

Üç Farklı Kuluçkahanedeki Damızlık Gökkuşığı Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) Stokları Arasında Genetik Çeşitliliğin RAPD-PCR Yöntemiyle Belirlenmesi Üzerine Bir Araştırma*

*Süleyman Akhan¹, Mehmet Ali Canyurt²

¹Karadeniz Teknik Üniversitesi, Rize Su Ürünleri Fakültesi, Yetiştiricilik Bölümü, 53100, Rize, Türkiye

²Ege Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Yetiştiricilik Bölümü, 35100, Bornova, Türkiye

*E mail: akhansuleyman@hotmail.com

Abstract: A study on the determination of genetic variability between rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) broodstocks reared in three different hatcheries by RAPD-PCR method. In this study, genetic variability between and within rainbow trout broodstocks reared in three different hatcheries was investigated by RAPD-PCR method. For this purpose, total 45 fish used from three trout farm located in Muğla-Fethiye, Burdur-Göhlisar and Denizli-Çameli region. The genetic similarities calculated for three population were found quite low. The mean genetic similarity was found as 0.429 within Fethiye population, 0.311 for Göhlisar population and 0.348 for Çameli population. Genetic differences were calculated within population, 0.571 in Fethiye, 0.689 in Çameli and 0.652 in Göhlisar. Genetic variation between populations was found very high. The highest variation was determined as 752 between Fethiye and Göhlisar populations and the least genetic variation was calculated as 0.659 between Çameli and Fethiye populations.

Key Words: Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), broodstock, RAPD-PCR, genetic variability.

Özet: Bu çalışmada RAPD-PCR yöntemi kullanılarak, üç farklı kuluçkahanedeki damızlık gökkuşığı alabalıkları (*Oncorhynchus mykiss*) arasında genetik çeşitliliğin belirlenmesi amaçlanmıştır. Muğla-Fethiye, Burdur-Göhlisar ve Denizli-Çameli yöresinde üretim yapan üç işletmeye ait toplam 45 damızlık balık materyal olarak kullanılmıştır. Üç popülasyonda hesaplanan genetik benzerlik değerleri oldukça düşük bulunmuştur. Fethiye popülasyonu içinde ortalama 0.429, Çameli popülasyonu içinde 0.311 ve Göhlisar popülasyonunda 0.348 olarak hesaplanmıştır. Ortalama popülasyon içi genetik farklılık değerleri ise Fethiye popülasyonunda 0.571, Çameli popülasyonunda 0.689 ve Göhlisar popülasyonunda 0.652 olarak hesaplanmıştır. Popülasyonlar arası genetik farklılık değeri oldukça yüksek bulunmuştur. En yüksek genetik farklılık değeri Fethiye-Göhlisar popülasyonları arasında 0.752 olarak, en düşük ise Fethiye-Çameli popülasyonları arasında 0.659 olarak belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Gökkuşığı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*), damızlık, RAPD-PCR, genetik çeşitlilik.

*Bu araştırma Ege Üniversitesi Bilim-Teknoloji ve Uygulama Merkezi (EBİLTEM) tarafından E04/14/02 no'lu proje kapsamında desteklenmiştir.

Giriş

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

Türkiye'de gökkuşığı alabalığı üretimi, 1970'li yıllarda dışarıdan getirilen yumurtalarla başlamıştır (Canyurt, 1985). Günümüzde ise gökkuşığı alabalığı kültürü yapılan en önemli tür konumundadır. Gökkuşığı alabalığı üretimi, gerek potansiyel su kaynaklarının üretime alınması gerekse yetiştiricilikte karşılaşılan problemlerin (kaliteli yem,

hastalıklara karşı mücadele, vb.) çözülmüş olması nedeniyle her geçen yıl artarak devam etmektedir.

Türkiye'de gökkuşığı alabalığı yetiştiriciliği, başlangıçta yumurta ithal edilerek başlamıştır. Zaman içerisinde de üreticiler yavru ihtiyaçlarını kendi damızlıklarından yetiştirerek karşılamışlardır (Canyurt, 1985). Şüphesiz, üreticiler damızlık seçimini yaparken üstün verime sahip bireyleri tercih etmişlerdir. Yani farkında olmadan bilinçsiz bir ıslah yapmışlardır. Bu nedenle farklı işletmelerden temin edilen alabalık yavruları arasında verim özellikleri açısından farklılıklar gözlenebilmektedir. Ancak ileri sürülen bu farklılıkların çevresel faktörlerden mi, yoksa kalıtsal özelliklerden mi kaynaklandığı bilinmemektedir. Gökkuşığı alabalığı yetiştiriciliğinde gözlenen bu varyasyonun DNA düzeyinde ortaya konulması ileride yapılacak ıslah çalışmaları açısından büyük önem taşımaktadır. ıslah çalışması yapılacak materyalde gözlenen genetik varyasyon hayvan ve bitki ıslahçıları için oldukça önemlidir. Yüksek genetik varyasyona

sahip populasyonlar ıslahçılar tarafından tercih edilir. Çünkü, ıslahçı daha geniş bir değişim içinden istediği özelliği taşıyan bireyi seçme şansına sahip olmaktadır (Allendorf ve Utter, 1979; Yıldırım ve Kandemir, 2001).

Günümüzde genetik mühendisliğinde kullanılan yeni teknikler, gelişmiş ülkelerde balık ıslahı ve genetiği alanında da kullanılmaya başlanmış, değişik balık türlerinde ırk içi ve ırklar arası genetik varyasyonlar belirlenmiştir. Son yıllarda geliştirilmiş olan RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) tekniği, genomik DNA'nın tesadüfi primerlerle DNA polimeraz enzimi aracılığıyla milyonlarca kez çoğaltılması esasına dayanmaktadır (Welsh ve McClland, 1990). Adı geçen DNA'ya dayalı tekniklerden birisi olan RAPD tekniği birçok balık türünde genetik varyasyonu belirlemede kullanılmıştır (Dinesh ve diğ., 1993; Bielawski ve Pumo, 1997; Caccone ve diğ., 1997; Liu ve diğ., 1999; Koh ve diğ., 1999). Bu araştırmalar RAPD tekniğinin populasyon içi ve populasyonlar arası genetik çeşitliliğin araştırılmasında kullanılabileceğini göstermektedir. Ayrıca RAPD tekniği, bazı balık türlerinde filogenetik çalışmalarda ve tür tayininde (Bardakci ve Skibinski, 1994; Borowsky ve diğ., 1995; Sultmann ve diğ., 1995; Partis ve Wells, 1996;), cinsiyet belirlemede (Iturra ve diğ., 1998; Bardakci, 2000) ve gen haritalamada da kullanılmıştır (Postlethwait ve diğ., 1994; Liu ve diğ., 1999).

Alabalık yetiştiriciliği yapan işletmelerdeki anaçlar arasındaki varyasyonun DNA düzeyinde belirlenmesi, gerek ileride yapılacak ıslah gerekse moleküler genetik çalışmalarına temel oluşturacaktır. Bu çalışma ile RAPD yöntemi kullanılarak üç farklı kuluçkahanedeki damızlık gökkuşağı alabalığı stoklarında, populasyonlar arasında ve içinde genetik varyasyonun DNA'ya dayalı markörlerle ortaya konulması amaçlanmıştır.

Materyal ve Yöntem

Araştırmada, Muğla-Fethiye yöresindeki (Dont Alabalık İşletmesi), Burdur-Göhlisar yöresinde (Özpekler Su Ürünleri Ltd. Şti.) ve Denizli-Çameli (Karabaşlar Alabalık İşletmesi) yöresindeki üç farklı kuluçkahanede bulunan damızlık gökkuşağı alabalıkları materyal olarak kullanılmıştır. Her kuluçkahanedeki anaçlar üretici tarafından işletmedeki populasyon içerisinden seçilmiştir. Her kuluçkahaneden 15'er adet olmak üzere toplam 45 adet balık araştırmada kullanılmıştır.

Damızlık balıkların kuyruk bölgesinden antikoagulantlı plastik şırıngalar (5 ml) kullanılarak, 1-2 ml kan örneği antikoagulantlı (K₂ EDTA'lı) tüplere alınmıştır. Alınan kan örnekleri buzlu taşıma kabı içerisinde laboratuvara getirilerek -20°C'de derin dondurucuda muhafaza edilmiştir. Her birey için Dunnington ve diğ., (1990)'a göre kandan DNA izolasyonu yapılmıştır. İzolasyon sonrasında elde edilen DNA pelletleri 100 µl TE tampon çözeltisi (10 mM Tris, 1 mM EDTA, pH: 8) içerisinde çözündürülerek konsantrasyonları spektrofotometrede ölçülmüştür.

Üç farklı populasyondan alınan tüm örneklerin RAPD-PCR işlemlerinde Operon firmasından sağlanan 10 baz uzunluğa sahip 10 değişik primer (A-11, A-19, B-8, B-11, D-16, F-2, F-3, F-5, F-11, E-8) kullanılmıştır. Kullanılan primerlerin nükleotid dizileri Operon firmasından temin edilebilir (Operon, Alemada, CA).

Damızlık gökkuşağı alabalıklarına ait DNA parmak izlerini çıkarmak için Welsh ve McClland (1990)'ın geliştirdiği RAPD tekniği kullanılmıştır. RAPD-PCR işlemi, 0.5 ml'lik eppendorf tüplere toplam hacim 15 µl olacak şekilde 25 ng genomik DNA, 100 µM her dNTP (Promega)'dan, 15 ng tesadüfi primer (Operon, Alemada, CA.) kullanılarak 1xTaq DNA Polimeraz tamponu (Promega), 1 ünite Taq DNA polimeraz enzimi (Promega) kullanılarak Thermal Cycler cihazında (Applied Biosystems) yapılmıştır. Thermal Cycler cihazında kullanılan PZR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) programı aşağıdaki gibidir. Cihaz başlangıçta 94°C'de 30 sn ve sonra 35 döngü, 94°C'de 25 sn, 35°C'de 45 sn, 94°C'de 1 dk ve amplifikasyon bittikten sonra 72°C'de 5 dk olacak şekilde ayarlanmıştır. PZR sonrasında elde edilen ürünler, %1.5'lük agaroz (Sigma) jelinde elektroforez işlemine tabi tutulmuştur. Elektroforez işleminden sonra etidium bromid (2 µg.ml⁻¹) ile boyanan jel fotoğraflandırılmıştır.

RAPD analizi sonucu elde edilen bantlardan yararlanılarak bantların varlığında bir, yokluğunda sıfır olacak şekilde veri matrisleri oluşturulmuştur. Elde edilen veri matrislerinden yararlanarak populasyon içi ve populasyonlar arası genetik benzerlik değerleri Nei ve Li'nin (1979) aşağıdaki formülüne göre hesaplanmıştır.

$S_{xy} = \frac{2N_{xy}}{N_x + N_y}$ genetik benzerlik,
 N_{xy} = iki birey arasındaki ortak bant sayısı,
 N_x = X bireyine ait bant sayısı,
 N_y = Y bireyine ait bant sayısı,

Genetik farklılık ise $P = 1 - S_{xy}$ formülüne göre hesaplanmıştır.

Populasyonlar için Tools For Population Genetic Analysis (TFPGA Ver. 1.3) istatistik paket programında (Miller, 1997), Nei (1978)'in genetik mesafesi kullanılarak UPGMA (Unweighted pair method with arithmetic mean) dendogramları oluşturulmuştur. Dendogram oluşturabilmek için genetik benzerlik değerlerinin hesaplanmasında kullanılan 1-0 veri matrisinden faydalanılmıştır.

Bulgular

Araştırmada her üç damızlık populasyonu (Çameli, Fethiye, Göhlisar) aynı primerler kullanılarak incelenmiştir. Üç populasyona ait toplam 45 örnekte kullanılan 10 primerden 3 tanesi (OPA-19, OPB-8, OPF-3) değerlendirilebilmiştir. Çalışmada kullanılan primerlere göre populasyonlarda elde edilen bant sayıları ve moleküler büyüklükleri (minimum ve maksimum baz çiftleri) Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1. Populasyonlarda primerlere göre elde edilen toplam bant sayıları ve moleküler büyüklükleri.

| Primer (Operon,) | Fethiye Populasyonu | | Çameli Populasyonu | | Göhlisar Populasyonu | |
|------------------|---------------------|----------------------------------|--------------------|----------------------------------|----------------------|----------------------------------|
| | Toplam Bant Sayısı | Büyüklik Baz çifti (Bç) min-maks | Toplam Bant Sayısı | Büyüklik Baz çifti (Bç) min-maks | Toplam Bant Sayısı | Büyüklik Baz çifti (Bç) min-maks |
| A-11 | — | — | — | — | — | — |
| A-19 | — | — | 8 | 667-2056 | 7 | 671-1983 |
| B-8 | 8 | 830-1639 | 15 | 667-2108 | 10 | 697-1652 |
| B-11 | — | — | — | — | — | — |
| D-16 | — | — | — | — | — | — |
| E- 8 | — | — | — | — | — | — |
| F- 2 | — | — | — | — | — | — |
| F- 3 | 8 | 737-1843 | 8 | 848-1904 | — | — |
| F- 5 | — | — | — | — | — | — |
| F-11 | — | — | — | — | — | — |

Populasyon İçi Genetik Benzerlik ve Farklılık Değerleri

Fethiye populasyonunda populasyon içi genetik benzerlik ve farklılık değerlerinin hesaplanmasında kullanılan 10 primerden değerlendirilebilir sonuç veren iki primerin RAPD bantları kullanılmıştır. OPB-8 ve OPF-3 primerleri ile elde edilen bantlardan yapılan hesaplamalarda Fethiye populasyonu içinde genetik benzerlik değeri ortalama 0.429 olarak bulunmuştur. Ancak bireyler arasındaki benzerlik değeri 0 ile 0.966 arasında değişim göstermiştir. Buna bağlı olarak genetik farklılık değeri 0.571 olup 0.033 ile 1 arası değişim göstermiştir.

Çameli populasyonunda kullanılan 10 primerden üçü değerlendirilebilir kabul edilmiştir. OPA-19, OPB-8 ve OPF-3 primerleri ile elde edilen bantlardan yapılan hesaplamalarda Çameli populasyonu içinde genetik benzerlik değeri ortalama 0.311 olarak bulunmuştur. Ancak bireyler arasındaki genetik benzerlik değeri 0 ile 0.909 arasında değişim göstermiştir. Ortalama genetik farklılık 0.689 bulunurken genetik farklılık değerleri 0.091–1 arasında değişim göstermiştir.

Göhlisar populasyonunda sonuç veren OPA-19 ve OPB-8 primerleri ile elde edilen bantlardan yapılan hesaplamalarda, ortalama populasyon içi genetik benzerlik 0.348 olarak bulunmuştur. Populasyon içerisinde bireyler arası genetik benzerlik değeri 0 ile 1 arasında değişim göstermiştir. Genetik farklılık değeri ortalama 0.652 olup 0–1 arası değişim göstermiştir.

Populasyonlar Arası Genetik Benzerlik ve Farklılık Değerleri

Populasyonlar kendi aralarında her iki populasyonda da sonuç veren primerler açısından karşılaştırılmıştır. Genetik benzerlik ve farklılık değerleri primerlere göre hesaplanarak Tablo 2'de verilmiştir. Tabloya bakıldığında populasyonlar arasında en yüksek genetik benzerlik değerleri Fethiye ve Çameli populasyonları arasında OPB-8 primerine göre 0.364 olarak bulunmuştur. Populasyonlar arasında en düşük genetik benzerlik değeri de OPB-8 primerine göre Çameli ve Göhlisar populasyonları arasında 0.206 olarak bulunmuştur.

Fethiye ve Çameli populasyonları arasındaki genetik benzerlik ve farklılık hesaplamalarında her iki populasyonda bant veren OPB-8 ve OPF-3 primerlerinden faydalanılmıştır. OPB-8 ve OPF-3 primerleri RAPD sonuçlarına göre ortalama genetik benzerlik 0.341 olurken, genetik farklılık değeri 0.659 olarak belirlenmiştir.

Fethiye ve Göhlisar populasyonları ele alındığında, iki

populasyonda da bant veren RAPD primeri sadece B-8 primeri olduğu için hesaplama bu primerin sonuçlarına göre yapılmıştır. İki populasyon arasındaki ortalama genetik benzerlik değeri 0.248 ve genetik farklılık değeri 0.752 olarak belirlenmiştir.

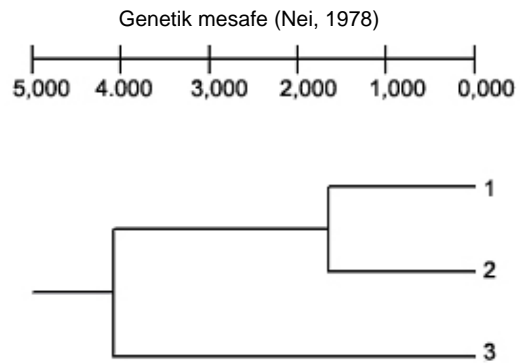
Çameli ve Göhlisar populasyonlarında ise değerlendirilebilir olarak kabul edilen OPA-19 ve OPB-8 primerlerinin RAPD sonuçları dikkate alınmıştır. Her iki populasyonda bant veren A-19 ve B-8 primerlerine göre iki populasyon arasındaki ortalama genetik benzerlik değeri 0.266 ve genetik farklılık 0.734 olarak belirlenmiştir.

Tablo 2. Populasyonlar arasında primerlere göre belirlenen ortalama genetik benzerlik ve farklılık değerleri.

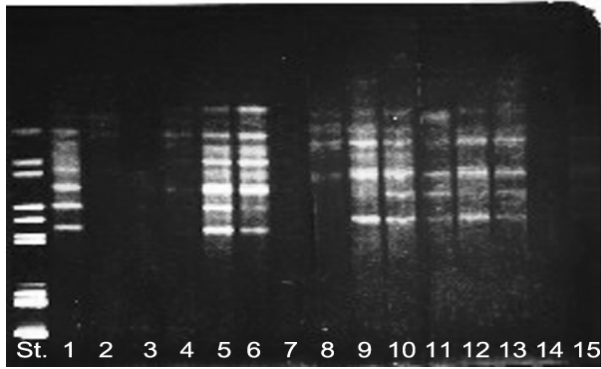
| Primer | Fethiye- Çameli | | Çameli- Göhlisar | | Göhlisar-Fethiye | |
|----------|-----------------|-------|------------------|-------|------------------|-------|
| | GB | GF | GB | GF | GB | GF |
| OPA-19 | — | — | 0.326 | 0.674 | — | — |
| OPB-08 | 0.364 | 0.626 | 0.206 | 0.794 | 0.248 | 0.752 |
| OPF-03 | 0.318 | 0.682 | — | — | — | — |
| Ortalama | 0.341 | 0.659 | 0.266 | 0.734 | 0.248 | 0.752 |

*GB: genetik benzerlik, GF: Genetik farklılık

Üç populasyon arasında, OPB-8 primerine ait RAPD sonuçları kullanılarak UPGMA yöntemine göre dendogram oluşturulmuştur (Şekil 1). Dendograma bakıldığında genetik benzerlik değeri daha yüksek olan Çameli ve Fethiye populasyonları arasında genetik mesafenin daha az olduğu ve Göhlisar populasyonunun bu iki populasyona genetik olarak daha uzak olduğu görülmektedir.



Şekil 1. Üç populasyon arasındaki ilişkiyi gösteren dendogram. 1, Fethiye populasyonu; 2, Çameli populasyonu; 3, Göhlisar populasyonu.



Şekil 2. Çameli popülasyonunda OPB-8 primerine ait RAPD sonuçları. St:Standart markör. 1-15,örnekler.

Tartışma ve Sonuç

Organizmaların paylaştığı ve oluşturduğu gen havuzlarında gözlenen genetik varyasyonun önemi uzun zamandan beri hayvan ve bitki ıslahçıları tarafından bilinmektedir. Belirli bir özellik için bilinen genetik varyasyon düzeyi, yapılan seleksiyon programında bu özellik için beklenen değişimin tahmin edilmesine olanak sağlayabilmektedir (Allendorf ve Utter, 1979).

Diğer taraftan kültürü yapılan balık türlerinde, yetiştiricilik sırasında yapılan seleksiyon ve diğer selektif etkiye sahip unsurlar sonucu popülasyonlarda genetik varyasyonu azaltmaktadır (Allendorf ve Utter, 1979). Islah programına alınacak materyalde gözlenen varyasyonun belirlenmesi önemlidir. Yüksek genetik varyasyona sahip popülasyonlar ıslahçılar tarafından tercih edilir. Çünkü ıslahçı daha geniş bir değişim içinden istediği özelliği taşıyan bireyi seçme şansına sahip olacaktır (Yıldırım ve Kandemir, 2001).

Genetik varyasyonun moleküler düzeyde belirlenmesi amacıyla protein ve enzim analizleri 1960'lı yıllarda yaygın olarak kullanılmıştır. Protein ve enzimlerin sınırlı polimorfizm göstermeleri ve genomun tümünü incelemeye olanak vermemeleri gibi dezavantajları daha sonra geliştirilen DNA'ya dayalı tekniklerle giderilmiştir (Bilgen ve diğ., 2002).

Adı geçen DNA'ya dayalı tekniklerden birisi olan RAPD tekniği birçok balık türünde genetik varyasyonu belirlemede kullanılmıştır (Dinesh ve diğ., 1993; Bielawski ve Pumo, 1997; Caccone ve diğ., 1997; Liu ve diğ., 1999; Koh ve diğ., 1999). Bu araştırmalar RAPD tekniğinin popülasyon içi ve popülasyonlar arası genetik çeşitliliğin araştırılmasında kullanılabileceğini göstermektedir.

Yapılan literatür taramalarında Gökkuşluğu alabalığında (*O. mykiss*), moleküler düzeyde enzim (Allendorf ve Utter, 1979; Busack ve diğ., 1979; Guyomard, 1981; Ferguson ve diğ., 1993; Gregg ve diğ., 2001), RFLP (Hansen ve diğ., 1997; Palti ve diğ., 1997; Ferguson ve Danzman, 1999; Berkman, 2001), AFLP (Young ve diğ., 2001; Brown ve Thorgaard, 2002), mikrosatelit (Estoup ve diğ., 1993; Ardren ve diğ., 1999; Fishback ve diğ., 1998; Heath ve diğ., 2001; Ostberg ve Rodriguez, 2002) markörleri kullanılarak yapılan daha fazla araştırmaya rastlanıldığı halde, RAPD markörleri kullanılarak,

farklı amaçlar için yapılan az sayıda çalışmaya rastlanılmıştır (Iturra ve diğ., 1998; Young ve diğ., 1998; Cagias ve diğ., 1999; Becerril ve diğ., 2000).

Üç popülasyon, elde edilen RAPD sonuçlarına göre değerlendirildiğinde popülasyon içi genetik benzerlik değerleri beklenenden düşük bulunmuştur. Popülasyon içi genetik benzerlik değerleri sırasıyla Fethiye popülasyonunda 0.429, Çameli popülasyonunda 0.311, Gölhisar popülasyonunda 0.348 olarak bulunmuştur. İncelenen popülasyonların kuşaklardaki yetiştiriciliği yapıldığı dikkate alındığında, popülasyonlarda belirlenen popülasyon içi genetik benzerlik değerlerinin daha yüksek çıkması beklenmekteydi. Farklı türlerde RAPD-PCR yöntemiyle yapılan popülasyon genetiği çalışmalarında rapor edilen sonuçlar bunu göstermektedir. Bielawski ve Pumo (1997), Atlantik kıyılarından topladığı Çizgili Levrek (*Morone saxatilis*) popülasyonlarında ortalama popülasyon içi genetik benzerlik değerini %93.8 popülasyonlar arası genetik benzerlik değerini %88.4 olarak bildirmiştir. Bilgen ve diğ. (2002), Ege Bölgesi'nde üretim yapan iki kuluçkahaneye ait çipura damızlıklarında yaptığı RAPD analizi sonucunda popülasyon içi genetik benzerlik değerini doğadan toplanan popülasyon için 0.450, doğadan toplanan ancak kafes işletmelerinde büyütülerek damızlık yapılan popülasyonda 0.620 olarak bildirmişlerdir.

İncelenen popülasyonlarda genetik benzerlik değerlerinin düşük bulunmasının gökkuşluğu alabalıklarında görülen yüksek anöploididen kaynaklandığı düşünülmektedir. Anöploidi, organizma temel kromozom sayısının tam katı veya katları kadar olmayan azalma ve artmalara denilmektedir. Gökkuşluğu alabalığında kromozom varyasyonlarını araştıran araştırmacılar kültürü yapılan ve yabani popülasyonlarda 2n kromozom sayısının 57 ile 65 arasında olduğunu bildirmişlerdir. Flajshans ve Rab (1990), Çekoslovakya ve Amerika'dan iki gökkuşluğu alabalığı popülasyonunda yaptıkları çalışmada 2n kromozom sayısının 58 ile 64 arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Colihueque ve diğ. (2001), Şili'de kültürü yapılan beş farklı popülasyonda yaptıkları sitogenetik çalışma ile 2n kromozom sayısını 58 ile 63 olarak bildirmiştir. Ulupınar ve Okumuş (2002), ise Doğu Karadeniz'de üretim yapan 10 işletmeden aldığı örneklerde 2n kromozom sayısını 58 ile 64 arasında olduğunu bildirmiştir.

Kullanılan primerler, PCR işlemi sırasında genomik DNA üzerinde kendilerine tamamlayıcı dizileri bulduklarında, kalıp DNA parçası kopyalanmış ve bant vermiştir. Tamamlayıcı dizi olmadığı zaman ise amplifikasyon gerçekleşmeyerek bant vermemiştir (Bilgen ve diğ., 2002). Bu araştırmada kullanılan bireylere ait kromozom sayısı bilinmemesine rağmen yukarıdaki araştırmacıların bildirdiği sonuçlara göre çalışılan materyalde anöploidi olması muhtemeldir. Bu nedenle primerler bazı bireylerde tamamlayıcı diziyi bulamayarak bant vermediği ve popülasyon içi genetik benzerliğin düşük olduğu düşünülmektedir.

Benzer sonuçlar anöploidi görülen bazı bitki türlerinde rapor edilmiştir. Gugerli ve diğ. (1999), 2n kromozom sayısı 26 ile 52 arasında değişen İsviçre Alpleri'ndeki 10 *Saxifraga oppositifolia* popülasyonunda RAPD analizi yaparak

populasyon içi ve populasyonlar arası genetik varyasyonları belirlemiştir. Araştırmacılar populasyonlarda, populasyon içi genetik varyasyonun ortalama %95 olarak bulunduğunu bildirmişlerdir. Gabrielsen ve Brochmann (1998), kromozom sayısı 24 ile 26 arasında değişen *Saxifraga cernua* populasyonlarında RAPD tekniği kullanarak hesapladığı genetik farklılık değerinin 0.1 ile 0.81 arasında değiştiğini ve ortalama 0.520 olduğunu bildirmiştir. Lanteri ve diğ. (2001), beş enginar (*Spinosa sardo*) populasyonunda yaptığı RAPD analizi sonunda populasyon içi ortalama genetik farklılığın %71 olduğunu bildirmişlerdir.

Populasyonlar arası genetik benzerlik ve farklılıklar ele alındığında ise, en yüksek genetik benzerlik Çameli ve Fethiye populasyonları arasında 0.341 olarak bulunmuştur. Fethiye ile Gölhisar populasyonları arasında 0.248, Çameli ile Gölhisar populasyonları arasında 0.266 olarak bulunmuştur. Fethiye ve Çameli populasyonları arasındaki genetik benzerlik değeri (0.341) Çameli populasyonu içerisinde hesaplanan ortalama genetik benzerlik değerinden (0.311) yüksek olduğu görülmektedir. RAPD-PCR çalışmalarında genelde populasyon içi genetik benzerlik değeri populasyonlar arası genetik benzerlikten daha yüksek olmaktadır. Ancak benzer bir sonuç Cacccone ve diğ. (1997) tarafından bildirilmiştir. Araştırmacılar Akdeniz'in sekiz farklı bölgesinden levrek (*Dicentrarchus labrax*) örnekleyerek populasyon içi ve populasyonlar arası genetik farklılığı RAPD yöntemini kullanarak araştırmışlardır. Araştırma sonuçları Avrupa Levreği'nde populasyon içi genetik varyasyonun populasyonlar arası varyasyondan daha yüksek olduğunu göstermiştir.

Gökkuşluğu alabalıklarında sınırlı sayıda primer kullanılarak yapılan bu çalışma ilerideki çalışmalar için bir temel oluşturacaktır. RAPD analizi yapılan üç farklı gökkuşluğu alabalığı populasyonunda belirlenen genetik benzerlik değerleri umulandan oldukça düşük bulunmuştur. Daha sonraki çalışmalarda daha fazla RAPD primeri kullanarak genetik varyasyonu belirlemede kullanılabilecek en uygun primerler kullanılmalıdır.

Kaynakça

- Allendorf, F. W., F. M. Utter, 1979. Population genetics, p. 407-454. In: W.S. Hoar, D.J. Randal and J.R. Brett (Eds), Fish Physiology, Vol. VIII.. Academic Press, New York. 786p.
- Ardren, W. R., S. Borer, F. Thrower, E. J. Joyce, A. R. Kapuscinski, 1999. Inheritance of 12 microsatellite loci in *Oncorhynchus mykiss*. The American Genetic Association. 90:529-536.
- Bardakci, F., D. O. Skibinski, 1994. Application of the RAPD technique in tilapia fish: species and subspecies identification. Heredity. 73:117-123.
- Bardakci, F., 2000. The use of amplified polymorphic DNA (RAPD) markers in sex discrimination in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (Pisces: Cichlidae). Turkish J. of Biology. 24(2): 168-175.
- Becerril, C., H. Acevado, M. Ferrero, F. Sanz, A. Castano, 2000. DNA fingerprint comparison of rainbow trout and RTG-2 cell line using random amplified polymorphic DNA. Ecotoxicology. 10:115-124.
- Berkman, C. C., 2001. Ras1, RAG1, RAG3' and IGF2 RFLP Analysis of Some Hatchery Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Populations in Turkey. MSc Thesis, Middle East Technical University. 88 p.
- Bielawski, J. P., D. E. Pumo, 1997. Randomly amplified polymorphic DNA RAPD analysis of Atlantic Coast striped bass. Heredity. 78:32-40.
- Bilgen, G., İ. Oğuz, M. Arabacı, S. Akhan, 2002. Determination of genetic

- diversity within and between sea bream (*Sparus aurata* L., 1758) reared in two separate hatcheries by RAPD-PCR method (in Turkish). TUBITAK Project No VHAG 1673. 65p.
- Borowsky, R. L., M. McClelland, R. Cheng, J. Welsh, 1995. Arbitrary primed DNA fingerprinting for phylogenetic reconstruction in vertebrates: the *Xiphophorus* model. Mol. Biol. Evol. 12: 1022-1032.
- Brown, K. H., G. H. Thorgaard, 2002. Mitochondrial and nuclear inheritance in an androgenetic line of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Aquaculture. 204: 323-335.
- Busack, C. A., R. Halliburton, G. A. E. Gall, 1979. Electrophoretic variation and differentiation in four strains of domesticated rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Can. J. Genet. Cytol. 21: 81-94.
- Cacccone, A., G. Allegrucci, C. Fortunato, V. Sbordoni, 1997. Genetic differentiation within the European sea bass *D. labrax* as revealed by 14 RAPD-PCR assays. J. Hered. 88: 316-324.
- Cagias, M. E., E. Vazquez, G. Blanco, J. A. Sanchez, 1999. Combined assessment of genetic variability in populations of brown trout (*Salmo trutta* L.) based on allozymes, microsatellites, and RAPD markers. Mar. Biotechnol. 1: 286-296.
- Canyurt, M. A., 1985. Trout production (in Turkish). E.Ü. Ziraat Fakültesi Haber Bülteni. 43: 4-6.
- Colihueque, N., P. Iturra, F. Estay, N. F. Diaz, 2001. Diploid chromosome number variations and sex chromosome polymorphism in five cultured strains of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture. 198:63-77.
- Dinesh, K. R., W. K. Chan, T. M. Lim, V. P. E. Phon, 1993. RAPD analysis: an efficient method of DNA fingerprinting in fishes. Zool. Sci. 10: 849-854.
- Dunnington, E. A. O. Gal, Y. Plotsky, A. Haberfeld, T. Kirk, A. Golberg, U. Lavi, A. Cahaner, P. B. Siegel, J. Hillel, 1990. DNA fingerprints of chickens selected for high and low weight. Animal Genetics. 21: 221-231.
- Estoup, A., P. Presa, F. Krieg, D. Vaiman, R. Guyomard, 1993. (CT)_n and (GT)_n microsatellites: A new class of genetic markers for *Salmo trutta* L. (*Brown trout*). Heredity. 71: 488-496.
- Ferguson, M. M., R. G. Danzmann, S. K. A. Arndt, 1993. Mitochondrial DNA and allozyme variation in Ontario cultured rainbow trout spawning in different seasons. Aquaculture. 117: 237-259.
- Ferguson, M. M., R. G. Danzmann, 1999. Inter-strain differences in the association between mitochondrial DNA haplotype and growth in cultured Ontario rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture. 178: 245-252.
- Fishback, A. G., R. G. Danzmann, T. Sakamoto, M. M. Ferguson 1998. Optimization of semi-automated microsatellite multiplex polymerase chain reaction systems for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture. 172: 247-254.
- Flajshans, M., P. Rab, 1990. Chromosome study of *Oncorhynchus mykiss* kampoos. Aquaculture. 89: 1-8.
- Gabrielsen, T. M., C. Brochmann, 1998. Sex after all: high levels of diversity detected in arctic clonal plant *Saxifraga cernua* using RAPD markers. Molecular Ecology. 7: 1701-1708.
- Gall, G. A. E., P. A. Crandell, 1990. The rainbow trout. Aquaculture. 100: 1-10.
- Gregg, R. E., O. E. Rhodes, G. Armstrong, 2001. A genetic analysis of the London strain of rainbow trout. Animal Genetics. 32: 210-214.
- Gugerli, F., K. Eichenberger, J. J. Scheller, 1999. Promiscuity in populations of the cushion plant *Saxifraga oppositifolia* in the Swiss Alps as inferred from random amplified polymorphic DNA (RAPD). Molecular Ecology. 8: 453-461.
- Guyomard, R., 1981. Electrophoretic variation in four French population of domesticated rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Can. J. Genet. Cytol. 23: 33-47.
- Hansen, M. M., K. D. Mensberg, G. Rasmussen, V. Simonsen, 1997. Genetic variation within and among Danish brown trout (*Salmo trutta* L.) hatchery strains, assessed by PCR-RFLP analysis of Mitochondrial DNA segments. Aquaculture. 153: 15-29.
- Heath, D. D., S. Pollard, C. Herbingler, 2001. Genetic structure and relationships among steelhead trout (*Oncorhynchus mykiss*) population in British Columbia. Heredity. 86: 618-627.
- Iturra, P., J. F. Medrano., M. Bagley, N. Lam, N. Vergara, J. C. Marin, 1998. Identification of sex chromosome molecular markers using RAPDs and fluorescent in situ hybridization in rainbow trout. Genetica. 101: 209-213.
- Koh, T. L., G. Khoo, Q. L. Fan, V. P. E. Phang, 1999. Genetic diversity among wild forms and cultivated varieties of *Discus* (*Symphysodon spp.*) as

- revealed by amplified polymorphic DNA (RAPD) fingerprinting. *Aquaculture*. 173: 485-497.
- Lanteri, S., I. Di Leo, M. G. Mameli, E. Portis, 2001. RAPD variation within and among populations of globe artichoke cultivar 'Spinoso sardo'. *Plant Breeding*. 120: 243-246.
- Liu, Z. J., P. Li, B. J. Argue, R. A. Dunham, 1999. Random amplified polymorphic DNA markers: usefulness for gene mapping and analysis of genetic variation of catfish. *Aquaculture*. 174: 59-68.
- Miller, M. P., 1997. Tools for population genetic analysis (TFPGA) 1.3: A Windows program for the analysis of allozyme and molecular population genetic data. Computer software distributed by author. Department of Biological Sciences Northern Arizona University Box 5640 Flagstaff, AZ 86011-5640.
- Nei, M., 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*. 89:583-590.
- Nei, M., W. H. Li, 1979. Mathematical modeling for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proceed. of Nat. Acad. Sci.* 76:5269-5273.
- Ostberg, C. O., R. J. Rodriguez, 2002. Novel molecular markers differentiate *Oncorhynchus mykiss* (rainbow trout and steelhead) and the *O. clarki* (cutthroat trout) subspecies. *Molecular Ecology Notes*. 2:197-202.
- Palti, Y., J. E. Persons, G. H. Thorgaard, 1997. Assessment of genetic variability among strains of rainbow and cutthroat using multilocus DNA fingerprints. *Aquaculture*. 149: 47-56.
- Partis, L., R. J. Wells, 1996. Identification of fish species using random amplified polymorphic DNA RAPD. *Mol. Cell. Probes*. 10: 435-441.
- Postlethwait, J. H., S. L. Johnson, C. N. Midson, W. S. Talbot, M. Gates, E. W. Ballinger, D. Africa, R. Andrews, T. Carl, J. S. Eisen, 1994. A genetic linkage map for the zebrafish. *Science*. 264: 699-703.
- Sultmann, H., W. E. Mayer, F. Figueroa, H. Tichy, J. Klein, 1995. Phylogenetic analysis of cichlid fishes using nuclear DNA markers. *Mol. Biol. Evol.* 12: 1033-1047.
- Ulupınar, M., İ. Okumuş, 2002. Detection of chromosomal polymorphisms in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) cultured in commercial farms in northeast Black Sea region of Turkey (in Turkish). *Turk. J. Vet. Anim. Sci.*, 26: 525-533.
- Welsh, J., M. McClelland, 1990. Fingerprinting genomes using arbitrary primers. *Nucl. Acids Res.* 18, 7213-7218.
- Yıldırım, A., N. Kandemir, 2001. Genetic markers and methods (in Turkish), 334-363. *In: S. Özcan, E. Gürel ve M. Babaoğlu (Derl.) Bitki Biyoteknolojisi, Selçuk Üniversitesi Vakfı Yayınları, Konya, 456s.*
- Young, W. P., P. A. Wheeler, V. H. Coryel, P. Keim, G. H. Thorgaard, 1998. A detailed linkage map of rainbow trout produced using double haploids. *Genetics*. 148:839-850.
- Young, W. P., C. O. Ostberg, P. Keim, G. H. Thorgaard, 2001. Genetic characterization of hybridization and introgression between anadromous rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss irideus*) and coastal cutthroat trout (*O. clarki clarki*). *Molecular Ecology*. 10:921-930.