

KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**KARADENİZ'İN TÜRKİYE KIYILARINDAKİ MEZGİT (MERLANGIUS
MERLANGUS EUXINUS NORDMANN, 1840)' İN RAPD TEKNİĞİ İLE
MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU**

Yusuf BEKTAŞ

139108

**Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nce
"Yüksek Lisans (Biyoloji)"
Ünvanı Verilmesi İçin Kabul Edilen Tezdir.**

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 10.07.2003

Tezin Savunma Tarihi : 01.09.2003

139108

Tez Danışmanı : Doç. Dr. Ali Osman BELDÜZ

Jüri Üyesi : Prof. Dr. Zihni DEMİRBAĞ

Jüri Üyesi : Prof. Dr. İbrahim OKUMUŞ

Enstitü Müdürü : Prof. Dr. Yusuf AYVAZ

Trabzon 2003

**T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
EĞİTİM ARAŞTIRMA VE YATIRIM BAKANLIĞI**

ÖNSÖZ

Bu çalışmada, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı'nda "Yüksek Lisans Tezi" olarak hazırlanmıştır ve Türkiye Kıyılarında dağılım gösteren mezgit (*Merlangius merlangus euxinus* Nordmann, 1840) balığının coğrafik olarak farklı bölgeler arasındaki genetik farklılığının tespit edilmesi amaçlanmıştır.

Yüksek lisans tez konumun belirlenmesinde ve bu çalışmanın yürütülmesinde yakın ilgisini, yönlendirici katkısını ve değerli yardımlarını gördüğüm danışman hocam Sayın Doç. Dr. Ali Osman BELDÜZ'e en derin saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Destek ve hoşgörülerini esirgemeyen saygıdeğer hocam Sayın Prof. Dr. OSMAN BEYAZOĞLU'na ve K.T.Ü Rize Su Ürünleri Fakültesi Dekanı hocam Sayın Prof. Dr. Asım KADIOĞLU'na teşekkürü bir borç bilirim.

Yüksek lisans tezimin yürütülmesi aşamasında her türlü laboratuvar imkanlarından yararlandığım değerli hocam Prof. Dr. Zihni DEMİRBAĞ'a, bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım Sayın hocam Doç. Dr. İbrahim OKUMUŞ'a, primer temini ve teknik konularda yardımını aldığım Sayın Doç. Dr. Fevzi BARDAKCI, Dr. Mustafa ZENGİN ve Yılmaz ÇİFTÇİ'ye teşekkür ederim.

Tezimin yazılmasında emeği geçen Araş. Gör. Şükrü ÇELİK, Araş. Gör. Serdar MAKBUL, Araş. Gör. Zafer TÜRKMEN ve Yrd. Doç. Dr. Erhan ÇİLOĞLU'na yardımlarından ötürü teşekkür ederim. Laboratuvar çalışmalarımda yardımlarını ve desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen başta Uzm. Dr. Sabriye ÇANAKÇI, Araş. Gör. Fatih Şaban BERİŞ ve Araş. Gör. Cemal SANDALLI olmak üzere, Rize Su Ürünleri Fakültesi ve Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Öğretim üyesi hocalarıma, tüm araştırmacı ve idari personeline sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Her zaman yanımda olan aileme ve eşim Serap'a minnettarım.

Ayrıca bu projenin yürütülmesi için maddi destek sağlayan K.T.Ü. Araştırma Fonu'na (Proje no: 2001.111.004.2) teşekkür ederim.

Yusuf BEKTAŞ

Trabzon, 2003

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖNSÖZ.....	II
İÇİNDEKİLER.....	III
ÖZET.....	V
SUMMARY.....	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VII
TABLolar DİZİNİ.....	IX
SEMBOLLER DİZİNİ.....	X
1. GENEL BİLGİLER.....	1
1.1. GİRİŞ.....	1
1.2. <i>Merlangius merlangus euxinus</i> Hakkında Genel Bilgiler.....	3
1.2.1. Sistematikteki Yeri.....	3
1.2.2. <i>Gadiformes</i> Takımının Özellikleri.....	4
1.2.3. <i>Gadidae</i> Familyasının Özellikler.....	5
1.2.4. <i>Gadus</i> Cinsinin Özellikleri.....	5
1.2.5. <i>Merlangius merlangus euxinus</i> 'un Morfolojik Özellikleri.....	5
1.2.6. Çalışma Alanının Genel Özellikleri.....	7
1.2.7. Ekonomik Önemi.....	8
1.3. Genetik Değişimin Tespiti İçin Kullanılan Markır Sistemleri.....	8
1.3.1. Protein Markırları.....	9
1.3.1.1. İzoenzimler.....	9
1.3.1.2. Alloenzimler.....	10
1.3.2. DNA Markırları.....	11
1.3.2.1. VNTRs (Variable Number Tandem Repeats) Markırları.....	12
1.3.2.2. AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism).....	13
1.3.2.3. RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) Markırları.....	14
1.4. PZR Döngülerinin Optimizasyonu.....	17

1.5. Amplifikasyon Şartlarının Optimizasyonu.....	17
1.6. Primer Dizilerinin Belirlenmesi.....	18
2. YAPILAN ÇALIŞMALAR.....	20
2.1. Materyal.....	20
2.2. Yöntem.....	20
2.2.1. Doku Diseksiyonu.....	21
2.2.2. DNA İzolasyonu.....	21
2.2.3. Kullanılan Çözeltiler.....	22
2.2.4. PZR Uygulamaları.....	23
2.2.5. Agaroz Jel Elektroforezi.....	23
2.2.6. PZR Uygulamalarının Tekrarlanabilirliği	24
2.2.7. Primerler.....	24
2.2.8. Sonuçların Değerlendirilmesi.....	25
3. BULGULAR.....	26
3.1. DNA İzolasyonu.....	26
3.2. PZR Uygulamaları.....	27
3.3. PZR Uygulamalarının Tekrarlanabilirliği.....	28
3.4. Benzerlik İndeksi ve Genetik İlişki Dendogramı.....	36
4. TARTIŞMA.....	38
5. SONUÇLAR.....	40
6. ÖNERİLER.....	41
7. KAYNAKLAR.....	42
ÖZGEÇMİŞ.....	51

ÖZET

Bu çalışmada, Karadeniz'in Türkiye kıyılarındaki mezgit populasyonlarının stok farklılığı ve genetik karakterizasyonu 14 dekamer primer kullanılarak RAPD (Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA) tekniği ile incelenmiştir. Belirlenen sekiz istasyon arasındaki genetik ilişki, benzerlik indeksi ve dendogram ile hesaplanmıştır. Elde edilen en düşük benzerlik oranı (0.676) "Karasu" ile "Rize" arasında ve en yüksek benzerlik oranı ise (0.836) "Kıyıköy" ile "Zonguldak" arasında bulunmuştur.

Cluster analizi sonucunda, Türkiyenin Karadeniz kıyılarındaki mezgit populasyonun tek bir stok olduğu anlaşılmıştır.

RAPD verileri ile belirlenen polimorfizm, daha önceden yapılan Karadeniz'in Türkiye kıyılarındaki mezgit populasyonunun stok ayrımı çalışmasının sonuçlarını doğrulamaktadır.

Anahtar Kelimeler: *Merlangius merlangus euxinus* (Nordmann, 1840), Karadeniz, DNA izolasyonu, RAPD, Benzerlik İndeksi, Dendogram

SUMMARY

The Molecular Characterization of the Whiting Along the Turkish Black Sea Coast Using RAPD Markers

In this study, the genetic characterization and the stock differentiation of whiting *Merlangius merlangus euxinus* (Nordmann, 1840) population in the Black Sea coast of Turkey were carried out with the technique of RAPD (Random Amplified Polimorphic DNA) by using 14 decamer primer. The genetic relationship among the determined eight station was estimated by similarity index and cluster analysis. The lowest similarity (0.676) was found between “Karasu” ve “Rize” and the highest similarity (0.836) was between “Kıyıköy” ve “Zonguldak”.

At the end of the cluster analysis, it was concluded that there exist a single unit stock in Turkish Black Sea coast.

The polimorphism which was determined with the data of RAPD confirmed the result of the stock discrimination studies of whiting population in the Black Sea .

Key Words: *Merlangius merlangus euxinus* (Nordmann, 1840), Southern Black Sea, DNA Isolation, RAPD, Similarity Index, Cluster Analysis.

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

- Şekil 1. Mezigit(*Merlangius merlangus euxinus* Nordmann, 1840) balığının morfolojik görünüşü.....6
- Şekil 2. Türkiye kıyıları boyunca örnekleme istasyonlarının yerleşimi.....19
- Şekil 3. Mezigit (*Merlangius merlangus euxinus*, Nordmann, 1840) örneklerinden izole edilen gDNA'ların agaroz jeldeki (%0,7) görüntüleri.....27
- Şekil 4. Araştırmada kullanılan mezigit gDNA'sının OPA 05 (5'-AGGGGTCTTG-3') primerleri ile oluşturulan PZR amplifikasyon ürünlerinin agaroz jel üzerindeki görüntüsü. Markır: HinfI ile kesilmiş pUC18 plazmidi.....29
- Şekil 5. Araştırmada kullanılan mezigit gDNA'sının OPA 08 (5'-GTGACGTAGG-3') primerleri ile oluşturulan PZR amplifikasyon ürünlerinin agaroz jel üzerindeki görüntüsü. Markır: HinfI ile kesilmiş pUC18 plazmidi.....29
- Şekil 6. Araştırmada kullanılan mezigit gDNA'sının OPA 10 (5'-GTGATCGCAG-3') primerleri ile oluşturulan PZR amplifikasyon ürünlerinin agaroz jel üzerindeki görüntüsü. Markır: HinfI ile kesilmiş pUC18 plazmid.....30
- Şekil 7. Araştırmada kullanılan mezigit gDNA'sının OPA 12 (5'-TCGGCGATAG-3') primerleri ile oluşturulan PZR amplifikasyon ürünlerinin agaroz jel üzerindeki görüntüsü. Markır: HinfI ile kesilmiş pUC18 plazmidi.....30
- Şekil 8. Araştırmada kullanılan mezigit gDNA'sının OPA 19 (5'-CAAACGTCGG-3') primerleri ile oluşturulan PZR amplifikasyon ürünlerinin agaroz jel üzerindeki görüntüsü. Markır: HinfI ile kesilmiş pUC18 plazmidi.....31
- Şekil 9. Araştırmada kullanılan mezigit gDNA'sının OPB 08 (5'-GTCCACACGG-3') primerleri ile oluşturulan PZR amplifikasyon ürünlerinin agaroz jel üzerindeki görüntüsü. Markır: HinfI ile kesilmiş pUC18 plazmidi.....31
- Şekil 10. Araştırmada kullanılan mezigit gDNA'sının OPC 11 (5'-AAAGCTGCGG-3') primerleri ile oluşturulan PZR amplifikasyon ürünlerinin agaroz jel üzerindeki görüntüsü. Markır: HinfI ile kesilmiş pUC18 plazmidi....32
- Şekil 11. Araştırmada kullanılan mezigit gDNA'sının OPAB 01 (5'-CCGTCGGTAG-3') primerleri ile oluşturulan PZR amplifikasyon ürünlerinin agaroz jel üzerindeki görüntüsü. Markır: HinfI ile kesilmiş pUC18 plazmidi.....32
- Şekil 12. Araştırmada kullanılan mezigit gDNA'sının OPAB 08 (5'-GTTACGGACC-3') primerleri ile oluşturulan PZR amplifikasyon ürünlerinin agaroz jel üzerindeki görüntüsü. Markır: HinfI ile kesilmiş pUC18 plazmidi.....33
- Şekil 13. Araştırmada kullanılan mezigit gDNA'sının OPAB 09 (5'-GGGCGACTAC-3') primerleri ile oluşturulan PZR amplifikasyon ürünlerinin agaroz jel üzerindeki görüntüsü. Markır: HinfI ile kesilmiş pUC18 plazmidi.....33

- Şekil 14. Araştırmada kullanılan mezigit gDNA'sının OPAB 10 (5'-TTCCCTCCCA-3') primerleri ile oluşturulan PZR amplifikasyon ürünlerinin agaroz jel üzerindeki görüntüsü. Markır: HinfI ile kesilmiş pUC18 plazmidi.....34
- Şekil 15. Araştırmada kullanılan mezigit gDNA'sının OPAB 11 (5'-GTGCGCAATG-3') primerleri ile oluşturulan PZR amplifikasyon ürünlerinin agaroz jel üzerindeki görüntüsü. Markır: HinfI ile kesilmiş pUC18 plazmidi.....34
- Şekil 16. Araştırmada kullanılan mezigit gDNA'sının OPAB 14 (5'-AAGTGCGACC-3') primerleri ile oluşturulan PZR amplifikasyon ürünlerinin agaroz jel üzerindeki görüntüsü. Markır: HinfI ile kesilmiş pUC18 plazmidi.....35
- Şekil 17. Araştırmada kullanılan mezigit gDNA'sının OPAB 17 (5'-TCGCATCCAG-3') primerleri ile oluşturulan PZR amplifikasyon ürünlerinin agaroz jel üzerindeki görüntüsü. Markır: HinfI ile kesilmiş pUC18 plazmidi.....35
- Şekil 18. Araştırmada kullanılan mezigit populasyonları arasındaki benzerlik indeksine göre çizilen dendogram37



TABLolar DİZİNİ

Sayfa No

Tablo 1. RAPD analizinde kullanılan primerler, baz sıraları, % G+C içerikleri ve amplifikasyon sonucu oluşan fragmentlerin yaklaşık büyüklüğü	24
Tablo 2. Mezgıt beyninden Promega Genomik DNA izolasyon prosedürüne göre izole edilen DNA miktarları	26
Tablo 3. Araştırmada kullanılan mezgıt örneklerinin primerler itibariyle değerlendirilmeye alınan toplam bant sayısı	28
Tablo 4. Mezgıt populasyonlarına ait benzerlik indeksi	36



SEMBOLLER DİZİNİ

AFLPs	Çoğaltılmış Fragment Uzunluk Polimorfizmi
AP-PCR	Rastgele Primerli Polimeraz Zincir Reaksiyonu
ddH ₂ O	Bidistile Su
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
dNTP	Deoksi Nükleotid Tri Fosfat
gDNA	Genomik DNA
m	Metre
mg	Miligram
mM	Milimolar
NTSYS	Numerical Taxonomy and Multivarion Analysis System, Version 1.8
PZR	Polimer Zincir Reaksiyonu
RAPD	Rastgele Çoğaltılan Polimorfik DNA
RFLP	Restriksiyon Fragment Uzunluk Polimorfizmi
TAE	Trizma Base, Glasiyal asetik asit, EDTA
TE	Tris, EDTA
T _m	Erime sıcaklığı
UV	Ultra Viyole
VNTR	Değişken Sayıda Ardışık Tekrarlar
vd	Ve Diğerleri
µl	Mikrolitre

1. GENEL BİLGİLER

1. 1. Giriş

Balıklarda, moleküler genetik uygulamaları 1950'li yıllarda kullanılmaya başlandı. Balıkçılık araştırmalarında moleküler genetik tekniklerinin kullanımı, genetik verilerin değerinin daha da iyi anlaşılması ve tekniklerin kullanılabilirliğindeki hızlı artış nedeniyle son yıllarda çarpıcı olarak arttı. Bugün balıkçılıkla ilgili moleküler genetik araştırmaların sınırları, stok ayırımı için gerekli işaretleyicilerin tanımlanmasıyla ilgili konulardan (Park vd., 1993) genetik farklılık seviyelerinin izlenmesine (Smith ve Conroy, 1992), ortaya çıkarılmış veya bir yerden getirilmiş stoklardan (Hindar vd., 1991) tür veya hibridlerin tanımlanmasına (Yeatman ve Benzei, 1994), kirleticilerin populasyon yapısının genetiği üzerine olabilecek etkilerinin incelenmesi (Gillespie ve Guttman, 1993) kadar birçok konuyu kapsamaktadır (Imsiridou ve Zaldivar, 1999).

Günümüzde, balıkçılık bilimiyle uğraşan bilim adamları çalıştıkları sahaya göre balıkları fert, aile, populasyon, alt tür ve tür düzeyinde ayırt etme ihtiyacı duymuşlardır. Populasyonların genetik yapıları ve bu populasyonlar arasında görülebilen genetik farklılaşma birçok etkene bağlı olarak değişebilir (Turan, 2000). Bu farklılaşma, kısa dönem içerisinde gerçekleşse dahi balıkçılık yönetimi ile yakından ilgilidir. Bundan dolayı, fenotip ve genotip olarak farklı tahmin edilen balık stoklarının ve bu stoklar arasında var olan genetik çeşitliliğin ve farklılığın korunması oldukça önemlidir. Stok tespiti ve stok yapı analizi için fenotipik [ekoloji, markalama, parazitler, fizyoloji, morfometrik, meristik, kalker yapısı (otolit)] ve genetik (sitogenetik, immünogenetik, kan pigmentleri, protein elektroforezi ve nükleik asit analizi) gibi farklı metotlara başvurulmaktadır (Hindar vd., 1991; Vuorinen vd., 1991; Smith vd., 1990; Taylor vd., 1991; Carvalho, 1993; Marr, 1957; Ihssen vd., 1981). Genetik tekniklerin kullanımından önce, morfolojik farklılığın genetik farklılaşmadan kaynaklandığı farz edilmekte ve stokların tespiti, genellikle morfolojik özellikler kullanılarak yapılmaktaydı (Smith vd., 1990).

Fenotipik tekniklerin kullanımı, bir türe ait populasyon tespitinde fenotipik varyasyonun direkt olarak genetik kontrolün etkisi altında olmayışı ve çevresel faktörlerin değişiminden etkilenmesinden dolayı sınırlıdır (Kumpf vd., 1987). Populasyonlar arasında gözlenen fenotipik varyasyon, kalıtsal veya genetiksel olmayabilir, buna rağmen, farklı

çevre şartlarının etkisinden meydana gelen ve genetiğe bağlı olmayan fenotipik farklılıklar olabilmektedir. Fenotipik tekniklerin genetik tekniklerle desteklenmesi, balıkçılık yönetiminde stokların korunması ve sürekliliğin sağlanmasında önemli rol oynar (Ovenden, 1990).

Protein elektroforezi, balık populasyonlarındaki genetik değişimin doğrudan çalışılması için geniş ölçüde kullanılmasına rağmen, DNA markırlar, gen akışı, allel frekansı ve populasyon biyolojisinde çok önemli olan parametreler hakkında daha fazla bilgi elde edebilmek için daha yaygın hale gelmiştir (Neigel, 1997).

İzoenzim tekniği, populasyon çalışmaları için uygundur ve protein elektroforezi, stoklar arasındaki protein allel frekansındaki farklılıkları belgeleyen çok sayıda çalışma ile temsil edildiği gibi balıklarda stok tespitinde genetik markır belirlenmesi için kullanılabilir (Utter ve Ryman, 1993; Carvalho ve Hauser, 1994; Ward ve Grewe, 1994). Allozim elektroforezi farklı populasyonların benzerliğinin hızlı bir şekilde belirlenebilmesi için kullanışlı bir tekniktir. Verilen herhangi bir lokustaki varolan genetik farklılığın sadece çok küçük bir miktarı bile protein elektroforezi kullanılarak görülebilir. Sonuç olarak, allozimler, sadece *Ceratitis capitata* (medfly) gibi istilacı türlerin populasyonlarında çok sınırlı bir çözüm sağlamıştır (Huettel 1980; Roderick 1996b). Restriksiyon enzimleri, RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphisms) metodu ile populasyonlar ve bireyler arasındaki DNA değişimini belirlemek için kullanılabilir. PZR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) ile *in vitro*'da üretilen mitokondriyal genlerin doğrudan sekansı, tür içi populasyonlar arasındaki farklılıkları incelemek için son derece hassas bir metot sağlar. Polimorfik mikrosatellit markırlar, balıkçılık biyolojisinde ve su ürünleri yetiştiriciliğinde kullanılmak üzere genetik markır olarak önemli bir potansiyel faydaya sahiptir. Bunlar, diğer genetik markırlarla kıyaslandığında yüksek seviyede polimorfizmden dolayı stok ayırımı için önemli bir yarar sağlayabilirler (Imsiridou ve Zaldivar, 1999).

Rastgele dekamer primer kullanılarak PZR ile çoğaltılan DNA uzunluklarının ortaya çıkardığı farklılıkları esas alan RAPD tekniği, birçok avantajı ile PZR markırları içinde hızla benimsenmiş ve bu konuda çalışan laboratuvarlarda tercih edilen bir yöntem haline gelmiştir. Çünkü RAPD markırları özellikle hem aynı cinse ait türler arası ve aynı tür içindeki genetik farklılığı hem de alt türler arasındaki ve onların farklı populasyonları arasındaki genetik farklılığı ortaya çıkarmaktadır (Bardakci ve Skibinski, 1994; Mamuris vd., 1998; Williams vd., 1998; Bártfai vd., 2003; Espinasa ve Borowsky, 2000; Bartel vd., 2002; Maltagliati vd., 2003; Chambers vd., 1998).

Mezgit (*Merlangius merlangus euxinus*), coğrafik dağılım itibariyle, *Gadidae* familyasının diğer türlerinde olduğu gibi tropikal iklim zonunu aşır, biraz kuzeye yerleşmiştir (Nordmann, 1951). Akdeniz'in Avrupa kıyılarında, Ege denizinde, Karadeniz'de ve Azak Deniz'inde yaygın olarak bulunan gadoid bir balıktır (Slastenenko, 1956; Fisher, 1973; Whitehead vd., 1986). Mezgit, tüm Türkiye Karadeniz kıyısı boyunca mevcuttur (Ivanov ve Beverton, 1985).

Stok kavramı, balık türlerinin yerel populasyonlar içinde bölünmüş olması ve uyum gösteren yerel populasyonlar arasındaki genetik farklılığın varlığı nedeniyle tartışma konusudur (Palumbi, 1996; Ward ve Grewe, 1994).

Stokların coğrafik dağılımları, benzerlik ve farklılıkları, doğru işletme politikasının başarılması için çok önemlidir. Stokların coğrafik izolasyonu ve genetiği, balığın morfolojik ve meristik karakterlerine, büyüme oranına ve ıslah edilebilme kapasitesine tesir eden mekanizmalardır. Bu nedenle, belirli bir balık türünün birim stoğunun bir veya daha fazla olduğunu belirlemek balıkçılık biyologlarının ilk görevlerinden biridir. İşmen (2001), Türkiye'nin Karadeniz kıyılarındaki mezgitlerde (*Merlangius merlangus euxinus*) hem morfolojik hem de meristik verilere göre Mahalanobilis'in genelleştirilmiş aralığını uygulayarak stok ayırımı çalışması yapmıştır. Genel fenotipik ve genotipik özelliklerdeki farklılığın azlığı ($P>0.01$) tek bir stoğun olduğunu göstermiştir.

Bu çalışmada, şu ana kadar Karadeniz mezgit (*Merlangius merlangus euxinus*) populasyonunda yapılan stok ayırımı çalışmaları yoluyla belirlenen stok yapısının RAPD tekniği ile genetik farklılıkları ve bu alttüre özgü, uygun primerlerin belirlenmesi amaçlanmıştır.

1. 2. *Merlangius merlangus euxinus* Hakkında Genel Bilgiler

1. 2. 1. Sistematikteki Yeri

Akşiray (1987), Slastenenko (1956), Wheeler (1968), Fisher (1973) ve Whitehead vd. (1986) tarafından sistematik kategori ile ilgili olarak kabul edilen Mezgit'in taksonomik sınıflandırılması tamamlanmamıştır. Bu nedenle, en geniş bir sistematik sınıflandırmanın Neilson (1984) tarafından yapıldığı düşünülmüştür (İşmen, 2001).

Bu sistematik sınıflandırma aşağıdaki gibidir:

Regnum : Animalia

Phylum : Chordata

Subphylum : Craniata (Vertebrate)

Superclass : Gnathostomata

Grade : Pisces

Class : Osteichthyes

Subclass : Actinopterygii

Infraclass : Neopterygii

Division : Halecostomi

Subdivision : Teleostei

İnfradivision : Euteleostei

Superorder : Paracanthopterygii

Order : Gadiformes

Familya : Gadidae

Genus : Gadus

Species : *Merlangius merlangus*

Subspecies : *Merlangius merlangus euxinus* (Nordmann, 1840)

Sinonim olarak *Odontogadus merlangus merlangus* (Cohen vd., 1990) *Gadus euxinus* olarak da adlandırılır (Cohen vd., 1990).

1. 2. 2. *Gadiformes* Takımının Genel Özellikleri

Vücutları boyuna oldukça uzamış; sırt ve anal yüzgeçleri uzun bir bant oluşturur ya da 2-3 (sırt yüzgeçte) veya 2 (anal yüzgeçte) parçaya ayrılırlar. Karın yüzgeci oldukça önde, başın hemen arkasındadır. Birkaç istisnayı gözönüne alınmazsa tüm yüzgeçler yumuşak ışıklıdır. Pullar daha çok sikloit, nadiren ktenoittir; başın vücuda yakın bir kısmı pullarla örtülüdür; ağız büyük, bir miktar öne doğru uzatılabilir; çenede genellikle bir bıyık vardır. Üst çenenin kenarı sadece premaksilladan oluşmuş; frontali genellikle birbiriyle kaynaşmış; solungaç kapağındaki kemiklerin hepsi mevcuttur. Yüzme keseleri fizoklist; yanal çizgi mevcuttur. Büyük ölçüde Kuzey Yarımkürenin ılıman ve soğuk sularında yaşarlar (Demirsoy, 1998).

1. 2. 3. *Gadidae* Familyasının Genel Özellikleri

Türce en zengin alttakımdır. Ekonomik öneme sahip türleri içerdiği için önemlidir. Pulları sikloit; kuyruk yüzgeci simetrik; üç sırt yüzgeci vardır; analyüzgeç ise genellikle 2 parçalıdır; ovipar; çok fazla yumurta meydana getirirler. Vücutları yanlardan basık, mekik şeklindedir. Derin sularda yaşarlar; beslenmek için yüzeye çıkarlar. Yumurtaları pelajiktir. Yavruları önce su yüzeyinde yaşar ve büyüdükçe derinlere doğru inerler. Çoğunlukla karnivordurlar (Demirsoy., 1998).

1. 2. 4. *Gadus* Cinsinin Özellikleri

Üç sırt, iki anal yüzgeçleri vardır. *Gadus merlangus*'ta olduğu gibi ikinci dorsal yüzgeç ile üçüncü dorsal yüzgeç arasında büyük bir açıklık yoktur. Çenede, çok küçük, zor farkedilebilir bir bıyık vardır. Göğüs yüzgeçlerinin kaidesinde koyu bir benek bulunur. 40 cm (nadiren 70 cm) boyunda olabilirler. Sırt kısımları grimsi sarı, karn kısımları gümüş rengindedir. Çamurlu zeminleri tercih ederler. Karadeniz, Marmara, Akdeniz'de keza kuzeydeki denizlerde yaşarlar. Akdeniz'de yaşayan diğer türler olan *G. poutassou* = Bakalyaro ve *G. capelanus*'un ekonomik açıdan çok önemli değerlerdir (Demirsoy, 1998).

1. 2. 5. *Merlangius merlangus euxinus*'un Morfolojik Özellikleri

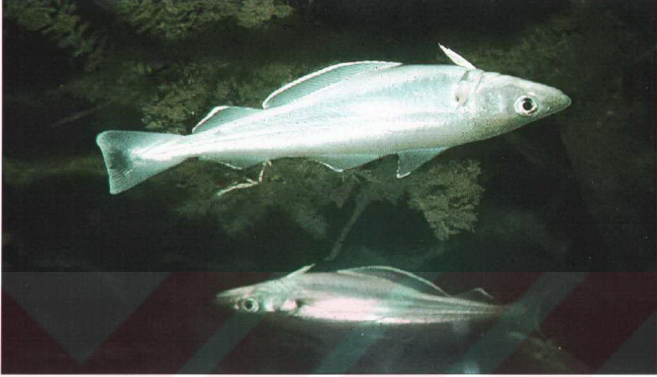
Türkiye ve Karadeniz'e kıyısı olan diğer ülkelerin sularında ve Marmara ile Ege denizinde bulunan mezigit balığı (Şekil 1.) *Gadidae* familyasının *Merlangius* cinsine dahildir (Slastanenکو, 1956). Vücudu yanlardan hafifçe basık fuziform şeklindedir. Pullar, küçük olup sikloid tiptedir. Sırttaki üç dorsal yüzgeç, birbirinden çok küçük aralıklarla ayrılmıştır. İki adet olan anal yüzgeçler birbirinden ayrılmamış ve ventral yüzgeç pelvik yüzgeç'ten daha önde yer almaktadır. Yüzgeç ışınlarının tamamı yumuşak olup yüzgeç formülü; D₁ 14-17, D₂ 16-19, D₃ 18-22, A₁ 28-32, A₂ 19-22, P 19-20 şeklindedir ve omur sayısı 51-54 adet arasındadır (Whitehead vd., 1986).

Mezigit balığının burun kısmı uzun ve sivriçidir. Üst çene, alt çeneden belirgin bir şekilde uzun olup çenelerde çok sayıda küçük ve sivri dişler mevcuttur. Bu alttır, pektoral yüzgecin vücut boyuna oranla daha uzun olması ve alt çene altında küçük bir sakal

mevcudiyeti ile *Gadus merlangus* alt türünden ayrılır. Renk değişken olup kırtı sarı ve ile karışık kurşunidir. Karnı, beyaz olup pektoral yüzgeç tabanında siyah bir leke vardır. Maksimum boy 50 cm olabilmektedir (Wheeler, 1969; Bİlge, 1979).

Üremeleri düzensiz olup, yumurtlama Kasım'dan sonra Mayıs ayına kadar suyun üst tabakalarında gerçekleşmektedir. Büyük balıklar küçüklere nazaran daha gabuk olgunlaşırlar (Hislop ve Hall, 1974). Mezgıt balığında ilk eşysel olgunlaşma, II yaşında başlanmaktadır. Pelajik ve küresel olan yumurtalarını serbest su ortamına bırakırlar (Bowers, 1954; Hart, 1973). Mezgıt balığı karnivor olup geçilli omurgasızlar (yengeç, karnides vs.), hamsi, gacı, sardalya ile beslenir (Akşiray, 1987). Mezgıt balığı bentopelajik bir tür olup, sahilden 200 m derliğe kadar genellikle 30-100 metre arasında dağılım gösterir (Kutaygil ve Bilicik, 1979).

Karadeniz mezgiti soğuk su türüdür. Ergin bireyler 5-16 °C arası suları tercih ederler fakat genç balıklar, hayatlarının ilk yılında sıcak mevsimlerde yüzey tabaka boyunca bulunurlar. Mezgıt, 30-100 m, genellikle 85 m'den daha fazla olmayan derinliklerde sürüler halinde yaşarlar (Fisher, 1973; Whitehead, 1986). Karadeniz'de uzun göçler yapmazlar. Kış mevsiminde, beslenmek amacıyla dağılımın üst sınırı 15-30 m olan daha sığ sulara hareket ederler. Yazın ise üremek için 80-100 m arasındaki daha derin bölgelere göç ederler (Shulman, 1974; Ivanov ve Beverton, 1985).



Şekil 1. Mezgıt (*Merlangius merlangus euxinus* Nordmann, 1840) balığının morfolojik görünüşü (www.fishbase.org).

1. 2. 6. Çalışma Alanının Genel Özellikleri

Karadeniz, Avrupa ve Asya Kıtaları'nın birbirine yaklaştığı bir bölgede, $40^{\circ} 55'$ ve $46^{\circ} 32'$ kuzey enlemleriyle, $27^{\circ} 27'$ ve $41^{\circ} 42'$ doğu boylamları arasında yer alan kısmen kapalı bir iç denizdir. Güneyden İstanbul Boğazı ile Marmara Denizi'ne, Kuzeyden Kerch Boğazı ile Azak Denizi'ne bağlı olan Karadeniz'in maksimum derinliği 2200 m'dir. Yüzey alanı 432.000 km^2 ve su hacmi 513.000 km^3 'tür. Kuzey Batı Karadeniz dışında sığ bölge alanları oldukça azdır. Karadeniz, Akdeniz ve Ege Denizi'ne göre çok az sayıda körfez ve koya sahiptir. Kuzeybatı kıyıları hariç dik yapılı sıra dağlarla çevrili kıyıları ile karakterize edilir.

Karadeniz'e nehirler yoluyla yıllık tatlı su girişi 400 km^3 tür. Bunun en önemli kısmının Tuna Nehri (200 km^3) sağlamaktadır. Anadolu kıyılarından Karadeniz'e en fazla su boşaltımı Sakarya, Kızılırmak ve Yeşilirmak'tan olup her birinin yıllık olarak taşıdığı su miktarı 6 km^3 civarındadır. Karadeniz Havzası bol yağış alan bir havzadır. Yağış miktarı batıdan doğuya doğru artış gösterir ve 2500 mm 'ye ulaşır (Çelikkale vd., 1999).

Karadeniz'in fiziksel parametreleri mevsimsel olarak farklılık gösterir. Bu farklılık daha çok yüzey sularında görülür. Sıcaklık değişimlerinin en fazla olduğu katman atmosferik direkt etkileşim halinde olan mevsimsel termoklin tabakasının üzerinde kalan yüzeye en yakın su kütesidir. Ortalama olarak 100 m 'nin altındaki suların sıcaklığının sabit kalmasına rağmen yüzeyde yaklaşık $50\text{-}60 \text{ m}$ kalınlığındaki su kütesinin sıcaklığı mevsimlere bağlı olarak önemli ölçüde değişmektedir. Tuzluluk genel olarak 50 m 'lik tabakada $\% 18\text{-}18.5$ iken $60\text{-}150 \text{ m}$ derinliklerde hızlı bir değişim olmakta ve ortalama olarak 150 m derinde $\%21$ 'e ulaşmakta ve daha alt seviyelerde $\%22.2\text{-}22.4$ değere ulaşmaktadır (Çelikkale vd., 1999).

Karadeniz havzası oldukça karmaşık bir dip topoğrafyasına sahiptir. Yaklaşık 2000 m derinliğe sahip abissial zon toplam havzanın $\%60$ 'ını oluşturur. Derinliği 200 m 'yi geçmeyen ve toplam alanın yaklaşık $\%25$ 'ini oluşturan kıta sahanlığı oldukça dardır. Kıta sahanlığı kıyıya paralel olarak yaklaşık 20 km genişliğinde oldukça değişimler gösterir (Çelikkale vd., 1999).

Karadeniz sahip olduğu ekolojik yapı nedeniyle $150\text{-}200 \text{ m}$ 'den sonraki derinliklerde anoksik özellikler gösterir. Bu derinliklerde hidrojen sülfür (H_2S) gazının varlığı ve oksijenin hızla azalması biyolojik verimliliği sınırlamaktadır. Bu nedenle, Karadeniz'in

zengin besleyici özelliğine karşın, özellikle bentik organizmaları, tür çeşitliliği yönünden oldukça fakirdir (Balkaş vd., 1990).

Türkiye balık üretiminde önemli bir paya sahip olan Karadeniz’de kirlenmeden kaynaklanan geniş çapta ekolojik değişikliklerin olması, deniz ürünlerindeki verimliliğin azalmasına neden olmuştur (Çelikkale vd., 1999).

1. 2. 7. Ekonomik Önemi

Ülkemiz iç su ve denizleri ekonomik türler açısından zengin sayılabilecek düzeydedir. Karadeniz’de 2001 yılında avlanma miktarı açısından hamsi ve istavrit’ten sonra mezgit balığı gelmektedir (DİE, 2003).

Yapılan çalışmalarda, Karadeniz’deki demersal türlerin av kompozisyonunda mezgitin dominant tür olduğunu bildirmektedirler (DİE, 2003).

Devlet İstatistik Enstitüsü verilerine göre Karadeniz’de 2001 yılında sırasıyla 7.781 ton mezgit balığı avlanmıştır. Mezgıt balığı ortalama üretimimizin % 70’den fazlası Karadeniz bölgesinden sağlanmaktadır (DİE, 2003). Mezgıt balığı üretimimizde, son yıllarda diğer türlerde olduğu gibi av araçları sayısındaki artış, su kirliliği ve olumsuz çevre şartları nedeniyle gitgide bir düşüş gözlenmektedir.

1. 3. Genetik Değişimin Tespiti İçin Kullanılan Markır Sistemleri

Ekonomik öneme sahip olan ve baskı altında bulunan türlerin stok yapılarının analizinde ekolojik, markalama, parazit dağılımı, fizyolojik ve davranış özellikleri, morfolojik veya meristik karakterlerinin incelenmesinin yanı sıra son yıllarda balıkçılıkta moleküler genetik çalışmalarına büyük bir ilgi bulunmaktadır. Genetik markırların çalışılması özellikle balıkçılıkta üç alanda ana etkiye sahiptir. Bunlar stok yapısının analizi, su ürünleri yetiştiriciliği ve sistematik çalışmalardır. Ayrıca yok olma tehlikesiyle karşı karşıya olan türlerin genetikleri, genetik farklılık üzerine kirlenmenin ve balıkçılığın etkisi ve bir ortama sokulan türlerin genetikleri üzerine çalışmalar yapılmaktadır.

Genetik farklılık, bitki ve hayvan türlerinin popülasyonları arasındaki ve popülasyon içindeki değişim miktarıdır. Bir türün genetik yapılanması, coğrafik alan içerisindeki türün popülasyonları arasında da farklı olabilir. Popülasyonun kayba uğraması, bölgedeki toplam

biyolojik farklılığın ve bu tür için genetik farklılığın azalmasıyla sonuçlanır. Biyolojik değişim düzeyi, bu türün en avantajlı yönlerinde değişimin devam etmesi ve değişen şartlara uyum sağlayan türün düzenlenmesi için önemlidir (Féral, 2002).

Aynı türe ait veya tür içi balık popülasyonları arasındaki genetik farklılıkları açığa çıkarmak için moleküler çalışmalar yapılmaktadır. Günümüzde bu çalışmalar genel olarak Protein ve DNA olmak üzere iki tür genetik markır sistemi kullanılarak yapılmaktadır.

1. 3. 1. Protein Markırları

1. 3. 1. 1. İzoenzimler

İzoenzimler, bir veya daha fazla gen lokusu tarafından kodlanan işlevsel olarak benzer fakat farklı elektrik yükleri ile ayrılabilen enzim formlarıdır (Markert ve Moller, 1959). Geçen yirmi yılda, balık genetikçileri, çeşitli balık türlerinde popülasyon düzeyindeki genetik farklılığı karakterize etmekte öncelikli olarak protein (izoenzim) elektroforezini kullanmışlardır (Winans, 1980; Waples, 1990). İzoenzim ve alloenzimler çoğunlukla nişasta jelinde koşturulmaktadır. Protein elektroforezinde, belirli bir proteinin alternatif formları, net yüklerindeki (aminoasit sıralarının fonksiyonu), boyutlarındaki ve şekillerindeki farklılıklara dayalı olarak ayrılırlar. Elektroforezin uygulamasından sonra izoenzimler, lokusun görülebilirliğine bağlı olarak geniş çeşitlilikteki boyalar ile boyanır. Farklı alleller (polimorfizm), nişasta jelinde farklı bantlar olarak görülür. Bu teknik popülasyon çalışmalarında çok iyi örnek verir.

İzoenzim analizi, ucuz ve hızlı bir yöntem olmasına rağmen her zaman türe özgü allellerin bulunmayışı ve çoğu türde, genomun büyük bir kısmının çalışılmasına uygun izoenzim markırlarının sayısının yetersiz kalması gibi dezavantajları vardır. İzoenzim kullanımı, polimorfizmin eksikliği ve markır belirlenmesi için çeşitli metodların kullanımı gerektiğinden genetik farklılığın belirlenmesi için kullanımı sınırlıdır (McComb, 1999).

İzoenzim elektroforezi, *Leuciscus cephalus* türünün farklı alttürlerinin varlığını ispatlamak için kullanılmıştır (Imsiridou vd., 1997). İzoenzim elektroforezi ile genetik farklılığın analizi, Kuzey Pasifik Okyanus'undaki Pasifik Mezgit'inin (*Gadus macrocephalus*) genetik olarak ayrı iki grup olarak belirlenmesine izin vermiştir (Grant vd., 1987). Morina balığı'nın (*Gadus morhua*) dokuz farklı stoğu arasındaki genetik

farklılığın miktarı elektroforetik olarak belirlenebilen protein lokuslarından hesaplandı (Mork vd., 1985).

1. 3. 1. 2. Alloenzimler

Aynı gen lokuslarındaki farklı allellerin ürünü olan izoenzimler, alloenzimler olarak tanımlanır (Marker ve Moller, 1959). Alloenzim elektroforezi, farklı populasyonların benzerliğinin hızlı bir şekilde belirlenebilmesi için kullanışlı bir tekniktir. Verilen herhangi bir lokustaki varolan genetik farklılığın sadece çok küçük bir miktarı bile protein elektroforezi kullanılarak görülebilir. Bu nedenle, alloenzimler, *Ceratitis capitata* (medfly) gibi istilacı türlerin populasyonlarında genetik farklılığın belirlenmesi için çok sınırlı bir çözüm sağlamıştır (Huettel 1980; Roderick 1996).

Genel olarak alloenzim çalışmaları DNA markırları ile karşılaştırıldığında;

- a. Kimyasal ve işçilik bakımından düşük ücret gerektirir.
- b. Kısa süre içerisinde çeşitli alloenzim lokileri için çok fazla sayıda örnek çalışılabilir.
- c. Kodominantlık, diploid organizmalarda her iki allel genellikle açık bir şekilde belirlenebilir ve heterozigotlar homozigotlardan ayırt edilebilir.

Alloenzim elektroforezi, tür ve stok ayırımı için kullanılan en baskın genetik tekniktir. Gizli kardeş türler, çok sayıda kemikli balıkta gösterilmiştir (Yamaoka vd., 1992; Musly ve Keenan, 1992). Taksonların karışmış olması tezi ileri sürüldüğünde, bazen, alloenzim verileri taksonların varlığını onaylamak için de kullanılır (Booth vd., 1990; Creech, 1991). Bununla birlikte alloenzim çalışmalarının bazı dezavantajları da bulunmaktadır. Yeni bir allel yalnızca nükleotid dizilimde meydana gelecek değişikliklerle birlikte oluşacak amino asit değişiklikleriyle molekülün elektroforetik hareketliliğindeki değişim yoluyla yeni bir allel polimorfik olarak tespit edilebilir. Yalnızca 64 kodonun 20 tane aminoasiti kodlaması ve her aminoasitin değişiminin elektrik yükünde değişiklik meydana getirmemesi ve yalnızca nükleotidlerin %30'nun değişiminin ancak elektroforetik olarak tespit edilmesi sınırlayıcı etkenlerdendir. Teorik olarak DNA ile yapılan çalışmalar proteine göre daha polimorfiktirler. Alloenzim elektroforezlerinin kullanımı genomun yalnız belirli bir kısmındaki değişiklikleri belirlemekle sınırlıdır. Kullanılan doku tipleri (kas, ciğer, göz, kalp gibi) genellikle örnek toplarken canlının ölmesini gerektirmektedir.

Ayrıca örneklerin saklanması bir aya kadar -20°C 'de, bundan uzun süreler için -70°C 'de olmalıdır.

1. 3. 2. DNA Markırları

Protein elektroforezi ile yapılan çalışmaların en büyük avantajı kısa zaman alması ve ekonomik olmasıdır fakat dezavantajı mutlaka taze materyale gereksinim duyulmasıdır. Bazı populasyon ve türlerde DNA çalışmalarına göre çok daha düşük seviyede polimorfik olması, bu yöntemin kullanılmasını sınırlayan en önemli dezavantajdır. Bu nedenle son yıllarda yapılan çalışmalarda DNA markır sistemleri tercih edilmektedir.

DNA'ya dayalı markırlar, DNA seviyesinde bireylerin karşılaştırılmasını sağlar. Aynı şekilde, moleküler ve biyokimyasal markırlar, genotipler arasındaki genetik akrabalığı tam olarak çalışmaya olanak verir (Williams vd., 1990).

DNA markırları ile tespit edilen genetik varyasyonun toplam miktarı, protein metotları ile tespit edilen miktardan oldukça fazladır. Bunun başlıca sebebi DNA zincirinin direkt olarak incelenmesidir.

Uzun yıllar boyunca, moleküler biyolojideki yavaş fakat uzun soluklu yürüyüş, moleküler sınıflandırma ve polimorfizmin gösterilmesi için gerekli oranda da pahalı olan teknikler hemen hemen genoma girişe izin vermiştir. Karmaşık ve pahalı oluşları, populasyon biyolojisinde hedeflenen projelerin tam olarak uygulanmasını sınırlıyordu. İşte bu noktada, PZR, metodolojide devrim yaptı (Mullis vd., 1987). 1988 yılında termostabil DNA polimerazın keşfi ile de PZR'in kullanımı çok ilerleme kaydetmiştir. Teknik, oldukça düşük miktarda kalıp DNA kullanılarak bir veya daha fazla sayıda hedef DNA fragmentinin *in vitro* şartlarda enzimatik olarak çoğaltılmasına dayanır. Çoğaltılan DNA markırları daha sonra otoradyografi veya boyama yapılarak elektroforetik olarak gözlenir (Féral, 2002).

DNA sekans analizi: Bu metot, DNA ve RNA'nın nükleotid sıralarının kendi nükleotit haritasını çıkarmak için en iyi genotipik çözümü sunar. Sıralar, ya genomun hedeflenmiş bölgelerinin PZR yoluyla amplifiye etmek için özel primerler kullanan genomik DNA'nın doğrudan sekansı yoluyla ya da bu bölgenin klonlanması ve klonlanmış parçanın sekansı ile elde edilebilir. En yaygın olarak kullanılan sekans yöntemi "Sanger dideoksi" yöntemidir (Sanger vd., 1977; Avise, 1994; Ferraris ve Palumbi, 1996; Hillis vd., 1996; Page ve Holmes, 1998). Sanger metodu, günümüzde de sekans için tercih edilen pek

çok otomatik sekanslama tekniğinin temelini oluşturur. Fakat pahalı oluşu sebebiyle uygulaması sınırlıdır.

Sitoplazmik DNA çok sayıda kopyadan meydana gelir. Her bir kopya hemen hemen tamamen aynı şekilde anneden kalıtılır. Bu da populasyon yapısına karşı cinsiyete bağlı bir yaklaşım sunar. mtDNA son derece değişkendir ve bugün populasyon biyolojisinde kullanılmaktadır. Filocoğrafyasının oluşturulmasına çok yardımcı olur (Awise vd., 1987). mtDNA'nın kodlama yapan (sitokrom b ve ND genleri, vs.) veya kodlama yapmayan bölgeleri kullanarak yapılan çalışmaların artan sayıları çok değişkendir ve mtDNA'nın transkripsiyonu ve replikasyonunun başlatılması ile ilişkilidir. Uluslararası primerler, doğrudan sekans yapmayı ve PZR yoluyla amplifikasyonlarını mümkün kılar (Kocher vd., 1989).

Çok lokuslu problemlerin kullanımı, DNA fragment sayılarının artmasıyla bireyin genomu içindeki yüksek değişiminin gösterilmesini mümkün kılar (Jeffreys vd., 1985b). Multilokus DNA fingerprinting, aslında çiftleşme sistemini inceleme metodudur ve ebeveyni olduğu sanılan anne ve babadan yavrunun ayırt edilmesine olanak verdiği düşünülmektedir (Jeffreys vd., 1985b; Burke, 1989).

Restriksiyon endonükleazlar, 4-6 baz çifti uzunluğundaki belirli bir nükleotit sırasından meydana gelen DNA'yı herhangi bir yerden kesen son derece özel enzimlerdir (Linn ve Arber, 1968; Kessler, 1987; Awise, 1994). DNA bunun gibi bir enzime maruz bırakıldığında, parçalara ayrılır. Farklı bireyler, elektroforezle ayrılan farklı sayıda kesim ürünleri üretebilirler. Restriksiyon bölgeleri mutasyon yoluyla kaybolmuş veya kazanılmıştır. Hem tek kopya nükleer DNA (scnDNA) hem de mtDNA'daki değişimin belirlenmesi için kullanılan iki yaygın metot; RFLP analizi ve DNA sekans analizi'dir. PZR yoluyla üretilen mtDNA RFLP parçaları, doğrudan gösterilebilir. Elde edilen bilgiler, DNA bölgelerinin restriksiyon enzimler tarafından oluşturulan kesim profillerinin farklılığı ve DNA sıralarının değişkenliği ile ilgilidir. Bu teknikler, çok sayıda bireyi incelenebilen populasyon biyolojisinde uygulanır.

1. 3. 2. 1. VNTRs (Variable Number Tandem Repeats) Markırları

Nispeten küçük ikili tekrar sıraları, incelenen tüm ökaryot genomları boyunca dağılmış olarak bulunmaktadır. VNTR markırları, farklı uzunluktaki tekrar dizilerini içeren minisatellit ve mikrosatellit markırları içermektedir. Ökaryotik genomda polimorfizmin

mükemmel kaynakları olup, genetik çalışmalarda oldukça etkilidir. Minisatellitler, 9-100 baz çifti uzunlukları arasında tek bir lokusta 2 ile birkaç yüz kez tekrar edilebilen ikili kısa nükleotid sıralarıdır. Multilokus polimorfik markırlar genetik çalışmalarda geniş bir yere sahip olmalarına rağmen çok fazla sayıda bant oluşması nedeniyle heterozigotluğun veya homozigotluğun tespitinin mümkün olmaması ve aynı lokustan gelen bantların veya farklı lokuslardan benzer büyüklükteki DNA parçalarının jel üzerinde aynı hız ile ilerlemesi genetik hesaplamalarda belirsizlikler yaratır. Bu problemlerden kaçınmak için tek lokus minisatellite kullanımı mümkündür. Tek lokus minisatellite, DNA'nın kodlama yapmayan kısımlarının kullanılarak yüksek derecede genetik farklılıklar sergilemesi bu analiz tekniğini alloenzim tekniğe alternatif yapar (Jeffreys vd., 1985a, b; Nakamura vd., 1987).

Mikrosatellitler ise her bir lokusta yaklaşık olarak 100 kez tekrar edilen 1-6 baz çifti uzunluğunda tek bir ünitedir. Nispeten yüksek mutasyon oranının karşılığı olan belirli bir lokustaki çok sayıda tekrarın güçlü bir değişkenliği vardır. Değişimin boyutu, jeldeki bantların pozisyonlarına bakılarak belirlenebilir. Bu, lokus başına düşen yüksek miktardaki allel sayısının belirlenmesine izin verir. Mikrosatellit lokuslar kodominant markırlardır yani heterozigotlar homozigotlardan ayırt edilebilir ve PZR kullanımı ve allellerin jel üzerine seperasyonunun yapılmasıyla tüm genetik bilgilere ulaşmak mümkündür. Mikrosatellitler farklı genetik çalışmaları için çok güçlü tek lokus genetik markır olarak kabul edilmiş olmasına rağmen, allellerin PZR amplifikasyonu için türe has primer geliştirilmesi çok pahalı çalışmalar gerektirmektedir. Bir diğer önemli dezavantaj ise alleller denatüre olmuş poliakrilamid jel üzerinde ayrıştırıldığı zaman genellikle merdiven veya gölge şeklinde bantlar oluşturmaktadırlar. Bu istenmeyen bantların, amplifikasyon ürünlerinin denaturasyonunun tamamlanmamış olmasından veya PZR aşamasında oluşan yanlış eşleşmelerden dolayı olduğu düşünülmektedir (Litt ve Luty, 1989; Féral, 2002).

1. 3. 2. 2. AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism)

Bu yaklaşım, hem restriksiyon kesimi hem de PZR'yi içerdiği için önceki tekniklerin çoğunun bazı dezavantajlarının üstesinden gelen bir teknik olmuştur ve bundan dolayı genom çalışanları arasında hızlı bir şekilde popüler hale gelmiştir. AFLP teknolojisinin hızla kabulünün ilk sebebi, çok sayıda polimorfik DNA markırı ortaya çıkarma yeteneği ve çoğalma tarzıdır. Gerçekte, AFLP uzunluklarındaki farklılıkların daha ziyade restriksiyon parçalarının varlığı veya yokluğunu araştırır. AFLP fingerprinting, türler ve suşlar

arasındaki genetik farklılıkları analiz etmek için ve yüksek çözünürlükte lokal genetik haritalamaları yapabilmek için kullanılmaktadır. Bir fingerprinting markır olarak AFLP'nin en büyük avantajı, hızlı ve çok etkili olmasıdır. Dezavantajı ise biallelliktir (Vos vd., 1995).

1. 3. 2. 3. RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) Markırları

Moleküler biyoloji tekniklerindeki ilerlemeler sayesinde, genetik polimorfizmi saptamak için oldukça yararlı çok sayıda DNA markırlar geliştirilmiştir. Son on yılda, DNA işaretleyiciler geliştirmek için en çok kullanılan teknik, Polimeraz Zincir Reaksiyonu'na (PZR) dayalı olan "Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA (RAPD)" tekniğidir. RAPD markırları, tek bir kısa ve rastgele oligonükleotid primer kullanılarak, bilinmeyen DNA dizilerinin çoğaltılmış ürünleri olduklarından, önceden DNA baz dizilerini bilmemiz gerekmez. Her ne kadar, RAPD profilinin tekrarlanabilirliği tartışmanın odak noktası ise de, RAPD tekniği ucuz, kısa sürede çok sayıda DNA markır geliştirmedeki etkinliği ve çok gelişmiş aletlere daha az gereksinim göstermesi nedeniyle önemlidir (Bardakçı, 2001). Belirli dizin bilgilerini kullanarak sınıflandırma yapımındaki moleküler genetik yaklaşımların son yıllardaki uygulamaları organizmalar arasındaki sistematik ilişkilere yeni bakış açılarına yol göstermiştir. PZR uygulamaları başlangıçta, belirli DNA segmentlerinin selektif çoğaltımı üzerine yönlendirilmiş ve baz dizilişi bilinen primer çiftleri ile amplifikasyonu ön plana çıkmıştır. Ancak ilgili dizilerin belirlenmesinde karşılaşılan güçlükler ve genomda yalnız kısıtlı bölgelerdeki taramalardan doğan yetersizlikler, uygulamaya rastgele oligonükleotidlerin kullanıldığı daha kolay ve etkili yöntemlerin sunulmasını sağlamıştır. Bu amaçla; 1990'lı yılların başında birbirinden bağımsız iki bilim adamı grubu tarafından, günümüzde yaygın kullanıma giren, prensip olarak aynı fakat farklı adlandırılan "Random Amplified Polymorphic DNA" (RAPD) (Williams vd., 1990) ve "Arbitrarily-primed PCR (AP-PCR)" (Welsh ve McClelland, 1990) teknikleri geliştirilmiştir (Bardakçı ve Skibinski, 1994).

PZR tarafından sağlanan RAPD markırlarının gelişimi, DNA sırası hakkında herhangi bir ön bilgi olmaksızın organizmalar arasında genetik değişiminin tahminine olanak vermiştir (Hadrys vd., 1992).

RAPD tekniği yardımıyla, canlılardaki DNA polimorfizmi belirlenebilir. Böylece iki veya daha çok bireyin birbirleriyle veya popülasyonlarıyla bağlantısı (benzerlik gibi) bulunabilir. RAPD bu açıdan sistematik çalışmalarda sıklıkla kullanılan bir tekniktir.

RAPD tekniği, popülasyonlar ve türler arasındaki genetik farklılıkları tespit etmek için geliştirilmiştir. Bu teknik ile genomun yapısı tamamen taranmakta ve balıklar veya popülasyonları arasındaki genetik farklılıklar incelenmektedir. Bu metotla, PZR için tek bir primer kullanılmakta ve genomun tamamı PZR'a tabi tutulmaktadır. Bu teknikle, genomun tamamı taranmakta, primer genom üzerinde rasgele bir şekilde tanıdığı bölgelere kaynaşmakta ve polimeraz zincir reaksiyonuyla bu bölgelerde değişik uzunlukta kopyalama yapmaktadır. Kopyalanan parçalar daha sonra elektroforeze tabi tutulmakta ve agaroz jeli üzerinde görünürlüğü sağlanmaktadır. Primer bölgesinde meydana gelen nokta mutasyonları, silinme veya eklenme primerin o bölgeyi tanımamasına neden olmakta, bu da değişik uzunluklarda DNA parçaları üretmekte ve örnekler arasında varyasyonun kaynağı olmaktadır. Bu tekniğin başlıca avantajı, genomu rastgele taradığı için incelenen türün genlerinin yapısı hakkında herhangi bir önbilgiye ihtiyaç duyulmamasıdır. Dezavantajları ise, bu teknikle örneklerin homozigot ve heterozigot durumları hakkında herhangi bir bilgi edinilememesi ve bandların jel üzerinde okunmasında birçok problem yaşanmasıdır. Çünkü, reaksiyon şartlarında meydana gelen küçük bir değişiklik, sonuca etki etmektedir. Bu primerlerdeki tek bir nükleotidin değişmesi, tamamen değişik bir sonuç vermektedir (Yu ve Pauls, 1993).

RAPD tekniği, RFLP ve DNA nükleotit dizilimi analizinden daha kısa zamanda ve daha ekonomik olan alternatif bir tür içi ve türler arası genetik farklılık analiz metodu'dur ve RAPD analizi, *Tilapia* popülasyonları içindeki değişme miktarını göstermek için yetersiz kalan mtDNA analizinden daha hassas olabilir (Seyoum ve Kornfield, 1992).

RAPD tekniğinin basitliği ve ekonomik avantajı nedeniyle, çoğu biyoloji alanında yaygın bir şekilde kullanılmaktadır.

RFLP eskiden yaygın olarak genetik haritalamada kullanılırdı. Bu yaklaşım bir probun hibridizasyonunu kapsar. Yararlı bir prob DNA bölgelerindeki delesyon yoluyla kaybolan veya insersiyonla kazanılan bölgelerden ortaya çıkan restriksiyon fragmentlerinin uzunluğundaki farklılıkları ortaya çıkaracaktır. RFLP analizinin Southern Blot yaklaşımının zaman alması ve teşhis ve izolasyonda bazı güçlüklerin olması sebebiyle PZR teknolojisine artan bir ilgi vardır. RAPD tekniği, balıklarda genetik haritalama da kullanılır. Postletwait vd. (1994) Halibut'ta (*Danio rerio*) 401 polimorfik DNA markırı

ortaya çıkarmışlardır. RAPD markırları, *O. Niloticus*, *O. Aureus* (Naish vd., 1995) ve gökkuşağı alabalığı *Onchorhyncus mykiss* (Jackson vd., 1995) türlerinin genetik haritalarını oluşturmada da kullanılmıştır. RAPD tekniğinin bir dezavantajı da dominant olmalarıdır.

Filogenetik sonuç çıkarılmasında, genetik parametrelerin hesaplanması veya üreme sisteminin karakterizasyonu için uygun olabilirler (Grosberg vd., 1996). Cluster analizi, hesaplama hatalarını azaltırken ebeveynlerin teşhisine izin verir (Levitan ve Grosberg, 1993).

Farklı balık türlerinde, RAPD tekniğinin kullanıldığı seçilmiş bazı çalışmaları aşağıda özetlenmiştir.

RAPD markırlarının kullanımındaki en son çalışmalar *Cichlid* balıklarının (Sultmann ve Mayer, 1995) ve *Xiphophorus* cinsinin (Borowsky vd., 1995) filogenisinde filogenetik ilişkilerinin klasik hipotezini desteklemiştir. RAPD markırları, Chalmers vd. (1992) tarafından *Gliricidia*'daki genetik farklılıkları ortaya koymak için başarılı bir şekilde kullanılmıştır.

Öteki moleküler teknikler ile ortak olarak, RAPD analizi, alloenzim analizinde olduğundan daha başarılı bir biçimde *Oreochromis niloticus*'un alttürlerini birbirinden ayırtedebilen DNA markırları tespit edildi (Seyoum ve Kornfield, 1992).

Baillie vd. (1996) tarafından *Orconectes rusticus*'un lokal alt populasyonlarının genetik değişimi rastgele artırılmış polimorfik DNA (RAPD) analizi kullanılarak incelenmiş ve RAPD ile elde edilen bantların benzerliği karşılaştırılarak populasyon içinde varolan değişim bulunmuştur.

Johnson vd. (1994), Zebrafish (*Brachydanyo rerio*) omurgalı gelişim genetiğinin anlaşılması için kullanışlı bir sistem olarak incelemiş, bir genetik haritanın oluşturulması için DNA'ya dayalı genetik polimorfizmi tanımlamak için Zebrafish'in iki laboratuvar ırkının arasındaki genetik polimorfizmin teşhisinde RAPD primerlerini kullanmışlardır.

Bardakcı ve Skibinski, (1994) tarafından, RAPD analizini *Oreochromis* cinsinin üç türü ve *Oreochromis niloticus*'un dört alt türüne uygulanmıştır. On üç rastgele dekamer populasyonlar arasındaki ve içindeki polimorfizmi ölçmek için kullanılmıştır.

Bártfai vd. (2003), on polimorfik RAPD markırı ve dört mikrosatellit kullanarak biri 80 diğeri 196 birey içeren iki sazan stoğunun genetik analizini yapmışlardır.

Harada vd. (1994) RAPD analizi yoluyla üç *Shorea* cinsi arasındaki genetik farklılığı hesaplamışlardır.

Dahle vd. (1998), RAPD fingerprinting'i Hilsa shad (*Tenualosa ilisha*)'ın üç popülasyonu arasındaki ayrımı yapmak için kullanmıştır..

Çin mersin balığındaki (*Acipenser sinensis*) genetik farklılıklar, Zhang vd. (2000) tarafından RAPD tekniğinin uygulanması sonucunda belirlenmiştir.

Takagi ve Tanuguchi (1995) tarafından RAPD tekniği kullanılarak *Anguilla*'nın (*A. japonica*, *A. australis* and *A. bicor*) üç türü teşhis edilmiştir.

Callelas ve Ochando (1998) tarafından RAPD analizi ile İspanya'nın morfolojik olarak benzer üç endemik *Barbus* türünün yedi primer kullanılarak teşhisi çalışılmış, altı teşhis bantı elde edilmiş ve sonuçlar cluster analizi ile gösterilmiştir.

1. 4. PZR Döngülerinin Optimizasyonu

PZR'da RAPD ürünlerinin amplifikasyonu, kalıp DNA'nın denatürasyonu, RAPD primerinin kalıp DNA'ya bağlanması ve yeni DNA iplikçığının sentezlenmesi (extension) safhası olmak üzere üç genel aşamada gerçekleşir.

Genellikle, magnezyum iyonu (Mg^{+2}) konsantrasyonu, kalıp DNA, RAPD primeri, enzim ve dNTP'lerin optimize edilmesi gerekir. Özellikle annealing aşamasındaki sıcaklığın (*T_m*: Temperature of melting) seçimine dikkat edilmelidir. *T_m* derecesi RAPD'e özgü farklılıklar içerir. Bu ise, kullanılan primerin uzunluğu, GC baz içeriği ve enzim tamponunun tuz konsantrasyonu ile ilgilidir. Normal olarak GC baz içeriği %50-70 oranları arasında değişir. (Yu ve Pauls, 1993).

1. 5. Amplifikasyon Şartlarının Optimizasyonu

Amplifikasyon şartlarının optimizasyonu; kalıp DNA, RAPD primerleri, $MgCl_2$, dNTP ve DNA polimeraz enzim oranlarının çalışılan balığa özgü olarak belirlenmesi ve kontaminasyonu önlemek amacıyla negatif kontrol kullanılması ile sağlanır.

Eğer yüksek oranda kalıp DNA, yüksek oranda *Taq* DNA polimeraz enzimi ile beraber kullanılır ise amplifikasyon sonucu üst üste gelen bantlar oluşmakta ve bu oluşan bantlar netliği bozmaktadır. Bu amaçla PZR amplifikasyon ortamına katılacak kalıp DNA konsantrasyonu iyi ayarlanmalıdır. Primer konsantrasyonunun belirlenmesi de aynı amaca yöneliktir (Williams vd., 1990).

Konsantrasyonuna dikkat edilmesi gereken en önemli PZR bileşenlerinden birisi ise $MgCl_2$ konsantrasyonudur. $MgCl_2$ konsantrasyonunun iyi belirlenmesi *Taq* DNA polimeraz aktivitesi ve primer kalıp DNA'ya bağlanması açısından önemlidir. $MgCl_2$ konsantrasyonunun iyi belirlenmediği reaksiyonlarda PZR amplifikasyonu genellikle başarısız sonuç vermektedir.

dNTP konsantrasyonu ise bant parlaklığı üzerine etkilidir. Düşük konsantrasyonda kullanıldığı zaman bant parlaklığı azalmaktadır. *Taq* DNA polimeraz enziminin konsantrasyonunun ayarlanması genom üzerindeki çeşitli bölgelerin dengesiz çoğaltılmasını (yüksek konsantrasyonda kullanılırsa) veya genom üzerindeki bazı bölgelerin amplifikasyonunun yapılamamasını (düşük konsantrasyonda kullanılırsa) önlemeye yöneliktir.

Kontrol reaksiyonlarının (kalıp DNA hariç tüm komponentler) kullanımı tekniğin hassaslığı nedeni ile PZR uygulamalarında çok önemli görülmektedir. Kontrol reaksiyonlarında oluşan bir bandın kaynağı 'primer-multimer' oluşumuna (Yu ve Pauls, 1993) bağlanabildiği gibi, yabancı bir DNA tarafından kaynaklanan bantlar çoğunlukla kontrol reaksiyonlarında görülürken, gerçek kontaminasyon bantlarına kontrol ve DNA içeren reaksiyonların her ikisinde de rastlanmaktadır. Bazı araştırmacılar tarafından ikinci grup bantların değerlendirilmeye alınmaması önerilirken, PZR reaksiyonlarının tekrarı çok daha yararlı olmaktadır. RAPD-PZR tekniği, amplifikasyon ürünlerinin oluşmaması, üretilen fragmentlerin ters göçü ve reaksiyon şartlarının hassas olması birkaç zorluk gösterir. Bu problemler bant ayrımı çözünürlüğünün artması ve daha temiz bantlar elde etmek için amplifikasyon şartlarının iki veya daha fazla tekrarında fayda vardır (Hadrys vd., 1992).

1. 6. Primer Dizilerinin Belirlenmesi

RAPD, primer dizisi ve uzunlukları açısından diğer PZR'ye dayalı markırlara göre daha hassaslık göstermekte ve genom dizisi üzerinde çalışmak üzere rastgele düzenlenen primerlerin seçimi ve sentezi daha çok dikkat gerektirmektedir.

RAPD uygulamaları için kullanılacak primerlerin 9-10 baz çifti uzunluğunda, pürin:pirimidin (GT/AT) içeriğinin en az %50, en yüksek %80 olması ve palindromik sıralar içermemesi oldukça önemlidir. Aynı zamanda primer baz sırasının 1-2 pürin bazı ile başlaması ve bitmesi ise primerin spesifikliğini arttırmaktadır (Yu ve Pauls, 1993).

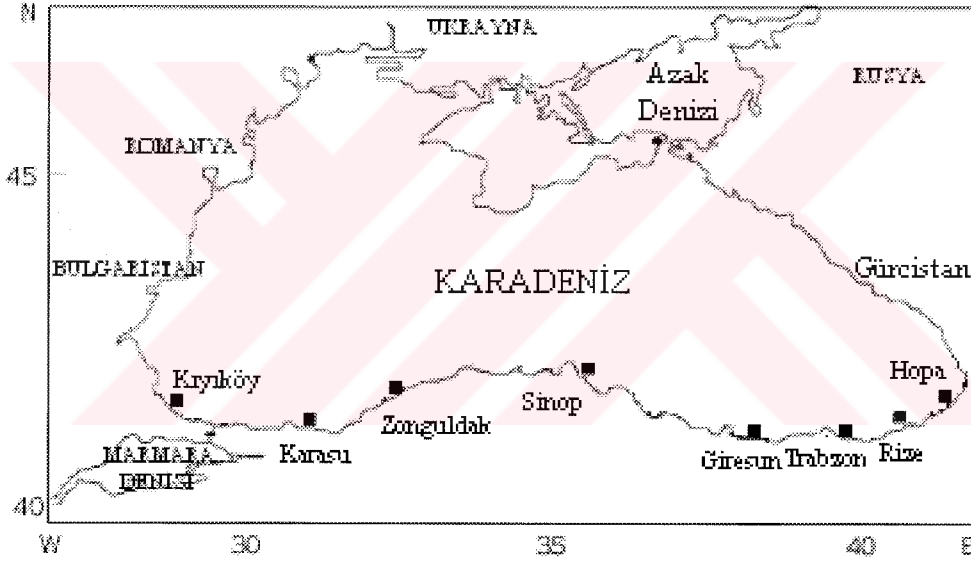
Bütün bu etkenlerin yanısıra, eğer zayıf bantların okunması (200 baz çiftinden küçük bantlar) ihmal edilirse, bant okumalarında hata oranı % 2-7 oranında sınırlı kalacaktır.



2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

2. 1. Materyal

Bu çalışmada, önceden belirlenen her bir istasyondan (Şekil 2.), bu istasyonları temsilen on'ar birey toplanmıştır. Materyal temini tam olarak belirlenen noktalardan Nisan-Mayıs aylarında seçilerek toplanmıştır. Örneklemede, Kıyıköy, Karasu, Zonguldak, Sinop, Giresun, Trabzon, Rize ve Hopa kıyıları istasyon olarak seçilmiş ve balık örnekleri bu istasyonlardan temin edilmiştir. Toplanan balık örnekleri, öncelikle şoklandıktan sonra çalışmanın yapılacağı laboratuvara buz içinde muhafaza edilerek getirilmiştir.



Şekil 2. Türkiye kıyıları boyunca örnekleme istasyonlarının konumları

2. 2. Yöntem

Örnek dokunun diseksiyonu, DNA izolasyonu, PZR uygulamaları ve sonuçların değerlendirilmesi olmak üzere dört aşamada gerçekleştirilmiştir.

2. 2. 1. Doku Diseksiyonu

Balığın beyin dokusu steril şartlar altında, diseksiyon takımı kullanılarak itina ile çıkartılmıştır. Çıkartılan beyin dokusu vakit kaybetmeden sıvı azot'ta (-270°C'de) fikse edilerek DNA izolasyonu işlemine geçilinceye kadar (-80 °C)'de saklanmıştır.

2. 2 .2. DNA izolasyonu

En uygun DNA izolasyonunu gerçekleştirmek için çeşitli izolasyon yöntemleri denenmiş ve Promega Genomik DNA isolation prosedürü seçilerek DNA izolasyonu bu metoda göre yapılmıştır.

DNA izolasyonu için gereken materyaller:

- 1.5 µl mikrosantrifüj tüpü
- Küçük homojenizer
- 37°C'de su banyosu
- Oda sıcaklığında izopropanol
- Oda sıcaklığında % 70'lik etanol
- 65°C'de su banyosu
- Proteinaz K (20 mg/ml)

Genomik DNA izolasyonunda aşağıdaki prosedür izlenmiştir.

- 15 ml santrifüj tüpüne 600 µl Nuclei Lysis Solusyonu eklenir ve buzda soğutulur,
- Soğutulmuş Nuclei Lysis Solusyonuna kısa süre önce derin dondurucudan (-80°C) alınmış olan çözülmüş doku eklenir, küçük homojenizerle 10 saniye kadar homojenize edilir ve karışım 1.5 µl mikrosantrifüj tüpüne aktarılır,
- Karışım 65°C'de, su banyosunda 30 dakika inkübe edilir,
- İnkübasyondan sonra tüpe 20 mg/ml'lik Proteinaz K'dan 17.5 µl eklenir,
- Gece boyunca çalkalayıcıda 55°C'de inkübe edilir (dokunun tamamen sindirildiğine emin olunur),
- Sallayıcıdan alınan nükleer karışıma 3 µl RNaz solusyonu eklenir, karışım tüp 2-5 kez hafifçe ters düz edilerek karıştırılır, karışım 37°C'de 30 dakika inkübe

edilerek etüvden alınır ve işleme devam etmeden önce 5 dakika kadar oda sıcaklığına kadar soğutulur,

- Oda sıcaklığındaki örneğe 200 µl Protein Çökeltme Solusyonu eklenir, 20 saniye yüksek hızda çalkalanır ve 5 dakika kadar buzda soğumaya bırakılır,
- 13000 g'de 4 dakika santrifüj edilir. Çökelmiş protein beyaz sıkı bir pellet halini alır,
- DNA içeren üstteki sıvı kısım dikkatlice alınır ve 600 µl oda sıcaklığında izopropanol içeren 1.5 µl'lik temiz bir santrifüj tüpüne aktarılır,
- Solusyon, DNA'nın beyaz iplik benzeri zincirleri görünebilen bir kütle halini almaya kadar kibar yavaşça ters düz edilerek karıştırılır,
- Oda sıcaklığında 13000 g'de bir dakika santrifüj edilir. DNA küçük beyaz bir pellet olarak görünebilecektir. Süpernatant dikkatlice uzaklaştırılır,
- Pellet'in üzerine 600 µl oda sıcaklığında %70'lik etanol eklenir ve DNA'yı yıkamak amacıyla tüp birkaç kez yavaşça ters düz edilir. Oda sıcaklığında 13000 g'de bir dakika santrifüj edilir,
- Santrifüjden sonra etanol uzaklaştırılır ve tekrar etanolün kalmadığından emin olmak için hızlı santrifüj yapılır,
- Santrifüj sonunda, kalan etanol mikropipetle uzaklaştırılır. DNA kurutulmadan, tüpler ters çevrilerek etüv'de (37°C) 15-20 dakika süre ile kalan etanol uzaklaştırılır,
- Pellet'e 100 µl DNA Rehidrasyon Solusyonu eklenir ve 65°C'de bir saat inkübasyon yoluyla çözülür,
- DNA, kullanılmaya kadar 2-8 °C'de saklanır.

Yöntemle izole edilen mezgit balığının DNA miktarları (A_{260} spektrofotometre okuması), saflıkları (A_{260}/A_{280} spektrofotometre okuma oranı) ve karışımdaki protein oranı GeneQuant RNA/DNA Calculator (Pharmacia Biotech, England) spektrofotometresi kullanılarak yapılmıştır.

2. 2. 3. Kullanılan Çözeltiler

TE buffer	: 10 mM Tris-HCl ve 1mM EDTA karışımı (pH 8,0)
1XTAE	: Trizma Base, Glasiyal asetik asit, EDTA

2. 2. 4. PZR Uygulamaları

Uygun amplifikasyon koşullarını belirlemeye yönelik yürütülen çalışmalar sonrasında PZR döngü programı aşağıdaki şekilde uygulanmıştır.

Amplifikasyon şartları:

0,2 mL ependorf tüp içerisinde;

- 2,5 mM 10X Reaksiyon tamponu ,
- 2,5 mM MgCl₂,
- 80 ng genomik DNA,
- 2 mM dNTP (her birinden),
- 0.2 µl primer,
- 1 ünite Taq DNA polimeraz

karışımı ddH₂O ile 25 µl'ye tamamlandıktan sonra üzerine 25 µl mineral yağ eklenerek gerçekleştirilmiştir.

PZR Döngü Programı:

- 94 °C'de 1 dakika DNA çift zincirinin ayrılması (denatürasyondan),
- 36 °C'de 1 dakika primer bağlanması (annealing),
- 72 °C'de 2 dakika yeni iplikçiklerin sentezi (extension)
- Toplam 45 döngü,
- 72 °C'de 6 dakika son sentez

olarak düzenlenmiştir ve Hybaid PCR Sprint (Hybaid Ltd, UK) model thermacycler cihazında gerçekleştirilmiştir.

2. 2. 5. Agaroz Jel Elektrofizi

PZR ürünlerinin elektrofizi 12 oluklu jel tepesinde, % 1,4'lük agaroz jel ortamı kullanılarak yapılmıştır. Yürütme, 1,5 µl yürütme tamponu (%50 gliserol, %0,05 bromofenolblue, 0,2 M EDTA) ile 8 µl PZR ürünü karıştırılarak 1XTAE (Trizma Base, Glasiyal asetik asit, EDTA) tamponunda 45 dakika süre ile 94 voltta yapılmıştır. Yürütülen örnekler Biodoc Analyses System yardımıyla görüntülenmiştir.

2. 2. 6. PZR Uygulamalarının Tekrarlanabilirliği

PZR koşullarının tekrarlanabilirliğini belirlemek amacıyla, örneklere ait amplifikasyon koşulları birbirinden bağımsız olarak üç kez tekrar edilmiştir. PZR uygulamalarında olası bir kontaminasyonu önlemek için, her uygulamayla birlikte genomik DNA içermeyen “negatif kontroller” kullanılmıştır. Bant büyüklüklerinin belirlenmesi amacıyla, her gruba ait elektroforez işlemlerinde *Hinf*I ile kesilmiş pUC 18 plazmidi kullanılmıştır.

2. 2. 7. Primerler

RAPD primerlerini belirlemek amacıyla Operon firması tarafından sentezlenen 24 sentetik oligonükleotit (Operon RAPD 10-mer Kits, Set AB, B ve C, Operon Tech) denenmiş ve bunlardan tekrarlanabildiğinde aynı sonuçları verebilen 14 primer seçilmiştir. RAPD analizleri, seçilen bu 14 primer ile gerçekleştirilmiştir. Analizlerde kullanılan primerler, baz sıraları, % G+T içerikleri ve amplifikasyon sonucu oluşturdukları yaklaşık fragment uzunluğu Tablo 1’de verilmiştir.

Tablo 1. RAPD analizinde kullanılan primerler, baz sıraları, % G+C içerikleri ve amplifikasyon sonucu oluşan fragmentlerin yaklaşık büyüklüğü

Primer Numarası	Baz Dizisi (5'→3')	% G+C içeriği	Yaklaşık Fragment Uzunluğu (bp)
OPAB 01	CCGTCGGTAG	%70	237-1366
OPAB 08	GTTACGGACC	%60	286-2164
OPAB 09	GGGCGACTAC	%70	350-2026
OPAB 10	TTCCCTCCCA	%60	248-1992
OPAB 11	GTGCGCAATG	%60	330-1496
OPAB 14	AAGTGCGACC	%60	308-2196
OPAB 17	TCGCATCCAG	%60	268-1502
OPA 05	AGGGGTCTTG	%60	970-1487
OPA 08	GTGACGTAGG	%60	226-1564

Tablo 1'in devamı

OPA 08	GTGACGTAGG	%60	226-1564
OPA 10	GTGATCGCAG	%60	380-1138
OPA 12	TCGGCGATAG	%60	330-1385
OPA 19	CAAACGTCGG	%60	218-1521
OPB 08	GTCCACACGG	%70	312-1273
OPC 11	AAAGCTGCGG	%60	247-1060

2. 2. 8. Sonuçların Değerlendirilmesi

Biodoc Analysis sistemiyle görüntülenen amplifikasyon bantlarının okunmasında sadece kuvvetli bantlar değerlendirilmeye alınmıştır. Bantların okunması, farklı stoklarda var olma yada olmama durumuna göre bantlar "1" veya "0" şeklinde değerlendirilmiş ve benzerlik indeksleri oluşturulmuştur.

Bu amaçla Sokal ve Sneath (1963) tarafından geliştirilen ve aşağıda verilen "Benzerlik İndeksi (B.I.)" formülü ile iki birey arasındaki benzerlik karşılaştırılmalarında kullanılmıştır.

$$\text{Benzerlik İndeksi (B.I.)} = \frac{a}{a + b}$$

a : iki stokta da bulunan homolog bant sayısı

b : iki stokta da bulunan homolog olmayan bant sayısı

Stoklar arasındaki genetik benzerliklere dayalı dendogram verileri ise Rohlf (1990) tarafından geliştirilen NTSYS-pc (Numerical Taxonomy and Multivariation Analysis System, Version 1.80) program kullanılarak "UPGMA Cluster" analizi ile belirlenmiştir.

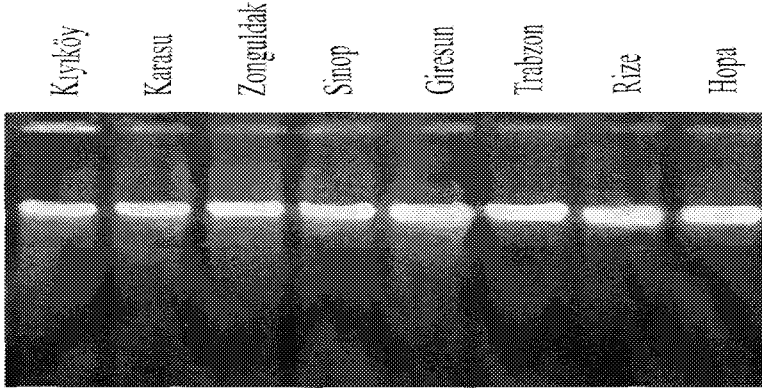
3. BULGULAR

3. 1. DNA İzolasyonu

Promega Genomik DNA izolasyon yöntemine göre Türkiye'nin Karadeniz kıyılarında 8 farklı istasyondaki mezgit'in 20-25 mg beyin dokusundan izole edilen gDNA'ların agaroz jeldeki görüntüleri Şekil 3'de verilmiştir. İzole edilen DNA miktarları ise Tablo 2'de verilmiştir.

Tablo 2. Mezgit beyninden Promega Genomik DNA izolasyon prosedürüne göre izole edilen DNA miktarı

Örnek Adı	DNA Miktarı ($\mu\text{g/ml}$)
Kıyıköy	436.0
Karasu	165.8
Zonguldak	325.3
Sinop	286.0
Giresun	289.2
Trabzon	314.0
Rize	256.0
Hopa	205.4



Şekil 3. Mezigit (*Merlangius merlangus euxinus*, Nordmann, 1840) örneklerinden izole edilen gDNA'ların agaroz jeldeki (%0,7) görüntüleri.

İncelemeye alınan sekiz istasyondan elde edilen mezigit balığı örneklerinin DNA miktarları en düşük DNA miktarına (165.8 µg/ml) göre sulandırılmıştır. gDNA'nın elektroforezinde, 10 oluklu jel tepsisinde, % 0.7'lik agaroz jel ortamı kullanılmıştır ve yürütme 1,5 µl yürütme tamponu ve 7 µl gDNA ürünü karıştırılarak 1XTAE tamponunda 30 dakika süre ile 96 voltta yapılmıştır. Yürütülen örnekler Biodoc Analyses System yardımıyla görüntülenmiştir. DNA'lar, agaroz jel üzerindeki görüntülerinde, RNA ve sekonder ürünlerinden arı, parçalanmamış tek bant oluşturmuşlardır.

3. 2. PZR Uygulamaları

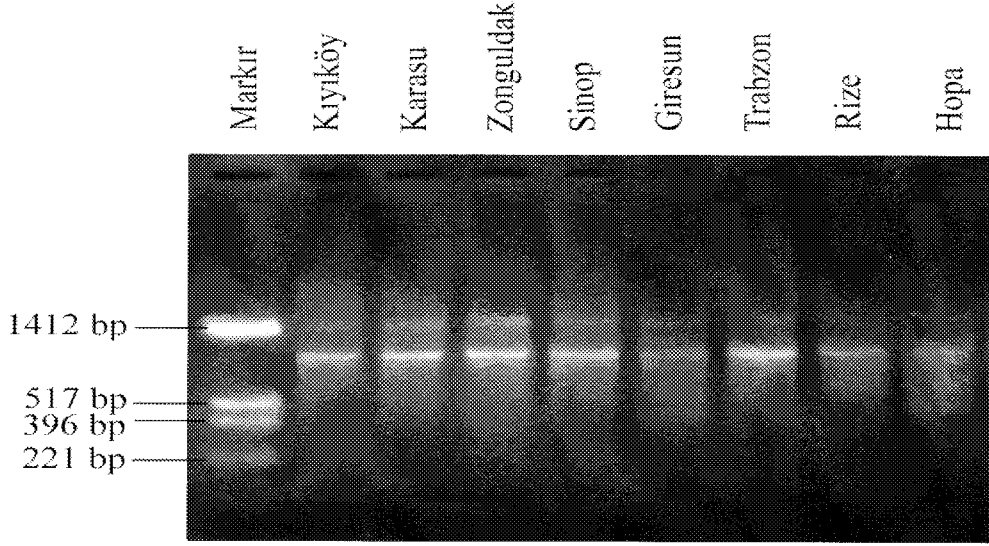
RAPD analizlerinde primerler itibariyle değerlendirilmeye alınan toplam bant sayıları Tablo 3'de, amplifikasyon ürünlerinin jel görüntüleri ise Şekil 4- 17'de verilmiştir.

Tablo 3. Araştırmada kullanılan mezgit örneklerinin primerler itibarı ile değerlendirilmeye alınan toplam bant sayısı

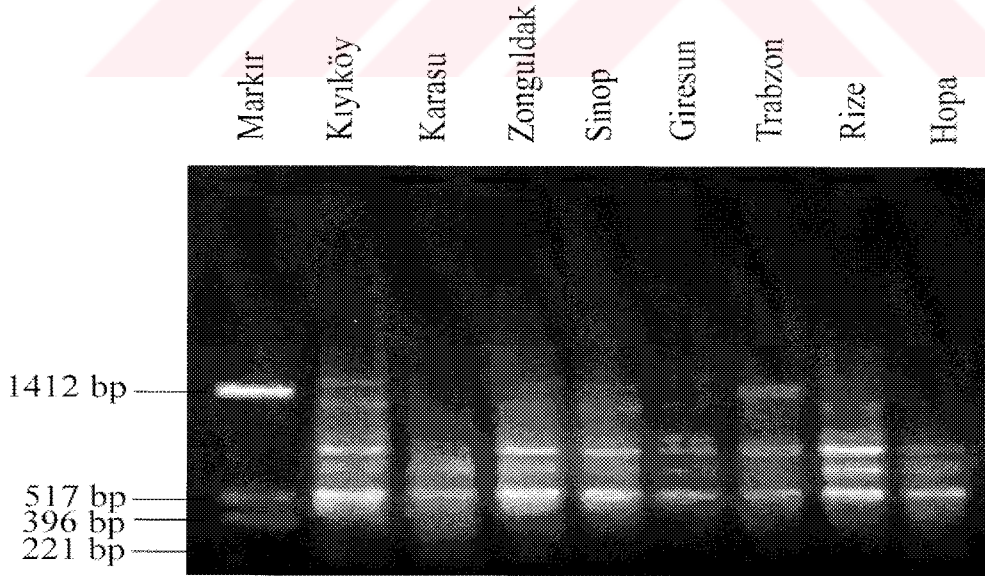
Primer numarası	KIYIKÖY	KARASU	ZONGULDAK	SİNOP	GİRESUN	TRABZON	RİZE	HOPA
OPA05	2	2	2	2	2	2	2	2
OPA08	9	6	9	9	8	8	9	7
OPA10	3	3	3	3	3	3	3	3
OPA12	5	6	2	5	5	5	5	5
OPA19	6	5	6	6	6	6	4	6
OPB08	6	6	6	6	6	7	5	5
OPC11	9	9	9	9	8	6	7	7
OPAB01	6	6	6	4	6	6	6	5
OPAB08	2	3	2	3	3	3	2	3
OPAB09	4	3	7	3	1	9	5	5
OPAB10	5	6	4	1	5	5	1	5
OPAB11	6	6	6	2	5	4	4	3
OPAB14	9	2	8	2	5	3	3	1
OPAB17	6	6	6	5	7	7	6	6

3. 3. PZR Uygulamalarının Tekrarlanabilirliği

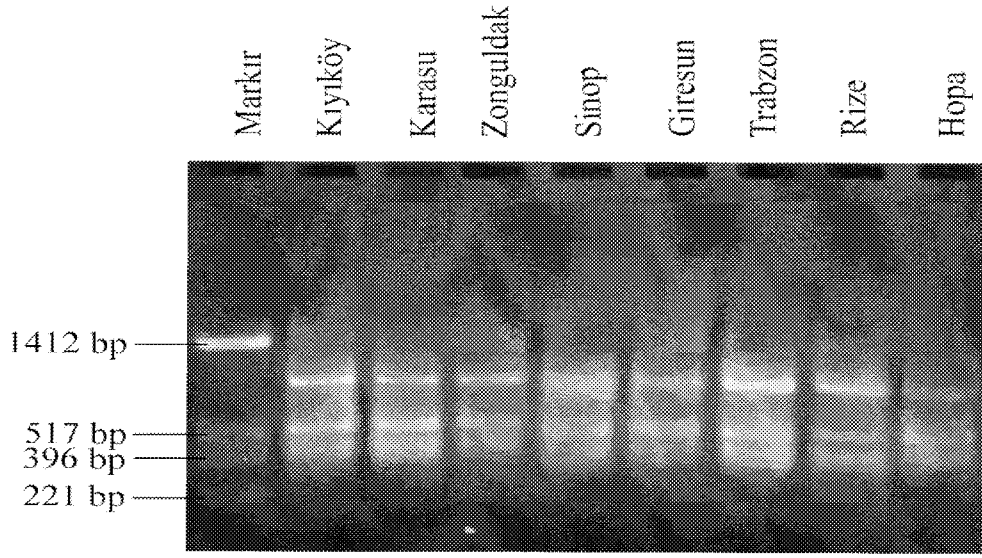
PZR döngü programı ve optimizasyon şartlarının tekrarlanabilirliğini araştırmak amacıyla, sekiz istasyondan alınan mezgit genomik DNA'sının OPA 05 primeri kullanılarak bağımsız olarak geręekleřtirilen üç PZR uygulaması sonucunda , elde edilen bant sayıları ve bantların büyüklüklerinin benzer olduğu görölmektedir (Şekil 4).



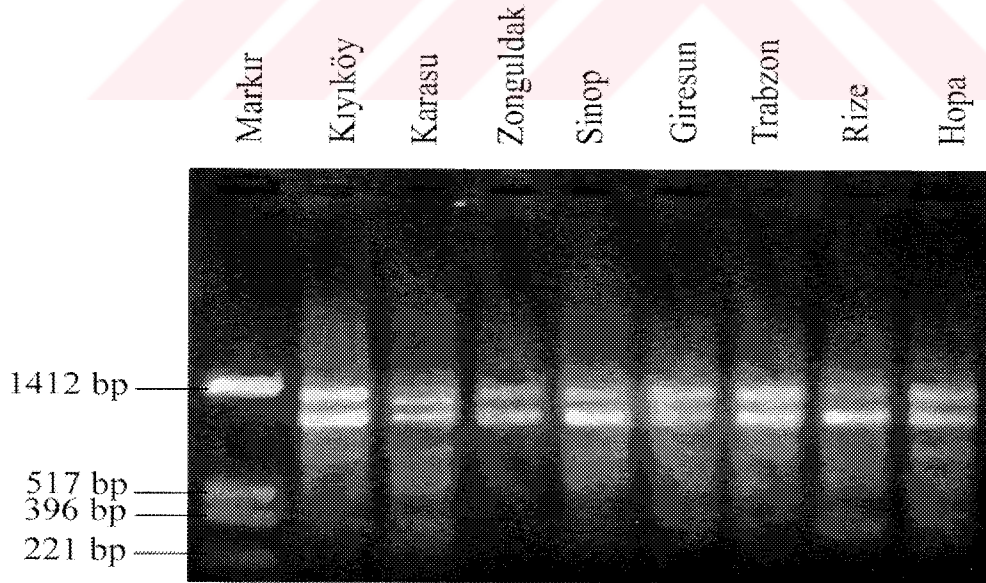
Şekil 4. Araştırmada kullanılan mezgit gDNA'sının OPA 05 (5'-AGGGGTCTTG-3') primerleri ile oluşturulan PZR amplifikasyon ürünlerinin agaroz jel üzerindeki görüntüsü. Markır: *Hinf*I ile kesilmiş pUC18 plazmidi



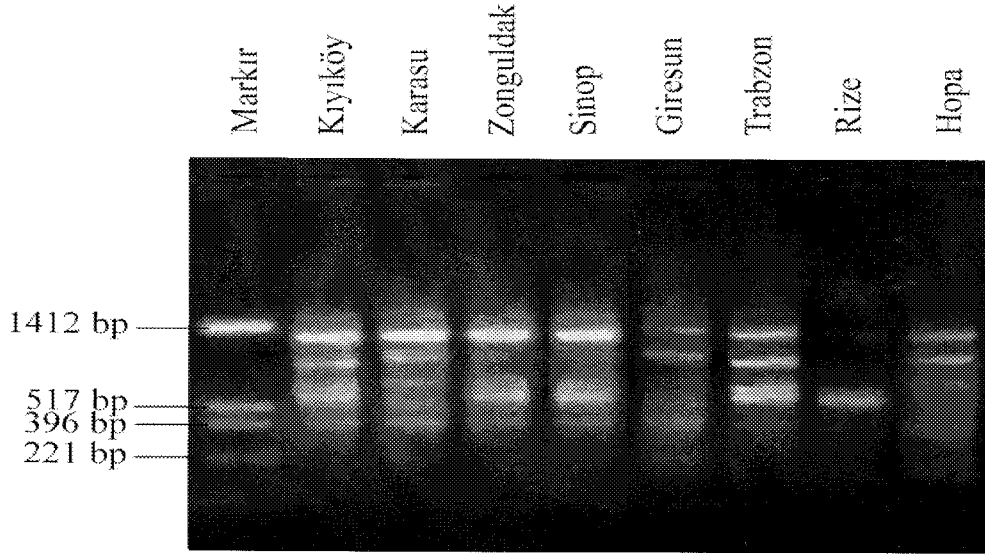
Şekil 5. Araştırmada kullanılan mezgit gDNA'sının OPA 08 (5'-GTGACGTAGG-3') primerleri ile oluşturulan PZR amplifikasyon ürünlerinin agaroz jel üzerindeki görüntüsü. Markır: *Hinf*I ile kesilmiş pUC18 plazmidi



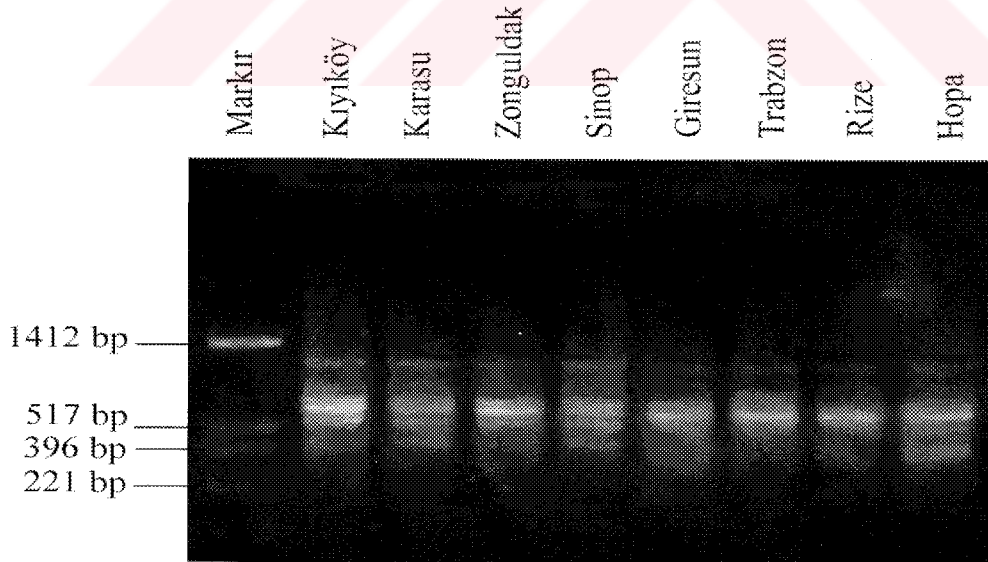
Şekil 6. Araştırmada kullanılan mezgit gDNA'sının OPA 10 (5'-GTGATCGCAG-3') primerleri ile oluşturulan PZR amplifikasyon ürünlerinin agaroz jel üzerindeki görüntüsü. Markır: *Hin*I ile kesilmiş pUC18 plazmidi



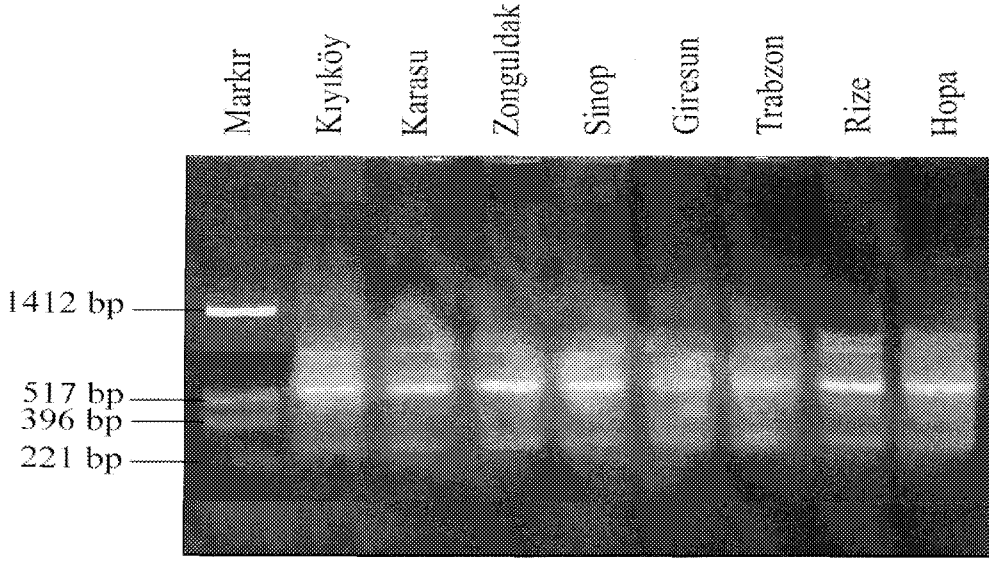
Şekil 7. Araştırmada kullanılan mezgit gDNA'sının OPA 12 (5'-TCGGCGATAG-3') primerleri ile oluşturulan PZR amplifikasyon ürünlerinin agaroz jel üzerindeki görüntüsü. Markır: *Hin*I ile kesilmiş pUC18 plazmidi



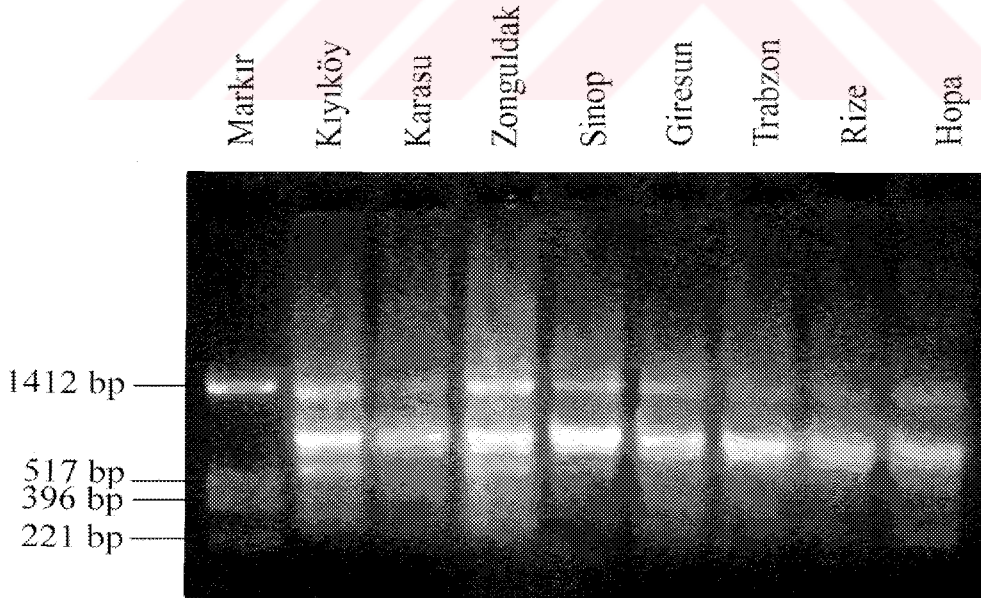
Şekil 8. Araştırmada kullanılan mezgit gDNA'sının OPA 19 (5'-CAAACGTCGG-3') primerleri ile oluşturulan PZR amplifikasyon ürünlerinin agaroz jel üzerindeki görüntüsü. Markır: *Hinf*I ile kesilmiş pUC18 plazmidi



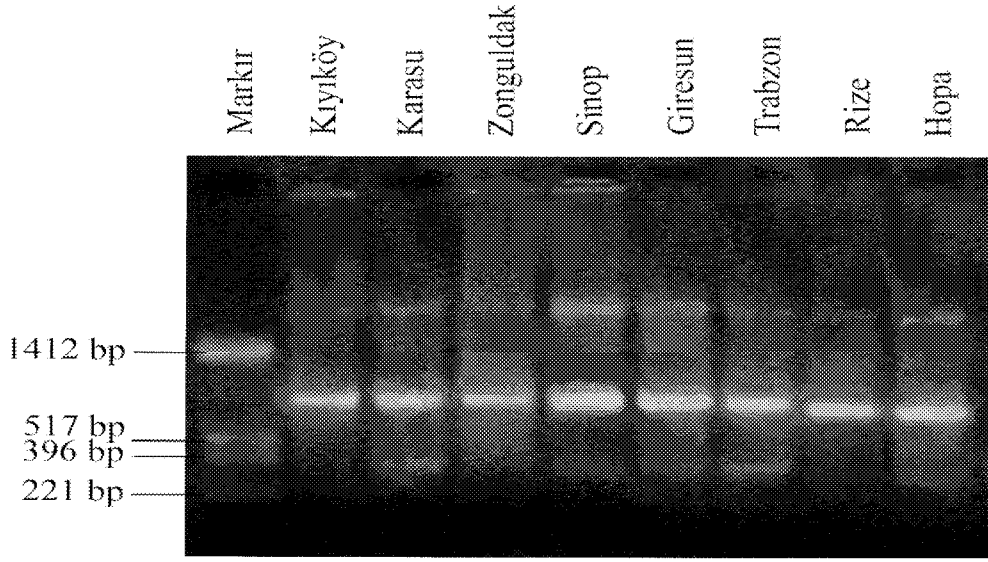
Şekil 9. Araştırmada kullanılan mezgit gDNA'sının OPB 08 (5'-GTCCACACGG-3') primerleri ile oluşturulan PZR amplifikasyon ürünlerinin agaroz jel üzerindeki görüntüsü. Markır: *Hinf*I ile kesilmiş pUC18 plazmidi



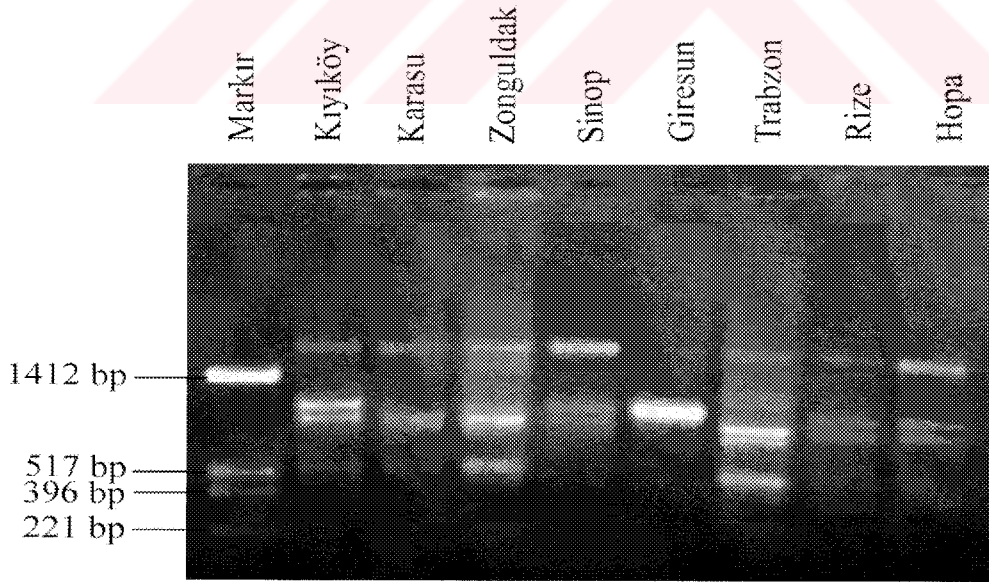
Şekil 10. Araştırmada kullanılan mezgit gDNA'sının OPC 11 (5'-AAAGCTGCGG-3') primerleri ile oluşturulan PZR amplifikasyon ürünlerinin agaroz jel üzerindeki görüntüsü. Markır: *Hinf*I ile kesilmiş pUC18 plazmidi



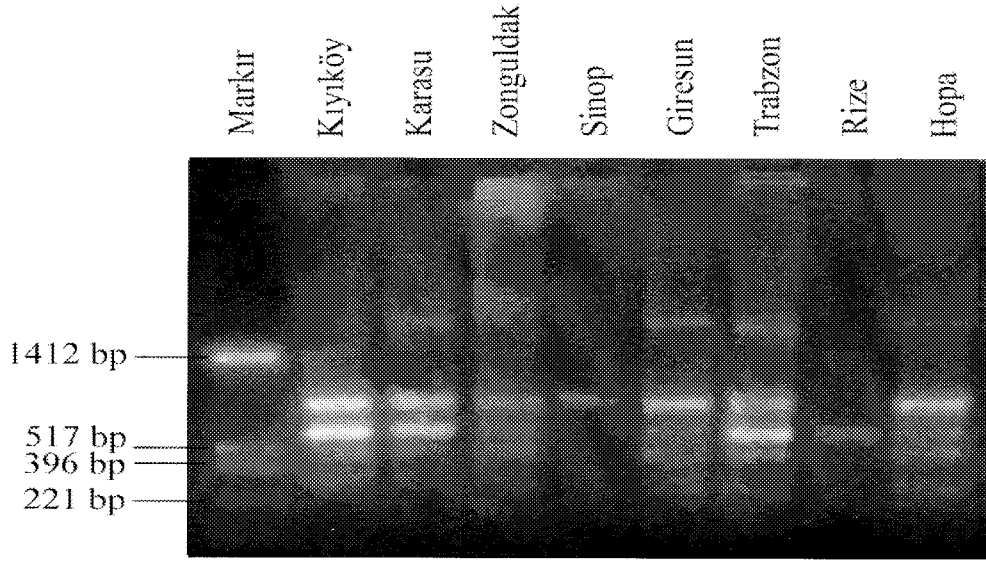
Şekil 11. Araştırmada kullanılan mezgit gDNA'sının OPAB 01 (5'-CCGTCGGTAG-3') primerleri ile oluşturulan PZR amplifikasyon ürünlerinin agaroz jel üzerindeki görüntüsü. Markır: *Hinf*I ile kesilmiş pUC18 plazmidi



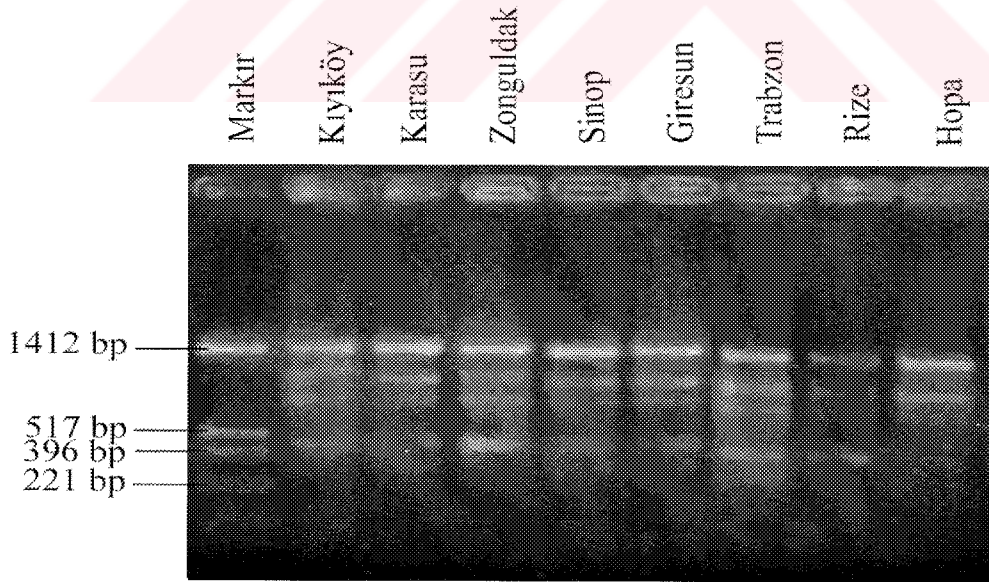
Şekil 12. Araştırmada kullanılan mezgit gDNA'sının OPAB 08 (5'-GTTACGGACC-3') primerleri ile oluşturulan PZR amplifikasyon ürünlerinin agaroz jel üzerindeki görüntüsü. Markır: *Hinf*I ile kesilmiş pUC18 plazmidi



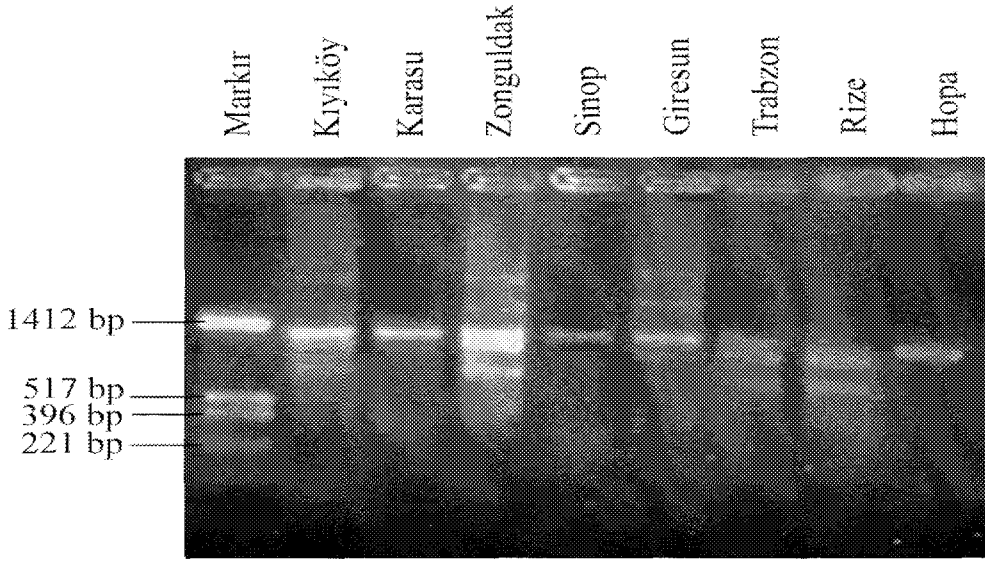
Şekil 13. Araştırmada kullanılan mezgit gDNA'sının OPAB 09 (5'-GGGCGACTAC-3') primerleri ile oluşturulan PZR amplifikasyon ürünlerinin agaroz jel üzerindeki görüntüsü. Markır: *Hinf*I ile kesilmiş pUC18 plazmidi



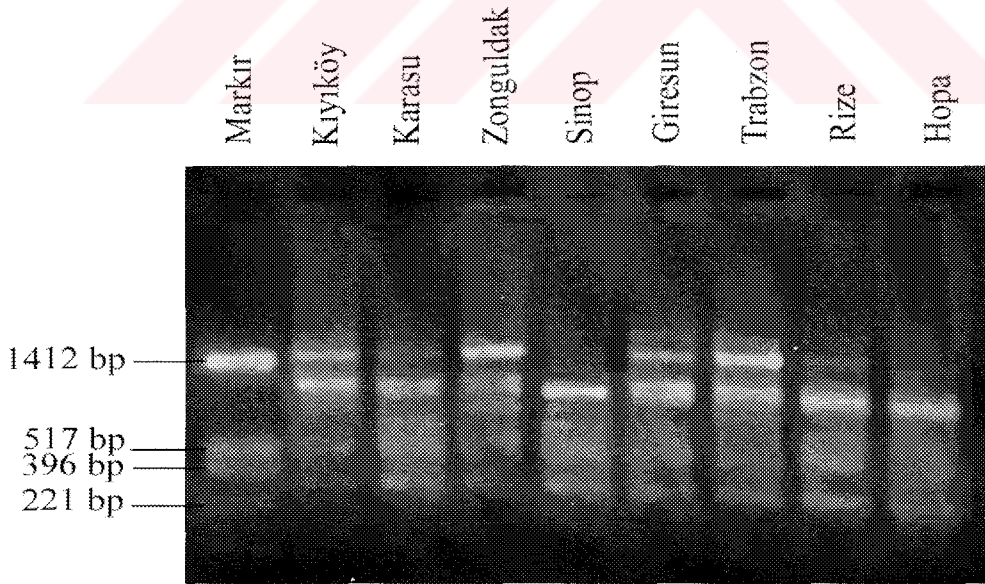
Şekil 14. Araştırmada kullanılan mezgit gDNA'sının OPAB 10 (5'-TTCCCTCCCA-3') primerleri ile oluşturulan PZR amplifikasyon ürünlerinin agaroz jel üzerindeki görüntüsü. Markır: *Hinf*I ile kesilmiş pUC18 plazmidi



Şekil 15. Araştırmada kullanılan mezgit gDNA'sının OPAB 11 (5'-GTGCGCAATG-3') primerleri ile oluşturulan PZR amplifikasyon ürünlerinin agaroz jel üzerindeki görüntüsü. Markır: *Hinf*I ile kesilmiş pUC18 plazmidi



Şekil 16. Araştırmada kullanılan mezgit gDNA'sının OPAB 14 (5'-AAGTGCGACC-3') primerleri ile oluşturulan PZR amplifikasyon ürünlerinin agaroz jel üzerindeki görüntüsü. Markır: *Hinf*I ile kesilmiş pUC18 plazmidi



Şekil 17. Araştırmada kullanılan mezgit gDNA'sının OPAB 17 (5'-TCGCATCCAG-3') primerleri ile oluşturulan PZR amplifikasyon ürünlerinin agaroz jel üzerindeki görüntüsü. Markır: *Hinf*I ile kesilmiş pUC18 plazmidi

3. 4. Benzerlik İndeksi ve Genetik İlişki Dendogramı

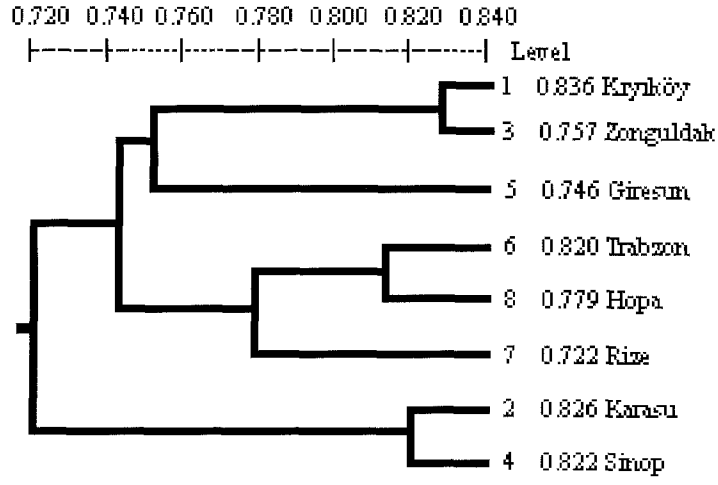
Benzerlik indeksi formülüne dayanarak klonlar arası benzerlik oranı Tablo 4' te, bu oranlara dayanılarak oluşturulan dendogram ise Şekil 18' de verilmiştir. Bu oranlara göre, 0,676 ile en düşük genetik benzerlik düzeyi Rize/Karasu kombinasyonunda bulunurken, en yüksek genetik benzerlik 0,838 ile Kıyıköy/Zonguldak kombinasyonunda tespit edilmiştir.

Dendogram, taranan RAPD bölgeleri itibariyle, biri 6 diğeri 4 istasyonundan oluşan başlıca 2 dala ayrılmıştır. Bunlardan, Kıyıköy, Zonguldak, Giresun, Trabzon, Rize ve Hopa istasyonları birinci , Karasu ve Sinop istasyonları ikinci dalda yer almaktadır (Şekil 1).

Benzerlik düzeyleri gözönüne alındığında yakın benzerlik gösteren Kıyıköy/Zonguldak, Trabzon/Hopa; Karasu/Sinop istasyonları ikili grup oluşumu görülmektedir.

Tablo 4. Mezgit populasyonlarına ait benzerlik indeksi

	Kıyıköy	Karasu	Zong.	Sinop	Giresun	Trabzon	Rize	Hopa
Kıyıköy	1.000							
Karasu	0.740	1.000						
Zonguldak	0.836	0.735	1.000					
Sinop	0.698	0.826	0.688	1.000				
Giresun	0.791	0.757	0.723	0.681	1.000			
Trabzon	0.775	0.736	0.742	0.719	0.800	1.000		
Rize	0.788	0.676	0.694	0.700	0.693	0.758	1.000	
Hopa	0.755	0.765	0.714	0.764	0.757	0.820	0.800	1.000



Şekil 18. Araştırmada kullanılan mezgit populasyonları arasındaki benzerlik indeksine göre çizilen dendrogram



4. TARTIŞMA

Araştırmamızda üzerinde çalışılan 8 farklı stoktan alınan bireylerin beyin dokusundan Promega Genomik DNA izolasyon kiti ile yüksek oranda ve saf DNA'lar elde edilmiştir.

RAPD analizi amacıyla PZR optimizasyonunun sağlanması için birçok araştırmacı tarafından farklı balık örneklerinde denenmiş PZR amplifikasyon şartları (dNTP, Mg, primer ve kalıp DNA konsantrasyonları ile denatürasyon, primerin kalıp zincire bağlanma ve sonlanma sıcaklık ve süreleri) kullanılmış, bunlardan iyi sonuç verenler seçilmiştir. Seçilen bu PZR amplifikasyon şartları daha sonra, amplifikasyon parametrelerinin süre ve sıcaklık değerleri üzerinde değişiklik yapılarak en uygun PZR amplifikasyon şartları belirlenmiştir.

Primerlerin seçiminde ise, Operon Tech. Inc. tarafından RAPD çalışmalarına uygun olarak geliştirilmiş olan dekamer primerlerden 24 tanesi ile belirlenen PZR amplifikasyon şartlarında denenmiş ve elde edilen PZR sonuçlarına göre, bunlardan 14 tanesi seçilip araştırmamızda kullanılmıştır. Bu primerlerin 8 ayrı istasyonda verdiği bant sayıları Tablo 3'de görülmektedir. Toplam 517 bant üretilen PZR amplifikasyonunda, genel olarak primerler itibarıyla en düşük sayıda bant amplifiye eden OPA-05 primeridir ve mezgit örneklerinin hepsinde 2 adet bant üretmiştir. En çok sayıda bant üreten primerler ise OPA-08 ve OPC-11 primerleri olup örnek başına 6-9 adet bant üretmişlerdir. OPA-08 primeri tüm istasyonlarda toplam 65 bant üretmiştir. Genel olarak amplifiye edilen bantların büyüklükleri ise, 218-2196 baz çifti arasında değişmektedir.

OPA 05 ve OPA 08 nolu primerlerin tüm mezgit örneklerinde ürettiği bantlar aynıdır. Bu bantlar itibarıyla bölgeler değerlendirildiğinde tamamen birbirine benzer görülmektedir. Ancak diğer bantların değerlendirilmesi sonucu bazı farklılıklar olduğu gözlenmiştir. Özellikle OPAB 09 primerinin ürettiği bantlar değerlendirildiğinde, Rize ve Hopa bölgeleri hariç diğer tüm bölgelerde farklı bantlar vermiştir.

RAPD sonuçlarının tekrarlanabilirliği açısından yapılan PZR uygulamalarında, elde edilen bant profilleri birbirleriyle tamamen benzerlik göstermektedir. Ayrıca, PZR reaksiyonlarında negatif kontrol kullanılarak, elde edilen diğer bantların mezgit DNA'larına özgü bantlar olduğunu göstermektedir.

Genetik benzerlik bulgularının değerlendirilmesi bazen yanlış sonuçlara neden olmaktadır. Zira, primer tarama bölgelerinin genomik DNA büyüklüğüne oranla oldukça küçük olması nedeni ile, belirli özellikleri kodlayan gen bölgelerinin amplifiye edilen bölgeler içinde bulunmama ihtimalinden kaynaklanmaktadır. Belirli bir coğrafik bölgeye adapte olmuş bireylerden oluşan bir populasyon içindeki ekolojik benzerliklerin, genomik benzerlikle paralellik göstermesi dikkate alınması gereken bir husustur. Bu gerçekler ışığında, elde edilen benzerlik indeksi ve dendogram sonuçlarının değerlendirilmesi ile aşağıdaki sonuçlara ulaşabiliriz.

Türkiye'nin Karadeniz kıyıları boyunca farklı coğrafik alanlarda yerleşik mezgit stokları beslenme şartları, akıntı, sıcaklık ve tuzluluk gibi bulunduğu bölgenin ekolojik şartlarına uyum göstermiş ve bunun sonucu belirli oranda genetik farklılıklar meydana gelmiştir. Verilerimizden oluşturduğumuz dendograma göre, populasyonlar arasında iki ana grup oluşmuş ve bu iki grubun birbirlerine benzerlik oranı ise 0.722'dir (Şekil 18).

Yapılan bu çalışmalar ışığında, araştırmada elde edilen benzerlik indeksi (Tablo 4) ve dendogram bulguları (Şekil 18) değerlendirildiğinde şu sonuçlara ulaşılmıştır.

Birinci ana grubu (1) oluşturan alt gruplar incelendiğinde, 1.1 alt grubunda yer alan 1. koldaki bölgelerden Kıyıköy/Zonguldak ikilisine Giresun bölgesi, bu kombinasyona da 2. kolda yer alan ve Trabzon/Hopa ikilisiyle kombinasyon yapan Rize bölgesi bağlanmaktadır. Bu alt grupta, 1. koldaki kombinasyonlar arası benzerlik, Kıyıköy/Zonguldak arasında 0,836 olarak açığa çıkmaktadır. Bu ikili kombinasyona, 0,757 benzerlik derecesinde Giresun bölgesi bağlanmaktadır. 2. koldaki kombinasyonlar arası benzerlik, Trabzon/Hopa arasında 0,820 olarak belirlenmiştir. Bu ikili kombinasyona, 0,779 benzerlik derecesiyle Rize bölgesi bağlanmaktadır. 1. alt grubun iki kolu arasındaki benzerlik ise 0,746'dır (Şekil 18).

Dendogramın ikinci ana gurubuna (2) bakıldığında ise, tek bir alt grup olduğu görülmektedir. Burada dallanma oluşmamıştır, Karasu/Sinop bölgeleri 0.822'lik bir benzerlik derecesiyle 2. ana grubu oluşturmaktadır (Şekil 18).

Yukarıda ilişkilendirdiğimiz bu grupların yanısıra, Giresun ve Rize bölgeleri dendogramda doğrudan hiçbir bölge ile eşlenmemekte ve ikincil bağlantılarla diğer gruplara bağlanmaktadır. Giresun ve Rize bölgelerinin sırasıyla 0,757, 0,779 benzerlik derecesiyle Kıyıköy/Zonguldak ve Trabzon/Hopa bölgelerine bağlanması ve aralarındaki benzerlik oranının düşük olması, bu iki grubun daha lokal bir yerleşim alanına sahip olmaları ile açıklanabilir.

5. SONUÇLAR

Bu araştırmada elde edilen bulguları başlıca 3 grup altında toplayabiliriz. Bunlar (1) mezigit stokları arasındaki genetik benzerliklerin değerlendirilmesi, (2) RAPD yönteminin etkinliğinin belirlenmesi. (3) Bu alt tre özgü primerlerin belirlenmesi.

Balık türlerinin alt populasyonları arasındaki genetik farklılıkların ortaya konulması, DNA'ya dayalı markır sistemlerinin kullanılması, genom boyutunda daha kesin ve kapsamlı değerlendirmeyi gerektirir. Elde edilen benzerlik oranları, morfolojik ve meristik özellikler dikkate alındığında, örneklerin ekolojik orjinleri ile bağlantılı olabileceği gibi bağımsız olarak da ortaya çıkabilmektedir. Bu sonuçlar; elde edilen verilerde değerlendirilmeye alınan populasyonlarının birbirleriyle olan benzerliklerinin, aynı ekolojik ortamda bulunan canlıların daha yakın olduğu, farklı ekolojik engeller ve mesafe arttıça içinde yaşayan populasyonların da genetik olarak nispeten daha uzak olduğu grlmektedir.

Sonuçta morfolojik ve meristik karakterler kullanılarak yapılan stok ayırımı çalışmalarının sonuçlarının, RAPD analizi ile elde edilen bulgularla doğrular nitelikte olduğu görülmüştür. Çünkü morfolojik ve meristik karakterlerle yapılan populasyon çalışmasında Türkiye'nin Karadeniz kıyılarındaki mezigit populasyonunun tek bir stok olduğunu işaret etmekte olup 0.722 benzerlik düzeyine sahip iki grup halinde gerçekleşen RAPD analizi sonuçları tarafından desteklenmektedir.

RAPD analizi sonucunda elde ettiğimiz farklılıklar, canlının yaşadığı ekolojik ortamın sıcaklık, akıntı, toksik madde miktarı, beslenme şartları gibi birkaç önemli faktörünün etkilerinden kaynaklanabilir. Yaptığımız araştırmalar neticesinde, elde ettiğimiz bulgulara dayanarak şu sonuçlara varabiliriz:

Karadeniz'in Türkiye kıyılarındaki mezigit stokları üzerine daha önceden yapılan stok tespit çalışmasının, çalışmalarımızın sonuçlarına dayanarak doğru olduğunu söyleyebiliriz.

Stok ayırım ve genetik karakterizasyon çalışmalarında RAPD tekniğinin verimli olduğu kendi çalışmamız da bir kez daha ispatlamış bulunmaktayız.

6. ÖNERİLER

Mezgit, ülkemizdeki ticari öneme sahip demersal balıklar içerisinde eti en fazla tüketilen türlerden biridir. Stokların geliştirilmesi ve korunması besin sağlığı açısından balıkçılık sektörü için son derece önem arz etmektedir. Özellikle Karadenizde avcılığı yapılan en önemli ticari türlerden biri olan mezgit balığı stoklarının korunması için doğru yönetimlerin gerçekleşmesi ve balıkçılık sektöründe verimin artırılması o türün stok durumu hakkında bilgiye ihtiyaç duyulmaktadır.

Karadeniz'deki mezgit stoklarının sayısının belirlenmesi ve stok yapısının analizinde moleküler genetik tekniklerin kullanılması çok daha sağlıklı sonuçlar almamızı sağlayacaktır.

RAPD tekniği doğal genetik varyasyonun az olduğu durumlarda, örnek sayısının artırılmasıyla daha kullanışlı hale getirilebilir.

Populasyonun korunabilmesi için avcılığının kontrol altında tutulması gerekmektedir. Zira mezgit, yakın gelecekte aşırı avcılıktan kaynaklanan nedenlerden ötürü, aşırı avlanmış stoklar arasına girmeye adaydır.

Üç tarafı denizlerle çevrili bir yarımada olan ülkemizin su kaynaklarında önemli bir yer tutan deniz ürünlerinin en iyi şekilde değerlendirilmesi için son yıllarda dünyada uygulama alanları hızla artan güçlü moleküler tekniklerin ülkemizde balıkçılık çalışmalarında da yaygın olarak kullanılması gerekmektedir.

7. KAYNAKLAR

- Akşiray, F., 1987. Türkiye Deniz Balıkları ve Tayin Anahtarı, İ. Ü. Rektörlüğü Yayınları, 3490, 324-326.
- Anonim, 1994. Su ürünleri istatistikleri (1985-1994), T.C. Başbakanlık Devlet İstatistik Araştırma Enstitüsü , Ankara.
- Avise, J. C., Arnold, J., Ball, R. M., Bermingham, E., Lamb, T., Neigel, J. E., Reeb, C. A. and Saunders, N. C., 1987. Intraspecific phylogeography: the mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics, Ann. Ren. Ecol. Syst., 18, 489-522.
- Avise, J.C. 1994. Molecular markers, Natural history and evolution.
- Baillie, M., Higgins, K., Kerestes, R. M., McGrew, D., Richards, B. L., Richards, J. and Salb, A., 1996. Use of RAPDs to Study Genetic Diversity Within a Population of Crayfish Final Paper Biology 213, Mount Holyoke College.
- Balkaş, T., Dechev, Mihnea, R., Serbanescu and Unlueata, U., 1990. The state of marine environment in the Black Sea region, UNEP Reg. Seas Rep. Stud., 124:47 pp.
- Bardakci, F. and Skibinski, D.O.F., 1994. Application of the RAPD technique in tilapia fish: Species and subspecies identification, Heredity, 73, 117-123.
- Bartel, J. A., Adams, R. P., James, S. A., Mumba, L. E. and Pandey, R. N., 2002. Variation among *Cupressus* species from the western hemisphere based on random amplified polymorphic DNAs, Bioch. Syst. And Ecology, 31, 693-702.
- Bártfai, R., Egedi, S., Yue, G. H., Kovács, B., Urbányi, B., Tamás, G., Horvárt, L. and Urbán, L., 2003. Genetic analyses of two common carp broodstocks by RAPD and micrasatellite markers, Aquaculture, 219, 157-167.
- Bingel, F., Gücü, A. C., Stepnowski, A., Niermann, U., Doğan, M., Kayıkçı, Y., Mutlu, E., Avşar, D., Kıdeyş, A. E., Uysal, Z., İşmen, A., Genç, Y., Okur, H. and Zengin, M., 1995. Stocks Assessment Studies for the Turkish Black Sea Coast, METU Institute of Marine Sciences Erdemli and Fisheries Research Institute Yomra, Final Report, 159.
- Booth, J.D., Street, R. and Smith, P.J., 1990. Systematic status of the rock lobsters *Jasus edwardsii* from New Zealand and *J. novaehollandiae* from Australia, N.Z. J. Mar. Freshwat. Res., 24, 239-249.
- Borowsky, R. L., McClelland, M., Cheng, R. and Welsh, J., 1995. Arbitrarily primed DNA fingerprinting for phylogenetic reconstruction in vertebrates: the *Xiphophorus* model, Mol. Biol. Evol., 12, 1022-1032.

- Bowers, A.B., 1954. Breeding and growth of whiting (*Gadus merlangus* L.) In Isle of Man Waters, Marine Biological Ass. 33, 98-105.
- Burke, T., 1989. DNA fingerprinting and other methods for the study of mating succes, Trends Ecol, Evol., 4, 139-144.
- Callelas, C. and Ochando, M. D., 1998. Identification of Spanish barbel species using the RAPD technique, Journal of Fish Biology, 53, 208-215.
- Carvalho, G.R., 1993. Evolutionary Aspects of Fish Distribution-Genetic-Variability and Adaptation, J. Fish Biol. 43, 63-73.
- Carvalho, G.R. and Hauser, L., 1994. Molecular-Genetics and the Stock Concept in Fisheries, Rev. Fish Biol. Fish., 4, 326-350.
- Chalmers, K. J., Waugh, R., Sprent, J. L., Simons, A. J. and Powel, W., 1992. Detection of genetic variation between and within population of *Glaricidia senium* and *G. Maculata* using RAPD markers, Heredity, 59, 465-472.
- Chambers, R. J., Mcquaid, C. D. and Kirby, R., 1998. The use of randomly amplified polymorphic DNA to analyze the genetic diversity, the systematic relationships and the evolution of intertidal limpets, *Siphonaria spp.* (Pulmonata: Gastropoda), with different reproductive modes, Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 227: 49-66.
- Cohen, D.M., Inada, T., Iwamoto, T., and Scialabba, N., 1990. FAO species catalogue, Gadiform fishes of the world (Order *Gadiformes*), An annotated and illustrated catalogue of cods, hakes, grenadiers and other gadiform fishes known to date, FAO Fish. Synop., 10 (125). 442 p.
- Coelho, M. M., Brito, R. M., Pacheco, T. R., Figueiredo, D. and Pires, A. M., 1995. Genetic variation and divergence of *Leuciscus pyreanicus* and *Leuciscus carolitertii* (Pisces, Cyprinidae), J. Fish. Biol., 47, 243-258.
- Creech, S., 1991. An electrophoretic investigation of populations of *Atherina boyeri* Risso, 1810 and *A. presbyter* Cuvier, 1829 (Teleostei: Atherinidae): genetic evidence in support of the two species, J. Fish. Biol., 39, 807-816.
- Crooijmans, R. P. M. A., 1997. Bierbooms, V. A. F., Komen, J., Van der Poel, J. J. and Groenen, M. A. M., Microsatellite markers in common carp (*Cyprinus carpio* L.), Animal Genetics, 28, 129-134.
- Çelikkale, M. S., Düzgüneş, E. ve Okumuş, İ., 1999. Türkiye Su Ürünleri Sektörü, İstanbul Ticaret Odası, Yayın no: 1992-2, 32-35, I. Baskı, Lebib Yalkın Yayınları ve Basım İşleri, İstanbul.
- Dahle, G., Rahman, M., and Eriksen, A.G., 1998. RAPD fingerprinting used for discriminating among three populations of Hilsa shad (*Tenualosa ilisha*), Fisheries Research, 32, 263-269.

- Dahle, G., 1991. Cod, *Gadus morhua* L., populations identified by mitochondrial DNA, J. Fish Biol., 38, 295-303.
- Demirsoy, A., 1998. Omurgalılar (Amniyota) (Yaşamın Temel Kuralları), Cilt III / Kısım 1, Hacet. Üniv. Yay. Dördüncü Baskı: 416-420, Meteksan Basımevi, Ankara.
- DİE, 2003. Su Ürünleri İstatistikleri 2001, T.C. Başbakanlık Devlet İstatistik Enstitüsü, Yayın No, Devlet İstatistik Enstitüsü Matbaası, Ankara, 6-7s.
- Ellsworth, D. L., Rittenhouse, K. D. and Honeycutt, R. L., 1993. Artifactual variation in randomly amplified polymorphic DNA banding patterns, Biotechniques, 14, 214-217.
- Edmands, S., Moberg, P.E. and Burton, R. S., 1996. Allozyme and Mitochondrial DNA evidence of population subdivision in the purple sea urchin *Strongylocentrotus purpuratus*, Mar. Biol., 126, 443-450.
- Espinasa, L. and Borowsky, R., 2000. Eyed cave fish in a karst window, J. Cave Karst., Volume 62, Number 3: 180-183.
- Fajen, A., Breden, F., 1992. Mitochondrial DNA sequence variation among natural populations of the Trinidad guppy, *Poecilia reticulata*, Evolution, 1457-1465.
- Ferraris, J.D. and Palumbi, S.R. 1996. Molecular Zoology: Advances, Strategies and Protocols. Wiley-Liss, New York, Brisbane, Toronto.
- Féral, Jean-Pierre., 2002. How useful are the genetic markers in attempts to understand and manage marine biodiversity, Journal of Exp. Mar. Biol. And Ecology, 268, 121-145.
- Fisher, W., 1973. FAO species identification sheets for fishery purposes Mediterranean and Black Sea (Fishing Area 37), FAO, Rome, (I).
- Gillespie, R. B. and Guttman, S. I., 1993. Correlations between water quality and frequencies of allozyme genotypes in spotfin shiner (*Notropis spilopterus*) populations, Env. Pollut., 81, 147-150.
- Grant, W. S., Zhang, C. I. and Kobayashi, T., 1987. Lack of genetic stock discretion in Pacific cod (*Gadus macrocephalus*), Can. J. Fish. Aquat. Sci., 44, 490-498.
- Grosberg, R. K., Levita, D. R., Cameron, B. B., 1996. Characterization of genetic structure and genealogies using RAPD-PCR markers: a random primer for the novice and nervous. In: Ferraris, J. D., Palumbi, S. R., (Eds), Molecular Zoology: Advances, Strategies and Protocols, Wiley-Liss, New York, pp. 67-100.
- Hadrys, H., Balick, M. and Schierwater, B., 1992. Applications of random amplified polymorphic DNA (RAPD) in molecular ecology, Molecular Ecology, 1, 55 - 63.

- Harada, K., Kinoshita, A., Shukor, N. A. A, Tachida, H. and Yamazaki, T., 1994. Genetic variation estimated in three *Shorea* species by RAPD analysis, Jpn. J. Genet., 69, 713-718.
- Hart, J. L., 1973. Pacific fishes of Canada, Bull. Fish. Res. Board Can., 180. 740 pp.
- Hillis, D.M., Moritz, C. and Mable, B.K., 1996. Molecular Systematics, 2nd edn. Sinauer Associates, Sunderland.
- Hindar, K., Ryman, N. and Utter, F., 1991. Genetics effects of cultured fish on natural fish populations, Can. J. Fish Aquat. Sci., 48, 945-957.
- Hislop, J. R. G. and Hall, W. B., 1974. The fecundity of whiting, *Merlangius merlangus* (L.) in the North Sea, the Minch and at Iceland, J. Cons. Int. Explore. Mer., 36(1):42-49.
- Holm, T., Culver, M. and Martin, C., 1987. Variable number tandem repeat (VNTR) markers for human gene mapping, Science, 235, 1612-1622.
- Huettel, M. D., 1980. Genetic effect of multiple population bottlenecks in the Mediterranean fruit fly (*Ceratitidis capitata*), Genetics, 94, S47-S48.
- Ihssen, P. E., Booke, H. E., Casselman, J. M., McGlade, J. M., Payne N.R. and Utter, F. M., 1981 Stock identification: materials and methods, Can. J. Fish. Aquat. Sci., 38, 1838-1855.
- Imsiridou A., Karakousis, Y. and Triantaphyllidis, C., 1997. Genetic polymorphism and differentiation among chub *Leuciscus cephalus* (Pisces, Cyprinidae) populations of Greece, Bioch. Syst. Ecol., 25: 537-546.
- Imsiridou, A. and Zaldivar, J. M., 1999. Methodology and formats for genetics identification of fish species, European Commission, Joint research Centre, Institute for Systems, Informatics and Safety, Systems Analyses & Information Assessment Unit, Technical note N° 1.99.16, Italy.
- Ivanov, L. and Beverton, R. J. H., 1985. The fisheries resource of the Mediterranean, Part Two: Black Sea. Rome: FAO. Stud. Rev. Gen. Fish., Council Medit., 60:135 pp.
- İşmen, A., 2001. Use of discriminant function for the morphometric and meristic separation of whiting stocks, *Merlangius merlangus euxinus*, along the Turkish Black Sea Coast, Turk. J. Zool., 25, 297-304.
- Jackson, T., Ferguson, M. M., Danzman, R. G., O'Connell, M. and Ihssen, P. E., 1995. Transmission genetics of nuclear DNA loci in rainbow trout, Molecular biology in fish, fisheries and aquaculture, An international symposium, Plymouth, UK.
- Jeffreys, A. J., Wilson, V. and Thein, S. L., 1985a. Hypervariable "minisatellite" regions in human DNA, Nature, Lond., 316, 67-73.

- Jeffreys, A. J., Wilson, V. and Thein, S. L., 1985b. Individual-specific “ fingerprints” of human DNA, Nature, Lond., 316, 76-79.
- Johnson, S. L., Midson, C. N., Ballinger, E. W. and Postlewait, J. H., 1994. Identification of RAPD primers that reveal extensive polymorphism between laboratory strains of zebrafish, Genomics, 19, 152-156.
- Kessler, C., 1987. Class II restriction endonucleases. In: Obe, G., Basler, A. (Eds), Cytogenetics, Springer Verlag, Berlin, pp. 225-279.
- 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 USA, 86: 6196-6200.
- Kosswig, C. and Türkmen, C., 1955. Türkiye Denizleri Balıkçılık Takvimi, 2. Baskı, İst. Üniv. Fen. Fak. Hidrobiyoloji Araştırma Enstitüsü Yayınlarından, Sayı:5, İstanbul, 64s.
- Kumpf, H. E., Vaught, R. N., Grimes, C. B., Johnson, A. G. And Nakamura, N. L., 1987. Proceeding of the Stock Identification Workshop, NOAA Tech. Memo, NMFS-SEFC, 199: 288pp.
- Kutaygil, N., and Bilecik, N., 1979. La distribution du *Raja clavata* L. sur le littoral anatolien de la mer Noire, Rapp. Comm. Int. Mer Médit., 25/26, 10, 95-98.
- Levitan, D. R. and Grosberg, R. K., 1993. The analysis of paternity and maternity in the marine hydrozoan *Hydractinia symbiolongicarpus* using randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) markers, Mol. Evol., 2, 315-326.
- Linn, S. and Arber, W., 1968. Host specificity of DNA procude by *Escherichia coli*: X. In vitro restriction of phage fd replicative form, Proc. Natl. Acad. Sci., U. S. A., 59, 1300-1306.
- Litt, M., Luty, J. A., 1989. A hypervariable microsatellite revealed by in vitro ampli@cation of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene, Am J Hum Genet., 44:397±401
- Maltagliati, F., Domenici, P., Fosch, C. Franch., C, Piero., Casu, M. and Castelli, A., 2003. Small-scale morphological and genetic differantiation in the Mediterranean killfish *Aphanius fasciatus* (Cyprinodontidae) from a coastal brackish-water pond and an adjacent pool in northern Sardinia, Oceanologica Acta, 26, 111-119.
- Mamuris, Z., Apostolidis, A. P. and Triantaphyllidis, C., 1998. Application of random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers to evaluate intraspecific genetic variation in red mullet (*Mullus barbatus*), Marine Biology, 132, 2, 171-178.
- Markert, C. L. and Moller, F., 1959. Multiple forms of enzymes. Tissue ontogenetic and species specific patterns, Proc. Natn. Acad. Sci., 45, 743-763.

- McComb, J. D., 1999. The development of dual-primer RAPD and application the study anthropological to genetics, University of Kansas.
- Mork, J., Rayman, N., Stahl, G., Utter, F. and Sundnes, G., 1985. Genetic variation in Atlantic cod (*Gadus morhua*) throughout its range, Can. J. Fish. Aquat. Sci., 42, 1580-1587.
- Mullis, K. B. and Faloona, F. A., 1987. Specific synthesis of DNA in vitro via polymerase catalyzed chain reaction, Methods Enzymol., 155, 335-350.
- Mullis, K., Faloona, F., Scharf, S., Saiki, R., Horn, G. and Erlich, H., 1986. Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: the polymerase chain reaction, Cold Spring Harbor Sym. Quant. Biol., 51, 263-273.
- Muralidharan, K. and Wakeland, E. K., 1993. Concentration of primer and template qualitatively affects products in random-amplified polymorphic DNA PCR, BioTechniques, 14, 3, 362-364.
- Musyl, M. K. and Keenan, C. P., 1992. Population genetics and zoogeography of Australian freshwater golden perch, *Macquaria ambigua* (Richardson 1845) (Teleostei: Percichthyidae), and electrophoretic identification of a new species from the Lake Eyre basin, Aust. Mar. Freshwat. Res., 43, 1585-1601.
- Naish, K. A., Warren, M., Bardakci, F., Skibinski, D. O. F., Carvalho, G. R. and Mair, G. C., 1995. Multi-locus DNA fingerprinting and RAPD reveal similar genetic relationships between strains of *Oreochromis niloticus* (Pisces: Cichlidae), Molecular Ecology, 4, 271-274.
- Nakamura, Y., Leppert, M., O'Connell, P., Wolff, R., Holm, T., Culver, M., Martin, C., 1987. Fujimoto, E., Hoff, M., Kumlin, E. and White, R., Variable number tandem repeat (VNTR) markers for human gene mapping, Science, 235, 1612-1622.
- Neilson, J. S., 1984. Fishes of the World. 2nd Edition, John Wiley & Sons, Inc, New York, 523 p.
- Neigel, J. E., 1997. A comparison of alternative strategies for estimating gene flow from genetic markers, Annual Review of Ecology and Systematic, 28: 105-128.
- Nordmann, A. Von., 1840. Observations sur la fauna pontique, In: A. de Démidoff, Voyage dans la Russie méridionale et la Crimée, Vol. III. Paris, Voyage Russie Mérid., 353-635.
- Nordmann, J.R., 1951. A History of Fishes, Ernest Benn Limited, London.
- Ovenden, J. R., 1990. Mitochondrial DNA and marine stock assessment: a review, Aust. J. Mar. Fresh. Res., 41, 835-853.
- Palumbi, S.R., 1996. PCR and molecular systematics, Molecular Systematics, 2:205-247.

- Park, L. K., Brainard, M. A. and Dightman, D. A., 1993. Low levels of intraspecific variation in the mitochondrial DNA of chum salmon (*Oncorhynchus keta*), Mol. Mar. Biol. Biotech., 2, 362-370.
- Postlethwait, J. H., Johnson, S. L., Midson, C. N., Talbot, W. S., Gates, M., Ballinger, E. W., Africa, D., Andrews, R., Carl, T., Eisen, J. S., Horne, S., Kimmel, C. B., Hutchinson, M., Johnson, M. and Rodriguez, A., 1994. A genetic linkage map for the zebrafish, Science, 264, 669-703.
- Roderick, G. K., 1996. Population genetic studies of tephritid flies of economic importance, In fruit Fly Pests. A world Assesment of Their Biology and Management, pp. 267-271, Delray Beach, Florida: St. Lucie Pres.
- Rohlf, F. J., 1990. NTSYS-pc Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System Version 1.8, Applied Biostatistics, New York.
- Sanger, F., Nicklen, S., and Coulson, A. R., 1977. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors, Proc. Natl Acad. Sci., USA 74, 5463-5467.
- Seyoum, S. and Kornfield, I., 1992. Identification of the subspecies of *Oreochromis niloticus* (Pisces: Cichlidae) using restriction endonuclease analysis of mitochondrial DNA, Aquaculture, 102:29-42.
- Shulman, G. E., 1974. Life Cycles of Fish, Physiology and Biochemistry, New York, J. Wiley and Sons, 258 p.
- Slastenenko, E., 1956. Karadeniz Havzası Balıkları, Translated from the Russian by Atlan, H. E.B.K. Umum Müd. Yay., İstanbul.
- Smith, P.J., Jamieson, A. and Birley, A. J., 1990. Electrophoretic studies and stock concept in marine teleosts, J. Cons. int. Explor. Mer., 47, 231-245.
- Smith, P. J., and Conroy , A. M., 1992. Loss of genetic variation in hatchery-produced abalone, *Haliotis Iris*, N. Z. J. Mar. Freshwat. Res., 26, 81-85.
- Sokal, R.R. and Sneath, P.H., 1963. Principle of Numerical Taxonomy. Freeman, San Francisco, CA.
- Sultmann, H., and Mayer, W. E., 1995. Reconstruction of cichlid fish phylogeny using nuclear DNA markers. In Kocher, T. D., and Stepien, C. A. Eds Molecular Systematics of Fishes, pp. 39 – 51, Acedemic Press, San Diego, California.
- Takagi, M. and Taniguchi, N., 1995. Random amplified polymorphic DNA (RAPD) for identification of three species of *Anguilla*, *A. japonica*, *A. australis* and *A. bicor.*, Fish. Sci., 61, 884-885.
- Taylor, E. B., 1991. A review of local adaptation in Salmonidae, with particular reference to Pacific and Atlantic Salmon, Aquaculture, 98, 185-207.

- Taylor, E. B., 1991. A review of local adaptation in Salmonidae, with particular reference to Pacific and Atlantic Salmon, Aquaculture, 98, 185-207.
- Turan, C., 2000. Stok ve tür tespitinde kullanılan moleküler genetik teknikler, IV. Su Ürünleri Sempozyumu, 151-178, Erzurum.
- URL 1, www.fishbase.org/Nomenclature/ScientificNameSearchList.cfm, Species Summary, *Merlangius merlangus euxinus*, 13 Nisan 2003.
- Utter, F.M. and Ryman, N., 1993. Genetic markers and mixed stock fisheries, Fisheries, 18, 11-21.
- Vos, P., Hogers, R., Bleeker, M., Reijans, M., van de Lee, T., Hornes, M., Frijters, A., Pot, J., Peleman, J., Kuiper, M. and Zabeau, M., 1995. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting, Nucleic Acids Research, 21, 4407-4414.
- Vuorinen, J., Aasje, T. F. and Sandlund, O. T., 1991. Genetic changes in a vendace *Coregonus albula* (L.) population, 92 years after introduction, J. Fish Biol., 39, Suppl.A, 193-201.
- Waples, R. S., 1990. Temporal changes of allele frequency in Pacific salmon: implication for mixed stock fishery analysis, Can. J. Fish. Aquat. Sci., 47, 968-976.
- Ward, R. D., and Grewe, P., 1994. Appraisal of molecular genetic techniques in fisheries, Rev. Fish Biol. Fish., 4, 300-325.
- Welsh, J. and McClelland, M., 1990. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers, Nucleic Acids Res., 18, 7213-7218.
- Wheeler, A., 1968. The Fishes of the British Isles and North-West Europe, London.
- Whitehead, P. J. P., Bauchot, M. L., Hureau, J. C., Nilsen, J. and Tortonese, E., 1986. Fishes of the North-Eastern Atlantic and the Mediterranean, Unesco ed. Printed by Richard Clay Ltd., U.K.
- Williams, D. J., Kazianis, S. and Walter, R. B., 1998. Use of Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) for identification of largemouth bass subspecies and their intergrades, Transactiono of the American Fisheries Society, 127, 5, 825-832.
- Williams, J. G. K., Kubelik, A. R., Livak, K. J., Rafalski, J. A., and Tingey, S. V., 1990. DNA polymorphism amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers, Nucleic Acids Res., 18, 6531-6535.
- Winans, G. A., 1980. Geographic variation in the milkfish *Chanos chanos*. I. Biochemical evidence, Evolution, 34, 558-574.
- Yamaoka, K., Han, H.-S., and Taniuchi, N., 1992. Genetic dimorphism in *Pseudocaranx dentex* from Tosa Bay, Japan, Nippon Suisan Gakkaishi, 58, 39-44.

- Yeatman, J., and Benzie, J. A. H., 1994. Genetic structure and distribution of *Photoligo* spp., In Australia. Mar. Biol., 118, 79–87.
- Yu, K. F. and Pauls, K.P., 1993. Optimization of DNA extraction and PCR procedures for Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) analysis in plants. In: PCR Technology: Current Innovations, H.G. Griffin and A.M. Griffin, eds. CRC Press Inc., Boca Raton, Florida, pp. 193–200.
- Zhang, S. M., Deng, H., Yang, Y. and Wu, Q. J., (2000). Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) and genetic diversity of the *Chinese sturgeon* (*Acipenser sinensis*), Oceanologia et Limnologia Sinica, 31(1): 1-7.



ÖZGEÇMİŞ

Yusuf BEKTAŞ, 02.12.1974 tarihinde Almanya'nın Würselen kasabasında doğdu. İlk ve ortaöğretimini Vakıfkebir'de tamamladı. 1994 yılında Atatürk Üniversitesi Kazım Karabekir Eğitim Fakültesi Biyoloji Bölümü'nde yükseköğrenimine başladı ve bu bölümden 1998 yılında mezun oldu.1998 yılında Milli Eğitim Bakanlığına bağlı olarak öğretmenlik görevine başladı. Aynı yıl K.T.Ü. Biyoloji Bölümü'nde açılan Yüksek Lisans Bilim Sınavı'nı kazandı. Ekim 1998 - Aralık 1999 tarihleri arasında Trabzon'un Arsin ilçesinde öğretmen olarak çalıştı.1998-1999 Öğretim yılında K.T.Ü. Yabancı Diller Bölümü Yüksek Lisans İngilizce Hazırlık Programı'nı tamamladı. Aralık 1999 tarihinde açılan sınavı kazanarak K.T.Ü Rize Su Ürünleri Fakültesi'nde Araş. Gör. olarak çalışmaya başladı. Halen bu görevine devam etmektedir. Evlidir.

