

**TARSUS VE ÇEVRESİNDE BULUNAN
ÇATALBURUN KÖPEKLERİN GENETİK
YAPISININ mtDNA-PCR ANALİZ YÖNTEMİYLE
BELİRLENMESİ**

ZELİHA TUĞÇE ŞAHİN

**MERSİN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**MERSİN
TEMMUZ - 2015**

**TARSUS VE ÇEVRESİNDE BULUNAN
ÇATALBURUN KÖPEKLERİN GENETİK
YAPISININ mtDNA-PCR ANALİZ YÖNTEMİYLE
BELİRLENMESİ**

ZELİHA TUĞÇE ŞAHİN

**MERSİN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Danışman
Prof. Dr. Serap ERGENE**

**MERSİN
TEMMUZ - 2015**

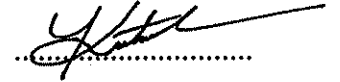
Zeliha Tuğçe ŞAHİN tarafından Prof. Dr. Serap ERGENE danışmanlığında hazırlanan "Tarsus ve Çevresinde Bulunan Çatalburun Köpeklerin Genetik Yapısının mtDNA-PCR Analiz Yöntemiyle Belirlenmesi" başlıklı bu çalışma aşağıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından oy birliği/çokluğu ile Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

İmza

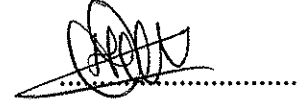
Prof. Dr. Serap ERGENE



Prof. Dr. Yasemin KAÇAR



Doç. Dr. Hikmet Yeter ÇOĞUN



Yukarıdaki Jüri kararı Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun ~~31/7/2015~~ tarih ve ~~2015..20/...805~~ sayılı kararıyla onaylanmıştır.


Prof. Dr. Ayla ÇELİK
Enstitü Müdürü

Bu tezde kullanılan özgün bilgiler, şekil, çizelge ve fotoğraflardan kaynak göstermeden alıntı yapmak 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunu hükümlerine tabidir.

TARSUS VE ÇEVRESİNDE BULUNAN ÇATALBURUN KÖPEKLERİN GENETİK YAPISININ mtDNA-PCR ANALİZ YÖNTEMİYLE BELİRLENMESİ

Zeliha Tuğçe ŞAHİN

ÖZ

Evcil köpek dünyada morfolojik olarak en çok çeşitlenme gösteren memeli türüdür. Dünyada 400 civarında köpek ırkı bulunmaktadır. Çatalburun ve Kangal ırkları ülkemize özgü köpek ırklarıdır. Bu çalışmada sadece Tarsus bölgesinde 200 bireylik küçük bir popülasyon olarak bulunan Çatalburun ırkının genetik yapıları analiz edilmeye çalışılmıştır. Filogenetik çalışmalarda mitokondri DNA'sı, türlerin coğrafi dağılımına göre farklılıklar göstermesi, genomik DNA'ya oranla daha hızlı evrimleşmesi, rekombinasyon olmayışı ve maternal kalıtılması gibi özelliklerinden dolayı sıklıkla tercih edilen belirteçlerden birisidir. Bu çalışmada, Çatalburun (n=10), Kangal (n=10), ve Pointer (n=8) köpek ırklarının mitokondriyal DNA çeşitlilikleri, ırklar arası farklılıkların ortaya konulması amacıyla mitokondriyal DNA kontrol bölgesinin (D-loop) 698 nükleotidlik kısmına dizi analizi uygulanmıştır. Köpeklerden alınan kan örneklerine; sırasıyla DNA izolasyonu, D-loop bölgesinin Polimeraz Zincir Reaksiyonu ve dizi analizi uygulanmıştır. Bu çalışma Çatalburun, Pointer ve Kangal köpeklerinin mtDNA kontrol bölgesi I dizilerine dayalı farklı genetik yapıya sahip farklı popülasyonlar olduklarını göstermiştir. Kangal köpeklerinde görülen D haplogrubunun Çatalburun ve Pointer köpeklerinde görülmemesi Kangal köpekleri ile bu iki ırkın farklı maternal kökene sahip olduklarını göstermiştir.

Anahtar Kelimeler : Tarsus Çatalburun, mitokondriyal DNA, D-loop, genetik çeşitlilik, popülasyon genetik yapısı.

Danışman : Prof. Dr. Serap ERGENE, Mersin Üniversitesi, Biyoloji Ana Bilim Dalı

ANALYSIS OF GENETIC STRUCTURE OF CATALBURUN DOGS FROM TARSUS REGION USING BY mtDNA-PCR METHODS

Zeliha Tuğçe ŞAHİN

ABSTRACT

The domestic dog is the most morphologically diverse mammal in the world. There are 400 different dog breeds on earth. Among these breeds, the Çatalburun and Kangal breeds are the ones that specific to Turkey. The present study aims to analyse the genetic structure of the Çatalburun dogs. In the present size of the population consists of 200 dogs that are living in Tarsus district. The geographic distribution of species differ on their mitochondrial DNA which evolves faster than genomic DNA, does not recombination, is inherited maternally. Therefore, the mitochondrial DNA is often used as an marker in phylogenetic studies. In the present study, the 698 nucleotide parts of the mitochondrial DNA control region (D-loop) of Çatalburun (n=10), Kangal (n=10), and Pointer (n=8) dogs were sequence analysed to determine the breed differences between them. The DNA isolation processes for the blood samples of dogs was carried out. The polymerase chain reaction of the D-loop region sequence analysing was performed. This analysis indicated that Çatalburun, Pointer and Kangal have diversified genetical structure according to their mtDNA control region I sequence. The observed D haplogroup of the Kangal dogs showed that Catalburun and Pointer dogs share different maternal lineages with the Kangal.

Key Words : Tarsus Catalburun, mitochondrial DNA, D-loop, genetic diversity, population genetic structure.

Advisor : Prof. Dr.Serap ERGENE, Department of Biology, University of Mersin

TEŞEKKÜR

Bu tez çalışmasının yapılmasına destek veren, çalışmalarında bana daima yol gösteren, engin bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, değerli danışmanım Prof. Dr. Serap ERGENE hocama sonsuz teşekkürler.

Tez süreci boyunca önerileri ve yönlendirmeleri ile bana destek olan değerli hocam Prof. Dr. Yasemin KAÇAR' a,

Kapısını bana her zaman açan, destek, ilgi ve yardımlarını benden esirgemeyen Arş. Gör. Şafak KAYA' ya,

Özellikle deneysel aşamalarda tecrübelerini benimle paylaşan Öğr. Gör. Dr. Ender DİNÇER' e ve Uzman Engin KAPLAN' a,

Çalışmamın örnek toplanması sırasında yardımcı olan hocam Prof. Dr. Cafer TEPELİ' ye, Prof. Dr. Fatma İNAL' a, sevgili arkadaşlarım Hüseyin Emre AKARIK' a ve Mahmut ERGENE' ye ve Petical hastanesi çalışanlarına çok teşekkür ederim.

Bu çalışmamızı destekleyen BAP'a proje kapsamındaki desteklerinden dolayı teşekkür ederim (BAP-FBE BB (ZTŞ) 2013-4 YL).

Hayatım boyunca her zaman yanımda olan, hiçbir fedakarlıktan kaçınmayan, sevgi ve desteklerini her zaman hissettiğim aileme teşekkürü bir borç bilerek minnetlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZ	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ÇİZELGELER DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMALARI	3
2.1. EVCİL KÖPEK, <i>Canis familiaris</i>	3
2.2. EVCİL KÖPEĞİN KÖKEN ÇALIŞMALARI.....	8
2.2.1. Arkeolojik Buluşlar.....	8
2.2.2. Genetik Çalışmalar.....	11
2.3. KÖPEKLERİN MORFOLOJİK ÇEŞİTLİLİĞİ.....	18
2.4. TÜRKİYE KÖPEK IRKLARI.....	21
2.4.1. Kangal Çoban Köpeği.....	21
2.4.2. Akbaş Çoban Köpeği.....	23
2.4.3. Kars (Kafkas) Çoban Köpeği.....	23
2.4.4. Türk Tazısı.....	24
2.4.5. Tarsus Çatalburun Köpeği.....	25
2.5. POPÜLASYON ÇALIŞMALARINDA mtDNA DİZİLERİ.....	26
2.6. POPÜLASYON GENETİĞİ ÇALIŞMALARINDA KULLANILAN MOLEKÜLER YÖNTEMLER.....	28
2.6.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR).....	28
2.6.2. DNA Dizi Analizi Yöntemi.....	31
2.6.2.1. Sanger ve Coulson'ın zincir sonlanma yöntemi.....	32
3. MATERYAL VE YÖNTEM	34
3.1. GEREÇLER.....	34
3.1.1. Örnek Toplama.....	34
3.1.2. Kullanılan Kimyasallar, Kit ve Cihazlar.....	35

3.2. ÖRNEKLERİN LABORATUVAR ANALİZLERİ	36
3.2.1. Genomik DNA İzolasyonu.....	36
3.2.2. PCR ile mtDNA Kontrol Bölgesi Çoğaltımı.....	37
3.2.2.1. Jelde PCR ürünü kontrolü	38
3.2.3. PCR Ürünü Temizleme	38
3.3. DİZİ ANALİZİ SONUÇLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ	39
3.4. İSTATİSTİKSEL ANALİZLER.....	39
3.4.1. Çalışmada Kullanılan Analiz Programları	40
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	41
4.1. LABORATUVAR ANALİZİ SONUÇLARI	41
4.1.1. DNA İzolasyonu ve PCR Kontrolü.....	41
4.2. mtDNA KONTROL BÖLGESİNİN DİZİ ANALİZİ SONUÇLARI.....	42
4.3. İSTATİSTİK ANALİZ SONUÇLARI	42
4.3.1. Nükleotit Çeşitliliğinin Gösterimi.....	42
4.3.2. Örneklerin Genetik Mesafe Ölçümleri.....	44
4.3.3. Komşu Birleştirme Ağacı.....	46
4.3.4. Ağ Oluşturma	47
4.4. TARTIŞMA	47
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	50
KAYNAKLAR	52
EKLER.....	59
ÖZGEÇMİŞ.....	60

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa
Çizelge 3.1. Kullanılan kimyasal madde ve kitler.....	35
Çizelge 3.2. Kullanılan çözeltiler.....	35
Çizelge 3.3. Kullanılan cihaz, marka ve model bilgileri.....	36
Çizelge 3.4. PCR reaksiyon parametreleri.....	37
Çizelge 3.5. PCR reaksiyon koşulları.....	38
Çizelge 4.1. Köpeklerde haplogrup ve haplotip dağılımı.....	44
Çizelge 4.2. Köpek örnekleri arasındaki çiftli genetik mesafe değerleri.....	45



ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 2.1. Carnivora takımının DNA hibridizasyonu sonucu tek kopya DNA dizilerinin benzerliğine dayalı filogenetik ağacı.....	4
Şekil 2.2. Canidae ailesi üyelerinin 3 ayrı grup içerisinde çeşitlenmesi.....	5
Şekil 2.3. Canidae ailesinin 38 türü ve yeryüzündeki dağılımları.....	7
Şekil 2.4. Almanya Oberkassel bölgesinde bulunan ve yaklaşık 14.700 yaşında olan bir köpeğin çene kemiği.....	8
Şekil 2.5. İsrail Ein Mallaha bölgesindeki Natufyen kültürel dönemine ait insan ile birlikte gömülen yavru köpek mezarı.....	10
Şekil 2.6. Canidae ailesinin mtDNA'da protein kodlayan dizilerinin 2001 baz çiftine dayalı evrimsel ağacı.....	12
Şekil 2.7. mtDNA kontrol bölgesi I dizisinin 261 baz çiftine dayalı kurt ve köpek haplotipleri ağacı.....	14
Şekil 2.8. Eski dünya bölgeleri arasında mtDNA dizileri için genetik çeşitlilik...	16
Şekil 2.9. Köpek ırklarının hızlı ve devamlı evrimi.....	20
Şekil 2.10. Kangal Çoban Köpeği.....	22
Şekil 2.11. Akbaş Çoban Köpeği.....	23
Şekil 2.12. Kars (Kafkas) Çoban Köpeği.....	24
Şekil 2.13. Türk Tazı Köpeği.....	25
Şekil 2.14. Tarsus Çatalburun Köpeği.....	25
Şekil 2.15. Kim ve arkadaşlarının buluşuna göre kontrol bölgesinin pozisyonu ve kontrol bölgesinin alt bölümleri.....	27
Şekil 2.16. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) döngüsü.....	29
Şekil 2.17. PCR döngüsü kullanılarak hedeflenen DNA bölgesinin üssel çoğaltımı.....	31
Şekil 2.18. Sanger ve Coulson'ın zincir sonlanma yöntemi.....	33
Şekil 2.19. Otomatik DNA dizi analizi reaksiyonundan elde edilen veriye ait grafik.....	33
Şekil 3.1. Örnek toplama bölgeleri.....	34
Şekil 4.2. PCR ürünlerinin %1'lik agaroz jel elektroforezi sonucu UV ışığı altındaki görüntüsü.....	41

Şekil 4.3. Dizileme reaksiyonundan elde edilen 29 örneğe ait dizi verilerinin hizalanması.....	42
Şekil 4.4. mtDNA kontrol bölgesindeki dizi polimorfizmleri.....	43
Şekil 4.5. Irkların mtDNA kontrol bölgesi I dizilerinin komşu birleştirme ağacı ve bazı örnekler arasında paylaşılan haplogruplar.....	46
Şekil 4.6. Gözlenen haplotiplerin en küçük kapsayan ağı.....	47



SİMGE VE KISALTMALAR

A	:	Adenin
ALX4	:	Aristaless like 4
AFLP	:	Çoğaltılmış parça uzunluk polimorfizmi
bç	:	Baz çifti
C	:	Sitozin
°C	:	Celsius türünden derece
cDNA	:	Komplementer DNA
dA	:	Deoksiadenin
dC	:	Deoksisitonin
dG	:	Deoksiguanin
dT	:	Deoksitimin
D-loop	:	Yerdeğişim halkası(displacement loop)
DNA	:	Deoksiribonükleik asit
dNTP	:	Deoksinükleotid trifosfat
ddN	:	Dideoksinükleotid
ddNTP	:	Dideoksinükleotid trifosfat
EtBr	:	Etidyum bromid
<i>Fst</i>	:	Wright'ın F istatistiği
G	:	Guanin
HVI	:	Çok değişken bölge I
HVII	:	Çok değişken bölge II
kb	:	Kilobaz
KCl	:	Potasyum klorür
K ₃ EDTA	:	Potasyum Etilendiamin tetraasetik asit
mA	:	Miliamper
Mega	:	Molecular Evolutionary Genetics Analysis
MgCl ₂	:	Magnezyum klorür
mL	:	Mililitre
µL	:	Mikrolitre
mM	:	Milimolar

mRNA	:	Mesajcı RNA
mtDNA	:	Mitokondriyel DNA
OH	:	Hidroksil
³² P	:	Fosfor
PCR	:	Polimeraz zincir reaksiyonu
Phylip	:	Phylogeny Inference Package
RAPD	:	Rastgele çoğaltılmış polimorfik DNA
RFLP	:	Restriksiyon parça uzunluk polimorfizmi
RNA	:	Ribonükleik asit
rRNA	:	Ribozomal ribonükleik asit
RUNX2	:	Runt related transkripsiyon faktör 2
SNP	:	Tek nükleotid polimorfizmi
STR	:	Ardışık basit tekrarlar
T	:	Timin
Taq	:	<i>Thermus aquaticus</i>
TBE	:	Tris- borik asit- etilendiamin tetraasetik asit
tRNA	:	Taşıyıcı ribonükleik asit
U	:	Ünite
UT	:	Evrensel tip
UTd	:	Evrensel tipten türeyenler
UV	:	Ultra viyole
VNTR	:	Değişken sayıda basit tekrarlar
V	:	Volt

1.GİRİŞ

Köpek, *Canis familiaris* (Margo, 1891) , ilk evcilleştirilen [Tsuda vd., 1997; Kim vd., 2001; Galibert ve Andre, 2008; Ardalan vd., 2011] ve eski zamanlarda tüm kıtalarda insanlara eşlik eden tek hayvandır [Clutton-Brock, 1995; Asch vd., 2013]. Bu nedenle insanlık tarihinde merkezi bir pozisyona sahiptir [Pang vd., 2009]. İnsan ile köpeğin birlikte varolduğunu gösteren tarım çağı öncesine ait izler, ilk evcilleştirilen canlı olmasını desteklemektedir.

Evcil köpek, morfolojik olarak yeryüzündeki en çeşitli memeli türüdür. Büyüklük, şekil, kürk rengi, kürk şekli, kulak duruşu ve davranış morfolojisine kadar çeşitliliğin sıra dışı örneğini göstermektedir [Parra vd., 2007]. Bugün dünyada 400'den fazla köpek ırkı olduğu bilinmektedir [Vila vd., 1999; Björnerfeldt vd., 2006; Streitberger vd., 2011]. Küresel popülasyonu, 900 milyon civarında bir sayı ile ölçülmektedir ve bu sayı devamlı olarak artmaktadır. Aynı zamanda herhangi bir evcil türün en geniş coğrafik dağılımını göstermektedir [Pires vd., 2006; Lescureux ve Linnell, 2014].

Köpek, insan türünün en sadık arkadaşı olarak bilinmektedir [Acland ve Ostrander, 2003]. 12 bin yıldan daha uzun bir süreden beri insanoğlunun av partneri, koruyucusu ve yoldaşı olmuştur. Değişik ihtiyaçlara göre farklı köpek ırklarının ortaya çıkmasında insanoğlunun rolü büyüktür. İlk köpekler keskin görme ve koku duyusuna sahip avcı köpekleridir. Sonrasında ise köpeklerin iş gücünden yararlanılmıştır. Günümüzde, sürü koruyuculuğu, bekçilik, avcılık, yaşam yoldaşlığı gibi birçok amaç için yetiştirilen, ekonomik değeri olan bir hayvandır [Yılmaz, 2005; Pires vd., 2006].

Modern köpeklerin, kurucu ırklarının en eskilerinden biri Tazı köpekleridir. Av köpeği olarak, sık sık yağlı boya tablolarında ve eski zamanlarda çömler üzerinde resmedilmiştir. Bununla birlikte insanlık tarihi boyunca av tekniklerinin devamlı olarak değişmesi ile çok sayıda av köpeği ırkı ortaya çıkmıştır ve av köpekleri tazı, retriever, seter ve spanyel gibi gruplara ayrılmıştır. Bu gruplardan biri de Pointer (Puanter) köpekleridir. Pointer kelimesinin en erken ifade edilişi

İngiltere'de 1650'lerde olmuştur. Hedefine odaklandığı sırada bulunduğu pozisyonu koruyarak burnu ile avı işaret etmesi nedeniyle bu adı almıştır [Oğrak vd., 2012].

Hiçbir bilimsel kanıt olmamasına rağmen Türk Pointerı adıyla bir av köpeği olarak bilinen Tarsus Çatalburun, Tarsus ili ve çevresindeki köylerde uzun yıllardır yetiştirilmektedir [Oğrak vd., 2012]. İsmi burnunun ucundaki iki parçalı, ıslak siyah bölgeden alır. Koklama duyusu çok gelişmiştir. Avı arayıp, bulmak ve kaldırmak konusunda yeteneklidir. Hem havayı hem yeri koklayarak hedefi izleme yeteneği, aynı zamanda Çatalburunları, ideal bir arama-kurtarma, narkotik ve polis köpeği adayı yapmaktadır. Günümüzde, Tarsus başta olmak üzere güneyde bazı şehirlerde (Antakya, Adana ve çevrelerinde) az sayıda bulunmaktadır. [Yılmaz, 2005; Oğrak vd., 2012].

Bugüne kadar Çatalburunların morfolojik özellikleri [Yılmaz ve Ertuğrul, 2012] ve eritrosit antijenleri ile ilgili çalışmalar yapılmış olmasına rağmen popülasyonun genetik yapısı ile ilgili moleküler alanda yapılmış herhangi bir bilimsel çalışma bulunmamaktadır.

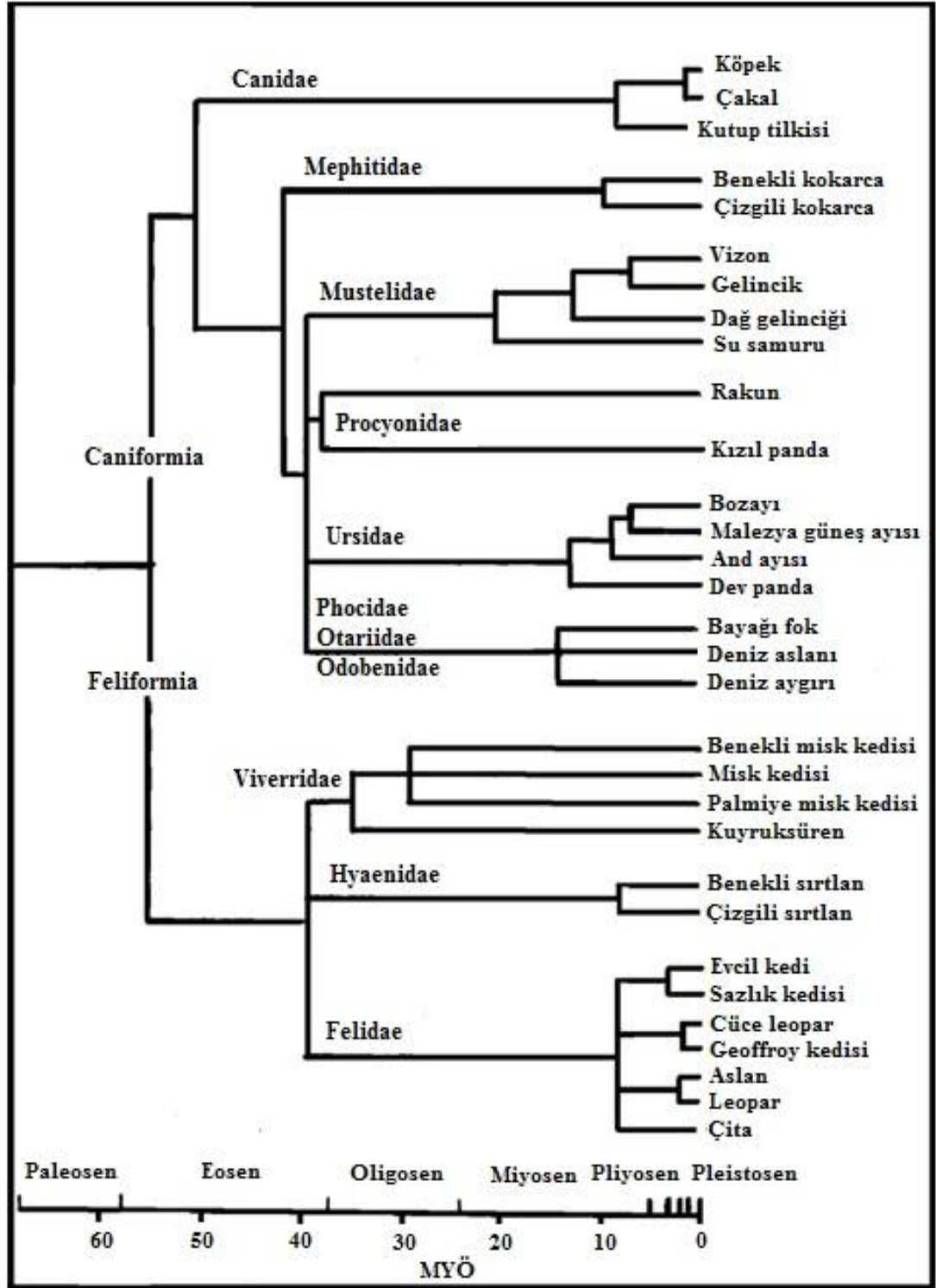
Bu çalışmada, bugün sayıları 200 civarında olan Çatalburunların, genetik yapılarının analiz edilerek doğru şekilde tanımının yapılması ve yok olmaya yüz tutmuş bir ırkın gen havuzuna ait bilgi toplanarak biyolojik çeşitliliğin korunması amaçlanmaktadır. Bu şekilde yerel bir değer olarak üstün koku alma yeteneğine sahip Çatalburun ülke çapında ve dünyada tanınır hale getirilmeye çalışılacaktır. Böylece bu türün korunması ve doğal gen kaynaklarımıza sahip çıkılmasını amaçlayan çalışmalara katkıda bulunulacaktır.

2. KAYNAK ARAŞTIRMALARI

2.1. EVCİL KÖPEK, *Canis familiaris*

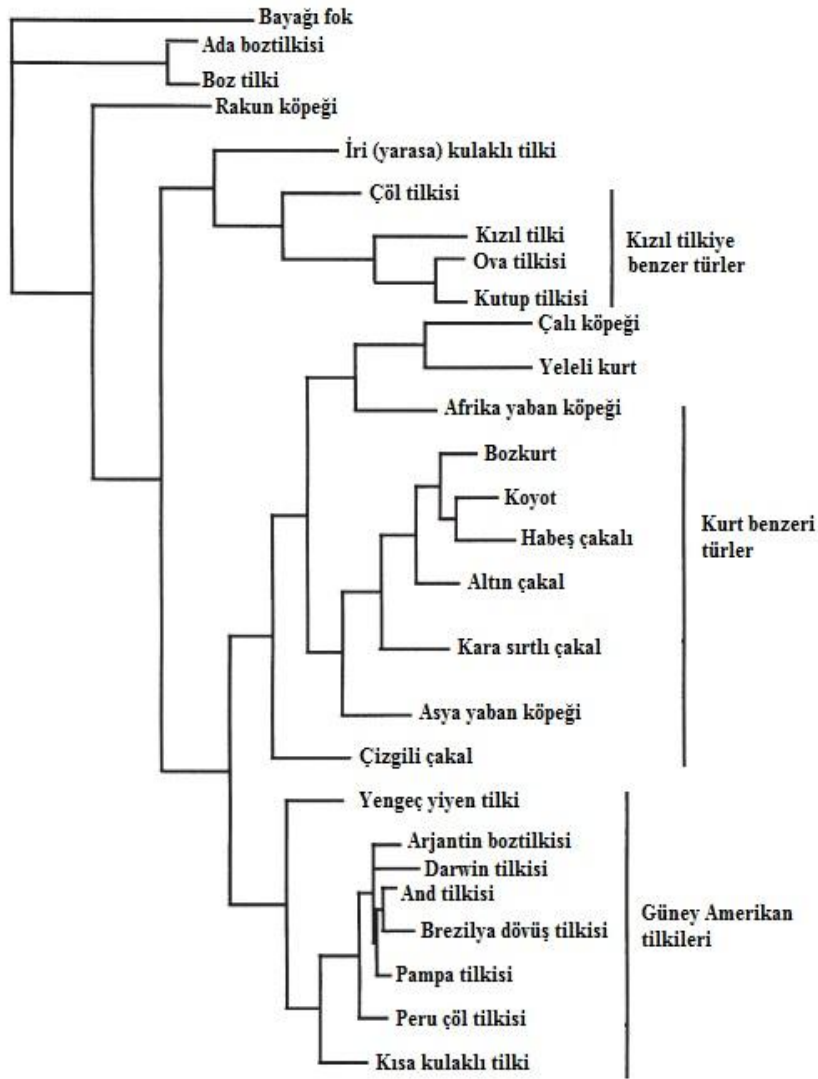
Evcil köpek, Carnivora (Etçiller) takımı içerisinde yer alan Canidae ailesinin bir üyesidir. Modern Carnivora aileleri 40-50 milyon yıldan daha uzun süre önce ortaya çıkmış ve çeşitlenmişlerdir. Carnivora takımı, Caniformia ve Feliformia olmak üzere iki alt takıma ayrılır. Caniformia; köpek (Canidae), kokarca (Mephitidae), sansar (Mustelidae), rakun (Procyonidae), ayı (Ursidae) ve 3 tane deniz memeli ailesini (Phocidae, Otariidae, Odobenidae) içerir. Feliformia ise misk kedisi (Viverridae), sırtlan (Hyaenidae) ve kedi (Felidae) ailelerini içermektedir [Wayne, 1993; Vila vd., 1999]. Canidae ailesi yaklaşık 50 milyon yıl önce Eosen başlangıcında diğer Carnivora ailelerinden ayrılmıştır. Bu ayrılma Caniformia alt takımı içerisinde en erken olanıdır [Vila vd., 1999; Wayne ve Ostrander, 1999] (Şekil 2.1).

Kurt, tilki, koyot, çakal gibi türleri içeren *Canidae* ailesi 38 türden oluşmaktadır (Şekil 2.3). Köpek ise bu ailenin tümüyle evcilleştiği söylenebilen tek üyesidir [Clutton-Brock, 1995; Tsuda vd., 1997]. Canidae ailesinin tüm vahşi üyeleri, karasal, hızlı koşan ve gececi dirler. Yavrularını inlerinde tutarlar. Tilki gibi yalnız ya da kurt, koyot, çakal gibi toplu halde avlanırlar. Canidae ailesinin herbir üyesi birbiri ile yüz ifadesi, vücut duruşu, kuyruk sallama, uluma ve havlama gibi sesler aracılığıyla iletişim kurar. Bugün Antartika ve bazı okyanus adaları dışında hemen hemen dünyanın her yerinde bulunmaktadır [Clutton-Brock, 1995].



Şekil 2.1. Carnivora takımının DNA hibridizasyonu sonucu tek kopya DNA dizilerinin benzerliğine dayalı filogenetik ağacı. Alt takım ve aile grupları gösterilmektedir [Vila vd., 1999].

Canidae ailesi, eski bir kökene (~50 milyon yıl) sahip olmakla birlikte son soyların ayrımı yaklaşık 12-15 milyon yıl önce başlamıştır. Günümüzde var olan 38 türün çoğu 3 ayrı grup içinde çeşitlenmiştir. İlk grup, kızıl tilkiye benzeyen türlerinden (kızıl tilki, ova tilkisi, kutup tilkisi), ikinci grup Güney Amerikan tilkilerinden ve üçüncü grup kurda benzeyen türlerinden (bozkurt, koyot, Asya yaban köpeği, Habeş çakalı, ve diğer çakallar) oluşmaktadır. Boz tilki, rakun köpeği ve iri (yarasa) kulaklı tilki ise daha uzun bir ayrılmaya sahiptir [Wayne ve Vila, 2001] (Şekil 2.2).



Şekil 2.2. Canidae ailesi üyelerinin 3 ayrı grup içerisinde çeşitlenmesi. mtDNA'da protein kodlayan dizilerin (sitokrom b, sitokrom c oksidaz I ve sitokrom c oksidaz II) 2001 baz çiftine dayalı evrimsel ağacı gösterilmektedir. Bayağı fok dizileri dış grup olarak kullanılmaktadır [Wayne vd., 1997].

Köpek genusunun, *Canis*, 8 türü bulunmaktadır. Bunlar, köpek (*Canis familiaris*), bozkurt (*Canis lupus*), kızıl kurt (*Canis rufus*), Habeş kurdu (*Canis simensis*), koyot (*Canis latrans*), altın çakal (*Canis aureus*), kara sırtlı çakal (*Canis mesomelas*) ve çizgili çakal (*Canis adustus*)'dır [Galibert ve Andre, 2008]. Bu genusun tüm türleri 76 otozom ve iki cinsiyet kromozomu olmak üzere aynı karyotipe sahiptirler. Potansiyel olarak birbirleri ile çiftleşebilir ve fertil yavrular verebilirler [Vila vd., 1999; Galibert ve Andre, 2008]. Bununla birlikte evcil köpeğin atası olarak üç farklı görüş ortaya atılmıştır. En yaygın kabul edilen görüş, kurdu, evcilleştirilmiş köpeğin tek atası kabul etmektedir [Zeuner, 1963; Lorenz; 1975; Olsen ve Olsen, 1977]. Diğer bir görüş, *Canis* genusunun diğer üyeleri ile belli bir dereceye kadar çiftleşebilecek olan kurdu, çakal ile birlikte evcil köpeğin atası olarak kabul etmektedir [Darwin, 1875; Clutton-Brock, 1977]. Başka bir görüş ise, modern formlar göz önünde bulundurulduğunda, evcil köpeğe benzer fakat öncül tipleri olan Avustralya dingosu, Yeni Gine inleyen köpeği, Asya ve Afrika sokak köpekleri gibi vahşi *Canis familiaris*'lerden köpeğin türediğini kabul etmektedir [Macintosh, 1975; Brisbin, 1976]. Bu gün, davranış, çıkardıkları ses, morfoloji ve özellikle genetik çalışmaların birleşimi evcil köpeğin atasının doğrudan bozkurt (*Canis lupus*) olduğunu göstermektedir [Vila vd., 1999; Galibert vd., 2011].

<i>Canis lupus</i> , bozkurt	Avrupa, Asya, K. Amerika, K. kutbu
<i>Canis familiaris</i> , köpek	Dünya çapında
<i>Canis familiaris dingo</i> , dingo	Avustralya
<i>Canis rufus</i> , kızıl kurt	Orta Kuzey Amerika
<i>Canis latrans</i> , koyot	Kuzey Amerika
<i>Canis aureus</i> , altın çakal	G.D.Avrupa, K.Afrika, G.Asya
<i>Canis mesomelas</i> , kara sırtlı çakal	Sahara'nın güneyi Afrika
<i>Canis adustus</i> , çizgili çakal	Sahara'nın güneyi Afrika
<i>Canis simensis</i> , Habeş çakalı	Etiyopya dağları
<i>Alopex lagopus</i> , Kutup tilkisi	Kuzey kutbu
<i>Vulpes vulpes</i> , kızıl tilki	Avrupa, K.Afrika, Asya, K.Amerika
<i>Vulpes corsac</i> , step tilkisi	Orta Asya
<i>Vulpus ferrilata</i> , Tibet tilkisi	Tibet platosu
<i>Vulpus bengalaensis</i> , Bengal tilkisi	Hindistan
<i>Vulpus cana</i> , Afgan tilkisi	Güneybatı Asya
<i>Vulpes rueppelli</i> , kum tilkisi	Kuzey Afrika, Güneybatı Asya
<i>Vulpes pallida</i> , soluk tilki	Sahel
<i>Vulpus chama</i> , G.Afrika tilkisi	Güney Afrika
<i>Vulpes velox</i> , ova tilkisi	Kuzey Amerika
<i>Fennecus zerda</i> , çöl tilkisi	Kuzey Afrika, Arabistan
<i>Urocyon cinereoargenteus</i> , boztilki	K. Amerika, G. Amerika'nın kuzeyi
<i>Urocyon littoralis</i> , Ada boztilkisi	Kaliforniya'nın adaları
<i>Nyctereustes procyonoides</i> , Rakun köpeği	Doğu Asya
<i>Dusicyon australis</i> , Falkland tilkisi	Falkland Adaları,
<i>Dusicyon culpaeus</i> , And tilkisi	G. Amerika-Patagonya altbölgesi
<i>Dusicyon culpaeolus</i> , Santa Elena tilkisi	Uruguay
<i>Dusicyon gymnocercus</i> , Pampa tilkisi	E. Patagonya altbölgesi
<i>Dusicyon inca</i> , Peru tilkisi	Peru dağları
<i>Dusicyon griseus</i> , Arjantin gri tilkisi	Güneybatı Patagonya altbölgesi
<i>Dusicyon fulvipes</i> , Darwin tilkisi	Şili'de Chiloe adası
<i>Dusicyon sechurae</i> , Peru çöl tilkisi	Kuzeybatı Peru, Ekvador
<i>Dusicyon vetulus</i> , Brezilya dövüş tilkisi	Brezilya
<i>Cerdocyon thous</i> , Yengeç yiyen tilki	Güney Amerika-Brezilya altbölgesi
<i>Atelocynus microtis</i> , Kısa kulaklı tilki	Orta Güney Amerika-Brezilya
<i>Chrysocyon brachyurus</i> , Yeleli kurt	Güney Brezilya altbölgesi
<i>Speothos venaticus</i> , Çalı köpeği	Güney Amerika-Brezilya altbölgesi
<i>Lycaon pictus</i> , Afrika yaban köpeği	Sahara'nın güneyi Afrika
<i>Cuon alpinus</i> , Asya yaban köpeği	Doğu ve Orta Asya
<i>Octocyon megalotis</i> , Yarasa kulaklı tilki	Sahara'nın güneyi Afrika

Şekil 2.3. Canidae ailesinin 38 türü ve yeryüzündeki dağılımları [Clutton-Brock, 1995, sayfa 9].

2.2. EVCİL KÖPEĞİN KÖKEN ÇALIŞMALARI

Evcil köpeğin kökenini, yerini ve zamanını tespit etmek için araştırmacılar, geleneksel olarak iki metod kullanırlar. Bunlar, evcilleştirme işleminin anlaşılabilmesi için yapılan arkeolojik kazılar ve bununla birlikte türleri karşılaştırmak için kullanılan genetik çalışmalardır.

2.2.1. Arkeolojik Buluşlar

Arkeolojik kanıtlar, köpeğin ilk evcilleştirilen tür olduğunu ve evcilleştirmenin, insanlar hala göçebe ve avcı-toplayıcı şekilde yaşamlarını sürdürdüğü son buzul dönemin bitimine doğru (~14.000 yıl önce) olduğunu göstermektedir. Evcil köpeğin kaydadeğer en eski arkeolojik kanıtı, günümüzden 14 bin yıl öncesine işaret eden ve Almanya'nın Bonn-Oberkassel bölgesinde bulunan çene kemiğidir [Clutton-Brock, 1995] (Şekil 2.4). Diğer arkeolojik buluşlardan bazıları, Güneybatı Asya'da 11.500 yıl önce, Avrupa'da 10.000 yıl önce, Amerika'da 8.100 yıl önce ve Çin'de 7.100 yıl önce evcil köpeğin varlığını göstermektedir [Pang vd., 2009].



Şekil 2.4. Almanya Oberkassel bölgesinde bulunan ve yaklaşık 14.700 yaşında olan bir köpeğin çene kemiği.

Arkeolojik veriler evcilleştirmenin son buzul döneminde olduğunu göstermektedir. Fakat son buzul döneminden önce birkaç köpek benzeri fosil bulunmuştur. Güney Sibirya'daki Altay dağlarında bulunan ve günümüzden 33 bin yıl önce yaşamış olan Altay köpeği kafatası ile yapılan çalışmalar, bu köpeklerin

modern kurtlardan daha çok evcil köpeklerle yakın ilişkili olduğunu göstermektedir [Druzhkova vd., 2013]. Kurtlar ile karşılaştırıldıklarında daha kısa ve geniş bir burun yapısı göstermektedirler. Aynı zamanda kafatası, fosil ve modern kurtlardan boyut olarak küçük fakat daha geniştir [Druzhkova vd., 2013].

Orta Pleistosen dönemine baktığımızda kurtların kemikleri erken dönem hominidleri ile bağlantılı bulunmaktadır. Örnekler, Kuzey Çin'de Zhoukoudian bölgesinde 300 bin yıl öncesini ve Fransa Lazaret mağarasında 150 bin yıl öncesini göstermektedir. Bu, insan ve kurtların yaşam alanları ile avlanma alanlarının çakışmış olabileceğine işarettir. Kurtlar, yemek artıkları bulabilecekleri insan kamplarına yanaşmışlardır. İnsan avcılar ise muhtemelen kampların etrafında yiyecek arayan kurtları, derilerinden kıyafet yapmak için öldürmüş ve zaman zaman da yanlarında taşıdıkları bir yavruyu yemişlerdir. Daha sonrasında bu yavrular aile grubuna alıştırılmış ve evcilleştirilmiş olabilirler. Fakat bazı kurt yavruları büyüdükçe daha az bağımlı hale gelmiş ve bunun sonucunda muhtemelen öldürülmüş ya da gruptan kovulmuşlardır. Az sayıdaki yavru da insanlarla kalmaya devam etmiş ve diğer evcilleştirilmiş kurtlarla birlikte çiftleşerek yerleşimin etrafında insanların artıkları ile beslenerek yaşamış olabilirler [Clutton-Brock, 1995]. Altay köpeği dışında, Belçika'daki Goyet mağarasında (~31.700 yıl önce) [Germonpre, 2009], Fransa'daki Chauvet mağarasında (~26.000 yıl önce) ve Ukrayna Mezhirich bölgesinde (~15.000 yıl önce) bulunan köpek kafatasları, kurtlardan farklılaşmanın izlerini net bir şekilde göstermektedir [Morey, 1994]. Bunlar Paleolitik köpek olarak adlandırılan tarih öncesi köpeklere benzemektedir. Bu da köpek evcilleştirilmesinin muhtemelen çok erken bir şekilde Aurignasyon (Epipaleolitikte Avrupa ve Güneybatı Asya'daki arkeolojik kültür) periyodu (28.000-40.000 yıl öncesi) sırasında başladığını göstermektedir. Fakat bu erken işlem muhtemelen 14 bin yıl önceki gerçek evcilleştirmeden ayrılan ve ön evcilleştirme olarak adlandırılan, bilinçsizce yapılmış bir işlemdir [Morey, 1994; Galibert vd., 2011].

Dünya'nın farklı yerlerinde bulunan *Canis familiaris*'e ait kafatası ve çene kemikleri ile mağara resimlerinin tarihlendiği zamanlar, Epipaleolitik (Orta taş devri) ve Natufyen (Mezolitik) olarak bilinen kültürel dönemlere ait zamanlardır. Paleolitik (taş devri) çağ boyunca insanlar, hayvanları ağır taş baltalar ile öldürmüşlerdir.

Natufyen periyodu sırasında ise insanların av stratejileri tamamen değişmiştir. Bu zamanda mikrolit denilen küçük taşlar tahta, kemik ve boynuzların üzerine yerleştirilerek kullanılmıştır. Bu uzun mesafe fırlatıcıları ile avlanan yaralı hayvanları, köpekler iz sürerek bulmuş ve getirmişlerdir. Bu işbirliği hem köpeklerle ortaklığı (arkadaşlığı) hem de av tekniklerini daha iyi hale getirmiştir [Clutton-Brock, 1995]. İnsan ve köpek arasındaki ilişkinin gücünü, İsrail Ein-Mallaha bölgesinde bulunan ve günümüzden 12 bin yıl öncesine ait olan mezardaki kalıntılar göstermektedir. Bu mezarda, insan iskeletinin sağ yanına uzanmış ve insanın sol eli ile göğüs kafesinden tutulmuş bir yavru köpek iskeleti bulunmuştur [Galibert vd., 2011] (Şekil 2.5). Köpeklerin insanlarla birlikte gömülmeleri, onların hayatında sosyal bir öneme sahip olduklarının bir göstergesidir. [Acland ve Ostrander, 2003].



Şekil 2.5. İsrail, Ein-Mallaha bölgesindeki Natufyen kültürel dönemine ait insan ile birlikte gömülen yavru köpek mezarı [Clutton-Brock, 1995, sayfa 11].

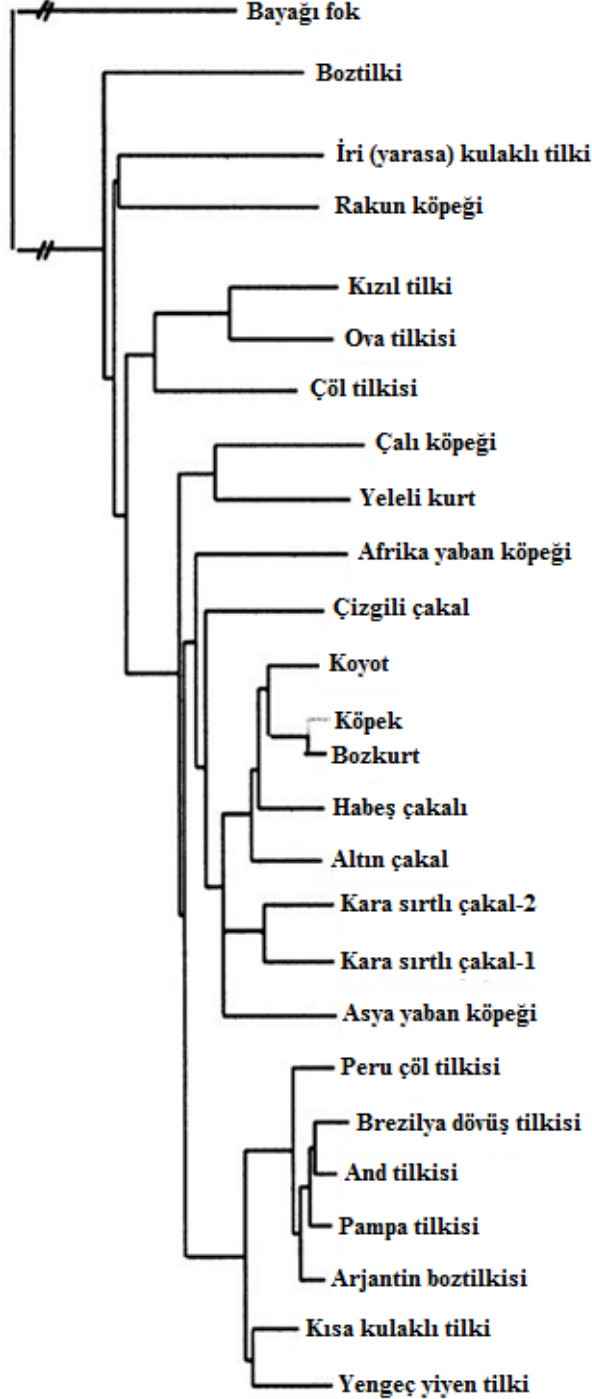
Arkeolojik buluşlara göre Anadolu (Asia Minor)'da 7 bin yıl önce yaşayan ve bugünkü mastif ırklara benzeyen köpekler bulunmaktadır. Neolitik dönemi gösteren köpek kalıntıları, Türkiye'nin batısındaki Burdur Hacılar bölgesinde ve Türkiye'nin merkezindeki Konya ovasında yer alan Çatalhöyük'te bulunmuştur [Nelson, 1996, Tepeli vd., 2003]. Bu köpeklerin bugün, Türkiye'de yaşayan ırklara köken teşkil ettiği ileri sürülmektedir. Bununla birlikte Orta Asya'dan Anadolu'ya göç eden medeniyetlerin beraberinde taşıdıkları köpeklerin de Türkiye'deki modern köpek ırklarının oluşumuna katkı sağladığı bilinmektedir [Tepeli vd., 2003; Erdoğan vd., 2013]. Kırmızı (1994), Türk çoban köpeklerinin kökeninin Orta Asya olduğunu ve bu ırkların Orta Asya'dan Anadolu ve Avrupa'ya göç eden Türkler tarafından yayıldığını iddia etmektedir. Fakat Türk köpek ırklarının tarihi hala net değildir [Erdoğan vd., 2013].

Arkeolojik kanıtlar köpeğin evcilleştirilme zamanı hakkında bilim insanlarına ipucu vermektedir. Bununla birlikte, küçük kurtlarla evcil köpekler arasındaki ayrımın zorluğu [Savolainen vd., 2002], dünyanın bazı bölgelerinde arkeolojik buluşların olmaması [Crapon de Caprona ve Savolainen, 2013] ve dünyanın farklı yerlerinde bulunan hayvan kalıntılarının sistematik incelenişindeki büyük farklılık nedeniyle köpeğin nerede ya da kaç farklı yerde köken aldığını gösteremez [Pang vd., 2009; Ardalan vd., 2011].

2.2.2.Genetik Çalışmalar

Canidae familyasının her bir türü potansiyel olarak köpeğin farklı ırklarını verebilse de evcil köpeğin atası olarak sadece bozkurt (*Canis lupus*) ve altın çakal (*Canis aureus*) gösterilmiştir. *Canidae* ailesinin filogenisi, mtDNA da protein kodlayan genler sitokrom b, sitokrom c oksidaz 1 ve sitokrom c oksidaz 2 dizileri karşılaştırılarak şekillendirilmiştir ve bu filogenetik analiz, evcil köpeğin atasının doğrudan sadece bozkurtlar (*Canis lupus*) olduğunu göstermektedir. Köpek ve bozkurta en yakın iki tür ise koyot (*Canis latrans*) ve Habeş çakalı (*Canis simensis*)'dir [Wayne, 1993, 1997].

Canis genusundaki tüm türler bir monofletik grup oluşturmaktadır. Köpek ve bozkurt, koyot ile bir monofletik grup oluştururken, köpek, bozkurt, koyot ise Habeş çakalı ile bir monofletik grup oluşturmaktadır [Wayne, 1993] (Şekil 2.6).



Şekil 2.6. *Canidae* ailesinin mtDNA'da protein kodlayan dizilerinin (sitokrom b, sitokrom c oksidaz I ve sitokrom c oksidaz II) 2001 baz çiftine dayalı evrimsel ağacı. Bayağı fok dizileri dış grup olarak kullanılmaktadır [Vila vd., 1999].

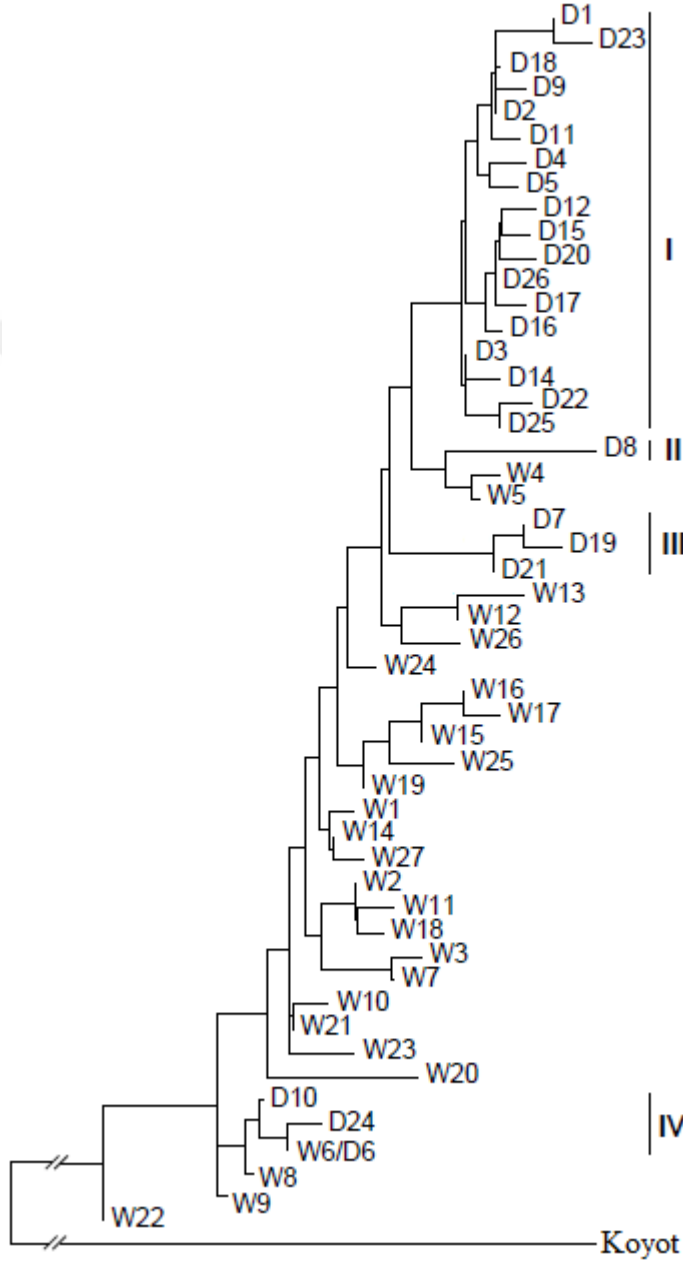
Evcil köpek mtDNA'sı ile yapılan ilk kapsamlı çalışma Vila ve ark. (1997) tarafından gerçekleştirilmiştir. Çalışmada, Avrupa, Asya ve Kuzey Amerika'nın tamamından 27 popülasyona ait 162 kurt ve 67 ırka ait 140 köpek kullanılmıştır. Aynı zamanda 5 koyot, 2 altın çakal, 2 kara sırtlı çakal ve 8 Habeş çakalı ile dizileri karşılaştırılmıştır. Dizi ayrımı değerleri köpek ve bozkurtlar arasında % 1.8 iken köpeklerle diğer *Canis* genusu üyeleri (Habeş çakalı ve koyot) arasında % 4' den daha fazla bulunmuştur. Köpek ve kurt dizileri 0-12 yer değiştirme dizisi tarafından farklılık gösterirken bu, köpeklerle, koyot ve çakallar arasında en az 20 yer değiştirme ve 2 insersiyon dizisi tarafından farklılık göstermektedir. Aynı zamanda köpeklerdeki dizi çeşitliliği şaşkırtıcı derecede büyüktür: $2.06 \pm \% 0.07$ ve bu, hemen hemen kurtlar içinde tanımlanan ile aynıdır: $2.10 \pm \% 0.04$. Bu sonuçlar evcil köpeğin atasının bozkurt olduğunu desteklemektedir [Vila vd., 1997].

mtDNA anasal kalıtmalıdır ve dişi bir köpekle erkek bir çakalın çiftleşmesinin önemi yavruların mitokondriyal haplotipinde kaydedilmez. Nükleer belirteç (allozim ve mikrosatellit) kullanan çalışmalar da köpeğin kurt atasını desteklemektedir. Evcil köpek, bozkurt, kızıl kurt, koyot ve altın çakallardaki 10 mikrosatellit lokusun kullanıldığı kapsamlı bir çalışmada boz kurtlar ile köpekler arası genetik mesafe daima daha küçük çıkmıştır [Garcia-Moreno, 1996]. Benzer şekilde allozim (enzim polimorfizmi) genetik mesafe, daha küçük çıkmıştır [Wayne ve O'Brien, 1987; Vila vd., 1997]

İlk çalışmalar, köpek mtDNA dizilerini 4 filogenetik gruba ayırmaktadır (I-IV) ve evcil köpeğin birkaç yerde ve farklı zamanlarda kurtlardan evcilleştiğini ya da evcilleştirme olayını takiben kurt-köpek melezlenmesinin olduğunu göstermektedir [Vila vd., 1997; Asch vd., 2005] (Şekil 2.7).

Günümüzde, köpek mtDNA dizileri, haplogrup olarak adlandırılan 6 klad (filogenetik grup)'a ayrılmaktadır (A-F). Üç büyük haplogrup A, B ve C dünyadaki köpeklerin hemen hemen tümü (>%95) tarafından taşınmaktadır ve benzer oranlarda (A: %55-85 B: %10-35 C : %5-15) taşınmaktadır [Savolainen vd., 2002; Pang vd., 2009]. Haplogrup A, tüm coğrafik bölgelerde vardır. Haplogrup B ve C ise Amerika dışında tüm bölgelerde mevcuttur. Doğu Asya ve farklı coğrafik bölgelerdeki haplotiplerin dağılımı , Haplogrup A'nın Doğu Asya'dan kökenlendiğini ve Avrupa

ile Güneybatı Asya'dakilerin Doğu Asya'nın bir altkümesi olarak türediğini göstermektedir. Benzer şekilde haplogrup B dizileri (% 88'den fazlası) Doğu Asya'da kökenlenmektedir. Haplogrup C için durum daha az nettir fakat bir Doğu Asya kökeni bu haplogrup için de muhtemeldir [Savolainen vd., 2002].



Şekil 2.7. mtDNA kontrol bölgesi I dizisinin 261 baz çiftine dayalı kurt (W) ve köpek (D) haplotipleri ağacı. Köpek haplotipleri 4 klad (I-IV) içinde gruplandırılmaktadır [Vila vd., 1997, 1999].

Haplogrup D, E ve F coğrafik olarak sınırlı ve nadir oranda bulunmaktadır. Muhtemel olarak evcilleştirme olayını takiben kurt-köpek hibridizasyonundan türeyen haplotipleri göstermektedir [Savolainen vd., 2002; Pang vd., 2009].

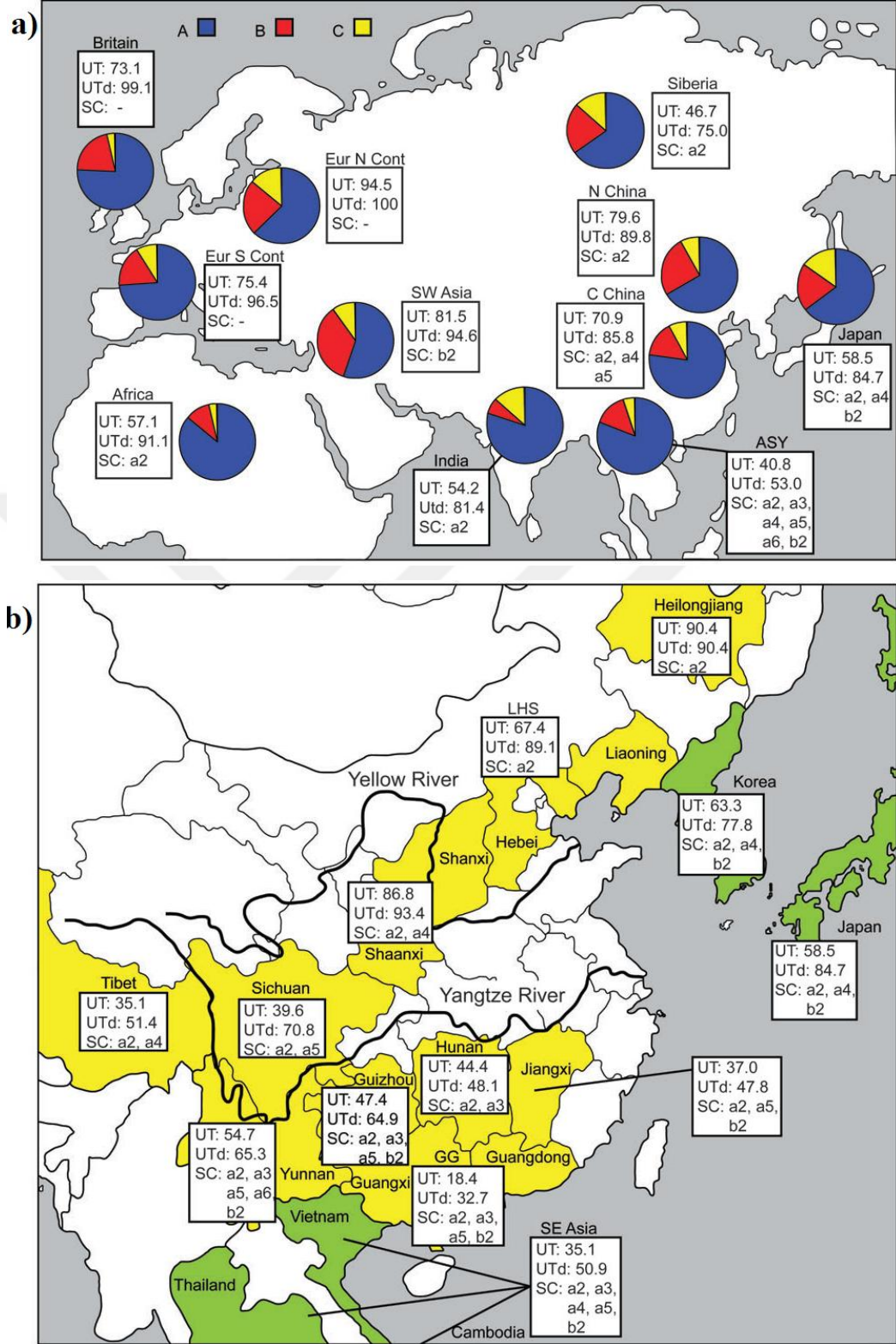
Güneybatı Asya, Doğu Asya ve Avrupa kıtaları karşılaştırıldığında en fazla sayıda haplotip Doğu Asya'da bulunmuştur. Haplotipler arasında 11 yer değiştirme dizisi mesafesi ile haplogrup A'nın kurtlardan ilk evcilleştirmede, haplogrup B ve C'den daha eski olduğu gösterilmektedir. Haplogrup D, E ve F sırasıyla Türkiye, Portekiz, İspanya, İskandinavya; Japonya ve Kore; Japonya ve Sibiryada bulunmuştur [Savolainen vd., 2002].

Evrensel tip (Universal type= UT) olarak adlandırılan A, B ve C haplogruplarına ait 14 haplotip (A: 9, B: 2, C: 3) Doğu Asya, Güneybatı Asya ve Avrupa ırklarında bulunmaktadır. Bu haplotipler, dünyayı doğu ve batı olarak iki kısma ayırdığımızda (Ural dağlarından Himalaya dağlarına kadar olan bir hattın doğu ve batı kısımları) doğu kısımda çok sık görülmektedir. Özellikle, haplotiplerin frekansı, Güneydoğu Asya'da Yangtze nehrinin güneyinde (Çin) çok yüksek oranda bulunmaktadır. Bununla birlikte, evrensel tip haricinde batıdaki (Ural ve Himalaya dağlarının batısı) diğer tüm haplotipler (Evrensel tipten türeyenler= UTd) evrensel tip haplotiplerden tek bir mutasyon ile farklılık göstermektedir [Pang vd., 2009].

Haplogrup A, B ve C alt haplogruplara ayrılmaktadır. Bu haplogruplardan;

- A: 6 tane alt haplogrup (a1, a2, a3, a4, a5, a6)
- B: 2 tane alt haplogrup (b1, b2)
- C: 2 tane alt haplogrup (c1, c2) içermektedir.

Bu 10 alt haplogrubun hepsi Yangtze nehrinin güneyinde (ASY) bulunurken, 7 tanesi merkez Çin ve Japonya'da, 5 tanesi Kuzey Çin, Hindistan ve Güneybatı Asya'da, 4 tanesi ise Avrupa'da bulunmaktadır. 10 alt haplogrubun hepsini içeren en küçük bölge ise ASY'nin güneybatısında kalan Yunnan bölgesidir. Bu sonuçlar köpekler için tek bir coğrafik köken göstermektedir [Pang vd., 2009].



Şekil 2.8. Eski dünya bölgeleri arasında mtDNA dizileri için genetik çeşitlilik a) A, B ve C haplogruplarına ait haplotiplerin dağılımı. b) Güneydoğu Asya'nın genetik çeşitliliği (UT: Evrensel tip, UTd: Evrensel tipten türeyenler, SC: Althaplogruplar) [Pang vd., 2009].

Bereketli Hilal (Fertile crescent=FC), avcı toplayıcı insan topluluklarının yerleşik tarım hayatına geçmesi ile birlikte ilk bitki ve hayvan evcilleştirmesinin olduğu bölgedir. Bu nedenle evcil köpeğin coğrafik kökeni hakkındaki teorilerden biri Güneybatı Asya'da FC bölgesinde kökenlenmesidir. Bu bölgenin evcil köpeğin kökeni olup olmadığını araştırmak için yapılan kapsamlı bir çalışmada İran Platosu, Anadolu ve FC ile ilgili bölgelerde, ırkların mtDNA dizilerine bakılmış ve dünya etrafındaki diğer köpek ırkları ile karşılaştırılmıştır. Daha önceki çalışmalarla uyumlu olarak 10 alt haplogrubun sadece 5 tanesi bu bölgede bulunmuştur. Bu da, evrensel gen havuzunun bu bölge olmadığını göstermektedir. Aynı zamanda haplogrup B, en yüksek frekansta bulunmuştur [Ardalan vd., 2011].

Doğu Asya'dan köken alan evcil köpeğin Avrupa'ya yayılımında göç yollarını araştırmak için Güneybatı Asya, Sibiryaya ve Avrupa köpek ırklarının haplotip havuzları karşılaştırılmıştır. Güneybatı Asya ile Avrupa, Sibiryaya'da bulunmayan 16 haplotip paylaşırken, Sibiryaya ile Avrupa sadece 2 haplotip paylaşmışlardır. İnsanların kökeni, göç yolları ve Avrupa'da Neolitik popülasyonların oluşumu da göz önünde bulundurulduğunda Asya'nın, Avrupa köpekleri ile bağlantısı Sibiryaya'dan daha fazladır. Aynı zamanda alt haplogrup d2'nin Kuzey Afrika ve Güney Avrupa'daki paylaşımı, Neolitik dönemdeki yayılma ile bağlantılı olarak Akdeniz havzası boyunca bir gen akışını göstermektedir [Ardalan vd., 2011].

mtDNA ile yapılan ilk kapsamlı çalışma, köpeğin yaklaşık 100 bin yıl önce birkaç farklı yerde kökenlendiğini göstermektedir [Vila vd., 1997]. Başka bir çalışma ise sadece haplogrup A'yı içeren 40 bin yıl önce ya da haplogrup A, B ve C'yi içeren yaklaşık 15 bin yıl önce bir kökenlenmenin olduğunu göstermektedir [Savolainen vd., 2002]. Bununla birlikte daha kapsamlı örnek ve dizi sunan çalışmalar, günümüzden 5.400-16.300 yıl önce 3 haplogrubun eski dünyada yayılımını göstermektedir [Pang vd., 2009].

Evcilleştirilen kurtlar tarafından haplotiplerin taşınması kesin olmadığı için köpek kurucularının sayısı kesin olarak hesaplanamamakla birlikte, soyların minimum sayısı köpeklerin yayılım zamanının varlığı ile tahmin edilebilmektedir. Bugün mtDNA gen havuzuna bakıldığında, köpeklerin en az 51 dişi kurt soyundan

köken aldığı gösterilmektedir. Bunlardan 20 tanesi a1'den, 12 tanesi a2'den, 3 tanesi a3'den, 1 tanesi a4'ten, 5 tanesi a5'ten, 1 tanesi a6'dan, 2 tanesi b1'den, 4 tanesi b2'den, 2 tanesi c1'den, ve 1 tanesi c2'dendir [Pang vd., 2009].

Amerikan köpeklerinin kökenini araştırmak için yapılan bir çalışmada, Amerika, Doğu Asya, Avrupa köpeklerinin mtDNA dizileri karşılaştırılmıştır. Sonuçlar, Amerika'da ayrı evcilleştirme olayının olmadığını, eski ve modern köpeklerin aynı mtDNA haplotiplerini paylaştıklarını ve Amerikan köpeklerinin eski dünya köpeklerinden köken aldığını göstermiştir. Ayrıca Amerikan köpeklerinin yüksek mtDNA çeşitliliği, Avrasya'da atasal popülasyonlarının büyük ve iyi karışmış olması ile açıklanmaktadır [Leonard vd., 2002; Asch vd., 2013].

Xoloitzcuintli (Tüysüz Meksika köpeği), Kuzey Amerika'nın en eski ırklarından biridir ve birkaç bin yıldır Amerika'da izole tutulduğu düşünülmektedir. Bu sıradışı ırkın mtDNA dizi çeşitliliği analiz edildiğinde, sonuçlar, Xoloitzcuintli dizilerini, eski dünyada (Avrasya) kökenlenen köpek ırklarının dizileri ile daha benzer bulmuştur. İnsanların yeni dünyaya (Amerika) 20.000-25.000 yıl önce, Pleistosen'de ulaştığı düşünülmektedir. Bu zamanda, deniz seviyesi düşer ve kıtalar arasında insan ve hayvan göçlerine olanak sağlayan kara köprüleri kurulur. Muhtemelen bu köpekler, bu dönemde Bering boğazını geçen Paleo-Hintler ile yeni dünyaya yerleşmiştir [Vila vd., 1999].

Bu gün, yeryüzündeki tüm evcil köpek mtDNA dizileri, ortak bir gen havuzundan köken almaktadır. Köpeklerin çoğunluğu A, B, C haplogruplarına sahiptir ve bu haplogruplar popülasyonlar arasında benzer oranlarda bulunmaktadır. Bu haplogrupların ASY bölgesindeki çeşitliliği farklı yerlerden ziyade köpekler için tek bir coğrafik köken göstermektedir.

2.3. KÖPEKLERİN MORFOLOJİK ÇEŞİTLİLİĞİ

Evcil köpek, morfolojik olarak yeryüzündeki en çeşitli memeli türüdür [Vila vd., 1999; Kropatsch vd., 2010]. Danua ırkından, Çivava'ya ve Tazı ırkından, Pekinez'e kadar boyut ve yapıdaki farklılığın sıra dışı örneğini göstermektedir. Köpek ırkları arasındaki boyut, yapı, davranış ve fizyolojideki çeşitlilik, Canidae ailesinin türleri arasındaki çeşitliliği aşar [Wayne ve Vila, 2001; Björnerfeldeth vd.,

2006; Galibert ve Andre, 2008]. Bu çeşitlilik, kurucu popülasyonların sayısı, genetik çeşitliliği ile birlikte yapay seçilim ve genomda meydana gelen mutasyonlarla bağlantılıdır [Björnerfeldt vd., 2006].

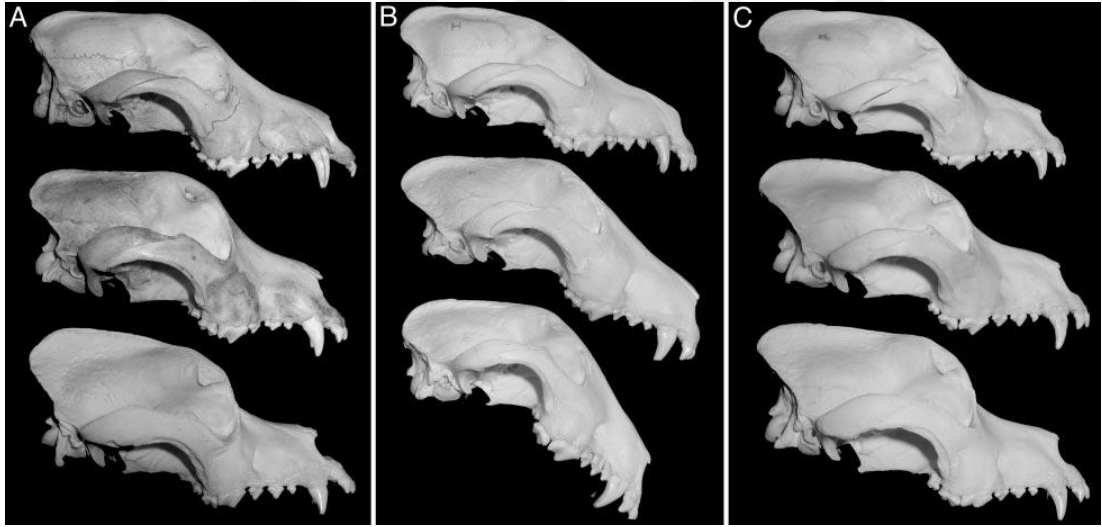
Evcilleştirme altında çeşitlilik, fenotipik özellikleri etkileyen lokusun genetik çeşitliliği ile yakından ilgilidir. Eğer köpekler sadece birkaç vahşi kurt tarafından oluştu ise bu dikkate değer morfolojik çeşitliliğinin çoğu fosil kayıtlar tarafından 14 bin yıl önce gösterilen kökeninden sonra oluşan mutasyonlar nedeni ile olmalıdır. Tam aksine köpekler, büyük bir vahşi kurt popülasyonundan köken aldıysa ve evrimsel tarihleri boyunca onlarla çiftleştilerse, bunun sonucunda vahşi popülasyonun genetik çeşitliliğinin akışı ile köpekler morfolojik olarak bu kadar çeşitlenmişlerdir [Vila vd., 1999].

Yapay seçilim, köpeğin şekil, renk, davranış spektrumunun hızlı gelişiminde güçlü bir baskı olmuştur [Vila vd., 1999]. İnsanlar av, koruma ve gütmeye üstün olan köpekleri seçici bir şekilde üretmiştir. Köpekler aynı zamanda büyüklük, kafa şekli, kürk rengi ve yapı gibi verimli ırklarla yakından ilgili olduğu bilinen morfolojilerde istenilen fiziksel karakterler için üretilmiştir [Lindblad-Toh vd., 2005]. Morfolojik olarak farklı köpekler, farklı yerlerde bin yıldır vardır ve erken evcilleştirme işleminde ortaya çıkmıştır [Streitberger vd., 2011]. Bununla birlikte bu gün var olan çoğu ırk, 19.yy sırasında geliştirilmiştir.

19.yy Avrupa'sı (Viktorya dönemi) sanayi devrimini, tren yollarını, fotoğrafçılığı, elektrik lambalarını, Darwin'i ve burjuva arasında şekillenen boş vakitleri doldurma eğilimini doğurmuş, mükemmellik ve tasarım tüm batı dünyasının saplantısı olmuştur. Bu dönemde mimari, bahçeler ve üst sınıfın çiftlik hayvanlarına önem verilmektedir. Sonra sıra köpeklere gelmiş, köpekler orta sınıfın yeni bir statü sembolü olmuş ve özel yapım köpek modası başlamıştır [Mow ve Zakin, 2007]. O dönemde iş için kullanılan köpek ırkları ile başlanmış, sonrasında iş gücünden çok fiziksel özelliklerine dikkat edilmiş ve dönem kulüpleri fiziksel kriterlere dayalı, bir ırk'ın süper örneklerinin oluşturulması için ödüllü yarışmalar düzenlemiştir. Oyuncak grup dediğimiz köpekler bu dönemde ortaya çıkmıştır [Parker, 2012]. Bununla birlikte, Akita ve Chow chow köpekleri (Doğu Asya), Saluki ve Afgan tazısı (Orta Doğu Asya), Sibiry eskimo köpeği ve Alaska Malamut (Kuzey Asya) ve

Afrika basenji gibi ırklar "eski ırklar" olarak adlandırılmaktadır ve insan popülasyonlarının daha izole olduğu zamanlarda geliştirilmiştir. Bu ırkların bazıları kurtlardan bağımsız bir şekilde evcilleştirilmiştir ve diğer köpek ırklarından (modern köpekler) ayrılan bir dal göstermektedir [Wayne ve Ostrander, 1999; Vonholdt vd., 2010; Parker, 2012].

Gene bağlı ikili tekrar genişlemeleri ve daralmaları, evrimde, fenotipik çeşitliliğin büyük bir kaynağıdır. Ardışık tekrarlar oluşmuş mutasyonların köpeklerde, birçok canlıdan daha belirgin oluşu genoma kolay değişebilme niteliği kazandırmaktadır. Aristaless-like 4 (ALX4) ve Runt-related transcription factor 2 (RUNX2) gelişimsel genlerinin kodlanan bölgelerindeki tekrarların sayısındaki çeşitlilik bacak ve kafa morfolojisindeki farklılıklarla bağlantılıdır. Fondon ve arkadaşları (2004), köpeklerde kafatası gelişimini etkileyen ALX4 ve RUNX2 gelişimsel genlerinin kodlanan bölgelerindeki ardışık tekrarları incelemiş ve tekrarın uzunluğunun, köpeğin burnunun düşüklüğü ya da kalkıklığı ile ilgili olduğunu göstermiştir.



Şekil 2.9. Köpek ırklarının hızlı ve devamlı evrimi. A) St. Bernard kafatasları. Üstte 1850, ortada 1921, altta 1967. B) Bull terrier kafatasları. Üstte 1931, ortada 1950, altta 1976. C) Newfoundland kafatasları. Üstte 1926, ortada 1964, altta 1971 [Fondon vd., 2004].

Sonuç olarak köpek ırklarının yüksek çeşitliliğinin en az 2 nedeni vardır; Birincisi, birçok ırk son bir kökene sahiptir. Son ırkların kurucu stokları, köpeklerin gen havuzunda, soylar arası üreme ile önceden iyi karışmıştır. Binlerce yıldır

köpekler, insanlarla arkadaşlık ya da ticaret için taşınmış ve bunun sonucunda veryüzü üzerinde gen akışı oluşumu önemli olmuştur. Modern ırk uygulamalarının icadına kadar birçok ırk, gen havuzunda kapalı kalmamış ve yüksek derecede fenotipik değişmezlik göstermemiştir [Vila vd., 1999].

İkincisi, yetiştiriciler, saf ırk köpeklerini, yüksek seviyede soyiçi üremeyle ilişkili zararlı etkilerden korumak ve spesifik genetik kusurları elimine etmek için ara ara karşıt çaprazlama (out-cross) ile üretmişlerdir. Bu şekilde hibrit bireyler ve onların yavrularının gücü artmış ve yetiştiriciler tarafından bu bireyler seçilmiş olmalı ki bunun sonucunda yabancı haplotipler türemiştir. Mikrosatellit ve allozim verileri de ırkların genetiksel olarak büyük ve çeşitli popülasyondan oluştuğunu ve yüksek oranda soyiçi üreme olmadığını desteklemektedir [Vila vd., 1999].

2.4. TÜRKİYE KÖPEK IRKLARI

Türkiye, Asya ve Avrupa arasında gerek coğrafi yönden, gerek kültürel yönden bir köprü gibi işlev görmektedir. Binlerce yıllık insanlık tarihi boyunca bir geçit bölgesi olmuş, böylece çok çeşitli uygarlıkların izlerine sahip olmuştur. Bu yönü ile Türkiye evcil hayvan genetik kaynakları yönünden son derece zengin bir ülkedir.

2.4.1. Kangal Çoban Köpeği

Anadolu Çoban Köpeği veya Karabaş olarak da bilinmektedir. Karayaka, Bozyaka ve Akyaka olmak üzere 3 varyetesi bulunmaktadır [Erdoğan vd., 2007]. Yayılma alanı, Akkaraman koyunu yetiştiriciliğinin yaygın olduğu bölgelerdir. Fakat günümüzde Türkiye'de yetiştirilmediği yer kalmamıştır [Yılmaz, 2007] [Yılmaz ve Ertuğrul, 2012]. Anadolu'da ilk kez Hitit Uygarlığı (M.Ö. 2000-1180) dönemine ait arkeolojik bulgularda Türkiye'deki çoban köpeklerine benzer köpek kabartmalarına rastlanmaktadır. Türklerin Orta Asya'dan göç ederek Anadolu'ya yerleşmeleri ve köpeklerini de beraberlerinde getirmeleri Anadolu'daki köpek ırklarının şekillenmesine yardımcı olduğu düşünülmektedir [Nelson, 1996]. Bu köpek ırkının tarihçesi hakkında farklı görüşler bulunsa da Anadolu yaylalarından Orta Asya ve Afganistan platolarına kadar bu köpeğin izlerine rastlanmaktadır [Özbeyaz, 1994;

Nelson, 1996]. Kırmızı (1994), Kangal Çoban Köpeklerinin orjinlerinin Orta Asya olduğunu ve buradan Anadolu ve Avrupa'ya yayıldığını bildirmektedir.

Kangal Çoban Köpeği, ağır ırklar arasında ve çoban köpekleri grubunda değerlendirilmektedir. Anadolu'da bu köpeklerle ilgili bir soykütüğü tutulmamış olduğu halde, çoban köpeği olarak yetiştirilmiş olması ırkın saflığının korunmasını sağlamıştır. Dünya Köpek Federasyonu (FCI= Federation Cynologique Internationale) tarafından 1989 yılında Kangal Çoban Köpeğinin standart numarası 331 olarak belirlenmiş ve ırk özellikleri tarif edilmiştir. Ağız, burun, kulak uçları ve göz etrafı siyahtır [Nelson, 1996; Erdoğan vd., 2007]. Kulaklar kafatasına yapışıktır. Hareketli ve uyarılma durumunda yukarı ve öne kıvrık kuyruk yapısı görülmektedir. Vücut örtüsünün rengi boz ve bozun açık krem renginden kızıl kahve rengine kadar değişen tonlarıdır. Nadir olarak, boz üzerine koyu renk çizgili vücut örtüsü de görülebilmektedir [Yılmaz, 2007] [Yılmaz ve Ertuğrul, 2012].



Şekil 2.10. Kangal Çoban Köpeği [Anonim].

Kangal Çoban Köpeği, büyük bir baş, kuvvetli bir çene ve sağlam bir boyun yapısına sahiptir. Göğüs çok gelişmiş, iri pençeli kuvvetli bir hayvandır. Yüksek anlama yeteneğine sahiptir ve 40-50 komutu rahatlıkla öğrenebilmektedir. Koku alma ve işitme duyuları ve dişleri oldukça gelişmiştir [Özbeyaz, 1994]. Cesaretli, sadık ve duygusaldır. Kendi sürüsünü, sahibini ve ailesini koruma konusunda korkusuz ve yeteneklidir. Sert iklim koşullarına dayanıklıdır [Yılmaz ve Ertuğrul, 2012].

2.4.2. Akbaş Çoban Köpeği

Akbaş Çoban Köpeğinin başlıca yayılma alanı, Eskişehir, Kütahya, Afyon, Konya ve Ankara arasında kalan bölgedir. Fakat günümüzde bu bölgeler ağırlıklı olmakla birlikte yurdun başka bölgelerinde de görülebilmektedir. Bu köpeğin tarihçesi hakkında kesin bilgiler bulunmamakla birlikte arkeolojik kazılardan Frigya Uygarlığı döneminde Akbaş Çoban Köpeğine benzer köpeklerin yaşadığı anlaşılmaktadır. Morfolojik yapısı ve davranış özelliği Mastif orijinli olduğunu düşündürmektedir [Nelson, 1996; Erdoğan vd., 2007; Yılmaz, 2007].



Şekil 2.11. Akbaş Çoban Köpeği [Anonim].

Akbaş Çoban Köpeği, cüsse ve kas yapısı bakımından işçi köpeklerine benzemektedir. Büyük bir baş, kuvvetli bir çene ve güçlü bir boyun yapısına sahiptir. En karakteristik özelliği vücut kıl örtüsünün beyaz olması ve başka hiçbir rengin görülmemesidir. Uzun ve kısa tüylü olmak üzere iki varyetesi bulunmaktadır [Nelson, 1996; Erdoğan vd., 2007].

2.4.3. Kars (Kafkas) Çoban Köpeği

Kars Çoban Köpeği, genellikle kuzeydoğu Anadolu bölgesinde, Kars, Artvin, Ağrı, Ardahan, Iğdır ve Erzurum illerinde görülmektedir. Irk olarak ilk kez Nelson (1996) tarafından tanımlanmıştır. Dış görünüşü Kafkas Çoban Köpeğine benzemektedir. Boyun yelesi gibi görüldüğünden önden bakılınca iri kafalı görünmektedir. Vücut kıl örtüsünün rengi karakteristik değildir ve bütün renkler

görülebilmektedir. Genellikle tek kişiye bağlanma eğilimindedirler. Çevreye karşı fazla dost canlısı değildirler [Yılmaz ve Ertuğrul, 2012].



Şekil 2.12. Kars (Kafkas) Çoban Köpeği [Anonim].

2.4.4. Türk Tazısı

Bu köpek ırkı hakkında yapılan çalışma sayısı yok denecek kadar azdır. 16. yüzyıldan kalma bir minyatürde Kanuni Sultan Süleyman'ın bir şehzadesi, tazı ile avlanırken resmedilmiştir. Türk Tazısının, Kırgız Tazısı'ndan geldiği, bunun da Orta Asya'dan Anadolu'ya yapılan göçler esnasında Türkler tarafından getirildiği bildirilmektedir [Yılmaz, 2007].

Türk Tazısı, daha çok bıldırcın, keklik, tavşan ve tilki avının yapıldığı Orta ve Güney Anadolu'nun sulak bölgelerinde yetiştirilmektedir [Yılmaz ve Ertuğrul, 2012]. Günümüz tazılarından İran Saluki Tazısı'na benzemektedir [Yılmaz, 2007]. Vücut kıl örtüsünün rengi karakteristik değildir ve bütün renkler görülebilmektedir [Erdoğan vd., 2007; Yılmaz ve Ertuğrul, 2012]. Bacakları uzun, vücut ince, baş uzun ve ince, tüyleri kısa, göğüs derin ve karın çekiktir [Yılmaz, 2007] [Yılmaz ve Ertuğrul, 2012].



Şekil 2.13. Türk Tazısı [Anonim].

2.4.5. Tarsus Çatalburun Köpeği

Türk Pointerı olarak bilinen Tarsus Çatalburun köpeği, bir av köpeği olarak Tarsus ve çevresindeki köylerde uzun yıllardır yetiştirilmektedir [Oğrak vd., 2012]. Burnunun ucundaki ıslak, siyah kesim iki parçalıdır. İsmi bu özelliğinden almaktadır [Yılmaz ve Ertuğrul, 2012]. Merkezden dikine bölünmüş gibi duran burnu, diğer köpeklerin burunlarına göre daha nemlidir [Oğrak vd., 2014]. Burun şeklinin bir avantaj mı yoksa dezavantaj mı olduğunu gösteren hiçbir çalışma bulunmamasına rağmen birçok insan bu özelliğin, Çatalburunların koku alma yeteneğini artırdığına inanmaktadır [Yılmaz, 2007].



Şekil 2.14. Tarsus Çatalburun Köpeği [Anonim].

Tarsus Çatalburun köpeklerinin avı, hem yerde hem havada izleyebilmesi ve uzun süre sessiz kalarak avı yakından takip etmesi, onları mükemmel bir av arkadaşı yapmaktadır [Oğrak vd., 2014]. Dünyada çatalburunlara en çok benzeyen ırklar, burun yapılarından ötürü İspanyolların Pacon Navarro (Old Spanish Pointer) köpekleri ve Bolivya'da bulunan Çatalburun And Kaplan tazısıdır (Double-nosed Andean Tiger Hound) [Yılmaz ve Ertuğrul, 2012; Oğrak vd., 2012].

Tarsus Çatalburun köpekleri, kısa ve düz kürke sahiplerdir. Vücut örtüsü çeşitli renklerde olabilmektedir. Fakat genellikle beyaz üzerine sarımsı kahve ile siyah karışımı renkler görülmektedir. Yaşam ömürleri 10-13 yıl arasında değişmektedir. Oldukça zeki, sadık ve sevecen köpeklerdir.

Yerel bir av köpeği olarak bilinen Çatalburunların sayıları gün geçtikçe azalmaktadır. Bu ırkın tanınması, korunması ve geliştirilmesi adına moleküler düzeyde çalışmalara ihtiyaç vardır.

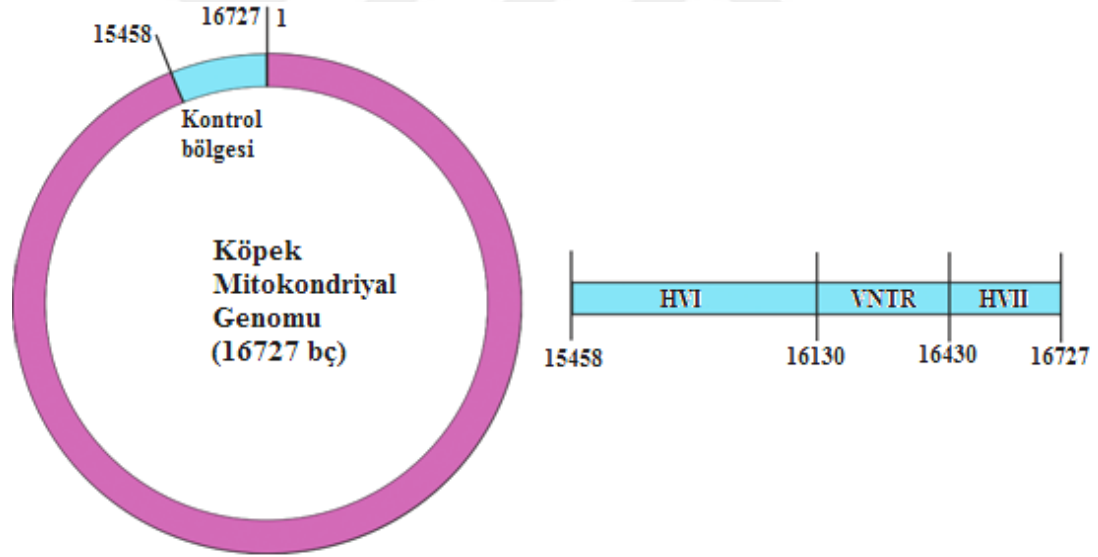
Türkiye'nin Asya ve Avrupa arasında yer alması, göç yolları üzerinde bulunması ve çok sayıda medeniyete beşiklik etmesi, Türk köpek ırklarının önemini artırmaktadır. Yerel köpek ırklarımızın genetik yapılarının tespiti, aynı zamanda Asya ve Avrupa'daki köpeklerin genetik yapısının daha iyi anlaşılması açısından da önemlidir.

2.5. POPÜLASYON ÇALIŞMALARINDA MİTOKONDRİYAL DNA (mtDNA) DİZİLERİ

Filogeni, genetik polimorfizm ve heterozigotluk gibi çalışmalarda; Y kromozomu, mtDNA, otozomal mikrosatellit ve SNP (tek nükleotit polimorfizmi) gibi genetik belirteçler kullanılmaktadır. Bu belirteç tiplerinin her biri memeli popülasyonlarını ayırt etmek için çeşitli derecelerde başarı sağlamaktadır [Irion vd., 2003]. Bununla birlikte, türler arasındaki evrimsel ilişkinin tarihini ya da tür içindeki popülasyonların tarihini ve genetik ilişkilerini tespit etmek için kullanılan en yaygın metodlardan biri mtDNA dizi analizidir [Savolainen, 1999; Kim vd., 2001].

Mitokondri, hücrede bir çok metabolik görevden sorumlu olan ve vücudun enerji üretiminde rol oynayan bir organeldir [Webb ve Allard, 2009]. Hücre başına 100 den daha çok sayıda mitokondri ve her mitokondri başına da 10'dan daha çok

sayıda genom kopyası bulunmaktadır [Angleby, 2005; Webb ve Allard, 2009; Imes vd., 2012]. Köpek mitokondriyal genomu, dairesel, yaklaşık olarak 17 kb büyüklüğünde ve 16728 baz çifti uzunluğundadır. Kodlanmayan bir kontrol bölgesinin (D-loop ya da hypervariable) yanı sıra, 13 protein, 22 tRNA ve 2 rRNA (12S ve 16S rRNA)'dan oluşan kodlanan bir bölge içermektedir. Kontrol bölgesi 1270 baz çifti (15459- 16728 pozisyonları arasında) uzunluğundadır ve iki bölgeye ayrılır: HVI (hypervariable I) ve HVII (hypervariable II). Bu iki bölge arasında 10 baz çiftlik tekrarlardan oluşan heteroplazmik bir bölge bulunmaktadır [Kim vd., 1998; Eichmann ve Parson, 2007; Himmelberger vd., 2008; Hassel vd., 2008] (Şekil 2.17). Köpekler de bu bölge, tekrar dizisi ve sayısındaki çeşitlilik nedeni ile farklı olmaktadır (polimorfik) [Gundry vd., 2007]. Mitokondriyal genomun diğer kısımları ile karşılaştırıldığında kontrol bölgesi, özellikle HVI, en yüksek mutasyon oranına sahiptir. Bu da, DNA çeşitliliğinin araştırılması için bu bölgeyi popüler yapmaktadır [Webb ve Allard, 2009].



Şekil 2.15. Kim ve arkadaşlarının buluşuna göre kontrol bölgesinin pozisyonu ve kontrol bölgesinin alt bölümleri (HVI ve HVII) [Verscheure vd., 2013].

Popülasyon genetik çalışmaları genellikle, mtDNA dizi analizine dayanmaktadır [Kropatsch vd., 2010]. Nüklear genom ile karşılaştırıldığında mitokondriyal genom bazı avantajlara sahiptir. Nüklear genomdan 20 kat daha büyük oranda dizi evrimine sahiptir. Türler ya da bireyler arasındaki büyük çeşitlilik ile sonuçlanan dizi evriminin yüksek oluşu, yüksek mutasyon oranı ile son zamanlarda

oluşan soylarla ilgili araştırma yapmaya izin vermektedir. Ayrıca tamir mekanizmalarından yoksundur ve rekombine olmaz [Tsuda vd., 1997; Pesole vd., 1999; Takahasi vd., 2002]. Yani ortak bir atadan türeyen iki mitokondriyal dizisi arasındaki farklılık sadece mutasyon oranlarını göstermektedir [Gökçek, 2005]. Anasal kalıttır. Maternal soyların açığa çıkmasına olanak verir [Savolainen, 1997; Tsuda vd., 1997; Pesole vd., 1999]. Ek olarak, hücredeki yüksek kopya sayısı, dizi analizi tespitinde duyarlılığını artırmaktadır [Pfeiffer vd., 2004]. Mitokondriyal DNA'nın bu özellikleri, popülasyon genetiği çalışmalarında onu en iyi araç yapmaktadır [Gökçek, 2005].

2.6. POPÜLASYON GENETİĞİ ÇALIŞMALARINDA KULLANILAN MOLEKÜLER YÖNTEMLER

Popülasyonlar içi ve popülasyonlar arasındaki farklılıkların / benzerliklerin tespit edilmesi amacıyla biyokimyasal genetik belirteçler (protein ve enzim), 1990'lı yıllara kadar standart protokoller halinde yaygın bir şekilde kullanılmıştır. Biyokimyasal genetik çalışmaların doğasından kaynaklanan kimi zorlukları gidermek amacıyla DNA molekülü seviyesinde daha duyarlı yeni yöntemlerin geliştirilmesine başlanmıştır. Bu amaçla geliştirilen ve yaygın olarak kullanılan yöntemler arasında polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ve DNA dizi analizi, Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA (RAPD), Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi (RFLP), Çoğaltılmış Parça Uzunluk Polimorfizmi (AFLP), Ardışık Basit Tekrarlar (STR) ve Mikrosatellit gibi yöntemler yer almaktadır [Özdil, 2007].

2.6.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

PCR, 1985 yılında Kary Mullis tarafından ilk kez bilim dünyasına sunulmuş olup, günümüzde modern bilime önemli katkılar sağlamıştır. Tekniğin geliştirilmesinden sonra, birçok organizmada, DNA çeşitliliğini tespit etmek amacıyla yapılan çalışmalarda büyük bir artış olmuştur [McPherson ve Moller, 2001].

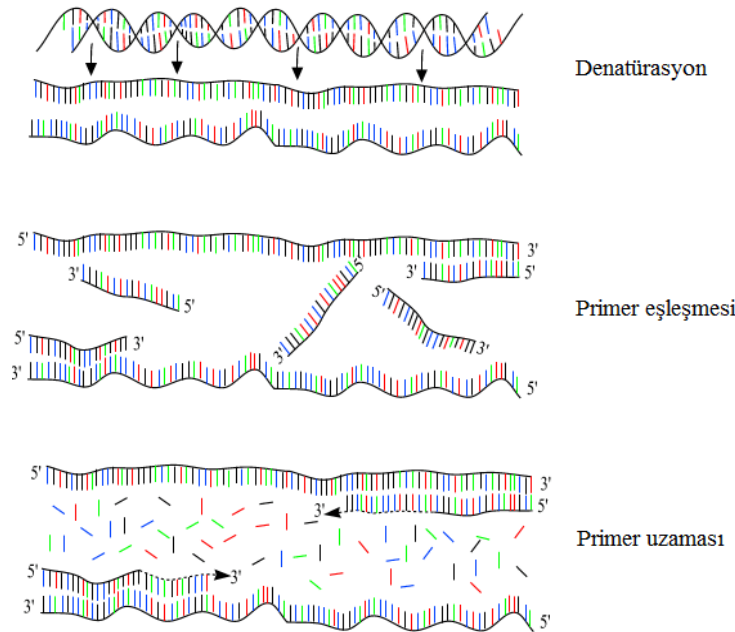
PCR, ortamda polimeraz enzimi ve sentez için uygun moleküller bulunması durumunda, özel bir DNA ya da RNA dizisinin seçilip tanınması ve sayısal olarak artırılması esasına dayanan *in vitro* bir tekniktir [Türkyılmaz ve Esenal, 2002;

Sevindik ve Abacı, 2013]. Bu teknik ile kısa zamanda laboratuvar çalışmalarında büyük bir hız ve kesinlik kazanılmıştır [Yıldırım vd., 2011]. Teknik, özellikle nükleik asitlerin çoğaltılması gibi moleküler teknolojiler, sistematik ekoloji, biyoteknoloji, toprak mikrobiyolojisi, tıp, patoloji, bakteri, virüs, mantar ve protozoa gibi canlılardan kaynaklanan enfeksiyon hastalıklarının teşhisinde yaygın olarak kullanılmaktadır [Bridge ve Arora, 1998; Louie vd., 2008].

PCR, basit ve hassas olup, temelde 3 aşamadan oluşmaktadır. Bu aşamalar ;

- Çift iplikli DNA molekülünün yüksek sıcaklıkta çözülerek tek iplik haline gelmesi (denatürasyon)
- Primer olarak kullanılan iki oligonükleotidin, hedef DNA'ya bağlanması (primer eşleşmesi)
- Mg^{+2} iyonları varlığında, katalizör olan DNA polimeraz enzimi ile primerlere nükleotid eklenmesi ve DNA zincirinin uzaması (primer uzaması)

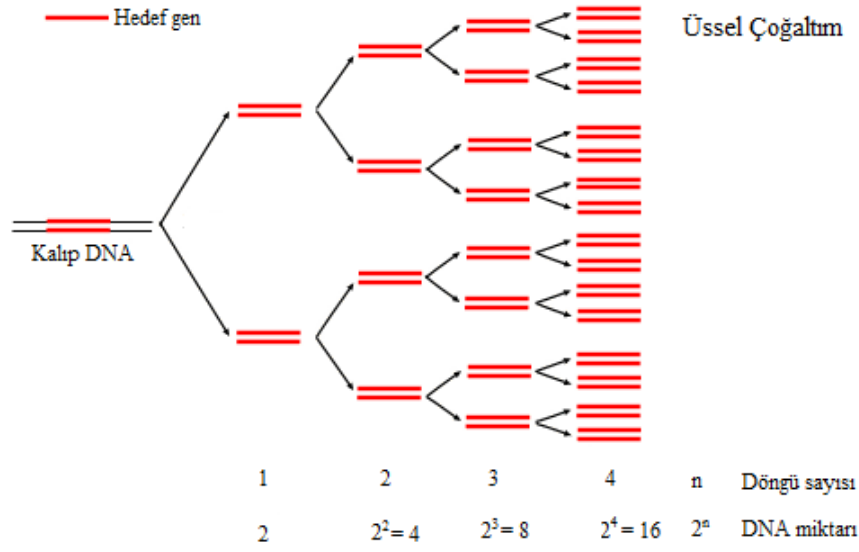
İşlem döngülerinin birçok tekrarından oluşmaktadır [Sambrook vd., 1989][Şekil 2.18].



Şekil 2.16. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) döngüsü [Vierstraete, 1999].

Kalıp DNA'nın iki ipliği, yaklaşık 90-95°C'lık sıcaklık uygulamasıyla birbirinden ayrılmaktadır. PCR'in ilk aşaması olan bu işlem denatürasyon olarak bilinmektedir. İpliklerin ayrılması, 15 saniyeden birkaç dakikaya kadar olabilmektedir. İkinci aşama oligonükleotid primerlerin (6-30 bazlık) kalıp DNA üzerindeki tamamlayıcı dizilerle eşleşmesi ve hibritlenme olayının olmasıdır. Bunun için denatürasyon sıcaklığından daha düşük hibritlenme sıcaklığına reaksiyon soğutulmaktadır. Primerlerin doğru bir biçimde hibritlenmesi için sıcaklığın genellikle 55-65°C arasında olması gerekmektedir. Reaksiyon bu sıcaklıklara soğutulduğunda primerlerin tamamlayıcı DNA ile hibritlenmesi sağlanmış olur. Primerlerin bağlanması için 1-2 dakika tutmak yeterlidir. En son aşama olarak optimum sentez sıcaklığında (72°C), sıcaklığa dayanıklı özgün bir DNA polimeraz enzimi, primerlerin 3'OH uçlarına deoksiribonükleotidleri ekleyerek yeni iplikleri kalıp diziyeye komplementer olacak şekilde sentezlemektedir. Bu son aşama yeni DNA ipliklerinin sentezinin yapılması (primer uzaması) olarak bilinmektedir. Uzama aşamasının 1- 3 dakika kadar olması önerilmektedir [McPherson and Moller, 2001].

Bir sonraki döngüde başlangıçta kullanılan DNA molekülü ile birlikte yeni sentezlenen DNA molekülü de birbirinden ayrılmaktadır. Her bir iplik (hem kalıp iplik ve hem de yeni sentezlenen iplik) primer bağlanma bölgesine sahiptir ve sonraki DNA sentezleri için kalıp görevi görmektedir. Bu üç aşamalı PCR döngüsü 20-40 kez tekrarlanarak istenilen kopyada DNA bölgesi çoğaltılmış olmaktadır. Her bir döngüde DNA molekülü, iki katına çıkarılarak hedeflenen DNA parçacığı üssel bir artışla çoğaltılmaktadır [Sambrook vd., 1989; Özdi, 2007][Şekil 2.19].



Şekil 2.17. PCR döngüsü kullanılarak hedeflenen DNA bölgesinin üssel çoğaltımı [Vierstraete, 1999].

PCR'da yer alan bileşenler; çoğaltılacak DNA dizisini içeren kalıp DNA, çoğaltılacak DNA dizisine komplementer olan 6-30 bazlık primerler, DNA polimeraz enzimi, deoksinükleotidler (dNTP), tampon çözelti ve kofaktör olarak görev yapan MgCl₂'dir [McPherson ve Moller, 2001; Yıldırım vd., 2011]. Kullanılan bileşenlerin miktarı ve kalitesi reaksiyon sonucunu önemli ölçüde etkilemektedir. Bu bileşenlerin yanı sıra kullanılan PCR cihazının (Thermal cycler) hatta mikrofüj tüpünün bile sonucu etkilediği bilinmektedir. Bu nedenle kullanılan bileşenlerin miktarı deneylerle optimize edilmeli ve kullanıcı optimum koşulları kendisi ayarlamalıdır. Optimizasyon yapılmadığı takdirde spesifik olmayan amplifikasyon, PCR ürününün zayıf olması, daha önce çalışan reaksiyonun çalışmaması ve beklenmedik ürünlerin ortaya çıkması gibi sorunlar oluşabilmektedir [McPherson ve Moller, 2006; Yıldırım vd., 2011].

2.6.2. DNA Dizi Analizi Yöntemi

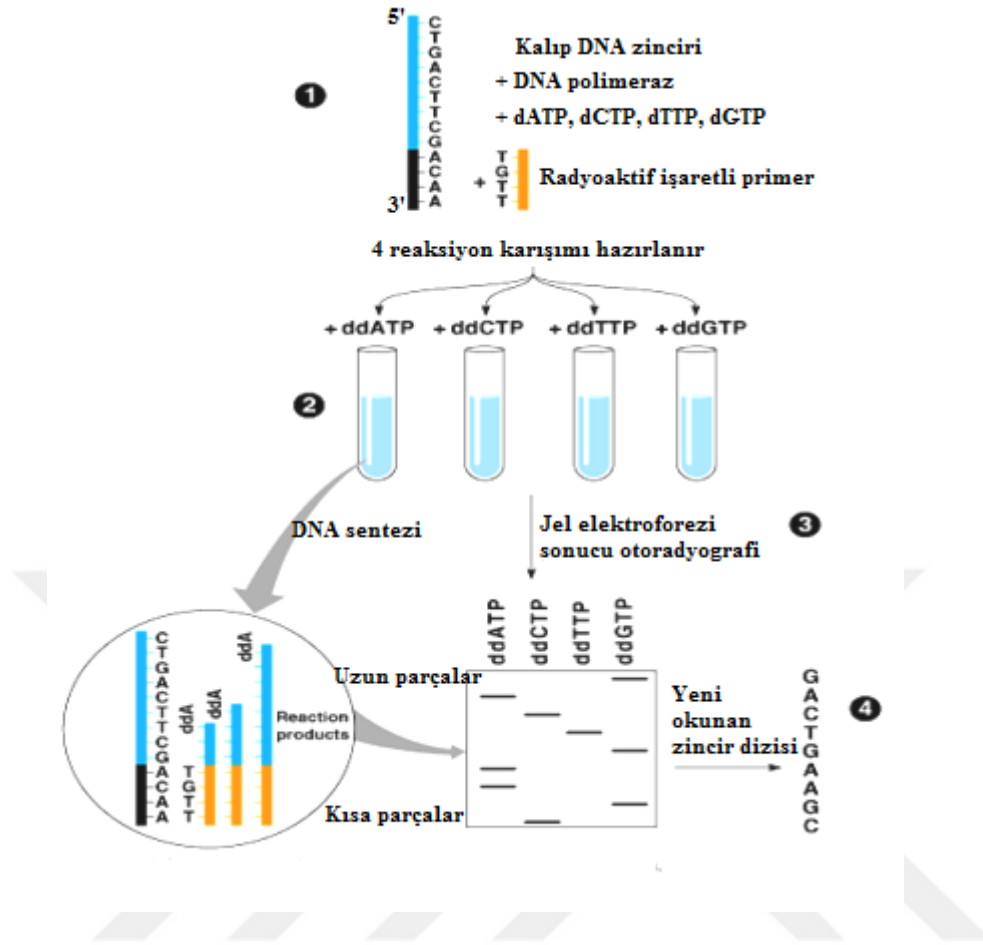
Bireyler arasındaki genetik farklılıkların tespit edilmesinde kullanılan etkin yöntemlerin başında DNA dizi analizi yöntemi gelmektedir. Yöntem, DNA birincil yapılarının tayininde ve nükleotid baz diziliminin belirlenmesinde kullanılmaktadır. Günümüzde, otomatik DNA dizi analizi cihazlarının geliştirilmesi ve elde edilebilirliklerinin kolaylaşması sonucunda moleküler biyoloji çalışmalarında DNA

dizi analizinden yararlanılması gittikçe yaygınlaşmıştır. Dizi analizinin genetik temeli 1970'li yıllarda ortaya konan iki farklı yönteme dayanmaktadır. Bunlar, Maxam ve Gilbert'in kimyasal kırılma metodu ile Sanger ve Coulson'ın zincir sonlanma yöntemidir.

2.6.2.1. Sanger ve Coulson'ın zincir sonlanma yöntemi

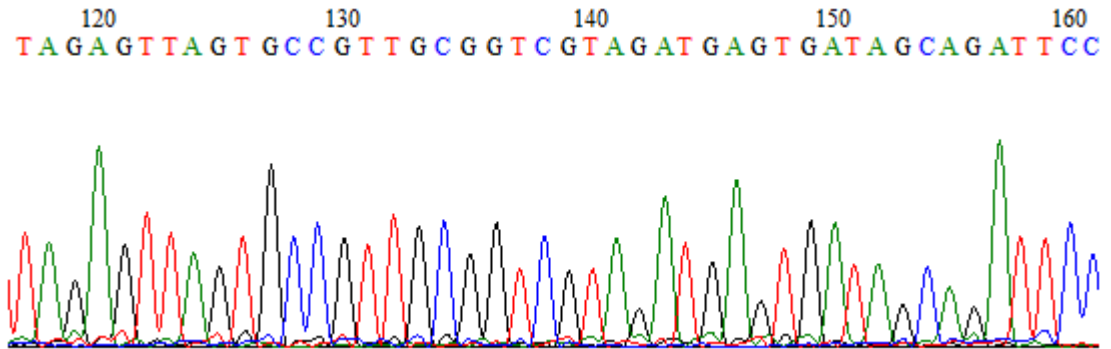
Sanger ve Coulson DNA dizi analizi yöntemi, günümüzde kullanılmakta olan otomatik DNA dizi analizi tekniklerinin öncüsü olarak kabul edilmektedir. Bu yöntem *in vitro* gerçekleştirilen DNA çoğaltımı işleminin kontrollü bir şekilde yarıda kesilmesi temeline dayanmaktadır.

İkili sarmal DNA, tek iplikli hale getirilmekte ve hedef DNA'nın bir bölümü ile komplementer olan primer, bu bölge ile hibrit oluşturmaktadır. Bu primer/hedef DNA karışımı DNA polimeraz enzimi tarafından katalize edilmekte ve primerlere yeni nükleotidlerin ilave edilmesi 4 ayrı reaksiyon alt grubunda incelenmektedir. Her bir reaksiyonda, 4 tip deoksinükleotidlere (dA, dT, dG, dC) ilave olarak 3'OH grubu taşımayan dideoksinükleotidler (ddN) de bulunmaktadır. Yeni sentezlenen DNA molekülü, ya primerin uç kısmı işaretlenerek ya da sentez sırasında işaretli deoksinükleotid ilave ederek radyoaktif işaretli hale getirilmektedir. Yeni DNA ipliği sentezinin yapılması, nükleotidlerin, serbest 3'OH grubuna eklenmesi ile devam etmekte ve uzayan ipliğe dideoksinükleotid trifosfat (ddNTP) eklendiği zaman iplik uzaması devam edememektedir. Polimeraz reaksiyonu, ddNTP'lerin rastgele ilave edildiği durumlarda yürütülmekte ve farklı bazlarla sonlandırılan farklı uzunluklarda DNA parçaları elde edilmektedir. Bu DNA parçaları, poliakrilamid jel elektroforezi ile ayrılmakta ve otoradyografi ile görüntülenmektedir [Avisé, 2004] [Şekil 2.20].



Şekil 2.18. Sanger ve Coulson'ın zincir sonlanma yöntemi

Otomatik DNA dizi analizi yapan cihazlarda elde edilen veri çeşitli yazılımlardan yararlanılarak Şekil 2.21'de görüldüğü gibi bir bilgisayar çıktısı şeklinde elde edilmektedir.



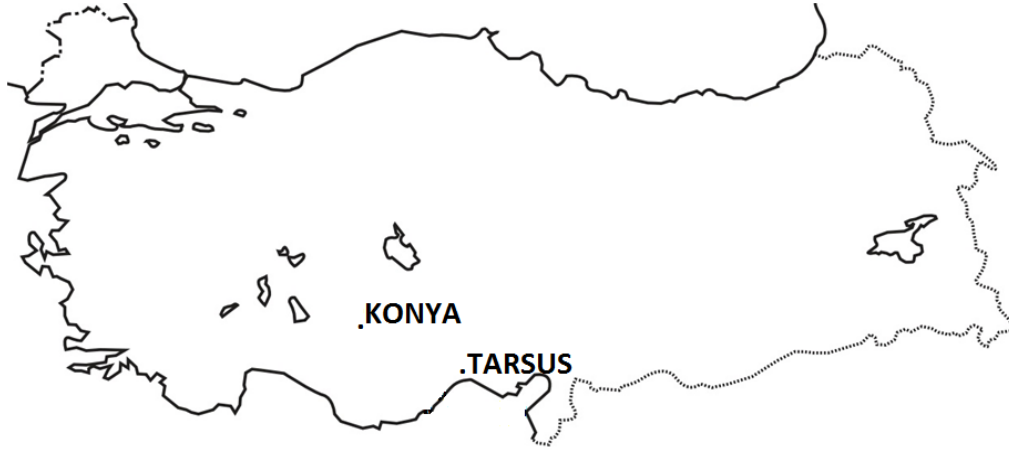
Şekil 2.19. Otomatik DNA dizi analizi reaksiyonundan elde edilen veriye ait grafik. Grafikte tek bir DNA ipliğinde bulunan nükleotidlerin farklı renkte pikler ile belirtildiği bir bilgisayar çıktısı ve 120-160. nükleotidler arasındaki dizi analizi sonuçları görülmektedir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. GEREÇLER

3.1.1. Örnek Toplama

Çalışmada, 10 Çatalburun köpeği, 10 Kangal köpeği ve 10 İngiliz Pointer köpeği kullanılarak toplamda 30 adet köpek analiz edilmiştir. Kangal köpekleri, Konya Selçuk Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi çiftliğinden temin edilmiştir. Çatalburun köpekleri, Tarsus Cin köyü'nde uzun yıllardır yetiştirilmekte olan çiftlikten ve Pointer köpekleri de Mersin hayvan hastahanelerine gelen sağlıklı bireylerden seçilmiştir. Çalışmada köpeklerin kan örnekleri kullanılmıştır. Her bir köpekten 5 mL olacak şekilde vakumlu ve K₃EDTA içeren tüplere kan örnekleri alınmıştır. Her bir tüpün üzerine, kan örneği alınan köpeğin ırkı, adı, yaşı, cinsiyeti, doğum tarihi gibi köpekle ilgili bilgiler not alınmıştır. Örneklerin bozulmaması için laboratuvar ortamına getirilene kadar soğuk zincir ile taşınmıştır. Daha sonra örnekler, hemen kullanım için +4°C ye, daha uzun süre saklamak için ise -20°C ye konulmuştur.



Şekil 3.1. Örnek Toplama Bölgeleri

3.1.2. Kullanılan Kimyasallar, Kit ve Cihazlar

Çizelge 3.1. Kullanılan kimyasal madde ve kitler

Ürün Adı	Ürün Kodu/ Marka
High Pure PCR Template Preparation Kit	11796828001, Roche
GeneJET PCR Purification Kit	K0701, ThermoScientific
Taq DNA Polimeraz Enzimi	EP0402, ThermoScientific
10× Taq buffer (KCl)	EP0402, ThermoScientific
MgCl ₂	EP0402, ThermoScientific
dNTP miks, 10 mM	R0192, ThermoScientific
100 baz çiftlik belirteç	SM0321, ThermoScientific
DNA yükleme boyası	R0611, ThermoScientific
DNaz, RNaz Free Su	W1754, Sigma
Etidyum bromid (EtBr)	HC001596, Merck
Proteinaz K	E00491, ThermoScientific
Agar	ThermoScientific

Çizelge 3.2. Kullanılan Çözeltiler

Çözeltiler	İçerik	Miktar
1. 10X TBE (pH 8.8)	Tris	1 M
	Borik Asit	1 M
	EDTA	0.2 M
2. 1X TBE (100 mL)	10X TBE	10 mL
	Distile Su	90 mL
3. % 1'lik Agaroz Jel Solüsyonu	1X TBE	50 mL
	Agaroz	0.5 g
	EtBr	5 µL

Çizelge 3.2 (devamı).

4. İzopropanol	100µL
5. Etil alkol	

Çizelge 3.3. Kullanılan cihaz, marka ve model bilgileri

Cihaz İsmi	Marka/Model
PCR Cihazı	Techne/Prime G
NanoDrop	Captical Bio NanoQ
Güvenlik Kabini	ThermoScientific/Herasafe KS
Elektroforez Güç Kaynağı	Bio-rad/PowerPac Basic
Elektroforez Tankı	Bio-rad/Mini-Sub Cell GT Cell
Jel Görüntüleme Sistemi	Vilber Lourmat Marne, La Vallée, France
Mikrosantrifüj	Sigma/1-14
Mikrodalga Fırın	Arçelik
Derin Dondurucu (+4/-20 °C)	Arçelik
Otoklav	Selecta
Hassas Terazi	Denver
Vorteks	Velp Scientifica
Isı Bloğu	HLC BioTech
Distile Su Cihazı	Merck MiliQ
Mikropipet Seti (10/200/1000 µl)	Eppendorf

3.2. ÖRNEKLERİN LABORATUVAR ANALİZLERİ

3.2.1. Genomik DNA İzolasyonu

DNA izolasyonu 'High Pure PCR Template Preparation Kit (11 796 828 001, Roche)' yardımıyla ve üretici firmanın protokolüne uygun olarak yapılmıştır. Mikrosantrifüj tüpüne 200 µL tüm kan ve 200 µL bağlama tamponu konulmuştur.

Üzerine 40 µL Proteinaz K pipetaj yapılarak eklenmiştir. Vorteks yardımı ile karıştırıldıktan sonra 70°C'de 10 dakika ısı bloğu üzerinde inkübasyona bırakılmıştır. Daha sonra 100 µL izopropanol eklenip tekrar karıştırıldıktan sonra tüpün içeriği kolon tüpüne aktarılmıştır. 1 dakika boyunca 8.000×g' de santrifüj yapılmıştır ve kolon tüpünün altındaki toplama tüpü, yenisi ile değiştirilmiştir. 500 µL İnhibitör uzaklaştırma tamponu eklenmiştir. 1 dakika boyunca 8.000×g' de santrifüj yapılmıştır ve toplama tüpü yenisi ile değiştirilmiştir. 500 µL yıkama tamponu eklenmiştir. 1 dakika boyunca 8.000×g' de santrifüj yapılmıştır ve toplama tüpü yenisi ile değiştirilmiştir. Tekrar 500 µL yıkama tamponu eklenmiştir. 1 dakika boyunca 8.000×g' de santrifüj yapılmıştır ve toplama tüpü yenisi ile değiştirilmiştir. Hemen ardından 13.000×g 'de 10 saniye santrifüj yapılmıştır. Bu sırada temiz mikrosantrifüj tüpü hazırlanmıştır. Santrifüjden çıkan kolon tüpü, toplama kısmı çöpe atılarak, bu mikrosantrifüj tüpünün içine oturtulmuştur. Üzerine 70°C'de ısı bloğunda bekletilen ayıklama tamponundan 200 µL eklenmiştir. 1 dakika boyunca 8,000×g 'de santrifüj yapılmıştır ve üst kısımdaki kolon tüpü çöpe atılmıştır. İzolasyon sonrası ürünün saflığı ve miktarı NanoDrop (CapitalBio, Chinese) sistemi kullanılarak ölçülmüştür.

3.2.2. PCR ile mtDNA Kontrol Bölgesi Çoğaltımı

Çalışmada, köpek mtDNA kontrol bölgesinin 698 baz çifti analiz edilmiştir. Kontrol bölgesi amplifikasyon protokolü Angleby ve ark.(2005) tarafından belirlenen metod modifiye edilerek çalışılmıştır. Kontrol bölgesi, H15404 (5'-cct aag act caa gga aga agc-3') ve L16102 (5'-aac tat atg tcc tga aac cat tg-3') primerleri kullanılarak çoğaltılmıştır. Reaksiyon Thermal cycler PCR cihazında gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 3.4. PCR reaksiyon parametreleri

Malzemeler	Konsantrasyon
10X Taq Buffer	1X
MgCl ₂	2 mM
dNTPs (10mM)	200 µM
Primer (H15404)	0.2 µM

Çizelge 3.4 (devamı).

Primer (L16102)	0.2 µM
Taq DNA polimeraz	1 U
Kalıp DNA	2 µL
Distile Su	30 µL'ye tamamlanır
Toplam Reaksiyon Miktarı	30 µL

Çizelge 3.5. PCR reaksiyon koşulları

PCR reaksiyon koşulları		
95 °C		10 dk
35 Döngü	94 °C	1 dk
	57 °C	1 dk
	72 °C	1 dk
72 °C		10 dk

3.2.2.1. Jelde PCR ürünü kontrolü

PCR çoğaltımından sonra, % 1'lik agaroz jel ile elektroforez yapılarak ürünlerin dizi analizi için uygunluğu kontrol edilmiştir. 1×TBE tampon çözeltisi içerisinde agaroz eritilerek hazırlanmıştır. 1 µL amplifikasyonu yapılan PCR ürünü, 3 µL DNA yükleme boyası ile karıştırılarak jele yüklenmiştir. İlk kuyucuğa merdiven yüklenmiştir. Jel, 110 V, 50 mA'de 30 dakika yürütülmüştür. Sonuçlara jel görüntüleme sistemi (Vilber Lourmat Marne, La Vallée, France) kullanılarak bakılmıştır. Elde edilen ürünler, temizliği yapılanaya kadar -20°C'de muhafaza edilmiştir.

3.2.3. PCR Ürünü Temizleme

PCR ürün temizliği, GeneJET PCR Temizleme Kiti (K0701, Thermo Scientific) yardımıyla ve üretici firmanın protokolüne uygun olarak yapılmıştır. Mikrosantrifüj tüpüne 100 µL PCR örneği ve 100 µL bağlama tamponu

konulmuştur. Vorteks yardımı ile iyi bir şekilde karıştırılmıştır. Daha sonra tüpün içeriği kolon tüpüne aktarılmıştır. 1 dakika boyunca 14.000×g' de santrifüj yapılmıştır ve kolon tüpünün altındaki toplama tüpü yenisi ile değiştirilmiştir. 700 µL yıkama tamponu eklenmiştir. 1 dakika boyunca 14.000×g'de santrifüj yapılmıştır ve toplama tüpü yenisi ile değiştirilmiştir. Hemen ardından tekrar 1 dakika boyunca 14.000×g'de santrifüj yapılmıştır. Bu sırada temiz mikrosantrifüj tüpü hazırlanmıştır. Santrifüjden çıkan kolon tüpü, toplama kısmı çöpe atılarak, bu mikrosantrifüj tüpünün içine oturtulmuştur. Üzerine 50 µL ayıklama tamponu eklenmiştir. 1 dakika boyunca 14.000×g'de santrifüj yapılmıştır ve üst kısımdaki kolon tüpü çöpe atılmıştır. Temizliği yapılan PCR ürünü, % 1'lik agaroz jel ile elektroforez yapılarak saflığı kontrol edilmiştir ve jel görüntüleme sistemi ile bakılmıştır. Daha sonra bu temizlenmiş PCR ürünlerinin dizi analizi, REFGEN Gen Araştırmaları ve Biyoteknoloji Ltd. Şti. tarafından (Ankara Üniversitesi Teknoloji Geliştirme Bölgesi) gerçekleştirilmiştir.

3.3. DİZİ ANALİZİ SONUÇLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ

Analiz sonucu elde edilen dizi verileri, BioEdit Version 7.0.9.1 (Hall, 1999) programı kullanılarak düzeltilmiştir. Her bir örnek için hem ileri (forward) hem de geri (reverse) primerlerin kullanılmasıyla elde edilen kromotogramlar programda açılarak alt alta sıralanmış, geri primer, tamamlayıcısı (komplementi) ileri primerle karşılaştırılmış ve konsensus diziler elde edilmiştir. Cihazın pikleri hatalı okuyup okumadığı da elektroferogramlar gözle incelenerek ve konsensus dizilerle karşılaştırılarak kontrol edilmiştir.

Her bir örnek için elde edilen konsensus diziler ve GenBank'dan (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) indirilen referans diziler , programda aynı baz dizileri alt alta gelecek şekilde hizalanmıştır. Hizalamanın ardından tüm dizilerin aynı uzunlukta olması için baştan ve sondan fazla okunmuş bazlar kesilip çıkarılarak analiz dışı bırakılmıştır. Daha sonraki analizler, kontrol bölgesi ile bağlantılı 594 baz dizisi kullanılarak sürdürülmüştür. Hizalanmış diziler, istatistik analizlerde kullanılmak üzere fasta formatında kaydedilerek saklanmıştır.

3.4. İSTATİSTİKSEL ANALİZLER

Araştırmada incelenen ırkların genetik ilişkilerinin ortaya konulmasında Wright'ın F_{st} istatistiğine dayalı çiftli genetik mesafe ölçümleri hesaplanmıştır. Bu amaçla Mega (Molecular Evolutionary Genetics Analysis) 6.06 programı kullanılmıştır. Örnekler arası dizi ayrımı değerlerinin daha iyi anlaşılabilmesi için Kimura'nın 2 parametre metoduna dayalı komşu birleştirme ağacı çizilmiştir. Ağaç, PHYLIP (Phylogeny Inference Package) 3.696 programında oluşturulmuştur. Haplogrup dağılımının doğru şekilde ortaya konulabilmesi ve gözlenen haplotipler arasındaki mutasyonel ilişkiyi göstermek için en küçük kapsayan ağ oluşturulmuştur. Ağ, aşağıdaki sıra takip edilerek el ile çizilmiştir [Jobling vd., 2004].

- Tüm farklı haplotipler arasındaki dizi analizi bazlı mesafe matrisi hesaplanmıştır.
- Önce tek bir mutasyonel adımla ayrılan haplotipler arasındaki bağlantılar çizilmiştir.
- Sonra mutasyonel adımların sayısı artırılarak tüm haplotipler tek bir ağ ile birbirine bağlanana kadar bağlantılar çizilmiştir.
- Haplotiplerin örnekler arasındaki frekanslarına göre dairelerinin çapı artırılmıştır.

3.4.1. Çalışmada Kullanılan Analiz Programları

Çalışmada kullanılan analiz programları ve erişim adresleri aşağıda listelenmiştir.



BioEdit Sequence Alignment Editor 7.0.9.1
(<http://www.mbio.ncsu.edu/bioedit/bioedit.html>)



MEGA (Molecular Evolutionary Genetics Analysis) 6.06
(<http://www.megasoftware.net/>)



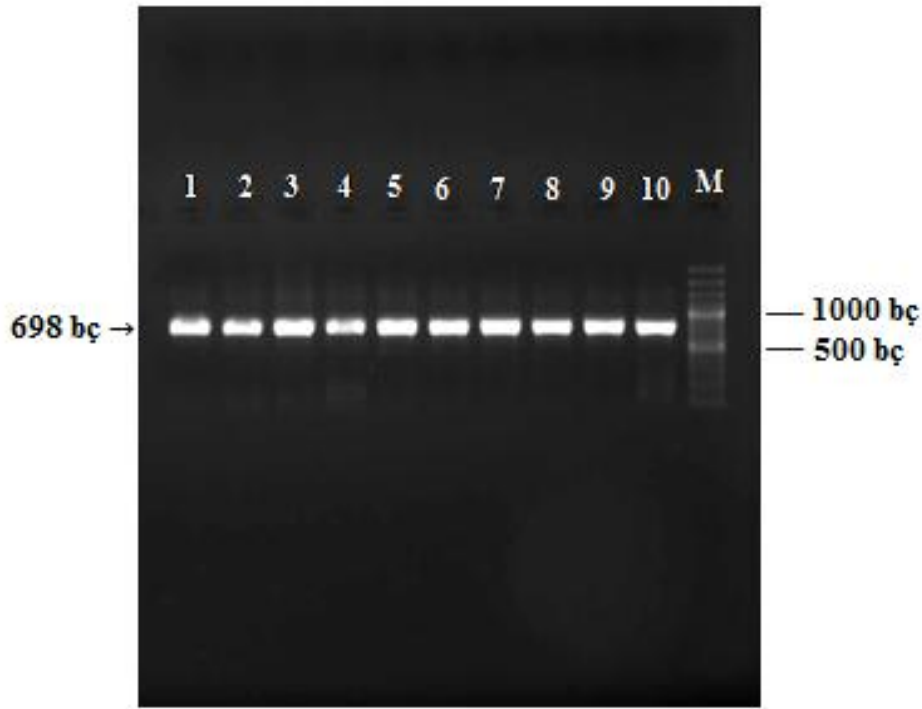
PHYLIP (Phylogeny Inference Package) 3.696
(<http://evolution.genetics.washington.edu/phylip.html>)

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. LABORATUVAR ANALİZİ SONUÇLARI

4.1.1. DNA İzolasyonu ve PCR Kontrolü

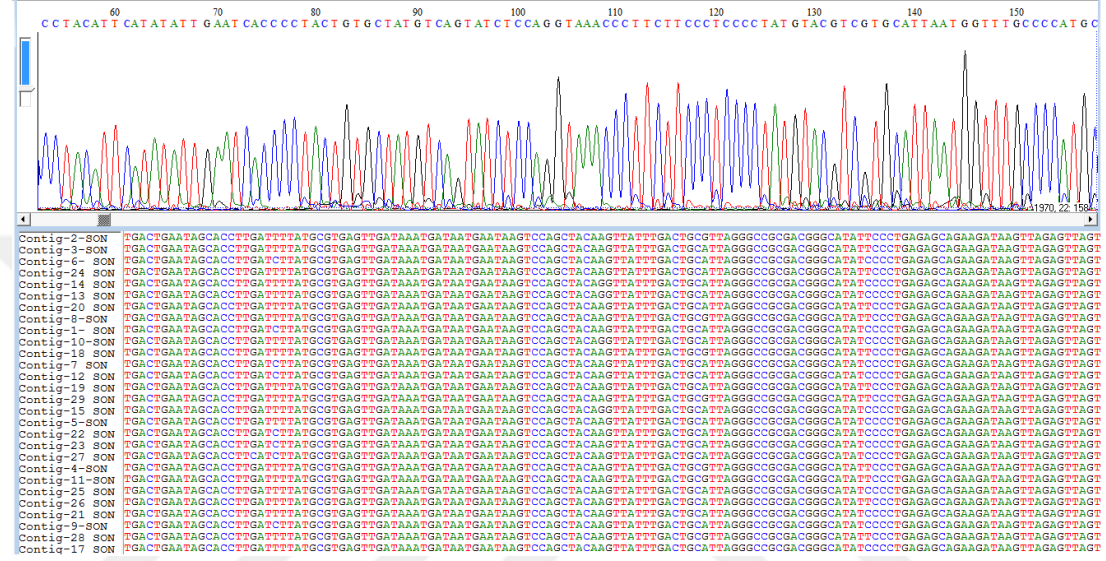
Tüm kandan DNA izolasyonu bölüm 3'de verilen prosedür kullanılarak yapılmıştır. İzolasyon sonrası ürünün saflığı ve miktarı NanoDrop (CapitalBio, Chinese) sistemi kullanılarak ölçülmüştür (Şekil 4.1). Bu işlemin ardından elde edilen DNA'nın PCR ile çoğaltımı gerçekleştirilmiştir. PCR ürünleri, dizi analizi yapılacak PCR reaksiyonunda kalıp görevi gördüğü için niteliğine bakmak amacıyla agaroz jel elektroforezinde kontrol edilerek Ultraviyole (UV) ışığı altında görüntülenmiştir (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. PCR ürünlerinin % 1'lik agaroz jel elektroforezi sonrası UV ışığı altındaki görüntüsü. 1-10. kuyucuklarda Çatalburun köpeklerinin PCR örnekleri ve 100 bç'lik merdiven (M) görülmektedir.

4.2. mtDNA KONTROL BÖLGESİNİN DİZİ ANALİZİ SONUÇLARI

Her bir örnek dizisi gerekli düzeltmeler yapıldıktan sonra BioEdit programında alt alta hizalanıp incelenmiştir. Bazı diziler aynı kalırken, bazı dizilerde baz değişimleri tespit edilmiştir. Şekil 4.3'de gösterildiği gibi hizalanmış diziler, istatistik programlarda kullanılmak üzere fasta formatında kaydedilerek saklanmıştır.



Şekil 4.3. Dizileme reaksiyonundan elde edilen 29 örneğe ait dizi verilerinin hizalanması.

4.3. İSTATİSTİK ANALİZ SONUÇLARI

4.3.1. Nükleotit Çeşitliliğinin Gösterimi

İncelenen örneklerde, mtDNA kontrol bölgesi I dizi çeşitliliği Şekil 4.4'te gösterilmiştir. Şekilde, köpek adları ilk sütunda kısaltmaları (P: Pointer, K: Kangal, ÇB: Çatalburun) ile birlikte verilmiştir. Dizi polimorfizmleri açısından bilgilendirici olan çeşitli nükleotit pozisyonları seçilerek üst kısımda pozisyon numarası ile birlikte gösterilmiştir. İlk sırada referans dizi (Imes ve ark. 2012) ve ulaşım numarası birlikte verilmektedir. Noktalar, referans dizi ile aynı olan nükleotit dağılımını göstermektedir. Referans diziden farklılık gösteren bazlar renkli olarak belirtilmiştir.

ırklar arasında ortak olduğu görülmüştür (Çizelge 4.1). Haplogrup A ve B her üç köpek ırkında görülmesine karşın haplogrup D, sadece Kangal ırkında görülmüştür.

Çizelge 4.1. Köpeklerde haplogrup ve haplotip dağılımları.

HAPLOGRUP	HAPLOTİP	ÖRNEKLER
A	A11	2-P, 4-P, 28-P, 29-P
	A17	3-P, 26-P, 19-ÇB, 24-ÇB
	A18	8-K
	A22	11-K
	A17to2step	20-ÇB
B	B1	1-P, 6-K, 7-K, 16-ÇB, 22-ÇB, 23-ÇB
	B1to1step	5-P, 17-ÇB, 21-ÇB, 25-ÇB
	B1to1step*	27-P
	B1to1step**	9-K
	B1to1step***	12-K
D	D6	10-K, 13-K, 14-K, 15-K

4.3.2. Örneklerin Genetik Mesafe Ölçümleri

Her bir örneğin çiftli (pairwise) genetik mesafe ölçümü hesaplanarak elde edilen genetik mesafe matrisi çizelge 4.2'de verilmektedir. Irklar arası F_{st} değeri istatistik düzeyde ($p < 0.01$) önemli bulunmuştur. Yani çalışılan köpekler farklı genetik yapıya sahiptir. Köpeklerin genetik mesafe uzaklıkları, aynı zamanda mtDNA polimorfizmlerini büyük oranda koruduklarını göstermiştir.

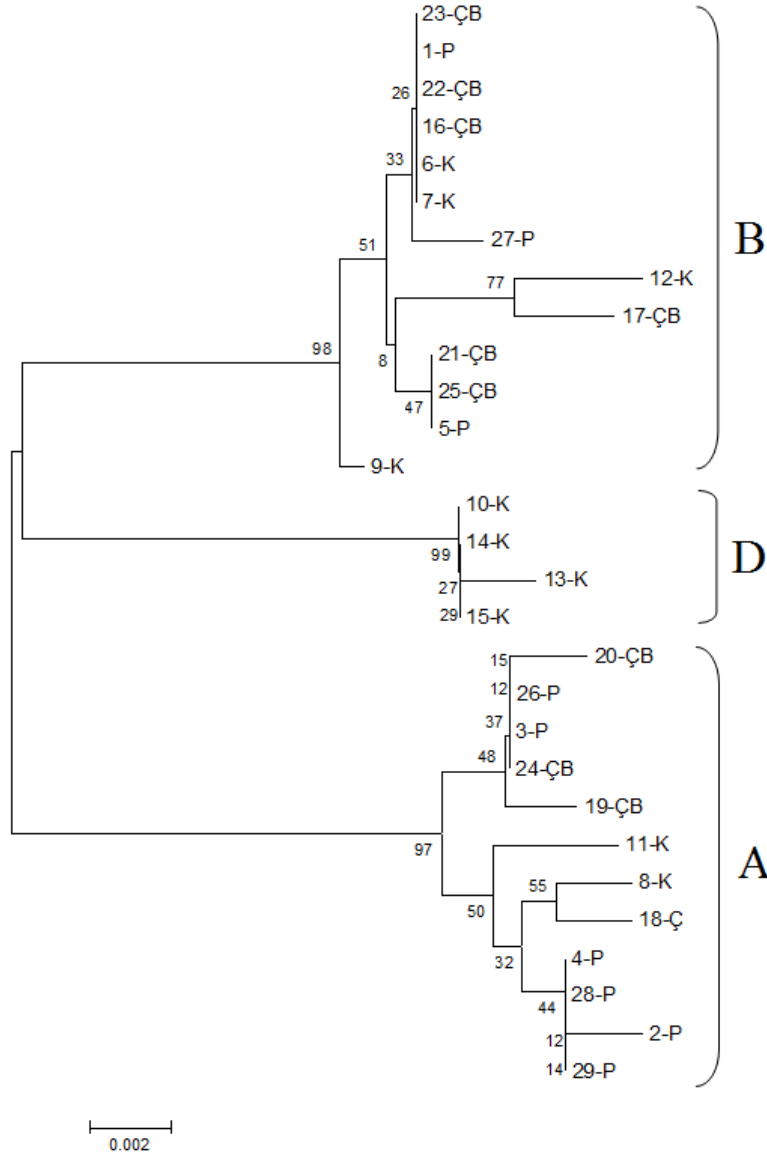
Çizelge 4.2. Köpek örnekleri arasındaki çiftli genetik mesafe değerleri

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28
1. 6-K																												
2. 7-K	0.000																											
3. 8-K	0.027	0.027																										
4. 9-K	0.002	0.002	0.025																									
5. 10-K	0.021	0.021	0.027	0.019																								
6. 11-K	0.025	0.025	0.008	0.023	0.027																							
7. 12-K	0.006	0.006	0.033	0.008	0.027	0.031																						
8. 13-K	0.023	0.023	0.029	0.021	0.002	0.029	0.029																					
9. 14-K	0.021	0.021	0.027	0.019	0.000	0.027	0.027	0.002																				
10. 15-K	0.021	0.021	0.027	0.019	0.000	0.027	0.027	0.002	0.000																			
11. 16-CB	0.000	0.000	0.027	0.002	0.021	0.025	0.006	0.023	0.021	0.021																		
12. 17-CB	0.008	0.008	0.031	0.010	0.025	0.029	0.006	0.027	0.025	0.025	0.008																	
13. 18-CB	0.027	0.027	0.004	0.025	0.027	0.008	0.033	0.029	0.027	0.027	0.027	0.031																
14. 19-CB	0.025	0.025	0.006	0.023	0.025	0.010	0.027	0.027	0.025	0.025	0.025	0.025	0.006															
15. 20-CB	0.025	0.025	0.006	0.023	0.025	0.010	0.031	0.027	0.025	0.025	0.025	0.029	0.006	0.004														
16. 21-CB	0.002	0.002	0.025	0.004	0.019	0.023	0.008	0.021	0.019	0.019	0.002	0.006	0.025	0.023	0.023													
17. 22-CB	0.000	0.000	0.027	0.002	0.021	0.025	0.006	0.023	0.021	0.021	0.000	0.008	0.027	0.025	0.025	0.002												
18. 23-CB	0.000	0.000	0.027	0.002	0.021	0.025	0.006	0.023	0.021	0.021	0.000	0.008	0.027	0.025	0.025	0.002	0.000											
19. 24-CB	0.023	0.023	0.004	0.021	0.023	0.008	0.029	0.025	0.023	0.023	0.023	0.027	0.004	0.002	0.002	0.021	0.023	0.023										
20. 25-CB	0.002	0.002	0.025	0.004	0.019	0.023	0.008	0.021	0.019	0.019	0.002	0.006	0.025	0.023	0.023	0.000	0.002	0.002	0.021									
21. 1-P	0.000	0.000	0.027	0.002	0.021	0.025	0.006	0.023	0.021	0.021	0.000	0.008	0.027	0.025	0.025	0.002	0.000	0.000	0.023	0.002								
22. 2-P	0.027	0.027	0.006	0.025	0.025	0.006	0.033	0.025	0.025	0.025	0.027	0.031	0.006	0.008	0.008	0.025	0.027	0.027	0.006	0.025	0.027							
23. 3-P	0.023	0.023	0.004	0.021	0.023	0.008	0.029	0.025	0.023	0.023	0.023	0.027	0.004	0.002	0.002	0.021	0.023	0.023	0.000	0.021	0.023	0.006						
24. 4-P	0.025	0.025	0.004	0.023	0.023	0.004	0.031	0.025	0.023	0.023	0.025	0.029	0.004	0.006	0.006	0.023	0.025	0.025	0.004	0.023	0.025	0.002	0.004					
25. 5-P	0.002	0.002	0.025	0.004	0.019	0.023	0.008	0.021	0.019	0.019	0.002	0.006	0.025	0.023	0.023	0.000	0.002	0.002	0.021	0.000	0.002	0.025	0.021	0.023				
26. 26-P	0.023	0.023	0.004	0.021	0.023	0.008	0.029	0.025	0.023	0.023	0.023	0.027	0.004	0.002	0.002	0.021	0.023	0.023	0.000	0.021	0.023	0.006	0.000	0.004	0.021			
27. 28-P	0.025	0.025	0.004	0.023	0.023	0.004	0.031	0.025	0.023	0.023	0.025	0.029	0.004	0.006	0.006	0.023	0.025	0.025	0.004	0.023	0.025	0.002	0.004	0.000	0.023	0.004		
28. 29-P	0.025	0.025	0.004	0.023	0.023	0.004	0.031	0.025	0.023	0.023	0.025	0.029	0.004	0.006	0.006	0.023	0.025	0.025	0.004	0.023	0.025	0.002	0.004	0.000	0.023	0.004	0.000	
29. 27-P	0.002	0.002	0.027	0.004	0.023	0.025	0.008	0.025	0.023	0.023	0.002	0.010	0.027	0.025	0.025	0.004	0.002	0.002	0.023	0.004	0.002	0.027	0.023	0.025	0.004	0.023	0.025	0.025

p < 0.01

4.3.3. Komşu Birleştirme Ağacı

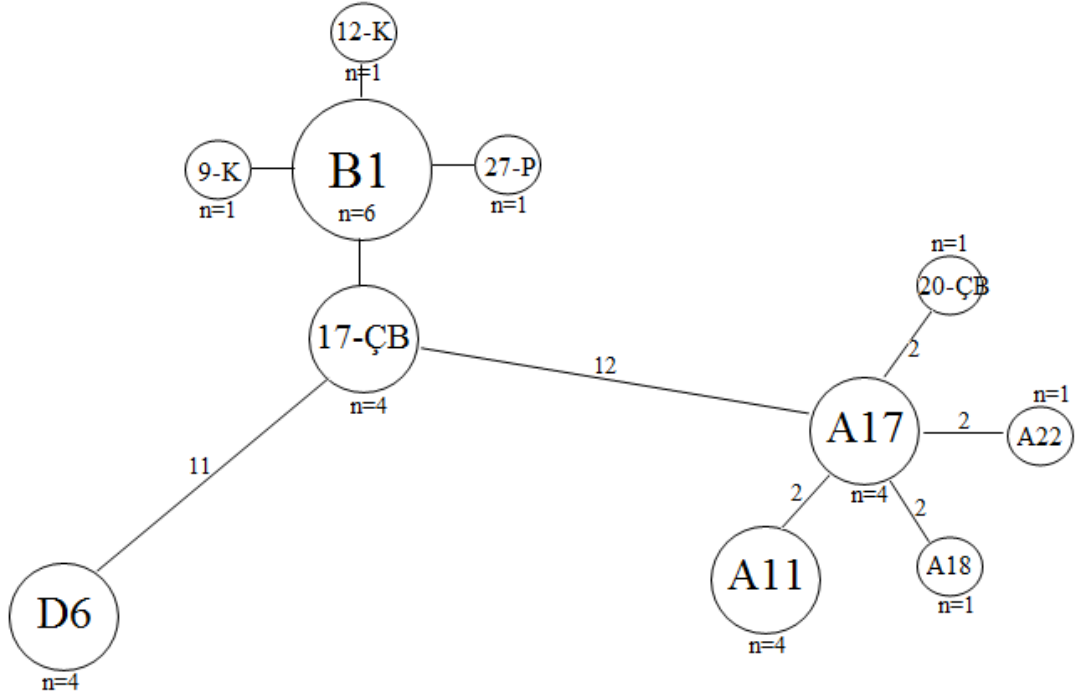
Örnekler arası hesaplanan çiftli genetik mesafe değerlerinden yararlanılarak çizilmiş komşu birleştirme ağacı Şekil 4.5'te gösterilmektedir. Haplogruplar ağaç üzerinde 3 büyük dalda birbirlerinden ayrılmışlardır. Aynı haplotipe sahip örnekler ise küçük dallar üzerinde bir arada bulunmuştur.



Şekil 4.5. Irkların mtDNA kontrol bölgesi I dizilerinin komşu birleştirme ağacı ve bazı örnekler arasında paylaşılan haplogruplar.

4.3.4. Ağ Oluşturma

Çalışmada gözlenen haplotipler arasındaki ilişki, en küçük kapsayan ağ oluşturularak Şekil 4.6'da verilmiştir. Haplotipler, birbirine çizgilerle bağlanmış daireler ile sembolize edilmektedir. Çizgilerin üzerinde yazan sayılar haplotip çiftleri arasındaki mutasyonel baz sayısını göstermektedir. Sadece çizgi ile bağlı olan haplotipler tek bir mutasyonel baz değişimine sahiptir. Dairelerin boyutları kabaca onları sunan bireylerin sayıları ile orantılı olarak verilmiştir ve örnek sayıları (n) dairelerin yanlarına yazılmıştır. Yeni tanımlanan haplotipler gözlenen örneklerin adlarıyla birlikte verilmiştir. Şekilde, A ve B haplogrupları eşit oranda haplotip sunarken D haplogrubuna ait tek bir haplotip görülmektedir.



Şekil 4.6. Gözlenen haplotiplerin en küçük kapsayan ağı.

4.4. TARTIŞMA

Bu çalışmada, Çatalburun, Pointer ve Kangal köpeklerinin mtDNA kontrol bölgesi I dizisi açığa çıkarılarak dizi polimorfizmleri gösterilmiş ve köpekler arasındaki genetik ilişki çiftli genetik mesafe hesaplaması, komşu birleştirme ağacı ve en küçük kapsayan ağ oluşturulması ile belirlenmiştir.

Çalışmada A, B ve D olmak üzere 3 haplogrup gözlenmiştir. Bu haplogruplardan iki tanesi (A ve B) tüm dünyada yaygın olarak bulunurken, D haplogrubu nadir oranda bulunmaktadır. Kangal köpekleri çalışmada 3 haplogrubu (A, B ve D) da gösterirken, Pointer ve Çatalburun köpekleri aynı haplogruplar olmak üzere 2 haplogrubu (A ve B) göstermiştir. Türkiye'deki Kangal köpeklerinde gözlenen A, B ve D haplogruplarının yanında daha önceki çalışmalarda [Savolainen vd., 2002; Asch vd., 2005] gözlenen C haplogrubu, bu çalışmada gözlenmemiştir. Bu, Türkiye'nin gösterdiği 4 haplogruptan (A, B, C ve D) en az frekansta C haplogrubunu göstermesi ile açıklanabilir [Savolainen vd., 2002]. Aynı zamanda Türkiye'nin farklı yerlerinden toplanmış 105 Kangal örneği ile yapılmış bir çalışmada [Gökçek vd., 2005], C haplogrubu sadece 5 Kangal köpeği tarafından sunulmuştur.

Pointer köpekleri ile yapılmış bir çalışmada [Angleby vd., 2005], sadece A ve B haplogrupları gözlenirken, başka bir çalışmada [Parra vd., 2007], bu haplogrupların yanında az oranda C haplogrubu gözlenmiştir. D haplogrubu ise Pointer köpeklerinde görülmemektedir. A ve B haplogrupları bu çalışmada Pointer köpeklerinde gözlenirken C haplogrubu gözlenmemiştir. Çalışmada Pointer ve Çatalburun köpeklerinin aynı haplogrupları (A ve B) göstermesi, Kangal köpeklerine oranla daha yakın ilişkili olduklarını göstermektedir. Aynı zamanda çalışmada Çatalburun ve Pointer köpeklerinde gözlenen haplogrup D'nin yokluğu, bu iki köpek ile Kangal köpeklerinin evrimsel tarihlerinde farklı maternal hattan geldiklerini göstermektedir.

Çalışmada, A haplogrubunda (A11, A17, A18, A22, A17to2step) 5 tane, B haplogrubunda (B1, B1to1step, B1to1step*, B1to1step**, B1to1step***) 5 tane ve D haplogrubunda (D6) bir tane haplotip çeşidi gözlenmiştir. Bu haplotiplerden bazıları (A11, A17, B1, D6), ırk içerisinde iki ya da daha fazla köpekte görülürken, bazılarının (A17, B1) ise ırklar arasında paylaşıldığı görülmüştür. Irk içi haplotiplerin yakın bulunması, Kangal ve Çatalburun ırkları düşünüldüğünde az bireyli popülasyondan oluştuklarından soy içi üremeden kaynaklanabileceğini düşündürmektedir. Özellikle sadece Tarsus'ta bulunan ve 200 bireyle temsil edilen Çatalburunların akrabalı üretimi söz konusudur. Irklar arası haplotiplerin yakın bulunması (A ve B'ye ait haplotipler) ise tüm dünyada yaygın olarak bulunan

haplogruplar olması ile açıklanabilir. Bununla birlikte, A11, A17 ve B1 haplotipleri örneklerde yaygın olarak bulunmuştur. Bu sonuç diğer çalışmalar ile uyumludur [Angleby vd., 2005; Imes vd., 2012].

Pointer ırklarında en çok görülen haplotipler A17 ve B1 [Angleby vd., 2005], bu çalışmada Pointer ve Çatalburun köpekleri tarafından paylaşılmaktadır. Buna karşın Pointer ırkında A11 haplotipi gözlenirken, Çatalburun ırkında gözlenmemiştir. Bu durum iki ırkın Kangal köpeklerine oranla daha yakın ilişkili olduğunu desteklemekle birlikte haplotip farklılığı (A11) aynı zamanda genetik olarak farklılaşma ile açıklanabilir.

Nükleotit yerdeğişimi oranlarının örneklerde fazla olması, mutasyonların birikimini göstermesi açısından önemlidir. Bu, çalışmada kullanılan köpek ırklarının çeşitliliğe sahip popülasyonlar olduğunu göstermektedir.

Çalışmada ırklar arası *Fst* değerinin istatistik açıdan ($p < 0.01$) önemli bulunması, popülasyonların farklı genetik yapıya sahip olduklarını desteklemektedir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, bölgemize özgü Çatalburun köpeklerinin farklılığını ortaya koymak amacıyla yakın ırk olarak düşünülen Pointer ve uzak ırk olarak düşünülen Kangal köpeklerinin mtDNA kontrol bölgesi I dizi analizi yapılmıştır. mtDNA kontrol bölgesi I dizi analizine dayalı olarak genetik analizde A, B ve D olmak üzere 3 haplogrup gözlenmiştir.

Bu haplogruplardan iki tanesi (A ve B) tüm dünyada yaygın olarak bulunurken, D haplogrubu nadir oranda bulunmaktadır. Çalışmada Kangal köpekleri 3 haplogrubu (A, B ve D) da gösterirken, Pointer ve Çatalburun köpekleri aynı haplogruplar olmak üzere 2 haplogrubu (A ve B) göstermiştir.

A ve B haplogrupları Pointer köpeklerinde gözlenirken C haplogrubu gözlenmemiştir. Pointer ve Çatalburun köpeklerinin aynı haplogrupları (A ve B) göstermesi, Kangal köpeklerine oranla daha yakın ilişkili olduklarını göstermektedir. Aynı zamanda çalışmada Çatalburun ve Pointer köpeklerinde gözlenen haplogrup D'nin yokluğu, bu iki köpek ile Kangal köpeklerinin evrimsel tarihlerinde farklı maternal hattan geldiklerini göstermektedir.

Çalışmada, A haplogrubunda (A11, A17, A18, A22, A17to2step) 5 tane, B haplogrubunda (B1, B1to1step, B1to1step*, B1to1step**, B1to1step***) 5 tane ve D haplogrubunda (D6) bir tane haplotip çeşiti gözlenmiştir. Bu haplotiplerden bazıları (A11, A17, B1, D6), ırk içerisinde iki ya da daha fazla köpekte görülürken, bazılarının (A17, B1) ise ırklar arasında paylaşıldığı görülmüştür.

Pointer ırklarında en çok görülen haplotipler A17 ve B1 [Angleby vd., 2005], bu çalışmada Pointer ve Çatalburun köpekleri tarafından paylaşılmaktadır. Buna karşın Pointer ırkında A11 haplotipi gözlenirken, Çatalburun ırkında gözlenmemiştir. Bu durum iki ırkın Kangal köpeklerine oranla daha yakın ilişkili olduğunu desteklemekle birlikte haplotip farklılığı (A11) aynı zamanda genetik olarak farklılaşma gösterdiğinin de bir belirteci olarak düşünülmektedir.

Nükleotit yerdeğişimi oranlarının örneklerde fazla olması, mutasyonların birikimini göstermesi açısından önemlidir. Bu, çalışmada kullanılan köpek ırklarının çeşitliliğe sahip popülasyonlar olduğunu göstermektedir.

Çalışmada ırklar arası F_{st} değerinin istatistik açıdan ($p < 0.01$) önemli bulunması, popülasyonların farklı genetik yapıya sahip olduklarını desteklemektedir.

Çalışmada Çatalburun köpeklerinin haplogrupları belirlenmiştir ve bunlar Pointer köpeklerine daha yakın bulunmuştur.

Çok küçük bir popülasyonla temsil edilen, yerel bir av köpeği olarak bilinen Çatalburunların genetik olarak da diğer köpek ırklarından farklı olduğu görülmektedir. Sayıları gün geçtikçe azalan ve nesli tehlikeye giren bu ırkın korunması ve geliştirilmesi biyolojik çeşitliliğin korunması açısından çok önemlidir.

Önemli bir değer olan ülkemize ve bölgemize özgü bu çeşitlenmenin yetiştiriciliğinin yapılması ve desteklenmesi gerekmektedir. Özellikle koku alma duyusu çok gelişmiş olan bu ırkın narkotik aramalarda, arama ve kurtarma operasyonlarında kullanılabileceği düşünülmektedir. Morfolojik olarak da çatalburun yapısındaki kıvrımlar daha fazla koku almasına sahip olduğunun bir göstergesidir.

KAYNAKLAR

- Acland G.M., Ostrander E.A. "The dog that came in from the cold", *Heredity*, 90: 201-202, (2003).
- Angleby H., Savolainen P. "Forensic informativity of domestic dog mtDNA control region sequences", *Forensic Science International*, 154: 99-110, (2005).
- Ardalan A., Kluetsch C.F.C., Zhang A., Erdoğan M., Uhlen M., Houshmand M., Tepeli C., Ashtiani S.R.M., Savolainen P. "Comprehensive study of mtDNA among Southwest Asian dogs contradicts independent domestication of wolf, but implies dog-wolf hybridization", *Ecology and Evolution*, 1(3): 373-385, (2011).
- Asch B., Pereira L., Pereira F., Santa-Rita P., Lima M., Amorim A. "mtDNA diversity among four Portuguese autochthonous dog breeds: a fine-scale characterisation", *BMC Genetics*, 6: 37, (2005).
- Asch B., Zhang A., Oskarsson M.C.R., Klütsch C.F.C., Amorim A., Savolainen P. "Pre-Columbian origins of Native American dog breeds, with only limited replacement by European dogs, confirmed by mtDNA analysis", *Proc. R. Soc. B.*, 280: 20131142, (2013).
- Avise J.C., "Molecular markers, natural history and evolution, 2nd ed.", Chapman and Hall, New York, 684 s., (2004).
- Björnerfeldt S., Webster M.T., Vila C. "Relaxation of selective constraint on dog mitochondrial DNA following domestication", *Genome Research*, 16: 990-994, (2006).
- Bridge P.D., Arora D.K. "Interpretation of PCR methods for species definition", (Editör: Bridge P.D.), CABI Publishing, Wallingford, 357 s., (1998).
- Brisbin I.L.Jr., "The domestication of the dog", *Purebred dogs: American Kennel Club Gazette*, 93:9-29, (1976).
- Clutton-Brock J. "Man-made dogs", *Science*, 197: 1340-1342, (1977).
- Clutton-Brock J. "Origins of the dog: domestication and early history", *The Domestic Dog: Its evolution, behaviour and interactions with people*, (Editör: Serpell J.), Cambridge University Press, New York, 7-20, (1995).
- Crapon de Caprona M.D., Savolainen P. "Extensive Phenotypic Diversity among South Chinese Dogs", *ISRN Evolutionary Biology*, 2013: 8, (2013).
- Darwin C., "The variation of animals and plants under domestication, 2nd ed", Vol 1, John Murray, London, (1875).

- Druzhkova A.S., Thalmann O., Trifonov V.A., Leonard J.A., Vorobieva N.V., Ovodov N.D., Graphodatsky A.S., Wayne R.K. "Ancient DNA Analysis Affirms the Canid from Altai as a Primitive Dog", *Plos One*, 8(3): e57754, (2013).
- Eichmann C., Parson W. "Molecular characterization of the canine mitochondrial DNA control region for forensic applications", *Int J Legal Med*, 121: 411-416, (2007).
- Erdoğan M., Özbeyaz C., Tepeli C., Uğuz C., Akbulut M.D. "Türkiye'deki yerli köpek ırklarının(Kangal, Akbaş, Kars Çoban Köpeği ve Tazı) genetik yapılarının, morfolojik özelliklerinin ve ırklar arasındaki genetik uzaklıkların belirlenmesi', TÜBİTAK, 58 s., (2007).
- Erdoğan M., Tepeli C., Brenig B., Akbulut M.D., Uğuz C., Savolainen P., Özbeyaz C. "Genetic variability among native dog breeds in Turkey", *Turk J Biol*, 37: 176-183, (2013).
- Fondon J.W., Garner H.R. "Molecular origins of rapid and continuous morphological evolution", *Pnas*, 101(52): 18058-18063, (2004).
- Galibert F., Andre C. "The dog: A powerful model for studying genotype-phenotype relationships", *Comparative Biochemistry and Physiology, Part D* 3: 67-77, (2008).
- Galibert F., Quignon P., Hitte C., Andre C. "Toward understanding dog evolutionary and domestication history", *C.R. Biologies*, 334: 190-196, (2011).
- Garcia-Moreno J., Matocq M.D., Roy M.S., Geffen E., Wayne R.K. "Relationship and genetic purity of the endangered Mexican wolf based on analysis of microsatellite loci", *Conserv Biol*, 10: 376-389, (1996).
- Germonpre M., Sablin M.V., Stevens R.E., Hedges R.E.M., Hofreiter M., Stiller M., Despres V.R. "Fossil dogs and wolves from Palaeolithic sites in Belgium, the Ukraine and Russia: osteometry, ancient DNA and stable isotopes", *Journal of Archaeological Science*, 36: 473-490, (2009).
- Gökçek Ç., "Mitochondrial DNA (mtDNA) Sequence Analyses of Kangal Dogs in Turkey", *Orta Doğu Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi*, 86 s., (2005).
- Gundry R.L., Allard M.W., Moretti T.R., Honeycutt R.L., Wilson M.R., Monson K.L., Foran D.R. "Mitochondrial DNA Analysis of the Domestic Dog: Control Region Variation Within and Among Breeds", *J Forensic Sci*, 52(3): 562-572, (2007).

- Hall T.A. "BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT", Nucleic Acids Symposium Series, 41:95-98, Oxford University Press, (1999).
- Hassell R., Heath P., Musgrave-Brown E., Ballard D., Harrison C., Thacker C., Catchpole B., Court D.S. "Mitochondrial DNA analysis of domestic dogs in the UK", Forensic Science International: Genetics Supplement Series, 1: 598–599, (2008).
- Himmelberger A.L., Spear T.F., Satkoski J.A., George D.A., Garnica W.T., Malladi V.S., Smith D.G., Webb K.M., Allard M.W., Kanthaswamy S. "Forensic Utility of the Mitochondrial Hypervariable Region 1 of Domestic Dogs, in Conjunction with Breed and Geographic Information", J Forensic Sci, 53(1): 81-89, (2008).
- Imes D.L., Wictum E.J., Allard M.W., Sacks B.N. "Identification of single nucleotide polymorphisms within the mtDNA genome of the domestic dog to discriminate individuals with common HVI haplotypes", Forensic Science International: Genetics, 6: 630-639, (2012).
- Jobling M.A., Hurles M., Tyler-Smith C. "Human Evolutionary Genetics: Origins, Peoples and Disease Garland Science Publishing", London/New York, (2004).
- Kırmızı E. "Türk çoban köpeklerinin tarihçesi", Türk Veteriner Hekimliği Dergisi, 6: 39-41, (1994).
- Kim K.S., Lee S.E., Jeong H.W., Ha J.H. "The Complete Nucleotide Sequence of the Domestic Dog (*Canis familiaris*) Mitochondrial Genome", Molecular Phylogenetics and Evolution, 10(2): 210-220, (1998).
- Kim K.S., Jeong H.W., Park C.K., Ha J.H. "Suitability of AFLP markers for the study of Genetic relationships among Korean native dogs", Genes Genet. Syst., 76: 243-250, (2001).
- Kropatsch R., Streitberger K., Schulte-Middelmann T., Dekomien G., Epplen J.T. "On ancestors of dog breeds with focus on Weimaraner hunting dogs", J. Anim. Breed. Genet., 128: 64-72, (2010).
- Leonard J.A., Wayne R.K., Wheeler J., Valadez R., Guillen S., Vila C. "Ancient DNA Evidence for Old World Origin of New World Dogs", Science, 298: 1613-1616, (2002).
- Lescureux N., Linnell J.D.C. "Warring brothers: The complex interactions between wolves (*Canis lupus*) and dogs (*Canis familiaris*) in a conservation context", Biological Conservation, 171: 232-245, (2014).

- Lindblad-Toh K., Wade C.M., Mikkelsen T.S., vd. "Genome sequence, comparative analysis and haplotype structure of the domestic dog", *Nature*, 438(8): 803-819, (2005).
- Lorenz K., "In the wild canids: their systematics, behavioural ecology and evolution", Van Nostrand Reinhold, New York, (1975).
- Louie R.F., Tang Z., Albertson T.E., Cohen S., Tran N.K., Kost G.J., "Multiplex polymerase chain reaction detection enhancement of bacteremia and fungemia", *Crit. Care Med.*, 36(5): 1487-1492, (2008).
- Macintosh N.W.G., "Behavioral ecology and evolution", The origin of dingo: an enigma. In the wild canids: their systematics, (Editör: Fox M.), Van Nostrand Reinhold, NY, 87-106, (1975).
- McPherson M.J., Moller S.G., "PCR: The basics from background to bench", BIOS Scientific Publishers Limited, Oxford, 276 s., (2001).
- McPherson M.J., Moller S.G., "PCR, 2nd ed.", Taylor ve Francis, 292 s., (2006).
- Morey D.F. "The Early Evolution of the Domestic Dog", *American Scientist*, 82: 336-347, (1994).
- Mow, J., Zakin, R., "Köpekler Hakkında Herşey", *National Geography*, http://www.youtube.com/watch?feature=player_embedded&v=bjD8ib_s8IQ, (2007).
- Nelson D.D., "A general classification of the native dogs of Turkey", The International Symposium on Turkish Shepherd Dogs, Selçuk University, Konya, Turkey, 19-94, (1996).
- Oğrak Y.Z., Urosevic M., Drobnjak D., "Tarsus Catalburun Breed of Turkish Hunting Dog (Turkish Pointer)", International symposium on hunting, Modern aspects of sustainable management of game population, Zemun-Belgrade, Serbia, 137-138, (2012).
- Oğrak Y.Z., Yoldaş A., Urosevic M., Drobnjak D. "Some morphological traits of Tarsus Çatalburun breed of Turkish hunting dog", *Eurasian J Vet Sci*, 30(1): 25-29, (2014).
- Olsen S.J., Olsen J.W. "The Chinese wolf ancestor of New World dogs", *Science*, 197: 533-535, (1977).
- Özbeyaz C. "Kangal köpeklerinde bazı morfolojik özellikler", *Lalahan Hayvancılık Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 34(1-2): 38-46, (1994).
- Özdil F., "Mitokondriyel DNA PCR-RFLP (Restriksiyon parça uzunluk polimorfizmi) Markerları Kullanılarak Türkiye'nin Farklı Yörelere Ait

- Bal Arılarının Tanımlanması", Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 125 s., (2007).
- Pang J., Kluetsch C., Zou X., Zhang A., Luo L., Angleby H., Ardalan A., Ekström C., Sköllermo A., Lundeberg J., Matsumura S., Leitner T., Zhang Y., Savolainen P. "mtDNA Data Indicate a Single Origin for Dogs South of Yangtze River, Less Than 16,300 Years Ago, from Numerous Wolves", *Mol. Biol. Evol.*, 26(12): 2849-2864, (2009).
- Parker H.G. "Genomic analyses of modern dog breeds", *Mamm Genome*, 23:19–27, (2012).
- Parra D., Mendez S., Canon J., Dunner S. "Genetic differentiation in pointing dog breeds inferred from microsatellites and mitochondrial DNA sequence", *Animal Genetics*, 39: 1-7, (2007).
- Pesole G., Gissi C., Chirico A.D., Saccone C. "Nucleotide substitution rate of mammalian mitochondrial genomes", *J Mol Evol*, 48: 427-434, (1999).
- Pfeiffer I., Völkel I., Taubert H., Brenig B. "Forensic DNA-typing of dog hair: DNA-extraction and PCR amplification", *Forensic Science International*, 141: 149–151, (2004).
- Pires A.E., Ouragh L., Kalboussi M., Matos J., Petrucci-Fonseca F., Bruford M.W. "Mitochondrial DNA sequence variation in Portuguese native dog breeds: Diversity and phylogenetic affinities", *The American Genetic Association*, 97(4): 318-330, (2006).
- Sambrook J., Russell D.W. "Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 3rd ed.", Cold Spring Harbor, New York, 999 s., (1989).
- Savolainen P., Rosen B., Holmberg A., Leitner T., Uhlen M., Lundeberg J. "Sequence Analysis of Domestic Dog Mitochondrial DNA for Forensic Use", *Journal of Forensic Sciences*, 593-600, (1997).
- Savolainen P. "Mitochondrial DNA Analysis of the Control Region in forensic and Population Genetic Studies", Royal Institute of Technology, Doktora Tezi, 86 s., (1999).
- Savolainen P., Zhang Y., Luo J., Lundeberg J., Leitner T. "Genetic Evidence for an East Asian Origin of Domestic Dogs", *Science*, 298: 1610-1613, (2002).
- Sevindik E., Abacı Z.T. "Nested PCR ve Kullanım Alanları", *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 6(2): 22-26, (2013).
- Streitberger K., Schweizer M., Kropatsch R., Dekomien G., Distil O., Fischer M.S., Eppelen J.T., Hertwig S.T. "Rapid genetic diversification within dog breeds as evidenced by a case study on Schnauzers", *Animal Genetics*, 43: 577-586, (2011).

- Takahasi S., Miyahara K., Ishikawa H., Ishiguro N., Suzuki M. "Lineage classification of canine inheritable disorders using mitochondrial DNA haplotypes", *J Vet Med Sci*, 64(3): 255-259, (2002).
- Tepeli C., Çetin O., Günlü A., Kırıkçı K., "The Native Dog Breeds of Turkey", *International Symposium Animal Production and Natural Resources Utilization in the Mediterranean Mountain Areas, Yunanistan*, 427-431, (2003).
- Tsuda K., Kikkawa Y., Yonekawa H., Tanabe Y. "Extensive interbreeding occurred among multiple matriarchal ancestors during the domestication of dogs : Evidence from inter- and intraspecies polymorphisms in the D-loop region of mitochondrial DNA between dogs and wolves", *Genes Genet. Syst.*, 72: 229-238, (1997).
- Türkyılmaz S., Esenal M.Ö. "Polimeraz Zincir Reaksiyonu ve Mikrobiyolojide Kullanım Alanları", *Kafkas Üniv Vet. Fak. Derg.*, 8(1): 71-76, (2002).
- Verscheure S., Backeljau T., Desmyter S. "Reviewing population studies for forensic purposes: Dog mitochondrial DNA", *ZooKeys*, 365: 381-411, (2013).
- Vierstraete A., "PCR Steps", CHD iagnostic ve consulting service, INC. http://www.chdiagnostic.com/S_PCRsteps.htm (1999).
- Vila C., Savolainen P., Maldonado J.E., Amorim I.R., Rice J.E., Honeycutt R.L., Crandall K.A., Lundeberg J., Wayne R.K. "Multiple and Ancient Origins of the Domestic Dog", *Science*, 276: 1687-1689, (1997).
- Vila C., Maldonado J.E., Wayne R.K. "Phylogenetic Relationships, Evolution, and Genetic Diversity of the Domestic Dog", *The American Genetic Association*, 90: 71-77, (1999).
- VonHoldt B.M., Pollinger J.P., Lohmueller K.E., Han E., Parker H.G., Quignon P., vd. "Genome-wide SNP and haplotype analyses reveal a rich history underlying dog domestication", *Nature*, 464(8): 898-903, (2010).
- Wayne R.K., O'Brien S.J. "Allozyme divergence within the Canidae", *Syst Zool*, 36: 339-355, (1987).
- Wayne R.K. "Molecular evolution of the dog family", *Elsevier Trends Journals*, 218-224, (1993).
- Wayne R.K., Geffen E., Girman D.J., Koepfli K.P., Lau L.M., Marshall C. "Molecular systematics of the Canidae", *Syst Biol*, 4: 622-653, (1997).
- Wayne R.K., Ostrander E.A. "Origin, genetic diversity, and genome structure of the domestic dog", *BioEssays*, 21: 247-257, (1999).

Wayne R.K., Vila C., "Phylogeny and Origin of the Domestic Dog", The genetics of the dog, (Editör: Ruvinsky A. ve Sampson J.), CABI Publishing, UK, 1-11, (2001).

Webb K.M., Allard M.W. "Identification of Forensically Informative SNPs in the Domestic Dog Mitochondrial Control Region", J Forensic Sci, 54(2): 289-304, (2009).

Yıldırım A., Kandemir N., Sönmezoğlu Ö.A., Güleç T. "Buğdayda Polimeraz Zincir Reaksiyonu ve Olası Sorunların Optimizasyonu", Anadolu Tarım Bilim Derg., 26(1): 36-39, (2011).

Yılmaz O. "Kangal köpeği tarihçesi, tanıtımı, yetiştirilmesi, ıslahı", Öztepe Matbaası, Ankara, 240 s., (2005).

Yılmaz O., "Türkiye'nin çeşitli bölgelerinde yetiştirilmekte olan Kangal köpeklerinin bazı morfolojik özellikleri", Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 284 s., (2007).

Yılmaz O., Ertuğrul M. "Türkiye Yerli Köpek Irk ve Tipleri", Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 2(1): 99-106, (2012).

Zeuner, F.E., "A history of domesticated animals", Harper and Row, NY, (1963).

Ek. Çalışmada kullanılan köpek örneklerine ait bilgiler.

Örnek Numarası	İrk	Köpeğin Adı	Cinsiyeti	Yaşı
1-P	Pointer	Poşa	Erkek	7 aylık
2-P	Pointer	Şans	Erkek	4 yaşında
3-P	Pointer	Jeff	Erkek	1 yaşında
4-P	Pointer	Cindy	Dişi	9 aylık
5-P	Pointer	Maya	Dişi	3 yaşında
26-P	Pointer	Şila	Dişi	9 aylık
27-P	Pointer	Maya	Dişi	4 yaşında
28-P	Pointer	Susam	Dişi	4 yaşında
29-P	Pointer	Jack	Erkek	5 yaşında
6-K	Kangal	Kontes	Dişi	3 yaşında
7-K	Kangal	Zeus	Erkek	1 yaşında
8-K	Kangal	Haydut	Erkek	6 aylık
9-K	Kangal	Zeyna	Dişi	6 yaşında
10-K	Kangal	Bozok	Erkek	2 yaşında
11-K	Kangal	Nazlı	Dişi	5 yaşında
12-K	Kangal	Çavuş	Erkek	5 yaşında
13-K	Kangal	Arap	Dişi	7 yaşında
14-K	Kangal	Balkız	Dişi	8 aylık
15-K	Kangal	Efe	Erkek	9 yaşında
16-ÇB	Çatalburun	Kahve	Dişi	3 yaşında
17-ÇB	Çatalburun	Nana	Dişi	3 yaşında
18-ÇB	Çatalburun	Paşa	Erkek	9 yaşında
19-ÇB	Çatalburun	Kibar	Dişi	4 yaşında
20-ÇB	Çatalburun	Kibar	Erkek	5 yaşında
21-ÇB	Çatalburun	Siyah	Erkek	10 aylık
22-ÇB	Çatalburun	Gümüş	Dişi	11 aylık
23-ÇB	Çatalburun	Ceyn	Dişi	2 yaşında
24-ÇB	Çatalburun	Kızım	Dişi	7 yaşında
25-ÇB	Çatalburun	Dost	Erkek	3 yaşında

ÖZGEÇMİŞ VE ESERLER LİSTESİ

Adı Soyadı: Zeliha Tuğçe ŞAHİN

Doğum Tarihi: 16/05/1988

Öğrenim Durumu: Lisans

Derece	Bölüm/Program	Üniversite	Yıl
Lise	Matematik-Fen	Selçuklu Atatürk Lisesi	2002-2006
Lisans	Biyoloji	Mersin Üniversitesi	2007-2012
Yüksek Lisans	Popülasyon Genetiği	Mersin Üniversitesi	2012-2015

