

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TÜRKİYE'DE DAMIZLIK TEMİN EDİLEN BAZI BÖLGELERDEKİ
LEVREK (*Dicentrarchus labrax* L. 1758) BALIKLARINDA GENETİK VARYASYONLARIN
MİKROSATELİT MARKIRLAR İLE BELİRLENMESİ ve
BAZI AVRUPA POPÜLASYONLARI İLE KARŞILAŞTIRILMASI

Türker BODUR

DOKTORA TEZİ
SU ÜRÜNLERİ MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

2012

**TÜRKİYE’DE DAMIZLIK TEMİN EDİLEN BAZI BÖLGELERDEKİ
LEVREK (*Dicentrarchus labrax* L. 1758) BALIKLARINDA GENETİK VARYASYONLARIN
MİKROSATELİT MARKIRLAR İLE BELİRLENMESİ ve
BAZI AVRUPA POPÜLASYONLARI İLE KARŞILAŞTIRILMASI**

Türker BODUR

**DOKTORA TEZİ
SU ÜRÜNLERİ MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

Bu araştırma, Akdeniz Üniversitesi, Araştırma Projeleri Yönetim Birimi tarafından 2010.03.0121.015 proje numarası ile desteklenmiştir. Çalışmanın Helenik Deniz Araştırmaları Merkezi (Yunanistan)’nde yürütülen laboratuvar kısmında araştırmacının masrafları COST Action FA0801 (Larvanet) Avrupa Birliği Projesi ile desteklenmiştir.

2012

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TÜRKİYE'DE DAMIZLIK TEMİN EDİLEN BAZI BÖLGELERDEKİ
LEVREK (*Dicentrarchus labrax* L. 1758) BALIKLARINDA GENETİK VARYASYONLARIN
MİKROSATELİT MARKIRLAR İLE BELİRLENMESİ ve
BAZI AVRUPA POPÜLASYONLARI İLE KARŞILAŞTIRILMASI

Türker BODUR

DOKTORA TEZİ

SU ÜRÜNLERİ MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

Bu tez .././2012 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oybirliği/oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

Yrd. Doç. Dr. Tülay İ ÇAĞATAY (Danışman)

Prof. Dr. Beria FALAKALI MUTAF

Prof. Dr. Orhan ERDOĞAN

Doç. Dr. Erkan GÜMÜŞ

Yrd. Doç. Dr. Yılmaz ÇİFTÇİ

ÖZET

TÜRKİYE'DE DAMIZLIK TEMİN EDİLEN BAZI BÖLGELERDEKİ LEVREK (*Dicentrarchus labrax* L. 1758) BALIKLARINDA GENETİK VARYASYONLARIN MİKROSATELİT MARKIRLAR İLE BELİRLENMESİ ve BAZI AVRUPA POPÜLASYONLARI İLE KARŞILAŞTIRILMASI

Türker BODUR

**Doktora Tezi, Su Ürünleri Mühendisliği Anabilim Dalı
Danışman: Yrd. Doç. Dr. Tülay İ. ÇAĞATAY
Haziran 2012, 116 Sayfa**

Araştırmada, levrek yetiştiriciliğinde Avrupa'da, Yunanistan'dan sonra ikinci sırada yer alan ülkemizdeki kuluçkahanelerin damızlık topladığı bölgelerdeki genetik yapının ve akrabalık ilişkilerinin tespit edilerek, bu doğrultuda ileride yapılacak ıslah çalışmalarına temel oluşturacak bilgilerin toplanması amaçlanmıştır. Türkiye'nin Akdeniz ve Ege Denizi'nde ticari kuluçkahanelerin levrek balığı damızlık temin ettiği 5 popülasyonun genetik yapısı, Yunanistan ve Atlantik Okyanusu'ndan temin edilen 2 popülasyon ile (7 popülasyondan toplam 305 birey) ve 10 mikrosatelit lokus ile tespit edilmiştir. Mikrosatelit lokuslarının amplifikasyonu 10'lu Multipleks Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ile yükseltgenerek yapılmıştır. Mikrosatelit lokuslarının alel uzunlukları ABI 3730xl (Applied Biosystem, KANADA) kapılar elektroforez cihazı ile tespit edilmiştir. Ayrıca araştırmada 5 farklı popülasyondan toplanan levrek balığı örneklerinin morfolojik farklılıkları Temel Bileşen Analizi (TBA) Diskriminant Analizi (DA) ile tespit edilmiş olup bu morfolojik farklılıklar genotipik farklılıklarla karşılaştırılmıştır. Diskriminant analizi sonucuna göre Doğanbey ve Homa popülasyonlarının morfolojik olarak birbiri ile benzerlik gösterdiği, morfolojik olarak Köyceğiz ve Beymelek popülasyonlarının, diğer popülasyonlardan ayrıldığı tespit edilmiştir.

Yapılan genotipik incelemenin istatistiksel analizleri sonucunda, diğer popülasyonların aksine Köyceğiz popülasyonunun Hardy-Wienberg dengesinde olduğu (F_{is} 0,036 $P<0,05$) ayrıca bariyer testi sonucuna göre Köyceğiz popülasyonunun diğer popülasyonlardan izole bir yapı içerisinde olduğu tespit edilmiştir. Bunun yanı sıra Homa ve Doğanbey popülasyonlarının yakın akrabalık ilişkisi içinde olduğu (F_{st} 0,00347 $P<0,001$), Yumurtalık popülasyonunun Doğanbey popülasyonu ile yakın ilişkide olduğu tespit edilmiştir (F_{st} 0,01431 $P<0,001$). Bu durum, D_A genetik uzaklık analizi ile ve faktöriyel benzerlik analizi ile benzerlik göstermiştir. D_A ve F_{st} matrisleri ayrı ayrı coğrafik uzaklık matrisi ile mantel testine tabi tutulmuş ve her iki matris karşılaştırmasına göre popülasyonlar arası ilişkinin coğrafik uzaklıkla ilişkili olduğu tespit edilmiştir edilmiştir (sırasıyla $r=0,952$ ve $r=0,888$ $P<0,001$). Tüm popülasyonlar arasında uygulanan genetik yapı analizi sonucuna göre Yunanistan popülasyonundaki bireylerin, Atlantik popülasyonundaki bireylerle benzerlik gösterdiği, Atlantik popülasyonu ile Yumurtalık popülasyonunun diğer yerli popülasyonlara göre daha çok benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir. Popülasyonlararası gen akışı sonuçları diğer analiz sonuçlarını desteklemekte, Homa ve Doğanbey popülasyonları arasında en çok gen akışı olduğu 71,74 ancak Köyceğiz popülasyonunda ise diğer popülasyonlarla arasında çok düşük bir gen akışı olduğu tespit edilmiştir. Araştırmamızda elde ettiğimiz bulgulara göre, ülkemizde levrek balığı ıslah çalışmaları için en uygun popülasyonun Hardy-Weinberg dengesinde oluşu ve diğer popülasyonlardan daha izole olması nedeniyle genetik yapısının daha iyi korunmuş olmasından dolayı Köyceğiz popülasyonunun olduğu tespit edilmiştir.

ANAHTAR KELİMELEER: Levrek balığı, damızlık, ıslah, popülasyon yapısı,
mikrosatelit markır

JÜRİ: Yrd. Doç. Dr. Tülay İ ÇAĞATAY (Danışman)
Prof. Dr. Beria FALAKALI MUTAF
Prof. Dr. Orhan ERDOĞAN
Doç. Dr. Erkan GÜMÜŞ
Yrd. Doç. Dr. Yılmaz ÇİFTÇİ

ABSTRACT

IDENTIFYING OF GENETIC VARIATION OF EUROPEAN SEABASS (*Dicentrarchus labrax* L, 1758) BROODSTOCK COLLECTED TURKISH COASTS BY MICROSATELLITE MARKERS AND COMPAIRE SOME OF EUROPEAN POPULATIONS

Türker BODUR

**Ph.D. Thesis in Aquaculture Engineering
Adviser: Assist. Prof. Dr. Tülay İ. ÇAĞATAY
June 2012, 116 Pages**

The aim of this study is to investigate genetic structure of sea bass and their population relation where the hatcheries collect their broodstock candidates from nature and which will be basis of future improvement researches in Turkey, second biggest sea bass produce in Europe after Greece. The genetic structure of sea bass from 5 different populations from Mediterranean and Aegean Sea is determined by 10 microsatellite locus and in addition 2 foreign populations from Greece and Atlantic origine in order to see differences well enough (in total 7 populations 305 individuals). The amplification of microsatellite locus was made by 10 loci Multiplex PCR. Allel sizes of microsatellite locus were investigated by ABI 3730xl (Applied Biosystem, CANADA) capillary electrophoresis. In addition, morphologic differences of 5 Turkish populations were determined by Principal Component Analysis and Discriminant Factor Analysis to compare with genotypic differences. According to discriminant factor analysis results, Doğanbey and Homa populations are similar each other by morphologically and the isolate group from others are Köyceğiz and Beymelek population were determined.

The results of statistical analysis of genotypic research showed that Köyceğiz population was in Hardy-Weinberg Equilibrium (F_{is} 0.0036 $P<0.05$). Also barrier analysis results supported that as Köyceğiz population was more isolated from other populations. Genotypic results showed that Homa and Doğanbey populations were in much closer relation (F_{st} 0.00347 $P<0.001$), Yumurtalık population is more close relation with Doğanbey population (F_{st} 0.01148 $P<0.001$). This case found similar results with the results of D_A genetic distance and factorial correspondence analysis. Mantel test is applied between D_A and F_{st} results with geographic distance severally in every populations and each matrix comparison shows similar results as the relation of population depend on geographic distance (in that order $r=0.952$ ve $r=0.888$ $P<0.001$). According to structure test, in all population, Atlantic and Greek populations have shown similar genetical structure and also Atlantic population was more similar with Yumurtalık population which is in North-East Mediterranean. Gene flow (N_m) between populations was supporting all this other test as the gene flow between Homa and Doğanbey is 71.74 in each generation but very low in Köyceğiz population. As a result of this study we can suggest to hatchery manager to choose Köyceğiz population for their prospective broodstocks because of the isolation from other population which provide the gene pool in Hardy Weingberg Equilibrium.

KEYWORDS: European sea bass, broodstock, improvement, population structure, microsatellite marker

COMMITTEE: Assist. Prof. Dr. Tülay İ ÇAĞATAY (Supervisor)
Prof. Dr. Beria FALAKALI MUTAF
Prof. Dr. Orhan ERDOĞAN
Assoc. Prof. Dr. Erkan GÜMÜŞ
Assist. Prof. Dr. Yılmaz ÇİFTÇİ

ÖNSÖZ

Ülkemizde deniz balıkları yetiştiriciliğinin başlamasından itibaren, bu yönde yapılan bilimsel çalışmaların, çoğunlukla sektörün deneme yanılma yoluyla veya kapsamlı Ar-Ge projeleri ile yaptığı araştırmaların gerisinde kaldığı gerçeği hep tartışıla gelmiştir. Su ürünleri yetiştiriciliği araştırmalarında alt yapı maliyetinin yüksekliği nedeniyle araştırmacıların bu olanaklara erişememesi, dolayısı ile kendini geliştirememesi, sektörün ya kendi kendine çalışmalar yapmasına ya da yurtdışında alt yapısı olan ve deneyimli kurumlarla ortak çalışmalara girmesini sebep olmuştur. Yapılan bilimsel araştırmaların sektörün ihtiyacından geri kalmış olmasına diğer bir sebep ise, sektörde çoğunlukla hızlı bir çözüm yolu bulma sürecini kapsayan bu araştırma faaliyetlerine, Türk akademisyenlerin gerek sektörden uzak oluşu, gerekse bürokratik sebeplerle sektöre ayak uyduramamasından kaynaklandığı söylenebilir.

Yüksek lisans çalışmamı yaptığım 1999-2000 yılları arasında henüz ülkemizde çipura larvalarının erken dönemde enzim ilaveli mikrodiet yemlerle beslenmesi üzerine bir araştırma mevcut değildi. Avrupa'da bu konu üzerine yeni araştırmalar yapılmaya başlamıştı. Bilimden elde edilen sonuçların hızlı bir şekilde sektör ile buluşmasının önemini bildiğimden o zamanki şartları sonuna kadar zorlayıp söz konusu konu üzerine bir araştırma yaptım. Bu çalışmam ülkemizde yapılan ilk enzim ilaveli mikrodiet yem çalışmalardan biri idi.

Doktora tez konumun seçiminde ise yine sektörün ihtiyacı olan bir soru işaretinin giderilmesi ve güncel bir konu üzerinde çalışma kararındaydım. Halen deniz balıkları yetiştiriciliği sektöründe üst düzey yönetici olarak çalışan arkadaşım Su Ürünleri Yüksek Mühendisi İlkay Sinan TOPLU ile levrek balığında en kaliteli yavrunun, genetik karakterleri en iyi olan (kuluçka oranı yüksek, hızlı büyüyen, hastalıklara dirençli, ölüm oranı düşük) ürününün nasıl elde edileceği üzerine sohbetlerimiz olmuştu. Ülkemizde hızla gelişen levrek balığı yetiştiriciliğinde

kuluçkahane aşamasında, damızlık temini sırasında popülasyonlar arası ve içi genetik farklılığın tespit edilmesi üzerine kapsamlı bir araştırma yapılmış değildir. Avrupa’da ise bu çalışmalar yıllar önce tamamlanmış, şuan çalışmalar daha ileriki basamaklara damızlıkların istenen karakterlere göre ıslahına kadar taşınmıştır. Dolayısı ile ülkemizde levrek balığının damızlık ıslahının yapılabilmesi için öncelikle ülkemizdeki kuluçkahanelerin levrek balığı damızlıklarını topladığı bölgelerdeki levrek balığı genetik farklılıklarının kapsamlı bir araştırma ile ortaya çıkartılması gerekmektedir. Literatür araştırması yaptığımda spesifik olarak bu konu üzerine bir araştırma yapılmadığını, yapılan çalışmaların yukarıda belirttiğim olanak eksiklikleri nedeni ile ufak ölçekli (iki istasyon ve/veya 4-5 markır ile) araştırmalar olduğunu tespit ettim ve bu konu üzerine çalışmaya karar verdim.

Dolayısı ile tez konumu belirlemem hususunda bilgi ve tecrübelerini, manevi desteğini esirgemeyen ve ilk fikrimin oluşmasını sağlayan arkadaşım Su Ürünleri Yüksek Mühendisi İlkay Sinan TOPLU’ya teşekkür ederim.

Akademik yaşamım ve Doktora eğitimim süresince manevi desteğini esirgemeyen, bu noktada bana her zaman bir baba gibi yaklaşan, bana hayat tecrübelerini aktaran, zor dönemlerimde hep yanımda olan, olayları farklı yönleri ile görmemi sağlayan ve bana, gücüme güç katan değerli büyüğüm, abim, arkadaşım, Hocam Öğr. Gör. Hayri GÜLYAVUZ’un sadece bu araştırmanın oluşmasında değil, benim akademik bakış açımın oluşmasında manevi katkısına değinmeden geçemem. Kendisine teşekkürü borç bilirim.

Yine bu süreçte fakültemizin kurucu dekanımız olan ve aynı zaman da ders aşamasında danışmanlığımı yürüten olan Sayın Hocam Prof. Dr. Ramazan İKİZ’e teşekkür ederim. Her türlü aksi söylemlere karşı bana inanan, bu konuda bana güvenerek doktora eğitimimin tez çalışması kısmında danışmanlığını yapan Sayın Yrd. Doç. Tülay İ. ÇAĞATAY’ın araştırma ile ilgili sıkıntılarının çözümünde yardımları ve onun yol göstericiliği bu çalışmayı başarılı kılmıştır. Kendisine teşekkür ederim.

Araştırmanın her aşamasında maddi ve manevi desteğini esirgemeyen, durumları farklı değerlendirmesi ile sorunlarımı çözmeme yardım eden, özellikle araştırmanın örnek toplama kısmında emeği olan, uzun yıllardır hayatıma değer katan güzel insan Su Ürünleri Mühendisi Can Okan GÜNAYDIN'a her türlü şartta bana katlandığı ve değerli yardımları için teşekkür ederim.

Bu çalışmamın oluşmasında ve laboratuvar kısmında araştırmaya katkıda bulunan değerli arkadaşım Yrd. Doç. Dr. Ercüment AKSAKAL'a (Atatürk Üniversitesi), tez araştırmasının son aşamasında tecrübeleri ve sunduğu laboratuvar imkanları ile çalışmayı daha güçlü kılan Dr. Costas TSIGENOPOULOS, teknisyenler Vasso TERZOGLU ve Stelios DARIVIANAKIS (Hellenik Deniz Araştırmaları Merkezi, Yunanistan)'e teşekkür ederim.

İngiltere'de genetik üzerine laboratuvar tekniklerini öğrenmeme yardımcı olan benimle tecrübelerini paylaşan ve bana yol gösteren Dr. Ferenc MÜLLER (Birmingham Üniversitesi, İngiltere) ve Dr. Andres ZAUCKER'e (Birmingham Üniversitesi, İngiltere), Doktora eğitimim sırasında yardımlarından dolayı değerli arkadaşım Arş. Gör. Yasemin KAYA (Akdeniz Üniversitesi)'ya ve diğer mesai arkadaşlarıma teşekkür ederim. Akdeniz Su Ürünleri Araştırma Üretme ve Eğitim Enstitüsü Müdürü Doç. Dr. Yılmaz EMRE'ye Beymelek Lagünü'nden ve Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Homa Dalyanı Sorumlusu Prof. Dr. Zafer TOSUNLAR'a Homa Dalyanı'ndan örnek temim etmemdeki yardımlarından dolayı teşekkür ederim. Dağlardaki dostlarım Akın BOZYAK ve UMUT ŞEN'e her türlü destekleri için teşekkür ederim.

Tüm hayatım boyunca beni aklımdan hiç çıkartmayan, rasyonel yalnızlığımı reel mutluluğa dönüştüren her ay yolladığı sevgi kolileri ile her türlü sohbetimizde eşsiz nasihat ve değerlendirmeleri ile bana hep umut ışığı veren güçlü kadın, güzel insan, sevgili annem Gülhis TANRIVERDİ; maddi manevi sen olmasaydın bu çalışma olmazdı. Seni çok seviyorum sana hiçbir teşekkür yetmez.

Henüz Lise yıllarında, 1992’de Bodrum’da kurduğu balık çiftliği ile parmaklarımın balık yemine değmesine, ellerimin balık ağlarına dolaşmasına ve nefesime denizin iyodunun karışmasına sebep olan, mesleğimi seçmemin kaynağı olan babam. Bu konuda tüm iş çevresini tanımama vesile olan ve elbette bana mesleği ilk öğreten insan, sevgisini göstermeyi sevmese de aklından beni hiç çıkartmadığını bildiğim, gerek maddi gerekse manevi desteği ile bana yardımcı olan babam Fehmi BODUR; belki de farkında olmadan beni ben yapan değerli varlığım, çok teşekkür ediyorum.

Konu hakkında asgari bilgisi dahi olmasa da bana yardımcı olabilmek için öğrenmeye çalışan, araştıran, evimizdeki otoritesi ile yoldan çıktığımda elimden tutup beni yola çeken, tüm hayatım boyunca kendisinden çok şey öğrendiğim güzel ablam Asu BODUR NOHL’e, bu araştırmanın ortaya çıkmasındaki maddi ve manevi desteğin için teşekkür ederim.

Aysu ve Cansu BODUR, değerli ikiz kardeşlerim. Hayatımın neşesi, bazen törpüsü. Asgari tecrübeniz ile sunmaya çalıştığınız desteğin değeri ölçülemez. Her şeyin en güzeline layıksınız. 29 sene önce bugün hayatıma girdiniz, en büyük hayalim oldunuz. Doğum gününüzü kutluyorum. Size teşekkür ediyorum.

Canım Annem Gülhis TANRIVERDİ

ve

Babam Fehmi BODUR’a ithafımdır

17.01.2012

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	iii
ÖNSÖZ.....	v
İÇİNDEKİLER.....	ix
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	xiii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xvii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xix
1. GİRİŞ.....	1
2. KURAMSAL BİLGİLER VE KAYNAK TARAMALARI.....	7
2.1. Levrek Balığının Sistematığı ve Biyolojisi.....	7
2.2. Balık Islahının Tarihsel Gelişimi.....	9
2.3. Selektif Yetiştiricilik.....	10
2.4. Damızlık Balık Seçimi.....	13
2.5. Morfolojik Yöntemlere Dayalı Önceki Popülasyon Yapısı Araştırmaları	14
2.6. Markır Teknolojisi.....	17
2.7. Mikrosatelit Markır.....	20
2.8. Popülasyon Çalışmalarında Kullanılan İstatistiksel Yöntemler.....	23
2.8.2. Alel sayıları ve frekansları.....	23
2.8.3. Heterozigotluk.....	23
2.8.4. F İstatistikleri.....	24
2.8.5. Moleküler varyans analizi.....	27
2.8.6. Etkin popülasyon büyüklüğü (N_e).....	28
2.8.7. Gen akışı (N_m).....	29

2.8.8. Irklar arası genetik uzaklıklar (Filogenetik ilişkilerin açıklanması)	30
2.8.9. Bariyer testi.....	31
2.8.10. Mantel testi.....	31
2.8.10. Faktöriyel benzerlik analiz.....	31
2.8.11. Genetik yapı analizi.....	32
2.9. Mikrosatelit Markır Yöntemi ile Yapılan Önceki Araştırmalar.....	32
3. MATERYAL ve METOT.....	42
3.1. Materyal.....	42
3.1.1. Balık örneklerin toplanması ve taşınması	42
3.1.2. Araştırmanın yürütüldüğü yerler.....	43
3.1.3. Çalışmada kullanılan mikrosatelit markırlar.....	43
3.1.4. Araştırmada kullanılan primerler ve bazı özellikleri.....	46
3.1.5. Kullanılan kimyasal ve çözeltiler.....	47
3.1.5.1. DNA izolasyonunda kullanılan kimyasallar ve çözeltiler.....	47
3.1.5.2. Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR)'nda kullanılan kimyasallar.....	48
3.1.5.3. Jel elektroforez uygulamasında kullanılan materyaller.....	48
3.1.5.4. Kapılar elektroforezinde kullanılan kimyasallar.....	48
3.2. Metot.....	49
3.2.1. Metrik ve meristik ölçümler.....	49
3.2.2. Örneklerden doku alınması ve genomik DNA izolasyonu.....	50
3.2.3. DNA'nın kantitatif ve kalitatif tayini.....	51
3.2.4. Multipleks polimeraz zincir reaksiyonu.....	51
3.2.5. Kapılar elektroforez ile alellerin belirlenmesi.....	52
3.2.6. Alel uzunluklarının belirlenmesi.....	53
3.2.7. İstatistiksel analizler.....	54

3.2.7.1. Morfolojik bulgulara uygulanan istatistik analizler: Temel bileşen analizi (TBA) ve diskriminat (Ayrırma) analizi.....	54
3.2.7.2. Genetik varyasyonun belirlenmesinde kullanılan istatistiksel analizler.....	55
4. BULGULAR.....	57
4.1. Morfolojik Bulgular.....	57
4.2. Temel Bileşen ve Diskriminant (Ayrırma) Analizleri Bulguları.....	58
4.3. DNA'nın Kantitatif ve Kalitatif Tayini.....	61
4.4. Mikrosatelit Markır Sonuçları.....	63
4.4.1. Alel sayılarının tespiti.....	63
4.4.2. Alel frekanslarının değerlendirilmesi.....	64
4.4.3. Heterozigotluk analizi.....	73
4.4.4. F Parametrelerinin tespiti.....	75
4.4.5. Popülasyonlar arası moleküler varyans analizi (AMOVA).....	77
4.4.6. Etkin popülasyon büyüklüğü (N_e).....	78
4.4.7. Gen akışı (N_m) değeri.....	78
4.4.8. Nei D_A genetik uzaklık metodu ile uzaklığın belirlenmesi	79
4.4.9. Bariyer analizi sonuçları.....	81
4.4.10. Mantel testi bulguları.....	81
4.4.11. Faktöriyel benzerlik analizi sonuçları.....	82
4.4.12. Popülasyon yapı testi bulguları.....	84
5. TARTIŞMA.....	86
5.1. Morofolojik Verilerin Değerlendirilmesi.....	86
5.2. Genotipik Verilerin Değerlendirilmesi.....	87
5.2.1. Alel verilerinin değerlendirilmesi.....	87
5.2.2. Heterozigotluk verilerinin değerlendirilmesi.....	91
5.2.3. F istatistik parametrelerinin değerlendirilmesi.....	93

5.2.4. N_m gen akışı ve N_e etkin popülasyon büyüklüğü değerlerinin incelenmesi.....	95
5.2.5. Genetik uzaklık analizinin değerlendirilmesi.....	98
5.2.6. Mantel testi ve bariyer analizi sonuçlarının değerlendirilmesi....	99
5.2.7. Faktöriyel benzerlik analizinin değerlendirilmesi.....	100
5.2.8. Popülasyon yapı testinin değerlendirilmesi.....	100
6. SONUÇ.....	103
7. KAYNAKLAR.....	105
ÖZGEÇMİŞ	

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

$^{\circ}\text{C}$	santigrad derece
kg	kilogram
km	kilometre
cm	santimetre
g	gram
ml	mililitre
M	molar
mM	milimolar
mm	milimetre
μl	mikrolitre
dak	dakika
sn	saniye
A	absorbans
X_i	A_i lokusundaki alelin frekansı
N	Örneklenen toplam birey sayısını
x_{ii}	A_i alelindeki toplam homozigot birey sayısı
n_{ij}	A_i alelindeki toplam heterozigot birey sayısı
\hat{h}	bir popülasyon için heterozigotluk
\hat{x}	A_i alelinin frekansı
H_0	Gözlenen heterozigotluk
H_e	Beklenen Heterozigotluk
H_s	Alt popülasyonlarda beklenen heterozigotluk ortalaması
H_t	Toplam popülasyonlardaki heterozigotluk ortalaması
F_{it}	Tüm Popülasyonların fiksasyon değeri
F_{is}	Popülasyonlar içi fiksasyon değeri

F_{st}	Popülasyonlar arası fiksasyon değeri
θ	Weir ve Cockerham (1984)'ün kullandığı F_{st} değeri
f	Weir ve Cockerham (1984)'ün kullandığı F_{is} değeri
N_e	Popülasyon etkin büyüklüğü
N_m	Gen akışı
D_A	Nei vd (1983) tarafından geliştirilen genetik uzaklık
x_{ij}	X örneğinde çalışılan j'inci lokusun i'ci alelinin frekansı
y_{ij}	Y örneğinde çalışılan j'inci lokusun i'ci alelinin frekansı
m_j	j'inci lokustaki alel sayısı
r	Çalışılan toplam lokus sayısı,
n_m	Morfolojik analiz için kullanılan örnek sayısı
n_g	Genotipik analiz için kullanılan örnek sayısı
$bç$	Baz çifti (bp) (base pair)
∞	Sonsuz
rpm	Dakikada dönüş sayısı (rotate per minute)
K	Yapı Analizinde varsayılan alt popülasyon değeri
\bar{X}	Aritmetik Ortalama
Y_s	Standardize edilen değer
Y_n	Standardize edilecek ölçüm
X_o	standart ölçek değeri (100mm olarak alınmıştır),
X_n	n bireyinin standart uzunluğu
b	Regresyon katsayısı

Kısaltmalar

FAO	Dünya Gıda ve Tarım Örgütü (Food and Agriculture Organisation)
TÜİK	Türkiye İstatistik Kurumu
ASFA	Su Ürünleri ve Balıkçılık Özetleri (Aquatic Science and Fisheries Abstract)
PZR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) (Polymerase Chain Reaction)
DNA	Deoksiribonükleik Asid
RNA	Ribonükleik Asid
RFLP	Restriksiyon Parçalar Uzunluk Polimorfizm (Restriction Fragment Length Polymorphism)
EST	DNA dizilerinin belirlenmesi
GSS	Genomik sıralama
AFLP	Çoğaltılabilen Parçacık Uzunluğu Polimorfizmi (Amplified Fragment Length Polymorphism)
RADPs	Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA'lar (Randomly Amplified Polymorphic DNAs)
SNPs	Tek Nükleotid Polimorfizmi (Single Nucleotide Polymorphism)
mtDNA	Mitokondriyal DNA
SSR	Basit Dizilim Tekrarları (Simple Sequence Repeat)
STR	Basit Ardarda Sıralı Tekrarlar (Simple Tandem Repeat)
IPN	İnfeksiyöz Pankreatik Nekrozis (Infectious Pancreatic Necrosis)
FAM	DNA sekans analizatörü işaretleyicisi mavi renk
HEX	DNA sekans analizatörü işaretleyicisi kırmızı renk
ROX	DNA sekans analizatörü işaretleyicisi yeşil renk
TAMRA	DNA sekans analizatörü işaretleyicisi siyah renk
TNES	DNA ekstraksiyon tamponu
EDTA	Etilen diamin tetra asetik asit
HCl	Hidroklorik Asit
TAE	Tris Asetik Asit EDTA

ABI	Applied Bio System
Hi-Di	Yüksek Deiyonize (High Deionized)
LIZ	Baz standartı
TB	Toplam boy
ÇB	Çatal boy
GÇ	Göz çapı
GM	Gözler arası mesafe
BK	Baş kalınlığı
PS	Pul sayısı
DI	Birinci dorsal yüzgeç ışın sayısı
DIY	İkinci dorsal yüzgeç yumuşak ışın sayısı
KY	Kuyruk yüzgeci ışın sayısı
AYY	Anal yüzgeç ışın sayısı
GY	Göğüs yüzgeci ışın sayısı
SPSS	Sosyal Bilimciler için İstatistik Programı (Statistic Programe for Social Scientist)
UV	Ultraviyole Işık
TBA	Temel Bileşen Analizi
DA	Diskriminant (Ayrırma) Analizi
MANOVA	Çoklu varyans analizi (Multivariate analysis of variance)
AMOVA	Moleküler Varyans Analizi (Analysis of Molecular Variance)
n_A	Alel sayısı
n_g	Nanogram
SE	Standart Hata
Min-Mak	Minimum – Maksimum
NJT	Komşu Birleştirme Ağacı (Neighbour Joining Tree)
MCMC	Monte Carlo Markow Chain
P	Probability değeri

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Levrek balığının dünyada yetiştiricilik miktarları (FAO 2012).....	1
Şekil 1.2. Levrek balığının ülkemizde yetiştiricilik miktarları (TÜİK 2011).....	2
Şekil 1.3. 1965-2005 yılları arasında su ürünleri genetiği üzerine yapılan bilimsel çalışmaların sayıları. ASFA kaynak olarak alınmıştır (Kochzius 2009'den derlenmiştir.).....	3
Şekil 1.4. Yıllara göre kemikli balıklarda (Teleostei) toplam DNA baz sırası kaydı (GeneBank sayfasından derlenmiştir, Ocak 2012) GSS: Genome Survey Sequences; EST: Expressed Sequence Tags; Nuk: GSS ve EST olmayan tüm diğer nükleotidler (www.ncbi.nlm.nih.gov).....	4
Şekil 2.1. Levrek balığı (Fischer vd 1987).....	7
Şekil 2.2. Levrek balığının Avrupa ve Kuzey Afrika'da doğal yayılım alanları ve görece görünme olasılıkları (www.fishbase.org 23 Ocak 2012).....	8
Şekil 2.3. Mikrosatelit markırların motif çeşitleri.....	21
Şekil 2.4. Mikrosatelitlerin polimorfizm yapısı.....	22
Şekil 2.5. Mikrosatelit alellerinin jel üzerinde ayrımı ve kalıtım bilgisinin izahı (Liu ve Cordesb 2004'den düzenlenmiştir).....	22
Şekil 2.6. Akdeniz ve Atlantik'te farklı markır teknolojileri ile levrek balığı üzerine yürütülmüş popülasyon çalışmaları (daire: allizom, üçgen: mikrosatelit, kare: mikrosatelit ve mtDNA, yıldız: allizom + mikrosatelit vd, yamuk: mtDNA, köşegen:RADPs).....	35
Şekil 3.1. Örneklerin toplandığı istasyonlar (ölçek bar 200 km).....	42
Şekil 3.2. Levrek balığında TRUSS Ağ Analizi için belirlenen sınırlar ve ölçülen mesafeler.....	49
Şekil 3.3. Multipleks PZR için termal döngü cihazı çalışma protokolü.....	52
Şekil 3.4. STRand bilgisayar programında DLA00044 nolu mikrosatelit lokusunun alel boyunun tespiti.	53
Şekil 4.1. Temel bileşen analizinde 32 bileşenin özdeğerleri.....	59
Şekil 4.2. Diskriminant (ayırma) analizi grafiği.....	61
Şekil 4.3. Doğanbey istasyonundan bazı bireylere ait DNA izolasyonunun %1'lik agaroz jel elektroforez sonucu.....	62

Şekil 4.4. Lokus başına toplam düşen alel sayılarının tüm popülasyonlara göre dağılımı.....	63
Şekil 4.5. Popülasyonların D_A Genetik uzaklıklarının komşu birleştirme analizi sonucu filogenetik ilişkisi.....	80
Şekil 4.6. Yerli popülasyonların D_A genetik uzaklıklarının komşu birleştirme analizi sonucu filogenetik ilişkisi	80
Şekil 4.7. Bariyer analizi sonucu batimetrik harita üzerinde oluşan bariyerler...	81
Şekil 4.8. Faktöriyel Benzerlik Analizi'nde tüm popülasyonların akrabalık ilişkileri.....	83
Şekil 4.9. Türkiye'ye ait popülasyonların Faktöriyel Benzerlik Analizi.....	84
Şekil 4.10. Popülasyon yapı testi sonucunda popülasyonların ayrılması.....	85
Şekil 5.1. Yunanistan ve İspanya'da kültür ve doğal popülasyonların yapı analizi sonucu (Tsigenopoulos 2012'den).....	102

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Su ürünleri popülasyon genetiği ve ıslah çalışmalarında kullanılan bazı moleküler markır teknikleri ve özellikleri (Liu ve Cordesb 2004'den düzenlenmiştir).....	19
Çizelge 2.2. Akdeniz ve Atlantik'te farklı markır teknolojileri ile levrek balığı üzerine yürütülmüş popülasyon çalışmaları (daire: allizom, üçgen: mikrosatelit, kare: mikrosatelit ve mtDNA, yıldız: allizom + mikrosatelit vd, yamuk: mtDNA, köşegen:RADPs) (Tsigenopoulos 2012).....	35
Çizelge 2.3. Bazı balık türlerinde mikrosatelit markırlar ile oluşturulan gen bağlantı haritaları (Liu vd 2007, Aksakal 2009).....	37
Çizelge 3.1. Tüm istasyonlardan toplanan toplam birey sayısı (n_t), morfolojik çalışmada kullanılan örnek sayıları (n_m), genotip çalışmasından kullanılan örnek sayısı (n_g) ve örneklerin toplandığı (MEOW'a göre) coğrafik bölge kodları.....	43
Çizelge 3.2. DLA00044 nolu Mikrosatelit markır bilgileri ve baz dizilimi.....	44
Çizelge 3.3 DLA00060 nolu Mikrosatelit markır bilgileri ve baz dizilimi.....	44
Çizelge 3.4. DLA00061 nolu mikrosatelit markır bilgileri ve baz dizilimi.....	44
Çizelge 3.5. DLA00068 nolu Mikrosatelit markır bilgileri ve baz dizilimi.....	44
Çizelge 3.6. DLA00073 nolu mikrosatelit markır bilgileri ve baz dizilimi.....	45
Çizelge 3.7. DLA00078 nolu Mikrosatelit markır bilgileri ve baz dizilimi.....	45
Çizelge 3.8. DLA00081 nolu Mikrosatelit markır bilgileri ve baz dizilimi.....	45
Çizelge 3.9. DLA00086 nolu Mikrosatelit markır bilgileri ve baz dizilimi.....	46
Çizelge 3.10. DLA00089 nolu Mikrosatelit markır bilgileri ve baz dizilimi.....	46
Çizelge 3.11. DLA00096 nolu Mikrosatelit markır bilgileri ve baz dizilimi.....	46
Çizelge 3.12. Mikrosatelit markır çoğaltılmasında kullanılan primerlerin özellikleri (FAM: Mavi; HEX: Yeşil; ROX: Kırmızı; TAMRA: Siyah) (Tsigenopoulos vd 2006, 2007).....	47
Çizelge 3.13. TAE (Tris asetik asit EDTA) (Aksakal 2009).....	48

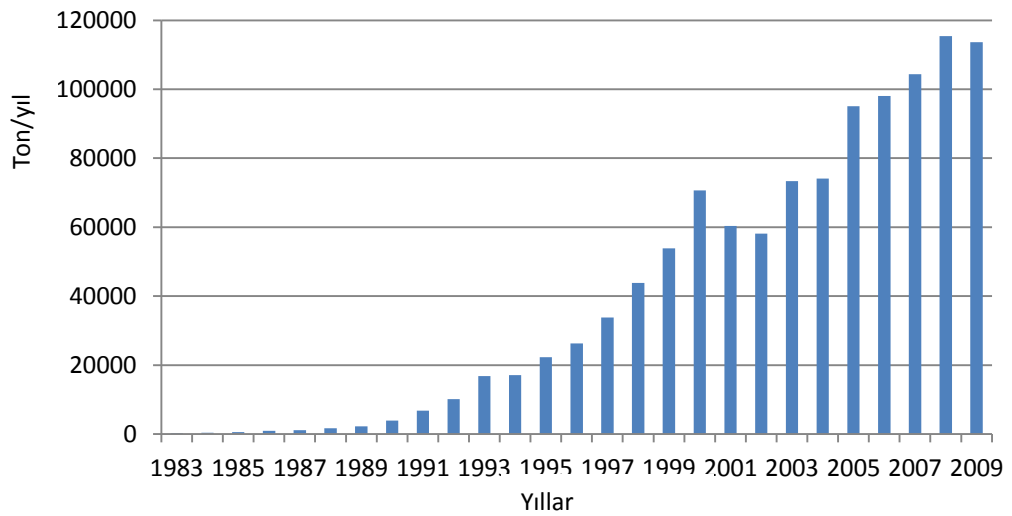
Çizelge 3.14. Multipleks PZR çalışma karışımı.....	54
Çizelge 4.1. Türkiye'deki beş popülasyona ait morfolojik bulgular (\bar{X} :aritmetik ortalama, SE: standart hata).....	57
Çizelge 4.2. Truss Ağ Analizinde sınırlar arası mesafeler (mm) (\bar{X} :aritmetik ortalama, SS: standart sapma).....	58
Çizelge 4.3. Diskriminant (Ayrırma) Analizinde morfolojik verilerin fonksiyonlara ayrılması, fonksiyonların özdeğerleri ve varyans yüzdeleri. İstatistiki olarak önemsiz bulunan veriler koyu olarak gösterilmiştir * P<0,05, ** P<0,01.....	60
Çizelge 4.4. Ege ve Akdeniz'den toplanan 5 popülasyona ait DNA'ların kantitatif tayini ortalama verileri.....	62
Çizelge 4.5. Popülasyonlara göre lokuslarda görülen alel sayıları, ortak alel sayıları, lokus ve popülasyon başına düşen ortalama alel sayısı...	64
Çizelge 4.6. DLA0044 lokusuna ait alel frekansları.....	65
Çizelge 4.7. DLA0060 lokusuna ait alel frekansları.....	66
Çizelge 4.8. DLA0061 lokusuna ait alel frekansları.....	67
Çizelge 4.9. DLA0068 lokusuna ait alel frekansları.....	67
Çizelge 4.10. DLA0073 lokusuna ait alel frekansları.....	68
Çizelge 4.11. DLA0078 lokusuna ait alel frekansları.....	70
Çizelge 4.12. DLA0081 lokusuna ait alel frekansları.....	71
Çizelge 4.13. DLA0086 lokusuna ait alel frekansları.....	72
Çizelge 4.14. DLA0089 lokusuna ait alel frekansları.....	72
Çizelge 4.15. DLA0096 lokusuna ait alel frekansları.....	73
Çizelge 4.16. Beklenen heterozigotluk (H_e) değerlerinin 7 popülasyonda lokuslara göre dağılımı.....	74
Çizelge 4.17. Gözlenen heterozigotluk (H_o) değerlerinin 7 popülasyonda lokuslara göre dağılımı.....	75

Çizelge 4.18. Popülasyonlara ve lokuslara göre F_{is} değerleri.....	76
Çizelge 4.19. Popülasyonların ikili karşılaştırmaları sonucunda hesaplanan F_{st} değerleri (üst matriks) ve önemlilik seviyeleri (alt matriks). P-değeri=0,002381.....	77
Çizelge 4.20. Popülasyonların moleküler varyan analizi (AMOVA).....	77
Çizelge 4.21. Etkin popülasyon büyüklüğü (N_e) ve %95 güven aralıkları (GA)....	78
Çizelge 4.22. Gen akışı (N_m) değerleri.....	78
Çizelge 4.23. Popülasyonların D_A Genetik uzaklıkları (Nei vd 1983).....	79
Çizelge 4.24. Mantel testinde kullanılan coğrafik uzaklık (km) D_A genetik uzaklık matriksi.....	82
Çizelge 4.25. Mantel testinde kullanılan coğrafik uzaklık (km) ve F_{st} değeri matriksi.....	82
Çizelge 5.1. Aynı Mikrosatelit lokusların kullanıldığı önceki araştırmalarda ile bizim çalışmamızda tespit edilen toplam alel sayılarının karşılaştırılması.....	89
Çizelge 5.2. Çalışmada gözlenen özgün alellerin lokuslar ve popülasyon grupları (yerli ve yabancı) arasında dağılımı.....	90
Çizelge 5.2. Allel sayıları, özgün alel sayıları, heterozigotluk, F_{is} ve etkin popülasyon büyüklüğü değerleri ortak tablosu. N: örnek sayısı, N_A : ortalama allel sayısı, H_e beklenen heterozigotluk, H_o gözlenen heterozigotluk, N_e : etkin popülasyon büyüklüğü	91

1. GİRİŞ

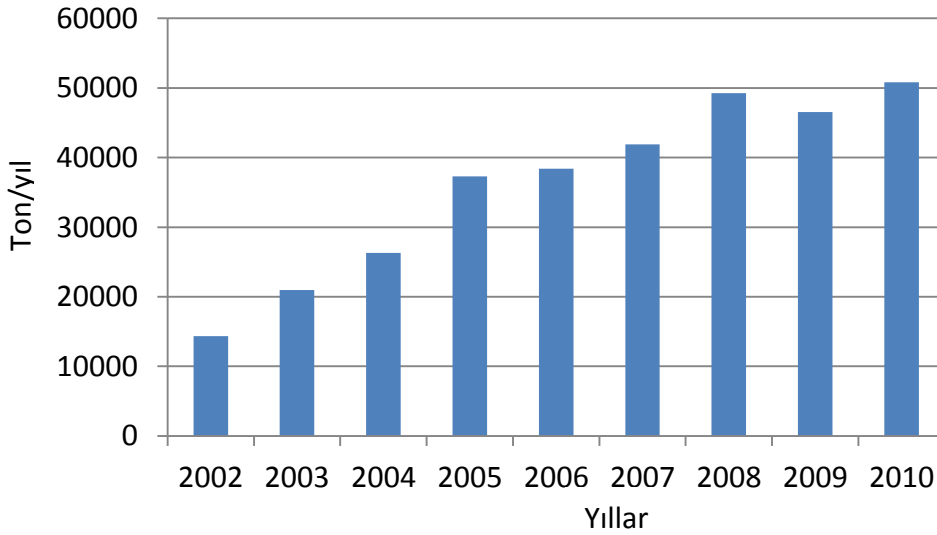
Kaliteli ve lezzetli ete sahip olan levrek balığı, dünya pazarlarında kolayca alıcı bulunmasıyla ekonomik bir değer taşır. Bu nedenle bütün Akdeniz ülkelerinde olduğu gibi ülkemiz balıkçılığında da öneme sahiptir. Ekonomik değeri yüksek olan bu balığın doğal stoklarının giderek azalması, yapay olarak yumurta alınabilmesi, kafeslerde yetiştirilebilmesi, kısa zamanda pazar boyuna ulaşması, birçok Avrupa ve Afrika ülkelerinde uygulamaya yönelik çalışmaları başlatmıştır. Günümüzde İtalya, İspanya, Fransa, Yunanistan, İsrail ve Tunus gibi ülkelerde levrek balığı yetiştiriciliği bir endüstri halini almıştır (Alpbaz 1990, Haffray vd 2006).

Levrek balığı larva üretimi, ilk kez deneysel ortamda hormon enjeksiyonu ile 1969 yılında Gilbert Barnabé tarafından gerçekleştirilmiş ancak elde edilen larvalar 17 gün sonra ölmüştür. 1970-80 yılları arasında yapılan çalışmalarda hayatta kalma oranı yükseltilmiş ve %20-30'lara kadar çıktığı bildirilmiştir (Corniellie vd 1989). Levrek balığının ticari boyutlarda üretimine 1970'li yıllarda Fransa ve İtalya gibi Akdeniz ülkelerinde başlanmıştır. Şimdilerde hemen hemen tüm Akdeniz ülkelerinde İsrail'den İspanya'ya kadar üretimi yapılmaktadır ve dünyadaki üretimi 2009 yılında 113.000 ton civarında gerçekleşmiştir (Şekil 1.1).



Şekil 1.1. Levrek balığının dünyada yetiştiricilik miktarları (FAO 2012)

Su ürünleri yetiştiriciliği üzerine teknolojik gelişmelerin artması ile ülkemizde 1980'li yıllarda başlayan levrek yetiştiriciliğinde ilk dönemlerde doğadan toplanan yavruların kafes ortamında beslenmesi ve hasat ağırlığına getirilmesi ile yetiştiricilik faaliyeti yürütülmeye çalışılmıştır (Kayapınar 2007). Kısa sürede kuluçkahaneler kurulmuş ve doğadan damızlık temini ile yavru balık üretimine başlanmıştır. Doğadan yavru toplanmasının 1998 yılında Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı tarafından çıkartılan yönetmeliklerle yasaklanmasının ardından ülkemizde levrek yetiştiriciliği yapan kuluçkahane sayıları artmıştır ve günümüzde kafes üreticisini destekleyen aktif 14 adet kuluçkahane bulunmaktadır. 1980'li yıllardan günümüze Su Ürünleri Mühendislerinin üstün başarısı ile ülkemizde levrek balığı üretimi 50.796 tona ulaşmıştır (Şekil 1.2).

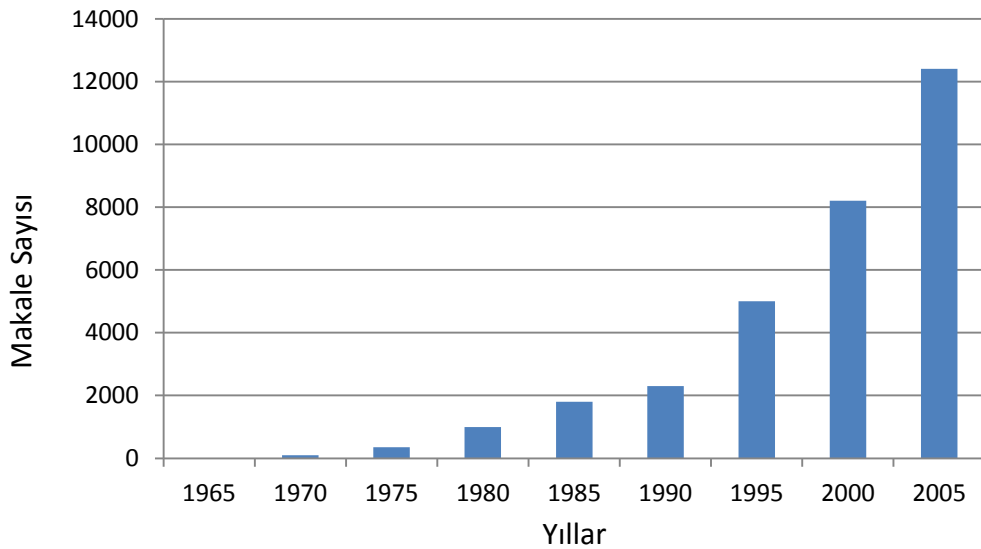


Şekil 1.2. Levrek balığının ülkemizde yetiştiricilik miktarları (TÜİK 2011)

Avrupa'da uzun yıllardır yetiştiriciliği yapılan levrek balığı üzerine gerek yetiştiricilik teknikleri, besleme, mekanizasyon ve gelişimi ile ilgili bir çok çalışma yapılmış gelişen yeni metodlar ve bilimsel tecrübenin artması ile bu tip çalışmalar artık yerini moleküler genetik çalışmalarına (gen ekspresyonu, genetik ıslah vb) bırakmaya başlamıştır.

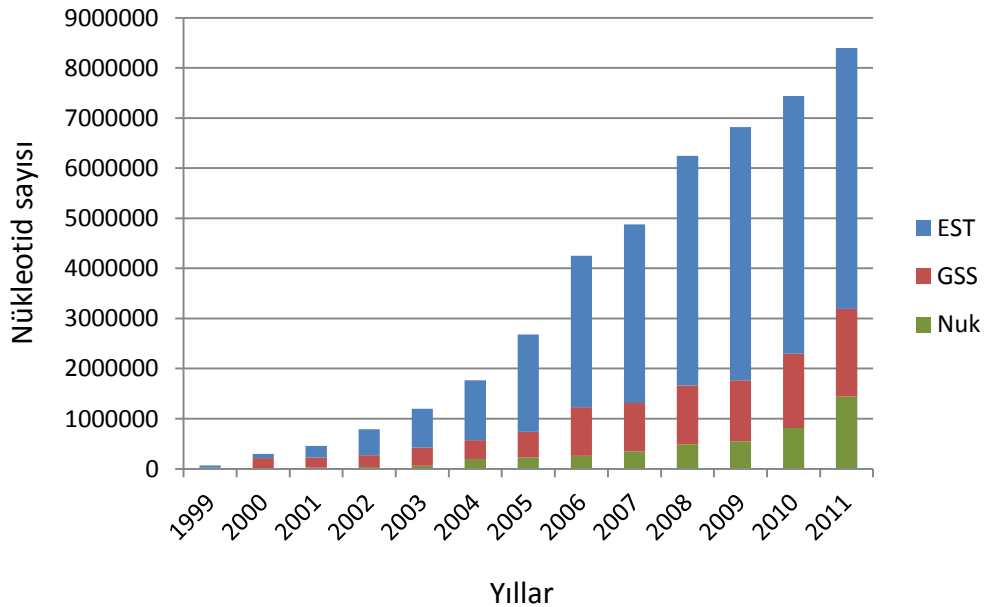
Kary Mullis'in 1983 yılında Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)'nu keşfinden sonra genetik çalışmaları, tıp ve tarım başta olmak üzere birçok bilim dalında yaygın olarak kullanılmaya başlanmış ve son yıllarda da artan bir önem ile genetik çalışmaları devam etmektedir (Şekil 1.3.). Sazan balığına ıslah çalışmaları bin yıllar önce başlamış olsa da genetik prensiplerinin su ürünleri yetiştiriciliğinde uygulanmasına başlanması oldukça yeni sayılır (Bartley 1998). Su ürünleri araştırmalarında genetik çalışmaların geçmişi 1950'li yıllara kadar dayanmaktadır.

İlk çalışmalar balıklarda kan grubu farklılıkları üzerine yapılmış ancak bu serolojik yöntemler balıkçılık araştırmalarına tam olarak adapte edilemediğinden 60'lı yılların başında yerini nişasta elektroforezi ile uygulanan protein polimorfizmi üzerine yapılan araştırmalara bırakmıştır. Daha sonraları ise enzim protein elektroforezi ile ilgili çalışmalar ile devam etmiştir. Ancak kısa sürede yeni teknolojilerin çıkması ile protein elektroforezinin dezavantajları görülmüş ve DNA üzerine çalışmalara ağırlık verilmeye başlanmıştır. Popülasyon genetiğinde ilk DNA temelli çalışma 1970'li yıllarda mitokondriyal DNA'dan RFLP yöntemi ile gerçekleştirilmiştir (Kochzius 2008).



Şekil 1.3. 1965-2005 yılları arasında su ürünleri genetiği üzerine yapılan bilimsel çalışmaların sayıları. ASFA kaynak olarak alınmıştır (Kochzius 2009'den derlenmiştir.)

1990'lerden sonra PZR ve DNA dizileme uygulamalarının su ürünlerinde genetiği üzerine yapılan çalışmalarda rutin haline gelmesi ile 1965 yılında 4 olan makale sayısı 2005 yılında 12.000'i aşmıştır. Buna paralel olarak bu yöntemlerin geliştirilmesi ile, su ürünlerinde popülasyon genetiği ve evrim üzerine DNA sıralamasına artan ilgi DNA baz dizi analizleri sayısını da artırmıştır. 1993'te kemikli balıklar üzerinde toplam 1397 adet baz sıralanmış iken 2011 yılı sonunda bu sayı 8 milyonu aşmıştır (Şekil 1.4.). Akdeniz levreğinde bu sayı, 2012 yılı Ocak ayı itibari ile Nükleotid (1.408) EST (86.081) GSS (102.806) şeklindedir. Levrek balığının yetiştiriciliğinin son yıllarda artış göstermesi ve balığın ekonomik değerinin yüksek olması nedeni ile bu tür üzerine yapılan çalışmalar ve büyük çaplı konsensüslerin oluşturduğu gen projeleri sonucunda 2012 yılı Ocak ayı itibari ile mtDNA temelli baz sıralamasında (ETS) 86.081 baz, Genomik Sıralama (GSS)'da 102.806 baz tespit edilmiştir (kaynak: www.ncbi.nlm.nih.gov). Yine aynı türde 287 mikrosatelit markır, 226 AFLP markır 8 SNPs olmak üzere toplam 521 polimorfik markır tespit edilmiş bunlar geliştirilen gen bağlantı haritaları ile şekillenmiştir (Volckaert 2006)



Şekil 1.4. Yıllara göre kemikli balıklarda (Teleostei) toplam DNA baz sırası kaydı (GeneBank sayfasından derlenmiştir, Ocak 2012) GSS: Genome Survey Sequences; EST: Expressed Sequence Tags; Nuk: GSS ve EST olmayan tüm diğer nükleotidler (www.ncbi.nlm.nih.gov)

1990'lı yılların sonuna doğru levrek balığının popülasyon yapısı üzerine yapılan araştırmalarda geline son nokta gen bağlantı haritalarının çıkarılması, kuantitatif özellik lokuslarının tespiti, genetik ıslah çalışmaları yönünde ilerlemektedir. Avrupa'da levrek yetiştiriciliğinde bir adım önümüzde olan Yunanistan'da bazı ticari firmaların 2000li yıllarda ıslah çalışmalarına başlaması ve genetik yapısı belirlenen damızlıklardan selektif yetiştiricilik yöntemi ile üretim yapmaya başlamışlardır. Ülkemizde halen levrek balığı ıslah çalışması yürüten ticari bir işletme bulunmamaktadır.

Ülkemizde levrek ile ilgili yapılan genetik çalışmaları oldukça azdır. Mustafa Kemal niversitesinde yapılan bir araştırmada protein elektroforezi ile ülkemizde dağılım gösteren levrek balıklarının genetik farklılıkları ortaya kartılmaya çalışılmıştır (Ergüden 2004) . Ege niversitesi'nde yapılan bir araştırmada sadece Ege Denizi'nde popülasyonlar arası ilişki 2 mikrosatelit markır ile araştırmaya çalışılmıştır (Karahan 2004). Ancak bu iki temel çalışma yapıldıkları yıllarda önemli araştırmalar olmasına rağmen teknolojinin geldiği son noktada genetik biliminin gelişmesi ile oldukça temel çalışmalar düzeyinde kalmış ve ülkemiz damızlık ıslahına yönelik detaylı bilgiler verememektedir.

Levrek balığının damızlık eldesi 2 farklı yol ile yapılabilmektedir. Bunlardan birincisi ve ülkemizde en çok kullanılan yöntem, doğadan av araçları yardımı ile damızlıkların temin edilmesidir. Diğer yöntem ise çiftlikte yetiştirilen balıklardan en hızlı büyüyen balıkların damızlık olarak ayrılmasıdır. Ülkemizde bulunan 14 adet levrek balığı kulukhanesinin büyük bir kısmı damızlık gereksinimlerini Ege ve Akdeniz'de bulunan lagünlerden, dalyanlardan bahar ve yaz aylarında toplayarak karşılamaktadır. Damızlık temini ve seçimi konusuna daha sonraki bölümlerde tekrar değinilecektir.

Yaptığımız çalışma da ülkemizdeki kuluçkahanelerin damızlık topladığı 5 farklı levrek balığı popülasyonunun 10 mikrosatelit markır bölgesi Atlantik ve Yunanistan popülasyonları ile beraber karşılaştırılarak genotipik farklılıkları ve benzerlikleri akrabalık ilişkileri amaç edilmiştir. Ayrıca damızlık ıslahı üzerine ileriki araştırmalara ışık tutacak olan ülkemiz levrek popülasyonlarına özgü polimorfik mikrosatelit markırların tespiti amaçlanmıştır. Bu bilgiler doğrultusunda ülkemiz kuluçkahaneleri daha verimli yumurta ve yavru elde edebilmek için ellerindeki damızlıkların menşeyini kontrol edip ıslah çalışmalarına başlayabilecektir. Dolayısı ile bu araştırmanın sonuçları olarak ülkemizde levrek balığının genetik yapısının bilinmesi, damızlık temininde hangi bölgenin/popülasyonun damızlıklarının genetiksel olarak daha verimli olabileceğinin tespit edilmesi kuluçkahane yöneticilerinin damızlık seçimindeki yönelemlerine pozitif etkisi olacaktır. Ayrıca ileride yapılacak ıslah çalışmaları için genetik yapısı tespit edilen levrek balığında önemli bir kilometre taşı olacağı kanaatindeyiz. Ayrıca ülkemiz levrek popülasyonlarının farklı çevre koşullarından kaynaklanan fenotipik farklılıklarının tespit edilebilmesi için genotipik araştırmaya paralel olarak morfolojik farklılıklar diskriminant (ayırma) tesiti ile ortaya konulması amaçlanmıştır.

2. KURAMSAL BİLGİLER VE KAYNAK TARAMALARI

2.1. Levrek Balığının Sistematığı ve Biyolojisi

Levrek balığı (*Dicentrarchus labrax* L., 1758)'in sistematikteki yeri aşağıdaki gibidir (Fischer vd 1987);

Şube: Vertabrata

Altşube: Pisces

Sınıf: Osteichthyes

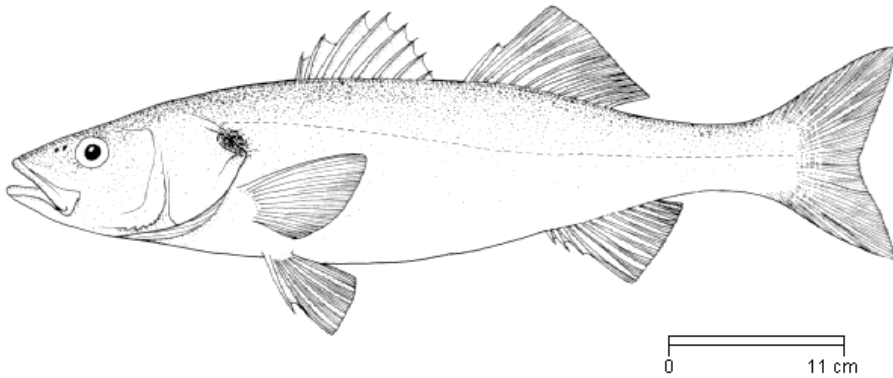
Takım: Perciformes

Familya: Moronidae

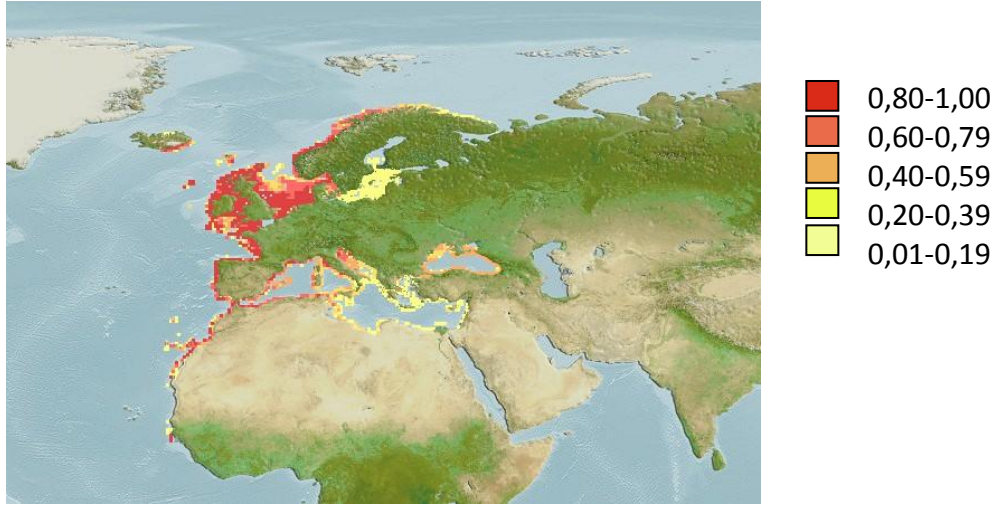
Cins: *Dicentrarchus*

Tür: *labrax* (Linneaus, 1758)

Morone labrax ve *Roccus labrax* sinonimleri ile de adlandırılan Levrek balığı (Şekil 2.1.) (Uçal ve Benli 1993) tüm Akdeniz ve Karadeniz sahilleri boyunca ve Atlantik'te Norveç (60° N) sahillerinden Batı Fas (30° N) sahillerine kadar dağılım gösterir (Şekil 2.2.) (Haffray vd 2006).



Şekil 2.1. Levrek balığı (Fischer vd 1987)



Şekil 2.2. Levrek balığının Avrupa ve Kuzey Afrika'da doğal yayılım alanları ve görece görünme olasılıkları (www.fishbase.org 23 Ocak 2012)

Deniz çayırlarının bulunduğu kumluk ve çamurlu sığ biyotoplarda yaşarlar. Sıcaklığa ve tuzluluğa karşı toleransı yüksek olduğundan nehir ağzlarında ve lagüner bölgelerde 0,5-100 metre derinliğe kadar dağılım gösteren bir littoral zon balığıdır. Karnivor bir türdür. Bazen tek bazen de küçük sürüler oluşturur. Deniz suyu tuzluluğuna karşı toleransı yüksek olup %3 tuzluluktan %50 tuzluluğa kadar yayılım gösterebilir. Erken dönemlerinde eklembacaklılardan *Crangon*, *Gammarus* ve *Ligia* gibi küçük karidesleri, ergin dönemlerinde küçük balıklardan özellikle *Sardina* türünü, kafadanbacaklılardan *Sepiolo* ve *Loligo*'yu, tercih etmektedir. Levrek balığı sıcaklığı 5-28 °C arası olan sularda dağılım gösterirler ve su sıcaklığının 12-14°C arasında olduğu dönemlerde yumurta bırakırlar (Fischer vd 1987).

Levrek balığı gonokoristik bir balık türüdür. Gonad gelişimi 2 yaşından sonra başlar. Doğada hayatlarının ikinci yılında sperm üretmeye başlarlar. Ovaryumların oluşumu daha uzun sürmektedir (Brusle ve Roblin 1984, Haffray vd 2006). Dişiler doğal şartlar altında ancak 3. yaşında yumurta bırakabilir. Akdeniz'de erkekler 2-3 yaşında 25-30 cm boyda, dişiler ise 3-5 yaşında 30-40 cm boyda, Atlantik ise erkekler

4-7 yaşında ve 32-37 cm boyda, dişiler ise 5-8 yaşında ve 38-42 cm boyda cinsel olgunluğa ulaşırlar (Brusle ve Roblin 1984, Alpbaz 1990). Dişilerin ortalama 250.000 adet/kg yumurta bırakabildikleri bildirilmiştir (Carrillo vd 1989). Yumurtalar ve larvalar doğada oldukça geniş bir dağılım göstererek kilometrelerce göç edebilmektedirler. Levrek balıkları Akdeniz'de Aralık-Mart ayları arasında yumurta bırakırlar. Yumurtlama Atlantik'te Haziran'a kadar sürebilir (Brusle ve Roblin 1984, Haffray vd 2006).

2.2. Balık Islahının Tarihsel Gelişimi

Islah, terminolojik olarak "bir hayvan ya da bitki türünden daha iyi verim alabilmek amacıyla yapılan işlem, işlemler, düzeltme, iyileştirme" olarak açıklanabilir. İnsanlık tarihinde binlerce yıldır besin, barınma gereksinimlerinin karşılanması, kuvvet kaynağı, spor ve itibar gibi çeşitli nedenlerle hayvanların ıslahı yapılmaktadır. Bu nedenle gerekli olan kuvvet kaynağı olarak toprağın işlenmesi için iri yapılı kuvvetli ve sağlam hayvanlara sahip olma isteği, sığır, at, eşek, manda ve deve gibi hayvanlarda seleksiyon uygulamasının başlangıcı olmuştur (Aksoy 2003).

Balık çiftliklerinin ilk izlerine 4000-5000 yıl önce Çin'de rastlanmıştır. Balık yavrusu eldesi yaklaşık M.Ö. 2000 yıllarında ilk kez Çin'de pratiğe döküldüğü bildirilmektedir. Havuz yetiştiriciliği hakkında ilk yazılı açıklamalara yine Çin'de M.Ö. 12. yüzyılda rastlanmaktadır. Akuakültür üzerine ilk kitap Çin'li yazar Fan Lee'nin M.Ö. 475 yılında yazdığı bilinmektedir. Bu kitapta Fan Lee M.Ö. 500'lü yıllardaki balık yetiştiriciliği uygulamalarını anlatmıştır. Dolayısı ile balıkların ilk kez evcilleştirilmesine Çin'de başlandığı söylenebilir. Hala Çinli balık yetiştiricilerin üretimi geliştiren karaktere sahip yapay seleksiyonu işaret eden "güçlü döl veren doğal damızlıkları büyük nehirlerden topladık" sözüne rastlanılabilir (Ranabal 1988).

Canlıların üretimde yüzyıllardır uygulanan ve en çok takip edilen yöntem; oluşması istenilen özelliklerin (hızlı büyüme, çok süt verimi, karkas verimi vb), bu özelliklere sahip damızlıkların seçimi yani seleksiyonu ve çiftleştirilmesi ile sonraki jenerasyonlara aktarılması yöntemidir. Canlılığın var oluşundan bugüne kadar hali hazırda doğada kendi kendine oluşan ve güçlü olan bireylerin hayatta kalmasına dayanan doğal seçilimin (doğal seleksiyon) izahatını Charles Darwin'in *Türlerin Kökeni* isimli kitabında yapmıştır. Darwin, üretimin zaman içinde nasıl değiştiğini selektif ıslah ile tartışmıştır. Burada Darwin, en iyi üreyen ve ortam koşullarına en başarılı şekilde dayanabilen canlı, hayatta kalma başarısını gösterir diyerek ıslah çalışmalarına atıfta bulunmuş ve ardından ıslahı istenen karakterlerin bir sonraki döllere aktarılmasına dair yöntemler şeklinde tanımlamıştır (Darwin 1859, Aksoy 2003).

Su ürünlerinde ıslah çalışmaları, balık genetiği ve kalıtımı üzerine 1900'lü yılların başında daha çok bilgiye sahip olunması ile yaygın olmaya başladı. Su ürünlerinde genetik üzerine dayanan ilk çalışmalar 1960'larda başladı. Moleküler temelli bilgilerin artması ile 1980'lerden sonra bu araştırmalar hız kazandı. Halen kemikli balıklarda geleneksel selektif yetiştiricilik, biyoteknoloji ve moleküler genetik temelindeki çabalar ile devam etmektedir.

2.3. Selektif Yetiştiricilik

Kelime olarak "seçme" anlamına gelen seleksiyonun, hayvan ıslahı açısından tanımı, döl alınacak damızlıklarının (ebeveynlerinin) seçilmesi şeklindedir. Temel prensip "en iyilerin" seçilerek birbirleriyle çiftleştirilmesidir. Buradaki "en iyi" kavramı döl verimi yüksek, en iyi büyüme hızına sahip ürünü veren, hastalıklara karşı en iyi direnci olan ürünü veren şekilde tanımlanabilir. İstenmeyen özelliklere sahip bireylerin üremelerine izin verilmeyerek, kötü genlerin bir sonraki jenerasyona geçmesine engel olunur (Savaş 2008).

Gjedrem (1983, 1985) yıllarında yaptığı çalışmalarda yetiştiriciliği yapılan balık türlerinde büyüme oranı, hayatta kalma oranı, et kalitesi, hastalıklara karşı direnç, eşeyssel olgunluk yaşı, fekondite gibi bazı özel karakterlere dayalı bir selektif yetiştiriciliğin yapılabileceğini belirtmiştir.

Vücut kütlesi veya boy uzunluğu ile tespit edilebilen büyüme değeri üretim miktarını doğrudan etkileyen önemli bir ekonomik özelliktir. Geliştirilen büyüme değeri yetiştirilen balığın yem tüketimini iyi derecede kullandığını göstermektedir (Gjedrem 1983, 1985).

Hayatta kalma değeri, hastalıklara karşı direnç ile birlikte özdeştir. Bu değer stres altındaki balıkların hastalığa yakalanma olasılığının yüksek olması nedeni ile strese karşı duyarlılığıyla da ilgili olabilir (Gjedrem 1983, 1985).

Et kalitesi yetiştiricilikte en önemli özelliklerden biridir. Çünkü etin rengi, yağ oranı, içerdiği ideal esansiyel yağ asitleri ve lezzeti doğrudan ürünün pazarını etkilemektedir (Gjedrem 1985).

Eşeyssel olgunluğa ulaşma yaşı, yetiştiricilikte önemli bir husus olmaktadır. Çünkü gonatların ve testislerin erken olgunlaşması nedeniyle balık, büyüme için kullanması gereken enerjiyi gonat gelişimine harcamasından dolayı bir kayıp yaşanmaktadır (Gjedrem 1986).

Fekondite yüksek öncelikli bir özel karakter olmamakla birlikte selektif yetiştiricilikte yumurta büyüklüğünün hayatta kalma oranı ve erken büyüme oranına etkisi olduğundan dikkat edilmesi gereken bir özelliktir (Gjedrem 1985).

Su ürünlerinde selektif yetiştiricilik ile elde edilen kazanımları 5 temel grupta toplanmıştır. Hastalıklara karşı direnç bunların başında gelmektedir. Bu konuda yapılan ilk çalışmalarda, endemik frunkulozis hastalığından hayatta kalan alabalık

bireyleri arasından seçilerek oluşturulan damızlık rejimi ile başlangıçta %69 olan hayatta kalma oranını 3 jenerasyon sonra %2 oranında daha yükseldiği kaydedilmiştir (Embrey ve Hyford 1925). Okamoto vd (1993) seçilmiş olan IPN hastalığına dirençli gökkuşuğu alabalığı suşunda ölüm oranının % 4,3 olduğunu bu oranın yüksek hassasiyet gösteren suşta %96,1 olduğunu kaydetmiştir (Gjedrem ve Thodesen 2005).

Diğer bir grup ise büyüme değeridir. Hızlı büyüme değeri üzerine birçok çalışma yapılmaktadır. Kincaid vd (1977) üçüncü jenerasyonda büyüme kazanımının %10'larda olduğunu tespit etmiştir. Hershberger vd (1990) Coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*)'da seleksiyona dayalı yetiştiricilik ile dördüncü jenerasyonda ağırlık artışının %10,1 yükseldiğini bildirmiştir. Gjerde ve Korsvoll (1999) Atlantik salmon (*Salmo salar*) seleksiyonu ile büyüme değerini altıncı jenerasyonda %14 arttığını tespit etmiştir (Gjedrem ve Thodesen 2005).

Gjedrem (1979)'in Norveç'te genetik araştırma merkezinde yaptığı Atlantik Salmonu selektif yetiştiricilik araştırmalarında, büyüme değeri, yem tüketimi, protein ve enerji birikimi ve yem dönüşüm oranı gibi özelliklerin seçimi ile ürünlerde, büyüme değerinin iki kat arttığını, yem tüketiminin %40 daha fazla olduğunu, enerji ve protein birikiminde artış gözlemlemişlerdir. Ayrıca yem dönüşüm oranında %20 daha iyi sonuç almışlardır (Thodesen vd 1999).

Akuakültürde seleksiyon çalışmalarına başlarken genetik açıdan iyileştirilmesi düşünülen popülasyonların biyolojisine, ticari üretime ve kantitatif genetik esaslara dayalı ıslah programlarının oluşturulması gerekmektedir. Balık ıslah programlarında en önemli amaç; iyileştirilmesi istenen özellik için genetik ilerleme elde edilirken, akrabalı yetiştiriciliğin ise en azda tutulmasının sağlanmasıdır. Islah çalışmaları oldukça uzun soluklu ve çok iyi planlama gerektiren organizasyonlardır (Gökçek vd 2009).

2.4. Damızlık Balık Seçimi

Diğer birçok tür yetiştiriciliğinde olduğu gibi Avrupa levrek balığı yetiştiriciliğinde de damızlık balık temini için 2 farklı yöntem kullanılmaktadır. Bunlardan en yaygın olanı doğadan uzatma ağları, tuzak ve olta avcılığı ile yakalanan belli bir boy üzerindeki bireyler oluşturmaktadır. Daha nadir kullanılan diğer yöntem ise, üretilen balıklardan en hızlı büyüyen en iyi morfolojik özelliklere sahip bireylerin seçimi ile damızlık teminidir.

Bu iki yöntemin kendi arasında avantaj ve dezavantajları bulunmaktadır. Doğadan her yıl temin edilen damızlıklar gen havuzuna yeni gen girişini sağlamakta dolayısı ile yeni jenerasyonlarda homozigotluğa yönelişin önüne geçilebilmektedir. Ancak damızlık adayının büyüme gelişme parametreleri takip edilemediği için sonraki jenerasyonlara aktarılacak karakterlerin (iyi genler) seçiminin yapılamamasıdır. Üretimden gelen bireylerin damızlık olarak seçilmesinde ise damızlık adayının iyi gen özellikleri (büyüme, gelişme, hastalıklara karşı direnç, deformasyon vb morfolojik özellikler) gözlenmesi ve buna göre damızlık seçiminin yapılması olasıdır. Ancak üretimden gelen damızlıklar yakın akraba ilişkisi nedeni ile sonraki jenerasyonlarda homozigotluğu arttıracığından ürünün veriminin düşmesi olasıdır.

Bondari (1983) sürekli aynı popülasyondan temin edilen anaçlardan elde edilen jenerasyonlarda yüksek mortalite gözlemlendiğini ve bu durumun üreticiyi doğadan anaç teminine zorladığını bildirmiştir. Dolayısı ile karasal hayvanların aksine su ürünlerinde yetiştiricilikte selektif yetiştiriciliğin potansiyel faydaları çok yakın zamanlarda anlaşılmıştır.

Okumuş (2002a), ticari üretim amaçlandığında klasik yetiştiricilik literatürlerinde tavsiye edildiği gibi hızlı büyüyenlerin seçilmesi her zaman olumlu sonuç vermeyebileceğini bildirmiştir. Örneğin, balıklar cinsi olgunluğa ulaşmadan

önce yapılacak bir seçimde hızlı büyüyenlerin önemli bir kısmı erkek olabilir veya bunlar genotipik üstünlüklerinden dolayı değil, bakım-besleme uygulamalarından kaynaklanan nedenlerden dolayı hızlı gelişmiş olabilirler. Bu nedenle, en hızlı gelişenler değil, ortalama ve üstündeki bireylerden alt örnekleme yapılabilir. Okumuş (2002a) damızlık seçiminde damızlık adaylarında bulunması gereken hususları aşağıdaki gibi sıralamıştır;

- Türe özgü normal vücut şekli ve rengi,
- İskelet deformasyonlarının bulunmaması,
- Genel sağlık durumu,
- Normal davranış,
- Normal büyüme performansı

2.5. Morfolojik Yöntemlere Dayalı Önceki Popülasyon Yapısı Araştırmaları

Bir birey veya bireylerin bazı belirli özelliklerinin ölçülmesi, biyotik ve abiyotik koşullarının neden olduğu türleşme derecesini göstermek ve türlerin farklı stoklarının tanımına katkıda bulunabilir. Oldukça geleneksel olan bu yöntem balık popülasyonlarında coğrafi yapı konseptini, her bir stok biriminin coğrafi aralıklarının belirlenmesinde, popülasyon dinamikleri ve balıkçılık yönetimi için oldukça önemli bir metottur (Palma ve Andrade 2002). Dolayısı ile balıkçılık biyolojisinde, farklı taksonomik kategoriler ve/veya popülasyonlar arasındaki farklılıkları ve benzerlikleri belirlemek için morfolojik karakterler temel veri tabanı olarak uzun yıllardan beri kullanılmaktadır. (Ergüden ve Turan 2005, Swain ve Foote 1999, Mina 2001). Ancak morfolojik ve morfometrik varyasyon tek başına çevre koşullarından (Ryman vd 1984, Tudela 1999) etkilenmiş olabilir bu nedenle farklı çevresel koşullarda yaşayan grupları karşılaştırmak çok verimli olmayabilir (Kristoffersen ve Magoulas 2008). Bu sebeple türler, popülasyonlar ya da bireyler arasındaki varyasyonları belirlemek ve daha güvenilir bir taksonomik durum oluşturmak amacıyla alternatif tekniklerin uygulanması son yıllarda önem bulan bir konu haline gelmiştir (Çakmak 2008).

Morfometrik karakterlerin çok değişkenli istatistiksel analizi ile stokların coğrafi değişimini araştırmak için güçlü bir yöntemdir. Bu yöntemin bazı deniz balıkları türlerinin stok yapısının değerlendirilmesi açısından yararlı sonuçlar verdiği bildirilmektedir (Palma ve Andrade 2002).

Bu amaçla geçmiş yıllarda yapılan morfolojik çalışmalar geleneksel yöntemlerle yapılırken son zamanlarda bu ölçümler hatalı sonuçlar verebileceği için eleştirilmiş ve yeni morfolojik ölçüm sistemleri geliştirilmiştir (Ergüden 2002). Bunlardan Strauss ve Bookstein (1982) tarafından geliştirilen ve biyolojik çalışmalarda en yaygın olarak kullanılan Truss Ağ Analizidir. Bu yöntem ile tür ve stok tanımlamalarında oldukça yoğun bir şekilde kullanılmaktadır. Bu yöntem, bir balığın iki boyutlu düzlem üzerinde tamamını içine alacak şekilde etrafında ve üzerindeki belirli sınır noktaları (sınır) arasındaki mesafeler ölçülerek bu mesafelerin coğrafik olarak ve/veya tür içi (Kristoffersen ve Magoulas 2008) ve türler arası (Palma ve Andrade 2002, Bemvenuti, 2006, Çakmak 2008) varyasyonunun tespit edilmesini sağlaması nedeniyle geleneksel yöntemlere göre daha kesin sonuçlar verdiği belirtilmektedir (Strauss ve Bookstein 1982, Turan 1999, Ergüden 2002).

Ergüden (2002) levrek balığının Türkiye denizlerinde 4 popülasyonun morfometrik karşılaştırması amacı ile balık üzerinde 13 sınır belirlemiş ve toplam 29 karakterin incelemesi ile popülasyonlar arasında yüksek derecede farklılıklar ortaya koymuştur.

Arechavala-Lopez vd (2011) aynı metod ile İspanya ve Yunanistandaki çipura ve levrek doğal popülasyonları ile çiftlik popülasyonlarını karşılaştırmışlar ve her iki ülkede her iki tür için çiftlik ve doğal popülasyonlarda morfolojik farklar tespit etmişlerdir. Bu durumun bölgedeki çiftlikten doğaya kaçışın belirlenmesi ve çiftlik popülasyonlarından doğaya kaçışların tespit edilmesinde iyi bir yöntem olabileceğini bildirmişlerdir.

Sfakianakis vd (2006) çiftliklerden temin ettikleri 791 adet levrek balığında lordozis omurga deformasyonunun önem seviyesini ve üretilen ürünün son şekline etkisini yine benzer morfolojik farklılık testleri ile tespit etmişler ve bu yöntemin çiftlik balıklarında deformasyon derecesinin tespit edilmesinde önemli bir yöntem olduğunu bildirmişlerdir.

Kristoffersen ve Magoulas (2008) hamsi (*Engraulis encrasicolus*) türünün Yunanistan'daki popülasyonları üzerine 5 istasyondan topladıkları örnekler ile yaptıkları morfolojik çalışmada 7 sınır ile 12 karakter üzerinde yaptıkları çalışmada hamsi balığının 2 farklı ırkını tespit etmişlerdir.

Palma ve Andrade (2002) Akdeniz ve Doğu Atlantik kıyılarında (Portekiz, İspanya, İtalya ve Yunanistan) Sparidae familyasının karagöz (*Diplodus sargus*), sivriburun karagöz (*Diplodus puntazzo*) ve mırmır (*Lithognathus mormyrus*) balıkları ile yaptıkları morfolojik araştırmada 14 sınır kullanmışlar ve 31 farklı ölçüm yaparak popülasyon yapısını ortaya çıkartmışlardır. Araştırmada tüm türlerde Atlantik popülasyonunun diğer popülasyonlardan ayrıldığını, Karagöz balığında İspanya popülasyonunun Yunanistan popülasyonuna benzerlik gösterdiğini, Sivriburun karagöz'de Yunanistan popülasyonunun, İtalya popülasyonuna benzerlik gösterdiğini ve Mırmır balığında İtalya ve İspanya popülasyonunun benzerlik gösterdiğini tespit etmişlerdir.

Türkiye içsularında bulunan Dikenli Yılan balığının (*Mastacembelus mastacembelus*) morfolojik yapısının belirlenmesi üzerine yapılan çalışmada 3 popülasyondan toplanan örnekler üzerinde 8 sınır ile 22 morfolojik değişken ölçülmüş ve araştırma sonucunda morfolojik karakterlerin hepsinin popülasyonlar arasında önemli ölçüde farklı olduğu bulunmuştur. Farklılığın hangi popülasyondan kaynaklandığını tespit etmek için yapılan Turkey's HSD analizi sonucunda Tohma ve Dicle popülasyonlarının benzerlik gösterdiği, Karakaya popülasyonunun ayrı bir popülasyon olduğunu tespit etmişlerdir (Çakmak 2008).

2.6. Markır Teknolojisi

Hayvan ıslahında geçtiğimiz 50-60 yıl içerisinde temel olarak kantitatif genetik yöntemlerin kullanımı yaygınlaşmıştır (Sellier 1994, Gjedrem ve Thodesen 2005, Lui 2007). Kantitatif genetik alanında hayvanın damızlık değerinin belirlenmesi amacıyla kullanılan genetik-istatistik yöntemler, hayvanın karmaşık genetik yapısını ancak kısmen hesaba katmakta ve bazı küçük gen etkilerini hesaba katmamaktadır. Oysa günümüzde moleküler genetik yöntemler, hayvanların genetik enformasyon yapısını belirlemeyi ve hangi genetik kökenli hastalığın ya da ekonomik öneme sahip verim özelliğın hangi genler tarafından kontrol edildiğının anlaşılmasını olası kılmaktadır (Ün vd 2000).

Moleküler genetik alanındaki iki önemli gelişme bu durumu mümkün kılmıştır. İlk olarak 1985 yılında Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Polymerase Chain Reaction, PZR) aracılığıyla DNA'nın küçük bir parçasının sıcaklık döngüsü kontrollü laboratuvar ortamında çoğaltılabileceğinin bulunmasıdır. 1989 yılında ikinci gelişme ile yine PZR aracılığıyla genom içerisinde ardışık olarak tekrarlanan DNA baz dizilerinin bulunduğu ve bunların polimorf olduğunun ya da yüksek düzeyde alelik varyasyon gösterdiğinin bulunması, hayvan ıslahında ve tıp alanında kalıtsal hastalıklara neden olan genlerin bulunması alanında yeni çığırklar açmıştır (Ün vd 2000).

Su ürünleri konusunda yapılan ilk moleküler genetik çalışmaları morinalarda ve salmonidler de kan grubu farklılıkları üzerine olmuş ve popülasyon yapısının analizinde kullanılmak üzere genetik olarak kontrol edilen varyasyonların varlığı başarılı bir şekilde ortaya konulmuştur. Fakat bu serolojik işlemler balıkçılık çalışmalarına tam olarak adapte olamadığı için kısa süre içinde yerini protein polimorfizminin genetik olarak belirlendiğı elektroforetik işlemlere bırakmıştır (Çiftci 2003, Gjedrem ve Thodesen 2005). Kolay, hızlı ve ucuz bulunan protein elektroforezi ile çoğtu bitki ve ticari olarak pahalı balık türlerini de içine alan hayvan türlerindeki popülasyon farklılıkları hızlı bir şekilde tespit edilmiştir (Çiftci 2003). Protein

elektroforezi kullanılarak yapılan protein varyasyonu çalışmaları popülasyon genetiği çalışmalarında azalsa da, türleri karşılaştırmada ve popülasyonların yapısı hakkındaki bazı spesifik soruların çözümlenmesinde hala kullanılmaktadır (Özkan 2005).

Popülasyonların genetik yapılarını çalışmak için DNA baz dizilerini çalışmak, protein amino asit dizilerini çalışmaya göre daha fazla aydınlatıcı bilgi içermektedir. Çünkü DNA dizilimlerinin büyük bir kısmı protein içerisinde şifre edilememektedir. Ayrıca genetik kod içerisinde dejenerasyonlar ve mutasyonlar olabilmektedir. DNA çalışmalarında kullanılan teknikler, genellikle her bir bölge için aynıdır. DNA içerisinde daha fazla genetik polimorfizm mevcuttur. Ayrıca DNA dizimleri, insersiyon/delesyon, gen değişmesi, düzensiz krosingover, horizontal gen transferleri vb gibi sebepler nedeni ile polimorfizm hakkında daha ayrıntılı bilgi verebilmektedir (Nei ve Kumar 2000).

Moleküler markırlar genetik çalışmalarda anahtar rolü oynamakta olup, DNA işaretleyicileri farklı genotiplere ait DNA'nın nükleik asit diziliş farklılıklarını değişik şekillerde ortaya koyabilmektedir. Son yıllarda geliştirilen, çalışılan ve her birinin pek çok avantajları olan çeşitli polimorfizm belirleme yöntemleri vardır. Bu yöntemler; DNA'nın enzimatik restriksiyon enzimleri ile kesimi sonucu elde edilen Restriksiyon Enzimleri ile Parçacık Uzunluğu Polimorfizm Tekniği (RFLP), Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA Tekniği (RADP), Çoğaltılabilen Parça Uzunluğu Polimorfizmi (AFLP), Tek Nükleotid Polimorfizm Tekniği (SNPs), mitokondriyal DNA Polimorfizm Tekniği (mtDNA) ve Mikrosatelit DNA Polimorfizm Tekniği (SSR veya STR)'dir (Hoelzel 1998, Özkan 2005, Aksakal 2009). Su ürünleri üzerine yapılan ıslah ve popülasyon genetiği çalışmalarında yaygın olarak kullanılan bazı moleküler markır teknikler ve özellikleri Çizelge 2.1'de verilmiştir.

Çizelge 2.1. Su ürünleri popülasyon genetiği ve ıslah çalışmalarında kullanılan bazı moleküler markır teknikleri ve özellikleri (Liu ve Cordesb 2004'den düzenlenmiştir)

Markır tipi	Kalıtım biçimi	Lokus	Alel sayısı	Polimorfizm	Uygulama alanı
Allozim	Mendel, kodominant	Tekli	2–6	Düşük	Gen bağlantı haritası, Popülasyon çalışmaları
mtDNA	Anasal kalıtım	Tekli	Çoklu haplotip	–	Anasal nesil
RFLP	Mendel, kodominant	Çoklu	2	Düşük	Gen bağlantı haritası, Popülasyon çalışmaları
RADP	Mendel, dominant	Çoklu	2	Orta	Popülasyon çalışmalarındaki parmak izi analizi
AFLP	Mendel, dominant	Tekli	2	Yüksek	Gen bağlantı haritası, Popülasyon çalışmaları
Mikrosatelitler	Mendel, kodominant	Tekli	Çoklu	Yüksek	Gen bağlantı haritası, Popülasyon çalışmaları, Ebeveyn tayini
SNP	Mendel, kodominant	Tekli	2–4	Yüksek	Gen bağlantı haritası, Popülasyon çalışmaları

Son yıllarda oldukça hızlı ilerleme gösteren moleküler genetik yöntemler ve bu yöntemlere uygun yeni istatistik metotlarının geliştirilmesi ile başta biyoloji ve tıp olmak üzere birçok alanda (tarım, hayvancılık vs.) önemli ilerlemeler ve atılımlar kaydedilmeye başlanmıştır. Bu yöntemlerin hayvan ıslahında ilk kullanıldığı alanlar genetik kusurların ve bazı kalıtsal hastalıkların gen yerlerinin belirlenmesine yönelik çalışmalardır. Fakat son yıllarda birçok bilim adamı kalıtsal kusurların ve hastalıkların belirlenmesinin yanı sıra doğrudan verim özelliklerini etkileyen genlere de ilgi duymaktadırlar (Özkan 2005, Aksakal 2009).

Geçmişte yetiştirme ve ıslah programlarında ekonomik önemi olan karakterler fenotipik olarak yapılan ölçümler ile seleksiyona tabi tutulurken günümüzde moleküler genetik tekniklerinin uygulanması ile DNA düzeyindeki genetik yapı belirlenerek seleksiyon yapılabilmektedir (Özkan 2005).

Araştırmamızda bu yöntemlerden biri olan mikrosatelit markır yöntemi kullanılmaktadır. Son yıllarda genotipin belirlenmesi, popülasyon içi ve

popülasyonlar arası benzerlik ya da farklılıkların belirlenmesi ve heterozigotluk düzeylerinin belirlenmesi çalışmalarında kullanılan moleküler genetik tekniklerinden en yaygın olanı Mikrosatelit DNA polimorfizm tekniğidir. Bu teknik daha doğru, daha hassas ve daha kısa sürede bilgi verebilmektedir. Ayrıca mikrosatelit markır tekniği, maddi açıdan karşılaştırıldığında diğer moleküler genetik tekniklere göre daha ucuz bir tekniktir. DNA temeline dayandırılan en yeni teknolojilerden biri olan bu metod yüksek düzeyde varyasyon gösteren bölgelerin incelenmesi açısından kullanılan bir analiz metodudur (Çiftci 2004, Lui 2007, Aksakal 2009).

2.7. Mikrosatelit Markırlar

Polimeraz Zincir Reaksiyonu tekniğinin geliştirilmesiyle birlikte moleküler genetik alanında son yirmi yıl içerisinde hayal edilemeyecek ilerlemeler olmuştur. Farklı canlı türlerine ait popülasyonlardaki bireylerin çeşitli DNA bölgeleri çoğaltılıp (yükseltgenip) incelenilmeye başlanmıştır. Bir türün popülasyonları gibi evrimsel olarak birbirine yakın olan canlı gruplarının karşılaştırılmasında Mikrosatelitler kullanılmaktadır. Ayrıca ırklara ait popülasyonlarda yakın zamanda meydana gelmiş bir olayın izlerinin aranacağı durumda en çok kullanılan genetik markırlardan biri mikrosatelitlerdir (Bruford vd 2003, Togan vd 2003). Mikrosatelitler, DNA dizilişinde 1-6 bp (baz çifti) uzunluğunda tekrarlanan bölgeler olup, bu tekrar sayıları (genellikle 6-30 arasında) varyasyon göstermektedir. Bu ardışık tekrar dizilimlerinin gösterdiği tekrar sayısı aynı lokus bakımından incelenen bireyler arasındaki farklılıkların belirlenmesinde kolaylık sağlamaktadır. Her tip tekrar sayısı bir alele karşılık geldiğinden bir lokus farklı alel uzunluklarını içermektedir. Alel sayısının fazlalığı popülasyonlar içi ve popülasyonlar arası genetik farklılık ve benzerliklerin incelenmesi olasılığını arttırmaktadır (Ashley ve Dow 1994, Çiftci 2004, Lui 2007, Ceyhun 2007, Aksakal 2009).

Mikrosatelitler, genomun herhangi bir yerinde bulunabilir ve genom içerisinde mono-di-tri-tetra-penta nükleotid uzunluktaki dizilimlerden biri şeklinde ardışık olarak tekrarlanabilirler (Çiftci 2004, Aksakal 2009, Tsigenopoulos 2012).

Mikrosatelitler, kusursuz, kusurlu ve bileşik motif olarak üç gruba ayrılmışlardır. Burada mikrosatelitin nükleotit diziliminde ana motifi bozan nükleotitlerin bulunması onun kusurlu dizilim gösterdiği anlamındadır (Şekil 2.3.). Ayrıca eğer birbiriyle bitişik iki farklı motif bulunuyorsa buda bileşik motif olarak isimlendirilir. Aşağıdaki örnekte 10 tekrar içeren iki nükleotitli dizilimler motif çeşitlerine göre gösterilmektedir (Çiftci 2004, Tsigenopoulos 2012).

Kusursuz CACACACACACACACACA

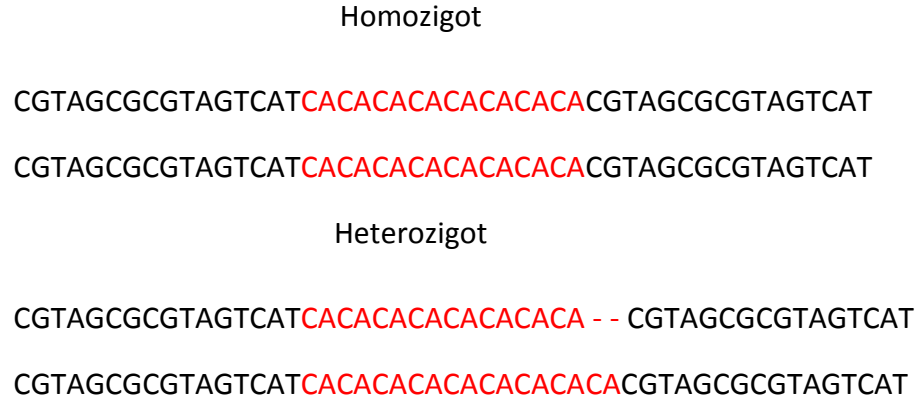
Kusurlu CACATTCACACATTCATTCA

Bileşik CACACACACA GAGAGAGAGA

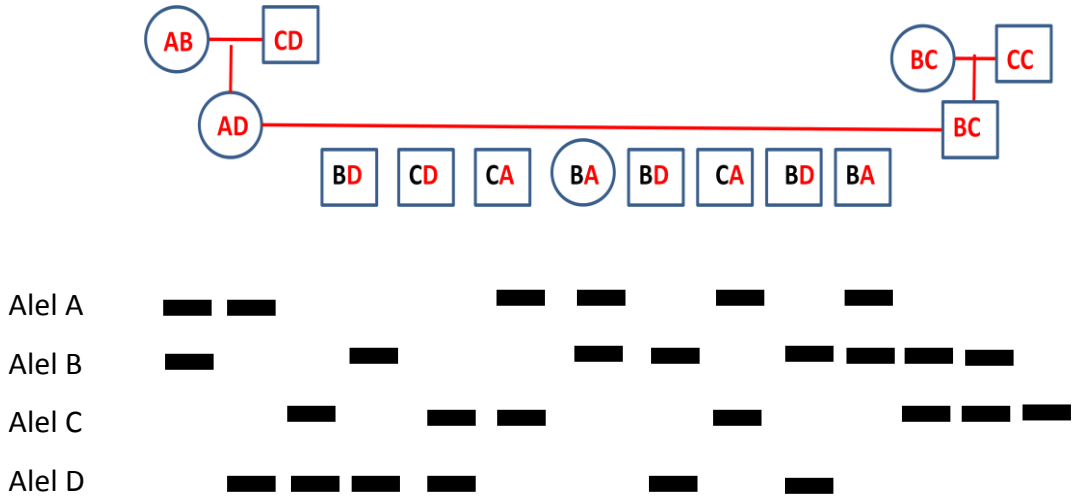
Şekil 2.3. Mikrosatelit markırların motif çeşitleri

Mikrosatelit tekrarların bulunduğu genom bölgelerindeki genetik varyasyonlar genellikle DNA kayması sonucunda meydana gelir. Mikrosatelit lokuslardaki mutasyonlar, DNA replikasyonu sırasında tekrarın bulunduğu kısımda yanlış eşleşme veya bir tekrarın atlanması sonucunda meydana geldiği düşünülmektedir. Diğer bir deyişle replikasyon sırasında DNA'nın iki iplikçiğindeki tekrar kısmı beklenmedik bir eşleşme yapabilir ve daha sonra bunun tamiri mikrosatelit lokusun uzaması veya kısılması ile sonuçlanır. En yaygın değişim yalnızca tek bir tekrar ünitesinin kaybı veya fazladan oluşması ile olur (Çiftci 2004). Balıklarda çoğunlukla bu baz tekrarları her 10 kilobazda bir meydana gelmektedir. Mikrosatelitler kromozomların bütün bölgelerinde dağılmışlardır. Bunlar genleri kodlayan bölgeler, DNA'nın kodlanmayan intron bölgeleri ve gen olmayan nükleotid diziler içerisinde bulunur. Birçok mikrosatelit bölgesi birkaç bazdan birkaç yüz baza kadar değişen küçük nükleotid dizi tekrarlarıdır (Aksakal 2009).

Mikrosatelit lokuslar kodominant markırlardır yani heterozigotlar homozigotlardan (Şekil 2.4.) ayırt edilebilir ve PZR kullanımı ve alellerin jel üzerine ayrımının yapılmasıyla (Şekil 2.5.) tüm genetik bilgilere ulaşmak mümkündür (Çiftci 2004, Tsigenopoulos, 2012).



Şekil 2.4. Mikrosatelitlerin polimorfizim yapısı



Şekil 2.5. Mikrosatelit alellerinin jel üzerinde ayrımı ve kalıtım bilgisinin açıklaması (Liu ve Cordesb 2004'den düzenlenmiştir)

2.8. Popülasyon Çalışmalarında Kullanılan İstatistiksel Yöntemler

Canlıların popülasyonlardaki yapısının ve bunların birbirleri ile ilişkilerinin araştırılması için bir çok yöntem geliştirilmiştir. Bunlardan bazıları araştırmamızda da kullanılmış olup, bu analizler aşağıda maddeler halinde açıklanmıştır.

2.8.1. Alel sayıları ve frekansları

Çalışılan popülasyonlarda bir lokus içinde alelik farklılıkların bulunması ve bu farklılığın, farklı alel uzunlukları ile görülmesi, bu popülasyonların içerisinde genetik çeşitliliğin bulunması anlamına geldiği bildirilmiştir. Popülasyonlardaki genetik varyasyonları ölçmenin yollarından birisi de alel frekanslarının hesaplanmasıdır. Alel frekanslarının hesaplanması aşağıdaki eşitliğe göre gerçekleştirilir (Nei, 1987, Özkan 2005, Aksakal 2009).

$$X_i = \frac{x_{ij} \sum_{j-i} n_{ji}}{2n}$$

X_i : A_i alelindeki genin frekansı

n : Popülasyondaki toplam birey sayısını

x_{ij} : A_i alelindeki toplam homozigot birey sayısını

n_{ij} : A_i alelindeki toplam heterozigot birey sayısını temsil etmektedir.

2.8.2. Heterozigotluk

Popülasyonların heterozigotluk düzeylerinin belirlenmesi için kullanılan yöntemdir. Heterozigotluk düzeyi çalışılan lokuslar açısından, popülasyonlar içerisinde tespit edilen heterozigot bireylerin ortalama yüzdesini ifade etmektedir. Bir lokustaki heterozigotluğun sapmasız hesaplanmasında aşağıdaki formül kullanılmaktadır. Nei tarafından 1987'de formüle edilen bu matematiksel

hesaplama da popülasyonların büyüklüklerinden kaynaklanabilecek etkinin indirgen di ğ i bildirilmektedir (Nei 1987, Özkan 2005, Ceyhun 2007).

$$\hat{h} = \frac{2n(1 - \sum \hat{x}_i^2)}{2n - 1}$$

\hat{h} : bir popülasyon için heterozigotluk

n: popülasyondaki birey sayısı

\hat{x} : A_i alelinin frekansını ifade etmektedir.

Çalışmada çok sayıda lokusla çalışılması dolayısıyla, tüm lokuslar için beklenen ve gözlenen heterozigotluklar ile ortalama heterozigotluk hesaplanır. Her popülasyon örne ğ i için önce lokuslar bazında, sonra tüm lokuslar için gözlenen alel sayıları, ortalama alel sayıları, gözlenen heterozigotluk (H_o) ve beklenen heterozigotluk (H_e) hesaplanarak alelik ve genetik varyasyonlar saptanmaktadır (Nei, 1987, Özkan 2005). Gözlenen heterozigotluk (H_o) de ğ erinin beklenen heterozigotluk (H_e) de ğ erinden büyük olması ($H_o > H_e$) o popülasyonda akrabalık oranının yüksek olduğunu gösterir (Aksakal 2009).

2.8.3. F istatistikleri

Wright'ın F istatistikleri popülasyonların yapısının tanımlanmasında çok geniş olarak kullanılan parametrelerdendir. Çiftlik hayvanları içerisinde yapılan çiftleştirmeler popülasyonlardaki akrabalı yetiştirmeyi (inbreeding) arttırmaktadır. Popülasyonlar içerisinde akraba bireylerin çiftleştirilmesine akrabalı yetiştirme (inbreeding) ve üzerinde çalışılan lokuslar bakımından Hardy-Weinberg dengesinden olan sapmalara ise homozigotlaşma indeksi (F – fixation index) denilmektedir (Brown 2003). Aynı ırkın farklı popülasyonları arasındaki genetik çeşitlili ğ i incelemek ve popülasyonlar yada ırklar arası farkı tanımlayabilmek için fiksasyon indeksleri

kullanılabilmektedir. Bu indeksler Wright (1965) tarafından geliştirilmiş olup sembolleri F_{IT} , F_{IS} ve F_{ST} 'dir. Bu parametreler homozigotlaşma indisleri (fixation indices) yada F istatistikleri olarak adlandırılmakta olup aralarındaki ilişki olarak ifade edilmiştir (Özkan 2005, Ceyhun 2007, Aksakal 2009).

$$F_{st} = \frac{F_{it} - F_{is}}{1 - F_{is}}$$

F_{st} : Alt popülasyonlar arası farktır.

F_{it} : Bütün bireylerin bir arada düşünülmesi ile ortaya çıkan toplam popülasyonlardaki Hardy-Weinberg dengesinden sapmanın ölçümüdür.

F_{is} : Alt popülasyonlarda görülen ortalama akrabalık katsayısıdır.

F istatistikleri genetik varyasyonu; toplam popülasyonlar, alt popülasyonlar ve bireyler bazında inceler. F_{is} , F_{it} ve F_{st} değerleri beklenen ve gözlenen heterozigotluk değerlerine göre belirlenebilmektedir (Nei, 1987) . F_{it} , toplam popülasyon içerisinde birbirine yakın akraba bireyler içerisinde birbirinin yerini tutan allerlerdeki korelasyonları tanımlar yani popülasyon seviyesinde rastgele birleşen iki gametin müşterek atadan gelme ihtimalini belirleyen bir değerdir (Nei 1987, Özkan 2005, Aksakal 2009).

Popülasyonların akrabalı yetiştirme katsayısı olarak tanımlanabilir. F_{it} tüm bireylerin bir arada düşünüldüğü toplam popülasyonlardaki kendileşme ölçütüdür. Alt popülasyon içerisindeki akrabalığın etkileri ve alt popülasyonlar arası farkların etkileri dikkate alınarak hesaplanır. F_{it} toplam popülasyonlarda Hardy-Weinberg dengesinden sapmaların ölçümüdür (Nei 1987, Özkan 2005, Aksakal 2009).

$$F_{it} = \frac{H_t - H_o}{H_t}$$

F_{is} , alt popülasyonlarda birbirine akraba olan bireylerin içinde homolog aleller arasındaki korelasyonları tanımlar. Yani alt popülasyonlarda rastgele birleşen iki gametin müşterek atadan gelme ihtimalidir. Alt popülasyonlardaki akrabalı yetiştirme katsayısı olarak tanımlanır. Alt popülasyonlar içerisinde Hardy-Weinberg dengesinden sapmaların ölçülebilmesi için F_{is} alt popülasyonlar seviyesinde bireylerin akrabalığına değinmektedir. F_{is} değeri negatif olarak bulunur ise heterozigot fazlalığı, sıfır değerine yakın ise Hardy-Weinberg dengesinin mevcut olduğu ve pozitif ise homozigot fazlalığının mevcut olduğunu işaret eder (Nei 1987, Özkan 2005, Aksakal 2009).

$$F_{is} = \frac{H_s - H_o}{H_s}$$

H_o : Alt popülasyonlarda gözlenen heterozigotluk ortalaması,

H_s : Alt popülasyonlarda beklenen heterozigotluk ortalaması,

H_t : Toplam popülasyonlardaki heterozigotluk ortalaması (Nei 1987)

Kısaca özetleyecek olursak; F_{is} değeri popülasyonlarda akrabalı yetiştiricilikten yada yakın akrabalı yetiştiricilikten (inbreeding) kaynaklanan Hardy-Weinberg frekansından sapmaları tespit eder. F_{it} hem yakın akrabalı yetiştiricilikten (inbreeding) hem de popülasyonlar arası farktan kaynaklanan sapmayı tespit eder. F_{st} ise popülasyonlar arası farklılaşmayı belirlemekte kullanılır. Hesaplanan F_{is} , F_{st} ve F_{it} değerlerinin istatistiksel olarak anlamlı olup olmadıklarını belirlemek için permütasyon testi yapılır. Veriler, 1000 defa permütasyona tabi tutularak ve her permütasyon sonucunda F_{is} , F_{it} ve F_{st} değerleri hesaplanır. F_{st} değeri için hipotez; Popülasyonlar birbirlerinden farklı değildir. F_{is} ve F_{it} için ise hipotez; popülasyonlar Hardy – Weinberg dengesindedir. Frekans dağılımı çizildikten sonra verilerden doğrudan hesaplanan gerçek değerlerin bu dağılımdaki yerleri ve olasılıkları belirlenmektedir. Wright (1965) tarafından sunulan F istatistikleri çok sayıdaki örnek büyüklükleri arasındaki farklılıkları göz önüne almaz. Bu nedenle F istatistiklerinin

hesaplanması metodunda ve değerlerin yorumlanmasında bazı anlaşmazlıklar olmuştur. Weir ve Cockerham (1984) F katsayılarında bazı düzeltmeler yaparak F_{it} , F_{st} ve F_{is} değerleri yerine sırası ile F , θ ve f parametrelerini kullanmışlardır. Bu parametrelerin hesaplanmasında örnek büyüklüğü, heterozigot frekansları yada popülasyonların sayısı dikkate alınmadan hesaplamalar yapılmıştır. Ayrıca hesaplanan bu değerler küçük veri setleri için uygundur. F , θ ve f parametreleri sırası ile F_{it} , F_{st} ve F_{is} değerlerine karşılık olarak belirtmektedir (Nei 1987, Özkan 2005, Aksakal 2009).

2.8.4. Moleküler varyans analizi

İlerleyen moleküler genetik teknikler ve yeni geliştirilen metodlar ile alel frekanslarından yararlanarak popülasyonlar hakkında bilgi edinmek ve aleller arasındaki farklılıkları incelemek kolaylaşmaktadır. Moleküler genetik tekniklerinden elde edilen verileri kullanarak genetik varyasyonun popülasyonlar içi ve popülasyonlar arası nasıl ayrışarak, varyans unsurlarına paylaşıldığını analiz etmek için Varyans Analizi (ANOVA) tablosu ve formülleri Excoffier vd (1992) tarafından geliştirilmiş ve moleküler varyans analizi (AMOVA= Analysis of Molecular Variance) adını almıştır. Farklı moleküler verilerden elde edilen moleküler verilerin analizinde (RFLP, AFLP, DNA baz dizilerine ait veriler) bu metod kullanılabilir. Moleküler varyans analizi, bir tür içerisindeki moleküler varyasyonu incelemek için kullanılmaktadır. Moleküler Varyans Analizi (AMOVA) Arlequin (<http://lgb.unige.ch/arlequin/>) isimli paket programında yapılabilmektedir (Özkan 2005, Arslan 2006, Çiftci vd 2007).

Moleküler varyans analizi, toplam genetik varyasyonu aşağıdaki gibi parçalara ayırarak incelemektedir:

- Popülasyonlardaki gruplar arası varyans bileşeni (V_a)
- Gruplar içerisindeki popülasyonlar arası varyans bileşeni (V_b)
- Bir popülasyon içerisindeki varyans bileşeni (V_c)

Varyansın hiyerarşik analizi gruplar veya popülasyonlar arasındaki ve içindeki farklılıklardan dolayı toplam varyansı kovaryans bileşenlerine bölmüş ve bu varyans bileşenlerinin kullanımıyla fiksasyon indisleri aşağıdaki formüllerle hesaplanmıştır.

$$F_{ct} = V_a / V_a + V_b$$

$$F_{sc} = V_b / V_b + V_c$$

$$F_{st} = V_a + V_b / V_a + V_b + V_c$$

2.8.5. Etkin popülasyon büyüklüğü (N_e)

Genetik darboğaz ve tesadüfi genetik sürüklenmenin etkilerini daha iyi değerlendirmek için bazı kabullenmeler yapmamız gerekmektedir. Bu değerlendirmeler, organizmaların diploid olduğunu, eşeyli olarak ürediğini, kuşakların çakışmadığını, popülasyon büyüklüğünün sabit, dişi ve erkek sayısının eşit ve eşleşmelerin tesadüfi olduğunu, göçün olmadığını, tüm bireylerin üreme başarılarının aynı olduğunu ve mutasyon ve doğal seçilimin olmadığını kabul etmektedir. Bu kabullenmeler, gerçek popülasyon büyüklüğü ile etkin popülasyon büyüklüğü arasındaki farklılıklardan kaynaklanan karmaşıklıklardan kaçınmamızı sağlamaktadır. Teorik olarak etkin popülasyon büyüklüğü, ideal bir popülasyonda bulunan birey sayısını ifade etmektedir.

2.8.6. Gen akışı (Nm)

Farklı populasyonlar arasındaki farklılıkların belirlenmesinde sözkonusu populasyonlar arasında meydana gelen göçün etkisi göz ardı edilmemelidir. Farklı populasyonlar arasında, her dölde, göç eden bireylerin gerçek sayısı ise, gen akışı (Nm , gene flow) ile ifade edilmektedir. Bir populasyonundaki bir erkek ya da dişinin başka bir bölgedeki tavuk populasyonuna genetik faktör olarak katkıda bulunması göç (m , migration) olarak ifade edilmektedir (Kaya 2008). Hartl and Clark (2007)'e göre göç, populasyonların birbirlerinden farklılaşmasını önleyen temel bir faktör olarak ele alınmaktadır.

Nm değeri F_{ST} 'ye bağlı olarak tahmin edilebilir. Nm değeri, F_{ST} 'ye bağlı olarak ters bir ilişki içinde değişmektedir. F_{ST} küçüldükçe göç eden bireylerin sayısı artmaktadır. Populasyonlar arasında tam bir genetik izolasyon söz konusu ise $Nm = 0$ ($F_{ST} = 1$) olmaktadır. Mikrosatelit gibi kodominant kalıtım modeline sahip olan markerlerle çalışıldığında populasyonlar arasında meydana gelen gen akışı (Nm), F_{ST} değerine bağlı olarak, $F_{ST} = 1 / (1 + 4 Nm)$ eşitliği ve bundan türetilen $Nm = 0.25 (1 - F_{ST}) / F_{ST}$ eşitliği kullanılarak tahmin edilmiştir (Wright 1951). Ancak, Nm değerleri populasyonların ikili olarak karşılaştırıldığı ikişerli F_{ST} (*pairwise* F_{ST}) değerlerinin kullanılarak oluşturulduğu matriksten hesaplanıyor ise bu durumda Nm , ikişerli (*pairwise*) Nm olarak tanımlanmakta ve hesaplanan gen akışı değerlerinin iki katı ($2Nm$) alınarak populasyonların ikili olarak karşılaştırıldığı bir matriks oluşturulmaktadır. Populasyonlar arasında meydana gelen gen akışı (Nm) değerleri şu şekilde açıklanmaktadır:

- $Nm = 0.25$ ise, populasyonlar arasında her dört generasyonda bir birey göç etmektedir.
- $Nm = 0.50$ ise, populasyonlar arasında her iki generasyonda bir birey göç etmektedir.
- $Nm = 1.00$ ise, populasyonlar arasında her generasyon bir birey göç etmektedir.
- $Nm = 2.00$ ise, populasyonlar arasında her generasyon iki birey göç etmektedir.

2.8.7. Irklar arası genetik uzaklıklar (Filogenetik ilişkilerin açıklanması)

Mikrosatelit verilerinin analizinde ırklar arası genetik uzaklıkları belirlemede farklı yöntemler kullanılabilen ve bu yöntemlere göre komşu birleştirme dendogramları çizilebilmektedir. Komşu Birleştirme Ağacı (Neighbour Joining Tree) genetik uzaklıkların görsel olarak belirtilmesi amacı ile çizilebilmektedir. Komşu Birleştirme Ağacı metoduna ile çizilen dendogram, 10 yıl öncesine kadar çok kullanılan UPGMA metoduna göre daha çok tercih edilen bir metodur. Bunun nedeni, UPGMA metodunda popülasyonların evrim zamanı her popülasyon için aynı kabul edilip ağaç ona göre çizilmektedir. Ancak popülasyonların birey sayıları farklı olduğundan aynı zaman aralığında farklı miktarlarda değişim olduğu düşünülmektedir. Bu nedenle komşu birleştirme metoduna göre çizilen ağaçta bu fark göz önüne alınabilmektedir. Komşu Birleştirme Ağacı metoduna göre dendogram oluşturmanın diğer yöntemlere göre üstünlüklerinin olduğu belirtilmiştir (Saitou ve Nei 1987, Özkan 2005).

Mikrosatelit verilerinden yararlanarak ırklar arası genetik uzaklıkları belirlemede en uygun ölçütün D_A metodu olduğu belirtilmektedir (Takezaki ve Nei 1996, Özkan 2005). Bu metod aşağıdaki şekilde hesaplanmaktadır.

$$D_A = 1 - \frac{1}{r} \sum_j^r \sum_i^{m_j} \sqrt{x_{ij}y_{ij}}$$

x_{ij} : X örneğinde çalışılan j'inci lokusun i'ci alelinin frekansı

y_{ij} : Y örneğinde çalışılan j'inci lokusun i'ci alelinin frekansı

m_j : j'inci lokustaki alel sayısı

r : Çalışılan toplam lokus sayısı

2.8.8. Bariyer testi

Örnekleme koordinatları bilindiği zaman, genetik ve coğrafi uzaklıklar arasındaki ilişki, mekansal otokorelasyon veya regresyon yöntemleri ile test edilebilir. Bu testler, olası genetik havzaların şekli üzerine bazı ipuçları verebilir. Bu çerçevede Manni vd (2004) genetik engelleri tanımlamak için yeni bir yazılım paketi oluşturarak Monmonier'in maksimum fark algoritması uygulamıştır. Belirlenen genetik havzada, bariyerlerin daha gerçekçi bir temsilini sağlamak için, bootstrap matris analizi ile önemlilik testi uygulanmaktadır. Popülasyonların F_{ST} matrisi ile bu popülasyonların elde edildiği koordinatlar arasında uzaklık ilişkisine bağlı olarak olası gen bariyerlerini gösterir. Bu testin yapılması için Barrier vs2.2. programı kullanılmaktadır (Manni vd 2004).

2.8.9. Mantel testi

Mantel testin prensibi iki farklı uzaklık matrisi arasındaki korelasyonu test etmektir (Mantel, 1967; Rousset ve Raymond, 1997). Diğer bir deyişle mantel test eşit boyutlu olan iki matrisin benzerliğinin karşılaştırıldığı bir analiz metodudur. Örneğin; genetik uzaklık ve coğrafi uzaklık matrisleri arasındaki uyumun karşılaştırılması, Irkların F_{ST} değerleri matrisi ile coğrafi uzaklık matrisleri arasındaki uyumun karşılaştırılması. Bu analiz için genetik uzaklıklardan oluşan matris ve F_{ST} değerleri matrisleri genetik matris olarak kullanılıp coğrafi uzaklık matrisi ile her ikisinde karşılaştırılabilir (Özkan 2005).

2.8.10. Faktöriyel benzerlik analizi

Faktöriyel benzerlik analiz (Factorial Correspondence Analysis), bireylerin birbirleriyle ilişkilerinin, elde edilen alel bilgileri ile 2 ve/veya 3 boyutlu düzlemde incelenmesidir. Diğer bir deyişle bireyler arasındaki akrabalığı araştırma için yapılan

bir analiz olup 2 ve/veya 3 boyutta bireylerin birbirlerine yakınlığının görülmesini sağlayan bir analizdir. Genellikle 3 eksenli çizilen grafik bireyler arası farkı görselleştirmektedir (Belkhir vd 2004, Özkan 2005, Ceyhun 2007, Aksakal 2009).

2.8.11. Genetik yapı testi

Genetik yapı testi (structure) ile popülasyonların mevcut genetik yapısı incelenebilmekte, popülasyonlardaki bireylerin hangi ırka ait oldukları tespit edilebilmekte, genetik yapı bakımından karışmış olan melez bireyler ve göçmen bireyler ayrılabilir (Pritchard vd 2000, Özkan 2005).

Genetik yapı testinde, çalışılan lokuslar açısından popülasyonların Hardy-Weinberg dengesinde olduğu bağıntı eşitsizliği (linkage disequilibrium)'nin mevcut olduğu farz edilerek analiz yapılmaktadır. Ayrıca bu metot çoğunlukla, Mikrosatelit DNA Polimorfizmi, Tek nükleotid polimorfizmi (SNPs-Single Nucleotide Polymorphism), Restriksiyon Enzimleri Uzunluk Polimorfizm Tekniğini (RFLP) içeren genetik işaretleyicilerine ait verilerin analizinde uygulanmakta ve popülasyonlarda mutasyonun mevcut olmadığı varsayılmaktadır (Pritchard ve Wen 2004, Özkan 2005). Program alel frekansları arasındaki ilişkilerden yararlanarak çalışılan bireyleri ırklara tayin etmekte ve ırkların mevcut genetik yapısını belirlemektedir (Pritchard vd 2000).

2.9. Mikrosatelit Markır Yöntemi ile Yapılan Önceki Araştırmalar

Mikrosatelit markırların balıklar üzerine yapılan ıslah çalışmalarında önemli araçlar olduğu bilinmektedir. Akrabalı yetiştiriciliğin takip edilmesi, ana baba analizleri ve kantitatif karakter lokuslarının tahmini, stokların genetik olarak ilişkilerinin belirlenmesi, doğal balıklar ile yetiştiricilik stoklarının karşılaştırılması, çiftliklerden doğaya kaçışın doğal popülasyonların genetik yapısı üzerine etkileri bu markırlar sayesinde ortaya konmaktadır (Boundry 1996, Magoulas 2003, Karahan

2009, Tsigenopoulos 2012). Damızlık ıslah çalışmalarına başlanabilmesi için öncelikle damızlık temin edilen bölgelerdeki doğal popülasyonların akrabalık ilişkilerinin, heterozigotluk verilerinin bilinmesi gerekmektedir. Levrek balığının popülasyon özellikleri ile ilgili olarak Akdeniz havzasında bir çok araştırma yapılmıştır (şekil 2.6.). Bu amaç ile yapılan araştırmalar aşağıda özetlenmiştir.

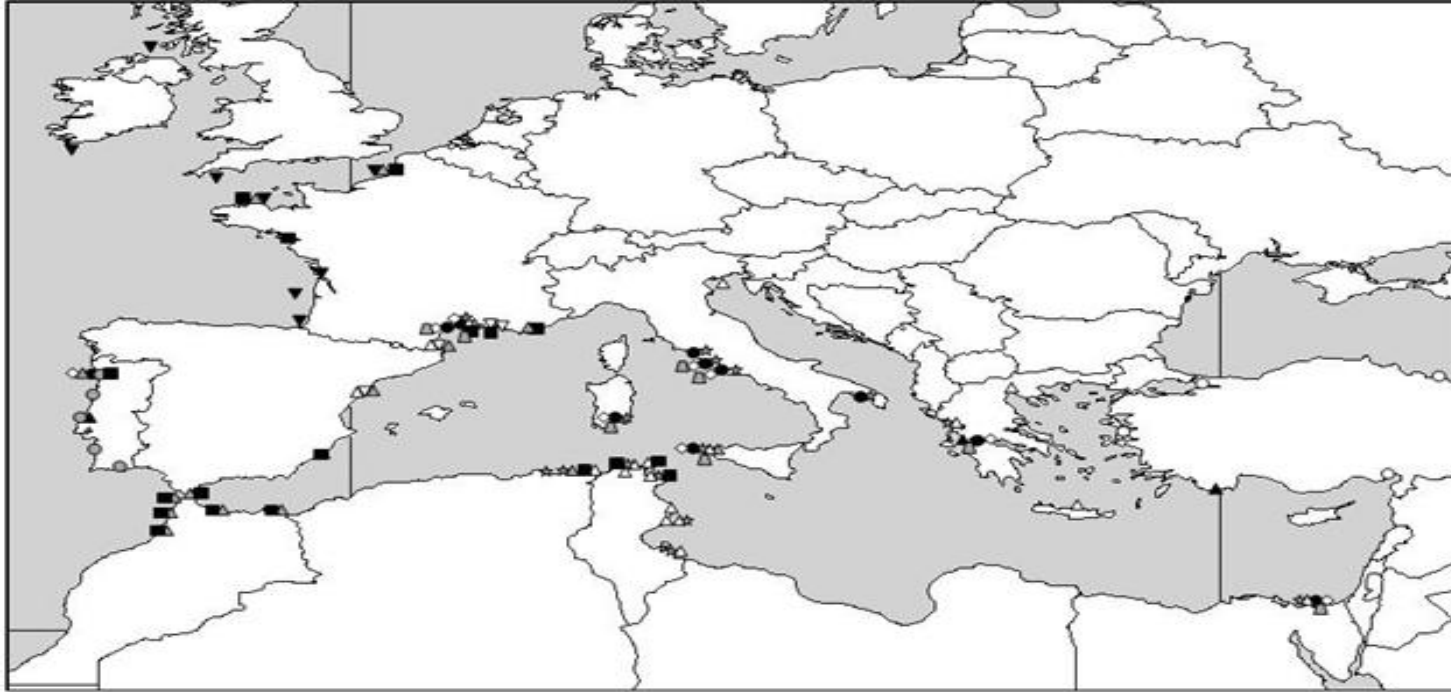
Garcia de Leon vd (1997) yılında Akdeniz'de Fransa'daki Lion Körfezinde 3 popülasyon ve İspanya'daki Valensiya Körfezi'nden bir popülasyon olmak üzere toplam 4 popülasyondan toplam 172 erişkin levrek balığı örnekleme yapıp ve 6 mikrosatelit markır ile popülasyon yapısını araştırmışlardır. Mikrosatelit markırların daha önceki araştırmalarda kullanılan diğer markır çeşitlerinden çok daha polimorfik olduğunu tespit etmişler ve her lokustaki beklenen heterozigotluk değerini 0,69-0,95 arasında bulmuşlardır. Araştırma sonucunda iki körfezin levrek popülasyonları arasında az bir farklılık tespit etmişlerdir.

Alloenzim markır yöntemi ile yapılan diğer bir araştırmada 28 alloenzim markır doğal ve yetiştiricilik yolu ile elde edilen toplam 10 popülasyon için kullanılmıştır. En büyük popülasyon farklılığını Akdeniz'deki Fransa ve Yunanistan popülasyonlarında tespit etmişlerdir (Allegrucci vd 1997)

1999'da yrtlen bir araştırma da Batı Akdeniz, Alboran Denizi, Atlantik Okyanusu ve Kuzey Denizi'ni temsil eden 17 popülasyon arasında yapılan araştırmada 6 mikrosatelit markır kullanılmıştır ve levrek popülasyonlarını iki ana gruba ayırmışlardır. Bunlar Cebelitarık Boğazi'nin doğusundaki Alboran Denizi'ni de içine alan Atlantik Popülasyonu ve Batı Akdeniz popülasyonu şeklinindedir. Bunun açıklamasını Almeria-Oran Oşinografik Cephesinin etkisi ile olabileceği bildirilmiştir. Düşük ancak istatistiksel olarak önemli bir F_{ST} değeri (0,018 $P < 0,001$) tespit etmişlerdir (Naciri vd 1999).

Akdeniz’de yapılan bir başka çalışmada Bahri-Sfar vd (2000) Doğu ve Batı Akdeniz’de 19 bölgeden yaptıkları örneklemede 6 mikrosatelit markır lokusu ile bölgelere ayrılma durumlarını araştırmışlardır. Araştırma sonucunda Scilya-Tunus Boğazının batısı ve doğusu olarak levrek balıklarında iki bölgeye ayrılma gözlemlenmiştir. Batı Akdeniz’deki popülasyonlarda heterozigotluğun istatistiksel olarak önemsiz, Doğu Akdeniz’deki popülasyonlarda ise bunun aksine istatistiksel olarak önemli bir heterozigotluk gözlemlenmiştir.

Akdeniz’de yapılan bir başka araştırmada Bahri-Sfar (2005) 15 popülasyon ve 6 mikrosatelit markır ile yaptıkları araştırmada akuakültürün, levrek popülasyonlarına etkisini araştırmışlardır. Sonuçlar daha önce yapılan araştırmalarla da karşılaştırıldığında yetiştiriciliğin yoğun olduğu bölgelerde genetik çeşitlilikte azalma olduğunu tespit etmişlerdir. Bu durumun 1980’lerde Batı’dan Doğu’ya yavru ve damızlık naklinden kaynaklanabileceğini bildirmişlerdir.



- | | | | |
|------------------------------|---------------------------|--------------------------|--------------------|
| ● Allegrucci vd 1997 | ▲ Castilho ve Ciftci 2005 | ▼ Garcia de Leon vd 1997 | ■ Lemaire vd 2005 |
| ◊ Castilho ve MacAndrew 1998 | △ Bahsi-Sfar vd 2000 | ▼ Fritsch vd 2007 | ▲ Lemaire vd 2000 |
| ○ Ergüden ve Turan 2005 | ▲ Naciri vd 1999 | ◊ Caccone vd 1997 | ☆ Cesarobi vd 1997 |

Şekil 2.6. Akdeniz ve Atlantik'te farklı markır teknolojileri ile levrek balığı üzerine yürütülmüş popülasyon çalışmaları (daire: allizom, üçgen: mikrosatelit, kare: mikrosatelit ve mtDNA, yıldız: allizom + mikrosatelit vd, yamuk: mtDNA, köşegen:RADPs) (Tsigenopoulos 2012)

Fritsch vd (2007) Atlantik'teki levrek balığı popülasyonlarının değerlendirilmesini yapmak amacı ile İngiliz Kanalı ve Biskay Körfezindeki 3'er popülasyonu ve İrlanda ve İskoçya'dan 1'er popülasyon ile toplam 8 popülasyonu 8 markır ile karşılaştırmışlardır. İngiliz kanalındaki popülasyonlar ile Biskay Körfezi popülasyonları arasında önemli bir fark bulamamış, ancak İrlanda popülasyonunun diğer popülasyonlara göre biraz daha farklı bir genetik yapıya sahip olduğunu tespit etmişlerdir.

Novel vd (2010) levrek balığının popülasyon farklılıkları ve ana-baba tayin araştırmalarında multipleks PZR yöntemini uygulamışlardır. Mikrosatelit araştırmalarının maliyetini düşürmek ve daha hızlı sonuç alabilmek amacı ile geliştirilen 10 mikrosatelit markırdan oluşan multipleks PZR yöntemini İspanya'nın Akdeniz ve Atlantik popülasyonları için kullanmışlardır. Ayrıca Fransa'da IFREMER isimli araştırma merkezinde 6 dişi ve 30 erkekten elde edilen 407 adet 2 aylık F₁ dölü üzerinde ebeveyn analizi yapmışlardır. Her iki tip araştırmada multipleks PZR yönteminin başarılı bir şekilde çalıştığını tespit etmişlerdir.

İrlanda'da yürütülen bir popülasyon çalışmasında mikrosatelit ve mitokondriyal DNA kullanılarak Norveç (Atlantik 1), İrlanda (Atlantik 1), İngiltere (Atlantik 1), Belçika (Atlantik 2), Fransa (Atlantik 2) ve İtalya (Akdeniz)'daki levrek popülasyonlarının ilişkileri tespit edilmiştir. Araştırma sonucunda İtalya popülasyonu ile Fransa popülasyonları arasında az bir benzerlik olduğu, Ancak Fransa ve Belçika popülasyonları arasında akrabalığın daha kuvvetli olduğu, İrlanda ve İngiltere popülasyonları arasındaki genetik farklılığın ise önemsiz seviyede olduğu tespit edilmiştir (Coscia ve Mariani 2011).

Mikrosatelitler markırlar, yetiştiricilik programlarının oluşturulmasında yeni olanaklar sunmaktadır. Bu sayede popülasyona ait bireylerin kantitatif özellik lokusları (QTL) belirlenerek, istenen karakterlere sahip bireyler tespit edilir ve selektif yetiştiricilik gerçekleştirilir. Su ürünlerinde markıra dayalı yetiştiricilikte en

çok çalışılan konular; hastalığa dayanıklılık (özellikle viral hastalıklar), hızlı büyüme oranı, sıcaklığa tolerans, tuzluluğa tolerans, iyi bir vücut şekli, daha iyi et kalitesi ve yem değerlendirme oranı yüksek bireylerin elde edilmesini içermektedir (Fuji vd 2007, Chatziplis 2007, Aksakal 2009) .

Kantitatif özellik lokuslarının tespitinde gen bağlantı haritaları önemlidir. Çünkü bu haritalar ile kromozomlar üzerinde hangi mikrosatelit lokusunun hangi karakterin geni ile birlikte hareket ettiği ve etkilediği tespit edilebilmektedir. Bu amaç ile birçok su ürünlerinde gen bağlantı haritaları uzun yıllardır çalışılmaktadır (Çizelge 2.3.) . Levrek balığında gen bağlantı haritalarının ilk versiyonu 2005 yılında ikinci versiyonu 2007 yılında tamamlanmıştır ve artık çalışmalar stres, büyüme, hastalık direnci gibi kantitatif özellik taşıyan lokusların belirlenmesi üzerine yönelmiştir (Chatziplis 2007).

Çizelge 2.3. Bazı balık türlerinde mikrosatelit markırlar ile oluşturulan gen bağlantı haritaları (Liu vd 2007, Aksakal 2009)

Tür	Yaygın ismi	Kaynaklar
<i>Danio rerio</i>	Zebra balığı	Knapik vd 1998, Shimodavd1999 Kocher vd 1998, Agresti vd 2000, McConnell vd 2000,
<i>Oreochromis spp.</i>	Tilapia	
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	Gökkuşluğu alabalığı	Sakamoto vd 2000, Nichols vd 2003
<i>Ictalurus punctatus</i>	Kanal kedi balığı	Waldbieser vd 2001
<i>Cyprinus carpio</i>	Pullu sazan	Sun and Liang 2004
<i>Salvelinus alpinus</i>	Kaynak alabalığı	Woram vd 2004
<i>Salmo salar</i>	Atlantik salmonu	Gilbey vd 2004, Moen vd 2004
<i>Plecoglossus altivelis</i>	Ayu	Watanabe vd 2004
<i>Dicentrarchus labrax</i>	Deniz levreği	Chistiakov vd, 2007
<i>Seriola quinqueradiata</i>	Sarı kuyruk	Ohara vd 2005

Herlin vd (2007) Atlantik Cod balığında mikrosatelit markırlar ile anne baba analizi yaparak yumurtlama döneminde damızlık balıkların ıslahına yönelik araştırmalar yapmışlardır.

Schmidt (2009) mikrosatelit markırlar kullanarak İngiltere’de yetiştirilen gökkuşağı alabalık türünde damızlık ıslahının, yavrular üzerinde etkisini araştırmış ve İngiltere’ki gökkuşağı alabalığı yetiştiriciliği yapan firmaların damızlık seçiminde ilerleme kaydetmesini amaçlamıştır.

Säisä (2009) Finlandiya’da yaptığı araştırmada *Coregonus lavaretus* ve *Salmo salar* türlerinde genetik farklılıkları, coğrafik dağılımları ve yetiştiricilik programlarında bu verilerin kullanılabilirliğini yine mikrosatelit markırlar kullanarak araştırmıştır.

Brown (2003) araştırmasında Güney Kıbrıs’ta bulunan kuluçkahaneler için damızlık ıslah programı geliştirmiştir. Damızlıkların genetik ıslahının araştırılmasında birçok yöntem yanında mikrosatelit markılar da kullanmıştır.

Butterfield (2009) gökkuşağı alabalığının genetik farklılıklarının hastalıklara karşı direnci üzerine etkisini 10 mikrosatelit markır ile araştırmıştır.

Kanada’da Atlantik salmonu kuluçkahanelerindeki iki farklı popülasyondan (Avrupa ve Kuzey Amerika) oluşan damızlıkların üzerine yürütölen bir araştırmada 20 damızlık grubunda 11 mikrosatelit markır ile damızlıkların genetik varyasyon dağılımı ve heterozigotluk değerleri araştırılmıştır (Withler vd 2004).

Norveç’te yoğun olarak yetiştiriciliği yapılan *Gadus morhua* türünde 4 popülasyondan toplanan damızlıkların genetik karakteristikleri 10 mikrosatelit lokus ve 5 allozim enzimi ile tespit etmişlerdir (Dahle 2006).

İspanya'daki iki kalkan kuluçkahanesinden temin edilen 5 damızlık popülasyonu arasında eşleşmeler yapılarak elde edilen larvalarda 8 mikrosatelit markır kullanılıp akrabalık katsayıları ile menşei bilinmeyen anaçların heterozigotluğu ve bunun yavruların büyümesine etkisi araştırılmıştır (Borrell vd 2004).

Yetiştiricilikte üretim artışı ile birlikte yetiştiricilik sektöründe karşılaşılan beslenme, hastalık gibi problemler uzun yıllardır yapılan araştırmalar ile aşılmıştır. 1960'lı yıllarda salmon türleri üzerine Norveç'te başlatılan genetik ıslah tabanlı selektif yetiştiricilik çalışmaları son yıllarda Avrupa'da yürütülen çok katımlı projeler ile levrek balığının yetiştiriciliği üzerine yoğunlaşmıştır. Levrek balığı üzerine temel genetik çalışmaları 2000'li yıllara kadar tamamlanmıştır. Son yıllarda daha çok spesifik gen karakterleri ile ilgili, immün sistemin geliştirilmesi ve beslenmeden faydalanmanın artırılması yönünde ıslahı yapılan canlılar üzerine özel çalışmalar yürütülmektedir (Magoulas 2003).

Avrupa'da ekonomik değeri yüksek olan levrek balığı yetiştiriciliğinde, üretilen yavru balıkların hastalıklara karşı direnci, daha hızlı büyümesi, yem dönüşüm oranının yükseltilmesi ve hatta et kalitesi ve raf ömrünün yükseltilmesi amacı ile birçok damızlık ıslah çalışmaları mikrosatelit markırlar yardımı ile yapılmaktadır (Garcia de Leon vd 1998, Chistiakov vd 2005, Gjedrem ve Thodesen 2005).

Bir işletmedeki damızlık popülasyonunun genetik yapısının bilinmesi, o işletmede uygulanacak herhangi bir selektif ıslah çalışması için gerekli bir konudur (Magoulas 2003, Chistiakov 2005). Yapılan pek çok çalışmada en başta salmon olmak üzere, alabalık, halibut, morina, levrek ve çipura gibi yaygın olarak üretimi yapılan balık türleri için moleküler belirteçler yardımıyla ıslah programları oluşturulmuş ve sektörel düzeyde devam ettirilmiştir (Garcia de Leon vd 1998, Karahan 2009).

Levrek balığına popülasyon ilişkilerinin belirlenmesinde ve damızlık ıslahı amacı ile farklı markırların belirlenmesi çalışmaları 1980'li yılların sonlarında başlamıştır (Benharrat vd 1983, Allegrucci vd 1995, 1997, Garcia de León vd 1998). BassGen isimli Avrupa Birliği destekli uluslar arası katılımlı araştırma projesi 2007 yılında tamamlandığında levrek balığına ait gen bağlantı haritaları Mikrosatelit ve AFLP markırları için hazırlanmıştır. Bu çalışma ile 200 civarı, çoğu polimorfik olan mikrosatelit markır geliştirilmiştir (Chistiakov vd 2008). 2012 yılı Nisan ayı itibarı ile toplam 294 mikrosatelit markır bilgisi GenBank'a işlenmiştir.

Guinand vd (2008)'nin Fransa'da 2 istasyondan (n=46 ve n=49) topladıkları levrek yavruları üzerine yaptığı genetik yapı analizinde 9 mikrosatelit markır kullanmışlardır. Bu çalışmanın sonucunda Bu çalışmada Garcia de León vd (1997)'nin bildirdiği sonuçları destekleyerek genç bireylerin, popülasyonlar içinde rastgele çiftleşmenin sonucu olduğu ve bu yavru bireylerin lokal bölgelere dağılması ile farklılaşmanın oluşmadığını tespit etmişleridir. Fakat çalışmada erişkin bireylerin aksine Hardy-Weinberg dengesinde sapmalar tespit edilmiştir.

Levrek balığının genetik yapısı ile ilgili ülkemizde yapılan araştırma sayısı oldukça azdır. Ülkemizde balık popülasyonlarının dağılımı üzerine ilk moleküler çalışmalar 2000'li yıllarda henüz başlamıştır. Özellikle gökkuşuğu alabalığı doğal dağılım alanları ve damızlık yönetimi üzerine yapılan genetik çalışmalar ardından levrek balığının popülasyon genetiği üzerine temel düzeyde birkaç genetik araştırması yapılmıştır.

Ülkemizde ilk kez mikrosatelit markır yöntemi ile levrek balıklarının popülasyonunun araştırılması 2004 yılında yapılmıştır. Doğal ve kültür popülasyonlarının 2 mikrosatelit lokus ile karşılaştırılması yapılmış ve İzmir'den toplanan doğal popülasyonlar yine İzmir Körfezi'ndeki bir kuluçkahane popülasyonu ile karşılaştırılarak iki markırdaki alel sayılarının doğal bireylerde kültürdekilere göre

daha fazla olduğu görülmüş, bu da lokusların polimorfizminin doğal bireylerde daha yüksek olduğunu göstermiştir (Karahana 2004).

Castilho ve Çiftci (2005) ilk defa Türkiye'deki bir levrek popülasyonunu (Beymelek) Yunanistan ve Portekiz popülasyonları ile karşılaştırmışlardır. Araştırmada 9 mikrosatelit lokus kullanılmış ve Doğu Akdeniz'deki iki yakın popülasyonu, Portekiz popülasyonu ile karşılaştırarak incelemişlerdir. Bu çalışmada bildirildiğine göre elde edilen sonuçlar ile Bahri-Sfar vd (2000)'un yaptığı araştırmayı destekleyen sonuçlar elde edilmiş ve hatta Doğu Akdeniz popülasyonunun da kendi içinde ikiye ayrıldığını tespit etmişlerdir.

Ülkemiz'de yapılan levrek balıkları ile ilgili diğer bir popülasyon çalışmasında alloenzim yöntemi kullanılmıştır. Bu yöntem ile ülkemizdeki 4 deniz popülasyonunda 4 enzim sisteminde 9 lokus araştırılmış sadece ikisi polimorfik olarak tespit edilmiş ve popülasyonlar arasında yapılan Fisher testi sonucuna göre önemli bir farklılık tespit etmemişlerdir (Ergüden ve Turan 2005).

3. MATERYAL ve METOD

3.1. Materyal

3.1.1. Balık örneklerin toplanması ve taşınması

Türkiye’den toplanan levrek balığı örnekleri Ege ve Akdeniz’de belirlenen ve kuluçkahanelerin damızlık temininde bulunduğu 5 lagün sisteminden balıkçılar aracılığı ile toplanmıştır. Ayrıca Hellenic Center for Marine Research DNA bankasından Yunanistan’daki Mesolongi Lagünü’nden 48 genomik DNA ve Fransa’nın Atlantik kıyısında Biskay Körfezi’nden 48 adet genomik DNA temin edilmiştir. Araştırmada kullanılan popülasyonlar Şekil 3.1’de gösterilmiştir. Doğanbey ve Yumurtalık lagünlerinde uzatma ağları ile toplanan örnekler, diğer istasyonlarda dalyan tipi tuzaklarla toplanmıştır. Avlanan balıklar içinden rastgele yöntem ile örnekleme yapılan Çizelge 3.1.’de sayıları belirtilen örnekler soğuk zincir ile laboratuvar ortamına taşınmıştır. Dünya denizleri ekolojik bölgelerinin (MEOW) biyo-bölgeselleştirilmesine göre (Spalding vd 2007), örneklerin toplandığı bölgelerin numaraları Çizelge 3.1.’de verilmiştir



Şekil 3.1. Örneklerin toplandığı istasyonlar (ölçek bar 200 km)

Çizelge 3.1. Tüm istasyonlardan toplanan toplam birey sayısı (n_t), morfolojik çalışmada kullanılan örnek sayıları (n_m), genotip çalışmasından kullanılan örnek sayısı (n_g) ve örneklerin toplandığı (MEOW'a göre) coğrafik bölge kodları

Popülasyon	MEOW	n_t	n_m	n_g
Homa Dalyanı (İzmir)	31	39	39	34
Doğanbey Dalyanı (Aydın)	31	43	39	43
Köyceğiz Dalyanı (Muğla)	31	45	40	45
Beymelek Lagünü (Antalya)	32	40	39	40
Yumurtalık Dalyanı (Adana)	32	47	40	47
Atlantik (Biskay Körfezi-Fransa)	27	-	-	48
Yunanistan (Mesolongi-İyonya Denizi)	34	-	-	48

3.1.2. Araştırmanın yürütüldüğü yerler

Araştırma Akdeniz Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Laboratuvarı'nda ve Yunanistan'ın Girit Adası'ndaki Hellenik Deniz Araştırmaları Merkezi'nde bulunan, Moleküler Biyoloji ve Genetik Enstitüsü laboratuvarlarında tamamlanmıştır.

3.1.3. Çalışmada kullanılan mikrosatelit markırlar

Araştırmada kullanılan 10 adet mikrosatelit markırlara ait erişim numaraları, markır adı, tespit eden araştırmacı ve baz uzunlukları ve baz sıra dizileri Çizelge 3.2.-11.'de verilmiştir.

Çizelge 3.12. Mikrosatelit markır çoğaltılmasında kullanılan Geri (G) ve İleri (İ) primerlerin özellikleri (FAM: Mavi; HEX: Yeşil; ROX: Kırmızı; TAMRA: Siyah) (Tsigenopoulos vd 2006, 2007)

Erişim No	Lokus	Tekrar	Baz uzunluğu	Etiket	Primer dizileri 5'→3'
DQ363867	DLA0044	(CT) ₁₉	101-149	HEX G İ	ACCGCCAAGGGTTGGACTG TCCGCTCCGCACCGAGTGAC
DQ363883	DLA0060	(CA) ₁₂ (TA) ₃ AA(CA) ₂	111-141	FAM G İ	TGTAGTAATAATGCGCTCTGCAA GAGAGTTCATCCTGTTGCTC
DQ363884	DLA0061	(TG) ₁₄	145-175	FAM G İ	CTCCCTGTCCATCTGTCTC AAAGGCCAGTGAAACTCATGT
DQ363889	DLA0068	(CA) ₇ CGCACG(CA) ₃	233-269	TAMRA G İ	GCATTAGCATTGATTGTCTG CAACACCTGTTCTCTGAACC
DQ363894	DLA0073	(CT) ₃₆	148-188	TAMRA G İ	AGTTCAGAGCGGCAACTGT CATGACTTCATGTGCTAATGTCC
DQ363899	DLA0078	(AG) ₂₉	191-261	HEX G İ	CACAAGGAACCGAGACAAGA AAGACTGGACCTCTGGAGACC
DQ363902	DLA0081	(CA) ₁₆	191-227	ROX G İ	ATACCGAGCGACCATGTTG GACGAAGACTTCAGACGAGCTAT
DQ363907	DLA0086	(AC) ₂₆	172-222	FAM G İ	ACCTGGTGATTGGCAATTCT GCTAGAGGATTATGTGCTT
DQ363910	DLA0089	(GT) ₁₅	107-147	TAMRA G İ	GTCAAAACAGCCACCTA ACGAGTAATGAGGACCCA
EF471091	DLA0096	(GT) ₁₆	242-270	FAM G İ	TCGATGCATCTAGGACAGGA AACTTAGTGAAGTAACTTGTGGCAA

3.1.5. Kullanılan kimyasallar ve çözeltiler

3.1.5.1. DNA izolasyonunda kullanılan kimyasallar ve çözeltiler

DNA izolasyonunda; DNA Ekstraksiyon solüsyonu (TNES) içi Tris-HCl (10mM), NaCl (100mM), EDTA (10mM), β-Merkapto etanol (100mM) , Sodyum Dodesil Sülfat (SDS) (%0,1) kullanılmıştır. Fenol Kloroform metodu ile ekstraksiyon işlemi sırasında Proteinaz K (10mg/ml), Fenol-Kloroform-İzoamil alkol karışımı (25:24:1) ve Kloroform-İzoamil alkol karışımı (24:1) Etanol (Saf ve %70'lik), Sodyum Asetat kullanılmıştır. İzole edilen DNA'ları çözmek amacı ile TE solüsyonu (Tris-HCl:10mM, EDTA:1mM) kullanılmıştır (Aksakal 2009).

3.1.5.2. Polimeraz zincir reaksiyonunda (PZR) kullanılan kimyasallar

DNA izolasyonu tamamlandıktan sonra aşağıda belirtilen oranlarda "QIAGEN Multiplex PCR Kit" ile 96 kuyulu plakalar kullanılarak BioRad marka termal döngü cihazında PZR tamamlanmıştır.

3.1.5.3. Jel elektroforez uygulamasında kullanılan materyaller

DNA izolasyonu tamamlandıktan sonra, izolasyonun başarısını kontrol etmek amacı ile jel elektroforez işlemi ile DNA'lar yürütülmüştür. Bu amaç için Thermo marka 20x30 ebatlarında 60 kuyulu elektroforez kabı ve güç kaynağı kullanılmıştır. Agaroz jel hazırlanmasında Agar (Düşük Erime Noktası) ve 1xTAE yürütme tamponu (Çizelge 3.13.) kullanılmıştır.

Çizelge 3.13. TAE (Tris asetik asit EDTA) (Aksakal 2009)

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

3.1.5.4. Kapilar elektroforez cihazında kullanılan kimyasallar

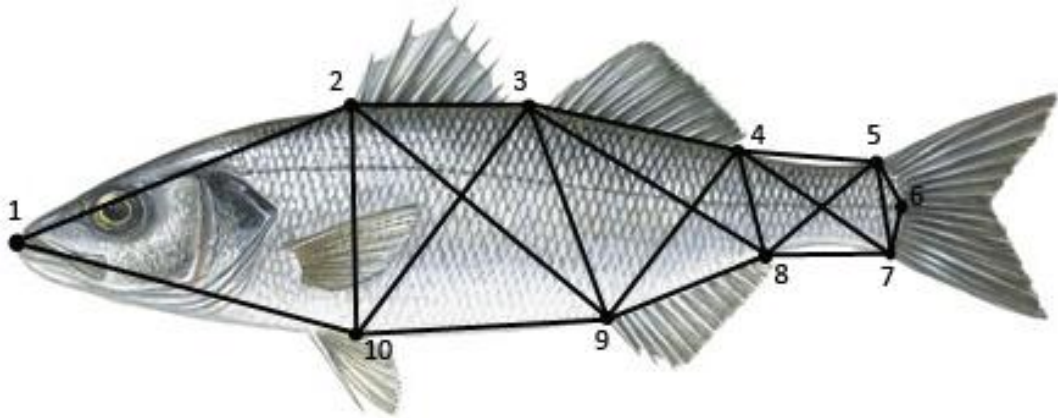
Mikrosatelit baz uzunluklarının tespiti Applied Biosystems (ABI) marka 3730xl model kapilar jel elektroforez cihazı ile yapılmıştır. Termal döngü cihazından alınan örnekler üzerine "GeneScan™ 500 LIZ® Size Standard" ve "Hi-Di™ (High Deinozed) Formamide" ilave edilmiştir. Daha sonra 5 dakika 95°C'de termal döngü cihazında inkübe edilen örnekler kapilar elektroforez cihazına yüklenip sonuçlar bilgisayar ortamında temin edilmiştir.

3.2. Metod

3.2.1. Metrik ve meristik ölçümler

Balıkların ağırlıkları 0,01 g hassasiyetli hassas terazi ile ölçülmüştür. Toplam boy uzunluğu 0,1 cm hassasiyette metre ile yapılmış, uzunluk ölçümleri (GÇ: göz çapı, GAM: gözler arası mesafe, BK: baş kalınlığı) 0,01 mm hassasiyetli kumpas ile yapılmıştır. Diseksiyonla eşey kontrolü yapılmıştır. Yan çizgi üzerindeki pul sayısı lup ile sayılmış, dorsal I (DI) ve dorsal II (DII) yüzgeçleri, Kuyruk yüzgeci (K), Anal Yüzgeç (A) ve pektoral yüzgeçteki ışınlar penset ve lup yardımı ile sayılmıştır.

TRUSS Ağı ve Temel Bileşenler Analizi (Principal Component Analysis) için araştırmada toplanan tüm örnekler Samsung marka NV20 model dijital fotoğraf makinesi ile fotoğraflanmıştır ve bilgisayar ortamında TPS programları kullanılarak sınırlar işaretlenmiştir. Bu işlemler için tpsUtil Version 1.46 programı fotoğrafların dönüştürülmesi için kullanılmış tpsDig2 Version 2.16 programı 10 adet sınırın koordinatlarının belirlenmesinde kullanılmıştır (Şekil 3.2.) (Kristoffersen ve Magoulas 2008).



Şekil 3.2. Levrek balığında TRUSS Ağı Analizi için belirlenen sınırlar ve ölçülen mesafeler

Truss Ağ Analizi ve Ayırma Analizleri için toplanan tüm örnekler fotoğraflandıktan sonra her popülasyondan rastgele 40'ar birey seçilmiş ve bilgisayar programı ile işleme tabi tutulup 10 adet sınır bölgesinin birbirleri ile olan uzaklıkları tespit edilmiştir. Fotoğraflar bilgisayar programında işlenirken oluşan bir hata üzerine Homa, Doğanbey ve Beymelek popülasyonları örneklerinden birer adet çıkartılmıştır. Temel bileşen analizi ile bileşenleri belirlenen veriler için diskriminant (ayırma) analizi yapılmıştır. Bu işlemler SPSS ve MiniTab istatistik paket programları ile yapılmıştır.

3.2.2. Örneklerden doku alınması ve genomik DNA izolasyonu

Metrik ve meristik ölçümleri tamamlandıktan sonra balıkların kuyruk yüzgecine yakın bölgeden steril bisturi ve pens yardımı ile deri kaldırılarak 1cm x 2cm kas örneği alınmış, diseksiyon makası ile kuyruk yüzgecin üst tarafından 1 cm uzunluğunda kesim yapılarak tüm dokular %95 etil alkol ile 50ml'lik falkon tüplerinde örnekler çalışılincaya kadar -20°C'de muhafaza edilmiştir (Aksakal 2009).

Genomik DNA izolasyonunda Fenol/Kloroform/İzoamil Alkol yöntemi kullanılmıştır. İzolasyona başlayana kadar -20°C'de saklanan kas örneklerinden 0,5 g steril makas ile alınmış ve 1,5ml'lik kapaklı santrifüj tüplerine konmuştur. Her bir tüpe 700 µl TNES DNA ekstraksiyon solüsyonu konulmuş ve kas dokusu steril bir makas yardımıyla iyice kıyılarak homojenize edilmiştir. Sonra üzerine 20 µl Proteinaz K (10mg/ml) eklenmiş ve oda sıcaklığında bir gece rotor disk yardımıyla hafifçe alt üst olacak şekilde inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyondan sonra 500 µl Fenol: Kloroform: İzoamil alkol (25:24:1) çeker ocak ortamında eklendikten sonra rotor disk yardımıyla 10 dakika nazik bir şekilde alt üst edilmiştir ve 15.000 rpm'de 15 dakika santrifüj yapılmıştır. Bu işlemlerden sonra üst faz başka bir tüpe aktarılmıştır. Ardından 500 µL Kloroform: İzoamil alkol (24:1) yine çeker ocak ortamında eklenmiş, rotor disk yardımıyla 10 dakika nazik bir şekilde alt üst edilmiş ve yine 15.000 rpm'de 15 dakika santrifüj yapılmıştır. Üst faz başka bir tüpe aktarılmış ve bu

son aşama iki kez tekrar edilmiştir. 1 ml %99,9'luk (-20°C'de) Etanol ve 50 µl 3 M sodyum asetat eklenmiş nazik bir şekilde birkaç kez alt üst edilmiş ve -20°C'de 1 saat inkübasyona bırakılmıştır (Bu aşamada DNA peleti gözlemlenmiştir). İnkübasyon sonrası 15.000 rpm'de 20 dakika santrifüj yapılmış ve üst faz atılmış, ardından 1 ml %70'lik Etanol (-20°C'deki) eklenmiştir. 15.000 rpm'de 20 dakika santrifüj yapılmış ve çözelti kısmı atılmıştır. %70'lik Etanol ilavesi iki kez tekrarlanmıştır. Tüp içerisindeki çökelek (pelet) oda sıcaklığında 5 dakika kurutulmuştur. En son aşamada elde edilen DNA peleti 200 µl TE tamponu ile çözülmüş ve örnekler çalışılıncaya kadar -20°C'de muhafaza edilmiştir (Aksakal 2009).

3.2.3. DNA'nın kantitatif ve kalitatif tayini

Genomik DNA'nın kalitatif tayini için %1'lik agaroz jel ısıtıcılı karıştırıcıda eritilmiş, agaroz tamamen eridikten sonra soğumaya bırakılmıştır. Donma gerçekleşmeden önce jele 10 µl/100 ml oranında ethidium bromide ilave edilmiştir ve jel tablasına dökülüp tarakları yerleştirilmiştir. Jel'e yükleme yapılmadan önce DNA 1/6 oranında yükleme tamponu ile karıştırılmış ve mikropipet yardımı ile jele yüklemeler yapılmıştır. Jel elektroforezinde 100w 1 saat yürütülme yapılmış ve sonuçlar UV ışık altında gözlemlenip fotoğraflanmıştır. Genomik DNA izolasyonu tamamlandıktan sonra Nanodrop 1000 spektrofotometresi ile yoğunluk tespit edilmiştir. Aynı zamanda DNA'nın kantitatif olarak başarılı bir şekilde izole edilip edilmediği tespit edilmiştir.

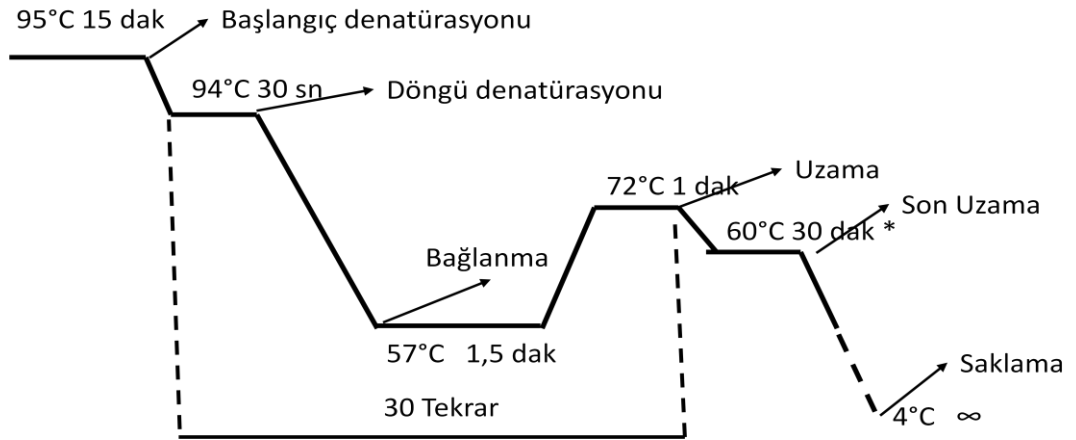
3.2.4. Multipleks polimeraz zincir reaksiyonu

Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) için "QIAGEN Multipleks PCR Plus Kit" kullanılmıştır. Termal döngü cihazında belirlenen mikrosatelit markır bölgelerinin çoğaltılması amacı ile Çizelge 3.14.'deki gibi çalışma karışımı son hacim 9 µl olacak şekilde hazırlanmıştır. Tüm ilavelerden sonra 96'lık tablalar soğutmalı santrifüjde 2000 rpm hız ile 30 saniye süre ile karıştırılmıştır.

Çizelge 3.14. Multipleks PZR çalışma karışımı

4,5 µl	Master Miks 2x
3 µl	primer miks (10 µM)
0,5 µl	Q-Su 5x
1 µl	DNA örneği (1/50 oranında seyreltilmiş, yaklaşık 20ng/µl)
9µl	Toplam

Çalışma karışımı hazırlandıktan sonra 96'lık tablaya yüklemeler yapılmış ve termal döngü cihazında Şekil 3.3.'deki gibi DNA çoğaltma işlemi 30 tekrar yapılarak tamamlanmıştır. Son uzamada 30 dakika 60°C HotStarTaq Polimeraz enzimi ile PZR ürününün sonuna Adenin çıkıntısı (A-overhang) oluşturmak için konulmuştur. Bu durum kapillar elektroforezin daha kesin sonuç vermesi amacı içindir (QIAGEN Multipleks PZR El Kitabı).



Şekil 3.3. Multipleks PZR için termal döngü cihazı çalışma protokolü.

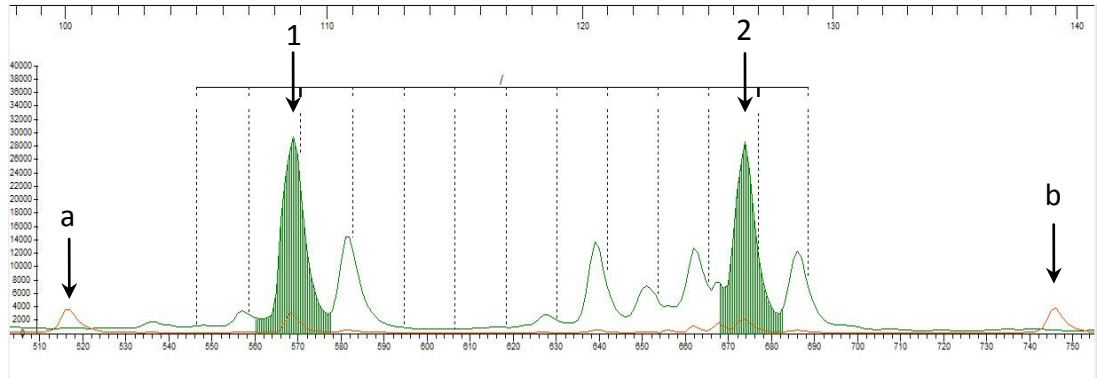
3.2.5. Kapillar elektroforez ile alellerin belirlenmesi

Termal döngü cihazından alınan örnekler 1/50 oranında saf su ile seyreltildikten sonra kapillar elektroforez cihazına uygun 96'lık tablaların her birine 10 µl GeneScan™ 500 LIZ® Size Standard (Applied Biosystems, Kanada) ve Hi-

Di™ Formamide (Applied Biosystems, Kanada) karışımı (1/100 oranında) ile yükleme yapılmış, üzerlerine 1'er µl seyreltilmiş örnek konulmuştur. Bu işlem için 10 µl GeneScan™ 500 LIZ® Size Standard, 1000 µl Hi-Di™ Formamide çözeltisine ilave edilmiş ve çalkalanmıştır. Tüm ilavelerden sonra 96'lık tablalar uygun santrifüjde 2000 rpm 30 saniye süre ile karıştırılmıştır. Örnekler, kapilar elektroforez cihazına konmadan önce 95°C'de 5 dakika inkübe edilmiştir. Kullanılan ABI 3730xl Kapilar Elektroforez Cihazında G5 kodlu filtre seti kullanılmıştır. G5 filtre seti, DS33 boya seti (6-FAM, VIC, NED, PET ve LIZ)'ni okumaktadır. Araştırmada kullandığımız geri primerlerin etiklendiği fluoresan boyalar (VIC yerine HEX, NED yerine TAMRA, PET yerine ROX etiketleri) bu filtre seti ile başarılı bir şekilde çalışmıştır.

3.2.6. Alellerin uzunluklarının belirlenmesi

Kapilar elektroforez cihazından elde edilen bilgisayar ortamındaki sonuçların genotiplemesi için STRand isimli nükleik asit analiz programının 2.4.59 versiyonu (Şekil 3.4.) kullanılmıştır (<http://www.vgl.ucdavis.edu>). Şekilde a ve b nolu oklar 100 ve 139 baz uzunluğu GeneScan™ 500 LIZ® size standart, 1 ve 2 sayılı oklar, 109 ve 127 baz uzunluğundaki iki aleli göstermektedir.



Şekil 3.4. STRand bilgisayar programında DLA00044 nolu mikrosatelit lokusunun alel boyunun tespiti.

3.2.7. İstatistiksel analizler

3.2.7.1. Morfolojik bulgulara uygulanan istatistik analizler: Temel bileşen analizi (TBA) ve diskriminat (ayırma) analizi

Temel Bileşenler Analizi ilk kez 1900'lü yılların başında Karl Pearson tarafından tanıtılmıştır. Daha sonra 1933 yılında Hotelling ve 1964 yılında Rao tarafından uygulama alanları geliştirilmiştir (Timm, 2002). Değişkenler arasındaki bağımlılık yapısının yok edilmesi veya boyut indirgeme amacıyla kullanılan Temel Bileşenler Analizi tek başına kullanılan bir analiz olduğu gibi, başka analizler için veri hazırlama tekniği olarak da kullanılmaktadır. Değişkenler arasında bir bağımlılığın bulunması ve dolayısı ile bağımsız olmamaları durumunda istatistik analiz sonuçlarının yorumu oldukça güç olmaktadır. Bu gibi durumlarda kullanılan tekniklerin başında Temel Bileşenler Analizi gelmektedir (Sangün 2007).

TRUSS İndeks Analizi için örneklerin her biri ayrı ayrı fotoğraflanmış fotoğraflar tpsUTIL programı ile tpsDIG2 programında kullanılacak formata dönüştürülmüştür. tpsDIG2 programı ile koordinatları belirlenen sınırlar arası mesafe hesaplaması, MS Office Excel 2007 Programı kullanılarak $|AB| = \sqrt{(x_2 - x_1)^2 + (y_2 - y_1)^2}$ formülü ile yapılmıştır. İstenen ölçümlerin Temel Bileşen Analizlerinin (TBA) yapılabilmesi için boy farkından kaynaklanan hataların önlenmesi için tüm veriler aşağıdaki formül ile standardize edilmiştir (Kristoffersen ve Magoulas 2008).

$$Y_s = Y_n \left[\frac{X_o}{X_n} \right]^b$$

Y_s : Standardize edilen değer,

Y_n : Standardize edilecek ölçüm,

X_o : standart ölçek değeri (100mm olarak alınmıştır),

X_n : n bireyinin standart uzunluğu,

b : regresyon katsayısı $\ln(Y) = \ln(a) + b \ln(X)$ formülünden elde edilmiştir

Diskriminant analizi, tek faktör çok değişkenli varyan analizi MANOVA'nın uzantısı olan değişkenli bir analiz türüdür. Gruplar arası fark yoktur anlamını taşıyan H_0 hipotezi red edildikten sonra, gruplar arası farkın olduğu sonucuna varılır. Bu farklılığın nedenleri diskriminant analizi tekniği ile tespit edilir (Ünsal 2000).

Verilerin standardizasyonu MS Office Excel 2007 programında yapıldıktan sonra SPSS (v 19) ve MiniTab (v 15) istatistik programları ile TBA ve diskriminant (ayırma) analizleri yapılmış ve popülasyonlar arası morfolojik ilişki incelenmiştir.

3.2.7.2. Genetik varyasyonun belirlenmesinde kullanılan istatistik analizler

Elde edilen mikrosatelit markırların baz uzunluklarının istatistiksel analizleri GENETIX, FSTAT ve GENEPOP programları ile yapılmıştır. Genetix programı alel frekanslarının hesaplanması, lokus başına düşen ortalama alel sayısı (n_A), heterozigotluk değerlerinin hesaplanması (Gözlenen ve Beklenen Heterozigotluk değerlerinin hesaplanması), sürünün genetik yapısını belirten F istatistiklerinin hesaplanması (F_{IS} , F_{IT} , F_{ST}) amacı ile kullanılır. Ayrıca bireylerin birbirleriyle genetik ilişkilerinin elde edilen veriler doğrultusunda çok boyutlu düzlemde incelenmesi analizi (Faktöriyel Birleştirici Analiz), ırklar arası genetik uzaklıkların hesaplanması, mantel testi, ve gen akışının tespiti (N_m) ve popülasyonların Hardy-Weinberg dengesinde olup olmadığının belirlenmesi gibi analizlerin yapılmasında da kullanılabilir. Bu analizlerin yapılmasında GENETIX v 4.0.5 (Windows için) (Belkhir vd 2004), GENEPOP v 1.2. (Raymond ve Rousset 1995), FSTAT v 2.9.3. (Goudet 2002) , STRUCTURE v 2.3.3. (Pritchard ve Wen 2004) programları kullanılmıştır. Popülasyonların birbirlerine olan coğrafik uzaklıklarının genetik uzaklıkla ilişkisini belirlemek amacı ile bariyer testi için Barrier v 2.2 (Manni vd 2004) ve mantel testi için XLSTAT Excel istatistik eklentisi kullanılmıştır. Bariyer testinde örnekleme alanlarının yaklaşık koordinatları ve mantel testinde popülasyonlar arası kıyı çizgisi uzunluğu (km) hesabı Google Maps (maps.google.com 2012) online harita sistemi kullanılarak tespit edilmiştir.

Analizlerde sunulan tüm ikili değerlendirme tablolarında P değerleri Bonferroni düzeltmesi istatistik programı tarafından yapıldıktan sonra sunulmuş ve değerlendirilmiştir. Tüm analizlerde gerektiğinde 1000 permütasyon kullanılmıştır.

4. BULGULAR

4.1. Morfolojik Bulgular

Türkiye sularına ait 5 popülasyonda toplanan bütün bireylerin morfolojik ölçümler alınmıştır. Ağırlık (A), toplam boy (TB), çatal boy (ÇB), göz çapı (GÇ), gözler arası mesafe (GM), baş kalınlığı (BK), lateral line üzerindeki pul sayısı (PS), birinci dorsal yüzgeç ışın sayısı (DI), ikinci dorsal yüzgeç yumuşak ışın sayısı (DIIY), kuyruk yüzgeci ışın sayısı (KY), anal yüzgeç yumuşak ışın sayısı (AYY), göğüs yüzgeci ışın sayısı (GY) ortalama değerleri ve standart hataları Çizelge 4.1.'de verilmiştir. Truss ağ analizinde kullanılan ve 10 adet sınır bölgesinin mesafeleri arasındaki ağırlık ve boy farkından kaynaklanan ölçüm hatalarını azaltmak için uygulanan standardizasyondan sonra elde edilen ölçümler Çizelge 4.2. de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Türkiye'deki beş popülasyona ait morfolojik bulgular (\bar{X} :aritmetik ortalama, SH: standart hata)

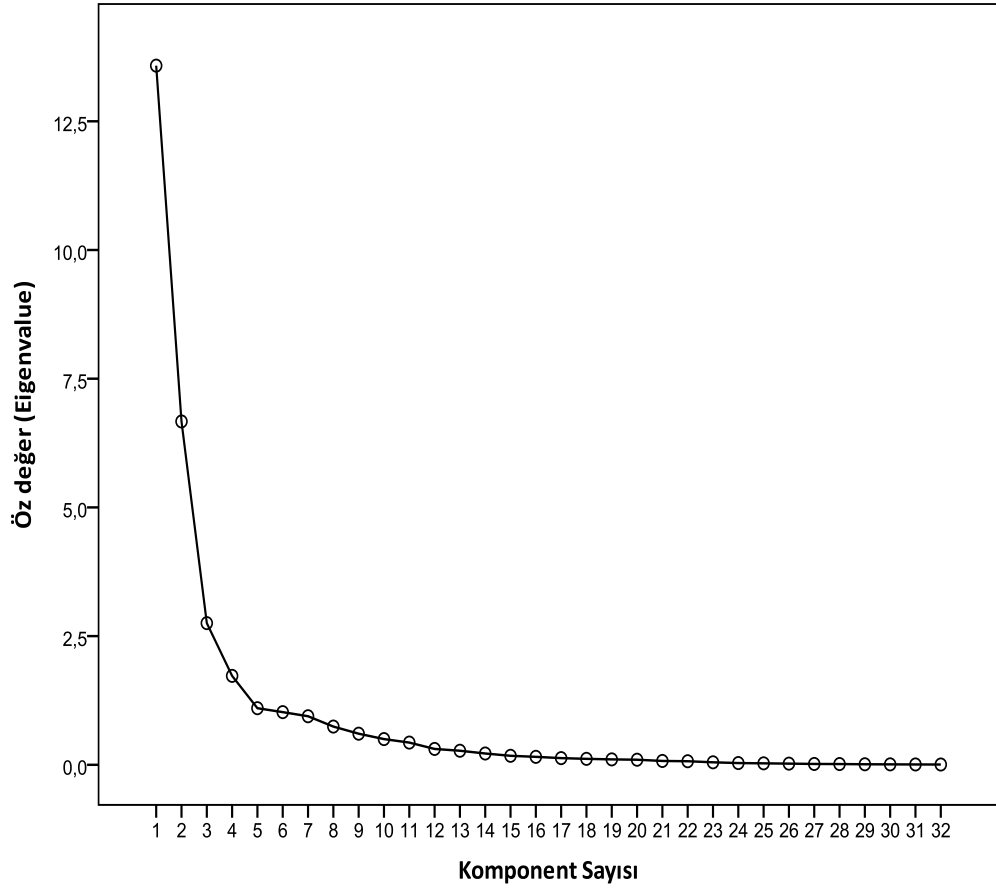
	Homa	Doğanbey	Köyceğiz	Beymelek	Yumurtalık
	$\bar{X}\pm SH$	$\bar{X}\pm SH$	$\bar{X}\pm SH$	$\bar{X}\pm SH$	$\bar{X}\pm SH$
A (g)	543,88±16,32	385,64±8,00	720,24±17,01	466,07±19,77	267,75±21,61
TB (cm)	35,48±0,36	32,69±0,22	37,50±0,30	34,75±0,43	28,14±0,52
ÇB (cm)	33,99±0,34	31,64±0,20	37,50±0,30	33,59±0,43	28,97±0,79
GÇ (mm)	14,17±0,12	14,03±0,15	16,65±0,13	16,37±0,14	13,82±0,17
GM (mm)	19,00±0,26	17,30±0,23	19,86±0,21	17,93±0,33	15,82±0,34
BK (mm)	38,25±0,49	37,58±0,43	42,67±0,44	40,10±0,60	30,58±0,58
PS (adet)	80,10±0,48	81,91±0,42	72,02±0,47	69,33±0,52	76,30±0,51
DI (adet)	9,02±0,02	9,06±0,05	8,93±0,07	8,95±0,06	9,02±0,02
DIIY (adet)	12,85±0,07	12,49±0,08	11,31±0,09	11,10±0,06	12,43±0,12
KY (adet)	16,59±0,08	15,00±0,00	16,76±0,07	16,78±0,08	16,79±0,07
AYY (adet)	10,88±0,06	10,96±0,06	10,66±0,10	10,75±0,11	10,94±0,04
GY (adet)	15,88±0,93	15,40±0,07	14,07±0,10	14,98±0,08	15,36±0,09

Çizelge 4.2. Truss Ağ Analizinde sınırlar arası mesafeler (mm) (\bar{X} :aritmetik ortalama, SS: standart sapma)

	Homa $\bar{X}\pm SS$	Doğanbey $\bar{X}\pm SS$	Köyceğiz $\bar{X}\pm SS$	Beymelek $\bar{X}\pm SS$	Yumurtalık $\bar{X}\pm SS$
1-2	38,264±0,490	37,695±0,167	37,547±0,096	37,721±0,153	37,401±0,285
1-10	38,221±0,424	37,831±0,176	37,896±0,132	37,887±0,146	37,160±0,299
2-3	22,958±0,310	22,791±0,173	23,170±0,197	24,019±0,301	23,064±0,304
2-9	40,194±0,489	39,573±0,169	39,908±0,268	40,382±0,161	39,349±0,292
2-10	26,037±0,567	25,203±0,059	25,795±0,498	26,763±0,091	25,600±0,307
3-4	19,246±0,299	19,342±0,237	19,910±0,132	20,013±0,075	19,399±0,270
3-8	28,235±0,444	28,099±0,144	28,712±0,281	29,061±0,093	28,029±0,175
3-9	24,754±0,424	24,316±0,114	24,799±0,334	25,311±0,118	24,311±0,141
3-10	33,971±0,489	33,658±0,214	33,928±0,363	35,273±0,398	33,818±0,505
4-5	13,659±0,343	13,736±0,386	15,072±0,325	15,668±0,096	14,639±0,420
4-7	19,892±0,307	19,816±0,239	20,939±0,259	21,387±0,062	20,434±0,472
4-8	14,191±0,310	14,119±0,229	14,615±0,183	15,485±0,120	14,556±0,174
4-9	20,750±0,241	20,708±0,169	20,849±0,093	21,258±0,095	20,501±0,155
5-6	9,188±0,100	9,215±0,063	9,415±0,074	9,608±0,079	9,290±0,211
5-7	11,562±0,151	11,402±0,122	11,687±0,088	11,639±0,054	11,344±0,212
5-8	17,365±0,299	17,147±0,216	17,926±0,236	18,514±0,144	17,626±0,177
6-7	8,749±0,481	8,758±0,082	9,118±0,161	9,330±0,030	8,953±0,438
7-8	12,955±0,295	13,372±0,271	14,024±0,218	14,532±0,061	13,704±0,358
8-9	12,471±0,183	12,710±0,171	12,953±0,058	12,969±0,058	12,588±0,245
9-10	31,739±0,819	32,294±0,138	32,274±0,118	33,598±0,552	32,258±0,328

4.2. Temel Bileşen ve Diskriminant (Ayrırma) Analizleri Bulguları

Truss Ağ Analizi için seçilen 10 sınır bölgesi ile 6 metrik 6 meristik veri ile Temel Bileşen Analizi yapılmış ve bileşenler ile ilgili öz değerler (eigenvalue) grafiği Şekil 4.1.'de verilmiştir.



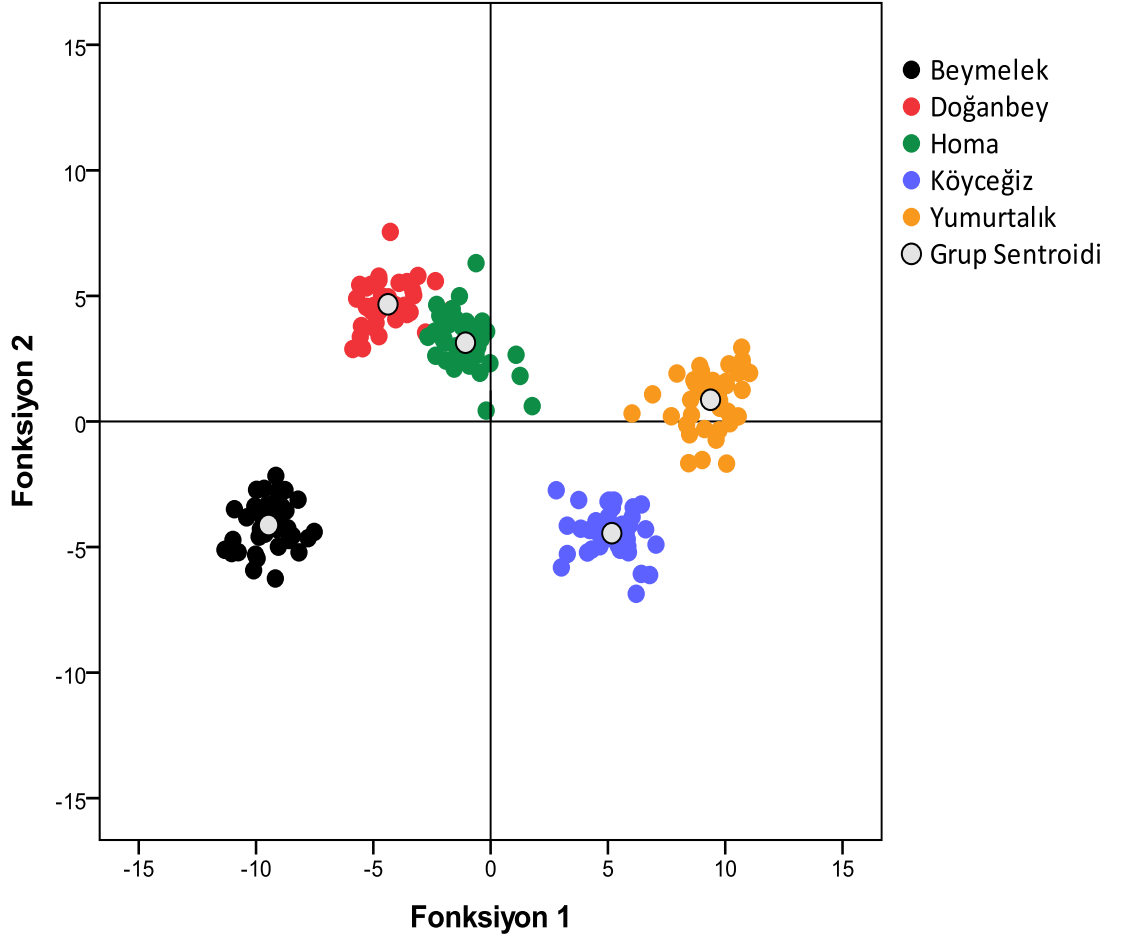
Şekil 4.1. Temel bileşen analizinde 32 bileşenin özdeğerleri

Diskriminant varyans analizi sonucunda 32 verinin ayrıldığı fonksiyonlar Çizelge 4.3.'de gösterilmiştir. Birinci dorsal yüzgeçteki ışın sayısının ve Anal Yüzgeçteki ışın sayısının ayırma analizinde istatistiki önemi olması tespit edilmiştir (sırasıyla $P > 0,05$ ve $P > 0,01$). Fonksiyonların varyans yüzdesi birinci fonksiyonda %63,1 iken ikinci fonksiyonda 19,3 üçüncü fonksiyonda 10,2 ve dördüncü fonksiyonda 7,4 olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.3.).

Elde edilen metrik ve meristik verilerin diskriminant (ayırma) analizi sonucunda Doğanbey ve Homa popülasyonlarının fenotipik olarak birbirine benzer olduğu, diğer popülasyonların ise birbirinden farklı fenotipik özellikler gösterdiği bulunmuştur (Şekil 4.2.).

Çizelge 4.3. Diskriminant (Ayrırma) Analizinde morfolojik verilerin fonksiyonlara ayrılması, fonksiyonların özdeğerleri ve varyans yüzdeleri. İstatistiki olarak önemsiz bulunan veriler koyu olarak gösterilmiştir
* P<0,05, ** P<0,01

	Fonksiyon			
	1	2	3	4
4-5	0,473			
4-8	0,455			
4-7	0,423			
5-8	0,421			
7-8	0,417			
2-3	0,369			
5-6	0,333			
9-10	0,313			
3-4	0,279			
3-10	0,254			
8-9	0,189			
6-7	0,168			
PS		0,401		
GÇ		-0,311		
2-10		-0,288		
DIY		0,262		
GY		0,219		
2-9		-0,207		
4-9		-0,181		
1-2		-0,166		
1-10		-0,100		
AYY		0,057*		
DI		0,043**		
KY			-0,300	
TA				0,406
ÇB				0,341
TB				0,301
3-8				0,285
GM				0,270
5-7				0,255
BK				0,255
3-9				0,250
%Varyans	63,1	19,3	10,2	7,4
Özdeğer	46,190	14,153	7,443	5,446



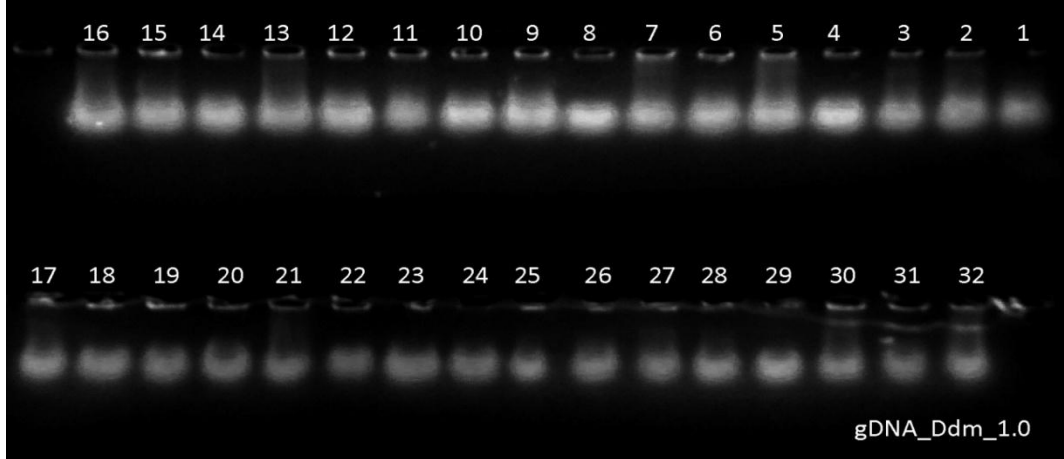
Şekil 4.2. Diskriminant (ayırma) analizi grafiği

4.3. DNA'nın Kantitatif ve Kalitatif Tayini

DNA izolasyonu yapıldıktan sonra başarısını tespit etmek için jel elektroforezde yürütülmüş ve fotoğraflanmıştır (Şekil 4.3.). Elde edilen sonuçlarda izole edilen DNA'nın kalın yoğun bantlar verdiği tespit edilmiştir.

Spektrofotometri ile yapılan ölçümler sonucu A_{260} ve A_{280} değerlerinin popülasyonlara göre ortalama değerleri toplanan tüm bireyler için Çizelge 4.4.'de verilmiştir. 260/280 oranının 1,8-2,0 arasında olması DNA izolasyonunun başarılı

olduğunu 2,0 üzerinde olması RNA kontaminasyonunu 1,8'in altında olması protein kontaminasyonunu göstermektedir. Elde ettiğimiz sonuçlarda DNA izolasyonunda gruplarda RNA kontaminasyonu olduğu gözlenmiştir. Bunun sebebi DNA ekstraksiyonu sırasında RNase enzimi kullanılmamasından kaynaklanmış olabilmektedir. Ancak bu durum PZR sonuçlarını etkilememiş, DNA ürünü PZR yöntemi ile normal olarak çoğaltılmıştır.



Şekil 4.3. Doğanbey istasyonundan bazı bireylere ait DNA izolasyonunun %1'lik agaroz jel elektroforez sonucu

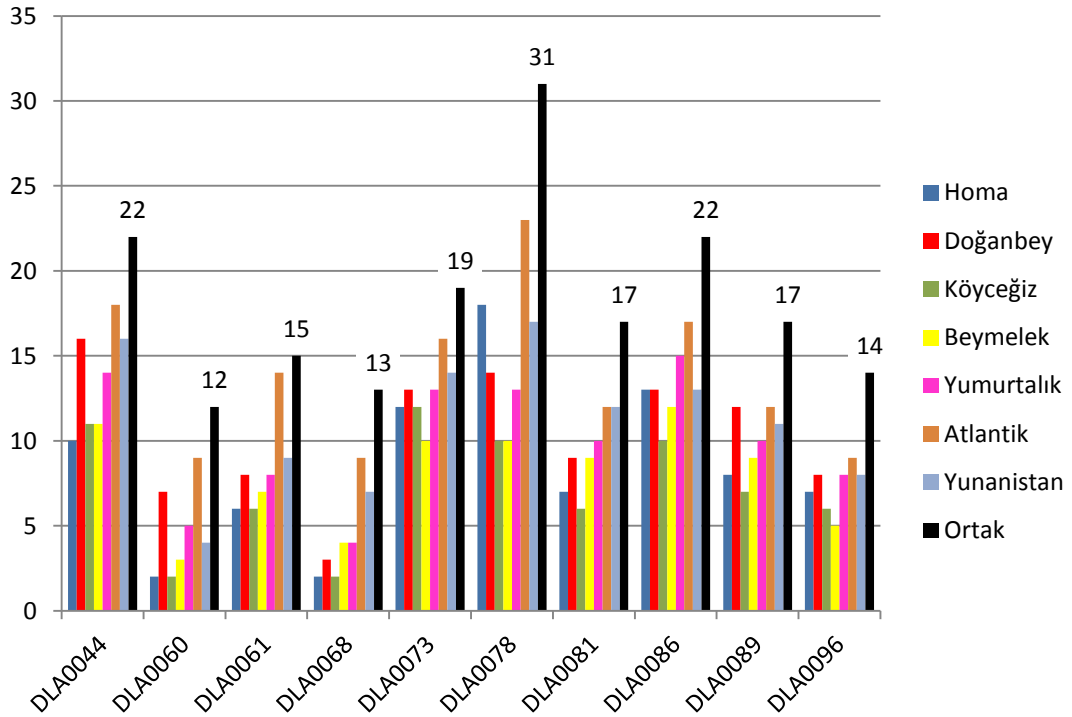
Çizelge 4.4. Ege ve Akdeniz'den toplanan 5 popülasyona ait DNA'ların kantitatif tayini ortalama verileri.

Popülasyon	A ₂₆₀	A ₂₈₀	260/280	Konsantrasyon (ng/μl)
Homa	20,76791	7,604326	2,648478	1038,397
Doğanbey	7,387978	4,697043	1,601522	369,3989
Köyceğiz	8,842633	4,055694	2,168163	442,1327
Beymelek	28,12454	10,39243	2,871957	1406,227
Yumurtalık	14,83383	6,052174	2,464783	741,6935

4.4. Mikrosatelit Markır Sonuçları

4.4.1. Alel sayılarının tespiti

Araştırmamızda analiz ettiğimiz 7 popölasyona ait 10 mikrosatelit lokus için ortak alel sayısı en fazla 31 alel ile DLA0078 nolu mikrosatelite tespit edilmiştir. Bunu DLA0044 ve DLA0086 nolu lokuslar 22 alel sayısı ile takip etmektedir. Çalışılan popölasyonlar içinde en çok alel sayısına sahip lokus, 23 alel ile Atlantik popölasyonuna ait DLA0078 lokusunda tespit edilmiştir. En az alel sayısı ise Homa ve Kyeğiz popölasyonlarındaki DLA0060 ve DLA0068 lokuslarında 2 alel olarak tespit edilmiştir. Tespit edilen alel sayıları şekil 4.4. ve ortalama alel sayısının lokusa ve popölasyonlara oranları izelge 4.5'de verilmiştir.



şekil 4.4. Lokus başına toplam düşen alel sayılarının tüm popölasyonlara göre dağılımı

Araştırmada en az alel DLA0068 numaralı lokusta tespit edilmiştir. En fazla alel sayısı ise 105 alel ile DLA0078 nolu lokusta tespit edilmiştir. Popülasyonlara göre en çok alel Atlantik popülasyonunda tespit edilmiş olup, ülkemizdeki popülasyonlar arasında söz konusu lokuslara ait en çok alele sahip popülasyonlar Doğanbey (103) ve Yumurtalık (100) popülasyonlarıdır (Çizelge 4.5.)

Çizelge 4.5. Popülasyonlara göre lokuslarda görülen alel sayıları, ortak alel sayıları, lokus ve popülasyon başına düşen ortalama alel sayısı

Lokus	Homa (n=34)	Doğanbey (n=43)	Köyceğiz (n=45)	Beymelek (n=40)	Yumurtalık (n=47)	Yunanistan (n=48)	Atlantik (n=48)	Toplam (n=305)	Ortak Alel	Ort/lokus
DLA0044	10	16	11	11	14	16	18	96	22	13,71
DLA0060	2	7	2	3	5	4	9	32	12	4,57
DLA0061	6	8	6	7	8	9	14	58	15	8,29
DLA0068	2	3	2	4	4	7	9	31	13	4,43
DLA0073	12	13	12	10	13	14	16	90	19	12,86
DLA0078	18	14	10	10	13	17	23	105	31	15,00
DLA0081	7	9	7	9	10	12	12	66	18	9,43
DLA0086	13	13	10	12	15	13	17	93	22	13,29
DLA0089	8	12	7	9	10	11	12	69	17	9,86
DLA0096	7	8	6	5	8	8	9	51	14	7,29
Toplam	85	103	73	80	100	111	139	691		
Ort/pop	8,5	10,3	7,3	8	10	11,1	13,9			

4.4.2. Alel frekanslarının değerlendirilmesi

Çalışılan 7 popülasyona ait 10 adet mikrosatelit lokusunda tespit edilen alel frekansları Çizelge 4.6-15'da gösterilmiştir. Çizelgelerdeki koyu renkli olan aleller ve frekansları özgün aleller olarak tespit edilmiş olup sadece o lokusa özgüdür. Çizelgelerde koyu mavi renkli gösterilen alel frekansları Türkiye popülasyonlarında görülmeyen ancak Yunanistan ve Atlantik popülasyonlarında görülen alellerdir. Koyu yeşil renki olan aleller yerli popülasyonların 2 veya daha fazlasında bulunan ve Atlantik ve Yunanistan popülasyonlarında bulunmayan frekanslardır. Dolayısı ile bu aleller yerli popülasyonlara ait alellerdir. Özgün alel değerlerinin 0,05 ten yüksek

olması o alelin popülasyon ayırma işleminde kullanılabilceğini göstermektedir. Çizelgelerde popülasyon ayırmada kullanılacak aleller kırmızı renk ile gösterilmiştir.

DLA0044 lokusuna ait alel frekans tablosu incelendiğinde en yüksek frekanslı alelin 0,3625 ile 121 bç'lik alel olduğu görülmektedir. DLA0044 lokusunda Doğanbey popülasyonuna ait 2 adet özgün alel tespit edilmiştir. Bunlar 101 ve 113 bç'lik alellerdir (Sırasıyla 0,0233 ve 0,0116). Aynı lokusta 143 ve 147 bç'lik aleller Yumurtalık popülasyonunda 0,0116 frekansı ile görülmüştür. DLA0044 lokusunda 107 ve 141 bç'lik aleller sadece Yunanistanve Atlantik popülasyonlarında görülmüştür. DLA0044 lokusunda frekans değerleri popülasyon ayırımında kullanılacak kadar yüksek değerde alel bulunmamaktadır.

Çizelge 4.6. DLA0044 lokusuna ait alel frekansları

Alel (bç)	Homa	Doğanbey	Köyceğiz	Beymelek	Yumurtalık	Yunanistan	Atlantik	Toplam
101	0,0000	0,0233	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0033
105	0,0147	0,0465	0,0000	0,1125	0,0426	0,0104	0,0208	0,0354
107	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0104	0,0313	0,0060
109	0,1912	0,1977	0,1556	0,1375	0,1064	0,1250	0,0521	0,1379
111	0,0000	0,0233	0,0000	0,0125	0,0000	0,0208	0,1250	0,0259
113	0,0000	0,0116	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0017
117	0,0000	0,0349	0,0444	0,0125	0,0213	0,0000	0,0729	0,0266
119	0,0735	0,0349	0,0000	0,0000	0,0213	0,0104	0,0208	0,0230
121	0,1912	0,1744	0,3111	0,3625	0,3191	0,2083	0,1250	0,2417
123	0,1618	0,0930	0,1222	0,0750	0,0745	0,1771	0,1146	0,1169
125	0,0441	0,0465	0,0556	0,0875	0,1702	0,1146	0,1146	0,0904
127	0,0588	0,0930	0,0889	0,0625	0,0851	0,0833	0,0625	0,0763
129	0,0000	0,0000	0,0111	0,0000	0,0000	0,0313	0,0208	0,0090
131	0,0000	0,0116	0,0111	0,0000	0,0106	0,0104	0,0208	0,0092
133	0,1324	0,0349	0,1000	0,0375	0,0319	0,0625	0,0417	0,0630
135	0,1176	0,0581	0,0889	0,0500	0,0745	0,0521	0,0625	0,0720
137	0,0147	0,0465	0,0000	0,0000	0,0000	0,0313	0,0313	0,0177
139	0,0000	0,0698	0,0111	0,0500	0,0213	0,0417	0,0521	0,0351
141	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0104	0,0208	0,0045
143	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0106	0,0000	0,0000	0,0015
147	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0106	0,0000	0,0000	0,0015
149	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0104	0,0015

DLA0060 lokusuna ait alel frekansları incelendiğinde en yüksek frekansın 0,600 ile Köyceğiz popülasyonuna ait 125 bç'lik alele olduğu görülmektedir. Doğanbey popülasyonu için 111 bç'lik alel özgün aleldir. Atlantik popülasyonu için 117, 121 ve 135 bç'lik aleller özgün alellerdir (sırasıyla 0,0104 – 0,0313 – 0,0104). DLA0060 lokusunda 139 ve 141 bç'lik aleller yerli popülasyonlara özgüdür (Çizelge 4.7.).

DLA0061 lokusuna ait alel frekansları içinde en yüksek frekans 0,500 ile Homa popülasyonuna ait 159 bç'lik alele görülmüştür. DLA0061 lokusunda 169 bç'lik alel Doğanbey, Beymelek ve Yumurtalık popülasyonlarında görülmüş dolayısı ile yerli popülasyonlara özgü bir aleldir. Bu lokusta 149, 153 ve 173 bç'lik aleller sadece Yunanistan ve Atlantik popülasyonlarında görülmüş ülkemiz popülasyonlarında rastlanmamıştır (Çizelge 4.8.).

Çizelge 4.7. DLA0060 lokusuna ait alel frekansları

Alel (bç)	Homa	Doğanbey	Köyceğiz	Beymelek	Yumurtalık	Yunanistan	Atlantik	Toplam
111	0,0000	0,0233	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0033
117	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0104	0,0015
119	0,0000	0,0233	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0729	0,0137
121	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0313	0,0045
123	0,5441	0,4070	0,4000	0,5375	0,5426	0,4792	0,3542	0,4664
125	0,4559	0,4651	0,6000	0,4375	0,3936	0,4792	0,4583	0,4699
127	0,0000	0,0116	0,0000	0,0000	0,0000	0,0313	0,0313	0,0106
129	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0213	0,0000	0,0104	0,0045
131	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0213	0,0104	0,0208	0,0075
135	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0104	0,0015
139	0,0000	0,0465	0,0000	0,0250	0,0000	0,0000	0,0000	0,0102
141	0,0000	0,0233	0,0000	0,0000	0,0213	0,0000	0,0000	0,0064

Çizelge 4.9.'de görüldüğü üzere DLA0068 lokusunda en yüksek alel frekansı 0,7778 ile Köyceğiz popülasyonunda 247 bç alele görülmüştür. Atlantik popülasyonuna ait 245 bç'lik alel 0,0833 frekans ile ve 259 bç'lik alel 0,0625 frekans ile bu popülasyon için popülasyon ayırıcı özelliktedir. Atlantik popülasyonuna ait diğer özgün aleller 233 ve 243 bç'lik alellerdir. Yunanistan popülasyonuna ait özgün

aleller 267 ve 269 bç'lik alellerdir. Bunardan 0,2292 frekanslı 267 bç'lik alel popülasyon ayırıcı özelliğindedir. Türk popülasyonları içinde bu lokusta sadece Beymelek popülasyonunda 253 bç'lik alel 0,0125 frekans değeri ile özgün alel olarak tespit edilmiştir.

Çizelge 4.8. DLA0061 lokusuna ait alel frekansları

Alel (bç)	Homa	Doğanbey	Köyceğiz	Beymelek	Yumurtalık	Yunanistan	Atlantik	Toplam
145	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0104	0,0015
147	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0104	0,0015
149	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0208	0,0417	0,0089
151	0,0147	0,0000	0,0000	0,0500	0,0000	0,0313	0,0104	0,0152
153	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0104	0,0313	0,0060
155	0,0000	0,0698	0,0556	0,0250	0,0426	0,0521	0,0417	0,0409
157	0,0588	0,1395	0,0222	0,1750	0,0745	0,1042	0,1979	0,1103
159	0,5000	0,3372	0,4222	0,2500	0,4149	0,4167	0,4063	0,3925
161	0,2794	0,3140	0,4111	0,3625	0,3511	0,2917	0,1042	0,3020
163	0,1176	0,0930	0,0556	0,1125	0,0532	0,0625	0,0521	0,0781
165	0,0294	0,0116	0,0333	0,0000	0,0106	0,0000	0,0104	0,0136
167	0,0000	0,0116	0,0000	0,0000	0,0106	0,0000	0,0104	0,0047
169	0,0000	0,0233	0,0000	0,0250	0,0426	0,0000	0,0000	0,0130
173	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0104	0,0625	0,0104
175	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0104	0,0015

Çizelge 4.9. DLA0068 lokusuna ait alel frekansları

Alel (bç)	Homa	Doğanbey	Köyceğiz	Beymelek	Yumurtalık	Yunanistan	Atlantik	Toplam
233	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0104	0,0015
237	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0106	0,0000	0,0104	0,0030
239	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0104	0,0104	0,0030
243	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0104	0,0015
245	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0833	0,0119
247	0,7059	0,6395	0,7778	0,6000	0,6489	0,5000	0,5000	0,6246
249	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,1458	0,2813	0,0610
251	0,0000	0,0116	0,0000	0,0250	0,0106	0,0104	0,0313	0,0127
253	0,0000	0,0000	0,0000	0,0125	0,0000	0,0000	0,0000	0,0018
259	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0625	0,0089
265	0,2941	0,3488	0,2222	0,3625	0,3298	0,0938	0,0000	0,2359
267	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,2292	0,0000	0,0327
269	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0104	0,0000	0,0015

DLA0073 lokusunda 0,0208 ve 0,0104 alel frekansları ile 148 ve 188 bç'lik aleller Atlantik popülasyonu için, 182 bç'lik alel Yunanistan popülasyonu için ve 184 bç'lik alel Yumurtalık popülasyonu için özgün aleldir. Bu lokusta ırk ayırıcı özelliği olan özgün alele rastlanmamıştır ancak 154 ve 156 bç'lik aleller yerli popülasyonlarda bulunmayan alellerdir (Çizelge 4.10.). Bu lokusta en yüksek alel frekansına sahip alel 176 bç'lik Beymelek popülasyonuna ait aleldir.

Çizelge 4.10. DLA0073 lokusuna ait alel frekansları

Alel (bç)	Homa	Doğanbey	Köyceğiz	Beymelek	Yumurtalık	Yunanistan	Atlantik	Toplam
148	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0208	0,0030
152	0,0735	0,0465	0,0889	0,0250	0,0319	0,0417	0,0729	0,0543
154	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0313	0,0313	0,0089
156	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0104	0,1771	0,0268
158	0,0000	0,0349	0,0111	0,0000	0,0000	0,0104	0,0521	0,0155
160	0,0294	0,0581	0,0778	0,0000	0,0213	0,0000	0,1458	0,0475
162	0,1324	0,1395	0,3444	0,1000	0,1170	0,1563	0,0625	0,1503
164	0,0147	0,0465	0,0000	0,0000	0,0319	0,0417	0,0313	0,0237
166	0,0735	0,0465	0,0444	0,0125	0,0106	0,0000	0,0417	0,0328
168	0,0882	0,0349	0,0111	0,2375	0,0426	0,0521	0,0833	0,0785
170	0,0441	0,0581	0,0111	0,0250	0,0745	0,0729	0,0521	0,0483
172	0,1176	0,1279	0,0333	0,1000	0,1596	0,1354	0,0729	0,1067
174	0,2206	0,1395	0,2222	0,0500	0,1170	0,1563	0,0729	0,1398
176	0,0588	0,1279	0,0889	0,3875	0,2128	0,1667	0,0313	0,1534
178	0,0735	0,0930	0,0333	0,0375	0,0532	0,0729	0,0417	0,0579
180	0,0735	0,0465	0,0333	0,0250	0,1170	0,0313	0,0000	0,0467
182	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0208	0,0000	0,0030
184	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0106	0,0000	0,0000	0,0015
188	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0104	0,0015

DLA0078 lokusunda 0,3000 frekans ile Beymelek popülasyonuna ait 233 bç'lik alel en yüksek frekansa sahip aleldir (Çizelge 4.11.). Bu lokusta 191, 195, 203 bç'lik aleller 0,0147 frekans ile Homa popülasyonuna özgündür. Doğanbey popülasyonuna özgün tek alel 261 bç'lik aleldir. 207, 209 ve 211 bç'lik aleller 0,0104 frekans ile ve 219 bç'lik alel 0,0208 frekans ile Atlantik popülasyonuna özgün alellerdir. 213 bç'lik alel 0,0104 frekans ile Yunanistan popülasyonuna özgündür. DLA0078 lokusunda 201 bç'lik alel tüm yerli popülasyonlarda görülmekte ancak Yunanistan ve Atlantik

popülasyonuna görülmemektedir. Dolayısı ile bu alel Türkiye popülasyonlarına özgün bir aleldir. 215, 221 ve 253 bç'lik aleller sadece Yunanistan ve Atlantik popülasyonunda tespit edilen alellerdir. Bu aleller yerli popülasyonlarda bulunmamaktadır. 227 ve 249 bç'lik aleller sadece Homa ve Yumurtalık popülasyonlarında tespit edilmiştir.

DLA0081 lokusunda 209 bç'lik Doğanbey popülasyonuna ait alel 0,6047 frekansı ile en yüksek frekansa ait aleldir. Bu lokusta Atlantik popülasyonuna ait 183 ve 227 bç'lik aleller, Yunanistan popülasyonuna ait 197 ve 225 bç'lik aleller, Doğanbey popülasyonuna ait 191 bç'lik Köyceğiz popülasyonundaki 214 bç'lik alel ve Yumurtalık popülasyonundaki 199 bç'lik aleller bu popülasyonlardaki özgün alellerdir. DLA0081 lokusunda 203 bç'lik alele yerli popülasyonlarda rastlanmamıştır (Çizelge 4.12.).

DLA0086 lokusunda 188 bç'lik alel ile Beymelek popülasyonuna ait alel en yüksek frekansa sahiptir. Bu lokusta Atlantik popülasyonuna ait 182 bç'lik alel 0,0313 frekans ile 184 ve 212 bç'lik aleller 0,0104 frekans ile özgün alel özelliğindedir. 172 bç'lik alel Doğanbey hariç ve 208 bç'lik alel Beymelek hariç diğer tüm yerli popülasyonlarda gözlenmiştir. Dolayısı ile bu lokus için 172 ve 208 bç'lik aleller Türkiye popülasyonlarına özgün alellerdir (Çizelge 4.13.).

DLA0089 lokusunda 0,5588 frekans ile Homa popülasyonuna ait 125 bç'lik alel en yüksek frekansa sahip aleldir. Bu lokusta 107 bç'lik alel Doğanbey, 147 bç'lik alel Yumurtalık popülasyonlarına özgündür. Yunanistan popülasyonuna ait 143 bç'lik alel ve Atlantik popülasyonuna ait 117 bç'lik alel özgün aleldir. DLA0089 lokusunda 111 bç'lik alele sadece Homa ve Doğanbey popülasyonlarında rastlanmıştır dolayısı ile 111 bç'lik alel Ege Denizi popülasyonuna ait bir aleldir (Çizelge 4.14.).

Çizelge 4.11. DLA0078 lokusuna ait alel frekansları

Alel (bç)	Homa	Doğanbey	Köyceğiz	Beymelek	Yumurtalık	Yunanistan	Atlantik	Toplam
191	0,0147	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0021
195	0,0147	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0021
201	0,0441	0,0116	0,0333	0,0125	0,0213	0,0000	0,0000	0,0176
203	0,0147	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0021
205	0,0000	0,0000	0,0000	0,0125	0,0000	0,0000	0,0104	0,0033
207	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0104	0,0015
209	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0104	0,0015
211	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0104	0,0015
213	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0104	0,0000	0,0015
215	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0104	0,0313	0,0060
217	0,0000	0,0116	0,0000	0,0000	0,0000	0,0208	0,0313	0,0091
219	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0208	0,0030
221	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0417	0,0208	0,0089
223	0,0000	0,0116	0,0000	0,0000	0,0213	0,0000	0,0104	0,0062
225	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0208	0,0521	0,0104
227	0,0294	0,0000	0,0000	0,0000	0,0106	0,0000	0,0000	0,0057
229	0,0735	0,0349	0,0667	0,0625	0,0426	0,0729	0,0729	0,0609
231	0,2059	0,2209	0,1556	0,2125	0,2234	0,2500	0,1042	0,1961
233	0,1324	0,1628	0,1889	0,3000	0,1915	0,1667	0,1250	0,1810
235	0,1176	0,2093	0,2889	0,1375	0,1383	0,0625	0,1354	0,1557
237	0,0588	0,0233	0,0222	0,1375	0,0638	0,0417	0,0729	0,0600
239	0,1029	0,1279	0,1222	0,0750	0,1064	0,0729	0,0521	0,0942
241	0,0735	0,1047	0,0556	0,0125	0,0638	0,0208	0,0417	0,0532
243	0,0147	0,0233	0,0000	0,0375	0,0957	0,0208	0,0625	0,0364
245	0,0441	0,0116	0,0333	0,0000	0,0000	0,0729	0,0208	0,0261
247	0,0147	0,0000	0,0333	0,0000	0,0106	0,0000	0,0313	0,0128
249	0,0147	0,0000	0,0000	0,0000	0,0106	0,0000	0,0000	0,0036
251	0,0147	0,0349	0,0000	0,0000	0,0000	0,0417	0,0104	0,0145
253	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0104	0,0313	0,0060
255	0,0147	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0625	0,0313	0,0155
261	0,0000	0,0116	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0017

DLA0096 lokusunda 0,5851 frekans ile 254 bç'lik Atlantik popülasyonuna ait alel en yüksek frekansa sahiptir. Bu lokusta 242, 244, 246 ve 258 bç'lik aleller Atlantik popülasyonu için özgün alellerdir. 248 bç'lik alel sadece Atlantik ve Yunanistan popülasyonlarında gözlenmiş dolayısı ile Türkiye popülasyonlarında bulunmayan bir aleldir. 266 bç'lik alel Köyceğiz hariç diğer tüm Türkiye popülasyonlarında

gözlenmiştir. Bu alel Türkiye popülasyonlarına ait bir özgün aleldir. 270 bç'lik alel sadece Köyceğiz ve Yumurtalık popülasyonlarında gözlenmiştir (Çizelge 4.15.).

Çizelge 4.12. DLA0081 lokusuna ait alel frekansları

Alel (bç)	Homa	Doğanbey	Köyceğiz	Beymelek	Yumurtalık	Yunanistan	Atlantik	Toplam
183	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0104	0,0015
191	0,0000	0,0116	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0017
197	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0104	0,0000	0,0015
199	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0106	0,0000	0,0000	0,0015
201	0,1029	0,0233	0,0778	0,0250	0,0319	0,0313	0,0313	0,0462
203	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0938	0,0104	0,0149
207	0,0000	0,0233	0,0111	0,0000	0,2021	0,0417	0,0000	0,0397
209	0,5588	0,6047	0,4556	0,4750	0,2447	0,5521	0,1458	0,4338
211	0,0441	0,0930	0,1222	0,1125	0,1809	0,0625	0,0729	0,0983
213	0,1029	0,0930	0,0556	0,0875	0,0745	0,0521	0,0625	0,0754
214	0,0000	0,0000	0,0111	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0016
215	0,0735	0,0930	0,2667	0,2125	0,1170	0,0521	0,1563	0,1387
217	0,0588	0,0465	0,0000	0,0250	0,0532	0,0521	0,1042	0,0485
219	0,0000	0,0000	0,0000	0,0250	0,0745	0,0313	0,1250	0,0365
221	0,0588	0,0116	0,0000	0,0125	0,0000	0,0000	0,1667	0,0357
223	0,0000	0,0000	0,0000	0,0250	0,0106	0,0104	0,0729	0,0170
225	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0104	0,0000	0,0015
227	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0417	0,0060

Çizelge 4.13. DLA0086 lokusuna ait alel frekansları

Alel	Homa	Doğanbey	Köyceğiz	Beymelek	Yumurtalık	Yunanistan	Atlantik	Toplam
172	0,0441	0,0000	0,0111	0,1125	0,0319	0,0000	0,0000	0,0285
180	0,0441	0,0698	0,0000	0,0375	0,0106	0,0313	0,0833	0,0395
182	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0313	0,0045
184	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0104	0,0015
186	0,0000	0,0233	0,0444	0,0000	0,0213	0,0208	0,0208	0,0187
188	0,2059	0,2093	0,1444	0,3250	0,2128	0,2083	0,1771	0,2118
190	0,0294	0,0233	0,0000	0,0000	0,0319	0,1146	0,0938	0,0418
192	0,1324	0,1047	0,3111	0,0625	0,1064	0,0625	0,1458	0,1322
194	0,0000	0,0000	0,0111	0,0125	0,0213	0,0208	0,0104	0,0109
196	0,0294	0,0465	0,0000	0,0375	0,0319	0,0521	0,0938	0,0416
198	0,0441	0,0581	0,0333	0,0750	0,0319	0,0729	0,0417	0,0510
200	0,2353	0,1628	0,2667	0,1750	0,2021	0,2083	0,0833	0,1905
202	0,0294	0,0349	0,0000	0,0375	0,0213	0,0208	0,0938	0,0340
204	0,1176	0,1744	0,1222	0,0875	0,1489	0,1458	0,0521	0,1212
206	0,0147	0,0698	0,0444	0,0250	0,0957	0,0208	0,0104	0,0401
208	0,0441	0,0116	0,0111	0,0000	0,0213	0,0000	0,0000	0,0126
210	0,0000	0,0000	0,0000	0,0125	0,0000	0,0000	0,0208	0,0048
212	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0104	0,0015
214	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0106	0,0000	0,0208	0,0045
216	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0208	0,0000	0,0030
218	0,0294	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0042
222	0,0000	0,0116	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0017

Çizelge 4.14. DLA0089 lokusuna ait alel frekansları

Alel (bç)	Homa	Doğanbey	Köyceğiz	Beymelek	Yumurtalık	Yunanistan	Atlantik	Toplam
107	0,0000	0,0233	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0033
111	0,0147	0,0349	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0071
117	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0104	0,0015
119	0,0294	0,0465	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0729	0,0213
121	0,1176	0,0349	0,0222	0,0375	0,0957	0,0313	0,0104	0,0500
123	0,2059	0,2209	0,4000	0,2875	0,2979	0,1146	0,2292	0,2508
125	0,5588	0,3256	0,3889	0,3875	0,3404	0,3750	0,3438	0,3886
127	0,0294	0,0698	0,0667	0,1375	0,0426	0,1042	0,1667	0,0881
129	0,0000	0,0233	0,0111	0,0000	0,0213	0,0521	0,0313	0,0199
131	0,0000	0,0698	0,0778	0,0500	0,1383	0,0313	0,0208	0,0554
133	0,0294	0,0465	0,0000	0,0625	0,0213	0,1458	0,0208	0,0466
135	0,0000	0,0465	0,0000	0,0125	0,0000	0,0625	0,0313	0,0218
137	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0417	0,0000	0,0060
139	0,0147	0,0581	0,0333	0,0125	0,0213	0,0313	0,0521	0,0319
141	0,0000	0,0000	0,0000	0,0125	0,0106	0,0000	0,0104	0,0048
143	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0104	0,0000	0,0015
147	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0106	0,0000	0,0000	0,0015

Çizelge 4.15. DLA0096 lokusuna ait alel frekansları

Alel (bc)	Homa	Doğanbey	Köyceğiz	Beymelek	Yumurtalık	Yunanistan	Atlantik	Toplam
242	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0106	0,0015
244	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0106	0,0015
246	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0213	0,0030
248	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0104	0,0213	0,0045
252	0,0000	0,0116	0,0000	0,0000	0,0106	0,0104	0,0000	0,0047
254	0,3971	0,3372	0,3889	0,4500	0,2766	0,2917	0,5851	0,3895
256	0,0294	0,0116	0,0444	0,0000	0,0213	0,0313	0,1596	0,0425
258	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0426	0,0061
260	0,0441	0,0930	0,1000	0,1500	0,0213	0,1250	0,1383	0,0960
262	0,2500	0,2093	0,1111	0,0750	0,2234	0,1354	0,0106	0,1450
264	0,2353	0,2442	0,3333	0,3000	0,3511	0,3438	0,0000	0,2582
266	0,0147	0,0814	0,0000	0,0250	0,0851	0,0000	0,0000	0,0295
268	0,0294	0,0116	0,0000	0,0000	0,0000	0,0521	0,0000	0,0133
270	0,0000	0,0000	0,0222	0,0000	0,0106	0,0000	0,0000	0,0047

4.4.3. Heterozigotluk analizi

Beklenen (H_e) ve Gözlenen (H_o) heterozigotluk değerleri hesaplanmış ve her mikrosatelit lokusu için popülasyonlara göre dağılımı sırasıyla Çizelge 4.16.'de ve Çizelge 4.17.'de sunulmuştur.

Popülasyonlarda lokuslara ait heterozigotluk düzeylerine bakıldığında en düşük ve en yüksek gözlenen (H_o) ve beklenen heterozigotluk (H_e) düzeyleri sırası ile 0,353 ve 0,958 ile 0,346 ve 0,927 değerleri arasında değiştiği belirlenmiştir. En yüksek gözlenen ortalama heterozigotluk 0,710 ile Yunanistan popülasyonunda tespit edilmiştir.

En yüksek beklenen ortalama heterozigotluk değeri ise 0,802 ile Atlantik popülasyonunda tespit edilmiştir. Popülasyonlar arasında en düşük gözlenen ve beklenen heterozigotluk değeri sırası ile 0,663 (Beymelek) ve 0,682 (Köyceğiz) olarak tespit edilmiştir.

Çalışılan lokuslar bazında saptanan ortalama beklenen heterozigotluk değerleri ele alındığında en çok sayıda alel tespit edilen DLA0078 mikrosatelit lokusunda 0,855 ile en yüksek heterozigotluk, en az sayıda alel tespit edilen lokuslardan biri olan DLA0068 lokusunun ise en düşük beklenen heterozigotluk (0,479) değerine sahip olduğu belirlenmiştir.

Lokuslar arasında en yüksek gözlenen heterozigotluk değeri DLA0044 lokusunda 0,906 olarak, en düşük değer ise yine en az alel sayısına sahip olan lokuslardan biri olan DLA0068 lokusunda tespit edilmiş (0,423).

Beklenen heterozigotluk değerinin gözlenen heterozigotluk değerinden daha küçük bir değer olduğu ($H_o < H_e$) dolayısı ile tüm popülasyonlar içinde akrabalık ilişkilerinin düşük olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 4.16. Beklenen heterozigotluk (H_e) değerlerinin 7 popülasyonda lokuslara göre dağılımı

	Homa	Doğanbey	Köyceğiz	Beymelek	Yumurtalık	Yunanistan	Atlantik	Ort
DLA0044	0,858	0,894	0,833	0,813	0,835	0,878	0,918	0,852
DLA0060	0,496	0,614	0,480	0,519	0,549	0,540	0,657	0,533
DLA0061	0,654	0,754	0,645	0,759	0,692	0,722	0,773	0,704
DLA0068	0,415	0,469	0,346	0,508	0,470	0,667	0,659	0,479
DLA0073	0,884	0,902	0,804	0,768	0,875	0,886	0,908	0,853
DLA0078	0,895	0,849	0,830	0,816	0,863	0,879	0,927	0,855
DLA0081	0,652	0,605	0,697	0,706	0,838	0,670	0,883	0,695
DLA0086	0,859	0,871	0,791	0,829	0,865	0,864	0,900	0,846
DLA0089	0,629	0,822	0,677	0,740	0,764	0,803	0,790	0,739
DLA0096	0,721	0,767	0,713	0,679	0,742	0,759	0,610	0,730
Ortalama	0,706	0,755	0,682	0,714	0,749	0,767	0,802	
	±0,168	±0,146	±0,159	±0,116	±0,141	±0,117	±0,123	
Alel/Lokus	8,5	10,3	7,3	8	10	11,1	13,9	

Çizelge 4.17. Gözlenen heterozigotluk (H_o) değerlerinin 7 popülasyonda lokuslara göre dağılımı

	Homa	Doğanbey	Köyceğiz	Beymelek	Yumurtalık	Yunanistan	Atlantik	Ort
DLA0044	0,912	0,930	0,933	0,850	0,851	0,958	0,938	0,906
DLA0060	0,382	0,419	0,489	0,425	0,532	0,583	0,458	0,472
DLA0061	0,677	0,884	0,667	0,675	0,702	0,563	0,646	0,694
DLA0068	0,353	0,488	0,356	0,475	0,468	0,396	0,375	0,423
DLA0073	0,735	0,814	0,644	0,675	0,553	0,896	0,792	0,720
DLA0078	0,882	0,837	0,778	0,725	0,489	0,563	0,854	0,712
DLA0081	0,588	0,605	0,711	0,550	0,766	0,667	0,833	0,648
DLA0086	0,941	0,744	0,889	0,875	0,915	0,896	0,688	0,877
DLA0089	0,618	0,721	0,600	0,750	0,723	0,854	0,625	0,711
DLA0096	0,706	0,651	0,578	0,625	0,723	0,729	0,489	0,669
Ortalama	0,679	0,709	0,664	0,663	0,672	0,710	0,670	
	±0,204	±0,167	±0,175	±0,148	±0,156	±0,186	±0,187	
Alel/Lokus	8,5	10,3	7,3	8	10	11,1	13,9	

4.4.4. F parametrelerinin tespiti

Tüm popülasyonlar birlikte düşünüldüğünde Hardy-Weinberg dengesini F_{is} değerlerinden anlamak mümkündür. F_{is} değeri 1'e yaklaştıkça Hardy-Weinberg dengesinden uzaklaştığı, 0 değerine yaklaştıkça da popülasyonun Hardy-Weinberg dengesinde olduğu söylenebilir. Çizelge 4.18. de görüldüğü üzere elde ettiğimiz sonuçlara göre Köyceğiz popülasyonunun F_{is} değeri 0,036'dir ve Hardy Weinberg dengesindedir ($P>0,001$). Bu popülasyonun Hardy Weinberg Dengesi'nde olması popülasyonun seleksiyon, mutasyon, göç olmayan ve rastgele çiftleşen bir popülasyon olduğunu ve gen ve genotip frekanslarının jenerasyondan jenerasyona çok fazla değişmediğini gösterir. Fisher's Exact Testi (Olasılık Testi) sonuçlarına göre Homa popülasyonu $P<0,05$ önem seviyesine göre Hardy-Weinberg Dengesi'nde değildir. Doğanbey ve Beymelek Popülasyonları $P<0,01$ Yumurtalık, Yunanistan ve Atlantik popülasyonları ise $P<0,001$ önem seviyesinde Hardy Weinberg Dengesi'nde

değillerdir. Bu durum bu popülasyonların göç aldığı, mutasyona uğradığını ve seçici bir eşleşme sonucu gen ve genotipik frekanslarının dölden dôle değiştiğini göstermektedir (Çizelge 4.18.).

Çizelge 4.18. Popülasyonlara ve lokuslara göre F_{is} değerleri

Lokus	Homa	Doğanbey	Köyceğiz	Beymelek	Yumurtalık	Yunanistan	Atlantik	Ort
DLA0044	-0,048	-0,029	-0,110	-0,033	-0,008	-0,081	-0,011	-0,045
DLA0060	0,243	0,329	-0,007	0,193	0,042	-0,070	0,311	0,154
DLA0061	-0,020	-0,161	-0,022	0,123	-0,003	0,231	0,175	0,056
DLA0068	0,165	-0,029	-0,017	0,077	0,015	0,415	0,439	0,206
DLA0073	0,183	0,109	0,210	0,133	0,377	-0,001	0,139	0,163
DLA0078	0,029	0,026	0,075	0,124	0,441	0,369	0,089	0,176
DLA0081	0,113	0,012	-0,009	0,233	0,096	0,016	0,066	0,073
DLA0086	-0,080	0,157	-0,113	-0,043	-0,047	-0,027	0,246	0,023
DLA0089	0,032	0,135	0,124	-0,001	0,063	-0,054	0,219	0,078
DLA0096	0,035	0,163	0,200	0,092	0,036	0,050	0,208	0,111
Ort	0,053*	0,072**	0,036^{ns}	0,084**	0,113***	0,084***	0,176***	0,093
P-değeri	0,0393	0,0011	0,1015	0,0017	0,0000	0,0001	0,0000	

ns: istatistiksel olarak önemsiz * $P < 0,05$ ** $P < 0,01$ *** $P < 0,001$

F_{st} alt popülasyonlar arasındaki genetik farklılıkların bir ölçütü olup belirli bir lokus açısından popülasyonları karşılaştırmada kullanılır. Değer 0 ile 1 arasında değişmekte 0'dan uzaklaştıkça genetik farklılaşmanın çoğaldığı görülür. (Dorak 2007). F_{st} değerlerine göre 1000 permutasyon ile yapılan analizde Doğanbey popülasyonunun Homa ve Yumurtalık popülasyonları ile benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir ($P > 0,05$). Diğer tüm popülasyonların birbirleri ile olan farkı istatistiki olarak ileri derecede önemli bulunmuştur ($P < 0,001$) (Çizelge 4.19.).

Çizelge 4.19. Popülasyonların ikili karşılaştırmaları sonucunda hesaplanan F_{st} değerleri (üst matris) ve önemlilik seviyeleri (alt matris).
P-değeri=0,002381

	Homa	Doğanbey	Köyceğiz	Beymelek	Yumurtalık	Yunanistan	Atlantik
Homa	-	0,00347^{ns}	0,01828***	0,02502***	0,01704***	0,01466***	0,05129***
Doğanbey	0,0132	-	0,01685***	0,01431***	0,01148^{ns}	0,01125***	0,0476***
Köyceğiz	0,0005	0,0005	-	0,03335***	0,02383***	0,03421***	0,06177***
Beymelek	0,0005	0,0005	0,0005	-	0,01617***	0,0258***	0,05717***
Yumurtalık	0,0005	0,0047	0,0005	0,0005	-	0,02242***	0,05399***
Yunanistan	0,0005	0,0005	0,0005	0,0005	0,0005	-	0,04273***
Atlantik	0,0005	0,0005	0,0005	0,0005	0,0005	0,0005	-

ns: istatistiksel olarak önemsiz * P<0,05 ** P<0,01 *** P<0,001

4.4.5. Popülasyonlar arası moleküler varyans analizi (AMOVA)

Varyans bileşenlerinin dağılımının incelenmesi için ARLEQUIN bilgisayar programı ile Moleküler Varyan Analizi (AMOVA) yapılmıştır. Moleküler varyans analizi için Ege denizi (Homa, Doğanbey, Köyceğiz) Akdeniz (Beymelek, Yumurtalık) ve yabancı popülasyonlar (Yunanistan ve Atlantik) olarak veriler gruplandırılmış, gruplar arası, popülasyonlar arası ve popülasyonlar içi varyans hiyerarşisi 1000 kez permütasyona tabi tutularak analiz edilmiştir (Çizelge 4.20.). Gruplar arasında %2,06 oranında çok düşük bir varyans ilişkisi tespit edilmekle birlikte, popülasyonlar içi varyans yüzdesi %96,52 olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.20. Popülasyonların moleküler varyan analizi (AMOVA)

Varyasyon Kaynağı	Toplam varyans	Yüzde varyasyon	Fct	Fsc	Fst
Gruplar arası (Va)	0,08021	2,06386	0,0206^{ns}		
Popülasyonlar arası (Vb)	0,05474	1,40838		0,014^{ns}	
Popülasyonlar içi (Vc)	3,75164	96,52776			0,035***

*** önemli (p<0,001), ns:istatistiksel olarak önemsiz (P>0,001)

4.4.6. Etkin popülasyon büyüklüğü (N_e)

Popülasyonların etkin popülasyon büyüklüğü karşılaştırıldığında Homa, Doğanbey ve Yunanistan popülasyonlarının etkin büyüklüklerinin oldukça geniş olduğu, Beymelek popülasyonunda ise daha dar olduğu gözlenmiştir. 0,05 değerinden büyük alel frekansları baz alınarak yapılan analizlerde Beymelek popülasyonları hariç tüm popülasyonların %95 güven aralığı sonsuz değere sahiptir (Çizelge 4.21.).

Çizelge 4.21. Etkin popülasyon büyüklüğü (N_e) ve %95 güven aralıkları (GA)

	Homa	Doğanbey	Köyceğiz	Beymelek	Yumurtalık	Yunanistan	Atlantik
N_e	141,5	273,5	136,1	26	195,30	-882,10	159,90
%95 GA	48	79,8	60,8	17,00	69,20	224,8	69,3
	∞	∞	∞	43,30	∞	∞	∞

4.4.7. Gen akışı (N_m) değeri

Popülasyonlar arası gen akışı (N_m) değerleri incelendiğinde en fazla gen akışının Doğanbey ve Homa popülasyonları arasında olduğu (her dölden 71,74 birey) gözlenmektedir. Atlantik popülasyonundan Köyceğiz popülasyonuna ise en az gen akışı olduğu (her dölden 3,8 birey) tespit edilmiştir (Çizelge 4.22.).

Çizelge 4.22. Gen akışı (N_m) değerleri

	Homa	Doğanbey	Köyceğiz	Beymelek	Yumurtalık	Yunanistan	Atlantik
Homa	-	71,74	13,43	9,74	14,42	16,81	4,62
Doğanbey		-	14,59	17,22	21,53	21,97	5
Köyceğiz			-	7,25	10,24	7,06	3,8
Beymelek				-	15,21	9,44	4,12
Yumurtalık					-	10,9	4,38
Yunanistan						-	5,6
Atlantik							-

4.4.8. Nei D_A genetik uzaklık metodu ile uzaklığın belirlenmesi

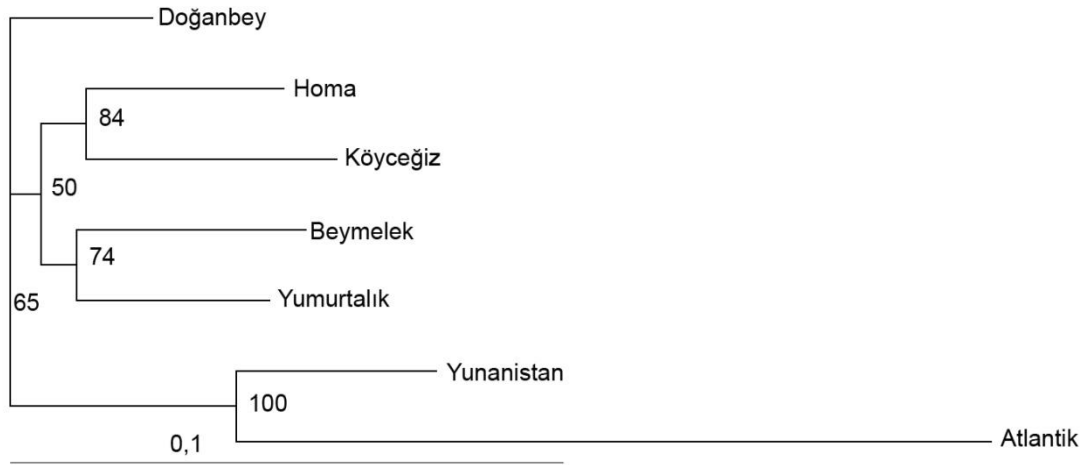
Mevcut alelik verilerden, ırkların birbirlerine olan genetik uzaklıkları D_A metoduna göre hesaplanması sonucunda elde edilen sonuçlar Çizelge 4.23.'de verilmiştir. Nei vd'nin (1983) D_A genetik uzaklık metoduna göre hesaplanan genetik uzaklık değerleri incelendiğinde, çalışılan popülasyonlar içerisinde en yüksek genetik uzaklık değerinin Köyceğiz ve Atlantik popülasyonları arasında olduğu (0,2391) görülmektedir. Popülasyonlar arasında en düşük genetik uzaklık değerinin ise Yumurtalık ve Doğanbey (0,0692) arasında olduğu görülmektedir (Çizelge 4.23.). Bu hesaplanan D_A genetik uzaklık değerleri kullanılarak çizilen komşu birleştirme ağacı (NJT-Neighbor Joining Tree) Şekil 4.6.'da sunulmuştur.

Çizelge 4.23. Popülasyonların D_A genetik uzaklıkları (Nei vd 1983)

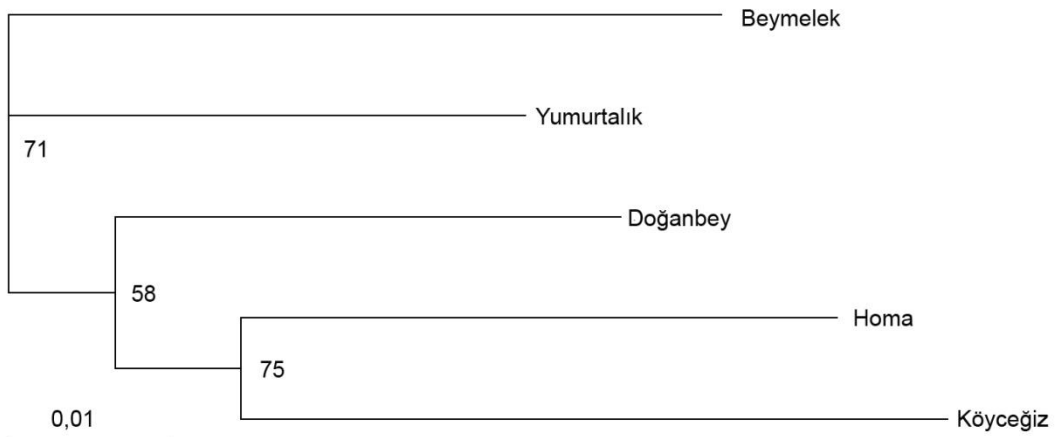
	Homa	Doğanbey	Köyceğiz	Beymelek	Yumurtalık	Yunanistan	Atlantik
Homa	-	0,0719	0,0810	0,0938	0,0903	0,1214	0,2245
Doğanbey		-	0,0876	0,0835	0,0692	0,1063	0,1999
Köyceğiz			-	0,1028	0,0861	0,1429	0,2391
Beymelek				-	0,0765	0,1254	0,2250
Yumurtalık					-	0,1248	0,2340
Yunanistan						-	0,1729
Atlantik							-

Çizilen ağacın güvenilirliğini incelendiğinde tekrar oranının genel olarak %50'nin üstünde olduğu görülmektedir. Mikrosatelit bölgelerine ait verilerin analizinden elde edilen D_A genetik uzaklığına göre çizilen ağaçta Yunanistan ve Atlantik popülasyonuna ait örneklerde %100 sıklıkta aynı grup dallanmanın mevcut olduğu görülmüştür. Daha sonraki dallanmalar incelendiğinde en yüksek dallanma sıklığının %84 ile Homa ve Köyceğiz popülasyonları arasında olduğu görülmüştür. Akdeniz popülasyonu olan Beymelek ve Yumurtalık popülasyonları %74 sıklıkta aynı grupta dallanmışlardır (Şekil 4.5.).

Atlantik ve Yunanistan popülasyonları çıkartılıp sadece yerli popülasyonlar arasında Nei vd'nin (1983) (D_A) genetik uzaklık metodunun kullanılması ile çizilen ağaçta görülen 3 temel dallanma Beymelek, Yumurtalık ve Ege popülasyonları (Homa, Doğanbey, Köyceğiz) şeklinde olmuştur. Ege popülasyonları ise kendi içlerinde %75 sıklıkla Köyceğiz ve Homa popülasyonlarının gruplandığı, bu gruba %58 sıklıkla Doğanbey popülasyonunun bağlandığı görülmektedir (Şekil 4.6.).



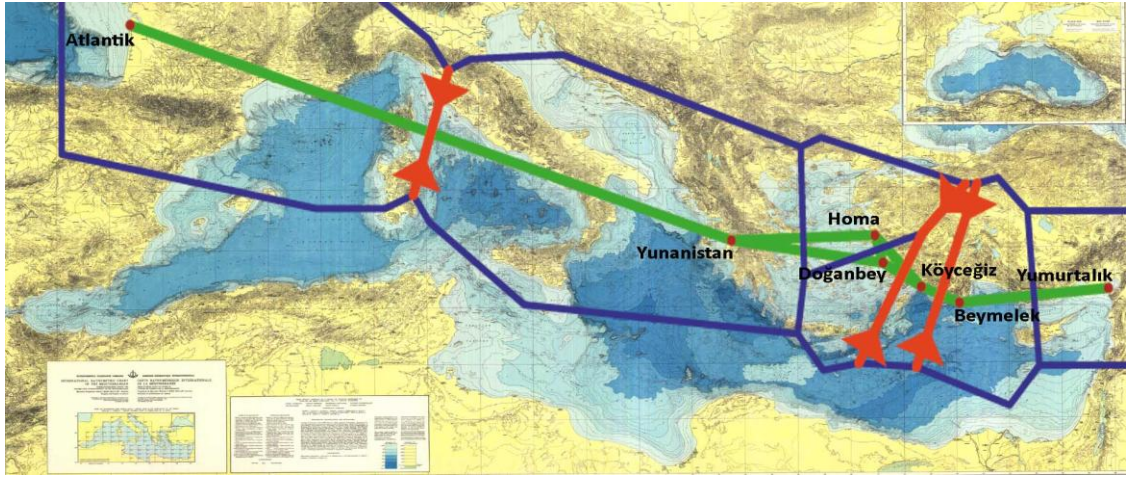
Şekil 4.5. Popülasyonların D_A genetik uzaklıklarının komşu birleştirme analizi sonucu filogenetik ilişkisi



Şekil 4.6. Yerli popülasyonların D_A genetik uzaklıklarının komşu birleştirme analizi sonucu filogenetik ilişkisi

4.4.9. Bariyer analizi sonuçları

Heterozigotluk verilerinden elde edilen F_{st} değerinin temel olarak, örnek toplanan bölgeler arasında oluşan bariyerlerin tespit edilmesi amacıyla kullanılan bu yöntem ile Köyceğiz popülasyonunun Ege Denizi ve Akdeniz arasında izole ve etrafı bariyerlerle çevrili bir popülasyon olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.7.). Kullanılan batimetrik harita Birleşik Devletler Ulusal Jeofizik Veri Merkezi'nin Akdeniz Bölgesi Batimetrik haritasıdır.



Şekil 4.7. Bariyer analizi sonucu batimetrik harita üzerinde oluşan bariyerler.

4.4.10. Mantel testi bulguları

Araştırmamızda elde ettiğimiz D_A uzaklık matrisi ile F_{st} matrisinin örnek toplanan popülasyonların coğrafik uzaklıklarının matrisi arasında kurulan denklem ile elde edilen sonuçlar popülasyonların birbiri ile olan ilişkisine coğrafik uzaklığın pozitif veya negatif etkisi tespit edilmiştir. Coğrafik uzaklıkların, D_A ve F_{st} değerleri ile olan ilişkisi için yapılan Mantel testinde (sırasıyla Çizelge 4.24 ve 4.25.) coğrafik uzaklıkların popülasyonların ilişkisine etkisi olduğu tespit edilmiştir (sırasıyla $r=0,952$ ve $r=0,888$ $P<0,001$) (Çizelge 4.24).

Çizelge 4.24. Mantel testinde kullanılan coğrafik uzaklık (km) D_A genetik uzaklık matrisi

D_A Km	Homa	Doğanbey	Köyceğiz	Beymelek	Yumurtalık	Yunanistan	Atlantik
Homa	0	0,009	0,045	0,071	0,051	0,042	0,182
Doğanbey	400	0	0,039	0,043	0,041	0,041	0,206
Köyceğiz	950	550	0	0,087	0,061	0,091	0,195
Beymelek	1130	730	180	0	0,049	0,081	0,213
Yumurtalık	1800	1400	850	670	0	0,081	0,232
Yunanistan	1510	1110	1660	1840	2510	0	0,190
Atlantik	8750	8350	7800	7520	6850	4600	0

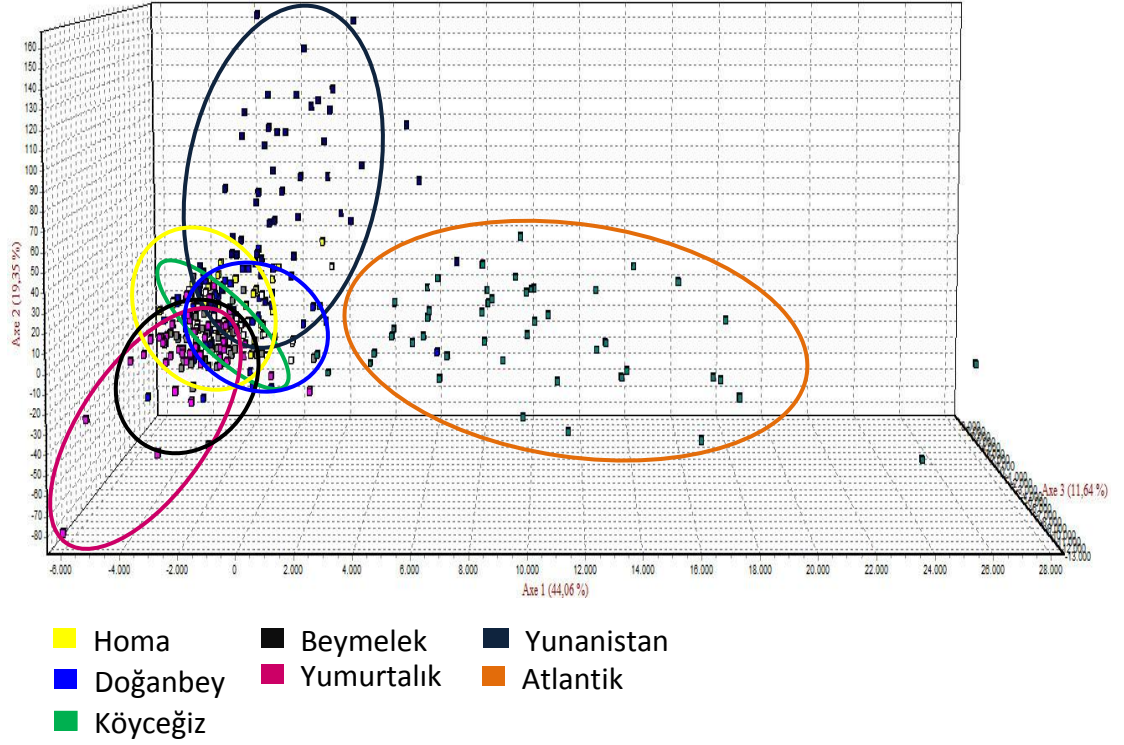
Çizelge 4.25. Mantel testinde kullanılan coğrafik uzaklık (km) ve F_{st} değeri matrisi

F_{st} Km	Homa	Doğanbey	Köyceğiz	Beymelek	Yumurtalık	Yunanistan	Atlantik
Homa	0	0,0035	0,0183	0,025	0,017	0,0147	0,0513
Doğanbey	400	0	0,0169	0,0143	0,0115	0,0113	0,0476
Köyceğiz	950	550	0	0,0334	0,0238	0,0342	0,0618
Beymelek	1130	730	180	0	0,0162	0,0258	0,0572
Yumurtalık	1800	1400	850	670	0	0,0224	0,054
Yunanistan	1510	1110	1660	1840	2510	0	0,0427
Atlantik	8750	8350	7800	7520	6850	4600	0

4.4.11. Faktöriyel benzerlik analizi sonuçları

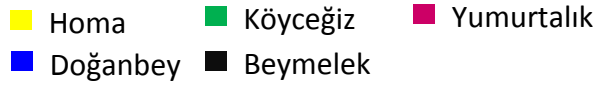
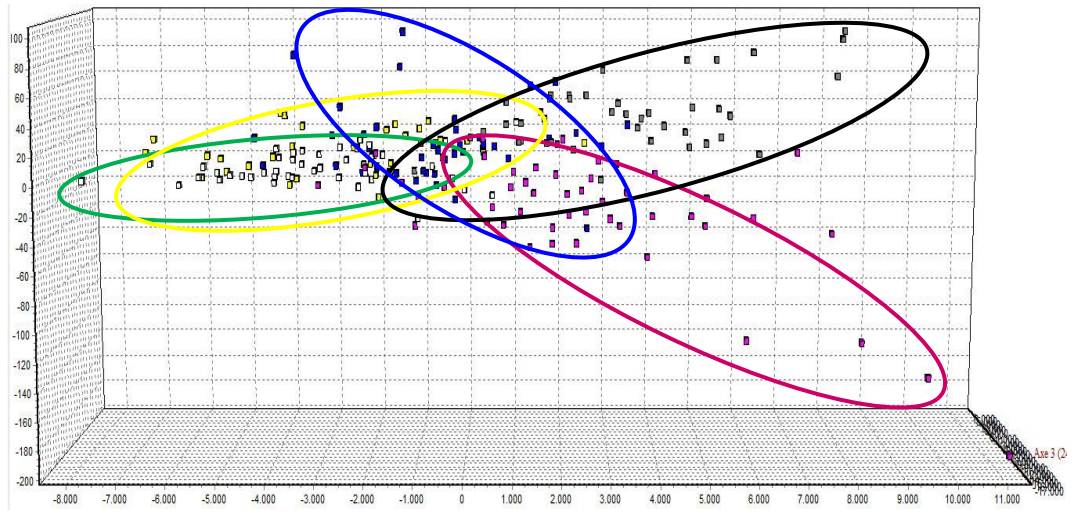
Tüm popülasyonların akrabalık ilişkilerini ortaya koyan Faktöriyel Benzerlik Analizi sonuçlarına göre Homa, Doğanbey ve Köyceğiz (Ege Denizi) popülasyonlarının birbirine yakın olduğu, yine bu 3 popülasyonun birbirine daha yakın olan Beymelek ve Yumurtalık popülasyonlarına, Yunanistan popülasyonundan daha yakın olduğu gözlenmiştir. Atlantik popülasyonu coğrafik konum olarak da diğer tüm popülasyonlara en uzak akrabalığı olan popülasyon olduğu görülmektedir. Ancak Yunanistan popülasyonunun sırasıyla Homa, Köyceğiz ve Doğanbey

popülasyonlarına daha yakın olduğu tespit edilmiştir. Tüm bu değerlendirmeler çizilen dendogramlar ile de aynı şekilde gözlenmiştir. Bu durumu ifade eden 3 boyutlu Faktöriyel Benzerlik Analizi sonucu Şekil 4.8’de sunulmuştur.



Şekil 4.8. Faktöriyel Benzerlik Analizi’nde tüm popülasyonların akrabalık ilişkileri

Sadece ülkemizdeki popülasyonların akrabalık ilişkilerini analiz etmek için Atlantik ve Yunanistan popülasyonları devre dışı bırakılarak yapılan Faktöriyel Benzerlik Analizinde Ege Denizi’nde bulunan Doğanbey popülasyonunun Akdeniz’deki Yumurtalık ve Beymelek popülasyonlarına daha yakın olduğu tespit edilmiştir. Homa ve Köyceğiz popülasyonlarının ise Akdeniz popülasyonları olan Yumurtalık ve Beymelek popülasyonlarına görece daha uzak olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.9.). Bu değerlendirmeler genetik mesafe yöntemi ile oluşturulan dendogramlar ile benzerlik göstermiştir.



Şekil 4.9. Türkiye'ye ait popülasyonların Faktöriyel Benzerlik Analizi

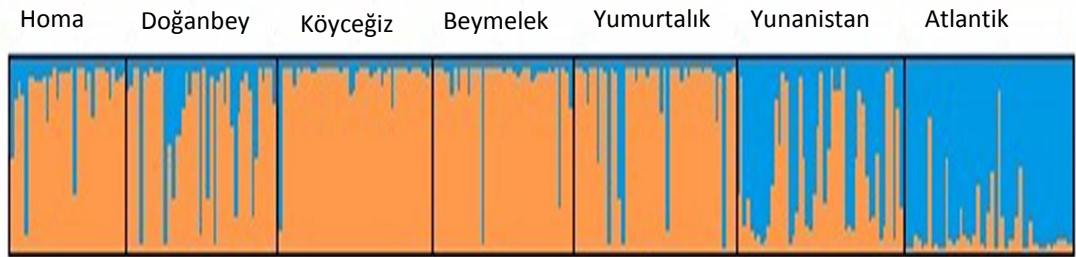
4.4.12. Popülasyon yapı testi bulguları

Yapı testi (structure test) belirli istasyonlardan örneklenen bireylerin çalışılan mikrosatelit lokusları açısından hangi ırk veya ırklara tayin edilebileceğini test etmek için uygulanmaktadır. Bu metotta, birbirinden farklı genetik markırlardan elde edilen genotip verileri analiz edilerek popülasyonların mevcut genetik yapıları incelenmekte ve popülasyon içerisindeki bireylerin gruplandırılması yapılabilmektedir. Yapı testi analizi ile popülasyonların genetik yapısı incelenmekte, popülasyondaki bireylerin hangi ırka ait olan grupta yer aldığı tespit edilmekte, genetik yapı bakımından karışmış olan bireyler ve göçmen bireyler ayrılabilir (Pritchard vd 2000, Özkan 2005).

Bu test metodunda K sayısı kadar popülasyon olduğu varsayılarak (ki bu K sayısı bilinmiyor da olabilir) her bir popülasyonun her bir lokusundaki alel frekansı setleri dikkate alınarak popülasyonlar birbirlerinden ayrılıp karakterize edilirler. Alel

frekansları dikkate alınarak yapılan ayırimda örnek bireyler tek bir popülasyona yüksek bir ihtimal ile tayin edilebildiği gibi eğer bireylerde bir genetik karışım söz konusu ise iki yada daha fazla popülasyona da tayin edilebilmektedir (Pritchard vd 2000).

Farklı K değerlerinde yapılan denemeler sonucunda bireyleri ve popülasyonları en iyi ayıran K değerinin 2 olduğu, MCMC (Monte Carlo Markow Chain) zinciri sayısının ise 30.000 olduğu belirlenmiştir. K değerinin 2 olarak alındığı analiz sonucunda, popülasyonun ayrılma grafiği aşağıdaki Şekil 4.11.'da verilmiştir. Bu grafikte her bir K değeri ayrı bir renk olarak görülmektedir. Şekil incelendiğinde yerli popülasyonların (turuncu) ve Atlantik ile Yunanistan popülasyonlarının (mavi) ikiye ayrıldığı görülmektedir. Yerli popülasyonlar içerisinde en izole olan grubun Köyceğiz olduğu bunu Beymelek popülasyonunun takip ettiği görülmektedir.



Şekil 4.10. Popülasyon yapı testi sonucunda popülasyonların ayrılması

5. TARTIŞMA

Ülkemizde levrek balığı damızlığı temin edilen 5 popülasyonun popülasyon içi ve popülasyonlar arası genetik yapısını belirlemek amacı ile yaptığımız araştırmada fenotipik olarak popülasyonların morfolojik yapıları karşılaştırılmış, genotipik olarak 10 mikrosatelit lokusu kullanılarak yerli popülasyonlara ilaveten Atlantik ve Yunanistan'dan temin edilen iki yabancı popülasyon dahil edilerek karşılaştırma yapılmıştır. Elde edilen veriler geçmişte yapılan araştırmalarla karşılaştırılmıştır.

5.1. Morfolojik Verilerin Değerlendirilmesi

Fenotipik farklılıkların tespit edilmesi amacı ile 5 farklı istasyondan toplanan bireylerde, 10 adet sınır ile diğer 6 metrik ve 6 meristik veri Temel Bileşen Analizi'ne tabi tutulmuştur. Kaçınıcı bileşende varyasyonun tamamlandığı tespit edildikten sonra Diskriminant (Ayırma) Analizi yapılmış ve fenotipik farklılıkların popülasyonlar arasındaki ilişkisi tespit edilmiştir. Bu sonuçlara göre Homa ve Doğanbey popülasyonlarının fenotipik olarak birbiri ile benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir. Bu sonuçlar gerek F_{st} gerekse Nm gen akışı analizlerini desteklemektedir.

Ergüden ve Turan (2005) Karadeniz, Marmara, Ege ve Akdeniz'den topladıkları örneklerle tüm denizlerdeki levrek balığında morfolojik farklılığı tespit etmek için yaptıkları araştırmada benzer sonuçlar elde etmişler. Homa ve Doğanbey coğrafik olarak Ege denizinde bulunduğundan araştırmamızdaki iki alt grup (Ege ve Akdeniz popülasyonları) morfolojik olarak farklılık göstermesi, Ergüden ve Turan (2005)'nin yaptığı çalışmaya paralellik göstermiştir. Araştırmamızın morfolojik benzerlikler sonuçlarına göre Ege Denizi havzasında bulunan Doğanbey ve Homa popülasyonları benzerlik göstermiş, Akdeniz havzasında bulunan Köyceğiz, Beymelek ve Yumurtalık popülasyonları birbirinden farklı bulunmuştur. Özellikle Köyceğiz ve Beymelek popülasyonlarının coğrafik olarak birbirine çok yakın (180 km) olmasına rağmen

morfolojik olarak farklı eksenlerde bulunmaları, bariyer analizinden elde edilen, ve hızlı derinleşen kıyı suyunun etkisi altında olan Köyceğiz popülasyonu etrafında bulunan bariyerin sebebi olabileceği düşünülmektedir.

5.2. Genotipik Verilerin Değerlendirilmesi

Araştırmamızda bir DNA polimorfizm tekniği olan mikrosatelit markır yöntemi kullanılmıştır. Bu yöntem ile Türkiye'deki levrek kuluçkahanelerinin damızlık temin ettiği 5 lagün/dalyan sistemindeki doğal levrek balığı popülasyonunun genetik benzerlik ve farklılıkların tespiti amaçlanmıştır. Bu tespitin daha iyi gözlenebilmesi için araştırmaya Yunanistan ve Atlantik'ten birer popülasyon katılmıştır. Çalışmada 10 lokus (DLA0044, DLA0060, DLA0061, DLA0068, DLA0073, DLA0078, DLA0081, DLA0086, DLA0089, DLA0096) kullanılmış ve bu lokuslara göre popülasyon içi ve popülasyonlar arası çeşitlilik incelenmiş ve yapılan benzer önceki araştırmalar ile karşılaştırılmıştır. Önceki yapılan bir çok araştırmada bu sayıda veya bu sayının altında lokus sayısı kullanılarak çalışmalar yapılmıştır. Dolayısı ile popülasyon yapısının tespitinde 10 adet mikrosatelit lokusun kullanılması yeterli görülmüştür.

Popülasyon çalışmalarında türün dağılım gösterdiği alan haricinde uzak bir bölgedeki popülasyonun araştırmaya dahil edilmesi sonuçların daha iyi değerlendirilmesini sağlamaktadır. Akdeniz ve Atlantik'te yapılan bir çok araştırmada bu şekilde örnekleme yapılmıştır. Araştırmamızda Homa, Doğanbey, Köyceğiz, Beymelek ve Yumurtalık popülasyonlarından sırası ile 35, 43, 45, 40, 47 birey analiz edilmiştir. Yunanistan ve Atlantikten 48'er birey analiz edilmiştir. Örnekleme sayıları yapılan önceki araştırmalar ile benzerlik göstermektedir .

5.2.1. Alel verilerinin değerlendirilmesi

Araştırmada 7 popülasyonda toplam 305 adet birey ile çalışılmış ve 183 farklı alel uzunluğunun varlığı tespit edilmiştir. Lokus başına düşen ortalama alel sayısının

18,3 alel/lokus olduğu görülmüştür. En çok alel sayısı DLA0078 lokusunda 31 alel ile en az alel sayısının ise 12 alel/lokus ile DLA00060 lokusunda gözlenmiştir. Bu veriler daha önce Akdeniz’de yapılan diğer popülasyon araştırmaları ile uyum içinde olduğu belirlenmiştir (Castilho ve Ciftci 2005, Fritsh vd 2007, Guinand vd 2008, Karahan 2009, Coscia ve Mariani 2011). En yüksek ve düşük polimorfizm gösteren lokusların aynı mikrosatelit lokusları kullanılan diğer araştırmalar ile karşılaştırdığında benzer olduğu görülmüştür (Guinand 2008, Karahan 2009). Ayrıca araştırmamızda tespit ettiğimiz lokus başına düşen ortalama alel sayısının (18,3 alel/lokus) diğer araştırmalarla benzer veya daha yüksek olduğu görülmüştür (Castilho ve Ciftci 2005, Fritsh vd 2007, Guinand vd 2008, Karahan 2009, Coscia ve Mariani 2011).

Türkiye popülasyonlarının tespitinde ülkemizden 5 popülasyondan toplam 209 birey ile çalışılmış lokus başına düşen ortalama alel sayısı 13,2 olarak tespit edilmiştir. Ülkemiz dışındaki 2 popülasyonda 96 birey ile çalışılmış lokus başına düşen ortalama alel sayısı 15,4 olarak tespit edilmiştir. Bu veriler ile Karahan (2009)’nın ülkemizdeki iki kuluçkahanenin damızlıkları üzerine yaptığı ve 9’u aynı olan lokusları kullandığı araştırmada elde ettiği veriler (lokus başına düşen ortalama alel sayısı 10,53) ile kıyaslandığında çalışmamızdaki örneklerin daha polimorfik olduğunu söyleyebiliriz. Alel verilerimiz ülkemizden de bir popülasyonun bulunduğu Castilho ve Ciftci (2005)’nin araştırmasının alel verileri (lokus başına düşen ortalama alel sayısı 10,6) ile kıyaslandığında yine örneklerimizin daha polimorfik olduğu görülmektedir. Ancak yabancı popülasyonlar ile kıyaslandığında ülkemizdeki popülasyonların daha az polimorfik olduğu görülmektedir. Yerli popülasyonlar arasında en yüksek alel sayısının Doğanbey ve Yumurtalık Dalyanlarında olduğu görülmüştür (10,3 alel/lokus ve 10 alel/lokus). Diğer üç popülasyon kapalı lagün tipi dalyanlar olduğundan ve avcılık dalyanının/lagünün girişinin yılın belli mevsimlerinde kapatılmasından ve bireylerin doğa ile izole edilmesinden kaynaklanabileceğini düşünülmektedir. Aynı mikrosatelit lokuslar ile yapılmış önceki araştırmaların toplam alel sayıları Çizelge 5.1.’de araştırmamız ile karşılaştırılmıştır.

Çizelge 5.1. Aynı mikrosatelit lokusların kullanıldığı önceki araştırmalarda ile bizim çalışmamızda tespit edilen toplam alel sayılarının karşılaştırılması

	DLA0060	DLA0061	DLA0068	DLA0073	DLA0078	DLA0081	DLA0086	DLA0089
Çalışmamız (Yerli)	9	9	5	14	22	13	18	14
Karahan 2009	4	8	5	16	16	9	14	7
Çalışmamız (Hepsi)	12	15	13	19	31	18	22	17
Guinand vd 2008	5	9	4	18	16	na	13	9

Araştırmamızda elde ettiğimiz alel frekansları arasında yerli popülasyonlar için özgün olan aleller DLA0078 lokusu 201 bç'lik alel (Homa, Doğanbey, Köyceğiz, Beymelek, Yumurtalık popülasyonları için), DLA0086 lokusunda 172 bç'lik alel (Homa, Köyceğiz, Beymelek, Yumurtalık popülasyonları için) ve 208 bç'lik alel (Homa, Doğanbey, Köyceğiz, Yumurtalık popülasyonları için) ve DLA0096 lokusunda 266 bç'lik alel (Homa, Doğanbey, Köyceğiz, Yumurtalık popülasyonları için) şeklinde tespit edilmiştir (Çizelge 5.2.). Bu lokuslardaki yerli popülasyonlar için belirlenen bu özgün aleller ileride yapılacak çalışmalarda işletmelerdeki damızlıkların menşesini belirlemede kullanılabilir.

Bunun yanı sıra ülkemize özgün olmayan yani yabancı popülasyonlara özgün olan aleller DLA0044 lokusunda 107 ve 141 bç'lik aleller, DLA0061 lokusunda 149, 153, 173 bç'lik aleller, DLA0068 lokusunda 239 ve 249 bç'lik aleller, DLA0073 lokusunda 154 ve 156 bç'lik aleller, DLA0078 lokusunda 215, 223 ve 253 bç'lik aleller, DLA0081 lokusunda 281 bç'lik alel ve DLA0096 lokusunda 248 bç'lik alellerdir (Çizelge 5.2.). Tüm bu veriler ile işletmeler ellerindeki damızlık stoklarının gen yapısını tespit edebilirler.

Çizelge 5.2. Çalışmada gözlenen özgün alellerin lokuslar ve popülasyon grupları (yerli ve yabancı) arasında dağılımı

Lokus	DLA0044		DLA0060		DLA0061				DLA0068		DLA0073		
<i>bç</i>	107	141	139	141	169	149	153	173	239	249	154	156	
Popülasyon	Atlantik, Yunanistan	Atlantik, Yunanistan	Doğanbey, Beymelek	Doğanbey, Yumurtalık	Doğanbey, Beymelek, Yumurtalık	Atlantik, Yunanistan	Atlantik, Yunanistan	Atlantik, Yunanistan	Atlantik, Yunanistan	Atlantik, Yunanistan	Atlantik, Yunanistan	Atlantik, Yunanistan	
Lokus	DLA0078						DLA0081	DLA0086		DLA0089	DLA0096		
<i>bç</i>	201	215	221	227	249	253	203	172	208	111	266	270	248
Popülasyon	Homa, Doğanbey, Köyceğiz, Beymelek, Yumurtalık	Atlantik, Yunanistan	Atlantik, Yunanistan	Homa, Yumurtalık	Homa, Yumurtalık	Atlantik, Yunanistan	Atlantik, Yunanistan	Homa, Köyceğiz, Beymelek, Yumurtalık	Homa, Doğanbey, Köyceğiz, Yumurtalık	Homa, Doğanbey	Homa, Doğanbey, Köyceğiz, Yumurtalık	Köyceğiz, Yumurtalık	Atlantik, Yunanistan

5.2.2. Heterozigotluk verilerinin değerlendirilmesi

Popülasyonların genetik çeşitliliğinin belirlenmesinde bir diğer ölçüt olan heterozigotluk değeri incelendiğinde, popülasyonlarda lokuslara ait gözlenen heterozigotluk değerinin 0,353 ile 0,958 arasında değişim gösterdiği, beklenen heterozigotluk değerlerinin ise 0,346 ila 0,918 değerleri arasında değiştiiği belirlenmiştir. Çalışmada 10 farklı mikrosatelit lokusuna ait verilerden elde edilen gözlenen ve beklenen heterozigotluk değerleri ile diğer araştırmacıların Akdeniz'deki ve Atlantik'teki levrek balığı popülasyonları üzerine yaptığı mikrosatelit çalışmalarının sonuçları karşılaştırıldığında, Türkiye'deki popülasyonların beklenen ve gözlenen heterozigotluk değerlerinin bazı çalışmalardaki beklenen ve gözlenen heterozigotluk değerlerinden daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Castilho ve Mc Andrew 1998, Chistiakov vd 2004, Chatziplis vd 2007, Castilho ve Ciftci 2005, Guinand vd 2008, Karahan 2009).

Çizelge 5.2. Allel sayıları, özgün alel sayıları, heterozigotluk, F_{is} ve etkin popülasyon büyüklüğü değerleri ortak tablosu. n_g : örnek sayısı, N_A : ortalama allel sayısı, H_e : beklenen heterozigotluk, H_o : gözlenen heterozigotluk, N_e : etkin popülasyon büyüklüğü.

	n_g	N_A	H_e	H_o	F_{is}	N_e (%95 GA)
Homa	34	8,5	0,706	0,679	0,053*	141,5 48 - ∞
Doğanbey	43	10,3	0,755	0,709	0,072**	273,5 79,8 - ∞
Köyceğiz	45	7,3	0,682	0,664	0,036 ^{ns}	136,1 60,8 - ∞
Beymelek	40	8	0,714	0,663	0,084**	26 17,0 - 43,30
Yumurtalık	47	10	0,749	0,672	0,113***	195,30 69,2 - ∞
Yunanistan	48	11,1	0,767	0,71	0,084***	-882,10 224,8 - ∞
Atlantik	48	13,9	0,802	0,67	0,176***	159,90 69,3 - ∞

Çalışmamızdaki yerli popülasyonların beklenen ve gözlenen heterozigotluk değerleri Castilho ve Ciftci (2005)'nin Türkiye, Yunanistan ve Portekiz popülasyonları arasında yaptığı araştırmanın değerleri ile kıyaslandığında Türkiye (sırasıyla 0,7304 ve 0,6902) ve Portekiz (0,8355 ve 0,7626) popülasyonlarının heterozigotluk değerleri, çalışmamızdaki Beymelek ve Atlantik popülasyonlarından daha yüksek ancak Yunanistan popülasyonuna ait beklenen heterozigotluk değerlerinin çalışmamızdaki (0,767) Yunanistan popülasyonuna ait beklenen heterozigotluk değerlerinden daha düşük olduğu görülmüştür.

Guinand vd (2008) 'nin Fransa sahillerindeki 2 popülasyonda, levrek yavrularının genetik karakterlerinin kıyaslandığı bir çalışmada, 7 mikrosatelit lokus çalışmamız ile aynı kullanılmıştır. Ortak lokuslar arasında yapılan karşılaştırmalarda DLA0060-61 ve DLA0089 nolu lokusların beklenen heterozigotluk değerleri (sırasıyla 0,528, 0,573 ve 0,487) çalışmamızdaki değerlerden daha düşük olduğu belirlenmiştir. Gözlenen heterozigotluk değerleri DLA0060-61-78-86 ve DLA0089 lokuslarının H_o değerlerinin (sırasıyla 0,451, 0,507, 0,492, 0,791 ve 0,413) çalışmamızdaki değerlerden düşük olduğu gözlenmiştir. Bu durum Guinand vd (2008)'in araştırmalarını Fransa'da Palavas ve Sete bölgelerinde yani tamamen farklı bir popülasyon üzerinde yapmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Karahan (2009)'ın ülkemizdeki iki kuluçkahanesinin anaçlarının mikrosatelit poliformizmini tespit etmek için yaptığı çalışmada çalışmamızda kullandığımız mikrosatelit lokusların 8 tanesi aynıdır. Bu lokuslar arasında yaptığımız karşılaştırmada İzmir Körfezi'nde bulunan AKVATEK firmasının anaçlarında DLA0060-61-86-89 lokuslarının beklenen ve gözlenen heterozigotluk değerleri (sırasıyla 0,4109 0,5749 0,7255 0,2578 ve 0,3378 0,6241 0,4956 0,2180) çalışmamızda elde ettiğimiz değerlerden düşüktür. DLA0078 lokusundaki beklenen heterozigotluk değerleri (0,7638) yine çalışmamızda tespit ettiğimiz değerlerden düşüktür. EGEMAR firmasının Didim bölgesinde bulunan kuluçkahanesindeki anaçların DLA0086 ve DLA0089 lokuslarının beklenen ve gözlenen heterozigotluk değerleri

(0,8164 0,3887 ve 0,6667 0,3623) araştırmamızda tespit ettiğimiz değerlerden dūřuktur. Aynı firmanın anaçlarındaki DLA0073 ve DLA0078 lokuslarının gözlenen heterozigotluk değerleri (0,6575 0,6269) ve DLA0060 lokusundaki beklenen heterozigotluk değeri (0,5240) araştırmamızda tespit ettiğimiz değerden dūřuktur (Çizelge 5.2). Araştırmacı yaptığı çalışmada anaçların menşeyini belirleyebileceğimiz frekans tablolarını vermediğinden popölasyonlar arası bir tespit yapmak mümkün olmamıştır.

5.2.3. F istatistik parametrelerinin değerlendirilmesi

Çalışılan popölasyonların F_{is} değerleri 0,036 ile 0,176 arasında değiştiği tespit edilmiştir. Popölasyonun Hardy-Weinberg dengesinde olup olmadığı ve homozigotlaşmaya gidilip gidilmediğini belirlemek için kullanılan F_{is} değerine göre çalıştığımız Türkiye popölasyonları içerisinde Hardy-Weinberg dengesinde olan tek popölasyonun F_{is} 0,036 ($P < 0,001$) ile Köyceğiz popölasyonu olduğu tespit edilmiştir. Popölasyonun Hardy Weinberg Dengesi'nde olması popölasyonun seleksiyon, mutasyon, gööl olmayın ve rastgele çiftleşen bir popölasyon olduğunu ve gen ve genotip frekanslarının jenerasyondan jenerasyona çok fazla değişmediğini gösterir.

Karahan (2009) ölkemizdeki iki ticari kulukahanenin damızlıklarının genetik yapısının araştırılması üzerine yaptığı çalışmada AKVATEK firmasının damızlıklarının lokuslara göre F_{is} değerleri EGEMAR firmasının F_{is} değerlerine göre çoğunlukla negatif bulunmuştur. Bu durumda AKVATEK firmasının damızlıklarında heterozigot fazlalığının olduğunu bildirmektedir. Bu sonuca göre bu ticari damızlıkların iyi gelişen bireylerden seçildiği ve kayıtlı seleksiyon çalışmalarının yapıldığı izlenimi verdiğini bildirmektedir.

Araştırmamızdaki F_{st} değerleri incelendiğinde yerli popölasyonlar arasında dūřük bir genetik farklılaşmanın olduğu bulunmuştur. Çünkü bu popölasyonların F_{st} değerleri 0 ile 0,05 arasındadır. Yunanistan popölasyonu ile Ege bölgesinde bulunan

Homa ve Doğanbey popülasyonları arasında F_{st} değerleri incelendiğinde genetik farklılaşmanın oldukça düşük olduğu gözlenmiştir. Bu durum Ege Denizi'ndeki doğal yollarla veya yetiştiricilik yolu ile popülasyonların birbiri ile gen alış verişinde bulunduğu göstergesidir denebilir. Bahri-Sfar vd (2005)'nin 1991-1998 yılları arasında Akdeniz'den örneklediği levrek popülasyonlarında 6 mikrosatelit lokus ile yaptığı araştırmada, Doğanbey popülasyonuna oldukça yakın olan İleriye Adası'ndan iki popülasyon, bizim de araştırmamızda kullandığımız Messolongi Lagünü popülasyonu, İspanya, Fransa, Tunus ve Mısır popülasyonları ile karşılaştırmışlardır. Elde ettikleri F_{st} değerleri incelendiğinde Messolongi (1996 yılında örneklenmiş) popülasyonu ile İleriye Adası (Leros) popülasyonları (1998 yılında örneklenmiş) arasında 0,056 değerinde F_{st} tespit etmişlerdir. Selanik ve Rodos popülasyonunun F_{st} değeri 0,038 olarak tespit edilmiştir. İleriye Adası (Leros) ve çevresi kültür balıkçılığının yoğun yapıldığı bir bölgedir. Bu bölgeye Yunanistan'da bir çok farklı coğrafyada bulunan kuluçkahanelerden yavru nakli yapılmakta ve bu yavru balıklar zamanla doğaya kaçarak doğal popülasyona farklı popülasyonlardan gen akışı sağlamaktadırlar. Araştırmamızda Homa, Doğanbey ve Köyceğiz popülasyonları ile Yunanistan popülasyonları arasındaki F_{st} değerlerinin düşük olması bu popülasyonlar arasında genetik farklılaşmanın azaldığını göstermektedir.

Bahri-Sfar vd (2000)'nin yaptığı başka bir araştırma da Messolongi Lagünü ile Selanik ve Girit popülasyonları karşılaştırılmış F_{st} değerlerini sırasıyla 0,0264 ve 0,0315 olarak tespit etmişlerdir. Bu değerleri söz konusu popülasyonlar arasındaki genetik farklılığın düşük olduğunu göstermektedir.

Castilho ve Ciftci (2005)'in ülkemizden Beymelek popülasyonu ile Yunanistan'da çalıştığımız popülasyona oldukça yakın bir popülasyon olan Patras popülasyonunu karşılaştırdığında F_{st} değerinin 0,041 olduğunu belirlemiştir. Bu değer bizim araştırmamızda 0,0258 olarak tespit edilmiştir. Araştırmacılar, Beymelek ve Portekiz popülasyonlarını karşılaştırması sonucu elde ettikleri F_{st} değeri 0,119 olarak tespit etmişlerdir. Araştırmamızda Beymelek popülasyonunun Atlantik popülasyonu ile

arasındaki F_{st} değeri 0,05717 olarak belirlenmiştir. Bu değerler karşılaştırıldığında, araştırmamızdaki F_{st} değerleri önceki yapılan araştırmalara göre daha düşüktür. 2011 yılında toplanan örnekler ile yaptığımız araştırmamızda geçen zaman içerisinde Yunanistan ile ülkemiz Ege suları arasında, coğrafik olarak birbirine oldukça yakın olması ve denizde oluşan akıntıların da etkisi ile gen akışı olduğunu söyleyebiliriz. Bu durum gerek faktöriyel benzerlik analizi, gerekse Nei genetik uzaklık analizlerinde ayrıca popülasyon yapı testi ile de benzerlik göstermektedir.

Fritsch vd (2007)'nin levrek balığının Atlantik popülasyonu üzerine 8 mikrosatelit lokus ile yaptıkları araştırmada Biskay Körfezi ile İngiliz Kanalı üzerindeki popülasyonlar arasında genetik bir farklılık tespit edememişlerdir. Ancak İrlanda popülasyonu ile $P < 0,05$ istatistikî önem seviyesinde diğer popülasyonlara göre daha yüksek gen farklılığı tespit etmişlerdir (F_{st} 0,0099).

Coscia ve Mariani (2011)'in Atlantik sularında Biskay Körfezi ile Büyük Britanya Adası etrafındaki popülasyonlar ve Norveç popülasyonu arasında yaptığı filocoğrafik yapı araştırmasında F_{st} değerine göre Biskay Körfezi'nin genetik yapı olarak en farklı olduğu popülasyon İtalya popülasyonu olmuştur (F_{st} 0,0284). Norveç popülasyonu ile Biskay Körfezi popülasyonu arasında F_{st} değeri 0,0008 olarak tespit edilmiştir ki bu değer iki popülasyon arasında genetik farklılığın oldukça düşük olduğunun göstergesidir.

5.2.4. N_m gen akışı ve N_e etkin popülasyon büyüklüğü değerlerinin incelenmesi

Naciri vd (199) levrek balığını popülasyonu üzerine Atlantikte mitokondriyal DNA ve mikrosatelitlerle yaptıkları araştırmada levrek balığının orjininin Doğu Atlantik Okyanusu'nda Biskay Körfezi civarı olduğu bildirmişlerdir. Ayrıca aynı çalışmada Atlantik popülasyonu ile Alboran Denizi'nin, Akdenizin diğer bölgelerine göre birbiri ile daha benzer ilişkide olduğunu bildirilmiştir (Naciri vd 1999).

Levrek balığı erişkinlerinin yüzlerce kilometre göç edebileceği bildirilmiştir (Coscia ve Mariani 2011, Castilho ve Ciftci 2005). Levrek balığının bu özelliği ancak derinlik ile sınırlıdır. Keza 100 metreden derin sularda bulunmadığı bildirilmiştir. Gen akışı matriksi incelendiğinde Homa ve Doğanbey popülasyonları arasında oldukça yoğun bir gen akışı olduğu gözlenmiştir. Doğanbey bölgesine diğer popülasyonlara göre nispeten Yumurtalık ve Yunanistan popülasyonlarının etkisi fazladır. Doğanbey bölgesi yoğun levrek yetiştiriciliği yapılan bir bölgedir. Bu gen akışının etkilerinin yetiştiricilik kaynaklı olabileceği düşünülmektedir.

Akdeniz’de yürütülen araştırmalar levrek popülasyonunu özellikle Sicilya ve Tunus arasındaki Sicilya boğazının doğusu ve batısı olarak iki bölgeye ayırmışlardır (Bahri-Sfar vd 2000).

Araştırmamızda Beymelek ve Yunanistan popülasyonları arasındaki gen akışı, N_m değeri 9,44 olarak tespit edilmiştir. Yunanistan ile Homa ve Doğanbey popülasyonları arasında ise N_m değeri sırasıyla 16,81 ve 21,97 gibi yüksek bir değerde çıkmıştır. Bu popülasyonlar arasında her bir dölde 16 ile 22 bireylik bir gen akışı söz konusudur. Kuzey Doğu Akdeniz levrek popülasyonu üzerine Castilho ve Ciftci (2005)’nin yaptığı araştırmada İyonya Denizi ve Atlantik popülasyonları ülkemizde Beymelek popülasyonu ile karşılaştırılmış ve Doğu Akdeniz’de bulunan İyonya Denizi popülasyonu ile Levantin Denizi olarak kabul edilen Kuzeydoğu Akdeniz levrek popülasyonunun benzerlik gösterdiğini tespit etmişlerdir. Yunanistan ve Türkiye popülasyonları arasındaki gen akışı değerinin ($N_e m$) 5,31 olarak bulunduğu araştırmada bunun etkili bir gen akışı değeri olduğu bildirilmiştir. Bunun sebebi olarak yüzey suyu akıntılarının etkisi olabileceği ve levrek erişkinlerinin yüzlerce km göç edebileceği vurgulanmıştır.

Lagün ve deniz sistemlerindeki levreklerin popülasyon yapıları karşılaştırıldığı araştırmada Lemaire vd (2000) N_m değerinin her dölde yaklaşık 25 birey olduğunu bildirmişlerdir. Birbirine yakın iki körfez olan İspanya’daki Valensiya Körfezi ve

Fransa'daki Lion körfezi arasındaki gen akışının bildirildiği çalışmada Garcia De Leon vd (1997) N_m değeri 4,75 olarak oldukça düşük bulunmuştur. Ancak önceki araştırmalarda elde ettikleri N_e değerini $N_e m$ değere oranlanması (37/37000) iki körfez arasında her dölde %0.1'lik bir gen akışı olduğunu bildirmişlerdir.

Araştırmamızda Kuzeydoğu Akdeniz (Yumurtalık, Beymelek), Ege (Homa, Doğanbey) ve İyonya Denizi (Yunanistan) popülasyonları karşılaştırıldığında, Ege Denizi'ndeki Homa ve Doğanbey popülasyonlarının ve en Doğu'da bulunan Yumurtalık popülasyonunun Yunanistan popülasyonuna daha yakın olduğu tespit edilmiştir. Bunun sebebi olarak ülkemizde 1980'li yıllarda başlayan levrek balığı yetiştiriciliğinin ilk yıllarında 1998 yılına kadar İzmir ve Bodrum bölgesindeki kafes çiftliklerine Yumurtalık ve Karataş Dalyanlarından çok miktarda yavru taşınmasından (Kayapınar 2007) kaynaklanabileceği yine İzmir bölgesindeki levrek çiftliklerine yıllardır Yunanistan'dan yavru nakli yapıldığı bu kültür balıklarının doğaya kaçış yapmış olabileceği bu benzerliğin nedeni olarak düşünülebilir.

Köyceğiz popülasyonunun diğer popülasyonlara göre daha az gen akışı olmasının nedeni ise Köyceğiz bölgesindeki batimetrik haritalar incelendiğinde Rodos Adası ve Fethiye arasındaki sığlık bölgenin Akdeniz'e açıldığı Kaş bölgesine doğru derin deniz çukurlarının (4000 m civarı) bulunması gen akışının bir sebebi olan göçleri sınırlandırıcı bir etkidir. Ancak bu tespitlerin yapılabilmesi için daha büyük örneklemeler ve daha çok popülasyon ile diğer makır teknolojileri ile ortaklaşa araştırmalar yapmak gerekmektedir (Şekil 5.2.).

Coscia ve Mariani (2011) levrek balığının filocoğrafik genetik yapısını inceledikleri araştırmada 9 Atlantik popülasyonu ile bir Akdeniz popülasyonunu incelemişler ve İngiltere kıyılarındaki 3 popülasyonda N_e değerlerinin düşük olduğunu tespit etmişler bu durumun bu bölgeden yapılan örneklemede yavru balıkların kullanılması olabileceğini bildirmişlerdir. Diğer istasyonlarda N_e değerlerinin sonsuza ulaşması ideal popülasyon için uygun değerler olarak tespit

edilmiştir. Araştırmamızda Beymelek popülasyonunun etkin popülasyon büyüklüğü oldukça düşük çıkmıştır. Diğer tüm popülasyonlarda %95 hassasiyette güven aralığının üst ucu sonsuz çıkarken Beymelek popülasyonunda bu değer 17,0 ile 43,30 arasında sınırlanmıştır.

5.2.5. Genetik uzaklık analizinin değerlendirilmesi

Araştırmamızda iki farklı genetik uzaklık analizi uygulanmıştır. Nei (1972)'nin standart genetik uzaklık analizi sonuçlarına göre Atlantik popülasyonu tüm yerli popülasyonlara en uzak popülasyon olarak tespit edilmiştir. Yunanistan popülasyonu Köyceğiz popülasyonu ile Akdeniz popülasyonları olan Beymelek ve Yumurtalık popülasyonlarına diğer popülasyonlara göre daha uzak olduğu tespit edilmiştir (sırasıyla 0,1211 0,1142 0,1151). Bu farklılıklar Fst değerleri ile Faktöriyel Benzerlik Analizi ile ve Genetik yapı analizi ile benzer olduğu görülmüştür.

Araştırmamızda filogenetik ağaç Nei (1983)'nin D_A genetik uzaklık testi sonuçları komşu birleştirme yöntemi ile oluşturulmuştur. Homa Köyceğiz popülasyonları %84 sıklıkta aynı grupta, Yunanistan ve Atlantik popülasyonları %100 sıklıkta aynı grupta, Beymelek ve Yumurtalık popülasyonları ise %74 sıklıkta aynı grupta tespit edilmiştir. Bu yüzdeler oldukça yüksek verilerdir ve değerlerin güvenilirliğini göstermektedir.

Bahri-Sfar vd (2000) yaptıkları araştırmada Tunus, Libya, Cezayir, İspanya, Fransa, İtalya ve Yunanistan popülasyonları arasında komşu birleştirme yöntemi ile genetik uzaklık analizi yapıp filogenetik ağaç oluşturmuşlar ve sonuçlarına göre Yunanistan'daki Messolongi popülasyonu Girit popülasyonu ile aynı dalda tespit edilmiş bu gruba en yakın grup Venedik Lagünü popülasyonu olmuştur (sıklık değerleri %50 altında olduğundan belirtilmemiştir). Fransa, İspanya, Cezayir, Sicilya ve Tunus popülasyonları kendi arasında dallanmışlardır.

Bahri Sfar vd (2005) yaptıkları araştırmada İleriye Adası popülasyonlarını Venedik ve Tunus Körfezi popülasyonları ile aynı dalda tespit etmiş, Messolongi, Selanik, Girit ve Tunus'taki Gabes Körfezi popülasyonlarını aynı grup içinde dallandırmışlardır.

Naciri vd (1999) yaptıkları araştırmada Cebelitarık Boğazı'ndaki levrek popülasyonunun genetik yapısını araştırmışlar ve bu araştırma sonucunda Batı Akdeniz ve Atlantik-Alboran Denizi olarak %100 sıklıkta güvenilir iki farklı yapı tespit etmişlerdir.

5.2.6. Mantel Testi ve bariyer analizi sonuçlarının değerlendirilmesi

Popülasyonların ayrılmasında coğrafik uzaklıklar etkili olduğu halde levrek balığı erişkinleri yüzlerce kilometre göç etme özelliğine sahip olduğundan popülasyonlar arası gen akışı yüksektir ancak bu gen akışı bazı doğal engeller (akıntılar, derin sular vb) tarafından sınırlanabilir (Guinand vd 2008). Araştırmamızda sırasıyla D_A ve F_{st} değerleri ikili karşılaştırma analizi ile Mantel testine tabi tutulmuş ve coğrafik uzaklıkların popülasyonların ilişkilerine etkisi incelenmiştir. Her iki durumdada coğrafi uzaklığın popülasyonların oluşumunda önemli seviyede etkili olduğü tespit edilmiştir ($r=0,952$ ve $r=0,888$ $P<0,001$).

Ancak bariyer analizinde görölmektedir ki Köyceğiz ve Beymelek popülasyonları birbirlerine en yakın olan popülasyonlar olduğü halde (180 km) gen akış değerleri de dikkate alındığında aralarındaki ilişkinin oldukça düşük olduğü gözlenmiştir (Mantel testi D_A ve F_{st} sırasıyla 0.087 ve 0,0334). Bu durumun Köyceğiz popülasyonu etrafında bulunan derin deniz çukurundan kaynaklandığını düşünmekteyiz.

Bariyer analizi sonucuna göre Köyceğiz popülasyonu diğer tüm popülasyonlardan ayrı etrafında bariyerlerin bulunduğu bir popülasyon olarak ortaya çıkmış bu durum popülasyonlar birbirine yakın olsa da etraflarındaki coğrafik

oluşumların (derin deniz çukuru gibi) popülasyonların ayrılmasında önemli rol oynadığını göstermektedir (Şekil 4.7.).

5.2.7. Faktöriyel benzerlik analizinin değerlendirilmesi

Faktöriyel benzerlik analiz bireylerin genetik yakınlığını görmek amacı ile yapılmaktadır. Araştırmamızda Faktöriyel Benzerlik Analiz iki ayrı aşamada yapılmıştır.

Birinci aşamada Atlantik ve Yunanistan popülasyonları dahil toplam 7 popülasyona ait veriler analiz edilmiştir. 3 boyutlu grafik incelendiğinde Atlantik ve Yunanistan popülasyonuna ait bireylerin ayrı bir öbek oluşturduğu, yine Akdeniz popülasyonu olan Beymelek ve Yumurtalık popülasyonuna ait bireylerin ayrı öbeklendiği görülmüştür. Ege Denizi'ne ait popülasyonlardaki bireylerin içiçe öbeklendiği görülmektedir. Ege Denizi'ne ait popülasyonlar ile Yunanistan popülasyonunun yakın bir iletişim içinde oluşu, yine Beymelek popülasyonu bireylerinin de Ege Denizi popülasyonları ile Yumurtalık popülasyonuna göre daha yakın olduğu görülmektedir (Şekil 4.8.).

Castilho ve Ciftci (2005)'in yaptığı araştırmada Türkiye (Beymelek), Yunanistan (Patras) ve Portekiz (Atlantik) popülasyonları arasında faktöriyel benzerlik analizi yapılmış, Yunanistan ve Türkiye popülasyonları arasında az sayıda bireyin beraber öbeklendiğini bildirmişlerdir. Araştırmada Atlantik popülasyonu diğer iki popülasyona göre oldukça uzakta öbeklenmiştir.

İkinci aşamada sadece yerli popülasyonlara ait bireyler faktöriyel benzerlik analizine tabi tutulmuştur. Yerli popülasyonlara ait bireylerin faktöriyel benzerlik analizi sonucu elde edilen 3 boyutlu grafik incelendiğinde Beymelek popülasyonunun daha muntazam öbeklendiğini görmekteyiz. Yumurtalık

popülasyonu bireyleri Ege popülasyonuna doğru bir yanaşma eğilimi içindedirler (Şekil 4.9.). Grafikte Homa ve Doğanbey popülasyonlarına ait bireylerin iç içe geçerek öbeklendiği görülmekte bu durum Nei standart genetik uzaklık D_A analizi sonuçları ile benzerlik göstermektedir.

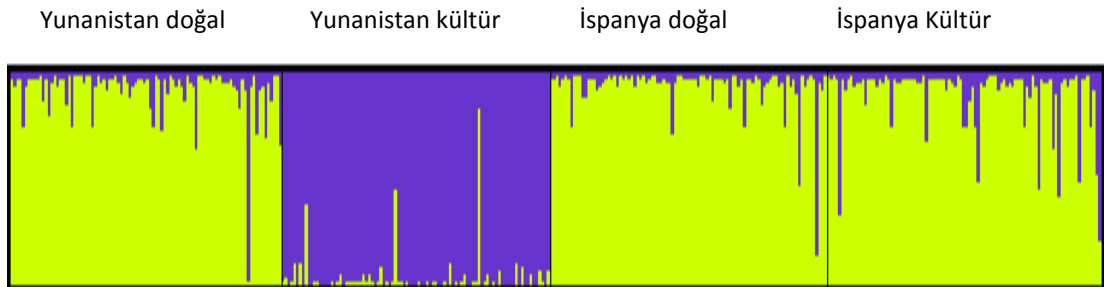
5.2.8. Popülasyon yapı testinin değerlendirilmesi

Yapı testi analizi popülasyonların ırklara ayrılmasını gösteren bir analizdir. Bu test STRUCTURE programı ile yapılmıştır. Ülkemizde levrek balığı üzerine yapılan en kapsamlı genetik yapı testi araştırmamızda uygulanmıştır. Her ırk bir renk ile temsil edilerek ait olduğu düşünülen popülasyon içinde gösterilmektedir. Yan yana bireylerle yaratılan renk öbekleri görsel olarak bir ırkda bireylerin genetik olarak ne kadar benzeştiklerini ve iki ırkın genotip kompozisyonlarının ne kadar benzeştiğini görsel olarak sergilemektedir ve böylece ilişkileri anlamayı kolaylaştırmaktadır (Özkan 2005).

Yapı testi uygulanırken programa bir muhtemel ırk sayısı (K) verilmelidir. Bu K değeri programın analiz ettiği delta K değerinin en yüksek bulunduğu basamaktaki K değeridir. Castilho ve Ciftci (2005) Atlantik, Yunanistan ve Türkiye’den toplam 3 levrek popülasyon ile yaptıkları yapı testinde en verimli K değerini 3 olarak tespit etmişlerdir. Araştırmamızda bu K değeri 2 olarak tespit edilmiştir. Bu K değeri Coscia ve Mariani (2011)’in Atlantik levrek popülasyonunu incelediği araştırmada da sununla çalışmamız ile aynı tespit edilmiştir. Elde edilen renkli grafik incelendiğinde 7 popülasyona ait bireylerin genel olarak 2 ırka ayrıldığı bunların Atlantik ve Türk ırkları olduğu söylenebilir (Şekil 4.10.). Yunanistan popülasyonunun Atlantik ve Türk ırkı ile karmaşık bir yapı içerisinde olduğu buna karşılık Köyceğiz ve Beymelek popülasyonlarının daha izole bir yapıda oldukları görülmektedir. Avrupa’da en fazla levrek balığı üretimi yapan iki ülke olan Türkiye ve Yunanistan bu üretimi çoğunlukla Ege Denizi’nde yürütmektedir. Uzun yıllardır yürütülen bu üretim

çalışmasında Yunanistan kültür balıkçılarının Batı Akdeniz'den ve Atlantik'ten getirilen damızlıklardan elde edilen yavruları yetiştirdikleri bilinmektedir. Bu yabancı popülasyonların bu şekilde Ege Denizi'ne kaçıışı ile Ege Denizi'ne Atlantik popülasyonunun etkisi olduğu bildirilmektedir (Svasand vd 2007, Chavanne vd 2008). Dolayısı ile Homa ve Doğanbey popülasyonları üzerindeki Atlantik popülasyonu etkisinin bu durumdan kaynaklanabileceğini düşünülmektedir. Coscia ve Mariani (2011) yaptıkları araştırmada mikrosatelit markırlar ile birlikte miktakondriyal DNA ile de çalışmışlar ve yapı analizlerinde Atlantik popülasyonunun (Biskay Körfezi) levrek balığı için Akdeniz ve İngiltere popülasyonlarına göre en muhtemel antik grup olabileceğini bildirmişlerdir.

Kourkouni vd (2012)'nin Yunanistan'da yürüttüğü bir araştırmada İspanya ve Yunanistan'da doğa ve kültür ortamlarından toplanan levrek balıkları arasında yapılan yapı analizinde K değeri 2 bulunmuştur. 2 ırka ait yapı analizinde Yunanistan kültür levreği örneklerinin, Yunanistan doğal ve İspanya kültür ve doğal örneklerinden daha farklı olduğu tespit edilmiştir (Şekil 5.1.) (Tsigenopoulos 2012). Bu durum Yunanistan'daki levrek balığı yetiştiriciliğinde damızlık olarak başka popülasyonların kullanıldığını göstermektedir.



Şekil 5.1. Yunanistan ve İspanya'da kültür ve doğal popülasyonların yapı analizi sonucu (Tsigenopoulos 2012'den)

Araştırmamızda elde ettiğimiz genetik yapı analizi sonuçları, faktöriyel benzerlik analizi sonuçları ile birlikte Nei standart genetik uzaklık bulguları ile benzerlik göstermektedir.

6. SONUÇ

Çalışmamız, ülkemizde levrek balığı popülasyonları üzerine ilerimoleküler teknolojiler kullanılarak yapılan önemli ve kapsamlı bir çalışmadır. Mikrosatelit markırlar son yıllarda popülasyon yapısını tespit etmek amacı ile kullanılan önemli bir metottur. Çalışmada kullanılan damızlık toplanan bölgelerin yetiştiricilikteki önemi dikkate alındığında bu bölgelerdeki levrek balığının popülasyon yapısının bilinmesi ileride yapılacak ıslah çalışmalarına önemli bir alt yapı oluşturacağı kanaatindeyiz. Popülasyon yapısının tespitinde, örnek sayısı, çalışılan popülasyon sayısı ve uygulanan metodun önemi büyüktür.

Araştırmamızda kullandığımız mikrosatelit lokusları oldukça polimorfiktir. Bu nedenle ülkemiz sularında levrek balıkları popülasyonları üzerine yapılacak ileriki çalışmalarda bu mikrosatelit lokusların kullanılması tavsiye edilebilir. Bu, aynı zamanda araştırmamız sonuçları ile ileride yapılan çalışmaların karşılaştırılması için de kolaylık sağlayacaktır.

Diğer taraftan ülkemizde Ege ve Akdeniz’de doğal dağılım gösteren levrek balıklarının popülasyon yapısının bilinmesi, son yıllarda oldukça popüler bir konu olan ve yetiştiricilik yoluyla doğaya kaçışın (escapes) değerlendirilmesi amacı ile önemli bilgiler vermektedir. Bulgularda da tespit edildiği üzere, ülkemizde 1990’lı yıllarda özellikle Yumurtalık Dalyanı’ndan Ege bölgesi kafes işletmelerine doğadan toplanan yavruların nakli ile bir gen akışı olmuştur. Yine Yunanistan’dan ülkemize yetiştiricilik amacı ile gelen yavruların doğaya kaçması sonucu doğal popülasyonlar etkilendiği gözlenmiştir. Ancak bu konu üzerine kesin bilgi sahihi olunabilmesi için daha detaylı, özellikle kafes işletmelerinden alınan örnekler ile doğal popülasyonların karşılaştırılması şeklinde, araştırmalar yapılması gerekmektedir.

Çalışma sonucunda ülkemiz Ege ve Akdeniz Bölgelerinde bulunan doğal levrek balığının genetik yapısı ve akrabalık ilişkileri çıkartılmış, en az heterozigotluk görülen bölge Köyceğiz olarak tespit edilmiştir. Geleneksel yöntem ile ıslah çalışması yapmadan üretime devam edecek olan kuluçkahanelerin bu popülasyondan topladıkları damızlıklar ile üretime devam etmeleri önerilebilmektedir.

Araştırma sonuçlarına göre kontrollü bir genetik sılah çalışması için kuluçkahanelerin Köyceğiz ve Homa bölgesinden damızlık temin etmesi tavsiye edilebilir. Köyceğiz popülasyonunun diğer popülasyonlara göre daha izole olduğu, diğer popülasyonlarla olan ilişkisinin daha düşük olduğu dolayısı ile daha homojen bir yapı sergilediği tespit edilmiştir. Ayrıca Köyceğiz popülasyonu göç almaması, rastgele eşleşmenin var olması, nedeni ile Hardy-Weinberg dengesinde olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuç ile kuluçkahane sahiplerinin ıslah çalışmalarına başlamasında bu popülasyon önemli bir değere sahiptir. Bu popülasyondan elde edilen damızlık bireyleri ile daha kontrollü bir şekilde genetik seçiciliğin çalışılabileceği düşünülmektedir.

7. KAYNAKLAR

- AKBULUT, B., AKSUNGUR, M., AKSUNGUR, N., SAHİN, T. ve ERTEKEN, A. 1998. Karadeniz’de Levrek Balığı Yetiştiriciliği, Su Ürünleri Merkez Araş. Enst. Müd. –TRABZON. TAGEM/IY/96/12/1/003. Proje sonuç raporu; Basım yılı 2001, 52 sayfa.
- AKSAKAL, E. 2009. Düşük ve Yüksek Canlı Ağırlığa Sahip Gökkuşacağı Alabalıkları (*Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792)) Arasındaki Genetik Varyasyonun Mikrosatelit Markırlar Kullanılarak Belirlenmesi. Doktora Tezi Atatürk Üniversitesi, 117 sayfa
- AKSOY, A. R. 2003. Hayvan Islahı Ders Notları, Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi (yayınlanmamış) Kars, 90 syf.
- AKSOY, M., SANİSOĞLU, S.Y., ETİKAN, İ., AKKUŞ, Z. ve ALPAR, R. 2006. Populasyon genetiği prensipleri ve Hardy-Weinberg kuralı. VIII. Ulusal biyoistatistik kongresi. Sözlü bildiri, 160-168.
- ALLEGRUCCI, G., FORTUNATO, C. and SBORDONI, V. 1997. Genetic structure and allozyme variation of sea bass (*Dicentrarchus labrax* and *Dicentrarchus punctatus*) in the Mediterranean Sea. *Mar. Biol.* 128, 347–358.
- ALLEGRUCCI G., CACCONE A., CATAUDELLA S., POWELL J.R. and SBORDONI V. 1995, Acclimation of the European sea bass to freshwater monitoring genetic changes by RAPD polymerase chain reaction to detect DNA polymorphisms. *Mar. Biol.* 121, 591–599.
- ALPBAZ, A., G. 1990. Deniz Balıkları Yetiştiriciliği. E.Ü. Su Ürünleri Y.O. No: 20
- ANDERSEN, Ø. ve HAYES, B. 2005. Population Genetics. In: B. Gjedrem (Editor), Selection and Breeding Programs in Aquaculture, Springer, pp23-32, Hollanda
- ARSLAN S. 2006. Türkiye Doğal Alabalık (*Salmo trutta* L., 1758) Populasyonlarında Mikrocoğrafik ve Makrocoğrafik Mikrosatelit DNA Varyasyonu. Doktora Tezi, Cumhuriyet Üniversitesi, Sivas
- ASHLEY, M.V. and DOW B.D. 1994. The use of Microsatellite Analysis In population Biology: Bacgroun, Methods and Potantiel Applications. *Moleculer Ecology and Evolution* P:185-201.
- BAHRI-SFAR, L., LEMAIRE, C., CHATAIN, B., DIVANACH, P., HASSINE, O.K.B. and BONHOMME, F. 2005. Impact de l’*élevage* sur la structure génétique des populations méditerranéennes de *Dicentrarchus labrax*. *Aquat. Liv. Res.* 18, 71–76.

- BAHRI-SFAR, L., LEMAIRE, C., HASSINE O.K.B. and BONHOMME F. 2000. Fragmentation of sea bass populations in the western and eastern Mediterranean as revealed by microsatellite polymorphism. *Proc. R. Soc. Lond. B* (267), 929-935
- BARTLEY, D.M. 1998. Genetics and breeding in aquaculture: current status and trends. Pp 13- 30 , in D.M. Bartley and B. Basurco (eds), *Genetics and Breeding of Mediterranean Aquaculture Species*. Cahiers OPTIONS Vol. 34, 297pp.
- BELKHIR, K., BORSA, P., CHIKHI, L., RAUFASTE, N. and BONHOMME, F. 2004. GENETIX 4.05, logiciel sous Windows TM pour la génétique des populations. Laboratoire Génome, Populations, Interactions, CNRS UMR 5000, Université de Montpellier II, Montpellier (France).
- BEMVENUTI, M.A. 2006. Silversides in South Brazil: Morphological and ecological aspects. *BIOCELL*, 30 (1) 111-118
- BENHARRAT, K., PASTEUR, N., SIAU, Y. and BOUIAN, A. 1983. Polymorphisme biochimique de loups (*Dicentrarchus labrax*) originaires de quatre populations naturelles et d'un élevage Recherches Biologiques en Aquaculture. *CNEXO-BNDO*, Brest, France 1, 1-17.
- BONDARI, K. 1983. Response to bidirectional selection for body weight in channel catfish. *Aquaculture* 33:73-81.
- BORRELL, Y.J., ÁLVAREZ, J., VÁZQUEZ, E., PATO, C.F., TAPIA, C.M., SÁNCHEZ, J.A. and BLANCO, G. 2004 Applying microsatellites to the management of farmed turbot stocks (*Scaphthalmus maximus* L.) in hatcheries. *Aquaculture* 241, 133-150.
- BOTSTEIN, D., WHITE, R.L., SKOLNICK, M.H. and DAVIES, R.W. 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *American Journal of Human Genetics* 32, 314-331.
- BROWN, R.C. 2003. Genetic management and selective breeding in farmed populations of gilthead seabream (*Sparus aurata*). PhD Thesis, Institute of Aquaculture, University of Stirling.
- BRUFORD, M.W., BRADLEY, D.G. and LUIKART, G. 2003. DNA Markers Reveal The Complexity Of Livestock Domestication. *Nature Genetics* 4: 2-12.
- BRUSLE, J. and ROBLIN, C. 1984. *Sexualite du loup Dicentrarchus labrax en condition d'élevage controle*. L'aquaculture du Bar et Des Sparides, 33-43. L'Aquaculture du bar et des Sparidés / G. Barnabé, R. Billard, éditeurs. 542 pp

- BUTTERFIELD, G.M. 2009. Genetic Variation for Disease Resistance in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). PhD Thesis, Institute of Aquaculture, University of Stirling. 205 pp UK
- CARILLO, M., BROMAGE, N., ZANUY, S., SERRANO, R. and PRAT, F. 1989. The effect of modifications in photoperiod on spawning time, ovarian development and egg quality in the sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture*, 81, 351-65.
- CASTILHO, R. and CIFTCI, Y. 2005. Genetic differentiation between close eastern Mediterranean *Dicentrarchus labrax* (L.) populations. *J. Fish Biol.* 67, 1746–1752.
- CASTILHO, R. and MCANDREW, B.J. 1998a. Two polymorphic microsatellite markers in the European seabass, *Dicentrarchus labrax* (L.). *Animal Genetics* 29, 151–2.
- CASTILHO, R. and MCANDREW, B.J. 1998b. Population structure of seabass in Portugal, evidence from allozymes. *J. Fish Biol.* 53, 1038–1049.
- CEYHUN, S.B. 2007. Yerli Alabalık Irkları Arasındaki Genetik Varyasyonun Mikrosatelit Markırlar Kullanılarak Belirlenmesi. Doktora Tezi. Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 95 sayfa Erzurum.
- CHATZIPLIS, D., BARTAGIAS, C., TSIGENOPOULOS, C.S., MAGOULAS, A., KOLLIAS, S., KOTOULAS, G., VOLCKAERT, F.A.M. and HALEY, C.S. 2007. Mapping quantitative trait loci in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*): the BASSMAP pilot study. *Aquaculture* 272, S172–82.
- CHAVANNE, H., CHATAIN, B. and HAFFRAY, P. 2008. Review on breeding and reproduction of European aquaculture species. European seabass (*Dicentrarchus labrax* L.). *Aqua breeding*. . FP6-2005-SSP-044424.
- CHISTIAKOV, D. A., HELLEMANS, B., HALEY, C.S., LAW, A. S., TSIGENOPOULOS, C.S., KOTOULAS, G., BERTOTTO, D., LIBERTINI, A. and VOLCKAERT, F.A.M. 2005. A microsatellite linkage map of the European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). *Genetics* 170 (4), 1821–1826.
- CHISTIAKOV, D.A., HELLEMANS, B. and VOLCKAERT, F.A.M. 2006. Microsatellites and their genomic distribution, evolution, function and applications: A review with special reference to fish genetics. *Aquaculture*, 255, 1–29.

- CHISTIYAKOV, D. A., HELLEMANS, B., TSIGENOPOULOS, C. S., LAW, A.S., BARTLEY, N., BERTOTTO, D., LIBERTINI, A., KOTOULAS, G., HALEY, C.S. and VOLCKAERT, F.A.M. 2004. Development and linkage relationships for new microsatellite markers of the sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). *Anim. Genet.* 35 (1), 53–57.
- CHISTIYAKOV, D. A., TSIGENOPOULOS, C. S., LAGNEL, J., GUO, Y.-M., HELLEMANS, B., HALEY, C.S., VOLCKAERT, F.A.M. and KOTOULAS, G. 2008. A combined AFLP and microsatellite linkage map and pilot comparative genomic analysis of European sea bass *Dicentrarchus labrax* L. *Anim. Genet.* 39 (6), 623–634.
- ÇİFTÇİ, Y., CASTILHO, R. and MC ANDREW, B.J. 2002. More polymorphic microsatellite markers in the European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). *Molecular Ecology Notes* 2: 575–576.
- CORNEILLE, S., NOTERDAEME, L. and OLLEVIER, F. 1989. Culture of sea bass larvae (*Dicentrarchus labrax*) in completely closed recirculation systems with artificial seawater. *Aquaculture : a biotechnology in progress* 1: 125-131
- COSCIA, I. and MARIANI, S. 2011. Phylogeography and population structure of European sea bass in the 108ort -east Atlantic. *Biological Journal of the Linnean Society* 104: 364–377
- ÇAKMAK, E. 2008. Dikenli yılan balığı (*Mastacembelus mastacembelus*)’nın morfolojik ve moleküler özelliklerinin belirlenmesi. Yük. Lis. Tezi. Kahraman Maraş Sütçü İmam Üniversitesi. 65 syf
- ÇİFTÇİ, Y. 2003. Balıkçılık ve su ürünlerinde kullanılan genetik markır sistemleri. YUNUS Araştırma Bülteni, 3 (3): 14-16
- ÇİFTÇİ, Y. 2004. Balıkçılık ve su ürünlerinde kullanılan genetik markır sistemler-İİ. YUNUS Araştırma Bülteni, 4 (2): 13-16
- ÇİFTÇİ, Y., EROĞLU, O., FİRİDİN, Ş. ve ERTEKEN, A. 2007. Türkiye Kahverengi Alabalık (*Salmo trutta* L.) Popülasyonlarının Genetik Yapısının Belirlenmesi. SÜMEA, TAGEM Proje Raporu. Proje No: TAGEM/HAYSÜD/2001/09/03/08
- DAHLE, G., JØRSTAD, E.K., RUSAAS, H.E., and OTTERA, H. 2006. Genetic characteristics of broodstock collected from four Norwegian coastal cod (*Gadus morhua*) populations *ICES Journal of Marine Science*, 63: 209-215
- DARWIN, C. 1859. *On the Origin of Species*, CRW Publishing Limited (2004) London 247 pp

- EMBODY, G. C. and HYFORD, C.D. 1925. The advantage of rearing brook trout fingerlings from selected breeders. *Trans. Am. Fish. Soc.* 55:135-138
- ERGÜDEN, D. ve TURAN, C. 2005. Examination of genetic and morphologic structure of Seabass (*Dicentrarchus labrax* L., 1758) populations in Turkish coastal waters. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Science*, 29, 727-733
- ERGÜDEN, D. 2002. Türkiye Denizlerinde Bulunan Levrek (*Dicentrarchus labrax*)'in Genetik ve Morfolojik Yapısının İncelenmesi. Yük. Lis Tezi. Mustafa Kemal Üniversitesi. 67 syf
- FAO 2012. Global Aquaculture Production 1950-2010, Food and Agriculture Organisation, Fisheries Department, Fishery Statistical Collection
- FIRAT, K., SAKA, Ş. ve ÇOBAN, D. 2004. Türkiye'deki Levrek (*Dicentrarchus labrax*, L. 1758) Larva Üretim Tesislerinin Anaç Yönetim Teknikleri ,E. Ü. Su Ürünleri Fakültesi Dergisi ,21 ,1-2 ,123-128
- FISCHER, W., BAUCHOT, M.L. and SCHNEIDER M. 1987. Fiches FAO d'identification desespèces pour les besoins de la pêche. (Révision 1). Méditerranée et mer Noire. Zone de pêche 37. Volume I. Végétaux et Invertébrés.
- FRITSCH, M., MORIZUR, Y., LAMBERT, E., BONHOMME, F. and GUINAND, B. 2007. Assessment of sea bass (*Dicentrarchus labrax*, L.) stock delimitation in the Bay of Biscay and the English Channel based on mark–recapture and genetic data. *Fisheries Research* 83: 123–132.
- FUJI, K., HASEGAWA, O., HONDA, K., KUMASAKA, K., SAKAMOTO, T. and OKAMOTO, N. 2007. Marker-assisted breeding of a lymphocystis disease-resistant Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Aquaculture* 272, pp 291–295
- GARCIA DE LEÓN, F.J., CANONNE, M., QUILLET, E., BONHOMME, F. and CHATAIN, B. 1998 The application of microsatellite markers to breeding programmes in the sea bass, *Dicentrarchus labrax*. *Aquaculture* (159) 303-316
- GARCIA DE LEÓN F.J., DALLAS, D.J., CHATAIN, B., CANONNE, M., VERSINI, J. J. and BONHOMME F. 1995. Development and use of microsatellite markers in seabass, *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758) (Perciformes: Serranidae). *Molecular Marine Biology and Biotechnology* 4, 62–8.

- GARCIA DE LEÓN, F.J., CHIKHI, L. and BONHOMME, F. 1997. Microsatellite polymorphism and population subdivision in natural populations of European sea bass *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758). *Mol. Ecol.* 6, 51–62.
- GJEDREM, B. and THODESEN, J. 2005. Selection. In: B. Gjedrem (Editor), *Selection and Breeding Programs in Aquaculture*, Springer, pp 89-110, Hollanda
- GJEDREM, T. 1983. Genetic variation in quantitative traits and selective Breeding in fish and shellfish. *Aquaculture*, 33:51-72.
- GJEDREM, T. 1985. Improvement of Productivity through Breeding Schemes. *Geo Journal*, 10(3): 233-241.
- GJERDE, B. 1986. Growth and Reproduction in Fish and shellfish. *Aquaculture*, 57:37-55.
- GORSHKOV, S., GORSHKOVA, G., MEIRI, I. and GORDIN, H. 2004. Culture performance of different strains and crosses of the European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) reared under controlled conditions at Eilat, Israel. *J. Appl. Ichthyol.* 20, 194–203.
- GOUDET, J. 2002. FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices (Version 2.9.3).
<http://www.unil.ch/izea/software/fstat.html>2001
- GÖKÇEK, E., KARAHAN, B., GAMSIZ, K., HEKİMOĞLU, M. ve GJØEN, H. M. 2009. Akuakültürde bir selektif ıslah programı hazırlanması. VX. Ulusal SU Ürünleri Sempozyumu, 01-04 Temmuz 2009, Rize.
- GUINAND, B., LEMAIRE, C. and BONHOMME, F. 2004. How to detect polymorphisms undergoing selection in marine fishes? A review of methods and case studies, including flatfishes. *Journal of Sea Research*, 51, 167-182.
- GUINAND, B., DUJARDIN E., DUFOUR V. and TSIGENOPOULOS C.S. 2008. Characterisation of genetic structure of *Dicentrarchus labrax* larvae in two nurseries of the Gulf of Lions (NW Mediterranean). *Aquat. Living Resour.* 21, 81–87
- HAFFRAY, P., TSIGENOPOULOS, C. S., BONHOMME, F., CHATAIN, B., MAGOULAS, A., RYE, M., TRIANTAFYLLIDIS, A. and TRIANTAPHYLLIDIS, C. 2006. European sea bass — *Dicentrarchus labrax*. In: *Genetic Effects of Domestication, Culture and Breeding of Fish and Shellfish, and Their Impacts on Wild Populations*. In: Svaasand, T., Crosetti, D., Garcia-

- Vazquez, E., Verspoor, E. (Eds.), Evaluation of Genetic Impact of Aquaculture Activities on Native Populations. A European network. GENIMPACT Final Report (EU contract. RICA-CT-2005-022802. <http://www.genimpact.imr.no>.
- HALEY, C.S. and VOLCKAERT, F. A. M. 2004. Development and linkage relationships for new microsatellite markers of the sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). *Animal Genetics* 35: 53–57.
- HERLIN, M.C.G. 2007. Genetic management of Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) hatchery populations. PhD Thesis, Institute of Aquaculture, University of Stirling. 223 pp UK
- HOELZEL, A.R. 1998. Molecular Genetic Analysis of Populations: A Practical Approach (Second Edition) Oxford University Press. 468 pp
- KARAGEORGIS, A. P., GARDNER, W. D., GEORGOPOULOS, D., MISHONOV, A. V., KRASAKOPOULOU, E. and ANAGNOSTOU, C. 2008. Particle Dynamics in the Eastern Mediterranean Sea: A synthesis based on light transmission, PMC, and POC archives (1991–2001), *Deep-Sea Res. Pt. I*, 55, 2, 177–202,
- KARAHAN, B. 2004. Doğal ve kültüre alınan levrek (*Dicentrarchus labrax*, L. 1758) balıklarının genotipik farklılıklarının mikrosatelitler yardımıyla araştırılması. Doktora Tezi. Ege Üniv. Fen. Bil. Enst. 88 syf.
- KARAHAN, B. 2009. Doğal levrek (*Dicentrarchus labrax*) Anaçlarında Mikrosatelit Polimorfizmi. E.Ü. Su Ürünleri Fakültesi Dergisi (26-2) syf 101-104.
- KAYAPINAR, A., 2007. Avrupa Birliği ülkeleri ve Türkiye'de su ürünleri yetiştiricilik sektörünün analizi. Yüksek Lisans Tezi. G.O.P. Üni. Fen Bil. Ens. 48syf.
- KOCHZIUS, M. 2008. Trends in fishery genetics. IN BEAMISH, R. J. & ROTHSCHILD, B. J. (Eds.) *The Future of Fisheries Science in North America*, Springer, pp 451-491. 1 ed., Springer.
- KRISTOFFERSEN, J.B. and MAGOULAS, A. 2008. Population structure of anchovy *Engraulis encrasicolus* L. in the Mediterranean Sea inferred from multiple methods. *Fisheries Research* (91) 187-195
- LEMAIRE C, ALLEGRUCCI G, NACIRI M., BAHRI-SFAR, L., KARA H. and BONHOMME, F. 2000. Do discrepancies between microsatellite and allozyme variation reveal differential selection between sea and lagoon in the sea bass (*Dicentrarchus labrax*)? *Molecular Ecology* , 9 , 457-467.

- LEMAIRE, C., VERSINI, J.J. and BONHOMME, F. 2005. Maintenance of genetic differentiation across a transition zone in the sea: discordance between nuclear and cytoplasmic markers. *Journal of Evolutionary Biology* 18: 70–80.
- LIU, Z.J. and CORDESB, J.F. 2004. DNA marker technologies and their applications in aquaculture genetics. *Aquaculture*, 238, 1 –37.
- LIU, Z.J. 2007. *Aquaculture Genome Technologies*. Blackwell Publishing, USA, 551 pp
- MAGOULAS, A. 2003. Application of molecular markers to aquaculture and broodstock management with special emphasis on microsatellite DNA. *CHIEM-Options Mediterraneennes*, pp:153-168.
- MANNI, F., GUERARD, E. and HEYER, E. (2004). Geographic patterns of (genetic, morphologic, linguistic) variation: how barriers can be detected by “Monmonier’s algorithm”. *Human Biology*, 76(2), 173-190.
- MINA M.V. 2001. Morphological diversification of fish as a consequence of the divergence of ontogenetic trajectories. *Russian Journal of Developmental Biology* 6:397-401.
- NACIRI, N., LEMAIRES, C., BORSA, P. and BONHOMME, F. 2007. Genetic study of the Atlantic/ Mediterranean transition in sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *J. Hered.* 90, 591–596.
- NACIRI, M., LEMAIRES, C., BORSA, P. and BONHOMME, F. 1999. Genetic study of the Atlantic/Mediterranean transition in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) *Journal of Heredity*, 90 , 591-596.
- NEFF, B.D., FU, P. and GROSS, M.R. 2000. Microsatellite multiplexing in fish. *Trans. Am. Fish. Soc.* 129, 584–593.
- NEI, M. and KUMAR, S. 2000. *Molecular Evolution and Phylogenetics*. Oxford University Press, London.
- NEI, M. 1987. *Molecular evolutionary genetics*. Columbia University Press, New York, 512 pp
- OKUMUŞ, İ. 2002a. Damızlık Stok Yönetimi-I: Stok Oluşturma. *YUNUS Araştırma Bülteni*, 2 (2): 4-6
- OKUMUŞ, İ. 2002b. Damızlık Stok Yönetimi-II: Bakım ve Besleme. *YUNUS Araştırma Bülteni*, 2 (3): 6-8

- ÖZKAN, E. 2005. Türkiye’de Yetiştirilen Yerli ve Kültür Sığır Irklarının Genetik Yapılarının Mikrosatelitler İle İncelenmesi. Doktora Tezi. Trakya Üniversitesi, 190 syf
- PALMA, J. and ANDRADE, J.P. 2002. Morphological study of *Diplodus sargus*, *Diplodus puntazzo*, and *Lithognathus mormyrus* (Sparidae) in the Eastern Atlantic and Mediterranean Sea. *Fisheries Research*, 51, 1-8
- PATARNELLO, T., BARGELLONI, L., CALDARA, F. and COLOMBO, L. 1993. Mitochondrial DNA sequence variation in the European sea bass, *Dicentrarchus labrax* L. (Serranidae): evidence of differential haplotype distribution in natural and farmed populations. *Mol. Mar. Biol. Biotechnol.* 2 (6), 333–337.
- PRITCHARD, J. K., STEPHENS, M. and DONNELLY, P. 2000. Inference of population structure using multilocus genotype Data. *Genetics*, 155:945–959.
- PRITCHARD, J.K. and WEN, W. 2004. Documentation for the STRUCTURE software Version 2. Chicago.
http://www.pritch.bsd.uchicago.edu/software/structure2_1.html.
- RANABAL, H.R. 1988. History of Aquaculture. FAO Publication. ASEAN/SF/88/Tech. 7. Roma
- RAYMOND, M. and ROUSSET, F. 1995. GENEPOP (version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism. *J. Heredity*, 86:248-249
<http://genepop.curtin.edu.au/>
- RYMAN, N., LAGERCRANTZ, U., ANDERSSON, L., CHAKRABORTY, R. and ROSENBERG, R. 1984. Lack of correspondence between genetic and morphologic variability patterns in Atlantic herring (*Clupea harengus*) *Heredity*, 53, pp. 687–704
- SAITOU, N. and NEI, M. 1987. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol. Biol. Evol.* 4 (4) 406-25
- SÄISÄ, M. 2009 Genetic diversity of Atlantic salmon (*Salmo salar*) and European whitefish (*Coregonus lavaretus*) in the Baltic Sea UNIVERSITY OF HELSINKI, DEPT. OF ANIMAL SCIENCE, PUBLICATIONS (101) Academic Dissertation 36pp

- SANGÜN, L. 2007. Temel bileşenler analizi, ayırma analizi, kümeleme analizleri ve ekolojik verilere uygulanması üzerine bir araştırma. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Su Ürünleri Anabilim Dalı, Doktora Tezi, 251 syf Adana
- SAVAŞ, T. 2008. Hayvan Islahı Ders Notları. Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Ziraat Fakültesi (yayınlanmamış) Çanakkale, 21 syf.
- SCHMIDT, J.P.U. 2009. Selective improvement of rainbow trout: assessment of potential in UK strains. PhD Thesis, Institute of Aquaculture, University of Stirling. 272 pp UK
- SELLIER, P. 1994. The Future Role of Molecular Genetics in the Control of Meat Production and Meat Quality. *Meat Science* 36 (1994) 29-44 England
- SOLA, L., DE INNOCENTIS, S., ROSSI, A.R., CROSETTI, D., SCARDI, M., BOGLIONE, C. and CATAUDELLA, S. 1998. Genetic variability and fingerling quality in wild and reared stocks of European sea bass, *Dicentrarchus labrax*. *Cah. Options Méditerran.* 34, 273–280.
- SOUCHE, E. 2009. Genomic variation in European seabass: from SNP discovery within ESTs to genome scan. PhD thesis, Katholieke Universiteit Leuven, Leuven, Belgium. Tsigenopoulos, C.S., Hellemans, B., Chistiakov, D.A., Libertini, A., Kotoulas, G., Volckaert, F., 2003. Eleven new microsatellites of the sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). *Mol. Ecol. Notes* 3, 352–354.
- SPALDING, M.D., FOX, H.E., ALLEN, G.R., DAVIDSON, N., FERDAÑA, Z.A., FINLAYSON, M., HALPERN, B.S., JORGE, M.A., LOMBANA, A., LOURIE, S.A., MARTIN, K.D., MCMANUS, E., MOLNAR, J., RECCHIA, C.A. and ROBERTSON, J. 2007 Marine Ecoregions of the World: A Bioregionalization of Coastal and Shelf Areas. *BioScience*, 57(7):573-583. 2007.
- STRAUSS, R.E. and BOOKSTEIN, F.L. 1982. The truss: Body form reconstructions in morphometrics. *Sys. Zool.*, 1: 113-135.
- SVASAND, T., CROSETTI, D., GARCÍA-VÁZQUEZ E. and VERSPOOR E. 2007. Genetic impact of aquaculture activities on native populations. Genimpact final scientific report (EU contract n. RICA-CT-2005-022802). 176 p.
- SWAIN, D.P. and FOOTE, C.J. 1999. Stocks and chameleons: the use of phenotypic variation in stock identification. *Fisheries Research* (43) 1123–1128.

- TAKEZAKI, N. and NEI, M. 1996. Genetic Distances and Reconstruction of Phylogenetic Trees From Microsatellite DNA. *Genetics*, (144) 389-399
- THODESON, J., GISDALE-HELLAND, B., HELLAND, S.J. and GJERDE, B. 1999. Feed intake, growth and feed utilization of offspring from wild and selected Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture* 180, 237–246.
- TIMM, N.H. 2002. Applied Multivariate Analysis, Springer- Verlag, ISBN 0-387-95347-7, 693p. USA.
- TOGAN, İ., SOYSAL, M.I., ALTUNOK, V., ÖZKAN, E. ve KOBAN E. 2003. Populasyon Genetiği Çalışmalarında Kullanılan İstatistiksel Yöntemlerdeki Yeniliklere Örnekler.GAP III. Tarım Kongresi (02-03 Ekim 2003). Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Şanlıurfa
- TSIGENOPOULOS, C.S. 2012. Use of genetic tools to assess breeding stock parameters, study spawning behavior and trace escapees in the wild. Innovations in Aquaculture Workshop. 9 May 2012, İzmir.
- TSIGENOPOULOS, C.S., HELLEMANS, B., CHISTIAKOV, D.A., LIBERTINI, A., KOTOULAS, G. and VOLCKAERT, F.A. 2003. Eleven new microsatellites of the sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). *Mol. Ecol. Notes*. 3:352–354
- TUDELA, S. 1999. Morphological variability in a Mediterranean, genetically homogeneous population of the European anchovy, *Engraulis encrasicolus*. *Fisheries Research* Volume 42/3 pp. 229–243
- TURAN, C. 1999. A note on the examination of morphometric differentiation among fish populations: The truss system. *Turk. J. Zool.*, 23: 259-263.
- TÜİK, 2011. Türkiye İstatistik Kurumu, Su Ürünleri İstatistik Verileri
- UÇAL, O. ve BENLİ, H.A. 1993. Levrek balığı ve yetiştiriciliği. Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı Su Ürünleri, Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü. Bodrum. Seri A, Yayın No. 9, 72 s.
- ÜN, C., WIMMERS, K., PONSUKSILI, S., SCHMOLL F. ve SCHELLANDER, K. 2000. Mikrosatellitler ve Kullanım Alanları. *Hayvansal Üretim* 41, 9-14
- ÜNSAL, A. 2000. Diskriminant analizi ve uygulaması üzerine bir örnek. *G.Ü. İ.İ.B.F. Dergisi* (3) 19-36
- VOLCKAERT, F. A. M. 2005. A microsatellite linkage map of the European sea bass *Dicentrarchus labrax* L. *Genetics* 170: 1821–1826.

- WEIR, B.S. and COCKERHAM, C.C. 1984. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution* 38, 1358–1370.
- WITHLER, R.E. SUPERNAL, K.J. and MILLER, K.M. 2004. Genetic variation within and among domesticated Atlantic salmon broodstocks in British Columbia, Canada. *Animal Genetics*, 36, 43–50
- WRIGHT, S. 1965. The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to system of mating. *Evolution* 19, 395–420.

ÖZGEMİŞ

Türker BODUR, 1977 yılında Yalova'da doğdu. İlk ve orta öğrenimini Yalova'da tamamladıktan sonra 1994 yılında Süleyman Demirel Üniversitesi, Eğirdir Su Ürünleri Fakültesinde lisans eğitimine başladı. 1998 yılında aynı üniversitesinin Fen Bilimleri Enstitüsü, Su Ürünleri Yetiştiriciliği Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimine başladı. 1999 yılında aynı Anabilim Dalında Araştırma Görevlisi olarak kamu görevine başladı. 2001 yılında Akdeniz Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Su Ürünleri Yetiştiriciliği Bölümü'nde Uzman olarak çalışmaya başladı. 2007 yılında aynı üniversitenin Fen Bilimleri Enstitüsü Su ürünleri Mühendisliği Anabilim Dalı'nda doktora eğitimine başladı. Doktora eğitimi sırasında İngiltere, Birmingham Üniversitesinde 3 ay staj yapmış ve Yunanistan'ın Girit Adası'ndaki Helenik Deniz Araştırmaları Merkezi'nde 2 ay tez çalışmasının analizlerini yürütmüştür.

1992-1999 yılları arasında ailesine ait çipura levrek çiftliğinde sektörel deneyim kazanmıştır. 2005-2011 yılları arasında kurucu üyesi olduğu Avrupa Su Ürünleri Yetiştiriciliği Derneği Öğrenci Grubu'da Türkiye Öğrenci Koordinatörü olarak görev aldı. Halen Akdeniz Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi, Su Ürünleri Yetiştiriciliği Bölümü'nde Uzman olarak çalışmalarına devam etmektedir.