

T. C.  
KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI  
DOKTORA TEZİ

TÜRKİYE'NİN BAZI YERLİ KOYUN IRKLARINDA GENETİK  
POLİMORFİZMİN MİKROSATELLİT YÖNTEMİ İLE ANALİZİ

F. Azize BUDAK YILDIRAN

MAYIS 2009

Fen Bilimleri Enstitü Müdürünün onayı.

07/05/2009

1.1.1.1.1.1

1.1.1.1.1.2

Doç. Dr. Burak BİRGÖREN

Müdür V.

Bu tezin Doktora tezi olarak BİYOLOJİ Anabilim Dalı standartlarına uygun olduğunu onaylarım.

Prof. Dr. İrfan ALBAYRAK

Anabilim Dalı Başkanı

Bu tezi okuduğumuzu ve Doktora tezi olarak bütün gerekliliklerini yerine getirdiğini onaylarız.

Prof. Dr. Şükran ÇAKIR ARICA

Ortak Danışman

Danışman

Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Şükran ÇAKIR ARICA

Prof. Dr. Zafer BAHÇECİ

Prof. Dr. Ertuğrul ELMA

Doç. Dr. İrfan KANDEMİR

Doç. Dr. Yusuf MENEMEN

## ÖZET

TÜRKİYE'NİN BAZI YERLİ KOYUN IRKLARINDA GENETİK  
POLİMORFİZMİN MİKROSATELİT YÖNTEMİ İLE ANALİZİ

BUDAK YILDIRAN, F. Azize

Kırıkkale Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı, Doktora Tezi

Danışman: Prof. Dr. Şükran ÇAKIR ARICA

Mayıs 2009, 87 sayfa

Bu çalışmada, Türkiye'nin Bafra, İvesi, Karayaka, Morkaraman, Sakız ve Türk Merinosu olarak adlandırılan 6 yerli koyun ırkında ırk içi ve ırklar arasındaki genetik polimorfizm mikrosatellit analizi ile belirlendi. Bu ırklardan Morkaraman ve Türk Merinosu JMP29 ve JMP58 mikrosatellit lokusu için gümüş nitrat ve otoradyografi yöntemi kullanılarak analiz edildi. Ayrıca tüm

ırklar MAF209, MAF65, OarCP34, DYMS1 lokusları için otomatik DNA dizi analiz cihazı kullanılarak tarandı. Elde edilen bütün veriler “Genetix 4.05” ve “Populations 1.0” istatistik programları kullanılarak değerlendirildi. En yüksek heterozigotluk değerlerinin (0.596-0.961) MAF209 lokusunda, en düşük heterozigotluk değerlerinin (0.178-0.256) ise OarCP34 lokusunda olduğu gözlemlendi. Tüm ırklar içinde en yüksek heterozigotluğa sahip ırkın Türk Merinosu olduğu belirlendi. MAF209, MAF65, OarCP34, DYMS1 lokusları için ırklar arasında genetik mesafe 0.0347 ile 0.3021 değerleri arasında bulundu. Bu değerlere göre en kısa mesafe Sakız ve Morkaraman ırkları arasında gözlemlendi ve en uzak mesafe ise Türk Merinosu ve İvesi ırkları arasında gözlemlendi. Tüm lokuslar için 9 özgün allelin 6’sının Türk Merinosu ırkında, 3’ünün ise Bafra ırkında olduğu gözlemlendi. Ancak bu allellerin sıklıkları 0.2’den küçük bulundu.

Bu çalışma Türkiye’nin yerli koyun ırklarında mikrosatellit belirleyicileri ile yapılan sayılı çalışmalardan birisi olması nedeni ile önem taşımaktadır. Türkiye’nin koyun ırklarının mikrosatellit belirleyiciler kullanılarak moleküler genetik karakterizasyonu için daha fazla bireylerin ve lokusların dahil olduğu çalışmalardan elde edilen verilere ihtiyaç vardır.

**Anahtar Kelimeler :** Mikrosatellit, koyun, PCR, polimorfizm, DNA.

## **ABSTRACT**

### **ANALYSIS OF GENETIC POLYMORPHISM BY MICROSATELLITE METHOD IN SOME LOCAL SHEEP BREEDS OF TURKEY**

**BUDAK YILDIRAN, F. Azize**

Kırıkkale University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Biology, Ph. Thesis

Supervisor: Prof. Dr. Şükran ÇAKIR ARICA

May 2009, 87 pages

In this study, genetic polymorphism within and between the sheep breeds of Turkey called Bafra, İvesi, Karayaka, Morkaraman, Sakız and Turkish Merino was determined by microsatellite method. Morkaraman and Turkish Merino were analysed for JMP29 and JMP58 microsatellite loci by using autoradiography method and all breeds were screened for MAF209, MAF65, OarCP34, DYMS1 loci by using DNA sequence analyzer device. All data obtained were evaluated by using “Genetix 4.05” and “Populations 1.0” statistic programs. The highest heterozygosity values (0.596-0.961) were

observed for MAF209 and the lowest heterozygosity values were observed for OarCP34 locus. It was determined that the Turkish Merino breed had the highest heterozygosity value. Genetic distance between breeds for MAF209, MAF65, OarCP34, DYMS1 loci was found between 0.0347-0.3021. The shortest distance was observed between Sakız and Morkaraman breeds and the longest distance was observed between Turkish Merinos and İvesi according to these values. For all loci, 6 of 9 private alleles were observed in Turkish Merino breed and 3 of them were observed in Bafra breed. But the frequency of these alleles was found less than 0.2.

This study is important because it is one of the few studies on analysis of sheep breeds of Turkey by using microsatellite markers. There is need data from studies employing higher number of loci and higher number of individuals from each breed for molecular genetic characterisation of sheep breeds by using microsatellite markers in Turkey.

**Key Words:** Microsatellite, sheep, PCR, polymorphism, DNA.

Aileme

## TEŞEKKÜR

Tez çalışmalarım sırasında her türlü yardımını ve desteğini esirgemeyen tez danışmanın, Sayın Prof. Dr. Şükran ÇAKIR ARICA'ya teşekkür ederim.

Laboratuvarında her türlü çalışma imkanı sağlayan sayın Prof. Dr. İnci TOGAN'a ve çalışmalarım sırasında bana her zaman teknik ve manevi desteğini esirgemeyen arkadaşım Dr. Evren KOBAN'a teşekkür ederim.

Tez örneklerimin temini konusunda yardımlarını esirgemeyen Amasya Gökhöyük Devlet İşletme Müdürlüğü'ne, Bursa Karacabey Harası İşletme Müdürlüğü'ne teşekkür ederim.

Giresun'da örnek toplama çalışmasında yardımcı olan Mehmet YÜKSEL ve Veteriner Hekim Hüseyin DURU'ya teşekkür ederim. Kan örneklerinin bir kısmının temininde yardımcı olan Atom Enerji Kurumu'nda veteriner hekim olarak çalışmalarını sürdüren Veteriner Hekim Dr. Emine ve Sertaç ÖZDEMİR'e teşekkür ederim.

Tez döneminde her açıdan destek olan annem Nurhan BUDAK, babam Süleyman BUDAK ve kardeşim Arzu BUDAK'a teşekkür ederim. Ayrıca her zaman yanımda olan eşim Harun YILDIRAN ve sevgili kızım ELİF NAZ'a teşekkür ederim. Ayrıca tez çalışmalarım sırasında hiçbir zaman manevi desteklerini esirgemeyen bölüm arkadaşlarıma da teşekkür ederim.



## SİMGELER VE KISALTMALAR

TİGEM	Tarım İşletmeleri Genel Müdürlüğü
FAO	Food and Agricultural Organization
TBE	Tris-Borik asit-EDTA
TEMED	N, N, N', N'-tetratetramethylethylenediamine
EDTA	Etilen Diamin Tetraasetikasit
APS	Amonyum persülfat
mtDNA	Mitokondriyal DNA
dNTP	Deoxynucleosid triphosphates
ng	nanogram
ml	mililitre
µl	mikrolitre
µg	mikrogram
cm	santimetre
nm	nanometre
mM	milimolar
kb	kilo baz
rpm	dönüş sayısı/dakika

## ŞEKİLLER DİZİNİ

### ŞEKİL

- 1.1. Türkiye'deki büyükbaş ve küçükbaş hayvan sayılarının yıllara göre dağılımı (Türkiye İstatistik Kurumu; TÜİK)..... 6
- 1.2. Polimeraz Zincir Reaksiyon'unun şematize şekli .....16
- 1.3. Mikrosatellit tekrarlarının jeldeki şematize şekli [(CA)<sub>15</sub>, (CA)<sub>17</sub> ve (CA)<sub>18</sub>]..... 20
- 2.1. Çalışmada kullanılan ırkların Türkiye'de yayılış gösterdiği alanlar ve bu ırklara ait örneklerin alındığı iller .....28
- 2.2. Agaroz jelde kontrol edilen bazı optimizasyon çalışmalarının fotoğrafları
  - a) JMP 29 primerinin Morkaraman (Mork) ve Türk merinosu (TM) ırklarından farklı iki yöntem ile elde edilen DNA örneklerinin rastgele seçilerek yükseltgenmesi sonucu oluşan DNA bantları b) JMP 58 primerinin Morkaraman (Mork) ve Türk merinosu (TM) ırklarından farklı iki yöntem ile elde edilen DNA örneklerinin rasgele seçilerek yükseltgenmesi sonucu oluşan DNA bantları c) Sakız, Karayaka, İvesi ve Bafra ırklarına ait rastgele seçilen örneklerin primerler ile yükseltgenmesi sonucu oluşan DNA bantları ve pBR322 marker ile kontrolü.....33
- 2.3. Morkaraman ırkına ait örneklerde JMP29 lokusu için otoradyografik görünümü (8., 15., 21. ve 27. hatta yüklenen markırlar gözlenemedi)..36

2.4. MAF65 lokusu için Sakız ırkına ait örneklerin yürütüldüğü jelde yükseltgenen markırlar (T, C, G, A).....	36
2.5. Bazı örneklerin gümüş nitrat boyama ile poliakrilamit jelde görünümü.....	38
2.6. ABI Prism 310 Genetik Analizatör cihazında GeneScan programı ile optimizasyonu sağlanan tüm lokuslar için bir bireye ait pik değerleri.....	41
3.1. MAF209 lokusu için gözlenen allel sıklıklarının ırklara göre dağılımının Türkiye haritası üzerinde görünümü.....	53
3.2. MAF65 lokusu için gözlenen allel sıklıklarının ırklara göre dağılımının Türkiye haritası üzerinde görünümü .....	54
3.3. OarCP34 lokusu için gözlenen allel sıklıklarının ırklara göre dağılımının Türkiye haritası üzerinde görünümü .....	55
3.4. Nei'nin $D_A$ değerlerine göre oluşturulan Komşu Birleştirme Ağacı (NJT).....	61
3.5. Morkaraman ve Türk Merinosu ırklarına ait örneklerin JMP29 ve JMP58 lokusları için FCA grafiği .....	62
3.6. MAF209, MAF65, OarCP34 ve DYMS1 lokusları için Bafra, İvesi, Karayaka, Morkaraman, Sakız ve Türk Merinosu ırklarına ait örnekler için FCA grafiği.....	63

3.7. MAF209, MAF65, OarCP34 ve DYMS1 lokusları için Bafra, İvesi,

Karayaka, Morkaraman, Sakız ve Türk Merinosu ırklarına ait FCA

grafığı .....63

## ÇİZELGELER DİZİNİ

### 2 ÇİZELGE

- 1.1. Türkiye'deki büyükbaş ve küçükbaş hayvan sayılarının yıllara göre dağılımı (Türkiye İstatistik Kurumu; TÜİK).....5
- 1.2: Türkiye'nin Biyoçeşitlilik Sözleşmesi kapsamında 2007 yılında sunduğu rapora göre koyun ırklarına ait risk durumu.....11
- 2.1. Irkların sayılarına ve alındığı bölgelere göre dağılımları.....27
- 2.2. Çalışmada otoradyografi için optimizasyon denemeleri yapılan primerlerin adı, orjini, dizisi ve bulunduğu kromozom.....32
- 2.3. Çalışmada otomatik DNA dizi analizi için optimizasyon denemeleri yapılan primerlerin adı, dizisi, orjini, bulunduğu kromozom ve rengi..32
- 2.4. DYMS1 ve OarCP34 lokusları için PCR'da kullanılan kimyasallar ve miktarları.....39
- 2.5. MAF65, MCM140, ILSTSO11 ve MAF209 lokusları için PCR'da kullanılan kimyasallar ve miktarları.....40
- 3.1. Morkaraman ve Türk Merinosu ırklarında JMP29, JMP58 lokusları için gözlenen allel sayıları ve toplam değerleri.....48
- 3.2. Morkaraman ve Türk Merinosu ırklarında JMP29, JMP58 primerleri için gözlenen aleller ve sıklıkları.....49
- 3.3. Bafra, Sakız, Karayaka, İvesi, Türk Merinosu ve Morkaraman ırklarında MAF209, MAF65, OarCP34 ve DYMS1 lokusları için gözlenen allel sayıları ve toplam değerleri.....50

3.4. Bafra, Sakız, Karayaka, İvesi, Türk Merinosu ve Morkaraman ırklarında MAF209, MAF65, OarCP34 ve DYMS1 lokusları için gözlenen alleller ve sıklıkları.....	51
3.5. JMP29 ve JMP58 lokusları için ırklarda gözlenen ve beklenen heterozigotluk değerleri.....	56
3.6. Bafra, İvesi, Karayaka, Morkaraman, Sakız ve Türk Merinosu ırklarında MAF209, MAF65 ve OarCP34 gözlenen ve beklenen heterozigotluk değerleri ve ortalamaları.....	57
3.7. Morkaraman ve Türk Merinosu ırklarında JMP29, JMP58 lokusları için $F_{IS}$ değerleri.....	58
3.8. Bafra, İvesi, Karayaka, Morkaraman, Sakız ve Türk Merinosu ırklarında MAF209, MAF65 ve OarCP34 lokusları için $F_{IS}$ değerleri.....	59
3.9. Bafra, İvesi, Karayaka, Morkaraman, Sakız ve Türk Merinos ırklarında MAF209, MAF65 ve OarCP34 lokusları için $F_{ST}$ (üst diagonal) ve $D_A$ (alt diagonal) değerleri.....	60

## İÇİNDEKİLER

ÖZET .....	i
ABSTRACT .....	iii
TEŞEKKÜR .....	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR .....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	x
İÇİNDEKİLER .....	xii
1. GİRİŞ .....	1
1.1. Koyunun Evcilleştirilmesi ve Sistematığı .....	5
1.2. Çiftlik Hayvanlarından yunun Önemi.....	8
1.3. Dünyada ve Türkiye’de Evcil Hayvan Gen Kaynaklarının Durumu.....	8
1.4. Irkların Genetik Yapılarının Belirlenmesinde Kullanılan Yöntemler .....	12
1.4.1. DNA Analizine Dayalı Moleküler Teknikler .....	13
..1.4.2. PCR Reaksiyonuna Dayalı Teknikler .....	13
1.4.2.1. Mikrosatelitler .....	18
...1.4.2.1.1. Mikrosatelit İçin DNA Bant Profilinin Belirlenmesi .....	21
1.5. Mikrosatelit Metodu ile Çiftlik Hayvanlarında Yapılan Çalışmalardan Bazıları .....	22
1.6. Çalışmanın Amaçları.....	25
2. MATERYAL VE METOT .....	27
2.1. Örneklerin Toplanması .....	27
2.2. Kan Örneklerinden DNA İzolasyonu .....	28
2.2.1. DNA’nın Kandan KIT ile İzolasyonu .....	29
2.2.2. DNA’nın Kandan Fenol-Kloroform Yöntemi ile İzolasyonu .....	29
2.3. Genomik DNA Miktarının Hesaplanması .....	30

2.4. Çalışmada Kullanılan Mikrosatelit Primerleri ve Optimizasyon Çalışmaları.....	31
2.4.1. JMP29, JMP58, MAF65, FCB20, FCB128, FCB193, FCB304 Mikrosatelit Primerlerinin Optimizasyonu .....	33
2.4.2. OarCP34, MAF65, DYMS1, ILSTS11, MCM140, MAF209 Mikrosatelit Primerlerinin Optimizasyonu .....	38
2.5. Verilerin İstatistiksel Analizi .....	41
2.5.1. Genetik Varyasyonun Ölçülmesi .....	42
2.5.1.1. Alelik Varyasyon .....	42
2.5.1.2. Heterozigotluk .....	43
2.5.2. F İstatistikleri .....	44
2.5.3. Faktöriyel Birleşim Analizi .....	46
2.5.4. Genetik Mesafe ve Komşu Birleştirme Ağaçları .....	47
3. ARAŞTIRMA BULGULARI .....	48
3.1. Gözlenen Alel Frekansları.....	48
3.2. Heterozigotluk .....	56
3.3. F-İstatistikleri.....	58
3.4. Filogenetik İlişkiyi Gösteren Komşu Birleştirme Ağacı .....	60
3.5. Faktöriyel Birleşim Analizi (Factorial Correspondence Analysis; FCA ....	61
4. TARTIŞMA VE SONUÇ .....	64
4.1. Genetik Çeşitlilik ve Heterozigotluk.....	65
4.2. F-İstatistik Değerleri ve Genetik Mesafe .....	68
4.3. Özgün Aleller .....	70
4.4. Faktöriyel Birleşim Analizi (FCA).....	70
5. KAYNAKLAR .....	74



ÖZGEÇMİŞ.....	85
EK-1.....	86

## 1. GİRİŞ

Coğrafi konumu ve iklimsel özellikleri bakımından yedi farklı bölgeye ayrılan Türkiye, biyolojik çeşitlilik açısından zengin bir ülkedir. Türkiye İstatistik Kurumu'nun (TÜİK) 2008 verilerine göre son yirmi yılda ülkemizdeki nüfus % 25 oranında artarak 70 milyonun üzerine çıkmıştır. Artan nüfusun bu biyolojik çeşitlilikten sürdürülebilir faydalanabilmesi uzun dönemli stratejileri gerektirir. Tarım ile uğraşan nüfus, büyük kentlere göç nedeni ile gün geçtikçe azalmaktadır. Nüfusun yeterli ve dengeli beslenebilmesi için bitkisel ve hayvansal gıdaların sağlanması gerekmektedir.

Hayvancılık insanlığın varoluşundan beri tarımın önemli bir üretim kolu olmuştur. İnsanlar et, süt, yumurta gibi besin ihtiyaçlarını karşılamak için kümes hayvanları, koyun, keçi, sığır gibi diğer hayvanları evcilleştirmiş ve üretmişlerdir. Aynı zamanda hayvan başına alınan verim miktarını arttırmak için çeşitli yollara başvurmuşlardır. Böylece çiftlik hayvanlarının ilk evcilleştirilmesiyle birlikte ıslah çalışmaları da başlamıştır. Daha önceleri ıslah çalışmalarında kontrollü çaprazlama ve seleksiyon gibi yöntemler kullanılırken günümüzde suni tohumlama, süper ovülasyon, in vitro fertilizasyon ve embriyo transferi gibi diğer ıslah yöntemleri kullanılmaya başlanmıştır. Bu yöntemlerde morfolojik yapının gözlenmesi ve verim özelliklerinin takibi esastır. Hayvanların bu özellikleri dikkate alınarak yapılan melezleme çalışmaları ile kısa vadede verim yönünde olumlu sonuçlar alınmıştır.

Türkiye’de hayvan yetiştiriciliğinde ticari kaygılardan dolayı yabancı ırkların tercih edilmesi yerli ırkların geri planda kalmasına yol açmıştır. Yerli ırklar farklı bölgelere uyum açısından yüksek performansla sahip iken yabancı ırklar ancak özel koşullarda yetiştirilebilmektedir. Dolayısıyla yerli ırklarımızın sayısı gün geçtikçe azalmış ve çoğu yok olma tehlikesiyle karşı karşıya kalmıştır. Bu ırklarla birlikte onlara yüksek adaptasyon ve direnç özelliklerini sağlayan gen kaynakları da büyük tehdit altına girmiştir. Devlet tarafından desteklenen uzun süreli ve geniş katılımlı projelerle yerli ırkların modern tekniklerin kullanımıyla ıslahı, gen kaynaklarının korunmasına katkı sağlayacaktır.

Özgün çiftlik hayvanlarının gen kaynaklarının tükenmekte olduğunun farkına varılması üzerine Gıda ve Tarım Örgütü (Food and Agriculture Organization; FAO), ilk etapta Asya ve Pasifik’te bulunan 900 adet hayvan ırkının (sığır, koyun, keçi, kanatlı v.b) genetik varyasyonunun korunması için Nisan 1992’de düzenlediği Dünya Hayvan Gen Kaynakları İdaresi (Global Management of Animal Genetic Resources) organizasyonu bünyesinde kurulan bir komisyonun önerileri ışığında kapsamlı bir projeye başlamıştır. Bu projeyle ilgili veriler, merkezi Roma’da bulunan Dünya Hayvan Gen Bankasında toplanmaktadır. Her ülkenin ekonomik gücü ölçüsünde mevcut gen kaynaklarını araştırarak bu çalışmaya katılması yönünde karar alınmıştır. Dünyada çiftlik hayvanlarının gen kaynaklarının korunması yönünde atılan ilk adım olan FAO’nun bu çalışması; ırkların genetik yapılarının belirlenmesi, mevcut durumun değerlendirilmesi ile gen kaynaklarının ve varyasyonların

korunmasını amaçlamaktadır. Son yıllarda Türkiye’de de bu tür araştırmalara önem verilmeye başlanmıştır.

Genetik analizlere dayalı bu ıslah çalışmalarının yapılması ve hayvan gen kaynaklarının korunabilmesi için hızla gelişmekte olan teknolojinin yakından takip edilmesi ve uygulanması gerekmektedir. Bu tür çalışmalar ırkların korunmasında önceliklerin belirlenmesi için büyük önem taşımaktadır.

Irkların genetik yapılarının belirlenebilmesi için farklı yöntemler bulunmaktadır. Protein polimorfizmi, kan grupları ve DNA analiz teknikleri bu amaçla kullanılmaktadır. Son zamanlarda mikrosatelit (STRs; short tandem repeats) ve mtDNA tekniklerinin farklı populasyonlar arasında genetik ilişkinin belirlenmesinde kullanışlı bir yöntem olduğu kanıtlanmıştır<sup>(1)</sup>. Bu nedenle mikrosatelitler, yüksek polimorfizm gerektiren babalık testi, populasyon genetiği ve evrimsel genetik analiz çalışmalarında sıklıkla kullanılmaktadır<sup>(2-6)</sup>.

Bu çalışmada mikrosatelit belirleyiciler kullanılarak Türkiye’nin bazı yerli ve melez koyun ırklarında, ırk içi ve ırklar arası genetik çeşitlilik ve ırklar arasındaki genetik farklılaşmanın belirlenmesi amaçlandı.

### 1.1. Koyunun Evcilleştirilmesi ve Sistematiği

Çiftlik hayvanlarının ilk evcilleştirilme çabaları ile ilgili çeşitli görüşler bulunmaktadır. Araştırmalar koyun ve keçinin ilk evcilleştirilen hayvanlar arasında yer aldığını göstermektedir. Arkeolojik alışmalar ve yapılan genetik araştırmalar, koyunun ilk kez yaklaşık 10000 yıl önce muhtemelen Güneybatı

Asya ve Orta Asya'da evcilleştirildiğini göstermektedir<sup>(7-9)</sup>. Bir araştırmada Avrupa'dan alınan 243 evcil koyun örneğinde 16 mtDNA haplotipi çalışılmış ve bu koyunların Asya ve Orta Asya'dan köken aldıkları bildirilmiştir<sup>(10,11)</sup>.

Yaban koyunlarının bilinen 6 türü bulunmaktadır. Bunlardan en önemlileri Argali (*Ovis ammon*), Ural (*Ovis orientalis*), Muflon (*Ovis musimon*), Bighorn (*Ovis canadensis*)'dur. Bu yaban koyunları Asya'da yayılış göstermektedir<sup>(12)</sup>.

Evcil koyunun sistematigi aşağıda verilmiştir<sup>(7)</sup>

Phylum : Animalia

Classis : Mammalia

Ordo : Artiodactyla

Familia : Bovidae

Subfamilia: Caprinae

Genus : *Ovis*

Species : *O. aries*

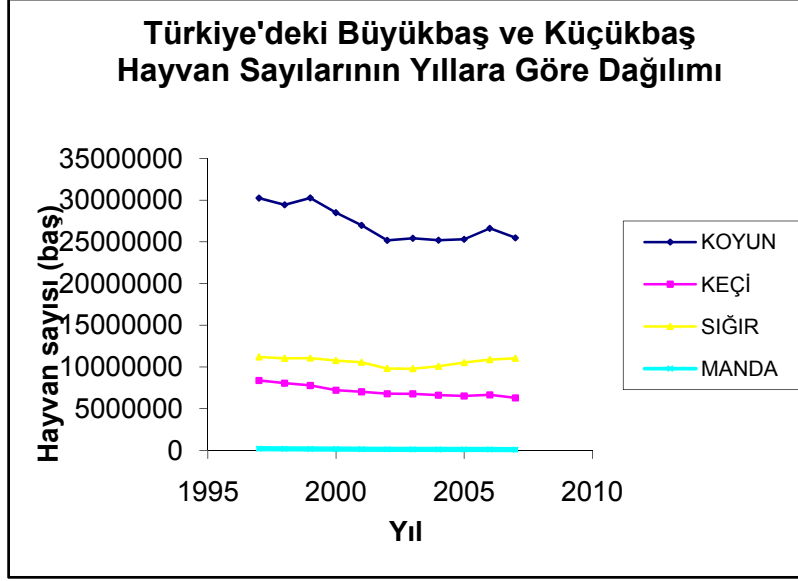
## 1.2. Çiftlik Hayvanlarından Koyunun Önemi

Koyun et, süt, yapağı, deri ve gübre gibi çok yönlü verim özelliğine sahip çiftlik hayvanlarındandır. Düşük kalitedeki mera ve otlakların en iyi şekilde değerlendirilmesine imkan vermesi, dünyada en çok üretilen çiftlik hayvanları arasında yer almasını sağlamıştır<sup>(13,14)</sup>. Türkiye İstatistik Kurumu 2007 verilerine göre Türkiye'de 25.475.293 baş koyun bulunmaktadır. Bunu 11.036.753 sığır, 6.286.358 keçi ve 84.705 baş ile manda takip etmektedir.

Son on yıla ait veriler dikkate alındığında koyun, keçi ve manda sayısında azalma gözlenirken sığır sayısında önce azalma daha sonra çok az artış gözlenmektedir (Çizelge 1.1). Dünyada ve ülkemizde hızla artan nüfus dikkate alındığında verimli hayvan yetiştiriciliği hayvansal kaynaklı temel besin ihtiyaçlarının karşılanabilmesi açısından büyük önem taşımaktadır.

**Çizelge 1.1.** Türkiye'deki büyükbaş ve küçükbaş hayvan sayılarının yıllara göre dağılımı (Türkiye İstatistik Kurumu)

YIL	KOYUN (baş)	KEÇİ (baş)	SİĞİR (baş)	MANDA (baş)
1997	30 238 000	8 376 000	11 185 000	194 000
1998	29 435 000	8 057 000	11 031 000	176 000
1999	30 256 000	7 774 000	11 054 000	165 000
2000	28 492 000	7 201 000	10 761 000	146 000
2001	26 972 000	7 022 000	10 548 000	138 000
2002	25 173 706	6 780 094	9 803 498	121 077
2003	25 431 539	6 771 675	9 788 102	113 356
2004	25 201 155	6 609 937	10 069 346	103 900
2005	25 304 325	6 517 464	10 526 440	104 965
2006	26 616 912	6 643 294	10 871 364	100 516
2007	25 475 293	6 286 358	11 036 753	84 705



**Şekil 1.1.** Türkiye'deki büyükbaş ve küçükbaş hayvan sayılarının yıllara göre dağılımı (Türkiye İstatistik Kurumu; TÜİK)

Farklı coğrafik bölgelere uyum göstermiş ayırıcı karakteristik özelliklere sahip olan yirmi beş kadar koyun ırkı bulunmaktadır<sup>(15)</sup>. Koyun ırkları genellikle kuyruk tipi, yapağı tipi ve morfolojik özellikler gibi fenotipik karakterler göz önüne alınarak sınıflandırılmaktadır<sup>(13,16)</sup>. Türkiye'de toplam koyun popülasyonunun % 97'sini yerli ırklar oluştururken % 3'lük kısmını özellikle Merinos ve bunun melezlerini kapsayan kültür ırkları oluşturur<sup>(13,17)</sup>. Bu çalışmada yer alan koyun ırklarının genel özellikleri aşağıda verilmiştir:

### **Morkaraman**

Kızıl ya da Gezel olarak da bilinen bu ırk Türkiye'nin kuzeydoğu bölgesinde Kars, Erzurum, Erzincan, Elazığ, Ağrı, Muş, Bingöl, Van ve Bitlis illerinde yetiştirilmektedir. Yağlı kuyruk yapısına sahiptir. Rengi kahverengi veya kızıl-kahverengidir. Baş, boyun ve bacaklarda renk daha koyudur.

Erkeklerin çoğu boynuza sahip iken dişilerde boynuz bulunmaz. Süt verimi 50-65 kg/yıl, Saf yün (yıl) % 65-72. Çapı 30-34  $\mu$  olan yün fiberinin elastikiyeti ise % 24-31'dir.

### **İvesi**

Türkiye'nin güneydoğusunda Gaziantep, Urfa ve Mardin illerinde yetiştirilmektedir. Ayrıca Hatay ve Adana'da da bulunmaktadır. Yağlı kuyruk yapısına sahiptir. Beyaz renkli olup baş ve bacakları kahverengidir. Erkeklerin çoğu spiral boynuza sahip iken dişilerde boynuz bulunmaz. Süt verimi 90-155 kg/yıl, Saf yün (yıl) % 60-65'dir.

### **Türk Merinosu**

Merinos ırkı ilk defa 1843 yılında İspanya'dan getirilmiştir. Türk Merinosu ise 1934 yılında Bursa'da Karacabey Devlet Üretim Çiftliği'nde Merinos ve Kıvırcık ırklarının melezi olarak elde edilmiştir. Marmara Bölgesi'nde Bursa ve Balıkesir illerinde yetiştirilmektedir. İnce uzun kuyruk yapısına sahiptir. Beyaz renge sahiptir. Erkeklerin % 10-15'i boynuza sahip iken dişilerde boynuz bulunmaz. Süt verimi 50-70 kg/yıl, Saf yün (yıl) % 48-54'dür.

### **Sakız**

Sakız Adası'ndan köken alan bu ırk Antalya'dan İstanbul'a kadar olan kıyı şeridinde yetiştirilmektedir. Uzun yağlı kuyruk yapısına sahiptir. Rengi beyaz olup, ağız, göz, kulak ve bacaklarda siyah lekeler bulunmaktadır. Erkekler güçlü spiral boynuza sahip iken genellikle dişilerde boynuz bulunmaz. Süt verimi 200-230 kg/yıl, Saf yün (yıl) % 60-70'dir.



## **Karayaka**

Karadeniz sahil şeridinde ve Tokat ili çevresinde yetiştirilmektedir. İnce uzun kuyruk yapısına sahiptir. Beyaz renkli olup, göz, baş ve bacaklar siyahtır. Erkeklerin çoğu ince, güçlü ve spiral boynuzla sahip iken dişilerde boynuz bulunmaz. Süt verimi 40-45 kg/yıl, Saf yün (yıl) % 64-66'dır.

## **Bafra**

İlk defa TIGEM Karaköy Tarım İşletmesi'nde, Sakız ve Karayaka ırklarının melezi olarak elde edilmiştir. Daha sonra Amasya Gökhöyük Tarım İşletmesi'nde yetiştirilmeye devam edilmiştir. Vücut beyaz yapağı ile örtülüdür. Ağız, göz ve kulaklarda siyah lekelerle rastlanır. Yapılan çalışmalarda Bafra ırkının verim özelliklerinin Karayaka'dan daha iyi olduğu kaydedilmiştir<sup>(14,18-20)</sup>.

### **1.3. Dünyada ve Türkiye'de Evcil Hayvan Gen kaynaklarının Durumu**

Dünyada ve Türkiye'de hayvan gen kaynaklarının birçoğu yok olma tehlikesi ile karşı karşıyadır. Ülkemizde evcilleştirmenin başından beri çeşitli ıslah çalışmaları denenmiştir. Ancak bu çalışmalar yüksek verim özelliğine sahip ırkların seleksiyonu ile tek yönlü devam ettirilmiştir. Sadece ticari kaygılarla yapılan ıslah çalışmaları ve yetiştiricilerin yüksek verim özelliğine sahip kültür ırklarını tercih etmeleri yerli gen kaynaklarının kaybedilmesinde önemli etkenlerdir.

Son yıllarda dünyada ve ülkemizde yerli ırkların korunması yönünde çalışmalar yapılmaktadır. 1992 yılında Brezilyanın Rio de Janerio kentinde Birleşmiş Milletler Teşkilatının düzenlediği konferansta 150 ülkenin katılımı ile Biyolojik çeşitlilik sözleşmesi imzalandı. Bu anlaşma uyarınca ülkeler resmi bir kuruluşun kordinatörlüğünde üniversiteler, sivil toplum, kamu ile işbirliği içerisinde çiftlik hayvan genetik kaynakları için durum tespiti, halkı bilinçlendirme ve koruma çalışmaları yapmalarına karar verildi. 1999 yılında ise Gıda ve Tarım için Genetik Kaynaklar Komisyonu'nun (Commision on Genetic Resources for Food and Agriculture; CGRFA) dünya hayvan genetik kaynaklarının durumu çalışmalarını koordine etmesine karar verildi. 2004 yılında ülkelerin yaptığı çalışmaların gözden geçirilip sonuçların yayınlanması için bir zaman takvimi oluşturuldu. 2007 yılında ise 169 ülkenin katkıda bulunduğu çiftlik hayvan ırklarının durumu, orjini, yok olma risk durumları, koruma programları gibi konuları içeren sonuç bildirisini niteliğindeki kitabını yayınladı. Bu rapora göre dünyada 7616 çiftlik hayvan ırkı kaydedilmiştir ve bunların % 20'si yok olma riski altındadır. Son altı yılda 62 ırk yok olmuştur. Bu da her ay bir ırkın yok olduğuna işaret etmektedir. Belirtilen ırkların % 36'sının popülasyon sayılarına ait bilgiler yoktur. Ülkemizde de ırkların çoğu kayıt altına alınmamıştır. FAO'nun Evcil Hayvan Çeşitlilik Bilgi Sistemi'nde (Domestic Animal Diversity Information System; DAD-IS) ırkların risk durumları nesli tükenmiş, kritik, kritikliğini sürdüren, tehlikede, tehlike durumunu sürdüren, risk taşımayan ve bilinmeyen olmak üzere 7 kısımda kategorize edilmiştir. Türkiye'nin 2007 yılında yayınladığı rapora göre 27 sığır ırkından 15'i yok olmuş, 6'sı risk altında; 25 koyun ırkından 3'ü yok olmuş, 12'si risk altında; 7 keçi ırkından 4'ü risk altında; 10 at ırkından 1'i yok olmuş

6'sı risk altında; 5 köpek ırkından 3'ü risk altında; 2 eşek ırkının ikisinin de risk altında olduğu bildirilmiştir<sup>(21)</sup> (Çizelge 1.2). Bu raporun sonuçları göstermektedir ki Türkiye'nin hayvan gen kaynaklarının yüzde ellisi yok olma tehlikesi ile karşı karşıyadır. Bunun için acilen tedbir alınması gerekmektedir.

**Çizelge 1.2.** Türkiye'nin Biyoçeşitlilik Sözleşmesi kapsamında 2007 yılında sunduğu rapora göre koyun ırklarına ait risk durumu

	İrk	Geniş ölçüde bulunan	Risk altında	Nesli tükenmiş	Bilgisi bulunmayan
Koyun	Akkaraman	X			
	Morkaraman	X			
	Kangal Akkaraman	X			
	Güney Karaman		X		
	Dağlıç		X		
	Ivesi	X			
	Karayaka	X			
	Kıvırcık		X		
	Sakız		X		
	Gökçeada		X		
	Karagül			X	
	Herik		X		
	Türk Merinosu	X			
	Anadolu Merinosu	X			
	Tuj		X		
	Hemşin		X		
	Ödemiş		X		
	Halkalı			X	
	Karakaçan			X	
	Karakaş		X		
Norduz		X			
Malya	X				
Tahirova	X				
Ramlıç				X	
Çineçaparı		X			

Dünyada hayvan gen kaynaklarının korunmasına yönelik çalışmalar yapılmakta ve kapsamlı projeler yürütülmektedir<sup>(22)</sup>. Ülkemizde de son yıllarda bu tür çalışmalar hız kazanmıştır. Tarım ve Köyişleri Bakanlığının desteği ile “Türkiye Yerli Evcil Hayvan Genetik Kaynaklarından Bazılarının *in vitro* Korunması ve Ön Moleküler Tanımlanması –1” başlıklı TÜRKHAYGEN-1 bu amaçla yapılmakta olan önemli bir projedir.

Bu proje kapsamında;

- 9 koyun ırkı → (Dağlıç, Herik, Kıvırcık, Sakız, Gökçeada, Hemşin, Çine çaparı, Karagül, Norduz),
- 3 keçi ırkı → (Ankara keçisi, Honamlı keçisi ve Kilis keçisi),
- 6 sığır ırkı → (Yerli Kara, Kilis Sığı, Yerli Güney Sarısı, Boz Irk, Doğu Anadolu Kırmızısı, Zavot),
- 1 manda ırkı → (Anadolu Mandası) yerinde koruma altına alınmıştır.

Hızlı bir şekilde yok olan hayvan gen kaynaklarının korunması için günümüzde üç farklı metot uygulanmaktadır. Bunlardan birincisi canlı (*in-situ*) korumadır. Bu koruma metodunda hayvanlar buldukları doğal bölgelerde yeterli büyüklükte sürüler halinde korunur. İkinci yöntem olan dondurarak koruma (*ex-situ*) da canlıdan uygun yöntemlerle alınan yumurta, embriyo ve/veya sperm dondurularak (-196 derece sıvı azotta) saklanmaktadır. Üçüncü yöntemde dondurulmuş kan örnekleri veya diğer hayvansal dokularına ait DNA'nın uygun koşullarda saklanması yöntemidir<sup>(22, 23)</sup>. Bu

yöntemlerin birbirlerine göre avantaj ve dezavantajları söz konusudur. Ancak tüm bu yöntemler uzun bir süreç gerektirmektedir. Ayrıca devletin hem yeterli mali kaynak ayırması hem de koordinasyon sağlaması çalışmalardan yeterli verimin alınması açısından önemli diğer bir faktördür.

Yerli gen kaynaklarının korunması için yapılan çalışmalarda öncelikle ırkların genetik yapıları belirlenmeli, pedigri kayıtları düzenli bir şekilde tutulmalı, sayım çalışmaları yapılmalı, yetiştirici birlikleri kurulmalı, yerli ırklarda süt ve et verimi için uygun seleksiyon kriterleri belirlenmelidir<sup>(22,24,25)</sup>. Koruma stratejilerinden verimli sonuç alabilmek için en önemli aşama ırkların genetik yapılarının belirlenmesidir. Ayrıca ırk içi ve ırklar arası farklılıkların da incelenmesi gerekmektedir<sup>(9, 26)</sup>.

#### 1.4. Irkların Genetik Yapılarının Belirlenmesinde Kullanılan Yöntemler

Canlıların birbirinden ayırt edilmesinde morfolojik özellikler dikkate alınmakta veya DNA, proteine dayalı analiz yöntemleri kullanılmaktadır. Bunlardan morfolojik özelliklere göre yapılan ayrımlar, hayvanların ilk evcilleştirilmeye başlanmasından itibaren kullanılmaktadır. Protein polimorfizmine dayalı analizler ile ebeveyn tayini, heterozigotluk indeksinin hesaplanması, polimorfik protein fenotiplerinin ve gen frekanslarının tespiti gerçekleştirilebilmektedir. İlk kez 1955'te Smithies<sup>(27)</sup>, nişasta jel elektroforez yöntemi ile hayvanlarda biyokimyasal polimorfik karakterlerin

belirlenebileceğini ortaya koymuştur. Bundan sonra proteine dayalı polimorfizm analizleri için bu bir başlangıç olmuştur.

#### **1.4.1. DNA Analizine Dayalı Moleküler Teknikler**

Moleküler tekniklerin uygulamalarında değişik DNA belirleyicileri kullanılmaktadır. Bu belirleyiciler, ilk olarak kalıtsal bozuklukların genomdaki yerlerinin belirlenmesine yönelik çalışmalarda kullanılmışlardır. Son yıllarda ise belirleyiciler ıslah çalışmaları açısından önemli olan, doğrudan üretim özelliklerini etkileyen ve ölçülebilir özelliklerle ilgili olan genler kantitatif özellik lokusları (QTL) üzerinde yoğun çalışmalar vardır. Bu lokuslarda, çeşitliliği süreklilik gösteren karakterler yer alır ve fenotipler ölçme, tartma, sayma şeklinde kantitatif olarak belirlenebilir. Genom boyunca yer alan iki ya da daha fazla gen çifti, kalıtımın fenotip üzerindeki etkisine eklemeli (kümülatif) yolla katkıda bulunabilir. Bu işlevde çok sayıda gen yer aldığı için bu tip kalıtıma genellikle poligenik kalıtım denir. Genler belirli bir fenotipin ortaya çıkmasına eklemeli bir şekilde etkide bulunurlar. Tüm eklemeli alelerin fenotip üzerindeki toplam etkisinin diğer gen bölgelerindeki tüm eklemeli alelerin etkilerinin hemen hemen eşit olduğu kabul edilmektedir. Fenotip bu alelerin hepsinin toplamsal etkisi şeklinde ortaya çıkar. Poligenik özelliklerin analizi için bir organizma popülasyonunda çok sayıda oğul dölün çalışılması gerekmektedir<sup>(28)</sup>. Bu gen bölgelerinin moleküler genetik yöntemlerle tanımlanması ve bu bölgelerin yakınındaki verime etki eden genlerin yapısının ortaya çıkarılması, birçok ülkede çalışmaları sürdürülen hayvan genom projelerinin ortak hedefidir.

DNA analizine dayalı teknikler hibridizasyon ve Polimeraz Zincir Reaksiyonu'na dayanmaktadır. Bu tekniklerden Enzimlerle Kesilen DNA Parçacıklarının Polimorfizm (Restriction Fragment Length Polymorphism, RFLP) tekniğinin dışındakiler, Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile DNA'nın in-vitro koşullarda replikasyonuna dayanmaktadır.

İlk kez 1980 yılında Bostein ve arkadaşları tarafından geliştirilen RFLP tekniği;

- Genomik DNA'nın değişik bölgelerinin, bir yada daha fazla hibridizasyona özel endonükleazlarla kesilmesi
- Jel elektroforezi ile oluşan farklı uzunluktaki DNA parçalarının ayrılması
- Ayrılan parçaların naylon membrana transfer edilmesi
- Özel DNA dizilerinin radyoaktif veya X ışınları ile gözlenmesi aşamalarından oluşmaktadır.

RFLP bantları, DNA dizisindeki, çeşitli yer değiştirmeler ile mutasyonlar sonucu meydana gelen ve Mendel kalıtımı gösteren moleküler belirleyicilerdir. Bu belirleyiciler, DNA parçalarının PCR reaksiyonu ile çoğaltılmadan direkt analizine izin vermektedirler. Bu teknik, tek zincirdeki DNA parçalarının sadece homolog olan diziler ile hibrid oluşturması esasına dayanmaktadır<sup>(29)</sup> Lokus başına yalnızca 2 alel tanımlanmasına izin verdiği için hayvanlarda tüm genom taramasını sınırlamaktadır. Ayrıca kontrol edilemeyen bakteriyel kontaminasyon içeren örneklerde sonuçların güvenilirliği tartışılmaktadır. Uygulamalarda kontaminasyonu kontrol etmek

zor olduğu için sadece taze kan örnekleriyle çalışmak suretiyle sınırlandırma yoluna gidilmiştir.

#### 1.4.2. PCR Reaksiyonuna Dayalı Teknikler

PCR tekniği ilk defa Dr. Alec Jeffreys ve arkadaşları tarafından 1985 yılında Leicester Üniversitesinde insanlar üzerinde uygulanmış ve aynı yılda Nobel Ödülü almıştır. Daha sonra diğer canlılarda yoğun bir şekilde uygulanmasına başlanmıştır. PCR, çalışmaya konu oluşturan hedef bölgenin yapay olarak hazırlanmış olan oligonükleotidler (primer) ile sınırlandırılarak çoğaltılmasıdır. DNA'daki çeşitliliğin taranabilmesi için uygun primerlerin geliştirilmesi gerektirmektedir. Bu primerler, lokusun PCR ile in vitro enzimatik çoğaltılması (amplifikasyonu) için kullanılmakta ve istenilen genlerin ya da DNA dizilerinin döllere bağlı replikasyonu, hızlı bir şekilde gerçekleştirilmektedir<sup>(30-32)</sup>. Aynen doğal hücre bölünmesindeki replikasyon sürecini taklit ederek yaklaşık 30 döngü sonra seçilmiş bir DNA dizisinin aşağı yukarı milyar katını kopyalamaktadır.

PCR reaksiyonuna katılan bileşenler şunlardır:

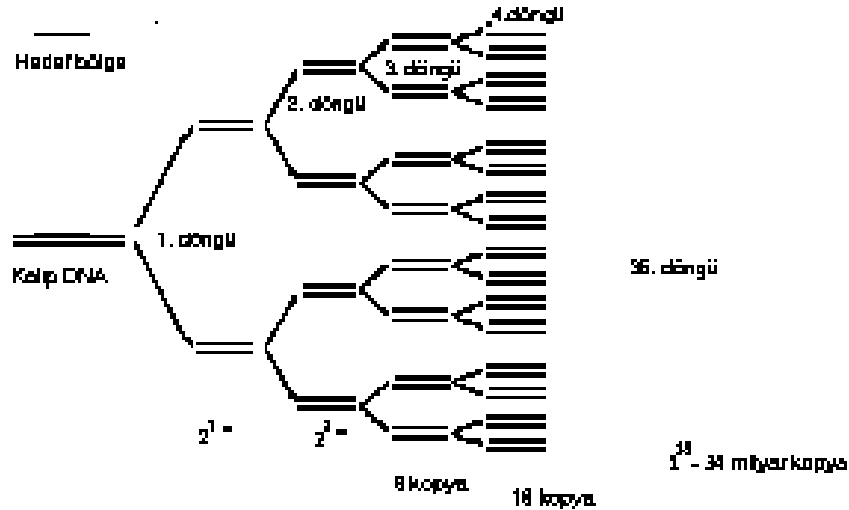
1. Kalıp DNA: Genomik DNA, plazmid ve faj DNA'ları, çeşitli genler ve hatta herhangi bir DNA parçası kalıp olarak kullanılabilir.
2. Polimerazlar: En yaygın olarak kullanılan polimeraz enzimi *Thermus aquaticus* 'dan elde edilen Taq DNA polimeraz 'dır. Amplitaq, Hot Tub, Protase, Tth Pfu ve Vent gibi bazı enzimler de kullanılmaktadır.



3. Primerler: Primerler 10-25 nükleotid uzunluğunda sentetik oligonükleotitlerdir.
4. dNTP: Deoksiribo nükleozid fosfatlar (dATP, dGTP, dTTP, dCTP). Primerden itibaren zincirin uzaması için gerekmektedir.
5. MgCl<sub>2</sub>: PCR karışımında enzim aktivitesinin artırmak amacı ile kullanılmaktadır.

PCR reaksiyonu 3 aşamada gerçekleşir:

1. Ayrılma (Denatürasyon): Kalıp DNA'nın yüksek sıcaklıkta birbirinden ayrılması (denatürasyonu) (92- 96 °C)
2. Bağlanma (Annealing): Primerlerin, birbirinden ayrılmış DNA zincirlerinde bulunan uygun bölgelere bağlanması (35-65 °C)
3. Uzama (Elongation): Hedef bölgede simetriği olan DNA zincirine, DNA polimeraz enziminin aktivitesi ile primerden itibaren sentezin gerçekleşmesi (72 °C). PCR'ın şematik şekli Şekil 1.2'de verildi.



**Şekil 1 2.** Polimeraz Zincir Reaksiyon'unun şematize şekli

Bu üç aşama bir 'döngü' olarak kabul edilir ve çalışmalarda ortalama 25-35 döngü uygulanır. Her döngü sonunda, mevcut primer-genomik DNA kombinasyonu ile çoğalan DNA miktarı geometrik olarak artar. Bu üssel artışın nedeni, bir döngü sonucu sentezlenen ürünün, ardışık döngüde diğer primer için kalıp görevi yapmasıdır. Böylece her PCR döngüsü DNA molekülü üzerinde istenilen bölgenin iki katına çıkması ile sonuçlanır. İstedığımız miktarda kopyalanan DNA'ya ulaşıldığında PCR reaksiyonu sona erdirilir.

Çoğaltılmış Parça Uzunluk Polimorfizmi (Amplified Fragment Length Polymorphism; AFLP) Tekniği; genomik DNA'nın 2 adet restriksiyon enzimi ve bir adet 3' adaptörü ile kesilmesi daha sonra 5' primerleriyle çoğaltılan DNA ile restriksiyon parçaları elde edilmesi esasına dayanmaktadır. Elde edilen ürünler jelde yürütülerek gümüş boyama veya radyoaktivite ile gözlenmektedir<sup>(33, 34)</sup>. PCR ile RFLP tekniğinin kombinasyonu olup, kullanılan primerler hem dizi özgü (spesifik) hem de rastgeledir. Böylece hem RFLP'nin tekrarlanabilirliği hem de PCR'ın basitliği bir araya getirilmiştir<sup>(35)</sup>.

Rasgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA (Randomly Amplified Polymorphic DNA; RAPD) Tekniği; genetik polimorfizmin taranmasında kullanılan moleküler tekniklerden birisidir<sup>(36)</sup>. RAPD yöntemi ilk tanımlandığından itibaren önemli bir değişikliğe uğramamıştır. Rastgele dizilerden oluşan oligonükleotit dizileri, kalıp DNA kullanılarak PCR ile çoğaltılır. Bu teknikte 9-10 baz çifti uzunluğundaki primerler kullanılmaktadır. Reaksiyon başına tek primer ve 10-25 ng DNA gerekmektedir. Genomik DNA; primer, DNA polimeraz, dNTP, magnezyum klorür ve uygun bir tampon çözelti varlığında

'ısısal döngü' cihazında çoğaltılır. PCR cihazında uygun bağlanma ısısında (annealing temperature) reaksiyon şartları sağlanan primerlerin, kendileri ile homolog DNA dizilerine bağlanması sağlanır. Bu şekilde istenilen bölgenin milyonlarca kopyası oluşur. Polimorfizmlerin varlığı, primer bağlanma noktalarındaki mutasyon ve dizi değişikliklerinin sonucu olarak bantların varlığı ve yokluğuna dayalı olarak tespit edilir. Bu da RAPD belirleyicilerinin genelde dominant oldukları anlamına gelmektedir.

#### SNP (Single Nucleotide Polymorphisms; Tek nükleotit polimorfizmi);

DNA dizisinde, aynı pozisyondaki farklı nükleotidlerin ortaya çıkarılmasında kullanılmaktadır. İnsanda her 100-300 baz çiftinde SNP'ler görülmektedir<sup>(37)</sup>. İki insanın DNA dizisi karşılaştırıldığı zaman, aralarında 1.6 – 3.2 milyon SNP bulunduğu tahmin edilmektedir. SNP, kodlanan bölgelerdeki protein fonksiyonları ile doğrudan ilişkilendirilebilir. Atasal kalıtımda sabit olduğundan dolayı seleksiyon için uygun işaretleyicileridir. Son yıllarda, insanda genetik hastalıkların araştırılmasında, insan evrim çalışmalarında ve çeşitli çiftlik hayvanları üzerinde yapılan araştırmalarda tercih edilmektedir. İnsan genom haritalamasında<sup>(38)</sup>, insanın evrimi ile ilgili çalışmalarda da kullanılmaktadır<sup>(39,40)</sup>. Ayrıca diğer hayvanlar ile ilgili genom projelerinde geniş ölçüde kullanılmaya başlanmıştır<sup>(41)</sup>.

#### **1.4.2.1. Mikrosatelitler**

VTNR (Variable Number of Tandem Repeats) ardışık olarak tekrar eden basit DNA dizi tekrarları insan genomunda yaygın olarak bulunmakta ve

bireyler arasında yüksek farklılık (polimorfizm) göstermektedirler. Bu metot tekrar eden lokuslara bağlanan primerlerin PCR yardımıyla çoğaltılması esasına dayanmaktadır. Art arda tekrarlanan zincirdeki dizilerin sayısındaki değişiklikler ile tekrar eden lokuslar arasındaki farklılıklar belirlenmektedir<sup>(42)</sup>.

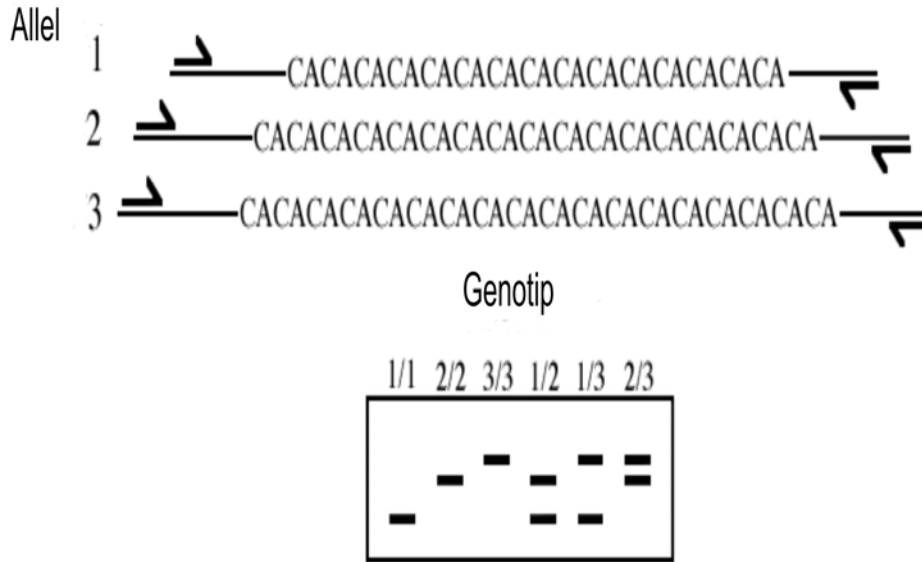
Bu tekrar bölgeleri, tekrar eden birimlerin büyüklüğüne göre 2 gruba ayrılmaktadır:

a) Minisatellitler

b) Mikrosatellitler

Bir DNA dizisinin ardışık tekrarlanan kopyalarını içeren minisatellit lokusu genelde yüksek polimorfizm göstermektedir<sup>(43)</sup> ve yaklaşık 10-100 baz çiftlik birimlerin birkaç yüz kopyası tekrar etmektedir. Minisatellitler çeşitli sayıda tekrar eden lokuslar olarak bilinen VTNR (Variable Number of Tandem Repeats) sınıflarından birisidir<sup>(44,45,46)</sup>. İlk kez insan genomunda tanımlanmışlardır. Daha çok telomer bölgesinde yoğunlaşmaktadırlar. Bu bölge bireyler arasında yüksek oranda farklılıklar gösterdiğinden dolayı genetik farklılıkların araştırıldığı çalışmalarda büyük önem taşımaktadır. Ancak minisatellit işaretleyicilerinin çoğaltılması zor olduğu için tercih edilmemektedir. Genellikle tekdüze 1-5 bç'lik (dC-dA)<sub>n</sub> (dG-dT)<sub>n</sub> gibi basit tekrarlardan meydana gelirler<sup>(47-51)</sup>. Bu kısa ardışık tekrarlar ökaryotik genom içerisinde yaygın olarak bulunmaktadır<sup>(48)</sup>. Tekrar birimlerinin çoğunda yüksek sıklıkta polimorfizm görülmektedir<sup>(49)</sup>. Mikrosatelit lokusu incelendiğinde belli bir popülasyonda yüksek derecede ayırım sağlamak mümkün olmaktadır. Ayrıca çok az miktarlarda ve bütünlüğü bozulmuş DNA'da dahi sonuç vermektedir. Bir mikrosatelit lokusunun kullanılabilirliği;

yüksek heterozigotluk, değişmez tekrar birimleri, ayrıştırılabilir aleller, kolay çoğaltılması (amplifikasyon) gibi parametreler ile ölçülmektedir. STR analizinde yüksek ayırıcılığı olan ve tek baz farkını bile gösterebilen denatüre edici poliakrilamid jeller kullanılmaktadır. Mikrosatelitler kodominant olarak kalıtılır<sup>(52)</sup>. Kodlanmayan intron bölgelerini temsil etmeleri, çok sayıda ve kodominant alellere sahip olmaları nedeni ile ırk içi ve ırklar arası genetik çeşitliliği saptamadaki önemi fark edilmiştir<sup>(1,53)</sup>. Çiftlik hayvanlarında karakterize edici farkların hızlı analizinde yaygın kullanılmaktadır<sup>(8)</sup>.



**Şekil 1.3.** Mikrosatelit tekrarlarının jeldeki şematize şekli [(CA)<sub>15</sub>, (CA)<sub>17</sub> ve (CA)<sub>18</sub>]

#### 1.4.2.1.1. Mikrosatelit İçin DNA Bant Profiline Belirlenmesi

Mikrosatelit tekniğinde yükseltgenmek istenilen bölgeye özgü primer kullanılarak PCR işlemleri gerçekleştirilir. Elde edilen ürünlerin gözlenmesi için farklı teknikler bulunmaktadır. Ürünler poliakrilamid jelde yürütüldükten sonra gümüş nitrat boyama veya otoradyografi yapılarak DNA bant profilleri elde edilebilir. Ayrıca son yıllarda DNA çalışmalarında otomatik DNA dizi analiz cihazı kullanılmaya başlanmıştır. Standart çalışma koşullarının sağlanması, daha kısa zamanda sonuç alınması ve elde edilen sonuçların değerlendirilmesi açısından büyük avantajlar sağlayan bu teknikte sabit bilgisayarda yüklü programlar ve bu programlar ile yönetilen elektroforez sistemi bulunmaktadır. Elektroforetik ünitelerde bulunan lazer ışık kaynağı ile monokromatik bir ışık oluşturulur. DNA'nın bulunduğu jelmatriks bu ışık ile taranır. Elektroforez süresince DNA'ya bağlanan floresan boya, ışık ile uyarılan bölgeye geldiğinde uyarılır. Uyarılan boya kendi için karakteristik olan dalga boyunda ışığı geri yansıtır. Yansıyan ışık demeti dedektör tarafından kaydedilir. Kaydedilen veriler bilgisayar programları ile değerlendirilerek sonuçlar grafiksel ya da matematiksel olarak bilgisayar ekranına aktarılır<sup>(54)</sup>. Avantajları açısından çalışma ABI Prism 310 Genetik Analizatör cihazı ile tamamlandı. Bu cihaz poliakrilamid jelmatriks sistemi yerine kapiler sistem içine doldurulan polimer jelmatriks sistemi içerir. Cihaz bilgisayar sistemi ve elektroforez kısmı olmak üzere iki ana parçadan meydana gelmektedir<sup>(55)</sup>. Floresan işaretli primerler kullanılarak otomatik DNA dizi analiz cihazında yükseltgenme sonucu elde edilen veriler bilgisayar ortamına aktarılabilir.

Mikrosatelitlerin evcil hayvan çalışmalarında kullanılması başlıca  sebebi vardır:

1. Çiftlik hayvan populusyonlarında ırk içi ve ırklar arası genetik eşitliliğın belirlenmesinde kullanılabilir.
2. Çiftlik hayvanlarında genetik potansiyelin belgelenmesine izin verir.
3. Mikrosatelit verileri ile bireylerin, ırk ve tür düzeyinde genetik olarak benzer gruplara ayrılması gerçekleştirilebilir<sup>(8, 56)</sup>.

#### 1.5. Mikrosatelit Metodu ile iftlik Hayvanlarında Yapılan alışmalardan

##### Bazıları

Birçok araştırıcı kendi ülkelerinde yetiştirilen hayvan populusyonlarında mikrosatelit belirleyiciler kullanarak çalışmalar yapmıştır. Koyun ve diğerk evcil hayvanlarla yapılan genetik çalışmalardan bazıları şunlardır:

Maudet ve ark. (2002)<sup>(26)</sup>, Fransa'da bulunan 6 sığır ırkı ve Holstein ırkını 23 mikrosatelit belirleyicisi kullanarak araştırmışlar ve daha önce çalışılmış olan İsviçre ırkları ile karşılaştırmışlar. Küçük lde bir populusyonu oluşturan Alpin ırkı, daha geniş populusyona sahip Holstein ırkından daha yüksek oranda genetik çeşitlilik gösterdiğini rapor etmişlerdir. Dendogramda Abondance ve Tarentaise ırkları birbirine yakın, Holstein ırkların hepsinden daha uzakta yer aldığı gözlenmiştir.

Grigaliunaite ve ark. (2003)<sup>(57)</sup> 7 koyun ırkına ait 195 bireyde babalık testi ve populusyon içi ile populusyonlar arasındaki çeşitliliği araştırmak için

15 mikrosatelit belirleyicisi kullanmışlar. Bütün mikrosatellitleri polimorfik olarak bulmuşlar ve lokus başına ortalama 4.4-10.9 alel gözlemlemişler<sup>(57)</sup>.

Arruga ve ark. (2001)<sup>(58)</sup> Rasa Aragonesa koyun ırkında babalık testinde kullanılan 4 mikrosateliti çalışmışlar ve mikrosatelit tekniğinin çok kullanışlı olduğunu bildirmişlerdir.

Jandurova ve ark. (2003)<sup>(59)</sup>, Beyaz Kısa-Tüylü ve Kahverengi Kısa-Tüylü keçi ırkını sığırdan orjin alan 3 lokus, koyundan orjin alan 3 lokus ve 1 tane keçiden orjin alan toplam 7 lokus çalışmışlar. İki ırk da yüksek düzeyde heterozigot olarak bulunmuş. Fakat bu iki ırka ait SR-CRSP-9 verilerinin literatürdeki verilerden tamamen farklı olduğunu bildirmişlerdir.

Aranz ve ark. (2000)<sup>(60)</sup>, 6 yerli İspanya koyun ırkında toplam 18 mikrosatelit lokusunu genetik çeşitliliği belirlemek için analiz etmişler. Birçok lokusda ırka özgü alelleri gözlemişler. Araştırmacılar bu alellerin en sık Merinos ırkında olduğunu, nadir olarak da Churras ırkında gözlediklerini bildirmişlerdir.

Farid ve ark. (2000)<sup>(61)</sup>, 10 koyun ırkında 10 mikrosatelit lokusunu çalışmışlar. İrk içi ve ırklar arasındaki genetik çeşitliliği incelemişler. Sonuçlar seçilen ırklarda yoğun genetik çeşitlilik kaybının olmadığını bildirmişlerdir.

Rendo ve ark. (2004)<sup>(62)</sup>, İber yarımadasının kuzeyinde 6 yerli koyun ırkında 11 mikrosatelit lokusu çalışmışlar. Alınan veriler doğrultusunda Latxa ırkının alt populasyonları için yeni bir sınıflandırılma önermişlerdir. Ayrıca araştırmacılar mikrosatelit belirleyicileri ile yaptıkları bu çalışmanın çiftlik



hayvanlarında DNA varyasyonunun analizinde oldukça yararlı olduğunu ileri sürmüşlerdir.

Mikrosatelit belirleyicileri farklı türlerde de populasyonların genetik yönden analizinde kullanılmaktadır. Maudet ve ark. (2001), 7 sığır ırkında 23 mikrosatelit lokusu taramışlar Holstein sığır ırkını diğerlerinden ayrı bir grup olduğunu rapor etmişlerdir<sup>(26)</sup>. Rout ve ark. (2008)<sup>(63)</sup>, 7 Hindistan keçi ırkında toplam 17 mikrosatelit lokusu çalışmışlar. Avrupa ve Asya ırklarına göre daha fazla gen çeşitliliğine sahip olduğunu bildirmişlerdir. Agha ev ark. (2008)<sup>(64)</sup>, Mısır ve İtalyan keçi ırklarında 7 mikrosatelit lokusu taramışlar. Çalıştıkları Mısır keçi ırklarının benzer olduğunu evcilleşme merkezi olan Ortadoğu'dan göçlerinden sonra çok az açılım gösterdiklerini bildirmişlerdir. Bölgedeki keçilerin genetik çeşitliliğinin analizinde daha fazla sayıda ırk ve örnek ile farklı moleküler belirleyiciler eklenerek yapılması gerektiğini ileri sürmüşlerdir. Bir başka çalışmada Zhou ve ark. (2005)<sup>(65)</sup>, Çin'de 5 sığır ırkında 5 mikrosatelit lokusu çalışmışlar. Uzak coğrafik bölgeden alınan Yanbian ırkının genetik çeşitliliğinin diğer ırklara göre daha düşük olduğunu rapor etmişlerdir. Yerli keçi ırklarında mikrosatelit belirleyicileri ile yapılan ilk çalışma olduğunu ve diğer ırkların da eklenerek daha kapsamlı bir araştırma ile keçi ırklarında genetik ilişkilerin belirlenebileceğini ileri sürmüşlerdir.

Sunulan çalışmada mikrosatelit belirleyicileri kullanılarak Türkiye'nin 6 yerli koyun ırkında ırk içi ve ırklar arası genetik çeşitlilikleri ve ırkların genetik açıdan birbirlerine olan uzaklıkları araştırıldı.

## 1.6. Çalışmanın Amaçları

Ekonomik öneme sahip olan çiftlik hayvanlarının gen kaynaklarının korunması ve sürdürülebilirliğinin sağlanması için ıslah çalışmalarının belli kriterler çerçevesinde gerçekleştirilmesi gerekmektedir. Bu çalışmaların verimli bir şekilde yapılabilmesi çiftlik hayvanlarının genetik yapılarının uygun analiz yöntemleri kullanılarak belirlenmesi ile mümkündür. Daha önce çiftlik hayvanlarının karakterizasyonu için protein ve enzim polimorfizmine dayalı teknikler kullanılırken günümüzde direkt DNA analiz yöntemleri kullanılmaktadır. Türkiye’de de DNA’ya dayalı analiz tekniklerinin bu amaçla kullanılması çok yenidir. Sınırlı sayıda yapılan bu çalışmaların arttırılması ve hızlandırılması yerli gen kaynaklarımızın korunabilmesi açısından çok önemlidir.

Çalışmada çiftlik hayvanları arasında önemli paya sahip olması nedeni ile koyun seçilirken DNA analiz yöntemi olarak da mikrosatelit belirleyiciler kullanılmıştır. Bu çalışmanın amacı;

1. Türkiye’deki bazı yerli koyun ırklarımızın mikrosatelit yöntemi kullanılarak genetik yapılarının belirlenmesi ile ıslah ve koruma çalışmalarına katkıda bulunulması,
2. Çalışılan koyun ırklarının, ırk içi ve ırklar arası polimorfizminin belirlenmesi,
3. Çalışılan lokuslar açısından bu ırkların içerdikleri genetik varyasyonun belirlenmesi,

4. Çalışmada kullanılan melez ırkların yerli ırklarla genetik uzaklıklarının belirlenmesi,
5. Çalışılan koyun ırklarında ırkın karakterizasyonunda kullanılacak ırka özgü alellerin bulunup bulunmadığının tespit edilmesidir.

### 3 MATERYAL VE METOT

#### 2.1. Örneklerin Toplanması

Örneklerin toplanmasında morfolojik açıdan ırkın özelliklerini en çok yansıtan ve akrabalık ilişkisi olmayan hayvanların seçilmesine özen gösterildi. Ancak devlet üretme çiftliklerinde kayıtların yeterli olmamasından dolayı örnekler toplanırken bu ayırım kesin olarak yapılamamıştır. Kan örnekleri veteriner hekim tarafından vakumlu EDTA'lı tüplere alındı. Örnekler 48 saat içerisinde soğuk zincir ile laboratuvar ortamına ulaştırıldı. Irkların sayılarına ve alındığı bölgelere göre dağılımları Çizelge 2.1' de verildi.

**Çizelge 2.1.** Irkların sayılarına ve alındığı bölgelere göre dağılımları

İrkin Adı	Örnek Sayısı	Örneklerin Toplandığı Yer
İvesi	18	Urfa ve çevresindeki sürülerden
Morkaraman	13	Van, Altındere Üretim çiftliği
Türk Merinosu	15	Karacabey Harası, Bursa
Sakız	12	Çeşme ve civarındaki sürülerden
Karayaka	14	Giresun ve civarındaki sürülerden
Bafra	14	Amasya Gökhöyük Tarım İşletmesi
Toplam	86	

Çalışmada kullanılan ırkların Türkiye’de yayılış gösterdiği alanlar ve örneklerin alındığı iller Şekil 2.1’de gösterildi.



**Şekil 2.1.** Çalışmada kullanılan ırkların Türkiye’de yayılış gösterdiği alanlar ve bu ırklara ait örneklerin alındığı iller

## 2.2. Kan Örneklerinden DNA İzolasyonu

Koyun ırklarına ait kan örnekleri uygun şartlarda laboratuvara getirildikten sonra DNA izolasyonu yapıldı. İzolasyon Fermentas Genomic DNA Purification KİT® ve fenol-kloroform yöntemi kullanılarak iki farklı şekilde gerçekleştirildi. Elde edilen örnekler daha sonra -20 °C’de saklandı.

### 3.1.1 DNA'nın Kandan KİT ile İzolasyonu

İrklara ait kan örnekleri alınarak Fermentas Genomic DNA Purification KİT ® ile DNA izolasyon işlemi gerçekleştirildi. 200 µl antikoagulanlı kan örneği üzerine Lysis Buffer (KHCO<sub>3</sub>, NH<sub>4</sub>Cl, 0.5 M EDTA; pH: 8.0) konularak 65 °C'de 5 dakika inkübe edildi. İnkübe edilen kanların üzerine kloroform eklenerek yavaşça karıştırıldı, 10000 rpm'de 2 dakika santrifüj edildi. Üsteki sıvı faz dökülerek üzerine 400 µl fenol eklendi ve örnekler tekrar 10000 rpm'de 2 dakika santrifüj edildi. Üstteki temiz faz temiz bir ependorf tüpe aktarıldı ve üzerine çöktürme solüsyonu eklendi. Tüpler iki dakika oda sıcaklığında karıştırılarak bekletildi. Daha sonra 10000 rpm'de 2 dakika santrifüj edilerek oluşan süpernatant kısım döküldü. Altta kalan pellet kısmı NaCl solüsyonu ile iyice çözüldükten sonra mevcut hacmin yaklaşık iki misli oranında saf alkol (%99) eklendi ve 10 dakika -20 °C'de bekletildi. Dondurucudan çıkartılan tüpler, 10000 rpm'de 3-4 dakika santrifüj edildi. Daha sonra dipte pellet şeklinde bulunan DNA % 70'lik alkolle yıkandı. Tüpler kurutulduktan sonra üzerlerine, DNA yoğunluğuna göre 100 - 200 µl steril su eklendi ve +4 °C'de en az 10 saat iyice çözülmesi için bekletildi. Elde edilen DNA örnekleri daha sonra -20 °C'de saklandı.

### 3.1.2 DNA'nın Kandan Fenol-Kloroform Yöntemi ile İzolasyonu

Denemeler sırasında elde edilen DNA'lar ile her ırkta aynı verim alınamadığı için örnekler ayrıca fenol-kloroform yöntemi ile tekrar izole edildi. Bu yöntemde 2ml kan 15 ml'lik falcon tüplerine alındı. Üzerine 100 µl EDTA

(0.5 mM) eklendi ve 2X Lysis Buffer (10X Lysis buffer:  $\text{KHCO}_3$  mM,  $\text{KH}_4\text{Cl}$  46 mM, EDTA 0.5mM) ile 15 ml'ye tamamlandı. Tüpler 30 dakika buz üzerinde bekletildikten sonra 10 dakika oda sıcaklığında devamlı çalkalandı. Bu süre sonunda 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi ve süpernatant kısmı döküldü. Pellet üzerine 1 ml tuz/EDTA konularak vortekste çözüldü. Pellet iyice çözüldükten sonra üzerine % 10'luk SDS, Proteinaz K (10mg/ml) eklendi. Tüpler 55 °C'de 2-3 saat inkübe edildi. İnkübasyon işleminden sonra tüplere 1 ml fenol konularak önce 20 saniye hızlı, 10 dakika vurarak çalkalandıktan sonra 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Süpernatant kısmı temiz falcon tüplere alındı ve üzerine 1 ml fenol:kloroform:izoamilalkol (25:24:1) eklendi. Tekrar 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Santrifüj edilen tüplerdeki üstte bulunan süpernatant kısmı ependorf tüplere alındı ve üzerine hacminin iki katı kadar soğuk saf alkol (%99) eklendi. Yavaşça ileri geri çalkalanarak DNA'nın yoğunlaşması sağlandı. 10000 rpm'e 7 dakika santrifüj edilerek DNA'nın çökmesi sağlandı. Saf alkol dökülüp örnekler %70'lik alkol ile yıkandı. Tüpler kurutma kağıdı üzerinde bir gece bekletilerek alkolün tam olarak uçması sağlandı. Ve DNA üzerine 100 µl dH<sub>2</sub>O eklendi. 4 °C'de en az 10 saat iyice çözülmesi için bekletildi. Elde edilen DNA örnekleri daha sonra -20 °C'de saklandı.

### 2.3. Genomik DNA Miktarının Hesaplanması

Spektrofotometre ile 260 nm'de örneklerin optik yoğunlukları (OD) kuvars küvet kullanılarak spektrofotometrede belirlendi. 260 nm'de okunan değerler, örnekteki nükleik asit konsantrasyonunun hesaplanmasında

kullanıldı. 1 OD (optic density) yoğunlukta yaklaşık 50 µg / ml DNA olduğu kabul edilerek örneklere ait DNA konsantrasyonları ng/µl cinsinden hesaplandı. Ayrıca 260 nm ve 280 nm deki OD'ler de ölçülerek nükleik asit saflığının tayini gerçekleştirildi ve örneklerin % 70'inin OD<sub>260</sub> / OD<sub>280</sub> oranının 1.8 – 2.0 arasında olduğu belirlendi.

#### 2.4. Çalışmada Kullanılan Mikrosatelit Primerleri ve Optimizasyon

##### Çalışmaları

Bu çalışmanın başlangıcında JMP29, JMP58, MAF65, FCB20, FCB128, FCB193, FCB304 mikrosatelit primerleri seçildi<sup>(67, 68)</sup>. Bu primerler için optimizasyon çalışmaları yapıldı ve sonuç alınan primerlerde <sup>33</sup>P dATP kullanılarak PCR'ları yapıldı. Yükseltgenen örnekler % 6'lık poliakrilamid jelde yürütüldü. Daha sonra jel üzerine röntgen film konularak çelik kasetlere yerleştirildi. Bekleme süresi tamamlandıktan sonra banyo edildi. Bazı primerler için optimizasyonun sağlanamaması ve otoradyografi tekniğinde karşılaşılan sorunlardan dolayı sadece JMP29 ve JMP58 primerleri ile Türk Merinosu ve Morkaraman ırklarına ait örneklerden elde edilen veriler istatistiksel olarak değerlendirildi. Daha sonra çalışmada kullanılmak üzere flouresan boya içeren OarCP34, MAF65, DYMS1, ILSTS011, MCM140, MAF209 primerleri seçildi<sup>(66,67)</sup> ve bu primerlerle PCR'ı yapılan örneklerin analizi ABI Otomatik DNA Analiz cihazı ile gerçekleştirildi. Bu primerlerden MAF209, MAF65, OarCP34 ve DYMS1 için elde edilen veriler istatistiksel olarak değerlendirildi. Optimizasyon denemeleri yapılan primerlerin adı, orijini, dizisi, kromozom numarası ve rengi Çizelge 2.2 ve Çizelge 2.3'de gösterildi.



**Çizelge 2.2.** Çalışmada otoradyografi için optimizasyon denemeleri yapılan primerlerin adı, orjini, dizisi ve bulunduğu kromozom

Primerin adı	Primerin dizisi (5'-3')	Orjini	Kromozom numarası
JMP29	GTATACACGTGGACACCGCTTTGTAC GAAGTGGCAAGATTCAGAGGGGAAG	Koyun	24
JMP58	GAAGTCATTGAGGGGTCGCTAACC CTTCATGTTACAGGACTTTCTCTG	Koyun	26
MAF65	AAA GGC CAG AGT ATG CAA TTA GGA G CCA CTC CTC CTG AGA ATA TAA CAT G	Koyun	15
FCB20	AAA TGT GTT TAA GAT TCC ATA CAG TG GGA AAA CCC CCA TAT ATA CCT ATA C	Koyun	2
FCB128	CAG CTG AGC AAC TAA GAC ATA CAT GCG ATT AAA GCA TCT TCT CTT TAT TTC CTC	Koyun	2
FCB193	TTC ATC TCA GAC TGG GAT TCA GAA AGG C GCT TGG AAA TAA CCC TCC TGC ATC CC	Koyun	11
FCB304	AAA GGC CAG AGT ATG CAA TTA GGA G CCA CTC CTC CTG AGA ATA TAA CAT G	Koyun	19

**Çizelge 2.3.** Çalışmada otomatik DNA dizi analizi için optimizasyon denemeleri yapılan primerlerin adı, dizisi, orjini, bulunduğu kromozom ve rengi

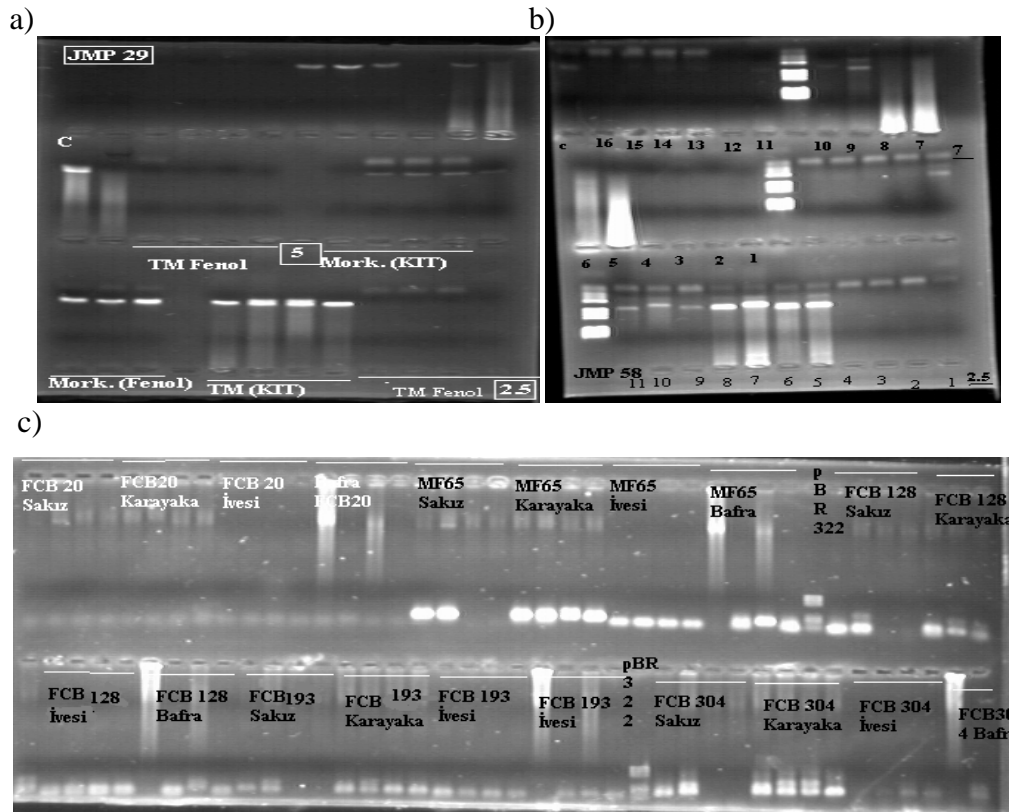
Primerin adı	Primerin dizisi (5'-3')	Orjini	Kromozom numarası	Renk
OarCP34	GCTGAACAATGTGATATGTTTCAGG GGGACAATACTGTCTTAGATGCTGC	Sığır	11	HEX
MAF65	AAA GGC CAG AGT ATG CAA TTA GGA G CCA CTC CTC CTG AGA ATA TAA CAT G	Koyun	26	FAM
DYMS1	AACAACATCAAACAGTAAGAG CATAGTAACAGATCTTCCTACA	Sığır	20	HEX
ILSTS011	GCTTGCTACATGGAAAGTGC CTAAAATGCAGAGCCCTACC	Sığır	14	FAM
MCM140	GTTCGTAATTCTGGGTAAGTCTC GTCCATGCATTTGCAGAGTCAG	Koyun	6	FAM
MAF209	GATCACAAAAAGTTGGATAACAACCGTGG TCATGCACTTAAGTATGTAGGATGCTG	Koyun	17	NED

Kullanılan primerlerin seçiminde primerin daha önce çalışılmış ve polimorfik olarak belirlenmiş olmasına dikkat edildi<sup>(68,69)</sup>.

## 2.4.1. JMP29, JMP58, MAF65, FCB20, FCB128, FCB193, FCB304

### Mikrosatelit Primerlerinin Optimizasyonu

Bu primerler için optimizasyon çalışmaları yapıldı. Bu denemelerde primerler için uygun bağlanma dereceleri ve PCR koşulları belirlendi. Deneme sonuçlarını test etmek için agaroz jel (%1.5) kullanıldı. Thermo Hybaid PCR cihazı ile yapılan denemelerden bazılarına ait agaroz jel fotoğrafları Şekil 2.2' de verildi.



**Şekil 2.2.** Agaroz jelde kontrol edilen bazı optimizasyon çalışmalarının fotoğrafları a) JMP 29 primerinin Morkkaraman (Mork) ve Türk merinosu (TM) ırklarından farklı iki yöntem ile elde edilen DNA örneklerinin rastgele seçilerek yükseltgenmesi sonucu oluşan DNA bantları b) JMP 58 primerinin Morkkaraman (Mork) ve Türk merinosu (TM) ırklarından farklı iki yöntem ile elde edilen DNA örneklerinin rastgele seçilerek yükseltgenmesi sonucu oluşan DNA bantları c) Sakız, Karayaka, İvesi ve Bafra ırklarına ait rastgele seçilen örneklerin primerler ile yükseltgenmesi sonucu oluşan DNA bantları ve pBR322 belirteci ile kontrolü

### PCR Koşulları:

Çalışılan primerlerden JMP29, JMP58, MAF65 ve OarFCB128 için optimizasyon sağlandı ve tüm bireylerde <sup>33</sup>P dATP radyoaktif madde ile PCR'ları yapıldı. PCR karışımı son hacim 15 µl olacak şekilde gerçekleştirildi. Bu karışımda 1XPCR buffer; 2.5 mM MgCl<sub>2</sub>; 0.08 Taq DNA polimeraz; 200 mM dTTP, dCTP, dGTP, 20 mM dATP; 0.05 µl 1000 mCi <sup>33</sup>P dATP; JMP58 ve OarFCB128 için 6 pmol, MAF65 için 4 pmol, JMP29 için ise 0.3 pmol eklendi. Bu karışım 50-100 ng DNA örneği içeren tüplere dağıtıldı. Eğer beklenen bölge yükseltgendi ise o primer ile tüm örneklerin <sup>33</sup>P dATP kullanılarak PCR'ı gerçekleştirildi.

### Poliakrilamit Jelin Otoradyografi ile görüntülenmesi:

PCR işleminden sonra örnekler % 6'lık poliakrilamit jele yüklendi. Bu jelin elde edilmesinde % 6 'lık akrilamit-üre karışımı stok solusyon olarak kullanıldı. Bu stok solusyonun hazırlanması:

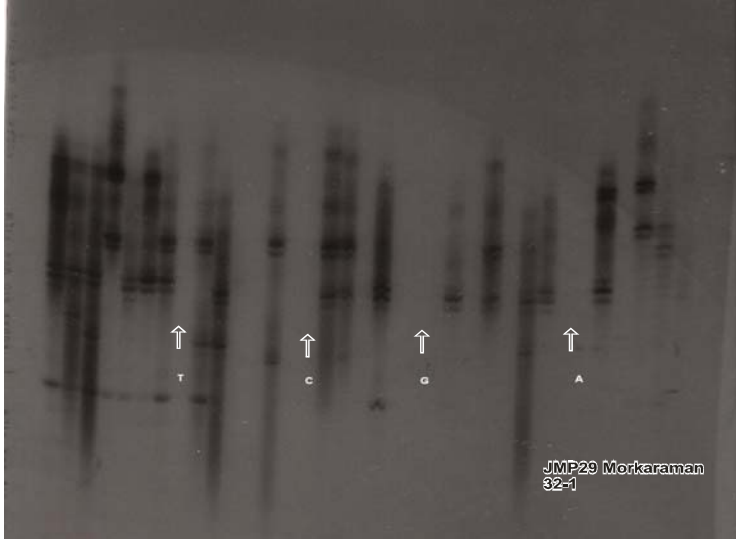
Akrilamit	57 g
Bisakrilamit	3 g
Üre	480 g
10X TBE	100 ml

Bu kimyasallar ısıtılarak eritildi ve distile su ile 1 lt'ye tamamlandı. Hazırlanan stok daha sonra renkli şişede +4 °C'de muhafaza edildi. Poliakrilamit jel döküleceği zaman bu stoktan 30 ml alındı ve hızlı bir şekilde

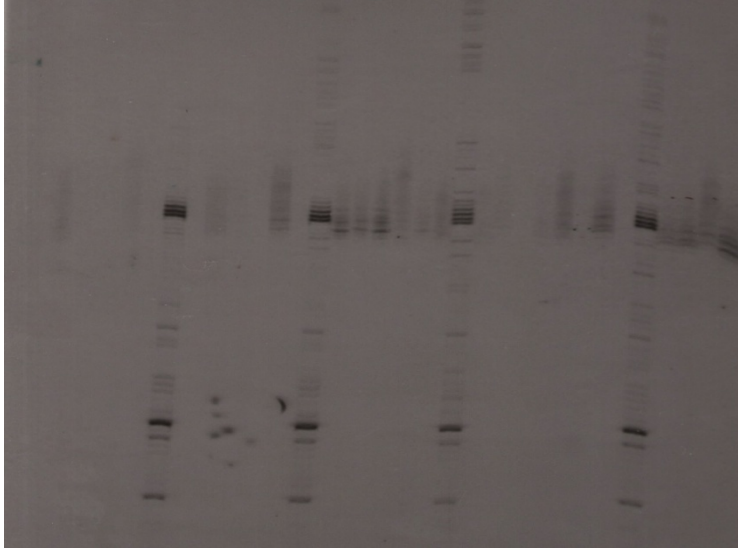
%10'luk APS'den 250 µl ve TEMED'den 60 µl eklenerek temiz cam preparatı içerisine enjektör ile hava kabarcığı kalmayacak şekilde döküldü ve tarak takıldı. Jelin sadece bir cama yapışmasını sağlamak amacı ile jel dökülmeden önce camlardan birisine sigmacode sürüldü. Jel donması için bekletildi.

PCR ürünlerine, kuyucuklara yüklemeden önce 6X yükleme boyası (3µl) eklendi. 3 dakika 95 °C'de denatüre edilen örnekler jele dikkatlice yüklendi. Örnekler yükleme işlemi yapılırken buz içerisinde muhafaza edildi. Elektrolit çözeltisi olarak TBE (Tris-Borat-EDTA) kullanıldı. Çözelti 10 misli konsantre olarak hazırlandı (54 g Tris, 27.5 g Borik asit, 20 ml 0.5 M EDTA), stok çözelti 10 misli distile su ile sulandırılarak kullanıldı. Örnekler 1980 V, 60 mA, 45 watt ile 2 saat 20 dakika yürütüldü.

Yürütülen poliakrilamid jel dikkatli bir şekilde 3 M Whatman kağıdına aktarıldı ve jelin üzeri streç film ile kapatıldı. Vakumlu jel kurutucusunda 70 °C'de 45 dakika kurutuldu. Jel daha sonra çelik kasete yerleştirildi ve üzerine radyoaktif duyarlı film yerleştirilerek kaset kapatıldı. Film 5-10 gün bekletildikten sonra film banyo yapıldı (bekletme süresi radyoaktif maddenin yarılanma ömrü göz önüne alınarak saptandı). Otoradyografi sonucu bazı primerler için belirleyiciler yükseltgenmezken (Şekil 2.3), bazı primerler için ise örneklerin yükseltgenmediği gözlemlendi (Şekil 2.4).



**Şekil 2.3.** Morkaraman ırkına ait örneklerde JMP29 lokusu için otoradyografik görünümü (8., 15., 21. ve 27. hatta yüklenen markırlar gözlenemedi)



**Şekil 2.4.** MAF65 lokusu için Sakız ırkına ait örneklerin yürütüldüğü jelde yükseltgenen markırlar (T, C, G, A)

### Poliakrilamid Jelin Gümüş-Nitrat Boyama ile görüntülenmesi:

Yükseltgenmeyen belirteçlerin yerine baz aralığı bilinen örneklerle PCR ürünleri midi poliakrilamid jel elektroforezinde yürütüldü ve gümüş nitrat ile boyama yapıldı. Bu boyama işleminin aşamaları şu şekildedir:

1. Jel önce 10 dakika %10'luk asetik asit solüsyonunda bekletildi.
2. Daha sonra 5 dakika %10'luk etanol solüsyonunda bekletildi.
3. Buradan alınan jel 25 dakika 1X AgNO<sub>3</sub> içerisinde tutuldu.
4. 1 dakika distile su ile yıkanan jel, 100 ml dH<sub>2</sub>O içerisinde 3 g NaOH çözülerek 140 µl formaldehit eklenerek hazırlanan solüsyon içerisinde bantlar görününceye kadar bekletildi.
5. Daha sonra fiksasyon amacı ile 300 ml içerisine 15 ml asetik asit konularak hazırlanan solüsyonda 10 dakika tutuldu ve distile su ile 5 dakika yıkandı.

Ancak DNA bantlarının bazı lokuslar için tam olarak ayrılmadığı gözlemlendi. Daha sonra büyük poliakrilamid jelde aynı örneklerin yürütme işlemi gerçekleştirildi. Ancak büyük jelin boyama işleminde de istenilen verim elde edilemedi. Bazı primerler için optimizasyonun sağlanamaması ve otoradyografi tekniğinde karşılaşılan sorunlardan dolayı sadece JMP29 ve JMP58 primerleri ile Türk Merinosu ve Morkaraman ırklarına ait örneklerden elde edilen veriler istatistiksel olarak değerlendirildi.



**Şekil 2.5.** Bazı örneklerin gümüş nitrat boyama ile poliakrilamid jelde görünümü

#### **2.4.2. OarCP34, MAF65, DYMS1, ILSTS011, MCM140, MAF209**

##### **Mikrosatelit Primerlerinin Optimizasyonu**

Çalışmada otoradyografi ve gümüş-nitrat boyama teknikleri ile Morkaraman ve Türk Merinosu ırklarında sadece iki primer için sonuç alınabilmesi üzerine tekniğin değiştirilmesine karar verildi. Daha hızlı ve güvenli sonuç alınabilmesi için Otomatik DNA Analiz cihazı tercih edildi. Bunun için flouresan boya içeren OarCP34, MAF65, DYMS1, ILSTS011, MCM140, MAF209 primerleri seçildi. PCR'ı yapılan örneklerin analizi ABI Otomatik DNA Analiz cihazında gerçekleştirildi. Bu primerlerden MAF209, MAF65, OarCP34 ve DYMS1 için elde edilen veriler istatistiksel olarak değerlendirildi.

### PCR Koşulları:

İki ya da daha fazla DNA bölgesinin aynı reaksiyonda çoğaltılmasını sağlayan uygulama çoklu polimeraz zincir reaksiyonu (Multipleks PCR) olarak adlandırılmaktadır. Bu çalışmada DYMS1 ve OarCP34 primerleri bir reaksiyonda gerçekleştirildi. Bu grubun PCR karışımının miktarları ve döngü koşulları Çizelge 2.4'de verildi. MAF65, MCM140, ILSTSO11, MAF209 primerleri de aynı reaksiyon içerisinde yükseltgenmiştir. Bu gruba ait PCR için gerekli kimyasal ve döngü koşulları Çizelge 2.5'de verildi.

**Çizelge 2.4.** DYMS1 ve OarCP34 lokusları için PCR'da kullanılan kimyasallar ve miktarları

PCR bileşenleri	Miktar (µl)
dH <sub>2</sub> O	6.7
PCR Buffer	1.5
MgCl <sub>2</sub>	1.2
DNTP	0.6
Primer	1+1
BSA	0.3
DNA	2.5
Taq	0.2

DYMS1 ve OarCP34 lokusları için PCR döngü koşulları

94 °C	3'	
94 °C	20''	} 35 döngü
57 °C	20''	
72 °C	40''	
72 °C	10'	



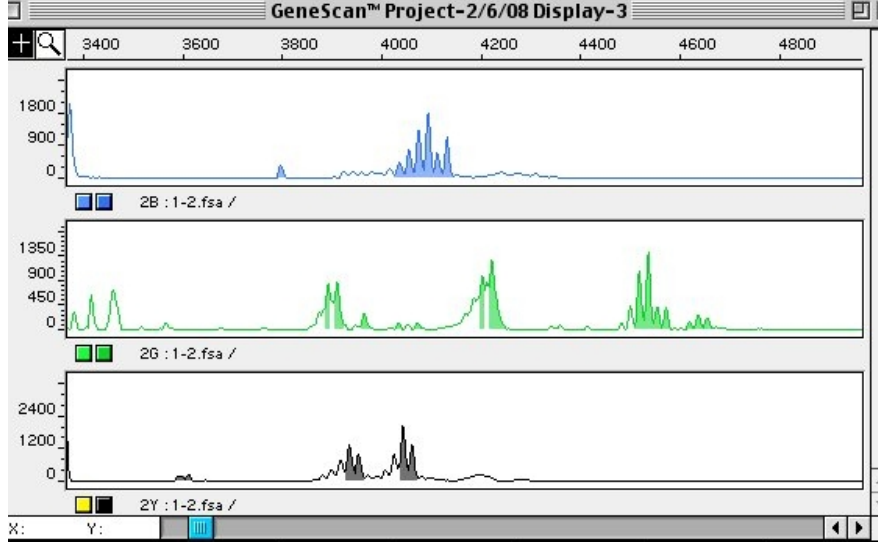
**Çizelge 2.5.** MAF65, MCM140, ILSTSO11 ve MAF209 lokusları için PCR’da kullanılan kimyasallar ve miktarları

PCR bileşenleri	Miktar (µl)
dH <sub>2</sub> O	7.1
PCR Buffer	1.5
MgCl <sub>2</sub>	1.2
DNTP	0.6
Primer	0.6+0.6+0.6+0.6
DNA	2
Taq	0.2

MAF65, MCM140, ILSTSO11 ve MAF209 lokusları için PCR döngü koşulları

94 °C	3’	
94 °C	20’’	} 35 döngü
60 °C	20’’	
72 °C	40’’	
72 °C	10’	

Yükseltgenen PCR ürünleri agaroz jelde kontrol edildikten sonra ABI Prism 310 Genetik Analizatör Cihazına yüklendi. Lokuslar farklı renkte işaretlenmiş ve uzunluklarının belirlenmesinde TAMRA (Taqman®TAMRA™ Probe ) isimli standart işaretleyici yardımı ile uzunluklar belirlendi. Cihazın bir kısmını oluşturan GeneScan programı ile her lokus için alel uzunlukları kaydedildi. Bu cihazda GeneScan programı ile bilgisayar ekranına aktarılan bir bireye ait pik değerleri Şekil 2.6’da verildi. Elde edilen veriler istatistiksel açıdan değerlendirildi.



**Şekil 2.6.** ABI Prism 310 Genetik Analizör cihazında GeneScan programı ile optimizasyonu sağlanan tüm lokuslar için bir bireye ait pik değerleri

## 2.5. Verilerin İstatistiksel Analizi

Çalışmada elde edilen veriler Genetix 4.05 software<sup>(70)</sup> ve Populations 1.0 istatistik paket programı kullanılarak istatistiksel açıdan analiz edildi. Hardy-Weinberg dengesine uyum, heterozigotluk düzeyleri, Wright'ın F-istatistik değerleri gibi parametrelerin hesaplanması için kullanılan Genetix 4.05 programı <http://www.univ-montp2.fr/~genetix/genetix.htm> adresinden elde edilebilmektedir<sup>(71)</sup>. Ayrıca bu program ile permütasyon testi uygulanarak Wright'ın F-istatistik değerlerinin istatistiksel açıdan önem seviyelerine de bakılabilmektedir. Populations 1.0 istatistik programı ile populasyonlar arasındaki  $D_A$  genetik uzaklığı ve bireyler arasında paylaşılan alel oranlarına dayalı komşu birleştirme ağaçları (Neighbor-Joining Tree;

NJT) çizilebilmektedir. Program <http://www.cnrs-gif/pge/bioinfo/populations> adresinden elde edilebilmektedir<sup>(72)</sup>. Programda GENEPOP dosya düzeni kullanılmaktadır. Bunun için Genetix 4.05 programı kullanılarak GENEPOP veri dosyası elde edildi ve Populations 1.0 programı ile komşu birleştirme ağacı (NJT) oluşturuldu.

### 2.5.1. Genetik Varyasyonun Ölçülmesi

Populasyonlardaki varyasyon değişik parametreler ile ölçülebilir<sup>(73)</sup>.

#### 2.5.1.1. Alelik Varyasyon

Populasyondaki alelik farklılıklar genetik çeşitliliğin göstergesidir. Genetik çeşitliliğin belirlenmesinde kullanılan yöntemlerden biri alel frekanslarının hesaplanmasıdır.

$$\hat{X}_i = \frac{2n_{ii} + \sum_{j \neq i} n_{ij}}{2n}$$

$\hat{X}_i$ :  $A_i$  alellinin gen frekansı

n: populasyondaki toplam birey sayısı

$n_{ii}$  ve  $n_{ij}$ :  $A_i$  alellindeki homozigot ve heterozigot birey sayısı<sup>(73)</sup>

Genetik çeşitliliğin tahmin edilebilmesi için lokustaki alelerin sayısından ( $n_a$ ) yararlanılabilir. Ancak bu değerler örnek sayısına bağlı olarak değişebilir. Ortalama alel sayısını hesaplamak için aşağıdaki formül kullanılmaktadır<sup>(73)</sup>

$$n_a = \frac{n_{Ai}}{r}$$

$n_a$ : Her bir lokus için ortalama alel sayısı

$r$ : çalışmada kullanılan toplam lokus sayısı

$n_{A_i}$ : i. ninci lokustaki toplam alel sayısı

### 2.5.1.2. Heterozigotluk

Yaygın olarak kullanılan genetik çeşitlilik ölçütü populasyon heterozigotluk değeridir. Eğer populasyon rasgele çiftleşiyorsa ve i'ninci alelin populasyondaki sıklığı  $X_i$  ise beklenen heterozigotluk aşağıdaki gibi hesaplanabilir.

$$\hat{h} = 1 - \sum_1 X_i^2$$

Bir lokustaki beklenen heterozigotluğun sapmasız tahmini aşağıdaki formül ile hesaplanabilir<sup>(73)</sup>:

$$\hat{h} = \frac{2n (1 - \sum \hat{X}_i^2)}{(2n - 1)}$$

$\hat{h}$ : bir lokus için heterozigotluk

$n$ : populasyondaki toplam birey sayısı

$\hat{X}_i$ :  $A_i$  alelinin frekansı

Birden fazla lokus olması durumunda beklenen ve gözlenen heterozigotluk değerlerinin ortalaması alınır. Çalışmada Genetix 4.05

programı ile her bir lokus için heterozigotluk değerleri bulunduktan sonra tüm lokusların ortalamaları hesaplandı.

### 2.5.2. F- İstatistikleri

Wright tarafından geliştirilen F istatistikleri populasyonların genetik farklılaşmasının değerlendirilmesinde kullanılan en eski ve en yaygın parametrelerdendir. Fiksasyon (homozigotlaşma) indisleri ( $F_{IT}$ ,  $F_{ST}$  ve  $F_{IS}$ ) populasyonlardaki akrabalı yetiştirme sonucu Hardy-Weinberg dengesinden sapmaları ifade eder. Bu indisler genetik varyasyonu toplam populasyonlar (T), alt populasyonlar (S) ve bireyler (I) bazında değerlendirmek için kullanılmaktadır.

$F_{IT}$ : Tüm populasyonların birlikte düşünülmesi ile Hardy-Weinberg dengesinden sapmanın ölçütü

$F_{ST}$ : Populasyon veya alt populasyon arasındaki Hardy-Weinberg dengesinden sapmanın ölçütü

$F_{IS}$ : Lokal populasyonlar ve alt populasyon içinde Hardy-Weinberg dengesinden sapmanın ölçütü

Bu üç indisin arasındaki ilişki aşağıdaki formüller ile ifade edilebilmektedir<sup>(74)</sup>.

$$1 - F_{IT} = (1 - F_{ST})(1 - F_{IS})$$

$$F_{ST} = \frac{F_{IT} - F_{IS}}{1 - F_{IS}}$$

Nei, (1987)  $F_{IT}$ ,  $F_{ST}$  ve  $F_{IS}$  indislerinin beklenen ve gözlenen heterozigotluk değerlerine göre belirlenebileceğini göstermiştir<sup>(73)</sup>.

$F_{IT}$ , toplam populasyonlarda Hardy-Weinberg dengesinden sapmanın ölçütüdür. Tüm populasyonlar için akrabalı yetiştirme katsayısı olarak ifade edilebilir. Alt populasyonlar içerisindeki akrabalık ve farkların etkileri dikkate alınarak hesaplanır.  $F_{IT}$ 'in tahmini için aşağıdaki formül kullanılmaktadır:

$$F_{IT} = \frac{H_T - H_0}{H_T}$$

$F_{ST}$ , altpopulasyonlar arasında genetik farklılaşmanın ölçütüdür. 0-1 arasında bir değer alır. Belirlenen değer 1'e yakın olması alt populasyonların ortak atadan oldukça uzak olduğunu gösterir.  $F_{ST}$ 'in tahmini için aşağıdaki formül kullanılmaktadır:

$$F_{ST} = \frac{H_T - H_S}{H_T}$$

$F_{IS}$ , altpopulasyonlar içindeki bireylerin homolog aleler açısından ilişkisini tanımlar. Alt populasyonlar içindeki Hardy-Weinberg dengesinden sapmanın ölçütüdür. Bu değer -1/+1 arasında değişir. Bulunan değer

negatifse heterozigot fazlalığını, sıfıra yakınsa Hardy-Weinberg dengesinin olduğunu, pozitif ise homozigot fazlalığını ifade eder.

$$F_s = \frac{H_s - H_o}{H_s}$$

H<sub>o</sub>: Alt populasyonlarda gözlenen heterozigotluk ortalama değeri

H<sub>s</sub>: Alt populasyonlarda beklenen heterozigotluk ortalama değeri

H<sub>T</sub>: Toplam populasyonlarda gözlenen heterozigotluk ortalama değeri<sup>(73)</sup>

Wright'ın (1965) F istatistiklerinde yeterli sayıda örnek olmaması durumunda hesaplamaya alınmaması hesaplama ve yorumlama konusunda tartışmalara yol açmıştır. Weir ve Cocherham (1984)<sup>(75)</sup> bu indislere bazı düzeltmeler yaparak F<sub>IT</sub>, F<sub>ST</sub> ve F<sub>IS</sub> indislerinin yerine F, θ, ve f indislerini kullanmışlardır. Bu parametrelerin hesaplanmasında örnek büyüklüğü, populasyon sayısı dikkate alınmamaktadır. Bu yüzden küçük veri setlerinin değerlendirilmesinde büyük avantaj sağlamaktadır. Bu çalışmada kullanılan Genetix 4.05 programında Weir & Cockerham'ın parametreleri kullanılmaktadır.

### 2.5.3. Faktöriyel Birleşim Analizi

Bu analiz ile bireyler arasındaki ilişkiler çoklu boyutta görsel olarak ifade edilir. Tüm bireylerin her bir lokustaki alel sayılarına göre çoklu boyutta bir dendogram çizilir. Genellikle 3 eksenli çizilen şekil bireyler arasındaki

farklılığı görsel olarak incelenmesine olanak sağlar<sup>(56)</sup>. Çalışmada elde edilen veriler için Genetix 4.05 programında faktöriyel birleştirici analiz yapıldı.

#### 2.5.4. Genetik Mesafe ve Komşu Birleştirme Ağaçları

Çalışmada genetik mesafe hesaplanırken Nei'nin DA uzaklığı dikkate alınmıştır. Mikrosatelit verileri ile genetik mesafenin hesaplanmasında en uygun metodun DA genetik uzaklık olduğu bildirilmiştir<sup>(76)</sup>.

Bu metotta  $D_A$  aşağıdaki şekilde hesaplanmaktadır:

$$D_A = 1 - \frac{1}{r} \sum_j^r \sum_i^{m_j} \sqrt{x_{ij}y_{ij}}$$

$X_{ij}$ : X örneğinde çalışılan j. lokusun i. alelinin frekansı

$y_{ij}$ : y örneğinde çalışılan j. lokusun i. alelinin frekansı

$m_j$ : J. Lokustaki alel sayısı

r: çalışılan toplam lokus sayısı

Komşu birleştirme ağaçları; ırklar arasındaki genetik mesafelerin görsel olarak ifade edilmesini sağlar. Komşu Birleştirme Ağacı metodu yine bu amaçla kullanılan UPGMA metoduna göre daha çok tercih edilmektedir. Çünkü UPGMA'da popülasyonların evrim zamanı aynı kabul edilerek bir ağaç oluşturulmaktadır. Komşu birleştirme Ağaç metodunda popülasyonlar arasındaki fark dikkate alınmaktadır<sup>(73,77)</sup>. Bu çalışmada Populations 1.0 istatistik programı ile komşu birleştirme ağacı oluşturuldu.



## 4 ARAŞTIRMA BULGULARI

Çalışmanın ilk kısmında JMP29 ve JMP58 primerleri ile Türk Merinosu ve Morkaraman ırklarına ait örneklerden elde edilen veriler değerlendirildi. Çalışmanın ikinci kısmında Bafra, Sakız, Karayaka, İvesi, Türk Merinosu ve Morkaraman ırklarına ait örnekler MAF209, MAF65, OarCP34 ve DYMS1 lokusları için tarandı ve elde edilen veriler istatistiksel açıdan değerlendirildi. Verilerin analizinde “Genetix 4.05” istatistik paket programı kullanıldı. Komşu birleştirme ağacı ise “Populations 1.0” programı ile çizildi.

### 3.1. Gözlenen Alel Frekansları

Morkaraman’da JMP29 için 8 alel, JMP58 için 7 alel gözlenirken Türk Merinosu’nda JMP29 için 9 alel, JMP58 için 8 alel gözlemlendi. İki ırkta her lokus için gözlenen alel sayıları Çizelge 3.1, bu iki ırka ait gözlenen alel frekansları ise Çizelge 3.2’de verildi.

**Çizelge 3.1.** Morkaraman ve Türk Merinosu ırklarında JMP29, JMP58 lokusları için gözlenen alel sayıları ve toplam değerleri

İrk Adı	JMP29	JMP58	İrk için toplam alel sayısı
Morkaraman	8	7	15
Türk Merinosu	9	8	17
Lokus için toplam alel sayısı	9	8	

**Çizelge 3.2.** Morkaraman ve Türk Merinosu ırklarında JMP29, JMP58 primerleri için gözlenen aleller ve frekansları

Lokus	Alel	Morkaraman	T. Merinosu
JMP29	1	0.1000	0.0968
	2	0.0857	0.0968
	3	0.1857	0.1774
	4	0.2286	0.2097
	5	0.1143	0.0484
	6	0.0286	0.0968
	7	0.1571	0.1774
	8	0.1000	0.0806
	9	0.0000	0.0161
JMP58	1	0.3462	0.0952
	2	0.1923	0.4286
	3	0.0385	0.0952
	4	0.0385	0.0714
	5	0.0192	0.0238
	6	0.3269	0.2143
	7	0.0385	0.0476
	8	0.0000	0.0238

JMP29 lokusu açısından her iki populasyonda da en sık gözlenen 6. alel'dir Bu alelin sıklığı Morkaraman'da 0.229 gözlenirken, Türk Merinosu'nda 0.210 olarak gözlemlendi. Her iki populasyonda da ikinci olarak en sık görülen 3.

alel'dir. Türk Merinosu'nda ayrıca 7. alelin frekansı 3. alelin sıklığına eşit olduğu gözlemlendi. Genel olarak bütün alellerin frekansları 0.200'den düşük bulundu. Çalışmada bu lokuslar için elde edilen alel sayıları diğer çalışmaların ortalama değerine yakındır. Ancak aynı lokus için farklı ırklarda gözlenen alel sayıları daha fazladır.

Bafra, Sakız, Karayaka, İvesi, Türk Merinosu ve Morkaraman ırklarına ait örnekler MAF209, MAF65, OarCP34 ve DYMS1 lokusları için elde edilen toplam 21 alelin dağılımı sırası ile 9, 6,5 ve 1'dir. Elde edilen veriler Ek-1'de verildi. Bu alellerin ırk ve lokuslara göre dağılımı Çizelge 3.3'de gösterildi.

**Çizelge 3.3.** Bafra, Sakız, Karayaka, İvesi, Türk Merinosu ve Morkaraman ırklarında MAF209, MAF65, OarCP34 ve DYMS1 lokusları için gözlenen alel sayıları ve toplam değerleri

İrk Adı	MAF209	MAF65	OarCP34	DYMS1	Toplam Alel Sayısı
Bafra	5	5	2	1	13
İvesi	2	2	2	1	7
Karayaka	2	3	1	1	7
Morkaraman	2	2	1	1	6
Sakız	2	2	1	1	6
Türk Merinosu	9	3	5	1	18
Toplam Alel Sayısı	9	6	5	1	

**Çizelge 3.4.** Bafra, Sakız, Karayaka, İvesi, Türk Merinosu ve Morkaraman ırklarında MAF209, MAF65, OarCP34 ve DYMS1 lokusları için gözlenen aleller ve frekansları

Lokus	Alel	Bafra	İvesi	Karayaka	Morkaraman	Sakız	T.Merinosu
<b>MAF209</b>	110	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.033
	112	0.143	0.500	0.500	0.550	0.500	0.033
	114	0.393	0.500	0.500	0.450	0.500	0.133
	116	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.267
	120	0.143	0.000	0.000	0.000	0.000	0.167
	122	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.033
	124	0.179	0.000	0.000	0.000	0.000	0.100
	126	0.143	0.000	0.000	0.000	0.000	0.200
	130	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.033
<b>MAF65</b>	125	0.429	0.029	0.038	0.000	0.000	0.500
	127	0.357	0.971	0.846	0.700	0.833	0.233
	129	0.000	0.000	0.115	0.300	0.167	0.267
	132	0.036	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
	134	0.036	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
	135	0.143	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
<b>OarCP34</b>	108	0.321	0.028	0.000	0.000	0.000	0.067
	110	0.679	0.972	1.000	1.000	1.000	0.600
	112	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.233
	116	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.067
	118	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.033
<b>DYMS1</b>	181	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Bafra, İvesi, Karayaka, Morkaraman, Sakız ve Türk Merinosu ırklarında MAF209 lokusu açısından tüm ırklarda en sık görülen 3. aleldir (0.409). 1., 6. ve 9. alel ise en az sıklıkta gözlemlendi (0.006). MAF65 lokusu açısından tüm ırklarda en sık görülen 2. aleldir (0.654). 4 ve 5. alel ise en az

sıklıkta gözlemlendi (0.006). OarCP34 lokusu açısından tüm ırklarda en sık görülen 2. aleldir (0.875). 5. alel ise en az sıklıkta gözlemlendi (0.006). DYMS1 lokusu ise tek alele sahiptir.









Gözlenen tüm aleller içinde 9 alel sadece tek bir ırkta gözlenen özgün alel niteliğindedir. Bunlardan 6 tanesi Türk Merinosu ırkında MAF209 ve OarCP34 lokusları için, 3 tanesi ise Bafra ırkında MAF65 lokusu için gözlemlendi.

### 3.2. Heterozigotluk

Morkaraman ve Türk Merinosu ırkları için gözlenen ve beklenen heterozigotluk değerleri Çizelge 3.5.'de verildi. Gözlenen en yüksek heterozigotluk değeri (He) Morkaraman ırkında JMP29 lokusu için 0.886, en düşük değer ise yine aynı lokusta Türk Merinosu ırkı için 0.484 olarak gözlemlendi.

**Çizelge 3.5.** JMP29 ve JMP58 lokusları için ırklarda gözlenen ve beklenen heterozigotluk değerleri

Irk /Lokus	JMP29		JMP58	
	Ho	He	Ho	He
<b>Morkaraman</b>	0,886	0,860	0,539	0,746
<b>T. Merinosu</b>	0,484	0,870	0,667	0,762
<b>Ort./ırk</b>	0,685	0,865	0,603	0,754

Populasyon içinde tespit edilen alel frekanslarının birbirine yakın olması nedeniyle beklenen heterozigot değerleri, gözlenen heterozigotluk değerlerinden daha yüksek olarak gözlemlendi.

Bafra, İvesi, Karayaka, Morkaraman, Sakız ve Türk Merinosu ırklarında gözlenen ve beklenen heterozigotluk değerleri MAF209, MAF65 ve OarCP34 lokusları için Çizelge 3.6'da gösterildi. DYMS1 lokusunda tek alel gözleendiği için heterozigotluk değeri hesaplanamadı.

**Çizelge 3.6.** Bafra, İvesi, Karayaka, Morkaraman, Sakız ve Türk Merinosu ırklarında MAF209, MAF65 ve OarCP34 gözlenen ve beklenen heterozigotluk değerleri ve ortalamaları

İrk / Lokus	MAF209		MAF65		OarCP34	
	Ho	He	Ho	He	Ho	He
<b>Bafra</b>	1,000	0,753	0,643	0,667	0,643	0,436
<b>İvesi</b>	1,000	0,500	0,059	0,057	0,056	0,054
<b>Karayaka</b>	1,000	0,500	0,308	0,269	0,000	0,000
<b>Morkaraman</b>	0,900	0,495	0,600	0,420	0,000	0,000
<b>Sakız</b>	1,000	0,500	0,333	0,278	0,000	0,000
Türk Merinosu	0,867	0,829	0,733	0,624	0,800	0,576
Ort./İrk	0,961	0,596	0,446	0,386	0,250	0,178

Tüm ırklar için MAF209 lokusunda en yüksek beklenen heterozigotluk değeri 0.596, gözlenen en yüksek heterozigotluk değeri ise 0.961 olarak gözleendi. En düşük değerler ise OarCP34 lokusu için beklenen heterozigotluk için 0.178, gözlenen heterozigotluk için ise 0.250 olarak hesaplandı.

### 3.3. F-İstatistikleri

Morkaraman ve Türk Merinosunda JMP29 ve JMP58 lokusları için Genetix 4.05 programı ile toplam  $F_{IS}$ ,  $F_{IT}$  ve  $F_{ST}$  değerleri sırasıyla 0.2038, 0.2220 ve 0.0229 olarak hesaplandı. Bu ırklar için  $F_{IS}$  değerleri Çizelge 3.7’de verildi.

**Çizelge 3.7.** Morkaraman ve Türk Merinosu ırklarında JMP29, JMP58 lokusları için  $F_{IS}$  değerleri

<i>Irk</i>	<i>F<sub>IS</sub></i>
<b>Morkaraman</b>	0.1150
<b>Türk Merinosu</b>	0.2987

Morkaraman  $F_{IS}$  değeri 0.11500 ( $p < 0.05$ ), Türk Merinosu için  $F_{IS}$  değeri 0.29872 ( $p < 0.001$ ) olarak hesaplandı. Her iki popülasyonun  $F_{IS}$  değerleri istatistiksel olarak anlamlı bulundu.

Bafra, İvesi, Karayaka, Morkaraman, Sakız ve Türk Merinosu ırklarında MAF209, MAF65, OarCP34 ve DYMS1 lokusları için toplam  $F_{IS}$ ,  $F_{IT}$  ve  $F_{ST}$  değerleri sırasıyla - 0.3859, - 0.0978 ve 0.2079 olarak hesaplandı. Her ırka ait - 0.1494 ile - 0.8138 arasında değişen  $F_{IS}$  değerleri Çizelge 3.8’de gösterildi.

**Çizelge 3.8.** Bafra, İvesi, Karayaka, Morkaraman, Sakız ve Türk Merinosu ırklarında MAF209, MAF65 ve OarCP34 lokusları için  $F_{IS}$  değerleri

<i>Irk</i>	<i>F<sub>IS</sub></i>
Bafra	-0.1971
İvesi	-0.8138
Karayaka	-0.6790
Morkaraman	-0.6071
Sakız	-0.6923
Türk Merinosu	-0.1494

Morkaraman ve Türk Merinosu arasındaki ikili karşılaştırma şeklinde hesaplanan  $F_{ST}$  değeri 0.02288\* ( $P < 0.05$ ) olarak hesaplandı. Bu değer istatistiksel olarak 0.05 düzeyinde anlamlı bulundu.

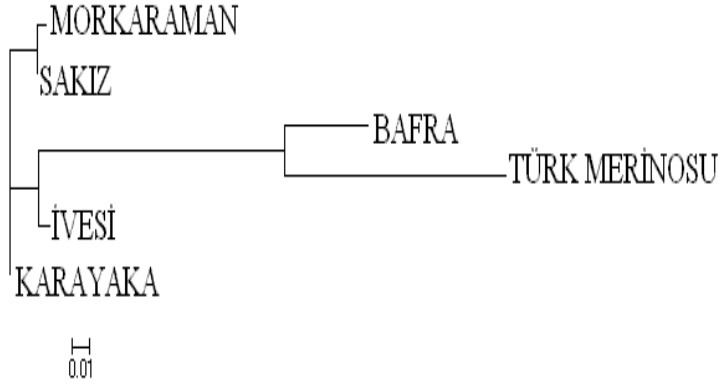
Bafra, İvesi, Karayaka, Morkaraman, Sakız ve Türk Merinosu ırklarında populasyonların karşılaştırmaları ile hesaplanan  $F_{ST}$  değeri en düşük (-0.00997) Karayaka-Sakız ırkları arasında gözlenirken (0.36435) Türk Merinosu ve İvesi ırkları arasında en yüksek bulundu. Irklar arasındaki  $D_A$  değerleri incelendiğinde en uzak genetik mesafenin (0.302187) Türk Merinosu ve İvesi arasında, en yakın genetik mesafenin (0.003471) ise Morkaraman ve Sakız ırkı arasında olduğu gözlemlendi. Irkların ikili karşılaştırması ile hesaplanan  $F_{ST}$  matrisi ve ırklar arasındaki  $D_A$  değerleri Çizelge 3.9'da verildi.

**Çizelge 3.9.** Bafra, İvesi, Karayaka, Morkaraman, Sakız ve Türk Merinos ırklarında MAF209, MAF65 ve OarCP34 lokusları için  $F_{ST}$  (üst diagonal) ve  $D_A$  (alt diagonal) değerleri

Irklar	Bafra	İvesi	Karayaka	Morkaraman	Sakız	T. Merinosu
<b>Bafra</b>	****	0.27293	0.22267	0.20660	0.21782	0.06858
<b>İvesi</b>	0.170445	****	0.01345	0.09593	0.02534	<b>0.36435</b>
<b>Karayaka</b>	0.196917	0.0185288	****	0.02066	<b>-0.00997</b>	0.30024
<b>Morkaraman</b>	0.24387	0.0477441	0.0113966	****	0.00768	0.25759
<b>Sakız</b>	0.230059	0.0286601	0.00540146	<b>0.00347113</b>	****	0.28574
<b>T. Merinosu</b>	0.177278	<b>0.302187</b>	0.26992	0.289516	0.296582	****

#### 3.4. Filogenetik İlişkiyi Gösteren Komşu Birleştirme Ağacı

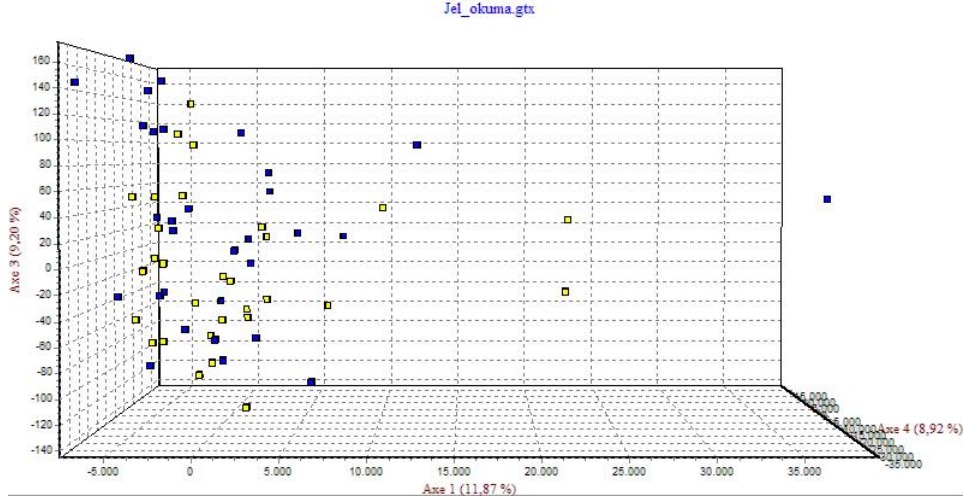
Bafra, İvesi, Karayaka, Morkaraman, Sakız ve Türk Merinosu ırklarında MAF209, MAF65 ve OarCP34 lokusları için Nei'nin  $D_A$  uzaklık değerleri kullanılarak Population 1.0 programında komşu birleştirme metodu (NJ) ile oluşturulan ağaçta 3 ana grup olduğu gözlemlendi. 1. grupta Morkaraman ve Sakız ırkı bir arada yer aldı. İkinci grupta İvesi tek başına yer alırken Bafra ve Türk Merinosu ayrı bir grup oluşturdu. Son grupta ise Karayaka'nın tek başına bulunduğu gözlemlendi (Şekil 3.4).



**Şekil 3.4.** Nei'nin  $D_A$  değerlerine göre oluşturulan Komşu Birleştirme Ağacı (NJT)

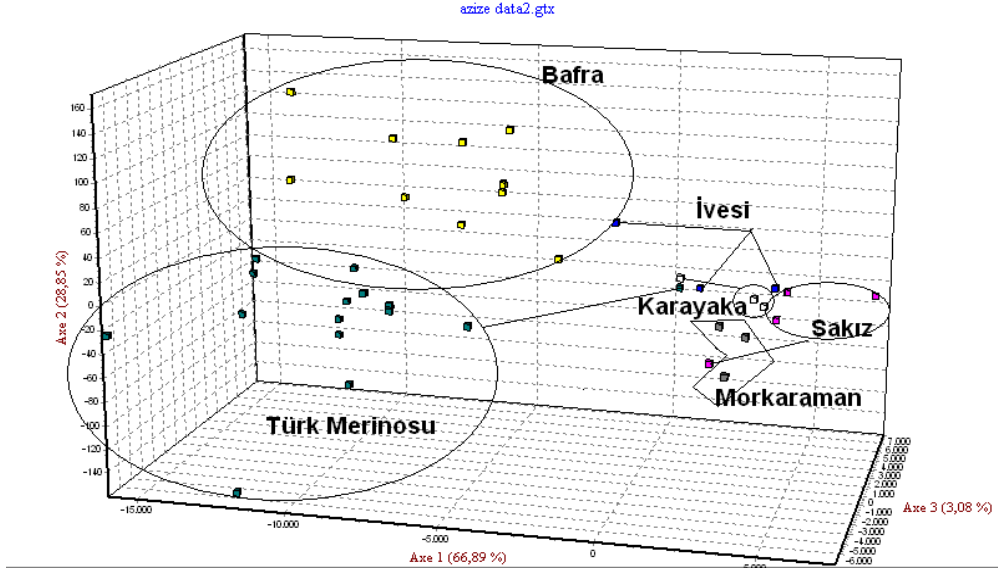
### 3.5. Faktöriyel Birleşim Analizi (Factorial Correspondence Analysis; (FCA)

Üç boyutlu düzlemde oluşturulan FCA grafiğinde Morkaraman ve Türk Merinosu ırklarına ait örneklerin JMP29 ve JMP58 lokusları için birbirine göre durumları gösterildi. Bu grafiğe göre sarı noktalar Morkaraman, mavi noktalar ise Türk Merinosu bireylerini temsil etmektedir. Burada her iki ırka ait örneklerin karışık bir şekilde 3 boyutlu düzlemde yer aldığı gözlemlendi (Şekil 3.4).

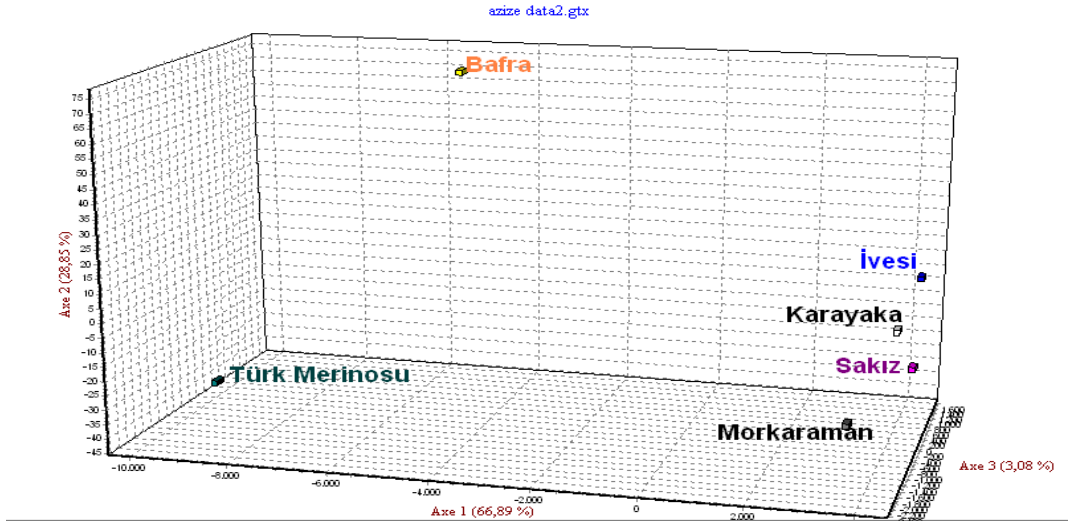


**Şekil 3.5.** Morkaraman ve Türk Merinosu ırklarına ait örneklerin JMP29 ve JMP58 lokusları için FCA grafiği

Bafra, İvesi, Karayaka, Morkaraman, Sakız ve Türk Merinosu ırklarında MAF209, MAF65, OarCP34 ve DYMS1 lokusları için üç boyutlu düzlemde oluşturulan FCA grafiğinde Bafra sarı, Türk Merinosu yeşil, İvesi mavi, Karayaka beyaz, Morkaraman gri ve Sakız ırkına ait örnekler pembe renkte noktalar şeklinde gösterildi (Şekil 3.6). Ayrıca çalışmada kullanılan tüm ırklar için oluşturulan diğer FCA grafiği şekil 3.7’de verildi. Bu grafiğe göre üç boyutlu düzlemde Bafra ve Türk Merinosu diğer ırklardan uzakta yer alırken, İvesi Morkaraman, Sakız ve Karayaka ırklarının birbirine yakın bir şekilde kümелendiği gözlemlendi.



**Şekil 3.6.** MAF209, MAF65, OarCP34 ve DYMS1 lokusları için Bafra, İvesi, Karayaka, Morkaraman, Sakız ve Türk Merinosu ırklarına ait örnekler için FCA grafiği



**Şekil 3.7.** MAF209, MAF65, OarCP34 ve DYMS1 lokusları için Bafra, İvesi, Karayaka, Morkaraman, Sakız ve Türk Merinosu ırklarına ait FCA grafiği



## 5 TARTIŞMA VE SONUÇ

Dünyada mikrosatelit belirleyiciler, kodominant kalıtım modeline sahip ve yüksek düzeyde polimorfik olması nedeni ile çiftlik hayvanlarının moleküler genetik analizinde ve populasyon genetiği çalışmalarında oldukça yaygın olarak kullanılmaktadır<sup>(4)</sup>. Son yıllarda Türkiye’de de gen kaynaklarının analizinde bu belirleyiciler sıklıkla kullanılmaya başlanmıştır. Ancak ekonomimize önemli katkısı olan yerli koyun ırkları ile ilgili sayılı moleküler analiz verileri mevcuttur. Bu çalışmada Türkiye’nin bazı koyun ırklarının moleküler genetik analizleri için oldukça polimorfik olan mikrosatelit belirleyicileri kullanıldı.

Türkiye’nin yerli koyun ırklarının mikrosatelit metodu ile analizlerinde değişken sayıda lokus kullanılmıştır. Örneğin Soysal ve ark. (2005)<sup>(9)</sup>, 5 ırkta 3 mikrosatelit lokusu Gutierrez-Gil ve ark. (2006)<sup>(78)</sup>, içerisinde Morkaraman ve Karayaka ırkına ait populasyonların da yer aldığı 5 yerli koyun ırkında toplam 30 mikrosatelit lokusu taramışlardır. Uzun ve ark.,(2006)<sup>(79)</sup> Türkiye koyun ırklarından 5 tanesinde yine 30 mikrosatelit lokusunu çalışmışlardır.

Bu çalışmada Türkiye’nin koyun ırklarından Bafra, İvesi, Karayaka, Morkaraman, Sakız ve Türk Merinosu’na ait örneklerin 4 mikrosatelit lokusu (MAF209, MAF65, OarCP34 ve DYMS1) ile analizi otomatik DNA analiz cihazı ile yapıldı. Ayrıca Türk Merinosu ve Morkaraman’a ait örneklerin 2 mikrosatelit lokusu (JMP29 ve JMP58 ) için analizi ise otoradyografi yöntemi ile gerçekleştirildi. Çalışmadan elde edilen veriler ile ırk içi ve ırklar arası

genetik çeşitliliğin analizi, genetik farklılıklarının derecesi ve ırkların birbirlerine olan genetik mesafeleri belirlendi.

#### 4.1. Genetik Çeşitlilik ve Heterozigotluk

Bu çalışmada otomatik DNA dizi analiz cihazında MAF209, MAF65, OarCP34 ve DYMS1 lokusları için Bafra, İvesi, Karayaka, Morkaraman, Sakız ve Türk Merinosu ırklarında 21 alel gözlemlendi. Otoradyografi yöntemi ile Morkaraman ve Türk Merinosu ırklarında 17 alel gözlemlendi.

Yapılan araştırmalardan bazıları aşağıda verildi. Bunlardan birisi Soysal ve ark.'nın (2005)<sup>(9)</sup>, Türkiye'nin 5 yerli koyun ırkında 3 mikrosatelit lokusu ile taradığı çalışmadır. Bu çalışmadaki İvesi koyun ırkı ve MAF65 lokusu sunulan çalışma ile ortaktır. Araştırmacılar bu lokus için 10 alel kaydetmişlerdir. E. Koban (2004)<sup>(80)</sup>, 12 ırkta 5 lokus taramış, ortak olan MAF 209 lokusu için Morkaraman ırkında 10, İvesi ırkında 9, Karayaka ırkında ise 8 alel gözlemişler. MAF65 lokusu için Morkaraman ırkında 9, İvesi ırkında 8, Karayaka ırkında ise 9 alel gözlemiştir. Arranz ve ark.'nın yaptığı bir başka çalışmada (2001)<sup>(60)</sup>, 6 yerli İspanya koyun ırkında 18 mikrosatelit lokusu taramış ve bu çalışma ile ortak olan MAF65 lokusu için 10, OarCP34 lokusu için ise 7 alel kaydetmişler. Baumung ve ark. (2006)<sup>(81)</sup>, 11 Avusturya koyun ırkında 25 mikrosatelit lokusu ile yaptıkları çalışmada aynı lokuslar için sırası ile 11 ve 9 alel gözlemişlerdir. Dalvit ve ark. (2008)<sup>(82)</sup>, 8 ırkta MAF65 lokusu için 10'dan fazla alel gözlerken OarCP34 lokusu için 10 alel gözlediklerini bildirmişlerdir. MAF65 lokusu ile çalışan Gutierrez-Espeleta ve ark. (2000)<sup>(83)</sup>,

13 ırkta 10 alel gözlemişlerdir. OarCP34 lokusu için Arora ve ark. (2003)<sup>(84)</sup> tarafından yapılan bir çalışmada Hindistan koyun ırkı olan Muzzafarnagri ırkında 7 alel, El Nahas ve ark. (2008)<sup>(85)</sup>, 3 yerli Mısır koyun ırkında bu lokus için 10 alel gözlemişlerdir. Bu çalışmada ise MAF65 lokusu için 6 ve OarCP34 lokusu için 5 alel gözlendi. Gözlenen alel sayısının arttırılabilmesi çalışılan örnek sayısının arttırılması ile mümkün olabilir.

Çalışmada seçilen MAF209 ve JMP29 lokuslarında 9'ar alel gözlendi. Bu değer koyun ırkları ile yapılan diğer çalışmalara yakın bulundu. Gutierrez-Espeleta ve ark.(2000)<sup>(83)</sup>, yaptıkları çalışmada MAF209 lokusu için 8 alel elde etmişlerdir. JMP29 lokusu için Arora ve arkadaşları (2003, 2008)<sup>(84, 86)</sup> Muzzafarnagri ırkında 6 alel, Jaluni koyun ırkında 7 alel gözlemişlerdir.

Sunulan çalışmada bulunan heterozigotluk değerleri geniş bir aralıkta dağılım göstermektedir. Beklenen ve gözlenen heterozigotluk değerleri aşağıda koyun ile yapılan bazı çalışmalarla karşılaştırılmıştır. Örneğin Arora ve arkadaşları (2008)<sup>(86)</sup> tarafından Hindistan'da Jaluni koyun ırkı ile yapılan çalışmada araştırmacılar JMP29 lokusu için beklenen heterozigotluk değerini ( $H_e$ ) 0.65, gözlenen heterozigotluk değerini ( $H_o$ ) ise 0.45 olarak kaydetmişlerdir. Sunulan çalışmada ise bu lokus için  $H_e$  değeri Türk Merinosu ırkında 0.87, Morkaraman ırkında 0.86 olarak belirlendi.  $H_o$  değeri ise aynı ırklar için sırası ile 0.48 ve 0.89 olarak bulundu. Bu iki ırkta JMP29 lokusu için genetik çeşitlilik daha fazladır. Aynı çalışmada taranan ve bu çalışma ile ortak olan OarCP34 lokusu için Jaluni ırkında  $H_e$  değerini 0.76,  $H_o$  değerini ise 0.56 olarak bildirmişlerdir. Bu tez çalışmasında 6 ırk (Bafra, İvesi,

Karayaka, Morkaraman, Sakız ve Türk Merinosu) için  $H_e$  değeri 0.18,  $H_o$  değeri ise 0.25 olmak üzere oldukça düşük bulundu.

Bir başka çalışmada Gutierrez-Gil ve ark. (2006)<sup>(78)</sup>, içerisinde Morkaraman ve Karayaka ırkına ait popülasyonların da yer aldığı toplam 5 yerli koyun ırkında toplam 30 mikrosatelit lokusu taramışlar. Morkaraman ırkı için  $H_e$  değeri 0.726, Karayaka ırkı için ise  $H_e$  değerini 0.720 olarak bulmuşlardır. Bu çalışmada ise heterozigotluk değerleri sırası ile 0.229 ve 0.192 olarak bulundu. Bu fark ırklar için taranan lokus sayıları arasındaki farktan kaynaklanmış olabilir.

Baumung ve ark. (2006)<sup>(81)</sup>, 11 Avusturya koyun ırkında 25 mikrosatelit lokusu çalışmışlar. Araştırmacılar tarafından MAF65 lokusu için  $H_e$  değeri 0.767,  $H_o$  değeri ise 0.657 olarak bulmuşlardır. OarCP34 lokusu için  $H_e$  değeri 0.779,  $H_o$  değeri ise 0.718 olarak kaydedilmiştir. Bu çalışmada MAF65 lokusu için  $H_e$  değeri 0.386,  $H_o$  değeri ise 0.446; OarCP34 lokusu için  $H_e$  değeri 0.178,  $H_o$  değeri ise 0.250 olarak bulundu. Çalışmada bu araştırmaya göre genetik çeşitlilik değerlerinin daha düşük bulunması ırk ve lokus sayısının çok daha az olmasından kaynaklanmış olabilir.

Başka bir çalışmada Dalvit ve ark. (2008)<sup>(82)</sup>, 8 koyun ırkında 19 lokus çalışmışlar. Bunlardan MAF65 ve OarCP34 lokusları bu çalışmada da yer almaktadır. Araştırmacılar bu çalışmada tüm lokuslar için toplam  $H_e$  değerlerinin 0.731-0.794 arasında,  $H_o$  değerlerinin ise 0.578-0.728 arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Bu tez çalışmasında ise  $H_e$  0.178-0.865 değerleri arasında,  $H_o$  değerlerinin ise 0.250-0.961 arasında değiştiği gözlemlendi.

## 4.2. F-İstatistik Değerleri ve Genetik Mesafe

Bu çalışmada ırk içi ve ırklar arası akrabalı yetiştirme katsayısı olan F istatistik değerleri Türk Merinosu ve Morkaraman'da JMP29 ve JMP58 lokusları için  $F_{IS}$ : 0.2038,  $F_{IT}$ : 0.2220 ve  $F_{ST}$ : 0.0229 olarak hesaplandı. MAF209, MAF65, OarCP34 ve DYMS1 lokusları için tüm ırklarda  $F_{IS}$ : -0.3859,  $F_{IT}$ : -0.0978 ve  $F_{ST}$ : 0.2079 olarak belirlendi. JMP29 ve JMP58 lokusları için Morkaraman  $F_{IS}$  değeri 0.11500 ( $p < 0.05$ ), Türk Merinosu için  $F_{IS}$  değeri 0.29872 ( $p < 0.001$ ) olarak hesaplandı. Her iki populasyonun  $F_{IS}$  değerleri istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Bu değerler Hardy-Weinberg dengesinden sapmaya işaretler. Bunun yakın akrabalık ilişkilerine bağlı olduğu düşünülmektedir. Çalışmada değerlendirilen tüm ırklarda  $F_{IS}$  değerlerinin -0.1494 ile -0.8138 arasında değiştiği gözlemlendi. Yapılan permütasyon (1000) testinde bu değerlerin istatistiksel açıdan ( $p > 0.05$ ) önemsiz olduğu ve Hardy-Weinberg dengesinden sapma olmadığı gözlemlendi.

Literatürde koyun ırklarının mikrosatelit analizi ile yapılan birkaç çalışmaya ait F parametreleri aşağıda verilmiştir. Bunlardan biri El Nahas ve ark. (2008)'nin yaptıkları çalışmadır<sup>(85)</sup>. Araştırmacılar 3 yerli Mısır koyun ırkında yapılan ve bu çalışma ile ortak olan OarCP34 lokusu için F istatistik değerlerini;  $F_{IS}$ : 0.249,  $F_{IT}$ : 0.028,  $F_{ST}$ : 0.227 olarak kaydetmişlerdir. Bu çalışmada aynı lokus için bu değerler sırası ile -0.060, 0.224, -0.367 olarak gözlemlendi. Sunulan çalışmada bu değerler dikkate alındığında akrabalı yetiştirme katsayısı daha düşüktür. Gutierrez-Gil ve ark. (2006) bu çalışma ile ortak olan Morkaraman ırkı için  $F_{IS}$  değerini 0.041, Karayaka ırkı için 0.058

olarak kaydetmişlerdir<sup>(78)</sup>. Bu çalışmada ise bu parametre değeri Karayaka için -0.679, Morkaraman için -0.607 olarak bulundu. Bu F parametreleri açısından sonuçlar çalışma ile uyumluluk göstermektedir. Uzun ve ark.,(2006)<sup>(79)</sup> yine aynı ırklar için 30 mikrosatelit lokusu ile elde edilen veriler doğrultusunda Karayaka ırkının diğer ırklardan önemli derecede farklılaştığını bildirmişlerdir. Sunulan çalışmanın verilerine göre oluşturulan dendogramda oluşan 3 gruptan birinde Karayaka'nın tek başına yer aldığı gözlemlendi (Şekil 3.4.).

Buchanan ve ark. (1994)<sup>(87)</sup> içerisinde bu çalışmada da yer alan İvesi ırkı da dahil olmak üzere toplam 6 koyun ırkını, 8 mikrosatelit lokusu ile taramışlar. Bu sekiz primer içinde yine çalışmada taranan MAF65 ve MAF209 lokusları yer almaktadır. Araştırmacılar 0.36-0.50 arasında değişen genetik uzaklık değerlerinin en kısa merinos populasyonları arasında, en uzak mesafenin de Border Leicester ve İvesi arasında olduğunu bildirmişlerdir. İvesinin diğerlerinden tamamen ayrı bir grupta yer aldığını bunun da coğrafik konumu itibari ile daha önce ayrılmış olabileceğini rapor etmişlerdir. Bu çalışmada ise en uzak genetik mesafe Türk Merinosu-İvesi arasında gözlemlendi (Çizelge 3.9).

Bu çalışma ile koyunlarda yapılan diğer çalışmalar  $F_{ST}$  açısından karşılaştırıldığında Türk Merinosu ve Morkaraman ırklarında çalışılan iki lokusta bu değer oldukça düşük bulundu. Bu iki populasyonun birbirinden genetik olarak çok uzak olmadığını gösterir. Ya da çalışılan lokus ve örnek sayısının az olmasının bir sonucudur. Bafra, İvesi, Karayaka, Morkaraman, Sakız ve Türk Merinosu'nda çalışılan 6 lokus için elde edilen  $F_{ST}$  değeri (0.208) literatürdeki verilere yakın bulundu.

### 4.3. Özgün Aleller

Sunulan çalışmada Türk Merinosu en fazla genetik çeşitliliğe sahip olan ırk olarak belirlendi. Ayrıca tüm lokuslar için belirlenen 9 özgün alelin 6'sı yine Türk Merino'su ırkında gözlemlendi. Literatürde merinos ırkının da dahil olduğu bir çalışmada (Arranz ve ark.'2001) 6 yerli İspanya koyun ırkında 18 mikrosatelit lokusu taranmış ve merinos ırkının en fazla genetik çeşitliliğe sahip olduğunu bildirmişlerdir<sup>(60)</sup>. Literatürde koyun ırklarında mikrosatelit belirleyicisi ile yapılan diğer çalışmalarda gözlenen özgün alellerin frekansları düşük bulunmaktadır. Bu çalışmada belirlenen özgün alellerin frekansları genelde 0.2'den küçük bulundu. İrkların ayırt edici karakterizasyonunda bu ve benzer çalışmaların verilerinin birlikte değerlendirilmesi daha güvenilir sonuçlar verir.

### 4.4. Faktöriyel Birleşim Analizi (FCA)

Faktöriyel birleşim analiz sonuçlarına baktığımızda ırkların üç boyutlu düzlemde birbirinden tam olarak ayrılmadığını görüyoruz (Şekil 3.5-3.6). Türk Merinosu ve Bafra ırkı düzlemde diğer ırklardan ayrı olsa da diğer ırklar birbirine yakın gözlemlendi. İrklara ait bireyleri birbirlerinden ayırıp orijinlerine göre gruplandırmak için daha fazla lokus ve örneğin değerlendirilmesi gerekir. Literatürde birçok çalışma da ırkların karakterize edici ayrımında sınırlı başarı elde edilmiştir.

Bu alışma gerek örneklerin toplanması, gerek deneyin optimizasyonu ve analizler sırasında imkansızlıklar ile mücadele edilerek başarılmıştır. Çalışmada bant profillerinin gözlenmesi için uygulanan metotlardan biri olan gümüş nitrat ile boyama tekniğinde ucuz olmasına karşın uygulama pratiğinde ve bantların değerlendirilmesinde sorunlarla karşılaşılmış ve verilerin analizi için daha uygun bir yöntem olan otoradografi tekniğine başvurulmuştur. Bu teknikte de maliyetin oldukça fazla olması ve radyoaktif madde kullanmanın getirdiği zorluklar nedeni ile çalışmanın bir kısmında PCR rnleri otomatik DNA dizi analiz cihazı kullanılarak değerlendirilmiştir. Son uygulanan yöntem otomatik DNA dizi analiz cihazı ile veriler daha kısa sürede ve daha doğru şekilde elde edilmesine karşın bu yöntemde de maliyet oldukça yüksektir. Çalışma sırasında adı geçen yöntemlerin sınanması ve verilerin alınması uzun bir süreç almıştır.

Literatürde koyun ırklarının moleküler analizinden elde edilen verilerin populusyon, örnek ve lokus sayısı ile ilişkili olduğunu göstermektedir. Bu parametrelere ait sayı ne kadar fazla ise ırkların genetik olarak ayırımının yapılabilirliği artmaktadır. İleride ırk, örnek ve lokus sayılarının arttırılarak çalışmanın genişletilmesi planlanmaktadır.



## SONUÇ

Türkiye'nin yerli ve melez koyun ırklarından Morkaraman ve Türk Merinosu JMP29 ve JMP58 mikrosatelit lokusu için otoradyografi yöntemi kullanılarak, MAF209, MAF65, OarCP34, DYMS1 lokusları için tüm ırklar ise otomatik DNA dizi analizi cihazında tarandı. Elde edilen veriler "Genetix 4.05" ve "Populations 1.0" istatistik programları kullanılarak değerlendirildi.

Bu tez çalışması ile;

- Yerli koyun ırklarının moleküler genetik analizi için gümüş-nitrat boyama, otoradyografi ve otomatik DNA dizi analiz yöntemlerinin optimizasyonu sağlandı.
- Türkiye'nin koyun ırklarından Bafra ve Sakız ırkı ilk defa bu tez çalışması ile mikrosatelit yöntemi kullanılarak analiz edildi.
- Tüm ırklarda değerlendirilen 4 lokus için 9 özgün alel tespit edildi. Bunlardan 6 tanesi Türk Merinosu ırkında, 3 tanesi Bafra ırkında gözlemlendi. Bu aleller ırkların tescilinin sağlanmasında önemli olabilir.
- Çalışmada özellikle MAF209 ve MAF65 lokusları için bireylerin çoğunun heterozigot olduğu gözlemlendi. Bu çeşitlilik Anadolu'nun evcilleştirme merkezi olduğu dikkate alındığında beklenen bir sonuçtur. Dünyadaki birçok koyun ırkının atasının anavatanı olan Anadolu'nun mevcut koyun ırklarının öncelikli olarak korunmasının gerekliliği ortaya çıkmaktadır.

Çiftlik hayvanlarının moleküler genetik analizlerinde henüz yolun başında olan Türkiye'nin bu ve benzeri moleküler genetik analizlerden elde edilen bilgi birikimine ihtiyacı vardır. Bu bilgiler daha sonra yerli çiftlik hayvanlarının tescilinde ve ıslahında kullanılabilir. Ayrıca koruma altına alınması gereken ırkların önceliğinin belirlenmesinde önemlidir. Bu açıdan hayvan gen kaynaklarına ait verilerin artırılması gerekmektedir.

## 5. KAYNAKLAR

1. C. Diez-Tasco'n, R.P. Littlejohn, P.A.R. Almeida and A. M. Crawford, Genetic variation within the Merino sheep breed: analysis of closely related populations using microsatellite, *Animal Genetics* **31**, 243-251 (2000)
2. H. Ellegren, S. Moore, N. Robinson, K. Byrne, W. Ward and B. C. Sheldon, Microsatellite evolution- a reciprocal study of repeat lengths at homologous loci in cattle and sheep, *Mol. Biol. Evol.* **14(8)**, 854-860 (1997)
3. J. L. Weber and P. E. May, Abundant class of human DNA polymorphisms which can be typed using the Polymerase Chain Reaction. *Am. J. Hum. Genet.*, **44**, 388-396 (1989)
4. S. H. Forbes, J. T. Hogg, F. C. Buchanan, A. M. Crawford and F. W. Allendor, Microsatellite evolution in congeneric Mammals: Domestic and bighorn sheep, *Mol. Biol. Evol.*, **12 (6)**, 1106-1113 (1995)
5. N. Saitbekova, C. Gaillard, G. Obexer-Ruff and G. Dof, Genetic diversity in Swiss goat breeds based on microsatellite analysis, *Anim. Genet.*, **30**, 36-41 (1999)
6. N. D. Beuzen, M. J. Stear and K. C. Chang, Molecular markers and their use in animal breeding, *The Veterinary Journal*, **160**, 42-52 (2000)

7. M. L. Ryder, Sheep In: I. L. Mason (eds), Evolution of Domestic Animals, Longman, London, 1984
8. M. W. Bruford, D. G. Bradley and G. Luikart, DNA markers reveal the complexity of livestock domestication, Nature Reviews Genetics, **4**, 900-910 (2003)
9. M. I. Soysal, E. Koban , E. Özkan , V. Altunok, Z. Bulut , M. Nizamlioğlu , I. Togan, Evolutionary relation sheep among three native and two crossbreed sheep breeds of Turkey: preliminary results, Revue Méd Vét., **5**: 289-293 (2005)
10. S. Hiendleder, K. Mainz, Y. Plante and H. Lewalski, Analysis of mitochondrial DNA indicates that domestic sheep are derived from two different maternal sources: no evidence for contributions from Urial and Argali sheep, Journal of Heredity, **89**, 113-120 (1998)
11. S. Hiendleder, B. Kaupe, R. Wassmuth and A. Janke, Molecular analysis of wild and domestic sheep questions current nomenclature and provides evidence for domestication from two different subspecies, Proceedings of Royal Society of London B, **269**, 893-904 (2002)
12. D. M. Shackleton, Wild Sheep and Goats and Their Relatives, Status Survey and Conservation Action Plan for Caprinae. IUCN, Gland, Switzerland, 1997
13. H. Akçapınar, Koyun Yetiştiriciliği, Ankara, 2000

14. F. Atasoy, N. Ünal, H. Akçapınar, Karayaka ve Bafra (Sakız x Karayaka G<sub>1</sub>) koyunlarında bazı verim özellikleri, Turkish Journal Vet. Anim. Sci., **27**, 259-264 (2003)
15. The State of the World's Animal Genetic Resources for Food and Agriculture, edited by Barbara Rischkowsky & Dafydd Pilling, FAO, Rome, 2007
16. O. Alpan, R. Arpacık, Sığır Yetiştiriciliği, Ankara, 1996
17. C. Tekintaş, C. İzci, M. Alkan, Türkiye Hayvancılığı: Mevcut Durum ve Geliştirilmesi, Konya, 1997
18. <http://www.fao.org/docrep/009/ah224e/AH224E05>
19. N. Ünal, F. Atasoy, H. Akçapınar, M. Erdoğan, Karayaka ve Bafra (Sakız x Karayaka G<sub>1</sub>) koyunlarda döl verimi, kuzularda yaşama gücü ve büyüme, Turk. J. Vet. Anim. Sci., **27**, 265-272 (2003)
20. H. Akçapınar, N. Ünal, F. Atasoy, The effects of early age mating on some production traits of Bafra (Chios x Karayaka B<sub>1</sub>) sheep, Turk. J. Vet. Anim. Sci., **29**, 531-536 (2005)
21. <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/010/a1250e/annexes/CountryReports/Turkey.pdf> (Erişim tarihi: 10.04.2009)
22. E.L. Henson, In Situ Conservation of Livestock and Poultry, Food And Agriculture Organization of The United Nations Rome, © Fao And Unep, 1992
23. M. Ertuğrul, N. Akman, G. Dellal, T. Goncagül, Hayvan Gen Kaynaklarının Korunması ve Türkiye Hayvan Gen Kaynakları, Türkiye

Ziraat Mühendisliği V. Teknik Kongresi (2 CİLT) Yayın No:38, Ankara, 2000

24. M. I. Soysal, E. Özkan, E. K. Gürcan, The status of native farm animal genetic diversity in Türkiye and in the world, *Trakia Journal of Science*, **1(3)**, 1-12, (2003)
25. H. Simianer, Decision making in livestock conservation, *Ecological Economics*, **53**, 559-572 (2005)
26. C. Maudet, G. Luikart and P. Taberlet, Genetic diversity and Assignment test among seven French cattle breeds based on microsatellite DNA analysis, *J. Anim. Sci.*, **80**, 942-950 (2002)
27. O. Smithies, Grouped variations in the occurrence of new protein components in normal human serum. *Nature*, **12**;175(4450):307–308 (1955)
28. W. S. Klug, M. R. Cummings, *Genetics*, 2000
29. B. A. Schall, W. J. Leverich , S. H. Rogstad, Comparison of methods for assessing genetic variation in plant conservation biology, In: Falk D. A., Holsinger K. E.(eds), *Genetics and conservation of rare plants* , 123, New York Oxford University Press, 1991
30. K. B. Mullis, F. A. Faloona, Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction, *Methods Enzymol.*, **155**, 335 (1987)
31. R. K. Saiki, S. Scharf, F. Faloona, K. B. Mullis, G. T. Horn, H. A. Erlich, Enzymatic amplification of  $\beta$ -globin genomic sequences and

- restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia, *Science*, **230**, 1350 (1985)
32. R. K. Saiki, D. H. Gelfand, S. Stoffel, S. J. Scharf, R. Higuchi, G. T. Horn, K. B. Mullis, H. A. Erlich, Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermo-stable DNA polymerase, *Science*, **239**, 487 (1988)
33. C. M. Marques, J. A. Araujo, J. G. Ferreira, R. Whetten, D. M. O' Malley, B. H. Liu, R. Sederoff, AFLP genetic maps of *Eucalyptus globulus* and *E. tereticomis*, *Theor. Appl. Genet.*, **96**, 727 (1998)
34. M. Zabeau, P. Vos, Selective Restriction Fragment Amplification general method for DNA fingerprinting European patent application, No: 0534858, (1993)
35. Y. M. Parsons, K. L. Shaw, Mapping unexplored Genomes: genetic linkage map of the Hawaiian Cricket *Laupala*, *Genetics*, **162**, 1275 (2002)
36. J. G. K. Williams, A. R. Kubelik, K. J. Livak, J. A. Rafalski, S. V. Tingey, DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers, *Nucleic Acids Research*, **18 (22)**, 6531 (1990)
37. C. R. Primmer, T. Borge, J. Lindell, G. P. Saetre, Single-nucleotide polymorphism characterization in species with limited available sequence information: high nucleotide diversity revealed in the avran genome, *Molecular Ecology*, **11**, 603 (2002)
38. D. G. Wang, J. B. Fan, C. J. Siao, Large-scale identification, mapping and genotyping of single-nucleotide polymorphisms in the human genome, *Science*, **280**, 1077 (1998)

39. M. Cargill, D. Altshuler and J. Ireland, Characterization of single-nucleotide polymorphisms in coding regions of human genes, *Nature Genetics*, **22**, 231 (1999)
40. J. G. Hacia, J. B. Fan and O. Ryder, Determination of ancestral alleles for human single-nucleotide polymorphisms using high-density oligonucleotide arrays, *Nature Genetics*, **22**, 164(1999)
41. K. Lindblad-Toh, E. Winchester and M. J. Daly, Large-scale discovery and genotyping of single nucleotide polymorphisms in the mouse, *Nature Genetics*, **24**, 381 (2000)
42. K. Weising, R. G. Atkinson and R. C. Gardner, Genomic fingerprinting by microsatellite-primed PCR: a critical evaluation, *PCR Methods and Application*, **4**, 249(1995)
43. A. J. Jeffreys, V. Wilson and S. L. Thein, Hypervariable "minisatellite" regions in Human DNA, *Nature*, **314**, 65 (1985a)
44. Y. Nakamura, M. Lathrop, P. O'Connell, M. Leppert, D. Barker, E. Wright, M. Skolnick, S. Kondoleon , M. Litt, J. M. Lalouel and R. White, A mapped set of DNA markers for human chromosome 17., *Genomics*, **2**, 302 (1988)
45. M. Litt and J. A. Luty, A hypervariable microsatellite revealed by in vitro amplification of a dinucleotide repeat with in the cardiac muscle Actin gene, *Am. J. Hum. Genet*, **44**, 397 (1989)
46. D. Tautz, Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers, *Nucleic Acids Res.*, **17**, 6463 (1989)



47. J. L. Weber and P. E. May, Abundant class of human DNA polymorphisms which can be typed using the polymerase chain reaction, *Am. J. Hum. Genet.*, **44**, 388 (1989)
48. G. Gyapay, J. Morissette, A. Vignal, C. Dib, C. Fizames, P. Millassean, S. Marc, G. Bernardi, M. Lathrop and J. Weissenbach, The 1993-94 Genethon human linkage map, *Nature Genetics*, **7**, 246 (1994)
49. B. Amos, C. Schlötterer and D. Tautz, Social structure of pilot whales revealed by analytical DNA profiling, *Science*, **260**, 670 (1993)
50. H. Moore, S. Robinson, N., Byrne, K., Ward, W., and B. C. Sheldon, Microsatellite evolution – a reciprocal study of repeat lengths at homologous loci in cattle and sheep. *Mol. Biol. Evol.*, 14(8):854-860 (1997)
51. A. Ivanković, P. Dovć, T. Kavar, P. Caput, B. Mioć, V. Pavić, V. Štuhec and J. Leto, Genetic characterisation of the Pag island sheep breed based on microsatellite and mtDNA data, *Small Ruminant Research*, **57**, 167-174 (2005)
52. D. B. Goldstein and D. D. Pollock, Launching microsatellites: a review of mutation processes and methods of phylogenetic inference. *J. Hered.* **88**: 335-342 (1997)
53. D. E. McHugh, R. T. Loftus, D. G. Bradley, P. M. Sharp and P. Cunningham, Microsatellite DNA variation within and among European cattle breeds. *Proceedings of Royal Society London B.* **256**: 25-31 (1994)

54. J. Sambrook, E. F. Fritsch and J. Maniatis, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor, 1989
55. Perkin Elmer, *ABI 310 Genetic Analyzer Manual*, 2000
56. D. E. McHugh, M. D. Shriver, R. T. Loftus, P. M. Sharp, P. Cunningham and D. G. Bradley, Microsatellite DNA variation and the evolution, domestication and phylogeography of taurine and zebu cattle (*Bos taurus* and *Bos indicus*). *Genetics*. **146**: 1071-1086 (1997)
57. I. Grigaliūnaite, M. Tapio, H. Viinalass, Z. Grislis, J. Kantanen and I. Miceikiene, Microsatellite variation in the Baltic sheep breeds. *Veterinarija Ir Zootechnica*. **21(43)**, 66-73 (2003)
58. M. W. Arruga, L. V. Monteagudo, M. T. Tejedor, R. Barrao and R. Ponz, Analysis of microsatellites and paternity testing in Rasa Aragonesa sheep. *Research in Veterinary Science*, **70**, 271-273 (2001)
59. O. M. Jandurova, T. Kott, B. Kottova and V. Czernekova, Seven microsatellite markers useful for determining genetic variability in White and Brown Short-Haired goat breeds, *Small Ruminant Research*. **52**, 271-274 (2004)
60. J. J. Arranz, Y. Bayo'n and F. San Primitivo, Genetic variation at microsatellite loci in Spanish sheep, *Small Ruminant Research* **39**, 3-10 (2001)
61. A. Farid, E. O'Reilly, C. Dollard and C. R. Kelsey Jr., Genetic analysis of ten sheep breeds using microsatellite markers, *Canadian J. Anim. Sci.* **80**, 9-17 (2000)

62. F. Rendo, M. Iriando, B. M. Jugo, L. I. Mazón, A. Aguirre, A. Vicario and A. Estonba, Tracking diversity and differentiation in six sheep breeds from the North Iberian Peninsula through DNA variation, *Small Ruminant Research* **52**, 195-202 (2004)
63. P. K Rout, M. B Joshi, A. Mandal, D. Laloe, L. Singh, and K. Thangaraj, Microsatellite-based phylogeny of Indian domestic goats, *BMC Genet.*, **9**, 11 (2008)
64. S.H. Agha, F. Pilla, S. Galal, I. Shaat, M. D'Andrea, S. Reale, A. Z. A. Abdelsalam and M.H. Li, Genetic diversity in Egyptian and Italian goat breeds measured with microsatellite polymorphism, *Journal of Animal Breeding and Genetics*, **125(3)**, 194-200 (2008)
65. G.L. Zhou, H. G. Jin, Q. Zhu, S. L. Guo and Y. H. Wu, Genetic diversity analysis of five cattle breeds native to China using microsatellites, *Journal of Genetics*, **84**, 77-80 (2005)
66. <http://lprdad.fao.org/cgi-bin/getblob.cgi?sid=f843a4ec43799037103607c92b2232be,50006220>
67. [http://www.econogene.eu/list\\_of\\_msmarkers.html](http://www.econogene.eu/list_of_msmarkers.html)
68. R. Baumung, H. Simianer and I. Hoffmann, Genetic diversity studies in farm animals-a survey, *J. Anim. Breed. Genet.*, **121**, 361-373 (2004)
69. [http://dad.fao.org/en/refer/library/guidelin/marker\\_without\\_link.pdf](http://dad.fao.org/en/refer/library/guidelin/marker_without_link.pdf)
70. K. Belkhir, P. Borsa, L. Chikhi, J. Goudet and F. Bonhomme, Genetix 4.00 Windows software population genetics, Laboratoire Genome, Populations, Interactions, University of Montpellier, France (1996-2000)
71. <http://www.univ-montp2.fr/~genetix/genetix.htm>

72. <http://www.cnrs-gif/pge/bioinfo/populations>
73. M. Nei, Molecular Evolutionary Genetics, Columbia University Press, New York, 1987
74. S. Wright, The Interpretation of sample structure by  $F$  statistics with special regard to systems of mating, *Evolution*, **19**, 95-420 (1965)
75. B. S. Weir and C. C. Cocherham, Estimating  $F$  statistics for the analysis of population structure, *Evolution*, **38**, 1358-1370 (1984)
76. N. Takezaki and M. Nei, Phylogenetic relationship among all living species of the genus *Bubalus* based on DNA sequences of the cytochrome *b* gene, *Biochemical Genetics*, **34**, 443-452 (1996)
77. W. H. Li, Molecular evolution, Sinauer Associates, Inc. (1997)
78. B. Gutierrez-Gil, M. Uzun, J. J. Arranz, F. S. Primitivo, S. Yıldız, M. Çenesiz, Y. Bayón, Genetic diversity in Turkish sheep, *Acta Agriculturae Scand Section A*, **56**, 1-7 (2006)
79. , M. Uzun, B. Gutierrez-Gil, J. J. Arranz, F. S. Primitivo, M. Saatçi, M. Kaya, Y. Bayón, Genetic relationships among Turkish sheep, *Genet. Sel. Evol.*, **38**, 513-524 (2006)
80. E. Koban, Genetic diversity native and crossbreed sheep breeds in Anotolia, Doktora Tezi, 2004
81. R. Baumung, V. Cubric-Curik, K. Schwend, R. Achmann & J. Sölkner, Genetic characterisation and breed assignment in Austrain sheep breeds using microsatellite marker information, *J. Anim. Breed. Genet.*, **123**, 265-271 (2006)

82. C. Dalvit, E. Sacca, M. Cassandro, M. Gervaso, E. Pastore and E. Piasentier, Genetic characterization of Alpine sheep breeds, *Acta agriculturae Slovenica*, **2**, 79-84 (2008)
83. G. A. Gutiérrez-Espeleta, S. T. Kalinowski, W. M. Boyce & P. W. Hedrick, Genetic variation and population structure in desert bighorn sheep: implications for conservation, *Conservation Genetics*, **1**, 3-15 (2000)
84. R. Arora, S. Bhatia, Genetic structure of Muzzafarnagri sheep based on microsatellite analysis, *54*, 227-230 (2004)
85. S. M. El Nahas, A. A. Hassan, A. A. A. Mossallam, E. R. Mahfouz, M. A. Bibars, H. A. S. Oraby and H.A. de Hondt, Analysis of genetic variation in different sheep breeds using microsatellites, *African Journal of Biotechnology*, **7 (8)**, 1060–1068 (2008)
86. R. Arora, S. Bhatia, S. Sehrawat, S. B. Maity and S. S. Kundu, Genetic variability in Jaluni sheep of India inferred from microsatellite data, *Livestock Research for Rural Development*, **20(4)**, 1 (2008)
87. F. C. Buchanan, S. Galloway and A. M. Crawford, Ovine microsatellites at the OarFCB5, OarFCB19, OarFCB20, OarFCB48, OarFCB129 and OarFCB226 loci, *Animal Genetics*, **25(1)**, 60 (1994)

## ÖZGEÇMİŞ

1977 yılında Ankara'da doğdu. İlkokulu Bursa, Şanlıurfa ve Ankara'da, orta ve lise öğrenimini ise Ankara'da tamamladı. 1995 yılında girdiği Ankara Üniversitesi Fen-Fakültesi Biyoloji Bölümünden 1999 yılında mezun oldu. 2001-2003 yılları arasında Kırıkkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisansını tamamladı. 2003-2009 yılları arasında da Kırıkkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalında Doktora öğrenimini tamamladı.

Halen Kırıkkale Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesinde Biyoloji Bölümünde Araştırma Görevlisi olarak çalışmaktadır.

**EK-1**

<b>Irk/Lokus</b>	<b>MAF209</b>	<b>MAF65</b>	<b>OarCP34</b>	<b>DYMS1</b>
BAFRA	114126	132134	110110	181181
BAFRA	112114	125127	108110	181181
BAFRA	114124	125125	110110	181181
BAFRA	114126	125127	110110	181181
BAFRA	114126	125135	108110	181181
BAFRA	114120	125135	108110	000000
BAFRA	114124	127135	108110	181181
BAFRA	112114	127127	110110	181181
BAFRA	114124	125127	108110	181181
BAFRA	120126	125125	108110	181181
BAFRA	114124	127135	108110	181181
BAFRA	112114	125127	110110	181181
BAFRA	120124	127127	108110	181181
BAFRA	112120	125125	108110	181181
IVESI	112114	127127	110110	181181
IVESI	112114	127127	110110	181181
IVESI	112114	127127	110110	181181
IVESI	112114	127127	110110	181181
IVESI	112114	127127	110110	181181
IVESI	112114	127127	110110	181181
IVESI	112114	127127	110110	181181
IVESI	112114	127127	110110	181181
IVESI	112114	127127	110110	181181
IVESI	112114	127127	110110	181181
IVESI	112114	127127	110110	181181
IVESI	112114	125127	108110	181181
IVESI	112114	127127	110110	181181
IVESI	112114	127127	110110	181181
IVESI	112114	127127	110110	181181
IVESI	000000	000000	110110	181181
IVESI	112114	127127	110110	181181
IVESI	112114	127127	110110	181181
IVESI	112114	127127	110110	181181
KARAYAKA	112114	000000	110110	181181
KARAYAKA	112114	127127	110110	181181
KARAYAKA	112114	127127	110110	181181
KARAYAKA	112114	127127	110110	181181
KARAYAKA	112114	127127	110110	181181
KARAYAKA	112114	125127	110110	181181
KARAYAKA	112114	127129	110110	181181
KARAYAKA	112114	127129	110110	181181
KARAYAKA	112114	127127	110110	181181
KARAYAKA	112114	127127	110110	181181
KARAYAKA	112114	127127	110110	181181
KARAYAKA	112114	127129	110110	181181
KARAYAKA	112114	127127	110110	181181
KARAYAKA	112114	127127	000000	000000

MOR	000000	000000	110110	000000
MOR	112114	127129	110110	181181
MOR	112114	127127	110110	181181
MOR	000000	000000	110110	000000
MOR	000000	000000	110110	000000
MOR	112112	127129	110110	181181
MOR	112114	127129	110110	181181
MOR	112114	127127	110110	181181
MOR	112114	127129	110110	181181
MOR	112114	127129	110110	181181
MOR	112114	127127	110110	181181
MOR	112114	127129	110110	181181
MOR	112114	127127	000000	000000
SAKIZ	112114	127129	110110	181181
SAKIZ	112114	127129	110110	181181
SAKIZ	112114	127129	110110	181181
SAKIZ	112114	127129	110110	181181
SAKIZ	112114	127127	110110	181181
SAKIZ	112114	127127	110110	181181
SAKIZ	112114	127127	110110	181181
SAKIZ	112114	127127	110110	181181
SAKIZ	112114	127127	000000	000000
SAKIZ	112114	127127	000000	000000
SAKIZ	112114	127127	000000	000000
SAKIZ	112114	127127	000000	000000
TMER	120130	125127	110118	181181
TMER	120124	125129	110110	181181
TMER	114116	125125	110116	000000
TMER	110116	129129	110116	181181
TMER	112114	125127	110110	000000
TMER	116120	125127	110112	181181
TMER	126126	125125	110112	181181
TMER	114116	125129	108110	181181
TMER	120126	125127	110112	181181
TMER	116126	127129	110112	181181
TMER	114126	125129	110110	181181
TMER	120124	125129	110112	000000
TMER	116126	127129	108110	181181
TMER	116116	125127	110112	181181
TMER	122124	125125	110112	181181