

Türkiye Sularındaki Avrupa İstiridyesi (*Ostrea edulis* L., 1758)'nin İki Ayrı Populasyonuna Ait Genetik Varyasyon

*Emel Ö. Gökçek¹, Atilla G. Albaz¹, Güldehen Bilgen², Bilge Karahan¹

¹Ege Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Yetiştiricilik Bölümü, 35100 Bornova, İzmir, Türkiye

²Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootekni Bölümü, Biyometri Genetik Anabilim Dalı, 35100 Bornova, İzmir, Türkiye

*E mail: emel.ozcan.gokcek@ege.edu.tr

Abstract: Genetic Variation of Two European Oyster (*Ostrea edulis* L., 1758) Populations in Turkish Seas. In this study, genetic variation of oyster populations in Çanakkale Strait and Gulf of İzmir was aimed to determine with starch gel electrophoresis. Genetic similarities between oyster populations from these two regions were examined by evaluating the expression of using Pgm, Mdh, Est and General Protein (Prot) loci. Separation of enzymes types in considered populations; Est was monomorphic; Mdh, Pgm and Prot were polymorphic. In addition, two loci were determined for Pgm enzyme system (Pgm-1 and Pgm-2). For both oyster populations; heterozygosity for Mdh, Pgm-1, Pgm-2 and Prot were found respectively 0.20, 0.58, 0.32 and 0.55. In the study, genetic similarity values between İzmir and Çanakkale populations by Mdh, Pgm-1, Pgm-2 and Prot loci were respectively 1.000, 0.999, 0.996 and 0.888. These results show that both populations are genetically close to each others.

Key Words: *Ostrea edulis*, allozyme, protein, genetic variation, electrophoresis.

Özet: Bu çalışmada, Çanakkale Boğazı ve İzmir Körfezinde bulunan istiridye populasyonlarında genetik varyasyonun belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla nişasta jel elektroforezinden yararlanılmıştır. Her iki bölgeye ait istiridye populasyonları arasında Est, Mdh, Pgm ve Genel Protein (Prot) lokuslarındaki genetik benzerlik ve farklılıkların araştırılmıştır. İncelenen iki populasyonda da Mdh, Pgm ve Prot lokusları polimorfik, Est allozim lokusu ise monomorfik bulunmuştur. Ayrıca Pgm allozim sisteminde 2 lokus belirlenmiştir (Pgm-1 ve Pgm-2). İncelenen istiridye populasyonlarına ait heterozigotluk değerleri; Mdh, Pgm-1 Pgm-2 ve Prot için sırasıyla, 0.20, 0.58, 0.32 ve 0.55 bulunmuştur. Çalışmada İzmir ve Çanakkale istiridye populasyonları arasındaki genetik benzerlik değerleri Mdh, Pgm-1, Pgm-2 ve Prot lokusları için sırasıyla 1.000, 0.999, 0.996 ve 0.888 olarak bulunmuştur. Bu sonuçlara göre her iki populasyonun genetik olarak birbirine yakın olduğu gözlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Ostrea edulis*, allozim, protein, genetik çeşitlilik, elektroforez.

Giriş

Avrupa istiridyesi (*Ostrea edulis*) Norveç'ten Fas'a kadar ve bütün Akdeniz boyunca, ayrıca Karadeniz'e kadar dağılım göstermektedir. Türkiye sularında yaygın olarak bulunan Avrupa istiridyesi yüksek üretim kapasitesine sahiptir. 2008 verilerine göre Türkiye'de avcılık yoluyla elde edilen üretim miktarı 13 ton'dur (Tuik, 2009). Akuakültürde ele alınan türlerin ekonomik özelliklerinin iyileştirilmesiyle üretimi arttırmaya yönelik pek çok ıslah çalışması yapılmaktadır. *Ostrea edulis* için 1985'ten beri Fransa'daki Ifremer Araştırma Enstitüsünde (Naciri-Graven ve diğ. 1998) ve İrlanda'da (Culloty ve diğ. 2004) başta *bonamiosis*'e karşı dayanıklılığın artırılması olmak üzere büyüme, yaşam oranı ve diğer hastalıklara dayanıklılığın artırılmasıyla ilgili ıslah programları yürütülmektedir (da Silva ve diğ. 2005). Dünyada yetiştiriciliği en çok yapılan türlerden biri olan Pasifik istiridyesi (*Crassostrea gigas*) için de üretim kalitesini ve verimi arttırmaya yönelik MBP (Molluscan Broodstock Program) ve ABC İstiridye Islah Programı gibi pek çok selektif çalışma yapılmaktadır. Avrupa istiridyesi (*Ostrea edulis*) OSPAR'da (Convention for the Protection of the Marine Environment of the North-East Atlantic) ve İngiltere Biyoçeşitlilik

Aksiyon Planında korumaya alınmış ve bu tür için yeniden yapılandırma çalışmalarına başlanmıştır (Laing ve diğ. 2005). Avrupa istiridyesi populasyonlarının yeniden yapılandırma çalışmalarında genetik belirteç (marker)'lerden yararlanılmaktadır (Lallias ve diğ. 2010).

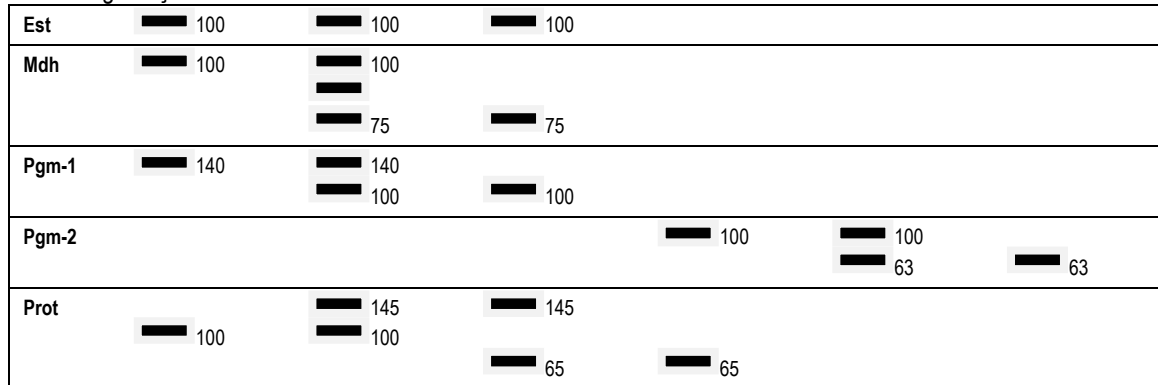
Populasyon genetiği çalışmalarında, moleküler belirteçlerin yardımıyla doğal ve kültür populasyonlarının genetik parametreleri kolayca ve hızlı bir şekilde yorumlanabilmektedir. Allozimlerin yanında RAPD, AFLP, RFLP, mikrosatelit ve SNP gibi DNA markerleri; taksonomik çalışmalar, populasyon genetiği ve seleksiyon çalışmalarında yaygın biçimde kullanılan genetik belirteçlerdir. Gen ve gen bölgesine ait ürünlerin moleküler yapısı araştırılarak; populasyon, tür ve birey bazında genetik varyasyonlar incelenmektedir. Her bir allozim, özgün bir allelin farklı amino asit dizilimine sahip ürünüdür (Bader, 1998). Protein ve allozim varyasyonlarının, genotipik çeşitliliğin belirteçleri olarak düşünüldüğünde, bu bilgi canlı populasyonlarının genotiplerini ortaya koymak için kullanılabilir (Cooke, 1986). Enzim belirteçleri; populasyonların genetik yapısının anlaşılması, balık türlerinin doğru tanımlanması ve selektif ıslah programları için oldukça ayrıntılı bilgi sağlamaktadır (Silva ve diğ. 2008).

Enzimlerin elektroforetik analizinde genellikle nişasta jel tercih edilmektedir (Saavedra ve Guerra. 1995, English ve diğ. 2000, Silva ve diğ. 2008). Enzim elektroforezi, nispeten ucuz ve komplike olmayan ekipmanlarla çalışılabilmesi ve kısa sürede genoma ait çok sayıda lokusun tanımlanabilmesi sayesinde, populasyonlar arasındaki coğrafik varyasyonun belirlenebilmesi nedeniyle yaygın olarak kullanılmaktadır (Skibinski ve diğ. 1983 ve Pasdar ve diğ. 1984).

Saavedra ve diğ. (1993) yaptıkları çalışmada Avrupa kıtasının Atlantik ve Akdeniz kıyılarından toplanan 11 adet *Ostrea edulis* populasyonunda 22 allozim lokusuna ait genetik varyasyonu incelemişlerdir. Hu ve diğ. (1992) farklı türdeki istiridyelerin (*Ostrea edulis*, *Crassostrea gigas* ve *Crassostrea virginica*) meroplanktonik aşamada, taksonomik ve genetik açıdan ayrılmasında allozim analizlerinden yararlanmışlardır. Saavedra ve Guerra. (1995) bivalvia populasyonlarında multilokus heterozigotluğuyla büyüme oranı arasında pozitif korelasyon olduğunu allozim markerlerini kullanarak tahmin etmişlerdir.

Akuakültürde üretim doğal anaç populasyonlarına dayalı yapılmaktadır. İslah ve verimin artırılmasıyla ilgili yapılacak olan ekonomik iyileştirme çalışmalarında eldeki populasyonların genetik açıdan iyi tanımlanması gerekmektedir. Bu sayede ele alınan populasyondaki çeşitlilik belirlenerek, doğal populasyonlardaki genetik yapının takibi sağlanabilmekte ve aynı zamanda ticari üretimin daha etkin bir biçimde yapılmasını sağlayacak çeşitli ıslah programlarının yürütülmesinde kullanılabilir. Akuakültürde iyi organize edilmeyen ıslah programlarından elde edilen hatlarda, belli bir süre sonra gen havuzundaki bazı allellerin kaybı sonucu genetik çeşitliliğin azalması ve akrabalı yetiştiricilik depresyonunun ortaya çıkması ihtimallerinden dolayı yetiştiricilik populasyonlarında genetik çeşitliliğin nesiller boyu kontrol altında tutulması gerekmektedir. Bu da ancak genetik belirteçler yardımıyla gerçekleştirilebilir.

Bu çalışmada iki farklı bölgeye ait istiridye populasyonlarının genetik varyasyonu üç allozim (Est, Mdh ve Pgm) ve bir protein (Prot) lokusu bakımından incelenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre her iki bölgedeki populasyon içi ve populasyonlar arası genetik farklılıkların tahmin edilerek ele alınan populasyonların genetik çeşitliliğin belirlenmesi ve sonuçların ıslah çalışmalarında kullanımı amaçlanmıştır. Bu araştırma, Türkiye'de yapılacak herhangi bir istiridye üretim ve ıslah çalışmasında anaç populasyonu oluşturulurken başvurulabilecek kaynaklardan biri olma niteliğini taşımaktadır.



Şekil 1: Allozimlere ait zymogramlar

Materyal ve Yöntem

Çalışmada kullanılan istiridyelerin birinci grubu İzmir Körfezi; Sahilevleri (38°24'662" N, 26°59'629" E), ikinci grup ise Çanakkale Boğazı'ndaki Kepez Limanı (40°05'304" N, 26°22'205" E) mevkilerinden toplanmıştır. Her bir istasyondan 20'şer adet olmak üzere ortalama 6-7.5 cm boyda toplam 40 adet birey örneklenmiştir. Allozim ve protein analizleri için istiridyeler canlıyken, kabukları açılmış ve açma kapama (addüktör) kasından alınan doku örnekleri -20°C'de muhafaza edilmiştir.

Doku örneklerinin ekstraksiyonu Gosling'e (1982) göre yapılmıştır: Ekstraksiyon tampon çözeltisi olarak 50 mM Tris-HCl (pH:7.8) kullanılmıştır. Yaklaşık olarak 0.05 gr'lık doku örnekleri üzerine (1:1 ağırlık/hacim) 0.05 ml tampon çözelti eklendikten sonra cam çubuk ve homojenizatör yardımıyla ezilerek parçalanmıştır. Analizler yatay nişasta (% 12'lik) jel elektroforeziyle gerçekleştirilmiştir. Çalışmada iki farklı jel tampon sistemi kullanılmıştır (Gosling, 1982). Mdh ve Pgm için 100 mM Tris, 100 mM Maleik asit, 9 mM EDTA, 10 mM MgCl₂·6H₂O ve 125 mM NaOH pH: 7.4 (T1) ile hazırlanan jel tamponu 1:10 oranında sulandırılarak elektrot tampon olarak kullanılmıştır (Tablo 1). Elektroforez işlemi için 6.5 Vcm⁻¹ sabit akım kullanılmıştır. Est ve Prot için jel tamponu olarak 15.8 mM Tris, 11 mM LiOH, 5 mM Sitrik asit ve 42 mM Borik asit pH=8 (T2), elektrot tamponu olarak 300 mM Borik asit ve 60 mM LiOH pH= 8.1 kullanılmıştır. Elektroforez işlemi 11 Vcm⁻¹ sabit akım uygulanarak (+4°C) gerçekleştirilmiştir (Tablo 1).

Tablo 1: Çalışmada incelenen protein ve enzimler ile kullanılan elektroforez şartları

Lokus	Lokus	EC Numarası	Tampon	Süre (dak)
Esteraz	EST	3.1.1.1	T2	300
Malatdehidrogenaz	MDH	1.1.1.37	T1	840
Fosfoglukomutaz	PGM	5.4.2.2	T1	840
Genel Protein	PROT	-	T2	300

Proteinler "Coomassie brilliant blue" (Temizkan ve Arda, 1999) ile allozimler ise Vallejos'a (1983) göre boyanmıştır. Bantlar, ayırma jelinin başlangıcından itibaren yaptıkları göç mesafesi ölçülerek değerlendirilmiştir. En yaygın bant 100 olarak isimlendirilmiştir (Şekil 1).

Araştırmada ele alınan Est, Pgm, Mdh ve Prot lokuslarına ait gen frekansları, gen sayma yöntemiyle hesaplanmıştır (Nei, 1987). Populasyonlara ait heterozigotluğun (*H*) hesaplanmasında Nei'den (1987) yararlanılmıştır. Populasyonlarda, gen bölgelerinin Hardy-Weinberg kuralına uyumu χ^2 uyum testi ile ve Fenotip/Genotip dağılımlarının populasyonlara bağımlılığı χ^2 bağımsızlık testi ile kontrol edilmiştir. Populasyonlar arasındaki genetik benzerlik değerleri (*I*) Nei'ye (1972) göre hesaplanmıştır.

Bulgular

Türkiye sularında iki bölgeden toplanan istiridye örneklerinde Est (EC 3.1.1.1), Mdh (EC 1.1.1.37), Pgm (EC 5.4.2.2) ve Prot sisteminin elektroforetik analizinden elde edilen zymogram Şekil 1'de verilmiştir. İncelenen lokuslara ait allel frekansları, heterozigotluk değerleri ve iki populasyon arasındaki genetik benzerlik değerleri hesaplanmıştır. Est allozim lokusu monomorfik, Prot, Mdh, Pgm-1 ve Pgm-2 allozim lokuslarının ise polimorfik olduğu gözlenmiştir. Allel frekansları, Fenotip/Genotip'e ait veriler ve heterozigotluk değerleri Tablo 2'de verilmiştir.

Bu çalışmada populasyonlara ait genetik çeşitliliğin en önemli göstergelerinden biri olan heterozigotluk (*H*) değerlerinin, incelenen genetik sistemlerde 0.10 ile 0.65 arasında değiştiği gözlemlenmiştir (Tablo 2 ve Tablo 3).

İzmir ve Çanakkale populasyonları arasındaki genetik benzerlik değerleri (*I*) hesaplanmıştır. İki populasyon arasında en yüksek oranda benzerlik, Mdh lokusunda (*I*= 1.000) en düşük oranda benzerlik Prot lokusunda (*I*= 0.888) gözlenmiştir.

Elektroforetik analiz ve boyama işlemi sonucunda Est alloziminin elektroforezinde orijinden itibaren aynı bölgede tek tip bant sistemi görülmüştür. İki farklı istasyondan örneklenen istiridye bireylerinin tümünün homozigot genotipe sahip olduğu gözlenmiş ve Est allozimine ait bir tek Est¹⁰⁰ alleli saptanmıştır (Şekil 1).

Çalışmada Mdh allozimi için iki allel saptanmıştır (Mdh⁷⁵ ve Mdh¹⁰⁰). Dimerik yapıdaki Mdh için; homozigot bireyler tek bantlı, heterozigot bireyler ise 3 bantlı desen göstermişlerdir (Şekil 1). İzmir ve Çanakkale populasyonları için χ^2 değerleri sırasıyla 7.389 ($p<0.05$) ve 0.623 ($p>0.05$) olarak bulunmuştur. Buna göre χ^2 uyum testi ile Mdh lokusu bakımından İzmir bölgesine ait istiridye populasyonu Hardy-Weinberg kuralına

uyum göstermezken, Çanakkale populasyonu uyum göstermiştir. Genetik varyasyonun bir ölçütü olan heterozigotluk değeri İzmir ve Çanakkale için sırasıyla 0.10 ve 0.30 bulunmuştur. Bu verilerden Mdh allozim lokusunun Çanakkale populasyonundaki heterozigotluk değerinin, İzmir populasyonundan daha yüksek olduğu gözlenmiştir (Tablo 2). Fenotip/Genotip dağılımlarının populasyonlara bağımlılığı χ^2 bağımsızlık testi ile araştırılmıştır. Mdh lokusu bakımından Fenotip/Genotip dağılımları toplam istiridye populasyonuna bağımsızlık göstermiştir ($\chi^2= 4.133$, $p>0.05$). Mdh allozim sistemi için İzmir ve Çanakkale populasyonları arasındaki genetik benzerlik değeri (*I*) 1.000 bulunmuştur.

Elektroforetik analiz sonucu Pgm için iki adet lokus belirlenmiştir. Lokuslar Pgm-1 ve Pgm-2 olarak isimlendirilmiştir. Homozigot bireyler tekli bant sistemi, heterozigot bireyler ikili bant sistemi göstermiştir (Şekil 1). Pgm-1 lokusunda polimorfizm gözlemlenmiş ve iki adet allel saptanmıştır (Pgm-1¹⁰⁰ ve Pgm-1¹⁴⁰). İzmir ve Çanakkale populasyonlarında Pgm-1 lokusu için χ^2 değerleri sırasıyla 2.755 ve 2.459 ($p>0.05$) bulunmuştur. Her iki populasyonda Pgm-1 lokusu bakımından Hardy-Weinberg kuralına uyum göstermiştir. Pgm-1 lokusu için yapılan elektroforez çalışmasında; heterozigotluk değerleri İzmir ve Çanakkale populasyonları için sırasıyla 0.60 ve 0.56 bulunmuştur. Pgm-1 lokusu bakımından Fenotip/Genotip dağılımları toplam istiridye populasyonuna bağımsızlık göstermiştir ($\chi^2= 0.045$, $p>0.05$). İki populasyon arasındaki genetik benzerlik değeri (*I*) 0.999 bulunmuştur. Pgm-2 için de iki allel (Pgm-2¹⁰⁰ ve Pgm-2⁶³) saptanmıştır (Şekil 1). Pgm-2 lokusu bakımından İzmir ve Çanakkale populasyonlarına ait χ^2 değerleri sırasıyla 0.163 ve 0.739 olarak bulunmuştur ($p>0.05$). İncelenen allozim lokusu bakımından populasyonların Hardy-Weinberg kuralına uyduğu gözlenmiştir. Heterozigotluk değerleri İzmir ve Çanakkale populasyonları için sırasıyla 0.25 ve 0.39 bulunmuştur. Pgm-1 lokusu bakımından Fenotip/Genotip dağılımları toplam istiridye populasyonuna bağımsızlık göstermiştir ($\chi^2= 0.405$, $p>0.05$). İki populasyon arasındaki genetik benzerlik değeri (*I*) 0.996 bulunmuştur.

Tablo 2: Allozimlere ait gen, genotip frekansları ve heterozigotluk (*H*) değerleri

Bölge	Fenotip/Genotip Lokus				Allel Frekanslar				<i>H</i>
	Göz. Mdh	Bek.	Göz. Mdh	Bek.	Göz. Mdh	Bek.	75	100	
İzmir	2	0.45	2	5.10	16	14.45	0.15±0.06	0.85±0.06	0.10
Çanakkale	-	0.45	6	5.10	14	14.45	0.15±0.06	0.85±0.06	0.30
N (40) ^a $\chi^2= 7.389$ ($p<0.05$) ^b $\chi^2= 0.623$ ($p>0.05$)									
	Pgm-1		Pgm-1		Pgm-1		100	140	
	100/100		100/140		140/140				
İzmir	6	7.35	9	6.30	-	1.35	0.70±0.08	0.30±0.08	0.60
Çanakkale	7	8.29	9	6.45	-	1.25	0.72±0.08	0.28±0.08	0.56
N (31) ^a $\chi^2= 2.755$ ($p>0.05$) ^b $\chi^2= 2.459$ ($p>0.05$)									
	Pgm-2		Pgm-2		Pgm-2		63	100	
	63/63		63/100		100/100				
İzmir	-	0.13	2	1.75	6	6.13	0.12±0.08	0.88±0.08	0.25
Çanakkale	-	0.48	5	4.03	8	8.49	0.19±0.08	0.81±0.08	0.39
N (21) ^a $\chi^2= 0.163$ ($p>0.05$) ^b $\chi^2= 0.739$ ($p>0.05$)									

^a İzmir populasyonu, ^b Çanakkale populasyonu (Her iki populasyona ait heterozigotluk değerleri Mdh, Pgm-1 ve Pgm-2 için sırasıyla 0.20, 0.58 ve 0.32 bulunmuştur)

Çalışma sonucu Prot lokusunda 3 adet allel (Prot⁶⁵, Prot¹⁰⁰ ve Prot¹⁴⁵) saptanmıştır (Şekil 1). Monomerik yapıda olan Prot lokusunun elektroforetik analizi sonucunda 3 allel tarafından belirlenen 6 genotipten 4'ü (Prot 100/100, Prot 65/100, Prot 100/145 ve Prot 65/145) gözlenmiştir. Genel Protein lokusunda χ^2 değerleri, İzmir ve Çanakkale populasyonları için sırasıyla, 6.029 ($p>0,05$) ve 1.686 ($p>0,05$) olarak bulunmuştur. Prot lokusunun her iki populasyonda da Hardy_Weinberg kuralına uyum gösterdiği gözlemlenmiştir. Heterozigotluk değerleri ise İzmir ve Çanakkale populasyonları için sırasıyla 0.65 ve 0.45 olarak bulunmuştur (Tablo 3). Prot lokusu bakımından Fenotip/Genotip dağılımları toplam istiridye populasyonuna bağımsızlık göstermediği belirlendi ($\chi^2=19,164$, $p<0,05$). Prot lokusu açısından iki populasyon arasındaki genetik benzerlik değeri (I) 0.888 bulunmuştur.

Tablo 3: Prot'a ait gen, genotip frekansları ve heterozigotluk (H) değerleri

Fenotip/Genotip		Bölge	
		İzmir	Çanakkale
Gözlenen	Prot	7	11
Beklenen	100/100	8.45	12.01
Gözlenen	Prot	-	8
Beklenen	65/100	0.65	6.2
Gözlenen	Prot	12	1
Beklenen	100/145	8.45	0.78
Gözlenen	Prot	1	-
Beklenen	65/145	0.325	0.20
Allel	65	0.025±0.02	0.200±0.06
Frekanslar	100	0.650±0.08	0.775±0.07
	145	0.325±0.07	0.025±0.02
H		0.65	0.45

İzmir populasyonu için; $\chi^2=5,914$ ($p>0,05$), Çanakkale populasyonu için; $\chi^2=1,686$ ($p>0,05$) (Her iki populasyona ait heterozigotluk değeri 0.55 bulunmuştur)

Tartışma ve Sonuç

Çalışmada üç allozim ve bir protein lokusu yardımıyla İzmir ve Çanakkale'ye ait istiridye populasyonlarının genetik yapısı incelenmiştir. İki allozim ve bir protein lokusu polimorfik bulunurken bir allozimin monomorfik olduğu görülmüştür. Her iki populasyona ait heterozigotluk (H) değerleri; Mdh, Pgm-1, Pgm-2 ve Prot için sırasıyla 0.20, 0.58, 0.32 ve 0.55 bulunmuştur. Bu sonuçlara göre Pgm-1 ve Prot için her iki populasyonda heterozigotluk değerlerinin daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Saavedra ve diğ. (1993) Avrupa istiridyesinde yaptıkları çalışmada İzmir ve Marmara Denizine ait populasyonlarda H değerlerini sırasıyla 0.477 ve 0.601 bulmuşlar ve bu türe ait allozim varyasyonunun diğer bivalvia türlerinden daha düşük çıktığını bildirmişlerdir. Avrupa İstiridyesi'nin döllenmeyi, diğer istiridye türlerinde olduğu gibi dış ortamda değil de, dişi bireyin pallial boşluğunda gerçekleştirmesi, daha az yumurta üretmesi (Saavedra ve diğ. 1993) ve üreme döneminde bir dişi bireyin, üç erkek bireyle çiftleşme oranına sahip olması genetik çeşitliliği etkilemektedir (Lapegue ve diğ. 2008). Bu durum populasyonların genetik varyasyonunun derecesini de etkilemektedir. English ve diğ. (2000) yaptıkları çalışmada Avustralya ve Japonya'ya ait Pasifik istiridyesi populasyonlarına ait enzim lokuslarının çoğunun polimorfik ve ortalama heterozigotluğun ($H=0.29$) yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmaya göre ele alınan

istiridye populasyonlarının heterozigotluk değerlerinin çok düşük bulunmamasına rağmen Türkiye'de bu tür için yapılacak olan seleksiyon çalışmalarında genetik çeşitliliğin korunması ve akrabalı yetiştiricilik depresyonundan etkilenmemek amacıyla anaç populasyonlarının mümkün olduğunca farklı bölgelerden toplanması yararlı olacaktır.

Enzim lokuslarının populasyonların genetik analizlerinde kullanılabilmesi için polimorfik yapı göstermeleri gerekmektedir. Bu çalışmada Est için tek lokus gözlenirken, polimorfizm saptanmamıştır. Saavedra ve diğ. (1993) İzmir ve Marmara istiridye populasyonları üzerine yaptıkları çalışmada Est allozimi için 5 adet lokus belirlemişler; 3 adet lokusta polimorfizm tespit etmişlerdir. Hu ve diğ. (1992) farklı istiridye türlerinin meroplantonik aşamada ayrımlanmasında ve ergin pasifik istiridyesi (*Crassostrea gigas*) bireylerinde (English ve diğ. 2000) Mdh lokusunun diagnostik olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada Mdh allozim lokusunun polimorfik bulunmasıyla, Türkiye'de bu tür için yapılacak olan benzer çalışmalara referans olacağı düşünülmektedir.

Yapılan analiz sonucu ele alınan lokuslar genellikle Hardy-Weinberg kuralına uyum gösterirken, sadece Mdh lokusu İzmir bölgesinde Hardy-Weinberg kuralına uyum göstermemiştir. Bu durumun genetik kayma (Drift)'dan kaynaklandığı söylenebilir. Akuatik organizmalarda yüksek miktarda olan fekondite, üreme kapasitesindeki genetik varyasyonu artırırken (Hedgcock, 1994), efektif populasyon (N_e) büyüklüğünü de olumsuz olarak etkileyebilmekte (Launey ve diğ. 2002) ve genetik kaymaya sebep olabilmektedir. Genetik kayma, allel frekanslarının değişmesine neden olan evrimsel bir faktördür ve bu sayede populasyon yapılarının değişmesinde gen akışıyla birlikte önemli bir rol oynar (Rios ve diğ. 2002). Ayrıca bu durum doğal ve kültür populasyonlarında da nesiller arasında genetik kaymanın oldukça kolay bir biçimde ortaya çıkabildiğine bir ipucu olarak kabul edilebilir.

Fenotip/Genotip dağılımlarının χ^2 bağımsızlık testi ile analizi sonucunda Prot lokusu için fenotipik dağılımların, populasyonlara bağımlılık gösterdiği saptanmıştır ($\chi^2=19,164$, $p<0,05$). Prot lokusunda bazı fenotiplerin gözlenmemesinin ve örnek sayısı azlığının bu durumu etkilediği söylenebilir. Prot lokusu bakımından gözlenen yüksek heterozigotluk değerlerinin ve iki populasyon arasındaki genetik benzerlik değerinin ($I=0.888$) çok yüksek bulunmamasının bu durumu desteklediği söylenebilir.

Mdh, Pgm-1 ve Pgm-2 lokusları açısından İzmir ve Çanakkale populasyonları arasında çok yüksek genetik benzerlik değerlerinin bulunması, söz konusu lokuslar açısından populasyonların genetik olarak birbirine yakın olduğunu göstergesidir. İki bölgenin coğrafik olarak sınırlandırılmamış olması populasyonlar arası genetik yakınlığı etkilemektedir. Denizel ortamların coğrafik sınırlarının karasal ortamlar gibi olmaması, populasyon büyüklükleri ve denizel canlıların larval safhadaki pelajik yayılımı, populasyonların coğrafik farklılıklarının miktarını azaltmaktadır (Launey ve diğ. 2002). Saavedra ve diğ. (1993) inceledikleri Avrupa istiridyesi populasyonları arasındaki genetik farklılığın düşük bulunduğunu ve diğer yerel kabuklu populasyonlarına benzemekte olduğunu

belirtmişlerdir. Bu çalışmada elde edilen sonuçlara göre Türkiye'deki iki istiridyeye populasyonunun genetik olarak birbirine yakın bulunması daha farklı bölgelerden örnekleme yapılarak test edilmesini gerektirmektedir. Genetik açıdan farklı populasyonlardan oluşturulan başlangıç anaç populasyonları yetiştiricilik ve ıslah açısından daha avantajlıdır. Bu şekilde istiridyeye için kültür ve verimi artırma çalışmalarına başlarken ve devam ederken, çalışmanın daha uzun vadeli yürütülebilmesi için gerekli önlemler alınabilecektir.

Nişasta elektroforezi çok ucuz olması ve bir kerede pek çok genetik sistemin incelenebilmesi açısından oldukça ekonomik bir metottür. Son dönemlerde DNA markerlerinin genom analizleri için kullanımı oldukça yaygınlaşmıştır. Mikrosatellitler, çok polimorfik ve türe özgü lokuslardır (Karahan, 2009) ve enzimlere göre daha hassas sonuçlar vermektedirler. Avrupa istiridyesi üzerine yapılan allozim çalışmalarıyla (Saavedra ve diğ. 1993, Saavedra ve Guerra, 1995) aynı türe ait mikrosatelit çalışmaları (Launey ve diğ. 2002 ve Diaz-Almela ve diğ. 2004) kıyaslanmış ve aralarında paralellik gözlemlenmiştir. Son yıllarda istiridyeye üretiminde karşılaşılan

hastalık vb. sorunların çözümlenmesinde ve büyüme oranının artırılmasında marker destekli seleksiyon (MAS) programları yaygınlaşmıştır. Lallias ve diğ. (2009) *bonamiosis*'e dayanıklılıkla ait QTL (Kantitatif Özellik Lokusu)'lerin belirlenmesinde mikrosatelit ve AFLP (Çoğaltılmış Parça Uzunluk Polimorfizmi) markerlerinden yararlanmışlardır. Bu çalışmada Türkiye sularından örneklenen iki istiridyeye populasyonuna ait genetik varyasyon ortaya konmuştur. Ele alınan genetik markerlar açısından her iki populasyon birbirine oldukça yakın bulunmuştur. Bu iki populasyon arasındaki farklılığın daha ayrıntılı bir şekilde ortaya konabilmesi için DNA markerlarından yararlanılmasının faydalı olacağı düşünülmektedir.

Teşekkür

Bu çalışmanın bir bölümü Ege Üniversitesi Araştırma Fon Saymanlığı 2001/SUF/007 numaralı proje tarafından desteklenmiştir.

Kaynakça

- Bader, J.M., 1998. Measuring Genetic Variability in Natural Populations by Allozyme, Tested studies for laboratory teaching, Volume 19. Proceedings of the 19th Workshop/Conference of the Association for Biology Laboratory Education, p:25-42.
- Cooke, R. J., 1986. Gel Elektroforezis: A Role in Agriculture, electrophoresis 86 proceeding of the fifth meeting of the international electrophoresis society, Ed: Dunn M.J., UCH, Publ., Weinheim, 217 p.
- Culloty SC, Cronin MA, Mulcahy MF (2004) Potential resistance of a number of populations of the oyster *Ostrea edulis* to the parasite *Bonamia ostreae*. *Aquaculture* 237:41-58.
- da Silva PM, Fuentes J, Villalba A., 2005. Growth, mortality and disease susceptibility of oyster *Ostrea edulis* families obtained from brood stocks of different geographical origins, through on-growing in the Ria de Arousa (Galicia, NW Spain). *Mar Biol* 147:965-977.
- Diaz-Almela, E., Boudry, P., Launey S., Bonhomme, F., and Lape, S., 2004. Reduced Female Gene Flow in the European Flat Oyster (*Ostrea edulis*). *J Heredity* 95: 510-516.
- English, L.J., Nell, J.A., Maguire G.B. and Ward, R.D., 2000. Allozyme Variation in three Generations of selection for Whole Weight in Sydney rock Oysters (*Saccostrea glomerata*). *Aquaculture* 193: 213-225.
- Gosling, E.M., 1982. Genetic Variability in Hatchery-Produced Pacific Oysters (*Crassostrea gigas* Thunberg). *Aquaculture* 26: 273-287.
- Hedgecock D., 1994. Does variance in reproductive success limit effective population sizes of marine organisms? In: Genetics and evolution of aquatic organisms (Beaumont AR, ed). London: Chapman & Hall; 122-134.
- Hu Ya-Ping, Lutz R. A., and Vrijenhoek R. C., 1992. Electrophoretic Identification and Genetic Analysis of Bivalvia Larvae. *Mar. Biol.*, 113, 227-230.
- Karahan, B., 2009. Doğal Levrek (*Dicentrarchus Labrax*) Anaçlarında Mikrosatelit Polimorfizmi. *JFAS* 26-2: 101-104.
- Laing I, Walker P, Areal F., 2005. A feasibility study of the native oyster (*Ostrea edulis*) stock regeneration in the United Kingdom (CARD Project Report FC1016). Available via http://www.defra.gov.uk/science/project_data/DocumentLibrary/FC1016/FC1016_2543_FRP.pdf
- Lallias, D., Gomez-Raya, L., Haley, C.S., Arzul, I., Heurtebise, S., Beaumont, A.R., Boudry, P., Lapègue, S., 2009. Combining Two-Stage Testing and Interval Mapping Strategies to Detect QTL for Resistance to Bonamiosis in the European Flat Oyster *Ostrea edulis*. *Mar Biotechnol* 11:570-584
- Lallias, D., Boudry, P., Lapegue, S., King, W.J., Beaumont, R. A., 2010. Strategies for the retention of high genetic variability in European flat oyster (*Ostrea edulis*) restoration programmes. *Conserv Genet* 11: 1899-1910.
- Lapegue, P., Boudry and Gouletquer, 2008. Genimpact final scientific report, <http://genimpact.imr.no>
- Launey, S., Ledu, C., Boudry, P., Bonhomme, F., and Naciri-Graven, Y., 2002. Geographic Structure in the European Flat Oyster (*Ostrea edulis* L.) as Revealed by Microsatellite Polymorphism, *Am Genetic Assoc* 93:331-338.
- Naciri-Graven Y, Martin A-G, Baud J-P, Renault T, Gerard A., 1998. Selecting the flat oyster *Ostrea edulis* (L.) for survival when infected with the parasite *Bonamia ostreae*. *J Exp Mar Biol Ecol* 224:91-107.
- Nei, M. 1972. Genetic Distance Between Populations. *J Stor* 106: 283-292.
- Nei, M., 1987. *Mol Evol Genetics*, Columbia University Press, New York, 495 p.
- Pasdar, M., Philip, D.P., and Whitt, G.S., 1984. Linkage Relationships of Nine Enzyme Loci in Sunfishes. *Genetics*, 107: 435-446.
- Rios C., Sanz S., Saavedra C., Pena J.B., 2002. Allozyme variation in populations of scallops, *Pecten jacobaeus* (L.) and *P. maximus* (L.) (Bivalvia: Pectinidae), across the Almería-Oran front, *Journal of Experimental Mar Biol and Ecol* 267: 223-244.
- Saavedra, C., and Guerra A., 1995. Allozyme Heterozygosity, Founder Effect and Fitness Traits in a Cultivated Population of the European Oyster, *Ostrea edulis*. *Aquaculture*, 139: 203-224.
- Saavedra, C., Zapata, C., Guerra, A., Alvarez, G., 1993. Allozyme variation of European populations of the Oyster *Ostrea edulis*. *Mar Biol* 115: 85-95.
- Silva, C.A., Lima, R.C.A. and Teixeira, A.S., 2008. Isoenzyme electrophoretic patterns in discus fish (*Symphysodon aequifasciatus* Pellegrin, 1904 and *Symphysodon discus* Heckel, 1840) from the Central Amazon, *Genet and Mol Res* 7 (3): 791-805.
- Skibinski, D.O.F., Beardmore J.A. and Cross, T.F., 1983. Aspects of the Population, Genetics of *Mytilus* in the British Isles. *Biol. J. Lim. Soc.*, 19: 137-183 p.
- Temizkan, G. ve Arda, N., 1999. Moleküler Biyolojide Kullanılan Yöntemler: Genel Bakış, Moleküler Biyolojide Kullanılan Yöntemler, İstanbul Üniversitesi Biyoteknoloji ve Genetik Mühendisliği Araştırma ve Uygulama Merkezi, 1, İstanbul, 236:1-17.
- Vallejos, E., 1983. Enzyme Activity Staining, Isozymes in Plant Genetics and Breeding, Eds: Tanksley S.D., Orton T.S., Part A, Elsevier Publ., Amsterdam, 469-516.
- ABC Oyster breeding Program, www.wims.edu/research, (Erişim Tarihi: Eylül 2010)
- Molluscan Broodstock Program, hmsc.oregonstate.edu/projects/mbp, (Erişim tarihi: Ağustos 2010)
- TUIK, Türkiye İstatistik Kurumu, 2009, www.tuik.gov.tr