

## ÖZET

TÜRKİYE’NİN İKİ YERLİ KOYUN IRKININ  
(TÜRK MERİNOSU VE MORKARAMAN) GENOTİPİK  
FARKLILAŞMALARININ  
RAPD-PCR METODU İLE MOLEKÜLER ANALİZİ

SAYGILI , Yasemin

Kırıkkale Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Prof. Dr. Şükran ÇAKIR ARICA

Haziran 2007, 58 sayfa

Zengin gen kaynaklarına sahip Anadolu’da 20’ye yakın koyun ırkı bulunmaktadır. Islah çalışmaları sırasında ırkların gen havuzunda gen çeşitliliği azalmaktadır. Bu nedenle yerli ırkların orjinal gen havuzları tanımlanmalı ve korunmalıdır.

Bu çalışmada Türkiye’nin iki yerli koyun ırkının (Türk Merinosu ve Morkaraman) genetik tanımlanmasında Polimeraz Zincir Reaksiyonuna Dayalı Rasgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA (RAPD) yöntemi kullanıldı. İrklar arası genetik mesafe ve genetik polimorfizm tespit edildi.

Çalışmada kullanılan iki yerli ırk rasgele seçilen 10 RAPD primeri ile tarandı ve bunların 5 tanesi ile toplam 24 lokus elde edildi. Bu lokuslarda 225-750 bp arasında değişen uzunluklarda bantlar gözlemlendi. Nei'nin genetik analiz yöntemine dayalı POPGENE paket programı kullanılarak veriler analiz edildi ve lokuslardan 23'ünün polimorfik olduğu belirlendi. Polimorfik lokus yüzdesi Türk Merinos'unda % 58.33, Morkaraman'da % 66.67 olarak bulundu. Irklar arasındaki genetik farklılık 0.2548, ırk içi genetik farklılık 0.2135 ve populasyonlar arasındaki farklılaşmanın büyüklüğü ise 0.1813 idi. Heterozigotluk Türk Merinos'unda 0.1792, Morkaraman'da ise 0.2489 olarak hesaplandı.

Sonuç olarak, bu çalışmada elde edilen veriler Türkiye'nin biyolojik zenginliğinin bir parçası olan Türk Merinosu ve Morkaraman ırklarının tanımlanması açısından önemlidir. Gelecekte bu iki koyun ırkının daha fazla RAPD primeri kullanılarak moleküler genetik analizi yapılacaktır.

**Anahtar kelimeler :** Koyun, RAPD-PCR, genetik polimorfizm, Morkaraman, Türk Merinosu.

## **ABSTRACT**

### **MOLECULAR GENETIC ANALYSIS OF TWO TURKISH LOCAL SHEEP BREEDS (TURKISH MERINO AND MORKARAMAN) ON GENOTYPIC DIFFERENCES BY RAPD-PCR METHOD**

SAYGILI, Yasemin

Kırıkkale University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Biology , M. Sc. Thesis

Supervisor : Assoc. Prof. Dr. Şükran ÇAKIR ARICA

June 2007, 58 pages

There is nearly 20 sheep breeds in the Anatolia which has a rich gene resources. The gene diversity in the gene pool has been reduced during the improvement studies. So the original gene pools of local breeds must be identified and protected.

In this study, Polymerase Chain Reaction based on Randomly Amplified Polymorphic DNA (RAPD-PCR) method was used to genetic identification of the two Turkish local sheep breeds (Turkish Merino and Morkaraman). The genetic distance and the genetic polymorphism between the breeds was determined.

Two local sheep breeds used in this study were analysed by randomly chosen 10 RAPD primers and 24 total loci were obtained from 5 of them. The amplified bands ranged from 225-750 bp were observed in these loci. POPGENE programme which is based on Nei's genetic analysis method was used to analyse the data and 23 of loci were determined as polymorphic. Percentage of polymorphic loci were found as % 58.33 in Turkish Merino and % 66.67 in Morkaraman. The genetic diversity between the breeds was 0.2548, the genetic diversity within the breeds was 0.2135 and the magnitude of differentiation between the populations was 0.1813. The heterozygosity was found as in Turkish Merino 0.1792 and 0.2489 in Morkaraman.

In conclusion, data obtained from this study are important for the identification of Turkish Merino and Morkaraman breeds which are the part of Turkey's biodiversity. Molecular genetic analysis of these two sheep breeds by using more RAPD primers will be done in future.

**Key words :** Sheep, RAPD-PCR, genetic polymorphism, Morkaraman, Turkish Merino.

## TEŞEKKÜR

Bu alıŐma sűresince deęerli bilgileri ile bana yol gűsteren DanıŐmanım Prof. Dr. Őukran ÇAKIR ARICA'ya teŐekkűr ederim. Deneylerimde ve tez yazımında benden yardımlarını esirgemeyen AraŐ. Gűr. Azize BUDAK YILDIRAN'a ve ArŐ. Gűr. Dr. Kűltigin AVUŐOęLU'na teŐekkűr ederim. Ayrıca çalıŐmam sırasında maddi ve manevi destekleri ile her zaman yanımda olan aileme de teŐekkűr ederim.

## İÇİNDEKİLER

ÖZET .....	i
ABSTRACT .....	iii
TEŞEKKÜR .....	v
İÇİNDEKİLER .....	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	ix
SİMGELER DİZİNİ .....	x
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Kuramsal Temeller .....	4
1.1.1. Türkiye’de Küçükbaş Hayvan Yetiştiriciliği .....	4
1.1.2. Koyunun Evcilleştirilmesi .....	7
1.1.3. Türkiye’de Yerli Koyun Irkları .....	8
1.1.4. Çiftlik Hayvanlarında Islah Çalışmaları ve Kullanılan Yöntemler.....	13
1.1.4.1. Klasik Islah Yöntemleri .....	14
1.1.4.2. DNA Dizi Analizine Dayalı Moleküler Teknikler .....	16
1.1.4.2.1. Hibridizasyona Dayalı Teknikler .....	16
1.1.4.2.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonuna (PCR) Dayalı Teknikler .....	16
1.1.4.2.2.1. Moleküler Genetik Analiz Yöntemi Olarak RAPD Tekniği.....	19
1.1.4.2.2.2. Çiftlik Hayvanlarında RAPD-PCR Yöntemi İle Yapılan Çalışmalara Litaratür Örnekleri .....	21
2. MATERYAL VE METOT .....	24
2.1. Örneklerin Toplanması .....	24
2.2. DNA İzalasyonu .....	25

2.3. Primerlerin Seçimi .....	26
2.4. Çalışılan Koyun Irkları İçin RAPD-PCR Yönteminin Optimizasyonu.....	28
2.4.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu Koşullarının Optimizasyonu .....	28
2.4.2. Reaksiyon Isıları ve Döngü Sayısı .....	29
2.4.3. Elektroforez Tekniği .....	29
2.4.3.1. Agaroz Jelin Hazırlanması .....	29
2.4.3.2. Agarozun Dökülmesi .....	30
2.4.2.3. Örneklerin Yüklenmesi .....	30
2.4.2.4. Örneklerin Yürütülmesi .....	30
2.5. Verilerin İstatistiksel Analizi .....	31
2.5.1. Allel Frekansı .....	31
2.5.2. Genetik Varyasyonun Ölçülmesi .....	31
2.5.2.1. Polimorfik Lokusların Yüzdesi .....	32
2.5.2.2. Gen Çeşitliliği .....	32
2.5.2.3. Allellerin Sayısı .....	33
2.5.2.4. Bir Lokustaki Allellerin Etkili Sayısı .....	33
2.5.2.5. Shannon'nun Bilgi Endeksi .....	34
2.5.2.6. Alt Populasyonlarda Gen Çeşitliliği Analizi .....	34
3. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	36
3.1. Taranan RAPD Primerleri ve Elde Edilen DNA Bantları .....	37
3.2. Polimorfik Lokus Yüzdesi .....	39
3.3. Heterozigotluk .....	39
3.4. Gözlenen ve Etkili Allel Sayısı .....	41
3.5. Shannon'nun Bilgi Endeksi .....	41
3.6. Irk İçi ve Irklar Arası Genetik Farklılık .....	41
3.7. Genetik Kimlik ve Genetik Mesafe .....	42
4. TARTIŞMA VE SONUÇ .....	43
KAYNAKLAR .....	47
EK-1 .....	53
EK-2 .....	57

## ÇİZELGELER DİZİNİ

<b>ÇİZELGE 2.1</b> Çalışmada kullanılan örneklerin ırk ve cinsiyete göre dağılımı.....	24
<b>ÇİZELGE 2.2.</b> Primerlerin baz dizileri ve G-C oranının toplam baz sayısına oranı.....	27
<b>ÇİZELGE 3.1.</b> Sonuç alınan 5 primer ile elde edilen RAPD bant uzunluklarının ırklara göre dağılımı.....	37
<b>ÇİZELGE 3.2.a.</b> Çalışılan koyun ırkları için tüm lokuslardaki genetik çeşitlilik istatistiğinin veri özeti .....	40
<b>ÇİZELGE 3.2.b.</b> Her iki ırkta toplamda tanımlanan genetik çeşitlilik bilgileri .....	40
<b>ÇİZELGE 3.3.</b> Çaprazın üstünde verilen genetik kimlik ve çaprazın altında verilen genetik mesafenin tarafsız ölçümü.....	42



## ŞEKİLLER DİZİNİ

<b>ŞEKİL 1.1.</b> Bazı çiftlik hayvanlarının yıllara bağlı sayısal değişim grafiği .....	5
<b>ŞEKİL 1.2.</b> Türk Merinosu ırkına ait dişi bireyler .....	9
<b>ŞEKİL 1.3.</b> Türk Merinosu ırkına ait erkek bireyler .....	10
<b>ŞEKİL 1.4.</b> Morkaraman ırkına ait bir dişi birey .....	11
<b>ŞEKİL 1.5.</b> Morkaraman ırkına ait bir erkek birey.....	11
<b>ŞEKİL 1.6.</b> Polimeraz zincir reaksiyonun şematize şekli.....	18
<b>ŞEKİL 3.1.</b> Türk Merinosu ırkına ait ilk 20 bireyin OPF05 primeri ile elde edilen RAPD bant profilleri .....	38
<b>ŞEKİL 3.2.</b> Morkaraman ırkına ait ilk 20 bireyin OPF05 primeri ile elde edilen RAPD bant profilleri.....	40

## SİMGELER DİZİNİ

bç	Baz çifti
ml	Mililitre
M	Molar
mM	Milimolar
mtDNA	Mitokondriyal DNA
µl	Mikrolitre
ng	Nanogram
rpm	Dönüş sayısı/dakika

## 1. GİRİŞ

Artan nüfusun besin ihtiyacını karşılayabilmek için çiftlik hayvanlarından alınan verimin artırılmasına yönelik çalışmalar uzun süredir yapılmaktadır. Melezleme, seleksiyon gibi klasik ıslah yöntemleri ile hayvan yetiştiriciliğinde belirli bir mesafe alınmış olsa da istenilen düzeye henüz ulaşamamıştır. İstenilen düzeye kısa zamanda ulaşabilmek için klasik yöntemler ve moleküler verilerin birlikte kullanıldığı ıslah çalışmaları uygulanmaya başlanmıştır. Moleküler verilerin kullanılması ile klasik ıslah süreci kısaltılarak, hayvanların verim kapasitelerinin yükseltilebilmesi ve kısa zamanda hayvancılığın ülke ekonomisindeki payının artabilmesi mümkündür<sup>(1,2,3)</sup>.

Hayvanların ıslahı yapılırken popülasyonların genetik yapısının iyi tanımlanması ve gen havuzundaki değişimler takip edilerek değerlendirilmenin iyi yapılması gerekmektedir. Irkların gen havuzundaki değişimlerinin kolayca takip edilebildiği moleküler belirleyicilerin kullanılması ile böyle bir değerlendirilmenin yapılabilmesi kolaylaşabilir<sup>(4)</sup>.

Canlılarda çok sayıda genin etkili olduğu ölçüm ve tartımlarla ifade edilen üretim özelliklerini etkileyen lokuslara kantitatif lokuslar (Quantitative Trait Loci, QTL) denir. Bu lokuslar poligenik kalıtım gösterdiklerinden tespit edilebilmeleri oldukça zordur<sup>(5,6,7)</sup>. Tespit için moleküler genetik analizler sonucu elde edilen bantların belirli bir ürün özelliğine karşılık gelip gelmediği konusunda ilişki kurmaya çalışılır. Son yıllarda bu kantitatif karakterleri etkileyen lokusların belirlenmesine yönelik çalışmalar ile çok sayıdaki gen arasında diğer genlere göre etkisi daha

fazla olan ve majör gen olarak isimlendirilen kantitatif karakter lokusları belirlenmiştir<sup>(2,3)</sup>. Bu büyük etkili genlerin tespit edilip ıslah çalışmalarında kullanılması ile, klasik ıslah çalışmalarına oranla daha kısa sürede ilerleme kaydedilmesi olasıdır. Bu amaçla çiftlik hayvanlarında genetik haritalama çalışmaları yapılmakta, ekonomik önemi olan kromozomal bölgeler<sup>(8)</sup> ve beraberinde majör genler de tanınarak genetik olarak üstün damızlıklar elde edilebilmektedir. Böylelikle hem üretim artırılabilir hem de tüketiciye daha sağlıklı gıda sağlanabilmektedir<sup>(9)</sup>. Fakat bu çalışmalar yapılırken, doğal populasyonların gen havuzundaki çeşitliliğinin sürdürülebilir kullanımı önemlidir.

Doğada kendi aralarında gen alışverişi yaparak verimli döller oluşturabilen, diğer gruplardan üreme bakımından izole olmuş, ortak atadan gelen ve benzer özelliklere sahip canlılara tür denilir. Aynı tür içerisinde coğrafik ya da genotipik bakımdan farklılık gösteren alt gruplara ise ırk adı verilir. Irklar tür içindeki genetik varyasyonun bir yansımasıdır. Islah çalışmalarında sadece ekonomik açıdan önemli özelliklerin geliştirilmesine yönelik bir seçim söz konusu olduğundan, ekonomik getirisi yüksek ırklar sıkça tercih edilmektedir<sup>(10)</sup>. Bu seçim homozigotluk oranını arttırdığından populasyonların gen havuzundaki çeşitlilik hızla azalmakta, yerli ırklar bazı özelliklerini dönüşümsüz olarak kaybedebilmektedirler<sup>(5,11)</sup>. Dolayısı ile ıslah çalışmalarında verim artışı sağlanırken, birçok ırk da yok olabilmektedir. Örneğin ülkemizde özellikle Batı Anadolu bölgesinde sıklıkla yapılan verim artırılmasına yönelik çalışmalar sonunda, Ödemiş ırkının yok olduğu, Çine Çaparı ve Dağlıç gibi ırkların ise yok olma tehlikesi ile karşı karşıya kaldığı bildirilmektedir<sup>(12)</sup>. Bu nedenle ıslah çalışmaları süresince yerli ırkların gen havuzlarının orjinal hali ile korunması önem kazanmaktadır. Hızla yok

olan yerel ırklara sahip çıkılarak, genetik çeşitlilik korunmalıdır.

Türkiye’de olduğu gibi, dünyada da birçok hayvan ırkının gün geçtikçe azalması üzerine doğal gen kaynaklarının korunmasını sağlayabilmek için Food and Agriculture Organization (Gıda ve Tarım Örgütü, FAO) kurulmuştur ve günümüzde dünya gen kaynaklarının korunması FAO öncülüğünde yürütülmektedir. FAO Asya ve Pasifik’te at, manda, keçi, koyun, sığır ve domuz türlerinden oluşan 900 adet hayvan ırkının genetik varyasyonunun korunması için Nisan 1992’de bir sempozyum düzenlemiş ve sempozyumda Dünya Hayvan Gen Kaynakları İdaresi tarafından bir projeye başlanılmıştır. Bu proje ile ilgili veriler merkezi Roma’da bulunan dünya hayvan gen bankasında toplanmaktadır<sup>(13)</sup>. FAO üye ülkelerin temsilcilerinden aldıkları bilgiler ışığında kısa adı DAD-IS (Domestic Animal Diversity Information System, Çiftlik Hayvanları Genetik Çeşitliliği Bilgi Sistemi) olan çiftlik hayvanları gen kaynaklarına ilişkin veri tabanını oluşturmuştur. Son onbeş yılda FAO’nun tanıdığı 6000 ırktan 300’ü yok olmuş, 1350’si ise yok olma tehlikesi ile karşı karşıya kalmıştır<sup>(14)</sup>. Yine FAO’dan alınan verilere göre son beş yılda koyun, keçi, domuz, at ve kümes hayvanlarından oluşan 60 ırk yok olmuştur<sup>(15)</sup>.

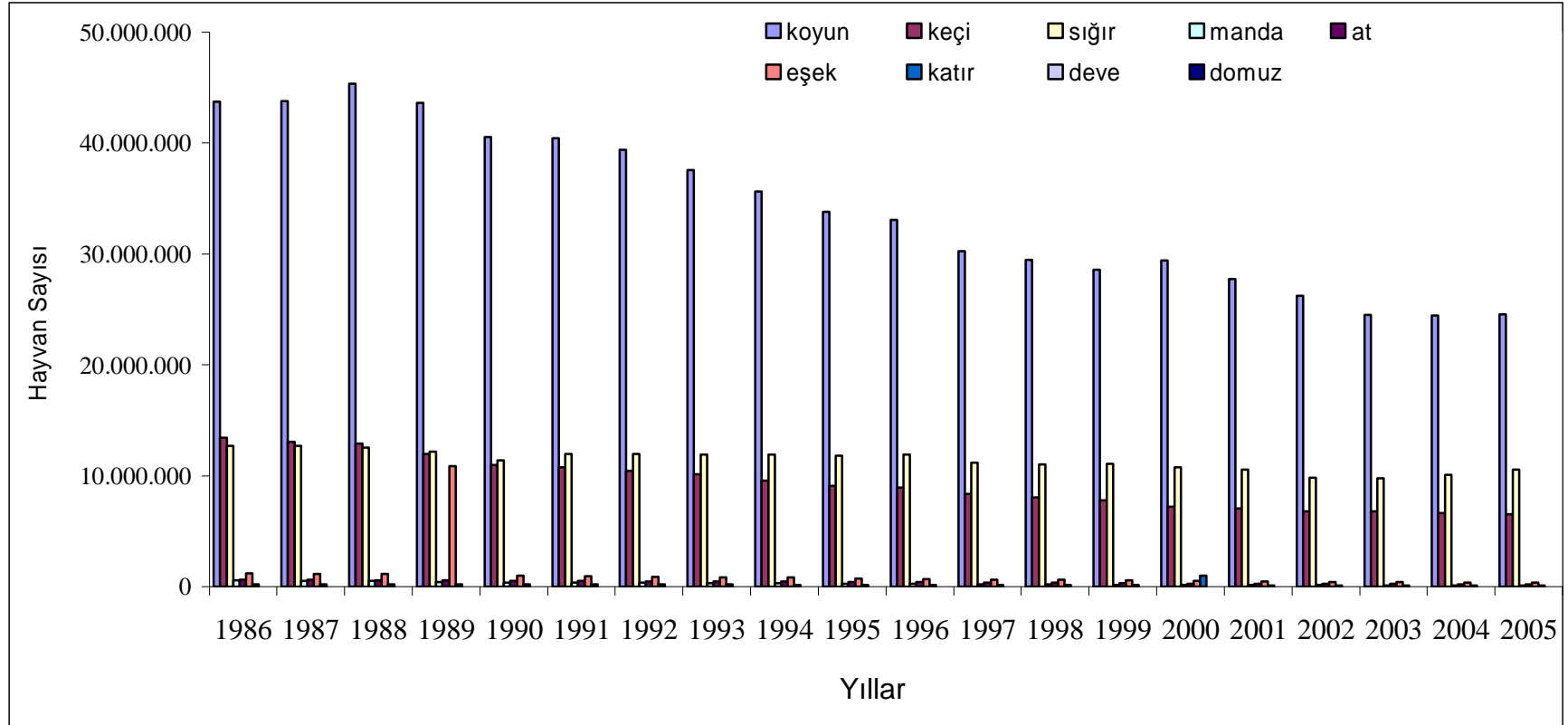
Moleküler düzeyde yapılan çalışmaların giderek arttığı günümüzde, gerek hayvan ıslah çalışmalarında ve gerekse gen kaynaklarının korunmasına yönelik çalışmalarda kullanılmak üzere birçok moleküler analiz yöntemi geliştirilmiştir. Bu tez çalışmasında, bu yöntemlerden biri olan RAPD-PCR metodu kullanıldı. Genoma ait herhangi bir ön bilgiye ihtiyaç duyulmadan uygulanabilen bu basit ve hızlı yöntem ile Türkiye’nin yerli koyun ırklarından Türk Merinosu ve Morkaraman ırklarının seçilen 10 primer ile moleküler genetik analizi yapıldı.

Bu çalışmanın amacı, Türkiye'nin Morkaraman ve Türk Merinosu yerli koyun ırklarının PCR'a dayalı Rasgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA (RAPD) yöntemi ile moleküler genetik analizini yaparak, bu ırklardaki polimorfizm ve ırklar arası genetik mesafeyi ortaya koymaktır.

## **1.1. Kuramsal Temeller:**

### **1.1.1. Türkiyede Küçükbaş Hayvan Yetiştiriciliği :**

Türkiye'de 1980 sonrası izlenen politikalarla tarıma ayrılan pay en aza indirilerek diğer alanlara kaydırılmıştır ve buna bağlı olarak da büyükbaş ve küçükbaş hayvan varlığı oldukça azalmıştır<sup>(16,17)</sup>. Hayvan varlığındaki bu azalışın büyükbaş hayvanlara oranla küçükbaş hayvanlarda daha yüksek olduğu bildirilmektedir<sup>(1)</sup>. Örneğin, ilk kez hayvan sayımının yapıldığı 1984 yılından bu yana Ankara keçisinde % 82.2, kıl keçisinde % 42.7, koyun da ise % 37.8'lik bir düşüş gözlemlendiği bildirilmiştir<sup>(16)</sup>. Devlet İstatistik Enstitüsünden alınan 2006 verileri ile oluşturulan bazı çiftlik hayvanlarının sayısındaki değişim grafiği Şekil 1.1.'de verilmiştir.



Bazı çiftlik hayvanlarının yıllara bağlı sayısal değişimi (kaynak: DİE 2006 verileri)

İklim şartları, arazi ve mera yapısı ile yem kaynakları bakımından küçükbaş hayvan yetiştiriciliğine oldukça elverişli olan ülkemizde, bu alanda yeterince ilerleme kaydedilememesinin sebepleri aşağıda belirtilmiştir<sup>(1,18)</sup> :

- Hayvan başına düşen verimin düşük olması,
- Meraların aşırı otlatma ile azalması,
- İşletmelerin küçük olması,
- Hayvan ıslah çalışmalarının uzun zaman alması,
- Damızlık seçimlerine dikkat edilmemesi,
- Köyden kente göçün artması.

Türkiye'deki küçükbaş hayvan popülasyonunun 25.3 milyonunu koyunlar oluşturmaktadır. Koyun popülasyonunun % 96.4'lük kısmını yerli ırklar, geri kalan kısmını ise yeni geliştirilmekte olan ırklar meydana getirmektedir<sup>(16)</sup>.

Koyunlar coğrafik koşullara göre şekillenmiş çok sayıda ırk içerdiklerinden; büyük bir genetik potansiyele sahiptirler<sup>(19)</sup>. Hayvan yetiştiriciliğinde verim artışını sağlayabilmek için bu genetik potansiyeller çevre şartları ile birlikte değerlendirilmelidir<sup>(17)</sup>. Bu konuda Altinel ve ark.<sup>(20)</sup> yaptıkları bir çalışmada Alman siyah başlı koçlar kullanarak yerli ırkların karkas ağırlıklarında artış sağlanabileceğini belirtmişlerdir. Yapılan bir başka çalışmada ise, döl verimi yüksek olan sakız ırkı kullanılarak yüksek döl verimine sahip ırkların elde edilebileceği önerilmiştir<sup>(21)</sup>.



### 1.1.2. Koyunun Evcilleştirilmesi:

İlk evcilleştirilen hayvanlar arasında yer aldığı düşünülen koyunun tam olarak nerede ve ne zaman evcilleştirildiği bilinmemektedir. Bazı araştırmacılara göre koyun M.Ö. 6-7 binlerde ilk defa Güney Batı Asya'da evcilleştirilmiştir. Bazı araştırmacılar ise koyunun M.Ö. 8-9 binlerde Orta Asya'da Türkler tarafından evcilleştirildiğini düşünmektedirler. Türkistan'da bazı yerleşim yerlerinde M.Ö. 8 bin yıllarına ait koyun kemiklerinin bulunması bu düşünceyi doğrular niteliktedir<sup>(22)</sup>.

Evcilleşme öncesi kışları ovalarda, yazları ise dağlarda yaşayan yaban koyunları evcilleşme ile insan kontrolüne girerek uysallaşmış ve insanlara yarar sağlamaya başlamışlardır<sup>(23)</sup>. Bununla birlikte, evcilleşme ile koyunların adaptasyon yeteneği azalmış, zeka yapılarında gerileme gözlenmiştir<sup>(22)</sup>.

Evcil koyunların asıl atalarının Batı Asya yaban koyunu (Western Asian mouflon) da denilen *Ovis orientalis* olduğu düşünülmektedir. Fakat yapılan mtDNA analiz çalışmaları ile evcilleşen türlerin birden fazla atadan da türeyebileceği sonucuna varılmıştır<sup>(23)</sup>. Evcil koyunun sistematığı aşağıda verilmiştir<sup>(24)</sup>:

Phylum : Animalia

Classis : Mammalia

Subclassis : Theria

Ordo : Artiodactyla

Familia : Bovidae

Subfamilia : Caprinae

Genus : *Ovis*

Species : *Ovis aries*

### 1.1.3. Türkiye’de Yerli Koyun Irkları

Türkiye iklim ve bitki örtüsü bakımından farklı özelliklere sahip çeşitli bölgelerden oluşmuştur. Bu bölgesel farklılıklara bağlı olarak koyun populasyonlarında da çeşitlilik gözlenmektedir. Her bölgede bulunduğu yere uyum sağlamış farklı koyun ırkları bulunmaktadır. Örneğin, ülkemizin iç kesimlerinde yağlı kuyruklu koyun ırkları; denize yakın bölgelerde ise ince kuyruklu koyun ırkları yaygın olarak bulunmaktadır.

Türkiye’de verim özellikleri, vücut yapıları ve yapağı tiplerine göre sınıflandırılmış 20’ye yakın koyun ırkı bulunmaktadır. Bu ırklardan bazıları özellikleri ile birlikte aşağıda sıralanmıştır<sup>(22,25)</sup> :

**Türk Merinosu** : Anavatanı Anadolu olmasına rağmen, yapılan ıslah çalışmalarıyla kimliğini İspanya’da kazanmış yapağıcı bir ırktır. Dokuma sanayinde kullanılan kaliteli yapağıya sahiptir. Etinden de yararlanılan bu ırk M.Ö 12-7 yüzyılları arasında Frigyalı’lar tarafından yetiştirilmeye başlanmış ve Türkiye’ye ilk kez 1843 yılında İspanya’dan getirilerek; Bursa Karacabey Harasında yetiştirilmiş ve 19. yy. sonlarında yetiştiriciliği ortadan kalkmıştır. 1934 yılında Almanya’dan ithal edilen Alman Et Merinosunun, Kıvırcık ve Akkaraman yerli koyun ırkları ile melezlenmesi sonunda yeniden yetiştirilmeye başlanmıştır. Melezleme çalışmaları sonunda Karacabey ve Orta Anadolu olarak isimlendirilen iki Türk Merinosu elde edilmiştir:

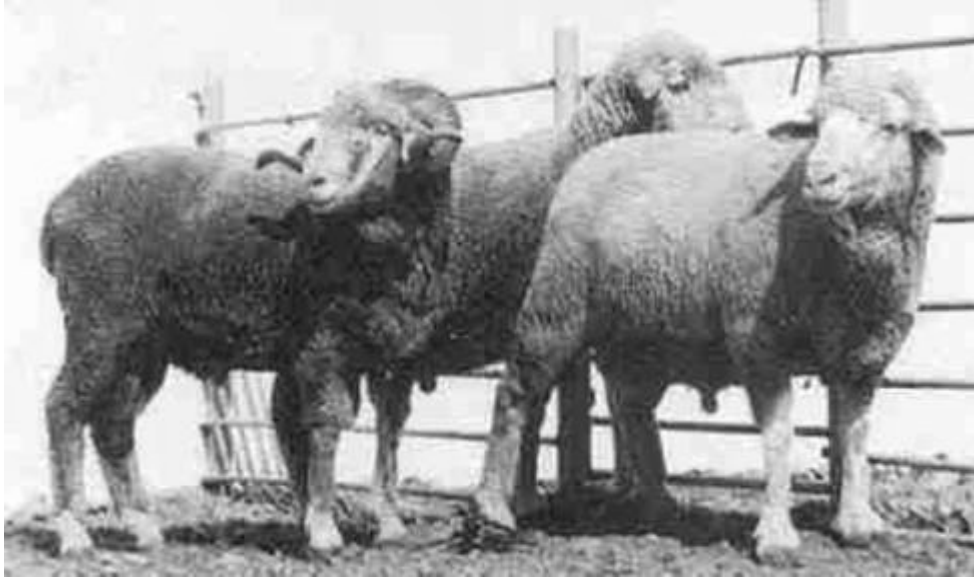
1. Karacabey Türk Merinosu : Alman Et Merinosu X Kıvırcık melezleme çalışmaları ile Karacabey Harasında yetiştirilmeye başlanmıştır. Vücut beyaz

yapağı ile örtülü, yüz kısmı ve bacak uçları çıplaktır. Vücutları orta iriliktendir ve nadiren erkek bireylerde boynuz bulunur. Yağsız, uzun kuyruğa sahiptir. Yapağı verimi yılda 3-3.5 kg iken, süt verimi 50-70 litre'dir.

2. Orta Anadolu Türk Merinosu : Alman Et merinosu X Akkaraman melezleme çalışmaları ile Konya Harasında yetiştirilmeye başlanmıştır. Konya Merinosu olarak da bilinir. Vücut beyaz yapağı ile örtülüdür. Yüz kısmı ve bacak uçları çıplaktır. Karacabey Merinos'undan farklı olarak vücut daha iridir. Yapağı verimi yılda 3.5- 4 kg, süt verimi ise 40-50 litre'dir. Türk Merinosu ırkına ait dişi ve erkek bireyler Şekil 1.2.'de ve Şekil 1.3.'de verilmiştir.

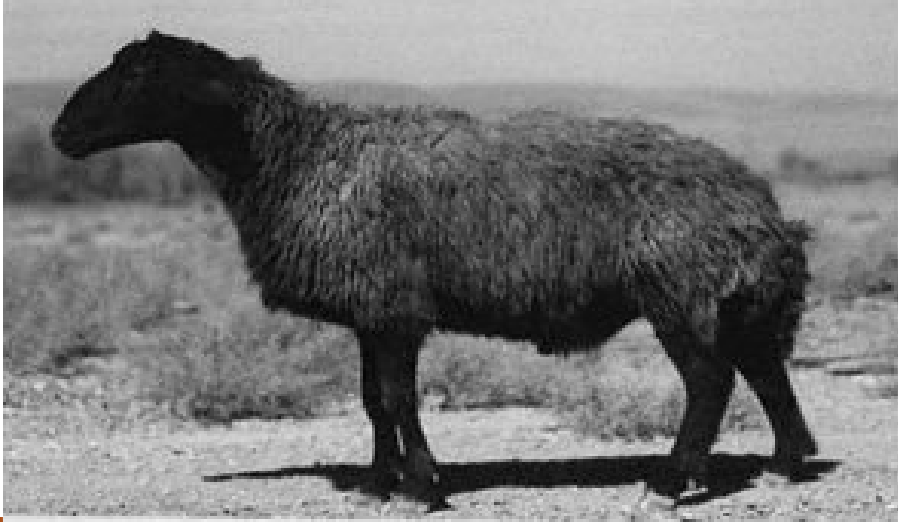


**Şekil 1.2.** Türk Merinosu ırkına ait dişi bireyler



**Şekil 1.3.** Türk Merinosu ırkına ait erkek bireyler

**Morkaraman :** Genellikle Doğu Anadolu'da yetiştirilmekle birlikte, yer yer Güneydoğu Anadolu'da da yetiştirilen yerli bir ırktır. Vücutları kızıldan mora kadar değişen kaba karışık yapağı ile örtülüdür. Baş, boyun, karın altı ve bacaklar çıplaktır. İri vücutlu ve yağlı kuyrukludur. Türkiye koyun popülasyonunun % 23'lük bir kısmını oluşturduğundan sayı bakımından Akkaraman'dan sonra ikinci sıradadır. Süt verimi yılda 80-90 litre olduğundan sütçü koyun ırkları arasında yer almaktadır. Yıllık yapağı verimi ise 2-2.5 kg'dır. Morkaraman ırkına ait dişi ve erkek bireyler Şekil 1.4.'de ve 1.5.'de verilmiştir.



**Şekil 1.4.** Morkaraman ırkına ait bir dişi birey



**Şekil 1.5.** Morkaraman ırkına ait bir erkek birey

**Akkaraman :** Orta ve Doğu Anadolu ile diğer bölgelerimizin Orta Anadolu'ya yakın kısımlarında yetiştirilen, sayı bakımından birinci sırada olan ırktır. Beyaz yapağı ile örtülü olan vücutta baş, boyun, karın altı ve bacaklar

çıplaktır. Vücut orta iriliktir. Yapağı verimi yılda 1.5-2 kg, süt verimi ise 50-60 litre'dir.

**Karagül :** Anavatanı Orta Asya olan bu ırk ülkemize dışarıdan getirilmiştir. İthal edilen Karagül koçları ile yerli ırklardan Tuj, Morkaraman ve Akkaraman arasında yapılan melezleme çalışmaları sonunda 1929'da Eskişehir Çifteler Harasında yetiştirilmeye başlanmıştır. Vücut orta irilikte ve genelde siyahtır; fakat kurşuni, beyaz ve kahverengi olanlarına da rastlamak mümkündür. Baş ve bacaklar çıplaktır. En önemli ürünü postlarıdır.

**Dağlıç :** Sakarya Nehri ve Ege kıyıları çevresinde yetiştirilmektedir. Vücut beyaz ve küçüktür. Ağız , burun, göz çevresi ve ayaklarda siyah lekeler bulunur. Baş ve bacaklar çıplaktır. Etçil bir ırk olmakla beraber, yapağısı halı imalatında kullanılmaktadır.

**İvesi :** Arap koyunu da denilen bu ırk, Güneydoğu Anadolu Bölgemizde yetiştirilmektedir. Vücut beyaz yapağı ile örtülü olup, baş, boyun ve ayaklarda kahverengi ya da siyah lekeler bulunmaktadır. Baş ve bacaklar çıplak, vücut orta iriliktir. Süt verimi yılda 120-160 litre olan sütçü bir ırktır.

**Kıvırcık :** Ülkemizde Marmara ve Ege Bölgelerimizin bazı illerinde yetiştirilmektedir. Vücutları beyaz renkli olup, nadiren baş ve ayaklarda siyah lekeler rastlanmaktadır. Baş, boyun, karın altı ve bacaklar çıplaktır. Vücut orta iriliktir. Yapağısı halı ve kumaş imalatında kullanılmaktadır. Yerli ırklar arasında en lezzetli ete sahip olanıdır.

**Karayaka :** Karadeniz'in kıyı kesimlerinde yetiştirilmektedir. Vücut genelde beyaz olmakla birlikte; siyah ve kahverengi olanlarına da

rastlanmaktadır. Baş ve bacaklar çıplak, vücut orta iriliktir. Yatak yapımında kullanılan kaliteli yapağıya sahiptir.

**İmroz (Gökçeada) :** Çanakkale ve çevresinde yetiştirilmektedir. Ağız ve göz çevresi siyah, vücut beyaz renklidir. Kulaklar ve ayak uçlarında da siyah lekeler görülebilir. Vücut küçüktür. Yapağı kalitesi düşük, süt verimi yüksektir.

**Tuj :** Doğu Anadolu'da Kars Ardahan çevresinde yetiştirilmektedir. Çıldır ve Kesik olarak da isimlendirilir. Vücut beyaz ve orta iriliktir. Göz ve ayak etrafında siyahlıklar bulunmaktadır. Yapağı kalitesi iyidir.

**Sakız :** En çok İzmir ve çevresinde yetiştirilmekle birlikte; Akdeniz ve Marmara kıyılarında da yetiştirilmektedir. Vücut beyaz olup; ağız, göz, kulak ve ayak çevresinde siyah lekeler rastlanmaktadır. Döl ve süt verimi yüksek bir ırktır. Süt verimi yılda 250 kg'a kadar çıkabilmektedir.

#### **1.1.4. Çiftlik Hayvanlarında İslah Çalışmaları ve Kullanılan**

##### **Yöntemler:**

Hayvanların evcilleştirilmesi ile birlikte, ıslah çalışmaları da başlamıştır. Özellikle 1980'li yıllardan sonra çiftlik hayvanlarının ıslahına yönelik çalışmalarda büyük bir artış söz konusudur. Başlangıçta yapılan çalışmalarda yalnızca klasik ıslah yöntemleri kullanılırken; moleküler alandaki ilerlemeler sonunda DNA analizine dayalı ıslah çalışmaları da uygulanmaya başlanmıştır. Çiftlik hayvanlarına yönelik bu ıslah çalışmaları aşağıdaki gibi gruplandırılabilir:

##### **1. Klasik ıslah çalışmaları:**

- Kontrollü Birleşme

- Suni tohumlama
- *Invitro* fertilizasyon ve embriyo transferi
- Rekombinant DNA uygulamaları

## 2. DNA analizine dayalı moleküler teknikler:

- Enzimlerle kesilen DNA parçacıklarının polimorfizmi (Restriction Fragment Length Polymorphism, RFLP)
- Çoğaltılmış parçacık uzunluk polimorfizmi (Amplified Fragment Length Polymorphism, AFLP)
- Basit zincir tekrarları (Simple Sequence Repeats, SSRs)
- Rasgele çoğaltılmış polimorfik DNA (Randomly Amplified Polymorphic DNA, RAPD)
- Tek nükleotid polimorfizmi (Single Nucleotide Polymorphism, SNP)

### 1.1.4.1. Klasik Islah Yöntemleri:

Kontrollü Birleşme (Seleksiyon): Populasyonlarda bir sonraki dölü oluşturacak ebeveynlerin istenilen verim özelliklerine göre seçilmesi ile yapılan kontrollü birleşmelerdir<sup>(11)</sup>. Bu çok zaman ve işgücü isteyen bir yöntemdir.

Suni tohumlama: Uygun dölleme zamanında olduğu belirlenen dişilere iyi damızlıklardan alınan spermlerin nakledilerek *invivo* ortamda döllemenin sağlandığı bir tekniktir<sup>(26)</sup>.

*Invitro* fertilizasyon ve embriyo transferi: Dışardan verilen gonodotropin ve protaglamın gibi bazı hormonların vasıtası ile dışıdan elde edilen çok



sayıdaki yumurtanın *invitro* ortamda seçilmiş spermiler ile döllenmesine denir<sup>(27)</sup>. *Invitro* fertilizasyon ile elde edilen embriyoların taşıyıcı hayvana aktarılması ile de embriyo transferi gerçekleşir. Bu yöntem *invitro* fertilizasyon sonrası uygulanabileceği gibi üstün verim özelliklerine sahip dişi bireylerden elde edilen embriyoların doğrudan transferi ile de yapılabilir. Embriyo transferi öncesi embriyo kalitesinin bazı morfolojik yöntemler ile değerlendirilebilmesi mümkündür, fakat bu yöntemler ile embriyodaki hastalıklar belirlenememektedir<sup>(28)</sup>. İlk olarak Brackett ve arkadaşlarının dana üretmek için kullandıkları bu yöntem sonrasında sığır<sup>(29,30)</sup>, bizon<sup>(31,32,33)</sup>, domuz<sup>(34)</sup> ve at<sup>(35)</sup> da embriyo transferi yapmak için de kullanılmıştır. Ülkemizde ise ilk embriyo transferi koyunlarda yapılan bir çalışma ile gerçekleştirilmiştir<sup>(36)</sup>. Ayrıca Kanada'da sığırlarda yapılan çoklu ovulasyon ve embriyo transferi (MOET) çalışmaları sonunda yaklaşık % 10'luk genetik iyileşme sağlandığı bildirilmiştir<sup>(37)</sup>.

Rekombinant DNA tekniği: Farklı organizmalardan elde edilen DNA moleküllerinin birleştirilmesi ile oluşturulan yeni yapıya rekombinant DNA denilmektedir<sup>(5,26)</sup>. Bu teknikte taşınması istenilen DNA parçası restriksiyon enzimi ile kesilerek taşıyıcı DNA molekülü (vektör) ile birleştirilir. Rekombinant DNA tekniği vasıtası ile farklı tür canlılar arasında gen transferi yapılarak transgenik canlılar elde edilmektedir. Bu teknik çerçevesinde hayvan hücrelerine gen aktarımı transformasyon, elektroporasyon, mikroenjeksiyon, biyolistik gibi yöntemler ile yapılmaktadır<sup>(26)</sup>. Bu yöntemlerden mikroenjeksiyon tekniği kullanılarak transgenik sıçan, koyun ve domuz elde edilmiştir<sup>(38)</sup>.

### **1.1.4.2. DNA Dizi Analizine Dayalı Moleküler Teknikler:**

#### **1.1.4.2.1. Hibridizasyona Dayalı Teknikler:**

RFLP : Enzimlerle kesilen DNA parçacıklarının polimorfizmi olarak isimlendirilen RFLP tekniği hibridizasyona dayalı bir yöntemdir. Bu teknikte genomik DNA özel endonüklez enzimleri ile kesilir, oluşan farklı uzunluktaki DNA parçaları jel elektroforezinde yürütülür ve elektroforez sonrası ayrılan parçalar naylon membrana aktararak, X ışınları ile gözlenir<sup>(5)</sup>. Radyoaktif madde kullanıldığı için oldukça pahalı olan bu teknik kodominant kalıtım gösterir<sup>(39)</sup>.

#### **1.1.4.2.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonuna (PCR) Dayalı Teknikler**

PCR yapay oligonükleotitler kullanılarak *invitro* ortamda hedef bölgenin çoğaltılmasıdır<sup>(40)</sup>. Diğer bir ifade ile DNA replikasyonunun *invitro* ortamda gerçekleşmesidir. Klonlamaya gerek duyulmadan DNA'nın istenildiği kadar kopyası elde edilebildiğinden bu yöntemin keşfi ile birlikte moleküler biyoloji alanında büyük ilerlemeler gözlenmiş; PCR temelli RAPD, AFLP, SSR, SNP gibi yöntemler geliştirilmiştir. Geliştirilen bu yöntemler ile birlikte PCR adli tıp olaylarının aydınlatılması, hastalıkların teşhisi, prenatal tanı gibi birçok amaç için kullanılmaya başlanmıştır<sup>(5,41)</sup>. Günümüzde revers transkriptazlar da kullanılarak RT-PCR adı altında mRNA'dan da çoğaltım yapılabilmektedir<sup>(42)</sup>.

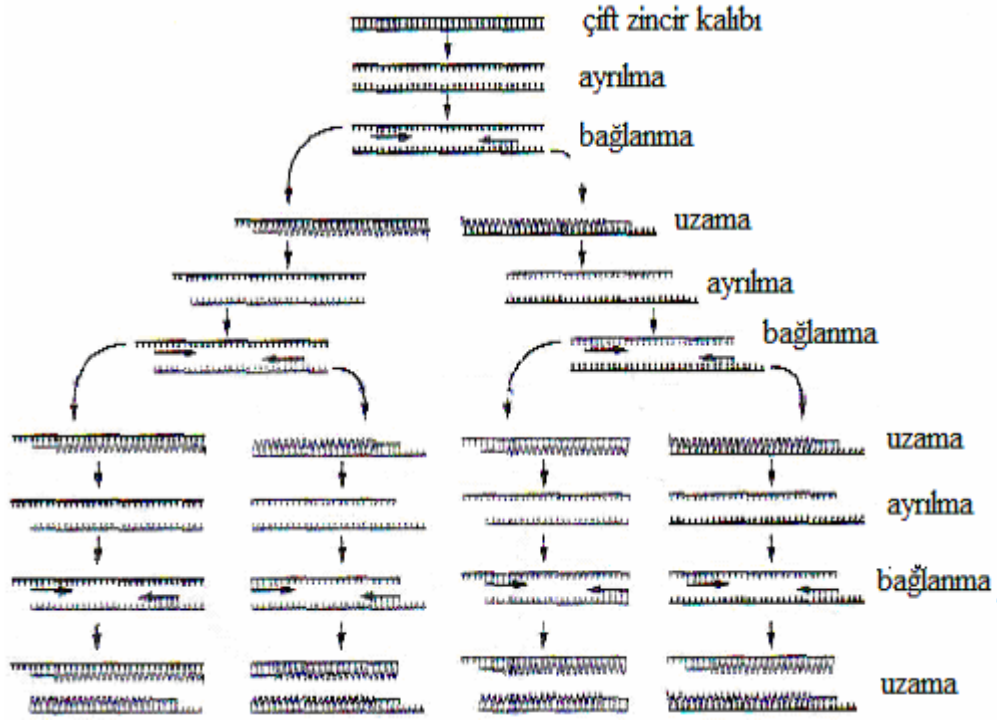
Bir PCR reaksiyonu için aşağıdaki bileşenlere ihtiyaç vardır:

1. Kalıp DNA : Genomik, plazmid, faj DNA'sı ya da herhangi bir DNA parçası kullanılabilir<sup>(43)</sup>.

2. Polimerazlar : dNTP kullanarak çalışılan hedef dizinin sentezini katalizlerler<sup>(5,43)</sup>.  
Çeşitli türleri olsa da sıklıkla *Thermus aquaticus*'tan elde edilen taq polimerazlar kullanılır.
3. Primerler : Kalıp DNA'nın sentezi için başlangıç noktasını oluşturan genellikle 18-25 nükleotit uzunluğundaki yapay oligonükleotitlerdir<sup>(44)</sup>.
4. dNTP : Deoksiribonükleozid trifosfat olarak isimlendirilen dNTP'ler (dATP, dGTP, dCTP, dTTP) primerden sonra zincirin uzaması için gereklidir<sup>(44)</sup>.
5. Tamponlar ve MgCl<sub>2</sub> : Reaksiyon sırasında enzimin aktivitesini arttırmak için kullanılırlar<sup>(44)</sup>.

Bir PCR reaksiyonu bu bileşenlerin eşliğinde üç basamakta gerçekleşir (şekil 1.6.).

- 1) Kalıp DNA yüksek sıcaklıkta denatüre olarak zincirler birbirinden ayrılır (ayrılma=denatürasyon).
- 2) Primerler denatüre olmuş zincirlere bağlanır (bağlanma=annealing).
- 3) Primerlerin bağlanmasından itibaren polimeraz enziminin de aktivesi ile DNA sentezi gerçekleşir (uzama=elongation).



Şekil 1.6. Polimeraz zincir reaksiyonunun şematize şekli

Bu üç aşama bir döngü kabul edilir. Her döngü sonunda DNA miktarı geometrik ( $2^n$ ) olarak artar. Örneğin 10 döngüden oluşan bir reaksiyonda DNA miktarı yaklaşık 1000 kat artar. PCR' a dayalı moleküler teknikler aşağıda sıralanmıştır:

SSR : Basit zincir tekrarları içeren bu teknikte tekrar eden lokuslarda tekrar sayısındaki değişikliklere bağlı olarak polimorfizm belirlenir<sup>(5)</sup>. SSR' lar tekrar eden birimlerin büyüklüklerine göre minisatellit ve mikrosatellit olarak iki alt gruba incelenmektedir. Minisatellitlerde tekrar grupları 10-100 bç'lik birimlerden oluşurken; mikrosatellitlerde 2-5 bç uzunluğundaki birimlerden oluşur<sup>(5,45,46)</sup>. SSR'lar genetik haritalama<sup>(47)</sup>, genetik akrabalık<sup>(48,49,50)</sup> ve kimlik tespiti<sup>(51)</sup> çalışmalarında sıklıkla kullanılmaktadır.

SNP : Tek nükleotit polimorfizmi olarak isimlendirilen SNP'ler aynı pozisyondaki farklı nükleotitlerin tayin edildiği bir yöntemdir. Genetik hastalıkların araştırılmasında, evrim çalışmalarında ve gen çeşitliliğinin tespitinde sıklıkla kullanılmaktadır<sup>(5,52,53)</sup>.

AFLP : Çoğaltılmış parçacık uzunluk polimorfizmi olarak isimlendirilen AFLP tekniği, restriksiyon enzimleri ve bir adet 3' adaptörü ile genomik DNA'nın kesilip 5' primeriyle çoğaltılması ve sonrasında da poliakrilamid jelde yürütülüp, gümüş boyama ile gözlenmesi esasına dayanır<sup>(5)</sup>. RFLP'nin tekrarlanabilirliği ve PCR'ın basitliğini bir arada bulunduran bu teknik genetik haritalama çalışmalarında kullanılmaktadır<sup>(54)</sup>.

Bir diğer PCR temelli DNA analiz yöntemi olan RAPD yöntemi bu çalışmada kullanılan temel metot olduğundan, bu teknik aşağıda daha ayrıntılı olarak açıklanmıştır.

#### **1.1.4.2.2.1. Moleküler Genetik Analiz Yöntemi Olarak RAPD Tekniği:**

1990 yılında Williams ve arkadaşları<sup>(39)</sup> rasgele dizilime sahip 10 bazlık tek bir sentetik oligonükleotit (primer) yardımı ile kalıp DNA'nın çoğaltılabileceğini gösterdiler ve PCR'a dayalı bu tekniği RAPD olarak isimlendirdiler. Bu teknik ile herhangi bir klona ya da genoma ait bir ön bilgiye ihtiyaç duyulmadan genetik belirleyici (markır) elde edilebilir<sup>(55)</sup>.

Bu tekniğin avantaj ve dezavantajları aşağıda sıralanmıştır<sup>(7,39, 55,56)</sup> :

- Çok az miktarda DNA ile kısa sürede ve çok kompleks bileşenlere ihtiyaç duyulmadan uygulanır.

- Otomasyonu kolay, basit ve hızlı bir yöntemdir, çok gelişmiş aletlere ihtiyaç yoktur.
- Kısa sürede çok miktarda markır elde edilebilir.
- Radyoaktif olmayan bir metottur ve yöntem öncesi bir ön hazırlık gerektirmez.
- Yüksek polimorfizm belirten bir teknik olmasına rağmen, lokusların homozigot mu yoksa heterozigot mu olduğu konusunda bir bilgi vermez. Dominant kalıtım gösterir.
- RAPD deneyleri süresince tüm bileşenler ve ortam koşulları aynı olmalıdır. Çünkü bileşenler ve ortam koşullarındaki değişiklik farklı sonuçlar doğurabilir<sup>(57)</sup>.

RAPD yöntemi sağladığı birçok avantajı nedeni ile yaygın olarak kullanılmaktadır. Örneğin,

1. Populasyon genetiği çalışmalarında<sup>(39,56,58,59)</sup>,
2. Bitki ve hayvan yetiştirme programlarında<sup>(39,56,60,61)</sup>,
3. Genetik benzerlik ve filogenetik ilişkilerin tespitinde<sup>(39,56,61,62,63,64,65,66,67)</sup>,
4. Bazı kalıtsal hastalıkların teşhisinde kullanılmaktadır<sup>(5)</sup>.

#### **1.1.4.2.2.2. Çiftlik Hayvanlarında RAPD-PCR Yöntemi İle Yapılan Çalışmalara Litaratür Örnekleri**

Dünyada ve Türkiye’de çiftlik hayvanlarında RAPD-PCR yöntemi kullanılarak yapılan birçok çalışma bulunmaktadır. Bu alanda dünyada yapılmış olan çalışmalardan bazıları aşağıda özetlenmiştir:

Tanzanya’ da 3 sığır ırkı kullanılarak yapılan bir çalışma ile RAPD tekniğinin sığırlarda birey, populasyon ve ırk ayırımında kullanılabileceği bildirilmiştir<sup>(68)</sup>.

Cushwa ve arkadaşları<sup>(56)</sup> koyunlarla yaptıkları çalışmada kullandıkları 131 RAPD primerinden 53 tanesi ile 85 polimorfik bant elde etmişler ve bu bantlardan bazılarının genetik bağlantı haritalarında kullanılabileceğini belirtmişlerdir.

İran’ da 5 koyun ırkı kullanılarak yapılan bir çalışmada; kullanılan 17 primerden yalnızca 3’ünde polimorfizm görülmüş ve ırklar arası homojenitenin fazla olduğu kanısına varılmıştır<sup>(69)</sup>.

Mısır’da 4 koyun ırkının 19 RAPD primeri kullanılarak incelenmesi ile ırklardan 3’ü arasında yüksek genetik benzerlik gözlenmiştir<sup>(62)</sup>.

Mısır’da yapılan bir başka çalışmada ise 3 yumurtacı ve 2 etçi tavuk ırkı ile 6 primer kullanılarak yapılan çalışmada ırklar arası benzerlik bulunmaya çalışılmış; etçi ırklar arası benzerlik % 86.9, yumurtacı ırklar arası benzerlik ise % 72.4 ile % 85.4 değerleri arasında bulunmuştur<sup>(70)</sup>.

Brezilya'nın 5 koyun ırkının 19 RAPD primeri ile taranması sonucu çalışmada kullanılan 5 ırk arasında önemli farklılıklar olduğu görülmüştür<sup>(71)</sup>. Çalışmada kullanılan ırklardan 3'ünün (Santa İnes, Bergamasca ve Rabo Largo) bir grupta toplandığı ve diğer iki ırk (Morada Nova ve Somali) bu gruptan ayrıldığı dikkati çekmiştir.

Brezilya'da keçilerde yapılan bir çalışmada ise Moxata ırkından 7 ve Caninde ırkından ise bir populyondan toplam 282 birey 16 RAPD primeri ile taranmış ve 56 polimorfik bant elde edilerek; ırk içi ve ırklar arası varyasyon hesaplanmaya çalışılmıştır<sup>(72)</sup>. Populasyon içi varyasyon %21.21, populasyonlar arası varyasyon ise %21.75 olarak bulunmuştur.

RAPD-PCR tekniği kullanılarak Türkiye'de yapılmış olan çalışmalardan bazıları ise aşağıda özetlenmiştir:

Türkiye'de yerli sığır ırklarından Yerli Kara (YK), Doğu Anadolu Kırmızısı (DAK), Güney Anadolu Kırmızısı (GAK) ve Boz Irk kullanılarak 10 RAPD primerinin 77 bireyde taranması ile 6 primerde sonuç alınmış, ırklar arası genetik mesafe bulunmaya çalışılmıştır. DAK, GAK, YK ırklarının bir kümede, Boz Irk ise farklı bir kümede toplandığı dikkati çekerek, DAK ve YK'nın en yakın iki ırk olduğu saptanmıştır<sup>(73)</sup>.

İvgin ve arkadaşlarının<sup>(64)</sup> 4 yumurtacı ve 3 etçi saf tavuk hatları kullanarak toplam 70 bireyde yaptıkları çalışmada; 35 primerden 23'ünde sonuç alınmış ve hatlar arası genetik benzerliğin 0.644 ile 0.853 değerleri arasında değiştiği saptanmıştır.



Bafra, Sakız ve Karayaka ırklarından (çalışmada Sakız ve Karayaka ırkları iki sürüden toplanmıştır) toplanan 160 örneğin 20 primerle taranması ile 6 primerde toplam 67 polimorfik bant elde edilmiş; ırklar arası genetik benzerlik ve polimorfizm tespit edilmeye çalışılmıştır<sup>(74)</sup>.

İlhak ve arkadaşları<sup>(75)</sup> tek bir primer kullanılarak; sığır, koyun, domuz ve keçi ile yaptıkları çalışmada elde edilen RAPD bantlarının farklı olduğunu ve bu 4 türün RAPD yöntemi ile ayırt edilebileceğini belirtmişlerdir.

Bir diğer çalışmada ise nesli tükenme aşamasına gelen Çine Çaparı koyun ırkı analiz edilmiştir. Bu ırka ait üç sürüden alınan 72 örneğin 24 RAPD primeri ile taranması sonucu sürüler arası ve sürü içi benzerlikler belirlenmeye çalışılarak, sürü içi genetik benzerlik 0.7508 olarak hesaplanmıştır<sup>(12)</sup>.

## 2. MATERYAL VE METOT

### 2.1. Örneklerin Toplanması:

Bu çalışmada Türkiye'nin yerli koyun ırklarından Morkaraman ve Türk Merinosu ırklarına ait kan örneklerinin RAPD-PCR yöntemiyle moleküler genetik analiz yapıldı. Moleküler genetik analizi yapılan ırklardan Türk Merinosu ırkına ait kan örnekleri Bursa Karacabey Devlet Üretim Çiftliğinden, Morkaraman ırkına ait kan örnekleri ise Atatürk Üniversitesi Araştırma Çiftliğinden alındı. Vakumlu EDTA'lı tüplere alınan kan örnekleri 48 saat içerisinde soğuk zincir ile laboratuvar ortamına ulaştırıldı. Her iki ırktan 39'ar birey olmak üzere toplam 78 bireyin kan örneği kullanıldı (Çizelge 2.1.):

**Çizelge 2.1.** Çalışmada kullanılan koyun kan örneklerinin ırk ve cinsiyete göre dağılımı

<b>İrkin Adı</b>	<b>Dişi Sayısı</b>	<b>Erkek Sayısı</b>	<b>Toplam</b>
<b>Morkaraman</b>	30	9	39
<b>Türk Merinosu</b>	21	18	39

## 2.2. DNA İzolasyonu

Bu çalışmada Fermentas Genomic DNA Purification Kit<sup>®</sup> ve Fenol Kloroform yöntemleriyle DNA izolasyonu yapıldı.

Fermentas Genomic DNA Purification Kit<sup>®</sup> ile DNA izolasyonu:

Bu yöntemde ependorf tüplerde bulunan 200 µl antikuagulanlı kan örneği üzerine Lysis Buffer (KHCO<sub>3</sub>, NH<sub>4</sub>Cl, 0.5 M EDTA; PH: 8) eklendi ve 65°C'de 5 dakika inkübe edildi. İnkübasyon sonrası kanların üzerine kloroform eklendi, yavaşça karıştırıldı ve 10000 rpm de 2 dakika santrifüj edildi. Üstteki sıvı faz dökülüp, örnekler üzerine 400 µl fenol eklendi ve tekrar 10000 rpm'de 2 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrası üstteki temiz faz steril ependorf tüplere aktarıldı ve üzerlerine precipitation (çöktürme) solüsyonu eklendi. Tüpler iki dakika oda sıcaklığında karıştırıldı ve 10000 rpm'de 2 dakika santrifüj edilip üst (süpernatant) kısım döküldü. Alta çökmüş olan pellet (çökelti) NaCl solüsyonu ile iyice çözüldükten sonra mevcut hacmin iki misli oranında % 99'luk alkol eklenerek -20°C'de 10 dakika bekletildi. Süre sonunda dondurucudan çıkartılan tüpler, 10000 rpm'de 3-4 dakika santrifüj edildi. Dipte kalan DNA % 70'lik alkol ile yıkandı. Tüpler kurumaya bırakıldı. Kuruyan tüplere steril su eklendi ve +4°C'de en az 10 saat iyice çözülmesi için bekletildi ve sonrasında elde edilen DNA örnekleri -20°C'de saklandı.

Sambrook ve arkadaşlarının<sup>(43)</sup> Fenol Kloroform yöntemiyle DNA izolasyonu :

2 ml kan örneği 0.1 ml EDTA (0.5 M, PH:8) içeren tüplere kondu ve toplam hacim 15 ml olacak şekilde 2X Lysis Buffer (10X Lysis solüsyonu: 770 mM NH<sub>4</sub>Cl, 46 mM KHCO<sub>3</sub>, 10 mM EDTA ) eklendi. Tüpler 15 dakika

bekletilip, 10 dakika alt üst edilerek çalkalandı. Sonrasında 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek üst kısmı atıldı ve altta kalan çökelti üzerine 1 ml salt/EDTA (75 mM NACI, 25 mM EDTA) eklenip vortekslendi. Üzerine % 10'luk 0.1 ml SDS ve 150 µl proteinaz K (10 mg/ml) eklenip etüv'de 55<sup>0</sup>C'de 2 saat bekletildi. Süre sonunda tüplere 1 ml fenol (PH:8) eklenip 20 sn çok hızlı, 10 dakikada yavaşça (alt üst edilerek) çalkalandı. Sonrasında 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilip, üst kısım yeni steril tüplere alındı ve üzerine 1 ml Fenol: Kloroform: İzooamil alkol (25:24:1) eklendi. 20 sn hızlı, 10 dakika yavaş alt üst edilerek çalkalanan tüpler, 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi ve üst kısım steril cam tüplere alındı. Tüplere hacimlerinin iki katı kadar -20<sup>0</sup>C'de bekletilmiş %100'lük ETOH (etanol) eklendi ve sallandı. Bu işlem sonunda yoğunlaşan DNA 0.1 ml T.E (10 mM Tris, 1 mM EDTA, PH:7.5) içeren 1.5 ml'lik steril ependorf tüplere alındı ve -20<sup>0</sup>C'de saklandı.

### 2.3. Primerlerin Seçimi:

Bu çalışmada kullanılan primerlerin seçiminde aşağıda belirtilen kıstaslar dikkate alındı<sup>(39)</sup>:

- Primerin içerdiği Guanin + Sitozin bazlarının oranı % 50-% 80 arasında olmalı,
- Primer 10 baz çifti uzunluğunda olmalı,
- Primerler birbirlerinin tamamlayıcısı olmamalı,
- Herhangi bir sıra gözetmeksizin rasgele baz dizilimine sahip primerler seçilmelidir.

Belirtilen bu hususlar göz önünde tutularak ve önceden yapılmış çalışmalar da dikkate alınarak<sup>(56,74)</sup> Operon Technology'den 10 adet primer seçilip tarandı. Seçilen bu primerlerin DNA dizileri ve G-C baz sayısının toplam baz sayısına oranları Çizelge 2.2.' de verildi.

**Çizelge 2.2.** Primerlerin baz dizileri ve G-C oranının toplam baz sayısına oranı:

Primer	Primer Dizini ( 5' - - -3')	G – C (%)
OPD02	GGTGCGGGAA	70
OPE02	GGACCCAACC	70
OPB10	CTGCTGGGAC	70
OPG02	GGCACTGAGG	70
OPE04	GTGACATGCC	60
OPC05	GATGACCGCC	70
OPA20	CCGAATTCCC	60
OPF05	GTTGCGATCC	60
OPA02	TGCCGAGCTG	70
OPA05	AGGGGTCTTG	60

## **2.4. Çalışılan Koyun Irkları İçin RAPD PCR Yönteminin Optimizasyonu:**

### **2.4.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu Koşullarının Optimizasyonu :**

PCR koşullarının optimizasyonu için önceden RAPD-PCR yöntemi ile yapılan çalışmalar incelendi ve en iyi sonuçların alınmış olduğu çalışmalardan yararlanılarak optimizasyon gerçekleştirildi<sup>(39,56,62,74,75,76,77,78)</sup>. Kullanılan reaktiflerin (MBI Fermentas<sup>®</sup> ve Promega<sup>®</sup>) uygun miktarları aşağıda verildi:

1. Taq polimeraz enzimi: 5 µ/µl stok çözülden 0.2 µ/µl enzim kullanıldı.
2. 10X Reaksiyon Çözeltisi: Hazır ticari stoktan (10 mM Tris, %0.1 TritonX-100, sığır serum albümini) kullanıldı.
3. MgCl<sub>2</sub> Çözeltisi: 25 mM olan hazır stoktan 2.5- 3 mM kullanıldı.
4. dNTP: 10 mM olan hazır stoktan 1.25 mM kullanıldı.
5. Primer: Primerler distile su ile 100 ng /µl yoğunluğunda sulandırıldı ve 0.4 ml olacak şekilde kullanıldı.

PCR reaksiyonu için DNA dışındaki tüm bileşenler 0,5'lik ependorf tüplere hazırlandı ve önceden DNA'ları konmuş olan 0,2'lik ependorf tüplere toplam hacim 25 µl olacak şekilde dağıtıldı. Sonrada vurularak karıştırılan tüpler PCR ısı döngü cihazına yerleştirildi.

#### **2.4.2. Reaksiyon Isıları ve Döngü Sayısı:**

PCR ısı döngü cihazına yerleştirilen örnekler aşağıdaki programa tabii tutuldular :

94° C' de 2 dakika → Başlangıç ayrılma

94° C' de 1 dakika → Ayrılma (Denatürasyon)

35 ° C' de 1 dakika → Birleşme (Annealing)

72° C' de 1 dakika → Uzama (Elongation)

72° C' de 10 dakika → Son uzama

35 döngüyü kapsayan PCR işlemi sonrası örnekler agaroz jelde yürütülmek üzere 4 ° C' de bekletildi. Bu çalışmada RAPD-PCR tekniği her uygulama için en az iki kez tekrarlandı.

#### **2.4.3. Elektroforez Tekniği :**

Bu çalışmada daha önce yapılmış olan çalışmalardan<sup>(74,76)</sup> yararlanılarak elektroforez tekniği belirlendi. Elektrolit çözeltisi olarak TBE (Tris-Borat- EDTA) kullanıldı. Çözelti 54g Tris, 27.5 Borikasıit, 20 ml 0,5 M EDTA ile 10 misli konsantre olarak hazırlandı. Bu stoktan her deneme için 150 ml 10X TBE kullanıldı. 150 ml TBE'nin 18 ml'si agaroz jelin hazırlanmasında kullanılırken, geri kalan kısmı elektrolit çözeltisi olarak kullanıldı.

##### **2.4.3.1. Agaroz Jelin Hazırlanması :**

1.7'lik agarozun kullanıldığı bu çalışmada gerekli olan agaroz (sigma, prona) hassas terazide tartıldı ve 180 ml'lik 1X TBE içerisinde çalkalanarak berraklaşmıca

kadar kaynatıldı. Soğumaya bırakılan jel 50-60 °C sıcaklığına geldiğinde 0,5 µg/ml etidyum bromüd eklendi. DNA moleküllerini boyayarak bantların daha iyi görünmesini sağlayan etidyum bromid çok mutajenik olduğundan<sup>(43)</sup> tüm etidyumlu atıklar atık torbasında toplanarak tıbbi atık laboratuvarına yollandı.

#### **2.4.3.2. Agarozun Dökülmesi :**

50-60°C'ye kadar soğutulan agaroz jel tarakları takılmış olan tepsiye döküldü. Yürümede bir problem yaşanmaması için hava kabarcıkları patlatıldı ve jel katılaşmaya bırakıldı. Soğuyarak katılaşmış olan jel üzerine üst kısmını tamamen örtecek kadar 1X TBE döküldü ve taraklar dikkatlice çıkarıldı.

#### **2.4.3.3. Örneklerin Yüklenmesi :**

Yüklenecek olan örneklere elektroforez sırasında oluşacak olan DNA bantlarının yaklaşık konumlarının belirlenebilmesi için boya eklendi<sup>(43)</sup>. Laboratuvar ortamında ficoll, bromfenol ve 0,5 M'lık EDTA'dan hazırlanmış olan boya tüm örneklere eşit hacimde eklendi. Boya ve örnekler iyice karıştırıldı ve kuyucuklara yüklendi. Yükleme sırasında 50 µg'lık DNA ölçeği (MBI fermentas<sup>®</sup> SM 1133) de yükleme boyasıyla karıştırılarak yüklendi.

#### **2.4.3.4. Örneklerin Yürütülmesi :**

Örnekler en iyi sonucun alındığı 110 voltta 2.5 saat yürütüldü. Yürütülen örnekler U.V. sehpasına alınarak gözlemlendi ve Polaroid<sup>®</sup> (DS-34) fotoğraf makinesinde siyah beyaz olarak fotoğraflandı.



## 2.5. Verilerin İstatistiksel Analizi

Çalışma verileri, POPGENE (VERSION 1.31 Microsoft Window-based Freeware for Population Genetic Analysis, Yeh F.C., Yang R. and Boyle T., 1999) istatistik paket programı kullanılarak değerlendirildi.

### 2.5.1. Allel Frekansı (Gen Frekansı)

Bir populasyondaki genetik değişim genellikle gen frekanslarındaki değişim ile tanımlanır. Bu nedenle gen frekansı evrim çalışmalarında kullanılan temel parametrelerdendir<sup>(79)</sup>.

$A_1$  ve  $A_2$  bir lokustaki alleller olmak üzere;

$$N_{11}(A_1A_1) + N_{12}(A_1A_2) + N_{22}(A_2A_2) = N$$

$N$ ; diploid bir populasyonda toplam genotip sayısı

$$X_{11} = N_{11}/N \quad X_{12} = N_{12}/N \quad X_{22} = N_{22}/N \text{ dir.}$$

$X$ ; gen frekansı

$$X_{11} + X_{12} + X_{22} = 1 \text{ olduğundan;}$$

$$A_1 \text{ allelinin frekansı} = X_1 = (N_{11} + N_{12}) / 2N \text{ dir.}$$

$$A_2 \text{ allelinin frekansı} = X_2 = (N_{22} + N_{12}) / 2N \text{ dir.}$$

### 2.5.2. Genetik Varyasyonun Ölçülmesi

Yüksek yapılı organizmalardan oluşan populasyonlarda tüm lokuslardaki gen varyasyonunun ölçülmesi oldukça zordur. Bu nedenle tüm genetik çeşitlilik

küçük oranlarda örneklenen genler ile gösterilir. Bir lokustan diğerine olan genetik polimorfizm için rasgele seçilen lokuslar kullanılır<sup>(79)</sup>.

#### 2.5.2.1. Polimorfik Lokusların Yüzdesi

Bir popülasyonun genetik varyasyonunun belirlenmesinde çok sayıda lokus kullanılır ise varyasyon miktarı polimorfik lokus yüzdesi ve her lokustaki ortalama heterozigotluğun ölçülmesi ile belirlenir. En yaygın allelin popülasyondaki oranı % 99 ya da altında ise bu lokus polimorfik olarak adlandırılabilir<sup>(79)</sup>. Bu çalışmada da polimorfik lokus için % 99 değeri esas alındı.

$$P = n_p / r \text{ 'dir.}$$

P; polimorfik lokusların yüzdesi,

$n_p$  ; polimorfik lokus sayısı,

r ; toplam lokus sayısı.

#### 2.5.2.2. Gen Çeşitliliği (Heterozigotluk)

Genetik varyasyon ortalama heterozigotluk ya da gen çeşitliliği ile belirlenebilir. Rasgele çiftleşen bir popülasyondan beklenen heterozigotluk yüzdesi aşağıdaki gibi hesaplanabilir<sup>(79)</sup> :

$$h = 1 - \sum x_i^2$$

$x_i$ ; bir lokustaki i'ninci allelin popülasyondaki sıklığı,

h; rasgele çiftleşen populasyondaki lokus başına ortalama heterozigotluk yüzdesi.

### 2.5.2.3. Allellerin Sayısı

Genetik çeşitliliğin ölçülebilmesinde lokus başına düşen allel sayısından yararlanılabilir. Doğal populasyonlarda düşük sıklıkta çok sayıda allel bulunduğundan, allel sayısı örnek sayısına bağlı olarak değişebilir. Allel sayısı ve örnek sayısı arasındaki ilişki, genetik sürüklenme ve mutasyona bağlı olarak oluşan nötral alleller dikkate alınarak daha iyi hesaplanabilir<sup>(79)</sup>.

$M = 4Nv$  olmak üzere

$$E(k) = M / M + M / (M+1) + \dots + M / (M+2N-1)$$

$E(k)$ ; n kadar diploid örnekte beklenen allel sayısı

N ; etkili populasyon büyüklüğü,

v ; mutasyon oranı.

### 2.5.2.4. Bir Lokustaki Allellerin Etkili Sayısı

Etkili allel sayısı ne kadar az ise genetik varyasyon oranı o kadar düşüktür<sup>(79)</sup>.

$$n_e = 1 / \sum x_i^2$$

$n_e$ ; allellerin etkili sayısı,

$x_i$  ; i'ninci allellerin sıklığı.

#### 2.5.2.5. Shannon'nun Bilgi Endeksi

Shannon'nun bilgi içeriği her popülasyondaki RAPD bantlarının sıklığı ile hesaplanır<sup>(79)</sup>.

$$H_0 = \sum p_i / N$$

$H_0$  ; Shannon'nun bilgi içeriği,

$N$  ; toplam birey sayısı,

$P_i$  , i'ninci sınıfta gözlenen RAPD bant sıklığı.

#### 2.5.2.6. Alt Popülasyonlarda Gen Çeşitliliğinin Analizi:

Alt popülasyonu olan doğal popülasyonlarda popülasyon içi ve popülasyonlar arası gen çeşitliliği önemlidir.

1 – gen çeşitliliği = gen kimliği' dir.

Bir alt popülasyona ait gen kimliği aşağıdaki formül ile hesaplanabilir.

$$J_k = \sum_i x_{ki}^2$$

$J_k$  ; gen kimliği,

$X_{ki}$  ; k' nıncı alt popülasyonun i'ninci allelinin sıklığı.

Alt popülasyonların ortalama gen kimliği ise;

$$J_s = \sum x_i^2$$

$X$  ; allellerin ortalama sıklığı,

Alt populasyonlardaki ortalama gen çeşitliliği ise;

$H_S = 1 - J_S$  formülünden hesaplanır.

Toplam populasyondaki gen kimliği;

$$J_T = \sum_i x_i^2$$

$X$  ; tüm populasyondaki allelerin ortalama sıklığı'dır.

Toplam populasyondaki gen çeşitliliği;

$H_T = H_S + D_{ST} = 1 - J_T$  dir.

$D_{ST}$  ; alt populasyonlardaki ortalama gen çeşitliliği,

Alt populasyonlar arasındaki gen farklılaşmasının göreceli büyüklüğü;

$G_{ST} = D_{ST}/H_T$  dir.

Alt populasyonlar arası genetik mesafe;

$D_m = sD_{ST}/(s-1)$ 'dir.

$s$  ; alt populasyon sayısıdır.

Alt populasyonlar arasındaki minimum genetik mesafe olan  $D_m$ , farklı organizmalarda gen farklılaşma derecelerinin karşılaştırılmasında kullanılır.

### 3. ARAŞTIRMA BULGULARI

#### 3.1. Taranan RAPD Primerleri ve Elde Edilen DNA Bantları:

Türkiye'nin Morkaraman ve Türk Merinosu koyun ırklarına ait toplam 78 bireyden izole edilen genomik DNA örnekleri seçilen 10 RAPD primeri ile tarandı. Seçilen primerlerden 5'i ile sonuç alındı (Çizelge 3.1). Her primer için veriler bandın varlığında 1 ve bandın yokluğunda 0 olacak şekilde kaydedilerek bir veri tablosu elde edildi (EK 1). Veri tablosu POPGENE paket programı kullanılarak değerlendirildi. Değerlendirme sonunda iki yerli ırkda elde edilen toplam 24 lokustan 23'ünün polimorfik olduğu saptandı.

**Çizelge 3.1. :** Sonuç alınan 5 primer ile elde edilen RAPD bant uzunluklarının ırklara göre dağılımı (T.M : Türk merinosu, M : Morkaraman, bç: baz çifti )

P R İ M E R L E R										
R A P D  B A N T L A R I	OPA02 250-475 bç		OPC05 250- 750 bç		OPD02 400-475 bç		OPE04 250-650 bç		OPF05 225-475 bç	
	T.M	M	T.M	M	T.M	M	T.M	M	T.M	M
										225
	250	250	250				250	250	250	
										275
	300	300					300	300	300	
									375	375
	400	400	400	400	400		400	400	400	400
	475	475			475				475	
			500	500				500		
					525	525				
			550	550						
								650		
			750	750						

OPA02 primeri ile elde edilen 250, 300, 400 ve 475 bç uzunluğundaki bantların tümü her iki ırkta da bulunmuştur.

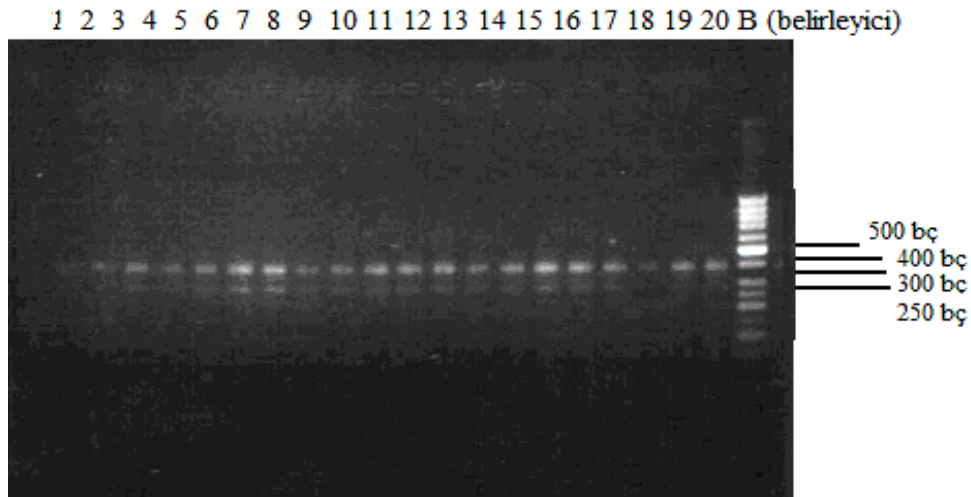
OPC05 primeri ile elde edilen bantlardan 400, 500, 550 ve 750 bç uzunluğundaki bantlar her iki ırkta da gözlenirken; 250 bç uzunluğundaki bant sadece Türk Merinos'undaki bireylerde gözlenmiştir. Ayrıca OPC05 primeri ile elde edilen 500 bç uzunluğundaki bant her iki ırkın tüm bireylerinde gözlemlendiğinden

monomorfiktir.

OPD02 primeri ile elde edilen bantlardan 400 ve 475 bç uzunluğundaki bantlar sadece Türk Merinos'unda gözlenirken; 525 bç uzunluğundaki bant her iki ırkda da bulunmuştur.

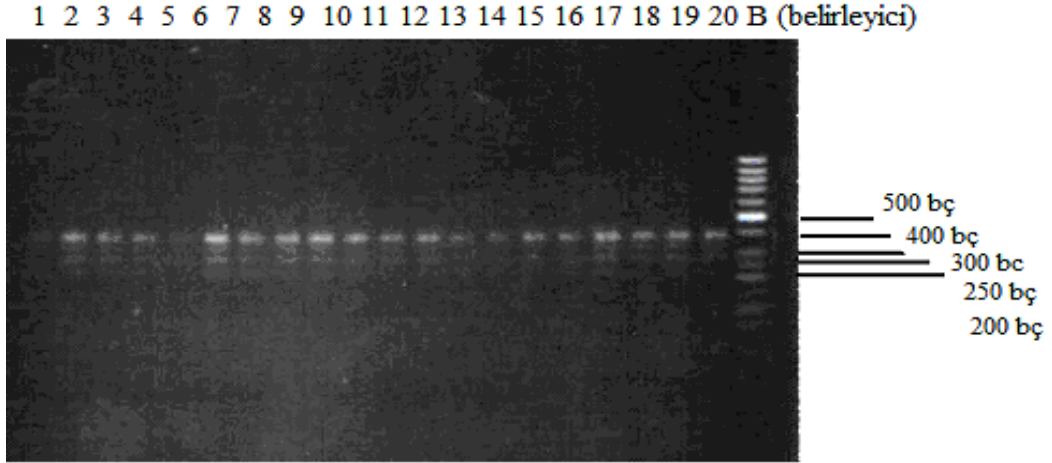
OPE04 primeri ile elde edilen bantlardan 250, 300, 400 bç uzunluğundaki bantlar her iki ırkda gözlenirken, 500 ve 650 bç uzunluğundaki bantlar sadece Morkaraman ırkında gözlenmiştir.

OPF05 primeri, kullanılan primerler arasında en çok bant veren primerdir (Şekil 3.1. ve Şekil 3.2.). Bu primer ile elde edilen bantlardan 250, 300 ve 475 bç uzunluğundaki bantlar sadece Türk Merinos'unda, 225 ve 275 bç uzunluğundaki bantlar ise sadece Morkaraman'da gözlenirken; 400 bç'lik ve 375 bç'lik bantlar her iki ırkta bulunmuştur.



**Şekil 3.1.** Türk Merinosu ırkına ait ilk 20 bireyin OPF05 primeri ile elde edilen RAPD bant profilleri (Belirleyici 50 bç)





**Şekil 3.2.** Morkaraman ırkına ait ilk 20 bireyin OPF05 primeri ile elde edilen RAPD bant profilleri (Belirleyici 50 bç)

### 3.2. Polimorfik Lokus Yüzdesi

Polimorfik lokus yüzdesi % 66.67 ile Morkaraman'da en yüksek değerde iken, Türk Merinosun'da % 58.33 olarak bulundu.

### 3.3. Heterozigotluk :

Genetik çeşitliliği belirten bu heterozigotluk değeri Türk Merinosun'da 0.1792, Morkaraman'da ise 0.2489 olarak hesaplandı (Çizelge 3.2.a.). Her iki koyun ırkı için toplamda gözlenen heterozigotluk değeri çizelge 3.2.b.'de verildi.

**Çizelge 3.2.** Çalışılan koyun ırkları için tüm lokuslardaki genetik çeşitlilik ile ilgili istatistik veri özeti çizelge 3.2.a.' da, her iki ırkta toplamda tanımlanan genetik çeşitlilik bilgileri çizelge 3.2.b.' de verildi (na : gözlenen allel sayısı, ne : etkili allel sayısı, h : gen çeşitliliği, I : Shannon'nun bilgi endeksi, p : polimorfik lokus).

**Çizelge 3.2.a.**

İrkin Adı	Örnek sayısı	na	Ne	h	I	p.lokus	% p
Türk merinosu	39	1.58 0.50	1.29 0.36	0.18 0.19	0.28 0.27	14	58.33
Morkaraman	39	1.67 0.48	1.42 0.37	0.24 0.19	0.37 0.28	16	66.67

**Çizelge 3.2.b.**

	Örnek sayısı	Na	ne	H	I
Ortalama	78	1.95	1.40	0.26	0.41
Standart sapma		0.2	0.3	0.14	0.19

### **3.4. Gözlenen ve Etkili Allel Sayısı**

Bütün alleller eşit sıklıkta olduğunda, gözlenen alel sayısı (na) etkili allel sayısı (ne)' na eşittir. Fakat zararlı genlerin bulunduğu durumda, etkili allel sayısı her zaman için gözlenen allel sayısından küçüktür. Bu çalışmada da ikinci durum söz konusu olduğu için etkili allel sayısı (ne ), gözlenen allel sayısından (na) yüksek çıkmıştır. Gözlenen allel sayısı 1.67-1.58 değerleri arasında yer alırken, etkili allel sayısı 1.42-1.29 değerleri arasında yer almaktadır.

### **3.5. Shannon'un Bilgi Endeksi**

Gen farklılığını ölçen Shannon'un bilgi endeksi değeri heterozigotluk ile paralellik göstermektedir. Bu değer Türk Merinos'unda 0.28 iken, Morkaraman'da 0.37 olarak ölçüldü.

### **3.6. Irk İçi ve Irklar Arası Genetik Farklılık**

Tüm ırklar arasındaki genetik farklılık 0.2548, ırk içi genetik farklılık 0.2135 ve gen farklılaşmasının göreceli büyüklüğü ise 0.1813 olarak bulundu. Bu değerler ırklar arasındaki genetik varyasyonun ırk içi genetik varyasyondan daha fazla olduğunu gösterir.

### 3.7. Genetik Kimlik ve Genetik Mesafe

Genetik kimlik ırkların birbirine göre yakınlığını yani ortak özelliklerini; genetik mesafe ise ırklar arası farklılığı belirtir. Nei' nin gen farklılığı analizinde belirleyici parametreler olarak gösterdiği bu parametrelerden yararlanılarak genetik olarak benzer ve farklı ırklar tespit edilebilir. Bu çalışmada ırklar arasındaki genetik kimlik değeri 0.8837 iken, genetik mesafe 0.1236 olarak belirlenmiştir (Çizelge 3.3.).

**Çizelge 3. 3.** Çaprazın üstünde verilen genetik kimlik ve altında verilen genetik mesafenin tarafsız ölçümü

İrklar	Türk Merinosu	Morkaraman
Türk Merinosu (1)	****	0,8837
Morkaraman (2)	0,1236	****

#### 4. TARTIŞMA ve SONUÇ

Çiftlik hayvanlarında genom analizine yönelik çalışmalarda RAPD-PCR tekniği sıklıkla kullanılmaktadır. Bu teknik rasgele seçilen primerler ile genomik DNA'nın *invitro* ortamda çoğaltılması esasına dayanır. Deneyler sonunda elde edilen ortak bant sayısına göre genom benzerliğinin değerlendirilmesi yapılabilir.

Bu teknikte koyun<sup>(12,56,62,69,71,74,75)</sup>, sığır<sup>(68,73)</sup>, tavuk<sup>(64,70)</sup>, keçi<sup>(72,75)</sup> gibi çiftlik hayvanlarının moleküler genetik analizine ilişkin çok sayıda literatür vardır. Örneğin, Chuswa ve arkadaşlarının<sup>(56)</sup> koyunlarda yaptıkları çalışmada kullanılan 131 RAPD primerinden 53 tanesi ile toplam 85 polimorfik bant elde edilmiş ve bu tekniğin gen bağlantı haritalarının oluşturulmasında kullanılabileceği bildirilmiştir. Tanzanya'da 3 sığır ırkında 141 RAPD primeri kullanılarak yapılan bir çalışma ile de bu tekniğinin sığırlarda birey, popülasyon ve ırk ayırımında kullanılabileceği belirtilmiştir<sup>(68)</sup>. Mısır'da ise 4 koyun ırkı 19 RAPD primeri ile taranmış ve 3 ırkın yüksek genetik benzerlik gösterdiği bulunmuştur<sup>(62)</sup>. İran'da 5 koyun ırkı ile yapılan bir çalışmada ise, 128 birey 17 RAPD primeri ile taranmış ve sadece 3 primer ile polimorfik bantlar elde edilmiş, ırklar arası genetik farklılığın çok düşük olduğu bildirilmiştir<sup>(69)</sup>. Mısır'da 3 yumurtacı ve 2 etçi olmak üzere toplam 5 tavuk ırkı genomu 6 primer ile taranarak, ırklar arası benzerlik bulunmaya çalışılmıştır<sup>(70)</sup>. Brezilyada iki keçi ırkından toplam 282 birey 16 RAPD primeri ile taranmış ve toplam 56 polimorfik bant elde edilerek, ırk içi ve ırklar arası polimorfizm araştırılmıştır<sup>(72)</sup>. Brezilya'da yapılan bir başka çalışmada ise 5 koyun ırkı 19 RAPD primeri ile taranmış ve ırklar arasında yüksek polimorfizm gözlenerek 5 ırkın da

birbirinden çok farklı olduğu rapor edilmiştir<sup>(71)</sup>.

Türkiye’de de çiftlik hayvanlarının moleküler genetik analizine yönelik çalışmalarda RAPD-PCR tekniği kullanılmaktadır. Örneğin, Yerli Kara (YK), Doğu Anadolu Kırmızısı (DAK), Güney Anadolu Kırmızısı (GAK) ve Boz Irk olmak üzere 4 yerli sığır ırkı ile yapılan bir çalışmada 10 RAPD primeri toplam 77 bireyde taranmış ve kullanılan primerlerden 6 tanesinden sonuç alınarak ırklar arası genetik mesafe ve polimorfizm bulunmaya çalışılmıştır. Çalışmada kullanılan ırklardan üçünün birbirine yakın olduğu, Boz ırkın ise farklılaşarak ayrı bir küme oluşturduğu bildirmiştir<sup>(73)</sup>. İvgin ve arkadaşlarının<sup>(64)</sup> 4 yumurtacı ve 3 etçi saf tavuk hattı kullanarak toplam 70 bireyde yaptıkları çalışmada; 35 primerden 23 ile sonuç alınmış ve ırklar arası genetik benzerlik belirlenmiştir. Budak<sup>(74)</sup> Karayaka, Bafra ve Sakız olmak üzere 3 yerli koyun ırkını 20 RAPD primeri ile taramış ve bu primerlerden 6’sı ile 67 polimorfik bant elde ederek, ırklar arası polimorfizmi araştırmıştır. Tek bir primer kullanılarak; sığır, koyun, domuz ve keçi ile yapılan bir çalışma ile de elde edilen RAPD bantlarının farklı olduğu ve 4 türün bu yöntem ile ayırt edilebileceği belirtilmiştir<sup>(75)</sup>. Yapılan bir başka çalışmada ise Çine Çaparı koyun ırkına ait 3 sürüden toplam 72 birey 24 RAPD primeri ile taranarak sürüler arası ve sürü içi genetik benzerlik bulunmuştur<sup>(12)</sup>.

Bu tez çalışmasında ise Morkaraman ve Türk Merinosu yerli koyun ırkları seçilen 10 RAPD primeri ile taranmış ve 5’i ile RAPD bantları elde edilmiştir. Sonuç alınan primerlerden OPA02 ile 4, OPC02 ile 5, OPD02 ile 3, OPE04 ile 5 ve OPF05 ile 7 olmak üzere toplam 24 RAPD bantı gözlenmiş ve bunlardan 23’ünün polimorfik olduğu saptanmıştır(EK-2). Sadece OPC05 primeri ile elde edilen 500 bp uzunluğundaki bant her iki ırkın tüm bireylerinde gözleendiğinden, monomorfik

olduğu belirlenmiştir. Çalışmada kullanılan primerlerden sadece OPA02’de her iki ırk için aynı uzunlukta bantlar elde edilirken, diğer 4 primerde ırka göre değişen uzunlukta bantlar gözlenmiştir. Bu dört primerden OPC05 ile Türk Merinos’unda 250 bç’lik bant gözlenirken, OPD02 ile ise 400 bç’lik ve 475 bç’lik bantlar gözlenmiştir. OPE04 ile ise Morkaraman’da 500 ve 650 bç’lik bantlar gözlenmiştir. OPF05 ile ise Türk Merinos’unda 250, 300 ve 475 bç’lik bantlar gözlenirken, Morkaraman’da 225 ve 275 bç’lik bantlar gözlenmiştir. Elde edilen sonuçların POPGENE paket programı ile istatistiki analizi yapıldığında, Morkaraman ırkının Türk Merinosu’na göre daha yüksek heterozigotluk değerine sahip olduğu belirlenmiştir. İki ırk arası genetik mesafe ise 0,1236 olarak bulunmuş, böylece bu iki ırkın % 88 oranında benzer olduğu saptanmıştır.

Bu tez çalışmasında kullanılarak 23 polimorfik bantın elde edildiği OPA02, OPC05, OPD02, OPE04 ve OPF05 primerleri daha önce Budak (2003) tarafından 3 yerli koyun ırkı ile yapılan çalışmada da kullanılmış ve toplam 59 polimorfik bant elde edilmiştir. Her primer için elde edilen bantlar ayrı ayrı değerlendirildiğinde, Budak (2003) tarafından gözlenen bantlardan sadece 16’sının bu tez çalışmasında gözlenen bantlar ile aynı uzunlukta olduğu saptanmıştır. Ayrıca Binbaş (2006) Çine aparı yerli koyun ırkı ile yaptığı çalışmada OPE04 primeri ile hiç bant elde edilememişken, bu tez çalışmasında aynı primer ile 5 bant elde edilmiştir. Farklı ırklarda, ortak primerler ile elde edilen bu sonuçlar ile RAPD-PCR tekniğinin genetik polimorfizmin tespitinde kullanılabileceği bir kez daha belirtilmiştir.

İrklardan sadece birinde gözlenen bantların görülme frekansları dikkate alınarak değerlendirildiğinde ırka özgü olup olmadığı söylenebilir. İrka özgü bant olduğu tespit edildiğinde ise; genetik karakterizasyon çalışmalarında kullanılabilen yeni bir belirleyici elde edilmiş olur. Örneğin Chuswa ve arkadaşları<sup>(56)</sup> koyunlarda yaptıkları çalışmada 85 polimorfik bant elde etmişler ve bu bantlardan bazılarının gen haritalama çalışmalarında belirleyici olarak kullanılabilceğini bildirmişlerdir. Bu çalışmada da OPF05 primeri ile Morkaraman ırkına ait bireylerin yaklaşık % 70'inde 275 bp uzunluğunda bant gözlenirken, Türk Merinosu bireylerinin yaklaşık % 80'inde 300 bp uzunluğunda bant gözlendi. İleride yapılacak çalışmalarda aynı primerler kullanılıp, taranan birey sayısı artırılarak bu bantların ırka özgü olup olmadığının araştırılması planlanmaktadır. Bu çalışma verileri Türk Merinosu ve Morkaraman ırklarında yapılacak olan çalışmalar için bir ön veri niteliğindedir. Bu iki ırkın analizine yönelik çalışmalara devam edilecektir.



## KAYNAKLAR

1. Tarımsal Araştırma Master Planrevizyonu, T.C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Tarımsal Araştırma Genel Müdürlüğü, Ankara, 2005.
2. İ. Cemal, O. Karaca, J. of Fac. of Agric., OMU, **21**, 105(2006).
3. O. Karaca, T. Aygün, İ. Cemal, M. Bingöl, Koyunlarda Döl Veriminin Genetik İslahında Fizyolojik Ölçütler. Ege Bölgesi 1. Tarım Kongresi 7-11 Eylül, Aydın, 1998.
4. P. Sunnucks, Efficient genetic markers for population biology, Tree, **15**, 199(2000).
5. W. S. Klug, M. R. Cummings, Genetics 2002.
6. K. Karabağ, Antalya Yöresi Kıl Keçilerinde Biyokimyasal Polimorfizm. Yüksek Lisans Tezi. Akdeniz Üniversitesi, Antalya, 2000.
7. E. Marle-Köster and L. H. Nei, Genetic markers and their application in livestock breeding in South Africa, South African Journal of Animal Science, **33**,1(2003).
8. S. M. Kappes, Utilization of gene mapping information in livestock animals, Theriogenolgy, 51,135(1999).
9. M. S. Ekinci, İ. Akyol, M. Karaman, E. Özköse, Hayvansal biyoteknoloji uygulamalarında güncel gelişmeler, KSÜ. Fen ve Mühendislik Dergisi, **8**, 89(2005).
10. İ. Togan, İ. Sosyal, C. C. Berkman, E. Koban, Irkların korunmasında moleküler işaretler, Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi, **2**, 44(2005).
11. S. Freeman, J. C. Herron, Evolutinary Analysis, Prentice Hall, Inc. 2<sup>nd</sup> Edition 1999.
12. P. Binbaş, Çine Çaparı Yerli Koyun Irkının RAPD PCR Metodu İle Moleküler Analizi. Yüksek Lisans Tezi. Adnan Menderes Üniversitesi, Aydın, 2006.
13. D. Steane, More Attention to Animal Genetic Resource, FAO, 1993. <http://www.fao.org>.
14. Domestic Animal Genetic Diversty, FAO, 2004. <http://www.fao.org>.
15. Farm Animal Biodiversity, FAO, 2006. <http://www.fao.org>.
16. Dokuzuncu Kalkınma Planı; Hayvancılık Özel İhtisas Komisyon Raporu, Ankara, 2006.

17. Türkiye Hayvancılığı; Hedef 2023, Sorunlar, Çözüm Yolları ve Politika Arayışları. <http://www.hayvancilikrapor.pdf>
18. M. Işıl, Çukurova Bölgesi Küçükbaş Hayvan Yetiştiriciliğinin Yapısal Durumu, Ekonomik Verimliliği, Sorunları ve Çözümleri. Yüksek Lisans Tezi. Çukurova Üniversitesi, Adana, 2002.
19. O. Karaca, İ. Cemal, Batı Anadolu Koyuncululuğunda Genetik Kaynakların Korunma ve Kullanımı. Ege Bölgesi 1. Tarım Kongresi, Aydın, 1998.
20. A. Altınel, M. Evrim, M. Özcan, H. Başpınar, F. Deligözoğlu, Sakız, Kıvırcık ve Alman siyah başlı koyun ırkları arasındaki melezlemeler ile kaliteli kesim kuzuları elde etme olanaklarının araştırılması, Tr. J. of Veterinary and Animal Science, **22**, 257(1998).
21. İ. Cemal, O. Karaca, Prolifik Koyunlarda Üreme Davranışı. Uluslararası Hayvancılık 99 Kongresi, İzmir, 1999.
23. A. Gentry, J. Clutton-Brock, C. P. Groves, The naming of wild animal species and their domestic derivatives, Journal of Archaeological Science, **31**, 645(2004).
24. C. P. Hickman, L. S. Roberts, S. L. Keen, A. Larson, D. J. Eisenhour, Animal Diversity, McGraw-Hill Co. Inc. New York 2006.
25. F:/T\_C\_ Tarım ve Köyişleri Bakanlığı htm 2006.
26. A. Demirsoy, Kalıtım ve Evrim, Ankara 2000.
27. B. G. Brackett, D. Bousquet, M. L. Boice, W. J. Donawick, J. F. Evans, M. A. Dressel, Normal development following in vitro fertilization in the cow, Biology of Reproduction, **27**, 147(1982).
28. S. Angela, G. Prefac, T. Paul, Ş. Alexandura, T. Dana, Evaluation of sheep embryo quality by morphologic methods advantages and disadvantages, Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi, **3**, 68(2006).
29. F. W. Nicholas, C. Smith, Increased rates of genetic change in dairy cattle by embryo transfer and splitting, Anim. Prod., **36**, 341(1983).
30. I. Gordon, K. H. Lu, Production of embryos in vitro and its impact on livestock production, Theriogenology, **33**, 77(1990).
31. M. L. Madan, S. K. Singla, M. B. Chauhan, R. S. Manik, In vitro production and transfer of embryos in buffaloes, Theriogenology, **41**, 139(1994).
32. M. Drost, J. M. Wright, W. S. Cripe, A. R. Richter, Embryo transfer in water

- buffalo, *Theriogenology*, **20**, 579(1983).
33. A. K. Misra, M. M. Rao, R. Kasiraj, N. S. Ranga Reddy, H. C. Pant, Factors affecting pregnancy rate following nonsurgical embryo transfer in buffalo, *Theriogenology*, **52**, 1(1999).
  34. J. M. Galvin, D. B. Killian, A. N. V. Stewart, A procedure for succesful nonsurgical embryo transfer in swine, *Theriogenology*, **41**, 1279(1994).
  35. E. L. Squires, P. M. McCue, D. Vanderwall, The current status of equine embryo transfer, *Theriogenology*, **51**, 91(1999).
  36. S. Birlir, S. Papuççuoğlu, H. Atalla, S. Alkan, Ö. B. Öztaş, S. Bacınoğlu, Ü. Cirit, İ. Zavar, M. E. C. Sönmez, İ. K. İleri, In vitro üretilen koyun embriolarının transferi, *Turk. J. Vet. Anim. Sci.*, **26**, 1421(2002).
  37. M. M. Lohuis, Potential benefits of bovine embryo manipulation technologies to genetic improvement programs, *Theriogenology*, **43**, 51(1995).
  38. R. E. Hammer, V. G. Pursel, C. E. Rexroad, R. J. Wall, D. J. Bolt, K. M. Ebert, R. D. Palmiter, R. L. Brinster, Production of transgenic rabbits, sheep and pigs by microinjection, *Nature*, **315**, 680(1985).
  39. 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**, 6531(1990).
  40. K. B. Mullis and F. A. Faloona, Specific Synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction, *Methods in Enzymology*, **155**, 335(1987).
  41. J. Geliebter, Amplifications or applications, *Tig.*, **6**, 229(1990).
  42. H. Ma, K-J. Shieh, G. Chen, X. T. Qiao, Real-time polymerase chain reaction, *The Journal of American Science*, **2**, 1(2006).
  43. J. Sambrook and D. W. Russell, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, 1989.
  44. W. T. Chuswa, J. F. Medrona, Identification of RAPD genetic markers in sheep, *Proct 5th. World Congress Genet. Appl. Livestock Prod.*, **21**, 133(1994).
  45. D. Tautz, Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers, *Nucleic Acids Research*, **17**, 6463(1989).
  46. A. J. Jeffreys, V. Wilson, S. L. Thein, Hypervariable minisatellite regions in human DNA, *Nature*, **314**, 67(1985).
  47. A. M. Crawford, K. G. Dodds, A. J. Ede, C. A. Pierson, G. W. Montgomery, H.

- G. Garmonsway, A. E. Beattie, K. Davies, J. F. Maddox, S. W. Kappes, R. T. Stone, T. C. Nguyen, J. M. Penty, E. A. Lord, J. E. Broom, J. Buitkamp, W. Schwaiger, J. T. Epplen, P. Matthew, D. J. Hulme, K. J. Beh, R. A. McGraw, C. W. Beattie, An autosomal genetics linkage map of the sheep genome, *Genetics*, **140**, 703(1995).
48. Y-L. Shiue, L. A. Bickel, A. R. Caetano, L. V. Millon, R. S. Clark, M. L. Eggleston, R. Michelmore, E. Bailey, G. Guerin, S. Godard, J. R. Mickelson, S. J. Valberg, J. D. Murray, A. T. Bowling, A synteny map of the horse genome comprised of 240 microsatellite and RAPD markers, *Animal Genetics*, **30**, 1(1999).
49. H. Cerit, A. Altinel, Ö. Elmaz, K. Avanus, Polymorphism evaluation of various genomic loci in the Kıvrıcık sheep breed of Turkey, *Turk. J. Vet. Anim. Sci.*, **28**, 415(2004).
50. O. M. Jandurova, T. Kott, B. Kottova, V. Czernekova, M. Milerski, Genetic relationships among Sumava, Valachian and improved Valachian sheep, *Small Ruminant Research*, **57**, 157(2005).
51. G. Luikart, M-P. Biju-Duval, O. Ertuğrul, Y. Zagdsuren, C. Maudet, P. Taberlet, Power of 22 microsatellite markers in fluorescent multiplexes for parentage testing in goats, *Animal Genetics*, **30**, 431(1999).
52. F. M. De La Vega, M. Kreitman, Human genome variation : Analysis, management and application of SNP data, *Pacific Symposium on Biocomputing*, **5**, 633(2000).
53. X. L. Li, Z. L. Wu, Z. Z. Liu, Y. F. Gong, R. Y. Zhou, G. R. Zheng, SNP identification and analysis in part of intron 2 of goat MSTN gene and variation within and among species, *Journal of Heredity*, **10**, 1(2006).
54. Y. M. Parsons, K. L. Shaw, Mapping unexplored genomes: genetic linkage map of the Hawaiian Cricket *Laupala*, *Genetics*, **162**, 1275(2002).
55. F. Bardakçı, Random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers, *Turk. J. Biol.*, **25**, 185(2001).
56. W. T. Cushwa, K. G. Dodds, A. M. Crawford, J. F. Medrano, Identification and genetic mapping of random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers to the sheep genome, *Mammalian Genome*, **7**, 580(1996).
57. B. Schierwater, A. Ender, Different thermostable DNA polymerases may amplify

- different RAPD products, *Nucleic Acids Research*, **21**, 4647(1993).
58. B. L. Apostol, W. C. Black, P. Reiter, B. R. Miller, Population genetics with RAPD-PCR markers: the breeding structure of *Aedes aegypti* in Puerto Rico, *Heredity*, **76**, 325(1996).
  59. H. H. Salem, B. A. Ali, T. H. Huang and D. N. Oin, Use of randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) markers in poultry research, *International Journal of Poultry Science*, **4**, 804(2005).
  60. M. Mori, K. Hosaka, Y. Umemura and C. Kaneda, Rapid identification of Japanese potato cultivars by RAPDS, *Jpn. J. Genet.*, **68**, 167(1996).
  61. C. P. Joshi and H. T. Nguyen, Application of the random amplified polymorphic DNA technique for the detection of polymorphism among wild and cultivated tetraploid wheats, *Genome.*, **36**, 602(1993).
  62. B. A. Ali, Genetics similarity among four breeds of sheep in Egypt detected by random amplified polymorphic DNA markers, *African Journal of Biotechnology* **2**, 194, 2003.
  63. N. A. Tinker, M. G. Fortin, D. E. Mather, Random amplified polymorphic DNA and pedigree relationships in spring barley, *Theoretical and Applied Genetics*, **85**, 976(1993).
  64. R. İvgin, G. Bilgen, Estimation of genetic distance in meat and layer pure lines using randomly amplified polymorphic DNA, *Turk. J. Vet. Anim. Sci.*, **26**, 1117(2002).
  65. C. Grisez-Duranton, Ph. Dorchies, J. Jourdane, P. Durand, Genetic structure of *Oestrus ovis* populations in sheep and goats, *Veterinary Parasitology*, **104**, 167(2002).
  66. M. Oudni, S. M.'rad, M. Mekki, M. Belguith, J. Cabaret, F. Pratlong, T.Sayadi, A. Nouri, H. Mezhoud, H. Babba and R. Azaiez, Genetic relationships between sheep, cattle and human *Echinococcus* infection in Tunisia, *Veterinary Parasitology* **121**, 95(2004).
  67. G. Özbey, H. B. Ertas, A. Muz, Random amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis of *Ornithobacterium rhinotracheale* strains isolated from chickens in Turkey, *Vet. Med. –Czech*, **12**, 526(2005).
  68. P. S. Gwakisa, S. J. Kemp, A. J. Teale, Characterization of zebu cattle breeds in Tanzania using random amplified polymorphic DNA markers, *Animal Genetics*,

- 25, 89(1994).
69. M. Tahmoorespur, M. R. Nassiry and A. Mohammady, The Use of 17 RAPD primers in some of Iranin sheep breeds. Dept of animal Science, 2003.
  70. B. A. Ali, M. M. M. Ahmed, O. M. Aly, Relationship between genetic similarity and some productive traits in local chicken strains, African Journal of Biotechnology, **2**, 46(2003).
  71. S. R. Paiva, V. C. Silverio, A. A. Egito, C. McManus, D. A. Faria, A. S. Mariante, S. R. Castro, M. S. M. Albuquerque, J. A. Dergam, Genetic variability of the Brazilian hair sheep breeds, Pesq. agropec. bras., **40**, 887(2005).
  72. R. R. Oliveira, A. A. Egito, M. N. Ribeiro, S. R. Paiva, M. S. M. Albuquerque, S. R. Castro, A. S. Mariante, Manuel Adriao, Genetic characterization of the Moxoto goat breed using RAPD markers, Pesq. agropec, bras.,**40**, 233(2005).
  73. G. Güneren, Polimeraz Zincir Reaksiyonları ile Rasgele Çoğaltılmış DNA Parmakizi Yöntemi'nin (RAPD-PCR ) Türkiye Yerli Sığır Irklarında Uygulama Olanakları. Doktora Tezi. Ankara Üniversitesi, Ankara, 1999.
  74. A. F. Budak, Karayaka, Sakız ve Bafra Koyun Irklarının RAPD PCR Yöntemi ile Moleküler Genetik Analizi. Yüksek Lisans Tezi. Kırıkkale Üniversitesi, Kırıkkale, 2003.
  75. İ. İlhak, A. Arslan, Random amplified polymorphic DNA (RAPD) yöntemi ile sığır, koyun, keçi ve yabani domuz etinin ayırt edilmesi, F. Ü. Sağlık Bil. Dergisi, **17**, 59(2003).
  76. D. Eroğlu, Türkiye'nin Üç Yerli İpekböceği Irkının RAPD PCR Metodu İle Moleküler Genetik Analizi. Yüksek Lisans Tezi. Kırıkkale Üniversitesi, Kırıkkale, 2005.
  77. C. T. Wittwer, D. J. Garling, Rapid cycle DNA amplification: Time and temperature optimization, BioTechniques, **10**, 76(1991).
  78. R. Rasmusen, Optimizing Rapid Cycle DNA Amplification Reactions, The Rapidcyclist Newsetter, **1**, 1(1992).
  79. M. Nei, Molecular Evolutionary Genetics, Columbia University, 1987.

EK 1:

/\* Diploid RAPD Data Set \*/

Number of populations = 2

Number of loci = 24

Locus name :

OPA02-1 OPA02-2 OPA02-3 OPA02-4

OPC05-1 OPC05-2 OPC05-3 OPC03-4 OPC03-5

OPD02-1 OPD02-2 OPD02-3

OPE04-1 OPE04-2 OPE04-3 OPE04-4 OPE04-5

OPF05-1 OPF05-2 OPF05-3 OPF05-4 OPF05-5 OPF05-6 OPF05-7

name = Türk Merinosu

fis =0

1101 11110 001 00000 0000010

1101 01110 001 00000 0001010

1111 01101 011 00000 0001010

1101 01111 011 00000 0001010

1111 01111 011 00000 0001011

1101 01111 001 00000 0001011

1101 11111 001 00000 0001011

1101 11111 001 00000 0001010

1101 11111 001 00000 0001010

1111 01111 001 11100 0001010

1101 01110 001 11100 0001010

1111 01110 101 11100 0001010  
1111 01110 111 11100 0001010  
1101 01111 001 11100 0001010  
1111 01111 011 11100 0101010  
1101 01110 011 11100 0101010  
1101 01111 111 11100 0001010  
1101 01110 111 11000 0000010  
1101 01111 001 00000 0101010  
1101 01111 011 11000 0101010  
1101 01111 001 00000 0000010  
1101 01111 001 11000 0000010  
1101 01111 111 11000 0000010  
1101 01111 001 11000 0101110  
1101 11100 011 11000 0101110  
1101 01111 011 11100 0001010  
1101 01111 001 11100 0101010  
1101 01111 001 11100 0101010  
1101 01111 001 11000 0000010  
1101 01111 001 11100 0001110  
1101 01111 001 11100 0001010  
1101 01111 011 11000 0000000  
1101 01111 001 11000 0101110  
1101 01111 001 11000 0101110  
1101 01111 001 11000 0101110  
1111 01111 001 11000 0101110



1111 11110 001 11000 0000000

1101 01110 001 11000 0101010

1101 01110 001 11000 0001010

name = Morkaraman

fis =0

1111 01111 000 11000 0000010

1111 01111 000 11111 0010010

1101 01111 000 11111 0010010

1111 01111 000 11110 0010010

1111 01111 000 11110 0000010

1111 01110 000 11110 1010110

1101 01111 000 11110 1010110

1101 01111 001 11110 1010110

1101 01111 001 11111 1010110

1111 01111 001 11110 1010110

1101 01111 001 11100 0000110

1111 01110 001 11100 0010010

1101 01111 001 11101 0000010

1101 01110 001 11101 0000010

1101 01100 001 11100 0010010

1101 01100 001 11100 0000010

1101 01100 001 11110 1010110

1101 01100 001 11100 0010010

1101 01110 001 11110 0010010

1111 00110 001 11100 0010010

0000 01111 001 11100 0000010  
0000 01111 001 11110 0000010  
0000 01111 001 00000 0000010  
0000 01111 001 11100 0010010  
1101 01110 001 11100 0010010  
1101 01110 001 11100 1010010  
1101 01110 001 11100 1010110  
1100 01110 001 11100 0000010  
1101 01111 001 11100 0000010  
1101 01111 001 11100 1010110  
1101 01100 001 11100 1010110  
1101 01100 001 11100 1010110  
1101 01100 001 11100 1010110  
1101 01100 001 11100 1010110  
1101 00110 001 11101 1010110  
1101 00110 001 11101 1010110  
1101 00110 000 11111 1010010  
1101 00110 000 11100 1010110  
1101 00110 000 11100 0010010  
1101 00110 000 11100 0010010

EK-2:

Her primer için ırklarda elde edilen bantlar ve birey sayısı

OPA02 Primeri için;

<u>Türk Merinosu</u>	<u>Morkaraman</u>
250 bç (39 birey)	250 bç (35 birey)
300 bç (39 birey)	300 bç (35 birey)
400 bç (8 birey)	400 bç (8 birey)
475 bç (39 birey)	475 bç (34 birey)

OPC05 Primeri için;

<u>Türk Merinosu</u>	<u>Morkaraman</u>
250 bç (6 birey)	yok
400 bç (39 birey)	400 bç (32 birey)
500 bç (39 birey)	500 bç (39 birey)
550 bç (38 birey)	550 bç (32 birey)
750 bç (29 birey)	750 bç (17 birey)

OPD02 Primeri için;

<u>Türk Merinosu</u>	<u>Morkaraman</u>
400 bç (5 birey)	yok
475 bç (13 birey)	yok
525 bç (39 birey)	525 bç (28 birey)

OPE04 Primeri için;

Türk Merinosu

Morkaraman

250 bç (28 birey)

250 bç (38 birey)

300 bç (28 birey)

300 bç (38 birey)

400 bç (13 birey)

400 bç (37 birey)

yok

500 bç (13 birey)

yok

650 bç (9 birey)

OPF05 Primeri için,

Türk Merinosu

Morkaraman

yok

225 bç (17 birey)

250 bç (13 birey)

yok

yok

275 bç (27 birey)

300 bç (30 birey)

yok

375 bç (18 birey)

375 bç (15 birey)

400 bç (37 birey)

400 bç (39 birey)

475 bç (3 birey)

yok