

**T.C.  
HARRAN ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**DOKTORA TEZİ**

**TÜRKİYE'DEN YERLİ EVCİL KOYUNLARDA, ANADOLU YABAN  
KOYUNU (*Ovis gmelinii anatolica* Valenciennes, 1856) ve BANDIRMA  
MERİNOSUNDA POLİMORFİZM ÇALIŞMASI**

**Arif PARMAKSIZ**

**BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**ŞANLIURFA  
2013**

Doç. Dr. S. Ahmet OYMAK danışmanlığında, Arif PARMAKSIZ'ın hazırladığı “Türkiye’den Yerli Evcil Koyunlarda, Anadolu Yaban Koyunu (*Ovis gmelinii anatolica* Valenciennes, 1856) ve Bandırma Merinosunda Polimorfizm Çalışması” konulu bu çalışma 16/05/2013 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Biyoloji Anabilim Dalı’nda Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Doç. Dr. S. Ahmet OYMAK

İkinci Danışman: Prof. Dr. İnci TOGAN

Üye: Prof. Dr. Nihat DİLSİZ

Üye: Yrd. Doç. Dr. Emel ÖZKAN ÜNAL

Üye: Yrd. Doç. Dr. Lokman VARIŞLI

**Bu Tezin Biyoloji Anabilim Dalında Yapıldığını ve Enstitümüz Kurallarına Göre Düzenlendiğini Onaylarım.**

**Prof. Dr. Seyit TEMİR**  
Enstitü Müdürü

**Bu Çalışma HÜBAK Tarafından Desteklenmiştir.**  
**Proje No: 1176**

**Not:** Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

# İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ÖZ .....	i
ABSTRACT .....	ii
TEŞEKKÜR .....	iii
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	iv
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	vi
SİMGELER DİZİNİ .....	vii
1. GİRİŞ .....	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR .....	5
2.1. Evcilleştirme ve Evcilleştirilme Merkezleri .....	5
2.2. Türkiye’de Yaşayan Koyunların Genel Özellikleri .....	7
2.3. Y Kromozomunun Tarihçesi ve Özellikleri .....	10
2.4. SRY (Sex Determinating Region of Y) Bölgesi .....	12
2.5. SRYM18 Mikrosatellit Bölgesi .....	12
2.6. Koyunlardaki Y Kromozomu İle İlgili Çalışmalar .....	13
2.7. Mitokondriyal DNA ve Özellikleri .....	16
2.8. Koyunlarda mtDNA İle İlgili Bazı Çalışmalar .....	16
2.9. Mikrosatellit Belirteçleri .....	17
2.10. Koyunlarda Otozomal Mikrosatellit İle İlgili Bazı Çalışmalar .....	18
3. MATERYAL ve YÖNTEM .....	20
3.1. Materyal .....	20
3.1.1. Karayaka koyunu .....	21
3.1.2. Gökçeada koyunu .....	21
3.1.3. Kıvrıkcık koyunu .....	22
3.1.4. Karacabey merinosu .....	22
3.1.5. Sakız koyunu .....	22
3.1.6. Hemşin koyunu .....	23
3.1.7. Herik koyunu .....	23
3.1.8. Akkaraman koyunu .....	23
3.1.9. Dağlıç koyunu .....	24
3.1.10. Çineçaparı koyunu .....	24
3.1.11. İvesi koyunu .....	24
3.1.12. Morkaraman koyunu .....	25
3.1.13. Norduz koyunu .....	25
3.1.14. Karagül koyunu .....	25
3.2. DNA İzolasyonu .....	27
3.3. Genetik Belirteçler .....	28
3.3.1. Y Kromozomu belirteçleri .....	28
3.3.1.1. SRY bölgesi .....	29
3.3.1.2. SRYM18 mikrosatellit bölgesi .....	30
3.3.2. Mitokondriyal belirteç .....	32
3.3.3. Otozomal kromozomlardaki mikrosatellit belirteçler .....	33
3.3.3.1. OarVH72 isimli mikrosatellit bölgesi .....	34
3.3.3.2. OarFCB226 isimli mikrosatellit bölgesi .....	35
3.4. Dizi Analizleri .....	37
3.5. Fragment Analizi .....	38
3.6. İstatistik Veri Analizleri .....	39
3.6.1. Y kromozomu belirteçlerinin sonuçlarına ait analizler .....	39
3.6.1.1. Frekanslar .....	39
3.6.1.2. $F_{ST}$ .....	40
3.6.1.3. Mantel test analizi .....	41
3.6.1.4. Medyan birleştirme ağı analizi .....	41
3.6.1.5. Çok değişkenli ölçekleme analizi .....	41

3.6.2. Otozomal kromozomlardaki mikrosatellit belirteçlerinin sonuçlarına ait analizler .....	42
3.6.2.1. $F_{IS}$ değerleri .....	42
3.6.2.2. Yapı (Structure) Analizi .....	43
3.6.2.3. Temel koordinat analizi (Principal coordinates analysis) .....	44
3.6.2.4. Komşu birleştirme ağacı (Neighbor joining tree) .....	44
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA .....	46
4.1. Y Kromozomuna Ait Bulgular .....	46
4.1.1. SRY bölgesinden elde edilen bulgular .....	46
4.1.2. SRYM18 mikrosatellit bölgesinden elde edilen bulgular .....	52
4.2. mtDNA D-loop gen bölgesinden elde edilen bulgular .....	62
4.3. Otozomal Kromozomdaki Mikrosatellit Lokuslarına Ait Bulgular .....	66
4.3.1. OarVH72 isimli mikrosatellit bölgesine ait bulgular .....	66
4.3.2. OarFCB226 isimli mikrosatellit bölgesine ait bulgular .....	67
4.3.3. Mikrosatellit lokuslarından elde edilen verilerin bant uzunluklarının hesaplanması .....	68
4.4. İstatistiksel Analizler Sonucu Elde Edilen Bulgular .....	70
4.4.1. Y kromozomu belirteçlerinin sonuçlarına ait analizlerde elde edilen istatistiksel bulgular .....	71
4.4.1.1. $F_{ST}$ değeri .....	71
4.4.1.2. Mantel test analizi .....	73
4.4.1.3. Medyan birleştirme ağı analizi (Median joining network) .....	73
4.4.1.4. Çok değişkenli ölçekleme (Multidimensional Scaling) analizi .....	74
4.4.2. Otozomal kromozomdaki mikrosatellit verilerin istatistiksel analizleri sonucu elde edilen bulgular .....	76
4.4.2.1. Otozomal kromozomlardaki mikrosatellit sonuçlarının $F_{IS}$ değerleri .....	76
4.4.2.2. Yapı (Structure) analizi ve ana küme (k) sayısı .....	78
4.4.2.3. Temel koordinat analizi (Principal coordinates analysis) .....	82
4.4.2.4. Komşu birleştirme ağacı (Neighbor joining tree) .....	83
4.5. Tartışma .....	85
4.5.1. SRY bölgesi .....	85
4.5.2. SRYM18 bölgesi ve haplotipler .....	87
4.5.3. mtDNA D-loop bölgesi .....	90
4.5.4. Otozomal kromozomlardaki mikrosatellitler .....	91
5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER .....	94
5.1. Sonuçlar .....	94
5.2. Öneriler .....	99
KAYNAKLAR .....	101
ÖZGEÇMİŞ .....	108
EKLER .....	109
ÖZET .....	117
SUMMARY .....	119

**ÖZ**

**Doktora Tezi**

**TÜRKİYE'DEN YERLİ EVCİL KOYUNLARDA, ANADOLU YABAN KOYUNU  
(*Ovis gmelinii anatolica* Valenciennes, 1856) ve BANDIRMA MERİNOSUNDA  
POLİMORFİZM ÇALIŞMASI**

**Arif PARMAKSIZ**

**Harran Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Biyoloji Anabilim Dalı**

**Danışman: Doç. Dr. S. Ahmet OYMAK  
İkinci Danışman: Prof. Dr. İnci TOGAN  
Yıl: 2013, Sayfa: 120**

Çalışmanın birinci kısmında 13 Anadolu yerli koyun ırkı (154 birey), Anadolu Yaban Koyunu (*Ovis gmelinii anatolica*, 16 birey) ve kökeni Avrupa'dan olan evcil koyun Merinos ırkına (12 birey) ait bireyler Y kromozomunda bulunan SRY 5' promotor ve SRYM18 bölgeleri DNA dizi analizi yöntemiyle incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar birlikte değerlendirilip bireylerin Y kromozomuna bağlı haplotipleri belirlenmiştir. Bireylerde sırayla en fazla H6, H4, H8 ve H12 haplotipleri olmak üzere 4 farklı haplotip tespit edilmiştir. Bu haplotiplerden H4 ve H8 yayılım biçiminde Türkiye'de doğudan batıya doğru bir azalış gözlenmektedir. Çalışmanın ikinci kısmında yine kökeni Avrupa'dan olan evcil koyun Merinos ırkına ait 19 bireyde mtDNA D-loop gen bölgesi dizi analizi yapılarak haplogruplar belirlenmiştir. Bu sonuçlara göre Merinos ırkına ait 15 bireyin haplogrup B, 4 bireyin ise haplogrup A olduğu tespit edilmiştir. Çalışmanın üçüncü kısmında ise otozomal kromozomlardaki mikrosatellit belirteçleri ile 10 yerli Türk koyun ırkına ait toplam 199 bireyde 8 mikrosatellit bölgesi araştırılmıştır. Mikrosatellit lokuslarının allel sayıları bakımından en çok polimorfizm OarFCB304 lokusunda, en az polimorfizm ise OarCP34 lokusunda gözlenmiştir. Elde edilen verilerden Yapı (Structure) Analizinde K=2 ile K=13 arasında sırasıyla uygulanmıştır. Çalışılan Türk koyun ırklarına bakıldığı zaman bu programda görselleştirilmesi sonucu neredeyse bütün ırk örnekleri renk karışımları ile temsil edilmiş ve böylece ırkların karışık oldukları tespit edilmiştir. Tüm K'larda Sakız ırkı diğerlerinden ayrılmakta olup en az karışımın bu ırkta olduğu görülmektedir. Temel Koordinat Analizinde eksenlerden 1. ekseninde Sakız ırkı diğer ırklardan bariz bir şekilde ayrılmaktadır. 2. ekseninde ise Karayaka, Kıvırcık, Gökçeada ve Sakız ırkları diğer ırklardan ayrılmaktadır. Komşu Birleştirme Ağacında genel olarak Sakız ile diğer ırklar arasındaki uzaklığın diğer ikili dal uzunluklarından daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Sunulan bu çalışma sonuçlarının Türkiye yerli koyun ırklarının gen kaynağı olarak korunması çalışmalarına katkıda bulunması beklenmektedir.

**ANAHTAR KELİMELER:** SRY, SRYM18, mtDNA, mikrosatellit, evcilleştirme

## ABSTRACT

PhD Thesis

### POLYMORPHISM STUDY OF DOMESTIC SHEEP FROM TURKEY, ANATOLIAN MOUFLON (*Ovis gmelinii anatolica* Valenciennes, 1856) and BANDIRMA MERINO

Arif PARMAKSIZ

Harran University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Biology

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. S. Ahmet OYMAK

Cosupervisor: Prof. Dr. İnci TOGAN

Year: 2013, Page: 120

In the first part of study, male individuals of 13 Anatolian domestic sheep breeds (154 individuals), Anatolian Wild Sheep (*Ovis gmelinii anatolica*, 16 individuals ) and Merino domestic sheep breed (12 individuals) which has an European origin, were examined by DNA sequence analysis at SRY 5'promotor region of Y chromosome and SRYM18 which is a specific microsatellite region for Y chromosome. The results were evaluated together and haplotypes of individuals were identified based on Y chromosome. 4 different haplotypes were identified and The most frequent haplotypes can be given in order as: H6, H4, H8 and H12 haplotypes. When the distribution of H4 and H8 haplotypes are considered a gradual decrease has been observed in the direction of west. In the second part of study, mtDNA D-loop of 19 individuals of European originated Merinos breed have been sequenced. Consequently, 15 individuals haplogroup B and 4 individuals haplogroup A have been identified. In the third part of study, 8 microsatellites loci which are located on autosomal chromosomes were analyzed in 10 Turkish sheep breeds (totally 199 individuals) were examined. OarFCB304 (23 alleles) and OarCP34 (8 alleles) have been determined as the most polymorphic and least polymorphic microsatellite loci respectively, in terms of allele number. Structure analysis has been applied ranging from K=2 to K=13. When the studied Turkish breeds are considered, structure results are very blended which indicates that these breeds are highly admixed. For all of the K values (2-13) Sakız breed is separated from the other breeds and it is the least admixed breed. Principal Coordinates Analysis showed that In the 1st axis only Sakız, and in the 2nd axis Karayaka, Kıvırcık, Gökçeada and Sakız breeds are significantly separated from other breeds. In general Neighbor Joining (NJ) tree analysis shows that the distances between Sakız and other breeds are significantly longer than the other dual branches. The results of this study are expected to contribute to the studies which are related to conservation of Turkish native sheep breeds as a genetic resource.

**KEY WORDS:** SRY, SRYM18, mtDNA, microsatellite, domestication

## TEŞEKKÜR

Akademisyen olduğum ilk günden beri tecrübesiyle beni yönlendiren, çalışmalarım esnasında bana her zaman yardım ve desteğini esirgemeyen, bugünlere ulaşmamda emeği geçen danışman hocam Doç. Dr. S. Ahmet OYMAK'a çok teşekkür ederim.

Tez çalışmalarım esnasında bana her türlü konuda yardımcı olan, yol gösteren, Moleküler Genetik Tekniklerini öğrenmemde, sonuçların değerlendirilmesi ve yorumlanmasında büyük destek ve yardımlarını gördüğüm eşdanışman hocam Prof. Dr. İnci TOGAN'a, yürekten teşekkür ederim.

Laboratuvardaki çalışmalarım her zaman beni yönlendiren ve deneylerin başarılı bir şekilde yürütülmesinde katkıda bulunan Dr. Evren KOBAN BAŞTANLAR, Yrd. Doç. Dr. Emel ÖZKAN ÜNAL, Dr. Füsün ÖZER ve Yrd. Doç. Dr. Ebru GÖKALP hocalarıma teşekkürü bir borç bilirim.

Kendilerini tanımaktan ve aynı laboratuvarda birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum, tez çalışmam boyunca laboratuvar ortamlarını benimle paylaşan, bana her zaman destek veren ve hoşgörü gösteren laboratuvar (Lab. 147) arkadaşlarım İhsan Cihan AYANOĞLU, Nihan Dilşad DAĞTAŞ, Begüm UZUN ve Eren YÜNCÜ'ye çok teşekkür ederim.

Deney sonuçlarının istatistiksel olarak analiz edilmesi ve tezimin yazım aşamasında bana yardımcı olan Dr. Sinan Can AÇAN ve Sevgin DEMİRCİ'ye çok teşekkür ederim.

Tez Çalışmamı Proje İle Destekleyen Harran Üniversitesi (HÜBAK 1176 nolu proje) ve Orta Doğu Teknik Üniversitesi (ODTÜ BAP-1, BAP- 01-08-2012-014 nolu proje) 'ne teşekkür ederim.

Tez çalışmalarım boyunca bana destek veren ve yardımcı olan Harran Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Dekanı Prof. Dr. Nihat DİLSİZ ve Bölüm Başkanımız Prof. Dr. Hasan AKAN hocalarıma teşekkür ederim.

Hayatım boyunca maddi manevi hiç bir fedakârlıktan kaçınmayan, iyi niyet ve hoşgörülerini doktora aşamasında da benden esirgemeyen annem Anzılha PARMAKSIZ'a, babam Ziyaeddin PARMAKSIZ'a ve kardeşlerim Canan, Mehmet, Bestami ve Gülsüm PARMAKSIZ'a sonsuz minnet ve teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmam süresince beni her zaman teşvik eden ve bu zorlu yolda benim kadar çaba gösteren, bıkmadan yorulmadan hep yanımda olan sevgili eşim Ayşe PARMAKSIZ'a gösterdiği destek ve özveri için ayrıca teşekkür ederim.

## ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa No
Şekil 2.1. Göbekli Tepe'nin harita üzerinde gösterilmesi.....	6
Şekil 2.2. Koyun, keçi, domuz ve sığırların evcilleştirme alanları.....	7
Şekil 2.3. Y kromozomun temel bölgelerinin şematize edilmesi.....	12
Şekil 3.1. Örnekleme yapılan koyun ırklarının ve <i>Ovis gmelinii anatolica</i> 'nın örnekleme yerlerinin Türkiye haritasında gösterilmesi.....	21
Şekil 3.2. Morkaraman ırkına ait bireylerin genomik DNA örnekleri.....	28
Şekil 3.3. SRY ve SRYM18 lokuslarının yükseltgenmesinde kullanılan PZR cihazı.....	31
Şekil 3.4. OarVH72 ve OarFCB226 adlı mikrosatellit lokuslarının yükseltgenmesinde kullanılan PZR cihazı.....	37
Şekil 4.1. SRY bölgesinin PZR sonrasının agaroz jel görüntüsü.....	46
Şekil 4.2. SRY bölgesine ait dizi analizi sonucunun Chromas-Pro'daki görüntüsü.....	47
Şekil 4.3. SRY bölgesine ait SNP oY1 noktasının Chromas-Pro'daki görüntüsü.....	48
Şekil 4.4. Kıvırcık ırkı bireylerine ait SRY bölgesinin bir kısmının referans diziyile beraber Bioedit programındaki görüntüsü.....	48
Şekil 4.5. SRY bölgesinde SNP oY1 noktasının Kıvırcık ırkı bireylerinin ve referans dizinin Bioedit programında görüntülenmesi.....	49
Şekil 4.6. SRY bölgesinde SNP oY1 noktasının <i>Ovis gmelinii anatolica</i> bireylerinin ve referans dizinin Bioedit programında görüntülenmesi.....	50
Şekil 4.7. SRYM18 bölgesinin PZR sonrası agaroz jel görüntüsü.....	52
Şekil 4.8. SRYM18 mikrosatellit bölgesine ait tekrarlı bölgenin dizi analizi sonucunun Chromas-Pro'daki görüntüsü.....	53
Şekil 4.9. Farklı ırklara ait bireylerin SRYM18 mikrosatellit bölgesi dizi analizi sonucunun Bioedit programında referans diziyile görüntülenmesi.....	54
Şekil 4.10. SRYM18 bölgesine ait değişik sayıdaki mikrosatellit tekrarlarının referans diziyile birlikte Bioedit programındaki görüntüsü.....	54
Şekil 4.11. Türkiye'de yaşayan koyun ırklarının Y kromozomuna ait haplotipleri haritada görselleştirilmesi.....	58
Şekil 4.12. Farklı araştırmacıların Türkiye'de yaşayan koyun ırklarında tespit ettikleri Y kromozomuna ait haplotiplerinin haritada görselleştirilmesi.....	58
Şekil 4.13. Türkiye, Asya ve Avrupa yelpazesinde Y kromozomu haplotip dağılımları.....	61
Şekil 4.14. Merinos ırkına ait bireylerin mtDNA D-loop gen bölgesinin PZR sonrası agaroz jelde görüntülenmesi.....	62
Şekil 4.15. mtDNA D-loop gen bölgesinin dizi analizi sonucunun Chromas-Pro'daki görüntüsü.....	63
Şekil 4.16. Merinos ırkına ait 4 nolu bireyin D-loop gen bölgesinin dizi analizi sonucunun bir kısmının Chromas-Pro'daki görüntüsü.....	64
Şekil 4.17. mtDNA D-loop gen bölgesinin dizi analizi sonucunun Bioedit programında referans diziyile görüntülenmesi.....	64
Şekil 4.18. Demirci (2012)'ye göre mtDNA haploguplarının ırk düzeyinde gösterilmesi.....	65
Şekil 4.19. OarVH72 mikrosatellit bölgesinin PZR sonrası agaroz jelde görüntülenmesi.....	67
Şekil 4.20. OarFCB226 mikrosatellit bölgesinin PZR sonrası agaroz jelde görüntülenmesi.....	67
Şekil 4.21. OarVH72 mikrosatellit bölgesine ait Karayaka 28 nolu bireyde heterozigot piklerin elektrofenogramı.....	68
Şekil 4.22. OarFCB226 mikrosatellit bölgesine ait Morkaraman 5 nolu bireyde heterozigot piklerin elektrofenogramı.....	69
Şekil 4.23. Medyan birleştirme ağı analizi ile haplotiplerin koyunlardaki kuyruk tipine göre durumu.....	74
Şekil 4.24. Çok değişkenli ölçekleme analizi sonucu oluşturulan iki eksen üzerinde gözlenen ırklar arası farklar.....	75
Şekil 4.25. Yapı Analizi sonuç grafiği, K=2 değerinde popülasyonların genetik yapısının görüntülenmesi.....	79



Şekil 4.26. Yapı Analizi sonuç grafiği, K=6 değerinde populasyonların genetik yapısının görüntülenmesi.....	80
Şekil 4.27. Yapı Analizi sonuç grafiği, K=9 değerinde populasyonların genetik yapısının görüntülenmesi.....	81
Şekil 4.28. Irk merkezleri için oluşan PCoA görüntüsü.....	82
Şekil 4.29. Reynold'un uzaklıkları kullanılarak çizilen Komşu Birleştirme Ağacı ve 1000 tekrarla oluşturulmuş çöz-bağla değerleri.....	84
Şekil 4.31. İspanya'da bulunan 8 koyun ırkının Yapı Analizi ile çalışılmasının sonuçları.....	93



## ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa No
Çizelge 3.1. Y kromozomu çalışmasında materyal olarak kullanılan evcil koyunların kuyruk şekline göre sınıflandırılması ve birey sayısı.....	26
Çizelge 3.2. Çalışmada kullanılan Y kromozomundaki lokuslara ait bilgiler.....	28
Çizelge 3.3. SRY bölgesinin yükseltgenmesinde uygulanan PZR koşulları.....	29
Çizelge 3.4. SRY bölgesinin yükseltgenmesinde kullanılan PZR karışımı.....	30
Çizelge 3.5. SRYM18 mikrosatellit bölgesinin yükseltgenmesinde uygulanan PZR koşulları....	30
Çizelge 3.6. SRY bölgesinin yükseltgenmesinde kullanılan PZR karışımı.....	31
Çizelge 3.7. mtDNA D-loop gen bölgesinin yükseltgenmesinde uygulanan PZR koşulları.....	32
Çizelge 3.8. mtDNA D-loop gen bölgesinin yükseltgenmesinde kullanılan PZR karışımı.....	33
Çizelge 3.9. Çalışmada kullanılan mikrosatellit lokuslara ait bilgiler.....	33
Çizelge 3.10. OarVH72 ve OarFCB226 adlı mikrosatellit lokuslarının taranmasında materyal olarak kullanılan evcil koyunların kuyruk şekline göre sınıflandırılması ve kullanılan birey sayısı.....	34
Çizelge 3.11. OarVH72 mikrosatellit bölgesinin yükseltgenmesinde uygulanan PZR koşulları.....	35
Çizelge 3.12. OarVH72 mikrosatellit bölgesinin yükseltgenmesinde kullanılan PZR karışımı...	35
Çizelge 3.13. OarFCB226 mikrosatellit bölgesinin yükseltgenmesinde uygulanan PZR koşulları.....	36
Çizelge 3.14. OarFCB226 mikrosatellit bölgesinin yükseltgenmesinde kullanılan PZR karışımı.....	36
Çizelge 3.15. Çalışmada kullanılan analizlerin adı, amacı ve uygulanan programlar.....	39
Çizelge 4.1. SRY bölgesi AY604734 referansındaki SNP bölgeleri.....	51
Çizelge 4.2. Haplotiplerin belirlenmesinde SRYM18 mikrosatelit kombinasyonları ve SRY-SNP bölgeleri ve haplotipler.....	55
Çizelge 4.3. Sunulan çalışmada Y kromozomuna ait haplotiplerin ırklara göre dağılımı.....	56
Çizelge 4.4. <i>Ovis gmelinii anatolica</i> 'da SRYM18 ve SRY bölgelerinin dizi analizleri sonucu tespit edilen haplotip.....	57
Çizelge 4.5. Merinos koyun ırkına ait bireylerde SRYM18 ve SRY bölgelerinin dizi analizleri sonucu tespit edilen haplotip.....	57
Çizelge 4.6. Türkiye'de yapılan tüm çalışmalardan elde edilen Y kromozomu haplotip sonuçlarının karşılaştırılması.....	59
Çizelge 4.7 mtDNA D-loop gen bölgesinin dizi analizi sonucunda haplogrupların belirlenmesinde kullanılan nükleotid değişimleri.....	65
Çizelge 4.8. Çalışmada genotiplendirilen mikrosatellit lokuslarında görülen allel uzunlukları...	70
Çizelge 4.9. Analizlerde kullanılan ırk kısaltmalarını açıklamaları.....	71
Çizelge 4.10. Y Kromozom haplotip frekanslarına göre ırklar arasındaki $F_{ST}$ değerleri.....	72
Çizelge 4.11. Analizleri yapılan otozomal mikrosatellit lokuslarına ait allel sayısı.....	76
Çizelge 4.12. Analiz edilen lokuslarda beklenen ( $H_e$ ), gözlenen heterozigotlar ( $H_o$ ) ve saf yetiştirme katsayıları ( $F_{is}$ ).....	77
Çizelge 4.13. $K=2$ değerinde, önceden tanımlanmış kümelere göre ırkların üyelik katsayıları...	79
Çizelge 4.14. $K=6$ değerinde, önceden tanımlanmış kümelere göre ırkların üyelik katsayıları...	80
Çizelge 4.15. $K=9$ değerinde, önceden tanımlanmış kümelere göre ırkların üyelik katsayıları...	81

## SİMGELER DİZİNİ

ABI 3100: DNA Sekans Analizatörü  
AKK: Akkaraman  
bç: Baz çifti  
ark.: arkadaşları  
°C: Santigrad derece  
CR: Control Region  
ÇİÇ: Çine Çaparı  
DAG: Dağlıç  
DBY: dead box RNA helicase Y  
D-loop: displacement loop  
DNA: Deoksiribonükleik asit  
dNTP: Deoksiribonükleotid  
EDTA: Etilendiamintetraasetik asit  
EtBr: Etidyum Bromid  
FAO: Tarım ve Gıda Organizasyonu (Food and Agriculture Organization)  
FCA: Factorial Correspondence Analysis  
F<sub>ST</sub>: Populasyonlar arası standardize varyans  
G: Geri primer  
GÖK: Gökçeada  
İ: İleri primer  
İVE: İvesi  
KRY: Karayaka  
KIV: Kıvrıkcık  
ml: Mililitre  
MOR: Morkaraman  
mtDNA : mitokondrial DNA  
MSY: Male specific region of Y  
mM: Milimolar  
MCMC: “Monte Carlo Markov Chain” Metodu  
ng : Nanogram  
NJT: Komşu Birleştirme Ağacı (Neighbour – Joining Tree)  
OGA: *Ovis gmelinii anatolica*  
PCA: Temel Koordinat Analizi (Principal coordinates analysis)  
PAR: Pseudoautosomal bölge  
PZR: Polimeraz Zincir Reaksiyonu  
rpm: Bir dakikadaki rotor devir sayısı (Rotor per minute)  
SAK: Sakız  
SRY: Sex determining region of Y  
SNP: Single nucleotid polymorphism  
STR: Short tandem repeat  
SDS: Sodyumdedoksisülfat  
TAGEM: Tarımsal Araştırma Genel Müdürlüğü  
Tamra: DNA sekans analizatörü işaretleyicisi  
TİGEM: Tarımsal İşletmeler Genel Müdürlüğü  
TBE: Tris/ Borik asit/ EDTA Tamponu  
TE: Tris EDTA tamponu  
TNP: Tek nükleotid polimorfizmi  
UV: Ultraviyole ( Ultraviolet)  
Ü: Ünite  
µg : Mikrogram  
µl : Mikrolitre

## **1. GİRİŞ**

Çiftlik hayvanlarının çoğunun ilk olarak Anadolu ve civarında evcilleştirildiği anlaşılmıştır (Zeder, 2008). Bu ilk evcilleşmiş gen havuzlarının ürünleri zaman içinde Asya, Afrika ve Avrupa'ya yayılmışlardır. Bu yayılma esnasında kaynak varyasyonun ancak bir alt kümesi götürülebildiğinden kaynak gen havuzunun bugünkü akrabaları, dünyada başka hiç bir evcil hayvan popülasyonunda bulunmayan genetik varyasyonlar içermekte olabilirler. İlk evcilleşme merkezinde ya da yakınında bulunan yerli evcil hayvan gen kaynaklarımızın en azından bir kısmı Orta Doğu'daki diğer ırklarla beraber bu özgün genetik varyasyonları içeriyor olabileceğinden özel bir değere sahiptir (Bruford ve ark., 2003).

Çiftlik hayvanlarının verimliliğini arttırmak için uygulanan çalışmalar istenilen özelliklerde artışlara neden olurken, çevre koşullarına olan adaptasyon ve hastalıklara karşı dayanıklı olma gibi özelliklerinde ise gerilemeye yol açmaktadır. Yerli ırklarımız zor çevre koşullarına (Örnek; uç sıcaklıklarda ve kalitesiz yem ile yaşamlarını sürdürebilmek, otlamak için uzun yol yürüme gerekliliğini yerine getirebilmek, parazitlerden fazla etkilenmemek) gösterdiği dayanıklılık (Soysal ve ark., 2005) nedenleri ile de korunmalıdır.

Ayrıca hiç bir zaman yoğun seleksiyon baskısı yaşamamış olan yerli ırklar yüksek genetik çeşitlilik göstermektedir ki bu nedenle yepyeni seçimler için önemli bir genetik potansiyel taşımaktadırlar. Ancak, bu yüksek genetik çeşitlilik sadece evcilleşme kaynağına yakınlıkları ve yüksek seleksiyon baskısı yaşamadıkları için değil, ırklar arasında izolasyonun olmaması ve ırkların yüksek sıklıkla melezleme yaşamalarından ve göçlerle gelen karışımların varlığından da kaynaklanıyor olabilir. Eğer ırk özgün bir gen kombinasyonuna sahipse bu kombinasyonun bozulmaması için melezlemenin de az (bir generasyonda % 2.5 den, toplamda % 12.5 den az) olması istenmektedir (Alderson, 2010). Ülkemizde ırk kavramının oluşmamış olduğu

bilinmektedir. Yetiştirici bazında verimliliği arttırdığı genel anlayışı ile yerli ırklar arasında ırkına dikkat etmeden koç değişimi sıklıkla uygulanmaktadır. Belki çevreye uyum gösteren bu ırklar birbirlerinin özgün gen kombinasyonlarına çok fazla olumsuz etki yapmamaktadır. Fakat yerli ırlardan farklı olmaları beklenen egzotik ırkların yerli ırlara katılımı devlet politikası olarak teşvik edilmekte ya da engellenmemektedir. Örneğin sığırdada Holstein melezlemesinin teşvik edildiği bilinmektedir. Aynı şekilde, koyunda da günümüzde Kıvırcık koyun ırkına ait saf birey neredeyse kalmamıştır, Kıvırcık ırkı gibi Gökçeada ırkı da Merinos ırkı ile melezlenmektedir. O halde genetik çeşitlilik ölçütü ırlarda korunma öncülüğünün saptanmasında tek başına yeterli olmayabilir.

Melezlenme ile gen kombinasyonlarını kaybetmekte ve sayılarında azalma olan ırlarımızın 1980'lerde sayılarında % 40'lara varan düşüşlerle (Longworth, 2005) büyük genetik kayıplar yaşadıkları bir gerçektir. Koruma için canlı hayvanlar, halk elinde ve devlet enstitülerinde korumaya alınabilir. Ayrıca ilgili enstitülerde hayvanların doku ya da sperma ve embriyoları gen bankalarında saklanabilir. Bu koruma biçimlerinin hepsini genetik çeşitlilik düzeyindeki kaybı en az düzeyde tutacak ve her ırkı kapsayacak bir biçimde sürdürmek hiç bir ülkenin gerçekleştiremeyeceği bir çabadır. Korumanın akılcı ve sürdürülebilir olması için korumada önceliklendirme yapılmalıdır (Boettcher, 2010). Önceliklendirme için ise ırların genetik olarak karakterizasyonunun yapılması gerekmektedir. Moleküler tabanlı bilgiler, hem ırların evrimleşme sürecini ortaya çıkararak hem de genetik içerik açısından bilgi vererek korumada önceliklendirmeye katkıda bulunacaktır.

Çiftlik hayvanları içerisinde ilk evcilleştirilenlerden biri koyunlardır (Kijas ve ark., 2012). Koyunların evcilleştirilmesi yaklaşık olarak 10.000 ile 11.000 yıl önce İç Anadolu'nun Doğusu ile Kuzey Zagros Dağları arasında olduğu, arkeolojik verilere dayalı olarak kabul edilmektedir (Zeder, 2008). Arkeolojik çalışmalara ek olarak evcil koyunların Y kromozomu (Meadows ve ark., 2009), mitokondrial DNA (mtDNA) (Bruford ve Townsend, 2006; Meadows ve ark., 2007; Tapio ve ark., 2010), otozomal kromozom (Peter ve ark., 2007; Kijas ve ark., 2012) lokuslarına ait çeşitli genetik belirteçler kullanılmakta ve böylece ırkın genomunun farklı yerlerinde

birikmiş farklı evrimsel tarih bilgilerine ışık tutulmak istenmektedir. Bu çalışmalarla evcil koyunların global düzeyde evrimsel tarihleri ile ilgili bilgiler oldukça birikmiştir (Bruford ve Townsend, 2006; Peter ve ark., 2007; Chessa ve ark., 2009; Tapio ve ark., 2010; Kijas ve ark. 2012). Diğer taraftan evcilleşmenin *Ovis gmelinii* türü yaban koyunundan kaynaklandığı genel olarak kabul edilmiş olsa bile (Hiendleder ve ark., 2002) yaban koyunları ile evcilleşme bağı konusundaki çalışmalar henüz çok sınırlıdır (Bruford ve Townsend, 2006).

Ülkemiz koyun ırkları için yapılan çalışmalar da oldukça çoktur. Bunlar ağırlıklı olarak mtDNA (Pedrosa ve ark., 2005; Meadows ve ark., 2007) üzerinedir. Yerli ırklarımızda Y kromozomu belirteçleri ile yapılan bir tarama yakın zamanda yayınlanmıştır (Öner ve ark., 2011). Mikrosatellitlerle yapılan çalışmalar ağırlıklı olarak yerli koyunlarda (Uzun ve ark., 2006) olduğu gibi yerli koyunlarımızı da kapsayan daha geniş coğrafyada yapılmış çalışmalar da mevcuttur (Peter ve ark., 2007). Bu çalışmalardan Öner (2010)'in çalışması hariç hiç biri genetik varyasyonun ırkların üzerindeki ve coğrafi dağılımı hakkında ve dolayısıyla hangi ırkın korunması gerekliliği ile ilgili soru sormamaktadır.

Ülkemizde 2007 yılında başlatılan bir ulusal proje (Türkiye Yerli Evcil Hayvan Genetik Kaynaklarından Bazılarının In vitro Korunması ve Ön Moleküler Tanımlanması-I; [www.turkhyagen.gov.tr](http://www.turkhyagen.gov.tr)) çerçevesinde belli başlı koyun ırklarından 13 tanesi çalışılmıştır. Bu çalışmada ırklar 20 mikrosatellit belirteci ve mtDNA kontrol bölgesi belirteçleri ile incelenmiştir. Ancak, bu çalışmayı tamamlayacak Y kromozom belirteçleri eksik kalmıştır. Yine çalışmalarda özellikle Kıvırcık ve Gökçeada koyununda melezlemeye katılan Bandırma Merinosu daha önce hiç çalışılmamıştır. Ayrıca ülkemizde, Konya Bozdağ havzasında yaşayan Anadolu Yaban Koyunu (*Ovis gmelinii anatolica*) erkekleri Y kromozomu açısından da incelenmemiştir.

Sunulan çalışmanın amaçları şu şekilde özetlenebilir;

- 1) Türkiye’den *Ovis aries* türüne ait 13 yerli koyun ırkını (Gökçeada, Kıvırcık, Sakız, Karayaka, Dağlıç, Norduz, Akkaraman, Morkaraman, Hemşin, İvesi, Çineçaparı, Herik, Karagül) genetik olarak tanımlamayı amaçlayan TÜRKHAYGEN-I projesi sonuçlarındaki önemli eksiklikleri tamamlayarak yerli koyun ırklarının durumunun Y kromozomu bakımından tanımlanmasını sağlamak,
- 2) TÜRKHAYGEN-I çerçevesinde yapılmış mikrosatellit okumalarından OarVH72 ve OarFCB226 lokuslarının ikisini tekrarlayarak, okumaların daha doğru olduğu bilinen 6 lokusla birlikte toplam 8 mikrosatellit lokusta analizleri yapmak böylece ırkların karakterizasyonu için 8 lokusun ne derecede bilgi verdiğini gözlemek,
- 3) *Ovis gmelinii anatolica*’nın Y kromozomu açısından koyunların atası olup olmayacağını sorgulamak,
- 4) Yurdumuzda özellikle Kuzey ve Batı ırklarında melezleme yoluyla katılmış olarak bulunan Bandırma (Karacabey) Merinosunun mtDNA, Y kromozomu için karakterizasyonunu yaparak yerli ırklara ne ölçüde katılmış olabileceği ile ilgili yorumlar yapmak,
- 5) Y kromozomu ile otozomal kromozomlardan mikrosatellit ve yine Y kromozomu ile mtDNA’dan DNA dizi analizi (sekanslama) çalışarak farklı belirteçlerin kullanımını öğrenmek,
- 6) Mikrosatellit, DNA dizi analizi ve farklı DNA bölgelerinden elde edilmiş verilerin istatistiksel analizlerini öğrenmek.

## **2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR**

### **2.1. Evcilleştirme ve Evcilleştirme Merkezleri**

Evcilleştirme, hayvan ya da bitkinin insan yararına kullanılmasını ve bunun yanı sıra insan ile yakın bir ilişki içerisinde yaşamaya da adapte olmasını sağlamaktır. Ancak bu ilişki, evcilleşen organizmanın yaban hayatında yaşama kabiliyetinin yok olmasına yol açacak düzeyde bağımlılık oluşturabilir. Ayrıca, kurttan türemiş olan çeşitli köpeklerde olduğu gibi evcil hayvanlar morfolojik olarak yabarlardan farklıdır (VonHoldt ve ark., 2010).

Günümüzden yaklaşık 12.000 yıl öncesinde, Şekil 2.1'deki haritada görüldüğü gibi Şanlıurfa'nın 15 km güneydoğusunda yer alan ve Göbekli Tepe olarak bilinen arkeolojik bölgede avcı toplayıcılar monolitler dikmişlerdir (Schmidt, 2007). Herhangi bir alet kullanmaksızın kesilen, sürüklenen ve dikilen tonlarca ağırlıktaki kireçtaşı levhalarının yaşı tarımın ilk defa yapılmasından, hayvan evcilleştirmesinden ve insanların yerleşik yaşama geçişlerinden daha önceye denk gelmekte olup, bu alanın bilinen en eski tapınak olduğu düşünülmektedir (Schmidt, 2007). Bu alanda ayinlerin yapıldığı ve ayinlerde hayvanların kurban edildiği, alanda bulunan hayvan kalıntılarının fazlalığı ile söylenebilir (Curry, 2008). Ayinlerde kullanılan yaban hayvanların yakalanması, tören yerine getirilmesi ve bekletilirken beslenmesi belki de evcilleşmenin ilk adımlarıydı.

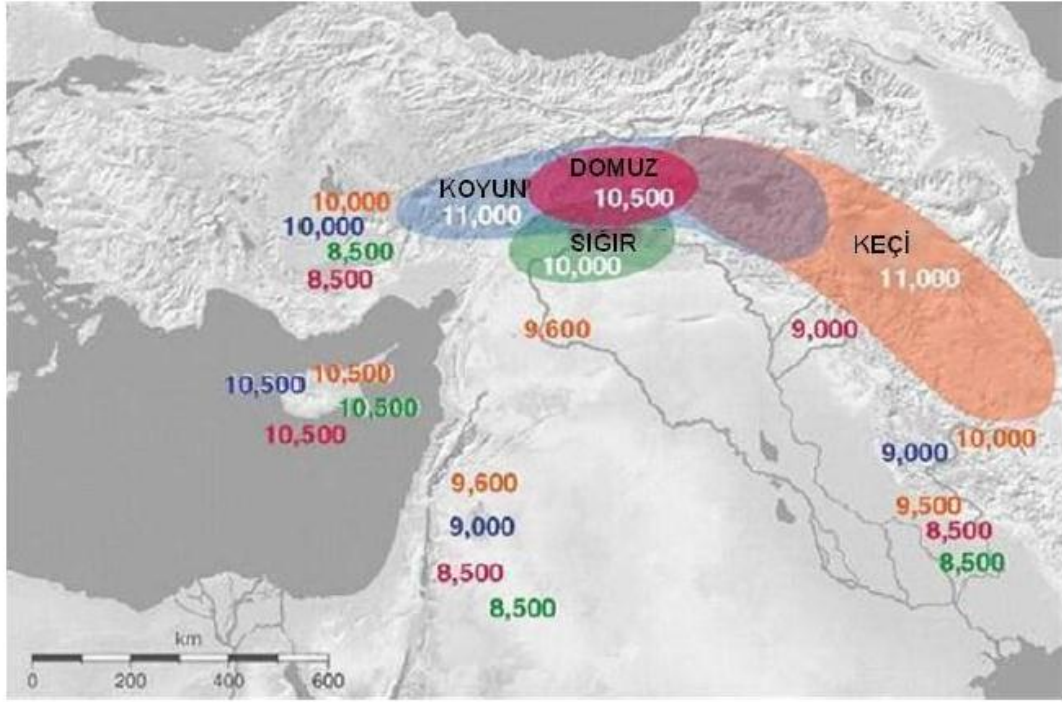




Şekil. 2.1. Göbekli Tepe'nin harita üzerinde gösterilmesi (<http://www.smithsonianmag.com/history-archaeology/gobekli-tepe.html>)

Arkeolojik kalıntılardaki hayvanların cinsiyet oranının dişiler yönünde artması, kemiklerdeki bulgularda dişilerin yaşlı, erkeklerin genç olması gibi kriterler hayvan evcilleştirilmesinin ilk işaretleri olarak kabul edilmektedir (Zeder, 2008). Bu kriterler sürünün kontrol edildiğinin bir göstergesi olduğundan evcilleşmenin başladığının bir kanıtı olduğu söylenebilir.

Eskiden morfolojik değişim evcilleştirilmenin kanıtı olarak düşünülmekteydi. Arkaeozoolojik çalışmalarda yukarıda belirlenen kıstaslar doğrultusunda elde edilen sonuçlardan yola çıkarak hayvan evcilleşmesi Zeder (2008) tarafından çalışılmıştır. Bu çalışmada koyun, sığır, keçi ve domuzların evcilleşme merkezleri yeniden belirlenmiştir (Şekil 2.2). Şekil 2.2 ile Şekil 2.1 karşılaştırıldığında Göbekli Tepe'nin koyun, sığır, keçi ve domuz türlerinin evcilleştirme alanlarının kesişiminde olduğu gözlenmektedir. Bu durum Göbekli Tepe'nin hayvan evcilleştirmesinin ilk başladığı bölge olduğunu doğrulamaktadır (Açan, 2012).



Şekil 2.2. Koyun, keçi, domuz ve sığırların evcilleştirme alanları (Zeder, 2008 ve Öner, 2010)

Şekil 2.2’de renkli bölgelerin içindeki kısımlar evcilleştirmenin günümüzden kaç yıl önce oluştuğunu yansıtan tahmini rakamlardır. Renkli bölgelerin dışındaki alanlar evcilleşmenin yayılma zamanını göstermektedir. Mavi alan koyun, turuncu alan keçi, kırmızı alan domuz ve yeşil alan ise sığır türlerinin evcilleştirildiği bölgeleri göstermektedir.

## 2.2. Türkiye’de Yaşayan Koyunların Genel Özellikleri

Günümüzde Güneydoğu Anadolu’da ilk evcilleştirilen koyunlarla ilkel koyunlar arasındaki ilişki henüz kurulmamıştır. Özellikle eti için, belki de adak için kullanıldığı düşünülen bu ilk ilkel evcil koyunlar önce büyük bir ihtimale eski kıtalara yayılmıştır. Daha sonra, yaklaşık 5000 yıl önce, büyük bir olasılıkla modern Irak ve Batı İran topraklarında bulunan ilk koyunlardan yeni bir grup koyun, yapağı gibi ikincil ürünler için özel olarak üretilmeye başlanmıştır. Bu yapağı için üretilen koyunların, Asya’da bütün ilkel koyunların, Avrupa’da ise çeperler hariç ilk ilkel koyunların yerini aldığı önerilmektedir (Chessa ve ark., 2009).

Anadolu koyun ırklarındaki önemli bir olay da hayvancılıkla yaşayan göçebe Türklerin Orta Asya'dan Anadolu'ya gelmesidir. Ortalama 1.000 yıl önce göçebe Türkler Doğu ve Güneydoğu'dan Anadolu'ya girmişlerdir (Roux, 1997).

Tüm göçebe kültürlerde olduğu gibi yerleşimin ve çiftçiliğin olmaması çiftlik hayvanlarını göçebe Türkler için özel olarak değerli kılmaktadır. Göçebe Türklerin en az 78.000.000 koyunu beraberlerinde getirdikleri tahmin edilmektedir (Togan ve ark., 2007). Bu sayı bu tarihten 4.000 yıl önce gerçekleşmiş olup ikincil ürünü açısından önemli koyun göçünün etkilerinin üstüne eklenmiş olduğu tahmin edilmektedir (Açan, 2012).

Türkiye'de yaşayan koyunların büyük bir kısmı yerli ırklardan oluşmaktadır (Doğan, 2009). Türk yerli ırkları ekonomik olarak önemli olan ırklar arasında bulunmamaktadır. Ancak bu yerli ırklar Türkiye'nin birçok yerinde gözlemlenen uç çevre koşullarında yaşama kabiliyetleri, parazitlere karşı dayanıklı olmaları, düşük yem kalitesi ile yaşayabilmeleri, uzun yol yürüyebilme ve tırmanabilme özelliklerine sahiptir (Açan, 2012). Ayrıca, uzun üreme dönemleri ve bitkisel üretime uygun olmayan çevrelerde çok düşük maliyetlerle varlıklarını sürdürebilmeleri gibi özelliklerinden dolayı Türkiye için ve değişebilecek çevre ile üretim koşullarında dünya için çok önemlidirler (Açan, 2012).

Türkiye'deki yerli koyun ırklarının, önce ilk evcilleşme yöresine, daha sonra ikinci koyun genişleme bölgesine yakınlıkları nedeniyle ve başka hiçbir yerde bulunmayan özgün genler içeriyor olmaları olasılığıyla da korunmaları dünyadaki birçok koyun ırkından daha önemlidir. Nitekim, karşılaştırmalı genetik çalışmalarda, yerli koyunlarımız genel olarak genetik çeşitliliği yüksek (Lawson Handley ve ark., 2007; Peter ve ark., 2007; Tapio ve ark., 2010) olduklarından koyun genetik çeşitliliği için sıcak bölge (hot spot) ilan edilmiştir (Tapio ve ark., 2010). Ancak, bunun sadece evcilleşme bölgesine yakınlık ile ortaya çıkmadığı, izole edilmemiş ve yapay seçilime maruz kalmamış olmalarının da yüksek çeşitliliğe katkısının olduğu hatırlanmalıdır.

Ekonomik açıdan geliştirilen ırklar, yerel olarak uyum sağlamış olan ırkların varlığını iki şekilde tehdit eder; bunlardan birincisi melezleme yapılması, ikincisi ise mevcut ırkların tamamen yerlerini almaktır (Açan, 2012).

Gelişmiş ülkelerde ekonomik olarak önemli olan ırklar (genetik çeşitlilik bakımından sıcak noktalardan uzakta ağır seleksiyon altında bulunan ekstansif yetiştiriciliği yapılan ırklar) çeşitlilik, buna bağlı olarak da farklı çevre koşullarına uyum sağlama kabiliyetlerinden yoksundurlar. Ancak özellikle yetiştiricilerin yoğun bakımı altında iyi üretim verebilirler (Açan, 2012).

Türk koyun ırkları melezlemenin yanı sıra, dar boğaz (bottleneck) etkisinden de geçmektedir. Türkiye'deki koyun sayısında 1980 ve 2000 yılları arasında % 47.4, 2000 ve 2004 arasında ise % 10.7 oranında düşüş gözlenmiştir (Longworth, 2005). Oranlardaki bu düşüş hem piyasada koyun eti yerine sığır veya tavuk etinin tercih edilmesi, hem de bazı bölgelerde yaşanan sosyal sorunlar nedeni ile ortaya çıkmaktadır (Sarıgedik, 2004).

Çiftçiler, evcilleştirmenin başından günümüze kadar evcil hayvanları farklı çevre koşullarında bulundurmuş ve farklı özellikleri için de yapay seleksiyon uygulamışlardır. Bu nedenle farklı koşullara adapte olmuş farklı özellikte (verim, davranış ya da büyüklüğü farklı) hayvan grupları ortaya çıkmıştır. Kısaca 10.000 yıllık bir süre içinde evcil hayvanların gen havuzlarının şekillenmesinde göç, mutasyon, genetik sürüklenme olmasının yanında doğal ve yapay seçim de rol oynamıştır.

Herhangi bir genetik bilgi kaybolursa onu geri getirmek neredeyse imkânsızdır. Bu yüzden genetik erozyonu durdurmak ve hayvancılığın geleceğini korumak için gerekli önlemler alınmalıdır (FAO, 2006). Sığırların yaban atası yok olmuşken evcil koyunların yaban atası (*Ovis gmelinii*) Orta Doğu'da ayrı populasyonlar halinde bulunmaktadır (Rezaei ve ark., 2010). Anadolu'da, genetik olarak tanımlanmış hiç yapılmamış ve yakın tarihlerde (1960'larda) büyük bir dar boğazdan geçmiş (Arıhan, 2000) olan Anadolu Yaban Koyunu (*Ovis gmelinii anatolica*) populasyonu

mevcuttur. Bu populasyon İç Anadolu'da Konya Bozdağ'da bulunmakta olup Milli Parklar ve Av-Yaban Hayatı Genel Müdürlüğü tarafından korunmaktadır.

### 2.3. Y Kromozomunun Tarihçesi ve Özellikleri

Bilim insanları 1900'lü yıllarda, bazı türlerde cinsiyetin kromozomlar tarafından belirlendiğini tespit etmiş ve daha sonra memelilerde de cinsiyetin embriyonik gelişim sırasında kromozomlar tarafından belirlendiğini anlamışlardır (Tağa, 2008). Aynı yıllarda X ve Y kromozomlarının geçmişte tek bir atadan köken aldığı ve birbirleriyle uyumlu olan bir çift otozomdan evrimleştikleri ileri sürülmüştür (Tağa, 2008). X ve Y kromozomlarının geçmişte benzer olmalarıyla alakalı diğer bir kanıt ise, Y kromozomunun X ile rekombine olan bölgesindeki birçok genin, X kromozomu üzerindeki eşlerinin hala bulunuyor olmasıdır (Tağa, 2008).

Evrim sürecinin ve ırkların dağılımlarının araştırılmasında, yakın zamana kadar sadece anneden geçiş gösteren mitokondrial DNA'lar çalışılmıştır. Son yıllarda yapılan araştırmalar, Y kromozomunun da evrimleşme tarihi açısından oldukça bilgilendirici olduğunu ortaya koymuştur. Çünkü Y kromozomu, babadan oğula, oğuldan erkek toruna geçerken büyük ölçüde korunmuş olur. Her nesilde yapısına katılan zararlı ya da zararsız mutasyonlar türün babasal atasını ve coğrafi dağılımını araştırmada onu cazip kılmaktadır (Jobling, 2004).

Y kromozomunda bulunan genlerin bir kısmının X kromozomu üzerinde homologu olmadığı için paternal geçişinden dolayı babasal (paternal) tarihi izlememize olanak verir. Y kromozomu polimorfizm çalışmalarında, babalık tayininde, populasyonların tarihinde, coğrafi dağılımda ve ırkların köken araştırmasında, erkek soy ağacının belirlenmesinde ve tarihsel dönemlerde göç yollarının araştırılmasında kullanılmaktadır. Y kromozomu haplotip analizi özellikle mikrosatellit çeşitliliği ile haplogruplar içindeki varyasyonu (haplotipler) tanımlar ve populasyon ayırımında önem arz eder. Yaşamakta olan canlıları ve fosilleri inceleyerek bir türün evrimini çalışan paleontologlar gibi moleküler biyologlar da

DNA dizilerini inceleyerek kromozomların ve genlerin evrimini incelemektedirler (Tağa, 2008).

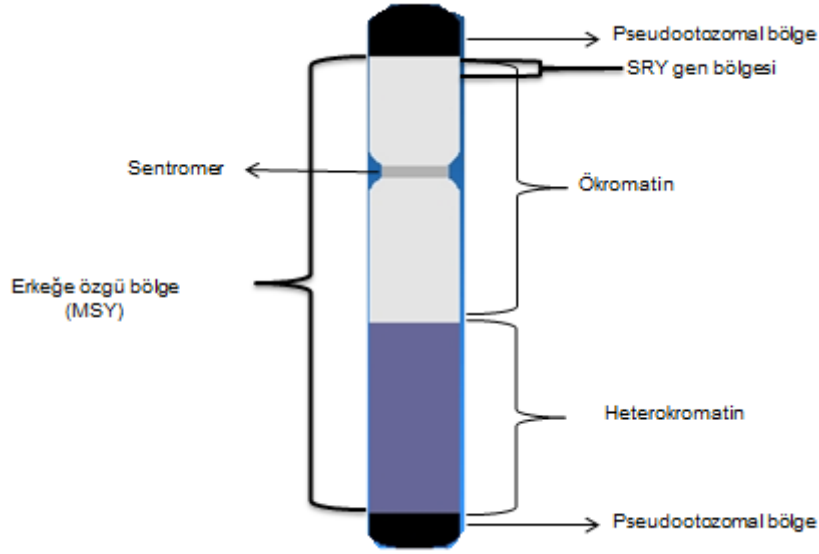
Memeli hayvanların çoğunda olduğu gibi koyunlarda da dişilik veya erkeklik heteromorfik bir kromozom sistemi tarafından belirlenmektedir (Aasen ve ark., 1990). Erkek bireyler heteromorfiktir yani cinsiyetin belirlenmesi Y kromozomunun bulunup bulunmamasına bağlıdır (Welshons ve ark., 1959).

Evcil koyunlardaki 54 kromozomun son çifti olan cinsiyet kromozomları, dişi bireylerde XX, erkeklerde ise XY biçimindedir. X kromozomu, Y kromozomundan daha büyük olup daha fazla genetik bilgi içermektedir.

Y kromozomu iki temel bölgeye sahiptir. Birinci bölge psödootozomal bölge (PAR, pseudoautosomal region) adını alır ve X kromozomu ile rekombinasyona girer. İkinci bölge ise erkeğe özgü bölge ( male- specific region of Y, MSY) olup X ve Y kromozomu arasında bir rekombinasyon olayının gerçekleşmediği bölgedir (Öner, 2010).

Psödootozomal bölgede X ve Y kromozomları arasında rekombinasyonun gerçekleşmesi ve bunun sonucunda bu bölgenin X kromozomuna ait genlerin kopyalarını bulundurması sebebiyle sadece erkek bireylerin döllere yaptığı katkının doğru bir göstergesi olarak kabul edilmemektedir (Burgoyne, 1998; Lahn ve ark., 1999). Y kromozomunun % 5'ini oluşturan bu bölge kromozomun kısa kolundaki (Yp) telomer uçta bulunan PAR 1 ve uzun kolundaki (Yq) telomer uçta bulunan PAR 2 bölgelerinin toplamından oluşmaktadır (Skaletsky ve ark., 2003).

Erkeğe özgü bölge (MSY) kromozom uzunluğunun % 95'ini oluşturur. Bu bölgede X ve Y kromozomları arasında herhangi bir rekombinasyonun olmaması ve genlerin rekombinasyonla karışma ihtimalinin bulunmamasından dolayı Y kromozomu ile ilgili yapılan çalışmalarda bu bölgeye ağırlık verilmiştir.



Şekil 2. 3. Y kromozomunun temel bölgelerinin şematize edilmesi (<http://www.genbilim.com>'dan uyarlanmıştır.)

Şekil 2.3'te Y kromozomunun şekli şematize edilmiş olup çalışmamızda araştırılan SRY bölgesinin MSY içinde olduğu görülmektedir.

#### 2.4. SRY (Sex Determining Region of Y) Bölgesi

Y kromozomunun kısa kolundaki SRY, MSY bölgesinde bulunur ve erkeğe özgü bir belirteçdir. İnsandaki SRY intron içermeyen ve yalnızca bir tek exon'a sahip 204 aminoasitlik bir protein kodlayan bir gen'dir. SRY'nin erkek cinsiyetini belirlenmesindeki özelliğini kazandıran DNA bağlayan (DNA-binding) ve DNA esneten (DNA-bending) adı verilen iki bölgeden oluşmasıdır (Giese ve ark., 1994; Pontiggia ve ark., 1994).

#### 2.5. SRYM18 Mikrosatellit Bölgesi

Mikrosatellitler, genom içerisinde mono-di-tri-tetra-penta nükleotid uzunluktaki dizilimlerden biri şeklinde ardışık olarak tekrarlanabilirler. Ökaryotların genomunda oldukça yüksek sayıda bu tekrarlardan bulunurken, prokaryotlarda daha

az frekanslarda bulunurlar. Bu tekrarlar her organizmada kendine özgüdür (Hoelzel, 1998).

SRYM18 mikrosatelit bölgesi ise sadece Y kromozomuna spesifik olup, Y kromozomu üzerinde MSY bölgesinde bulunur. Koyunlardaki bu bölgede TTTTG ve TG tekrarlı motifler tespit edilmiş olup, erkek bireyler arasında polimorfizm göstermektedir.

## 2.6. Koyunlarda Y Kromozomu İle İlgili Çalışmalar

Y kromozomuyla ilgili polimorfizm ilk defa 1985 yılında Casanova ve arkadaşları tarafından bildirilmiştir. İnsanda Y kromozomuna ait iki RFLP varyantının belirlenmesi, Y kromozomundaki genetik belirteçlerin evrimsel çalışmalardaki potansiyeli hakkında büyük umutlara yol açmıştır (Öner, 2010).

Koyunlarda Y kromozomundan hesaplanan genetik çeşitlilik oldukça düşüktür. Etkin populasyon büyüklüğü, gen bölgelerindeki genetik çeşitliliği etkileyen önemli faktörlerden birisi olup erkek bireylerdeki Y kromozomu bakımından nükleotid çeşitliliğini kısıtlayan bir kriterdir. Populasyondaki genetik çeşitliliği etkileyen diğer faktör ise seleksiyondur (Öner, 2010). Evcilleştirilen hayvanlarda, evcilleştirilme sürecinde kontrollü çiftleştirme yapılmakta ve bu nedenle de erkeklerin bir sonraki generasyonlara yapmış olduğu genetik katkı eşit olmamaktadır. Bunun sonucunda da çok sayıda dölü olan erkek bireyler yönünden etkin populasyon büyüklüğü oldukça daralmakta ve Y kromozomu açısından genetik çeşitliliğin azalmasına neden olmaktadır (Jobling ve ark., 1995).

Meadows ve arkadaşları (2004) koyunların Y kromozomundaki nükleotid çeşitliliğini çalışmışlardır. Bu çalışmada koyunun evrimi sırasında erkek bireylerin katkısını bulabilmek için, Y kromozomunun homoloğu olmayan (MSY) kısmına ait tek nükleotid polimorfizmi (Single Nucleotid Polymorphism=SNP) için dizi analizi yöntemini kullanmışlardır. 7 ırka ait 14 bireyi karşılaştırmak için, Y kromozomunun MSY bölgesindeki toplamda 4380 bp'lik, 5 gene ait 9 fragmenti DNA dizi analizi



yaparak incelemiştir. Dizi eşleştirmelerinde, SRY geninde bir A/G'li SNP bölgesi tespit edilmiş ve beklenen nükleotid çeşitliliğinin diğer türlere göre daha az olduğu görülmüştür (Meadows ve ark., 2004).

Paiva ve arkadaşları (2006) Brezilya koyunlarında SRY bölgesinde SNP noktalarını araştırmışlar ve A-oY1 ve G-oY1 allellerinin her ikisini de gözlemiş olup A-oY1 allelini popülasyonunlarda yaygın olduğunu fakat yapağı verimleri bakımından yüksek olan ticari ırklarda G-oY1 allel frekansının daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir (Paiva ve ark., 2006).

Meadows ve arkadaşları (2006) koyunlarda Y kromozomu için genetik belirteçler kullanarak evcil ve yaban koyunların analizini yapmışlardır. Analizlerinde SRY bölgesindeki SNP-oY1 alleli bakımından bazı koyun tür ve alttürlerini incelemiştir. Farklı ülkelere ait 458 birey evcil koyunu ve 61 birey yaban koyununda A-oY1 alleleline rastlanmış ve % 71.4 frekansta olduğunu tespit etmişlerdir. A-oY1 allelinin atasal allel olduğunu ve G-oY1 allelinin ise mutasyonla oluştuğunu bildirmişlerdir. Analizi yapılan diğer lokus ise SRYM18 mikrosatellit bölgesidir. Bu lokus *Ovis canadensis* ve *Ovis dalli*'nin diğer evcil koyunlardan ve *Ovis musimon*'dan farklı olduğunu ortaya çıkarmıştır. SRY ve SRYM18 verilerine dayanarak erkek bireylere ait 11 haplotip belirtmişlerdir. Her bir haplotipin coğrafik dağılımlarını araştırıp H6'nın çok yaygın bir şekilde evcil koyun ırklarında olduğunu açığa çıkarmışlardır. Diğer haplotiplerin dağılımının ise daha sınırlı olduğu ve daha az yayılış gösterdiği sonucuna varmışlardır (Meadows ve ark., 2006).

Ouna ve arkadaşları (2006) Afrika kökenli çeşitli koyun ırklarına ait bireyleri kullanarak yaptıkları çalışmanın sonucu Meadows ve arkadaşlarının (2006) önerileri ile uyumlu bulunmuştur. Çünkü Ouna ve arkadaşları 2006'da sadece A -oY1 alleleline rastlamışlardır (Ouna ve ark., 2006).

Meadows ve arkadaşları (2009) *Ovis canadensis*, *Ovis dalli*, *Ovis vignei*, *Ovis ammon*, *Ovis musimon* gibi yaban türlerin yanı sıra evcil tür olan *Ovis aries*'te bulunan SRY genindeki 5' promotor bölgesini sekanslanmışlardır. Bu çalışmada 7

adet yeni SNP (oY2 - oY8 ) bölgesi ilk defa gözlemlenmiş olup, bu bölgelerin türler arasında polimorfik olduğu fakat tür içinde polimorfik olmadığı tespit edilmiştir. Sekans ve fragment analizinde SRYM18 adlı mikrosatellit bölgesinin karmaşık tekrarlanan (TTTTG, TG) kısımlara sahip olup, 2 nükleotidli TG motifinin türler arasında varyasyon gösterdiği anlaşılmıştır. Ayrıca SNP ve mikrosatellit verilerinden önceden tespit edilmeyen 6 haplotip daha tanımlanmıştır. Analizler *Ovis musimon* türünün tek bir haplotipe sahip olduğunu bunu da evcil koyunlarla paylaştığını ve *Ovis aries* türünün diğer yaban koyunlarından serbest geliştiğini ortaya çıkarmıştır (Meadows ve ark., 2009).

Öner (2010) çalışmasında, Türkiye'deki 10 yerli koyun ırkında Y kromozomundaki genetik çeşitliliği çalışmıştır. Bu çalışmada SRY, DBY ve AMELY bölgeleri dizi analizi yöntemiyle, SRYM18 mikrosatellit bölgesinin ise fragment uzunluklarını tespit ederek inceleme yapmıştır. SRY, DBY ve AMELY bölgelerinde baz değişikliği olmamasına rağmen, SRYM18 mikrosatellit bölgesinde genetik varyasyon tespit etmiştir. Böylece 3 farklı SRYM18 alleli bulmuş (141, 143 ve 145 bç) ve bu üç allel dağılımının ise yağlı kuyruklu koyun ırkları ile ince kuyruklu koyun ırkları arasında farklı olduğunu tespit etmiştir. Ayrıca ırklar arasında en yaygın olan allelin 143 bç olduğu, 145 bç allelinin ise sadece yağlı kuyruklu koyun ırklarında ve düşük frekanslı olduğunu tespit etmiştir (Öner, 2010).

Ferencakovic ve arkadaşları (2012) Doğu Adriyatik koyun ırkına ait 159 evcil koyun ve 21 Mouflon bireylerinde yaptıkları çalışmada SRY bölgesinde iki allel tespit etmişlerdir. Bu allellerden A-oY1 allelinin daha yüksek frekansta olduğunu ve G-oY1 allelinin ise düşük frekansta olduğunu bulmuşlardır. Diğer taraftan SRYM18 bölgesi analizlerini de yaparak 5 farklı haplotip gözlemlemişler ve sırasıyla H6 haplotipinin % 89,3 ile en yüksek frekansta olduğunu; H8 haplotipinin % 5; H18 haplotipinin % 3,1; H7 haplotipinin % 1,3 ve H5 haplotipinin ise % 1,3 olduğunu tespit etmişlerdir. SRY ve SRYM18 bölgelerinin dizi analizleri sonuçlarına göre Ferencakovic ve arkadaşları (2012) bilinen 17 haplotipe ek olarak yeni bir haplotip (H18) daha tespit etmişlerdir (Ferencakovic ve ark., 2012).

### 2.7. Mitokondriyal DNA ve Özellikleri

Mitokondriyal DNA (mtDNA), evcilleştirme tarihini takip etmede kullanılan önemli bir belirteçtir. Özellikle mtDNA kontrol bölgesi yüksek evrimleşme hızına sahip olduğundan dolayı yakın zamanda birbirlerinden ayrılmış türlerin karşılaştırmasında kullanılabilir. Ayrıca mtDNA rekombinasyona uğramadığı için mitokondriyal diziler arasındaki farklar sadece mutasyonlar sonucu ortaya çıkmaktadır. Ancak, anneden kalıtıldığı için, mtDNA'nın sadece annesel kökenin tarihi hakkında bilgi elde edilir. Bununla beraber bu belirteçten elde edilen veriler bütün genomik çeşitliliğin evrimini yorumlamakta çok fazla kullanılmaz. Çünkü mtDNA tek bir gen gibi davranır ve kendi evrimsel dinamiklerine sahiptir (Bruford ve ark., 2003).

Koyun mtDNA'sı yaklaşık olarak 16. 616 baz çifti uzunluğunda olup, bireyden bireye farklı sayıda olabilen 75 baz çifti uzunluğundaki bitişik tekrarların varlığı nedeniyle değişiklik gösterebilir (Hiendleder ve ark., 1998a).

### 2.8. Koyunlarda mtDNA İle İlgili Bazı Çalışmalar

Günümüze kadar koyun mtDNA'sı üzerinde yapılan çalışmalar 5 farklı mitokondriyal haplogrubun varlığını ortaya koymuştur. Bunlar A, B (Wood ve ark., 1996; Hiendleder ve ark., 1998b), C (Guo ve ark., 2005; Pedrosa ve ark., 2005; Bruford ve ark., 2006), D (Tapio ve ark., 2006) ve E (Meadows ve ark., 2007) haplogruplarıdır. Bunlardan A, B ve C (Guo ve ark., 2005; Bruford ve ark., 2006) evcil koyunlarda genel olarak çok gözlenen haplogruplardır. Bu üç haplogrubun coğrafik olarak yayılışları değişiklik göstermektedir. A haplogrubu Asya'da yetiştirilen koyun ırkları arasında yaygın bir şekilde gözlemlenirken, B haplogrubunun Avrupa'daki koyunlarda, C haplogrubunun ise Ortadoğu ve Asya'daki koyun ırklarında yaygın olduğu tespit edilmiştir (Guo ve ark. 2005).

Öner, (2010) Türk koyunlarından 9 ırk için mtDNA kontrol bölgesinin dizi analizlerini gerçekleştirmiş ve yerli koyun ırklarında yüksek bir haplotip çeşitliliği

tespit etmiştir. Bu çalışmada yerli koyun ırklarında en çok gözlenen A,B ve C haplogruplarının yanında tek bir bireyde gözlenen E haplogrubun varlığını da gözlemlemiştir (Öner, 2010).

Demirci, (2012) 13 Türk koyun ırklarından 628 bireyin mtDNA'ya dayalı haplogrupları (HPG), ve bu bireylerin arasından seçilmiş 240 bireyin mtDNA kontrol bölgesi (CR) sekanslarını kullanarak araştırmıştır. Ayrıca, koyunun ilk evcilleştirme safhaları senaryosuna katkı sağlamak için 30 Anadolu Yaban Koyunu (*Ovis gmelinii anatolica*) mtDNA CR dizilimini de elde etmiştir. Bu çalışmada Türk koyun ırklarının bütün haplogrupları (HPG A-E) içerdiğini göstermiştir. *Ovis gmelinii anatolica* örneklerinde ise iki haplotip gözlemlemiştir. Gözlemiş olduğu bu sınırlı çeşitliliğin, izolasyon, parçalanma, parçaların yok olması ve darboğazın sonucu olabildiğini savunmuştur. *Ovis gmelinii anatolica*, evcil koyunu meydana getiren yaban koyunlarının evrimleşmiş soylarının bir parçası olabildiği ile ilgili bir fikir ortaya çıkarmıştır (Demirci, 2012).

## 2.9. Mikrosatellit Belirteçleri

Genomda 1-6 baz uzunluğunda, çoğunlukla 10-30 kopya olarak tekrar eden bölgelere kısa bitişik tekrarlar (short tandem repeats-STR) veya mikrosatellit bölgeleri denir. Mikrosatellit bölgeleri, Mendel kalıtımı gösterirler ve DNA'nın gen kodlayan bölgelerine çok yakın olmadıkları sürece seçilime uğramazlar. Bu nedenle genomun genetik çeşitliliği hakkında sadece zamana ve genetik sürüklenmeye bağlı tarafsız bilgi verirler (Jobling ve ark., 2004).

Bir türe ait popülasyonları ya da evrimsel olarak birbirine yakın olan canlı gruplarının karşılaştırılmasında mikrosatellitler kullanılmaktadır. Ayrıca ırklara ait popülasyonlarda yakın zamanda meydana gelmiş bir olayın izlerinin aranacağı durumda en fazla kullanılan genetik işaretlerden biri mikrosatellitlerdir ( Bruford ve ark., 2003).

### 2.10. Koyunlarda Otozomal Mikrosatellit İle İlgili Bazı Çalışmalar

Koban (2004) çalışmasında 11 Türk koyun ırkı ve yabancı bir ırkı temsil eden Hamdani'ye ait örneklerle toplam 423 bireyde 5 mikrosatellit ile çalışarak mevcut genetik çeşitliliği tespit etmiştir. Avrupa ırklarının çoğuna genetik açıdan en yakın bulunan ırkın Kıvırcık olduğunu ve ayrıca Türk ırklarında Avrupa ırklarından farklı ve yüksek bir genetik çeşitliliğin olmadığını tespit etmiştir (Koban, 2004).

Bulut (2004) çalışmasında 9 ırka ait toplam 226 bireyde 3 mikrosatellit lokusunu çalışmıştır. Bu çalışmada Kıvırcık ve Dağlıç populasyonlarında populasyon içi ve populasyonlar arası genetik çeşitliliğinin yüksek olduğunu tespit etmiştir (Bulut, 2004).

Lawson-Handley ve arkadaşları (2007) çalışmasında 29 evcil Avrupa koyun ırkı ve 1 yaban koyunu (*O. gmelini musimon*) olmak üzere toplam 820 bireyde 23 mikrosatellit lokusu kullanarak Avrupa koyun ırklarının genetik yapısını çalışmışlardır. Bu koyunlarda coğrafik ve diğer nedenlerden dolayı bir izolasyon gerçekleşmesi nedeniyle heterozigot oranının düşük olduğunu tespit etmişlerdir (Lawson-Handley ve ark., 2007).

Peter ve arkadaşları (2007) çalışmasında 12 Avrupa ülkesi ve 3 Orta Doğu ülkesinden topladığı 57 koyun ırkına ait toplam 1748 örnekte 31 mikrosatellit lokusu çalışmışlardır. Türkiye'den Morkaraman, Akkaraman, Dağlıç ve Karayaka örneklerini almışlardır. Çalışmada Morkaraman ve Akkaraman ırklarının Orta Doğu ırklarına, Dağlıç ve Karayaka ırklarının ise Avrupa ırklarına daha yakın olduğunu tespit etmişlerdir (Peter ve ark., 2007).

Budak Yıldırım (2009) çalışmasında Türkiye'de yaşayan 6 yerli koyun ırkında toplam 86 bireyde ırk içi ve ırklar arasındaki genetik polimorfizm 6 mikrosatellit lokusu ile analiz etmiştir. Sonuç olarak, dünyadaki birçok koyun ırkının atasının anavatanı olan Anadolu'nun mevcut koyun ırklarının öncelikli olarak korunmasının gerekli olduğunu vurgulamıştır (Budak Yıldırım, 2009).

Doğan (2009) çalışmasında 7 yerli Türk koyun ırkı arasındaki ve ırklar içerisindeki genetik çeşitliliği 20 mikrosatellit lokusu ile çalışmış ve bu çalışmanın sonucunda Türk ırkları içerisinde yüksek genetik çeşitlilik gözlemlenmiştir. Diğer taraftan ırkların gen havuzlarını da tespit ederek birbirleriyle oldukça kesiştiklerini ve bunun nedenlerinden biri olarak ta ırklar arasındaki genetik alış-verişin olduğunu önermiştir (Doğan, 2009).

Acar (2010) çalışmasında 13 Türk koyun ırkının ırk içi ve ırklar arası genetik çeşitliliği, 20 mikrosatellit lokusu kullanılarak incelemiştir. Gerçekleştirdiği analizler temel büyük ırklardan Dağlıç, Karayaka ve Morkaraman ırklarının yüksek derecede karışmış olduğunu ancak Kıvırcık, Akkaraman ve İvesi ırklarının göreceli olarak bu ırklardan ayrılmış olduğunu göstermiştir. Diğer taraftan küçük ırklardan Hemşin, Sakız, Çine Çaparı, Gökçeada ve Karagül ırklarının farklılıkları diğerlerine göre daha çok olduğunu tespit etmiştir (Acar, 2010).

Açan (2012) çalışmasında 13 Türk Koyun ırkının örneklerini, tek tek ve karşılaştırmalı olarak, 19 mikrosatellit lokusunu baz alarak incelemiş ve çeşitli istatistiksel yöntemler uygulayarak karakterize etmiştir. Düşük  $F_{ST}$  değerleri, yüksek ortalama allel sayısı, allelik zenginlik, FCA ve Structure analizleri yerli Türk koyun ırkları arasındaki karışım derecesini göstermiştir. İvesi ve Sakız ırkları en farklı ırklar olarak öne çıkmış ve diğer ırklarda muhtemel dışarıdan gen katkısı olduğunu tespit etmiştir. Çalışmasının ikinci bölümünde ise genetik karakterleri temel alarak, koruma çalışmalarında önceliklendirme yapmıştır. Dört farklı yaklaşım kullanarak, İvesi, Sakız, Karayaka, Kıvırcık, Hemşin ve Orta Anadolu'dan bir ırkın korunması ile ideal genetik çeşitliliğin korunabileceği kararına varmıştır. Çalışmanın son kısmında, ırkların göreceli soyu tükenme tehlikeleri ve değerlerini de tanımlamış ve bunları kullanılarak faydalarını değerlendirmiştir. Verim özellikleri, saha uzmanları tarafından cevaplanan anketlerle toplamış ve genetik etmenlerle birlikte, değişik senaryolarda ırkların faydalarını ölçmekte kullanmıştır. Bu yaklaşımda Norduz, Akkaraman, Sakız, İvesi ve Hemşin ırklarının korunan ırklar kümesinde olmasına karar vermiştir (Açan, 2012).

### 3. MATERYAL ve YÖNTEM

Sunulan bu doktora tezinin deneysel aşaması, analizlerin yapılması ve sonuçların yorumlanması Orta Doğu Teknik Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyolojik Bilimler Bölümü Populasyon Genetiği Laboratuvarında (147 numaralı Laboratuvar) gerçekleştirilmiştir.

#### 3.1. Materyal

Çalışmamızda Türkiye'nin çeşitli bölgelerinde yetiştirilen  $2n=54$  kromozoma sahip *Ovis aries* koyun türüne ait ırkların (Gökçeada, Kıvırcık, Merinos, Sakız, Karayaka, Dağlıç, Norduz, Akkaraman, Morkaraman, Hemşin, İvesi, Çineçaparı, Herik, Karagül) ve Anadolu Yaban Koyunu (*Ovis gmelinii anatolica*) bireylerinden alınan kan örneklerinden izole edilen DNA'lar materyal olarak kullanılmıştır. İrkların ve *Ovis gmelinii anatolica*'nın örneklendiği yerler harita üzerinde gösterilmiştir (Şekil 3.1). Gökçeada, Kıvırcık, Sakız, Karayaka, Dağlıç, Norduz, Akkaraman, Morkaraman, Hemşin, İvesi, Çineçaparı, Herik, Karagül ırklarının hayvan örneklerinin seçimi, kan alınması ve DNA izolasyonu ulusal bir proje olan ve kısaltılmış adı TÜRKHAYGEN-I (<http://www.turkhaygen.gov.tr>) olan proje çerçevesinde toplanmıştır. Projede çalışılmayan, Bandırma Koyunculuk Araştırma Enstitüsü'nden gelen Karacabey Merinos örneklerinin de DNA izolasyonu sunulan tez çerçevesinde gerçekleştirilmiştir. Ayrıca Anadolu Yaban Koyun (*Ovis gmelinii anatolica*) bireylerinden kan örnekleri T.C. Orman ve Su İşleri Bakanlığı, Doğa Koruma ve Milli Parklar Genel Müdürlüğü tarafından 2009'da 1 erkek bireyden ve 2010'da ise 3 erkek bireyden alınmış ve DNA'ları ODTÜ Fen-Edebiyat Fakültesi Biyolojik Bilimler Bölümü Laboratuvar 147'de Sevgin DEMİRCİ tarafından izole edilmiştir. 2013 Mart ayında ise 12 erkek bireye ait DNA'lar daha çalışmamıza dahil edilmiştir. Bu örnekler ise TÜBİTAK Marmara Araştırma Merkezinde görevli olan Dr. Evren KOBAN tarafından laboratuvarımıza gönderilmiştir.



Şekil 3.1. Örnekleme yapılan koyun ırklarının ve *Ovis gmelinii anatolica*'nın örnekleme yerlerinin Türkiye haritasında gösterilmesi

İrklarla ilgili aşağıdaki bilgiler Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü tarafından hazırlanmış olan Aralık 2009 kataloğundan ([http://www.tagem.gov.tr/yayin/tagem\\_ehgk\\_katalog.pdf](http://www.tagem.gov.tr/yayin/tagem_ehgk_katalog.pdf)) özet şeklinde sunulmuştur.

### 3.1.1. Karayaka koyunu

Karadeniz bölgesinin kıyı ve dağlık kesimleri ve Orta Karadeniz'in İç Anadolu ile kesişen Tokat ve Amasya çevresinde yetiştirilmektedir. Bu koyun ırkının vücudu küçük yapılı olup beyaz renklidir. Baş ve boyun bölgesinde çeşitli büyüklüklerde kahverengi ve siyah lekeler rastlanmaktadır. İnce olan kuyrukları yağsız ve uzundur. Tırnak ve bacak yapısı sağlam olduğu için engebeli ve eğimli meralarda oldukça hızlı hareket edebilirler (Anonim 2009).

### 3.1.2. Gökçeada koyunu

Yetiştirildiği yerler başta Gökçeada olmak üzere, Çanakkale ve Kuzey Batı Anadolu'dur. Vücutları küçük yapılı ve beyaz olmasının yanısıra göz, ağız, burun ucu, kulak ve ayaklarında siyah lekeler görülmektedir. Kuyrukları ince, uzun ve yağsızdır. Erkekler bireyler kuvvetli spiral boynuzlu, dişiler bireyler ise boynuzsuzdur. Yaşama gücü oldukça yüksek olduğundan sert iklimli bölgelerde de yetiştirilebilir (Anonim 2009).



### **3.1.3. Kıvırcık koyunu**

Trakya, Marmara ve Kuzey Ege Bölgesi'nde yetiştirilen bu ırkın et ve süt verimi oldukça iyidir. Vücut yapıları genellikle beyaz olup, siyah ve alacalıta görülebilir. Erkekler bireyler öne doğru spiral boynuzlu, dişi bireyler ise boynuzsuzdur. Kuyruk yağsız, uzun ve ince olup, üzeri uzun kıllarla örtülüdür. Sürü içgüdüğü ve engebeli arazilerde uzun mesafeleri yürüme yetenekleri iyidir. Adaptasyon yeteneği oldukça yüksektir. Sağlam yapılı ve kanaatkar olmasından dolayı kötü çevre koşullarına dayanıklıdır (Anonim 2009).

### **3.1.4. Karacabey merinosu**

Marmara Bölgesi, ağırlıklı olarak da Güney Marmara'da yetiştirilen bu ırk, Kıvırcık ile Alman Yapağı Et Merinosu melezlenmesiyle elde edilmiş olup % 90 üzerinde Merinos genotipi taşımaktadır. Vücut; beyaz renkte, geniş, derin, yuvarlak yapılı, orta uzunlukta, sırt düzgün ve geniş, sağrı geniş ve az düşük, bacaklar orta uzunlukta ve iriliktir. Erkek bireyler % 10-15 boynuzlu, dişi bireyler ise boynuzsuzdur. Kuyrukları yağsız, uzun ve incedir. Bulunduğu bölge şartlarına uyumlu ve hastalıklara dirençlidir (Anonim 2009).

### **3.1.5. Sakız koyunu**

Çeşme, İzmir, Aydın, Marmara ve Ege Sahilleri yetiştirilmektedir. Vücutları dar ve yüksek olup beyaz renktedir. Fakat göz, ağız, burun ucu, kulak ve ayaklarda siyah lekeler bulunmaktadır. Kuyruklarının dip kısmı az yağlı, üçgen görümlü, uç kısmı ise yağsız, ince ve uzundur. Erkek bireyleri kuvvetli spiral boynuzlu olup dişi bireylerinde boynuz bulunmamaktadır. Erken gelişen bir ırk olmasına rağmen adaptasyon yetenekleri düşüktür (Anonim 2009).

### 3.1.6. Hemşin koyunu

Yetiştirildiği yerler Artvin ve Rize illeridir. Vücutları renk olarak siyah, kahverengi ve kirli beyaz olabilmektedir. Beyaz renkli olanlarda göz kenarları, alın ve bacaklarda siyah lekeler bulunmaktadır. Çoğunlukla boynuz bulunmaz. Kuyruk yapısı tek parça olup dip kısmı geniş, tarsal bölgesine doğru daralır ve uç kısmında ince bir parça bulunmaktadır. Yerli ırklar içinde en uzun kuyruk yapısına sahiptirler. Engibeli ve kayalık bölgelerde yürüme ve tırmanma yetenekleri oldukça gelişmiştir. Dayanıklılık ve kötü çevre koşullarına adaptasyon yetenekleri de yüksektir (Anonim 2009).

### 3.1.7. Herik koyunu

Amasya ili ve ilçelerinde yetiştirilmektedir. Akkaraman ve Morkaraman koyunlarının, Karayaka koçlarıyla melezlenmesiyle elde edilmiş yarım yağlı kuyruklu ve kaba yapağılı bir ırktır. Vücut ve baş orta büyüklükte olup, boyun ve bacaklar orta uzunluktadır. Vücudun yapağısız kısımları olan; baş ve bacaklarda siyah-kahverengi leke ya da benekler görülür. Kuyruk vücuda bağlantı noktasında geniş, aşağıya indikçe daralır. Kuyruğun geniş kısmı genel olarak düz olup, bazılarında iki parçalı yapıyı andıran oluk görülür. Kuyruk ucu genel olarak yağlıdır. Genel olarak erkekler boynuzlu dişiler boynuzsuzdur. Sıcağa karşı duyarlı olup, yağışlı ve nemli hava şartlarına uyum sağlamıştır (Anonim 2009).

### 3.1.8. Akkaraman koyunu

Orta Anadolu ve komşu bölgeleriyle kesiştiği yerlerde yetiştirilmektedir. Yerli ırklarımız içinde iri yapılı olarak tanımlanmaktadır. Vücut renkleri genel olarak beyazdır. Baş, burun, kulak ve ayaklarda siyah lekeler bulunur. Kuyruk arkadan bakıldığında üst üste oturmuş üç parça görünümündedir. Dipte geniş ve büyük bir yağ kitlesi, onun üzerinde kalp şeklinde daha küçük ve yağlı ikinci bir parça, en üstte ise yağsız, kıllı ve aşağıya sarkan uzun kısım bulunmaktadır. Erkek bireylerinde küçük yapılı ya da tam gelişmemiş boynuz bulunabilir. Dişi bireyler ise

boynuzsuzdur. Kötü çevre şartlarına ve hastalıklara dayanıklıdır. Farklı ve değişken iklim koşullarında yaşayabilme yeteneğine sahiptir (Anonim 2009).

### 3.1.9. Dağlıç koyunu

İç Batı Anadolu Bölgesinde yetiştirilmekte olan bu ırkın vücut yapısı küçük yapılıdır. Genellikle beyaz renkte olup göz ve ağız etrafında, kulaklarda ve bacaklarda siyah veya koyu kahverengi lekeler görülebilir. Gövde de siyah veya koyu lekeler görülebilir Erkek bireyler genellikle boynuzlu, dişi bireyler ise boynuzsuzdur. Kuyruk yağlı, yassı, geniş ve kalp şeklinde aşağı doğru sarkar. Elverişsiz bakım ve besleme koşullarında yaşama gücü yüksek olup adaptasyon yeteneği iyidir (Anonim 2009).

### 3.1.10. Çineçaparı koyunu

Yetiştirildiği yerler Aydın ili, Çine ve Bozdoğan ilçeleri ve Madran Dağı'dır. Vücut yapıları orta büyüklükte olup, baş vücuda göre biraz küçük, kulaklar orta büyüklükte ve sarkıktır. Vücut genellikle bej veya açık gri renkte, baş, kulaklar, bacaklar ve karın altı kahverengiden siyaha kadar farklı tonlardaki renkle ya da bu renkleri içeren lekelerle kaplıdır. Erkek bireyler güçlü spiral boynuzlu, dişi bireyler ise çoğunlukla boynuzsuzdur. Yağlı kuyruklu olup diğer yağlı kuyruklu yerli koyun ırklarından daha toplu bir kuyruk yapısına sahiptir. Kuyruk ucu ince ve içe kıvrıktır. Oldukça kanaatkar, hastalıklara ve kötü çevre koşullarına dirençlidir (Anonim 2009).

### 3.1.11. İvesi koyunu

Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde yetiştirilen bir ırktır. Vücutları sağlam ve orta yapılı olup beyaz krem renklidir. Baş, kirli sarı-kahverengi, siyah ve beyaz olmak üzere üç farklı renkte olabilir. Erkek bireylerde boynuzlar geriye, aşağıya doğru ve helezoni yapıdadır. Boynuzsuz ve hilal şeklinde boynuzlulara da rastlanır. Dişi bireylerde %10 oranında zayıf boynuz ve koç boynuzluluk görülür. Yağlı kuyruklu durlar. Sıcak ve kurak iklim koşullarına çok iyi uyum sağlamışlardır. Bu

koşullarda bile uzun mesafeleri yürüyebilirler. Değişik çevrelere uyum yeteneğinin yüksek ve sürü içgüdüsünün gelişmiş olması, İvesi'lerin diğer sütçü ırklara üstünlüğü olarak kabul edilmektedir (Anonim 2009).

#### **3.1.12. Morkaraman koyunu**

Doğu Anadolu Bölgesi'nde yetiştirilen bu ırkın vücut yapısı sağlam ve iridir. Vücut rengi kıızıdan mora kadar değişmekte olup göz, ağız ve burun etrafı daha açık, baş ve ayaklar vücuda nazaran daha koyu renklidir. Boyun uzun, göğüs dar ve bacaklar yüksektir. Kulak büyük, enli, sarkık ve yana doğru yatıktır. Baş vücuda nazaran uzun ve öne doğru incelmıştır. Erkek bireyler genellikle boynuzludur. Boynuzlar büyük ve helezonidir, dişi bireyler ise zayıf boynuzlu veya boynuzsuz olabilir. Yağlı kuyrukludur. Yaşama gücü ve kötü çevre koşullarına adaptasyon yetenekleri yüksektir. Soğuğa karşı dayanıklıdır. Yağlı kuyruk, uzun ve yetersiz kış besleme döneminde enerji kaynağı olarak kullanılmakta, bu koşullarda yaşam garantisi sağlamaktadır (Anonim 2009).

#### **3.1.13. Norduz koyunu**

Yayılış alanı Van ili Gürpınar ilçesi Norduz Bölgesi'dir. Vücutları yüksek yapılı olup renkleri beyazdır. Beyazdan sonra kül rengi çoğunlukta olup az miktarda gri beyaz ve kahverengi beyaz renkli olanlarına da rastlanmaktadır. Vücudun çeşitli yerlerinde özellikle başta siyah lekeler görülür. Erkek bireyler boynuzlu, dişi bireylerin ise yaklaşık yarısı boynuzludur. Yağlı kuyrukludur. Kuyruk üç parçalı olup üçüncü parça, birinci parçadan uzun ve aşağıya doğru sarkar. Yetiştirildiği bölgede dayanıklılık, yaşama gücü ve adaptasyon yeteneği yüksektir (Anonim 2009).

#### **3.1.14. Karagül koyunu**

Tokat ili ve çevresinde yetiştirilen bu ırkın vücut yapısı küçük olup, baş orta büyüklükte, boyun kısa ve kalın, bacaklar orta uzunluktadır. Genellikle vücut rengi siyahtır. Siyah dışında kahverengi, gri ve beyaz olanları da görülebilir. Erkek bireyler

boynuzlu dişi bireyler ise genel olarak boynuzsuzdur. Yağlı kuyrukludur. Yetersiz çevre şartlarına dayanıklıdır. Hastalıklara dirençlidir. Bozkır iklimi ve kurak şartlara iyi adapte olmuştur (Anonim 2009).

Deney aşamalarında belirteçlerin ırkların kuyruk tipleri ile ilişkilendirilmesi sorgulanacağı için çalışmada kullanılan ırklar ve kuyruk tiplerini özetleyen bilgiler Çizelge 3.1’de verilmektedir.

Çizelge 3.1. Y kromozomu çalışmasında materyal olarak kullanılan evcil koyunların kuyruk şekline göre sınıflandırılması ve birey sayısı

<b>İnce kuyruklu koyun ırkları</b>	
<b>İrklar</b>	<b>Birey Sayısı</b>
Karayaka	15
Gökçeada	16
Kıvırcık	16
Merinos	12
<b>Yarı yağlı kuyruklu koyun ırkları</b>	
Sakız	15
Hemşin	14
Herik	11
<b>Yağlı kuyruklu koyun ırkları</b>	
Akkaraman	11
Dağlıç	10
Çineçaparı	12
İvesi	7
Morkaraman	9
Norduz	7
Karagül	11
<b>Toplam</b>	<b>166</b>

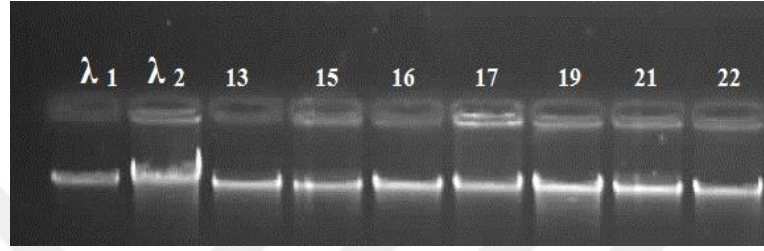
Çizelge 3.1’de materyal olarak kullanılan evcil koyunların sayısı belirtilmiş olup, buna ilaveten 16 adet Anadolu Yaban Koyunu (*Ovis gmelinii anatolica*) örneği de kullanılmıştır.

### 3.2. DNA İzolasyonu

Evcil koyun ırklarına ve *Ovis gmelinii anatolica*'ya ait erkek bireylerden alınan kandan DNA izolasyonu Sambrook ve ark. (1989)'a göre gerçekleştirilmiş olup, DNA kandan fenol kloroform izoamilalkol (25:24:1) ekstraksiyon yöntemi ile izole edilmiştir. Bu yöntemde aşağıdaki yol izlenmiştir.

1. Ortalama 10 ml olarak alınan kan örnekleri K<sub>3</sub> EDTA'lı (0,5 ml 0,5 M'lık – EDTA pH: 8.0) tüplere konulup, kullanılıncaya kadar -20 °C'de saklanmıştır.
2. 10 ml olarak alınan kan örnekleri, 50 ml'lik falkon tüplere konulur, sonra kırmızı kan hücrelerinin parçalanması için (2X) Lizis çözeltisi ile 50 ml'ye tamamlanır.
3. Tüpler ters düz edilmek koşuluyla 10 dakika karıştırılır ve daha sonra tüpler 3000 rpm'de +4 °C'de 10 dakika santrifuj edilir.
4. Daha sonra süpernatant dökülür ve sonra pelet 3 ml NaCl / EDTA solusyonu ile vorteks cihazında karıştırılır.
5. Üzerine 0,3 ml % 10'luk SDS (Sodium Dodecyl Sulfate) ve 150 µl Proteinaz K (10 mg / ml) konulduktan sonra 55 °C'de 3 saat inkübasyona bırakılır.
6. İnkübasyondan sonra tüplere 3 ml fenol konulur ve 3000 rpm'de (devir / dakika) +4 °C'de 10 dakika santrifuj edilir.
7. Üst faz bir başka tüpün içerisine alınır ve üzerine 3 ml fenol:kloroform izoamil alkol (25:24:1) eklenerek 3000 rpm'de +4 °C'de 10 dakika santrifuj edilir.
8. Daha sonra üst faz alınarak yeni bir cam tüpün içerisine aktarılır. Üzerine 1 ml 3 M Sodyum Asetat (pH: 5.2) ve 2 katı kadar saf alkol eklenir.
9. DNA elde edilmiş olur. İçerisinde 500 µl Tris – EDTA (pH: 8.0) solusyonu bulunan 1,5 ml'lik ependorf tüplere konulur ve -20 °C'de muhafaza edilir.
10. DNA izolasyonu aşamasından sonra DNA çözeltisinin kullanılacak olan miktarı +4 °C'de tutulurken geri kalan kısmı -20 °C'de saklanır (Özkan, 2005).

% 0,8'lik agaroz jeldeki kuyulara 20 ng/ $\mu$ l ve 50 ng/ $\mu$ l Lamda ( $\lambda$ ) DNA'lar ile izolasyonda elde edilen DNA'lar konularak 100 V elektrik akımında 30 dakika yürütülmüştür. Etidyum Bromid (Etidium Bromide) ile boyama yapıldıktan sonra DNA molekülleri ultraviyole (UV) ışık veren Vilber Lourmat CN-3000 görüntüleme cihazında görüntülenerek karşılaştırma yapılmıştır. DNA'ları yoğun olanlar sulandırılarak ayarlanmıştır.



Şekil 3.2. Morkaraman ırkına ait bireylerin genomik DNA örnekleri ( $\lambda_1=20\text{ng}/\mu\text{l}$ ,  $\lambda_2=50\text{ng}/\mu\text{l}$ )

Şekil 3.2'de Morkaraman ırkına ait bireylerin genomik DNA jel fotoğrafı görülmektedir. Tüm ırklara ait örnekler bu şekilde Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) yapılmadan önce  $\lambda$  DNA'lar ile karşılaştırılmış ve yoğunluk kriterleri dikkate alınarak her birey için ayrı bir DNA miktarı ile PZR yapılmıştır.

### 3.3. Genetik Belirteçler

#### 3.3.1. Y kromozomu belirteçleri

Sunulan çalışmada Y kromozomunda bulunan SRY ve SRYM18 lokusları çalışılmıştır. Lokusların NCBI erişim numaraları ve allel uzunluk aralıkları Çizelge 3.2'de görülmektedir.

Çizelge 3.2. Çalışmada kullanılan Y kromozomundaki lokuslara ait bilgiler

Lokus Adı	GeneBank Erişim Numaraları	Allelik Uzunluk Aralığı
SRY	AY604734	549
SRYM18	EU980105.1	139-147

### 3.3.1.1. SRY bölgesi

Koyun Y kromozomunda erkeğe özgü (MSY =Male Specific Region of Y) kısmında yer alan SRY 3F/3R 5'promotor bölgesi 549 baz çifti (bç) uzunluğunda olup PZR ile çoğaltılmıştır. Bu bölgenin çoğaltılması için kullanılan primer dizileri aşağıda verilmiştir:

İleri: 5'-TCAGTAGCTTAGGTACATTCA-3'

Geri: 5'-GTGCTACATAAATATGATCTGC-3'

Bu primerlerle yapılan DNA'daki hedef bölgenin yükseltgenmesi için uygulanan PZR koşulları Çizelge 3.3'de, PZR için kullanılan karışımlar ise Çizelge 3.4' de verilmiştir. Kimyasallara ait kısaltmalar Kısaltmalar Listesinde, tamponların içerikleri ise Ek 1 de sunulmuştur.

Çizelge 3.3. SRY bölgesinin yükseltgenmesinde uygulanan PZR koşulları

Basamak	Sıcaklık	Süre	Döngü sayısı
Denatürasyon	94°C	3 dakika	1
Denatürasyon	94°C	25 saniye	40
Bağlanma	56°C	35 saniye	
Uzama	72°C	50 saniye	
Final Uzama	72°C	10 dakika	1

Çizelge 3.3'deki koşullardan önce 55°C - 60°C arasında, döngü sayısının ise 35-40 arasında optimizasyonu yapılarak primerin en iyi bağlandığı ve ürünün en fazla olduğu bağlanma sıcaklığının 56 °C ve döngü sayısının ise 40 olduğu gözlemlenmiştir.



Çizelge 3.4. SRY bölgesinin yükseltgenmesinde kullanılan PZR karışımı

Kimyasallar	Konsantrasyon	1x
dH <sub>2</sub> O	-	15,9 µl
Tampon (Taq buffer)	1x	2,5 µl
MgCl <sub>2</sub>	2,5 mM	2,0 µl
dNTP	0,2 mM	0,5 µl
Primer (İ+G)	10 pmol/µl	1,0 µl
DNA	30 ng/µl	3 µl
Taq polimeraz enzimi	1ü/µL	0,1 µl
Toplam	-	25 µl

Çizelge 3.4'deki karışımlar kullanılırken MgCl<sub>2</sub> miktarı (0,8 – 2,0 µl), Primer miktarı (0,5 – 1,5 µl) ve DNA miktarı (30 – 90 ng/µl) farklı konsantrasyonlarda optimizasyon yapılarak en iyi ürünün olduğu karışımlar çizelgedeki gibi olduğu gözlemlenmiştir.

### 3.3.1.2. SRYM18 mikrosatellit bölgesi

Koyun Y kromozomundaki erkeğe özgü (MSY =Male Specific Region of Y) bölgesinde bulunan SRYM18 mikrosatellit bölgesinin çoğaltılması için kullanılan primer dizileri aşağıda verilmiştir:

İleri: 5'-GGCATCACAACAGGATCAGCAAT-3'

Geri: 5'-GTGATGGCAGTTCTCACAATCTCCT-3'

Bu bölgenin yükseltgenmesinde kullanılan PZR koşulları Çizelge 3.5'de ve PZR için kullanılan karışımlar ise Çizelge 3.6' de sunulmuştur.

Çizelge 3.5. SRYM18 mikrosatellit bölgesinin yükseltgenmesinde uygulanan PZR koşulları

Basamak	Sıcaklık	Süre	Döngü sayısı
Denatürasyon	94°C	3 dakika	1
Denatürasyon	94°C	25 saniye	35
Bağlanma	56°C	35 saniye	
Uzama	72°C	50 saniye	
Final Uzama	72°C	10 dakika	1

Çizelge 3.5'deki koşullardan önce bağlanma sıcaklığı 55°C - 60°C arasında, döngü sayısının ise 30 - 40 arasında optimizasyonu yapılarak primerin en iyi bağlandığı ve ürünün en fazla olduğu bağlanma sıcaklığının 56°C ve döngü sayısının ise 35 olduğu gözlemlenmiştir.

Çizelge 3.6. SRY bölgesinin yükseltgenmesinde kullanılan PZR karışımı

Kimyasallar	Konsantrasyon	1x
dH <sub>2</sub> O	-	15,9 µl
Tampon (Taq buffer)	1x	2,5 µl
MgCl <sub>2</sub>	2,5 mM	2,0 µl
dNTP	0,2 mM	0,5 µl
Primer (İ+G)	10 pmol/µl	1,0 µl
DNA	30 ng/µl	3 µl
Taq polimeraz enzimi	1 ü/µL	0,1 µl
Toplam	-	25 µl

Çizelge 3.6'daki karışımlar kullanılırken MgCl<sub>2</sub> miktarı (0,8 – 2,0 µl), Primer miktarı (0,5 – 1,5 µl) ve DNA miktarı (30 – 90 ng/µl) farklı konsantrasyonlarda optimizasyon yapılarak en iyi ürünün olduğu konsantrasyonların çizelgedeki gibi olduğu gözlemlenmiştir.



Şekil 3.3. SRY ve SRYM18 lokuslarının yükseltgenmesinde kullanılan PZR cihazı

Y kromozomuna ait SRY ve SRYM18 lokuslarının PZR ile yükseltgenmesinde Şekil 3.3'deki Techne TC-5000 cihazı kullanılmıştır.

### 3.3.2. Mitokondriyal belirteç

Merinos ırkına ait 19 birey için, mtDNA genomuna ait D-loop gen bölgesine ait 144 bp'lik kısmı PZR ile çoğaltılmıştır. Bu bölgenin çoğaltılması için kullanılan primer dizisi şöyledir:

İleri: 5'-CCACTATCAACACCCAAAG-3

Geri: 5'-AAGTCCGTGTTGTATGTTTG-3

Bu bölgenin yükseltgenmesinde kullanılan PZR koşulları Çizelge 3.7'de ve PZR için kullanılan karışımlar ise Çizelge 3.8' de sunulmuştur.

Çizelge 3.7. mtDNA D-loop gen bölgesinin yükseltgenmesinde uygulanan PZR koşulları

Basamak	Sıcaklık	Süre	Döngü sayısı
Denatürasyon	95°C	3 dakika	1
Denatürasyon	95°C	30 saniye	35
Bağlanma	52°C	45 saniye	
Uzama	72°C	90 saniye	
Final Uzama	72°C	15 dakika	1

Çizelge 3.7'deki koşullardan önce bağlanma sıcaklığının 50°C - 60°C arasında, döngü sayısının ise 30-40 arasında optimizasyonu yapılarak primerin en iyi bağlandığı ve ürünün en fazla olduğu bağlanma sıcaklığının 52 °C ve döngü sayısının ise 35 olduğu gözlemlenmiştir.

Çizelge 3.8. mtDNA D-loop gen bölgesinin yükseltgenmesinde kullanılan PZR karışımı

Kimyasallar	Konsantrasyon	1x
dH <sub>2</sub> O	-	14,9 µl
Buffer (Taq buffer)	1x	2,5 µl
MgCl <sub>2</sub>	2,5 mM	2,0 µl
dNTP	0,2 mM	0,5 µl
Primer (İ+G)	10 pmol/µl	2,0 µl
DNA	30 ng/µl	3 µl
Taq polimeraz enzimi	1 ü/µL	0,1 µl
Toplam	-	25 µl

Çizelge 3.8'deki karışımlar kullanılırken MgCl<sub>2</sub> miktarı (0,8 – 2,0 µl), Primer miktarı (0,5 – 2,5 µl) ve DNA miktarı (30 – 90 ng/µl) farklı konsantrasyonlarda optimizasyon yapılarak en iyi ürünün oluştuğu konsantrasyonların çizelgedeki gibi olduğu gözlemlenmiştir.

mtDNA D-loop lokusunun PZR ile yükseltgenmesinde Şekil 3.3'deki Techne TC-5000 cihazı kullanılmıştır.

### 3.3.3. Otozomal kromozomlardaki mikrosatellit belirteçler

Sunulan çalışmada kullanılan lokusların adları, NCBI erişim numaraları, allellik uzunluk aralıkları, kökenleri ve buldukları kromozomlar Çizelge 3.9'da görülmektedir.

Çizelge 3.9. Çalışmada kullanılan mikrosatellit lokuslara ait bilgiler

Lokus Adı	GeneBank Erişim Numaraları	Allellik Uzunluk Aralığı	Köken	Kromozom
OarVH72	L12548	121 - 145	Ovine	25
OarFCB226	L20006	118 - 160	Ovine	2

Çizelge 3.9'da bilgileri verilen mikrosatellitlerin analizinde materyal olarak kullandığımız toplam 199 bireyin ırklara göre dağılımı Çizelge 3.10'da belirtilmiştir.

Çizelge 3.10. OarVH72 ve OarFCB226 adlı mikrosatellit lokuslarının taranmasında materyal olarak kullanılan evcil koyunların kuyruk şekline göre sınıflandırılması ve kullanılan birey sayısı

<b>İnce kuyruklu koyun ırkları</b>	
<b>İrklar</b>	<b>Birey Sayısı</b>
Karayaka	20
Gökçeada	20
Kıvırcık	20
<b>Yarı yağlı kuyruklu koyun ırkları</b>	
Sakız	20
Hemşin	20
<b>Yağlı kuyruklu koyun ırkları</b>	
Akkaraman	20
Dağlıç	19
İvesi	20
Morkaraman	20
Norduz	20
<b>Toplam</b>	<b>199</b>

Çizelge 3.10’da otozomal kromozomlardaki mikrosatellit lokuslarının hayvan materyalini oluşturan Anadolu evcil koyunlardan 10 ırka ait birey sayıları görülmektedir.

### 3.3.3.1. OarVH72 isimli mikrosatellit bölgesi

Koyun 25. kromozomunda bulunan bu bölge PZR ile çoğaltılmış olup kullanılan primer dizileri aşağıda verilmiştir:

İleri: 5’- GGCCTCTCAAGGGGCAAGAGCAGG -3’ (HEX boyası ile işaretlenmiştir)

Geri: 5’- CTCTAGAGGATCTGGAATGCAAAGCTC -3’

Bu primerlerle yapılan DNA’daki bölgenin yükseltgenmesi için uygulanan PZR koşulları Çizelge 3.11’de, PZR için kullanılan karışımlar ise Çizelge 3.12’de verilmiştir. Kimyasallara ait kısaltmalar Kısaltmalar Listesinde, tamponların içerikleri ise Ek 1 de sunulmuştur.

Çizelge 3.11. OarVH72 mikrosatellit bölgesinin yükseltgenmesinde uygulanan PZR koşulları

Basamak	Sıcaklık	Süre	Döngü sayısı
Denatürasyon	94°C	3 dakika	1
Denatürasyon	94°C	30 saniye	35
Bağlanma	56°C	30 saniye	
Uzama	72°C	45 saniye	
Final Uzama	72°C	10 dakika	1

Çizelge 3.11'deki koşullardan önce bağlanma sıcaklığının 52°C - 60°C arasında döngü sayısının ise 35 - 40 arasında optimizasyonu yapılarak primerin en iyi bağlandığı ve ürünün en fazla olduğu bağlanma sıcaklığının 56°C ve döngü sayısının ise 35 olduğu gözlemlenmiştir.

Çizelge 3.12. OarVH72 mikrosatellit bölgesinin yükseltgenmesinde kullanılan PZR karışımı

Kimyasallar	Konsantrasyon	1x
dH <sub>2</sub> O	-	10 µl
Tampon (Taq buffer)	1x	1,5 µl
MgCl <sub>2</sub>	2,5 mM	1,0 µl
dNTP	0,2 mM	0,3 µl
Primer (İ+G)	10 pmol/µl	0,6 µl
DNA	30 ng/µl	1,5 µl
Taq polimeraz enzimi	1 ü/µL	0,1 µl
Toplam	-	15 µl

Çizelge 3.12'deki karışımlar kullanılırken MgCl<sub>2</sub> miktarı (0,8 – 2,0 µl), Primer miktarı (0,3 – 1,5 µl) ve DNA miktarı (30 – 60 ng/µl) farklı konsantrasyonlarda optimizasyon yapılarak en iyi ürünün olduğu karışımların çizelgedeki gibi olduğu gözlemlenmiştir.

### 3.3.3.2. OarFCB226 isimli mikrosatellit bölgesi

Koyun 2. kromozomunda bulunan bu lokus PZR ile çoğaltılmış olup kullanılan primer dizileri aşağıda verilmiştir:

İleri: 5'-CTATATGTTGCCTTTCCTTCCTGC-3' (FAM boyası ile işaretlenmiştir)

Geri: 5'-GTGAGTCCCATAGAGCATAAGCTC-3'

Bu primerle yapılan DNA'daki gen bölgesinin yükseltgemesi için uygulanan PZR koşulları Çizelge 3.13'de, PZR için kullanılan karışımlar ise Çizelge 3.14'de verilmiştir. Kimyasallara ait kısaltmalar Kısaltmalar Listesinde, tamponların içerikleri ise Ek 1 de sunulmuştur.

Çizelge 3.13. OarFCB226 mikrosatellit bölgesinin yükseltgenmesinde uygulanan PZR koşulları

Basamak	Sıcaklık	Süre	Döngü sayısı
Denatürasyon	94°C	3 dakika	1
Denatürasyon	94°C	30 saniye	35
Bağlanma	56°C	30 saniye	
Uzama	72°C	45 saniye	
Final Uzama	72°C	10 dakika	1

Çizelge 3.13'deki koşullardan önce bağlanma sıcaklığının 52°C - 60°C arasında döngü sayısının ise 35 - 40 arasında optimizasyonu yapılarak primerin en iyi bağlandığı ve ürünün en fazla olduğu bağlanma sıcaklığının 56°C ve döngü sayısının ise 35 olduğu gözlemlenmiştir.

Çizelge 3.14. OarFCB226 mikrosatellit bölgesinin yükseltgenmesinde kullanılan PZR karışımı

Kimyasallar	Konsantrasyon	1x
dH <sub>2</sub> O	-	10 µl
Tampon (Taq buffer)	1x	1,5 µl
MgCl <sub>2</sub>	2,5 mM	1,0 µl
dNTP	0,2 mM	0,3 µl
Primer (İ+G)	10 pmol/µl	0,6 µl
DNA	30 ng/µl	1,5 µl
Taq polimeraz enzimi	1 ü/µL	0,1 µl
Toplam	-	15 µl

Çizelge 3.14'deki karışımlar kullanılırken MgCl<sub>2</sub> miktarı (0,8 – 2,0 µl), Primer miktarı (0,3 – 1,5µl) ve DNA miktarı (30 – 60 ng/µl) farklı konsantrasyonlarda optimizasyon yapılarak en iyi ürünün olduğu karışımlar çizelgedeki gibi olduğu gözlemlenmiştir.



Şekil 3.4. OarVH72 ve OarFCB226 adlı mikrosatellit lokuslarının yükseltgenmesinde kullanılan PZR cihazı

OarVH72 ve OarFCB226 adlı mikrosatellit lokuslarının yükseltgenmesinde Şekil 3.4'deki Biometra Thermocycler isimli PZR cihazı kullanılmıştır.

Aynı bireye ait OarVH72 primeriyle yükseltgenen PZR ürünleri ve OarFCB226 primerleriyle yükseltgenen PZR ürünleri tek tüp (PCR-strip) içerisinde karışımı sağlanarak allel büyüklüğü tespiti için ticari firmaya gönderilmiştir.

### 3.4. Dizi Analizleri

SRY, SRYM18 ve mtDNA D-loop bölgelerine ait elde edilen PZR ürünlerinin, dizi analizi için temizlenmesinde Favorgen markasına ait FavorPrep Gel/PCR saflaştırma (purification) kiti kullanılmıştır. Bu kit ile aşağıdaki protokol izlenerek DNA temizlenmiştir.



PCR Ürünleri Saflaştırma Aşaması;

1. 20µl PCR ürünü üzerine 100µl FADF tamponu ekledikten sonra vortekslenir.
2. Karışım filtreli tüplere konularak 30 saniye 10.000 rpm de santrifüj edilir ve üst kısmı dökülür.
3. 125µl yıkama tamponu (Wash buffer) eklenir ve yine 10.000 rpm de santrifüj edilir ve tekrardan üst kısmı dökülür.
4. Sonra herhangi bir şey ekmeden 3 dakika 10.000 rpm de santrifüj edilir.
5. 40µl elüsyon tamponu (elution buffer) eklenerek 2 dakika 10.000 rpm de santrifüj ettikten sonra dizi analiz cihazına gönderilir.

Elde edilen ürünler, ABI Prism 3100™ dizileme cihazı ile ticari bir firmada dizi analizi yapılmıştır.

Daha sonra bu firma tarafından gönderilen her bir gen bölgesine ait ileri ve geri primer sekans sonuçları her birey için ayrı ayrı ChromasPro version 1.5 ([www.technelysium.com.au/ChromasPro.html](http://www.technelysium.com.au/ChromasPro.html)) programı kullanılarak sekansların sıralanması yapıldıktan sonra dizilerin yazımı Fasta formatına dönüştürülmüştür.

Fasta formatındaki verileri ise ‘Bioedit version 7.1.3’ programı kullanılarak bireylerin sekansları hem referans sekanslarla hem de birbirleriyle karşılaştırılarak gerekli analizler yapılmıştır.

### **3.5. Fragment Analizi**

Otozomal kromozomlardaki mikrosatellit belirteçlerinin allellerini tespit etmek amacıyla, PZR sonucunda oluşan ürünler ticari bir firmaya gönderilmiş olup analizlerde kapiller elektroforezi (ABI 3100 Genetic Analyzer) kullanılmıştır. Elektroferogramlardan data analizi ve düzeltilmesi için Applied Biosystems Peak Scanner™ Software v1.0 ([www.appliedbiosystems.com](http://www.appliedbiosystems.com)) programı kullanılmış ve bireylerin allelleri tespit edilmiştir.

### 3.6. İstatistik Veri Analizleri

Elde edilen sonuçların analiz edilmesinde kullanılan istatistik analizlerin adı, amaçları ve uygulanan programlar çizelge 3.15’de sunulmuştur.

Çizelge 3.15. Çalışmada kullanılan analizlerin adı, amacı ve uygulanan programlar

Analiz adı	Amacı	Uygulanan program
F <sub>ST</sub>	F <sub>ST</sub> , alt populasyonlar arasında bulunan genetik farklılıkların ölçümü için belirlenen bir değerdir.	Arlequin 3.11
Mantel Test	Mantel test eşit boyutlu olan iki matrisin benzerliğinin karşılaştırıldığı bir analiz metodudur.	Arlequin 3.11
Medyan Birleştirme Ağı (Median Joining Network) Analizi	Birbirine yakın olan haplotipleri mutasyon ölçütlerini dikkate alarak bağlantılı olacak şekilde gösterilmesini sağlayan bir ilişkiler ağı oluşturmaktadır.	Network 4.6.1.0
Çok Değişkenli Ölçekleme (Multidimensional Scaling =MDS) Analizi	Irklar arasındaki ikili uzaklıklar matrisinin bilgileri bağımsız eksenler üzerinde incelenebilir hale getirilmesini sağlar Böylece tüm ırklar arasındaki farklılıkları ilişkileri en iyi özetleyen iki eksenle görselleştirilebilmektedir.	R 2.14
Temel Bileşenler Analizi (PCoA: Principal Component Analysis)	Verilerin birbirleri ile ilişkilerinin çeşitli faktörler açısından 2 boyutlu düzlemsel ortamda görselleştirir.	Genalex
F <sub>IS</sub> değerleri	Bir ırk içinde Hardy-Weinberg dengesinden sapmanın ölçüsüdür.	Genetix
Genetik Yapı Testi (Structure Test)	Yapı testi analizi ile populasyonların mevcut genetik yapısı incelenmektedir.	Structure
Clummp	Yapı testi analizi sonuçlarının benzerliklerini çalıştırır.	clummp
Distrupt	Clmmp çıktısını görselleştirir.	Distrupt
Komşu Birleştirme Ağacı (Neighbour Joining Tree)	Genetik uzaklıkların görsel olarak belirtilmesi amacı ile çizilebilmektedir.	Populations v1.2.30
TreeView	Ağacın görselleştirilmesini sağlar.	TreeView v1.6.6

#### 3.6.1.Y kromozomu belirteçlerinin sonuçlarına ait analizler

##### 3.6.1.1. Frekanslar

Dizi analizleri sonucunda Y kromozomuna ait haplotipler belirlenmiş olup, her ırkın bireylerine ait haplotip sayısı toplam bireylerin haplotip sayısına bölünerek ırkların haplotip frekansları ayrı ayrı hesaplanmıştır.

### 3.6.1.2. $F_{ST}$

$F_{ST}$ , alt popülasyonlardan geliş güzel ele alınan iki gametin ortak atadan gelme ihtimali olup, alt popülasyonlar arasında bulunan genetik farklılıkların belirtilmesi için kullanılan bir kriterdir (Wright, 1978). 0 ila 1 arasında bir değer almaktadır. Belirlenen değer 1'e yakınlığı alt popülasyonların genetik olarak uzaklığını belirtmektedir. Bir lokus bakımından toplumları karşılaştırmak için kullanılabilmeyle beraber mikrosatellitlerde olduğu gibi birçok lokus için tek bir değer olarak da verilebilir (Özkan, 2005). Birimler (çalışmamızda genellikle ırklar) arasındaki genetik uzaklıklar  $F_{ST}$  aracılığıyla ikili olarak karşılaştırılır. Bir de tüm birimler arasındaki farkın ortalamasını belirten  $F_{ST}$  değeri elde edilebilir.

$F_{ST}$  değeri;

0 - 0.05 arasında ise küçük bir genetik farklılaşma;  
0.05 - 0.15 arasında ise orta düzeyde farklılaşma;  
0.15 – 0.25 arasında ise büyük bir genetik farklılaşma;  
0.25'ten büyük ise çok büyük bir genetik farklılaşmanın geçerli olduğu söylenebilir (Özkan, 2005).

$F_{ST}$  değerinin hesaplanmasında kullanılan formül şöyledir:

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

$H_S$ = Alt popülasyonlarda beklenen heterozigotluk ortalaması

$H_T$ = Toplam popülasyondaki heterozigotluk ortalaması ( Nei, 1987)

$F_{ST}$  değeri küçük olduğu zaman iki popülasyon birbirine genetik olarak benziyor demektir. Bu çalışmada  $F_{ST}$  değerleri Arlequin 3.11 programında kullanılarak elde edilmiştir (Excoffier, 2005).

### 3.6.1.3. Mantel test analizi

Mantel Test Analizi iki farklı uzaklık matrisi arasındaki korelasyonun hesaplanmasını ve önemlilik derecesinin test edilmesini sağlar (Mantel, 1967; Rousset ve ark., 1997). Yani mantel testi eşit boyutlu olan iki matrisin benzerliğinin karşılaştırıldığı bir analiz metodudur.

Çalışmada genetik uzaklıklardan oluşan matris ırklar arası ikili  $F_{ST}$  değerleri ile oluşturulmuştur ve coğrafi uzaklık matrisi ile karşılaştırılmıştır. Mantel test analizinde iki matris elemanları arasındaki ilişkilerin belirlenebilmesi mümkün olabildiği gibi permütasyon testi kullanılarak sonuçların önemlilik testlerinin yapılabilmesi de mümkündür. Genetik uzaklık ve coğrafi uzaklık arasındaki uyumu karşılaştırıp sonuçların önemlilik testlerini incelemede 1000 kez permütasyon yapılmıştır.

### 3.6.1.4. Medyan birleştirme ağı (Median joining network) analizi

Medyan Birleştirme Ağı (Bandelt ve ark., 1999) yöntemi, genel olarak birbirine yakın olan haplotipleri mutasyon ölçütlerini dikkate alarak bağlantılı olacak şekilde gösterilmesini sağlayan bir ilişkiler ağı oluşturmaktadır. Bu çalışmada Medyan Birleştirme Ağı; NETWORK 4.6.1.0 (<http://www.fluxus-engineering.com>) programı yardımıyla çizilmiştir.

### 3.6.1.5. Çok değişkenli ölçekleme (Multidimensional scaling=MDS) analizi

Çalışmamızda materyal olarak kullandığımız ırklardaki haplotiplerin arasındaki farklardan yola çıkarak yapılan karşılaştırmaları Çok Değişkenli Ölçekleme Analizi yardımıyla ırklar arasındaki ikili uzaklıklar matrisinin bilgileri bağımsız eksenler üzerinde incelenebilir hale getirilmektedir. Böylece tüm ırklar arasındaki farklılıkları ilişkileri en iyi özetleyen iki eksenle görselleştirilebilmektedir. MDS analizi R 2.14 (<http://www.r-project.org/>) programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

### 3.6.2. Otozomal kromozomlardaki mikrosatellit belirteçlerinin sonuçlarına ait analizler

#### 3.6.2.1. $F_{IS}$ değerleri

İlk defa Wright (1978) tarafından tanımlanmış ve Nei (1987) tarafından kapsamı daha da genişletilen F-istatistikleri, alt bölümlere ayrılan populasyonlarda beklenen gen frekanslarından sapmayı  $F_{IS}$ ,  $F_{IT}$  ve  $F_{ST}$  adlı verilen üç terim ile ölçmektedir. Bu üç terimin birbirleri ile ilişkileri aşağıdaki gibi tanımlanmaktadır.

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

Bu formülde  $F_{IS}$  iki birleşen gametin alt populasyona göre korelasyonunu,  $F_{IT}$  iki birleşen gametin bütün populasyona göre korelasyonunu ve  $F_{ST}$  her alt populasyondan rastgele seçilen iki gametin korelasyonunu ve alt populasyonlar arasındaki genetik uzaklıkların derecesini vermektedir (Açan, 2012).

Genelde doğada bulunan populasyonlar Hardy-Weinberg dengesinde değildir ve F istatistikleri bu sapmaları kullanarak populasyon içindeki fenomenleri örneğin populasyondaki akrabalı yetiştirme derecesini belirler.  $F_{IS}$  bir ırk içinde Hardy-Weinberg dengesinden sapmanın ölçüsüdür ve aşağıdaki formül ile hesaplanır (Açan, 2012).

$$F_{IS} = 1 - \frac{H_o}{H_s}$$

Bu formülde  $H_o$  bütün alt populasyonlardaki ortalama gözlenen heterozigotluk ve  $H_s$  bütün alt populasyonlardaki ortalama beklenen heterozigotluğu ifade etmektedir.

Pozitif  $F_{IS}$  değerleri alt populasyondaki heterozigot azlığını (örneğin kendileşme nedeniyle) negatif  $F_{IS}$  değerleri ise heterozigot fazlalığını göstermektedir (örneğin rasgele olmayan çiftleşme nedeniyle).

Bu çalışmada  $F_{IS}$  değerleri Genetix paket programında (Belkhir ve ark., 1996-2004) hesaplanmıştır.

### 3.6.2.2. Yapı (Structure) analizi

Bu analizde programa tüm bireyler için mikrosatellitler bazında genotipler verilir ve yine programa bu bireylerin kaç ana kümenin (K) örnekleri olarak düşünülmesi istendiği ayrı modeller (farklı K'lar) olarak bildirilir. Program, ırklar bilgisini hiç kullanmaksızın, K sayıdaki ana kümeyi oluşturduktan sonra her bireyin bu gruplar açısından tek bir ana küme mi yoksa karışımlarına mı sahip olduğunu, eğer karışımlara sahip ise hangi ana kümeden hangi oranlarda karışıma sahip olduğunu saptar. Son olarak programdan, genotipleri analiz edilmiş bireyleri ırklar bazında yan yana koyması istenir. Çıktı iki ayrı şekilde elde edilir. Görsel olan çıktıda ırkların tek renk olması ırkın birbirine benzeyen bireylerden oluştuğu aksi durumda ırkın bireylerinin karışım sergilediği düşünülür. Tablodaki ağırlıklardan da her ırkın farklı ana kümelerin hangi oranda karışımı olduğu sayısal olarak saptanabilir. Bu metotta, birbirinden farklı genetik belirteçlerden elde edilen genotip verileri analiz edilerek populasyonların mevcut genetik yapıları incelenmekte ve populasyon içi benzerlikler ve populasyonlar arası karışımlar saptanabilmektedir (Açan, 2012).

Yapı Analizi ile “K (K bilinmiyor olabilir) tane atasal populasyon (ana küme) varsa buna göre populasyonların bireyleri nasıl dağılmış olabilir?” sorusuna cevap vermektedir. Bu sorunun cevabı STRUCTURE (Pritchard, 2000) programı kullanılarak belirlenmiştir (Açan, 2012).

Yakınsama gerçekleşene kadar tekrarlanan iterasyon sayısı simülasyonun simülasyonda veri toplanmadan önceki çalışma uzunluğudur (burn in period). Bu süre başlangıç konfigürasyonun yanıltıcı etkisini en aza indirmek için gereklidir (Açan, 2012). Göz önünde bulundurulması gereken diğer bir parametre en iyi K değerinin tahmin edilmesidir. En iyi K değerini tahmin etmek için birden çok yöntem vardır. Bu yöntemlerden biri Evanno ve arkadaşları (2005) tarafından önerilmiştir.

Bu yöntemde K'ya göre olasılık fonksiyonunun değişiminin ikinci derece oranının ( $\Delta K = m|L''(K)|/s[L(K)]$ ) maksimum değeri en iyi K değerini vermektedir. Sunulan bu çalışmada Evanno yöntemi kullanılmıştır.

Kullanılan programlar; <http://pritch.bsd.uchicago.edu/software> (Structure) ve <http://www.stanford.edu/group/rosenberglab/software.html> (Clumpp ve Distruct) adreslerinde mevcuttur.

### 3.6.2.3. Temel koordinat analizi (Principal coordinates analysis)

Mikrosatellit analizleri sonucunda ırklara ait elde edilen genetik benzerliklerinin ve farklılıkların görselleştirilmesi için temel koordinat analizi kullanılabilir. Böylece grupları görsel olarak az sayıda eksenle ayırmak ve mevcut varyasyonları önem sıralarına göre açıklayan değişken kombinasyonları gözlemlenmek mümkün hale gelmektedir. Temel koordinat analizi (Principal coordinates analysis=PCoA) ile bireylerden elde edilen bilgiler ışığında populasyonlar tek bir nokta olarak doğrusal (linear) değişken kombinasyonları ile oluşturulmuş bağımsız eksenler üzerinde gösterilmiştir. Bu analizde ırkların yakınlık derecesi ırk içi varyasyonlardan arındırılmış olarak gözlenebilmektedir.

Farklı ırklara ait bireylerin genetik değerlerinin ortalaması, ırk merkezleri kullanılarak, GenAEx (Genetic Analysis in Excel) software v.6.4. (Peakall ve Smouse, 2006) programı (<http://biology.anu.edu.au/GenAEx>) kullanılarak PCoA yapılmıştır.

### 3.6.2.4. Komşu birleştirme ağacı (Neighbour joining tree)

Mikrosatellit sonuçlarının analizinde ırklar arası genetik uzaklıkları belirlemek için farklı metodlar kullanılabilir ve bu metodlara göre komşu birleştirme dendogramları çizilebilmektedir. Komşu Birleştirme Ağacı (Neighbour Joining Tree) genetik uzaklıkların görsel olarak belirtilmesi amacıyla çizilmektedir.

Sunulan çalışmada mikrosatellit verileri için Nj ağaçları mikrosatellit verileri için en uygun Reynold'un uzaklığı ile Populations v1.2.30 (Langella, 1999) programı

kullanılarak 1000 çöz-bağla değeri ile çizilmiştir. Analiz sonucu oluşan ağaçlar TreeView v1.6.6 (Page, 1996) kullanılarak görselleştirilmiştir.



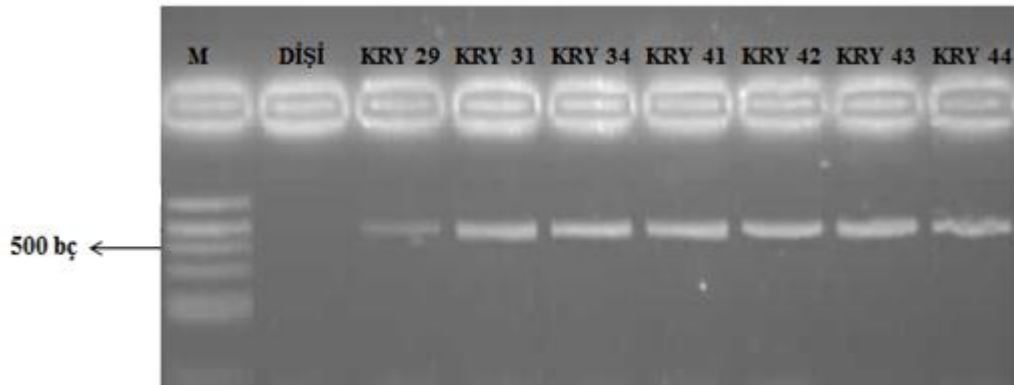


## 4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

### 4.1. Y Kromozomuna Ait Bulgular

#### 4.1.1. SRY bölgesinden elde edilen bulgular

SRY 5' promotor (3F/3R) bölgesine ait 549 bp'lik bölge PZR koşulları optimize edildikten sonra Çizelge 3.3. koşullarında çoğaltılmıştır. PZR sonucunda yükseltgenen SRY bölgesine ait bantların gözlenmesi için % 2'lik agaroz jeller kullanılmıştır. Agaroz jel 0,5x TBE solüsyonunun bulunduğu tank içerisine konulduktan sonra agaroz jeldeki kuyulara PZR sonucu oluşan ürünler yüklenerek 120 V elektrik akımında 30 dakika yürütülmüştür. Etidyum Bromid (Etidium Bromide) ile boyanmış olan DNA molekülleri ultraviyole (UV) ışık veren Vilber Lourmat CN-3000 görüntüleme cihazında görüntülenmiştir.



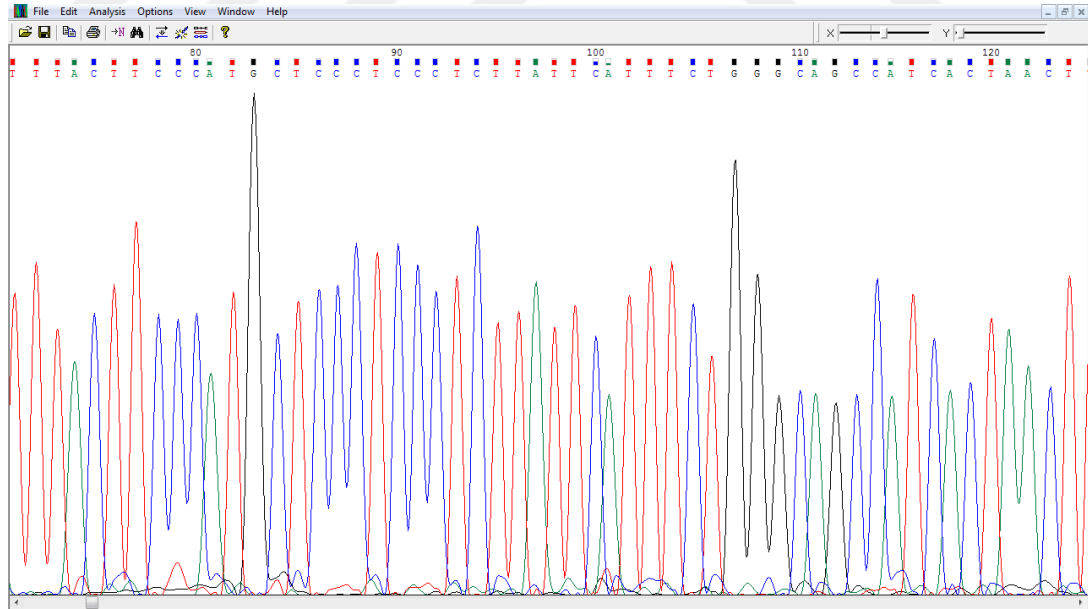
Şekil 4.1. SRY bölgesinin PZR sonrası agaroz jel görüntüsü (M: Marker 100 bp, KRY: Karayaka)

Şekil 4.1'de Karayaka (KRY) koyun ırkına ait örnekler PZR sonrası agaroz jelde marker ile birlikte yürütülmüş olup, marker sayesinde oluşan ürünlerin uzunluğu tahmin edilmiştir. Hedef bölge 549 bp uzunluğunda olduğu için doğru

bölgenin yükseltgenmiş olduğuna karar verilmiştir. Ayrıca Karayaka ırkına ait dişi bireyde PZR sonrası herhangi bir ürün oluşmamıştır (Şekil 4.1 dişi yazılan kuyu).

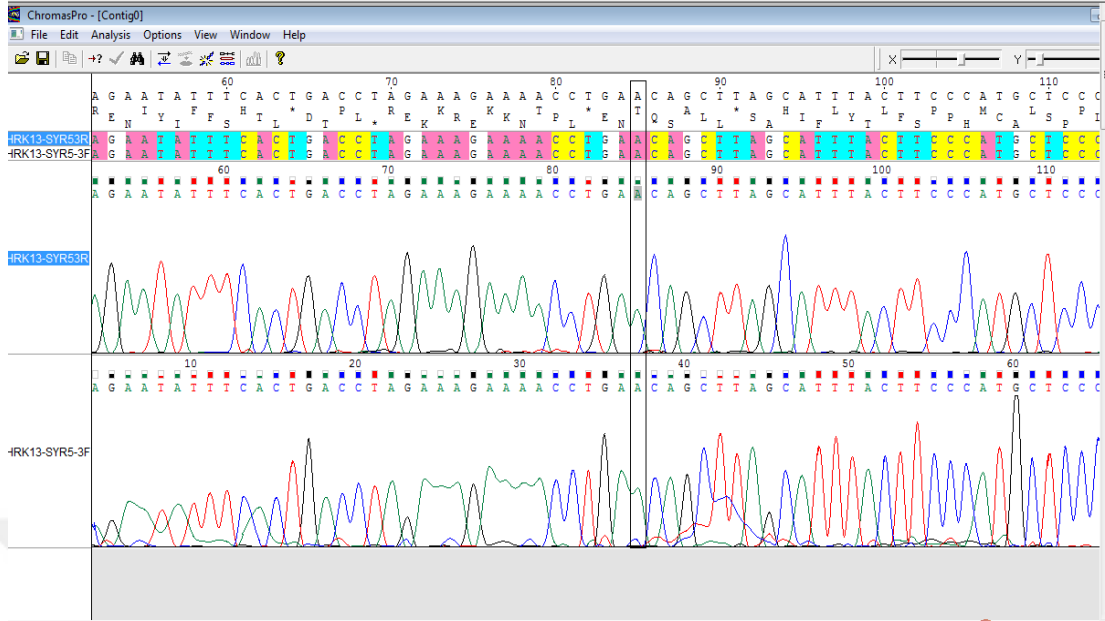
Jel görüntüleme işleminden PZR ürünleri yeterli olan bireyler seçilerek PZR ürünlerinin purification kitleriyle saflaştırma aşamasına geçilmiştir.

Daha sonra örnekler dizi analizine gönderilmiştir. Dizi analizinden gelen sonuçlara ait bir örnek Şekil 4.2’de sunulmuştur. Bu çıktılar Chromas Pro bilgisayar programı yardımıyla baz cinsinden dizilere dönüştürülmüştür. Chromas Pro programıyla ileri ve geri gen dizileri hizalanarak (alignment) her bireyin dizi analizi karşılaştırmaya hazır hale getirilmiştir (Şekil 4.3). Bioedit bilgisayar programı yardımıyla da bu diziler gen bankasından indirilen referans diziyle (AY604734) karşılaştırılmıştır (Şekil 4.4). Yapılan karşılaştırma sonucu SRY 5’ promotor (3F/3R) bölgesine ait 549 bç’lik bölgedeki 88. nükleotidin A/G allellerinden referans dizide G-oY1 alleli fakat sunulan çalışmada tüm bireylerde bu noktada A-oY1 alleli tespit edilmiştir (Şekil 4.5).



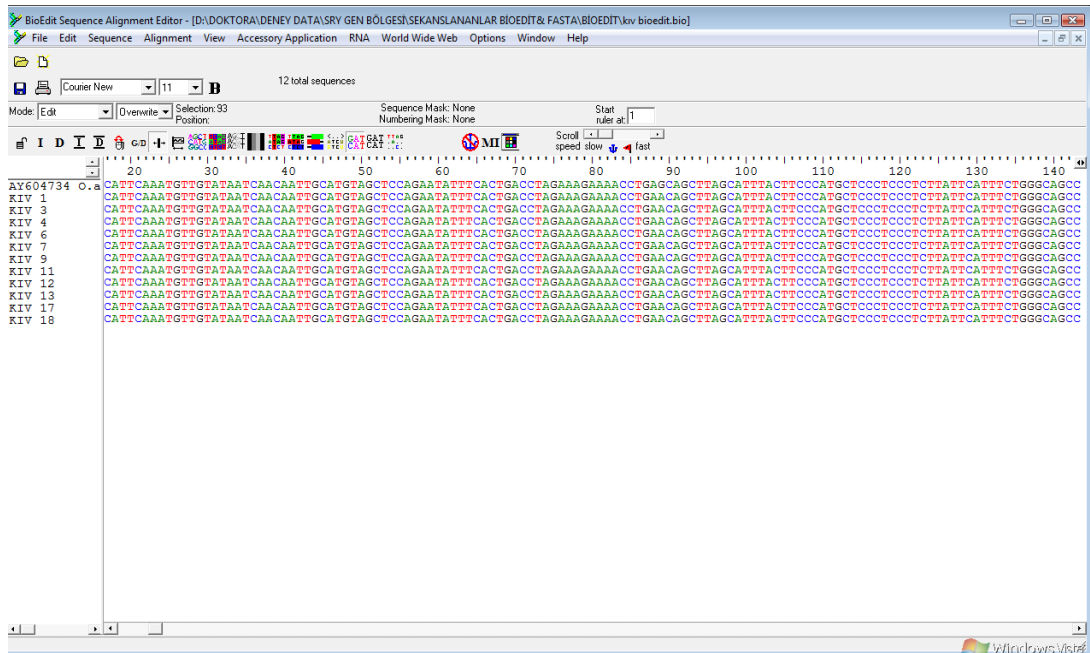
Şekil 4.2. SRY bölgesine ait dizi analizi sonucunun Chromas-Pro’daki görüntüsü

Şekil 4.2’de Herik 13 numaralı bireyin gen dizi analizi sonucunun Chromas-Pro bilgisayar programındaki görüntüsü görülmektedir. Bu program aracılığıyla baz dizilerine ait pikler dikkatlice incelenmiştir.



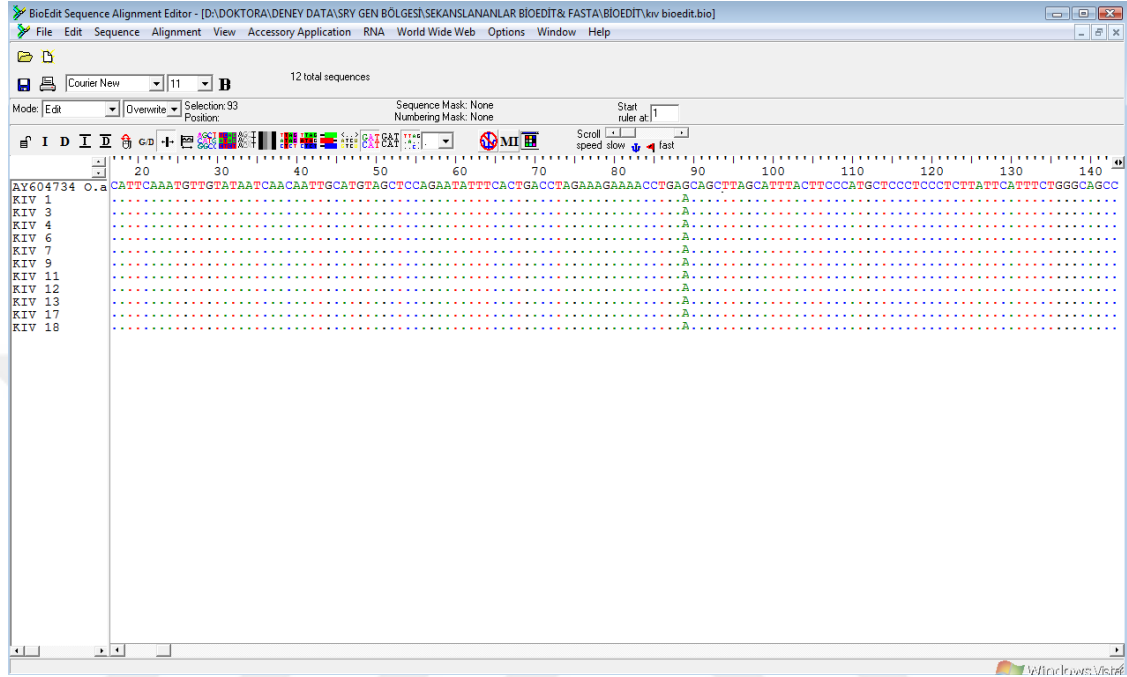
Şekil 4.3. SRY bölgesine ait SNP oY1 noktasının Chromas-Pro'daki görüntüsü

Şekil 4.3'te Herik 13 numaralı bireyin ileri ve geri dizi analizi sonucu Chromas-Pro bilgisayar programında hizalanmış şekli görülmekte olup, SRY bölgesindeki SNP (Single nucleotide polimorphism) oY1 (A/G) bölgesi işaretlenmiş ve bu noktada A nükleotidinin olduğu tespit edilmiştir.



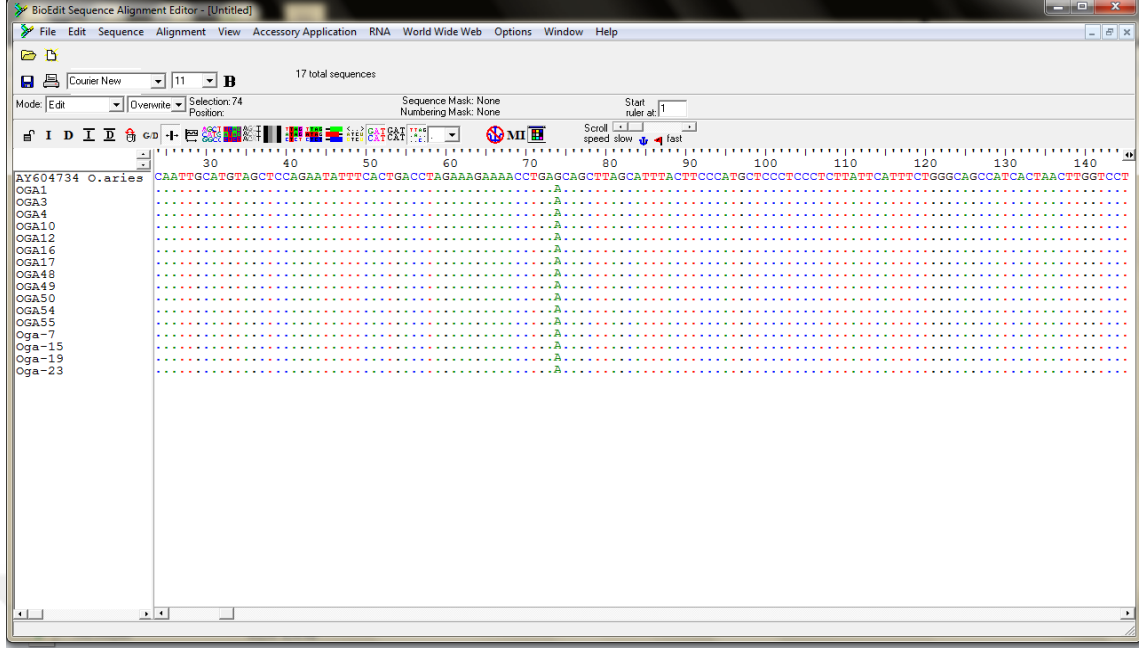
Şekil 4.4. Kıvrıkcık ırkı bireylerine ait SRY bölgesinin bir kısmının referans dizile beraber Bioedit programındaki görüntüsü.

Şekil 4.4'te olduğu gibi, sunulan çalışmada dizi analizi yapılan SRY bölgesindeki SNP oY1 (A/G) noktasına yoğunlaşmanın yanı sıra tüm dizi analizi incelenmiş fakat herhangi bir nükleotid değişimi gözlenmemiştir.



Şekil 4.5. SRY bölgesinde SNP oY1 noktasının Kıvırcık ırkı bireylerinin ve referans dizinin Bioedit programında görüntülenmesi

Şekil 4.5'te referans dizideki SNP oY1 (A/G) bölgesinde G-oY1 alleli gözlemlenirken Kıvırcık ırkına ait bireylerin A-oY1 alleleline sahip olduğu görülmektedir.



Şekil 4.6. SRY bölgesinde SNP oY1 noktasının *Ovis gmelinii anatolica* (OGA) bireylerinin ve referans dizinin Bioedit programında görüntülenmesi

Şekil 4.6’da Anadolu Yaban Koyunu (*Ovis gmelinii anatolica*)’na ait 16 erkek bireyin referans dizi ile karşılaştırılması Bioedit programı kullanılarak yapılmış olup, yaban koyunlarının referans diziden farklı olarak diğer Anadolu evcil koyunlarda olduğu gibi oY1 SNP (A/G) noktasında A nükleotidine sahip olduğu tespit edilmiştir.

Meadows ve arkadaşları (2009) makalesinde SRY gen bölgesine ait 549 bç’lik bölge için değişik koyun türlerinde farklı SNP bölgeleri tespit edilmiştir. Bu SNP’ler aşağıdaki çizelgede yer almaktadır.

Çizelge 4.1. SRY bölgesi AY604734 referansındaki SNP bölgeleri;oY1:88. nükleotidi ,oY2:99. nükleotidi, oY3: 103. nükleotidi, oY4: 122. nükleotidi, oY5: 157. nükleotidi, oY6: 393. nükleotidi, oY7:397. nükleotidi ve oY8: 399. nükleotidi ifade etmektedir (Meadows ve ark., 2009).

Sequence variant	oY 1	oY 2	oY 3	oY 4	oY 5	oY 6	oY 7	oY 8
<b>Species</b>								
<i>O. aries_1</i>	A	T	C	C	C	G	G	A
<i>O. aries_2</i>	G	.	.	.	.	.	.	.
<i>O. musimon</i>	.	.	.	.	.	.	.	.
<i>O. vignei</i>	.	.	.	.	.	A	T	G
<i>O. ammon</i>	.	.	.	.	.	.	.	G
<i>O. dalli</i>	.	.	.	.	T	A	.	T
<i>O. canadensis</i>	.	.	.	.	T	A	.	T
<i>Ammontragus lervia</i>	.	G	T	T	T	A	.	.

Çizelge 4.1’de Meadows ve arkadaşları (2009) çalışmalarındaki 2 evcil koyun (*Ovis aries*) örneği ve 6 yaban koyun türünden örneklerde SRY bölgesine ait 549 bç’lik bölgede yer alan nükleotid değişimleri gösterilmiştir. Çizelgede *Ovis aries* türünde polimorfizm sadece oY1 kısmında görülmekte olup, çalışmamızda materyal olarak kullandığımız evcil koyunların *Ovis aries* türü olduğu için özellikle oY1 bölgesinde polimorfizm beklenmiştir. Fakat analiz ettiğimiz bireylerin tamamı SNP oY1 (A/G) bakımından A alleleline sahip olduğu gözlemlenmiştir. oY1 dahil tüm bölge dikkatle incelenmiş fakat herhangi bir polimorfizm tespit edilmemiştir. Ayrıca sunulan çalışmada materyal olarak da kullandığımız ve tüm evcil koyunların atası olan (Akçapınar, 2000) Anadolu Yaban Koyunu (*Ovis gmelinii anatolica*) bu çizelgede yer almamıştır. Anadolu Yaban Koyunu ilk defa çalışmamızda dizi analizi yapılarak incelenmiş olup 16 Anadolu Yaban Koyunu bireyinde de diğer evcil koyunlardaki gibi SNP oY1 (A/G) noktasında A alleli görülmüş ve diğer bölgelerde de herhangi bir polimorfizme rastlanmamıştır.

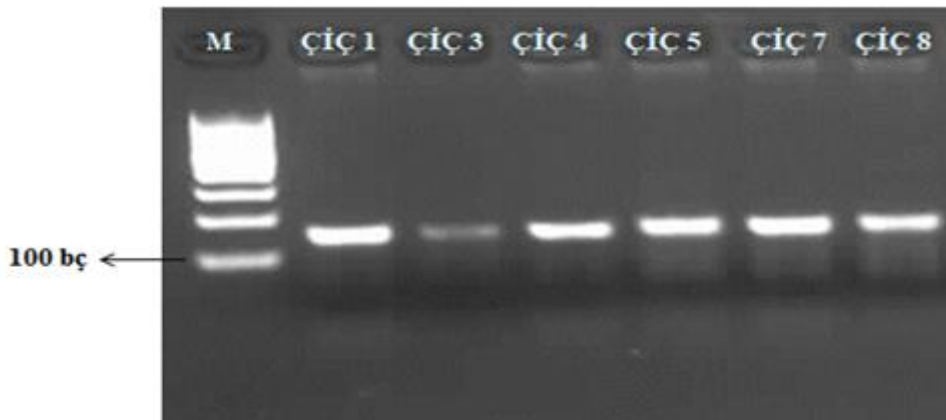
*Ovis orientalis musimon* (Avrupa Muflonu)  $2n=54$  kromozoma sahip yaban görünümlü bir koyun grubudur. Bu koyunların Neolitik dönemde (M.Ö. 8000) evcilleştirilmiş olan koyunlardan tekrar doğal hayata kaçan bireylerin günümüz temsilcileri olduğu düşünülmektedir. Bu koyunlara Corsika ve Sardunya Adalarında rastlanmaktadır (Poplin, 1979; Vigne, 1999; Hiendleder ve ark., 2002). Çizelge 4.1’deki yaban koyun türlerinin evcil koyunlarla genetik, morfolojik ya da

kromozom sayısı benzerliği olmadığından onların evcil koyunların atası olmadığı kabul edilmektedir.

*Ovis gmelinii anatolica* dünyadaki *Ovis gmelinii* yaban koyun türünün alt türlerinden biri olup, Türkiye’de Konya sınırları içerisinde yer alan Bozdağ Koruma sahasında yaşayan bir yaban koyunu popülasyonudur. 1996 yılında koruma sahası olarak ilan edilen bu bölge, geçmişteki yayılışından geriye kalan son bölgedir (Arıhan, 2000). *Ovis gmelinii anatolica* alttürü evcil koyunlar gibi  $2n=54$  kromozomu sahip olup, mtDNA RFLP çalışmaları bu koyunlar hiç çalışılmamış olduğu halde bu alt türün evcil koyunların atası olduğu fikrini ortaya çıkarmıştır (Hiendleder ve ark., 1998a).

#### 4.1.2. SRYM18 mikrosatellit bölgesinden elde edilen bulgular

SRYM18 mikrosatellit bölgesine ait bölge Çizelge 3.5 PZR koşullarında çoğaltılmıştır. PZR sonucunda yükseltgenen SRYM18 bölgesine ait bantların gözlenmesi için %2’lik agaroz jeller kullanılmıştır. Agaroz jel 0.5x TBE solusyonunun bulunduğu tank içerisinde PZR ürünleri kuyulara yüklendikten sonra 110 V elektrik akımında 30 dakika boyunca yürütülmüştür. Etidyum Bromid (Etidium Bromide) ile boyanmış olan DNA molekülleri ultraviyole (UV) ışık veren Vilber Lourmat CN-3000 görüntüleme cihazında görüntülenmiştir.



Şekil 4.7. SRYM18 bölgesinin PZR sonrası agaroz jel görüntüsü (M:Marker)

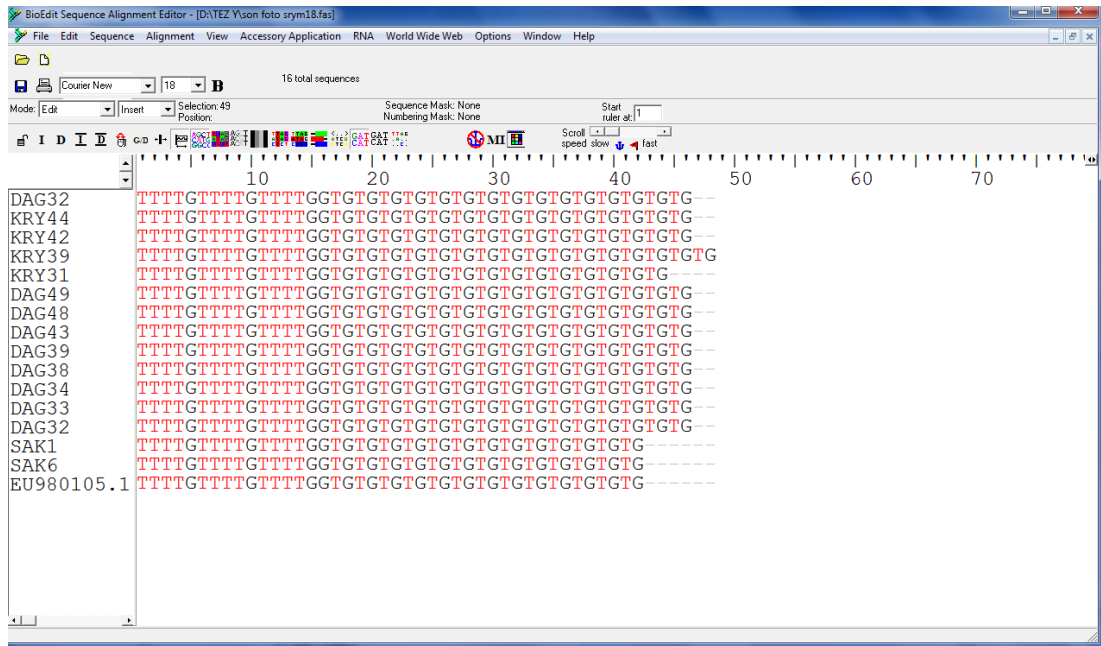






Şekil 4.9. Farklı ırklara ait bireylerin SRYM18 mikrosatellit bölgesi dizi analizi sonucunun Bioedit programında referans diziyile görüntülenmesi

Şekil 4.9’da farklı ırklara ait bireylerin SRYM18 mikrosatellit bölgesi referans dizisiyle karşılaştırılmıştır. Bireylerin referans diziyile (EU980105.1) ve birbirleriyle olan farklarına bakıldığında tüm sekansta sadece tekrarlı bölgede farklılıkların olduğu gözlemlenmektedir.



Şekil 4.10. SRYM18 bölgesine ait değişik sayıdaki mikrosatellit tekrarlarının referans diziyile birlikte Bioedit programındaki görüntüsü

Şekil 4.10’da SRYM18 mikrosatellit bölgesinde yer alan TTTTG tekrarları, bireyler arasında polimorfizm gösteren TG tekrarları ve bu tekrarlar arasında bir G nükleotidi görülmektedir. Çalışmamızdaki bireyler arasında TTTTG tekrar sayısı bakımından bir polimorfizm görülmemiştir. Ayrıca TTTTG ve TG tekrarları arasında G nükleotidinin varlığı da yine tüm bireylerde aynıdır. TG tekrarlarına bakıldığı zaman; Referans dizi ve SAK (Sakız) bireyleri 13 TG, KRY (Karayaka) 31 bireyi 14 TG, DAG (Dağlıç) 32 bireyi 15 TG ve KRY (Karayaka) 39 bireyi ise 16 TG tekrarı içermektedir.

Sunulan çalışmada TG tekrarları ve SRY bölgesindeki SNP’e göre bireylerin haplotipleri Çizelge 4.2 çerçevesinde belirlenmiştir.

Çizelge 4.2. Haplotiplerin belirlenmesinde SRYM18 mikrosatellit kombinasyonları ve SRY-SNP bölgeleri ve haplotipler (m:tekrar sayısı; Meadows ve ark., 2009)

Haplotip	SRYM18				SRY SNPs					Species
	(TTTTG) m	Indel G/-	(TG) m	Allele (bp)	oY 1	oY 5	oY 6	oY 7	oY 8	
H1	4	-	14	145	A	T	A	G	T	<i>Ovis dalli</i>
H2	4	-	13	143	A	T	A	G	T	<i>Ovis dalli/ Ovis canadensis</i>
H3	4	-	11	139	A	T	A	G	T	<i>Ovis dalli/ Ovis canadensis</i>
H4	3	G	16	145	A	C	G	G	A	<i>Ovis aries</i>
H5	3	G	16	145	G	C	G	G	A	<i>Ovis aries</i>
H6	3	G	15	143	A	C	G	G	A	<i>Ovis aries/ Ovis musimon</i>
H7	3	G	15	143	G	C	G	G	A	<i>Ovis aries</i>
H8	3	G	14	141	A	C	G	G	A	<i>Ovis aries</i>
H9	3	G	9	131	A	C	G	G	A	<i>Ovis aries</i>
H10	-	-	-	110	A	C	G	G	A	<i>Ovis aries</i>
H11	-	-	-	106	A	T	A	G	A	<i>Ammontragus lervia</i>
H12	3	G	13	139	A	C	G	G	A	<i>Ovis aries</i>
H13	3	G	18	149	A	C	A	T	G	<i>Ovis vignei</i>
H14	3	G	17	147	A	C	A	T	G	<i>Ovis vignei</i>
H15	3	G	20	153	A	C	G	G	G	<i>Ovis ammon</i>
H16	3	G	17	147	A	C	G	G	G	<i>Ovis ammon</i>
H17	3	G	15	143	A	C	G	G	G	<i>Ovis ammon</i>

Çizelge 4.2’de Meadows ve arkadaşları (2009) çalışmasında; haplotiplerde SRYM18 mikrosatellit bölgesinin kombinasyonlarını ve allel uzunluklarını, SRY-SNP bölgelerindeki nükleotidlerin türlere göre değişimleri göstermekterilmiştir. Bu

çizelgeden faydalanılarak çalışmamızdaki bireylerin Y kromozom haplotipleri belirlenmiştir.

Sunulan çalışmada H4, H6, H8 ve H12 haplotipleri tespit edilmiş olup, bu haplotiplerinde hepsinin *Ovis aries* türünde görülmesi beklenen bir sonuçtur. Ayrıca tabloda gösterilmeyen *Ovis gmelinii anatolica* yaban koyunu bireylerinin (n=16) tümünde H6 haplotipi belirlenmiştir.

Çizelge 4.3. Sunulan çalışmada Y kromozomuna ait haplotiplerin ırklara göre dağılımı

<b>İnce kuyruklu koyun ırkları</b>					
<b>İrklar</b>	<b>H4</b>	<b>H6</b>	<b>H8</b>	<b>H12</b>	<b>Toplam</b>
Karayaka	1	10	4	-	15
Gökçeada	1	14	1	-	16
Kıvrırcık	-	16	-	-	16
<b>Yarı yağlı kuyruklu koyun ırkları</b>					
Sakız	-	12	-	3	15
Hemşin	6	8	-	-	14
Herik	1	9	1	-	11
<b>Yağlı kuyruklu koyun ırkları</b>					
Akkaraman	1	10	-	-	11
Dağlıç	-	8	2	-	10
Çineçaparı	-	9	3	-	12
İvesi	-	6	1	-	7
Morkaraman	1	8	-	-	9
Norduz	2	5	-	-	7
Karagül	4	5	2	-	11
<b>Toplam</b>	<b>17</b>	<b>120</b>	<b>14</b>	<b>3</b>	<b>154</b>

Çizelge 4.3'te çalışmamızda toplam 154 bireye ait SRY ve SRYM18 gen bölgelerinin dizi analizleri sonucu Meadows ve arkadaşları (2009)'na göre tespit edilen haplotiplerden en fazla rastlanan haplotipin 120 bireyde H6 olduğu görülmektedir. H12 haplotipi ise Sakız ırkına ait 3 bireyde gözlenirken diğer ırklara ait bireylerde rastlanmamıştır. H4 ve H8 haplotipleri ise sırayla 17 ve 14 bireyde gözlemlenmiştir.

Çizelge 4.4. *Ovis gmelinii anatolica* (Anadolu Yaban Koyunu)'da SRYM18 ve SRY bölgelerinin dizi analizleri sonucu tespit edilen haplotip

Irklar	H4	H6	H8	H12	Toplam
<i>Ovis gmelinii anatolica</i>	-	16	-	-	16

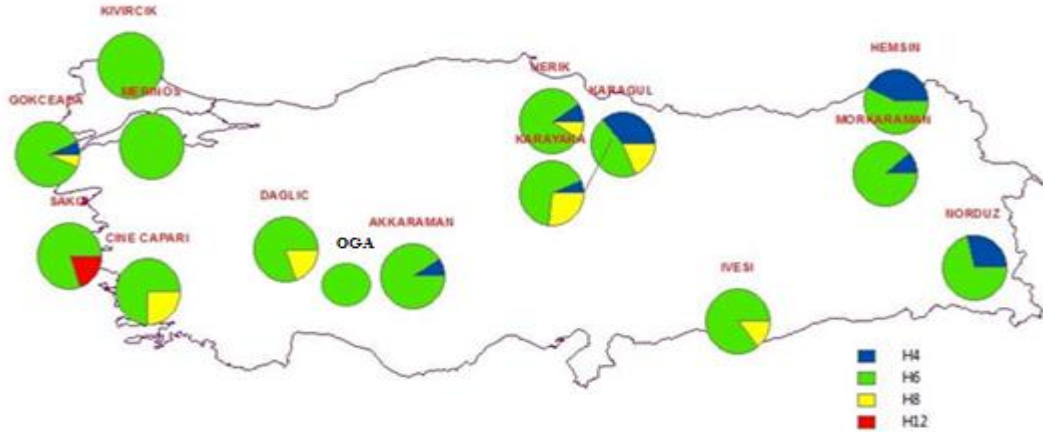
Çizelge 4.4 te görüldüğü gibi *Ovis gmelinii anatolica* alt türüne ait 16 bireyde de Türkiye’de yaşayan evcil koyunlarda en çok rastlanan H6 haplotipi gözlenmiştir. Tartışmada bu haplotipin dünya bazında gözlenme sıklığı tekrar ele alınacaktır.

Hiendleder ve arkadaşlarının (2002) yapmış oldukları çalışmada mtDNA haplogruplarından Haplogrup B’nin Avrupa’da baskın olduğunu ve bu haplogrubun atasının *Ovis gmelinii anatolica* olduğunu savunmaktadırlar. Ayrıca Meadows ve arkadaşları (2009) Y kromozomu ile yaptıkları çalışmada da H6 haplotipinin sadece *Ovis aries* ve *Ovis musimon* bireylerinde olduğunu tespit etmiş olup, diğer yaban koyunlarında ise H6 haplotipine rastlamamışlardır. Sunulan bu çalışmada ise *Ovis gmelinii anatolica* alt türüne ait 16 bireyinde H6 haplotipinde olması evcil koyunların atasının olduğu fikrini doğrulamaktadır.

Çizelge 4. 5. Merinos koyun ırkına ait bireylerde SRYM18 ve SRY bölgelerinin dizi analizleri sonucu tespit edilen haplotip

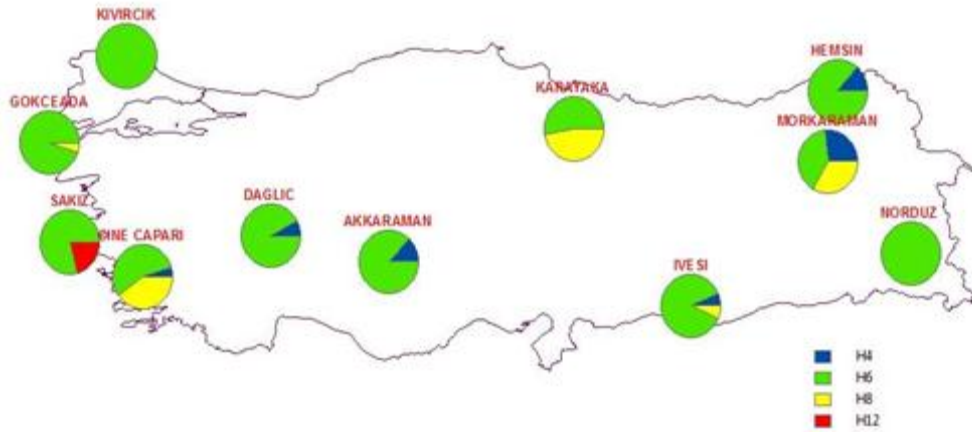
Irklar	H4	H6	H8	H12	Toplam
Merinos	-	12	-	-	12

Çizelge 4. 5’te Merinos koyun ırkına ait tüm bireylerin yine H6 haplotipinde olduğu görülmekte olup, Avrupa ırklarına özgü olan H5 ve H7 haplotipleri gözlemlenmemiştir. Meadows ve arkadaşlarının (2006) yaptığı çalışmada Merinos ırkına ait Avrupa örneklerinde hem H5 hem de H6 haplotipleri gözlemlenmiştir. Fakat Türkiye’de yaşayan merinos ırkına ait 12 bireyde yapılan çalışmamızda sadece H6 haplotipi tespit edilmiştir. Böylece Türkiye’deki Merinos ırkına ait bireylerin Avrupa ırklarının özelliklerinden çok evcil koyun ırklarımıza ait özellikler gösterdiği söylenebilir. Çünkü TİGEM Altınova İşletmelerinde üremesi sağlanan Merinos ırkının coğrafik olarak yakınında bulunan Gökçeada ve Kıvrıcık ırkıyla karışmış olduğu TİGEM yetkilileri tarafından tescil edilmiştir.



Şekil 4.11. Türkiye’de yaşayan koyun ırklarının Y kromozomuna ait haplotipleri haritada görselleştirilmesi (OGA= *Ovis gmelinii anatolica*).

Şekil 4.11’de çalışmamızda tespit ettiğimiz Y kromozomuna ait haplotipler Türkiye haritası üzerinde her haplotip farklı bir renk kullanılarak görselleştirilmiştir. Böylece H6 haplotipinin tüm ırklarda ve tüm bölgelerde en fazla bulunan haplotip olduğu ve H12 haplotipinin ise sadece Sakız ırkında bulunduğu açıkça görülmektedir.



Şekil 4.12. Farklı araştırmacıların (Meadows ve ark., 2009; Öner, 2010) Türkiye’de yaşayan koyun ırklarında tespit ettikleri Y kromozomuna ait haplotiplerinin haritada görselleştirilmesi

Şekil 4.12’de Türkiye’de yaşayan koyun ırklarında SRYM18 ve SRY bölgelerinin analizleri sonucu yapılan çalışmaların sonuçlarına ait (Meadows ve ark. 2009; Öner, 2010) haplotipler harita üzerinde gösterilmiştir. Böylece tüm sonuçlarda (Şekil 4.11 ve Şekil 4.12) H6 haplotipinin tüm ırklarda yaygın olduğunu, H4

haplotipinin doğudan batıya doğru gidildikçe frekansının azaldığını söylemek mümkündür.

Çizelge 4.6. Türkiye’de yapılan tüm çalışmalardan elde edilen Y kromozomu haplotip sonuçlarının karşılaştırılması

<b>İnce kuyruklu koyun ırkları</b>					
<b>İrklar</b>	<b>H4</b>	<b>H6</b>	<b>H8</b>	<b>H12</b>	<b>Toplam</b>
Karayaka ( Meadows ve ark., 2009)	-	4	4	-	8
Karayaka (Öner, 2010)	-	5	4	-	9
Karayaka (Parmaksız, 2013)	1	10	4	-	15
Gökçeada (Öner, 2010)	-	18	1	-	19
Gökçeada (Parmaksız, 2013)	1	14	1	-	16
Kıvırcık (Öner, 2010)	-	22	-	-	22
Kıvırcık (Parmaksız, 2013)	-	16	-	-	16
<b>Yarı yağlı kuyruklu koyun ırkları</b>					
Sakız (Meadows ve ark., 2009)	-	5	-	6	11
Sakız (Öner, 2010)	-	17	-	-	17
Sakız (Parmaksız, 2013)	-	12	-	3	15
Hemşin (Öner, 2010)	2	13	-	-	15
Hemşin (Parmaksız, 2013)	6	8	-	-	14
Herik (Parmaksız, 2013)	1	9	1	-	11
<b>Yağlı kuyruklu koyun ırkları</b>					
Akkaraman (Öner, 2010)	2	13	-	-	15
Akkaraman (Parmaksız, 2013)	1	10	-	-	11
Dağlıç (Öner, 2010)	1	12	-	-	13
Dağlıç (Parmaksız, 2013)	-	8	2	-	10
Çineçaparı (Meadows ve ark., 2009)	-	6	2	-	8
Çineçaparı (Öner, 2010)	1	5	6	-	12
Çineçaparı (Parmaksız, 2013)	-	9	3	-	12
İvesi (Öner, 2010)	1	14	-	-	15
İvesi (Parmaksız, 2013)	-	6	1	-	7
Morkaraman (Meadows ve ark., 2009)	1	4	-	-	5
Morkaraman (Öner, 2010)	3	2	5	-	10
Morkaraman (Parmaksız, 2013)	1	8	-	-	9
Norduz (Meadows ve ark., 2009)	-	10	-	-	10
Norduz (Parmaksız, 2013)	2	5	-	-	7
Karagül (Parmaksız, 2013)	4	5	2	-	11

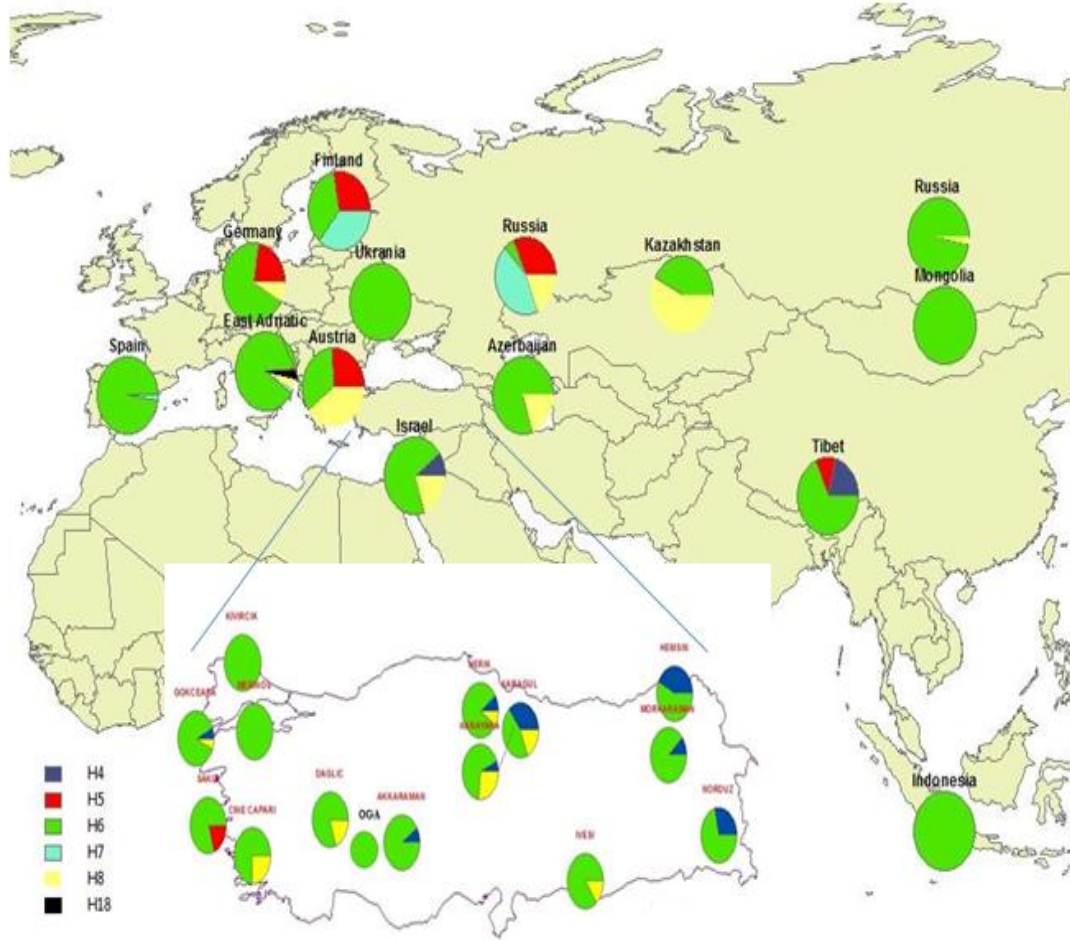
Çizelge 4.6'da SRYM18 ve SRY bölgelerine göre tanımlanmış Y-kromozomu için Türkiye'de yapılan tüm çalışmalardan elde edilen Y kromozom haplotip sonuçlarının karşılaştırılması görülmektedir. Buna göre tüm çalışmalarda H6 haplotipinin en fazla rastlanan haplotip olduğu, H4 haplotipinin genel olarak yağlı kuyruklu koyunlarda daha yaygın olduğu ve H12 haplotipinin ise sadece Sakız ırkında olduğu görülmektedir.

Çalışmamızda ince kuyruklu koyun ırklarından olan Karayaka ve Gökçeada ırklarına ait 1'er birey H4 haplotipine sahip olmasına rağmen diğer çalışmalarda ince kuyruklu koyun ırklarında H4 haplotipine rastlanmamaktadır. Kıvırcık ırkına ait bulmuş olduğumuz haplotip sadece H6 olarak Öner (2010) ile tamamen uyum sağlamaktadır. Herik ve Karagül ırkları ilk defa çalışmamızda araştırılmış olup H4, H6 ve H8 haplotipleri tespit edilmiştir.

Yarı yağlı kuyruklu ırklardan biri olan Sakız ırkında Öner (2010) sadece H6 tespit etmiş fakat bizim çalışmamızda ve Meadows (2009) çalışmasında H6 ve H12 haplotipleri görülmektedir. Hemşin ırkına ait haplotipler Öner (2010) ile uyumlu bulunmuş olup bizim bulduğumuz H4 ve H6 haplotipleri ortak olarak görülmektedir.

Yağlı kuyruklu koyun ırklarından biri olan Akkaraman ırkına ait haplotipler Öner (2010) çalışmasındaki haplotipler ile uyum göstermekte olup H4 ve H6 haplotipler görülmektedir. Dağlıç ırkında Öner (2010) çalışmasında H4 ve H6 haplotipleri gözlemlemiş olup, çalışmamızda ise H6 ve H8 haplotipleri tespit edilmiştir. Çineçaparı ırkında Öner (2010) çalışmasında H4, H6 ve H8 haplotiplerini gözlemlemiş, Meadows (2009) ve çalışmamızda ise H6 ve H8 tespit edilmiştir. İvesi ırkında Öner (2010) çalışmasında H4 ve H6 haplotiplerini tespit etmiş olup, çalışmamızda ise H6 ve H8 haplotipleri görülmüştür. Morkaraman ırkında bizim çalışmamız ile Meadows (2009)'un çalışmasında benzer şekilde H4 ve H6 haplotipleri görülürken, Öner (2010)'in çalışmasında bu haplotiplerin yanısıra H8 haplotipi de görülmüştür. Norduz ırkında ise Meadows (2009)'un çalışmasında sadece H6 haplotipini gözlemlemiş olmasına karşın bizim çalışmamızda H6 haplotipinin yanında H4 haplotipi de görülmüştür. Görüldüğü gibi frekansı göreceli

olarak düşük olan H4, H8 ve H12 haplotiplerinin görülmesi örnekleme farkı nedeni ile çalışmalar arasında fark yaratmaktadır. Ancak izole saf bir ırk olarak yetiştiriciliği yapılmayan yerli ırklarımızda örnekleme etkisinin frekansı düşük haplotiplerde görülmesi beklenir bir durumdur.



Şekil 4.13. Türkiye, Asya ve Avrupa yelpazesinde Y kromozomu haplotip dağılımları (Meadows ve ark., 2006; Meadows ve ark., 2009; Ferencakovic ve ark., 2012; Parmaksız, 2013)

Şekil 4.13’de Avrupa ve Asya’da yapılan Y kromozomu ile ilgili çalışmalar (Meadows ve ark., 2006; Meadows ve ark., 2009; Ferencakovic ve ark., 2012; Parmaksız, 2013) sonucu elde edilen haplotip dağılımları harita üzerinde gösterilmiş olup, H5 ve H7 haplotiplerinin Avrupa’da, H4 haplotipinin Asya’da, H6 haplotipinin ise hem Avrupa hem de Asya’da yaygın olduğu görülmektedir.

Türkiye, coğrafik olarak Asya ile Avrupa arasında bir geçiş bölgesinde yer aldığı için koyunların göç yollarında önemli bir merkez halini almıştır. Çünkü Y



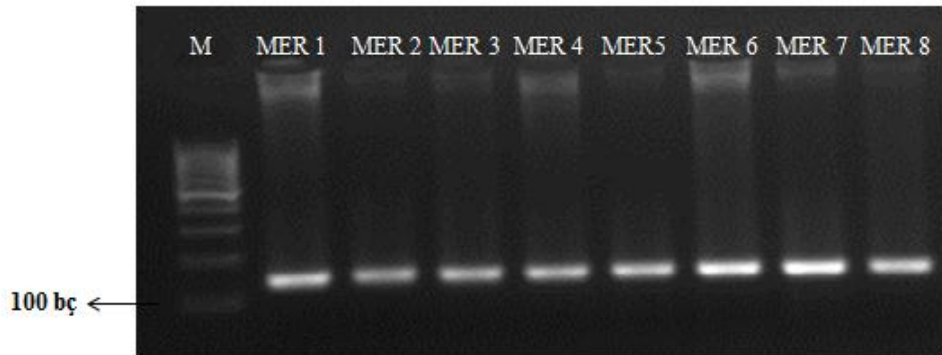
kromozomu haplotiplerine bakıldığı zaman H8 haplotipinin Türkiye’de, Asya’da ve Avrupa’da olduğunu Şekil 4.13’deki haritadan gözlemlenmektedir. Bu özellik açıkça Türkiye’nin bir geçiş bölgesi olduğunun göstergesidir. H4 haplotipinde Türkiye’ye Asya’dan göçlerle geldiğini fakat Avrupa’ya henüz geçmemiş olduğunu söylemek mümkündür.

#### 4.2. mtDNA D-loop gen bölgesinden elde edilen bulgular

Bu bölge çok hızlı evrimleşme gösterdiği için çeşitliliğin coğrafi desenlerini belirleme çalışmaları ve evrimsel çalışmalar için sıklıkla kullanılır (Bruford ve ark., 2003).

mtDNA D-loop gen bölgesine ait elde edilen 144 bç’lik bölge PZR ile Çizelge 3.7 koşullarında çoğaltılmıştır.

PZR sonucunda yükseltgenen mtDNA D-loop gen bölgesine ait bantların gözlenmesi için %2’lik agaroz jeller kullanılmıştır. Agaroz jel 0.5x TBE solüsyonunun bulunduğu tank içerisinde PZR ürünleri kuyulara yüklendikten sonra 120 V elektrik akımında 30 dakika boyunca yürütülmüştür. Etidyum Bromid (Etidium Bromide) ile boyanmış olan DNA molekülleri ultraviyole (UV) ışık veren Vilber Lourmat CN-3000 görüntüleme cihazında görüntülenmiştir.

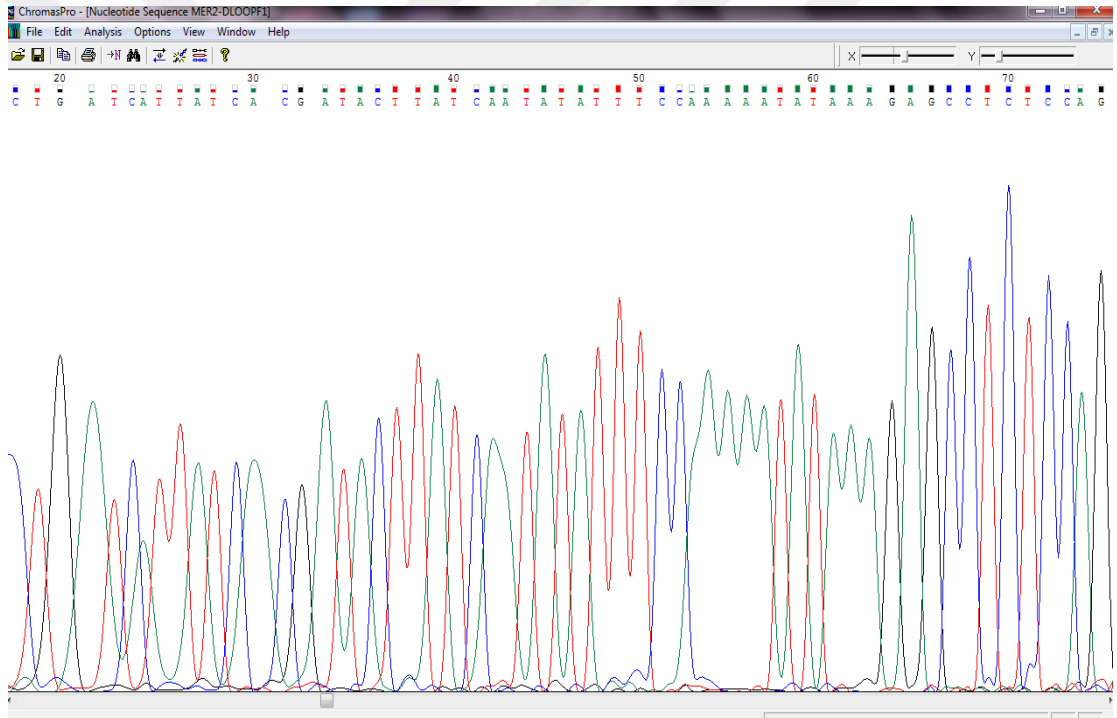


Şekil 4.14. Merinos ırkına ait bireylerin mtDNA D-loop gen bölgesinin PZR sonrası agaroz jelde görüntülenmesi (M=Marker 100 bç)

Şekil 4.14’de Merinos (MER) ırkına ait bireylerde PZR sonrası agaroz jelde marker ile birlikte yürütülmüş olup, hedef bölgenin 144 bç olduğunu marker sayesinde doğru olduğu tahmin edilmiştir.

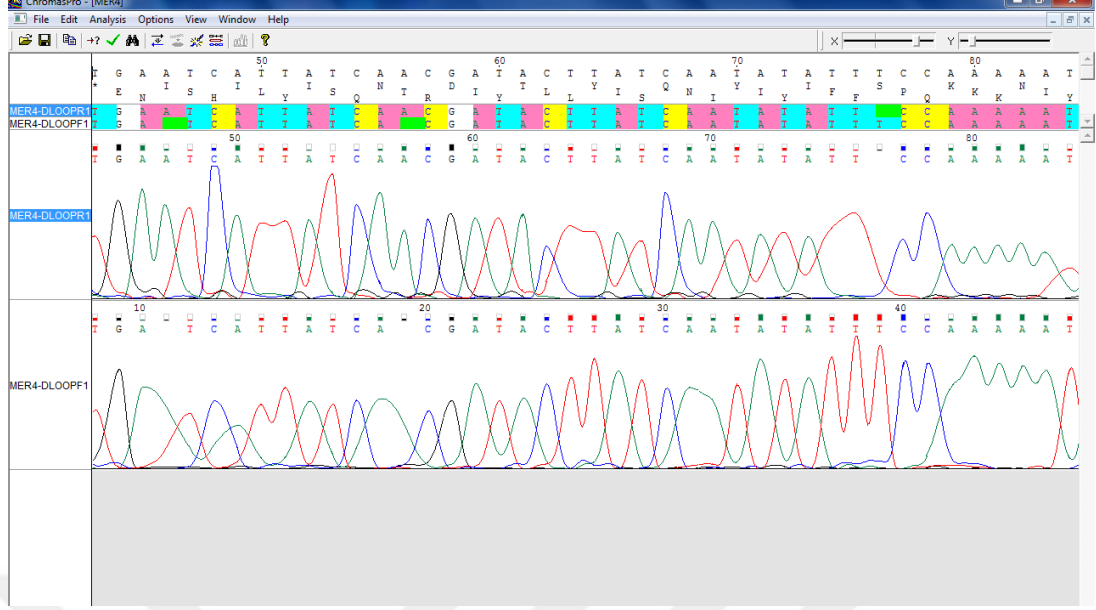
Jel görüntüleme işleminden sonra PZR ürünleri yeterli olan bireyler seçilerek PZR ürünlerinin temizleme kitleriyle saflaştırma aşamasına geçilmiştir.

Daha sonra örnekler dizi analizine gönderilmiştir. Dizi analizinden gelen sonuçlar Chromas Pro bilgisayar programı yardımıyla incelenmiş, Bioedit bilgisayar programında gen bankasındaki referans (AF010406) diziyle karşılaştırma yapılmıştır.



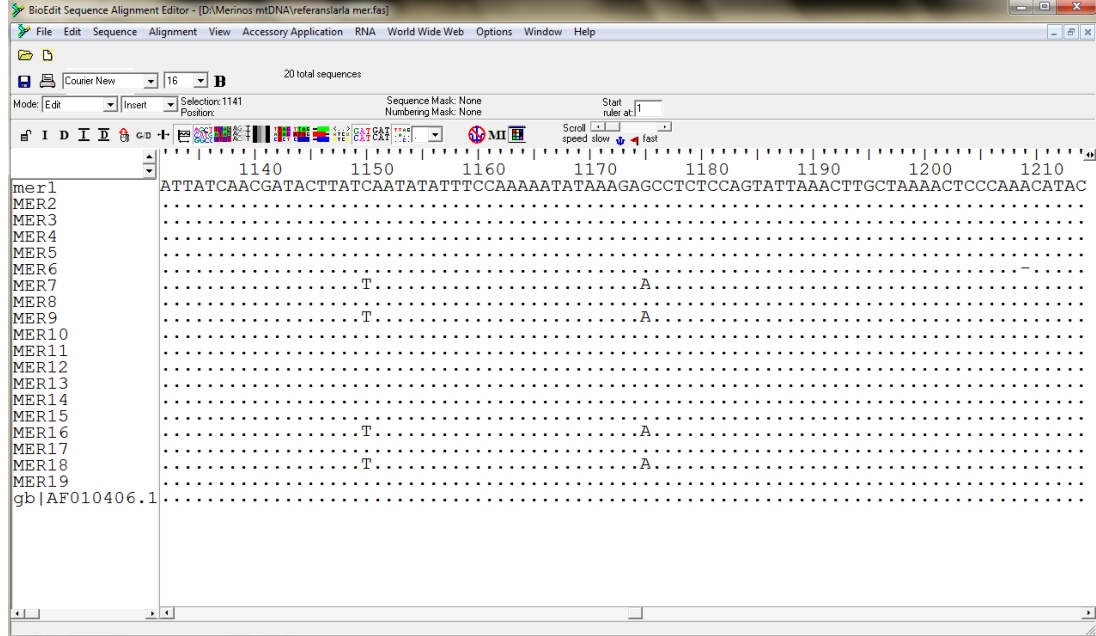
Şekil.4.15. mtDNA D-loop gen bölgesinin dizi analizi sonucunun Chromas-Pro’daki görüntüsü

Şekil 4.15’de Merinos 2 numaralı bireyin dizi analizi sonucunun Chromas-Pro bilgisayar programındaki görüntüsü görülmektedir. Bu program aracılığıyla baz dizilerine ait pikler dikkatlice incelenmiştir.



Şekil 4.16. Merinos ırkına ait 4 nolu bireyin D-loop gen bölgesinin dizi analizi sonucunun bir kısmının Chromas-Pro'daki görüntüsü.

Şekil 4.16'da Merinos 4 numaralı bireyin dizi analizi sonucu Chromas-Pro bilgisayar programında hizalanmış şekli görülmekte olup dizi analizleri hizalanarak nükleotid dizilimleri incelenmiştir.



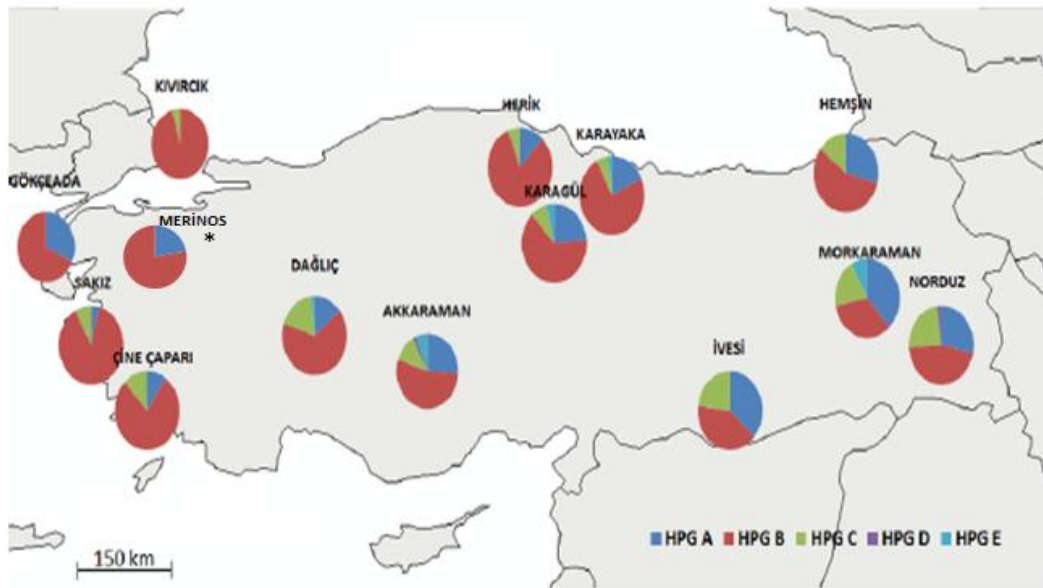
Şekil 4.17. mtDNA D-loop gen bölgesinin dizi analizi sonucunun Bioedit programında referans diziyile görüntülenmesi

Şekil 4.17’de haplogrup B olan AF010406.1 referans diziyle Merinos bireyleri karşılaştırılmış olup haplogrup tayini yapılmıştır.

Çizelge 4.7 mtDNA D-loop gen bölgesinin dizi analizi sonucunda haplogrupların belirlenmesinde kullanılan nükleotid değişimleri (Meadows ve ark., 2011)

Haplogrup	69.nükleotid	86.nükleotid	95.nükleotid	120.nükleotid	123.nükleotid
Haplogrup A	T	T	A	A	T
Haplogrup B	C	.	G	.	.
Haplogrup C	C	.	G	G	C
Haplogrup D	C	.	G	.	.
Haplogrup E	C	C	G	G	.

Çalışmamızda Çizelge 4.7 dikkate alınarak, Merinos ırkına ait 15 bireyin haplogrup B olduğu ve 4 bireyin ise haplogrup A olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 4.18. Demirci (2012)’ye göre mtDNA haplogruplarının ırk düzeyinde gösterilmesi (\* Merinos ırkı bu çalışmada haritaya katılmıştır)

Şekil 4.18’de Demirci (2012) çalışmasındaki haritasına Merinos ırkına ait haplogruplar eklenmiştir. Merinos ırkının yakınında bulunan Gökçeada ırkına benzer haplogruplar (sadece B ve A haplogrupları) içerdiği gözlenmiştir.

Ayrıca Merinos ırkının Türkiye haritasındaki haplotip dağılımına bakıldığı zaman Demirci (2012) çalışmasıyla paralellik göstermekte olduğu görülmektedir. Çünkü Avrupa'ya doğru gidildikçe haplogrup B'nin daha yaygın olduğu ve Merinos ırkının da Avrupa kökenli bir ırk olduğu bilinmektedir.

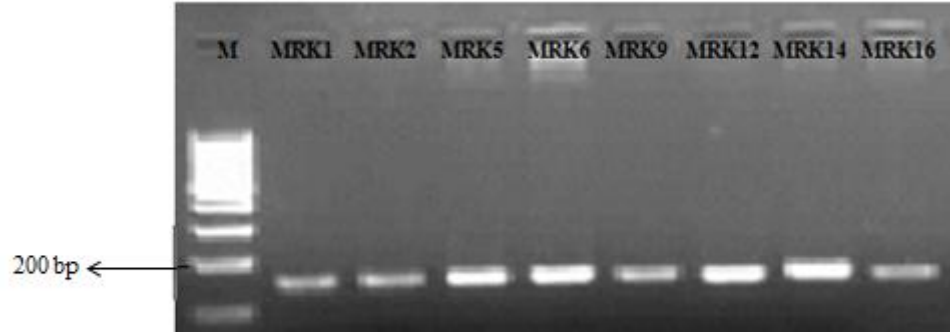
A haplogrubu Asya koyunu ırkları arasında yaygın olarak bulunurken (Heindleder ve ark., 2002), Avrupa koyun ırklarında ise yalnızca B haplogrup bulunduğu ve bu grubun yaygınlığının Avrasya'da bulunan ırklarda gözlenenden düşük olduğu bildirilmiştir (Heindleder ve ark., 2002; Guo ve ark., 2005; Meadows ve ark., 2005).

Merinos koyun ırkı Türkiye'ye Avrupa'dan getirildiği bilindiği için normalde tüm bireylerin haplogrup B olması beklenirdi. Fakat 4 bireyin haplogrup A çıkması, Merinos ırkının Türk yerli koyun ırklarından büyük bir olasılıkla Sakız ve Gökçeada ırklarıyla karıştığını söylemek mümkündür.

### **4.3. Otozomal Kromozomlardaki Mikrosatellit Lokuslarına Ait Bulgular**

#### **4.3.1 OarVH72 isimli mikrosatellit bölgesine ait bulgular**

OarVH72 adlı mikrosatellit bölgesi PZR koşulları optimize edildikten sonra Çizelge 3.11. koşullarında çoğaltılmıştır. PZR sonucunda yükseltgenen bu bölgeye ait bantların gözlenmesi için % 2'lik agaroz jeller kullanılmıştır. Agaroz jel 0.5x TBE solüsyonunun bulunduğu tank içerisine konulduktan sonra agaroz jeldeki kuyulara PZR sonucu oluşan ürünler yüklenerek 110 V elektrik akımında 40 dakika yürütülmüştür. Etidyum Bromid (Etidium Bromide) ile boyanmış olan DNA molekülleri ultraviyole (UV) ışık veren Vilber Lourmat CN-3000 görüntüleme cihazında görüntülenmiştir.

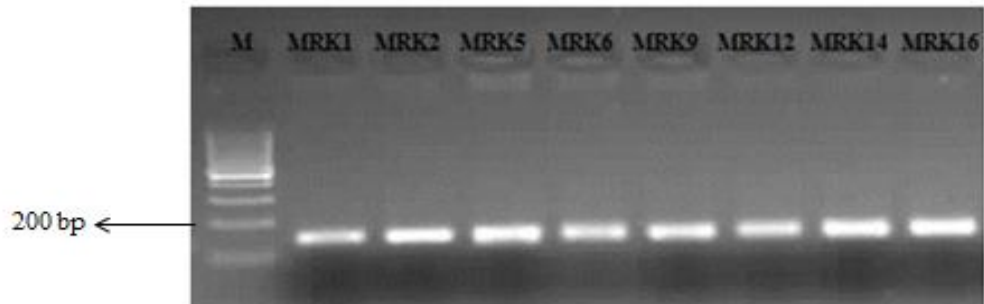


Şekil 4.19. OarVH72 mikrosatellit bölgesinin PZR sonrası agaroz jelde görüntülenmesi (M=Marker)

Şekil 4.19’da Morkaraman koyun ırkına ait örnekler PZR sonrası agaroz jelde markör ile birlikte yürütülmüş olup hedef bölgenin uzunluğu 121 – 145 bp arasında olduğu için, markör sayesinde oluşan ürünlerin uzunluğu tahmin edilmiş olup hedef bölgenin yükseltildiği sonucuna varılmıştır.

#### 4.3.2. OarFCB226 isimli mikrosatellit bölgesine ait bulgular

OarFCB226 adlı mikrosatellit bölgesi PZR koşulları optimize edildikten sonra çizelge 3.13. koşullarında çoğaltılmıştır. PZR sonucunda yükseltgenen bu bölgeye ait bantların gözlenmesi için % 2’lik agaroz jeller kullanılmıştır. Agaroz jel 0.5x TBE solüsyonunun bulunduğu tank içerisine konulduktan sonra agaroz jeldeki kuyulara PZR sonucu oluşan ürünler yüklenerek 110 V elektrik akımında 40 dakika yürütülmüştür. Etidyum Bromid (Etidium Bromide) ile boyanmış olan DNA molekülleri ultraviyole (UV) ışık veren Vilber Lourmat CN-3000 görüntüleme cihazında görüntülenmiştir.

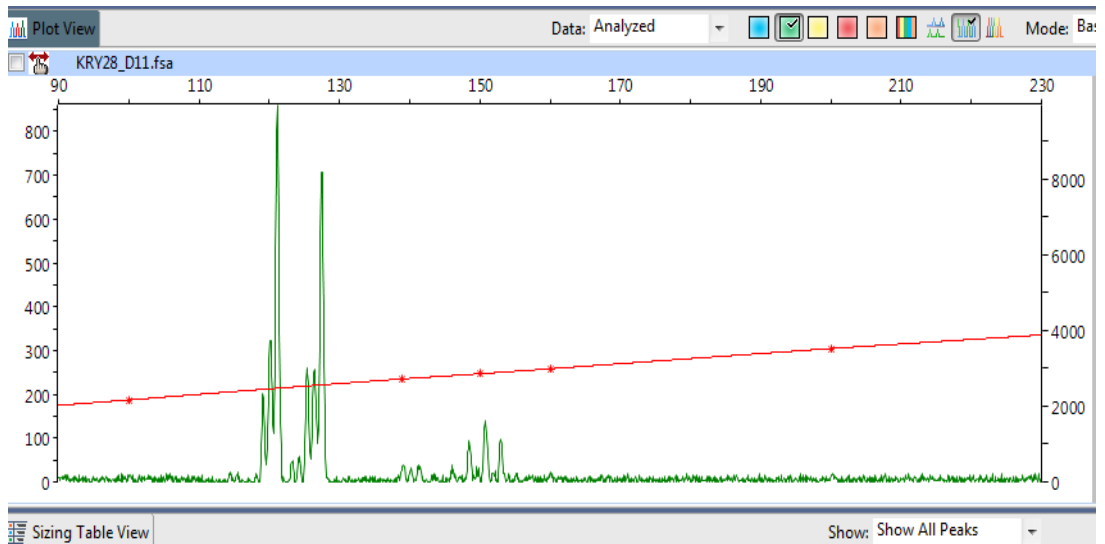


Şekil 4.20. OarFCB226 mikrosatellit bölgesinin PZR sonrası agaroz jelde görüntülenmesi (M=Marker)

Şekil 4.20’de Morkaraman koyun ırkına ait örnekler PZR sonrası agaroz jelde marker ile birlikte yürütülmüş olup, hedef bölgenin uzunluğu 118 – 160 bç olduğu bilinmekte ve marker sayesinde oluşan ürünlerin uzunluğu tahmin edilmiş, bu bölgenin yükseltildiği sonucuna varılmıştır.

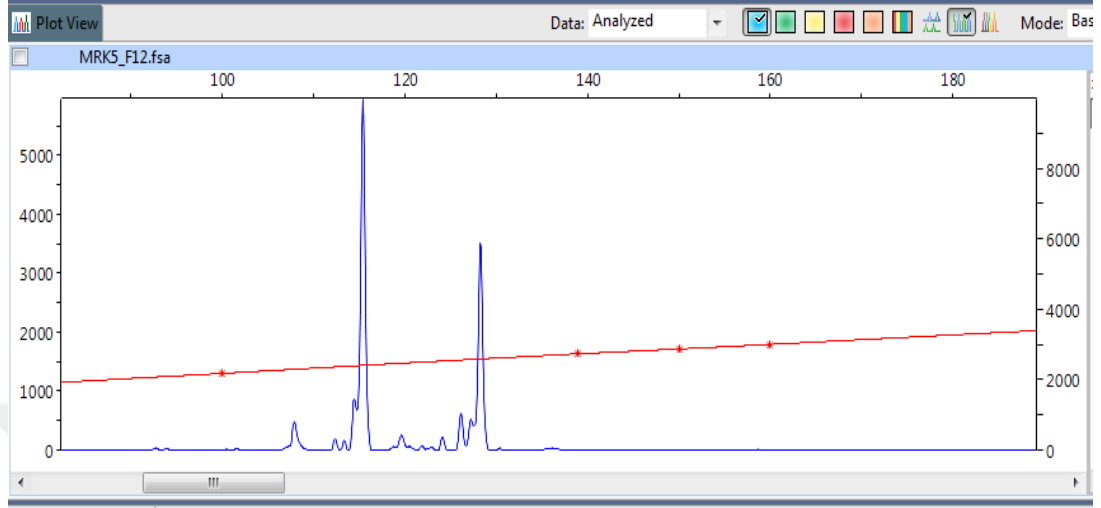
### 4.3.3. Mikrosatellit lokuslarından elde edilen verilerin bant uzunluklarının hesaplanması

PZR sonucunda çoğaltılmış bölgelerin uzunluklarının belirlenmesinde kapiller elektroforezi (ABI 3100 Genetic Analyzer) kullanılmış olup, genotipleme için gerekli ham veriler ticari firmadan tarafımıza gönderilmiştir. Her bir mikrosatellit bölgesi değişik renkte (FAM ve HEX) işaretlenmiş ve uzunlukları TAMRA (Taqman®TAMRA™ Probe) isimli standart işaretleyici yardımı ile belirlenmiştir. Bu standart işaretleyiciye göre belirlenen uzunluk değerleri bilgisayara kaydedilmiştir. Aşağıdaki şekilde ABI 3100™ kapiller elektroforezinde okuması yapılan bireylerden alınan piklere ait görüntüler verilmiştir. Elektroferogramlardan data analizi ve düzeltilmesi için Applied Biosystems Peak Scanner™ Software v1.0 (www.appliedbiosystems.com) programı kullanılmıştır.



Şekil 4.21. OarVH72 mikrosatellit bölgesine ait Karayaka 28 nolu bireyde heterozigot piklerin elektroferogramı

Şekil 4.21’de Hex ile işaretlenmiş KRY 28 nolu bireyin iki pik oluşturduğu için heterozigot allele sahip olduğu görülmektedir.



Şekil 4.22. OarFCB226 mikrosatellit bölgesine ait Morkaraman 5 nolu bireyde heterozigot piklerin elektrofenogramı

Şekil 4.22’de Fam ile işaretlenmiş KRY 28 nolu bireyin heterozigot allele sahip olduğu görülmektedir.

Bu analizler sonucunda OarVH72 mikrosatellit lokusunda 9 allel, OarFCB226 da ise 17 allel tespit edilmiştir. Bu alleller Çizelge 4.8’de verilmiştir



Çizelge 4.8. Çalışmada genotiplendirilen mikrosatellit lokuslarında görülen allel uzunlukları

Allel sayısı	OarVH72	OarFCB226
1	119	108
2	121	116
3	123	120
4	125	128
5	127	130
6	129	132
7	131	134
8	133	136
9	135	138
10		140
11		142
12		144
13		146
14		148
15		150
16		152
17		154

Çizelge 4.8’de Otozomal kromozomlardaki OarVH72 ve OarFCB226 mikrosatellitlerine ait allel uzunlukları görülmektedir.

#### 4.4. İstatistiksel Analizler Sonucu Elde Edilen Bulgular

Analizlerde kullanılan koyun ırkları çizelge ve şekillerde kısaltılarak yazılmıştır. Bu kısaltmalar ve açıklamaları Çizelge 4. 9’de verilmiştir.

Çizelge 4.9. Analizlerde kullanılan ırk kısaltmalarını açıklamaları

Kısaltma	İrk adı
Sak	Sakız
Hem	Hemşin
Nor	Norduz
Dag	Dağlıç
Mor	Morkaraman
Kıv	Kıvırcık
Kry	Karayaka
İve	İvesi
Gök	Gökçeada
Akk	Akkaraman
Krg	Karagül
Çiç	Çineçaparı
Her	Herik
Mer	Merinos

#### 4.4.1. Y kromozomu belirteçlerinin sonuçlarına ait analizlerde elde edilen istatistiksel bulgular

##### 4.4.1.1. $F_{ST}$ değeri

Populasyonlar arası farkın önemli olup olmadığını görmek için  $F_{ST}$  değerleri hesaplanmıştır. Bütün populasyonlar için hesaplanan ikili ırklar arası  $F_{ST}$  değerleri Çizelge 4.10'da gösterilmiştir.

Çizelge 4.10. Y Kromozom haplotip frekanslarına göre ırklar arasındaki  $F_{ST}$  değerleri

	Kry	Akk	Gök	Dag	Mor	Kıv	İve	Her	Krg	Hem	Çiç	Sak	Nor	Mer
Kry	0,000000													
Akk	0,211200	0												
Gök	0,215110	-0,00193	0											
Dag	0,136540	-0,01267	-0,02891	0										
Mor	0,01669	0,12264	0,17182	0,09338	0									
Kıv	0,38091	0,10963	0,04307	0,09903	0,34819	0								
İve	0,18931	-0,02325	-0,03701	-0,03811	0,13555	0,05711	0							
Her	0,07359	-0,03968	-0,02573	-0,06193	0,01289	0,21796	-0,04322	0						
Krg	0,08029	0,25144	0,34929	0,23189	-0,03436	<b>0,60247</b>	0,28954	0,10429	0					
Hem	0,16535	0,04244	0,13035	0,07648	0,02927	0,28394	0,09338	0,00212	0,05109	0				
Çiç	-0,03024	0,18171	0,18252	0,10788	0,0106	0,3482	0,15907	0,04867	0,08198	0,14551	0			
Sak	0,19469	0,07595	0,08685	0,05982	0,1447	0,17923	0,06917	0,03169	0,25319	0,12256	0,17014	0		
Nor	0,18748	-0,0511	-0,01034	-0,02352	0,09822	0,14183	-0,0328	-0,05317	0,21235	0,02554	0,15937	0,06262	0	
Mer	0,25402	0,02856	-0,01014	0,01729	0,20602	0	-0,01131	0,05979	0,38128	0,16475	0,22507	0,09897	0,03363	0

Çizelge 4. 10 sonuçlarına bakılarak en büyük  $F_{ST}$  değerlerinin 0,60247 olarak KRG (Karagül) ve KIV (Kıvırcık) ırkları arasında olduğu tespit edilmiş olup bu iki ırkın karşılaştırılanlar arasında birbirine genetik olarak en uzak ırklar olduğu anlaşılmaktadır.  $F_{ST}$  değerleri 0,5'ten büyük ise büyük bir genetik farklılaşmanın geçerli olduğu söylenebilir (Wright, 1978; Özkan, 2005).

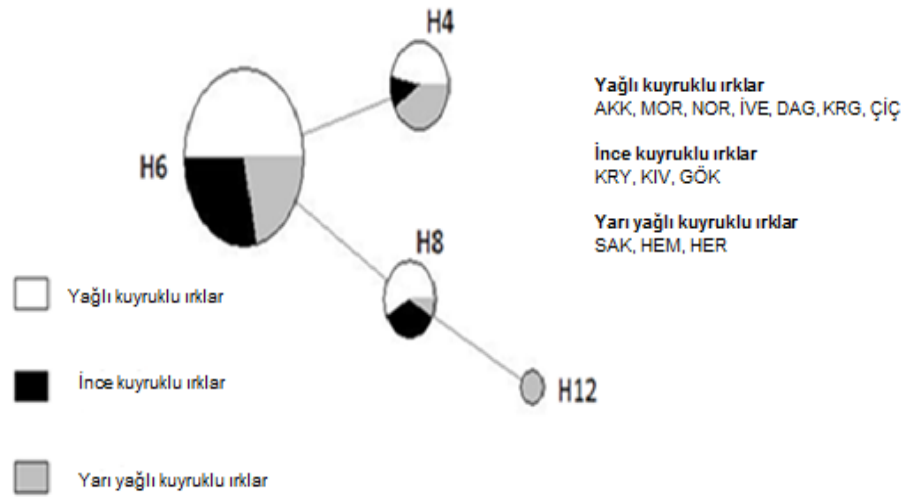
#### 4.4.1.2. Mantel test analizi

Bu analiz aşamasında Türkiye'deki koyun ırkları arasında coğrafik uzaklık ile genetik uzaklık ( $F_{ST}$ ) arasında önemli bir korelasyonun olup olmadığı 1000 kez permütasyon ile test edilmiştir.

Mantel testi sonucuna göre hesaplanan korelasyon katsayısı ( $r= 0,08688$ ) küçüktür ve istatistiksel olarak anlamlı değildir ( $p=0,216>0,05$ ). O halde ırkların Y haplogrup frekans dağılımları uzaklıkla benzeşmenin azaldığı bir göç modeline uymamaktadır.

#### 4.4.1.3. Medyan birleştirme ağı (Median joining network) analizi

Medyan Birleştirme Ağı (Bandelt ve ark., 1999) analizi Y kromozomunda bulunan SRY ve SRYM18 bölgelerinin dizi analizi yapıldıktan sonra elde edilen haplotiplerin yakınlıkları moleküler yakınlıklarına (aralarındaki mutasyon farklarına) göre NETWORK 4.6.1.0 ([www.fluxus-engineering.com](http://www.fluxus-engineering.com)) programı kullanılmasıyla Şekil 4.24' te görselleştirilmiştir. Bu şekilde haplotipler arasındaki ilişki ve her haplotipi sergileyen koyunların tipi (yağlı kuyruklu, yarım yağlı ve ince kuyruklu) ve ırkları görülmektedir.

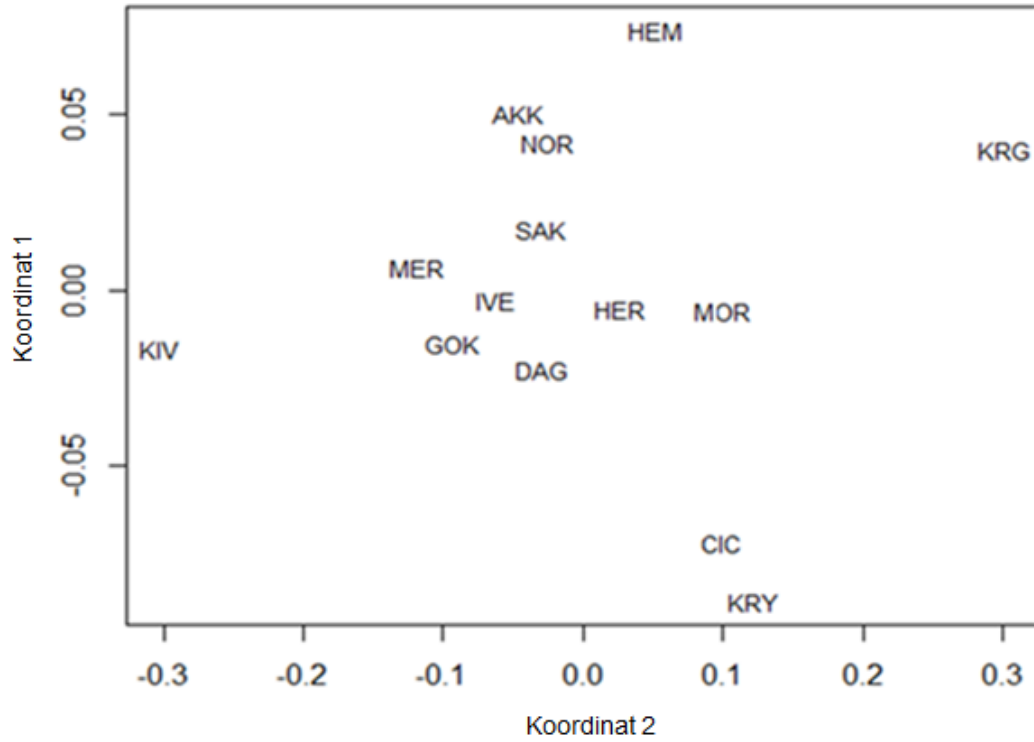


Şekil 4.23. Medyan birleştirme ağı analizi ile haplotiplerin koyunlardaki kuyruk tipine göre durumu

Şekil 4.23’de H4, H6 ve H8 haplotiplerinin yağlı kuyruklu, ince kuyruklu ve yarı yağlı kuyruklu koyun ırklarında bulunduğunu fakat H12 haplotipinin sadece yarı yağlı kuyruklu koyun ırkında (sadece Sakız ırkında bulunduğu Çizelge 4.4’te sunulmakta) bulunduğu görülmektedir. Ayrıca H4 ve H8 haplotiplerinin; H6 haplotipiyle genetik olarak ilişkili olduğu ve birbirlerinden bağımsız olarak H6’dan evrimleştiğini söylemek mümkündür. Benzer şekilde H12 özgün haplotipinin de H8’den türediği görülmektedir.

#### 4.4.1.4. Çok değişkenli ölçekleme (Multidimensional scaling =MDS) analizi

Çok Değişkenli Ölçekleme Analizi yardımıyla ırklar arasındaki ikili uzaklıklar matrisinin bilgileri bağımsız eksenler üzerinde incelenebilir hale gelmektedir.



Şekil 4.24. Çok değişkenli ölçekleme analizi sonucu oluşturulan iki eksen üzerinde gözlenen ırklar arası farklar. (İrk kısaltmaları Çizelge 4.9’ da verilmiştir)

Y kromozomu haplotipleri açısından Kıvırcık-Karagül ırklarının birbirine oldukça uzakta konumlandıkları için bu ırkların genetik olarak birbirinden farklı olduğu söylenebilir. Bu durum daha önce Fst ile saptanmıştı. Çok değişkenli analiz de Fst’lere göre yapılmıştır. Karagül ülkemize 1929 yılında Rusya’dan getirilen yağlı kuyruklu bir ırktır. Kıvırcık ise Avrupa ırklarına en yakın ırktır. En büyük farkın bu iki ırk arasında gözlenmesi ve hemen ardından da karışmış durumda bile olsa Merinos ile Karagül arasında yine oldukça büyük bir fark gözlenmesi beklenen bir durumdur. Karagül ırkının bir “dış grup” gibi referans noktası oluşturması dikkat çekicidir. Ayrıca, Y kromozomu haplotipleri açısından Akkaraman ve Norduz ırkları ise birbirine yakın konumlandığı için bu iki ırkın genetik olarak birbirine yakın ırklar olduğu söylenebilir. Norduz ırkı, Akkaraman ırkını’nın bir varyetesi olduğuna inanılmaktadır (Ocak ve ark., 2009). Sunulan çalışmadaki sonuçlar da bu inancı desteklemektedir. İrklar arasında sergilenen bu ilişkiler sonuçların güvenilirliğini arttırmaktadır.

#### 4.4.2. Otozomal kromozomdaki mikrosatellit verilerin istatistiksel analizleri sonucu elde edilen bulgular

Sunulan çalışmada istatistiksel analizlerin tümü “Türkiye Yerli Evcil Hayvan Genetik Kaynaklarından Bazılarının In Vitro Korunması ve Ön Moleküler Tanımlanması-I (TURKHAYGEN-I, www.turkhaygen.gov.tr) adlı projesine ait 8 mikrosatellit lokus ve 199 birey için gerçekleştirilmiştir. Bu lokuslardan OarCP34, DYMS1, OarHH47, OarFCB20, OarFCB304 ve ILST11 adlı lokuslar Acar (2010) tarafından çalışılmış, OarVH72 ve OarFCB226 adlı lokuslar ise tarafımızca tekrar çalışılmıştır. Çünkü bu son iki lokus daha önce başka bir makina ile çalışılmıştı ve bu sonuçların güvenilirliği ile ilgili soru işareti mevcuttu. Tüm bu lokuslara ait allel sayıları aşağıdaki çizelge 4.11’de belirtilmiştir.

Çizelge 4.11. Analizleri yapılan otozomal mikrosatellit lokuslarına ait allel sayısı

Lokus Adı	Allel Sayısı
OarCP34	8
DYMS1	17
OarHH47	14
OarFCB20	16
OarFCB304	23
ILSTS011	10
OarVH72	9
OarFCB226	17

##### 4.4.2.1. Otozomal kromozomlardaki mikrosatellit sonuçlarının $F_{IS}$ değerleri

Tüm lokuslara ait beklenen, gözlenen heterozigotluklar aralarındaki farkın istatistiksel olarak önemli olup olmadığı (Hardy-Weinberg dengesinden anlamlı olarak sapıp saptığı)  $F_{IS}$  istatistiği ile ve permütasyon testleri ile gözlenmiş olup Çizelge 4.12’de sunulmuştur.

Çizelge 4.12. Analiz edilen lokuslarda beklenen (He), gözlenen heterozigotlar (Ho) ve saf yetiştirme katsayıları (Fis )

Lokuslar	Populasyon	1 (Sak)	2 (Hem)	3 (Nor)	4 (Dag)	5 (Mor)	6 (Kiv)	7 (Kry)	8 (Ive)	9 (Gök)	10 (Akk)
OarCP34	He	0.7475	0.7687	0.7962	0.8304	0.7950	0.8200	0.7576	0.7925	0.7900	0.7250
	Ho	0.8500	0.7368	0.8000	0.8824	0.8000	0.8500	0.9474	0.8500	0.7500	0.5500
DYMS1	Fis	-0.112 <sup>NS</sup>	0.068 <sup>NS</sup>	0.021 <sup>NS</sup>	-0.032 <sup>NS</sup>	0.019 <sup>NS</sup>	-0.011 <sup>NS</sup>	-0.225 <sup>NS</sup>	-0.047 <sup>NS</sup>	0.076 <sup>NS</sup>	0.265 <sup>NS</sup>
	He	0.8238	0.7950	0.7820	0.6484	0.8137	0.8087	0.8629	0.8062	0.8363	0.7137
OarHH47	Ho	0.7500	0.8947	0.8235	0.6875	0.7500	0.7000	0.8947	0.7647	0.8000	0.6500
	Fis	0.115 <sup>NS</sup>	-0.099 <sup>NS</sup>	-0.023 <sup>NS</sup>	-0.028 <sup>NS</sup>	0.104 <sup>NS</sup>	0.16 <sup>NS</sup>	-0.01 <sup>NS</sup>	0.082 <sup>NS</sup>	0.069 <sup>NS</sup>	0.115 <sup>NS</sup>
OarFCB20	He	0.7500	0.8133	0.8627	0.8564	0.7479	0.8056	0.8100	0.8672	0.8300	0.8495
	Ho	0.7500	0.8333	0.9444	0.8235	0.7895	0.7778	0.8500	0.9375	0.7000	0.8235
OarFCB304	Fis	0.026 <sup>NS</sup>	0.004 <sup>NS</sup>	-0.066 <sup>NS</sup>	0.069 <sup>NS</sup>	-0.029 <sup>NS</sup>	0.063 <sup>NS</sup>	-0.024 <sup>NS</sup>	-0.049 <sup>NS</sup>	0.182 <sup>NS</sup>	0.061 <sup>NS</sup>
	He	0.7762	0.8425	0.8450	0.8338	0.8512	0.8600	0.8537	0.8650	0.8387	0.8750
ILSTS011	Ho	0.7500	0.8500	0.7500	0.9474	0.9000	0.7000	0.9000	0.9000	0.9000	0.8500
	Fis	0.059 <sup>NS</sup>	0.017 <sup>NS</sup>	0.138 <sup>NS</sup>	-0.11 <sup>NS</sup>	-0.032 <sup>NS</sup>	0.211 <sup>NS</sup>	-0.029 <sup>NS</sup>	-0.015 <sup>NS</sup>	-0.047 <sup>NS</sup>	0.054 <sup>NS</sup>
OarVH72	He	0.8512	0.7175	0.8675	0.8158	0.7012	0.7687	0.7437	0.7762	0.5450	0.6962
	Ho	0.8500	0.7000	0.9000	0.6842	0.7000	0.8500	0.7000	0.7000	0.6000	0.4500
OarVH72	Fis	0.027 <sup>NS</sup>	0.05 <sup>NS</sup>	-0.012 <sup>NS</sup>	0.188 <sup>NS</sup>	0.027 <sup>NS</sup>	-0.08 <sup>NS</sup>	0.084 <sup>NS</sup>	0.124 <sup>NS</sup>	-0.075 <sup>NS</sup>	0.376 <sup>***</sup>
	He	0.7875	0.7425	0.7113	0.7978	0.7012	0.7850	0.6625	0.7511	0.6812	0.6213
OarFCB226	Ho	0.8500	0.6500	0.7500	0.8421	0.7500	0.6500	0.7000	0.6000	0.7500	0.8000
	Fis	-0.054 <sup>NS</sup>	0.15 <sup>NS</sup>	-0.029 <sup>NS</sup>	-0.029 <sup>NS</sup>	-0.044 <sup>NS</sup>	0.197 <sup>NS</sup>	-0.031 <sup>NS</sup>	0.234 <sup>NS</sup>	-0.075 <sup>NS</sup>	-0.264 <sup>NS</sup>
OarFCB226	He	0.7312	0.7388	0.6644	0.7576	0.7613	0.7922	0.7650	0.8462	0.6731	0.7687
	Ho	0.9500	0.5882	0.7647	0.6316	0.8000	0.7895	0.8500	0.9000	0.6842	0.8500
OarFCB226	Fis	-0.276 <sup>NS</sup>	0.233 <sup>NS</sup>	-0.121 <sup>NS</sup>	0.193 <sup>NS</sup>	-0.025 <sup>NS</sup>	0.031 <sup>NS</sup>	-0.086 <sup>NS</sup>	-0.038 <sup>NS</sup>	0.011 <sup>NS</sup>	-0.08 <sup>NS</sup>
	He	0.7475	0.8407	0.7729	0.8380	0.6850	0.8288	0.7700	0.8038	0.7344	0.7537
OarFCB226	Ho	0.8000	1.0000	0.8947	1.0000	0.8000	0.9500	0.8000	0.9000	0.6250	0.6500
	Fis	-0.045 <sup>NS</sup>	-0.163 <sup>NS</sup>	-0.131 <sup>NS</sup>	-0.167 <sup>NS</sup>	-0.143 <sup>NS</sup>	-0.121 <sup>NS</sup>	-0.013 <sup>NS</sup>	-0.094 <sup>NS</sup>	0.180 <sup>NS</sup>	0.163 <sup>NS</sup>

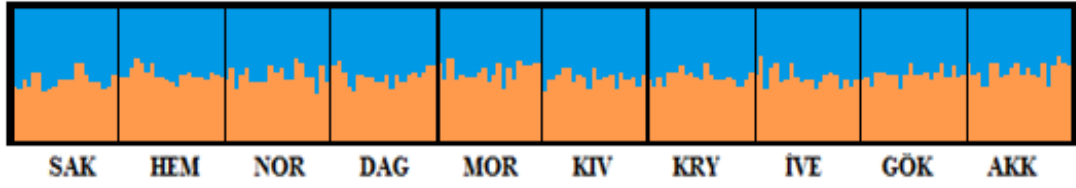


Çizelge 4.12’de 8 farklı mikrosatellit bölgesi araştırılmış olup, bu bölgelerin hepsi bir arada düşünüldüğünde ırkların Hardy-Weinberg dengesinde olup olmadığı  $F_{IS}$  değerleri ile gözlemlemek mümkündür. Çalışılan populasyonlar için hesaplanan  $F_{IS}$  değerlerinin -0.264 ile 0.376 arasında değiştiği belirlenmiştir. Negatif olarak belirlenen populasyonlarda önemsiz düzeyde heterozigot fazlalığının mevcut olduğu söylenebilir.  $F_{IS}$  değerleri sıfıra yakın ve önemsiz düzeyde pozitif değerde olanlar ise Hardy-Weinberg dengesinin populasyonlarda mevcut olduğunun göstergesidir.  $F_{IS}$  değerlerinin “önemli olmadığı (nonsignificant =NS)” görülmüştür. Bu sonuçlardan yola çıkılarak populasyonların Hardy-Weinberg dengesine sahip olduğu söylenebilir. Fakat Akkaraman ırkının OarFCB304 lokusunda  $F_{IS}$  değeri significant çıktığı için bu allel için Hardy-Weinberg dengesinden saptığı görülmektedir. 1/20 oranında sapma bekleniyor olmasına rağmen sapmanın 1/80 oranında olduğu tespit edilmiştir. Bunun sonucunda da kullanılan lokusların uygunluğunu örneğin bir allelin yükseltgenememe durumunun olmadığına (allelic drop out) ve okumaların güvenilir olduğuna işaret etmektedir.

#### 4.4.2.2. Yapı (Structure) analizi ve ana küme (k) sayısı

Yapı (Structure) Analizi için; Structure Console v 2.3.3 (Pritchard, 2000) programı kullanılmıştır. Burn-in uzunluğu 30.000 ve bunu takip eden 100.000 MCMC basamağıyla Program 2-13 arası K değeri için 5 kere tekrar edilmiştir. Benzerlik katsayıları CLUMPP v1.1.2 (Jakobsson ve Rosenberg, 2007) ile hesaplanmıştır.

Yapı (Structure)-Konsol sonuçlarını görüntülenmesi için Distruct 1.1 (Rosenberg, 2004) yazılımı kullanılmıştır. K=2, K=6 ve K=9 değerleri için alınan sonuçlar Şekil 4. 25-26-27’de gösterilmektedir.



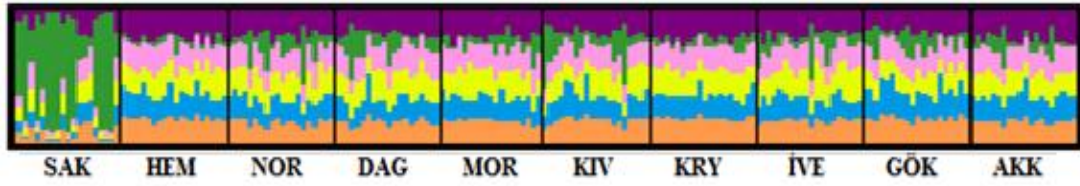
Şekil 4.25. Yapı Analizi sonuç grafiği, K=2 değerinde populasyonların genetik yapısının görüntülenmesi

Şekil 4.25'te K=2 değeri, diğer bir deyişle 2 atasal populasyon varlığı varsayıldığında ırkların benzerliklerini ve karışma oranlarını görsel olarak yorumlamamızı sağlamaktadır. Tek bir renk gözlenmesi ırdaki karışımın olmadığını gösterir.

Çizelge 4.13 K=2 değerinde, önceden tanımlanmış kümelere göre ırkların üyelik katsayıları

<b>İrk</b>	<b>Küme 1</b>	<b>Küme 2</b>
Sak	0.46399	0.53601
Hem	0.50615	0.49385
Nor	0.49564	0.50436
Dag	0.492305	0.507695
Mor	0.53035	0.46965
Kıv	0.48059	0.51941
Kry	0.49031	0.50969
İve	0.48656	0.51344
Gök	0.50532	0.49468
Akk	0.53983	0.46017

Çizelge 4.13'te K=2 değerinde 2 küme (atasal populasyon) var sayıldığında gölgelenmiş kutular ırk için en yüksek üyelik katsayısını veren kümeleri göstermektedir.



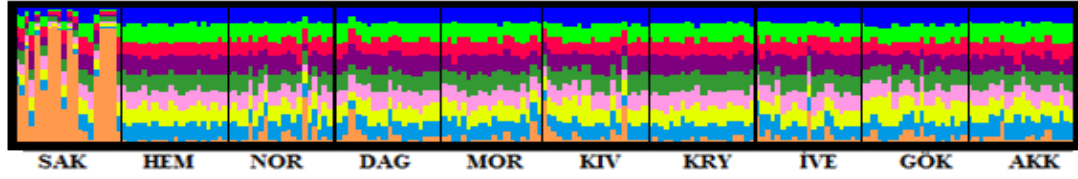
Şekil 4.26. Yapı Analizi sonuç grafiği, K=6 değerinde populasyonların genetik yapısının görüntülenmesi

Şekil 4.26'da K=6 değeri ile 6 küme varlığında ırkların birbirlerine benzemeleri ve karışma oranlarını görsel olarak yorum yapmamızı sağlamaktadır. Buna göre diğer ırklara oranla en az karışımın olduğu ırk Sakız ırkıdır.

Çizelge 4.14 K=6 değerinde, önceden tanımlanmış kümelere göre ırkların üyelik katsayıları

İrk	Küme 1	Küme 2	Küme 3	Küme 4	Küme 5	Küme 6
Sak	0.07822	0.0747	0.0876	0.08267	0.597595	0.07921
Hem	0.193045	0.19262	0.18114	0.19114	0.04135	0.200725
Nor	0.16954	0.170235	0.18089	0.177925	0.119465	0.18195
Dag	0.170705	0.163447	0.192137	0.185484	0.118874	0.169389
Mor	0.17478	0.179185	0.18123	0.18577	0.087055	0.192
Kiv	0.182085	0.177995	0.17249	0.16537	0.143155	0.1589
Kry	0.194825	0.180265	0.188905	0.180505	0.051715	0.203745
İve	0.17741	0.163905	0.20064	0.177205	0.108575	0.17227
Gök	0.194605	0.21329	0.151885	0.175765	0.105795	0.158665
Akk	0.17446	0.18568	0.16818	0.183835	0.087565	0.20035

Çizelge 4.14'de K=6 değerinde 6 küme (atasoy) olarak görülmekte olup, gölgelenmiş kutular ırk için en yüksek üyelik katsayısını veren kümeleri göstermektedir. Sayısal olarak bakıldığında en az karışım gösteren ve saf olan ırk % 60 üyelik katsayısına sahip olan Sakız (Sak) ırkıdır. Bütün ırklar karışık olmakla beraber K=6 da Sakız (Sak)'dan sonra Gökçeada (Gök) diğer ırklara göre daha saf gibi görülmektedir.



Şekil 4.27. Yapı Analizi sonuç grafiği, K=9 değerinde populasyonların genetik yapısının görüntülenmesi

Şekil 4.27'de K=9 değeri 9 kümenin varlığında ırkların karışma oranlarını görsel olarak yorum yapmamızı sağlamaktadır. Buna göre diğerler ırklara oranla en az karışımın olduğu ırk yine Sakız ırkıdır.

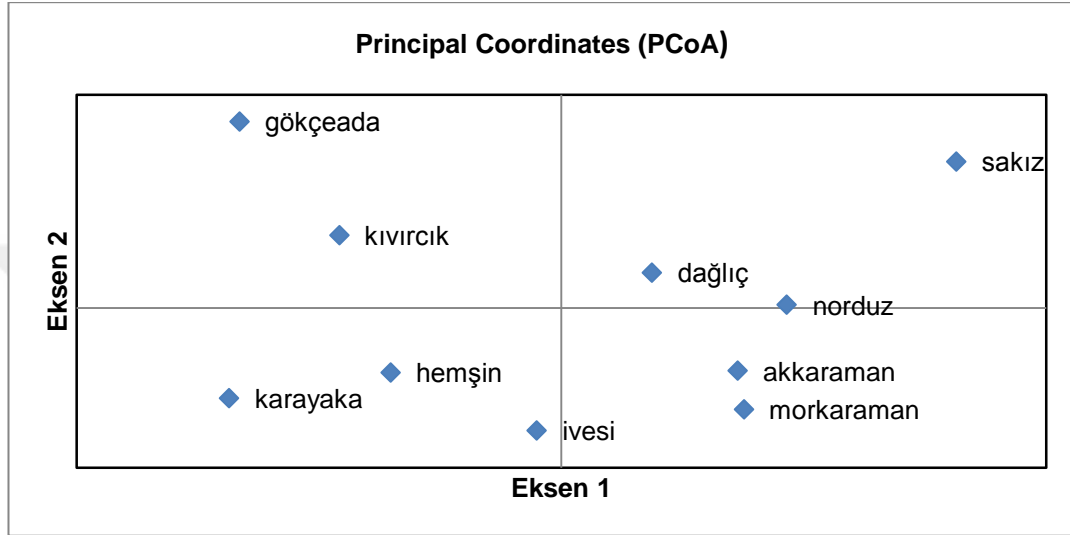
Çizelge 4.15 K=9 değerinde, önceden tanımlanmış kümelere göre ırkların üyelik katsayıları

İrk	Küme 1	Küme 2	Küme 3	Küme 4	Küme 5	Küme 6	Küme 7	Küme 8	Küme 9
Sak	0.518655	0.05771	0.05628	0.06237	0.06043	0.06429	0.06256	0.0589	0.05882
Hem	0.02335	0.12481	0.12384	0.12125	0.122195	0.119765	0.119765	0.12215	0.12292
Nor	0.073785	0.118495	0.11056	0.117975	0.11381	0.117065	0.12091	0.11675	0.11066
Dag	0.059811	0.111758	0.116168	0.120905	0.116795	0.124763	0.117653	0.114484	0.117658
Mor	0.046975	0.12938	0.11283	0.11832	0.114115	0.116225	0.126115	0.12244	0.11359
Kiv	0.074775	0.107415	0.12403	0.116425	0.119615	0.11569	0.10892	0.111375	0.121775
Kry	0.02997	0.122	0.11327	0.12022	0.126675	0.125415	0.12152	0.122475	0.11843
İve	0.06021	0.112485	0.107635	0.12254	0.11849	0.129345	0.12118	0.114785	0.113395
Gök	0.05464	0.111975	0.15169	0.11174	0.11971	0.10102	0.101775	0.114675	0.13281
Akk	0.04495	0.137175	0.119905	0.11177	0.11294	0.10539	0.1262	0.1271	0.1146

Çizelge 4.15'de K=9 değerinde 9 küme (atasoy) olarak görülmekte olup, gölgelenmiş kutular ırk için en yüksek üyelik katsayısını veren kümeleri göstermektedir. Sayısal olarak bakıldığında en az karışım gösteren ırklar sırayla yaklaşık % 52 üyelik katsayısına sahip olan Sakız ve % 15 ile Gökçeda ırklarıdır. Fakat tüm K'lerde Sakız ırkının daha az olmakla beraber tüm ırklarımızın melezlik gösterdiklerini söylemek mümkündür. Eğer ırklarımız saf ırklar olsaydı her biri net ayrı bir renkle temsil edilecekti.

#### 4.4.2.3. Temel koordinat analizi (Principal coordinates analysis =PCoA)

Farklı ırklara ait bireylerin genetik değerlerinin ortalaması, ırk merkezleri kullanılarak, GenA1EX (Peakall ve Smouse, 2006) programı ile PCoA yapılmıştır. Sonuç grafiği Şekil 4.28’de sunulmaktadır.



Şekil 4.28. İrk merkezleri için oluşan PCoA görüntüsü

Şekil 4.28’de ırk merkezleri için PCoA’da 1. eksen varyasyonun % 28.04’ünü, 2. eksen ise varyasyonun % 26.42’sini kapsadığı belirlenmiştir. Böylece ilk iki eksen ırklar arası varyasyonun yaklaşık % 54’ ünü sergilemektedir.

Eksenlerden 1. eksende Sakız ırkı diğer ırklardan bariz bir şekilde ayrılmaktadır. Bu ayrımı Yapı Analizinde de görülmüştü. Aynı şekilde Sakız kadar olmasa da Karayaka ve Gökçeada ırkı da diğer ırklar topluluğundan ayrılmaktadır.

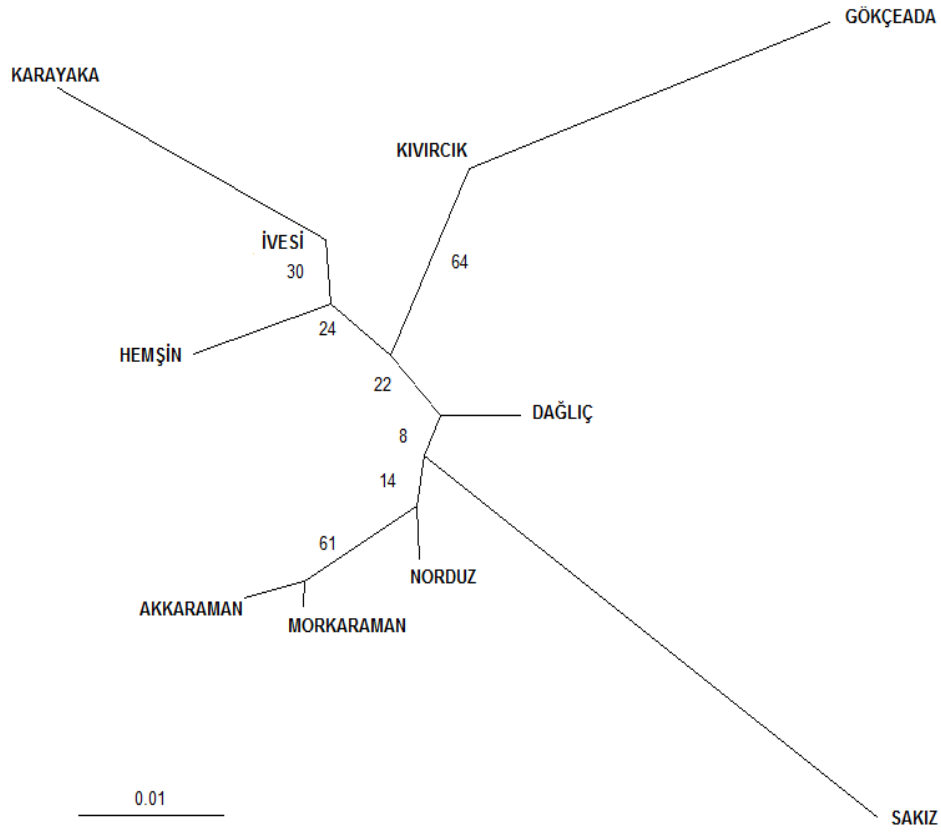
Diğer taraftan 2. eksende Kıvırcık, Gökçeada ve Sakız ırklarını diğer ırklardan ayırmaktadır. Bu ayrımın nedeninin bu ırkların Avrupa ırklarına benzemeleri olduğu önerilebilir. Bu ırklar, ince kuyruklu ya da muhtemelen ince kuyruklu bireylerle ile melezlenmiş yarım yağlı kuyruklu özelliğe sahiptirler. Bu eksende öbeklenen Türkiye’nin doğu ırkları içinde Akkaraman ile Morkaraman ırklarının yakınlığı göze çarpmaktadır. Yine Hemşin her ne kadar uyluğu yağlı bir ırk olarak yağlı kuyruklu

ırklar arasında yer almaktaysa da Karadeniz'deki komşusu Karayaka'ya da benzemekte ona da yakınlaşmaktadır.

Bu analizin sonuçlarında da Yapı Analizinde gözleendiği gibi öncelikle Sakız daha sonra da Karayaka ve Gökçeada'nın diğer koyun ırklarının oluşturduğu öbeğin dış çeperinde kalarak farklı oldukları görülmektedir. Yapı analizi ise bu ırkların göreceli olarak daha saf olduğunu göstermektedir

#### 4.4.2.4. Komşu birleştirme (Neighbor joining-NJ) ağacı

Mikrosatellit verilerine ait dosya genopop dosyasına dönüştürölüp uzaklık matrisleri kullanılarak yapılan Komşu Birleştirme (Neighbour Joining-NJ) ağaçları ve bu ağaçların çöz-bağla değerleri Populations 1.2.30 (Langella, 1999) ile oluşturulmuş ve Treeview (Page, 1996) ile görüntülenmiştir. Çizilen ağacın güvenilirliğini belirlemek için yapılan "çöz bağla (bootstrap)" testi sonucunda aynı gruplanmanın verildiği değerler yüzdelik cinsinden ağacın üzerinde belirtilmiştir. Yani ağacın çizim işlemi 1000 defa tekrar edildiğinde yüzde kaçının aynı gruplanmayı verdiği ağacın üzerindeki dallanma noktalarında belirtilmiştir. Sonuçta ortaya çıkan ağaç Şekil 4.29'da sunulmaktadır. Ağaç çiziminde Reynold'un genetik uzaklığı mikrostellitler için kullanılması tavsiye edildiğinden kullanılmıştır (Açan, 2012).



Şekil 4.29. Reynold'un uzaklıkları kullanılarak çizilen Komşu Birleştirme ağacı ve 1000 tekrarlı oluşturulmuş çöz-bağla değerleri

Şekil 4.29'da genel olarak Sakız ile diğer ırklar arasındaki uzaklığın (ağaçtaki dal uzunluğunun) diğer ikili dal uzunluklarından daha fazla olduğu gözlenmektedir. Bu durum bu ırkın en azından kullanılan örnekleri ve lokusları bazında diğer ırklardan daha fazla genetik kayma gösterdiğini işaret etmektedir. Genetik kayma etkin popülasyon sayısının göreceli olarak düşük olmasından kaynaklanmaktadır. Bu da izolasyondan ve erkek sayısının azlığından kaynaklanmaktadır. Sakız ırkı bu ırklardan izole bir coğrafyada yaşamakta olduğu için bu şekilde bir ayrılma olması beklenen bir sonuçtur. Karayaka ve Gökçeada ırkları da Yapı Analizi sonuçlarında, Temel Bileşenler Analizinde ve şimdi de Komşu Birleştirme Ağacında olduğu gibi saf, diğerlerinden ayrı, kendileşme katsayıları yüksek ırklar olarak gözlenmektedir. Yine yağlı kuyruklu koyun ırklarından olan Norduz, Morkaraman, Akkaraman ve Dağlıç ırklarının birbirine yakın bulunmaları da beklenen sonuçlardan biridir. Özellikle Akkaraman Morkaraman yakınlığı göreceli olarak yüksek çöz bağla değeri

(61) sergilemektedir. İvesi ise çalışmamızda bu yağlı kuyruklu koyunlardan genetik olarak ayrılmaktadır. Yine Gökçeada ve Kıvrıkcık bir arada olarak tüm diğer ırklardan % 64 oranında ayrılmaktadır. Bu arada olmasının Temel Bileşenler Analizinde de var olması ortak atadan gelmeleri kadar Merinos katkısı almış olmalarından olabilir. Ne yazık ki Merinos örneklerinde 8 mikrosatellit lokusu çalışılarak Merinos ırkını analizlere karşılaştırma amaçlı yerleştirmek mümkün olmamıştır.

#### 4.5.Tartışma

##### 4.5.1. SRY bölgesi

Evcil koyunların atası olabileceği önerilen ve ilk kez çalışılan *Ovis gmelinii anatolica* bireylerinden elde ettiğimiz sonuçlardan yola çıkılarak, evcillerde en çok bulunan haplotipin (H6) ata haplotip olabileceği savı desteklenmiştir. Bu sav ayrıca Medyan Birleştirme Ağında H6'nın merkez konumu ile de desteklenmektedir.

Ayrıca mtDNA ve Y kromozomu belirteçleri kullanarak karışmakta olduğu söylenen daha önce hiç çalışılmamış bir ırk olan Bandırma Koyunculuk Enstitüsünde bulunan Merinos ırkı ve Anadolu evcil koyun ırklarından olan Herik ve Karagül ırkları da Y kromozomu polimorfizmi açısından ilk defa çalışılmıştır.

Meadows ve arkadaşları (2006) çeşitli evcil koyun ırkına ait 458 bireyi SRY oY1 SNP'i bakımından genotiplendirmişlerdir. Bireyler bu SNP bakımından biallel olup, % 71.4 oranında A-oY1 allelinde ve ırkların genelinde gözlemlemişler, G-oY1 allenin ise daha nadir olduğunu tespit etmişlerdir. Meadows ve Kijas (2009)'da 5 tür yabani koyun ırkı ve daha fazla evcil koyun ile yaptıkları çalışmada A-oY1 allelinin yaygın olduğunu da bulmuşlardır. Koyunlarda SRY gen bölgesinin araştırılması sonucunda evcil koyun ırklarında sadece iki allel olmasına rağmen (A-oY1 ve G-oY1) yaban koyunlarda 7 adet allel (oY2-oY8) tespit edilmiş ve bu 7 allel hiçbir evcil koyunda bulunmazken, evcil koyunlardaki alleller de yabani koyunlarda gözlemlenmemiştir (Meadows ve ark.,2006). Ancak, yaban koyunlar arasında evcil koyunlara atalık ettiği düşünülen *Ovis gmelinii anatolica* daha önce çalışılmamıştır.



Diğer yaban koyunlarında görülen allellerin evcil koyunlarda da görülmemesi evcil koyunların bu yaban koyunlarından türemediğinin göstergesi olarak düşünülebilir.

Öner ve arkadaşları (2011) Türkiye'deki 10 yerli koyun ırkları üzerine yaptıkları çalışmada SRY gen bölgesinde sadece A-oY1 alleleline rastlamışlardır (Öner ve ark., 2011).

Ferencakovic ve arkadaşları. 2012'de Doğu Adriyatik koyun ırkına ait 159 evcil koyun ve 21 mouflon bireylerinde yaptıkları çalışmada da SRY gen bölgesinde iki allel tespit etmişlerdir. Aynı şekilde A-oY1 allelinin daha yüksek frekansta olduğunu ve G-oY1 allelinin ise düşük frekansta (% 2.6 ) olduğunu bulmuşlardır (Ferencakovic ve ark., 2012).

Çeşitli araştırmacılar tarafından Türkiye'den yapılan çalışmalarda (Çizelge 4.6.) 343 birey Anadolu evcil koyunlarda, Anadolu Yaban Koyunu (*Ovis gmelinii anatolica*)'na ait 16 bireyde (Çizelge 4.4.), Avrupa'dan getirilen Merinos ırkına ait 12 bireyde (Çizelge 4.5.) olmak üzere bütün bireylerde SRY geninin 5' promotor gen bölgesinin (549 bç) sekanslanması sonucu 88. Nükleotidin (SNP bölgesinin) A-oY1 alleli çıkmıştır. Büyük bir olasılıkla G-oY1 alleli Avrupa'da ortaya çıkmış ve ekonomik olarak önemi olan bireylerde seçim esnasında frekansını yükseltgeyebilmiştir. Bunu destekleyen bir çalışma da bulunmaktadır. Paiva ve arkadaşları (2006) Brezilya koyunlarında SRY bölgesini SNP açısından araştırmış ve A-oY1 ve G-oY1 allellerinin her ikisini de gözlemiş olup A-oY1 allelini popülasyonunlarda yaygın olduğunu fakat yapağı verimleri bakımından yüksek olan ticari ırklarda G-oY1 allel frekansının daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. O halde bu allel verim yönünden güçlü seleksiyon baskısı altında bulunan ırkların içerildiği Avrupa'da orta çıkmış olabilir. Ayrıca Ouna ve arkadaşları (2006) Afrika koyun ırklarında yaptıkları çalışmada da sadece A -oY1 alleleline rastlamışlardır.

Normalde gen çeşitliği fazla olan evcil koyunlar Anadolu'dan yayılmakta olduğu halde Anadolu'da G-oY1 alleleline rastlanmamış olması da allelin Avrupa'da ortaya çıkmış olduğu savı ile uyumaktadır.

Sunulan bu çalışmada SRY bölgesindeki hem oY1 hem de diğer allelerde özellikle Avrupa kökenli olan Merinos ırkında ve MDS analizinde (Şekil 4.18) diğer ırklardan ayrılan Kıvırcık ırkında polimorfizm beklenmekteydi fakat hem oY1 hem de gen bölgesindeki diğer kısımlarda herhangi bir polimorfizm tespit edilmemiştir. Belki bu gözlemler Avrupa'da frekansını arttırmış olan G-oY1 mutasyonun Türkiye'ye gelmediği (yeteri oranda gelmediği/ gelse bile kaybolduğu) şeklinde yorumlanabilir.

Y kromozomu açısından polimorfizm oranının az olması büyük bir olasılıkla etkin populasyon büyüklüğünün düşük olmasından kaynaklanmaktadır. Etkin populasyon (erkek) büyüklüğünün düşük olması varyasyonun düşmesine neden olmaktadır. Bir başka olasılık ise Y kromozomunun seleksiyon baskısında kalmış olmasıdır. Ancak çok az gene sahip bir kromozom olan Y kromozomunun seleksiyon baskısında kalmış olma ihtimali zayıftır. Ayrıca üreme biçimleri nedeniyle etkin populasyon büyüklüğünün göreceli olarak az olduğu bilindiğinden polimorfizm gözlenmemesinin asıl nedeninin bu durum olduğu kabul edilebilir.

#### 4.5.2 SRYM18 bölgesi ve haplotipler

Sunulan çalışmada ırklar içerisinde sadece H6 haplotipe sahip olan Kıvırcık ırkı, Anadolu Yaban Koyunu ve Merinos ırkı olup, H12 haplotipi ise sadece Sakız ırkında görülmüştür. Ayrıca Gökçeada, Karayaka, ve Herik ırklarında ise 3 farklı haplotip (H4,H6, H8) tespit edilmiştir.

Ayrıca bu çalışmada; Anadolu Yaban Koyunu, Bandırma'da bulunan Merinos ırkı ve Herik ile Karagül ırkları Y kromozomal polimorfizimler açısından ilk defa incelenmiştir. Türkiye'de bulunan koyun ırklarının tümü için, elde edilen sonuçlar daha önce evcil koyun ırklarındaki Y kromozomuna ait gen bölgelerinin incelenmesi sonucu ortaya çıkan sonuçlarla uyumlu olduğu tespit edilmiştir.

Haplotipler arasında en yaygın ve genellikle ırklarda sık görülen H6 haplotip frekansının en yüksek olduğu ırklar; Kıvırcık, Merinos, Gökçeada ırkları ve Anadolu Yaban Koyunu olup en düşük olduğu ırk ise Karagül'dür.

Ouna ve arkadaşları (2006) Afrika kökenli çeşitli koyun ırklarına ait bireyleri kullanarak yaptıkları çalışmada SRYM18 mikrosatellitinden fragment analizi yaparak 5 farklı haplotip (H3, H4, H6, H8, H9) belirlemişlerdir. Bu haplotiplerden frekansı % 72.9 olan ve en yaygın haplotipin H6 olduğunu tespit etmişlerdir.

Meadows ve Kijas (2009) SRYM18 mikrosatellit bölgesinin hem fragment analizi hem de DNA dizi analizini yaparak 6 adet yeni haplotip (H12, H13, H14, H15, H16, H17) daha belirlemişlerdir. Türkiye'de bazı yerli koyunlara ait haplotiplerin H4, H6, H7, H8 ve H12 olmak üzere 5 farklı haplotip gözlemlemişlerdir. Sunulan çalışmadan farklı olarak H7 haplotipini Karakaş ırkına ait bireylerde tespit etmişlerdir. Fakat çalışılan örnekler arasında Karakaş (Akkaraman koyunlarının bir varyetesi) ırkına ait birey bulunmamaktadır.

Öner ve arkadaşları (2010) Türkiye'deki yerli koyunlarda SRYM18 mikrosatellit bölgesinde genetik varyasyon tespit etmişlerdir. Böylece 3 farklı SRYM18 alleli bulunmuş olup 141, 143 ve 145 bp uzunlukta olduğu görülmüş ve bu üç allelin dağılımının ise yağlı kuyruklu koyun ırkları ile ince kuyruklu koyun ırkları arasında farklı olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca ırklar arasında en yaygın olan allelin 143 bp (H6) olduğu, yağlı kuyruklu koyun ırkları ve ince kuyruklu koyun ırklarında gözlenen allelin ise 141 bp (H8) olduğu gözlenmiş olup, 145 bp (H4) allelinin ise sadece yağlı kuyruklu koyun ırklarında ve düşük frekanslı olduğu tespit edilmiştir. Sunulan bu çalışmada H4 haplotipi ince kuyruklu koyun ırklarından olan Karayaka ve Gökçeada ırklarında birer bireyde görülmüştür (Çizelge 4.3).

Ferencakovic ve arkadaşları (2012) Doğu Adriyatik koyun ırkına ait 159 evcil koyun ve 21 mouflon bireylerinde yaptıkları çalışmada da SRYM18 mikrosatellit bölgesi analizleri sonuçlarında 5 farklı haplotip gözlemleyerek, H6 haplotipinin %

89.3 ile en yüksek frekansta olduğunu H8 haplotipinin % 5.0; H18 haplotipinin % 3.1; H7 haplotipinin % 1.3 ve H5 haplotipinin ise % 1.3 olduğunu tespit etmişlerdir.

Çalışmamızın sonuçları daha önce yapılan yerli koyun ırklarıyla ilgili çalışmalarla (Ouna ve ark., 2006, Meadows ve ark., 2009 ve Öner, 2010) büyük oranda paralellik göstermektedir. Fakat bu çalışmada diğer 3 çalışmadan farklı olarak ince kuyruklu koyun ırklarına ait olan Gökçeada ırkına ait 1 birey ve Karayaka ırkına ait 1 bireyin H4 haplotipinde olduğu belirlenmiştir. Melezlenmenin yaygın olduğu Türkiye'deki koyun ırklarında bu sonucu görmek beklenen bir durumdur.

Tüm yapılan çalışmalar sonucunda genellikle en yaygın ve en çok rastlanan H6 haplotipinin koyunlarda atasal bir haplotip olduğunu göstermektedir. Çalışmamızda Türkiye'deki evcil ve yaban koyunlarındaki haplotipleri incelediğimizde en çok rastlanan haplotipin H6 olduğu ve Şekil 4.11 ve Şekil 4.12'deki haritalarda diğer ülkelerdeki koyunlarla karşılaştırıldığında Türkiye'de koyunların evcilleştirilmesinde önemli bir merkez olduğu söylenebilir. Ayrıca Türkiye'nin Asya ile Avrupa arasında bir geçiş bölgesinde yer aldığına göstergesi ise H8 haplotipine bakılarak söylenebilir.

Sunulan çalışmada ve Türkiye'den yapılmış diğer çalışmalarda DNA dizi analizi yapılmasına rağmen polimorfizm gözlenmemesi koyunlarda görülen Y kromozom genetik çeşitliliğinin gerçekten çok az olduğunu göstermektedir. Belki koyunlar özellikle erkek bireyler yakın zamanda bir dar boğazdan geçip ondan sonra oluşan az sayıdaki mutasyonları sergilemektedir.

Gerçekten de koyun türüne yakın evcil hayvanlarla yapılan Y kromozomu çalışmalarına baktığımız zaman; Keçilerde Y kromozomunda bulunan gen bölgelerinin incelenmesi, koyunlardakine oranla daha yüksek bir paternal çeşitlilik olduğunu ortaya koymuştur. Yapılan araştırmalar keçilerde 3 paternal haplogrubun olduğunu göstermiştir (Pidancier ve ark., 2006; Vidal ve ark., 2009). Ayrıca Keçilerde Y kromozomu üzerinde hiçbir mikrosatellit bölgesine rastlanmamıştır (Öner, 2010).

Yine sığırlarda da Y kromozomunda bulunan SNP ve mikrosatellitler, koyunlarda olduğundan daha bilgilendiricidir. (Bradley ve ark., 1994; Gotherstrom ve ark., 2005; Ginja ve ark., 2009; Perez-Pardal ve ark., 2009; Mohamad ve ark., 2009). Sığır ve keçilerde yapılan Y kromozomu ile ilgili analizler keçi ve sığırdaki paternal çeşitliliğin koyundakine oranla çok daha fazla olduğunu göstermektedir. Koyunda Y kromozomal analizleri konu alan oldukça sınırlı sayıda çalışma olmasına rağmen, koyunların diğer evcil türlere göre sayıca daha az paternal atası olduğu söylenebilir (Öner, 2010).

Meadows ve arkadaşları (2004) daha önce sığırdaki erkeğe özgü olduğu başka araştırmacılar tarafından (Edwards ve ark., 2000) belirlenmiş çeşitli mikrosatellitleri koyunlarda denemişler, fakat bunların erkeğe özgü olmadığını belirlemişlerdir. Ancak Meadows ve arkadaşları (2006) koyuna ait BAC (Bacterial Artificial Chromosome) kütüphanesinden izole ettikleri SRYM18 mikrosatellitinin koyunda erkeğe özgü olduğunu tespit etmişlerdir (Öner, 2010). Çalışmamızda da bu lokus kullanılmıştır.

#### **4.5.3. mtDNA D-loop bölgesi**

Sunulan bu çalışmada mtDNA D-loop bölgesi sadece Merinos ırkına ait 19 bireyde çalışılmıştır. Diğer ırklar TÜRKHAYGEN-I ([www.turkhaygen.gov.tr](http://www.turkhaygen.gov.tr)) projesi kapsamında Sevgin DEMİRCİ tarafından 2012 yılında tamamlanmıştır. Böylece Bandırma Koyunculuk Araştırma Enstitüsü'nden gelen Karacabey Merinos örneklerinde ilk kez mtDNA haplogrup tayini yapılmıştır. Elde edilen sonuçlardan bu ırka ait 15 bireyin haplogrup B olduğu ve 4 bireyin ise haplogrup A olduğu tespit edilmiştir. Karacabey Merinos örneklerinin Avrupa kökenli olmasından dolayı haplogrupların bütün bireylerde B olması beklenirken, A haplogrupta bireylerin olması evcil koyun ırklarımızla olan karışımından kaynaklanmaktadır. Benzer şekilde Y kromozomu belirteçlerinden de ulaşılan sonuç bu karışımın olduğunu desteklemektedir.

Koyunların evcilleşme sürecinin daha açıklayıcı olabilmesi için mtDNA ve Y kromozomu ve nükleer kromozom genlerinin aynı bireylerde çalışılması ile yapılacak araştırmaların sayıca artması gerekmektedir.

#### 4.5.4 Otozomal kromozomlardaki mikrosatellitler

Otozomal kromozomlardaki mikrosatellit belirteçleri ile ilgili çalışmada 10 yerli Türk koyun ırkına ait 199 örnekte 8 mikrosatellit lokus araştırılmıştır. Bu örnekler TURKHAYGEN-I ([www.turkhaygen.gov.tr](http://www.turkhaygen.gov.tr)) adlı projeye aittir. Çalışılan bu lokuslardan 6 tanesi (OarCP34, DYMS1, OarHH47, OarFCB20, OarFCB304 ve ILST11) Orta Doğu Teknik Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyolojik Bilimler Bölümü Lab.147 de 2010 yılında Hande ACAR tarafından çalışılmış, 2 tanesi (OarVH72 ve OarFCB226) ise tarafımızca çalışılmıştır.

Mikrosatellit lokuslarının allel sayıları bakımından en çok polimorfizmi gösteren lokusun 23 allel sayısı ile OarFCB304, en az polimorfizm gösteren lokusun ise 8 allel sayısı ile OarCP34 olduğu tespit edilmiştir. Aynı proje örneklerini analiz eden Açıkan (2012) ile bu sonuçlar paralellik göstermektedir.

Sunulan çalışmada sadece 2 lokus büyük bir titizlikle çalışılmıştır. Sonuçlar, yine çok güvenilir olduğu önceden bilinen 6 lokusun okumaları ile harmanlanarak tüm analizler yeniden yapılmıştır. Lokus sayısı az olmakla beraber Sakız ırkının ayrılması, kuyruk tipi ve coğrafi bölge bazında koyun ırklarında gözlenen gruplanmalar bu sonuçların güvenilir olduğuna işaret etmektedir. Temel Koordinat Analizinde % 54 oranındaki varyasyon iki eksenle gözlenirken, Komşu Birleştirme Ağacı ile tek boyutta bütün ırklar birbirleri ile bağlanmaya zorlanmaktadır. Yapı Analizi ise eğer istenirse ırkın bireylerinin ayrı ayrı genotiplerinin kümeler bazında incelenmesine olanak vermektedir. Çalışmada mikrosatellit analizleri için birim olarak ırklar ele alınmıştır.

Yapı (Structure) Analizinde K=2 ile K=13 arasında sırasıyla uygulanmış olup Ek 2’de sunulmuştur. Çalışılan Türk koyun ırklarına bakıldığı zaman bu programda

görselleştirilmesi sonucu neredeyse bütün ırk örnekleri renk karışımları ile temsil edilmiş ve ırkların karışık oldukları tespit edilmiştir. Fakat ırkların hepsinde karışım aynı oranında olmamaktadır. Örneğin Tüm K'larda Sakız ırkı diğerlerinden ayrılmakta olup en az karışımın bu ırkta olduğu görülmektedir. Aynı sonuç Açan, 2012 çalışmasında da gözlenmiştir.

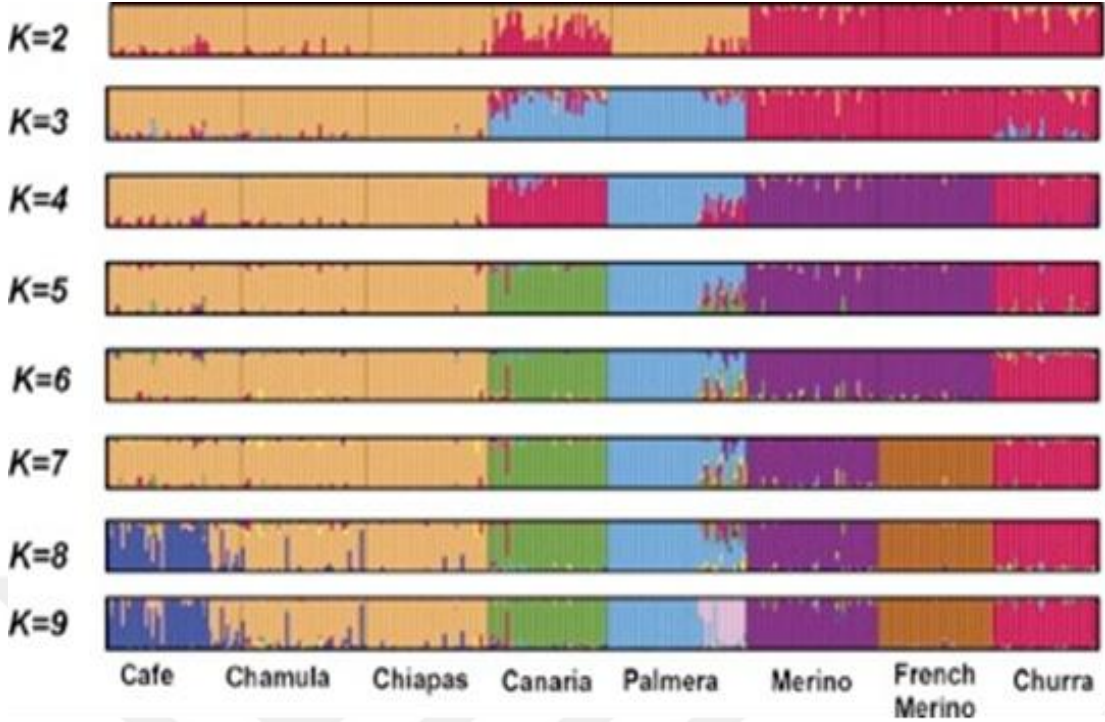
Structure tabloları incelendiği zaman;

K=2'de üyelik katsayısına sahip olan % 54 ile Sakız ve Akkaraman ırklarıdır.

K=6'da üyelik katsayısına sahip olan % 60 ile Sakız ve % 21 ile Gökçeada ırklarıdır.

K=9'de üyelik katsayısına sahip olan % 48 ile Sakız, % 15 ile Gökçeada ırklarıdır.

Böylece en az karışım gösteren ırk Sakız ırkıdır. Diğer ırklarda ise karışımın fazla olmasının nedeni ırk gözetilmeden farklı ırklardan koç katımı ve özellikle farklı coğrafyadan koç katımının çok yaygın olmasıdır. Bu yüzden ırklardaki karışıklık beklenen bir sonuçtur. Sonuç olarak Avrupa ırklarına yakın özellik gösteren ırklar bir öbek diğer ırklar bir öbek oluşturmaktadır. Fakat Türkiye'deki koyun ırkları izole değildir Bunun yansıması çalışmamızda çok bariz bir şekilde gözlenebilmektedir. Çalıştığımız ırklar genetik olarak çok karıştığı için tam olarak birbirlerinden ayrılmamaktadırlar. Yine de hatırlanmalıdır ki çalışmamızda genetik olarak kullandığımız lokuslar nötr lokuslardır. Bu lokuslar ne doğal ne de insan eliyle olan seleksiyonlardan etkilenmemektedir. Belki verim ya da dirençlilik genlerine, ya da bu ırkların morfolojik özelliklerine bakarak daha fazla ayırım yapılabilir. Ancak, yine sadece mikrosatellit lokusu kullanılarak yapılan analizlerde örneğin İspanya'dan olan koyunlar birbirlerinden Yapı Analizinde oldukça net biçimde ayrılabilir (Şekil 4.31).



Şekil 4.31. İspanya’da bulunan 8 koyun ırkının Yapı Analizi ile çalışılmasının sonuçları (Quiroz ve ark., 2008).

O halde ırklarımız izole edilmediği sürece ırklar özellikle mikrosatellit lokusları açısından karışık olarak gözlenecektir. O zaman bu karışık gruptan yapılan örneklemler, örneklere bağlı olarak ırk için birbirinden farklı sonuçlar verecektir.



## 5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

### 5.1. Sonuçlar

1. Y kromozomu ile otozomal kromozomlarda mikrosatellit ve yine Y kromozom ile mtDNA'dan dizi analizi yöntemi çalışarak farklı belirteçlerin kullanımı öğrenilmiştir.
2. Mikrosatellit, sekanslar ve farklı DNA bölgelerinden elde edilmiş verilerin istatistiksel analizlerin yapma becerisi kazanılmıştır.
3. Anadolu koyun ırklarına (Gökçeada, Kıvırcık, Sakız, Karayaka, Dağlıç, Norduz, Akkaraman, Morkaraman, Hemşin, İvesi, Çineçaparı, Herik, Karagül) ait 154, Merinos ırkına ait 12 ve Anadolu Yaban Koyun (*Ovis gmelinii anatolica* Valenciennes, 1856) alttürüne ait 16, toplam 182 bireyin SRY 5' promotor gen bölgesi (549 bç) dizi analizi yapılmıştır. Fakat dizi analizi yapılan tüm bireyler için bu bölgede yeni bir Tek Nükleotid Polimorfizmi saptanmamıştır. Tüm bireylerin A-oY1 alleline sahip olduğu tespit edilmiş olup G-oY1 alleline rastlanmamıştır.
4. Meadows ve arkadaşları (2006) makalesinde yapmış oldukları çalışma sonunda A-oY1 allelinin atasal olduğunu ve G-oY1 allelinin ise sonradan mutasyon sonucu ortaya çıktığını savunmuşlardır. Bu çalışmada da 182 bireyin hepsinin A-oY1 alleline sahip olması ve H6 haplotipinin de diğer ülkelere göre ülkemizde bulunan koyunlarda yüksek oranda çıkması Türkiye'nin koyun evcilleştirme bölgesinde veya bu bölgeye yakın olduğunun bir göstergesi olarak değerlendirilmiştir.
5. Anadolu koyun ırklarına (Gökçeada, Kıvırcık, Sakız, Karayaka, Dağlıç, Norduz, Akkaraman, Morkaraman, Hemşin, İvesi, Çineçaparı, Herik,

Karagül) ait 154, Merinos ırkına ait 12 ve Anadolu Yaban Koyunu (*Ovis gmelinii anatolica* Valenciennes, 1856) alttürüne ait 16, toplam 182 bireyin SRYM18 mikrosatellit bölgesi de sekanslanarak SRY bölgesiyle beraber değerlendirilip, Meadows (2009)'a göre bireylerin haplotipleri belirlenmiştir. Anadolu koyun ırklarına ait 120 bireyde H6 haplotipi, 17 bireyde H4 haplotipi, 14 bireyde H8 haplotipi, 3 bireyde ise H12 haplotipi gözlenmiştir. Merinos ırkına ait 12 birey ve Anadolu Yaban Koyunu alt türüne ait 16 bireyin tamamında da H6 haplotipi tespit edilmiştir.

6. Irklar içerisinde sadece H6 haplotipe sahip olan Anadolu Yaban Koyunu alt türü, Kıvırcık ve Merinos ırkları olup, H12 haplotipi ise sadece Sakız ırkında görülmüştür. Ayrıca Gökçeada, Karayaka ve Herik ırklarında ise 3 farklı haplotip ( H4, H6, H8 ) tespit edilmiştir.
7. Sonuçlar daha önce yapılan Türkiye'deki yerli koyun ırklarıyla ilgili çalışmalarla (Meadows ve ark., 2009; Öner, 2010) paralellik göstermektedir. Fakat bu çalışmada diğer çalışmalardan farklı olarak ince kuyruklu koyun ırklarına ait olan Gökçeada ırkına ait 1 birey ve Karayaka ırkına ait 1 bireyin H4 haplotipte oldukları belirlenmiştir.
8. Ayrıca sunulan bu çalışmada Anadolu Yaban Koyunu, Merinos, Herik ve Karagül ırkları Y kromozomal polimorfizimler açısından ilk defa incelenmiştir.
9. Çalışmamızda elde edilen Y kromozomu sonuçları ve Türkiye'de farklı araştırmacıların önceki çalışmaları (Meadows ve ark., 2009; Öner, 2010) ve Asya ile Avrupa'da yapılan çalışmalar (Meadows ve ark., 2006; Meadows ve ark., 2009; Ferencakovic ve ark., 2012) neticesinde oluşturulan haritalarda, her bir haplotipe farklı bir renk verilmiş olup Türkiye'de bulunan haplotipler Asya ve Avrupa'da bulunan haplotiplerle karşılaştırılmıştır. H4 haplotipi Avrupa'da hiç bulunmazken Türkiye ve Asya'da bulunmaktadır. H5 ve H7 haplotipi ise sadece Avrupa'da görülmekte olup Türkiye ve Asya'da rastlanmamıştır. H6 haplotipinin tüm bölgelerde mevcut olup oldukça yaygın

olduğu ve H12 haplotine ise sadece Türkiye’de Sakız ırkındaki bazı bireylerde tespit edilmiştir. Bu görüntülerde Türkiye’nin Asya ile Avrupa arasında bir bağlantı oluşturduğunu koyun ırklarındaki H6 ve H8 haplotiplerinin dağılımlarına bakılarak anlaşılabilir. Ancak, erkek kromozomu açısından Türkiye ırklarının Asya koyunlarına olan yakınlıklarının Avrupa koyunlarına olandan daha fazla olduğu görülmektedir.

10. Y kromozomu belirteçlerinin sonuçlarına ait  $F_{ST}$  sonuçlarında en büyük değer 0,60247 olarak tespit edilmiş olup, bunun sonucunda Karagül ve Kıvırcık popülasyonlarının birbirine genetik olarak en uzak popülasyonlar olduğu anlaşılmaktadır.

11. Y kromozomu belirteçlerinin sonuçlarına ait Mantel Test Analizinin sonucuna göre hesaplanan korelasyon katsayısı ( $r= 0.08688$ ) küçük olup, istatistiksel olarak anlamlı ( $p=0.216>0.05$ ) olmadığından ırkların Y haplotip ferakans dağılımları uzaklıkla benzeşmenin azaldığı bir göç modeline uymamaktadır.

12. Y kromozomu belirteçlerinin sonuçlarına ait Medyan Birleştirme Ağı analizinde; H4 ve H8 haplotiplerinin, H6 haplotipiyle genetik olarak ilişkili olduğu ve birbirlerinden bağımsız olarak H6’dan evrimleştirdiğini söylemek mümkündür. Benzer şekilde H12 özgün haplotipinin de H8’den türediği de söylenebilir.

13. Y kromozomu belirteçlerinin sonuçlarına ait Çok Değişkenli Ölçekleme Analizinde; Kıvırcık ve Karagül ırklarının birbirine oldukça uzakta konumlandıkları için bu ırkların genetik olarak birbirinden farklı olduğu, Akkaraman ve Norduz ırkları ise birbirine yakın konumlandığı için bu iki ırkın genetik olarak birbirine yakın ırklar olduğu tespit edilmiştir.

14. Sunulan çalışmada Türkiye’de yetiştirilen Merinos ırkı mtDNA’da bulunan D-loop lokusu açısından da ilk defa çalışılmıştır. Bu lokusun dizi analizi yapılarak Merinos ırkına ait 19 erkek bireyden; 4 bireyin haplogrup A ve 15

bireyin ise haplogrup B olduğu tespit edilmiştir. Merinos koyun ırkı Türkiye'ye Avrupa'dan getirildiği bilinmekte olup, oradaki haplogrup dağılımına uygun olacak şekilde tüm bireylerin haplogrup B olması beklenirdi. Fakat 4 bireyin haplogrup A çıkması, Merinos ırkının zamanla Türk yerli koyun ırklarıyla bir olasılıkla Sakız ve Gökçeada ırklarıyla karıştığını söylemek mümkündür.

15. Otozomal kromozomlardaki mikrosatellit belirteçleri ile ilgili çalışmada 10 yerli Türk koyun ırkına ait 199 örnekte 2 lokusun (OarVH72 ve OarFCB226) genotiplenmeleri ve 8 mikrosatellit lokusunun analizleri yapılmıştır. Mikrosatellit lokuslarının allel sayıları bakımından en çok polimorfizmi gösteren lokusun 23 allel sayısı ile OarFCB304, en az polimorfizm gösteren lokusun ise 8 allel sayısı ile OarCP34 olduğu tespit edilmiştir. Aynı proje örneklerini analiz eden Açıan, 2012 ile bu sonuçlar paralellik göstermektedir.
16. Otozomal kromozomlardaki mikrosatellitlerin sonuçlarında beklenen, gözlenen heterozigotluklar aralarındaki farkın istatistiksel olarak önemli olup olmadığı ( Hardy-Weinberg dengesinden anlamlı olarak sapıp sapsadığı) F<sub>IS</sub> istatistiği ile ve permütasyon testleri ile gözlenmiştir. F<sub>IS</sub> değerlerinde bir ırkta (Akkaraman) sadece bir lokus (OarFCB304) hariç hiçbir popülasyonda dengeden sapma görülmemektedir. Bu da kullanılan lokusların uygunluğunu örneğin bir allelin yükseltgenememe durumunun olmadığına (allelic drop out) ve okumaların güvenilir olduğuna işaret etmektedir.
17. Otozomal kromozomlardaki mikrosatellitlerin sonuçlarının Yapı (Structure) Analizinde K=2 den itibaren K=13 ye kadar Sakız, Gökçeada ırkları daha az olmakla beraber tüm ırklarımızın melezlik gösterdiklerini söylemek mümkündür. Eğer ırklarımız saf ırklar olsaydı Yapı Analizinde her biri net ayrı bir renkle temsil edilecekti.
18. Otozomal kromozomlardaki mikrosatellitlerin sonuçlarının Temel Koordinat Analizinde ırk merkezleri için PCoA'da 1. eksen varyasyonun % 28.04'ünü,

2. eksen ise varyasyonun % 26.42'sini kapsadığı belirlenmiştir. Böylece ilk iki eksen ırklar arası varyasyonun yaklaşık % 54 ini sergilemektedir. Eksenlerden 1. ekseninde Sakız ırkı diğer ırklardan bariz bir şekilde ayrılmaktadır. 2. ekseninde Karayaka, Kıvırcık, Gökçeada ve Sakız ırklarını diğer ırklardan ayrılmaktadır. Bu analizin sonuçlarında da Yapı Analizinde gözlemlendiği gibi öncelikle Sakız daha sonra da Karayaka ve Gökçeada'nın diğer koyun ırklarının oluşturduğu öbeğin dış çeperinde kalarak farklı oldukları görülmektedir.

19. Otozomal kromozomlardaki mikrosatellitlerin sonuçlarının Komşu Birleştirme (Neighbor Joining-NJ) Ağacında genel olarak Sakız ile diğer ırklar arasındaki uzaklığın (ağaçtaki dal uzunluğunun) diğer ikili dal uzunluklarından daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Bu da Sakız ırkının farklı olma sebebinin genetik kayma olduğuna işaret etmektedir. Yine yağlı kuyruklu koyun ırklarından olan Norduz, Morkaraman, Akkaraman ve Dağlıç ırklarının birbirine yakın bulunmaları da beklenen sonuçlardan biridir. Özellikle Akkaraman Morkaraman yakınlığı göreceli olarak yüksek çöz bağla değeri (61) sergilemektedir. İvesi ise çalışmamızda bu yağlı kuyruklu koyunlardan genetik olarak ayrılmaktadır. Yine Gökçeada ve Kıvırcık bir arada olarak tüm diğer ırklardan % 64 oranında ayrılmaktadır.

20. mtDNA kontrol bölgeleri kapsamlı olarak çalışılmış olan yerli koyun ırklarımızın ve Anadolu Yaban Koyunu Y kromozom polimorfizmleri de aynı örneklerde bu çalışma ile tamamlanmıştır. Hem mtDNA (Demirci, 2012) hem Y kromozomu (Sunulan çalışma) Türkiye yerli koyunlarında genetik olarak doğu batı geçiş deseni olduğuna işaret etmektedir. Mikrosatellit sonuçları iki ayrı çalışma (Sunulan çalışma ve Açı, 2012 çalışması) ile ırkların Sakız, Kıvırcık ve Gökçeada ırkları daha az olmak üzere büyük oranda melez olukları gözlenmiştir. Gözlemler ırkların korunması için önceliklendirilmesinde kullanılabilir. Kaç ırkın korunma kapsamına alınacağına karar verilebilirse ona göre seçilecek ırklar değişecektir. İrklar genellikle birbirlerinden farklı birimler olarak ortaya çıkmadığından örneğin sadece iki korunabilecekse korunacak ırklar olarak bir ırkın Türkiye'nin

doğusundan bir ırkın da Türkiye'nin batısından seçilmesi önerilebilir. Yine bu çalışmanın sonucu olarak Anadolu Yaban Koyunu da koyun evcilleştirilmesinde rol oynamış ata popülasyonun günümüzde gözlenen en yakın akrabalarından biri olabileceğinden, korunmasının önemi vurgulanmaktadır.

## 5.2. Öneriler

1. Göbekli Tepe civarında evcilleştiği düşünülen ilk koyunların H6 haplotipine sahip olabilme ihtimali ancak antik DNA çalışmaları ile doğrulanabilir.
2. Günümüzde artan nüfus ve çevre koşullarının değişmesi, tarım alanlarının gittikçe azalması gibi faktörler besin kaynakları açısından bir risk olduğu için bu kaynakların güvence altına alınması gerekmektedir. Yerli koyun ırkları açısından değerlendirdiğimizde, korumanın akılcı ve sürdürülebilir olması bakımından Türk yerli koyun ırklarının öncelikle hangi ırk veya ırkların korunması gerektiği açıklanmalıdır.
3. Bu önceliklendirmeyi yapılabilmesi için ise ırkların genetik karakterizasyonun yapılması şarttır. Moleküler tabanlı bilgi birikimi ırkların evrimleşme sürecinin ortaya çıkmasına katkıda bulunmakla birlikte genetik içerik açısından da bilgi vererek korumanın önceliklendirmesini de açığa kavuşturmaktadır. Ayrıca tüm genomu kapsayacak şekilde sekans yapılarak tespit edilecek SNP noktaları ırkların genetik karakterizasyonunu daha iyi ortaya çıkararak koruma çalışmalarına katkıda bulunması beklenmektedir.
4. Bir koruma çalışmasının başarılı olması için sadece ırkların genetik çeşitliliği değil ayrıca yok olma riskleri, uyumları, ekonomik özellikleri ve sosyo-kültürel önemleri de göz önüne alınmalıdır.
5. Irkların önceliklendirilmesi için kullanılan yöntem ve yönelimler yakından takip edilmeli ve istatistiksel bilgilerin toplanması gibi önlemler alınmalıdır.

6. Koruma sırasında etkin populasyon sayısının 25- 500 arasında olduğundan emin olmak için genetik izleme yapılabilir. Aksi takdirde yüksek seviyede genetik erozyon gerçekleşir ve ırklara ait gen havuzlarının ancak önemsiz kısımları korunur.
7. Son yıllarda Avrupa’da yapılan Hayvan Genetik Kaynakları’nın korunması ile ilgili toplantılardan ve yayınlardan elde edilen deneyim ve bilgiler, en az 50 yıldır kayıtlı yetiştiricilik yapılan ırklarda gözlenen morfolojik özelliklerin genetik olarak da özgün ve saf bireylerle örtüştüğünü fakat karışımın olduğu Türk ırklarında ırk bireylerinin genetik yapısının görsel kıstasın yanı sıra genetik kıstaslarla oluşturulmuş düzlemde değerlendirilmesi gerekmektedir.

## KAYNAKLAR

- AASEN, E., and MEDRANO, J.F., 1990. Amplification of the ZFY and ZFX genes for sex identification in humans, cattle, sheep and goats. *Biotechnonology*, 8: 1279-1281.
- ACAR, H., 2010. Bioinformatic Analyses in Microsatellite-Based Genetic Diversity of Turkish Sheep Breeds. Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Ankara, 129s.
- AÇAN, S. C., 2012. Genetic Diversity of Turkish Sheep Breeds In The Focus of Conservation Reasearch. Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Ankara, 308s.
- AKÇAPINAR, H., 2000. Koyun Yetiştiriciliği. Ders Kitabı. İsmat Matbaacılık Ltd. Şti., Ankara, 209s.
- ALDERSON, L., 2010. Breeds at Risk Criteria and Classification; Report from a seminar held in London.
- ANONİM, 2009; [http://www.tagem.gov.tr/yayin/tagem\\_ehgk\\_katalog.pdf](http://www.tagem.gov.tr/yayin/tagem_ehgk_katalog.pdf)
- ARIHAN, O., 2000. Population Structure, Habitat Use and Reintroduction of Anatolian Wild Sheep *Ovis gmelinii anatolica*. Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Ankara, 82p.
- BANDELT H-J., FORSTER, P., and ROHL, A., 1999. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Mol. Biol. Evol.*, 16:37-48.
- BELKHİR, K., BORSA, P., CHIKHI L., RAUFASTE, N., and BONHOMME, F., 1996-2004. GENETIX 4.05, logiciel sous Windows pour la gé'ne'tique des populations. Université' de Montpellier II, Montpellier, France.
- BOETTCHE, P., 2010. Priority Setting For Conservation of Animal Genetic Resources. GLOBALDIV Final International Workshop, February 8 and 9, Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne (EPFL), Lausanne, Switzerland.
- BRADLEY, D.G., MACHUGH, D.E., LOFTUS, R.T., SOW, R.S., HOSTE, C.H., and CUNNINGHAM, E.P., 1994. Zebu-taurine variation in Y chromosomal DNA: a sensitive assay for genetic introgression in West African tryanotolerant cattle populations. *Anim. Genet*, 25(1):7-12.
- BRUFORD, M. W., BRADLEY, D. G., and LUIKART, G., 2003. DNA markers reveal the complexity of livestock domestication. *Nature Review Genetics*, 4: 900-910.
- BRUFORD, M.W. and TOWNSEND S.J., 2006. Mitochondrial DNA diversity in modern sheep: Implications for domestication. In: ZEDER, M.A., BRADLEY, D.G., EMSWILLER, E., SMITH, B. D. Documenting Domestication: New Genetic and Archaeological Paradigms. University of California Press, CA,USA, 307-317.
- BUDAK YILDIRAN, F. A., 2009. Türkiye'nin Bazı Yerli Koyun Irklarında Genetik Polimorfizmin Mikrosatellit Yöntemi İle Analizi. Kırıkkale Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Kırıkkale, 87s.
- BULUT, Z., 2004. Türkiye'deki Bazı Koyun Irklarının Genetik Yapılarının Mikrosatellitlerle İncelenmesi. Selçuk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Konya, 126s
- BURGOYNE, P.S., 1998. The mammalian Y chromosome: a new perspective. *Bioassays*, 20(5): 363-366.



- CASANOVA, M., LEROY, P., BOUCEKKINE, C., WEISSENBACH, J., and BISHOP, C., 1985. A human Y-linked polymorphism and its potential for estimating genetic and evolutionary distance. *Science*, 230:1403-1406.
- CHESSA, B., PEREIRA, F., ARNAUD, F., AMORIM, A., GOYACHE, F., MAINLAND, I. et.al., 2009. Revealing the History of Sheep Domestication Using Retrovirus Integrations. *Science*, 324: 532-536.
- CURRY, A., 2008. Seeking the Roots of Ritual. *Science* 319: 278-280.
- DOĞAN, A. Ş., 2009. Reassessment of Genetic Diversity in Native Turkish Sheep Breeds with Large Numbers of Microsatellite Markers and Mitochondrial DNA (mtDNA). Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Ankara, 192s.
- DEMİRCİ, S., 2012. Bioinformatic Analyses In Mitochondrial Dna-Based Genetic Diversity of Turkish Sheep Breeds. Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Ankara, 133s.
- EDWARDS C.J., GAILLARD, C., BRADLEY, D.G., and MACHUGH, D.E., 2000. Y specific microsatellite polymorphisms in a range of bovid species. *Animal Genetic*, 31: 127–130.
- EXCOFFIER L., LAVAL, G., and SCHNEIDER, S., 2005. Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online*, 1:47-50.
- EVANNO, G., REGNAUT, S., and GOUDET, J., 2005. Detecting the number of clusters of individuals using the softwarestructure: a simulation study. *Molecular Ecology*, 14: 2611-2620.
- FAO, 2006. Animal genetic resources – time to worry? Irene Hoffmann and BeateScherf, Livestock Report.
- FERENCAKOVIC, M., CURIK, I., PE' REZ-PARDAL, L., ROYO, L. J., CUBRIC-CURIK V., FERNA'NDEZ I., LVAREZ I. A., KOSTELIC, A., SPREM, N., KRAPINEC K. and GOYACHE, F., 2012. Mitochondrial DNA and Y chromosome diversity in East Adriatic sheep. *Anim. Genet.* doi: 10.1111/j.1365-2052.2012.02393
- GIESE K, J., PAGEL, R., and GROSSCHED, L., 1994. Distinct DNA-binding properties of the high mobility group domain of murine and human SRY sex determining factors. *Proc Natl Acad Sci. USA*, 91:3368–3374.
- GINJA, C., GAMA, L.T., and PENEDO, M.C.T., 2009. Y Chromosome Haplotype Analysis in Portuguese Cattle Breeds Using SNPs and STRs. *J. Hered.*, 100(2): 148-157.
- GOTHERSTROM, A., ANDERUNG, C., HELLBORG, L., ELBURG, R., SMITH, C., BRADLEY, D.G., and ELLEGREN, H., 2005. Cattle domestication in the near East was followed by hybridization with aurochs bulls in Europe. *Proceedings of the Royal Society B*, 272: 2345–2350.
- GUO, J., DU, L. X., MA, Y. H., GUAN, W. J., LI, H. B., and ZHAO, Q. J., 2005. A novel maternal lineage revealed in sheep. *Animal Genetics*, 36:331-336.
- HIENDLEDER, S., MAINZ, K., PLANTE, Y., and LEWALSKI, H., 1998a. 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. Heredity*, 89: 113–120.
- HIENDLEDER, S., LEWALSKI, H., WASSMUTH, R., and JANKE, A., (1998b). The complete mitochondrial DNA sequence of the domestic sheep (*Ovis*

- aries*) and comparison with the other major Ovine haplotypes. *Journal of Molecular Evolution*, 47:441-448.
- HIENDLEDER S., KAUPE B., WASSMUTH R., and JANKE, A., 2002. Molecular analysis of wild and domestic sheep questions current nomenclature and provides evidence for domestication from two different subspecies. *Proceedings: Biological Sciences*, 269:893-904.
- HOELZEL, A.R., 1998. *Molecular Genetic Analysis of Populations. A Practical Approach (Second Edition)* Oxford University Press.
- JAKOBSSON, M., and ROSENBERG, N. A., 2007. CLUMPP: a cluster matching and permutation program for dealing with label switching and multimodality in analysis of population structure. *Bioinformatics*, 23: 1801-1806
- JOBLING, M. A., and C. TYLER- SMITH. 1995. Fathers and Sons: The Y chromosome and Human evolution. *Trends in Genetics*, 11: 449-456.
- JOBLING, M. A., HURLES M. E., and TYLER-SMITH C., 2004. *Human Evolutionary Genetics: origins, peoples and disease*. London/New York: Garland Science Publishing, 523 s.
- KIJAS, J. W., LENSTRA, J. A., HAYES, B., BOITARD, S., PORTO NETO, L. R. and SAN CRISTOBAL, M., 2012. Genome-wide analysis of the world's sheep breeds revealshigh levels of historic mixture and strong recent selection. *International Sheep Genomics Consortium. PLoS Biol*, 10: e1001258.
- KOBAN, E. 2004. *Genetic Diversity of Native and Crossbreed Sheep Breeds in Anatolia*. Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Ankara, 125s
- LAHN, B.T., and PAGE., D.C., 1999. Four evolutionary strata on the human X chromosome. *Science*. 286: 964–967.
- LANGELLA, O. 1999. *Populations 1.2. 30: A Population Genetic Software*.
- LAWSON HANDLEY, L., BYRNE, J., SANTUCCI, K., TOWNSEND, F., TAYLOR, S., and BRUFORD M., 2007. Genetic structure of European sheep breeds. *Heredity*, 99(6): 620-631.
- LONGWORTH, N., 2005. *Agricultural production, prices and trade in Turkey*. In: Burrell, M., Oskam, O.J. (Eds), *The European Union Implications for Agricultural, Food and Structural Policy*, CABI Publishing, Wallingford and Cambridge, pp.57-87.
- MANTEL, N., 1967. The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Research*, 27: 209-220.
- MEADOWS, J.R.S., HAWKEN, R.J., and KIJAS, J.W., 2004. Nucleotide diversity of the ovine Y chromosome. *Animal Genetics*, 35: 379–385.
- MEADOWS, J.R.S., LI, K., KANTANEN, J., TAPIO, M., SIPOS, W., PARDESHI, V., GUPTA, V., CALVO, J.H., WHAN, V., NORRIS, B., and KIJAS, J.W., 2005. Mitochondrial Sequence Reveals high Levels of Gene Flow Between Breeds of Domestic Sheep from Asia and Europe. *J. Hered*, 96: 494-501.
- MEADOWS, J.R.S., HANOTTE, O., DROGEMULLER, C., CALVO, J.H., GODFREY, R., COLTMAN, D., MADDOX, J.F., MARZANOV, N., KANTANEN, J., and KIJAS, J.W., 2006. Globally dispersed Y chromosomal haplotypes in wild and domestic sheep. *Animal Genetics*, 37: 444-453.

- MEADOWS, J.R.S., CEMAL, I., KARACA, O., GOOTWINE, E., and KIJAS, J.W., 2007. Five Ovine mitochondrial lineages identified from sheep breeds of the Near East. *Genetics*, 175: 1371-1379.
- MEADOWS, J.R.S., and KIJAS, J.W., 2009. Re-sequencing regions of the ovine Y chromosome and wild sheep reveals novel paternal haplotypes. *Animal Genetics*, 40: 119-123.
- MEADOWS, J. R. S., HIENDLEDER, S., and KIJAS, J. W., 2011. Haplogroup relationships between domestic and wild sheep resolved using a mitogenome panel. *Heredity*, 106: 700–706.
- MOHAMAD, K., OLSSON, M., VAN TOL, H.T.A., MIKKO, S., VLAMINGS, B.H., ANDERSSON, G., RODRÍGUEZ-MARTÍNEZ, H., PURWANTARA, B., PALING, R.W., COLENBRANDER, B., and LENSTRA, J.A., 2009. On the origin of Indonesian Cattle. *PLoS ONE*. 4(5):e5490. doi:10.1371
- NEI, M., 1987. *Molecular evolutionary genetics*. Columbia University Press, New York.
- OCAK, E., BİNGÖL, M., ve GÖKDAL, Ö., 2009. Van Yöresinde Yetiştirilen Norduz Koyunlarının Süt Bileşimi ve Süt Verim Özellikleri. *YYÜ Tar. Bil. Derg.*, 19(2): 85-89.
- ONER, Y., CALVO, J. H., and ELMACI, C., 2011. Y chromosomal characterization of Turkish native sheep breeds. *Livestock Science* 136: 277-280.
- OUNA, A.B, KIJAS, J.W., MEADOWS, J.R.S., LIMO, M., HANOTTE, O., and MBURU, D., 2006. Analysis of genetic diversity and relationship between African male sheep using two Y chromosome specific markers. In: *Proceedings of the 30th International Conference on Animal Genetics: ISAG 2006: Biodiversity, the future pass through preservation*. Porto Seguro, BA, Brazil. The Conference, Porto Seguro.BA, Brazil.
- ÖNER, Y., 2010. Türkiye koyun ırklarındaki Genetik çeşitliliğin mtDNA ve Y kromozomal belirteçleri kullanılarak belirlenmesi. Uludağ Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Bursa, 92s.
- ÖZKAN, E., 2005. Türkiye’de Yetiştirilen Yerli ve Kültür Sığır Irklarının Genetik Yapılarının Mikrosatellitler İle İncelenmesi, Trakya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Tekirdağ, 238s.
- PAGE, R. D.M., 1996. Tree View: An application to display phylogenetic trees on personal computers. *Comput. Appl. Biosci.* 12(4):357-358.
- PAIVA, S.R., DIAS, C., FARIA, D.A., MCMANUS, C., OLIVEIRA, A.A., LÔBO, R.N.B., DE SOUZA, W.H., DERGAM, J.A., ALBUQUERQUE, M.S.M., DO EGITO, A.A., CASTRO, A.R., and MARIANTE, A.S., 2006. Y chromosome variability of in Brezillian sheep breeds. 8th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production. August 13-18, 2006, Belo Horizonte, MG, Brasil.
- PEAKALL, R., and SMOUSE, P. E., 2006. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes* 6, 288-295.
- PEDROSA, S., UZUN, M., ARRANZ, J., GIL, B. G., PRIMITIVO, F. S., and BAYON, Y., 2005. Evidence of three maternal lineages in near eastern sheep supporting multiple domestication events. *Proc. R. Soc. B.*, 272:2211-2217.
- PÉREZ-PARDAL, L., ROYO, L.J., BEJA-PEREIRA, A., CURIK, I., TRAORÉ, A., FERNÁNDEZ, I., SOLKNER, J., ALONSO, J., ALVAREZ, I., BOZZI, R.,

- CHEN, S., and PONCE DE LEÓN, F.A., 2009. Y-specific microsatellites reveal an African subfamily in taurine (*Bos taurus*) cattle. doi: 10.1111/j.1365-2052.2009.01988.x
- PETER, C., BRUFORD M., PEREZ, T., DALAMITRA, S., HEWITT, G., ERHARDT, G. et al., 2007. Genetic diversity and subdivision of 57 European and Middle-Eastern sheep breeds. *Animal Genetics*, 38: 37-44.
- PIDANCIER, N., JORDAN, S., LUIKART, G., and TABERLET, P., 2006. Evolutionary history of the genus *Capra* (Mammalia, Artiodactyla): discordance between mitochondrial DNA and Y-chromosome phylogenies. *Mol. Phylogenet. Evol.*, 40:739 -749.
- PONTIGGIA, A., RIMINI, R., HARLEY, V.R., GOODFELLOW, P.N., LOVELLBADGE, R., and BIANCHI, M. E., 1994. Sex-reversing mutations affect the architecture of SRY-DNA complexes. *EMBO J.*, 13:6115-6124.
- POPLIN, F., 1979. Origine du mouflon de Corse dans une nouvelle perspective paleontologique, par marronnage.[Origin of the Corsican mouflon in a new paleontological perspective, for runaways.] *Annales de Ginitique et Silection Aninzale*, 11: 133-143.
- PRITCHARD, J. K., STEPHENS, M., and DONNELLY, P., 2000. Inference of Population Structure Using Multilocus Genotype Data. *Genetics*, 155(2):945-959.
- QUIROZ, J., MARTINEZ A.M., ZARAGOZA, L., PEREZGROVAS, R., VEGA-PLA, J.L., and DELGADO, J.V., 2008. Genetic characterization of the autochthonous sheep populations from Chiapas, Mexico. In: *Livest. Sci.*, 116: 156-161.
- REZAEI, H.R., NADERI, D., CHINTAUAN-MARQUIER, I.C., TABERLET, P., VIRK, A. T., NAGHASH, H. R., RIOUX, D., KABOLI, M., and POMPANON, F., 2010. Evolution and taxonomy of the wild species of the genus *Ovis* (Mammalia, Artiodactyla, Bovidae), *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 54: 315–326.
- ROUSSET, F. and RAYMOND, M., 1997. Statistical analysis of sample genetic data: old tools, new concepts. *Trends in Ecology and Evolution*, 12: 313-317.
- ROSENBERG, N. A., PRITCHARD, J. K., WEBER, J. L., CANN, H. M., KIDD, K. K., ZHIVOTOVSKY, L. A., FELDMAN, M. W., 2002. Genetic Structure of Human Populations. *Science*, 298: 2381-2385.
- ROSENBERG, N. A., 2004. DISTRUCT: a program for the graphical display of population structure. *Molecular Ecology Notes*, 4: 137-138
- ROUX, J. P., 1997. *Historie de L'Asie Cantrale*, Fayard, Paris.
- SAMBROOK, J., FORITSCH, E.F., and MANIATIS, T., 1989. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. Second Ed., Cold Spring Harbor Laboratory, New York.
- SARIGEDİK, Ü., 2004. Turkey: Livestock and Products Annual Report. GAIN report, Number TU4022. USDA Foreign Agricultural Service, Ankara.
- SCHMIDT, K., 2007. Taş Çağı Avcılarının Gizemli Kutsal Alanı Göbekli Tepe En Eski Tapınağı Yapanlar, *Arkeoloji ve Sanat* yayınları, İstanbul.
- SKALETSKY, H., KURODA-KAWAGUCHI, T., MINX, P.J., CORDUM, H.S., HILLIER, L., BROWN, L.G., REPPING, S., PYNTIKOVA, T., ALI, J., BIERI, T., CHINWALLA, A., DELEHAUNTY, A., DELEHAUNTY, K.,

- DU, H., FEWELL, G., FULTON, L., FULTON, R., GRAVES, T., HOU, S.F., LATRIELLE, P., LEONARD, S., MARDIS, E., MAUPIN, R., MCPHERSON, J., MINER, T., NASH, W., NGUYEN, C., OZERSKY, P., PEPIN, K., ROCK, S., ROHLFING, T., SCOTT, K., SCHULTZ, B., STRONG, C., TIN-WOLLAM, A., YANG, S.P., WATERSTON, R.H., WILSON, R.K., ROZEN, S., and PAGE, D.C., 2003. The male-specific region of the human Y chromosome is a mosaic of discrete sequence classes. *Nature*. 423: 825–37.
- SOYSAL, M.I., TUNA, Y.T., AZKAN E., GURCAN, E.K., TOGAN, I., and ALTUNOK, V., 2005. A study on the wool characteristics of several Turkish sheep breeds according to the microsatellite DNA types. *Pak. J. Biol. Sci.*, 8: 186-189.
- TAGEM, 2009. Türkiye Evcil Hayvan Genetik Kaynakları Tanıtım Kataloğu, Ankara
- TAĞA, S., 2008. Çukurova Bölgesindeki İnfertil Erkeklerde Y Kromozomu (Azf Genleri) Mikrodelesyonlarının Saptanması. Çukurova Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Adana, 135s.
- TAPIO, M., MARZANOV, N., OZEROV, M., CINKULOV, M., GONZARENKO, G., and KISELVOVA, T., 2006. Sheep Mitochondrial DNA Variation in European, Caucasian and Central Asian Areas. *Mol. Biol. Evol.*, 23: 1776-1783.
- TAPIO, M., OZEROV M., TAPIO, I., TORO, M., MARZANOV, N., CINKULOV, M., GONCHARENKO, G., KISELYOVA, T., MURAWSKI, M., and KANTANEN, J., 2010. Microsatellite-based genetic diversity and population structure of domestic sheep in northern Eurasia. *BMC Genetics* 11:76.
- TOGAN, I, BERKMAN, C., KOBAN, E., SARAÇ GOKCEK, C., and DINC, H., 2007. An Anatolian trilogy with some implications on conservation issues: Arrival of nomadic Turks together with their sheep and shepherd dogs. *ESF on Population Genetics Modelling and Habitat Fragmentation: Separating Recent and Ancient Events for Efficient Conservation*. 19–21 September, Instituto Gulbenkian de Ciência, Oieras, Portugal.
- UZUN, M., GUTIERREZ-GIL, B., ARRANZ, J., PRIMITIVO, F., SAATCI, M., KAYA, M. et al. 2006. Genetic relationships among Turkish sheep. *Genet. Sel. Evol.*, 38: 513–24.
- VONHOLDT, B.M., POLLINGER, J. P., LOHMUELLER, K. E., HAN, E., PARKER, H. G., QUIGNON, P., DEGENHARDT, J. D., BOYKO, A. R., EARL, D. A., AUTON, A., REYNOLDS, A., BRYC, K., BRISBIN, A., KNOWLES, J. C., MOSHER, D. S., SPADY, T. C., ELKAHLOUN, A., GEFFEN, E., PILOT, M., JEDRZEJEWSKI, W., GRECO, C., RANDI, E., BANNASCH, D., WILTON, A., SHEARMAN, J., MUSIANI, M., CARGILL, M., JONES, P. G., QIAN, Z., HUANG, W., DING, Z-L., ZHANG, Y-P, BUSTAMANTE, C., D., OSTRANDER, E. A., NOVEMBRE, J., and WAYNE, R. K., 2010. Genome-wide SNP and haplotype analyses reveal a rich history underlying dog domestication. *Nature*, 464: 898-902
- VIGNE, J. D., 1999. The large 'true' Mediterranean islands as a model for the Holocene human impact on the European vertebrate fauna? Recent data and new reflections. In *The Holocene history, of the European vertebrate*

- fauna. Modern aspects of research (ed. N. Benecke), Rahdenmestf, Germany: Verlag Marie Leidorf GmbH.
- VIDAL, O., PÉREZ-SERRA, A., BADAoui, B., CAPOTE, J., MARTÍNEZ, A., DELGADO, J., PLA, C., and AMILLS, M., 2009. XXXIX Jornadas de Estudio: XIII Jornadas sobre Producción Animal, Zaragoza, 12 y 13 de Mayo de 2009 coord. Por Margalida Joy Torrens, 1: 54-56.
- WELSHONS, W.J., and RUSELL, L.B., 1959. The Y chromosome as the bearer of male determining factors in the mouse. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 45: 560-566.
- WOOD, N. J., and PHUA, S.H., 1996. Variation in the control region sequence of the sheep mitochondrial genome. *Animal. Genetics*, 27: 25–33.
- WRIGHT, S., 1978. *The Theory of Gene frequencies. Evolution And The Genetics of Populations*. University of Chicago Press, Chicago.
- ZEDER, M. A., 2008. Domestication and early agriculture in the Mediterranean Basin: Origins, diffusion, and impact. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(33):11597-11604.

## ÖZGEÇMİŞ

1981 yılında Şanlıurfa'da doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini aynı şehirde tamamladıktan sonra 1998 yılında Harran Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünü kazandı, 2002 yılında bu bölümden mezun oldu aynı yıl yüksek lisansa başladı. 2005 yılında yüksek lisansı bitirdi. 2006 yılında Harran Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Genel Biyoloji Anabilim Dalında araştırma görevlisi olarak atandı. 2009 yılında Harran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nde doktora başladı.

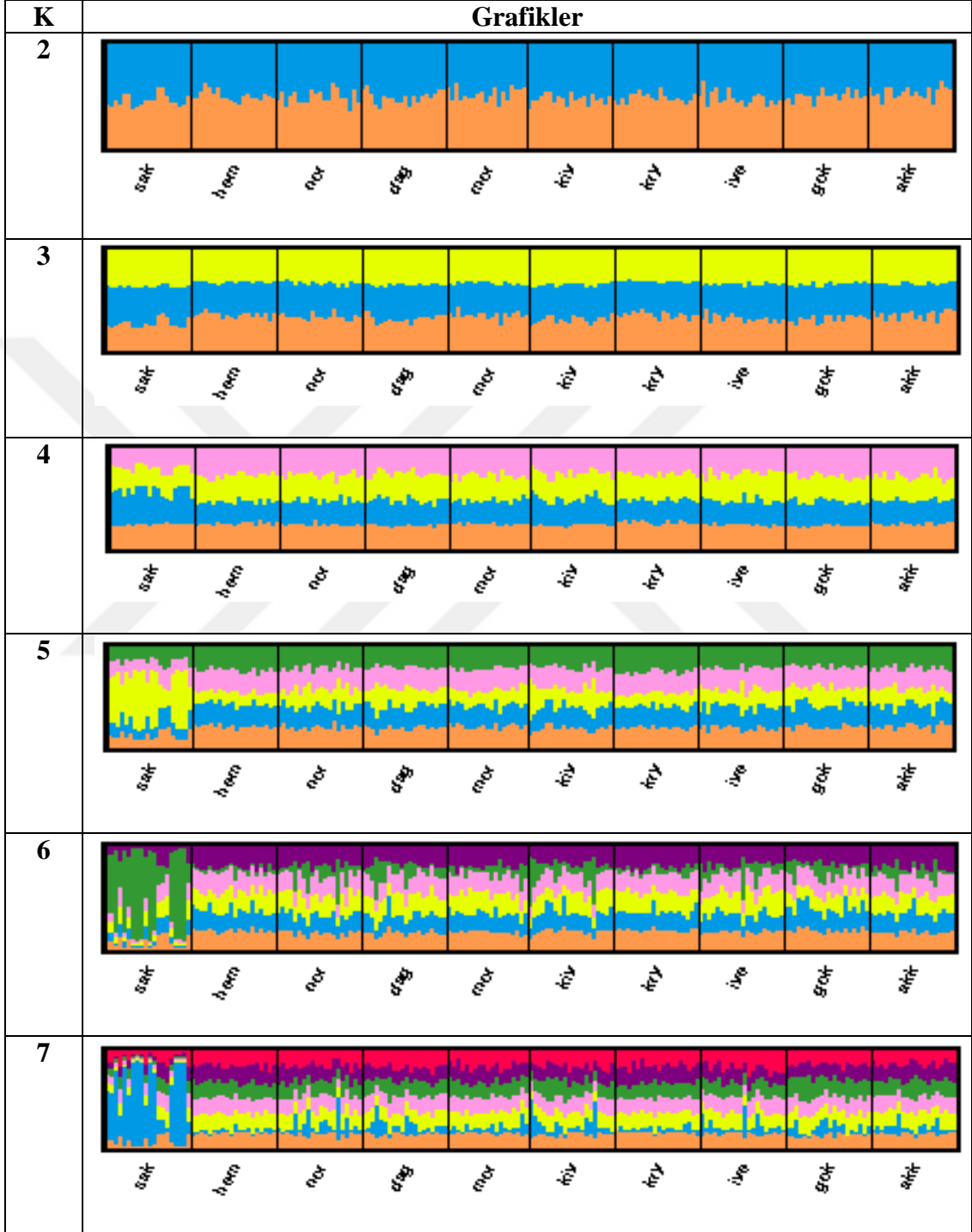


## **Ek 1. Tamponların İçerikleri**

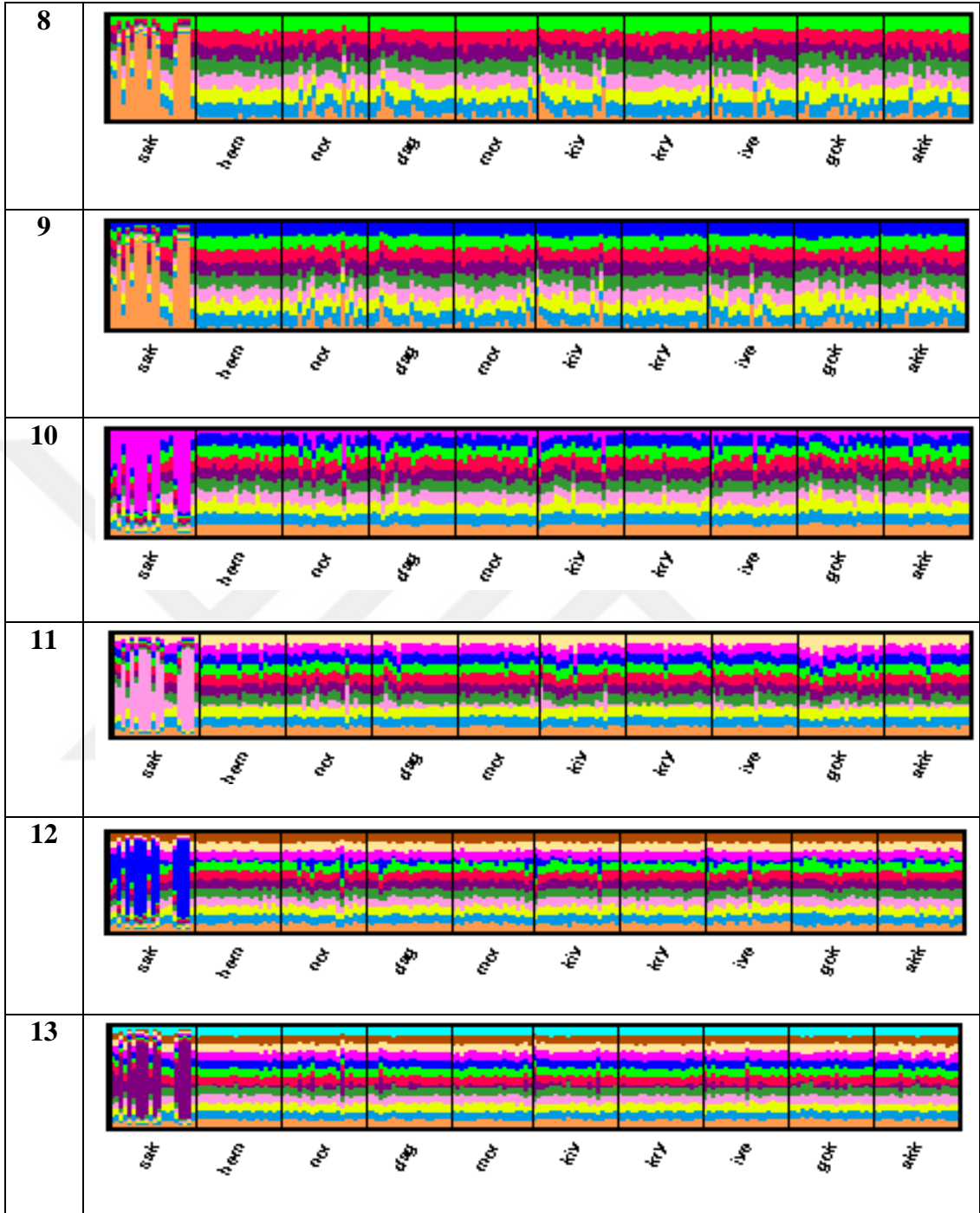
- 1. Proteinase-K**  
10 mg/ml Proteinase K
- 2. Salt-EDTA Buffer**  
75 mM NaCl  
25 mM EDTA
- 3. Sodium Dodecyl Sulfate**  
10 % (w/v) SDS
- 4. Sodium Acetate (NaAc)**  
3 M NaAc
- 5. Sodium Hydroxide (NaOH) Solution**  
50 mM NaOH
- 6. Tris-EDTA (TE) Buffer (pH: 7.5)**  
10 mM Tris  
1 mM EDTA
- 7. Tris-HCl Solution (pH:8)**  
1M Tris-HCl
- 8. 10 X Lysis Buffer**  
770 mM NH<sub>4</sub>Cl  
46 mM KHCO<sub>3</sub>  
10 mM EDTA
- 9. 5X Tris Borate EDTA (TBE) Buffer (pH: 8.0)**  
0.45 M Tris (Base)  
0.45 M Boric Acid



**Ek 2.** Çalışmada kullanılan koyun ırklarının otozomal kromozomlardaki mikrosatellitlerin Yapı Analizi sonuç grafikleri



Ek 2'nin devamı



**Ek.3.** Çalışmada kullanılan otozomal kromozomlardaki mikrosatellitlerin genotipleri

Örnek No	CP34		DYMS1		HH47		FCB20		FCB304		ILST11		VH72		FCB226	
<b>SAK 2</b>	114	116	173	173	141	145	89	91	163	177	281	284	123	133	116	146
<b>SAK 12</b>	114	116	193	195	137	151	86	91	165	171	271	280	123	135	146	148
<b>SAK 14</b>	112	116	167	181	125	145	86	91	171	187	276	284	123	133	128	148
<b>SAK 15</b>	110	116	181	193	125	131	100	104	145	187	278	284	121	133	116	128
<b>SAK 17</b>	108	116	183	183	145	145	91	91	165	165	276	284	121	123	116	128
<b>SAK 19</b>	112	116	175	183	137	145	91	102	171	171	276	284	123	133	128	152
<b>SAK 20</b>	112	116	175	183	137	137	91	108	151	187	276	276	129	135	144	144
<b>SAK 21</b>	108	114	167	175	137	145	91	102	151	187	281	284	121	123	116	144
<b>SAK 22</b>	112	116	173	193	145	145	91	102	175	187	280	284	123	133	116	144
<b>SAK 23</b>	110	116	179	193	133	149	102	102	175	187	276	278	123	133	116	128
<b>SAK 25</b>	112	116	179	183	137	145	86	91	171	187	276	281	125	135	128	144
<b>SAK 26</b>	108	116	193	195	137	137	89	91	163	177	280	284	121	133	144	144
<b>SAK 28</b>	112	112	193	195	137	145	89	89	163	171	284	284	123	133	116	128
<b>SAK 30</b>	114	114	175	193	137	145	89	93	171	171	276	284	123	133	116	116
<b>SAK 33</b>	106	112	193	193	137	149	93	100	157	189	276	276	121	123	128	128
<b>SAK 34</b>	110	112	181	181	131	133	93	93	161	187	276	280	121	123	128	144
<b>SAK 36</b>	108	116	193	193	133	145	91	91	179	187	271	280	121	123	116	144
<b>SAK 38</b>	108	116	183	193	133	145	86	91	181	187	271	281	121	123	116	144
<b>SAK 39</b>	116	116	177	181	137	137	86	91	165	187	271	281	121	127	116	144
<b>SAK 40</b>	110	116	175	193	137	149	91	100	163	179	278	284	123	123	116	146
<b>HEM 1</b>	116	116	0	0	0	0	93	97	171	171	271	286	123	123	116	140
<b>HEM 3</b>	114	114	179	193	131	135	93	114	171	189	276	284	121	121	138	140
<b>HEM 4</b>	106	114	179	179	123	131	86	89	163	171	273	276	123	123	148	150
<b>HEM 7</b>	110	114	179	193	137	137	93	93	163	171	276	284	123	123	128	140
<b>HEM 8</b>	0	0	179	193	131	135	100	102	163	171	284	284	123	133	128	140
<b>HEM 11</b>	106	108	179	193	137	149	93	106	157	163	276	284	127	127	116	148
<b>HEM 16</b>	106	108	179	193	125	131	93	100	163	171	276	276	123	125	116	128
<b>HEM 17</b>	106	110	183	195	123	137	100	100	163	171	276	282	121	121	116	134
<b>HEM 19</b>	106	118	179	193	131	137	86	100	161	171	271	284	121	123	138	148
<b>HEM 22</b>	108	108	179	179	135	143	93	93	171	171	286	286	123	129	138	150
<b>HEM 24</b>	106	110	183	193	123	145	91	106	163	163	282	282	121	127	146	150
<b>HEM 30</b>	110	110	185	195	135	143	93	106	163	189	271	276	0	0	150	154
<b>HEM 31</b>	106	114	169	179	123	131	91	100	163	189	271	284	0	0	0	0
<b>HEM 32</b>	106	108	179	193	123	145	91	114	179	183	276	284	0	0	116	150
<b>HEM 33</b>	106	110	177	179	123	131	91	93	171	179	271	278	129	133	116	140
<b>HEM 34</b>	108	108	169	177	137	137	93	114	173	189	276	276	121	123	116	154

Ek.3'ün devamı

<b>HEM 37</b>	106	108	157	177	137	141	93	106	171	171	271	284	127	133	116	138
<b>HEM 40</b>	106	108	177	181	137	137	97	114	163	163	276	276	123	125	116	150
<b>HEM 41</b>	108	114	193	195	135	137	108	116	171	171	276	284	121	127	116	128
<b>HEM 46</b>	106	114	175	177	0	0	102	114	163	183	276	276	123	123	116	130
<b>NOR 2</b>	116	118	177	179	123	137	93	102	179	189	271	276	121	123	130	150
<b>NOR 3</b>	112	116	177	179	131	135	93	93	179	183	276	284	123	127	116	152
<b>NOR 6</b>	114	118	177	185	133	141	89	102	183	189	271	284	123	123	116	130
<b>NOR 7</b>	110	116	179	193	139	147	93	93	163	173	271	271	0	0	116	152
<b>NOR 9</b>	110	116	177	179	137	137	89	93	161	179	278	284	123	123	128	144
<b>NOR 10</b>	118	118	179	195	137	139	86	93	163	167	271	278	121	133	116	130
<b>NOR 13</b>	112	118	181	187	131	137	91	102	165	179	271	284	123	131	116	128
<b>NOR 22</b>	112	112	0	0	0	0	100	100	165	179	276	281	123	131	116	146
<b>NOR 23</b>	108	110	0	0	137	145	89	106	163	163	271	284	121	123	116	130
<b>NOR 26</b>	110	110	179	189	131	149	89	100	179	179	271	284	121	133	116	128
<b>NOR 30</b>	108	112	0	0	0	0	91	104	161	163	276	276	121	123	116	128
<b>NOR 31</b>	108	116	179	183	141	149	91	97	177	183	276	276	123	123	116	128
<b>NOR 32</b>	110	116	175	181	133	137	100	106	163	167	271	284	0	0	128	130
<b>NOR 33</b>	108	116	179	179	123	135	100	100	163	179	276	284	123	123	116	116
<b>NOR 34</b>	112	116	179	179	137	145	91	93	179	187	271	276	123	127	128	128
<b>NOR 35</b>	112	118	179	187	123	137	95	100	165	171	276	284	0	0	0	0
<b>NOR 37</b>	116	116	179	179	131	139	100	100	165	187	271	284	123	129	128	146
<b>NOR 43</b>	116	118	189	193	133	147	89	102	177	189	284	284	127	131	136	150
<b>NOR 45</b>	114	116	177	193	135	137	91	93	161	163	271	276	123	133	116	148
<b>NOR 46</b>	110	118	173	189	131	143	91	114	161	171	276	276	121	123	116	130
<b>DAG 1</b>	110	110	179	193	139	141	89	100	163	179	276	284	123	123	116	128
<b>DAG 2</b>	108	110	179	193	137	137	89	100	171	171	276	278	127	133	116	128
<b>DAG 3</b>	108	110	179	179	133	137	91	100	185	185	276	280	133	133	116	128
<b>DAG 4</b>	114	116	177	179	125	137	91	102	153	187	280	284	123	125	120	128
<b>DAG 6</b>	116	118	179	181	125	145	93	104	165	165	276	278	123	131	142	146
<b>DAG 7</b>	106	112	177	177	133	143	93	100	163	187	276	284	123	133	128	148
<b>DAG 11</b>	104	114	0	0	135	139	91	93	171	171	278	284	123	123	108	128
<b>DAG 13</b>	0	0	0	0	0	0	100	100	163	171	274	282	121	123	128	132
<b>DAG 14</b>	0	0	0	0	0	0	89	106	171	179	274	280	121	127	128	130
<b>DAG 16</b>	110	110	183	193	131	131	89	95	163	165	276	284	127	129	134	142
<b>DAG 17</b>	112	116	179	183	125	137	91	93	163	163	274	274	121	125	116	148
<b>DAG 19</b>	112	116	179	197	133	149	100	102	169	171	280	280	123	123	128	132
<b>DAG 34</b>	114	118	179	181	133	137	91	102	163	171	271	276	133	133	108	116
<b>DAG 42</b>	106	112	179	187	131	131	93	106	179	183	271	276	121	133	128	142
<b>DAG 45</b>	110	112	179	193	125	131	95	100	163	163	276	284	121	129	116	142
<b>DAG 46</b>	114	116	179	179	139	145	89	100	145	163	284	284	121	127	120	128
<b>DAG 47</b>	108	112	179	185	131	135	93	110	163	169	271	284	123	123	120	128

Ek.3'ün devamı

<b>DAG 49</b>	110	116	179	179	137	145	93	100	171	185	280	284	123	133	148	154
<b>DAG 50</b>	110	114	179	179	125	137	89	91	165	171	276	284	123	123	148	150
<b>MOR1</b>	112	116	177	189	135	137	91	93	163	179	276	284	123	127	116	116
<b>MOR2</b>	106	106	181	189	133	145	89	93	161	165	276	276	123	133	116	130
<b>MOR5</b>	112	114	179	179	123	137	93	100	163	163	284	284	123	123	116	130
<b>MOR6</b>	110	112	177	187	135	137	93	106	147	161	276	276	123	127	116	142
<b>MOR8</b>	112	116	175	193	137	137	91	93	161	189	271	284	127	127	116	150
<b>MOR9</b>	106	114	179	193	133	137	106	118	163	167	276	278	127	133	116	116
<b>MOR12</b>	110	114	179	193	137	137	86	104	171	185	271	276	123	127	136	146
<b>MOR14</b>	106	114	189	193	137	137	91	91	163	183	271	284	123	127	128	140
<b>MOR16</b>	110	110	175	179	0	0	102	114	163	171	278	284	123	123	116	130
<b>MOR18</b>	108	112	177	195	147	151	106	114	163	189	278	284	121	123	116	128
<b>MOR19</b>	110	114	193	193	137	145	93	106	145	163	276	284	121	135	128	150
<b>MOR21</b>	110	112	179	179	131	135	93	102	163	165	271	276	125	133	116	128
<b>MOR23</b>	116	116	173	177	123	131	91	104	159	173	271	276	121	133	108	116
<b>MOR24</b>	112	116	157	179	137	137	91	93	163	163	278	284	123	131	116	150
<b>MOR25</b>	112	114	189	189	137	149	100	104	147	163	276	276	121	123	116	140
<b>MOR27</b>	112	112	179	179	137	145	89	104	163	163	276	276	123	133	116	148
<b>MOR30</b>	108	114	179	191	131	137	86	93	163	163	282	284	123	127	116	128
<b>MOR33</b>	114	116	181	193	137	145	100	100	163	165	276	284	127	133	116	128
<b>MOR41</b>	112	116	179	189	131	145	91	100	163	163	276	282	123	133	116	116
<b>MOR45</b>	112	116	179	193	145	147	91	93	163	163	276	284	125	125	116	116
<b>KİV 1</b>	112	116	177	177	139	143	86	106	163	173	282	282	123	133	144	144
<b>KİV 5</b>	112	114	183	195	137	139	89	91	163	171	280	280	123	127	108	116
<b>KİV 6</b>	106	110	179	183	123	137	86	91	171	171	273	280	127	135	116	150
<b>KİV 12</b>	108	110	179	183	131	137	93	93	145	187	278	284	127	133	108	116
<b>KİV 16</b>	116	118	179	179	135	135	91	91	171	171	271	284	121	133	130	148
<b>KİV 17</b>	114	116	179	187	135	137	102	114	163	171	271	271	133	133	116	128
<b>KİV 19</b>	112	112	177	177	123	151	91	102	163	171	271	271	125	135	108	116
<b>KİV 21</b>	106	110	179	195	137	143	89	100	171	187	276	282	123	127	116	128
<b>KİV 24</b>	104	112	177	183	135	147	89	102	171	171	271	271	0	0	116	128
<b>KİV 27</b>	106	112	185	193	133	137	100	102	169	171	280	284	121	123	152	154
<b>KİV 29</b>	112	114	177	183	137	137	100	100	161	171	271	276	123	127	116	150
<b>KİV 30</b>	110	110	193	195	137	139	93	106	171	187	271	284	121	125	116	136
<b>KİV 34</b>	108	114	179	179	0	0	86	93	145	161	278	284	127	127	116	134
<b>KİV 36</b>	112	116	177	177	0	0	93	93	163	187	271	282	123	127	116	148
<b>KİV 37</b>	112	114	195	197	133	137	89	89	161	171	280	284	127	135	146	150
<b>KİV 38</b>	106	112	179	181	137	145	91	93	163	171	282	284	135	135	116	128
<b>KİV 40</b>	106	112	179	195	137	139	106	106	161	163	271	271	123	135	116	150
<b>KİV 41</b>	106	106	183	199	131	137	93	114	161	179	276	280	123	133	116	128

Ek.3'ün devamı

<b>KİV 48</b>	112	118	177	195	131	131	91	110	163	177	284	284	123	123	146	152
<b>KİV 50</b>	110	116	179	179	131	131	91	106	171	183	271	284	123	133	130	152
<b>KRY4</b>	106	114	177	199	137	145	89	100	163	191	284	286	123	127	116	154
<b>KRY5</b>	106	114	169	195	137	145	93	106	187	189	271	271	123	127	116	140
<b>KRY8</b>	108	110	183	199	123	139	93	93	163	189	276	284	123	127	116	152
<b>KRY10</b>	108	114	179	199	131	141	86	91	189	191	271	284	123	131	116	140
<b>KRY12</b>	110	114	169	179	137	145	86	91	163	163	271	284	127	127	130	154
<b>KRY13</b>	106	114	179	191	137	137	89	100	161	191	284	284	125	133	116	116
<b>KRY14</b>	108	110	177	193	137	145	89	114	163	163	276	276	123	125	116	154
<b>KRY20</b>	108	110	169	193	131	133	91	102	163	163	284	284	123	123	136	150
<b>KRY21</b>	110	114	169	183	123	129	91	91	163	163	271	284	133	133	116	128
<b>KRY22</b>	106	110	177	191	131	139	93	106	171	171	271	278	127	133	116	128
<b>KRY23</b>	106	110	183	195	133	137	91	100	169	173	271	284	123	127	116	116
<b>KRY26</b>	108	114	179	179	131	139	86	102	163	171	284	284	125	133	116	116
<b>KRY28</b>	108	114	177	181	137	137	89	106	163	163	271	284	121	127	150	152
<b>KRY32</b>	108	114	177	197	137	145	102	106	171	189	271	284	127	133	116	148
<b>KRY34</b>	110	118	177	193	131	131	91	100	163	171	282	284	121	127	136	152
<b>KRY35</b>	108	116	0	0	123	135	106	114	163	171	284	284	125	127	154	154
<b>KRY37</b>	108	114	175	177	137	145	89	106	163	189	280	284	125	127	116	148
<b>KRY39</b>	0	0	175	183	137	147	86	89	171	177	282	284	127	131	116	152
<b>KRY42</b>	110	114	177	177	137	139	89	93	171	185	271	284	121	127	130	152
<b>KRY45</b>	108	108	177	183	135	137	89	91	163	171	271	278	127	133	116	140
<b>İVE2</b>	108	108	179	179	131	135	102	114	163	163	280	284	121	135	144	150
<b>İVE3</b>	108	116	179	179	123	137	89	91	163	163	284	284	123	127	128	128
<b>İVE6</b>	108	114	173	195	131	145	93	102	185	187	273	276	121	127	116	150
<b>İVE11</b>	108	114	179	179	137	139	91	93	157	163	276	276	121	125	148	150
<b>İVE12</b>	108	116	177	179	135	145	91	100	163	171	276	284	123	133	108	116
<b>İVE13</b>	108	110	179	185	135	139	93	102	179	181	271	276	125	131	108	116
<b>İVE16</b>	108	114	0	0	0	0	100	100	171	179	273	284	125	131	148	150
<b>İVE17</b>	108	108	0	0	0	0	89	100	163	171	276	276	121	127	116	128
<b>İVE20</b>	110	116	191	193	0	0	95	97	163	163	0	0	123	127	116	148
<b>İVE22</b>	106	114	177	191	129	131	93	114	161	165	276	276	121	125	116	150
<b>İVE23</b>	110	114	177	177	125	139	91	102	163	163	271	271	121	121	116	144
<b>İVE25</b>	110	112	177	193	129	145	102	112	179	189	284	284	127	131	116	152
<b>İVE27</b>	106	114	191	193	135	137	102	104	163	165	0	0	121	133	120	128
<b>İVE28</b>	110	114	173	193	145	147	93	93	163	163	0	0	121	135	116	128
<b>İVE29</b>	106	112	179	189	143	145	89	91	163	165	0	0	123	133	116	148
<b>İVE30</b>	106	114	177	191	131	131	91	93	155	163	271	284	123	123	116	148
<b>İVE32</b>	108	110	177	195	131	139	91	102	179	185	0	0	119	123	120	128
<b>İVE39</b>	106	114	179	193	133	137	100	108	161	161	271	284	125	133	116	146
<b>İVE41</b>	110	114	0	0	0	0	86	108	161	163	271	278	129	133	120	128

Ek.3'ün devamı

<b>İVE42</b>	106	106	179	185	137	139	89	102	155	165	276	282	123	133	116	116
<b>GOK 1</b>	106	108	179	189	143	145	102	104	171	171	271	280	123	123	0	0
<b>GOK 2</b>	112	112	179	181	137	143	91	106	171	171	271	284	127	133	146	148
<b>GOK 5</b>	106	116	177	177	125	147	91	102	157	171	280	284	123	129	128	128
<b>GOK 8</b>	108	112	179	191	131	131	91	102	171	171	271	271	123	127	0	0
<b>GOK 10</b>	106	112	177	177	135	135	89	102	163	171	284	284	127	127	146	148
<b>GOK 15</b>	112	112	179	195	131	135	93	102	171	171	271	284	129	133	0	0
<b>GOK 18</b>	108	112	179	185	123	131	91	106	171	171	273	276	123	127	0	0
<b>GOK 20</b>	106	106	177	181	131	139	100	102	171	187	271	284	123	129	146	148
<b>GOK 22</b>	106	116	177	177	131	133	91	102	163	171	271	280	123	127	128	128
<b>GOK 25</b>	108	110	179	181	137	137	86	86	171	171	276	284	123	127	128	128
<b>GOK 28</b>	106	110	183	189	137	145	86	106	163	163	271	284	123	133	140	148
<b>GOK 30</b>	110	116	183	183	131	131	91	102	165	171	271	284	123	127	116	148
<b>GOK 32</b>	106	110	175	179	137	139	86	89	163	171	271	271	121	127	128	128
<b>GOK 35</b>	112	116	179	191	137	141	91	104	171	173	276	284	121	121	128	152
<b>GOK 36</b>	104	110	179	189	135	149	93	114	163	171	271	284	123	123	108	116
<b>GOK 40</b>	110	110	179	193	131	131	91	100	171	173	276	284	123	123	128	128
<b>GOK 42</b>	110	110	193	195	131	143	114	114	171	179	271	284	123	127	116	148
<b>GOK 43</b>	106	112	179	183	137	137	91	114	171	173	284	284	123	123	116	128
<b>GOK 47</b>	110	116	189	193	131	147	91	106	171	171	271	271	123	127	116	140
<b>GOK 49</b>	110	116	179	183	137	147	91	114	171	179	271	273	0	0	128	128
<b>AKK1</b>	116	116	179	193	135	137	89	114	163	163	276	284	121	127	116	136
<b>AKK2</b>	110	110	179	183	0	0	86	93	161	179	284	284	121	123	146	148
<b>AKK4</b>	110	110	179	193	123	139	93	100	163	165	278	284	125	133	116	150
<b>AKK5</b>	112	112	173	173	141	149	100	114	171	171	276	284	131	133	150	150
<b>AKK6</b>	116	116	177	179	135	149	91	93	161	163	276	284	123	133	128	128
<b>AKK9</b>	112	112	179	179	0	0	86	102	163	171	276	284	121	123	116	150
<b>AKK11</b>	110	116	183	183	131	151	91	108	163	163	276	284	121	123	108	116
<b>AKK15</b>	112	116	179	199	123	137	106	106	161	185	276	284	123	123	116	116
<b>AKK18</b>	110	110	179	193	0	0	86	91	161	183	271	284	123	127	116	116
<b>AKK23</b>	112	116	179	179	133	135	114	114	163	163	276	284	123	133	128	130
<b>AKK25</b>	112	112	179	189	135	145	93	102	171	171	271	276	121	129	108	116
<b>AKK27</b>	112	116	181	193	135	137	93	95	163	163	271	276	121	123	116	150
<b>AKK28</b>	110	114	183	193	133	135	100	102	171	177	271	276	121	127	128	128
<b>AKK29</b>	110	116	185	193	137	137	86	114	163	183	284	284	133	133	152	152
<b>AKK30</b>	116	116	179	179	129	145	86	93	163	163	276	284	123	127	116	150
<b>AKK32</b>	112	116	173	193	133	151	93	102	173	173	284	284	123	127	116	150
<b>AKK37</b>	108	110	179	193	131	131	89	89	161	171	276	276	125	131	116	128
<b>AKK39</b>	112	116	179	179	135	137	93	102	163	163	276	284	123	123	116	116
<b>AKK40</b>	110	118	179	179	133	137	89	100	163	163	276	284	121	123	116	152
<b>AKK45</b>	110	118	177	179	137	137	86	100	163	163	271	276	123	127	116	136

## ÖZET

Çalışmamızın birinci kısmında örnekleri TÜRKHAYGEN-1 projesine ait olan 13 Anadolu yerli koyun ırkı (Gökçeada, Kıvırcık, Sakız, Karayaka, Dağlıç, Norduz, Akkaraman, Morkaraman, Hemşin, İvesi, Çineçaparı, Herik, Karagül), kökeni Avrupa'dan Merinos'tan alan bir evcil koyun ve Anadolu Yaban Koyun alttürüne (*Ovis gmelinii anatolica*) ait erkek bireyler materyal olarak kullanılmıştır. Y kromozomunda bulunan SRY 5'promotor bölgesi ve Y kromozomuna özel bir mikrosatellit olan SRYM18 bölgeleri DNA dizi analizi yöntemleriyle incelenmiştir. Evcil koyun ırklarına ait 166 ve Anadolu Yaban Koyununa ait 16, toplam 182 birey SRY ve SRYM18 bölgeleri dizi analizi (sekans) yöntemiyle incelenmiştir. Sonuçları birlikte değerlendirilip Meadows ve arkadaşlarının (2009) çalışmasına göre bireylerin haplotipleri belirlenmiştir. Anadolu koyun ırklarına ait 120 bireyde H6 haplotipi, 17 bireyde H4 haplotipi, 14 bireyde H8 haplotipi, 3 bireyde ise H12 haplotipi gözlenmiştir. H4 ve H8 haplotiplerinin yayılım biçiminde Türkiye'de doğudan batıya doğru bir azalış gözlenmektedir. Merinos ırkına ait 12 birey ve Anadolu Yaban Koyunu alttürüne ait 16 bireyin tamamında da H6 haplotipi tespit edilmiştir. *Ovis gmelinii anatolica* alt türüne ait 16 bireyinde H6 haplotipinde olması evcil koyunların atasının olduğu fikrini doğrulamaktadır.

Çalışmamızın ikinci kısmında Merinos ırkına ait 19 bireyde mtDNA D-Loop gen bölgesine ait elde edilen 144 bç'lik bölge DNA dizi analizi (sekans) yöntemiyle incelenmiştir. Sonuç olarak, 15 bireyin haplogrup B olduğu ve 4 bireyin ise haplogrup A olduğu tespit edilmiştir. Merinos koyun ırkı Türkiye'ye Avrupa'dan getirildiği bilindiği için normalde tüm bireylerin haplogrup B olması beklenirdi. Fakat 4 bireyin haplogrup A çıkması, Merinos ırkının Türk yerli koyun ırklarından bir olasılıkla Sakız ve Gökçeada ırklarıyla karıştığı ihtimalini ön plana çıkarmaktadır.

Çalışmamızın üçüncü kısmında Otozomal kromozomlardaki mikrosatellit belirteçleri ile 10 yerli Türk koyun ırkına (Gökçeada, Kıvırcık, Sakız, Karayaka, Dağlıç, Norduz, Akkaraman, Morkaraman, Hemşin, İvesi) ait 199 örnekte 2 lokus (OarVH72 ve OarFCB226) genotiplenmiş ve toplam 8 mikrosatellit lokusunun



analizleri yapılmıştır. Mikrosatellit lokuslarının allel sayıları bakımından en çok polimorfizmi gösteren lokusun 23 allel sayısı ile OarFCB304, en az polimorfizm gösteren lokusun ise 8 allel sayısı ile OarCP34 olduğu tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlarının Yapı (Structure) Analizinde K=2 den itibaren K=12 ye kadar Sakız ve Gökçeada ırkları daha az olmakla beraber tüm ırklarımızın melezlik gösterdikleri gözlenmiştir. Temel Koordinat Analizinde 1. ekseninde Sakız ırkı diğer ırklardan ayrılmakta olup 2. Ekseninde ise Karayaka, Kıvırcık, Gökçeada ve Sakız ırklarını diğer ırklardan ayrılmakta olduğu tespit edilmiştir. Komşu Birleştirme Ağacında ise genel olarak Sakız ile diğer ırklar arasındaki uzaklığın (ağaçtaki dal uzunluğunun) diğer ikili dal uzunluklarından daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Sonuç olarak, mikrosatellit belirteç sonuçları ışığında, Sakız ırkının diğer ırklardan daha izole olup bu nedenle daha saf olduğu diğer ırkların ise birbirleri ile çok mezlelendiği anlaşılmaktadır.

## SUMMARY

In the first part of our study, male individuals of the samples of 13 Anatolian domestic sheep breeds (Gökçeada, Kıvrıkcık, Sakız, Karayaka, Dağlıç, Norduz, Akkaraman, Morkaraman, Hemşin, İvesi, Çineçaparı, Herik, Karagül) which were collected for TURKHAYGEN-I project, Merino domestic sheep breed that are originated from Europe and Anatolian Wild Sheep (*Ovis gmelinii anatolica*) were used as the study material. 5' promoter region of SRY on Y chromosome and SRYM18 which is a microsatellite region on Y chromosome regions were examined by DNA sequence analysis. SRY and SRYM18 regions were investigated by using DNA sequence techniques in 166 individuals of domestic sheep breeds and 16 individuals of Anatolian Wild Sheep, as a total of 182 individuals. The results are evaluated together and haplotypes of individuals were identified of individuals according to Meadows et. al. (2009) study Individuals of Anatolian native breeds have been identified as: 120 individuals haplotype H6, 17 individuals haplotype H4, 14 individuals haplotype H8 and 3 individuals haplotype H12. A decrease has been observed for the H4 and H8 haplotypes distribution from east to west Turkey. 12 individuals of Merino breed and 16 individuals of Anatolian Wild Sheep have been identified as H6 haplotype. All the individuals of *Ovis gmelinii anatolica* were determined as H6 haplotype too because of this, the idea confirms the ancestor of domestic sheep.

In the second part of our study, mtDNA D-Loop 144 bp long region was examined by DNA sequence analysis in 19 individuals of Merino sheep breeds. According DNA sequences 15 individuals were identified as haplogroup B and 4 individuals were identified as Haplogroup A. Merino sheep breed were brought from Europe to Turkey is known and normally all individuals expected to be haplogroup B But the emergence of four as haplogrup A, gives an idea of probably Merino sheep breeds were hybridized with Sakız and Gökçeada.

In the third part of our study, the genotypes of 2 autosomal microsatellites loci (OarVH72 ve OarFCB226) in 10 Turkish sheep breeds (Gökçeada, Kıvrıkcık, Sakız,

Karayaka, Dağlıç, Norduz, Akkaraman, Morkaraman, Hemşin, İvesi; in total represented by 199 individuals) were determined and totally 8 microsatellites were analyzed. OarFCB304 (23 alleles) and OarCP34 (8 alleles) have been determined as the most polymorphic and least polymorphic microsatellite loci respectively, in terms of allele number.

Structure analysis has been applied ranging from  $K=2$  to  $K=13$ . When the studied Turkish breeds are considered, structure results are very blended which indicates that these breeds are highly admixed. For all of the  $K$  values (2-13) Sakız breed is separated from the other breeds and it is the least admixed breed. Principal Coordinates Analysis showed that In the 1st axis only Sakız, and in the 2nd axis Karayaka, Kırırcık, Gökçeada and Sakız breeds are significantly separated from other breeds. In general Neighbor Joining (NJ) tree analysis shows that the distances between Sakız and other breeds are significantly longer than the other dual branches. As a result, In the light of the results that were obtained by microsatellite markers, Sakız seems to be a more isolated breed than other breeds and therefore is more pure, other breeds are admixed with each other.