

**TÜRKİYE DOĞAL ALABALIK (*Salmo trutta* L., 1758)  
POPULASYONLARINDA MİKROCOĞRAFİK VE MAKROCOĞRAFİK  
MİKROSATELİT DNA VARYASYONU**

**SERDAL ARSLAN  
DOKTORA TEZİ  
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI  
2006**

**T.C.  
CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**TÜRKİYE DOĞAL ALBALIK (*Salmo trutta* L., 1758)  
POPULASYONLARINDA MİKROCOĞRAFİK VE MAKROCOĞRAFİK  
MİKROSATELİT DNA VARYASYONU**

**SERDAL ARSLAN  
DOKTORA TEZİ  
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**DANIŞMAN  
DOÇ.DR. FEVZİ BARDAKCI**

**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE**

**Bu çalışma, jürimiz tarafından, Biyoloji Anabilim Dalı'nda Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.**

**İMZA**

**Başkan.....**

**Üye .....**

**Üye .....**

**Üye .....**

**Üye .....**

**ONAY**

**Yukarıdaki imzaların, adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.**

**.../.../2006**

**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRÜ**

**.....**

**Bu tez, Cumhuriyet Üniversitesi Senatosunun 05.01.1984 tarihli toplantısında kabul edilen ve daha sonra 30.12.1993 tarihinde C.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğünce hazırlanan ve yayınlanan “Yüksek Lisans ve Doktora tez yazım Kılavuzu” adlı yönergeye göre hazırlanmıştır.**

## İÇİNDEKİLER

<b>ÖZET</b>	<b>iii</b>
<b>SUMMARY</b>	<b>v</b>
<b>TEŞEKKÜR</b>	<b>vii</b>
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b>	<b>viii</b>
<b>TABLolar DİZİNİ</b>	<b>ix</b>
<b>KISALTMALAR</b>	
<b>1. GİRİŞ</b>	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER</b>	<b>6</b>
<b>2.1. Alabalık Biyolojisi</b>	<b>6</b>
<b>2.2. Alabalık Soy Hatları ve Sınıflandırması</b>	<b>9</b>
<b>2.3. Alabalık Soy Hatlarının Kökeni</b>	<b>10</b>
<b>2.3.1. Atlantik Bölgesindeki Alabalık Çeşitliliği</b>	<b>12</b>
<b>2.3.2. Karadeniz, Hazar ve Aral Denizi Havzalarındaki Alabalık Çeşitliliği</b>	<b>15</b>
<b>2.3.3. Akdeniz-Adriyatik Bölgesindeki Alabalık Çeşitliliği</b>	<b>17</b>
<b>2.4. Alabalık Soy Hatlarının Dağılımı ve İkincil Temas için Kısıtlamalar</b>	<b>20</b>
<b>2.5. Alabalık Soy Hatları Arasında Demografik Genişleme Zamanları</b>	<b>22</b>
<b>2.6. Moleküler Sistematikte Yaygın Olarak Kullanılan Bazı Metotlar</b>	<b>24</b>
<b>2.6.1. Protein Varyasyonu</b>	<b>25</b>
<b>2.6.2. Mitokondri DNA</b>	<b>26</b>
<b>2.6.3. Minisatelitler</b>	<b>28</b>
<b>2.6.4. Mikrosatelitler</b>	<b>30</b>
<b>2.6.4.1. Mikrosatelitlerin Populasyon Genetiğinde Uygulamaları</b>	<b>31</b>
<b>2.6.4.2. Mikrosatelit Uygulamalarının Potansiyel Problemleri</b>	<b>34</b>
<b>2.6.4.2.1. Mutasyon Modelleri</b>	<b>34</b>
<b>2.6.4.2.2. Hesaplama Hatası Problemleri</b>	<b>36</b>
<b>2.6.4.2.3. Null Alel Problemi</b>	<b>37</b>

<b>2. MATERYAL VE METOD</b>	
<b>2.1. Alabalık Örneklerinin Toplanması</b>	<b>38</b>
<b>2.2. Total Genomik DNA İzolasyonu</b>	<b>38</b>
<b>2.3. Genomik DNA'nın Kalite ve Kantitesinin Belirlenmesi</b>	<b>41</b>
<b>2.4. Mikrosatelit Reaksiyon Koşulları</b>	<b>41</b>
<b>2.5. Mikrosatelit Ürünlerinin Elektroforezi ve Görüntülenmesi</b>	<b>42</b>
<b>2.5.1. Agaroz Jel Elektroforezi</b>	<b>42</b>
<b>2.5.2. Poliakrilamid Jel Elektroforezi</b>	<b>42</b>
<b>2.6. Mikrosatelit Verilerinin Analiz</b>	<b>44</b>
<b>3. BULGULAR</b>	<b>46</b>
<b>4. TARTIŞMA VE SONUÇ</b>	<b>57</b>
<b>5. KAYNAKLAR</b>	<b>67</b>
<b>6. ÖZGEÇMİŞ</b>	<b>87</b>

## TEŞEKKÜR

Bu çalışmamda her aşamasında bilgi birikimi ve deneyimlerinden yararlandığım ve gerekli her türlü desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, tez danışmanım sayın Doç. Dr. Fevzi BARDAKCI'ya en içten teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmalarım süresince bilgi birikimi ve deneyimi ile bana yol gösteren ve tezin bu şeklini almasında emekleri geçen tez izleme komitesi üyeleri Prof. Dr. Hasan Hüseyin BAŞIBÜYÜK ve Doç. Dr. İslam GÜNDÜZ'e teşekkür ederim. Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Naci DEĞERLİ'ye de çalışmalarım sırasında yaptığı katkılardan dolayı teşekkür ederim. Ayrıca, bana bu çalışma ortamını hazırlayan ve gerektiğinde yardımlarını esirgemeyen Biyoloji Bölümü Öğretim Elemanlarına ve tüm personeline de teşekkür ederim.

Bu çalışmanın gerçekleşmesi için maddi kaynak sağlayan Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyon Başkanlığı'na teşekkür ederim.

Tez çalışmam süresince rahat çalışabilmem için her türlü olanağı ve ilgiyi gösteren aileme de teşekkür ediyorum.

**Arş.Gör. Serdal ARSLAN**

**ŞEKİLLER DİZİNİ**

<b>Şekil 1:</b> AT soy hattının coğrafik dağılımı	<b>13</b>
<b>Şekil 2:</b> DA soy hattının coğrafik dağılımı	<b>16</b>
<b>Şekil 3:</b> MA soy hattının coğrafik dağılımı	<b>18</b>
<b>Şekil 4:</b> ME soy hattının coğrafik dağılımı	<b>18</b>
<b>Şekil 5:</b> AD soy hattının coğrafik dağılımı	<b>19</b>
<b>Şekil 6:</b> Alabalık örneklerinin toplandığı lökaliteler	<b>40</b>
<b>Şekil 7:</b> Nei'nin Genetik Uzak matrisine bağlı dendrogram ve dendrogram üzerindeki dalların % seç-bağla test değerleri	<b>56</b>



**TABLolar DİZİNİ**

<b>Tablo 1:</b> Yaygın olarak kullanılan bazı moleküler belirteçlerin avantajları ve dezavantajları.	<b>32</b>
<b>Tablo 2:</b> Alabalık popülasyonlarına ait lokalite ve drenajlar.	<b>39</b>
<b>Tablo 3:</b> Her bir lokusa ait bağlanma (annealing) sıcaklığı, primer dizisi, fragment büyüklük aralığı ve tekrar dizisi.	<b>42</b>
<b>Tablo 4:</b> Her bir lokusa ait toplam alel sayıları, görülen alel sayısı, gözlenen heterozigotluk, beklenen heterozigotluk değerleri.	<b>46</b>
<b>Tablo 5:</b> Alellerin popülasyonlara göre dağılımı.	<b>47</b>
<b>Tablo 6:</b> Her bir lokusta görülen alel frekansı ve $F_{st}$ değerleri.	<b>48</b>
<b>Tablo 7:</b> Popülasyonların her bir lokustaki Hardy-Weinberg analizi.	<b>50</b>
<b>Tablo 8:</b> Amova analizinin üç farklı gruba göre sonuçları.	<b>52</b>
<b>Tablo 9:</b> Popülasyonların karşılıklı $F_{st}$ değerleri.	<b>53</b>
<b>Tablo 10:</b> Nei' nin (1978) genetik uzaklık ( $D$ , alt matris) ve genetik benzerlik ( $I$ , üst matris) değerleri.	

**KISALTMALAR**

<b>PCR</b>	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
<b>RFLP</b>	Restriksiyon Fragment Uzunluk Polimorfizmi
<b>mtDNA</b>	Mitokondri DNA
<b>AT</b>	Atlantic
<b>DA</b>	Danubian
<b>ME</b>	Mediterranean
<b>MA</b>	<i>Marmoratus</i>
<b>AD</b>	Adriatic
<b>TI</b>	Tigris
<b>VNRTs</b>	Değişken Sayılı Tekrar Dizileri
<b>SSR</b>	Basit Dizi Tekrarları
<b>IAM</b>	Sonsuz Alel Mutasyon Modeli
<b>SMM</b>	Kademeli Mutasyon Modeli
<b>ND-3/4</b>	Nikotin Amid Adenin Dehidrojenaz-3/4
<b>PAGE</b>	Poliakrilamid Jel Elektrofrezisi
<b>TEMED</b>	N,N,N',N'-Tetrametiletildiamin
<b>APS</b>	Amonyum Per Sülfat
<b>Sen DNA</b>	Tek kopya Çekirdek DNA
<b>EDTA</b>	Etilen Diamin Tetra Asetik Asit



## ÖZET

### Doktora Tezi

**Türkiye Doğal Alabalık (*Salmo trutta* L., 1758) Populasyonlarında Mikrocoğrafik ve Makrocoğrafik Mikrosatelit DNA Varyasyonu**  
**Serdal ARSLAN**

**Cumhuriyet Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü**  
**Biyoloji Anabilim Dalı**

**Danışman: Doç. Dr. Fevzi BARDAKCI**

Bu çalışmada, Türkiye'deki 27 doğal alabalık populasyonunun mikrocoğrafik ve makrocoğrafik mikrosatelit DNA varyasyonu araştırılmıştır. Toplam beş mikrosatelit lokusu bu amaçla analiz edilmiştir. Çalışılan alabalık populasyonlarında lokusların tümü polimorfik olup ortalama alel sayısı 7.4 olarak bulunmuştur. Alabalık populasyonlarının çoğunda tek bir alel saptanmış ve araştırılan beş lokus için ortalama gözlenen heterozigotluk 0.254 olarak tespit edilmiştir. İncelenen populasyonların önemli bir kısmının Hardy-Weinberg dengesinde olmadığı görülmüştür. Mikrocoğrafik alanda aynı havza ya da nehir sisteminde bulunan populasyonların da kendine özgü alelleri olduğu saptanmıştır. Ayrıca, populasyonların ikiyeşerli karşılaştırılması sonucunda elde edilen  $F_{ST}$  değerlerinin çoğu istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Makrocoğrafik alanda farklı havza sisteminde bulunan populasyonlar arasında % 45.78 oranında varyasyon tespit edilmiştir. Ayrıca daha önce mitokondri DNA'sı analizleriyle ortaya konulan Türkiye'deki alabalıklarının mitokondri soy hatları, mikrosatelit DNA belirteçleri analizi ile de desteklenmiştir. Ancak mtDNA verilerine göre Tigris (TI) soy hattına ait olan Çatak populasyonu, mikrosatelit DNA veri analizlerine göre Adriatic (AD) soy hattı içinde olan Fırat Nehri'nin populasyonlarıyla birlikte kümelenmiştir. Mikrosatelit DNA ve mtDNA verileri, alabalıkların AD mitokondri soy hattı ile TI mitokondri soy hattı arasında muhtemel ikincil temasların olduğuna işaret etmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** *Salmo trutta*, Mikrosatelit DNA, Anadolu, mitokondri DNA, alabalık ve biyocoğrafya.

## **SUMMARY**

**Ph. D. Thesis**

**Micro- and macro-geographic microsatellite DNA variation native brown trout (*Salmo trutta* L., 1758) populations in Turkey**

**Serdal ARSLAN**

**Cumhuriyet Universty Graduate School of Natural and Applied Sciences**

**Department of Biology**

**Supervisor: Doç. Dr. Fevzi BARDAKCI**

In the present study, micro- and macro-geographic microsatellite DNA variations were investigated in twenty seven brown trout populations in Turkey. A total of five microsatellite loci were analyzed for this purpose. All the loci were polymorphic and average number of alleles were 7.4 in the brown trout populations studied. Only a single allele was found in the most of the brown trout populations and average observed heterozygosity were 0.254 for the five loci in question. Most of the populations did not show in the Hardy-Weinberg equilibrium. It was found that even populations in a micro-geographic region, same basin or river system, had unique alleles. In addition, most of the  $F_{st}$  values obtained by the pairwise comparison of the populations were statistically significant. Populations from different macro-geographic regions, different sea and river basins, 45.78% genetic variation was determined. Additionally, the mitochondrial DNA lineages of the brown trout in Turkey that have previously been identified by the mitochondrial DNA analyses were supported by the analysis of the microsatellite DNA markers. However, Çatak population which belongs to Tigris (TI) lineage was clustered together with the Euphrates populations within the Adriatic (AD) lineage according to the data analysis of the microsatellite DNA. Data of the both mitochondrial DNA and microsatellite DNA indicated the possible secondary contacts between AD and TI lineages of the brown trout.

**Key Words:** *Salmo trutta*, Microsatellite DNA, Anatolia, mitochondrial DNA, brown trout, biogeography.

## 1. GİRİŞ

Türlerin evrimsel tarihini açıklamak, populasyonların ayrılma ve nihayet türleşmelerini anlamaya çalışan araştırmaların en önemli amacıdır. Moleküler filogeni günümüz populasyonlarının ayrılma, yayılış zamanlarını ve bu dönemlerdeki tarihi olayların ortaya çıkartılmasını mümkün kılmıştır (Avice, 1994). Populasyon genetiği ve filogenetiğin biyocoğrafya ile kaynaşması olan filocoğrafya, populasyon genetiği ve evrimsel biyolojide köklü değişikliklere neden olmuştur. Filocoğrafik çalışmalar günümüz populasyonlarının genetik yapısı ve kompozisyonunun oluşmasında tarihi olayların baskın role sahip olduğunu ortaya çıkarmakla birlikte, ekolojik ve evrimsel sebeplerden dolayı populasyon farklılaşmalarının daha doğru değerlendirilmesine yardımcı olmaktadır (Avice, 1994). Çünkü filocoğrafya bir tür (veya evrimsel olarak önemli bir birim) içerisinde evrimsel olarak farklı yapıdaki populasyon modellerinin açıklamasını yapmakla birlikte, populasyonların kendilerine ait evrimsel yolların ortaya çıkartılmasına da olanak sağlamaktadır. Ayrıca filogenetik yaklaşımlar koruma biyolojisi konularında araştırmacılara büyük yarar sağlamaktadır (Moritz, 1994; Bernatchez, 1995).

Allopatrik türleşme, doğada türleşmeyi açıklayan öncül modellerden biridir. Bir populasyon içinde coğrafik bariyerlerin oluşması, populasyonların bölünerek iki ya da daha fazla populasyona ayrılmasına neden olabilmektedir. Populasyonlar arasında oluşan bariyerlerin gen akışını engellemesi sonucu, populasyonların zamanla farklı türlere ayrılması allopatrik türleşmenin en yaygın formudur (Futuyma ve Mayer, 1980). Allopatrik türleşme hipotezlerini test etmek için, içerisinde coğrafik olarak izole olmuş birçok bölge bulunduran coğrafik olarak aktif alanlar en uygun bölgelerdir. Türkiye’inde içinde bulunduğu Akdeniz Bölgesi, Afrika Platosunun kuzeye doğru hareket etmesi ve Tetis Denizi’nin kapanması ile oluşan değişiklikler nedeni ile jeolojik olarak çok aktif bir bölgedir (Şengör ve Yılmaz, 1983). Geç Miyosen boyunca, Tetis Denizi’nin aşamalı olarak kapanması (Durand ve Ark., 2002; Hrbek ve Ark., 2004; Kotlik ve Ark., 2004), Pliyosen dönemi dağ oluşumu olayları ve Pleyistosen dönemi buzulları (Por ve Dimentman, 1989) Akdeniz tatlısu balıklarının evrimini

derinden etkileyen çok önemli tarihsel olaylardır. Mezapotamya Havza'sının Ortadoğu üzerinden İlkın Fırat'ta (Proto-Euphrates) toplanan iç su faunası için önemli bir merkez olduğu, ayrıca Pliyosen döneminde dağ oluşum sürecinden önce Hazar Denizi ile Karadeniz arasında bir bağlantı olduğu düşünölmektedir. Bu bağlantılar kısa bir dönemde Asya ve Afrika'daki türlerin karışmasına neden olmuştur (Por, 1989). Biyocoğrafya uzmanlarına göre Ortadoğu; Akdeniz, doğuya ait bölgeler ve palaeartik bölgeler için önemli bir kavşak noktasıdır (Por ve Dimentman, 1989). Bu bölgeler arasındaki bağlantılar çöl, tepe ve dağ oluşumları tarafından kesilmiştir.

Alabalık (*Salmo trutta* L) paleartik bölgede, doğal olarak geniş yayılım gösteren tatlısu balık türüdür. Alabalıklar kuzeyde Norveç, kuzeydoğu'da Rusya, güneyde Kuzey Afrika'nın Atlas Dağları, doğudan batıya doğru Afganistan'dan Aral Denizi'ne akan önemli akarsuları da içine alan, buzullara kadar uzanan geniş bir alanda yayılış göstermektedir. Ayrıca alabalıklar çok sayıda farklı coğrafik formdan oluşmuş olup, önemli ölçüde çeşitlilik ve yaşam tarihi varyasyonu göstermektedirler. Alabalıkların morfolojik özelliklerinin yüksek düzeydeki esnekliği, bu türün evrimsel tarihinin anlaşılmasını zorlaştırmaktadır. Bu nedenle bugüne kadar farklı tür olarak kabul edilen ve morfolojik olarak farklı olan çok sayıda populasyon, *Salmo trutta* türü olarak kabul edilmiştir (Behnke, 1986).

Alabalık Türkiye'nin yüksek dağ sularında yaşayan en yaygın balık türüdür. Dünyada alabalıkların filogenisi ve filocoğrafyasını ortaya koymak amacı ile bir çok çalışılma yapılmıştır. Türkiye'de Bernatchez (2001) ve Bardakcı ve Ark. (2006)'nın yapmış olduğu çalışmalar ile alabalıkların mtDNA'larına dayalı evrimsel tarihleri analiz edilmiştir. Ayrıca Togan ve Ark. (1995) Abant Gölü ve Antalya yakınlarındaki Üzüm Nehri'nde alabalık populasyonlarına ait 15 allozim lokusu çalışmışlardır. Bu çalışmada iki populasyon arasında allozim verileriyle ortaya konulmuş en yüksek genetik uzaklık bulunmuştur. Bazı çalışmalar alabalıkların karmaşık kolonileşme geçmişlerinden dolayı, farklı alabalık soy hatlarının, çok dar bir coğrafik alanda birlikte bulunabileceğini de ortaya koymuştur (Apostolidis ve Ark., 1997; Estoup ve Ark., 1998).

Canlılar arasındaki varyasyonu ortaya çıkaran moleküler tekniklerin son 30 yılda gelişmesiyle birlikte, alabalıklarda genetik çeşitliliğinin belirlenmesi için bu teknikler yoğun bir şekilde kullanılmaktadır. Allozimlerin elektroforetik analizi, alabalıkların makrocoğrafik düzeyde genetik yapılarını saptamada kullanılmıştır (Karakousis ve Triantaphyllidis., 1988; Hindar ve Ark., 1991; Riffel ve Ark., 1995; Osinov ve Bernatchez, 1996). Ayrıca allozim analizleri ile önemli derecede mikrocoğrafik varyasyon da saptanmıştır (Crozier ve Ferguson, 1986; Ferguson, 1989; Moran ve Ark., 1995). Mitokondri DNA'sının (mtDNA) hem PCR-RFLP (Polymerase Chain Reaction- Restriction Fragment Length Polymorphism) hem de doğrudan dizi analizleri, büyük oranda Batı Avrupa alabalık popülasyonlarının, özellikle makrocoğrafik (Bernatchez ve Osinov, 1995; Apostolidis ve Ark., 1996; Aurelle ve Berrebi, 2001; Bernatchez, 2001; Bardakçı ve Ark., 2006) ve mikrocoğrafik (Bernatchez ve Ark., 1992, Hansen ve Ark., 2000) farklılıkların saptanmasında yararlı olmuştur. Mikrosatelit belirteçleri ise daha çok alabalıkların popülasyon içi varyasyonlarını belirlemede, stok teşhislerinde ve mikrocoğrafik farklılıklarınının saptanmasında kullanılmıştır (Estoup ve Ark., 1998; Poteaux ve Ark., 1999).

Alabalıklar Batı Avrupa'da en çok çalışılan balık türlerinden biri olmasına rağmen, Kuzey Afrika ve Doğu Avrupa en az çalışılan bölgelerdir. Bernatchez (2001) Kuzey Afrika ve Doğu Avrupa da az sayıda popülasyonunda içinde olduğu alabalıkların doğal coğrafik yayılış alanlarında kapsamlı bir çalışma yapmıştır. Bu çalışmada alabalık popülasyonlarının mtDNA'sının 310 bç'lik 5' kontrol bölgesi, ND-5/6 ve tüm sitokrom oksidaz *b* geni/D-loop bölgelerinin PCR-RFLP verileri karşılaştırmıştır. Coğrafik ve fenotipik olarak farklı olan alabalık popülasyonlarının analizi sonucu AT (Atlantic), DA (Danubian), ME (Mediterranean), MA (*marmoratus*) ve AD (Adriatic) olmak üzere beş ana evrimsel soy hattının varlığını ortaya koymuştur. Ancak Bardakçı Ark. (2006)'nin Türkiye alabalık popülasyonlarında yaptığı mtDNA verilerine dayalı çalışma ve Susnik ve Ark'nın (2005) mtDNA kontrol bölgesi dizi analiz verileri, TI (Tigris) altıncı soy hattı olarak önermektedir.



Alabalık populasyonlarına ait genetik farklılıkla birlikte dağılımın coğrafik modelleri, Pleyistosen dönemindeki ilk çevresel koşullar ile birleştirildiğinde DA soy hattının Karadeniz, AD soy hattının Balkanlar ve Anadolu Havzalarıyla ilişkili drenajlardan köken aldığı öne sürülmüştür (Bernatchez, 2001). Anadolu'nun alabalıklar için önemli bir bölge olduğunun düşünülmesine rağmen, bu bölgedeki alabalıkların ayrıntılı filocoğrafik yapısını gösteren Bardakçı ve Ark (2006) yaptığı çalışmadan başka kapsamlı bir çalışma yoktur.

Ülkemizdeki doğal alabalıklar Balık ve Geldiay (1988) tarafından derlenmiş ve tek tür (*S. trutta*) ile bu türe ait 4 alttür olarak sınıflandırılmıştır. Bunlar *S. trutta macrostigma*, *S. trutta labrax*, *S. trutta caspius* ve *S. trutta abanticus* alttürleridir. Bunlardan *S. t. macrostigma* alttürü daha çok Akdeniz Havzası, *S. t. labrax* Karadeniz Havzası, *S. t. caspius* Hazar Denizi Havzası ve *S. t. abanticus* ise Abant Gölü'ne ait alabalıklar olarak tanımlanmıştır. Ayrıca, Behnke (1986) Seyhan Nehri Havzasındaki Zamanti Deresi'ndeki alabalıkları farklı bir alt cins altında *Salmo (Platysalmo) platycephalus* olarak tanımlamıştır. Ancak mtDNA analizi (Susnik ve Ark., 2004; Bernatchez, 2001; Bardakçı ve Ark., 2006) bu sınıflandırmayı desteklemeyen sonuçlar vermiş ve bu populasyonun Akdeniz Havzasında bulunan AD soy hattı ile aynı grupta olduğunu saptamıştır. Ayrıca Bardakçı ve Ark. (2006), *S. t. abanticus* olarak tanımlanan ve Abant Gölü'ne endemik olduğu rapor edilen alabalık populasyonunun, DA soy hattı içinde yer alan diğer alabalık populasyonlarından genetik olarak önemli bir farklılığının olmadığını tespit etmişlerdir.

Balıklarda çalışılan mikrosatelit lokuslarının çok yüksek oranda polimorfik olduğu görülmüştür (Estoup Ark., 1998; Brooker Ark., 1994). Mikrosatelitler populasyon genetiği çalışmalarında mutasyon oranının belirlenmesi, heterozigotluk oranının ve alel frekansının saptanmasını sağlayan önemli belirteçlerdir. Ayrıca mikrosatelitler mikrocoğrafik alanda tür içi varyasyonu göstermesi açısından, mtDNA'sı ve allozimlerden daha avantajlı olduğu düşünülmektedir (Poteaux Ark., 1999; Hansen Ark., 2000). Populasyon içi genetik varyasyon derecesi, bireyin değişen çevre şartlarına uyumu, üreme ve hayatta kalma becerilerinin bir göstergesidir. Populasyon içi genetik varyasyon

saptanarak, populasyon ya da stoğun kendilenme baskısı altında olup olmadığı belirlenebilmektedir.

Bu çalışma ile Türkiye'deki alabalık populasyonların genetik çeşitliliği ve filogenetik ilişkileri mikrosatelit belirteçleri kullanılarak belirlenmesi amaçlandı. Mikrosatelit belirteçlerinden daha çok mikrocoğrafik alanda populasyonlar arasındaki genetik ilişkiyi ortaya koyan çalışmalarda yararlanılmış olmakla birlikte, bu çalışma ile makrocoğrafik alanda alabalık populasyonları arasındaki ilişki ortaya konmaya çalışıldı. Ayrıca Türkiye coğrafyası genelinde alabalık populasyonlarının hangi mtDNA soy hatlarına dahil oldukları tespit edildi. Elde edilen sonuçlar mikrosatelit belirteçlerinin makrocoğrafik alanlarda ne kadar güvenle kullanılabileceği konusunda fikir sağlayacaktır. İlave olarak, mikrocoğrafik alanda populasyon içi ve populasyonlar arası varyasyon oranı belirlenecek, populasyonların kendilenme baskısı ve mikrocoğrafik izolasyonların olup olmadığı belirlendi. Elde edilen verilerin mtDNA PCR-RFLP analizi kullanılarak Bardakcı ve Ark. (2006) tarafından yapılan çalışma sonuçları ve Anadolu'nun jeolojik tarihi ile karşılaştırılarak, türün Anadolu'daki evrimsel tarihi hakkında daha kapsamlı bilgi elde edilmeye çalışıldı.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Alabalık Biyolojisi

Alabalık salmonid balıklar ailesi olan Salmonidae familyası içinde yer alır. Bu tür Avrupa, Asya Kıtasının batı bölgeleri ve Kuzey Afrika'daki Atlas Dağları'na kadar olan geniş bir alanda doğal dağılım göstermektedir. Ancak alabalık dünya genelinde doğal yayılış alanları dışında Yeni Zelanda, Arjantin, Kanada ve ABD gibi farklı coğrafyalarda da bulunmaktadır (Elliott, 1994). Alabalıklar pek çok Avrupa ülkesi ve bulunduğu bir çok coğrafya için, önemli derecede sosyo-ekonomik değere sahiptirler.

Alabalıklar, küçük olanları omurgasızlar ile, büyük olanlar ise değişik balık türleriyle beslenen omnivor balıklardır. Bu balıklar sonbahar ve kış aylarında akarsulara yumurtalarını bırakabildiği gibi, göllere de yumurta bırakabilirler. Dişi bireyler çakıllı bölgeleri kazarlar ve bu bölgeye yumurtalarını bırakırlar. Yumurtalar daha sonra bir veya daha fazla erkek tarafından döllenir. Döllenmenin ardından yumurtalar tekrar çakıl içine gömülür. Larva yumurtadan ilkbaharda su içine çıkar. Alabalıklar yaşamları süresince birkaç farklı morfolojik tipe girmeden önce, korunaklı bir alanda birkaç yıl büyüme dönemi geçirirler. Temel olarak buldukları suda ya kalıcı forma ya da göç eden balık (anadrom) formuna dönüşürler. Kalıcı forma dönüşen balıklar doğdukları nehirde hayatlarının sonuna kadar yaşarlar. Anadrom forma dönüşenler ise ya benzer nehir sistemleri ve göl içine ya da deniz sistemlerine göç edebilirler (anadrom veya deniz alabalığı). Anadrom olanlar (bazı durumlarda göle göç eden yaşam tarihi tipine sahip olanlar) smoltifikasyon geçirirler. Smoltifikasyon, balıkların tuzlu suda yaşayabilmek için geçirdikleri bir tür metamorfoz olarak düşünülebilir. Balıklar doğduğu alanın dışına göç etmeye başladığında, göç ettikleri ortam içerisindeki yaşama fizyolojik olarak adaptasyon gösterir ve gümüş rengine dönüşürler. Danimarka'daki alabalıkların metamorfozu genel olarak 1-3 yaş arasında gerçekleşir. Ancak bölgeler arasında iklim koşullarına bağlı olarak bu süreç değişkenlik gösterebilir (Elliott, 1994). Doğal alabalıklar ve diğer salmonidler güçlü eve dönüş içgüdülerine sahiptirler (Stabell, 1984). Bu nedenle balıkların büyük bir kısmı yumurtlamak için kendi doğdukları nehre geri

dönerken, çok az bir kısmı farklı nehirlerde kalabilirler (Altukhov ve Ark., 2000). Eşeyssel olgunluğa 1-2 yıl içerside ulaşan erkek alabalıkların boy uzunluğu 10-15 cm civarındadır .

Doğal alabalıkların yaşam tarihi varyasyonunun (kalıcı olanlar ve göç edenler) genetik temeli birkaç çalışma ile gösterilmekle birlikte (Skaala ve Naevdal,1989; Ferguson ve Ark., 1995; Pettersson ve Ark., 2001) henüz tartışmalı bir konudur. Hindar ve Ark. (1991) bu konuda yaptıkları çalışmada, bir arada bulunan anadrom balıklar ile göç etmeyen alabalıklar arasında genetik bir farklılık saptayamamışlardır. Ancak anadrom olan alabalık popülasyonları ile göç etmeyen popülasyonlar arasında eşey oranı farklı bulunmuştur. Göç etmeyen alabalıkların %75-100'ünün erkek olmasına karşın, anadrom balıklar arasında dişi olanlar çok daha yüksek orandadır (Jonsson, 1982; Ramussen, 1986). Bu verilerden alabalıklar arasında yaşam tarihi varyasyonunun oluşmasında, genetik faktörlerin etkisi net olarak ortaya çıkartılamamıştır. Bazı araştırmacılar göç etmeyen alabalıklar ile anadrom olan alabalıkların benzer popülasyonların farklı kökenlerinden gelen bireyler olabileceğini düşünmektedirler (Hamilton ve Ark., 1989; Peterson ve Ark., 2001).

Doğal alabalıkların yalnız ekolojik varyasyon gösterdiği düşünülemez. Bu varyasyona ek olarak hem popülasyon içinde hem de popülasyon arasında güçlü morfolojik varyasyon gösterirler. Doğal alabalıklar arasındaki morfolojik farklılıklar nedeniyle ilk sınıflandırma çalışmalarında 60'a yakın tür olduğu önerilmiştir. Alabalıklar yüksek varyasyona sahip tek bir tür olarak kabul eden görüşe karşın (Ferguson ve Fleming, 1983), bazı sistematikçiler bir tek türden daha karmaşık olduğunu düşünmüşlerdir.

Araştırmacılar için alabalık biyolojisi açısından düşünüldüğünde, küçük bir coğrafik alanda simpatrik olarak üreme izolasyonuna uğramış popülasyonların bulunması, özellikle ilginç bir konu olmuştur. Doğal alabalıkların simpatrik popülasyonlar oluşturduğu ilk kez İsviçre'de bulunan Bunnarsjöary Gölün'de yapılan çalışma ile ortaya konmuştur (Allendorf ve Ark., 1976, Ryman ve Ark., 1979). Sonraki dönemlerde küçük dağ göllerinde yapılan çalışmalarda genetik olarak farklı alabalık popülasyonlarının birlikte bulunduğu belirlenmiştir.

Simpatrik popülasyonların bir kısmında, Laktat Dehidrogenaz (*LDH*) enzimine ait geni kodlayan lokusta farklı aleller ile karakterize olan üreme izolasyonu ortaya çıkartılmıştır. Bu sayede balıkların ait olduğu popülasyon belirlenebilmiş ve popülasyonlar arasında görülen büyüme parametrelerinde farklılıklar saptanmıştır (Ryman ve Ark., 1979). Kuzeybatı İrlanda yakınlarındaki Melvin Körfezinde, 21 km genişliğindeki bir gölde alabalıklar arasındaki simpatri durumunu belirleyen daha detaylı bir çalışma yapılmıştır (Ferguson ve Mason, 1981; Ferguson ve Taggart, 1991). Gölde Ferox, Sonagaghen ve Gillaroo olarak isimlendirilen üç farklı alabalık formu saptanmıştır. Yapılan çalışmalarda bu formların farklı morfolojik (Cawdery ve Ferguson, 1988) ve beslenme (Ferguson, 1986) özelliklerine sahip oldukları belirlenmiştir. Allozim çalışmaları sonucunda üreme izolasyonunun görüldüğü bu üç form arasında, çalışılan lokusların alel sıklıklarında farklılıklar bulunmuştur (Ferguson ve Mason, 1981; Ferguson ve Taggart, 1991). MtDNA-RFLP çalışmaları (McVeigh ve Ark., 1995; Hynes ve Ark., 1996), çok lokuslu DNA parmakizleri tek lokuslu minisatelit ve mikrosatelit varyasyon çalışmaları bu üç form arasında genetik farklılık olduğunu doğrulamıştır (Prodöhl ve Ark., 1992). Melvin, alabalık türlerinin doğal olarak buldukları yerlerde sahip oldukları farklı beslenme alışkanlıklarına göre, birbirlerinden coğrafik olarak ayrıldığını öne sürmektedir. Britanya ve İrlanda'daki göllerin çoğunda Ferox olarak bilinen, bazı durumlarda 10 kg'a kadar ulaşabilen, uzun yaşayan ve küçük balıklarla beslenen alabalıklar bulunmaktadır. İrlanda ve Britanya'da bulunan en az iki gölde Ferox formu balıklar simpatrik üreme izolasyonu ile diğer alabalıklardan ayrılmaktadır. Norveç'in Hardangervida bölgesindeki bir gölde bir mutasyon sonucu oluşan farklı alel ile karakterize ufak lekeli alabalıklar, diğer alabalıklar ile birlikte bulunmaktadır. Yapılan çalışmalarda ufak lekelerin iki kodominant alel ile tek bir lokus tarafından kontrol edildiği ortaya çıkartılmıştır (Skaala ve Jorstad, 1987). Sonuç olarak, alabalıklar için genel bir olgu olan simpatrik popülasyonların hangi büyüklükte bulunduğu, hem istatistiksel nedenler hem de tespit olmuş alel frekansları nedeniyle tam olarak açıklığa kavuşmamıştır. Yaygın görüşe göre farklı formdaki alabalıkların, allopatrik olarak birbirlerinden ayrılmış oldukları ve buzul dönemi sonrası yeniden kolonize olma durumlarını

temsil eden, farklı soylardan gelmiş olabilecekleri düşünülmektedir (Hamilton ve Ark., 1989, Garcia-Marin ve Ark., 1999). Diğer yandan çok sayıda örnek üzerinde yapılan çalışmalar, farklı filogenetik soy hattındaki alabalıkların, yetiştiricilik amacı ile bir araya getirilmeleri sonucu yavru ürettikleri ve kendi aralarında da üreyebildikleri görülmüştür. Bu balıklar biyolojik tür kavramı düşünüldüğünde tür kriterlerini sağlamamaktadır.

## 2.2. Alabalık Soy Hatları ve Sınıflandırması

Alabalıkların sınıflandırmasıyla ilgili büyük karmaşanın olduğu düşünülmektedir (Elliott, 1994; Kottelat, 1997). Bu düzensizlik, morfolojik ve/veya genetik olarak farklı bir grup olarak tanımlanan farklılıkların, nasıl sınıflandırılacağı üzerine süregelen tartışmalardan kaynaklanmaktadır. Bazıları bu gruplandırmaların tür statüsünü alması gerektiğini savunmuşlar ve buna göre 18.yy ortalarında modern sınıflandırma sisteminin başlangıcından bu yana alabalıkların çeşitli formları için 57 tür ismi önerilmiştir. Bu sınıflandırmalardan bazıları küçük morfolojik ve yaşam tarihi farklılıklarına dayandırılmıştır. Muhtemelen bu farklı tür isimleri, alabalıkların çevresel ve fenotipik esnekliğinden kaynaklanmaktadır (Bernatchez ve Ark., 1992). Alabalıkların morfolojisi veya yaşam tarihi farklılıkları evrimsel olarak önemi olan taksonomik sınıflandırma için yeterli değildir ve yanlışlıklara neden olabilir. Örneğin, yaşam tarihi farklılıklarına göre değerlendirmeler yapılması, populasyonların alttürler şeklinde sınıflandırmasına yol açmıştır. Örneğin; *S.t. turta* (anadrom form), *S.t. lacustris*, (gölde yaşayan), *S.t. fario* (akıntılı suda yaşayan) gibi alt tür isimleri, farklı yaşam formlarına göre isimlendirilmiştir.

Populasyon gruplarının sınıflandırması genetik bilgiye dayandırıldığında daha doğru bir sınıflandırma yapılmasına olanak sağlayabilir. Ancak, genetik olarak farklı bir birimi işaret eden veriler olsa dahi bu birimin bir tür, bir alt tür veya bir tür içerisinde genetik olarak farklı bir populasyon olarak mı isimlendirileceği açık değildir. Alabalıkların taksonomisi tartışmalı bir konu olmasına rağmen, son 10 yılda yapılan çalışmalar farklı evrimsel soy hatların bulunduğuyla ilişkin yeni veriler ortaya koymuştur. Bernatchez ve Ark. (1992)

geniş bir coğrafyada yaptığı çalışmada, mtDNA'nın *D loop* bölgesi dizisini temel alınmış ve beş önemli filocoğrafik soy hattının varlığı ortaya çıkarılmıştır. Atlantik Havzasını kapsayan soy hattı AT soy hattı olarak isimlendirilmiş olup, bu soy hattının Avrupa'nın ilk buzul döneminde oluşan tek soy hattı olduğu ileri sürülmüştür (Şekil 1). DA soy hattı, Karadeniz, Hazar Denizi ve Aral Denizi Havzası drenajlarının bulunduğu bölgeleri kapsamaktadır (Şekil 2). AD, ME ve MA soy hatları'nın dağılımları DA ve AT soy hatları'nın dağılımları ile az çok çakışmaktadır (Şekil 3,4,5). Bu soy hatları Akdeniz Havzası içerisinde geniş bir coğrafik alanda, farklı modellerde dağılım göstermektedir. Ayrıca MA soy hattı, Adriyatik Havzası ile güçlü bir şekilde ilişkilidir (Şekil 3). ME soy hattı Akdeniz Havzasını batı bölümünde yaygın olarak bulunurken (Şekil 4), AD soy hattı Akdeniz Havzasının doğu bölgelerinde yayılış göstermektedir (Şekil 5). Sonraki çalışmalar (Bernatchez ve Osinov 1995; Weiss ve Ark., 2000; Bernatchez, 2001; Duguid, 2002) Bernatchez ve Ark.'nın (1992) önerdiği orijinal soy hatlarına ilişkin modellerde değişiklikler ortaya koyamamıştır. Ancak Bardakcı ve Ark. (2006) mtDNA PCR-RFLP verileri ve Susnik ve Ark.'nın (2005) mtDNA kontrol bölgesi dizi analizi çalışması, alabalıklara ait Anadolu'nun güneydoğu bölgesinde Dicle nehir Havzasında Tigris (TI) olarak adlandırılan yeni bir soy hattının olduğunu öne sürmüştür.

### **2.3. Alabalık Soy Hatlarının Kökeni**

Alabalıklara ait ana soy hatlarının atasal popülasyonlardan allopatrik olarak ayrılmayı takiben, bağımsız olarak evrimleştikleri düşünülmektedir. Alabalıklarla ilgili çalışmaların büyük çoğunluğu mtDNA verilerine dayalı olmasına rağmen, geniş coğrafik alanlarda yapılan mikrosatelit DNA çalışmaları, mtDNA soy hatlarını destekler niteliktedir (Presa, 1995; Berrebi, 1995). Benzer coğrafik dağılımlara ve farklı soy hatlarına sahip olan popülasyonlar, hem güçlü alel frekans farklılıkları hem de tanımlayıcı aleller tarafından birbirlerinden önemli derecede ayrılmaktadır (Guyomard, 1989; Bernatchez ve Osinov, 1995; Giuffra ve Ark., 1996).

Filogenetik hipotezlerin yaklaşık zamanını tahmin etmek amacıyla, demografik ve filogenetik parametreler birlikte değerlendirilerek moleküler saat uygulamasında kullanılmaktadır. Alabalıklar için her milyon yılda %1-2'lik mutasyon oranı öne sürülmüştür. Salmonid balıkların fosil kayıtlarından yararlanılarak yapılan bir çalışmada, yaklaşık olarak mtDNA için her milyon yılda %1 mutasyon oranı hesaplanmıştır (Smith, 1992). Salmonidler için düşünülen filocoğrafik modeller ile Pleyistosen buzul dönemi süresince birbirini takip eden olaylar arasında korelasyon kurulmasında moleküler saat kalibrasyonundan yararlanılmıştır (Bernatchez ve Dodson, 1991; Wilson ve Ark., 1996). Donaldson ve Wilson. (1999) mtDNA saat kalibrasyonu yapmak amacı ile Panama Kıstağında fiziksel olarak izole olmuş bölgelerdeki balıklar üzerinde çalışma yapmıştır. Bu çalışma sonucu mtDNA'sının ND 5-6 bölgesi için yaklaşık ayrılma oranı her milyon yılda %1 hesaplanırken, kontrol bölgesi için ise her milyon yılda %3.6 olduğu tahmin edilmiştir. Sonuç olarak, *Salmo trutta* için en eski fosillerin erken Pleyistosen dönemine (2 milyon yıl öncesi; Osinov ve Bernartchez, 1996) ait olduğu tahmin edilmektedir. Alabalıkların en uzak kladları arasındaki ayrılma zamanı moleküler saat uygulamasıyla tahmin edildiğinde; beş ana alabalık soy hattı arasında ayrılma aralığının %1.4-2 olduğu ve bunun her milyon yılda %1-2'lik moleküler saate karşılık geldiği görülmüştür.

Ana alabalık soy hatlarının ayrılma zamanını saptamada moleküler saat uygulamasına başvurulması sonucu, soy hatları arasındaki geniş çaplı ayrılmanın 0.5 ile 2 milyon yıl arasında olabileceği düşünülmektedir. Bu sonuç alabalıklara ait ana filogenetik soy hatlarının dağılımının, Pleyistosen buzullaşma olayı süresince meydana gelen iklimsel ve çevresel değişikliklerden yakından etkilendiğini göstermektedir.

Soy hatları arasındaki en eski ayrılma, üç ana havza ve bu havzalardaki alt bölümlerin eş zamanlı olarak allopatrik ayrılmasını içermektedir. Bunlar Atlantik, Ponto Hazar ve Akdeniz Havzaları ve eş zamanlı olarak Akdeniz Havzasında gerçekleşen ME, MA ve AD soy hatlarının ayrılmasıdır. Son üç milyon yılda en önemli iklim değişikliği yaklaşık olarak 700 bin yıl önce meydana gelmiştir (Webb ve Bartlein, 1992; Andersen ve Borns, 1994). Bugün farklı havzalarda



bulunan birkaç nehir sisteminin (Ronn, Renn ve Tuna) ilk büyük izolasyonunun bu dönem süresince meydana gelmiş olduğu düşünülmektedir (Villinger, 1986). Sonuç olarak, Alabalık kompleksi içindeki önemli genetik ayrılmalar büyük iklimsel değişiklikler sonucu erken üst-orta Pleyistosen arasında Avrupa'da meydana gelen havza izolasyonları ile oluşmuştur. Beş önemli soy hattının kökeni ve evrimsel çizgilerini doğru bir şekilde ortaya konabilmesi için, her soy hattının genetik farklılıkları, alabalık dağılımının coğrafik modelleri ve Pleyistosen süresince devam eden çevre değişiklikleri birlikte değerlendirilmelidir.

### **2.3.1. Atlantik Bölgesindeki Alabalık Çeşitliliği**

MtDNA ile tanımlanan AT soy hattı; İber Yarımadası'nın kuzeyinde Norveç ve İzlanda'da bulunan Atlantik nehir sistemlerinde, Fas'ın Atlas Dağlarıyla birlikte Baltık ve Beyaz Deniz drenajlarına kadar yayılmış olan soy hattıdır (Şekil 1). Çekirdek ve mtDNA belirteçleri kullanılarak yapılan çalışmalar, Kuzey Atlantik alabalık popülasyonlarından Atlantik İber popülasyonlarını önemli şekilde ayırmaktadır (Moran ve Ark., 1995; Bouza ve Ark., 1999; Weiss ve Ark., 2000). Son buzul döneminde Kuzey Atlantik bölgesinin buzullarla örtülü olması nedeni ile, bu bölgedeki bir çok popülasyon buzul dönemi sonrasında beri bulunmaktadır (10000 yıl ile 18000 yıldan günümüze kadar). Son buzul dönemini takiben Atlantik soy hattı Fransa, İber Yarımadası ve Kuzey Afrika coğrafyasında bulunmaktadır. Atlantik Bölgesinin buzullaşmamış bölgelerinde buzul dönemi öncesinden kalan bazı alabalık popülasyonları bulunmaktadır. Buzul tabakalar buzul dönem süresince bazı bölgelerde sürekli devam etmemiş olmasına rağmen, bazı bölgelerde buzul tabakalarındaki büyük ilerleme ve geri çekilmeler deniz seviyesinde değişikliklere neden olmuştur. Bu değişiklikler allopatrik ayrılma dönemlerini takiben, alabalık soy hatları arasında ikincil temasların gerçekleşmesini sağlamıştır (Hynes ve Ark., 1996; Bernatchez, 2001).



**Şekil 1: AT soy hattının coğrafik dağılımı (Bernatchez, 1995).**

Soy hatları arasındaki birkaç bin yıllık ayrılma sonucu genetik farklılaşmanın küçük olabileceğinin düşünülmesine rağmen, güçlü ekolojik ve diğer yaşam tarihi farklılıkları evrimsel sürecin hızlanmasına neden olmuş olabilir (Behnke, 1972). Alabalıkların doğuştan gelen içgüdüsel davranışları olan beslenme yeri ve zamanı gibi yaşam şekli ile ilgili karakterlerde farklılıklar vardır. Bunlar yalnız birkaç genle kontrol edilmesine rağmen, üreme izolasyonunun ortaya çıkmasına neden olabilir. Populasyonlar arasında ikincil temas gerçekleştiği zaman, genetik farklılaşma doğal seleksiyon yoluyla genişler ve güçlenir. Kuzeybatı Avrupa’da şu andaki mevcut alabalık populasyonlarının bir veya daha fazla Atlantik buzul sığınağından, buzul dönemi sonrası yeniden kolonizasyon sonucu ortaya çıkmış olduğu düşünülmektedir (Bernatchez, 2001). Ayrıca son buzul dönemi süresince Volga ve Baltık Nehirleri alabalıkları arasındaki karışım, alabalık yayılma alanının güneydoğu bölgesinde farklı kolonilerin meydana gelmesine neden olmuştur. Bunun sonucu olarak Atlantik soy hattının güneydoğu bölgesindeki balıkların oluşturduğu kolonilerin bazı

bölümleri ile DA soy hattı arasında gen akışı ve ikincil temas oluşturmuş olma ihtimalinin yüksek olduğu düşünülmektedir (Osinov ve Bernartchez, 1996).

Ferguson ve Fleming (1983), İngiltere ve İrlanda da buzul dönemi sonrası süreçte alabalıkların iki soy hattı şeklinde kolonize olduğunu düşünmekteydi. İlk ırk diğer salmonid türleri ile benzer alelleri taşıyan atasal ırk, diğeri ise yeni aleller taşıyan modern ırk olarak düşünülmüştür. Bu ikili kolonizasyon hipotezi Hamilton ve Ark. (1989) tarafından Kuzeybatı Avrupa dışına doğru genişletilmiştir. Haplotip dağılım modelleri ve mitokondri haplotiplerinin filogenisine bakıldığında, Kuzeybatı Avrupa'daki buzul dönemi sonrası kolonizasyonun, önceden önerilen ikili kolonizasyondan daha karmaşık bir yapı gösterdiği ortaya çıkarılmıştır (Hynes ve Ark., 1996).

Garcia-Marin ve Ark. (1999), Kuzeybatı Avrupa'da üç farklı soy hattını temsil eden kolonileşme olduğu sonucuna varmışlardır. Birinci soy hattı İngiliz kanalı yakınındaki merkezi bir sığınaktan kuzey ve doğuya doğru yayılan alanı kapsamaktadır. İkincisi, Güney Fransa ve İber yarımadasının Atlantik drenajlarındaki sığınaklardan kuzeye doğru genişleyen alanı kapsamaktadır. Üçüncüsü ise doğu Akdeniz-Hazar sığınaklarından kuzey batıya göç eden balıklar tarafından oluşturulan bölgedir. Önceden buzul olan bu alanlarda bulunan popülasyonların, bu üç soy hattının birleşmesi sonucu oluştuğu düşünülmektedir (Garcia-Marin ve Ark., 1999; Bernatchez, 2001).

Buzul dönemi sonrası kolonileşme modelleri ve sayısı tam olarak bilinmemekle birlikte, birden daha fazla kolonileşme gerçekleştiği açıktır. Kuzeybatı Avrupa alabalık popülasyonlarında bugün görülen genetik farklılık, genetik farklılaşma ile birlikte buzul dönemi sonrası izolasyon meydana gelmesi ve farklı soy hatlarının buzul dönemi sonrası bağımsız kolonileşmeleri sonucu ortaya çıkmıştır. Muhtemelen farklı alabalık formları arasında üreme meydana gelmiştir ve bu simpatrik türleşmeyi göstermektedir (Osinov ve Bernatchez, 1996; Garcia-Marin ve Ark., 1999).

Atlantik Havzasında alabalıklar son buzul olayları süresince marjinal buz tabakalarındaki sığınaklarda hayatta kalabilmişlerdir (Ferguson ve Fleming, 1983; Hamilton ve Ark., 1989; Osinov ve Bernatchez, 1996). Pleyistosenin ilk buzul

döngüsü süresince hem karalarda hem de denizlerde önemli buzul genişlemeleri ve şiddetli iklime rağmen (Webb ve Bartlein, 1992; Anderson ve Borns, 1994) Atlantik soy hattının kökeninin atasal merkezi çoğunlukla güney, muhtemelen Iber Boğazı'nın kıyı kolları veya bir düzeyde Kuzey Afrika olduğu düşünülmektedir.

### **2.3.2. Karadeniz, Hazar ve Aral Denizi Havzalarındaki Alabalık Çeşitliliği**

Alabalıkların genetik olarak çalışılmış doğal yayılış alanlarına bakıldığında önemli bir kısmının Avrupa'nın doğusunda bulunduğu görülmektedir (Bernatchez ve Ark., 1992). Bu bölge; Karadeniz, Hazar Denizi ve Aral Deniz Havzalarını kapsamaktadır. MtDNA verilerine göre beş önemli filocoğrafik soy hattından ikisi bu bölge içinde (DA ve AT) bulunmaktadır (Şekil 2) (Bernatchez ve Ark., 1992; Osinov ve Bernartchez, 1996).

DA soy hattının köken aldığı merkezi bölge çok problemlidir. Bu soy hattı Ponto-Hazarda buzul ilerlemesi süresince hem şiddetli habitat kaybının doğrudan etkisi hem de Karadeniz, Hazar ve Aral Denizi Havzalarının genişleme, daralma ve bağlantılarının çok karmaşık modelleri nedeniyle karmaşık bir yapıya sahiptir (Arkhipov ve Ark., 1995). Kafkas bölgesinde bulunan ilk alabalık fosillerinden ve daha sonraki çalışmalardan elde edilen bilgiler, DA soy hattına ait mevcut populasyonların Karadeniz ile bağlantılı drenajlardan köken aldığını göstermektedir (Şekil 2).



Şekil 2: DA soy hattının coğrafik dağılımı (Bernatchez, 1995).

AT ve DA soy hatlarına ait populasyonlar mtDNA ve allozim varyasyonu açısından benzerlikler göstermektedir (Bernartchez ve Osinov, 1995; Osinov ve Bernartchez, 1996). İki allozim lokusundan elde edilen veriler iki filogenetik grubu ayırmakla birlikte, AT ve DA soy hatları arasında ikincil temas (doğal ve yapay) olduğuna da işaret etmektedir (Bernartchez ve Osinov, 1995; Riffel ve Ark., 1995; Osinov ve Bernartchez, 1996). Allozim verileri bu temasın sonucunda bu soy hatları arasında hibritleşme olduğunu göstermiştir. Ancak DA soy hattının toplam durumu göz önüne alındığında, iki grup arasındaki karışma seviyesinin çok sınırlı kaldığı görülmüştür.

Karadeniz, Hazar Denizi ve Aral Denizi Havzasındaki populasyonlar morfolojik ve ekolojik varyasyon temel alınarak bir sınıflandırma yapıldığında, farklı coğrafyalarda bulunan alabalık populasyonları, farklı isimlerle sınıflandırılmıştır (Berg, 1948). Örneğin Karadeniz Havzasındaki populasyon *S. t. labrax*, Hazar Denizi Havzası *S. t. caspius*, ve Aral Denizi Havzası alabalıkları *S. t. oxianus* olarak isimlendirilmiştir. Ayrıca Sevan Gölü (Hazar Denizi Havzasından) farklı ekofenotipik formlar farklı tür (*S.t. ischchan*) olarak tanımlanmıştır.

### 2.3.3. Akdeniz-Adriyatik Bölgesindeki Alabalık Çeşitliliği

Akdeniz-Adriyatik coğrafik alanı, Avrupa alabalık kompleksinin yüksek fenotipik farklılık gösterdiği bir bölgedir. Araştırmacılar bir çok değişik alabalık formlarını bu alanda tanımlamıştır. Bunların çoğu Balkanlar ve Türkiye’de bulunmaktadır (*S. t. macrostigma*, *S. t. dentex*, *S. t. peristericus*, *S. t. marmoratus*, *S. carpio*, *S. obtusirostris*. vb). Varsayılan bu alt tür listesi Behnke (1968), Economidis ve Banarescu (1991), Kottelat (1997) ve Dorofeeva (1998) tarafından önerilmiştir.

Akdeniz–Adriyatik bölgesindeki alabalık populasyonlarının genetik farklılığı, büyük ölçüde çekirdek ve mtDNA varyasyonunu temel alan çalışmalar sonucu şekillendirilmiştir. İlk zamanlar yapılan taksonomik sınıflandırmaların büyük bir çoğunluğunun fenotipik varyasyona dayanması nedeniyle, karmaşık biyocoğrafik yapılanmalarla sonuçlanmıştır. Ancak moleküler teknikler kullanılarak elde edilen bilgiler bu sınıflandırmayı doğrulamamaktadır (Karakousis ve Triantaphyllidis, 1990; Apostolidis ve Ark., 1997).

Akdeniz sığınak alanı olarak tanımlanan bölge farklı coğrafik dağılım modelleri ile beş ana alabalık soy hattından üçünün (ME, MA ve AD) bulunduğu bölgedir. Akdeniz sığınak alanı güneybatı (Ibero-Mediterranean), merkezi (Adriomediterranean veya İtalya) ve doğu (Balkanlar ve Anadolu) sığınaklarından oluşmaktadır (Keith, 1998). ME soy hattı Akdeniz’in batı bölgesindeki drenaj kolları ile yakından ilişkilidir ve bu bölgeden köken aldığı düşünülmektedir. Persat ve Berrebi (1990) Pleyistosen döneminde şiddetli çevre koşulları hüküm sürmesi ve buzulların ilerlemesi süresince, balıklar için Fransa’nın güney bölgesindeki Prene Dağlarının sığınak olarak hizmet ettiğini düşünmektedir.



Şekil 3: MA soy hattının coğrafik dağılımı (Bernatchez, 1995).



Şekil 4: ME soy hattının coğrafik dağılımı (Bernatchez, 1995).



Şekil 5 : AD soy hattının coğrafik dağılımı (Bernatchez, 1995).

*S.t. marmoratus* (MA soy hattına ait olan) diğer Akdeniz alabalık populasyonlarından kolaylıkla ayrılan güçlü ekolojik ve morfolojik varyasyon gösterir (Behnke, 1968). Ayrıca MA soy hattı AT, DA ve ME soy hatlarına ait populasyonlar'dan önemli ölçüde genetik farklılığa sahiptir (Bernatchez ve Ark., 1992; Giuffra ve Ark., 1994). Bu soy hattının Po nehri Havzasını kapsamakla birlikte Kostarika ve Slovenya'daki drenajlarda bulunmaktadır (Şekil 3). Bu Havzalar arasında daha çok buzul dönemleri arasında ilişki kurulmuştur (Bianco, 1990). MtDNA ve allozim varyasyonu temel alınarak yapılan çalışmada *S. marmoratus* 'un 1-3 milyon yıl önce diğer soylardan ayrıldığı ve Kuzey Adriyatik bölgesinden köken aldığı düşünülmektedir (Giuffra ve Ark., 1996). Ayrıca *S. marmoratus* 'un Balkanlar'daki populasyonlarla yüksek seviyede klad farklılığının olması, AD soy hattının Balkan ve Anadolu sığınaklardan kaynaklandığını göstermektedir.

Akdeniz *S trutta* populasyonunun genetik yapısı geniş bir coğrafik alanda yapılan protein elektroforezi ve mtDNA çalışmalarıyla belirlenmiştir. Bu populasyonların bulunduğu bölgede iki farklı mtDNA haplotipi görülmüştür (Bernatchez ve Ark., 1992; Bernatchez, 1995). Bu bölgede iki farklı haplotipin bulunması nedeniyle, geçmişten bu yana iki farklı grubun olduğu düşünülmüştür.



Bu iki mtDNA grubunun belirli bir bölgede, benzer populasyonlarda, karmaşık modellerde dağılım göstermektedir (Giuffra ve Ark., 1994). Ayrıca çekirdek DNA belirteçleri ile yapılan çalışmalar populasyon yapısının çok karmaşık olduğunu göstermektedir. Bu iki mtDNA grubuna ait populasyonlar arasında küçük coğrafik alanlarda ekolojik ve fenotipik farklılıklarla ilişkili, bir ya da daha fazla lokusta belirgin farklılıklar bulunmuştur (Krieg ve Guymoard, 1985; Apostolidis ve Ark., 1996; Giuffra ve Ark., 1996).

*S. carpio*, Po Havzasındaki Garda Gölünde yaşayan, özellikle ilginç morfolojiye sahip endemik bir formdur. *S. carpio* gerçek bir tür olarak tanımlanır. Çünkü çok özel ekolojik ve üreme özelliklerine (özellikle gölde yaşama, yılda iki üreme dönemi ve derin sulara yumurtlama) sahiptir. *S. carpio* bu özellikleri ile *S. trutta lacustris* populasyonu olarak tanımlanan alabalık populasyonundan simpatrik olarak ayrılmaktadır (Behnke, 1972). Son moleküler çalışmalar yoğun genetik sürüklenmeyi takiben, *S. carpio*'nun Akdeniz *S. trutta* ve *S. marmoratus* arasındaki hibritleşmeden köken aldığı ileri sürmektedir (Giuffra ve Ark., 1994).

#### **2.4. Alabalık Soy Hatlarının Dağılımı ve İkincil Temas için Kısıtlamalar.**

Alabalıklara ait soy hatları yüz binlerce nesil allopatrik olarak ayrı kalmakla birlikte, soy hatlarının bulunduğu yerlerin habitat çeşitliliği ve Pleyistosen süresince ana havzalar arasında ilişkinin olması, türün geniş coğrafyaya yayılımının nedenleri hakkında bize bilgi vermektedir. Örneğin Ponto-Hazar ve Atlantik Havzaları arasındaki farklı buzul dönemler süresince bağlantı mümkün olabilmiştir. Nehir sistemleri arasındaki bağlantıları ve buzulların uç kısmında bulunan geniş buz baraj göllerindeki genişlemeler, Ponto-Hazar Havzasının güneye doğru kaymasına neden olmuştur (Grosswald, 1980; Arkhipov ve Ark., 1995). Filocoğrafik ve biyocoğrafik çalışmalar bu bölgedeki balık türlerinin Ponto-Hazar sığınağından köken aldığını ve buzul dönemlerini takiben, Atlantik Havzasında yeniden kolonize olduğunu göstermektedir (Durand ve Ark., 1999; Nesbo ve Ark., 1999). Ponto-Hazar ve Akdeniz Havzaları arasındaki drenajlar yoluyla mümkün olan balık yayılışına benzer şekilde, Akdeniz Havzası ve DA soy hattına ait populasyonlar arasında da mümkün olmuştur. Kuzeyden

gelen su akıntısının artması, Karadeniz'in boşalması, Akdeniz'in fazla su alması, tuzluluk azalması gibi olaylar Ege Denizi Havzasında balık hareketlerine neden olmuştur (Bianco, 1990; Economidis ve Banarescu, 1991; Arkhipov ve Ark., 1995). Akdeniz Havzasında farklı alabalık populasyonlarına ait birkaç MtDNA haplotipinin bulunması bu balıkların havzanın temsilcisi olmadığını göstermektedir. Bu bölgede diğer alabalık soy hatlarının bulunması farklı soy hatları arasında bağlantı olduğunu doğrulamaktadır. Ancak farklı soy hatları arasındaki hibritleşme (yetiştiricilik ve insan eliyle habitat bozulması hariç tutulursa) çekirdek genlerindeki çalışmalarda görüldüğü üzere, oldukça sınırlı düzeyde kalmıştır (Bernatchez ve Osinov, 1995; Giuffra ve Ark., 1996).

Alabalık dağılımında etkili olan biyolojik faktörlere hibritleşme ve fiziksel izolasyonlar ilave edildiğinde, alabalık soy hatları arasında yayılma sınırlı düzeyde kalmaktadır. Biyolojik faktörlerden biri yeni kolonize olan habitatlarda görülen, yaşam alanına sonradan gelen alabalıklar ile ilk yerleşenler (muhtemelen yakın sığınaklardan yayılanlar) arasındaki farklı demografik genişleme dinamikleri olabilir. Yapılan çalışmalarda yaşam alanına ilk gelen balıkların yerleştikleri alandan hızlı bir şekilde yeni ulaşabildikleri habitatlara yayıldıklarını göstermektedir (İbrahim ve Ark., 1996). Sonradan herhangi bir populasyon içinde yayılmaya çalışan populasyonların, beraberinde taşıdıkları genetik kapasite ölçüsünde ancak sınırlı sayıdaki dinamikleri değiştirebilmeleri nedeni ile yeni oluşan populasyon yapısına katkıları çok azdır. Bu verilerden de anlaşıldığı gibi alabalıklar ilk yaşam alanı olarak ekolojik bakımdan uygun havza veya coğrafik alanlara yerleşmekte ve yerleştikleri bölgede sınırlı büyüklükte genişleyebilmektedirler. Alabalıklar yeni populasyonlar kurmak üzere çok nadir olarak ilk yaşam alanlarından ayrılıp daha uzak yaşam alanlarına yerleşmişlerdir. Bu süreç farklı çevrelerde (iklim, fiziksel çevre ve tür komüniteleri açısından farklı çevrelerde) farklı seçim ya da zamanla coğrafik izolasyonu hızlandırır, genetik ve ekolojik farklılıkların birikimine neden olabilir. Son buzul döneminde alabalık soy hatlarının coğrafik izolasyonu, soy hatları arasında kısmi genetik uyumsuzluğun gelişmesine yol açmıştır. Genetik uyumsuzluk nedeni ile saf ırk yavrular ile hibritler karşılaştırıldığında, hibritler arasında çok yüksek embriyonik

ölüm oranı görülmüştür (Lu ve Bernatchez, 1998). Bu sonuç farklı soy hatlarındaki populasyonlar arasında üreme izolasyonunun olması, yani simpatrinin bulunması ile açıklanabilir (Bernatchez ve Ark., 1999; Lu ve Bernatchez, 1999). Önemli alabalık soy hatları arasında gen akışına etki eden ekolojik ve genetik engeller araştırılmış ve bazı farklı soy hatları arasında parapatrinin bulunabileceği öngörülmüştür (Giuffra ve Ark., 1996; Largiader ve Scholl, 1996; Poteaux ve Ark., 1998).

### **2.5. Alabalık Soy Hatları Arasında Demografik Genişleme Zamanları**

AT, AD ve DA soy hatları için ani demografik genişleme modelleri istatistiksel olarak desteklemektedir. Farklı zamanlarda meydana gelen büyüme parametrelerindeki değişikliğin tahmin edilmesi, her soy hattına ait demografik genişlemenin en önemli göstergesidir. Habitat kaybı açısından Atlantik Havzasının buzullardan doğrudan etkilenmesi nedeniyle, AT soy hattı içinde bir çok demografik genişleme belirlenmiştir. Atlantik Havzası'nda buzulların ilerleme sürecinde populasyon sıklığında önemli azalmalar tespit edilmiştir. Genel olarak buzul döneminde Atlantik Havzası'nın kuzeyinde bulunan balıklar güneydekilerden farklı etkilenmiştir (Bernatchez ve Wilson, 1998). AT soy hattında görülen mtDNA farklılaşmasının, AD ve DA soy hatlarına oranla daha düşük olması bu bulguyu desteklenmektedir. Atlantik soy hattına ait en önemli demografik genişleme zamanı (her milyon yılda %1 mutasyon oranı düşünüldüğünde 13.400 yıl önce, her milyon yılda %2 mutasyon oranı düşünüldüğünde 26.800 yıl önce) ortalama olarak 18000 yıl önceye denk gelmektedir.

En önemli ve en eski demografik genişleme (ortalama 154.500-309.000 yıl önce) DA soy hattında meydana gelmiştir. DA soy hattının bulunduğu alandaki jeolojik veriler Atlantik Havzası ile karşılaştırıldığında, DA soy hattının son buzul ilerleme olayından çok az etkilendiğini göstermektedir. Buna ilaveten, DA soy hattına ait populasyonlar çok yüksek mtDNA çeşitliliği göstermektedir. DA soy hattının bulunduğu bölgede demografik genişlemenin birkaç şekilde meydana gelmiş olabileceği düşünülmektedir. Örneğin Aral Denizi, Hazar Denizi ve

Karadeniz Havzalarındaki demografik genişleme, bu bölgeler arasında ilişki sonucu gerçekleşmiştir. Ancak en önemli bağlantılar ve deniz genişlemelerin yaklaşık olarak 270.000-290.000 yıl önce meydana gelmiş olabileceği düşünülmektedir (Arkhipov ve Ark., 1995).

AD soy hattındaki demografik genişlemenin zamanı (yaklaşık 67.300-134.600 yıl önce) AT ve DA soy hatlarında meydana gelen genişlemenin arasındaki bir zamana denk gelmektedir. Akdeniz Havzası'nın farklı bölgelerindeki alabalık populasyonları, buzul oluşumundan farklı şekilde etkilenmişlerdir. Akdeniz Havzası'nın batı kısmındaki alabalık populasyonlarının dağılımının daha doğudaki populasyonlarla karşılaştırıldığında, batı kısmındaki habitatların çok şiddetli iklim değişiklikleri ve deniz bariyerleri nedeniyle çok sıkışmış oldukları belirlenmiştir (Hewit, 2000). Batıdaki populasyonlar doğudakiler ile karşılaştırıldığında, çok önemli genetik farklılıklar taşıdıkları görülmüştür. AD soy hattı içindeki en önemli demografik genişleme geç Riss buzul dönemi veya erken Würm süresince meydana gelen batıya doğru yayılma sonucu gerçekleşmiştir (Bernatchez ve Ark., 2001).

ME ve MA soy hatları için ani demografik genişlemenin herhangi bir modeli önerilmemiştir. Bu soy hatlarına ait populasyonların genetik yapıları incelendiğinde zamana bağlı olarak daha sabit nüfus yapısı önerilmektedir (Rogers ve Harpending., 1992). Fiziksel olarak izole olmuş populasyonlar arasında daha dikkat çekici populasyon yapısıyla birlikte, yüksek genetik farklılık beklenir. ME ve MA soy hatlarında görülen aşırı düşük çeşitlilik ve populasyon yapısını gösteren moleküler varyansın ortaya koyduğu gibi, bu durum her zaman böyle değildir. Bunun yerine geniş bir coğrafik alan üzerinde görülen tek bir haplotipin baskınlığı şiddetli darboğazların neden olduğu koşullar ile daha uyumludur. Bu durum ME ve MA soy hatlarının sığınak populasyonların bulunduğu yerlerdeki daha düşük habitat çeşitliliği ile uyumludur. Ayrıca aşırı düşük genetik çeşitlilik populasyonun genetik yapısındaki demografik göstergelerin tespit edilmesini güçleştirir. Örneğin ME ve MA soy hatlarında gözlenen genetik farklılıktan anlaşıldığı kadarıyla, populasyonların nüfus yapısı üzerinde buzulların etkisi kuzeyde ve güneyde tipik olarak farklıdır. Son buzul

ilerlemesi süresince alabalıklar kuzeyden daha fazla güneyde uygun yaşam alanları bulabilmişlerdir (Bernatchez ve Ark., 2001).

## **2.6. Moleküler Sistematikte Yaygın Olarak Kullanılan Bazı Metotlar**

Genetik varyasyonun korunması, doğal popülasyonların korunmasında temel unsurdur. Genetik varyasyonun seviyesi, seçim/üreme programlarında ve türlerin değişen çevre koşullarına adaptasyon sağlamasında önemli bir yere sahiptir. Herhangi bir biyolojik kaynağı etkili olarak yönetmek için, mevcut popülasyonların genetik varyasyon düzeyi mutlaka tanımlanmalıdır. Bazı genetik belirteçler kullanılarak bir çok tür için belirli düzeyde bilgilere ulaşılabilir olmasına rağmen, popülasyon genetiği ve uzun süreli araştırmalar için genom haritalama, kantitatif karakter lokuslarının belirlenmesi gibi ilave bilgilere de ihtiyaç duyulur.

Balık popülasyonu çalışmalarında genetik belirteçlerden uzun süreden beri yararlanılmaktadır (Utter, 1991). Genetik belirteçlerin ilk önemli uygulamaları geniş olarak denizlerde gözlenen davranış ve göç modellerinin araştırılmasıyla ilgilidir. Moleküler fenotip üzerindeki ilk çalışmalar, genetik olarak uzak balık popülasyonları arasında hemogloblin polimorfizminin araştırılmasıyla başlamıştır (Sick, 1961; Ward ve Grewe., 1994). Örneklerin ayırmadaki problemleri çözmek için özel histokimyasal boyama yöntemleri kullanılmıştır (Hunter ve Markert., 1957). Özgül proteinlerin boyanmasında nişasta jel elektroforezi kullanılarak allozim varyasyonunun belirlenmesi sağlanmıştır (Harris ve Hopkinson., 1976).

Eldeki genetik belirteçlerin çeşitliliğini sayıca artırabilmek için araştırmacılar 1970 sonu 1980 başında DNA'dan yararlanmaya başlamışlardır. Bu alanda yapılan ilk çalışmalar mtDNA odaklı olup, RFLP analizi kullanılmıştır (Lansman ve Ark., 1981). Sonraki araştırmalar genetik materyale ait belirli bölgelerin dizi analizi üzerine odaklanmıştır (Bernatchez ve Ark., 1992). Ayrıca balıklarda çekirdek DNA'sının RFLP (Pogson ve Ark., 1995) ve rasgele çoğaltılmış polimorfik DNA (RAPD) analizlerine de başvurulmuştur. Ancak son on yılda değişken sayılı tekrarlı dizi lokusları (VNRTs) kullanılmasında artış görülmüştür (Jeffreys ve Ark

1985; Tautz, 1989). Bu bölgeler kısa ve düzenli DNA dizilerinden oluşmaktadır ve genom boyunca rasgele dağılmışlardır. Başlangıçta her birey için eşsiz bant kalıpları veren çok lokuslu DNA parmakizi kullanılmıştır. Tek lokus VNTR belirteçlerinde elektroforez sonucu oluşan bant kalıplarını yorumlamak oldukça zordur. Son zamanlarda dikkatler VNTR'lerin ikinci sınıfları olan mikrosatelitler üzerinde odaklanmıştır ve bir çok yabancı yaşam araştırmaları ve yetiştiricilik uygulamalarında tercih edilen belirteçler olmuştur.

### **2.6.1. Protein Varyasyonu**

Moleküler sistematikte kullanılan ilk teknik protein elektroforezidir. Proteinle ilgili ilk çalışmalar 1960'larda hemoglobin ve transferin gibi proteinlerle başlamış ve sonraki birçok çalışmada enzim proteinleri kullanılmıştır. Her bir lokus proteini, aminoasit yüküne bağlı olarak elektriksel alanda farklı hareket etmektedir. Eğer bir proteini kodlayan lokusta birden fazla alel varsa, her bir alel tarafından kodlanan polipeptitler farklı amino asit içeriklerinden dolayı farklı elektriksel yüke ya da büyüklüğe sahip olacaklardır. Elektroforez bu gibi alelik farklılıkları ortaya çıkarmaktadır. Allozim belirteçleri kodominanttır; yani bir lokustaki alellerin tümü ayırt edilebilir ve Mendel kalıtımı gösterirler. Örneklerin hızlı bir şekilde analiz edilebilirliği, kullanılan kimyasalların maliyetinin düşüklüğü, tekniğin kolaylıkla öğrenilebilir olması, çalışılan lokus ürününün işlevinin bilinmesi ve birçok tür için yeterli düzeyde bilgi altyapısının olması bu yöntemin başlıca avantajlarından (Tablo 1). Dezavantajı ise, taze ya da hemen dondurulmuş doku gereklidir. Enzim aktivitesinin dokudan dokuya farklılık gösterebilir olmasından dolayı birden çok dokunun incelenmesi gerektirir. Protein bant kalıplarının analizi özellikle poliploid durumlarda zor olabilir. Hesaplanan genetik varyasyonun miktarı gerçekte olduğundan daha az bulunabilir. Çünkü, DNA'daki mutasyon sonucu değişen aminoasit aynı elektriksel yüke sahip olabilir veya genetik kodun dejenerasyonundan dolayı oluşan bazı mutasyonlar aminoasit değişimiyle sonuçlanmayabilir. Bu yolla genomun çok küçük bir kısmı incelenebilir. Çünkü, genomda bu tip enzimleri

kodlayan genlerin sayısı azdır ve bunların hepsi bilinmemektedir. Bu şekilde ancak genomun %5'inden daha azının incelenebilir olmasından dolayı, yakın türler ya da populasyonlar arasında varyasyonu saptamak zordur.

### 2.6.2. Mitokondri DNA

Hayvan mtDNA'sı, populasyonlar arasındaki farklılaşmayı, evrimsel tarihi, evrimsel süreçlerin dinamiklerini ve tarihsel biyocoğrafya ile ilgili önemli veriler sağlamaktadır. Bundan dolayı populasyon, tür ve daha üst taksonomik gruplar arasındaki genetik sınırları boyunca şecere izlerinin belirlenmesine olanak verir. Ayrıca, türün genetik yapısının belirlenmesi doğal populasyonların yönetimi için en önemli görevlerden birisidir. Bu gibi veriler koruma biyolojisi açısından son derece önemlidir.

Hayvan mtDNA'sı 15- 20 kb uzunluğunda, 22 tRNA, 2 rRNA, 13 elektron transferi ve oksidatif fosforilasyonda görev yapan ve 13 mRNA'yı kodlayan toplam 37 genden oluşan kapalı halkasal bir moleküldür. Yaklaşık 1 kb uzunluğunda olan 'kontrol bölgesi' replikasyonun başladığı bölgedir. MtDNA'da genlerin düzeni genellikle sabittir, ancak gen organizasyonu bazı hayvan taksonlarını ayırabilir (Desjardins ve Morais, 1990).

Memeli hayvanlarda mtDNA'nın, replikasyon sırasında meydana gelen mutasyonların tamir mekanizmasındaki eksiklik nedeniyle, çekirdek DNA'sından daha fazla dizi farklılığına sahip olduğu bulunmuştur (Wilson ve Ark., 1985). Pont-Kingdon ve Ark. (1995) omurgasız türlerden *Sarcophyton glacum*'da tamir mekanizmasının olduğunu bulmuşlardır.

Mitokondri genomu filogenetik çalışmalar için yararlı olan pek çok özelliklere sahiptir (Avice, 1994). En önemli özelliği klonal kalıtımdır. Mitokondri genomu haploittir ve rekombinasyon göstermez. İkinci olarak, mtDNA tek kopya çekirdek DNA'ya göre daha hızlı evrimleşmektedir. Bu özelliğinden dolayı, yakın akraba türler ve populasyonların filogenetik ilişkilerini çalışmak için uygundur. MtDNA'nın anasal olarak kalıtımlanıyor olması filogenetik analizler için avantaj olarak kabul edilir. Her ne kadar mtDNA'sı

çoğunlukla anasal olarak kalıtımlanıyorsa da, bazı türlerde hem anasal hem babasal kalıtım gösterebilir (Margoulas ve Zouros, 1993).

MtDNA bölgeleri, balıklarda evrensel primerler kullanılarak oldukça iyi çalışılmıştır (Kocher ve Ark., 1989; Meyer ve Ark., 1990, Simon ve Ark., 1994). Bunlar taksonomik problemleri çözmeye etkili bir şekilde kullanılabilir. Mitokondrinin protein kodlayan genleri, kodlama yapmayan yerleri ve transkribe olmayan kontrol bölgesinin, populasyon, tür ve cins gibi yakın geçmişte ayrılmış taksonların ilişkilerini analiz etmek için kullanışlı olduğu gösterilmiştir. Daha yüksek takson grupları çalışıldığında, genlerin kodlama yapmayan yerleri ve hızla evrimleşen bölgelerinde çok sayıda baz değişimleri olmaktadır. Bu yüzden de filogenetik ilişki belirsizleşmektedir. Üst takson grupları için 12S ve 16S rRNA gibi daha yavaş evrimleşen bölgeler daha yararlı olabilir.

Sitokrom *b* geni muhtemelen balıklarda en iyi çalışılan genidir. Mitokondri tarafından kodlanan pek çok diğer proteinler gibi, hücre metabolizmasının solunum zincirinde rol alan önemli bir transmembran proteindir. Her ne kadar yaygın olarak kullanılmaktaysa da bazı araştırmacılar filogeniyi çözmeye bu dizilerin özelliğine şüphe ile bakmaktadır (Martin ve Ark., 1990; Graybeal, 1993). MtDNA'sının sitokrom *b* geni, populasyon genetiğinde yüksek taksonomik gruplara kadar değişen ilişkileri analiz etmek için kullanılmıştır (Birmingham ve Ark., 1997; Lydeard ve Roe, 1997).

Mitokondriyal ribozomal RNA genleri ile (12S ve 16S rDNA alt birimleri) çoğunlukla daha uzak taksonlar arasındaki akrabalık çalışılmıştır. Stepien ve Ark. (1997) tarafından 12S rDNA geni kullanılarak Horozbinagiller (Blenniidae) balıklarındaki türler, cinsler ve aileler arasındaki akrabalık ortaya konulmuştur.

MtDNA kontrol bölgesi, mtDNA replikasyonunu sağlar ve ayrıca bu bölgeye yer değişim lobu (D-loop) adı verilir. Çünkü, sarmalın iki zincirinden biri replikasyon sırasında yeni sentezlenen zincir ile yer değiştirir. MtDNA'da bulunan iki sarmalın birbirinden ayrı iki replikasyon orijini vardır. Ağır zincirin replikasyon orijini, D-loop denilen kontrol bölgesinde yer alır. Bu bölge, replikasyon orijinini ve her iki zincire ait promotor bölgelerini içerir. MtDNA'nın



%5-7'sini içeren D-loop bölgesi gen içermez. Bu bölge dışında genler çok sıkı paketlenmiştir. Genler arası bölge yoktur ve genler içinde intron bölgeleri bulunmamaktadır. Yüksek çeşitlilik gösteren kontrol bölgesi, balıklardaki populasyon yapısı ve yakın türler arasındaki akrabalıkları araştırmak için çok uygundur (Meyer ve Ark., 1990; Brown ve Ark., 1993).

### 2.6.3. Minisatelitler

Minisatelitleri Wyman ve White (1980) tarafından keşfedildikten sonra Jeffreys ve Ark. (1985) ilk defa moleküler belirteç olarak kullanmıştır. Birçok lokusun eş zamanlı araştırılması, çok lokuslu DNA parmakizinde olduğu gibi her birey için özgül bant kalıplarının oluşmasına neden olmaktadır. Pedigri analizlerinde çalışılan çok lokuslu parmak izi varyasyonunun Mendel kalıtımı gösterdiği ortaya çıkarılmıştır (Wright, 1993). Çok lokuslu parmakizi insanlarda analık-babalık tespitinde ve adli tıp uygulamalarında kullanılmıştır (Jeffreys ve Ark., 1985; Burke ve Bruford, 1987). Bu teknik, balık türleri ve balıklarla ilgili araştırmalarda uzun zamandır kullanılmaktadır (Carter ve Ark., 1991; Haris ve Ark., 1991; O'Reilly ve Wright., 1995). Ancak bantların hangi lokusa ait olduğu tespit edilemediği için, populasyon içinde Hardy-Weinberg dengesini test etmek mümkün değildir (Bentzen ve Ark., 1991).

Çok lokus parmakizinin yorumlanmasındaki zorluklar nedeniyle tek lokus minisatelit belirteçler geliştirilmiştir (Wong ve Ark., 1987). Bu belirteçleri geliştirmek için çalışılacak organizmadan DNA'nın izole edilmesi ve klonlanması zorunludur. Taggart ve Ferguson, (1990) ve Bentzen ve Ark. (1991) salmonid ve tilapia türleri için ilk defa tek lokus belirteçler geliştirmişlerdir. Taggart ve Ferguson (1990) ve Taggart ve Ark. (1995) minisatelitler ile Atlantik salmonunda (*Salmo salar*) daha önceden diğer belirteç sistemleri ile gösterilemeyen düzeyde yüksek alel sayısı göstermişlerdir. Harris ve Wright, (1995) tilapia ve Prodöhl ve Ark. (1994) *Salmo trutta* için tek lokus belirteçler geliştirmişlerdir. Teknik problemler nedeniyle bu problemlerin yalnız bir ya da ikisi kullanıma daha uygundur.

Minisatelit belirteçlerinde teknik problemler ortaya çıkmasına rağmen, balık populasyonları ile ilgili bir çok araştırmada başarılı sonuçlar elde edilmiştir.

Taggart ve Ark. (1995) Avrupa ve Kuzey Amerika da minisatelit belirteçleri kullanarak, Kuzey Atlantik'in her iki tarafındaki Atlantik salmonu populasyonlarında genetik farklılığı başarıyla göstermişlerdir. Ferguson ve Ark. (1995) diğer belirteç sistemleri ile sınırlı düzeyde varyasyonun görüldüğü darboğaz geçiren populasyonlarda, tek lokus minisatelit problemlerin daha faydalı olduğunu ortaya çıkarmışlardır. Taylor (1995) alabalıklarla ilgili geniş coğrafik alanlarda populasyon içinde ve populasyonlar arasındaki varyasyonu göstermek amacıyla yaptıkları çalışmada, VNTR temelli olmayan belirteç sistemlerinden minisatelit belirteçlerinin daha iyi ayırım yaptığını göstermiştir. Tek lokus minisatelitlerde yüksek varyasyonun görüldüğü diğer bir alan, yavruların ebeveynlerini belirleme çalışmalarıdır. Ferguson ve Ark. (1995) bu belirteç sisteminin yetiştiricilik ve seçilim programlarında yüksek ayırma gücü ile büyük yarar sağladığı ve genetik veriler kullanılarak analık-babalık ayırımını kolaylıkla sağladığını saptamışlardır.

Minisatelitlerin avantajları yanında bir çok dezavantajda sahiptir (Tablo1). Standart tek lokus minisatelit analizinde blotlama yapılması nedeniyle yüksek konsantrasyonda ve hasar görmemiş DNA'ya ihtiyaç vardır. Bu sınırlamaları aşmak için minisatelit lokuslar PCR analizine uygun hale getirilmiştir. İlgilenilen minisatelit lokusunun PCR ürünü, agaroz jelde ayrıştırılmakta ve etidyum bromid ile boyanarak aleller tespit edilmektedir. Bu yaklaşımdaki bir problem büyük alellerin çoğalmadaki zayıflık nedeniyle görülememesidir. Diğer bir problem minisatelit lokuslarında karmaşık mutasyon süreçleridir (Wright, 1993; O'Reilly ve Wright., 1995). Eğer aleller aynı büyüklükte ya da büyüklük farkları birbirine çok yakın ise alellerin jel üzerinde oluşan bant kalıpları üst üste çakışmakta ve bunların ayırımı oldukça zor olmaktadır. Aynı zamanda büyüklük farkları çok fazla olursa yine hesaplama hatalarına neden olabilmektedir. Bu problemi çözmek amacı ile araştırmacılar sadece belirli büyüklük aralığındaki fragmentlerin analizini yapmaktadır.

#### 2.6.4. Mikrosatelitler

Mikrosatelitler veya basit dizi tekrarları (SSR-Simple Sequence Repeat) 20-300 bp uzunluğundaki kısa (1-6bp) tekrarlı dizilerden oluşmaktadır (Tautz ve Renz, 1984; Tautz, 1989). Mikrosatelitlerin PCR ile çoğaltması sonucu oluşan fragment büyüklüğünün küçük olması nedeni ile, farklı aleller denatüre edici poliakrilamid jelde kolay ayrılmaktadır. SSR'leri çoğaltmak için genel olarak PCR reaksiyonunda radyoaktif işaretli primerler kullanılmaktadır. Örnekler arasında tekrar sayılarındaki değişkenlik nedeniyle oluşan farklı uzunluklar, sekans jeline çoğaltım ürününün yürütülmesi ile ortaya konulmaktadır. Bu jeller kurutulup röntgen filme maruz bırakılarak, alel büyüklükleri standart referanslarla belirlenmektedir. Radyoaktif işaretli primer kullanılmadığı takdirde sekans jelleri gümüş boyama ile boyanmaktadır.

Mikrosatelit lokusları ile ilgili genel olarak resmi olmayan bir isimlendirme benimsenmiştir. Bu isimlendirme üç harf ve bir numarayı içerir. Bu üç harf kodu mikrosatelitlerin geliştirildiği türlere göre oluşturulmaktadır. Bu kodlamadaki ilk harf, cins adının ilk harfi, diğer iki harf tür isminin ilk harfleridir (örneğin; *salmo trutta*, Str olabilir). Üç harften sonra kullanılan rakam ise bilgiye dayalı olmayan referanstır. Farklı laboratuvarların yanlışlıkla benzer sayıları kullanması nedeniyle rakamdan sonra, mikrosatelitlerin geliştirildiği enstitü veya laboratuvarlardaki bazı grupların adı mikrosatelit lokus adına dört harfli kod olarak eklenmiştir. Örneğin Ssa85DALH, Dalhousie'de geliştirilen bir mikrosatelit lokusu olabilir. Sonuç olarak, mikrosatelit belirteçlerinin isimlendirilmesi için türün ilk üç harfi, bir sayı ve mikrosatelitin geliştirildiği laboratuvarın dört harfli kodu kullanılmaktadır.

Mikrosatelit lokusları genom boyunca dağınık ve oldukça yaygın olarak bulunmaktadır. Minisatelitler mikrosatelitlerin aksine kromozomların telomerik bölgelerinde yoğun olarak kümelenmişlerdir (Jeffreys ve Ark., 1987; Royle ve Ark., 1988). SSR'ler balık türlerinde genom boyunca yaklaşık olarak her 10 kbç de bulunurken, minisatelit lokusları her 1500 kbç de bulunmaktadır (Wright,1993). Bu da mikrosatelitlerin genom haritalamada çok faydalı olabileceğini göstermektedir. Ancak düşünülen mikrosatelit lokus dağılımı bir tek tekrar birim tipi (örneğin: GT) temel alınarak yapılmış ve mikrosatelitlerin diğer

tipleri düşünülmemiştir. SSR'ler minisatelitler ile karşılaştırıldığında daha kolay izole edilirler. DNA'nın çok az dokudan çok hızlı bir şekilde izole edilebilir olması, çok sayıda örneğin görüntüleme sistemi ve otomatik floresans dizi belirleyici ile kısa sürede genotiplerinin belirlenebilmesi, kantitatif karakter lokusların (QTL) ayrılması ve genom haritalanması gibi çok fazla lokusa ihtiyaç duyulan uygulamalarda, mikrosatelitler diğer belirteç sistemlerine göre güçlü bir alternatiftir (Tablo 1).

#### **2.6.4.1. Mikrosatelitlerin Populasyon Genetiği Uygulamaları**

Biyolojik kaynaklar için sağduyulu yönetim kararları stok yapısının boyutlarını tam olarak anlama temeline dayanır. Ancak sucül ortamlarda yaşayan stokların yapay sınırlarını analiz etmek karmaşık ve zor bir konudur (Carvalho ve Hauser, 1994). Genetik belirteçler birçok balık türünün ve özellikle salmonidlerin stok yapısını doğru bir şekilde ortaya koymak için kullanılmaktadır. Mikrosatelitler ile çok yüksek oranda varyasyonun görülebilmesi, uygulama sürecinin hızlı olması, çok sayıda lokusun analiz edilebilmesi ve birbirine yakın populasyonlar arasındaki farklılıkların kolaylıkla belirlenebilmesi açısından önemli bir belirteçtir (Tablo 1).

Alabalıklar mikrosatelitler kullanarak populasyonlar arasında ve içindeki çeşitliliğin araştırıldığı ilk türlerden biridir (Nilesen ve Ark., 1994). Bu çalışmada mikrosatelit lokuslarından elde edilen sonuçlar, mtDNA ile elde edilen sonuçlara benzerlik göstermektedir. Ontario Gölü'ndeki alabalık populasyonunun mtDNA ve mikrosatelit DNA'ları araştırılmıştır (Dueck, 1994; O'Connell ve Ark., 1996). Belirteç setleri karşılaştırıldığında mikrosatelit lokusunda genetik farklılaşma yüksek oranda görülmesine rağmen, mikrosatelit lokuslarında gözlenen alel sayıları ile mtDNA haplotip sayıları arasında benzerlik vardır.

Tablo1:Yaygın olarak kullanılan bazı moleküler belirteçlerin avantajları ve dezavantajları. MtDNA; PCR ile çoğaltılmış mitokondrial DNA, RAPD; Rastgele artırılmış polimorfik DNA, ScnDNA; Tek kopya çekirdek DNA, MLF; Çok lokuslu parmakizi, SLP;Tek lokuslu minisatelit prob, SSRs(1); İki nükleotid basit dizi tekrarları (mikrosatelit), SSRs(2); üç-dört nükleotid basit dizi tekrarları (mikrosatelit) (O'Connell and Wright, 1997)

	Teknik gereksinimler				Kullanım Potansiyeli		
	Geliştirme	Tarama	Geliştirme	Tarama	Genom Haritalama	Ebeveyn Tespiti	Populasyon Genetiği
<b>Allozim</b>	Düşük	Düşük	Düşük	Orta	Düşük	Düşük	Orta/Yüksek
<b>MtDNA</b>	Düşük	Düşük	Hiç	Orta	Hiç	Düşük/Orta	Orta/Yüksek
<b>RAPD</b>	Düşük	Düşük	Hiç	Düşük	Yüksek	Orta	Düşük
<b>ScnDNA</b>	Yüksek	Yüksek	Yüksek	Orta/Yüksek	Yüksek	Düşük	Orta
<b>MLF</b>	Orta	Orta	Düşük	Yüksek	Yüksek	Yüksek	Düşük
<b>SLP</b>	Orta/Yüksek	Yüksek	Yüksek	Orta	Yüksek	Yüksek	Yüksek
<b>SSR (1)</b>	Orta/Yüksek	Yüksek	Yüksek	Yüksek	Yüksek	Yüksek	Yüksek
<b>SSR (2)</b>	Yüksek	Düşük	Orta/Yüksek	Düşük	Yüksek	Yüksek	Yüksek

Birbirine yakın populasyonların genetik yapısını doğru bir şekilde ortaya koymak için çok sayıda lokus araştırılmalıdır. Rasgele seçilen mikrosatelit lokusları ile yapılan çalışmalarda, mtDNA ile benzer varyasyon oranı gösterebilir. Çok sayıda belirteç seti kullanıldığında, tek bir belirteç seti kullanıldığında elde edilen sonuçlardan daha doğru sonuçlar elde edilebilir. Ancak çalışılacak belirteç sisteminin çeşitlilik derecesinin düşünülmesi önemli bir konudur.

Atlantik salmonunda mikrosatelit varyasyon araştırılmıştır (McConnell ve Ark., 1995). Öncelikle Atlantik'in her iki tarafındaki populasyonlar incelenmiş ve Kuzey Amerika ile Avrupa populasyonları arasında önemli alel frekansı farklılıkları ortaya çıkartılmıştır. Mikrosatelitler ile daha önce allozim, minisatelit ve mtDNA belirteçleri ile elde edilen sonuçlara benzer sonuçlar elde edilmiştir (Birmingham ve Ark., 1991; Taggart ve Ark., 1995). Dee Nehrinde (Galler) bulunan Atlantik salmonunun genetik yapısı mikrosatelit belirteçleri kullanarak çalışılmıştır (O'Connell ve Ark., 1996). Daha önce allozim belirteçleri kullanılarak yapılan çalışmalar sonucu balık populasyonlarının izole olduğu düşünülmekteydi. Mikrosatelit verileri ile elde edilen Fst (farklılaşmanın bir indeksi) değerinin allozim verileriyle elde edilen Fst değerinden iki katı fazla

olduğu görülmüştür. Bu sonuç sürpriz değildi. Çünkü mikrosatelit lokuslarıyla belirlen toplam alel sayısının ancak %9'u allozim lokusları ile belirlenebilmektedir. Mikrosatelit verileri, populasyonların kökenini allozim verilerine göre çok daha doğru belirleyebilmektedir. GIS (genetik stok ayrılması-karışmış örneklerdeki bireysel stok oranının belirlenmesi) çok yüksek alel sayısı ile karakterize olan mikrosatelit lokuslarının kullanıldığı bir diğer potansiyel problemdir. Bu problem, tek lokus mikrosatelit problemleri kullanılarak çözülebilir. Alellerin oluşturduğu bant kalıplarının birlikte gruplanması veya üst üste çakışması durumunda analizi zorlaştırmasına rağmen, alellerin özellikle belirli büyüklük aralığı içinde kalması, problemin azalması ya da elimine olmasını sağlar. Bazı mikrosatelitler çok yüksek genetik varyasyon nedeniyle populasyonlar içindeki genetik varyasyonun seviyesini ortaya koymak için faydalı bir yöntem olmayabilir. Bu durumda alel farklılığının karşılaştırılması heterozigotluğun tahmin edilmesinden daha bilgi verici olacaktır. Bazı balıklarda alelik farklılık çok yüksek seviyede olmasına rağmen, populasyon çok ciddi darboğazda olduğu düşünülüyorsa mikrosatelit belirteçlerinin kullanılması önerilebilir. Populasyonlar arasındaki farklılıkların karşılaştırmasında, ciddi darboğaza sahip olmayan populasyonlarda daha düşük varyasyona sahip mtDNA kullanmak daha bilgi verici olacaktır.

Alabalıkların deniz türleriyle yapılan populasyon araştırmaları, tatlısuda yaşayanlar ve anadrom balıklar ile karşılaştırıldığında çok küçük orandadır. Bering Denizi ve Alaska Körfezinde mikrosatelitler kullanılarak çalışılan bütün lokuslarda, populasyonlar arasında önemli farklılıklar olduğu ortaya konulmuştur. Ayrıca elde edilen verilerin daha önceki allozim çalışmaları ile edilen veriler tarafından da desteklendiği görüldü (Grant ve Utter, 1984).

Mikrosatelit belirteçleri ile yapılan çalışmalarda örnek populasyonlar arasında ayrımı en iyi yapan istatistiğin hangisi olduğu üzerinde tam bir uzlaşma sağlanamamıştır. Ruzzante ve Ark. (1996) Rst katsayısı kullanılarak değerlendirdikleri Atlantik kod populasyonlarının, kıyıya yakının olanları ile kıyıya uzak olanlar arasında önemli oranda genetik farklılık gözlemlemiştir (Rst: farklılaşma indeksi, populasyon içindeki alel büyüklüğü varyansının toplam

alel büyüklüğünün varyansına oranıdır). Bu istatistiğin benzeri olan ve yalnız alel frekansını temel alan  $F_{st}$  istatistiği populasyonlar arasındaki ayrımı başaramamıştır. Bentzen ve Ark. (1996) benzer verileri temel alarak Kuzey Batı Atlantik'deki kod populasyonları ile ilgili yaptıkları çalışmada, istatistik olarak önemli  $F_{st}$  değerine karşın önemsiz  $R_{st}$  değeri gözlemlemişlerdir.  $R_{st}$  katsayısı aleller arasındaki büyüklük farklılıklarını hesaba katan kademeli (stepwise) mutasyon modelini temel alır ve bazı durumlarda mikrosatelit verileri için daha iyi ayırım gücüne sahip bir istatistik yöntem olarak düşünülmektedir (Slatkin, 1995).

Diğer bir potansiyel problem alel büyüklük değişimleri olduğunda mikrosatelit verilerinin nasıl analiz edileceğinin genel olarak düşünülmemesidir. Ortalama alel büyüklüğündeki değişimler insersiyon/delesyon olayları sonucu ortaya çıkar ve yakın ilişkili türlerin karşılaştırılmasında kullanılabilir (Estoup ve Ark., 1995). Alel büyüklüğündeki büyük değişiklikler tür içinde de gözlenir (Örneğin : Atlantik'in her iki tarafındaki Atlantik salmon populasyonları arasında görüldüğü gibi). Bu yer değişimleri basitçe tekrar sayısındaki farklılıkla yansıtılır. Ancak başlangıç dizisi içindeki insersiyon ve delesyonlar alel büyüklük değişimi açısından önemlidir. Diğer bir deyişle, kendi tekrarlarının içinde veya başlangıç dizisinin içinde çok küçük değişiklikler DNA replikasyonu sırasında tamamen farklı büyüklükteki fragmentlerin oluşumuna yol açabilir. Bu da alel dağılımındaki değişikliklerle sonuçlanır. Ortalama alel büyüklüğündeki değişiklikler için potansiyel mekanizma açıklanırken, farklı populasyonlar için genetik katmayı seçiminin çok dikkatli düşünülmesine ve alel dağılımında meydana gelen değişikliklerin alel dizilerini nasıl oluşturduğunun bilinmesine ihtiyaç vardır.

## **2.6.4.2. Mikrosatelit Uygulamalarında Potansiyel Problemler**

### **2.6.4.2.1. Mutasyon Modelleri**

Mikrosatelit lokuslarındaki varyasyonu tanımlamak için temel olarak iki mutasyon modeli önerilmektedir: Sonsuz alel mutasyon modeli (IAM, infinite allele mutation model) ve kademeli mutasyon modeli (SMM, stepwise mutation model). IAM modeline göre mutasyon tekrar biriminin herhangi bir sayısını

içerebilir ve yalnız yeni alelik durumu ortaya çıkarır. Aksine SMM mutasyon modeline göre mutasyon bir tekrar biriminin (örneğin: GT) kazancı veya kaybıyla gerçekleşir. Bunun anlamı, bazı mutasyonlar popülasyonda her zaman bulunan alelleri yaratacak; fakat her zaman yeni bir alel durumu ortaya koymayacaktır. Mikrosatelit verileri ile en iyi uyum sağlayacak olan modelin seçilmesi popülasyonun büyüklüğü ve yapısının daha doğru tahmin edilmesi açısından önemlidir (Estoup ve Ark., 1995).

Mutasyon modellerinin güvenilirliğini test etmek amacı ile ilgili ilk çalışmalarda SMM modelinin, genel olarak mikrosatelit lokuslarında varyasyonunu çok daha doğru belirlediği tespit edilmiştir. Weber ve Wong, (1993) insan mikrosatelit lokusları üzerinde yaptığı çalışmada, bir veya iki tekrar ünitesinde değişikliğe yol açan mutasyonların atasal alellerden farklı yeni aleller oluşturduğunu gösterdi. SMM modelini allosim lokuslarındaki varyasyonun hesaplanmasında da kullanılabilir (Valdes ve Ark. 1993). Ayrıca SMM modelinin mikrosatelit verileri ile en iyi uyum sağlayan mutasyon modeli olduğu önerildi. Shriver ve Ark. (1993), farklı tip mikrosatelit tekrarlarında mutasyon modellerini araştırdı. Çalışma sonucunda SMM modelinin üç-dört nükleotit tekrarlı mikrosatelit lokuslardaki varyasyonu belirlemede, minisatelit ve iki nükleotid tekrarlı lokuslara göre daha uygunluk gösterdiği ortaya çıkarıldı. SMM modeli DiRienzo ve Ark. (1994) tarafından geliştirildi. Bu modele göre mutasyonlar çoğunlukla bir tekrar biriminde, nadiren birkaç tekrar biriminde alel büyüklüğünde azalma veya artmaya yol açan olay olduğu öne sürüldü. SMM yaklaşımı alel frekansı kadar alel büyüklüğündeki farklılıkları temel alan genetik farklılığı tayin etmeyi sağlaması nedeni ile araştırmacılar tarafından ilgi görmüştür.

Mikrosatelit mutasyon modelini belirlemenin en doğru yolu popülasyonlarda çok sayıda doğrudan mutasyonları araştırmaktır. Ancak bunun çoğu durum için uygulanması kolay değildir. Mutasyon modellerini test etmenin daha güvenilir yolu heterozigotluk ve alel sayıları gibi önceden bilinen popülasyon parametrelerinin doğruluğunu test etmektir. Ancak bu yöntem uygulanırken, popülasyonların mutasyon yayılım dengesinde oldukları ve rasgele



çiftleştikleri varsayılmaktadır. Populasyonların rasgele çiftleştikleri varsayımı Hardy-Weinberg Dengesi ile kolayca test edilirken mutasyon yayılım dengesinin stoklardaki üreme baskısı nedeni ile test edilmesi zordur. O'Connell ve Ark. (1996), alabalıklarda kesintisiz SSR lokusları kullanarak yaptıkları çalışmada, mikrosatelit varyasyonu belirlemek için IAM modelini kullanmanın SMM modeli kullanmaktan daha doğru olduğunu öne sürmüşlerdir. Estoup ve Ark. (1995) yaptıkları çalışmada, IAM modeline tekrarlı diziler içinde bulunan tekrarsız dizilerden oluşan mikrosatelit lokuslarını kullanarak elde ettikleri verilerin daha çok uyum sağladığını ortaya çıkardılar. Sonuç olarak, mikrosatelit lokuslarındaki tekrar durumlarının tek başına mutasyon modeline herhangi bir etkisi olmayabilir. Ayrıca mikrosatelit lokuslarındaki mutasyon durumunun populasyon ya da lokus spesifik olabilir.

#### **2.6.4.2.2. Hesaplama Hatası Problemleri**

Populasyon genetiği ve yabanıl hayatla ilgili yapılan çalışmalarda önemli sorunlardan biri, mikrosatelit verilerinin doğru alel tiplemesidir. İki-nükleotit tekrarlı mikrosatelit lokuslarda çoğunlukla tekrarları yakın olan aleller jel üzerinde üst üste gelmektedir. Bu haritalama çalışmalarında bir problem olmakla birlikte, muhtemel alel tipi ve sayısının belirlenmesinde öncelikli bir problemdir. Populasyon genetiği ile ilgili konularda hesaplama hatası homozigotluğun yapay olarak fazlaşmasına neden olabilir. Çok sayıda mikrosatelit lokusuna sahip balıklarda, çok sayıda tekrarın üst üste çakışması nedeni ile bu problem artmaktadır. Belirli bir oranda dört-nükleotit tekrarlı lokusların seçilmesi bu problemin azaltılması sağlayabilir. Bu lokuslardaki alel sayıları azaltılmış tekrarlar ve aleller arasındaki uzaklık büyük olması nedeni ile kolaylıkla hesaplanabilir. Hesaplama hatalarını azaltmanın ikinci bir yolu, küçük parça büyüklüğüne sahip iki-nükleotit tekrarlı lokusların kullanılmasıdır (120 bp den küçük). Bu lokuslarda varyasyon düzeyinin azaldığı belirlenmesine rağmen, doğru skor seviyesi artacaktır. Ayrıca bu lokuslarda kesintilerin az ve küçük olmaları nedeniyle elektroforez süresince kolaylıkla ayrılabilirler. Ayrıca, birçok populasyon genetiği uygulamasında mikrosatelit lokuslarında varyasyon seviyesi

daha az olan lokuslara ihtiyaç duyulmaktadır. Ancak bu alternatiflerden sonuç alınamazsa bütün jellerde birkaç set DNA büyüklük standardının (DNA Ladder) bulunmasına dikkat edilmelidir.

#### **2.6.4.2.3. Null Alel Problemi**

Null alel, PCR çoğaltımı sonucu zor görünen ya da zayıf çoğalan alel olarak tanımlanabilir. Callen ve Ark. (1993), insanda iki-nükleotit tekrarlı mikrosatelit lokuslarında null aleli ilk defa göstermişlerdir. Son zamanlarda literatürde rapor edilen null alel sayısında önemli bir artış olmuştur (Allen ve Ark., 1995; Paetkau ve Strobeck., 1995; Pemberton ve Ark., 1995). Null alel oluşumunun nedeni, çekirdek DNA'sı üzerindeki primer bağlanma bölgesinde meydana gelen nokta mutasyonlardır. Ayrıca mikrosatelit tekrar dizileri ile primer bölgesi arasında oluşan geniş insersiyon ve delesyon olayları, DNA'nın az çoğalmasına ve tekrarlar içindeki mutasyonlar PCR ürün büyüklüğünde önemli değişikliklere yol açabilmekte, bu da null alel oluşumuna neden olmaktadır.

Hardy-Weinberg prensibine göre null alelin varlığı beklenen orandan çok yüksek homozigotluğun ortaya çıkması ile açıklanabilir. Ayrıca null alelin yüksek oranda olması PCR çoğaltımında başarısızlığa neden olabilir. İlaveten bazen null alel vardır fakat PCR çoğaltımı sonucu zayıf görülebilir. PCR'in uygulama şekli nedeniyle heterozigotlarda null alel belirlenemeyebilir. Çünkü heterozigotlarda null olmayan alel'in PCR çoğaltımı gerçekleşeceğinden jel üzerinde görülecektir. Ancak null alel homozigot ise PCR ürünü zayıf görülür ya da hiç görülmeyebilir.

## 2. MATERYAL METOD

### 2.1. Alabalık Örneklerinin Toplanması

Türkiye’de Akdeniz, Karadeniz, Hazar Denizi, Marmara Denizi ve Basra Körfezi drenajlarında bulunan tüm ana nehir havzalarına ait toplam 27 lökaliteden alabalık örneği toplanmıştır. Örneklerin toplandığı lökalite ve drenajlar Tablo 2 de, Türkiye coğrafyasında bulunduğu yerler ise Şekil 5’de gösterilmiştir Abant alabalık popülasyonu dışında, tüm örnekler doğal alanlarından sağlanmıştır. Abant Gölü alabalık popülasyonu koruma çalışmaları nedeniyle avlama yasağı olduğu için, balıklar yetiştirme havuzlarından temin edilmiştir. Alabalık örnekleri genellikle elektroşok metodu kullanılarak yakalanmakla birlikte bazı lökalitelerde serpmeye ve germe ağlar kullanıldı. Yakalanan balık örnekleri %95’lik (v/v) etanol içinde tespit edilerek muhafaza edilmiştir.

### 2.2. Total Genomik DNA İzolasyonu

Total genomik DNA, balık örneklerinin dorsal ya da pektoral yüzgeçlerin kaidesindeki kas dokusundan izole edildi. Doku örneklerinden alkol uzaklaştırıldı. Yaklaşık 50 mg doku STE tamponunda (0.1 M NaCl, 0.05 M Tris ve 0.01 M EDTA, pH: 8) 20 µl proteinaz K (10 mg/ml) ve 50 µl SDS (10%) ile muamele edilerek, 2 saat 55 °C de inkübasyona bırakıldı. İnkübasyondan sonra üzerine 500 µl PCI (Fenol-kloroform-izoamil alkol 25:24:1) ilave edildi. Yavaşça tüpler alt üst edildi. Oda sıcaklığında 5 dk. bekletildi. Karışım 10000 rpm’de 5 dk. santrifüj edildi. Mikropipet ile üstte bulunan berrak tabaka alındı ve yeni bir mikrosantrifüj tüpüne aktarıldı. Bu sırada interfazın bozulmamasına dikkat edildi. Üzerlerine 500 µl CI (Kloroform-izoamil alkol 24:1) ilave edildi ve oda sıcaklığında 5 dk. bekletildikten sonra 10000 rpm’de 5 dk. santrifüj edildi. Mikropipetle üst berrak tabaka alındı ve yeni bir mikrosantrifüj tüpe aktarılarak, üzerlerine %70’lik soğuk absolut etil alkol ilave edildi. DNA gözle görününceye kadar tüp yavaşça alt üst edildi. Numune 1-2 dakika 10000 rpm’de santrifüj edilerek çöktürüldü. Çöktürülen DNA’dan alkolü tamamen uzaklaştırılarak, pellet 100 µl distile suda çözünmesi için 4 °C de beklemeye bırakıldı.

Tablo 2 : Alabalık popülasyonlara ait lökallite ve drenajlar

Populasyon	Lökallite	Ksaltma	Drenaj
1. AKÇAY	Bursa, Uludağ	AK	Marmara Denizi
2. REZVE	Edirne, Istranca Dağları	RZ	Karadeniz
3. YEDİGÖL	Bolu, Yığılca yolu	YD	Karadeniz
4. TAMDERE	Giresun, Şebinkarahisar, Aksu	TM	Karadeniz
5. İKİZDERE	Rize, Anzer civarı	IK	Karadeniz
6. MEREKUM	Erzurum, Oltu	MR	Çoruh, Karadeniz
7. ÇATALALIÇ	Kütahya, Domaniç	ÇT	Marmara Denizi
8. ŞEHİTLİK	Rize, Pazar	ŞH	Karadeniz
9. OVİT	Erzurum, İspir	OV	Çoruh, Karadeniz
10. GEMİN	Sivas, Suşehri	GM	Kelkit, Karadeniz
11. DÖRTKİLİSE	Artvin, Yusufeli	DR	Çoruh, Karadeniz
12. KARABEY	Bolu, Aladağ, Elmalıdere	KR	Karadeniz
13. ABANT LAKE	Bolu	AB	Karadeniz
14. YAĞMURDERE	Gümüşhane, Başova Köyü	YG	Karadeniz
15. ÇATAK	Van, Çatak	ÇK	Dicle, Basra Körfezi
16. AYIDERESİ	Balıkesir, Edremit	AY	Ege Denizi
17. KOYUNLU	Ardahan, Göle	KY	Kura, Hazar Denizi
18. KARAÇINGİL	Ardahan, Çıldır	KÇ	Kura, Hazar Denizi
19. KÖPRÜ	Isparta, Aksu	KP	Akdeniz
20. AKDERE	Sivas, Gürün	AD	Ceyhan, Akdeniz
21. MUNZUR	Tunceli, Ovacık	MN	Fırat, Basra Körfezi
22. SÜRGÜ	Malatya, Doğanşehir	SR	Fırat, Basra Körfezi
23. TOHMA	Sivas, Gürün	TH	Fırat, Basra Körfezi
24. FIRNIZ	Kahramanmaraş	FR	Ceyhan, Akdeniz
25. ALAKIR	Antalya, Altinkaya	AL	Akdeniz
26. KÖRKÜN	Adana, Pozantı	KO	Seyhan, Akdeniz
27. SARIZ	Kayseri, Sarız	SZ	Seyhan, Akdeniz



**Şekil 6:** Alabalık örneklerinin toplandığı lokaliteler. (YG, Yağmurdere; DR, Dörtkilise; KR, Karabey; AB, Abant; YD, Yedigöl; İK, İkizdere; AK, Akçay; RZ, Rezve; TM, Tamdere; MR, Merekum; ÇT, Çatalalç; ŞH, Şehitlik; OV, Ovit; GM, Gemin; AY, Ayıderesi; KY, Koyunlu; KÇ, Karaçingül, ÇK, Çatak; SR, Sürgü, TH, Tohma, MN, Munzur; AD, Akdere; SZ, Sarız; KP, Köprü; KÖ, Körkün; FR, Fırız; AL, Alakır.)

- Akdeniz Havzasına ait popülasyonlar, 
 ▲ Hazar Denizi Havzasına ait popülasyonlar 
 ★ Basra Körfezi Havzasına ait popülasyonlar
- Karadeniz, Marmara ve Ege Denizi Havzalarına ait popülasyonlar

### 2.3. Genomik DNA'nın Kalite ve Kantitesinin Belirlenmesi

Balıklardan izole edilen DNA örneklerinden bir kaç mikrolitre alınarak, 70 mA de iki saat %1'lik agaroz jelde elektroforeze tabi tutuldu ve etidyum bromid ile boyandı. İzole edilen DNA numuneleri kalite açısından (izolasyon sırasında hasar görüp görmediği) incelendi.

İzole edilen DNA'nın konsantrasyonu, 50 kat seyreltildikten sonra spektrofotometre ile 260 nm'de absorbansı ölçülerek hesaplandı. Ayrıca stok DNA'nın 280 nm'de absorbansı ölçülerek protein kontaminasyonu olup olmadığı belirlendi. İzole edilen DNA'nın konsantrasyonunu belirlenmek için aşağıdaki formülden yararlanıldı:

DNA Konsantrasyonu ( $\mu\text{g/ml}$ )= 260 nm'deki OD (absorbans) x Sulandırma oranı x 50

Bir absorbans 50  $\mu\text{g/ml}$  çift iplikli DNA'ya karşılık gelir.

### 2.4. Mikrosatelit Reaksiyon Koşulları

Mikrosatelit lokusları DNA üzerinde iki, üç ya da dördü baz tekrarlarından oluşan farklı büyüklükteki nükleotit dizileridir. Analizlerimiz için Str15INRA, Str60INRA, Str73INRA, SsoSL417 ve Ssa171 mikrosatelit primerleri kullanıldı (Tablo 3). Mikrosatelit lokuslarının her biri farklı reaksiyon şartlarında optimize edildi. Lokuslar için primer bağlanma sıcaklıkları Tablo 3'de verilmiştir. PCR reaksiyonu toplam 25  $\mu\text{l}$  hacimde gerçekleştirildi. Reaksiyon karışımı 100  $\mu\text{M}$  her dATP, dGTP, dCTP ve dTTP (MBI Fermentas), 1x *Taq* DNA polimeraz Tamponu (75 mM Tris-HCl pH: 8.8, 20 mM  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , %0.01 Tween 20), 1.5 mM  $\text{MgCl}_2$ , 5 pmol primer, 0.5 U *Taq* DNA polimeraz (MBI, Fermentas) ve 150 ng genomik DNA içermekte idi. Reaksiyonlar PCR cihazı (Techne, UK) ile her bir primer için başlangıç denatürasyonu; 94 °C 5 dk, denatürasyon; 94 °C 30 sn, primer bağlanma sıcaklıkları her bir lokus için Tablo 3' de görülen sıcaklıklarda 1 dk, uzama; 72 °C 1 dk ve son uzama; 72 °C 5 dk olarak ayarlanarak 35 döngü şeklinde gerçekleştirildi.

Tablo 3: Her bir lokusa ait bağlanma (annealing) sıcaklığı, primer dizisi, fragment büyüklük aralığı ve tekrar dizisi

Lokus	Fragment Büyüklük Aralığı (bp)	Tekrar Dizisi	Bağlanma (Annealing) Sıcaklığı	Primer Dizisi
Str15INRA	193-225	CT	58°C	5'-TGCAGGCAGACGGATCAGGC-3' 5'-AATCCTCTACGTAAGGGATTTC-3'
Str60INRA	87-111	GT	60°C	5'-CGGTGTGCTTGTCAGGTTTC-3' 5'-GTCAAGTCAGCAAGCCTCAC-3'
Str73INRA	138-162	GT	58°C	5'-CCTGGAGATCCTCCAGCAGGA-3' 5'-CTATTCTGCTTGTAAGTAGACCTA-3'
SsoSL417	161-197	GT	52°C	5'-TTGTTTCAGTGTATATGTGTCCCAT-3' 5'-GATCTTCACTGCCACCTTATGACC-3'
Ssa171	201-243	GTGA +GT	60°C	5'-TTATTATCCAAAGGGGTCAAAA3' 5'-GAGGTCGCTGGGGTTTACTAT-3'

## 2.5. Mikrosatelit Ürünlerinin Elektroforezi ve Görüntülenmesi

### 2.5.1. Agaroz Jel Elektroforezi

PCR çoğaltım ürününden yaklaşık 5 µl alınarak, 1 µl yükleme tamponu (6x) (%50 gliserol, 0.1 M EDTA, %1 SDS, %0.1 bromfenol mavisi, Xylen siyanol) ile karıştırıldı. TBE tamponu (0.089 M Tris, 0.089 M Borik Asit ve 0.011 M EDTA, pH:8.3) içerisindeki %2'lik agaroz jelde ayrıştırıldı. Agaroz jelin hazırlanmasında, 10x TBE, distile su, 0.5µg/ml etidiyum bromid ve agaroz (Sigma) kullanıldı. Elektrofrez 70 mA'de 3 saat süre ile yapıldı. Elektrofrezden sonra, lokuslara ait farklı büyüklükteki DNA fragmentleri UV ışığı altında görüntülendi.

### 2.5.2. Poliakrilamid Jel Elektrofrez

PCR ürünü (15µl) ile yükleme tamponu (5µl, %95 formamid, %0.1 bromfenol mavisi, %0.1 lik ksilen siyanol ve 100 mM NaOH) karıştırılıp, 95 °C de 4 dk tutularak denatüre edildi. Denatürasyondan hemen sonra PCR ürünleri buz içerisinde yerleştirildi. Daha sonra 10xTBE tamponu (10xTBE 0.089 M Tris, 0.089

M Borik asit ve 0.011 M EDTA, pH: 8.3) içinde, %6'lık denatüre edici vertikal poliakrilamit jele, denatüre edilmiş 5-7µl PCR ürünü yürütüldü.

Poliakrilamit jel elektroforezi için jel içeriği %40 akrilamit-bisakrilamit (19:1 akrilamit-bisakrilamit) 10xTBE tamponu ve 7.5M üre kullanarak hazırlandı. Vakum pompası kullanılarak 10 dk süresince jelin gazı uzaklaştırıldı. Jel çözeltisinin 100 ml sine 400 µl APS (%10) ve 100 µl TEMED eklendi. Jel dökülmeden önce jel aparatı (35x 45 cm düz ve kertikli cam, 0.01mm speysır ve 74'lük köpekdişi tarak) iyi bir şekilde temizlendi. Camlardan düz olan sıra ile etil alkol (%98),  $\gamma$ -metacryloxypropyl-trimethoxysilane ( $C_{10}H_{20}O_5Si$ -%0.01), etil alkol (%98), kertikli olan ise sıra ile etil alkol (%98), propanol, etil alkol (%98), kullanarak temizlenir. Jel "ThermoEC160 DNA sequencing system", 35x 45 cm jel aparatı kullanılarak döküldü. DNA örnekleri jele yüklenmeden önce 75 W'da 45 dk bir ön elektroforezden sonra hazırlanan denatüre DNA numuneleri 75 W'da yaklaşık 3 saat elektroforez edildi (Elektroforez güç kaynağı: "ThermoEC4000P, 4000 V, 300mA, 300 W)

Elektroforez sonrası jel boyanması üç farklı aşamada gerçekleştirildi. Birinci aşamada, jel tespit çözeltisi (%10'luk glasiyal asetik asit) içerisinde, karıştırılarak 30 dk bekletildi. Daha sonra distile su ile 3 kez 3'er dk karıştırılarak yıkandı. İkinci aşamada, boyama çözeltisi (%0.1  $AgNO_3$ , %0.15 formaldehit-%37) içinde 45 dk karıştırılarak bekletildi. Üçüncü aşamada jel geliştirici çözelti (% 3  $Na_2CO_3$ , %0.2 formaldehit (%37), 200 µl sodyumtihosülfat-10 mg/ml) içerisinde bant gelişimi gözleninceye kadar karıştırılarak bekletildi. Jelin kararmasını durdurmak için bant oluşumu tamamlandığı sırada geliştirici çözeltisinin üzerine bir litre kadar tespit çözeltisi eklendi. Yaklaşık olarak 15 dk beklendikten sonra jel distile su ile yıkanıp kurutularak değerlendirmeye bırakıldı.



## 2.6. Mikrosatelit Verilerinin Analizi

Mikrosatelit verileri, jellerde her lokustaki örneklere ait oluşan bantlardan, örneklerin genotiplerinin tespit edilmesi ile elde edildi.

Elde edilen verilerin analizi POPGENE (versiyon, 1.32) bilgisayar programı kullanılarak yapıldı (Yeh ve Ark, 1999). Bu program kullanılarak tüm lokuslarda görülen alel frekansı, alellerin fiksasyon indeksleri (Wright, 1978), gözlenen ve beklenen heterozigotluk değerleri ve populasyonların Hardy-Weinberg dengesinde olup olmadıklarının (Levene, 1949) analizleri yapıldı.

Populasyonlar arasında genetik ayrışma Nei'nin genetik benzerlik (identity) ve uzaklık (distance) parametreleri kullanılarak belirlendi (Nei, 1978). Bir lokustaki  $i$  alelinin  $x_i$  ve  $y_i$  sıklığında olan X ve Y populasyonları arasındaki Nei'nin genetik benzerliği (I):

$$I = \frac{J_{xy}}{\sqrt{\frac{2n_x \sum_i x_i^2 - 1}{2n_x - 1} \frac{2n_y \sum_i y_i^2 - 1}{2n_y - 1}}}$$

$J_{xy}$ ,  $\sum x_i y_i$  lokuslarının aritmetik ortalaması,  $n$  ise ise toplam örnek büyüklüğüdür.

Genetik uzaklık (D)  $D = -\ln(I)$  dir. Nei'nin genetik uzaklık değerleri kullanılarak UPGMA (Unweighed Pair Group Method with Arithmetic Averages) ile populasyonlar arasındaki genetik ilişkiyi ortaya koyan bir dendrogram oluşturuldu. TREEVIEW bilgisayar programı kullanılarak dendrogramın ağaç olarak görüntülenmesi sağlandı. UPGMA dendrogram üzerindeki dalların güvenilirliğini TFGA (Tools for Population Genetic Analyses) (Version,1.3) (Felsenstein,1985) bilgisayar programı kullanılarak, örnekler üzerinde seç bağla testi (bootstrapping) yapılarak test edildi. Hesaplama orijinal verilerin 1000 farklı seti kullanılarak yapıldı.

Populasyon çiftleri arasında ARLEQUIN ver 2.000 (Schneider Ark., 2000) kullanılarak, Fst değerleri hesaplandı. (Reynolds ve ark.,1983, Slatkin, 1995). Fst populasyon çiftleri arasında ayrılma zamanı ile uzaklık arasındaki ilişkiyi ortaya koymak üzere dönüştürülmüş bir uygulamadır. Populasyonları ikili karşılaştırarak

populasyon çiftleri arasındaki genetik farklılaşmanın önemli olup olmadığı test edildi ( $p \leq 0.05$  önemli,  $p > 0.05$  önemsiz).

Populasyonların genetik varyasyonunun coğrafik dağılımlarını test etmek için moleküler varyans analizi (AMOVA) (Weir and Cockerham, 1984) ARLEQUIN ver 2.000 (Schneider Ark., 2000) bilgisayar programı ile gerçekleştirildi. Buna göre populasyonlar buldukları havzalara, nehir sistemlerine ve Nei'nin genetik uzaklığa bağlı oluşan dendrograma göre olmak üzere farklı gruplara ayrıldı. Gruplar arasında ve içinde varyasyon analizi yapıldı. AMOVA analizi sonucu gruplar arasında genetik varyasyon oranı ( $F_{ct}$ ), grup içinde populasyonlar arasında genetik varyasyon oranı ( $F_{sc}$ ) ve populasyon içi varyasyon oranı ( $F_{st}$ ) her grup için hesaplandı. Yapılan analizin istatistiksel önemi ise 1023 permütasyona dayalı olarak gerçekleştirildi.

### 3. BULGULAR

Türkiye doğal alabalıklarına ait 27 farklı populasyondan sağlanan 304 örnek ile populasyonlar arasındaki genetik ilişki ortaya konmaya çalışıldı. Bu çalışmada beş mikrosatelit lokusu PCR ile çoğaltıldı. Tüm lokuslar için gözlenen alel sayıları 2 ile 18 arasında değişirken, en yüksek alel sayısı 18 alel ile SsoSL417 lokusuna; en düşük alel sayısı, iki alel ile Str60INRA lokusuna aittir. Türkiye'deki alabalık populasyonlarında SsoSL417 lokusu hariç diğer tüm lokuslarda şimdiye kadar görülen toplam alel sayısından daha düşük sayıda alel görülmüştür (Tablo 4). Bütün lokuslar polimorfiktir.

Tablo 4: Her bir lokusa ait toplam alel sayıları, gözlenen alel sayısı, gözlenen heterozigotluk, beklenen heterozigotluk değerleri (\*Aynı lokuslarda bu güne kadar tespit edilen toplam alel sayısı).

Lokus	Toplam Alel Sayısı*	Gözlenen Alel Sayısı	Gözlenen Heterozigotluk	Beklenen Heterozigotluk
Str15INRA	10	7	0.226	0.781
Str73INRA	11	2	0.070	0.342
Str60INRA	9	3	0.212	0.190
SsoSL417	15	18	0.504	0.821
Ssa171	22	7	0.257	0.690
Ortalama	13.4	7.4	0.254	0.565

Her bir lokusa ait gözlenen ve beklenen heterozigotluk değerleri hesaplanmıştır (Levene, 1949). Buna göre beklenen heterozigotluğu en yüksek lokus SsoSL417 (0.821), en düşük lokus Str60INRA (0.189) olmuştur. Str60INRA lokusu hariç, tüm lokuslarda beklenen heterozigotluk değerleri gözlenen heterozigotluk değerlerinden yüksektir. Beklenen heterozigotluk ile gözlenen heterozigotluk arasındaki en büyük fark ise Str15INRA lokusuna aittir. (Tablo 4). Gözlenen heterozigotluk değerleri ortalaması 0.254 iken beklenen heterozigotluk değerinin ortalaması 0.565 dir. Alellerin populasyonlara göre dağılımı Tablo 5'de verilmiştir. Tablo 5 incelendiğinde, aynı Havza sisteminde bulunan bazı populasyonların kendine özgü alellere sahip oldukları görülmektedir



Her bir lokusa ait alel frekanslar ve Wright'ın F istatistiği (1978) kullanılarak alellerin Fst (Fiksasyon İndeksi) değerleri hesaplanmıştır (Tablo 6). Str15INRA lokusunda yedi alel görülürken, en yüksek alel frekansı A aleline (0.348) en düşük alel frekansı ile G aleline (0.021) aittir. Str15INRA lokusuna ait Fst değerlerine göre C, E, F alelleri tespit olmuştur (Fst: 1.0). Bu lokusa ait en düşük Fst değeri ise G aleline aittir (Fst: 0.021). Str73INRA lokusunda üç alel bulunmaktadır. Bu lokusta en yüksek alel frekansı A aleline (0.791), en düşük alel frekansı ise C aleline aittir (0.036). Str73INRA lokusunda C aleli tespit olmuştur (Fst:1.0). Str60INRA lokusunda iki alel bulunurken A alelinin frekansı (0.893), B aleline (0.106), göre oldukça yüksektir.

Tablo 6: Her bir lokusta görülen alel frekansı ve Fst (Fiksasyon indeksi) değerleri

LOKUS										
Alel	Str15INRA		Str73INRA		Str60INRA		SsoSL417		Ssa171	
	Alel Frekansı	Fst	Alel Frekansı	Fst	Alel Frekansı	Fst	Alel Frekansı	Fst	Alel Frekansı	Fst
<b>A</b>	0.348	0.588	0.791	0.785	0.893	-0.11	0.279	0.345	0.468	0.630
<b>B</b>	0.158	0.384	0.171	0.750	0.106	-0.11	0.263	0.430	0.264	0.745
<b>C</b>	0.206	1.000	0.036	1.000			0.011	0.494	0.022	0.232
<b>D</b>	0.151	0.768					0.022	0.488	0.005	-0.04
<b>E</b>	0.036	1.000					0.038	-0.03	0.090	0.690
<b>F</b>	0.076	1.000					0.151	0.636	0.090	0.587
<b>G</b>	0.021	0.021					0.034	1.000	0.056	0.364
<b>H</b>							0.022	0.616		
<b>J</b>							0.005	-0.00		
<b>K</b>							0.009	-0.01		
<b>L</b>							0.018	0.451		
<b>M</b>							0.009	-0.01		
<b>N</b>							0.009	-0.01		
<b>O</b>							0.038	-0.03		
<b>P</b>							0.055	0.104		
<b>R</b>							0.018	0.451		
<b>S</b>							0.005	-0.00		
<b>T</b>							0.005	-0.00		

SsoSL417 lokusunda 18 alel görülmektedir. Bu lokusa ait en yüksek alel frekansı A aleline (0.279) en düşük alel frekansı ise S ve T alellere (0.005) aittir. SsoSL417 lokusunda G aleli tespit olmuştur. Ssa171 lokusunda yedi alel bulunmaktadır. Bu lokusa ait en yüksek alel frekansı A aleline (0.468), en düşük alel frekansı ise D aleline (0.005) aittir.

Populasyonların genetik yapısını belirlemek amacı ile örnek büyüklükleri, alel sayıları, her bir populasyona ait beklenen ve gözlenen heterozigotluk değerleri hesaplanmıştır. Ayrıca populasyonların Hardy-Weinberg dengesinde olup olmadıkları test edilmiştir ( $p \leq 0.05$  önemli,  $p > 0.05$  önemsiz) (Tablo 7). Str15INRA lokusunda Akçay, Tamdere, Yağmurdere, Çatak, Koyunlu, Karaçingil, Köprü, Akdere, Sürgü, Tohma, Fırınz, Alakır, Sarız populasyonlarında tek bir alel tespit olmuştur. Şehitlik, Gemin, Ovit ( $p \leq 0.01$ ), İkizdere ( $p \leq 0.05$ ) populasyonları Hardy-Weinberg dengesinde değildir. Bu lokusa ait diğer populasyonlar Hardy-Weinberg dengesindedir. StrINRA73 lokusunda Gemin, Munzur ve Sürgü populasyonları Hardy-Weinberg dengesinde olup bu populasyonlar dışındaki tüm populasyonlarda ya tek bir alel tespit olmuş ya da Hardy-Weinberg dengesinde değildir. Str60INRA lokusunda yalnızca Yedigöl, Merakum, Çatalalıç, Karaçingil populasyonları Hardy-Weinberg dengesindedir. Bunun dışındaki populasyonlarda Hardy-Weinberg dengesinde değildir. SsoSL417 lokusunda Abant Gölü, Yağmurdere, Köprü, Munzur, Koyunlu ve Sürgü populasyonlarında bir alel tespit olmuştur. Ayrıca Akçay, Rezve, İkizdere, Çatalalıç, Sürgü, Tohma, Fırınz, Alakır, Yedigöller, Tamdere, Şehitlik ve Ayıderesi populasyonları Hardy-Weinberg dengesinde değildir. Bu populasyonlar dışındaki populasyonlar Hardy-Weinberg dengesindedir. Ssa171 lokusunda Akçay, Rezve, Yağmurdere, Çatak, Ayıderesi, Karaçingil, Munzur, Sürgü, Tohma, Fırınz populasyonlarında tek bir alel tespit olmuştur. Şehitlik, Gemin ve Abant Gölü populasyonlarının ise Hardy-Weinberg dengesinde olmadığı görülmektedir.

Tablo 7: Populasyonların her bir lokustaki Hardy-Weinberg analizi (N: Alel sayısı, A: Görülen alel sayısı,  $H_G$ : Gözlenen heterozigotluk,  $H_B$ : Beklenen heterozigotluk,  $X^2$ : Ki kare değeri, P: Önemlilik değeri ( $p \leq 0.05$  önemli,  $p > 0.05$  önemsiz) \*, Tek bir alelin tepit olduğu populasyonlar )

	LOKUS																									
	Str15INRA						Str73INRA					Str60INRA					SsoSL417					Ssa171				
	N	A	$H_G$	$H_B$	$X^2$	P	A	$H_G$	$H_B$	$X^2$	P	A	$H_G$	$H_B$	$X^2$	P	A	$H_G$	$H_B$	$X^2$	P	A	$H_G$	$H_B$	$X^2$	P
AK	36	1	*	*	*	*	1	*	*	*	*	1	*	*	*	*	2	1.0	0.51	17	$\leq 0.01$	1	*	*	*	*
RZ	20	3	0.60	0.58	3.67	0,29	1	*	*	*	*	1	*	*	*	*	6	0.70	0.85	43.2	$\leq 0.01$	1	*	*	*	*
YD	10	2	0.20	0.20	0.0	1.0	1	*	*	*	*	2	0.40	0.35	0.14	0.70	2	1.00	0.55	4.00	0.04	2	0.40	0.35	0.14	0.70
TM	20	1	*	*	*	*	1	*	*	*	*	1	*	*	*	*	2	0.20	0.50	4.09	0.04	2	0.20	0.18	0.05	0.80
IK	24	2	0.75	0.48	3.77	0.05	1	*	*	*	*	1	*	*	*	*	4	0.58	0.48	23.4	$\leq 0.01$	2	0.25	0.48	3.16	0.07
MR	40	2	0.20	0.18	0.18	0.67	1	*	*	*	*	2	0.45	0.35	1.47	0.22	2	0.35	0.29	0.75	0.38	2	0.45	0.48	0.08	0.76
ÇT	32	2	0.56	0.49	0.28	0.59	1	*	*	*	*	2	0.37	0.31	0.69	0.40	2	1.00	0.51	15.0	$\leq 0.01$	2	0.25	0.22	0.23	0.62
ŞH	28	2	1.00	0.51	13.0	$\leq 0.01$	1	*	*	*	*	1	*	*	*	*	2	0.21	0.51	5.15	0.02	2	0.21	0.49	4.88	0.02
OV	38	2	0.78	0.49	7.47	$\leq 0.01$	1	*	*	*	*	1	*	*	*	*	3	0.57	0.58	3.36	0.33	2	0.21	0.19	0.19	0.66
GM	24	2	0.08	0.22	6.98	$\leq 0.01$	1	*	*	*	*	2	1.00	0.52	11.0	$\leq 0.01$	2	0.50	0.50	0.002	0.95	2	0.75	0.48	3.77	0.05
DR	18	2	0.55	0.50	0.11	0.73	1	*	*	*	*	1	*	*	*	*	2	0.44	0.52	0.22	0.63	2	0.33	0.29	0.22	0.63
KR	20	1	*	*	*	*	1	*	*	*	*	1	*	*	*	*	2	0.40	0.50	0.48	0.48	2	0.20	0.44	3.48	0.06
AB	38	2	0.47	0.37	1.59	0.20	1	*	*	*	*	2	1.00	0.51	18.0	$\leq 0.01$	1	*	*	*	*	2	0.26	0.49	4.33	0.03
YG	22	1	*	*	*	*	1	*	*	*	*	1	*	*	*	*	1	*	*	*	*	1	*	*	*	*
ÇK	26	1	*	*	*	*	1	*	*	*	*	1	*	*	*	*	2	0.53	0.52	0.01	0.89	1	*	*	*	*
AY	10	2	0.20	0.20	0.00	1.00	1	*	*	*	*	2	1.00	0.55	4.00	0.04	4	1.00	0.82	13.0	0.04	1	*	*	*	*
KY	36	1	*	*	*	*	1	*	*	*	*	1	*	*	*	*	2	0.44	0.50	0.29	0.58	3	0.77	0.60	2.38	0.49
KÇ	40	1	*	*	*	*	2	0.80	0.49	8.26	$\leq 0.01$	2	0.40	0.32	1.07	0.30	3	0.40	0.66	6.79	0.07	1	*	*	*	*
KP	28	1	*	*	*	*	1	*	*	*	*	2	1.00	0.51	13.0	$\leq 0.01$	1	*	*	*	*	2	0.50	0.51	0.01	0.90
AD	42	1	*	*	*	*	1	*	*	*	*	1	*	*	*	*	2	0.57	0.50	0.42	0.51	2	0.33	0.47	1.88	0.16
SG	24	2	0.50	0.50	0.002	0.95	2	0.33	0.28	0.34	0.55	1	*	*	*	*	1	*	*	*	*	1	*	*	*	*
MN	24	1	*	*	*	*	2	0.33	0.28	0.34	0.55	1	*	*	*	*	2	1.00	0.52	11.0	$\leq 0.01$	1	*	*	*	*
TH	30	1	*	*	*	*	1	*	*	*	*	1	*	*	*	*	2	1.00	0.51	14.0	$\leq 0.01$	1	*	*	*	*
FR	14	1	*	*	*	*	1	*	*	*	*	1	*	*	*	*	2	1.00	0.53	6.00	0.01	1	*	*	*	*
AL	28	1	*	*	*	*	1	*	*	*	*	1	*	*	*	*	2	1.00	0.51	13.0	$\leq 0.01$	2	0.35	0.49	1.17	0.27
KO	8	1	*	*	*	*	1	*	*	*	*	1	*	*	*	*	1	*	*	*	*	2	1.00	0.57	3.00	0.08
SZ	26	1	*	*	*	*	1	*	*	*	*	1	*	*	*	*	1	*	*	*	*	2	0.61	0.51	0.51	0.47

Populasyonların farklı hiyerarşik düzeylerde genetik farklılıklarını ortaya koymak üzere AMOVA analizi yapıldı (Tablo 8). Bu analiz için populasyonlar üç farklı gruba ayrıldı. Birinci grubun ayrımı Nei'nin genetik uzaklığı esas alınarak oluşturulan dendrograma göre yapıldı. Nei'nin genetik uzaklığına göre yapılan dendrogramda Türkiye coğrafyası alabalık populasyonların Karadeniz Bölgesi, Akdeniz Bölgesi ve Doğu Anadolu Bölgesine ait olanlar net bir şekilde birbirinden ayrılmıştır. AMOVA analizi ile ayrılan bu üç gruptaki populasyon içi ve populasyonlar arasındaki varyasyon ortaya çıkarılmıştır. Gruplar arasındaki varyasyon (Fct:0.450), toplam varyasyonun %45.05'i oranında; grup içinde populasyonlar arasında (Fsc:0.468), toplam varyasyonun %25.77'si oranında ve populasyonlar içinde (Fst:0.708), toplam varyasyonun %29,19'u oranında olduğu görüldü. AMOVA analizinde ikinci olarak populasyonların dahil olduğu havzalara göre beş farklı alt gruba ayrılarak, gruplar arasında ve içindeki varyasyonun oranı ortaya çıkarıldı. Gruplar arasındaki varyasyon (Fct:0.457) toplam varyasyonun %45.78'i oranında, grup içinde populasyonlar arasındaki varyasyon (Fsc:0.421) toplam varyasyonun %22.88'i oranında ve populasyonlar içindeki (Fst:0.686) varyasyon toplam varyasyonun %31.35'i oranında görüldü. Son olarak AMOVA analizi ile populasyonların dahil olduğu nehirlerle göre 20 farklı altgruba ayrıldı. Gruplar arasındaki varyasyon (Fct:0.399), toplam varyasyonun %39.92 oranında; grup içinde populasyonlar arasındaki varyasyon (Fsc:0.396), toplam varyasyonun %23.77'i oranında ve populasyonlar içindeki varyasyon (Fst:0.636), toplam varyasyonun %36.31'i oranında olduğu görüldü.

Populasyonlar arasındaki genetik farklılaşmanın önemli olup olmadığını ortaya koymak amacı ile F istatistiği yapıldı (Tablo:9). ( $p \leq 0.05$  önemli,  $p > 0.05$  önemsiz). Populasyonların Fst değerleri küçük olan ikili karşılaştırmalarda populasyonlar aralarındaki farklılaşmanın önemsiz olduğu, Fst değeri büyük olan ikişerli karşılaştırmalarda ise populasyonlar arasındaki genetik farklılaşmanın önemli olduğu görülmektedir. Elde ettiğimiz Fst değerlerine göre, İkizdere/Dörtkilise (Fst: 0.028), Çatalalç/Dörtkilise (Fst: 0.009), Çatalalç/Ayıderesi (Fst: 0.050), Sürgü/Tohma (Fst: -0.037), Alakır/Fırnız (Fst: -0.01) populasyonları arasındaki farklılık önemsiz iken ( $p > 0.05$ ), bunun dışındaki diğer tüm populasyon çiftleri arasındaki farklılaşma önemli olduğu görülmektedir ( $p \leq 0.05$ ).



Tablo 8: Amova analizinin üç farklı gruba göre sonuçları

	Varyasyonun kaynağı	FCT	FSC	FST	Toplam Varyasyon	Toplam Varyasyondaki oranı (%)
<b>I. Grup (Dendrograma göre)</b>	Gruplar Arasında	0.450			0.826	45.05
	Gruplar içindeki popülasyonlar arasında		0.468		0.473	25.77
	Popülasyonlar içinde			0.708	0.535	29.19
	Toplam				1.835	100
<b>II. Grup (Havzalara göre)</b>	Gruplar Arasında	0.457			0.782	45.78
	Gruplar içindeki popülasyonlar arasında		0.421		0.391	22.88
	Popülasyonlar içinde			0.686	0.535	31.35
	Toplam				1.709	100
<b>III. Grup (Nehirlere göre)</b>	Gruplar Arasında	0.399			0.589	39.92
	Gruplar içindeki popülasyonlar arasında		0.395		0.350	23.77
	Popülasyonlar içinde			0.636	0.535	36.31
	Toplam				1.475	100

**I.GRUP:Dendrograma göre yapılan gruplamanın alt grup popülasyonları**

**GRUP1:**Akçay, Rezve, Yedigöl, Tamdere, İkizdere, Merakum, Çatalalç, Şehitlik, Ovit, Gemin, Dörtkilise, Karabey, Abant gölü, Yağmurdere, Koyunlu, Karaçingil, Ayideresi.

**GRUP2:** Köprü, Akdere, Alakır, Körkün, Sarız, Fırız.

**GRUP3:** Çatak, Munzur, Tohma, Sürgü.

**II.GRUP:Havzalara göre yapılan gruplamanın alt grup popülasyonları**

**GRUP1:**Akçay, Rezve, Yedigöl, Tamdere, İkizdere, Merakum, Çatalalç, Şehitlik, Ovit, Gemin, Dörtkilise, Karabey, Abant gölü, Yağmurdere.

**GRUP2:** Koyunlu, Karaçingil

**GRUP3:** Ayideresi

**GRUP4:** Köprü, Akdere, Fırız, Alakır, Körkün, Sarız.

**GRUP5:** Çatak, Munzur, Tohma, Sürgü.

**III.GRUP:Nehirlere göre yapılan gruplamanın alt grup popülasyonları**

**GRUP1:**Akçay **GRUP2:**Çatalalç **GRUP3:**Karabey **GRUP4:**Rezve **GRUP5:**Yedigöl **GRUP6:**Tamdere **GRUP7:**İkizdere **GRUP8:**Şehitlik **GRUP9:**Abantgölü **GRUP10:**Yağmurdere **GRUP11:**Merakum, Dörtkilise, Ovit **GRUP12:**Közkün, Sarız **GRUP13:**Akdere, Fırız. **GRUP14:**Gemin **GRUP15:**Çatak **GRUP16:**Ayideresi **GRUP17:**Koyunlu, Karaçingil **GRUP18:**Köprü. **GRUP19:**Alakır **GRUP20:**Munzur, Tohma,Sürgü

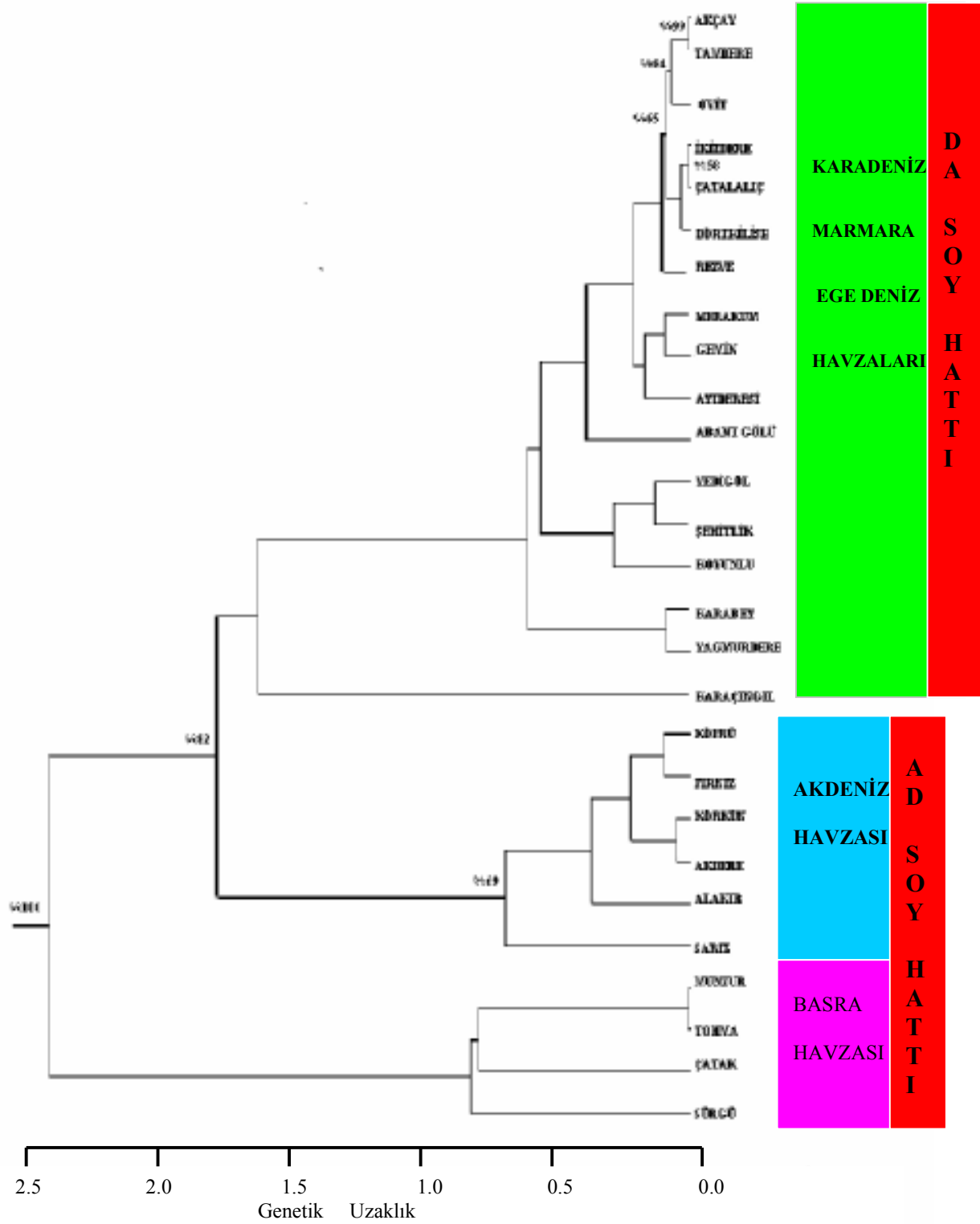
Tablo 9: Populasyonların karşılıklı  $F_{st}$  değerleri (İşaretili populasyon çiftleri dışındaki tüm populasyonlarda  $F_{st}$  değeri önemlidir).

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	
1	0.000																											
2	0.325	0.000																										
3	0.335	0.294	0.000																									
4	0.204	0.224	0.423	0.000																								
5	0.260	0.123	0.292	0.095	0.000																							
6	0.341	0.267	0.409	0.184	0.205	0.000																						
7	0.228	0.105	0.246	0.092	0.049	0.194	0.000																					
8	0.471	0.252	0.191	0.401	0.207	0.405	0.194	0.000																				
9	0.260	0.145	0.328	0.103	0.115	0.223	0.090	0.292	0.000																			
10	0.319	0.274	0.293	0.201	0.195	0.103	0.129	0.360	0.234	0.000																		
11	0.276	0.105	0.284	0.131	0.028	0.219	0.009	0.155	0.097	0.217	0.000																	
12	0.601	0.375	0.481	0.609	0.349	0.564	0.302	0.242	0.469	0.513	0.311	0.000																
13	0.435	0.397	0.403	0.382	0.248	0.441	0.197	0.385	0.374	0.239	0.304	0.436	0.000															
14	0.696	0.543	0.677	0.804	0.531	0.680	0.402	0.418	0.580	0.634	0.506	0.336	0.521	0.000														
15	0.769	0.749	0.696	0.846	0.712	0.766	0.717	0.711	0.756	0.752	0.773	0.808	0.753	0.929	0.000													
16	0.366	0.130	0.227	0.297	0.180	0.253	0.050	0.260	0.228	0.120	0.134	0.371	0.228	0.582	0.781	0.000												
17	0.613	0.445	0.330	0.583	0.469	0.509	0.455	0.326	0.480	0.496	0.479	0.610	0.613	0.739	0.785	0.490	0.000											
18	0.703	0.598	0.492	0.694	0.581	0.558	0.567	0.484	0.612	0.508	0.611	0.685	0.643	0.796	0.811	0.597	0.466	0.000										
19	0.742	0.632	0.648	0.746	0.628	0.658	0.607	0.633	0.667	0.607	0.667	0.715	0.650	0.836	0.825	0.610	0.691	0.712	0.000									
20	0.672	0.522	0.585	0.656	0.502	0.610	0.522	0.509	0.561	0.597	0.559	0.613	0.608	0.758	0.763	0.578	0.625	0.689	0.479	0.000								
21	0.681	0.666	0.620	0.761	0.589	0.683	0.626	0.633	0.682	0.667	0.670	0.721	0.666	0.878	0.697	0.686	0.743	0.774	0.786	0.715	0.000							
22	0.771	0.753	0.702	0.847	0.716	0.769	0.721	0.715	0.759	0.756	0.777	0.810	0.756	0.927	0.740	0.785	0.787	0.812	0.827	0.765	0.700	0.000						
23	0.771	0.753	0.702	0.847	0.716	0.769	0.721	0.715	0.759	0.756	0.777	0.810	0.756	0.927	0.740	0.785	0.787	0.812	0.827	0.765	0.700	-0.037	0.000					
24	0.751	0.621	0.661	0.790	0.611	0.669	0.604	0.616	0.659	0.640	0.674	0.742	0.685	0.930	0.868	0.661	0.692	0.735	0.433	0.446	0.817	0.868	0.868	0.000				
25	0.732	0.610	0.658	0.744	0.603	0.658	0.601	0.607	0.644	0.640	0.652	0.707	0.677	0.848	0.830	0.653	0.672	0.714	0.371	0.386	0.788	0.832	0.832	-0.01	0.000			
26	0.737	0.586	0.609	0.781	0.579	0.650	0.575	0.588	0.639	0.608	0.643	0.724	0.665	0.950	0.866	0.611	0.674	0.722	0.157	0.406	0.808	0.867	0.867	0.447	0.274	0.000		
27	0.798	0.749	0.752	0.851	0.739	0.766	0.726	0.740	0.763	0.752	0.783	0.823	0.775	0.930	0.870	0.781	0.785	0.811	0.608	0.673	0.836	0.870	0.870	0.732	0.658	0.644	0.000	

Alabalık populasyonları arasındaki genetik ilişki Nei (1978) genetik benzerlik (I) ve genetik uzaklık (D) değerleri hesaplanarak yapıldı (Tablo 10). Populasyonların ikişerli karşılaştırmaları ile elde edilen genetik benzerlik ve genetik uzaklık değerleri Tablo 4’de verilmiştir. Buna göre en küçük uzaklık Akçay populasyonu ile Tamdere populasyonu arasında görülürken (0.0016), en büyük uzaklık ise Köprü populasyonu ile Tohma populasyonu arasında görüldü (2.1354). Elde edilen genetik uzaklık değerleri esas alınarak populasyonlar arasındaki genetik ilişkiyi gösteren UPGMA dendrogramı elde edildi (Şekil 7). Dendrogram Türkiye üzerinde bulunan ana alabalık soy hatlarına göre iki kısma ayırmakla birlikte coğrafik bölgelere göre de populasyonları net bir şekilde birbirinden ayırdı. Dendrogram üzerinde dalların güvenilirliğini test etmek üzere TFPGA (Version,1.3) (Felsentein, 1985) bilgisayar programı kullanıldı (Şekil 7). Seç-bağla analizi sonucu %50’nin altında birbirini destekleyen dallar gösterilmemiştir. Analiz sonucu Akçay ve Tamdere populasyonlarından oluşan dallar birbirini %99 oranında desteklerken, bu populasyonlarla Ovit populasyonunu arasındaki dalı %64 oranında desteklemektedir. Basra havzasına ait populasyonlar ile, Karadeniz ve Akdeniz populasyonları arasındaki ayrılmayı %100 desteklerken, Karadeniz populasyonlarını Akdeniz populasyonlarından %82 oranında ayırmaktadır.

Tablo 10: Nei' nin (1978) Genetik uzaklık (D, alt matris) ve Genetik benzerlik (I, üst matris) değerleri

POP	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27
1	****	0.9462	0.7945	<b>0.9984</b>	0.9352	0.9109	0.9576	0.7837	0.9616	0.9108	0.9652	0.7010	0.8326	0.7384	0.2226	0.9323	0.6505	0.3765	0.3545	0.5533	0.4019	0.2684	0.2226	0.4457	0.4715	0.4464	0.2226
2	0.0553	****	0.8444	0.9418	0.9465	0.8691	0.9421	0.8495	0.9395	0.8372	0.9535	0.7816	0.7634	0.7907	0.2491	0.9077	0.7440	0.4289	0.3966	0.6190	0.4111	0.3003	0.2490	0.4986	0.5275	0.4995	0.2490
3	0.2300	0.1691	****	0.7948	0.8094	0.7301	0.8396	0.9325	0.8274	0.7810	0.8355	0.7090	0.7278	0.7296	0.2484	0.7814	0.8885	0.6384	0.3955	0.5798	0.3138	0.2994	0.2483	0.4475	0.4733	0.4482	0.1986
4	<b>0.0016</b>	0.0600	0.2297	****	0.9490	0.9336	0.9569	0.7953	0.9659	0.9162	0.9701	0.6908	0.8183	0.7098	0.2497	0.9248	0.6658	0.3877	0.3614	0.5709	0.4331	0.2971	0.2496	0.4544	0.4806	0.4551	0.2269
5	0.0670	0.0550	0.2114	0.0523	****	0.8843	0.9701	0.9040	0.9378	0.8479	0.9901	0.8464	0.8382	0.8152	0.3548	0.8507	0.6950	0.4164	0.4109	0.6705	0.5491	0.4111	0.3548	0.5166	0.5465	0.5175	0.2580
6	0.0934	0.1403	0.3146	0.0687	0.1230	****	0.8951	0.7358	0.8955	0.9459	0.9017	0.5956	0.7054	0.5814	0.1902	0.8840	0.6614	0.4840	0.3908	0.5170	0.3819	0.2388	0.1902	0.4360	0.4612	0.4368	0.1901
7	0.0433	0.0597	0.1748	0.0441	0.0303	0.1108	****	0.8885	0.9466	0.9064	0.9977	0.8424	0.8799	0.8627	0.2375	0.9202	0.6740	0.3963	0.4034	0.5890	0.4233	0.2890	0.2375	0.4596	0.4862	0.4604	0.2058
8	0.2437	0.1631	0.0699	0.2291	0.1009	0.3068	0.1182	****	0.8390	0.7181	0.9067	0.8794	0.7298	0.8539	0.3514	0.7016	0.8306	0.5704	0.4017	0.6569	0.4601	0.4066	0.3514	0.5051	0.5343	0.5059	0.2522
9	0.0392	0.0624	0.1895	0.0347	0.0642	0.1104	0.0548	0.1755	****	0.8682	0.9620	0.7322	0.7811	0.7474	0.2693	0.8847	0.7073	0.4077	0.3880	0.6133	0.4084	0.3202	0.2693	0.4878	0.5160	0.4886	0.2436
10	0.0935	0.1777	0.2472	0.0876	0.1649	0.0556	0.0983	0.3311	0.1414	****	0.8753	0.5932	0.8543	0.6241	0.1427	0.9491	0.6178	0.5111	0.4078	0.4670	0.3274	0.1890	0.1427	0.3845	0.4068	0.3852	0.1317
11	0.0355	0.0476	0.1797	0.0304	0.0100	0.1035	0.0023	0.0980	0.0388	0.1332	****	0.8448	0.8351	0.8505	0.2856	0.8819	0.7037	0.4162	0.3897	0.6206	0.4676	0.3372	0.2855	0.4900	0.5183	0.4908	0.2447
12	0.3553	0.2464	0.3440	0.3699	0.1668	0.5182	0.1714	0.1285	0.3117	0.5222	0.1686	****	0.7470	0.9524	0.3038	0.6296	0.5797	0.3518	0.3722	0.6020	0.4541	0.3542	0.3038	0.4679	0.4949	0.4687	0.2336
13	0.1832	0.2700	0.3177	0.2005	0.1765	0.3490	0.1280	0.3150	0.2471	0.1574	0.1802	0.2916	****	0.7831	0.2212	0.8653	0.4694	0.3136	0.3937	0.5135	0.4094	0.2712	0.2212	0.3712	0.3927	0.3719	0.1236
14	0.3032	0.2348	0.3152	0.3428	0.2043	0.5423	0.1476	0.1579	0.2911	0.4714	0.1620	0.0488	0.2445	****	0.2110	0.6688	0.5537	0.3390	0.3361	0.5245	0.3447	0.2544	0.2110	0.4225	0.4469	0.4232	0.2110
15	1.5022	1.3900	1.3929	1.3876	1.0361	1.6597	1.4376	1.0458	1.3119	1.9471	1.2533	1.1913	1.5086	1.5557	****	0.1260	0.2390	0.3515	0.1182	0.3857	0.6509	0.6520	0.6680	0.2229	0.2358	0.2233	0.2226
16	0.0701	0.0968	0.2466	0.0782	0.1617	0.1233	0.0832	0.3543	0.1225	0.0522	0.1257	0.4627	0.1447	0.4022	2.0712	****	0.5982	0.3353	0.4014	0.4935	0.3098	0.1736	0.1260	0.3785	0.4003	0.3791	0.1260
17	0.4301	0.2957	0.1182	0.4067	0.3639	0.4134	0.3945	0.1856	0.3463	0.4816	0.3513	0.5452	0.7562	0.5912	1.4312	0.5139	****	0.6490	0.3806	0.5440	0.2876	0.2881	0.2390	0.4785	0.5062	0.4793	0.2389
18	0.9769	0.8465	0.4488	0.9476	0.8761	0.7256	0.9257	0.5614	0.8972	0.6713	0.8766	1.0448	1.1597	1.0816	1.0455	1.0927	0.4324	****	0.2399	0.3176	0.3540	0.3546	0.3515	0.3016	0.3190	0.3021	0.2008
19	1.0370	0.9248	0.9277	1.0177	0.8893	0.9396	0.9078	0.9119	0.9467	0.8969	0.9423	0.9884	0.9321	1.0904	2.1353	0.9129	0.9660	1.4276	****	0.7656	0.1626	<b>0.1629</b>	0.1182	0.8367	0.8781	0.9482	0.7097
20	0.5919	0.4797	0.5451	0.5606	0.3997	0.6596	0.5293	0.4203	0.4889	0.7614	0.4771	0.5076	0.6665	0.6453	0.9526	0.7062	0.6088	1.1468	0.2671	****	0.4383	0.4390	0.3857	0.8226	0.8701	0.8408	0.6036
21	0.9115	0.8889	1.1589	0.8367	0.5996	0.9627	0.8597	0.7763	0.8954	1.1166	0.7602	0.7895	0.8930	1.0651	0.4294	1.1717	1.2460	1.0386	1.8166	0.8249	****	0.6462	0.6508	0.2683	0.2838	0.2687	0.2297
22	1.3153	1.2031	1.2060	1.2138	0.8889	1.4321	1.2412	0.9000	1.1387	1.6659	1.0871	1.0379	1.3050	1.3688	0.4277	1.7508	1.2443	1.0369	1.8149	0.8232	0.4367	****	0.9970	0.2687	0.2843	0.2692	0.2300
23	1.5024	1.3901	1.3930	1.3878	1.0362	1.6598	1.4377	1.0459	1.3120	1.9472	1.2535	1.1914	1.5087	1.5558	0.4034	2.0714	1.4314	1.0457	<b>2.1354</b>	0.9527	0.4295	0.0030	****	0.2229	0.2358	0.2233	0.2226
24	0.8081	0.6959	0.8041	0.7888	0.6604	0.8300	0.7774	0.6830	0.7178	0.9557	0.7134	0.7595	0.9909	0.8615	1.5009	0.9716	0.7371	1.1987	0.1783	0.1953	1.3157	1.3140	1.5011	****	0.9694	0.8940	0.6771
25	0.7519	0.6397	0.7479	0.7326	0.6042	0.7738	0.7212	0.6268	0.6616	0.8995	0.6572	0.7033	0.9347	0.8054	1.4447	0.9155	0.6809	1.1425	0.1300	0.1391	1.2595	1.2579	1.4449	0.0310	****	0.9457	0.7091
26	0.8064	0.6942	0.8025	0.7872	0.6588	0.8283	0.7757	0.6814	0.7162	0.9540	0.7117	0.7578	0.9892	0.8599	1.4993	0.9700	0.7354	1.1971	0.0532	0.1734	1.3141	1.3124	1.4994	0.1120	0.0558	****	0.7813
27	1.5025	1.3903	1.6164	1.4833	1.3549	1.6600	1.5810	1.3775	1.4123	2.0274	1.4078	1.4540	2.0908	1.5560	1.5022	2.0716	1.4316	1.6055	0.3430	0.5049	1.4712	1.4695	1.5024	0.3899	0.3437	0.2468	****



Şekil 7: Nei'nin Genetik Uzaklık matrisine bağlı dendrogram ve dendrogram üzerindeki dalların % seç-bağla test değerleri. (%50'nin altındaki seç-bağla test değerleri gösterilmemiştir).

#### 4. TARTIŞMA VE SONUÇ

Mikrosatelit belirteçleri gösterdikleri yüksek varyasyon oranıyla özellikle mikrocoğrafik alanda doğal alabalık populasyonlarının genetik yapılarını başarılı bir şekilde ortaya koymuştur (Estoup ve Ark., 1998., Hansen ve Ark., 2000, Fritzner ve Ark., 2001). Ayrıca alabalıklar ve diğer bazı balık türlerinde, mikrosatelit belirteçleri ile makrocoğrafik varyasyon çalışılmıştır (Hansen ve Ark., 2000, Fritzner ve Ark., 2001). Bu çalışmada Türkiye coğrafyasında 27 alabalık populasyonuna ait beş mikrosatelit lokusunun analizi yapılmış, hem mikrocoğrafik hem de makrocoğrafik alanda alabalık populasyonlarının genetik yapısı hakkında önemli bilgiler sağlamıştır. Türkiye’de alabalık populasyonlarının dahil oldukları soy hatları belirlenmiş, bugünkü populasyonlar arasında oluşan mevcut genetik farklılıklar ortaya konmuştur.

Alabalık populasyonlarının genetik yapı analizi sonucu beş mikrosatelit lokusunda toplam 37 alel saptanmıştır. Tüm lokuslar polimorfiktir. Türkiye alabalık populasyonlarında görülen alel sayısı ortalaması 7.4 olarak belirlenmiştir (Tablo 2). Bazı Avrupa alabalık populasyonlarında aynı mikrosatelit lokusları kullanarak elde edilen alel ortalaması 5 ile 6 arasında değişmektedir (Carlsson ve Nilsson, 2000., Hansen, 2002., Palm ve Ark., 2003). Populasyonlarda gözlenen heterozigotluk değeri populasyon içi varyasyonun önemli bir göstergesidir. Türkiye alabalık populasyonlarında, gözlenen heterozigotluk değeri 0.070 ile 0.504 arasında değişirken ortalama heterozigotluk 0.254 tür. MtDNA, allozim ve mikrosatelit belirteçleri kullanılarak Avrupa doğal alabalık populasyonlarında yapılan çalışmalarda, ortalama polimorfik lokus oranı %16 olarak tespit edilmiştir. Aynı zamanda gözlenen heterozigotluk değeri 0.017 ile 0.122 arasında değişirken ortalama gözlenen heterozigotluk 0.044 olarak belirlenmiştir (Krieg ve Guyomard, 1985., Ferguson, 1989., Bertnatchez ve Osinov 1995., Riffel 1995., Apostolidis, 1997). Türkiye alabalık populasyonlarının gözlenen heterozigotluk değerleri Avrupa alabalık populasyonlarından daha yüksektir. Çalışılan tüm lokusların polimorfik olması ve gözlenen heterozigotluk değerlerinin Avrupa populasyonlarının üzerinde olması,

populasyon içi varyasyonun Avrupa alabalık populasyonlarından daha yüksek olduğunu göstermektedir (Tablo 2).

Türkiye alabalık populasyonlarının Hardy-Weinberg dengesinde olup olmadıkları, populasyonların genetik yapısı hakkında önemli bilgiler sağlamaktadır ( $p \leq 0.05$  önemli,  $p > 0.05$  önemsiz) (Tablo 5). Str15INRA lokusunda frekansları 0.021 ile 0.348 arasında değişen yedi alel bulunmaktadır. Bu lokustaki 15 populasyonda bir alel tespit olmuşken (C, D, E, alellerinin her biri farklı populasyonlarda), dört populasyon (Şehitlik, Gemin, Ovit, İkizdere) Hardy-Weinberg dengesinde değildir. Str73INRA lokusun da frekansları 0.036 ile 0.791 arasında değişen üç alel bulunmaktadır. Bu lokusun da Munzur ve Sürgü populasyonları Hardy-Weinberg dengesinde, Karaçingil populasyonu ise Hardy-Weinberg dengesinde değildir. Bu populasyonlar dışındaki toplam 24 populasyonda bir alel belirlenmiştir. Str60INRA lokusunda frekansları 0.893 (A) ve 0.106 (B) olan iki alel bulunmaktadır Bu lokusta yalnızca Yedigöl, Merekum, Çatalalç Karaçingil populasyonları Hardy-Weinberg dengesindedir. Bunun dışındaki 23 populasyonda ya bir alel tespit olmuş ya da Hardy-Weinberg dengesinde değildir. Str73INRA ve Str60INRA lokusları açısından populasyonlarda heterozigotluk büyük ölçüde yok olmuş görülmektedir. SsoSL417 lokusu frekansları 0.005 ile 0.279 arasında değişen toplam 18 alelin bulunduğu ve heterozigotluk oranı en yüksek lokustur ( $H_g$ : 0.504). Bu lokusta yalnızca Abant Gölü, Yağmurdere, Köprü, Munzur, Koyunlu ve Sürgü populasyonlarında bir alel saptanmıştır. Ayrıca Akçay, Rezve, İkizdere, Çatalalç, Sürgü, Tohma, Fırnız, Alakır, Yedigöller, Tamdere, Şehitlik ve Ayderesi populasyonları Hardy-Weinberg dengesinde değildir. Ssa171 lokusunda frekansları 0.056 ile 0.468 arasında değişen yedi alel bulunmaktadır. Bu lokusta Akçay, Rezve, Yağmurdere, Çatak, Ayderesi, Karaçingil, Munzur, Sürgü, Tohma, Fırnız populasyonlarında tek bir alel görülmektedir. Şehitlik, Gemin ve Abant Gölü populasyonları ise Hardy-Weinberg dengesinde değildir. Araştırılan tüm lokuslar açısından Türkiye alabalık populasyonlarının %54'ünde bir alelin tespit olduğu, geriye kalan populasyonların %36'sının Hardy-Weinberg dengesinde olmadığı görüldü. Ayrıca populasyonlara ait

alel frekansları heterojen bir dağılım göstermektedir. Populasyonların önemli bir kısmının Hardy-Weinberg dengesinde olmaması, bir çok alellerin populasyonlarda tespit olması ve alel frekanslarındaki heterojen dağılım heterozigot eksikliğinin önemli bir göstergesidir. Bazı populasyonların Hardy-Weinberg dengesinde olmaması, örnek sayısının düşük olması nedeniyle nadir görülen alellerin tespit edilememesinden kaynaklanabilir. Ayrıca populasyonlarda görülen heterozigot eksikliğinin null alel bulunmasından da kaynaklanabileceği düşünülmektedir (Aurelle ve Ark., 2002). Ancak genel olarak örnek sayısı yüksek olan populasyonlarda da Hardy-Weinberg dengesinde değildir. Bu durumu alabalık populasyonlarının küçük populasyon büyüklüğüne sahip olmaları, izolasyonlar nedeniyle sınırlı gen akışının olması, genetik kayma ve değişik dönemlerde darboğazlar geçirmiş olmaları ile açıklanmaktadır. Ayrıca alabalıkların doğal dağılım alanları içinde 10 ya da daha az bireyden oluşan lokal populasyonlara bölündüğü görülmüştür (Elliott, 1990., Carvalho, 1993., Poteaux ve Ark., 1999). Küçük populasyonlarda populasyon içi üreme, alellerin tespit olması ve heterozigotluk seviyesinin azalmasında önemli bir faktör olabilir.

Avrupa alabalık populasyonlarının mikrocoğrafik alanda önemli varyasyon gösterdiği bilinmektedir (Riffel ve Ark., 1995, Estoup ve Ark., 1998, Poteaux ve Ark., 1999, Apostolidis ve Ark., 1997). Türkiye alabalık populasyonlarının mikrocoğrafik alanda, aynı nehir ya da havza sisteminde bulunan populasyonların kendilerine özgü alellere sahip olduğu görülmektedir (Tablo 5). Basra Körfezi Havzasında bulunan Fırat Nehri kollarında Munzur, Sürgü, Tohma populasyonları, Dicle Nehrinde ise Çatak populasyonu bulunmaktadır. Çatak ve Sürgü populasyonunun Str15INRA ve SsoSL417 lokuslarında aynı sistem içindeki diğer populasyonlarda olmayan kendine özgü alellerinin olduğu görülmektedir. Str15INRA ve SsoSL417 lokuslarında Munzur ve Tohma populasyonlarında bulunan aleller diğer populasyonlarda yoktur. Str73INRA lokusunda ise Munzur'da bulunan bir alel Tohma ve Çatak populasyonlarında görülmemektedir. Akdeniz Havzasında yer alan Sarız, Körkün, Köprü, Alakır, Fırın ve Akdere populasyonları çalışılmıştır.



Str73INRA lokusunda Seyhan nehri kolu üzerinde bulunan Sarız populasyonunda görülen bir alel aynı nehir'in başka bir kolunda bulunan Körkün populasyonunda ve Akdeniz Havzasındaki diğer populasyonlarda görülmemektedir. Str60INRA lokusunda bir alel yalnız Köprü populasyonunda görülmektedir. Karadenize dökülen Çoruh Nehri kollarında Merekum, Ovit ve Dörtkilise populasyonları bulunmaktadır. Ovit ve Merekum populasyonunun Str73INRA lokusu hariç tüm lokuslarda kendine özgü alelleri vardır. Karadeniz Havzasına ait bir çok populasyonun değişik lokuslarında kendilerine özgü aleller görülmektedir. Kura Nehri üzerinde bulunan Koyunlu ve Karaçingil populasyonları Str15INRA lokusu hariç tüm lokuslarda birbirlerinden farklı kendilerine özgü alellere sahiptir. Daha önce Avrupa alabalık populasyonlarında yapılmış mtDNA analizlerinde, alabalık populasyonlarının kendilerine özgü haplotiplerinin olduğu görülmektedir (Weiss ve Ark., 2000, Bertnatchez., 2001, Altukhov ve Ark., 2000, Susnik ve Ark., 2005). Bardakcı ve Ark. (2006) Türkiye alabalık populasyonlarında yaptıkları mtDNA analiz sonuçları bir çok populasyonda tek bir mtDNA haplotipin bulunduğunu göstermektedir. Doğal alabalık populasyonları arasında mikrocoğrafik alanda görülen genetik farklılaşma nedeninin, populasyonlar arasındaki sınırlı gen akışı, lokal adaptasyon ve rasgele genetik sürüklenme olabileceği düşünülmektedir (Adkinson, 1995., Palm ve Ryman, 1999). Çoğunlukla alabalık populasyonları arasındaki genetik farklılığın nehirlerin fiziksel olarak izole olmuş kısımları veya farklı dereler gibi önemli bariyerlerden kaynaklanan izolasyonlar olduğu düşünülmektedir (Ferguson 1989, Wenburg ve Ark., 1998), hiçbir bariyer bulunmayan bir nehir içerisinde uzaklığa bağlı olarak populasyonlar arasında genetik farklılığın önemli olduğu görülmüştür (Estoup ve Ark., 1998, Carlsson ve Nilsson., 2000). Alabalık populasyonları arasında görülen mikrocoğrafik farklılaşmanın beslenme ve üreme alışkanlıkları gibi içgüdüsel davranışlardan kaynaklanabileceği düşünülmektedir (Estoup ve Ark., 1998). Ayrıca alabalıkların yüksek dağ sularında yaşamaları izole olmalarında etkili diğer bir etkidir. Bu nedenlerden dolayı alabalık populasyonlarının genetik olarak en yapılanmış tür olduğu düşüncesi mikrosatelit belirteçleri ile de desteklenmektedir.

Populasyonlar arasındaki genetik varyasyonun hiyerarşik düzeyde coğrafik dağılışını test etmek üzere moleküler varyans analizi (AMOVA) yapıldı (Tablo 6). AMOVA analiz sonuçları alabalık populasyonlarını hem mikrocoğrafik alanda hem de makrocoğrafik alandaki genetik yapıları hakkında önemli bilgiler sağlandı. Farklı modellere göre gruplandırılmış populasyonların, gruplar arasında, grup içinde populasyonlar arasında ve populasyon içinde varyasyon oranı belirlendi. Gruplar arasındaki varyasyon bir anlamda makrocoğrafik varyasyonu, grup içinde populasyonlar arasında ve populasyon içinde varyasyon ise mikrocoğrafik varyasyonu göstermektedir. Bu çalışmada ilk gruplandırma Nei'nin genetik uzaklığa göre elde edilen dendrograma göre yapıldı. Mikrosatelit belirteçleri ile elde ettiğimiz dendrogram, alabalıkların ait olduğu mtDNA soy hatlarına göre populasyonları ayırmaktadır. Bu dendrogram Karadeniz ve Marmara Bölgesi populasyonlarını bir grup, Akdeniz Bölgesi populasyonlar ikinci bir grup ve Doğu Anadolu Bölgesi populasyonlarını ise üçüncü grup olarak ayırdı. AMOVA analizi sonucu gruplar arasındaki varyasyon toplam varyasyonun %45.05'ini oluşturmaktadır. Bir anlamda farklı coğrafik alanda bulunan populasyonlar arasındaki varyasyon oranını göstermektedir. Grup içinde populasyonlar arasındaki varyasyon toplam varyasyonun %25.77'sini ve populasyon içindeki varyasyon %29.19'unu oluşturmaktadır. Grup içindeki populasyonlar arasındaki varyasyon ve populasyon içindeki varyasyon oldukça yüksektir ve mikrocoğrafik alanda birbirine yakın populasyonlar arasındaki varyasyonun bir göstergesidir. Bardakcı ve Ark (2006) yaptıkları çalışmada aynı populasyonları mtDNA soy hatlarına göre ayırmışlar ve gruplar arasındaki varyasyonu %79.5 oranında, grup içinde populasyonlar arasındaki varyasyon %19.1 oranında ve populasyon içindeki varyasyonu ise %1.28 oranında bulmuşlardır. Görüldüğü gibi makrocoğrafik alanda mtDNA ile elde edilen varyasyon oranı yüksek olmakla birlikte mikrocoğrafik alanda mikrosatelit belirteçleri ile elde edilen varyasyon oranı daha yüksektir. Mikrocoğrafik alanda birbirine yakın populasyonları mikrosatelit belirteçleri daha iyi ayırmaktadır. Ayrıca iki moleküler belirteç seti de mtDNA soy hatları arasındaki varyasyonu çok iyi bir şekilde ortaya koymuştur.

MtDNA'nın makrocoğrafik alanda daha yüksek varyasyon göstermesi mtDNA'nın mutasyon oranının yüksek olması, rekombinasyon göstermemesi ve haploid olmasından dolayı, tek kopya çekirdek DNA'ya göre dört kat daha yüksek oranda genetik sürüklenme ile tespit olma şansının olmasından kaynaklanabilir (Awise, 1994). Bu nedenle mtDNA yakın geçmişte ayrılan populasyonlar arasındaki varyasyonu daha iyi göstermektedir.

AMOVA analizi ile alabalık populasyonları buldukları havzalara göre beş farklı gruba ayrıldı. Bu beş grup Karadeniz Havzası, Hazar Denizi Havzası, Ege Denizi Havzası, Akdeniz Havzası ve Basra Körfezi Havzası'na ait populasyonlardan oluşmaktadır. AMOVA analizi sonucu havzalar arasındaki varyasyon ve toplam varyasyonun % 45.78'ni oluşturmaktadır. MtDNA analizi sonuçları (Bardakcı ve Ark., 2006) aynı alabalık populasyonları arasındaki genetik varyasyonun %70.50'si alabalıkların buldukları deniz havzaları arasında olduğunu göstermiştir. Mikrosatelit lokuslarındaki varyasyon mtDNA kadar büyük olmamasına rağmen, ana havzalarda bulunan populasyonları yüksek varyasyon oranıyla birbirinden ayırmıştır. Mikrosatelit belirteçleri ile grup içinde populasyonlar arasındaki varyasyon %22.88, populasyon içindeki varyasyon toplam varyasyonun %31'ini oluşturmaktadır. Bardakcı ve Ark., (2006) mtDNA ile grup içinde populasyonlar arasındaki varyasyon %28.03, populasyon içindeki varyasyonu ise %1.4 oranında bulmuşlardır. Mikrosatelit belirteçleri ile elde edilen populasyon içi varyasyonun mtDNA'ya göre oldukça yüksek olduğu görülmektedir.

Son olarak AMOVA analizi ile alabalık populasyonları buldukları nehirlere göre 20 farklı gruba ayrıldı. Türkiye coğrafyasındaki her bir nehir kollarında bulunan populasyonlar ayrı bir grup olarak düşünüldü. Bu analizde gruplar arasındaki varyasyon yakın nehir sistemleri arasında, bir anlamda mikrocoğrafik alanda populasyonlar arasındaki ilişkiyi ortaya koydu. AMOVA analizi sonucu nehir sistemleri arasındaki varyasyon toplam varyasyonun %39' nu oluşturmaktadır. Grup içinde populasyonlar arasındaki varyasyon toplam varyasyonun %23.77'sini ve populasyon içindeki varyasyon toplam varyasyonun %36'sını oluşturmaktadır. Farklı

moleküler belirteçler ile Avrupa alabalık populasyonları arasındaki varyasyon %36.7-56.2 arasında değişiklik göstermektedir (Krieg ve Guyomard 1985, Ferguson., 1989., Garcia-Martin ve Ark., 1991, Bertnatchez ve Osinov 1995., Riffel 1995., Apostolidis, 1997). Türkiye alabalık populasyonları nehir sistemleri arasında %39, havzalar arasında ise %45 varyasyon oranı ile Avrupa alabalık populasyonlarında görülen sınırların arasında bulunmaktadır. Yapılan üç farklı gruplandırmada coğrafik olarak birbirine yakın populasyonlarda, grup içinde populasyonlar arasında ve populasyon içindeki varyasyon oranı oldukça yüksektir. Alabalık populasyonlarıyla ilgili daha önceki analizlerde elde edilen populasyonların izole olduğu fikrini, AMOVA analiz sonuçları destekler niteliktedir.

Populasyon çiftleri arasındaki genetik farklılığın önemli olup olmadığı istatistiksel olarak ortaya koymak için Fst analizi yapıldı (Tablo 7). Populasyonların Fst matrisinde Fst değerleri küçük olan ikişerli karşılaştırmalarda populasyonlar aralarındaki farklılaşmanın önemsiz olduğu, Fst değeri büyük olan ikişerli karşılaştırmalarda ise populasyonlar arasındaki farklılaşmanın önemli olduğu ortaya çıkarmaktadır ( $p \leq 0.05$  önemli,  $p > 0.05$  önemsiz). Avrupa alabalık populasyonlarında Fst değeri ile uzaklık arasında pozitif ilişki olduğunu, yani uzaklığa bağlı olarak populasyonların izole olduğunu gösteren bir çok çalışma vardır (Wenburg ve Ark 1998, Hansen ve Ark., 1998, Ferguson ve Ark., 1989). Türkiye’de bulunan alabalık populasyonlarının büyük çoğunluğu arasındaki ikişerli populasyon karşılaştırma matrisinde, uzaklığa bağlı genetik farklılığın istatistiksel olarak önemli olduğu ortaya çıkarıldı. Yalnızca İkizdere/Dörtkilise, Çatalalıç/Dörtkilise, Çatalalıç/Ayıderesi, Sürgü/Tohma, Alakır/Fırnız ikili populasyonları arasındaki farklılığın önemsiz olduğu görüldü. Bu populasyonları aynı coğrafik bölgenin, ya da aynı havza sisteminin populasyonları olması nedeniyle aralarında farklılık olmaması beklenen bir durumdur. İkili populasyonlar arasındaki Fst değeri matrisi incelendiğinde farklı havza sistemlerinde birbirine uzak olan populasyonlar en yüksek Fst değerlerine sahiptir. Diğer önemli bir nokta, birbirine yakın populasyonlar ya da aynı havza sisteminde olsalar dahi populasyonların büyük bir kısmının istatistiksel olarak önemli

Fst değerlerine sahip olmalarıdır. Ayrıca Nei'nin genetik uzaklık matrisinde birbirinden uzak görülen popülasyonların Fst değerleride büyüktür. Bu sonuçlar Türkiye coğrafyasında bulunan alabalıkların önemli bir şekilde birbirlerinden izole olduklarını destekleyen diğer bir göstergedir.

Bernatchez (2001) mtDNA PCR-RFLP ve dizi analizi verilerini kullanarak coğrafik ve fenotipik olarak farklı olan alabalık popülasyonlarının analizi sonucu AT, DA, ME, MA ve AD olmak üzere beş ana evrimsel soy hattının varlığını ortaya koymuştur. Bernatchez (2001) çalışmasında, Türkiye coğrafyasında beş ana soy hattından ikisinin bulunduğu tespit etmiştir. Bunlardan AD daha çok Akdeniz ve Adriyatik Denizi Havzasında dağılışı göstermektedir. DA soy hattı ise Karadeniz, Hazar Denizi ve Aral Denizi Havzalarında yer almaktadır. Bardakcı ve Ark., (2006) Türkiye'de bulunan alabalık popülasyonlarında mtDNA'nın NADH 5/6 ve Sitokrom *b*/D-loop bölgeleri PCR-RFLP ile analizini gerçekleştirmiştir. Bu çalışmanın sonuçlarına göre ülkemizde Akdeniz ve Basra Körfezi (sadece Fırat Nehri) Havzasındaki alabalık popülasyonlarının AD ve Karadeniz, Marmara, Ege ve Hazar Denizi Havzalarındaki ise DA soy hattından oldukları belirlenmiştir. Ayrıca, Dicle Nehri Havzası'ndaki Çatak popülasyonuna ait olan balıkların ise bu tanımlanmış beş soy hattından farklı olduğu ve bu yüzden ayrı bir soy hattı olduğu ileri sürülmüştür. Bu soy hattı TI olarak adlandırılmıştır. Susnik ve Ark (2005)'nin mtDNA kontrol bölgesi dizi analizi çalışmasında, Çatak popülasyonunun TI soy hattına ait olduğu gösterilmiştir.

Alabalık popülasyonlarına ait mikrosatelit DNA verileri, mtDNA'ya göre Türkiye coğrafyasında ayrılan DA ve AD soy hatlarını belirgin bir şekilde ayırmıştır (Şekil 6). UPGMA dendrograma göre; Karadeniz, Marmara ve Ege Denizi Havzalarına ait alabalık popülasyonları net bir şekilde DA soy hattı içinde görülürken, Akdeniz ve Doğu Anadolu bölgesindeki popülasyonlar AD soy hattı içinde görülmektedir. Ayrıca Karadeniz, Akdeniz ve Doğu Anadolu coğrafik bölgelerinde bulunan popülasyonlar açık bir şekilde birbirinden ayrılmaktadır. Dendrograma göre yapılan seç bağla testi Fırat ve Dicle Nehir kollarına ait Doğu

Anadolu popülasyonlarını Karadeniz Marmara ve Akdeniz Havzaları'na ait popülasyonların ayrılmasını %100 desteklerken, Akdeniz Havzasına ait popülasyonlar ile Karadeniz, Marmara Denizi popülasyonları arasındaki ayrılmayı %82 oranında desteklemektedir. Yani AD ve DA soy hatları arasındaki ayrılma %100 desteklenirken, AD soy hattında bulunan Akdeniz popülasyonları ile DA soy hattı popülasyonları arasındaki ayrılmayı %80 desteklemektedir. Nei'nin genetik uzaklık değerlerine göre en büyük uzaklık DA soy hattı içinde yer alan Köprü popülasyonu ile AD soy hattı içinde yer alan Tohma popülasyonu arasında görüldü. En yakın genetik uzaklık değerleri ise DA soy hattı içindeki Akçay ve Tamdere popülasyonları arasında görüldü. Bu sonuçlardan da anlaşıldığı gibi Bernatchez ve Ark (2001) ve Bardakçı ve Ark (2006) tarafından Türkiye coğrafyasındaki ana soy hatlarını mikrosatelit belirteçleri de açık bir şekilde desteklemektedir. Ancak mikrosatelit verileri, mtDNA sonuçlarına göre ayrı bir soy hattı olarak değerlendirilen TI soy hattı (Çatak popülasyonu) ile AD soy hattından olan Fırat Nehri Havzasının Munzur, Sürgü ve Tohma popülasyonları ile yakın bir genetik ilişkisi olduğunu ortaya koymuştur.

Alabalıkların köken aldıkları sığınaklara göre farklılaşan soy hatları arasında, yeniden kolonize olma sürecinde ikincil temas olduğu düşünülmektedir (Persat ve Berrebi, 1990., Hynes ve Ark., 1996, Garcia-Martin ve Ark., 1999). Özellikle Kuzey Avrupa tatlısu balık popülasyonları, son buzul olaylarından yoğun bir şekilde etkilenmesinden dolayı ancak son zamanlarda yeniden kolonize olabilmişlerdir (Hamilton ve Ark, 1989). Alabalıklar buzullar nedeniyle uzun süre izolasyona uğramışlar, daha sonra farklı soy hatları yeniden kolonize olma sürecinde ikincil temas oluşturmuşlardır. Türkiye alabalık popülasyonları ile ilgili elde ettiğimiz mtDNA ve mikrosatelit belirteçlerinin gösterdiği sonuçlar, alabalıkların farklı mtDNA soy hatlarının evrimsel süreçleri içerisinde ikincil temasları olduğuna işaret etmektedir (Bardakçı ve Ark., 2006). Bu ikincil temasların ülkemizde özellikle DA soy hattı ile AD ve TI soy hattı arasında olduğu düşünülmektedir. Bardakçı ve Ark. (2006) mtDNA sonuçlarına dayanarak bu ikincil temasların bundan yaklaşık 7500 yıl

önce buzul dönemi sonrası buzulların erimesi ile Akdeniz su seviyesinin yükselmesi sonucu meydana geldiğini ileri sürmüştür. Bernatchez (2001) AD soy hattının olduğu Fırat Nehri Havzasında DA soy hattının varlığını rapor etmiştir. Bardakcı ve Ark. (2006) ve Bernatchez (2001) mtDNA sonuçları Dicle-Fırat nehir sisteminde en az üç soy hattının (DA, AD ve TI) varlığına işaret etmektedir. Bardakcı ve Ark. (2006) mtDNA sonuçları ve bu bölgede diğer bazı tatlı su balıkları yapılan çalışmaların (Durand ve Ark., 2000) ışığında Dicle-Fırat sisteminin (Mezopotamya) alabalıklarının köken merkezi olduğunu ileri sürmüştür. Bu soy hatları arasındaki ayrılmalarının, Anadolu'nun jeolojik tarihi ve moleküler saat verilerine dayanarak buzul dönemi öncesi Pliyosende olduğu düşünülmektedir.

Tüm bu sonuçlar ışığında mikrosatelit belirteçleri Türkiye coğrafyasında bulunan alabalık popülasyonlarının yapısını ve aralarındaki filogenetik ilişkiyi hem mikrocoğrafik hem de makrocoğrafik alanda farklı istatistik yöntemleriyle ayrıntılı bir şekilde ortaya koyabilmektedir. Ayrıca Türkiye alabalık popülasyonları ile ilgili mikrosatelit belirteçlerinin ortaya koyduğu ikincil temas bulgusunun gösterdiği gibi, türlerin evrimsel tarihini açıklayabilmek için farklı moleküler belirteçler kullanarak, çok sayıda lokusun analiz edilmesi daha doğru sonuçlara ulaşılmasını sağlayabilir.

## 5. KAYNAKLAR

- Adkison, M. 1995.** Population differentiation in Pacific salmon: Local adaptation, genetic drift or the environment? *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 52, 2762-2777.
- Allen, P.J., Amos, W., Pomeroy, P.P. and Twiss, S.D. 1995.** Microsatellite variation in grey seals (*Halichoerus grypus*) show evidence of genetic differentiation between two British breeding colonies. *Molecular Ecology*, 4: 653-662.
- Allendorf, F.W., Ryman, N., Stennek, A and Stahl, G. 1976.** Genetic variation in Scandinavian brown trout (*Salmo trutta*): Evidence for distinct sympatric populations. *Hereditas*, 83: 73-82.
- Altukhov, Y.P., Salmenkova, E.A. and Omelchenko, V.T. 2000.** Salmonid fishes Population biology, genetics and management. Blackwell Science Ltd., Oxford, UK.
- Andersen, B.G and Borns H.W.Jr. 1994.** The Ice Age world. Candinavian Univ. Press, Oslo, Norway.
- Apostolidis, A.P., Karakousis, Y. and Triantaphyllidis, C. 1996.** Genetic differentiation and phylogenetic relationships among Greek *Salmo trutta* L (brown trout) populations as revealed by RFLP analysis of PCR amplified mitochondrial DNA segments. *Heredity*, 77:608-618.
- Apostolidis, A.P., C. Triantaphyllidis., A. Kouvatsi and P.S. Economidis. 1997.** Mitochondrial DNA sequence variation and phylogeography among *Salmo trutta* L. (Greek brown trout) populations. *Molecular Ecology*, 6:531-542.
- Arkhipov, S.A., J.Ehlers, R.G. Johnson and H.E. Wright, Jr. 1995.** Glacial drainages towards the Mediterranean during middle and late Pleistocene. *Boreas*, 24:196-206.



- Aurelle, D. and Berrebi, P. 2001.** Genetic structure of brown trout (*Salmo trutta*, L.) populations from south-western France: data from mitochondrial control region variability. *Molecular Ecology*, 10: 1551-1561.
- Aurelle, D., Cattaneo-Berrebi, G. and Berrebi, P. 2002.** Natural and artificial secondary contact in brown trout (*Salmo trutta*, L.) in the French western Pyrenees assessed by allozymes and microsatellites. *Heredity*, 89: 171–183.
- Avise, J.C. and Smith, M.H. 1974.** Biochemical genetics of sunfish. I. Geographic variation and subspecific intergradation in the bluegill, *Lepomis macrochirus*. *Evolution*, 28: 42-56.
- Avise, J.C. 1994.** Molecular markers, natural history and evolution. Chapman and Hall, New York, USA. 511 pp.
- Balik, S. ve Geldiay, R. 1988.** Türkiye Tatlısu Balıkları. İzmir: Ege Üniversitesi Basımevi.
- Bardakçı, F., Değerli, N., Özdemir, Ö., Başbüyük, H.H. 2006.** Phylogeography of the Turkish Brown trout *Salmo trutta* L. mitochondrial DNA PCR-RFLP variation. *Journal of Fish Biology*, 68: 1-20.
- Behnke, R.J. 1968.** A new subgenus and species of trout, *Salmo* (*Platysalmo*) *platycephalus* from south central Turkey, with comments on the classification of the subfamily Salmonidae. *Mitteilungen Hamburgisches Zoologisches Museum und Institut*, 66:1-15.
- Behnke, R.J. 1972.** The systematics of salmonid fishes of recently glaciated lakes. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, 29:639-671.
- Behnke, R.J. 1986.** Brown trout. *Trout* 27:42-47.
- Bentzen, P., Harris, A.S. and Wright, J.M. 1991.** Cloning of hypervariable minisatellite and simple sequence microsatellite repeats for DNA fingerprinting of important aquacultural species of salmonids and tilapia. In Burke, T., Dolf, G., Jeffreys, A.J. and Wolf, R., EDS. *DNA Fingerprinting Approaches and Application*. Basel, Switzerland: Birkhauser Verlag, pp. 243-262.

- Bentzen, P., Taggart, C.T., Ruzzante, D.E. and Cook, D. 1996.** Microsatellite polymorphism and the population structure of Atlantic cod (*Gadus morhua*) in the Northwest Atlantic. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 53: 2706-2721.
- Berg, L.S. 1948.** Freshwater fishes of the Soviet Union and adjacent countries. Vol. 1. Academy Nauk, Moscow.
- Bermingham, E., Friedland, K., Forbes, S. and Pla, C. 1991.** Discrimination between Atlantic salmon (*Salmo salar*) of North American and European origin using restriction analyses of mitochondrial DNA. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 48: 884-893.
- Bermingham, E., McCafferty, S.S. and Martin, A.P. 1997.** Fish biogeography and molecular clocks: Perspectives from the panamanian isthmus. In 'Molecular systematics of fishes' (T. D. Kocher and C. A. Stepien, eds.). Academic Press, San Diego
- Bernatchez, L., and J.J. Dodson. 1991.** Phylogeographic structure in mitochondrial DNA of the lake whitefish (*Coregonus clupeaformis*) and its relation to Pleistocene glaciations. *Evolution*, 45: 1016–1035.
- Bernatchez, L., R. Guyomard, and F. Bonhomme. 1992.** DNA sequence variation of the mitochondrial control region among geographically and morphologically remote European brown trout *Salmo trutta* populations. *Molecular Ecology*, 1:161–173.
- Bernatchez, L. 1995.** A role for molecular systematics in defining significant evolutionary units. In Nielsen, J.L. and Powers, D.A. (eds.). *Evolution and the aquatic ecosystem: defining unique units in population conservation*. American Fisheries Society Symposium 17, American Fisheries Society, Bethesda, Maryland, USA, pp. 114-132.
- Bernatchez, L. and Osinov, A.G. 1995.** Genetic diversity of trout (genus *Salmo*) from its most eastern native range based on mitochondrial DNA and nuclear gene variation. *Molecular Ecology*, 4: 285–297.

- Bernatchez, L. and Wilson, C.C. 1998.** Comparative phylogeography of Nearctic and Palearctic fishes. *Molecular Ecology*, 7: 431-452.
- Bernatchez, L. 2001.** The evolutionary history of brown trout (*Salmo trutta* L.) inferred from phylogeographic, nested clade, and mismatch analyses of mitochondrial DNA variation. *Evolution*, 33: 351-379.
- Berrebi, P. 1995.** Etude genetique des truites de Corse. Laboratoire Genome et Populations, Universite de Montpellier pour Parc Naturel Regional de Corse.
- Bianco, P.G. 1990.** Potential role of the paleohistory of the Mediterranean and Paratethys basins on early dispersal of Euro-Mediterranean freshwater fishes. *Ichthyol Explor Fresh-water*, 1:167-184.
- Bouza, C., Arias, J., Castro, J., Sanchez, L., Martinez, P. 1999.** Genetic structure of brown trout, *Salmo trutta* L., at the southern limit of the distribution of the anadromous form. *Molecular Ecology*, 8:1991-2002.
- Brown, J.R., Beckenbach, A.T. and Smith, M.J. 1993.** Intraspecific DNA sequence variation of the mitochondrial control region of white sturgeon (*Acipenser transmontanus*). *Molecular Biology and Evolution*, 10: 326-341.
- Brooker, A.L., Cook, D., Bentzen, P., Wright., J.M. and Doyle, R.W. 1994** Organization of microsatellites differs between mammals and cold-water teleost fishes. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 51: 1959-1966.
- Burke, T. and Bruford, M.W. 1987.** DNA fingerprinting in birds. *Nature*, 327: 149-152.
- Callen, D.F., Thompson, A.D., Shen, Y., Phillips, H.A., Richards, R.I., Mulley, J.C. and Sutherland, G.R. 1993.** Incidence and origin of 'null' alleles in the (AC)<sub>n</sub> microsatellite markers. *American Journal of Human Genetics*, 52: 922-927.
- Carlsson, J. and Nilsson, J. 2000.** Population genetic structure of brown trout (*Salmo trutta* L.) within a northern boreal forest stream. *Hereditas* 132: 173-181.

- Carter, R.E., Mair, G.C., Skibinski, D.O.F., Parkin., D.T. and Beardmore, J.A. 1991.** The application of DNA fingerprinting in the analysis of gynogenesis of tilapia. *Aquaculture*, 95: 41-52.
- Carvalho, G.R. 1993.** Evolutionary aspects of fish distribution: genetic variability and adaptation. *Journal of Fish Biology*, 43 (Suppl. A.):53-73.
- Carvalho, G.R. and Hauser, L. 1994** Molecular genetics and the stock concept in fisheries. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 4: 326-350.
- Cawdery, S.A.H. and Ferguson, A. 1988.** Origins and differentiation of three sympatric species of trout (*Salmo trutta* L.) in Lough Melvin. *Polskie Archiwum Hydrobiologii*, 35:267-277.
- Crozier, W.W. and Ferguson, A. 1986.** Electrophoretic examination of the population structure of brown trout (*Salmo trutta*) from the Lough Neagh catchment, Northern Ireland. *Journal of Fish Biology*, 28:459-477.
- Desjardins, P. and Morais, R. 1990.** Sequence and gene organization of the chicken mitochondrial genome. *Journal of Molecular Biology*, 212:599-634
- DiRienzo, A., Peterson, A.A., Garza, J.C., Valdes, A.M., Slatkin, M. and Freimer, N.B. 1994.** Mutational processes of simple sequence repeat loci human populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 91: 3166-3170.
- Donaldson, K.A. and R.R. Wilson Jr. 1999.** Amphi-Panamic geminates of snook (Percoidae: Centropomidae) provide a calibration of the divergence rate in the mitochondrial DNA control region of fishes. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 13:208–213.
- Dorofeeva, E.D. 1998.** Systematics and distribution history of European Salmonid fishes of the genus *Salmo*. *Journal of Ichthyology*, 38:419-429.
- Dueck, L.A. 1994.** Population divergence of introduced rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in the Lake Ontario watershed, based on the mitochondrial genome. MSc thesis, Univ. of Guelph, Canada. 173 pp.

- Duguid, R.A. 2002.** Population genetics and phylogeography of brown trout (*Salmo trutta L.*). PhD Thesis, Queen's University of Belfast, UK.
- Durand, J.J., H. Persat and Y. Bouvet. 1999.** Phylogeography and postglacial dispersion of the chub (*Leuciscus cephalus*) in Europe. *Molecular Ecology*, 8:989–998.
- Durand, J.D., Ünlü, E., Doadrio, I., Pipoyan, S. and Templeton, A.R. 2000.** Origin, radiation, dispersion and allopatric hybridization in the chub, *Leuciscus cephalus*. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*, 267: 1687-1697.
- Durand, J.D., Tsigenopoulos, C.S., Unlu, E. and Berrebi, P. 2002.** Phylogeny and Biogeography of the Cyprinidae family in the Middle East inferred from Cytochrome *b* DNA- Evolutionary significance of this region. *Molecular Phylogeny and Evolution*, 22: 91–100.
- Economidis, P.S. 1991.** Check list of freshwater fishes of Greece (recent status of threats and protection). Hellenic Society for the Protection of Nature, Special publication, 48 p.
- Economidis, P.S. and Banarescu, P.M. 1991.** The distribution and origins of freshwater fishes in the Balkan peninsula, especially in Greece. *Internationale revue der gesamten hydrobiologie*, 76:257-283.
- Elliott, J.M. 1990.** Mechanisms responsible for population regulation in young migratory trout, *Salmo trutta*. Part III. The role of territorial behaviour. *Journal of Animal Ecology*, 59: 803–818.
- Elliott, J.M. 1994.** Quantitative ecology and the brown trout. *Oxford Series in Ecology and Evolution*, Oxford University Press, Oxford, Great Britain, 286 pp
- Estoup, A., Tailliez, C., Cornuet, J.M. and Solignac, M. 1995.** Size homoplasy and mutational processes of interrupted microsatellites in two bee species, *Apis mellifera* and *Bombus terrestris* (Apidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 12: 1074-1084.

- Estoup, A. and Angers, B. 1998.** Microsatellites and minisatellites for molecular ecology: Theoretical and empirical considerations. In Carvalho, G.R. (ed.). *Advances in Molecular Ecology*. IOS Press, Amsterdam, pp. 55-86.
- Estoup, A., Rousset, F., Michalakis, Y., Cornuet, J.M., Adriamanga, M. and Guyomard, R. 1998.** Comparative analysis of microsatellite and allozyme markers: a case study investigating microgeographic differentiation in Brown trout (*Salmo trutta*). *Molecular Ecology*, 7:339-354.
- Faber, J.E. and C.A. Stepien, 1997.** The Utility of Mitochondrial DNA control region sequences for analyzing phylogenetic relationships among populations, species and genera of the Percidae. In 'Molecular systematics of fishes' (T. D. Kocher and C. A. Stepien, eds.) Academic Press, San Diego.
- Felsenstein, J. 1985.** Phylogenies and the comparative method. *American Midland Naturalist*, 125:1-15.
- Ferguson, A., Mason, F.M. 1981.** Allozyme evidence for reproductively isolated sympatric populations of brown trout *Salmo trutta* L. in Lough Melvin, Ireland. *Journal of Fish Biology*, 18: 629-642.
- Ferguson, A. and Fleming, C.C. 1983.** Evolutionary and taxonomic significance of protein variation in the brown trout (*Salmo trutta* L.). In Oxford, G.S. and Rollinson, D. (eds.). *Protein Polymorphism, Adaptive and Taxonomic Significance* London Academic Press, 24:85-99.
- Ferguson, A. 1986.** Lough Melvin - A unique fish community. *Royal Dublin Society Occasional papers in Irish Science and Technology*, 1:1-17.
- Ferguson, A. 1989.** Genetic differences among brown trout (*Salmo trutta*) stocks and their importance for the conservation and management of the species. *Freshwater Biology*, 21:35-46.
- Ferguson, A., Taggart, J.B. 1991** Genetic differentiation among the sympatric brown trout (*Salmo trutta*) populations of Lough Melvin, Ireland. *Biological Journal of the Linnean Society*, 43: 221-237.

- Ferguson, A., Taggart, J.B., Prodöhl, P.A., McMeel, O., Thompson, C., Stone, C., McGinnity, P. and Hynes, R.A. 1995.** The application of molecular markers to the study and conservation of fish populations, with special reference to *Salmo*. *Journal of Fish Biology*, 47 (Supplement A):103-126.
- Fritzner, N.G., Hansen, M.M., Madsen, S., Kristiansen, K., 2001.** Use of microsatellite markers for identification of indigenous brown trout. *Salmo trutta* L. in a geographical region heavily influenced by stocked domesticated trout. *Journal of Fish Biology*, 58: 1197–1210.
- Futuyma, D.J. and Mayer G.C. 1980.** Non-allopatric speciation in animals. *Systematic Zoology*, 29:254-271.
- Garcia-Marin, J.L., Utter, F.M., Pla, C. 1999.** Postglacial colonization of brown trout in Europe based on distribution of allozyme variants. *Heredity*, 82: 46–56.
- Geldiay, R. ve Balık, S. 1988.** Türkiye tatlısu balıkları. Ege Üniversitesi Basımevi. Bornava- İzmir. Türkiye.
- Giuffra, E., Bernatchez, L. and Guyomard, R. 1994.** Mitochondrial control region and protein coding genes sequence variation among phenotypic forms of brown trout *Salmo trutta* from Northern Italy. *Molecular Ecology*, 3:161-172.
- Giuffra, E.R., Guyomard and G. Forneris. 1996.** Phylogenetic relationships and introgression patterns between incipient parapatric species of Italian brown trout (*Salmo trutta* L. complex). *Molecular Ecology*, 5:207–220.
- Grant, W.S. and Utter, F.M. 1984.** Biochemical genetics of Pacific herring (*Clupea pallasii*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 41: 856-864.
- Graybeal, A. 1993.** The phylogenetic utility of cytochrome *b*: Lessons from bufonid frogs. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2: 256-269.
- Grosswald, M.G. 1980.** Late weichselian ice sheet of northern Eurasia. *Quaternary Research*, 13:1–32.
- Guyomard, R. 1989.** Diversite genetique de la truite commune. *Bulletin Francais de la Peche et de la Pisciculture*, 314:118–135.

- Hamilton, K.E., Ferguson, A., Taggart, J.B., Tomasson, T., Walker, A., Fahy, E. 1989.** Post-glacial colonization of brown trout, *Salmo trutta* L.: Ldh-5 as a phylogeographical marker locus. *Journal of Fish Biology*, 35: 651-664.
- Hansen, M.M. and Mensberg, K.L.D. 1998.** Genetic differentiation and relationship between genetic and geographical distance in Danish sea trout (*Salmo trutta* L.) populations. *Heredity*, 81:493-504.
- Hansen, M.M., Ruzzante, D.E., Nielsen, E.E. and Mensberg, K.L.D. 2000.** Microsatellite and mitochondrial DNA polymorphism reveals life-history dependent interbreeding between hatchery trout and wild brown trout (*Salmo trutta* L.). *Molecular Ecology*, 9: 583-594.
- Hansen, M.M. 2002.** Estimating the long-term effects of stocking domesticated trout into wild brown trout (*Salmo trutta*) populations: an approach using microsatellite DNA analysis of historical and contemporary samples. *Molecular Ecology*, 11, 6: 1003–1015.
- Harris, A.H., Bieger, S., Doyle, R.W. and Wright, J.M. 1991.** DNA fingerprinting of tilapia, *Oreochromis niloticus*, and its application to aquaculture genetics. *Aquaculture*, 92: 157-163.
- Harris, A.H. and Wright, J.M. 1995.** Nucleotide sequence and genomic organization of cichlid fish minisatellites. *Genome*, 38: 177-184.
- Harris, H. and Hopkinson, D. 1976.** *Handbook of Enzyme Electrophoresis in Human Genetics*. New York: American Elsevier.
- Hewitt, H.G.M. 2000.** The genetic legacy of the Quaternary ice ages. *Nature*, 405: 907–913.
- Hindar, K., Jonsson, B., Ryman, N. and Stahl, G. 1991.** Genetic relationships among landlocked, resident, and anadromous brown trout, *Salmo trutta* L. *Heredity*, 66: 83-91.
- Hrbek, T., K.N. Stölting, F. Bardakçi, F. Küçük, R.H. Wildekamp, and A. Meyer. 2004.** Plate tectonics and biogeographical patterns of the



*Pseudophoxinus* (Pisces: Cypriniformes) species complex of central Anatolia, Turkey. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 32: 297-308.

**Hunter, R.L. and Markert, C.L. 1957.** Histochemical demonstration of enzymes separated by zone electrophoresis in starch gels. *Science*, 125: 1294-1295.

**Hynes, R.A., Ferguson, A. and McCann, M.A. 1996.** Variation in mitochondrial DNA and post-glacial colonisation of north-west Europe by brown trout (*Salmo trutta* L.). *Journal of Fish Biology*, 48: 54-67.

**Ibrahim, K.M., R.A. Nichols and G.M. Hewitt. 1996.** Spatial patterns of genetic variation by different forms of dispersal during range expansion. *Heredity*, 77: 282–291.

**Jeffreys, A.J., Wilson, V. and Thein, S.L. 1985.** Individual-specific 'fingerprints' of human DNA. *Nature*, 316: 76-9. *Fingerprinting Approaches and Application*. Basel, Switzerland: Birkhauser Verlag, pp. 1-19.

**Jeffreys, A.J., Wilson, V., Kelly, R., Taylor, B.A. and Bulfield, G. 1987.** Mouse DNA "fingerprint" analysis of chromosome localization and germ-line stability of hypervariable loci in recombinant inbred strains. *Nucleic Acids Research*, 15: 2823-2837.

**Jonsson, B. 1982.** Diadromous and resident trout *Salmo trutta*: Is their difference due to genetics? *OIKOS*, 38: 297-300.

**Karakousis, Y. and Triantaphyllidis, C. 1990.** Genetic structure and differentiation among Greek brown trout (*Salmo trutta* L.) populations. *Heredity*, 64: 297-304.

**Karakousis, Y., Triantaphyllidis, C.D. 1988.** Genetic relationship among three Greek brown trout (*Salmo trutta* L.) populations. *Polskie Archiwum Hydrobiologii*, 35: 279-285.

**Keith, P. 1998.** Evolution des peuplements ichtyologiques de France et strategies de conservation. Ph.D. diss., Universite de Rennes I, France.

**Kocher, T.D., Thomas, W.K., Meyer, A., Edwards, S.V. Pääbo, S., Villablanca, F.X. And Wilson, A.C. 1989.** Dynamics of mitochondrial DNA evolution in

animals: amplification and sequencing with conserved primers. Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA, 86: 6196-6200.

- Kotlik, P., Bogutskaya, G. and Ekmekci, G. 2004.** Circum Black Sea phylogeography of *Barbus* freshwater fishes: divergence in the Pontic glacial refugium. *Molecular Ecology*, 13: 87–95.
- Kottelat, M. 1997.** European freshwater fishes. An heuristic checklist of the freshwater fishes of Europe (exclusive of former USSR), with an introduction for non-systematists and comments on nomenclature and conservation. *Biologia, Section Zoology*, 52 Suppl. 5: 1-271.
- Krieg, F. and Guyomard, R. 1985.** Population genetics of French brown trout (*Salmo trutta* L.): large geographical differentiation of wild populations and high similarity of domesticated stocks. *Genetique, Selection et Evolution* 17: 225-242.
- Lansman, R.A., Shade, R.O., Shapiro, J.F. and Avise, J.C. 1981.** The use of restriction endonucleases to measure mitochondrial DNA sequence relatedness in natural populations. Techniques and potential applications. *Journal of Molecular Evolution*, 17: 214-226.
- Largiadier, C.R. and Scholl, A. 1996.** Genetic introgression between native and introduced brown trout (*Salmo trutta* L.) populations in The Rhone River Basin. *Molecular Ecology*, 5: 417-426.
- Lavery, S., C. Moritz and D.R. Fielder. 1996.** Genetic patterns suggest exponential population growth in a declining species. *Molecular Biology and Evolution*, 13: 1106–1113.
- Levene, H. 1949.** On matching problem arising in genetics. *Annals of Mathematical Statistics*, 20: 91-94.
- Lu, G. and L. Bernatchez. 1998.** Experimental evidence for reduced hybrid viability between dwarf and normal ecotypes of lake whitefish (*Coregonus clupeaformis* Mitchill). *Proceedings of the Royal Society, London. Series B* 265: 1025–1030.

- Lu, G. and L. Bernatchez. 1999.** Correlated trophic specialization and genetic divergence in sympatric lake whitefish ecotypes (*Coregonus clupeaformis*): support for the ecological speciation hypothesis. *Evolution*, 53: 1491–1505.
- Lydeard, C. and Roe, K.J. 1997.** The Phylogenetic utility of the Mitochondrial Cytochrome b gene for inferring relationships among Actinopterygian fishes. In 'Molecular systematics of fishes' (T.D. Kocher and C.A. Stepien, eds.). Academic Press, San Diego.
- Margoulas, A. and Zouros, E. 1993.** Restriction site heteroplasmy in anchovy (*Engraulis encrasicolus*) incidental biparental inheritance of mitochondrial DNA. *Molecular Biology and Evolution*, 10: 319-325.
- Martin, A.P., Kessing, B.D., and Palumbi, S.R. 1990.** Accuracy of estimating genetic distance between species from short sequences of mitochondrial DNA. *Molecular Biology and Evolution*, 7: 485-488.
- Meyer, A., Kocher, T.D., Basasibwaki, P. and Wilson, A.C. 1990.** Monophyletic origin of Lake Victoria cichlid fishes suggested by mitochondrial DNA sequences. *Nature*, 347: 550-553.
- McConnell, S.K., O'Reilly, P., Hamilton, L., Wright, J.M. and Bentzen, P. 1995.** Polymorphic microsatellite loci from Atlantic salmon (*Salmo salar*): genetic differentiation of North American and European populations. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 52: 1863-1872.
- McVeigh, H., Hynes, R.A., Ferguson, A. 1995.** Mitochondrial DNA differentiation of sympatric populations of brown trout, *Salmo trutta* L., from Lough Melvin, Ireland. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 52: 1617-1622.
- Moller, D. 1970.** Transferrin polymorphism in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, 27: 1617-1625.
- Moran, P., Pendás, A.M., García-Vasquez, E., Izquierdo, J.I. and Lobon-Cervia, J. 1995.** Estimates of gene flow among neighbouring populations of brown trout. *Journal of Fish Biology*, 46: 93-602.

- Moritz, C. 1994.** Applications of mitochondrial DNA analysis in the conservation: a critical review. *Molecular Ecology*, 3: 401-411.
- Nei, M. 1978.** Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individual. *Genetics*, 89: 583-590.
- Nesbo, C.L., T. Fossheim, L.A. Vollestad, and K.S. Jakobsen. 1999.** Genetic divergence and phylogeographic relationships among European perch (*Perca fluviatilis*) populations reflect glacial refugia and postglacial colonization. *Molecular Ecology*, 8:1387–1404.
- Nielsen, J.L., Gan, C.A., Wright, J.M., Morris, D.B. and Thomas, W.K. 1994.** Biogeographic distributions of mitochondrial and nuclear markers for southern steelhead. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 3: 281-293.
- O'Connell, M., Danzmann, R.G., Cornuet, J.-M., Wright, J.M. and Ferguson, M.M. 1996.** Differentiation of rainbow trout populations in Lake Ontario and the evaluation of the stepwise mutation and infinite allele mutation models using microsatellite variability. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 54.
- O'Connell, M. and Wright, J.M. 1997.** Microsatellite DNA in Fishes. Reviews in *Fish Biology and Fisheries*, 7:331-363
- Okimoto, R., Macfarlane, J.L., Clary, D.O. and Wolstenholme, D.R. 1992.** The mitochondrial genomes of two nematodes, *Caenorhabditis elegans* and *Ascaris suum*. *Genetics*, 130: 471-498.
- O'Reilly, P. and Wright, J.M. 1995.** The evolving technology of DNA fingerprinting and its application to fisheries and aquaculture. *Journal of Fish Biology*, 47 (Suppl. A), 29-55.
- O'Reilly, P., Hamilton, T.L.C., McConnell, S.K. and Wright, J.M. 1996.** Rapid analysis of genetic variation in Atlantic salmon (*Salmo salar*) by PCR multiplexing of dinucleotide and tetranucleotide microsatellites. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 53: 2292–2298.

- Osinov, A. and Bernatchez, L. 1996.** Atlantic and Danubean phylogenetic groupings of brown trout (*Salmo trutta* L.) complex: genetic divergence, evolution, and conservation. *Journal of Ichthyology*, 36:762-786.
- Paetkau, D. and Strobeck, C. 1995.** The molecular basis and evolutionary history of a null allele in bears. *Molecular Ecology*, 4: 519-520.
- Palm, S. and Ryman, N. 1999.** Genetic basis of phenotypic differences between transplanted stocks of brown trout. *Ecology of Freshwater Fish*, 8:169-180.
- Palm, S., L. Laikre., P. E. Jorde and N. Ryman. 2003.** Effective population size and temporal genetic change in stream resident brown trout (*Salmo trutta*, L). *Conservation Genetic*, 4: 249–264.
- Pemberton, J.M., Slate, J., Bancroft, D.R. and Barrett, J.A. 1995.** Non-amplifying alleles at microsatellite loci: a caution for parentage and fingerprinting studies. *Molecular Ecology*, 4: 519-520.
- Persat, H. and P. Berrebi. 1990.** Relative ages of present populations of *Barbus barbus* and *Barbus meridionalis* (Cyprinidae) in southern France: preliminary considerations. *Aquatic Living Resour*, 3: 253–263.
- Pettersson, J.C.E., Hansen, M.M., Bohlin, T. 2001.** Does dispersal from landlocked trout explain the coexistence of resident and migratory trout females in a small stream? *Journal of Fish Biology*, 58: 487-495.
- Pont-Kingdon, G.A., Okada, N.A., Macforlane, J.L., Beagley, C.T., Wolstenholme, D.R., Cavalier-Smith, T. and Clark-Walker, G. D. 1995.** A coral mitochondrial MutS gene. *Nature*, 375:109-111.
- Por, F.D. 1989.** The Legacy of Tethys. An Aquatic Biogeography of the Levant. Dordrecht: Kluwer Academic.
- Por, F.D. and Dimentman, C. 1989.** The legacy of Tethys. An aquatic biogeography of the Levant. *Monographiae Biologiae* 63.
- Poteaux, C., D. Beaudou, and P. Berrebi. 1998.** Temporal variations of genetic introgression in stocked brown trout population. *Journal of Fish Biology*, 53:701–713.

- Poteaux, C., Bonhomme, F. and Berrebi, P., 1999.** Microsatellite polymorphism and genetic impact of restocking in Mediterranean brown trout. *Salmo trutta* L. *Heredity*, 82: 645–653.
- Pogson, G.H., K.A. Mesa and R.G. Boutilier. 1995.** Genetic population structure and gene flow in the Atlantic cod *Gadus morhua*: a comparison of allozyme and nuclear RFLP loci. *Genetics*, 139:375–385.
- Presa, P.M. 1995.** Déterminisme et polymorphisme génétiques des séquences microsatellites de *Salmo trutta* et d'autres salmonides. Comparaison avec le polymorphisme des locus enzymatiques. Ph.D. diss., Université de Paris-Sud, Orsay, France.
- Prodöhl, P.A., Taggart, J.B. and Ferguson, A. 1994** Cloning of highly variable minisatellite DNA single locus probes for brown trout (*Salmo trutta* L.) from a phagemid library. In Beaumont, A.R., ed. *Genetics and Evolution of Aquatic Organisms*. London, Chapman and Hall, pp. 263-270.
- Prodöhl, P.A., Taggart, J.B. and Ferguson, A. 1992.** Genetic variability within and among sympatric brown trout (*Salmo trutta*) populations: multi-locus DNA fingerprint analysis. *Hereditas*, 117:45-50.
- Rasmussen, G. 1986.** The population dynamics of brown trout (*Salmo trutta* L.) in relation to year-class size. *Polskie Archiwum Hydrobiologii*, 33: 489-508.
- Raymond, M. and Rousset, F. 1995.** GENEPOP (version 1.2) population genetics software for exact test and ecumenicism. *Journal of Heredity*, 86: 248–249.
- Reynolds, J., Weir, B.S. and Cockerham, C.C. 1983.** Estimation for the coancestry coefficient: basis for a short-term genetic distance. *Genetics*, 105: 767-779.
- Riffel, M., Sorch, V. and Schreiber, A. 1995.** Allozyme variability of brown trout (*Salmo trutta* L.) populations across the Rhenanian-Danubian watershed in southwest Germany. *Heredity*, 74: 241-249.

- Rogers, A.R. and H. Harpending. 1992.** Population growth makes waves in the distribution of pairwise genetic differences. *Molecular Biology and Evolution*. 9: 552-569.
- Royle, N.J., Clarkson, R.E., Wong, Z. and Jeffreys, A.J. 1988.** Clustering of hypervariable minisatellites in the proterminal regions of human autosomes. *Genomics*, 3: 352-360.
- Ruzzante, D.E., Taggart, C.T., Cook, D. and Goddard, S. 1996.** Genetic differentiation between inshore and offshore Atlantic cod (*Gadus morhua*) off Newfoundland: microsatellite DNA variation and antifreeze level. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 53: 634–645.
- Ruzzante, D.E., Taggart C.T., Doyle, R.W., Cook, D. 2001.** Stability in the historical pattern of genetic structure of Newfoundland cod (*Gadus morhua*) despite the catastrophic decline in population size from 1964 to 1994. *Conservation Genetics*, 2: 257-269.
- Ryman, N., Allendorf, F.W., Stahl, G. 1979.** Reproductive isolation with little genetic divergence in sympatric populations of Brown trout (*Salmo trutta*). *Genetics*, 92: 247-262.
- Schneider, S., Roessli, D., Excoffier, L. 2000.** ARLEQUIN: A Software for Population Genetics Data Analysis, Version 2.000. Genetics and Biometry Laboratory. Department of Anthropology. University of Geneva, Switzerland.
- Shriver, M.D., Jin, L., Chakraborty, R. and Boerwinkle, E. 1993.** VNTR allele frequency distribution under the stepwise mutation model. *Genetics*, 134: 983-993.
- Sick, K. 1961.** Haemoglobin polymorphism in fishes. *Nature, London*. 192: 894-896.
- Simon, C., Frati, F., Beckenbach, A., Crespi, B., Liu, H. And Flook, P. 1994.** Evolution, weighting and phylogenetic utility of mitochondrial gene sequences

and a compilation of conserved polymerase chain reaction primers. *Annals of the Entomological Society of America*, 87 (6): 651-701.

**Skaala, and Jorstad, K.E. 1987.** Fine-spotted brown trout (*Salmo trutta* L.): its phenotypic description and biochemical genetic variation. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 44:1775-1779.

**Skaala, and Naevdal, G. 1989** Genetic differentiation between freshwater resident and anadromous brown trout, *Salmo trutta*, within watercourses. *Journal of Fish Biology*, 41: 631-646.

**Slatkin, M. 1995.** A measure of population subdivision based on microsatellite allele frequencies. *Genetics*, 139: 457–462.

**Stabell, O.B. 1984.** Homing and olfaction in salmonids: A critical review with special reference to the Atlantic salmon. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society*, 59: 333-388.

**Stepien, C.A., Dillon, A.K., Brooks, M.J., Chase, K.L. and Hubers, A.N. 1997.** The evolution of Blennioid fishes based on an analysis of mitochondrial 12S rDNA. In 'Molecular systematics of fishes' (T. D. Kocher and C. A. Stepien, eds.). Academic Press, San Diego.

**Susnik, S., Schöffmann, J. and Snoj, A. 2004.** Phylogenetic position of *Salmo (platysalmo) platycephalus* Behnke 1968 from south-central Turkey, evidenced genetic data. *Journal Fish Biology*, 64: 947-960.

**Susnik, J. Schöffmann and S. Weiss 2005.** Genetic verification of native brown trout from the Persian Gulf (Catak Cay River, Tigris basin). *Journal of Fish Biology*, 67: 879-884.

**Şengör, A. M. C. ve Yılmaz, Y., 1983.** Türkiye'de Tetis'in evrimi: Levha tektonigi açısından bir yaklaşım. *Türkiye Jeoloji Kurumu, Yerbilimleri Özel Dizisi No.1*, 1-75.

**Smith, G.R. 1992.** Introgression in fishes: significance for paleontology, cladistics, and evolutionary rates. *Syst. Biol.* 41:41–57.



- Taggart, J.B. and Ferguson, A. 1990.** Hypervariable minisatellite DNA single locus probes for Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *Journal Fish Biology*, 37: 991-993.
- Taggart, J.B., Prodöhl, P.A. and Ferguson, A. 1995.** Genetic markers for Atlantic salmon (*Salmo salar* L.); single locus inheritance and joint segregation analysis of minisatellite (VNTR) DNA loci. *Animal Genetic*, 26: 13-20.
- Taggart, J.B., Verspoor, E., Galvin, P., Moran, P. and Ferguson, A. 1995** A minisatellite DNA marker for discriminating between European and North American Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 52: 2305-2311.
- Tautz, D. and Renz, M. 1984.** Simple sequences are ubiquitous repetitive components of eukaryotic genomes. *Nucleic Acids Research*, 12: 4127-4138.
- Tautz, D. 1989.** Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers. *Nucleic Acids Research*, 17: 6463-6471.
- Taylor, E.B. 1995.** Genetic variation at minisatellite DNA loci among North Pacific populations of steelhead and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Heredity*, 86: 354-363.
- Togan, I., Fidan, A.Z., Yain, E., Ergüven and Emre, Y. 1995.** Genetic structure of two Turkish brown trout populations. *Journal of Fish Biology*, 47 (Suppl. A):164-169.
- Utter, F.M. 1991.** Biochemical genetics and fishery management: an historical perspective. *Journal of Fish Biology*, 39 (Suppl. A): 1-20.
- Valdes, A.M., Slatkin, M. and Freimer, N.B. 1993.** Allele frequencies at microsatellite loci: the stepwise mutation model revisited. *Genetics*, 133:737-749.
- Villinger, E. 1986.** Untersuchungen zur Flussgeschichte von Aare-Donau/Alpenrhein und zur Entwicklung des Malm-Karts in Südwestdeutschland. *Jh. geol. Landesamt Bad.-Württemberg* 28, S: 297-362.

- Ward, R.D. and Grewe, P. 1994.** Appraisal of molecular genetic techniques in fisheries. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 4: 300-325.
- Webb, T. and P.J. Bartlein. 1992.** Global changes during the last 3 millions years: climatic controls and biotic responses. *Annual Review of Ecology and Systematics*. 23:141–173.
- Weber, J.L. and Wong, C. 1993.** Mutation of human tandem repeats. *Human Molecular Genetic*, 2:1123-1128.
- Weir, B.S., Cockerham, C.C. 1984.** Estimating *F*-statistics for the analysis of population structure. *Evolution*, 38: 1358–1370.
- Weiss, S., Antunes, A., Schlötterer, C., and Alexandrino, P. 2000.** Mitochondrial haplotype diversity among Portuguese brown trout *Salmo trutta* L. populations: relevance to the post-Pleistocene recolonization of northern Europe. *Molecular Ecology*, 9: 691–698.
- Wenburg, J.K., Bentzen, P. and Foote, C.J., 1998.** Microsatellite analysis of genetic population structure in an endangered salmonid: the coastal cutthroat trout. *Oncorhynchus clarki clarki*. *Molecular Ecology*, 7: 733–749.
- Wilson, A.C., Cann, R. L., Carr, S.M., George, M., Gyllensten, U.B., Helm-Bychowski, K.M., Higuchi, R.G., Palumbi, S.R., Prager, E.M., Sage, R.D. and Stoneking, M. 1985.** Mitochondrial DNA and two perspectives on evolutionary genetics. *Biological Journal of the Linnean Society*, 26: 375-400.
- Wilson, C.C., P.D.N. Hebert, J.D. Reist, and J.B. Dempson. 1996.** Phylogeography and postglacial dispersal of arctic charr *Salvelinus alpinus* in North America. *Molecular Ecology*, 5:187–197.
- Wong, Z., Wilson, V., Patel, I., Povey, S. and Jeffries, A.J. 1987.** Characterization of a panel of highly variable minisatellites cloned from human DNA. *Annual Human Genetic*, 51: 269-288.
- Wright, S. 1978.** Variability within and among natural populations. Vol. 4. The Univ. Of Chicago Press, Chicago.

- Wright, J.M. 1993.** DNA fingerprinting in fishes. In Hochachka, P.W. and Mommsen, T., eds. *Biochemistry and Molecular Biology of Fishes*, Vol. 2. Amsterdam: Elsevier, pp. 58-91.
- Wyman, A. and White, R. 1980.** A highly polymorphic locus in human DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 77: 6754-6758.
- Yeh, F.C., Yang, R.C. , Boyle, T., 1999.** POPGENE, Version 1,31: Microsoft Window-Based Free Ware For Population Genetic Analysis, <http://www.ualberta.ca/fyer>.

## **ÖZGEÇMİŞ**

1974 yılında Tokat'ın Turhal ilçesinde doğdu. İlk ve Orta eğitimini Turhal tamamladı. 1992 yılında Hacettepe Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Y.O. Tıbbi Laboratuvar Bölümüne girdi. Bu bölümden 1994 yılında mezun oldu. 1995 yılında Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünde lisans eğitimine başladı. Lisans eğitimini 1999 yılında tamamladı.

1999 yılında Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim dalında Yüksek Lisans eğitimine başladı. 2000 yılında Cumhuriyet Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünde Araştırma görevlisi olarak işe başladı. 2001 yılında Biyokimya Yüksek Lisansından ayrılarak, Biyoloji Bölümü Moleküler Biyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisansa başladı. 2002 yılında Yüksek Lisans eğitimini tamamlayarak aynı anabilim dalında Doktora eğitimine başladı. Halen Cumhuriyet Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Moleküler Biyoloji Anabilim Dalında Araştırma görevlisi olarak görevine devam etmektedir.

Serdal ARSLAN

Sivas, 2006





