

T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GENETİK ANABİLİM DALI

ŞANLIURFA ŞEBAP GÜVERCİNLERİNİN mtDNA
ANALİZİ YOLUYLA GENETİK YÖNDEN
KAREKTERİZASYONU

Mehmet POLAT

Yüksek Lisans Tezi

DANIŞMAN

Doç. Dr. Akın YİĞİN

ŞANLIURFA
2023

T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GENETİK ANABİLİM DALI

ŞANLIURFA ŞEBAP GÜVERCİNLERİNİN mtDNA
ANALİZİ YOLUYLA GENETİK YÖNDEN
KAREKTERİZASYONU

Mehmet POLAT

Yüksek Lisans Tezi

DANIŞMAN

Doç. Dr. Akın YİĞİN

Bu çalışma Harran Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü (BAP)
tarafından (Proje no: 21190) desteklenmiştir

ŞANLIURFA
2023

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans eğitimim süresince bütün konularda yanımda olan, tezin her aşamasında bilgilerini ve desteğini esirgemeyen tez danışmanım Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Zootekni Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Akın YİĞİN'e saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek Lisans eğitimi süresince bilgi ve tecrübelerini benden esirgemeyen değerli hocam Genetik Anabilim Dalı Öğretim üyesi Prof. Dr. Şükrü GÜRLER'e saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek Lisans eğitimi süresince gerek tez yazımı gerek ise laboratuvar çalışmalarında her daim destekçim olan Genetik Anabilim Dalı Öğretim üyesi, Doç.Dr. Nüket BİLGİN'e saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek Lisans sürecinde bilgi ve tecrübeleriyle bana yardımcı olan Genetik Ana Bilim Dalı Başkanı Prof Faruk BOZKAYA'ya saygı ve teşekkürlerimi sunarım

Yüksek Lisans sürecinde Şebap Güvercinleri ile ilgili yaptığımız saha çalışmalarında bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan Zootekni Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Dr. Romedi Çelik'e saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca her zaman yanımda olan manevi katkılarını esirgemeyen eşime ve aileme çok teşekkür ederim.

Mehmet POLAT

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

| | |
|---|------|
| TEŞEKKÜR | i |
| ŞEKİLLER DİZİNİ | iv |
| TABLolar DİZİNİ | v |
| KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ | vi |
| ÖZET..... | vii |
| ABSTRACT | viii |
| 1. GİRİŞ | 1 |
| 2. GENEL BİLGİLER..... | 3 |
| 2.1. Güvercin Nedir (<i>Columba Livia</i>)..... | 3 |
| 2.1.2. Kaya Güvercini (<i>Rock Pigeon</i>)..... | 4 |
| 2.2.2. Kaya Güvercinin Doğal Yaşam Alanları | 5 |
| 2.1.3. Evcil Güvercin (<i>Columba Livia Domestica</i>)..... | 6 |
| 2.1.4. Güvercinlerin Morfolojik ve Fizyolojik Özellikleri | 6 |
| 2.1.5. Türkiyede Güvercin Yetiştiriciliği..... | 12 |
| 2.1.6. Şebap Güvercin'i..... | 13 |
| 2.1.7. Şebap Güvercinine Ait Kılıç Paça | 14 |
| 2.1.8. Şebap Güvercini'ne Ait Varyeteler | 15 |
| 2.1.10. Şanlıurfa'da Şebap Güvercini Yetiştiriciliği | 16 |
| 2.2. Moleküler Genetik ve Çalışmalar..... | 18 |
| 2.3. Mitokondri..... | 19 |
| 3.2.3. Mitokondriyal DNA (mtDNA) | 20 |
| 2.4. Moleküler Markörler..... | 22 |
| 2.4.1. Mtdna'nın Markör Olarak Kullanılması..... | 23 |
| 2.4.2. Güvercinlerde Mtdna Çalışmaları..... | 24 |
| 3. GEREÇ VE YÖNTEM..... | 27 |
| 3.1. Gereç | 27 |
| 3.1.1. Hayvan Materyali Ve Örnek Alma | 27 |
| 3.1.2. Çalışmada Kullanılan Cihazlar | 27 |
| 3.2. Yöntem | 27 |
| 3.2.1. DNA İzolasyonu | 27 |
| 3.2.2. Oligonükleotit Tasarımı | 28 |
| 3.3. Oligonükleotitlerin Optimizasyon Pzr'ı..... | 29 |

| | |
|---|-----------|
| 3.4. Bioformatik Analiz..... | 30 |
| 4. BULGULAR | 32 |
| 4.1. DNA İzolasyonu Bulguları | 33 |
| 4.2. Oligonükleotitlerin optimizasyon PZR'ı bulguları | 33 |
| 4.3. Dizi Analizi | 33 |
| 4.3.1. mtDNA Dizi Analizi | 34 |
| 4.3.2. Cyt-B Gen Bölgesi | 34 |
| 4.3.3. Cyt-B Gen Bölgesi Dizilimi..... | 34 |
| 4.3.4. D-loop Gen Bölgesi..... | 35 |
| 4.3.5. D-loop Gen Bölgesi Dizilimi | 36 |
| 4.4. mtDNA poliformizmleri | 37 |
| 4.4.1. D-loop Gen Bölgesi Poliformizmleri..... | 37 |
| 4.5. Filogenetik Analiz | 39 |
| 4.6. Şebap mtDNA D-loop Gen Bölgesi Pozisyonları..... | 41 |
| 5. TARTIŞMA | 43 |
| 6. SONUÇ VE ÖNERİLER..... | 48 |
| 7. KAYNAKLAR | 50 |
| 8. EKLER | 59 |

- Etik Kurulu
- Orjinallik Raporu Beyan Belgesi
- İntihal Raporu
- Tez Veri Giriş Formu

ŞEKİLLER DİZİNİ

| | Sayfa No |
|--|----------|
| Şekil 2.1. Kaya güvercini | 3 |
| Şekil 2.2. Kaya güvercini (<i>Columba livia</i>) | 4 |
| Şekil 2.3. <i>Columba livia</i> dağılım gösterdiği bölgeler | 4 |
| Şekil 2.4. Güvercinlerde kuyruk teleklerin yapısı | 6 |
| Şekil 2.5. Güvercinlerin kanat telek yapısı iç kısım | 8 |
| Şekil 2.6. Güvercinlerin kanat telek yapısı dış kısım | 7 |
| Şekil 2.7. Güvercinlerde gaganın yapısı | 7 |
| Şekil 2.8. Güvercinlerin iskelet yapısı | 8 |
| Şekil 2.9. Güvercinlerde hava keselerinin anatomisi | 8 |
| Şekil 2.10. Kapalı alanda güvercin yetiştiriciliği | 11 |
| Şekil 2.11. Şebap güvercini | 12 |
| Şekil 2.12. Şebap güvercinlerinde kılıç paça | 13 |
| Şekil 2.13. Şebap Güvercini'ne ait bölgede yetiştirilen varyeteler | 14 |
| Şekil 2.14. Şanlıurfa'da Şanlıurfa Şebap Güvercin Birliği Derneği öncülüğünde yapılan yarışmalar | 15 |
| Şekil 2.15. Mitokondrinin yapısı | 18 |
| Şekil 2.16. Evcil güvercinlerde mtDNA gen organizasyonu | 19 |
| Şekil 3.1. Align/Assemble algoritması hizalanan örnekler | 29 |
| Şekil 4.1. Columbia livia mtDNA d-loop PZR ürünlerinin görüntüsü | 30 |
| Şekil 4.2. Şebap Güvercin D-loop bölgesi | 32 |
| Şekil 4.3. Şebap Güvercin D-loop bölgesi ve bulunan SNP'ler | 35 |
| Şekil 4.4. Dünyadaki Güvercin türleri ile seba güvercinin filogenetik kıyaslaması | 37 |
| Şekil 4.5. 13 güvercin ve Şebap Güvercinine has değişken pozisyonlar | 38 |

TABLolar DİZİNİ

Sayfa No

| | |
|--|----|
| Tablo 2.1. Bazı türlere ait mtDNA genom büyüklükleri | 18 |
| Tablo 3.1. Çalışmada kullanılan laboratuvar cihazları | 25 |
| Tablo 3.2. Oligonükleotit bilgileri | 26 |
| Tablo 3.4. Firma tarafından önerilen PZR sıcaklık koşulları | 27 |
| Tablo 3.5. Firma tarafından önerilen PZR bileşenleri konsantrasyonu | 27 |
| Tablo 3.6. Optimize PZR sıcaklık koşulları | 27 |
| Tablo 3.7. Optimize PZR bileşenleri konsantrasyonu | 28 |
| Tablo 4.1. Güvercinlerden elde edilen DNA konsantrasyonları(ng/ul) | 30 |
| Tablo 4.2. Cyt-B gen bölgesi bölgesi nükleik asitlerin dağılımı (%) | 31 |
| Tablo 4.3. Şebap Güvercinine ait Cyt-B gen dizilimi | 31 |
| Tablo 4.4. D-loop gen bölgesi nükleik asitlerin dağılımı (%) | 32 |
| Tablo 4.5. Şebap Güvercinine ait D-loop Gen Dizilimi | 33 |
| Tablo 4.6. Şebap güvercin D-loop bölgesindeki varyasyonlar | 35 |
| Tablo 4.7. Gen bankasından alınan türler ve erişim kodları | 36 |
| Tablo 4.8. Şebap Güvercin'ine yakın bazı Güvercin ırkları | 39 |

KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ

- μ l :Mililitrenin Binde Biri, Mikrolitre
ADP: Adenozin Difosfat
AFLP: Çoğaltılan Parça Uzunluğu Polimorfizmi
ALP: Amplikon Uzunluk Polimorfizmi
ATP: Adenozin Trifosfat
Bç: Baz Çifti
CAPS: Bölünerek Çoğaltılmış Polimorfik Dizi
Cyt-B: mtDNA'nın Sitokrom B gen bölgesi
ddH₂O: Double Distilled Su
D-loop: mtDNA'nın kontrol gen bölgesi
DNA: Deoksiribo Nükleik Asit
dNTP: DNA Nükleotid Bazları
DTT: Dithiothreitol
EDTA: Etilendiamin tetraasetik asit
EST: İfade Edilmiş Dizi Etiketleri
ETS: Elektron Taşıma Sistemi
FADH₂: Adenin Dinükleotididi
FKİ: Fenol:Kloroform:İzoamil
ISSR: Basit Sekans Tekrarlamaları Arası Polimorfizm
MAS: Markör Destekli Seleksiyon
MÖ: Milattan Önce
mtDNA: Mitokondriyal DNA
NADH: Nikotinamid Adenin Dinükleotid
NCBI: National Center for Biotechnology Information (Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi)
PZR: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RAPD: Rastgele Artırılmış Polimorfik Dna
RFLP: Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmleri
RNA: Ribonükleik Asit
rRNA: Ribozomal Ribonükleik Asit
SDS: Sodyum Dodesil Sülfat
SNP: Tek Nükleotid Polimorfizmi
SSCP: Single-strand conformation polymorphism (Tek İplikli konformasyon poliformizmi)
SSR: Mikrosatellitler
STR: Kısa bitişik tekrarlar (*Short tandem repeat*)
STS: Dizisi Etiketlenmiş Sekanslar
tRNA: Taşıyıcı Ribonükleik Asit
VNTR Değişken sayılı bitişik tekrarlar (*variable number tandem repeats*)
Yy: Yüzyıl

ÖZET

Şanlıurfa Şebap Güvercinlerinin mtDNA Analizi Yoluyla Genetik Yönden Karakterizasyonu

Mehmet POLAT

Genetik Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi

Şebap Güvercini Türkiye'nin Güneydoğu'sunda kaya güvercininden köken alan ve uzun yıllar hobi amaçlı yetiştirilen diğer bir çok güvercin ırkından bir tanesidir. Bölgenin kültür mirası olan Şebap güvercinlerinde bilinen 6 varyate tespit edilmiştir. Diğer güvercin türleri ve ırkları arasındaki akrabalık ilişkisini belirlemek kayıt altına almak için bu çalışmada tüm mtDNA'ya bakılmış ve mtDNA üzerinde bulunan Cyt-B ve D-loop bölgelerinde çalışma yapılmıştır. mtDNA kontrol bölgesi (D-loop) dizisinin polimeraz zincir reaksiyonu ile yükseltgenerek Yeni Nesil Dizileme dizi analizi ile barındırdığı polimorfizmin belirlenmesi hedeflenmiştir. Sunulan çalışma Şebap Güvercin mtDNA kontrol bölgesi dizisinin incelendiği ilk araştırmadır. Yapılan çalışmada Şebap Güvercini'nde toplam 17232 bp geninden meydana geldiği 13 protein kodlayan gen bölgesi, 22 adet tRNA geni, 2 adet ribozomal RNA ve D-loop gen bölgesinden oluştuğu görülmüştür. Bununla beraber D-loop bölgesinde 28 adet SNP bulunmuştur. Bulunan SNP'ler yapılan filogenetik ağaç ile son derece uyumlu olup Şebap Güvercinin evcil güvercinler ile aynı kümede yer aldığı gözlemlenmiştir.

Anahtar kelimeler: D-loop polimorfizm, güvercin, mtDNA, şebap

ABSTRACT

Genetic Characteristics of Şanlıurfa Şebap Pigeons by mtDNA Analysis

Mehmet POLAT

Department Genetics, Master Thesis

The Şebap Pigeon is one of many pigeon breeds originating from the rock pigeon in the Southeast of Turkey and bred for many years for hobby purposes. 6 known varieties have been identified in the Şebap pigeons, which are the cultural heritage of the region. In this study, all mtDNA was examined and the Cyt-B and D-loop regions on mtDNA were studied in order to determine the kinship relationship between other pigeon species and breeds. It was aimed to determine the polymorphism of the mtDNA control region (D-loop) sequence by oxidation by polymerase chain reaction and by Next Generation Sequencing sequence analysis. The presented study is the first to examine the Sebap Pigeon mtDNA control region sequence. In the study, it was seen that the Sebap Pigeon consists of a total of 17232 bp genes, 13 protein-coding gene regions, 22 tRNA genes, 2 ribosomal RNA and D-loop gene regions. However, 28 SNPs were found in the D-loop region. The SNPs found were highly compatible with the phylogenetic tree, and it was observed that Sebap Pigeon was in the same cluster with domestic pigeons.

Keywords: D-loop polymorphism, mtDNA, pigeon, Şebap

1. GİRİŞ

Dünyada var olan bütün güvercinlerin atası olan Kaya güvercini (*Columba livia*), insanlar tarafından 10-12 bin yıl kadar önce Orta Doğu'da ilk zamanlar yiyecek daha sonra belirli ayinlerde kullanılarak evcilleştirilmiştir. Güvercinlerin 16. yy'da Orta Doğu ve Güney Asya arasında takas edildiği, Avrupa'da ise 17. yy güvercinlere olan ilginin dahada arttığı bilinmektedir(1). Günümüzde güvercinler belirli özellikler bakımından çok fazla çeşitlilik kazanmış ve belirli sınıflar oluşmuştur. Bu sınıflardan bir tanesi olan süs güvercinleri, görsel açıdan göze hoş gelen ve güzelliği ile değerlendirilen güvercinlerdir. Genellikle file kaplı alanda korunup uçurulmazlar. Bu tezin konusu olan Şebap güvercini urfada yetiştirilen süs güvercinlerine en iyi örneklerden bir tanesidir. Bölgede geleneksel olarak beslenen Şebap, yapşan, angut, urfa güllüsü, urfa mısırlısı gibi güvercin ırkları bölgenin biyoçeşitliliği bakımından önemli bir değer oluşturmaktadır.

Bioçeşitlilik; belirli bir coğrafyada ekosistem içindeki habitata oluşturan gerek türlerin gerekse bir tür içerisindeki ırkların oluşturduğu genetik kaynaklar çeşitliliği şeklinde sınıflanan ve tüm canlılığın çeşitliliğini ifade eden bir kavram olarak karşımıza çıkmaktadır. Evcil hayvan genetik kaynakları, insan elinde ıslah edilen türlerin oluşturduğu biyolojik çeşitliliğin bölgede sosyal, ekonomik, ekolojik kazanımları bakımından önemli bir unsur temsil etmektedir (2). Yerli gen kaynaklarının korunması genotipik ve fenotipik özelliklerin belirlenmesi ve bu amaçla kayıt ve koruma altına alınmasının yanında tür, ırk ve bunların popülasyon içindeki düzeyinin belirlenmesi de gerekir. Türkiye gen kaynakları bakımından oldukça zengin bir ülkedir ancak bu zenginlik söz konusu ırkların araştırılması, genetik karakterizasyonlarının yapılması, kayıt altına alınması ve Dünya'ya duyurulması ile gerçek potansiyeline ulaşabilir. Bu çalışmalar hem bilimsel anlamda önem taşırken hem de kültürel çeşitliliğin ve genetik mirasımızın korunmasına katkı sağlayacaktır.

Bölgenin kültürel mirası olan şebap güvercininin ırk tanımlaması amacıyla yapılan çalışmada morfolojik ve genetik karakterizasyon bulgularının kaydedilmesi, filogenetik ağaçlarla çeşitliliğin gösterilmesi hedeflenmiştir. Bu amaçla Şanlıurfa'da Şebap güvercini yetiştiricilerden farklı zamanlarda 20 adet Şebap güvercininin morfolojik ölçümleri yapılmış ve bu güvercinlerden alınan telek numuneleri alınarak total DNA izolasyonu, mtDNA D-loop bölgesinin PZR'ı ardından sekans analizi yapılarak elde edilen verilerle

filogenetik analiz yapılmıştır. Şebab güvercini mtDNA D-loop bölgesinin incelendiği bu çalışma Dünya’da yapılan ilk çalışma özelliği taşımaktadır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Güvercin Nedir (*Columba Livia*)

Güvercinler, Animalia aleminin kordalılar şubesinin, Kuşlar (*Aves*) sınıfında, güvercinler (*Columbiformes*) takımında, güvercingiller (*Columbidae*) ailesinde yer almaktadır.

Genellikle baş ve boyunda beyaz lekeler ve boyun ile göğüste yanardöner yeşil ve mor renginde tüyler bulunur. Kuşlar sınıfına dahil tüm canlılarda; keratin yapısında dişsiz gagaya ve tüylerle kaplı endotermik vücuda sahiptir. Üreme dış ortamdan zigotu koruyan sert kabuklu yumurtalar yoluyla gerçekleşir. Kuşların kuş olamayan (*non-avian*) theropod dinazorlar ile akraba oldukları son bilimsel araştırmalarla ortaya konmuştur (3).

Columbidae ailesi içerisinde dünyada en çok bilinen tür olan Kaya güvercinleri (*Rock dove, Rock pigeon*) birçok yabani ve evcil güvercinin atası olarak bilinir (4). Güvercinler antartika kıtası hariç dünyanın her yerinde yaşamını sürdürebilen ve her türlü zor şartlara adapte olmayı başarabilen canlılardır. Örneğin altın benekli yer güvercini (*Metriopelia aymara*) Arjantin, Şili, bolivya gibi ülkelerde 5.000m'yi bulan yüksek rakımlarda yaşayabilirler. Bununla beraber Kar Güvercini (*Columba leuconota*) Afganistan gibi düşük basınçlı iklimlerde yaşamını sürdürebilirler. Yas Güvercini (*Columba livia*) genelde 44°C sıcaklıklarda üreyebilir. Kısacası kolombiformlar, kuş taksonlarının en başarılıları arasındadır.

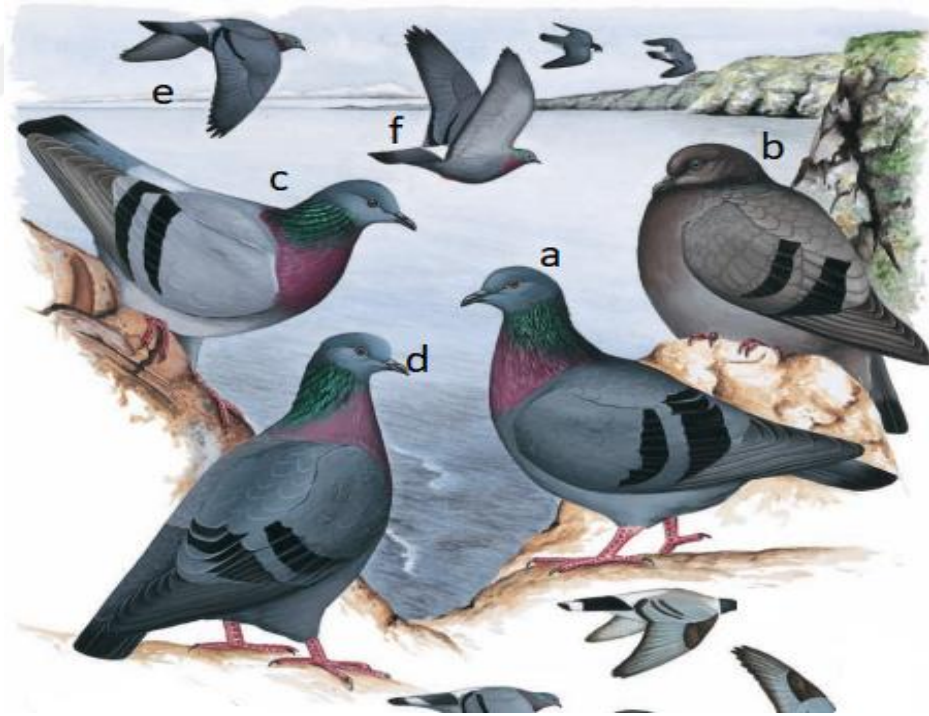
Başlangıçta eti ve gübresi için yetiştirilen güvercinler, daha sonraları bu hayvanların yön bulma, yuvasına bağlılık ve uzun mesafeleri uçabilme gibi yeteneklerinin keşfedilmesi ile haberleşme amaçlı kullanılmaya başlamışlardır. M.Ö 1200 yıllarında Mısır'da güvercinlerden haberleşme amacı ile yararlanıldığını bilinmektedir. M.Ö 300 yıllarında Çin'de güvercinlerle bütün ülkeyi kapsayan bir haberleşme ağı kurulmuştur. Özellikle savaş sırasında ki haberleşmelerde güvercinler önemli bir rol oynamışlardır. Cengiz Han'ın seferleri sırasında haberleşme amaçlı posta güvercin kullandığı bilinmektedir. Suriye'nin güçlü hükümdarı Nureddin (1146 – 1174) Mısır'da yıllarca çok iyi işleyen bir posta güvercini şebekesi kurmuş olması ile ünlüdür. Bu amaçla kullandığı güvercinlerin ayak ve gagalarını kendi şifreleri ile işaretlemiştir.

Kullandığı güvercinler Irak'tan getirilen boyunları renkli ve benekli beyaz güvercinler olduğu bilinmektedir (5).

2.1.2. Kaya Güvercini (*Rock Pigeon*)

Yabani Kaya Güvercinleri, koyu renkli boyunlarının arkasında mavi-gri renkli ve yeşil-mor parlaklığa sahiptir. Nispeten kısa kuyrukları ve uzun kanatları, uçuk orta-gri tüyleri ve kanat yüzlerinde bulunan siyah bantları ile kuyruklarında koyu terminal bant ve kanat altında parlak beyaz tüyler ile sempatik türlerin çoğundan kolaylıkla ayırt edilebilirler (4).

Yaban ortamında kaya güvercini kayalık alanları yuvalama ve üreme için kullanırlar. Kökenleri Avrupa, Kuzey Afrika ve Asya'nın batısına dayanan kaya güvercinleri dünya üzerinde oldukça geniş alanlarla beraber şehirlere de yerleşmiştir. Dünya popülasyonunda sayıları oldukça büyüktür, yalnızca Avrupa'da 17 ila 28 milyon arasında oldukları tahmin edilmektedir.

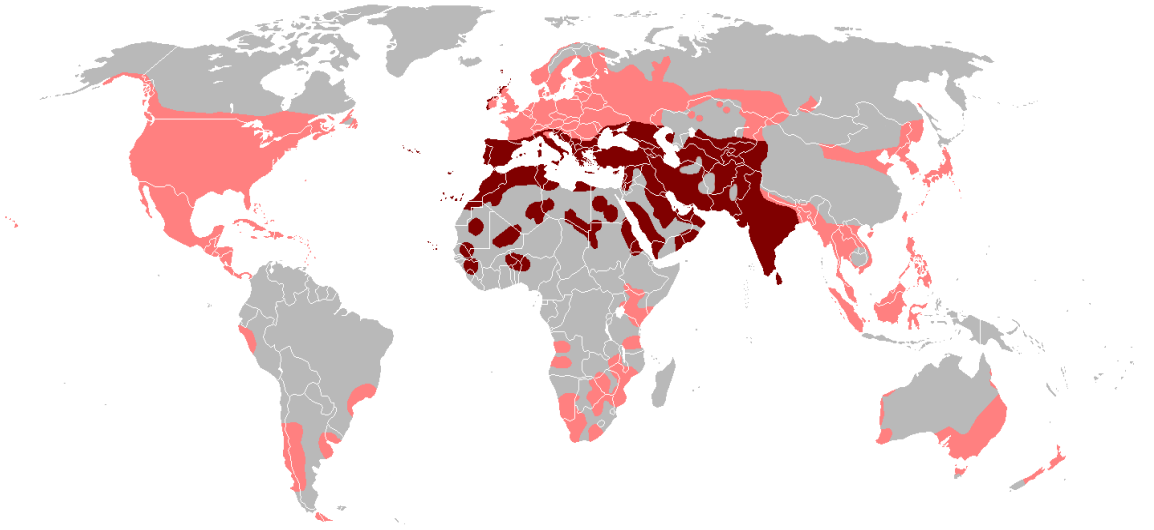


Şekil 2.1. Kaya güvercini **a:** Genellikle Avrupa'da Ural bölgesinde, Akdeniz'de ve kuzey afrika bölgesinde dağılmış yetişkin kaya güvercini. **b:** Genç kaya güvercini **c:** Mısır'da sıklıkla görülen daha soluk renge sahip Yetişkin kaya güvercini. **d:** Hindistan yarımadası ile Sri Lanka'da yaygın bulunan yetişkin. **e:** Uçuş formunda kanat yüzeyleri **f:** Uçuş formunda alt kanat yüzeyi(4)



Şekil 2.2. Kaya güvercini (*Columba livia*)

2.2.2. Kaya Güvercinin Doğal Yaşam Alanları



Şekil 2.3. *Columba livia* dağılım gösterdiği bölgeler. **Koyu kırmızı** yaklaşık yerel doğal yaşam alanları. **Açık kırmızı**; yerli olmayan insanlar tarafından bilinçli veya istemeden bölgeye sokulmuş popülasyonların dağılım gösterdiği alan (6)

2.1.3. Evcil Güvercin (Columba Livia Domestica)

Evcil güvercinler doğal ortamından uzaklaştırılıp veya kısıtlanıp insan elinde beslenip büyütülen, belli amaçlar için kullanılan, doğada vahşi olarak bulunan, kaya güvercinleri ile akraba ve birçok ırktan oluşan tür içi grupları ifade eder. Bilinen tüm evcil güvercin ırkları kaya güvercininden köken alır (4). Tarım toplumuna geçiş sürecinde çoğu hayvan gibi güvercinlerde insanların ilgi odağı olmuş sadece yiyecek olarak değil belli törenlerde, ayinlerde yarışmalarda veya iletişim aracı olarak kullanılmıştır. Evcil güvercinlerin Asya'dan, Mısır ve Mezopotamya'ya doğru bir yayılım izlediği ve buradan da Anadolu'ya geldiği düşünülmeyle birlikte son yıllarda yapılan araştırmalar ve özellikle arkeolojik ve etimolojik (dilbilimsel) incelemeler, güvercinin Anadolu'da çok eskiden beri bilindiğini ve Anadolu kökenli olarak yayılmış olabileceği de düşündürmektedir. Hitit İmparatorluğu döneminde Anadolu'da bir kuş kültürü olduğu bilinmektedir (5).

Yapay seçim, güvercinlere ait gen havuzunu çeşitlendirmiştir. Darwin, zamanında 150'den fazla evcil güvercin türü olduğunu tahmin ediyordu. Onun zamanından beri, insanlar yeni tipler seçip, ellerinde olanlarla eşleştirip üretmeye devam ettiler, böylece bugün yaklaşık 350'den fazla tür ortaya çıkmıştır (7).

2.1.4. Güvercinlerin Morfolojik ve Fizyolojik Özellikleri

Güvercinler de yapısal özellikler bağlı buldukları aves sınıfı olan diğer bütün kuş türleri ile temelde aynı karakteristik özellikler taşır. Evrimsel süreçte ön uzuvlarının uçmayı sağlayacak şekilde kanatlara evrilmesi, yumurta ile çoğalmaları, vücutların tüyleri örtülü olması ve sıcakkanlı olmaları yine kuşların belirgin özelliklerindedir. Vücut sıcaklıkları 38- 40 °C arasındadır. Kuşlarda kemikler ince, içi boşluklu yapıdadır ve buna rağmen oldukça sağlamlardır. İskeletin hafif olması uçuşu sağlayan en önemli özelliklerden bi tanesidir. Bütün kuşlarda olduğu gibi vücudun bazı yerleri (ayak, gaga, parmaklar) tüysüzdür. Güvercinlerde de bu özellikler mevcut olup bununla beraber ayaklardan bileklere, hatta bazı türlerde parmaklara kadar tüylerle kaplı olabilir (5).



Şekil 2.4. Güvercinlerde kuyruk teleklerin yapısı

Güvercinlerde dış tüy, iç tüy ve telek ismi verilen 3 çeşit tüylenme mevcuttur. Telekler kanat ve kuyrukta yer alır, çoğunlukla uçmayı ve yön değiştirmeyi sağlar. Dış tüyler vücudu ıslanmaktan korurken, iç tüyler vücudun ısı kaybını önler. Kanatlarda bulunan telekler, el telekleri ve kol telekleri olmak üzere ikiye ayrılır. Uçmayı sağlayan esas telekler el telekleridir, genelde 10 adet olup kırıldığında veya kaybedildiğinde hayvan uçamaz hale gelir. Kol telekleri ise uçmak için yardımcı görev üstlenirler. Kuyruk telekleri, kuyrukta yer alan ve uçarken dümen görevi yapan tüylerdir. Sayıları güvercinlerde genellikle 12'dir. Bazı tiplerde 14 ya da 16 ya kadar çıkabilmektedir. Güvercinlerde türden türe değişmekle beraber 1-3 ay arasında tüy değişimi gerçekleşir. Bu değişim uzun sürdüğünden uçuş yeteneklerini kaybetmezler (5).



Şekil 2.5. Kanat telek yapısı iç kısım



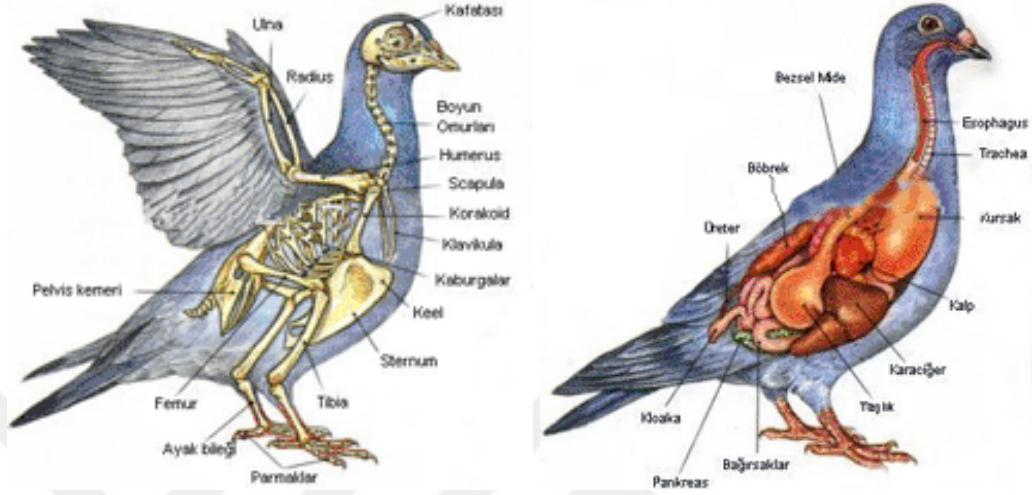
Şekil 2.6. Güvercinlerin kanat telek yapısı dış kısm

Güvercinlerde gaga keratinden oluşan bir yapı olup bir beslenme organı olmanın dışında besinlerin yakalanması, taşınması, parçalanması gibi işlevlerin yanında düşmanlara karşı savunma aracı olarak veya yuva yapımında, tüylerin temizlenmesinde vb. bir çok görevlerde kullanılır.



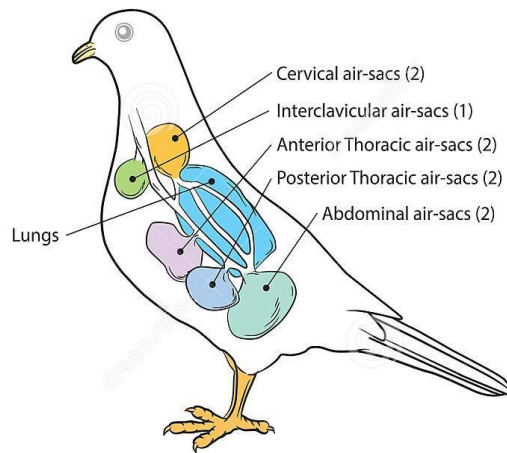
Şekil 2.7. Güvercinlerde gaganın yapısı

Güvercinlerin iskelet yapıları ince ve sağlam olup kemikler yapı olarak içleri boş ve birçok yerinde “foramenler” mevcuttur. Akciğerler, iskeletlerle bağlantılı hava keseleri ile ilişkilidir. Bu özel yapı kuşların genelinde var olup uçmayı etkileyen önemli bir faktördür.



Şekil 2.8. Güvercinlerin iskelet yapısı (solda) ve iç organlar (sağda) (5)

Akciğerler memelilerden farklı olarak vücut boşluğunda olmayıp gövde boşluğunun duvarına yapışıktır ve diyafram ile solunum gerçekleşmemektedir. Akciğerden uzayan kısa olan bronşlar belirli kollara ayrılmış olup bu kollardan hava keseleri vücudun belirli yerlerine yayılmıştır. Hava keseleri kuşun gövde, kanat ve diğer eklemlerini hareket ettirdiğinde sıkışıp gevşeyerek hava giriş, çıkışını sağlar (5).



Şekil 2.9. Güvercinlerde hava keselerinin anatomisi (5)

Güvercinlerin sindirim sistemi diğer hayvan türlerinden farklılık gösterir. Ağız kısımlarında diş bulunmaz, alınan besinler dil yardımıyla yemek borusuna gönderilir. Besinler ilk önce kursak ismi verilen yapı içinde yumuşatılması için bekletilir ve mideye yavaş bir şekilde gönderilir. Tane ve tohum ile beslenen güvercinlerde bu besinlerin öğütülmesi için kursakta bir miktar taş bulundurulur. Kuş uygun büyüklükte taşları bu amaçla yutar (5).

Halk arasında “kuşsütü” diye tabir edilen besin maddesi sadece güvercinlere ait bir özellik olup kursağın girişinde bulunan özofagustan salgılanır. Kuluçka döneminin sonuna doğru yavruların yumurtadan çıkmasından iki gün önce sadece bir hafta salgılanır ve yavru gelişiminde besleyici rol oynar. Sonraki dönemde yavru beslenmesi anne veya baba bireylerin kursaklarında yumuşatılan besinler yavrulara kusularak verilmesiyle sağlanır (5). Bir çalışmada, tavuklara güvercin sütü verildiğinde, büyüme hızları yüzde 38 arttığı gözlemlenmiştir. Bu çalışma ile, güvercin sütünün belirli antikorlar içerdiği ve sadece besin bazlı bir madde olmadığı ile ilgili kanıt elde edilmiştir (8). Güvercin sütü özofagustaki değişime uğramış epitel hücrelerinden salgılanır ve yavrulara kusma ile verilir. Sütün oluşumu prolaktin hormonunun kontrolü altındadır (9). Yavrular günlük ağırlıkları oranında güvercin sütü alabilirler. Yirmi beş güne kadar tamamen büyür ve kendilerini besleyebilecek seviyeye ulaşırlar. Süt üretimi, beyinde üretilen hipofiz bezinden salgılanan prolaktin hormonunun tetiklenmesiyle salgılanır, her iki cinsiyette de aynı anda gerçekleşir. Güvercin sütü, yulaf lapası gibi kıvamlıdır ayrıca tıpkı memelilerde kolostrum gibi yavruları parazitlere ve mikroplara karşı bağışıklığı destekleyici antikorlar içerir.

Yavrularda 4. veya 6. haftada tüylenme başlar ve 6 ay içinde cinsel olgunluğa ulaşır (10). Erkeklerde böbreklerin ön yan tarafında iki adet testis yer alır ve penis yoktur, bunun yerine kalınbağırsağın dışa açıldığı, dışkı ve idrarın belirli bir süre tutulup sindirilmiş besinlerdeki suyun emildiği ”kloak” olarak adlandırılan organ bulunmaktadır. Testislerden çıkan sperm kanalı kloak’ın orta kısmına açılır ve çiftleşme sırasında sperm dişiye bu kanaldan aktarılır. Dişilerde sağ yumurtalık körelmiş olup sol yumurtalık ise üzüm salkımı şeklindedir, üreme döneminde yumurtalık hacimce büyür. Güvercinlerde üreme sezonu Şubat ve Ağustos ayları içerisinde olup ve bütün kuşlarda olduğu gibi yumurta ile olur. Çiftleştikten beş gün sonra yumurtalayan güvercinler 15-20 gün

boyunca gündüzleri erkek, geceleri ise dişi güvercinler beraber nöbetleşe kuluçkaya yatarlar. Yavrular yumurtadan çıktıktan sonra yine aynı şekilde her iki ebeveyn tarafından kuş sütü ile beraber ileriki zamanlarda kursakta yumuşatılan besinlerle beslenirler. Evcil güvercinler 15 yıla kadar yaşarken, şehirdeki sokak güvercinlerinin ortalama ömrü 3 ila 4 yıldır (5).

Güvercinler yüzlerce kilometre uzakta daha önce bilmedikleri herhangi bir yerde bırakılsalar dahi eve doğru yönünü yaklaşık olarak tahmin etmesini sağlayan navigasyon özelliğine sahiplerdir (11). Çevredeki kokuları kullanarak güvercinlerin eve dönüş yolunu bulduğu araştırmalar ile doğrulanmıştır. Genelde güvercinler çevredeki bölgelerde yaygın olan kokular hakkında bilgi toplarlar ve rüzgarın dağıttığı kokuları rüzgar yönü ile ilişkilendirerek hesaplayabilirler. Yapay olarak eklenen kokulara sahip hava akımlarını kullanarak, güvercinlerin eklenen kokulardan birini algıladıklarında, algılamaya alışık oldukları yönün tersine uçtukları görülmüştür (12).

Güvercinlerin duyu organları kendini korumak üzerine evrimsel süreçten geçmiştir. Örneğin insanların duyabileceği duyu eşiğinden çok daha düşük frekanslardaki sesleri duyabilirler. Bu onların doğada karşılaşabileceği fırtına, yağmur veya avcı gibi tehlikelerden korur. Ayrıca görme 340 derece kadardır. Güvercinlerin ayrıca polarize ışığa karşı bir duyarlılığı vardır ışığın insan görünümüne göremediği bu yönünü de görebilirler (13).

Güvercinler zeki bir kuş türü olup, kendi yansımalarını tanıyabilme testini (ayna testini) geçen altı türden biri ve memeli olmayan tek türdür (13). Yapılan araştırmalar, güvercinlerin "ağaç" ve "balık" gibi kategorileri tanıyarak, fotoğraflar arasında ayırım yapabildiğini göstermiştir (14).

Hemen hepsi gırtlaktan gelen yumuşak "hoo" sesleri çıkararak "dem çekme" denen özel ötüşleriyle tanınır. Bu sesi daha canlı ve sık yapan güvercinler halk arasında "demkeş" olarak tabir edilir. Özellikle ötüş şekilleri bakımından yetiştirilen Demkeş ırkı güvercin ülkemizde bu yönüyle özel bir yere sahiptir (4).

Olgun bir güvercinin ağırlığı 300- 1200 gram arasında değişir. Güvercinler, sıvıları alma biçimleri bakımından muhtemelen kuşlar arasında benzersizdir. Güvercinler, sudan bir yudum alıp başlarını arkaya doğru eğip boğazlarından aşağı damlatarak içen diğer kuşların aksine, gagalarını pipet gibi kullanarak yani suyu emerek içerler.

2.1.5. Türkiyede Güvercin Yetiştiriciliği

Türkiye’de kültürel bir miras olarak nesilden nesile aktarılan güvercin yetiştiriciliği kırsal kesimlerden şehir merkezlerine göçle beraber artan kentleşmeye bağlı olarak, şehirlerde kısıtlı imkânlarla ve sayıca az hayvan ile yapılmaktadır. Binaların teras, balkon, depo, bodrum benzeri yerlerinde yetiştiricilerin kendi imkanları ile yetiştirilmektedir. Bu dar ve kısıtlı alanlarda dışardan gelebilecek hastalıklar veya şahin, atmaca benzeri avcı kuş türlerinden korumak için yetiştiriciler değerli damızlık güvercinleri uçurmamaktadır. Uçurulan kuşların av olması durumunda, sahip olduğu özellikleri bir sonraki nesle aktaramayacakları, dolayısıyla damızlık olan güvercinlerin uçurulmaması her yetiştirici için güvercinin sadece kendisi değil neslin korunması için hayati bir öneme sahip olduğu bilinmektedir (13). Bu açıdan çoğu yetiştirici beslediği kuşlar için balkon ve terasları tamamını tel file ile kaplamaktadır.



Şekil 2.10. Kapalı alanda güvercin yetiştiriciliği

Ülkemizde güvercin yetiştiriciliği konusunda çeşitli sivil örgütler birlikler federasyonlar kurulmuştur. Türkiye Güvercin yetiştiriciler Birliği, Şebap Güvercin Federasyonu, İstanbul Güvercin Birliği gibi sivil toplum örgütleri bunlardan bazılarıdır.

Türkiye’de yetiştirilen güvercin çeşitleri performans güvercinleri ve form güvercinleri olarak ikiye ayrılırlar. Performans güvercinleri; filo uçucuları, taklacılar, makaracı güvercinler, dalıcı güvercinler, dönücü güvercinler, yüksek uçucular, mesafe uçucuları olarak belirtilirler. Form güvercinleri ise; Diyarbakır Güvercinleri, Şebaplar,

Irak Form Güvercinleri, ötücü güvercinler, deste kuyruklar, çember dövücüler, kısa gagalı form güvercinleri ve diğer form güvercinleri olarak kategorilendirilirler.(5)

2.1.6. Şebap Güvercin'i

Şebap arapça (shabbab) kökenli bir kelimedir. Genellikle erkek bireyler için genç, delikanlı, yakışıklı gibi anlamlarda kullanılır. Bu güvercinler her ne kadar taklacı güvercin türü olsa da, halk tabiriyle manken kuşlarıdır. Bölge halkı güvercinler için güvercin terimi yerine çoğunlukla “kuş” tabirini kullanırlar. İsminden anlaşılacağı üzere güzelliği üzerinden kıyaslamalar yapılır. Kuşu seven ve “meraklı” diye tabir edilen yetiştiriciler bu kuşun güzelliği ile ilgilenir. Belirli morfolojik özellikleri ile diğer ırklardan ayrılır. Şebap güvercini Türkiye'nin güneyinde yaygın olarak, 20. yüzyılın başında yetiştirilmeye başlanan bir ırktır. Şebap güvercinlerinde yetiştiriciler kuşları vücut yapısı, tüylenme durumu, paça, telek, tüy rengi, nişaneler, göz yapısı, davranış özellikleri, vb. özelliklere göre seçip damızlık olarak yetiştirilmektedir. Yetiştirilen kuşlar çok değerli olduğundan uçurulmazlar, en güzel ve damızlık olarak ayrılanlar satılmaz veya başkasına ödünç dahi verilmez, dolayısıyla izole olabilmiş binlerce farklı popülasyon gelişimi bu kaynak ile sağlanabilir.



Şekil 2.11. Şebap güvercini

2.1.7. Şebap Güvercinine Ait Kılıç Paça

Şebap güvercinine has bir özellik olan ve en belirgin ve diğer tüm ırklardan ayıran özellik “kılıç paça” diye tabir edilen ayaklarından parmaklara uzanan fakat başparmağı geçmeyen teleklerdir. Kılıç paça olması gerekenden fazla veya kısa olduğu zaman yetiştiriciler bunları damızlık olarak ayırmazlar



Şekil 2.12. Şebap güvercinlerinde kılıç paça

2.1.8. Şebap Güvercini'ne Ait Varyeteler

Herhangi bir mutasyon ile oluşan fenotipik değişimler göze hoş geldiği takdirde yetiştirici tarafından o güvercin korunmakta damızlık olarak kullanılmakta bu da o özelliği kazandıran genlerin seçilmesini ve popülasyon içerisindeki frekansının artmasını sağlamaktadır. Fakat bu oluşan yeni özellik farklı isimler verilerek orijinal halinden farklı bir varyete olarak anılmaktadır. Şebap güvercini Şanlıurfa'da sevilerek yetiştirilen güvercinlerden sadece bir tanesidir ve bu güvercin ırkı da kendi içinde varyetelere

sahiptir. Bunlar Kürenk (Sabuni, Bozlak), Abalı Miski, Çakmaklı, Gök (mavi), ve Arap (aynakuyruk) olarak morfolojik özelliklerine göre isimlendirilmiştir.



Abalı miski



Miski



Arap



Kürenk (Sabuni, Bozlak)



Gök (mavi)



Çakmaklı

Şekil 2.13. Şebap Güvercini'ne ait bölgede yetiştirilen varyeteler

2.1.10. Şanlıurfa'da Şebap Güvercini Yetiştiriciliği

Şanlıurfa'da bireysel olarak güvercin besleyen meraklı bireylerin tercih ettiği güvercinlerden olan Şebap güvercini her ne kadar Şanlıurfa'da yetişmiş çoğalmış olsa da

tüm Türkiye coğrafyasına dağılmıştır. Şanlıurfa'da Şebap güvercinleri için merkezi Ankara'da kurulmuş olan Şebap Güvercin Federasyon'u öncülüğünde Şanlıurfa'da Şanlıurfa Şebap Güvecin Birliği Derneği adı altında çeşitli etkinlikler yarışmalar ayrıca yapılmaktadır



Şekil 2.14. Şanlıurfa'da Şanlıurfa Şebap Güvercin Birliği Derneği öncülüğünde yapılan yarışmalar.

Ayrıca güvercin gösterileri ve ticaretinin yapıldığı pek çok özgün yer vardır. Hal böyle olunca güvercin yetiştiriciliği sadece bir hobi olarak değil, aynı zamanda tipik bir ticari faaliyet olarak da öne çıkmaktadır(14). Gerek Şebap gerek bölgede yetiştirilen diğer ırk güvercinler dededen toruna geçmiş uzun yıllar boyunca korunmuş yavrularına genleri aktarılmış “güzel kuştan güzel yavru doğar” mantığı ile klasik bir ıslah çalışması ile kendiliğinden oluşmuştur. Örneğin Şebap güvercinlerine özgü kılıç paça, yetiştiriciler arasında orta parmak uzunluklarını geçtiği zaman güzel görülmez, damızlık olarak ayrılmaz (Şekil 17). Bu durum yine Şanlıurfa'da yetiştirilen ve telek şeklinde uzayıp nerdeyse kanat telekleri boyutuna ulaşan Angut ırkı güvercin ile arasında önemli bir fark oluşturur.

Sevilerle yapılan yetiştirme ve ıslah çalışmaları bölgede saf bir ırkın korunmasını sağlamış, genetik yönden yapılacak bir filogenetik çalışmadan verimli sonuçlar elde

edilmesini mümkün kılmıştır. Bu amaçla bu araştırmada Şanlıurfa bölgesinde yetiştirilen Şebap ırkı güvercinlerin filogenetik yapılarını araştırılması için güvercinlerin sekonder teleklerinden numune alınarak mtDNA üzerinden sitokrom B (Cyt-B) ve D-loop bölgesinde çalışma yapılmıştır.

2.2. Moleküler Genetik ve Çalışmalar

Dünya üzerinde yaşayan bütün canlılar hücrelerden oluşur. DNA; canlının sahip olduğu bütün özelliklerin kodlandığı ve hücrenin çekirdek yapısında bulunan, kalıtım bilgisini içeren ve hücrenin solunum, beslenme, üreme, boşaltım, protein sentezi gibi yaşamsal fonksiyonların devamını sağlayan hücrenin en önemli molekülüdür.

1865 yılında Gregor Mendel'in bezelyeler üzerinde yapmış olduğu hibridizasyon çalışmaları, henüz DNA'nın bilinmediği dönemde bile kalıtımı anlamak adına genetik biliminin en önemli adımlarını oluşturmuştur (15). DNA'nın bilim literatürüne girişi 1869 yılında başlamıştır. İsviçreli J.F. Miescher, hücre çekirdeğindeki maddeye "nüklein" adını vermiş ve bu maddeyle kalıtım arasındaki ilişki daha sonraları anlaşılmıştır (16). Daha sonra, O.Avery ve arkadaşları, DNA'nın kalıtım olayında önemli bir rol oynadığını kesinlikle kanıtlamışlardır (17).

Kromozomlar üzerine yapılan çalışmalar da genetik biliminin gelişimine katkı sağlamıştır. Walter Sutton ve Theodor Boveri, kromozomların kalıtım üzerindeki rolünü anlamak için 1902'de çalışmalar yapmışlardır (18;19). Aynı şekilde, 1908 yılında Thomas Hunt Morgan, meyve sinekleri üzerinde genlerin kalıtım üzerindeki etkisini incelemiştir (20).

Gen mutasyonlarının anlaşılmasında ve DNA'nın yapısının çözülmesinde önemli adımlar atılmıştır. Örneğin, Muller'in X-ışını ile indüklenen mutasyon deneyleri, genlerde mutasyon oluşabileceği fikrini ortaya koymuştur (21). DNA'nın yapısı Rosalind Franklin tarafından X-ışını analizleri ile ortaya konulmuş ve 1953 yılında James Watson ve Francis Crick, DNA'nın yapısını çözmüşlerdir (22; 23)

Son olarak, Werner Arber, Hamilton O. Smith ve Daniel Nathans tarafından 1960-1970 yılları arasında gerçekleştirilen restriksiyon enzimleri çalışmaları, DNA'nın moleküler biyolojideki rolünün anlaşılmasına katkı sağlamıştır (24).

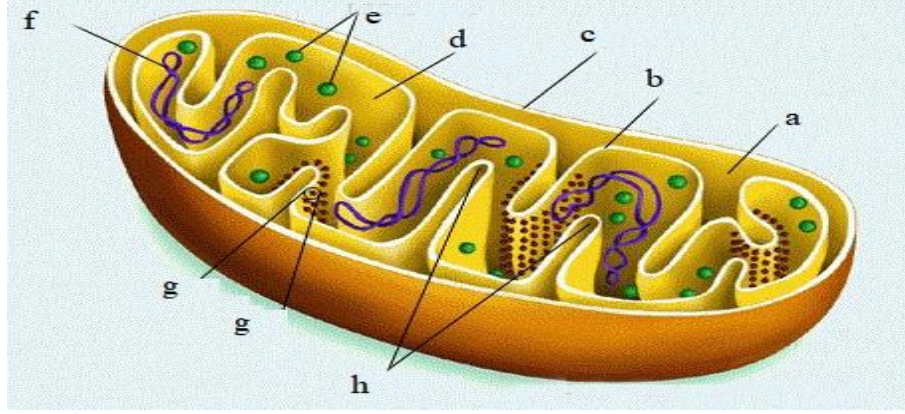
mtDNA'nın keşfi ancak 1960 yıllar sonrasında keşfedilebilmiştir. 1963 yılında ilk defa Margit M. K. Ve Sylvan Nass tarafından elektron mikroskopunda gözlemlenmiş ve

daha sonraları yapılan çalışmalar ile Ellen Haslburner, Hans Tuppy ve Gottfried Schatz tarafından biyokimyasal ölçüm metotları ile keşfedilmiştir. (25).

2.3. Mitokondri

Mitokondri kendine özgü iç ve dış zara, DNA molekülüne (mtDNA) ve ribozomlara sahip olan ve ürettiği enzimler vasıtasıyla hücre içinde çeşitli işlevi olan organeldir. Boyları 0.2-5 mikron arasında, oval ya da çubuk şekilli organellerdir. Mitokondriler hücre çekirdeğinden bağımsız bir şekilde hücre içerisinde bölünerek çoğalırlar ve sayıları hücre başına birkaç yüzden birkaç 10000'e kadar değişebilir (26). Mitokondriler yeşil algler, bakteriler ve memeli eritrositlerinde bulunmazlar. Yapı olarak 70 Å kalınlığında iki zarla (iç ve dış) çevrilidirler. İç yüzeyin artırılması için belirli aralıklarla iç zarda tarak şeklinde kıvrımlar mevcuttur, bunlar “crista” olarak isimlendirilmektedir, bunların tüp şeklinde olanlarına “tubulus” denilmektedir. İç zarda bulunan kıvrımlar elektron taşıma sistemi enzimlerini, Mitokondri içerisindeki sıvı kısım (matriks) ise mitokondri içerisine giren maddeleri parçalamakla görevli enzimleri içerir (27).

Mitokondri, temelde ökaryotik hücrelerde aerobik solunum ve enerji üretiminden sorumludur. Enerji üretimi olarak bilinen oksidatif fosforilasyon tamamıyla mitokondrinin iç membranında gerçekleşir. Oksidatif yıkım ürünlerinden (NADH, FADH₂) alınan elektronların moleküler yapıda oksijene aktarılırken açığa çıkan enerji ile ADP'den ATP sentezlenmesi olayıdır. Yağ asitlerinin oksidasyonu ve sitrik asit döngüsü ile bunun devamı olarak elektron taşıma zincir reaksiyonları (ETS) ve tüm bunların sonucunda ATP üretimi yine iç membranda matriks sıvısı içerisinde gerçekleşmektedir (28) (Şekil 2.2.).



Şekil 2.15. Mitokondrinin yapısı: (a) zarlar arası boşluk, (b) iç zar, (c) dış zar, (d) matrix, (e) ribozomlar, (f) mtDNA (g) elektron taşıma zincirinde görev yapan enzimler, (h) krista

Mitokondriler hücre çekirdeğinden ayrı olarak kendilerine özgü DNA içerirler. Bu DNA 1960'ların başlarında keşfedilmiştir (29). Hemen ardından mtDNA üzerine yapılan yoğun çalışmalar sonucunda insan türüne ait mtDNA dizisi 1981'de yayımlanmıştır (30). Maternal kalıtım ile yavru bireylere geçen mtDNA, çift zincirli, halkasal yapıdadır. mtDNA mutasyonları üzerine yoğunlaşan çalışmalar sonucunda insanlarda hastalığa yol açan mtDNA mutasyonlarına ilişkin ilk örnek 1988'de bildirilmiştir (31).

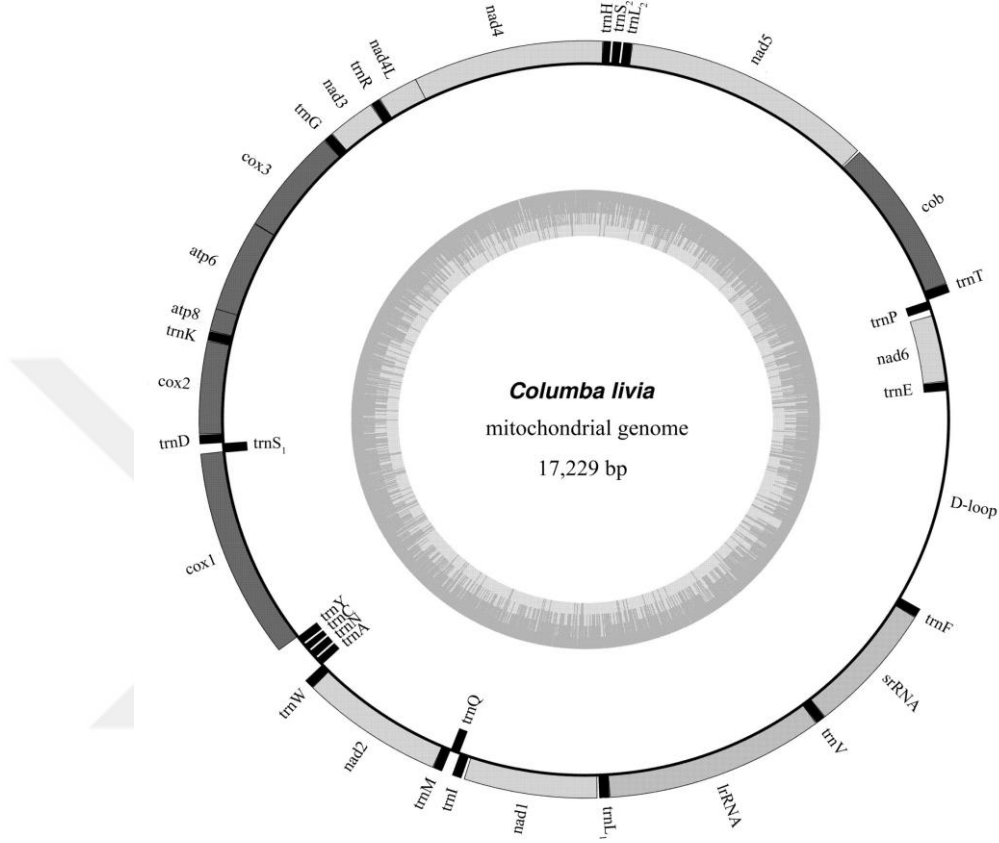
3.2.3. Mitokondriyal DNA (mtDNA)

Hücre çekirdeğinde tek bir nükleer DNA (nDNA) bulunur fakat mitokondri içerisinde mtDNA'nın 2-10 arasında değişen kopyaları var olabilmektedir. Yapı olarak dairesel bir formda olan mtDNA, insanlarda 16,569 bazdan oluşur. Bu çiftlik hayvanlarında 16-18 kilobaz (kb) arasında değişkenlik gösterir (32). Seçilmiş bazı türlere ait mtDNA genom büyüklükleri tablo halinde (Tablo 2.3.) sunulmuştur.

Tablo 2.1. Bazı türlere ait mtDNA genom büyüklükleri

| Tür | mtDNA büyüklükleri (Kaynak) |
|---------------------|-----------------------------|
| İnsan | 16549 kb (30). |
| Sığır | 16338 kb (33). |
| Koyun | 16640 kb (34). |
| Domuz | 16679 kb (35). |
| Archangel güvercini | 17235 kb (36). |

Mitokondial genomda sayıları türden türe değişmekle birlikte genellikle 12-13 kadar protein (solunumla ilgili protein ve enzimler) kodlayan gen, 22 adet tRNA geni, iki adet rRNA geni ve bir adet kontrol bölgesinden (D-loop) oluşur (Şekil 2.3.) (37).



Şekil 2.16. Evcil güvercinlerde mtDNA gen organizasyonu (27).

Sığır, manda, koyun, keçi ve eşek türlerinde mtDNA'nın 13 protein kodlayan gen (bazen 12) bölgesi, 22 adet tRNA geni ve 2 adet ribozomal RNA (16S ve 12S) geni ve kodlama yapmayan replikasyon orijininin (D-loop) oluştuğu bildirilmiştir (38; 33).

mtDNA bir sonraki generasyonlara anne üzerinden aktararak geçer. Yani maternal kalıtım sergiler. İn vitro fertilizasyondan sonra intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu ile doğan insan yenidoğanlarında paternal mtDNA tespit edilememiştir (39). Buna karşılık Zhao ve ark. (40,41) koyun populasyonları üzerinde yaptıkları bir çalışmada birçok koyunda mtDNA'nın paternal olarak da kalıtım gösterdiği bildirilmiştir.

mtDNA nDNA'ya göre daha hızlı mutasyona uğrar ve bununla beraber mtDNA'nın D-loop bölgesindeki mutasyon hızı mtDNA'nın diğer bölgelerine göre %2-4 kat, nükleer DNA'ya göre ise en az 10 kat daha hızlı olduğunu bildirilmiştir (42). Bunun

sebepleri konusunda yapılan çalışmalarda mtDNA'nın nükleer DNA'da görülen etkili bir tamir mekanizmasının olmaması (43), DNA'ya has kıvrımlı yapının oluşmasında görevli histon yapıda koruyucu proteinlerin bulunmaması, mitokondrinin iç zarında oksidatif fosforilasyon ile açığa çıkan mutajenik etkiye sahip oksijen radikalleriyle (ROS) etkileşim içerisinde olması(44), bununla beraber mutant mitokondrinin etkisi ile mtDNA'daki mutasyon hızının daha da artması (45) gibi özellikler, mtDNA'da nükleer DNA'dan yaklaşık 10 ila 17 kat daha hızlı polimorfizm birikmesinin muhtemel nedenleri olarak bildirilmiştir (46,47).

mtDNA'nında sahip olduğu bu özellikler nedeniyle jenerasyonlar arasında yüksek sayıda nükleotit değişiklikleri görülebilmektedir (48). Bu durum hücre çekirdeğinden bağımsız bir şekilde mitoz ile çoğalan bir organel için genetik çeşitlilik kaybını önlemede ve herhangi bir türün yok olma sınırı olarak kabul edilen darboğaz (Bottleneck) durumlarını aşmada büyük katkılar sağladığı düşünülmektedir (49).

Hücre bölünmesi sırasında mitokondriler ve genomları yeni oluşan hücelere rastgele dağılmaktadır. Bu dağılım şekline **replikatif segregasyon** denilmektedir. mtDNA nükleer DNA'dan bağımsız olarak replikasyon yapabilir, bu otonom özelliği sayesinde hücre bölünmesi sonrasında heteroplazmik bir segregasyon gösterebilir. Hücre içerisinde oluşan tüm mtDNA'ların benzer olması durumu homoplazmi, mutant ve normal mtDNA'ların birlikte bulunması durumu ise heteroplazmi olarak adlandırılmaktadır (49). Patojenik mtDNA mutasyonlarının tümü olmasa da çoğu heteroplazmiktir. Doku içinde mutant mtDNA oranı kritik bir seviyeyi bulana ve genotip ekspresyonu için eşik aşılanaya kadar fenotip normaldir (47). Genotip ekspresyonu etkileyecek seviyeyi belirleyen bu eşik değer oluşabilecek mutasyon faktörüne göre farklılık göstermekle birlikte aşılması durumunda, mutasyondaki küçük artış oranlarına paralel olarak fenotip giderek artan oranda daha büyük değişiklikler oluşturabilmektedir.

2.4. Moleküler Markörler

Markör; genomda bulunan herhangi bir gen bölgesi ya da ilişkili DNA parçasıdır. Moleküler markör yöntemleri DNA molekülündeki polimorfik dizi bölgelerin belirlenmesi ilkesine dayanır. DNA markörler kullanılarak morfolojik olarak birbirine çok yakın olan türlerdeki çeşitlilik ayrılabilir ve tanımlayabilir. Bir popülasyonda bir gen

veya fenotipik özellik bakımından birden fazla varyasyon görülüyorsa o gen ya da fenotipik özellik polimorfik olarak kabul edilmektedir. Polimorfizm, DNA dizisi, amino asit dizisi, kromozomal yapı ya da fenotipik özellik varyantları gibi birkaç düzeyde görülebilir (50).

Gen ve kromozomlar ile ilgili bilgi yetersizliğinden dolayı ilk zamanlar, göz rengi, boynuzluluk, kanat yapısı, deri rengi gibi Mendelin kalıtım özellikleri üzerinde yapılmıştır. Teknoloji geliştikçe protein markörler, DNA temelli markörler bulunmuş ve kullanılmaya başlanmıştır. DNA temelli markör özellikle Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR)'nin bulunuşu ile daha çok kullanılmıştır. Moleküler markörler; kesilen parça uzunluğu polimorfizmi (RFLP), rastgele çoğaltılan polimorfik DNA markörleri (RAPD), çoğaltılan parça uzunluğu polimorfizmi (AFLP), dizisi etiketlenmiş sekanslar (STS), mikrosatellitler (SSR), bölünerek çoğaltılmış polimorfik dizi (CAPS), tek iplik tamamlama polimorfizmi (SSCP), ampikon uzunluk polimorfizmi (ALP), basit sekans tekrarlamaları arası polimorfizm (ISSR), ifade edilmiş dizi etiketleri (EST) ve tek nükleotid polimorfizmi (SNP) gibi farklı tekniklerden oluşmaktadır (51).

DNA temelli moleküler genetik belirteçlerden bir diğeri de mtDNA polimorfizmleridir. mtDNA maternal kalıtım göstermesi, haploit yapıda olması, yüksek mutasyon oranına sahip olması, rekombinasyon göstermemesi, yüksek bir polimorfizme sahip olması ve hücre içerisinde çok sayıda kopyasının bulunması gibi ayırt edici özellikleri sayesinde genetik belirteç olarak yaygın olarak kullanılmaktadır (49).

2.4.1. Mtdna'nın Markör Olarak Kullanılması

mtDNA, küçük boyutu (16-18 kb), yüksek bir çeşitliliğe (polimorfizm) sahip olması, maternal kalıtım göstermesi, rekombinasyona uğramaması ve kolay elde edilmesi gibi nedenlerle birçok moleküler genetik analiz yöntemin (DNA dizileme, PZR, RFLP, SSCP, SNP, vs.) kullanımına uygundur. Bunun yanı sıra, intron içermeyişi ve değişken bölgelerin (D-loop) PZR primerlerinin tasarlanabilmesine olanak tanıyan yüksek düzeyde korunmuş anlarla (Ribozomal DNA) çevrelenmiş olması mtDNA'nın moleküler belirteç olarak kullanım alanlarının oldukça geniş olmasını sağlamıştır (52).

Modern moleküler genetik teknikler sayesinde gerçekleştirilen mtDNA analizleri filogenetik analizler, türleşme ve genetik farklılaşma, tür içi ve türler arası farklılaşma, populasyona ait genetik parametrelerin hesaplanması, taksonomi, populasyonlar arası

genetik mesafelerin hesaplanması, gen akışı, köken belirleme, MAS gibi çok çeşitli alanlarda yapılacak genetik çalışmalar için güçlü bir seçenek oluşturmaktadır (53,54).

mtDNA analizlerinin en yaygın kullanım alanlarından biri filogenetik çalışmalardır. Rekombinasyon geçirmediği ve tek ebeveynli bir aktarım modeli gösterdiği için mtDNA analizlerinin çeşitli hayvan ırklarının birbirleri ve yabancı ataları ile olan filogenetik ilişkilerini ortaya çıkarmada ve böylece evcilleştirme merkezlerinin belirlenmesi bakımından alternatiflerine göre önemli avantajlara sahiptir (55,56) Örneğin evcil sığırların iki farklı bölgede evcilleştirildiği ve bu sığır ırklarının Yakın Doğu'da hörgüçsüz Taurin ırkı (*Bos taurus*) ile Hindistan'ın Indus vadisinde hörgüçlü Zebu ırkı (*Bos indicus*) olduğu hem mikrosatellitler hem de mtDNA verileri kullanılarak gösterilmiştir. Yine mtDNA analizlerine dayalı olarak gerçekleştirilen bir çalışma (24) ile koyunların orjinleri ve filogenetik yapılarına ait bilgiler ortaya konmuş ve koyun ile sığırın evrimsel ayrılma zamanlarının yaklaşık 30 milyon yıl önceye dayandığı iddia edilmiştir. Benzer şekilde, Luikart ve ark. (57) tarafından gerçekleştirilen ve keçilerin evcilleştirilme tarihine ilişkin önemli ipuçları sağlayan çalışma da mtDNA (D-loop polimorfizmi) analizi ile gerçekleştirilmiştir. Şanlıurfa için hem biyolojik hem de kültürel bir değer taşıyan ceylanların tartışmalı taksonomik durumunun belirlenmesinde de mtDNA analizi kullanılmış (58) ve bu çalışma ile o zamana kadar *G. Subgutturosa* alt türü içinde sınıflandırılan Şanlıurfa ceylanlarının *G. marica* alt türüne dâhil oldukları gösterilmiştir.

Özetle, mtDNA polimorfizmi, yalnızca bir tür içindeki yakından ilişkili türler ve popülasyonların ilişkisini incelemek için yararlı bir genetik belirteç değil, aynı zamanda biyoçeşitlilik, türleşme ve evrimin araştırılması için etkili bir araçtır (54).

2.4.2. Güvercinlerde Mtdna Çalışmaları

Güvercin mtDNA genomu 2 ribozomal RNA geni, 13 protein kodlayan gen, 22 transfer RNA geni ve kodlama yapmayan bir kontrol bölgesinden (D-loop) oluşur (37,59,60). Güvercinlerde tüm mitokondriyal genom büyüklüğü (nükleotit sayısı) ırktan ırka değişmekle birlikte, mitokondriyal genom organizasyonu tamamen aynıdır. mtDNA büyüklüğü Mısır kaya güvercinlerinde (*Columba livia* breed Egyptian swift) 17239 bp (59), uzun yıllar seçici yetiştirme yöntemiyle et üretimi amacıyla geliştirilen bir güvercin ırkında (Kral Güvercin: *Columba livia* breed king) 17221 bp (60), Çin güvercinlerinde

17229bç (37), tüylerinde olağanüstü metalik parlaklığa sahip süslü bir güvercin ırkı olan Archangel güvercinlerinde 17235 bç (36), Kaya güvercinlerinin evcilleştirilmiş bir varyetesi olan Süslü güvercinlerde (Fancy Pigeon) 17233bç (61), sahip olduğu buz mavisi rengi nedeniyle Buz güvercini (*Columb livia* breed ice) olarak adlandırılan bir güvercin ırkında 17236 bç (62), Asya kökenli fantezi bir güvercin ırkında (*Columba livia* breed Jacobin) ise 17245 bç (63) olarak bildirilmiştir. mtDNA temelli olarak güvercinler üzerinde yürütülen bazı moleküler genetik çalışmalar aşağıda özetlenmiştir.

Evcil ve yabani güvercinlerde L-laktat dehidrogenaz A geni (LDHA) polimorfizmini (LDH-A56F 5'-CCTGAAGGCTCTTCATCCAG-3' ve LDH-A56R 5'-TTG GGT GCA CTC TTC TCA AA-3') inceleyen Ramadan ve ark. (64), LDHA geni 5. Ekzonda 5'i SNP biri de delesyon olmak üzere 6 polimorfik bölge saptamış ve delesyon bölgesinde bulunan allel frekansları bakımından hem Japon hem de Mısır popülasyonlarında evcil ve yabani güvercin grupları arasında anlamlı bir fark bulunduğunu bildirmiştir. Aynı çalışmada evcil ve yabani Japon güvercinlerinde üç SNP bölgesinde bulunan allel frekansları arasındaki farklılık anlamlı bulunmuşken evcil ve yabani Mısır güvercinlerinde önemli bir fark bulunmadığı ve LDHA gen polimorfizminin güvercinlerin evcilleşme kapasiteleri için potansiyel bir moleküler işaretleyici olarak kullanılabileceği bildirilmiştir.

Pakistan'ın evcil Sherazi güvercinlerinin taksonomik durumunu ortaya koymak amacıyla kaya güvercini mtDNA sekansı (NCBI GenBank; Accession no. GQ240309) üzerinden tasarlanan primerler kullanılarak Sitokrom B (Cyt-B) genindeki tek nükleotit değişikliklerinin incelendiği bir çalışmada sitokrom-B geninde beş yeni SNP belirlenmiştir. Pakistan evcil güvercinlerine ait sitokrom-B gen dizileri ile güvercingiller (*Columbiformes*) ailesine dâhil bilinen tüm sitokrom-B sekansları kullanılarak gerçekleştirilen filogenetik analiz, fenotipik olarak farklı olmasına rağmen, C. Liva'nın Pakistan evcil güvercinlerinin atası olduğuna işaret etmiştir (65). Aynı çalışmada Sherazi güvercinleri sitokrom-B geninde belirlenen SNP'lerin güvercin türlerinin tanımlanması, filogenetik ilişkiler ve evrimsel karakterizasyon için genetik işaretleyici olarak kullanılabileceği bildirilmiştir.

Evcil güvercinlerde (*Columba livia* var. *domestica*) mtDNA sitokrom-B gen (MTCBY) polimorfizmi üzerinde gerçekleştirilmiş bir çalışmada (67), evcil (n=177) ve yabani (n=67) güvercinlerde 999 baz çifti uzunlukta olan MTCB geni PZR ile çoğaltılmış

(CLCYTB-F: 5'-TTTGGGTCCCTACTAGGCATT-3' ve CLCYTB-R: 5'-GAGGACAAGGAGGATGGTGA-3') ve ardından gerçekleştirilen sekans analizinde genin 595. Pozisyonundaki bir transversiyonun (C→G) sadece yabani güvercinlerde gözlemlendiğini ve ilgili polimorfizme yol açan mutasyonun MvaI restriksiyon enzimi için bir tanıma bölgesi oluşturduğunu ve bu polimorfizmin PZR-RFLP ile belirlenebildiğini bildirmiştir. Buna göre; evcil güvercinlerde enzim kesimi gerçekleşmezken (MTCYB^C alleli) yabani güvercinlerde enzim kesimi gerçekleşir (MTCYB^G alleli) ve bu polimorfizm evcil güvercinlerle ilgili filogenetik araştırmalarda kullanılabilir.

Güvercin mtDNA'sı D-loop bölgesinde SNP, VNTR ve (VNTR: *variable number tandem repeats*: değişken sayılı bitişik tekrarlar) ve STR (STR: *short tandem repeats*: kısa bitişik tekrarlar) analizlerine dayalı olarak gerçekleştirilen bir çalışmada (66) ayırt etme gücü 0,93 olan 38 haplotip belirlenmiş ve bu bölgede belirlenen bu polimorfizmlerin anasal ilişkilerin belirlenmesinde potansiyel belirteçler olarak kullanılabilceği belirtilmiştir.

Bizim yaptığımız çalışma, Şanlıurfa bölgesinde yetiştirilen Şebap ırkı güvercinlerin diğer güvercin türleri ve ırkları arasındaki akrabalık ilişkisini belirlemek kayıt altına almak, genetik düzeyde varyasyonları belirlemek ve filogenetik ağaçların oluşturulması amaçlamıştır. mtDNA üzerinden sitokrom B (Cyt-B) ve D-loop bölgesinde çalışma yapılmıştır. Bu yönüyle Dünya'da yapılan ilk çalışma özelliği taşımaktadır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Hayvan Materyali Ve Örnek Alma

Bu çalışma Şanlıurfa ilinde Şebap Güvercin Yetiştiriciler Federasyonu işbirliğinde yapılmıştır. Federasyona kayıtlı olan ve sadece Şebap yetiştiren üyelerden sağlıklı ve Şebap güvercin özelliklerini en uyumlu gösteren 20 adet güvercinin kanat altı sekonder telek örnekleri uygun şartlarda alınmıştır. Bu örnekler total DNA izolasyonuna kadar +4°C’de saklanmıştır.

3.1.2. Çalışmada Kullanılan Cihazlar

Çalışmanın laboratuvar aşamasında kullanılan cihazlar, marka ve model numaraları ile birlikte, tablo halinde (Tablo 4.1.2.) halinde aşağıda sunulmuştur.

Tablo 3.1. Çalışmada kullanılan laboratuvar cihazları

| CİHAZ | MARKA/MODEL |
|---------------------------------|--|
| Soğutmalı Santrifüj | Sanyo Harrier/18/80 |
| Gradient Özellikli Termocycler | Takara/TP600 |
| Buzdolabı | BOSCH/KSU496221 NE |
| Derin Dorundurucu | BOSCH/GSD30410 NE |
| Hassas Terazi | RADWAG/WAS220/X |
| Manyetik Karıştırıcı | VELP ARE |
| Horizontal Elektroforez Ünitesi | ATTO AE6110 |
| Vortex | VELP 10.0176 |
| Otomatik Pipet Takımı | Brand, Transferpette,Socorex,Eppendorf |
| Thermoshaker | MS3-MaxiThermo100 |

3.2. Yöntem

3.2.1. DNA İzolasyonu

DNA izolasyonunda, kökleriyle beraber çekilerek toplanmış kanat altında bulunan sekonder telekler kullanılmıştır. Her güvercininden toplanan 5 adet teleğin kökleri 0.5-1 cm uzunluğunda kesilerek 1.5 ml’lik eppendorf tüp içerisine aktarılmıştır.

DNA eldesi amacıyla fenol:kloroform:izoamil alkol (FKİ) karışımının yer aldığı DNA izolasyon metodu kullanılmıştır. FKİ metodu; Lizis, DNA'nın ayrıştırılması ve çözdürülmesini içeren üç aşamada gerçekleştirilmektedir. Lizis aşamasında proteinaz K, SDS, EDTA ve keratinin parçalanmasını sağlayan DTT kimyasalları kullanılmıştır. 360 µl Lizis solusyonu, 50 µl DTT, 50 µl Proteinaz K tüp içerisindeki teleklerin üzerine eklenerek bir gece 56 C°'de ısıtılarak (Thermoshaker) cihazında inkübasyona bırakılmıştır. Ertesi gün lizat üzerine 800ul fenol solusyonu eklenip çalkalanarak 30dk oda sıcaklığında bekletilmiştir. Ardından 4 dk 4 C°'de 10.000 rpm hızda santrifüj edilerek sırasıyla fenol,protein ve DNA içeren sıvı kısmın fazlara ayrılması sağlanmıştır. DNA içeren en üst faz mikropipet yardımıyla alınarak yeni bir tüpe aktarılmıştır. Ardından üzerine DNA'nın protein kalıntılarında ayrıştırılması için 800 µl FKİ (25/24/1) solusyonu eklenerek 5 sn sertce çalkalandıktan sonra 10 dk oda sıcaklığında bekletilmiştir. Beklemenin ardından 4 dk 4 C°'de 10.000 rpm hızda santrifüj edilerek tekrar fazlara ayrılması sağlanmıştır. Ardından en üst faz yeni bir tüpe alınarak üzerine -20 C°'de muhafaza edilen %96 Etanol eklenerek DNA'nın yoğunlaştırılması sağlanmıştır. Etanol içerisindeki DNA -20 C°'de bir gece bekletildikten sonra ertesi gün 4 C°'de 30 dk 14.500 rpm hızda santrifüj edilerek, DNA'nın tüpün tabanına yapışması sağlanmıştır. Tüpün içerisindeki sıvı çekilerek DNA kuruduktan sonra 50 µl ddH²O sulandırılarak DNA izolasyonu tamamlanmıştır (68).

DNA izolasyonunun ardından kalite ve miktar kontrollerinin yapılması amacı ile NanoDrop C2000 (ThermoFisher, Germany) spektrofotometri cihazı ile 2 µl DNA izolatu kullanılarak 260, 230 ve 280 nm dalga boylarında spektrofotometrik ölçümler gerçekleştirilmiştir.

Güvercinlerden toplanan teleklerden izolasyonda kullanılmayanları olası istenmeyen ihtimallere karşı -20 C° 'de saklanmıştır.

3.2.2. Oligonükleotit Tasarımı

Amplikonları oluşturacak polimeraz zincir reaksiyonu (PZR)'de kullanılmak üzere primerler tasarlanmıştır. Primerler tasarlanırken Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi (National Center for Biotechnology Information) veri tabanında bulunan NC_013978.1 referans güvercin mtDNA'sı kalıp olarak kullanılmıştır. İlgili veri tabanında "Primer-BLAST" aracı kullanılmıştır.

NC_013978.1 kodlu referans genomda veri kaybı olmaması için mtDNA'yı üst üste çıkışacak şekilde yaklaşık 10000bç'ye bölen oligonükleotitler tasarlanmıştır. Referans diziden yaklaşık 10000bç'lik iki farklı parça kopyalanarak üst üste çıkışması sağlanmıştır. Bu bölgeler kopyalanarak "Primer-BLAST" aracına yapılandırılmış ve baş ve son kısımdan 500bç aralığında primerler elde edilmiştir (Tablo 5.2)

Tablo 3.2. Oligonükleotit bilgileri

| Adı | Dizisi | Amplikon büyüklüğü |
|-------------|---------------------------|--------------------|
| RD_mtDNA_F1 | ATAACCTCCCCGACGCATTC | 10505bç |
| RD_mtDNA_R1 | CAGTAACACCGGAAGCGAGT | |
| RD_mtDNA_F2 | TCCTACTCGCCCTTCCATCA | 9661bç |
| RD_mtDNA_R2 | GTTTTGGACAATTGATGAGTGAAAA | |

3.3. Oligonükleotitlerin Optimizasyon Pzr'ı

Tasarlanan oligonükleotitlerin mtDNA'da ilgili bölgeleri yükseltmesi için uzun bölge amplifiye edebilen enzim (Phire II, Thermo, Almanya) için gerekli PZR koşullarının belirlenmesi amacıyla optimizasyon PZR'ları kurulmuştur. Uzun bölge amplifikasyonu yapacak olan enzimler ile temin edilen tampon çözeltilerinde MgCl₂ konsantrasyonu 2.5mM olup standarttır. Primerlerin erime sıcaklıkları bilgisinden yararlanılarak 58-59-60C olmak üzere üç farklı sıcaklık denenmiştir (Tablo 5.3.1.). PZR'da üretici firmanın önerdiği konsantrasyonlar kullanılmıştır (Tablo 5.3.2.).

Tablo 3.3. Firma tarafından önerilen PZR sıcaklık koşulları

| İşlem | Sıcaklık | Süre | Döngü |
|-----------------|-------------|-----------|-------|
| Denaturasyon | 98°C | 60sn | |
| Denaturasyon | 98°C | 60sn | 35 |
| Annealing | 58-59-60 °C | 3dk 30 sn | 35 |
| Ekstensiyon | 72 °C | 3dk 30 sn | 35 |
| Son ekstensiyon | 72 °C | 5dk | |

Tablo 3.4. Firma tarafından önerilen PZR bileşenleri konsantrasyonu.

| Kullanılan bileşen | Konsantrasyon |
|------------------------------------|---------------|
| MgCl ₂ içeren Tampon 5X | 1X |

| | |
|-----------|--------------------|
| dNTP | 200nm |
| Phirem II | 1.25 Unite |
| DNA | 50ng/ul |
| Primer F | 0.5uM |
| Primer R | 0.5uM |
| ddH2O | 25ul'ye tamamlanır |

Tablo 3.5. RD_mtDNA_F1 ve RD_mtDNA_R1 için Optimize PZR sıcaklık koşulları

| İşlem | Sıcaklık | Süre | Döngü |
|-----------------|----------|----------|-------|
| Denaturasyon | 98C | 60sn | |
| Denaturasyon | 98C | 60sn | 35 |
| Annealing | 60C | 3dk 30sn | 35 |
| Ekstensiyon | 72C | 3dk 30sn | 35 |
| Son ekstensiyon | 72C | 5dk | |

Tablo 3.6. RD_mtDNA_F1 ve RD_mtDNA_R1 için Optimize PZR bileşenleri konsantrasyonu

| Kullanılan Bileşen | Miktar | Oran |
|------------------------|------------|---------------------|
| MgCl2 içeren Tampon 5X | 1X | 5ul |
| dNTP | 200 nm | 1ul |
| Phire II | 1.25 Unite | 0.5ul |
| DNA | 20ng/ul | 1ul |
| Primer F | 0.5uM | 1ul |
| Primer R | 0.5uM | 1ul |
| ddH2O | | 25ul'ye tamamlanır. |

3.4. Bioformatik Analiz

Elde edilen tüm ham diziler (ortalama 17000 bç uzunluğunda) Geneious Prime® v2023.2.1 paket programına transfer edilerek hizalanmış ve ilgili diğer analizler gerçekleştirilmiştir. Ham okumalardan adaptörlerin, uçlardaki düşük kaliteli bazların (kalite skoru (Q-skor) 30'dan küçük) ve kısa okumaların (50 bç'den küçük) çıkarılmasını içeren trimleme ve kalite filtreleme işlemleri yine aynı program olan Geneious Prime® v2023.2.1 paket programında yer alan BBDuk trimleme aracıyla gerçekleştirilmiştir.

BBDuk, veri kalitesi ile ilgili en yaygın kullanılan bir algoritmadır. Brian Bushnell tarafından hazırlanmış BBTools paketinin bir parçası olan BBDuk Geneious Prime® v2023.2.1 içerisinde yer alan bir eklenti olup, Illumina Truseq için ön ayarları kullanarak adaptörleri kaliteye göre kırpmayı ve belirli bir uzunluğun altına kırılan okumaları filtrelemeyi kolaylaştırır (69). Duplike olan okumaları uzaklaştırmak için programda yer alan “ Sequence” butonu içerisinde yer alan “Remove Duplicate Reads” aracı kullanılmıştır. Bununla beraber hatalı olan okumaları uzaklaştırmak için “sequence” butonu içerisinde bulunan “Error Correct & Normalize Reads” aracı kullanılmıştır.

Her bir örnekten ortalama 20000 ila 50000 arasında contig dizi “Align/Assemble” içerisinde bulunan “Map to Referance” algoritması kullanılarak en güncel güvercin mitokondriyal genomu olan (NC_013978.1) ile (Sensitivity: Highest sensitivity/Medium, Fine Tuning: Iterate up to 25 times) parametreleriyle kontig dizi elde edilmiş ve gen anotasyonu yapılmıştır.

Hizalanan sekans dizilerin consensus değerleri ayrı bir klasörde toplandı. Elimizde bulunan 20 örnek için ayrı ayrı aynı işlem uygulanmış ve 20 örnek için ortak bir consensus değeri oluşturmak için “Align/Assemble” içerisinde bulunan multiple alligment algoritması kullanıldı ortaya çıkan diziler, bu algoritmada MAFFT v.7 (70) prosedürü kullanılarak Geneious Prime’da hizalandı.(Şekil 5.4.)



Şekil 3.1. Allign/Assemble algoritması hizalanan örnekler

Program içinde bulunan “Sequence Logo” alanı içerisinde sekansların alması muhtemel baz değişimleri belirtilmiştir. (Şekil 5.4)

Bütün bu işlemlerin ardından 17232 bç uzunluğunda okumayı elde ediyoruz. Elde edilen contig dizi “Align/Assemble” içerisinde bulunan ‘Map to Reference’ algoritması kullanılarak güvercin mitokondriyal genomu olan (NC_013978.1) ile (Sensitivity: Highest sensitivity/Medium, Fine Tuning: Iterate up to 25 times) parametreleriyle kontig dizi elde edilerek hizalanmıştır.

Referans gen ile arasındaki değişimleri görmek için ‘Annotate & Predict’ içerisinde yer alan ‘Find Variations/SNP’ prosedürünü kullanılmıştır. Filogenetik ilişkilerin açıklanması için dendogram oluşturulmasında da Geneious paket programının ‘Geneious Tree Builder’ algoritması içinde yer alan Tamura-Nei modeli ve ‘Neighbor Joining (komşu birleştirme)’ metodu kullanılmıştır.



4. BULGULAR

4.1. DNA İzolasyonu Bulguları

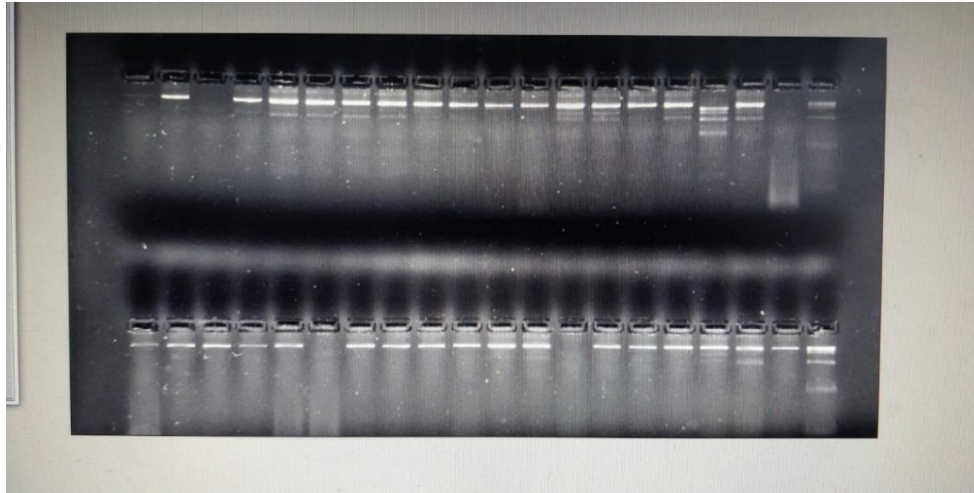
Elde edilen DNA'lar spektrofotometrik olarak ölçülmüştür (Tablo 6.1).

Tablo 4.1. Güvercinlerden elde edilen DNA konsantrasyonları (ng/ul)

| Numune no | Konsantrasyon (ng/ul) | Numune no | Konsantrasyon (ng/ul) |
|-----------|-----------------------|-----------|-----------------------|
| 1 | 4,5 | 11 | 7,7 |
| 2 | 3,9 | 12 | 7,3 |
| 3 | 7,1 | 13 | 6,3 |
| 4 | 8,9 | 14 | 5,4 |
| 5 | 7,6 | 15 | 8,3 |
| 6 | 6,5 | 16 | 6,2 |
| 7 | 4,9 | 17 | 5,9 |
| 8 | 5,6 | 18 | 8,1 |
| 9 | 6,3 | 19 | 9,2 |
| 10 | 7,2 | 20 | 7,5 |

4.2. Oligonükleotitlerin optimizasyon PZR'ı bulguları

Optimizasyon PZR'ı için denenen farklı sıcaklık koşullarından RD_mtDNA_F1 ve RD_mtDNA_R1 primerleri için 60C'de en iyi sonuç alınmıştır (Şekil 6.2.). Bu bulgu temelinde diğer örneklerin mtDNA amplifikasyonu yapılmıştır.



Sekil 4.1. Columbia livia mtDNA D-loop PZR ürünlerinin görüntüsü: D_mtDNA_F1 ve RD_mtDNA_R1 primerleri için PZR ürünlerinin agaroz jel elektroforezi. (Safe view jel boyası ile boyanmış %1.5'luk agaroz jel)

4.3. Dizi Analizi

4.3.1. mtDNA Dizi Analizi

Şebap Güvercin ırkına mensup 20 bireyin, çoğaltılan tüm mtDNA genom dizi analizi yapıp (17232 bç) tüm bölgeler belirlenmiştir. Buna göre mtDNA'nın 13 protein kodlayan gen bölgesi, 22 adet tRNA geni ve 2 adet ribozomal RNA (16S ve 12S) geni ve kodlama yapmayan replikasyon orijininin (D-loop) oluştuğu görülmüştür.

4.3.2. Cyt-B Gen Bölgesi

Buna ilaveten çalışmaya konu olan mtDNA bölgesindeki sitokrom b ile D-loop bölgesi ayrıca çalışılmıştır. Buna göre Cyt-B bölgesi 1145 bç oluşmaktadır. Cyt-B gen bölgesinin baz değişimleri incelendiğinde A:297 (25.9%), C:394 (34.4%), G:170 (14.8%), T: 284 (24.8%) olduğu tüm gen bölgesinin toplamda 1145 baz olduğu görülmektedir.(Tablo 6.3.2.)

Tablo 4.2. Cyt-B gen bölgesi bölgesi nükleik asitlerin dağılımı (%)

| Nükleik asit | Bç | Frekans (%) |
|--------------|-------|-------------|
| A | 297 | 25.9% |
| C | 394 | 34.4% |
| G | 170 | 14.8% |
| T | 284 | 24.8% |
| Tümü | 1,145 | 100.0% |

4.3.3. Cyt-B Gen Bölgesi Dizilimi

Tablo 4.3. Şebap Güvercinine ait Cyt-B Gen Dizilimi

| | |
|--|-----|
| ATGGCCTCG ATCTACGAAA AGACTATTTT CAACTAAAAA TAATCAATAT CTCCTTAATC | 60 |
| GACCTACCTA CCCCTCCAA CATCTCCGTC TGATGGAACT TTGGGTCCCT TCCAGGCATT | 120 |
| TGCCTTCTAA CTCAAATCAT GATCGGGTTC CTACGCGCCG CGCTATGCC TCGTGACACC | 180 |
| ACCCAAGCCA TTTTCACCCG TGTCACACAC ATGCCGAGAT GCACACTTCG GCCAGCTAAT | 240 |
| CCGAAACCTC CATGCAAACG GGGCCTCATT TTTCTTCATC TGTATTTACC TACACATCGG | 300 |
| ACCAGGACTC AACTACGGGT CCTACCTCAG CAAAGAGACT TGAACACAG GGGTAAGCCA | 360 |
| CCTACTATGT CACTTAGACT TACTGCATTC GTAGGATCTG TCCTCCCCTG AGGACAAATA | 420 |
| ACACTCTGAG GGGCTACAGT CATTACCAAT CTATTCTCAG CTGTCCCCTG CATTGGTCAA | 480 |
| GCCATCGATG AATGAGCCTG AGGCTGATTT TCCCTACACA TTGCGACAGC AGATCCATTC | 540 |
| TTCACCCTTG ACTTCTCCT CCCCTTTATG ATCGCAGGCC TCACCAGCAT CCACCTCACC | 600 |
| TTCTGTCACG AATCAGGCTC AAACAGCCCA CTAGGCATGA CCTCCAACCTG CGATAAAATC | 660 |

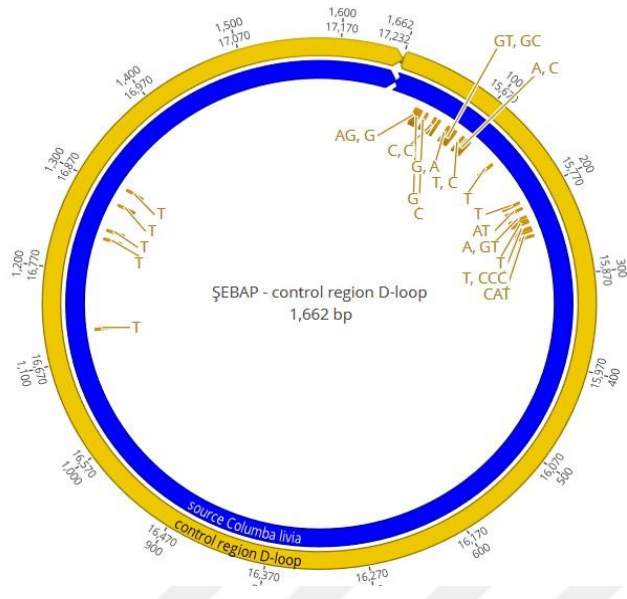
| | |
|--|------|
| CCATTGCACC GATTCTTCTC CCTAAAAGAC ATCCTCGGCT TCATGGTATT ACTCCTCCCC | 720 |
| GTACTGGCCC TAGCCCTATT CTCCCCAAC CTGCTAGGAG ACACAGAAAA TTTCAGCACT | 780 |
| GCATACCCCTC AGGGTACACC TCCCCATATT AAACCAGCAT GATACTTCAT AGTTGCCTAC | 840 |
| AACATCCTAC GCTCCATCCC CAATAAACAA GGCGGAGAAC GTTCCTTCTC CGCCTCAGTC | 900 |
| CTATTATCAT CATCATCCTC AAACTCCAGA AGTCCAAACA ATGCCCGATG TTCATCAGCC | 960 |
| CACTCTCTCA ACTCCTATTC TGAATGCTAG ACACCCACAT CTTTATCCAA ACATGAGTTG | 1020 |
| GAAGCCAACC TGTAGAACAC CCCTTCATCA TTGTGCGCCA ACGAGCCTCC CTCACCTCCT | 1080 |
| TCACCATCCT CTTGTCTCTC TTCCCTGCTA CCGCAGCCCT CGAAAACAAA CTACTTAACT | 1140 |
| ACTAA | 1145 |

4.3.4. D-loop Gen Bölgesi

Çalışma yaptığımız mtDNA bölgesindeki D-loop bölgesi 1662 bç'den oluşmaktadır.(Şekil 6.3.4.) D-loop gen bölgesinin baz değişimleri incelendiğinde A:508 (30.6%), C:476 (28.6%), G: 221 (13.3%), T:457 (27.5%) olduğu tüm gen bölgesinin toplamda 1162 (%100) baz olduğu ve GC dağılımının da GC: 697 (41.9%) olduğu görülmektedir. (Tablo 6.3.4.)

Tablo 4.4. D-loop gen bölgesi nükleik asitlerin dağılımı (%)

| Nükleik asit | Bç | Frekans (%) |
|--------------|-------|-------------|
| A | 508 | 30.6% |
| C | 476 | 28.6% |
| G | 221 | 13.3% |
| T | 457 | 27.5% |
| Tümü | 1,662 | 100.0% |



Şekil 4.2. Şebap Güvercin D-loop bölgesi

4.3.5. D-loop Gen Bölgesi Dizilimi

Tablo 4.5. Şebap Güvercinine ait D-loop Gen Dizilimi

| | | | | | | |
|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------|
| TAACGAAAAA | CACAGGACAC | AATGCAGGAC | CCAGCCTGCC | GCCTGCACT | TGTGTCCTAC | 60 |
| GTACCACAGT | GCATCGATGT | AATGTCCGCA | TTCATGACCT | CCATCCATAC | TAAAGTCAAC | 120 |
| ATGTAATGTA | GTCACATGAT | CCACATTTAT | GTACCCAGGC | ATATTATCTA | TTCCAGGTT | 180 |
| CCATATCCAC | ATAATCCTCA | AACTATCCAT | ATATATGTCC | ATATATGTAT | GCATATTTCC | 240 |
| CGACGCATTA | TAACCTCCCC | GACGCATTCT | CCGTCCAGAG | GACTAGAACT | TAATGATACC | 300 |
| TTAGACATAA | TAGGTTATTA | CTTCGTACTA | AACCCATGGA | AAGCCAGTTT | GTGCATAACC | 360 |
| TCAATATCCA | TACGGAAGTG | CCCTAGTACA | GACTATGCCT | GGTGTAGTCC | ATAACATGAG | 420 |
| ATATCTCCTG | AAGTACATAA | AGCAGGGACC | AGGTTATCTA | TTAATCTTAC | ACCTCAGTG | 480 |
| AAACCAGCAA | CTCGACGCGA | GAAGTATCCA | TCACGACTAG | C TTCAGGCC | ATTCTTCCCC | 540 |
| CCTACACCCT | AGCAGGACTT | GCTCTTTTGC | GCCTCTGGTT | CCTATGTCAG | GGCCATAACT | 600 |
| TGCCAATTCC | CATGACCTCG | CTCTTCACAG | ATACATCTGG | TCGGGGTCAT | ACCTCACCAT | 660 |
| TTCAGTCCGT | GATCGCGGCA | TTTCCCCGAC | CTTGGCGCCT | TTGGTTTTTT | TTCTCTCTCT | 720 |
| CTCCCGCAGC | TCGCCCTCA | AGTGCGGCGG | GCACATTGGT | TTATATTCTG | CACCTAAATT | 780 |
| ATGCGTTACC | AACTAATCTC | GACCTCAGGT | ACTACTGGCG | TTACGGCTTA | AAGATAACCG | 840 |
| GTATCACCTT | GACACTGATG | CACTTTGTCT | TCCATAACTC | GGCTGGATGT | AATGGATTAA | 900 |
| GGACATACAG | AGCTTCGCCC | GCGAGATGCA | CCCTTCGAG | CATCTGGTTA | TGGTGTGTCC | 960 |
| GCAAGTACCT | ACAAATGCTG | CATATTAGTG | AATGCTCGCA | GGACATAAAT | TTCCACCATT | 1020 |
| TTACCCTATT | TACTTCCTCT | AACTTTCTAA | GCAACACGGC | TAACTTTCAA | CTAAACACTC | 1080 |

```

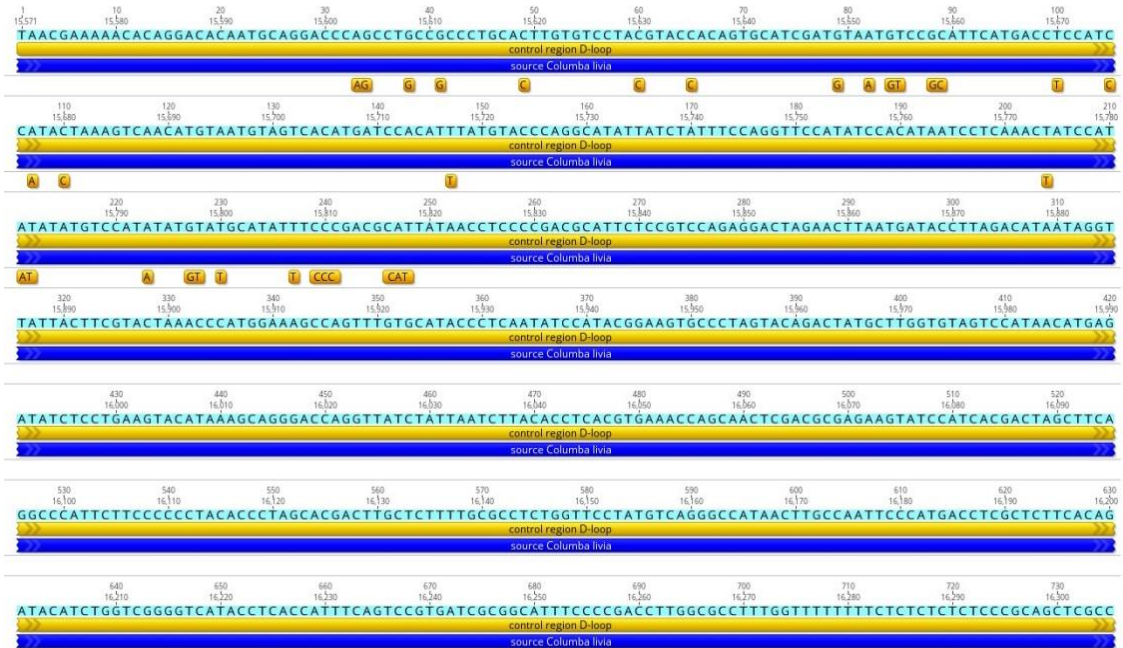
AAAATACCGA CCCAAAATCT TGTAATTTTC ACTTTCTTTT TCTTTTTTTT TTCCTATGAT 1140
TACCACTGGA GTTCCATTAA TAATTCATCA TACGATTCAT ACGTACGTAT GTTAATCCTC 1200
TGACAAACCA TTAATAACTC ATCAAATTTT TCCATTATTT GTTGTGTGAT TTTTTCATCA 1260
TTCACCCATC TAATATTAAC CGAATTTTAG CCACACTTTT CCCATTTTTC ACTCATCAAT 1320
TGTCCAAAAC ATTAGACCAA TTAAGCCACT CTCCTCATCA CCCGCTCACT CACCAACTCT 1380
TGTCCAAAAC ATTAGACCAA TTTAAGCCAC TCTCCTCATC ACCCGCTCAC TCACCAACTC 1440
TTGTCCAAA CATTAGACCA ATTTAAGCCA CTCTCCTCAT CACCCGCTCA CTCACCAACT 1500
CTTGTCCAAA ACATTAGACC AATTTAAGCC GTACAAGTAA CCGCCGAAAA ACAACAAAAC 1560
AAACAAACAA ACAACAAAAC AAACAAACAA ACAACAAAAC AAACAAACAA ACAACAAAAC 1620
AAACAAACAA ACAACAAAAC AAACAAACAA ACAACAAAAC AC 1662

```

4.4. mtDNA poliformizmleri

4.4.1. D-loop Gen Bölgesi Poliformizmleri

mtDNA bölgesinde herhangi bir gen kodlamayan ama son derece değişken bir yapıya sahip D-loop bölgesindeki poliformizimler çalışma yaptığımız Şebap Güvercinin filogenetik ağaçlandırma sonuçları için önemli bir yere sahip. Buna göre D-loop bölgesinde 28 adet varyasyon tespit edilmiştir.(Şekil 6.4.1.)





Şekil 4.3. Şebap Güvercin D-loop bölgesi ve bulunan SNP'ler

D-loop bölgesinde yer alan 28 adet varyasyon Tablo 6.4.1. halinde oluşturulmuştur.

Tablo 4.6. Şebap güvercin D-loop bölgesindeki varyasyonlar.

| Nükleik asit | Sıra | Uzunluk | Değişim | Değişim tipi |
|--------------|-------|---------|----------|--------------------|
| AG | 33-34 | 2 | CC->AG | Substitution |
| G | 38 | 1 | A -> G | SNP (transition) |
| G | 41 | 1 | C -> G | SNP (transversion) |
| C | 49 | 1 | T -> C | SNP (transition) |
| C | 60 | 1 | T -> C | SNP (transition) |
| C | 65 | 1 | T -> C | SNP (transition) |
| G | 79 | 1 | T -> G | SNP (transversion) |
| A | 82 | 1 | T -> A | SNP (transversion) |
| GT | 84-85 | 2 | TA -> GT | Substitution |
| GC | 88-89 | 2 | AT -> GC | Substitution |
| T | 100 | 1 | C -> T | SNP (transition) |
| C | 105 | 1 | A -> C | SNP (transversion) |

| | | | | |
|-----|----------|---|---------------|--------------------|
| A | 107 | 1 | G -> A | SNP (transition) |
| C | 110 | 1 | T -> C | SNP (transition) |
| T | 147 | 1 | C -> T | SNP (transition) |
| T | 204 | 1 | G -> T | SNP (transversion) |
| AT | 211- 212 | 2 | TA -> AT | Substitution |
| A | 223 | 1 | G -> A | SNP (transition) |
| GT | 227-228 | 2 | TA -> GT | Substitution |
| T | 230 | 1 | G -> T | SNP (transversion) |
| T | 237 | 1 | A -> T | SNP (transversion) |
| CCC | 239-241 | 3 | GTA-> CCC | Substitution |
| CAT | 246-248 | 3 | AGC -> CAT | Substitution |
| T | 1132 | 1 | (T)9 -> (T)10 | insersiyon |
| T | 1244 | 1 | (T)2 -> (T)3 | insersiyon |
| T | 1255 | 1 | (T)5 -> (T)6 | insersiyon |
| T | 1288 | 1 | (T)3 -> (T)4 | insersiyon |
| T | 1309 | 1 | (T)4 -> (T)5 | insersiyon |

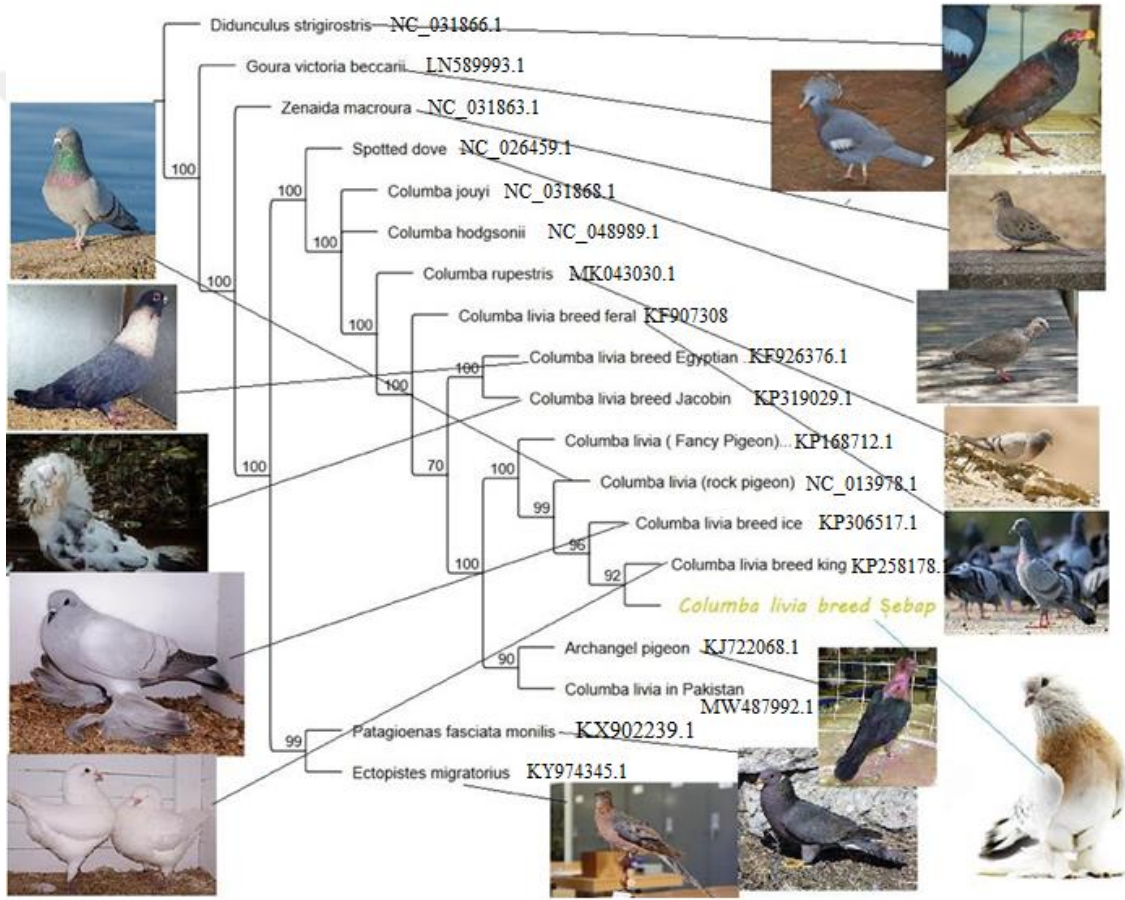
4.5. Filogenetik Analiz

NCBI gen bankasından (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) farklı türlere ait mtDNA sekans verileri indirildi.(Tablo 6.5.).

Tablo 4.7. Gen bankasından alınan türler ve erişim kodları

| Tür ismi | Gen bankası Erişim kodu | Referans |
|---|-------------------------|----------|
| Columba livia breed feral | KF907308 | (71) |
| Columba livia breed Egyptian swift | KF926376.1 | (72) |
| Archangel pigeon | KJ722068.1 | (53) |
| Columba livia (Fancy Pigeon) | KP168712.1 | (61) |
| Columba livia breed king | KP258178.1 | (60) |
| Columba livia breed ice | KP306517.1 | (62) |
| Columba livia breed Jacobin | KP319029.1 | (63) |
| Ectopistes migratorius | KY974345.1 | (73) |
| Columba rupestris | MK043030.1 | (74) |
| Columba livia in Pakistan | MW487992.1 | (75) |
| Spotted döve (<i>Streptopelia chinensis</i>) | NC_026459.1 | (76) |
| Columba jouyi | NC_031868.1 | (74) |
| Columba hodgsonii | NC_048989.1 | (77) |
| Didunculus strigirostris | NC_031866.1 | (74) |
| Goura victoria beccarii | LN589993.1 | (78) |
| Zenaida macroura | NC_031863.1 | (74) |
| Columba livia (rock pigeon) | NC_013978.1 | (37) |
| Patagioenas fasciata monilis | KX902239.1 | (74) |

İndirilen fasta formundaki sekans dizileri tek bir klasörde toplandıktan sonra. Filogenetik açıdan diğer güvercin ırkları arasındaki ilişkiyi tanımlamak için Gen Bankasından elde edilen veriler Geneious Prime programı içerisinde yer alan ‘‘Tree’’ algoritması kullanıldı. Hem Cyt-B hemde D-loop veri setleri Geneious prime programı üzerinden çalışılmıştır. Filogenetik ağaç Komşu Birleştirme methodu (79) ve Tamura–Nei Modeli kullanılarak oluşturulmuştur.(Şekil 6.5.)



Sekil 4.4. Dünya daki Güvercin türleri ile şebap güvercinin filogenetik yakınlıkları.

(Neighbour-joining ağacı, Tamura-Nei Modeli)

4.6. Şebap mtDNA D-loop Gen Bölgesi Pozisyonları

Bu çalışmada bulunan Şebap güvercinlerinin D-loop ve Cyt-B gen bölgeleri ile diğer güvercinlere ait genler incelendiği zaman birçok noktada dizilerin farklılaştığı gözlenmektedir.

Yapılan filogenetik ağaçlandırma çalışmasında Şebap Güvercinin Tablo 6.6'deki belirtilen evcil süslü güvercin ırkları arasındaki benzerliğin *Columba Rupestris* (Tepe Güvercini) gibi yabancı ortamda üreyen güvercin türlerinden tamamen ayrıştığı görülmektedir.

| D-LOOP Nükleotit Pozisyonları | 33-34 | 38 | 41 | 49 | 60 | 65 | 79 | 82 | 84-85 | 88-89 | 100 | 105 | 107 | 110 | 147 | 204 | 211-212 | 223 | 227-228 | 230 | 237 | 239-241 | 246-248 | 1132 | 1244 | 1255 | 1288 | 1309 | |
|---|----------------|------------|--------------|------------|------------|------------|--------------|--------------|----------------|------------|--------------|------------|------------|------------|------------|--------------|----------------|------------|----------------|--------------|--------------|----------------|----------------|------|------|------|------|------|-----------|
| Polimorfizmin tipi | S substitution | transition | transversion | transition | transition | transition | transversion | transversion | S substitution | transition | transversion | transition | transition | transition | transition | transversion | S substitution | transition | S substitution | transversion | transversion | S substitution | S substitution | | | | | | |
| Türler | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | insertion |
| <i>Columba livia</i> (rock pigeon) | CC | A | C | T | T | T | T | T | TA | GC | C | A | G | T | C | G | TA | G | TA | G | A | GTA | AGC | T | T | T | T | T | |
| ŞEBAP - control region ... | AG | G | G | C | C | C | G | A | GT | GC | T | C | A | C | T | T | AT | A | GT | T | T | CCC | CAT | T | T | T | T | T | |
| <i>Columba livia</i> breed feral | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | T | T | T | T | T |
| <i>Columba livia</i> breed Egyptian swift | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | T | T | T | T | T |
| Archangel pigeon | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | T | T | T | T | T |
| <i>Columba livia</i> (Fancy Pigeon) | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . |
| <i>Columba livia</i> breed king | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . |
| <i>Columba livia</i> breed ice | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | T |
| <i>Columba livia</i> breed Jacobin | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | T | T | T | T | T |
| <i>Ectopistes migratorius</i> | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . |
| <i>Columba rupestris</i> | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . |
| <i>Columba livia</i> in Pakistan | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . |
| Spotted dove | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . |
| <i>Columba jayui</i> | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . |
| <i>Columba hodgsonii</i> | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . |

Sekil 4.4. 13 güvercin tipine ait mtDNA D-loop bölgesi haplotipinin Şebap Güvercinine has değişken pozisyonları. Noktalar, nükleotitlerle özdeş pozisyonları temsil etmektedir.

NCBI gen bankasından alınan farklı 13 ırk için Tablo a da gösterildiği gibi Şebap güvercine özgü 28 varyasyon görülmektedir. D-loop bölgesindeki bu varyasyonlardan 1132, 1244, 1255, 1288 ve 1309 gen bölgesindeki önceki çalışmalarda bazı türlerde olduğu gibi Şebap güvercininde oluşan ortak bir insersiyon mutasyonu ile "T" baz eklendiği görülmüştür. *Columba livia* breed feral, *Columba livia* breed Egyptian swift, Archangel pigeon, *Columba livia* breed Jacobin ve *Columba livia* breed ice ırklarında oluşan bu ortak mutasyon (Şekil 5.6)'daki filogenetik ağaç ile uyumludur.

Tablo 4.8. Şebap Güvercin'ine yakın bazı Güvercin ırkları

| | |
|--|--|
| <p>Columba livia breed feral Şehir güvercinleri olarakda bilinir kaya güvercinlerinden köken alsada evcil güvercinlerin torunlarıdır. (71)</p> |  |
| <p>Columba livia breed Egyptian swift Mısır'da sevilerek yetiştirilen evcil bir güvercin ırkıdır.</p> |  |
| <p>Archangel pigeon: Avrupa ve ABD'ye yayılmış süslü bir evcil güvercin ırkıdır(36).</p> |  |
| <p>Columba livia breed Jacobin: köken olarak asyada ortaya çıkmış ve seçici üreme ile geliştirilen süslü bir güvercin ırkıdır. Özellikle Şebap güvercinlerinde bazı varyetelerde kepez diye adlandırılan boyun tüylerindeki kabarma özelliği, çok daha gösterişli yapıda</p> |  |
| <p>Columba livia breed ice: ABD'de yaygın bulunan bir güvercin ırkıdır buz mavisi renginden dolayı bu ismi alan süslü bir güvercin ırkı olup seçici üreme ile yetiştirilmiştir</p> |  |

5. TARTIŞMA

Güvercin yetiştiriciliği tüm dünyada popüler bir hobidir. Çok çeşitli türler için özel ırklar bulunmaktadır. *Columba livia domestica*'ya ait (süslü güvercinler) ve daha önce *C. livia* üzerinde yapılan analizler, dört tek polimorfizm ve değişken tandem tekrarları (VNTR ve STR) lokusları göstermiştir(80). Bizim çalışmamızda ise, D-loop bölgesinin başlangıcı ile VNTR ve STR lokusları arasında yer alan 15571bp ile 17232 bp'ler arasında ki toplamda 1662 bp'lik bir bölgenin Yeni Nesil Dizileme ile (NGS) ile baz dizilimlerini yapılmış ve Şebap güvercinlerdeki hiperdeğişken D-döngüsünün çeşitliliği ortaya koyulmuştur.

Yapılan çalışmalarda sırası ile Ramadan ve ark. (2011)'de 110 Mısır güvercini ırklarında ve 23 Japon yarış güvercinlerinde COI genlerinde 11 mikrosatellite bölgesi Sanger dizi analizi ile dizilenmişler(81). Stefaniuk-Szmukier ve ark. (2021) yılında 18 ırkı temsil eden 80 kuşa ait tüy örnekleri ve altı grup süslü güvercin, yarış ve vahşi güvercin ırklarını moleküler olarak polimorfik bölgeleri incelemişlerdir(80).

Taşkesen ve ark. 2010 yılında Denizli tavuk ırkından kandan mtDNA'larını izole ederek 20 tavuk ve 10 horozun mtDNA D-loop bölgesinin Sanger DNA dizi analizi ile incelemişlerdir.(82) Kan ve ark. Çin'de 2010 yılında yaptıkları çalışmada Kaya güvercini (*Columba livia*)' da mitokondriyal genomun tamamını sanger ile dizilemişlerdir (37). Zhang ve Xiao He 2015 yılında Çin'de yaptıkları çalışmada uzun yıllar boyunca seçici üreme yoluyla geliştirilen süslü bir güvercin olan (*Columba livia* breed ice) Buz güvercinin mtDNA sının tüm genomunu çalışmışlardır (62). Khan ve Arif 2012 yılında Suudi Arabistanda yaptıkları çalışmada (*O. capensis* n = 3, *S. senegalensis* n = 3 ve *S. decaocto* n = 2) ırklarından toplam 8 güvercinde kas dokularından DNA izole ederek sanger metodu ile dizi analizlerini çalışmışlardır(83). Zhang ve ark. 2015 yılında yine Çin'de uzun yıllar boyunca seçici üreme yoluyla geliştirilen evcilleştirilmiş kaya güvercini olan (fancy) Süslü güvercinler üzerine çalışmışlardır (61). Wu ve ark. 2016 yılında Başmelek güvercini (Archangel pigeon)'nun 17.232 bp'lik mitokondriyal DNA'sını dizilemişlerdir (36). Zhang ve ark. 2015 yılında Kral güvercin, (King pigeon) ilk kez kral güvercinin tam mtDNA mitokondriyal genom dizisini çalışmışlardır (60). Wang ve ark. 2016 yılında Çinde önemli bir kuş türü olan Küçük Batağan (*Tachybaptus*

ruficollis)’ da dokudan sanger metodu kit ile yaptıkları izolasyon sonucunda mtDNA dizi analizi yapılmıştır (84). He ve ark. 2015 yılında Çin’de Jacobin pigeon (*Columba livia* breed Jacobin) ilk kez mitekondrial genom yapılmışlardır (63). Liu ve ark. 2020 yılında Çin’de yaptıkları çalışmada Yazılı Zeytin Güvercini (*Columba hodgsonii*)’nin doku örneklerinden sanger ile tüm mtDNA’sını dizilemişlerdir(77).

Bizim çalışmamızda ise toplam 20 adet güvercinin sekonder telek örnekleri alınmıştır. DNA eldesi amacıyla fenol:kloroform:izoamil alkol (FKİ) metodu ile mtDNA izolasyonu yapılmıştır.NC_013978.1 kodlu referans genomda veri kaybı olmaması için mtDNA’yı üst üste çakışacak şekilde yaklaşık 10000bç’ye bölen oligonükleotitler tasarlanarak daha sonra Yeni Nesil Sekans ile mtDNA’nın tüm genomu dizilenmiştir. Bu dizilemenin ardından D-loop ve CYTB gen bölgesi incelenmiştir.

Dünyada yapılan güvercinleri ile ilgili diğer karakterizasyon çalışmalarında He ve ark. 2015’de Jacobin güvercinlerinde mtDNA’nın tüm genomunda A için %30.18, T için %23.98, C için %31.88 ve G için %13.96 baz bileşimi ile mitogenomun toplam uzunluğu 17.245 bç ve A-T (%54.17) açısından zengin bir özellik olmakla beraber 13 protein kodlayan gen, 2 ribozomal RNA geni, 22 transfer RNA geni ve 1 kontrol bölgesi barındırdığı bulunmuştur(63). Yine Zhang ve ark. 2015’ de Kral güvercininin A için %30,14, T için %24,05, C için %31,82 ve G için %13,99 baz bileşimi ile mitogenomun toplam uzunluğu 17.221 bç olduğunu bulmuşlardır ve A–T (%54,22) açısından zengin bir özellik saptamışlardır bununla beraber 13 protein kodlayan gen, iki ribozomal RNA geni, 22 transfer RNA geni ve bir kontrol bölgesi (D-loop bölgesi) barındırdığını belirtmişlerdir. Tüm genlerin dizilimi, güvercinin tipik mitokondriyal genomları ile aynı olduğunu ve Kral güvercininin tam mitokondriyal genom dizisinin daha fazla çalışma için germplazm kaynaklarının önemli bir veri seti olarak hizmet edeceğini vurgulamışlardır(60). Zhang ve ark. 2015 Süslü güvercinlerde yaptıkları çalışmada A için %30,1, T için %24,0, C için %31,9 ve G için %14,0 baz bileşimi ile mitojenomun toplam uzunluğu 17.233 bç olduğu ve A–T (%54,2) açısından zengin bir özellik barındırdığı ayrıca 13 protein kodlayan gen, 2 ribozomal RNA geni, 22 transfer RNA geni ve 1 kodlamayan kontrol bölgesi (D-loop bölgesi) barındırdığını tespit etmişlerdir (61). Bununla birlikte Zhang ve Xiao He 2015 yılında Buz güvercinlerinde yaptıkları çalışmada toplam mtDNA uzunluğu 17.236 bç olduğu A için %30,2, T için %24,0, C için %31,9 ve G için %13,9 baz bileşimi barındırdığı bulunmuştur. A-T (%54,2) açısından

zengin bir özellik olmakla beraber 13 protein kodlayan gen, 2 ribozomal RNA geni, 22 transfer RNA geni ve 1 kontrol bölgesi (D-loop bölgesi) barındırdığı, tüm genlerin dizilimi, güvercinin tipik mitokondriyal genomları ile aynı olduğu saptanmıştır(62).

Bu tez çalışmasında yeni nesil sekans sonuçları ile Şebap Güvercine ait mtDNA'nın 17232 bç olduğu ve D-loop gen bölgesinin baz değişimleri incelendiğinde A: 508 (30.6%), C: 476 (28.6%), G: 221 (13.3%), T: 457 (27.5%) olduğu tüm gen bölgesinin toplamda 1162 (%100) baz olduğu ve GC dağılımının da GC: 697 (41.9%) olduğu görülmektedir.

Yine CYTB gen bölgesinin baz değişimleri incelendiğinde A: 297 (25.9%), C: 394 (34.4%), G: 170 (14.8%), T: 284 (24.8%) olduğu tüm gen bölgesinin toplamda 1145 baz olduğu ve GC dağılımının da GC: 564 (49.3%) olduğu görülmektedir.

Bu iki gen bölgesi için farklılıklar görülmesine rağmen referans genoma benzerlik diğer çalışmalarda da belirtildiği gibi dikkat çekmektedir.

Ayrıca bizim çalışmamızda sekonder teleklerden izolasyonlar yapılmış ve daha ileri ve hassas bir teknoloji olan NGS kullanılmış ve her örnek yaklaşık 100 coverage ile çalışılmıştır. Yalnız Kan ve arkadaşlarının 2010 yılında yaptıkları çalışmada sanger sekans ile bu iki gen bölgesini yaklaşık 15 farklı primer çifti ile incelemişlerdir. Fakat Kan ve arkadaşları aynı bölgeler için bizim ile hemen hemen aynı diziler ve genler elde etmişlerdir. Bu yüzden bu makale verileri referans olarak kullanılmıştır. Yine bizim ile paralel olarak Kan ve arkadaşları bu çalışmalarında bu türün Kaya güvercini, *Columba livia* (Columbiformes: Columbidae)'in genomunun, 17.229 bç uzunluğunda dairesel bir molekül olduğunu ve bir 13 protein kodlayan gen, iki ribozomal RNA geni ve 22 transfer RNA geninin yanı sıra diğer kuşlarınkine çok benzer bir yapı gösteren varsayılan bir kontrol bölgesinden oluşan standart genomu olduğunu belirtmişleridir(37).

Hou ve ark. 2021 yılında Çin'de yaptıkları çalışmada insan ihtiyaçlarını karşılamak için, çeşitli fenotiplere sahip evcil güvercinler üzerinde(*Columba livia*) yapay seçim ve yerel çevresel adaptasyonları incelemişlerdir. İncelenen yedi güvercin ırkı (Avrupa güvercini, Shiqi, Shen King, Taishen ve Silver King), dekoratif çeşitler (Yüksek Uçanlar) ve yerel çeşitler (Tarım güvercini) olarak ayrımlandırılmışlardır. Ayrıca popülasyon içerisindeki filogenetik analizler sonucu Çin'den gelen yerel ırkları ve süs güvercinlerini içerdiğini dolayısıyla tüm ticari çeşitlerin bir arada kümelendiğini göstermişlerdir. Dolayısıyla geleneksel Çin süs güvercininin Tarım güvercininin bir kolu

olduğunu belirtmişlerdir. Homozigotluk (ROH) ve bağlantı dengesizliği (LD) analizleri, üç güvercin türünün genetik çeşitliliğinde önemli farklılıklar olduğunu göstermiştir. Genom tarama analizi, ticari ırkların seçilen genlerinin vücut büyüklüğü, üreme ve tüy rengi ile ilişkili olduğunu ortaya çıkarmıştır. Bu araştırma, güvercinlerin genetik kaynak değerlendirmesi ve genetik iyileştirme için moleküler bir temel sağlamaktadır ve adaptif evrim anlayışının çeşitli doğal ve çevresel özelliklerin etkilerini bütünleştirilmesi gerektiğini öne sürmüşlerdir(85).

Kim ve ark. 2022 yılında Kore güvercinleri üzerine yaptıkları çalışmada tepe güvercini (*C. rupestris*), bir kaya güvercini (*C. livia var. domestica*) ve iki doğu üveyik güvercininin akrabalıklarını araştırmışlardır. Bütün türlerin tam genom dizilimi bizim gibi yeni nesil dizileme ile yaparak popülasyon karakterizasyonlarını tanımlamışlardır. Tüm türlerin genomları dizilenecek ve bizim çalışmamızda da yaptığımız gibi *C. livia* referans genomuna eşlenmiştir. Sekans hizalaması, referans genomla *C. rupestris*'te %96'nın üzerinde özdeşlik ve Büyük üveyik (*S. Orientalis*)'te %94'ün üzerinde özdeşlik gösterdiğini bildirmişlerdir. (GenBank: GCA_001887795.1) Tek nükleotid polimorfizmleri (SNP'ler), eklemeler ve silmeler (InDels) ve yapısal varyasyonlar dahil dizi varyasyonları, türler arası (*Columba - Streptopelia*) varyasyonlarının, cins içi varyasyonlardan (*C. livia - C. rupestris*) yaklaşık dört kat daha yüksek olduğunu göstermişlerdir. İki *Columba* türünden *C. livia var. domestica*, *S. orientalis*'e *C. rupestris*'ten daha yakındır. İkili ardışık olarak Markovian birleştirici (PSMC) demografik tarih analizi, üç türün 105 ve 120 Kya arasında ortak bir popülasyon darboğazına maruz kaldığını ve o zamandan beri, kaya güvercini ve doğu üveyiklerinin etkili popülasyon büyüklükleri arttığını vurgulamışlardır(86).

Şebap güvercininin çalıştığımız mtDNA tüm genom analizleri ile dünyada ki diğer güvercin türlerinin özellikle D-loop ve CYTB gen bölgesi baz dizileri gen bankasından alınarak en yüksek olasılık yöntemine göre filogenetik ağaç çıkarılmıştır.

Şebap güvercininin çalışmada tespit edilen haplotiplerinin diğer önemli güvercin ırkları ile özellikle *Columba livia* (*Fancy Pigeon*), *Columba livia* (*Rock Pigeon*), *Columba livia breed ice*, *Columba livia breed king* haplotipleri ile aynı dal üzerinde yerleştiği görülmüştür. Ayrıca *Didunculus strigirostris*, *Goura Victoria beccanii*, *Zenedia macroura*, *Spotted dove*, *Columba jouyi*, *Columba hodgsonii*, *Columba rupestris*, *Columba livia breed feral*, *Columba livia breed Egyptian swift* *Columba livia breed*

Jacobin,) *Ectopistes migratorius* ve *Patagioenas fasciata monilis* ile, , *Archangel pigeon*, *Columba livia* in Pakistan ile de benzerliklerinin olduğu gör÷lmektedir.

Çalışmamızda aldığımız filogenetik veriler özellikle D-loop ve CYTB gen bölgeleri için Şebap güvercinin Kim ve Hou'nun çalışmalarına paralel olarak genel güvercin ırklarının atası olan ve Türkiye de de yaygın olan kaya güvercini *Columba livia* (rock pigeon) ve süs (kostüm) güvercin ırklarına çok yakın olduğunu göstermektedir. Bu bulgular Hu ve ark. 2021'de yaptıkları çalışmanın sonuçlarında belirttikleri adaptif evrim anlayışının çeşitli doğal ve çevresel özelliklerin etkilerini bütünleştirdiğine dair teorilerine güzel bir örnektir. Ayrıca da Şebap güvercinlerinin morfolojik ve genel yetiştiricilik kriterleri çerçevesinde yapılan yorum ve beklentilerimize uyumlu bir sonuçtur.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Şebap güvercini Şanlıurfa'da sevilerek yetiştirilen güvercinlerden sadece bir tanesidir ve bu güvercin ırkı da kendi içinde varyetelere sahiptir. Bunlar Kürenk (Sabuni, Bozlak), Abalı Miski, Çakmaklı, Gök (mavi), ve Arap (aynakuyruk) olarak morfolojik özelliklerine göre isimlendirilmiştir.

Şanlıurfa'da bireysel olarak güvercin besleyen meraklı bireylerin tercih ettiği güvercinlerden olan Şebap güvercini her ne kadar Şanlıurfa'da yetişmiş çoğalmış olsa da tüm Türkiye coğrafyasına dağılmıştır. Bütün bu yetiştirme ve ıslah çalışmaları bölgede saf bir ırkın korunmasını sağlamış, genetik yönden yapılacak bir filogenetik çalışmadan verimli sonuçlar elde edilmesini mümkün kılmıştır. Bu amaçla bu araştırmada Şanlıurfa bölgesinde yetiştirilen şebap ırkı güvercinlerin filogenetik yapılarını araştırılması Şebap Güvercinleri sekonder telek örnekleri alınarak mtDNA üzerinden sitokrom B ve D-loop bölgesinde çalışma yapılmıştır.

Bölgenin kültürel mirası olan şebap güvercininin ırk tanımı yapılabilmesi için, gerek morfolojik gerek genetik düzeyde kaydedilmesi filogenetik ağaçların yapılması için çalışmamızda bölgede şebap güvercini yetiştiriciliğini yapan, besleyen yetiştiricilerden farklı zamanlarda alınmış 20 adet şebap güvercininin mtDNA izolasyonu yapılması, sekans analizi yapılarak elde edilecek veriler ışığında Şebap Güvercine ait genetik verilerin yorumlanması amaçlanmıştır. mtDNA analizi yapılarak Şebap güvercini üzerinde yapılan bu genetik çalışma Türkiye'de yapılan ilk çalışma özelliği taşımaktadır.

Bu, Şebap güvercininin mitokondriyal genomunda D-loop ve Cyt-B gen bölgelerinin açıklanan ilk tam nükleotid dizisidir. Ayrıca mitokondriyal DNA'nın bu bölgelerinin genom organizasyonunu ve kodon kullanımını ilk kez bu çalışma ile detaylandırılmıştır.

Çalışmadan elde edilen sonuçlar dikkate alındığı zaman Şebap güvercinleri evrimsel açıdan en yakın olan türün Türkiye de yaygın olan kaya güvercini *Columba livia* (rock pigeon) ve süs (kostüm) güvercin ırklarından *Columba livia* (Fancy Pigeon) olduğu benzerlikler olduğu bulunmuştur. Bu çalışma ile Türkiye'de ve Dünya'da Şebap güvercinlerine ait mtDNA'da D-loop 1662 bç ve sitokrom-b genine ait 1145 bç, olduğu gösterilmiş ve bunun referans güvercin ırkları ile uyumlu olduğu görülmüştür. Bu sayede çalışma sonunda Şebap tüm mtDNA genomuna 17.246 bç'lik bölgenin bulunmasıyla

genom bilgisine destek olunmuştur. Soy ağacı ile güvercinler arasındaki ilişkinin tam olarak incelenebilmesi için bu çalışmada bulunan bilgilerin genişletilip daha uzun mtDNA dizilerinin belirlenmesi ve diğer güvercinler ile kıyaslanması gerekmektedir.



7. KAYNAKLAR

1. Shapiro, M.D., Domyan, E.T (2013) Domestic pigeons. *Current Biology*, 23 (8): R302-303.
2. AKIN, A. O. (2017). Çiftlik Hayvanları genetik kaynaklarının korunması ve sürdürülebilir kullanımı küresel stratejilerinin ve Türkiye örneğinin değerlendirilmesi. Syf. 4
3. Carlos Mgl. Ve ark. (2018) *Revista de Geistória e Pré-História*. 2 PAGE (34-37)
4. Gibbs David, Eustace Barnes, John Cox (2001): *Pigeon And Doves A Guide to the Pigeons and Doves of the World* page 175
5. İşçen Y. (2022) Erişim tarihi: 05.12.2022
https://www.guvercin.info/saglik_guvercinlerin_vucut_yapilari.php
6. Anonim (2023) Kaya güvercini Erişim Tarihi 17.06.2023
https://tr.wikipedia.org/wiki/Kaya_g%C3%BCvercini#Kaynak%C3%A7a
7. Baptista, L.F., Martínez Gómez, J.E., Horblit, H.M., 2009. Darwin's Pigeons and the Evolution of the Columbiforms: Recapitulation of Ancient Genes. *Acta Zoológica, Mexicana*,25(3), 719-741.
8. Anonim (2022) Erişim tarihi 8.12.2022 <https://www.deakin.edu.au/about-deakin/news-and-media-releases/articles/2011/mothers-milk-best-for-growing-babies-and-that-includes-baby-pigeons>
9. Silver, Rae. "Prolactin and parenting in the pigeon family." *Journal of Experimental Zoology* 232.3 (1984): 617-625.
10. Biray B. (2019): Mitochondrial DNA analyses of domestic pigeon breeds (*Columba livia domestica*) in Turkey. Master's thesis, Middle East Technical University
11. Bingman V P, Gagliardo A., Hough G. E., Ioale P., Kahn MC, & Siegel JJ.
12. Wallraff HG. (2001): Navigation by homing pigeons: updated perspective. *Ethol Ecol Evol* 13:1-48
13. Özçelik, U. C. (2019) Kırıkkale ilinde yetiştirilen taklacı güvercinlerin morfolojik özelliklerinin belirlenmesi (Master's thesis, Kırıkkale Üniversitesi).
14. ÇELİK, Romedi. "Morphological Characteristics of Şanlıurfa Yapışan (Tumbler) Pigeons (*Columba livia domestica*)."*Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 11.1: 106-112.

15. Mendel, G. (1965). *Experiments in plant hybridisation*. Harvard University Press.
16. Miescher, J. F. (1869). Über die chemische Zusammensetzung der Eiterzellen. Archived from the original on 2007-10-18.
17. Avery, O. T., MacLeod, C. M., & McCarty, M. (1944). Studies on the chemical nature of the substance inducing transformation of pneumococcal types: Inductions of transformation by a desoxyribonucleic acid fraction isolated from *Pneumococcus* type III. *The Journal of Experimental Medicine*, 79(2), 137-158.
18. Sutton, W. S. (1902). On the morphology of the chromosome group in *Brachystola magna*. *Biological Bulletin*, 4(2), 24-39.
19. Boveri, T. (1904). *Ergebnisse über die Konstitution der chromatischen Substanz des Zellkerns*. Jena, Fischer
20. Morgan, T. H. (1910). Sex limited inheritance in *Drosophila*.
21. Muller, H. J. (1927). Artificial Transmutation of the Gene.
22. Franklin, R. E., & Gosling, R. G. (1953). Molecular Configuration in Sodium Thymonucleate. *Nature*, 171(4356), 740-741.
23. Watson, J. D., & Crick, F. H. (1953). Molecular structure of nucleic acids; a structure for deoxyribose nucleic acid. *Nature*, 171(4356), 737-738.
24. Arber, W., & Linn, S. (1969). DNA modification and restriction. *Annual Review of Biochemistry*, 38(1), 467-500.
25. Schatz, G., Haslbrunner, E., & Tuppy, H. (1964). Deoxyribonucleic acid associated with yeast mitochondria. *Biochemical and biophysical research communications*, 15(2), 127-132.
26. Brown W.M. Evolution of animal mitochondrial DNA. In: Nei M, and Koehn RK eds., *Evolution of genes and proteins*. Sinauer Associates Inc.: Sunderland. 1983: 62-88.
27. Demirsoy, A (2001): Yaşamın Temel Kuralları. Genel Biyoloji/Genel Zooloji: Cilt I/Kısım I. 16. Baskı. Meteksan A.Ş. Ankara.
28. Solak, M., Bağcı, H., Şengil, A.Z., Öztaş, S (2000) Moleküler Genetik ve Rekombinant DNA Teknolojisi (Temel Bilgiler). Afyon Kocatepe Üniversitesi, Eğitim Sağlık ve Bilimsel Araştırmalar Vakfı, Yayın No:5, Afyon.
29. Nass, M.M.K., Nass S (1962): Fibrous structures within the matrix of developing chick embryo mitochondria. *Exp. Cell. Res.*, 26: 427-437.

30. Anderson, S., Bankier, A.T., Barrell, B.G., de-Brujin, M.H., Coulson, A.R., Drouin, J., Eperon, I.C., Nierlich, D.P., Roe, B.A., Sanger, F., Schreier, P.H., Smith, A.J., Staden, R., Young, I.G (1981): Sequence and organization of the human mitochondrial genome. *Nature*, 290: 427-465.
31. Wallace, D.C., Zeng, X., Lott, M.T., Shoffner, J.M., Hodge, J.A., Kelley, R.I., Epstein, C.M., Hopkins, L.C (1988) Familial mitochondrial encephalomyopathies (MERRF): genetic, pathophysiological, and biochemical characterization of a mitochondrial DNA disease. *Cell*, 55: 601-610.
32. Klug, W.S., Cummings, M.R (2002): *Essentials of genetics*. 4th ed., Prentice Hall, Upper Saddle River.
33. 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(4): 683-717.
34. 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 Urrial and Argali Sheep. *J. Hered.*, 89 (2): 113-120.
35. Ursing, B.M., Arnason, U (1998) Analyses of mitochondrial genomes strongly support a hippopotamus-whale clade. *Proc. Royal Soc. London Series B-Biological Sci.*, 265 (1412): 2251-2255.
36. Wu, H., Liu, B., Hu, G., Liu, J., Yuan, L., Pan, Y. (2016): The complete mitochondrial genome of Archangel pigeon. *Mitochondrial DNA Part A*, 27 (2): 865–866.
37. Kan, X.Z., Li, X.F., Zhang, L.Q., Chen, L., Qian, C.J., Zhang, X.W., Wang, L (2010) Characterization of the complete mitochondrial genome of the Rock pigeon, *Columba livia* (Columbiformes: Columbidae). *Genetics and Molecular Research*, 9 (2): 1234-1249.
38. Sadava, D.E (1993) *Cell Biology Organelle Structure and Function*. Jones & Bartlett Learning.
39. Danan, C., Sternberg, D., Van Steirteghem, A., Cazeneuve, C., Duquesnoy, P., Besmond, C., Goossens, M., Lissens, W., Amselem, S (1999): Evaluation of paternal mitochondrial inheritance in neonates born after intracytoplasmic sperm injection. *Am. J. Hum. Genet.* 65: 463-473.

40. Zhao, X.B, Li, N., Guo, W., Hu, X., Liu, Z., Gong, G., Wang, A.H., Feng, J., Wu, C.X., (2004). Further evidence for paternal inheritance of mitochondrial DNA in the sheep (*Ovis aries*). *Heredity*, 93 (4): 399-403.
41. Zhao, X.B., Chu, M.X., Li, N., Wu, C.X (2001) Paternal inheritance of mitochondrial DNA in the sheep (*Ovine aries*). *Science in China Series C-Life Sciences*, 44 (3): 321-326.
42. Avise, J.C (1991) Ten unorthodox perspectives on evolution prompted by comparative population genetic findings on mitochondrial DNA. *Annual Rev. Genetic*, (25): 45-69.
43. Bogenhagen D. F (1999): Repair of mtDNA in vertebrates. *Am. J. Hum.Genet.*, 64: 1276-1281.
44. Richter, C (1988) Do mitochondrial DNA fragments promote cancer and aging? *FEBS lett.*, 241: 1-5.
45. Lightowers R.N., Chinnery, P.F., Turnbull, D.M., Howell, N (1997): Mammalian mitochondrial genetics: heredity, heteroplasmy and disease. *TIG*, 13: 450-455.
46. Neckelmann, N., Li, K., Wade, R.P., Shuster, R., Wallace, D.C (1987): cDNA sequence of a human skeletal muscle ADP/ATP translocator: lack of a leader peptide, divergence from a fibroblast translocator cDNA, and coevolution with mitochondrial DNA genes. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 84: 7580-7584.
47. Wallace, D.C (1997) Mitochondrial DNA in aging and disease. *Scientific American*, 277: 40-47.
48. Poulton, J., Macaulay, V., Marchington, D.R (1998) Mitochondrial genetics '98: Is the bottleneck cracked? *Am. J. Hum. Genet.*, 62: 752-757.
49. Özdemir, M., Dogru, Ü (2006) Using of Mitochondrial DNA for Genetic Characterization. *Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Derg.*, 38 (1): 105-111.
50. Yorgancılar, M., Yakışır, E., & Erkoyuncu, M. T. (2015). Moleküler Markörlerin Bitki Islahında Kullanımı. *Bahri Dağdaş Bitkisel Araştırma Dergisi*, 4(2), 1-12.
51. Güleç, T. E., YILDIRIM, A., & Sönmezoğlu, Ö. A. (2010). Bitkilerde markör destekli seleksiyon. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, (2), 67-79.
52. Wenink, P.W., Baker, A.J. and Tilanus, M.G.J (1994) Mitochondrial control region sequences in two shorebird species, the Turnstone and the Dunlin, and their utility in their population genetic studies. *Mol. Bid. Evol.*, 1 (1): 22-31.

53. Meghen, C., Machugh, D.E., Bradley, D.G (2002) Genetic characterization and West African cattle. (Online) <http://www.fao.org/3/t1300t/t1300t0j>. Erişim: 10.12. 2020.
54. Zhang, Y., Lan, H., Shi, L (1993): Animal mitochondrial DNA polymorphism: a valuable tool for evolutionary studies. *Cell Research*, 3: 113–119.
55. Troy, C.S., MacHugh, D.E., Balley, J.F., Magee, D.A., Loftus, T.R., Cunningham, P., Chamberlain, A.T., Sykes, B.C., Bradley, D. G (2001) Genetic evidence for Near-Eastern origins of European cattle. *Nature*, 410: 1088-1091.
56. Hiendleder, S., Kaupe, B., Wassmuthic, R., Janke, A (2002) Molecular analysis of wild and domestic sheep are derived from two ancestral maternal sources: no evidence for contributions from urial and argali sheep. *Journal of Heredity*, 89: 113-120.
57. Luikart, G., Gielly, L., Excoffier, L., Vigne, J.D., Bouvet, J., Taberlet, P (2001): From the Cover: Multiple maternal origins and weak phylogeographic structure in domestic goats. *PNAS*, 98: 5927–5932.
58. Kankılıç, T., Özü, D., Gürler, Ş., Kence, M., Bozkaya, F., Kence, A (2012): Rediscovery of a new mountain gazelle population and clarification of taxonomic status of the genus *Gazella* in Turkey using mtDNA sequencing. *Folia Zool.*, 61 (2): 129–137.
59. Li, C-H., Shi, W., Shi, W-Y (2015) Mitochondrial genome sequence of Egyptian swift Rock Pigeon (*Columba livia* breed Egyptian swift). *Mitochondrial DNA*, 26(3): 479–480.
60. Zhang, R-H., He, W-x, Xu, T (2015a) Characterization of the complete mitochondrial genome of the king pigeon (*Columba livia* breed king). *Mitochondrial DNA*, 26(3): 491–492.
61. Zhang, R-H., Xu, M-J., Wang, C-L., Xu, T., Wei, D., Liu, B-J., Wang, G-H (2015b) The complete mitochondrial genome of the Fancy Pigeon, *Columba livia* (Columbiformes: Columbidae). *Mitochondrial DNA*, 26(1): 162–163.
62. Zhang, R-H., He, W-X (2015c) The complete mitochondrial genome of the ice pigeon (*Columba livia* breed ice). *Mitochondrial DNA*, 26(1): 164–165.
63. He, W-X., Jia, J-F (2015) The complete mitochondrial genome of the Jacobin pigeon (*Columba livia* breed Jacobin). *Mitochondrial DNA*, 26(3): 493–494.

64. Ramadan, S., Yamaura, J., Miyake, T., Inoue-Murayama, M (2013) DNA Polymorphism within LDH-A Gene in Pigeon (*Columba livia*). *Journal of Poultry Sci.*, 50: 194-197.
65. Firyal, S., Awan, A.R., Yaqub, T., Anjum, A.A., Asif, M., Tayyab, M (2014) Molecular Classification of Pakistani Domestic Pigeon using Cytochrome b Gene. *Pakistan Veterinry Journal*, 34(2): 254-256.
66. Lee, J.C-I., Tsai, L-C., Liao, S-P., Linacre, A., Hsieh, H-M (2010): Evaluation of the polymorphic D-loop of *Columba livia* in forensic applications. *Electrophoresis*, 31: 3889–3894.
67. Dybus, A., Knapik, K (2005) A new PCR-RFLP within the domestic pigeon (*Columba livia* var. *domestica*) cytochrome b (MTCYB) gene. *J. Appl. Genet.*, 46(3): 315-317.
68. Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T, 1989: *Molecular Cloning: A laboratory manual*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York
69. Anonim Erişim Tarihi 22.08.2023 <https://jgi.doe.gov/data-and-tools/software-tools/bbtools/bb-tools-user-guide/bbduk-guide/>
70. Katoh K., Misawa, K., Kuma, K. & Miyata, T.2002. MAFFT: Anovel method for rapid multiple sequence alignment based on fastFourier transform.*Nucl. Acids Res.*30: 3059–3066. <https://doi.org/10.1093/nar/gkf436>
71. Li, C.-H., Liu, F., & Wang, L. (2014). The complete mitochondrial genome of the Feral Rock Pigeon. *Mitochondrial DNA*, 25(5), 383–384.
72. Li, C. H., Shi, W., & Shi, W. Y. (2015). Mitochondrial genome sequence of Egyptian swift Rock Pigeon (*Columba livia* breed Egyptian swift). *Mitochondrial DNA*, 26(3), 479–480.
73. Guiry, E. J., Orchard, T. J., Royle, T. C., Cheung, C., & Yang, D. Y. (2020). Dietary plasticity and the extinction of the passenger pigeon (*Ectopistes migratorius*). *Quaternary Science Reviews*, 233, 106225.
74. Soares, A. E., Novak, B. J., Haile, J., Heupink, T. H., Fjeldså, J., Gilbert, M. T. P., ... & Shapiro, B. (2016). Complete mitochondrial genomes of living and extinct pigeons revise the timing of the columbiform radiation. *BMC Evolutionary Biology*, 16(1), 1-9.

75. Tayyub, M., Ali, S., Javid, A., & Imran, M. (2021). Prevalence and diversity of ectoparasites in Wild Rock Pigeon (*Columba livia*) in Punjab region, Pakistan. *Brazilian Journal of Biology*, 83
76. Waso, M., Khan, S., & Khan, W. (2018). Development and small-scale validation of a novel pigeon-associated mitochondrial DNA source tracking marker for the detection of fecal contamination in harvested rainwater. *Science of the Total Environment*, 615, 99-106
77. Liu, H. Y., Sun, C. H., Zhu, Y., & Zhang, Q. Z. (2020). Complete mitogenomic and phylogenetic characteristics of the speckled wood-pigeon (*Columba hodgsonii*). *Molecular Biology Reports*, 47, 3567-3576.
78. Besnard, G., Bertrand, J. A., Delahaie, B., Bourgeois, Y. X., Lhuillier, E., & Thébaud, C. (2016). Valuing museum specimens: high-throughput DNA sequencing on historical collections of New Guinea crowned pigeons (*Goura*). *Biological Journal of the Linnean Society*, 117(1), 71-82.
79. Saitou, N., Nei, M. 1987. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*.4(4):406-425.10.1093/oxfordjournals.molbev.a040454.
80. Stefaniuk-Szmukier, M., Andres, K., Piórkowska, K., & Ropka-Molik, K. (2021). Low diversity of mitochondrial DNA in fancy pigeons (*Columba livia*) revealed by partial D-loop sequencing. *Structure*, 3, H9.
81. Ramadan, S., Abe, H., Hayano, A., Yamaura, J., Onoda, T., Miyake, T., & Inoue-Murayama, M. (2011). Analysis of genetic diversity of Egyptian pigeon breeds. *The journal of poultry science*, 48(2), 79-84.
82. Taşkesen, H. O. (2010). *Denizli tavuk popülasyonunda mitokondriyal DNA D-LOOP polimorfizmi* (Master's thesis, Fen Bilimleri Enstitüsü).
83. Khan, H. A., & Arif, I. A. (2013). COI barcodes and phylogeny of doves (Columbidae family). *Mitochondrial DNA*, 24(6), 689-696.
84. Wang, Y. C., Zou, Y., Sun, X. M., Gong, J., Huang, L., & Jing, M. D. (2017). The complete mitochondrial genome sequence of the little grebe (*Tachybaptus ruficollis*). *Genes & Genomics*, 39, 37-46.

85. Hou, H., Wang, X., Ding, W., Xiao, C., Cai, X., Lv, W., ... & Yang, C. (2022). Whole-genome sequencing reveals the artificial selection and local environmental adaptability of pigeons (*Columba livia*). *Evolutionary Applications*, 15(4), 603-617.
86. Kim, J. A., Choi, B. S., Kim, N. S., Kang, S. G., Park, J. Y., Yeo, Y. G., ... & An, J. (2022). Whole-genome sequencing revealed different demographic histories among the Korean endemic hill pigeon (*Columba rupestris*), rock pigeon (*Columba livia* var. *domestica*) and oriental turtle dove (*Streptopelia orientalis*). *Genes & Genomics*, 44(10), 1231-1242.

