



## Gökkuşaağı Alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*, W. 1792) Genetik tekniklerin uygulanması

→ Levent DOĞANKAYA  
Süleyman BEKCAN

Ankara Üniversitesi Ziraat  
Fakültesi Su Ürünleri Bölümü

### Özet:

Günümüzde insan beslenmesinde su ürünlerinin payı ve önemi giderek artarken, bu alandaki biyoteknolojik çalışmalar da daha fazla ilgi konusu olmaktadır. Kromozom manipulasyonları, gen transferi ve filogenetik çalışmaları su ürünleri en çok çalışılan konular haline gelmiştir. Özellikle yetiştiricilikte verimi artırmaya olan katkıları bu yöntemlerin önemini daha da artırmaktadır. Özellikle gökkuşaağı alabalıkları tüm dünyada en çok yetiştiriciliği yapılan balık türlerinden biridir ve biyoteknolojik çalışmalara en fazla konu olan balık türlerinin başında gelmektedir.

**Anahtar kelimeler:** Gökkuşaağı alabalığı, polyploidy, ginogenez, androgenez, gen transferi  
Gökkuşaağı alabalıklarının esas

anavatanları Kuzey Amerika'da California'nın dağlık nehirlerinden olan Mc-Coud-River olup buradan bütün dünyaya ve bu arada da Türkiye'ye kültür yoluyla yayılmıştır (Atay, 1987). Kültür koşullarında gelişimi çok iyidir. Doğal sularda besinlerini yusufcuklar ve larvaları, su böcekleri ve çeşitli larvalar oluşturur (Atay, 1987). Yem seçicilikleri yoktur ve kuru pelet yemi kolayca alırlar.

Cinsi olgunluğa 2-3 yaşlarında ulaşırlar. Yumurtlama zamanları Kasım-Şubat ayları arasındadır. Bir yumurtlama döneminde dişiler 1000-5000 kadar yumurta verirler, yumurtaları küre biçiminde sarı-turuncu renklidir, çapları 3-6 mm arasında değişir (Atay, 1987).

Bugün toplam dünya su ürünleri üretiminin 28.27 milyon tonu su ürünleri yetiştiriciliğinden elde edilmektedir. Bu üretimin büyük bir bölümünü ise (17.13 milyon ton) içsu balıkları oluşturmaktadır (FAO, 1999). Gökkuşaağı alabalığı, dünyada ve ülkemizde en çok yetiştirilen tür olma özelliğini taşımaktadır. Ülkemizde gökkuşaağı alabalığı, 1999 yılındaki 67.000 tonluk kültür balığı üretiminin 36.870 tonluk kısmını oluşturmaktadır (Anonim, 2001). Balık yetiştiriciliğinde verimi arttırmaya yönelik çalışmalar son yıllarda hızla gelişmektedir ve bu yönde yapılan biyoteknolojik çalışmalar çerçevesinde genetik tekniklerin uygulanması büyük önem taşımaktadır.

Son yıllarda bir takım genetik teknikler gökkuşaağı alabalığına (*Oncorhynchus mykiss*) etkin biçimde uygulanmaktadır. Bu teknikler, gökkuşaağı alabalığı üretimine önemli etkiler yapmakta ve türlerin detaylı genetik analizini kolaylaştırmaktadır.

### Kromozom Seti Manipulasyonu

Gökkuşaağı alabalığı, diğer balıklar gibi, kromozom setlerindeki yapay manipulasyonlara karşı, erken gelişme dönemlerinde ol-



dukça dayanıklıdır (Purdom, 1983; Thorgaard, 1986). Üç ya da dört set kromozoma sahip (triploid, tetraploid) alabalıklar hayatta kalabilirler ve temel genetik araştırmalar açısından ilginç özelliklere sahiptirler. Triploid gökkuşağı alabalıklarının kısır olduğu, doğada ortaya çıkan triploid bireyler üzerinde yapılan çalışmalarda keşfedilmiştir. Bunu takiben ikinci kutup hücrelerinin atılmasını engelleyerek ya da birinci hücre bölünmesini aksatarak triploid ve tetraploid oluşumunu sağlamaya yönelik sıcak şok ya da basınç şoku teknikleri uygulanmıştır (Chourrout, 1980; Thorgaard et al., 1981; Lou and Purdom, 1984, Atay ve ark., 2000a,b).

Triploid gökkuşağı alabalığı dişilerinin üreme karakteristikleri bunlara olan ilgiyi geçerli kılmaktadır (Lincoln and Scott, 1984). Triploid dişiler çok düşük gonad gelişimine ve cinsiyet hormonlarının henüz olgunlaşmamış seviyelerine sahiptir. Normal diploidler cinsel olgunluğa ulaşıırken, bunlar dış görünüşlerini ve et kalitesini korur (Bye and Lincoln, 1986). Triploid erkekler, kayda değer ölçüde gonad gelişimi gösterir, sekonder cinsiyet özellikleri gelişir, düzensiz, aneuploid kromozomlu ve sınırlı sayıda sperm üretirler. Sonuç olarak, tümüyle dişi triploid populasyonların üretilmesi tercih edilmektedir (Lincoln and Scott, 1983). Genel olarak triploidler fizyolojik etkinlik bakımından normal diploidlerle aynı ya da biraz daha geri bulunmuştur. Bu gerilik, büyük ve kısır balıkların tercih edildiği durumlarda önemsiz kalmaktadır (Bye and Lincoln, 1986).

Tetraploid gökkuşağı alabalıkları, kısır triploidlerin üretiminde kullanılabilme potansiyellerinden dolayı ilgi konusu olmuştur. Ancak düşük yaşama oranına sahiptirler. Tetraploid erkekler (Chourrout et al., 1986a) ve dişiler (Chourrout and Nakayama, 1987)

cinsel olgunluğa ulaşır ve normal dirloidlerle çiftleştirildiğinde triploid üretirler. Tetraploid erkekler normal erkeklerle göre daha düşük dölleme kapasitesine sahiptir, bunun nedeni büyük ihtimalle daha büyük olan spermlerinin normal yumurtaların mikropilinden geçişinin zor olmasıdır (Chourrout et al., 1986a).

Triploid interspesifik (tür içi) hibridler salmonidlerdeki diploid hibridlere oranla nispeten yüksek yaşama oranı göstermiştir ve gökkuşağı alabalığını içeren birçok hibrid ilginç özellikler sergilemektedir. Dişi gökkuşağı alabalığı ile erkek coho salmon (*O. kisutch*) arasındaki triploid hibridler, gökkuşağı alabalığı için ölümcül olan fakat coho salmonlarda ölüme yol açmayan iki virus: VHSV (Dorson and Chevassus, 1985) ve IHNV (Parsons et al., 1986) 'e karşı dayanıklılık göstermektedir. Dişi gökkuşağı alabalığı ile erkek dere alabalığı (*Salvelinus fontinalis*) arasındaki triploid hibridler oldukça yüksek yaşama oranına sahiptir (Chevassus et al., 1983; Scheerer and Thorgaard, 1983). Her iki hibrid de yetiştiricilikte ve balıkçılık yönetiminde kullanışlı olabilir. Diğer tarafta, tüm hibridler triploidliğin oluşumundan sonra hayatta kalamamaktadır. Örneğin, dişi gökkuşağı alabalığı ile erkek grayling (*Thymallus thymallus*) (bir çeşit kurşuni tatlisu balığı) hibridleri hayatta kalamamaktadır (Chourrout, 1986). Bu, yapay gynogenez (tümüyle anneye ait) için avantajlı bir durumdur. Grayling spermeleri ışınlanarak gökkuşağı alabalığı yumurtalarının gelişimini aktive etmede kullanılabilir ve eğer tüm spermeler başarıyla ışınlanamamış ise bu hibridler ölecek ve hatalı gynogenez önlenmiş olacaktır. Diğer türler de gynogenezde aynı rolü sağlayabilir.

Gynogenez'in önemli bir uygulaması genlerin sentromerlerine göre haritalanmasıdır. Gökkuşağı

alabalıklarında 25'ten fazla lokus gynogenez ile sentromerlerine göre haritalanmıştır (Thorgaard et al., 1983; Guyomard, 1984; Thompson and Scott, 1984; Alledorf et al., 1986)

Gynogenez, aynı zamanda gökkuşağı alabalıklarında tümüyle dişi populasyonlar üretmek açısından da önemlidir (Chourrout and Quillet, 1982). Tabii oldukları için düşük performans gösteren bu balıkların cinsiyeti hormonal yollarla erkeğe dönüştürülebilir ve bunların spermeleri tümüyle dişi populasyonların üretilmesinde kullanılabilir (Donaldson and Hunter, 1982).

Androgenez, gökkuşağı alabalıklarında başarıyla uygulanmış üçüncü kromozom takımı manipulasyonu'dur. Androgenez, yumurtanın döllenmeden önce gama ışınları ile muamele edilmesi, normal spermle döllenmesi ve birinci hücre bölünmesini önlemeye yönelik tekniklerin uygulanması ile sağlanır (Onozato, 1982; Parsons and Thorgaard, 1985). Bu teknik, klonal hatların gelişimi, soğuk saklanmış (cryopreserved) spermelerden ırk özelliklerinin geri alınması, aynı çekirdek genotipine ve farklı mitokondrial genotipe sahip bireylerin üretilmesi, ve YY erkek generasyonlarını içeren birçok potansiyel uygulamayı içerir (Scheerer et al., 1986; Thorgaard et al., 1990). Androgenezdeki temel sınırlama ise homozigot androgenetik diploidlerin düşük yaşama oranıdır.

#### DNA Marker'lar

Gökkuşağı alabalıklarında DNA marker analizi son zamanlarda uygulanmaya başlamıştır. Populasyon düzeyinde çalışılan ilk DNA marker tipi mitokondrial DNA olmuştur. Birçok çalışmada, gökkuşağı alabalığı populasyonlarında mitokondrial (mt) DNA'da polimorphism araştırılmıştır (Wilson et al., 1985; Gyllensten and Wilson, 1987; Palva and Palva, 1987). Mitokondrial genomların



segmentleri de klonlanmış ve sıralanmıştır (Davidson et al., 1988; Thomas and Beckenbach, 1989; Beckenbach et al., 1990).

Gökkuşığı alabalığında bir miktar gen klonlanmıştır. Bu çalışmalar, öncelikle evrimsel karşılaştırmalar için temel biyokimyasal araştırmalar dahilinde yapılmıştır fakat klonlanan genler birçok araştırmacı için kullanışlı olabilir.

Gökkuşığı alabalığına ait klonlanmış ve bazı durumlarda sıralanmış gen örnekleri; iki farklı büyüme hormonu (Agellon and Chen, 1986; Agellon et al., 1988a; Rentier-Delrue et al., 1989), prolactin (Mercier et al., 1989), aktarılabildiği mümkün bir element (Moir and Dixon, 1988a), protamine (Moir and Dixon, 1988b; Nickel and Davie, 1989), iki histone (Winkfein et al., 1985), bir yüksek değişken grup (HMG) protein (Pentecost et al., 1985), iki metallothionein (Zafarullah et al., 1988), cytochrome P450s (Haasch et al., 1989; Heilmann et al., 1988), ve iki apopolysialoglycoprotein (Sorimachi et al., 1990) içermektedir. Gökkuşığı alabalıklarında farklı DNA markerlar üzerinde çalışmalar yapılmıştır. Gökkuşığı alabalığı ve akraba salmonidlerde Ribosomal DNA'nın seri değişimleri araştırılmıştır (Popodi et al., 1985). DNA parmakizi polymorfizmi iki farklı DNA probu kullanılarak incelenmiştir (Fields et al., 1989; Lloyd et al., 1989). Bu gibi markerlar, yüksek çeşitlilik düzeylerinden dolayı genetik araştırmalarda çok çeşitli uygulamalara sahip olabilir (Georges et al., 1988).

### Gen Transferi

Transgenik organizmalar, heterologous (farklı türden elde edilmiş) DNA'nın (transgen) yapay olarak yerleştirilip genomlarına katıldığı canlılardır. Transgenik balıkların üretimi 1990'lı yıllarda ortaya çıkmıştır. Gen transferinde temel prensip heterolo-

gous DNA'nın hedef hücrenin çekirdeğinde yer alan genomlara aktarılmasıdır. Bu işlem bir kaç farklı teknik ile gerçekleştirilebilir. Bunlar: Transgenin doğrudan çekirdeğe iletilmesini sağlayan mikroenjeksiyon yöntemi, hedef hücrenin yüzeyinde transgenin sitoplazmaya geçebileceği geçiç porlar (gözenekler) açmayı sağlayan electroporation yöntemi, sperm ile taşıma yöntemi, lipofection yöntemi ve retroviral enfeksiyon yöntemidir.

Diğer hayvanlar üzerinde yapılan gen transferi araştırmalarının ilgi çekici potansiyeli, araştırmacıları gökkuşığı alabalığında gen transferi çalışmalarına yönlendirmiştir. Diğer balık türleri gibi, gökkuşığı alabalığı da bu tür çalışmalar için çok sayıda avantaja sahiptir: döllenme ve mikroenjeksiyon oldukça kolaydır ve çok miktarda yetiştirilebilirler (Maclean et al., 1987; Maclean and Penman, 1990). Üç ekip, gökkuşığı alabalığında mikroenjeksiyon yöntemiyle gen transferine ilişkin sonuçlar yayınlamıştır. Transgenik gökkuşığı alabalıklarında başarılı mikroenjeksiyon ve DNA'nın ortaya koyulması, Fransa'da bir ekip tarafından gerçekleştirilmiştir (Chourrout et al., 1986b). ayrıca bu araştırmacılar, söz konusu genlerin transgenik bireyler tarafından döllere aktarılabildiğini ortaya koymuştur (Guyomard et al., 1989). İngiltere'deki araştırmacılar transgenik alabalıklarda yabancı DNA'nın varlığını ve genlerin ev sahibi kromozomlarla açık bütünlüğünü ispatlamış, ve başarılı bir gen transferinde yer alan parametreleri araştırmıştır (Maclean and Penman, 1990; Penman et al., 1990). Bu güne kadar yapılan tüm çalışmalar gen transferinde makul bir oran ve yabancı DNA ile ev sahibi kromozomlar arasında açık bütünlüğü ortaya koymuştur. Bir çok genin gökkuşığı alabalığına transferi ilginç sonuçlar verebilir (Maclean

and Penman, 1990). Bunlar: büyüme ilerleticiler (büyüme hormonu genleri ve diğerleri), hastalıklara karşı dayanıklılık genleri (Chevassus and Dorson, 1990), anti-his gen yapıları (çevresel etkilere karşı duyarlılık çalışmaları için) ve yeni metabolik özellikler veren genlerdir (örneğin karbonhidratları çok daha etkin değerlendirme kabiliyeti).

Genlerin transferinde başarının ilk belirtileri embriyonun hızlı hücre bölünmesi aşamasında yer alan DNA replikasyonu periyodunda ortaya çıkmaktadır. Yerleştirilen DNA'nın ortak replikasyonu, çıkarılan DNA'dan bir probe yani işaretlenmiş bir molekülün yerleştirilen DNA'nın belirleyici bölümünde yer almasıyla belirlenebilir ya da otoradyografi örnekleme veya çıkarılan DNA'nın sınırlayıcı enzimlerle elektroforetik ayrımı ile değerlendirilebilir. Eğer probe seviyesi, yüksek moleküler DNA ağırlığı ile uyumlu olarak artıyorsa bu genomik DNA ve yerleştirilen molekül arasında bir ilişkinin kanıtıdır (Purdom, 1993).

Balıklarda çok çeşitli kromozom takımı manipulasyon tekniklerinin uygulanabilirliği, bu tekniklerin diğer genetik tekniklerle birleştirilmesi olanağını gündeme getirmektedir. Buna iki örnek; rekombinant klonal hatların daha etkin gen haritalaması için kullanılması ve transgenik balıklarda kısırılığın garanti altına alınması için yapay triploidliğin kullanılmasıdır.

Gökkuşığı alabalıklarının androgenез veya gynogenez ile elde edilmiş iki farklı klonal hattı seçilip çaprazlanabilir. İdeal olarak, bu hatlar genetik olarak farklıdır ve genetik belirleyicilerin hemen hepsinden ayrılmaktadır. Bu klonal hatlar arasındaki hibridler, çeşitli laboatuarlarda yapılan gen haritalama çalışmalarında kullanılmak üzere çiftleştirilip dağıtılabilecek çok sayıda homozigot diploidler yaratmada kullanılabilir.



lir. Daha sonra genler klonal hatların standart panellerine (ana babaya ait ve rekombinant) karşı haritalanarak farklı laboratuvarlardaki sonuçlar karşılaştırılabilir. Bu "rekombinant klonal hat" yaklaşımı (Thorgaard and Allendorf, 1988) farelerde başarıyla uygulanan "rekombinant doğal hatlar" (Jeffreys et al., 1987) yaklaşımı ile oldukça benzerdir.

#### Kaynaklar

- Agellon, L.B. and Chen, T.T., 1986. Rainbow trout growth hormone: molecular cloning of cDNA and expression in *Escherichia coli*. DNA, 5: 463-471.
- Agellon, L.B., Davies, S.L., Chen, T.T. and Powers, D.A., 1988a. Structure of a fish (rainbow trout) growth hormone gene and its evolutionary implications. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 85: 5136-5140.
- Allendorf, F.W., Seeb, J.E., Kundsén, K.L., Thorgaard, G.H. and Leary, R.F., 1986. Gene-centromere mapping of 25 loci in rainbow trout. J. Hered., 77: 307-312. Anonim, 2001. Su Ürünleri İstatistikleri. Devlet İstatistik Enstitüsü Yayınları, Ankara.
- Atay, D., 1987. İçsu Balıkları ve Üretim Tekniği. Ankara Ün. Ziraat Fak. Yayınları, 467, Ankara.
- Atay, D., Bekcan, S., Ölmez, M., Atar, H.H., 2000a. Farklı sıcaklık şoku uygulamalarının ginogenetik gökkuşağı alabalığının (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) erken hayat evrelerine etkisi. A.Ü. Ziraat Fakültesi Tarım Bilimleri Dergisi. Cilt:6, Sayı:4, Sayfa: 16-20.
- Atay, D., Bekcan, S., Ölmez, M., Atar, H.H., 2000b. Farklı basınç şoku uygulamalarının ginogenetik gökkuşağı alabalığının (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) erken hayat evrelerine etkisi. A.Ü. Ziraat Fakültesi Tarım Bilimleri Dergisi. Cilt:6, Sayı:3, Sayfa: 20-26.
- Beckenbach, A.T., Thomas, W.K. and Sohrabi, H., 1990. Intraspecific sequence variation in the mitochondrial genome of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Genome, 33: 13-15.
- Bye, V. and Lincoln, R.F., 1986. Commercial methods for the control of sexual maturation in rainbow trout (*Salmo gairdneri* R.). aquaculture, 57:299-309.
- Chevassus, B., Guyomard, R., Chourrou, D. and Quillet, E., 1983. Production of viable hybrids in salmonids by triploidization. Genet. Sel. Evol., 15: 519-532.
- Chevassus, B. and Dorson, M., 1990. Genetics of resistance disease in fishes. Aquaculture, 85: 83-107. Chourrou, D., 1980. Thermal induction of diploid gynogenesis and triploidy in the eggs of the rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson). Reprod. Nutr. Dev., 20: 727-733.
- Chourrou, D. and Quillet, E., 1982. Induced gynogenesis in the rainbow trout: sex and survival of progenies. Production of all-triploid populations. Theor. Appl. Genet., 63:201-205.
- Chourrou, D., 1986. Use of grayling sperm (*Thymallus thymallus*) as a marker for the production of gynogenetic rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Theor. Appl. Genet., 72: 633-636.
- Chourrou, D., Chevassus, B., Krieg, F., Happe, A., Burger, G. and Renard, P., 1986a. production of second generation triploid and tetraploid rainbow trout by mating tetraploid males and diploid females-potential of tetraploid fish. Theor. Appl. Genet., 72: 193-206.
- Chourrou, D., Guyomard, R. and Houdebine, L., 1986b. high efficiency gene transfer in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) by microinjection into egg cytoplasm. Aquaculture, 51: 143-150.
- Chourrou, D. and Nakayama, I., 1987. Chromosome studies of progenies of tetraploid female rainbow trout. Theor. Appl. Genet., 74: 687-692.
- Davidson, W.S., Bartlett, S.E., Birt, T.P. and Green, J.M., 1988. Cloning and sequence analysis of an XbaI fragment of rainbow trout mitochondrial DNA. Curr. Genet., 14: 483-486.
- Donaldson, E.M., and Hunter, G.A., 1982. Sex control in fish with particular reference to salmonids. Can. J. Fish. Aquat. Sci., 39: 99-110.
- Dorson, M. and Chevassus, B., 1985. Etude de la receptivité d'hybrides triploides truite arc-en-ciel X saumon coho a ala necrose pancréatique et a la septicémie hémorragique virale. Bull. Fr. Piscic., 296: 29-34.
- Fields, R.D., Johnson, K.R. and Thorgaard, G.H., 1989. DNA fingerprints in rainbow trout detected by hybridization with DNA of bacteriophage M13. Trans. Am. Fish. Soc., 118: 89-91.
- Georges, M., Lequarre, A.S., Castelli, M., Hanset, R. and Vassart, G., 1988. DNA fingerprinting in domestic animals using four different minisatellite probes. Cytogenet. Cell. genet., 47: 127-131.
- Guyomard, R., 1984. High level of residual heterozygosity in gynogenetic rainbow trout (*Salmo gairdneri*, Richardson). Theor. Appl. Genet., 67: 307-316.
- Guyomard, R., Chourrou, D., Leroux, C., Houdebine, L.M. and Pourrain, F., 1989. Integration and germ line transmission of foreign genes microinjected into fertilized trout eggs. Biochimie, 71: 857-863.
- Gyllensyén, U. and Wilson, A.C., 1987. Mitochondrial DNA of salmonids: inter- and intra-specific variability detected with restriction enzymes. In: N. Ryman and F. Uter (Edüters), Population Genetics and Fishery Management. University of Washington, Seattle, WA, pp. 301-317.
- Haasch, M.L., Wejksnora, P.J., Stegeman, J.J. and Lech, J.J., 1989. Cloned rainbow trout liver P sub (I) 450 complementary DNA as a potential environmental monitor. Toxicol. Appl. Pharmacol., 98: 362-368.
- Heilmann, L.J., Shee, Y.-Y., Bigelow, S.W. and Nebert, D.W., 1988. Trout P450IA1: cDNA and deduced protein sequence, expression in liver, and evolutionary significance. DNA, 7: 379-387.
- Jeffreys, A.J., Wilson, V., Kelly, R., Taylor, B.A. and Bulfield, G., 1987. Mouse DNA "fingerprints": analysis of chromosome localization and germ-line stability of hypervariable loci in recombinant inbred strains. Nucl. Acids. Res., 15: 2823-2836.
- Lincoln, R.F. and Scott, A.P., 1983. Production of all-female rainbow trout. Aquaculture, 30: 375-380.
- Lincoln, R.F. and Scott, A.P., 1984. Sexual maturation in triploid rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. J. Fish. Biol., 25: 385-392.
- Lloyd, M.A., Fields, M.J. and Thorgaard, G.H., 1989. BKM minisatellite sequences are not sex-associated but reveal DNA fingerprint polymorphisms in rainbow trout. Genome, 32: 865-868.
- Lou, Y.D. and Purdom, C.E., 1984. Polyploidy induced by hydrostatic pressure in rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. J. Fish. Biol., 25: 345-351.
- Maclean, N., Penman, D. and Zhu, Z., 1987. Introduction of novel genes into fish. Bio/Technology, 5: 257-261.
- Maclean, N. and Penman, D., 1990. The application of gene manipulation to aquaculture. Aquaculture, 85: 1-20.
- Mercier, L., Rentier-Delrue, F., Swennen, D., Lion, M., Le Goff, P., Prunet, P. and Martial, J.A., 1989. Rainbow trout prolactin cDNA cloning in *Escherichia coli*. DNA, 8: 119-125.
- Moir, R.D. and Dixon, G.H., 1988a. A repetitive DNA sequence in the salmonid fishes similar to a retroviral long terminal repeat. J. Mol. Evol., 27: 1-7.
- Moir, R.D. and Dixon, G.H., 1988b. Characterization of a protamine gene from the chum salmon (*Oncorhynchus keta*). J. Mol. Evol., 27: 8-16. Purdom, C. E., 1993. Genetics and Fish Breeding. Chapman and Hall, 277, New York, USA.
- Nickel, B.E. and Davie, J.R., 1989. The protamine gene chromatin in developing trout testis exists in an altered state. Biochim. Biophys. Acta, 1007: 23-29.
- Onozato, H., 1982. Artificial induction of androgenetic diploid embryos in salmonids. Abstr. Annu. Meet., Jpn. Soc. Sci. Fish., p. 142.
- Palva, T.K. and Palva, E.T., 1987. Restriction site polymorphism in mitochondrial DNA of rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, stocks in Finland. Aquaculture, 67: 283-289.
- Parsons, J.E. and Thorgaard, G.H., 1985. Production of androgenetic diploid rainbow trout. J. Hered., 76: 177-181.
- Parsons, J.E., Busch, R.A., Thorgaard, G.H. and Scheerer, P.D., 1986. Increased resistance of triploid rainbow trout X coho salmon hybrids to infectious hematopoietic necrosis virus. Aquaculture, 57: 337-343.
- Penman, D.J., Beeching, A.J., Penn, S. and Maclean, N., 1990. Factors affecting survival and integration following microinjection of novel DNA into rainbow trout eggs. Aquaculture, 85: 35-50.
- Pentecost, B.T., Wright, J.M. and Dixon, G.H., 1985. Isolation and sequence of cDNA clones for a member of the family of high mobility group proteins (HMG-T) in trout and analysis of HMG-T-mRNA's in trout tissues. Nucl. Acids Res., 13: 4871-4888.
- Popodi, e.M., Greve, D., Phillips, R.B. and Wejksnora, P.J., 1985. The ribosomal RNA genes of three salmonid species. Biochem. Genet., 23: 997-1010.
- Rentier-Delrue, F., Swennen, D., Mercier, L., Lion, M., Benmbi, O. and Martial, J.A., 1989. Molecular cloning and characterization of two forms of trout growth hormone cDNA: expression and secretion of tGH-II by *Escherichia coli*. DNA, 8: 109-117.
- Scheerer, P.D. and Thorgaard, G.H., 1983. Increased survival in salmonids hybrids by induced triploidy. Can. J. Fish. Aquat. Sci., 40: 2040-2044.
- Scheerer, P.D., Thorgaard, G.H., Allendorf, F.W. and Knudsen, K.L., 1986. Androgenetic rainbow trout produced from inbred and outbred sperm sources show similar survival. Aquaculture, 57: 289-298.
- Sorimachi, H., Emori, Y., Kawasaki, H., Suzuki, K. and Inoue, Y., 1990. Organization and primary sequence of multiple genes coding for the apolipoprotein lipoproteins of rainbow trout. J. Mol. Biol., 211: 35-48.
- Thomas, W.K. and Beckenbach, A.T., 1989. Variation in salmonid mitochondrial DNA: evolutionary constraints and mechanism of substitution. J. Mol. Evol., 29: 233-245.
- Thorgaard, G.H., Jazwin, M.E. and Stier, A.R., 1981. Polyploidy induced by heat shock in rainbow trout. Trans. Am. Fish. Soc., 110: 546-550.
- Thorgaard, G.H., Allendorf, F.W. and Knudsen, K.L., 1983. Gene-centromere mapping in the rainbow trout: high interference over long map distances. Genetics, 103: 771-783.
- Thompson, D. and Scott, A.P., 1984. An analysis of recombinant data in gynogenetic diploid rainbow trout. Heredity, 53: 441-451.
- Thorgaard, G.H. and Allendorf, F.W., 1988. Developmental genetics of fishes. In: G. Malacinski (Editor), Developmental Genetics of Higher Organisms. MacMillan, New York, NY, pp. 363-391.
- Thorgaard, G.H., Scheerer, P.D., Hershberger, W.K. and Myers, J.M., 1990. Androgenetic rainbow trout produced using sperm from tetraploid males show improved survival. Aquaculture, 85: 215-221.
- Wilson, G.M., Thomas, W.K. and Beckenbach, A.T., 1985. Intra- and inter-specific mitochondrial DNA sequence divergence in *Salmo*: rainbow, steelhead and cutthroat trout. Can. J. Zool., 63: 2088-2094.
- Winkfein, R.J., Connor, W., Mezquita, J. and Dixon, G., 1985. Histone H4 and H2B genes in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). J. Mol. Evol., 22: 1-19.
- Zafarullah, M., Bonham, K. and Gedamu, L., 1988. Structure of the rainbow trout metallothionein B gene and characterization of its metal-responsive region. Mol. Cell. Biol., 8: 4469-4476.