



**TÜRKİYE EŞEK (*Equus asinus*)
POPULASYONLARININ GENETİK
KARAKTERİZASYONU**

SELEN YATKIN

Yüksek Lisans Tezi

Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Fulya ÖZDİL

2019

T.C.
TEKİRDAĞ NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**TÜRKİYE EŞEK (*Equus asinus*) POPULASYONLARININ GENETİK
KARAKTERİZASYONU**

SELEN YATKIN

TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN: Doç. Dr. Fulya ÖZDİL

TEKİRDAĞ-2019

Her hakkı saklıdır.



Bu tez çalışması TÜBİTAK tarafından 1001 Araştırma Projesi kapsamında olan TÜBİTAK TOVAG 2150555 nolu proje ile desteklenmiştir.

Doç. Dr. Fulya ÖZDİL danışmanlığında, Selen YATKIN tarafından hazırlanan “Türkiye Eşek (*Equus asinus*) Populasyonlarının Genetik Karakterizasyonu” isimli bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından Tarımsal Biyoteknoloji Ana Bilim Dalı’nda Yüksek Lisans tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı: Doç. Dr. FULYA ÖZDİL (Danışman)

İmza:

Üye: Doç. Dr. BEHİYE BANU BİLGİN

İmza:

Üye: Dr. Öğr. Üyesi YASEMİN GEDİK

İmza:

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu adına

Prof. Dr. Fatih KONUKCU

Enstitü Müdürü

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

TÜRKİYE EŞEK (*Equus asinus*) POPULASYONLARININ GENETİK KARAKTERİZASYONU

SELEN YATKIN

Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Fulya ÖZDİL

Ülkemizde ve Dünya’da endüstrileşmenin etkisiyle, yetiştirilmesi azalmış olan ve kırsal bölgelerdeki zorlu doğa koşullarında yetiştiricisine sürü kontrolü ve taşımacılıkta iş gücü olarak, yüzyıllardır yardımcı olan eşek ırkları (*Equus asinus*) yok olma tehdidi altındadır. Bu durumun bir koruma programı oluşturulmadığı takdirde hızla devam edeceği tahmin edilmektedir. Koruma stratejilerini oluşturabilmek için öncelikle mevcut ırkların morfolojik ve genetik olarak tanımlamalarının yapılması gerekmektedir. Bu nedenle bu tez çalışması kapsamında ülkemizin biyolojik zenginliği içerisinde önemli bir yer tutan, eşek populasyonlarının mikrosatellit lokusları ele alınarak gen ve genotip frekansları hesaplanmış ve yerli gen kaynaklarını koruma çalışmalarına katkı sağlayacak veriler elde edilmiştir. Türkiye genelinde 16 ile ait eşek populasyonlarından toplam 314 adet bireyden kan örnekleri alınmış ve toplanan örneklerden genomik DNA izolasyonu yapılmıştır. DNA örnekleri ile 20 farklı mikrosatellit lokusunda PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) analizi yapılmış ve DNA parça (fragment) analizi ile her bir bireye ait allel büyüklükleri (bç) belirlenmiştir. Çalışılan 20 mikrosatellit lokusunda toplam 174 allel tespit edilmiş, ASB17 primeri monomorfik bulunmuş ve en çok allele sahip olan lokusun LEX54 (17 allel) olduğu belirlenmiştir. Lokus başına düşen ortalama allel sayısı (N_a) $5,153 \pm 0,145$ olarak hesaplanmıştır. Ayrıca genetik uzaklık verileri değerlendirildiğinde en yüksek genetik uzaklık değerinin (0,146) Tekirdağ-Malkara ile Şanlıurfa arasında olduğu saptanmıştır. En düşük genetik uzaklık değeri ise (0,026) Kırklareli ile İstanbul-Çatalca arasında belirlenmiştir. Populasyonların genetik çeşitliliğinin, populasyonlar içinde %97, populasyonlar arasında %3 olduğu tespit edilmiştir. Nei’nin genetik uzaklık verileri kullanılarak Neighbor-Joining yöntemi ile oluşturulan filogenetik ağaçta temelde tüm populasyonların iki gruba ayrıldığı; Kütahya, Isparta, Amasya-Merzifon, Tekirdağ-Malkara, Kastamonu, Tokat, Konya, Antalya, Aydın ve Muğla populasyonlarının bir grupta kümelendiği olduğu, diğer grupta ise; Kahramanmaraş, Mardin, Şanlıurfa, Kars, Kırklareli ve İstanbul-Çatalca populasyonlarının yer aldığı tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler: *Equus asinus*, eşek, genetik çeşitlilik, moleküler belirteçler, mikrosatellit

2019, 78 sayfa

ABSTRACT

MSc. Thesis

GENETIC CHARACTERIZATION OF TURKISH DONKEY (*Equus asinus*) POPULATIONS

SELEN YATKIN

Tekirdağ Namık Kemal University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Agricultural Biotechnology

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Fulya ÖZDİL

Under the influence of industrialization in Turkey and in the world, the donkey breeds (*Equus asinus*), that have been assisting the breeders for centuries, have been threatened under extinction as a labor force in herd control and transportation under difficult natural conditions in rural areas. This situation is expected to continue rapidly if a protection program has not been established. In order to constitute protection strategies, both morphologic and genetic characterization of existing races should be performed. Therefore, in this thesis, the gene and genotype frequencies of donkey populations, which are found important within the scope of the genetic resources of our country, were calculated and the data were used to contribute to the conservation of native animal gene resources. The blood samples from 314 individuals were collected from 16 provinces in Turkey and genomic DNAs were isolated. PCR (Polymerase Chain Reaction) was performed in 20 microsatellite loci and DNA fragment analysis were performed. The allele ranges (bp) of every sample were determined. A total of 174 alleles were detected in 20 microsatellites, ASB17 locus has been found monomorphic and the highest number of alleles was found in LEX54 locus (17 alleles). The mean number of alleles (N_a) per locus was calculated as 5.153 ± 0.145 . In addition, when the genetic distance data were evaluated, it was determined that the highest genetic distance value (0.146) was found between Tekirdağ-Malkara province and Şanlıurfa province. The lowest genetic distance value (0.026) was determined among the population of Kırklareli and İstanbul-Çatalca provinces. The genetic diversity of populations was found 97% within the populations and 3% between the populations. By using Nei's genetic distance data, the Neighbor-Joining method which was used to construct the phylogenetic trees have shown that all the studied populations were clustered in two different groups; Kütahya, Isparta, Amasya-Merzifon, Tekirdağ-Malkara, Kastamonu, Tokat, Konya, Antalya, Aydın, and Muğla populations were found in the same cluster whereas Kahramanmaraş, Mardin, Şanlıurfa, Kars, Kırklareli, and İstanbul-Çatalca populations were clustered in the other cluster.

Keywords: *Equus asinus*, donkey, genetic diversity, molecular markers, microsatellite

2019, 78 pages

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
ÇİZELGE DİZİNİ.....	iv
ŞEKİL DİZİNİ.....	v
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	viii
ÖNSÖZ.....	xi
1. GİRİŞ.....	1
2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ÖZETLERİ.....	4
2.1. Eşek (<i>Equus asinus</i>) Hakkında Genel Bilgiler.....	4
2.2. Mikrosatellitler (Basit Dizi Tekrarları, SSR).....	7
2.3. Eşek (<i>Equus asinus</i>) Türleri ile İlgili Yapılmış Genetik Çalışmalar.....	9
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	17
3.1. Örnekleme Yapılan Eşek (<i>Equus asinus</i>) Populasyonları.....	17
3.2. Arazi Çalışmaları ve Örnek Toplama.....	18
3.3. Genomik DNA İzolasyonu.....	19
3.4. İzole Edilen DNA Örneklerinin Agaroz Jel Elektroforezinde Görüntülenmesi.....	21
3.5. Mikrosatellit Primerlerinin Belirlenmesi, Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR).....	22
3.6. İstatistik Analizler	28
4. BULGULAR.....	29
4.1. Çalışılan Mikrosatellit Lokuslarına ait PCR Ürünlerinin Agaroz Jel Elektroforezi Görüntüleri.....	29
4.2. Çalışılan Mikrosatellit Lokuslarına ait Allel Büyüklüklerinin Belirlenmesi.....	36
4.3. Mikrosatellit Primerlerine ait Allel Frekanslarının Belirlenmesi.....	43
4.4. Genetik Çeşitlilik Parametreleri.....	55
5. TARTIŞMA ve SONUÇ.....	65
6. KAYNAKLAR.....	72
ÖZGEÇMİŞ.....	78

Çizelge 2.1. <i>Equus</i> cinsinin sistematikteki yeri.....	5
Çizelge 2.2. Farklı eşek (<i>Equus asinus</i>) ırkları ile yapılmış genetik çalışmalar ve elde edilen genetik veriler.....	15
Çizelge 3.1. Örnek alınan iller, örnek sayısı ve olası ırklar	17
Çizelge 3.2. Çalışmada kullanılan mikrosatellit primerlerine ait bilgiler.....	22
Çizelge 3.3. PCR analiz grupları.....	24
Çizelge 3.4. PCR analiz grubu 1 için PCR reaksiyon bileşenleri ve PCR koşulları.....	25
Çizelge 3.5. PCR analiz grubu 2 için PCR reaksiyon bileşenleri ve PCR koşulları.....	25
Çizelge 3.6. PCR analiz grubu 3 için PCR reaksiyon bileşenleri.....	25
Çizelge 3.7. PCR analiz grubu 3'e dahil olan primerlerin PCR döngüleri.....	26
Çizelge 3.8. PCR analiz grubu 4 için PCR reaksiyon bileşenleri ve koşulları.....	26
Çizelge 3.9. PCR analiz grubu 5 için PCR reaksiyon bileşenleri ve PCR koşulları.....	27
Çizelge 4.1. <i>E. asinus</i> popülasyonları ile çalışılan mikrosatellit lokuslarına ait allel frekansları.....	44
Çizelge 4.2. Çalışmada kullanılan 20 mikrosatellit primerine ait genetik parametreler.....	56
Çizelge 4.3 <i>E. asinus</i> popülasyonlarına ait genetik çeşitlilik parametreleri	57
Çizelge 4.4. Çalışmada kullanılan 20 mikrosatellit primerine ait Polimorfik Bilgi İçeriği (PIC) değerleri.....	59
Çizelge 4.5. Çalışılan mikrosatellit lokuslarındaki F-İstatistik değerleri.....	60
Çizelge 4.6. Popülasyonların ikili karşılaştırılması sonucu hesaplanan F_{ST} değerleri.....	61
Çizelge 4.7. Moleküler Varyans Analizi (AMOVA) sonuçları.....	62
Çizelge 4.8. <i>E. asinus</i> popülasyonları arasında Nei (1972)'ye göre hesaplanan genetik uzaklık değerleri.....	63

Şekil 3.1. TÜİK Hayvancılık İstatistikleri Veri Tabanına göre eşek populasyonlarının bölgeler düzeyinde dağılımı	18
Şekil 3.2. Arazi çalışmaları ve örnek toplama	18
Şekil 3.3. Kan örneklerinin lizis aşamasına hazırlanması	20
Şekil 3.4. Fenol kloroform izoamilalkol ekstraksiyon aşamaları	21
Şekil 3.5. <i>E. asinus</i> populasyonlarına ait bireylerden izole edilen genomik DNA'ların %1'lik agaroz jel elektroforezindeki görüntüleri	21
Şekil 4.1. HMS07 mikrosatellit pimerleri ile elde edilen PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jel görüntüleri	29
Şekil 4.2. ASB17 mikrosatellit pimerleri ile elde edilen PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jel görüntüleri	29
Şekil 4.3. ASB23 mikrosatellit pimerleri ile elde edilen PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jel görüntüleri	30
Şekil 4.4. HMS02 mikrosatellit pimerleri ile elde edilen PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jel görüntüleri	30
Şekil 4.5. COR058 mikrosatellit pimerleri ile elde edilen PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jel görüntüleri	30
Şekil 4.6. HMS03 mikrosatellit pimerleri ile elde edilen PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jel görüntüleri	31
Şekil 4.7. VHL209 mikrosatellit pimerleri ile elde edilen PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jel görüntüleri	31
Şekil 4.8. COR007 mikrosatellit pimerleri ile elde edilen PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jel görüntüleri	31
Şekil 4.9. ASB02 mikrosatellit pimerleri ile elde edilen PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jel görüntüleri	32
Şekil 4.10. HMS20 mikrosatellit pimerleri ile elde edilen PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jel görüntüleri	32
Şekil 4.11. HTG07 mikrosatellit pimerleri ile elde edilen PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jel görüntüleri	32
Şekil 4.12. LEX73 mikrosatellit pimerleri ile elde edilen PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jel görüntüleri	33
Şekil 4.13. HTG10 mikrosatellit pimerleri ile elde edilen PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jel görüntüleri	33
Şekil 4.14. COR022 mikrosatellit pimerleri ile elde edilen PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jel görüntüleri	33
Şekil 4.15. COR018 mikrosatellit pimerleri ile elde edilen PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jel görüntüleri	34
Şekil 4.16. COR071 mikrosatellit pimerleri ile elde edilen PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jel görüntüleri	34
Şekil 4.17. COR082 mikrosatellit pimerleri ile elde edilen PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jel görüntüleri	34
Şekil 4.18. HTG06 mikrosatellit pimerleri ile elde edilen PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jel görüntüleri	35
Şekil 4.19. AHT05 mikrosatellit pimerleri ile elde edilen PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jel görüntüleri	35

Şekil 4.20. LEX54 mikrosatellit pimerleri ile elde edilen PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jel görüntüleri.....	35
Şekil 4.21. HMS07 mikrosatellit lokusu bakımından homozigot (170/170) ve heterozigot (170/172) genotiplere sahip bireylerin genotiplerinin elektroferogram görüntüsü.....	36
Şekil 4.22. ASB17 mikrosatellit lokusu bakımından homozigot (91/91) genotiplere sahip bireylerin genotiplerinin elektroferogram görüntüsü.....	36
Şekil 4.23. ASB23 mikrosatellit lokusu bakımından homozigot (159/159) ve heterozigot (159/167) genotiplere sahip bireylerin genotiplerinin elektroferogram görüntüsü.....	37
Şekil 4.24. HMS02 mikrosatellit lokusu bakımından homozigot (131/131) ve heterozigot (131/133) genotiplere sahip bireylerin genotiplerinin elektroferogram görüntüsü.....	37
Şekil 4.25. COR058 mikrosatellit lokusu bakımından homozigot (203/203) ve heterozigot (199/205) genotiplere sahip bireylerin genotiplerinin elektroferogram görüntüsü.....	37
Şekil 4.26. HMS03 mikrosatellit lokusu bakımından homozigot (167/167) ve heterozigot (161/167) genotiplere sahip bireylerin genotiplerinin elektroferogram görüntüsü.....	38
Şekil 4.27. VHL209 mikrosatellit lokusu bakımından homozigot (86/86) ve heterozigot (84/86) genotiplere sahip bireylerin genotiplerinin elektroferogram görüntüsü.....	38
Şekil 4.28. ASB02 mikrosatellit lokusu bakımından homozigot (159/159) ve heterozigot (157/159) genotiplere sahip bireylerin genotiplerinin elektroferogram görüntüsü.....	38
Şekil 4.29. HMS20 mikrosatellit lokusu bakımından homozigot (123/123) ve heterozigot (123/129) genotiplere sahip bireylerin genotiplerinin elektroferogram görüntüsü.....	39
Şekil 4.30. COR007 mikrosatellit lokusu bakımından homozigot (169/169) ve heterozigot (167/175) genotiplere sahip bireylerin genotiplerinin elektroferogram görüntüsü.....	39
Şekil 4.31. LEX73 mikrosatellit lokusu bakımından homozigot (232/232) ve heterozigot (232/236) genotiplere sahip bireylerin genotiplerinin elektroferogram görüntüsü.....	39
Şekil 4.32. HTG07 mikrosatellit lokusu bakımından homozigot (136/136) ve heterozigot (136/154) genotiplere sahip bireylerin genotiplerinin elektroferogram görüntüsü.....	40
Şekil 4.33. COR022 mikrosatellit lokusu bakımından homozigot (249/249) ve heterozigot (241/249) genotiplere sahip bireylerin genotiplerinin elektroferogram görüntüsü.....	40
Şekil 4.34. HTG10 mikrosatellit lokusu bakımından homozigot (98/98) ve heterozigot (98/100) genotiplere sahip bireylerin genotiplerinin elektroferogram görüntüsü.....	40
Şekil 4.35. COR018 mikrosatellit lokusu bakımından homozigot (268/268) ve heterozigot (262/272) genotiplere sahip bireylerin genotiplerinin elektroferogram görüntüsü.....	41

Şekil 4.36. COR071 mikrosatellit lokusu bakımından homozigot (197/197) ve heterozigot (203/205) genotiplere sahip bireylerin genotiplerinin elektroferogram görüntüsü.....	41
Şekil 4.37. COR082 mikrosatellit lokusu bakımından homozigot (220/220) ve heterozigot (214/218) genotiplere sahip bireylerin genotiplerinin elektroferogram görüntüsü.....	41
Şekil 4.38. HTG06 mikrosatellit lokusu bakımından homozigot (78/78) ve heterozigot (80/82) genotiplere sahip bireylerin genotiplerinin elektroferogram görüntüsü.....	42
Şekil 4.39. LEX54 mikrosatellit lokusu bakımından homozigot (168/168) ve heterozigot (168/184) genotiplere sahip bireylerin genotiplerinin elektroferogram görüntüsü.....	42
Şekil 4.40. AHT05 mikrosatellit lokusu bakımından homozigot (144/144) ve heterozigot (130/148) genotiplere sahip bireylerin genotiplerinin elektroferogram görüntüsü.....	42
Şekil 4.41. <i>E. asinus</i> populasyonlarının Nei (1972)'nin genetik uzaklık verilerine göre oluşturdukları (Neighbor-Joining Tree) dendrogram	64

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

A	: Adenin nükleotidi
C	: Sitozin nükleotidi
cm	: Santimetre
dk	: Dakika
f	: Frekans
g	: Gram
G	: Guanin nükleotidi
M	: Molarite
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
µl	: Mikrolitre
mm	: Milimetre
mM	: Milimolar
M.Ö	: Milattan Önce
ng	: Nanogram
pmol	: Picomol
rpm	: Rounds per minute (Dakikadaki devir sayısı)
T	: Timin nükleotidi
U	: Ünite (Enzim birimi)
%	: Yüzde
Volt	: Voltaj
°C	: Santigrat derece
±	: Standart hata

AFLP	: Amplified Fragment Length Polymorphism (Çoğaltılmış Fragment Uzunluk Polimorfizmi)
AMOVA	: Analysis of Molecular Variance (Moleküler Varyans Analizi)
ark.	: Arkadaşları
bç	: Base pair (Baz çifti)
DAD-IS	: Domestic Animal Diversity Information System
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
dNTP	: Deoksi Nükleotid Tri Fosfat
EDTA	: Etilendiamin tetraasetik asit
FAM	: 6-carboxyfluorescein
FAO	: Food and Agriculture Organization
HCl	: Hidroklorik asit
H_e	: Beklenen heterozigotluk değeri
H_o	: Gözlenen heterozigotluk değeri
I	: Shannon sabiti
ISSR	: Inter Simple Sequence Repeat (Basit Dizi Tekrarları Arası)
$MgCl_2$: Magnezyum klorür
mRNA	: Mesajcı Ribo Nükleik Asit
N	: Örnek sayısı
N_a	: Gözlenen allel sayısı
NaCl	: Sodyum klorür
N_e	: Etkili allel sayısı
NED	: 2'-chloro-5'-fluoro-7',8'-benzo-1,4-dichloro-6-carboxyfluorescein
NJ	: Neighbor Joining
NKÜ	: Namık Kemal Üniversitesi
nSSR	: Nuclear Simple Sequence Repeats (Nükleer Basit Dizi Tekrarları)
OIE	: World Organisation for Animal Health
PCR	: Polimeraz Chain Reaction (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)
PIC	: Polymorphic Information Content (Polimorfik Bilgi İçeriği)
PPNA	: Pre-Pottery Neolithic a Period (Çanak Çömleksiz Neolitik Dönem)
RAPD	: Random Amplification of Polymorphic DNA (Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA)
RFLP	: Restriction Fragment Length Polymorphism (Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi)

RNA	: Ribo Nükleik Asit
RNase	: Ribonükleaz
SDS	: Sodyum dodesil sülfat
SSR	: Simple Sequence Repeats (Basit Dizi Tekrarları)
STR	: Short Tandem Repeats (Kısa Ardışık Tekrarlar)
T.C.	: Türkiye Cumhuriyeti
TBE	: Tris-Borik asit-EDTA tamponu
TE Tamponu	: Tris-EDTA tamponu
T_M	: Erime sıcaklığı
TÜBİTAK	: Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu
UPGMA	: Unweighted Pair-Group Method with Arithmetic Average
UV	: Ultraviyole ışığı
vb.	: Ve benzeri
VIC	: 2'-chloro-7'-phenyl-1,4-dichloro-6-carboxy-fluorescein

ÖNSÖZ

Türkiye bulunduğu coğrafi konumu, sahip olduğu jeomorfolojik ve topografik özellikleri, farklı iklim ve coğrafi koşulları gibi birçok faktörün etkisi ile, hem flora hem fauna açısından oldukça geniş bir biyoçeşitliliğe sahiptir. Bu çeşitliliğin içerisinde çok sayıda endemik ve nadir tür de bulunmaktadır. Modern Dünya'nın gelişmesi, nüfusun artması, teknolojinin hızı, sanayileşme vb. birçok etken, doğal dengenin sürekli ve kısa sürede değişmesine, bunun sonuçlarından biri olarak da biyoçeşitlilikte dikkate değer kayıplara sebep olmaktadır. Bu sebeple Dünya'da birçok türün azalması veya yok olması tehditine karşı özellikle son yıllarda biyoçeşitliliğin korunması adına, koruma stratejileri oluşturulmaya çalışılmaktadır. Bu stratejilerin oluşturulması için yapılan çalışmalar içinde, türlerin morfolojik ve genetik olarak tanımlanması, biyolojik çeşitliliğin muhafazası hayati önem taşıyan konular haline gelmektedir. Ülkemizin sahip olduğu biyoçeşitlilik kapasitesi düşünüldüğünde, Dünya'da da yürütülen çalışmalarda olduğu gibi, koruma stratejilerini arttırmaya yönelik çalışmaların yapılmasının elzem nitelik taşıdığı görülmektedir. Ülkemizin biyoçeşitliliğinde bazı hayvan tür, ırk ve popülasyonlarının; tarımda mekanizasyon, köyden kente göç, yaşam alanlarının zapt edilmesi, yetiştiriciliğinde azalmalar ve ırklar lehine seleksiyon gibi birçok faktör nedeni ile varlıklarının devamı üzerine tehditler oluşmaya başlamıştır. Bu durumdan yüksek oranda etkilenen türlerden biri de *Equus* cinsi içerisinde yer alan eşek (*Equus asinus*) ırkları olmuştur. Son yıllarda *Equus asinus* popülasyonlarında hem ülkemizde hem de Dünya'da önemli bir azalma olduğu dikkati çekmektedir. Literatürde bu türün genetik tanımlaması ile ilgili yeterli sayıda çalışma olmadığı gibi, ülkemizde hemen hemen hiç çalışma bulunmamaktadır. Bu durum ülkemizde mevcut olan bu türün ve ırklarının biyoçeşitliliğinin korunması açısından oldukça önem arz etmektedir. Bu nedenle bu tez çalışmasında, Türkiye eşek (*Equus asinus*) popülasyonlarının genetik yapılarının belirlenmesi ve ileride bu tür ile yapılacak çalışmalara alt yapı oluşturulması amaçlanmıştır. Bu bağlamda çalışmanın gerçekleştirilebilmesi için, genetik karakterizasyon belirlenmesinde sıkça tercih edilen kodominant moleküler belirteçlerden mikrosatellitler tercih edilerek genetik yapıları hakkında önemli bulgular elde edilmiştir.

Eğitimim boyunca ve Yüksek lisans tez çalışmam süresince, her zaman bana destek veren, yanımda olan ve her konuda yardımlarını esirgemeyen, danışman hocam Doç. Dr. Fulya ÖZDİL'e, Sayın Fulya hocam gibi her daim benden tecrübelerini, manevi desteğini eksik etmeyen Doç. Dr. Behiye Banu BİLGİN hocama, yol göstericiliği ve bana kattığı bilgi

birikimiyle bu noktaya gelmemde emeği geçen, Doç. Dr. Emel ÖZKAN NAL hocama, eğitimim boyunca mutlu, sıkıntılı her anımda yanımda duran canım arkadaşlarım; Ziraat Yüksek Mühendisi Selman ÖZKAN, Araştırma Görevlisi Ceren ELİBOL'a ve tüm bölüm hocalarım ile bana emeği geçen herkese teşekkürü borç bilirim.

Ocak, 2019

Selen YATKIN



1. GİRİŞ

Türkiye coğrafi konumu itibariyle Avrupa, Orta Doğu, Orta Asya ve Afrika'yı birbirine bağlayan bir noktada yer almaktadır. Dünya üzerinde bulunan 34 önemli biyolojik çeşitlilik bölgelerinden üçü tarafından (Kafkas, İran-Anadolu ve Akdeniz) çevrelenen tek ülkedir. 'Verimli Hilal' olarak adlandırılan, insanlığın neredeyse 10,000 yıl önce tarımı ilk geliştirdiği bölgenin en kuzeyine ev sahipliği yapmaktadır. Üç kıta ve üç deniz arasında yer alması ona eşsiz bir pozisyon, dikkate değer bir habitat çeşitliliği ve dolayısıyla zengin bir ekolojik çeşitlilik gösteren, stratejik bölgelere sahip olma şansı vermiştir (Şekercioğlu ve ark. 2011, Gross 2012). Türkiye bu özellikleri ile oldukça geniş yelpazede, farklı hayvan ve bitki türüne ev sahipliği yapmaktadır. Günümüze kadar bazı bitki ve hayvan türlerinin soyu tükenmiş olsa da, hala biyoçeşitlilik açısından çok sayıda türün yaşadığı yer olmasıyla, önemli bir değere sahiptir.

Doğal kaynaklar ile biyolojik çeşitliliğin korunması ve bunların sürdürülebilirlikleri, günümüz için hayati önem taşıyan bir konu haline gelmektedir. Genetik çeşitliliğin muhafazasının, ekosistem dengesi için yaşamsal öneme sahip olduğu, günümüzün tartışmasız kabul gören bir gerçeğidir. Ekosistem dengesinde tek bir türün soyunun tükenme tehlikesine girmesi dahi, ekosistem bünyesinde domino taşı etkisi yaratmaktadır. Ülkemiz ekolojik özellikleri ve geniş biyoçeşitliliğe sahip olması açısından göz önüne alındığında, bu domino taşı etkisinin yaşanabileceği bir yer konumundadır. Bu nedenle ülkemiz biyoçeşitliliğinin korunması adına koruyucu önlemlerin alınması gerektiği açıkça ortadadır. Bu koruyucu önlemler alınmadığı takdirde ekosistem dengesinde ve biyolojik çeşitlilik seviyesinde önemli değişimlerin görülmesi muhtemeldir. Ülkemizin biyoçeşitlilik seviyesinin ve özellikle hayvan tür, ırk, popülasyonlarının böyle bir tehlike altında olmasının önemli sebeplerinden biri; 20. yüzyılın ortalarında tarım alanında endüstrileşme ile çeşitli ırklar lehine seleksiyon çalışmalarının artmasıdır. Bunun neticesinde de bazı türler önemini kaybetmiş ve birçok hayvan türünün, ırkının ve popülasyonunun yok olma tehdidi ortaya çıkmıştır. Ayrıca hayvancılıkta yerel popülasyonların ve genetik çeşitliliğin korunması, hem ekolojik açıdan önem taşıyan hem de sosyo-ekonomik açıdan dikkat edilmesi gereken bir konudur. Bu nedenle yok olma tehlikesi altına giren çeşitli tür ve ırkların ülkeler ekonomisi üzerine önemli roller oynadığı bilinmekte ve ülkeler tarafından da bu tür ve ırkların korunmasına yönelik planlar yapılmaktadır.

Ülkemizde endüstrileşmenin etkisi nedeniyle yetiştiriciliği gittikçe azalan, kırsal bölgelerdeki zorlu doğa koşullarında yetiştiricisine sürü kontrolü ve taşımacılıkta iş gücü olarak yüzyıllardır önemli ölçüde yardımcı olan ve hala kırsal bölgelerde kullanılan eşek ırkları, yok olma tehdidi altındadır (Michel 2004, Taşkın ve ark. 2011, Yılmaz ve Wilson 2012, Yılmaz ve Wilson 2013). Ülkemizin 1960'larda yaklaşık 2 milyon baş eşek popülasyonuna sahip olduğu, ancak 1961 ve 2010 yılları arasında bu sayının %75'nin hızla kaybedildiği görülmektedir (Yılmaz ve Wilson 2013). Nitekim herhangi bir koruma programı oluşturulmazsa bu durumun hızla devam edeceği de açıkça görülmektedir. Bu nedenle ülkemizde olduğu gibi Dünya genelinde de yok olma tehlikesi altında olan bu türü koruma stratejileri oluşturulabilmesi için, öncelikle mevcut ırkların morfolojik ve genetik olarak tanımlanmalarının yapılması gerekmektedir (Aranguren-Mendez ve ark. 2002a, 2002b, Hanotte ve Jianlin 2005, Zhang ve ark. 2016).

Türlerin kökeninin aydınlatılmasına ilişkin yapılan çalışmalarda, genetik ve morfometrik yöntemlerin kullanılması ve bu verilerin anlamlandırılabilmesi için çevresel, göç yolları gibi unsurlar çerçevesinde yorumlanması gerekmektedir. Yaptığımız bu araştırmaya gibi çalışmalar sayesinde genetik çeşitlilik tespit edilirken, varolan çeşitliliğin de korunabilmesi adına bir yol çizilmiş ve altyapı oluşturulmuştur.

Yapılan literatür çalışmaları sonucunda, Türkiye eşek ırklarının genetik yapısı hakkında sınırlı sayıda çalışma olduğu görülmüştür. Yürütülen bir yüksek lisans çalışmasında Kırklareli ilindeki eşek popülasyonlarında morfometrik ve mitokondriyal DNA polimorfizmi ortaya konmuş (Yalçın 2016) ve bir diğer çalışmada Türkiye ve Kıbrıs'tan alınan örnekler, D-loop ve sitokrom b gen bölgeleri ile Y-kromozomal kısa ardışık tekrar dizileri (STR'lar) ele alınarak analiz edilmiştir (Kul ve ark. 2016) Bu çalışmaların dışında herhangi bir araştırmaya rastlanmamıştır. Bu bağlamda bu tez çalışmasında; ülkemizin biyolojik zenginliği içerisinde önemli bir yer tutan eşek popülasyonlarının genetik çeşitliliğini ortaya koymak adına ilk kez mikrosatellit belirteçler ele alınarak gen ve genotip frekanslarının hesaplanması ve yerli gen kaynaklarını koruma çalışmalarına katkı sağlayacak verilerin elde edilmesi amaçlanmıştır. Bu amaca yönelik yürütülen çalışma ile;

- 1) Evcil hayvan gen kaynaklarımızdan olan eşek ırkları hakkında detaylı bulgular elde edilmiş,
- 2) Türkiye'de var olan yerli eşek popülasyonlarında mikrosatellit belirteçleri bakımından polimorfizm taraması yapılmış,

- 3) Mikrosatellit belirteçleri bakımından elde edilen polimorfizmler temelinde Türkiye eşek populasyonlarında gen ve genotip frekansları hesaplanmış,
- 4) Çalışılacak genler bakımından populasyonlara özgü allel/alleller belirlenerek bu lokusların eşeklerde tescil çalışmaları ve gen kaynağı olarak korunmalarında kullanılabilirliği tartışılmış,
- 5) Farklı populasyonlar/genotipler arasındaki genetik benzerlikler/farklılıklar tahmin edilmeye çalışılmış,
- 6) Yok olma tehlikesi altında olan bu türün, koruma stratejilerinin oluşturulması için gerekli olan genetik veriler toplanmıştır.

Bu tez çalışmasında, Türkiye’de ilk kez kapsamlı bir örnekleme yapılarak eşek populasyonları hakkında moleküler genetik veriler elde edilmiştir. Türkiye yerli eşek ırklarını tanımlamak amacıyla 16 ilden (Amasya, Antalya, Aydın, Isparta, İstanbul, Kahramanmaraş, Kars, Kastamonu, Kırklareli, Konya, Kütahya, Mardin, Muğla, Tokat, Tekirdağ ve Şanlıurfa) toplam 314 adet kan örneği alınarak genomik DNA’lar izole edilmiş ve 20 adet mikrosatellit lokusunda genetik karakterizasyon yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar farklı istatistiksel yöntemler kullanılarak analiz edilmiş, Türkiye yerli eşek populasyonları arasındaki genetik benzerlik ve farklılıkları belirlenmiştir.

2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ÖZETLERİ

2.1 Eşek (*Equus asinus*) Hakkında Genel Bilgiler

Eşek sistematik olarak; Tek Tırnaklılar takımı (Perissodactyla), At Benzeri alt takımı (Hippomorpha) ve At familyasında (Equidae) yer almaktadır. Bu familya içerisinde *Equus* cinsi içinde; Eşek (*Equus asinus*), Yabani Eşek (*Equus hemionus*), Yabani At (*Equus caballus* veya *Equus przewalski*), Zebra (*Hippotigris*) ve Grevy Zebra (*Equus grevyi*) olarak beş alt türe ayrıldığı görülmektedir (Grinder ve ark. 2006, Kugler ve ark. 2008). *Equus* cinsine dahil türlerin evrimsel olarak birbirinden son 3-5 milyon yıl içerisinde ayrıldığı bildirilmiştir (Lindsay ve ark. 1980, George ve Ryder 1986, Xu ve ark. 1996). Eşeğin (*E. asinus*), kromozom sayısı $2n=62$ dir (Grinder ve ark. 2006).

Eşek (*E. asinus*) *Equus* cinsi içerisinde At (*E. caballus*) ile birlikte yer alan iki farklı türden biridir. Eşek (*E. asinus*) ve At (*E. caballus*) arasındaki evrimsel farklılıkları açıklamak için mtDNA temelinde bazı çalışmalar yapılmış ve bu çalışmalar neticesinde bu iki türün 9 milyon yıl önce evrimsel olarak birbirinden ayrıldığı tespit edilmiştir (George ve Ryder 1986, Xu ve ark. 1996). Evcil eşeğin (*E. asinus asinus*) M.Ö. yaklaşık 7000 yıl önce muhtemelen Afrika kökenli eşeklerden türediği varsayılmaktadır (Beja-Pereira ve ark. 2004, Kugler ve ark. 2008, Kimura ve ark. 2011, Rosenbom ve ark. 2014). Ayrıca Fas yoluyla İtalya ve İspanya'ya ve Romalılarla da Alpler üzerinden Kuzey ve Doğu Avrupa'ya yayılmış olduğu belirtilmektedir (Kugler ve ark. 2008). Yapılan araştırmalar sonucunda atalarının Yabani Afrika Eşeği olduğu düşünülmekte ve bu türün Kuzey Afrika Yaban Eşeği (*E. asinus atlanticus*), Nübya Yaban Eşeği (*E. asinus africanus*) ve Somali Yaban Eşeği (*E. asinus somalicus*) olarak üç alt türe ayrıldığı belirtilmektedir. Bu türlerden Kuzey Afrika Yaban Eşeği'nin (*E. asinus atlanticus*) Romalı'lar zamanında neslinin tükendiği bildirilmektedir. Diğer taraftan Yabani eşeklerin (*E. hemionus*) birçok alt türü, Urallar'ın batı step kısmı Kazakistan ile Türkmenistan'dan, Moğolistan ve Kuzey Batı Çin'e ayrıca Akdeniz boyunca, Suriye, Irak ile Pakistan'a ve Batı Hindistan'a kadar yayılış göstermektedir (Kugler ve ark. 2008).

Türkiye'de *Equus* cinsine ait iki tür yetiştirilmektedir. Bunlar At (*E. caballus*) ve Eşek (*E. asinus*) türleridir (Yılmaz ve Ertuğrul 2014). *Equus* cinsinin sistematik sınıflandırılması Çizelge 2.1' de verilmiştir.

Çizelge 2.1. *Equus* cinsinin sistematikteki yeri (Anonim 2018a)

Alem	Animalia
Alt Alem	Bilateria
Infra Alem	Deuterostomia
Şube	Chordata
Alt Şube	Vertebrata
Infra Şube	Gnathostomata
Üst Sınıf	Tetrapoda
Sınıf	Mammalia
Alt Sınıf	Theria
Infra Sınıf	Eutheria
Takım	Perissodactyla
Aile	Equidae
Cins	<i>Equus</i>
Tür	<i>Equus asinus</i>

Türkiye konumu itibariyle Mezopotamya sınırlarının bir kısmı içinde yer almaktadır. Mezopotamya sınırlarını, Dicle ve Fırat nehirleri tarafından sınırlandırılan bölge olarak tanımlayabiliriz (Şekercioğlu ve ark. 2011, Yılmaz ve Wilson 2013). Daha yaygın olarak kullanılan bir tanım yaparsak, geçmişte insanların İran'dan Anadolu'ya, Zagros Dağlarından Basra Körfezi'ne kadar kil tabletler üzerinde çivi yazısı kullandıkları tüm alandan bahsedebiliriz. Bu bölge; İsrail, Lübnan, Suriye, Türkiye, Irak, İran sınırları içinde kalan 'Verimli Hilal Yayı' dır (Michel 2004). Ülkemizin böyle bir coğrafyada konumlanması, ona sayısız biyolojik çeşitlilik unsuru katmış ve bu biyolojik çeşitlilikten faydalanan birçok büyük medeniyete de ev sahipliği yapmasına neden olmuştur. Ülkemizin birçok medeniyete ev sahipliği yapmış olan antik bölgelerinden biri olan, Kayseri Kültepe'de bulunan Kaniş harabelerinden çıkarılan bazı tabletlerde, eşeklerin günlük hayatta kullanımına dair bazı bilgilere ulaşılmıştır. Bu çivi yazısı tabletler yaklaşık M.Ö. II bin yıla kadar uzanmaktadır. Tabletler özel bir dille yazılmış olup, bölgede yaşayan Asurlular'ın ve yöre halkının özel mektuplarını, sözleşmeleri ile Kara-Asur ticaretini belgelemektedir. Ticarete ve taşımacılıkta kullanılan karavanların organizasyonu, malların taşınması hakkında birçok detay verilmekte ve kullanılan lehçede bu tip işler için eşeklerin kullanıldığından bahsedilmektedir. Ayrıca eşekleri yük taşımacılığında kullanmanın yanı sıra, at ve eşeğin hibritleştirilmesi ile dünyaya gelen; daha güçlü, hızlı, uysal ve ucuz olan katırın da yetiştirildiği bildirilmiştir (Peters ve ark.

1999, Michel 2004). Şanlıurfa'da bulunan Dünya'nın en eski tapınak merkezi olarak da bilinen Göbekli Tepe'de PPNA (Pre-Pottery Neolithic A) dönem analizi sonucu Çanak Çömleksiz Neolitik Dönem'e ait yarı eşek olan *E. hemionus* (Asya Yaban Eşegi) kemiklerine rastlanmıştır (Peters ve ark. 1999). Kaynaklar eşegin Mezopotamya ve Anadolu civarında evcilleştirilmesinin yaklaşık M.Ö. IV bin yıla kadar dayandığını göstermektedir (Michel 2004).

Türkiye eşek populasyonlarında bugüne kadar oldukça az sayıda çalışma yapıldığından, Türkiye yerli eşek ırkları kesin olarak belirlenememiştir. Bazı eşek populasyonlarında çok az sayıda morfolojik karakterizasyon ve genetik çalışmalar yapılmış olmasına rağmen (Yılmaz ve Ertuğrul 2014, Yalçın 2016) bu veriler ırk tanımlamasının yapılabilmesi için yeterli değildir. Ancak halk arasında kulaktan kulağa var olduğu bildirilen bazı Anadolu eşek ırkları aşağıda verilmiştir (Güleç 2010);

- ❖ Orta Anadolu Eşegi
- ❖ Merzifon Eşegi
- ❖ Karakaçan Eşegi
- ❖ Mardin Beyaz Eşegi
- ❖ Toros Eşegi
- ❖ Urfa Rahvan Eşegi
- ❖ Kars Yorga Eşegi

Ayrıca Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Organizasyonu (FAO)'nun Evcil Hayvan Çeşitliği Bilgi Sistemi (DAD-IS)'ne ve Avrupa'da eşek ırklarının mevcut durumlarının belirlenmesi ve korunmasına yönelik hazırlanan rapora (Kugler ve ark. 2008) göre Türkiye'de 3 eşek ırkının var olduğu bildirilmektedir. Bu ırklar; Anadolu, Karakaçan, Merzifon ırklarıdır. Ancak söz konusu sistemde bu ırklara ait hiçbir veri bulunmamaktadır.

Bu eşek ırklarından Anadolu eşeginin, ülke genelinde yaygın bulunduğu ve Anadolu eşeginin genel morfolojik özellikleri itibariyle gri yada siyah renkli olduğu literatürde belirtilmiştir (Yarkın 1962). Merzifon ya da Marsavon eşegi olarak da bilinen eşek ırkının ise, Amasya'nın bir ilçesi olan ve aynı adı taşıyan bölge genelinde bulunduğu ve risk altında olduğu bildirilmiştir (Yılmaz ve Wilson 2013). Karakaçan eşeginin ise büyük olasılıkla Balkanlar'dan Trakya Bölgesi'ne gerçekleştirilen göçler neticesinde bu isimlendirmeyi aldığı

ve yine bu eşek ırkının da risk altında olduğu tespit edilmiştir (Porter 2002, Yılmaz ve Wilson 2013).

Eşekler ülkemizin evcilleştirilmiş en eski hayvanlarından olup, yüzyıllardır ülkenin tarım ekonomisinde önemli rol oynamıştır. Fakat 21. yüzyılda Dünya'nın büyük bir kısmı ile birlikte, Türkiye'deki eşek türleri de kırsal ekonominin temel dayanağı olarak mevcut statüsünü yitirmiş ve ulaşım, işgücü gibi kullanım alanlarındaki yerini mekanik araçlara bırakmıştır (Yılmaz ve Wilson 2013). Günümüzde gelişmiş ve gelişmekte olan birçok ülkede koruma bilincinin oluşması ile eşeğin birçok yerli ırkı tanımlanmış dahası yeni ırklar keşfedilmiştir (Kugler ve ark. 2008). Türkiye'de ise 1960'ların başlarında eşek nüfusu neredeyse iki milyon baş iken, bu sayı yaklaşık on yıl boyunca kendisini korumuş, ancak 1970 yılından bu yana önemli ölçüde azalma kaydedilmiştir (Yılmaz ve Wilson 2013). Dünya Hayvan Sağlığı Örgütü'nün (OIE) 2002 yılı raporunda belirtildiği üzere; Türkiye'de hayvan sağlığı ve refahını kapsayan yasal çerçevenin "büyük ve geniş" olmasına rağmen pratikte eksik olması, çok sayıda yasa ve yönetmeliğin bulunmasına rağmen uygulamalardaki eksiklerin sonucu birçok türün populasyon düzeyinde çarpıcı miktarda azaldığı bildirilmektedir (Oskam ve ark. 2004).

2.2 Mikrosatellitler (Basit Dizi Tekrarları, SSR)

Moleküler tekniklerin evrimsel soy (filogeni) araştırmalarında kullanılmasının henüz keşfedilmediği dönemlerde, filogeniyi belirlemeye yönelik bazı yaklaşımlar kullanılmaktaydı. Bu yaklaşımlar; morfolojik, fizyolojik, davranışsal özellikler ve diğer karakteristik organizma özellikleri gibi, tek başına gerekli bilgiyi edinmede yeterli olmayan parametreleri içermekteydi (Avisé 2004). Moleküler genetik alanında geliştirilen teknikler ile morfolojik yöntemlerin koordineli kullanılması sonucunda filogeni çalışmalarında hızlı ve önemli bilgiler elde edilmiştir. Moleküler genetik alanında devrim niteliği taşıyan keşif, DNA parçalarının *in vitro* çoğaltılması, yani Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) olmuştur. Bu teknikle; hemen hemen her biyolojik kaynaktan elde edilebilen az miktarda kalıp DNA parçası kullanılarak, özel oligonükleotitler (primer) sayesinde istenilen bölgenin milyonlarca kopyası oluşturulabilmektedir (Mullis ve Faloona 1987, Saiki ve ark. 1988, Vignal ve ark. 2002, Avisé 2004). PCR tabanlı yaklaşımlar nükleotid dizilerinden geniş filogenetik bilgi içeriğine ulaşımını oldukça kolaylaştırmıştır. Şu anda mevcut olan binlerce PCR 'primeri', çok çeşitli

nükleer ve sitoplazmik lokusların doğrudan sekanslanmasını büyük ölçüde kolaylaştırmaktadır (Mullis ve Faloona 1987, Saiki ve ark. 1988).

DNA polimorfizminin tespiti için, moleküler belirteçlerin (markerlar) gelişimi ve kullanımı moleküler genetik alanında büyük öneme sahip gelişmelerden biridir. Populasyon genetiği çalışmalarında kullanılmak üzere SSR, STR, RFLP, AFLP, RAPD gibi birçok moleküler belirteç keşfedilmiştir (Madesis ve ark. 2013). Kısaca genetik belirteçler (kromozomal işaretleyiciler) DNA'nın belirli bir bölgesini tespit etmeyi sağlayan alleller veya genomda yeri bilinen belirli DNA parçalarından oluşmaktadır. Ancak moleküler belirteçlerin gen olarak kabul edilmemesi gerekir, çünkü genellikle herhangi bir biyolojik etkiye sahip değildirler ve bu nedenle genomda değişmeyen işaretleyiciler olarak düşünülebilirler (Semagn ve ark. 2006).

Çeşitli tiplerde moleküler belirteçlerin olması ve her birinin prensipleri, yöntemleri ve uygulamalarında çeşitli farklılıklar bulunması, kullanılacak metodun seçiminde dikkat edilmesini gerektirmektedir. Araştırmalarda kullanılacak moleküler belirteçler çeşitli özelliklere sahip olmalıdır. Örneğin bir türün köken araştırmalarında kullanılacak olan bir belirteçin seçiminde göz önüne alınacak özelliklerden ilki, türlerin köken aldıkları populasyonların tanımlanmasında evrimsel olarak korunmuş olmasıdır. İkincisi ise; tür içi varyasyonu ortaya çıkaracak ve coğrafi olarak farklılıkların saptanmasına olanak verecek özellikte olmalıdır. Mikrosatellitlerin evrim çalışmalarında kullanılmalarında üç ana neden söz konusudur. Bunlardan ilki, populasyonlar veya ırklar arasında ve içinde genetik varyasyonu belirleyebilmeleridir. İkincisi, populasyonlar arası ve içerisindeki genetik karışmayı belirleyebilirler. Üçüncü olarak populasyondaki genetik olarak benzer gruplardaki bireyleri cins veya tür seviyesinde saptamada kullanılabilirler (Bruford ve ark. 2003).

Moleküler belirteçlerden mikrosatellitler, 1980'lerin sonlarında keşfedilmiş ve zamanının bilimsel çalışmalarına büyük kolaylıklar sağlamıştır (Litt ve Luty 1989, Madesis ve ark. 2013). Basit dizi tekrarları (SSR'lar, mikrosatellitler) gelişmiş ökaryotik genomun önemli bir kısmını oluşturan ve tekrarlayan DNA dizilerinden oluşmaktadır (Powell ve ark. 1996). Polimorfik yapıda olmaları önemli özelliklerinden bir tanesidir. Populasyon dahilinde genel olarak benzer özellik gösterebilirler de bireyden bireye küçük farklılıklar göstermektedirler (Hearne ve ark. 1992, Ün ve ark. 2000). Evrimsel olarak birbirine yakın olan bir türün gruplarının karşılaştırılmasında kullanılabilirliği gibi, ırklara ait populasyonlarda meydana

gelmiş bir olayın (genetik darboğaz vb.) izlerinin aranmasında da en çok kullanılan genetik belirteçlerden bir tanesidir (Bruford ve ark. 2003, Özkan 2005).

Mikrosatellitler genom içinde yayılım göstererek kodominant yapı göstermeleri ile homozigot ve heterozigot genotipleri ayırt etmede avantaj sağlayan moleküler belirteçlerdendir (Jordana ve ark. 2001, Avise 2004, Merkel ve Gemmell 2008, Madesis ve ark. 2013, Zhang ve ark. 2016). Yüksek derecede polimorfizm göstermeleri, nispeten küçük boyutları ve tespit yöntemlerinin hızlı olması yaygın bir kullanım alanına sahip olmalarına neden olmuştur (Avise 2004, Merkel ve Gemmell 2008, Madesis ve ark. 2013). Genom boyunca 1-10 nükleotidden oluşan kısa dizi tekrar profilleri genelde; (AT)_n , (GA)_n ve (GAA)_n bazlarından oluşmakta olup, 'n' ifadesi toplam tekrar sayısını belirtmektedir. Evrimsel gelişimi araştırmak için kullanılan genomik verilerin genomun içerisinde her yerde ve ulaşılabilir olması, mikrosatellit mutasyonel dinamiklere ilginin oldukça fazla olmasına neden olmuştur (Merkel ve Gemmell 2008). Mikrosatellitlerin iş gücü, zaman ve ekonomiden tasarruf sağlamaları araştırmacılar için kullanışlı bir yöntem olmalarını sağlamaktadır.

2.3 Eşek (*Equus asinus*) Türleri ile İlgili Yapılmış Genetik Çalışmalar

Eşeğin evcilleştirilmesi; Afrika ve Asya'daki taşıma sistemlerini büyük ölçüde değiştirmiş, insan ve mal taşımacılığının yayılmasında etkileyici bir unsur haline gelmiş, kırsal şehirlerin organizasyonunda etkili olmuştur (Rosenbom ve ark. 2014). Mitokondriyal DNA tabanlı çalışmalar eşeğin atalarının Afrika Yabani Eşegi olduğunu söylese de, nereden köken aldığına ait sorular tam olarak cevaplandırılmamıştır (Beja-Pereira ve ark. 2004). Olası köken merkezleri olarak; Afrika'nın Kuzey Doğusu, Yakın Doğu ve Arap Yarımadasının gösterildiği üç hipotezin bulunduğu bildirilmiştir. Rosenbom ve ark. (2014) tarafından eşeğin coğrafik anavatanını saptamak için Afrika'nın Kuzey Doğusu, Yakın Doğu ve Arap Yarımadasında bulunan 8 ülkeden oluşturulan populasyonlarda (Mısır, Etiyopya, Sudan, Umman, Yemen, Suriye, Türkiye ve Ürdün) 15 mikrosatellit lokusu ile çalışılmıştır. Bu populasyonların genetik çeşitlilik seviyeleri tespit edilmiş ve Afrika Yabani Eşegi'nin (*E. africanus somaliensis*) köken merkezini belirleyebilmek için evcilleştirilmiş tip ile karşılaştırılmıştır. Bu çalışmada coğrafik bölgelerdeki populasyon içi heterozigotluk seviyesinin sınırlı varyasyon gösterdiğini bildirilmiştir (Kuzey Doğu Afrika'da 0,637, Yakın Doğu'da 0,679). Allellik zenginlik içerisinde populasyona özgü (private) allellerin Arap Yarımadası ve Kuzey Doğu Afrika'da önemli ölçüde yüksek seviyede gözlemlendiği belirtilmiştir. Her bölge için ülke özeline bakılarak Sudan ve Yemen yüksek allellik zenginlik

ve yoğunluğa sahip ülkeler olarak belirlenmiştir. Ayrıca Yemen’de popülasyona özgü allel zenginliğinin yüksek seviyelerde gözlemlendiği belirtilmiştir. Bulunan bu sonuçlar ile Kuzey Doğu Afrika’da daha önce yapılan çalışmaların desteklendiği bildirilmiştir. Bunun yanı sıra Yemen’de daha önce rastlanmamış yüksek seviyede genetik çeşitlilik verileri ile Yemen’in bu tür için başka bir köken merkezi olabileceği ihtimali de ortaya konulmuştur (Rosenbom ve ark. 2014).

Equidae familyasına ait birçok türün taksonomik yapısı henüz tamamen açığa çıkarılmamıştır. Bu konu üzerine dikkat çekmek adına Krüger ve ark. (2005)’nin yapmış olduğu bir çalışmada 120 birey ve 31 adet mikrosatellit lokusu ile çalışılmıştır. Bu çalışma ile nesli tükenmekte olan Asya Yaban Eşegi (*E. hemionus onager* ve *E. hemionus kulan*) türlerine dikkat çekilmek istenmiştir. Filogenetik analizler sonucunda Asya Yaban Eşeklerinin koalesens zamanından daha önceki fosil kayıtlarının mtDNA analiz verileri ile kıyaslanabildiği ifade edilmiştir. Bu çalışmaya göre *E. hemionus luteus* için moleküler genetik sonuçların çelişkili kaldığı ifade edilmiş olup bunun nedeninin; beklenmedik şekilde diğer *hemionuslar* ile karşılaştırıldığında *E. hemionus luteus* ve *E. kiang holderi* arasında daha yakın bir genetik ilişki olduğu ifade edilmiştir.

Eşegin genetik çeşitliliği, kökeni ve evcilleştirilmesi konusunda araştırmalar yapılmış olmasına rağmen Y kromozomuna özgü bölgesi büyük ölçüde karakterize edilmemiştir. Han ve ark. (2017) tarafından bu konu kapsamında yapılan bir çalışmada; Mısır, İspanya ve Peru'dan 395 adet erkek eşekten alınan örneklerde floresan etiketli 14 adet Y kromozomuna özgü mikrosatellit belirteci (Y-STR) çalışılmıştır. Elde edilen sonuçlar ile 7 Y-STR belirtecinin (EcaYP9, EcaYM2, EcaYE2, EcaYE3, EcaYNO1, EcaYNO2 ve EcaYNO4) erkeklere özgü ve polimorfik olduğu ifade edilmiştir. Üç haplo gruba karşılık gelen toplam 21 haplotip tespit edilmiş ve bu sonuçla üç bağımsız baba hattının bulunduğu belirtilmiştir (Han ve ark. 2017).

Sırbistan’da yapılan bir başka çalışmada ise; Balkan eşeklerinin genetik durumuna, kökenine ve tarihine yeni bir bakış açısı kazandırmak için nükleer mikrosatellit lokusları (nSSR) ve mitokondriyal DNA (mtDNA) bölgeleri üzerine bir dizi araştırma yapılmıştır (Stanisic ve ark. 2017). Sırbistan’da bulunan Balkan eşeklerinin oldukça heterojen bir yapıya sahip olduğu bildirilen bu çalışmada fenotipik yapıları benzer fakat nükleer yapısı farklılık gösteren iki grup bulunmuştur. Bu iki grup ile yapılan çalışmalar neticesinde maternal 1 ve 2 nesillerine ait mtDNA haplotiplerinin oranlarının farklı bulunduğu belirtilmiştir. Bir başka

grup ise vücut boyutu, büyüklüğü, vücut rengi, nükleer gen havuzu farklılığı ve 2. nesil haplotiplerinin baskınlığı bakımından karakterize edilmiş ve bu ırk Banat eşek ırkı olarak tasvir edilmiştir. Balkan eşek popülasyonunun maternal durumunun daha önce düşünülenenden daha yüksek derecede heterojen ve kompleks bir yapıya sahip olduğu tespit edilmiştir. Bunun nedeni olarak eşeklerdeki iki bağımsız evcilleştirme olayı göz önüne alındığında, Yunanistan'dan Balkanlar'a yapılan geçişlerden kaynaklandığının varsayıldığı ifade edilmiştir (Stanisic ve ark. 2017).

Zhang ve ark. (2016) tarafından Çin yerli eşek ırkları (Guanzhong, Dezhou, Qingyang, Biyang, Jiami, Mongolia, Gunsha, Xinjiang, Taihang ve Xiji) arasındaki filogenetik ilişkileri ve genetik çeşitliliği araştırmak için bu 10 ırkı temsil eden 415 adet birey üzerinde 10 mikrosatellit belirteci ile bir çalışma yapılmıştır. Her ırk için allel sayısı, etkili allel sayısı (N_e), beklenen heterozigotluk (H_e) ve polimorfik bilgi içeriği (PIC) tespit edilmiştir. Araştırmada kullanılan 10 mikrosatellit lokusunun (HTG7, HTG10, AHT4, HTG6, HMS6, HMS3 ve HMS7) 7'si polimorfik bulunmuş ve bu 10 eşek ırkı için 7 polimorfik lokusun PIC, H_e ve N_e ortalamalarının sırasıyla; 0,7679, 0,8072 ve 6,0275 olarak hesaplandığı bildirilmiştir. Bu sonuçlar ile Çin yerli eşek ırklarının yüksek genetik çeşitlilik ve heterozigotluk gösterdiği öne sürülmüştür. Nei (1972)'nin genetik uzaklık değerlerine göre oluşturulan Komşu Birleştirme (Neighbor Joining) Ağacı incelendiğinde; Xinjiang, Qingyang, Xiji, Guanzhong eşek ırklarının birbirlerine yakın çıktığı bildirilmiştir. Ayrıca Mongolia ve Dezhou eşek ırklarının aynı kategoride yer aldığı belirtilmiştir. Filogenetik analiz sonuçları ile Çin eşek ırkları arasındaki genetik ilişkilerin, coğrafi dağılımları ve kökenlerinin tutarlı olduğunu öne sürülmüştür (Zhang ve ark. 2016).

Jordana ve ark. (2015)'nin yapmış olduğu çalışmada; Amerikan eşek popülasyonları arasındaki ana yapısal çeşitliliğinin belirlenmesinin, popülasyonlar arasındaki değişkenliğin temel yapısal özelliklerininin saptanmasının, farklı gen havuzları arasındaki sınırların belirlemesinin amaçlandığı ifade edilmiştir. Ayrıca 15. Yüzyılda Amerika'ya eşeklerin götürülmesinden bu yana, ana kolonizasyon yollarının çizilmesinin hedeflendiği de belirtilmiştir. Çalışmada, 13 ülkeden 350 adet Amerikan eşeğini genotiplendirmek için 14 adet mikrosatellit belirteci kullanılmıştır. Bu metapopülasyonun genetik yapısının tanımlayıcı istatistik metotlar ve Bayesian tabanlı metotlar kullanılarak araştırıldığı bildirilmiştir. Popülasyonların; 11 Avrupa ülkesinden, 476 bireyin bilgisini içeren bir veri tabanı ile muhtemel atasal popülasyonu belirlemek için kıyaslandığı ifade edilmiştir. Sonuçta

Kolombiya’da birleşen iki ayrı genetik havuzun varlığı ortaya komuştur. Güney genetik havuzunun, atasından sonra gelen benzersiz bir genetik yapı gösterdiği fakat Avrupa’dan gelen modern gen akışının önemli bir etki göstermesi için yetersiz kaldığı ifade edilmiştir.

Matassino ve ark. (2014) yapmış oldukları çalışmada, İtalyan yerli eşek ırklarının dört atasal ırktan (Pugliese, Siciliana, Pantelleria ve Sarda) köken aldığı ifade edilmiştir. Bu dört atasal ırkın ise belli alt grup ve yerli ırklara köken olduğu; örneğin İtalya’da oldukça yayılmış olan Pugliese ırkının; Calabrese, Basilicata, Lecce, Martina Franca, Marchigiana ve Romagnolo populasyonlarına köken olduğu bildirilmiştir. Bu ırklardan köken alan İtalya’nın Amiata dağı ve çevresinde bulunan Amiata eşek populasyonu ve uzun yıllar Martina ve Marchigiana yerel ırkları ile melezlenmesi neticesinde ırk özelliği değişime uğramış olan Viterbese eşek populasyonu genetik çeşitlilik bakımından incelenmiştir. Çalışmada, Amiata ve Viterbese eşek ırklarından oluşan bir populasyon ile 16 adet mikrosatellit belirteci kullanılarak genetik karakterizasyona bakılmıştır. Sonuçlar göz önüne alındığında populasyonlar arasında yüksek bir genetik farklılaşmanın ($F_{ST} = 0,158$; $P < 0,01$) ve ırklar arasında düşük genetik benzerliğin ($0,233 \pm 0,085$) var olduğu tespit edilmiştir. Faktöriyel Birleştirici Analiz, Structure testi ve Moleküler Varyans sonuçlarına bakıldığında iki populasyonun birbirinden farklı olduğu ve Viterbese populasyonu için daha fazla çalışma yapılması gerektiği vurgulanmıştır.

Amiata eşeğinin genetik karakterizasyonunun amaçlandığı bir diğer çalışmada İtalya’nın Toskana ve Lazio bölgelerinden oluşturulan 50 bireylik bir populasyon kapsamında 18 adet mikrosatellit lokusu ile çalışılmıştır (Ciampolini ve ark. 2007). Ortalama gözlenen heterozigotluk değerinin 0,579 ve ortalama beklenen heterozigotluk değerinin ise 0,609 olarak hesaplandığı belirtilmiştir. İki gruptaki ortalama benzerlik değerlerinin, Toskana’da yetiştirilen hayvanlar için $0,523 \pm 0,020$, Lazio’da yetiştirilenler için $0,458 \pm 0,016$ (toplam ortalama benzerlik $0,489 \pm 0,019$) olarak hesaplandığı belirtilmiştir. Akrabalı yetiştirme katsayılarının da sırasıyla 0,440 ve 0,390 olarak hesaplandığı ifade edilmiştir. Populasyon genelinde gözlenen yüksek genetik benzerliğin düşük genetik varyasyon ile ilişkili olduğu ayrıca Amiata populasyonunun son yıllarda bir darboğazdan geçmiş olabileceği ifade edilmiştir (Ciampolini ve ark. 2007).

Fosil DNA analizleri sonucunda Çin eşek populasyonlarının evcilleştirilmesinin 2000 yıl önceye dayandığı ileri sürülmektedir (Di ve ark. 2017). Dünya üzerinde en büyük eşek populasyonuna sahip olan Çin’de mekanizasyon neticesinde populasyon bazında önemli

düşüşler izlenmiştir. Son yıllarda eşek etinin yüksek besleyici bileşenleri barındırdığının bilinmesi ve Colla Corii Asini'nin (eşek jelatini) Çin tıp alanında kullanılması nedeniyle bir ekonomik değer kazanmıştır. Bu nedenlerden dolayı Çin eşek populasyonlarının genetik karakterizasyonu ve korunması elzem hale gelmiştir. Di ve ark. (2017)'nin yapmış oldukları araştırmada toplam 5 farklı yöreye özgü (35 Guanzhong, 36 Jinnan, 27 Guangling, 25 Dezhou ve 30 Huabei) 153 birey ve 15 mikrosatellit lokusu ile çalışılmıştır. Elde edilen Temel Öğeler Analizi (PCA), Bayesian analizi verileri sonucunda; Guanzhong eşeğinin diğerlerinden oldukça farklı olduğu tespit edilmiş olup Jinnan ve Guangling eşeğinin birbirine genetik olarak yakın ve heterozigotluğun az olduğu belirtilmiştir. Bu veriler sonucunda heterozigotluğun azalması nedeniyle Guangling ve Jinnan eşeklerinde koruma çalışmalarının başlaması gerektiği ifade edilmiştir.

Mekanizasyona dayalı tarım nedeniyle eşek populasyonlarında çarpıcı bir düşüş yaşandığının belirtildiği İtalya'da, nesli tükenmekte olan sekiz eşek ırkının üçünün Sicilya'nın (Ragusano, Pantesco, Grigio Siciliano) yerli ırkları olduğu SAVE Monitoring Enstitüsü tarafından bildirilmiştir. Bu önemi sebebiyle koruma çalışmaları kapsamında Guastella ve ark. (2007), tarafından genetik çeşitliliğin dağılımı ve ırklar arasındaki ilişki araştırılmıştır. Sicilya genelinde sekiz sürüden toplanan toplam 116 adet bireyde (61 Ragusano, 39 Pantesco, 16 Grigio Siciliano) 11 adet mikrosatellit lokusu çalışılmıştır. Tüm mikrosatellit lokuslarının polimorfik bulunduğu ve toplam 76 allel tespit edildiği bildirilmiştir. Gözlenen allellerin sayısının, Ragusano'da 72 (lokus başına 6,55), Grigio'da 55 (lokus başına 5) ve Pantesco'da 45 (lokus başına 4,09) olduğu ifade edilmiştir. Ayrıca populasyonların genetik denge içerisinde olmadığı ve tüm populasyonlarda ortalama beklenen heterozigotluk değerinin (H_e) 0,612 olarak hesaplandığı belirtilmiştir. NJ, UPGMA dendrogramlarının, kümeleme analizleri sonuçları değerlendirildiğinde nesli tükenmekte olan Pantesco ırkının daha yüksek genetik farklılık gösterdiği belirlenmiş ve Ragusano ve Grigio'nun, muhtemelen ortak kökenden dolayı yakın ilişkili ($Da = 0,058$) bulunduğu bildirilmiştir.

Hindistan'ın Andra Pradeş eyaletinde, içerisinde kahverengi tip eşeğin yaygın bulunduğu populasyonda görülen %74'lük azalma dikkat çekici bulunmuş, bu nedenle korumaya yönelik çalışmalar yapılmak üzere bir araştırma yürütülmüştür (Behl ve ark. 2017a). Araştırmada Kurnool bölgesinden toplanan 28 birey ile 12 adet mikrosatellit lokusu çalışılmış ve etkili allel sayısının 1,62 (VHL209) ile 7,91 (AHT5) (ortalaması $4,21 \pm 2,069$) olarak hesaplandığı, gözlenen heterozigotluk değerinin ise 0,32 (HMS2) ile 0,92 (AHT5)

(ortalaması $0,57 \pm 0,2$) olarak hesaplandığı bildirilmiştir. Ortalama genetik çeşitlilik tahmini (F_{IS}) 0,21 olarak hesaplanmış ve bu değer orta derecede yüksek akrabalık seviyelerini gösteren bir değer olduğu ifade edilmiştir (Behl ve ark. 2017a).

Spiti eşekleri, Himalaya bölgesinin Spiti, Yangthang, Lahaul ve Kinnour kısımlarının, ortalama deniz seviyesinden 3000-4300 metre yüksekliğine kadar dağılım göstermektedir (Behl ve ark. 2017b). Himaçhal Pradeş eyaletinin Spiti ve Yangthang bölgelerinde dağılım gösteren Spiti eşekleri ile yapılan bir diğer çalışmada mikrosatellit belirteçleri kullanılarak bu eşeklerin genetik bir darboğazdan geçip geçemedikleri araştırılmıştır. Toplanan 46 örnek üzerinde 12 adet mikrosatellit lokusu ile çalışılmış ve her lokus için gözlenen allel sayılarının 4 (VHL20, HTG6) ile 10 (HTG7), ortalama $6,33 \pm 1,72$ olarak, etkili allel sayısının ise 2,03 (VHL209) ile 4,84 (HTG7), ortalama $3,35 \pm 0,94$ olarak hesaplandığı bildirilmiştir. Gözlenen heterozigotluk değerinin 0,48 (NVHEQ54) ile 0,89 (HTG7), ortalama $0,72 \pm 0,13$ ve beklenen heterozigotluk değerinin 0,51 (VHL209) ile 0,80 (HTG7 ve AHT4), ortalama $0,69 \pm 0,09$ olarak hesaplandığı belirtilmiştir. İncelenen lokuslarda gözlenen allel sayılarının ve heterozigotluk değerlerinin, Spiti eşeklerinde oldukça yüksek genetik varyasyon varlığının göstergesi olduğu ifade edilmiştir (Behl ve ark. 2017b).

Spiti eşeklerinde Sharma ve ark. (2017) tarafından yapılan bir başka çalışmada ise Hindistan'ın eşek popülasyonlarının genetik çeşitliliğinin halen keşfedilmemiş olduğuna dikkat çekilmiştir. Bu çalışmada, Rajasthan eyaletinin seksen bini aşkın eşek popülasyonu barındırdığını ifade etmişler ve bu popülasyonların genetik çeşitliliğinin, dayanıklılığının, devamlılığının korunabilmesi için bu popülasyondaki mevcut çeşitliliğin sistematik ve bilimsel olarak değerlendirilmesi gerektiğini vurgulanmıştır. Rajasthan eşek popülasyonlarının genetik çeşitliliği 20 adet mikrosatellit belirteci kullanılarak araştırılmıştır. Bu popülasyonun yüksek genetik çeşitliliğe sahip olduğu, lokuslarda gözlenen allel sayıları (ortalama $8,16 \pm 0,89$) ve ortalama gözlenen heterozigotluk ($0,688 \pm 0,06$) değerleri ile kanıtlandığı ifade edilmiştir. Ayrıca Rajasthan eşek popülasyonununun geçmişte (son 40-50 kuşak) bir genetik darboğazdan geçmediği belirtilmiştir.

Yukarıda özetleri verilen literatür çalışmaları hakkındaki bilgiler genel hatları ile Çizelge 2.2'de verilmektedir.

Çizelge 2.2. Farklı eşek (*Equus asinus*) ırkları ile yapılmış genetik çalışmalar ve elde edilen genetik veriler

ÜLKE	IRK (BİREY SAYISI)	LOKUS SAYISI	TOPLAM ALLEL SAYISI	H ₀ *	H _e *	KAYNAK
Çin, Mısır, İspanya ve Peru	395 (Erkek)	14 lokus (Y-STR)	21 haplotip	-	-	Han ve ark. 2017
Hindistan	28	12 lokus	72 allel	0,57 ± 0,2	0,72 ± 0,14	Behl ve ark. 2017b
Hindistan	46	12 lokus	76 allel	0,72 ± 0,13	0,69 ± 0,09	Behl ve ark. 2017a
Çin	35 Guanzhong 36 Jinnan 27 Guangling 25 Dezhou 30 Huabei (153)	15 lokus	132 allel	0,56	0,70	Di ve ark. 2017
Hindistan	50 Spiti	20 lokus	155 allel	0,688 ± 0,06	0,675 ± 0,04	Sharma ve ark. 2017
Çin	415 (10 farklı bölgeden)	10 lokus	80 allel	0,8238	0,8072	Zhang ve ark. 2016
Amerika Avrupa	Amerikan eşeği 13 farklı ülke(350)	14 lokus	98 allel	0,512-0,225	0,569-0,245	Jordana ve ark. 2015
Kuzey Doğu Afrika (KDA) YakınDoğu (YD) Arap Yarımadası (AY)	129 (8 farklı populasyon)	15 lokus	120 allel	KDA 0,579 ± 0,055 YD 0,564 ± 0,052 AY 0,613 ± 0,048	KDA 0,631 ± 0,055 YD 0,658 ± 0,047 AY 0,656 ± 0,041	Rosenbom ve ark. 2014
İtalya	135 50 Amiata eşeği 85 Viterbese eşeği	16 lokus	92 allel	Amiata eşeği 0,578 ± 0,155 Viterbese eşeği 0,607 ± 0,162	Amiata eşeği 0,602 ± 0,165 Viterbese eşeği 0,607 ± 0,163	Matassino ve ark. 2014
İtalya	258 (8 farklı İtalyan eşek ırkı)	16 lokus	126 allel	0,438	0,558	Colli ve ark. 2012
İtalya	108 (3 farklı eşek ırkı Pantesco, Ragusano, Grigio Siciliano)	14 lokus	85 allel	Ragusano 0,496 Pantesco 0,385 Grigio S. 0,496	Ragusano 0,579 Pantesco 0,471 GrigioS. 0,589	Bordonaro ve ark. 2011
İtalya	50 Amiata eşeği	18 lokus	101 allel	0,579	0,609	Ciampolini ve ark. 2007
İtalya	116 (61 Ragusano, 39 Pantesco, 16 Grigio Siciliano)	11 lokus	76 allel	-	0,612	Guastella ve ark. 2007

Çizelge 2.2. devam

İsviçre	Afrika ve asya yaban eşekleri ile Asya yaban atı ve (Afrika) zebra (120)	31 lokus	Ortalama 3,6 allel	0,48	-	Krüger ve ark. 2005
Hırvatistan	23 (IS) Istrian 25 (NA)North Adriatic 27(LD)Littoral-Dinaric	8 lokus	44 allel	0,37-0,85	IS 0,66 NA 0,68 LD 0,70	Ivankovic ve ark. 2002
Fransa	Baudet du Poitou eşeği (20)	13 lokus	46 allel	0,20-0,68	-	Schelling ve ark. 2002
İspanya	5 farklı İspanyol eşek ırkı (513)	13 lokus	115 allel	0,546 ± 0,060	0,654 ± 0,048	Aranguren-Mendez ve ark. 2001
İspanya	Katalan eşek ırkı (111)	10 lokus	77 allel	0,602 ± 0,043	0,712 ± 0,038	Jordana ve ark. 2001
İspanya	Katalan eşek ırkı (98)	12 lokus	17 allel	0,512 ± 0,225	0,569 ± 0,245	Jordana ve ark. 1999

*H_o gözlenen heterozigotluk, H_e beklenen heterozigotluk, ± standart hata

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Örnekleme Yapılan Eşek (*Equus asinus*) Populasyonları

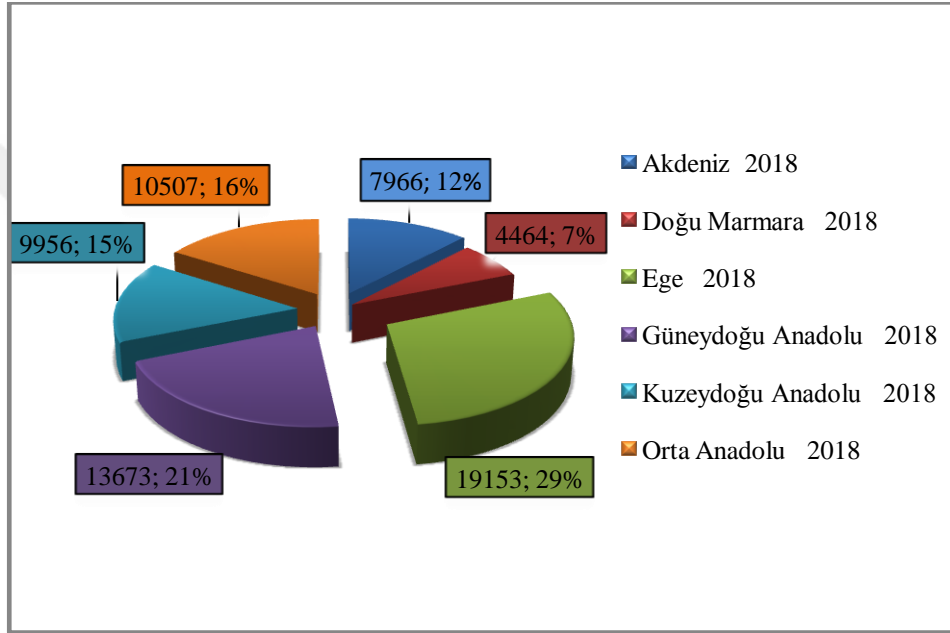
Bu tez çalışmasında, TÜBİTAK tarafından desteklenen 1001 Araştırma Projesi (TOVAG- 2150555 nolu proje) kapsamında 16 ilden (Kırklareli, İstanbul-Çatalca, Tekirdağ-Malkara, Amasya-Merzifon, Tokat, Kastamonu, Kütahya, Konya, Isparta, Antalya, Aydın, Muğla, Kars, Mardin, Şanlıurfa, Kahramanmaraş) örnekleme yapılmıştır. Bu amaçla söz konusu illerin farklı bölgelerindeki eşek (*Equus asinus*) populasyonlarından toplam 314 adet kan örneği toplanmıştır. Her bireyden yaklaşık 10 ml olacak şekilde kan örnekleri, K3-EDTA'lı (Ethylenediaminotetra acetic acid) kan tüplerine alınıp laboratuvara soğuk zincirde getirilmiş ve DNA izolasyonuna kadar +4C'de muhafaza edilmiştir. Her bir ile ait örnek sayısı ve olası ırklar Çizelge 3.1.'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Örnek alınan iller, örnek sayısı ve olası ırklar

Olası Irklar	İller	Örnek Sayısı
Karakaçan	Kırklareli	30
Karakaçan	İstanbul-Çatalca	20
Karakaçan	Tekirdağ-Malkara	10
Merzifon	Amasya-Merzifon	30
Merzifon	Tokat	10
Merzifon	Kastamonu	10
Orta Anadolu	Kütahya	10
Orta Anadolu	Konya	15
Orta Anadolu	Isparta	10
Orta Anadolu	Aydın	19
Orta Anadolu	Muğla	6
Orta Anadolu	Kahramanmaraş	14
Toros	Antalya	30
Kars Yorga	Kars	30
Mardin Beyaz	Mardin	40
Urfa Rahvan	Şanlıurfa	30
Toplam		314

3.2 Arazi Çalışmaları ve Örnek Toplama

Türkiye coğrafyasında var olduğu bildirilen yerli eşek ırklarının (Orta Anadolu eşiği, Merzifon eşiği, Karakaçan eşiği vb.) bulunması amacıyla az sayıdaki eşek çiftliklerinde ve TÜİK Hayvancılık İstatistikleri Veri Tabanına göre eşek sayısının fazla olduğu bölgelerde (Şekil 3.1) yetiştirici elinde var olan eşeklerden kan örnekleri alınmıştır (Şekil 3.2). Örnek sayısının belirlenmesinde istatistik analizlerde yeterli sayıda birey tespit edilip bu sayıda örnek ile çalışma popülasyonu oluşturulmuştur.



Şekil 3.1. TÜİK Hayvancılık İstatistikleri Veri Tabanına göre eşek popülasyonlarının bölgeler düzeyinde dağılımı (Anonim 2018b)



Şekil 3.2. Arazi çalışmaları ve örnek toplama

3.3 Genomik DNA İzolasyonu

Arazi çalışmalarında toplanan vakumlu K3 EDTA'lı tüplerdeki kan örnekleri, analiz edilene kadar +4°C'de muhafaza edilmiştir. DNA izolasyonunun, kalite ve miktar açısından iyi yapılabilmesi için fenol kloroform ekstraksiyon yöntemi uygulanmıştır. Sambrook ve ark. (1989)'nın bildirdiği yöntem değiştirilerek, 15 ml'lik santrifüj tüplerine 4 ml kan örneği konulduktan sonra üzerine 2X Liziz tampon çözeltisi (770 mM NH₄Cl, 46 mM KHCO₃, 10 mM EDTA) eklenerek 15 ml'ye tamamlanmıştır. Tüpler ters düz edilerek rotatörde 15 dakika (dk) karıştırıldıktan sonra gece boyunca buz içerisinde +4°C'de bekletilmiştir. Ertesi gün buzdan alınan tüpler 10-15 dk rotatörde karıştırılmıştır. Daha sonra 3000 rpm'de +4°C'de 15 dk santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası tüpün üst (süpernatant) fazı dökülmüş ve tüpteki pellet üzerine 1,5 ml Salt/EDTA (75 mM NaCl, 25 mM EDTA) solüsyonu eklenip vortekste iyice karıştırılıp, pelletin iyice parçalanması sağlanmıştır. Daha sonra üzerine 150 µl %10 SDS ve 50 µl Proteinaz K (20 mg/mL) eklenerek etüvde 55°C'de yaklaşık 3 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda alınan tüplerin üzerine 1,5 ml fenol (pH 8) eklenmiştir. Tüpler 10 dk vortekslelendikten sonra 15 dk rotatörde karıştırılmıştır. Karıştırıldıktan sonra 3000 rpm +4°C'de 15 dk santrifüj edilip üst faz kısmı yeni steril santrifüj tüplerine alınmıştır. Üzerine 1,5 ml fenol: kloroform: izoamilalkol (25:24:1) eklenerek tüpler tekrar 10 dk vortekslenip daha sonra 15 dk rotatörde karıştırılmıştır. Daha sonra tüpler 3000 rpm'de +4°C'de 15 dk santrifüj edilmiştir. Oluşan yeni üst faz (süpernatant) cam tüplere alınıp üzerine soğuk haldeki (-20°C) %96'lık etanol ve 1/10 hacimde 3M sodyum asetat (pH 9,5) eklenerek DNA pelleti görünür hale getirilmiştir. Görünür hale gelen DNA pelleti kesik pipet ucu yardımı ile çekilerek 1,5 ml'lik santrifüj tüpü içerisine aktarılmıştır ve gece boyu -20°C'de bekletilmiştir. Ertesi gün -20°C'de bekletilen tüpler, 10000 rpm'de 10 dk +4°C'de santrifüj edilmiştir. Üstteki alkol döküldükten sonra pellete %70'lik etanol eklenip 10000 rpm'de 10 dk +4°C'de santrifüj edilmiştir. Üstteki alkol tekrar döküldükten sonra pellet kurutulup 0,5 ml TE tampon çözeltisi (10 mM Tris pH 8, 1 mM EDTA) ile sulandırılıp, 37°C'de 30 dk çözdürülüp +4°C'de muhafaza edilmiştir (Sambrook ve ark. 1989).

Genomik DNA izolasyonu ana hatlarıyla şöyle uygulanmıştır:

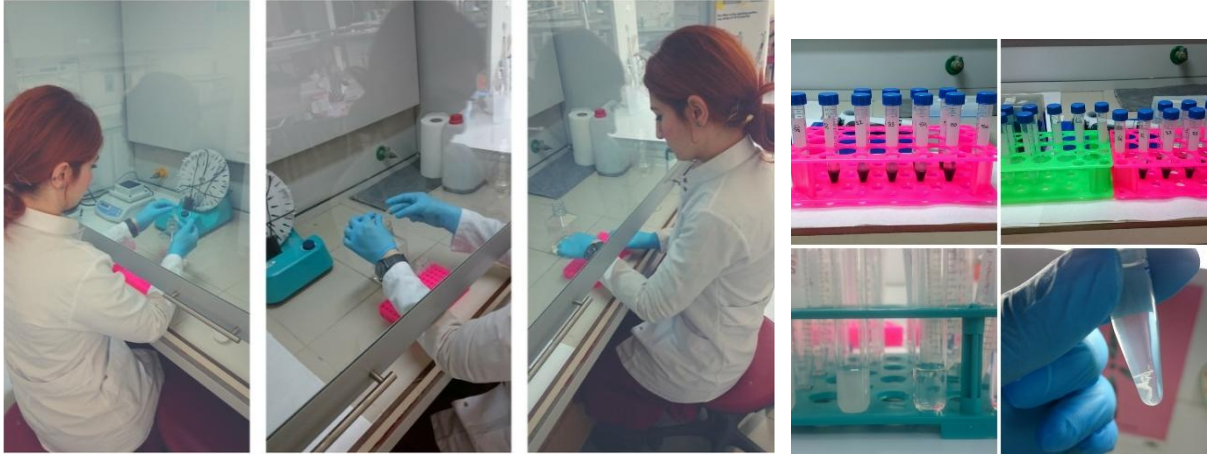
- 1) Soğuk liziz tampon çözeltisi eklenmiş olan kan örneklerinin gece boyu buz içinde inkübasyonu, hücre duvarının parçalanması, eritrositlerin patlatılması (Şekil 3.3)
- 2) İnkübasyon işlemi biten kan örneklerinin santrifüj edilip süpernatant fazın dökülmesi ve oluşan pelletin (lökosit) enzimatik liziz aşaması için %10'luk SDS, Salt/EDTA, Proteinaz

K eklenerek 55°C'de etüvde yaklaşık 3 saat inkübasyona bırakılması, DNA-protein kompleksinin açılması.

- 3) İnkübasyon işlemi biten örneklerin fenol ve fenol: kloroform: izoamil alkol (25:24:1) yöntemi kullanarak faz ayrımının yapılması, DNA'nın ortamdaki diğer moleküllerden ayrılması (Şekil 3.4).
- 4) Oluşan yeni üst faz (süpernatant kısmı) cam tüplere alınıp üzerine soğuk haldeki (-20°C) % 96'lık etanol ve 1/10 V 3M sodyum asetat (pH 9,5) eklenerek DNA pelletinin görünür hale getirilmesi, DNA'nın çöktürülmesi.
- 5) Santrifüj edilip üstteki alkol döküldükten sonra pellete %70'lik etanol eklenip 10000 rpm'de 10 dk +4°C'de santrifüj ederek DNA'nın yıkanma aşaması.
- 6) Üstteki alkol döküldükten sonra pelletin kurutulup TE tampon çözeltisi ile sulandırılıp, çözündürülmesi.
- 7) DNA'ların -20°C'de analiz edilene kadar muhafaza edilmesi.



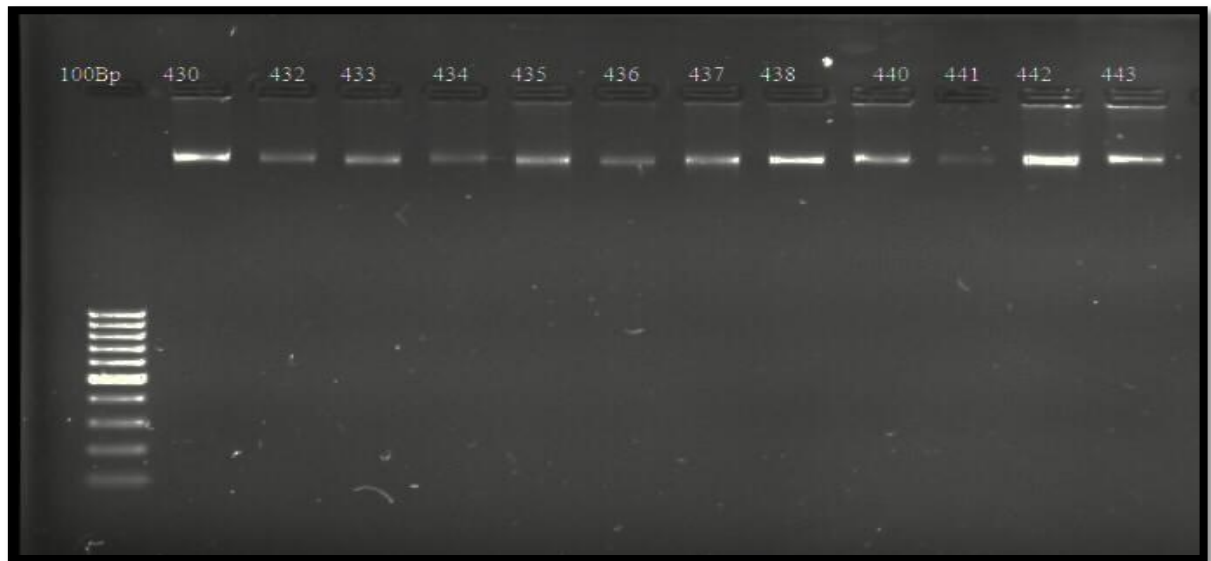
Şekil 3.3. Kan örneklerinin lizis aşamasına hazırlanması



Şekil 3.4. Fenol kloroform izoamilalkol ekstraksiyon aşamaları

3.4 İzole Edilen DNA Örneklerinin Agaroz Jel Elektrofrezinde Görüntülenmesi

İzole edilen DNA'ların kalitesini kontrol etmek ve sulandırma (dilüsyon) oranına karar vermek amacıyla, izole edilen her bir örneği 5 µl DNA ve 1 µl yükleme boyası (loading dye) olacak şekilde hazırlayıp %1'lik agaroz jel elektrofrezinde kontrol edilmiştir. Bu aşamada RedSafe Nucleic Acid Staining Solution içeren %1'lik agaroz jel, 1X TBE tamponu ile hazırlanmış ve her bir örnek kuyulara 5 µl DNA ve 1 µl yükleme boyası olacak şekilde yüklenmiştir. Agaroz jel 100 Voltta 20 dk yürütülmüş ve elektrofrez işleminin bitiminden sonra jel UV ışığı altında görüntülenmiştir (Gel Imaging System Vilber Lourmat Quantum ST5) (Şekil 3.5).



Şekil 3.5. *E. asinus* populasyonlarına ait bireylerden izole edilen genomik DNA'ların %1'lik agaroz jel elektrofrezindeki görüntüleri

3.5 Mikrosatellit Primerlerinin Belirlenmesi, Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

Çalışmada kullanılmak üzere çeşitli literatür çalışmaları yapılmış ve FAO (2011)'e göre eşek ve atlarda yaygın olarak kullanıldığı bildirilen bazı mikrosatellit lokusları tespit edilmiştir (HMS07, ASB17, ASB23, HTG07, COR058, HMS02, AHT05, HMS03, COR007, LEX73, HTG06, VHL209, ASB02, HMS20, COR022, HTG10, COR018, COR071, COR082, LEX54). Bu primerler ait bilgiler Çizelge 3.2'de verilmiştir.

Çizelge 3.2. Çalışmada kullanılan mikrosatellit primerlerine ait bilgiler

Primer	Kromozom	Primerler / Floresan boya	T _M (°C)	Allel Büyüklüğü	Tekrar Motifi	Kaynak
HMS07	1	F: 5'-FAM-CAGGAACTCATGT TGATACCATC-3' R: 5'-TGTTGTTGAAACATACCT TGACTGT-3'	58	165-183	(AC) ₂ (CA) _n	Guérin ve ark. 1994
ASB17	2	F: 5'-PET-GAGGGCGGTACCTTT GTACC-3' R: 5'-ACCAGTCAGGATCTCCACC G-3'	58	91-109	(AC) _n	Breen ve ark. 1997
ASB23	3	F: 5'-NED-GAGGTTTGTAAATTGG AATG-3' R: 5'-GAGAAGTCATTTTAAACAC CT-3'	58	128-154	(TG) _n (TG) nTT(TG) ₄	Irvin ve ark. 1998
HTG07	4	F: 5'-PET-CCTGAAGCAGAACAT CCCTCCTTG-3' R: 5'-ATAAAGTGCTGGGCAGA GCTGCT-3'	58	272-297	(GT) _n	Marklund ve ark. 1994
AHT05	8	F: 5'-PET-ACGGACACATCCCTG CCTGC-3' R: 5'-GCAGGCTAAGGGGGCTCA GC-3'	58	130-146	(GT) _n	Binns ve ark. 1995
HMS03	9	F: 5'-NED-CCAACCTTTGTACAC ATAACAAGA-3' R: 5'-CCATCCTCACTTTTCACT TTGTT-3'	58	150-170	(TG) ₂ (CA) ₂ TC(CA) _n (T G) ₂ (CA) ₂ T C(CA) _n GA(CA) ₅	Guérin ve ark. 1994
HMS02	10	F: 5'-NED-ACGGTGCAACTGCC AAGGAAG-3' R: 5'-CTTGCAAGTCGAATGTGTA TTAAATG-3'	58	218-238	(CA) _n (TC) ₂	Guérin ve ark. 1994
COR058	12	F: 5'-VIC-GGGAAGGACGATGAG TGAC-3' R: 5'-CACCAGGCTAAGTAGCCAA AG-3'	56	210-230	i(TG) ₂₃	Ruth ve ark. 1999
VHL209	14	F: 5'-FAM-TCTTACATCCTTCCA TTACAATA-3' R: 5'-TGATACATATGTACGTGAA AGGAT-3'	56	84-96	(AC) ₁₇	Van Haeringen ve ark. 1998
ASB02	15	F: 5'-FAM-CCTTCCGTAGTTTAA GCTTCTG-3' R: 5'-CACAACTGAGTTCTCTGAT AGG-3'	54	222-254	(GT) ₂₄	Breen ve ark. 1997

Çizelge 3.2. devamı

HMS20	16	F: 5'-VIC-TGGGAGAGGTACCTG AAATGTAC-3' R: 5'-GTTGCTATAAAAAATTGT CTCCCTAC-3'	58	116-140	-	-
COR007	17	F: 5'-PET-GTGTGGATGAAGCG AATGA-3' R: 5'-GACTTGCCTGGCTTTGAG TC-3'	56	156-170	(GT) ₁₈	Hopman ve ark. 1999
LEX54	18	F: 5'-FAM-TGCATGAGCCAATTC CTTAT-3' R: 5'-TGGACAGATGACAGCAGT TC-3'	55	165-177	(AC) ₁₈	Coog ve Bailey 1997
LEX73	19	F: 5'-FAM-CCCTAGAGCCATCTC TTTACA-3' R: 5'-CAGATCCAGACTCAGGAC AG-3'	54	234-264	-	Bailey ve ark. 2000
HTG06	15	F: 5'-FAM-CCTGCTTGGAGGCTG TGATAAGAT-3' R: 5'-GTTCACTGAATGTCAAAT TCTGCT-3'	58	84-106	(TG) _n	Ellegren ve ark. 1992
HTG10	21	F: 5'-VIC-CAATCCCGCCCCAC CCCCGGCA-3' R: 5'-TTTTATTCTGATCTGTCA CATT-3'	54	93-113	(TG) _n /TAT C(TG) _n	Marklund ve ark. 1994
COR022	22	F: 5'-VIC-AAGACGTGATGGGAA ATCAA-3' R: 5'-AGAAAGTTTTCAAATGTG CCA-3'	56	254-264	(GT) ₁₄	Murphie ve ark. 1999
COR018	25	F: 5'-FAM-AGTCTGGCAATATTG AGGATGT-3' R: 5'-AGCAGCTACCCTTTGAAT ACTG-3'	56	249-271	İ(CA) ₁₈	Hopman ve ark. 1999
COR071	26	F: 5'-PET-CTTGGGCTACAACAG GGAATA-3' R: 5'-CTGCTATTTCAAACACTTG GA-3'	56	190-202	İ(TG) ₁₇ /İ(A G) ₁₈	Tallmadge ve ark. 1999
COR082	29	F: 5'-NED-GCTTTTGTTCCTCAA TCCTAGC-3' R: 5'-TGAAGTCAAATCCCTGCT TC-3'	58	192-226	(AG) _n	Tallmadge ve ark. 1999

Çalışılacak primerlerin seçiminde, polimorfizm seviyesinin yüksek olması, allel sayıları ve uzunlukları, farklı kromozom üzerinde yer almaları, heterozigotluk seviyelerinin yüksekliği gibi parametreler göz önünde bulundurulmuştur. Belirlenen primerler ile PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) analizi yapılmıştır. PCR analizi sonrasında DNA parça (fragment) analizi yapılacağı için, tüm ileri (forward) primerler, uygun floresan boya (PET, NED, VIC ve FAM) ile işaretli olarak sentezletirilmiştir. Primerler ile çoğaltılacak bölgelerin baz uzunluğu ve floresan boya çeşidi dikkate alınarak 20 adet mikrosatellit primeri, 5 PCR analiz grubu içinde çalışılmıştır ve bu primerler birlikte ele alınan gruplar dahilinde DNA

parça (fragment) analizine okumaya gönderilmiştir. Primerlere ait detaylı bilgiler Çizelge 3.2' de, PCR analiz grupları ise Çizelge 3.3'de verilmiştir.

Çalışma kapsamında belirlenen primerler ile literatür taramaları sonucu elde edilen bilgiler doğrultusunda PCR bileşenleri ve döngüleri laboratuvar koşullarına uygun olarak optimize edilmiştir. 20 adet mikrosatellit primeri için oluşturulan analiz grupları ve çoğaltılan mikrosatellit lokuslarının allel aralıkları bç olarak Çizelge 3.3'de verilmiştir.

Beş ayrı PCR analiz grubundaki primerler için belirlenen PCR reaksiyon bileşenleri ve PCR koşulları Çizelge 3.4 ile 3.9 arasında verilmiştir. PCR optimizasyonu için farklı DNA miktarları, farklı primer, MgCl₂ (1,25 mM, 1,50 mM ve 2,00 mM) konsantrasyonları, dNTP (0,2 mM, 0,3 mM), ve *Taq* DNA polimeraz (0,5-1U) konsantrasyonları denenmiş ve optimum reaksiyon koşulları belirlenmiştir.

Çizelge 3.3. PCR analiz grupları

PCR Analiz Grubu 1		PCR Analiz Grubu 2			
Lokuslar	Allel Aralıkları (bç)	Lokuslar	Allel Aralıkları (bç)		
HMS07	168-178	HMS03	157-169		
ASB17	91	VHL209	80-90		
ASB23	159-167	ASB02	157-161		
HMS02	225-239	HMS20	115-131		
COR058	192-206	COR007	165-175		
PCR Analiz Grubu 3		PCR Analiz Grubu 4		PCR Analiz Grubu 5	
Lokuslar	Allel Aralıkları (bç)	Lokuslar	Allel Aralıkları (bç)	Lokuslar	Allel Aralıkları (bç)
HTG07	136-158	COR018	250-276	AHT05	130-158
LEX73	229-237	COR071	185-207		
HTG10	84-104	COR082	216-226	LEX54	166-192
COR022	249	HTG06	78-84		

Çizelge 3.4. PCR analiz grubu 1 için PCR reaksiyon bileşenleri ve PCR koşulları

PCR Bileşenleri	PCR Analiz Grubu 1 Son Konsantrasyon	PCR Döngüsü	
DNA	50-75 ng	95°C	5 dk
10X PCR Buffer	1 X	95°C 1 dk 60°C 1 dk 72°C 1 dk 72°C 5 dk	} 35 döngü
MgCl ₂	1,5 mM		
dNTPs	0,2 mM		
Primer İleri (F)	0,050 pmol		
Primer Geri (R)	0,050 pmol		
Taq DNA Polimeraz	1 U		

Çizelge 3.5. PCR analiz grubu 2 için PCR reaksiyon bileşenleri ve PCR koşulları

PCR Bileşenleri	PCR Analiz Grubu 2 Son Konsantrasyon				PCR Döngüsü	
	HMS03 VHL209	ASB02	HMS20	COR007		
DNA	50-75 ng	50-75 ng	50-75 ng	50-75 ng	95°C	5 dk
10X PCR Buffer	1 X	1 X	1 X	1 X	95°C 1 dk 58°C 1 dk 72°C 1 dk 72°C 5 dk	} 35 döngü
MgCl ₂	2,0 mM	1,5 mM	2,5 mM	1,25 mM		
dNTPs	0,2 mM	0,2 mM	0,2 mM	0,2 mM		
Primer İleri (F)	0,050 pmol	0,050 pmol	0,050 pmol	0,050 pmol		
Primer Geri (R)	0,050 pmol	0,050 pmol	0,050 pmol	0,050 pmol		
Taq DNA Polimeraz	1 U	1 U	1 U	1 U		

PCR analiz grubu 2’de yer alan primerler için tüm reaksiyon bileşenleri ve koşulları aynı olmasına rağmen MgCl₂ konsantrasyonları değişiklik göstermiştir. HMS03, VHL209 için 2mM, ASB02 için 1,5 mM, HMS20 için 2,5 mM, COR007 için 1,25 mM MgCl₂ kullanılmıştır (Çizelge 3.5).

Çizelge 3.6. PCR analiz grubu 3 için PCR reaksiyon bileşenleri

PCR Bileşenleri	PCR Analiz Grubu 3 Son Konsantrasyon	
	HTG07, COR022, LEX73	HTG10
DNA	50-75 ng	50-75 ng
10X PCR Buffer	1 X	1 X
MgCl ₂	1,5 mM	1,8 mM
dNTPs	0,2 mM	0,2 mM
Primer İleri (F)	0,050 pmol	0,050 pmol
Primer Geri (R)	0,050 pmol	0,050 pmol
Taq DNA Polimeraz	1 U	1 U

PCR analiz grubu 3’de yer alan primerler için tüm reaksiyon bileşenleri ve koşulları aynı olmasına rağmen yine MgCl₂ konsantrasyonları değişkenlik göstermiştir. HTG07, COR022, LEX73 için 1,5 mM, HTG10 primeri için 1,8 mM MgCl₂ kullanılmıştır (Çizelge 3.6). Ayrıca bu grup dahilindeki primerlerin reaksiyon döngüleri de Çizelge 3.7’de verildiği gibi uygulanmıştır.

Çizelge 3.7. PCR analiz grubu 3’e dahil olan primerlerin PCR döngüleri

PCR Döngüsü LEX73	PCR Döngüsü COR022	PCR Döngüsü HTG10	PCR Döngüsü HTG07
95°C 5 dk	94°C 5 dk	95°C 5 dk	94°C 5 dk
95°C 1 dk 55°C 30 sn 72°C 30 sn } 35 döngü	94°C 1 dk 58°C 1 dk 72°C 30 sn } 35 döngü	95°C 1 dk 57°C 1 dk 72°C 1 dk } 35 döngü	94°C 1 dk 58°C 45 sn 72°C 45 sn } 35 döngü
72°C 5 dk	72°C 20 dk	72°C 5 dk	72°C 5 dk

Çizelge 3.8. PCR analiz grubu 4 için PCR reaksiyon bileşenleri ve koşulları

PCR Bileşenleri	PCR Analiz Grubu 4 Son Konsantrasyon		PCR Döngüsü
	HTG06 COR071 COR082	COR018	
DNA	50-75 ng	50-75 ng	94°C 5 dk
10X PCR Buffer	1 X	1 X	94°C 1 dk 58-60°C 1 dk 72°C 30 sn } 35 döngü
MgCl ₂	1,5 mM	1,25 mM	
dNTPs	0,2 mM	0,2 mM	
Primer İleri (F)	0,050 pmol	0,050 pmol	
Primer Geri (R)	0,050 pmol	0,050 pmol	
Taq DNA Polimeraz	1 U	1 U	72°C 20 dk

PCR analiz grubu 4’te yer alan primerler için tüm reaksiyon bileşenleri ve koşulları aynı olmasına rağmen yine MgCl₂ konsantrasyonları değişkenlik göstermiştir. HTG06, COR071, COR082 primerleri için 1,5mM MgCl₂, COR018 primeri için 1,25 mM MgCl₂ kullanılmıştır. Bu grupta sadece HTG06 primeri için primer bağlanma sıcaklığı 60°C olarak uygulanmıştır (Çizelge 3.8).

PCR analiz grubu 5’de yer alan primerler ile ilgili bilgiler ise Çizelge 3.9’da verilmiştir.

Çizelge 3.9. PCR analiz grubu 5 için PCR reaksiyon bileşenleri ve PCR koşulları

PCR Karışımı	AHT05	PCR Döngüsü
	Son Konsantrasyon	
DNA	50-75 ng	95 C 5 dk
GC Enhancer	%5	
Primer İleri (F)	0,1 pmol	95 C 1 dk } 62 C 1 dk } 72 C 1 dk } 35 döngü
Primer Geri (R)	0,1 pmol	
Ampli Taq Gold® 360 Master Mix	1X	
		72 C 5 dk
PCR Karışımı	LEX54	PCR Döngüsü
	Son Konsantrasyon	
DNA	50-75 ng	95 C 5 dk
10X PCR Buffer	1,5 X	
MgCl ₂	1,5 mM	95 C 1 dk } 58 C 45 sn } 72 C 45 sn } 35 döngü
dNTPs	0,2 mM	
Primer İleri (F)	0,055 pmol	
Primer Geri (R)	0,055 pmol	72 C 5 dk
Taq DNA Polimeraz	1 U	

PCR reaksiyon bileşenleri hazırlanırken her bir primer için uygun DNA miktarı, 8’li 0,2 ml’lik PCR tüplerine alınmış, PCR bileşenleri ile hazırlanan karışım her tüpte son hacim 10 µl olacak şekilde DNA’ların üzerine dağıtılmıştır. PCR reaksiyonun kurulması için optimize edilen döngüler ile Applied Biosystems® ProFlex™ PCR System Thermal Cycler, Applied Biosystems® Veriti® Thermal Cycler cihazlarında çoğaltma (amplifikasyon) yapılmıştır. PCR ürünlerinin istenilen nitelikte olup olmadığını kontrol etmek amacıyla agaroz jel elektroforezi yapılmıştır. Bu aşamada; RedSafe Nucleic Acid Staining Solution, TBE (pH 8) tampon çözeltisi ve %2 agaroz içeren jel karışımı mikrodalga fırında eritilerek hazırlanmıştır. Homojen biçimde çözünen jel karışımına yeterince soğutulduktan sonra RedSafe Nucleic Acid Staining Solution eklenmiş ve uygun tarak ile kaset hazırlanarak jel dökülmüş ve polimerize olması için bir süre beklenmiştir. Elektroforez aşamasına hazır hale gelen agaroz jel kuyularına 5 µl PCR ürünü ve 1 µl yükleme boyası karıştırılarak yüklenmiştir. Elektroforez aşamasında %2’lik agaroz jel, 100 V’da yaklaşık 80-85 dk yürütülmüştür. Agaroz jeller, Görüntüleme Cihazında (Gel Imaging System Vilber Lourmat Quantum ST5) UV ışık altında görüntülenmiştir. PCR ürünlerinin allel büyüklüklerinin kontrolü ve PCR reaksiyonunun gerçekleşip gerçekleşmediğinin kontrolü, jele DNA marker

olarak yüklenen 50-100 bç'lik standart DNA ladder (Invitrogen 10416014 ve 15628019) yardımıyla yapılmıştır.

PCR ürünleri, %2'lik agaroz jellerinde kontrol edildikten sonra her bir örneğe ait PCR ürünlerinin allel büyüklüklerinin belirlenmesi için kapiller elektroforez sistemi kullanılmıştır. Tekli PCR ile optimize edilen farklı renk ve farklı allel uzunluğundaki PCR ürünleri aynı tüp içinde karıştırılarak (co-loading, multiloading) DNA parça (fragment) analizi yapılmak üzere MedSanTek Laboratuvar Malzemeleri San. ve Tic. Ltd. Şti 'ne gönderilmiş ve Applied Biosystems® 3500 Genetik Analiz Sistemi kullanılarak DNA parça analizleri hizmet alımı şeklinde gerçekleştirilmiştir. Allel büyüklükleri, GeneMapper Software 5.0 (Applied Biosystems) yazılımı kullanılarak bilgisayarda tek tek okunmuş ve sonuçlar Excel Office programına istatistik programlarda kullanılmak üzere kaydedilmiştir.

3.6 İstatistik Analizler

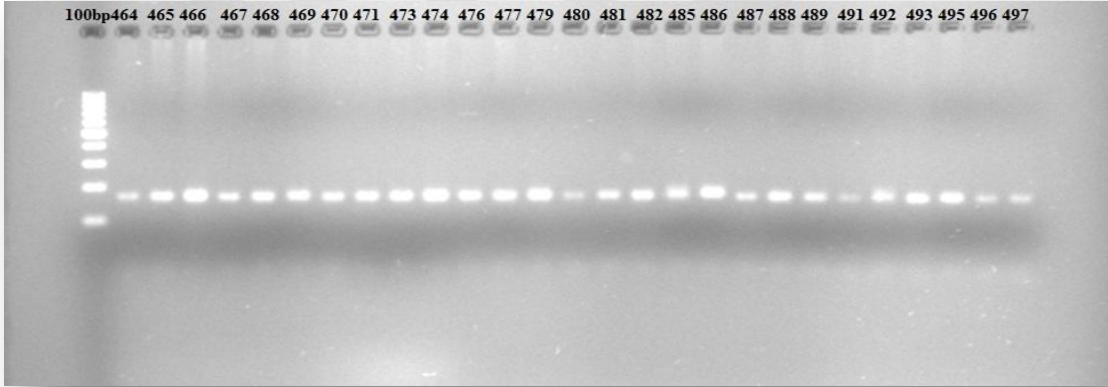
Tez çalışmasında mikrosatellit lokuslarından elde edilen veriler ile çeşitli programlar kullanılarak istatistik analizler yapılmıştır. Bu analizler çerçevesinde çalışılan lokusun polimorfik ya da monomorfik olduğu belirlenmiştir. Populasyonun genetik varyasyonunu hesaplayabilmek için polimorfik lokusların oranı ve her bir lokusun ortalama heterozigotluk değerleri hesaplanmıştır (Nei 1975). Polimorfik lokuslardan elde edilen allel frekansları GenAlEx (Version 6.5) programı ile hesaplanmıştır (Peakall ve Smouse 2006). Ayrıca aynı program ile tüm lokus ve populasyonlar için; gözlenen allel sayısı (N_a), etkili allel sayısı (N_e), populasyona özgü allel sayısı (A_p) (Private allel), beklenen heterozigotluk (H_e), gözlenen heterozigotluk (H_o) değerleri gibi genetik çeşitlilik parametreleri hesaplanmıştır. Bir populasyondaki tür çeşitliliğini karakterize etmek için yaygın olarak kullanılan Shannon Sabiti (Shannon Diversity Index) (Shannon 1948, Magurran 1988) ve Nei (1972)'ye göre genetik benzerlik ve uzaklık değerleri de aynı program çerçevesinde hesaplanmıştır. Çalışmada kullanılan mikrosatellit lokuslarının polimorfizm değerini hesaplayabilmek için Polimorfik Bilgi İçeriğinin (PIC) hesaplanmasında Cervus 3.0.7 (<http://www.fieldgenetics.com>) ve web tabanlı iki program kullanılmıştır (<https://www.genecalculators.net>) (Botstein ve ark. 1980). Moleküler varyans analizi AMOVA ise GenAlEx programıyla yapılmıştır. Tüm veriler çerçevesinde Nei (1972)'nin genetik farklılıklara bağlı olarak MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets programında Neighbor Joining algoritması kullanılarak dendrogram oluşturulmuştur (Kumar ve ark. 2016).

4. BULGULAR

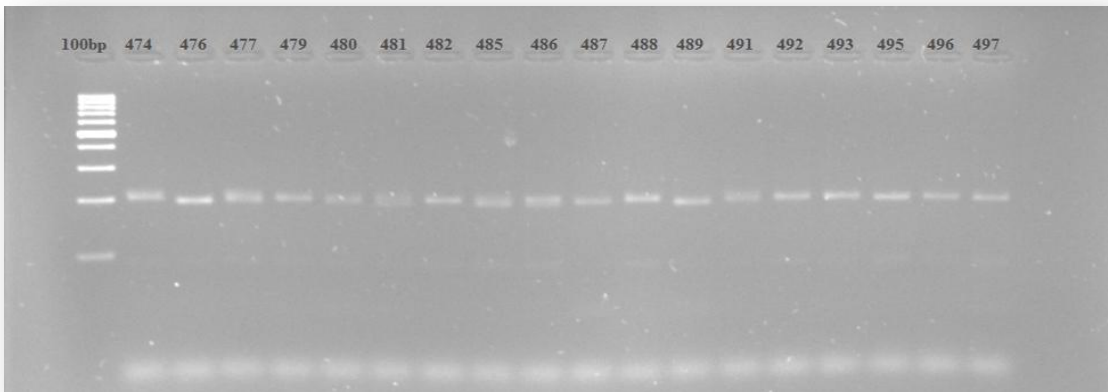
Bu tez çalışmasında 314 adet bireyde 20 farklı mikrosatellit lokusu analiz edilmiştir. Mikrosatellit primerleri ile tekli veya çoklu PCR uygulanmış, kontaminasyon olup olmadığını anlayabilmek için PCR’da DNA içermeyen negatif kontroller kullanılmış ve PCR ürünleri, %2 ‘lik agaroz jellerinde yürütülmüştür. PCR ürünlerinin uzunluklarının tahmin edilebilmesi için 50 ve 100 bç’lik DNA Ladder’lar jellere yüklenmiştir. Elektroforez işleminden sonra jeldeki bant modelleri, Jel Görüntüleme Analiz Sistemi (Vilber Lourmat Quantum) yardımıyla bilgisayar ortamına aktarılmıştır.

4.1 Çalışılan Mikrosatellit Lokuslarına ait PCR Ürünlerinin Agaroz Jel Elektroforezi Görüntüleri

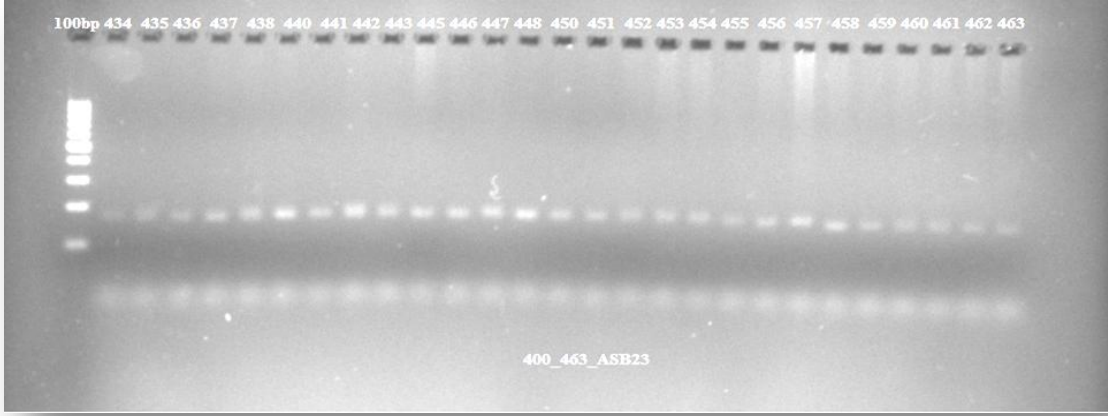
Çalışılan 20 adet mikrosatellit lokusunun %2’lik agaroz jel elektroforezinde elde edilen görüntüleri Şekil 4.1 ile 4.20 arasında verilmiştir.



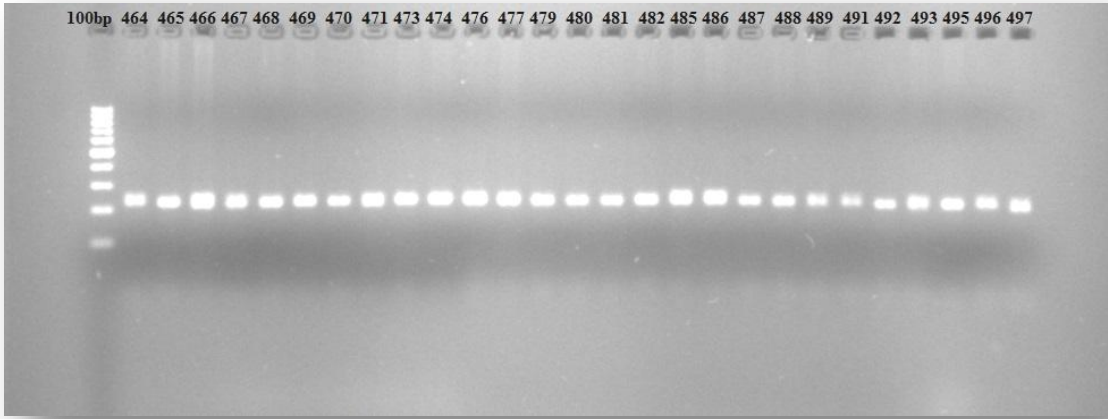
Şekil 4.1. HMS07 mikrosatellit primerleri ile elde edilen PCR ürünlerinin %2’lik agaroz jel görüntüleri



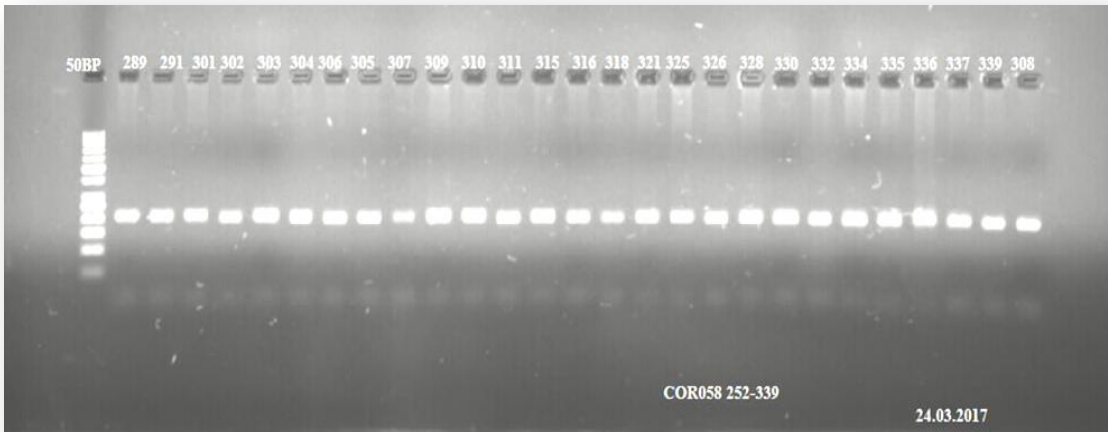
Şekil 4.2. ASB17 mikrosatellit primerleri ile elde edilen PCR ürünlerinin %2’lik agaroz jel görüntüleri



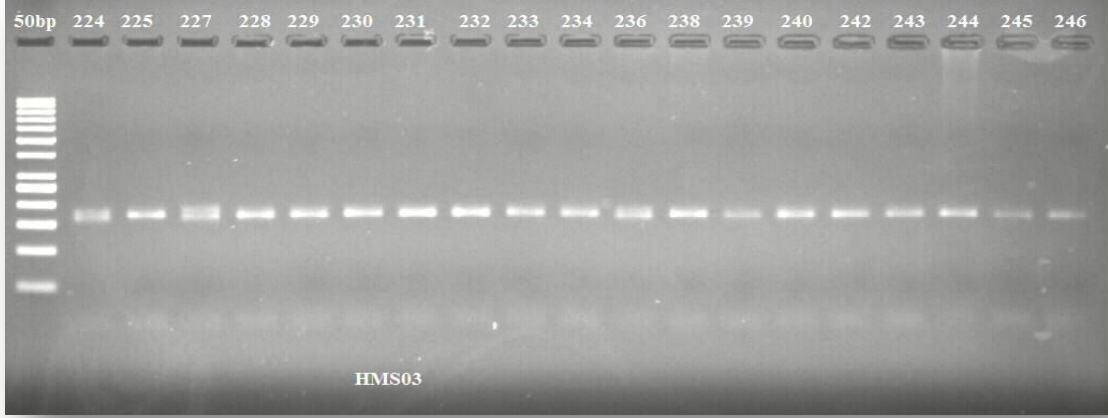
Şekil 4.3. ASB23 mikrosatellit pimerleri ile elde edilen PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jel görüntüleri



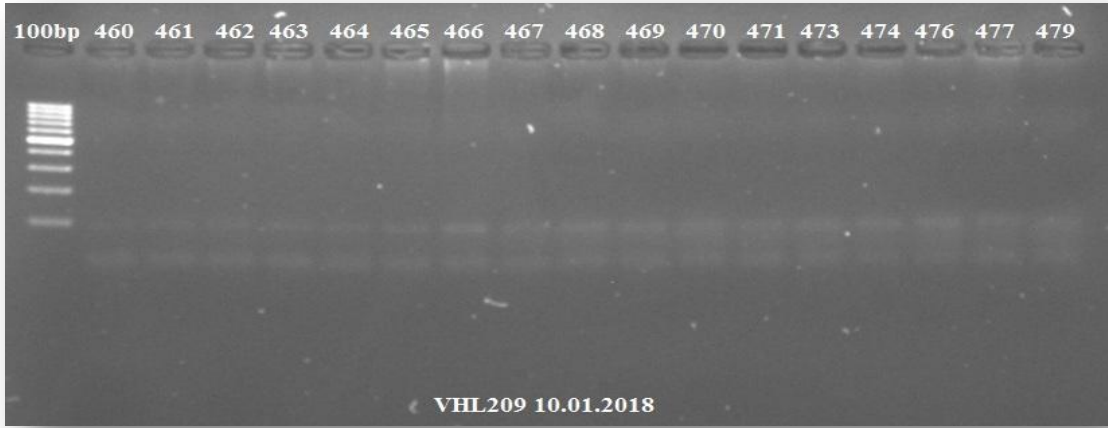
Şekil 4.4. HMS02 mikrosatellit pimerleri ile elde edilen PCR ürünlerinin %2 'lik agaroz jel görüntüleri



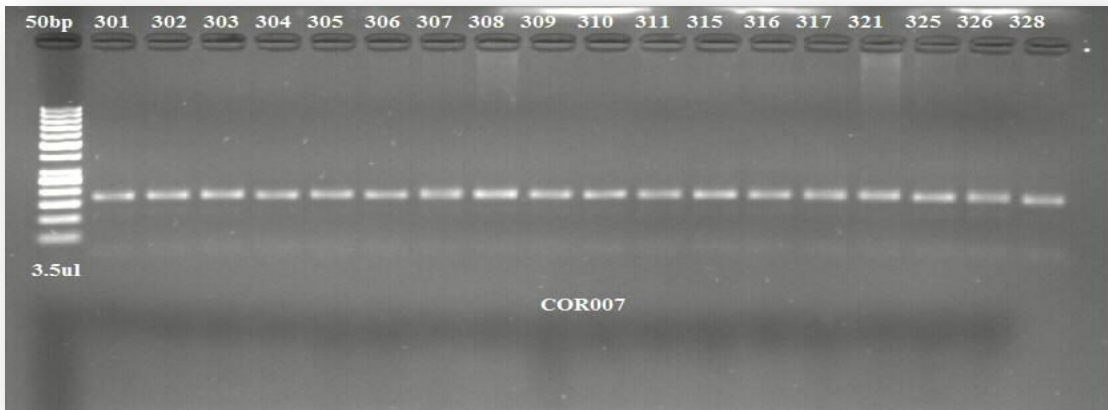
Şekil 4.5. COR058 mikrosatellit pimerleri ile elde edilen PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jel görüntüleri



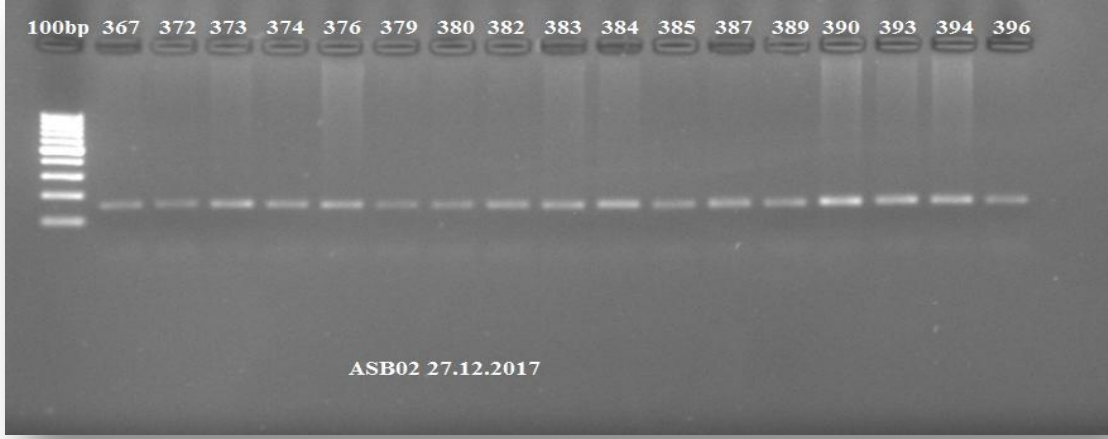
Şekil 4.6. HMS03 mikrosatellit pimerleri ile elde edilen PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jel görüntüleri



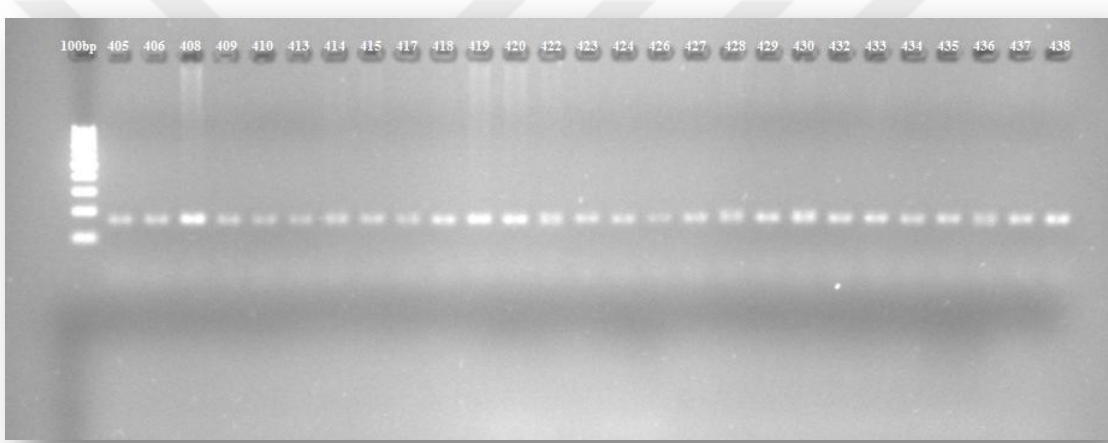
Şekil 4.7. VHL209 mikrosatellit pimerleri ile elde edilen PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jel görüntüleri



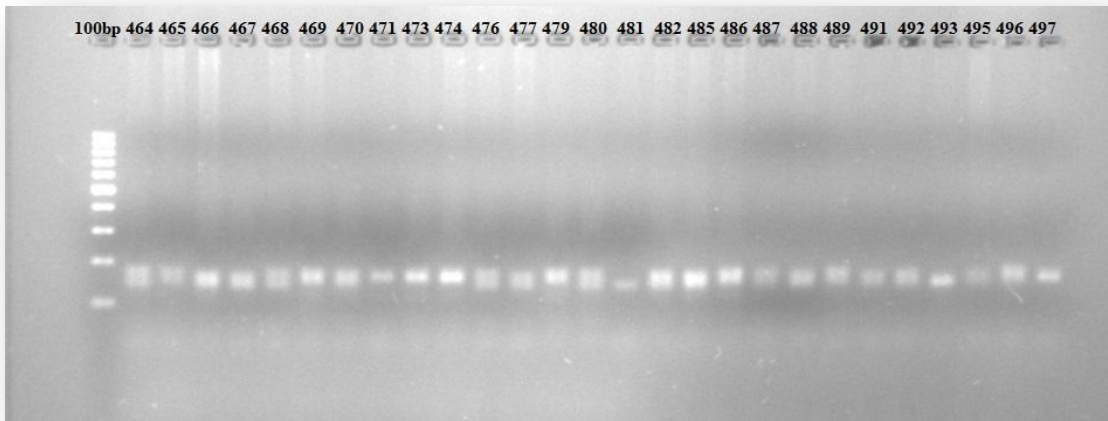
Şekil 4.8. COR007 mikrosatellit pimerleri ile elde edilen PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jel görüntüleri



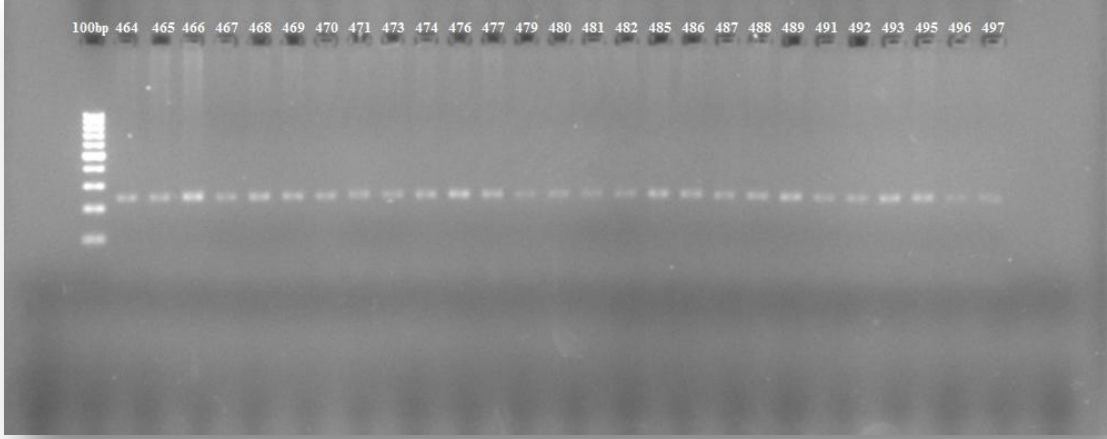
Şekil 4.9. ASB02 mikrosatellit pimerleri ile elde edilen PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jel görüntüleri



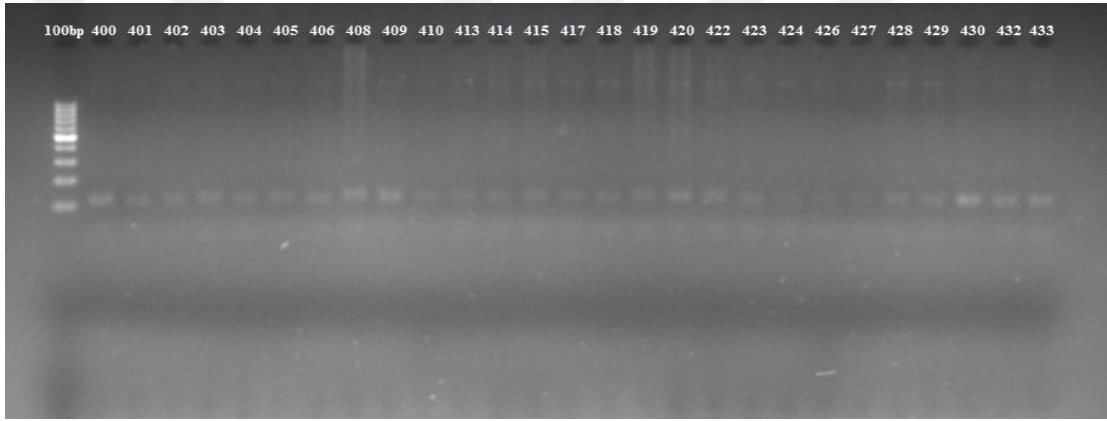
Şekil 4.10. HMS20 mikrosatellit pimerleri ile elde edilen PCR ürünlerinin%2'lik agaroz jel görüntüleri



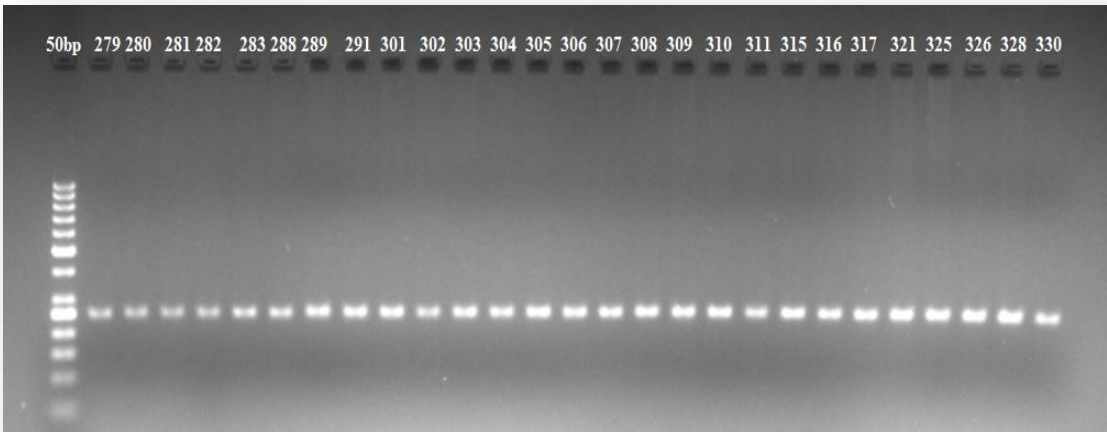
Şekil 4.11. HTG07 mikrosatellit pimerleri ile elde edilen PCR ürünlerinin%2 'lik agaroz jel görüntüleri



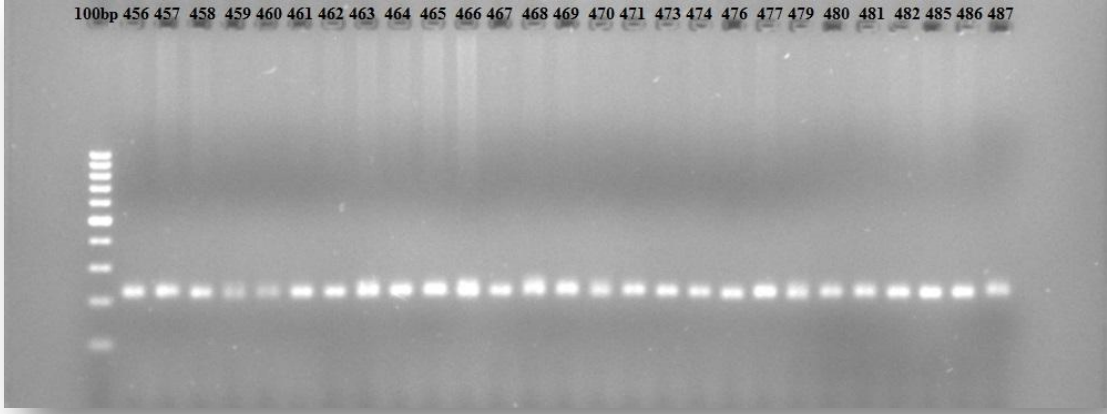
Şekil 4.12. LEX73 mikrosatellit pimerleri ile elde edilen PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jel görüntüleri



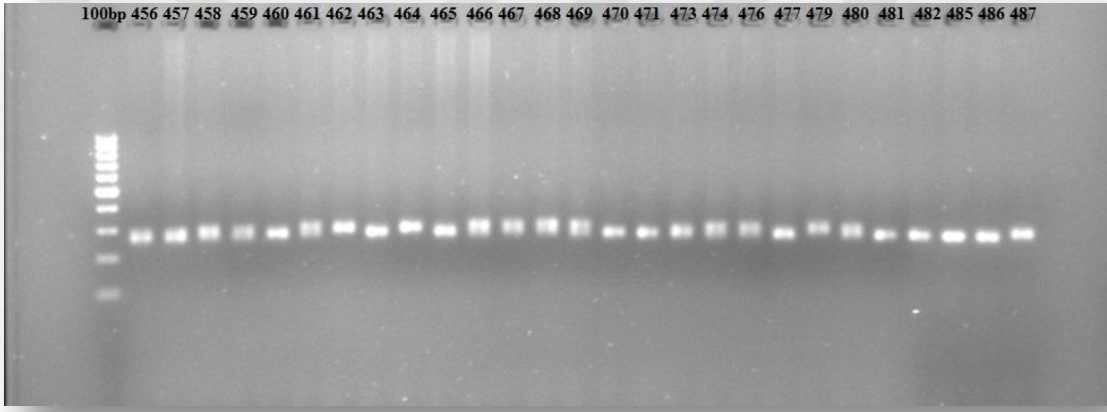
Şekil 4.13. HTG10 mikrosatellit pimerleri ile elde edilen PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jel görüntüleri



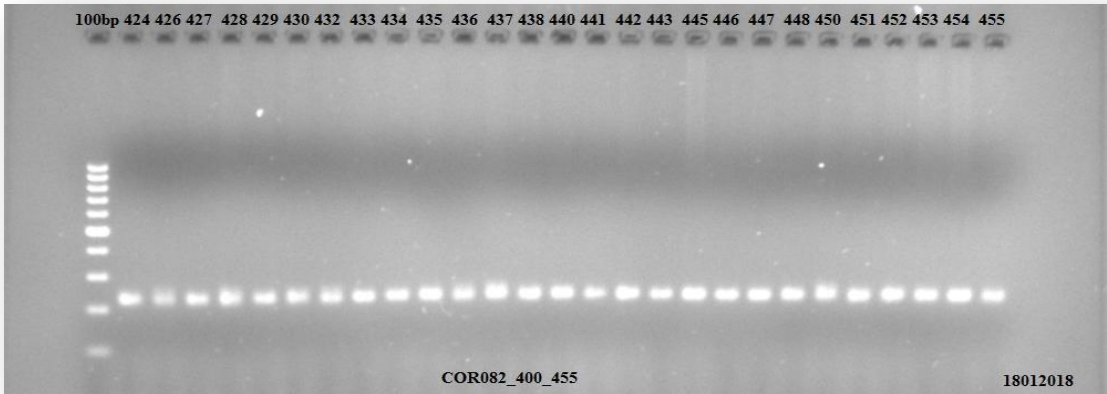
Şekil 4.14. COR022 mikrosatellit pimerleri ile elde edilen PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jel görüntüleri



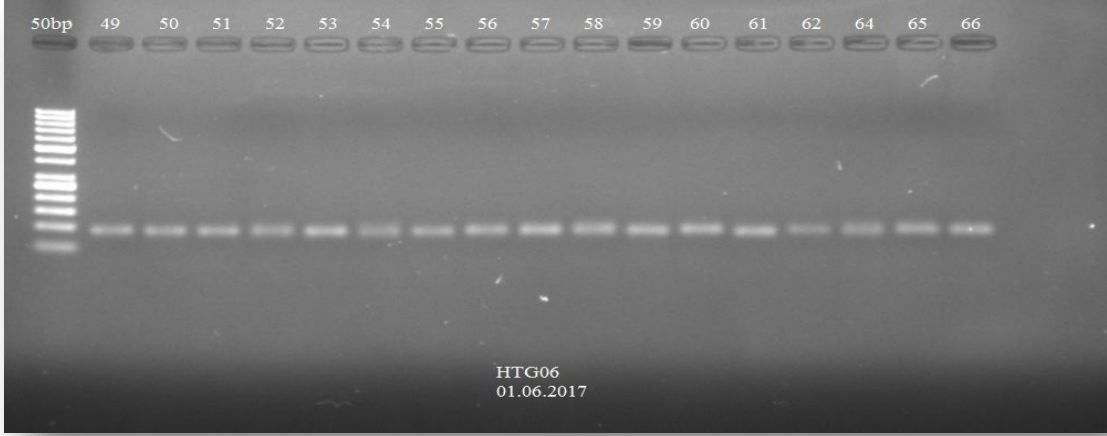
Şekil 4.15. COR018 mikrosatellit pimerleri ile elde edilen PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jel görüntüleri



Şekil 4.16. COR071 mikrosatellit pimerleri ile elde edilen PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jel görüntüleri



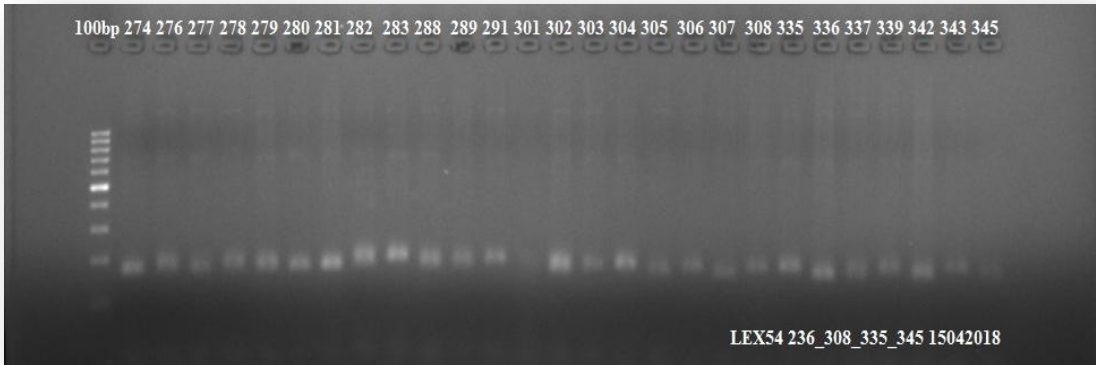
Şekil 4.17. COR082 mikrosatellit pimerleri ile elde edilen PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jel görüntüleri



Şekil 4.18. HTG06 mikrosatellit pimerleri ile elde edilen PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jel görüntüleri



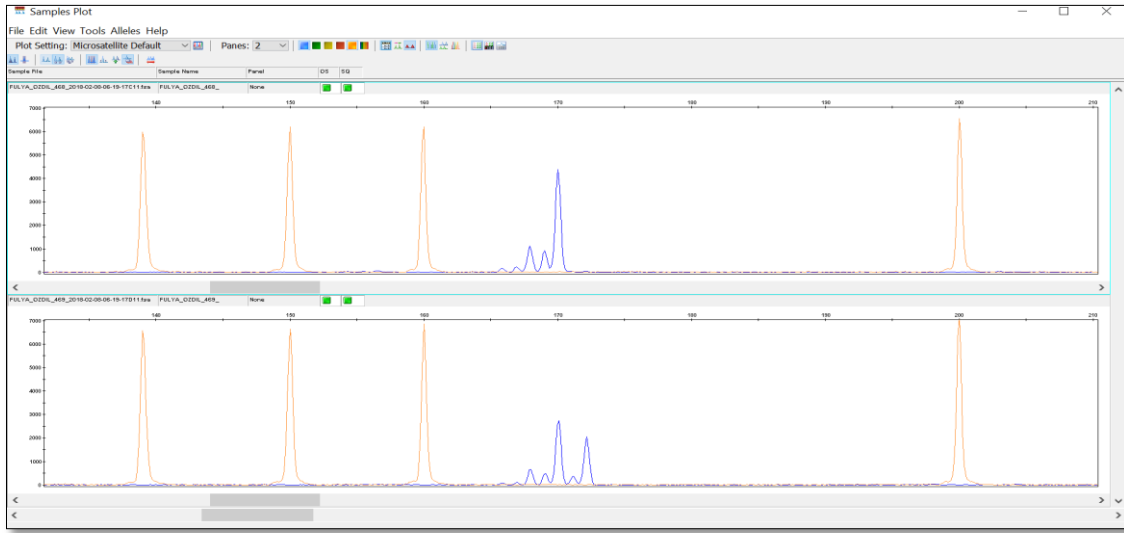
Şekil 4.19. AHT05 mikrosatellit pimerleri ile elde edilen PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jel görüntüleri



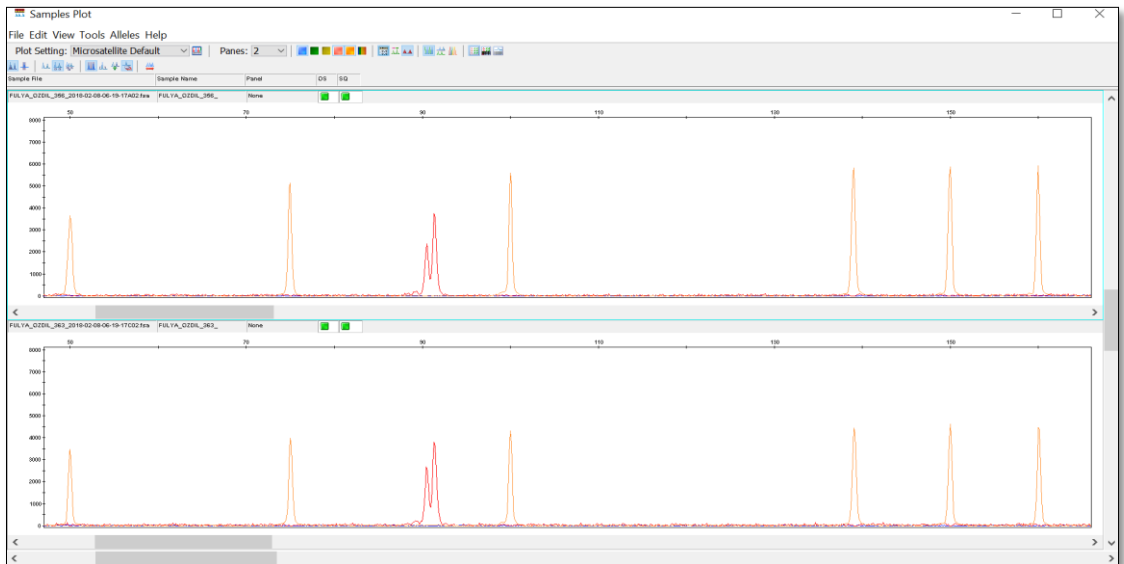
Şekil 4.20. LEX54 mikrosatellit pimerleri ile elde edilen PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jel görüntüleri

4.2 Çalışılan Mikrosatellit Lokuslarına ait Allel Büyüklüklerinin Belirlenmesi

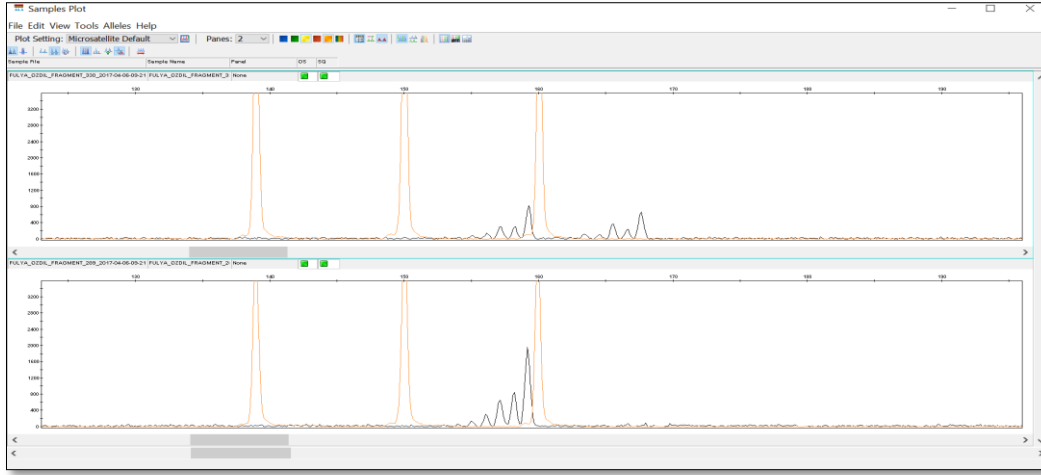
Bu tez çalışmasında 314 adet bireyin 20 adet mikrosatellit lokusta DNA parça (fragment) analizleri hizmet alımı ile yapılmış ve elektroferogramlar elde edilmiştir (Şekil 4.21-4.40). Her bir lokusta PCR ürünlerinin moleküler ağırlıkları ve her belirtecin floresan etiketi bilinmektedir ve bu bilgi elektroferogramlarda mikrosatellit belirteçlerinin yerlerinin belirlenmesi ve birbirinden ayrılması için kullanılmıştır. Allel büyüklükleri, GeneMapper Software 5.0 (Applied Biosystems) yazılımı kullanılarak belirlenmiş ve sonuçlar Excel Office programına kaydedilmiştir.



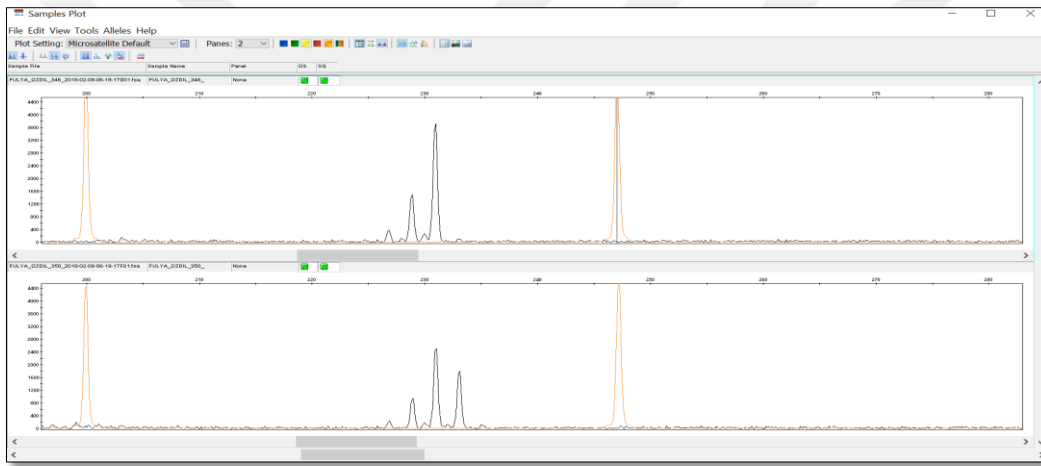
Şekil 4.21. HMS07 mikrosatellit lokusu bakımından homozigot (170/170) ve heterozigot (170/172) genotiplere sahip bireylerin genotiplerinin elektroferogram görüntüsü



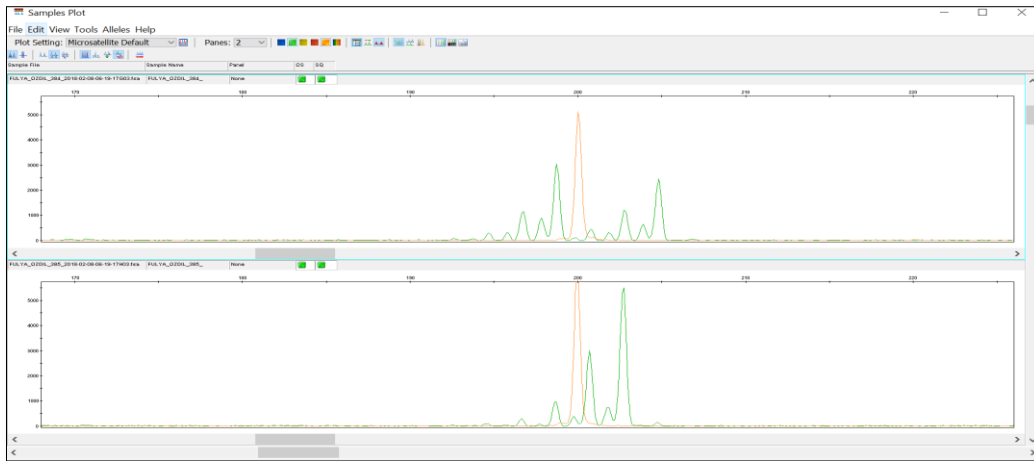
Şekil 4.22. ASB17 mikrosatellit lokusu bakımından homozigot (91/91) genotiplere sahip bireylerin genotiplerinin elektroferogram görüntüsü



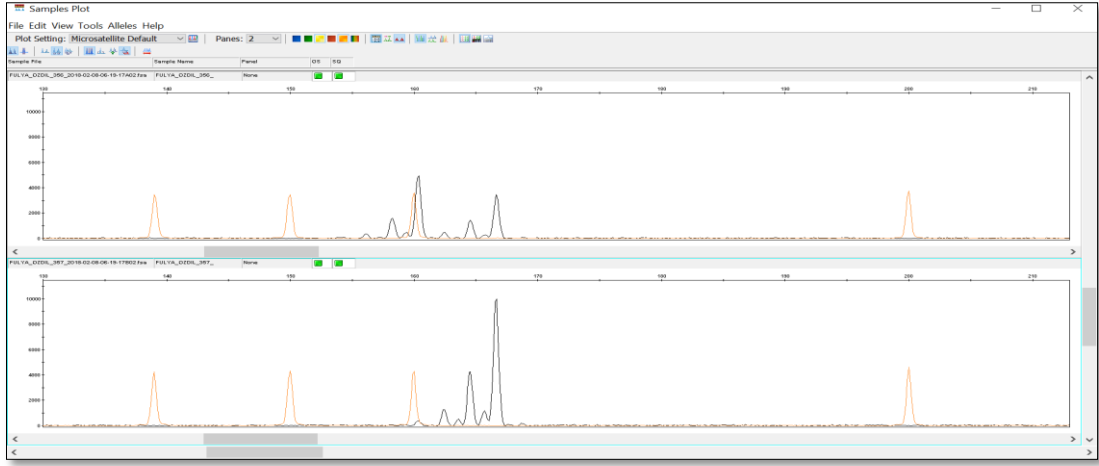
Şekil 4.23. ASB23 mikrosatellit lokusu bakımından homozigot (159/159) ve heterozigot (159/167) genotiplere sahip bireylerin genotiplerinin elektroferogram görüntüsü



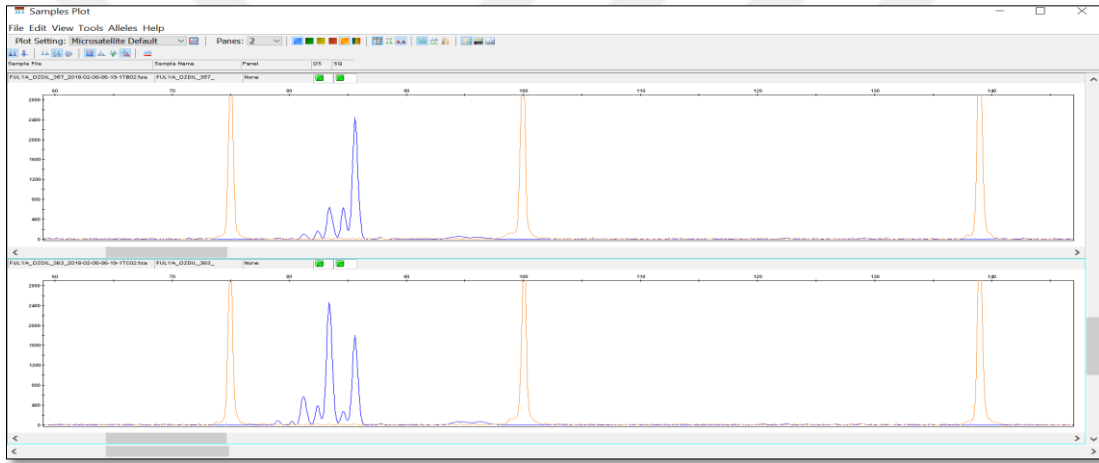
Şekil 4.24. HMS02 mikrosatellit lokusu bakımından homozigot (131/131) ve heterozigot (131/133) genotiplere sahip bireylerin genotiplerinin elektroferogram görüntüsü



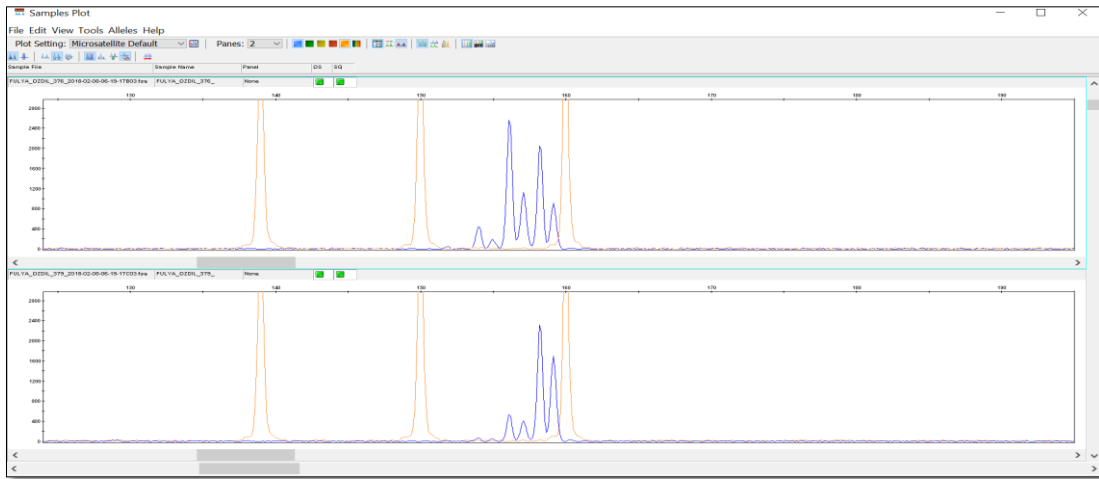
Şekil 4.25. COR058 mikrosatellit lokusu bakımından homozigot (203/203) ve heterozigot (199/205) genotiplere sahip bireylerin genotiplerinin elektroferogram görüntüsü



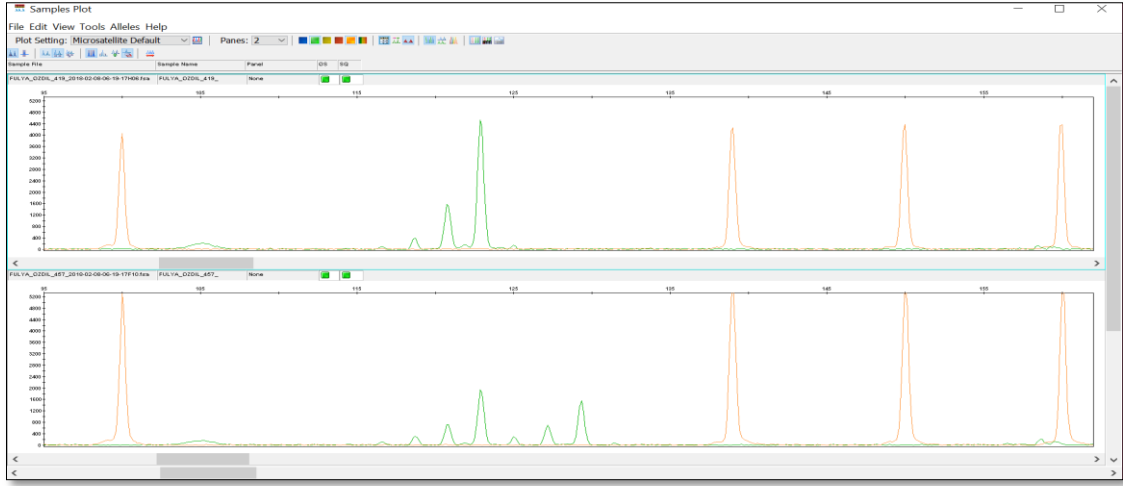
Şekil 4.26. HMS03 mikrosatellit lokusu bakımından homozigot (167/167) ve heterozigot (161/167) genotiplere sahip bireylerin genotiplerinin elektroferogram görüntüsü



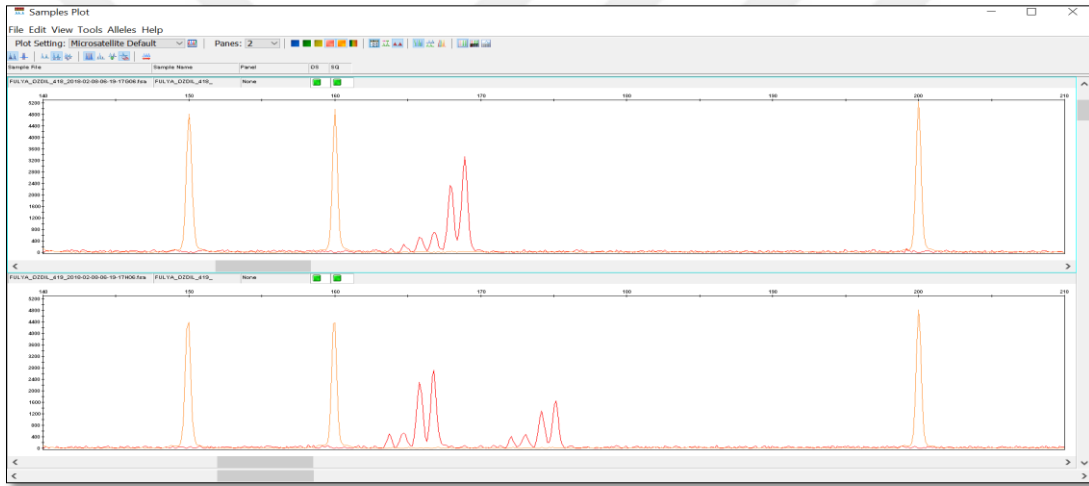
Şekil 4.27. VHL209 mikrosatellit lokusu bakımından homozigot (86/86) ve heterozigot (84/86) genotiplere sahip bireylerin genotiplerinin elektroferogram görüntüsü



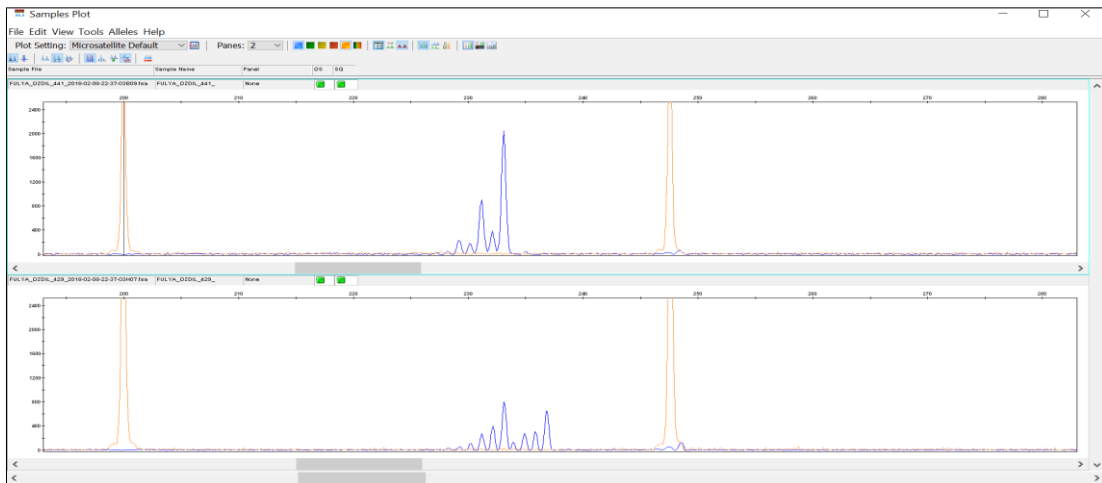
Şekil 4.28. ASB02 mikrosatellit lokusu bakımından homozigot (159/159) ve heterozigot (157/159) genotiplere sahip bireylerin genotiplerinin elektroferogram görüntüsü



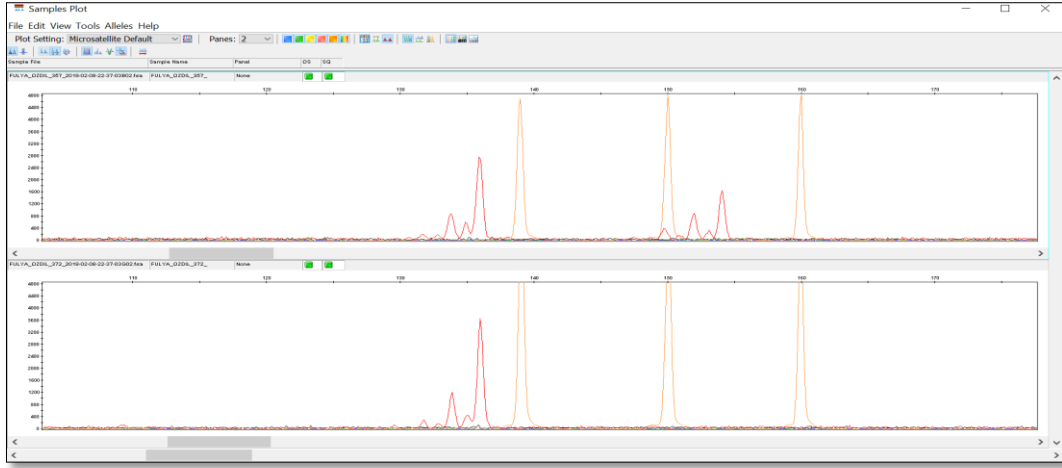
Şekil 4.29. HMS20 mikrosatellit lokusu bakımından homozigot (123/123) ve heterozigot (123/129) genotiplere sahip bireylerin genotiplerinin elektroferogram görüntüsü



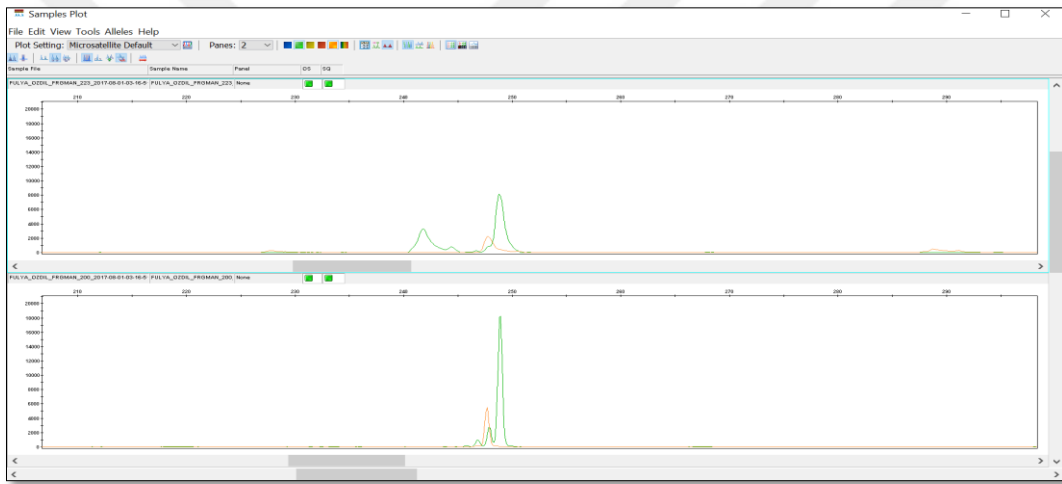
Şekil 4.30. COR07 mikrosatellit lokusu bakımından homozigot (169/169) ve heterozigot (167/175) genotiplere sahip bireylerin genotiplerinin elektroferogram görüntüsü



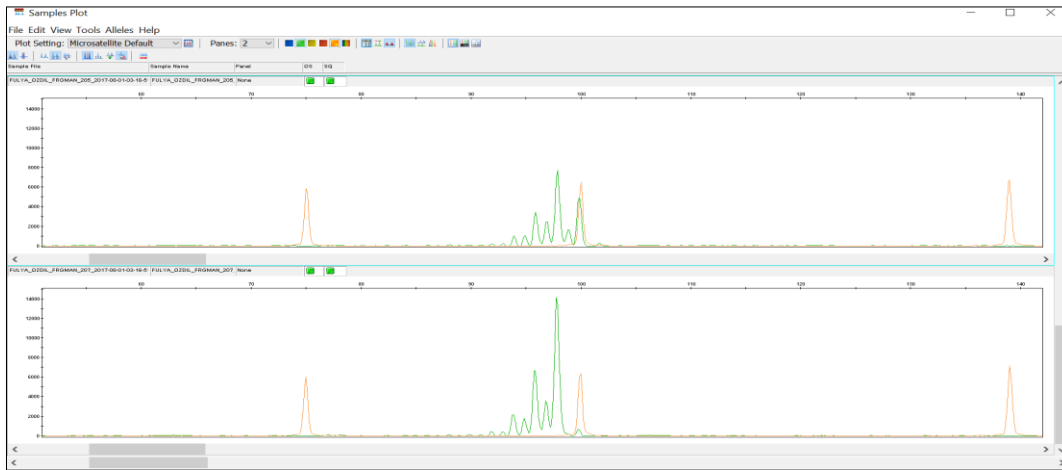
Şekil 4.31. LEX73 mikrosatellit lokusu bakımından homozigot (232/232) ve heterozigot (232/236) genotiplere sahip bireylerin genotiplerinin elektroferogram görüntüsü



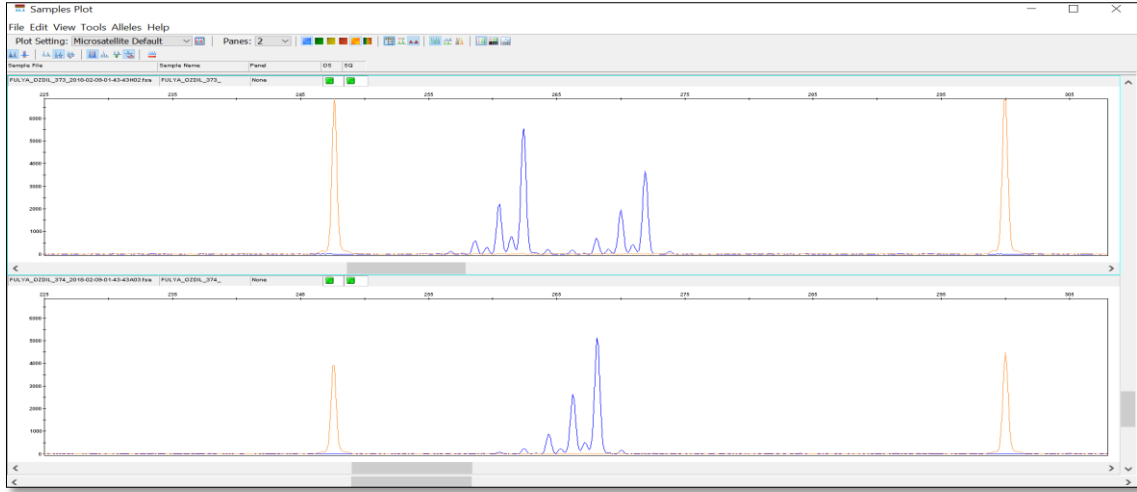
Şekil 4.32. HTG07 mikrosatellit lokusu bakımından homozigot (136/136) ve heterozigot (136/154) genotiplere sahip bireylerin genotiplerinin elektroferogram görüntüsü



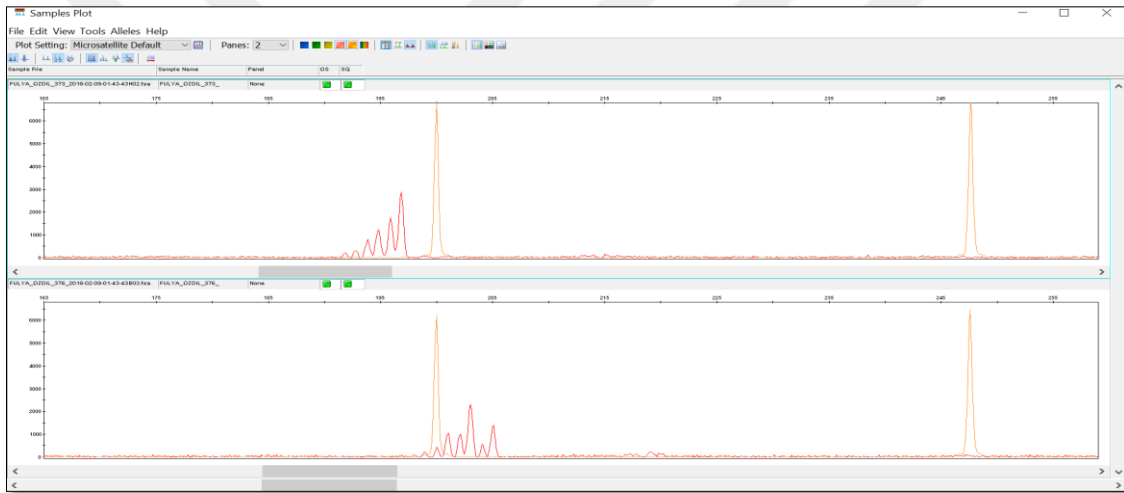
Şekil 4.33. COR022 mikrosatellit lokusu bakımından homozigot (249/249) ve heterozigot (241/249) genotiplere sahip bireylerin genotiplerinin elektroferogram görüntüsü



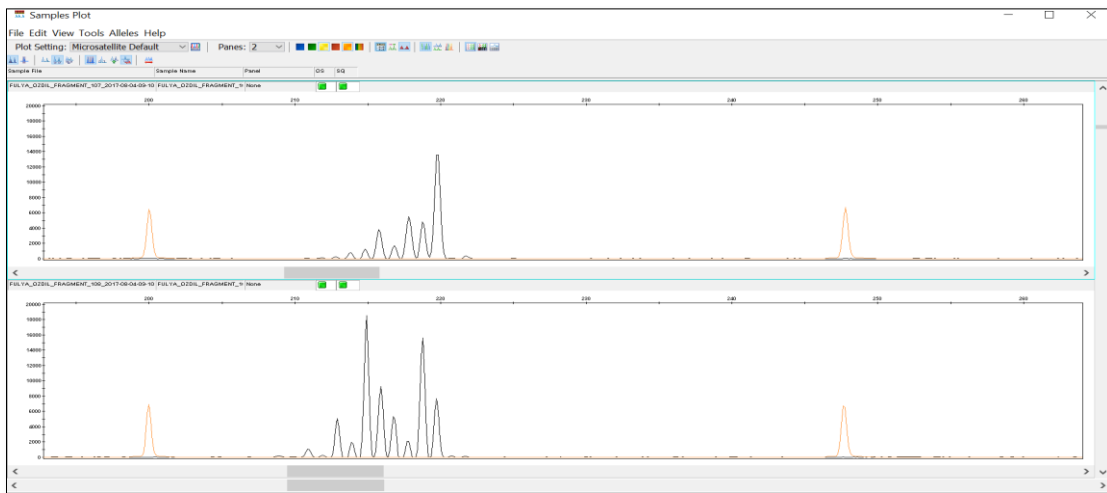
Şekil 4.34. HTG10 mikrosatellit lokusu bakımından homozigot (98/98) ve heterozigot (98/100) genotiplere sahip bireylerin genotiplerinin elektroferogram görüntüsü



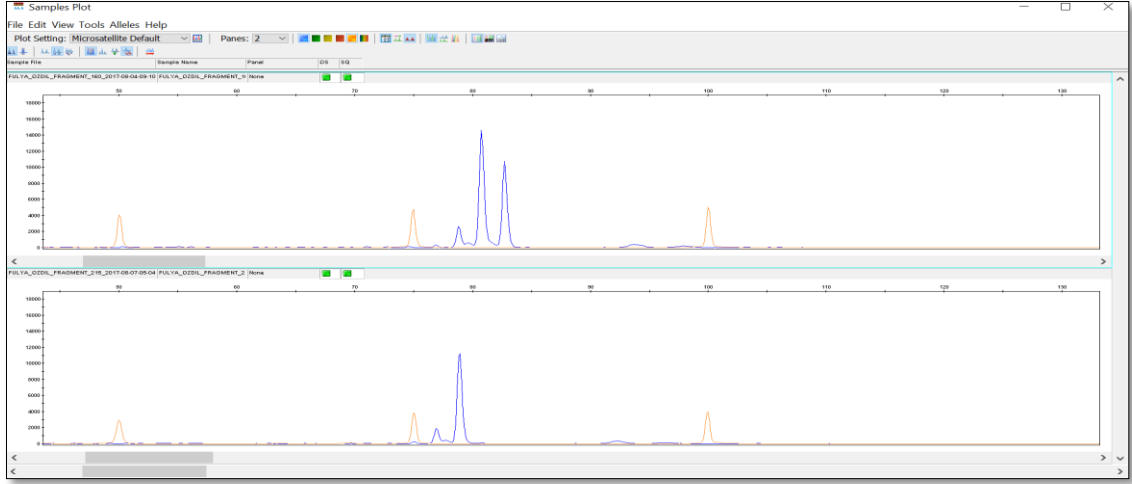
Şekil 4.35. COR018 mikrosatellit lokusu bakımından homozigot (268/268) ve heterozigot (262/272) genotiplere sahip bireylerin genotiplerinin elektroferogram görüntüsü



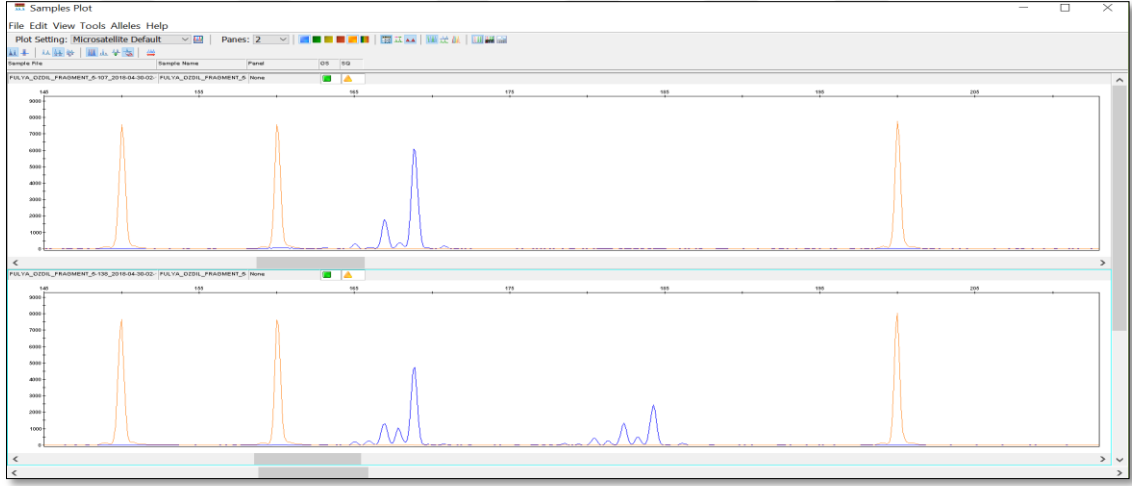
Şekil 4.36. COR071 mikrosatellit lokusu bakımından homozigot (197/197) ve heterozigot (203/205) genotiplere sahip bireylerin genotiplerinin elektroferogram görüntüsü



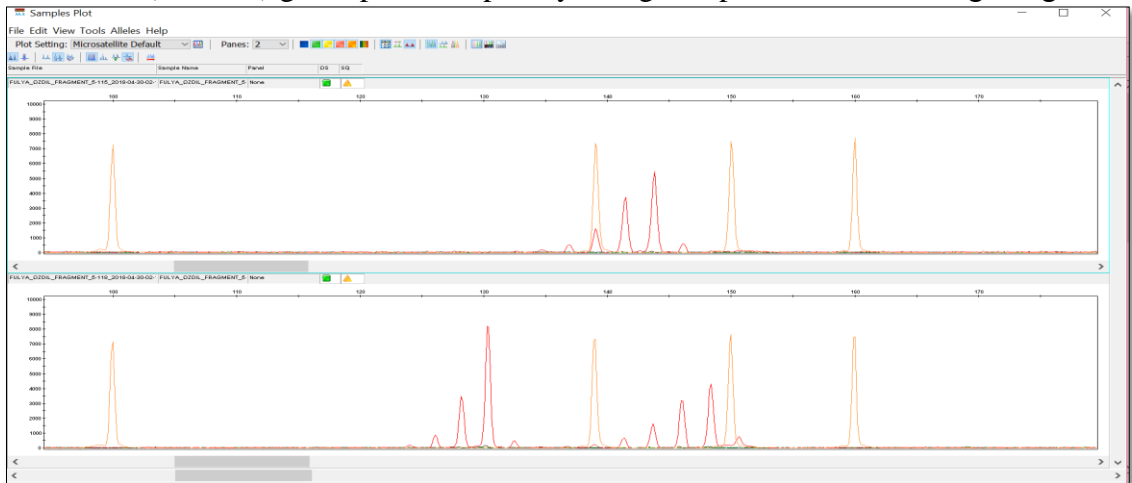
Şekil 4.37. COR082 mikrosatellit lokusu bakımından homozigot (220/220) ve heterozigot (214/218) genotiplere sahip bireylerin genotiplerinin elektroferogram görüntüsü



Şekil 4.38. HTG06 mikrosatellit lokusu bakımından homozigot (78/78) ve heterozigot (80/82) genotiplere sahip bireylerin genotiplerinin elektroferogram görüntüsü



Şekil 4.39. LEX54 mikrosatellit lokusu bakımından homozigot (168/168) ve heterozigot (168/184) genotiplere sahip bireylerin genotiplerinin elektroferogram görüntüsü



Şekil 4.40. AHT05 mikrosatellit lokusu bakımından homozigot (144/144) ve heterozigot (130/148) genotiplere sahip bireylerin genotiplerinin elektroferogram görüntüsü

4.3 Mikrosatellit Primerlerine ait Allel Frekanslarının Belirlenmesi

Bu tez çalışmasında, Türkiye genelinde toplam 314 adet bireyden elde edilen örnekler ile 20 mikrosatellit primeri çalışılmış ve her bir lokus için bireylere ait allellerin kaç baz çifti oldukları belirlenmiş ve kaydedilmiştir. 16 populasyonda 20 mikrosatellit primeri ile toplam 314 adet bireye ait alleller ve frekansları GenAEx (Version 6.5) (Peakall ve Smouse 2006) programı ile hesaplanmış ve elde edilen tüm allel frekansları ile popülasyona özgü (private) alleller Çizelge 4.1’de verilmiştir.

Çalışılan 16 farklı il, ayrı popülasyonlar olarak dikkate alınmış ve 20 mikrosatellit primeri ile yapılan analizler sonucunda elde edilen alleller baz çifti (bç) olarak kaydedilmiştir. Kullanılan 20 mikrosatellit primerinden bir tanesi dışında (ASB17) çalışılan tüm primerlerin polimorfik olduğu tespit edilmiştir. Çalışılan yirmi mikrosatellit lokusunda toplam 174 allel tespit edilmiş ve en fazla sayıda allellin (17 allel) LEX54 primerine ait olduğu belirlenmiştir. COR022 primerinde tüm popülasyonlar genelinde 2 allel tespit edilmiştir. Toplam 174 allellin 7’si HMS07, 1’i ASB17, 9’u ASB23, 11’i HMS02, 11’i COR058, 8’si HMS03, 9’u VHL209, 4’ü ASB02, 7’si HMS20, 8’i COR007, 6’sı LEX73, 12’si HTG07, 2’si COR022, 10’u HTG10, 14’ü COR018, 10’u COR071, 8’i COR082, 4’ü HTG06, 17’si LEX54 ve 16’sı AHT05 primerinde tespit edilmiştir (Çizelge 4.1 ve 4.2).

HMS07 primeri ile çalışılan lokus için Antalya ve Muğla popülasyonlarında iki farklı popülasyona özgü allel tespit edilmiş olup frekansı 0,017 olan 160 bç’lik allel Antalya ilinde, frekansı 0,026 olan 166 bç’lik allel ise Muğla ilinde saptanmıştır. Tüm popülasyonlar genelinde ise toplamda 7 allel olmak üzere 160, 166, 168, 170, 172, 176 ve 178 bç’lik alleller tespit edilmiştir. 170 bç’lik allel ($f = 0,867$) en yüksek frekans ile Kars ilinde tespit edilmiştir (Çizelge 4.1 ve 4.2).

ASB17 primeri ile tüm popülasyonlarda 91 bç’lik tek bir allel elde edilmiş ve tüm popülasyonlar genelinde bu lokus monomorfik olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.1 ve 4.2).

Çizelge 4.1. *E. asinus* populasyonları ile çalışılan mikrosatellit lokuslarına ait allel frekansları

Lokus	Allel	KIR*	ÇAT*	MAL*	MER*	TOK*	KAS*	KÜT*	KON*	ISP*	ANT*	AYD*	MUĞ*	KAR*	MAR*	ŞAN*	KAH*
HMS07	160	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,017**	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	166	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,026**	0,000	0,000	0,000	0,000
	168	0,233	0,200	0,150	0,067	0,050	0,100	0,150	0,033	0,150	0,117	0,083	0,026	0,050	0,138	0,065	0,000
	170	0,617	0,675	0,600	0,800	0,850	0,750	0,800	0,733	0,550	0,800	0,667	0,737	0,867	0,738	0,790	0,808
	172	0,117	0,075	0,150	0,083	0,000	0,000	0,050	0,167	0,100	0,067	0,083	0,132	0,067	0,113	0,081	0,154
	176	0,000	0,000	0,000	0,000	0,100	0,050	0,000	0,033	0,150	0,000	0,000	0,000	0,000	0,013	0,000	0,000
	178	0,033	0,050	0,100	0,050	0,000	0,100	0,000	0,033	0,050	0,000	0,167	0,079	0,017	0,000	0,065	0,038
ASB17	91	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
ASB23	153	0,017**	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	155	0,017**	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	157	0,017**	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	159	0,300	0,300	0,650	0,367	0,300	0,400	0,400	0,467	0,550	0,367	0,333	0,447	0,383	0,263	0,161	0,269
	161	0,117	0,250	0,100	0,183	0,150	0,150	0,250	0,167	0,100	0,217	0,250	0,079	0,217	0,225	0,242	0,308
	163	0,117	0,100	0,000	0,117	0,150	0,050	0,150	0,167	0,200	0,167	0,250	0,158	0,200	0,125	0,290	0,077
	165	0,150	0,175	0,200	0,117	0,200	0,150	0,050	0,100	0,100	0,150	0,000	0,105	0,117	0,100	0,097	0,154
	167	0,267	0,150	0,050	0,217	0,200	0,250	0,150	0,100	0,050	0,100	0,167	0,184	0,083	0,288	0,210	0,192
	169	0,000	0,025	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,026	0,000	0,000	0,000	0,000
HMS02	221	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,050	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,017	0,013	0,016	0,000
	225	0,050	0,075	0,100	0,083	0,100	0,050	0,000	0,167	0,050	0,067	0,167	0,026	0,050	0,077	0,048	0,077
	226	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,026**	0,000	0,000	0,000	0,000
	227	0,000	0,075	0,050	0,017	0,100	0,050	0,000	0,033	0,000	0,050	0,083	0,053	0,017	0,077	0,048	0,077
	229	0,033	0,000	0,050	0,017	0,050	0,000	0,050	0,067	0,000	0,017	0,000	0,000	0,067	0,051	0,048	0,077
	231	0,500	0,550	0,400	0,317	0,400	0,300	0,250	0,333	0,250	0,467	0,333	0,474	0,267	0,231	0,387	0,231
	233	0,283	0,225	0,250	0,483	0,250	0,400	0,650	0,267	0,600	0,283	0,333	0,289	0,400	0,449	0,371	0,308
	235	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,017	0,013	0,000	0,000
239	0,117	0,075	0,100	0,083	0,100	0,150	0,050	0,133	0,100	0,117	0,083	0,132	0,167	0,090	0,081	0,231	

Çizelge 4.1 devamı

Lokus	Allel	KIR*	ÇAT*	MAL*	MER*	TOK*	KAS*	KÜT*	KON*	ISP*	ANT*	AYD*	MUĞ*	KAR*	MAR*	ŞAN*	KAH*
	241	0,017**	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	243	0,000	0,000	0,050**	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
COR058	187	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,013**	0,000	0,000
	191	0,000	0,000	0,000	0,017	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,117	0,013	0,081	0,038
	193	0,017	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,026	0,017	0,013	0,016	0,000
	195	0,017	0,000	0,000	0,033	0,050	0,000	0,000	0,033	0,000	0,017	0,083	0,000	0,000	0,063	0,032	0,038
	197	0,017	0,025	0,000	0,000	0,050	0,000	0,000	0,067	0,000	0,033	0,167	0,079	0,050	0,000	0,048	0,000
	199	0,233	0,275	0,200	0,233	0,250	0,250	0,450	0,167	0,600	0,233	0,083	0,237	0,217	0,275	0,226	0,346
	201	0,233	0,175	0,150	0,283	0,400	0,250	0,200	0,333	0,150	0,200	0,333	0,316	0,167	0,113	0,097	0,115
	203	0,300	0,325	0,550	0,317	0,200	0,450	0,350	0,200	0,100	0,317	0,167	0,184	0,233	0,338	0,210	0,346
	205	0,133	0,175	0,050	0,100	0,050	0,050	0,000	0,200	0,150	0,183	0,083	0,132	0,200	0,138	0,258	0,077
	207	0,033	0,025	0,050	0,017	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,017	0,083	0,026	0,000	0,025	0,032	0,000
209	0,017	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,013	0,000	0,038	
HMS03	149	0,017	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,038
	157	0,017	0,000	0,000	0,017	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,017	0,038	0,016	0,000
	159	0,000	0,000	0,000	0,000	0,050	0,000	0,000	0,033	0,000	0,000	0,000	0,026	0,000	0,013	0,016	0,000
	161	0,100	0,150	0,200	0,033	0,000	0,000	0,150	0,100	0,050	0,083	0,000	0,079	0,083	0,038	0,129	0,154
	163	0,000	0,000	0,050	0,000	0,000	0,000	0,000	0,033	0,000	0,033	0,000	0,000	0,017	0,013	0,000	0,077
	165	0,317	0,300	0,300	0,450	0,600	0,500	0,350	0,400	0,250	0,383	0,333	0,368	0,267	0,413	0,339	0,269
	167	0,550	0,525	0,450	0,467	0,300	0,500	0,500	0,433	0,700	0,467	0,667	0,474	0,600	0,450	0,500	0,423
169	0,000	0,025	0,000	0,033	0,050	0,000	0,000	0,000	0,000	0,033	0,000	0,053	0,017	0,038	0,000	0,038	
VHL209	76	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,115**
	78	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,017**	0,000	0,000	0,000
	80	0,033	0,025	0,000	0,000	0,000	0,050	0,050	0,000	0,050	0,050	0,083	0,026	0,017	0,000	0,000	0,000
	82	0,083	0,125	0,250	0,100	0,050	0,050	0,200	0,200	0,000	0,083	0,000	0,026	0,100	0,125	0,032	0,000
	84	0,100	0,075	0,000	0,200	0,000	0,200	0,200	0,100	0,150	0,133	0,167	0,105	0,233	0,175	0,145	0,115
	86	0,767	0,725	0,750	0,700	0,950	0,700	0,450	0,633	0,750	0,667	0,750	0,763	0,583	0,675	0,758	0,769

Çizelge 4.1 devamı

Lokus	Allel	KIR*	ÇAT*	MAL*	MER*	TOK*	KAS*	KÜT*	KON*	ISP*	ANT*	AYD*	MUĞ*	KAR*	MAR*	ŞAN*	KAH*
	88	0,017	0,025	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,017	0,000	0,079	0,000	0,013	0,016	0,000
	90	0,000	0,025	0,000	0,000	0,000	0,000	0,100	0,067	0,050	0,050	0,000	0,000	0,033	0,013	0,048	0,000
	92	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,017**	0,000	0,000	0,000
ASB02	157	0,367	0,300	0,333	0,267	0,400	0,300	0,350	0,200	0,200	0,283	0,250	0,289	0,350	0,363	0,452	0,192
	159	0,617	0,675	0,667	0,733	0,550	0,700	0,600	0,800	0,800	0,700	0,667	0,711	0,617	0,638	0,548	0,769
	161	0,017	0,025	0,000	0,000	0,050	0,000	0,050	0,000	0,000	0,017	0,000	0,000	0,033	0,000	0,000	0,038
	163	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,083**	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
HMS20	115	0,000	0,125	0,000	0,033	0,050	0,050	0,000	0,000	0,000	0,017	0,167	0,079	0,017	0,050	0,000	0,038
	121	0,050	0,025	0,000	0,050	0,050	0,050	0,150	0,067	0,000	0,050	0,000	0,000	0,067	0,088	0,161	0,038
	123	0,433	0,325	0,400	0,400	0,300	0,550	0,700	0,467	0,450	0,417	0,417	0,474	0,450	0,488	0,371	0,462
	125	0,017	0,050	0,100	0,033	0,050	0,050	0,000	0,000	0,050	0,083	0,083	0,026	0,033	0,000	0,016	0,000
	127	0,067	0,025	0,050	0,033	0,050	0,000	0,000	0,033	0,100	0,017	0,083	0,026	0,067	0,025	0,000	0,154
	129	0,417	0,425	0,450	0,417	0,450	0,250	0,150	0,433	0,400	0,400	0,250	0,342	0,350	0,338	0,435	0,308
	131	0,017	0,025	0,000	0,033	0,050	0,050	0,000	0,000	0,000	0,017	0,000	0,053	0,017	0,013	0,016	0,000
COR007	165	0,183	0,225	0,050	0,200	0,150	0,150	0,100	0,167	0,250	0,150	0,000	0,105	0,100	0,125	0,113	0,231
	167	0,150	0,225	0,300	0,217	0,350	0,350	0,450	0,200	0,200	0,200	0,250	0,211	0,200	0,125	0,274	0,115
	169	0,517	0,325	0,400	0,267	0,150	0,250	0,450	0,400	0,400	0,417	0,750	0,579	0,417	0,475	0,403	0,577
	171	0,050	0,075	0,050	0,100	0,000	0,000	0,000	0,033	0,050	0,017	0,000	0,079	0,067	0,063	0,048	0,000
	173	0,050	0,050	0,100	0,117	0,200	0,150	0,000	0,133	0,100	0,100	0,000	0,000	0,117	0,063	0,048	0,077
	175	0,050	0,100	0,100	0,100	0,150	0,100	0,000	0,067	0,000	0,117	0,000	0,026	0,100	0,138	0,097	0,000
	177	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,013**	0,000	0,000
	179	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,016**	0,000
LEX73	226	0,000	0,025**	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	228	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,050**	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	230	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,016**	0,000
	232	0,897	0,875	0,722	0,900	0,900	0,900	0,950	0,821	0,850	0,948	1,000	0,921	0,850	0,850	0,952	0,818
	234	0,103	0,050	0,278	0,100	0,000	0,100	0,000	0,179	0,100	0,034	0,000	0,000	0,150	0,113	0,032	0,000

Çizelge 4.1 devamı

Lokus	Allel	KIR*	ÇAT*	MAL*	MER*	TOK*	KAS*	KÜT*	KON*	ISP*	ANT*	AYD*	MUÇ*	KAR*	MAR*	ŞAN*	KAH*
LEX73	236	0,000	0,050	0,000	0,000	0,100	0,000	0,000	0,000	0,050	0,017	0,000	0,079	0,000	0,038	0,000	0,182
HTG07	126	0,017**	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	136	0,300	0,250	0,400	0,317	0,350	0,400	0,350	0,467	0,450	0,417	0,333	0,263	0,417	0,300	0,306	0,231
	138	0,067	0,100	0,100	0,117	0,000	0,050	0,150	0,000	0,100	0,050	0,167	0,079	0,067	0,025	0,097	0,038
	140	0,000	0,025	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,033	0,000	0,000	0,000	0,026	0,000	0,000	0,000	0,000
	142	0,183	0,125	0,100	0,150	0,050	0,150	0,100	0,100	0,100	0,150	0,083	0,105	0,050	0,125	0,081	0,077
	144	0,033	0,025	0,050	0,017	0,000	0,050	0,000	0,100	0,100	0,017	0,000	0,053	0,067	0,088	0,048	0,038
	148	0,017	0,025	0,000	0,017	0,050	0,050	0,050	0,033	0,000	0,000	0,000	0,000	0,033	0,000	0,048	0,000
	150	0,100	0,175	0,050	0,083	0,250	0,050	0,150	0,133	0,000	0,067	0,083	0,184	0,083	0,113	0,081	0,038
	152	0,133	0,075	0,100	0,050	0,100	0,100	0,000	0,000	0,050	0,050	0,167	0,000	0,100	0,050	0,048	0,308
	154	0,083	0,025	0,100	0,033	0,000	0,050	0,050	0,033	0,050	0,067	0,083	0,105	0,050	0,088	0,048	0,077
COR022	241	0,050	0,075	0,000	0,033	0,000	0,100	0,000	0,100	0,000	0,067	0,000	0,053	0,000	0,000	0,000	0,000
	249	0,950	0,925	1,000	0,967	1,000	0,900	1,000	0,900	1,000	0,933	1,000	0,947	1,000	1,000	1,000	1,000
HTG10	84	0,017	0,025	0,000	0,067	0,000	0,050	0,000	0,000	0,050	0,017	0,000	0,000	0,017	0,000	0,000	0,038
	88	0,000	0,000	0,000	0,000	0,050	0,000	0,000	0,000	0,000	0,017	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	90	0,050	0,075	0,050	0,050	0,100	0,050	0,050	0,133	0,050	0,050	0,083	0,105	0,083	0,075	0,032	0,077
	92	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,017**	0,000	0,000	0,000
	94	0,050	0,025	0,100	0,033	0,050	0,050	0,050	0,033	0,000	0,083	0,083	0,079	0,017	0,050	0,048	0,038
	96	0,150	0,200	0,150	0,167	0,000	0,100	0,050	0,067	0,200	0,100	0,083	0,184	0,117	0,188	0,161	0,154
	98	0,300	0,400	0,300	0,300	0,450	0,100	0,450	0,533	0,500	0,383	0,417	0,211	0,333	0,325	0,323	0,154
	100	0,300	0,125	0,250	0,250	0,100	0,450	0,200	0,100	0,050	0,250	0,167	0,289	0,167	0,163	0,226	0,462
	102	0,100	0,075	0,050	0,067	0,250	0,150	0,100	0,133	0,050	0,050	0,167	0,079	0,083	0,138	0,145	0,077
104	0,033	0,075	0,100	0,067	0,000	0,050	0,100	0,000	0,100	0,050	0,000	0,053	0,167	0,063	0,065	0,000	
COR018	248	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,017	0,013	0,000	0,000
	250	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,050**	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

Çizelge 4.1 devamı

Lokus	Allel	KIR*	ÇAT*	MAL*	MER*	TOK*	KAS*	KÜT*	KON*	ISP*	ANT*	AYD*	MUÇ*	KAR*	MAR*	ŞAN*	KAH*
COR018	252	0,167	0,150	0,100	0,367	0,250	0,250	0,400	0,167	0,250	0,167	0,300	0,263	0,150	0,213	0,274	0,154
	254	0,300	0,425	0,350	0,133	0,250	0,300	0,400	0,267	0,150	0,317	0,200	0,263	0,167	0,188	0,258	0,346
COR018	256	0,033	0,075	0,000	0,067	0,100	0,000	0,150	0,067	0,050	0,100	0,000	0,184	0,150	0,100	0,145	0,000
	258	0,017	0,025	0,000	0,017	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,038	0,032	0,000
	262	0,017	0,000	0,000	0,000	0,050	0,000	0,000	0,000	0,000	0,017	0,000	0,000	0,017	0,013	0,016	0,000
	264	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,067	0,000	0,050	0,000	0,000	0,033	0,000	0,048	0,000
	266	0,183	0,075	0,050	0,067	0,000	0,150	0,000	0,033	0,250	0,100	0,100	0,079	0,033	0,138	0,065	0,077
	268	0,150	0,125	0,350	0,233	0,150	0,150	0,050	0,367	0,200	0,167	0,200	0,158	0,283	0,200	0,113	0,269
	270	0,050	0,075	0,000	0,067	0,050	0,000	0,000	0,033	0,050	0,033	0,200	0,000	0,067	0,063	0,016	0,038
	272	0,083	0,050	0,000	0,033	0,150	0,100	0,000	0,000	0,000	0,050	0,000	0,053	0,067	0,038	0,032	0,115
	274	0,000	0,000	0,050	0,017	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,017	0,000	0,000	0,000
	276	0,000	0,000	0,100	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,050	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
COR071	185	0,017**	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	191	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,032**	0,000
	193	0,067	0,000	0,100	0,069	0,050	0,050	0,050	0,100	0,100	0,033	0,000	0,000	0,000	0,063	0,113	0,000
	195	0,333	0,400	0,250	0,397	0,600	0,500	0,200	0,367	0,350	0,383	0,750	0,421	0,300	0,463	0,387	0,458
	197	0,183	0,100	0,100	0,121	0,100	0,150	0,000	0,133	0,100	0,217	0,000	0,132	0,267	0,113	0,097	0,292
	199	0,000	0,025	0,000	0,017	0,000	0,100	0,100	0,033	0,050	0,067	0,000	0,000	0,000	0,000	0,032	0,125
	201	0,083	0,075	0,050	0,052	0,050	0,000	0,300	0,000	0,050	0,033	0,000	0,026	0,067	0,063	0,016	0,083
	203	0,050	0,075	0,100	0,034	0,100	0,000	0,050	0,100	0,100	0,017	0,000	0,105	0,067	0,088	0,145	0,000
	205	0,233	0,275	0,400	0,276	0,100	0,200	0,250	0,100	0,150	0,233	0,250	0,316	0,250	0,188	0,161	0,042
	207	0,033	0,050	0,000	0,034	0,000	0,000	0,050	0,167	0,100	0,017	0,000	0,000	0,050	0,025	0,016	0,000
COR082	212	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,026**	0,000	0,000	0,000	0,000
	214	0,083	0,175	0,000	0,117	0,050	0,000	0,000	0,067	0,000	0,017	0,000	0,026	0,217	0,138	0,210	0,192
	216	0,067	0,025	0,150	0,133	0,100	0,200	0,400	0,100	0,000	0,167	0,000	0,105	0,017	0,063	0,000	0,115
	218	0,667	0,600	0,050	0,233	0,050	0,000	0,250	0,100	0,200	0,133	0,333	0,184	0,667	0,688	0,694	0,231
	220	0,167	0,200	0,750	0,500	0,600	0,800	0,350	0,633	0,700	0,550	0,667	0,632	0,083	0,063	0,048	0,385

Çizelge 4.1. devamı

Lokus	Allel	KIR*	ÇAT*	MAL*	MER*	TOK*	KAS*	KÜT*	KON*	ISP*	ANT*	AYD*	MUĞ*	KAR*	MAR*	ŞAN*	KAH*
COR082	222	0,017	0,000	0,050	0,017	0,150	0,000	0,000	0,100	0,050	0,100	0,000	0,000	0,000	0,050	0,048	0,077
	224	0,000	0,000	0,000	0,000	0,050	0,000	0,000	0,000	0,050	0,000	0,000	0,026	0,017	0,000	0,000	0,000
	226	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,033**	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
HTG06	78	0,310	0,175	0,300	0,217	0,200	0,300	0,450	0,233	0,400	0,333	0,417	0,263	0,259	0,388	0,242	0,208
	80	0,155	0,125	0,150	0,150	0,350	0,200	0,100	0,267	0,150	0,100	0,083	0,184	0,121	0,075	0,097	0,250
	82	0,345	0,525	0,450	0,383	0,400	0,300	0,250	0,433	0,400	0,400	0,500	0,395	0,345	0,363	0,323	0,542
	84	0,190	0,175	0,100	0,250	0,050	0,200	0,200	0,067	0,050	0,167	0,000	0,158	0,276	0,175	0,339	0,000
LEX54	158	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,048**	0,000
	160	0,000	0,000	0,000	0,000	0,050**	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	162	0,000	0,050	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,026	0,000	0,000	0,000	0,000
	166	0,033**	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	168	0,467	0,500	0,500	0,467	0,650	0,400	0,450	0,433	0,500	0,429	0,333	0,447	0,467	0,475	0,452	0,462
	170	0,033	0,000	0,000	0,017	0,000	0,000	0,100	0,067	0,050	0,036	0,000	0,026	0,017	0,025	0,000	0,038
	172	0,000	0,050**	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	174	0,067	0,000	0,000	0,033	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,026	0,000	0,000	0,000	0,000
	176	0,000	0,000	0,100**	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	178	0,000	0,000	0,000	0,017	0,000	0,000	0,000	0,000	0,050	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	180	0,067	0,125	0,050	0,033	0,100	0,000	0,050	0,000	0,000	0,018	0,250	0,053	0,150	0,113	0,065	0,115
	182	0,017	0,050	0,000	0,050	0,000	0,050	0,000	0,000	0,000	0,089	0,000	0,000	0,000	0,013	0,000	0,038
	184	0,233	0,175	0,250	0,300	0,200	0,500	0,400	0,367	0,300	0,304	0,250	0,342	0,200	0,213	0,290	0,231
	186	0,067	0,025	0,050	0,067	0,000	0,000	0,000	0,100	0,100	0,125	0,000	0,000	0,133	0,125	0,081	0,115
	188	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,050	0,000	0,033	0,000	0,000	0,083	0,079	0,033	0,000	0,016	0,000
190	0,000	0,025	0,000	0,017	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,038	0,000	0,000	
192	0,017	0,000	0,050	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,083	0,000	0,000	0,048	0,000	
AHT05	130	0,150	0,125	0,000	0,050	0,000	0,000	0,000	0,167	0,050	0,125	0,083	0,132	0,200	0,038	0,032	0,115
	132	0,083	0,075	0,050	0,183	0,050	0,200	0,100	0,200	0,100	0,036	0,000	0,079	0,117	0,100	0,048	0,077
	134	0,017	0,000	0,100	0,000	0,050	0,000	0,000	0,000	0,100	0,054	0,000	0,026	0,000	0,038	0,016	0,038

Çizelge 4.1. devamı

Lokus	Allel	KIR*	ÇAT*	MAL*	MER*	TOK*	KAS*	KÜT*	KON*	ISP*	ANT*	AYD*	MUĞ*	KAR*	MAR*	ŞAN*	KAH*	
AHT05	130	0,150	0,125	0,000	0,050	0,000	0,000	0,000	0,167	0,050	0,125	0,083	0,132	0,200	0,038	0,032	0,115	
	132	0,083	0,075	0,050	0,183	0,050	0,200	0,100	0,200	0,100	0,036	0,000	0,079	0,117	0,100	0,048	0,077	
	134	0,017	0,000	0,100	0,000	0,050	0,000	0,000	0,000	0,100	0,054	0,000	0,026	0,000	0,038	0,016	0,038	
	136	0,150	0,125	0,250	0,033	0,150	0,100	0,150	0,100	0,150	0,125	0,083	0,079	0,133	0,138	0,081	0,077	
	138	0,033	0,050	0,000	0,017	0,000	0,000	0,100	0,033	0,150	0,107	0,250	0,026	0,000	0,000	0,145	0,038	
	142	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,018**	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	144	0,200	0,050	0,000	0,133	0,050	0,150	0,050	0,133	0,150	0,018	0,000	0,079	0,133	0,063	0,097	0,077	
	146	0,000	0,000	0,000	0,050	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,026	0,000	0,038	0,032	0,038
	148	0,100	0,175	0,150	0,233	0,300	0,050	0,050	0,067	0,100	0,196	0,083	0,237	0,100	0,150	0,177	0,154	
	150	0,150	0,175	0,100	0,150	0,250	0,150	0,200	0,167	0,050	0,196	0,333	0,184	0,183	0,225	0,177	0,115	
	152	0,017	0,075	0,150	0,033	0,000	0,100	0,100	0,033	0,000	0,000	0,167	0,053	0,083	0,063	0,081	0,154	
	154	0,067	0,075	0,100	0,083	0,150	0,150	0,200	0,100	0,150	0,071	0,000	0,079	0,033	0,125	0,081	0,077	
	156	0,000	0,050	0,100	0,033	0,000	0,050	0,050	0,000	0,000	0,036	0,000	0,000	0,000	0,013	0,016	0,000	
	158	0,033	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,050	0,000	0,000	0,000	0,018	0,000	0,000	0,000	0,013	0,016	0,038
	162	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,017**	0,000	0,000	0,000
166	0,000	0,025**	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	

*KIR: Kırklareli, ÇAT: Çatalca, MAL: Malkara, MER: Merzifon, TOK: Tokat, KAS: Kastamonu, KÜT: Kütahya, KON: Konya, ISP: Isparta, ANT: Antalya, AYD: Aydın, MUĞ: Muğla, KAR: Kars, MAR: Mardin, ŞAN: Şanlıurfa, KAH: Kahramanmaraş, **: popülasyona özgü allel (A_p)

ASB23 primeri ile çalışılan tüm örneklerde 153, 155, 157, 159, 161, 163, 165, 167 ve 169 bç'lik dokuz allel tespit edilmiştir. Kırklareli popülasyonuna özgü 153, 155 ve 157 bç'lik üç allel saptanmıştır. 159 bç'lik allel en yüksek frekans değeri ($f = 0,650$) ile Tekirdağ-Malkara ilinde tespit edilmiştir. 169 bç'lik allel ise 0,025 frekansı ile sadece İstanbul-Çatalca ili ve 0,026 frekansı ile Muğla ilinde tespit edilmiştir (Çizelge 4.1 ve 4.2).

HMS02 primeri için belirlenen allel frekansları incelendiğinde en yüksek frekans 0,650 değeri ile Kütahya ilinde hesaplanmıştır. Bu primer için toplam 11 allel tespit edilmiştir (221, 225, 226, 227, 229, 231, 233, 235, 239, 241 ve 243 bç). 241 bç'lik allelin Kırklareli ilindeki frekans değeri 0,017 olarak, 243 bç'lik allelin ise Tekirdağ-Malkara ilindeki frekans değeri 0,050 olarak hesaplanmış olup bu allellerin bu popülasyonlara özgü alleller olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.1 ve 4.2).

COR058 primeri ile yapılan analizlerin sonucu değerlendirildiğinde toplam 11 allel tespit edilmiştir. Mardin popülasyonuna özgü 187 bç'lik allel, frekansı 0,013 olarak hesaplanmıştır. 209 bç'lik allel ise sadece Kırklareli, Mardin ve Kahramanmaraş illerinde tespit edilmiş olup, frekansları sırasıyla 0,017, 0,013 ve 0,038 olarak hesaplanmıştır. 199 bç'lik allel ise 0,600 frekansı ile Isparta ilinden alınan örneklerde belirlenmiştir (Çizelge 4.1 ve 4.2).

HMS03 primeri ile yapılan analizlerin sonuçları değerlendirildiğinde toplam sekiz allel tespit edilmiştir (149, 157, 159, 161, 163, 165, 167 ve 169 bç). 149 bç'lik allel sadece Kırklareli ve Kahramanmaraş illerinde ($f = 0,017$, $f = 0,038$) belirlenmiştir. 167 bç'lik allel ise ($f = 0,700$) en yüksek frekansla Isparta ilinde tespit edilmiştir (Çizelge 4.1 ve 4.2).

VHL209 primeri sonuçları ele alındığında toplam dokuz allel tespit edilmiştir. Kars ilinden alınan örneklerde 78 bç'lik ve 92 bç'lik iki allelin aynı frekans değeri ile ($f = 0,017$) popülasyona özgü allel olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca Kahramanmaraş ili için 76 bç'lik allelin ($f = 0,115$) popülasyona özgü olduğu saptanmıştır. 86 bç'lik allel en yüksek frekans değeri ile ($f = 0,950$) Tokat ilinde tespit edilmiştir (Çizelge 4.1 ve 4.2).

ASB02 primeri için belirlenen allel frekansları incelendiğinde 159 bç'lik allel en yüksek frekans değeri ($f = 0,800$) ile Konya ilinde tespit edilmiştir. Bu lokus için 157, 159, 161 ve 163 bç'lik toplam 4 allel tespit edilmiştir. 163 bç'lik allelin 0,083 frekans değeri ile Aydın ilinden oluşturulan popülasyona özgü olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.1 ve 4.2).

HMS20 mikrosatellit lokus sonuçları değerlendirildiğinde 115, 121, 123, 125, 127, 129 ve 131 bç'lik toplam yedi allel tespit edilmiştir. Bu allellerden 123 bç'lik allel 0,700 allel frekansı ile en yüksek Kütahya ilinde belirlenmiştir (Çizelge 4.1 ve 4.2).

COR007 mikrosatellit lokus sonuçlarına bakıldığında toplam sekiz allel (165, 167, 169, 171, 173, 175, 177 ve 179 bç'lik) saptanmıştır. Ayrıca 177 bç'lik allellin 0,013 allel frekansı ile Mardin ilinden oluşturulan popülasyona özgü olduğu tespit edilmiştir. 179 bç'lik allel ise 0,016 frekansı ile Şanlıurfa popülasyonuna özgü allel olarak tespit edilmiştir. 169 bç'lik allel ise en yüksek frekans değeri ile Aydın ilinde saptanmıştır. Ayrıca 169 bç'lik allellin popülasyonlar genelinde yaygın bir allel olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.1 ve 4.2).

LEX73 mikrosatellit bölgesine ait sonuçlar göz önüne alındığında 226, 228, 230, 232, 234 ve 236 bç'lik toplam altı allel tespit edilmiştir. Ayrıca 226 bç'lik allel frekansının 0,025 olarak hesaplandığı ve İstanbul-Çatalca iline ait popülasyona özgü olduğu tespit edilmiştir. 228 bç'lik allellin ($f = 0,050$) Kütahya ilinden oluşturulan popülasyona, 230 bç'lik allellin ise ($f = 0,016$) Şanlıurfa ilinden oluşturulan popülasyona özgü olduğu belirlenmiştir. 232 bç'lik allel tüm popülasyonlar genelinde yaygın olarak görülmüştür. Ayrıca Aydın ilinden oluşturulan popülasyonda sadece 232 bç'lik allellin görüldüğü ve bu popülasyonun monomorfik olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.1 ve 4.2).

HTG07 mikrosatellit primeri için belirlenen allel büyüklüklerine bakıldığında 126, 136, 138, 140, 142, 144, 148, 150, 152, 154, 156 ve 158 bç'lik toplam 12 allel tespit edilmiştir. Bu allellerin frekansları incelendiğinde 126 bç'lik allellin 0,017 frekans değeri ile Kırklareli ilinden oluşturulan popülasyona özgü olduğu saptanmıştır. 136 bç'lik allel 0,467 frekans değeri ile Konya ilinde oluşturulan popülasyonda tespit edilmiştir. 138 bç'lik allel ise Konya ve Tokat ili dışındaki tüm illerde tespit edilmiştir. 140 bç'lik allel sadece İstanbul-Çatalca, Konya ve Muğla ($f = 0,025$, $f = 0,033$ ve $f = 0,026$) illerinde saptanmıştır (Çizelge 4.1 ve 4.2).

COR022 mikrosatellit primeri ile çalışılan lokus sonuçları incelendiğinde 241 bç ve 249 bç'lik toplam iki allel belirlenmiştir. Tekirdağ-Malkara, Tokat, Kütahya, Isparta, Aydın, Kars, Mardin, Şanlıurfa, Kahramanmaraş illerinde sadece 249 bç'lik allellin görüldüğü ve bu popülasyonların bu lokus için monomorfik olduğu tespit edilmiştir. Aynı allellin Kırklareli ve Amasya-Merzifon illerinden oluşturulan ($f = 0,950$ ve $f = 0,967$) popülasyonlarda yaygın olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.1 ve 4.2).

HTG10 mikrosatellit primeri için allel büyüklükleri incelendiğinde 84, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102 ve 104 bp'lik toplam 10 allel tespit edilmiştir. 92 bp'lik allelin 0,017 frekansı ile Kars ili popülasyonuna özgü olduğu tespit edilmiştir. 98 bp'lik allel en yüksek frekans değeri ile Konya ilinden oluşturulan popülasyonda tespit edilmiştir. Ayrıca 88 bp'lik allel ise sadece Tokat ($f = 0,050$) ve Antalya ($f = 0,017$) illerinden oluşturulan popülasyonlarda belirlenmiştir (Çizelge 4.1 ve 4.2).

COR018 mikrosatellit primeri ile çalışılan lokus sonuçları incelendiğinde toplam 14 allel (248, 250, 252, 254, 256, 258, 262, 264, 266, 268, 270, 272, 274 ve 276) tespit edilmiştir. 250 bp'lik allelin Tokat iline özgü olduğu tespit edilmiştir. 248 bp'lik allel ise sadece Kars ve Mardin ilinden oluşturulan popülasyonlarda saptanmıştır. 274 bp'lik allel sadece Tekirdağ-Malkara, Amasya-Merzifon, Kars ilinden oluşturulan popülasyonlarda tespit edilmiştir. 276 bp'lik allel ise sadece Tekirdağ-Malkara ($f = 0,100$) ve Isparta ($f = 0,050$) illerinden oluşturulan popülasyonlarda gözlenmiştir. 254 bp'lik allel 0,425 frekans değeri ile en yüksek İstanbul-Çatalca ilinden oluşturulan popülasyonda belirlenmiştir (Çizelge 4.1 ve 4.2).

COR071 mikrosatellit primeri ile çalışılan lokus sonuçları incelendiğinde 185, 191, 193, 195, 197, 199, 201, 203, 205 ve 207 bp olmak üzere toplamda 10 allel belirlenmiştir. Bu allellerden 185 bp'lik allelin 0,017 frekans değeri ile Kırklareli ilinden oluşturulan popülasyona özgü olduğu tespit edilmiştir. 191 bp'lik allelin ise 0,032 frekans değeri ile sadece Şanlıurfa ilinden oluşturulan popülasyonda bulunduğu tespit edilmiştir. 195 bp'lik allel en yüksek 0,750 frekans değeri ile Aydın ilinden oluşturulan popülasyonda saptanmıştır. 203 bp'lik allel ise Aydın, Kastamonu ve Kahramanmaraş illeri dışında bütün illerde tespit edilmiştir (Çizelge 4.1 ve 4.2).

COR082 mikrosatellit primeri ile çalışılan lokus için toplam sekiz allel (212, 214, 216, 218, 220, 222, 224 ve 226) tespit edilmiştir. Bu lokus için hesaplanan allel frekansları incelendiğinde Antalya ve Muğla illerinden oluşturulan popülasyonlarda sırasıyla 226 bp'lik allelin 0,033, 212 bp'lik allelin ise 0,026 frekans değeri ile bu popülasyonlara özgü alleller olduğu belirlenmiştir. 220 bp'lik allel en yüksek 0,800 frekans değeri ile Kastamonu ilinden oluşturulan popülasyonda tespit edilmiştir. 224 bp'lik allel sadece Tokat, Isparta, Muğla ve Kars illerinden oluşturulan popülasyonlarda tespit edilmiştir. 218 bp'lik allel ise Kastamonu ilinden oluşturulan popülasyon dışında tüm popülasyonlarda saptanmıştır (Çizelge 4.1 ve 4.2).

HTG06 mikrosatellit primeri ile çalışılan lokus için toplam dört allel (78, 80, 82 ve 84 bç) tespit edilmiştir. 82 bç'lik allel en yüksek 0,542 frekans değeri ile Kahramanmaraş ilinde tespit edilmiştir. 84 bç'lik allel Kahramanmaraş ve Aydın illerinden oluşturulan populasyonlar haricinde tüm populasyonlarda tespit edilmiştir (Çizelge 4.1 ve 4.2).

LEX54 mikrosatellit primeri ile çalışılan lokus için toplam 17 allel belirlenmiştir. Bu allellerin frekans değerleri incelendiğinde 158 bç'lik allelin ($f = 0,048$) sadece Şanlıurfa ilinden oluşturulan populasyonda görüldüğü ve bu populasyona özgü bir allel olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca 160 bç'lik allel ise 0,050 frekans değeri ile sadece Tokat ilinden oluşturulan populasyonda, 166 bç'lik allel ise 0,033 frekans değeri ile sadece Kırklareli ilinden oluşturulan populasyonda belirlenmiştir. 172 bç'lik allel sadece İstanbul-Çatalca ilinden oluşturulan populasyonda, 176 bç'lik allel ise 0,100 frekans değeri ile sadece Tekirdağ-Malkara ilinden oluşturulan populasyonda tespit edilmiştir. 162 bç'lik allel 0,050 frekans değeri ile sadece İstanbul-Çatalca ilinde ve 0,026 frekans değeri ile Muğla ilinde tespit edilmiştir. 168 bç'lik allel tüm populasyonlarda saptanmıştır. 178 bç'lik allel ($f = 0,017$) frekans değeri ile sadece Amasya-Merzifon ve Isparta ($f = 0,050$) illerinde tespit edilmiştir. 184 bç'lik ve 168 bç'lik alleller tüm populasyonlarda saptanmıştır. 168 bç'lik allel ise en yüksek 0,065 frekans değeri ile Tokat ilinden oluşturulan populasyonda tespit edilmiştir (Çizelge 4.1 ve 4.2).

AHT05 mikrosatellit primeri ile elde edilen analiz sonuçları incelendiğinde toplam 16 allel tespit edilmiştir. Bu allellerden 142 bç'lik allel sadece Antalya ilinden oluşturulan populasyonda tespit edildiği için ($f = 0,018$) populasyona özgü bir allel olarak değerlendirilmiştir. 162 bç'lik allel ise 0,017 frekans değeri ile sadece Kars ilinden oluşturulan populasyonda tespit edilmiş ve populasyona özgü bir allel olduğu saptanmıştır. 166 bç'lik allel ise sadece İstanbul-Çatalca ilinden oluşturulan populasyonda tespit edilmiş ve 0,025 frekans değeri ile bu populasyona özgü bir allel olduğu belirlenmiştir. Bu mikrosatellit primeri için 136, 148 ve 150 bç'lik alleller tüm populasyonlarda tespit edilmiştir. 150 bç'lik allel en yüksek 0,333 frekans değeri ile Aydın ilinden oluşturulan populasyonda tespit edilmiştir. Ayrıca 132 bç'lik allel Aydın ilinden oluşturulan populasyon haricinde tüm populasyonlarda saptanmıştır. 144 bç'lik allel ise Aydın ve Tekirdağ-Malkara illerinden oluşturulan populasyonlar haricinde tüm populasyonlarda saptanmıştır. 136, 148, 150 ve 154 bç'lik alleller ise tüm populasyonlarda belirlenmiştir (Çizelge 4.1 ve 4.2).

4.4 Genetik Çeşitlilik Parametreleri

Bu tez çalışmasında 16 farklı ilden toplam 314 adet birey ile oluşturulan tüm popülasyonlara ait genetik çeşitlilik parametreleriyle ilgili bilgiler Çizelge 4.2 ve Çizelge 4.3'de verilmiştir. Çalışılan 20 adet mikrosatellit lokusunda toplam 174 allel tespit edilmiş bunların 33'ünün popülasyonlara özgü alleller olduğu tespit edilmiş ve Çizelge 4.3'de verilmiştir. Çizelge 4.2 incelendiğinde HMS07 lokusunda 2, ASB23 lokusunda 3, HMS02 lokusunda 3, COR058 lokusunda 1, VHL209 lokusunda 3, ASB02 lokusunda 1, COR007 lokusunda 2, HTG07 lokusunda 1, LEX73 lokusunda 3, HTG10 lokusunda 1, COR018 lokusunda 1, COR071 lokusunda 2, COR082 lokusunda 2, LEX54 lokusunda 5, AHT05 lokusunda 3 olmak üzere toplam 33 allel popülasyona özgü allel olarak tespit edilmiştir. HTG06, COR022, HMS20, HMS03, ASB17 lokuslarında ise popülasyona özgü allel tespit edilmemiştir. En fazla popülasyona özgü allel ($A_p = 7$) Kırklareli ilinden alınan örnekler ile oluşturulan popülasyonda gözlenmiştir. Konya, Amasya-Merzifon ve Isparta illerinden oluşturulan popülasyonlarda ise popülasyona özgü allel tespit edilmemiştir.

Genetik çeşitlilik parametrelerinden lokus başına düşen ortalama allel sayısı (N_a), etkili allel sayısı (N_e), Shannon sabiti (Shannon Diversity Index) (I), beklenen heterozigotluk (H_e), gözlenen heterozigotluk (H_o) değerleri Çizelge 4.3'de verilmiştir. Çizelge 4.3 incelendiğinde lokus başına düşen ortalama allel sayısının (N_a) 6,100 değeri ile 3,700 değeri arasında değiştiği tespit edilmiştir. Etkili allel sayısının (N_e) ise 3,436 değeri ile 2,816 değeri arasında değiştiği saptanmıştır. Ortalama N_e değeri (etkili allel sayısı) tüm popülasyonlarda $3,148 \pm 0,093$ olarak hesaplanmıştır. Hesaplanan Shannon sabiti ise en yüksek $1,253 \pm 0,130$ değeri ile İstanbul-Çatalca ilinden oluşturulan popülasyonda, en düşük $0,995 \pm 0,134$ değeri ile Aydın ilinden oluşturulan popülasyonda hesaplanmıştır. Tüm popülasyonlardaki ortalama Shannon sabiti değeri ise $1,166 \pm 0,033$ olarak hesaplanmıştır.

Popülasyonların beklenen ve gözlenen heterozigotluk değerleri ayrı ayrı incelenmiştir. Çizelge 4.3 incelendiğinde gözlenen (H_o) heterozigotluk değerinin $0,605 \pm 0,069$ olarak en yüksek Kastamonu ilinde olduğu tespit edilmiştir. Gözlenen heterozigotluk değeri en düşük $0,535 \pm 0,068$ değeri ile Isparta ilinde saptanmıştır. Beklenen heterozigotluk (H_e) değeri ise $0,597 \pm 0,054$ olarak en yüksek İstanbul-Çatalca ilinde, en düşük $0,524 \pm 0,061$ değeri ise Aydın ilinden oluşturulan popülasyonunda hesaplanmıştır. Ortalama H_e değeri $0,572 \pm 0,014$, H_o değeri ise $0,573 \pm 0,016$ olarak hesaplanmıştır.

Çizelge 4.2. Çalışmada kullanılan 20 mikrosatellit primerine ait genetik parametreler

Lokuslar	Allel Aralıkları (bç)	N _a *	A _p *	H _e *	H _o *
Grup 1					
HMS07	160-178	7	2	0,419 ± 0,029	0,449 ± 0,030
ASB17	91	1		0,000	0,000
ASB23	153-169	9	3	0,733 ± 0,017	0,737 ± 0,037
HMS02	221-243	11	3	0,688 ± 0,018	0,723 ± 0,031
COR058	187-209	11	1	0,739 ± 0,018	0,740 ± 0,029
Grup 2					
HMS03	149-169	8	-	0,587 ± 0,019	0,594 ± 0,021
VHL209	76-92	9	3	0,444 ± 0,032	0,473 ± 0,043
ASB02	157-163	4	1	0,440 ± 0,016	0,457 ± 0,029
HMS20	115-131	7	-	0,641 ± 0,014	0,659 ± 0,034
COR007	165-179	8	2	0,692 ± 0,027	0,703 ± 0,039
Grup 3					
HTG07	126-158	12	1	0,800 ± 0,009	0,809 ± 0,016
LEX73	226-236	6	3	0,198 ± 0,025	0,044 ± 0,010
HTG10	84-104	10	1	0,759 ± 0,011	0,782 ± 0,021
COR022	241-249	2	-	0,055 ± 0,018	0,060 ± 0,019
Grup 4					
COR018	248-276	14	1	0,785 ± 0,012	0,835 ± 0,025
COR071	185-207	10	2	0,715 ± 0,026	0,742 ± 0,032
COR082	212-226	8	2	0,538 ± 0,027	0,372 ± 0,043
HTG06	78-84	4	-	0,681 ± 0,012	0,728 ± 0,025
Grup 5					
LEX54	92-158	17	5	0,670 ± 0,014	0,688 ± 0,023
AHT05	130-166	16	3	0,858 ± 0,008	0,868 ± 0,023
Toplam		174	33	Ort = 0,572 ± 0,014	Ort = 0,573 ± 0,016

*N_a = gözlenen allel sayısı, A_p = popülasyona özgü allel sayısı, H_o = gözlenen heterozigotluk, H_e = beklenen heterozigotluk

Çizelge 4.3. *E. asinus* populasyonlarına ait genetik çeşitlilik parametreleri

Populasyon		N**	N _a **	N _e **	I**	H _o **	H _e **	F**	A _p **
KIR*	Ort	29,900	6,100	3,344	1,244	0,539	0,593	0,131	7
	±	0,069	0,661	0,399	0,135	0,063	0,056	0,061	
ÇAT*	Ort	20,000	5,750	3,354	1,253	0,593	0,597	0,030	3
	±	0,000	0,593	0,425	0,130	0,061	0,054	0,052	
MAL*	Ort	9,900	4,550	2,966	1,127	0,548	0,570	0,050	2
	±	0,069	0,489	0,321	0,125	0,062	0,053	0,056	
MER*	Ort	29,950	5,700	3,274	1,214	0,576	0,586	0,029	-
	±	0,050	0,649	0,370	0,135	0,061	0,058	0,046	
TOK*	Ort	10,000	4,550	2,902	1,089	0,555	0,542	0,008	1
	±	0,000	0,444	0,311	0,131	0,069	0,062	0,063	
KAS*	Ort	10,000	4,500	2,971	1,103	0,605	0,559	-0,032	1
	±	0,000	0,526	0,354	0,127	0,069	0,054	0,071	
KÜT*	Ort	10,000	4,050	2,874	1,046	0,595	0,549	-0,088	1
	±	0,000	0,467	0,334	0,124	0,063	0,057	0,030	
KON*	Ort	14,950	4,950	3,074	1,181	0,580	0,585	0,042	-
	±	0,050	0,467	0,332	0,118	0,064	0,051	0,063	
ISP*	Ort	10,000	4,650	2,903	1,101	0,535	0,546	0,053	-
	±	0,000	0,499	0,379	0,128	0,068	0,055	0,062	
ANT*	Ort	29,750	5,900	3,225	1,225	0,602	0,587	0,004	3
	±	0,143	0,602	0,363	0,131	0,062	0,057	0,040	
AYD*	Ort	5,950	3,700	2,816	0,995	0,575	0,524	-0,087	1
	±	0,050	0,442	0,323	0,134	0,078	0,061	0,085	
MUĞ*	Ort	19,000	5,350	3,193	1,185	0,561	0,575	0,056	3
	±	0,000	0,539	0,396	0,130	0,063	0,056	0,043	
KAR*	Ort	29,950	5,850	3,378	1,239	0,581	0,591	0,037	4
	±	0,050	0,629	0,388	0,139	0,063	0,060	0,052	
MAR*	Ort	39,950	6,000	3,371	1,247	0,580	0,592	0,047	2
	±	0,050	0,673	0,412	0,138	0,063	0,057	0,050	
ŞAN*	Ort	31,000	5,900	3,436	1,226	0,579	0,581	0,036	4
	±	0,000	0,714	0,441	0,149	0,066	0,062	0,040	
KAH*	Ort	12,800	4,950	3,280	1,180	0,567	0,578	0,023	1
	±	0,117	0,596	0,441	0,137	0,065	0,058	0,072	
Toplam	Ort	19,569	5,153	3,148	1,166	0,573	0,572	0,022	2,06
	±	0,575	0,145	0,093	0,033	0,016	0,014	0,014	

*KIR: Kırklareli, ÇAT: İstanbul-Çatalca, MAL: Tekirdağ-Malkara, MER: Amasya-Merzifon, TOK: Tokat, KAS: Kastamonu, KÜT: Kütahya, KON: Konya ISP: Isparta, ANT: Antalya, AYD: Aydın, MUĞ: Muğla, KAR: Kars, MAR: Mardin, ŞAN: Şanlıurfa, KAH: Kahramanmaraş

**N: örnek sayısı, N_a: gözlenen allel sayısı, N_e: etkili allel sayısı, I: Shannon sabiti, H_o: gözlenen heterozigotluk, H_e: beklenen heterozigotluk, A_p: populasyona özgü allel sayısı, F: homozigotlaşma indeksi (Fixation index), ±: standart hata

Polimorfik Bilgi İçeriği (PIC) değeri polimorfizm hakkında bilgi veren önemli parametrelerden biridir. PIC değerinin 0,25-0,5 arasında hesaplanması iyi düzeyde bilgi verici olduğunu, 0,5'ten büyük hesaplanması ise yüksek derecede bilgi verici bir parametre olduğunu ifade etmektedir (Botstein ve ark. 1980, zkan 2005). Tez çalışmasında kullanılan mikrosatellit primerlerine ait ortalama PIC değerleri her bir popülasyon için ayrı ayrı hesaplanmıştır (izelge 4.4). En yüksek PIC 0,563 değeri ile İstanbul-Çatalca ilinden oluşturulan popülasyonda hesaplanmıştır. En düşük PIC değeri 0,479 ise Aydın ili için hesaplanmıştır.



Çizelge 4.4. Çalışmada kullanılan 20 mikrosatellit primerine ait polimorfik bilgi içeriği (PIC) değerleri

Lokus	KIR*	ÇAT*	MAL*	MER*	TOK*	KAS*	KÜT*	KON*	ISP*	ANT*	AYD*	MUĞ*	KAR*	MAR*	ŞAN*	KAH*	Ort PIC
HMS07	0,496	0,452	0,544	0,328	0,247	0,389	0,303	0,397	0,603	0,318	0,476	0,404	0,232	0,389	0,342	0,289	0,388
ASB17	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
ASB23	0,758	0,751	0,480	0,721	0,751	0,688	0,688	0,670	0,595	0,721	0,688	0,688	0,707	0,735	0,742	0,728	0,694
HMS02	0,601	0,587	0,717	0,595	0,710	0,676	0,452	0,731	0,509	0,633	0,692	0,619	0,693	0,690	0,650	0,748	0,644
COR058	0,748	0,716	0,587	0,712	0,688	0,610	0,559	0,742	0,544	0,733	0,782	0,754	0,788	0,742	0,794	0,696	0,700
HMS03	0,518	0,545	0,604	0,487	0,476	0,375	0,527	0,572	0,381	0,555	0,346	0,562	0,504	0,553	0,548	0,673	0,514
VHL209	0,372	0,427	0,305	0,410	0,905	0,421	0,662	0,500	0,379	0,498	0,363	0,377	0,548	0,455	0,372	0,350	0,459
ASB02	0,383	0,371	0,346	0,315	0,436	0,332	0,424	0,269	0,269	0,351	0,423	0,327	0,401	0,355	0,373	0,324	0,356
HMS20	0,560	0,644	0,551	0,599	0,651	0,580	0,420	0,503	0,551	0,594	0,680	0,588	0,608	0,577	0,577	0,608	0,581
COR007	0,633	0,741	0,683	0,781	0,735	0,722	0,495	0,714	0,681	0,706	0,305	0,559	0,717	0,688	0,697	0,544	0,650
LEX73	0,168	0,220	0,321	0,164	0,164	0,164	0,091	0,251	0,247	0,097	0,000	0,135	0,223	0,243	0,090	0,253	0,177
HTG07	0,815	0,843	0,765	0,796	0,723	0,765	0,770	0,707	0,729	0,736	0,782	0,831	0,770	0,812	0,818	0,795	0,779
COR022	0,091	0,129	0,000	0,062	0,000	0,164	0,000	0,164	0,000	0,117	0,000	0,095	0,000	0,000	0,000	0,000	0,051
HTG10	0,750	0,739	0,773	0,777	0,671	0,722	0,700	0,634	0,658	0,764	0,719	0,787	0,781	0,776	0,761	0,695	0,732
COR018	0,791	0,738	0,687	0,751	0,790	0,759	0,588	0,720	0,777	0,796	0,745	0,763	0,816	0,825	0,792	0,728	0,754
COR071	0,756	0,704	0,710	0,706	0,579	0,634	0,760	0,764	0,790	0,706	0,305	0,642	0,727	0,691	0,753	0,630	0,678
COR082	0,480	0,515	0,379	0,617	0,570	0,269	0,581	0,536	0,421	0,604	0,346	0,515	0,452	0,470	0,422	0,702	0,492
HTG06	0,674	0,601	0,619	0,672	0,612	0,692	0,632	0,625	0,588	0,635	0,476	0,666	0,672	0,622	0,659	0,533	0,624
LEX54	0,679	0,666	0,628	0,637	0,480	0,501	0,551	0,602	0,590	0,651	0,708	0,617	0,661	0,662	0,652	0,665	0,622
AHT05	0,854	0,871	0,833	0,840	0,766	0,850	0,844	0,844	0,862	0,855	0,746	0,849	0,843	0,857	0,871	0,887	0,842
Ort PIC	0,556	0,563	0,526	0,548	0,548	0,516	0,502	0,547	0,509	0,554	0,479	0,539	0,557	0,557	0,546	0,542	0,479

*KIR: Kırklareli, ÇAT: İstanbul-Çatalca, MAL: Tekirdağ-Malkara, MER: Amasya-Merzifon, TOK: Tokat, KAS: Kastamonu, KÜT: Kütahya, KON: Konya ISP: Isparta, ANT: Antalya, AYD: Aydın, MUĞ: Muğla, KAR: Kars, MAR: Mardin, ŞAN: Şanlıurfa, KAH: Kahramanmaraş

Populasyonların genetik yapısının belirlenmesi, populasyon genetiğinin en önemli konusunu oluşturmaktadır. Populasyonlarda çalışılan lokuslar açısından Hardy-Weinberg dengesinden sapmalara homozigotlaşma indeksi ($F = \text{Fixation index}$) denilmektedir (Wright 1965 ve 1978). Populasyonlar içerisinde akrabalı yetiştirilmenin artmasıyla fikse olan yani homozigotlaşan genlerin oranının artması sonucu Hardy-Weinberg dengesinde sapmalar meydana gelmektedir. F parametreleri, Hardy-Weinberg dengesinden sapmalar hakkında bilgi vermektedir. Populasyon yapısını değerlendirmek için en sık kullanılan yöntemlerden olan F parametreleri, F_{IT} , F_{IS} ve F_{ST} olarak sembolize edilmektedir. En yaygın olarak kullanılan F_{ST} (Wright 1965), alt populasyonlar arasındaki genetik farklılığın ölçüsü olarak ifade edilmektedir. F_{IS} , alt populasyonlardaki ortalama akrabalı yetişme katsayısını; F_{IT} ise tüm populasyonlarda rastgele birleşen iki gametin aynı atadan gelme oranı olup, populasyonun akrabalı yetişme katsayısını ve Hardy-Weinberg dengesinden sapmanın ölçüsü hakkında bilgi vermektedir (Wright 1965, Özkan 2005, Meirmans ve Hedrick 2011). Çalışılan tüm lokuslarda hesaplanan F istatistikleri Çizelge 4.5’de verilmiştir. Populasyonların ikili karşılaştırılması sonucu hesaplanan F_{ST} değerleri Çizelge 4.6’da verilmiştir.

Çizelge 4.5. Çalışılan mikrosatellit lokuslarındaki F -istatistik değerleri

	Lokus	F_{IS}	F_{IT}	F_{ST}
TÜM POPULASYONLAR	HMS07	-0,072	-0,028	0,041
	ASB17	-	-	-
	ASB23	-0,007	0,033	0,039
	HMS02	-0,050	-0,006	0,042
	COR058	-0,002	0,052	0,054
	HMS03	-0,011	0,025	0,036
	VHL209	-0,065	-0,013	0,049
	ASB02	-0,040	-0,013	0,026
	HMS20	-0,028	0,006	0,034
	COR007	-0,015	0,037	0,051
	LEX73	0,778	0,791	0,060
	HTG07	-0,012	0,020	0,032
	COR022	-0,083	-0,031	0,048
	HTG10	-0,030	0,016	0,045
	COR018	-0,064	-0,020	0,042
	COR071	-0,038	0,019	0,055
	COR082	0,308	0,454	0,211
	HTG06	-0,069	-0,028	0,038
	LEX54	-0,026	0,007	0,032
	AHT05	-0,012	0,027	0,038
Ortalama	0,024	0,071	0,051	
±	0,045	0,046	0,009	

Çizelge 4.6. Populasyonların ikili karşılaştırılması sonucu hesaplanan F_{ST} değerleri

KIR*	ÇAT*	MAL*	MER*	TOK*	KAS*	KÜT*	KON*	ISP*	ANT*	AYD*	MUĞ*	KAR*	MAR*	ŞAN*	KAH*	
0,000																KIR
0,008	0,000															ÇAT
0,033	0,032	0,000														MAL
0,017	0,017	0,024	0,000													MER
0,039	0,033	0,042	0,025	0,000												TOK
0,033	0,036	0,027	0,014	0,034	0,000											KAS
0,034	0,037	0,045	0,026	0,051	0,033	0,000										KÜT
0,027	0,025	0,022	0,014	0,031	0,022	0,038	0,000									KON
0,032	0,034	0,032	0,021	0,044	0,033	0,037	0,023	0,000								ISP
0,016	0,015	0,022	0,009	0,025	0,015	0,026	0,012	0,023	0,000							ANT
0,035	0,036	0,049	0,031	0,047	0,040	0,048	0,037	0,036	0,027	0,000						AYD
0,018	0,019	0,025	0,011	0,026	0,018	0,031	0,017	0,024	0,009	0,023	0,000					MUĞ
0,014	0,017	0,040	0,018	0,046	0,041	0,033	0,028	0,035	0,022	0,043	0,027	0,000				KAR
0,010	0,014	0,039	0,016	0,040	0,037	0,030	0,030	0,034	0,021	0,037	0,025	0,010	0,000			MAR
0,013	0,015	0,050	0,020	0,040	0,043	0,034	0,037	0,042	0,022	0,039	0,026	0,012	0,010	0,000		ŞAN
0,025	0,025	0,036	0,021	0,038	0,031	0,044	0,028	0,034	0,021	0,039	0,021	0,028	0,025	0,033	0,000	KAH

*KIR: Kırklareli, ÇAT: İstanbul-Çatalca, MAL: Tekirdağ-Malkara, MER: Amasya-Merzifon, TOK: Tokat, KAS: Kastamonu, KÜT: Kütahya, KON: Konya ISP: Isparta, ANT: Antalya, AYD: Aydın, MUĞ: Muğla, KAR: Kars, MAR: Mardin, ŞAN: Şanlıurfa, KAH: Kahramanmaraş

F_{IS} değerinin pozitif olması heterozigot azlığını, negatif olması ise heterozigot fazlalığını ifade etmektedir. F_{ST} değerinin ise 1'e yakın olması durumunda alt populasyon ortak atadan uzaklaşmakta, değer küçülmesi durumunda ise populasyonların birbirine benzerlik oranı artmaktadır. Çalışmada tüm populasyonların lokus bazında ortalama F istatistikleri; F_{IS} değeri $0,024 \pm 0,045$, F_{IT} değeri $0,071 \pm 0,046$, F_{ST} değeri ise $0,051 \pm 0,009$ olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.5). Çizelge 4.6 incelendiğinde en düşük F_{ST} değerinin (0,008) Kırklareli ve İstanbul-Çatalca illeri arasında, en yüksek değer ise (0,051) Tokat ve Kütahya illeri arasında olduğu dikkati çekmiştir. Kırklareli ve İstanbul-Çatalca illerinden oluşturulan populasyonların benzerliğinin fazla, Tokat ve Kütahya illerinden oluşturulan populasyonların benzerliğinin az olduğu tespit edilmiştir.

Çalışmada genetik varyasyonun populasyonlar arası ve populasyonlar içi nasıl dağıldığını gözlemlemek için AMOVA (Moleküler Varyans Analizi) yapılmıştır. Birinci aşama moleküler varyans analizinde (AMOVA); örnek alınan illerin hepsi tek bir grup (16 il) olarak kabul edilmiş ve tek bir grup oluşturulmuştur. Tüm populasyonlarda AMOVA analiz sonuçları değerlendirildiğinde tüm populasyonlarda genetik varyasyonun %97'sinin populasyon içi, %3'ünün ise populasyonlar arası olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.7).

Çizelge 4.7. Moleküler Varyans Analizi (AMOVA) sonuçları

Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Varyans Bileşenleri	Varyans (%)
Populasyonlar Arası	15	316,159	0,446	%3
Populasyonlar İçi	298	3720,099	12,484	%97
Toplam	313	4036,258	12,930	%100

Çalışma kapsamında tüm populasyonlardan elde edilen allel verileri ile populasyonların birbirlerine olan genetik uzaklıkları Nei (1972)'ye göre hesaplanmıştır (Nei 1972, Nei ve Kumar 2000). Genetik uzaklıklar, Çizelge 4.8'de verilmiştir. Çizelge 4.8'de verilen genetik uzaklık verileri değerlendirildiğinde en yüksek değer (0,146) Tekirdağ-Malkara ili ile Şanlıurfa ili arasında olduğu saptanmıştır. En düşük genetik uzaklık değeri ise (0,026) Kırklareli ili ile İstanbul-Çatalca ilinden oluşturulan populasyonlar arasında belirlenmiştir.

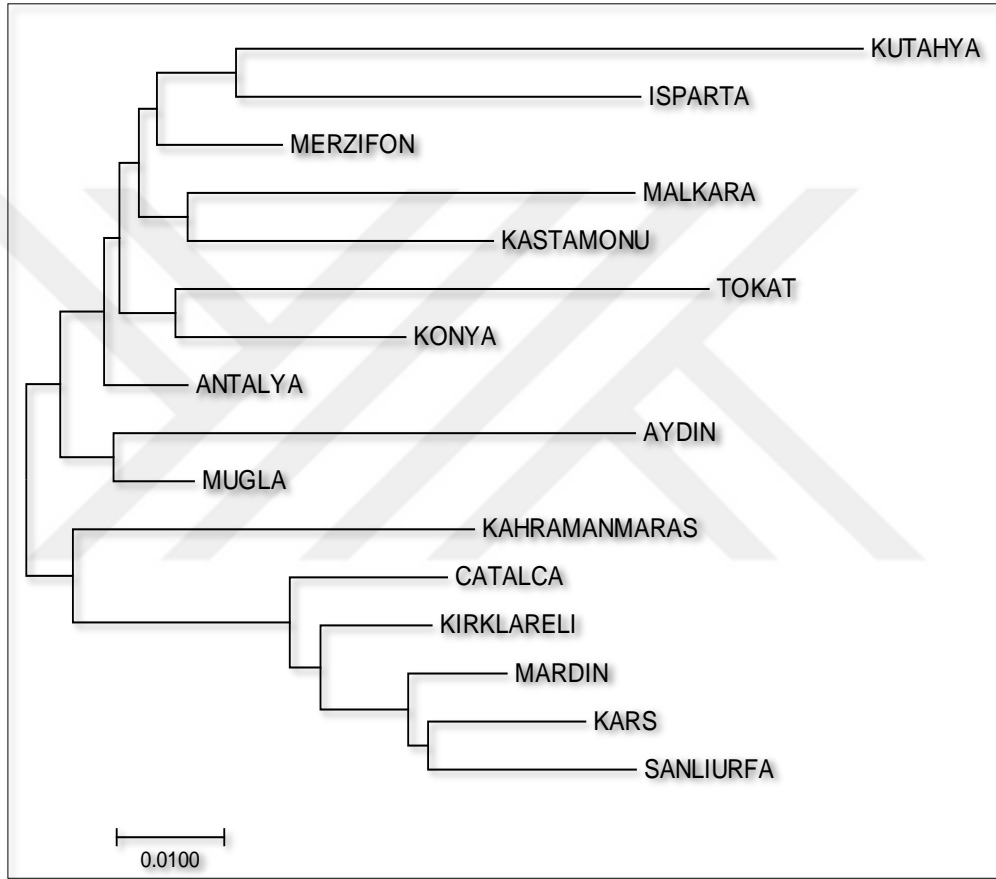
Çizelge 4.8. E. asinus populasyonları arasında Nei (1972)'ye göre hesaplanan genetik uzaklık değerleri

KIR	ÇAT	MAL	MER	TOK	KAS	KÜT	KON	ISP	ANT	AYD	MUĞ	KAR	MAR	ŞAN	KAH	
0,000																KIR
0,026*	0,000															ÇAT
0,098	0,093	0,000														MAL
0,053	0,053	0,068	0,000													MER
0,111	0,091	0,106	0,063	0,000												TOK
0,099	0,115	0,070	0,040	0,084	0,000											KAS
0,099	0,107	0,118	0,074	0,137	0,088	0,000										KÜT
0,084	0,081	0,063	0,044	0,071	0,068	0,105	0,000									KON
0,090	0,098	0,087	0,060	0,113	0,089	0,096	0,060	0,000								ISP
0,051	0,048	0,052	0,027	0,063	0,046	0,075	0,035	0,061	0,000							ANT
0,089	0,092	0,117	0,080	0,111	0,101	0,125	0,087	0,094	0,067	0,000						AYD
0,054	0,059	0,064	0,032	0,068	0,051	0,087	0,048	0,068	0,027	0,056	0,000					MUĞ
0,038	0,046	0,121	0,056	0,130	0,125	0,096	0,084	0,099	0,065	0,106	0,078	0,000				KAR
0,028	0,040	0,120	0,049	0,112	0,111	0,086	0,092	0,097	0,062	0,091	0,073	0,029	0,000			MAR
0,036	0,040	0,146*	0,059	0,114	0,129	0,101	0,108	0,118	0,067	0,104	0,078	0,034	0,027	0,000		ŞAN
0,069	0,074	0,099	0,063	0,104	0,081	0,123	0,082	0,100	0,056	0,095	0,061	0,082	0,073	0,094	0,000	KAH

*KIR: Kırklareli, ÇAT: İstanbul-Çatalca, MAL: Tekirdağ-Malkara, MER: Amasya-Merzifon, TOK: Tokat, KAS: Kastamonu, KÜT: Kütahya, KON: Konya ISP: Isparta, ANT: Antalya, AYD: Aydın, MUĞ: Muğla, KAR: Kars, MAR: Mardin, ŞAN: Şanlıurfa, KAH: Kahramanmaraş

* En yüksek ve en düşük genetik uzaklık değerleri koyu renkte gösterilmiştir.

Tez çalışması kapsamında çalışılan populasyonların genetik farklılıklarının birbiri ile ilişkilendirilmesinin görselleştirilebilmesi için Nei (1972) genetik uzaklık verileri kullanılarak Neighbor-Joining yöntemi ile bir dendrogram oluşturulmuştur (Şekil 4.48). Dendrogram incelendiğinde çalışılan populasyonların temelde 2 gruba ayrıldığı; Kütahya, Isparta, Amasya-Merzifon, Tekirdağ-Malkara, Kastamonu, Tokat, Konya, Antalya, Aydın ve Muğla populasyonlarının bir grupta kümelendiği, diğer grupta ise; Kahramanmaraş, Mardin, Şanlıurfa, Kars, Kırklareli ve İstanbul-Çatalca populasyonlarının yer aldığı tespit edilmiştir.



Şekil 4.41. *E. asinus* populasyonlarında Nei (1972)'nin genetik uzaklık verilerine göre oluşturdukları (Neighbor-Joining Tree) dendrogramı

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu tez çalışmasında, Türkiye genelinde toplam 16 ile ait (Kırklareli, İstanbul-Çatalca, Tekirdağ-Malkara, Amasya-Merzifon, Tokat, Kastamonu, Kütahya, Konya, Isparta, Antalya, Aydın, Muğla, Kars, Mardin, Şanlıurfa ve Kahramanmaraş) toplam 314 bireyden oluşan (*Equus asinus*) eşek populasyonları ile çalışılmıştır. 314 bireyden toplanan kan örnekleri ile DNA izolasyonu yapılmış ve izole edilen DNA'lar ile PCR analizleri gerçekleştirilmiştir. Çalışmada PCR analizleri için 20 mikrosatellit primeri kullanılmış (HMS07, ASB17, ASB23, HTG07, COR058, HMS02, AHT05, HMS03, COR007, LEX73, HTG06, VHL209, ASB02, HMS20, COR022, HTG10, COR018, COR071, COR082 ve LEX54), her bir mikrosatellit primerine ait allellerin belirlenmesi için her bir primer bir lokus ve bu primerlerin çoğalttığı DNA parçaları ise birer allel olarak değerlendirilmiş ve analiz edilmiştir. PCR ürünleri ile DNA parça (fragment) analizleri yapılmış ve DNA büyüklükleri (bp) elde edilen alleller ile çeşitli genetik istatistik analizler yapılmıştır.

Yapılan literatür çalışmaları sonucunda ülkemizin eşek ırklarının genetik yapısı hakkında yeterli bilgiye ulaşılamamıştır. Bu nedenle tez çalışması kapsamında ülkemizin biyolojik zenginliği içerisinde önemli bir yer tutan, çeşitli şehirlerinden oluşturulan eşek populasyonlarının mikrosatellit lokusları ele alınarak gen ve genotip frekansları hesaplanmış ve yerli gen kaynaklarını koruma çalışmalarına katkı sağlayacak veriler elde edilmiştir.

Genetik analizlerde kullanılan belirteçlerin kullanışlılık derecesi elde edilen alleller ve bu allellerin frekansları ile değerlendirilebilmektedir. Teorik olarak bir belirtecin polimorfik olabilmesi için en az iki farklı allel oluşturması gerekmektedir ve polimorfizm değeri ise iki farklı ölçüt ile belirlenebilmektedir. Bu ölçütlerden biri heterozigotluk (Nei ve Roychoudhury 1974) bir diğeri ise Botstein (1980)'e göre polimorfik bilgi içeriğidir (PIC). Bu çerçevede tez çalışması kapsamında elde edilen allel frekansları ile beklenen heterozigotluk (H_e), gözlenen heterozigotluk (H_o) değerleri tespit edilmiş ve her bir lokus için PIC değerleri hesaplanmıştır. Ayrıca bir populasyondaki tür çeşitliliğini karakterize etmek için yaygın olarak kullanılan Shannon sabiti (Shannon Diversity Index) (Shannon 1948, Magurran 1988) ve Nei (1972)'ye göre genetik uzaklık değerleri de hesaplanmıştır. Elde edilen bu veriler çerçevesinde çalışılan 16 populasyonun genetik yapısı hakkında önemli bilgilere ulaşılmıştır.

Çalışmada 16 farklı populasyonda çalışılan toplam 20 mikrosatellit primerinden bir tanesi haricinde (ASB17) hepsinin çalışılan populasyonlar genelinde polimorfik olduğu tespit

edilmiştir. Çalışılan 20 mikrosatellit lokusunda toplam 174 allel tespit edilmiş ve en çok allellin LEX54 primerine ait olduğu belirlenmiştir. Lokus başına düşen allel sayısının 8,7 (allel/lokus) olduğu hesaplanmıştır. Gözlenen allel sayısı N_a ortalama $5,153 \pm 0,145$ olarak hesaplanmıştır. Toplam 174 allellin 7'si HMS07, 1'i ASB17, 9'u ASB23, 11'i HMS02, 11'i COR058, 8'si HMS03, 9'u VHL209, 4'ü ASB02, 7'si HMS20, 8'i COR007, 6'sı LEX73, 12'si HTG07, 2'si COR022, 10'u HTG10, 14'ü COR018, 10'u COR071, 8'i COR082, 4'ü HTG06, 17'si LEX54 ve 16'sı AHT05 primerinde tespit edilmiştir. Çalışmada lokus bazında hesaplanan F istatistikleri; F_{IS} değeri $0,024 \pm 0,045$, F_{IT} değeri $0,071 \pm 0,046$, F_{ST} değeri ise $0,051 \pm 0,009$ olarak hesaplanmıştır.

20 mikrosatellit lokusu ile elde edilen allel sonuçları benzer bazı çalışmalarla karşılaştırılmıştır. Zhang ve ark. (2016) yapmış oldukları çalışma kapsamında 10 mikrosatellit lokusu kullanmış ve 10 farklı eşek ırkına ait (Guangzhong, Dezhou, Qingyang, Biyang, Jiami, Mongolia, Gunsha, Xinjiang, Taihang ve Xiji) 415 birey analiz yapılmıştır. Bu çalışmada kullanılan mikrosatellit lokuslarından 5 lokusun ortak olduğu tespit edilmiştir (HTG06, HTG10, HMS03, HMS07 ve HTG07). Aynı çalışmada 10 lokusun 7'sinin polimorfik olduğu ifade edilmiştir. Polimorfik lokusların çalışmamızla ortak olduğu saptanmıştır. Zhang ve ark. (2016)'nın çalışmasında toplam 80 allellin tespit edildiği en çok allellin ise AHT05 lokusunda (15) belirlendiği en az allellin ise HMS07 lokusunda (6) tespit edildiği ifade edilmiştir. Yaptığımız çalışmada da analiz ettiğimiz HMS07 lokusu için 7 allel tespit edilmiştir. Lokus başına düşen ortalama allel sayısının 8 (allel/lokus) olduğu ve çalışmamızla karşılaştırıldığında bu değerlerin birbirine yakın olduğu tespit edilmiştir. Bu durumun ortak kullanılan lokuslardan kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Ayrıca populasyonun polimorfizmi hakkında önemli bir ölçüt olan PIC değeri en yüksek Mongolia eşek ırkında (0,7967) en düşük ise Qingyang eşek ırkında (0,7218) tespit edilmiştir. Çalışmamızda ise en yüksek PIC değerinin İstanbul-Çatalca (0,563) ilinden oluşturulan populasyonda, en düşük PIC değerinin ise Aydın ilinden oluşturulan populasyonda (0,479) hesaplandığı tespit edilmiştir. Ayrıca ortak çalışılan lokusların ($PIC > 0,5$) yüksek düzeyde bilgi verici olduğu ve çalışmamızla karşılaştırıldığında sadece HMS07 lokusunun iyi düzeyde bilgi verici olduğu ($PIC 0,25-0,5$) belirlenmiştir. Bu sonuçlar neticesinde ülkemizde çalıştığımız mikrosatellit lokusları çerçevesinde aslında azımsanamayacak düzeyde genetik çeşitliliğin mevcut olduğu düşünülmektedir. Populasyon içi genetik çeşitliliğin belirlenmesinde önemli bir ölçüt olan heterozigotluk değeri ise Zhang ve ark. (2016)'da 0,8238 olarak hesaplanmış ve kendi çalışmamızla karşılaştırdığımızda (0,573) bu değer yüksek bir değer olduğu tespit

edilmiştir. Bu durumun çalışmada kullanılan ırk sayısının fazlalığından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Ayrıca bu tez çalışması ile ortak lokusların da çalışıldığı için, SSR lokuslarının için farklı eşek ırkları arasındaki genetik çeşitliliği ve filogenetik ilişkileri analiz etmek adına bilgi verici lokuslar olduğu düşünülmektedir.

İtalya'da üç farklı eşek ırkı ile yapılmış bir başka çalışmada ise toplam 14 mikrosatellit lokusu ile çalışılmış ve çalışılan lokusların sekizinin çalışmamızla ortak ve polimorfik olduğu tespit edilmiştir (Bordonaro ve ark. 2011). Aynı çalışmada lokus başına düşen allel sayısının 6,07 olarak hesaplandığı bildirilmiştir. Lokus başına düşen ortalama allel sayılarının karşılaştırıldığında çalışmamızdan düşük bir değer olduğu tespit edilmiş olup bu durumun çalışılan birey sayısının azlığı ya da ırkların farklılığından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Bordonaro ve ark. (2011)'de Ortalama gözlenen heterozigotluk değerinin ise $0,455 \pm 0,054$ olduğu yürütülen tez çalışmasında ise $0,573 \pm 0,016$ olarak hesaplandığı tespit edilmiştir. Ayrıca ortak çalışılan lokusların gözlenen heterozigotluk değerlerinin; AHT05 0,581, ASB23 0,704, HMS2 0,271, HMS3 0,463, HMS7 0,222, HTG10 0,736, HTG6 0,556 ve HTG7 0,648 olarak hesaplandığı bildirilmiş olup çalışmamızla karşılaştırıldığında heterozigotluk değerlerimizin yüksek olduğu tespit edilmiştir (AHT05 0,868, ASB23 0,737, HMS2 0,723, HMS3 0,594, HMS7 0,449, HTG10 0,782, HTG6 0,728 ve HTG7 0,809). Ortak çalışılan lokusların PIC değerleri karşılaştırıldığında ise çalışmamızda da analiz ettiğimiz HMS07 lokusunun 0,388 olarak hesaplandığı, karşılaştırılan çalışmada ise 0,291 olarak hesaplandığı belirlenmiş olup iyi derecede polimorfik bilgi içeren lokuslar olduğu belirlenmiştir. HMS07 lokusu haricindeki ortak lokusların PIC değerlerinin iki çalışmada da yüksek derecede polimorfik bilgi içeriğine sahip olduğu ($PIC >0,5$) tespit edilmiştir. Çalışılan lokus bazında hesaplanan F_{ST} değerinin toplam 0,108, F_{IS} değerinin toplam 0,161, F_{IT} değerinin toplam 0,251 olarak hesaplandığı bildirilmiştir. F_{IS} değerinin ASB23 ve HMS5 lokusları için negatif olduğu tespit edilmiştir. Çalışmamızda ise lokus bazında F_{IS} değeri 0,258, F_{IT} değeri 0,199, F_{ST} değeri ise 0,074 olarak hesaplanmıştır. F_{IS} değerleri sunulan tez çalışmasıyla karşılaştırıldığında düşük olduğu ve akrabalı yetiştirmenin fazla olabileceği düşünülmektedir. Çalışmamızda lokus bazında hesaplanan F_{ST} değeri; en yüksek (0,244) HMS3, en düşük (-0,009) HTG4 lokuslarında hesaplanmış ve sunulan çalışmayla karşılaştırıldığında; en düşük değer ASB02 (0,026) ve en yüksek değer COR082 (0,211) lokuslarında hesaplandığı saptanmıştır.

İtalya’da sekiz farklı eşek ırkından ve 258 bireyden oluşan bir populasyonda yapılan bir diğer çalışmada 16 mikrosatellit lokusunda toplam 126 allel tespit edilmiştir (Colli ve ark. 2012). Locus başına düşen allel sayısı 7,87, beklenen ve gözlenen heterozigotluk değerleri ise sırasıyla 0,558 ve 0,438 olarak hesaplanmıştır. Çalışmamızla kıyasladığımızda bu değerlerin daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Populasyonların ikili karşılaştırılması sonucu elde edilen F_{ST} değerinin; en düşük 0,015 (Romagnolo ve Grigio Siciliano), en yüksek 0,241 (Martina Franca ve Pantesco) olarak hesaplandığı bildirilmiştir. Bu tez çalışmasında ise; F_{ST} değeri en düşük (0,008) Kırklareli ve İstanbul-Çatalca illeri arasında, en yüksek (0,051) Tokat ve Kütahya illeri arasında saptanmıştır.

Çalışmamızla ortak yedi lokusun tespit edildiği Di ve ark. (2017)’nin çalışmasında toplam 15 locus ile çalışılmış ve hepsinin polimorfik olduğu belirtilmiştir. Bu lokuslarda toplamda 132 allelin tespit edildiği ifade edilmiştir. Ortak lokuslardan elde edilen allel sayıları incelendiğinde birbirine çok yakın olduğu belirlenmiştir. Locus başına düşen allel sayısının ise 8,8 olduğu ve çalışmamızla yakın bir değer gösterdiği dikkati çekmiştir. Ayrıca çalışmamız diğer çalışmalarla karşılaştırıldığında ortalama locus başına düşen allel sayısının birbirine yakın değerlerde olduğu tespit edilmiştir (Aranguren-Mendez ve ark. 2001, Colli ve ark. 2012, Rosenbom ve ark.2014, Jordana ve ark. 2015, Zhang ve ark. 2016, Sharma ve ark. 2017). Çalışmamızda elde edilen locus başına düşen allel sayısının literatür çalışmalarının genelini ortalamasının üzerinde bir değerde olduğu ve seçilen lokusların yüksek sayıda allel içerdiği dikkati çekmiştir. Di ve ark. (2017)’de hesaplanan heterozigotluk değerleri; ortalama gözlenen heterozigotluk değeri 0,56, ortalama beklenen heterozigotluk değeri ise 0,70 olarak bildirilmiştir. Locus bazında F_{IS} değerleri; HMS03: -0,004, HTG06: -0,134 olarak hesaplanmıştır. F_{IS} değerleri çalışmamızla karşılaştırıldığında; toplam 17 lokusta negatif tespit edilmiş olup, HMS03 -0,011, HTG06 -0,069 olarak hesaplanmıştır. Çin’in 5 yerli eşek ırkı ile yürütülen bu çalışmada F_{ST} değeri 0,074 olarak hesaplanmış, genetik varyasyonun %92,6’sının populasyonlar içi, %7,4’ünün populasyonlar arası kaynaklandığı tespit edilmiştir. Çalışmamızda ise toplam F_{ST} değeri $0,051 \pm 0,009$ olarak belirlenmiş, genetik varyasyonun %97’sinin populasyon içi, %3’ünün ise populasyonlar arası olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.6). Sonuçların çalışmamızla benzer olduğu dikkati çekmiştir.

Populasyona özgü alleller genetik farklılığı değerlendirmede önemli bir parametredir. Çalışmamızda 33 populasyona özgü allel (%18,96) belirlenmiş olup Rosenbom ve ark. (2014) Arap Yarımadası, Afrika ve Yakın Doğu civarından oluşturduğu örneklem ile yapmış olduğu

çalışmada ise 51 popülasyona özgü allel (%20) belirlenmiştir. Balkan eşeklerinden yapılan bir başka çalışmada ise 28 popülasyona özgü allel (%27,45) tespit edilmiştir (Stanisic ve ark. 2017).

Amerika eşek ırklarından oluşan 350 bireyi içeren bir popülasyonda yapılan çalışmada, 14 mikrosatellit lokusu ile çalışılmış ve seçilen bazı lokusların ortak olduğu tespit edilmiştir (AHT04, AHT05, ASB23, HMS02, HMS03, HMS05, HMS06, HMS07, HTG04, HTG06, HTG07, HTG10, HTG15 ve VHL20) (Jordana ve ark. 2015). Sunulan tez çalışmasıyla ortak 8 lokusun bulunduğu ve tüm lokuslardan toplam 98 allelin tespit edildiği belirlenmiştir. Gözlenen heterozigotluk değerinin $0,512 \pm 0,225$ olarak hesaplandığı bu değer de sunulan tez çalışmasıyla yakın olduğu tespit edilmiştir.

Ciampolini ve ark. (2007), toplam 18 mikrosatellit lokusu ile yürüttükleri çalışma kapsamında (AHT4, ASB02, ASB23, COR58, COR71, HMS1, HMS2, HMS3, HMS45, HMS6, HMS7, HTG10, HTG4, HTG6, HTG7, SGCV28, VHL20 ve VHL209) analiz ettikleri mikrosatellit lokuslarının dokuzunun çalışmamızla ortak olduğu tespit edilmiştir. Elde edilen allel sayıları ve lokus başına düşen allel sayılarının ($5,61 \pm 2,893$) çalışmamızdan az olduğu dikkati çekmiştir. Bu durumun çalışmada kullanılan birey sayısının az olması ile ilgili olabileceği düşünülmektedir. Nitekim çalışmada verilen, popülasyonlar için genetik çeşitliliğin belirlenmesinde yardımcı bir diğer ölçüt olan ortalama heterozigotluk değerinin ise (0,579) çalışmamızla kıyaslandığında benzer olduğu tespit edilmiştir. Bu durumun ırkların farklı olması ya da seçilen lokuslar arasından farklı olan lokuslar olması nedeniyle olabileceği düşünülmüştür. Ayrıca çalışılan lokusların heterozigotluk değerleri incelendiğinde ortak kullanılan lokusların değerlerinin; ASB02 (0,640), ASB23 (0,755), COR58 (0,620), COR71 (0,700), HMS2 (0,640), HMS3 (0,700), HMS7 (0,400), HTG10 (0,580), HTG6 (0,680), HTG7 (0,840) ve VHL209 (0,326) olarak hesaplandığı bildirilmiştir. Bu değerler çalışmamızla kıyaslandığında çoğunlukla lokusların yakın heterozigotluk değerleri gösterdiği tespit edilmiştir. F_{ST} değeri ise 0,043 olarak hesaplanmış olup çalışmamız ve diğer çalışmalar ile (Di ve ark. 2017) karşılaştırıldığında birbirine yakın değerlerin saptandığı dikkati çekmiştir. Bu durumun Dünya genelinde eşek popülasyonları arasında genetik varyasyonun azalmasıyla ilişkili olabileceği düşünülmektedir.

İspanya'da nesli tükenmekte olan 5 eşek ırkında (Andaluza, Catalana, Mallorquina, Encartaciones ve Zamorano-Leonesa) (513 bireyde) toplam 15 mikrosatellit lokusu (AHT4, AHT5, ASB2, HMS1, HMS2, HMS3, HMS5, HMS6, HMS7, HTG4, HTG6, HTG7, HTG10,

HTG15 ve VHL20) ile çalışılmıştır. Çalışmada, iki lokus hariç (ASB2 ve HMS1) 13 lokusdan çeşitli verilerin elde edildiği bildirilmiştir (Aranguren-Mendez ve ark. 2001). Çalışılan lokuslardan sekizinin çalışmamızla ortak olduğu, tüm lokuslardan toplam 115 allelin tespit edildiği ve lokus başına düşen allel sayısının (7,66) çalışmamızla karşılaştırıldığında oranımızın büyük ve allel sayımızın fazla olduğu belirlenmiştir. Ortak lokusların PIC değerleri karşılaştırıldığında sunulan tezde daha yüksek değerlerin elde edildiği tespit edilmiştir (AHT05 0,74, HMS02 0,65, HMS03 0,51, HMS07 0,53, HTG06 0,73, HTG7 0,80 ve HTG10 0,78). Çalışılan ırkların gözlenen heterozigotluk değeri ise $0,546 \pm 0,060$ olarak hesaplanmış ve bu tez çalışmasıyla benzer bulunmuştur.

Bu tez çalışmasında populasyonlar arasındaki genetik farklılıkların Neighbor-Joining yöntemi ile incelenmesi sonucunda çalışılan populasyonların temelde 2 gruba ayrıldığı; Kütahya, Isparta, Amasya-Merzifon, Tekirdağ-Malkara, Kastamonu, Tokat, Konya, Antalya, Aydın ve Muğla populasyonlarının bir grupta kümelenmiş olduğu, diğer grupta ise; Kahramanmaraş, Mardin, Şanlıurfa, Kars, Kırklareli ve İstanbul-Çatalca populasyonlarının yer aldığı tespit edilmiştir. Bu sonuçlara göre, Türkiye yerli eşek ırklarının temelde iki farklı genetik kökeni olduğu ve ırklar bazında değerlendirildiğinde Doğu ve Orta Anadolu ırkları olarak iki gruba ayrılabilceği düşünülmektedir. FAO, Evcil Hayvan Çeşitliği Bilgi Sistemi (DAD-IS)'ne göre Türkiye'de Anadolu, Karakaçan, Merzifon eşek ırklarının var olduğu bildirilmekle birlikte bu veritabanında bu ırklara ait hiçbir veri bulunmamaktadır. Bu çalışmadaki sonuçlara dayanarak bu veritabanındaki bilgilerin revize edilmesi uygun olacaktır. Irklar bazında değerlendirme yapıldığında Türkiye'deki eşek populasyonlarının iki farklı kökenden geldiği ve Türkiye genelinde temelde iki ayrı eşek ırkının var olduğu düşünülmektedir. Bu durumun olası sebepleri olarak her geçen gün sayısı azalmakta olan eşeklerde kontrolsüz çiftleştirme, hayvan satışları ve göç sebebiyle farklı populasyonlardaki olası ırkların ırk özelliklerinin kaybedilmesi gösterilebilir.

Çalışma sonuçlarından elde edilen veriler ile literatür çalışmaları değerlendirildiğinde Dünya genelinde de eşek sayılarında bir azalış olduğu, hatta bazı ırkların yok olma tehlikesi altında bulunduğu gözlenmiştir. 1960'ların başlarında Türkiye eşek nüfusunun neredeyse iki milyon baş olmasına rağmen son 50 yılda önemli ölçüde azalma gözlendiği (Yılmaz ve Wilson 2013) bu nedenle koruma bilincinin oluşması ve bu alanda yapılacak çalışmaların artması gerektiği tespit edilmiştir. Dünya Hayvan Sağlığı Örgütü'nün (OIE) 2002 yılı raporunda belirtildiği gibi; Türkiye'de hayvan sağlığı ve refahını kapsayan yasal çerçevenin

“büyük ve geniş” olmasına rağmen pratikte eksik olması, çok sayıda yasa ve yönetmeliğin bulunmasına rağmen uygulamalarda ki eksiklerin sonucu birçok türün populasyon düzeyinde çarpıcı miktarda azaldığı gözlemlenmektedir (Oskam ve ark. 2004). Bu negatif etkiyi ortadan kaldırmak için yasal çerçevenin uygulanmasında bürokratların ve politikacıların etkinliğinin yanı sıra, yetiştiricilerin zihninde radikal bir değişimin olması gerektiği düşüncesi de benimsenmelidir. Tüm bunların en başında türlerin kökeninin aydınlatılmasına, nesli tükenmekte olan türlerde koruma stratejilerinin oluşturulmasına ilişkin çalışmaların yapılması gerekmektedir. Bu tip araştırmalar sayesinde genetik çeşitlilik tespit edilirken var olan çeşitliliğin de korunabilmesi adına bir yol izlenmiş olacaktır. Bu tez çalışması sonucu elde edilen bulgular ile bu amaca yönelik bir alt yapı oluşturulmuştur.



6. KAYNAKLAR

- Anonim (2018a). Integrated Taxonomic Information System Report. *Equus asinus* Linnaeus,1758, https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=180690#null (Erişim tarihi, 03.12.2018).
- Anonim (2018b). Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) Hayvancılık İstatistikleri veri tabanı. <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?locale=tr> (Erişim tarihi, 19.2018).
- Aranguren-Mendez J, Jordana J, Gomez M (2001). Genetic Conservation of Five Endangered Spanish Donkey Breeds. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 119(4): 256-263.
- Aranguren-Mendez J, Jordana J, Gomez M (2002a). Genetic Diversity in Spanish Donkey Breeds Using Microsatellite DNA Markers. *Genetics Selection Evolution*, 33(4): 433-442.
- Aranguren-Mendez J, Gomez M, Jordana J (2002b). Hierarchical Analysis of Genetic Structure in Spanish Donkey Breeds Using Microsatellite Markers. *Heredity*, 89: 207-211.
- Awise JC (2004). *Molecular Markers, Natural History and Evolution*, Second Edition. University of Georgia, Sinauer Associates, Inc. Publishers P A, 684, Sunderland, Massachusetts, USA.
- Bailey E, Skow L, Bernoco D, DelValle A, Scavone MDP, Bowling AT, Murray JD (2000). Equine Dinucleotide Repeat Loci Lex071 through Lex078. *Animal Genetics*, 31: 280-291.
- Behl R, Niranjana SK, Behl J, Tantiya MS, Arora R, Rao MVD, Reddy PP, Vijh RK, Sharma A (2017a). Genetic Characterization of Brown Type Donkeys of Andhra Pradesh Using Microsatellite Markers. *Indian Journal of Animal Sciences*, 87(9): 1102-1105.
- Behl R, Sadana DK, Behl J, Banerjee P, Joshi J, Vijh RK, Attri PN, Nadda S, Joshi BK (2017b). Characterization and Microsatellite Analysis for Genetic Diversity and Bottlenecks of Spiti Donkey. *Indian Journal of Animal Sciences*, 87(10): 1221-1225.
- Beja-Pereira A, England PR, Ferrand N, Jorda S, Bakhiet AO, Abdalla MA, Mashkour M, Jordana J, Taberlet P, Luikart G (2004). African Origins of the Domestic Donkey. *Science*, 304: 1781.
- Bordonaro S, Guastella AM, Criscione A, Zuccaro A, Marletta D (2011). Genetic Diversity and Variability in Endangered Pantesco and Two Other Sicilian Donkey Breeds Assessed by Microsatellite Markers. *The Scientific World Journal*, 2012: 1-6.
- Botstein D, White RL, Skolnick M, Davis RW (1980). Construction of a Genetic Linkage Map in Man Using Restriction Fragment Length Polymorphisms. *American Journal of Human Genetics*, 32(3): 314-31.
- Binns MM, Holmes NG, Holliman A, Scott AM (1995). The Identification of Polymorphic Microsatellite Loci in the Horse and Their Use in Thoroughbred Parentage Testing. *British Veterinary Journal*, 151: 9-15.
- Breen M, Lindgren G, Binns MM, Norman J, Irvin Z, Bell K, Sandberg K, Ellegren H (1997). Genetical and Physical Assignments of Equine Microsatellites-First Integration of Anchored Markers in Horse Genome Mapping. *Mammalian Genome*, 8: 267-273.
- Bruford MW, Bradley DG, Luikart G (2003). DNA Markers Reveal the Complexity of Livestock Domestication. *Nature Reviews Genetics*, 4(11): 900-910.

- Ciampolini R, Cecchi F, Mazzanti E, Ciani E, Tancredi M, De Sanctis B (2007). The Genetic Variability Analysis of the Amiata Donkey Breed by Molecular Data. *Italian Journal of Animal Science*, 6(SUPPL. 1): 78-80.
- Coogle L, Bailey E (1997). Equine Dinucleotide Repeat Loci Lex049-Lex063. *Animal Genetics*, 28: 370-383.
- Colli L, Perrotta G, Negrini R, Bomba L, Bigi D, Zambonelli P, Supplizi AV, Liotta L, Ajmone-Marsan P (2012). Detecting Population Structure and Recent Demographic History in Endangered Livestock Breeds: The Case of the Italian Autochthonous Donkeys. *Animal Genetics*, 44(1): 69-78.
- Di R, Liu QY, Xie F, Hu WP, Wang XY, Cao XH, Pan ZY, Chen GH, Chu MX (2017). Evaluation of Genetic Diversity and Population Structure of Five Chinese Indigenous Donkey Breeds Using Microsatellite Markers. *Czech Journal of Animal Science*, 62(5): 219-225.
- Ellegren H, Johansson M, Sandberg K, Andersson L (1992). Cloning of Highly Polymorphic Microsatellites in the Horse. *Animal Genetics*, 23(2):133-42.
- George M, Ryder O (1986). Mitochondrial DNA Evolution in the Genus *Equus*. *Molecular Biology and Evolution*, 3(6): 535-546.
- Grinder MI, Krausman PR, Hoffmann RS (2006). *Equus asinus*. *American Society of Mammalogists, Mammalian Species*, 794: 1-9.
- Gross M. (2012). Turkey's Biodiversity at the Crossroads. *Current Biology*, 22(13): 503-505.
- Guastella AM, Zuccaro A, Bordonaro S, Criscione A, Marletta D, D'Urso G (2007). Genetic Diversity and Relationship Among the Three Autochthonous Sicilian Donkey Populations Assessed by Microsatellite Markers. *Italian Journal of Animal Science*, 6(Suppl. 1 Proceedings of the 17th ASPA Congress): 143.
- Guerin G, Nocart M, Kemp SJ (1994). Fifteen New Synteny Assignments of Microsatellites to the Bovine Genome. *Animal Genetics*, 25: 179-181.
- Güleç E (2010). *Eşek Yetiştiriciliği ve Önemi*. ISBN 978-975-6846-40-7. Ankara.
- Han H, Chen N, Jordana J, Li C, Sun T, Xia X, Zhao X, Ji C, Shen S, Yu J, Ainhua F, Chen H, Lei C, Dang R (2017). Genetic Diversity and Paternal Origin of Domestic Donkeys. *Animal Genetics*, 48(6): 708-711.
- Hanotte O, Jianlin H (2005). Genetic Characterization of Livestock Populations and Its Use in Conservation Decision-Making. *The Role of Biotechnology*, Villa Gualino, Turin, Italy.
- Hearne CM, Ghosh S, Todd JA (1992). Microsatellites for Linkage Analysis of Genetic Traits. *Elsevier Science Publisher*, 8(8): 11986-11991.
- Hopman TJ, Han EB, Story MR, Schug MD, Aquadro CF, Bowling AT, Murray JD, Caetano AR, Antczak DF (1999). Equine Dinucleotide Repeat Loci Cor001-Cor020. *Animal Genetics*, 30(3): 225-6.
- Irvin Z, Giffard J, Brandon R, Breen M, Bell K (1998). Equine Dinucleotide Repeat Polymorphisms at Loci ASB 21, 23, 25 and 37-43. *Animal Genetics*, 29(1): 67.
- Ivankovic A, Kavar T, Caput P, Mioc B, Pavic V, Dovc P (2002). Genetic Diversity of Three Donkey Populations in the Croatian Coastal Region. *Animal Genetics*, 33(3): 169-177.

- Jordana J, Folch P, Sanchez A, (1999). Genetic Variation (Protein Markers and Microsatellites) in Endangered Catalanian Donkeys. *Biochemical Systematics and Ecology*, 27(8): 791-798.
- Jordana J, Folch P, Aranguren JA (2001). Microsatellite Analysis of Genetic Diversity in the Catalanian Donkey Breed. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 118(1): 57-63.
- Jordana J, Ferrando A, Miró J, Goyache F, Loarca A, Martínez López OR, Canelon JL, Stemmer A, Agirre L, Lara MAC, Alvarez LA, Llambi S, Gomez N, Gama LT, Novoa MF, Martinez RD, Perez E, Sierra A, Contreras MA, Guastella AM, Marletta D, Arsenos G, Curik I, Landi V, Martinez A, Delgado JV (2015). Genetic Relationships Among American Donkey Populations: Insights into the Process of Colonization. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 133(2): 155-164.
- Kimura B, Marshall FB, Chen S, Rosenbom S, Moehlman PD, Tuross N, Sabin CR, Peters J, Barich B, Yohannes H, Kebede F, Teclai R, Beja-Pereira A, Mulligan CJ (2011). Ancient DNA from Nubian and Somali Wild Ass Provides Insights into Donkey Ancestry and Domestication. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 278(1702): 50-57.
- Krüger K, Gaillard C, Stranzinger G, Rieder S (2005). Phylogenetic Analysis and Species Allocation of Individual Equids Using Microsatellite Data. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 122: 78-86.
- Kugler W, Grünenfelder HP, Broxham E (2008). Donkey Breeds in Europe. Inventory, Description, Need for Action Conservation. Monitoring Institute for Rare Breeds and Seeds in Europe, Switzerland.
- Kul BÇ, Bilgen N, Akyüz B, Ertuğrul O (2016) Molecular phylogeny of Anatolian and Cypriot donkey populations based on mitochondrial DNA and Y-chromosomal STRs. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 63: 143-149.
- Kumar S, Stecher G, Tamura K (2016). MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets. *Molecular Biology and Evolution*, 33(7): 1870-1874.
- Lindsay EH, Opdyke ND, Johnson NM (1980). Pliocene Dispersal of the Horse *Equus* and Late Cenozoic Mammalian Dispersal Events. *Nature*, 287(5778): 135-138.
- Litt M, Luty JA (1989). A Hypervariable Microsatellite Revealed by In Vitro Amplification of a Dinucleotide Repeat within the Cardiac Muscle Actin Gene. *American Journal of Human Genetics*, 44: 397-401.
- Madesis P, Ganopoulos I, Tsiftaris A (2013). Microsatellites: Evolution and Contribution. *Methods in Molecular Biology*, 1006: 1-13.
- Magurran AE (1988). *Ecological Diversity and Its Measurement*. Princeton University Press, New Jersey, 179.
- Marklund S, Ellegren H, Eriksson S, Sandberg K, Andersson L (1994). Parentage Testing and Linkage Analysis in Horse Using a Set of Highly Polymorphic Microsatellites. *Animal Genetics*, 25: 19-23.
- Matassino D, Cecchi F, Ciani F, Incoronato C, Occidente M, Santoro L, Ciampolini R (2014). Genetic Diversity and Variability in Two Italian Autochthonous Donkey Genetic Types Assessed by Microsatellite Markers. *Italian Journal of Animal Science*, 13(1): 53-60.

- Merkel A, Gemmell NJ (2008). Detecting Microsatellites in Genome Data: Variance in Definitions and Bioinformatic Approaches Cause Systematic Bias. *Evolutionary Bioinformatics*, 4: 1-6.
- Michel C (2004). The perdum, a Mount for Distinguished Persons in Mesopotamia During the First Half of the Second Millennium BC. *World Archaeology*, 261(1): 105-119.
- Mullis KB, Faloona FA (1987). Specific Synthesis of DNA in Vitro via a Polymerase-Catalyzed Chain Reaction. *Methods in Enzymology*, 155(C): 335-350.
- Murphie AM, Hopman TJ, Schug MD, Aquadro CF, Bowling AT, Murray JD, Caetano AR, Antczak DF (1999). Equine Dinucleotide Repeat Loci Cor021-Cor040. *Animal Genetics*, 30(3):235-7.
- Nei M (1972). Genetic Distance Between Populations. *The American Naturalist*, Vol. 106, No. 949: 283-291.
- Nei, M. (1975). *Molecular Population Genetics and Evolution*. *Frontiers of Biology*, 40: 288.
- Nei M, Kumar S (2000). *Molecular Evolution and Phylogenetics*. Oxford University Press, New York, 333.
- Nei M, Roychoudhury AK (1974). Sampling Variances of Heterozygosity and Genetic Distance. *Genetics*, 76: 379-390.
- Oskam A, Buttell A, Temel T, Berkum S, Longworth N, Vilchez IM (2004). Turkey in the European Union. Consequences for Agriculture, Food, Rural Areas and Structural Policy.
- Özkan E (2005). Türkiye’de Yetiştirilen Yerli ve Kültür Sığır Irklarının Genetik Yapılarının Mikrosatelitler ile İncelenmesi. Doktora Tezi, Trakya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ.
- Peakall R, Smouse PE (2006). Genalex 6: Genetic Analysis in Excel. Population Genetic Software for Teaching and Research. *Molecular Ecology Notes*, 6: 288-295.
- Peters J, Helmer A, Driesch VD, Segui MS (1999). Early Animal Husbandry in the Northern Levant. *Paléorient*, 25/2: 27-47.
- Porter V (2002). *Mason’s World Dictionary of Livestock Breeds, Types and Varieties*. CABI Publishing, 380.
- Powell W, Machray GC, Proven J (1996). Polymorphism Revealed by Simple Sequence Repeats. *Trends in Plant Science*, 1(7): 215-222.
- Rosenbom S, Costa V, Al-Araimi N, Kefena E, Abdel-Moneim AS, Abdalla MA, Bakhiet A, Beja-Pereira A (2014). Genetic Diversity of Donkey Populations From the Putative Centers of Domestication. *Animal Genetics*, 46(1): 30-36.
- Ruth LS, Hopman TJ, Schug MD, Aquadro CF, Bowling AT, Murray JD, Caetano AR, Antczak DF (1999). Equine Dinucleotide Repeat Loci Cor041-Cor060. *Animal Genetics*, 30(4): 320-1.
- Saiki RK, Gelfand DH, Stoffel S, Scharf SJ, Higuchi R, Horn GT, Mullis KB, Erlich HA (1988). Primer Directed Enzymatic Amplification of DNA with a Thermostable DNA Polymerase. *Science* 239(4839): 487-491.
- Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T (1989). *Molecular Cloning: a Laboratory Manual*, vol. 3, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. ISBN:978-1-936113-42-2.

- Schelling C, Hagger C, Pienkowska A, Siegfried JP, Stranzinger (2002). Mikrosatellitenanalyse in einer Population von Baudet Du Poitou-Eseln. Schweizer Archiv für Tierheilkunde, 144: 413-417.
- Semagn K, Bjornstad A, Ndjiondjop MN (2006). An Overview of Molecular Marker Methods for Plants. African Journal of Biotechnology, 5(25): 2540-2568.
- Shannon CE (1948). A Mathematical Theory of Communication. Bell System Technical Journal, 27: 623-656.
- Sharma R, Sharma H, Ahlawat S, Panchal P (2017). Simple Sequence Repeat (SSR) Genotypic Data Reveal High Genetic Diversity in Rajasthan Donkey of India. Indian Journal of Animal Sciences, 87(12): 1497-1503.
- Stanisic LJ, Aleksic JM, Dimitrijevic V, Simeunovic P, Glavinic U, Stevanovic J, Stanimirovic Z (2017). New Insights into the Origin and the Genetic Status of the Balkan Donkey From Serbia. Animal Genetics, 48(5): 580-590.
- Şekercioğlu ÇH, Anderson S, Akçay E, Bilgin R, Can ÖE, Semiz G, Tavşanoğlu Ç, Yokeş M B, Soyumert A, İpekdal K, Sağlam Kİ, Yücel M, Dalfes, H (2011). Turkey's Globally Important Biodiversity in Crisis. Biological Conservation, 144(12): 2752-2769.
- Tallmadge RL, Hopman TJ, Schug MD, Aquadro CF, Bowling AT, Murray JD, Caetano AR, Antczak DF (1999). Equine Dinucleotide Repeat Loci Cor061-Cor080. Animal Genetics, 30: 462-478.
- Taşkın T, Bardakçioğlu HE, Yılmaz M, Yılmaz O, Koyuncu M (2011). Küçükbaş Hayvan Yetiştiriciliğinde Yabani Hayvan Zararları ve Mücadele Yöntemleri, 25(2): 121-134.
- Ün C, Wimmers K, Schellander K (2000). Mikrosatellitler ve Kullanım Alanları. Hayvansal Üretim, 41: 9-14.
- Van Haeringen WA, Van De Goor LH, Van Den Hout N, Lenstra JA, Van Haeringen H (1998). A Polymorphic Horse Microsatellite Locus: VHL150. Animal Genetics, 29(6): 464.
- Vignal A, Milan D, Sancritobal M, Eggen A (2002). A Review on SNP and Other Types of Molecular Markers and Their Use in Animal Genetics. Genetics Selection Evolution, 34: 275-305.
- Wright S (1965). The Interpretation of Sample Structure by F-Statistics with Special Regard to Systems of Mating. Evolution, 19: 95-420.
- Wright S (1978). The Theory of Gene Frequencies. Evolution and the Genetics of Populations. University Of Chicago Press. Vol. 4.
- Xu X, Gullberg A, Arnason U (1996). The Complete Mitochondrial DNA (mtDNA) of the Donkey and mtDNA Comparisons Among Four Closely Related Mammalian Species-Pairs. Journal of Molecular Evolution, 43(5): 438-446.
- Yalçın E (2016). Kırklareli İli Eşek Çiftliğindeki Populasyonun Çeşitli Vücut Ölçülerine Göre Morfometrik Karakterizasyonu ve mtDNA Polimorfizmi Yoluyla Genetik Çeşitliliğinin İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Namık Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ.
- Yarkın İ (1962). Atçılık. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları:40, Ders Kitabı: 20. Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara.

- Yılmaz O, Wilson RT (2012). The Domestic Livestock Resources of Turkey: Economic and Social Role, Species and Breeds, Conservation Measures and Policy Issues. *Livestock Research for Rural Development*, 24(9).
- Yılmaz O, Wilson RT (2013). The Domestic Livestock Resources of Turkey: Notes on Donkeys. *Journal of Animal and Plant Sciences*, 23(2): 651-656.
- Yılmaz O, Ertuğrul M (2014). Türkiye’de Yetiştirilen Kimi Tek Tırnaklılara Ait Bazı Morfolojik Özellikler. *ÇOMÜ Ziraat Fakültesi*, 2(2): 9-16.
- Zhang RF, Xie WM, Zhang T, Lei CZ (2016). High Polymorphism at Microsatellite Loci in the Chinese Donkey. *Genetics and Molecular Research*, 15(2): gmr.15028291.



ÖZGEÇMİŞ

Selen YATKIN 1989 İstanbul, Kadıköy’de doğdu. İlkokul ve Lise eğitimini İstanbul’un Üsküdar ilçesinde, Ortaokul eğitimini ise Kadıköy ilçesinde tamamladı. 2009 yılında Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi, Teknik Bilimler Meslek Yüksek Okulu, Gıda Bilimi ve Teknolojisi Bölümü’ne girdi. 2011 yılında mezun oldu. Aynı sene Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü’ne girdi. 2015 yılında da bu bölümdeki eğitimini tamamladı. 2015 yılında Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı’nda yüksek lisans eğitimine başladı.

