



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



**TÜRKİYE YERLİ KEÇİ IRKLARININ
MITOKONDRIAL DNA ÇEŞİTLİLİĞİ
VE
FİLOCOĞRAFYASI**

Bengi ÇINAR KUL

**GENETİK ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Okan ERTUĞRUL**

2010- ANKARA

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**TÜRKİYE YERLİ KEÇİ IRKLARININ
MİTOKONDRIAL DNA ÇEŞİTLİLİĞİ
VE
FİLOCOĞRAFYASI**

Bengi ÇINAR KUL

**GENETİK ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Okan ERTUĞRUL**

**Bu tez, TÜBİTAK-KAMAG tarafından
106G005 proje numarası ile desteklenmiştir.**

2010- ANKARA

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Genetik Doktora Programı

çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından
Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi:09/08/2010



Prof. Dr. Halil AKÇAPINAR

Ankara Üniversitesi

Jüri Başkanı



Prof. Dr. Okan ERTUĞRUL
Ankara Üniversitesi



Prof. Dr. M. İhsan SOYSAL
Namık Kemal Üniversitesi



Prof. Dr. Öznur POYRAZ
Ankara Üniversitesi



Doç. Dr. Hilal ÖZDAĞ
Ankara Üniversitesi

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	ii
İçindekiler	iii
Önsöz	vi
Simgeler ve Kısaltmalar	viii
Şekiller	xii
Çizelgeler	xvi
Denklemler	xviii
1. GİRİŞ	1
1.1. Mitokondrinin Yapısı ve Görevleri	1
1.2. Mitokondrial Genom	4
1.3. Filogenetik Araç Olarak Mitokondrial DNA	10
Keçilerde Filogenetik Çalışmalar ve Evciltme ile İlgili	
1.4. Arkeolojik ve Genetik Bulgular	11
1.5. Evcil Keçinin Tarihi	16
1.6. Filogenetik Çalışmalarda Kullanılan Teknikler	21
mtDNA Dizi Analizine Dayalı Filogenetik Çalışmalarda Sıklıkla	
1.7. Kullanılan İstatistik Metotlar	26
1.7.1. Nükleotid Çeşitliliği (π)	26
1.7.2. Haplotip Çeşitliliği (H)	27
1.7.3. Haplogrup Frekanslarının Belirlenmesi	28
1.7.4. Nükleotid Yer Değiştirme Oranları	28
1.7.4.1. Transisyonel ve Transversiyonel Değişimler	28
1.7.4.2. Suskun Bölge ve Değiştirici Bölge Değişimleri	31
1.7.5. Genetik Mesafe Ölçümü ve Kullanılan Metotlar	31
1.7.5.1. Nei'nin "Standart Genetik Mesafe" ölçümü	32
1.7.5.2. Wright'ın F istatistiği	33
1.7.6. Mantel Test Analizi	36
1.7.7. Filogenetik Ağaç Oluşturma Metotları	37
1.7.7.1. UPGMA Ağacı	40
1.7.7.2. Neighbor Joining (Komşu Birleştirme Metodu)	41

1.7.7.3.	Maksimum Parsimoni (Maksimum Tutumluluk)	42
1.7.7.4.	Ağ (Network) Oluşturma	43
1.7.8.	Uyumsuzluk Dağılım Analizleri	46
1.7.9.	Nötralite Testleri	48
1.7.10.	Filocoğrafi ve Moleküler Varyans Analizi (Analysis of Molecular Variance, AMOVA)	50
1.7.11.	Moleküler Saat Analizleri ve En Yakın Ortak Ata Zamanı (The Time To The Most Recent Common Ancestor, TMRCA)	51
1.8.	Türkiye Evcil Keçi Irkları ve Çalışmanın Kapsamı	52
2.	GEREÇ VE YÖNTEM	62
2.1.	Hayvan Materyali	62
2.2.	DNA izolasyonu	64
2.3.	DNA'ların Yoğunluğunun, Saflığının ve Bütünlüğünün Kontrolü	65
2.4.	mtDNA Kontrol (D-Loop) Bölgesinin Yükseltgenmesi ve Dizi Analizi.	66
2.5.	mtDNA Sitokrom- <i>b</i> Bölgesinin Yükseltgenmesi ve Dizi Analizi	72
2.6.	Dizi Analizi Sonuçlarının Değerlendirilmesi	75
2.7.	Filogenetik ve İstatistiksel Analizler	76
2.8.	Çalışmada Kullanılan Analiz Programları	81
3.	BULGULAR	83
3.1.	DNA İzolasyonu ve Kontrolü	83
3.2.	mtDNA Kontrol (D-Loop) Bölgesinin Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile Yükseltgenmesi	86
3.3.	mtDNA Kontrol (D-Loop) Bölgesinin Dizi Analizi	86
3.4.	mtDNA Kontrol (D-Loop) Bölgesinin Filogenetik ve İstatistik Analizleri	88
3.4.1.	Nükleotid (π) ve Haplotip Çeşitliliği (H)	88
3.4.2.	Nükleotid Yer Değiştirme Oranlarının Belirlenmesi	95
3.4.3.	Irklar arası Genetik Mesafe Ölçümü	96
3.4.4.	Mantel Test Sonuçları	99
3.4.5.	Filogenetik Ağaç Oluşturulması	100

3.4.6.	Uyumsuzluk Dağılım Analizleri	106
3.4.7.	Nötralite Testleri	109
3.4.8.	Moleküler Varyans Analizi (AMOVA)	110
3.4.9.	mtDNA Sitokrom- <i>b</i> Bölgesi Dizi Analizi Sonuçları	111
	Moleküler Saat Analizleri ve En Yakın Ortak Ata Zamanı (The	
3.4.10.	Time To The Most Recent Common Ancestor, TMRCA)	113
4.	TARTIŞMA	115
4.1.	DNA Dizi Analizi Sonuçları	115
4.2.	Nükleotit ve Haplotip Çeşitliliği Sonuçları	116
4.3.	Nükleotit Yer Değişimi Oranları	119
4.4.	Irklar arası Genetik Mesafe Sonuçları	120
4.5.	Mantel Test Analizi Sonuçları	121
4.6.	Filogenetik Ağaç ve Haplogrup Dağılımları	122
4.7.	G Haplogrubuna Özgü Enzim Kesim Bölgesi Belirlenmesi	125
4.8.	Populasyonların Geçmişi	126
4.9.	Moleküler Varyans Analizi (AMOVA)	127
	Moleküler Saat Analizleri ve En Yakın Ortak Ata Zamanı (The	
4.10.	Time To The Most Recent Common Ancestor, TMRCA)	128
5.	SONUÇ VE ÖNERİLER	130
	ÖZET	133
	SUMMARY	134
	KAYNAKLAR	135
	EKLER	
	Ek-1	142
	Ek-2	148
	Ek-3	149
	Ek-4	155
	Ek-5	159
	ÖZGEÇMİŞ	160

ÖNSÖZ

Hayvanlarla ilgili olarak filogenetik ilişkilerin ve evciltme bölgelerinin belirlenmesinde, morfolojik veriler, protein ve allozim polimorfizmi gibi çeşitli metotlar kullanılmış ancak son 20 yıldır bu tür çalışmalar yerlerini mikrosatelit, Y kromozomu, mtDNA ve tekli nükleotit polimorfizmi gibi moleküler belirteçlerin kullanıldığı çalışmalara bırakmıştır. Moleküler verilerin kullanıldığı teknikler rakamsal ve tekrarlanabilir veriler oluşturduğundan, incelenen ırklar arası farklılığın istatistiksel olarak ortaya konulabilmesine olanak sağlamıştır. Moleküler çalışmalarda uygulanan tekniklerle eş zamanlı gelişim gösteren istatistik analiz metotları da farklı kıtalardaki türler, ırklar ve hatta bireyler arasındaki genetik yakınlıkların ortaya konulmasında ve evciltmenin tarihsel süreci hakkında oldukça önemli katkılar sunmaktadır. Böylece incelenen türlerin ilk evciltildiği kıtalar ve olası kıtalararası göçleri hakkında bilgilere ulaşılabilmektedir. Hatta hayvan göç yollarından yararlanılarak insan göç yollarının aydınlatılması yönünde olumlu çalışmalar yapılmıştır. Örneğin Pellechia ve ark. (2007), İtalya'nın orta kesimlerinde yaşamış etnik bir halk olan Etrüsklerin, Yunanlı tarihçi Herodot'un hikâyelerinde Lidya'dan Anadolu'ya göç eden bir kavim olarak ifade edişini, sığırların mtDNA'sı yoluyla doğrulamışlardır.

Benzer çalışmalar, tüm dünya ırklarıyla ilgili olarak keçilerde de yapılmaktadır. Çeşitli ırklardan elde edilecek moleküler sonuçlarla “yap-bozun” parçalarının bir araya getirilmesi sağlanabilecek ve böylece keçilerin evciltme tarihi daha net anlaşılacaktır. Bu konuda, Evciltme bölgelerinden birisi olduğu düşünülen Türkiye keçi ırkları ile ilgili az sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu çalışma ile Ankara, Honamlı, Kıl, Kilis ve Norduz keçi ırklarının mitokondrial DNA çeşitliliği ve haplogrup dağılımları ortaya konulmuş ve G haplogrubunu belirlemede yeni bir metot geliştirilerek mevcut literatüre katkı yapılması sağlanmıştır.

Çalışmalarımın başlangıcından bitimine kadar, ilgisini esirgemeyen, fikirleri ile çalışmalarına yön veren danışmanım, Veteriner Fakültesi Öğretim Üyesi Sayın Prof. Dr. Okan ERTUĞRUL'a desteği, bana olan güveni ve anlayışından ötürü sonsuz teşekkür ederim. Tezin yazımında desteğini esirgemeyen, değerli vaktinden ayıran Sayın Prof. Dr. Halil AKÇAPINAR'a ve Sayın Prof. Dr. Öznur POYRAZ'a, çalışmanın gerçekleşmesinde desteklerini esirgemeyen ve her yönüyle örnek aldığım, Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü'nden hocam Sayın Doç. Dr. Hilal ÖZDAĞ'a en içten duygularla teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca Anabilim Dalı'ndaki ilk günlerimden bu yana hep yanımda olan ve desteklerini esirgemeyen Sayın Yrd. Doç. Dr. Bilal AKYÜZ'e, tezimin yazım aşamasında bana olan desteklerinden dolayı Sayın Yrd. Doç. Dr. Emel ÖZKAN'a teşekkür ederim.

Çalışmamın uygulama aşamalarında yanımda olan, fedakarlıklarını esirgemeyen ve beraber çalışmaktan zevk aldığım arkadaşlarım Veteriner Hekim Dr. Özge ÖZMEN'e, Doktora öğrencisi Veteriner Hekim Özgecan Korkmaz AĞAOĞLU'na, Doktora öğrencisi Veteriner Hekim Ar. Gör. Özlem GÜCÜYENER HACAN'a ve Uzman Biyolog Nilgün TEKİN'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tezimin yazım döneminde yanımda olan ve zor günlerimde gülümsememi sağlayan laboratuvar arkadaşlarım Uzman Biyolog Sibel ERKUL, Doktora öğrencisi Veteriner Hekim Nüket BİLGİN, Yüksek Lisans öğrencisi Biyolog Yasemin AYKIN ve Yüksek Lisans öğrencisi Houman ALLAHVERDİKHAN VAZİRİ'ye; İngilizce özetimin gözden geçirilmesinde katkılarından dolayı Sayın Doç. Dr. Siyami KARAHAN'a; kısıtlı alan nedeniyle burada ismini anmadığım arkadaşlarıma ve hocalarıma teşekkür ederim.

Projenin yürütülmesine mali destek sağlayan TÜBİTAK-Kamu Araştırmaları Grubu ekibine (Proje No: KAMAG 106 G 005), Proje yürütücüsü Doç. Dr. Sezen ARAT'a; TÜRKHAYGEN-I projesi kapsamında örneklerin toplanması ve eğitim iş paketlerinde görevli personele ve çalışma arkadaşlarıma; başta Hayriye ATAY olmak üzere Ankara Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırmalar Proje Ofisi'ne emekleri için teşekkür ederim. Ayrıca, çalışmanın bazı aşamalarının gerçekleştirildiği Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü Müdürlüğü ve Merkez Laboratuvarı sorumlularına teşekkür ederim.

Hayatım boyunca, her hedefimde beni destekleyen ve yalnız bırakmayan, emeklerini asla ödeyemeyeceğim Çınar ve Kul ailelerine, fedakarlıkları ve bana duydukları güven için minnetle teşekkür ederim.

Ayrıca, iyi ve kötü günümde hep yanımda olan sevgili eşim Doç. Dr. Oğuz KUL'a ve minik kızım Kayra'ya fedakarlıkları için sonsuz teşekkür ederim...

SİMGELER ve KISALTMALAR

α	: Alpha/gamma parametresi
A	: Adenin
ADPD	: Alzheimer ve Parkinson hastalığı
AFLP	: Çoğaltılmış Parça Uzunluk Polimorfizmi (Amplified Fragment
Length	Polymorphism)
AMOVA	: Moleküler Varyans Analizi (Analysis of Molecular Variance)
ATP	: Adenozin trifosfat
β	: Beta
bp	: Baz çifti (base pair)
°C	: Celsius türünden derece
C	: Sitozin (Cytosine)
D_a	: Nei'nin D_a genetik mesafe ölçümü
ddH ₂ O	: Double distile su
ddNTP	: Dideoksiribonükleozit trifosfat
dk	: Dakika
D-loop	: Yer Değişim Halkası (<i>displacement loop</i> ,)
DNA	: Deoksibonükleik asit
DnaSP	: DNA Sequence Polymorphism programı
dNTP	: Deoksibonükleotid trifosfat
D_{xy}	: Nei'nin D_{xy} genetik mesafe ölçümü
EDTA	: Ethylene diamine tetra acetic acid
EtOH	: Etanol
FAD	: Flavin adenine dinucleotide
FADH ₂	: Flavin adenine dinucleotide'in indirgenmiş hali
FAO	: Gıda ve Tarım Örgütü (Food and Agriculture Organization of the United Nations)
F_{IS}	: Kanyakınlığı katsayısı
F_{IT}	: Fiksasyon indeksini
F_{ST}	: Wright'in F istatistiği
G	: Guanin

g	: Gram
G_{ST}	: Nei'nin genetik G_{ST} genetik mesafe ölçümü
GTR	: General time-reversible
H	: Haplotip çeşitliliği
HKY	: Hasegawa, Kishino ve Yano modeli
HT	: Heterozigotluk
HVR	: Hypervariable region (Çok değişken bölge)
HW	: Hardy-Weinberg
I_N	: Genetik benzerlik
IU	: İnternasyonal ünite
K2P	: Kimura-İki Parametre metodu (Kimura2-P)
K_3EDTA	: Potassium EDTA
Kb	: Kilobaz
l	: Litre
LHON	: Leber'in kalıtsal optik nöropati hastalığı
μl	: Mikrolitre
μM	: Mikromolar
M.Ö.	: Milattan önce
M	: Molar
MEGA	: Molecular Evolutionary Genetics Analysis programı
MELAS	: Mitokondrial ensefalomiyopati
mg	: Miligram
$MgCl_2$: Magnesium Chloride
ml	: Mililitre
mM	: Milimolar
MSN	: Minimum Spanning Network
mtDNA	: Mitokondrial DNA
$\delta\mu^2$: Goldstein'in genetik mesafe ölçümü
NaAc	: Sodium Acetate
NAD	: Nicotinamide adenine dinucleotide
NADH	: Nicotinamide adenine dinucleotide'in indirgenmiş hali
NARP	: Nörojenik kas zayıflığı, ataksi ve retinitis pigmentosum sendromu

Ng	: Nanogram
NJ	: Neighbor Joining
Nm	: Nanometre
N_{ST}	: Lynch ve Crease'in N_{ST} genetik mesafe ölçümü
Nt	: Nükleotit
O_H	: H-zinciri replikasyon orjini
O_L	: L- zinciri replikasyon orjini
OH ⁻	: Hidroksil
OTU	: İşlevsel taksonomik birimler (operational taxonomic units)
π	: Nükleotit çeşitliliği, P_i
PCR/PZR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Polymerase Chain Reaction)
pH	: Asitlik/bazlık ölçütü (Hidrojenin Gücü; Power of Hydrogen)
pmol	: Pikomol
r	: Raggedness istatistiği
r	: Regresyon değeri
r^2	: Belirleme katsayısı
RAPD	: Polimorfik DNA'nın Rastgele Çoğaltılması (Random amplified polymorphic DNA)
RFLP	: Kesilmiş Parçacık Uzunluk Polimorfizmi (Restriction Fragment Length Polymorphism)
Rpm	: Dakikada rotasyon sayısı (Rotations per minute)
rRNA	: Ribosomal RNA
Rst	: Slatkin'in genetik mesafe ölçümü
S	: Ayırıcı bölgeler (Segregating Sites)
S	: Saniye
SDS	: Sodium dodecyl sulfate
SMM	: Stepwise Mutation Model
SNP/ TNP	: Tekli Nükleotid Polimorfizmi (Single Nucleotide Polymorphism)
std	: standart sapma
T	: Timin
t	: Farklılaşma zamanı
θ	: Theta

- TAGEM : Tarımsal Araştırmalar Genel M¼d¼rl¼ę¼
- Taq : *Thermus aquaticus*
- tRNA : Transfer RNA
- T¼RKHAYGEN-1: T¼rkiye Yerli Evcil Genetik Kaynaklarından Bazılarının in vitro Korunması ve ¼n Molek¼ler Tanımlanması- I projesi kısa adı
- u* : Mutasyon oranı
- UPGMA : Aritmetik ortalamaların kullanıldığı ağırlıklı olmayan çift grup y¼ntemi (Unweighted Pair-Group Method using arithmetic Averages)
- V : Volt
- Y.¼. : Yıl ¼nce

ŞEKİLLER

Şekil 1.1.	Mitokondrinin yapısı	2
Şekil 1.2.	Mitokondride gerçekleşen önemli mekanizmalar ve besin enerjisinin ATP'ye dönüşümünde mitokondrinin rolü	3
Şekil 1.3.	Mitokondride replikasyon ve segregasyon	6
Şekil 1.4.	Mitokondrial genomda kodlanan gen bölgeleri, replikasyon orjinleri ve promotorların gösterimi	7
Şekil 1.5.	Fırat ve Dicle nehirlerinin sınırladığı Verimli Hilal bölgesi	11
Şekil 1.6.	Türlere göre evciltme tarihleri	12
Şekil 1.7.	Evciltmenin ve ırkların tarihinin aydınlatılmasında kullanılan belirteçler	12
Şekil 1.8.	Evciltme bölgelerini harita üzerinde gösterimi	13
Şekil 1.9.	Boynuz morfolojisine göre sınıflandırma	15
Şekil 1.10.	Keçide mtDNA haplotipleri ve komşu birleştirme analizleri	19
Şekil 1.11.	<i>C. aegagrus</i> 'un Neolitik dönemde evciltme bölgesinden, Tuna ve Akdeniz rotasıyla batıya doğru dağılımı	20
Şekil 1.12.	Kimyasal dizi analizi yönteminin aşamaları	23
Şekil 1.13.	Deoksiribonükleotit trifosfat ve dideoksi türevinin kimyasal yapısı	24
Şekil 1.14.	Eski (A) ve yeni (B) dideoksi metotlarının şekil üzerinde gösterimi	25
Şekil 1.15.	Ortalama değişim oranı 0,1 olan eğriler için Gamma parametresi örnekleri	30
Şekil 1.16.	Temel filogenetik ağaç yapısı	38
Şekil 1.17.	Sabit populasyon, genişlemiş ve bölünmüş populasyonlara ait filogeniler	39
Şekil 1.18.	Dizi bazlı Minimum spanning networku oluşturma aşamaları	44
Şekil 1.19.	Dizi bazlı haplotiplerden median networku oluşturma aşamaları	45
Şekil 1.20.	DNA dizilerinden uyumsuzluk dağılımı grafiğinin çizilimi	46
Şekil 1.21.	Genişlemiş ve sabit populasyon varsayımları altında uyumsuzluk dağılım grafiklerinin unimodal ve multimodal çan eğrileri	47

	gösterimi	
Şekil 1.22.	Uyumsuzluk dağılımı grafikleri	47
Şekil 1.23.	Sabit populasyon ve farklı zamanlarda populasyon genişlemesi yaşanmış populasyonlar için uyumsuzluk dağılım grafikleri.	48
Şekil 1.24.	Varyansın hiyerarşik analizi	51
Şekil 1.25.	Ankara keçisi yandan görünüşü	53
Şekil 1.26.	Kıl keçisi yandan görünüşü	54
Şekil 1.27.	Norduz keçisi yandan görünüşü	55
Şekil 1.28.	Norduz keçisi boynuz yapısına benzer bir keçinin sağımını resmeden Urartular'a ait taş mühür	55
Şekil 1.29.	Kilis keçisi yandan görünüşü	56
Şekil 1.30.	Honamlı keçisi yandan görünüşü	57
Şekil 2.1.	Örnekleme yapılan bölgeler	63
Şekil 2.2.	DQ188900.1 <i>Capra hircus</i> mitokondrial DNA/D-loop bölgesi nükleotid dizisi üzerinde kullanılan primerlerin gösterimi.	67
Şekil 2.3.	<i>Capra hircus</i> Sitokrom- <i>b</i> bölgesi nükleotid dizisi ve kullanılan primerlerin gösterimi	73
Şekil 3.1.	Ankara keçisi örneklerine ait DNA'ların %0,8'lik agaroz jel görüntüsü	83
Şekil 3.2.	Kilis keçisi örneklerine ait DNA'ların %0,8'lik agaroz jel görüntüsü	84
Şekil 3.3.	Honamlı keçisi örneklerine ait DNA'ların %0,8'lik agaroz jel görüntüsü	84
Şekil 3.4.	Kıl keçisi örneklerine ait DNA'ların %0,8'lik agaroz jel görüntüsü	85
Şekil 3.5.	Norduz keçisi örneklerine ait DNA'ların %0,8'lik agaroz jel görüntüsü	85
Şekil 3.6.	Ankara keçilerinde mtDNA D-loop bölgesi yükseltgenme ürünlerinin % 2'lik agaroz jel elektroforez görüntüsü	86
Şekil 3.7.	Dizileme PZR reaksiyonundan elde edilen dizi analizlerine ait veri örneği.	87
Şekil 3.8	Haplotiplere ait nükleotit değişimlerinin gösterimi.	91

Şekil 3.9.	Haplotiplere ait nükleotit değişimlerinin gösterimi	92
Şekil 3.10.	Haplotiplere ait nükleotit değişimlerinin gösterimi.	93
Şekil 3.11.	Haplotiplere ait nükleotit değişimlerinin gösterimi	94
Şekil 3.12.	Nei'nin Dxy uzaklığına göre çizilen Phylogram ağacı	96
Şekil 3.13.	İncelenen ırklara ait FST uzaklığı için NJ ağacı, cladogram	97
Şekil 3.14.	İncelenen ırklara ait FST uzaklığı için NJ ağacı, phylogram	98
Şekil 3.15.	Tüm ırklar, yaban keçileri ve dış grup olarak koyun kullanılarak elde edilen NJ ağacı.	99
Şekil 3.16.	AIS programı Mantel testi grafiği	100
Şekil 3.17.	Haplogrupları ve bootstrap değerlerini içeren NJ ağacı	101
Şekil 3.18.	İncelenen ırklar için elde edilen haplogrup dağılımlarının pasta grafikte gösterimi	102
Şekil 3.19.	GTR nükleotit değişim modeline göre bireysel maksimum olasılık ağacı	103
Şekil 3.20.	Haplotiplere göre Median Joining networku ve haplogrupların gösterimi	104
Şekil 3.21.	G haplogrubuna özgü mutasyonun belirlenmesi	105
Şekil 3.22.	G haplogrubuna ait bir dizide mutasyona özgü enzim kesim yerinin gösterilmesi	105
Şekil 3.23.	G haplogrubuna özgü "15945delT" mutasyonunun gösterilmesi	106
Şekil 3.24.	A haplogrubunda olduğu belirlenen örneklerin uyumsuzluk dağılım analizi	106
Şekil 3.25.	Kıl, Honamlı, Ankara, Norduz ve Kilis ırklarından A haplogrubundan olduğu belirlenen örneklerin uyumsuzluk dağılım analizi	107
Şekil 3.26.	G haplogrubunda olduğu belirlenen örneklerin uyumsuzluk dağılım analizi	108
Şekil 3.27.	İrkların K2P ile NJ ağaçları	109
Şekil 3.28.	AMOVA sonuçlarına göre en uygun gruplama ve dairesel grafikte gruplar arası varyasyonun ve grup içi varyasyonun gösterimi	111
Şekil 3.29.	mtDNA Sitokrom- <i>b</i> bölgesi PZR ürünlerinin agaroz jel	112

	görüntüsü.	
Şekil 3.30.	Sitokrom- <i>b</i> dizilerine ait NJ ağacı.	112
Şekil 3.31.	Sitokrom- <i>b</i> gen bölgesi genetik uzaklık mesafelerinin NJ ağacı ile Phylogram tarzda gösterimi.	113
Şekil 3.32.	Sitokrom- <i>b</i> bölgesi NJ ağacı ve ortak ata zamanlarının gösterimi	114
Şekil 4.1.	Kavimler göçünün izlediği hat	123
Şekil 4.2.	İçinde keçinin de resmedildiği Sümerlere ait bir taş tablet	124

ÇİZELGELER

Çizelge 1.1.	Türlere göre mtDNA genom büyüklüğü, protein ve RNA kodlayan gen sayıları	5
Çizelge 1.2.	mtDNA’da evrensel genetik koddan sapmalar	8
Çizelge 1.3.	Keçinin ilk evciltme yerleri olduğu düşünülen bölgeler	14
Çizelge 1.4.	Capra cinsi altındaki türlerin klasik sınıflandırması	17
Çizelge 1.5.	En sık kullanılan nükleotid yer değişim modelleri	30
Çizelge 1.6.	Türkiye’de yıllara göre keçi sütü üretimi	59
Çizelge 1.7.	Tek doğuran çiftlik hayvanları için damızlık dişi sayısına göre koruma altına alma	60
Çizelge 1.8.	Çalışmada incelenen keçi ırkları için tehlike seviyeleri	60
Çizelge 2.1.	İncelenen ırklar ve hayvan sayıları	63
Çizelge 2.2.	D-loop bölgesi PZR reaksiyonunda kullanılan kimyasal yoğunlukları	68
Çizelge 2.3.	D-loop bölgesi PZR reaksiyonu yükseltgenme koşulları	68
Çizelge 2.4.	D-loop bölgesi ile ilgili olarak dizileme PZR reaksiyonunda kullanılan kimyasallar	70
Çizelge 2.5.	D-loop bölgesi ile ilgili olarak dizileme PZR reaksiyonu koşulları	70
Çizelge2.6.	Sitokrom- <i>b</i> dizi analizi yapılan örnekler	72
Çizelge 2.7.	Sitokrom- <i>b</i> bölgesi PZR kimyasal konsantrasyonları	74
Çizelge 2.8.	Sitokrom- <i>b</i> bölgesi PZR yükseltgenme koşulları	74
Çizelge 2.9.	Yeni tasarlanan primerlere ait diziler.	75
Çizelge 2.10.	Analizlerde haplogruplara atamada kullanılan referans diziler	78
Çizelge 2.11.	Analizlerde dış grup olarak kullanılan dizilere ait GenBank kodları	79
Çizelge 3.1.	İncelenen ırklarda mtDNA çeşitliliği ile ilgili istatistikî değerleri	88
Çizelge 3.2.	Sadece aynı ırk içinde ortak olan haplotipler	89
Çizelge 3.3.	Farklı ırklar arasında ortak olan haplotipler ve bu haplotipleri taşıyan hayvanlar	89

Çizelge 3.4.	İncelenen keçi ırklarında özgün haplotip yüzdesi	90
Çizelge 3.5.	İncelenen diziler açısından toplam nükleotid oranları	95
Çizelge 3.6.	İncelenen 453 baz açısından 5 ırk arasındaki transisyonel ve transversiyonel nükle	95
Çizelge 3.7.	İncelenen 5 ırk için Nei'nin Dxy ve Da genetik mesafe ölçümü metotlarına göre elde	96
Çizelge 3.8.	İncelenen 5 ırk için Wright'ın F istatistiğine göre elde edilen uzaklık matrisi	97
Çizelge 3.9.	İrk düzeyinde Mantel test sonuçları	99
Çizelge 3.10.	İrklara göre haplogrup frekansları ve bu haplogrupları taşıyan bireyler	102
Çizelge 3.11.	İncelenen ırklarla ilgili olarak uyumsuzluk dağılım analizi istatistikleri	108
Çizelge 3.12.	İncelenen ırklar için nötralite testleri sonuçları	109
Çizelge 3.13.	AMOVA analizi sonuçları	110
Çizelge 3.14.	Sitokrom- <i>b</i> gen bölgesi genetik uzaklık mesafeleri ve standart sapmaları	113

DENKLEMLER

Denklem 1.1. Varyasyon oluşturan nükleotit bölgeleri oranı	26
Denklem 1.2. Nükleotid eşitliliği	27
Denklem 1.3. Haplotip eşitliliği	27
Denklem 1.4. Haplogrup frekansı	28
Denklem 1.5. Toplam yer değişim sayısı	29
Denklem 1.6. Genetik benzerlik	32
Denklem 1.7. Standart genetik mesafe denklemi (1)	33
Denklem 1.8. Standart genetik mesafe denklemi (2)	33
Denklem 1.9. F_{ST} değerinin hesaplanması (1)	34
Denklem 1.10. F_{ST} değerinin hesaplanması (2)	34
Denklem 1.11. mtDNA için haplotip çeşitliliği denklemi	35
Denklem 1.12. F_{IS} değeri hesaplanması	35
Denklem 1.13. F_{IT} değeri hesaplanması	36
Denklem 1.14. F_{IS} ve F_{IT} değerleri ile F_{ST} değerinin hesaplanması	36
Denklem 1.15. Mantel test için regresyon değerinin hesaplanması	37
Denklem 1.16. UPGMA yöntemine göre genetik uzaklık	40
Denklem 1.17. Maksimum Parsimoni yöntemine göre genetik uzaklık	42
Denklem 1.18. AMOVA ynemi için Φ_{ST} değeri hesaplanması	51

1. GİRİŞ

Keçiler çok eski çağlardan bu yana insan toplulukları için ekonomik, kültürel ve hatta dini amaçlarla kullanılmıştır. “Fakir adamın sığırı” olarak da bilinen keçi, özellikle aile tipi küçük işletmelerde eti, sütü, kılı ve derisinin kullanılabilmesi sebepleriyle Türkiye gibi gelişmekte olan birçok ülke için hala önemli bir çiftlik hayvanıdır (MacHugh ve Bradley, 2001). Keçilerin ilk ne zaman, nerede evciltildiği ve hangi ırkların ilk olarak ortaya çıktığı konusundaki bilinmeyenler, arkeoloji ve genetik biliminin ortak katkıları ile hızla aydınlanmaya başlamıştır (Zeder, 2008).

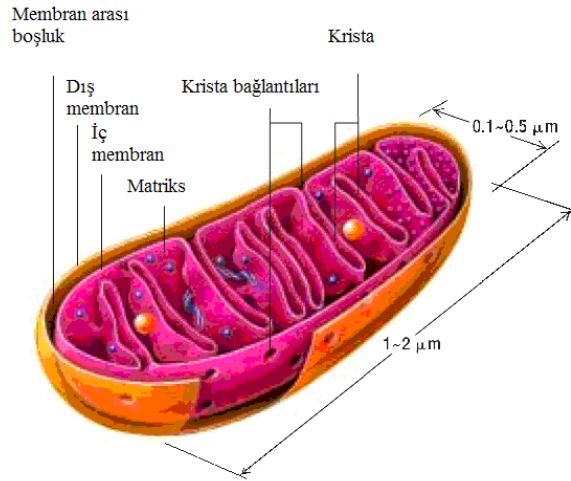
Mitokondri DNA’sı, türlerin coğrafi dağılımına göre farklılıklar göstermesi, genomik DNA’ya oranla daha hızlı evrimleşmesi ve maternal kalıtılmasına bağlı olarak dişi ebeveynin geçmişi açısından fikir verici olması gibi özelliklerinden dolayı, keçilerin genetik polimorfizmi çalışmalarında sıklıkla tercih edilen belirteçlerden birisidir (Luikart ve ark., 2001). Bu sebeplerle diğer türlerde olduğu gibi, keçi filogenetik çalışmalarında popülasyon geçmişlerinin ortaya konulması, coğrafi ve genetik uzaklık bağıntılarının araştırılması, popülasyonların farklılaşma zamanlarının belirlenmesi gibi konularda sıklıkla tercih edilirler (Naderi ve ark., 2008; Wu ve ark., 2009).

Türkiye, keçinin ilk evciltme bölgelerinden birisidir. Bu araştırma Türkiye’deki bazı yerli keçi ırklarında (Ankara, Honamlı, Kilis, Kıl ve Norduz) mitokondriyal DNA çeşitliliği, ırklar arası ve coğrafi farklılık ve keçinin evcilleştirilme tarihini aydınlatmadaki yeri incelenmiştir.

1.1. Mitokondrinin Yapısı

Yunanca *mitos* (*μῖτος- iplik*) ve *khondrion* (*χονδρίον- tanecik*) sözcüklerinden türetilen ve kendine ait metabolik ve genetik otonomiye sahip olan mitokondri, bazı memeli hücreleri ile mikroorganizmalarda bulunan, DNA ve ribozomları olan ve

çoğalabilen bir organeldir (Lodish ve ark., 2003). Boyu 1–10 μm arasında, şekli ise ovalden çubuğa kadar değişkenlik göstermektedir. Bazı memeli hücreleri ile mikroorganizmalar (örn., *Chlamydomonas*) tek ve büyük mitokondri içerse de genellikle birden çok sayıda bulunur ve memeli karaciğer hücresinde sayıları 2500 civarına ulaşabilir. Prokaryotik hücreler, yeşil algler ve memeli alyuvarlarında bulunmazlar. Mitokondrilerin kendi DNA ve ribozomları vardır ve bölünüp çoğalma özelliğine de sahiptirler. Çekirdek ve kloroplastta olduğu gibi biri iç diğeri dış olmak üzere iki membranı vardır (Şekil 1.1.) ve membranlar arası küçük bir boşluk bulunur (Lodish ve ark., 2003; Lemire, 2005). İki membran hem yapıları hem de görevleri açısından farklılıklar gösterir. Dış membran, eşit oranda yağ ve proteinden oluşur ve moleküler ağırlığı 10.000'e kadar olan molekülleri geçirebilecek porlara sahiptir. İç membran daha az geçirgendir ve % 20 yağ, % 80 proteinden oluşur. İç membranın yüzey alanı, matrikse doğru uzantılar yapan kristalarla arttırılmaktadır. Mitokondrial matriks, mitokondrial genom, ribozom, taşıyıcıRNA (transferRNA, tRNA) ve mitokondrial fonksiyonlar için gerekli çeşitli protein ve enzimleri içerir (Lodish ve ark., 2003).

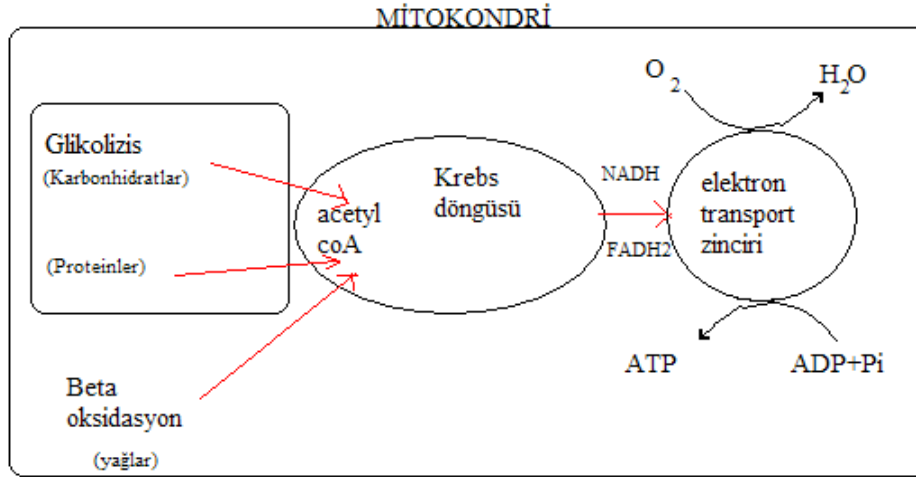


Şekil 1.1. Mitokondrinin yapısı (Lodish ve ark., 2003'den alınarak uyarlanmıştır).

Solunumsal oksidasyon sırasında açığa çıkan enerjinin yakalanması ve tutulmasındaki görevleri nedeniyle mitokondri, hücrenin “enerji merkezi” olarak kabul edilir. Bunun yanı sıra, hücre döngüsü ve büyümesinin kontrolü, hücresel

farklılaşma, sinyalizasyon ve hücre ölümü gibi olaylarda da önemli rol oynamaktadır.

Mitokondri içerisinde, özellikle fosforilasyon reaksiyonları ve elektron transfer zincirinde rol oynayan çok sayıda enzim bulunur. Mitokondri tarafından en fazla üretilen biyokimyasal molekül Adenozin trifosfattır (ATP). ATP, hücrenin enerji gerektiren basamaklarında kullanılan ve yıkıma uğradığında yüksek kalorige ısı veren bir moleküldür. Mitokondride ATP üretim sistemi “oksidatif fosforilasyon” olarak adlandırılır (Lodish ve ark., 2003; Lemire, 2005). Bunun yanı sıra, mitokondri β -oksidasyon enzimleri ve temel besin maddelerinin oksidasyonu için son ortak yol olan sitrik asid siklüsü (Kreb’s döngüsü) enzimlerini de içermektedir (Lemire, 2005; San Diego State Üniversitesi Kütüphanesi, ROHAN veritabanı) (Şekil 1.2).



Şekil 1.2. Mitokondride gerçekleşen önemli mekanizmalar ve besin enerjisinin ATP'ye dönüşümünde mitokondrinin rolü (San Diego State Üniversitesi Kütüphanesi, ROHAN veritabanından alınarak uyarlanmıştır).

Mitokondri, indirgeme ve yükseltgeme reaksiyonları (redoks reaksiyonları) ile elektron transportunda önemli bir göreve sahiptir. Elektron taşıyıcı koenzimlerden birisi olan olan NAD'i (nicotinamide adenine dinucleotide) indirgenmiş hali olan NADH'a, FAD'i (flavin adenine dinucleotide) ise indirgenmiş formu olan FADH₂'ye çevirir (Lodish ve ark., 2003).

Mitokondrinin enerji üretimi, oksidasyon ve elektron transferi görevlerinin yanı sıra hücre için bazı önemli görevleri de vardır. Membran potansiyelinin

düzenlenmesi, programlı hücre ölümü (apoptozis), hücre yenilenmenin düzenlenmesi, hücre metabolizmasının düzenlenmesi ve steroid sentezi bunlardan bazılarıdır. Bazı mitokondrial fonksiyonlar sadece bazı hücrelerde yürütülür. Örneğin, karaciğer hücrelerindeki mitokondriler amonyağın detoksifikasyonunda rol oynayan enzimleri içerirler (Lewin, 2004). Mitokondrial hasar ya da mutasyonlar bu mekanizmalarda aksamalara yol açmakta ve mitokondrial ensefalomiyopati (MELAS), Leber'in kalıtsal optik nöropati hastalığı (LHON), Alzheimer ve Parkinson hastalığı (ADPD), nörojenik kas zayıflığı, ataksi ve retinitis pigmentosum (NARP), sağrlık gibi çeşitli hastalıklar şekillenmektedir (Günlemez, 2003; Saara, 2000).

1.2. Mitokondrial Genom

Mitokondri evrimi tam olarak anlaşılmasa da bu konu ile ilgili olarak, bir milyar yıl önce oksijenli solunum yapan bir bakterinin, ilkel bir ökaryot hücre içine adapte olduğunu savunan endosimbiyotik teori yaygın olarak kabul görmektedir. Kendine ait DNA'sının olması, genomik DNA'dan bağımsız replikasyona uğraması ve protein sentezi yapabilmesi bu görüşü destekleyen bulgulardır (Klug ve Cummings, 2002; Lodish ve ark., 2003; Lewin, 2004) .

Mitokondride bulunan DNA'nın (mtDNA) organel içerisinde, sayıları 2-15 arasında değişen kopyaları bulunmaktadır. Dairesel bir forma sahip olan mtDNA, insanlarda 16,569 bazdan oluşurken, hayvanlarda 16-18 kilobaz (kb) arasında değişkenlik gösterir (Çizelge 1.1) (Saara, 2000; Klug ve Cummings, 2002; Lodish ve ark., 2003) .

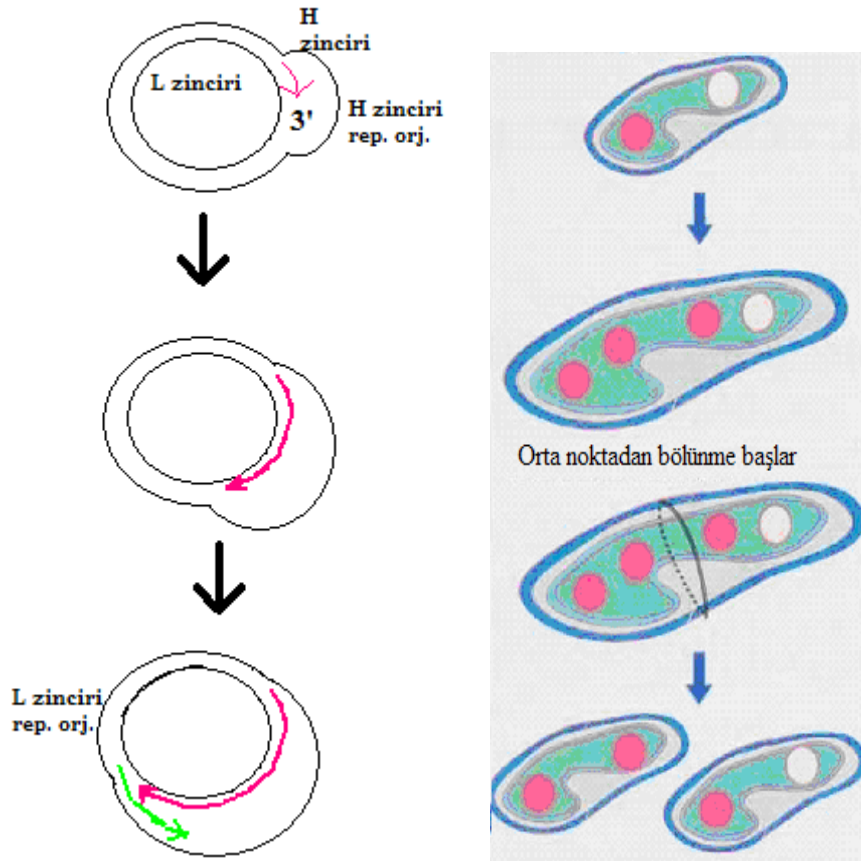
Çizelge 1.1. Türler göre mtDNA genom büyüklüğü, protein ve RNA kodlayan gen sayıları (Lewin, 2004).

Tür	Genom Büyüklüğü (kb)	Protein Kodlayan Genler	RNA Kodlayan Genler
Mantarlar	19-100	8-14	10-28
Protistalar (Tek hücreli Ök.)	6-100	3-62	2-29
Bitkiler	186-366	27-34	21-30
Hayvanlar	16-17	13	4-24
İnsan	16.5	13	24

Memeli mtDNA'sı nükleer DNA'dan farklı olarak, intron ve uzun kodlamayan bölgeler içermez. Çok hücreli hayvanların (metazoanların) çoğunda mtDNA aynı büyüklüktedir ve benzer proteinleri kodlar. Ancak bazı türlerin mtDNA'sı çok daha büyüktür. Örneğin, maya mtDNA'sı yaklaşık 5 kat daha büyüktür ($\approx 78,000$ bp), intron bulundurur ve memeli mtDNA'sındaki benzer proteinlerin yanı sıra memelilerin nükleer DNA'sında yer alan bazı proteinleri de kodlar (Saara, 2000). mtDNA, organel içerisinde bakterilerde olduğu gibi çeşitli proteinlerle paketlenmiş nükleoid halinde bulunur (Chen ve Butow, 2005).

Mitokondrial DNA, herbiri kendi başına replike olabilen Guanince zengin ağır (H) zincir ve Sitozince zengin hafif (L) zincir olmak üzere iki zincire sahiptir. Ağır zincir, polipeptid kodlayan 13 genden 12'sini, transfer RNA (tRNA) kodlayan 22 genden 14'ünü ve ribosomal RNA (rRNA) kodlayan her iki geni üzerinde bulundurmaktadır. mtDNA'da kodlanmayan tek bölge "Yer Değişim Halkası" adı verilen bölgedir (*displacement loop, D-loop*) ve ağır zincirin kısa bir bölümünün tekrarından oluşarak üçüncü kısa bir zincir oluşturmaktadır. D-loop bölgesi H-zinciri replikasyon orjinini (O_H) ve L ve H-zinciri transkripsiyonu için promotorları bulundurmaktadır. mtDNA iki kökenli replikasyona uğrar, yani bidirectional DNA

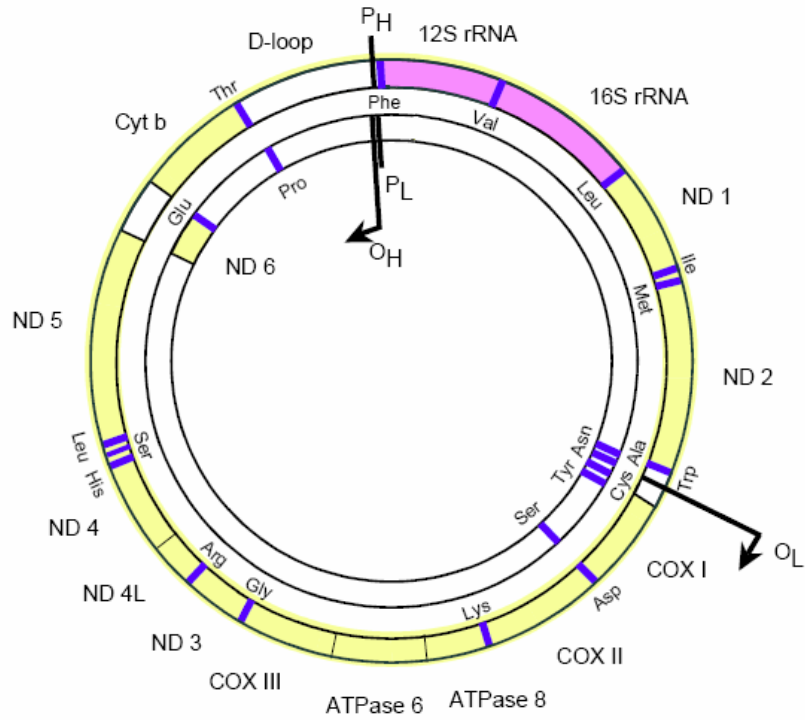
replikasyonu, L-zincirinden transkribe edilen bir RNA primeri kullanılarak, O_H orjininden 5'-3' yönünde başlatılır. Ağır zincir sentezi mtDNA'nın 2/3'sini tamamlar, tRNA genlerinden 5'ini içeren bölgeyi kapsayan L-zincir orjinine (O_L) ulaştığında, O_L ilmik şeklinde bir yapı alır ve H zincirine ters yönde L zinciri replikasyonu başlatılır. Sonuç olarak, mtDNA replikasyonu çift yönlü, yarı korunumlu (semikonservatif) ve eşzamansız (asenkronize) olarak tamamlanır (Günlemez, 2003; Clayton, 1982). Replikasyondan sonra segregasyon ve bölünme tamamen tesadüfi bir şekilde mitokondrinin orta noktasından olur (Şekil 1.3) (Lewin, 2004).



Şekil 1.3. Mitokondride replikasyon ve segregasyon (Lewin, 2004).

mtDNA transkripsiyonu ise D loop bölgesindeki promotörlerden (ağır zincir 1, H1; ağır zincir 2, H2 ve hafif zincir, L promotörleri) birbirine ters yönde başlar ve iki zincir de, aynı anda tamamen transkripsiyona uğrar (Şekil 1.4). Uzun zincire ait H1 promotörü tüm ağır zinciri transkribe eder. H2, iki mitokondrial rRNA molekülünün

transkripsiyonundan sorumludur. Ağır zincirin transkripsiyonu ile polisistronik transkript oluşur. Hafif zincir ise ya replikasyon için primer olarak kullanılan küçük transkriptler üretir ya da uzun bir transkript oluşturur. Transkriptler, fonksiyonel rRNA, tRNA ve mesajcıRNA (mRNA)'ların oluşumu için kesilir ve işlenir. Mitokondrial translasyonlar ribozomdan bağımsız olmakla birlikte hala tam olarak anlaşılammıştır. Ayrıca, replikasyon ve transkripsiyonu için gerekli enzimler ve proteinler, genomik DNA tarafından sentezlendiğinden, mtDNA tam bir otonomiye sahip değildir (Saara, 2000; Lewin, 2004).



Şekil 1.4. İnsan mtDNA'sında kodlanan gen bölgeleri, replikasyon orjinleri ve promotorların gösterimi. H zinciri replikasyon orjini (O_H), L zinciri replikasyon orjini (O_L), H ve L zincirleri promotorları (P_H ve P_L) (Saara, 2000).

Mitokondrial DNA'da mRNA'dan proteine translasyon sırasında evrensel olduğu düşünülen genetik koddan sapmalar olmaktadır (Çizelge 1.2). Örneğin UGA, birçok türde “dur” kodunu ifade ederken, insan ve mantar mitokondrisinde translasyon sırasında “triptofan” olarak ifade edilir. AGA ve AGG, tüm türlerde genomik DNA'da “arjinin”e karşılık gelirken memeli mtDNA'sında “dur” kodunu, *Drosophila* mtDNA'sında “serin”i ifade eder (Lodish ve ark., 2003; Lewin, 2004).

Çizelge 1.2. mtDNA’da evrensel genetik koddan sapmalar (Lodish ve ark., 2003).

Kodon	Genomik	Mitokondrial				
	DNA	DNA				
Standart kod	Memeliler	<i>Drosophila</i>	<i>Neurospora</i>	Mayalar	Bitkiler	
UGA	Dur	Trp	Trp	Trp	Trp	Dur
AGA,AGG	Arg	Dur	Ser	Arg	Arg	Arg
AUA	Ile	Met	Met	Ile	Met	Ile
AUU	Ile	Met	Met	Met	Met	Ile
CUU,CUC CUA,CUG	Leu	Leu	Leu	Leu	Thr	Leu

Vertebralı mitokondrial DNA’sındaki bu kodon-antikodon değişkenliği avantaj olarak da ifade edilebilir. Çünkü evrensel koddan sapma sonucunda mitokondri için, çekirdek DNA’sından farklı olarak tüm kodonların tanımlanmasında en az 31 tRNA olması zorunluluğu geçerli değildir ve sadece 22 tRNA yeterli olmaktadır (Lewin, 2004).

Çoğunlukla yumurta dölleme esnasında sperm hücreğine ait mtDNA’nın hücre içine alınmaması ve embriyonun sadece anasal (maternal) mtDNA’yı taşıması nedeniyle her organizma sadece bir çeşit mtDNA içermektedir. Bu durum “homoplazmi” adını almaktadır. Dolayısıyla mtDNA’nın kalıtımı çoğunlukla anaya aittir. Ancak midye, meyve sineği ve arı gibi bazı canlılarda ve klonlanmış sığır, fare ve koyunda bazı istisnalar da bildirilmiştir. İnsanlarda da bir bireyde mitokondrial DNA’nın babasal (paternal) geçtiği ve sadece iskelet kaslarında mitokondrial miyopatiye neden olduğu belirtilmiştir (Schwartz ve Vissing, 2002).

mtDNA’nın evrim hızı nükleer DNA’ya göre 10–20 kat daha fazladır. Bunun nedeni, oksijen radikallerine daha fazla maruz kalması, koruyucu ve tamir sistemlerinin yokluğudur (Günlemez, 2003). Bu sebeple, bazen bir hücrede birden fazla çeşitte mtDNA da bulunabilir ve bu duruma “heteroplazmi” adı verilir. Her hücrede 10–100 arasında değişen sayıda mitokondri olduğu düşünöldüğünde, bir hücrede bine yakın mtDNA’nın mevcut olabileceği söylenebilir. Heteroplazmik

mtDNA'lar, gametlere düzensiz geçer. Sonuçta tekrar tekrar bölünen hücreler, saf mutant veya saf normal mtDNA'lar içeren genotipe dönüşebilirler (Günlemez, 2003).

Her organ sisteminin yaş ve aktivitesiyle de ilişkili olarak, değişik oranlarda mitokondrial enerjiye ihtiyacı vardır ve farklı miktarlarda mitokondri içerir. Yine her doku farklı miktarlarda normal ve mutant mitokondrial DNA içerebilir. Mutasyona göre değişmekle birlikte dokuda mutant genomların oranı ne kadar fazla ise ATP üretimi o denli yetersizleşir ve doku-organ disfonksiyonları başlar. Doku veya organın enerji metabolizmasında yetersizliğe yol açacak (disfonksiyona neden olacak) minimum mutant mtDNA miktarına eşik değer (threshold effect) denir. Eşik değer, doku ve yaşa göre değişir. Örneğin; beyin ve kas hücreleri daha fazla enerji ihtiyacı içindedir ve gelişmekte olan çocuklarda daha aktiftir. Bu organlarda düşük miktarda mutant mtDNA klinik belirtiyeye yol açabilirken, daha yüksek oranda mutant mtDNA karaciğerde belirti vermeyebilir. Sonuçta, mutant ve normal genomların oranı, doku tipi, yaş, enerji ihtiyacı gibi faktörlere bağlı olarak fenotipte mitokondrial hastalığa neden olur (Günlemez, 2003).

Mitokondri üre döngüsü, glukoneogenezis, oksidasyon, krebs döngüsü ve en önemlisi de oksidatif fosforilasyonda görevli yüzlerce protein içerir. Herhangi bir nedenle oluşacak mitokondrial disfonksiyon tüm sistemleri etkileyecek ve eşik değere göre semptomlarını verecektir (Günlemez, 2003, Saara, 2000). Mitokondrial DNA tarafından kodlanan bu önemli genler NADH dehidrogenaz 1-6 (mt-ND1-mtND6), Sitokrom b, Sitokrom c oksidaz, Sitokrom c redüktaz (MT-CYB, MT-CO1, MT-CO2, MT-CO3), ATP-sentaz (MT-ATP6, MT-ATP8), rRNA (MT-RNR1, MT-RNR2) ve tRNA (MT-TA, MT-TA, MT-TC, MT-TD, MT-TE, MT-TF, MT-TG, MT-TH, MT-TI, MT-TK, MT-TL1, MT-TL2, MT-TM, MT-TN, MT-TP, MT-TQ, MT-TR, MT-TS1, MT-TS2, MT-TT, MT-TV, MT-TW, MT-TY, MT1X) genleridir (National Library of Medicine, Erişim adresi: <http://ghr.nlm.nih.gov/chromosome=MT>; Saara, 2000).

Mitokondri genomu ile ilgili olarak en güncel bilgilerin toplandığı, on-line ulaşılabilen veritabanları bulunmaktadır. Mitokondri biyolojisi ve genetiği ile

ilgilenenler için oldukça faydalı olan bu veritabanlarından bazıları ve erişim adresleri aşağıda listelenmiştir.

1.**Mitomap** *A human Mitochondrial Genome Database*: İnsan mtDNA'sı polimorfizmleri ve mutasyonlarını içeren veritabanıdır. Erişim adresi: www.mitomap.org

2.**Mamit-tRNA**: Memelilere ait mitokondri tRNA'larına ait veritabanıdır. Erişim adresi: <http://mamit-trna.u-strasbg.fr/Summary.asp>

3.**MitEURO**: Avrupa'da mitokondriyal biyogenezis ve hastalık çalışan laboratuvarların paylaşımlarıyla oluşturulan bir veritabanıdır. Erişim adresi: www.miteuro.org

4.**V-MitoSNP**: Mitokondriyal tek nükleotid polimorfizmi (Single Nucleotide Polymorphism, SNP) ve kanserlerle, hastalıklarla bağlantılarının paylaşıldığı veritabanıdır. Erişim adresi: <http://bio.kuas.edu.tw/v-mitosnp>

1.3. Filogenetik Araç Olarak Mitokondriyal DNA

Organel DNA'sı çekirdek DNA'sından farklı replikasyon sistemlerine sahip olduğundan, replikasyondaki hata oranı da farklı olmaktadır. mtDNA memelilerde, nükleer DNA'dan daha hızlı mutasyon biriktirir, fakat bitkilerdeki mtDNA'da mutasyon birikimi çekirdektekinden de yavaş olmakta; kloroplast DNA'sında ise bu ikisinin arasında bir oranda olmaktadır. mtDNA'nın maternal kalıtımının bir sonucu olarak popülasyon değişimlerine karşı, çekirdek DNA'sından daha duyarlıdır. mtDNA dizilerinin popülasyonlarda karşılaştırılması evrimsel ağaçların çizilmesine olanak sağlar (Lewin, 2004). Bu tür çalışmalarda mtDNA üzerinde bulunan 12srRNA, 16srRNA, Sitokrom-*b* ve D-loop bölgeleri kullanılmaktadır.

mtDNA mutasyonlarının hızı insanlarda, 1 milyon yıllık süreçte ortalama % 2–4 oranındadır. Eğer iki organizma arasında % 1 oranda mtDNA farklılığı varsa bu 250.000–500.000 yıl önce bu iki organizmanın farklılaşmaya başladığını gösterir. Ek olarak nükleer genin her nesilde farklı rekombinasyon göstermesi filogenetik çalışmalarında zorluk yaratırken, mtDNA'nın homoplazmik oluşu kullanılabilirliğini

arttırır. mtDNA bu özelliklerinden dolayı 1987 yılından itibaren, filogenetik çalışmalarda kullanılmaya başlanmıştır (Günlemez, 2003).

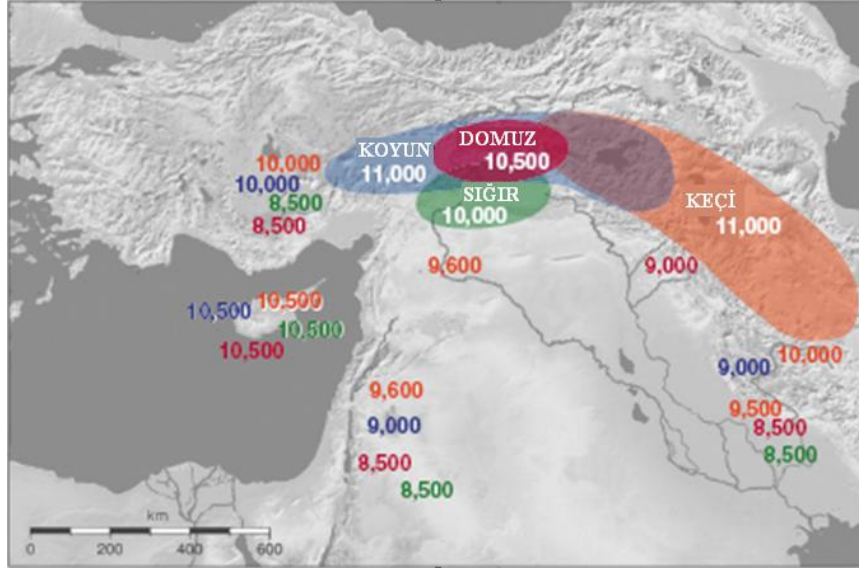
1.4. Keçilerde Filogenetik Çalışmalar ve Evciltme İle İlgili Arkeolojik ve Genetik Bulgular

İnsanlık için dönüm noktalarından birisi sayılan “Evciltme”, Neolitik çağda, yaklaşık 11.000 yıl önce (Y.Ö.), “Verimli Hilal-*Fertile Crescent*” olarak bilinen topraklarda (Şekil 1.5) başlamıştır (Zeder, 2008).



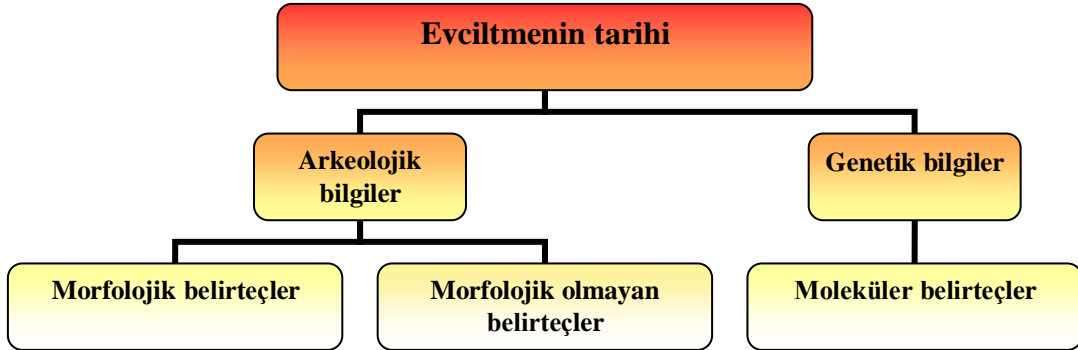
Şekil 1.5. Fırat ve Dicle nehirlerinin sınırladığı Verimli hilal bölgesi (NASA earth Observatory; <http://earthobservatory.nasa.gov/Features/HarranPlains/>)

Çiftlik hayvanlarının evciltmesinde öncelikli olarak 4 türün adı geçmektedir. Bunlar sığır, domuz, koyun ve keçidir (Şekil 1.6). Evciltme tarihleri yakın olmakla beraber koyun ve keçinin ilk evciltülen türler olduğu bilinmektedir (Zeder, 2008)



Şekil 1.6. Türlerle göre evciltme tarihleri (milattan önce) (Zeder, 2008).

Tüm hayvanlar için evciltmenin ilk ne zaman, nerede olduğu ve hangi ırkların ilk olarak ortaya çıktığı konusundaki bilinmeyenler, arkeoloji ve genetik biliminin katkıları ile aydınlanmaya başlamıştır. Bu çalışmalarda arkeolojik bilgiler morfolojik ve morfolojik olmayan belirteçler başlıkları altında toplanırken, genetik bilgiler moleküler belirteçlerden yararlanılarak değerlendirilir (Şekil 1.7).



Şekil 1.7. Evciltmenin ve ırkların tarihinin aydınlatılmasında kullanılan belirteçler.

Evciltmenin morfolojik belirteçleri iki ana kategoride toplanabilir.

A. Bir jenerasyondan diğerine aktarılarak evciltmeye genetik yanıtı gösteren morfolojik belirteçler: Evcil hayvanların morfolojik, fizyolojik ve psikolojik karakterlerde önemli değişiklikler meydana geldiği, daha kolay idare

edilebilme yönünde değişime uğradığı bildirilmektedir. İnsanların yaban hayvanları arasından kolay idare edebilecekleri ve faydalanabilecekleri hayvanları seçmeleri ve bu hayvanlardan yavru almaları sebebiyle genetik olarak aktarılan bazı morfolojik karakterler belirteç olarak kullanılabilir. Vücut büyüklüğü, boynuz şekli ve büyüklüğü gibi karakterler morfolojik arkeolojik belirteçler olarak kullanılabilirler (Zeder ve ark., 2006).

B. Değişen çevreye bağlı olarak bireysel yanıtları gösteren morfolojik belirteçler (suni morfolojik belirteçler): Kazı alanlarından elde edilen kemiklerde evciltmiş hayvanlarda görülen bazı karakterlerin belirteç olarak kullanılmasıdır. Bunlar; yeme alışkanlıklarının değişmesi sonucunda bir atın ikinci molar dişindeki aşınma yüzeyi ya da, normalde serbest dolaşıma almış bir keçinin ağılda kapalı kalması sonucu ayak kemiklerinde şekillenen patolojiler de olabilir. Bu belirteçler insan idaresi altına giren hayvanlarda bazı olaylar sonrasında şekillendiği için bir sonraki soya aktarılmayan ve bireye özgü olarak kalan karakterlerdir (Zeder ve ark., 2006).

Morfolojik olmayan belirteçler ise suni morfolojik belirteçler gibi genetik olarak aktarılmayan ama insan eliyle yapılan seleksiyonun sonucunda gözlemlenebilen belirteçlerdir. Bunlar kazı alanlarından elde edilen hayvan topluluklarına ait demografik profili tarif eden ölüm yaşı, yetiştirmede ağırlıklı olarak tercih edilen cinsiyet gibi belirteçlerdir (Zeder ve ark., 2006).

Morfolojik ve morfolojik olmayan belirteçlerin kullanılması kazı alanlarında elde edilen kemikler avcı-toplayıcı toplumu mu, tarım toplumu mu sorularının cevaplanmasına yardımcı olur. Örneğin; avcı toplumlarda büyük cüsseli, ergin yaşta hayvanlar özellikle de erkekler tercih edildiğinden kazı alanlarından elde edilen kemikler kalın, gelişmiş ve genelde erkek hayvanlara aittir. Tarım toplumlarında ise daha narin, ince yapılı dişi hayvanlar rağbet gördüğünden ve erkek hayvanlar da genelde ilk reproduktif yıllarından sonra kesildiklerinden böyle alanlarda elde edilen kemikler genellikle ya dişi hayvan kemikleridir ya da genç kolay eriyebilir, ince erkek kemikleridir (Zeder ve ark., 2006.; Zeder, 2008).

Keçilerle ilgili olarak bütün bu arkeolojik belirteçlerden yararlanılarak, evciltme konusunda iki farklı bölgeye ulaşılmaktadır. Bunlar; Şanlıurfa yakınlarında Fırat nehri vadisinde Nevalı Çori (11,000 Y.Ö.), ve İran'da Zagros dağlarında Ganj Dareh (10,000 Y.Ö.) bölgesidir. Diğer olası evciltme bölgelerini de içeren liste Çizelge 1.3'de ve harita üzerindeki yerleri Şekil 1.8'de gösterilmiştir. Ancak, Orta Asya'da böyle çalışmalar yapılmadığından keçi evciltme tarihi eksik kalmaktadır.

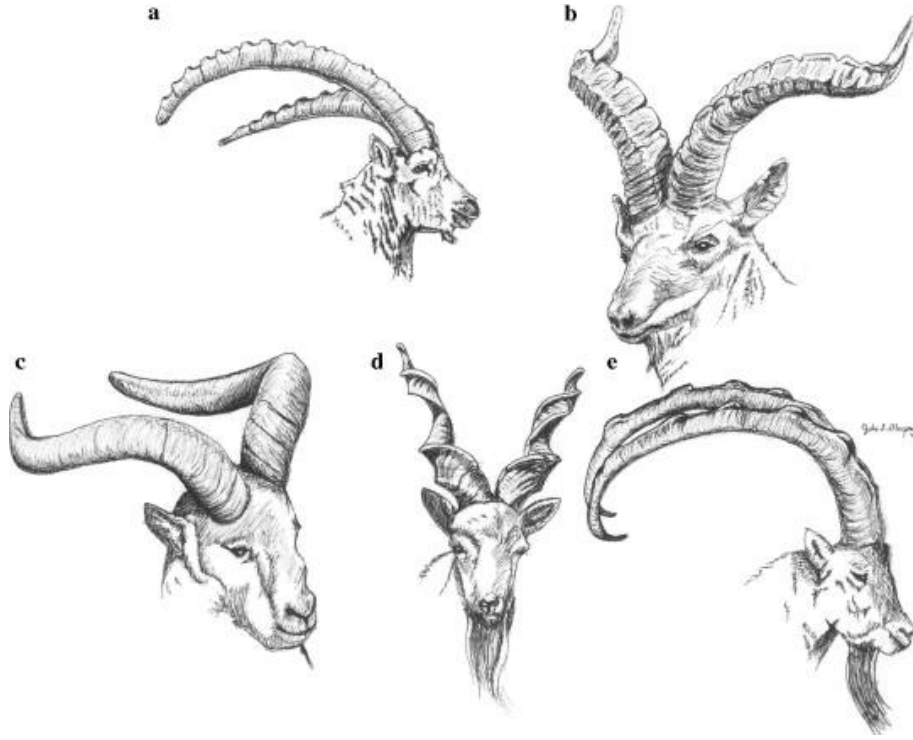
Çizelge 1.3. Keçinin ilk evciltme yerleri olduğu düşünülen bölgeler (Hirst, 2008).

Bölge ve ülke	Kazı alanı	Hesaplanan evciltme tarihi
Toroslar, Urfa, Güneydoğu Türkiye	Nevalı Çori	8.500-8.000 M.Ö.
Toroslar, Urfa, Güneydoğu Türkiye	Çayönü	8.500-8.000 M.Ö.
Güney Kıbrıs Rum Yönetimi	Shillourokambos	8.500-8.000 M.Ö.
Aksaray, Türkiye	Aşıklı Höyük	8.000-7.800 M.Ö.
Zagros Dağları, İran	Ganj Dareh	8.000-7.800 M.Ö.
Güney Levant, İsrail	Jericho	7.500 M.Ö.
Baluchistan, Pakistan	Mehrgarh	7.000 M.Ö.



Şekil 1.8. Evciltme bölgelerinin harita üzerinde gösterimi (Naderi ve ark., 2008).

Evciltmenin tarihi, evcil keçiye köken alan yabani keçiler ve keçi ırklarının tarihi, evciltmeye katkıda bulunan yabani keçi sınıfları ve evcil keçide ırkların birbirinden ayrılmaya başlamalarının belirlenmesinde sıklıkla kullanılan moleküler belirteçler ise anasal katkıyı gösteren mtDNA analizleri, babasal katkıyı gösteren Y kromozomu çalışmaları ve introgresyonu gösteren mikrosatellit analizleridir (Luikart ve ark., 2001; Naderi ve ark., 2007; Pereira ve ark., 2009). Kan grupları gibi protein polimorfizmine dayanan sınıflandırma çalışmaları da yapılmış ancak boynuz morfolojisine göre yapılan ve yaygın olarak kabul gören klasik sınıflandırma (Şekil 1.9) sonuçlarına uyumlu sonuçlar alınamamıştır. Bu durum moleküler analizlere özellikle de, mitokondrial DNA analizlerine yönelmesine sebep olmuştur (Manceau ve ark., 1999).



Şekil 1.9. Boynuz morfolojisine göre sınıflandırma:(a) ibeks-tipi (*C. [i.] ibex*, *C. [i.] nubiana*, *C. [i.] sibirica*, ve *C. [i.] caucasica*), (b) İspanya keçisi tipi (*C. pyrenaica*), (c) Doğu Tur'u (*C. cylindricornis*), (d) markhor (*C. falconeri*), ve (e) bezoar-tipi (*C. aegagrus*). Julie Dlugos tarafından resmedilmiştir (Pidancier ve ark., 2006).

Hayvan türlerinin filogenetik analizlerinde mitokondrial DNA'nın Sitokrom-*b* ve D-loop bölgeleri sıklıkla tercih edilmektedir (Irwin ve ark., 1991; Hiendleder ve ark., 1998; Guiffra ve ark., 2000; Luikart ve ark., 2001). Bu iki bölgenin, keçilerin evciltilmesi ile ilgili tarihin aydınlatılmasında büyük önemi vardır ve bu amaçla birçok çalışmada kullanılmıştır. Keçilerde D-loop bölgesi ile ilgili olarak Manceau ve ark., (1999); Luikart ve ark., (2001); Mannen ve ark., (2001); Sultana ve ark., (2003); Sultana ve Mannen, (2004); Joshi ve ark., (2004); Chen ve ark., (2005); Pereira ve ark., (2005); Sardina ve ark., (2006); Fernandez ve ark., (2006); Naderi ve ark., (2007); Naderi ve ark., (2008) ait çalışmalar ile Sitokrom b bölgesi ile ilgili olarak da Manceau ve ark., (1999); Chen ve ark., (2006); Pidancier ve ark., (2006) ait çalışmalar literatüre katkıları açısından önemlidirler.

D-loop, keçilerde yaklaşık 140 değişken bölge ile en fazla varyasyonun görüldüğü bölgedir. Bu bölgenin analizi ile ırklar arasındaki ayrım daha belirgin olarak filogenetik ağaca yansımaktadır. Sitokrom-*b* ise yaklaşık 50 değişken bölge kapsamakta ve bu gen bölgesinde bulunan kodonlardaki 3.baz değişimi ile şekillenen suskun mutasyonlar yardımıyla ırkların birbirlerinden ayrılmaya başladıkları zaman ortaya konulabilmektedir. En yakın ortak ata zamanı (the time to the most recent common ancestor, TMRCA) adı verilen bu analiz ile sessiz mutasyonların popülasyonlardaki birikimi incelenmekte ve herbir mutasyonun oluşum hızı gözönüne alınarak geriye doğru yıl hesabı yapılabilmektedir (Luikart ve ark., 2001; Joshi ve ark., 2004).

1.5. Evcil Keçinin Tarihi

Boynuz yapısı ve yayılım alanları göz önüne alınarak evcil keçilerin atası belirlenmeye çalışılmaktadır. Bazı yazarlara göre evcil keçinin (*Capra hircus*) 5 yabani keçi türünden köken aldığı ifade edilmektedir. Bunlar *C. ibex*, *C. prisca*, *C. caucasica*, *C. aegagrus* (bezoar) ve *C. falconeri* (markhor)'dur (Batu, 1951). Bazı yazarlar ise evcil keçinin 3 yabani keçi türünden köken aldığını ifade etmekte ve bunların *C. aegagrus*, *C. falconeri* ve *C. prisca* olduğunu belirtmektedir (Akçapınar,

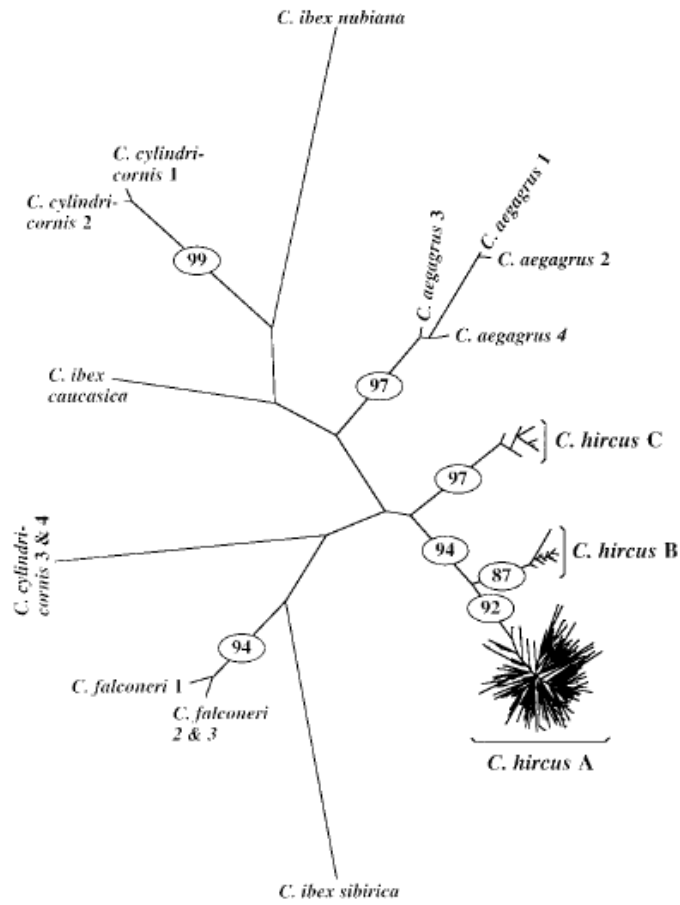
1994; Yarkın, 1965). Bu keçilerin kendi aralarındaki çiftleştirilmelerinden fertil dölleri alınabilmektedir. Hibridlerin fertil olması 3 keçi yaban keçisini de evcil keçinin atası olması ihtimalini arttırmaktadır. Evcil keçinin tarihi ve kökenine yönelik ilk moleküler çalışmayı yapan Takada ve ark., (1997) bezoarın coğrafi dağılımı ve morfolojik özellikleri ile D-loop ve Sitokrom-*b* dizi analizi sonuçlarına bakıldığında evcil keçinin atası olma ihtimalinin yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Zoolojik sınıflandırma ile *Capra* cinsine ait yaban keçiler Çizelge 1.4’de verilmiştir.

Çizelge 1.4 *Capra* cinsi altındaki türlerin klasik sınıflandırması (Shackleton, 1997).

— Cins:	
Capra	
— Tür:	
Yaban keçisi (Bezoar İbex)	<i>Capra aegagrus</i>
Batı Kafkas Tur’u	<i>Capra caucasica</i>
Doğu Kafkas Tur’u	<i>Capra cylindricornis</i>
Markhor	<i>Capra falconeri</i>
Alpine İbex	<i>Capra ibex</i>
Nubian İbex	<i>Capra nubiana</i>
Spanish İbex	<i>Capra pyrenica</i>
Siberian İbex	<i>Capra sibirica</i>
Walia İbex	<i>Capra walie</i>
Evcil keçi	<i>Capra hircus</i>

Evcil keçilerin genetik yapısını araştıran en önemli genetik çalışma Luikart ve ark. (2001) tarafından yapılmıştır ve materyal olarak eski dünyadan (Avrupa, Asya, Afrika) 88 ırkı temsil eden örnekleri kapsamaktadır. Bu çalışma, keçilerin filogenetik tarihini anlayabilmek için mitokondrial DNA’nın (mtDNA) en değişken bölgesi olan ve D-loop kontrol bölgesinde bulunan 1. çokdeğişken bölgenin (1. hypervariable region, HVR-1) dizi analizini kapsamaktadır ve coğrafi olarak ırklar arası ilişkilere bakılmıştır. Elde edilen veriler, keçilerde evciltmenin tarihi ve ırkların ortaya çıkışı için önemli bir kilometre taşı olduğu söylenebilir. Bu çalışmada (Luikart ve ark., 2001); Avrupa, Asya, Afrika, Ortadoğu ve Yakındoğu’dan 44 farklı şehirden

toplanan 406 evcil ve 14 yaban keçisine ait materyaller incelenmiş ve ayrıca mtDNA haplogrupların ilk ayrıldığı (farklılaştığı) zamanı hesaplamak için tüm Sitokrom-b geninin dizi analizi yapılmıştır. Elde edilen dizi analizi sonuçları komşu birleştirme analizi (Neighbour Joining) ve çift grup aritmetik ortalama metodu ve gruplandırma analizi (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic mean, UPGMA) ile incelenmiş, her iki analiz de benzer görüntüyü vermiştir. Çalışma sonucunda belirlenen 3 haplogrubun (A, B ve C) 200.000 yıl önce birbirlerinden farklılaştıkları ve bundan binlerce yıl sonra evciltmeye farklı zamanlarda, farklı yerlerde katılarak yayılım gösterdiklerini belirlemişlerdir (Luikart ve ark., 2001). Şekil 1.10'da görülen büyük yıldız-şekilli küme (*C.hircus A*) 316 mtDNA tipini içermektedir. Daha küçük olan diğer iki hat ise (*C.hircus B* ve *C*) sırasıyla, sadece 8 ve 7 mtDNA tipi içermektedir. *C.hircus B* sadece doğu ve güney Asya'da görülürken, *C.hircus C* Moğolistan, Slovenya ve İsviçre'den alınan örneklerde görülmüştür. Evcil keçiye en yakın yaban keçisi *C. aegagrus* olarak belirlenirken (ortalama 61,3 baz değişimi), ikinci benzer dizin *C. cylindricornis*'de (ortalama 84,5 baz değişimi) görülmüştür.

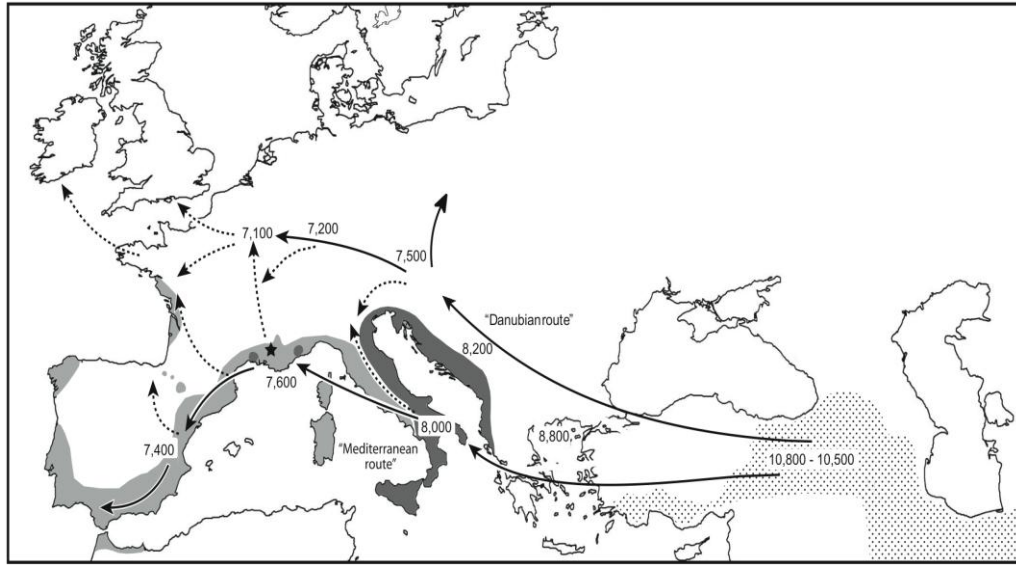


Şekil 1.10. Keçide mtDNA haplotipleri ve komşu birleştirme analizleri (Luikart ve ark., 2001).

Elde edilen veriler, keçinin birden fazla anasal orjinden köken aldığı (parafiletik) ya da ilk evciltmenin ardından diğer haplogrupların introgresyonu (gen havuzuna dahil olma) olduğu düşüncelerini pekiştirmektedir. Bu bulgular ışığında yanlış eşleşme dağılım analizi de yapılmış ve bu sonuçlardan hareketle introgresyon sırası için bir varsayım üretilmiştir. Bu varsayıma göre; 10.000 yıl önce ilk evciltmenin A haplogrubundan bir dişi hayvanla başladığı, bundan 6000 yıl sonra C haplogrubu ve 2000 yıl sonra da B haplogrubundan dişi hayvanların evciltmeye dahil edildiği düşünülmektedir. Ayrıca yine bu çalışmaya göre, genetik çeşitliliğin daha çok ırklar içinde olması ve coğrafi farklılık göstermemesi, keçilerin kıtalar arası yoğun bir şekilde yer değiştirmelerinin bir sonucu olabileceği şeklinde yorumlanmıştır. Sığırlarda total mtDNA varyasyonunun % 84'ü kıtalararası farklılıktan gelirken, bu değer keçilerde sadece %10'da kalmaktadır. Ancak bu

önemli araştırmada varılan bir diğer sonuç da, özellikle evciltme bölgesinden yapılan örnekleme sayısının artırılması durumunda keçilerde evciltmenin tarihini değiştirebilecek sonuçlara varılabileceğidir (Luikart ve ark., 2001). Bu önemli çalışmanın ardından evcil keçi ırklarında A, B ve C haplogruplarına ek olarak Joshi ve ark. (2004) tarafından D haplogrubu, Sardina ve ark. (2006) tarafından F haplogrubu, Naderi ve ark. (2007) tarafından G haplogrubu olduğu da bildirilmiştir. Ancak bu haplogrubu taşıyan örnek sayıları yetersiz olduğu için, gen havuzuna introgresyon zamanının hesaplanmasında kullanılan uyumsuzluk dağılım analizinden tutarlı sonuçlar alınamamıştır (Naderi ve ark., 2007).

Fernandez ve arkadaşlarının (2006) Fransa'da neolitik radyoizotop işaretleme ile tarihlendirdikleri ve Neolitik döneme ait olduklarını bildikleri yaban keçisi örneklerinde yaptıkları bir diğer çalışmada sunduğu bilgiler açısından ayrı bir öneme sahiptir. Bu çalışma ile adı geçen Neolitik göç rotalarından özellikle Akdeniz yoluyla olan dağılımın önemli olduğu ve ilk evciltmeye katkıda bulunan haplogrupların A ve C hatları olduğu hipotezi ortaya atılmıştır (Şekil 1.11).



Şekil 1.11. *C. aegagrus*'un Neolitik dönemde evciltme bölgesinden, Tuna ve Akdeniz rotasıyla batıya doğru dağılımı (Fernandez ve ark.,2006).

Fernandez ve ark. (2006) tarafından bulunan bu sonuç işaret ettiği iki nokta açısından önemlidir. Birincisi evciltmenin olası ilk merkezlerini ikiye indirmesidir

(ya Türkiye ya da İran). Her iki bölgeden de Akdeniz yoluyla Avrupa'ya Neolitik göçler olmuştur. İkincisi ise diğer hatların evciltmeye katılması Avrupa'ya neolitik göçlerin olduğu dönemden sonradır. Çünkü 2007 yılında Naderi ve arkadaşlarının ağırlıklı olarak A haplogrubunu ortaya koyduğu Güney Avrupa'da incelenen antik kemikler evcil keçi ırklarında görülmekte olan A, B, C, D, F ve G haplogruplarından sadece ikisini (A ve G) taşımaktadır. Bu haplogrupların daha sonra yine Türkiye ya da İran'daki evciltme merkezlerinde mi gen havuzuna katıldıkları yoksa Pakistan, Hindistan gibi diğer türlerin (sığır, manda vb.) evciltme merkezi olan bölgelerden mi dahil oldukları hala tam olarak net değildir.

MacHugh ve Bradley (2001) tarihte önemli rol oynamış evciltme bölgelerinden daha fazla örneklem ile daha farklı sonuçlar elde edilebileceğini bildirmişlerdir. Naderi ve ark. (2007) tarafından yapılan çalışmada, Luikart ve ark. (2001) çalışmasında kullanılan ve sadece A haplogrubu bulunan ırklarda ayrıca D haplogrubunun da bulunduğu gösterilmiştir. Bu sonuç, daha fazla sayıda örneklemle çalışmanın önemini göstermesi açısından önemlidir.

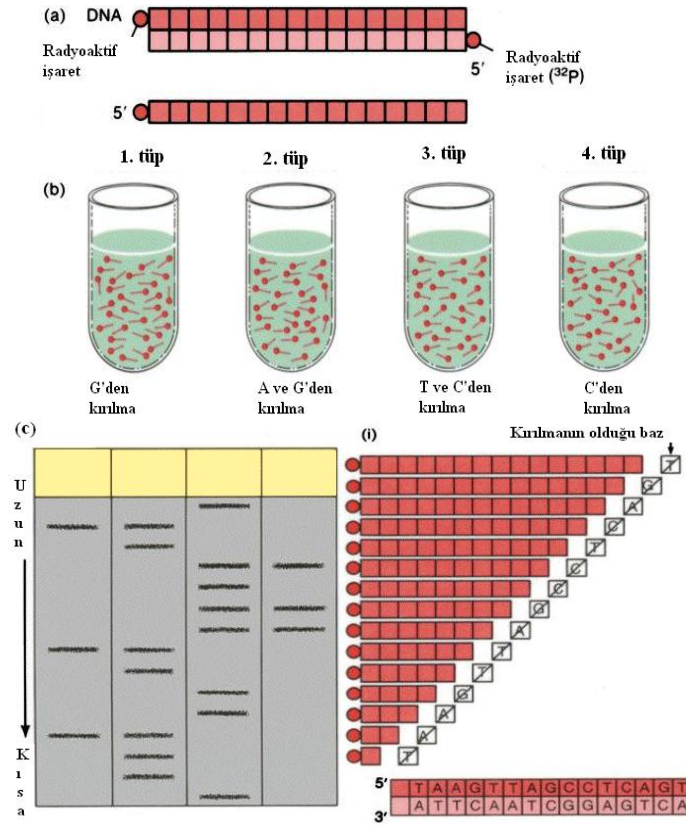
1.6. Filogenetik Çalışmalarda Kullanılan Teknikler

Filogenetik teriminin sözlük anlamı, bir türün ya da yüksek taksonomik grupların soy gelişimi ve evrim geçmişi (Türk Dil Kurumu, TDK; 2008). Bir grubun evrimsel tarihi onun Filogenisi olarak adlandırılmaktadır. Türler arasındaki ilişkiler, ırkların tarihi ve genetik çeşitlilik çalışmaları ise filogenetik çalışmalardır ve populasyonlar arasındaki fenotipik ve genetik farklılıkların belirlenmesine dayanmaktadır (Freeman ve Herron, 2007). Bu amaçla filogenetik çalışmalarda önceleri ölçülebilir morfolojik karakterler, allel çeşitliliği gösteren protein ve allozimler kullanılırken, 1987 yılında Polimeraz Zincir Reaksiyonunun (PZR; Polymerase Chain Reaction, PCR) yayınlanmasının ardından üzerindeki gen bölgeleri polimorfizmlerine dayanan yeni teknikler daha fazla tercih edilir olmuştur. Bu tekniklerin en sık kullanılanları Kesilmiş Parçacık Uzunluk Polimorfizmi (Restriction Fragment Length Polymorphism, RFLP), Çoğaltılmış Parça Uzunluk Polimorfizmi (Amplified

Fragment Length Polymorphism, AFLP), Polimorfik DNA'nın Rastgele oğaltılması (Random Amplified Polymorphic DNA, RAPD), 2-5 baz çiftinin değişken sayıda tekrarını ifade eden mikrosatelit belirteçleri, Tekli Nükleotit Polimorfizmi (TNP; Single Nucleotide Polymorphism, SNP) ve DNA dizi analizi teknikleridir (Hartl, 2000).

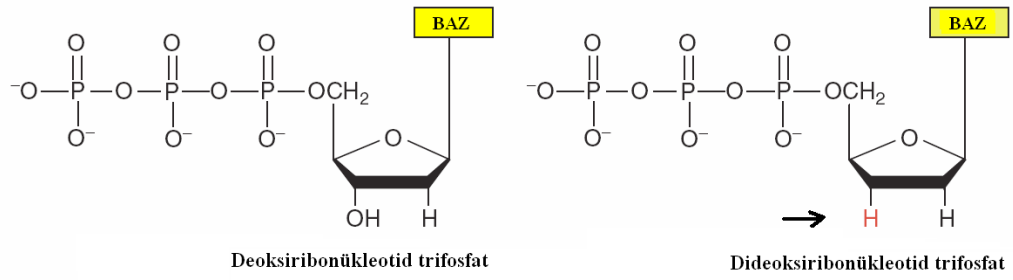
DNA dizi analizi diğer tekniklere oranla, popülasyonların farklılaşmasında rol oynayan mutasyonları daha iyi ortaya koyabildiği ve mutasyon oluşum hızını kullanarak popülasyonların ayrıldığı zamanın hesaplanmasına katkı sağladığı için filogenetik çalışmalarda tercih edilmektedir. Bu amaçla baba ile ilgili geçmişi ortaya koyan Y kromozomu genleri ve ana ile ilgili geçmişi ortaya koyan mitokondri dizileri sıklıkla kullanılmaktadır (Freeland, 2005).

DNA dizi analizinde iki metot uygulanmaktadır. Bunlardan birisi Maxam ve Gilbert'in (1977) yılında yayınladıkları kimyasal kırılma yöntemidir (Reece, 2004). Bu metot baz-spesifik-kimyasallar yardımıyla, DNA'da yer alan bazı nükleotit bölgelerinde şeker-fosfat iskeletinde rastgele kırılmalar oluşturulmasına dayanmaktadır. Bu amaçla hidrazin, dimetil sülfat ya da formik asit kullanılarak bazlar değişikliğe uğratılmakta ve daha sonra piperidin yardımıyla değişikliğe uğramış nükleotitlerin bulunduğu noktalardan DNA zinciri kırılmaktadır (Maxam ve Gilbert, 1977; Ausubel ve ark., 2002). Bu yöntemde, nükleotit dizisi saptanacak olan DNA önce 5' ucundan ³²P ile işaretlenmektedir. Daha sonra DNA'nın ayrı ayrı A, C, G ya da T nükleotitlerinden kırılması için dört ayrı tüpte değişime uğrama ve kırılma tepkimeleri gerçekleştirilmekte ve böylece her tüpte farklı nükleotitlerden kırılmış boyları birbirinden farklı DNA parçaları elde edilmektedir. Elde edilen DNA parçacıkları, yüksek çözünürlükte poliakrilamid jel elektroforezi ile küçükten büyüğe doğru ilerleyerek birbirlerinden ayrılmakta ve otoradyografi uygulanarak DNA bantları görünür hale getirilmektedir (Şekil 1.12). Zararlı kimyasalların kullanıldığı bu yöntem bir tepkimede en fazla 100 baz okumasıyla sınırlı kalmaktadır (Ausubel ve ark., 2002; Klug ve Cummings, 2002).



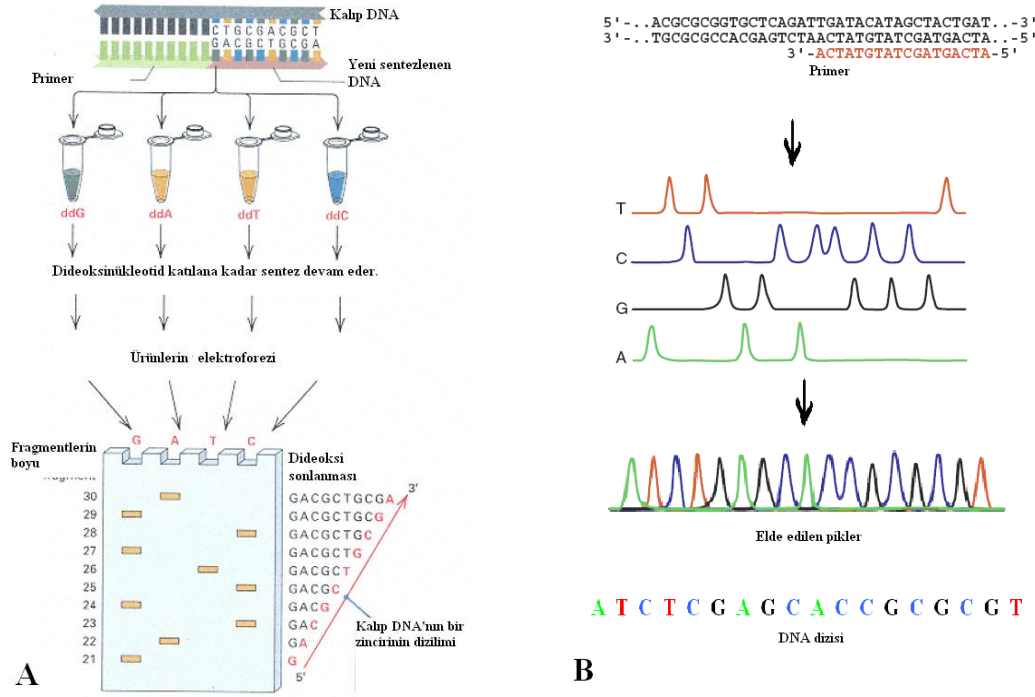
Şekil 1.12. Kimyasal dizi analizi yönteminin aşamaları; (a) radyoaktif işaretlemeyi, (b) farklı nükleotitlerden kırılma tepkimelerini (c) ise elde edilen farklı boydaki DNA parçacıklarının jelde görüntülenmesini göstermektedir. (Usser, 2000).

Bir diğer ve daha sık kullanılan dizi analizi tekniği ise Sanger ve ark. (1977) dideoksi dizi sonlandırma (chain termination) reaksiyonudur. Bu teknik, dNTP'lerin yanı sıra 3'-hidroksil (OH) grubu olmayan 2',3'-dideoksiribonükleozit trifosfatların (ddNTP) ve DNA Polimeraz enziminin yardımıyla DNA moleküllerinin 5'→3' yönünde uzatılmasına dayanmaktadır (Ausubel ve ark., 2002). Reaksiyon sırasında DNA polimeraz tarafından sentezlenen PZR ürününe herhangi bir ddNTP'nin katılması ile 3' pozisyonunda serbest hidroksil grubu olmadığından yeni bir baz eklenemez ve sentez devam etmez (Şekil 1.13). Bunun sonucu olarak da serbest Hidroksil grubu olmayan A,G,T ve C bazlarına bağlı olarak değişen boylarda PZR ürünleri oluşmaktadır (Hartl ve Jones,1998; Klug ve Cummings, 2002; Reece, 2004).



Şekil 1.13. Deoksiribonükleotid trifosfat ve dideoksi türevinin kimyasal yapısı (Reece, 2004)

Sanger ve arkadaşları (1977) tarafından geliştirilen metotta kalıp DNA, bir primer, DNA polimeraz, üç işaretlenmemiş dNTP, bir işaretli dNTP ve işaretli dNTP'nin ddNTP formunu içeren 4 ayrı tüp içerisinde (A tüpü, G tüpü vb.) dört ayrı PZR reaksiyonu kurulmaktadır. Reaksiyonda primer tek zincirli DNA kalıbına bağlanıp, ddNTP formdaki baz eklenene kadar tek bir baz yönünden işaretli halde uzamaktadır. PZR ürünlerinin büyüklüğünün belirlenmesi, yüksek çözünürlüklü denatüre edici poliakrilamid jel elektroforezinde yapılmaktadır. Elektroforez mobilitesi en yüksek olan bant en küçük DNA fragmentidir ve hangi ddNTP ile oluşturulmuş ise primerden sonra gelen ilk baz odur. Mobilitesi ilk banta en yakın olan ikinci bant ise ikinci bazı göstermektedir. Böylece aşağıdan yukarıya doğru mobilitesi giderek düşen, baz uzunluğu ise giderek artan bantların hangi ddNTP ile oluşturuldukları belirlenmekte ve 5' 3' yönüne doğru olan baz dizilimi okunmaktadır (Şekil 1.14.A) (Hartl ve Jones, 1998; Klug ve Cummings, 2002; Reece, 2004). Daha sonraki yıllarda geliştirilen ve artık daha yaygın kullanılan dideoksi metodunda ise tek tüp içinde dört dNTP'de reaksiyona katılmakta ve farklı renk floresan boyayla işaretlenmiş ddNTP'ler de reaksiyona girmektedirler. Floresan işaretli ddNTP'ler kapiller elektroforez cihazlarında bulunan fotodetektörlerle algılanıp her bir baz farklı renkte pik verecek şekilde görsel olarak kaydedilmekte ve böylece hassas bir şekilde dizileme yapılabilmektedir (Şekil 1.14.B) (Hartl ve Jones, 1998; Reece, 2004).



Şekil 1.14. Eski (A) ve yeni (B) dideoksi metotlarının şekil üzerinde gösterimi (Hartl ve Jones (1998) ve Reece, (2004)'den alınarak düzenlenmiştir)

Kapiller elektroforez cihazlarında dideoksi metodu ile yapılan dizi analizleri kromotogramlar şeklinde ve "SCF, ABI, AB1 veya AB" gibi veri formatlarında kaydedilirler. Bu kromotogramlar, floresan işaretli bazlara ait piklerden oluşan elektroferogram görüntülerini içerdikleri gibi bazların dizilimini de vermektedirler. Bu formatları açabilen bilgisayar yazılımları sayesinde incelenen kromotogramlar genellikle Fasta formatında kaydedilmekte ve çeşitli programlar kullanılarak populasyon istatistiği parametreleri ve filogenetik analiz parametrelerinin belirlenip değerlendirilmesinde kullanılmaktadırlar. Bu amaçla sıklıkla aşağıdaki sıra izlenmektedir:

- 1) Dizilerin hizalanması
- 2) Nükleotit değişimlerinin (mutasyonların) saptanması ve farklılıkla ilgili parametrelerin hesaplanması
- 3) Filogenetik ağacın oluşturulması
- 4) Filogenetik ağacın çeşitli parametreler açısından değerlendirilmesi
- 5) Dizi analizine dayalı filogenetik çalışmalarda kullanılan istatistik metotlarla

yorumlanması.

1.7. mtDNA Dizi Analizine Dayalı Filogenetik Çalışmalarda Sıklıkla Kullanılan İstatistik Metotlar

1.7.1. Nükleotit Çeşitliliği (π)

Populasyonlar içinde, populasyonlar arasında ve türler arasında bulunan nükleotit varyasyonunu anlaşılır kılmak moleküler populasyon genetiğinin temelidir. İki tip ölçüm metodu bulunmaktadır; bunlardan birisi varyasyon gösteren nükleotit oranı diğeri ise nükleotit düzeyinde populasyonların çeşitliliğidir.

Nükleotit varyasyonunun ölçümünün en basit yolu incelenen bölgede değişken nükleotit bölgelerinin belirlenmesidir ve incelenen bir DNA dizisi ise ayırdedici bölgelerin diziyi oluşturan toplam nükleotit sayısına bölünmesi ile bulunmaktadır. Populasyonda varyasyon oluşturan nükleotit bölgeleri oranı 1.1 numaralı denklemde verilmiştir.

$$p_s = \frac{S}{N} \quad \text{Denklem 1.1}$$

Denklemde S (segregating) ayırdedici bölgeleri, N ise diziyi oluşturan toplam nükleotit sayısını ifade etmektedir.

Bir diğerkullanım alanı bulan nükleotit varyasyonu ölçümü metodu ise sekans çiftleri arasındaki nükleotit farklılıklarının oranı belirlenerek, bu farklılıkların sekans frekanslarıyla tartılmasıdır. Çalışılan populasyondan rastgele seçilen herhangi iki DNA dizisi arasındaki ortalama nükleotit sayısı belirlenerek hesaplanır ve π Simgesi ile gösterilir. Bu istatistik değer ekolojik populasyonlar arasındaki ve içindeki çeşitliliği görmek için ve evrimsel ilişkileri belirlemek için sıklıkla kullanılır. π değeri olası bütün sekans çiftleri için hesaplanacak olursa aşağıda verilen denklem elde edilmektedir (Nei ve Kumar, 2000):

$$\hat{\pi} = \frac{n}{n-1} \sum_{ij} \hat{x}_i \hat{x}_j \pi_{ij} \quad \text{Denklem 1.2}$$

Denklemde, n belirli bir DNA bölgesi için birbirinden farklı olmak üzere toplam örnek sayısını, x_i ve x_j değerleri $i.$ ve $j.$ dizilerinin frekanslarını ifade etmektedir. π_{ij} ise $i.$ ve $j.$ diziler arasındaki her bir nükleotit bölgesi için nükleotit farklılıklarının sayısıdır.

1.7.2. Haplotip Çeşitliliği (H)

Kromozom ya da mtDNA üzerinde yakın mesafede bulunan genler ya da nükleotit bölgeleri gamete birlikte aktarılırlar ve bu bağlı bölgeler daima birlikte buldukları için Haplotip adını alırlar (Hedrick, 2005; s:8). Irkların haplotip çeşitliliği ırkları karşılaştırma açısından bilgi verici bir değerdir ve aşağıda verilen denklemle hesaplanabilir.

$$h = \frac{(1 - \sum xi^2)n}{(n-1)} \quad \text{Denklem 1.3}$$

Burada xi değeri bir haplotipin frekansını, n ise gen kopya sayısını ifade etmektedir ve mtDNA için 1'dir. (Nei and Tajima, 1981; Jobling ve ark., 2004; s:155).

1.7.3. Haplogrup Frekanslarının Belirlenmesi

Haplogrup filogenetik ağaçlarda aynı kümeye dahil olan ve ortak ataya sahip haplotipleri ifade etmektedir. Haplogruplar, harfle (A haplogrubu vb. gibi) veya harf-sayı birleşimi (R1 vb. gibi) kodlarla ifade edilmektedirler. Haplogrup frekansı bir popülasyonda bir haplogruba ait oransal frekansın ölçüsüdür ve o türe ait genetik çeşitliliği göstermektedir. Sunulan çalışmada referans diziler yardımıyla belirlenen mtDNA haplogruplarının frekansı her bir ırk için hesaplanmıştır. Frekansların hesaplanmasında aşağıda verilen denklem kullanılmıştır:

$$\text{Haplogrup frekansı}(ij) = \frac{i \text{ popülasyonunda } j \text{ haplogrubunu taşıyan toplam birey sayısı}}{i \text{ popülasyonunda toplam birey sayısı}}$$

Denklem 1. 4

1.7.4. Nükleotit Yer Değiştirme Oranları

1.7.4.1. Transisyonel ve Transversiyonel değişimler

Nükleotit yer değiştirmelerinin sayısının belirlenmesi için farklı yazarlar tarafından birçok matematiksel model oluşturulmuştur. Ancak bunlardan en çok kullanılanları Jukes-Cantor (JC69), Kimura (K80), HKY (KHY85) ve “General time-reversible” (GTR) modelleridir (Çizelge 1.7.4.1).

DNA’da nükleotit yer değişim modeli fikri ilk olarak Jukes ve Cantor tarafından 1969 yılında ortaya atılmıştır. Tek parametre modeli olarak da bilinen JC69 modeli herhangi bir DNA dizisinde nükleotit değişimleri eşit olasılıkla olmakta, her 3 nükleotitten herbiri belirli bir zaman aralığında mutlaka α frekansıya değişmektedir prensibine dayanmaktadır (Nei ve Kumar, 2000). Ancak gerçek diziler incelendiğinde değişimlerin eşit olmadığı transisyonel yani pürin/pürin (A \leftrightarrow G) ya da pirimidin/pirimidin (C \leftrightarrow T), değişimlerinin transversiyonel yani pürin/pirimidin

ya da pirimidin/pürin değişimlerine (A ya da G \leftrightarrow C ya da T) oranla daha sık olduğu görülmektedir (Nei ve Kumar, 2000). Kimura bu gözlemi dikkate alarak 1980 yılında Kimura 2 parametre modelini önermiştir. Bu modele göre her yıl için her bir nükleotit transisyon değişim oranı α 'dır ve transversiyon değişim oranı 2β olarak kabul edilir. Eğer iki dizinin birbirinden ayrıldıkları zaman (t) biliniyorsa her bir yıl için her bir bölgenin toplam yer değişim oranı ($r = \alpha + 2\beta$) kullanılarak toplam yer değişim sayısı (d değeri) aşağıdaki denkleme göre hesaplanabilmektedir (Nei ve Kumar, 2000):

$$d = 2rt = 2\alpha t + 4\beta t$$

Denklem 1. 5

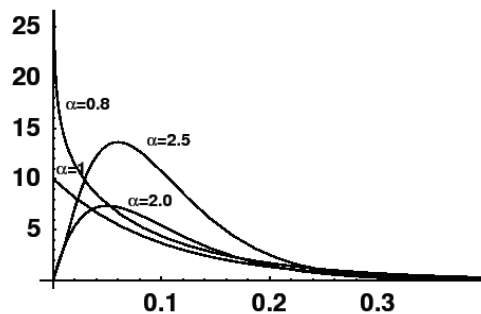
Denklemden t iki dizinin birbirinden ayrıldıkları zamanını, r her bir yıl için her bir bölgenin toplam yer değişim oranını, d toplam yer değişim sayısını ifade etmektedir.

Hasegawa, Kishino ve Yano tarafından 1985 yılında yayınlanan HKY modeli ise 6 parametrelilik model olarak kabul edilmektedir. Kimura iki parametre metodu gibi farklı transisyon ve transversiyon oranlarını kabul etmekle birlikte GC içeriği açısından da farklı hesaplamalar yapmaktadır. Tamura'nın 1992 yılında yayınladıkları model ile Tamura ve Nei'nin 1993 yılında yayınladıkları modellerde de bu metodun temel prensibinden hareket edilmiştir. Bir diğer sık kullanılan model de General time-reversible modelidir. Bu modelde sekans çiftleri için ayrı ayrı ve iki yönlü analiz yapılmakta ve 6 farklı substitusyon değişim oranı, 4 nükleotit için farklı frekans hesaplaması kullanılmaktadır. Bu sebeple, non-reversible olan diğer modellerin kullanıldığı genetik mesafe ölçümlerinde A dizisinden B dizisine elde edilen genetik mesafe ile B dizisinden A dizisine elde edilen genetik mesafe farklı olabilmektedir (Nei ve Kumar, 2000; Holsinger, 2008). En sık kullanılan modeller Çizelge 1.5'de verilmiştir.

Çizelge 1.5. En sık kullanılan nükleotit yer değişim modelleri (α ve β değişim oranlarını, g_A , g_T , g_C ve g_G nükleotit frekanslarını, a , b , c , e ve f her iki dizi açısından nükleotit frekanslarını ifade etmektedir)

	A	T	C	G
(A) Jukes-Cantor modeli				
A	-	α	α	α
T	α	-	α	α
C	α	α	-	α
G	α	α	α	-
(B) Kimura modeli				
A	-	β	β	α
T	β	-	α	β
C	β	α	-	β
G	α	β	β	-
(C) HKY modeli				
A	-	βg_T	βg_C	$\alpha_4 g_G$
T	βg_A	-	$\alpha_2 g_C$	βg_G
C	βg_A	$\alpha_2 g_T$	-	βg_G
G	$\alpha_4 g_A$	βg_T	βg_C	-
(D) General Reversible Time modeli				
A	-	ag_T	bg_C	cg_G
T	ag_A	-	cg_C	eg_G
C	bg_A	dg_T	-	fg_G
G	cg_A	eg_T	fg_C	-

İncelenen herhangi bir dizide nükleotit değişim oranlarını tanımlamak ve görselleştirmek amacıyla gamma dağılımı kullanılmaktadır (Şekil 1.15). Olası değişim oranları varyasyonuna göre çizilen eğriler " α " adı verilen gamma parametresine göre değişmektedir. Yüksek değerli parametre, iki bölge arası değişim oranındaki varyasyonun düşük olduğunu ifade etmektedir (Holsinger, 2008)



Şekil 1.15. Ortalama değişim oranı 0,1 olan eğriler için Gamma parametresi örnekleri (Holsinger, 2008'den alınmış ve düzenlenmiştir).

1.7.4.2. Suskun Bölge ve Değiştirici Bölge Değişimleri

Nükleotit yer değişimleri amino asit değişimleri ile sonuçlanmayan DNA dizisi değişimleri Suskun bölge (sinonim) baz değişimleri olarak adlandırılırken, bir amino asit değişimi ile sonuçlanan baz değişimleri ise değiştirici (non-sinonim) değişimler olarak adlandırılmaktadır (Freeman ve Herron, 2007). Suskun bölge değişimleri doğal seçilime uğrayacak bir ürün oluşturmadıklarından zaman içinde sürüklenmenin sonucu olarak artar ya da azalır. Değiştirici bölge değişimleri ise oluşan yeni amino asidin rolüne göre doğal seçim sürecinde yararlı mutasyonsa pozitif seçimle popülasyonda artmakta, zararlı mutasyon ise negatif seçimle ayıklanmaktadır (Freeman ve Herron, 2007).

1.7.5. Genetik Mesafe Ölçümü ve Kullanılan Metotlar

Popülasyonlar arasındaki genetik varyasyonun yapısı ve miktarı birçok faktörden kaynaklanabilir. Örneğin iki popülasyon aşağıdaki nedenlerden dolayı genetik olarak benzer olabilir:

1. Bir popülasyonun geçmişte iki gruba ayrılmıştır;
2. İki popülasyon arasında gen karışımı olmuştur;
3. Büyük bir popülasyonda küçük bir genetik sürüklenme olmuştur;
4. Her iki popülasyon da aynı seleksiyon etkisinde kalmıştır.

Benzer şekilde iki popülasyon aşağıdaki nedenlerden dolayı genetik olarak farklı da olabilir:

1. Çok uzun süre önce yalıtılmış ve aralarında hiç gen akımı olmamıştır;
2. Büyük bir genetik sürüklenme ile büyük farklar oluşmuştur;
3. Her iki popülasyon da farklı seleksiyon etkisinde kalmıştır.

Her iki olay için birden çok faktör de rol almış olabilir. Geçmiş ve geri döndürülemez bir tarihte yaşandığı için bunların hangisinin/hangilerinin gerçekten etkili olduğunu belirlemek oldukça zordur. Ancak popülasyonlar arasındaki benzerlik

ve farklılıklar kullanılarak populasyonlar arasındaki genetik mesafe ölçülebilmektedir (Hedrick, 2005).

En sık kullanılan genetik mesafe hesaplama metotları F_{ST} ve Nei'nin standart genetik mesafe metodu, D_a 'dır (Lavery, 2009). Bunlardan başka genetik mesafe hesaplama metotları da geliştirilmiştir. Bu metotlardan Cavalli-Sforza metodu ve Roger'ın metodu geometrik ölçüm yaparken, Nei'nin genetik mesafe metodu, Reynolds, Weir ve Cockerham'ın metodu ile Goldstein'in mikrosatellitler için oluşturduğu aşamalı mutasyon modeli (Stepwise Mutation Model, SMM) ise biyolojik varsayımla hareket etmektedir. Ayrıca SMM ve Nei'nin genetik mesafe metodu mutasyon ve genetik kaymaları göz önüne alırken, diğer metotlar sadece genetik kaymaya dayanan mesafe ölçümünü kullanarak hesaplama yaparlar (McDonald, 2008).

1.7.5.1. Nei'nin "Standart Genetik Mesafe" ölçümü

Yeni genetik mesafe ölçüm metotları ortaya konulmuş olsa da hala sıklıkla Nei'nin (1972) "Standart Genetik Mesafe" formülü kullanılmaktadır. Bu formüle göre nötralite (ayrıştırıcı seleksiyonun yokluğu) ve genetik kayma vardır ve yeni mutasyonlar zamanla paralel olarak artan yeni allellerle sonuçlanır (Freeland, 2005; s:110). Nei'nin standart genetik mesafe ölçümü için önce 1.6 numaralı denklem kullanılarak n kadar allele sahip bir lokus için genetik benzerlik (I_N) hesaplanır.

$$I_N = \frac{\sum_{i=1}^m (p_{ix} p_{iy})}{\sqrt{(\sum_{i=1}^m p_{ix}^2)(\sum_{i=1}^m p_{iy}^2)}} \quad \text{Denklem 1.6}$$

P_{ix} ve P_{iy} değerleri x ve y populasyonlarında i . allelin frekansını ifade etmektedir. I değeri 0 ile 1 arasında bir değer alabilir. I değerinin 0 olması durumunda populasyonlar arasında paylaşılan allel yoktur, 1'e eşit olması durumunda ise iki populasyon aynı allel frekansına sahiptir şeklinde yorumlanabilir (Jobling ve ark.,

2004, s:166–168; Freeland, 2005; Hedrick, 2005). Buradan yola çıkılarak iki populasyon arasındaki genetik mesafe aşağıdaki denklemle hesaplanabilir:

$$D_N = -\ln(I_n) \quad \text{Denklem 1.7}$$

Bu formüle dayanan Nei'nin D_{xy} ve D_a genetik mesafe metotları sıklıkla kullanılmaktadır. D_{xy} iki grup arasındaki her bölgede meydana gelen nükleotit yer değiştirme sayılarının ortalamalarını kullanırken, (D_a) toplam nükleotit yer değiştirme sayılarını temel almaktadır (Nei ve Kumar, 2000).

Eğer populasyonlar arasında gen akımı yoksa genetik mesafe zamana (t) paralel olarak ve mutasyon oranıyla ilişkili olarak artmaktadır. Bu bağlamda, genetik mesafe aşağıda verilen Denklem 1.8 ile de hesaplanabilir ve moleküler saat hesaplamalarında kullanılabilir. Çünkü herhangi iki populasyon ne kadar uzun süre birbirlerinden ayrı kalırlarsa, DNA'ları üzerinde meydana gelen mutasyonlardan ötürü ortaya çıkan genetik farklılıklar o kadar çok olmaktadır.

$$D_N = 2ut \quad \text{Denklem 1.8}$$

Burada D_N genetik uzaklığı, u her yıl için mutasyon oranını ve t ise iki populasyonun farklılaşma zamanını ifade etmektedir (Jobling ve ark., 2004, s:168).

1.7.5.2. Wright'ın F istatistiği

Fiksasyon indeksi adı da verilen Wright'ın F istatistiği (F_{ST}) allel frekanslarını temel alan ve klasik belirteçler yardımıyla alt populasyonlar arasındaki genetik mesafenin ölçümünde sık kullanılan bir istatistiktir. Aynı zamanda gen akımı veya izolasyon olup olmadığının test edilmesini sağlamaktadır (Jobling ve ark., 2004). F_{ST} değerinde "S" harfi alt populasyonları (subpopulasyon) ifade ederken, karşılaştırıldığı toplam populasyon varyansı ise "T" harfi ile gösterilmektedir (Hedrick, 2005; s:488).

Populasyonlar arası farklılaşmaya sebep olan genetik kayma yüksek olduğunda F_{ST} de bu oranda yüksek olurken, iki populasyon arası gen akışı fazlaysa (ortak ataya sahiplerse veya geçmişte iki populasyon arası gen akımı olmuşsa) F_{ST} de bu oranda küçük olmaktadır ($F_{ST} \approx 0$). F_{ST} değerleri 0 ve 1 arasında değişmekte ve daima (+) değerler almaktadır. F_{ST} değerinin hesaplanması için sıklıkla aşağıdaki denklem kullanılmaktadır (Hedrick, 2005; s:491; Allendorf ve Luikart, 2007; Lavery, 2009).:

$$F_{ST} = 1 - (H_S/H_T) \quad \text{Denklem 1.9}$$

Formülde geçen H_S değeri alt populasyon için beklenen heterozigotluk, H_T değeri ise tüm populasyon için beklenen heterozigotluk olarak hesaplanmaktadır. Ayrıca F_{ST} değeri hesaplanmasında aşağıda verilen denklem de kullanılabilir:

$$F_{ST} = V_p / p(1 - \bar{p}) \quad \text{Denklem 1.10}$$

Burada geçen p değeri iki populasyon arasındaki gen frekansları ortalamasını, V_p değeri ise iki populasyon arasındaki gen frekansları varyansını ifade etmektedir (Jobling ve ark., 2004, s:168; Hedrick, 2005; s:490).

Mikrosatellit ve Allozim gibi diploid verilerin kullanıldığı çalışmalarda F_{ST} 'nin aldığı değer 0,0 – 0,05 aralığında ise düşük düzeyde yani iki populasyon genetik olarak oldukça benzer, 0,05 – 0,25 aralığında ise orta düzeyde, 0,25'in üstünde ise yüksek düzeyde genetik farklılaşma anlamına gelmektedir. Ancak genetik farklılaşma ya da mesafenin değerlendirilmesinde istatistiki önemlilik testi de baz alınmalıdır. Bu amaçla permütasyon testi ile yani 1.000 hatta 10.000 defa genotipler ortak havuzda karıştırılıp tekrar örnekleme yapılması ile değerlendirilmelidir (Freeland, 2005; s:114).

Ancak mitokondrial DNA gibi haploid verilerin kullanıldığı çalışmalar için de F_{ST} 'nin uyarlanma zorunluluğu doğmuş ve böyle verilerde haplotip çeşitliliğini (H) temel alan bir denklem oluşturulmuştur. Haplotip çeşitliliği, bir populasyonda

bulanan haplotiplerin varyasyonunun ölçütüdür ve p_i değeri i haplotipinin popülasyondaki frekansı olmak üzere aşağıda verilen denklem ile hesaplanır (Lavery, 2009):

$$H = 1 - \sum_{i=1}^j p_i^2 \quad \text{Denklem 1.11}$$

Elde edilen toplam haplotip çeşitliliği 1.9 nolu denklemde toplam beklenen heterozigotluk (H_T) yerine, popülasyon haplotip çeşitliliği ise popülasyondan beklenen heterozigotluk yerine yerleştirilerek F_{ST} hesaplanabilmektedir (Lavery, 2009).

Ayrıca alt popülasyonlar ve toplam popülasyon içinde Hardy-Weinberg (HW) dengesinden sapmayı hesaplamak amacıyla F_{IS} ve F_{IT} değerleri de kullanılmaktadır. Bunlardan elde edilen pozitif değerler heterozigot azlığını, negatif değerler ise heterozigot fazlalığını göstermektedir. Tanımlarında kullanılan “ I ” harfi bireyleri (individual) ifade etmektedir (Hedrick, 2005; s:488).

Sadece F değeri ile de gösterilebilen F_{IS} (kanyaklılığı katsayısı), bir birey tarafından alt popülasyonun varyansında yapılan katkıyı göstermektedir. Değer aralığı (+1) ve (-1) arasında değişmektedir (Lavery, 2009). Yüksek F_{IS} değeri alt popülasyonda kanyaklılığının artışı göstermekte ve bir ırk için ise ırk içi HW dengesinden sapmayı vermektedir (Hedrick, 2005; s:488). F_{IS} değeri aşağıdaki denklemle hesaplanabilmektedir:

$$F_{IS} = (H_S - H_o) / H_S \quad \text{Denklem 1.12}$$

Formülde geçen H_S değeri alt popülasyon için beklenen heterozigotluk, H_o değeri ise birey için gözlenen heterozigotluk olarak hesaplanmaktadır (Freeland, 2005; s:112).

F_{IT} değeri ise incelenen tüm populasyonlar için fiksasyon indeksini ve kanyakınlığı katsayısını ifade etmekte ve Denklem 1.13 ile hesaplanmaktadır.

$$F_{IT} = (H_T - H_I) / H_T \quad \text{Denklem 1.13}$$

F_{IT} değeri, populasyonlar içindeki rastgele olmayan çiftleşmeler (F_{IS}) ve populasyonlar arasındaki rastgele sürüklenmelerin (F_{ST}) katkılarıyla oluşmaktadır. Bu sebeple aşağıdaki denklem sadeleştirilerek yeni bir F_{ST} denklemi de elde edilebilir (Hedrick, 2005; s:488):

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

$$F_{ST} = \frac{F_{IT} - F_{IS}}{1 - F_{IS}} \quad \text{Denklem 1.14}$$

Ayrıca Weir ve Cockerham'ın (1984) theta, Nei'nin (1973) G_{ST} , Lynch ve Crease'in (1990) N_{ST} , Slatkin'in Rst (1995), Goldstein'in (1995) $\delta\mu^2$ (delta mü) ve Excoffier'in (1992) ϕ_{ST} değerleri de F_{ST} analogu olarak genetik mesafe hesaplanmasında kullanılan metotlardır (Jobling ve ark., 2004; Meirmans, 2006; McDonald, 2008).

1.7.6. Mantel Test Analizi

Mantel test, farklı değişkenler arasında ilişki olup olmadığının test edilmesinde kullanılan metotlardan birisidir. Genetik çalışmalarda coğrafi uzaklık matrislerinin F_{ST} gibi genetik uzaklık matrisleri veya morfolojik ölçümler gibi değişkenlerin matrisleri ile karşılaştırılmasında sıklıkla kullanılmaktadırlar. Analizin sıfır hipotezi (H_0) incelenen matrisler arasında ilişki olmadığı ve herhangi bir bağıntı bulunmadığıdır. Test 1.000 ile 1.000.000 arasında değişebilen permutasyon değerleri altında elde edilen regresyon değeri (r) ve X değişkeni yoluyla Y değişkenini belirleme katsayısının (r^2) ölçülmesine dayanmaktadır. R değeri +1 ve -1 arasında

değişmektedir. -1 güçlü bir negatif korelasyon durumunu, 0 korelasyon un olmadığını ve +1 ise güçlü bir pozitif korelasyonu ifade etmektedir (Manly, 2004; s:70-71)

Eğer güven eşiği altındaki (r) değeri 1'e yakınsa matrisler arası bir bağıntıdan söz edilebilmekte ve karşıt hipotez (H_1) kabul edilmektedir. Mantel test hesaplanmasında 1.15 numaralı denklem kullanılmaktadır (Manly, 2004; s:70-71).

$$r = \frac{\sum \sum stdA_{ij} stdB_{ij}}{n - 1} \quad \text{Denklem 1.15}$$

Burada "A" ve "B" uzaklık matrislerini, "std" standart sapmaları, "n" ise toplam örnek sayısını ifade etmektedir.

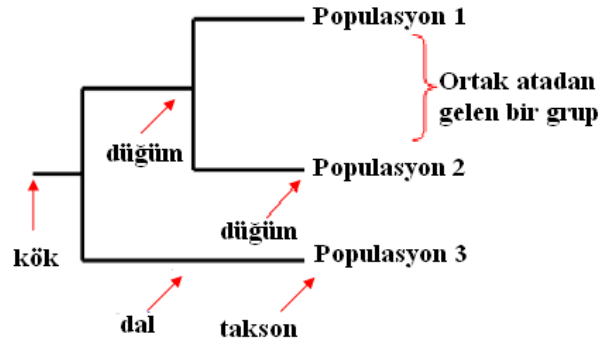
1.7.7. Filogenetik Ağaç Oluşturma Metotları

Populasyonların veya türlerin evrimsel akrabalığını gösteren soy ağaçlarına Kladogram veya Filogenetik Ağaç" adı verilmekte ve bir grubun evrimsel tarihinin (filogenisinin) grafik şeklinde aktarımı için filogenetik ağaçlar kullanılmaktadır. Filogenetik ağaçlar, evrimsel ve tarihsel gelişimin görsel olarak gösterilmesinde sıklıkla kullanılan dizileme çalışmaları ile elde edilen bilginin özetlenmesini ve görsel olarak anlaşılabilmesini sağlamaktadır (Freeman ve Herron, 2007).

Populasyonlar arasındaki gen akımı ile farklı ve eski haplotipler arasında rekombinasyonlar da şekillenebilmektedir. Bu durum filogeniler arasında dairesel ya da ağsı bir görüntüye neden olmaktadır ve bu nedenle böyle filogenilere ağ ya da network adı verilmektedir. Mesafe ya da dizi bazlı olarak çizilebilen tek bir network birden çok ağacı içerebilmekte ve verileri daha iyi özetleyebilmektedir (Jobling ve ark., 2004).

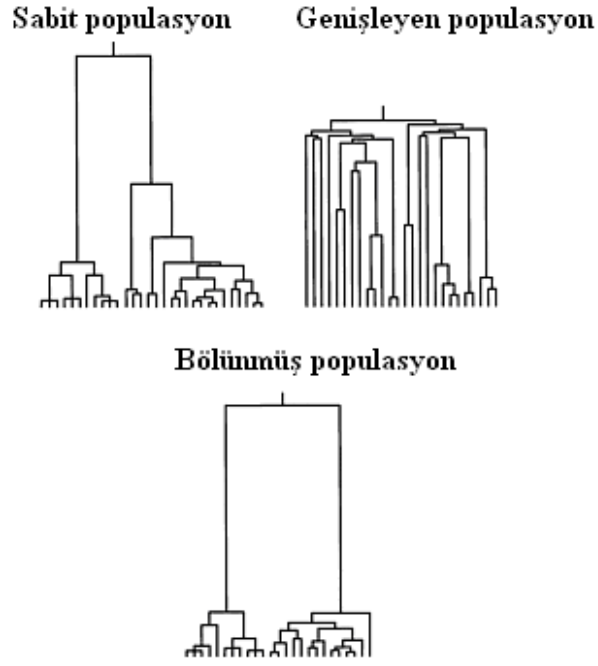
Filogenetik ağaçların dayandıkları temel prensip, benzer nükleotit dizilimine sahip bireylerin farklı nükleotit dizilimine sahip bireylere göre, daha yakın zaman ait ortak bir ataya sahip olduklarıdır. Filogenetik ağaçtaki yatay çizgiler nükleotit farklılığı yüzdesini göstermektedir. Dikey çizgiler ise ağacın görsel hale getirilmesi için kullanılmakta ve bir anlam ifade etmemektedir (Freeman ve Herron, 2007).

Filogenetik ağaçlar dallanma noktaları yani düğümler (node) ve düğüm noktalarına bağlanan dallardan (branch) oluşmaktadır (Şekil 1.16). Sıklıkla dalların uzunlukları bağlandıkları taksonların uzaklığını göstermektedir (Hedrick, 2005).



Şekil 1.16. Temel filogenetik ağaç yapısı

Filogenetik ağacın dallanma yapısına Topoloji adı verilmektedir. Ağaçlar genel olarak köklü (rooted) ve köksüz (unrooted) olarak ayrılmaktadır. Köklü ağaçlarda paleontolojik olarak belirlenen bir dış grup ata hat olarak da kullanılmakta ve evrimsel bir yön verilmektedir. Köksüz ağaçlarda ise atasal bir veri girişi yapılmamaktadır. Böylece, köklü ağaçlar olayların sırası için fikir verirken, köksüz ağaçlar taksonlar arası ilişkiyi ortaya koymakta ve tarihsel bir açıklama getirmektedirler (Şekil 1.17). Köklerin yerleşimi eğer tabanda ise ağaçlar vertikal; kökler solda, dallar sağda ise horizontal olarak yerleşmektedir. (Hedrick, 2005; Freeman ve Herron, 2007).



Şekil 1.17. Sabit populasyon, genişlemiş ve bölünmüş populasyonlara ait filogeniler (Jobling ve ark., 2004).

Filogenetik ağaçların oluşturulmasında ya dizi bazlı metotlar (Maksimum Parsimoni, Maksimum Olasılık, Bayesian metotları vb gibi), genetik mesafe bazlı metotlar (UPGMA, NJ, Fitch ve Margoliash metodu vb. gibi) ya da networkbazlı metotlar (Median Joining, Minimum Spanning vb. gibi) tercih edilmektedir (Jobling ve ark., 2004; s:173; Mount, 2004).

Aşağıdaki bölümlerde en sık kullanılan filogenetik ağaçlardan 3'ü ve networklerden 2'si hakkında bilgi verilmiştir. Maksimum olasılık ve Bayesian metotlarına ise çok daha az kullanıldıkları için değinilmemiştir.

1.7.7.1. UPGMA Ağacı

UPGMA (Unweighted Pair-Group Method using arithmetic Averages) aritmetik ortalamaların kullanıldığı ağırlıklı olmayan çift grup yöntemidir ve bu yöntemde tüm populasyonlar arasında zamana göre evrimsel değişim oranı sabit kabul edilmektedir. Türler, ırklar ya da diğer biyolojik gruplardan elde edilen allel frekansları, nükleotit değişimleri, restriksiyon enzim kesim verileri ve benzeri moleküler veriler kullanılarak ikişerli gruplar (i ve j) arasındaki genetik mesafeler (D_{ij}) matriks tablosu şeklinde çıkartılmaktadır (Hedrick, 2005).

Genetik mesafelerle birbirinden ayrılan taksonlara “işlevsel taksonomik birimler” (operational taxonomic units, OTUs) adı verilmektedir. UPGMA bu birimlerin birbirleriyle olan mesafe matriksini kullanmaktadır ve bir kümeleme (clustering) metodudur. Genetik mesafe matriksi yardımıyla en uzak takson ile bunu izleyen en yakın takson birleştirilerek yeni bir taksonomik birim (OTUs) elde edilmektedir. Elde edilen bu yeni taksonomik birimin diğer taksonlardan uzaklıkları tekrar orijinal matriksten hesaplanmaktadır (Allendorf ve Luikart, 2007).

Örneğin; 1, 2, 3 ve 4 birer taksonomik birim ve 1 ile 2 en yakın birimler olarak kabul edilirse 1 ve 2 yeni bir birim oluşturmak üzere birleştirilmektedirler. Diğerleriyle mesafeleri aşağıda verilen denkleme göre hesaplanmaktadır ve yeni bir mesafe matriksi oluşturulmaktadır (Hedrick, 2005) :

$$d_{12} = \frac{1}{N_1 N_2^{i \in \epsilon_1, j \in \epsilon_2}} \sum d_y$$

ve

$$D_{(12)3} = \frac{1}{2}(D_{13} + D_{23})$$

$$D_{(12)4} = \frac{1}{2}(D_{14} + D_{24})$$

Denklem 1.16

1.7.7.2. Neighbor Joining (Komşu Birleştirme Metodu)

Saitou ve Nei (1987) tarafından geliştirilen Neighbor Joining (Komşu Birleştirme Metodu) UPGMA metodundan farklı olarak farklı hatlar arasındaki farklı evrimleşme oranları da analize dahil edilebildiği için birçok moleküler veri açısından en sık kullanılan metotlardan birisi haline gelmiştir. Bu metot her dalda aynı evolusyon oranını sağlayan güçlü tahminleri nedeniyle UPGMA metodunun eksikliğini düzeltmektedir yani bir nevi modifiye edilmiş mesafe matrisi kullanmaktadır. Bununla birlikte unrooted (köksüz) ağaç oluşturur ve moleküler saat hakkında fikir vermez. UPGMA metoduna benzer şekilde taksonomik birimlerin düğümlerin en uzak çiftleri birleştirilir ve bunların ortak atasal düğümü ağaca eklenir. İlk önce herhangi bir kümeleme olmadan yıldız şekilli bir ağaç oluşturulmakta ve tüm taksonomik birim çiftleri olası en yakın komşu gibi düşünülerek ağacın toplam uzunluğu belirlenmektedir. Sadece 4 taksonomik birim kalana kadar tüm dizi için en yakın komşular birbirine eklenmeye devam edilir ve elde edilen ağaçtan dalların uzunlukları hesaplanabilir. UPGMA'dan en büyük farklılığı taksonlar arasındaki minimum uzaklıklara göre ağaç çizilirken, NJ'de en yakın komşu çiftleri kullanılarak minimum total dal uzunluğu elde edilmeye çalışılmaktadır (Hedrick, 2005).

Taksonomik birim sayısı arttıkça topoloji sayısı da artacağından istatistiksel olarak en uygun topolojinin hangisi olduğunun belirlenmesi de kritik önem taşımaktadır. Bu bağlamda en çok kabul gören yaklaşım "bootstrap" değeri hesaplayarak ağacın düğümlerinin istatistiksel güven aralığını arttırmaktır. En yüksek güven eşiğini oluşturmak üzere her defasında bir örnek rastgele seçilmekte, bu örneğe göre ağaç çizilmekte ve ağaç incelenmektedir. Genellikle bu işlem birçok kez (1.000 hatta 10.000 kere) tekrarlanmakta elde edilen kümenin toplam örnekleme içinde oluşum yüzdesi o kümenin üzerine yazılmaktadır. Bu değerlerin yüksek olması elde edilen topolojinin doğruluğunu yansıması açısından önemlidir (Hedrick, 2005).

1.7.7.3 Maksimum Parsimoni (Maksimum Tutumluluk)

Maksimum Parsimoni, en eski, en basit ve en sık kullanılan metotlardan birisidir. İncelenen gruplar arasında farklılıkları açıklamak için en az sayıda mutasyon değişimi ile ağaç oluşturulması şeklinde tanımlanmaktadır. Bu metoda göre ağaç çiziminde kullanılan birimler bilgi verici bölgelerdir (informative sites) ve diğer nükleotit dizileri analiz dışı bırakılmaktadır. Bilgi verici diziler ise “bir nükleotit bölgesinde en az iki farklı çeşit nükleotit olmalı ve bunlardan herbiri incelenen örneklerden en az ikisinde gözlenmeli” şeklinde tanımlanmaktadır. Maksimum parsimoni kısa sürede sonuç veren bir metottur ancak sadece evrimsel değişim hızı yavaş ve dallar kısa ise yüksek doğrulukla topoloji elde edilmektedir. Aksi takdirde diğer filogenetik metotlar tercih edilmelidir (Freeman ve Herron, 2007; Hedrick, 2005; s:609).

Ağaçların çiziminde kullanılan genetik mesafe nükleotit değişim oranları yardımıyla da hesaplanabilmektedir. Evrimsel mesafelerin ölçümünde kullanılan substitüsyon modellerinden birisi Jukes ve Cantor (1969) modelidir. Bu model tüm yer değişimlerini bağımsız sayar ve tüm diziler değişim açısından eşit şansa sahiptir, değişimler 4 nükleotit arasında tamamen rastlantısal olur, insersiyon ve delesyonlar olmaz varsayımlarından hareket etmektedir (Van de Peer, 1998). Buradan hareketle aşağıda verilen denklem elde edilmektedir:

$$d_{AB} = -\frac{3}{4} \ln \left(1 - \frac{4}{3} f_{AB} \right) \quad \text{Denklem 1.17}$$

Burada f_{AB} A ve B dizileri arasındaki nükleotit farklılıklarının oranı ve d_{AB} ise hesaplanan evrimsel mesafedir.

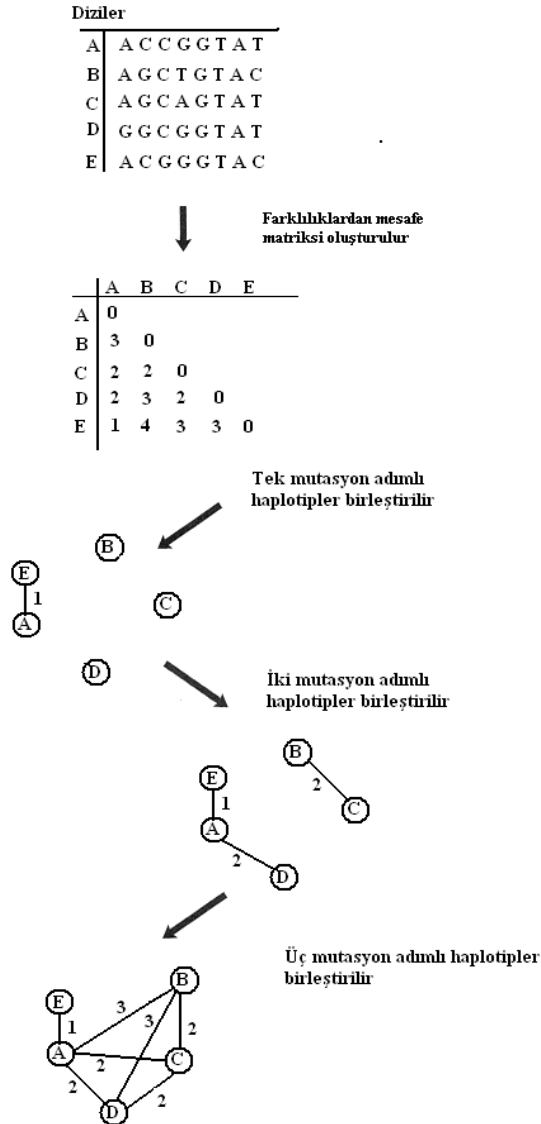
Evrimsel mesafe hesaplanmasında birçok model ortaya atılmıştır. Örneğin, Kimura (1980) evrimsel mesafeyi ortaya koymak için transisyon ve transversiyonların farklı oranlarda olmasına dayanan bir metot önermiştir. Dört

nükleotidin eşit oranlarda değişime uğramadığını (Tajima and Nei, 1984) ve değişim oranlarının bazı nedenlerle yanlı olduğuna dayanan başka modeller de bulunmaktadır (Tamura and Nei, 1993). Bu modellerin en önemli dezavantajı bir molekülün farklı bölgeleri arasındaki değişim oranlarının da farklı olabildiğini göz önüne almamalarıdır. Eski olmasına rağmen nükleotit değişimlerinin hesaplanmasında hala en çok tercih edilen ve en basit metotlardan birisidir.

1.7.7.4. Ağ (Network) Oluşturma

Filogenetik çalışmalarda en sık kullanılan networkler dizi (karakter) bazlı *minimum spanning ve median joining* networkleridir. Minimum spanning networku aşağıdaki sıra takip edilerek elle çizilebilmektedir (Jobling ve ark., 2004):

- ▶ tüm populasyonlar arasındaki karakter-bazlı (dizi analizi bazlı) mesafe matrisi hesaplanır;
- ▶ önce tek bir mutasyonal adımla ayrılan populasyonlar arasındaki bağlantılar çizilir;
- ▶ mutasyonal adımların sayısı artırılarak tüm populasyonlar tek bir networkte birbirine bağlanana kadar bağlantılar çizilir (Şekil 1.18);
- ▶ haplotiplerin populasyondaki frekanslarına göre dairelerin çapı artırılır.

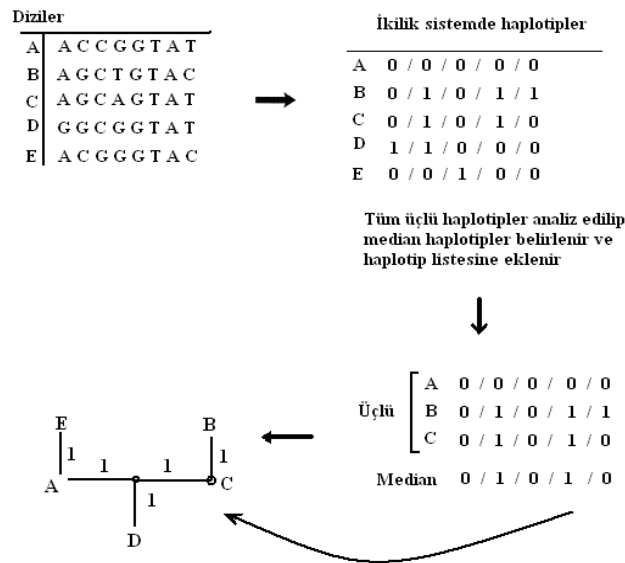


Şekil 1.18. Dizi bazlı Minimum spanning networku oluşturma aşamaları (Jobling ve ark., 2004)

Median networkleri ise elde edilen networkun, tüm tutarlı (parsimonik) ağaçları kapsamasını garantileyerek, atasal düğümlerin belirlenmesinde sistematik bir metot sağlamaktadır (Bandelt, 1999). Bu networklerin çizimi için de basit bir prosedür bulunmaktadır:

- ▶ dizi içindeki ya da mikrosatellit haplotiplerindeki değişken bölgeler ikilik sistemde (0 veya 1 şeklinde) haplotipler olarak kodlanırlar;
- ▶ tüm diziler içinde yaygın olarak bulunan haplotiplere bir karakter atanır (0 şeklinde) diğerleri de farklı karakterle (1 şeklinde) kodlanır;

- sırayla her üç haplotip için median network hesaplanır ve bu üç haplotip için konsensus elde edilir, eğer yeni bir dizi ise haplotip setlerinin içine eklenir;
- gözlenen haplotipler ve median haplotipler tek mutasyon adımına göre birbirine bağlanır ve minimum spanning networkte olduğu gibi çok mutasyonlu adımlar eklenerek network büyütülür (Şekil 1.19). Median networkler sıklıkla mtDNA gibi paralel mutasyonların sık görüldüğü homoplazik verilerde kullanılmaktadırlar. Olasılığı düşük bağlantıların elenmesiyle indirgenmiş median networkleri (Reduced Median Joining) de kullanılabilir (Bandelt, 1999).



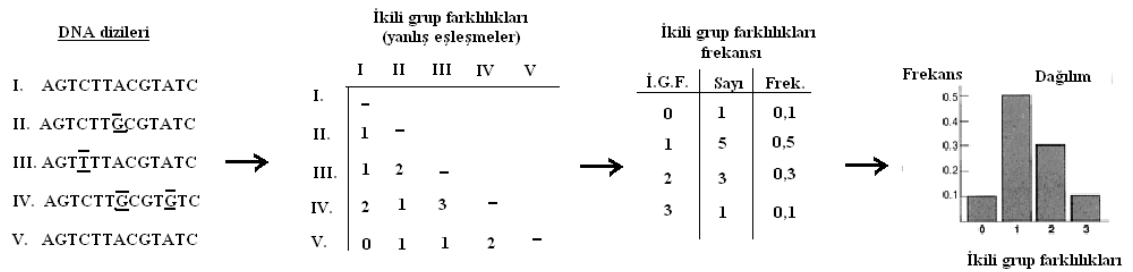
Şekil 1.19. Dizi bazlı haplotiplerden median networku oluşturma aşamaları (Jobling ve ark., 2004)

Networkler yorumlanırken aşağıdaki ölçütlere göre değerlendirilirler (Freeland, 2005)

- 1- Yüksek frekanslı haplotiplerin eski olma olasılığı yüksektir;
- 2- Eski haplotipler genellikle networkun içinde, yeni haplotipler ise dış kısmında yer alır;
- 3- Çoklu bağlantılar yapan haplotiplerin eski olma olasılığı yüksektir;
- 4- Eski haplotiplerin geniş bir coğrafi alanda yayılımı beklenir, çünkü uzun zaman içerisinde taşıyıcı bireylerin göçleriyle geniş bir alana yayılmışlardır;
- 5- Sadece tek bir bağlantıya sahip olan haplotipler (singleton) büyük olasılıkla aynı popülasyondan ve yakın bir tarihte kaynaklanmışlardır, çünkü zamanla farklılaşmışlar ve yayılmak için fazla zamanları olmamıştır.

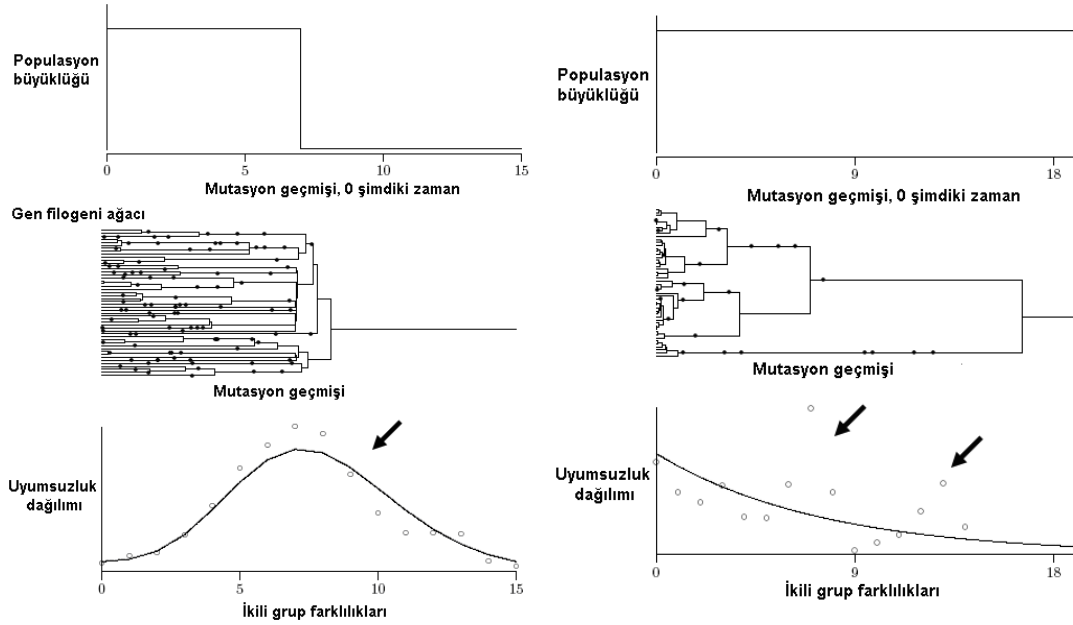
1.7.8. Uyumsuzluk Dağılım Analizleri

Moleküler bilgilerin farklı tipleri için çeşitliliğin ölçülmesinde sık kullanılan yöntemlerden birisi ikili grup farklılıklarının dağılımı olarak da bilinen uyumsuzluk dağılımı analizidir. Baz değişimi, RFLP band yapısı veya mikrosatellit tekrar sayısı gibi sayılabilen alleller arasında farklılıkların olduğu veri setleri için uygun bir analizdir. Her bir allel ve diğer alleller arasında farklılıkların sayısının dağılımı Çizelge şeklinde incelenmekte ve yorumlanmaktadır. DNA diziliminde uyumsuzluk dağılımının nasıl hesaplandığı Şekil 1.20’de görülmektedir.



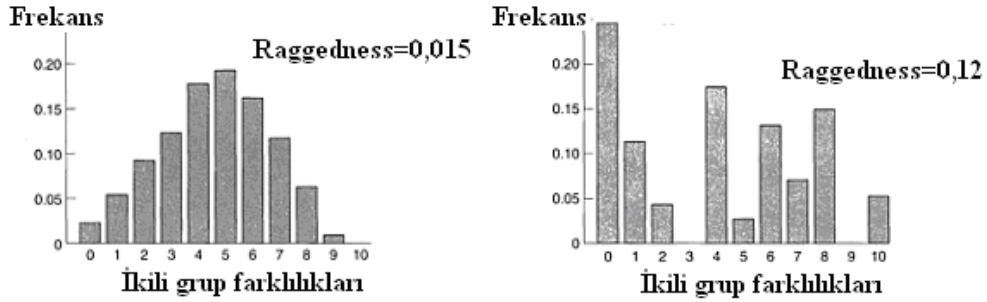
Şekil 1.20. DNA dizilerinden uyumsuzluk dağılımı grafiğinin çizilimi (Jobling ve ark. (2004)’den alınıp düzenlenmiştir).

Dağılımın ortalaması çeşitliliğin düzeyini ortaya koyarken, dağılımın şekli de populasyonun tarihi açısından fikir vericidir. Çan eğrisi şeklinde ve unimodal (tek tepe noktasına sahip) düzgün bir dağılım, tek bir haplotipten hızlı bir populasyon büyümesi yaşandığını işaret etmektedir. Bununla birlikte, multimodal (birden fazla tepe noktasına sahip) düzgün olmayan bir dağılım ise populasyonun uzun bir süre sabit kaldığını göstermektedir (Şekil 1.21) (Rogers ve Harpending, 1992).



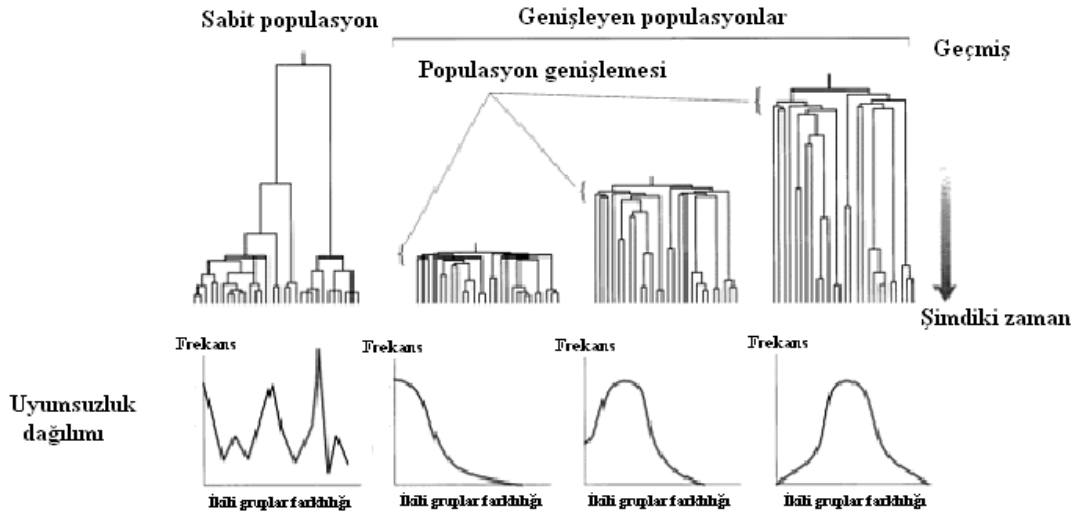
Şekil 1.21. Genişlemiş ve sabit populasyon varsayımları altında uyumsuzluk dağılım grafiklerinin unimodal (soldaki) ve multimodal (sağdaki) çan eğrileri gösterimi (Rogers, 2004).

Ayrıca dağılımların karşılaştırılması için raggedness istatistiği (r) kullanılmaktadır (Şekil 1.22). Bu değer komşu pikler arasındaki kareler ortalamasını ifade etmektedir (Jobling ve ark., 2004).



Şekil 1.22. Uyumsuzluk dağılımı grafikleri (Jobling ve ark., 2004).

Düzenli dağılımlar, düzensiz olmayan dağılımlara oranla genellikle daha düşük r değerlerine sahiptir (DNA dizileri için 0.03'den aşağıda). Bu sonuç geçmişte populasyon genişlemesini göstermektedir. Bu genişlemenin zamanı dağılımın ortalamasının y ekseninden uzaklığı ile ilişkilendirilerek hesaplanabilmektedir. Genişleme ne kadar eski bir zamanda yaşandıysa ortalama y ekseninden o kadar uzak olmaktadır (Şekil 1.23).



Şekil 1.23. Sabit populasyon ve farklı zamanlarda populasyon genişlemesi yaşamış populasyonlar için uyumsuzluk dağılım grafikleri (Jobling ve ark., 2004).

Dalların uzunluğu zamanın ve buna bağlı mutasyon birikiminin göstergesidir; sabit populasyonlarda bireyler arasında paylaşılan allel sayısı genişleyen populasyonlara oranla daha fazladır ve daha eski genişlemelerde bireyler daha fazla sayıda mutasyonla birbirlerinden farklılaşmışlardır. Bu uyumsuzluk dağılımı analizinin temelini oluşturmaktadır (Jobling ve ark., 2004).

1.7.9. Nötralite testleri

Motoo Kimura (1968) tarafından geliştirilen nötral teori genetik çeşitliliğin büyük bölümünün seçilimle değil, mutasyon ve genetik sürüklenme ile oluştuğunu ve bunun sonucunda da bazı allellerin rastgele nötral durumda kaldığını savunmaktadır (Hedrick, 2005). Bu kurama göre, bir populasyon belli bir genin birkaç farklı allelini bulunduruyorsa bütün aleller eşit düzeyde iş görmekte, yaşama veya üreme açısından fark oluşturmamaktadırlar; yani diğer bir deyişle, hangi allelin taşındığı seçilimde etkin rol oynamamaktadır. Bu nedenle nötralite teorisi, populasyondaki çeşitliliğin herhangi bir negatif ya da pozitif seçilimden mi yoksa tamamen rastlantısal mı

olduğunun test edilmesinde “sıfır hipotezi” olarak kullanılmaktadır (Hedrick, 2005; s:408).

Ayrıca nötral teori ile ortaya konulan, dizilerin evrim oranının tamamen mutasyon oranına ve genetik sürüklenmeye bağlı olduğu görüşü, evrimsel olayların zamanının belirlenebilmesinin temel prensibini oluşturmaktadır (Jobling ve ark., 2004).

Negatif ya da saflaştırıcı seleksiyon yeni, zararlı varyantları popülasyondan uzaklaştırırken, pozitif, çeşitlendirici seleksiyon yeni varyantların popülasyonda sabit hale gelmesini arttırmaktadır. Geçmişte yaşanmış olan bu tür seleksiyonların test edilmesinde nötralite testleri kullanılmaktadır. Tek bir test genellikle tam olarak fikir vermez, farklı metotlar kullanılarak yorum yapılmalıdır. Nötral teorisinin test edilmesinde sıklıkla McDonald-Kreitman testi, Hudson-Kreitman-Aguadé (HKA) testi, Fu ve Li'nin D* Testi, Fu ve Li'nin F* Testi, Fu'nun Fs ve Tajima'nın D testleri tercih edilmektedir. Her bir testin hassas olduğu yönler bulunmakta ve yorumlamaları da buna göre değişmektedir. Kodlanan bölgelerde değiştirici ve suskun bölge değişimlerinin oranına dayanan McDonald-Kreitman testi tercih edilirken, iki veya daha fazla bölgenin analiz edildiği durumlarda da HKA testi tercih edilmektedir.

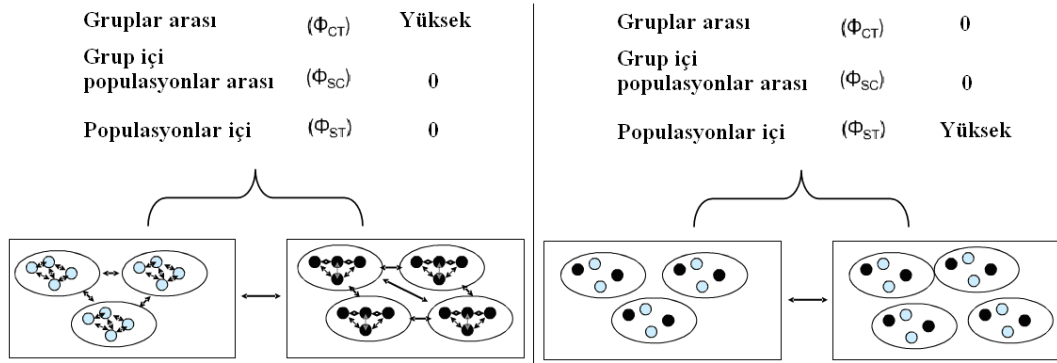
Nötralite altında Tajima'nın D değerinin 0 olması beklenmektedir. İstatistiki olarak önemli pozitif değer popülasyon bölünmesini ya da dengeleyici seleksiyonu gösterirken, negatif değer popülasyon büyümesini ya da pozitif seleksiyonu işaret etmektedir (Fu, 1996). Pozitif seçilimin olup olmadığının test edilmesinde ise özellikle HKA testi gibi haplotip-temelli testler diğer testlere göre daha hassas görünmektedir (Jobling ve ark., 2004). Ayrıca nötralite altında bir popülasyonda çok az sayıda yüksek frekanslı allel bulunmaktadır. Yüksek frekanslı allel sayısını arttıran yönlü seçim gibi durumlar ise seçici süpürülmeye neden olmakta yani seçilen genler kromozomal olarak yakın yerleşim gösteren (bağlı oldukları) yüksek frekanslı allellerin ya da köken aldıkları maternal/paternal haplotipin oranının artmasına neden olmaktadır. Bu olaya genetik otostop veya “Genetic hitchiking” adı da verilmektedir (Türkhaygen-I Popülasyon Genomiği-II Çalışmayı, 2008)

Populasyonların geçmişinin ortaya konulmasında filogenetik ağaç çizimlerinden de yararlanılmakta ve sabit populasyonlarla büyümüş, darboğzadan geçmiş veya seçilime uğramış populasyonlar tahmin edilebilmektedir (Depaulis ve ark., 2003). Uyumsuzluk dağılımı, nötralite testleri ve populasyonun geçmişi ile ilgili bilgiler bir arada kullanıldığında ve özellikle birden fazla gen bölgesinden sinyaller bir arada değerlendirildiğinde hangi evrimsel mekanizmanın populasyon üzerinde etkili olduğu konusunda daha güvenilir sonuçlara varılabilmektedir (Türkhaygen-I Populasyon Genomiği-II Çalıştay, 2008).

1.7.10. Filocoğrafi ve Moleküler Varyans Analizi (Analysis of Molecular Variance, AMOVA)

“Filocoğrafi” terimi ilk olarak Avise ve ark. (1987) tarafından kullanılmıştır ve bir tür içinde ya da yakın ilişkili türler arasında, atasal hatların coğrafi dağılımlarını belirleyen olaylarla ilgili çalışma alanı olarak tanımlanmıştır. Genetik hatların evrimsel ilişkileri ile coğrafi konumları karşılaştırılarak genetik varyasyonun dağılımı üzerinde hangi faktörlerin etkili olduğu belirlenebilmektedir (Freeland, 2005; s.:155). Evrimsel akrabalık ilişkisinin belirlenmesinin temelinde en yakın akraba taksonların en fazla ortak özelliğe sahip olmaları vardır (Freeman ve Herron, J., 2007; s.:112). Bu bağlamda, hem coğrafik gruplar açısından hem de sahip oldukları allel çeşitliliği bakımından analiz yapan çeşitli metotlar bulunmaktadır. Excoffier ve ark. (1992) tarafından ortaya konulan AMOVA (Moleküler varyansın analizi) allel frekansını baz alan bir metottur ve F_{ST} analogu olan Φ_{ST} (phi-st) değerini kullanarak, incelenen hiyerarşik populasyon yapısının farklı katları arasında paylaşılan varyansı ve alleller arasındaki ilişkiyi ölçmektedir. Alleller arasındaki genetik mesafenin ölçülebildiği her veri seti için kullanılabilir (Jobling ve ark., 2004).

AMOVA varyansın hiyerarşik analizidir ve genetik çeşitliliği populasyonların grupları arasında, gruplar içinde populasyonlar arasında ve bir populasyonda bireyler arasında olmak üzere üç farklı şekilde test edebilmektedir (Şekil 1.24).



Şekil 1.24. Varyansın hiyerarşik analizi (Holsinger, 2008)

AMOVA, özellikle coğrafi olarak populasyon bölünmelerini ayırt etmek için kullanılmaktadır. Hipotezleri permutasyonel metotlar kullanarak test etmekte ve normal dağılım varsayımlarına ihtiyaç duymamaktadır (Dupanloup ve ark., 2002; Allendorf ve Luikart, 2007; s:219). Veriler median network analizinde olduğu gibi ikilik sisteme göre girilmekte ve matris oluşturulmaktadır. Φ istatistikleri 1.18 numaralı denklemde görüldüğü hesaplanabilir (Holsinger, 2008).

$$1 - \Phi_{ST} = (1 - \Phi_{SC})(1 - \Phi_{CT})$$

Denklem 1.18

1.7.11. Moleküler Saat Analizleri ve En Yakın Ortak Ata Zamanı (The Time To The Most Recent Common Ancestor, TMRCA)

Filogenetik ağaçlardan elde edilen populasyonlar arası dal uzunlukları, populasyonların genetik farklılıklarının miktarı için oransal bir değer vermektedir. Eğer mutasyon oranı radyoaktif yarılanmaya benzer şekilde sabitse, mutasyon ya da genetik sürüklenme ile oluşan moleküler farklılığın zamanla orantılı olması beklenmektedir. Bu düşünce moleküler saat fikrinin ortaya atılmasına sebep olmuştur (Allendorf ve Luikart, 2007). Analiz için öncelikle populasyonlar ve farklı türden dış grup arasında filogenetik ağaç oluşturulmakta ve Karbon-14 izotopu gibi arkeolojik tarihlendirmede kullanılan bir belirteç yardımıyla dış grubun populasyonlarının ortak

atasında ayrılma zamanı bulunarak tarihsel bir kalibrasyon değeri elde edilmekte ve incelenen populasyonlar için uygulanmaktadır Ancak moleküler saat hesaplamasında darboğaz ve kurucu etkisi gibi durumlar hatalı sonuca da sebep olabilmektedir (Jobling ve ark., 2004; s:148).

Moleküler saat hesaplamalarında özellikle rekombinasyonun olmadığı Y kromozomu ve mitokondrial DNA belirteçleri tercih edilmektedir. Böyle belirteçlerdeki suskun bölge baz değişimleri birikiminin kullanılmasıyla, filogenilerde dallanma noktalarının tarihleri yani iki dal arasındaki en yakın ortak ata zamanı (The Time to the Most Recent Common Ancestor, TMRCA) belirlenebilmektedir (Jobling ve ark. 2004; s:177; Freeland, 2005; s:39).

1.8. Türkiye Yerli Keçi Irkları ve Çalışmanın Kapsamı

Keçi yetiştiriciliği ineğin ekonomik olarak yetiştirilemediği yerlerde et, süt, tiftik, kıl, deri gibi verim karakterleriyle Dünya ekonomisinde önemli yer tutmaktadır (Özcan ve Yalçın, 1985). Özellikle başta Asya ülkeleri olmak üzere Fransa, İspanya gibi ülkelerde de keçi üzerine dayalı endüstriler gelişmiştir (FAO Avrupa ve Orta Asya Bölge Ofisi, 2007). Türkiye’de genellikle küçük aile tipi işletmelerde olmak üzere giderek azalan bir yoğunlukta Ankara, Kıl, Honamlı, Kilis, Norduz, Abaza, Gürcü ve Malta (Maltız) keçi ırklarının yetiştiriciliği yapılmaktadır. (Özcan ve Yalçın, 1985; Yalçın, 1986; Akçapınar, 1994; Porter, 1996).

Tiftik veya Angora keçisi olarak da bilinen Ankara keçisinin yetiştiriciliğinin M.Ö. 3.000 veya 4.000’li yıllarda Ankara’da başladığı düşünülmekte, bununla birlikte Orta Asya’dan köken aldığı, tam ırk özelliklerini de Ankara civarında kazandığı belirtilmektedir. (Yalçın, 1986; Akçapınar, 1994). Osmanlı döneminde 1800’lü yıllardan sonra Kuzey Afrika’ya ve İngiltere’ye daha sonraki yıllarda da Amerika Birleşik Devletleri, Avustralya, Rusya ve Yeni Zellanda’ya götürüldüğü bildirilmiştir (Yalçın, 1986).

Ankara keçisi, ırk özelliklerini kazandığı Ankara ili ve ilçelerinde yaygın olarak, Konya, Siirt ve Mardin’de de sınırlı olarak yetiştirilmektedir (Akçapınar, 1994; Porter, 1996). Küçük, narin yapılı bir ırktır. Başın yandan görünüşü dişilerde hafif içbükey ya da düz, tekelerde ise dışbükeydir. Yüz ve bacaklar dışında bütün bedeni tarsal ve karpal eklemlere kadar ince, yumuşak, parlak ve lüleli tiftikle örtülüdür (TAGEM, Türkiye Evcil Hayvan Genetik Kaynakları Katoloğu, 2009). Don rengi çoğunlukla beyazdır (Şekil 1.25). Ankara yöresinde yetiştirilen saf Ankara keçilerinde baş ve ayaklar dahil tüm vücut beyazdır. Konya ve yöresi keçileri krem ve sarı renkli, Doğu illerinde yetiştirilenler gümüşü gri, kahverengi ve siyah renktedir. Erkek ve dişiler boynuzludur. Boynuz yapısı erkeklerde burğu şeklinde kuvvetli, uzun ve geriye doğru hafifçe kıvrık, dişilerde ise daha zayıf, kısa ve arkaya kıvrıktır (TÜRKHAYGEN-I, http://www.turkhaygen.gov.tr/data/index_tr.asp)



Şekil 1.25. Ankara keçisi yandan görünüşü (TAGEM, Türkiye Evcil Hayvan Genetik Kaynakları Katoloğu, 2009).

“Kara keçi, Adi keçi veya Anadolu karası olarak da bilinen Kıl keçisi Türkiye’nin tüm bölgelerinde yetiştirilmektedir (Porter, 1996). Sıklıkla süt, et ve kıl verim karakterleri yönünden kombine verim amaçlı kullanılmaktadır. Vücudu orta irilikte olmakla birlikte, bölgeden bölgeye büyük farklılıklar göstermektedir. Don rengi genellikle siyahtır ancak gri, kahverengi ve kırmızı renkli olanları da görülmektedir (Akçapınar, 1994). Don rengi sadece siyah olan bireylerde yüzde iki taraflı ağza kadar inen kahverengi veya beyaz lekelerle, bacak uçları ve süt aynası çevresindeki

renk açılması yaygındır. Erkekler ve dişiler çoğunlukla boynuzludur. Boynuzlar erkeklerde gelişmiştir ve boynuz uçları arasındaki mesafe 60–70cm'ye ulaşabilmekte (Şekil 1.26), dişilerde ise daha zarif bir şekilde geriye kıvrılmakta bazen bir iki kıvrım yapabilmektedir. Anadolu'nun her türlü iklim ve arazi koşullarına adapte olmuş, kötü bakım ve besleme koşullarında yetiştirilebilen, sağlam vücut yapılı, hastalıklara karşı dirençli, çevre şartlarına karşı dayanıklı bir ırktır. Yılım hemen tamamında merada barındırılabilirler, anızlar ve nadasa bırakılmış alanlardaki otlarla neredeyse masrafsız bir şekilde yetiştirilirler (TAGEM, Türkiye Evcil Hayvan Genetik Kaynakları Katoloğu, 2009; TÜRKHAYGEN-I, http://www.turkhaygen.gov.tr/data/index_tr.asp)



Şekil 1.26. Kıl keçisi yandan görünüşü (TAGEM, Türkiye Evcil Hayvan Genetik Kaynakları Katoloğu, 2009).

Norduz keçisi özellikle Van'ın Gürpınar ilçesi Norduz bölgesinde yetiştirilmektedir ve süt, et, kıl açısından kombine verim yönlü bir ırktır. Irkın, İran ve Irak'ta kaşmir keçisi olarak bilinen Morghose keçisinin bölgedeki yerli keçilerle melezlenmesi sonucu ortaya çıktığı düşünülmektedir (Porter, 1996; TÜRKHAYGEN-I, http://www.turkhaygen.gov.tr/data/index_tr.asp). Yaz ve kış aylarında ek yemleme yapılmadan bölgedeki meralarda beslenmektedir. Orta irilikte bir vücuda sahiptir ve kulakları sarkıktır. Don rengi siyah olmakla beraber, beyaz, krem, siyah beyaz, gri, kül, kahverengi ve sütlü kahve renkliler de görülmektedir.

Erkekler boynuzludur, boynuzlar uzun, sağlam, yukarı doğru ve her iki yanda arkaya doğru hafif eğimlidir (Şekil 1.27). Dişiler genel olarak boynuzsuzdur, boynuzlu dişiler ise daha küçük ve ince boynuz yapısına sahiptirler (TAGEM, Türkiye Evcil Hayvan Genetik Kaynakları Katoloğu, 2009).



Şekil 1.27. Norduz keçisi yandan görünüşü (TÜRKHAYGEN-I, http://www.turkhygen.gov.tr/data/index_tr.asp)

Van ili yakınlarında yetiştirilmekte olan Norduz keçisinin bilinen tarihi M.Ö.2 bin yıl öncelerine, Urartulara kadar gitmektedir (Şekil 1.28).



Şekil 1.28. Norduz keçisi boynuz yapısına benzer bir keçinin sağımını resmeden Urartular'a ait taş mühür (Örs, 2005).

Kilis keçisi, Kilis, Gaziantep, Urfa ve Hatay illerinde yetiştirilmekte ve sütçü ırk olarak kabul edilmekle birlikte et açısından kombine verim yönüyle de kullanılmaktadırlar. Kilis keçilerinin, Kıl keçilerinin dişileri ile Damascus (Halep) keçilerinin erkeklerinin birleştirilmesi sonucu oluşan bir ırk olduğu bildirilmektedir (Porter, 1996). Bu yüzden rengini kıl keçisinden, gelişmiş meme yapısı ve sütçü görünümünü ise Halep (Damascus) keçilerinden almıştır (TÜRKHAYGEN-I, http://www.turkhaygen.gov.tr/data/index_tr.asp). Uzunluğu ortalama 28cm olan iri sarkık kulakları ve çoğunlukla çene altında bir çift küpesi bulunmaktadır. Vücut rengi çoğunlukla siyah olmasına rağmen, koyu kestane, kır, kızıl-kahve renklerle yer yer beyaz lekeler de rastlanabilmektedir (Porter, 1996). Boynuzsuz olanları bulunmakla birlikte genellikle erkekleri kalın, kuvvetli ve uzun, dişileri kısa, ince ve geriye kıvrık boynuzludur (Şekil 1.29). Çok iyi gelişmiş, sarkık meme tipindedir. Meme lobları belirgin derecede ayrılmış, meme başları yana doğru dönüktür. Genelde yerli ırklarda olduğu gibi sağlam vücut yapılı, çevre şartlarına dayanıklı ve hastalıklara karşı dirençlidir. Yıllık ortalama süt verimi 500–600kg civarındadır (Özcan ve Yalçın, 1985; TAGEM, Türkiye Evcil Hayvan Genetik Kaynakları Katoloğu, 2009).



Şekil 1.29. Kilis keçisi yandan görünüşü (TAGEM, Türkiye Evcil Hayvan Genetik Kaynakları Katoloğu, 2009).

Honamlı keçisi, Akdeniz Bölgesinin Toros Dağları etekleri, Antalya, Isparta ve Konya civarında, et, süt ve kıl karakterleri açısından kombine verim yönüyle yetiştirilmektedirler. Yıllık süt verimi 175-200kg'dır. Beden çoğunlukla siyahtır. Antalya yöresinde yetiştirilen saf Honamlı keçilerinde alın ve ayaklar beyaz veya kahverengi vücut siyah olup bazen kırçıl renkte olanlarına da rastlanmaktadır (TÜRKHAYGEN-I, http://www.turkhyagen.gov.tr/data/index_tr.asp). Kulaklar küçük ve kalındır. Irk özelliklerinden birisi boynuzlar arası mesafenin 2 parmak (2cm) genişlikte olmasıdır. Boynuz her iki cinsiyette de görülmekte ve genellikle kendi eksenini etrafında kıvrımlı, kulakların etrafında geriye doğru yay çizip, uçları aşağı ve öne doğru uzamaktadır (Şekil 1.30). Alt çene üst çeneden uzun, gözleri iri ve canlıdır. Küçük ve kalın kulaklara sahiptir. Burun belirgin bir şekilde dışbükeydir (TAGEM, Türkiye Evcil Hayvan Genetik Kaynakları Katoloğu, 2009).



Şekil 1.30. Honamlı keçisi yandan görünüşü (TAGEM, Türkiye Evcil Hayvan Genetik Kaynakları Katoloğu, 2009).

Türkiye'de yaygın olarak yetiştiriciliği yapılan bu 5 irka ek olarak özellikle süt verimleri yönünden yetiştirilmekte olan lokal ırklar da bulunmaktadır. Bunlardan birisi olan ve Doğu Anadolu'da yetiştirilen Abaza keçisi (Abkhasian) pembemsi-beyaz don rengine ve kısa kıllara sahiptir. Ağız, kulak ve ayak çevresinde koyu renk görülebilir. Dişiler boynuzsuzdur ancak erkekler genellikle uzun, yassı, kılıç şeklinde boynuzlara sahiptir. Bedeni 1cm uzunluğunda, kısa ama çok yumuşak kıllarla

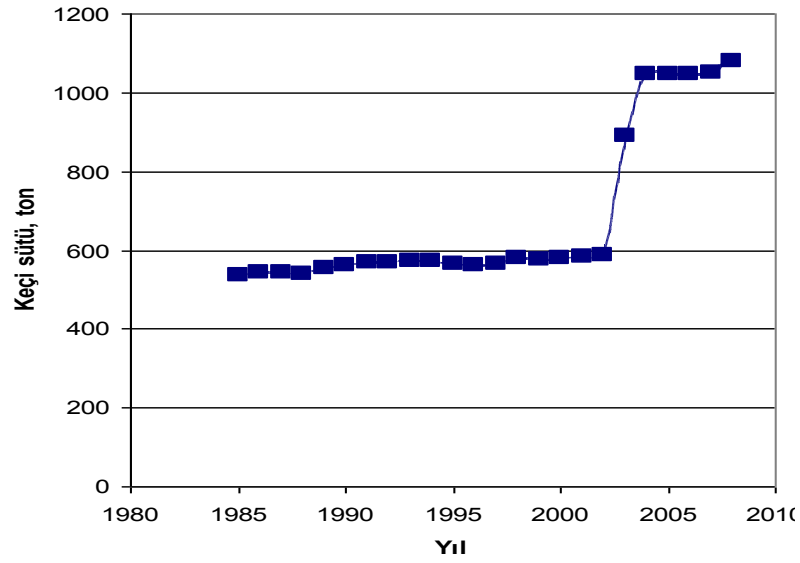
kaplıdır. Meme yapısı iyi gelişmiştir ve yıllık süt verimi 200 kg civarındadır (Özcan ve Yalçın, 1985; Porter, 1996).

Gürcü keçisi, Tiflis keçisi veya Kafkas keçisi olarak da bilinmektedir. Ermenistan, Gürcistan sınırlarında yoğunlukla da Kars'ın Çıldır bölgesinde yetiştirilmektedir. Don rengi siyah, gri ya da benekli olanlar bulunduğu gibi; beyaz donlu olanlarında ise başta, kulakta ve boyun altında siyahlıklar görülmektedir (Porter, 1996). Yıllık ortalama süt verimi 200- 250kg civarındadır (Özcan ve Yalçın, 1985).

Malta keçisi Maltız keçisi olarak da bilinmekte ve İzmir, Aydın civarında ve özellikle Çeşme Kuşadası ilçelerinde yetiştirilmektedir. Çok önceleri Ege ve Akdeniz adalarından getirilmiş olan keçilerle bölgedeki keçilerin melezlemesi sonucunda ortaya çıkmış bir keçi ırkıdır (Özcan ve Yalçın, 1985). Çoğunlukla boynuzsuz, alaca kahverenkli don rengine sahiptir. Koçbaşlıdır ve kısa, uzun kulakları, çene altında da iki küpe bulunmaktadır Yıllık ortalama süt verimi 250–400kg civarındadır (Özcan ve Yalçın, 1985).

Türkiye'de yetiştirilmekte olan evcil keçi sayısı FAO 2003 istatistiklerine göre 7 milyon, 2008 istatistiklerine göre ise 5,5 milyon civarındadır. Ancak keçi sütü üretimi ile ilgili olarak FAOSTAT (<http://faostat.fao.org/default.aspx>) verileri 1985'ten bu yana incelendiğinde 2004 yılına kadar keçi sayısına paralel bir azalma, 2004 yılından itibaren ise hızlı bir artış görülmektedir (Çizelge 1.6). Bu da yerli ırkların bırakılıp süt üretimi amaçlı yetiştirilen Saanen keçisi yetiştiriciliğinin artmasına bağlanmaktadır (FAO Avrupa ve Orta Asya Bölge Ofisi, 2007).

Çizelge 1.6. Türkiye’de yıllara göre keçi sütü üretimi



Özellikle Saanen keçisi gibi entansif üretimle yüksek miktarda verim alınan keçi ırkları nedeniyle yerli ırklara olan ilgi giderek azalmaktadır. Bu da zaten sayıca az olan yerli ırk hayvanları yok olma açısından tehlikeye atmaktadır. Irkların kaybolması riskinin tehlike düzeyini belirtmek için çeşitli sınıflandırmalar yapılmaktadır. Örneğin Henson (1992) FAO veri tabanını baz alarak ülkelerin verdiği rapor doğrultusunda Çizelge 1.7’de sunulduğu gibi bir sınıflandırma yapmıştır.

Çizelge 1.7. Tek doğuran çiftlik hayvanları için damızlık dişi sayısına göre koruma altına alma kriterleri (Henson, 1992; Ertuğrul ve ark., 2000).

Tehlike seviyesi	Damızlık dişi hayvan sayısı	Özellikler
Yok olmuş	-	—Populasyonu yeniden oluşturmak olanaksızdır — Saf erkek ve dişi hayvan bulunmamaktadır.
Kritik	<100	— Yok olmaya yaklaşılmıştır. — Genetik varyasyon ebeveyn popülasyonundakinin aşağısına düşmüştür. Popülasyon büyüklüğünü arttırmak gerekir.
Yok olma tehlikesi altında	100-1.000	—Etkin popülasyon büyüklüğünün popülasyon içerisindeki genetik kayıpları karşılamayacak kadar küçük olması ve akrabalı yetiştirme sonucunda yaşama gücünün gerilemesi nedeniyle, popülasyon yok olma tehlikesi altındadır.
Tehlike sınırında	1.000-5.000	—Popülasyon genişliği hızlı şekilde azalmaktadır.
Yok olma tehlikesine açık	5.000-10.000	—Bazı istenmeyen faktörler popülasyonun varlığını tehdit etmektedir. Daha fazla azalmayı önlemek için önlem alınmalıdır.
Normal	>10.000	—Popülasyon yok olma tehlikesi altında değildir. Genetik kayıplar olmaksızın üreyebilir. Popülasyon genişliğinde gözlenebilir bir değişim yoktur.

Bu çizelgeye göre sunulan tez çalışmasında incelenen yerli keçi ırklarının mevcut durumu ise Çizelge 1.8’de verilmiştir.

Çizelge 1.8. Çalışmada incelenen keçi ırkları için tehlike seviyeleri (Ertuğrul ve ark., 2010)

İncelenen Irklar	Yok olma tehdidi yok	Tehdit altında	Ağır tehdit altında
Ankara Keçisi		X	
Kıl Keçisi	X		
Kilis Keçisi	X		
Norduz Keçisi			X
Honamlı Keçisi		X	

Çizelgeden de anlaşılacağı gibi 5 ırk için acil önlemler alınması gerekmektedir (FAO, 2007). Koruma amacıyla ex-situ ve insitu koruma metotları önerilmektedir. Ex-situ koruma metotlarından birisi de genetik materyalin

tanımlanması ve saklanmasıdır. Özellikle, Türkiye'deki keçi ırkları için yapılan kaynak taramalarında ırklar arası genetik yakınlık ve mtDNA polimorfizmlerinin incelendiği çalışmalara ulaşılamamıştır.

Bu araştırmada Türkiye'de en yoğun olarak yetiştirilen Ankara, Honamlı, Kilis, Kıl ve Norduz keçilerinde mtDNA D-loop ve Sitokrom-*b* bölgeleri incelenmiş ve filogenetik analizler yardımıyla ilişkilendirilmeye çalışılmıştır.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada, Ankara (n=50), Honamlı (n=49), Kilis (n=51), Kıl (n=53) ve Norduz (n=49) keçi ırklarının mitokondrial DNA çeşitlilikleri, ırklar arası farklılıklar ve bu ırkların coğrafik yerleşimleri ile olan ilişkisinin ortaya konulması amacıyla hayvanlardan alınan kan örneklerine; sırasıyla DNA izolasyonu, D-loop bölgesinin Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile yükseltgenilmesi ve ardından dizi analizi uygulanmıştır. DNA dizi analizi sonrası elde edilen sekans verileri filogenetik analizler kullanılarak incelenmiş, yorumlanmış ve farklı haplogruplara atanan örnekler Sitokrom-*b* bölgesi için dizi analizi yapılarak moleküler saat hesaplanmasında kullanılmışlardır.

2.1. Hayvan Materyali

Bu araştırmanın materyalini, TÜBİTAK-KAMAG 106G005 numaralı “Türkiye Yerli Evcil Hayvan Genetik Kaynaklarından Bazılarının In-Vitro Korunması ve Ön Moleküler Tanımlanması-I (TÜRKHAYGEN-I) adlı proje kapsamında Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Eğitim-Araştırma ve Uygulama Çiftliği’ne getirilen 50 baş Ankara, 49 baş Honamlı, 51 baş Kilis, 53 baş Kıl ve 49 baş Norduz keçisi olmak üzere toplam 252 baş keçiden alınan kan örnekleri oluşturmaktadır.

Proje kapsamında ırkların sahip olduğu genetik çeşitliliğin güvenilir düzeyde temsil edilebilmesi için ırklara ait bireylerin birbirine uzak bölgelerden olmasına, akraba olmamalarına, yaş, cinsiyet, akrabalık, sağlık ve ırk özelliklerine dikkat edilmiş, coğrafi alan bilgileri kaydedilmiştir. Keçilerin toplandığı bölgeler harita üzerinde gösterilmiştir (Şekil 2.1).

Araştırmada ele alınan ırkların her bireyinden kan örnekleri 9ml K₃EDTA’lı vakumlu tüplere alınmış ve daha sonra altüst edilerek karışması sağlanmıştır. Kan örneklerinin alınmasından laboratuara ulaştırılmasına ve DNA izolasyon aşamasına kadar +4°C’lik soğuk zincirde olmasına dikkat edilmiştir.



Şekil 2.1. Örnekleme yapılan bölgeler (Kilis keçisi sarı, Kıl keçisi kırmızı, Ankara keçisi mavi, Honamlı keçisi yeşil ve Norduz keçisi bordo dairelerle gösterilmiştir)

Örneklenen yerli keçi ırkları ve örneklem sayıları Çizelge 2.1’de görülmektedir. Örneklerin toplandığı coğrafik bölgelere ait GPS verileri Ek 1’de detaylı olarak verilmiştir.

Çizelge 2.1. İncelenen ırklar ve hayvan sayıları

Keçi ırkı	Hayvan Sayısı, <i>n</i>
Ankara	50
Kilis	51
Honamlı	49
Kıl	53
Norduz	49

2.2. DNA İzolasyonu

Kan örneklerinden DNA izolasyonu için standart fenol:kloroform yöntemi kullanılmıştır (Sambrook ve ark., 1989). Laboratuara göre düzenlenen protokol aşağıda listelenmiştir:

- 9ml'lik vakumlu tüplerde saklanan kanlar 50ml'lik falkon tüplere alındıktan sonra çekirdek içermeyen kan hücrelerinin (eritrositlerin) parçalanması amacıyla 2X Lysis solüsyonu ile 50ml'ye tamamlanmıştır.
- Tüpler 10dk boyunca karıştırıcı yardımıyla 50rpm'de iyice karıştırıldıktan sonra donmamasına dikkat edilerek 30dk süresince buzun içinde bekletilmiştir.
- Daha sonra, tüpler 10 dakika 3000rpm, +4°C'de santrifüj edilmiş ve üst kısım (süpernatant faz) yavaşça dökülerek atılıp, çökeltiye 3ml salt/EDTA eklenerek iyice karıştırılmıştır.
- Ardından, örneklere 0,3ml %10'luk SDS solusyonu ve 150µl proteinase K (10 mg/ml) eklenerek tekrar karıştırılma işlemi yapılmış ve 55°C'de 3 saat etüvde bekletilmiştir.
- Bekleme süresi bittiğinde örnekler etiketlenmiş, yeni 15ml'lik tüplere aktarılarak 3ml fenol (pH 8,0) eklenmiştir. Ardından, 20s sert bir şekilde çalkalanmış ve karıştırıcı yardımıyla 5dk boyunca alt üst edilmiştir.
- Süre sonunda, 10 dakika 3000rpm ve +4°C'de santrifüj işlemi uygulanmıştır.
- Santrifüj işleminin ardından, üst faz, yeni falkon tüplere aktarılmıştır. Bu kısmın bulanık olduğu ve/veya zorlukla ayrıldığı örneklerde, fenol işlemi tekrarlanmıştır.
- Yeni tüplere alınan üst fazın üzerine 3ml fenol:kloroform:izoamil alkol (25:24:1) eklenmiş ve önce 20s sert bir şekilde çalkalanıp, ardından 5 dk boyunca karıştırıcı yardımıyla alt üst edilmiştir.
- İşlem sonunda 3000rpm ve +4°C'de 10 dakika santrifüj işlemi uygulanmıştır. Santrifüj işleminin ardından üst fazlar tekrar steril ve uygun şekilde etiketlenmiş tüplere aktarılmıştır. Berrak ve kolay ayrılan bir faz elde edilemeyen örneklerde fenol: kloroform: izoamil alkol işlemi tekrarlanmıştır.

- Yeni tüplere aktarılan berrak üst fazın üzerine 2 katı kadar -20°C 'de soğutulmuş saf etanol eklenmiştir. Tüpler alt üst edilerek karıştırılmış ve yoğunlaşarak çöken DNA'lar $1000\mu\text{l}$ 'lik pipet ucu ile dikkatlice alınarak üzeri yazılı ve 1ml Etanol içeren 1,5ml eppendorf tüplere aktarılmıştır.
- Saflaştırılan DNA'lar, bir gece alkolde -20°C 'de bekletildikten sonra ertesi gün 8000rpm 'de 3 dakika santrifüjlenmiş, ardından alkolü dökülüp steril kabinde ağzı açık kurutulmuştur.
- Alkolü uçurulan DNA'lar 0,5ml TE solüsyonu (Tris-HCL:EDTA, 10:1, pH 8) ile sulandırılmıştır.

Deneysel çalışmalarda kullanılan solüsyonların içerikleri ve hazırlanışları Ek 2'de listelenmiştir.

2.3. DNA'ların Yoğunluğunun, Saflığının ve Bütünlüğünün Kontrolü

DNA'ların yoğunluğu ve saflığı spektrofotometrik yöntemle ölçülmüştür. Bu amaçla Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü Merkez Laboratuvarı'nda bulunan NanoDrop spektrofotometre cihazı kullanılmıştır. DNA'ların yoğunluk ve saflık analizinde 260nm dalga boyunda elde edilen değerle 280nm dalga boyunda elde edilen değerlerin oranı (A_{260}/A_{280}) ve 260nm dalga boyunda elde edilen değerle 230nm dalga boyunda elde edilen değerlerin oranı (A_{260}/A_{230}) kullanılmıştır.

1,8'in altında elde edilen A_{260}/A_{280} değeri protein kontaminasyonunu, 2'nin üzerinde elde edilen A_{260}/A_{280} değeri RNA kontaminasyonunu ve 2'nin altında elde edilen A_{260}/A_{230} değeri ise fenol kontaminasyonu işaret ettiğinden A_{260}/A_{280} oranı 1,80 ile 2,00; A_{260}/A_{230} oranı ise 2 ile 2,2 aralığında olan DNA'lar çalışmaya dahil edilmiştir.

DNA'ların bütünlüğünün (degrade olup olmadığının) kontrolü %0,8'lik agaroz jel elektroforezi ile yapılmıştır. Bunun için; 0,8g agaroz tartılarak 100ml 1X TBE (Tris-Borate-EDTA) içinde homojen bir görünüm alana kadar mikrodalga

fırında eritilmiştir. Agaroz jel karışımı, ılık suyun altında yaklaşık 60°C'ye düşene kadar tutulduktan sonra 8µl etidyum bromür (5mg/ml) eklenmiş ve köpürmemesine dikkat edilerek karıştırılmıştır. Agaroz jel karışımı, taraklar içeren jel kasedine dökülerek yarım saat donması beklenilmiş ve süre sonunda taraklar çıkartılarak, 1X TBE içeren elektroforez tankına alınmıştır. DNA'ların görüntülenmesi amacıyla, 2µl DNA, 2µl 2X yükleme solüsyonu ve 4µl distile su karıştırılmış ve kuyucuklara yüklenmiştir. Elektroforez işlemi 120V'da 20–25 dakika uygulanmıştır. Görüntüleme sistemi (Kodak Gel Logic yardımıyla DNA bantlarının varlığı ve bütünlüğü kontrol edilmiştir).

PZR'da yükseltgenilecek DNA'lar, yaklaşık 100ng/µl olacak şekilde, 1/10 veya 1/20 oranında saf su ile sulandırma yapılmış ve +4°C'de muhafaza edilmiştir. Saklanacak olanlar ise -20°C'de muhafaza edilmiştir.

2.4. mtDNA Kontrol (D-Loop) Bölgesinin Yükseltgenmesi ve Dizi Analizi

mtDNA dizi analizi çalışmaları için öncelikle kontrol bölgesi (D-loop) üzerinde en fazla değişkenlik gösteren ve haplogrupların ayırımına olanak sağlayan 1.002 bazlık bir bölgenin yükseltgenmesi sağlanmıştır. Bu amaçla, Sultana ve ark. (2003) tarafından RFLP ile haplogrup tiplendirmede kullanılan primerlerden ikisi dış primerler olarak belirlenmiş; iki ayrı PZR reaksiyonu ve enzim kesimini içeren bu metotlardan ikincisinin forward primeri Tip2F:5'-CCTCACTATCAGCACCCAAA GC-3' ile birincisinin reverse primeri Tip1R: 5'-CTACAATTTATGCTCCGGGTTCG -3' kullanılmıştır (Şekil 2.2).

CAGAAAAGGAGAATAGCCAATCTCCCTAAGACTCAAGGAAGAAGCCATAG **CCTCACTATCAG**
CACCCAAAGCTGAAATTCTATTTAAACTATTCCTGAACCACTATTAACCACATCTATTAAT
ATACCCCCAAAAATATTAAGAGCCTCCCCAGTATTAATTTACTAAAAATTTCAAATATACA
ACACAAACTTCCCACTCCACAAGCCTACAGACATGCCAACACCCACACGTATAAAAAACATC
CCAATCCTAACCCAACCTTAGATACCCACACAAACGCCAACACCCACACAATATTA **CGTGTATG**
CAAGTACATTACACCGCTCGCTACACACAAAATACATTTACTAACATCCATATAACGCGGAC
ATACAGCCTTCATATAGTTTACTGTATATCTACCCTACACATATGCAGTACTAATCCAGCAT
AAACGTAATGTATGTACATTACATTTTATGATCTACTTCATGTGTACGTACATAATATTAAT
GTAACAGGGACATAGTATGTATATAGTACATTAACGATTTTCCACATGCATATTAAGTACG
TACATTAGTATTAATGTAATAAGGACATAGTATGTATATTGTACATTAACGATCTTCCTCA
TGCATATAAGCATGTATAATGCTTCTATCGACAGTACATAGTACATTTTACTGCATATTCGT
ACATGGCACATAAAGTCAAATCCATTCCTGCCAACATGCGTATCCCGTCCACTAGATCACGA
GCTTGTCGACCATGCCGCGTGAAACCAGCAACCCGCTTGGCAGGGATCCCTCTTCTCGCTCC
GGGCCATTAACCGTGGGGTAGCTATTTAATGAACTTTATCAGACATCTGGTTCTTTCTTC
AGGGCCATCTCACCTAAAATCGCCCACTCTCCCTCTTAAATAAGACATCTC **GATGGACTAA**
TGACTAATCAGCCCATGCTCACACATAACTGTGCTGTGCATGCATTTGGTATTTTTTAAATTTT
CGGGGATGCTTGGACTCAGCTATGGCCGTCTGAGGCC **CGACCCGGAGCATAAATTGTAG**CT
GGACTTAACTGCATCTTGAGCATCCCCATAATGGTAGGCATGGGCATTGCAGTTAATGGTCA
CAGGACATATTTATTATGTTGCATTTTCATCATGCATCCGCTCCACCTTTCCCCCCCCCTCCTT
CTTAGATATATACCACCGTTTTTAAACACGCTCCCTCCTAGATATTAGTGCAAATTTTTTCTA
CTTCCAATACTCAAATCTTTACTCCAGCCAAGGTAAATATATAAGTGCCTGGGTCTTTTACA
TGTAAGTG

Şekil 2.2. *Capra hircus* mitokondrial DNA/D-loop bölgesi (GenBank No:DQ188900) nükleotit dizisi üzerinde kullanılan primerlerin gösterimi (Altı çizili diziler dış primerler, italik ve kalın yazılmış diziler ise iç primerlerdir).

D-loop bölgesi PZR ile yükseltgenmede reaksiyon başına kullanılacak DNA kalıp miktarı, MgCl₂, primer ve dNTP konsantrasyonları ile en uygun primer bağlanma sıcaklığının belirlenmesi amacıyla gradient PZR kurularak optimizasyon yapılmıştır. PZR'ın ardından, yükseltgeme ürünleri %2'lik agaroz jelde 120V altında 20 dakika elektroforez yapılarak kontrol edilmiştir.

PZR amplifikasyonları 25µl total hacimde hem 1,5mM hem de 2mM MgCl₂ yoğunluğunda kalıp DNA'dan 100-150ng, her bir primerden 5pmol, her bir deoksiribonükleotit trifosattan (dNTP'ler) 200µM, 1U Taq DNA polymerase (MBI Fermentas) ve 1X PCR buffer (10mM Tris-HCl, pH 9,0; 50mM KCl) olacak şekilde, Mastercycler termal döngü cihazında (Eppendorf AG, USA) yapılmıştır. 94°C'de 4dk'lık ilk denatürasyonun ardından 94°C'de 30s denatürasyon, 56–65°C aralığında değişen (gradient) bağlanma sıcaklığında 30s ve 72°C'de 70s uzama aşamalarını içeren 30 döngüyü takiben 70°C'de 15dk son uzama yaptırılarak tamamlanmıştır. D-

loop bölgesi ile ilgili olarak en uygun kimyasal yoğunlukları Çizelge 2.2’de ve en uygun yükseltgenme koşulları Çizelge 2.3’de sunulmuştur.

Çizelge 2.2. D-loop bölgesi PZR reaksiyonunda kullanılan kimyasal yoğunlukları

PZR kimyasalları	Kullanılan yoğunluklar
10x Buffer	1 x
MgCl₂	2mM
dNTPs	200µM
İleri primer	5 pmol
Geri primer	5 pmol
Taq DNA polymerase	1 IU
Kalıp DNA	100-150ng
Total ddH₂O ile 25 µl’ye tamamlandı	

Çizelge 2.3. D-loop bölgesi PZR reaksiyonu yükseltgenme koşulları.

Sıcaklık, °C	Süre	X 30 döngü
94	4dk	
94	30s	
64	30s	
72	70s	
70	15dk	

Dış primerlerle yükseltgemenin ardından, dizinin ortasında kalan 598 bazlık değişken bölgenin nükleotit dizisi Naderi ve ark., (2007) tarafından önerilen CAP-F: 5’-CGTGTATGCAAGTACATTAC-‘3 ve CAP-R: 5’-CTGATTAGTCATTAGTC CATC-‘3 iç primerleriyle yeni dideoksi metodu kullanılarak hem ileri hem de geri yönde dizileme PZR reaksiyonu yapılmıştır. Özellikle bu bölgenin ortasında yer alan 400nt’lik kısım haplogrup belirlenmesinde rol oynayan kritik mutasyonları kapsamaktadır (Şekil 2.2).

Materyal olarak kullanılan keçilerden elde edilen PZR ürünleri nükleotit dizilerinin belirlenmesi amacıyla reaksiyona katılmamış dNTP, primer, enzim ve tuz kalıntılarının uzaklaştırılması amacıyla spin kolon bazlı temizleme kiti (Qiagen, QIAquick PCR Purification Kiti, Katolog No: 28106) ile temizlenmiştir. Firmanın önerdiği şekilde uygulanan protokol aşağıda sunulmuştur:

1. PZR ürünleri kısa süre ve düşük devirde santrifüjlenerek çöktürülmüştür.
2. 20–25µl PZR ürünü üzerine 125µl “PB buffer” eklenmiş ve pipetlenerek karıştırıldıktan sonra filtreye temas edilmemesine dikkat edilerek üzeri yazılı spin kolon tüplere aktarılmıştır.
3. 13.000rpm’de 60s santrifüj edilmiştir.
4. Santrifüj sonrası alt sıvı dökülmüş ve filtre kısmı tekrar tüplere yerleştirilmiştir. Tekrar filtreye temas edilmemesine dikkat edilerek 750µl “PE Buffer” eklenmiştir.
5. 13.000rpm’de 60s santrifüj edilmiştir.
6. Santrifüj sonrası alt sıvı dökülmüş ve filtre kısmı tekrar tüplere yerleştirildikten sonra 13.000 rpm’de 60s santrifüj işlemi tekrarlanmıştır.
7. Filtre kısmı 1,5ml’lik yeni ve etiketlenmiş eppendorf tüplerine yerleştirildikten sonra 1-2 dakika son solüsyonda bulunan alkolün uçması beklenmiştir.
8. Süre sonunda filtre üzerine 50µl “EB buffer/elution buffer” dikkatlice eklenerek 1dk oda ısısında bekletildikten sonra 14.000 rpm’de 60s santrifüj yapılmıştır.

Temizlenmesi yapılan PZR ürünlerinin %2’lik agaroz jelde kontrolleri yapılmıştır. Buradaki yoğunluklarına göre de Sanger’in (1977) dizi sonlandırma (chain termination) metoduna dayanan dizileme reaksiyonu uygulanmıştır.

Ankara, Kilis ve Honamlı keçilerinde D-loop bölgesi dizileme PZR reaksiyonu için “Dye Terminator Cycle Sequencing (DTCS) Quick Start, Katolog No:608120” kiti kullanılmıştır. Dizileme PZR reaksiyonunun optimizasyonu için, betainli ve betainsiz olmak üzere 10µl toplam hacim içerisinde, 0,5–1µl PZR ürünü, 4µl sekans kiti premixi, 1µl (1,6pmol) ileri veya geri primer ve 2,5µl distile su

kullanılarak yapılmıştır. Dizileme reaksiyonları DNA Engine Tetrad 2 Peltier Thermal Cycler (Biorad) cihazında 50°C ve 55°C bağlanma ısılarında ayrı ayrı denenmiştir. Dizileme PZR reaksiyonunda en uygun sonuç alınan kimyasallar Çizelge 2.4’de sunulmuştur.

Çizelge 2.4. D-loop bölgesi ile ilgili olarak dizileme PZR reaksiyonunda kullanılan kimyasallar ve miktarları

Kimyasallar	Kullanılan miktarlar, µl
Kit Premixi	4
Betain	2
Primer (ileri veya geri); 1,6pmol/µl	1
PZR ürünü	1
ddH ₂ O	2
Total hacim	10

Yapılan optimizasyon çalışmalarında dizileme PZR reaksiyonunda en uygun bağlanma sıcaklığı ileri yönlü iç primer için 55°C, geri yönlü iç primer için ise 50°C bulunmuştur. Tüm örnekler hem ileri hem de geri iç primerlerle dizileme reaksiyonuna tabi tutulmuş yani her bir dizi iki yönlü okunmuştur. Dizileme PZR reaksiyonunda kullanılan reaksiyon koşulları Çizelge 2.5’de sunulmuştur.

Çizelge 2.5. D-loop bölgesi ile ilgili olarak dizileme PZR reaksiyonu koşulları

Sıcaklık, °C	Süre	
96	3dk	
94	20s	X 30 döngü
55/50	20s	
60	4dk	

Dizileme PZR reaksiyonunun ardından, reaksiyona katılmamış ddNTPlerin ve primer kalıntılarının uzaklaştırılması amacıyla Etanol çöktürmesi (presipitasyonu) yapılmıştır. Etanol çöktürmesinde yapılan işlemler aşağıda sunulmuştur.

1. 1,5ml lik eppendorf tüplere örnek isimleri yazılarak hazırlanmıştır.

2. PZR ürünleri kısa süre ve düşük devirde santrifüjlenerek çöktürülmüştür.
3. Tüpler buz üzerine alındıktan sonra, her bir tüp içerisine 1µl 125mM ve pH 8,0'lik EDTA (Etilen Diamin Tetra Asetik Asit) dağıtılmıştır.
4. Üzerlerine 10µl PZR ürünü yavaşça ve pipetlenmeden eklenmiştir.
5. Her bir tüpe yavaşça ve yine pipetlenmeden 1µl 3mM'lık NaAc (Sodyum asetat) eklenmiştir.
6. Tüpler kısa süreli vortekslenildikten sonra her bir tüpe -20°C'de tutulmuş %100'lük etanolden 35µl eklenmiş ve tekrar kısa süreli vortekslenmiştir.
7. Tüpler 15dk oda koşulunda bekletilmiştir.
8. Süre sonunda tüpler bağlantı yerleri tek yöne bakacak şekilde + 4°C'de ve 14.000rpm'de 20dk santrifüj edilmiştir.
9. Santrifüj sonunda her bir tüpe 100µl'lik pipet ucu ile girilerek pelete değmeden alkol alınıp atılmıştır.
10. Pelet üzerine taze hazırlanmış %70'lik etanolden 130µl konulmuş ve tüpler yavaşça bir kez alt üst edilmiştir.
11. Tüpler bağlantı yerleri yine aynı yöne bakacak şekilde + 4°C'de ve 14.000rpm'de 10dk santrifüj edilmiştir.
12. Santrifüj sonunda alkol dikkatlice dökülerek tekrar + 4 °C'de ve 14000 rpm'de 45 s santrifüj edilmiştir.
13. Santrifüj sonunda kalan etanol 10µl'lik pipet ucu ile dikkatlice ve pelete değmeden alındıktan sonra etanolün iyice uçurulması için tüpler 10dk ağzı açık bekletilmişlerdir.
14. Süre sonunda her bir örneğin üzerine 20µl deiyonize formamid eklenmiş ve hafifçe vortekslenmiştir. Peletin formamid içinde iyice çözünmesi için 100µl'lik pipet ucu ile tüpün iç yüzünü kazır şekilde 2-3 dakika pipetasyon işlemi yapılmıştır.

Deiyonize Formamid içinde sulandırılan floresan işaretli PZR ürünleri 96'luk platalere alınıp üzerine mineral yağ damlatılarak, Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü Merkez Laboratuvarı'nda bulunan Beckman Coulter CEQ8000 otomatik dizi analiz sistemine yüklenmiştir. Zayıf veya tuz kirliliğine bağlı hatalı pikler alınan örneklerde dizileme PZR reaksiyonu tekrarlanmıştır.

Kıl ve Norduz keçilerine ait PZR ürünleri ise hizmet satın alımı yapılarak dizi analizi yapılmıştır. Bu amaçla DNA izolasyonu yapılan örneklerin D-loop bölgesi PZR'la yükseltgenmiş ve PZR temizleme işleminden sonra hizmet alımı yapılan firmaya teslim edilmiştir. Buradaki dizileme reaksiyonları ABI3130 cihazı kullanılarak yapılmıştır.

2.5. mtDNA Sitokrom-*b* Bölgesinin Yükseltgenmesi ve Dizi Analizi

Her bir ırk içerisinde D-loop bölgesi yönünden farklı haplogrurlara ayrılan ya da Median Joining networkunde farklı haplotip yapısı gösteren örneklere Sitokrom-*b* bölgesi açısından da incelenmek üzere dizi analizi uygulanmıştır. Bu amaçla D-loop dizi analizi sonuçlarına göre A haplogrubundan 4 örnek, G haplogrubundan 6 örnek ve D haplogrubundan 1 örnek olmak üzere toplam 11 örnek analiz için seçilmiştir. Böylece, farklı haplotipler gösteren bu örneklerin popülasyona katılım zamanının belirlenmesi amaçlanmıştır. Seçilen hayvanların ırkları ve dahil oldukları haplogrup Çizelge 2.6'da belirtilmiştir.

Sitokrom-*b* gen bölgesi D-loop bölgesine oranla daha az çeşitlilik gösterdiğinden (1140 bazda sadece 50 değişken bölge içerdiğinden) ve haplogrup ayırımına olanak vermediğinden tüm örneklerin dizi analizi yapılmamıştır.

Çizelge2.6. Sitokrom-*b* dizi analizi yapılan örnekler

A haplogrubunu temsil eden örnekler	G haplogrubunu temsil eden örnekler	D haplogrubunu temsil eden örnekler
Ankara E7	Ankara D14	Kilis D7
Kilis E19	Honamlı D22	
Norduz E143	Honamlı E28	
Kıl E37	Honamlı E29	
	Honamlı E34	
	Kilis D6	

Sitokrom-*b* bölgesinin PZR ile yükseltgenmesi için önce evrensel primerler denenmiştir. Bu amaçla ileri primer olarak L14724V: 5'ATGATATGAAAAACCATCGTTG-3' ve geri primer olarak H15915V: 5'-TCTCCTTCTCTGGTTTACAAGA C-3' ile yükseltgenme denenmiş ancak daha sonra dizi analizi ile ilgili olarak yaşanan sorunlardan dolayı H15915V primeri çalışma dışı bırakılmıştır. Yerine saçtokası, homo /heterodimer yapılarının kontrolünü sağlayan, çevrimiçi ulaşılabilen IDT Oligo Analyzer3.1, PerlPrimer programı (Marshall, 2004) ve CLC Main Workbench (CLC bio Inc.) yazılımları kullanılarak yeni bir primer; Caphir - Sito1Rev: 5'-GGCTATTCTCCTTTTCTGGTT-3' belirlenmiştir. Bu primerlerle 1140 bazlık Sitokrom-*b* bölgesini içine alan 1242 bazlık bir bölge yükseltgenmektedir (Şekil 2.3).

ATGATATGAAAAACCATCGTTGTTATTCAACTACAAGAACAATA→ATGACCAACATCCGAAAGACCC
 ACCCATTAATAAAAAATTGTAAACAACGCATTTATTGACCTCCCAACCCCATCAAACATCTCATCATGA
 TGAAACTTTGGATCCCTCCTAGGAATTTGCCTAATCTTACAAATCCTGACAGGCCTATTCCCTAGCAAT
 AACTATAACATCCGACACAATAACAGCATTTTCTCTGTAACCTCACATTTGTCGAGATGTAATTTATG
 GCTGAATCATCCGATACATACACGCAAACGGAGCATCAATATTCTTTATCTGCCTATTTCATACATATC
 GGACGAGGTCTATATTATGGATCATATACCTTTCTAGAAACATGAAACATTGGAGTAAT**CCTCCTGCT**
CGCAACAATGGCCACAGCATTTCATAGGCTATGTTTTACCATGAGGACAAATATCATTTTGAGGGGCAA
 CAGTCATCACTAA**TCTTCTTTTACGCAATCCATA**TATTGGCACAAACCTAGTCGAATGAATCTGAGGG
 GGGTTCTCAGTAGACAAAGCCACTCTCACCCGATTCTTCGCCTTCCACTTTATCCTCCCATTTCATCAT
 CACAGCCCTCGCCATAGTCCACCTGCTCTTCCCTCCACGAAACAGGATCGAACAAACCCACAGGAATTC
 CATCAGACACAGATAAAAATCCCATTTTACCCTTACTACACCATTAAGATATCTTAGGCCCATGCTA
 CTAATTCTTGTTCTAATATTACTAG**TACTATTACACCCGACCTA**CTCGGAGACCCAGACAACATATAT
 CCCAGCAAATCCACTCAATACACCCCTCACATTAACCTGAGTGGTATTTCTATTTGCATACGC**AA**
TCCTACGATCAATCCCCAACAAACCTAGGAGGAGTCTTAGCCCTAGTCTCTCAATCTAATCTTAGTA
 CTTGTACCCTTCCCTCCACATCTAAACAACGAAGCATAATATCCGCCAATCAGCCAATGCATATT
 CTGAATCCTGGTAGCAGATCTATTAACACTCACATGAATTGGAGGACAGCCAGTCGAACATCCCTACA
 TTATTATTGGACAACCTAGCATCTATTATATATTTCTCATCATTTCTAGTAATAATACCAGCAGCTAGC
 ACCATTGGAAACAACCTTCTAAAATGAAGA←CAAGTCTTTGTAGTACAATCAATACACTGGTCTTGT
 A**AACCAGAAAAGGAGAATAGCC**

Şekil 2.3. Capra hircus Sitokrom-*b* bölgesi nükleotit dizisi ve kullanılan primerlerin gösterimi; oklar gen bölgesini, altı çizili yazılmış nükleotitler dış primerleri, italik ve kalın yazılanlar ise iç primerleri ifade etmektedir.

Sitokrom-*b* bölgesi PZR ile yükseltgenmede reaksiyon başına kullanılacak DNA kalıp miktarı, MgCl₂, primer ve dNTP konsantrasyonları ile en uygun primer bağlanma sıcaklığının belirlenmesi amacıyla gradient PZR kurularak optimizasyon yapılmıştır. PZR'ın ardından, yükseltgeme ürünleri %2'lik agaroz jelde 120 V altında 20 dakika elektroforez yapılarak kontrol edilmiş ve en uygun kimyasal konsantrasyonları ve primer bağlanma sıcaklığı belirlenmiştir (Çizelge 2.7–2.8).

Çizelge 2.7. Sitokrom-*b* bölgesi PZR kimyasal konsantrasyonları

PZR Kimyasalları	Kullanılan yoğunluklar
10x Buffer	1 x
MgCl ₂	2,5mM
dNTPs	200µM
Forward primer	5pmol
Reverse primer	5pmol
Taq DNA polymerase	1 IU
Kalıp DNA	100-150ng
Total ddH ₂ O ile 25 µl'ye tamamlandı	

Çizelge 2.8. Sitokrom-*b* bölgesi PZR yükseltgenme koşulları.

Sıcaklık, °C	Süre	
94	4dk	
94	30s	X 30 döngü
59	30s	
72	70s	
70	15dk	

Tüm bölgenin yükseltgenmesinin ardından elde edilen 1242 baz uzunluğundaki PZR ürünleri reaksiyona katılmamış dNTP, primer, enzim ve tuz kalıntılarının uzaklaştırılması amacıyla spin kolon bazlı temizleme kiti (Qiagen, QIAquick PCR Purification Kiti, Katolog No: 28106) ile Bölüm 2.4.'de belirtilen protokole göre temizlenmiştir.

Sitokrom-*b* bölgesinin nükleotit diziliminin belirlenmesi için IDT Oligo Analyzer3.1, PerlPrimer programı (Marshall, 2004) ve CLC Main Workbench (CLC

bio Inc.) yazılımları kullanılarak iç (internal) primerler tasarlanmıştır. Yeni tasarlanan primerlere ait nükleotit dizilimleri Çizelge 2.9’de belirtilmiştir.

Çizelge 2.9. Yeni tasarlanan primerlere ait diziler.

Primer adı	Primer dizisi, 5’ → 3’
Caphir -Sito1intFor	CCTCCTGCTCGCAACAATGG
Caphir -Sito1intRev	ATGGGATTGCTGAAAGAAGA
Caphir -Sito2intFor	TACTATTACACCCGACCTA
Caphir -Sito2intRev	TTGGGGATTGATCGTAGGATT

Temizlenmiş PZR ürünlerinin nükleotit dizilerinin belirlenmesi için hizmet satın alımı yapılarak 3 ileri ve 3 geri primerle dideoksi metoduna göre dizi analizi reaksiyonu uygulanmıştır.

2.6. Dizi Analizi Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Her bir örnek için hem ileri hem de geri primerlerin kullanılmasıyla elde edilen kromotogramlar BioEdit Version 7.0.9.1 (Hall, 1999) programında açılarak alt alta sıralanmış, geri primerin “reverse komplemanı” alınarak ileri primerle karşılaştırılmış ve konsensus diziler elde edilmiştir. Ayrıca Sitokrom-*b* bölgesi için 3 ileri ve 3 geri primerden elde edilen diziler de ortak kısımları karşılaştırılarak kontigler oluşturulmuş ve ardından 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’den (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) indirilen referans diziler, BioEdit Version 7.0.9.1 (Hall, T. 1999) programı altında “Clustal W Multiple Alignment” yazılımı kullanılarak aynı baz dizileri alt alta gelecek şekilde hizalanmıştır. Hizalamının ardından tüm dizilerin aynı uzunlukta olması için sondan ve baştan fazla okunmuş

bazlar kesilip, analiz dışı bırakılmıştır. Sonraki analizler D-loop bölgesi ile ilgili olarak kalan 453 baz dizisi (duplikasyonlular için 530 baz) ve Sitokrom-*b* bölgesi için ise 1148 baz dizisi kullanılarak sürdürülmüştür. Hizalanmış diziler fasta formatında kaydedilerek istatistik programlarında kullanılmak üzere dosyalanmıştır.

2.7. Filogenetik ve İstatistiksel Analizler

Nükleotit (π) ve Haplotip Çeşitliliği (H) ile Haplogrup Frekanslarının Belirlenmesi: Ele alınan ırklar arasındaki nükleotit (π) ve haplotip çeşitliliği (H) farklarının belirlenmesi amacıyla DnaSP v5 programı (Librado ve Rozas, 2009) kullanılmıştır.

Nükleotit Yer Değiştirme Oranlarının Belirlenmesi: Nükleotit yer değiştirme oranlarının ve populasyonlar arası farklılıkların belirlenmesi amacıyla DnaSP v5 programı (Librado ve Rozas, 2009) kullanılmıştır. Bu değerlerin hesaplanmasında Kimura iki parametre (K2P) modelinden yararlanılmıştır.

Genetik Mesafe Ölçümü: Irklar arası genetik mesafe ölçümleri, Nei'nin "Standart Genetik Mesafe" hesaplaması ve Wright'ın F istatistiği hesaplamaları baz alınarak yapılmıştır. Bu amaçla MEGA 4.0 programı ve Arlequin ver3.5.1.2 programı (Excoffier ve Lischer, 2010) kullanılmıştır. Elde edilen ırklar arası uzaklık matrislerine göre PHYLIP 3.69 programında NEIGHBOR yazılımı (Felsenstein, 2005) ve TreeView programı kullanılarak ağaçlar oluşturulmuştur.

Genetik mesafe ölçümünde kullanılacak nükleotit yer değişimi modellerinden hangisinin kullanılacağı ile ilgili uygun yöntemi belirlemek için Kumar ve ark. (1993) tarafından önerilen sistemden yararlanılmıştır. Buna göre:

1) Farklı diziler/gruplar arası genetik farklılık 0.05 ya da daha az ise ($d < 0.05$), transisyon/transversiyon oranına bakılmaksızın Jukes-Cantor modeli seçilebilmektedir;

(2) Farklı diziler/gruplar arası farklılık $0.05 < d < 0.3$ olduğunda transisyon/transversiyon oranı çok yüksek olmadığı sürece ($R < 2$) Jukes-Cantor modeli; transisyon/transversiyon oranı yüksekse ve çok sayıda nükleotit inceleniyorsa K2P modeli seçilebilmektedir;

(3) Farklı diziler/gruplar arası farklılık $0.3 < d < 1$ ise, transisyon/transversiyon oranı da düşük ise ve aynı zamanda nükleotitlerin (A, T, C, G) frekansı eşit değilse Tajima-Nei mesafe ölçüm modeli seçilebilir. Nükleotitlerin (A, T, C, G) frekansı eşit değilse, transisyon/transversiyon oranı ve G+C içeriği yüksek ise Tamura veya Tamura-Nei mesafe ölçüm modelleri seçilebilmektedir.

En uygun nükleotit yer değişim modelini belirlemek için ModelTest, v3.7 (Posada ve Crandall, 1998) programı kullanılmış, oldukça yakın skorlar veren K2P, GTR ve HKY modelleri tercih edilmiştir.

Mantel Test Analizi: Irk düzeyinde coğrafi uzaklık ve genetik uzaklık arasındaki korelasyon, Arlequin ver3.5.1.2 (Excoffier ve Lischer, 2010) programında Mantel test ile hesaplanmıştır. Bu amaçla ırklara ait F_{ST} değerleri matrisi ile örnekleme bölgelerinin santimetrik uzaklıklarından elde edilen matris, 10.000 permutasyonla %95 güven eşiği altında analiz yapılmıştır. Elde edilen regresyon değerine (r) ve X değişkeni yoluyla Y değişkenini belirleme katsayısına (r^2) göre yorumlanmıştır.

Bireysel olarak coğrafi koordinatları (enlem/boylam) ile genetik uzaklıkları arasında ilişki olup olmadığının belirlenmesi amacıyla, Alleles In Space (AIS) (Miller, 2005) programı kullanılarak Mantel test yapılmıştır. Analiz hem tüm örnekler dahil olacak şekilde bir seferde hem de popülasyon bazında 5 ırk için ayrı ayrı tekrarlanmıştır.

Filogenetik Ağaç Oluşturulması: Irklar arası ilişkinin ve haplotipik yapının görsel olarak ayırt edilebilmesi ve daha iyi anlaşılabilmesi amacıyla, elde edilen diziler filogenetik ağaç ve network oluşturulmasında kullanılmıştır. Bu amaçla, MEGA 4.0 programı (Kumar ve ark., 2008) kullanılarak Çiftler Bazında Veri Silme (Pairwise Deletion) ve 1000 bootstrap seçenekleri altında K2P modeline göre NJ ağacı, ME ve

Maksimum olasılık ağaçları ile her bir haplotipe göre Network 4.516 programı (Bandelt ve ark., 1999) kullanılarak Median joining networku oluşturulmuştur.

Haplotiplerin hangi haplogrurlara dahil olduğunun belirlenebilmesi amacıyla A, B, C, D, F ve G haplogrurlarından oldukları bilinen diziler NJ ağacı oluşturulması sırasında referans dizi olarak kullanılmışlardır. Kullanılan referans dizilerin GenBank kodları Çizelge 2.10'da listelenmiştir.

Çizelge 2.10. Analizlerde haplogrurlara atamada kullanılan referans diziler

Referans dizinin ait olduğu haplogrup	Referans dizinin GenBank kodu	Referans
A haplogrubu	AY155721 EF618134	Naderi ve ark. 2007
B haplogrubu	EF617706 (B1) DQ121578 (B2)	Naderi ve ark. 2007 Liu ve ark. 2006
C haplogrubu	EF618413 DQ188892	
D haplogrubu	EF617701 DQ188893	
F haplogrubu	DQ241349	Sardina ve ark. 2006
G haplogrubu	EF618535 (Türkiye) EF617727 (Mısır) EF618084 (İran)	Naderi ve ark. 2007

Ayrıca dış grup olarak koyun (*Ovis aries*) mtDNA kontrol bölgesine ait diziyle çeşitli yaban keçilerine ait mtDNA kontrol bölgesine ait diziler de kullanılmıştır. Kullanılan dizilere ait bilgiler ve GenBank kodları Çizelge 2.11'de listelenmiştir.

Çizelge 2.11. Analizlerde dış grup olarak kullanılan dizilere ait GenBank kodları.

Tür adı	GenBank kodu
<i>Capra aegagrus(1)</i>	AJ317864
<i>Capra aegagrus(2)</i>	EF989163
<i>Capra aegagrus(3)</i>	EF989426
<i>Capra aegagrus(4)</i>	EF989577
<i>Capra caucasica</i>	AJ317875
<i>Capra sibirica</i>	AJ317874
<i>Capra cylindricornis</i>	AJ317870
<i>Capra nubiana</i>	AJ317871
<i>Capra falconeri</i>	AJ317872
<i>Ovis aries</i>	AM279285

Diğer nükleotit değişim modellerinden elde edilecek topoloji farklılığını görebilmek amacıyla fasta formatında hizalanmış diziler kullanılarak PhyML v3.0, aLRT programında analiz yapılmıştır. Bu amaçla GTR modeli seçilerek, olasılık oranlarına dayanan likelihood ratio testine (aLRT test) göre en olası ağacın çizdirilme analizi (maximum likelihood methodu) uygulanmıştır (Guindon ve Gascuel, 2003). Programın orijinal çıktı dosyasını Newick formatında olup MEGA 4.0 (Kumar ve ark., 2008) programı ile görsel hale getirilmiştir.

Uyumsuzluk Dağılım Analizleri: Uyumsuzluk dağılım analizi için DnaSP v5 programı (Librado ve Rozas, 2009) kullanılmıştır. Irklar, elde edilen raggedness istatistikleri ve ikili grup farklılıkları ortalamaları açısından karşılaştırılmışlardır. Populasyonların geçmişi ile ilgili fikir veren uyumsuzluk dağılım analizi için önce beş ırktan tüm haplotipler analiz edilmiş ve daha sonra Ankara ve Kilis keçisi populasyonlarındaki G ve D haplogrubuna sahip örneklerle dublikasyon insersiyonu taşıyan iki örnek analiz dışı bırakılarak A haplogrublu bireyler analize dahil edilmiştir. Uyumsuzluk dağılımı analizleri haplogrublar arasında ve ırklar arasında olmak üzere ayrı ayrı analiz edilmiştir ve grafik çizdirilmiştir.

Nötralite Testleri: Nötral teorinin test edilmesi amacıyla ile ilgili hesaplamalar ve önemlilik testleri DnaSP v5 programı (Librado ve Rozas, 2009) ile yapılmıştır. Nötralitenin test edilmesinde Fu ve Li'nin D* testi, Fu ve Li'nin F* testi, Fu'nun Fs testi ve Tajima'nın D testi kullanılmıştır. Ayrıca popülasyonların geçmişinin ortaya konulmasında filogenetik ağaç çizimlerinden de yararlanılmıştır.

Moleküler Varyans Analizi (AMOVA): AMOVA analizi için gruplar oluşturularak analiz edilmiştir. Grupların oluşturulmasında coğrafi dağılım, haplotip çeşitliliği ve F_{ST} değerlerinden yararlanılmıştır.

AMOVA analizi önce için dört deney düzeneği oluşturulmuştur. Ancak önce gruplar içi yanıtıcı varyasyon artışına neden olabilecek G ve D haplogrubuna dahil örneklerle dublikasyon insersiyonu görülen örnekler analizden çıkartılmıştır. Dolayısıyla analizler sadece A haplogrubundan örneklere uygulanmıştır. Bu örneklere ait haplotipler DnaSP programı altında ırkların altında gruplanarak “.arp” formatında kaydedilmiştir. Ardından Arlequin ver3.5.1.2 (Excoffier ve Lischer, 2010) programında açılarak ırkların gruplara ataması yapılmıştır.

Buna göre:

- İlk deney düzeneği tüm ırklar bir grupta olacak şekilde;
- İkinci deney düzeneği ırkların coğrafi olarak yakınlıklarına göre planlanmış ve 3 grup düzenlenmiştir. Bunlardan 1.grup Honamlı ve Kıl keçilerini, 2.grup Ankara keçilerini 3.grup ise Kilis ve Norduz keçilerini içerecek şekilde;
- Üçüncü deney düzeneğinde ırklar haplotip çeşitliliklerine göre ayrılmış ve 1.grup Honamlı ve Kilis keçilerini, 2.grup Kıl ve Ankara keçilerini 3.grup ise Norduz keçilerini içerecek şekilde;
- Dördüncü deney düzeneğinde ise yine coğrafik olarak yerleşimleri düşünülerek ikinci deneyin doğruluğunu test etmek için tasarlanmıştır. Buna göre; 1.grup Honamlı, Kıl ve Ankara keçilerini, 2.grup ise Kilis ve Norduz keçilerini içerecek şekilde düzenlenmiştir.

Moleküler Saat Analizleri ve En Yakın Ortak Ata Zamanı (The Time The Most Recent Common Ancestor, TMRCA) Hesaplanması: Sitokrom-*b* bölgesi, protein kodlayan bir bölge olduğundan D-loop bölgesine oranla daha yavaş mutasyona maruz kalmakta ve mutasyon birikimi geçen zamana göre sayıca artmaktadır. Bu nedenle moleküler saat ve en yakın ortak ata zamanının belirlenmesinde Sitokrom-*b* bölgesi kullanılmıştır. Farklı haplogrupları temsil eden örneklere ve koyuna ait Sitokrom-*b* dizileri (GenBank no:X56284) arasında evrimsel farklılaşmanın sırasının hesaplanması için MEGA 4.0 (Kumar ve ark., 2008) programı ile kodon pozisyonlarına ve nükleotit yer değiştirmelerine dayanan Maximum Composite Likelihood metodunu kullanan Minimum Evolutionary ağacı ve K2P modelini kullanarak NJ ağacı oluşturulmuştur. Bu amaçla belirlenen 12 diziye, Çiftler Bazında Veri Silme (Pairwise Deletion) ve 1000 bootstrap seçenekleri altında analiz uygulanmıştır. Elde edilen ağaçlarda moleküler saat kalibrasyonu kullanılarak mutasyon oranı girilmiş ve haplogruplar için yaklaşık ortak ata zamanları hesaplanmıştır

2.8. Çalışmada Kullanılan Analiz Programları

Bu çalışmada kullanılan analiz programları ve erişim adresleri aşağıda listelenmiştir.



BioEdit Sequence Alignment Editor

Erişim: <http://www.mbio.ncsu.edu/BioEdit/bioedit.html>



DnaSP (DNA Sequence Polymorphism)

Erişim: <http://www.ub.es/dnasp/>



MEGA (Molecular Evolutionary Genetics Analysis)

Erişim: <http://www.MEGAsoftware.net/>



ModelTest

Erişim: <http://darwin.uvigo.es/software/modeltest.html>



NEB cutter V2.0

Erişim: <http://tools.neb.com/NEBcutter2/index.php>



Network

Erişim: <http://www.fluxus-engineering.com/sharenet.htm>



Phylip

Erişim: <http://evolution.genetics.washington.edu/phylip.html>



TreeView

Erişim <http://taxonomy.zoology.gla.ac.uk/rod/treeview.html>



Alleles in Space (AIS)

Erişim: <http://www.marksgeneticsoftware.net/AISInfo.htm>



Arlequin

Erişim: <http://cmpg.unibe.ch/software/arlequin35/>



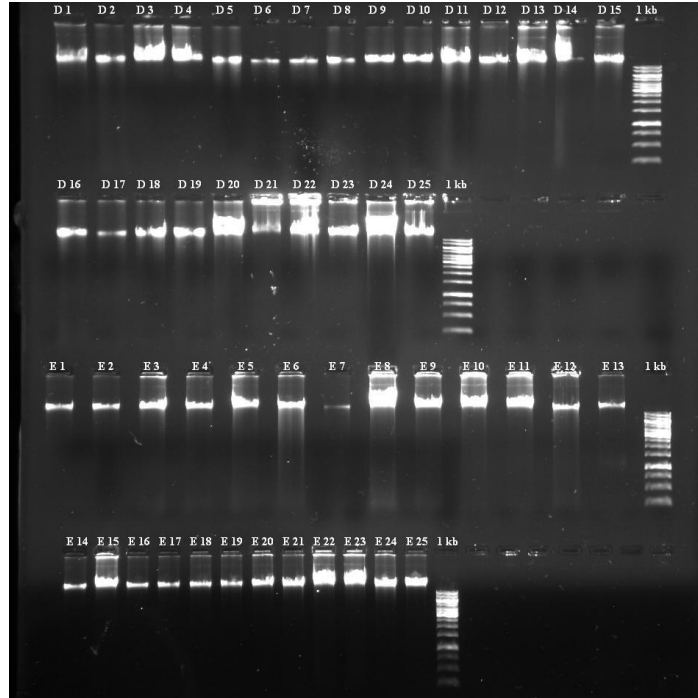
PhyML (PHYlogenetic inferences using Maximum Likelihood)

Erişim: http://www.phylogeny.fr/version2_cgi/one_task.cgi?task_type=phyml

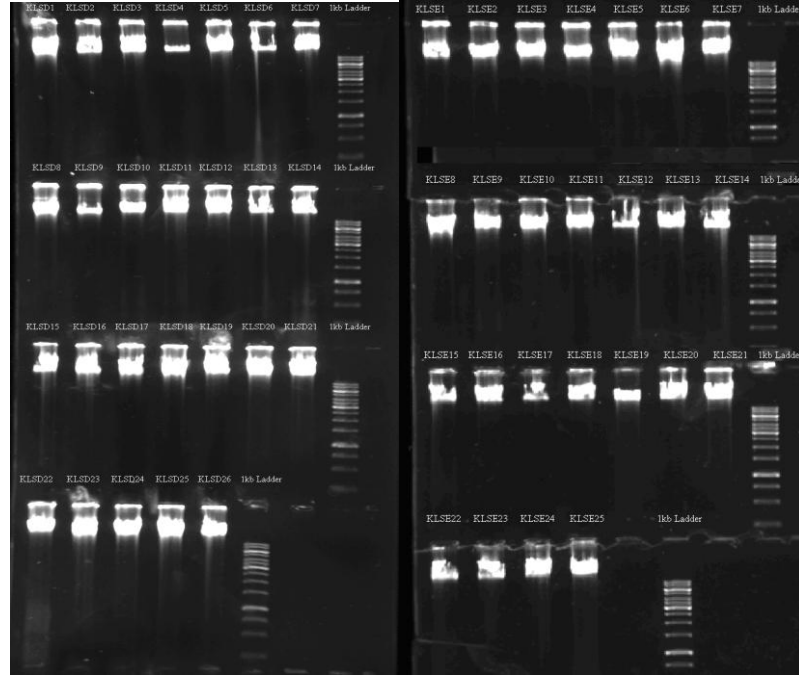
3. BULGULAR

3.1. DNA İzolasyonu ve Kontrolü

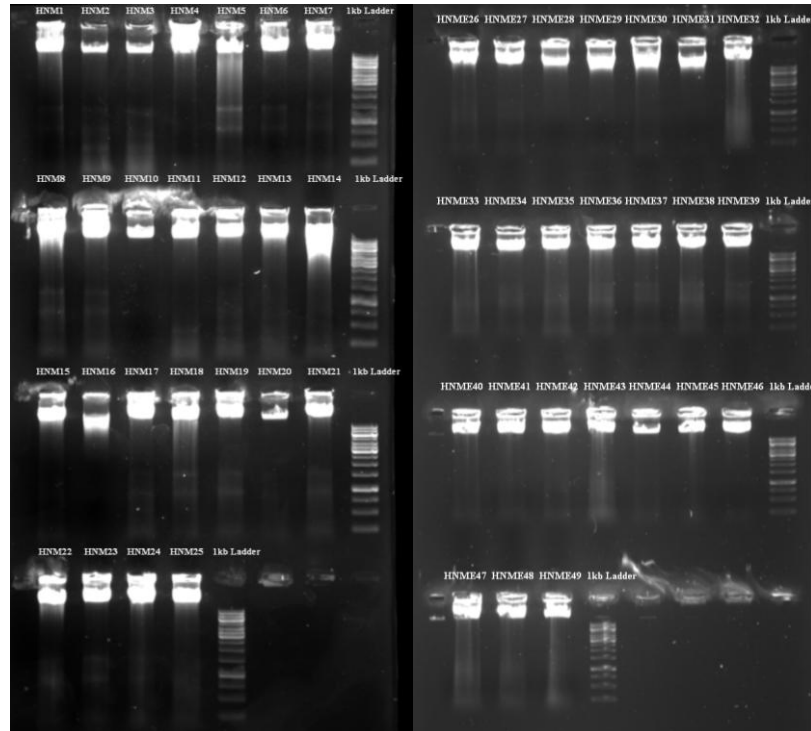
Bu araştırmada incelenen keçi ırklarından izole edilen DNA'ların saflığı, miktarı ve bütünlüğü kontrol edilerek bunlara ait agaroz jel elektroforezi görüntüleri Şekil 3.1, Şekil 3.2, Şekil 3.3, Şekil 3.4 ve Şekil 3.5'de verilmiştir



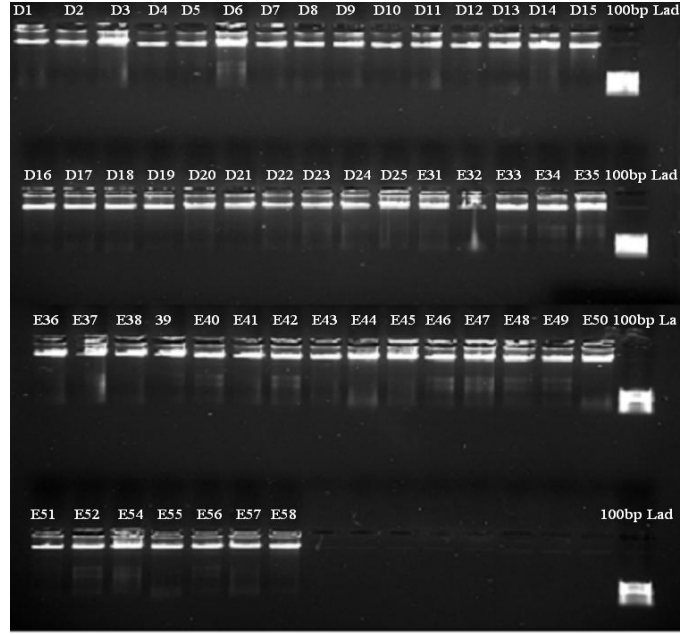
Şekil 3.1. Ankara keçisi örneklerine ait DNA'ların %0,8'lik agaroz jel görüntüsü (AnkD1-D25; AnkE1-E25; her sıranın sonunda 100bp DNA ladder, MBI Fermentas)



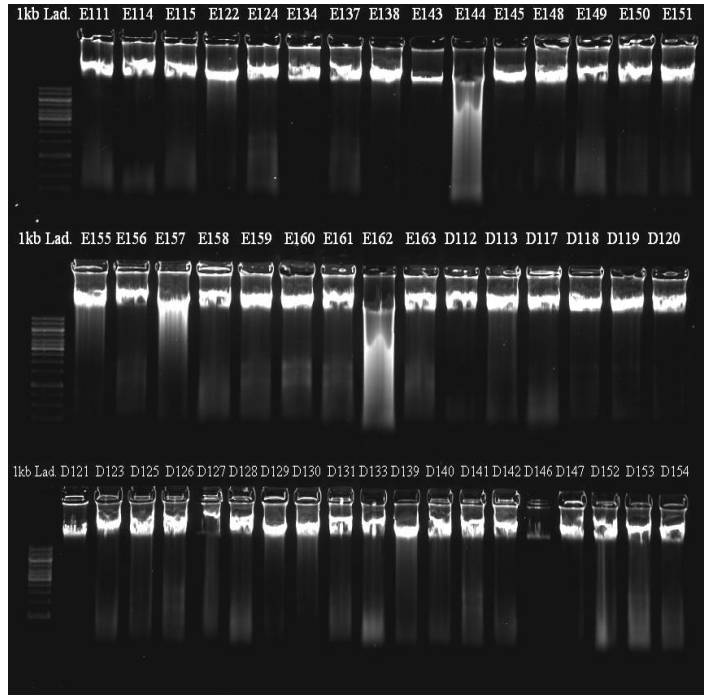
Şekil 3. 2. Kilis keçisi örneklerine ait DNA'ların %0,8'lik agaroz jel görüntüsü (Soldaki jel KlsD1-D26; Sağdaki jel KlseE1-E25; her sıranın sonunda 1kb DNA ladder, MBI Fermentas)



Şekil 3.3. Honamlı keçisi örneklerine ait DNA'ların %0,8'lik agaroz jel görüntüsü (Soldaki jel HnmD1-D25; Sağdaki jel HnmeE26-E49; her sıranın sonunda 100bp DNA ladder, MBI Fermentas)



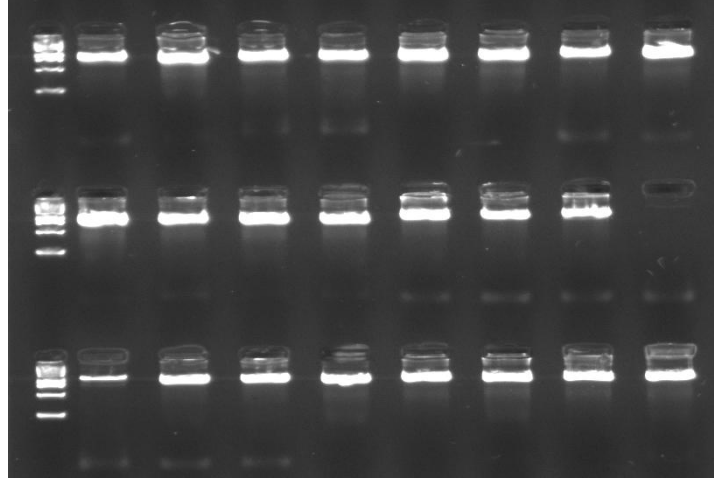
Şekil 3.4. Kıl keçisi örneklerine ait DNA'ların %0,8'lik agaroz jel görüntüsü (KılD1-D25; KılE31-E58; M: 100bp DNA ladder, MBI Fermentas)



Şekil 3.5. Norduz keçisi örneklerine ait DNA'ların %0,8'lik agaroz jel görüntüsü (M: 100bp DNA ladder, MBI Fermentas; NRDE111-E163; NRDD112-D154)

3.2. mtDNA Kontrol (D-Loop) Bölgesinin Polimeraz Zincir Reaksiyonu İle Yükseltgenmesi

Bütün ırklar için dış primerlerle mtDNA kontrol bölgesi (D-loop) üzerinde 1.002 bazlık bölge yükseltgenilmiş ve Ankara keçilerine ait PZR ürünlerinin agaroz jel elektroforez görüntüleri Şekil 3.6'da verilmiştir.



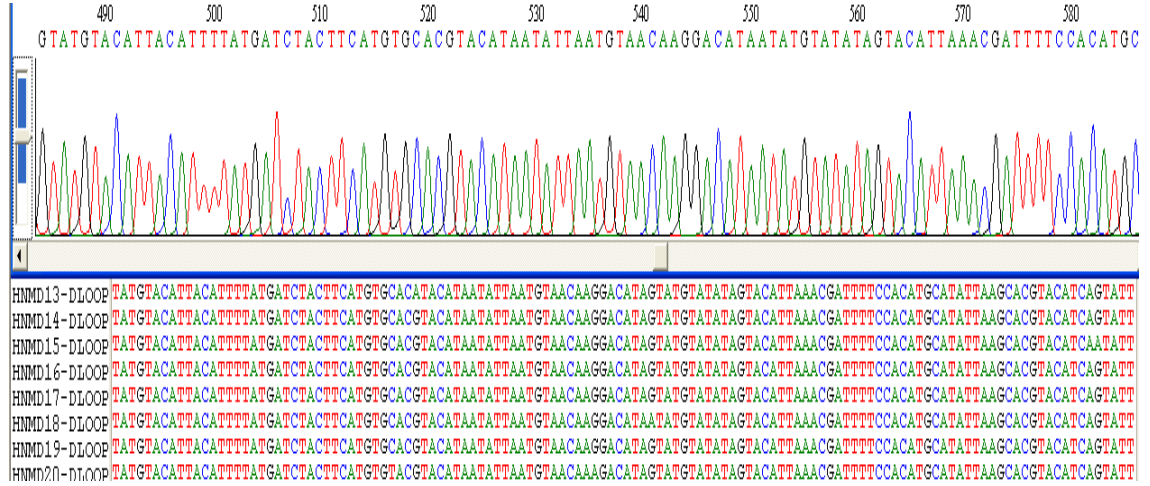
Şekil 3.6. Ankara keçilerinde mtDNA D-loop bölgesi yükseltgenme ürünlerinin % 2'lik agaroz jel elektroforez görüntüsü (Her sırada soldan ilk kuyucuk 1kb'lik DNA ladder, MBI Fermentas, diğer kuyucuklar sırasıyla: Ank D1-AnkD23)

Beklenen (1002 bazlık) bölgede tek ve kalın bantların tespiti ile başarılı bulunan PZR ürünleri dizi analizi için ayrılmıştır. Zayıf bant veren veya özgün olmayan bant alınan DNA'ların ise PZR'ları tekrarlanarak tek ve kalın bantlar elde edilmiştir.

3.3. mtDNA Kontrol (D-Loop) Bölgesinin Dizi Analizi

Tüm DNA'ların dizileme PZR reaksiyonunun ardından elde edilen dizi analizi sonuçları alt alta hizalanıp incelenerek, bir Honamlı keçisinde (Hnm D7) ve bir Kilis keçisinde (Kls E11) 77nt'lik bir duplikasyon insersiyonu (77 nükleotit uzunluğunda bir bölgenin tekrarlanarak diziye eklenmesi) tespit edilmiş ancak her iki dizi arasında da bazı farklılıkları olduğu belirlenmiştir. Şekil 3.7'de gösterildiği gibi

hizalanan diziler fasta formatında kaydedilerek ve istatistik programlarında kullanılmak üzere dosyalanmıştır.



Şekil 3.7. Dizileme PZR reaksiyonundan elde edilen dizi analizlerine ait veri örneği.

3.4. mtDNA Kontrol (D-Loop) Bölgesinin Filogenetik ve İstatistik Analizleri

3.4.1. Nükleotit (π) ve Haplotip Çeşitliliği (H)

İncelenen ırklarda mtDNA çeşitliliği ile ilgili istatistiki değerler Çizelge 3.1’de verilmiştir.

Çizelge 3.1. İncelenen ırklarda mtDNA çeşitliliği ile ilgili istatistikî değerler.

İrk	Ö. S. (n)	H. S.	H. Ç. (H)±S.S.	P. B. (S)	P. B. V. B. (PiS)	N.Ç. (π)± S.S.
Ankara	50	42	0,993; ±0,005	70	43	0,02021;±0,00162
Honamlı	49	42	0,993; ±0,006	73	43	0,02337;±0,00187
Kilis	51	48	0,998; ±0,004	86	48	0,02050;±0,00188
Kıl	53	48	0,996; ±0,005	72	46	0,02036;±0,00108
Norduz	49	36	0,983; ±0,008	62	43	0,01923;±0,00101
Toplam	252	208	0,9982; ±0,0006	129		0,02100;±0,00073

Ö.S.: Örnek sayısı; **H.S.:** Haplotip sayısı; **H.Ç.:** Haplotip çeşitliliği; **P.B.:** Polimorfik bölge; **P.B.V.S.:** Parsimonik bilgi verici bölge sayısı; **N.Ç.:** Nükleotit çeşitliliği; **S.S.:** Standart sapma.

Çizelge 3.1'e göre en yüksek haplotip çeşitliliği $H=0,998 (\pm 0,004)$ değeri ile Kilis keçilerinde belirlenmişken en düşük haplotip çeşitliliği ise $0,983 (\pm 0,008)$ değeri ile Norduz keçilerinde gözlenmiştir. Nükleotit çeşitliliği için ise en yüksek değer Honamlı keçilerinde $\pi=0,02337 (\pm 0,00187)$, en düşük değer ise yine Norduz keçilerinde $\pi=0,01923 (\pm 0,00101)$ gözlenmiştir. Ayrıca polimorfik bölge ve parsimonik bilgi verici bölge sayıları da Kilis keçisinde diğer ırklara oranla oldukça yüksek bulunmuştur.

İncelenen 252 baş keçide toplam 208 haplotip belirlenmiştir. Bu 208 haplotipten 174'ü özgündür, yani her keçi ırkı için sadece bir hayvanda belirlenmiştir. Hemen hemen her hayvan kendine özgü bir haplotip taşımaktadır. Çalışmada belirlenen haplotipler, belirlendikleri ırklar ve haplogrupları Ek-3'de listelenmiştir.

Bazı haplotiplerin ırk içinde iki veya daha fazla hayvanda görüldüğü belirlenmiştir (Çizelge 3.2).

Çizelge 3.2. Sadece aynı ırk içinde ortak olan haplotipler.

Haplotip paylaşılma yoğunluğu	Ankara keçisi	Honamlı keçisi	Kilis keçisi	Kıl keçisi	Norduz keçisi
2'şer hayvan	H43	H6	H94	H139	H178
	H45	H9	H105	H147	H183
	H51	H15	H118	H161	H184
	H54	H25			H189
	H69	H30			H202
	H81				
3'er hayvan		H21		H148	H176
4'er hayvan					H174

Bazı haplotiplerin de farklı ırklar arasında ortak olduğu saptanmıştır. Bu haplotipler ve görüldükleri hayvanların kodları sırasıyla Çizelge 3.3'de listelenmiştir:

Çizelge 3.3 Farklı ırklar arasında ortak olan haplotipler ve bu haplotipleri taşıyan hayvanların kodları.

Haplotip	Belirlendiği ırk ve hayvan kodu
H1	HNMD1, ANKD5, ANKE7
H20	HNMD21, KILE57
H32	HNME38 KILE38
H49	ANKD8, KILD21
H53	ANKD12, ANKE11, KILE33
H67	ANKE2, KILD17
H99	KLSD16, NRDD118, NRDD119, NRDD120, NRDD121
H104	KLSD21, KILE40

Norduz haplotiplerinin bu kadar paylaşılıyor olması düşük Haplotip çeşitliliği ile de uyumlu bulunmuştur. Kıl keçilerinde ise diğer ırklarla ortak paylaşılan birçok haplotip belirlenmiştir.

İncelenen ırklar kendilerine özgü haplotip taşıyan (özgün) örnek sayısı açısından incelenmiş ve yüzde değerleri Çizelge 3.4’de verilmiştir.

Çizelge 3.4. İncelenen keçi ırklarında özgün haplotip yüzdesi.

İrk	Özgün haplotip yüzdesi
Kilis	84
Kıl	71
Ankara	68
Honamlı	67
Norduz	57

İnceleme sonrası tüm haplotiplere ait nükleotit dizilimleri çıkartılmış ve parsimonik açıdan bilgilendirici olanlar seçilerek listelenmiştir (Şekil 3.8–3.11). Şekillere göre ilk sırada yer alan Haplotip1, A haplogrubundan bir hayvana aittir ve referans olarak seçilerek analiz edilmiştir. Noktalar referans dizi ile aynı nükleotit dağılımını göstermektedir. Referans diziden farklılık gösteren bazlar ise açık olarak yazılmıştır.

3.4.2. Nükleotit Yer Değiştirme Oranlarının Belirlenmesi

Nükleotit oranları ile transisyonel ve transversiyonel yer değiştirme oranları K2P modeline göre hesaplanarak Çizelge 3.5 ve 3.6'da verilmiştir.

Çizelge 3.5. İncelenen diziler açısından toplam nükleotit oranları.

Toplam (nükleotit sayısı)	Nükleotitler, %			
	T	C	A	G
453	30,3	22,2	30,9	16,6

Çizelge 3.6. İncelenen 453 baz açısından 5 ırk arasındaki transisyonel ve transversiyonel nükleotit değişim oranları.

	A	T	C	G
A	-	0,12	0,09	13,24
T	0,12	-	25,91	0,06
C	0,12	35,41	-	0,06
G	24,68	0,12	0,09	-

Transisyonel değişim oranları kalın harflerle, transversiyonel değişim oranları ise italik harflerle gösterilmiştir. Eksik ve okunmayan veriler, Çiftler Bazında Veri Silme (Pairwise Deletion) seçeneği kullanılarak analiz dışı bırakılmıştır. Toplam transisyon/transversiyon eğilimi (bias) $R= 63,74$ olarak hesaplanmış ve transisyon oranının transversiyon oranından oldukça fazla olduğu belirlenmiştir.

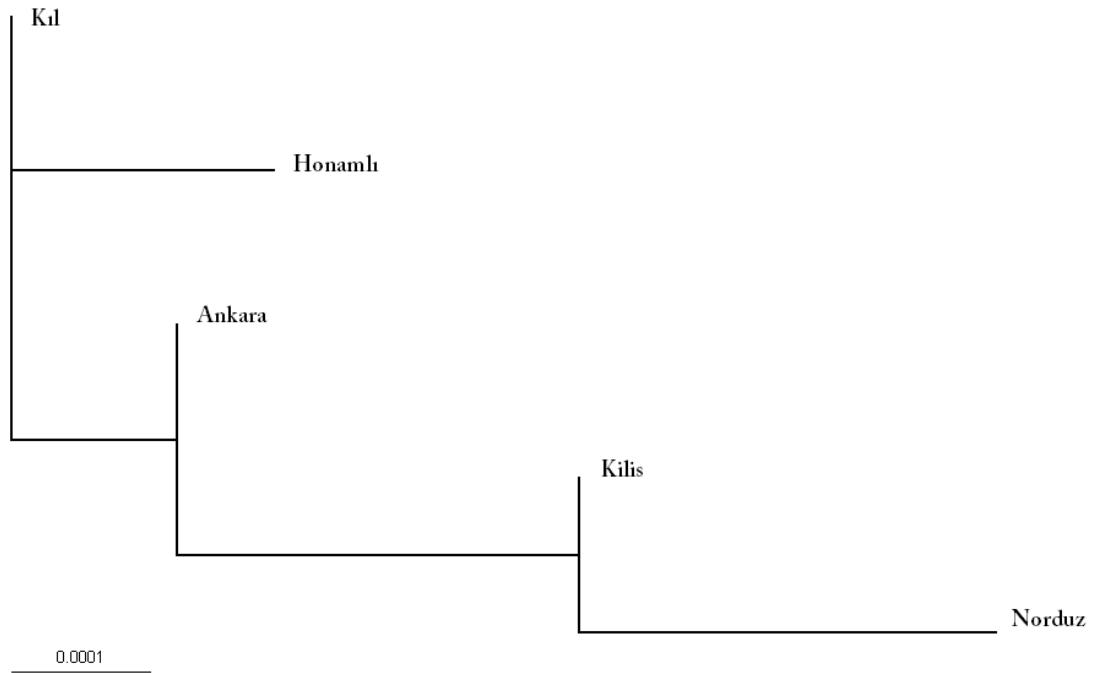
Değiştirici ve suskun bölge nükleotit değişimleri ise amino asit kodlanmayan bir bölge olan mtDNA Dloop bölgesi için hesaplanmamıştır.

3.4.3. Irklar arası Genetik Mesafe Ölçümü

Nei'nin genetik mesafe ölçümü metotlarına göre hesaplanarak elde edilen ırklar arası genetik mesafe matrisi Çizelge 3.7'de, Nei'nin Dxy metoduna göre oluşturulan ağaç ise Şekil 3.12'de verilmiştir.

Çizelge 3.7 İncelenen 5 ırk için Nei'nin Dxy ve Da genetik mesafe ölçümü metotlarına göre elde edilen uzaklık matrisi (Dxy; sol aşağıya doğru sarı renkli, Da; sağ aşağıya doğru, yeşil renkli)

	HONAMLI	ANKARA	KİLİS	KIL	NORDUZ
HONAMLI		0.00014	0.00044	0.00015	0.00098
ANKARA	0,02248		0.00004	0.00002	0.00042
KİLİS	0,02335	0,02123		0.00012	0.00011
KIL	0,02262	0,02076	0,02138		0.00064
NORDUZ	0,02284	0,02057	0,02085	0,02094	



Şekil 3.12. Nei'nin Dxy uzaklığına göre çizilen Phylogram ağacı.

İrklar arası F_{ST} değerleri matrisi ve önemlilik dereceleri Çizelge 3.8’de, oluşturulan ağaç ise Şekil 3.13’de verilmiştir.

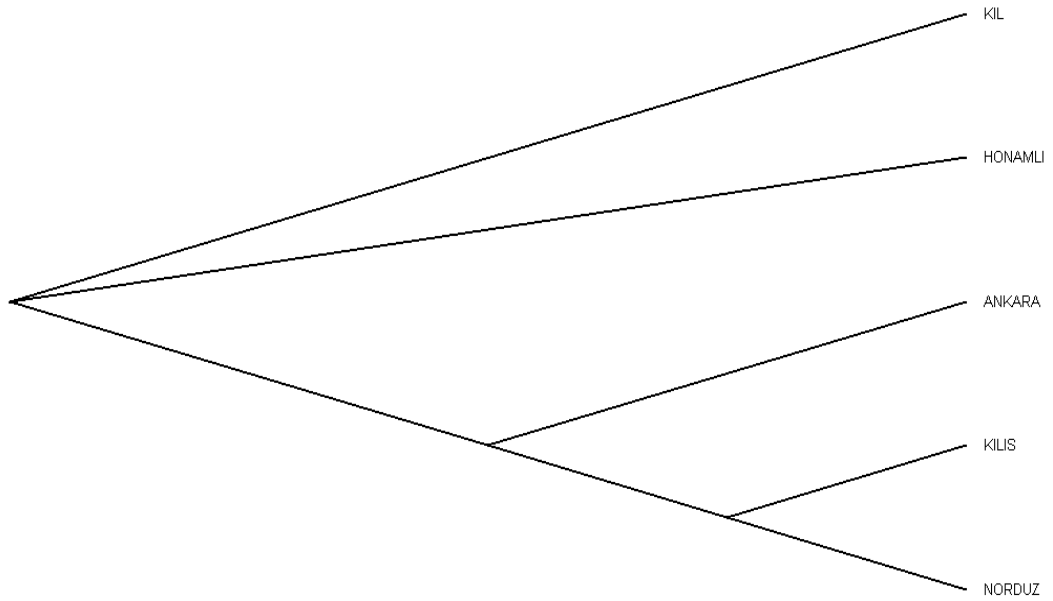
Çizelge 3.8. İncelenen 5 ırk için Wright’ın F istatistiğine göre elde edilen uzaklık matrisi.

	HONAMLI	ANKARA	KILIS	KIL
ANKARA	0.00554			
KILIS	0.01930**	0.00118		
KIL	0.00780	0.00071	0.00439	
NORDUZ	0.04314 ***	0.02061**	0.00741*	0.03346***

*, $p < 0.05$ (%5)

** , $p < 0.01$ (%1)

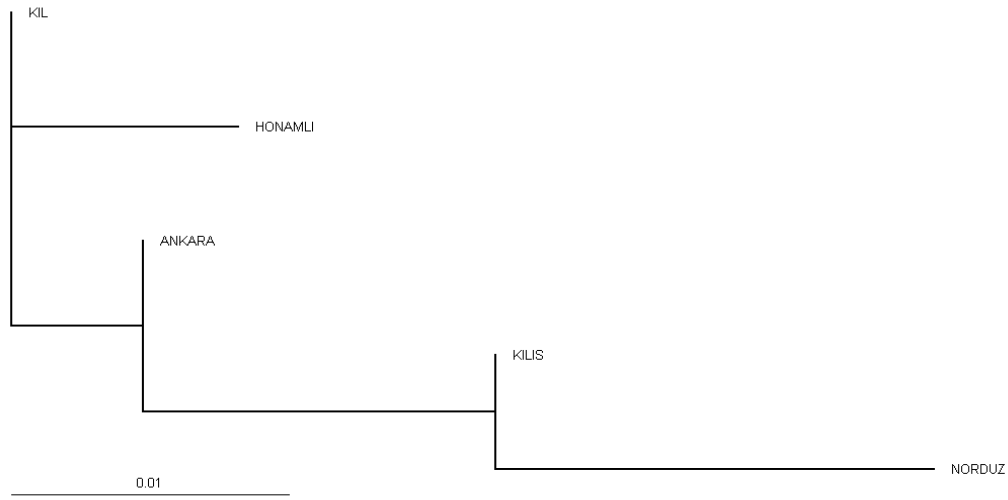
***, $p < 0.001$ (%0.01)



Şekil 3.13. Tüm ırklara ait F_{ST} uzaklığı için NJ ağacı, (TreeView programı cladogram gösterimi ile).

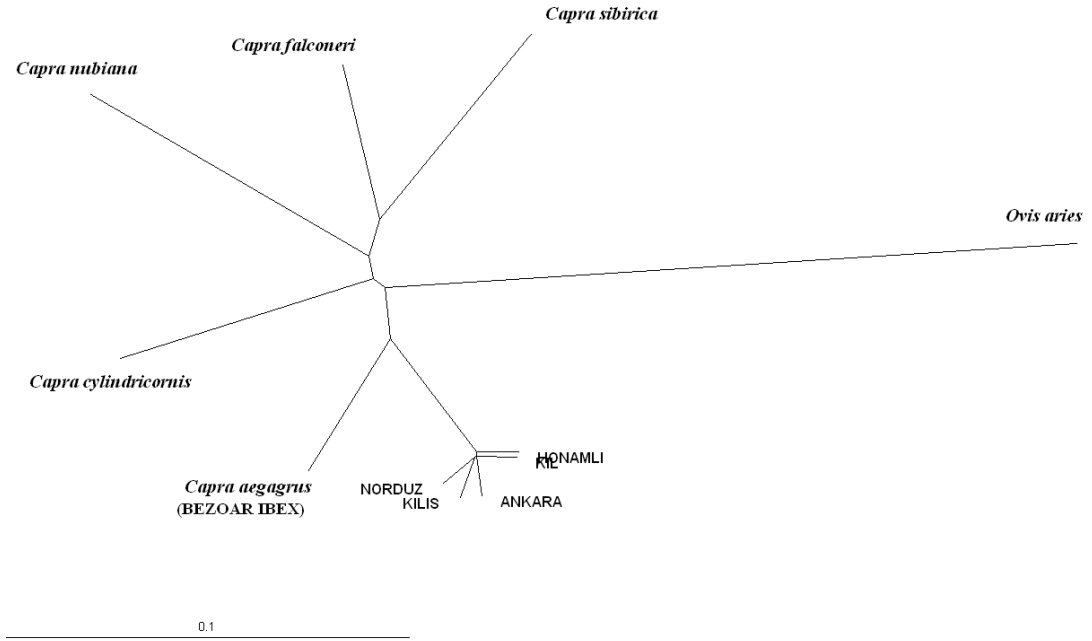
İncelenen 5 ırkla ilgili olarak cladogram gösterimi kullanıldığında, F_{ST} uzaklık hesaplama metodu için elde edilen ağaçla, Nei’nin genetik mesafe ölçümü metodundan elde edilen ağacın aynı topolojiye sahip olduğu görülmüştür. Her iki

ağaca göre Kıl ve Honamlı keçileri diğer 3 ırktan ayrı bir dalda yer almakta ve en yakın mesafe Norduz ile Kilis keçileri arasında olup daha sonra Ankara keçisi ve diğer iki ırk eklenmektedir. Ancak phylogram gösterimi kullanıldığında F_{ST} matrisindeki (Çizelge 3.8) önemlilik dereceleriyle uyumlu olarak Norduz keçisinin hepsinden ayrı olduğu, en yakın mesafenin Kıl ve Honamlı keçileri arasında olduğu gözlenmiştir (Şekil 3.14).



Şekil 3.14. İncelenen ırklara ait F_{ST} uzaklığı için NJ ağacı (TreeView programı phylogram gösterimi ile).

Bu çalışmada incelenen keçi ırkları, yaban keçileri ve dış grup olarak seçilen bir koyuna ait dizilerden genetik mesafe hesaplanarak oluşturulan ağaç Şekil 3.15’de verilmiştir.



Şekil 3.15. Tüm ırklar, yaban keçileri ve dış grup olarak koyun kullanılarak elde edilen NJ ağacı.

3.4.4. Mantel Test Analizi

İrk düzeyinde F_{ST} ve coğrafik uzaklıklar arasındaki korelasyonun ortaya konulması için Mantel testi yapılarak elde edilen sonuçlar ve önemlilik seviyesi Çizelge 3.9’da verilmiştir.

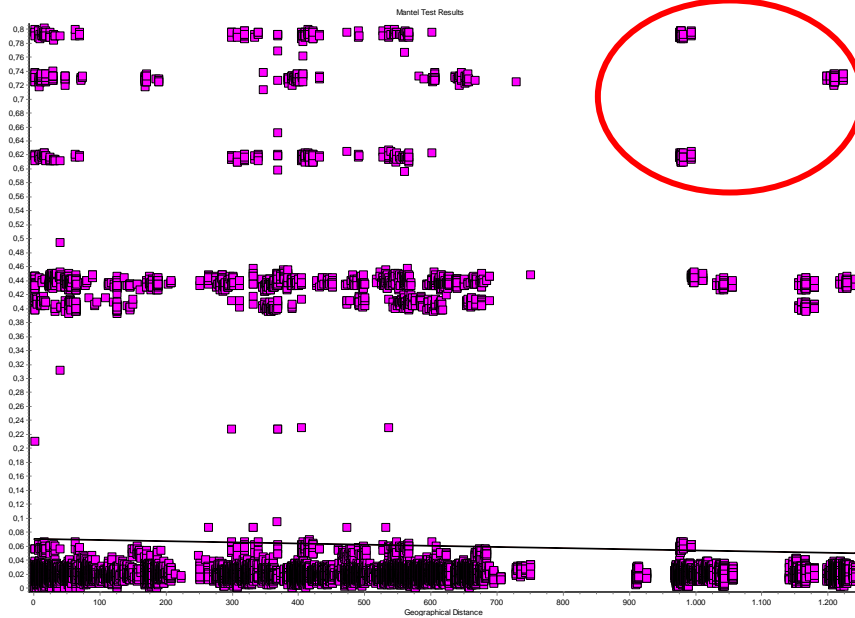
Çizelge 3.9. İrk düzeyinde Mantel test sonuçları.

Parametre	Parametre değeri
Korelasyon katsayısı (r)	0,751569
Uzaklık matrisi yoluyla Genetik uzaklık matrisi belirlenmesi (r^2 , %)	0,564856
Önemlilik seviyesi (%95 ve 10.000 permutasyon için)	0,026800

Mantel test sonuçlarına göre ırklar arası genetik ve coğrafik uzaklıklar arasında %95 güven eşiğinde pozitif ve yüksek derecede (0.751569) bir bağıntı bulunmuştur ($p < 0,005$). Yani ırklar arası coğrafik uzaklık arttıkça, genetik

uzaklıkları da artmaktadır.

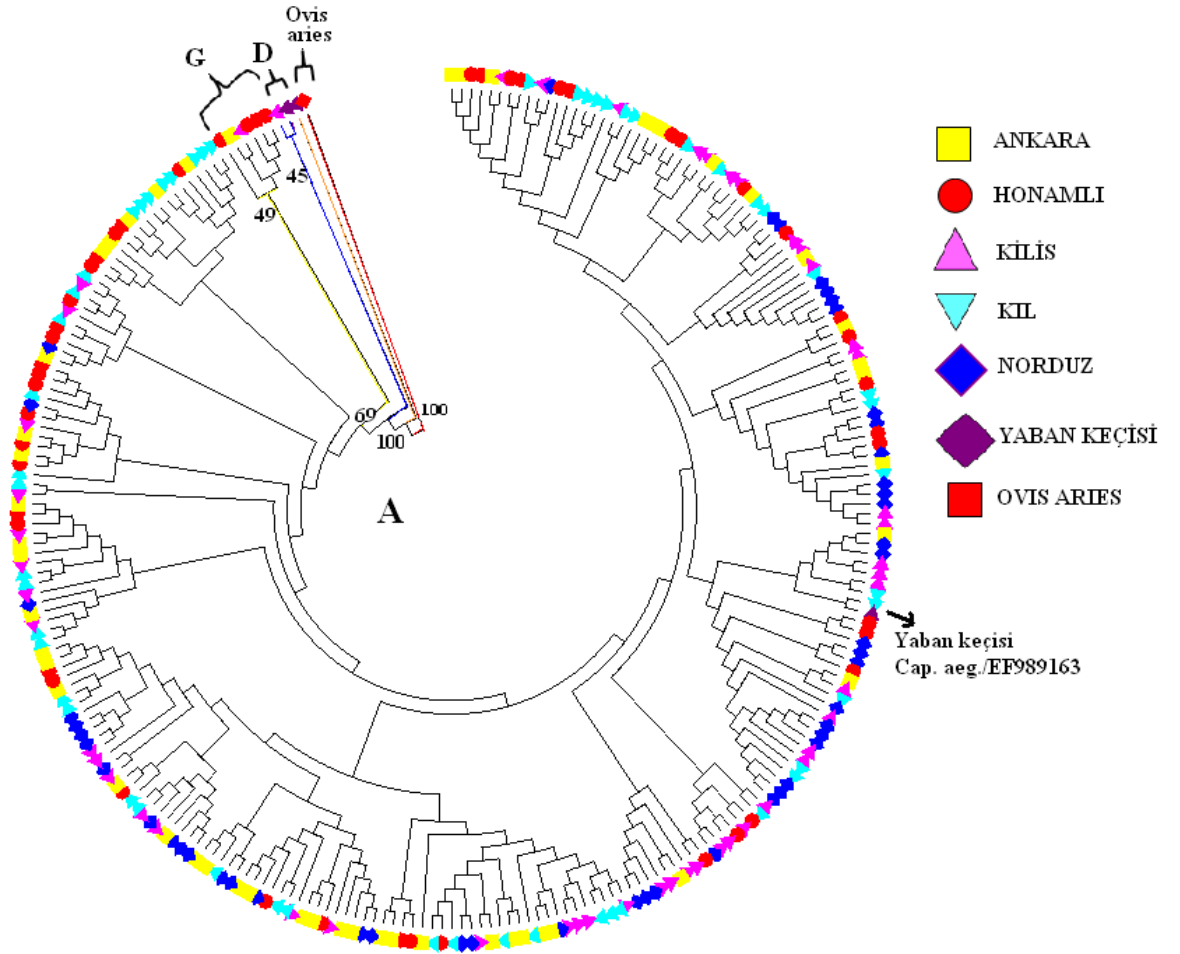
Tüm bireyler için enlem–boylam koordinatları kullanılarak AIS programı ile yapılan Mantel testi sonuçları ise Şekil 3.16’da verilmiştir. Bireysel olarak ırklarda olduğu gibi coğrafik ve genetik uzaklık arasında bir korelasyon belirlenememiştir. Şekilde de görüldüğü gibi coğrafik olarak uzak olup aynı zamanda genetik olarak da uzak olan (her iki eksenenden de en uzakta yer alan) çok az örnek bulunmaktadır. Test verileri incelendiğinde, bu örneklerin Honamlı ile Norduz keçilerinden bazıları olduğu belirlenmiştir.



Şekil 3.16. AIS programı Mantel testi grafiği (y eksenini coğrafik, x eksenini ise genetik uzaklıkları ifade etmektedir)

3.4.5. Filogenetik Ağaç Oluşturulması

İrklara ait bireylerin filogenetik ilişkileri NJ ağacı oluşturularak incelenmiş, bireyler referans diziler yardımıyla gruplara atanmış ve elde edilen ağaç Şekil 3.17’de verilmiştir. Ayrıca Minimum evolution (ME) ağacından da aynı topoloji elde edildiği görülmüştür.

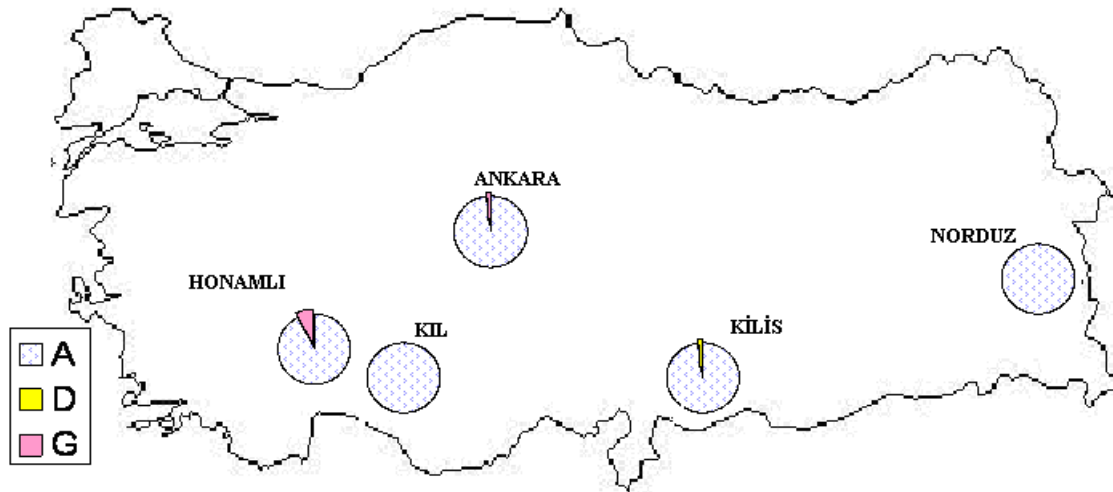


Şekil 3.17. Haplogrupları ve bootstrap değerlerini içeren NJ ağacı.

Bu analize göre ırka özgü dallanma göstermeyen 245 hayvan, en eski haplogrup olduğu düşünülen A haplogrubunda, bir Ankara, bir Kilis ve dört de Honamlı keçisi olmak üzere 6 hayvan G haplogrubunda ve 1 Kilis keçisi de D haplogrubunda yer almıştır. Bu örneklerin kodları ve ırkların haplogrup frekansları Çizelge 3.10'da ırk içinde haplogrup dağılım grafikleri Şekil 3.18'de verilmiştir.

Çizelge 3.10 Irklara göre haplogrup frekansları ve bu haplogrupları taşıyan bireyler.

Haplogruplar	Ankara keçileri	Kilis keçileri	Honamlı keçileri	Kıl keçileri	Norduz keçileri
A haplogrubu	%98	%96	%92	%100	%100
D haplogrubu -KLS D7	-	%2	-	-	-
G haplogrubu -ANKD14 -KLS D6 -HNM D22 -HNM E28 -HNM E29 -HNM E34	%2	%2	%8	-	-

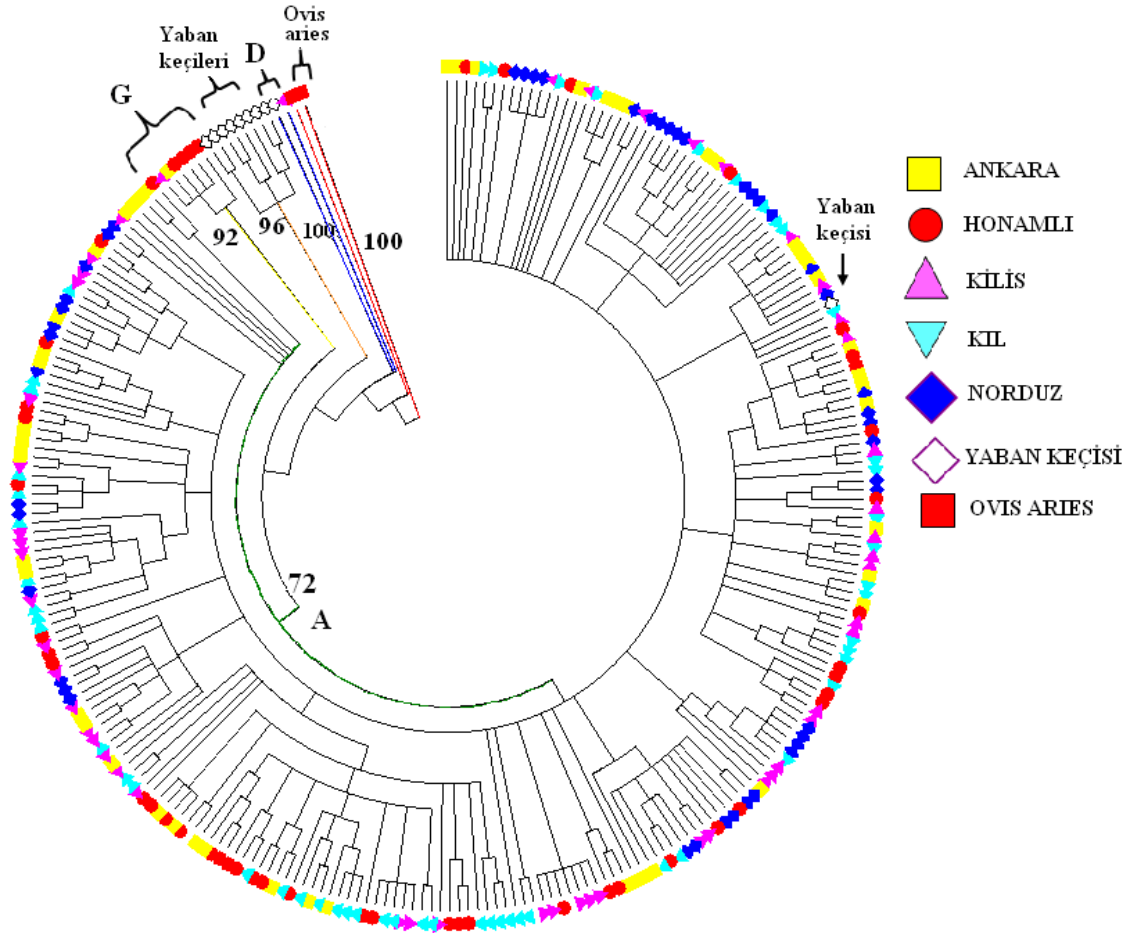


Şekil 3.18. İncelenen ırklar için elde edilen haplogrup dağılımlarının pasta grafiklerle gösterimi.

GTR modeli seçilerek, olasılık oranlarına dayanan likelihood ratio testine (aLRT test) göre en olası ağacın çizdirilme analizi (maximum likelihood, ML) uygulanarak elde edilen ağaç Şekil 3.19’da verilmiştir. Gamma dağılım parametresi 0,349 olarak hesaplanmıştır.

Elde edilen ML ağacının NJ ağacı ile aynı topolojiye sahip olduğu görülmüştür. Tek farklılığın bootstrap değerlerinde olduğu görülmektedir. Her iki

ağaç için de güven düzeyi yüksek bootstrap değerleri elde edilmiştir.

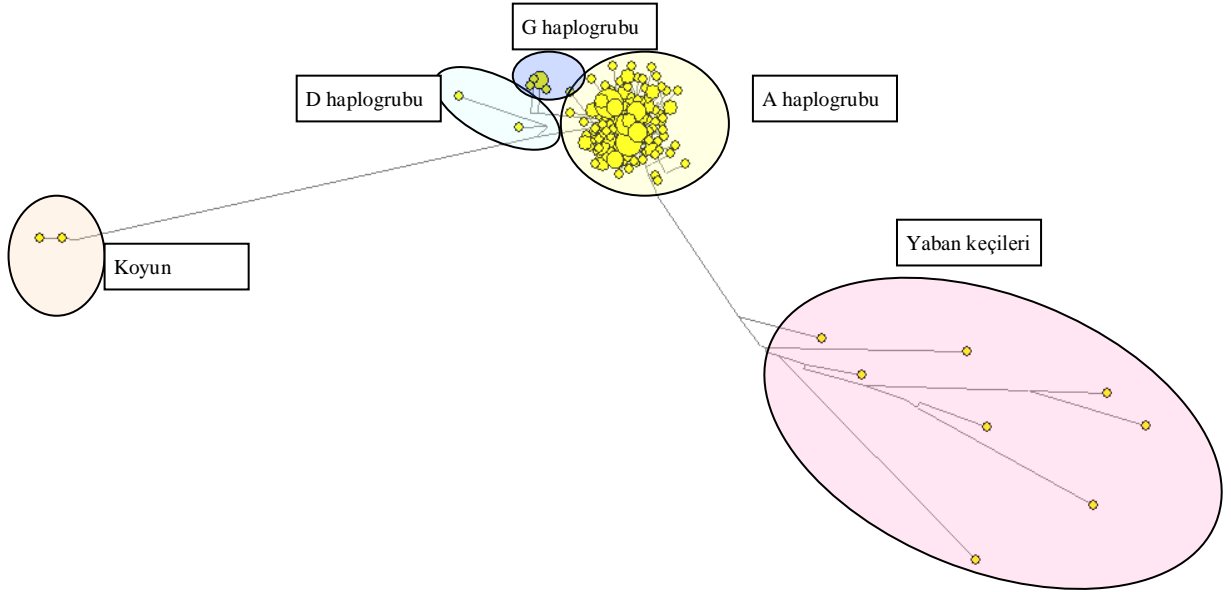


Şekil 3.19. GTR nükleotit değişim modeline göre bireysel maksimum olasılık ağacı (haplogrurlara ait bootstrap değerleri ile).

Maksimum olasılık ağacında da NJ ağacı ile uyumlu şekilde D haplogrubundan bir Kilis keçisi (KİsD7) bir *Capra aegagrus* (EF989426) ile A haplogrubundan bir Kilis keçisi (KİsD23) ve bir Kıl keçisi (Kİl E52) ise diğer bir *Capra aegagrus* (EF989136.1) ile aynı dalda yer almışlardır. Diğer örneklerin ise oldukça iç içe geçmiş olduğu ve ırka özgü bir yerleşim/dağılım bulunmadığı görülmüştür.

Haplotipik verilerden elde edilen Median joining networku Şekil 3.20'de verilmiştir. Filogenetik networkun ortaya konulabilmesi için “star contraction”

ardından Median-Joining algoritması kullanılmış ve haplotiplerin bir merkez etrafında toplandığı ve hemen hemen her dizinin bir haplotipi ifade ettiği gözlenmiştir. Networkte daireler haplotipleri ifade etmektedir ve haplotiplerin frekansı dairelerin büyüklüğü ile doğru orantılı olarak gösterilmiştir.



Şekil 3.20. Haplotiplere göre Median Joining networku ve haplogrupların gösterimi.

Haplogruplara bireylerin ataması yapıldıktan sonra sadece G haplogrubuna özgü bir bölge olup olmadığı araştırılmıştır. Bu amaçla, hizalanmış diziler tekrar incelenmiş ve sadece G haplogrubuna dahil olan örneklerde “A16071G” mutasyonu (16071.nt olan Adenin yerine Guanin nükleotidinin olması) belirlenmiştir (Şekil 3.21). Ayrıca Naderi ve ark., (2007) tarafından Türkiye, Mısır ve İran’da belirlenen G haplogrubu örnekleri (GenBank kodları: EF618535, EF617727, 618084) de eklenerek mutasyon doğrulanmıştır.

	A	A	C	A	T	G	C	A	T	A	T	C	C	C	G	C	C	C	A	T	T	A	G	A	T	C	A	C	G	A	G	C	T	T	A	T	T	G	
✓ 18. HNMD14DLOOP (HONAM)	T	G	.	.
✓ 19. HNMD15DLOOP (HONAM)	G	T	G	.	.
✓ 20. HNMD16DLOOP (HONAM)	G	T	G	.	.
✓ 21. HNMD17DLOOP (HONAM)	G	T	G	.	.
✓ 22. HNMD18DLOOP (HONAM)	G	T	G	.	.
✓ 23. HNMD19DLOOP (HONAM)	G	T	G	.	.
✓ 24. HNMD20DLOOP (HONAM)	G	T	G	.	.
✓ 25. HNMD21DLOOP (HONAM)	G	T	G	.	.
✓ 26. HNMD23DLOOP (HONAM)	G	T	G	.	.
✓ 27. HNMD24DLOOP (HONAM)	G	T	G	.	.
✓ 28. HNMD25DLOOP (HONAM)	G	T	G	.	.
✓ 29. HNME26 DLOOP (HONAM)	G	T	G	.	.
✓ 30. HNME27 DLOOP (HONAM)	G	T	G	.	.
✓ 31. HNME30 DLOOP (HONAM)	G	T	G	.	.
✓ 32. HNME31 DLOOP (HONAM)	G	T	G	.	.
✓ 33. HNME32 DLOOP (HONAM)	G	T	G	.	.
✓ 34. HNME33 DLOOP (HONAM)	G	T	G	.	.
✓ 35. ANK14DLOOP (ANKAR)	G	T	G	.	C
✓ 36. KLS06 D LOOP (KILIS)	G	T	G	.	C
✓ 37. HNMD22DLOOP (HONAM)	G	T	G	.	C
✓ 38. HNME28 DLOOP (HONAM)	G	T	G	.	C
✓ 39. HNME29 DLOOP (HONAM)	G	T	G	.	C
✓ 40. HNME34 DLOOP (HONAM)	G	T	G	.	C
✓ 41. HNME35 DLOOP (HONAM)	G	T	G	.	C
✓ 42. HNME36 DLOOP (HONAM)	G	T	G	.	C
✓ 43. HNME37 DLOOP (HONAM)	G	T	G	.	C
✓ 44. HNME38 DLOOP (HONAM)	G	T	G	.	C
✓ 45. HNME39 DLOOP (HONAM)	G	T	G	.	C
✓ 46. HNME40 DLOOP (HONAM)	G	T	G	.	C
✓ 47. HNME41 DLOOP (HONAM)	G	T	G	.	C
✓ 48. HNME42 DLOOP (HONAM)	G	T	G	.	C

Şekil 3.21. G haplogrubuna özgü mutasyonun belirlenmesi.

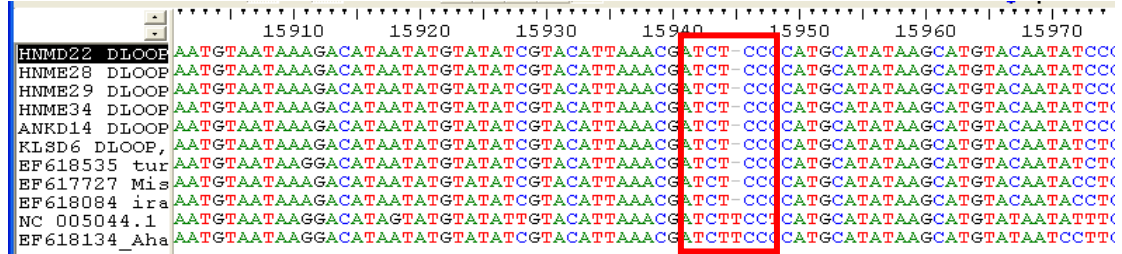
NEBCutter V2.0 (New England Biolabs Inc.) programı kullanılarak, bu mutasyonun, 5'-TCG / CGA-3' bölgesinin varlığında kesim yapan *NruI* restriksiyon enzimi için tanıma bölgesi olduğu belirlenmiştir. Bu sebeple, dış primerlerle yükseltgemeye elde edilen 1002nt'lik D-loop bölgesinin enzimle kesim sonucunda 691 ve 311 nükleotitlik iki parçaya ayırması beklenmektedir (Şekil 3.22).

CCTCACTATCAGCACCCA

AAGCTGAAATTCATTATTTAAACTATTCCCTGAACCCTATTAAACCACATCTATTAATATACCCCAAAA
 ATATTAAGAGCCTCCCCAGTATTTAAATTTACTAAAAATTTCAAATATACAAACAAACTTCCCCTCC
 ACAAGCCTACAGACATGCCAACCAACCACACGTATAAAAAACATCCCAATCCTAACCCAACTTAGATAC
 CCACACAAAACGCCAACACCCACACAATATTACGTGTATGCAAGTACATTACACCGCTCGCCTACACACA
 AATACATTTACTAACATCCATATAACGGGACATACAGCCTTCATATAGTTTACTGTATATCTACCCT
 ACACATATGCAGTACTAATCCAGCATAAACGTAATGTATGTACATTACATTTTATGATCTACTTCATG
 TGTACGTACATAATATTAAATGTAACAGGGACATAGTATGTATATAGTACATTAACCGATTTTCCACAT
 GCATATTAAGTACGTACATTAGTATTAATGTAATAAGGACATAGTATGTATATTGTACATTAACCGAT
 CTTCCCTCATGCATATAAGCATGTATAATGCTTCTATCGACAGTACATAGTACATTTTACTGCATATTC
 GTACATGGCACATAAAGTCAAAATCCATTCCTGCCAACATGCCGTATCCCGTCCACTAGATCGT**TCGAGC**
 TTGTCGACCATGCCGCGTGAACCAGCAACCCGCTTGGCAGGGATCCCTCTTCTCGCTCCGGGCCCAT
 TAACCGTGGGGTAGCTATTTAAATGAACTTTATCAGACATCTGTTCTTTCATCAGGGCCATCTCAC
 TAAAAATCGCCCACTCTTCCCTCTTAAAAAAGACATCTCGATGGACTAATGACTAATCAGCCCCATGCTC
 ACACATAACTGTGCTGCATGCAATTTGGTATTTTAAATTTTCGGGGATGCTTGGACTCAGCTATGGC
 CGTCTGAGGCC**CGACCCGGAGCATAAATTGTAG**

Şekil 3.22. G haplogrubuna ait bir dizide mutasyona özgü enzim kesim yerinin gösterilmesi.

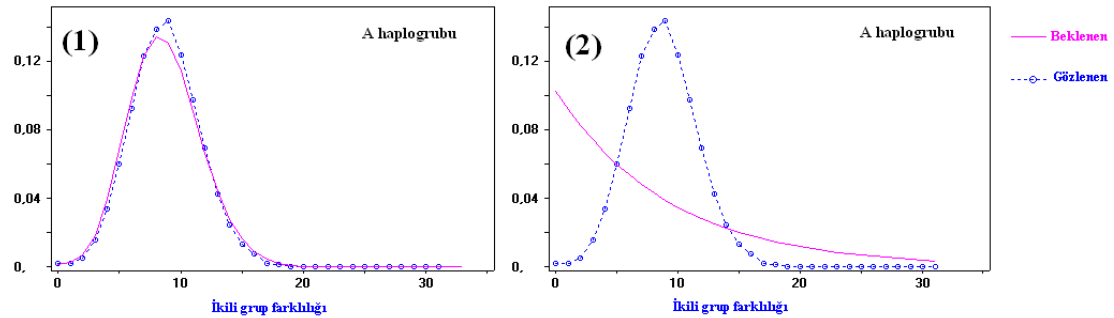
Ayrıca yine G haplogrundan örneklerde “15945delT” mutasyonu (15945.nt olan Timin’in delesyonu) saptanmış ancak yokluğunda ve varlığında haplogruba özgü herhangi bir enzim kesim bölgesi oluşturmadığı belirlenmiştir (Şekil 3.23).



Şekil 3.23. G haplogrubuna özgü "15945delT" mutasyonunun gösterilmesi

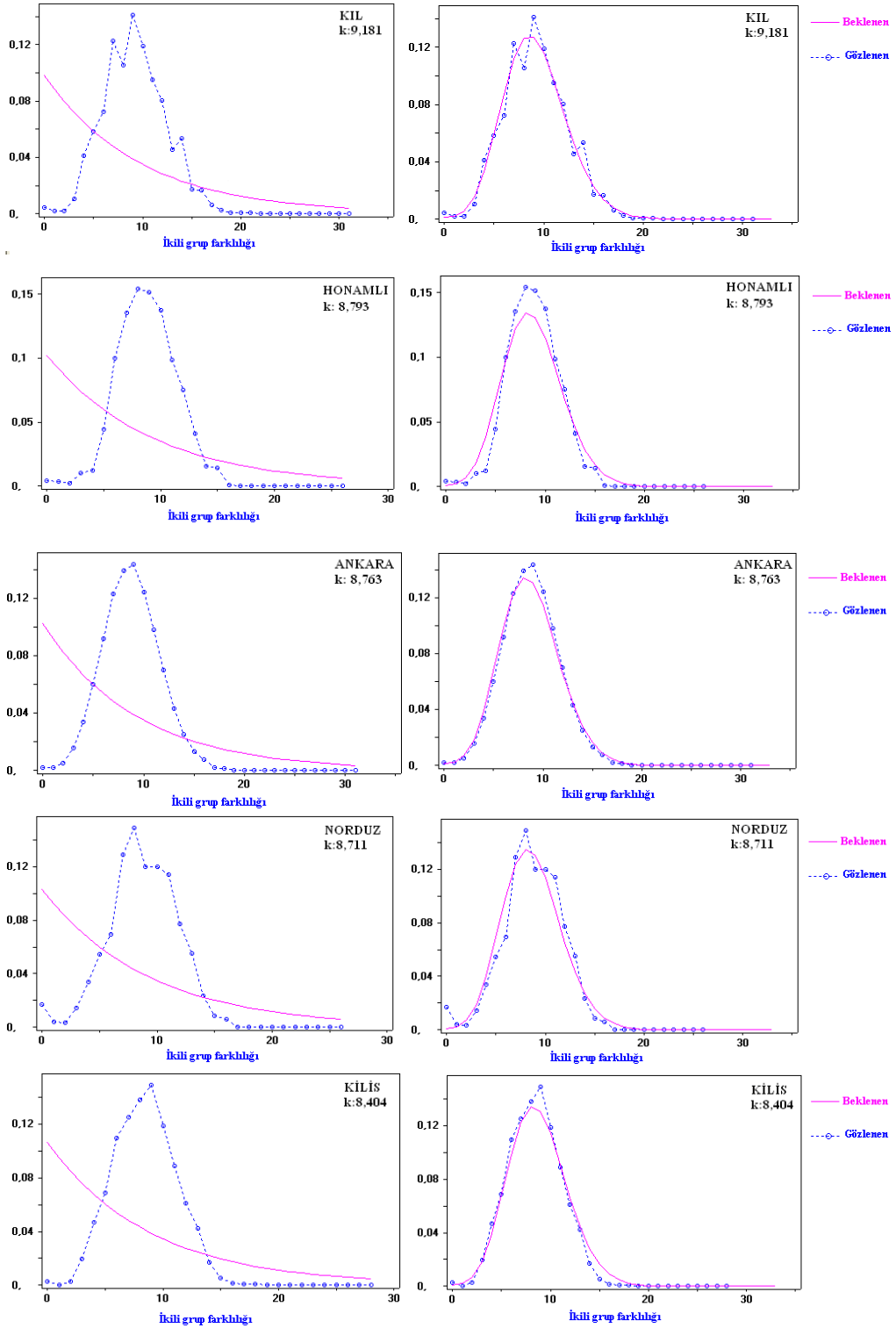
3.4.6. Uyumsuzluk Dağılım Analizleri

Filogenetik ağaçlar incelenerek A haplogrubunda olduğu belirlenen örneklerin analizi sonucunda elde edilen uyumsuzluk dağılım analizine göre ikili grupların farklılığının ortalaması, $k=8,750$ olarak bulunmuştur. Hem büyümüş-küçülmüş populasyon hem de sabit populasyon varsayımları altında unimodal (tek tepeli) çan eğrisi elde edilmiştir (Şekil 3.24).



Şekil 3.24. A haplogrubunda olduğu belirlenen örneklerin uyumsuzluk dağılım analizi; (1) büyümüş-küçülmüş populasyon ve (2) sabit populasyon varsayımı altında.

Irklar arasındaki mutasyonal geçmişi karşılaştırmak amacıyla her bir ırk içinde A haplogrubuna dahil olan örnekler için ayrı ayrı uyumsuzluk dağılım analizi yapılmıştır (Şekil 3.25).



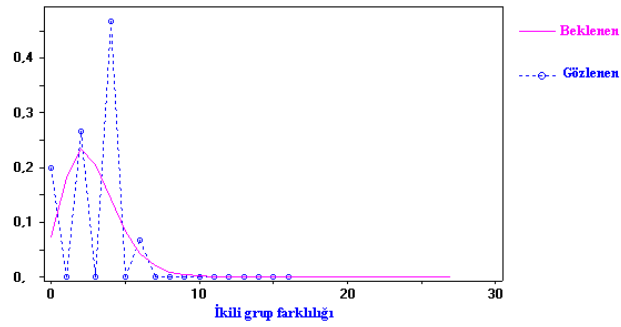
Şekil 3.25. Kıl, Honamlı, Ankara, Norduz ve Kilis ırklarından A haplogrubundan olduğu belirlenen örneklerin uyumsuzluk dağılım analizi; (soldaki eğri) büyümüş-küçülmüş populasyon ve (sağdaki eğri) sabit populasyon varsayımları altında.

Uyumsuzluk dağılım analizlerinden elde edilen ikili grup farklılığı ortalamaları (k) ve raggedness istatistiği (r) değerleri Çizelge 3.11’de verilmiştir.

Çizelge 3.11. İncelenen ırklarla ilgili olarak uyumsuzluk dağılım analizi istatistikleri

İrk adı	İkili grup farklılığı ortalamaları, (k)	Raggedness istatistiği, r
Kıl keçisi	9,181	0,0095
Honamlı Keçisi	8,793	0,0100
Ankara Keçisi	8,763	0,0065
Norduz keçisi	8,711	0,0092
Kilis keçisi	8,404	0,0075

G haplogrubunda yer alan 6 haplotip için analiz yapıldığında ise multimodal (çok tepeli) çan eğrileri elde edilmiştir (Şekil 3.26). D haplogrubunda yer alan 1 haplotip için ise analiz yapılmamıştır.



Şekil 3.26. G haplogrubunda olduğu belirlenen örneklerin uyumsuzluk dağılım analizi; büyümüş-küçülmüş populasyon varsayımı altında.

3.4.7. Nötralite Testleri

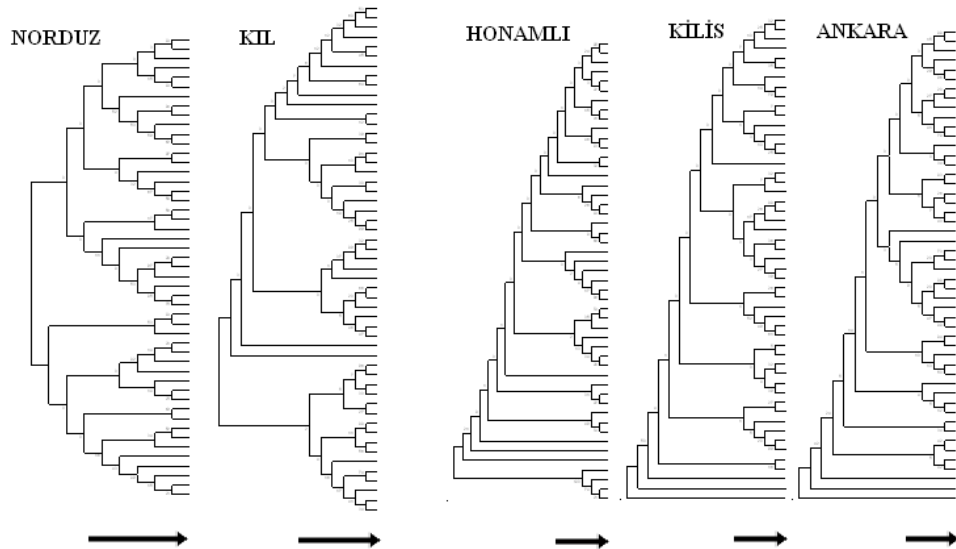
İncelenen ırklar için nötral teorinin test edilmesi amacıyla, elde edilen Fu ve Li'nin D* testi, Fu ve Li'nin F* testi, Fu'nun Fs testi, Tajima'nın D testi değerleri Çizelge 3.12'de verilmiştir.

Çizelge 3.12. İncelenen ırklar için nötralite testleri sonuçları.

İrk adı	Fu ve Li'nin F* testi	Fu ve Li'nin D* testi	Fu'nun Fs testi	Tajima'nın D testi
Kıl keçisi	-1,60208	-1,26395	-44,975	-1,46930
Honamlı Keçisi	-1,78261	-1,63216	-29,266	-1,25471
Ankara Keçisi	-1,82705	-1,50259	-32,968	-1,57723*
Norduz keçisi	-1,08834	-0,68397	-20,170	-1,30735
Kilis keçisi	-2,41104*	-2,11252*	-47,991*	-1,85794**

*, P < 0.10; **, P < 0.05

İrkların mutasyon birikimlerini görebilmek için ayrı ayrı oluşturulan filogenetik ağaçları Şekil 3.27'de verilmiştir.



Şekil 3.27. İrkların K2P ile NJ ağaçları.

3.4.8. Moleküler Varyans Analizi (AMOVA)

Filogenetik ağaç yardımıyla A haplogrubunda olduğu tesbit edilen örneklere, dört farklı deney düzeneğinde AMOVA analizi uygulanarak elde edilen sonuçlar Çizelge 3.13'de verilmiştir.

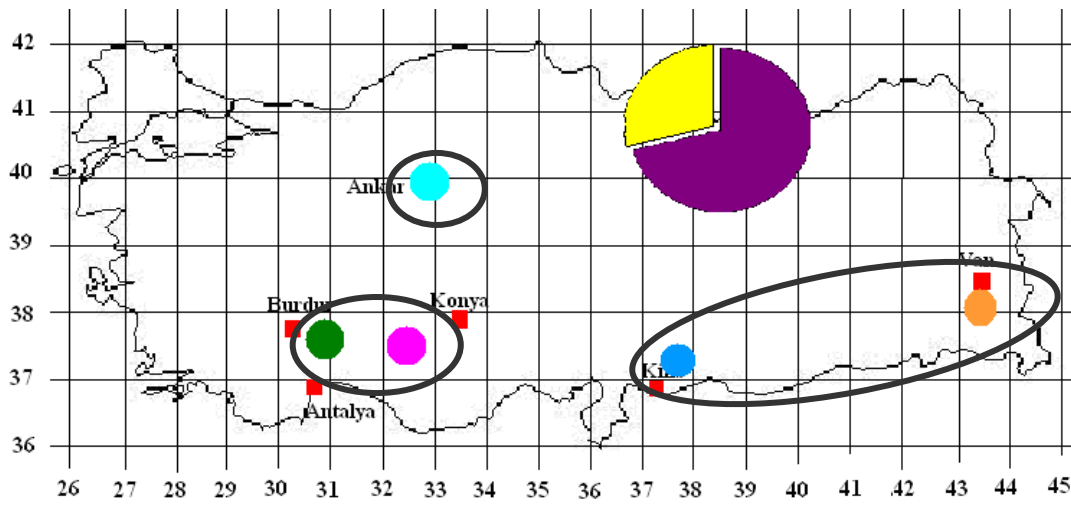
Çizelge 3.13. AMOVA analizi sonuçları.

Test edilen durum	Toplam Varyasyona katkısı	Katkının yüzdesi	AMOVA Fiksasyon indeksi, (Φ_{ST} , Φ_{iST})
1- A haplogrubu, tüm ırklardan oluşan tek havuz			
Gruplar arası (Φ_{CT})	0.06391	1,41	0.01411***
Gruplar içi (Φ_{SC})	4.46494	98,59	
2- A haplogrubu 3 grup			
Grup1:HONAMLI+KIL Grup2: ANKARA Grup3:KILIS+NORDUZ			
Gruplar arası (Φ_{CT})	0.05294	71,15	0.01639***
Gruplar içi (Φ_{SC})	0.02147	28,85	
3- A haplogrubu 3 grup			
Grup1:HONAMLI+KİLİS Grup2: KIL+ANKARA Grup3: NORDUZ			
Gruplar arası (Φ_{CT})	0.03468	51,50	0.01561***
Gruplar içi (Φ_{SC})	0.03615	48,50	
4- A haplogrubu 2 grup			
Grup1:HONAMLI+KIL+ANKARA Grup2:KILIS+NORDUZ			
Gruplar arası (Φ_{CT})	0.05292	62,21	0.01870***
Gruplar içi (Φ_{SC})	0.03215	37,79	

F_{ST} analizinde diğerlerine oranla birbirine daha yakın oldukları belirlenen Kilis ve Norduz keçilerinin bir grup, aynı coğrafi bölgeyi paylaşan Honamlı ve Kıl ırkının bir grup, fenotipik karakterler ve coğrafi yerleşim olarak diğerlerinden ayrılan Ankara ırkının ayrı bir grup olarak kabul edildiği 2. deney düzeneğinde en yüksek gruplar arası farklılık (Φ_{CT}) belirlenmiştir. Yani incelenen populasyonlar en iyi 2.

deney düzeneğine göre gruplanmışlar ve coğrafi olarak ayrılma gözlenmiştir (Şekil 3.28). Bu sonuç ırklar arası genetik mesafe testleri ile de uyumlu bulunmuştur.

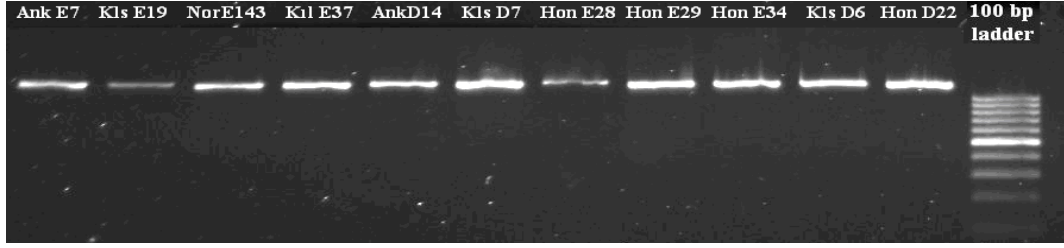
Tüm deney düzenekleri için elde edilen Φ_{ST} değerleri 1000 permütasyon uygulanarak test edilmiş ve hepsi de yüksek ($\Phi_{ST} > \%97$) ve istatistiki olarak önemli ($p < 0,001$) bulunmuştur. Bu sonuç, popülasyonları oluşturan örneklerin oldukça yüksek farklılaşmaya sahip olduğunu göstermiş ve ırk içi nükleotit ve haplotip çeşitliliğinin yüksek olması ile uyumlu bulunmuştur.



Şekil 3.28. AMOVA sonuçlarına göre en uygun gruplama ve dairesel grafikte gruplar arası varyasyonun (mor renkli dilim) ve grup içi varyasyonun (sarı renkli dilim) gösterimi (Ankara turkuaz, Honamlı yeşil, Kıl pembe, Kilis mavi ve Norduz turuncu daire ile gösterilmiştir).

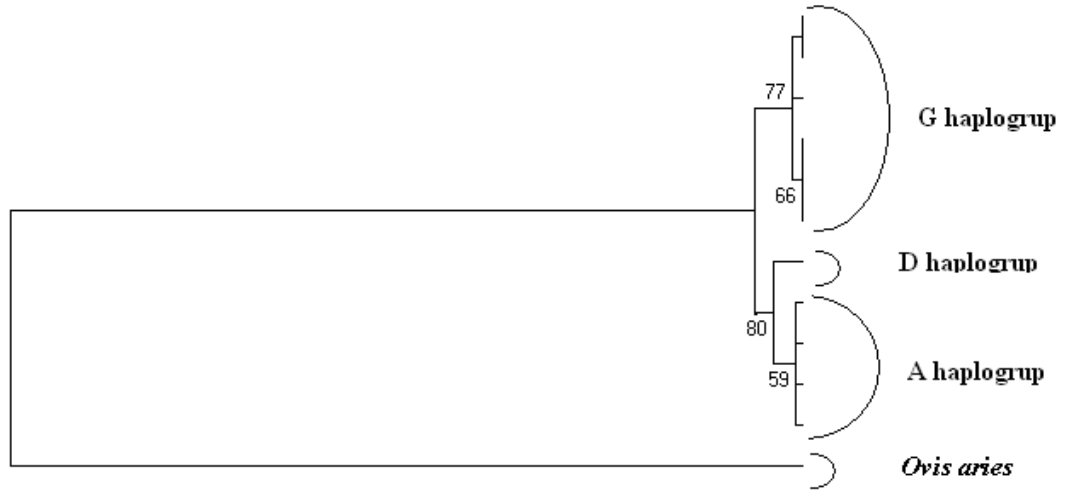
3.4.9. mtDNA Sitokrom-*b* Bölgesi Dizi Analizi Sonuçları

mtDNA D-loop bölgesi analizleri ile belirlenen ve farklı haplogrupları temsil eden 11 keçiye ait Sitokrom-*b* bölgesi PZR ürünleri agaroz jel elektroforezde kontrol edilmiş ve elde edilen jel görüntüsü Şekil 3.29'da verilmiştir.



Şekil 3.29. mtDNA Sitokrom-*b* bölgesi PZR ürünlerinin agaroz jel görüntüsü.

PZR ürünlerinden elde edilen dizilerle beraber dış grup olarak analize dahil edilen koyuna ait bir Sitokrom-*b* bölgesi dizisi kullanılarak oluşturulan NJ ağacı ise Şekil 3.30'da verilmiştir.

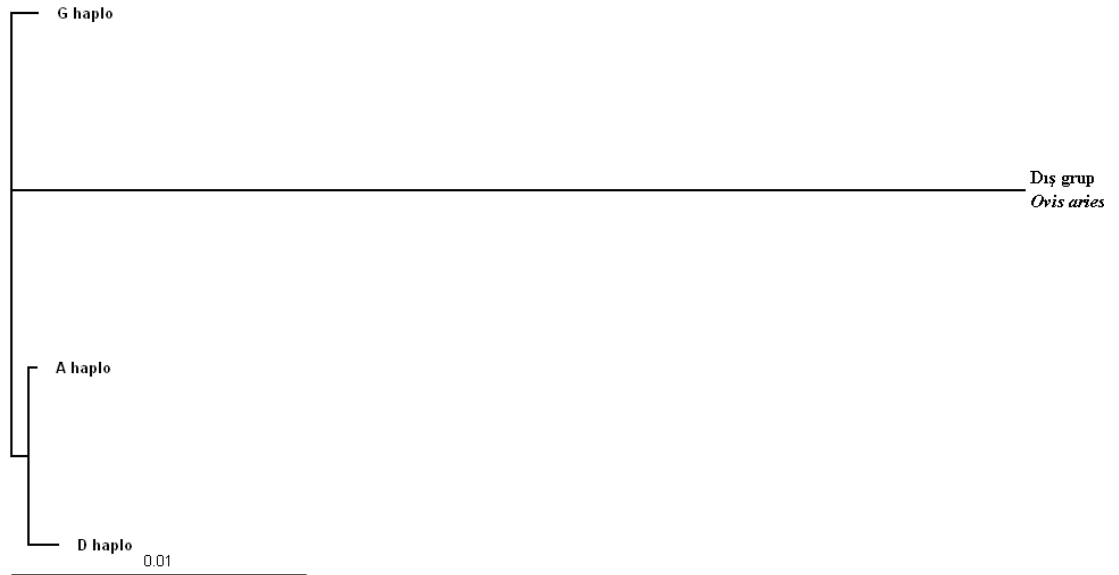


Şekil 3.30. Sitokrom-*b* dizilerine ait NJ ağacı.

Elde edilen NJ ağacında her bir haplogrup yüksek bootstrap değeriyle dallanma göstermiştir. D-loop bölgesi analizleri ile de uyumlu olarak haplogrupların kendilerine özgü Sitokrom-*b* geni taşıdıkları görülmüştür. Ayrıca Sitokrom-*b* gen bölgesi ile ilgili olarak Maximum Composite Likelihood metodu altında haplogruplar ve dışgrup (*Ovis aries*) arası elde edilen genetik uzaklık mesafeleri ve standart sapmalar Çizelge 3.14'de; mesafelere göre oluşturulan filogenetik ağaç ise Şekil 3.31'de verilmiştir.

Çizelge 3.14. Sitokrom-*b* gen bölgesi genetik uzaklık mesafeleri (sol alt köşe) ve standart sapmaları (sağ üst köşe).

G haplogrubu		±0,00151	±0,00185	±0,01913
A haplogrubu	0,00196		±0,00109	±0,01881
D haplogrubu	0,00229	0,00123		±0,01960
<i>Ovis aries</i>	0,03601	0,03577	0,03688	

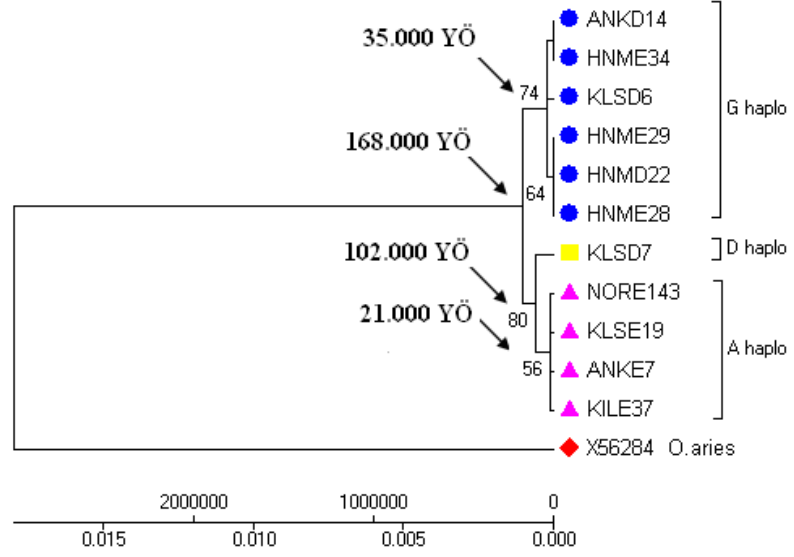


Şekil 3.31. Sitokrom-*b* gen bölgesi genetik uzaklık mesafelerinin NJ ağacı ile Phylogram tarzda gösterimi.

3.4.10. Moleküler Saat Analizleri ve En Yakın Ortak Ata Zamanı (The Time To The Most Recent Common Ancestor, TMRCA)

Sitokrom-*b* bölgesi ortak ata zamanı hesaplanması için Minimum Evolutionary ve NJ ağaçları oluşturulduğunda her iki ağaçtan da aynı topoloji elde edildiği görülmüştür. Ağaçlarda moleküler saat kalibrasyonu yapmak amacıyla Denklem 1.8'de koyun ve keçi farklılaşma zamanı $t=3.000.000$ yıl kabul edilerek mutasyon oranı hesaplanmış ve $\mu=0.000000003601$ olarak bulunmuştur. Buna göre

tüm haplogrupların ortak ata zamanı ile ilgili olarak 168.000 değeri elde edilmiştir (Şekil 3.32).



Şekil 3.32. Sitokrom-b bölgesi NJ ağacı ve ortak ata zamanlarının gösterimi.

4. TARTIŞMA

4.1. DNA Dizi Analizi Sonuçları

Bu araştırmada mtDNA D-loop bölgesi ile ilgili olarak iki bireyde tespit edilen 77nt'lik duplikasyon insersiyonu (tekrarlama mutasyonu) dikkat çekicidir. Bu bireylerin ikisi de A haplogrubunda yer almaktadır ve bunlardan birisi olan Haplotip 7 bir Honamlı keçisinde (Hnm D7) ve Haplotip 120 ise bir Kilis keçisinde (Kls E11) belirlenmiş, her iki tekrar bölgesi karşılaştırıldığında farklı nükleotitlerde mutasyon olduğu saptanmıştır. Bu bulgu, Naderi ve ark. (2007)'nin bildirdiği bulgularla (1540 haplotip içerisinde 4 haplotipte, aynı nükleotit bölgesinde 76nt'lik duplikasyon insersiyonu) benzerdir. Naderi ve ark. (2007)'nin bildirdiği İran keçilerine ait EF618002 GenBank kodlu dizi, Hindistan keçilerine ait AJ317857 GenBank kodlu dizi ve Fas keçilerine ait AJ317786 GenBank kodlu dizi bu araştırmada olduğu gibi A haplogrubunda yer almaktadır. Diğer bir dizi ise Malezya keçilerine ait EF618231 GenBank kodlu dizidir ve B1 altgrubu içerisinde yer almaktadır. Naderi ve ark. (2007) tarafından bildirilen diziler incelendiğinde bu dizilerde de 76nt olmadığı 77nt tekrarı olduğu görülmektedir. Ayrıca, Sultana ve ark. (2004) Pakistan yerli keçi ırklarında A haplogrubunda yer alan bir dizide, Pereira ve ark. (2005) Portekiz yerli keçi ırklarında A haplogrubunda yer alan iki dizide de 77nt'lik duplikasyon insersiyonu bildirmişlerdir. Farklı ırklara ve haplogruplara ait bireylerde görülen bu mutasyonun geçmişte farklı zamanlarda şekillenmiş olabileceği düşünülmektedir.

Çeşitli çalışmalarda koyun (Hiendleder ve ark., 1998), ceylan, (Sorokin ve ark., 2005), balık, sürüngen, kuş, domuz ve maymun gibi farklı türlerin mtDNA D-loop bölgesinde buna benzer rastgele nükleotit tekrarlarının görüldüğü bildirilmiştir (Fumagalli ve ark., 1996). Özellikle D-loop kontrol bölgesinde belirlenen bu mutasyonun sebebinin polimeraz aktivitesinin kesintiye uğradığı bölgelerde şekillenen yanlış eşleşmelere bağlı kaymalar sonucunda olduğu düşünülmektedir (Fumagalli ve ark., 1996).

4.2. Nükleotit ve Haplotip Çeşitliliği Sonuçları

Evciltme bölgelerindeki genetik çeşitliliğin derecesini belirleyen kriterlerden ikisi nükleotit ve haplotip çeşitliliğidir. Seleksiyon ve izolasyon etkilerinin olmadığı durumlarda evciltme bölgesinden uzaklaştıkça, gen havuzundan götürülen grupların sınırlı sayıda genotip taşıması nedeniyle, çeşitliliğin azalması beklenmektedir (Loftus ve ark., 1999; MacHugh ve Bradley, 2001; Troy ve ark., 2001; Bruford ve ark., 2003; Groeneveld ve ark., 2010). Bu nedenle mtDNA çalışmalarında nükleotit ve haplotip çeşitliliği değerlerinin karşılaştırılması önem taşımaktadır. Bu araştırmada da elde edilen çeşitlilik değerleri dünya keçi ırklarıyla karşılaştırılarak değerlendirilmiştir. Çeşitli çalışmalara ait ırk ve örneklem sayıları, nükleotit ve haplotip çeşitliliği değerleri gibi veriler Ek-4'de verilmiştir.

Çalışma kapsamında incelenen ırklar arasında nükleotit çeşitliliği birbirlerine yakın değerlerde hesaplanmakla beraber en yüksek değer Honamlı keçilerinde (%2,33) belirlenmiştir. Onu %2,05 değeriyle Kilis, %2,03 değeriyle Kıl ve Ankara keçi ırkları izlemektedir. Norduz keçi ırkı ise %1,92 değeriyle diğerlerine oranla oldukça düşük bir nükleotit çeşitliliğine sahiptir. Tek baz düzeyinde polimorfik bölgeler (mutasyonlar) incelendiğinde 86 mutasyonla, parsimonik bilgi verici bölgelerde de 48 mutasyonla Kilis keçileri dikkat çekmektedir (Çizelge 3.1). Bu sonuç haplotip çeşitliliği ile de uyumlu bulunmuştur. Haplotip çeşitliliğinde Kilis 0,998 değeriyle ilk sıradayken, onu 0,996 değeriyle Kıl, 0,993 değerleriyle Ankara ve Honamlı keçi ırkı izlemektedir. Norduz keçi ırkı haplotip çeşitliliği açısından (0,983) ve polimorfik bölge açısından da yine en az çeşitliğe sahip olan ırk olarak öne çıkmaktadır. Beş ırk için de bu değerler birçok keçi ırkı ortalamasının üzerinde kalmaktadır (Joshi ve ark., 2004; Chen ve ark., 2005; Pereira ve ark., 2005; Liu ve ark., 2006; Sardina ve ark., 2006; Amills ve ark., 2009; Royo ve ark., 2009; Wu ve ark., 2009).

Elde edilen bu değerlerin dünya ırklarıyla karşılaştırılması amacıyla literatür incelendiğinde keçilerde mtDNA çeşitliliği ile ilgili yapılan çalışmalar açısından Çin ön sıralarda yer almaktadır. Bununla birlikte Çin kaynaklı çalışmaların çoğunda ortak

nokta, örneklem koordinatlarının net olmaması ve ırkları temsil eden örnek sayılarının genelde çok düşük (5–15 aralığında) olmasıdır. Örneğin, Liu ve ark. (2006) dokuz ayrı keçi ırkını incelemişler (n=13 – 15/ her bir ırk) ve nükleotit çeşitliliğini %0,7 ile %1,9 aralığında, haplotip çeşitliliğini ise 0,9333–1,000 aralığında bulmuşlardır. Wu ve ark. (2009) her biri ortalama 11 örnekle temsil edilen 12 ayrı ırkta nükleotit çeşitliliğini %1,9 ile %3,6 aralığında, haplotip çeşitliliğini ise 0,9111–0,9872 aralığında bulmuşlar, ancak bu ırklardan bazılarını da kapsayan ortalama 15 hayvanın kullanıldığı başka bir çalışmada ise daha düşük haplotip ve nükleotit çeşitliliği bildirilmiştir (Chen ve ark., 2005) (Ek 4). Dünya keçi ırkları ile ilgili olarak, incelenen ırk çeşitliliği açısından en kapsamlı analizler Naderi ve ark. (2007)'na aittir. Daha çok yeni haplogrup belirlenmesi ve haplogrupların tarihinin bulunmasına yönelik bilgileri içeren bir çalışma olduğu için nükleotit çeşitliliği verilmemiş, haplotip çeşitliliğinin ise Avrupa'nın kuzeyine doğru gidildikçe azalma eğilimi gösterdiği ve Orta Doğu, Asya ve Afrika ülkelerinde en yüksek düzeylerde bulunduğu rapor edilmiştir. Anılan bu çalışmada, her ne kadar çok sayıda ırk incelenmiş olsa da, bazı ırklar sadece 1 örnekle temsil edilmiş ve bulunan 1 haplotipin %100 haplotip çeşitliliği şeklinde değerlendirilmiş olması sonuçların karşılaştırılmasında güçlük yaratmaktadır. Bütün bu literatür verileri, çeşitliliğin hesaplanması üzerinde, örneklem metodu ve sayısının önemli olduğunu ve bu çalışmadan elde edilen değerlerin karşılaştırılabileceği çok az sayıda çalışma olduğunu göstermektedir.

Araştırmada ele alınan keçi ırklarının çeşitlilik değerlerini Avrupa ırkları ile karşılaştırmada kullanılabilecek az sayıda çalışma bulunmaktadır. Bunlardan birisi Sardina ve ark. (2006) tarafından Sicilya yerli keçi ırklarında yapılmıştır. Toplam 67 örneğin analiz edildiği bu çalışmada Sicilya'ya özgü üç yerli keçi ırkı incelenmiş ve nükleotit çeşitliliği %0,9 ile %2,4 aralığında, haplotip çeşitliliği ise 0,806 ile 0,963 aralığında bulunmuştur. Ayrıca sadece 33 haplotip (%49) belirlenmiş ve çeşitliliğin düşük olması bu ırklardan hayvanların sayılarının giderek azalmasına bağlanmıştır. Bir diğer çalışma ise Pereira ve ark. (2005) tarafından Portekiz yerli keçilerinde yapılan çalışmadır ve 288 baş keçi incelenerek 164 haplotip belirlenmiş (%57), ortalama haplotip çeşitliliği ise 0,977 olarak bulunmuştur. Afrika keçi ırkları ile ilgili

olarak ise Royo ve ark. (2009), Batı Afrika keçi ırklarını ortalama 14'er örnekle incelemişler ve nükleotit çeşitliliğini %1 ile %3,3 arasında, haplotip çeşitliliğini ise ortalama 0,748 bulmuşlardır. Ayrıca incelenen 111 örnek için bireye özgü haplotip sayısı ise sadece 65 (%59) bulunmuştur. Sunulan çalışmada ise her ırk için mümkün olduğunca farklı bölgelerden ve akraba olmayan sürülerden seçilen en az 49 baş keçi incelenmiştir ve ırkların yeterince temsil edildiği düşünülmektedir. Buna bağlı olarak elde edilen haplotip ve nükleotit çeşitlilik sonuçları, yukarıda özetlenen ve fazla örnekle (n>49) analiz edilen keçi ırkları ile karşılaştırıldığında yüksek kalmaktadır. Ayrıca bu çalışmada yapılan dizi analizleri sonrasında 252 örnekte 208 haplotip (%82) belirlenmiştir. Bu sonuç, hemen hemen her örneğin kendine özgü bir mtDNA taşıdığını göstermekte ve yüksek bir polimorfizme işaret etmektedir. Bu sonuçlar Türkiye'nin özellikle de Kilis keçi ırkının yetiştirilmekte olduğu Güney Doğu Anadolu bölgesinin keçi evciltmesinde anahtar konumda olabileceğini destekler niteliktedir.

Çalışma sonucunda elde edilen haplotipler ve hangi ırklarda görüldükleri incelendiğinde %84 özgün haplotip değeriyle yine Kilis keçi ırkı öne çıkmaktadır (Çizelge 3.4). Çünkü 51 baş keçiden 43'ü kendine özgü bir mitokondri DNA'sı yani haplotipi taşımakta ve bir haplotipi (H104) Kıl keçi ırkıyla, bir haplotipi de (H99) Norduz keçi ırkıyla paylaşmaktadır. Bu durum, özellikle Verimli Hilal topraklarının merkezinde yetiştirilen bir keçi ırkı için beklenen bir sonuçtur. Özgün haplotip sayısı yüksek diğer bir keçi ırkı olan Kıl keçilerinde, Norduz keçisi hariç diğer ırklarla ortak paylaşılan birçok haplotip belirlenmiştir. Bu sonuç bu ırkların geçmişinde Kıl keçisi ile melezlemeler olduğunu açıkça ortaya koymaktadır. Bununla beraber, Kıl keçi ırkı ile kendine özgü bir fenotipe sahip olan Norduz keçi ırkının farklı maternal hatlara sahip olduğunu göstermesi açısından da önemlidir. Özgün haplotip sayıları %67-68 civarında hesaplanan Ankara ve Honamlı keçileri için ise yine dar bir coğrafik alanda yetiştiriliyor olmalarının ve yakın akrabalı yetiştirme yapılmasının, özgün haplotip sayısında azalmaya etkisi olduğu tahmin edilmektedir. Özgün haplotip sayısı en az olan ırk ise çeşitlilik sonuçlarıyla uyumlu olacak şekilde %57 değeriyle Norduz keçisidir. Norduz keçilerinde dikkati çeken bir diğer nokta da haplotip paylaşımının hep ırk içinde olması, sadece bir haplotipin (H99) bir Kilis

keçisiyle paylaşılmasıdır. Bu sonuç, incelenen ırklar arasında bir örneğin en fazla Norduz keçi ırkında olduğunu göstermekte ve oldukça dar bir alanda yetiştiriciliği yapılan, sayıları giderek azalan Norduz keçileri için haplotip kaybını işaret etmektedir. Bu sonuçlara göre; incelenen ırklarda haplotip ve nükleotit çeşitliği değerleri ve özgün haplotip sayısına göre özellikle Norduz, Ankara ve Honamlı keçi ırkları için koruma sürülerinin oluşturulması gerekmektedir. Ancak koruma sürüsüne yapılacak seçimlerde farklı haplotiplerin muhafaza edilerek, gelecek kuşaklara hiçbir genetik bilginin kaybolmadan aktarılmasına katkı sağlanabilecektir.

4.3. Nükleotit Yer Değişimi Oranları

Loftus ve ark. (1994) tarafından sığırlarda mtDNA için 60:1 olarak hesaplanan transisyon/transversiyon eğilimi (bias), bu çalışmada incelenen keçi ırkları için $R \sim 64:1$ hesaplanmış ve transisyon oranının transversiyon oranından yüksek olduğu ortaya konulmuştur. Evrensel olarak genomik DNA için 2:1 olan R değeri, mtDNA kontrol bölgesi için daima daha yüksek hesaplanmaktadır (Horai ve Hayasaka, 1990; Daniel ve ark., 1996). Bunun sebebi, bu bölgenin protein kodlamaması ve oluşan yeni mutasyonun pozitif veya negatif seçilime takılmadan sonraki nesillere aktarılmasıdır. Avrupa, Asya ve Afrika'dan 88 keçi ırkında (Luikart ve ark., 2001) ortalama $R=17:1$, Çin yerli keçi ırklarında (Chen ve ark., 2005) ise $R=36,46:1$ hesaplanan R değerinin, sunulan tez çalışmasında oldukça yüksek çıkması ($R \sim 64:1$) mutasyonların birikimini göstermesi açısından önemlidir. Bu tür yüksek R değerleri, çalışmada kullanılan keçi ırklarının çeşitliliğe sahip, eski populasyonlar olduklarını ifade etmektedir (Luikart ve ark., 2001).

4.4. Irklar arası Genetik Mesafe Sonuçları

Bu araştırmada incelenen ırkların genetik yakınlığının ortaya konulmasında farklı üç yöntem (Nei'nin D_a ve D_{xy} , Wright'ın F_{ST} istatistiği) kullanılmış ve filogenetik ağaç oluşturularak görsel hale getirilmiştir. Kullanılan bütün yöntemler benzer sonuçlar verirken, özellikle Wright'ın F_{ST} istatistiği ve Nei'nin D_{xy} metodu görsel olarak daha açıklayıcı olmuştur. Buna göre Norduz tüm keçi ırklarından farklılaşırken, Honamlı, Kıl ve Ankara keçileri arasındaki fark istatistiki olarak önemsizdir. Böylece üç ırkın anasal kökeninin ortak olduğu anlaşılmaktadır. Özellikle Kıl ve Honamlı keçileri fenotip ve örneklem yerleri göz önüne alındığında her iki ırk arasında daha fazla melezleme yapılmış olabileceği söylenebilir. Kıl keçisi ile Honamlı keçisinin genetik olarak yakın bulunması, örneklem kriterlerine iyi uyulduğu halde dar bir alanda örnekleme yapılması ile izah edilebilir. Anasal kökenleri ortak çıkmasına rağmen filogenetik ağaçta Ankara keçisinin bu ırlardan farklı olduğu görülmektedir. Bunun da sebebi, Ankara keçisinin baba hattının farklı olması ile açıklanabilir. Özellikle Y kromozomuna bağlı kalıtım gösteren boynuz yapısındaki farklılık da bu durumu destekler niteliktedir.

İncelenen ırlara ait F_{ST} ve önemlilik değerleri incelendiğinde; Norduz ırkı, Kıl ve Honamlı ırları ile orta düzeyde ($p < 0,001$), Ankara keçisi ile ($p < 0,01$) ve Kilis keçisi ile ($p < 0,05$) düşük düzeyde farklılaşmaktadır. Kilis keçisi ile Honamlı keçisi arasındaki genetik uzaklık düşük düzeyde ($p < 0,01$) bulunmuştur. Bu bulgular, özellikle Norduz keçisinin farklı ana hattına sahip olabileceğini ve diğer 4 ırk arasında da melezlemelerle genotip karışımı olduğunu düşündürmektedir. Anadolu'nun tarihin pek çok döneminde çeşitli göçlere maruz kaldığı düşünüldüğünde bu beklenen bir durumdur.

Elde edilen ırklar arası genetik mesafe sonuçları, Porter, (1996) tarafından öne sürülen; Kilis keçilerinin oluşmasında ana hattı olarak Kıl keçilerinin, baba hattı olarak da Halep keçilerinin etkisinin olduğu varsayımına uyum göstermemektedir. Bu varsayımına göre, Kilis keçileri ile Kıl keçilerinin aynı ana hattına sahip olması ve dolayısıyla benzer olmaları beklenirken, sadece bir haplotip bakımından ortak

olmaları ve filogenetik ağaçta ayrılmaları bu varsayımın aksine genetik yakınlıklarının düşük düzeyde olduğunu göstermektedir. Bu nedenle, Porter (1996)'ın tezinin aksine; melezlemede Kıl keçilerinin erkekleri ile Halep keçilerinin dişileri kullanılmış olabilir. Y kromozomu ve mtDNA topolojileri farklı geçmiş hikayeleri ortaya koyabildiği için, bu hususun aydınlatılmasında Y kromozomu analizleri yapılarak sonuçların birlikte değerlendirilmesi önem taşımaktadır. (Pidancier ve ark., 2006).

Bu çalışmada, incelenen keçi ırklarından elde edilen diziler, farklı yabancı keçilerle de karşılaştırılmış ve genetik mesafelere göre oluşturulan ağaç yardımıyla Takada ve ark. (1997) ile benzer şekilde *Capra aegagrus*'un genetik olarak en yakın tür olduğu ve evciltmede ana hattı olarak kullanıldığı görsel olarak da ortaya konulmuştur. Batu (1951) ve Akçapınar (1994) tarafından evcil keçinin atalarından birisi olduğu bildirilen ve yüzyıllarca önce yok olduğu bilinen *Capra prisca*'ya ait D-loop bölgesi dizilimine ulaşılamadığından değerlendirmeye alınamamıştır.

4.5. Mantel Test Analizi Sonuçları

Dünya keçi ırklarında yapılan mtDNA çalışmalarında az sayıda Mantel analizi uygulanmıştır. Buna göre, Çin (Chen ve ark., 2005), Portekiz (Pereira ve ark., 2005), Güney ve Orta Amerika (Amills ve ark., 2009), Batı Afrika (Royo ve ark., 2009) keçi ırklarında coğrafik uzaklıklarla genetik uzaklık arasında herhangi bir bağıntı belirlenemezken, Hindistan keçi ırklarında (Joshi ve ark., 2004) düşük de olsa pozitif bir bağıntı tanımlanmıştır.

İki farklı değişken arasında bağıntı yönü ve düzeyini ölçmede kullanılan Mantel teste göre; sunulan çalışmada incelenen keçilerin ırk düzeyinde F_{ST} ve coğrafik uzaklıkları arasındaki regresyon (r) değeri 0,751569 ($p < 0,005$) olarak hesaplanmıştır. Bu bulgu, genetik ve coğrafik uzaklıklar arasında pozitif ve yüksek bir bağıntı olduğu anlamına gelmektedir. Çalışmada incelenen keçi ırkları arasında coğrafik uzaklık arttıkça, genetik uzaklıkları da artmıştır.

Tüm örnekler için enlem–boylam koordinatları kullanılarak AIS programı ile yapılan Mantel test sonuçlarına göre ise genetik ve coğrafik uzaklıklar arasında bir ilişki bulunamamıştır. Sadece Honamlı ve Norduz keçilerinden birkaç bireyin hem coğrafik hem de genetik olarak uzak görülmesi, ırk bazında anlamlı çıkan mantel testine en büyük katkının bu iki ırktan kaynaklandığı şeklinde değerlendirilmiştir. Bu sonuç Luikart ve ark. (2001) tarafından keçilerin diğer türlere oranla bölgeler arası göçlerden daha fazla etkilendiği ve yoğun gen akışına maruz kaldığı varsayımını destekler niteliktedir.

4.6. Filogenetik Ağaç ve Haplogrup Dağılımları

Irklar arası filogenetik ilişkinin ve haplogrup dağılımının en doğru şekilde ortaya konulabilmesi için farklı nükleotit değişim modelleri (GTR, K2P) altında, farklı ağaç oluşturma metotları (NJ, ML, Median Joining network ve Minimum evolution) kullanılarak elde edilen sonuçların ortak noktası bireysel mantel testle uyumlu olacak şekilde örneklerin oldukça iç içe geçmiş olması ve ırka özgü bir dağılım bulunmamasıdır. Haplogrupların belirlenmesinde; Naderi ve ark. (2007) tarafından önerilen referans diziler kullanılmıştır. Buna göre, 4 Honamlı, 1 Ankara ve 1 baş da Kilis keçisi olmak üzere 6 baş keçide Verimli Hilal topraklarına özgü G haplogrubu, 1 baş Kilis keçisinde Asya kıtasına özgü D haplogrubu ve geriye kalan 245 baş keçide ise tüm dünyada yaygın olarak bulunan ve en eski haplogrup olduğu düşünülen A haplogrubu belirlenmiştir. Mevcut literatürde D haplogrubunun; Çin, Hindistan, Pakistan, Kırgızistan ve Avusturya’da, G haplogrubunun ise İran, Türkiye, Suudi Arabistan ve Mısır’da belirlendiği bildirilmiştir. (Sultana ve ark., 2003; Joshi ve ark., 2004; Naderi ve ark., 2007). Bununla birlikte, Azerbaycan, Moğolistan, Malezya, Pakistan, Hindistan ve Çin gibi Asya ülkeleri ile Yunanistan ve Kuzey Afrika’da saptanan B haplogrubu ve Çin, Moğolistan, Slovenya, İsviçre, Fransa, Portekiz ve İspanya’da saptanan C haplogrubu bu tez çalışmasında incelenen 5 ırkta belirlenmemiştir. Özellikle Luikart ve ark. (2001) tarafından genç bir haplogrup olduğu iddia edilen C haplogrubunun Türkiye’de belirlenmemesi; bununla birlikte kavimler göçünün ilerleyişine paralel bir şekilde Orta Asya’dan Avrupa’nın

batısına doğru bir hatta gözlenmesi bu haplogrubun yayılımının, M.S. 4 yüzyıllarda kavimler göçü yoluyla olabileceğini düşündürmektedir (Şekil 4.1). Çin hükümdarlığının egemenliği altından çıkmak isteyen Hunların, büyük olasılıkla Hazar ve Karadeniz'in kuzeyinden, Kuzey ve Güney Avrupa'ya, oradan da Kuzey Afrika'ya kadar bir göç hareketine (Anonim, 2007) ve dolayısıyla bir gen akımına neden oldukları düşünülmektedir. Aynı dönemlerde, Bizans imparatorluğu hareketin daha güneyden olmasını engelleyerek Anadolu'ya gen akışını da engelleyici bir görev görmüş olabilir.



Şekil 4.1. Kavimler göçünün izlediği hat (Anonim, 2007).

Ankara keçisinin tarihi ve Orta Asya'dan geldikleri görüşü düşünüldüğünde B ve C haplogruplarının belirlenmemiş olması ilginç bir veri olarak öne çıkmaktadır. (Akçapınar, 1994). Ancak genellikle Asya'daki keçi ırklarında saptanan bu haplogruplar, sunulan çalışmada ele alınan Ankara keçilerinde belirlenememiştir. Bu durum için iki varsayım öne sürülebilir. Bu varsayımlardan birincisi, bu haplogrupların popülasyona katılım zamanının, Ankara keçilerinin atalarının Orta Asya'dan Anadolu'ya göçünden sonra olması, yani B ve C haplogruplarının Ankara keçilerine hiç karışmadığıdır. İkinci varsayım ise Orta Asya'da yetiştirilmekte olan Ankara keçilerinin atalarında, Anadolu'ya getirildikten sonra B ve C haplogrupları

kaybolmuş olabilir. Ankara keçisinin gerçek kimliğinin Ankara bölge şartlarında oluştuğu bilinmektedir. Bu etki ve seleksiyon çalışmaları altında haplogruplar yok olmuş ve hatta bu haplogrupların kaybolması ile de ırk özellikleri kazanılmış olabilir. Luikart'ın C haplogrubunun evcil keçi populasyonuna katılım tarihi olarak hesapladığı tarih (2000Y.Ö.) ve B haplogrubunun evcil keçi populasyonuna katılım tarihi olarak hesapladığı tarih (6000Y.Ö.) düşünüldüğünde bu varsayımlardan ilki daha olası görünmektedir. Çünkü Akçapınar (1994) Ankara keçisinin M.Ö. 3–4 binli yıllarda Sümerler tarafından yetiştirildiğine dair görüşler olduğunu, Çığ (2008) ise Sümerlerin Orta Asya'dan göç eden bir topluluk olduğunu belirtmiştir (Şekil 4.2). Her iki bilgi ve haplogrupların populasyona olası katılım zamanları düşünüldüğünde, Ankara keçisinin ataları Anadolu'ya getirildikten sonra, yaban keçilerinin Orta Asya'daki evcil keçilerle birleştirilmesiyle B ve C haplogruplarının o bölgedeki evcil keçi populasyonuna karıştığı düşünülebilir. Dolayısıyla, Ankara keçilerinde bu haplogruplara rastlanmaması şaşırtıcı bir bulgu olmamakla birlikte, ileride yapılacak çalışmalarda Orta Asya'da yetiştirilmekte olan keçi ırkları ile Ankara keçisi mtDNA dizilerinin karşılaştırılmasıyla bu hususun aydınlatılması için gerekli bilgiler elde edilebilecektir.



Şekil 4.2. İçinde keçinin de resmedildiği Sümerlere ait bir taş tablet (Anonim, 2010).

Filogenetik ağaçtan elde edilen bir diğer önemli sonuç ise; D haplogrubunda olduğu belirlenen bir Kilis keçisi (Kls D7) EF989426 GenBank kodlu *Capra*

aegagrus ile; A haplogrubundan bir Kilis keçisi (Kls 23) ve bir K11 keçisi (K11 E52) ise EF989136 GenBank kodlu *Capra aegagrus* ile aynı dalda yer almasıdır. Elde edilen bu sonuçla “Bezoar (*Capra aegagrus*) evcil keçinin atalarındandır” varsayımı desteklenmiştir (Batu, 1951; Akçapınar, 1994; Takada ve ark., 1997).

Haplotiplere göre oluşturulan network incelendiğinde ise Luikart ve ark. (2001) ile uyumlu olarak A haplogrubunda tipik “yıldız görünümü” elde edilmiştir. Bu evciltmede kullanılan ilk haplogrup olduğu anlamına gelmekte ancak “en eski haplogrup” olduğu yönünde yorum yapılamamaktadır. Çünkü G veya D haplogrupları daha eski haplogruplar olabilir ancak, “çoklu maternal orjin” hipotezini destekler şekilde evcil keçi popülasyonuna katılış zamanları daha yeni ve sadece bazı bölgelerle sınırlı kalmış olabilir.

4.7. G haplogrubuna Özgü Enzim Kesim Bölgesi Belirlenmesi

Sunulan tez çalışması ile G haplogrubunun belirlenmesinde PZR-RFLP yöntemini temel alan yeni bir analiz geliştirilmiştir. Bu metot, D-loop bölgesinde sadece G haplogrublu örnekler için özgü “A16071G” mutasyonu nedeniyle oluşan 5'-TCG / CGA-3' diziliminin varlığının belirlenmesini dayanmakta ve;

- Dış primerler kullanılarak D-loop bölgesinde 1002nt'lik bir bölümünün yükseltgenmesini;
- Elde edilen yükseltgenme ürününün *NruI* restriksiyon enzimi kullanılarak kesilerek 691 ve 311 nükleotitlik iki parçaya ayrılmasını kapsamaktadır.

Önerilen metot GenBank'ta kayıtlı olan referans dizilerle kontrol edilmiş daha sonra uygulama yapılarak da doğrulanması planlanmıştır. Literatürde keçilerde mtDNA haplogrup tayini açısından PZR-RFLP'ye dayalı bir analiz daha bulunmaktadır. Sultana ve ark. (2003) tarafından yayınlanan bu metoda göre A, B, C ve D haplogrupları iki farklı enzimle kesilerek ayrılmaktadır.

4.8. Populasyonların Geçmişi

İncelenen ırklar için populasyon geçmişini araştırmak amacıyla haplogrup bazında gruplama yapılarak uyumsuzluk dağılım analizi ve ırklar bazında da nötralite testleri yapılmıştır. A haplogrubu için uyumsuzluk dağılım analizine göre ikili grupların ortalaması, $k=8,750$ olarak bulunmuş ve hem büyümüş-küçülmüş populasyon hem de sabit populasyon varsayımları altında unimodal (tek tepeli) çan eğrisi elde edilmiştir. Bu A haplogrubu için 8 mutasyonal ünite önce bir populasyon büyümesine işaret etmektedir. Her ırk için A haplogrubuna dahil olan örnekler analiz edildiğinde benzer şekilde tüm ırklar için aynı zaman diliminde populasyon değişimi yaşandığı görülmekte ve bu düşük raggedness istatistikleri ($r<0,03$) ile de doğrulanmaktadır. Ancak Kıl ve Norduz keçilerinde ikili grupların grafiği multimodal görünmekte ve bu uzun bir süredir sabit populasyon büyüklüğü anlamına gelmektedir.

Nötralite testlerinin yorumlanması ise Depaulis ve arkadaşlarının (2003) önerileri doğrultusunda yapılmıştır. Buna göre; negatif değer alan F_u ve L_i 'nin D^* , F_u ve L_i 'nin F^* değerleri yüksek miktarda ender haplotip gözlendiğini ve populasyon genişlemesi ya da arka plan seçilimini işaret etmektedir. Negatif değer alan F_u 'nun F_s değeri ise yüksek miktarda yeni ortaya çıkan haplotiplerin olduğunu ve populasyon genişlemesini ya da beraberinde götürmeyi ifade etmektedir. Pozitif Tajima'nın D değeri ise nötral terori hipotezinin geçerli olduğunu ve pozitif veya negatif herhangi bir seçilim olmadığını gösterir.

Bu bağlamda, Kilis keçi ırkında belirlenen negatif ve istatistiki olarak anlamlı Tajima'nın D değeri ve ırkın sahip olduğu yüksek haplotip çeşitliliği; geçmişte yeni mutasyonların eklenmesi ile populasyon genişlemesinin etkilerini işaret etmektedir. Yine sadece Kilis keçi ırkında istatistiki olarak önemli bulunan F_u ve L_i 'nin D^* ve F^* test değerleri, populasyonda çok sayıda nadir bulunan haplotiplerin bulunduğu ve populasyon genişlemesine işaret etmektedir (Depaulis ve ark., 2003). Aynı zamanda populasyon genişlemesinin test edilmesinde en güçlü istatistiklerden birisi olarak kabul edilen F_u 'nun F_s test istatistiği yüksek negatif değerler aldığımda

genişlemeyle uyumlu olarak popülasyonda düşük frekanslı varyantların artışı yansıtılmaktadır (Naderi ve ark., 2008; Depaulis ve ark., 2003). Norduz keçisi hariç incelenen ırklarda yüksek negatif F_s değeri geçmişte oldukça fazla varyantın hızlı bir şekilde popülasyona dahil olduğunu göstermektedir (Ramos-Onsins ve Rozas, 2002; Wu ve ark., 2009). Bu duruma popülasyonların lokal olarak birbirleriyle melezlenmelerinin ve bazı karakterler yönünden seleksiyonun büyük etkisi olduğu düşünülmektedir.

Ayrıca Şekil 3.27’de verilen ırkların filogenetik ağaçları incelendiğinde de uyumsuzluk dağılım analiziyle uyumlu şekilde geçmişte popülasyon büyümesi yaşandığı, özellikle Kilis, Honamlı ve Ankara ırklarının seçilime uğrayarak bazı dallarda daha fazla çeşitlendiği, bazı dallarda ise darboğaza uğradığı görülmüştür. Kıl ve Norduz keçi ırklarının ise uzun süredir sabit popülasyon şeklinde seyrettiği belirlenmiştir. Bu sonuçlar özellikle tiftik yönünden yetiştiriciliği yapılan Ankara, süt yönünden yetiştiriciliği yapılan Kilis ve ağırlıklı olarak süt yönünden yetiştiriciliği yapılan Honamlı keçi ırklarının popülasyon geçmişi yansıtması açısından önemli bulunmaktadır.

Ancak popülasyon geçmişi hakkında daha kapsamlı yorum yapılabilmesi için mtDNA üzerinde daha farklı bölgelerin de incelenmesi ve Y kromozomu bilgilerinin göz önüne alınarak birlikte değerlendirilmesi gerekmektedir (Pidancier ve ark., 2006; Pereira ve ark., 2009;) Ancak incelenen ırklarla ilgili olarak Y kromozomu verisi bulunmamaktadır.

4.9. Moleküler Varyans Analizi (AMOVA)

Genel olarak keçi ırkları arasında diğer türlere oranla çok daha az bir filocoğrafik farklılık bulunmaktadır. Örneğin kıtalararası sığır ırkları arasındaki varyasyon toplam varyasyonun %86’sını oluştururken bu oran keçilerde sadece %10’dur ve bu da kıtalararası göçlerin yoğunluğuna bağlanmaktadır (Luikart ve ark., 2001). Sunulan tez çalışmasında da coğrafik olarak fark bulunup bulunmadığı AMOVA analizi ile incelenmiştir. Bu amaçla ırklar değişik parametrelere göre gruplanmış ve F_{ST}

değerlerine göre birbirine yakın bulunan Kilis ve Norduz ırklarının bir grup, aynı coğrafyayı paylaşan Honamlı ve Kıl ırklarının bir grup, fenotipik karakterler ve coğrafik yerleşim olarak diğerlerinden ayrılan Ankara ırkının ayrı bir grup olarak kabul edildiği deney düzeneğinde en yüksek gruplar arası farklılık (Φ_{CT}) belirlenmiştir. Bu sonuç ırklar arası genetik mesafe testleri ve Mantel testleri ile de uyumlu olarak popülasyonları oluşturan örneklerin, coğrafik izolasyonlar sonucunda farklılaşmaya sahip olduğunu göstermektedir.

Tüm deney düzenekleri için elde edilen ırk içi bireyler arası varyasyon (Φ_{ST} ; Φ_{iST}) değerlerinin hepsi de yüksek ve istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Dünya keçi ırkları aynı mtDNA bölgesi açısından AMOVA analizi ile incelendiğinde total varyasyonun %78,72'sinin ırk içi varyasyondan, %10,58'sinin ($P<0.001$) kıtalararası varyasyondan ve %10,70'sinin ($P<0.001$) ırklar arası varyasyondan kaynaklandığı orta konulmuştur (Luikart ve ark. 2001). Sunulan tez çalışmasında ise ırk içi varyasyon total varyasyonun ~%97'sini oluşturmaktadır ve bu da incelenen ırkların, ırk içi varyasyonunun ırklar arası varyasyondan daha yüksek olduğuna dikkat çekmektedir.

4.10. Moleküler Saat Analizleri ve En Yakın Ortak Ata Zamanı (The Time To The Most Recent Common Ancestor, TMRCA)

Farklı haplogruplara ait Sitokrom-*b* bölgesi nükleotit dizileri, filogenetik ağaç oluşturularak incelendiğinde yine yüksek bootstrap değeriyle ayrıldıkları ve topolojilerinin D-loop bölgesi ile benzer olduğu belirlenmiştir. Bu sonuç, Sitokrom-*b* dizilerinden elde edilecek tarihsel sıralamanın tüm haplogrup için genellenebileceği anlamına gelmektedir (Takada ve ark., 1997; Naderi ve ark., 2007). Sitokrom-*b* bölgesini temel alan “haplogrupların ayrılma zamanı” hesaplamalarında 103.000 ile 597.800 yılları arasında değişen çeşitli tarihler belirlenmiştir (Luikart ve ark., 2001; Sultana ve ark., 2003; Joshi ve ark., 2004; Chen ve ark., 2005). Bu tarih aralığı evciltmenin yapıldığı düşünülen (M.Ö. 8.000–8.500 yıl) zaman aralığından oldukça eski bir döneme denk gelmektedir ki bu da keçilerde genetik çeşitliliğin evciltmeden

önce başladığını ve haplogrupların bir veya birden çok bölgede ve zamanda popülasyonlara katıldığını göstermesi açısından önemli bulunmaktadır. Sunulan tez çalışmasında ise tüm haplogrupların birbirinden ayrılma zamanı yani en yakın ortak ata zamanı 168.000 yıl öncesini göstermektedir. Buna göre ortak ata zamanı ile ilgili olarak G haplogrubu 168.000 yıl önce diğerlerinden farklılaşmış, D haplogrubu 102.000 yıl önce A haplogrubundan farklılaşmış ve A haplogrubu da 21.000 yıl önce kendi içinde farklılaşmıştır. Bu sıralama D ve G haplogruplarının daha eski olduğunu ancak network sonuçlarıyla beraber değerlendirildiğinde A haplogrubu yaban keçilerinin (*Capra aegagrus*) bu iki haplogruptan daha önce evciltmede kullanıldığını ve kurucu etkisi (founder effect) oluşturduğunu düşündürmektedir. Bu sonuç yine “çoklu maternal orjin” hipotezini destekler nitelikte bulunmuştur.

İncelenen çalışmalarda birbirine yakın ama farklı yıllar hesaplandığı düşünüldüğünde haplogrupların ayrılması için net bir çıkarım yapmak zordur. Örneğin, koyun-keçi ayrılma zamanı 3 milyon yıl olarak hesaplandığında elde edilen bu sonuç, farklı çalışmalarda kullanılan 1,6-5 milyon yıl gibi tarihlerle hesaplandığında değişmektedir (Luikart ve ark., 2001; Sultana ve ark., 2003; Joshi ve ark., 2004; Chen ve ark., 2005). Bununla birlikte sıralama değişmemekte ve en eski haplogrup G haplogrubu olarak görülmektedir. Ancak haplogrupların birbirinden farklılaşma sıralaması, popülasyona katılış (introgresyon) zamanı ile karıştırılmamalıdır.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sığır, domuz, koyun ve keçide yapılan moleküler çalışmalar bu türlerin Anadolu üzerinden Avrupa'ya yayıldığı bilinmektedir. Evciltme tarihinde önemli bir yeri olan Türkiye yerli keçi ırklarının mitokondrial DNA çeşitliliği ve maternal geçmişleri hakkında yeterli ve açıklayıcı çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmada yerli keçi ırkları içinde en çok yetiştiriciliği yapılan Ankara, Honamlı, Kilis, Kıl ve Norduz keçilerinin mtDNA D-loop bölgesi incelenmiş ve genetik olarak birbirleriyle ilişkilendirilmeye çalışılmıştır.

Bu araştırmada, mtDNA D-loop bölgesindeki polimorfizmin incelenmesinde kullanılan yöntemlerin; metodolojik olarak uygun ve yeterli olabileceği söylenebilir. Kullanılan metotlara göre, incelenen 5 ırk için A, D ve G haplogrupları olmak üzere 3 farklı haplogrup belirlenmiştir. Asya ülkelerindeki keçilerde yoğun olarak görülen B ve C haplogruplarının (Türkiye yerli keçi ırklarında) tesbit edilememesinin insan topluluklarının tarihteki göç yollarına bağlı olduğu düşünülmektedir. Tüm ırklar için özgün haplotip sayısı, yüksek nükleotit, haplotip çeşitliliği ve uyumsuzluk analizi değerleri dünya keçi ırklarıyla karşılaştırıldığında, Türkiye'nin, keçinin evciltmesinde merkezi bir konum taşıdığını; ırkların zamanla ve coğrafik faktörler etkisinde farklılaştığını; Honamlı ile Kıl keçisinin fenotipik ve genotipik bakımdan benzer olduğunu göstermektedir. Anasal köken açısından tüm ırklardan farklılaşan Norduz keçilerinin sadece Kilis keçileri ile bir haplotipi paylaşıyor olması tarihte ortak anasal ataya sahip olduklarını göstermesi açısından da ilginç bulunmuştur. Hem coğrafik hem de verim karakterleri yönünden diğer ırklardan ayrılan Ankara keçi ırkının filogenetik ağaç yardımıyla genetik olarak da ayrıldığı ortaya konulmuş ancak istatistik olarak önemli bulunmamıştır. Bunun en büyük nedeninin yine insan göçleri ve melezlemeler nedeniyle maruz kaldıkları gen akımları olduğu düşünülmektedir.

Halep ve Kıl keçisi melezi olduğu bilinen Kilis keçi ırkının sadece bir haplotipinin Kıl keçisiyle ortak olması; Morghose keçisi ile Kıl keçisi melezi olduğu bildirilen (Porter, 1996; TÜRKHAYGEN-1) Norduz keçi ırkının ise Kıl keçisiyle ortak haplotipinin bulunmaması ırkların tarihinin daha iyi araştırılmasının

gerekliliğini ortaya koymaktadır. Bu amaçla bu ırkların yetiştirildiği bölgelerdeki Kıl keçilerinin de analize katılmalarının ve babasal kökeni ortaya çıkartan Y kromozomu çalışmalarının, genetik geçmişinin anlaşılmasında katkıları olacağı düşünülmektedir.

Kilis ve Kıl keçileri sayısının giderek azalmasına rağmen ırkların mtDNA çeşitliliklerini korudukları bu çalışmanın sonucunda belirlenmiştir. Ankara ve Honamlı keçilerinde ise göreceli olarak daha düşük haplotipik çeşitliliğe sahip oldukları saptanmıştır. Ancak mevcut çeşitliliğin sürdürülebilmesi için yetiştirildikleri bölgelerde, halk elinde koruma sürüleri oluşturulması ırkların saflığının ve çeşitliliğinin korunması açısından yeterli olabilecektir. Ancak Norduz keçi ırkında evciltme bölgesinde olmasına rağmen düşük haplotip ve nükleotit çeşitliliği göstermesi, dar bir coğrafik alanda yetiştiriliyor olması ve kendi içinde birçok haplotipin paylaşılıyor olması bu ırkın geçmişte bir darboğaz geçirmiş olduğunu ya da yüzyıllardır sabit ivmeyle devam eden bir darboğaz yaşandığını düşündürmektedir. Ertuğrul ve ark. (2000) tarafından yapılan Türkiye yerli keçi ırklarının yok olma tehlikesi sınıflandırmasında da “ağır tehdit altında” olarak değerlendirilen Norduz keçisi için yine yetiştirildikleri bölgede, halk elinde koruma sürüleri oluşturulması ve mevcut genotiplerin kaybının önüne geçilebilmesi için kontrollü birleştirmelerin yapılması önerilmektedir. Bu sonuçlarla uyumlu olarak, TÜRKHAYGEN-1 projesi kapsamında Ankara, Honamlı, Kilis, Kıl ve Norduz keçi ırklarına ait DNA, embriyo, sperm ve hücre kültürü bankaları oluşturulmuştur ancak özellikle Ankara, Honamlı ve Norduz keçi ırkları için canlı ve yerinde korumanın da önemli olduğu gösterilmiştir.

Ayrıca sunulan tez çalışması ile keçilerde mtDNA haplogruplarının ortaya çıkış zamanı hesaplanmış ve en eski haplogrup olarak G haplogrubu olduğu; ancak evciltmede en eski haplogrubun A haplogrubu olduğu belirlenmiştir. Verimli Hilal bölgesine özgü olan G haplogrubunun daha az maliyetle ve kısa sürede belirlenebilmesi için PZR-RFLP’ye dayanan yeni bir analiz ortaya konulmuş ve yaygın etki hedeflerinden birisi olarak güncel literatüre katkıda bulunulmuştur. Bunlara ek olarak; Türkiye’ye özgü keçi ırklarından elde edilen mtDNA D-loop ve Sitokrom-*b* dizilerinin GenBank’ta kayıt altına alınması için başvurulması

planlanmakta ve çalışmanın yeni çalışmalar üretiminde domino etkisinin olması hedeflenmektedir.

Türkiye’de keçi ırklarının sayı ve dağılımlarını ortaya koyan kapsamlı bir döküm çalışması bulunmama ile birlikte giderek azaldığı bilinen bu ırklarda, akrabalı yetiştirmeler ve kültür ırklarıyla birleştirmeler frekansı düşük olan allellerin ve dolayısıyla ırkların yok olmasına neden olacaktır. Geçmişleri oldukça eskiye dayanan bu ırkların kaybı hem genetik için hem de tarih için önemlidir. Binlerce yıldır var olan bu ırklar sahip oldukları dirençlilik, verimlilik ve adaptasyon gücü gibi karakterlerle gelecek için birer zenginliktirler. Küresel ısınmanın, oluşan yeni mutasyonların ve daha da önemlisi değişen ülke ekonomilerinin sonucu olarak gelecek son 50–100 yıl için felaket senaryolarının yazıldığı son yıllarda bu karakterlerin ve çeşitliliğin ilerisi için önem kazanacağı açıktır. Bu nedenle; incelenen ırklar SNP’ler, mikrosatellitler ve Y kromozomu gibi farklı moleküler belirteçlerle analiz edilip, sonuçlar karşılaştırılarak değerlendirilmeli ve buna göre koruma stratejileri geliştirilmelidir. Ayrıca popülasyonların geçmişini değerlendirmede daha net tarihlerin ortaya konulabilmesi için Arkeoloji bilimi gibi alanlarla işbirliği içine girilmeli multidisipliner bakış açıları ile sunulan çalışmada önerilen hipotezler değerlendirilmelidir.

ÖZET

Türkiye Yerli Keçi Irklarının Mitokondrial DNA Çeşitliliği ve Filocoğrafyası

Keçilerle ilgili 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, Ankara (n=50), Honamlı (n=49), Kilis (n=51), Kıl (n=53) ve Norduz (n=49) keçi ırklarının mitokondrial DNA çeşitlilikleri, ırklar arası farklılıklar ve bu ırkların coğrafik yerleşimleri ile olan ilişkisinin ortaya konulması amacıyla mitokondrial DNA kontrol bölgesinin (D-loop) 598 nükleotidlik kısmına dizi analizi uygulanmıştır. Hayvanlardan alınan kan örneklerine; sırasıyla DNA izolasyonu, D-loop bölgesinin Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile yükseltgenilmesi ve ardından dizi analizi uygulanmıştır. DNA dizi analizi sonrası elde edilen sekans verileri; haplotip ve nükleotid çeşitliliği, genetik uzaklık yönünden incelenmiş; Neighbor joining ağacı, Maksimum olasılık ağacı ve Median joining networku ile görsel hale getirilmiş; uyumsuzluk dağılım analizi, nötralite testleri, Mantel test ve AMOVA analizleri yapılarak değerlendirilmiştir. Buna göre, incelenen 5 ırk için A, D ve G haplogrupları olmak üzere 3 farklı haplogrup belirlenmiş; yoğunlukla Asya ülkelerinde görülmekte olan B ve C haplogruplarının Türkiye yerli keçi ırklarında saptanmamış olmasının, insan topluluklarının tarihteki göç yollarına bağlı olduğu düşünülmüştür. Çalışılan tüm ırklar için elde edilen haplotip sayısı (208), yüksek nükleotid ($\pi=0,02100$, $\pm 0,00073$) ve haplotip çeşitliliği ($H=0,9982$, $\pm 0,0006$) değerleri ile uyumsuzluk analizi sonuçları ($k=8,750$) dünya keçi ırklarıyla karşılaştırılarak yorumlandığında elde edilen sonuçlar, Türkiye'nin, keçilerin evciltilmesinde merkezi bir konumda olduğuna işaret etmektedir. Haplotip paylaşımları göz önüne alındığında; Kıl keçisi melezi oldukları bilinen Kilis ve Norduz keçi ırklarının Kıl keçisiyle hiç haplotip paylaşmıyor olmaları ırkların tarihinin daha iyi araştırılmasının gerekliliğini ortaya koymuştur. Çalışma sonucunda Ankara ve Honamlı keçilerinin mevcut çeşitliliklerini sürdürebilmeleri için halk elinde koruma sürüleri oluşturulması ırkların çeşitliliğinin korunması açısından yeterli olabileceği düşünülmektedir. Yok olma açısından ağır tehdit altında olduğu düşünülen Norduz keçi ırkı için ise acil olarak yetiştirildikleri bölgede, halk elinde koruma sürüleri oluşturulması ve mevcut genotiplerin kaybının önüne geçilebilmesi için kontrollü birleştirmelerin yapılması önerilmektedir. Ayrıca Verimli Hilal bölgesine özgü olan G haplogrubunun daha az maliyetle ve kısa sürede belirlenebilmesi için PZR-RFLP'ye dayanan yeni bir analiz ortaya konulmuş ve yaygın etki hedeflerinden birisi olarak güncel literatüre katkıda bulunulmuştur. Bunlara ek olarak; Türkiye'ye özgü keçi ırklarından elde edilen mtDNA D-loop ve Sitokrom-b dizilerinin GenBank'ta kayıt altına alınması için başvurulması planlanmaktadır.

Anahtar Sözcükler: Filogenetik, Genetik çeşitlilik, mtDNA, Türkiye Yerli Keçi Irkları, Verimli Hilal.

SUMMARY

Mitochondrial DNA Diversity and Phylogeography of Turkish Native Goat Breeds

Mitochondrial DNA is one of the most preferred markers used in phylogenetic studies in domestic goats due to its unique features such as capacity to demonstrate geographic distribution of species, higher evolutionary rate compared to genomic DNA, maternal inheritance, and absence of recombination. In this study, 598-nucleotide sequence from the mitochondrial DNA control region was analyzed in Angora (n=50), Honamli (n=49), Kilis (n=51), Hair (Kil) (n=53) and Norduz (n=49) goat breeds to reveal diversity of mitochondrial DNA, differentiation of goat breeds, and relevance between genetic differentiations and geographic distributions. Blood samples collected from the goats were used for the following consecutive procedures: DNA isolation, amplification of D-loop region with PCR and DNA sequence reaction. The sequence data were examined for haplotypes and nucleotide diversity, genetic distance, visualized with Neighbor joining tree, Maximum Likelihood tree and Median joining network, and evaluated with mismatch distribution analyses, neutrality tests, Mantel test and AMOVA analyses. Based on the analyses above, 3 different haplogroups, A, D and G haplogroups, were determined for 5 different goat breeds studied. The B and C haplogroups, mostly found in Asia, were not determined in this study. Absence of such haplogroups may related to presence of different migration roads of human populations in the history. When compared to goat breeds throughout the world, the haplotype number (208), higher nucleotide ($\pi=0,02100$, $\pm 0,00073$) and haplotype diversity ($H=0,9982$, $\pm 0,0006$) rate and the results of mismatch distribution analyses ($k=8,750$) for all goat breeds studied in the present study indicate that Turkey has been situated in a central position during the domestication process of the goat species. Based on the haplotype sharing, Kilis and Norduz breeds, known as crossbreeds of Hair goats, do not share any haplotypes with Hair goats, so that the history of these breeds should be further investigated. The results of the study also suggest that establishment of conservation flocks by local breeders should be enough to protect the diversity of the Ankara and Honamli breeds. For Norduz breed, which is under risk of extinction, conservation flocks should be promoted immediately in local breeders along with a controlled mating program to prevent loss of genotypes. Through this study, an inexpensive novel method based on PCR-RFLP was introduced to determine G haplotype, a unique haplotype to Fertile Crescent regions so that further contribution to the literature was made as a common goal. In addition, the obtained mtDNA D-loop and Cytochrome-*b* sequences unique to Turkish native goat breeds will be submitted to GenBank for the record.

Keywords: Genetic diversity, Fertile Crescent, mtDNA, Phylogenetics, Turkish native goat breeds.

KAYNAKLAR

- AKÇAPINAR, H. (1994) Keçi Yetiştiriciliği Ders Notları. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Zootekni Anabilim Dalı.
- ALLENDORF, F. W., LUIKART G. (2007) Conservation and the genetics of populations. Wiley-Blackwell Publishing, US
- AMILLS, M., RAMÍREZ O., TOMÁS A., BADAQUI B., MARMÍ J., ACOSTA J., SÀNCH EZ A., CAPOTE J. (2009) Mitochondrial DNA diversity and origins of South and Central American goats. *Animal Genetics* **40**, 315–22.
- ANONİM, (2007) Kavimler göçü.
Erişim:[<http://www.ansiklopedim.info/?p=4356>]
Erişim tarihi: 11.06.2010
- ANONİM, (2010) Sumerian History – Ancient Language Tells The Story of Mankind.
Erişim:[<http://www.noeticsciences.co.uk/wp-content/uploads/2010/03/Sumerian-Tablet.jpg>]
Erişim tarihi: 11.06.2010
- AUSUBEL, F. M., BRENT R, KINGSTON R.E., MOORE D.D., SEIDMAN J. G. SMITH J. A., STRUHL K. (2002) Short protocols in molecular biology, 5th edn. John Wiley and Sons Inc., New York. US
- AVISE, J.C; ARNOLD J.; BALL R.M.; BERMINGHAM E; LAMB T; NEIGEL JE; REEB CA; SAUNDERS NC (1987) Intraspecific Phylogeography: The MitochondrialDNA Bridge Between Population-Genetics And Systematics *Annual Review Of Ecology And Systematics* **18**:489–522
- BANDELT, H.J., FORSTER P., RÖHL A. (1999) Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Mol Biol Evol* **16**:37-48
- BATU, S. (1951) Türkiye Yerli Keçi Irkları ve Keçi Yetiştirme Bilgisi. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Kitabı No:2
- BRADLEY, D.G, MACHUGH, D.E, CUNNINGHAM, P., LOFTUS, R.T. 1996. Mitochondrial diversity and the origins of African and European cattle. *Proceedings of the National Academy of Science, USA* **93**: 5131-5135.
- BRUFORD, M. W., BRADLEY D. G., LUIKART G. (2003). DNA markers reveal the complexity of livestock domestication. *Nat. Rev. Genet.* **4**:900–910
- CHEN, S.Y., SU, Y.H., WU, S.F., SHA, T., ZHANG, Y.P. (2005). Mitochondrial diversity and phylogeographic structure of Chinese domestic goats. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **37**: 804–814
- CHEN, S.;FAN, B.;LIU, B.;YU, M.;ZHAO, S.;ZHU, M.;XIONG, T.;LI, K. (2006). Genetic Variations of 13 Indigenous Chinese Goat Breeds Based on Cytochrome b Gene Sequences. *Biochemical Genetics*, Volume **44**: Numbers 3–4, 87-97.
- CHEN, X.,L., BUTOW, R.,A. (2005). The Organization and Inheritance of the Mitochondrial Genome. *Nature Reviews Genetics* **6**: 815–825.
- CLAYTON, D.A. (1982) Replication of animal mitochondrial DNA. *Cell*, Apr;**28**(4):693-705.
- CLC Main Workbench. CLC bio Inc.
Erişim:[<http://www.clcbio.com/index.php?id=16>]
Erişim tarihi: 23.06.2009
- ÇİĞ, M. İ. (2008), Sumerlilerde Tufan, Tufan'da Türkler. Kaynak Yayınları
- DANIEL, G. BRADLEY, DAVID E. MACHUGH, PATRICK CUNNINGHAM, AND RONAN T. LOFTUS (1996) Mitochondrial diversity and the origins of african and European cattle. *Anthropology/ Proc. Natl. Acad. Sci.* Vol. **93**: pp. 5131-5135
- DEPAULIS, F., MOUSSET, S., VEUILLE, M. (2003) Power of neutrality tests to detect bottlenecks and hitchhiking. *Journal of Molecular Evolution*, **57**: S190–S200

- DUPANLOUP, I., SCHNEIDER, S., EXCOFFIER, L. (2002) A simulated annealing approach to define the genetic structure of populations. *Mol Ecol* **11**:2571–2581
- ERTUĞRUL, M., AKMAN, N., DELLAL, G., GONCAGÜL, T., 2000. Hayvan Gen Kaynaklarının Korunması ve Türkiye Hayvan Gen Kaynakları. Türkiye Ziraat Mühendisliği V. Teknik Kongresi (2 CİLT) Yayın No:38, Ankara.
- ERTUGRUL, M., DELLAL, G., ELMACI, C., AKIN, A. O., PEHLİVAN, E., SOYSAL, M. İ., ARAT, S. (2010) Çiftlik Hayvanları Genetik Kaynaklarının Korunması ve Sürdürülebilir Kullanımı. Türkiye Ziraat Mühendisliği VII. Teknik Kongresi Kitapçığı,179-198.
- EXCOFFIER, L., SMOUSE, P. E., QUATTRO, J. M. (1992). Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics*, **131**(2):479-491
- EXCOFFIER, L. AND H.E. L. LISCHER (2010) Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. Molecular Ecology Resources. *Molecular Ecology Resources* Volume **10**: Issue 3, Pages 564 -567
- FAO, AVRUPA VE ORTA ASYA BÖLGE OFİSİ (2007) AB Giriş Süreci Çerçevesinde Türkiye’de Süt Ve Süt Ürünleri Sektörüne Genel Bakış.
Erişim:[http://www.tarim.gov.tr/Files/Files/e_kutuphane/Sut_sektoru_raporu_TR.doc]
Erişim tarihi: 15.05.2010
- FAO, FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (2007) Global Plan Of Action For Animal Genetic Resources And The Interlaken Declaration
Erişim:[<http://www.fao.org/docrep/010/a1404e/a1404e00.htm>]
Erişim tarihi:12.06.2010
- FAOSTAT Food And Agriculture Organization of The United Nations
Erişim:[<http://faostat.fao.org/default.aspx>]
Erişim tarihi:20.05.2010
- FELSENSTEIN, J., (1993) SEQBOOT; Bootstrap, Jackknife, or Permutation Resampling of Molecular Sequence, Restriction Site, Gene Frequency or Character Data.
Erişim:[<http://cmgm.stanford.edu/phylip/seqboot.html>]
Erişim tarihi: 12.11.2009
- FELSENSTEIN, J. (2005) PHYLIP (Phylogeny Inference Package) version 3.6. Distributed by the author. Department of Genome Sciences, University of Washington, Seattle
Erişim:[<http://evolution.genetics.washington.edu/phylip.html>].
Erişim tarihi: 23.04.2010
- FERNANDEZ, H., S. HUGHES, J.-D. VIGNE, D. HELMER, G. HODGINS, C. MIQUEL, C. HANNI, G. LUIKART, AND P. TABERLET (2006) Divergent mtDNA lineages of goats in an Early Neolithic site, far from the initial domestication areas. *PNAS* **103**: 15375-15379
- FREELAND, J. (2005) Molecular Ecology. John Wiley & Sons, Ltd. New York.
- FREEMAN, S., HERRON, J. (2007) Evolutionary Analysis, 4. Ed.; Pearson Education
- FU, YX. (1996) New statistical tests of neutrality for DNA samples from a population. *Genetics*; **143**: 557–570
- FUMAGALLI, L, TABERLET P, FAVRE L, HAUSSER J (1996) Origin and evolution of homologous repeated sequences in the mitochondrial DNA control region of shrews. *Mol Biol Evol* **13**: 31–46
- GIUFFRA, E, KIJAS, JM, AMARGER, V, CARLBORG O, JEON JT, AND ANDERSSON L, (2000). The origin of the domestic pig: independent domestication and subsequent introgression. *Genetics* **154**:1785–1791

- GROENEVELD, L.F.; LENSTRA, J.A.; EDING, H.; TORO, M.A.; SCHERF, B.; PILLING, D.; NEGRINI, R.; FINLAY, E.K.; JIANLIN, H.; GROENEVELD, E.; WEIGEND, S. (2010) Genetic diversity in farm animals—a review. *Animal Genetics* Volume **41**: Issue s1, Pages 6 – 31
- GUINDON, S., GASCUEL, O. (2003) A simple, fast, and accurate algorithm to estimate large phylogenies by maximum likelihood. *Syst Biol.* Oct;**52**(5):696-704
- GÜNLEMEZ, A. (2003) Mitokondrial DNA hastalıkları.
Erişim:[[http://www.medicine.ankara.edu.tr/internal_medical/pediatrics/mol-gen/index.php?PgId=82,](http://www.medicine.ankara.edu.tr/internal_medical/pediatrics/mol-gen/index.php?PgId=82)]
Erişim tarihi: 12.12.2008
- HARTL, D. L., JONES. E. W. (1998) *Genetics: Principles and analysis*, 4th ed. Jones And Bartlett Publishers, Inc., US (Chapter 5)
- HARTL, D. L., (2000) *A Primer of Population Genetics*. Sinauer Associates, Inc Publishers, Massachusetts, US
- HEDRICK, P.W., (2005) *Genetics of Population*. Jones & Bartlett Publishers London UK
- HENSON, E. L. (1992) *In situ conservation of livestock and poultry*. FAO Animal Production and Health Paper, 99.
- HIENDLEDER, S., MAINZ, K., PLANTE, Y., AND LEWALSKI, H. (1998). Analysis of mitochondrial DNA indicates that domestic sheep are derived from two different ancestral maternal sources: No evidence for contributions from urial and argali sheep. *J. Hered.* **89**:113–120
- HIRST, K. K. (2008) *The History of the Domestication of Goats*.
Erişim:[<http://archaeology.about.com/od/domestications/qt/goats.htm>]
Erişim tarihi: 12.12.2008
- HOLSINGER, K. (2008) Divergence of nucleotide sequences.
Erişim:[<http://darwin.eeb.uconn.edu/eeb348/lecturenotes/molevol-intro/node5.html>]
Erişim tarihi: 15.04.2010
- HORAI, S., HAYASAKA, K. (1990) Intraspecific nucleotide sequence differences in the major noncoding region of human mitochondrial DNA. *Am j hum genet.***46**(4):828-42
- IDT Oligo Analyzer3.1. INTEGRATED DNA TECHNOLOGIES, INC.
Erişim:[<http://eu.idtdna.com/scitools/scitools.aspx>]
Erişim tarihi: 23.06.2009
- IRWIN, D. M., KOCHER, T. D., WILSON, A. C. (1991). Evolution of the cytochrome b gene of mammals. *J. Mol. Evol.* **32**:128–144
- JOBLING, M. A., HURLES, M., TYLER-SMITH, C. (2004) *Human Evolutionary Genetics: Origins, Peoples and Disease* Garland Science Publishing, London/New York
- JOSHI, M. B. ROUT, P. K., MANDAL, A. K. TYLER-SMITH, C., SINGH, L., THANGARAJ K. (2004). Phylogeography and Origin of Indian Domestic Goats. *Mol. Biol. Evol.* **21**: 454-462
- KLUG, W. S., CUMMINGS, M. R., ÇEV. ÖNER, C., (2002). *Genetik Kavramlar*. Palme Yayıncılık, Ankara
- KUMAR S, DUDLEY J, NEI M & TAMURA K (2008) MEGA: A biologist-centric software for evolutionary analysis of DNA and protein sequences. *Briefings in Bioinformatics* **9**: 299-306
- KUMAR, S., TAMURA, K., NEI, M.(1993) *MEGA: Molecular Evolutionary Genetics Analysis*, version 1.01 Manual. Guidelines for Choosing Distance Measures.
Erişim:[<http://evolgen.biol.metro-u.ac.jp/MEGA/manual/Distance.html>] Erişim tarihi: 14.09.2009
- LAVERY, S. (2009) *Shane's Simple Guide to F-statistics; Molecular Ecology and Evolution Lectures*

- Erişim:[<http://www.library.auckland.ac.nz/subjects/bio/pdfs/733Pop-g-stats2.pdf>]
- Erişim Tarihi: 10.05.2010
- LEMIRE, B. (2005). Mitochondrial Genetics. *WormBook*, ed. The *C. elegans* Research Community, WormBook,
Erişim: <http://www.wormbook.org>.
Erişim Tarihi: 10.05.2010
- LEWIN, B. (2004). Genes VIII. Published by Pearson Prentice Hall, Pearson Education, Inc. USA
- LIBRADO, P., ROZAS, J. 2009. DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics* **25**: 1451-1452
- LIU, R.Y., LIU, G.S. YANG, C. LEI, Z. (2006)The genetic diversity of mtDNA D-loop and the origin of Chinese goats, *Acta Genet. Sin.* **33** :, pp. 420–428
- LODISH, H., BALTIMORE, H., D., BERK, A., ZIPURSKY, S. L., MATSUDAIRA P., DARNELL, J., (2003) Molecular Cell Biology. Publisher: W. H. Freeman Company, USA.
- LOFTUS, R. T., MACHUGH D E., BRADLEY D. G., SHARP P. M, CUNNINGHAM P. (1994) *Proc Natl Acad Sci USA* **91**:2757–2761
- LOFTUS, R.T., ERTUGRUL, O., HARBA, A.H., EL-BARODY, M.A., MACHUGH, D.E., PARK, S.D., BRADLEY, D.G. (1999). A microsatellite survey of cattle from a centre of origin: the Near East. *Molecular Ecology* **8**:2015-2022
- LUIKART, G., L. GIELLY, L. EXCOFFIER, J.-D. VIGNE, J. BOUVET, P. TABERLET (2001). From the Cover: Multiple maternal origins and weak phylogeographic structure in domestic goats. *PNAS* **98**: 5927-5932
- MACHUGH, D. E., BRADLEY, D. G. (2001). Livestock genetic origins: Goats buck the trend. *PNAS* **98**: 5382-5384
- MAMIT-TRNA. Memelilere ait mitokondri tRNA'larına ait veritabanı.
Erişim:[<http://mamit-trna.u-strasbg.fr/Summary.asp>]
Erişim tarihi: 17.11.2008
- MANCEAU, V., DESPRÉS, L., BOUVET, J., TABERLET, P. (1999a). Systematics of the Genus *Capra* inferred from Mitochondrial DNA sequence data. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, Vol. **13**: No 3, 504-510
- MANCEAU, V., CRAMPE J.P, BOURSOT P., TABERLET P. (1999b) Identification of evolutionary significant units in the Spanish wild goat, *Capra pyrenaica* (Mammalia, Artiodactyla). *Animal Conservation* **2**: 33–39
- MANLY, B. F. J. (2004). Multivariate Statistical Methods: A Primer. (3.baskı) Chapman & Hall/CRC Press LLC, Florida, US.
- MANNEN, H., NAGATA, Y., TSUJI, S. (2001). Mitochondrial DNA reveal that domestic goat (*Capra hircus*) are genetically affected by two subspecies of Bezoar (*Capra aegagrus*). *Biochem Genet. Jun*; **39**(5-6):145-54
- MARSHALL, O.J. (2004) PerlPrimer: cross-platform, graphical primer design for standard, bisulphite and real-time PCR. *Bioinformatics* **20**(15):2471-2472
- MAXAM, A.M., GILBERT, W. (1977) A new method for sequencing DNA. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **74**: 560–564
- MCDONALD, D. (2008) Genetic Markers Lecture 6. Population Genetics IV: Genetic distances biological vs. geometric approaches
Erişim:[<http://www.uwyo.edu/dbmcd/molmark/lect06/lect6.html>]
Erişim tarihi: 17.11.2008
- MEIRMANS, P. G. (2006) Using The Amova Framework To Estimate A Standardized Genetic Differentiation Measure. *Evolution*, **60**(11): Pp. 2399–2402
- MITOMAP İnsan Mitokondrial Genomu Veritabanı.
Erişim:[<http://www.mitomap.org/MITOMAP/mitomapgenome.pdf>]
Erişim tarihi: 12.11.2008

- MILLER, M.P. (2005) Alleles In Space: computer software for the joint analysis of interindividual spatial and genetic information. *J Hered* **96**:722–724
- MITEURO. Avrupa'da mitokondrial biyogenezis ve hastalık çalışan laboratuvarların veritabanı.
Erişim:[www.miteuro.org]
Erişim tarihi: 17.11.2008
- MOUNT, D. W. (2004) Bioinformatics: sequence and genome analysis Cold Spring Harbor Laboratory Pres, US
- MULLIS, K.B., FALOONA, F.A. (1987) Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction. *Methods Enzymol.* **155**:335-50
- NADERI S., REZAEI H.R., TABERLET P., ZUNDEL S., RAFAT S.A., NAGHASH H.R., ELBARODY M.A.A., ERTUGRUL O., POMPANON F. (2007) Large-scale mitochondrial DNA analysis of the domestic goat reveals six haplogroups with high diversity. *PLoS ONE*, **2**,10; e1012.
- NADERI, S., REZAEI, H.-R., POMPANON, F., BLUM, M.G.B., NEGRINI, R., NAGHASH, H.-R., BALKIZ, Ö., MASHKOUR, M., GAGGIOTTI, O.E., AJMONE-MARSAN, P., KENCE, A., VIGNE, J.D., TABERLET, P. (2008). The goat domestication process inferred from large-scale mitochondrial DNA analysis of wild and domestic individuals. *Proc Natl Acad Sci USA* **105**: 17659–17664
- NASA Earth Observatory.
Erişim:[<http://earthobservatory.nasa.gov/Features/HarranPlains/>]
Erişim tarihi: 21.09.2009
- NATIONAL LIBRARY OF MEDICINE. GENETICS HOME REFERENCE.
Erişim:[<http://ghr.nlm.nih.gov/chromosome=MT>]
Erişim tarihi: 12.11.2008
- NEI, M., KUMAR, S. (2000) Molecular Evolution and Phylogenetics . Oxford University Press, New York
- NEW ENGLAND BIOLABS INC. NEBCutter V2.0
Erişim:[<http://tools.neb.com/NEBcutter2/>]
Erişim tarihi: 23.06.2009
- ÖRS, A. (2005) Yücel Aşkın'ın Vanlılar için yaptıkları unutuldu.
Erişim:[<http://arsiv.sabah.com.tr/2005/12/18/cpsabah/gur101-20051218-102.html>]
Erişim tarihi: 23.06.2009
- ÖZCAN, H. YALÇIN, C. (1985) Özel Zootečni. İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Zootečni Anabilim Dalı Yayınları. İstanbul.
- PELLECCHIA, M., NEGRINI, R., COLLI, L., PATRINI, M., MILANESI, E., ACHILLI, A., BERTORELLE, G., CAVALLI SFORZA, L.L., PIAZZA, A., TORRONI, A., MARSAN, P. A. (2007) The mystery of Etruscan origins: novel clues from *Bos taurus* mitochondrial DNA. *Proc Biol Sci.* **7**;274(1614):1175-1179
- PEREIRA, F., PEREIRA, L., VAN ASCH, B., BRADLEY, D.G., AMORIM, A. (2005). The mtDNA catalogue of all Portuguese autochthonous goat (*Capra hircus*) breeds: high diversity of female lineages at the western fringe of European distribution. *Molecular Ecology* **14**: 2313–2318
- PEREIRA, F., QUEIRÓS, S., GUSMÃO, L., NIJMAN, I.J., CUPPEN, E., LENSTRA, J.A., THE ECONOGENE CONSORTIUM, DAVIS, S.J.M., NEJMEDDINE, F & AMORIM, A. (2009) Tracing the history of goat pastoralism in North Africa: new clues from mitochondrial and Y chromosome DNA. *Mol. Biol. Evol.*, **26**: 2765-2773
- PIDANCIER, N., JORDAN, S., LUIKART, G., TABERLET, P. (2006). Evolutionary history of the genus *Capra* (Mammalia, Artiodactyla): Discordance between mitochondrial DNA and Y-chromosome phylogenies. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **40**(3):739-749
- PORTER, V. (1996). Goats of the World. Farming Press, Ipswich, UK.

- POSADA, D., CRANDALL, K.A. (1998); MODELTEST: testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics*. **14**(9):817-8
- RAMOS-ONSINS, S. E., ROZAS, J. (2002) Statistical Properties of New Neutrality Tests Against Population Growth. *Molecular Biology and Evolution* **19**:2092-2100
- REECE, R. J. (2004) Analysis of genes & genomes. John Wiley & Sons Ltd, West Sussex, England. (Chapter 9)
- ROGERS, A.L. (2004) Lecture Notes on Gene Genealogies: Lecture 7, The Theoretical Mismatch. Distribution Department of Anthropology, University of Utah. Erişim:[http://www.anthro.utah.edu/~rogers/bio5410/Lectures/a_mismatch.pdf] Erişim tarihi: 11.10.2009
- ROGERS, A. R., HARPENDING, H. (1992). Population growth makes waves in the distribution of pairwise genetic differences. *Mol. Biol. Evol.* **9**:552-569
- ROYO, L.J., TRAORÉ, A., TAMBOURÁ, H.H., ÁLVAREZ, I., KABORÉ, A., FERNÁNDEZ, I., OUÉDRAOGO-SANOU, G., TOGUYENI, A., SAWADOGO, L., GOYACHE, F., (2009). Analysis of mitochondrial DNA diversity in Burkina Faso populations confirms the maternal genetic homogeneity of West African goat. *Animal Genetics* Jun;**40**(3):344-347
- SAARA, F. (2000). Phylogenetic analysis of mitochondrial DNA: Detection of mutations in patients with an occipital stroke. Oulun Yliopisto, Mart. Oulu Üniversitesi Yayını. Erişim:[<http://herkules oulu.fi/isbn9514255674/isbn9514255674.pdf>] Erişim tarihi: 20.09.2008
- SAMBROOK, J.; FRITSCH, E.F., MANIATIS, T. (1989) Molecular Cloning: A Laboratory Manual, vol. I. 2nd edition. Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- SAN DIEGO STATE ÜNİVERSİTESİ KÜTÜPHANESİ. ROHAN Academic Computing. Erişim:[http://www-rohan.sdsu.edu/course/ens304/public_html/section2/AerobicSystem.htm# Mitochondria] Erişim tarihi: 12.11.2008
- SANGER, F., NICKLEN, S., COULSON, A.R. (1977) DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc Natl Acad Sci U S A* Dec;**74** (12):5463–5467
- SARDINA, M.T., BALLESTER, M., MARMI, J., FINOCCHIARO, R., VAN KAAM, J.B., PORTOLANO, B., FOLCH, J.M. (2006). Phylogenetic analysis of Sicilian goats reveals a new mtDNA lineage. *Animal Genetics*, **37**: 376–378
- SCHWARTZ, M., VISSING, J. (2002). Paternal inheritance of mitochondrial DNA. *N. Engl. J. Med.* **347** (8): 576–80
- SHACKLETON, D. M. (1997) Wild sheep and goats and their relatives: status survey and conservation action plan for caprinae. IUCN/SSC Pres, Action Plans for the Conservation of Biological Diversity.
- SOROKIN, P. A., KIRILIUK, V. E., LUSHCHEKINA, A. A., KHOLODOVA, M. V., (2005). Genetic diversity of Mongolian gazelle *Procapra guttorosa*. *Russ. J. Genet.*, **41** (10): 1345-1349
- SULTANA, S., MANNEN, H. (2004). Polymorphism and evolutionary profile of mitochondrial DNA control region inferred from the sequences of Pakistani goats *Animal Science Journal* (2004) **75**: 303–309
- SULTANA, S., MANNEN, H., TSUJI, S. (2003). Mitochondrial DNA diversity of Pakistani goats. *Animal Genetics* Dec;**34**(6): 417-21
- TAGEM, Türkiye Evcil Hayvan Genetik Kaynakları Katoloğu, (2009). Erişim:[http://www.tagem.gov.tr/yayin/tagem_ehgk_katalog.pdf] Erişim tarihi:12.09.2009
- TAKADA, T., KIKKAWA Y., YONEKAWA H., KAWAKAMI S., AMANO T. 1997. Bezoar (*C. aegagrus*) is a matriarchal candidate for ancestor of domestic goat (*C. hircus*): evidence from the mitochondrial DNA diversity. *Biochem. Genet.* **35**:315–326.

- TROY, C.S., MACHUGH, D.E., BAILEY, J.F., MAGEE, D.A., LOFTUS, R.T., CUNNINGHAM, P., CHAMBERLAIN, A.T., SYKES, B.C., BRADLEY, D.G. (2001). Genetic evidence for Near-Eastern origins of European cattle. *Nature* **410**:1088–1091
- TÜRKHAYGEN-I POPULASYON GENOMİĞİ-II ÇALIŞTAYI, (2008) Erişim:[http://www.turkhaygen.gov.tr/doc/Populasyon_Genomigi_Calistayi_II.pdf] Erişim tarihi:12.06.2010
- TÜRK DİL KURUMU. Büyük Sözlük. Erişim:[<http://tdkterim.gov.tr/bts/>] Erişim tarihi: 05.09.2008
- TÜRKHAYGEN-I, Türkiye Yerli Hayvan Genetik Kaynaklarından Bazılarının In Vitro Korunması ve Ön Moleküler Tanımlanması-I Erişim:[http://www.turkhaygen.gov.tr/data/index_tr.asp] Erişim tarihi: 12.03.2010
- USSER, Y D. (2000) Genetic Lectures Notes, 5.9 DNA sequencing. Erişim:[<http://www.cbs.dtu.dk/staff/dave/roanoke/genetics980211.html>] Erişim Tarihi: 25.04.1010
- VAN DE PEER, Y. (1998) TREECON for Windows user manual Erişim:[http://bioinformatics.psb.ugent.be/downloads/psb/Userman/treecon_distance.html] Erişim tarihi: 23.05.2010
- V-MITOSNP. Mitokondrial tek nükleotid polimorfizmi ve kanserlerle, hastalıklarla bağlantıları veritabanı. Erişim:[<http://bio.kuas.edu.tw/v-mitosnp>] Erişim tarihi: 17.11.2008
- WU, Y.P., GUAN, W.J., ZHAO, Q.J., HE, X.H., PU, Y.B., HUO, J.H., XIE, J.F., HAN, J.L., RAO, S.Q., MA, Y.H. (2009) A fine map for maternal lineage analysis by mitochondrial hypervariable region in 12 Chinese goat breeds. *Animal Science Journal* **80**: 372–80
- YALÇIN, B. C. (1986) Sheep and Goats in Turkey. FAO Animal Production and Health Paper, 60
- YARKIN, İ. (1965) Keçi-Deve-Domuz Yetiştirilmesi. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ders Kitabı No:82
- ZEDER, M.A., SMITH, B., EMSHWILLER, E., BRADLEY, D.,G. (2006). Documenting Domestication: New Genetic and Archaeological Paradigms. University of California Press. USA
- ZEDER, M., A. (2008). Domestication and early agriculture in the Mediterranean Basin: Origins, diffusion, and impact. *PNAS* August 19, (**105**): No. 33, 11597-11604

Ek-1. Çalışmada kullanılan örneklere ait coğrafik koordinatlar.

Örnek adı ve numarası	Boylam	Enlem
ANKD1	32.329.175	40.099.692
ANKD2	32.346.153.259.277.3	4.014.633.913.771.960
ANKD3	32.346.153.259.277.3	4.014.633.904.771.960
ANKD4	3.221.534.729.3.9	4.012.271.572.320.350
ANKD5	32.202.817	40.069.403
ANKD6	32.217.478	39.966.605
ANKD7	32.380.175	40.030.803
ANKD8	3.225.139.617.919.920	4.7.977.895.304.720
ANKD9	3.221.534.729.3.9	4.012.271.570.320.350
ANKD10	33.103.769	39.977.131
ANKD11	32.293.742	40.1.269
ANKD12	32.293.742	40.1.259
ANKD13	32.293.742	40.1.249
ANKD14	32.084.970.474.243.1	3.987.384.569.660.630
ANKD15	32.346.153.259.277.3	4.014.633.904.771.960
ANKD16	32.329.175	40.099.692
ANKD17	32.293.742	40.1.249
ANKD18	32.405.667	40.101.122
ANKD19	32.343.698	40.023.916
ANKD20	32.021.301	4.8.5
ANKD21	31.824.047	39.772.982
ANKD22	32.5.433	40.219.778
ANKD23	32.394.342	39.945.686
ANKD24	32.021.301	4.8.025
ANKD25	33.103.769	39.977.131
ANKE1	32.329.175	40.099.592
ANKE2	32.346.153.259.277.3	4.014.633.904.761.960
ANKE3	32.346.153.259.277.3	4.014.633.904.751.960
ANKE4	3.221.534.729.3.9	4.012.271.570.320.350
ANKE5	32.202.817	40.069.403
ANKE6	32.217.478	39.966.605
ANKE7	32.380.175	40.030.803
ANKE8	3.225.139.617.919.920	4.7.977.895.304.720
ANKE9	3.221.534.729.3.9	4.012.271.470.320.350
ANKE10	32.293.742	40.1.269
ANKE11	32.293.742	40.1.369
ANKE12	32.293.742	40.1.469
ANKE13	32.293.742	40.1.569
ANKE14	32.084.970.474.243.1	3.987.384.569.660.530
ANKE15	32.346.153.259.277.3	4.014.633.903.771.960
ANKE16	32.329.175	40.099.592
ANKE17	32.293.742	40.1.268
ANKE18	32.405.667	40.101.222
ANKE19	32.343.698	40.023.915
ANKE20	32.021.301	4.8.015

Ek-1. (Devam) Çalışmada kullanılan örneklere ait coğrafik koordinatlar.

Örnek adı ve numarası	Boylam	Enlem
ANKE21	31.824.047	39.772.993
ANKE22	32.5.433	40.219.738
ANKE23	32.394.342	39.945.386
ANKE24	32.021.301	4.8.035
ANKE25	33.103.769	39.977.331
HOND1	31.638.264.656.066.8	37.350.407.125.055.0
HOND2	31.638.264.656.066.8	37.350.407.125.056.0
HOND3	31.638.264.656.066.8	37.350.407.125.057.0
HOND4	31.638.264.656.066.8	37.350.407.125.058.0
HOND5	30.235.233.306.884.7	3.728.859.921.568.160
HOND6	30.235.233.306.884.7	3.728.859.921.578.160
HOND7	30.235.233.306.884.7	3.728.859.921.588.160
HOND8	29.532.108.306.884.7	372.587.521.486.561
HOND9	29.532.108.306.884.7	372.587.521.496.561
HOND10	29.532.108.306.884.7	372.587.521.476.561
HOND11	31.638.264.656.066.8	37.350.407.125.054.0
HOND12	31.801.986.694.335.9	37.426.615.702.044.7
HOND13	29.532.108.306.884.7	372.587.521.486.561
HOND14	31.850.738.525.390.6	3.742.388.921.621.170
HOND15	31.850.738.525.390.6	3.742.388.921.521.170
HOND16	31.603.717.803.955.0	375.409.023.471.732
HOND17	31.638.264.656.066.8	37.350.407.126.055.0
HOND18	29.532.108.306.884.7	372.587.522.486.561
HOND19	29.532.108.306.884.7	372.587.521.486.561
HOND20	31.603.717.803.955.0	375.409.023.471.732
HOND21	31.603.717.803.955.0	375.409.024.471.732
HOND22	31.604.064	37.541.244
HOND23	31.638.264.656.066.8	37.350.407.126.055.0
HOND24	31.603.717.803.955.0	375.409.025.471.732
HOND25	31.603.717.803.955.0	375.409.023.471.732
HONE26	30.235.233.306.884.7	3.728.859.921.568.160
HONE27	30.235.233.306.884.7	3.728.859.931.568.160
HONE28	30.235.233.306.884.7	3.728.859.821.568.160
HONE29	30.235.233.306.884.7	3.728.859.911.568.160
HONE30	29.532.108.306.884.7	372.587.521.486.561
HONE31	29.532.108.306.884.7	372.587.521.586.561
HONE32	29.532.108.306.884.7	372.587.521.686.561
HONE33	29.532.108.306.884.7	372.587.521.786.561
HONE34	29.532.108.306.884.7	372.587.521.886.561
HONE35	31.603.717.803.955.0	375.409.026.471.732
HONE36	31.603.717.803.955.0	375.409.027.471.732
HONE37	31.603.717.803.955.0	375.409.028.471.732
HONE38	31.638.264.656.066.8	37.350.407.135.055.0
HONE39	31.638.264.656.066.8	37.350.407.145.055.0
HONE40	31.603.717.803.955.0	375.409.023.471.732
HONE41	31.638.264.656.066.8	37.350.407.125.055.0

Ek-1. (Devam) Çalışmada kullanılan örneklere ait coğrafik koordinatlar.

Örnek adı ve numarası	Boylam	Enlem
HONE42	31.850.738.525.390.6	3.742.388.921.621.170
HONE43	31.850.738.525.390.6	3.742.388.922.521.170
HONE44	31.638.264.656.066.8	37.350.406.125.055.0
HONE45	31.603.717.803.955.0	375.409.023.471.732
HONE46	31.638.264.656.066.8	37.350.407.125.055.0
HONE47	31.638.264.656.066.8	37.350.407.125.155.0
HONE48	31.603.717.803.955.0	375.409.025.471.732
HONE49	31.638.264.656.066.8	37.350.307.125.255.0
NOR112	43.594.431	38.249.339
NOR113	43.594.431	38.243.239
NOR117	43.594.431	38.249.233
NOR118	43.425.104	3.834.043
NOR119	43.425.104	3.834.037
NOR120	43.425.104	3.834.343
NOR121	43.425.104	3.833.043
NOR123	43.425.104	3.833.347
NOR125	43.372.847	38.033.361
NOR126	43.372.847	38.032.331
NDD127	43.372.847	38.032.363
NDD128	43.372.847	38.032.361
NDD129	43.317.718.505.859.3	38.038.357.293.980.8
NRD131	43.317.718.505.859.3	38.038.357.297.380.8
NRD133	43.317.718.505.859.3	38.038.357.297.930.8
NRD139	43.594.431	38.249.239
NRD140	43.443.275	38.313.839
NRD141	43.443.275	38.317.339
NRD142	43.443.275	38.317.833
NRD146	43.443.275	38.317.834
NRD147	43.443.275	38.317.849
NRD152	43.443.275	38.317.439
NRD153	43.443.275	38.314.839
NRD154	43.443.275	38.317.539
NRD130	43.443.275	38.317.859
NRD124	43.594.431	38.249.235
NRE111	43.594.431	38.249.559
NRE114	43.594.431	38.249.535
NRE115	43.425.104	3.834.047
NRE122	43.372.847	38.032.361
NRE134	43.594.431	38.249.239
NRE137	43.443.275	38.317.839
NRE138	43.443.275	38.317.839
NRE143	43.443.275	38.317.839
NRE144	43.443.275	38.317.839
NRE145	43.443.275	38.317.839
NRE148	43.443.275	38.317.839
NRE149	43.443.275	38.317.839

Ek-1. (Devam) Çalışmada kullanılan örneklere ait coğrafik koordinatlar.

Örnek adı ve numarası	Boylam	Enlem
NRE150	43.443.275	38.317.839
NRE151	43.443.275	38.317.839
NRE155	43.432.683	38.304.786
NRE156	43.432.683	38.304.786
NRE157	43.432.683	38.304.786
NRE158	43.432.683	38.304.786
NRE159	43.432.683	38.304.786
NRE160	43.432.683	38.304.786
NRE161	43.432.683	38.304.786
NRE162	43.432.683	38.304.786
NRE163	43.432.683	38.304.786
KILD1	30.252.714	37.640.706
KILD2	30.347.678	37.545.172
KILD3	30.347.678	37.545.172
KILD4	297.759	37.111.436
KILD5	297.759	37.111.436
KILD6	297.759	37.111.436
KILD7	29.703.508	37.104.411
KILD8	29.703.508	37.104.411
KILD9	29.703.508	37.104.411
KILD10	29.703.508	37.104.411
KILD11	29.703.508	37.104.411
KILD12	29.694.819	37.048.017
KILD13	29.694.819	37.048.017
KILD14	29.694.819	37.048.017
KILD15	29.694.819	37.048.017
KILD16	29.622.039	37.026.981
KILD17	29.622.039	37.026.981
KILD18	29.622.039	37.026.981
KILD19	29.622.039	37.026.981
KILD20	29.622.039	37.026.981
KILD21	29.622.039	37.026.981
KILD22	29.622.039	37.026.981
KILD23	29.622.039	37.026.981
KILD24	29.622.039	37.026.981
KILD25	30.252.714	37.640.706
KILE31	30.347.678	37.545.172
KILE32	297.759	37.111.436
KILE33	297.759	37.111.436
KILE34	29.703.508	37.104.411
KILE35	30.347.678	37.545.172
KILE36	297.759	37.111.436
KILE37	297.759	37.111.436
KILE38	29.703.508	37.104.411
KILE39	29.703.508	37.104.411
KILE40	29.703.508	37.104.411

Ek-1. (Devam) Çalışmada kullanılan örneklere ait coğrafik koordinatlar.

Örnek adı ve numarası	Boylam	Enlem
KILE41	29.694.819	37.048.017
KILE42	29.694.819	37.048.017
KILE43	29.694.819	37.048.017
KILE44	29.694.819	37.048.017
KILE45	29.622.039	37.026.981
KILE46	2.975.269.317.626.950	3.703.709.156.989.420
KILE47	2.975.269.317.626.950	3.703.709.156.989.420
KILE48	2.975.269.317.626.950	3.703.709.156.989.420
KILE49	2.975.269.317.626.950	3.703.709.156.989.420
KILE50	2.975.269.317.626.950	3.703.709.156.989.420
KILE51	29.694.819	37.048.017
KILE52	29.694.819	37.048.017
KILE54	29.622.039	37.026.981
KILE55	29.622.039	37.026.981
KILE56	29.622.039	37.026.981
KILE57	29.622.039	37.026.981
KILE58	29.622.039	37.026.981
KLSD1	36.974.256	36.822.286
KLSD2	37.976.916	37.025.131
KLSD3	36.537.825	36.630.289
KLSD4	37.3.889	36.889.167
KLSD5	36.537.825	36.630.289
KLSD6	36.537.825	36.630.289
KLSD7	37.206.169	38.202.661
KLSD8	36.971.569	3.760.915
KLSD9	37.137.919	36.793.281
KLSD10	36.933.334	37.583.256
KLSD11	37.104.512	36.689.527
KLSD12	36.987.683	36.894.286
KLSD13	36.987.683	36.894.286
KLSD14	37.030.792.236.328.1	3.687.879.673.085.510
KLSD15	370.843	36.789.456
KLSD16	36.933.334	37.583.256
KLSD17	37.143.281	36.763.397
KLSD18	36.976.890.563.964.8	368.631.414.329.529
KLSD19	37.027.956	3.681.685
KLSD20	36.537.825	36.630.289
KLSD21	370.843	36.789.456
KLSD22	370.843	36.789.456
KLSD23	36.5	38.016.667
KLSD24	36.5	38.016.667
KLSD25	36.25	36.116.667
KLSD26	36.145.036	36.047.164
KLSE1	37.104.512	36.689.527
KLSE2	36.537.825	36.630.289
KLSE3	36.537.825	36.630.289

Ek-1. (Devam) Çalışmada kullanılan örneklere ait coğrafik koordinatlar.

Örnek adı ve numarası	Boylam	Enlem
KLSE4	36.537.825	36.630.289
KLSE5	36.537.825	36.630.289
KLSE6	37.016.564	36.773.794
KLSE7	36.537.825	36.630.289
KLSE8	3.651.622	36.721.753
KLSE9	37.108.433	36.778.375
KLSE10	37.104.512	36.689.527
KLSE11	37.108.433	36.778.375
KLSE12	36.537.825	36.630.289
KLSE13	36.537.825	36.630.289
KLSE14	36.974.256	36.822.286
KLSE15	37.027.956	3.681.685
KLSE16	36.537.825	36.630.289
KLSE17	37.104.512	36.689.527
KLSE18	37.104.512	36.689.527
KLSE19	3.651.622	36.721.753
KLSE20	37.108.433	36.778.375
KLSE21	37.116.116	36.713.243
KLSE22	36.974.256	36.822.286
KLSE23	36.537.825	36.630.289
KLSE24	37.108.433	36.778.375
KLSE25	365.081	36.577.508

Ek-2. Deneysel çalışmalarda kullanılan solüsyonların içerikleri ve hazırlanışları.

0,5M EDTA (1l)

186.1gr EDTANa₂

800ml dH₂O

NaOH kullanılarak pH ayarlanır pH 8,0'e ayarlanır.

dH₂O ile 1l'ye tamamlanır.

1M TRIS-HCl pH 8,0 (1l)

12,1gr Tris

800ml dH₂O

HCl kullanılarak pH ayarlanır.

dH₂O ile 1l'ye tamamlanır.

10X Lysis solusyonu:

770mM NH₄Cl

46mM KHCO₃

10mM EDTA

Salt/EDTA solusyonu:

75mM NaCl

25mM EDTA

10:1 TE buffer:

10mM Tris

1mM EDTA PH 7.5

5X TBE Buffer:

445mM Tris Base

445mM Boric Acid

10mM EDTA

Ek-3. Çalışmada belirlenen haplotipler, belirlendikleri ırklar ve dahil oldukları haplogruplar (F: Frekans, H: Haplogrup)

Haplotip	F.	Örnek adı	H.
Haplotip 1:	3	HONAMLID1 ANKARAD5, ANKARAE7,	A
Haplotip 2:	1	HONAMLID2,	A
Haplotip 3:	1	HONAMLID3,	A
Haplotip 4:	1	HONAMLID4,	A
Haplotip 5:	1	HONAMLID5,	A
Haplotip 6:	2	HONAMLID6, HONAMLIE33,	A
Haplotip 7:	1	HONAMLID7(Duplikasyonlu),	A
Haplotip 8:	1	HONAMLID8,	A
Haplotip 9:	2	HONAMLID9, HONAMLID18,	A
Haplotip 10:	1	HONAMLID10,	A
Haplotip 11:	1	HONAMLID11	A
Haplotip 12:	1	HONAMLID12,	A
Haplotip 13:	1	HONAMLID13,	A
Haplotip 14:	1	HONAMLID14,	A
Haplotip 15:	2	HONAMLID15, HONAMLIE40,	A
Haplotip 16:	1	HONAMLID16,	A
Haplotip 17:	1	HONAMLID17,	A
Haplotip 18:	1	HONAMLID19,	A
Haplotip 19:	1	HONAMLID20,	A
Haplotip 20:	2	HONAMLID21, KILE57,	A
Haplotip 21:	3	HONAMLID22, HONAMLIE28, HONAMLIE29,	G
Haplotip 22:	1	HONAMLID23,	A
Haplotip 23:	1	HONAMLID24,	A
Haplotip 24:	1	HONAMLID25,	A
Haplotip 25:	2	HONAMLIE26, HONAMLIE27,	A
Haplotip 26:	1	HONAMLIE30,	A
Haplotip 27:	1	HONAMLIE31,	A
Haplotip 28:	1	HONAMLIE32,	A
Haplotip 29:	1	HONAMLIE34,	G
Haplotip 30:	2	HONAMLIE35, HONAMLIE36,	A
Haplotip 31:	1	HONAMLIE37,	A
Haplotip 32:	2	HONAMLIE38, KILE38,	A
Haplotip 33:	1	HONAMLIE39,	A
Haplotip 34:	1	HONAMLIE41,	A
Haplotip 35:	1	HONAMLIE42,	A
Haplotip 36:	1	HONAMLIE43,	A

Ek-3. (Devam) Çalışmada belirlenen haplotipler, belirlendikleri ırklar ve dahil oldukları haplogruplar (F: Frekans, H: Haplogrup)

Haplotip	F.	Örnek adı	H.
Haplotip 37:	1	HONAMLIE44,	A
Haplotip 38:	1	HONAMLIE45,	A
Haplotip 39:	1	HONAMLIE46,	A
Haplotip 40:	1	HONAMLIE47,	A
Haplotip 41:	1	HONAMLIE48,	A
Haplotip 42:	1	HONAMLIE49,	A
Haplotip 43:	2	ANKARAD1, ANKARAD16,	A
Haplotip 44:	1	ANKARAD2,	A
Haplotip 45:	2	ANKARAD3, ANKARAE3,	A
Haplotip 46:	1	ANKARAD4,	A
Haplotip 47:	1	ANKARAD6,	A
Haplotip 48:	1	ANKARAD7,	A
Haplotip 49:	2	ANKARAD8, KILD21,	A
Haplotip 50:	1	ANKARAD9,	A
Haplotip 51:	2	ANKARAD10, ANKARAE17,	A
Haplotip 52:	1	ANKARAD11,	A
Haplotip 53:	3	ANKARAD12, ANKARAE11, KILE33,	A
Haplotip 54:	2	ANKARAD13, ANKARAE13,	A
Haplotip 55:	1	ANKARAD14,	G
Haplotip 56:	1	ANKARAD15,	A
Haplotip 57:	1	ANKARAD17,	A
Haplotip 58:	1	ANKARAD18,	A
Haplotip 59:	1	ANKARAD19,	A
Haplotip 60:	1	ANKARAD20,	A
Haplotip 61:	1	ANKARAD21,	A
Haplotip 62:	1	ANKARAD22,	A
Haplotip 63:	1	ANKARAD23,	A
Haplotip 64:	1	ANKARAD24,	A
Haplotip 65:	1	ANKARAD25,	A
Haplotip 66:	1	ANKARAE1,	A
Haplotip 67:	2	ANKARAE2, KILD17,	A
Haplotip 68:	1	ANKARAE4,	A
Haplotip 69:	2	ANKARAE5, ANKARAE6,	A
Haplotip 70:	1	ANKARAE8,	A
Haplotip 71:	1	ANKARAE9,	A
Haplotip 72:	1	ANKARAE10,	A
Haplotip 73:	1	ANKARAE12,	A
Haplotip 74:	1	ANKARAE14,	A

Ek-3. (Devam) Çalışmada belirlenen haplotipler, belirlendikleri ırklar ve dahil oldukları haplogruplar (F: Frekans, H: Haplogrup)

Haplotip	F.	Örnek adı	H.
Haplotip 75:	1	ANKARAE15,	A
Haplotip 76:	1	ANKARAE16,	A
Haplotip 77:	1	ANKARAE18,	A
Haplotip 78:	1	ANKARAE19,	A
Haplotip 79:	1	ANKARAE20,	A
Haplotip 80:	1	ANKARAE21,	A
Haplotip 81:	2	ANKARAE22, ANKARAE23,	A
Haplotip 82:	1	ANKARAE24,	A
Haplotip 83:	1	ANKARAE25,	A
Haplotip 84:	1	KİLİSD1,	A
Haplotip 85:	1	KİLİSD2,	A
Haplotip 86:	1	KİLİSD3,	A
Haplotip 87:	1	KİLİSD4,	A
Haplotip 88:	1	KİLİSD5,	A
Haplotip 89:	1	KİLİSD6,	G
Haplotip 90:	1	KİLİSD7,	D
Haplotip 91:	1	KİLİSD8,	A
Haplotip 92:	1	KİLİSD9,	A
Haplotip 93:	1	KİLİSD10,	A
Haplotip 94:	2	KİLİSD11, KİLİSE19,	A
Haplotip 95:	1	KİLİSD12,	A
Haplotip 96:	1	KİLİSD13,	A
Haplotip 97:	1	KİLİSD14,	A
Haplotip 98:	1	KİLİSD15,	A
Haplotip 99:	5	KİLİSD16, NORDUZD118, NORDUZD119, NORDUZD120, NORDUZD121	A
Haplotip 100:	1	KİLİSD17,	A
Haplotip 101:	1	KİLİSD18,	A
Haplotip 102:	1	KİLİSD19,	A
Haplotip 103:	1	KİLİSD20,	A
Haplotip 104:	2	KİLİSD21, KİLİSE40,	A
Haplotip 105:	2	KİLİSD22, KİLİSE24,	A
Haplotip 106:	1	KİLİSD23,	A
Haplotip 107:	1	KİLİSD24,	A
Haplotip 108:	1	KİLİSD25,	A
Haplotip 109:	1	KİLİSD26,	A
Haplotip 110:	1	KİLİSE1,	A
Haplotip 111:	1	KİLİSE2,	A

Ek-3. (Devam) Çalışmada belirlenen haplotipler, belirlendikleri ırklar ve dahil oldukları haplogruplar (F: Frekans, H: Haplogrup)

Haplotip	F.	Örnek adı	H.
Haplotip 112:	1	KİLİSE3,	A
Haplotip 113:	1	KİLİSE4,	A
Haplotip 114:	1	KİLİSE5,	A
Haplotip 115:	1	KİLİSE6,	A
Haplotip 116:	1	KİLİSE7,	A
Haplotip 117:	1	KİLİSE8,	A
Haplotip 118:	2	KİLİSE9, KİLİSE20,	A
Haplotip 119:	1	KİLİSE10,	A
Haplotip 120:	1	KİLİSE11 (Duplikasyonlu)	A
Haplotip 121:	1	KİLİSE12,	A
Haplotip 122:	1	KİLİSE13,	A
Haplotip 123:	1	KİLİSE14,	A
Haplotip 124:	1	KİLİSE15,	A
Haplotip 125:	1	KİLİSE16,	A
Haplotip 126:	1	KİLİSE17,	A
Haplotip 127:	1	KİLİSE18,	A
Haplotip 128:	1	KİLİSE21,	A
Haplotip 129:	1	KİLİSE22,	A
Haplotip 130:	1	KİLİSE23,	A
Haplotip 131:	1	KİLİSE25,	A
Haplotip 132:	1	KILD1,	A
Haplotip 133:	1	KILD2,	A
Haplotip 134:	1	KILD3,	A
Haplotip 135:	1	KILD4,	A
Haplotip 136:	1	KILD5,	A
Haplotip 137:	1	KILD6,	A
Haplotip 138:	1	KILD7,	A
Haplotip 139:	2	KILD8, KILD24,	A
Haplotip 140:	1	KILD9,	A
Haplotip 141:	1	KILD10,	A
Haplotip 142:	1	KILD11,	A
Haplotip 143:	1	KILD12,	A
Haplotip 144:	1	KILD13,	A
Haplotip 145:	1	KILD14,	A
Haplotip 146:	1	KILD15,	A
Haplotip 147:	2	KILD16, KILE45,	A
Haplotip 148:	3	KILD18, KILE44, KILE53,	A
Haplotip 149:	1	KILD19,	A

Ek-3. (Devam) Çalışmada belirlenen haplotipler, belirlendikleri ırklar ve dahil oldukları haplogruplar (F: Frekans, H: Haplogrup)

Haplotip	F.	Örnek adı	H.
Haplotip 150:	1	KILD20,	A
Haplotip 151:	1	KILD22,	A
Haplotip 152:	1	KILD23,	A
Haplotip 153:	1	KILD25,	A
Haplotip 154:	1	KILE31,	A
Haplotip 155:	1	KILE32,	A
Haplotip 156:	1	KILE34,	A
Haplotip 157:	1	KILE35,	A
Haplotip 158:	1	KILE36,	A
Haplotip 159:	1	KILE37,	A
Haplotip 160:	1	KILE39,	A
Haplotip 161:	2	KILE41, KILE43,	A
Haplotip 162:	1	KILE42,	A
Haplotip 163:	1	KILE46,	A
Haplotip 164:	1	KILE47,	A
Haplotip 165:	1	KILE48,	A
Haplotip 166:	1	KILE49,	A
Haplotip 167:	1	KILE50,	A
Haplotip 168:	1	KILE51,	A
Haplotip 169:	1	KILE52,	A
Haplotip 170:	1	KILE54,	A
Haplotip 171:	1	KILE55,	A
Haplotip 172:	1	KILE56,	A
Haplotip 173:	1	KILE58,	A
Haplotip 174:	4	NORDUZD112, NORDUZD113, NORDUZE111, NORDUZE114	A
Haplotip 175:	1	NORDUZD117,	A
Haplotip 176:	3	NORDUZD123, NORDUZD127, NORDUZE122	A
Haplotip 177:	1	NORDUZD125,	A
Haplotip 178:	2	NORDUZD126, NORDUZE143	A
Haplotip 179:	1	NORDUZD128,	A
Haplotip 180:	1	NORDUZD129,	A
Haplotip 181:	1	NORDUZD131,	A
Haplotip 182:	1	NORDUZD133,	A
Haplotip 183:	2	NORDUZD139, NORDUZE137	A
Haplotip 184:	2	NORDUZD140, NORDUZE144	A
Haplotip 185:	1	NORDUZD141,	A
Haplotip 186:	1	NORDUZD142,	A

Ek-3. (Devam) Çalışmada belirlenen haplotipler, belirlendikleri ırklar ve dahil oldukları haplogruplar (F: Frekans, H: Haplogrup)

Haplotip	F.	Örnek adı	H.
Haplotip 187:	1	NORDUZD146,	A
Haplotip 188:	1	NORDUZD147,	A
Haplotip 189:	2	NORDUZD152, NORDUZE145	A
Haplotip 190:	1	NORDUZD153,	A
Haplotip 191:	1	NORDUZD154,	A
Haplotip 192:	1	NORDUZD130,	A
Haplotip 193:	1	NORDUZD124,	A
Haplotip 194:	1	NORDUZE115,	A
Haplotip 195:	1	NORDUZE134,	A
Haplotip 196:	1	NORDUZE138,	A
Haplotip 197:	1	NORDUZE148,	A
Haplotip 198:	1	NORDUZE149,	A
Haplotip 199:	1	NORDUZE150,	A
Haplotip 200:	1	NORDUZE151,	A
Haplotip 201:	1	NORDUZE155,	A
Haplotip 202:	2	NORDUZE156, NORDUZE157	A
Haplotip 203:	1	NORDUZE158,	A
Haplotip 204:	1	NORDUZE159,	A
Haplotip 205:	1	NORDUZE160,	A
Haplotip 206:	1	NORDUZE161,	A
Haplotip 207:	1	NORDUZE162,	A
Haplotip 208:	1	NORDUZE163	A

Ek-4. (Devam) mtDNA D-loop bölgesi açısından Dünya keçi ırkları ile ilgili olarak elde edilmiş çeşitlilik değerleri.

	İrk	Coğrafik yerleşim	Örnek sayısı	Haplotip sayısı	Haplotip çeşitliliği (±SE)	Nükleotid çeşitliliği (±SE)
Joshi ve ark., 2004						
1	Pashmina	North Western temperate region	40	17	0.926±0.022	
2	Black Bengal	Eastern region	50	28	0.960±0.014	
3	Osmanabadi	Southern peninsular region	16	12	0.917±0.064	
4	Kutchi	North Western arid and semi-arid region	10	5	0.844±0.080	
5	Marwari	"	30	18	0.949±0.023	
6	Sirohi	"	69	36	0.964±0.010	
7	Barbari	"	41	28	0.964±0.018	
8	Jakharana	"	50	28	0.940±0.023	
9	Local	"	7	7	1.000±0.076	
10	Jamunapari	"	50	34	0.984±0.007	
	TOPLAM		363			
Chen ve ark., 2005						
1	Heitou	Southwestern region (SW), Yunnan	28	16	0.9418 ± 0.0250	0.0279 ± 0.0144
2	Wujiao	"	26	14	0.9323 ± 0.0280	0.0351 ± 0.0180
3	Gui Dairy	"	18	15	0.9804 ± 0.0243	0.0315 ± 0.0165
4	Longling Yellow	"	24	10	0.9130 ± 0.0285	0.0352 ± 0.0181
5	Yunling Black	"	53	25	0.9398 ± 0.0179	0.0329 ± 0.0165
6	Chengdu Brown	Southwestern region (SW), Sichuan	8	5	0.8571 ± 0.1083	0.0355 ± 0.0202
7	Tibetan	"	7	5	0.8571 ± 0.1371	0.0490 ± 0.0282
8	Chuandong White	"	14	6	0.7473 ± 0.1114	0.0228 ± 0.0124
9	Guizhou White	Southwestern region (SW), Guizhou	14	7	0.9011 ± 0.0465	0.0346 ± 0.0184
10	Guizhou Black	"	9	6	0.9167 ± 0.0725	0.0293 ± 0.0165
11	Duan	Southern region (S), Guangxi	14	11	0.9670 ± 0.0366	0.0292 ± 0.0156
12	Longlin	"	10	7	0.9111 ± 0.0773	0.0391 ± 0.0214
13	Leizhou	Southern region (S), Guangdong	15	8	0.8762 ± 0.0595	0.0295 ± 0.0157
14	Shaanan White	Northern region (N), Shaanxi	16	7	0.8417 ± 0.0595	0.0305 ± 0.0162

Ek-4 (Devam) mtDNA D-loop bölgesi açısından Dünya keçi ırkları ile ilgili olarak elde edilmiş çeşitlilik değerleri.

	İrk	Coğrafik yerleşim	Örnek sayısı	Haplotip sayısı	Haplotip çeşitliliği (±SE)	Nükleotid çeşitliliği (±SE)
Chen ve ark., 2005 (Devam)						
15	Yichang White	Central region (C), Hubei	13	7	0.8974 ± 0.0537	0.0329 ± 0.0177
16	Matou	Central region (C), Hunan	12	3	0.7121 ± 0.0691	0.0321 ± 0.0174
17	Xinjiang	Northwestern region (NW), Xinjiang	40	24	0.9744 ± 0.0099	0.0243 ± 0.0125
18	Liaoning Cashmere	Northeastern region (NE), Liaoning	47	21	0.9204 ± 0.0230	0.0159 ± 0.0084
	TOPLAM		368			
Pereira ve ark., 2005						
1	Bravia	Portekiz				
2	Serrana	"				
3	Charnequeira	"				
4	Serpentina	"				
5	Algarvia	"				
	TOPLAM		288	164	0.977	
Liu ve ark., 2006						
1	Banjiao goat	Wanyuan City, Sichuan Province	15	10	0.9333±0.0449	0.008467±0.004593
2	Chengdu grey goat	Shangliu County, Sichuan Province	15	15	1.0000±0.0243	0.017956±0.004410
3	Guizhou black goat	Shuicheng County, Guizhou Province	14	13	0.9890±0.0314	0.015883±0.008405
4	Guizhou white goat	Yanhe County, Guizhou Province	15	14	0.9905±0.0281	0.018265±0.009567
5	Huanghuai goat	Fuyang City, Anhui Province	14	14	1.0000±0.0270	0.007062±0.003900
6	Leizhou goat	Xuven County, Guangdong Province	13	11	0.9615±0.0496	0.017283±0.009189
7	Matou goat	Xinhuang County, Hunan Province	14	12	0.9670±0.0437	0.017578±0.009290
8	Qianbei goat	Renhuai County, Guizhou Province	13	11	0.9615±0.0496	0.019004±0.010063
9	Shaannan goat	Ankang City, Shaanxi Province	15	14	0.9905±0.0281	0.016017±0.008426
	TOPLAM		128			

Ek-4 (Devam) mtDNA D-loop bölgesi açısından Dünya keçi ırkları ile ilgili olarak elde edilmiş çeşitlilik değerleri.

	İrk	Coğrafik yerleşim	Örnek sayısı	Haplotip sayısı	Haplotip çeşitliliği (±SE)	Nükleotid çeşitliliği (±SE)
Sardina ve ark., 2006						
1	Girgentana	Sicilya	47	24	0.963 ± 0.011	0.02415 ± 0.00530
2	Maltese	Sicilya	11	6	0.855 ± 0.085	0.00917 ± 0.00130
3	Derivata di Siria	Sicilya	9	5	0.806 ± 0.120	0.01252 ± 0.00237
	TOPLAM		67	33	0.969 ± 0.007	0.02359 ± 0.00450
Amills ve ark. 2009						
1	Güney Amerika keçileri	Portekiz, Cape verde, Cuba, Brezilya Arjantin, Şili, Bolivya, Meksika vb.	93	54	0.963±0.012	0,02009± 0.00081
Royo ve ark., 2009						
1	Djallonke	Burkina Faso/Batı Afrika	14	9	0.642	0.01 ± 0.003
2	Dwarf goat	Spain	10	3	0.300	0.01 ±0.003
3	W.Bermeya	Spain	14	12	0.857	0.024 ±0.004
4	Spanish Guadarrama	Spain	5	4	0.800	0.013±0.004
5	Mossi	Burkina Faso/Batı Afrika	17	13	0.764	0.014 ±0.003
6	Nigeria goat	Batı Afrika	12	12	1.00	0.014 ±0.003
7	Senegal goat	Batı Afrika	20	19	0.95	0.015±0.003
8	Sahelian	Burkina Faso/Batı Afrika	3	3	1.00	0.021 ±0.005
9	E. Bermeya	Spain	16	11	0.687	0.033 ±0.004
	TOPLAM		111	83	0.748	0.022±0.003
Wu ve ark., 2009						
1	Taihang	Central region (Shanxi)	11		0.9455 ± 0.0659	0.0333 ± 0.0180
2	Laiwu Black	Eastern region (Shandong)	13		0.9872 ± 0.0354	0.0326 ± 0.0174
3	Lubei White	Eastern region (Shandong)	12		0.9697 ± 0.0443	0.0195 ± 0.0108
4	Shaanan White	Northern region (Shaanxi)	12		0.9697 ± 0.0443	0.0317 ± 0.0171
5	Tsaidam Cashmere	Northwestern region (Qinghai)	13		0.9615 ± 0.0496	0.0228 ± 0.0123
6	Ujumqin White Cashmere	Northeastern region (Inner Mogolia)	12		0.9848 ± 0.0403	0.0292 ± 0.0158

Ek-4 (Devam) mtDNA D-loop bölgesi açısından Dünya keçi ırkları ile ilgili olarak elde edilmiş çeşitlilik değerleri.


	İrk	Coğrafik yerleşim	Örnek sayısı	Haplotip sayısı	Haplotip çeşitliliği (±SE)	Nükleotid çeşitliliği (±SE)
Wu ve ark., 2009 (Devam)						
7	Langkazi	Northwestern region (Tibet)	13		0.9872 ± 0.0354	0.0290 ± 0.0155
8	Duoma	Northwestern region (Tibet)	13		0.9744 ± 0.0389	0.0255 ± 0.0138
9	Yunling Black	Southwestern region (Yunnan)	11		0.9818 ± 0.0463	0.0365 ± 0.0198
10	Maguan	Southwestern region (Yunnan)	13		0.9615 ± 0.0412	0.0308 ± 0.0165
11	Matou	Central region (Hunan)	10		0.9111 ± 0.0773	0.0300 ± 0.0166
12	Hainan Black	Southern region (Hainan)	12		0.9394 ± 0.0577	0.0350 ± 0.0188
	TOPLAM		145		0.9974 ± 0.0012	0.0331 ± 0.0163

Ek-5. Etik Kurul Raporu**ANKARA ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARAR ÖRNEĞİ**

TOPLANTI TARİHİ :27/05/2009
TOPLANTI NO :2009-43
DOSYA NO :2009-151
KARAR NO :2009-43-195

Üniversitemiz Veteriner Fakültesi Genetik Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Pro.Dr.Okan Ertuğrul'un araştırma yürütücüsü olduğu, Bengi Çınar ve Özgecan Korkmaz Ağaoğlu'nun ortak çalışmaları olan "Yerli Keçi Irklarının Mitokondrial DNA Çeşitliliği ve Filocoğrafyası" başlıklı çalışmaları Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulunda incelenmiş, yapılan inceleme sonucunda çalışma Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesine göre uygun bulunarak onaylanmasına, katılan üyelerin oy birliği ile karar verilmiştir.

ASLININ AYNIDIR
27/05/2009


Prof.Dr.Hakan YARDIMCI
Ankara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel
Etik Kurulu Başkanı



ÖZGEÇMİŞ

I- Bireysel Bilgiler

Adı ve soyadı : Bengi ÇINAR KUL

Doğum yeri ve tarihi : Balıkesir, 27.10.1978

Uyruğu : TC

Medeni durumu : Evli

İletişim adresi ve telefonu: Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Genetik AD
0 312 31703 15/ 314

II- Eğitimi

2006-... Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Genetik Anabilim Dalı
Doktora Programı

2004-2006 Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Zootekni Anabilim Dalı
Doktora Programı

1995- 2000 Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi (Lisans)

1992- 1995 Balıkesir Lisesi

1989- 1992 Balıkesir Ortaokulu

1984- 1989 Namık Kemal İlkokulu

Yabancı dili : İngilizce (ÜDS:93,75)

III- Ünvanları

Veteriner Hekim 2000

IV- Mesleki Deneyimi

2007-.... Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Genetik AD (Ar. Gör.)

V- Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar

2001-.... Ankara Bölgesi Veteriner Hekimleri Odası

2009-.... Laboratuvar Hayvanları Bilimi Derneği

VI- Bilimsel İlgi Alanları

Yayınları (Makale, derleme, tebliğ, poster, kitap, kitapta bölüm, vs...)

2009

1. Karahan S., **Kul, B.C.** "Ankyloglossia in dogs: a morphological and immunohistochemical study". Anatomia, histologia, embryologia. 2009 Apr; **38**(2): 118-121
2. Akyüz B., **Kul, B.C.** "Detection of deficiency of uridine monophosphate synthase (DUMPS) in female holstein cattle in Turkey". Veterinary Journal of Ankara University. 2009 Vol: **56**(3): 231-232
3. **Kul, B.C.;** Agaoglu, O.K.; Akyuz, B.; Tekin, N.; Aytaç, M.; Ertugrul, O.. "Mitochondrial DNA diversity of Angora and Kilis goat breeds". 9th National Congress on Ecology and Environment, 7-10 October 2009, Nevsehir, Turkey.
4. Agaoglu, O.K.; **Kul, B.C.;** Ozkan, E.; Tekin, N.; Işık, A.; Ertugrul, O. "Genetic Diversity of Angora and Kilis goat breeds using Microsatellite Markers". 9th National Congress on Ecology and Environment, 7-10 October 2009, Nevsehir, Turkey.

VII- Bilimsel Etkinlikleri

Projeleri

1. TÜRKHAYGEN-I ; Türkiye Yerli Hayvan Genetik Kaynaklarından Bazılarının In Vitro Korunması ve Ön Moleküler Tanımlanması-I (106G005)TUBİTAK-KAMAG (Bursiyer)
2. Türkiye Arap Atlarında Severe Combined Immunodeficiency (SCID) Hastalığının Moleküler Tanı Yöntemleriyle Araştırılması 08B3338004 No'lu BAP projesi (Yardımcı araştırmacı)
3. Kangal Köpeklerinde Ankyloglossia ile İlgili Gen Bölgesinin Belirlenmesine Yönelik Genom Boyu Analiz (TUBİTAK-1002 Hızlı Destek projesi) (Bursiyer)
4. Türkiye Yerli Keçi Irklarından Farklı Haplotiplerin Tüm mtDNA Genom Dizi Analizi (2010, AÜBAP) (Yardımcı araştırmacı)
5. Sakız, Akkaraman Ve İvesi Irkı Koyunlarda Melatonin Reseptör 1a (MTRN1A) Ve Östrojen Reseptör (ESR) Geni Polimorfizmlerinin İncelenmesi (FÜBAP-1689) (Yardımcı araştırmacı)

Verdiği konferans ya da seminerler

1. Çiftlik Hayvanlarında Kantitatif Karakter Lokuslarının (QTL) Belirlenmesi ve uygulamada Kullanımları "QTL'den QTN'e"; 2008/2009 Güz, Ankara
2. Mitokondrial DNA ve Keçi Filogenetik Analizlerindeki Yeri; 2008/2009 Güz, Ankara
3. Anadolu'da Keçinin Moleküler Ayak İzlerini Aramak, 13–14 Kasım 2008, 7. Ankara Biyoteknoloji Günleri, Ankara.

VIII- Diğer Bilgiler (Katıldığı Kurs, Kongre, Toplantı vs...)

1. Ulusal Atçılık Sempozyumu, 18- 20 Eylül 2005, Ankara.
2. 5th Ankara Biotechnology Days. Stem Cell Technologies. From Laboratories to Clinics, 15-17 Nov. 2006, Ankara.
3. Populasyon Genomiği Çalıştayı-I; TURKHAYGEN-1 proje grubu, 2008, Ankara.
4. Populasyon Genomiği Çalıştayı-II; TURKHAYGEN-1 proje grubu, 2008, Ankara.
5. 7. Ankara Biyoteknoloji Günleri, 13–14 Kasım 2008, Ankara.
6. İŞARETLEYİCİ YARDIMLI SELEKSİYON-Çiftlik Hayvanlarında Mevcut Durum ve Gelecek; Hayvan Genomu Bilgilerinin İstatistik Analiz Metodları Üzerine Bir Uygulama: "GENOM BİLGİLERİNİN ANLAŞILIR KILINMASI", 17-19 Kasım 2008, Tekirdağ.
7. 9. Ulusal Ekoloji ve Çevre Kongresi. 7-10 Ekim 2009; Ürgüp, Nevşehir, Türkiye,