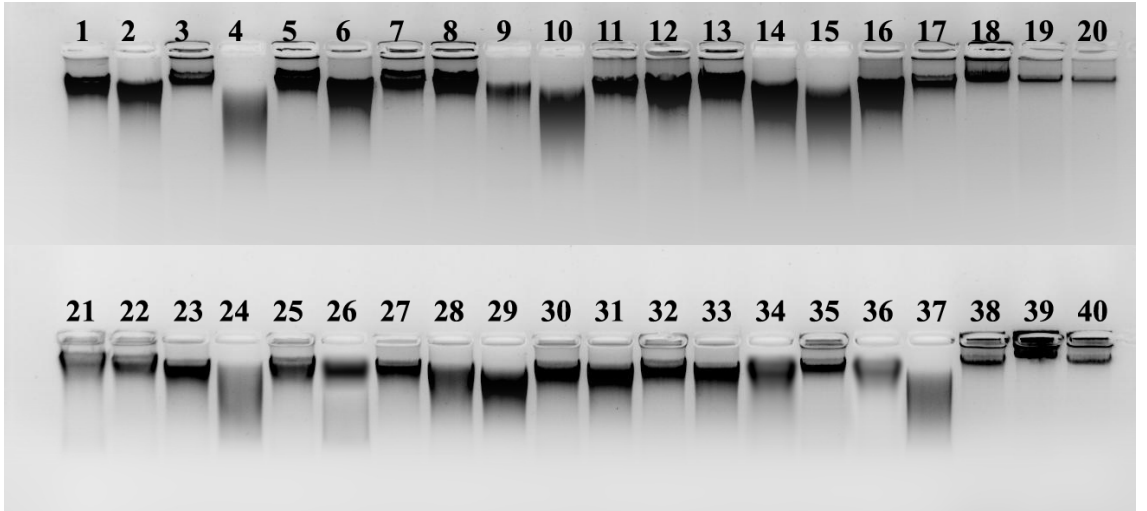
4.3.1. Kalitatif bulgular

DNA izolasyonunda sodyum asetat eklenmesinden sonra tüp içerisinde beyaz renkli bir yumağın oluştuğu görülmektedir (Şekil 4.4). Bu durum izolasyon prosedürü esnasında DNA izolasyonunun gerçekleştiği anlamına gelmektedir.



Şekil 4. 4. İzole edilen DNA peleti

Şekil 4.5’de Grup1 ve Grup2’ye ait toplam 40 bireyin DNA izolasyonu sonrasında agaroz jel elektroferizindeki görüntüleri görülmektedir. DNA izolasyonunda tek ve ışıklı bir bant deseni DNA izolasyonunun başarılı olduğu anlamına gelmektedir.



Şekil 4. 5. İzole edilen genomik DNA’ların % 1’lik agaroz jel elektroforezindeki görüntüleri

4.3.2. Kantitatif bulgular

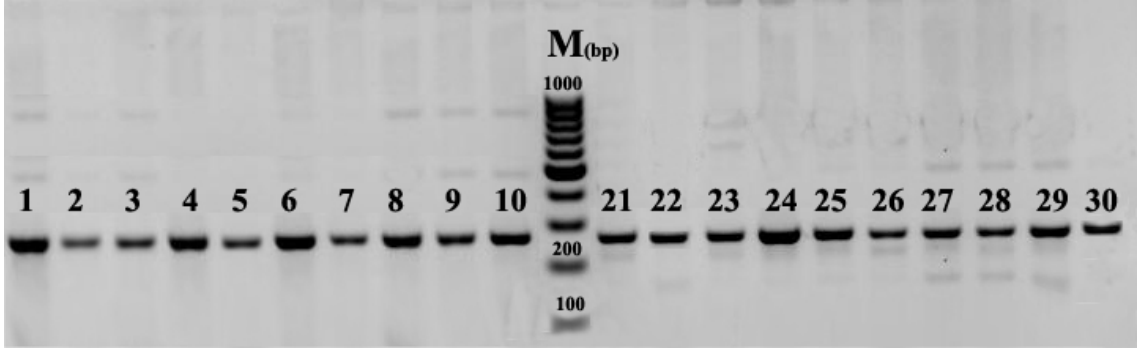
DNA örneklerine ait spektrofotometrik ölçümler Çizelge 4.2’de verilmiştir. DNA izolasyonunda OD_{260}/OD_{280} oranının 1,5-1,8 arasında olması DNA’nın izole olduğu ve kontaminasyonun olmadığı anlamına gelmektedir.

Çizelge 4. 2. DNA örneklerine ait spektrofotometrik ölçümler

	Örnek No	Optik Dansitite (OD)			DNA Konsant rasyonu (µg/µl)		Örnek No	Optik Dansitite (OD)			DNA Konsant rasyonu (µg/µl)
		260 nm	280 nm	OD _{260/280}				260 nm	280 nm	OD _{260/280}	
Grup 1	1	0,0235	0,0153	1,536	1,175	Grup 2	21	0,0776	0,0389	1,994	3,880
	2	0,0420	0,0218	1,926	2,100		22	0,0435	0,0220	1,977	2,175
	3	0,0413	0,0207	1,995	2,065		23	0,0300	0,0152	1,973	1,500
	4	0,0450	0,0226	1,991	2,250		24	0,0435	0,0228	1,904	2,175
	5	0,0544	0,0291	1,869	2,720		25	0,0447	0,0224	1,995	2,234
	6	0,0278	0,0165	1,684	1,389		26	0,0570	0,0287	1,986	2,850
	7	0,0304	0,0153	1,986	1,520		27	0,0036	0,0020	1,800	0,180
	8	0,0268	0,0144	1,861	1,340		28	0,0435	0,0230	1,891	2,175
	9	0,0427	0,0220	1,937	2,135		29	0,0485	0,0247	1,963	2,425
	10	0,0303	0,0173	1,751	1,515		30	0,0428	0,0218	1,963	2,140
	11	0,0340	0,0189	1,798	1,700		31	0,0384	0,0197	1,949	1,920
	12	0,0274	0,0145	1,886	1,370		32	0,0402	0,0206	1,951	2,010
	13	0,0285	0,0154	1,850	1,425		33	0,0248	0,0127	1,952	1,240
	14	0,0419	0,0214	1,957	2,095		34	0,0354	0,0182	1,945	1,770
	15	0,0396	0,0206	1,922	1,980		35	0,0196	0,0103	1,902	0,979
	16	0,0329	0,0167	1,964	1,645		36	0,0339	0,0183	1,852	1,695
	17	0,0273	0,0143	1,909	1,365		37	0,0377	0,0189	1,994	1,884
	18	0,0495	0,0261	1,896	2,475		38	0,0160	0,0087	1,839	0,800
	19	0,0456	0,0243	1,876	2,280		39	0,0179	0,0096	1,864	0,895
	20	0,0638	0,0333	1,915	3,190		40	0,0277	0,0167	1,658	1,385

4.4. PCR sonuçlarına ilişkin bulgular

Çalışmamızda toplam 40 balığın her birinde 13 lokus olmak üzere 520 adet PCR reaksiyonu gerçekleştirilmiştir. Sayı fazla olduğundan tüm PCR ürünlerinin fotoğrafları verilmemiştir. Örnek teşkil etmesi amacıyla OMM1308 nolu lokusa ait mikrosatelit bölgenin %1'lik agaroz jel elektroforezindeki görüntüsü verilmiştir (Şekil 4.6). PCR ürünü 200-300 bp aralığında olup tek bir bant vermiştir.

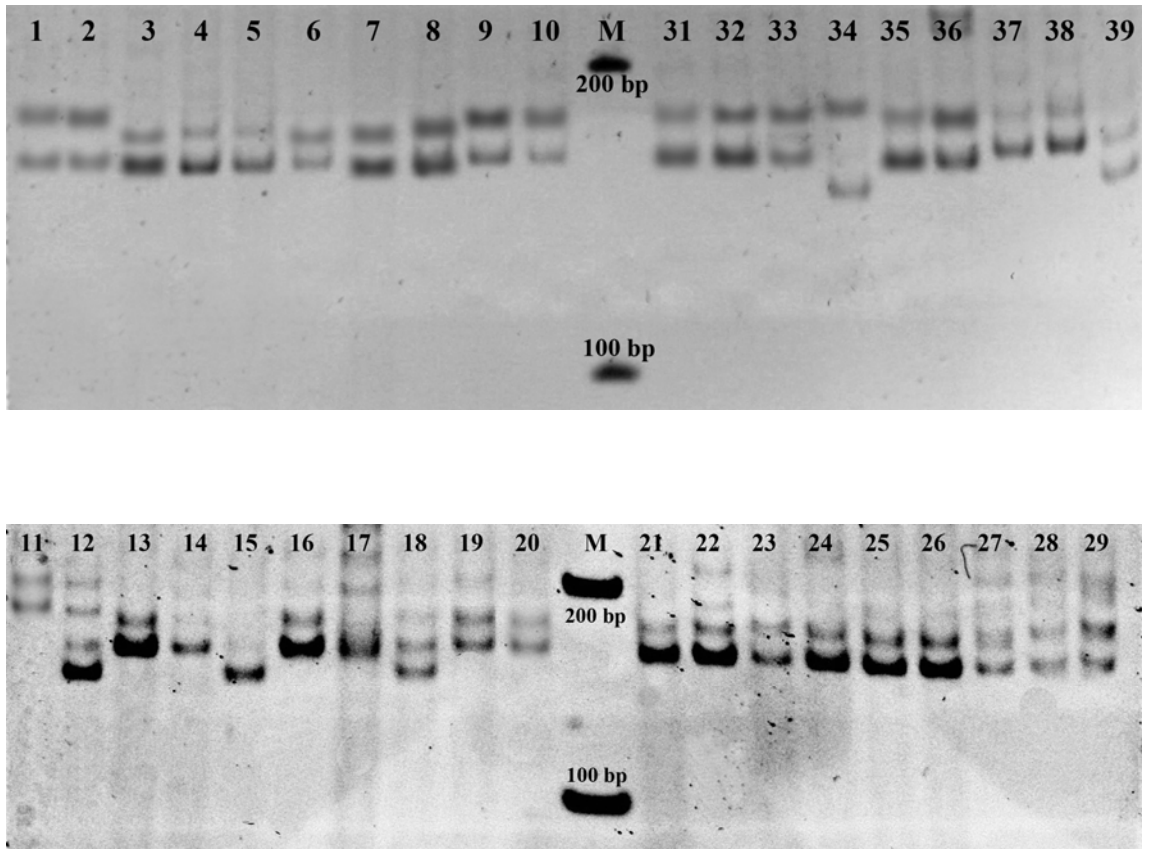


Şekil 4. 6. OMM1308 nolu lokusa ait mikrosatelit bölgenin % 1'lik agaroz jel elektroforezindeki kontrolü.

*M: DNA markır (100-1000 bp), 1-10: yüksek canlı ağırlığa sahip bireyler, 21-30: düşük canlı ağırlığa sahip bireyler.

4. 5. SSCP ve PAGE sonuçlarına ilişkin bulgular

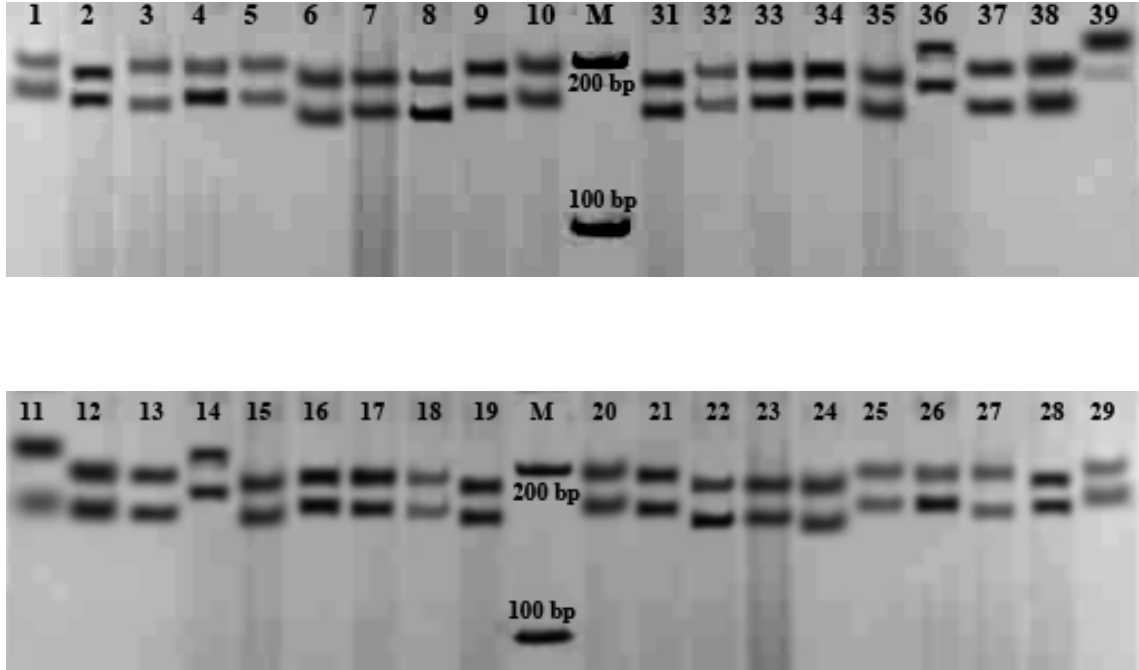
FGT1 nolu lokusa ait mikrosatelit bölgenin % 6'lık poli akrilamid jel elektroforezindeki görüntüsü Şekil 4.7'de görülmektedir. Bütün bireylerde allel uzunluklukları 100-200 bp arasında değişmektedir. 14 ve 15 nolu bireyler tek bant deseni verdikleri için homozigot allele, diğer bireylerde heterezigot allele sahiptirler.



Şekil 4. 7. FGT1 nolu lokusa ait mikrosatelit bölgenin % 6'lık poli akrilamid jel elektroforezindeki kontrolü.

*M: DNA markır (100-1000 bp), 1-20: yüksek canlı ağırlığa sahip bireyler, 21-40: düşük canlı ağırlığa sahip bireyler.

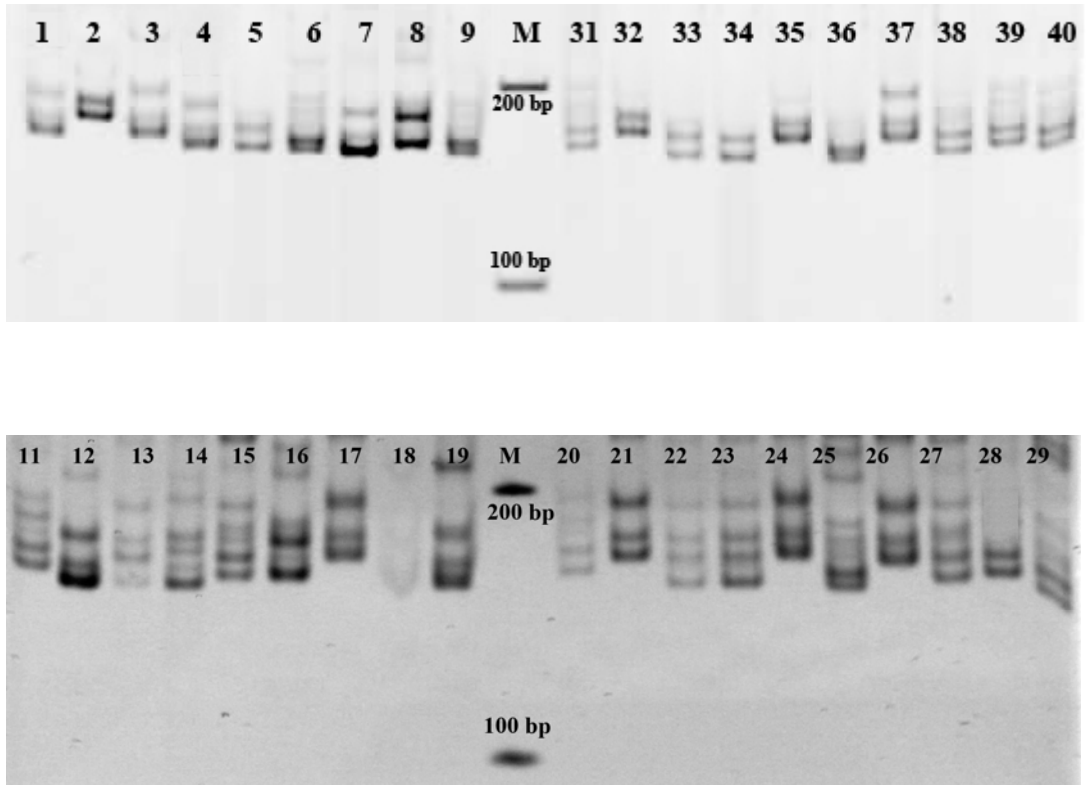
Strutta-12 nolu lokusa ait mikrosatelit bölgenin % 6'lık poli akrilamid jel elektroforezindeki görüntüsü Şekil 4.8'de görülmektedir. Bütün örneklerde allel uzunluklukları 100-300 bp arasında değişmektedir. Tüm örnekler 2'li bant deseni verdikleri için heterezigot allele sahiptirler.



Şekil 4. 8. Strutta-12 nolu lokusa ait mikrosatelit bölgenin % 6'lık poli akrilamid jel elektroforezindeki kontrolü.

*M: DNA markır (100-1000 bp), 1-20: yüksek canlı ağırlığa sahip bireyler, 21-40: düşük canlı ağırlığa sahip bireyler.

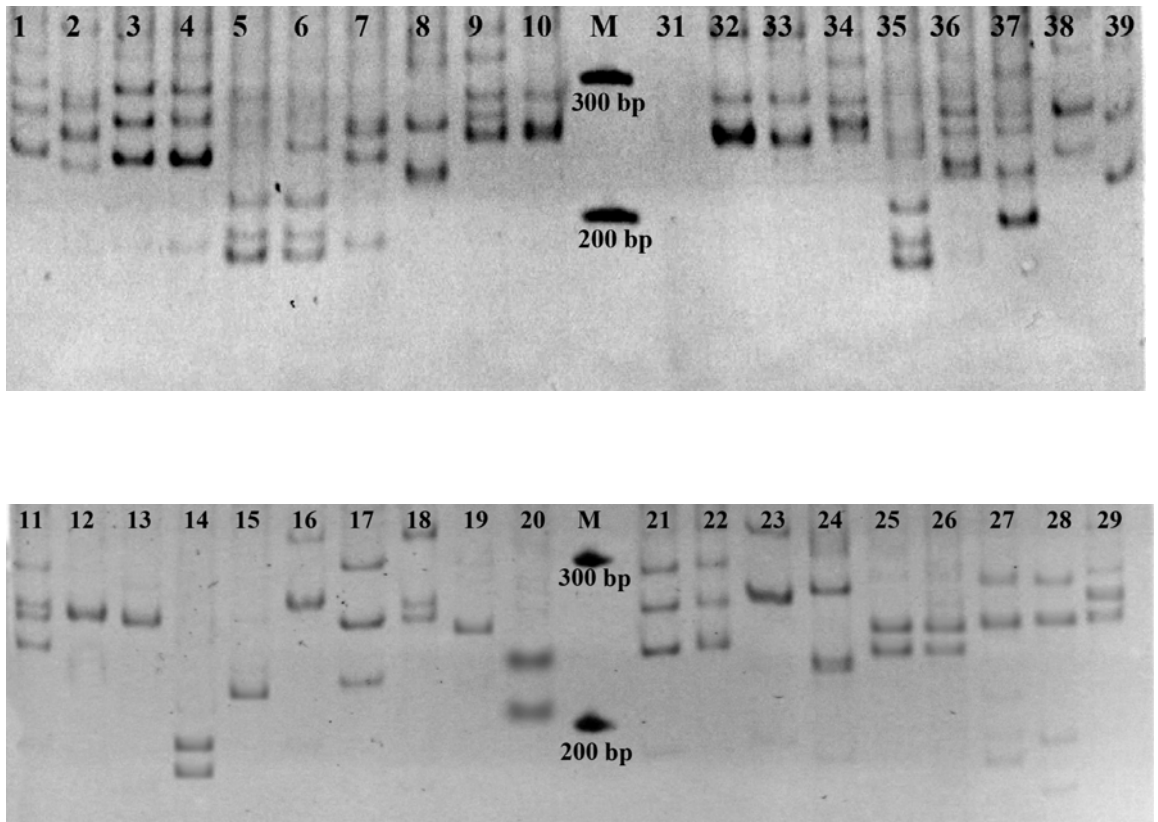
OMM1338 nolu lokusa ait mikrosatelit bölgenin % 6'lık poli akrilamid jel elektroforezindeki görüntüsü Şekil 4.9'da görülmektedir. Bütün bireylerde allel uzunluklukları 100-200 bp arasında değişmektedir. 11,13, 14, 15, 16, 17, 19, 21, 22, 23, 25, 26, 27, 28, 29 nolu örneklerde bant merdiveni görülmektedir. Tüm bireyler, en az 2'li bant deseni verdikleri için heterezigot allele sahiptirler.



Şekil 4. 9. OMM1338 nolu lokusa ait mikrosatelit bölgenin % 6'lık poli akrilamid jel elektroforezindeki kontrolü.

*M: DNA markır (100-1000 bp), 1-20: yüksek canlı ağırlığa sahip bireyler, 21-40: düşük canlı ağırlığa sahip bireyler.

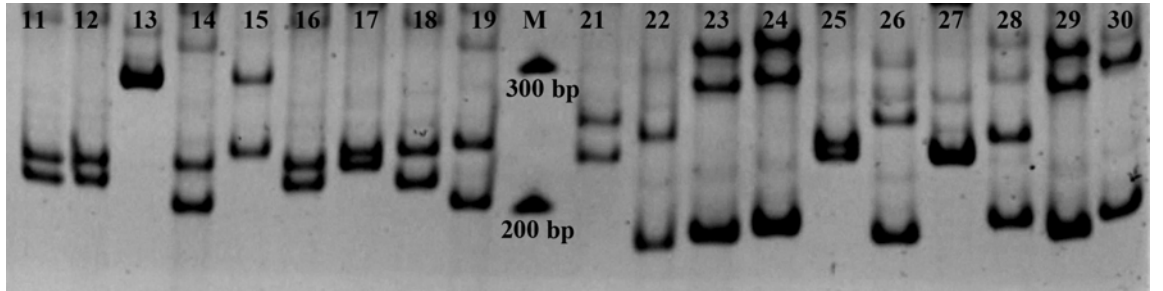
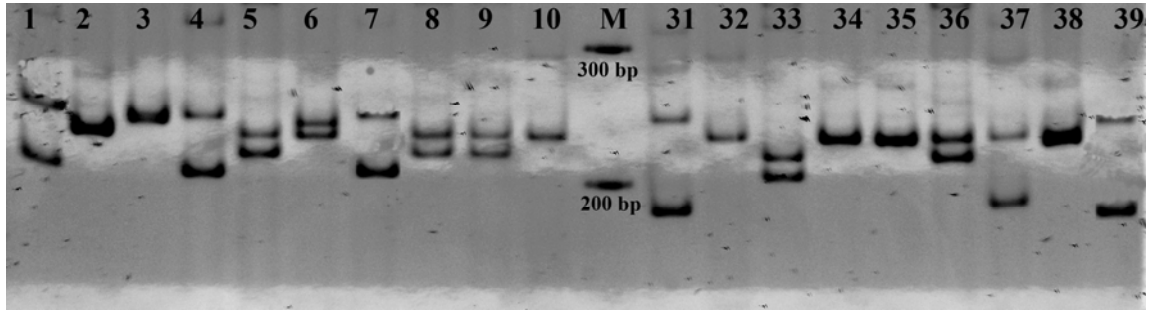
OMM1041 nolu lokusa ait mikrosatelit bölgenin % 6'lık poli akrilamid jel elektroforezindeki görüntüsü Şekil 4.10'da görülmektedir. Bütün bireylerde allel uzunluklukları 100-300 bp arasında değişmektedir. 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 35, 36, 37, 38, 39 nolu örneklerde bant merdiveni görülmektedir. 12, 13, 15, 19 nolu örnekler tek bant deseni verdikleri için bunlar homozigot allellerdir. Diğer örneklerde en az 2'li bant deseni verdikleri için heterozigot allele sahiptirler.



Şekil 4. 10. OMM1041 nolu lokusa ait mikrosatelit bölgenin % 6'lık poli akrilamid jel elektroforezindeki kontrolü.

*M: DNA markır (100-1000 bp), 1-20: yüksek canlı ağırlığa sahip bireyler, 21-40: düşük canlı ağırlığa sahip bireyler.

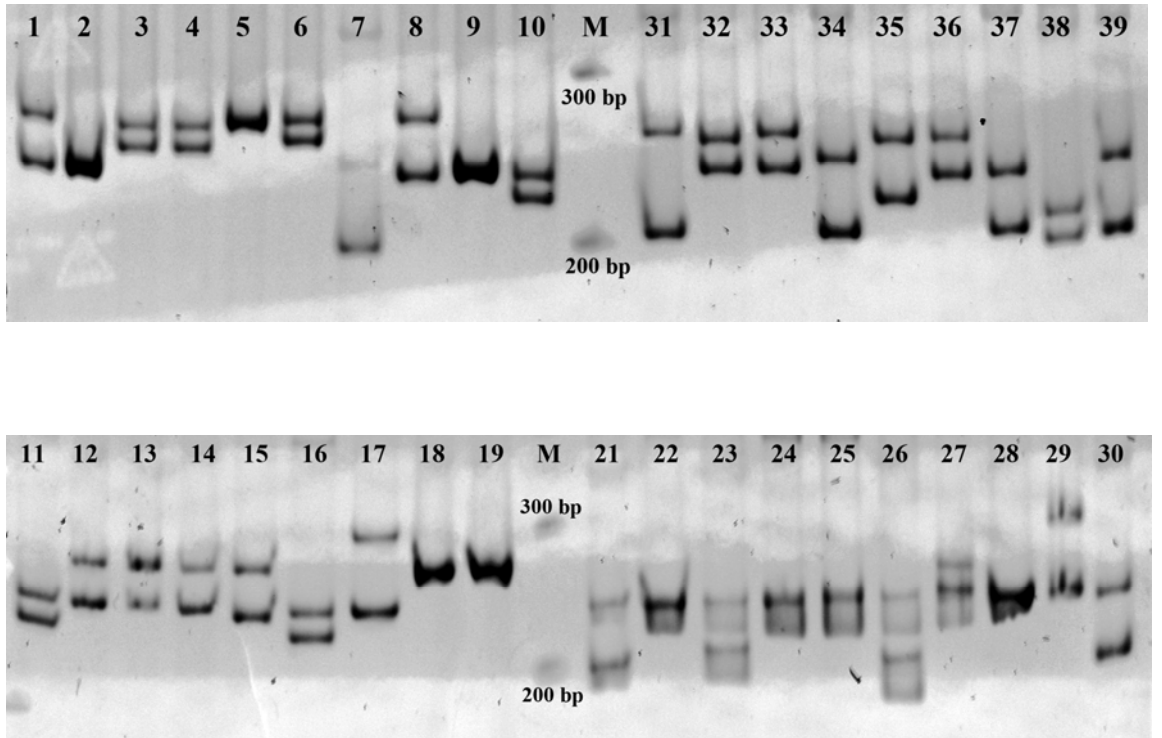
OMM1070 nolu lokusa ait mikrosatelit bölgenin % 6'lık poli akrilamid jel elektroforezindeki görüntüsü Şekil 4.11'de görülmektedir. Bütün bireylerde allel uzunluklukları 200-300 bp arasında değişmektedir. 2, 3, 10, 13, 32, 34, 35 ve 38 nolu örnekler tek bant deseni verdikleri için bunlar homozigot allellerdir. Diğer örneklerde en az 2'li bant deseni verdikleri için heterozigot allele sahiptirler.



Şekil 4. 11. OMM1070 nolu lokusa ait mikrosatelit bölgenin % 6'lık poli akrilamid jel elektroforezindeki kontrolü.

*M: DNA markır (100-1000 bp), 1-20: yüksek canlı ağırlığa sahip bireyler, 21-40: düşük canlı ağırlığa sahip bireyler.

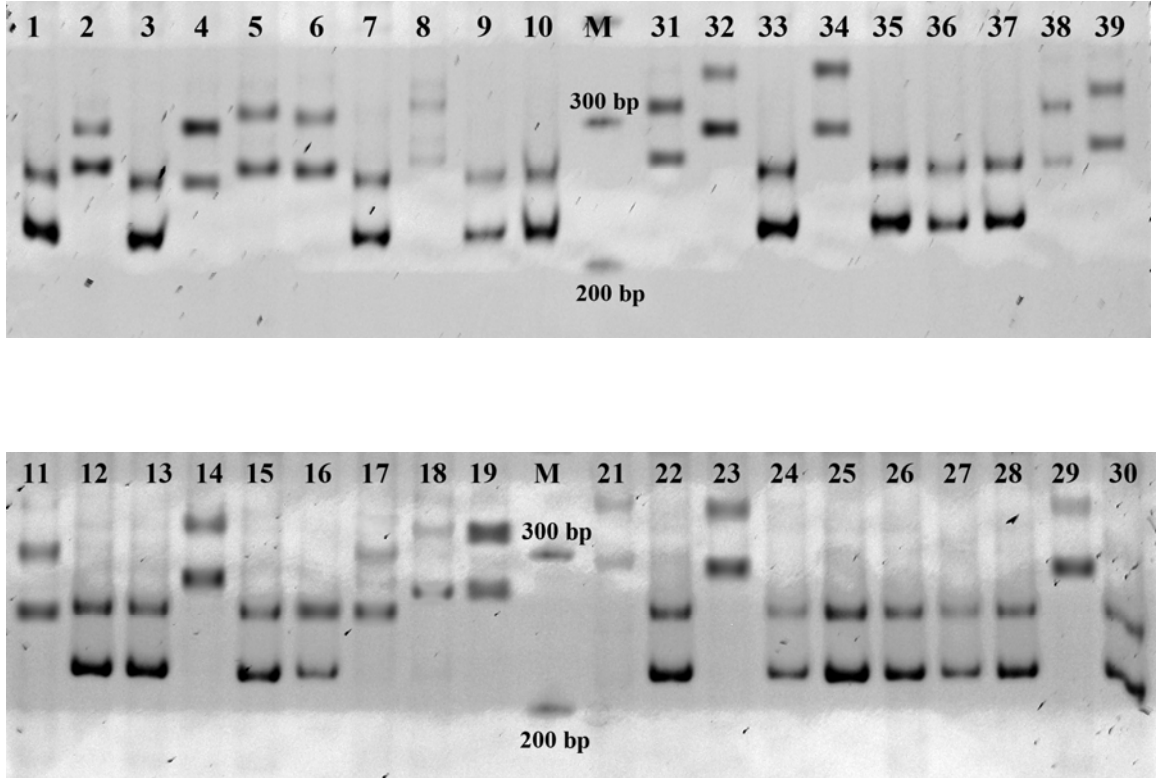
OMM1130 nolu lokusa ait mikrosatelit bölgenin % 6'lık poli akrilamid jel elektroforezindeki görüntüsü Şekil 4.12'de görülmektedir. Bütün bireylerde allel uzunluklukları 200-300 bp arasında değişmektedir. 2, 9, 18, 19, 22, 24, 25 ve 28 nolu örnekler tek bant deseni verdikleri için homozigot allellerdir. Diğer örneklerde 2'li bant deseni verdikleri için heterezigot allele sahiptirler.



Şekil 4. 12. OMM1130 nolu lokusa ait mikrosatelit bölgenin % 6'lık poli akrilamid jel elektroforezindeki kontrolü.

*M: DNA markır (100-1000 bp), 1-20: yüksek canlı ağırlığa sahip bireyler, 21-40: düşük canlı ağırlığa sahip bireyler.

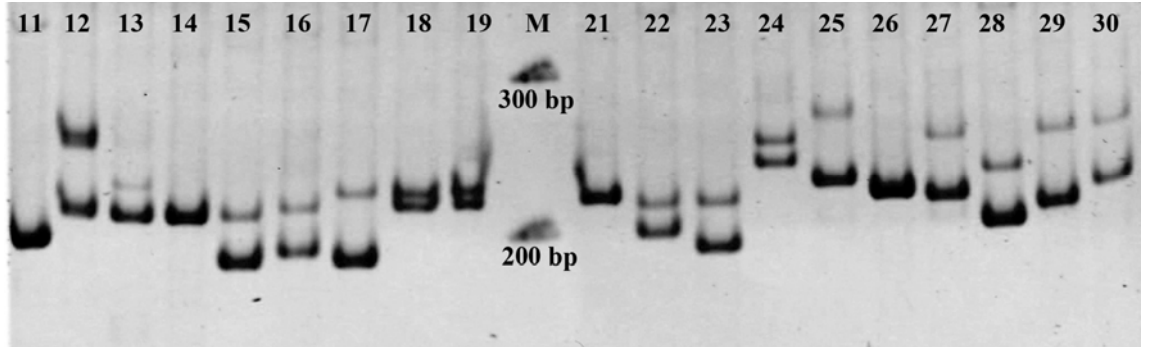
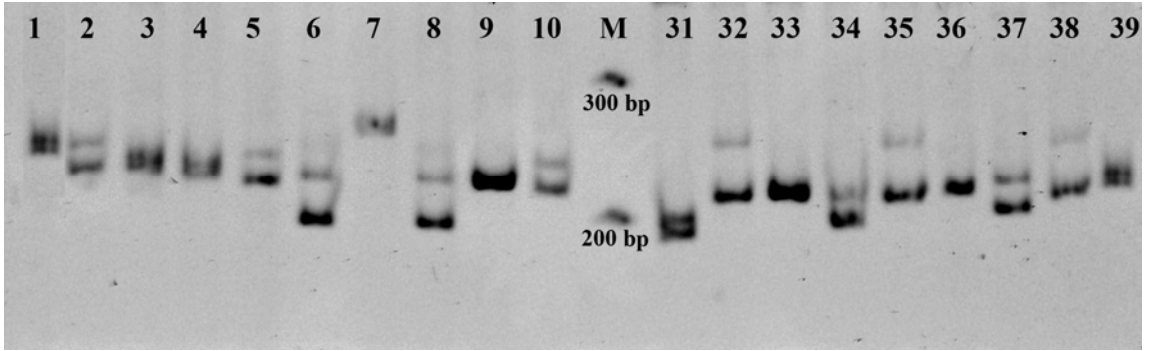
OMM1308 nolu lokusa ait mikrosatelit bölgenin % 6'lık poli akrilamid jel elektroforezindeki görüntüsü Şekil 4.13'de görülmektedir. Bütün bireylerde allel uzunluklukları 200-400 bp arasında değişmektedir. Bütün örnekler 2'li bant deseni verdikleri için heterozigot allele sahiptirler. Bu lokusta homozigot allel bulunmamaktadır.



Şekil 4. 13. OMM1308 nolu lokusa ait mikrosatelit bölgenin % 6'lık poli akrilamid jel elektroforezindeki kontrolü.

*M: DNA markır (100-1000 bp), 1-20: yüksek canlı ağırlığa sahip bireyler, 21-40: düşük canlı ağırlığa sahip bireyler.

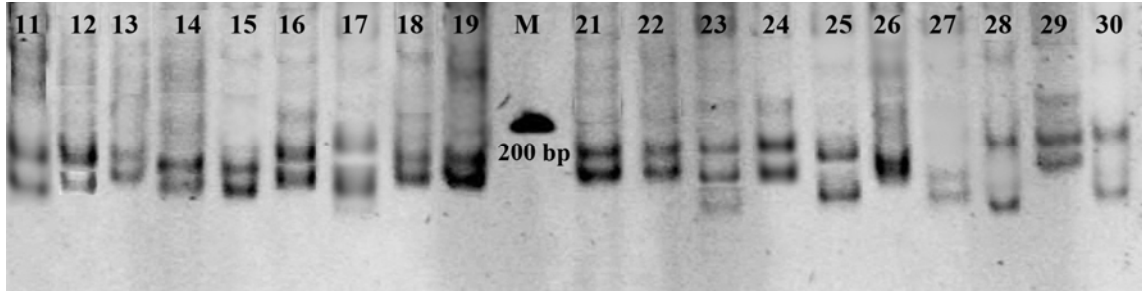
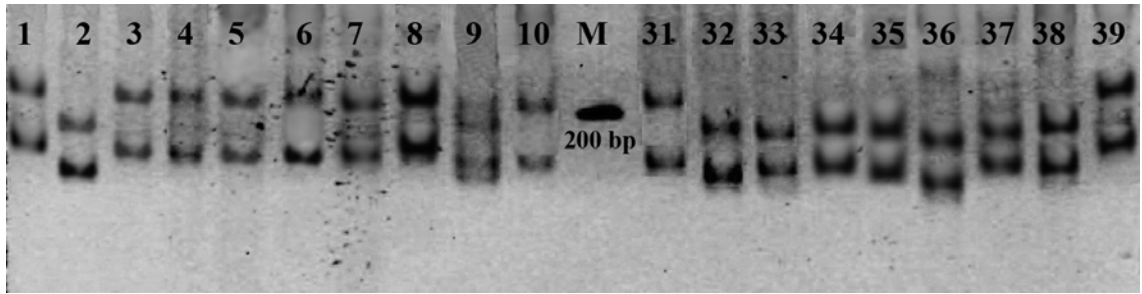
OMM1302 nolu lokusa ait mikrosatelit bölgenin % 6'lık poli akrilamid jel elektroforezindeki görüntüsü Şekil 4.14'de görülmektedir. Bütün bireylerde allel uzunluklukları 100-300 bp arasında değişmektedir. 1, 3, 4, 7, 9, 11, 14, 33, 36 ve 39 nolu örnekler tek bant deseni verdikleri için homozigot allellerdir. Diğer örnekler 2'li bant deseni verdikleri için heterezigot allele sahiptirler.



Şekil 4. 14. OMM1302 nolu lokusa ait mikrosatelit bölgenin % 6'lık poli akrilamid jel elektroforezindeki kontrolü.

*M: DNA markır (100-1000 bp), 1-20: yüksek canlı ağırlığa sahip bireyler, 21-40: düşük canlı ağırlığa sahip bireyler.

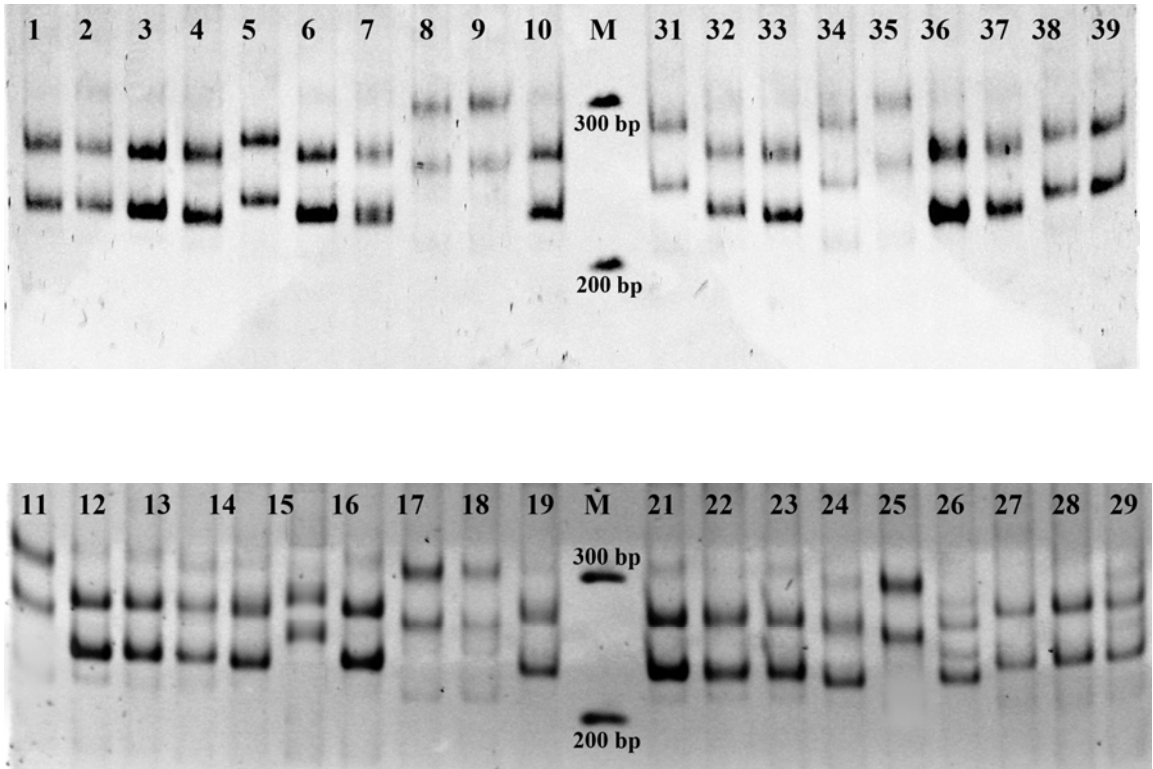
OMM1309 nolu lokusa ait mikrosatelit bölgenin % 6'lık poli akrilamid jel elektroforezindeki görüntüsü Şekil 4.15'de görülmektedir. Bütün bireylerde allel uzunluklukları 100-300 bp arasında değişmektedir. Bütün örnekler 2'li bant deseni verdikleri için heterozigot allele sahiptirler. Bu lokusta homozigot allel bulunmamaktadır.



Şekil 4. 15. OMM1309 nolu lokusa ait mikrosatelit bölgenin %6'lık poli akrilamid jel elektroforezindeki kontrolü.

*M: DNA markır (100-1000 bp), 1-20: yüksek canlı ağırlığa sahip bireyler, 21-40: düşük canlı ağırlığa sahip bireyler.

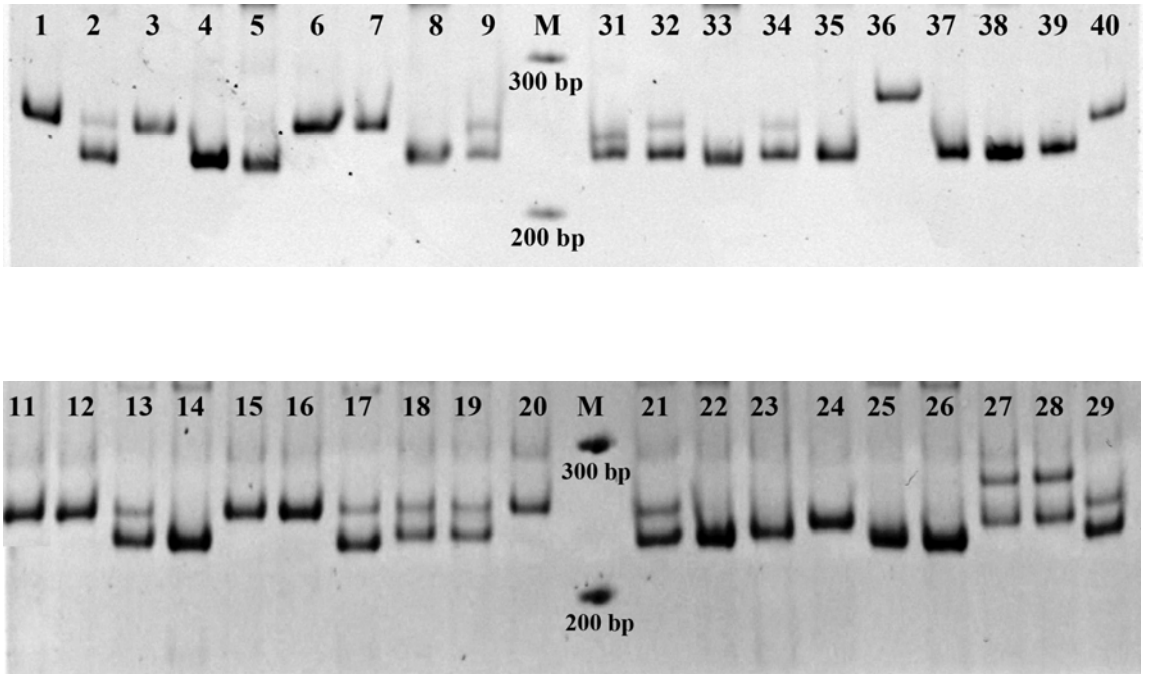
OMM1310 nolu lokusa ait mikrosatelit bölgenin % 6'lık poli akrilamid jel elektroforezindeki görüntüsü Şekil 4.16'da görülmektedir. Bütün bireylerde allel uzunluklukları 200-300 bp arasında değişmektedir. Bütün örnekler 2'li bant deseni verdikleri için heterezigot allele sahiptirler. Bu lokusta homozigot allel bulunmamaktadır.



Şekil 4. 16. OMM1310 nolu lokusa ait mikrosatelit bölgenin %6'lık poli akrilamid jel elektroforezindeki kontrolü.

*M: DNA markır (100-1000 bp), 1-20: yüksek canlı ağırlığa sahip bireyler, 21-40: düşük canlı ağırlığa sahip bireyler.

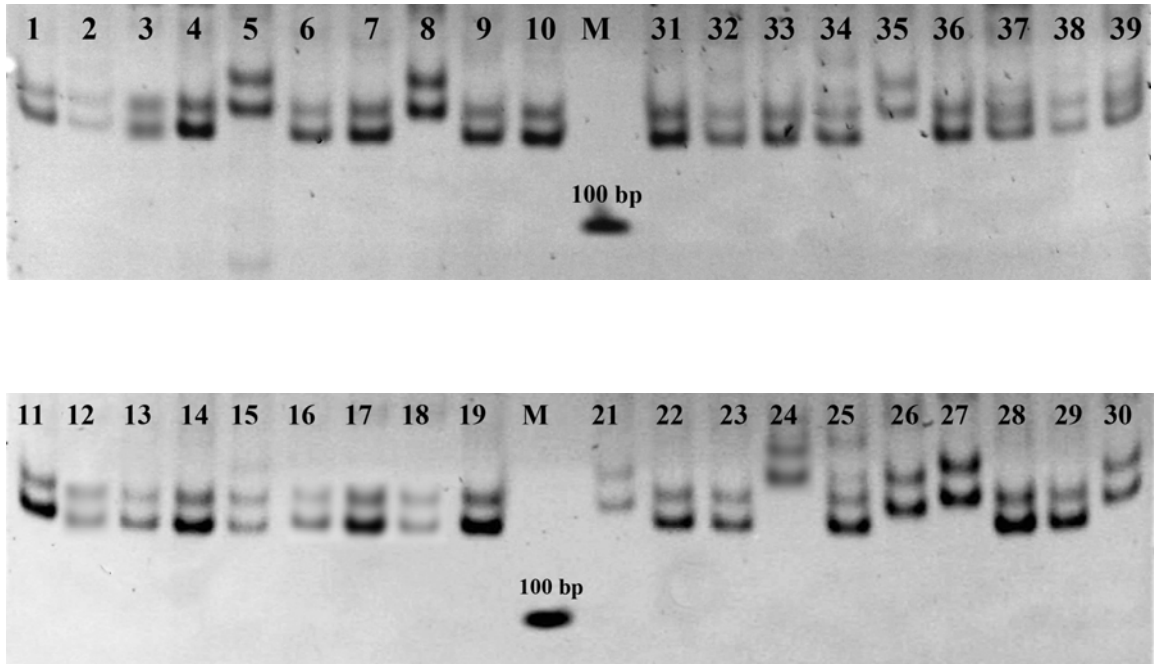
OMM1316 nolu lokusa ait mikrosatelit bölgenin % 6'lık poli akrilamid jel elektroforezindeki görüntüsü Şekil 4.17'de görülmektedir. Bütün bireylerde allel uzunluklukları 200-300 bp arasında değişmektedir. 1, 3, 6, 7, 8, 11, 12, 15, 16, 20, 33, 35, 36, 37, 38, 39 ve 40 nolu örnekler tek bant deseni verdikleri için homozigot allellerdir. Diğer örnekler 2'li bant deseni verdikleri için heterozigot allele sahiptirler.



Şekil 4. 17. OMM1316 nolu lokusa ait mikrosatelit bölgenin %6'lık poli akrilamid jel elektroforezindeki kontrolü.

*M: DNA markır (100-1000 bp), 1-20: yüksek canlı ağırlığa sahip bireyler, 21-40: düşük canlı ağırlığa sahip bireyler.

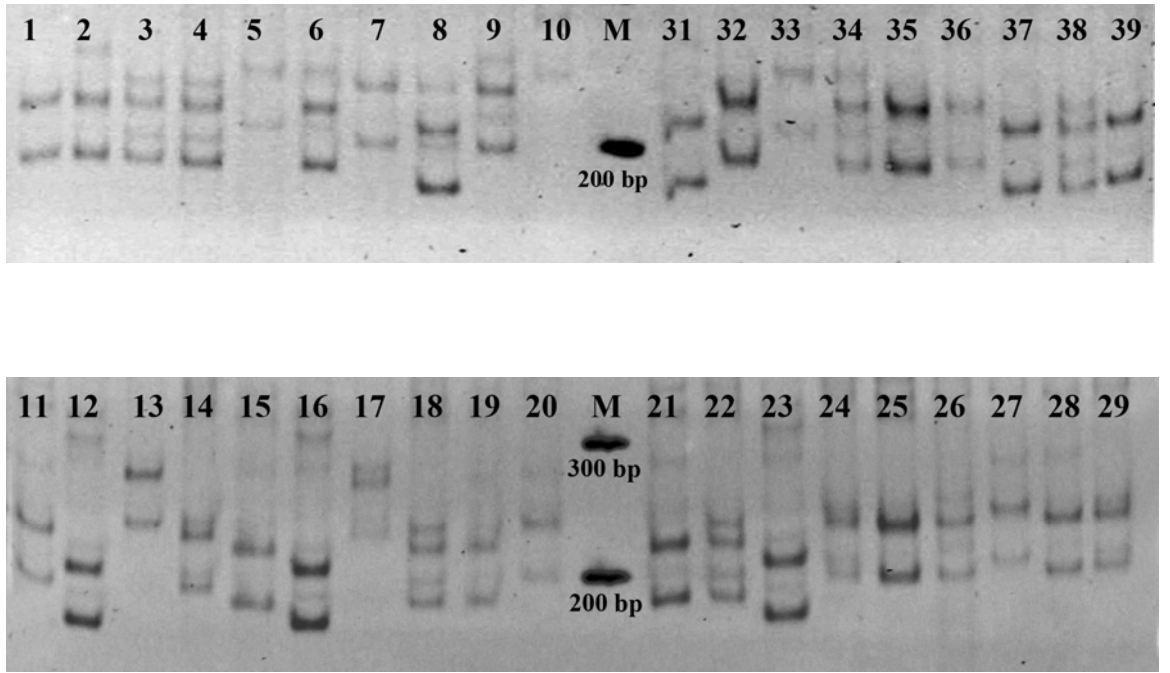
OMM1312 nolu lokusa ait mikrosatelit bölgenin % 6'lık poli akrilamid jel elektroforezindeki görüntüsü Şekil 4.18'de görülmektedir. Bütün bireylerde allel uzunluklukları 100-200 bp arasında değişmektedir. Bütün örnekler 2'li bant deseni verdikleri için heterozigot allele sahiptirler. Bu lokusta homozigot allel bulunmamaktadır.



Şekil 4. 18. OMM1312 nolu lokusa ait mikrosatelit bölgenin %6'lık poli akrilamid jel elektroforezindeki kontrolü.

*M: DNA markır (100-1000 bp), 1-20: yüksek canlı ağırlığa sahip bireyler, 21-40: düşük canlı ağırlığa sahip bireyler.

OMM1375 nolu lokusa ait mikrosatelit bölgenin % 6'lık poli akrilamid jel elektroforezindeki görüntüsü Şekil 4.19'da görülmektedir. Bütün bireylerde allel uzunluklukları 100-300 bp arasında değişmektedir. Bütün örnekler 2'li bant deseni verdikleri için heterezigot allele sahiptirler. Bu lokusta homozigot allel bulunmamaktadır.

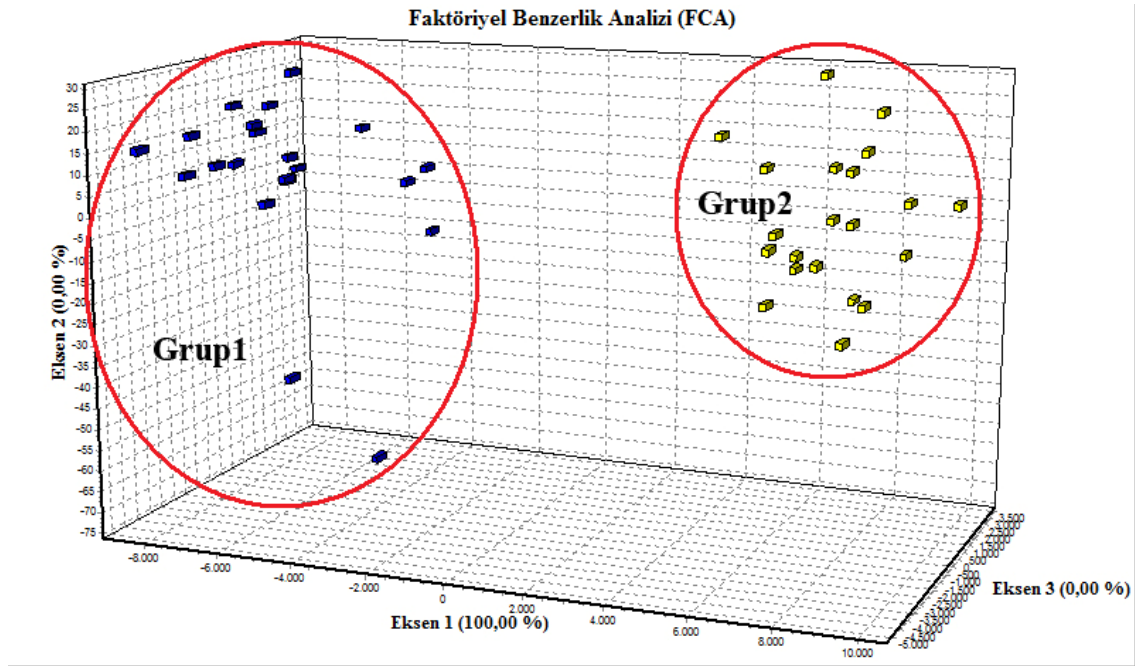


Şekil 4. 19. OMM1375 nolu lokusa ait mikrosatelit bölgenin %6'lık poli akrilamid jel elektroforezindeki kontrolü.

*M: DNA markır (100-1000 bp), 1-20: yüksek canlı ağırlığa sahip bireyler, 21-40: düşük canlı ağırlığa sahip bireyler.

4. 6. İstatistiki analiz sonuçları

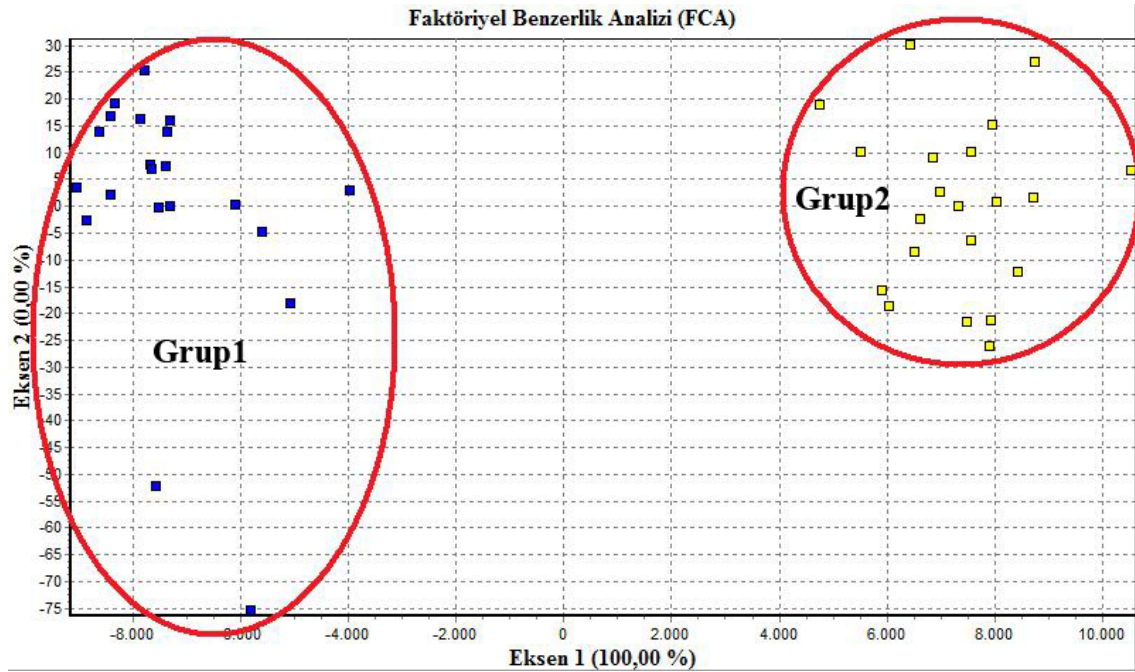
GENETIX 4.02 programı yardımı ile genetiksel özellikleri dikkate alınarak yapılan ve gruplara ait bireylerin üç boyutlu düzlemde gruplandırılabilirdiği faktöriyel benzerlik analizi Şekil 4.20’de verilmiştir. Şekildeki lacivert renkli kutular Grup1, sarı renkli kutular ise Grup2’ye ait bireyleri temsil etmektedir. Burada Grup1 ve Grup2’ye ait bireylerin genetiksel olarak birbirlerinden ayrıldıkları görülmektedir. Bu da her grubun kendi içerisindeki bireylerinin genetik akrabalık derecelerinin yüksek olduğu anlamına gelmektedir.



Şekil 4. 20. Faktöriyel benzerlik analizi sonucu grupların 3 boyutlu düzlemdeki görüntüleri

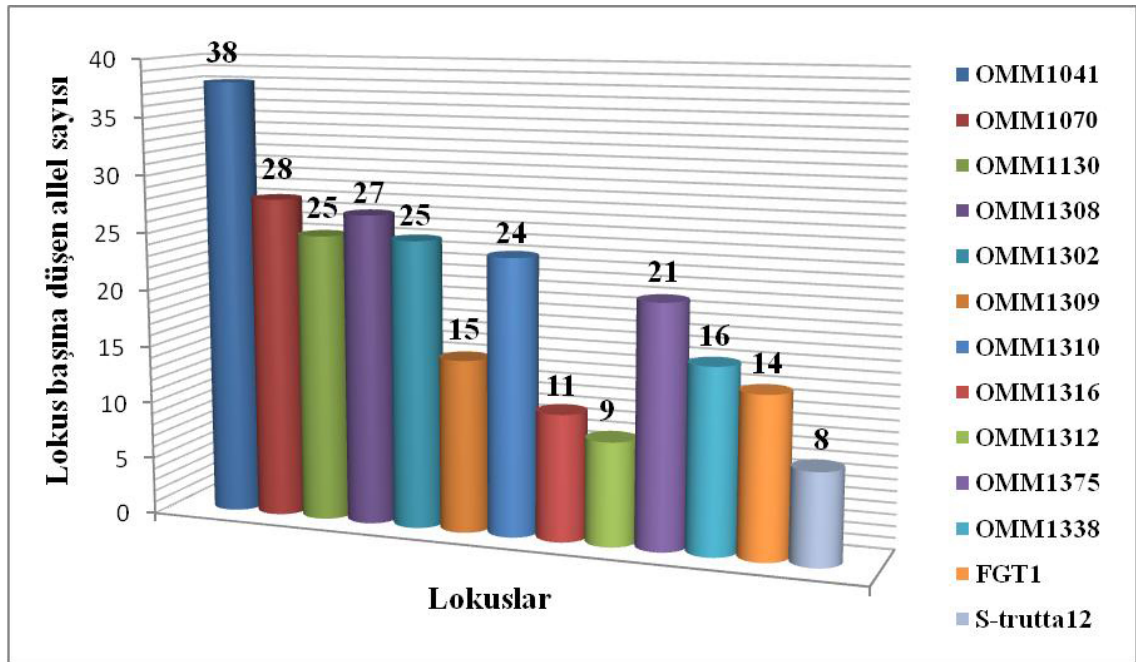
Yine GENETIX 4.02 programı yardımı ile genetiksel özellikleri dikkate alınarak yapılan ve gruplara ait bireylerin iki boyutlu düzlemde gruplandırılabilirdiği faktöriyel benzerlik analizi Şekil 4.21’de verilmiştir. Şekildeki lacivert renkli kutular Grup1, sarı renkli kutular ise Grup2’ye ait bireyleri temsil etmektedir. Burada Grup1 ve Grup2’ye ait bireylerin genetiksel olarak birbirlerinden ayrıldıkları görülmektedir. Burada yine her

grubun kendi içerisindeki bireylerinin genetik akrabalık derecelerinin yüksek olduğu anlamına gelmektedir.



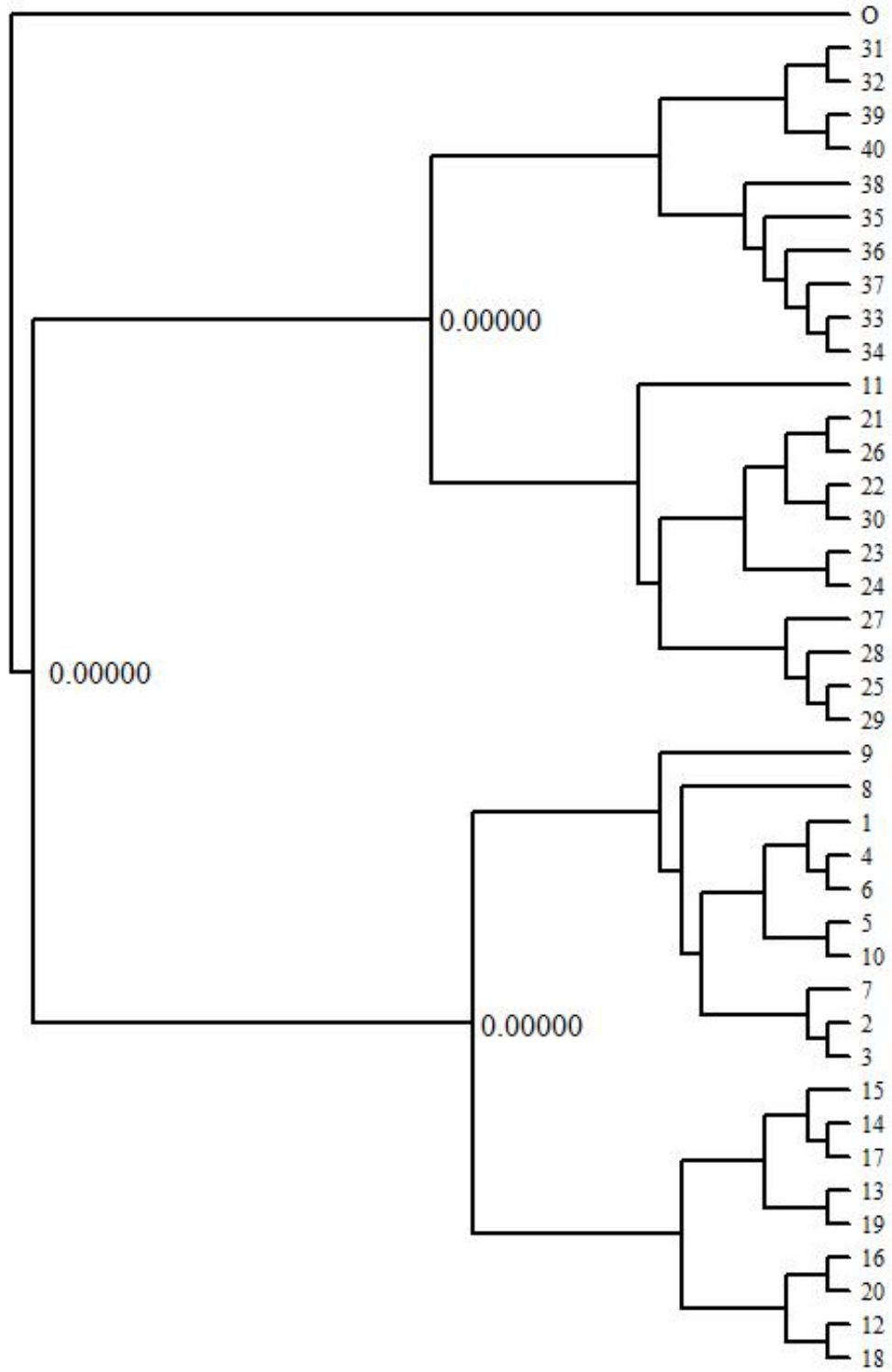
Şekil 4. 21. Faktöriyel benzerlik analizi sonucu grupların 2 boyutlu düzlemdeki görüntüleri

Şekil 4.22’de çalışmada kullanılan mikrosatelit lokuslar ve lokus başına düşen allel sayıları görülmektedir. OMM1041 lokusunda 38, OMM1070 lokusunda 28, OMM1130 lokusunda 25, OMM1308 lokusunda 27, OMM1302 lokusunda 25, OMM1309 lokusunda 15, OMM1310 lokusunda 24, OMM1316 lokusunda 11, OMM1312 lokusunda 9, OMM1375 lokusunda 21, OMM1338 lokusunda 16, FGT1 lokusunda 14 ve Strutta12 lokusunda 8 allel gözlemlenmiştir. Bir lokusta gözlenen allelin diğer bir lokusta da gözlenme durumu olabileceğinden tüm lokuslarda bulunan alleller birlikte değerlendirilmiştir. Örneğin OMM1041 lokusunda bulunan 38 allelin çoğusu diğer lokuslarda da bulunduğu için birbirlerinde farklı baz çifti uzunluğuna sahip allel sayısı tüm lokuslar bazında değerlendirildiğinde toplam 90 adet farklı allel tespit edilmiştir.



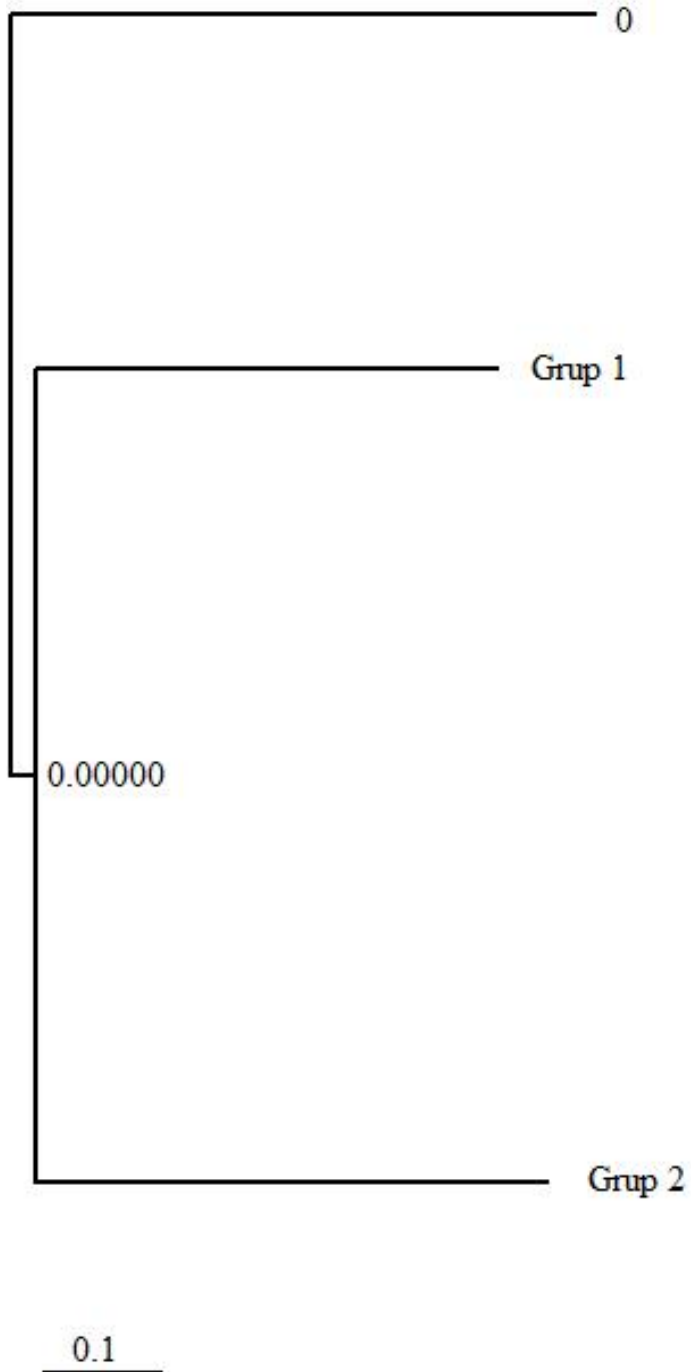
Şekil 4. 22. Locus başına düşen allel sayıları

TreeView programında çizilen bireyler arası genetik mesafeyi gösteren dendogram Şekil 4.23'de görülmektedir. Dendogramın 0 kolundan çıkan 2 kol sonra kendi arasında tekrar 2 kola ayrılmıştır. Dendogramın üst kısmındaki birinci kolda sırasıyla; 31, 32, 39, 40, 38, 35, 36, 37, 33, 34, 11, 21, 26, 22, 30, 23, 24, 27, 28, 25 ve 29 numaralı bireylerin bulunduğu görülmektedir. 11 numaralı birey hariç bunlar düşük canlı ağırlığa sahip Grup1 bireyleridir. Dendogramın alt kısmındaki ikinci kolda ise sırasıyla; 9, 8, 1, 4, 6, 5, 10, 7, 2, 3, 15, 14, 17, 13, 19, 16, 20, 12 ve 18 numaralı bireylerin yer aldığı görülmektedir. Bunların hepsi yüksek canlı ağırlığa sahip Grup2 bireyleridir.



Şekil 4. 23. Bireyler arası genetik mesafeyi gösteren dendogram

TreeView programında çizilen gruplar arası genetik mesafeyi gösteren dendogram Şekil 4.24’de görülmektedir. Dendogramın 0 kolundan çıkan 2 kol sonra kendi arasında tekrar 2 kola ayrılmıştır. Dendogramın üst kısmındaki birinci kolda Grup1’in, alt kısmındaki ikinci kolda ise Grup2’nin bulunduğu görülmektedir.



Şekil 4. 24. Gruplar arası genetik mesafeyi gösteren dendogram

OMM1041 lokusu için allel uzunlukları, gruplardaki allel frekansları, F_{IS} , F_{IT} ve F_{ST} değerleri Çizelge 4.3'te verilmiştir. Gruplar için allel frekansları 0,0000-0,1250 arasında değişmektedir. Koyu olarak yazılan frekansların ait olduğu alleller özgün allellerdir. Bu lokusta toplam 4 adet özgün allel görülmüştür. Bunlar; 268, 278, 288 ve 290 bp'lik uzunlukta olup diğer lokuslarda gözlenmemiştir. Ortalama $F_{IS}=0,12288$, $F_{IT}=0,13596$ ve $F_{ST}=0,01491$ olarak bulunmuştur.

Çizelge 4. 3. OMM1041 lokusuna ait allel uzunlukları, gruplardaki allel frekansları, F_{IS} , F_{IT} ve F_{ST} değerleri

Allel (bp)	Allel Frekansları		F_{IS}	F_{IT}	F_{ST}
	Grup1	Grup2			
180	0,0000	0,0500	-0,02703	0,00000	0,02632
186	0,0250	0,0000	0,00000	0,00000	-0,00000
190	0,0000	0,0500	-0,02703	0,00000	0,02632
194	0,0250	0,0000	0,00000	0,00000	-0,00000
198	0,0250	0,0000	0,00000	0,00000	-0,00000
208	0,0250	0,0000	0,00000	0,00000	-0,00000
218	0,0500	0,0000	1,00000	1,00000	-0,00000
222	0,0250	0,0000	0,00000	0,00000	-0,00000
224	0,0250	0,0000	0,00000	0,00000	-0,00000
226	0,0250	0,0000	0,00000	0,00000	-0,00000
228	0,0000	0,0250	0,00000	0,00000	-0,00000
230	0,0500	0,0000	-0,02703	0,00000	0,02632
232	0,0000	0,0250	0,00000	0,00000	-0,00000
234	0,0000	0,0500	-0,02703	0,00000	0,02632
236	0,0000	0,0750	-0,05556	0,00000	0,05263
238	0,0250	0,0000	0,00000	0,00000	-0,00000
240	0,0500	0,0000	-0,02703	0,00000	0,02632
244	0,0000	0,1250	-0,11765	0,00000	0,10526
246	0,0250	0,0000	0,00000	0,00000	-0,00000
254	0,0750	0,0500	-0,04396	-0,06383	-0,01904
256	0,0500	0,0000	-0,02703	0,00000	0,02632
258	0,0500	0,1000	0,29630	0,28571	-0,01504
260	0,0250	0,0000	0,00000	0,00000	-0,00000
262	0,0750	0,0500	0,38043	0,36170	-0,03024

Çizelge 4. 3. (devamı)

264	0,0500	0,0250	-0,01786	-0,03448	-0,01633
266	0,0250	0,0250	0,00000	-0,02564	-0,02564
268	0,0500	0,0000	1,00000	1,00000	-0,00000
270	0,0000	0,0500	-0,02703	0,00000	0,02632
272	0,0750	0,0000	0,65455	0,66667	0,03509
274	0,0250	0,0000	0,00000	0,00000	-0,00000
276	0,0250	0,0750	0,48649	0,48052	-0,01162
278	0,0000	0,0250	0,00000	0,00000	-0,00000
280	0,0000	0,0500	-0,02703	0,00000	0,02632
282	0,1000	0,0000	-0,08571	0,00000	0,07895
284	0,0000	0,0500	-0,02703	0,00000	0,02632
288	0,0000	0,0500	-0,02703	0,00000	0,02632
290	0,0000	0,0250	0,00000	0,00000	-0,00000
296	0,0000	0,0250	0,00000	0,00000	-0,00000
Ortalama			0,12288	0,13596	0,01491

*Koyu (bold) olarak yazılan frekansların ait olduğu alleller özgün allellerdir.

OMM1070 lokusu için allel uzunlukları, gruplardaki allel frekansları, F_{IS} , F_{IT} ve F_{ST} değerleri Çizelge 4.4’de verilmiştir. Gruplar için allel frekansları 0,0000-0,2500 arasında değişmektedir. Bu lokusta özgün allel görülmemiştir. Ortalama F_{IS} =0,27286, F_{IT} =0,31078 ve F_{ST} =0,05216 olarak bulunmuştur.

Çizelge 4. 4. OMM1070 lokusuna ait allel uzunlukları, gruplardaki allel frekansları, F_{IS} , F_{IT} ve F_{ST} değerleri

Allel (bp)	Allel Frekansları		F_{IS}	F_{IT}	F_{ST}
	Grup1	Grup2			
184	0,0250	0,0000	0,00000	0,00000	-0,00000
186	0,0250	0,0000	0,00000	0,00000	-0,00000
188	0,1750	0,0000	0,83478	0,85714	0,13534
192	0,1500	0,0000	0,62376	0,66667	0,11404
200	0,0000	0,0500	-0,02703	0,00000	0,02632
206	0,0250	0,0000	0,00000	0,00000	-0,00000
208	0,0000	0,0500	-0,02703	0,00000	0,02632
212	0,0000	0,0500	-0,02703	0,00000	0,02632
214	0,0000	0,0250	0,00000	0,00000	-0,00000
216	0,0000	0,0500	-0,02703	0,00000	0,02632
218	0,0500	0,0000	-0,02703	0,00000	0,02632
220	0,0000	0,0750	-0,05556	0,00000	0,05263
224	0,0000	0,0750	-0,05556	0,00000	0,05263
228	0,0000	0,0500	-0,02703	0,00000	0,02632
230	0,2500	0,0250	0,66071	0,71429	0,15789
232	0,0250	0,1000	-0,06742	-0,04167	0,02412
234	0,1000	0,1000	0,19149	0,16667	-0,03070
236	0,0000	0,0500	1,00000	1,00000	-0,00000
238	0,0000	0,0250	0,00000	0,00000	-0,00000
240	0,0000	0,0250	0,00000	0,00000	-0,00000
242	0,0500	0,0000	-0,02703	0,00000	0,02632
244	0,0250	0,0500	0,66667	0,65517	-0,03448
246	0,0000	0,0500	-0,02703	0,00000	0,02632
248	0,0500	0,0000	-0,02703	0,00000	0,02632
256	0,0000	0,0250	0,00000	0,00000	-0,00000
258	0,0250	0,0000	0,00000	0,00000	-0,00000
286	0,0000	0,1000	0,46479	0,50000	0,06579
294	0,0250	0,0250	0,00000	-0,02564	-0,02564
Ortalama			0,27286	0,31078	0,05216

OMM1130 lokusu için allel uzunlukları, gruplardaki allel frekansları, F_{IS} , F_{IT} ve F_{ST} değerleri Çizelge 4.5’de verilmiştir. Gruplar için allel frekansları 0,0000-0,2000 arasında değişmektedir. Bu lokusta özgün allel görülmemiştir. Ortalama $F_{IS}=0,06098$, $F_{IT}=0,04403$ ve $F_{ST}=0,09897$ olarak bulunmuştur.

Çizelge 4. 5. OMM1130 lokusuna ait allel uzunlukları, gruplardaki allel frekansları, F_{IS} , F_{IT} ve F_{ST} değerleri

Allel (bp)	Allel Frekansları		F_{IS}	F_{IT}	F_{ST}
	Grup1	Grup2			
226	0,0000	0,2000	-0,22581	0,00000	0,18421
230	0,1250	0,0000	-0,11765	0,00000	0,10526
232	0,0000	0,1750	0,50000	0,57143	0,14286
236	0,0000	0,0250	0,00000	0,00000	-0,00000
238	0,0000	0,0750	-0,05556	0,00000	0,05263
244	0,2000	0,0000	-0,22581	0,00000	0,18421
248	0,0500	0,0000	-0,02703	0,00000	0,02632
258	0,0250	0,0750	-0,04110	-0,03896	0,00205
260	0,0250	0,0000	0,00000	0,00000	-0,00000
264	0,0000	0,1750	-0,18750	0,00000	0,15789
266	0,1750	0,0250	-0,16031	-0,04575	0,09873
270	0,0000	0,0750	-0,05556	0,00000	0,05263
272	0,0250	0,0000	0,00000	0,00000	-0,00000
274	0,0000	0,0250	0,00000	0,00000	-0,00000
276	0,0000	0,0750	-0,05556	0,00000	0,05263
280	0,0500	0,0000	-0,02703	0,00000	0,02632
282	0,1500	0,0000	-0,15152	0,00000	0,13158
284	0,0500	0,0000	-0,02703	0,00000	0,02632
286	0,0250	0,0000	0,00000	0,00000	-0,00000
294	0,0000	0,0250	0,00000	0,00000	-0,00000
296	0,0000	0,0500	-0,02703	0,00000	0,02632
300	0,0250	0,0000	0,00000	0,00000	-0,00000
304	0,0500	0,0000	-0,02703	0,00000	0,02632
312	0,0250	0,0000	0,00000	0,00000	-0,00000
Ortalama			-0,06098	0,04403	0,09897

OMM1308 lokusu için allel uzunlukları, gruplardaki allel frekansları, F_{IS} , F_{IT} ve F_{ST} değerleri Çizelge 4.6'da verilmiştir. Gruplar için allel frekansları 0,0000-0,3250 arasında değişmektedir. Koyu olarak yazılan frekansların ait olduğu alleller özgün allellerdir. Bu lokusta toplam 9 adet özgün allel görülmüştür. Bunlar; 292, 302, 306, 310, 316, 320, 326, 342 ve 346 bp'lik uzunlukta olup diğer lokuslarda gözlenmemiştir. Ortalama $F_{IS}=0,11765$, $F_{IT}=0,01652$ ve $F_{ST}=0,09048$ olarak bulunmuştur.

Çizelge 4. 6. OMM1308 lokusuna ait allel uzunlukları, gruplardaki allel frekansları, F_{IS} , F_{IT} ve F_{ST} değerleri

Allel (bp)	Allel Frekansları		F_{IS}	F_{IT}	F_{ST}
	Grup1	Grup2			
214	0,0000	0,0500	-0,02703	0,00000	0,02632
218	0,0000	0,0250	0,00000	0,00000	-0,00000
220	0,1250	0,0500	-0,09016	-0,07692	0,01215
222	0,1750	0,0000	-0,18750	0,00000	0,15789
224	0,0000	0,1000	-0,08571	0,00000	0,07895
252	0,0000	0,0750	-0,05556	0,00000	0,05263
258	0,0000	0,0500	-0,02703	0,00000	0,02632
260	0,0000	0,0500	-0,02703	0,00000	0,02632
262	0,3250	0,0250	-0,41489	-0,04869	0,25882
264	0,0000	0,1750	-0,18750	0,00000	0,15789
266	0,0000	0,0250	0,00000	0,00000	-0,00000
270	0,0750	0,0250	-0,04110	-0,03896	0,00205
276	0,0000	0,0500	-0,02703	0,00000	0,02632
282	0,0000	0,0250	0,00000	0,00000	-0,00000
286	0,0000	0,0250	0,00000	0,00000	-0,00000
292	0,0500	0,0000	-0,02703	0,00000	0,02632
294	0,0000	0,0500	-0,02703	0,00000	0,02632
296	0,0250	0,0000	0,00000	0,00000	-0,00000
300	0,0250	0,0000	0,00000	0,00000	-0,00000
302	0,0000	0,0750	-0,05556	0,00000	0,05263
306	0,0000	0,0250	0,00000	0,00000	-0,00000
310	0,0000	0,0250	0,00000	0,00000	-0,00000
316	0,0750	0,0000	-0,05556	0,00000	0,05263
320	0,0000	0,0500	-0,02703	0,00000	0,02632
326	0,0000	0,0250	0,00000	0,00000	-0,00000
342	0,0500	0,0000	-0,02703	0,00000	0,02632
346	0,0750	0,0000	-0,05556	0,00000	0,05263
Ortalama			-0,11765	-0,01652	0,09048

*Koyu (bold) olarak yazılan frekansların ait olduğu alleller özgün allellerdir.

OMM1302 lokusu için allel uzunlukları, gruplardaki allel frekansları, F_{IS} , F_{IT} ve F_{ST} değerleri Çizelge 4.7’de verilmiştir. Gruplar için allel frekansları 0,0000-0,3500 arasında değişmektedir. Koyu olarak yazılan frekansların ait olduğu allel özgün alleldir. Bu lokusta 1 adet özgün allel görülmüştür. Bu allel; 204 bp’lik uzunlukta olup diğer lokuslarda gözlenmemiştir. Ortalama $F_{IS}=0,31605$, $F_{IT}=0,35484$ ve $F_{ST}=0,05671$ olarak bulunmuştur.

Çizelge 4. 7. OMM1302 lokusuna ait allel uzunlukları, gruplardaki allel frekansları, F_{IS} , F_{IT} ve F_{ST} değerleri

Allel (bp)	Allel Frekansları		F_{IS}	F_{IT}	F_{ST}
	Grup1	Grup2			
192	0,0250	0,0750	-0,04110	-0,03896	0,00205
196	0,0250	0,0250	0,00000	-0,02564	-0,02564
198	0,0250	0,0750	0,48649	0,48052	-0,01162
200	0,0250	0,0000	0,00000	0,00000	-0,00000
204	0,0250	0,0000	0,00000	0,00000	-0,00000
208	0,0250	0,0000	0,00000	0,00000	-0,00000
210	0,0250	0,0000	0,00000	0,00000	-0,00000
214	0,0250	0,0250	0,00000	-0,02564	-0,02564
216	0,0750	0,0000	-0,05556	0,00000	0,05263
218	0,1500	0,0250	0,52500	0,55224	0,05734
220	0,1000	0,0000	0,46479	0,50000	0,06579
222	0,0500	0,0750	0,79570	0,78723	-0,04143
224	0,1250	0,0500	0,54032	0,53846	-0,00405
226	0,0250	0,0250	0,00000	-0,02564	-0,02564
230	0,0250	0,0500	-0,01786	-0,03448	-0,01633
232	0,0500	0,0000	1,00000	1,00000	-0,00000
236	0,0000	0,0500	-0,02703	0,00000	0,02632
240	0,0250	0,0750	-0,04110	-0,03896	0,00205
244	0,0250	0,0000	0,00000	0,00000	-0,00000
246	0,0000	0,0500	-0,02703	0,00000	0,02632
252	0,0250	0,0000	0,00000	0,00000	-0,00000
254	0,0500	0,0000	-0,02703	0,00000	0,02632
260	0,0250	0,3500	0,52261	0,65035	0,26757
262	0,0000	0,0500	1,00000	1,00000	-0,00000
266	0,0500	0,0000	-0,02703	0,00000	0,02632
Ortalama			0,31605	0,35484	0,05671

*Koyu (bold) olarak yazılan frekansların ait olduğu alleller özgün allellerdir.

OMM1309 lokusu için allel uzunlukları, gruplardaki allel frekansları, F_{IS} , F_{IT} ve F_{ST} değerleri Çizelge 4.8’de verilmiştir. Gruplar için allel frekansları 0,0000-0,4750 arasında değişmektedir. Bu lokusta özgün allel görülmemiştir. Ortalama $F_{IS}=0,22581$, $F_{IT}=0,09015$ ve $F_{ST}=0,11067$ olarak bulunmuştur.

Çizelge 4. 8. OMM1309 lokusuna ait allel uzunlukları, gruplardaki allel frekansları, F_{IS} , F_{IT} ve F_{ST} değerleri

Allel (bp)	Allel Frekansları		F_{IS}	F_{IT}	F_{ST}
	Grup1	Grup2			
160	0,0250	0,0000	0,00000	0,00000	-0,00000
164	0,0250	0,0000	0,00000	0,00000	-0,00000
166	0,0500	0,0000	-0,02703	0,00000	0,02632
168	0,1500	0,0000	-0,15152	0,00000	0,13158
172	0,0250	0,0000	0,00000	0,00000	-0,00000
174	0,0500	0,0000	-0,02703	0,00000	0,02632
176	0,2000	0,0750	-0,17416	-0,12245	0,04404
178	0,0250	0,0000	0,00000	0,00000	-0,00000
182	0,1250	0,4750	-0,65818	-0,24675	0,24812
184	0,0000	0,0250	0,00000	0,00000	-0,00000
186	0,0500	0,0000	-0,02703	0,00000	0,02632
188	0,0750	0,0000	0,65455	0,66667	0,03509
190	0,1250	0,2500	-0,23913	-0,20000	0,03158
192	0,0000	0,1750	-0,18750	0,00000	0,15789
194	0,0750	0,0000	-0,05556	0,00000	0,05263
Ortalama			-0,22581	-0,09015	0,11067

*Kalın (bold) olarak yazılan frekansların ait olduğu alleller özgün allellerdir.

OMM1310 lokusu için allel uzunlukları, gruplardaki allel frekansları, F_{IS} , F_{IT} ve F_{ST} değerleri Çizelge 4.9’da verilmiştir. Gruplar için allel frekansları 0,0000-0,2000 arasında değişmektedir. Bu lokusta özgün allel görülmemiştir. Ortalama $F_{IS}=0,06098$, $F_{IT}=0,04403$ ve $F_{ST}=0,09897$ olarak bulunmuştur.

Çizelge 4. 9. OMM1310 lokusuna ait allel uzunlukları, gruplardaki allel frekansları, F_{IS} , F_{IT} ve F_{ST} değerleri

Allel (bp)	Allel Frekansları		F_{IS}	F_{IT}	F_{ST}
	Grup1	Grup2			
226	0,0000	0,2000	-0,22581	0,00000	0,18421
230	0,1250	0,0000	-0,11765	0,00000	0,10526
232	0,0000	0,1750	0,50000	0,57143	0,14286
236	0,0000	0,0250	0,00000	0,00000	-0,00000
238	0,0000	0,0750	-0,05556	0,00000	0,05263
244	0,2000	0,0000	-0,22581	0,00000	0,18421
248	0,0500	0,0000	-0,02703	0,00000	0,02632
258	0,0250	0,0750	-0,04110	-0,03896	0,00205
260	0,0250	0,0000	0,00000	0,00000	-0,00000
264	0,0000	0,1750	-0,18750	0,00000	0,15789
266	0,1750	0,0250	-0,16031	-0,04575	0,09873
270	0,0000	0,0750	-0,05556	0,00000	0,05263
272	0,0250	0,0000	0,00000	0,00000	-0,00000
274	0,0000	0,0250	0,00000	0,00000	-0,00000
276	0,0000	0,0750	-0,05556	0,00000	0,05263
280	0,0500	0,0000	-0,02703	0,00000	0,02632
282	0,1500	0,0000	-0,15152	0,00000	0,13158
284	0,0500	0,0000	-0,02703	0,00000	0,02632
286	0,0250	0,0000	0,00000	0,00000	-0,00000
294	0,0000	0,0250	0,00000	0,00000	-0,00000
296	0,0000	0,0500	-0,02703	0,00000	0,02632
300	0,0250	0,0000	0,00000	0,00000	-0,00000
304	0,0500	0,0000	-0,02703	0,00000	0,02632
312	0,0250	0,0000	0,00000	0,00000	-0,00000
Ortalama			-0,06098	0,04403	0,09897

*Kalm (bold) olarak yazılan frekansların ait olduğu alleller özgün allellerdir.

OMM1316 lokusu için allel uzunlukları, gruplardaki allel frekansları, F_{IS} , F_{IT} ve F_{ST} değerleri Çizelge 4.10'da verilmiştir. Gruplar için allel frekansları 0,0000-0,3500 arasında değişmektedir. Koyu olarak yazılan frekansların ait olduğu allel özgün alleldir. Bu lokusta 1 adet özgün allel görülmüştür. Bu allel; 235 bp'lik uzunlukta olup diğer lokuslarda gözlenmemiştir. Ortalama $F_{IS}=0,61393$, $F_{IT}=0,62292$ ve $F_{ST}=0,05271$ olarak bulunmuştur.

Çizelge 4. 10. OMM1316 lokusuna ait allel uzunlukları, gruplardaki allel frekansları, F_{IS} , F_{IT} ve F_{ST} değerleri

Allel (bp)	Allel Frekansları		F_{IS}	F_{IT}	F_{ST}
	Grup1	Grup2			
232	0,1750	0,2750	0,86131	0,85866	-0,01916
234	0,0000	0,0500	-0,02703	0,00000	0,02632
235	0,0250	0,0000	0,00000	0,00000	-0,00000
236	0,1000	0,2500	0,65455	0,66667	0,03509
240	0,0500	0,0000	-0,02703	0,00000	0,02632
242	0,0000	0,1000	1,00000	1,00000	0,05263
244	0,0000	0,0250	0,00000	0,00000	-0,00000
252	0,3000	0,1000	0,68067	0,70588	0,07895
254	0,3500	0,1000	0,39200	0,47368	0,13435
272	0,0000	0,0500	1,00000	1,00000	-0,00000
276	0,0000	0,0500	-0,02703	0,00000	0,02632
Ortalama			0,61393	0,62292	0,05271

*Koyu (bold) olarak yazılan frekansların ait olduğu alleller özgün allellerdir.

OMM1312 lokusu için allel uzunlukları, gruplardaki allel frekansları, F_{IS} , F_{IT} ve F_{ST} değerleri Çizelge 4.11’de verilmiştir. Gruplar için allel frekansları 0,0000-0,2500 arasında değişmektedir. Koyu olarak yazılan frekansların ait olduğu alleller özgün allellerdir. Bu lokusta toplam 3 adet özgün allel görülmüştür. Bunlar; 130, 140 ve 142 bp’lik uzunlukta olup diğer lokuslarda gözlenmemiştir. Ortalama $F_{IS}=0,22680$, $F_{IT}=0,22511$ ve $F_{ST}=0,00137$ olarak bulunmuştur.

Çizelge 4. 11. OMM1312 lokusuna ait allel uzunlukları, gruplardaki allel frekansları, F_{IS} , F_{IT} ve F_{ST} değerleri

Allel (bp)	Allel Frekansları		F_{IS}	F_{IT}	F_{ST}
	Grup1	Grup2			
124	0,1250	0,2500	-0,23913	-0,20000	0,03158
130	0,0500	0,0000	-0,02703	0,00000	0,02632
134	0,1750	0,2500	-0,25681	-0,25926	-0,00195
136	0,2250	0,2000	-0,24710	-0,26866	-0,01728
140	0,0500	0,0000	-0,02703	0,00000	0,02632
142	0,0750	0,0000	-0,05556	0,00000	0,05263
146	0,2500	0,2500	-0,31034	-0,33333	-0,01754
150	0,0250	0,0000	0,00000	0,00000	-0,00000
156	0,0250	0,0500	-0,01786	-0,03448	-0,01633
Ortalama			-0,22680	-0,22511	0,00137

*Koyu (bold) olarak yazılan frekansların ait olduğu alleller özgün allellerdir.

OMM1375 lokusu için allel uzunlukları, gruplardaki allel frekansları, F_{IS} , F_{IT} ve F_{ST} değerleri Çizelge 4.12’de verilmiştir. Gruplar için allel frekansları 0,0000-0,1500 arasında değişmektedir. Bu lokusta özgün allel görülmemiştir. Ortalama $F_{IS}=0,05405$, $F_{IT}=0,03723$ ve $F_{ST}=0,01596$ olarak bulunmuştur.

Çizelge 4. 12. OMM1375 lokusuna ait allel uzunlukları, gruplardaki allel frekansları, F_{IS} , F_{IT} ve F_{ST} değerleri

Allel (bp)	Allel Frekansları		F_{IS}	F_{IT}	F_{ST}
	Grup1	Grup2			
180	0,0500	0,0250	-0,01786	-0,03448	-0,01633
182	0,0000	0,0250	0,00000	0,00000	-0,00000
188	0,1250	0,0000	-0,11765	0,00000	0,10526
190	0,0750	0,0500	-0,04396	-0,06383	-0,01904
194	0,0250	0,0000	0,00000	0,00000	-0,00000
196	0,1000	0,1250	-0,10323	-0,12500	-0,01974
200	0,0500	0,2000	-0,18012	-0,08696	0,07895
206	0,0500	0,0250	-0,01786	-0,03448	-0,01633
210	0,0250	0,0250	0,00000	-0,02564	-0,02564
212	0,0000	0,0250	0,00000	0,00000	-0,00000
214	0,1250	0,0250	-0,09615	-0,04348	0,04805
220	0,0750	0,0500	-0,04396	-0,06383	-0,01904
228	0,0750	0,0000	0,65455	0,66667	0,03509
230	0,1000	0,1250	-0,10323	-0,12500	-0,01974
236	0,0750	0,1500	-0,11765	-0,11111	0,00585
240	0,0000	0,0750	-0,05556	0,00000	0,05263
248	0,0000	0,0750	0,00000	0,00000	-0,00000
252	0,0250	0,0000	0,00000	0,00000	-0,00000
254	0,0000	0,0250	0,00000	0,00000	-0,00000
276	0,0250	0,0000	0,00000	0,00000	-0,00000
286	0,0000	0,0250	0,00000	0,00000	-0,00000
Ortalama			-0,05405	-0,03723	0,01596

OMM1338 lokusu için allel uzunlukları, gruplardaki allel frekansları, F_{IS} , F_{IT} ve F_{ST} değerleri Çizelge 4.13’de verilmiştir. Gruplar için allel frekansları 0,0000-0,2500 arasında değişmektedir. Bu lokusta özgün allel görülmemiştir. Ortalama $F_{IS}=0,16767$, $F_{IT}=0,18020$ ve $F_{ST}=0,01506$ olarak bulunmuştur.

Çizelge 4. 13. OMM1338 lokusuna ait allel uzunlukları, gruplardaki allel frekansları, F_{IS} , F_{IT} ve F_{ST} değerleri

Allel (bp)	Allel Frekansları		F_{IS}	F_{IT}	F_{ST}
	Grup1	Grup2			
156	0,0000	0,0250	0,00000	0,00000	-0,00000
160	0,0250	0,1000	-0,06742	-0,04167	0,02412
162	0,1250	0,0500	0,22764	0,23077	0,00405
164	0,1000	0,0250	-0,06742	-0,04167	0,02412
166	0,2000	0,3250	0,55667	0,55696	0,00067
168	0,0000	0,1250	-0,11765	0,00000	0,10526
170	0,1000	0,0500	-0,06542	-0,07143	-0,00564
172	0,0000	0,0750	-0,05556	0,00000	0,05263
174	0,0500	0,0000	-0,02703	0,00000	0,02632
176	0,2500	0,1250	0,26609	0,28000	0,01895
178	0,0500	0,0500	-0,02703	-0,05263	-0,02493
180	0,0250	0,0000	0,00000	0,00000	-0,00000
182	0,0250	0,0250	0,00000	-0,02564	-0,02564
184	0,0000	0,0250	0,00000	0,00000	-0,00000
186	0,0250	0,0000	0,00000	0,00000	-0,00000
190	0,0250	0,0000	0,00000	0,00000	-0,00000
Ortalama			0,16767	0,18020	0,01506

FGT1 lokusu için allel uzunlukları, gruplardaki allel frekansları, F_{IS} , F_{IT} ve F_{ST} değerleri Çizelge 4.14’de verilmiştir. Gruplar için allel frekansları 0,0000-0,2750 arasında değişmektedir. Koyu olarak yazılan frekansların ait olduğu allel özgün alleldir. Bu lokusta 1 adet özgün allel görülmüş olup 158 bp’lik uzunluktadır ve diğer lokuslarda gözlenmemiştir. Ortalama $F_{IS}=0,21525$, $F_{IT}=0,32990$ ve $F_{ST}=0,14609$ olarak bulunmuştur.

Çizelge 4. 14. FGT1 lokusuna ait allel uzunlukları, gruplardaki allel frekansları, F_{IS} , F_{IT} ve F_{ST} değerleri

Allel (bp)	Allel Frekansları		F_{IS}	F_{IT}	F_{ST}
	Grup1	Grup2			
150	0,0500	0,0000	-0,02703	0,00000	0,02632
158	0,0000	0,1500	-0,15152	0,00000	0,13158
160	0,1250	0,0000	0,78161	0,80000	0,08421
162	0,1500	0,1000	-0,12426	-0,13636	-0,01077
168	0,1250	0,0000	0,78161	0,80000	0,08421
170	0,0000	0,4000	0,60000	0,75000	0,37500
172	0,0000	0,1500	-0,15152	0,00000	0,13158
174	0,2750	0,0000	0,63924	0,72727	0,24402
178	0,1500	0,1000	-0,12426	-0,13636	-0,01077
180	0,2500	0,0000	0,00000	0,00000	-0,00000
182	0,0000	0,1000	-0,08571	0,00000	0,07895
186	0,0500	0,0000	-0,02703	0,00000	0,02632
190	0,2500	0,0000	0,00000	0,00000	-0,00000
210	0,2500	0,0000	0,00000	0,00000	-0,00000
Ortalama			0,21525	0,32990	0,14609

*Koyu (bold) olarak yazılan frekansların ait olduğu alleller özgün allellerdir.

Strutta12 lokusu için allel uzunlukları, gruplardaki allel frekansları, F_{IS} , F_{IT} ve F_{ST} değerleri Çizelge 4.15’de verilmiştir. Gruplar için allel frekansları 0,0000-0,3000 arasında değişmektedir. Bu lokusta özgün allel görülmemiştir. Ortalama $F_{IS}=0,18167$, $F_{IT}=0,15854$ ve $F_{ST}=0,01958$ olarak bulunmuştur.

Çizelge 4. 15. Strutta12 lokusuna ait allel uzunlukları, gruplardaki allel frekansları, F_{IS} , F_{IT} ve F_{ST} değerleri

Allel (bp)	Allel Frekansları		F_{IS}	F_{IT}	F_{ST}
	Grup1	Grup2			
162	0,2500	0,1500	-0,24590	-0,23077	0,01215
172	0,1500	0,3000	-0,31034	-0,25000	0,04605
180	0,0000	0,0500	-0,02703	0,00000	0,02632
182	0,0500	0,0000	-0,02703	0,00000	0,02632
186	0,1500	0,1500	-0,15152	-0,17647	-0,02167
194	0,2500	0,3000	-0,36156	-0,37500	-0,00987
198	0,0000	0,0500	-0,02703	0,00000	0,02632
216	0,1500	0,0000	0,62376	0,66667	0,11404
Ortalama			-0,18167	-0,15854	0,01958

Gruplar arası hesaplanan F_{ST} değeri 0,05611, F_{IT} değeri 0,012836 ve F_{IS} değeri 0,07655 olup istatistiksel olarak önemsiz bulunmuşlardır (Çizelge 4.16).

Çizelge 4. 16. Gruplar arası hesaplanan F_{ST} , F_{IT} ve F_{IS} değerleri

	F_{ST}	F_{IT}	F_{IS}
Grup1 □ Grup2	0,05611 ^{ns}	0,012836 ^{ns}	0,07655 ^{ns}

*p<0,05 **p<0,01 ns (istatistiksel olarak önemsiz)

Populasyonlar arası genetik mesafeyi veren diğer bir analiz ise “Nei standart genetik uzaklık” (D_A) metodudur. Bu metoda göre hesaplanan matris Çizelge 4.17’de verilmiştir. Nei’ye göre hesaplanan gruplar arası genetik mesafeler (D_A) 0,076 olup istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur.

Çizelge 4. 17. Nei'ye göre hesaplanan gruplar arası genetik mesafeler (D_A)

Grup 2	
Grup 1	0,076 ^{ns}

*p<0,05 **p<0,01 ns (istatistiksel olarak önemsiz)

Beklenen heterozigotluk (H_e) değerlerinin her bir mikrosatelit lokus için gruplara göre dağılımı Çizelge 4.18, gözlenen heterozigotluk (H_o) değerlerinin her bir mikrosatelit lokus için gruplara göre dağılımı Çizelge 4.19, Tüm gruplarda her bir mikrosatelit lokus için ortalama H_e ve H_o değerleri ve allel sayıları Çizelge 4.20, Tüm mikrosatelit lokuslarda gruplar için H_e ve H_o değerleri ise Çizelge 4.21'de verilmiştir.

Çizelge 4. 18. Beklenen heterozigotluk (H_e) değerlerinin her bir mikrosatelit lokus için gruplara göre dağılımı

Lokuslar	Grup 1	Grup 2	Ort./lok.
OMM1041	0,9475	0,9362	0,94185
OMM1070	0,8625	0,9350	0,9875
OMM1130	0,9162	0,8600	0,8881
OMM1308	0,8250	0,9250	0,875
OMM1302	0,9275	0,8400	0,88375
OMM1309	0,8850	0,6750	0,78
OMM1310	0,8775	0,8713	0,8744
OMM1316	0,7438	0,8237	0,78375
OMM1312	0,8288	0,7700	0,7994
OMM1375	0,9162	0,8900	0,9031
OMM1338	0,8538	0,8375	0,84565
FGT1	0,8412	0,7650	0,8031
Strutta-12	0,8050	0,7700	0,7875

Çizelge 4. 19. Gözlenen heterozigotluk (H_o) değerlerinin her mikrosatelit lokus için gruplara göre dağılımı

Lokuslar	Grup 1	Grup 2	Ort./lok.
OMM1041	0,7500	0,9500	0,850
OMM1070	0,5000	0,8500	0,675
OMM1130	0,8500	0,7500	0,800
OMM1308	1,0000	1,0000	1,000
OMM1302	0,6500	0,6000	0,625
OMM1309	0,9500	1,0000	0,975
OMM1310	1,0000	0,9000	0,950
OMM1316	0,8237	0,3500	0,586
OMM1312	1,0000	1,0000	1,000
OMM1375	0,9500	1,0000	0,975
OMM1338	0,7000	0,7500	0,725
FGT1	0,6000	0,7000	0,650
Strutta-12	0,9000	1,0000	0,950

Çizelge 4. 20. Tüm gruplarda her bir mikrosatelit lokus için ortalama H_e ve H_o değerleri ve allel sayıları

Lokuslar	H_e	H_o	Gözlenen Ort. Allel Sayısı
OMM1041	0,9419	0,9628	22
OMM1070	0,8988	0,9391	16,5
OMM1130	0,8881	0,9191	15,5
OMM1308	0,8750	0,9294	15
OMM1302	0,8838	0,9262	18
OMM1309	0,7800	0,8372	9
OMM1310	0,8744	0,9341	13
OMM1316	0,7837	0,8228	7,5
OMM1312	0,7994	0,8078	7
OMM1375	0,9031	0,9216	15,5
OMM1338	0,8456	0,8650	12
FGT1	0,8031	0,8866	8
Strutta-12	0,7875	0,8037	6

Çizelge 4. 21. Tüm mikrosatelit lokuslarda gruplar için *He* ve *Ho* değerleri

	Grup 1	Grup 2
<i>He</i>	0,8638 ^{ns}	0,8384 ^{ns}
<i>Ho</i>	0,7808 ^{ns}	0,8346 ^{ns}
İstatistiksel Önem	ns	ns

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Gelişen gen teknolojisine paralel olarak modern teknikler kullanılarak, moleküler düzeyde yapılan her çalışma dünyada kültürü en fazla yapılan ve yüksek derecede ekonomik öneme sahip canlıların genetik yapısının aydınlatılması bakımından oldukça büyük önem arz etmektedir. Şüphesiz söz konusu gruplar için moleküler düzeydeki her bilgi, ileride yapılabilecek ıslah, akrabalı yetiştirme, seleksiyon, doğal ortamların balıklandırılması, doğal grupların kültüre alınması v.b. çalışmalarda oldukça değerli olacağı düşünülmektedir. Son yıllarda moleküler tekniklerin alabalık yetiştiriciliğinde sıkça kullanımına literatürlerde rastlanmaktadır. Bu çalışmalar özellikle hastalığa dayanıklı bireylerin seçimi için yapılmıştır. Gökkuşığı alabalığında Ozaki *et al.* (2001) IPN (viral hastalık) hastalığına dayanıklı bireylerin eldesi; Khoo *et al.* (2004) IHN (viral hastalık) hastalığına dayanıklı bireylerin eldesi; Nichols *et al.* (2003) Myxosporea (parazitik hastalık) hastalığına dayanıklı bireylerin eldesi; Jackson *et al.* (1998), Danzmann *et al.* (1999) ve Perry *et al.* (2001) sıcaklığa dayanıklı bireylerin eldesi; Sakamoto *et al.* (1999) ve Fishback *et al.* (2000) yumurtlama zamanı; Robinson *et al.* (2001) embriyoların erken gelişiminin sağlanması; Zimmerman *et al.* (2005) pilorik seka sayısının artırılması ve Nakamura *et al.* (2001) dominant albino balıkların eldesi için mikrosatelit markırları ve QTL'leri verimle ilişkilendirerek çalışmışlardır. Ancak çalışmamızın konusu olan hızlı büyüyen balıkların belirlenmesine yönelik mikrosatelitlerin kullanımıyla ilgili herhangi bir çalışmaya literatürlerde rastlanmadığından çalışmanın önemli olduğu düşünülmektedir.

Çalışmada, Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Su Ürünleri Bölümü Alabalık Üretim ve Araştırma Merkezi'nde üretimi yapılan farklı canlı ağırlığa sahip gökkuşığı alabalıklarında iki farklı grup oluşturularak, bu gruplar arasındaki genetik varyasyon ortaya konulmaya çalışılmıştır. Bu amaçla, genetik varyasyon analizlerinde son yıllarda oldukça sık olarak kullanılan mikrosatelit markırlar kullanılmıştır. Çalışmadan elde edilen veriler ve istatistiki değerlendirilmeler şunlardır;

Grup1 ve Grup2'ye ait bireylerin çatal boy ve toplam vücut ağırlıklarının görüldüğü Çizelge 4.1'de yüksek canlı ağırlığa sahip Grup1'e ait bireylerin çatal boy değerlerinin 24,5 cm'den 32 cm'e, Grup2'ye ait bireylerin çatal boy değerlerinin ise 7 cm'den 15 cm'ye kadar varyasyon gösterdiği görülmektedir. Grup1 için ortalama boy değeri 26,25 cm, Grup2 için ortalama boy değeri 12,43 cm olarak hesaplanmıştır. Yine Grup1'e ait bireylerin toplam vücut ağırlık değerlerinin 163 gr'dan 400 gr'a, Grup2'ye ait bireylerin toplam vücut ağırlık değerlerinin ise 2,9 gr'dan 35 gr'a kadar varyasyon gösterdiği görülmektedir. Grup1 için ortalama ağırlık değeri 210,60 gr, Grup2 için ortalama ağırlık değeri 22,28 gr olarak hesaplanmıştır. Çatal boy ve toplam vücut ağırlığındaki bu geniş varyasyon değerlerinin istatistiki analizlerinde gruplar arasındaki boy farklılıkları ve toplam vücut ağırlıkları değerleri istatistiksel açıdan $p < 0.01$ seviyesinde çok önemli bulunmuştur (Şekil 4.1 ve Şekil 4.2). Bu boy ve ağırlık değerleri ile ilişkili olarak bakılması gereken diğer bir değerde kondüsyon faktörüdür. Kondüsyon (tıknazlık) faktörü balıklarda ağırlık ve boy arasındaki ilişkiyi belirten bir bağıntıdır. Kondüsyon faktörü su sıcaklığına, beslenme yoğunluğuna, mevsimlere, yıllara, yaşlara, cinsiyete, avlanma yeri ve zamanına göre değişiklik gösterir (Çetinkaya vd 2005). Balıklarda beslenme ve gelişme kriterlerinin en önemlilerinden biridir. Kondüsyon faktörü değerinin 1'in üzerinde olması gerektiği ve 1'in ne kadar üzerinde ise beslenmenin o denli başarılı olduğu literatürlerde belirtilmiştir (Çelikkale 1982; Stevenson 1984; Edwards 1987; Bekiroğlu vd 1995). Grup1 için ortalama KF değeri 1,143, Grup2 için ortalama KF değeri 1,074 olarak hesaplanmıştır. Gruplar arasındaki kondüsyon faktörü farklılığı değerleri istatistiksel açıdan $p > 0.05$ seviyesinde önemsiz bulunmuştur. Bu sonuçlar gruplara ait bireyler arasında bulunan boy ve ağırlık varyasyonunun genetiksel olarakda olma ihtimalini düşündürmektedir.

DNA izolasyonlarında tüp içerisinde beyaz renkli bir yumağın oluşması (Şekil 4.4), agaroz jel elektroferizindeki tek ve ışıklı bant desenleri (Şekil 4.5) ve spektrofotometrik ölçümlerde OD_{260}/OD_{280} oranının 1,5-1,8 arasında olması (Çizelge 4.2) izolasyonların başarılı olduğunu göstermektedir. İzole edilen DNA'lar üzerinde mikrosatelit bölgelerin PCR ile amplifikasyonu sonrası agaroz jel elektroforezinde tek bant elde edilmesi istenilen bölgelerin amplifiye edildiğini göstermektedir (Şekil 4.6).

Gökkuşığı alabalığında 500'den fazla mikrosatelit primerin geliştirilmiş olması (Thorgaarda *et al.* 2002), bu kadar çok sayıdaki mikrosatelit markır arasından çalışmamızda kullanılan 13 tanesinin özenli, dikkatli ve amaca uygun seçilmesini gerektirmektedir. Kullanılan mikrosatelit lokus sayısı literatürlerle kıyaslandığında yeterli düzeydedir. Zira; Nielsen (1999a) 4 gökkuşığı alabalığı populasyonunda 11 mikrosatelit lokus, Nielsen (1999b) 11 gökkuşığı alabalığı populasyonunda 12 mikrosatelit lokus, Nielsen (1999c) Alaska gökkuşığı alabalığına ait 3 populasyonda 10 mikrosatelit lokus, Ardren *et al.* (1999) 4 gökkuşığı alabalığı grubu üzerinde 12 mikrosatelit lokus, Narum *et al.* (2004) Amerika'daki 14 anadrom gökkuşığı alabalığı populasyonunda 6 mikrosatelit lokus kullanarak genetik varyasyonları ortaya koymuşlardır.

Çalışmada kullanılan mikrosatelit lokuslar Olivera *et al.* (2006)'nın bildirdiği kriterler dikkate alınarak yapıldığından gruplar arasında beklenen ve istenilen ayırım ortaya konulmuştur. Kullandığımız mikrosatelit lokusları Olivera *et al.* (2006)'nın bildirdiğine göre değerlendirildiğinde; Çizelge 3.1'de OMM1308 lokusunun CA, Çizelge 3.2'de OMM1041 lokusunun (TAGA), Çizelge 3.3'de OMM1070 lokusunun (TAGA)₃₇, Çizelge 3.4'de OMM1130 lokusunun (GATA)₂₀, Çizelge 3.5'te OMM1302 lokusunun CATC, Çizelge 3.6'da OMM1309 lokusunun CT; Çizelge 3.8'de OMM1316 lokusunun GATG; Çizelge 3.9'da OMM1312 lokusunun AC; Çizelge 3.10'da OMM1375 lokusunun CA; Çizelge 3.11'de OMM1338 lokusunun GAT; Çizelge 3.13'de Strutta-12 lokusunun (CA)₄₃ tekrar dizilimi ile mükemmel mikrosatelit dizilimine sahip olduğu görülmektedir. Çizelge 3.7 incelendiğinde OMM1310 lokusunun (CA)_nCG(CA)_n tekrar dizilimi ile kusurlu mikrosatelit dizilimine ve Çizelge 3.23'de FGT1 lokusunun (GT)₂₃GC(GT)₅GC(GT)₂GCGTGC(GT)₂GC(GT)₄ karışık mikrosatelit dizilimine sahip olduğu görülmektedir. Yani kullanılan 13 lokustan 11 tanesi mükemmel, 1 tanesi karışık 1 tanesi de kusurlu mikrosatelit dizilimine sahiptir. Çalışma amacına göre kullanılacak mikrosatellit bölgelerinin seçiminde dikkate alınan bazı kriterler vardır. Çalışılan mikrosatellitlerin farklı kromozom bölgeleri üzerinde olmaları, polimorfizm düzeyinin yüksek olması, heterozigotluk düzeylerinin yüksekliği, allel sayısı ve uzunluklarının birbirine olan uzaklıkları göz önüne alınarak seçilmiştir

(Özkan 2005). Lokusların seçimindeki başarı gruplar arasındaki genetik varyasyonun bariz bir şekilde ortaya konulmasındaki en önemli etkenlerden biri olmuştur.

Mikrosatelit bölgelerin PCR ile yükseltgenmesi ve ardından SSCP uygulamalarından sonra % 6'lık poli akrilamid jel elektroforezindeki görüntüleri (Şekil 4.7'den Şekil 4.19'a kadar) incelendiğinde, tek bant deseni veren örneklerin homozigot allele, çift bant deseni verenlerinde heterozigot allele sahip oldukları görülmektedir. Bazı örneklerde ise 2'den fazla bant deseni görülmektedir. Bunun nedeni PCR uygulamasıyla DNA zincirinde oluşan kaymalardır (*in vitro* DNA slippage). PCR ile çoğaltılmış bir mikrosatellit allelinin tek bir bant değil de bir bantlar merdiveni şeklinde görüntü veriyor olmasıdır. Çoğaltılan mikrosatellit bölgesine ait allel olarak, bu bantlar içerisinde en yoğun olanı alınmıştır. Diğer bantlar, genellikle orijinal allelden küçüktür (Hoelzel 1998; Devrim ve Kaya 2004).

SSCP analizi sonucu elde edilen her bir mikrosatelit lokusun allel uzunlukları kullanılarak GENETIX 4.02 programında yapılan faktöriyel benzerlik analizi sonucu incelendiğinde 2 grubun birbirinden ayrıldıkları görülmektedir (Şekil 4.20 ve Şekil 4.21). Bu da her grubun kendi içerisindeki bireylerinin genetik akrabalık derecelerinin yüksek olduğu anlamına gelmektedir. Grupların 2 ve 3 boyutlu dağılımlarını görebildiğimiz grafiklerde, Grup2'nin Grup1'e göre daha toplu ve bireylerinin genetiksel olarak birbirine daha yakın olduğu söylenebilir. Yine faktöriyel benzerlik analizi sonucuna göre, Grup1'in Grup2'ye göre daha dağınık bir durum sergilediği ve bireylerin birbirine olan genetiksel mesafelerinin ise daha uzak olduğu görülmektedir. Bu durum, ya rastgele yapılan örneklemede birbiri ile daha uzak akraba bireylerin örneklemeye tesadüf etmesi ya da tüm grup bireylerinin diğer gruplara nazaran daha geniş bir genetik mesafeye sahip olması, yani rastgele seçilen iki bireyin aynı ebeveynden gelme olasılığının daha az olması şeklinde açıklanabilir. Bu veriler, gökkuşağı alabalığı yetiştiriciliği yapan işletmelerde yavaş büyüyen, düşük canlı ağırlığa sahip gökkuşağı alabalıklarının (yani Grup2) daha kolay elemine edilebileceği anlamına gelmektedir.

Şekil 4.23 incelendiğinde, TreeView programında çizilen bireyler arası genetik mesafeyi gösteren dendogram görülmektedir. Dendogramdan çıkan ana kol genetik mesafe uzaklığı 0 olmak üzere ilk önce 2 kola ayrılmıştır. Daha sonra üst ve alttaki kollarda benzer şekillerde ve yine genetik mesafe uzaklığı 0 olmak üzere 2 kola ayrılmıştır. Dendogramın üst kısmındaki birinci kolda sırasıyla; 31, 32, 39, 40, 38, 35, 36, 37, 33, 34, 11, 21, 26, 22, 30, 23, 24, 27, 28, 25 ve 29 numaralı bireylerin bulunduğu görülmektedir. Bunlar; 11 numaralı birey hariç düşük canlı ağırlığa sahip Grup1 bireyleridir. Dendogramın alt kısmındaki ikinci kolda ise sırasıyla; 9, 8, 1, 4, 6, 5, 10, 7, 2, 3, 15, 14, 17, 13, 19, 16, 20, 12 ve 18 numaralı bireylerin yer aldığı görülmektedir. Bunların hepsi yüksek canlı ağırlığa sahip Grup2 bireyleridir. Burada değinilmesi gereken durum dendogramın üst ve alt kollarında bulunan bireylerin aynı gruba ait bireyler olmasıdır (dendogramın üst kolundaki 11 numaralı birey hariç). Dendogramdaki bireylerin genetik mesafelerinin birbirlerine uzak olmadıkları, ancak kendi içerisinde de 2 gruba ayrılmıştır. Bu 2 grubun arasındaki ayırımın, cüce kalmış ve hızlı büyüyen balıkların oluşturduğu gruplar olmaları dikkat çekicidir. Her ne kadar farklı fenotipiki özelliklere sahip olsalarda, Grup1 ve Grup2 bireylerinin dendogramın ilk ve sonrasındaki çıkış noktasında genetik mesafe uzaklığının 0 olması beklenen bir durumdur. Bu, dendogramdaki bireylerin aynı türe ait bireylerin oluşturduğu gruplar olmasından kaynaklanmaktadır. Özellikle tür veya alt tür bazında yapılan dendogramlarda başlangıç noktasında dendogramın belirli bir genetik mesafeyle ayrıldıkları daha önceki çalışmalarda bildirilmiştir (Ceyhun 2007).

Gruplar arası genetik mesafeyi gösteren dendogram incelendiğinde (Şekil 4.24) dendogramın 0 kolundan çıkan 2 kol sonra kendi arasında tekrar 2 kola ayrılmıştır. Dendogramın üst kısmındaki birinci kolda Grup1'in, alt kısmındaki ikinci kolda ise Grup2'nin bulunduğu görülmektedir. Grupların birbirlerine olan genetik mesafeleri 0'dır. Yani bu 2 grubun üyeleri aynı türe ait balıklardır ki bu da beklenen sonuçtur.

Gruplar ve bireylere ait dendogramlar (Şekil 4.20 ve Şekil 4.21) ve faktöriyel benzerlik analizi sonuçları (Şekil 4.20 ve Şekil 4.21) birlikte değerlendirildiklerinde; genetik mesafenin göstergesi olan dendogramda grup ve bireyleri bazında 0 genetik mesafeyle

birlikte dendogramın 2 kola ayrılışı ve her bir kolda Grup1 ve Grup2'ye ait bireylerin bir arada bulunuşu, grup bireyleri arasındaki akrabalık derecesinin göstergesi olan 2 ve 3 boyutlu faktöriyel benzerlik analiz sonuçlarında Grup1 ve Grup2'ye ait bireylerin kendi aralarında kümelandiklerini göstermektedir. Dendogramlar ve faktöriyel benzerlik analiz sonuçlarında birbirlerini destekler nitelikteki bulgularla karşılaşılmıştır.

Çalışmada yapılan analizler neticesinde, 13 mikrosatelit lokusta toplam 90 farklı allel gözlenmiştir. Gözlenen allel sayılarının, gruplar ve analiz edilen mikrosatelit lokuslar bazında dağılımı (Şekil 4.22) incelendiğinde, en fazla allel sayısının OMM1041 lokusunda (38), en düşük allel sayısının ise Strutta-12 lokusunda (8) gözleendiği, gruplar bazında incelendiğinde ise Grup1'de gözlenen allel sayısının daha fazla olduğu görülmektedir. Allellerin dağılımı ve sayısı da önemli olduğu için, genetik varyasyonun ölçülmesinde heterozigotluk tek başına eksik bir ölçüdür (Cruz *et al.*, 2004). Kullanılan mikrosatelit lokuslar içerisinde sadece bir tanesinde görülen diğerlerinde görülmeyen allellere ise özgün allel denilmektedir. Çalışmamızda OMM1041 lokusunda 4, OMM1308 lokusunda 9, OMM1302 lokusunda 1, OMM1316 lokusunda 1, OMM1312 lokusunda 3 ve FGT1 lokusunda 1 olmak üzere toplam 19 özgün allel tespit edilmiştir. Allel frekansı %5'ten büyükse bu allelin ırk belirleyici özelliği vardır (Özkan 2005). Irk, bir canlı türünde aynı karakteri taşıyan canlıların oluşturduğu alt bölümdür. Aynı türün çeşitli üyelerinden birine diğerine nazaran fenotipik bakımdan daha fazla benzer olan bireyler topluluğudur. Çalışmamızda bir popülasyona ait göreceli gruplar oluşturulduğundan grupların genetiksel ayırımında özgün allel frekanslarından yararlanılabilir.

Çizelge 4.4'te özgün allel frekansları incelendiğinde, OMM1041 lokusundaki 268 bp'lik özgün allelin frekansı 0,0500=%5'tir ve Grup1'e özgün olup cüce balıkların tespitinde kullanılabilecek bir allel görünümündedir. Aynı lokusta 288 bp'lik özgün allelin frekansı 0,0500=%5'tir ve Grup2'ye özgün olup yüksek canlı ağırlığa sahip (hızlı büyüyen) balıkların tespitinde kullanılabilecek bir allel görünümündedir. Allel frekansları %5'ten küçük olan 278 ve 290 bp'lik alleller bu anlamda farklılığı belirleyici özellikte değildir.

Çizelge 4.7’de özgün allel frekansları incelendiğinde, OMM1308 lokusundaki 292 bp’lik özgün allelin frekansı $0,0500=5\%$ ’tir ve Grup1’e özgün olup cüce balıkların tespitinde kullanılabilecek bir allel görünümündedir. Aynı lokusta 302 ve 320 bp’lik özgün allellerin frekansları sırasıyla $0,0750=7,5\%$ ve $0,0500=5\%$ ’tir. Bu alleller Grup2’ye özgün olup yüksek canlı ağırlığa sahip (hızlı büyüyen) balıkların tespitinde kullanılabilecek alleller görünümündedir. Allel frekansları 5% ’ten küçük olan 306, 310, 316, 326, 342 ve 346 bp’lik alleller bu anlamda farklılığı belirleyici özellikte değildir.

OMM1302 lokusunda bulunan ve Grup1’e özgün 204 bp’lik allelin frekansı $0,0250=2,5\%$ ’tir (Çizelge 4.8). Bu değer 5% ’tek küçük olduğu için 204 bp’lik özgün allel gruplar arasındaki farklılığı belirleyici özellikte değildir.

Çizelge 4.11 incelendiğinde, OMM1316 lokusunda bulunan ve Grup1’e özgün 235 bp’lik allelin frekansı $0,0250=2,5\%$ ’tir. Bu değer 5% ’tek küçük olduğu için 235 bp’lik özgün allel gruplar arasındaki farklılığı belirleyici özellikte değildir.

OMM1312 lokusunda bulunan ve Grup1’e özgün 130, 134, 136, 140, 142 ve 146 bp’lik allellerin frekansları sırasıyla 5% , $17,5\%$, $22,5\%$, 5% , $7,5\%$ ve 25% ’tir (Çizelge 4.12). Özellikle 134, 136 ve 146 bp’lik allellerin $17,5\%$ ’dan 25% ’e varan yüksek oranda allel frekansları (görülme sıklıkları) oldukça önemli sonuçlardır. Bu özgün alleller, Grup1’e özgün olup cüce balıkların tespitinde kullanılabilecek allel görünümündedirler. Grup2’ye ait olan ve allel frekansları 5% ’ten küçük olan 124, 134, 136 ve 146 bp’lik alleller bu anlamda farklılığı belirleyici özellikte değildir.

Çizelge 4.15’de özgün allel frekansları incelendiğinde incelendiğinde, FGT1 lokusundaki 158 bp’lik özgün allelin frekansı $0,1500=15\%$ ’tir ve Grup2’ye özgün olup yüksek canlı ağırlığa sahip (hızlı büyüyen) balıkların tespitinde kullanılabilecek bir allel görünümündedir. Literatürlerde gerek hastalığa dayanıklılık gerekse üstün verim özellikleri ile ilişkili mikrosatelit allellerinin kullanıldığı çalışmalar mevcuttur. Dong *et al.* (2008), Çin karidesinde RS0622 mikrosatelit lokusundaki bir allelin Beyaz Nokta Sendromu hastalığına dayanıklılıkla ilişkili olduğu bulmuşlardır. Rodriguez *et al.*, (2004),

gökkuşığı alabalığında IHNV'ye dayanıklı QTL bölgeleri tespit etmişlerdir. Zimmerman *et al.* (2005), gökkuşığı alabalığında pilorik kese sayısı ile ilişkili 3 QTL bölgesini ortaya çıkarmışlardır. Fuji *et al.* (2007), Japon pisi balığında Poli9-8TUF mikrosatelit allelinin lymphocystis hastalığına dayanıklılıktan sorumlu bir allel olduğunu bildirmişlerdir.

Çalışmamızda lokuslarda gözlenen ortalama allel sayılarına bakıldığında (Çizelge 4.20) OMM1041 lokusu için gözlenen ortalama allel sayısı 22, OMM1070 lokusu için gözlenen ortalama allel sayısı 16,5 ve OMM1130 lokusu için gözlenen ortalama allel sayısı 15,5 olarak bulunmuştur. Gökkuşığı alabalıkları üzerinde Rexroad III *et al.* (2001) yapmış oldukları çalışmalarda ise OMM1041, OMM1070 ve OMM1130 lokuslarını çalışan allel sayılarını sırasıyla 30, 21 ve 19 olarak bildirmiştir. Görüldüğü gibi bulduğumuz allel sayıları literatürlerle benzerlik arz etmektedir.

Çalışmamızda gözlenen ortalama allel sayıları OMM1308 lokusu için 15, OMM1302 lokusu için 18, OMM1309 lokusu için 9, OMM1310 lokusu için 13, OMM1316 lokusu için 7,5 ve OMM1312 lokusu için 7 olarak bulunmuştur (Çizelge 4.20). Palti *et al.* (2002) gökkuşığı alabalıklarında allel sayılarını; OMM1308 lokusu için 13, OMM1302 lokusu için 15, OMM1309 lokusu için 10, OMM1310 lokusu için 16, OMM1316 lokusu için 11, OMM1312 lokusu için 19 olarak bildirmişlerdir. OMM1308 ve OMM1302 lokuslarında sonuçlar benzer olmasada OMM1309, OMM1310, OMM1316 ve OMM1312 lokuslarında gözlenen allel sayıları literatürle paralellik göstermektedir.

Poteaux *et al.* (1999) Strutta-12 lokusu ile *Salmo trutta* L. populasyonlarında yaptıkları çalışmada ortalama allel sayılarını 11 olarak bulmuşlardır. Ceyhun (2007)'un *Salmo trutta* L. populasyonlarında yaptığı çalışmada aynı lokusta ortalama gözlenen allel sayısı 9 olarak bulunmuştur. Bu sonuç *Salmo trutta* için değil de bizim çalıştığımız *Oncorhynchus mykiss*'de 6 olarak bulunmuştur (Çizelge 4.20). Sonuçlar benzerlik arz etmektedir.

Estoup *et al.* (1998) FGT1 lokusu ile *Salmo trutta* L. populasyonlarında yaptıkları çalışmada, ortalama allel sayılarını 10 olarak bulmuşlardır. Ceyhun (2007)'un *Salmo trutta* L. populasyonlarında yaptığı çalışmada aynı lokusta ortalama gözlenen allel sayısı 6,4 olarak bulunmuştur. Bu sonuç *Salmo trutta* için değilde bizim çalıştığımız *Oncorhynchus mykiss*'de 8 olarak bulunmuştur (Çizelge 4.20). Sonuçlar benzerlik arz etmektedir.

Çalışmada yapılan analizler neticesinde, beklenen heterozigotluk (H_e) ve gözlenen heterozigotluk (H_o) değerleri belirlenmiş Çizelge 4.18, 4.19 ve 4.20'de verilmiştir. Çizelgeler incelendiğinde, lokuslar bazında en yüksek ortalama beklenen heterozigotluk değeri 0,9419 olup, yine lokus bazında gözlenen allel sayısının en yüksek olduğu OMM1041 lokusunda bulunduğu, en düşük ortalama beklenen heterozigotluk değeri ise 0,7800 olup OMM1309 lokusunda tespit edilmiştir. Lokuslar bazında gözlenen heterozigotluk değerleri (Çizelge 4.21) incelendiğinde ise en yüksek değerin 0,9628 olduğu ve beklenen heterozigotluk değerinin de en yüksek olduğu OMM1041 lokusunda gözlemlendiği görülmektedir. En düşük değer ise 0,8037 olup ortalama allel sayısının en düşük olduğu Strutta-12 lokusunda görülmüştür. Tüm mikrosatelit lokuslar için gruplar bazında beklenen ve gözlenen heterozigotluk değerleri Çizelge 4.21'den incelendiğinde en yüksek beklenen heterozigotluk değeri 0,8638 olup Grup1'de, en yüksek gözlenen heterozigotluk değeri ise 0,8346 olup Grup2'de görülmüştür. En düşük beklenen heterozigotluk değeri 0,8384 olup Grup2'de, en düşük gözlenen heterozigotluk değeri ise 0,7808 olup Grup1'de görülmüştür. Tüm mikrosatelit lokuslarda gruplar için H_e ve H_o değerleri arasındaki fark istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur. Diğer yapılan çalışmalarda bulunan sonuçlar ise şöyledir;

Charles *et al.* (2005) Fransa'da yaşayan alabalıklar arasındaki genetik farklılığı 15 mikrosatelit markırla test ettikleri çalışmada, beklenen heterozigotluk değerinin 0,789 ile 0,828 arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Ceyhun (2007) *Salmo trutta*'larda yapmış olduğu çalışmada $H_e=0,602-0,668$ $H_o=0,570-0,670$ arasında olduğunu bildirmiştir. Cruz *et al.* (2004) Karideslerde yaptıkları çalışmalarda $H_e=0,87$ ve $H_o=0,74$ olarak bulmuşlardır. O'Connell *et al.* (1997), Ontario gölündeki gökkuşağı alabalığı

populasyonlarında beklenen heterozigotluk değerlerini (H_e) 0,740-0,956 arasında bulmuşlardır. Daniel *et al.* (2001), gökkuşağı alabalığı populasyonlarında gözlenen heterozigotluk değerinin 0,745-0,848 arasında olduğu bildirilmiştir. Nielsen (1999a), 4 çelikbaş gökkuşağı alabalığı populasyonunda gözlenen heterozigotluk değerlerini 0,66-0,72 arasında bulmuştur. Nielsen (1999b), 11 gökkuşağı alabalığı populasyonunda gözlenen heterozigotluk değerini 0,68 olarak bildirmiştir. Nielsen (1999c), Alaska gökkuşağı alabalığına ait 3 populasyonda gözlenen heterozigotluk değerini 0,46 olarak bulmuştur. Hauser *et al.* (2006) derelerde yaşayan gökkuşağı alabalığı populasyonlarında H_e değerini 0,88-0,90 arasında bulmuşlardır. Bütün lokuslarda allel frekansları arasında önemli derecede farklılıklar olduğunu bildirmişlerdir. Bunlar, çalışmamızda bulunan beklenen ve gözlenen heterozigotluk değerleriyle paralellik arz etmektedir.

Onüç lokusta görülen toplam 90 allel (Şekil 4.22), sayısının fazla oluşu nedeniyle heterozigotluğun yüksek olduğunu göstermektedir. Heterozigotluk yükseğe ayırım kolaylaşır. Genetik çeşitliliğin belirlenmesinde ortalama allel sayısı ve Hardy-Weinberg şartlarında tahmin edilen heterozigotluk düzeyi, polimorfizm oranından daha iyi bir parametredir (Giannini *et al.*, 1991).

Çizelge 4.20 incelendiğinde beklenen heterozigotluk değerleri ile gözlenen allel sayıları arasında bir paralelliğin söz konusu olduğu görülmektedir. Bilindiği üzere polimorfik lokuslarda daha fazla allel görmek olasıdır. Dolayısı ile çalışmada kullanılan gruplar ve lokuslar için polimorfizm fazlalığının heterozigotluğu artırdığı söylenebilir. Yani kullanılan 13 lokustan herhangi biri ne kadar polimorfik ise o lokus için beklenen heterozigotluk değeri o oranda artmıştır denebilir.

Tüm mikrosatelit lokuslar için gruplar bazında beklenen ve gözlenen heterozigotluk değerleri Çizelge 4.21'den incelendiğinde, Grup1 için beklenen heterozigotluk değeri Grup2'den daha büyük bulunmuştur. Gözlenen heterozigotluk değerinde tam tersi bir durum gözlenmiştir. Yapılan istatistik analiz sonucunda bu farkların istatistiksel olarak önemli olmadığı belirlenmiştir.

Gözlenen heterozigotluk (H_o) değerinin beklenen heterozigotluk (H_e) değerinden büyük olması ($H_o > H_e$) o popülasyonda akrabalık oranının yüksek olduğunu gösterir. Çizelge 4.21 incelendiğinde Grup1 için H_e değerinin (0.8638) H_o değerinden (0.7808) yüksek olduğu görülmektedir. Yine Grup1 için H_e değeri (0.8384) H_o değerinden (0.8346) yüksek bulunmuştur.

F istatistikleri popülasyonların yapılarının tanımlanmasında önemli bilgiler veren parametrelerdir. F istatistikleri Wright (1965) tarafından geliştirilmiş olup F_{IT} , F_{IS} ve F_{ST} olmak üzere üç alt parametreden ibarettir (Özkan 2005).

Bu parametrelerden F_{IS} alt popülasyonlarda görülen ortalama akrabalık katsayısı olarak tanımlanır ve alt popülasyonlarda birbirine akraba olan bireylerin içinde homolog alleller arasındaki korelasyonu tanımlar. Yani alt popülasyonlarda rastgele birleşen iki gametin ortak ebeveynden gelme ihtimalidir. F_{IS} değeri teorik olarak 0 ile 1 arasında değişmekte olup, negatif bulunması heterozigot fazlalığını, sıfır değerine yakın bulunması Hardy-Weinberg dengesinin varlığını, pozitif olarak bulunması ise homozigot fazlalığını ifade etmektedir. Çalışmamızda F_{IS} değeri 0,07655 olarak bulunmuş olup 0 değerine yakın bulması nedeniyle gruplarda Hardy-Weinberg dengesinin varolduğu görülmektedir (Çizelge 4.16). Hauser *et al.* (2006) Amerika'da derelerde yaşayan gökkuşuğu alabalığı popülasyonları üzerinde 2 yıl süreyle mikrosatelit markırlar kullanarak yapılan çalışmada F_{IS} değerini -0,003 ile 0,045 arasında bulmuştur. Narum *et al.* (2004) Amerika'daki 14 anadrom gökkuşuğu alabalığı popülasyonunun Hardy-Weinberg dengesinde olduğunu bildirilmiştir.

F_{ST} değerleri gruplar için 0,05611 olarak bulunmuş ve gruplar arası mesafenin istatistiksel olarak önemli olmadığı saptanmıştır (Çizelge 4.16). Söz konusu değer 0'dan uzaklaştıkça genetik farklılaşmada o oranda artmaktadır (Özkan 2005). Nielsen (1999a) 4 çelikbaş gökkuşuğu alabalığı popülasyonunda 11 mikrosatelit lokus üzerinde yapmış olduğu çalışmada F_{ST} değerlerini 0,025-0,064 arasında bulmuştur. Nielsen (1999b) gökkuşuğu alabalığı popülasyonunda F_{ST} değerlerini 0,18 ve yine Nielsen (1999c) Alaska gökkuşuğu alabalığına ait 3 popülasyonda F_{ST} değerini 0,087 olarak bildirmiştir.

Narum *et al.* (2004) Amerika'daki 14 anadrom gökkuşığı alabalığı popülasyonunda 6 mikrosatelit markır kullanarak yaptıkları çalışmada F_{ST} değerlerinin 0,001 ile 0,018 arasında olduğunu bildirilmişlerdir.

F_{IT} ise tüm bireylerin bir arada düşünülmesi ile ortaya çıkan toplam popülasyondaki Hardy-Weinberg dengesinden sapmanın ölçüsü olarak tarif edilebilir (Özkan 2005). Çalışmamızda F_{IT} değeri 0,012836 bulunmuş olup gruplar arasında istatistiki bir önem çıkmamıştır (Çizelge 4.16).

Çizelge 4.17 incelendiğinde Nei'ye göre hesaplanan gruplar arası genetik mesafe (D_A) 0,076 olup istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur. Nielsen (1999a) 4 çelikbaş gökkuşığı alabalığı popülasyonunda 0,094-1,182; Nielsen (1999b) 11 gökkuşığı alabalığı popülasyonunda genetik mesafeyi 0,182 ve Nielsen (1999c) Alaska gökkuşığı alabalığına ait 3 popülasyonda genetik mesafe değerini 0,289 olarak bildirmiştir.

Moleküler tekniklerin verim arttırmaya yönelik olanlarından hepsi günümüzde kabul edilmemektedir. Özellikle son zamanlarda adını sıkça duyduğumuz genetiği değiştirilmiş organizmalar transgen teknolojisiyle üretilmektedirler. Balıklarda da uygulanan bu yöntem moleküler düzeyde olmasına rağmen, insanların bu konuya mesafeli yaklaşımları görülmektedir. İnsan, hayvan, çevre ve gelecek nesillere olabilecek etki ve riskleri hakkında yeterli araştırma olmadığından transgenik balıkların zararları veya yararları konusunda kesin bir yargıya varmak şu an için mümkün değildir. Balık yetiştiriciliğinde üretim kapasitesi arttırmaya yönelik transgenik yaklaşım tarzındansa, çalışmamızda da gerçekleştirdiğimiz gibi bir popülasyon içerisindeki üstün verimli bireylerin (hastalıklara dayanıklı, hızlı büyüyen vb.) seçilerek bir sonraki generasyonlarda cüce olma ihtimali olanların elemine edilmesi ve hızlı büyüyen balıkların üretilmesi, maliyeti daha az ve daha güvenilir bir yaklaşım tarzı sunmaktadır. Bu çalışmadan elde ettiğimiz verilerinin kullanılması durumunda, üreticiler transgenik balıklarda olduğu gibi dışarıdan herhangi bir müdahale olmaksızın genetiği değiştirilmemiş balık üretimi gerçekleştirilebileceklerinden etik ve bilimsel yönden de bu çalışmanın önemi daha da anlaşılmaktadır.

Moleküler biyoloji alanında kullanılan tekniklerin ilerlemesi ve yaygın olarak kullanılmaya başlamasıyla birlikte su ürünlerinde bu tekniklerin kullanımı çok yaygın bir hal almıştır (Aksakal ve Erdoğan 2007). Genetik verilerin değer ve öneminin bilincine varılarak, ülkemizin biyolojik çeşitlilik ve gen kaynakları varlığı açısından sahip olduğu zenginlikler unutulmamalı, bu sahada yapılacak çalışmalara daha da ağırlık verilerek mevcut gen kaynaklarının da koruma altına alınması gereklidir. Bununla birlikte üzerinde durulması gereken diğer bir önemli bir konuda; verimi etkileyen kantitatif karakter lokuslarının (QTL) belirlenmesidir. Son yıllarda buna yönelik çalışmalara büyük eğilimin olmuştur (Montaldo and Meza-Herrera 1998; Andersson *et al.* 1994; Cheverud and Routman 1993; Tanksley 1993). Çiftlik hayvanları bazında bakıldığında son hedef verim özelliklerini belirleyen kantitatif karakter lokuslarının belirlenmesi ve ıslah çalışmalarının bu lokuslardaki genotiplere dayandırılmasıdır. Diğer bir ifadeyle fenotipik seleksiyonun yerini kademeli olarak genotipik seleksiyonun alması hedeflenmektedir. Şayet böyle bir hedefe ulaşılabılırsa seleksiyonla sağlanacak genetik ilerleme şu andaki yöntemlerle sağlananın kat kat üzerinde olacaktır (Cemal ve Karaca 2006).

Şu ana kadar gökkuşağı alabalığında tanımlanmış QTL'lerin çoğu LD (lymphocystis disease) gibi tek lokus değil çoklu genler tarafından kontrol edilmektedir (Çizelge 2.2). Bu yüzden bu QTL'lerin markıra dayalı seleksiyon için tespiti oldukça zordur. Ancak yetiştiricilikte kısa zamanda önemli bir ilerleme kaydedebilmek için artık markıra dayalı seleksiyonun kullanılması gelecekte kaçınılmaz olacaktır (Fuji *et al.* 2007). QTL'lerin çalışılabilmesi içinde üstün verim özelliklerine sahip olduğu moleküler tekniklerle kanıtlanan (molüler markıra dayalı seleksiyon) bireylerin çaprazlanması, bir kaç generasyon elde edilmesi ve geri çaprazlamaların gerçekleştirilerek moleküler markırlarla belirlenen bireylerin üstün verim özelliklerinin bir sonraki nesile aktarıldığının da tehit edilmesi gerekmektedir. Burada esas değinilmesi gereken klasik ıslah metotları ile tespiti mümkün olmayan üstün verimle ilişkili özelliklerin moleküler belirteçlerle ortaya çıkarılması ve bunun kabul görebilmesi için uygulamalarının yapılarak sonuçlarının gözlemlenmesi esastır. Sonra elde edilen generasyonlar ve bunların üretim kapasitesindeki muhtemel artış değerlendirilerek bu lokuslarda bulunan

mikrosatelit allellerinin cücelikle veya hızlı büyümeyle ilişkili markırlar olduğu söylenebilir.

Sonuç olarak bu çalışmadan elde edilen veriler doğrultusunda özellikle dikkate alınması gerekenler şu şekilde sıralanabilir;

Grup1'e özgün olup cüce balıkların tespitinde kullanılabilecek allellerin şunlar olduğu düşünülmektedir:

- OMM1041 lokusundaki 268 bp'lik özgün allel (frekansı %5),
- OMM1308 lokusundaki 292 bp'lik özgün allel (frekansı %5),
- OMM1312 lokusunda bulunan 130 bp'lik özgün allel (frekansı %5), 134 bp'lik özgün allel (frekansı %17,5), 136 bp'lik özgün allel (frekansı %22,5), 140 bp'lik özgün allel (frekansı %5), 142 bp'lik özgün allel (frekansı %7,5) ve 146 bp'lik özgün allel (frekansı %25),

Grup2'ye özgün olup yüksek canlı ağırlığa sahip (hızlı büyüyen) balıkların tespitinde kullanılabilecek allellerin şunlar olduğu düşünülmektedir:

- OMM1041 lokusundaki 288 bp'lik özgün allel (frekansı %5),
- OMM1308 lokusundaki 302 bp'lik özgün allel (frekansı %7,5) ve 320 bp'lik özgün allel (frekansı %5), FGT1 lokusundaki 158 bp'lik özgün allel (frekansı %15)

Genomik DNA'sında hızlı büyümeyle ilişkili bu mikrosatelit allelleri bulunduran ve cüce kalmayla ilişkili bu mikrosatelit allelleri bulundurmayan damızlık balıkların tespit edilmesi ve diğerlerinin elemine edilerek bunların bir sonraki jenerasyonların eldesi için kullanımı ancak QTL'lerinin çalışmasıyla mümkün olacaktır.

KAYNAKLAR

- Agresti J, S Seki, A Cnaani, S Poompuang, EM Hallerman, N Umiel, G Hulata, GAE Gall, and B May. 2000. Breeding new strains of tilapia: development of an artificial center of origin and linkage map based on AFLP and microsatellite loci. *Aquaculture*, 185, pp. 43–56.
- Akasaki, T., Yanagimoto, T., Yamakami, K., Tomonaga, H. and Sato, S., 2006. Species identification and PCR-RFLP analysis of cytochrome b gene in Cod fish (Order Gadiformes) products. *Journal of Food Science*, 71, 190–195.
- Akhan, S. ve Canyurt, M.A., 2005. Üç Farklı Kuluçkahanedeki Damızlık Gökkuşığı Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) Stokları Arasında Genetik Çeşitliliğin RAPD-PCR Yöntemiyle Belirlenmesi Üzerine Bir Araştırma. *E.Ü. Su Ürünleri Dergisi*, 22(1-2): 25–30.
- Aksakal, E. and Erdoğan, O., 2007. Use of PCR-RFLP Analysis of mtDNA cytochrome-b gene to determine genetic differences in *Capoeta* spp. *The Israeli Journal of Aquaculture–Bamidgeh*, 59, 4, 206–211.
- Aksakal, E., 2005. Aras, Karasu ve Çoruh Havzalarından Yakalanan *Capoeta* sp.'lerin MtDNA Sitokrom-b Bölgesinde PCR-RFLP Yöntemi ile Genetik Farklılığın Belirlenmesi. Yüksek Lisans tezi, 41 sayfa, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Su Ürünleri Ana Bilim Dalı, Erzurum.
- Aksoy, M., Sanisoğlu, S.Y., Etikan, İ., Akkuş, Z., Alpar, R., 2006. Populasyon genetiği prensipleri ve Hardy-Weinberg kuralı. VIII. Ulusal biyoistatistik kongresi. Sözlü bildiri, 160-168.
- Allendorf, F. W., F. M. Utter, 1979. Population genetics, p. 407-454. In: W.S. Hoar, D.J. Randal and J.R. Brett (Eds), *Fish Physiology*, Vol. VIII.. Academic Press, New York. 786p.
- Andersson, L., Haley, C.H., Ellegren, H., Knott, S.A., Johansson, M., Andersson, K., Andersson-Eklund, L., Edfors-Lilja, I., Fredholm, M., Hansson, I., Håkansson, J. and Lundström, K., 1994. Genetic mapping of quantitative trait loci for growth and fatness in pigs. *Science*, 263,1771-1774.
- Anonim, 2008. National Center for Biotechnology Information, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov> (15.12.2008)
- Anonim, 2009a. <http://www.bio.miami.edu/~cmallery/150/gene/c7.20.7.pcr.jpg> (11.02.2009)
- Anonim, 2009b. http://urgi.versailles.inra.fr/projects/GnpSNP/general_documentation.php (15.03.2009)
- Anonim, 2009c. http://www.mc.vanderbilt.edu/root/pdfs/mclaughlin_lab/dna_and_rna_with_a_spectrophotometer.pdf (19.04.2009)
- Ardren., W.R., Borer, S., Thrower, F., Joyce, J.E., and Kapuscinski, A.R., 1999. Inheritance of 12 Microsatellite Loci in *Oncorhynchus mykiss*. *The American Genetic Associations*, 90; 529-536.
- Asahida, T., Kobayashi T., Saitoh K. and Nakayama I., 1996. Tissue preservation and total DNA extraction from fish stored at ambient temperature using buffers containing high concentration of urea. *Fisheries Sci.* 62:727-730.
- Atay, D., 1989. Populasyon Dinamiği. Ankara Üniv. Ziraat Fak. Yayınları. Yayın No: 1154, 306.

- Bekiroğlu, Y., Şahin, T., Çelikkale, M.S., 1995. Gökkuşuğu alabalığı yetiştiriciliğinde optimum stok yoğunluğunun tespiti. Ekonomik deniz ürünleri yetiştiriciliği projesi. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü Su Ürünleri Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, 59 sayfa.
- Belkhir, K., Borsa, P., Chikhi, L., Raufaste, N., Bonhomme, F. 2001. Genetix 4.05 pour Windows. <http://www.genetix.univ-montp2.fr/genetix/genetix.htm>
- Canyurt, M. A., 1985. Alabalık Üretimi. Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Haber Bülteni. 43: 4-6.
- Çelikkale, M.S. 1982. Kafeslerde Alabalık Yetiştiriciliğinde Değişik Stok ve Yemleme Tekniklerinin Karşılaştırılması, Ankara Üniversitesi Basımevi.
- Cemal, İ., Karaca, O., 2006. Çiftlik Hayvanlarında Major Genlerin Belirlenmesi ve Genotip Ayrımı. OMÜ Zir. Fak. Dergisi, 21(1), 105-115.
- Ceyhun, S.B., 2007. Yerli Alabalık Irkları Arasındaki Genetik Varyasyonun Mikrosatelit Markırlar Kullanılarak Belirlenmesi. Doktora Tezi. Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Charles, K., Guyomard, R., Hoyheim, B., Ombredane D., Baglinière, J-L., 2005. Lack of genetic differentiation between anadromous and resident sympatric brown trout (*Salmo trutta*) in a Normandy population. Aquatic Living Resources, 18, 65–69.
- Cheverud, J.M. and Routman, E., 1993. Quantitative trait loci: individual gene effects on quantitative characters (Mini-review). J. Evol. Biol., 6, 463-480.
- Chistiakov DA, B Hellemans, CS Haley, AS Law, CS Tsigenopoulos, G Kotoulas, D Bertotto, A Libertini, and FA Volckaert. 2005. A microsatellite linkage map of the European sea bass *Dicentrarchus labrax* L. Genetics, 170, pp. 1821–1826.
- Chistiakov, D.A., Hellemans, B. and Volckaert, F.A.M., 2006. Microsatellites and their genomic distribution, evolution, function and applications: A review with special reference to fish genetics. Aquaculture, 255, 1–29.
- Çetinkaya, O., Şen, F., Elp, M., 2005. Balıklarda büyüme ve büyüme analizleri. Balık biyolojisi araştırma yöntemleri. Editör: Mehmet Karataş, Nobel yayın dağıtım, Ankara, 498 sayfa.
- Çırakoğlu, B., 2005. I. Tıbbi Biyolojik Bilimler Kongresi, IV. Tıbbi Biyolojik Bilimler Öğrenci Sempozyumu, I. Deney Hayvanları Araştırmaları Uygulama ve Etik Kursu, 57, 2, İstanbul.
- Cocolin, L., Dagaro E., Manzano M., Lanari D. and Comi G., 2000. Rapid PCR-RFLP Method for the Identification of Marine Fish Fillets (Seabass, Seabream, Umbrine and Dentex). Journal of Food Science., 65, 8.
- Coimbra MRM, K Kobayashi, S Koretsugu, O Hasegawa, E Ohara, A Ozaki, T Sakamoto, K Naruse, and N Okamoto. 2005. A genetic linkage map of the Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. Aquaculture, 220, pp. 203–218.
- Cook, D.I., Paquet, D., Kamonrat, W., Pitman, E.R., 2006. DNA extraction from fish blood. Manual on Application of Molecular Tools in Aquaculture and Inland Fisheries Management Part 2: Laboratory protocols and data analysis, 33-35 p., Edited by: Nguyen, T.T.T., Hurwood, D., Mather, P., Na-Nakorn, N, Kamonrat, W. and Bartley, D. NACA Monograph No. 2, 134p.
- Cornuet, J.M., Piry, S., Luikart, G., Estoup, A., Solignac, M. 1999a. New methods employing multilocus genotypes to select or exclude samples as origins of individuals, Genetics, 153(4), 1989-2000.

- Cornuet, J.M., Piry, S., Luikart, G., Estoup A., Solignac, M. 1999b. Comparison of methods employing multilocus genotypes to select or exclude populations as origins of individuals, *Genetics*, 144, 2001–2014.
- Crawford A.M., Cuthbertson R.P., 1996. Mutations in sheep microsatellites. *Genome Res.* 6, 876– 879.
- Cruz, P., Ibarra, A.M., Mejia-Ruiz, H., Gaffney, P.M., and Pérez-Enríquez, R., 2004. Genetic Variability Assessed by Microsatellites in a Breeding Program of Pacific White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Marine Biotechnology*, 6 (2), 157-164.
- Danzmann, R.G., Jackson, T.R., Ferguson, M.M., 1999. Epistasis in allelic expression at upper temperature tolerance QTL in rainbow trout. *Aquaculture* 173, 45–58.
- Devrim, A.K., Kaya, N. 2004. Genetik polimorfizm ve mikrosatelitler, *Kafkas Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, 10, 2, 215–220.
- Dilmeç, F., Matur A., Alhan E. ve Aksaray N., 1999. Çukurova Bölgesi Visseral Leishmania Etkenlerinde Total DNA Restriksiyon Endonükleaz Profilleri. *Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 24, 4, 158-164.
- Daniel, D., Heath, D.D., Pollard, S., and Herbinger, C., 2001. Genetic structure and relationships among steelhead trout (*Oncorhynchus mykiss*) populations in British Columbia. *Heredity* 86, 618-627.
- Dong, S., Kong, J., Meng, X., Zhang, Q., Zhang, T., Wang, R., 2008. Microsatellite DNA markers associated with resistance to WSSV in *Penaeus (Fenneropenaeus) chinensis*. *Aquaculture*, 282, 138-141.
- Dorak, M.T., 2009. Basic population genetics. <http://www.dorak.info/genetics/popgen.html> (30.09.2009)
- Dunham, R.A., 2004. *Aquaculture and Fisheries Biotechnology (Genetic Approaches)*. CABI Publishing, London.
- Edwards, D.J. 1987. *Salmon and Trout Farming in Norway*, Fishing News Books Lim., Surrey,
- Emre, Y., 2004. Alabalık Yetiştiriciliği. T.C Başbakanlık Güneydoğuanadolu Projesi Bölge Kalkınma İdaresi Başkanlığı, 17 sayfa.
- Erkoyuncu, İ., 1995. Balıkçılık Biyolojisi ve Populasyon Dinamiği. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Yayınları. No:95, 265 sayfa, Sinop.
- Estoup, A., Rousset, F., Michalakis, Y., Cornuet, J.M., Adriamanga, M., Guyomard, R., 1998. Comparative analysis of microsatellite and allozyme markers: a case study investigating microgeographic differentiation in brown trout (*Salmo trutta*). *Molecular Ecology*, 7, 339-353.
- 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, 479-491.
- Felsenstein, J., 1993. PHYLIP. Phylogeny inference package. Version 3.5c. department of Genetics, SK-50, University of Washington, Seattle, WA.
- Fishback, A.G., Danzmann, R.G., Ferguson, M.M., 2000. Microsatellite allelic heterogeneity among hatchery rainbow trout maturing in different seasons. *Journal of Fish Biology* 57, 1367–1380.
- Fjalestad, K.T., Moen, T. and Gomez-Raya, L., 2003. Prospects for genetic technology in salmon breeding programmes. *Aquaculture Research*, 34, 397–406.

- Fuji, K., Hasegawa, O., Honda, K., Kumasaka, K., Sakamoto, T., Okamoto, N., 2007. Marker-assisted breeding of a lymphocystis disease-resistant Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Aquaculture* 272, 291–295 pg.
- Gall, G.A.E. and Crandell, P.A. 1990. The rainbow trout. *Aquaculture*. 100: 1-10.
- Garcia de Leon, F.J., Canonne, M., Quillet, E., Bonhomme, F. and Chatain, B., 1998. The application of the microsatellite markers to breeding programmes in the Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture*, 159, 303–316.
- Gharbi K, Gautier, A., Danzmann, R.G., Gharbi, S., Sakamoto, T., Hoyheim, B., Taggart, J.B., Cairney, M., Powell, R., Krieg, F., Okamoto, N., Ferguson, M.M., Holm, L.E. and Guyomard, R., 2006. 54 Marking Genomes A linkage map for brown trout (*Salmo trutta*): chromosome homeologies and comparative genome organization with other salmonid fish. *Genetics*, 172, 2405–2419.
- Giannini, R., Morgante, M., Vendramin, G.G., 1991. Allozyme variation in Italian Populations of *Picea abies* (L.) Karst. *Silvae Genetica* 40, 160-166.
- Gilbey J, E Verspoor, A McLay, D Houlihan. 2004. A microsatellite linkage map for Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Anim Genet*, 35, 98–105.
- Goldstein D.B. and Schlötterer C., 1998. *Microsatellites: Evolution and Application*, Oxford University Press, Oxford University Press, Oxford and Vienna.
- Hara, M. and Sekino, M., 2003. Efficient detection of parentage in a cultured Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* using microsatellite DNA markers. *Aquaculture*, 217, 107–114.
- Hauser, L. Seamons, T.R., Dauer, M. Naish, K.A., and Quinn, T.P., 2006. An empirical verification of population assignment methods by marking and parentage data: hatchery and wild steelhead (*Oncorhynchus mykiss*) in Forks Creek, Washington, USA. *Molecular Ecology*, 15, 3157–3173.
- Herbinger, C.M., Doyle, R.W., Pitman, E.R., Paquet, D., Mesa, K.A., Morris, D.B., Wright, J.M., Cook, D., 1995. DNA fingerprint based analysis of paternal and maternal effects on offspring growth and survival in communally reared rainbow trout. *Aquaculture*, 137, 245–256.
- Hoelzel, A.R. 1998. *Molecular Genetic Analysis of Population*. 2nd Edition, 237–260, IRL Press, Oxford.
- Hubert S and D Hedgecock. 2004. Linkage maps of microsatellite DNA markers for the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *Genetics*, 168, 351–62.
- Hulata, G., 1995. A review of genetic improvement of the common carp (*Cyprinus carpio* L.) and other cyprinids by crossbreeding, hybridization and selection. *Aquaculture*, 129, 143–155.
- Jackson, T.R., Danzmann, R.G., Ferguson, M.M., Fishback, A.G., Ihssen, P.E., O'Connel, M., Crease, T.J., 1998. Identification of two QTL influencing upper temperature tolerance in three rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) half-sib families. *Heredity* 80, 143–151.
- Jackson, T.R., Martin-Robichaud, D.J. and Reith, M.E., 2003. Application of DNA markers to the management of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) broodstock. *Aquaculture*, 220, 245–259.
- Johnson, N.A, Rexroad III, C. E., Hallerman, E. M., Vallejo, R. L., Palti, Y., 2007. Development and evaluation of a new microsatellite multiplex system for parental allocation and management of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) broodstocks. *Aquaculture*, 266, 53–62.

- Kai, W., Kikuchi K., Fujita M., Suetake H., Fujiwara A., Yoshiura Y., Ototake M., Venkatesh B., Miyaki K. and Suzuki Y., 2005. A genetic linkage map for the tiger pufferfish, *Takifugu rubripes*. Genetics: Published Articles Ahead of Print, published on June 21.
- Kalendar, R., 2003. Fast PCR © 1998-2003 v.2.4 ©: PCR primer design program, repeats search, DNA and protein tools for Windows. Institute of Biotechnology.
- Karsi, A., Patterson, A., Feng, J., Liu, Z.J., 2002. Translational machinery of channel catfish: I. A transcriptomic approach to the analysis of 32 40S ribosomal protein genes and their expression. *Gene*, 291, 177–186.
- Khoo, S.K., Ozaki, A., Nakamura, F., Arakawa, T., Ichimoto, S., Nickolov, R., Sakamoto, T., Akutsu, T., Mochizuki, M., Denda, I., Okamoto, N., 2004. Identification of a novel chromosomal region associated with infectious hematopoietic necrosis (IHN) resistance in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Fish Pathology* 39, 95–101.
- Knapik, E.W., Goodman, A., Ekker, M., Chevrette, M., Delgado, J., Neuhauss, S., Shimoda, N., Driever, W., Fishman, M.C., Jacob, H.J., 1998. A microsatellite genetic linkage map for zebrafish (*Danio rerio*). *Nat. Genet.* 18, 338–343.
- Kocher, T.D., Lee, W.J., Sobolewska, H., Penman, D. and McAndrew, B., 1998. A Genetic Linkage Map of a Cichlid Fish, the Tilapia (*Oreochromis niloticus*), *Genetics*, 148, 1225–1232.
- Küçüktaş, H., 2005. Balıklarda virüs tayin teknikleri; Balık Biyolojisi Araştırma Yöntemleri. Editör: Mehmet Karataş. Nobel basımevi, 498, Ankara.
- Lee, B.Y., Lee, W.J., Streelman, J.T., Carleton, K.L., Howe, A.E., Hulata, G., Slettan, A., Stern, J.E., Terai, Y. and Kocher, T.D., 2005. A second-generation genetic linkage map of tilapia (*Oreochromis* spp.). *Genetics*, 170, 237–244.
- Lisby, G., 1999. Application of nucleic acid amplification in clinical microbiology: *Mol Biotechnol*, 12 (1), 75-99.
- Litt, M. and Luty, J.A., 1989. A hypervariable microsatellite revealed by in vitro amplification of dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene. *Am. J. Hum. Genet.* 44, 397–401.
- Liu, Z., 2007. Microsatellite Markers and Assessment of Marker Utility (Chapter 5) 43-58 pg. *Aquaculture Genome Technologies*, 551 pg. Blackwell Publishing Professional 2121 State Avenue, Ames, Iowa 50014, USA.
- Liu, Z.J. and Cordesb, J.F., 2004. DNA marker technologies and their applications in aquaculture genetics. *Aquaculture*, 238, 1 –37.
- McConnell, S.K., Beynon, C., Leamon, J. and Skibinski, D.O., 2000. Microsatellite marker based genetic linkage maps of *Oreochromis aureus* and *O. niloticus* (Cichlidae): extensive linkage group segment homologies revealed. *Anim Genet*, 31, 214–218.
- Moen, T., Hoyheim, B., Munck, H. and Gomez-Raya, L., 2004. A linkage map of Atlantic salmon (*Salmo salar*) reveals an uncommonly large difference in recombination rate between the sexes. *Anim Genet*, 35, 81–92.
- Montaldo, H.H. and Meza-Herrera, C.A., 1998. Use of molecular markers and major genes in the genetic improvement of livestock. *EJB Electronic Journal of Biotechnology*, 1 (2), 7.
- Mullis, K.B. and Faloona F.A., 1987. Spesific synthesis of DNA *in vitro* via a polymerasecatalysed chain reaction. *Methods Enzymol.*, 155, 355-350.

- Nakamura, K., Ozaki, A., Akutsu, T., Iwai, K., Sakamoto, T., Yoshizaki, G., Okamoto, N., 2001. Genetic mapping of the dominant albino locus in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Molecular Genetics and Genomics* 265, 687–693.
- Naruse, K., Fukamachi, S., Mitani, H., Kondo, M., Matsuoka, T., Kondo, S., Hanamura, N., Morita, Y., Hasegawa, K., Nishigaki, R., Shimada, A., Wada, H., Kusakabe, T., Suzuki, N., Kinoshita, M., Kanamori, A., Terado, T., Kimura, H., Nonaka, M. and Shima, A., 2000. A detailed linkage map of Medaka, *Oryzias latipes*: comparative genomics and genome evolution. *Genetics*, 154, 1773–1784.
- Nelson, K. and Soule M., 1987. Genetical conservation of exploited fishes. *Population Genetics and Fishery Management*, Ryman, N. and F. Utter (eds.). University of Washington Press, 420, Seattle.
- Nei, M., 1972. Genetic distance between populations. *American Naturalist*, 106: 283–292.
- Nei, M., Tajima F. and Tateno, Y., 1983. Accuracy of Estimated Phylogenetic Trees from Molecular Data. II. Gene frequency data. *J. Mol. Evol.*, 19:153–170.
- Nguyen, T.T.T., Hurwood, D., Mather, P., Na-Nakorn, N., Kamonrat, W. and Bartley, D. 2006. Manual on applications of molecular tools in aquaculture and inland fisheries management, Part 2: Laboratory protocols and data analysis. NACA Monograph No. 2, 134 p.
- Nichols, K.M., Young, W.P., Danzmann, R.G., Robison, B.D., Rexroad, C., Noakes, M., Phillips, R.B., Bentzen, P., Spies, I., Knudsen, K., Allendorf, F.W., Cunningham, B.M., Brunelli, J., Zhang, H., Ristow, S., Drew, R., Brown, K.H., Wheeler, P.A. and Thorgaard, G.H., 2003. A consolidated linkage map for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Anim Genet*, 34, 102–115.
- Nielsen, J.L., 1999a. The evolutionary history of steelhead (*Oncorhynchus mykiss*) along the US Pacific Coast: Developing a conservation strategy using genetic diversity. *ICES Journal of Marine Science*, 56: 449–458.
- Nielsen, J.L., 1999b. The evolutionary history of steelhead (*Oncorhynchus mykiss*) along the US Pacific Coast: Developing a conservation strategy using genetic diversity. *ICES Journal of Marine Science*, 56: 449–458. Unpublished data.
- Nielsen, J.L., 1999c. The evolutionary history of steelhead (*Oncorhynchus mykiss*) along the US Pacific Coast: Developing a conservation strategy using genetic diversity. *ICES Journal of Marine Science*, 56: 449–458. Unpublished data.
- Nielsen, E.E., Hansen, M.M. and Loeschck, W., 1999. Genetic Variation in Time and Space: Microsatellite Analysis of Extinct and Extant Populations of Atlantic Salmon, *Evolution* 53 (1), 261–268.
- O'Connell, M. and Wright, J.M., 1997. Microsatellite DNA in fishes. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 7, 331–363.
- O'Connell, M., Danzmann, R.G., Cornuet, J.M., Wright, J.M., and Ferguson, M.M., 1997. Differentiation of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) populations in Lake Ontario and the evaluation of the stepwise mutation and infinite allele mutation models using microsatellite variability. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 54 (6), 1391–1399.
- Ohara, E., Nishimura, T., Nagakura, Y., Sakamoto, T., Mushiake, K. and Okamoto, N., 2005. Genetic linkage maps of two yellowtails (*Seriola quinqueradiata* and *Seriola lalandi*). *Aquaculture*, 244, 41–48.

- Ohno, S. and Atkin, N.B. 1966. Comparative DNA values and chromosome complements of eight species of fishes. *Chromosoma*, 18, 455-466.
- Oliviera, E.J., Padua, J.G., Zucchi, M.I., Vencovsky, R., Vieira, M.L.C., 2006. Origin, evolution and genome distribution of microsatellites. *Genetics and Molecular Biology*, 29, 2, 294-307.
- Ozaki, A., Sakamoto, T., Khoo, S., *et al.*, 2001. Quantitative trait loci (QTLs) associated with resistance susceptibility to infectious pancreatic necrosis virus (IPNV) in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Mol. Genet. Genomics* 265, 23–31.
- Özkan, E., 2005. Türkiye’de yetiştirilen yerli ve kültür sığır ırklarının genetik yapılarının mikrosatelitler ile incelenmesi. Doktora tezi, Trakya Üniv. Fen Bilimleri Enst., Tekirdağ.
- Page, R.D.M., 1993. Component: tree comparison software for Microsoft Windows, version 2.0. The Natural History Museum, London.
- Palti, Y., Fincman, R. and Rexroad III, C.E., 2002. Characterization of 38 polymorphic microsatellite markers for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Molecular Ecology Notes*, 2, 449–452.
- Partis, L. and Wells, R.J., 1996. Identification of fish species using random amplified polymorphic DNA (RAPD). *Molecular and Cellular Probes*, 10, 6, 435–441.
- Perry, G.M.L., Danzman, R.G., Ferguson, M.M., Gibson, J.P., 2001. Quantitative trait loci for upper thermal tolerance in outbred strains of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Heredity* 86, 333–341.
- Poteaux, C., Bonhomme, F. and Berrebi, P., 1999. Microsatellite polymorphism and genetic impact of restocking in Mediterranean brown trout (*Salmo trutta* L.). *Heredity*, 82, 645–653.
- Raymond, M. and Rousset, F., 1995. Genepop (Version.3.3): a population genetics software for exact tests and ecumenicism, *Journal of Heredity*, 86, 248–249.
- Rexroad III, C.E., Coleman, R.L., Martin, A.M., Hershberger, W.K. and Killefer, J., 2001. Thirty-five polymorphic microsatellite markers for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Animal Genetics*, 32, 316–331.
- Rexroad III, C.E., Coleman, R.L., Gustafson, A.L., Hershberger, W.K. and Killefer, J., 2002. Development of rainbow trout microsatellite markers from repeat enriched libraries. *Marine Biotechnology*, 3, 12–16.
- Ricker, W.E., 1975. Computation and Interpretation of Biological Statistics of Fish Populations. *Bull. Fish. Res. Can.*, 191, 382.
- Robison, B.D., Wheeler, P.A., Sundin, K., Sikka, P. and Thorgaard, G.H., 2001. Composite interval mapping reveals a major locus influencing embryonic development rate in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *J. Hered.* 92, 16–22.
- Rodriguez, F., Rexroad III, C.E. and Palti, Y., 2003. Characterization of twenty-four microsatellite markers for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Molecular Ecology Notes*, 3, 619–622.
- Rodriguez, M.F., Lapatra, S., Williams, S., Thomas, F. and May, B., 2004. Genetic markers associated with resistance to infectious hematopoietic necrosis in rainbow and steelhead trout (*Oncorhynchus mykiss*) backcrosses. *Aquaculture*, 241, 93-115.
- Saiki, R.K., Gelfand D.H., Stoffel S., Scharf S.J., Higuchi R., Horn G.T., Mullis K.B. and Erlich H.A., 1988. Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science*, 239, 487-491.

- Sakamoto, T., Danzmann, R.G., Gharbi, K., Howard, P., Ozaki, A., Khoo, S.K., Woram, R.A., Okamoto, N., Ferguson, M.M., Holm, L.E., Guyomard, R., and Hoyheim, B., 2000. A microsatellite linkage map of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) characterized by large sex-specific differences in recombination rates. *Genetics*, 155, 1331–1345.
- Sakamoto, T., Danzmann, R.G., Okamoto, N., Ferguson, M.M. and Ihssen, P.E., 1999. Linkage analysis of quantitative trait loci associated with spawning time in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 173, 33–43.
- Schweitzer, B. and Kingsmore S., 2001. Combining nucleic acid amplification and detection. *Curr Opin Biotechnol.*, 12 (1), 21-7.
- Sekino, M., Saitoh, K., Yamada, T., Kumagai, A., Hara, M. and Yamashita, Y., 2003. Microsatellite-based pedigree tracing in a Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* hatchery strain: implications for hatchery management related to stock enhancement program. *Aquaculture*, 221, 255–263.
- Shimoda, N., Knapik, E.W., Ziniti, J., Sim, C., Yamada, E., Kaplan, S., Jackson, D., de Sauvage, F., Jacob, H. and Fishman, M.C., 1999. Zebrafish genetic map with 2,000 microsatellite markers. *Genomics*, 58, 219–232.
- Siitonen, L. and Gall, G.A.E., 1989. Response to selection for early spawn data in rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *Aquaculture*, 78, 153–161.
- Spies, I.B., Brasier, D.J., O'reilly, P.T.L., Seamons, T.R. and Bentzen, P., 2005. Development and characterization of novel tetra-, tri-, and dinucleotide microsatellite markers in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Molecular Ecology Notes*, 5, 278–281.
- Stamova, B.S. and Chetelat, R.T., 2000. Inheritance and genetic mapping of cucumber mosaic virus resistance introgressed from *Lycopersicon chilense* into tomato. *Theor. Appl. Genet.*, 101, 527–537.
- Stevenson, J.P., 1984. Trout Farming Manual, Second Edition, Fishing News Books, Surrey.
- Sun, X. and Liang, L., 2004. A genetic linkage map of common carp (*Cyprinus carpio* L.) and mapping of a locus associated with cold tolerance. *Aquaculture*, 238, 165–172.
- Tanksley, S.D., 1993. Mapping polygenes. *Annu. Rev. Genet.*, 27, 205-233.
- Tao, W.J. and Boulding, E.G., 2003. Associations between single nucleotide polymorphisms in candidate genes and growth rate in Arctic charr (*Salvelinus alpinus* L.). *Heredity*, 91, 60–69.
- Tautz, D., 1989. Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers. *Nucleic Acids Res.* 17, 6463– 6471.
- Thoorgaard, N.D., 1983. Chromosomal differences among rainbow trout populations. *Copeia*, 650-662.
- Thorgaarda, G.H., Baileyb, G.S., Williamsb, D., Buhlerb, D.R., Kaattaric, S.L., Ristowd, S.S., Hansene, J.D. *et al.*, 2002. Status and opportunities for genomics research with rainbow trout. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B*, 133, 609–646.
- Togan, İ., Soysal, M.İ., Altunok, V., Özkan, E. ve Koban, E., 2003. Populasyon genetiği çalışmalarında kullanılan yeni istatistik yöntemler. GAP 3. Tarım Kongresi, 2-3 Ekim, Harran Üniv. Ziraat Fak., Şanlıurfa.

- Turner, P.C., McLennan, A.G., Bates, A.D. and White, M.R.H., 2004. Moleküler Biyoloji Önemli Notlar. Çeviri editörü Muhsin Konuk. Nobel Yayın Dağıtım, Yayın no: 613, 346 sayfa, Ankara.
- Vandeputte, M., 2003. Selective breeding of quantitative traits in the common carp (*Cyprinus carpio*): a review. Aquatic Living Resource, 16, 399–407.
- Waldbieser, G.C. and Wolters, W.R., 1999. Application of polymorphic microsatellite loci in a channel catfish, *Ictalurus punctatus*, breeding program. Journal of the World Aquaculture Society, 30, 256–262.
- Waldbieser, G.C., Bosworth, B.G., Nonneman, D.J. and Wolters, W.R., 2001. A microsatellite-based genetic linkage map for channel catfish, *Ictalurus punctatus*. Genetics, 158, 727–734.
- Walter, R.B., Rains, J.D., Russell, J.E., Guerra, T.M., Daniels, C., Johnston, D.A., Kumar, J., Wheeler, A., Kelnar, K., Khanolkar, V.A., Williams, E.L., Hornecker, J.L., Hollek, L., Mamerow, M.M., Pedroza, A. and Kazianis, S., 2004. A microsatellite genetic linkage map for *Xiphophorus*. Genetics, 168, 363–372.
- Watanabe, T., Fujita, H., Yamasaki, K., Seki, S. and Taniguchi, N., 2004. Preliminary study on linkage mapping based on microsatellite DNA and AFLP markers using homozygous clonal fish in ayu (*Plecoglossus altivelis*). Mar Biotechnol, 6, 327–334.
- Weber, J.L. and Wong, C., 1993. Mutation of human short tandem repeats. Hum. Mol. Genet. 2, 1123–1128.
- Wilson, A.J., McDonald, G., Moghadam, H.K., Herlinger, C.M. and Ferguson, M.M., 2003. Marker-assisted estimation of quantitative genetic parameters in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. Genetics Research, 81, 145–156.
- Wolfus, G.M., Garcia, D.K. and Alcivar-Warren, A., 1997. Application of the microsatellite technique for analyzing genetic diversity in shrimp breeding programs. Aquaculture, 152, 35–47.
- Woram, R.A., McGowan, C., Stout, J.A., Gharbi, K., Ferguson, M.M., Hoyheim, B., Davidson, E.A., Davidson, W.S., Rexroad, C. and Danzmann, R.G., 2004. A genetic linkage map for Arctic char (*Salvelinus alpinus*): evidence for higher recombination rates and segregation distortion in hybrid versus pure strain mapping parents. Genome, 47, 304–315.
- Wright, S., 1965. The interpretation of sample structure by F-statistics with special regard to systems of mating. Evolution, 19, 95–420.
- Yeşilyurt, A., 2007. Cinsiyet gelişim bozukluğu olan hastalarda SRY ve SF-1 gen çalışmaları. Uzmanlık tezi, Atatürk Üniv. Tıp Fak. Genetik A.B.D., Erzurum.
- Yıldırım, A. ve Kandemir, N., 2001. Genetik işaretleyiciler ve metotları, 334–363. In: S. Özcan, E. Gürel ve M. Babaoğlu (Derl.) Bitki Biyoteknolojisi, Selçuk Üniversitesi Vakfı Yayınları, Konya, 456 s.
- Young, W.P., Wheeler, P.A., Coryell, V.H., Keim, P. and Thorgaard, G.H., 1998. A detailed linkage map of rainbow trout produced using doubled haploids. Genetics 148, 839–850.
- Yu, Z. and Guo, X., 2003. Genetic linkage map of the eastern oyster *Crassostrea virginica* Gmelin. Biol Bull, 204, 327–338.
- Zimmermana, A.M., Wheelerb, P.A., Ristowc, S.S. and Thorgaard, G.H., 2005. Composite interval mapping reveals three QTL associated with pyloric caeca

number in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Aquaculture, 247, 1-4, 85-95
pg.

ÖZGEÇMİŞ

1978 yılında Erzurum’da doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Erzurum’da tamamladı. 1997 yılında girdiği Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Su Ürünleri Bölümü’nden 2001 yılında mezun oldu. 2001–2005 yılları arasında, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans öğrenimini tamamladı. 2005 yılından beri Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Anabilim Dalı’nda Doktora öğrenimine devam etmektedir.

Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsünde 2005 yılından beri Araştırma Görevlisi olarak görev yapmaktadır.