

**T.C.  
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
ZOOTEKNİ ANABİLİM DALI  
2019-DR-012**

**TÜRKİYE YERLİ KOYUN IRKLARINDA  
MITOKONDRIYAL DNA ÇEŞİTLİLİĞİ**

**Nezih ATA**

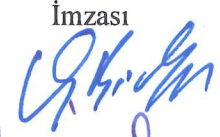
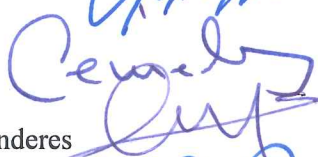



**Tez Danışmanı:  
Prof. Dr. İbrahim CEMAL**

**AYDIN**



**T.C.**  
**AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE**  
**AYDIN**

Zootekni Anabilim Dalı Doktora Programı öğrencisi Nezih ATA tarafından hazırlanan “Türkiye Yerli Koyun Irklarında Mitokondriyal DNA Çeşitliliği” başlıklı tez, 11.10.2019 tarihinde yapılan savunma sonucunda aşağıda isimleri bulunan jüri üyelerince kabul edilmiştir.

	Ünvanı, Adı Soyadı	Kurumu	İmzası
Başkan :	Prof.Dr. Güldehen Bilgen	Ege Üniversitesi	
Üye :	Prof.Dr. Cengiz ELMACI	Bursa Uludağ Üniversitesi	
Üye :	Prof.Dr. Orhan KARACA	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi	
Üye :	Prof.Dr. İbrahim CEMAL	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi	
Üye :	Doç Dr. Onur YILMAZ	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi	

Jüri üyeleri tarafından kabul edilen bu Doktora tezi, Enstitü Yönetim Kurulunun ..... sayılı kararıyla ..... tarihinde onaylanmıştır.

Prof. Dr. Gönül AYDIN  
Enstitü Müdürü



**T.C.**  
**AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE**

Bu tezde sunulan tüm bilgi ve sonuçların, bilimsel yöntemlerle yürütülen gerçek deney ve gözlemler çerçevesinde tarafımdan elde edildiğini, çalışmada bana ait olmayan tüm veri, düşünce, sonuç ve bilgilere bilimsel etik kuralların gereği olarak eksiksiz şekilde uygun atıf yaptığımı ve kaynak göstererek belirttiğimi beyan ederim.

06/11/2019

Nezih ATA



## ÖZET

# TÜRKİYE YERLİ KOYUN IRKLARINDA MİTOKONDRIYAL DNA ÇEŞİTLİLİĞİ

Nezih ATA

Doktora Tezi, Zootečni A.B.D.

Tez Danışmanı: Prof. Dr. İbrahim CEMAL

2019, 86 Sayfa

Çalışmanın amacı, Türkiye’de yetiştiriciliği yapılan koyun ırklarında mitokondriyal DNA çeşitliliğinin mtDNA kontrol bölgesi 531 bç’lik kısmının DNA dizi analizine dayalı olarak ortaya konulmasıdır. Çalışmanın hayvan materyalini Kangal Akkaraman (n=18), Çine Çaparı (n=20), Dağlıç (n=18), Eşme koyunu (n=20), Gökçeada (n=18), Güney Karaman (n=21), İvesi (n=20), Karacabey Merinosu (n=18), Karakaş (n=14), Karya (n=25), Kıvırcık (n=22), Morkaraman (n=19), Norduz (n=18), Ramlıç (n=25), Sakız (n=20) ırklarından toplam 296 baş koyun oluşturmuştur. Toplam 531bç’lik dizilimde, 78 haplotip, 33’ü parsimonik bilgi verici 53 polimorfik bölge ortaya çıkmıştır. Elde edilen sekans verilerinden, nükleotid çeşitliliği ve haplotip çeşitliliği, nötralite testleri, uyumsuzluk dağılımları analizleri yapılmıştır. Belirlenen en yüksek ve en düşük haplotip çeşitliliği Morkaraman ( $0.967\pm 0.03$ ) ve Sakız ( $0.542\pm 0.105$ ) ırklarında bulunmuştur. Filogenetik ağacın doğru topolojisine substitisyon modeli ile karar verilmiş sonrasında Haplogruplar belirlenmiştir. Bu çalışmada daha önce gözlemlenen tüm haplogruplar ortaya çıkmıştır. Altı koyun Haplogrup D’de (HPGD) 10 koyun Haplogrup E’ de (HPGE) tespit edilirken 165 koyun Haplogrup B’ de (HPGB) belirlenmiş, 69 ve 46 hayvan sırasıyla Haplogrup A (HPGA) ve Haplogrup C’de (HPGC) gözlenmiştir. Uyumsuzluk dağılım analizinden alınan sonuçlara göre ırklarda ve haplogruplarda populasyon genişlemesi gözlenmemiştir. Çalışmada kullanılan örnekler mutasyon birikimlerini iyi gösteren, eski ırklardan oluşmaktadır. Çalışmada incelenen mtDNA bölgesi ve kullanılan yöntemlerin ele alınan ırklarda genetik çeşitliliğin ortaya konulmasında yeterli olabileceği söylenebilir.

**Anahtar Kelimeler:** Koyun, mtDNA, kontrol bölgesi, haplogrup, haplotip, evciltme,



## ABSTRACT

### MITOCHONDRIAL DNA DIVERSITY IN TURKISH NATIVE SHEEP BREEDS

Nezih ATA

Doctoral Thesis, Animal Science Dept.

Supervisor: Prof. Dr. İbrahim CEMAL

2019, 86 pages

The aim of the present study is to demonstrate the mitochondrial DNA diversity in Turkish native sheep breeds using 531 bp DNA sequence of mtDNA control region. Animal material of the study consisted of 296 individual sampled from 15 sheep breeds raised in Turkey including Kangal Akkaraman (n=18), Çine Çaparı (n=20), Dağlıç (n=18), Eşme koyunu (n=20), Gökçeada (n=18), Güney Karaman (n=21), İvesi (n=20), Karacabey Merinosu (n=18), Karakaş (n=14), Karya (n=25), Kıvırcık (n=22), Morkaraman (n=19), Norduz (n=18), Ramlıç (n=25), Sakız (n=20) breeds. A total of 531 bp sequence was revealed a total of 78 haplotypes, 53 polymorphic sites, 33 of which are parsimony informative. Nucleotide diversity and haplotype diversity, neutrality tests, mismatch distribution analyzes were conducted to obtained sequences data. The highest and lowest haplotype diversity was determined in Morkaraman ( $0.967\pm 0.03$ ) and Chios ( $0.542\pm 0.105$ ) breeds. The highest and lowest nucleotide diversity was determined in Karya ( $0.01523\pm 0.00153$ ) and Chios ( $0.00329\pm 0.00072$ ) breeds. Correct topology of the neighbour joining phylogenetic tree was decided with substitution model and then haplogroups were identified. The present study showed all previously observed haplogroups. While six sheep from rare Haplogroup D (HPGD) and 10 sheep from rare Haplogroup E (HPGE) were detected, a total of 165 animal were detected in Haplogroup B (HPGB), 69 and 46 animals were observed in Haplogroup A (HPGA) and Haplogroup C (HPGC), respectively. According to the results of the mismatch distribution analysis, no population expansion was observed in both of breeds and haplogroups. The samples used in this study consist of old breeds that show good mutation accumulation. As a result, it can be said that the mtDNA region and methods used throughout this study is sufficient to reveal genetic diversity in the studied populations.

**Key Words:** Sheep, mtDNA, control region, haplogroup, haplotype, domestication



## ÖNSÖZ

Günümüze kadar yapılan arkeolojik ve genetik çalışmalardan elde edilen sonuçlarda koyun, keçi, sığır ve domuzun evcilleştirilmeye başlandığı yerin Bereketli Hilal olarak tabir edilen bölge olduğu belirlenmiştir. Bu merkezde evciltiren hayvanların tüm dünyaya göç ederken Anadolu üzerinden geçtiği birçok çalışma tarafından belirlenmiştir. Bu tarihi olay süreci sayesinde ülkemiz genetik çeşitlilik bakımından önemli bir pozisyonda bulunmaktadır. Fakat ülkemizde yerli evcil genetik kaynakları üzerine yapılan çalışmalar sınırlı sayıda bulunmaktadır. Dolayısıyla bu alanda moleküler düzeyde karakterizasyon çalışmalarının yapılması gerekliliği ön plana çıkmaktadır. Bu çalışmada Türkiye’de yetiştiriciliği yapılan 15 farklı ırk örneklenilerek, mtDNA kontrol bölgesi DNA dizisi baz alınarak koyunlarda genetik çeşitliliğe bakılmıştır.

Akademik gelişimim boyunca beni destekleyen ve kurdukları alt yapı sayesinde çalışmalarına olanak tanıyan, yürüttükleri projelerde görevler verip güvenen değerli bilgi ve deneyimlerini her zaman paylaşan, başta danışman hocam Prof. Dr. İbrahim CEMAL olmak üzere, Prof. Dr. Orhan KARACA ve Doç.Dr. Onur YILMAZ hocalarıma,

Tez İzleme Komitem ile Tez Savunma Sınavı Jüri’nde yer alan, tez hazırlama ve yazım süreci boyunca değerli fikirleri ile destek sağlayan Prof. Dr. Güldehen BİLGİN hocama,

Tez Savunma Sınavı Jüri’nde yer alarak değerli katkılarda bulunan Prof. Dr. Cengiz ELMACI hocama,

Çalışmanın materyalini oluşturan koyun ırklarından kan örneklerinin temininde yardımlarını esirgemedikleri için; Karacabey Merinosu, Sakız, Kıvırcık ve Ramlıç koyun ırkları için Vet. Hek.Yalçın YAMAN’a, Kangal Akkaraman koyun ırkı için Prof. Dr. Behiç COŞKUN’a, İvesi ırkı için Araş.Gör. Zühal GÜNDÜZ’e, Gökçeada koyun ırkı için Doç. Dr. Yasemin ÖNER’e, Dağlıç ve Güney Karaman koyun ırkları için Zir. Yük. Müh. Tülay CANATAN ve Vet. Hek. Necdet AKAY’a, Morkaraman koyun ırkı için Prof. Dr. Ayhan YILMAZ’a, Norduz ve Karakaş ırkları için Doç. Dr. Serhat KARACA’ya,

Ayrıca eğitim hayatım boyunca her anlamda arkamda olduklarını hissettiren, bugünlere gelmemde büyük emekleri olan annem Zerrin ATA ve babam Bülent ATA’ ya başta olmak üzere tüm ailem ile tez yazımı aşamasında her türlü desteğini, teşvik ve yardımını esirgemeyen aile olmanın ne demek olduğunu bana sayısız defa gösteren sevgili eşim Nil Neslihan ATA’ ya ve

Bu çalışmanın yapılabilmesi için gerekli proje bütçesini (ZRF-15049 nolu proje) sağlayan Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Koordinatörlüğüne sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Nezih ATA



## İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	vii
ABSTRACT.....	ix
ÖNSÖZ .....	xi
KISALTMALAR DİZİNİ.....	xv
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xvii
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	xxi
1 . GİRİŞ .....	1
2 . KAYNAK ÖZETLERİ .....	5
2.1 . Evciltme Süreci ve Bu Süreçte Verimli Hilal'in Önemi .....	5
2.2 . mtDNA'nın Yapısı ve Koyun Türüne Ait Bilgiler.....	9
2.3 . Koyunlarda mtDNA'ya Dayalı Yapılan Araştırmalar.....	12
3 . MATERYAL VE YÖNTEM .....	19
3.1 . Materyal .....	19
3.2 . Yöntem.....	28
3.2.1 . Hayvanlardan Kan Örneklerinin Alınması.....	28
3.2.2 . Kan Örneklerinden DNA Eldesi .....	28
3.2.3 . DNA örneklerinde miktar ve kalite tayini.....	31
3.2.4 . mtDNA kontrol bölgesinin Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) ile çoğaltılması.....	31
3.2.5 . PCR ürünlerinin kontrolü.....	32
3.2.6 . DNA Dizilimlerinin Çıkartılması.....	33
3.2.7 . Dizilim Sonuçlarının Analiz Edilmesi .....	33
3.2.7.1 . Dizi analiz sonuçlarının değerlendirilmesi.....	33
3.2.7.2 . İstatistiksel Analizler.....	34
4 . BULGULAR VE TARTIŞMA .....	42

4.1 . DNA izolasyon sonuçlarının değerlendirilmesi .....	42
4.2 . PCR Ürünlerinin Görüntülenmesi .....	44
4.3 . mtDNA Kontrol Bölgesine ait DNA Dizi Analiz Sonuçları .....	45
4.3.1 . mtDNA dizilerinin kontrolü .....	45
4.3.2 . Nükleotid Yer Değiştirme Oranlarının Belirlenmesi.....	46
4.3.3 . Nükleotid ve Haplotip Çeşitliliği Analiz Sonuçları.....	47
4.3.4 . Haplotiplerin belirlenmesi .....	49
4.3.5 . Haplogrupların belirlenmesi.....	51
4.3.6 . Network Analizi .....	56
4.3.7 . Populasyonlar Hakkında Bilgiler .....	57
4.3.7.1 . Nötralite test sonuçları.....	57
4.3.7.2 . Uyumsuzluk dağılım analizi sonuçları .....	59
4.3.7.3 Irklar Arası Genetik Mesafe .....	60
4.3.7.4 Genetik Varyans Analizi .....	63
5 . SONUÇ .....	65
KAYNAKLAR.....	69
ÖZGEÇMİŞ.....	81

## KISALTMALAR DİZİNİ

AIC	: Akaike Information Criterion – Akaike Bilgi Kriteri
Arlequin	: An Integrated Software Package for Population Genetics Data Analysis
BIC	: Bayesian Information Criterion – Bayes Bilgi Kriteri
bç	: baz çifti
<i>cytB</i>	: <i>cytochrome B</i>
DNA	: Deoksiribo nükleik asit
dNTP	: Deoksi nükleotid trifosfat
EDTA	: Etilen di-amin tetra asetik asit
HPGA	: Haplogrup A
HPGB	: Haplogrup B
HPGC	: Haplogrup C
HPGD	: Haplogrup D
HPGE	: Haplogrup E
MEGA	: Molecular Evolutionary Genetics Analysis
mM	: milimolar
M	: molar
mg	: miligram
MgCl <sub>2</sub>	: Magnezyum klorür
MJ	: medyan joining
MP	: Maximum Parsimony
mtDNA	: mitokondriyal DNA

xvi

ND2	: NADH Dehydrogenase Subunit 2
ND4	: NADH Dehydrogenase Subunit 4
ng	: nanogram
NJ	: Neighbour Joining
PCR	: Polymerase Chain Reaction – Polimeraz Zincir Reaksiyonu
Pmol	: piko mol
RFLP	: Restriction Fragment Length Polymorphism – Kısıtlanmış Parça Uzunluğu Polimorfizmi
SSCP	: Single Strand Conformational Polymorphism – Tek Zincir Konformasyon Polimorfizmi
Taq	: Thermus aquaticus
TBE	: Tris Borat EDTA
UV	: Ultra violet
V	: Volt
$\mu$ l	: mikro litre
$\pi$	: Nükleotid Çeşitliliği
D-loop	: Displacement loop
BLAST	: Basic Local Aligment Search Tool

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. İlk evciltilen çiftlik hayvanı türlerinin evciltme tarih ve yerleri (Zeder, 2008).....	5
Şekil 2.2. Koyunun Akdeniz üzerinden Avrupa'ya göç yolu (Zeder, 2008).....	7
Şekil 2.3. Yabani koyunların dünya genelinde dağılımları (Tabarlet, 2008).....	9
Şekil 2.4. Koyunlara ait mtDNA'nın yapısı (Fan vd., 2016) .....	12
Şekil 3.1 Akkarman koyun ırkına ait dişi ve erkek hayvan görseli (TAGEM, 2009) .....	20
Şekil 3.2. Morkaraman koyun ırkına ait dişi ve erkek hayvan görseli (TAGEM, 2009) .....	20
Şekil 3.3. Dağlıç koyun ırkına ait dişi ve erkek hayvan görseli (TAGEM, 2009) ..	21
Şekil 3.4. İvesi koyun ırkına ait dişi ve erkek hayvan görseli (TAGEM, 2009) ....	21
Şekil 3.5. Çine Çaparı koyun ırkına ait dişi ve erkek hayvan görseli (TAGEM, 2009) .....	22
Şekil 3.6. Güney Karaman koyun ırkına ait dişi ve erkek hayvan görseli (TAGEM, 2009).....	23
Şekil 3.7. Norduz koyun ırkına ait dişi ve erkek hayvan görseli (TAGEM, 2009) .....	23
Şekil 3.8. Sakız koyun ırkına ait dişi ve erkek hayvan görseli (TAGEM, 2009) ...	24
Şekil 3.9. Kıvırcık koyun ırkına ait dişi ve erkek hayvan görseli (TAGEM, 2009) .....	24
Şekil 3.10. Gökçeada koyun ırkına ait dişi ve erkek hayvan görseli (TAGEM, 2009) .....	25
Şekil 3.11. Karacabey Merinosu ırkına ait dişi ve erkek hayvan görseli (TAGEM, 2009).....	25
Şekil 3.12. Ramlıç koyun ırkına ait dişi ve erkek hayvan görseli (TAGEM, 2009) .....	26

Şekil 3.13. Karya koyun ırkına ait dişi ve erkek hayvan görseli (TAGEM, 2009).....	26
Şekil 3.14. Eşme koyun ırkına ait bir koç .....	27
Şekil 3.15. Karakaş koyun ırkına ait görseller.....	27
Şekil 4.1. Tuzla çöktürme DNA İzolasyon yöntemi ile elde edilen DNA lara ait sonuçlar ve ölçüm sonucunda oluşan grafik.....	42
Şekil 4.2. Tuzla çöktürme DNA İzolasyon yönteminin modifiye edilmesi ile elde edilen DNA lara ait sonuçlar ve ölçüm sonucunda oluşan grafik	43
Şekil 4.3. İzolasyon prtokolünde klasik tuzla çöktürme yöntemi ve bu yöntemin modifiye edilmesi sonucunda elde edilen örneklerden yapılan PC ürünlerinin görünümü (ilk beş örnek klasik tuzla çöktürme DNA izolasyon yöntemi ile yapılan, sonraki üç örnek modifiye edilen yöntem sonucunda elde edilen kalıp DNA lar ile yapılan PCR sonuçları).....	44
Şekil 4.4. Çalışma materyali koyunlara ait DNA örneklerinde çoğaltılmış, Kontrol bölgesi üzerinde 531 bç'lik fragmanın PCR ürünü görüntüsü.....	44
Şekil 4.5. Dizilime ait elektroforegram görüntüsü örneği .....	45
Şekil 4.6. BioEdit Programında elde edilen hizalanmış 463 bç lik sekansların bir kısmı.....	46
Şekil 4.7. Belirlenen transisyon modeline göre TN93+I+G prosedüründe I=0.741,G=0.547 parametreleri sonucunda elde edilen filogenetik ağaç.....	52
Şekil 4.8. mtDNA Kontrol bölgesi üzerinde 531 bç lik fragmanın diziliminin çalışmanın materyalini oluşturan bütün bireylerde haplogrup analizi sonucunda elde edilen filogenetik ağaç .....	53
Şekil 4.9. Çalışmanın materyalini oluşturan 296 bireyin belirlenen HPGA (%23.31), HPGB (%55.74), HPGC (%15.54), HPGD (%2.03) ve HPGE (%3.38) haplogruplarına dağılımları.....	54
Şekil 4.10. Harita üzerinde ırkların örneklendikleri yerler ve ırklar içinde oluşan haplogrup dağılımları.....	56

Şekil 4.11. Haplotip bilgileri ile çizilen Median Joining Network'u ve oluşan Haplogruplar .....	57
Şekil 4.12. A, B ve C Haplogruplarının uyumsuzluk dağılım modelleri, ikili grup farklılığı ortalamaları ve Raggedness (r) değerleri .....	60
Şekil 4.13. İncelenen 15 ırka ait Nei nin uzaklık matrisi ile Split Tree programında çizdirilen çizilen Phylogram ağacı.....	61



## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Yabani koyunlara ait yapılan literatürlerden derlenen özet terminoloji çizelgesi ( Rezai vd., 2010).....	8
Çizelge 2.2. 16616 bç'lik koyun mtDNA'sının gen kodlayan bölgeleri ve kontrol bölgesi .....	11
Çizelge 3.1. Çalışmada Kullanılan koyun ırkları, örnek sayıları ve örneklenme yerleri.....	19
Çizelge 3.2. mtDNA'da kontrol bölgesi üzerinde 531 bç'lik bölgeyi çoğaltmak için kullanılan primerler .....	31
Çizelge 3.3. mtDNA kontrol bölgesi çoğaltımı için son konsantrasyonlar .....	32
Çizelge 3.4. mtDNA kontrol bölgesi için PCR yükseltgenme koşulları .....	32
Çizelge 3.5. Haplogrupları belirlemek için kullanılan referans sekanslara ait bilgiler.....	37
Çizelge 4.1. Transisyonel ve Transversiyonel nükleotid değişim oranları .....	47
Çizelge 4.2. Irklarda mtDNA çeşitliliği ile ilgili bilgiler .....	48
Çizelge 4.3. Oluşan haplotipler ve kompozisyonları .....	50
Çizelge 4.4. Irklar içinde haplogrupların dağılımları .....	55
Çizelge 4.5. Belirlenen Haplogruplarda yapılan nötralite testlerine ait Tajima'nın D ve Fu'nun FS istatistiklerinin değerleri.....	58
Çizelge 4.6. Çalışılan irklarda yapılan nötralite testlerine ait Tajima'nın D ve Fu'nun FS istatistiklerinin değerleri .....	59
Çizelge 4.7. Belirlenen haplogruplara göre uyumsuzluk dağılım analizi istatistikleri .....	60
Çizelge 4.8. İncelenen 15 ırka ait Nei nin uzaklık matriksi, Dxy diagonalin altında bulunan değerler, Da diagonalin üstünde bulunan değerler...63	
Çizelge 4.9. Kuyruk yapılarına göre gruplandırılarak yapılan AMOVA analiz sonuçları.....	63



## 1. GİRİŞ

İnsanoğlunun avcı toplayıcı yaşam biçiminden yerleşik toplum hayatına geçiş süreci günümüzden çok öncelerinde gerçekleştiğinden evcilleştirme süreci hakkında hala çok az şey bilmekteyiz. Bu dönemlere ışık tutabilmek için Neolitik Çağ'da bu geçişin yaşandığı Bereketli Hilal (Fertile Crescent) olarak isimlendirilen geniş bölgede araştırmalar yapılmıştır (Zeder vd., 2006). Henüz evciltmenin nasıl başladığı ve neyin neden olduğu tam olarak bilinmemesine rağmen bundan yaklaşık 12000 yıl öncesinde korunma ve avlanmaya yardım amaçlı olarak atası kurt olan köpeğin ilk evciltildiği (Roots, 2007) iddia edilmektedir. Daha sonrasında avcı toplayıcı toplum yerleşik hayata geçerek hayvansal ve bitkisel üretime geçmiştir (Zeder vd., 2006; Zeder, 2008). Yapılan kazılar sonucunda elde edilen bilgilere göre günümüzden 11000, 10500 ve 10000 yıl önce sırasıyla koyun-keçi, domuz ve sığır evciltmiştir (Zeder, 2008). Evciltmenin "Bereketli Hilal" (Fertile Crescent) olarak isimlendirilen, Yakın Doğu'da yer alan, Anadolu'dan Kuzey Batı İran'a kadar uzanan bölgede gerçekleştiği üzerinde birleşilmektedir.

Evcil koyunlar yabani koyunlardan köken almaktadır. Yabani koyunların dünya üzerinde yayılımları oldukça geniştir. Yabani formlardan evcil koyunun (*O. aries*) atası olabileceğinden şüphelenilen formlar olarak, Urial, Argali ve Muflon koyunları olduğu düşüncesi uzunca bir süre literatürde yer edinmiştir. Fakat günümüzde, arkeolojik kazı bulguları yanında moleküler genetik verilerinde değerlendirilmesi ile evcil koyunların Avrupa Muflonu'ndan köken aldığı ortaya çıkmıştır (Hiendleder vd., 1991, 1998b, 2002)

Tarımın birbirinden bağımsız olarak dünyanın çeşitli bölgelerinde eş zamanlı olarak başladığı düşünülmektedir (Brown vd., 2009). Tarımın başladığı bu bölgelerde genetik çeşitlilik oldukça fazla olmaktadır. Güneybatı Asya bölgesinde Dicle, Fırat ve Ürdün nehirlerinin vadilerinde, tarımın başladığı bölgelerden biri olan dünyanın dördüncü büyük evciltme merkezi, Bereketli Hilal bulunmaktadır. Anadolu'nun güney ve güneydoğusunda bulunan Hatay, Gaziantep, Urfa, Diyarbakır, Kahramanmaraş ve Mardin illerimiz, hayvan ve bitki yetiştirme ve ıslahının ilk defa başladığı bu bölgede bulunmaktadır. Koyunların bu bölgeden Avrupa'ya Akdeniz ve Tuna vadisi üzerinden iki farklı yol izleyerek geçmiş olduğu yapılan araştırmalarla ortaya koyulmuştur (Zeder, 2008). Bu sebepten

ötürü hem koyunun Avrupa'ya geçiş sürecinin Anadolu üzerinden gerçekleşmesi bakımından hem de Türkiye'nin evciltme merkezine yakınlığından dolayı ülkemiz önemli bir pozisyonda bulunmaktadır.

Artan dünya nüfusuna paralel olarak, her geçen gün besin maddelerine olan talebin artmasıyla birlikte, üretilen hayvansal ürünlere ihtiyaç da doğru orantılı olarak artmaktadır. Bunun sonucu olarak ıslah planlamalarında hem bir bireyden farklı yönlerde ürün elde etmeye çalışılmakta, hem de birey başına elde edilen ürünün miktar ve kalitesinin geliştirilmesi amaçlanmaktadır. Bu doğrultuda seleksiyon uygulanırken istenilen özellikleri gösteren bireyleri seçip geri kalanlar gözden çıkarılmaktadır. Bu uygulamalar popülasyonlarda sahip olunan genetik çeşitliliğe taban tabana zıt bir süreçte ilerleyerek, üzerinde durulan ırkta bulunan genetik varyasyonu daraltmakta ve planlı bir şekilde yapılmazsa sahip olduğumuz gen havuzlarının daralmasına ve yok olmasına neden olmaktadır. Ayrıca elimizde bulunan ırkların düşük olan verimlerinin giderilmesi amaçlanarak yapılan melezleme çalışmaları ile veya daha çok kültür ırklarının kullanılmasına yönelik yapılan yetiştiricilik anlayışı ile birlikte sahip olduğumuz yerli gen kaynaklarının yok olması riski her geçen gün daha da önemli bir hale gelmektedir.

Zaman içerisinde görüşlerin değişmesinin en önemli nedeni, genetik çeşitliliği kaybetmemiz ile tarımın nasıl tehlikeye gireceğinin anlaşılmasıdır. Önceleri yok olma tehdidi altında bulunan bir ırkın korunabilmesi için ayrı bir özelliğine bağlı yararlılık/masraf oranının pozitif olması gerektiği düşünülüyordu (Ertuğrul vd., 2010). İlerleyen zamanlarda yerli ırkların sahip olduğu ayrı özelliklerin hangisine ihtiyaç duyulacağı net olarak bilinmemesi ve yok olan genetik kaynakların tekrar geri getirilemeyeceğinin anlaşılması üzerine, ekonomi ve işgücü olanaklarının el verdiği ölçüde yeterli büyüklükte popülasyonlarla risk altındaki tüm ırkların genetik kaynak olarak korunması gerektiği düşüncesinde birleşmiştir.

İrkların korunmasına ve korunma önceliğine karar verirken öncelikle bu ırkların genetik yapılarının ortaya konulması gerekmektedir. Sahip olduğumuz gen kaynakları, kendine has eşsiz allelik kombinasyonlara sahip olabilirler. Bu özelliklerin zaman içerisinde yok olması ve sonrasında tekrardan ihtiyaç duyulma ihtimaline karşı hangi ırkların korunmasının gerektiği konusu son derece önemli olarak karşımıza çıkmaktadır. Zaman, iş gücü ve ekonomi gibi kısıtlayıcı etmenlerden dolayı korunacak ırklar için öncelik sırasının belirlenebilmesi için,

ırkların sahip oldukları genetik yapıların ve aralarındaki genetik ilişkilerin incelenmesi gerekmektedir.

Morfolojik özelliklere göre ayırım tekniklerinin genetik belirteçler ile ayırım tekniklerine göre doğruluk payı düşüktür. Moleküler belirteçler ile doğrudan bireyin sahip olduğu genotipi veya genomunu incelerken, bu tanımlamalar ile ırkların yanı sıra bireyler arasındaki farklılıkları da daha yüksek doğrulukla ortaya koyabilmekteyiz. DNA düzeyindeki araştırmalarda en etkili teknik dizi analizi (sekanslama) ile DNA dizilerinin (sekanslarının) elde edilip yorumlanmasıdır. Bu sayede genomdaki tek nükleotid değişimlerin (SNP: Single Nucleotide Polymorphisms) ve oluşan mutasyonların tamamını görebilmek mümkündür. DNA dizi analizi, gen yapısı ve kontrol mekanizmaları hakkında merak ettiğimiz çoğu bilgiyi bize sunan temel tekniktir. DNA dizilenmesi amacıyla iki ayrı araştırmacı ekip tarafından; kimyasal kırılma (Maxam ve Gilbert, 1977) ve zincir sonlandırma (Sanger vd., 1977) tabanlı iki farklı yöntem geliştirilmiş, Sanger dizileme de olarak adlandırılan zincir sonlandırma yöntemi yaygın kullanım kazanmıştır. Daha sonrasında zaman, iş gücü ve maliyeti oldukça düşüren, insan hatasını ortadan kaldıran, doğruluğu yüksek birçok otomasyonlu DNA dizileme sistemi geliştirilmiştir (Ronaghi vd., 1999; Ronaghi, 2001; Mardis, 2008).

Genoma yönelik araştırmalarda mitokondriyal DNA (mtDNA) genomuna yönelik çalışmalar literatürde oldukça fazla yer almaktadır. mtDNA genomuna yönelik araştırma sonuçları evciltmeden tutunda bireysel farklılıklara kadar birçok konuya ışık tutmaktadır. Bu çalışmalar genelde, mtDNA üzerinde seçilen korunmuş bölgelere göre tasarlanmış primerler aracılığı ile belirli uzunluklarda bölgelerin DNA dizisinin elde edilmesi ve farklılıkların belirlenmesi esasına dayanmaktadır. Bu çalışmalar için yoğun olarak mitokondri genomunun kontrol (D-loop) ve *CytB* bölgeleri kullanılmaktadır. Çalışmadan çalışmaya kullanılan bu bölgelerin fragman boyları değişebilmektedir. Genetik çeşitlilik için daha çok kontrol bölgesine ait farklı fragman boyları kullanılırken zamansal ayrımlar için *CytB* bölgesinin kullanılması tavsiye edilmektedir (Pedrosa vd., 2005).

Hiendleder vd. (1998a) komple dizilimini çıkarttıkları koyun mtDNA'sında 15437. nükleotidden son nükleotide kadar olan bölge'de (1180 baz çifti) en fazla mutasyon oranına rastlamışlardır. Fakat bu bölgede, 75 baz çiftinden oluşan bir dizinin üç ile beş defa tekrarlandığı keşfedilmiştir (Wood ve Phua, 1996). Daha sonra, tandem tekrar bölgelerinin bitiminden itibaren (16007. nükleotidden 16538.

nükleotide kadar) 531 baz çiftlik yüksek mutasyon içeren bölgeyi çoğaltan yeni primer çifti tasarlanmıştır (Chen vd., 2006).

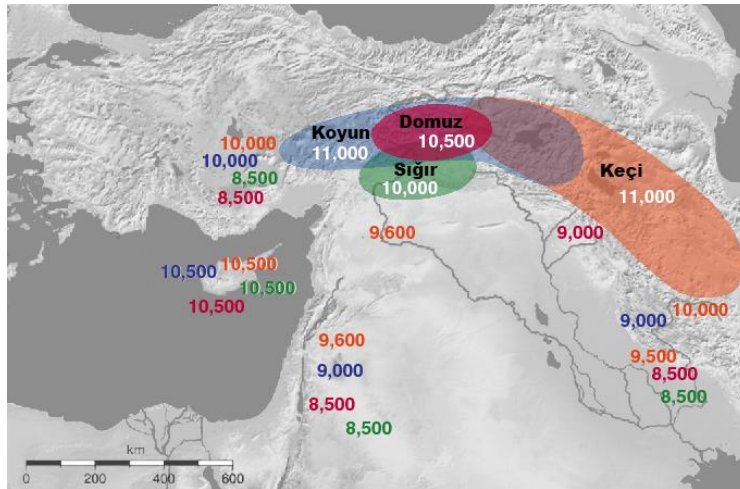
Türkiye için koyun önemli bir çiftlik hayvanı türüdür. Ülkedeki koyun sayısı, son istatistiklere göre (TÜİK, 2018), 32.153.293 baş yerli koyun ve 2.681.679 baş Merinos koyunu olmak üzere toplamda 35.194.972 baştır. Geçmişte daha da yüksek olan koyun sayısı yanında topografik ve iklim yapısı bakımından farklı bölgelere sahip olan ülkede çok sayıda yerli ırk mevcuttur. Bu ırklardan bazıları materyal alınarak yapılan mtDNA'nın kontrol bölgesi (Demirci, 2012; Öner vd., 2012; Demirci vd., 2013) ve Y bölgelerinin dizisine dayalı dört markör (2 adet SRY markörü, DBY ve AMELY) kullanılarak kimi çalışmalarda (Öner, 2010) A, B, C, D ve E haplogrupları ve bu haplogruplar içinde çok sayıda haplotipler belirlenmiştir. Buna karşın, daha çok ırkı içeren daha geniş kapsamlı çalışmalar daaha detaylı bilgilere ulaşılmasına önderlik edecektir.

Türkiye'de yetiştirilen 15 farklı yerli koyun ırkında gerçekleştirilen bu tez çalışmasında, mtDNA'nın yüksek polimorfizm sergileyen ve literatürde yoğunlukla incelenen kontrol bölgesinin (D-loop) 531 bç uzunluğundaki bir kısmının DNA diziliminin çıkartılması ile mitokondriyal DNA dizi varyasyonun ve ırklara özgün polimorfik bölgelerin belirlenmesi, mitokondriyal DNA haplotip ve haplogruplarının belirlenmesi, anasal soyların ortaya konması, ırkların evciltme süreçlerine katkı yapacak bilgilerin ortaya konması ve gen bankası veri tabanında mtDNA dizilimleri yer almayan veya eksik olarak yer alan ırkların bilgilerinin tamamlanması amaçlanmıştır.

## 2. KAYNAK ÖZETLERİ

### 2.1. Evciltme Süreci ve Bu Süreçte Verimli Hilal'in Önemi

Avcı toplayıcı toplumdan yerleşik hayata geçiş sürecinin gerçekleşmesi çok eski çağlarda gerçekleşmesinden dolayı evciltme sürecinde yaşananlar hakkında bilgimiz oldukça sınırlı düzeydedir. Birçok araştırmacı bu dönemlere ışık tutabilmek için Neolitik Çağ'da bu geçişin yaşandığı Bereketli Hilal (Fertile Crescent) olarak isimlendirilen geniş bölgede araştırmalar yapmış bu araştırmalar Zeder vd (2006) tarafından toparlanılarak literatüre sunulmuştur. Henüz evciltmenin nasıl başladığı ve neyin neden olduğu tam olarak bilinmemesine rağmen bundan yaklaşık 12000 yıl öncesinde korunma ve avlanmaya yardım amaçlı olarak atası kurt olan köpeğin ilk evciltildiği (Trut, 1999; Roots, 2007) iddia edilmektedir. Daha sonrasında avcı toplayıcı toplum yerleşik hayata geçerek hayvansal ve bitkisel üretime geçmiştir (Zeder vd., 2006; Zeder, 2008). Koyun ve Keçi ilk evcilleştirilen çiftlik hayvanlardır. Bu evciltme bitkilerin kültüre alınmasından bile önceye dayanmaktadır (Zeder 2008). Yapılan kazılar sonucunda elde edilen bilgilere göre sırasıyla koyun-keçi (11000 yıl önce), domuz (10500 yıl önce) ve sığır (10000 yıl önce) evciltmiştir (Zeder, 2008). İlk evciltilen çiftlik hayvanı türlerinin evciltme tarihleri, coğrafi bölgeleri ve hemen sonrasındaki yayılımları Şekil 2.1.'de verilmiştir.

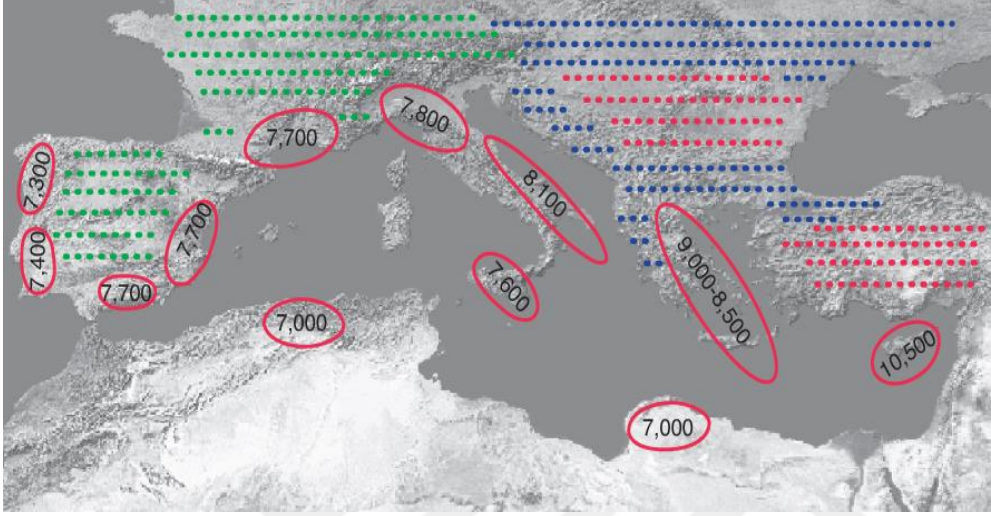


Şekil 2.1. İlk evciltilen çiftlik hayvanı türlerinin evciltme tarih ve yerleri (Zeder, 2008)

Evciltelen koyun, keçi, domuz ve sığır gibi çiftlik hayvanları ile birlikte kültüre alınan buğday, arpa ve bezelye gibi bitkiler avcı-toplayıcı toplumların yerleşik hayata geçmelerini, ilk çiftçi ve yetiştiricilerin doğmasını sağlamıştır. Son yıllarda bazı bilim insanları yapılan araştırmalarla birlikte Batı Medeniyeti'nin temelini Yunan Medeniyeti'ne dayandığı düşüncesinden uzaklaşmaktadır. Sümerler ilk sulama kanallarını yapan, kanunlar koyan, kereste taş ve madenden yoksun olmasına rağmen Bottero'ya (2003) göre tahıl yetiştiriciliği ve küçükbaş hayvan yetiştiriciliği ile gelişen bir medeniyettir (Atar, 2017). Bu bölgede yer alan medeniyetlerden birisi de Hititlerdir. Evciltme ve bitkilerin kültüre alınmalarının sonucunda toplumlar, besin üretebilir hale gelmelerinin ardından Hitit medeniyetinde artan nüfuslarını besleyebilmek için bu ürettikleri besinleri depolayabilecekleri, büyük ve çok odalı duvarları kille kaplanmış üstü kalın toprakla örtülmüş, tahıl ambarları yapıp depolayabilecekleri ortaya çıkmıştır (Brandau ve Schickert, 2004; Child, 2006). Bu gelişmelerin sonucunda insan toplumlarının nüfusu artmış, çeşitli alanlarda güçlenmiş ve yeni yerlere yayılabilir hale gelmişlerdir (Child, 2006). Bu topluluklar Avrupa, Kuzey Afrika, Batı Hindistan ve Merkez Asya'ya göç etmişlerdir. İnsanlar göçleri sırasında evciltelen hayvanları, tarımın henüz bilinmediği Avrupa'ya, Yunanistan ve İtalya güzergahını izleyerek yarılarında götürmüşlerdir. (Diamond, 2002).

Koyunun evciltme merkezinden batıya, Avrupa'ya doğru Akdeniz ve Tuna vadisi üzerinden olmak üzere iki ana yolu takip ederek (Şekil 2.2.) ulaştığı savunulmaktadır (Zeder, 2008). Afrika kıtasına geçişinin bundan 7100-7000 yıl önce (Muigai ve Hanotte, 2013), Asya kıtasına geçişinin ise bundan 4500-4000 yıl önce (Dodson vd., 2014) gerçekleşmiş olduğuna inanılmaktadır. Bereketli Hilal olarak isimlendirilmiş bölgede yapılan kazılar sonucunda yabancı koyunlara ait elde edilen kemik boyutları ile evcil koyunlara ait kemikler karşılaştırıldığında aradaki farklar evciltmenin kanıtlarından biri olarak sunulmaktadır (Zeder vd., 2006).

Evciltme ile hayvanların, saldırganlıkları azalmış, daha erken eşeyssel olgunluğa ulaşması gerçekleşmiş, kapalı alanlarda yaşayabilir hale gelmiş ve çeşitli morfolojik özellikler bakımından değişikliklerin olduğu gözlemlenmiştir (Trut 1999; Diamond, 2002).



Şekil 2.2. Koyunun Akdeniz üzerinden Avrupa'ya göç yolu (Zeder, 2008)

Ovis cinsi sistematigi, morfolojik özellikleri, kromozom sayıları ve coğrafik dağılımı bakımından karmaşıktır. Günümüze kadar farklı sınıflandırmalar ile birçok yayın yapılmıştır. Bazı araştırmacılar, sadece iki yabancı forma dayalı sınıflandırma yapan Tsalkin (1951)'i izlerken, kimi araştırmacılar ise dört ile dokuz farklı formdan yararlanarak yapılan sınıflandırmaları (Lydekker, 1913; Nasonov, 1923; Hiendleder vd., 2002) izlemişlerdir.

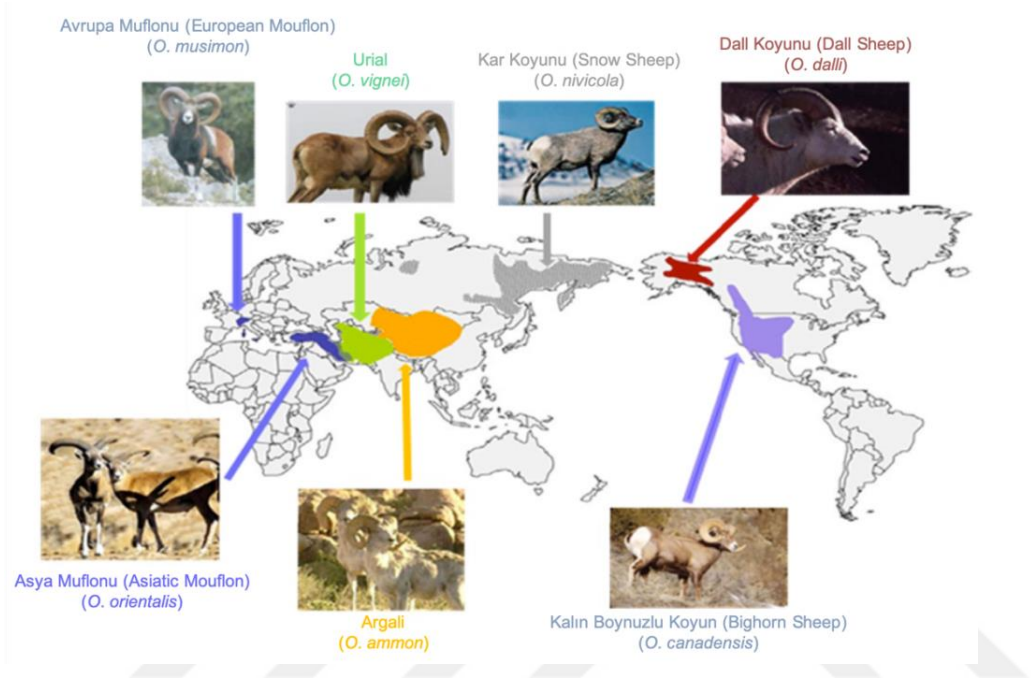
Yakın zamanlarda yapılan yayınlar daha çok kromozom sayılarındaki farklılıklara ve coğrafik dağılımlarına göre yapılmaktadır. Farklı kromozom sayılarına sahip olan koyun popülasyonları kendi aralarında çiftleşebilmekte ve bunun sonucunda fertil yavrular meydana getirebilmektedirler (Vorontsov vd., 1972; Nadler vd., 1971). Bu özellikleri bakımından koyunları sınıflandırmak oldukça güç hale gelmektedir. Bu bahsi geçen bilgileri, Rezai vd. (2010) yaptıkları derlemede özetlemişlerdir (Çizelge 2.1).

Çizelge 2.1. Yabani koyunlara ait yapılan literatürlerden derlenen özet terminoloji çizelgesi (Rezai vd., 2010)

	2n	Tsalkan, 1951	Halternorth, 1963	Nadler vd., 1973b	Valdez, 1982; Wilson ve Reeder, 1993; Shacleton ve Lovari, 1997	Festa-Bianchet, 2000
Dall Koyunu	54	<i>O. canadensis</i> / <i>O. nivicola</i>	<i>O. ammon</i>	<i>O. dalli</i>	<i>O. dalli</i>	<i>O. dalli</i>
Kalın Boynuzlu Koyun	54	<i>O. canadensis</i> / <i>O. nivicola</i>	<i>O. ammon</i>	<i>O. canadensis</i>	<i>O. canadensis</i>	<i>O. canadensis</i>
Kar Koyunu	52	<i>O. canadensis</i> / <i>O. nivicola</i>	<i>O. ammon</i>	<i>O. nivicola</i>	<i>O. nivicola</i>	<i>O. nivicola</i>
Argali	56	<i>O. ammon</i>	<i>O. ammon</i>	<i>O. ammon</i>	<i>O. ammon</i>	<i>O. ammon</i>
Asyatik Muflon	54	<i>O. ammon</i>	<i>O. ammon</i>	<i>O. orientalis</i>	<i>O. orientalis</i>	<i>O. orientalis</i>
Urial	58	<i>O. ammon</i>	<i>O. ammon</i>	<i>O. vignei</i>	<i>O. orientalis</i>	<i>O. vignei</i>
Avrupa Muflon	54	<i>O. ammon</i>	<i>O. ammon</i>	<i>O. mussimon</i>	<i>O. orientalis mussimon</i>	<i>O. orientalis mussimon</i>

Yabani koyunların dağılımlarına bakılacak olursa Asya’da, Asya ve Avrupa Muflonu (*O. orientalis*, *O. musimon*), Urial koyunu (*O. vigeni*) ve Kar koyunu (*O. nivicola*), Avrupa’da yine Asya ve Avrupa Muflon koyunu bulunurken, Amerika ve Kanada bölgelerinde ise ince boynuzlu ve kalın boynuzlu koyun ırkları (*O. dalli*, *O. canadensis*) bulunmaktadır (Şekil 2.3.).

Yabani formlardan evcil koyunun (*O. aries*) atası olabileceğinden şüphelenilen yabani formlar Urial, Argali ve Muflon koyunları olabileceğinin üzerinde çok uzun süre durulmuştur. Fakat günümüzde, arkeolojik kazı bulguları yanında moleküler genetik verilerinin de değerlendirilmesi evcil koyunların Muflonu’ndan köken aldığını göstermektedir. Razei vd (2010), mitokondri DNA’sının *cytochrome b (CytB)* bölgesi ile dört farklı nükleer lokus sekanslarından ( $\kappa$ -casein, Interleukin 16, Kreatin Associated Protein 1.3 ve Interleukin 4) elde ettikleri verileri arkeolojik veriler ile birleştirerek yaptıkları çalışmada ise evcil koyunların ilk atasının Asyatik Muflon olabileceği bildirilmiştir.



Şekil 2.3. Yabani koyunların dünya genelinde dağılımları (Tabarlet, 2008)

## 2.2. mtDNA'nın Yapısı ve Koyun Türüne Ait Bilgiler

mtDNA, nükleer DNA'da olduğu kadar çeşitli proteinlere sahip olmadığından etkili tamir mekanizmaları bulunmamakta (Bogenhagen, 1999) ve oksidatif fosforilasyon (OXPHOS: Oxidative phosphorylation) sonrası serbest kalan radikallere direkt maruz kalmasından dolayı, çekirdek içindeki DNA'ya göre 5-10 kat daha hızlı bir mutasyon göstermektedir (Wang vd., 2007a). Her hücrede bir adet çekirdek yani nükleer DNA bulunmasına karşın, her hücrede çok sayıda mitokondri ve her mitokondride mitokondriyal DNA (mtDNA)'nın 2-10 kopyası bulunmaktadır. Aynı zamanda mitokondriler iki koruyucu membrana sahiptirler. Bu iki nedenden dolayı çevresel etkenlere nükleer DNA'ya göre çok daha dayanıklıdır. Bu özellikler mtDNA'yı nükleer DNA'nın elde edilemediği biyolojik materyalin kısıtlı olduğu, degrade olduğu (bozulduğu) veya uzun yıllar beklemiş olduğu durumlarda oldukça yararlı hale getirmektedir (Aşıcıoğlu vd., 2014).

Memelilerde bulunan mtDNA maternal kalıtlanarak geçmektedir (Hutchison vd., 1974, Hayashi vd., 1978, Giles vd., 1980; Wallace, 1992. mtDNA'nın anasal olarak kalıtımla aktarılması ve crossing over mekanizması görülmediğinden,

rekombinasyonun olmaması, biriken varyasyonun dünyanın çeşitli bölgelerine yayılmış olsa dahi merkez anasal hattı takip etmeyi mümkün kılmıştır. Zamanla meydana gelen bu birikim ve değişimler haplogrup olarak isimlendirilmişlerdir (Jobling ve Tyler-Smith, 2003; Torroni vd., 2006; Öner, 2010). Bu sebeplerden dolayı mtDNA filogenetik analiz belirteci olarak moleküler sistematikte taksonomistlerin kullanmayı en çok tercih ettiği belirteçlerden biridir (Özdemir, 2006).

Fakat, Mikrosatellit markırlar, RFLP ve SSCP tekniklerini kullanarak, koyunlar üzerinde yapılan bir araştırmada mtDNA'nın babadan da aktarılabildiğini göstermiştir (Zhao vd., 2001, 2004). Bunun yanında;

Mitokondrilerin diğer organellerden en büyük farkı, enerji üretimi için gerekli olan 13 ETS (Elektron Taşıma Sistemi) zincir proteinlerini, 2 adet rRNA ve 22 adet tRNA olmak üzere toplam 37 geni kodlayan halkasal bir DNA'ya sahip olmalarıdır (Şekil 2.4). Bu yapı uzunluk olarak (toplam nükleotid sayısı) insanlarda 16569 bç (Anderson vd., 1981), sığırlarda 16338 bç (Anderson vd., 1982), koyunlarda 16616 bç (Çizelge 2.2.) (Hiendleder vd., 1998a), Leghorn ırkı yumurtacı tavuklarda 16775 bç (Desjardins ve Morais, 1990), tek hörgüçlü develerde (*C. Dromedarius*) 16643 bç, çift hörgüçlü develerde (*C. Bactrianus Ferus*) 16680 bç (Cui vd., 2007) ve keçilerde 16640 bç (Pietro vd., 2003) olarak bildirilmiştir.

Meadows vd. (2005) koyun mtDNA'sı üzerinde *CytB*, kontrol bölgesi (CR: Control Region) ve RNA bölgeleri olmak üzere farklı bölgelerde dizilimler üzerinde yaptığı çalışmada, en yüksek nükleotid çeşitliliği ve tek nükleotid değişiminin (SNP) kontrol bölgesinde olduğunu bildirmişlerdir. Bu bölge türler arasında da oldukça yüksek bir çeşitlilik göstermektedir. Gen takibi, evrim, genetik kayma, hibridizasyon ve coğrafik bölgelerdeki dağılım gibi konuların aydınlatılmasında oldukça yaygın kullanılmaktadır (Bruford vd., 2003).

Çizelge 2.2. 16616 bç'lik koyun mtDNA'sının gen kodlayan bölgeleri ve kontrol bölgesi

Bölge	Başlangıç	Bitiş	bç	Başlangıç Kodonu	Bitiş Kodonu	3' spacer
tRNA-Phe	1	68	68			
12S rRNA	69	1026	958			
tRNA-Val	1027	1093	67			
16S rRNA	1094	2667	1574			
tRNA-Leu (UUR)	2668	2742	75			AA
NADH1	2745	3700	956	ATG	TAA	
tRNA-Ile	3701	3769	69			
tRNA-Gln (L)	3767	3838	72			AT
tRNA-Met	3841	3909	69			
NADH2	3910	4951	1042	ATA	Taa	
tRNA-Trp	4952	5018	67			A
tRNA-Ala (L)	5020	5088	69			A
tRNA-Asn (L)	5090	5162	73			
Origin of L-strand repl.	5163	5194	32			
tRNA-Cys (L)	5195	5262	68			
tRNA-Tyr (L)	5263	5330	68			C
COI	5332	6876	1545	ATG	TAA	
tRNA-Ser (UCN) (L)	6874	6944	71			TAAAC
tRNA-Asp	6950	7017	68			T
COII	7019	7702	684	ATG	TAA	AAT
tRNA-Lys	7706	7773	68			T
ATPase8	7775	7975	201	ATG	TAA	
ATPase6	7936	8615	680	ATG	TAA	
COIII	8616	9399	784	ATG	Taa	
tRNA-Gly	9400	9468	69			
NADH3	9469	9815	347	ATA	TAA	
tRNA-Arg	9816	9884	69			
NADH4L	9885	10181	297	ATG	TAA	
NADH4	10175	11552	1378	ATG	Taa	
tRNA-His	11553	11621	69			
tRNA-Ser (AGY)	11622	11681	60			A
tRNA-Leu (CUN)	11683	11753	71			
NADH5	11754	13574	1821	ATA	TAA	
NADH6 (L)	13558	14085	528	ATG	TAA	
tRNA-Glu (L)	14086	14154	69			ACTA
Cytb	14159	15298	1140	ATG	AGA	CAA
tRNA-Thr	15302	15371	70			
tRNA-Pro (L)	15371	15436	66			
KONTROL BÖLGESİ	15437	16616	1180			

Yapılan çalışmalarda herhangi bir proteine karşılık gelmeyen bir bölge keşfedilmiş ve bu bölgeye değişim düğümü (displacement loop/D-loop) denilmiştir. mtDNA üzerinde bulunan kontrol bölgesi, herhangi bir protein kodlamayan DNA bölgesi olmakla birlikte, çalışmalarda bu kadar yoğun kullanımına olanak tanıyan özelliği en fazla polimorfizm gösteren bölge olmasıdır (Stoneking vd., 1991). D-loop bölgesi ile kontrol bölgesi zaman zaman literatürde eş anlamlı bir şekilde kullanılmasına rağmen (Aquadro ve Greenberg, 1983) daha derinlemesine bakıldığında promotörler ve sürekli eksen orjini, D-loop bölgesinin 5' ucuna yakın bir yerde bulduklarından bu bölgenin tamamına düzenleme bölgesi ya da kontrol bölgesi denilmiştir (Shadel ve Clayton, 1997; Michikawa vd., 1999). Özel



tanımlayıcı 28 farklı fragman deseni keşfetmişlerdir. İki *EcoRI* kesimi sonucunda iki evcil koyun ve bir Avrupa muflonu koyunundan elde edilen fragmanları klonlayıp dizilimlerini elde etmişlerdir. Analiz sonucunda Avrupa muflon koyunu ile evcil koyunların, aralarında dizilim bakımından daha fazla farklılık olacağını beklerlerken, sonucun bunun tersi olduğunu belirtmişlerdir.

Zardoya vd. (1995) koyunlara ait D-loop bölgesinin ayrıntılı dizilimini elde edip yayınlamışlardır. Yapılan çalışmada koyuna ait olan D-loop bölgesinin diğer omurgalılar sınıfına ait olan dizilimle yapısal farklılıklarını ortaya koymuşlardır. Gelişmiş omurgalılarda olduğu gibi korunmuş sekans bölgelerinden (CSB, conserved sequence block) 1. bölge ortak bir şekilde bulunurken, 2. ve 3. bölgelerin bulunmadığını 2. bölgenin yerinde 22 bç'lik bir tRNA bölgesi bulunduğunu bildirmişlerdir.

Wood ve Phua (1996) 50 baş koyun örneğinde d-loop bölgesinin dizilimi üzerinde çalışmışlardır. Bu dizi sonuçlarını karşılaştırdıklarında iki ana haplotip'in varlığından söz etmişlerdir. Bu dizi üzerinde farklı tekrar sayılarında 75 bç'lik tandem bölgelerin olduğunu vurgulamışlar, 1181 bç'lik bölge üzerinde 39 polimorfik bölgenin ve bir delesyonun varlığını ortaya koymuşlardır.

Koyuna ait mtDNA genomu Hiendleder vd. (1998a) tarafından 16616 bç olarak dizilenmiş ve 13 protein kodlayan mRNA (mesajcı RNA), 12S rRNA ve 16S rRNA olmak üzere iki ribozomol RNA, 22 adet tRNA (taşıyıcı RNA) bölgesi ve kendini kopyaladığı bölge olan kontrol bölgesinden (D-loop) oluştuğu bildirilmiştir.

Hiendleder vd. (1998b) D-loop bölgesi üzerinde yabani ve evcil koyunlar arasındaki ilişkiyi belirlemek için beş Avrupa, bir Afrika, dört Asya ırkı ve yabani koyunlarda Muflon, Urial ve Argali olmak üzere toplam 243 baş koyunda, PCR-RFLP yönteminden faydalanmışlardır. Çalışma sonucunda kullandıkları 14 restriksiyon enziminden tanımlayıcı 13'ünün kesimi sonucunda 61 farklı parça desenini değerlendirmişler ve bunların ayırıcı 20 farklı haplotip oluşturduklarını belirtmişlerdir. Bu oluşan haplotiplerin üçü Muflon koyununa, ikisi Argali koyununa, biri Urial koyuna ait çıkarken evcil koyunlarda 14 farklı haplotip belirlemişlerdir. Ayrıca evcil koyunlar arasında dizi farklılığını %0.492, iki Argali alt türlerinin dizi farklılıklarını %0.865, evcil koyunun Urial, Argali ve Muflon koyunları arasındaki dizi farklılıklarını sırası ile %2.724, %2.115 ve %0.465

olarak tespit etmişlerdir. Evcil koyunların Wood ve Phua (1996) gibi majör haplotip A ve haplotip B olmak üzere iki farklı soydan geldiklerini bildirmişlerdir.

Hiendleder vd. (2002), Türkiye'den örneklerin de içinde bulunduğu, 15 farklı bölgeden örnekleme yapıldığı çalışmada, 8 farklı yabani koyun ile evcil koyunları karşılaştırarak yabani koyunların taksonomisi ve evcil koyunların orjinini araştırmışlardır. Çalışma sonunda evcil hayvanlar arasında tanımlanan A ve B ana haplotiplerinin günümüzden yaklaşık 1.54 milyon veya daha fazla yıl önce ayrıştıklarını hesaplamışlardır. B haplogrubu içinde yer alan Avrupa Muflon koyunun evcil koyunların atası olabileceği fakat araştırmada kullanılan diğer yabani koyunların farklı kümelerde çıkmasından dolayı atasal olarak değerlendirilemeyeceklerini ileri sürmüşlerdir. *O. canadensis* yabani koyunun çalışmada kullanılan diğer koyunlardan 5.63 milyon yıl önce ayrışması ile en uzak yabani koyun olarak belirlenmiştir.

Wu vd. (2003) Çin'den dört farklı ve Özbekistan'dan iki farklı bölgesinden Argali koyunlarını örneklemişlerdir. Asya bölgesine ait örnekler ile daha önceden Hiendleder vd. (1998b) bildirdiği A ve B haplotipine ait dizilimleri karşılaştırmışlardır. Bu karşılaştırma sonucunda evcil koyunlara ait dizilimler ile oluşturulan ağaçta en uzak mesafede Argali koyunu belirlendiğinden bu çalışmada daha önceki çalışmalarla paralel sonuçlar elde etmişlerdir. Evcil koyunların Argali'den köken almadığını ortaya koymuşlardır.

Meadows vd. (2005) 121 baş koyunda toplam 2027 bç'lik bölge üzerinde dizi farklılıklarına bakmışlardır. *CytB* (957 bç), kontrol bölgesi (525 bç) 12S RNA (535 bç) bölgeleri üzerinde toplam 47 polimorfik site ve bir delesyon ile toplam 57 haplotip belirlemişlerdir. Popülasyonun A ve B iki ana haplotipe karşılık geldiği ve A haplotipine Asya koyunları B haplotipine de Avrupa koyunlarının girdiğini ve kıtalar arası dizi farklılığının %2.7 düzeyinde olduğunu bildirmişlerdir.

İlk defa 2005 yılında yapılan çalışmalarda C olarak belirlenen bir üçüncü haplotip varlığından bahsedilmiştir (Guo vd., 2005; Luo vd., 2005; Pedrosa vd., 2005). Guo vd. (2005) Çin'e ait altı yerli koyun ırkından örnekledikleri 231 baş koyun ve karşılaştırma için Çin'de yetiştirilmiş iki Avrupa ırkından örnekledikleri 50 baş koyun üzerinde çalışmışlardır. Gerçekleştirdikleri çalışmada ND2 ve ND4 bölgelerindeki polimorfizmlerden kaynaklı farklılıklar PCR-SSCP tekniği ile belirlenmiştir. Özellikle ND2 bölgesinde oluşan iki mutasyona rastlanılmış ve

dizilimleri çıkarılıp daha önce belirlenen A ve B haplotipleri ile karşılaştırıldığında farklı bir haplotipe rastlandığı belirlenmiş ve literatüre C haplotipi olarak eklenmiştir.

Luo vd. (2005) yaptıkları çalışmada, dokuz Çin ve 11 Moğolistan yerli koyun ırklarında olmak üzere toplam 314 baş koyunda D-loop diziliminde genetik çeşitliliği araştırmışlardır. Toplamda 217 farklı haplotip belirlenen çalışmada üç ana maternal kökenden geldiklerini, nükleotid kompozisyonu bakımından Çin ve Moğolistan ırklarına birlikte bakıldığında bu ırklar arasında çok büyük bir fark bulunmadığını, fakat Moğolistan koyunlarında genetik çeşitliliğin daha fazla olduğunu bildirmişlerdir. Maternal soyların bulunma frekansları en fazla A haplotipi %58.73 ile belirlenirken, B haplotipi %24.68 ve C haplotipi %16.59 olarak belirlenmiştir. Belirledikleri 217 haplotipe ek olarak gen bankasından elde ettikleri 91 dizilime ait 87 haplotipin de dahil edilerek yapılan network analizi sonucunda dört farklı belirgin soy elde ettiklerini, maternal orjin olarak Argali koyununun herhangi bir katkısının bulunmadığını vurgulamışlardır.

Pedrosa vd. (2005) Türkiye'den beş ırkın yer aldığı çalışmada 79 baş koyunun D-loop ve *CytB* bölgelerinde dizilim farklılıklarına bakmışlardır. D-loop bölgesi bakımından 69 polimorfik bölge ile 71 haplotip, *CytB* gen bölgesi bakımından ise 45 polimorfik bölge ile 36 haplotip belirlenmiştir. Filogeni ilişkilerini belirleyebilmek adına gen bankasından önceki çalışmalardan elde edilen dizilimler ile karşılaştırmışlar, oluşan filogeni ağaçlarında ana haplotip grupları bakımından her birine rastladıklarını bildirmişlerdir. *CytB* geninden alınan veriler ile ana haplotiplerin birbirlerinden ayrıldığı zaman aralıklarını belirleyerek, A ile B haplotipi arasında 160000 – 170000 yıl, B ile C arasında 550000 – 750000 yıl, A ile C arasında 450000 – 600000 yıl önce ayrılanma oluştuğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada moleküler saat bakımından zaman belirlemek için çok değişkenli bölgeler yerine *CytB* bölgesinin kullanılmasının daha doğru sonuçlar vereceği özellikle vurgulanmıştır.

Chen vd. (2006) 13 farklı bölgede yetiştirilen toplam 19 ırktan örnekledikleri 449 baş Çin yerli koyununda, bu çalışmayla ortak bölge olan, kontrol bölgesi üzerinde 531 bç'lik bir fragmanın dizilimini incelemişlerdir. Dizilimlerin karşılaştırılmaları sonucunda; 449 bç'lik dizilimde, 87 adet substitisyon bölgesi ve 4 adet insersiyon/delesyon (indel) bölgesi sonucunda 91 polimorfik bölgeye, ve bu poliorfik bölgelerin kombinasyonlarından oluşan 170 haplotipe ve üç ana maternal

haplotipe (A, B ve C) rastladıklarını bildirmişlerdir. Bu 170 haplotipin A, B ve C ana haplogruplarının içine dağılımları sırası ile 91, 48 ve 31 olarak belirlemişlerdir.

Xiang-Long vd. (2006) toplam 77 baş koyunda, D-loop bölgesi üzerinde 1055 bç'lik bir bölgenin tekrar dizileri üzerinde 309 bç'lik bir fragmanında bireyler arası farklılıklara bakmışlardır. 75 bç'lik tandem tekrar dizinin toplamda en fazla 5 kere tekrar ettiğini ve bireyler arasında bu farklılıklardan dolayı oluşan heteroplazmiyi bildirmişlerdir. Ayrıca dizilimlerin karşılaştırmaları sonucunda 28 polimorfik bölgeden kaynaklı 63 farklı haplotipe ulaşmışlardır. Dizilimler sonucunda oluşturulan filogenetik ağaca göre Çin yerli ırkları, Mongolya, Tibet ve Ujumuqin koyunları, Kazakistan ve Altay koyunları ve kültür ırklarının dört farklı ana grupta yer aldıkları belirtilmiştir.

Tapio vd. (2006) Avrupa, Kafkasya ve Orta Asya bölgelerinde 48 farklı ırktan 406 baş koyunda D-loop bölgesi üzerinde çalışma gerçekleştirmişlerdir. 124 polimorfik bölgenin varlığı ile toplamda 210 farklı haplotipe ulaşılmıştır. Bu çalışmada daha önceden tanımlanan A, B ve C haplotip gruplarının yanında, split dekompozisyon analizi ile desteklenerek, Kuzey Kafkasya'dan örneklenen bir Karachai koyunu ile D haplotipi literatüre giriş yapmıştır.

Wang vd. (2006) Çin'de 9 farklı ırktan örneklenen 21 baş koyunun, *CytB* gen bölgesinin dizilimi elde edilmiştir. Dizilimlerin sonucunda 40 transisyon ve 3 transversiyon sonucunda 43 polimorfik bölge elde edilmiş, filogeni analizi sonucunda A, B ve C olmak üzere örneklenen koyunların üç ana haplotip grubu altında kümelenedikleri bildirilmiştir.

Pereira vd. (2006) İber Yarımadasından örnekledikleri 7 Portekiz yerli ırklarına ait 161 baş hayvanda mtDNA kontrol bölgesinde çalışmışlardır. Portekiz koyun ırklarında toplam 161 bireyden, 195 polimorfik site varlığı ile 134 farklı haplotip belirlemişlerdir. İki koyun dışında geri kalan bütün koyunların 75 bç'lik tandem tekrar dizileri bakımından dört kopyaya sahip olduklarını sadece bu iki koyunun üç kopyaya sahip olduklarını bulmuşlardır. Belirlenen haplotiplerin A, B ve C olmak üzere üç ana haplotip grubu altında sınıflandıklarını en yoğun olarak HPGB'nin bulunduğunu bildirmişlerdir. Haplogrupların ırklarda bulunma oranlarını, en baskın olan Avrupa orjinli koyunların içinde bulunduğu Haplogrup B (HPGB) için %93 bulurlarken, Haplogrup A (HPGA) için %4.3 (yedi baş

koyun), Haplogrup C (HPGC) için %1.9 (3 baş koyun) olarak belirlemişlerdir.

Meadows vd. (2007) evciltme merkezi üzerinde olan Yakın Doğu'dan (Türkiye'den sekiz ırk – İsrail'den bir ırk) toplam 197 baş koyunda kontrol bölgesi ve *CytB* bölgeleri bakımından genetik çeşitliliği incelemişlerdir. 116 polimorfik bölge ile 85 farklı haplotipe ulaşılmıştır. Hayvanlarının çoğunun HPGA, HPGB ve HPGC haplogruplarında bulunduğunu, daha önce yapılan çalışma gibi HPGD haplogrubunda az sayıda hayvanın (Morkaraman ırkından 2 koyun) bulunduğunu bildirmişlerdir. Yapılan filogenetik ağacının sonunda, tuj ırkı 4 koyunun A ile C haplogrubunun bağlandığı yerde fakat ayrı bir kümede yer aldığını farketmelerinin üzerine yapılan istatistiksel analizlerin sonucunda literatüre beşinci haplogrup olan HPGE eklenmiştir.

Wang vd. (2007b) 10 farklı Çin yerli koyun ırkından örneklenen 83 baş koyun ve 2 baş keçi üzerinde tekrar dizilerinden dolayı 1103 bç ve 1225 bç' lik varyasyonla elde ettikleri D-loop bölgesindeki farklılıklar sonucunda 78 farklı haplotipe ulaşımlardır. Bu haplotiplerin üç ana haplotip grubu altında birleştiğini baskın olarak A ve B haplotip gruplarının olduğunu bildirmişlerdir. Üç ila beş defa tekrarlanan 75 bç' lik tandem tekrarlarından dolayı oluşan varyasyonda en fazla 118 bç' lik dizilerin bulunduğunu bildirmişlerdir.

Pardeshi vd. (2007) üç Hindistan koyun ırkından 73 hayvanda mtDNA kontrol bölgesinde içinde bulunduğu 1246 bç'lik bölge ile genetik çeşitliliğe bakmışlardır. Yapılan analiz sonucunda 73 dizide 48 polimorfik bölge ile ulaşılan 52 farklı haplotipin A ve B ana haplotip gruplarında kümelendiğini belirlemişlerdir.

Cinkulov vd. (2008) 178 baş Balkan koyunları üzerinde yapılan çalışmada yedi ırtan oluşan popülasyondaki genetik çeşitliliği belirlemek için mikrosatelit ve mtDNA genetik belirteçlerinden faydalanmışlardır. 64 hayvanın dizilim analizi sonucunda 60 farklı haplotipe ulaşılmış ve koyunların iki ana maternal A ve B grubunda kümelendikleri belirtilmiştir.

Zhao vd. (2011) üç yağlı kuyruklu Çin yerli koyununda yaptıkları araştırmada 55 baş koyun örneklemişlerdir. Dizilimlerin analizleri sonucunda 39 farklı haplotipe ulaşılmış, bütün koyunların üç ana haplogrup altında kümelendiğini Asya koyunlarını temsil eden A haplogrubunun baskın olduğunu bildirilmişlerdir.

Zhao vd. (2013) Çin yerli ırklarında genetik çeşitliliği daha iyi anlamak için önceden yapılmış aynı bölgeyi paylaşan (D-loop) gen bankasına kaydedilmiş dizilimleri bir arada incelemişlerdir. Yedi farklı coğrafik bölgeden 16 yerli koyun ırkında daha önce yapılan çalışmalarda kullanılan 963 baş hayvandan, gen bankasına 373 adet dizilim kayıt edilmiştir. Ulaşılan dizilimlerde D-loop bölgesi üzerinde gerçekleştirilen analizde 134 polimorfik bölge ile 298 haplotipe ulaşılmıştır. Örneklenen popülasyonu üç ana haplogrup altında kümelemişlerdir.

Öner vd. (2013) Türkiye'den örnekledikleri dokuz yerli koyun ırkında 135 baş hayvanda çalışmışlardır. Kontrol bölgesi üzerinde 531 bç'lik bir bölgeyi çoğaltarak yapılan çalışmada dizilim analizlerinin sonucunda, 53 polimorfik bölgenin oluşturduğu 63 farklı haplotipe rastlanılmıştır. Çalışılan koyunlardan 7 tanesi herhangi bir gruba dahil olmazken, geri kalanlar HPGA, HPGB ve HPGC olmak üzere üç ana kümeye ayrılmış ayrıca bir baş Akkaraman koyunu da HPGE'de bulunmuştur.

Piljug, (2016) Bosna Hersek Paramenka yerli koyunundan 31 baş örneklemiştir. 72 polimorfik bölge belirlenen çalışmada 12 farklı haplotipe ulaşılmış ve koyunların tamamı A haplogrubunda gözlemlenmiştir.

Yeni Zelanda'dan örneklenen koyunlar üzerinde Wood ve Phua (1996) çalışmışlar ve koyunların iki ana grupta kümelendiğini belirtmişlerdir. Hiendleder vd (1998) çalışmasında bu iki ana grubu tanımlamış A haplotip grubunun Asya koyunlarına, B haplotipinin Avrupa koyunlarına ait olduğunu ortaya koymuştur. Çin ve Türkiye'den örneklemelerin de dahil edildiği 2005 yılında yeni bir haplotip grubu olduğu keşfedilmiş ve buna C haplotipi denilmiştir (Guo vd., 2005; Pedrosa vd., 2005). 2006 yılında Kafkasya'dan örneklenen bir baş Karachai koyunu sayesinde yeni bir haplogrup tanımlanmış ve sıradaki harf olan D ile isimlendirilmiştir (Tapio vd., 2006). Evciltme orjinine yaklaşılarak örnek sayılarının artırılması üzerine 2007 yılında A ile C haplogrupları arasında yeni bir kümelene keşfedilmiş ve böylelikle literatüre E haplogrubu da tanımlanmıştır. Evciltme merkezine yakın yapılmış çalışmalarda daha fazla haplogrup tespit edilmiştir. Gen havuzunun en yoğun olduğu yerde yapılan çalışmalarda çeşitliliğin daha fazla tespit edilmesi, Meadows vd. (2007)'un insanların yeni yerleşim yerlerine giderken yanlarında götürdükleri hayvanlar popülasyonunun sadece bir kısmını temsil ettiği için artan coğrafi uzaklıkla genetik çeşitliliğin azalması veya kaybolması olasıdır hipotezini de doğrulamaktadır.

### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1. Materyal

Çalışmanın materyalini Türkiye’de yetiştiriciliği yapılan Çizelge 3.1.’de yer alan 15 farklı koyun ırkından örneklenen toplam 296 baş koyun oluşturmuştur.

Çizelge 3.1. Çalışmada Kullanılan koyun ırkları, örnek sayıları ve örneklenme yerleri

<b>İrk</b>	<b>İrk kodu</b>	<b>N</b>	<b>Sürü Sayısı</b>
Eşme Koyunu	UEK	20	3
Gökçeada	GA	18	2
Çine Çaparı	CC	20	3
Karya	KRY	25	3
Dağlıç	DGL	18	4
Güney Karaman	GK	21	1
Kangal Akkaraman	AKK	18	7
İvesi	AW	20	1
Ramlıç	RML	25	1
Sakız	SKZ	20	1
Kıvırcık	KIV	22	3
Karacabey Merinosu	BKM	18	1
Morkaraman	MK	19	5
Karakaş	KK	14	4
Norduz	NRD	18	4

Çalışmada kullanılan hayvan materyaline ait tanıtıcı bilgiler, görseller ve örnekleme ait bilgiler devamında ırk bazlı olarak özetlenmiştir:

**Kangal Akkaraman:** İç Anadolu bölgesinde Sivas ve çevre illerde yetiştiriciliği yapılan Kangal Akkaraman koyun ırkı, iri yapılı et ve süt verim yönlü kombine bir ırktır. Koyunların bazılarında 14 kaburga bulunmaktadır. Yağlı kuyruklu bir ırktır ve kuyruğunda S formu şekillenmiştir. Kurak iklime dayanan farklı çevre koşullarına adaptasyonu yüksek olan hayvanlardır. Yazları kurak ve sıcak kışları soğuk ve karlı bozkır ikliminde arazinin engebeli olmadığı bitki örtüsü zayıf geniş meralarda yetiştirilirler. Çalışmaya ait Kangal Akkaraman ırkı koyunlarından kan örnekleri Sivas ilinde bulunan yedi farklı sürüde bulunan hayvanlardan alınmıştır.



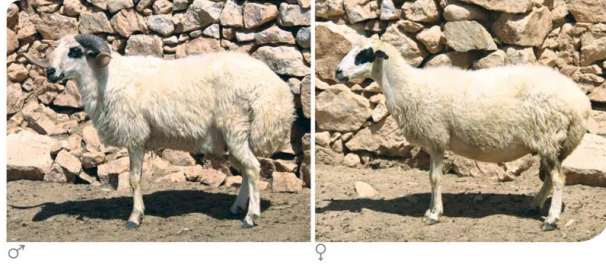
Şekil 3.1 Kangal Akkarman koyun ırkına ait dişi ve erkek hayvan görseli (TAGEM, 2009)

**Morkaraman:** Doğu Anadolu bölgesinde yayılım gösteren Morkaraman ırkı sağlam ve iri yapılı, et verim öncelikli kombine bir koyun ırkıdır. Yağlı kuyruklu, soğuğa karşı dayanıklı, yaşama gücü yüksek, kötü çevre koşullarına karşı adaptasyon yetenekleri Akkaraman ırkında olduğu gibi yüksektir. Sürü ve analık iç güdüsü iyi, sevk ve idaresi kolay bir koyun ırkıdır. Çalışma materyali olarak Morkaraman ırkına ait kanlar Ağrı ilinde ve Van ili Erciş ilçesinde bulunan 5 farklı sürüdeki hayvanlardan elde edilmiştir.



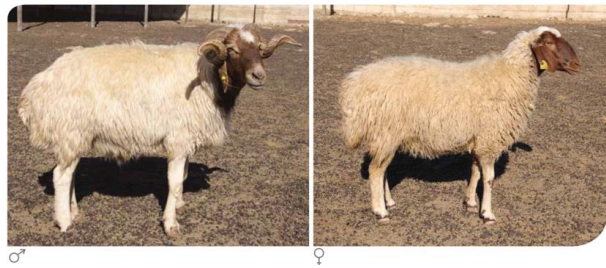
Şekil 3.2. Morkaraman koyun ırkına ait dişi ve erkek hayvan görseli (TAGEM, 2009)

**Dağlıç:** İç Batı Anadolu Bölgesi ve civarında yetiştiriciliği yapılan Dağlıç ırkına ait kan örnekleri Afyon ilinin Bolvadin ilçesinde bulunan 4 farklı sürüdeki hayvanlardan alınmıştır. Küçük vücut yapısı bulunan bu ırk et ve süt olarak kombine verim yönlü yetiştirilmektedir. Elverişsiz beslenme koşullarında yaşama gücü ve adaptasyon yeteneği yüksektir.



Şekil 3.3. Dağlıç koyun ırkına ait dişi ve erkek hayvan görseli (TAGEM, 2009)

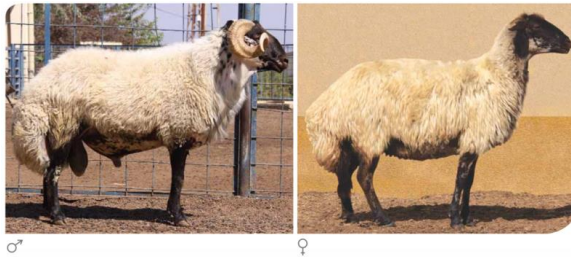
**İvesi:** Türkiye’de Güneydoğu Anadolu Bölgesinde aynı zamanda Suriye, Lübnan, Irak, İsrail, Ürdün’de de yetiştiriciliği yapılan İvesi ırkı arap koyunu olarak bilinmektedir. Dünya literatüründe Awassi olarak tanınan İvesi süt öncelikli kombine verim yönlü yetiştirilen bir ırk olarak göze çarpmaktadır. Kurak ve sıcak iklim hayvanı olarak bilinen İvesi ırkı, 40-45 °C olan çöl şartlarında dahi büyük sürüler halinde yetiştirilebilen adaptasyon yetenekleri yüksek bir ırktır. Çalışmada bulunan İvesi ırkına ait kan örnekleri Kilis ilindeki bir yetiştiricinin sürüsünden temin edilmiştir.



Şekil 3.4. İvesi koyun ırkına ait dişi ve erkek hayvan görseli (TAGEM, 2009)

**Çine Çaparı:** Geçmişte Denizli, Muğla ve Uşak illerinin Aydın’a sınır bazı bölgelerinde yetiştiriciliği yapılan Çine Çaparı koyun ırkı, günümüzde Aydın ilinde biri kamuya ait Adnan Menderes Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Araştırma ve Uygulama Çiftliği’nde ve bir adet de Çine ilçesinde yetiştirici sürüsü olmak üzere toplam sadece iki sürü halinde yaşamını sürdürmektedir. Yok olma tehlikesi altında olan ırkın, Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootekni Bölümü tarafından yapılan saha çalışmalarında, sadece 3 saf sürünün kaldığı, geri kalan

sürülerin bölgede önem verilen döl verimini geliştirmek için Sakız ve Kıvırcık koçlarla sistemsize melezleyerek dönüştürüldüğü tespit edilmiştir. 1996 yılında Adnan Menderes Üniversitesi çatısı altında tespit edilen saf hayvanlardan bir sürü kurulmuş ve daha sonrasında koruma çalışmalarını kurumsallaştırmak için Adnan Menderes Üniversitesi Çine Çaparı Koruma Programı (ADÜ-ÇÇKP) isimli stratejik program devreye sokulmuştur. Bu program kapsamında az sayıda olan bu koyunlarda sürülerde oluşacak homozigotlaşmanın önüne geçmek için, bireyler arası akrabalık ilişkilerine dayalı etkin çiftleştirme planları devreye sokulmuş, sürüler arasında koç transferleri yapılmıştır. 2005 yılından itibaren başta belirlenen Çine’de Erdoğan Aktürk ve Koçarlı’da Mustafa Vural’a ait sürülerin yetiştirici motivasyonunu güçlendirmek adına Tarım Bakanlığı’nın teşvik programı kapsamına aldırılmıştır. Dünya üzerinde çok az sayıda kalan Çine Çaparı koyunları 2008 yılında yerli gen kaynağı olarak tescil edilmiş günümüzde hala daha elde mevcut olan hayvanlar Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı tarafından Hayvan Genetik Kaynakları Koruma Programı altına alınmıştır. Sürü idaresi kolay olan sakin mizaçlı kanaatkar hayvanlardan oluşan bu ırk, et ve süt olmak üzere kombine verim yönlü yetiştirilmektedir. Çalışmaya ait Çine Çaparı kan örnekleri Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Araştırma ve Uygulama çiftliğinde yetiştirilen hayvanlar ve iki yetiştiriciye ait sürüden elde edilmiştir.



Şekil 3.5. Çine Çaparı koyun ırkına ait dişi ve erkek hayvan görseli (TAGEM, 2009)

**Güney Karaman:** Antalya Mersin, Hatay ve Gaziantep illerinde, Güney Karaman ırkı et ve süt, kombine verim yönlü bir ırk olarak yetiştirilmektedir. Dağlıç gibi küçük yapılıdır. Sıcak ve kurak iklime ve uzun yol yürüyüşlerine dayanıklı bu ırk, Kış aylarında Toros dağlarını aşıp ilkbahar aylarında 2000-2500m yükseklikteki

yaylara göç ettirilip buralarda otlatılırlar. Çalışmada bu ırka ait kan örnekleri, Bahri Dağdaş Uluslararası Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nde bulunan sürüden elde edilmiştir.



Şekil 3.6. Güney Karaman koyun ırkına ait dişi ve erkek hayvan görseli (TAGEM, 2009)

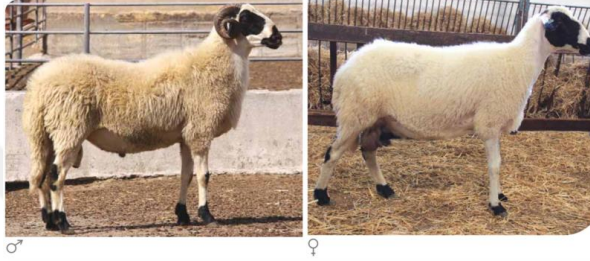
**Norduz:** Van ili Norduz bölgesinde et verimi öncelikli olarak yetiştirilen bu ırkta göze çarpan en ilginç özellik koyunların büyük bir çoğunluğu kulaksız olmasıdır. Yapağı rengi beyaz, gri, kül, beyaz-gri ve beyaz kahve renklerinde görülmektedir. Sakin mizaçlı, analık içgüdüğü gelişmiş sevk ve idare kolaylığı olan bir ırktır. Norduz bölgesinde alçak ve yüksek otlaklarda yetiştirilmektedir. Çalışmanın materyali Norduz bölgesinde yetiştirilen dört yetiştiriciye ait sürülerdeki hayvanlardan elde edilen kanlardan oluşmaktadır.



Şekil 3.7. Norduz koyun ırkına ait dişi ve erkek hayvan görseli (TAGEM, 2009)

**Sakız:** Çeşme, İzmir, Aydın, Marmara ve Ege sahillerinde yetiştiriciliği yapılan Sakız ırkı süt ve döl verimi oldukça yüksek bir ırktır. Ortalama 180-200 kg süt verimi olan ırk iyi bakım koşulları altında 500 kg kadar çıkmaktadır. Sürü içgüdüğü zayıf olan Sakız ırkı genelde aile işletmelerinde 3-5 baş sürüler halinde

yetiştirilmektedir. Çalışmanın kaynağını oluşturan kan örnekleri Balıkesir ili, Bandırma ilçesinde bulunan Koyunculuk Araştırma Enstitüsünde yalıtılmış, koruma sürüsü olarak yetiştirilen sürüden elde edilmiştir.



Şekil 3.8. Sakız koyun ırkına ait dişi ve erkek hayvan görseli (TAGEM, 2009)

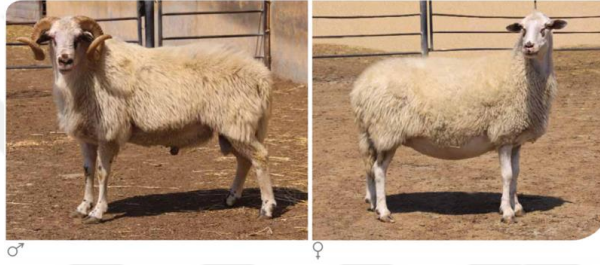
**Kıvırcık:** Trakya, Marmara ve Kuzey Ege Bölgesine yetiştiriciliği yayılan Kıvırcık ırkı koyunlar et, süt ve yapağı olmak üzere kombine verim yönlüdür. Etçi ve Sütçü iki tipi bulunmaktadır. Adaptasyon yeteneği ve sürü içgüdüğü yüksektir. Bu ırkta et yağının kas ve lifler arasına dağılmış olması etin yumuşaklık ve lezzeti yönünden ön plana çıkmasını sağlamaktadır. Çalışmada kullanılan Kıvırcık ırkına ait kan örnekleri Bandırma Koyunculuk Araştırma Enstitüsü'nde bulunan sürüden 9 baş, Aydın ilinde bulunan iki farklı sürüden 11 ve 2 baş olmak üzere toplam 13 baş hayvandan alınmıştır.



Şekil 3.9. Kıvırcık koyun ırkına ait dişi ve erkek hayvan görseli (TAGEM, 2009)

**Gökçeada:** Gökçeada, Çanakkale ve Kuzeybatı Anadolu bölgelerinde yetiştirilen bu ırk süt ve et verim yönlü kombine bir ırktır. Küçük yapılı, süt verimi yüksek, sert iklim bölgelerinde çobansız yarı yaban bir şekilde, aşılama programı olmadan

yetiştirilebilen, hastalıklara dayanıklı, yaşama gücü oldukça yüksek bir ırktır. Erken yaşlarda puberteye ulaşabilirler. Gökçeada ırkına ait kan örnekleri Gökçeada'dan ırkı temsil eden hayvanlardan 6 baş ve Bandırma Koyunculuk Araştırma Enstitüsü'nde bulunan sürüden 12 baş hayvandan olacak şekilde elde edilmiştir.



Şekil 3.10. Gökçeada koyun ırkına ait dişi ve erkek hayvan görseli (TAGEM, 2009)

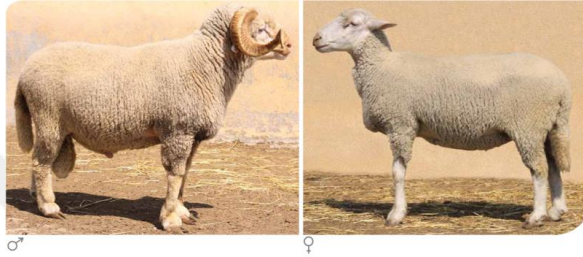
**Karacabey Merinosu:** Marmara Bölgesinde ağırlıklı olarak Güney Marmara'da yetiştirilen bu ırk, Kıvırcık koyun ırkı ile Alman Yapağı Et Merinosu melezlemesi sonucunda elde edilmiştir. Et ve yapağı verim yönlü bir ırktır. Yaşama gücü ve büyüme hızı yüksek olan bu ırk entansif yetiştirmeye daha uygun bir ırktır. Bu ırka ait çalışmanın örnekleri Bandırma Koyunculuk Araştırma Enstitüsü'nde bulunan sürüden elde edilmiştir.



Şekil 3.11. Karacabey Merinosu ırkına ait dişi ve erkek hayvan görseli (TAGEM, 2009)

**Ramlıç:** Rambouillet ve Dağlıç koyun ırklarının melezlenmesi ile elde edilmiş Ramlıç ırkı kombine, et ve yapağı verim yönlü iri yapılı bir ırktır. Dağlıç ırkının sahip olduğu yaşama gücü ve adaptasyon yeteneğinin yanında, Rambouillet

ırkından da et ve yapağı verim özelliklerini almıştır. Çalışmaya ait Ramlış ırkına ait örnekler Bandırma Koyunculuk Araştırma Enstitüsü'nde saf bir şekilde yetiştirilen sürüden elde edilmiştir.



Şekil 3.12. Ramlış koyun ırkına ait dişi ve erkek hayvan görseli (TAGEM, 2009)

**Karya:** Batı Anadolu' da yetiştirilen Karya ırkı, Sakız ve Kıvırcık ırklarının sistemsiz bir şekilde melezlenmesi sonucu oluşmuştur. Kombine, süt ve döl verim yönlü bir ırktır. Yaşama gücü ve kuzuların gelişme hızları oldukça yüksektir. Çalışmanın Karya ırkına ait kan örnekleri, Denizli ilinde bulunan iki farklı yetiştiriciden toplam 14 baş ve Aydın'da bulunan yetiştiriciler ile birlikte Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Uygulama ve Araştırma çiftliğinde bulunan, tabakalı açık çekirdek yetiştirme sistemi modeli ile yetiştirilen 11 baş koyuna aittir.



Şekil 3.13. Karya koyun ırkına ait dişi ve erkek hayvan görseli (TAGEM, 2009)

**Eşme Koyunu:** Uşak'ta başta Eşme ilçesinde yoğun bir şekilde yetiştiriciliği yapılırken yer yer çevre ilçelerde de bu koyun ırkına rastlanmaktadır. Et üretimi ile ön plana çıkarken döl verimi bakımından da oldukça başarılı bir ırktır. Eşme

koyununa ait kan örnekleri Eşme ilçesinde yetiştirilen üç farklı sürüden elde edilmiştir.



Şekil 3.14. Eşme koyun ırkına ait bir koyun ve koç

**Karakaş:** Doğu ve Güney Doğu Anadolu'da Van, Batman, Siirt, Bingöl, Malatya, Elazığ, Diyarbakır illerinde yetiştiriciliği yapılan bu ırk et, süt, döl ve yapağı verimli kombine bir ırktır. Kuyruğun yağlı kuyruklu bir yapısı vardır. Dudak yapısı sayesinde kötü meralardan dahi faydalanabilmektedir. Sürü ve analık içgüdüleri gelişmiştir. Adaptasyon yeteneği çok yüksektir. Bu çalışmada kullanılan bu ırka ait kanlar Van ilindeki 4 farklı sürüden örneklenmiştir.



Şekil 3.15. Karakaş koyun ırkına ait görseller

## 3.2. Yöntem

### 3.2.1. Hayvanlardan Kan Örneklerinin Alınması

Koyunlardan kanlar, hayvanların sol tarafında bulunan toplar damarından “Venae Jugularis Externa” dan içinde pıhtılaşmayı önleyen K3EDTA (Etilen Diamin Tetra-Asetik Asit) bulunan 10ml’lik özel vakumlu tüplere alınmıştır. Kanlar alınırken hijyen koşullarına ve örneklerin birbirine karışmamasına yüksek ölçüde önem verilmiştir. DNA’ların birbirine karışmaması için, her bir birey için kan alındıktan sonra kan alım iğnesi değiştirilmiştir. Kanlar alındıktan sonra tüpün içindeki kan pıhtılaşmayı önleyen sıvı ile iyice karışması için nazikçe alt üst edilmiş, her bir hayvanın küpe numarası ve bireye ait özellikler (ırk, cinsiyet, tarih, lokasyon) tüpün etiket kısmına yazılmıştır. Toplanan kan örnekleri laboratuvar kısmına geçilinceye kadar -20 °C’lik dondurucularda saklanmıştır.

### 3.2.2. Kan Örneklerinden DNA Eldesi

Örneklerden DNA izolasyonları Miller vd. (1988) tarafından bildirilen klasik tuzla çöktürme yöntemi esas alınarak gerçekleştirilmiştir. Yapılan ilk denemeler sonucunda PCR ürünleri ve sonrasında dizileme için istenilen sonuçlara ulaşılamayınca yöntemde farklı denemelere gidilmiştir.

Klasik tuzla çöktürme DNA izolasyon yöntemi sonucunda tatmin edecek şekilde DNA yoğunluğuna ve temizliğine ulaşılsa da kimyasal kontaminasyon bakımından incelenen değer olan 260/230 oranlarının çok düşük olduğu belirlenmiştir. Bu oranları istenilen düzeylerde elde etmek için yeni literatür taramaları yapılmış ve yöntem üzerinde birtakım değişiklikler gerçekleştirilmiştir. Yöntem boyunca kullanılan kimyasal bileşiklerin hazırlanmaları EK 1’de verilmiştir. Modifiye edilmiş yöntemin basamakları;

- 1- Öncelikle kan örnekleri derin dondurucudan çıkarılıp, erimeleri ve sonra kan tüplerinin oda sıcaklığına erişmeleri beklenmiştir.
- 2- Bekleme süresince boş ve temiz 1.5 ml’lik mikrosantrifüj tüpler çıkarılmış üzerlerine koyunlara ait kulak küpe numaraları yazılmıştır. Daha sonra bu tüplerin her birinin içine 900 µl T<sub>10</sub>E<sub>10</sub> (Tris-EDTA) çözeltisinden koyulmuştur.
- 3- Örnek tüplerinden 450 µl hacimde kan örneği alınmış ve içine T<sub>10</sub>E<sub>10</sub>

konulmuş mikrosantrifüj tüplerine eklenmiştir. Kan örneği ve T<sub>10</sub>E<sub>10</sub> çözeltisinin iyice karışması için 20-30 sn. vorteks cihazı (IKA VORTEX 4 digital) yardımıyla iyice çalkalanmıştır.

- 4- Karışan bütün örnekler 20 dakika boyunca 4 °C'de 5000 rpm'de santrifüjlenmiştir (Hettich Universal 320R Masaüstü Santrifüj).
- 5- Santrifüj işlemi bittikten sonra dipte oluşan pelete zarar verilmeyecek şekilde dikkatlice süpernatant kısım boşaltılmıştır. Dipte kalan pelet üzerine 450 µl T<sub>10</sub>E<sub>1</sub> çözeltisinden eklenmiştir. Eklenen T<sub>10</sub>E<sub>1</sub> çözeltisi ile peletin dağılıp, iyice karışması için pelet tamamen çözülene kadar kuvvetlice çalkalanmıştır.
- 6- Peletleri çözülen bütün örnekler 20 dakika boyunca 4 °C'de 5000 rpm'de santrifüjlenmiştir.
- 7- Sıcak su banyosu açılıp 65 °C'ye ayarlanmıştır.
- 8- Peletin iyice temizlenmesi için 5. ve 6. basamaklar ihtiyaca göre 2-3 kere tekrarlanmıştır.
- 9- Santrifüj sonrasında peletlerin iyice temizlendiklerine emin olunduktan sonra süpernatant kısımlar boşaltılıp, peletlerin üzerine 270 µl digestion çözeltisinden (400mM NaCl, 10mM Tris-HCl, 2mM EDTA; pH:8.2) eklenmiş ve pelet bu çözeltinin içinde iyice çözülene kadar karıştırılmıştır.
- 10- Tüplerin kapakları açılıp karışımın içine %10'luk SDS (m/V) (Sodyum Dodesil Sülfat) çözeltisinden 18µl eklenip örnekler yavaşça karıştırılmıştır.
- 11- Çalkalanan örneklerin kapakları tekrar açılıp karışımların içine 20 µl Proteinaz K (10mg/µl) solüsyonundan eklenmiş ve ardından sıcaklığı 65 °C olan su banyosunda 2 saat süre kadar inkübasyona bırakılmıştır.
- 12- Su banyosundan alınan tüplerin her birine proteinleri çöktürmek için 6 M'lık NaCl (Sodyum Klorür) solüsyonundan 150 µl eklenmiş, güzelce çalkalanmıştır.
- 13- Tuz ile iyice karışan örneklerin üzerine 500 µl Kloroform:İzoamil (24:1) çözeltisinden eklenmiş tekrar çalkalanarak karıştırılmıştır.
- 14- Tüpler 4 °C'de 8000 rpm'de 5dk santrifüjlenmiştir.
- 15- Bu süre zarfında temiz mikrosantrifüj tüpleri çıkarılmış ve örneklere ait

numaralar üzerlerine yazılmıştır.

- 16- Yeni çıkarılıp hazırlanan tüplerin her birinin içine 35 µl 3M Sodyum asetat (pH5.5) eklenmiştir.
- 17- Santrifüj sonrasında 3 faz elde edilmiştir bu fazlardan en üstteki kısımdan 350 µl ortadaki fazı dağıtmadan dikkatli bir şekilde çekilerek üzerlerine örneklere ait numaralar yazılmış içinde 3M Sodyum Asetat (NaOAc) olan yeni tüplere aktarılmıştır.
- 18- Tüpler vortekslenildikten sonra 8000 rpm'de 5 dk santrifüjlenmiştir.
- 19- Bu 5 dakikalık sürede tekrar yeni tüpler çıkartılmış, her birinin üzerine yeniden örnek numaraları yazılmıştır.
- 20- Santrifüj sonrası tüplerin içindeki süpernatant kısım dipteki pelletleri hareket ettirmeden hazırlanan yeni tüplere aktarılmış ve üzerlerine 835 µl, derin dondurucudan çıkarılmış, Absolute Ethanol (~%100 EtOH) eklenmiştir.
- 21- EtOH eklendikten sonra bir süre beklenmiş ve tüpler nazikçe alt üst edilerek çevrilmiştir.
- 22- Çevirilme sırasında DNA'nın yeterince yoğunlaşmış viskoz bir materyal olarak görünür hale gelmesi sağlanmıştır.
- 23- Viskoz halde olan DNA'yı çöktürmek için tüpler santrifüj cihazına koyulmuş ve en yüksek devirde 3 dk boyunca santrifüjlenmiştir.
- 24- Santrifüj sonrasında dibe pellet olarak çöken DNA'yı hareket ettirmeden süpernatant kısım dökülmüş üzerine 500 µl %70 EtOH eklenmiştir.
- 25- Tüpler en yüksek devirde 1 dk boyunca santrifüj edilmiştir.
- 26- %70 EtOH ile yıkama basamağı olan 24 ve 25. basamaklar bir kere daha tekrar edilmiştir.
- 27- Tüplerdeki %70'lik EtOH dikkatli bir şekilde boşaltıldıktan sonra tüplerin kapakları kalan alkolün de uçması için açık bırakılmıştır.
- 28- Etanolu uzaklaştırılan tüplere 100 µl steril saf su eklenerek DNA'nın çözünebilmesi için 48 saat süre ile ısı bloklarının (Eppendorf® Thermomixer® R, dry block heating and cooling shaker) üzerinde bırakılmıştır.

### 3.2.3. DNA örneklerinde miktar ve kalite tayini

DNA izolasyonu tamamlanan örneklerin miktar ve saflık tayinlerine yönelik ölçümleri spektrofotometre cihazında (NanoDrop 2000) yapılmıştır. Yalnız spektrofotometrik ölçümlere güvenilemeyeceğinden, örneklerin aynı zamanda elektroforez jelde görsel kontrolleri de yapılmıştır. Spektrofotometrik ölçümler için istenilen değerlerde (260nm:~50ng, 260/280nm:~1.8 ve 260/230nm: ~2.0) olmayan örneklerin ya da elektroforez sonucunda istenen görüntüyü vermeyen örneklerin DNA izolasyon basamakları tekrarlanmıştır. Her iki kıstas bakımından da iyi olduğu belirlenen örnekler saf su ile Macrogen firmasının çoğaltılacak bölgenin 1/10'u kadar DNA miktarına gelecek şekilde seyreltilmiştir. Bu çalışma için 531 bç' lik bir bölge çoğaltılacağından ~53±3 ng/µl değerleri elde edilene kadar seyreltilmiştir.

### 3.2.4. mtDNA kontrol bölgesinin Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) ile çoğaltılması

Kontrol bölgesi üzerinde tandem tekrarlardan kaçınmak için 531 bç' lik kısa bir fragmanın dizilenmesi tercih edilmiştir (Chen vd., 2006). Çalışmada, AF010406 kodu ile NCBI gen bankasına Hindleder vd. (1998b) tarafından tanımlanmış dizilim üzerinde 16007 ile 16537 nükleotidler arası bölge çoğaltılmıştır (Chen vd., 2006). Bu fragmanın PCR ile çoğaltımını sağlayacak primer çifti Çizelge 3.2.'de verilmiştir.

Çizelge 3.2. mtDNA'da kontrol bölgesi üzerinde 531 bç'lik bölgeyi çoğaltmak için kullanılan primerler

Lokus	Bölge	Primerler (5' → 3')
mtDNA-CR	Kontrol bölgesine ait 531 bç'lik fragman	ACTGCTTGACCGTACATAGTA AGTATTGAGGACGGGGTAA

İzolasyonu tamamlanan örneklerden mitokondri DNA'sında bulunan kontrol bölgesi polimeraz zincir reaksiyonu ile çoğaltılmıştır. PCR bileşenleri olarak PCR Buffer, MgCl<sub>2</sub>, Taq Polimeraz enzimi (NEB, Taq Plus DNA Polymerase), dNTP karışımı (Thermo, dNTP Set 100mM), ileri ve geri primer çifti ve kalıp DNA kullanılmıştır. Karışımlar 200 µl'lik ince cidarlı PCR tüpleri içerisinde hazırlanmıştır. Son hacim 25 µl olacak şekilde hesaplanan PCR karışımları kalıp DNA'lardan 1 µl sonradan konacak şekilde, her bir tüpe 24 µl olarak eşit bir

şekilde paylaştırılmıştır. Hazırlanan PCR için bileşenlerin stok ve son konsantrasyonları Çizelge 3.3.'de özetlenmiştir.

Çizelge 3.3. mtDNA kontrol bölgesinin PCR ile çoğaltımı için kullanılan son konsantrasyonlar

PCR Bileşenleri	Stok Konsantrasyonları	Son Konsantrasyonlar
ddH <sub>2</sub> O	-	-
PCR Buffer	10 X	X
MgCL <sub>2</sub>	25 mM	1, 5 mM
dNTP	3 mM	200 µM
İleri Primer	100 pmol	10pmol
Geri Primer	100 pmol	10pmol
Taq Polimeraz	5 U/µl	1 U/µl
Kalıp DNA	~50 ng/µl	~50 ng/µl

PCR tüpleri içerisine her bir birey için karışımlar hazırlandıktan sonra tüpler ısı döngüleyici (ABI, Veriti™ Thermal Cycler) cihazlara yerleştirilmiştir. PCR cihazına yükseltgenme koşulları Çizelge 3.4'de verilen şekilde programlanmış, 531 bç'lik hedeflenen bölgeler çoğaltılmıştır.

Çizelge 3.4. mtDNA kontrol bölgesi için PCR yükseltgenme koşulları

Basamaklar	Sıcaklık	Zaman	Döngü
İlk Ayrım	95 °C	3 dk	1 döngü
Ayrılma	95 °C	50 sn	
Bağlanma	50 °C	1 dk	35 döngü
Uzama	72 °C	1 dk	
Son Uzama	72 °C	10 dk	1 döngü

### 3.2.5. PCR ürünlerinin kontrolü

PCR işlemi sonrasında tüm örnekler için, işlemin başarılı bir şekilde gerçekleşip gerçekleşmediğini kontrol etmek için agaroz jel elektroforezinde ürünler yürütülüp daha sonra görüntülenerek emin olunmuştur. Öncelikle 2 gr agaroz hassas terazide (KERN) tartılmış, 100ml ölçü silindiri ile ölçülmüş 1X TBE (Tris-borat-EDTA) tamponunun içine mikrodalgaya dayanıklı bir şişe içerisinde karıştırılmıştır. Agarozu çözülmüş olan tampon çözeltisinin içine firmanın önerileri doğrultusunda UV ışığı altında ışıma yapan Etidyum Bromür türevi olan kimyasal ajan (abm, SafeView™ Classic), 100ml'ye 5 µl olacak şekilde hesaplanarak eklenmiştir. SafeView eklenmiş şişe içindeki karışım tarakları yerleştirilmiş,

elektroforez küvetine dökülüp katılarak jel bir görünüm alana kadar beklenmiştir. Hazır olan elektroforez küveti, içerisinde yine 1X TBE tamponu ile dolu olan elektroforez tankına yerleştirilmiştir. PCR ürünleri, 6X'lik yükleme boyası X'e seyrelecek şekilde hesaplanarak birbirine karıştırılmıştır. Bu çalışma için 10µl PCR ürünü, 2µl yükleme boyasıyla karıştırılarak tarak alındıktan sonra oluşan kuyucuklara yüklenmiştir. İlk kuyucuğa marker (Thermo, 50bp O'Gene Ruler, ready-to-use), devamına da PCR ürünleri yüklenmiştir. Yükleme işlemi tamamlandıktan sonra elektroforez tankının kapağı kapatılmış, güç kaynağına 10 V/cm olacak şekilde 75 dakika yürütülmüştür. UV ışına yapan görüntüleme cihazının (Vilber Lourmat, Gel Documentation System) altında bantların kontrolleri göz ile bakılarak yapılmıştır. Görüntüleme sonucunda bant gözlenemeyen örneklerin PCR basamakları tekrarlanmıştır.

### **3.2.6. DNA Dizilimlerinin Çıkartılması**

PCR ürünleri elde edilen ve görüntülemeler sonucunda tek bant elde edildiğinden emin olunan örnekler DNA dizilimi elde edilmek üzere özel bir firmaya (Macrogen Europe, The Netherlands) gönderilmiştir. Firmada saflaştırma işlemlerini takiben sekansları biten ürünlerin sonuçları firma tarafından, hem ham elektroforegram görüntüleri hem de fasta formatında tarafımıza göndermiştir.

### **3.2.7. Dizilim Sonuçlarının Analiz Edilmesi**

#### **3.2.7.1. Dizi analiz sonuçlarının değerlendirilmesi**

Macrogen firmasından dizilim hizmeti alınırken her bir sekans dosyasının NCBI gen bankasında blast prosedürü ile gen bankasına tanımlı veriler içinde uyumlarının test edildiği bir prosedür istenmiştir. Analiz sonuçlarında ilk olarak uyumun düşük olduğu örnekler kontrol edilmiştir. Daha sonrasında elde edilen dizilim bilgileri Bioedit ve Finch TV programlarında geri kalan herbir örnek için dizilim ile ham veri olan elektroforegram görüntüleri ayrı ayrı değerlendirilerek sonuçlar değerlendirilmiştir. Birkaç iyi olmayan örneğin (12) tekrar dizilimlenmesi talep edilmiştir. Tekrar sonuçlarından tatmin olunmuş ve analizlere başlanmıştır. Dizilim dosyaları kontrollerinden sonra Bioedit programında alt alta eklenerek Clustal W algoritması ile hizalanmıştır (align). Hizalanma sonucunda aynı nükleotidle başlayıp aynı nükleotidle bitecek şekilde ortak bölgelere karar verilip geri kalan kısımlar dizilimlerden uzaklaştırılarak (trim) analize hazır bir dosya

haline getirilmiştir. Hazırlanan dosya hemen hemen bütün programların değerlendirebildiği en çok kullanılan formatta (fasta) kaydedilmiştir. Dizilimlerin düzgün bir şekilde sıralanmasından sonra diğer programlara giriş formatlarına uygun hale getirmek için, ALTER (ALignment Transformation EnviRonment) dönüştürücüsü kullanılmıştır (Glez-Peña vd., 2010).

### 3.2.7.2. İstatistiksel Analizler

#### Nükleotid ve Haplotip Çeşitliliğinin Belirlenmesi

Çalışılan örneklem kümeleri içinde veya arasında var olan nükleotid oluşumlarını ve bunların çeşitliliğini ortaya çıkarmak popülasyon genetiğinin önemli amaçlarından biridir. Nükleotid varyasyonu, dizilim üzerinde varyant nükleotidlerin/bölgelerinin belirlenmesi ve bu ayırt edici bölgelerin (segregating – S) diziyi oluşturan nükleotid sayısına bölünmesi sonucu ve dizilim çiftleri arasında belirlenen nükleotid farklılıklarının oranı ve bu farklılıkların sekans frekansına oranı ile elde edilmektedir. Bu elde edilen değer çalışılan popülasyonlar arası-içi çeşitliliği ve evrimsel ilişkileri belirlemek için yoğun bir şekilde kullanılmaktadır (Nei ve Kumar, 2000).

Nükleotid çeşitliliği için kullanılan hesaplama ve nükleotid çeşitliliğine ait standart sapmasının hesaplaması Denklem 3.1 ve Denklem 3.2’ de verilmiştir.

$$\pi = \sum_{i < j} \pi_{ij} / \binom{n}{2} \quad \text{Denklem 3.1.}$$

$$V(\pi) = \frac{4}{n(n-1)} \left[ \frac{(6-n)(\sum_{i < j} x_i x_j \pi_{ij})^2}{+(n-2)\sum x_i x_j x_k \pi_{ij} \pi_{ik} + \sum_{i < j} x_i x_j \pi_{ij}^2} \right] \quad \text{Denklem 3.2.}$$

Nükleer DNA veya mitokondriyal DNA’da bulunan yakın mesafede ki genler veya nükleotid bölgeleri döle aktarılırken bir arada aktarılırlar ve bu aktarılan kısımlara haplotip denilmektedir. Haplotipik veriler ve bunların karşılaştırılması çeşitlilik araştırmaları ve karşılaştırmaları bakımından oldukça önemli verilerdir.

Haplotip çeşitliliği için kullanılan hesaplama ve haplotip çeşitliliğine ait standart sapmasının hesaplaması Denklem 3.3 ve Denklem 3.4’ de verilmiştir.

$$Hd = \frac{n}{n-1} (1 - \sum xi^2) \quad \text{Denklem 3.3.}$$

$$V(Hd) = \frac{1}{n(n-1)} \left\{ \begin{array}{l} 2(n-2)[\sum xi^3 - (\sum xi^2)^2] \\ + \sum xi^2 - (\sum xi^2)^2 \end{array} \right\} \quad \text{Denklem 3.4.}$$

Çalışmaya ait sekans verileri ırklar arasındaki nükleotid çeşitliliği ( $\pi$ ) ve Haplotip çeşitliliklerini ve bu değerlerin standart sapmalarını belirlemek için DnaSP v6 (Rozas vd., 2017) genetik analiz paket programı kullanılmıştır.

### Nükleotid yer değiştirme oranlarının belirlenmesi

İlk defa Jukes ve Cantor (1969) yılında ortaya atılan, dizilim üzerinde nükleotidlerin yer değiştirme fikri, herhangi bir dizilim üzerinde nükleotidlerin değişimi eşit olasılık altında, her bir nükleotidin  $\alpha$  frekansı ile belirli bir zaman aralığında değişmesi prensibine dayanmaktadır. Gerçek dizilimler incelendiğinde değişimlerin eşit olmak yerine transisyonel (A $\leftrightarrow$ G veya C $\leftrightarrow$ T) değişimlerin transversiyonel (A $\leftrightarrow$ C veya T, G $\leftrightarrow$ C veya T) değişimlere göre daha sık gözlemlendiği anlaşılmıştır (Nei ve Kumar, 2000). Bu gözlemler dikkate alınarak Kimura (1980) tarafından K2P modeli geliştirilmiştir. Bu modelde her bir nükleotid transisyonunun her bir yıl için değişim oranı ( $\alpha$ ) ve transversiyon değişim oranı ( $2\beta$ ) belirlenir. İki dizilimin birbirlerinden ayrım zamanları ( $t$ ) biliniyorsa herbir yıl için herbir bölgenin toplam yer değişim oranı ( $r=\alpha+2\beta$ ) hesaplanarak toplam yer değişim sayısı denklem 1.5' de verilen şekilde hesaplanır (Nei ve Kumar, 2000).

$$d=2rt=2\alpha t+4\beta t \quad \text{Denklem 3.5}$$

Denklemden  $t$  iki dizinin birbirlerinden ayrıldıkları zamanı ifade ederken,  $r$  herbir yıl için herbir bölgenin toplam yer değiştirme oranlarını,  $d$  ise toplam yer değişim

sayısını ifade etmektedir (Kul, 2010).

Daha sonrasında bu değişimlerin belirlenebilmesi için birçok matematiksel model oluşturulmuş bunlardan en sık kullanılanları Jukes-Cantor (1969) geliştirdiği JC69, Kimura (1980) geliştirdiği K80 ve Hasegawa vd., (1985) geliştirdiği HKY85 ve Tamura ve Nei (1993) geliştirdiği TN93 modelleridir. Gamma dağılışı ( $\Gamma$ ) ve değişmez bölge oranları (I: Invariable sites) faktörlerinin de modellere eklenerek en temel model olan JC96' dan en karmaşık modele (GTR+ $\Gamma$ +I) bütün testler yapılarak değerlendirilebilmektedir (Posada ve Crandall, 2001). Modellerin karşılaştırılması, olabilirlik oranı testi ile gerçekleşmektedir (Felsenstein, 1981; Kiraz, 2009).

Populasyonlar arası farklar ve nükleotidlerin yer değiştirme oranlarının saptanabilmesi için MEGA X (Kumar vd., 2018) paket programı kullanılmıştır. Prosedür gerçekleştirilirken Tamura-Nei (1993) modelinde okunamayan ve eksik veriler, çiftler bazında veri silme seçeneği seçilip temizlenerek analiz edilmiştir.

### **Haplotiplerin belirlenmesi**

Populasyon içinde oluşan haplotipleri belirlemek için DnaSP v6 paket programı kullanılmıştır. Bu haplotiplerin Network analizinde kullanılabilmesi için analiz sırasında oluşan haplotip çıktışı roehl formatında kaydedilmiştir. Daha sonrasında bu roehl formatı bir yazı düzenleme programında açılıp haplotiplere göre oluşan dizilimler Microsoft Excel'e aktarılmıştır. Aktarılan bu veriler ile haplotip dizilimleri ve bu haplotiplerin hangi haplogruplara ait oldukları belirlenip bilgileri özetleyen bir tablo ilgili bölümde sunulmuştur.

### **Haplogrupların Belirlenmesi**

Populasyonları oluşturan bireylerin bir bütün halinde görsel olarak daha rahat ayrıştırılıp incelenebilmesi için filogenetik ağaçlar oluşturulmuştur. Filogenetik ağaç oluşturulurken projenin materyalini oluşturan örneklerin ait oldukları haplogrupları belirlemek için daha önceden gen bankasına tanımlanmış Çizelge 3.5'de verilen referans dizilim dosyaları kullanılmıştır. Filogenetik ağacı oluştururken, elimizdeki verinin değerlendirilebilmesi için fasta formatında dosyayı tanımladığınızda kullanacağınız programa ve işletim sistemine göre dosyayı dönüştüren bir sunucu üzerinde çalışan, ALTER (ALignment

Transformation EnviRonment) algoritmasından faydalanılmıştır (Glez-Peña vd., 2010). Toplam verimize ait nükleotid yer değiştirme modelinin (nucleotide substitution model) belirlenmesi amacıyla PhyML 3.0 paket programının (Guindon vd., 2010) algoritması sunucu üzerinde kullanılan bir internet sitesinden yardım alınmıştır. Sunucuya yüklenen verilerimiz analiz edilirken Smart Model Selection in PhyML (SMS) algoritmasında (Lefort vd., 2017) bulunan Akaike ve Bayes bilgi edinme kriterleri (AIC, BIC) algoritmaları seçilerek en iyi topolojik ağaç modeli belirlenmiştir.

Çizelge 3.5. Haplogrupları belirlemek için kullanılan referans sekanslara ait bilgiler

NCBI kodu	Örnek adı	HPG	Literatür
KF677077	DAG21	A	Demirci vd., 2013
KF677074	DAG9	A	Demirci vd., 2013
KF677059	AKK47	A	Demirci vd., 2013
KF677058	AKK46	A	Demirci vd., 2013
KF677109	IVE36	B	Demirci vd., 2013
KF677096	IVE8	B	Demirci vd., 2013
KF677093	IVE2	B	Demirci vd., 2013
KF677088	DAG47	B	Demirci vd., 2013
KF677027	KRY7	C	Demirci vd., 2013
KF677086	DAG40	C	Demirci vd., 2013
KF677085	DAG39	C	Demirci vd., 2013
KF677083	DAG35	C	Demirci vd., 2013
KF677209	NOR45	D	Demirci vd., 2013
KF677056	AKK39	D	Demirci vd., 2013
KF677025	KRY3	E	Demirci vd., 2013
KF677057	AKK45	E	Demirci vd., 2013
KF677055	AKK38	E	Demirci vd., 2013
HM236175	R359	A	Meadows vd., 2011
HM236174	cl122	A	Meadows vd., 2011
HM236176	kk1	B	Meadows vd., 2011
HM236177	kk2	B	Meadows vd., 2011
HM236179	mk4	C	Meadows vd., 2011
HM236178	kk12	C	Meadows vd., 2011
HM236181	mk9	D	Meadows vd., 2011
HM236180	mk3	D	Meadows vd., 2011
HM236182	aw25	E	Meadows vd., 2011
HM236183	tj6	E	Meadows vd., 2011
AY091490	<i>Ovis vignei bochariensis</i>	Grup dışı	Hiendleder vd., 2002
AF242347	<i>Ovis ammon ammon</i>	Grup dışı	Hiendleder vd., 2002

### **Network analizi**

Elde edilen haplotiplerin birbirlerine mutasyon miktarları dahilinde bağlanmaları ile oluşan Bandelt vd (1999) tarafından geliştirilmiş Median Joining (MJ) Network'u oluşturabilmek için Fluxus mühendislik tarafından tasarlanmış NETWORK 5 paket programında hazırlanan roehl formatındaki dosya analiz edilmiştir (Bandelt vd., 1999). Daha önceden DnaSP v6 programında oluşturulan roehl formatındaki haplotip dosyasını NETWORK programına tanıtarak, varsayılan parametreler ( $\epsilon=0$  weight of the sites=10) kullanılarak MJ network oluşturulmuştur.

Analiz sonucunda elde edilen network'un yorumlanmasında değerlendirme kriterleri şu şekilde özetlenebilir;

Yüksek frekanslı ve çoklu bağlantı yapan haplotipler networkun içinde bulunurlar ve bunların eski haplotipler olma olasılıkları fazladır.

Geçen zaman içerisinde taşıyıcı bireylerin göçlerinden dolayı, eski haplotiplerin coğrafi olarak geniş bir alanda yayılım göstermeleri beklenir.

Sadece tek bağlantı kolu ile networkte yer edinen haplotipler (singleton) yayılmak için yeterli zamanları olmadığından yakın zamanda oluştukları düşünülmektedir.

Yeni haplotipler genelde oluşan networklerde dış kısımda yer almaktadırlar (Freeland vd., 2005; Kul, 2010).

### **Uyumsuzluk dağılım analizleri**

Uyumsuzluk testleri (mismatch distributions) çalışılan populasyonda haplotipler arasında gözlenen dağılımları hesaplayan bir analizdir. Uyumsuzluk dağılım analizi populasyonda bulunan genetik varyasyonu kullanarak, geçmişten günümüze değişimleri anlama açısından önemli bilgiler sağlamaktadır (Rogers ve Harpending, 1992). Analiz sonucunda elde edilen dağılım unimodal (çan eğrisi, tek tepe noktası bulunan) bir şekilde gözlemlendiğinde bu durum, popülasyonun tek bir haplotipten hızlı bir şekilde büyüdüğünü, multimodal (birden fazla tepe noktalarının bulunduğu) bir şekilde gözlemlendiğinde popülasyonun uzun bir süredir sabit kaldığını göstermektedir.

Uyumsuzluk dağılım analizinin temeli, popülasyonların paylaştıkları ortak mutasyonların zamana bağlı değişimlerine dayanmaktadır. Oluşturulan filogeni ağaçlarında dalların uzunlukları zamanı aslında mutasyon birikimlerini ifade etmektedir. Sabit popülasyonlarda, paylaşılan ortak allel/haplotip miktarı genişleyen popülasyonlara göre daha fazladır (Jobling vd., 2004).

Analiz sonucunda elde edilen dağılımın ortalaması çeşitliliği ortaya koyarken, dağılım şekli ise popülasyonun geçmişi hakkında bilgi vermektedir. Dağılımların karşılaştırılabilmesi için hesaplanan regadness istatistiği (r) komşu pikler arasında belirlenen değerlerin kareler ortalamasını vermektedir (Jobling vd., 2004). DNA dizileri için 0.03'ün altında çıkan sonuçlar düzgün dağılımları, üzerinde olan sonuçlar ise düzgün olmayan dağılımları ifade etmektedir. Bir diğer ifadeyle, bu değer popülasyonun genişleme miktarını ifade etmektedir ve genişleme zamanı dağılımın ortalamasının y ekseninden uzaklığı ile ilişkilendirilebilmektedir (Kul, 2010). İkili grup ortalamaları değerinin y ekseninden uzaklığı ırkların ne kadar mutasyonel ünite önce genişlediklerini ifade etmektedir. k değerinin y ekseninden uzaklığı popülasyonun kaç mutasyonel ünite önce bir büyüme yaşadığını göstermektedir.

Çalışma boyunca, uyumsuzluk dağılım analizi sonucunda elde edilen ikili grup farklılığı ortalamaları (k) ve Regadness istatistiği (r) değerleri ile birlikte, dağılım grafikleri için DnaSP v6 paket programı kullanılmıştır.

### **Nötralite testleri**

Nötral teori Kimura (1968) tarafından genetik çeşitliliğin büyük bölümünün seçilimden değil mutasyonlar ve genetik sürüklenmelerden kaynaklandığını ve bunun sonucu olarak bazı allellerin şansa bağlı bir şekilde nötral durumda kaldığını savunmaktadır. Populasyonda bir gene ait farklı alleller bulunuyorsa bu alleller yaşama, üreme açısından fark oluşturmamakta, eşit düzeyde iş gördüklerinden dolayı allellerin birbirlerine göre seçilimde herhangi bir üstünlüğü olmaması kuramına dayanmaktadır (Hedrick, 2005).

Bu teoriyi değerlendiren birçok nötralite testi bulunmaktadır. Negatif seleksiyon yani saflaştırıcı seleksiyon populasyonda bulunan zararlı etkili varyantları elimine

ederken, pozitif seleksiyon yani çeşitliliği arttıran seleksiyon yani varyantların popülasyona girmesinden itibaren bu varyantların popülasyonlarda kalıcı hale gelmesini sağlayan seleksiyonlardır. Nötralite testleri geçmişte yaşanmış bu seleksiyonların test edilmesini sağlamaktadır. Her bir testin hassas olduğu faktörler birbirlerinden farklıdır bu yüzden, tek bir test yerine birden fazla testin kullanılması ile daha anlamlı sonuçlar elde edilmektedir. Mitokondriyal DNA'nın nötralite testlerinin oldukça sık bir şekilde değerlendirildiği, Tajima'nın D testi, Fu ve Li'nin D ve F testi ve içlerinde oldukça güçlü olan Fu'nun FS testi yanı sıra exprese olan bölgelerde suskun ve değiştirici bölge oranlarına dayanan McDonald-Kreitman testi, birden fazla bölge çalışıldığı durumlarda daha hassas sonuçlar veren Hudson-Kreitman-Aguade (HKA) testi gibi birçok test bulunmaktadır (Kul, 2010).

mtDNA'nın nötralite testleri genellikle Tajima D ve Fu'nun FS istatistikleri ile yapılarak bu çalışmada bu testleri gerçekleştirebilmek için Arlequin (Excoffier ve Lischer, 2010) genetik analiz programı kullanılmıştır.

### **Moleküler Varyans Analizi, AMOVA (Analysis of Molecular Variance)**

Excoffier vd., (1992) çalışılan popülasyonlarda tek bir türün haplotip çeşitliliği verilerine dayanan Fst analoğu olan  $\Phi_{ST}$  değerini kullanarak, gruplar arası, oluşturulan gruplar içerisinde popülasyonlar arası ve birey temelli popülasyonlar içinde bireyler arası genetik çeşitliliği hesaplayabilmişlerdir.

Bu çalışmada anılan değerlerdeki farklılıkları belirleyebilmek için Arlequin (Excoffier ve Lischer, 2010) programı kullanılmıştır.

### **Genetik Mesafe Ölçümü**

Popülasyonun geçmişte iki gruba ayrılması, aralarında gen karışımlarının olması, popülasyon içerisinde genetik sürüklenme meydana gelmesi veya iki popülasyonun da aynı seleksiyon etkisine maruz kalmasından dolayı birbirlerine yakın olabilir. Bunun tersi olarak, çok uzun süre yalıtılıp aralarında herhangi bir gen akışının bulunmaması, etkili bir genetik sürüklenme ile büyük farkların oluşması veya iki popülasyonun da farklı seleksiyon etkilerinde kalmasından dolayı popülasyonlar arasında genetik benzerlik bakımından farklar

olabilmektedir. Populasyonlar arası genetik çeşitliliğin miktarı ve yapısında ki farklar çok önceki zamanlarda yaşandığından dolayı bunların hangisi veya hangilerinin etkili olduğunu belirlemek oldukça zordur. Fakat populasyonlar arasında belirlenen benzerlik ve farklar kullanılarak genetik mesafe ölçülebilmektedir (Hedrick, 2005; Kul, 2010).

Irklar arası genetik mesafe ölçümleri Nei'nin Standart Genetik mesafe hesaplaması baz alınarak yapılmıştır. Bu amaçla MEGA X programı kullanılmış, nükleotid yer değişim oranları olarak PhyML programında elde edilen değerler kullanılmıştır.

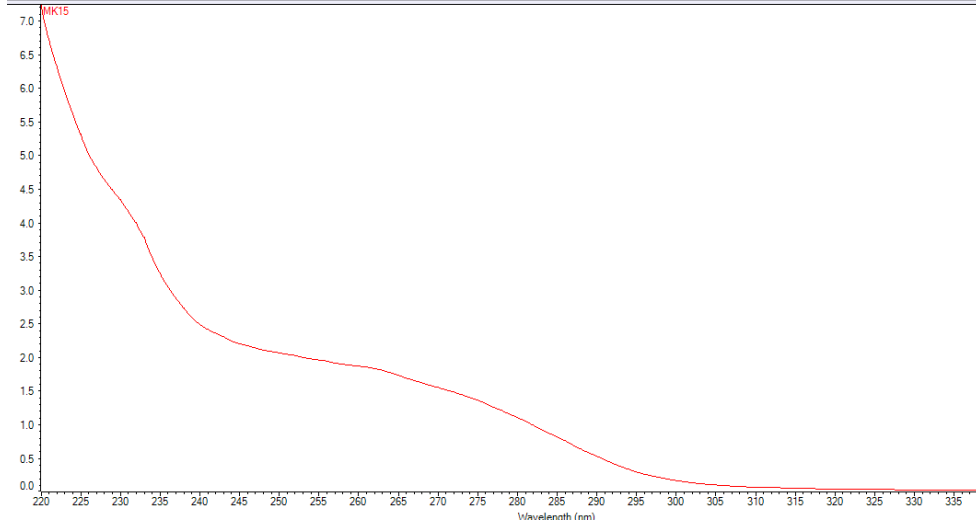
Analiz sonucunda elde edilen Dxy ve Da değerleri nexus dosya formatında hazırlanmış dendrogram Split Tree (Hudson ve Bryant, 2006) programında çizdirilmiştir.

## 4. BULGULAR VE TARTIŞMA

### 4.1. DNA izolasyon sonuçlarının değerlendirilmesi

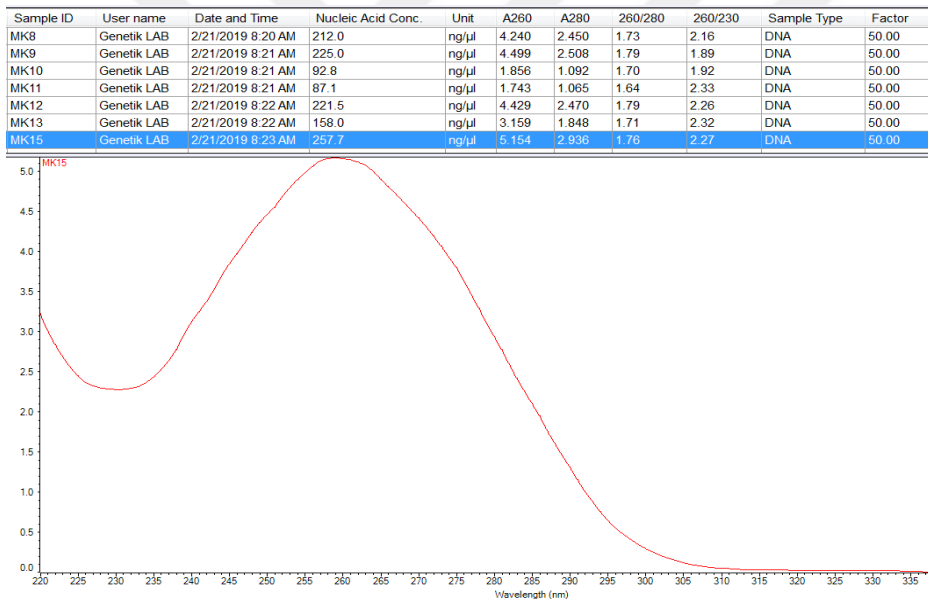
DNA izolasyonu sonrasında izolatlar öncelikle spektrofotometrik ölçümler ile değerlendirilmiştir. Klasik tuzla çöktürme yöntemi ile elde edilen DNA izolasyonlarında DNA miktarını veren 260nm dalga boylarında elde edilen sonuçlar ve DNA/protein oranını veren A260/A280 sonuçlarında elde edilen değerler istenilen düzeylere yakın bir şekilde elde edilse de, kullanılan kimyasalların izolatlarda bulunma miktarlarının oranını veren A260/A230 değerleri çok düşük elde edilmiştir (Şekil 4.1). Ölçüm sonucunda elde edilen değerlendirme grafiğine bakıldığında 230nm ışık dalga boyunda ölçülen değer 260nm ışık dalga boyunda ölçülen değerden düşük olması beklenmektedir. Grafik sonucunda elde edilen görüntü firma tarafından bildirilen görüntüler ile karşılaştırıldığında EDTA bakımından fazlaca kalıntı olduğu gözlenmiştir.

Sample ID	User name	Date and Time	Nucleic Acid Conc.	Unit	A260	A280	260/280	260/230	Sample Type	Factor
blnk	Genetik LAB	10/31/2018 1:03 PM	0.3	ng/ul	0.007	0.015	0.46	3.19	DNA	50.00
MK13	Genetik LAB	10/31/2018 1:06 PM	82.5	ng/ul	1.649	0.941	1.75	0.48	DNA	50.00
MK15	Genetik LAB	10/31/2018 1:06 PM	92.7	ng/ul	1.855	1.092	1.70	0.43	DNA	50.00
MK17	Genetik LAB	10/31/2018 1:07 PM	55.4	ng/ul	1.109	0.672	1.65	0.37	DNA	50.00
MK19	Genetik LAB	10/31/2018 1:08 PM	86.7	ng/ul	1.733	0.981	1.77	0.54	DNA	50.00
MK21	Genetik LAB	10/31/2018 1:08 PM	75.9	ng/ul	1.518	0.878	1.73	0.46	DNA	50.00
MK23	Genetik LAB	10/31/2018 1:09 PM	41.4	ng/ul	0.829	0.505	1.64	0.29	DNA	50.00
MK26	Genetik LAB	10/31/2018 1:10 PM	79.6	ng/ul	1.672	0.924	1.70	0.22	DNA	50.00



Şekil 4.1. Tuzla çöktürme DNA İzolasyon yöntemi ile elde edilen DNA'lara ait sonuçlar ve ölçüm sonucunda oluşan grafik

İzolasyon sonucunda DNA miktarı ve DNA/protein oranlarını koruyacak şekilde ve DNA/protein oranını istenilen düzeylere (1.8) getirecek şekilde modifikasyonlar uygulanmıştır. Hücrenin parçalanıp DNA'nın hücre dışına çıktıktan sonraki basamaklarda, DNA'nın hücre içinde bulunan organik maddeler ve kullanılan kimyasallardan yalıtılması için Kloroform:İzoamil (24:1) kullanılmıştır. Daha sonrasında proteinlerden daha ari bir DNA elde edebilmek için, Sodyum asetat muameleleri eklenmiştir. Bu basamaklar eklendikten sonra gerçekleştirilen DNA izolasyonları tekrardan spektrofotometrik ölçümlerle değerlendirilmiştir (Şekil 4.2).

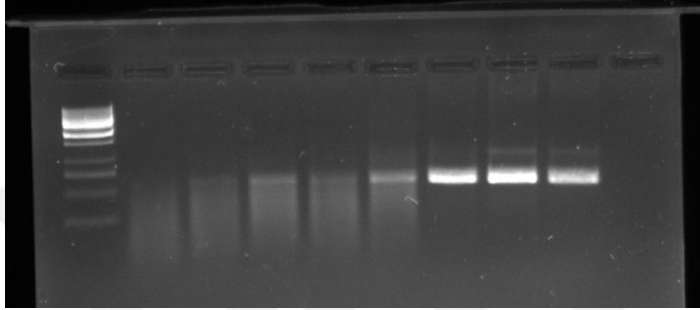


Şekil 4.2. Tuzla çöktürme DNA İzolasyon yönteminin modifiye edilmesi ile elde edilen DNA'lara ait sonuçlar ve ölçüm sonucunda oluşan grafik

Elde edilen değerlere bakıldığında elde edilen DNA yoğunluğu (A260), DNA/protein oranı (A260/A280) ve kullanılan kimyasalların kalıntı oranları (A260/A230) bakımından oldukça tatmin eden sonuçlara ulaşılmıştır. Firma tarafından izolasyon sonucunda elde edilen DNA'nın saf olduğunu gösteren grafikte karşılaştırıldığında birebir uyumlu olduğu gözlemlenmiştir.

DNA izolasyonu sonucunda her iki yöntem (klasik tuzla çöktürme ve modifiye edilmesi ile elde edilen yöntem) ile elde edilen DNA'lardan çalışma için gerekli olan kontrol bölgesinde 531 bç'lik çoğaltılıp Agaroz jelde görüntülendiğinde

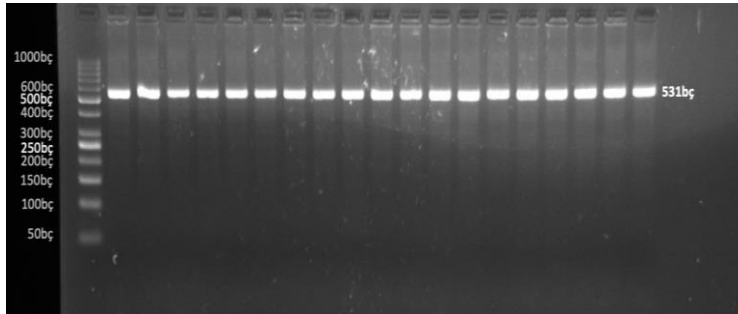
izolasyon yönteminde yapılan değişikliklerin çalışma için pozitif sonuçlar vereceği gözlemlenmiştir (şekil 4.3).



şekil 4.3. İzolasyon prtokolünde klasik tuzla çöktürme yöntemi ve bu yöntemin modifiye edilmesi sonucunda elde edilen örneklerden yapılan PCR ürünlerinin görünümü (ilk beş örnek klasik tuzla ktürme DNA izolasyon yöntemi ile yapılan, sonraki üç örnek modifiye edilen yöntem sonucunda elde edilen kalıp DNA'lar ile yapılan PCR sonuçları)

#### 4.2. PCR Ürünlerinin Görüntülenmesi

mtDNA'da kontrol bölgesi üzerinde ki 531 b'lik fragmanın çoğaltım işlemi tamamlandıktan sonra, her bir örneğe ait PCR ürünü %2'lik agaroz jel'de UV ışığı altında kontrol edilmiştir (şekil 4.4). Bölgenin oğaltılamadığı örnekler tekrar edilerek hedeflenen örnek sayısına ulaşılmıştır.

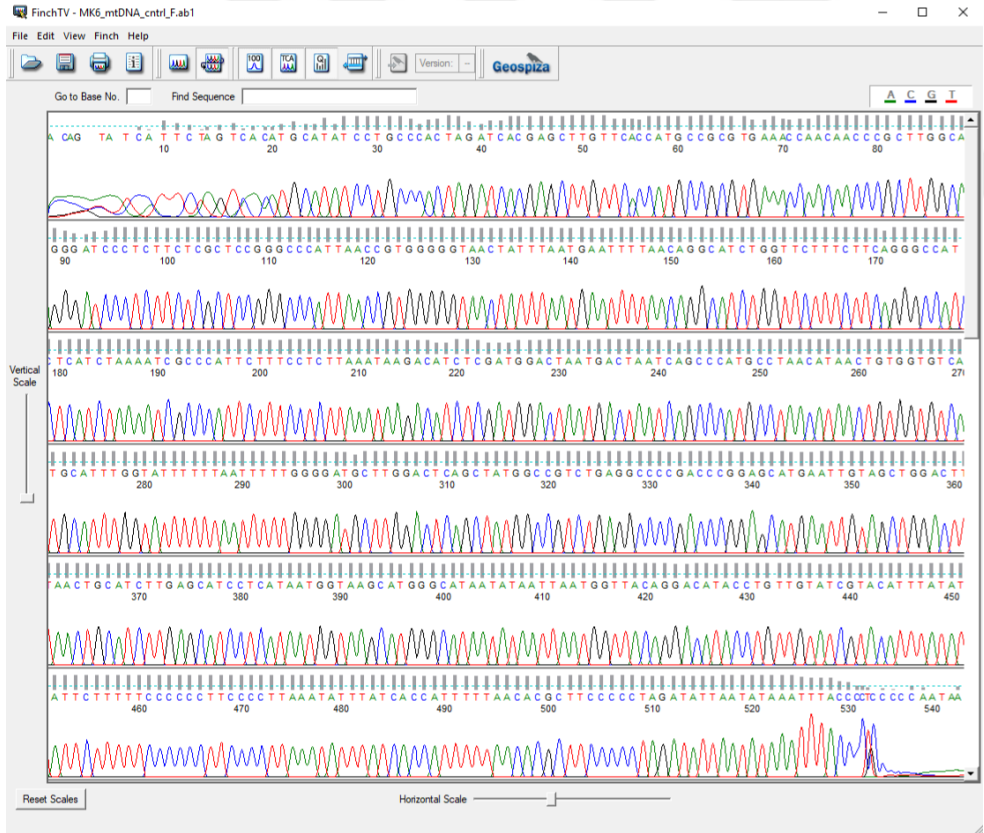


şekil 4.4. Çalışma materyali koyunlara ait DNA örneklerinde oğaltılmış, Kontrol bölgesi üzerinde 531 bç'lik fragmanın PCR ürünü görüntüsü

### 4.3. mtDNA Kontrol Bölgesine ait DNA Dizi Analiz Sonuçları

#### 4.3.1. mtDNA dizilerinin kontrolü

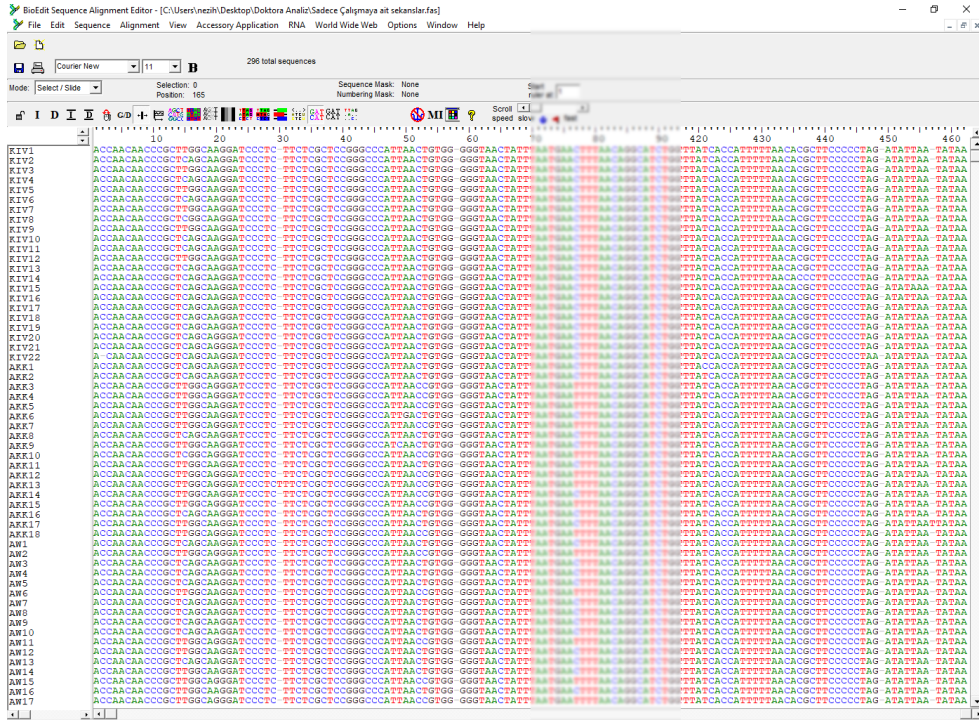
Dizilere ait bilgiler Macrogen firmasından (Hollanda/Amsterdam) elde edildikten sonra ilk firma tarafından gönderilen NCBI gen bankasında yer alan dizilimler ile BLAST (Zhang vd., 2000; Morgulis vd., 2008) algoritmasıyla karşılaştırma sonuçlarına bakılmıştır. Dizilim sonucu iyi olmayan örnekler firmaya bildirip analiz tekrarlanması istenmiştir. Bütün dizilim dosyaları elde edildikten sonra Finch TV adlı programda, her örneğe ait sekans dosyası tek tek gözle kontrol edilmiştir (Şekil 4.5).



Şekil 4.5. Dizilime ait elektroforegram görüntüsü örneği

Bütün örneklere ait sekansların kalitesinden emin olunmasından itibaren hepsi BioEdit Paket programında alt alta dizilerek Clustal W algoritması ile ortak bölgelere göre hizlanmışlardır. Hizlandıktan sonra, ortak bir nükleotidle başlayıp

ortak bir nükleotidle bitecek şekilde baştan ve sondan bu tanıma uymayan kısımlar kesilmiştir. İşlem sonunda 463 bç' lik konsensüs bir bölgeye ulaşılmıştır. Elde edilen dosya hemen hemen bütün dizilim programlarının anlamlandırabildiği fasta formatında kaydedilmiştir (Şekil 4.6).



Şekil 4.6. BioEdit Programında elde edilen hizalanmış 463 bç' lik sekansların bir kısmı

Gerek BioEdit gerekse MEGA programında olsun diğer formatlara dönüştürülerek kaydedilen dosyalarda yaşanan problemlerden dolayı, dosya formatları arasında dönüştürme işlemlerinde, fasta formatında dosyayı tanımladığınızda kullanacağınız programa ve işletim sistemine göre dosyayı dönüştüren bir sunucu üzerinde çalışan, ALTER isimli dönüştürücü sunucu tabanlı çalışan programdan faydalanılmıştır.

### 4.3.2. Nükleotid Yer Değiştirme Oranlarının Belirlenmesi

İncelenen 296 örnekte nükleotid yer değiştirme oranları Tamura-Nei (1993) modeline göre MEGA paket programında hesaplanmıştır. Bütün dizi boyunca Adenin oranı %25.51, Timin oranı %32.01, Sitozin oranı %25.06, Guanin oranı

%17.43 olarak belirlenmiştir. Değişim oranlarının özetlendiği Çizelge 4.1.'e bakıldığında bir primidin başka bir primidine veya pürinin başka bir pürine dönüşme (transisyon) oranlarının oldukça yüksek olduğu görülmektedir. Toplam transisyon/transversiyon eğilimi (bias, R) 84,543 olarak elde edilmiştir. mtDNA kontrol bölgesi herhangi bir protein kodlamayan bölge olduğundan değiştirici (non-synonim) ve suskun (synonim) bölge nükleotid değişimlerine bakılmamıştır.

Çizelge 4.1. Transisyonel ve Transversiyonel nükleotid değişim oranları

Nükleotidler	A	T	C	G
A	-	0,19	0,15	<b>15,41</b>
T	0,15	-	<b>26,71</b>	0,10
C	0,15	<b>34,13</b>	-	0,10
G	<b>22,55</b>	0,19	0,15	-

Herhangi bir protein kodlayan bölgeye karşılık gelmediğinden seçilime takılmadan sonraki nesillere direkt aktarılması sayesinde, bias (R) değeri evrensel olarak genomik DNA için transisyon:transversiyon oranı olarak 2:1 hesaplanırken, mtDNA kontrol bölgesi için bu değer çok daha yüksek hesaplandığı bildirilmiştir (Horai ve Hayasaka, 1990) . Bu çalışmada yüksek bir değer olarak hesaplanan (R~85:1) bias oranı sayesinde, örneklerin mutasyon birikimlerini iyi temsil ettiklerini ve kullanılan örneklerin çeşitliliğe sahip eski örnekler olduklarını söyleyebilmekteyiz (Luikart vd 2001; Kul, 2010).

### 4.3.3. Nükleotid ve Haplotip Çeşitliliği Analiz Sonuçları

Genetik çeşitliliğin belirlenmesinde en önemli iki kriter nükleotid çeşitliliği ve oluşan haplotip çeşitliliğidir. Çalışmada kullanılan on beş ırka ait analizi yapılan 463 bç'lik bölge sonucunda ulaşılan istatistiki değerler Çizelge 4.2.'de özetlenmiştir. En yüksek haplotip çeşitliliği Morkaraman ırkında ( $0.967 \pm 0.030$ ) gözlemlenirken en düşük haplotip çeşitliliği Sakız ırkında ( $0.542 \pm 0.105$ ) gözlemlenmiştir. Sakız ırkında gözlemlenen haplotip çeşitliliğinin nedeni Bandırma Koyun Araştırma istasyonunda bulunan Koruma Sürüsünden örneklenen hayvanlardan kaynaklı olduğu düşünülmektedir. Az sayıda hayvandan oluşan bu sürü, Enstitüye ait arazide diğer sürülerden yalıtılmış bir vaziyette bakılmaktadır. Nükleotid çeşitliliğinde duruma bakılacak olursa en yüksek değer, Karya ırkında ( $0.01523 \pm 0.00153$ ) gözlemlenirken, en düşük değer yine Sakız ırkında ( $0.00329 \pm 0.00072$ ) görülmektedir. Yine Bandırma'dan elde edilen

Karacabey Merinosu (0.00515±0.00112) ve Ramlıç (0.00912±0.00209) örneklerinde de nükleotid çeşitliliği değerleri düşük hesaplanmıştır. Karya ırkına ait örneklerin Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Ziraat Fakültesi'nde bulunan uygulama çiftliğinden örneklenmesine rağmen yüksek değere sahip olması, açık çekirdek yetiştirme sisteminin uygulanmasından kaynaklandığı düşünülmektedir (Karaca, 2014). Polimorfik bölge ve parsimonik bilgi verici bölge bakımından zenginliklere bakıldığında en yüksek değerler yine açık çekirdek yetiştirme sisteminden örneklenen Karya ve Genetik Kaynak Koruma programı altında olan Çine Çaparı ırklarında bulunmuştur. Dünya üzerinde az sayıda kalmış olan Çine Çaparı'nda bu değerlerin yüksek bulunması dikkat çekicidir. Bu durum, üniversite bünyesinde bulunan Çine Çaparı sürüsündeki hayvanlar ile koruma sürüleri arasında az sayıda kalmış olan popülasyonun dar boğaza girmesinin önüne geçilebilmesi için iki yönlü hayvan hareketleri sağlanması ve aynı zamanda üniversite bünyesinde bulunan hayvanların kayıtları kontrol edilerek uzunca bir süre çiftleştirme programları oluşturulup uygulanması ile akrabalıkların kontrol altına alınması ile açıklanabilir. En düşük değerler yine Bandırma'dan örneklenen Sakız ve Karacabey Merinosu ırklarında bulunmuştur.

Çizelge 4.2. Irklarda mtDNA çeşitliliği ile ilgili bilgiler

<b>İrk</b>	<b>N</b>	<b>Haplotip Sayısı</b>	<b>Haplotip Çeşitliliği</b>	<b>Polimorfik Bölge</b>	<b>P.B.V.B.S.*</b>	<b>Nükleotid Çeşitliliği</b>
<b>AKK</b>	18	13	0,902±0,066	21	13	0,01408±0,00197
<b>AW</b>	20	7	0,753±0,079	17	12	0,01367±0,00118
<b>BKM</b>	18	10	0,876±0,063	11	7	0,00515±0,00112
<b>CC</b>	20	11	0,868±0,064	22	16	0,01400±0,00199
<b>DGLC</b>	18	9	0,804±0,091	18	14	0,01379±0,00131
<b>GA</b>	18	17	0,928±0,040	17	13	0,01148±0,00144
<b>GK</b>	21	7	0,833±0,049	19	15	0,01461±0,00109
<b>KIV</b>	22	11	0,848±0,064	14	9	0,00841±0,00119
<b>KK</b>	15	6	0,848±0,061	16	16	0,01417±0,00149
<b>KRY</b>	25	12	0,913±0,030	22	16	0,01523±0,00153
<b>MK</b>	18	14	0,967±0,030	20	13	0,01290±0,00142
<b>N</b>	18	17	0,895±0,050	17	12	0,01215±0,00155
<b>RML</b>	25	20	0,873±0,039	20	14	0,00912±0,00209
<b>SKZ</b>	20	3	0,542±0,105	4	4	0,00329±0,00072
<b>UEK</b>	20	12	0,921±0,042	19	12	0,01284±0,00174
<b>Genel</b>	<b>296</b>	<b>78</b>	<b>0,918±0,009</b>	<b>53</b>	<b>33</b>	<b>0,01391±0,00041</b>

\* parsimonik bilgi verici bölge sayısı

#### 4.3.4. Haplotiplerin belirlenmesi

On beş farklı ırktan toplam 296 baş koyunun yer aldığı sekans datasında haplotip farklılıklarını belirlemek için DnaSP v6 paket programından yararlanılmıştır. Analiz sonucunda yararlanılabilir bölgeler bakımından eksik ve okunmayan veriler (sites with gaps/missing data) temizlendikten sonra 463 baz çiftinden 452 baz çifti kalmış, bunun 399'u polimorfik olmayan bölgeye karşılık gelirken 33'ü parsimonik bilgi verici bölge (P.B.V.B.S) ve 20'si sadece bir kere mutasyon görülmüş bölgeler (singleton) olmak üzere oluşan 53 polimorfik bölge bulunmuştur. 53 polimorfik bölge ile popülasyonda toplamda 78 haplotip oluşmuştur. Haplotip çeşitliliği (Hd)  $0.918 \pm 0.009$  olarak, nükleotid çeşitliliği ( $\pi$ )  $0.01391 \pm 0.00041$  belirlenmiştir. Populasyonlar genelinde ortalama nükleotid farklılık sayısı (k) ise 6.289 olarak hesaplanmıştır. Haplotipler bakımından oluşan dizi kompozisyonları Çizelge 4.3.'de verilmiştir.

Oluşan haplotip sayılarına bakılacak olursa, A haplogrubu içinde 20, B haplogrubu içinde 43, C haplogrubunda 9 haplotip, D haplogrubunda 2 ve E haplogrubunda 4 haplotip belirlenmiştir. A haplogrubunda 15 hayvan tek başına bir haplotip kompozisyonu ortaya koyarken, B haplogrubunda 28 hayvan, C haplogrubunda 7 hayvan, D ve E haplogrublarında birer hayvan bu oluşumu göstermiştir. B haplogrubu için yüksek oranda gözlemlenen 15. baz çifti (T<->C), 16. baz çifti (G<->A), 133. baz çifti (T<->C) ve 379. baz çiftinde (G<->A) transisyonel dönüşümler, bu haplogrub için oldukça özgün olarak karşımıza çıkmaktadır. B haplogrubunda özellikle yüksek oranda gözlemlenen 379. baz çiftinde oluşan transisyonel dönüşüm (A<->G) bu haplogrub için oldukça tanımlayıcıdır. Bu durum özellikle oluşan 15. haplotip kompozisyonunda açıkça görülmektedir. 20-53-78-355 ve 370. baz çiftinde oluşan mutasyonları A, C ve E haplogrubları ile ortak olmasına rağmen, 379. baz çiftinde bu dönüşümün gözlenmesi üzerine analiz sonucunda bu haplotip program tarafından B haplogrubuna dahil edilmiştir. Yine 53. baz çiftinde oluşan transisyonel (T<->C) dönüşüm C ve E haplogrubları için oldukça özgün olarak karşımıza çıkmaktadır. D haplogrubunu oluşturan haplotiplerde belirlenen haplotip kompozisyonları A haplogrubunda belirlenenlere oldukça benzer gözlenmiştir.



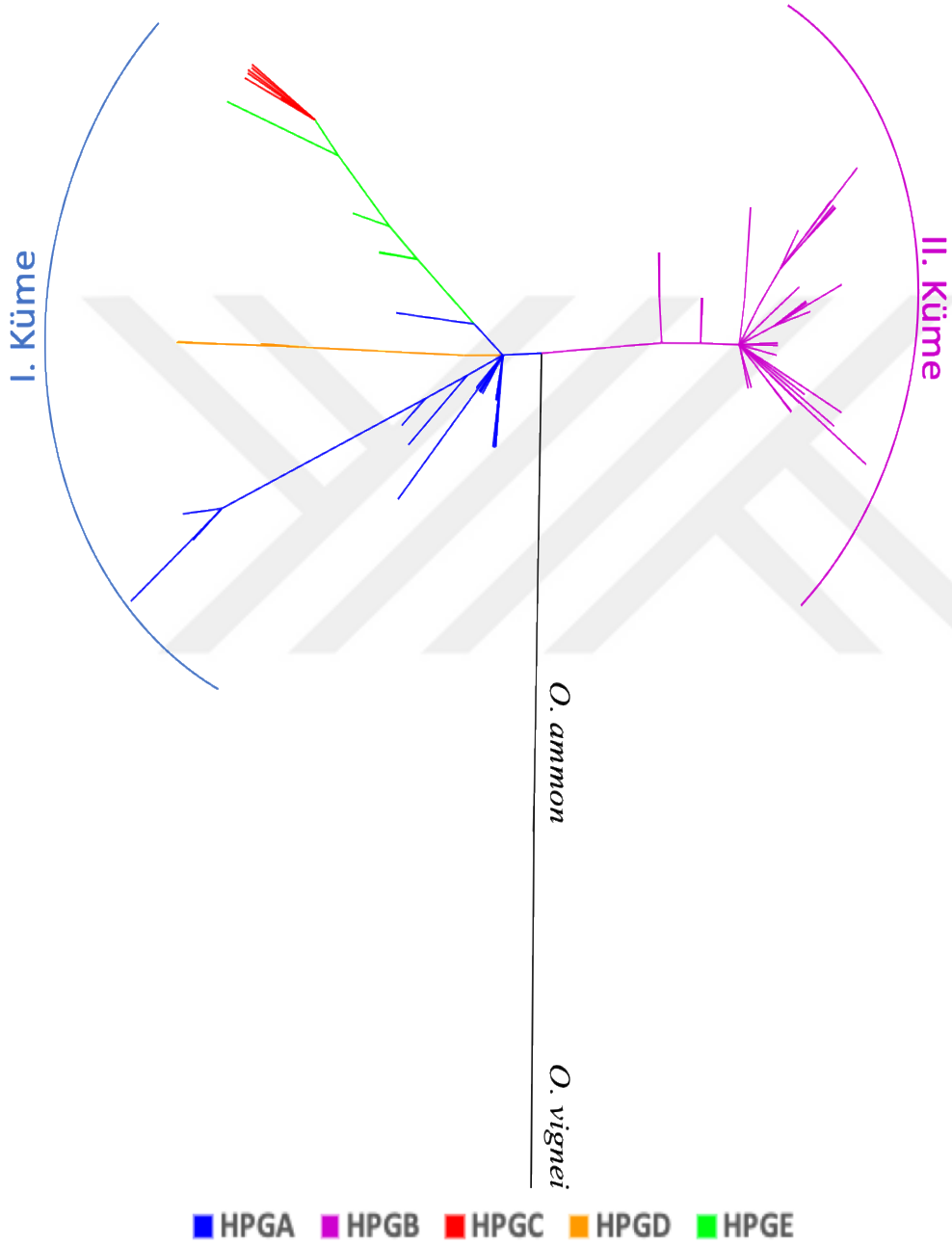
#### 4.3.5. Haplogrupların belirlenmesi

Haplogrupları belirleyebilmek için, referans sekans olarak NCBI gen bankasından önceki yapılan çalışmalarda belirlenen, Çizelge 3.5.'de bilgileri verilen sekanslar kullanılmıştır. Ülkemizde beş haplogrubun birden bulunduğu iki çalışmadan elde edilen sekanslar ile çalışma sonucunda elde edilen sekanslar bir arada değerlendirilerek analiz edilmiştir.

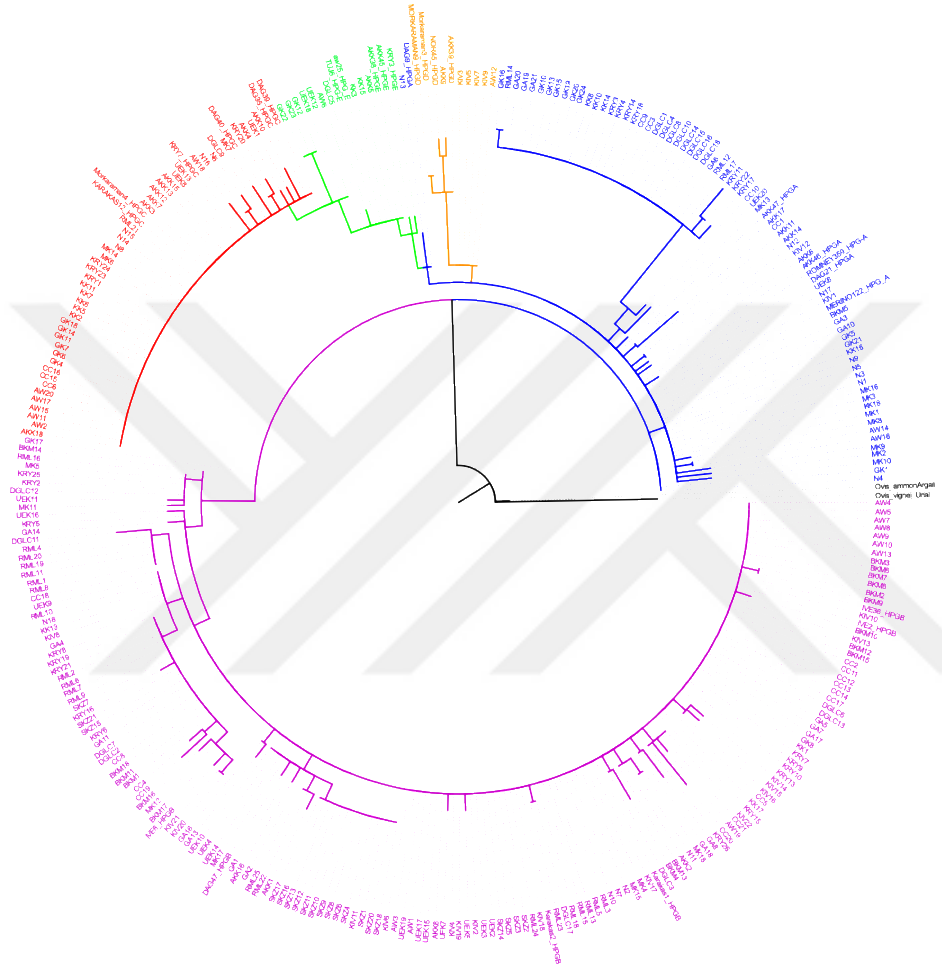
Haplogrupları belirlemek için sekanslara ait maksimum olabilirlik metodu ile komşu birleştirme ağaç oluşturulmaya çalışılmıştır. Ağacı oluştururken substitisyon modelinin belirlenmesi için sunucu üzerinde farklı topolojik modelleri hızlı bir şekilde deneyerek en iyi modeli belirleyen PhyML 3.0 programından faydalanılmıştır. Sunucu üzerinde analizi gerçekleştirirken Akaike ve Bayes Bilgi Edinme Kriterlerine göre en iyi topolojiyi belirleyen SMS prosedürü ile hem AIC seçeneği hem de BIC seçenekleri seçilmiş sonuç ayrı ayrı değerlendirilmiştir.

En düşük değer olarak Akaike bilgi edinme kriterleri içinde Tamura-Nei modeline (Tamura ve Nei, 1993) göre dendrogramın oluşturulması en uygun seçenek olarak sunulmuştur. Filogeni ağacı Tamura-Nei modelinde değişmeyen bölgelerin oranı 0.741 (invariable sites, I=0.741), gama parametresi olarak 0.547 (gamma shape parameter,  $\Gamma=0.547$ ) değerleri ile komşu birleştirme ağacı çizilmiştir (Şekil 4.7).

Oluşan ağaca bakıldığında literatürde olduğu gibi iki farklı küme halinde olduğu görülmektedir (Şekil 4.4). İkinci kümede sadece B haplogrubu gözlemlenirken birinci kümede geri kalan haplogruplar bir arada görülmektedir. B Haplogrubunun ayrı bir kümede olduğu bu durum nispeten Meadows vd. (2007), Türkiye' den örneklerinde bulunduğu beş farklı haplogrubun tanımlandığı, çalışmada oluşan ağaca benzemektedir. Bireysel olarak oluşan ağaca bakıldığında ırklara göre bir dağılım yerine bireylerin iç içe geçmiş bir şekilde olduğu gözlemlenmektedir (Şekil 4.8).



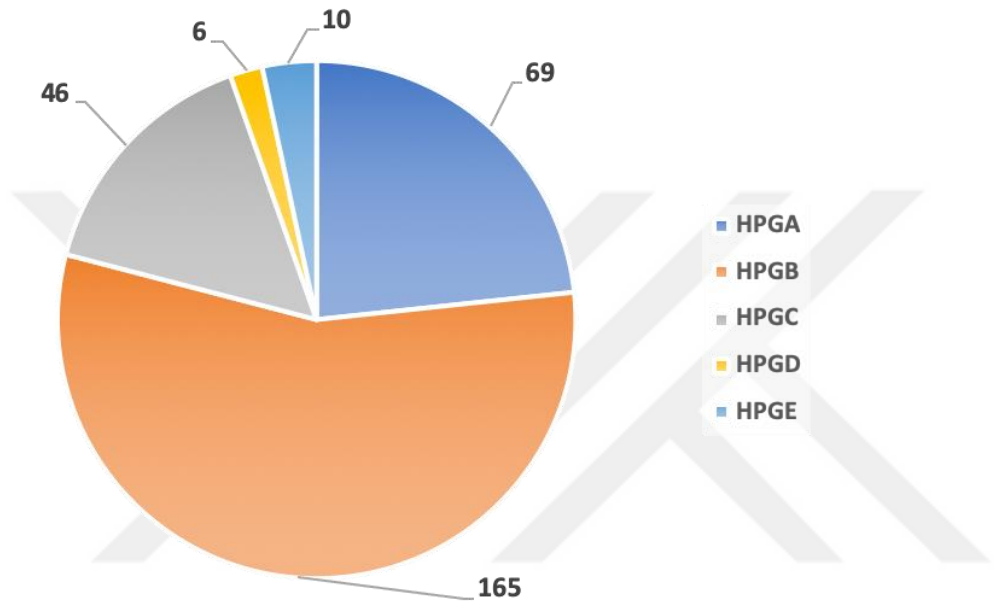
Şekil 4.7. Belirlenen transisyon modeline göre TN93+I+G prosedüründe  $I=0.741, G= 0.547$  parametreleri sonucunda elde edilen filogenetik ağaç



Şekil 4.8. mtDNA Kontrol bölgesi üzerinde 531 bç'lik fragmanın diziliminin çalışmanın materyalini oluşturan bütün bireylerde haplogrup analizi sonucunda elde edilen filogenetik ağaç

Genel olarak Haplogrup dağılımlarına bakıldığında, HPGB 165 baş koyun ile (%55.74) en fazla örnek sayısına sahip olurken onu 69 baş koyun ile HPGA (%23.31), 46 baş koyun ile HPGC (%15.54), 6 baş koyun ile HPGD (%2.03) ve 10 baş koyun ile HPGE (%3.38) takip etmektedir (Şekil 4.9.). En fazla örneğin HPG B'de bulunması (Pereira vd., 2006) ve en az örnek sayılarının HPGD ve HPGE'de bulunması literatürden farklı olmamıştır (Tapio vd., 2006; Meadows vd., 2007; Öner vd., 2013; Demirci vd., 2013). Yabancı koyunlar ile yakınlıkları bakımından bakıldığında Argali ve Urial koyunları (AY091490, AF242347, Hiendleder vd., 2002) akrabalık bakımından en uzak koyunlar olarak belirlenerek

yine literatür ile paralel sonuçlar alınmıştır (Hiendleder vd., 1991, 1998b, 2002; Wu vd., 2003; Luo vd., 2005).



Şekil 4.9. Çalışmanın materyalini oluşturan 296 bireyin belirlenen HPGA (%23.31), HPGB (%55.74), HPGC (%15.54), HPGD (%2.03) ve HPGE (%3.38) haplogruplarına dağılımları

Haplogruplara göre çalışmanın materyalini oluşturan ırklar içindeki dağılımlar Çizelge 4.4'de özetlenmiştir. Irklar bakımından Güney Karaman, Karacabey Merinosu, Eşme Kıvırcığı ve Ramlıç daha önceden yapılan çalışmalarda bulunmadıklarından çalışmada yer alan bu ırklar oldukça özgündürler. Karacabey Merinosu haricinde genel olarak bu yeni tanımlanan ırkların hepsinde A, B ve C haplogrupları tanımlanmış, Karacabey Merinosunda sadece A ve B haploguplarında koyunlar belirlenmiştir. Güney Karaman ırkı haricinde geri kalanlarda Haplogrup B baskın grup olarak belirlenirken Güney Karaman ırkında tam tersi bir durum gözlenmiştir.

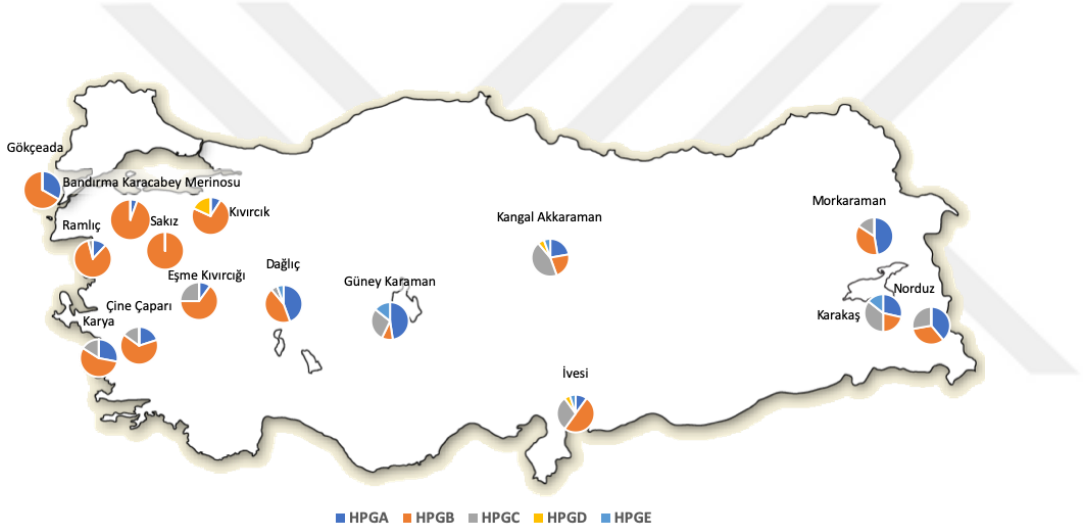
Çizelge 4.4. Irklar içinde haplogrupların dağılımları

<b>IRKLAR</b>	<b>HPGA</b>	<b>HPGB</b>	<b>HPGC</b>	<b>HPGD</b>	<b>HPGE</b>	<b>N</b>
<b>AKK</b>	3	5	8	1	1	18
<b>AW</b>	2	10	6	1	1	20
<b>BKM</b>	1	17	0	0	0	18
<b>CC</b>	4	13	3	0	0	20
<b>DGLC</b>	8	8	1	0	1	18
<b>GA</b>	6	12	0	0	0	18
<b>GK</b>	11	1	6	0	3	21
<b>KIV</b>	2	16	0	4	0	22
<b>KK</b>	5	3	5	0	2	15
<b>KRY</b>	7	14	4	0	0	25
<b>MK</b>	8	7	3	0	0	18
<b>N</b>	7	5	6	0	0	18
<b>RML</b>	3	21	1	0	0	25
<b>SKZ</b>	0	20	0	0	0	20
<b>UEK</b>	2	13	3	0	2	20
<b>TOPLAM</b>	<b>69</b>	<b>165</b>	<b>46</b>	<b>6</b>	<b>10</b>	<b>296</b>

Daha önce literatürde yer edinmiş ırklara bakılacak olursa Çine Çaparı ırkında bulunan sonuçlar Meadows vd (2007) vd Demirci (2012) sonuçları ile benzer bulunmuştur. Dağlıç ırkında Demirci (2012) sonuçları ile ortak sonuçlara ulaşılarak A, B, C ve E haplogrupları tanımlanmış, Öner (2010) aynı ırktan örneklerinde E haplogrubuna rastlamamıştır. Gökçeada ırkında bu çalışmada ve Demirci (2012)'nin çalışmasında sadece A ve B haplogruplarına ulaşılrken, Öner (2010) C haplogrubuna da ait hayvanların olduğunu bildirmiştir. İvesi ırkında Demirci (2012) ve Öner (2010) A, B ve C haplogurplarını tanımlarken, Meadows vd (2007) D haplogrubuna ulaşmış, bu ırk için bu çalışmada her haplogrubu ulaşılmıştır. Sakız ırkında Demirci (2012) A, B ve C haplogruplarına ulaşılrken, Öner (2010) sadece A ve B haplogruplarına ulaşabilmiştir. Bu çalışmada sakız ırkı bakımından Meadows vd (2007) ile aynı sonuca ulaşılmış sadece B haplogurubunda hayvanlar tanımlanabilmiştir.

Akkaraman ırkında Demirci (2012) ile aynı sonuçlar elde edilmiş bütün haplogruplar tanımlanırken, Öner (2010) çalışmasında D haplogrubuna rastlamadığını bildirmiştir. Morkaraman ırkında Öner (2010) ile aynı haplogruplar tanımlanırken, bu haplogruplara ek olarak Meadows vd (2010) çalışmasında D haplogrubunu, Demirci (2012) ise E haplogrubunu tanımlamıştır. Kıvırcık ırkında bu çalışmada A, B ve D haplogrupları tanımlanırken, Öner (2010) A, B ve C

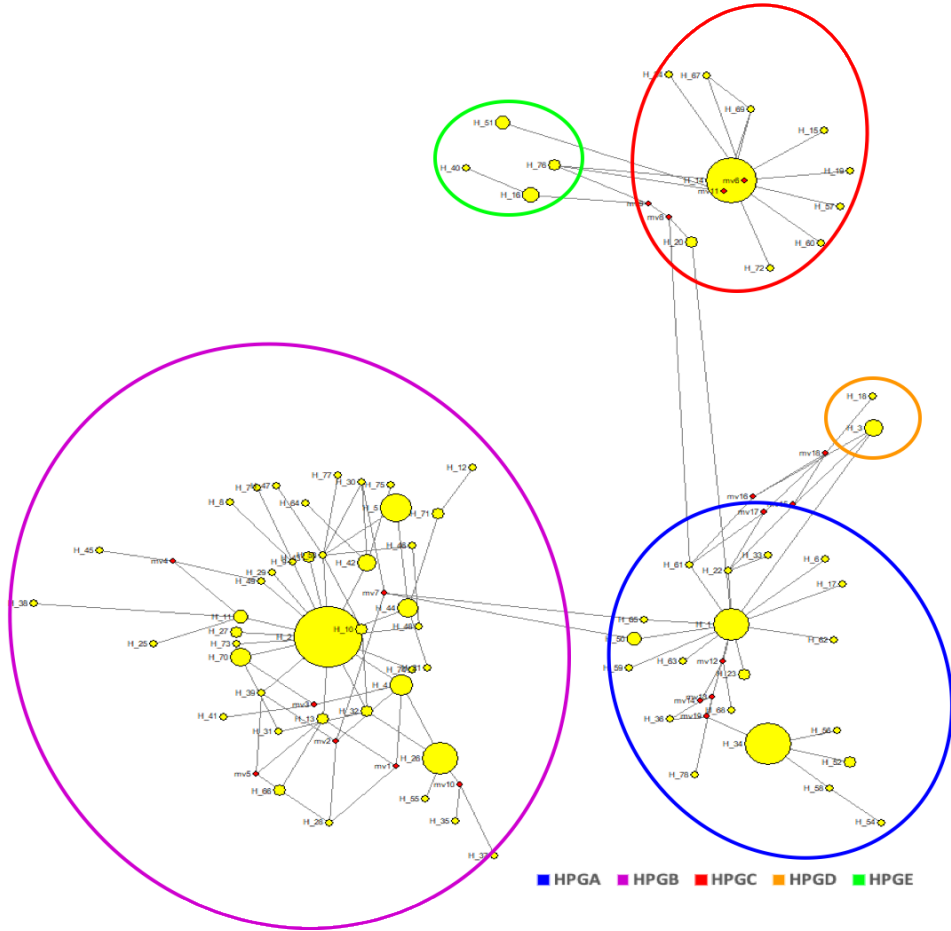
haplogruplarını, Demirci (2012) ise B ve C haplogruplarını tanımlamıştır. Norduz ırkında Meadows vd (2007) yaptıkları çalışmada aldıkları sonuçlar ile benzer sonuçlar elde edilerek A, B ve C haplogrubuna ait hayvanlar tanımlanırken, Demirci (2012) yaptığı çalışmada ek olarak D haplogrubunda 1 hayvan tanımlamıştır. Örneklenen ırkların harita üzerinde örneklenme yerleri ve ırklar içinde oluşan haplogrup dağılımları Şekil 4.10' da gösterilmiştir.



Şekil 4.10. Harita üzerinde ırkların örnekledikleri yerler ve ırklar içinde oluşan haplogrup dağılımları

#### 4.3.6. Network Analizi

Filogenetik Network hesaplaması yapılırken ilk işlem olarak opsiyonel olmasına karşılık Star Contraction hesaplaması yapılmıştır. Daha sonrasında network hesaplaması için Median joining hesaplaması kullanılmış ve oluşan network çizdirilmiştir. Elde edilen sonuç belirlenen Haplogruplar ile benzerlik göstermiştir (Şekil 4.11). Networkte oluşan dairelerin büyüklükleri haplotiplerin sahip oldukları frekansları göstermektedir.



Şekil 4.11. Haplotip bilgileri ile çizilen Median Joining Network'u ve oluşan Haplogruplar

Oluşan Network'e bakıldığında haplogruplarda bulunan haplotiplerdeki mutasyonların ortaklaşa paylaşımlarının daha net bir şekilde ortaya çıkmaktadır. Aynı zamanda belirlenen haplogrupların net bir şekilde birbirlerinden ayrımlandıkları da bir diğer önemli göze çarpan unsur olarak karşımıza çıkmaktadır.

#### 4.3.7. Populasyonlar Hakkında Bilgiler

##### 4.3.7.1. Nötralite test sonuçları

İncelenen populasyonlar üzerinde Mooto Kimura (1968) tarafından geliştirilen nötral teorisinin test edilmesi amacı ile Arlequin programından faydalanılmıştır. Öncelikle populasyon haplogruplara göre, daha sonra da ırk bazında

gruplandırılarak ayrı ayrı test edilmiştir. Haplogruplara ait Tajima's D ve Fu's FS test sonuçları Çizelge 4.5'de verilmiştir. Bu testlerin yorumlanmasında, Depaulis vd (2003) ve Ashfaq vd (2014) çalışmalarındaki önerilerden faydalanılmıştır. Bu bağlamda negatif değer alan Fu'nun FS istatistiği ortaya çıkan yeni haplotiplerin miktarlarının yüksek olduklarını ve popülasyonun genişlemesini veya genetik otostopçuluğu düşük frekanslı varyantların arttığını, pozitif değer, popülasyonun şiddetli bir seleksiyona maruz kaldığını veya darboğazdan geçtiğini göstermektedir. Pozitif Tajima'nın D istatistiği değeri pozitif değer alması, nötral teorinin geçerliliğini pozitif veya negatif herhangi bir seçilimin meydana gelmediğini, negatif değer alması beklentiye göre oldukça düşük polimorfizm frekanslarını ifade etmektedir (Depaulis vd., 2003; Kul, 2010; Ashfaq vd., 2014; İlaslan, 2019). Haplogruplara göre elde edilen sonuçlara bakıldığında Fu'nun negatif ve önem seviyesi yüksek FS değeri ve Tajima nötralite teorisine göre B ve C haplogruplarında FS testine göre ortaya çıkan yeni haplotiplerin miktarlarının arttığını, negatif önem seviyesi yüksek Tajima D testine göre değerlendirildiğinde de pozitif bir seleksiyonun olduğunu veya popülasyon büyümesi gerçekleştiği yeni allellerin meydana geldiği anlaşılmaktadır. A haplogrubunda Fu FS ve Tajima D değerlendirmesinde önem seviyesi düşük ve negatif değerlere göre yeni haplotiplerin popülasyona eklenmeye başladığı fakat önem seviyesi bakımından nötral teoriden uzaklaşmadığı yani popülasyonda herhangi bir seçilimin meydana gelmediği gözlemlenmektedir. Örnek sayılarının az miktarda bulunduğu D ve E haplogruplarında Nötralite testleri değerlendirilmeye alınmamıştır.

Çizelge 4.5. Belirlenen Haplogruplarda yapılan nötralite testlerine ait Tajima'nın D ve Fu'nun FS istatistiklerinin değerleri

Haplogruplar	N	Tajima's D	Fu's FS
A	69	-0,90571 <sup>öd</sup>	-2,76564 <sup>öd</sup>
B	165	-2,03196 <sup>***</sup>	-27,44773 <sup>***</sup>
C	46	-2,24899 <sup>***</sup>	-5,10588 <sup>**</sup>

Tajima's D testi için önem seviyesi  $p < 0.1$

Fu's FS testi için önem seviyesi  $p < 0.02$

İrklara göre nötral teori test edildiğinde belirlenen istatistiki değerler Çizelge 4.6'da özetlenmiştir. Irklar genelinde Tajima's D testlerinin sonuçlarına bakıldığında elde edilen pozitif ve negatif değerler önem seviyesi bakımından önemli olmadığı ve ırkların nötral popülasyon değerlerinden uzaklaşmadıkları gözlemlenmiştir. Daha güçlü ve hassas olan Fu'nun FS testine göre Karacabey

Merinosu ve Morkaraman ırkları haricinde geri kalan ırklarda hesaplanan değerleri önemsiz olarak belirlenmiştir. Karacabey Merinosu ve Morkaraman ırklarında negatif ve anlamlı Fu'nun FS değerleri yüksek miktarda yeni çıkan haplotiplerin varlığını ifade etmektedir.

Çizelge 4.6. Çalışılan ırklarda yapılan nötralite testlerine ait Tajima'nın D ve Fu'nun FS istatistiklerinin değerleri

<b>İrklar</b>	<b>Tajima's D</b>	<b>Fu's FS</b>
<b>KIV</b>	-0,02884 <sup>öd</sup>	-2,10942 <sup>öd</sup>
<b>AKK</b>	0,18388 <sup>öd</sup>	-3,31774 <sup>öd</sup>
<b>AW</b>	1,10340 <sup>öd</sup>	2,53955 <sup>öd</sup>
<b>BKM</b>	-0,97956 <sup>öd</sup>	-4,31680 <sup>**</sup>
<b>CC</b>	0,08710 <sup>öd</sup>	-0,66928 <sup>öd</sup>
<b>DGLC</b>	0,74926 <sup>öd</sup>	0,53491 <sup>öd</sup>
<b>GA</b>	0,20216 <sup>öd</sup>	-1,74675 <sup>öd</sup>
<b>GK</b>	0,94712 <sup>öd</sup>	3,25241 <sup>öd</sup>
<b>KK</b>	1,22329 <sup>öd</sup>	2,80274 <sup>öd</sup>
<b>KRY</b>	0,67217 <sup>öd</sup>	-0,14251 <sup>öd</sup>
<b>MK</b>	0,02783 <sup>öd</sup>	-5,20747 <sup>**</sup>
<b>N</b>	0,44600 <sup>öd</sup>	-0,94849 <sup>öd</sup>
<b>RML</b>	-0,79392 <sup>öd</sup>	-0,60045 <sup>öd</sup>
<b>SKZ</b>	0,94297 <sup>öd</sup>	2,27628 <sup>öd</sup>
<b>UEK</b>	0,32502 <sup>öd</sup>	-1,92649 <sup>öd</sup>

Tajima's D testi için önem seviyesi p<0.1

Fu's FS testi için önem seviyesi p<0.02

#### 4.3.7.2. Uyumsuzluk dağılım analizi sonuçları

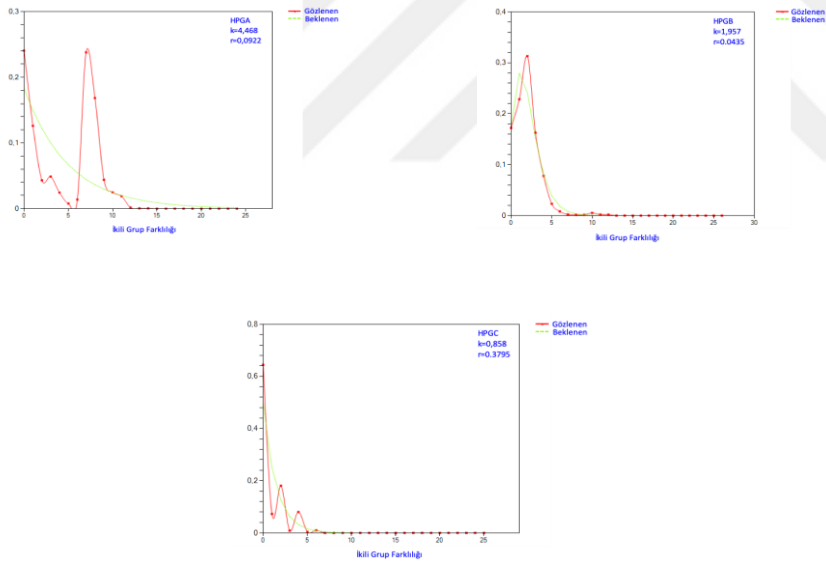
İncelenen ırklar içerisinde oluşan haplotip farklılıklarıyla populasyonların geçmişine dair bilgi edinebilmek için uyumsuzluk dağılım analizleri (mismatch distribution) DnaSP v6 programından yararlanılarak yapılmıştır. Uyumsuzluk testleri, Haplogruplara göre belirlenen uyumsuzluk dağılımları Şekil 4.12'de verilmiştir. Genel olarak bakıldığında dağılımlar bütün haplogruplar için multimodal birden fazla tepe noktasının bulunduğu dağılımlardan oluşmaktadır. Bütün haplogrupların uzun süredir sabit populasyonlar olduğu gözlemlenmektedir.

Uyumsuzluk dağılım analizleri sonucunda haplogruplara göre elde edilen ikili grup farklılık ortalamaları ve Ragedness istatistiklerinin (r) değerleri Çizelge 4.7'de verilmiştir.

Çizelge 4.7. Belirlenen haplogruplara göre uyumsuzluk dağılım analizi istatistikleri

Haplogrular	İkili grup farklılığı ortalamaları (k)	Raggedness istatistiği (r)
HPGA	4,468	0,0922
HPGB	1,957	0,0435
HPGC	0,858	0,3795

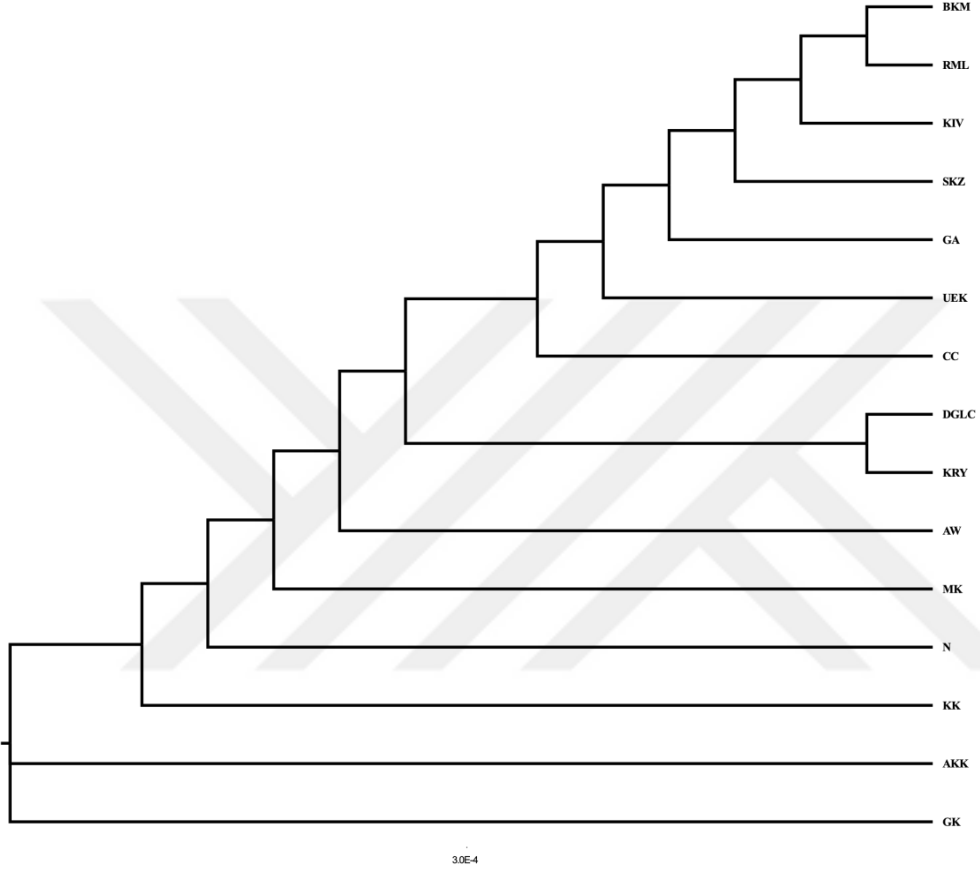
Çizelge 4.7’de verilen ikili grup ortalamaları ve raggedness istatistiklerine bakılacak olursa düzgün olmayan dağılımlarda görülen yüksek r değerleri ( $r > 0.03$ ) multimodal teoriyi desteklemektedir. İkili grup karşılaştırmalarında alınan düşük ortalama değerleri popülasyonların uzun zamandır sabit kaldığını ifade etmektedir.



Şekil 4.12. A, B ve C Haplogrularının uyumsuzluk dağılım modelleri, ikili grup farklılığı ortalamaları ve Raggedness (r) değerleri

#### 4.3.7.3 Irklar Arası Genetik Mesafe

Irklar arası genetik mesafe ölçümleri Nei’ye göre hesaplanmış, MEGA programında değerler girilirken nükleotid yer değiştirme oranlarına göre daha önceden belirlenen TN93 prosedüründe analiz edilmiştir. Analiz sonucunda elde edilen değerler ile Split Tree programında çizdirilen dendrogram Şekil 4.13.’de verilmiştir.



Şekil 4.13. İncelenen 15 ırka ait Nei'nin uzaklık matrisi ile Split Tree programında çizdirilen çizilen Phylogram ağacı

Dendrogram sonuçlarına bakılacak olursa enstitülerden alınan örnekler dallanmalar bakımından birbirlerine yakın oldukları görülmektedir. Bandırma Koyunculuk Araştırma Enstitüsü'nden alınan Karacabey Merinosu, Ramlıç, Kıvrık, Sakız ve Gökçeada ırkları birbirlerine mesafe bakımından oldukça yakın çıkmıştır. Türkiye' de yerli koyunların et ve yapağı bakımından iyileştirilmesi amacıyla yapılan çalışmalar sonucunda Orta Anadolu Merinosu, Karacabey Merinosu ve Ramlıç ırkları elde edilmiştir. Ramlıç ırkı Amerika Birleşik Devletleri orjinli Rambouillet ile Dağlıç ırkının melezlenmesi sonucu oluşan ve %65-70 Rambouillet, %30-35 Dağlıç genotipi bulunan bir ırktır (Yalçın, 1982). Amerika menşeli Rambouillet ırkı, melezleme çalışmaları için Karacabey Harası'ndan Çifteler Veteriner Zootehni Araştırma Enstitüsü'ne getirilmiştir. Karacabey Merinosu ırkı ise Alman Et merinosu ırkı ve Kıvrık ırkının

melezlenmesi sonucu elde edilmiş bir ırktır. Karacabey Merinosu ile Kıvırcık ırkının oluşan dendrogramda birbirlerine yakın çıkması beklenirken Ramlıç ile yakın çıkması Kıvırcık ırkının örneklenilmesinde Aydın ilinden eklenen iki sürüden hayvanların dahil edilmesiyle kaynaklanması muhtemeldir. Ramlıç ırkının dendrogram üzerinde Dağlıç ırkı ile melezlenmesi sonucu meydana gelmesinden dolayı birbirine yakın çıkması beklenirken ise sonuç daha farklı elde edilmiştir. Beklenilenin aksine bu ırkların birbirlerine yakın olmasının nedeninin, Rambouillet ırkının Karacabey Harası'nda yetiştirilirken Merinos ırkı ile istemsiz çiftleşmeler sonucunda gerçekleşen bir durumdan mı, yoksa Koyunculuk Araştırma Enstitüsü'nde yetiştirilirken mi gerçekleştiğini belirlemek mümkün değildir. Fakat Koyunculuk Araştırma Enstitüsü'nde yer alan diğer ırklarında birbirine yakın bulunmaları daha sonraki yetiştirme yerinde istemsiz çiftleşmeler sonucunda gen akışının olabileceğini düşündürmektedir. Yılmaz vd., (2015) Ramlıç ırkının yer almadığı, çalışmada bu enstitüde bulunan koyunlarda elde edilen dendrogramla benzer yakınlıklar bulunmuştur. Ayrıca bu çalışmada sadece enstitüden örneklenen Kıvırcık ırkı ile Karacabey Merinosu ırkları kullanılmış ve bu ırklar aynı grubun içinde yer almışlardır. Nötralite testleri sonucunda Karacabey Merinosu ırkında elde edilen FS istatistiği sonuçlarına bakıldığında ırkta yeni varyantların oluşmaya başladığı gözlenmesi yine bu ihtimali güçlendirmektedir. Dendrogramda aynı ilden örneklenen Karakaş ve Norduz koyun ırkları birbirlerine yakın bulunmuştur.

Dağlıç ırkı beklentinin aksine, Karya koyun ırkı ile yakın bulunmuştur fakat, Karya ırkı daha önceden bölgede hakim ırklar olan Çine Çaparı, Ödemiş ve Dağlıç koyunlarının, Sakız, Kıvırcık veya Sakız x Kıvırcık melezi koçlarla sistemsiz geriye melezlenmesi sonucu oluşmuşmasından (Karaca vd., 2009) dolayı bu durumun gözlenmesi normal olmaktadır. Karya ırkı dendrogramda Çine Çaparı ırkıyla da yakın olarak bulunmuş bu durum ırkın oluşma sürecini genetik tabanlı olarak da açıklamıştır.

Dendrograma bakıldığında bütün ırklara en uzak mesafede olan ırklar Kangal Akkarman ve Güney Karaman ırkları olarak görülmektedir. Sentetik ırkların oluşumunda daha çok Sakız ve Kıvırcık ırkları kullanıldığı için melezleme sonucunda oluşan Karya, Eşme Kıvırcığı, Karacabey Merinosu ırklarının dendrogramda ki yerleri beklenen bir durumdur. Gökçeada ile Sakız ırkının dendrogramdaki yerleri yine Yılmaz vd., (2015) yaptıkları çalışma ile açıklanabilmektedir. İki farklı yerli ırk olan Gökçeada ve Sakız ırklarının

çalışmada genetik benzerlikleri oldukça yüksek bulunmuştur.

Nei'ye göre hesaplanan genetik mesafe matrisi Çizelge 4.7.'de verilmiştir. Matriste diagonalin üst kısmında hesaplanan Dxy değerleri alt kısımda ise Da değerleri bulunmaktadır.

Çizelge 4.8. İncelenen 15 ırka ait Nei'nin uzaklık matrisi, Dxy diagonalin altında bulunan değerler, Da diagonalin üstünde bulunan değerler

	KIV	AKK	AW	BKM	CC	DGLC	GA	GK	KK	KRY	MK	N	RML	SKZ	UEK
KIV		0,01594	0,01212	0,00724	0,01157	0,01405	0,01046	0,01831	0,01588	0,01321	0,01196	0,01294	0,00924	0,00736	0,01083
AKK	0,01594		0,01448	0,01687	0,01689	0,01839	0,01794	0,01552	0,01409	0,01773	0,01428	0,01303	0,01814	0,01746	0,01560
AW	0,01212	0,01448		0,01202	0,01408	0,01611	0,01420	0,01675	0,01473	0,01531	0,01325	0,01302	0,01360	0,01269	0,01306
BKM	0,00724	0,01687	0,01202		0,01053	0,01362	0,00943	0,01964	0,01688	0,01241	0,01232	0,01379	0,00726	0,00578	0,01005
CC	0,01157	0,01689	0,01408	0,01053		0,01495	0,01284	0,01815	0,01633	0,01448	0,01422	0,01470	0,01199	0,01129	0,01324
DGLC	0,01405	0,01839	0,01611	0,01362	0,01495		0,01314	0,01644	0,01581	0,01441	0,01597	0,01620	0,01376	0,01385	0,01539
GA	0,01046	0,01794	0,01420	0,00943	0,01284	0,01314		0,01804	0,01644	0,01344	0,01415	0,01507	0,01052	0,00920	0,01270
GK	0,01831	0,01552	0,01675	0,01964	0,01815	0,01644	0,01804		0,01407	0,01751	0,01627	0,01484	0,01952	0,01952	0,01778
KK	0,01588	0,01409	0,01473	0,01688	0,01633	0,01581	0,01644	0,01407		0,01628	0,01456	0,01337	0,01739	0,01734	0,01567
KRY	0,01321	0,01773	0,01531	0,01241	0,01448	0,01441	0,01344	0,01751	0,01628		0,01542	0,01570	0,01327	0,01287	0,01458
MK	0,01196	0,01428	0,01325	0,01232	0,01422	0,01597	0,01415	0,01627	0,01456	0,01542		0,01226	0,01397	0,01281	0,01323
N	0,01294	0,01303	0,01302	0,01379	0,01470	0,01620	0,01507	0,01484	0,01337	0,01570	0,01226		0,01521	0,01411	0,01356
RML	0,00924	0,01814	0,01360	0,00726	0,01199	0,01376	0,01052	0,01952	0,01739	0,01327	0,01397	0,01521		0,00776	0,01174
SKZ	0,00736	0,01746	0,01269	0,00578	0,01129	0,01385	0,00920	0,01952	0,01734	0,01287	0,01281	0,01411	0,00776		0,01022
UEK	0,01083	0,01560	0,01306	0,01005	0,01324	0,01539	0,01270	0,01778	0,01567	0,01458	0,01323	0,01356	0,01174	0,01022	

#### 4.3.7.4 Genetik Varyans Analizi

Çalışılan populasyonda bulunan koyun ırkları kuyruk yapılarına göre gruplandırılarak AMOVA analizi yapılmıştır. Amova analizi sonucu elde edilen varyans unsurları ve varyans oranları Çizelge 4.8' de verilmiştir.

Çizelge 4.9. Kuyruk yapılarına göre gruplandırılarak yapılan AMOVA analiz sonuçları

Varyasyon Kaynağı	S.D.	Kareler Toplam	Varyans Komponenti	Varyasyon Oranı
Gruplar Arası	1	2	0,00857 Va	1,84
Grup içi Populasyonlar Arası	13	13,437	0,03085 Vb	6,62
Populasyonlar içi	281	119,86	0,42655 Vc	91,54
<b>Toplam</b>		<b>295</b>		

Kuyruk yapılarına göre yağlı ve yağsız kuyruklu koyun ırkları olarak iki gruba ayrılan populasyonun AMOVA analiz sonuçlarında gruplar arasında ve grup içi populasyonlar arasında önemli bir fark gözlemlenmediği en yüksek farklılığın populasyonlar içindeki bireyler arasında gerçekleştiği görülmektedir. Bu durum

ülkemizde daha önce genetik çeşitlilik tanımlamaları yapılan analizler sonucunda elde edilen değerler ile paralellik göstermektedir (Öner, 2010).



## 5. SONUÇ

Türkiye’de yetiştiriciliği yapılan 15 farklı ırktan toplamda 296 baş koyunun materyal oluşturduğu bu çalışma, mtDNA kontrol bölgesi üzerindeki 531 bç’lik bölge ile şimdiye kadar yapılan en fazla ırkı kapsayıcı çalışma olmasıyla özgündür. Aynı zamanda, daha önce literatürde bulunmayan Eşme Kıvırcık koyunu, Ramlıç, Karacabey Merinosu ve Güney Karaman ırklarının da araştırmaya dahil edilmesi çalışmanın özgünlüğünü arttırmaktadır. Dizileme sonucunda elde edilen, literatürde henüz bulunmayan bu ırklara ait sekans dizileri başvuruda bulunarak NCBI gen bankasına eklenecektir.

Türkiye’de yetiştiriciliği yapılan 15 farklı ırkta gerçekleştirilmiş bu çalışmada, kontrol bölgesinin oldukça yüksek polimorfizm gösteren 531 bç’lik bir kısmı ile çalışılan popülasyonda çalışma boyunca kullanılan yöntemlerin ve gerçekleştirilen analizlerin genetik çeşitliliğin ortaya konulmasında yeterli olabilecekleri söylenebilmektedir. Çalışmada incelenen 531 bç’lik bölgede; 399 nükleotid polimorfik olmayan bölgeye karşılık gelirken 33’ü parsimonik bilgi verici bölge ve 20’si sadece bir kere mutasyon görülmüş bölgeler (singleton) olmak üzere toplam 53 polimorfik bölge bulunmuştur. Polimorfik 53 bölge ile popülasyonda 78 haplotip oluşmuş, haplotip çeşitliliği (Hd)  $0.918 \pm 0.009$  olarak, nükleotid çeşitliliği ( $\pi$ )  $0.01391 \pm 0.00041$  olarak belirlenmiştir.

Nükleotid ve haplotip çeşitliliği genetik çeşitliliğin belirlenmesinde en önemli iki kriter olarak karşımıza çıkmaktadır. Irklardaki nükleotid çeşitliliği göz önüne alındığında en yüksek değer Karya koyun ırkında  $\pi_{ky} = 0.01523 \pm 0.00153$  gözlemlenirken, en düşük değer Sakız koyun ırkında  $\pi_{skz} = 0.00329 \pm 0.00072$  bulunmuştur. Karya ırkının sentetik bir ırk olması, yapısında Sakız, Kıvırcık ve kısmen Çine Çaparı kanı taşıması en yüksek nükleotid çeşitliğine sahip olmasını açıklamaktadır. Aynı şekilde Sakız ırkının sayısal azalmayla gen havuzunun daralması ve çalışmamızda kullanılan Sakız ırkına ait örneklerin kapalı sayılabilecek bir koruma sürüsünden alınması ırk için belirlenen en düşük nükleotid çeşitliliği sonucunu açıklamaktadır. Haplotip çeşitliliği olarak bakıldığında en yüksek değer Morkaraman koyun ırkında  $HD_{mk} = 0.967 \pm 0.030$  olarak belirlenirken en düşük değer Sakız koyun ırkında  $HD_{skz} = 0.542 \pm 0.105$  olarak tespit edilmiştir.

İnsan popülasyonları göç ederken yanlarında götürdükleri evcil hayvanlar ile

genetik çeşitlilikten sınırlı bir şekilde genotip taşınması beklendiğinden, coğrafi uzaklıkların artması ile genetik soyların azalması dolayısıyla çeşitliliğin azalması beklenmektedir (Bruford vd., 2003; Meadows vd., 2007). Literatür incelendiğinde coğrafi olarak evciltme bölgesine yaklaşıldıkça belirlenen Haplogruplar artmaktadır. Avrupa ve Asya'da yapılan çalışmalar sonucunda A, B ve C haplogrupları, Kafkasya'dan örnekler eklendiğinde D haplogrubu ve gen havuzuna iyice yaklaşıldığında, Türkiye'den örneklerinde dahil edilmesiyle E haplogrubu belirlenmiştir.

Çalışmada literatürde bildirilen bütün haplogruplar (Haplogrup A, B, C, D ve E) tespit edilmiştir. Evciltme bölgesine yakınlığı ile araştırma materyallerinde tespit edilen bu durum zaten genetik havuza yakınlıkları düşünülecek olursa beklenen bir sonuçtur. Elde edilen sonuçlar literatür ile benzerlik göstermiş ve en baskın haplogrup olarak HPGB (165 baş) belirlenirken bu haplogrubu sırası ile HPGA (69 baş) ve HPGC (46) takip etmiş, HPGE (10 baş) ve HPGD (6 baş) haplogruplarında belirlenen birey sayıları ise sınırlı olmuştur.

Arkeolojik veriler ile moleküler genetik çıktılar birlikte değerlendirildiğinde koyun, keçi, sığır, domuz gibi çiftlik hayvanlarının ilk defa evciltildikleri bölge olarak bildirilen Bereketli Hilal bölgesine yakınlığı bakımından Türkiye oldukça önemli bir pozisyonda bulunmaktadır. Küçükbaş çiftlik hayvanları içerisinde daha önceki literatüre bakılacak olursa; keçi üzerine bu coğrafyada yapılan araştırma sonucunda sadece A, D ve G haplogruplarına rastlanılmıştır (Kul, 2010). Sığır türü bakımından ele alındığında en yüksek genetik çeşitlilik Orta Doğu bölgesinde elde edilirken onu Anadolu ırkları takip etmektedir (Zeder vd., 2006). Fakat ülke içinde DNA dizilimi üzerinden genetik çeşitliliği ortaya koyan bir yayına rastlanılmamıştır. Bu bakımdan küçükbaş hayvanlardan koyun ülkemiz için ayrı bir öneme sahip olmaktadır.

Uyumsuzluk dağılımlarına bakıldığında haplogrupların tamamı multimodal bir desen sergilemiş, uzun süre popülasyonların sabit kaldığı gözlemlenmiştir. İkili karşılaştırma ortalama değerleri de düşük olarak hesaplanan bu popülasyonlar oluşan mutasyonların frekanslarının y ekseninden uzaklıklarına bakıldığında mutasyonal üniteler bakımından popülasyonların eski oldukları gözlemlenmiştir. Çalışılan materyallerin tamamında transisyon/transversiyon eğiliminin ( $R \sim 85:1$ ) yüksek belirlenmesi ile örneklerin mutasyon birikimlerini iyi temsil ettiklerini ve kullanılan örneklerin çeşitliliğe sahip eski örnekler olduklarını söyleyebilmekteyiz.

Populasyonların geçmişleri ile ilgili nötralite testleri sonucunda ulaşılan verilere bakıldığında ırklar genelinde herhangi bir seçilimin gerçekleşmediği nötral dengede kaldıkları, haplotip kayıplarının yaşanmadığı tespit edilmiştir. Karacabey Merinosu ve Morkaraman ırklarında yeni haplotiplerin populasyonlarda şekillenmeye başladıkları belirlenmiştir. Haplogruplar bakımından incelendiğinde hem Fu FS testi hem de Tajima D testinin sonuçlarına göre B ve C haplogruplarında yeni haplotiplerin populasyonlarda oluşmaya başladığı gözlenmiştir.

Moleküler varyans analizi sonuçlarına bakıldığında koyunlarda kıtalar arasında dahi farklılığın düşük bulunduğu (Meadows vd., 2005) filocoğrafik çeşitliliğin az olduğu rapor edilmiştir. Luikart vd., (2010) sığırlarda filocoğrafik farklılığın %50'nin üzerinde olduğu (Asya ve Avrupa arası %51, Asya, Avrupa ve Afrika arası %84) keçilerde ise yaklaşık %10 civarında bulunduğunu bildirmişlerdir. Bu durumu kıtalar arası göçlerin yoğunluğuna bağlamışlardır. Türkiye'de 15 ırk üzerinde yaptığımız bu çalışmada ise gruplar arası ve gruplar içinde populasyonlar arasında fark çok büyük bulunmazken birey bazlı farklılığın varyasyona katkısı oldukça yüksek bulunmuştur.

Türkiye'de koyun yetiştiriciliğinin, "Buğdayla koyun gerisi oyun" atasözünden de anlaşılabilir gibi önemli ve eski bir geçmişi vardır. Çalışmada analizler sonucunda ırkların geçmişlerinin eskiye dayandığı ve genetik çeşitlilik bakımından oldukça zengin oldukları belirlenmiştir. Ülke hayvancılığında yapılan yerli ırklar veya kültür ırkları ile sistemsizce melezlemeler sonucunda oluşacak kayıplar hem genetik, hem de tarihimiz için oldukça hassas bir konudur. Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) birimi tarafından kısıtlı bir bütçe ile desteklenen proje kapsamında ırk başına örnek sayıları sınırlı tutulmuştur. Hatta bütçe yetersiz olduğu için son dönemde kan örnekleri alınan Karayaka, Koçeri ve Zom ırklarına ait DNA örneklerinin DNA dizileme hizmetinin alınması ve bu ırkların da çalışmada yer alması mümkün olmamıştır. Irk başına daha yüksek sayıda hayvan sayısı ve her bir ırkın yayılım gösterdiği coğrafi alanın tamamını kapsayıcı şekilde örnekleme yapılması durumunda hayvan materyallerinin farklılıklarını ve ülke hayvancılığının genetik zenginliğini çok daha kapsamlı olarak ortaya koymak mümkün olacaktır. Irklarımıza ait eşsiz genetik özelliklerin farklı moleküler genetik tekniklerle ayrıntılı olarak ortaya konması, genetik kaynaklara yönelik koruma ve geliştirme stratejilerini daha etkin kılacaktır.



## KAYNAKLAR

- Anderson, S., Bankier, A.T., Barrell, B.G., de Bruijn, H.L., Coulson, A.R., Drouin, J., Eperon, I.C., Nierlich, D.P., Roe, B.A., Sanger, F., Schreier, P.H., Smith, A.J.H., Staden, R., Young, I.G. 1981. Sequence and organization of the human mitochondrial genome. **Nature**, 290: 457-465.
- Anderson, S., de Bruijn M.H.L., Coulson, A.R., Eperon, I.C., Sanger, F., Young, I.G. 1982. Complete sequence of bovine mitochondrial DNA conserved features of the mammalian mitochondrial genome. **Journal of Molecular Biology**, 156:663-717.
- Anonim, 2009. Türkiye Evcil Hayvan Genetik Kaynakları Tanıtım Kataloğu. T.C. TARIM ve KÖYİŞLERİ BAKANLIĞI, Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü, [<https://www.tarimorman.gov.tr/TAGEM/Belgeler/yayin/Katalog%20Türkçe.pdf>], Erişim tarihi: 5.09.2019
- Aquadro, C.F., Greenberg, B.D. 1983. Human Mitochondrial DNA Variation and Evolution: Analysis of Nucleotide Sequences from Seven Individuals. **Genetics**, 103 (2): 287–312.
- Ashfaq, M., Hebert, P. D., Mirza, M. S., Khan, A. M., Mansoor, S., Shah, G. S., Zafar, Y. 2014. DNA barcoding of Bemisia tabaci complex (Hemiptera: Aleyrodidae) reveals southerly expansion of the dominant whitefly species on cotton in Pakistan. **PLoS One**, 9(8), e104485.
- Aşıcıoğlu, F., Müslümanoğlu, Ö., Akyüz, F. 2014. Mitokondrial DNA Dizi Analizi ve Adli Amaçlı Kimliklendirmede Kullanılması. <http://www.abgeder.org/Makaleler/101.pdf>. [erişim tarihi: 04.01.2014]
- Atar, B. 2017. Gıdamız Buğdayın, Geçmişten Geleceğe Yolculuğu. **Yalvaç Akademi Dergisi**, 2(1), 1-12.
- Bandelt, H.J., Forster P., Röhl A. 1999. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. **Molecular Biology and Evolution**, 16:37-48
- Bogenhagen, D.F. 1999. DNA REPAIR '99 Repair of mtDNA in Vertebrates. **American Journal of Human Genetics**, 64:1276–1281.
- Bottero, J. 2003. Mezopotamya Yazı, Akıl, ve Tanrılar. Türkçeye çeviri: Özcan M.E., Er A., Dost Kitabevi, Ankara.

- Brown, T. A., Jones, M. K., Powell, W., Allaby, R. G. 2009. The complex origins of domesticated crops in the Fertile Crescent. **Trends in Ecology & Evolution**, 24(2), 103-109.
- Brandau, B., Schickert, H. 2004. Hititler: bilinmeyen bir dünya imparatorluğu. Türkçeye Çeviren : Mertoğlu, N., Arkadaş Yayınevi, Ankara.
- Brown, W. M. 1980. Polymorphism in mitochondrial DNA of humans as revealed by restriction endonuclease analysis. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 77(6), 3605-3609.
- Bruford, M. W., Townsend, S. J. 2006. Mitochondrial DNA diversity in modern sheep. Documenting domestication: New genetic and archaeological paradigms, 306-316.
- Chen, S.Y., Duan, Z.Y., Sha, T., Xiangyu, J., Wu, S.F., Zhang, Y.P. 2006. Origin, genetic diversity, and population structure of Chinese domestic sheep. **Gene**, 19; 376 (2): 216-223.
- Cinkulov, M., Popovski, Z., Porcu, K., Tanaskovska, B., Hodzić, A., Bytyqi, H., Mehmeti, H., Margeta, V., Djedović, R., Hoda, A., Trailović, R., Brka, M., Marković, B., Vazić, B., Vegara, M., Olsaker, I., Kantanen, J. 2008. Genetic diversity and structure of the West Balkan Pramenka sheep types as revealed by microsatellite and mitochondrial DNA analysis. **Journal of Animal Breeding and Genetics**, 125(6):417-426.
- Cui, P., Ji, R., Ding, F., Qi, D., Gao, H., Meng, H., Yu, J., Hu, S., Zhang, H. 2007. A complete mitochondrial genome sequence of the wild two-humped camel (*Camelus bactrianus ferus*): an evolutionary history of camelidae. **BMC genomics**, 8(1): 241.
- Demirci, S., 2012. mtDNA Based Genetic Diversity of Native Sheep Breeds and Anatolian Mouflon (*Ovis Gmelinii Anatolica*) in Turkey. METU, master of science thesis. Ankara.
- Demirci, S., Koban Baştanlar, E., Dağtaş, N.D., Pişkin, E., Engin, A., Özer, F., Yüncü, E., Doğan, Ş.A., Togan, İ. 2013. Mitochondrial DNA Diversity of Modern, Ancient and Wild Sheep (*Ovis gmelinii anatolica*) from Turkey: New Insights on the Evolutionary History of Sheep. **PLOS ONE** 8(12): e81952.

- Depaulis, F., Mousset, S., Veuille, M. 2003. Power of neutrality tests to detect bottlenecks and hitchhiking. **Journal of Molecular Evolution**, 57: 190–200
- Desjardins, P., Morais, R. 1990. Sequence and gene organization of the chicken mitochondrial genome: A novel gene order in higher vertebrates. **Journal of Molecular Biology**, 212:599-634.
- Diamond, J. 2002. Evolution, Consequences and Future of Plant and Animal. **Nature**. 418:700-707.
- Dodson, J., Dodson, E., Banati, R., Li, X., Atahan, P., Hu, S., Middleton, R.J., Zhou, X., Nan, S. 2014. Oldest directly dated remains of sheep in China. **Scientific reports**, 4, 7170.
- Ertuğrul, M., Dellal, G., Elmacı, C., Akın, A. O., Pehlivan, E., Soysal, M. İ., Arat, S. 2010. Çiftlik hayvanları genetik kaynaklarının korunması ve sürdürülebilir kullanımı. Türkiye Ziraat Mühendisliği VII. Teknik Kongresi, 11-15 Ocak 2010, Ankara, 179-198.
- Excoffier, L., Smouse, P., Quattro, J. 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: Application to human mitochondrial DNA restriction data. **Genetics**, 131:479-491.
- Excoffier, L., Lischer H.E. 2010. Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. **Molecular Ecology Resources**, 10: 564-567.
- Fan, H., Zhao, F., Zhu, C., Li, F., Liu, J., Zhang, L., Wei, C., Du, L. 2016. Complete mitochondrial genome sequences of Chinese indigenous sheep with different tail types and an analysis of phylogenetic evolution in domestic sheep. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, 29(5), 631.
- Felsenstein, J. 1981. Evolutionary trees from DNA sequences: a maximum likelihood approach. **Journal of Molecular Evolution**, 17(6), 368-376.
- Festa-Bianchet, M. 2000. A summary of discussion on the taxonomy of mountain ungulates and its conservation implications. In Workshop on Caprinae taxonomy, Ankara, Turkey.

- Freeland, J., Kirk, H., Petersen, S. 2005. Molecular markers in ecology. (Ed. H. Kirk). *Molecular Ecology*, 31-62.
- Giles, R. E., Blanc, H., Cann, H. M., Wallace, D. C. 1980. Maternal inheritance of human mitochondrial DNA. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 77(11), 6715-6719.
- Glez-Peña, D., Gómez-Blanco, D., Reboiro-Jato, M., Fdez-Riverola, F., Posada, D. 2010. ALTER: program-oriented format conversion of DNA and protein alignments. **Nucleic Acids Research**. Web Server issue. ISSN: 0305-1048
- Guindon, S., Dufayard, J. F., Lefort, V., Anisimova, M., Hordijk, W., Gascuel, O. 2010. New algorithms and methods to estimate maximum-likelihood phylogenies: assessing the performance of PhyML 3.0. **Systematic Biology**, 59(3), 307-321.
- Guo, J., Du, L.X., Ma, Y.H., Guan, W.J., Li, H.B., Zhao, Q.J., Li, X., Rao, S.Q. 2005. A novel Maternal Lineage Revealed in Sheep (*Ovis Aries*). **Animal Genetics**, 36(4):331-336.
- Haltenorth, T. 1963. Klassifikation der Säugethiere: artiodactyla. **1. Handbuch der Zoologie**. Volume 8 (32).
- Hasegawa, M., Kishino, H., Yano, T. 1989. Evaluation of the maximum likelihood estimate of the evolutionary tree topologies from DNA sequence data, and the branching order in hominoidea. **Journal of Molecular Evolution**. 29 (2): 170-179.
- Hayashi, J. I., Yonekawa, H., Gotoh, O., Watanabe, J., Tagashira, Y. 1978. Strictly maternal inheritance of rat mitochondrial DNA. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, 83(3), 1032-1038.
- Hedrick, P.W., 2005. *Genetics of Population*. Jones & Bartlett Publishers London UK
- Hiendleder, S., Kaupe, B., Wassmuth, R., Janke, A. 2002. Molecular analysis of wild and domestic sheep questions current nomenclature and provides evidence for domestication from two different subspecies. **Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences**, 269(1494), 893-904.

- Hiendleder, S., Lewalski, H., Wassmuth, R., Janke, A. 1998a. The Complete Mitochondrial DNA Sequence of the Domestic Sheep (*Ovis Aries*) and Comparison with the Other Major Ovine Haplotype. **Journal of Molecular Evolution**. 47:441-448.
- Hiendleder, S., Mainz, K., Plante, Y., Lewalski, H. 1998. Analysis of mitochondrial DNA indicates that domestic sheep are derived from two different ancestral maternal sources: no evidence for contributions from urial and argali sheep. **Journal of Heredity**, 89(2), 113-120.
- Hiendleder, S., Mainz, K., Plante, Y., Lewalski, H. 1998b. 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. **Journal of Heredity**, 89(2), 113-120.
- Hutchinson III, C. A., Newbold, J. E., Potter, S. S., Edgell, M. H. 1974. Maternal inheritance of mammalian mitochondrial DNA. **Nature**, 251(5475), 536.
- İlaslan, E., 2019. Türkiye’de Yayılış Gösteren *Gazella Gazella* (Pallas, 1766) Türünün Filocoğrafyası. Aksaray Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi.
- Jobling, M. A., Hurles, M., Tyler-Smith, C. 2004. Human Evolutionary Genetics: Origins, Peoples and Disease Garland Science Publishing, London/New York
- Jobling, M.A., Tyler-Smith, C. 2003. The human Y chromosome: An evolutionary marker comes of age. **Nature**. 4:598-612.
- Joshi, M.B., Rout, P.K., Mandal, A.K., Tyler-Smith, C., Singh, L. Thangaraj, K. 2004. Phylogeography and Origin of Indian Domestic Goats. **Molecular Biology and Evolution** 21: 454-462
- Jukes, T. H., Cantor, C. R. 1969. Ed: Munro, H.N. Mammalian protein metabolism. **Evolution of protein molecules**, 3(21), 132. New York Academic Press.
- Karaca, O., 2014. Koyun Keçi Islahı ve Açık Çekirdek Yetiştirme Sistemi. Koyun – Keçi Genetik Islah Çalıştayı. 11-13 Haziran 2014. Uşak Üniversitesi Güzel Sanatlar Fakültesi, Mustafa Kemal Paşa Amfisi, Uşak.

- Karaca, O., Cemal, İ., Yılmaz, O., Yılmaz, M., 2009. Karya Koyunu. Türkiye Koyunculuk Kongresi, 12-13 Şubat 2009. Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, İzmir.
- Kimura M. 1968. Evolutionary Rate at the Molecular Level. **Nature** 217:624-6
- Kimura, M. 1980. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. **Journal of Molecular Evolution**, 16(2), 111-120.
- Kul, B.Ç. 2010. Türkiye Yerli Keçi Irklarının Mitokondriyal DNA Çeşitliliği ve Filocoğrafyası. Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi.
- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C., & Tamura, K. 2018. MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. **Molecular Biology and Evolution**, 35(6), 1547-1549.
- Lefort, V., Longueville, J. E., Gascuel, O. 2017. SMS: smart model selection in PhyML. **Molecular Biology and Evolution**, 34(9), 2422-2424.
- Luikart, G., Gielly, L., Excoffier, L., Vigne, J. D., Bouvet, J., Taberlet, P. 2001. Multiple maternal origins and weak phylogeographic structure in domestic goats. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 98(10), 5927-5932.
- Luo, Y.Z., Cheng, S.R., Batsuuri, L., Badamdorj, D., Olivier, H., Han, J.L. 2005. Origin and Genetic Diversity of Mongolian and Chinese Sheep using Mitochondrial DNA D-Loop Sequences. **Acta Genetica Sinica**, 32(12):1256-1265.
- Lydekker, R. 1913. Catalogue of the ungulate mammals in the British Museum (Natural History), vol 1. Artiodactyla. London: British Museum.
- Mardis, E.R. 2008. Next-Generation DNA Sequencing Methods. **Annual Review of Genomics and Human Genetics** 9:387-402.
- Maxam, A. M., Gilbert, W. 1977, A new method for sequencing DNA. **Proceedings of National Academy of Sciences**, 74(2): 560-564.
- Meadows, J.R.S., Cemal, I., Karaca, O., Gootwine, E., Kijas, J.W. 2007. Five Ovine mitochondrial lineages identified from sheep breeds of the Near East. **Genetics**, 175: 1371-1379.

- Meadows, J.R.S., Kantanen, K. LI, J., Tapio, M., Sipos, W., Pardeshi, V., Gupta, V., Calvo, J.H., Whan, V., Norris, B., Kijas J.W. 2005. Mitochondrial Sequence Reveals high Levels of Gene Flow Between Breeds of Domestic Sheep from Asia and Europe. **Journal of Heredity** 96: 494-501.
- Michikawa, Y., Mazzucchelli, F., Bresolin, N., Scarlato, G., Attardi, G. 1999. Aging-dependent large accumulation of point mutations in the human mtDNA control region for replication. **Science**, 286 (5440): 774–779.
- Miller S.A., Dykes D.D., Polesky H.F. 1988. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. **Nucleic Acid Research**, 16(3): 1215.
- Morgulis, A., Coulouris, G., Raytselis, Y., Madden, T.L., Agarwala, R., Schäffer, A.A., 2008. Database Indexing for Production MegaBLAST Searches. **Bioinformatics** 24:1757-1764.
- Muigai, A. W., Hanotte, O. 2013. The origin of African sheep: archaeological and genetic perspectives. **African Archaeological Review**, 30(1), 39-50.
- Naderi, S., Rezaei, H.R., Taberlet, P., Zundel S., Rafat, S.A., Naghash, H.R., Elbarody, M.A.A., Ertugrul, O. and Pompanon, F. 2007. Large-scale mitochondrial DNA analysis of the domestic goat reveals six haplogroups with high diversity. **PLoS ONE**, 2, 10; e1012
- Nadler, C. F., Hoffmann, R. S., Woolf, A. 1973b. G-band patterns as chromosomal markers, and the interpretation of chromosomal evolution in wild sheep (Ovis). **Experientia**, 29(1), 117-119.
- Nasonov, N. 1923. Geographiceskoe rasprostranenie dikih baranov starogo sveta (Distribution géographique des mouton sauvages du monde ancien). St Petersburg (Leningrad), Russia: Akad. Nauk. SSR.
- Nei, M., Kumar, S. 2000. Molecular Evolution and Phylogenetics . Oxford University Press, New York
- Oner, Y., Calvo, J. H., Elmaci, C. 2013. Investigation of the genetic diversity among native Turkish sheep breeds using mtDNA polymorphisms. **Tropical Animal Health and Production**, 45(4), 947-951.

- Öner, Y. 2010. Türkiye Koyun Irklarındaki Genetik Çeşitliliğin mtDNA ve y Kromozomal Belirteçleri Kullanılarak Belirlenmesi. Uludağ Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bursa
- Özdemir, M. 2006. Türkiye Yerli Sığır Irklarında Mitokondriyal DNA Polimorfik Yapılarının PCR-RFLP ve DNA Dizi Analizi Yöntemleri ile İncelenmesi. Erzurum Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora bitirme tezi, Erzurum.
- Pardeshi, V.C., Kadoo, N.Y., Sainani, M.N., Meadows, J.R., Kijas, J.W., Gupta, V.S. 2007. Mitochondrial haplotypes reveal a strong genetic structure for three Indian sheep breeds. **Animal Genetics**, 38(5):460-466.
- Posada, D., Crandall, K. A. 2001. Selecting the best-fit model of nucleotide substitution. **Systematic Biology**, 50(4), 580-601.
- Pedrosa, S., Uzun, M., Arranz, J.J., GutierrezGil, B., San, Primitivo, F., Bayon, Y. 2005. Evidence of Three Maternal Lineages in Near Eastern Sheep Supporting Multiple Domestication Events. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Science**, 22, 272(1577):2211-2217.
- Pereira, F., Davis, S.J., Pereira, L., Mcevoy, B., Bradley, D.G., Amorim, A. 2006. Genetic signatures of a Mediterranean influence in Iberian Peninsula sheep husbandry. **Molecular Biology and Evolution**, 23(7):1420-1426.
- Pereira, F., Pereira, L., Asch, B.V., Bradley, D.G. Amorim, A. 2005. The mtDNA catalogue of all Portuguese autochthonous goat (*Capra hircus*) breeds: high diversity of female lineages at the western fringe of European distribution. **Molecular Ecology**, 14(8): 2313-2318.
- Pietro, P., Maria, F., GianFranco, G., Giuseppe, E. 2003. The complete nucleotide sequence of goat (*Capra hircus*) mitochondrial genome: goat mitochondrial genome. **DNA Sequence**, 14(3): 199-203.
- Rezaei, H. R., Naderi, S., Chintauan-Marquier, I. C., Taberlet, P., Virk, A. T., Naghash, H. R., Rioux, D., Kaboli, M., Pompanon, F. 2010. Evolution and taxonomy of the wild species of the genus *Ovis* (Mammalia, Artiodactyla, Bovidae). **Molecular Phylogenetics and Evolution**, 54(2), 315-326.
- Rogers, A. R., Harpending, H. 1992. Population growth makes waves in the distribution of pairwise genetic differences. **Molecular Biology Evolution**, 9:552-569

- Ronaghi M. 2001. Pyrosequencing sheds light on DNA sequencing. **Genome Research**, 11(1):3-11.
- Ronaghi, M., Nyngren, M., Lundeberg, j., Nyren, P. 1999. Analysis of secondary structures in DNA by Pyrosequencing. **Analytical Biochemistry**, 1:267;(1) 65-71.
- Roots, C. 2007. Domestication “Some Early Domesticates”. Greenwood Press, London pp.13.
- Rozas, J., Ferrer-Mata, A., Sánchez-DelBarrio, J.C., Guirao-Rico, S., Librado, P., Ramos-Onsins, S.E., Sánchez-Gracia, A. 2017. DnaSP 6: DNA Sequence Polymorphism Analysis of Large Datasets. **Molecular Biology and Evolution**, 34: 3299-3302.
- Sanger, F., Nicklen, S., Coulson, A.R. 1977. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. **Proceedings of the National Academy Sciences**, 74(12): 5463-5467.
- Sezenler T, Özder M. Türkiye’de merinoslaştırma çalışmaları. **Hasad Hayvancılık Dergisi** 2009; 25: 34–41
- Shackleton, D.M., Lovari, S., 1997. Classification Adopted for the Caprinae Survey. Shackleton, D.M. (Ed.), Wild Sheep and Goats and their Relatives. Status survey and conservation action plan for Caprinae, IUCN, Gland, Switzerland, pp. 9–14.
- Shadel, G.S. Clayton, D.A. 1997. Mitochondrial DNA maintenance in vertebrates. **Annual Review of Biochemistry**, 66: 409–435.
- Stoneking, M., Hedgecock, D., Higuchi, R.G., Vigilant, L., Erlich, H.A. 1991. Population variation of human mtDNA control region sequences detected by enzymatic amplification and sequence-specific oligonucleotide probes. **American Journal of Human Genetics**, 48(2): 370–382.
- Sultana, S. and Mannen, H. 2004. Polymorphism and evolutionary profile of mitochondrial DNA control region inferred from the sequences of Pakistani goats. **Animal Science Journal**, 75, 303-309
- Taberlet, P. 2008. “The GLOBALDIV Summer School Edition 2008” Ders notları. Università Cattolica del Sacro Cuore, 8-12 Eylül 2008 Piacenza, İtalya

- Tamura, K., & Nei, M. 1993. Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. **Molecular Biology and Evolution**, 10(3), 512-526.
- Tapio, M., Marzanov, N., Ozerov, M., Činkulov, M., Gonzarenko, G., Kiselyova, T., Murawski, M., Viinalass, H., Kantanen, J. 2006. Sheep mitochondrial DNA variation in European, Caucasian, and Central Asian areas. **Molecular Biology and Evolution**, 23(9), 1776-1783.
- Trut, L.N. 1999. Early Canid Domestication: A Farm-Fox Experiment. **American Scientist**, 87: 160- 169.
- Tsalkin, V. I. 1951. European and Asian mountain sheep (Gornje barany evropy i asii). Moskovskoe Obshest. Iss. Privody., Moscow Society of Naturalists Zool. Sect.(Moskovskoe Obshest. Isp. Prirody) Materials for the recognition of the fauna and flora of the USSR, 27.
- TÜİK, 2019. Hayvansal üretim istatistikleri (Yıllık), Tür ve ırklarına göre Hayvan Sayısı, Küçükbaş Hayvan Sayıları. [[http://www.tuik.gov.tr/PreTablo.do?alt\\_id=1002](http://www.tuik.gov.tr/PreTablo.do?alt_id=1002)] Erişim Tarihi: 5 Kasım 2019.
- Torrioni, A., Achilli, A., Macaulay, V., Richards, M., Bandelt, H. J. 2006. Harvesting the fruit of the human mtDNA tree. **TRENDS in Genetics**, 22(6), 339-345.
- Valdez, R., Batten, J. 1982. The wild sheep of the world. Wild Sheep & Goat International.
- Vorontsov, N. N., Korobitsyna, K. V., Nadler, C. F., Hofman, R., Sapozhnikov, G. N., Gorelow, J. K. 1972. Chromosomi dikich baranow i proiskhzhdenie domashnikh ovets. Priroda, Moscow 3: 74–82.
- Wallace, D.C. 1992. Diseases of the mitochondrial DNA. **Annual Review of Biochemistry** 61:1175–1212
- Wang, X., Chen, H., and Lei, C. Z. 2007a. Genetic Diversity and Phylogenetic Analysis of the mtDNA D-loop Region in Tibetan Sheep. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, 20 (3): 313 – 315.
- Wang, X., Ma, Y.H., Chen, H. 2006. Analysis of the genetic diversity and the phylogenetic evolution of Chinese sheep based on Cyt b gene sequences.

**Acta Genetica Sinica**, 33(12):1081-108.

- Wang, X., Ma, Y.H., Chen, H., Guan, W.J. 2007b. Genetic and phylogenetic studies of Chinese native sheep breeds (*Ovis aries*) based on mtDNA D-loop sequences. **Small Ruminant Research**, 72:232-236.
- Wood, N. J., Phua, S. H. 1996. Variation in the control region sequence of the sheep mitochondrial genome. **Animal Genetics**, 27(1), 25-33.
- Wu, C. H., Zhang, Y. P., Bunch, T. D., Wang, S., Wang, W. 2003. Mitochondrial control region sequence variation within the argali wild sheep (*Ovis ammon*): evolution and conservation relevance. **Mammalia**, 67(1), 109-118.
- Xiang-Long, L., Yuan-Fang, G., Zheng-Zhu, L., Gui-Ru, Z., Rong-Yan, Z., Xiao-Min, J., Lan-Hui, L., Hai-Liang, W. 2006. Study on tandem repeat sequence variation in sheep mtDNA D-loop region. **Acta Genetica Sinica**, 33(12), 1087-1095.
- Yalçın BC. Rambouillet x Dağlıç melezlemesi ile geliştirilmiş et-yapağı yönlü yeni bir koyun tipi: Ramlıç. **İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi**, 1982; 8(2): 5-15.
- Yılmaz, O., Sezenler, T., Sevim, S., Cemal, I., Karaca, O., Yaman, Y., KARADAĞ, O. 2015. Genetic relationships among four Turkish sheep breeds using microsatellites. **Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences**, 39(5), 576-582.
- Zardoya, R., Pertierra, A. G., Bautista, J. M., Villalta, M., López-Pérez, M. J., Montoya, J. 1995. Nucleotide sequence of the sheep mitochondrial DNA D-loop and its flanking tRNA genes. **Current genetics**, 28(1), 94-96.
- 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.
- Zeder, M. A., Dan Bradley, Eve Emshwiller, Bruce Smith (editors) 2006. Documenting Domestication: New Genetic and Archaeological Paradigms University of California Press.
- Zhang, Z., Schwartz, S., Wagner, L., Miller, W., 2000. A greedy algorithm for aligning DNA sequences. **Journal of Computational Biology**, 7(1-

2):203-214.

- Zhao, E., Yu, Q., Zhang, N., Kong, D., Zhao, Y. 2013. Mitochondrial DNA diversity and the origin of Chinese indigenous sheep. **Tropical Animal Health and Production**, 45:1715–1722.
- Zhao, X., Chu, M., Li, N., & Wu, C. 2001. Paternal inheritance of mitochondrial DNA in the sheep (*Ovis aries*). **Science in China Series C: Life Sciences**, 44(3), 321-326.
- Zhao, X., Li, N., Guo, W., Hu, X., Liu, Z., Gong, G., Wang, A., Feng, J., Wu, C. 2004. Further evidence for paternal inheritance of mitochondrial DNA in the sheep (*Ovis aries*). **Heredity**, 93(4), 399.
- Zhao, Y., Zhao, E., Zhang, N., Duan, C. 2011. Mitochondrial DNA diversity, origin, and phylogenetic relationships of three Chinese large-fat-tailed sheep breeds. **Tropical Animal Health and Production**, 43:1405-1410.

## ÖZGEÇMİŞ

### KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Nezih ATA  
Doğum Yeri Ve Tarihi : Amasya/Merzifon – 05.04.1985

### EĞİTİM DURUMU

Lisans Öğrenimi : Adnan Menderes Üniversitesi  
Yüksek Lisans Öğrenimi : Adnan Menderes Üniversitesi  
Yabancı Diller : İngilizce

### BİLİMSEL FAALİYETLERİ

#### A. Uluslararası hakemli dergilerde yayımlanan makaleler:

- Öner Y., Yılmaz O., Ata N., Ünal C., Koncagül S. 2019. Genetic diversity and population structure of Turkish native cattle breeds. **South African Journal Of Animal Science**, 49(4), 628-635., Doi: <http://dx.doi.org/10.4314/sajas.v49i4.4> (Yayın No: 5126407)
- Keskin M., Yılmaz O., Gündüz Z., Ata N., Gül S., Cemal İ., Karaca O., Önel S.E. 2019. Microsatellite panels for parentage testing of Kilis goats reared in Turkey. **Turkish Journal Of Veterinary and Animal Sciences**, 43(1), 94- 101., Doi: 10.3906/vet-1809-21 (Yayın No: 4829427)
- Yılmaz O., Cemal İ., Coşkun B., Oğrak Y.Z., Ata N., Karaca O. 2018. Comparison of different paternity test panels in sheep.. **Turkish Journal of Veterinary Animal Sciences**, 42(6), 633-641. (Yayın No: 4628593)
- Öner Y., Yılmaz O., Eriş C., Ata N., Ünal Ci., Koncagül S. 2018. Analysis of Polymorphisms on GH-MspI and IGF1-SnaBI Loci in Five Turkish Native Cattle Breeds. **Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology**, 6(10), 1353, Doi: 10.24925/turjaf.v6i10.1353-1356.1871 (Yayın No: 4370596)
- Abdelkader A.A., Ata N., Benyoucef M.T., Djaout A., Azzi N., Yılmaz O., Cemal İ., Gaouar S.B. 2018. New genetic identification and characterisation of 12

- Algerian sheep breeds by microsatellite markers. **Italian Journal of Animal Science**, 17(1), 38-48., Doi: 10.1080/1828051X.2017.1335182 (Yayın No:
- Tefiel H., Ata N., Chahbar M., Benyarou M., Fantazi K., Yılmaz O., Cemal İ., Karaca O., Boudouma D., Gaouar S.B.S. 2018. Genetic characterization of four Algerian goat breeds assessed by microsatellite markers. **Small Ruminant Research**, 160, 65-71., Doi: 10.1016/j.smallrumres.2018.01.021 (Yayın No: 4175311)
- Öner Y., Yılmaz O., Okut H., Ata N., Mecitoğlu G., Keskin A. 2017. Associations between GH, PRL, STAT5A, OPN, PIT-1, LEP and FGF2 polymorphisms and fertility in Holstein-Friesian heifers. **Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi**, 23(4), 527-534., Doi: 10.9775/kvfd.2016.17192 (Yayın No: 3603737)
- Cemal İ., Karaman E., Fırat M.Z., Yılmaz O., Ata N., Karaca O. 2017. Bayesian inference of genetic parameters for ultrasound scanning traits of Kivircik lambs. **Animal**, 11(3), 375-381., Doi: 10.1017/S1751731116001774 (Yayın No: 2854993)
- Yılmaz O., Cemal İ., Karaca O., Ata N. 2016. Molecular genetic characterization of Kivircik sheep breed raised in Western Anatolia. **Livestock Research for Rural Development**, 28(3), 40 (Yayın No: 3070477)
- Yılmaz O., Sezenler T., Ata N., Yaman Y., Cemal İ., Karaca O. 2014. Polymorphism of the Calpastatin gene in some Turkish sheep breed. **Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences**, 38(4), 354-357., Doi: 10.3906/vet-1401-13 (Yayın No: 1669863)
- Yılmaz O., Sezenler T., Alarşlan E., Ata N., Karaca O., Cemal İ. 2014. Ultrasound Measurements of Backfat Thickness and Musculus longissimus dorsi thoracis et lumborum MLD Depth at the Weaning on Karacabey Merino Karya and Kivircik Lambs. **Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi**, 20(6), 829-834., Doi: 10.9775/kvfd.2014.10859 (Yayın No: 1669877)
- Yılmaz O., Cemal İ., Karaca O., Ata N. 2014. Association of Calpastatin CAST Gene Polymorphism with Weaning Weight and Ultrasonic Measurements of Loin Eye Muscle in Kivircik Lambs. **Kafkas Üniversitesi Veteriner**

**Fakultesi Dergisi**, 20(5), 675-680., Doi: 10.9775/kvfd.2014.10816 (Yayın No: 1669865)

Cemal İ., Yılmaz O., Karaca O., Binbaş P., Ata N. 2013. Koruma Altındaki Çine Çaparı Koyunlarda Genetik Çeşitliliğin Mikrosatellit İşaretleyiciler İle Analizi. **Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi**, 19(3), 383-390., Doi: 10.9775/kvfd.2012.7857 (Yayın No: 1669878)

Ata N., Cemal İ. 2013. CALPASTATIN GENE POLYMORPHISM IN ÇINE ÇAPARI AND KARYA SHEEP. **Scientific Papers. Series D. Animal Science**, 1, 48-51. (Yayın No: 1669880)

Yılmaz O., Cemal İ., Karaca O., Ata N., Sevim S., Öztürk M. 2013. GENETIC DIVERSITY OF KARYA AND ÇINE ÇAPARI SHEEP. **Scientific Papers. Series D. Animal Science**, 1, 31-35. (Yayın No: 1669879)

**B. Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında (proceedings) basılan bildiriler:**

Yılmaz O., Cemal İ., Ata N., Karaca O. 2018. Genetic diversity and bottleneck analysis of three different sheep breeds in Turkey. International Conference on Science and Technology ICONST, 885-893. (Tam Metin Bildiri/Sözlü Sunum)(Yayın No:4628905)

Karaca O., Ata N., Cemal İ., Yılmaz O. 2018. Ewe live weight at birth and lamb birth weight in Karya sheep. International Conference on Science and Technology ICONST, 874-884. (Tam Metin Bildiri/Sözlü Sunum)(Yayın No:4628998)

Akay N., Canatan T., Yılmaz O., Ata N., Karaca O., Cemal İ. 2018. Genetic variability and bottleneck analysis of Güney Karaman sheep. International Agricultural Science Congress, 146 (Özet Bildiri/Sözlü Sunum)(Yayın No:4331298)

Cemal İ., Ata N., Yılmaz O., Karaca O. 2018. Milk production abilities of Kivircik ewes. International Agricultural Science Congress, 143 (Özet Bildiri/Sözlü Sunum)(Yayın No:4331294)

Ata N., Karaca O., Yılmaz O., Cemal İ. 2018. Boorola gene (FecB) polymorphisms in Kivircik sheep. International Agricultural Science Congress, 112 (Özet Bildiri/Poster)(Yayın No:4331293)

Yılmaz O., Ata N., Gökdal Ö., Cemal İ., Karaca O. 2018. Live weight of Kivircik

- ewes and lambs at birth. International Agricultural Science Congress, 130 (Özet Bildiri/Poster)(Yayın No:4331291)
- Karaca O., Yılmaz O., Ata N., Sevim S., Cemal İ. 2018. Paternity testing for verification of pedigree information obtained from hand-mated Hair goats. International Agricultural Science Congress, 147 (Özet Bildiri/Sözlü Sunum)(Yayın No:4331296)
- Jafarabadi G.A., Yılmaz O., Cemal İ., Ata N., Karaca O. 2018. A molecular genetics view of Iranian camel populations. Second International Selçuk-Ephesus Symposium on Culture of Camel-Dealing and Camel Wrestling, 111-116. (Tam Metin Bildiri/Sözlü Sunum)(Yayın No:4175312)
- Yılmaz O., Karaca O., Cemal İ., Ata N. 2017. Relationship between Prolactin Gene Polymorphism and Fertility in Karya Sheep. 8th International Balkan Animal Science Conference (balnimalcon 2017), 36 (Özet Bildiri/Sözlü Sunum)(Yayın No:4665384)
- Gündüz Z., Yılmaz O., Keskin M., Cemal İ., Gül S., Ata N. 2017. Challenges of Climate Changes Effects on Livestock and Importance of Natural Genetic Resources. 8th International Balkan Animal Science Conference (BALNIMALCON 2017), 80 (Özet)
- Öner Y., Yılmaz O., Eriş C., Ata N., Ünal C., Koncagül S. 2017. GH- MspI Polymorphism in Turkish Native Cattle Breeds. 8th International Balkan Animal Science Conference (BALNIMALCON 2017), 46 (Özet Bildiri/Poster)(Yayın No:3588668)
- Ata N., Yaralı E., Yılmaz O., Cemal İ., Karaca O. 2017. In Vivo Estimation Of Carcass Composition In Sheep Using Muscle Depth And Backfat Thickness At 12/13th Rib Site Measured By Ultrasound. 8th International Balkan Animal Science Conference (balnimalcon 2017), 134 (Özet Bildiri/Sözlü Sunum)(Yayın No:4665601)
- Ata N., Yaralı E., Yılmaz O., Cemal İ., Karaca O. 2017. In Vivo Estimation of Carcass Composition in Sheep Using Muscle Depth and Backfat Thickness at 12/13th Rib Site Measured by Ultrasound. 8th International Balkan Animal Science Conference (BALNIMALCON 2017), 134 (Özet Bildiri/Sözlü Sunum)(Yayın No:3604444)
- Ata N., Yılmaz O., Öner Y., Cemal İ. 2017. Genome and Evolution of Camel in molecular genetics level. 2nd International Balkan Agriculture Congress, 438 (Özet Bildiri/Poster)(Yayın No:3614134)
- Öner Y., Ata N., Yılmaz O., Berhane Y.N. 2017. Camel Milk Protein

- Polymorphisms and their potential use. 2nd International Balkan Agriculture Congress, 444 (Tam Metin Bildiri/Poster)(Yayın No:3614142)
- Yılmaz O., Ata N., Karaca O., Cemal İ., Öner Y. 2016. Heat shock proteins and Some effective morphologic traits on heat resistance in camel. First International Selçuk-Ephesus Symposium on Culture of Camel-Dealing and Camel Wrestling (Tam Metin Bildiri/Sözlü Sunum)(Yayın No:3069160)
- Öner Y., Yılmaz O., Ata N., Keskin A., Mecitoğlu G. 2016. Investigation of Lep Sau3AI Polymorphism by PCR RFLP Method in Holstein Friesian Dairy Heifers. 27th International Scientific-Expert Congress of Agriculture and Food Industry, 30, 258-264. (Tam Metin Bildiri/Poster)(Yayın No:3069596)
- Saraçoğlu T., Yılmaz O., Ata N. 2016. Comparison of Digital and Manuel Measurements of Some Body Dimensions in Karya Sheep. 27th International Scientific-Expert Congress of Agriculture and Food Industry (Tam Metin Bildiri/Poster)(Yayın No:3069279)
- Yılmaz O., Ocak S., Ata N. 2016. Determination of Calpastatin gene variation in Dorper and Dorper x Merino lambs using PCR RFLP method. The International Conference "Agriculture for Life, Life for Agriculture (Özet Bildiri/Poster)(Yayın No:3069791)
- Ata N., Yılmaz O., Cemal İ. 2015. Using of Mitochondrial DNA in Animal Genetics. 7th Balkan Conference on Animal Science BALNIMALCON 2015 (Özet Bildiri/Poster)(Yayın No:1670076)
- Yılmaz O., Cemal İ., Karaca O., Ata N. 2015. Genetic characterization and diversity of Kivircik sheep breed raised in three different locations. 7th Balkan Conference on Animal Science BALNIMALCON 2015 (Tam Metin Bildiri/Poster)(Yayın No:1670077)
- Yılmaz O., Cemal İ., Karaca O., Sevim S., Öztürk M., Ata N. 2013. Calpastatin Gene Polymorphism in Turkish Sheep Breeds. International Scientific Conference (BALNIMALCON- 2013): Challenges of the Balkan Animal Industry and the Role of Science and Cooperation, 1, 241 (/)(Yayın No:1670078)

### **C. Ulusal hakemli dergilerde yayımlanan makaleler :**

- Cemal İ., Ata N., Yılmaz O., Karaca O. 2018. Milk production abilities of Kivircik ewes. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi, 28(4), 384-388. (Kontrol No: 4632777)

#### **D. Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında basılan bildiriler:**

- Cemal İ., Yılmaz O., Karaca O., Öztürk M., Ata N. 2013. Hayvan ıslahında genomik seleksiyon8 Ulusal Zootekni Bilim Kongresi Poster 05 09 2013 . 8. Ulusal Zootekni Bilim Kongresi (/)(Yayın No:1670074)
- Yılmaz O., Yılmaz M., Cemal İ., Karaca O., Ata N. 2011. Karya Kuzularda Sütten Kesime Kadar Yaşama Gücü. 7.Ulusal Zootekni Bilim Kongresi (Tam Metin Bildiri/Poster)(Yayın No:1670075)
- Ata N., Cemal İ. 2010. Et Verimi ve Kalitesi Üzerine Etkili Major Genler. 6. Ulusal Zootekni Öğrenci Kongresi, 1, 250 (Tam Metin Bildiri/Poster)(Yayın No:1670080)

#### **E. Araştırma**

- Molecular Genetic Characterization of Algerian Sheep Breeds, Cezayir Koyun ırklarında moleküler genetik tanımlama, Adnan Menderes Üniversitesi Tarımsal Biyoteknoloji ve Gıda Güvenliği Uygulama ve Araştırma Merkezi - TARBIYOMER, Araştırma, 01.07.2016 -01.11.2016 (Uluslararası)
- Genetic Characterization of Algerian Local Goat Breeds, Cezayir yerli keçi ırklarında mikrosatellit markırlar ile genetik tanımlama, Adnan Menderes Üniversitesi Tarımsal Biyoteknoloji ve Gıda Güvenliği Uygulama ve Araştırma Merkezi - TARBIYOMER, Araştırma, 01.12.2015 -30.03.2016 (Uluslararası)

## **İLETİŞİM**

E-Posta Adresi : nezihata@adu.edu.tr

Tarih : 30/10/2019