



T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**İÇ ANADOLU BÖLGESİNİN BAZI
GÖLLERİNDEN YAKALANAN
SAZANLARDA İNSÜLİN BENZERİ
BÜYÜME FAKTÖRÜ-I GENİ
(IGF-I/ *Eco91I*) POLİMORFİZMİ**

Ahmed Imad MOHAMMED MOHAMMED

YÜKSEK LİSANS

Zootečni Anabilim Dalı

Ağustos 2019
KONYA
Her Hakkı Saklıdır

TEZ KABUL VE ONAYI

Ahmed Imad MOHAMMED MOHAMMED tarafından hazırlanan “İç Anadolu Bölgesinin Bazı Göllerinden Yakalanan Sazanlarda İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü-I Geni (IGF-I/ *Eco91I*) Polimorfizmi” adlı tez çalışması 19/08/2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Zootekni Anabilim Dalı’nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

Başkan

Prof. Dr. İsmail KESKİN

Danışman

Doç. Dr. İbrahim AYTEKİN

Üye

Prof. Dr. Ufuk KARADAVUT

İmza



Yukarıdaki sonucu onaylarım.

Prof. Dr. Mustafa YILMAZ
FBE Müdürü

TEZ BİLDİRİMİ

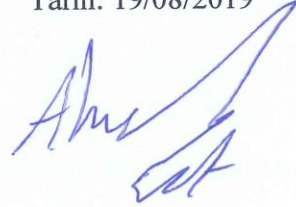
Bu tezdeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini ve tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

DECLARATION PAGE

I hereby declare that all information in this document has been obtained and presented in accordance with academic rules and ethical conduct. I also declare that, as required by these rules and conduct, I have fully cited and referenced all material and results that are not original to this work.

Ahmed İmad MOHAMMED MOHAMMED

Tarih: 19/08/2019



ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

İÇ ANADOLU BÖLGESİNİN BAZI GÖLLERİNDEN YAKALANAN SAZANLARDA İNSÜLİN BENZERİ BÜYÜME FAKTÖRÜ-I GENİ (IGF-I/ *Eco91I*) POLİMORFİZMİ

Ahmed İmad MOHAMMED MOHAMMED
Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Zootečni Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. İbrahim AYTEKİN

2019, 52 Sayfa

Jüri
Doç. Dr. İbrahim AYTEKİN
Prof. Dr. İsmail KESKİN
Prof. Dr. Ufuk KARADAVUT

Bu çalışma Türkiye'nin İç Anadolu Bölgesindeki bazı göllerinden yakalanan sazanlarda insülin benzeri büyüme faktörü-I geni (IGF-I/*Eco91I*) polimorfizmini belirlemek amacıyla yapılmıştır. Sazan örnekleri Türkiye'nin İç Anadolu Bölgesinde bulunan Konya ilinden Seydişehir ilçesindeki Suğla gölünden 12 adet, Ilgın ilesindeki Çavuşçu gölünden 4 adet, Aşağıçığıl gölünden 3 adet, Beyşehir ilçesindeki Beyşehir gölünden 2 adet, Karaman ilinden Gökçe baraj gölünden de 11 adet olmak üzere 32 adet yerli sazan (*Cyprinus carpio*) ve Çumra ilçesindeki Apa baraj gölünden de 23 adet Gümüşü havuz balığından (*Carassius gibelio*) elde edilmiştir. İnsülin benzeri büyüme faktörünün genotipleri Restriksiyon Fragman Uzunluk Polimorfizmi (RFLP) yöntemi kullanılarak 3759T> G bölgesinde belirtilen mutasyonda tanımlanmıştır.

Sonuç olarak, IGF-I geninin intron 2 bölgesindeki *BstEII* (*Eco91I*) polimorfizminin, hem yerli sazanlarda hem de Gümüşü havuz balıklarında genotipleme sonucu monomorfik olduğu bulunmuştur. Çalışmada yerli sazanların genotipinin TT, Gümüşü havuz balıklarının GG genotipine sahip olduğu tespit edilmiştir. IGF-I geninin allel ve genotip frekanslarını daha iyi anlamak için gelecekteki çalışmalarda çalışılan örnek sayısının artırılması gerekir.

Anahtar kelimeler: Sazan, IGF-I, *BstEII* , polimorfizm, moleküler markörler

ABSTRACT

MS THESIS

Insulin-Like Growth Factor-I (IGF-I/*Eco91I*) Gene Polymorphism in Common Carp Caught from Central Anatolia Lakes of Turkey

Ahmed Imad MOHAMMED MOHAMMED

**THE GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCE OF
SELÇUK UNIVERSITY**

THE DEGREE OF MASTER OF ANIMAL SCIENCE

Advisor: Assoc. Prof. Dr. İbrahim AYTEKİN

2019, 52 Pages

Jury

**Advisor Assoc. Prof. Dr. İbrahim AYTEKİN
Prof. Dr. İsmail KESKİN
Prof. Dr. Ufuk KARADAVUT**

This study was performed to determine the genotypes of insulin-like growth factor (IGF-I) of common carps grown and development in Inland Waters of Turkey's Central Anatolia Region. Carp samples (*Cyprinus carpio*) collected from a total of 32 carp in the Suğla Lake in Seydişehir, Çavuşçu and Aşağıçiğil Lakes in Ilgın and Beyşehir Lake in Beyşehir in Konya province and Gökçe Lake in Karaman province and 23 Silver gold fish (*Carassius gibelio*) from Apa dam lake in Çumra district of Karaman province of Turkey. Genotypes of insulin like growth factor was identified in specified mutation in the site 3759T > G by using restriction fragment length polymorphism (RFLP) method.

As a results, *BstEII* (*Eco91I*) polymorphism in the intron 2 region of IGF-I gene was found to be monomorphic as a result of genotyping in both domestic and Chinese carp. It was determined that domestic common carp had TT genotype and silver gold fish had GG genotype. In the future studies, the number of common carps should be increased to be studied in order to better understand the allele and genotype frequencies of IGF-I gene.

Keywords: Common carp, IGF-I, *BstEII*, polymorfizm, molecular markers

ÖNSÖZ

Bu çalışmada bana bilgi, birikim ve tecrübeleriyle her türlü desteği sağlayan değerli danışman hocam Doç. Dr. İbrahim AYTEKİN'e, Prof. Dr. Uğur ZÜLKADİR'e ve Dr. Mervan BAYRAKTAR'a şükranlarımı bir borç bilirim.

Çalışmamda bana maddi ve manevi destekleri ile her zaman yanımda olan babam İmad MOHAMMED'e ve amcam Hashim MOHAMMED'e, sevgili anneme ile tüm aileme ve arkadaşlarıma sonsuz şükranlarımı sunarım.

Ahmed İmad MOHAMMED MOHAMMED
KONYA- 2019

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iii
ABSTRACT.....	iv
ÖNSÖZ	v
İÇİNDEKİLER	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR	viii
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	4
2.1 . Moleküler Markör Sistemleri ve Balık Yetiştiriciliğinde Kullanımları.....	7
2.1.1. DNA Temelli Markörler	9
2.1.1.1. RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism - Restriksiyon Fragman Uzunluk Polimorfizmi).....	10
2.1.1.3 AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism-Çoğaltılmış parça uzunluğu polimorfizmi)	13
2.1.1.4 Mikrosatelit (Simple Sequence Repeats; SSR-Basit tekrar dizileri)	13
2.1.1.5 Minisatellit	14
2.1.1.6 ISSR (Basit Tekrarlı Diziler Arası Polimorfizm)	15
2.1.1.7 SSCP (Single-strand conformational polymorphism; Tek zincir konformasyon polimorfizmi).....	15
2.1.1.8. SNP (Single Nucleotide Polymorphism-Tek Nükleotit Polimorfizmi)	17
2.1.1.9. ARMS-PCR Yöntemi (Tetra-primer amplification refractory mutation system-polymerase chain reaction; ARMS-PCR)	17
2.1.1.10. AS-PCR (Allele-specific PCR - Allel Spesifik PCR; AS-PCR).....	18
2.1.1.11. Mitokondriyal DNA (Çekirdek Dışı Kalıtım)	18
2.1.2. Aday Gen Yaklaşımı.....	20
2.1.2.1 TLR, MyD88 ve TRAF6 genleri	20
2.1.2.2. Büyüme hormonu geni (GH)	21
2.1.2.3. Büyüme hormonu reseptör geni (GHR).....	22
2.1.2.4. Myostatin geni	23
2.1.2.5. IGF-I (insülin benzeri büyüme faktörü - I)	24
2.1.2.6. Leptin geni	26
2.1.2.7. ApoA-I	27
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	29
3.1 Hayvan Materyali	29
3.1.1. DNA izolasyonu	30
3.1.2. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) işlemleri	31
3.1.3 PCR ürünlerinin restriksiyon enzimleri ile kesilmesi ve agaroz jel elektroforezi	34
3.3 İstatistik analizler	34
4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA.....	35

4.1. Genomik DNA örneklerinin spektrofotometre sonuçları	35
4.2. IGF-I geni intron 2 bölgesi <i>BstEII</i> (<i>Eco91I</i>) polimorfizmi (1061 bç)	36
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	43
6. KAYNAKLAR	44
ÖZGEÇMİŞ	50



SİMGELER VE KISALTMALAR

TÜİK	Türkiye İstatistik Kurumu
FAO	Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Teşkilatı
MAS	Marköre dayalı seleksiyon
QTL	Kantitatif karakter lokusu
RFLP	Restriksiyon Fragman Uzunluk Polimorfizmi
SNP	Tek nükleotit değişimi
SSR	Basit Tekrar Dizileri
AFLP	ÇoğaltılmışFragmanUzunlukPolimorfizi
RAPD	Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA
PCR	Polimeraz zincir reaksiyonu
DNA	Deoksiribonükleik asit
cM	Santi morgan
µl	Mikro litre
ml	Mili litre
°C	Santigrat derece
M	Molar
mM	Mili molar
g	Gram
kg	Kilogram
nm	Nanometre
A	Adenin nükleotid
T	Timin nükleotid
G	Guanin nükleotid
C	Sitozin nükleotid
Kb	Kilo baz
bç	Baz çifti
dk	Dakika
sn	Saniye
TE	Tris-EDTA
EDTA	Ethylendinitrilotetraaceticacid
TBE	Tris-Borate-EDTA
U	Ünite (1 µg λ DNA kesimi için gerekli enzim miktarı)
cm	Santi metre
RNA	Ribonükleik asit
mRNA	Haberci RNA

1. GİRİŞ

Büyüme, gelişme, süt verimi ve döl verimi vb. gibi ekonomik özellikler ile ilişkili olduğu bilinen birçok aday gen bulunmaktadır. Söz konusu bu genler bakımından polimorfizmlerin varlığı ve üzerinde durulan verimler ile bunların ilişkileri dünyanın çeşitli yerlerinde yetiştirilmekte olan populasyonlarda araştırılmakta ve seleksiyonda kullanılmaları üzerine çalışmalar devam etmektedir.

Dünyada en çok üretilen ve yetiştiricilikte alabalıktan sonra en geniş dağılım alanına sahip tatlı su türü olan sazan ılıman iklim bölgelerinin ekonomik öneme sahip bir balık türüdür. Sazanın yüksek adaptasyon yeteneği onun yetiştiriciliğinin kolay yapılmasını sağlamakta ve çoğu ülkede hem istihdam hem de hayvansal protein kaynağı olarak insan yaşamında önemli bir yer tutmaktadır. Etçil-otçul beslenen sazanlar bitkisel proteinleri hayvansal proteinlere çevirerek insan beslenmesinde önemli bir dönüşüm sağlamaktadır. Türkiye sahip olduğu coğrafik konum ve sıcak su kaynakları ile sazan yetiştiriciliğinde birçok Avrupa ülkesine göre daha avantajlıdır (Gençer ve Doğankaya, 2019) .

Türkiye’de sazan yetiştiriciliği gerek insanların sazanı kılçıklı ve damak zevkine uygun olmaması nedeniyle tüketme alışkanlıklarının olmaması gerekse avcılık yoluyla olan üretimin ihtiyacı karşılaması yüzünden gelişmemiş ve dolayısıyla yıllar itibariyle sazana gerekli ilgi gösterilmemiştir. Bunun sonucu olarak yetiştiricilik yoluyla üretim miktarımız günümüze kadar düşüş eğilimine girmiş avcılık yoluyla piyasaya sazan arzı daha çok ön planda olmuştur.

Sazan yetiştiriciliğinde önceleri doğadan toplanan yavruların büyütülmesine dayanan sistem günümüzde tamamen insan kontrolünün altına girmiş olup, kontrolsüz, yarı ve tam kontrollü olmak üzere 3 farklı yöntemde yapılmaktadır. Balık beslemede büyüme gelişmenin takibinde vücut ölçüleri önemli bir yer tutmakla birlikte populasyon parametrelerinden kondüsyon faktörü hem canlı ağırlık hem de total boyu içerdiğinden önemli bir kriter olarak kullanılmaktadır. Dolayısıyla bu özellikler insan tüketimine uygun pazarlanabilir su ürünlerinde karar vermede kullanılmaktadır. Geleneksel üretim sistemlerinin yanında son yıllarda diğer çiftlik hayvanlarında olduğu gibi moleküler markör metotlarının balık yetiştiriciliğinde kullanımları da artmaktadır. Ancak bunların kullanımları diğer çiftlik hayvanlarına kıyasla nispeten daha azdır. Bu metotlar genetik materyalde meydana gelen varyasyonlar üzerinde durmakta ve bu varyasyonların temel kaynağı mutasyon olup, DNA’daki yer değiştirmeler, ters dönmeler, parça eksilmeleri

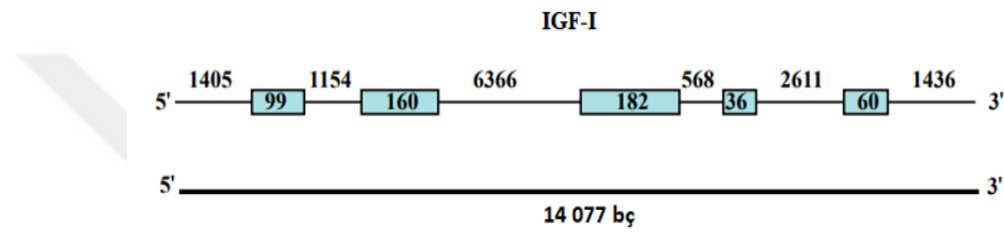
ve yerleşmeleri gibi nedenler ile meydana gelen polimorfizm aynı çevre şartlarında bulundurulmuş bireylerde fenotipik varyasyonun kaynağını oluşturmaktadır. Mutasyona ilave olarak şans, seleksiyon ve göç gibi nedenler de popülasyonun sahip olduğu allel ve genotip frekanslarını değiştirerek popülasyonu genetik dengeden uzaklaştırabilir. Moleküler çalışmalarda cinsiyet farkı gözetmeksizin yaşamın erken dönemlerinde ekonomik değere sahip olan özelliklerin DNA analizlerinin gerçekleştirilebilir olması bu sistemlerin dolaylı seleksiyon kriteri olarak kullanımlarını sağlamaktadır. Marköre dayalı seleksiyonun dolaylı seleksiyon kriteri olarak kullanılmasının diğer bir temel dayanağı seleksiyonu düşünülen özellikle markör sistemleri ile elde edilen varyantlar arasında yüksek bir genetik bağlantının (linkage) varlığıdır. Çiftlik hayvanlarında popülasyonların genetik yapısının DNA düzeyinde belirlenmesi ve ıslah çalışmalarında marköre dayalı seleksiyon (MAS) çalışmaları için moleküler teknikler kullanılmaktadır (Aytekin, 2011).

Büyüme, çok çeşitli nöroendokrin yollarının düzenlenmiş koordinasyonunu içeren karmaşık bir süreçtir. Bu metabolik süreçte aracı metabolizmayı ve hücre proliferasyonunu düzenleyerek leptin ve insülin benzeri büyüme faktörleri (IGF) ve reseptörleri gibi bazı genler ve reseptörleri temel rol oynarlar.

Büyüme hormonu (GH), insülin benzeri büyüme faktörleri (IGF-I ve -II) ve bunların bağlanma proteinleri ve reseptörlerini içeren somatotropik aks, çiftlik hayvanlarında ve balıklarda büyüme ve gelişmenin düzenlenmesinde merkezi bir rol oynadığı bilinmektedir (Buyse ve Decuypere, 1999). İnsülin benzeri büyüme faktörü-I (IGF-I) insüline benzer moleküler yapı gösteren bir polipeptittir. Bu gendeki polimorfizm dolaşımdaki IGF-1 konsantrasyonu, büyüme özellikleri (Ge ve ark., 2001; Yılmaz ve ark., 2005) ve birçok hormonun düzenlenmesinde önemli rol oynar (He ve ark., 2012).

İnsanlarda IGF-I promotor bölgesinde bir sitozin-adenosin (CA) tekrar dizisi polimorfizmi, IGF-I üretimini etkileyerek tip 2 diyabet, kemik mineral yoğunluğu, kalp krizi (miyokard enfarktüsü; kalp kasının bir bölümünün o bölgeye yetersiz kan akışından dolayı kalıcı hasara uğraması), düşük doğum ağırlığı ve meme kanseri üzerinde ilişkili olduğunu bildirmektedir (Feng ve ark., 2014). IGF-I özel hücrelerde büyümeyi uyaran ve lokal olarak etki gösteren, proinsüline ve amino asit dizilimleri birbirine benzeyen küçük polipeptitlerdir. Yapıları ve yaptıkları işler nedeniyle büyüme faktörleri grubu içerisinde yer alır. IGF'ler hem büyümeyi hem de metabolizmayı kontrol eden çok yönlü sistemlerin bileşenleridir. IGF'ler hücre metabolizması ve

büyümesi için gerekli, metabolik etkilere sahip peptitlerdir (Kulkarni ve ark., 2002). Florini ve ark. (1996)'nın bildirdiği üzere *IGF-I* hücre gelişimini ve farklılaşmayı düzenlemek için omurgalılarda etkileşime giren üç hormon, üç reseptör ve altı bağlayıcı protein içeren karmaşık bir ailedir (De-Santis ve Jerry, 2007). Kemikli balıklarda, *IGF-I* geni, yaklaşık 70 amino asitten oluşan bir peptidi kodladığı ve salmonidler hariç, tek bir kopya halinde olduğu bilinmektedir. *IGF-I* cDNA'sı, tilapia, shi tamburu, kara çipura ve sazan dahil olmak üzere birçok balık ta tamamlanmıştır ve kemikli balıklar arasında korunmaktadır (Wallis ve Devlin, 1993). Sazanlarda *IGF-1* geni 5 ekzon ve 6 introndan oluşmakta ve 14077 bp'den meydana gelmektedir (Genbank Accession Number: AF465830.1). Aşağıda sazanlardaki *IGF* geninin şematik gösterimi verilmiştir.



Şekil 1.1 Sazanlarda *IGF* geninin şematik gösterimi (Feng ve ark., 2014).

Son yıllarda küresel iklim değişikliğinin etkisi, kontrolsüz kaynak sularının tarımsal faaliyette kullanımı, kontrolsüz / kaçak avcılık ve göllere farklı balık tür ve suşlarının ilave edilmesi nedeniyle göllerde sazan varlığı giderek azalmakta ve populasyon tehlike altına girmektedir. Eğer önlem alınmaz ise gelecekte yerli sazan populasyonu kendi kolojik ortamlarında yok olma tehlikesi ile karşı karşıya kalacaktır. Bu bakımdan şimdiden mevcut sazan populasyonunun genetik yapısının belirlenmesi önem arz etmektedir. Bununla birlikte populasyonlarda yapıların tespit edilmesi durumunda ileride yapılacak kültür balıkçılığında seleksiyona yardımcı bilgileri ortaya koyacaktır. İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü-I (Insulin-Like Growth Factor-I / *IGF-1*) geni de çiftlik hayvanlarında ve su ürünlerinde marköre dayalı seleksiyonda kullanılan aday genlerden biridir.

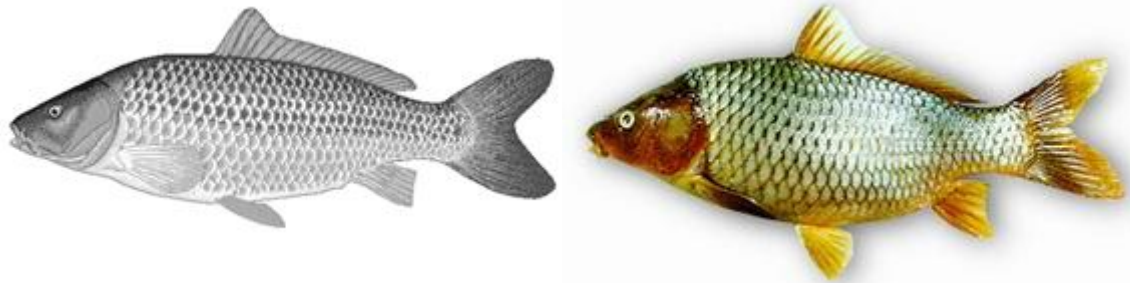
Mevcut çalışmada son yıllarda hemen hemen her alanda kullanılmaya başlanan moleküler markörlerden RFLP metodu kullanılarak, Türkiye iç sularında yetişen su ürünlerinden yerli sazanlarda (*Cyprinus carpio*; Linnaeus, 1758) ve Gümüşü havuz balıklarında (*Carassius gibelio*) insülin benzeri büyüme faktörü-I geni (Insulin-Like Growth Factor-I/*IGF-1*) intron 2 bölgesindeki *BstEII* (*Eco91I*) polimorfizminin belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

Balıklar insan beslemesinde çok öneme sahiptir. Sağlıklı beslenme uzmanları haftada 2 defa balık tüketilmesi gerektiğini önermektedirler. Omega 3, EPA, DHA yağ asitlerinin yanında fosfor, demir, kalsiyum, A-D-E-B12 gibi vücudumuz ve sağlığımız için gerekli bir çok vitamin ve mineralleri barındıran balık tam bir sağlık deposudur. Abdullah (2018) Gıda ve Tarım Örgütüne göre 2010 yılında insanların protein tüketiminin (% 23) balıktan geldiğini bildirmiştir.

Dünyada en çok üretilen ve yetiştiricilikte alabalıktan sonra en geniş dağılım alanına sahip tatlı su türü olan sazan ılıman iklim bölgelerinin ekonomik öneme sahip bir balık türüdür. Sazanın yüksek adaptasyon yeteneği onun yetiştiriciliğinin kolay yapılmasını sağlamakta ve çoğu ülkede hem istihdam hem de hayvansal protein kaynağı olarak insan yaşamında önemli bir yer tutmaktadır.

Ilıman iklim bölgelerinin ekonomik öneme sahip türü olan sazan (*Cyprinus carpio*; Linnaeus, 1758), taksonomik olarak balıklar sınıfı (Pisces), kemikli balıklar üst takımı (Teleostei), sazangiller familyasından (Cyprinidae), *Cyprinus* cinsinin *carpio* türüdür. Sazan sıcakkanlı ve genellikle pulla kaplı olup, yumurtayla üreyen bir balıktır (Şekil 2.1). Dünya’da ticari olarak avlanma ya da kültüre alınarak yetiştirildiği gibi ticari amaçla melezlenerek de sazan yetiştiriciliği (süs balığı) yapılmaktadır (Hulata, 1995). Hulata (1995)’ten bildirdiğine göre sazan yetiştiriciliğinin muhtemelen dünyanın en eski kültürlü ve en evcil balıkları olduğunu ve Çin’de yaklaşık 4000 yıl, Avrupa’da ise birkaç yüz yıl boyunca yetiştirildiklerini bildirmiştir.



Şekil 2.1. Sazan (*Cyprinus carpio*; Linnaeus, 1758)

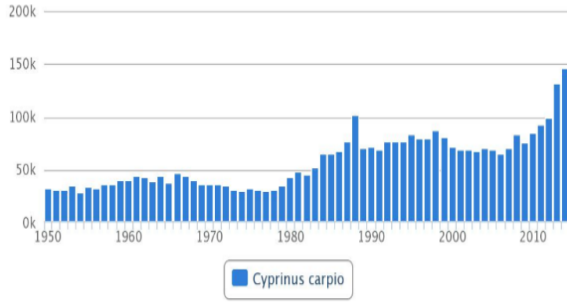
Sazanın anavatanı Anadolu'dan başlayarak Güney Japonya'ya kadar uzanan geniş bir alana yayılmıştır. Türkiye'nin bütün bölgelerinde bulunan ve içsu balıkları üretimimizin önemli bir kısmını oluşturan bir türdür. Türkiye'de bulunan sazan türü de *Cyprinus carpio*'dır (Atay, 1990). Yayılış alanına göre sazanın üç alt türü *Cyprinus carpio* (Adi sazan), Hazar havzası ve Aral bölgesinde, *Cyprinus carpio haematopterus* (Amur sazanı), Kuzey Çin ve Amur Havzasında ve *Cyprinus carpio viridiviolaceus* = *fossicola* (Vietnam sazanı), güney Çin ve Vietnam'da bulunmaktadır. Pulluluk durumuna göre sazanlar dört grupta incelenmekte olup, bunlar pullu, aynalı, çizgili ve çıplak (deri) sazan olarak isimlendirilmektedir (Alpbaz, 1984; Öztürk, 2015,). Sazan ekolojik ortamlarında yetiştiği gibi havuz şartlarında da yem alımı ve değerlendirmesi iyi olduğu gibi döl alınması da sorun olmamaktadır. Dünya'da sazan yetiştiriciliği polikültür, ağ kafeslerde, kapalı sistemde (endüstriyel) ve çeltik tavalarda olmak üzere yapılmaktadır (Atay ve Çelikkale, 1983). Şekil 2.2'de sazanın coğrafi yetiştirme alanı verilmiştir.



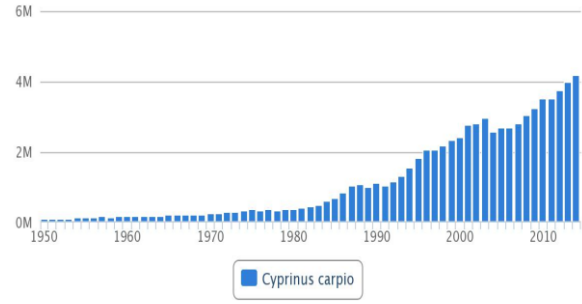
Şekil 2.2. Sazanın coğrafi yetiştirme alanı (FAO, 2018)

Çizelge 2.1. Dünyada avlanan ve yetiştirilen sazan miktarları (ton) (FAO, 2018).

Sazan (ton)	Yıllar								
	1990	1995	2000	2005	2010	2011	2012	2013	2014
Avlanan	70 687	82 354	71 315	69 014	83 924	91 976	99 060	131 619	145 566
Yetiştirilen	1 134 344	1 827 370	2 410 392	2 666 316	3 515 496	3 497 832	3 753 945	3 969 806	4 159 117



Şekil 2.3. Dünyada avlanan sazan miktarları (ton)



Şekil 2.4. Dünyada yetiştirilen sazan miktarları (ton)

Demir (1993)'in bildirdiğine göre Türkiye'de su ürünleri yetiştiriciliğinin son 30 yıllık geçmişine bakıldığında 1985 yılından önce su ürünleri yetiştiriciliğine dair istatistiklere girmiş bir veri bulunmamakla birlikte su ürünleri yetiştiriciliği çalışmaları 1960'lı yılların sonlarına doğru Sazan ve Gökkuşığı alabalığı ile başlamış 1980'li yılların ilk yarısından itibaren Çipura ve Levrek yetiştiriciliği çalışmaları ile devam ettiğini ve Özden ve ark. (2005)'in bildirdiğine göre ise son yıllarda ülkemiz iç sularında Alabalık, Sazan, Yılan Balığı, denizde ise Çipura, Levrek başta olmak üzere Orkinos, Kalkan Balığı, Lahoz, Karagöz, Sinagrit, Fangiri, Sivri burun gibi alternatif türlerin yetiştiricilik çalışmaların yapıldığı da bildirilmişlerdir (Şahinöz ve ark., 2017).

Türkiye'de sazan yetiştiriciliği gerek insanların sazanı tüketme alışkanlıklarının olmaması gerek avcılık yoluyla olan üretimin ihtiyacı karşılaması yüzünden gelişmemiştir. Devlet ve üniversiteler bünyesinde tam kontrollü olarak başarılı şekilde sazan üretim olsa da özel iştirakler sazana gerekli ilgiyi göstermemişlerdir. Bu yüzden yetiştiricilik yoluyla üretim miktarımız yıllardır aynı düzeyde kalmış (Gençer ve Doğankaya, 2019) hatta 2010 yılından itibaren düşüş eğilimine girmiştir.

Çizelge 2.2. Türkiye'de avlanan ve yetiştirilen sazan miktarları (ton) (TÜİK, 2018)

	Yıllar									
Sazan (ton)	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016
Avlanan	12286.0	11625.0	10964.0	12058.0	9 998.1	9 973.0	8 276.6	8 036.0	7 223.0	4 736.0
Yetiştirilen	600.0	629.0	591.0	403.0	207.0	222.0	145.5	157.0	206.0	196.0

Türkiye'de ekolojik ortamlarında yetişen sazan türü (*Cyprinus carpio*) yanında halk arasında Çin sazanı (çapak) olarak bilinen *Carassius gibelio* yani Gümüşü havuz balığı iç sularda zamanla yerli sazan popülasyonlarını tehdit etme noktasında

gelmiştir. Ekonomik olarak düşük bir değere sahip olan Gümüşü havuz balığı kılçıklı yapısı ile tüketici tarafından da tercih edilmemektedir.

2.1 . Moleküler Markör Sistemleri ve Balık Yetiştiriciliğinde Kullanımları

Moleküler markörler, varyasyonu DNA düzeyinde ölçen ve araştırılan genotiplerde istenen bir geni yada özelliği izlemek için kullanılabilen markörlerdir (Güleç ve ark., 2010). Başka bir ifade ile genomda herhangi bir gen bölgesi ya da gen bölgesi ile ilişkili DNA parçasıdır (Devran, 2016). Moleküler markörler tarımsal üretimde genotip tanımlama, ırk yada çeşit tescili, tip yada hatlarının tanımlanması veya saflık testleri, genetik çeşitliliğin belirlenmesi, gen kaynaklarının genetik kökeni, tarımsal performansın ve adaptasyon yeteneğinin tahmini (Güleç ve ark., 2010), kalıtsal hastalıklar direniş gibi bir çok alanlarda kullanılmaktadır. Moleküler markörler morfolojik markörler, protein markörleri ve DNA markörleri olmak üzere üç ana başlık altında toplanabilir (Saraçoğlu, 2007).

Doğal habitatlarında bulunan su ürünlerinde avlanma neticesinde veya kültüre alınan su ürünlerinde de zamanla popülasyonların küçülmeleri ve yetiştirme programlarındaki damızlık seçimine bağlı olarak genetik çeşitlilik azalabilir. Bu gibi durumlarda moleküler markörler gerek popülasyon içi yada popülasyonlar arası genetik çeşitliliğin tespiti gerekse arzulanan büyüme ve gelişmenin sağlanmasında oldukça yararlı olmaktadır.

DNA markörleri; gen veya genin bir parçası ya da genler arasındaki bir DNA dizilimi olarak tanımlanmakla birlikte kromozom üzerinde yer gösteren bir DNA parçası (markör, belirteç) olarak bilinir ve polimorfik bir yapıya sahiptirler (Aytekin, 2007).

Son yıllarda hızlı bir gelişim sürecine giren moleküler markör teknolojisi tıp ve tarım başta olmak üzere, su ürünlerinde de kullanımları artmaktadır. Balıkçılıkta moleküler genetik teknikleri 1950'li yıllarda başlamıştır. Yapılan ilk çalışmalar salomon ve ton balıklarında kan grubu farklılıkları üzerine olmuş ve popülasyon yapısını analizinde kullanılmak üzere genetik olarak kontrol edilen varyasyonların mevcudiyeti başarılı bir şekilde ortaya konulmuştur (Aksakal ve ark., 2008).

Moleküler markörlerin hayvan yetiştiriciliği ve genetiğinde oldukça geniş uygulama alanı olup, bunlar pratik kısa dönem ve uzun dönem olmak üzere ikiye ayrılabilirler (Mitra ve ark., 1999).

Pratik veya kısa dönemin uygulama alanları

- 1- Ebeveyn tayini.
- 2- Yavru cinsiyetinin belirlenmesi.
- 3- İkizlik ve olgunların tespiti.
- 4- Genetik uzaklığın tahmini.
- 5- Hastalık taşıyıcılarının belirlenmesi ve genetik hastalıkların kontrolü.

Uzun dönem uygulama alanları ise;

- 1-Genom haritalamanın oluşturulması.
- 2-Kanıtatif karakterler lokuslarının belirlenmesidir.

Balıkçılık ve su ürünleri yetiştiriciliğinde günümüze kadar çeşitli moleküler markörler ((protein veya DNA (mt-DNA veya nükleer DNA gibi mikrosatellitler, SNP veya RAPD gibi)) kullanılmaktadır. Bu markörler son zamanlarda kültür balıkçılığı uygulamasında önemi olan çeşitli bilimsel avantajlar sağlamaktadırlar (Chauhan ve Rajiv, 2010) Bunlar;

- 1-Türlerin tanımlanması.
- 2-Doğal populasyonlarda genetik varyasyon ve populasyon yapılarının belirlenmesi,
- 3-Yabani ve kuluçka populasyonları arasındaki karşılaştırma,
- 4-Doğal populasyonda demografik darboğazın değerlendirilmesi,
- 5-Yaygın yardımcı rehabilitasyon programlarının oluşturulması gibi katkılardır.

Günümüze kadar su ürünleri ve kültür balıkçılığında allozymes, mikrosatellitler, RAPD'ler, mt-DNA ve SNP'ler de dahil olmak üzere çeşitli tipte DNA markörleri geliştirilmiştir. Balıklarda bu markörler, balık genomu boyunca dağılmış yüksek genetik varyasyon seviyesi ortaya çıkarmıştır. DNA markör geliştirme çabalarını hızlandırmak için son zamanlarda genom haritalama ve tür tanımlaması gibi yeni bir girişimde bulunulmuştur. Çeşitli su ürünleri türlerinde ifade edilmiş Dizi Etiketleri (EST) ve DNA barkod geliştirmeye yönelik önemli ilerlemeler kaydedilmiştir (Chauhan ve Rajiv, 2010). Çizelge 2.3'te bazı balık ve kabuklu deniz canlılarında bazı moleküler markörler ile son yıllarda yayınlanmış bağlantı haritaları verilmiş olup, bunlar genel olarak mikrosatellit ve AFLP ile yapılan çalışmalardır (Martinez, 2007).

Çizelge 2.3. Balık ve kabuklu deniz canlılarında son yıllarda yayınlanmış bağlantı haritaları⁺

Türler	Marker sayısı	Markörler	Harita uzunluğu E/D	Erkek cM (Kosambi)	Dişi cM (Kosambi)	Kaynaklar
Atlantic Salmon	473 54 65	AFLP Mikrosatellit Mikrosatellit	8.26:1 3.92	103 np	901 Np	Moen ve ark., 2004a Gilbey ve ark., 2004
Gökkuşuğu alabalığı	226 973 4 72 29 12 5 38	Mikrosatellit AFLP Allozim VNTR Bilinen genler Minisatellit RAPDs SINE*	-	4 590		Nichols ve ark., 2003
İstiridye	115	Mikrosatellit	1.31:1	776	1 020	Houbert ve Hedgecock, 2004
Japon levreği	174	Mikrosatellit	1.6:1	567.4	905.9	Chistiakov ve ark., 2005
Japon Karidesi	195	AFLP		1 780	1 026	Li ve ark., 2003
Tilapia	525 21	Mikrosatellit Genes	1:1	1 300		Lee ve ark., 2005
Deniz Tarağı	503	AFLP	1.27:1	2 468	3 130	Wang ve ark., 2005
Sazan	110 105 57	Mikrosatellit Bilinen genler RAPDs	-	4 111		Sun ve Liang, 2004
Pisi Balığı	111 352	Mikrosatellit AFLP	7.4:1	741.1	670.4	Coimbra ve ark., 2003
Kanal Kedi Balığı	313	Mikrosatellit	3.18:1	1 958 ^B		Waldbieser ve ark., 2001

B: cinsiyet – ortalama; *kısa serpiştirilmiş elemanlar; np: yayınlanmamış ⁺Martinez (2007)

2.1.1. DNA Temelli Markörler

Farklı genotiplere ait DNA diziliş farklılığını çeşitli şekillerde ortaya koyan belirteçlere DNA markörleri (DNA belirleyicileri) adı verilmektedir. Günümüze kadar yoğun olarak DNA parmakizi analizinde kullanılan ve DNA'yı temel alan en önemli moleküler markörler; Restriksiyon Fragman Uzunluk Polimorfizmi (RFLP), Mikrosatellitler (Basit Tekrar Dizileri – SSR, ISSR, VNTR), Çoğaltılmış Fragman Uzunluk Polimorfizmi (AFLP) ve Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA (RAPD) metotlarıdır. Bu markörlerden; restriksiyon enzimleri ile kesim esasına dayalı çalışan RFLP belirleyicileri hibridizasyon tabanlı ve Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Polymerase Chain Reaction – PCR) tabanlı, diğerleri ise PCR yöntemine dayalı metodlardır. Devam eden bölümlerde bu yöntemler hakkında her bilgi verilmeye yapılmış çalışmalarda açıklanmıştır.

2.1.1.1. RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism - Restriksiyon Fragman Uzunluk Polimorfizmi)

Hibridizasyon tabanlı RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphisms) analizinde, dokulardan izole edilen genomik DNA'nın nükleik asit dizilişlerini tanıyan restriksiyon enzimlerince (*EcoRI*, *HindIII*, *ClaI* gibi) kesilmesi ile sonda olarak kullanılan DNA'nın melezlediği (hibridizasyon) DNA etrafındaki farklı kesim yerlerinin tespit edilmesi esasına dayanır. Genomik DNA'nın restriksiyon enzimlerince kesimi sonucunda oluşan DNA fragmentlerinin jel elektroforezinde molekül büyüklüklerine göre ayrışması sağlanır. Daha sonra DNA jel ortamından daha kullanışlı olan naylon filtrele/membranlara tek iplikçik halinde Southern transfer metoduyla transfer edilir. Filtreler bundan sonra çoğunlukla radyoaktif ³²P ile işaretlenmiş bir DNA sondası ile hibridize edilmekte ve görüntülenmektedir. Ancak; southern blot hibridizasyonu ve radyoaktiviteye ihtiyaç duyulduğundan bu yöntem pahalı olmakta, zaman ve işgücü gerektirmektedir (Yıldırım ve Kandemir, 2002).

PCR (Polimeraz zincir reaksiyonu; Polimerase Chain Reaction) tabanlı RFLP yönteminde genel olarak, özgün primer çiftleri ile hedeflenen DNA bölgeleri çoğaltılmakta, bu DNA bölgeleri arzu edilen restriksiyon enzimleri ile nükleotid tanıma sıralarından kesilerek DNA parçacıkları elde edilmekte ve bu DNA parçacıkları uygun konsantrasyondaki agaroz ya da poliakrilamid jellerinde moleküler büyüklüklerine göre ayrılmakta ve UV altında görüntülenmektedir. Böylece genetik farklılığa sebep olan her bir bireye özgü RFLP bant profilleri elde edilmektedir. RFLP metodunun farklı laboratuvar şartlarına göre otomasyona uygun olması, çeşitli çalışmalara transferlerinin yapılabilmesi ve kodominant özellikte olması avantajları arasındadır (Aytekin, 2011). Şekil 2.5'de RFLP analiz tekniğinin aşamaları gösterilmiştir.



Şekil 2.5. RFLP analiz tekniği aşamaları (Aytekin, 2011)

Chauhan ve Rajiv (2010), Tayvan'daki sazanğillere (Cyprinidae) giren farklı sazan türlerinin FINS (Forensically informative nucleotide sequencing; adli bilişsel nükleotid sekanslama) ve PCR-RFLP analizi ile tür tanımlanmasını araştırmak amacıyla 16 ticari sazanğil örneğini geleneksel pazarlardan elde etmişler ve yaptıkları çalışmada örneklerin 9'unun *Carassius auratus auratus*, *Cyprinus carpio carpio* veya *Ctenopharyngodon idella* olduğunu, diğer 6 örneğin ise sazanğillerden olmadığını bildirmişlerdir. Araştırmacılar işlenen 6 örneğin, monofilik bir balık grubu olan *Oreochromis spp.* (Tilapia; tatlı su çipurası) olduğunu ve sahte olarak sazan menşeli olarak etiketlenmiş işlenmiş ürünleri tanımlamak için bu metotların kullanılabileceğini ifade etmişlerdir.

2.1.1.2. RAPD (Randomly Amplified Polymorphic DNA- Rasgele çoğaltılmış DNA polimorfizmi)

İki ayrı araştırmacı grubu 1990 yılında özgül nükleotid dizisi bilgisine gereksinim olmadan polimorfizmin PCR yöntemi ile tek bir primer (markör, belirteç, işaretleyici) kullanılarak ortaya konabileceğini göstermişlerdir. Bu yöntem ile DNA düzeyindeki çeşitlilik diğer yöntemlere göre daha çabuk ve kolay bir şekilde ve yine daha ucuza saptanabilmektedir. PCR işlemine dayalı olan bu teknikle (Mullis, 1990), sentetik olarak oluşturulan rastgele nükleotid dizisine sahip primerler (9–10 bp uzunluğunda), genomik DNA'nın çeşitli bölgelerinin çoğaltımında kullanılmaktadır. Aynı PCR reaksiyonu esnasında her bir RAPD primeri farklı lokuslardan bir dizi DNA

bölgesini (1 ile 10 arası veya daha fazla) çoğaltma kapasitesine sahiptir. RAPD analizlerinde, yaygın olarak 10 bazlık uzunluğa sahip primerler kullanılmaktadır. Daha kısa veya uzun baz dizisine sahip primerleri düzenleyip kullanmak da olasıdır. Ancak primerin boyutunun uzun veya kısa olması genomda karşılık gelen bölge sayısını doğrudan etkilemektedir. Diğer yöntemlere göre ucuz olması, çabuk sonuç vermesi ve DNA baz dizisine yönelik ön bilgi gerektirmemesi gibi nedenlerden dolayı türlerin belirlenmesi, populasyon içi veya populasyonlar arası genetik benzerlik ve farklılıkların belirlenmesi için RAPD tekniği sıklıkla kullanılmıştır. Bunun yanında, ebeveyn testleri ve genetik kaynakların korunmasına yönelik strateji belirleme gibi amaçlar için de kullanılmaktadır. Yöntemin en büyük dezavantajları ise dominant kalıtım yolu izlemesi ve tekrarlanabilirliğinin düşük olmasıdır. RAPD yöntemi başlangıçta bitki ve mikroorganizmalara yönelik çalışmalarda yaygın olarak kullanılmasına karşın daha sonraki dönemlerde çiftlik hayvanı türlerine yönelik çalışmalarda da etkin bir şekilde kullanılmaya başlanmış (Binbaş, 2006), ancak günümüzde RAPD metodunun kullanımı çiftlik hayvanlarında pek tercih edilmemektedir.

Dong ve Zhou (1998), Xingguo kırmızı sazan, Alman aynalı sazan ve Rusya aynalı sazan popülasyonlarında populasyon içi ve populasyonlar arasındaki polimorfizmleri incelemek amacıyla PCR-RAPD yöntemini kullanarak üç populasyonda 199 DNA bandı elde etmiş ve bunların 155 tanesini polimorfik tespit etmişlerdir. Populasyonlar içindeki en yüksek genetik benzerlik değerini Alman aynalı sazanlarında bulurlarken, Xingguo kırmızı sazan ve Rusya aynalı sazan populasyonlarının ise genetik uzaklık bakımından en uzak olduğu tespit etmişlerdir. Araştırmacılar genetik varyasyonun Xingguo kırmızı sazan ve Rusya aynalı sazan populasyonlarında daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

Yoon (2001), PCR-RAPD yöntemini kullanarak, İsrail sazanı ile yerli sazan arasındaki genetik akrabalık derecesi araştırılmıştır. Normal sazanlarda toplam 294 polimorfik ürün bulunurken İsrail sazanlarında ise 336 polimorfik ürün gözlenmiştir. Yerli sazanlarda ortalama genetik benzerlik $0,44 \pm 0,05$ iken İsrailli sazanlarında $0,32 \pm 0,04$ tespit edilmiştir.

Akhan ve Canyurt (2005), RAPD-PCR yöntemi kullanarak üç farklı kuluçkahanedeki (Muğla-Fethiye, Burdur-Göhlisar, Denizli-Çameli) gökkuşağı alabalıkları (*Oncorhynchus mykiss Walbaum*, 1972) arasında genetik çeşitliliği belirlemek için 10 adet primer ile çalışmışlardır. Ancak populasyonlara göre değişmekle birlikte, kullanılan 10 primerden 2–3 primer değerlendirilebilir nitelikte bulunmuştur.

Çalışmada üç populasyonda hesaplanan populasyon içi genetik benzerlik değerleri Fethiye, Çameli ve Gölhisar için sırasıyla 0.429, 0.311, 0.348 gibi düşük seviyelerde tespit ettiklerini bildirmişler ve dendogogramda populasyonlar arasındaki ilişkiyi göstermişlerdir.

2.1.1.3 AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism-Çoğaltılmış parça uzunluğu polimorfizmi)

AFLP tekniği, Vos ve ark. (1995) tarafından geliştirilen multilokus bir hibrit markör (RFLP+PCR) tekniğidir. Genomik DNA'nın restriksiyon enzimi (*MseI* ve *EcoRI* gibi) yardımı ile kesimi sonucu meydana gelen DNA parçalarının bir kısmının PCR ile selektif çoğaltımına dayanan bir tekniktir. Diğer bir ifade ile AFLP tekniği RAPD tekniğinin dezavantajlarını gidermek üzere geliştirilmiştir.

Ebeveynler ve ıslah sonucu elde edilen bireylerin DNA'ları iki restriksiyon enzimi ile (4 baz ve 6 baz) kesilir ve DNA'nın kesilmesi sonucu oluşan DNA parçacıkları adaptörlerle birleştirme (ligasyon) yapılır. Ligasyon ürünleri birer baz ilave edilir, primerlerle PCR yapılır ve elde edilen PCR ürünleri 3 baz ilave edilmiş primerlerle seçici PCR tabi tutulur. PCR ürünleri poliakrilamid jelde yürütülerek oluşan polimorfizme göre sonuçlar değerlendirilir (Saraçoğlu, 2007)

Wang ve ark. (2000), Endonezya'daki üç farklı sazan stoklarında (Majalaya, Sinyonya ve Gynogens) genetik varyasyonu PCR-AFLP yöntemini kullanarak incelenmişlerdir. Primer kombinasyonları, E-AAC / M-CAA, E-AGG / M-CAC ve E-ACC / M-CTT kullanarak % 66.2'sinin polimorfik olduğu tespit edilmiştir. Araştırmacılar majalaya ırkında maksimum polimorfizm bulunurken, Gynogens ırkında ise polimorfimin en az olduğunu bildirmişlerdir.

2.1.1.4 Mikrosatelit (Simple Sequence Repeats; SSR-Basit tekrar dizileri)

Mikrosatelitler (SSR), ökaryotik genomlar boyunca ardışık olarak tekrarlanmakta olan 2-6 sayıdaki nükleotid veya nükleotid gruplarının tekrarlarından (CA)_n, (GC)_n, (GCC)_n, (ATT)_n, (ACAG)_n, (GCTAC)_n oluşmaktadır.

Bu yöntemde; ökaryotik genomların poliploidi düzeyine göre artış gösteren ve yüksek düzeyde polimorfizme yol açan, DNA tekrar dizilerinin ürettiği bantlar esas alınmaktadır. Dolayısıyla di-,tri-,tetra-, penta-nükleotid gruplarına mikrosatelit adı verilmekte ya da Basit Tekrar Dizileri (Simple Sequence Repeat; SSR) olarak

bilinmektedirler. Mikrosatelitler kodominant markörler olup temelde lokus-spesifiklerdir (Beuzen ve ark., 2000).

Populasyonu oluşturan bireyler arasında DNA dizilişindeki farklılıklar çoğunlukla genlerden değil, genlerin arasında bulunan ve kodlanamayan DNA dizilişlerindeki farklılıklardan kaynaklanır. Ökaryotik genomlarında yaygın olarak bulunan bu bölgelerdeki dizi tekrarı sayılarının farklılığı genotipler arasındaki varyasyonun da ortaya konulmasını sağlar. Mikrosatelitlerin göstermiş oldukları yüksek düzeydeki polimorfizmin nedeni, çoğu mikrosatelit lokusunun, her bir lokus başına, her bir gamet için, bir generasyonda görülen 10^{-2} 'den 10^{-6} 'ya kadar (ortalama 5×10^{-4}) değişen oranlarındaki mutasyon sıklığıdır. Mikrosatelit lokuslarındaki mutasyonun DNA replikasyonu sürecinde meydana gelen tekrar ünitelerinin eklenip çıkarılmasıyla "iplik kayması hatalı eşlenmesi (slip-strand mispairing)" şeklinde gerçekleştiği düşünülmektedir. "Basit dizi tekrarları (SSR-Simple Sequence Repeats)", "Mikrosatelitler", "Basit ardışık tekrarlar (STR-Simple Tandem Repeats)" ya da "Değişken sayıda ardışık tekrarlar (VNTR-Variable Number of Tandem Repeats)" şeklinde ifade edilebilmektedirler. Mikrosatelitler, polimorfik DNA yapısının en önemli belirteçlerinden biridir (Mercan, 2010).

Estoup ve ark. (1998), 8 mikrosatellit makörü kullanarak kalkan ve gökkuşağı alabalıklarında % 95 doğrulukta ebeveyn tayinini yapmışlardır.

Desvignes ve ark. (2001), kültüre alınan damızlık sazanlarda (*Cyprinus carpio* L.) genetik çeşitliliği belirlemek amacıyla allozyim ve mikrosatellit olmak üzere iki tip markör kullanarak iki Fransız bölgesi (Dombes ve Forez) ve Çek Cumhuriyeti'nden yapay seleksiyondan kaynaklanan ve Vodnany Araştırma Merkezi'nde sürdürülen beş türdeki yaygın su kültüründen elde edilen altı suşun karşılaştırmalı analizini yapmışlar ve suşlar arasında önemli farklılıklar olduğunu bildirmişler.

2.1.1.5 Minisatellit

Genom boyunca mikrosatelitlere göre daha uzun bir çekirdek sekansın daha fazla sayıda tekrar ettiği dizileri oluşturan minisatellit adı da verilen Değişken Sayılı Ardarda Tekrarlar (Variable Number of Tandem Repeats; VNTR) da bulunmaktadır (Aytekin, 2006).

Minisatellitler genomda 4–20 kb büyüklüğü arasında değişen ve çoklu lokus problemleriyle hibridize olan markörlerdir. Tekrar ünitelerinin sayılarındaki varyasyon

nedenleri arasında eşit olmayan krossing-over veya gen dönüşleri (gene conversion) ana nedenler arasında görünmektedir. Minisatellit bölgelerindeki yüksek mutasyon oranları polimorfizm oranlarını artırmakta ve populasyonlardaki bireylerin çoklu lokus profillerini farklılaştırmaktadır. Minisatellitlerin temel avantajları yüksek polimorfizm ve tekrarlanabilirliktir. Benzer büyüklükte elde edilen DNA parçacıkları homolog olmama ihtimali ve band profillerinin lokuslar veya alleller açısından yorumlanamaması dezavantajları arasında sayılabilir (Filiz ve Koç, 2011).

2.1.1.6 ISSR (Basit Tekrarlı Diziler Arası Polimorfizm)

ISSR-PCR yöntemi, ökoryatik genomlarda tekrar eden 2 (AT)_n, 3 (GTA)_n, 4 (GACA)_n gibi nükleotid birimlerinin lokustan bağımsız olarak genom içerisinde rasgele dağılımlarını esas alan bir yöntemdir. Basit tekrar dizileri içeren (15-24 bç) primerlerdir. Bu primerler ile elde edilen PCR ürünleri SSR'lar arasında kalan bölgeleri amplifiye ederler. En önemli avantajı RAPD-PCR'da olduğu gibi herhangi bir ön bilgi gerektirmemesidir (Aytekin, 2007). Primerlerdeki GC oranının fazla olması bağlanma sıcaklığının yüksek olmasına yol açarken buna karşılık kararlı bağlanmayı sağlar ve bu nedenle her bir primerin DNA'ya bağlanma sıcaklığı içeriğindeki baz kompozisyonuna göre belirlenir. Çoğaltılmış ürünler genelde 200–2000 bç arası uzunluktadır (Filiz ve Koç, 2011).

ISSR dominant bir markördür (heterozigotları belirleyemez) ve dizi bilgisi gerekmeden primer dizaynı yapılabilmesi avantajlarından biridir. Yüksek polimorfizm ve üretkenlik göstermesi ISSR analizlerini genetik benzerlik, gen haritalama ve taksonomi çalışmalarında uygulanabilir kılmaktadır. Bu markör sisteminde de RAPD markör sisteminde olduğu gibi tekrarlanabilirliğinin düşük olması ve benzer büyüklükteki parçacıkların homolog olmaması dezavantajları arasında sayılabilir (Kol ve Lazebny, 2006).

2.1.1.7 SSCP (Single-strand conformational polymorphism; Tek zincir konformasyon polimorfizmi)

Tek zincir konformasyon polimorfizmi (SSCP), bir DNA dizisindeki (1000 baz çiftinden daha kısa) dizi varyantlarını ve mutasyonları (özellikle nokta mutasyonları) tespit etmede kullanılan moleküler bir markör sistemidir (Orita ve ark., 1989). SSCP analizi, geniş bir organizmada ve çok sayıda genomik varyant farklılıklarını belirlemede

yaygın olarak kullanılan bir tarama yöntemi olarak kabul edilir. Bu yöntemde PCR ürünleri denatüre edilir ve denatüre edici olmayan poliakrilamid jel elektroforezie uygulanır. Bu durumda DNA'nın tek zinciri nükleotid içeriğine bağlı olarak sulu ortamda yeni bir konformasyona sahip olmakta ve bu yeni konformasyon, esas olarak zincir içi baz çiftleşmelerine bağlı olarak oluşan ikincil yapıdır. Teorik olarak, dizideki herhangi bir baz değişikliği bu konformasyonda değişikliğe neden olabilecektir (Özkara, 2003). Kısaca ifade etmek gerekirse; PCR ile çoğaltılan bir genom bölgesi, uygun ısıda denatürasyona tabi tutularak mutasyon bölgesinde II. ve III. DNA konformasyonlarının oluşturulması esasına dayanmaktadır. Varyasyona bağlı olarak oluşan II. ve III. konformasyondaki DNA molekülleri jel elektroforezinde farklı bant profilleri oluşturarak varyantların tespitine olanak sağlamaktadır. Teknoloji olarak basit olmasına rağmen, her bir mutasyon için farklı ortamların oluşturulması gerekliliği, bu tekniğin uygulamasını kısıtlayan en önemli etkidir (Özşensoy ve Kurar, 2012).

Ward ve ark. (2005), diğer balık ve hayvan türlerinden orkinos ve bonito türlerini ayırt etmek amacıyla SSCP yöntemini kullanmış ve çeşitli balık türleri (Mavi ling, sazan) için iki ile dört adet güçlü tek iplikçikli DNA (single stranded – ssDNA) bandı elde ederken, morina, serpiştirilmiş köpek balığı türleri için zayıf ssDNA bantları, pisi balığı, ringa balığı için ise hiç bant elde etmediklerini bildirmişlerdir.

Roit ve Delves (2001), Büyük Doku Uyum Kompleksi (Major Histocompatibility Complex – MHC)'ni bağışıklık sisteminin canlının yapısında olanı ve olmayanı tanıması için gerekli olan “doku antijenlerini” kodlayan gen bölgesi olarak adlandırmıştır (İlhan, 2015.). MHC immünolojik ve immünolojik olmayan fonksiyonları olan genlerin bulunduğu bütün omurgalılarda bulunan bir bölgedir (Tizard, 2004).

Rakus ve ark. (2008), 5 ülkedeki (Polanya, Macaristan, İsrail, Ukrayna ve Almanya) sazan hatlarında CycA-DAB1 ve CycA-DAB2 MHC genleri polimorfizminin belirlemek için basit, yüksek hassasiyet ve düşük maliyetli olan SSCP yöntemini kullanmış ve Cyca-DAB1 geni için dört allel, Cyca-DAB2 için ise sadece bir allel bulduklarını bildirmişlerdir. Araştırmacılar *Aeromonas hydrophila* (Vibrionaceae familyasına ait, fakültatif anaerobik gram bir bakteri) ile muamele edilen sazanlarda (79 adet) Cyca-DAB2 geni taşımayan bireylerin deney sırasında daha yüksek kümülatif mortalite ve daha düşük bakteriyel aglütinasyon titreleri gösterdiğini, ayrıca SSCP yönteminin sazanlarda spesifik patojenlere karşı dirençli farklı MH sınıf II B genotipleri / alellerinin korelasyonlarını incelemek için kullanılabileceğini önermişlerdir.

2.1.1.8. SNP (Single Nucleotide Polymorphism-Tek Nükleotit Polimorfizmi)

DNA sekansında bir nükleotidin diğer bir nükleotidin yerine geçmesinden veya bir veya birkaç nükleotidin silinmesi ya da eklenmesinden dolayı DNA zincirindeki nükleotid (A, T, G veya C) farklılığından kaynaklanabilir. Kısaca genomun herhangi bir bölgesindeki tek nükleotid dizilim farklılıkları SNP olarak adlandırılmaktadır.

Ökaryotik genomlardaki genetik varyasyon olarak en bol miktarda bulunan SNP'ler sadece bitkilerde değil hayvanlarda da bazı fenotipler ile ilişkili olduğu kanıtlanmıştır (Wan ve ark., 2013). Özellikle bazı SNP'ler kodlama bölgelerinde meydana geldiği proteinin fonksiyonunu doğrudan etkilerler. Bu SNP'ler önemli özelliklerde bireyler arasındaki varyasyonun bazılarında doğrudan sorumlu olabilmektedirler. Ayrıca SNP'ler DNA sıralarına ilişkin ön bilgiye gereksinim duymakta ve kodominant özellikte bir marker tekniği olup, SNP bilgilerine GenBank, PubMed, Genome Sequence NCBI ve Ensembl gibi veri tabanlarından ulaşılabilmektedir. Geliştirilen yeni moleküler biyoloji teknikleri (mikrodizi, gerçek zamanlı PCR) ile çok sayıda SNP'nin analizi daha hızlı ve ekonomik olarak yapılabilmektedir. SNP'ler genetik çeşitlilik, populasyon yapısı, kantitatif özellik lokusları (QTL), marköre dayalı seleksiyon (MAS) çalışmalarında ve ailesel ilişkilerin araştırılmasında yaygın kullanılmaktadır (Özşensoy ve Kurar, 2012).

2.1.1.9. ARMS-PCR Yöntemi (Tetra-primer amplification refractory mutation system–polymerase chain reaction; ARMS–PCR)

Tek nükleotid polimorfizmlerinin belirlenmesi için basit, ekonomik ve etkili olan bu yöntemde geleneksel PCR işleminden farklı olarak iki yerine dört farklı primer aynı anda kullanılarak PCR işlemi ve takibinde jel elektroforezi yapılmaktadır. Sonuçta hedef bantların jel üzerindeki varlığı ve yokluğuna göre kesim enzimi kullanmadan genotiplendirme yapılabilmeyi sağlamaktadır.

ARMS-PCR yöntemindeki sekansa özgü primerler eş zamanlı olarak tek tüp içerisinde iki iç ile iki dış primerin kullanılmakta olup, dış primerler ile SNP'in de bulunduğu tüm bölge çoğaltılır. Her iç primer ve bir adet dış primer ile normal ve mutasyona uğramış allel bölgeleri çoğaltılır. Bu yöntem dolayısıyla kodominant bir marker yöntemi olup, hem PCR-RFLP yöntemindeki gibi enzim gereksinimi hem de

kesim işlemi için ilave bir süreye ihtiyaç duyulmamaktadır. Ancak ARMS-PCR işleminde PCR optimizasyonu zor ve zaman alıcıdır (Little, 1995).

2.1.1.10. AS-PCR (Allele-specific PCR - Allel Spesifik PCR; AS-PCR)

Tek nükleotid polimorfizmlerinin belirlenmesi için kullanılan diğer bir yöntem olan AS-PCR yönteminde de ARMS-PCR yönteminde olduğu gibi dört primer kullanılmakta ancak bu yöntemde hem mutant alleli hem de normal alleli tanıyan primerler aynı revers primer ile ayrı ayrı çoğaltılmaktadır. Diğer bir ifadeyle aynı revers primer ile ayrı tüplerde normal primer ve mutant primer kullanılarak PCR işlemi yapılmaktadır. Kısaca ifade etmek gerekirse AS-PCR yönteminde iki primer ile iki PCR işlemi uygulanmakta ve bu ARMS-PCR yöntemine göre hem iş gücü hem de zaman kaybına neden olmaktadır (Ugozzoli ve Wallace, 1991; Ghanem ve ark., 2008).

Ot sazanlarında (*Ctenopharyngodon idella*) ot sazan reovirüsüne (Grass carp reovirus; GCRV) direnç / duyarlılık ile önemli ölçüde ilişkili olan TLR3 (Heng ve ark., 2011), MX2 (Wang ve ark., 2011), MDA5 (Wang ve ark., 2012), TLR22 (Su ve ark., 2012) ve RIG-I (Wan ve ark., 2013) gibi bazı SNP'ler literatürde bildirilmektedir.

2.1.1.11. Mitokondriyal DNA (Çekirdek Dışı Kalıtım)

Ökaryotik canlıların sahip oldukları toplam genetik materyal, çekirdek içinde yer alan ve genomik DNA ya da çekirdek DNA (nDNA) olarak ifade edilen kromozomlara ilave olarak mitokondri (mtDNA) ve kloroplast (cpDNA) organellerinde yer alan DNA moleküllerinin tamamından meydana gelmektedir. Hayvan hücrelerinde sadece mitokondriyal DNA, bitki hücrelerinde ise hem mitokondriyal DNA ve hem de kloroplast DNA molekülleri ekstra kromozomal yapılar olarak bulunmaktadır. Sitoplazmik kalıtım materyalleri olarak da tanımlanan mtDNA ve cpDNA molekülleri anaya ait kalıtım modeline sahip olup, yumurtanın sitoplazması vasıtasıyla generasyonlar boyunca aktarılmaktadır. Mitokondri bulunduğu hücre bölündüğünde buna bağlı olarak kendi kendine çoğalabilen bir organeldir (Özdil, 2007).

Maternal kalıtım gösteren mitokondriyal DNA (mtDNA), hayvanlarda küçük, genellikle çift zincirli ve aerobik solunumu destekleyen genleri içeren halkasal yapıda bir DNA molekülüdür. mtDNA'nın markör olarak tercih edilmesinin nedenleri generasyonlar boyunca anaya ait kalıtım modelinin yumurtanın sitoplazması vasıtasıyla aktarılması ve yüksek mutasyon oranına (DNA ile karşılaştırıldığında) sahip olması gibi

temel özelliklerdir. Bir diğer önemli ve yaygın olarak kabul edilen özellikleri ise hayvan mtDNA özelliği klonal kalıtım göstermesi ve yeni kombinasyonların oluşmamasıdır. mtDNA, canlıların orjinleri, göç haritalarının çıkarılması, adli tıp, dejeneratif hastalıkların temelini belirlenmesi ve kanser çalışmalarında kullanılmaktadır (Rokas ve ark., 2003).

Başaran (2004)'ın bildirdiğine göre mtDNA'da gözlenen mutasyon oranı nDNA'ya göre daha hızlıdır. Bu durumun sebebi olarak, mtDNA'da meydana gelen mutasyonların nDNA'da meydana gelen mutasyonlardan yaklaşık 10–20 kat daha fazla olması ve mtDNA'nın tamir mekanizmasının bulunmaması olduğu gösterilmektedir. Sonuçta oluşan mutasyon oranı, mtDNA'nın baz diziliminde çok farklı varyasyonların oluşmasına yol açmaktadır (Özsensoy ve Kurar, 2012).

Froufe ve ark. (2002), Avrupa ve Asya sazan suşları mtDNA D-loop bölge dizilerine dayanarak, Avrupa sazan suşlarının haplotipleri bakımından Amur Nehri'nden oldukça farklı haplotiplerden oluşan sazan suşlarından dizi varyasyonlarından yoksun olduklarını bildirmişlerdir.

Thai ve ark. (2005)'in birleştirilmiş ATPase6/8 genleri ve D-loop bölge dizilerine dayanarak yaptıkları çalışmada, Avrupa sazanlarının Doğu ve Güney Doğu Asya sazanlarından genetik olarak farklı olduklarını bildirirler de, birkaç Doğu ve Güney Doğu Asya suşunu içeren bir kız kardeş soyundan geldiklerine ait bir pozisyonda olduklarını belirtmişlerdir.

Ward ve ark. (2005), Avustralya'dan toplamda 207 balık türünün mitokondriyal COI geninin DNA dizisi analizi ile yaptıkları filogenetik analizde ortalama tür içi K2P (Kimura iki parametre) uzaklığını % 0.39 olarak hesaplamışlar ve COI geninin barkodlanmasının balıklarda türlerin ve tür içi farklı populasyonların tanımlanmasında kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

Mabuchi ve ark. (2006), Japonya Biwa Gölü yabancı sazanların tam mitokondriyal DNA (mtDNA) sekansının önceden yayınlanmış Güney-Doğu Asya'dan (Vietnam ve Endonezya) ek suşlar dahil olmak üzere coğrafi olarak daha kapsamlı bir analiz sağlayan çeşitli suşlardan alınan çoklu gen bölgeleri dikkate alarak bir dizi mtDNA dizisi kullanılarak filogenetik durumlarını yeniden incelemişlerdir. Araştırmacılar üç veri seti (D-loop bölge dizileri, ATPaz6 ve 8 gen dizisi ve COII gen dizileri) ile bir japon balığı kullanılarak yapılan filogenetik analizlerden temel bir filogenetik dikotomi olduğunu, Avrasya (Japon süs koi dahil) suşları arasındaki filogenetik ilişkilerin güvenilir bir şekilde yeniden yapılandırılmadığını ve Japonya Biwa Gölü yabancı

sazanları ile Tayvan suşu arasındaki tüm mtDNA karşılaştırması ile ortaya çıkan mitokondriyal genom boyunca düşük seviyeli nükleotid ayrışmasının tek bir kodlama / kodlama bölgesinin yakın ilişkili “Avrasya arasında filogeniyi çözmek için yeterli bilgi sağlayamayacağını ifade etmişlerdir.

2.1.2. Aday Gen Yaklaşımı

Hayvan yetiştiriciliğinde mevcut yapının iyileştirilmesi veya en azından muhafazası damızlık seçimine bağlı olduğundan en üstün hayvanların seçilmesi ve bunların sürüdeki nispi miktarlarının artırılması gerekmektedir. Özellikle hayvancılıkta ekonomik öneme sahip, ölçülmesi pahalı ve güç olan kantitatif karakterlerde hayvanların fenotipine bakarak en iyi allelleri taşıyan genotiplerin belirlenmesi oldukça güçtür. Diğer bir ifadeyle hayvanların fenotipik değerleri her zaman genotipik değerlerini yansıtmamaktadır. Bu gibi durumlarda ilgili allelleri taşıyan bireyleri DNA markörleri ile belirlemek için son zamanlarda yoğun çalışmalar yapılmaktadır (Aytekin, 2011).

Aday gen yaklaşımları, kantitatif özellikleri etkileyen genlerin belirlenmesi ve haritalanmasını sağlayan bir yöntemdir. Aday bir gen, ilgili özelliğin fizyolojisini etkileyen biyolojik bir gen veya fonksiyonel bir gen ile bağlantılı gen olarak tanımlanabilir (Şahin, 2010) Aday gen yaklaşımında tek bir karakterin oluşumunda büyük etkiye sahip majör genlerdeki varyasyonların, karakterlerdeki varyasyonlardan sorumlu olabileceği düşünülmüştür. Birçok gen ve gen bölümü çok sayıda çiftlik hayvanında incelenerek karakterlerdeki varyasyonlarla ilişkilendirilmiştir (Özkan ve Yakan, 2017). Aday gen yaklaşımında çoğu durumda tüm genomun taranması yerine kantitatif özellik lokusları (Quantitative Trait Locus; QTL) arama yolu izlenir. Özellik üzerinde etkili olan genler tespit edildikten sonra, ilişki analizleri ya da bağlantı analizleri ile aday genlerin QTL olup olmadıkları belirlenir (Gürses ve Bayraktar, 2014). Günümüzde balıklarla ilgili birçok aday gen belirlenmeye çalışılmaktadır. Ancak diğer çiftlik hayvanlarına kıyasla daha az sayıda olup bunlardan bazılarının devam eden sayfalarda değinilecektir.

2.1.2.1 TLR, MyD88 ve TRAF6 genleri

Memelilerde doğuştan gelen bağışıklık sisteminin hücreleri patojenlerde mevcut olan belirli moleküler yapıları tespit etmek için bir dizi tanıma reseptörleri (PRR'ler) kullanarak patojenik moleküler yapıları tespit eder. Bağışıklık hücrelerini aktive eden

sinyal yollarını tetikleyen PRR'ler olarak işlev gören TLR, MyD88 ve TRAF6 genleri sazanlarda ölümcül bir hastalığa neden olan sirozinid herpesvirüs-3'e (CyHV-3) dayanıklı ortak sazan hatlarının ıslahı için moleküler araçlar geliştirmesinde kullanılmıştır.

Kongchum ve ark. (2011), yaptıkları çalışmada, sazanlarda (*Cyprinus carpio*) TLR9, MyD88 ve TRAF6 genlerinin moleküler klonlaması, karakterizasyonu ve ekspresyon analizini açıklamışlardır. Araştırmacılar, MyD88 ve TRAF6 proteinlerini kodlayan iki paralog lokus bulunmuştur. ccMyD88a 288-aa ve 284-aa peptidi kodlarken, ccTRAF6a ise 543-aa peptidi kodladığı öngörülmüştür. ccMyD88a ve ccMyD88b beş eksonu içerirken, TRAF6b altı ekson içerdiği görülmüştür. ccTLR9, ccMyD88 ve ccTRAF6'nın protein domenleri diğer omurgalılardakine benzediği tespit edilmiştir. ccTLR9, MyD88a ve TRAF6a transkriptlerinin mRNA ekspresyonunun dokular arasında değiştiği bildirilmiştir.

2.1.2.2. Büyüme hormonu geni (GH)

Büyüme hormonu (GH), hipofiz ön lobundaki eozinofilik hücrelerden salgılanan, protein yapısında bir hormondur. Hipofiz bezi çıkartılmış olan hayvanlarda büyümenin durduğunun ve dışardan GH verilmesi ile büyümenin devam ettiğinin tespit edilmesi ile büyüme hormonunun büyüme üzerinde esas görevi olduğu belirlenmiştir. Postnatal büyüme dışında hipofiz bezinden salınan büyüme hormonunun, vücutta kemik, kas, yağ dokusu üzerinde etki ederek; glikoz, protein, lipid metabolizmaları, azot ve mineral dengesi üzerinde de görevlere sahip olduğu belirlenmiştir. Büyüme hormonu sentez ve salınımı yaş, cinsiyet, fizyolojik kondisyona göre değiştiği bilinmektedir. Postnatal büyüme dışında hipofiz bezinden salınan büyüme hormonu, vücutta kemik, kas, yağ dokusu üzerinde etki göstererek glikoz, protein, lipid metabolizmaları, azot ve mineral dengesinin sağlanmasında da görev alır. Büyüme hormonunun laktasyon, meme gelişimi, üreme, et ve süt verim özellikleri üzerine etkisi olduğu görülmüştür. Bu yüzden başta sığır olmak üzere birçok ekonomik öneme sahip hayvanda büyüme hormonunun et ve süt verim özellikleri ile ilişkisi konusunda pek çok çalışma yapılmıştır. Büyüme hormonu seviyesinin hayvanın yaşına, cinsiyetine, fizyolojik durumuna bağlı olmakta ve bazen gün içerisinde bile değişiklik gösterebilmektedir. Bu nedenle hormon seviyelerinin ölçümüne göre yapılacak bir seleksiyon yanıltıcı olacağı için genellikle çalışmalar hormon özelliklerini belirleyen büyüme hormon geni üzerinde

yoğunlaşmıştır. Bu nedenle büyüme hormonu gen polimorfizmleri verim özellikleri açısından yapılacak olan seleksiyonlar için önemli bir ölçüt olabilecektir (Mete, 2016). Balıklarda büyüme hormonu büyümeyle ilişkili olduğu bir aday gen olarak kabul edilmiştir. Gh gen yapısı kemikli balıklar arasında korunmamıştır. Sazanlarda GH geni (beş ekzon ve dört introndan) oluşmaktadır. Balıkların GH geninin ekzon bölgelerinde büyüme ile ilişkili polimorfizmler çok az olup, polimorfizmler daha çok intron bölgelerinde rastlanmaktadır (Mete, 2016). Çizelge 2.4'te De-Santis ve Jerry (2007)'nin farklı literatürlerden bildirdiği kemikli balıklarda büyümeyi düzenleyen bazı aday genler ile ilgili bilgiler verilmiştir.

Çizelge 2.4. Kemikli balık ırklarında büyümeyi düzenleyen aday genler (De-Santis ve Jerry, 2007)

İrklar	Gen	erişim no	Fragmt uzunluğu	Polimorfizm türü	Polimorfik bölge	Büyüme ilişkisi
<i>Paralichthys Olivaces</i>	GH	D29737	2114	RFLP-Sau3AI	Intron	+
<i>Sparus aurata</i>	GH	AF195646	NA	Microsatellite	Intron	NA
<i>Salmo salar</i>	GH1	X61938	4712	RFLPs	Various	NA
<i>Sparus aurata</i>	GH	AY138985	1712	Microsatellite	5'UTR	+
<i>Lates calcarifer</i>	GH	U16816	NA	Microsatellite	Intron,	5'UTR NA
<i>Lates calcarifer</i>	IGF-II	AF007943	NA	Microsatellite	Intron	NA
<i>Oreochromis Mossambicus</i>	IGF-II	AF033802/4	NA	Microsatellite	5' and 3'UTR	NA
<i>Oreochromis Niloticus</i>	GH	M97765	NA	Microsatellite	Intron	NA
<i>Abramis brama</i>	GH	U21920	262	Heteroduplex <i>Hinf</i> I	Intron	NA
<i>Salmo salar Oncorhynchus</i>	GH-I	X61938	1825	RFLP-TaqI	Intron	+
<i>Kisutch Salvelinus</i>	GH2	U04931	NA	RFLP-HinfI	Intron	+(sex-linked)
<i>Alpinus Alburn</i>	GHRH	AY219414	792	RFLP-Tsp509I	Intron	9.4%
						(erken büyüme oranı)
<i>Alburnus</i>	GH	NA	NA	RFLP-AluI	Intron	NA
<i>Lates calcarifer</i>	PVALB-1	AY688374	263	Microsatellite	3'UTR	82%

2.1.2.3. Büyüme hormonu reseptör geni (GHR)

Büyüme hormonu, GHR yoluyla hedef hücreleri etkiler. GHR sitokin hematopoietin süper ailesinin üyesidir ve 24 amino asitten oluşan bir transmembran bölgesi içermektedir (Zhu ve ark., 2001). GHR geni memelilerde dokuz ekzon içerirken balıklarda ise bir ekzon içermektedir. Balıklarda GHR ile ilgili az sayıda çalışma olmasına rağmen, Atlantik somonunda GHR, insanlarda olduğu gibi benzer bir role sahip olduğu bildirilmektedir (Tao ve Boulding, 2003)

PCR-RFLP yöntemi kullanarak 253 sazan balığında GHR ile büyüme özelliği önemli ilişki bulunmuştur (De-Santis ve Jerry, 2007)

2.1.2.4. Myostatin geni

MSTN geni, iskelet kasının negatif bir düzenleyicisi olup, kas büyümesini düzenleyen ve çeşitli memeli türlerinde saptanan bir aday genidir. Kas gelişimi ve büyümesinin düzenlenmesindeki rolü nedeniyle MSTN, domuz, koyun, tavuk, tavşan gibi evcil hayvanlarda verim, büyüme ve performans için önemli bir aday gen olarak kabul edilmiştir (Sun ve ark., 2012).

MSTN geni çok sayıda balık türünde klonlanmış ve karakterize edilmiştir. MSTN gen sekansı, balıklar arasında oldukça korunmaktadır. Balıklarda MSTN geni üç ekzon (300-400 nükleotid) ve iki intron bölgesinden oluşmaktadır. Balıklarda MSTN geni % 85 oranla C- terminal bölgesi bakımından memelilerdeki ile aynıdır. MSTN geni memeli ve memeli olmayan omurgalılarda da aynı işlevi yapmaktadır. (McPherron ve ark., 1997; Yu ve ark., 2010), sazanlarda (*Cyprinus carpio* var. *jian*) MSTN geni ekzon 1 ve intron 2'de 2 SNP bulduklarını ve bu varyasyonların vücut özellikleri ile ortalama günlük canlı ağırlık kazaçları ile ilişkili olduklarını bildirmişlerdir.

Sun ve ark. (2012), 15 erkek ve 15 dişi sazanın çiftleşmesi ile ticari sazan populasyonunda (*Cyprinus carpio*) yaptıkları çalışmada ekson 3'teki iki SNP'nin, canlı ağırlık ve kondüsyon faktörü (K) ile önemli ölçüde ilişkili olduğunu ($P<0.05$) ve haplotip analizleri spnucunda H53H haplotipinin daha iyi bir büyüme performansı gösterdiğini bildirmişlerdir. Ayrıca araştırmacılar MSTN'deki bazı SNP'lerin büyüme özellikleri üzerinde olumlu etkileri olabileceğini ve MSTN'nin sazanlarda büyüme için bir aday gen olabileceğini ve marker destekli seleksiyonda kullanılabileceğini ifade etmişlerdir.

Elkatatny ve ark. (2016), Nil nehrinde 200 monoseks erkek Tilapia balıklarında büyüme ile Myostatin geni *BsmI*-ekzon 2 polimorfizmi arasındaki ilişkileri belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada, yüksek canlı ağırlıktaki balıklarda (311 ± 5.85 g) ve küçük canlı ağırlıktaki balıklarda (187.6 ± 2.33 g) allel (A, B) ve genotip frekanslarını (AA, AB ve BB) sırasıyla 0.4/0.6 ve 0.0/0.8/0.2 ile 0.05/0.95 ve 0.0/0.1/0.9 olarak tespit etmişlerdir ($P\leq0.05$). Araştırmacılar Tilapia balıklarında yüksek canlı ağırlık için Myostatin geninin marköre dayalı seleksiyon amacıyla kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

2.1.2.5. IGF-I (insülin benzeri büyüme faktörü - I)

Büyüme hormonu (GH), insülin benzeri büyüme faktörleri (IGF-I ve -II) ve bunların bağlanma proteinleri ve reseptörlerini içeren somatotropik aks, çiftlik hayvanlarında ve balıklarda büyüme ve gelişmenin düzenlenmesinde merkezi bir rol oynadığı bilinmektedir (Buyse ve Decuypere, 1999). İnsülin benzeri büyüme faktörü-I (IGF-I) insüline benzer moleküler yapı gösteren bir polipeptittir. Bu gendeki polimorfizm dolaşımdaki IGF-I konsantrasyonu, büyüme özellikleri (Ge ve ark., 2001; Yılmaz ve ark., 2005) ve bir çok hormonun düzenlenmesinde önemli rol oynar (He ve ark., 2012).

İnsanlarda IGF-I promoter bölgesinde bir sitozin-adenosin (CA) tekrar dizisi polimorfizmi, IGF-I üretimini etkileyerek tip 2 diyabet, kemik mineral yoğunluğu, kalp krizi (miyokard enfarktüsü; kalp kasının bir bölümünün o bölgeye yetersiz kan akışından dolayı kalıcı hasara uğraması), düşük doğum ağırlığı ve meme kanseri üzerinde ilişkili olduğunu bildirmektedir (Feng ve ark., 2014).

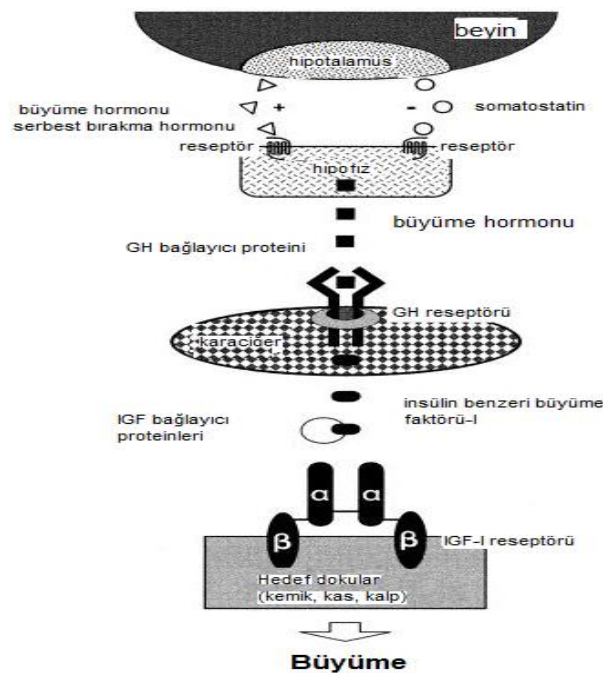
IGF-I özel hücrelerde büyümeyi uyaran ve lokal olarak etki gösteren, proinsüline ve amino asit dizilimleri birbirine benzeyen küçük polipeptitlerdir. Yapıları ve yaptıkları işler nedeniyle büyüme faktörleri grubu içerisinde yer alır. IGF'ler hem büyümeyi hem de metabolizmayı kontrol eden çok yönlü sistemlerin bileşenleridir. IGF'ler hücre metabolizması ve büyümesi için gerekli, metabolik etkilere sahip peptitlerdir (Kulkarni ve ark., 2002). Florini ve ark. (1996)'nın bildirdiği üzere IGF-I hücre gelişimini ve farklılaşmayı düzenlemek için omurgalılarda etkileşime giren üç hormon, üç reseptör ve altı bağlayıcı protein içeren karmaşık bir ailedir (De-Santis ve Jerry, 2007).

Kemikli balıklarda, IGF-I geni, yaklaşık 70 amino asitten oluşan bir peptidi kodladığı ve salmonidler hariç, tek bir kopya halinde olduğu bilinmektedir. IGF-I cDNA'sı, tilapia, shi tamburu, kara çipura ve sazan dahil olmak üzere birçok balık ırkında karakterize edilmiştir ve kemikli balıklar arasında korunmaktadır (Wallis ve Devlin, 1993).

Chen ve ark. (1998), Siyah gözlü çapak balıklarında IGF geni cDNA'nın klonlanması ve karakterizasyonu üzerine yaptıkları çalışmada geninin (IGF-I)'nin beslenme koşullarına, çevresel adaptasyona, embriyonik gelişmeye ve teleostlerin büyüme düzenine bağlı gibi görüldüğünü ifade etmişlerdir.

Margaret ve ark. (2002), Teleostlarda, GH-IGF ekseninin temel mekanizmasının aktif olduğu ancak farklı şekilde olduğu ve IGF-I-GH bağımlılığı sergilerken, IGF-II için bunun olmadığını ve GH bağımlılığının farklı balık türlerinde değişiklik gösterdiğini ifade etmişlerdir.

Omurgalılardaki büyüme sıcaklık, fotoperiyot ve besleme gibi çevresel faktörler ile genetik faktörlerin etkisi altındadır. Dış uyarıcılar ve iç fizyolojik koşullar beyinde işlenerek hipotalamus, hipofiz bezi ve periferik veya hedef organlar gibi endokrin organlara iletilir. Hipotalamus, antagonistik polipeptitler, büyüme hormonu serbest bırakma hormonu ve büyüme hormonu inhibe edici hormon veya somatostatin üretir. Hipofiz bezi, hipotalamik hormonlar tarafından düzenlenen bir büyüme hormonu (GH) üretir. GH, esas olarak karaciğerdeki hedef organlardaki reseptörlerine bağlanır ve IGF-I'in sentezini ve salımını düzenler. Sonuç olarak IGF-I, hücrelerde protein, lipid, karbonhidrat, mineral metabolizmasının düzenlenmesinde, hücrelerin farklılaşmasında ve çoğalmasında ve sonuçta vücut büyümesinde rol oynar. Diğer bir ifadeyle balıklarda büyüme başlıca GH, IGF-I ve IGF-II genleri, bu genlerin reseptörleri ve IGFBPs'lerin (Insulin-like growth factor-binding protein; insülin benzeri büyüme faktörü bağlayıcı proteinleri) mevcudiyeti tarafından kontrol edilir. IGF-I'in etkilerine IGF reseptörü aracılık etmekte olup, Şekil 2.6.'da büyümenin endokrin sistemde düzenlenmesi hakkında bilgi verilmiştir (Moriyama ve ark., 2000).



Şekil 2.6. Büyümenin endokrin sistemde düzenlenmesinin genel şeması (Moriyama ve ark., 2000)
[Transmembran reseptörü hipotalamik hormon, büyüme hormonu ve insülin benzeri büyüme faktörü-I

(IGF-I) etkisine aracılık eder. Büyüme hormonu ve IGF-I, spesifik bağlanma proteinlerine bağlı olarak kanda dolaşır.]

Mehrabi ve ark. (2015) , SSCP yöntemini kullanarak, sazanlarda kondisyon faktörü, vücut ağırlığı ve vücut uzunluğu ile IGFBP-3 geni polimorfizmi arasındaki ilişkileri araştırmışlardır. Çalışmada IGFBP-3'ün 5'-UTR bölgesine ait 330 bç'lik bir DNA fragmenti elde edilmiştir. SSCP genotipleme sonucu, A, B, C, D, E, F ve G frekanslarını 14.16, 12.5, 21.67, 9.17, 11.67, 10.0 ve 20.84 sırasıyla olmak üzere yedi farklı genotip saptanmıştır. Elde edilen sonuçlarda, incelenen lokusun 5'-UTR düzenleyici bölgesinin nispeten yüksek polimorfik olduğu gösterilmiştir. Bu nedenle sazanlardaki IGFBP-3 genin transkripsiyonunun düzenlenmesinde önemli olduğu bildirilmiştir. Çalışmada kondisyon faktörü ile IGFBP-3 geni arasında önemli ilişki bulunmuştur ($P<0.05$).

Feng ve ark. (2014), sazanlarda IGF-I polimorfizmlerini incelemek için dört ekzon ve kısmi intron bölgesinde toplam 4555 bp genomik sekansı incelemişlerdir. Araştırmacılar intron 2'de üç SNP (g.3759T> G, g.7627T> A ve g.7722T> C) ve ekzon 3'de nonsynonymous (amino asit ve genellikle proteini değiştiren mutasyonlar) SNP (g.7892C> T) tespit etmişlerdir. Çalışmada g.7627T>A polimorfimi sonucunda AA genotipli balıkların canlı ağırlık ve vücut uzunluğu bakımından TT genotiplilere nazaran % 5.9 oranında daha yüksek bir ortalamaya sahip oldukları bildirilmiştir ($P<0.01$).

2.1.2.6. Leptin geni

Leptin memelilerde canlı ağırlık, enerji tüketimi, yağ metabolizması, gıda alımı ve iştahın düzenlenmesi ile bağışıklık sistemini etkileyen pleiotropik etkili bir gen olup, özellikle adipoz dokudan sentezlenmektedir (Aytekin, 2011). Leptin geni adipoz dokudan başka plesanta, meme bezleri, iskelet kasları, gastrik mukoza, beyin ve hipofiz bezinden de sentezlenmektedir (Houseknecht ve ark., 1998). Balıklarda, leptin genleri üzerinde çok sayıda çalışma yapılmasına rağmen, leptinin işlevi belirsizliğini korumakta ve ilk olarak syntenic gen analizi kullanılarak kirpi balığı (*Takifugu rubripes*) için leptin tanımlanmıştır. Sonrasında leptin geni diğer teleost türlerinde klonlanmıştır (Tang ve ark., 2016). Leptin geni sazanlarda 36. kromozomda 5 ekzondan (LOC109110334) oluşan bir gendir.

Tang ve ark. (2016), Jian sazanlarında (*Cyprinus carpio* var. *Jian*) leptin geni ekzon bölgesindeki 3 polimorfizm (jlLEP-A1 (A1-T113C) ve jlLEP-A2 (A2-G415A

and A2-G427A) büyüme özellikleri arasındaki ilişkileri araştırmak amacıyla RFLP metodu kullanarak 363 dişi ve 294 erkek sazanda yaptıkları çalışmalarında genotip ve allel frekansları belirlenmiş (Çizelge 2.5) ve yaptıkları ilişki analizinde dişilerde sadece A1-T113C SNP bölgesinin ergenlik ve ergin yaştaki canlı ağırlık kazançları ile önemli ölçüde ilişkili olduğunu bildirirlerken ($P < 0.05$), erkeklerde A1-T113C polimorfizminin ergenlik canlı ağırlık artışı ile önemli bulunmadığını bildirmişlerdir ($P > 0.05$). Araştırmacılar ayrıca sadece jLEP-A2 SNP'leri dikkate alarak yaptıkları diplotip analizinde ise erkeklerde önemli ilişkinin tespit edildiğini bildirmişlerdir ($P < 0.05$).

Çizelge 2.5. Erkek ve dişi Jian sazanlarında leptin geni üç SNP'nin genotip ve allel frekansları (Tang ve ark., 2016)

Lokus	Dişi / Erkek (N)	Genotip frekansı (dişi/erkek; %)			Allel frekansı (dişi/erkek; %)		P (dişi / erkek)
		TT	TC	CC	T	C	
A1-T113C	263/294	53.6/46.6	43.3/51.7	3.1/1.7	75.3/72.4	24.7/27.6	0.007*/42E-07*
A2-G415A	263/294	61.6/60.9	35.4/35.7	3.0/3.4	79.3/78.7	20.7/21.3	0.216/0.252
A2-G427A	263/294	93.2/95.6	6.8/4.4	0/0	96.6/97.8	3.4/2.2	0.566/0.698

Leptinin büyüme üzerindeki etkileri üzerine yapılan çalışmaların sadece memelilere odaklanmış ve teleostlarda leptin varlığı başlangıçta olduğunu kısa süre önce Kirpi balığı (*Tagifugu rubripes*) ve sazan (*C. carpio*) da belirlenimi ve kültür balıkçılığı türlerinde leptinin karakterizasyonunun ve balıklarda büyüme ile ilişkilerinin araştırılması gerektiğini bildirmişlerdir.

2.1.2.7. ApoA-I

Apolipoproteinler A-I (ApoA-I), 9 majör apolipo-proteinlerden biri olan, lipidlerin taşınmasında ve metabolizmasında önemli rol oynar. ApoA-I geni lipit taşımasının yanında inflamasyon ve antioksidanı inhibe etme özelliğine sahiptir. İnsan ve hayvanlarda ApoA-I geni son zamanlarda çalışılmaya başlanmıştır. ApoA-I'in antibakteriyel özellikleri birkaç balık türünde tespit edilmiştir. Bununla birlikte, balıklarda ApoA-I'in büyüme ile ilişkili fonksiyonları hakkında az sayıda çalışma bulunmaktadır. Bazı sazan türlerinde apoA-I'in izoformları tanımlanmıştır (Wang ve ark., 2016). Sazana ait iki apoA-I's'in genomik sekansları çıkarılmıştır, Ancak karakterizasyon bilgileri mevcut değildir (Bostock ve ark., 2010; Dietrich ve ark., 2014).

Özellikle ekonomik önemi olan kantitatif karakterlerde poligenlerin etki ettiği ve bu genlerden bazılarının majör etki yaptığı son yıllarda bazı çiftlik hayvanlarında belirlenmiştir. Major gen olarak adlandırılan büyük etkili kantitatif karakter lokusları genelde bir çift allel tarafından kontrol edilmekte ve kalıtları basit Mendel kalıtımına dayalı olmaktadır. Ancak bu majör genlerin tespiti kolay olmamaktadır (Cemal ve Karaca, 2006). Major genler tarafından sağlanan verim artışından en üst düzeyde yararlanabilmek için öncelikle bu genlerin varlığının ve etki düzeylerinin ortaya konması ve her bir bireyin söz konusu lokustaki genotipinin bilinmesi ve çiftleşme planlarının buna göre yapılması gerekir (Cemal, 1996). Ancak bu moleküler çalışmalar için planlı melezlemelerle oluşturulan büyük deneme populasyonlarına ve DNA analizleri için gelişmiş laboratuvar altyapısı ile oldukça yüksek masraflara gereksinim duyulması, bu tür çalışmaların yaygınlaşabilmesi bakımından kısıtlayıcı olmaktadır.

Çiftlik hayvanları yetiştiriciliğinde ekonomik üretim yapmanın ilk koşulu damızlık değeri yüksek ve sağlıklı hayvanlarla çalışmaktır. Moleküler markerlerin çiftlik hayvanlarının performanslarını önceden tahmini için kullanımı hayvan yetiştiriciliği ve genetiğine önemli katkılar sağlamaktadır. Bu yöntemlerin geleneksel ıslah yöntemlerinin bazı sınırlamalarını ortadan kaldırarak ve yeni özelliklerin seleksiyonu için de daha hızlı ve kolay olanaklar sağlaması yetiştiriciler tarafından ilgi çekmekte ve zamanla bu alana olan talep artmaktadır. Örneğin MAS uygulamaları ile birlikte hayvanların gelecekte ifade edecekleri verim özellikleri yönünden henüz bu özellikleri sergilemedikleri erken yaşlarda, kesim sonrası değerlendirilebilen özellikler yönünden henüz hayattayken, sadece tek cinsiyette ifade edilen özellikler yönünden her iki cinsiyette birden seleksiyon uygulanması bu yöntemlerin sundukları avantajlardan olup, hayvan yetiştiriciliğinde bu yöntemlerin kullanımları yetiştirici tercihlerine göre yüksek verimli ırk ya da tiplerin geliştirilmesine, sağlıklı hayvanlardan oluşan populasyonlara sahip olmaya olanak sağlamaktadır.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Hayvan Materyali

Bu çalışma Konya ili Seydişehir ilçesindeki Suğla gölünden 12 adet, Ilgın ilesindeki Çavuşçu gölünden 4 adet, Aşağıçiğil gölünden 3 adet, Beyşehir ilçesindeki Beyşehir gölünden 2 adet, Karaman ili Gökçe baraj gölünden de 11 adet yerli sazan ve Çumra ilçesindeki Apa baraj gölünden de 23 adet gümüşü havuz balığından (*Carassius gibelio*) örnek alınmıştır. Kısaca çalışmada toplam 32 adet yerli sazan (*Cyprinus carpio*) ve 23 adet gümüşü havuz balığı (*Carassius gibelio*) olmak üzere toplam 55 balık örneği kullanılmıştır.



Şekil 3.1. Yerli sazan



Şekil 3.2. Gümüşü havuz balığı

Genetik çalışmalar için gerekli kan örnekleri heparinli enjektör kullanılarak balıkçı kooperatiflerine balık satan avcılardan sazanlar canlı iken hayvanların kuyruk yüzgeci bölgesindeki toplardamardan alınmış ve EDTA (Etilen Diamin Tetra Aset Asidi)'lı vakumlu kan alma tüplerine aktarılmıştır (Şekil 3.3). Sazanlardan alınan tam kanlar soğuk zincirde korunarak (+4 °C) Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootečni Bölümü Hayvan Biyoteknolojisi Laboratuvarına getirilmiş ve -20 °C'de muhafaza edilmiştir .

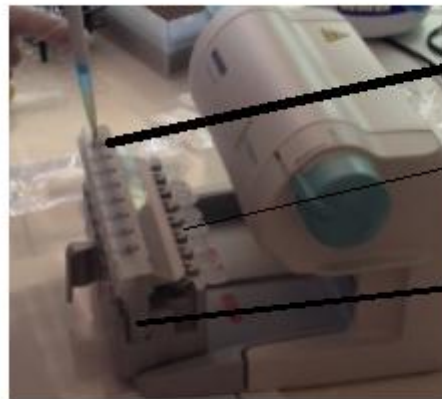
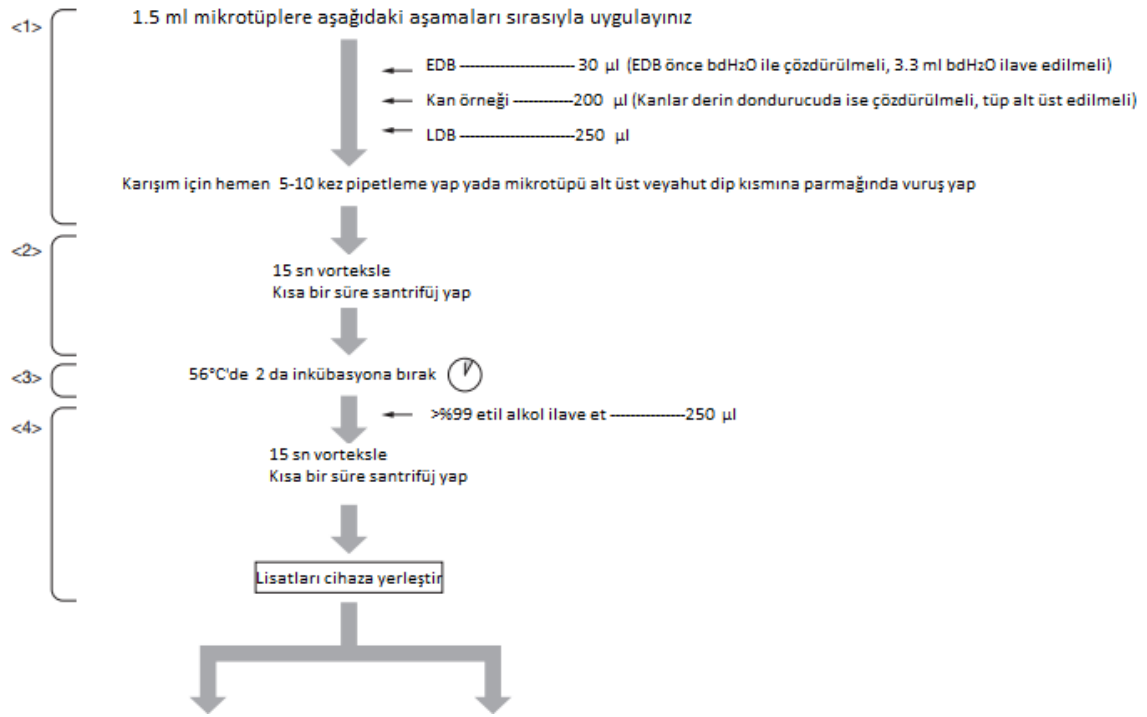


Şekil 3.3. Balığın kuyruk bölgesinden kan alma

3.1.1. DNA izolasyonu

EDTA'lı tüplere alınan kan örneklerinden genomik DNA'lar QuickGene Mini 80 - Tam Kandan DNA izolasyonu kiti (Fujifilm, Tokyo, Japan) talimatlarına uygun olarak kandan genomik DNA'lar izole edilmiştir. DNA izolasyonu protokolü aşağıda verilmiştir.

Protokol (QuickGene Mini 80 - Tam Kandan DNA izolasyonu)

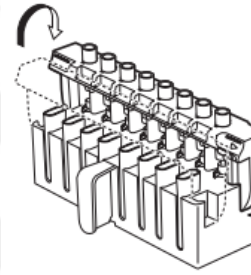


- Yukarıdaki gibi fitreler, mikrotüpler ve atık tüpleri holder'e yerleştirilir.
- 1.5 yada 2 ml tüplerde bulunan lisatlar holderdeki fitrelere pipetle (yaklaşık 800 µl) aktarılır.

- Holder cihaz kapalıyken (off) cihaza yerleştirilir ve çalıştırılır (on). İşlem bitince cihaz kapatılır (off) ve holder çekilir.



- Filtrelere 750 μ l WBD solüsyonundan (alkol) ilave et.
- Holder cihaz kapalıyken (off) cihaza yerleştirilir ve çalıştırılır (on). İşlem bitince cihaz off konumuna getirilir ve holder çekilir (bu işlem 3 kez tekrarlanmıştır).



- Filtreler holder'ın arka kısmına alınır ve her bir filtreye 100 μ l CDB solüsyonundan ilave edilmiştir.
- 5 da oda sıcaklığında bekletilmiştir.
- Holder cihaz kapalıyken (off) cihaza yerleştirilir ve çalıştırılır (on). İşlem bitince cihazı off konumuna getirilir ve holder çekilir ve genomik DNA'lar elde edilmiştir.

3.1.2. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) işlemleri

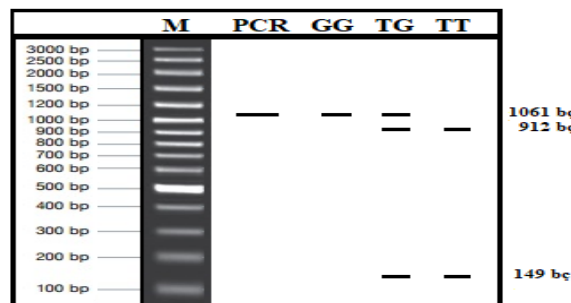
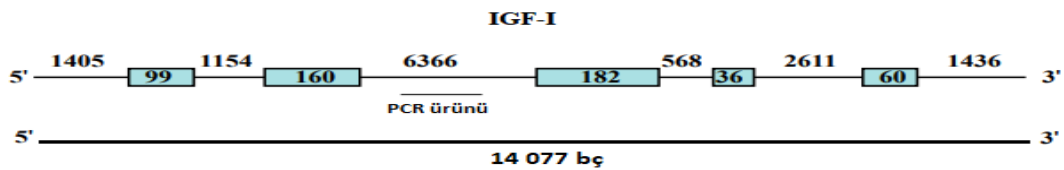
Elde edilen genomik DNA'lardan yararlanılarak PCR işleminde IGF-1 geni intron 2 bölgesi 1061 bp'lik gen bölgesi sekansı olup (AF465830.1), Feng ve ark. (2014)'nın bildirdiği Çizelge 3.1'deki primer çifti çalışmada kullanılmış ve Şekil 3.1'deki gibi genotipler skorlanmıştır. Aşağıda mevcut çalışmada çoğaltılacak IGF-1 geni kısmi sekansı (AF465830.1) verilmiş olup, sekans üzerinde primerler ve kesim bölgesi (*Bst*EII [*Eco*91I]- **5' G↓GTNACC 3'**) işaretlenmiştir.

5'/4251-

GCACAATGGCTCAAGGAAGTATGAGTAGTCTCGGGCCACTGATGTGACATATGAA
 GTGATTATTTTGACAGTGGACAGAACCCTGATTCTGTGGAGACCATTTTATTCACT
 TACTTTAAAAGCGAAGCGAGATTGAACTTGAAGTTAGAGTTGACATTTTAGTTTCC
 AGTCAACAACATTTGAGCTTTTAGTGGTCACAAAGGAGCTGGCTGGATCGCTCATG
 GCTGTCAATGGCCATGTGTTTGTGTTGTCAGTACAAGAGACAAAATAATACGTTTATG
 CTAATCTGAACTTTCATGAAATTATTGCATCAGTGTGACAGATTGAGTGAAGAACA
 AATAGACGATTTTATACAGATCATTGACTTTGACCTAGTAAGTAGTATAAACTTA
 AAGGAATTCTAACAGTATGTACCCCAACAACCCTGTTTGTGCTGTTGTTATTCTAAACC
 TGTGTTTTTGTCTTGTGTTTGTGTATAAAAACCTGTGTGGACTGGCCTCAAACACATG
 TATCCAAATAAACTGAATTCATATATGCGGCAATTAGCATTGTGTTTCAGTGCCCATG
 GCAGTGAAGCCCATCTCGCCAGTGCCCTTACTGCCAGTGGAAGTCCACTCAGATTTTC
 ATTATCTTGATAGAAAGGCCTACTACTCGGAAAATACTACTCGGTGGAAGTTTTTTT
 TTTATTGAAACAAAATGTTGCTTTTTTGAACACAGAGAAGAGGAAGACACAGAAGA
 AAAAGAACTGATGGTGCAGTCTTTTTTTTTCAATTGTTAGCCTGACTTAGAAATCC
 TCAGTTGTCTCATGTGAGTCTCATCCACACTGTCTTCAGTTCTTAAGGGTACTGG
 ACAGGAGAGAGGCTCTAAACAAGTGATGCAGAGCTAGAGCACATCTTTCTGTTTA
 TTACAAA**G↓GTNACC**TCGTGTTCAGGGCTTGTGTTGACACAAAGCTGCCCTTT
 CCTCCATGGTTGTGTAGTCTTTTCCAGCAAAGCATCTCTGATGTCTGCCAACAAGC
 TGAGCATGCACCTCATGATGCATT**CCCATTCCCCAGATACAAAC**
 -5301 / 3'

Çizelge 3.1. IGF-I geninde PCR ile çoğaltılmış gen bölgesi, kullanıldığı primerler, elde edilen PCR ürünü ile *BstEII* (*Eco91I*) enzimi ile elde edildiği genotipler

Kaynak / Gen Bölgesi	Primer sekansı	Kesim enzimi	PCR ürünü (bç)	Genotipler (bç)
Feng ve ark. (2014) / intron 2	Forward 5' -GCACAATGGCTCAAGGAAGT-3' Reverse 5' – GTTTGTATCTGGGAATGGG -3'	<i>BstEII</i> (<i>Eco91I</i>)	1061 bç	GG: 1061 TG: 1061+912+149 TT: 912+149



Şekil 3.4. IGF-1 geni sekansının şematik gösterimi, PCR ürünü ve *BstEII* (*Eco91I*) kesim enzimi ile meydana geldiği genotipleri.

PCR DNA'nın kalıp olarak kullanıldığı ve DNA polimeraz enzimi vasıtasıyla istenilen bir genin ya da özgün bir DNA dizisinin primerler tarafından yönlendirilerek ayrılma (denaturation), bağlanma/yapışma (annealing) ve sentez/uzama (extension) olarak 3 aşamada belirli süre ve farklı sıcaklıklarda çok sayıda kopyasının elde edildi bir işlemdir. IGF-I geninin hedeflenen gen bölgesi PCR ile çoğatılmıştır. Çalışmada uygun amplifikasyon koşullarının saptanması için PCR reaksiyonundaki genomik DNA'ların, primerlerin ve master miksin farklı konsantrasyonları yanında TC-512 Master Gradient Thermal Cycler PCR cihazında (Şekil 3.2) kullanılan primerlere bağlı olarak sıcaklık, zaman dilimleri ve döngü sayılarında bazı optimizasyonlara gidilmiştir. En iyi amplifikasyonun gerçekleştiği koşullar PCR için kabul edilmiş olup, amplifikasyon koşulları Çizelge 3.2'deki gibi gerçekleştirilmiştir. Şekil 3.3'de TC-512 Master Gradient Thermal Cycler PCR cihazının resmi verilmiştir.

Çizelge 3.2. IGF-1 geni intron 2 bölgesi ile ilgili PCR amplifikasyon koşulları

Başlangıç ayrılması	94 °C	5 dakika	
Ayrılma	94 °C	30 saniye	37 döngü
Bağlanma	58 °C	35 saniye	
Uzama	72 °C	40 saniye	
Son uzama	72 °C	15 dakika	



Şekil 3.5. TC-512 Gradient Thermal Cycler PCR cihazı

PCR ürünlerini elde edildikten sonra 0.2 ml'lik PCR tüplerine DNA izolasyonu sonucunda elde edilen genomik DNA örneklerinden Çizelge 3.3'de belirtilen miktarlar kadar ilave edilmiştir. Ayrıca Çizelge 3. 3'de diğer kimyasallar ve konsantrasyonları da verilmiştir.

Çizelge 3.3. PCR reaksiyonunda kullanılan kimyasallar ve konsantrasyonları

PCR Reaksiyonu	Miktar (µl)
Genomik DNA	4
2X Master Mix	10
F-Primer (10 µM)	0.6
R-Primer (10 µM)	0.6
Steril ddH ₂ O	4.8
Toplam (µl)	20

3.1.3 PCR ürünlerinin restriksiyon enzimleri ile kesilmesi ve agaroz jel elektroforezi

Elde edilen PCR ürünleri daha sonra *BstEII* (*Eco91I*) kesim enzimi ile protokolüne göre kesime tabi tutulacaktır (Çizelge3.4).

Çizelge 3.4. PCR ürünlerini tanıyan restriksiyon enzimi ve kesim reaksiyonu bileşenleri

Alınan Miktar (µl) ve Son Konsantrasyonu	
PCR ürünü (µl)	20
Buffer (10X/µl)	4 (1X)
<i>BstEII</i> enzimi (10 U/µl)	2 (10U)
ddH ₂ O (µl)	14
Toplam (µl)	40

Kesim ürünleri yatay agaroz jelde yürütüldü, UV Transilluminatör (Vilber Lourmat) görüntüleme sisteminde söz konusu gen bölgesi bakımından genotipleri belirlenmiştir.

3.3 İstatistik analizler

IGF-I geninin intron 2 bölgesinde *BstEII* (*Eco91I*) polimorfizmi bakımından yerli sazan ve gümüşü havuz balıkları monomorfik olduğundan herhangi bir istatistik analiz yapılamamıştır.

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

4.1. Genomik DNA örneklerinin spektrofotometre sonuçları

Çalışmada sazanların kuyruk bölgesinden alınan tam kanlardan DNA izolasyonu sonrasındaki genomik DNA örnekleri ikişer kez NanoDrop Spektrofotometre (ND 1000)'de okunmuş, miktar ve saflık kontrolleri belirlenmiştir (Şekil 4.1). Çizelge 4.1'de sazanlardan izolasyon sonucunda elde edilen genomik DNA miktar ve saflıklık değerleri verilmiştir.



Şekil 4.1. NanoDrop Spektrofotometre (ND 1000)

Çizelge 4.1. Genomik DNA miktar ve saflıklık değerlerine ait sonuçlar

Kriter	N	$\bar{X} \pm S_x$	Minumum	Maksimum
DNA	55	50.71 ± 5.85	18.47	163.58
A260	55	1.01 ± 0.12	0.37	3.27
A280	55	0.54 ± 0.06	0.18	1.69
OD_{260}/OD_{280}	55	1.86 ± 0.16	1.50	2.09
OD_{260}/OD_{230}	55	1.93 ± 0.24	0.45	7.76

Çizelge 4.1'den de görüleceği gibi çalışmada genomik DNA miktarları 18.47 ng/µl ile 163.58 ng/µl değerleri arasında olmak üzere ortalama 50.71 ± 5.85 ng/ul olarak tespit edilmiştir.

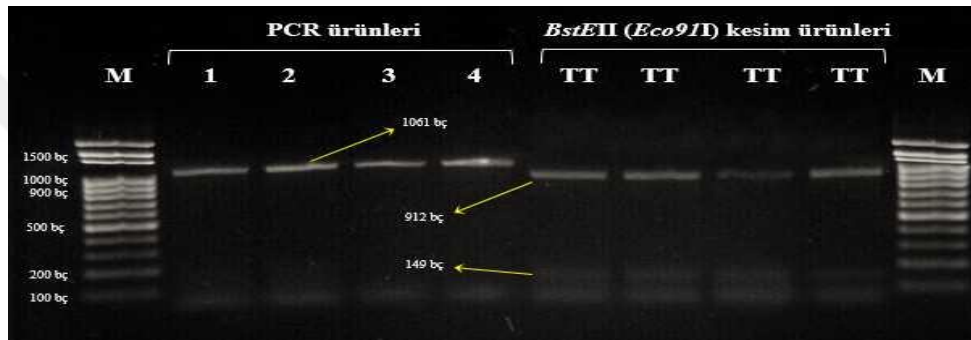
NanoDrop Spektrofotometre absorbands değerlerinden nükleik asit (260 nm) ve protein (280 nm) miktarları sırasıyla 1.01 ± 0.12 ve 0.54 ± 0.006 olarak, ikincil derecede nükleik asit saflık kriterlerinden OD_{260}/OD_{280} ve OD_{260}/OD_{230} oranları ise sırasıyla 1.86 ± 0.16 ve 1.93 ± 0.24 olarak belirlenmiştir. İzole edilen ürünlerin özellikle DNA'larının saf olup olmadığının belirteci olan OD_{260}/OD_{280} oran ortalamasının 1.8 ile 2.0 aralığında olması genomik DNA'larda protein ya da fenol artıklarının olmadığı

Sambrook (1989) ve başarılı bir şekilde PCR çalışmalarının yapılabileceğini göstermektedir.

Çizelge 4.1'deki genomik DNA'ların miktar ve saflık değerleri değerlendirilince PCR çalışması için kabul edilebilir olduğunu sonucuna varılmıştır. Aynı zamanda genomik DNA'lar PCR öncesi %1'lik agaroz jelde de kontrol edilmiştir.

4.2. IGF-I geni intron 2 bölgesi *BstEII* (*Eco91I*) polimorfizmi (1061 bç)

Genomik DNA izolasyonundan sonra PCR ile IGF-I geni intron 2 bölgesi (1061 bç) çoğaltılmış ve *BstEII* (*Eco91I*) restriksiyon enzimi kullanılarak genotiplendirme %1.5'lik agaroz jelde Şekil 4.2 ve Şekil 4.3'deki gibi gerçekleştirilmiştir.

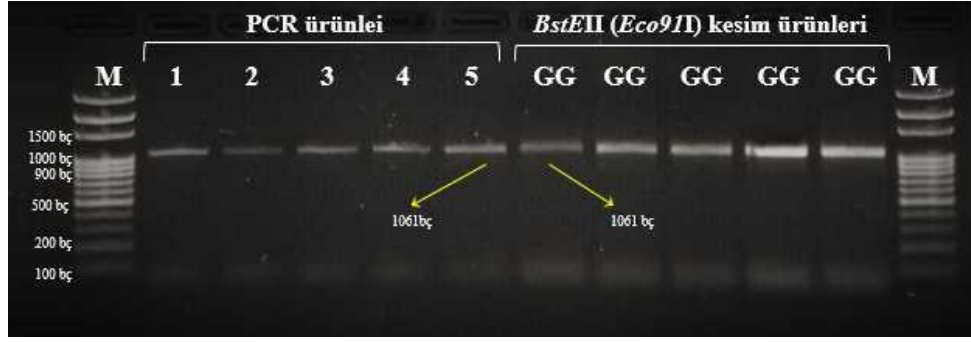


M: 100bp DNA Ladder (Solis BioDyne), 1-4: PCR ürünleri (1061 bç), GG: 1061 bç, TT:912 ve 149 bç

Şekil 4. 2. IGF-I geninin yerli sazanalarda PCR ve kesim ürünlerinin agaroz jel elektroforezi (%1.5)

Şekil 4.2'de kendi ekolojik ortamlarında büyüyen sazan örnekleri İç Anadolu bölgesi iç sularından Konya ilinden Seydişehir ilçesindeki Suğla gölünden 12 adet, Ilgın ilçesindeki Çavuşçu gölünde 4 adet ve Aşağıçiğil gölünden 3 adet, Beyşehir ilçesindeki Beyşehir gölünden 2 adet ve Karaman ilinden Gökçe Baraj gölünden de 11 adet olmak üzere toplam 32 adet sazandan elde edilmiştir. Bu sazanalardan izole edilen genomik DNA'lardan yapılan PCR ve *BstEII* (*Eco91I*) restriksiyon enzimi ile kesim ürünleri elde edilmiş ve genotiplendirme yapılmıştır.

Kesim ürünlerinin genotiplendirilmesi Feng ve ark. (2014)'e göre yapılmıştır. *BstEII* (*Eco91I*) restriksiyon enziminin herhangi bir kesim bölgesi olmadığında aynı PCR ürünü olduğu gibi GG genotipliler yalnız 1061 bç bölgede tek bant, GT genotipliler 1061 bç, 912 bç ve 149 bç bölgede üç bant ve TT genotipliler de hem 912 bç hem de 149 bç'nde iki bant vereceklerdir. Yerli sazanalarda IGF-I geninin PCR ve kesim ürünlerinin % 1.5'luk agaroz jel elektroforezi sonucunda, kesim ürünlerinin TT genotipli olduğuna ulaşılmıştır.



M: 100bp DNA Ladder (Solis BioDyne), 1-5: PCR ürünleri (1061 bç), GG: 1061 bç

Şekil 4. 3. IGF-I geninin Gümüşi havuz balıklarında PCR ve kesim ürünlerinin agaroz jel elektroforezi (%1.5)

Şekil 4.3'deki sazan örneklerini ise İç Anadolu bölgesi iç sularından Konya ili Çumra ilçesindeki Apa Baraj göletinden 23 adet Gümüşi havuz balığı oluşturmuştur. Gümüşi havuz balıklarından elde edilen genomik DNA'lardan yapılan PCR ve *BstEII* (*Eco91I*) restriksiyon enzimi ile kesim sonucunda elde edilen ürünlerin %1.5'lik agaroz jeldeki skorlamasından hepsinin GG genotipli olukları ortaya çıkmıştır. Diğer bir ifade ile Gümüşi havuz balıklarının IGF-I geni intron 2 bölgesinde (1061 bç) *BstEII* (*Eco91I*) restriksiyon enziminin tanıyacağı kesim bölgesi olmadığından aynı PCR ürünü gibi bant vermiştir. Kesim olmadığı için de aynı moleküler ağırlıkta olduğundan PCR ile çoğaltılan bölge gibi agaroz jelde benzer bant vermişlerdir.

Moleküler genetik analizlerden sonra, IGF-I geni intron 2 bölgesinde *BstEII* (*Eco91I*) polimorfizmi bakımından hem yerli hem de Gümüşi havuz balıklarında genotiplendirme yapılması sonucu monomorfik olmasından dolayı allel ve genotip frekansları sazan populasyonları için hesaplanamamıştır.

Moriyama ve ark. (2000), insülin benzeri büyüme faktörü-I (IGF-I)'nin esas olarak büyüme hormonu eylemlerine aracılık ederek, omurgalıların gelişiminin ve somatik büyümesinin düzenlenmesinde önemli bir rol oynayan mitojenik bir polipeptit olduğunu ve IGF-I'in yapısının ve biyolojik fonksiyonunun omurgalılar arasında yüksek oranda korunduğu açıkça belirlendiğini ifade etmişlerdir. Diğer bir ifade ile populasyonun yada populasyonların sahip oldukları herhangi bir lokustaki alleller ile belirlenen varyasyonun seviyesi bir tür içindeki ırkların farklılığı üzerine doğrudan etkiye sahip olabileceği (Arora ve Bhatia, 2004) gibi fenotipleri bakımından da bir takım varyasyonlar meydana getirebilir (Aytekin, 2011). Bu durum bir populasyonda tespit edilen varyasyonun diğer populasyonlarda da kesin tespit edileceği anlamına da gelmemelidir. Özellikle türlerin ya da tür içindeki ırk/hatların tespitinde ayırıcı bir özellik olarak da faydalı olabilir. Özellikle insan tüketimine sunulan ürünlerde, koruma

programlarının oluşturulmasında yada hastalıklara direnç gibi konularda söz konusu varyasyonun varlığı yada yokluğu son derece önemli olmaktadır.

Feng ve ark. (2014), birbirleri ile akraba olmayan ve akrabalık ilişkilerini 11 mikrosatellit marköre göre ortalama % 4.35 olarak belirledikleri sazan familyalarından en az 12 ebeveyn ve 5 dölllerinde oluşan popülasyondan oluşan ve 5 farklı primer çifti bakımından sazanlarda IGF-I polimorfizmlerini incelemek için dört ekzon ve kısmi intron bölgesinde toplam 4555 bp'lik sazanların (*Cyprinus carpio L.*) genomik sekansını incelemişlerdir. Araştırmacılar 9 polimorfik bölge tespit etmişlerdir. Bunlar 6 SNP (g.3759T>G, g.7619A>T, g.7620C>T, g.7627T>A, g.7634C>T ve g.7722T>C) ve 1 silinme (g.7624delG), ekzon 3'de nonsynonymous (amino asit ve genellikle proteini değiştiren mutasyonlar) SNP (g.7892C> T) ile intron 3'de 1 SNP (g.7973C>T) tanımlamışlardır. Ancak büyüme özellikleri ile sadece intron 2'de üç SNP (g.3759T> G, g.7627T> A ve g.7722T> C) ile ekzon 3'deki 1 SNP'yi (g.7892C> T) arasında ilişki analizini araştırmışlardır.

Feng ve ark. (2014)'nın yaptığı çalışmalarında sırasıyla g.3759T>G SNP'si için T ve G allel frekanslarını 0.957 ve 0.043 ile TT, TG ve GG genotip frekanslarını 0.927, 0.059 ve 0.014 olarak polimorfik bilgi içeriği, gözlenen heterozigotluk (H_o) ve beklenen heterozigotluk (H_e) değerlerini ise yine sırasıyla 0.079, 0.059 ve 0.083 olarak belirlemişlerdir ($P=0.071$). g.7627T>A SNP'si için T ve A allel frekanslarını 0.763 ve 0.237 ile TT, TA ve AA genotip frekanslarını 0.637, 0.252 ve 0.111 olarak polimorfik bilgi içeriği, gözlenen heterozigotluk (H_o) ve beklenen heterozigotluk (H_e) değerlerini ise yine sırasıyla 0.296, 0.253 ve 0.301 olarak belirlemişlerdir ($P=0.105$). g.7722T>C SNP'si için T ve C allel frekanslarını 0.486 ve 0.514 ile TT, TC ve CC genotip frekanslarını 0.332, 0.308 ve 0.360 olarak polimorfik bilgi içeriği, gözlenen heterozigotluk (H_o) ve beklenen heterozigotluk (H_e) değerlerini ise yine sırasıyla 0.375, 0.308 ve 0.501 olarak belirlemişlerdir ($P=0.000$). g.7892C>T SNP'si için C ve T allel frekanslarını 0.799 ve 0.201 ile CC, CT ve TT genotip frekanslarını 0.685, 0.228 ve 0.087 olarak polimorfik bilgi içeriği, gözlenen heterozigotluk (H_o) ve beklenen heterozigotluk (H_e) değerlerini ise yine sırasıyla 0.269, 0.228 ve 0.362 olarak belirlemişlerdir ($P=0.002$). Ayrıca, g.7627T>A polimorfimini 289 sazanı belirledikleri çalışmalarında, toplam TT, TA ve AA genotiplilerin sırasıyla vücut uzunluklarını 18.4 ± 0.9 , 18.5 ± 1.0 ve 19.0 ± 0.8 cm, canlı ağırlıklarını 138 ± 14 , 140 ± 15 ve 146 ± 17 g ve kondüsyon faktörlerini 2.21 ± 0.16 , 2.19 ± 0.17 ve 2.15 ± 0.13 olarak bildirmişlerdir ($P<0.01$). Araştırmacılar g.7627T>A polimorfimi sonucunda AA genotipli balıkların canlı

ağırlık ve vücut uzunluğu bakımından TT genotiplilere nazaran % 5.9 oranında daha yüksek bir ortalamaya sahip oldukları bildirilmiştir ($P<0.01$). Çalışmalarında 3 SNP bölgesini dikkate alarak yaptıkları genotip kombinasyonları bakımından H1 (TTC), H2 (TTT), H3 (TCC), H4 (TCT), H5 (ATC), H6 (ATT) ve H7 (ACC) olmak üzere 7 haplotipin olduğunu ve frekanslarının sırasıyla sırasıyla 0.284, 0.194, 0.284, 0.002, 0.004, 0.007 ve 0.227 olarak belirlendiği ifade etmişlerdir. Bu haplotipler dikkate alınarak meydana gelen 10 major haplotip kombinasyonların da ise H2H7'ye sahip sazanların H1H3, H1H7 ve H3H3'dekinden istatistik olarak daha küçük kondüsyon faktörü değerlerine sahip olduklarını ($P<0.05$) ve vücut uzunluğu ve vücut ağırlığı için haplotip kombinasyonları arasında istatistik olarak önemli bir ilişkinin olmadığını ($P>0.05$) belirlemişlerdir. Bunlara ilaveten araştırmacılar g.7627T>A, g.7722T>C ve g.7892C>T SNP'lerin bakımından genotip kombinasyonları ile vücut uzunluğu, vücut ağırlığı ve kondüsyon faktörü özellikleri arasında yaptıkları ilişki analizlerinde; g.7627T>A ve g.7722T>C için TT/TT'li bireylerin vücut uzunluğu ve vücut ağırlığının ortalama değerlerinin diğer kombine genotiplerden daha düşük, kondüsyon faktörü ortalama değerinin ise yüksek değerlere sahip olduklarını bildirmişlerdir ($P<0.01$). g.7627T>A ve g.7892C>T için AA/CC'li bireylerin vücut uzunluğu ve vücut ağırlığı bakımından TT/CC'li bireylerden daha yüksek, kondüsyon faktörü bakımından ise daha düşük ortalama değerlere sahip olduklarını ifade etmişlerdir ($P<0.05$). Ancak g.7722T>C ve g.7892T>C için söz konusu özellikler ile genotip kombinasyonları arasında herhangi bir ilişkinin olmadığını bildirmişlerdir. Sonuç olarak sazan populasyonunda IGF-I'deki polimorfizmleri araştırdıkları çalışmalarında, hem g.7627T>A hem de g.7627T>A ve g.7722T>C kombinasyonları ile büyüme özellikleri arasında önemli bir ilişki olduğunu ifade etmişlerdir. Araştırmacılar büyüme performansı ile ilişkisi tanımlanan SNP'lerin, sazanlarda büyüme özelliklerini geliştirmek için marker destekli seleksiyon programlarında aday moleküler markörler olabileceğini öne sürmüşlerdir.

Aljuboory ve Al-Khshali (2018a), Irak'ın Bağdat ili Al-Radhwaniyah *Cyprinus carpio* rezervuarında sazanlarda insülin benzeri büyüme faktörü (IGF-I) ve bunun genotiplerini tanımlamak ve de bazı fizyolojik özellikler (glukoz, AST ve ALT) ile ilişkisini ortaya koymak için yaptıkları çalışmalarında, g.3759T>G polimorfizmini belirlemek amacıyla RFLP yöntemi kullanmışlardır. Çalışmalarında 95 adet sazanda çalışmışlar ve 1 adet GG, 28 adet TG ve 66 adet TT genotipi belirlemişlerdir. G ve T allel frekansları sırasıyla 0.158 ve 0.842, GG, TG ve TT genotip frekansları ise sırasıyla 0.011, 0.295 ve 0.695 olarak belirlenmiştir. IGF-I geni bakımından populasyonun

Hardy-Weinberg dengesinde olduğu sonucu çıkmıştır ($P>0.05$). Fizyolojik özellik sonuçları dikkate alındığında, kan glukoz oranında TT genotiplilerin glukoz konsantrasyonu 87.87 mg / 100 iken, TG genotiplilerde de yaklaşık 67.21 mg / 100 olarak belirlenmiştir ($P<0.05$) ve farklı genotipler tarafından önemli derecede etkilendiğini ifade etmişlerdir. Ancak, transaminaz enzimlerinin (AST ve ALT) değerleri bakımından ise herhangi bir ilişkinin olmadığını ifade etmişlerdir. Sonuç olarak insülin benzeri büyüme faktörü polimorfizminin güvenilirliğinin olduğu ve sazanlarda fizyolojik performans tahmini ve bu bakımdan seleksiyonda kullanılabileceğini ifade etmişlerdir.

Aljuboory ve Al-Khshali (2018b), Irak'ın Bağdat ili Al-Radhwaniyah *Cyprinus carpio* rezervuarında sazanlarda insülin benzeri büyüme faktörü (IGF-I) ve bunun genotiplerini tanımlamak ve de sazanların bazı kimyasal özellikleri (nem, protein, yağ ve kül) ile ilişkisini ortaya koymak için yaptıkları çalışmalarında, kimyasal analiz sonuçları ile genotipler arasındaki analizde nem ve protein değerleri arasında önemli bir ilişkinin olduğunu bildirmişlerdir ($P>0.05$). İlişki analizinde nem oranı bakımından mutant allelden (G) kaynaklanan heterozigot genotipliler (GT) en yüksek nem oranına (82.50 ± 0.17) sahip olduklarını, homozigot genotiplilerin (TT) nem oranının (79.55 ± 0.17) daha düşük olduğunu, protein oranı bakımından ise TT genotiplilerin en yüksek protein oranına ($\% 15.95 \pm 0.80$) sahip olduklarını, GT genotiplilerin protein oranının (9.65 ± 0.60) daha düşük olduğunu bulmuşlardır ($P<0.05$). Sonuç olarak insülin benzeri büyüme faktörü polimorfizminin güvenilirliğinin olduğu, sazanlarda kimyasal kompozisyon için seleksiyonda kullanılabileceğini ifade etmişlerdir.

Literatürde Feng ve ark. (2014)'nın yaptığı çalışmada ilk olarak bildirilen, daha sonra Aljuboory ve Al-Khshali (2018a) ve Aljuboory ve Al-Khshali (2018b) tarafından çalışılan ve bu çalışmada da RFLP yöntemi ile polimorfizmi incelenen SNP bölgesi (g.3759T>G) haricinde IGF-I geninin diğer bölgelerinde ve diğer türlerde çalışılan SNP bölgeleri hakkında bilgi verilecek olunursa; Sánchez-Ramos ve ark. (2012) MSTN-1 gen polimorfizmi ile büyüme özellikleri arasında ilişkiler ile ilgili olarak deniz ticareti türlerinde marköre dayalı seleksiyon için büyüme hormonu (GH), insülin benzeri büyüme faktörü 1 (IGF-1), miyostatin (MSTN-1), prolaktin (PRL) ve somatolaktin (SL) gibi 5 aday gende yaptıkları değerlendirmede, balık örneklerini 131 yetiştiriciden oluşan ticari bir ana hattan (36 erkek ve 44 dişinin ebeveyninden gelen döllerinde) alınmıştır. Araştırmacılar PCR-RFLP yöntemini kullanarak 13000 bç'den daha fazlasını kapsayan 11 gen bölgesini incelemişler ve bunlar ile büyüme özellikleri arasında

ilişkileri araştırmışlardır. IGF-I için IGF-I A'nın promotor-ekzon 1 bölgesinin *TaqI* kesim enzimi ile muamelesi sonucu polimorfik olduğu ve T → G/C baz değişimine neden olduğunu ve IGF-I B'nin ekzon1-ekzon 2 bölgesinin *HaeIII*, *EcoRI*, *DraI*, *HapII* & *BspLU11I* kesim enzimleri ile muamelesi sonucu polimorfik olmadığını bildirmişlerdir. Araştırmada genç ve yetişkin anaçlarda ağırlık, çatal boy ve kondüsyon faktörü gibi özelliklerde yapılan ilişki analizinde IGF-I geninde sadece A819 yetişkin grubunda (kuluçkadan çıkış sonrası 819 günlük yaştaki balıklar) istatistik olarak önemlilik bulduklarını ifade edilmişlerdir (P = 0.019).

Wang ve ark. (2013) yaptıkları çalışmada, Çin levreğinde IGF-I geninin SNP varyantları ile vücut ağırlığı, vücut uzunluğu, vücut derinliği ve vücut genişliği arasındaki ilişkiler araştırılmıştır. Çalışmada iki farklı SNP bölgesi (g.A321G ve g.A537G) kullanılmıştır. g.A321G polimorfizmi bakımından A ve G allel frekanslarını sırasıyla 0.694 ve 0.306, AA, AG ve GG genotip frekanslarını ise 0.456, 0.476 ve 0.068 olarak, g.A537G polimorfizmi bakımından ise yine aynı sırayla 0.692 ve 0.308 ile 0.460, 0.44 ve 0.076 olarak bulmuşlardır. İlişki analizi sonucu, SNP1'in vücut ağırlığı (P<0.05), vücut uzunluğu (P<0.05) ve vücut genişliği (P<0.05) ile önemli ilişkisi olduğu belirlenmiştir. SNP2'nin ise, vücut ağırlığı (P<0.05), vücut derinliği (P<0.05) ve vücut genişliği (P<0.05) ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Genel olarak her iki SNP bölgesinde üzerinde durulan özelliklerin ortalama değerleri dikkate alındığında A allelinin G allele kıyasla bir üstünlüğünün olduğu ortaya çıkmıştır.

Tsai ve ark. (2014), su ürünleri endüstrisi için Atlantik somon balığı yetiştiriciliğinde büyüme ve fileto kalitesi ile ilgili özelliklerde varyasyonun genetik temelinin anılmanın önemli olduğu için IGF-I geninin SNP varyantları ile vücut ağırlığı ve fileto özellikleri arasındaki ilişki incelenmişlerdir. Çalışmalarında genetik belirteçlerin uygulanmasıyla büyümeyle ilgili birkaç QTL tanımlanmıştır. IGF-I geninin, salmonid türlerinde yüksek oranda korunmuş ve çok önemli bir büyüme düzenleyici gen olarak kabul edildiğini ve IGF-I genindeki polimorfizmler ile Atlantik somonusundaki büyümeyle ilgili özellikler arasındaki ilişkinin bilinmediğini ifade etmişlerdir. Araştırmacılar, IGF-I geninin promotor bölgesinde üç farklı SNP belirlenmiş olup, bunlar intron 1 (SNP1, g.5763G>T; GenBank no. AGKD01012745), intron 2 (SNP2, g.7292C>T; GenBank no. AGKD01012745) ve intron 3 (SNP3, g.4671A>C; GenBank no. AGKD01133398) bölgelerindedir. Çalışmalarında allel frekanslarını g.5763G>T polimorfizminde 0.61 ile 0.39, g.7292C>T polimorfizminde 0.80 ile 0.20 ve g.4671A>C polimorfizminde ise 0.88 ile 0.12 olarak bulmuşlardır. İlişki analiz sonucu,

SNP1’de somon balıklarında ağırlıkları bakımından T/T genotiplilerin (2.57 ± 0.03) G/T (2.51 ± 0.03) ve G/G (2.50 ± 0.03) genotiplilerden daha yüksek ortalamaya sahip olduklarını ($P < 0.01$), temizlenmiş ağırlıkları bakımından T/T genotiplilerin (2.37 ± 0.03) G/T (2.30 ± 0.02) ve G/G (2.28 ± 0.03) genotiplilerden daha yüksek ortalamaya sahip olduklarını ($P < 0.05$), başsız ağırları bakımından T/T genotiplilerin (2.07 ± 0.03) G/T (2.01 ± 0.02) ve G/G (1.99 ± 0.02) genotiplilerden daha yüksek ortalamaya sahip olduklarını ($P < 0.05$) ve fileto ağırlıkları bakımından ise T/T genotiplilerin (1.75 ± 0.02) G/T (1.67 ± 0.02) ve G/G (1.66 ± 0.02) genotiplilerden daha yüksek ortalamaya sahip olduklarını ($P < 0.05$) bulmuştur. SNP3’de ise somon balıklarında ağırlıkları bakımından A/A genotiplilerin (2.72 ± 0.08) C/A (2.55 ± 0.03) ve C/C (2.50 ± 0.03) genotiplilerden daha yüksek ortalamaya sahip olduklarını ($P < 0.05$), temizlenmiş ağırlıkları bakımından A/A genotiplilerin (2.46 ± 0.07) C/A (2.33 ± 0.03) ve C/C (2.29 ± 0.02) genotiplilerden daha yüksek ortalamaya sahip olduklarını ($P < 0.05$), başsız ağırları bakımından A/A genotiplilerin (2.16 ± 0.06) C/A (2.03 ± 0.03) ve C/C (2.01 ± 0.02) genotiplilerden daha yüksek ortalamaya sahip olduklarını ($P < 0.05$) ve fileto ağırlıkları bakımından ise A/A genotiplilerin (1.83 ± 0.06) C/A (1.69 ± 0.02) ve C/C (1.67 ± 0.02) genotiplilerden daha yüksek ortalamaya sahip olduklarını ($P < 0.05$) bulmuştur. Sonuç olarak, SNP1 ve SNP3 ile vücut ağırlığı ve fileto özelliği arasında önemli ilişkiler bildirilmiştir ($P < 0.05$).

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Dünyada artan nüfus, iklim değişiklikleri, girdi maliyetlerindeki artışlar ve gıda problemlerinin yaşanması, bazı kesimlerde ise yaşam standartlarının yükselmesi gibi sebepler hayvansal üretim kaynaklarının daha etkin kullanılmasını ve bir alandan daha fazla üretimin yapılmasını zorlamaktadır. Bu nedenle hayvansal üretime konu olan her alan kendi içinde özel bir bilgi ve üretim şemasını oluşturur. Su ürünleri yetiştiriciliği yetiştirme programlarında büyüme özellikleri hedeflenen miktarda üretimin yapılıp yapılamayacağı hakkında bilgi verdiği gibi bakım-besleme hakkında yetiştiriciye bilgi sağlar. Bunun yanı sıra doğal balıkçılıkta ise bazı çevre şartlarındaki değişikliklere adaptasyonu ile ilgili bilgi sağlar. Son yıllarda gerek deniz balıkçılığı, gerek ticari ve hatta ekolojik ortamlarında yetişen ve insan tüketimine avcılık yoluyla sunulan su ürünlerinde moleküler düzeyde araştırmaların arttığı, söz konusu aday genlerin gerek tek başlarına gerekse interaksiyonları bakımından fonksiyonlarının anlaşılması üzerine çalışmalara yoğunlaşmıştır.

İnsülin benzeri büyüme faktörü I geni (IGF-I), beslenme durumu, çevresel adaptasyon, embriyonik gelişim ve büyüme düzenlemesi ile ilişkili bir gen olduğundan su ürünlerinde aday gen olarak ele alınmaktadır. Mevcut çalışmada gerek yerli sazanlarda gerekse gümüşü havuz balıklarında g.3759T>G polimorfizminin belirlenmesi amacıyla yapılan bu çalışmada her iki populasyon da monomorfik olarak belirlenmiştir. Daha sonraki çalışmalarda örnek sayılarının artırılması ile populasyonlar hakkında IGF-I/ *BstEII* (*Eco91I*) gen polimorfizmi ile ilgili daha kapsamlı bilgiye ulaşılabilir. Sonuç olarak, bu çalışmada incelenen populasyonlar morfolojik olarak ayırt edilebilmesine rağmen, gelecekte gerek insan yada hayvan tüketimine sunulacak ürünlerde populasyonların birbirinden ayırt edilmesinde gerekse gelecekte gen kaynağı koruma programlarının oluşturulmasında yararlı bilgiler elde edilmiştir.

Sonuç olarak ifade etmek gerekirse; moleküler biyolojide yaşanan gelişmeler hayvan ıslahında yeni bir yapılanmanın gerekliliğini ortaya çıkartmıştır. Bu yeni yapıda fenotipik performansa dayalı geleneksel seleksiyon ve ıslah programlarına genetik bilgi de dahil edilmeli ve fenotipik veriler daha doğru değerlendirilerek damızlık seçiminde kullanılmalıdır.

6. KAYNAKLAR

- Abdullah, H., 2018, Genetics and biotechnology in fish, El-kutub Ltd London, 3., *El-kutub Ltd London*, 3.
- Akhan, S. ve Canyurt, M., 2005, Üç farklı kuluçkahanedeki damızlık gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) stokları arasında genetik çeşitliliğin rapd-pcr yöntemiyle belirlenmesi üzerine bir araştırma, *Ege J Fish Aqua Sci*, 22, 25-30.
- Aksakal, E., Özdemir, N., Erdoğan, O. ve Çiltaş, A., 2008, Su Ürünlerinde Gıda Orijin Tespitinde Yaygın Kullanılan Moleküler Teknikler, *Türkiye*, 10, 21-23.
- Aljuboory, S. ve Al-Khshali, M., 2018a, The relation of insulin like growth factor gene (IGF-1) with some physiological characteristics of common carp (*Cyprinus carpio*), *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 6 (1), 1300-1303.
- Aljuboory, S. ve Al-Khshali, M., 2018b, The relation of insulin like growth factor gene (IGF-1) with some physiological characteristics of common carp (*Cyprinus carpio*), *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 6 (1), 1300-1303.
- Alpbaz, A., 1984, Akvaryum tekniği ve balıkları, Acargil Matbaası, p.
- Arora, R. ve Bhatia, S., 2004, Genetic structure of Muzzafarnagri sheep based on microsatellite analysis, *Small ruminant research*, 54 (3), 227-230.
- Atay, D. ve Çelikkale, M., 1983, Sazan üretim tekniği, *San Matbaası*.
- Atay, D., 1990, Balık Üretimi, *Anadolu Matbaası, Ankara*.
- Aytekin, İ., 2006, Güney Karaman koyun ırkında genetik polimorfizmin RAPD-PCR yöntemi ile belirlenmesi, *Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*.
- Aytekin, İ., 2007, Moleküler Marker Sistemleri ve Hayvancılıkta Kullanım Alanları. Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü (Basılmamış Doktora Semineri). .
- Aytekin, İ., 2011, Konuklar Tarım İşletmesinde yetiştirilen esmer sığırlarda leptin ve Pit-1 geni polimorfizmleri ile süt verimi ve kompozisyonu arasındaki ilişkiler, *Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*.
- Başaran, 2004, Tıbbi biyoloji ders kitabı., *Bursa. 2004.*, Güneş & Nobel Tıp Kitapevleri, 7. Baskı.
- Beuzen, N., Stear, M. ve Chang, K., 2000, Molecular markers and their use in animal breeding, *The Veterinary Journal*, 160 (1), 42-52.
- Binbaş, P., 2006, Çine çaparı koyunlarda genetik çeşitliliğin RAPD yöntemi ile belirlenmesi, *Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*.
- Bostock, J., McAndrew, B., Richards, R., Jauncey, K., Telfer, T., Lorenzen, K., Little, D., Ross, L., Handisyde, N. ve Gatward, I., 2010, Aquaculture: global status and trends, *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 365 (1554), 2897-2912.
- Buyse, J. ve Decuypere, E., 1999, The role of the somatotrophic axis in the metabolism of the chicken, *Domestic Animal Endocrinology*, 17 (2-3), 245-255.
- Cemal, İ., 1996, Çiftlik hayvanlarında majör genler, bunların belirlenmesi, transferi ve endüstriyel kullanımı, *Yüzüncü yıl Üni. Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi*.
- Cemal, İ. ve Karaca, O., 2006, Çiftlik Hayvanlarında Major Genlerin Belirlenmesi Ve Genotip Ayrımı, *Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi*, 21 (1), 105-115.
- Chauhan, T. ve Rajiv, K., 2010, Molecular markers and their applications in fisheries and aquaculture, *Advances in Bioscience and Biotechnology*, 1 (04), 281.
- Chen, M. H.-C., Lin, G.-H., Gong, H.-Y., Lee, C.-Y., Chang, C.-Y., Ghen, T. ve Wu, J.-L., 1998, Cloning and characterization of insulin-like growth factor I cDNA

- from black seabream (*Acanthopagrus schlegeli*), *ZOOLOGICAL STUDIES-TAIPEI*-, 37, 213-221.
- De-Santis, C. ve Jerry, D. R., 2007, Candidate growth genes in finfish—Where should we be looking?, *Aquaculture*, 272 (1-4), 22-38.
- Desvignes, J. F., Laroche, J., Durand, J. D. ve Bouvet, Y., 2001, Genetic variability in reared stocks of common carp (*Cyprinus carpio* L.) based on allozymes and microsatellites, *Aquaculture*, 194 (3-4), 291-301.
- Devran, Z., 2016, Moleküler İşaretleyicilerin Dayanıklılık Islahında Kullanılması, *Derim*, 20 (1), 1-6.
- Dietrich, M. A., Adamek, M., Bilińska, B., Hejmej, A., Steinhagen, D. ve Ciereszko, A., 2014, Characterization, expression and antibacterial properties of apolipoproteins A from carp (*Cyprinus carpio* L.) seminal plasma, *Fish & shellfish immunology*, 41 (2), 389-401.
- Dong, Z. ve Zhou, E., 1998, Application of the random amplified polymorphic DNA technique in a study of heterosis in common carp, *Cyprinus carpio* L., *Aquaculture research*, 29 (8), 595-600.
- Elkhatatny, N. A., Elbially, Z. I., El-Nahas, A. F. ve Mahmoud, S., 2016, Characterization of Myostatin Gene in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*), the Possible Association of BsmI-exon 2 Polymorphism with Its Growth, *Am. J. Life Sci*, 4 (3), 82-86.
- Estoup, A., Gharbi, K., SanCristobal, M., Chevalet, C., Haffray, P. ve Guyomard, R., 1998, Parentage assignment using microsatellites in turbot (*Scophthalmus maximus*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) hatchery populations, *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 55 (3), 715-723.
- FAO, 2018, Species Fact Sheets: *Cyprinus carpio*. <http://www.fao.org/fishery/species/2957/en>. Erişim Tarihi: [29.05.2018].
- Feng, X., Yu, X. ve Tong, J., 2014, Novel single nucleotide polymorphisms of the insulin-like growth factor-I gene and their associations with growth traits in common carp (*Cyprinus carpio* L.), *International journal of molecular sciences*, 15 (12), 22471-22482.
- Filiz, E. ve Koç, I., 2011, Bitki biyoteknolojisinde moleküler markörler, *Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 2011 (2).
- Froufe, E., Magyary, I., Lehoczy, I. ve Weiss, S., 2002, mtDNA sequence data supports an Asian ancestry and single introduction of the common carp into the Danube Basin, *Journal of Fish Biology*, 61 (1), 301-304.
- Ge, W., Davis, M., Hines, H., Irvin, K. ve Simmen, R., 2001, Association of a genetic marker with blood serum insulin-like growth factor-I concentration and growth traits in Angus cattle, *Journal of Animal Science*, 79 (7), 1757-1762.
- Gençer, M. ve Doğankaya, L. D., 2019, Farklı ses uyarılarının sazan balıklarında (*cyprinus carpio* l. 1758) büyüme performansına etkisi.
- Ghanem, M. E., Akita, M., Suzuki, T., Kasuga, A. ve Nishibori, M., 2008, Complex vertebral malformation in Holstein cows in Japan and its inheritance to crossbred F1 generation, *Animal reproduction science*, 103 (3-4), 348-354.
- Güleç, T. E., Yıldırım, A. ve Sönmezoğlu, Ö. A., 2010, Bitkilerde Markör Destekli Seleksiyon, *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi* (2), 67-79.
- Gürses, M. ve Bayraktar, M., 2014, Moleküler markerlerin hayvan yetiştiriciliği ve genetiğinde kullanımı, *Fırat Üniv Sağlık Bil Vet Derg*, 28 (2), 99-106.
- He, J., Zhang, B., Chu, M., Wang, P., Feng, T., Cao, G., Di, R., Fang, L., Huang, D. ve Tang, Q., 2012, Polymorphism of insulin-like growth factor 1 gene and its

- association with litter size in Small Tail Han sheep, *Molecular biology reports*, 39 (10), 9801-9807.
- Heng, J., Su, J., Huang, T., Dong, J. ve Chen, L., 2011, The polymorphism and haplotype of TLR3 gene in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) and their associations with susceptibility/resistance to grass carp reovirus, *Fish & shellfish immunology*, 30 (1), 45-50.
- Houseknecht, K. L., Baile, C. A., Matteri, R. L. ve Spurlock, M. E., 1998, The biology of leptin: a review, *Journal of Animal Science*, 76 (5), 1405-1420.
- 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 (1-4), 143-155.
- İlhan, 2015., Türkiye'de yetiştirilen bazı koyun ırklarında MHC (Major histocompatibility complex) gen bölgesinde genetik varyasyonun belirlenmesi. Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü (Doktora Tezi). KONYA.
- Kol, N. ve Lazebny, O., 2006, Polymorphism of ISSR-PCR markers in Tuvianian population of reindeer *Rangifer tarandus* L, *Russian Journal of Genetics*, 42 (12), 1464-1466.
- Kongchum, P., Hallerman, E. M., Hulata, G., David, L. ve Palti, Y., 2011, Molecular cloning, characterization and expression analysis of TLR9, MyD88 and TRAF6 genes in common carp (*Cyprinus carpio*), *Fish & shellfish immunology*, 30 (1), 361-371.
- Kulkarni, R. N., Holzenberger, M., Shih, D. Q., Ozcan, U., Stoffel, M., Magnuson, M. A. ve Kahn, C. R., 2002, β -cell-specific deletion of the *Igf1* receptor leads to hyperinsulinemia and glucose intolerance but does not alter β -cell mass, *Nature genetics*, 31 (1), 111.
- Little, S., 1995, Amplification-refractory mutation system (ARMS) analysis of point mutations, *Current protocols in human genetics*, 7 (1), 9.8. 1-9.8. 12.
- Mabuchi, K., Miya, M., Senou, H., Suzuki, T. ve Nishida, M., 2006, Complete mitochondrial DNA sequence of the Lake Biwa wild strain of common carp (*Cyprinus carpio* L.): further evidence for an ancient origin, *Aquaculture*, 257 (1-4), 68-77.
- Margaret, C., Vong, Q. P., Cheng, C. H. ve Chan, K. M., 2002, PCR-cloning and gene expression studies in common carp (*Cyprinus carpio*) insulin-like growth factor-II, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Gene Structure and Expression*, 1575 (1-3), 63-74.
- Martinez, V., 2007, Marker-assisted selection in fish and shellfish breeding schemes, *Marker-Assisted selection-Current status and future perspectives in crops, livestock, forestry and fish*, 329-362.
- McPherron, A. C., Lawler, A. M. ve Lee, S.-J., 1997, Regulation of skeletal muscle mass in mice by a new TGF- β superfamily member, *Nature*, 387 (6628), 83.
- Mehrabi, F., Khalisi, M. K. ve Farhadi, A., 2015, Polymorphism of insulin-like growth factor binding protein-3 (IGFBP-3) gene associated with growth traits in *Cyprinus carpio*, *Iranian Journal of Ichthyology*, 2 (3), 172-176.
- Mercan, L., 2010, Yerli tavuk genotiplerinin ticari genotipler ile olan genetik farklılığının SSR (Simple Sequence Repeats-Basit Dizi Tekrarları) yöntemi ile analizi, *Doktora Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun*.
- Mete, Ö. S., 2016, Yerli kıl keçilerinde büyüme hormonu gen polimorfizmi ve büyüme özellikleri ile ilişkisi, *Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü*.

- Mitra, A., Yadav, B. R., Ganai, N. A. ve Balakrishnan, C., 1999, Molecular markers and their applications in livestock improvement, *Current Science*, 77 (8), 1045-1053.
- Moriyama, S., Ayson, F. G. ve Kawauchi, H., 2000, Growth regulation by insulin-like growth factor-I in fish, *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 64 (8), 1553-1562.
- Mullis, K. B., 1990, The unusual origin of the polymerase chain reaction, *Scientific American*, 262 (4), 56-65.
- Orita, M., Iwahana, H., Kanazawa, H., Hayashi, K. ve Sekiya, T., 1989, Detection of polymorphisms of human DNA by gel electrophoresis as single-strand conformation polymorphisms, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 86 (8), 2766-2770.
- Özdil, F., 2007, Mitokondriyel DNA PCR-RFLP (Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi) Markerleri Kullanılarak Türkiye'nin Farklı Bölgelerine Ait Balıkların Tanımlanması. Ankara Üni., *Fen Bilimleri Enst. Zootekni Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Ankara, Türkiye*.
- Özkan, H. ve Yakan, A., 2017, Hayvan Yetiştiriciliğinde Genomik Seleksiyon: Dünü, Bugünü, *Lalahan Hayvancılık Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 57 (2), 112-117.
- Özkara, H. A., 2003, Mutasyon Tarama Yöntemleri, *Türk Klinik Biyokimya Derg.*, 1, 47-53.
- Özsensoy, Y. ve Kurar, E., 2012, Markör Sistemleri ve Genetik Karakterizasyon Çalışmalarında Kullanımları/Marker Systems and Applications in Genetic Characterization Studies, *Journal of Cell and Molecular Biology*, 10 (2), 11.
- Özsensoy, Y. ve Kurar, E., 2012, Markör Sistemleri ve Genetik Karakterizasyon Çalışmalarında Kullanımları, *Journal of Cell & Molecular Biology*, 10 (2).
- Öztürk, 2015,, (İçsu balıkları yetiştiriciliği, 2015)Ders notları.
- Rakus, K. Ł., Wiegertjes, G. F., Adamek, M., Bekh, V., Stet, R. J. ve Imnazarow, I., 2008, Application of PCR-RF-SSCP to study major histocompatibility class II B polymorphism in common carp (*Cyprinus carpio* L.), *Fish & shellfish immunology*, 24 (6), 734-744.
- Rokas, A., Ladoukakis, E. ve Zouros, E., 2003, Animal mitochondrial DNA recombination revisited, *Trends in Ecology & Evolution*, 18 (8), 411-417.
- Şahin, E. Y., 2010, Türkiye'de bulunan bazı kedi ırklarının D-Loop polimorfizminin araştırılması, *Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*.
- Şahinöz, E., Doğru, Z. ve Faruk, A., 2017, Türkiye ve Dünya'da Su Ürünlerinin Mevcut Durumu, *Kent Akademisi*, 10 (32), 466-476.
- Sambrook, H., 1989, Molecular cloning: a laboratory manual. Cold Spring Harbor, NY.
- Sánchez-Ramos, I., Cross, I., Mácha, J., Martínez-Rodríguez, G., Krylov, V. ve Rebordinos, L., 2012, Assessment of tools for marker-assisted selection in a marine commercial species: significant association between MSTN-1 gene polymorphism and growth traits, *The Scientific World Journal*, 2012.
- Saraçoğlu, D., 2007, Yabani ve kültür nohutlarının moleküler genetik yöntemlerle karakterizasyonu, *Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*.
- Su, J., Heng, J., Huang, T., Peng, L., Yang, C. ve Li, Q., 2012, Identification, mRNA expression and genomic structure of TLR22 and its association with GCRV susceptibility/resistance in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*), *Developmental & Comparative Immunology*, 36 (2), 450-462.
- Sun, Y., Yu, X. ve Tong, J., 2012, Polymorphisms in myostatin gene and associations with growth traits in the common carp (*Cyprinus carpio* L.), *International journal of molecular sciences*, 13 (11), 14956-14961.

- Tang, Y., Li, H., Li, J., Yu, F. ve Yu, J., 2016, Association study between single nucleotide polymorphisms in leptin and growth traits in *Cyprinus carpio* var. Jian, *Genetics and molecular research: GMR*, 15 (3).
- Tao, W. ve Boulding, E., 2003, Associations between single nucleotide polymorphisms in candidate genes and growth rate in Arctic charr (*Salvelinus alpinus* L.), *Heredity*, 91 (1), 60.
- Thai, B., Burrridge, C., Pham, T. ve Austin, C., 2005, Using mitochondrial nucleotide sequences to investigate diversity and genealogical relationships within common carp (*Cyprinus carpio* L.), *Animal genetics*, 36 (1), 23-28.
- Tizard, I., 2004, Acquired immunity: antigen-presenting receptors, *Veterinary immunology: an introduction*. Elsevier, Philadelphia, PA, USA, 153, 67-77.
- Tsai, H., Hamilton, A., Guy, D. ve Houston, R., 2014, Single nucleotide polymorphisms in the insulin-like growth factor 1 (IGF 1) gene are associated with growth-related traits in farmed Atlantic salmon, *Animal genetics*, 45 (5), 709-715.
- TÜİK, 2018, su ürünleri İstatistiksel Tabloları, <http://www.tuik.gov.tr/PreTabloArama.do>.
- Ugozzoli, L. ve Wallace, R. B., 1991, Allele-specific polymerase chain reaction, *Methods*, 2 (1), 42-48.
- Vos, P., Hogers, R., Bleeker, M., Reijans, M., Lee, T. v. d., Hornes, M., Friters, A., Pot, J., Paleman, J. ve Kuiper, M., 1995, AFLP: a new technique for DNA fingerprinting, *Nucleic acids research*, 23 (21), 4407-4414.
- Wallis, A. E. ve Devlin, R. H., 1993, Duplicate insulin-like growth factor-I genes in salmon display alternative splicing pathways, *Molecular Endocrinology*, 7 (3), 409-422.
- Wan, Q., Su, J., Chen, X., Yang, C., Chen, L., Yan, N. ve Zhang, Y., 2013, Genomic sequence comparison, promoter activity, SNP detection of RIG-I gene and association with resistance/susceptibility to grass carp reovirus in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*), *Developmental & Comparative Immunology*, 39 (4), 333-342.
- Wang, H., Sun, J., Lu, X., Wang, P., Xu, P., Zeng, L., Yu, D. ve Li, G., 2013, Identification of insulin-like growth factor I gene polymorphisms using high-resolution melting and its effect on growth traits in sinipercid species, *Fisheries science*, 79 (3), 439-446.
- Wang, L., Su, J., Peng, L., Heng, J. ve Chen, L., 2011, Genomic structure of grass carp Mx2 and the association of its polymorphisms with susceptibility/resistance to grass carp reovirus, *Molecular immunology*, 49 (1-2), 359-366.
- Wang, L., Su, J., Yang, C., Wan, Q. ve Peng, L., 2012, Genomic organization, promoter activity of grass carp MDA5 and the association of its polymorphisms with susceptibility/resistance to grass carp reovirus, *Molecular immunology*, 50 (4), 236-243.
- Wang, X., Yu, X. ve Tong, J., 2016, Molecular characterization and growth association of two apolipoprotein A-Ib genes in common carp (*Cyprinus carpio*), *International journal of molecular sciences*, 17 (9), 1569.
- Wang, Z., Jayasankar, P., Khoo, S., Nakamura, K., Sumantadinata, K., Carman, O. ve Okamoto, N., 2000, AFLP fingerprinting reveals genetic variability in common carp stocks from Indonesia, *Asian Fisheries Science*, 13, 139-147.
- Ward, R. D., Zemlak, T. S., Innes, B. H., Last, P. R. ve Hebert, P. D., 2005, DNA barcoding Australia's fish species, *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 360 (1462), 1847-1857.

- Yıldırım, A. ve Kandemir, N., 2002, Genetik Markör ve Analiz Metodları, Bitki Biyoteknolojisi II, Genetik Mühendisliği ve Uygulamaları, Ed, *Sebahattin Özcan, Ekrem Gürel, Mehmet Babaoğlu, SÜ Vakfı Yayınları, Konya*, 334-363.
- Yilmaz, A., Davis, M. E., Hines, H. C. ve Chung, H., 2005, Detection of two nucleotide substitutions and putative promoters in the 5' flanking region of the ovine IGF-I gene, *J. Appl. Genet*, 46, 307-309.
- Yoon, J. M., 2001, Genetic similarity and difference between common carp and Israeli carp (*Cyprinus carpio*) based on random amplified polymorphic DNAs analyses, *Korean Journal of Biological Sciences*, 5 (4), 333-339.
- Yu, J., Li, H., Tang, Y., Li, J. ve Dong, Z., 2010, Isolation and expression of myostatin (MSTN) genes, and their polymorphism correlations with body form and average daily gain in *Cyprinus carpio* var. jian, *Journal of Agricultural Biotechnology*, 18 (6), 1062-1072.
- Zhu, T., Goh, E. L., Graichen, R., Ling, L. ve Lobie, P. E., 2001, Signal transduction via the growth hormone receptor, *Cellular signalling*, 13 (9), 599-616.



ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Ahmed İmad Mohammed MOHAMMED
Uyruğu : Irak
Doğum Yeri ve Tarihi : Kerkük ve 10-11-1994
Telefon : 05340834896
Faks :
e-mail : ahmedimad094@gmail.com

EĞİTİM

Derece	Bitirme Yılı
Lise : Alvalid lisesi	2012
Üniversite : Kerkük Üniversitesi	2016
Yüksek Lisans : Selcuk üniversitesi	2019

İŞ DENEYİMLERİ

UZMANLIK ALANI

YABANCI DİLLER

İngilizce
Arapça

BELİRTMEK İSTEĞİNİZ DİĞER ÖZELLİKLER