

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

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**TEK TEK DAĞLARI BÖLGESİNDE YETİŞTİRİLEN İVESİ
KOYUNLARINDA MİTOKONDRIYAL ND1 (NADH DEHİDROGENAZ
ALTÜNİTE 1) VE ND2 (NADH DEHİDROGENAZ ALTÜNİTE 2)
GENLERİNİN MOLEKÜLER GENETİK ANALİZİ**

Mahmut CANAN

ZOOTEKNİ ANABİLİM DALI

**ŞANLIURFA
2021**



T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
YÜKSEK LİSANS
TEZ ONAY SAYFASI

Dr. Öğr. Üyesi Selahaddin KİRAZ danışmanlığında, Mahmut CANAN'ın hazırladığı “**Tek Tek Dağları Bölgesinde yetiştirilen ivesi koyunlarında Mitokondriyal ND1 (NADH dehidrogenaz altünite 1) ve ND2 (NADH dehidrogenaz altünite 2) Genlerinin Moleküler Genetik Analizi**” konulu bu çalışma ... /.... /2021 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Harran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Zootečni Anabilim Dalı'nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

☐ Oybirliğiyle / ☐ Oy çokluğu ile

İmza

Danışman	: Dr. Öğr. Üyesi Selahaddin KİRAZ	
Üye	: Dr. Öğr. Üyesi Gonca ÖZMEN ÖZBAKIR	
Üye	: Dr. Öğr. Üyesi Hasan KOYUN	

Bu tezin Zootečni Ana Bilim Dalında yapıldığını ve enstitümüz kurallarına göre düzenlendiğini onaylarım.

Doç. Dr. İsmail HİLALİ
Enstitü Müdürü

Bu çalışma: HÜBAK Tarafından Desteklenmiştir.

Proje No : 19304

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

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
ŞEKİLLER DİZİNİ	iv
ÇİZELGELER DİZİNİ	v
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	vi
1. GİRİŞ	1
1. 1. Koyun Taksonomisi ve Evcilleştirilmesi	3
1. 2. İvesi Koyunu	5
1. 3. Mitokondriyal DNA	6
1. 4. NADH Dehydrogenase (Ubiquinone) Activity GO:0008137	8
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	10
3. MATERYAL ve YÖNTEM	17
3.1. Materyal	17
3.2. Yöntem	17
3.2.1. Genomik DNA izolasyonu	17
3.2.2. DNA agaroz jel elektroforez	18
3.2.3. Primerler	19
3.2.4. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR)	20
3.2.5. DNA dizileme	21
3.3. Genetik ve Biyoinformatik Analizler	21
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA	23
4.1. Genomik DNA İzolasyonu	23
4.2. ND1 ve ND2 Gen Bölgelerinin PCR Sonuçları	23
4.3. Biyoinformatik Analizler	24
4.4. Evcil Koyun İle Yabani Koyunlar Arasında Genetik İlişkiler	30
5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER	34
KAYNAKLAR	36
ÖZGEÇMİŞ	40

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

TEK TEK DAĞLARI BÖLGESİNDE YETİŞTİRİLEN İVESİ KOYUNLARINDA MİTOKONDRIYAL ND1 (NADH DEHİDROGENAZ ALTÜNİTE 1) VE ND2 (NADH DEHİDROGENAZ ALTÜNİTE 2) GENLERİNİN MOLEKÜLER GENETİK ANALİZİ

Mahmut CANAN

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

**Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Selahaddin KIRAZ
Yıl: 2021, Sayfa:40**

Bu çalışmada, Şanlıurfa yöresi Tek Tek dağlarında yetiştirilen ve akrabalık ilişkisi bulunmayan İvesi ırkı koyunlarda mitokondriyal ND1 (*NADH dehidrogenaz altünite 1*) ve ND2 (*NADH dehidrogenaz altünite 2*) genlerinde moleküler analizler yapılmıştır. ND1 ve ND2 proteinleri, NADH'den elektron transferini katalize eden mitokondriyal membran solunum zinciri NADH dehidrogenazın (Kompleks I) çekirdek alt birimleridir. ND1 proteini ND1 geni, ND2 proteini ND2 geni tarafından kodlanır. Koyunlarda mitokondriyal ND1 proteini (NP_008406) 318 amino asitten, ND2 proteini (NP_008407) 347 amino asitten oluşmaktadır. Koyun ND1 geni 954 bp, ND2 geni 1041 bp uzunluğundadır (ND1 Gen ID: 808249, Lokasyon: 2745-3699; ND2 Gen ID: 808250, Lokasyon: 3910-4951). Koyunlardan alınan kan örneklerinin DNA izolasyonu, genomik DNA izolasyon kiti kullanılarak yapılmıştır. Yapılan PCR çalışmalarında ND1 ve ND2 genlerinde sırasıyla, 512 bp ve 931 bp uzunluğundaki ürünler elde edilmiştir. Mitokondriyal ND1 ve ND2 geninde DNA sekans analizi yapılmıştır. DNA dizi analizine göre, İvesi koyun ırkında ND1 ve ND2 genlerinin polimorfik olduğu ve bu gen üzerinde sırasıyla; G474A, G687A ve T273C, C519T, C558T mutasyonları tespit edilmiştir. Koyun mitokondriyal ND1 ve ND2 protein modelleri incelendiğinde, mutasyonların (silent) proteinin yapısı ve özelliğinde önemli değişimlere neden olmadığı tespit edilmiştir. Koyunlarda ilgili genomik bölgelere yönelik çalışmalarda mutasyonların araştırılmasının yararlı olacağı düşünülmektedir.

ANAHTAR KELİMELEER: İvesi, mtDNA, ND1, ND2, gen

ABSTRACT

MSc Thesis

MOLECULAR GENETIC ANALYSIS OF MITOCHONDRIAL ND1 (NADH DEHYDROGENASE SUBUNIT 1) AND ND2 (NADH DEHYDROGENASE SUBUNIT 2) GENES OF AWASSI SHEEP IN TEK TEK MOUNTAINS REGION

Mahmut CANAN

**Harran University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Animal Science**

**Supervisor : Assist. Prof. Dr. Selahaddin KIRAZ
Year: 2021, Page:40**

In this study, molecular analyzes of mitochondrial ND1 (NADH dehydrogenase subunit 1) and ND2 (NADH dehydrogenase subunit 2) genes were performed in Awassi sheep bred in Tek Tek mountains of Şanlıurfa region. The ND1 and ND2 proteins are core subunits of the mitochondrial membrane respiratory chain NADH dehydrogenase (Complex I), which catalyzes electron transfer from NADH. The ND1 protein is encoded by the ND1 gene, and the ND2 protein is encoded by the ND2 gene. In sheep, mitochondrial ND1 protein (NP_008406) consists of 318 amino acids, ND2 protein (NP_008407) consists of 347 amino acids. The sheep ND1 gene is 954 bp and the ND2 gene is 1041 bp long (ND1 Gen ID: 808249, Location: 2745-3699; ND2 Gen ID: 808250, Location: 3910-4951). DNA isolation of blood samples from sheep was performed using a genomic DNA isolation kit. In the PCR studies, 512 bp and 931 bp long products were obtained in the ND1 and ND2 genes, respectively. DNA sequence analysis was performed in the mitochondrial ND1 and ND2 gene. According to DNA sequence analysis, ND1 and ND2 genes are polymorphic in Awassi sheep breed and on this gene, respectively; G474A, G687A and T273C, C519T, C558T mutations have been detected. When sheep mitochondrial ND1 and ND2 protein models were examined, it was determined that mutations (silent) did not cause significant changes in the structure and properties of the protein. It is thought that it would be useful to investigate mutations in studies on relevant genomic regions in sheep.

KEY WORDS: Awassi, mtDNA, ND1, ND2, gene

TEŞEKKÜR

Tez konusu seçiminde, tezin uygulanması ve çalışma döneminde yardımlarını esirgemeyen danışmanım sayın Dr. Öğr. Üyesi Selahaddin KİRAZ' a ve tez çalışmam boyunca bana yardımcı olan yüksek lisans ve doktora öğrencisi arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım.



ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 1. 1. İvesi Koyunu ve Kuzularına Ait Görüntü	6
Şekil 1. 2. Omurgalı mtDNA Şeması	8
Şekil 1. 3. Reaksiyon Kataliz Gösterimi	8
Şekil 1. 4. NADH dehydrogenase (ubiquinone) aktivitesi	9
Şekil 3. 1. RefSeq (NC_001941) <i>Ovis aries</i> ND1 Geni Dizi Bilgisi ve Primerler	19
Şekil 3. 2. RefSeq (NC_001941) <i>Ovis aries</i> ND2 Geni Dizi Bilgisi ve Primerler	19
Şekil 4. 1. İvesi Koyunu DNA örnekleri (ladder 1 kb, Thermo)	23
Şekil 4. 2. İvesi Koyunu ND1 (512 bp) ve ND2 (931 bp) genleri PCR fragmentleri (ladder 100 bp, Thermo)	24
Şekil 4. 3. Evcil koyun ND1 protein modeli	28
Şekil 4. 4. Evcil koyun ND2 protein modeli	29
Şekil 4. 5. ND1 genine göre koyunlar arasında filogenetik ilişkiler	31
Şekil 4. 6. ND2 genine göre koyunlar arasında filogenetik ilişkiler	32

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa No

Çizelge 1. 1. Koyun ve Keçi Taksonomik Sınıflandırması	3
Çizelge 3. 1. PCR bileşenleri	20
Çizelge 3. 2. PCR Şartları	20
Çizelge 3. 3. Koyunlarda Farklı Türlerle Ait Genbank Referans Kodları	21
Çizelge 3. 4. Omurgalı Mitokondriyal DNA'ya Ait Kodon-Aminoasit Karşılaştırması	22
Çizelge 4. 1. ND1 Sekans Dizi Bilgisi ve Tespit Edilen Mutasyonlar	25
Çizelge 4. 2. ND2 Sekans Dizi Bilgisi ve Tespit Edilen Mutasyonlar	25
Çizelge 4. 3. ND1 = DNA → Protein Çevirisi	26
Çizelge 4. 4. ND2 = DNA → Protein Çevirisi	27
Çizelge 4. 5. İvesi koyunlarında ND1 ve ND2 geni mutasyon bölgeleri	27
Çizelge 4. 6. ND1 genine göre koyunlar arasında genetik uzaklıklar	31
Çizelge 4. 7. ND2 genine göre koyunlar arasında genetik uzaklıklar	32

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

µl	Mikrolitre
A	Adenin
ATPaz	Adenozin trifosfataz
bp	Baz çifti
C	Sitozin
COX1	Sitokrom c oksidaz 1
COX2	Sitokrom c oksidaz 2
COX3	Sitokrom c oksidaz 3
Cyt-b	Sitokrom-b
dk	Dakika
D-loop	Kontrol bölgesi
DNA	Deoksiribonükleik asit
dNTP	Dinükleotittrifosfatlar
EDTA	Etilendiamin tetraasetik asit
g	Gram
G	Guanin
K	Potasyum
Kb	Kilobaz
MAS	Marker Destekli Seleksiyon
ml	mililitre
mtDNA	Mitokondriyal DNA
NADH	Nikotinamid adenin dinükleotit
NCBI	National Center for Biotechnology Information
ND1	Nadh Dehidrogenaz Altünite 1
ND2	Nadh Dehidrogenaz Altünite 2
ND3	Nadh Dehidrogenaz Altünite 3
ND4	Nadh Dehidrogenaz Altünite 4
ND4L	Nadh Dehidrogenaz Altünite 4L
ND5	Nadh Dehidrogenaz Altünite 5
ND6	Nadh Dehidrogenaz Altünite 6
ng	Nanogram
NJ	Neighbour-Joining
nM	Nanomol
OVS	Ovis
PCR	Polimeraz zincir reaksiyonu
pmol	Pikomol
RNA	Ribonükleik asit
RNase	Ribonükleaz
Rpm	Dakika başına devir sayısı
rRNA	Ribozomal RNA
sn	Saniye
SNP	Tek nükleotit polimorfizmi
T	Timin
TBE	Tris-Borat-EDTA
T _m	Erime noktası
tRNA	Taşıyıcı RNA
U	Urasil

1. GİRİŞ

Hayvanların 10 bin yıl öncesinden günümüze insanlar tarafından farklı amaçlar için evcilleştirilmeye başlandığı andan itibaren, çiftlik hayvanlarının farklı çevre koşulları altında yetiştirilmesi sonucu değişen çevre koşullarına adaptasyon sağlayabilme yetenekleri gelişmiştir. Adaptasyon ile birlikte, mutasyon, gen göçü, damızlık seçimi gibi süreçler yerel popülasyonlarda büyük ölçüde genetik çeşitliliği meydana getirmiştir. (Groeneveld ve ark., 2010). Ancak 200 yılı aşkın bir süredir yetiştiricilerin damızlıkta kullanacakları hayvanları benzer özelliklere göre seçmesi belirgin ırkların oluşumuna yol açmıştır. Çiftlik hayvanlarında verimliliğin artırılması amacıyla uygulanan seleksiyon çalışmaları, kantitatif genetikte uygulanan metotların pratiğe aktarılmasıyla birlikte hız kazanmıştır (Ajmone-Marsan ve the GLOBBALDIV Consortium, 2010).

Günümüzde çoğu çiftlik hayvan türleri ve bu türler içindeki birçok ırk yoğun melezleme uygulamasına ve entansif yetiştiriciliğe maruz kalmaktadır. Gelişmiş ülkelerde yetiştirildikleri çevre şartlarına adaptasyon sağlamış, hastalıklara dirençli yerel ırklar yerine ticari ırkların yetiştiriciliği yapılmaktadır (Perera ve ark., 2005). Benzer uygulamalar Türkiye’de de görülmektedir. Nitekim ticari kaygılardan dolayı yabancı ırkların tercih edilmesi, kontrolsüz yapılan çiftleştirmeler, Türkiye yerli koyun ırklarının sayısının gün geçtikçe azalmasına ve bazı ırkların da yok olmasına ve tehlike altına girmesine neden olmuştur (Ertuğrul ve ark., 2009).

Bilindiği üzere Türkiye son 50 yıldır çiftlik hayvanları genetik kaynaklarında önemli kayıplar yaşamıştır. Bundan dolayı çevresel, ekonomik ve sosyal gelişimlerin birçok farklı sektörde, farklı seviyelerde hayvancılıktaki verim yönlü artışı zorunlu hale getirmiştir. Bu gelişmelere neticesinde az masraflı fakat düşük verime sahip yerli ırkların yerine daha yüksek verimli ve az girdili ırklar tercih edilmeye başlanmıştır. Yapılan bu ırk değişimleri günümüzde hızla devam etmektedir ve farklı türlerde yerli genotiplerin kaybedilmesiyle sonuçlanmaktadır (Ertuğrul ve ark. 2010).

Türkiye'deki koyun varlığının da %93,9'u yerli koyun ırklarımızdan oluşmaktadır. Türkiye'deki yetiştiriciliği yapılan toplam yerli koyun ırkları arasında ön sıralarda olan Karaman koyun ırkları, Akkaraman, Morkaraman ve Güney Karaman ile bunların melezleri olan tiplere ayrılmaktadır. Bunlar arasında yer alan Morkaraman ırkı, Akkaraman koyun ırkı popülasyonundan sonra ikinci en büyük grubu oluşturmaktadır (Emsen, 1982; Soysal ve Özkan, 2002; Aksakal ve ark., 2009). Türkiye, koyun yetiştiren ülkeler arasında mevcut koyun varlığı bakımından önemli ülkelerden biri olsa da koyunculuk alanında birim başına elde edilen verim bakımından diğer ülkelerin gerisinde bulunmaktadır. Türkiye'de koyun yetiştiriciliği meraya dayalı bir sistemle yapılmaktadır. Son yıllarda meraların birçok farklı amaçlarla kullanılması ile birlikte, mera ıslah çalışmalarının da yeterli seviyede yapılmamasından dolayı meralardan yeteri kadar yararlanılamamaktadır. Yerli koyun ırklarımızda çeşitli verim yönünden genetik anlamda yapılan ıslah çalışmalarında şuana kadar et, süt, döl verimi ve yapağı yönünden farklı tipler oluşturulmaya çalışılsa da çevre koşullarına adaptasyonunda sorunlar yaşanmaktadır (Akça, 2016).

Ülkemizde koyun yetiştiriciliği, başka amaçlar için kullanılmayan doğal meraların ve yaylaların, tarımsal olarak kullanılan arazilerin hasat sonrası atıklarının, tarımsal olarak atıl durumda olan arazilerin değerlendirilmesinde ve kullanılmasında hayvancılık açısından önemli bir yer tutmaktadır. Ayrıca insanların besinsel ihtiyaçlarının karşılanması, istihdam yaratması, ihracat gelirlerinin artırılması ve endüstri hammadde ihtiyaçlarının karşılanması gibi daha birçok alanda da ülke ekonomisine önemli katkılar sunmaktadır. Galal, (2005) tarafından bildirildiğine göre dünyada 1314 koyun ırkı mevcuttur. Bu ırklardan Akkaraman, Dağlıç, İvesi ve Morkaraman sırasıyla %47, %16, %1,6 ve %20 olmak üzere Türkiye'deki yağlı kuyruklu koyun ırkları içerisinde yer almaktadır. Bunun dışında İmroz, Karakaya, Kıvırcık ve Sakız ırkı koyunlarımız ise ince kuyruklu koyun ırklarımız arasında yer almaktadır (Vural ve ark., 2014).

Türkiye iklimi, topoğrafyası ve bitki örtüsü koyun yetiştiriciliği açısından oldukça elverişli bir ülkedir. Ülkemizde farklı çevresel şartlara uyum sağlamış birçok yerli koyun ırkı ve tipi bulunmaktadır. Bu avantajlar nedeniyle çiftlik hayvanları

arasında koyun türü, ekonomik ve önemli bir genetik kaynak olma açısından ülkemiz için büyük bir potansiyel barındırır (Karaca ve Cemal, 1998).

1. 1. Koyun Taksonomisi ve Evcilleştirilmesi

Koyunların sınıflandırılmasında farklı yaklaşımlar söz konusu olmakla birlikte yeni bir sınıflandırma da yaban koyunun sahip olduğu kromozom sayısı ve coğrafi dağılımına göre yapılan sınıflandırmadır. Nadler ve ark., (1973) koyunları Muflon, Urial, Argali, Amphiberingian dall, Bighorn ve Snow olmak üzere farklı gruplara ayırmıştır. Bunlardan Snowlar (*Ovis nivicol*) $2n=52$, Muflonlar (*Ovis musimon/orientalis*), Bighorn (*Ovis canadensis*) ve Amphiberingian dall (*Ovis dalli*) $2n=54$, Argali (*Ovis ammon*) $2n=56$ ve Urial (*Ovis vignei*) ise $2n=58$ kromozoma sahiptirler. Evcil koyun ve keçiler, yapılan sınıflandırma ve moleküler genetik araştırmaları neticesinde artiodactyla sınıfından Bovidae ailesi içerisinde bulunmaktadır (Gatesy ve ark., 1992). Koyunların (*Ovis aries*) ve keçilerin (*Capra hircus*) hayvanlar alemindeki yeri Çizelge 1.1’de verilmiştir.

Çizelge 1. 1. Koyun ve Keçi Taksonomik Sınıflandırması (NCBI, 2021)

Kingdom (Alem)	Hayvanlar Animale
Phylum (Şube)	Kordahlılar (Sırtı İplikliler) Chordata
Subphylum (Alt Şube)	Omurgalılar Vertebrata
Clasis (Sınıf)	Memeliler Mamalia
Ordo (Takım)	Tırnaklılar Ungulata
Subordo (Alt Takım)	Çift Tırnaklılar Artiodactyla
Grupia (Grup)	Geviş Getirenler Ruminantia
Familia (Aile)	Boş Boynuzlular Cavinornia
Subfamilia (Alt aile)	Koyun-Keçi Alt Familyası Ovinae/Caprinadae
Genus (Cins)	Yabani ve Evcil Koyun-Keçi Ovis/Capra

İnsanlık tarihinde hayvan yetiştirme, bitki yetiştirmeden çok önce ortaya çıkmıştır. İnsanlar, başlangıçta yabani hayvan sürülerini barınaklarda tutmuş ve onları doğal düşmanlarından ve uygun olmayan iklim koşullarından korumuşlardır. Daha sonra, çiftleştirilmelerde eş seçimlerini de yönlendirilerek evcilleştirilme süreci gelişmiştir.

Koyun tür ve alttürlerinin evrimsel süreçte nasıl oluştukları, nasıl evcilleştirildikleri konusunda arkeolojik ve moleküler çalışmalar sürdürülmüş ve çalışmalar devam etmektedir. İnsanlık tarihinin 13 000 yıllık geçmişinde gelişmeler içerisindeki en önemlisi hayvanların evcilleştirilmesidir (Diamond, 2002). Diğer hayvanlara nazaran koyun ve keçilerin farklı şekilde birçok özellikleri nedeniyle insanlık tarihinde oldukça önemli bir yere sahip olduğu bilinmektedir. Bulundukları her yere kolaylıkla uyum sağlayabilmeleri ve et, süt, yapağı ve deri gibi farklı ürünlerin elde edilebildiği bu hayvanlar hem protein ihtiyacının karşılanması hem de gelir kaynağı olarak beslenmektedir. “Evcilleştirme” insanlık tarihinde bir dönüm noktası olarak görülmekte ve yaklaşık 11000 yıl öncesine kadar Neolitik çağda Verimli Hilal ve ya Bereketli Hilal (Fertile Crescent) olarak bilinen bölgelerde başladığı düşünülmektedir. Ayrıca bu hayvanlar din, ekonomi, tarım ve kültürel anlamda da insanlık tarihinde çok önemli rollere sahip olmuştur (Zeder, 2008; Zeder ve Hesse, 2000). Muflon, Argali ve Urial gibi yabani koyun gruplarının ise modern ırklar olarak kabul edilen evcil koyun ırklarının atası olduğu ve birçok ırk üzerinde katkılarının olduğu yapılan çalışmalar ile tespit edilmiştir (Zeuner, 1963; Ryder, 1984).

Türkiye, her çiftlik hayvanı çeşitliliği konusunda zengin genotiplere sahiptir. Bunlar içerisinde en çok dikkat çeken ve işlev gören grup ise koyun-keçi varlığıdır. Fakat son yıllarda bu genetik çeşitliliğin azalmasıyla beraber yerli genetik kaynakların korunması önemli bir konuma gelmiştir. Yerli gen kaynaklarımızın korunması için yapılan çalışmalar neticesinde, bütün sürülerde kayıt tutma, yetiştirici birliklerinin kurulması, ırklara ait genetik bilgilerin elde edilmesi ve buna bağlı olarak seleksiyon çalışmaları amacıyla verim yönleri belirlenmelidir. Yapılacak çalışmalar ile seleksiyon kriterleri belirlenmeli ve bu konuda daha fazla çalışmanın yapılması elzemdir (Soysal ve ark., 2003a). Yerli ırklardaki genetik çalışmalar

neticesinde, ırk içi ve ırklar arası farklılıkların tespit edilmesiyle beraber bu ırkların genetik yapıları belirlenerek bu sürecin daha verimli yönetilmesi, başarılı olunması için bir zorunluluktur (Soysal ve ark., 2003b).

1. 2. İvesi Koyunu

İvesi, Dağlıç ve Karaman koyun ırkları yağlı kuyruklu koyunlarımız içerisinde en önemli olanlarıdır. İvesi koyun ırkının yayılma alanı ve anavatanı olarak bilinen Fırat ve Dicle nehirlerinin arasında kalmış bölge yani bereketli hilal olarak bilinen Mezopotamya Bölgesinde olan Şanlıurfa, Gaziantep, Hatay ve Mardin illerinde İvesi koyunu yetiştiriciliği yapılmaktadır. İvesi koyunları, yurdumuzun Suriye sınırı boyunca çöl gibi alçak ve kurak ovalarda yetiştiriciliği yapılmaktadır. İvesi koyunları yabancı kaynaklarda adı Awassi olarak geçmektedir. Awassi, İsrail ve ona komşu olan Kuzey Afrika ile Arap ülkelerinde yetiştirilmekte olup her yıl bu koyunların yayılma alanı daha da çoğalmaktadır (Sönmez, 1974). İvesi koyun ırkı farklı iklim, bitki örtüsüne ve her bölgeye adapte olmasına rağmen bazı bölgelerimizde koyun ırkı olarak ince kuyruklu tercih edilmekte bunun nedeni ise bölgedeki insanların et kalitesi yönünden alışkın olmadıklarından dolayı İvesi koyun ırkı yetiştiriciliği tercih edilmemektedir. İvesi ırkı koyunlarının baş kısmı kirli sarıdan kahverengine veya siyah renkli olup, vücutları kahve renkli, yapağları kirli ve yağlı kuyrukludurlar. Kuyruk yapıları; yuvarlak, uç kısımları yukarı doğru kıvrımlı bir şekil alarak oyukluk meydana getirir ve oyukluğun bittiği kısımda yağlı bir kuyruk ile tek bir parça şeklinde görülmektedir. Ayak yapıları ise genelin vücutla aynı renkte olup diz ve toynak üstünde belirgin bir şekilde kahverengindedir (Sönmez, 1974).

İvesi koyunlarında ergin canlı ağırlık dişilerde 35-45 kg, erkeklerde ise 55-60 kg gelmektedirler. Yaşı büyük veya sağımı uzun yıllar devam eden ivesi koyunların etinde bulunan kas lifleri kalın ve boyları uzundur. Et lifleri arasında yağ toplanması azdır bundan dolayı etleri çok kaliteli sayılmaz. Ancak bölgede yağsız et tercih edildiğinde ivesi yetiştiriciliği ön plana çıkmaktadır (Sönmez, 1974). Önemli bir yerli koyun ırkımız olan İvesi koyunları daha çok Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde yetiştirilmektedir. İvesi ırk koyunlarda adaptasyon yeteneğinin oldukça yüksek olması nedeniyle Amerika Birleşik Devletleri, Yeni Zelanda, İspanya, İsrail,

Ortadoğu Ülkeleri, İngiltere, Avustralya ve Afrika ülkelerinde saf ırk çalışmalarında ve melezleme çalışmalarında yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Bu çalışmalar içerisindeki en iyi örneklerden biri 1940 yılında Türkiye ve Ortadoğu ülkelerinden İsrail'e ithal edilen İvesi koyunlarının yapılan çalışmalara neticesinde bir laktasyonda yaklaşık 300–500 litre civarında süt verebilen sürülerin elde edilmesidir (Gootwine and Pollott, 2000, Fuente ve ark. 2006). Şanlıurfa ilinde koyun yetiştiriciliği aile işletmeleri şeklinde olup, bölgede yetiştirilen koyunlar iklimin durumuna göre merada geceleyerek sabahları sağıl ve kuzuların beslenmesi için işletmeye getirilirler. Sağılan ve dinlenen koyunlar tekrar meraya çıkarılırlar. İklimin ve mera vejetasyonunun uygun olduğu Mart-Nisan başlangıcı dönemleri ile vejetasyonun yetersiz bulunduğu Eylül ayına kadar ilave yem vermeksizin mera şartlarında yetiştiricilik yapılmaktadır (Tatlı, 2021). İvesi koyunlarına ait bir görüntü Şekil 1.1.'de verilmiştir.



Şekil 1. 1. İvesi Koyunu ve Kuzularına Ait Görüntü

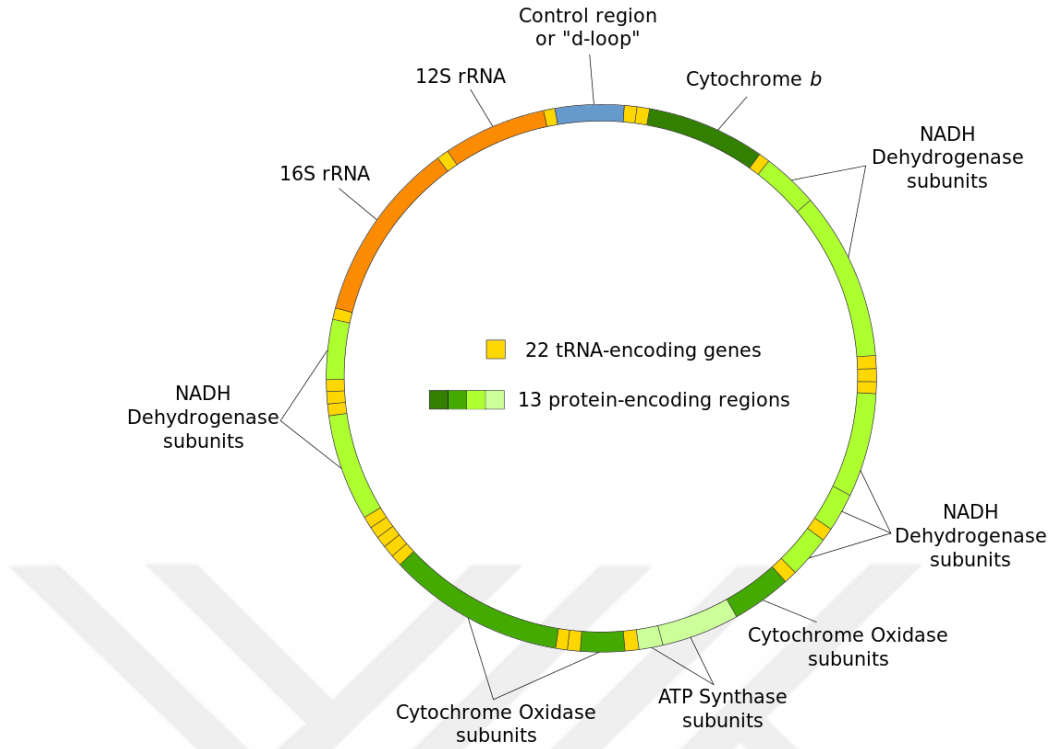
1. 3. Mitokondriyal DNA

Mitokondriyal DNA, populasyonlar arası/içi genetik uzaklıkların hesaplanması ve tür orjinlerinin tespit edilmesi, populasyonların biyocoğrafik dağılımlarının belirlenmesi, anneye ait kalıtım modellerinin izlenmesi, populasyonlarda genetik farklılıklarından yararlanarak filogenetik ilişkilerin belirlenebilmesi için çalışmalarda belirteç görevi görmektedir (Naderi ve ark., 2007).

Evcil koyun 1 çift cinsiyet kromozomu, 26 çift otozomal kromozom olmak üzere $2n=54$ kromozoma ve ayrıca mitokondri DNA'sına sahiptir. Tüm bu genetik

materyaller koyunun genomunu oluşturmaktadır. Ökaryotlarda, nükleusta kromozomlar halinde bulunan DNA'nın yanında sitoplazmada bulunan mitokondrilerde de halkasal ve çift sarmal halde bulunmaktadır (Hiendleder ve ark., 1998). Yapılan popülasyon mtDNA genetik çalışmalarında, popülasyonların benzerliklerini ve farklılıklarını kullanarak filogenetik ilişkilerin ortaya çıkarılmasında moleküler belirteç olarak mtDNA'dan yararlanılmaktadır (Meadows ve ark., 2007). Koyun ve keçilerde mtDNA, 16600 baz çifti (bp) civarında bir uzunluğa sahiptir. Koyun mitokondriyal genomu; kontrol bölgesi (D-loop), protein kodlayabilen 13 bölge (I, II ve III alt birimlerinden meydana gelen 3 farklı sitokrom c oksidaz, 6 ve 8 altbirimlerinden oluşan ATPaz kompleksi, 1, 2, 3, 4L, 4, 5 ve 6 altbirimlerinden oluşan NADH dehidrogenaz grubu ve sitokrom b), 22 çeşit tRNA (60-75 bp) ve 16S rRNA ve 12S rRNA olmak üzere 2 ribozomal RNA bölgesinden oluşmaktadır (Hiendleder ve ark., 1998). Omurgalılara ait mtDNA halkasal yapısına örnek Şekil 1.2.'de verilmiştir.

Filogenetik ilişkilerin analizinde biyokimyasal veya morfolojik yöntemler, geleneksel yöntemlerin kullanılmasının yanında günümüzde moleküler yöntemlerinde kullanılması kaçınılmazdır. Ayrıca geleneksel yöntemlerle elde edilen veriler çoğu zaman araştırmacılara göre farklılıklar gösterebilmektedir. Bundan dolayı geleneksel yöntemlerin yanında moleküler genetik yöntemler de filogenetik analizlerde yaygın bir şekilde kullanılmaya başlanmıştır. DNA düzeyinde yapılan çalışmalarla, daha hızlı ve daha güvenilir sonuçlar ile karşılaşılmaktadır. DNA dizi analizi yöntemi ile varyasyon şeklinin gözlenebilmesi, farklı araştırmadaki verilerin karşılaştırılabilmesi, DNA sekanslarının yayınlanması ile elektronik veri bankalarında depolanması, sonuçların doğrulanması ve deneylerin tekrarlanabilirliğine olanak vermesi DNA dizi analizi yönteminin avantajlarındandır.

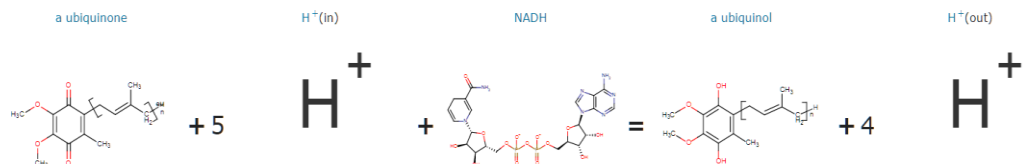


Şekil 1. 2. Omurgalı mtDNA Şeması (Stringfixer, 2021)

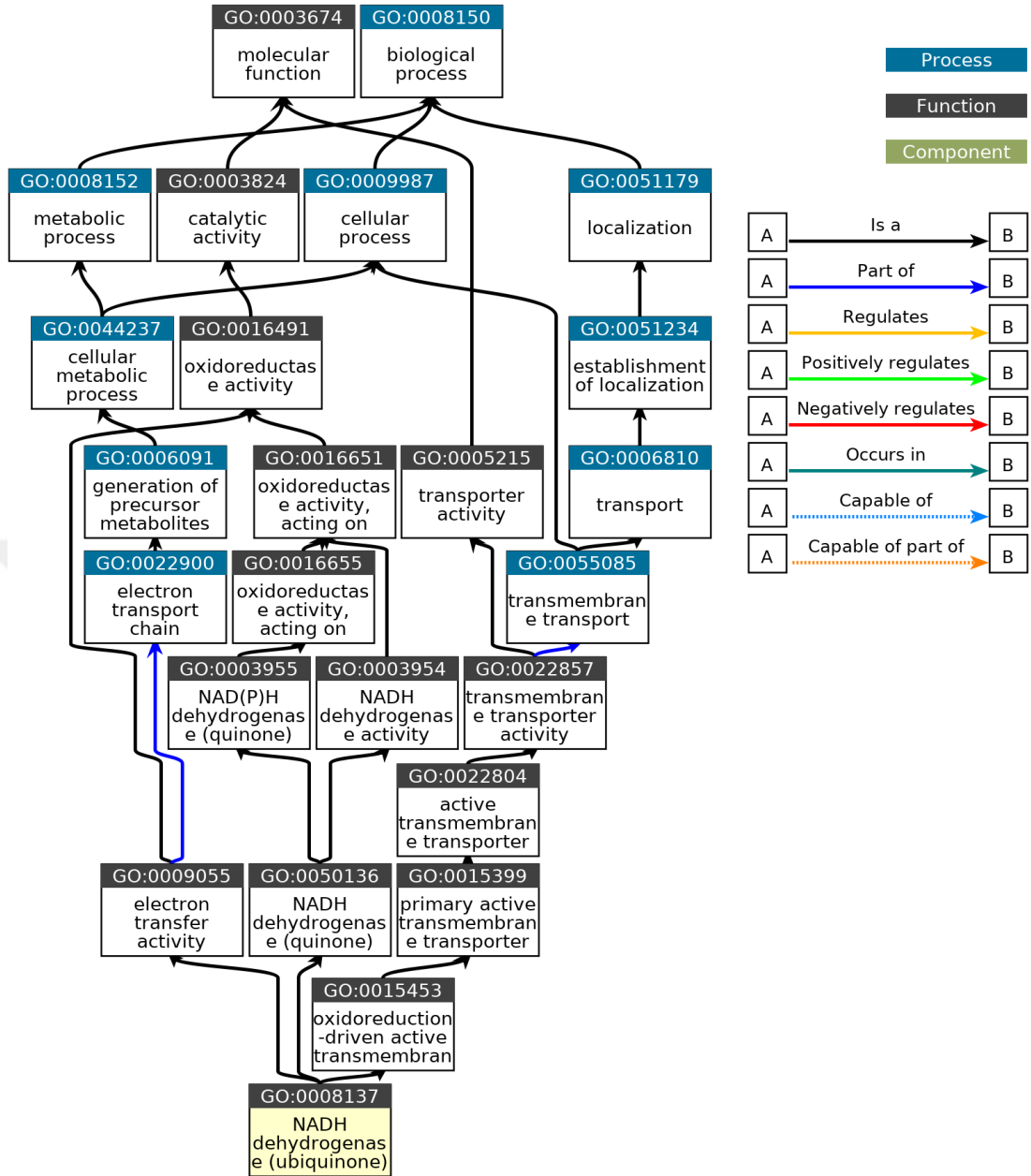
1. 4. NADH Dehydrogenase (Ubiquinone) Activity GO:0008137

Mitokondriyal membran solunum zinciri NADH dehidrojenazın (Kompleks I) çekirdek alt biriminin, kataliz için gereken minimum düzeneğe ait olduğuna inanılır. Kompleks I, elektronların NADH'den solunum zincirine transferinde işlev görür. Enzim için ani elektron alıcısının ubiquinone olduğuna inanılmaktadır (Benzerliğe göre) (Şekil 1.3. ve Şekil 1.4.).

Catalysis of the reaction: $\text{NADH} + \text{ubiquinone} + 5 \text{H}^+(\text{in}) \rightleftharpoons \text{NAD}^+ + \text{ubiquinol} + 4 \text{H}^+(\text{out})$.



Şekil 1. 3. Reaksiyon Kataliz Gösterimi (QuickGO, 2021)



QuickGO - <https://www.ebi.ac.uk/QuickGO>

Şekil 1. 4. NADH dehydrogenase (ubiquinone) aktivitesi (QuickGO, 2021)

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Paiva ve ark. (2005), mtDNA kontrol bölgesinin (D-loop) bir kısmının (588 bp) analiziyle, Brezilya koyun ırkları arasında filogenetik ilişkiyi araştırmışlardır. Araştırmacılar, 34 örnekte 18 haplotip tespit etmişleridir ve tüm ırkların ilgili dizilerinde nükleotid farklılığını 0.011 ± 0.003 olarak hesaplamışlardır. Burada, Brezilya koyun ırkları arasında açık bir filogenetik ilişkinin bulunmadığını tespit etmişlerdir.

Tapio ve ark. (2006), yaptıkları çalışmada, Evcil koyunlarda üç farklı mitokondriyal maternal soy (haplotip Grup A, B ve C) bulmuştur. Grup B, öncelikle Avrupa evcil koyunlarında gözlenmiştir. Avrupa yaban koyunu bu haplotip grubunu taşır. Bu soruyu araştırmak için, 48 ırk veya yerel çeşitten 406 ilişkisiz hayvanda oldukça değişken bir mitokondriyal DNA (mtDNA) segmenti sekans analizi yapmışlardır. Kuzey Avrupa ve Balkanlar'dan güney Sibiry'a'daki Altay Dağları'na kadar uzanan geniş bir alandan köken aldıkları, ve örneklem, varsayılan Yakın Doğu evcilleştirme merkezine yakın bölgelerden koyun ırklarının temsili bir kesitini ve daha uzak kuzey bölgelerinden gelen ırkları içerdiği belirtilmiştir. Kafkasya'da dört (A, B, C ve D) oldukça farklı koyun soyları, Orta Asya'da 3 (A, B ve C) ve bölgeyi de içeren Avrupa'nın doğu ucunda 2 (A ve B) gözlemlemişlerdir. Soylar içindeki dizi varyasyonu, A Grubu'nun ilk önce genişlediğini, ve bu grup sadece Kafkas ve Orta Asya ırklarında en sık görülen tip olduğu belirtilmiştir. Grup B'nin Kafkas koyunlarını içeren genişlemesi, A Grubu'nun genişlemesiyle hemen hemen aynı zamanda gerçekleştiğini ve Doğu Avrupa bölgesi için B Grubu'nun genişlemesi, tahmin edilen en erken genişlemeden yaklaşık 3.000 yıl sonra başladığı belirtilmiştir.. Koyunların bağımsız bir Avrupa evcilleştirilmesi olası olmadığı, A Grubu varyasyonun dağılımı ve diğer sonuçlar, Yakın Doğu'nun evcilleştirme yeri olmasıyla uyumlu olduğu. C ve D grupları daha sonra yerli bir stoka dahil edilmiş olabileceği, ancak coğrafi kökenlerini anlamak için daha büyük örneklerle ihtiyaç olduğu belirtilmiştir.

Uzun ve ark., (2006) yaptıkları çalışmada, Türk koyun ırkları arasındaki genetik ilişkiler, 30 mikrosatelit belirteç ile genetik analiz etmişlerdir. Genetik mesafelerin tahminine dayalı filogenetik analizler, dendrogramda diğerlerinden açıkça ayrılan Akkaraman, Morkaraman ve Tuj ırkları için en yakın ilişkileri ortaya çıkardığı belirtilmiş ve Faktöriyel Uyum Analizi sonuçlarıyla tamamen doğrulamışlardır. Populasyon parametrelerini veya bireyleri analiz ederek açıklanan tüm sonuçlar, yağlı kuyruklu grup ve diğerleri arasında net bir ayrım ortaya çıkardığı, nükleer DNA'ya dayanan bu sonuçlar ile Türk yerli koyunlarının genetik önemi tartışılmıştır.

Ji ve ark., (2012) yaptıkları çalışmada, hafif mtDNA mutasyonları ile popülasyon polimorfizmleri arasındaki ayrım belirsiz ve her ikisi de homoplasmik olabileceğini belirtmiştir. Bu durumun korunan fonksiyonları değiştireceğini ve hastalıkla ilişkili olacağını rapor etmişlerdir. Bu belirsizliğin olası bir açıklaması, aynı varyantın farklı bağlamlarda farklı sonuçlara sahip olabileceği şeklinde açıklanmıştır. NADH dehidrojenaz alt birim 1 (ND1) nükleotid 3394 T>C (Y30H) varyantı ile böyle bir durumun olduğu, bu varyantın, Leber kalıtsal optik nöropati ile ilişkilendirilmiştir ve Asya B4c ve F1 haplogroup arka planlarında kompleks I aktivitesini ve hücresel solunumu %7 ila %28 arasında azatlığı belirtilmiştir. Bununla birlikte, ortak 3394T alelini barındıran B4c ve F1 mtDNA'lar arasındaki kompleks I aktivitesi de %30 oranında farklılık gösterdiği, Asya'da, 3394C varyantı en yaygın olarak, düşük irtifalarda nadir görülen ancak yükselme ile sıklığı Tibet mtDNA'larının ortalama %25'ine kadar artan M9 haplogroup ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (olasılık oranı = 23,7). Yüksek irtifa Tibetli ve Hint popülasyonlarında, 3394C varyantı beş farklı makrohaplogrup M haplogrup arka planında meydana geldiği ve Tibet'te M9 arka planında ve Hindistan Deccan Platosu'nda C4a4 arka planında yüksek oranda olduğu ifade edilmiştir(olasılık oranı = 21,9). M9 arka planında mevcut olduğunda, 3394C varyantı, B4c ve F1 arka planlarında 3394T varyantına eşit veya ondan daha yüksek olan bir kompleks I aktivitesi ile ilişkili olduğu belirtilmiştir. Bu nedenle, 3394C varyantı, haplogrubu ve çevresel bağlamına bağlı olarak zararlı veya faydalı mutasyonlar olabileceği açıklanmıştır.

Álvarez ve ark. (2013) yaptıkları çalışmada, Karayip kıl koyunu, Batı Afrika koyunu ve Kanarya Yün koyun ırklarını içeren 180 örnekten oluşan mtDNA D-loop (displacement loop) bölgesi sekans analizi ile filogenetik ilişki araştırması yapmışlardır. D-loop bölgesine ait 180 örnekte 46 haplotip tespit etmişleridir. Karayip kıl koyunu ile Kanarya Yün koyunlarının tamamı haplogrup B'de yer alırken, Batı Afrika koyunun %91.8'i haplogrup B de yer almıştır.

Kusza ve ark. (2015), moleküler çalışmalarda kullanılmak üzere Gyimesi Racka'dan (2 fenotip) ve Turcana'dan (6 ekotip) kıl kökleri toplanmışlardır. Mitokondriyal DNA'nın D-loop bölgesinin 599 bp'lik bölümünü dizilemişlerdir. Toplamda 42 haplotip tanımlanırken, her iki popülasyonda 23 tane bulunmuştur. Popülasyonlar, haplotip ve nükleotid çeşitlilik indekslerine göre oldukça çeşitli olduğu tespit edilmiştir. AMOVA analizi, varyasyonun çoğunun popülasyonlarda (%98) gözlemlendiğini ve bu da iki ırk arasında zayıf bir genetik yapı olduğunu göstermiştir. Hayvanlar fenotiplerine göre yedi gruba ayrılmış; ancak aralarındaki genetik mesafelerin düşük olduğu tespit etmişlerdir. Mevcut kapsamlı mtDNA çalışması, Gyimesi Racka ve Turcana popülasyonları arasında çok düşük düzeyde genetik farklılaşma olduğunu, dolayısıyla bunların fiili bir sınır ötesi ırk olduğunu bildirmişlerdir.

Liu ve ark. (2016) yaptıkları çalışmada, Tibet koyun ırklarında mtDNA D-loop bölgesi sekans bilgisi ile Tibet ırkının diğer ırklarla olan filogenetik ilişkilerini araştırmışlardır. On beş farklı koyun popülasyonundan 636 hayvanda, mitokondriyal DNA D-loop bölgesi kullanılarak yapılan analizler sonucu 350 haplotip tespit etmişlerdir. Dizilerin uzunluğunu 1031 ila 1259 bp arasında olup, nükleotid çeşitliliği ve haplotip çeşitliliği sırasıyla 0.019 ± 0.001 ve 0.992 ± 0.010 olarak bulmuşlardır. Nükleotid farklılıklarının ortalama sayısı 19.635 olarak, 350 haplotipin ortalama nükleotid kompozisyonu ise, %32.961 A, %14.439 G, %22.892 C, %29.708 T, %37.331 G+C ve %62.669 A+T olarak tespit etmişlerdir. Filogenetik analiz sonucunda, on beş Tibet koyun popülasyonunda 636 hayvanda önceden tanımlanmış dört haplogrubun (A, B, C ve D) bulunduğunu, ancak Linzhou koyunlarında sadece D haplogrubun bulunduğunu göstermişlerdir.

Hussain ve ark. (2016), bu çalışmada Azad Jammu ve Keşmir'de yetiştirilen Kail koyun ırkında kısmi (564 bp) kontrol bölgesi (D-loop) ve tam (1140 bp) Sitokrom b (Cyto b) geni olmak üzere iki mitokondriyal DNA (mtDNA) segmenti analiz edilmişlerdir. Kısmi mtDNA (564bp) kontrol bölgesinin filogenetik analizi, iki farklı mitokondriyal maternal soy (haplo-grup A ve B) ortaya çıkarmıştır. Bununla birlikte, Haplogrup A, evcil Kail koyunlarında bulunan ana soy olduğu tespit edilmiştir. MtDNA kontrol bölgesinden geliştirilen filogenetik model, tam Cyt-b'nin analizi ile doğrulanmıştır. Bu çalışma, bölgede A ve B mitokondriyal maternal soylarının ağırlıklı olarak Asya ülkelerindeki evcil koyun ırklarında bulunduğu ilişkilerin önceki raporların sonuçlarını doğrulamıştır.

Mitokondriyal (mt) OXPHOS genleri üzerinde yapılan son çalışmalar, esas olarak çevresel varyasyona bağlı olarak adaptasyonu önermektedir. Bu bağlamda, filogenetik olarak oldukça homojen gen havuzuna ve sık popülasyon yapısına sahip birkaç dış fenotip sergileyen Tunus tavşanları, çevresel/iklimsel değişkenlik, özellikle ortam sıcaklığı ve yağış ile ilgili mt genleri üzerinde pozitif seçimi saptamak için iyi bir ön koşul sağladığı bildirilmiştir (Ben Slimen ve ark., 2017). Ben Slimen ve ark. (2017), yaptıkları çalışmada, Tunus'ta dik bir ekolojik gradyan boyunca toplanan pelerinlerin (*Lepus capensis*) ATPase sentaz 6 (ATP6) ve NADH dehidrojenaz 2 (ND2) üzerinde pozitif seçimi test etmek için popülasyon genetik verileriyle birlikte kodon bazlı yöntemler kullanarak araştırmışlardır. Alt nemli Akdeniz, yarı kurak ve kurak Sahra iklimi ile Tunus genelinde ATP6 lokusunda, on dört bağlantısız sözde nötr olarak gelişen nükleer mikrosatelitle ve mt kontrol bölgesi dizilerinden önemli ölçüde daha yüksek farklılaşma bulmuşlardır. İkinci bir bölge ile birlikte dört farklı amino aside çevrilen bir dizi bölgesi için birkaç kodon bazlı testle doğrulanmış ve ND2 dizileri üzerindeki pozitif seçim, birkaç kodon bazlı testle de doğrulanmıştır. Her bir lokustaki en yaygın iki varyantın karşılık gelen frekansları, iklim bölgeleri arasında önemli ölçüde değiştiği ve bu proteinlerin meydana geldiği lojistik genel doğrusal modellerin, ATP6 için ortalama yıllık sıcaklığın ve ATP6 için yılın en soğuk ayının ortalama minimum sıcaklığının önemli etkilerini göstermişlerdir. ND2, coğrafi konumdan, yıllık yağıştan ve ikinci lokustaki ilgili birlikte oluşan proteinden bağımsız olduğu, ayrıca, filogenetik ağlardan anlaşıldığı

üzere atalara ait ATP6 proteininin varlığı, sıcaklık, yağış veya coğrafi konumdan bağımsız olarak türetilmiş ND2 proteininin eşzamanlı varlığından olumlu bir şekilde etkilendiği ve bunun tersinin de geçerli olduğu bildirilmiştir. Ayrıca, ATP6 lokusundaki en yaygın iki protein, coğrafi koordinatlardan ve birlikte meydana gelen ND2 protein varyantından bağımsız olarak ATP6 proteinlerinin oluşumu üzerinde ortalama yıllık sıcaklığın önemli bir etkisi ile çalışma alanı boyunca önemli ölçüde değişen frekanslarda dağıtıldığı belirtilmiştir. ND2 için, en sık görülen iki protein varyantının oluşumu, birlikte meydana gelen ATP6 protein varyantından ve coğrafi koordinatlardan bağımsız olarak, en soğuk ayın ortalama minimum sıcaklığından önemli ölçüde etkilendiği ve mtOXPHOS genlerinin adaptasyonuna ortam sıcaklığının doğrudan dahil olduğunu bildirmişlerdir.

Dymova ve ark. (2017), yaptıkları çalışmada Batı Sibirya'nın güneyindeki arkeolojik kazılarda bulunan 17 koyun kemiği kalıntısından mitokondriyal DNA D-loop bölgesini dizi analizi kullanarak değerlendirmişlerdir. Çalışma sonucunda Haplotip çeşitliliği ve nükleotid çeşitliliğini 0.801 ± 0.081 ve 0.0096 ± 0.0014 arasında olduğunu tespit etmişlerdir. Ortalama nükleotid farkı sayısını ise 3.1 arasında belirlemişlerdir. Nükleotid sekans analizi, 15 kalıntının A, B, C, D ve E soylarına yerleştirildiğini ancak iki örneğin analiz edilen örneklerle göre bazal konuma sahip olduğunu ortaya çıkarmışlardır. İki bazal haplotipin varlığını ise Altay bölgesinin insan göçünün ulaşım yolu sonucu olabileceği kanısına varmışlardır.

Niu ve ark. (2017), yaptıkları çalışmada, Çin'in yerli bir cinsi olan Tibet koyununu kullanmışlardır. Çoğunlukla 2260 ile 4100 m arasındaki karasal yükseklikteki plato ve dağ-vadi bölgelerinde yayılım gösterir. Sürü, diğer evcil koyunlardan genetik olarak farklıdır ve hipoksik ortama uyum sağlamak için iklimlendirmeye tabi tutulur. Bugüne kadar, Tibet koyunlarının mitokondriyal DNA modifikasyonunun diğer evcil ırkla aynı özelliği paylaşp paylaşmadığı bilinmiyor. Bu çalışmada, Tibet koyunlarında hipoksik toleranslı seçim işaretlerini belirlemek için 32 Tibet koyunu, 22 evcil koyun ve 24 ticari koyundan elde edilen tüm mitogenom dizilerini karşılaştırılmıştır. Kayan pencere yöntemi kullanılarak yapılan nükleotid çeşitlilik analizi, en yüksek nükleotid çeşitliliği seviyesinin $p = 0.05215$ tepe değeri ile kontrol bölgesinde gözlemlendiğini, en düşük p değerinin ise tRNA'lar

bölgesinde tespit edildiğini göstermiştir. qPCR sonuçları, Tibet koyunlarındaki nispi mtDNA kopya sayısının Suffolk koyunlarındakinden önemli ölçüde düşük olduğunu göstermiştir. 12S rRNA'daki mutasyonların hiçbiri Tibet koyunlarında tespit edilmedi, bu da bu sürüde diğer evcil ve ticari ırklardan daha az yapay seçilim olduğunu göstermiştir. Tibet koyunlarının evcilleştirilmesi sırasında doğa seleksiyonunun ana itici güç olduğunu ve tek mutasyonun (veya lokusun) Tibet koyunlarının mitogenomundaki yüksek çeşitlilik için seçilimin imzasını ortaya koyamadığını öne sürmüşlerdir.

Shirokova ve ark. (2018), çalışmasında Rusya Federasyonu'nun güney bölgesindeki merinos koyunlarında mtDNA'nın D-döngüsünün nükleotid dizisini incelemek ve yerli ve yabancı seleksiyonun merinos ırkları arasındaki benzerlikleri ve farklılıkları belirleyen değişken lokusları araştırmayı amaçlamışlardır. Araştırma sonucunda, bu ırkların Avrupa ve Avustralya seleksiyonunun merinos ırkları ile benzerlik ve farklılıklarını belirleyen mtDNA Dloop bölgesinin 20 değişken nükleotid pozisyonu oluşturulduğunu belirtmişlerdir.

Liu ve ark. (2020), bu çalışmada, mitokondriyal DNA (mtDNA) CYB (1140 baz çifti) gen bölgesinden Tibet koyun popülasyonlarının filocoğrafyasını ve filogenetik evrimini araştırmışlardır. Örnekler, Çin'in Qinghai-Tibet Platosu'nda yaşayan 15 Tibet koyun popülasyonuna hayvandan elde edilmiş ve çalışma mtDNA CYB gen dizileri kullanılmıştır. Nükleotid ve haplotip çeşitlilikleri sırasıyla 0.003 +/- 0.001 ve 0.748 +/- 0.010 olarak tespit edilmiştir. Filocoğrafya analizi, Tibet koyunlarının 15 popülasyonunda önceden tanımlanmış iki haplogroupun varlığını ortaya çıkarmış, ancak Awang koyununda sadece bir haplogroup tespit edilmiştir. Ayrıca, kümeleme analizi ile Tibet koyunu en az iki kümeye dağılmıştır. 15 Tibet koyun popülasyonu ve 878 bireyin 19 referans popülasyonu, bölge başına yerleşmelerine dayalı olarak altı ana gruba ayrılmış ve bunlardan filogenetik bir ağaç oluşturulmuştur. Her iki genden elde edilen ağaçlar arasında çeşitli taksonların dallanma düzeninde küçük farklılıklar gözlenmiştir.

Mousumee ve ark., (2021) yaptıkları bu çalışmada, mitokondriyal DNA (mtDNA) D-loop bölgesine dayalı olarak Bangladeş yerli koyun popülasyonunun

genetik çeşitliliğini, filogenetik ilişkisini ve maternal kökenini araştırmayı amaçlamışlardır. 4 farklı coğrafi bölgeden (Sundarban delta bölgesi=SDR, Jamuna nehir havzası=JRB, Kıyı bölgesi=OOR ve Barind yolu=BAT) akraba olmayan toplam 62 yerli koyun örneği ile 444 bp uzunluğundaki mtDNA D-loop dizi bölgesi kullanılarak araştırılmıştır. Dizi analizi sonucunda, 11 haplotip tanımlayan sadece 10 polimorfizm içeren bölge belirlenmiştir. Tahmini nükleotit çeşitliliği ve haplotip çeşitliliği sırasıyla 0.002 ± 0.001 ve 0.401 ± 0.149 olarak hesaplanmıştır. Popülasyon ikili F-ST değerleri, COR ve 0.037 ile 0.352 arasında değişen diğer üç koyun popülasyonu (SDR, JRB ve BAT) arasında oldukça önemli bulunmuştur ($P<0.01$). Moleküler varyans analizi (ANOVA), toplam genetik değişkenliğin %88.84'ünün popülasyon farklılaşması içinde açıklandığını ve kalan %11.16'lık değişkenliğin Bangladeş'in dört farklı bölgesindeki koyun popülasyonları arasında dağıldığını ortaya koymuştur. Filogenetik çalışma, Bangladeş koyun ırkı popülasyonları arasında belirgin bir kümelenme görülmemiştir, Ancak Ovis aries ve diğer bazı Hint, Çin ve Türk koyun ırkları ile evrimsel bir ilişkiye sahip olduğu bildirilmiştir. Toplamda, mtDNA dizi bilgisi, incelenen popülasyonlar arasında daha düşük genetik çeşitlilik ve ortak ana soyluluk göstermiştir.

3. MATERİYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

Bu çalışmadaki hayvan materyalini Şanlıurfa yöresinde yetiştirilen koyunlar oluşturmuştur. İvesi sürülerinden DNA izolasyonu için koyunlardan kan örnekleri toplanmıştır. Kan örnekleri alma işlemlerinde seçilen koyunların birbirine akraba olmamalarına dikkat edilmiş olup, her koyun sürüsünden birer örnek alınmıştır. Kan örnekleri EDTA'lı tüplere alınmıştır. Her hayvan için alınan kan tüplerini etiketleyip laboratuvara ulaştırılıncaya kadar soğuk zincirde muhafaza edilmiştir.

3.2. Yöntem

Bu çalışmanın moleküler analizleri Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootehni Bölümü Hayvansal Biyoteknoloji laboratuvarında yapılmıştır.

3.2.1. Genomik DNA izolasyonu

Koyunlarda alınan kan örnekleri genomik DNA izolasyonu için kit kullanarak koyunlardan alınan kan örneğinden genomik DNA izolasyonu yapılmıştır. İzolasyonu yapılan DNA örneklerine ait bantların görüntülenme çalışmaları %1'lik agaroz jel kullanılarak yapılmıştır.

Kan Örneklerinden DNA İzolasyonun Aşamaları:

- 1) EDTA içeren tüplere alınan kan örnekleri gerekli tedbirler alınmış ve kan örneklerinin birbiriyle bulaşmasını önlemek amacıyla her örnekte eldiven değiştirilmiştir.
- 2) 2 ml kolon içeren tüpler içerisine Column preparation Solution'dan 500 µl eklenip 12000 rpm de 60 saniye santrüfjü edilip altta kalan kısmı atılır.
- 3) Yeni tüp içerisine 20 µl proteinase K, 200 µl örnekler ve 20 µl RNase eklenip 120 saniye bekletilip içine 200 µl Lysis Solution eklenip 15 saniye vorteks yapıp 55 °C'de 10 dk süreyle inkübasyona tabi tutulur.

- 4) Tüplerin içine 200 µl (%99) ethanol ekleyip 5-10 saniye vorteks edilerek içerik kolonlu tüp içerisine aktararak 6500 rpm de 60 saniye santrüfjü edilerek altta kalan kısmı dökülür.
- 5) Sonraki aşama olarak tüp içine 500 µl prewash solution ekleyerek 6500 rpm de 60 saniye santrüfjü edilip altta kalan kısmı atılır.
- 6) Sonrasında tüplerin içerisine 500 µl ölçüsünde wash çözeltisi eklenerek 12.000 rpm de 3 dk boyunca santrifjü edilmiştir.
- 7) Yeni kolon tüpler içerisine alınıp 200 µl ölçüsünde elution çözeltisi ekleyip 5 dakika süresince bekletilip 6500 rpm de 60 saniye santrifjü edilmiştir.
- 8) Tüpler içerisindeki kolonlar atılıp dip kısmında var olan sıvılarda DNA'ların varlığını agaroz jel elektroforezde görüntülenmektedir.

3.2.2. DNA agaroz jel elektroforez

Erlenmayerin içine 100 ml 1XTBE çözelti ile 1g agaroz hassas terazide tartılıp konularak mikrodalga fırın içerisinde eritildi. Mikro dalga fırınında çıkarılan agaroz jeli yaklaşık 20-25 dakika soğuması için bekletildi. Küvet içerisine dökülerek taraklar yerleştirilip jelin kalıplaşması beklenmektedir. Sonrasında ise, 1XTBE içerikli elektroforez tankının içine küvet yerleştirilip, tarak yavaş bir şekilde çıkarılmıştır. Jel kuyularının ilk sıralarına molekül ağırlık markerleri yüklenmektedir. Markerlar DNA'lar için 1 kb ladder, PCR için 100 bp'lık ladder kullanılmıştır (Thermo). Diğer kuyulara ise 4 µl miktarında izole edilmiş DNA örnekleri 1 µl ölçüğünde yükleme tamponu (100 mM ETDA, %0.25 bromofenol mavisi, %40 süktroz, pH: 8.0) ile karıştırılıp yüklenmiştir (PCR ürünleri 5 µl + 1 µl yükleme tamponu). Yüklemeden hemen sonra güç kaynağında (Biolab), jelin bulunduğu tanka 90 V akım verilip jeller 35-40 dk yürütülmüştür. Sonrasında jeli, etidyum bromür (0,5 µg/ml) bulunan ortam içine konulup 10 dakika bekletip DNA'lar boyanmaya bırakılmıştır. Boyanan jel, ultraviyole ışın ile DNA'ların varlıkları görüntülenebilmiş olup fotoğrafı çekilip bilgisayarda değerlendirilmiştir.

3.2.3. Primerler

Koyun DNA örneklerinde mitokondriyal ND1-ND2 bölgelerini çoğaltmak amacıyla aşağıda belirtilen ileri ve geri primerler kullanılmıştır. Bu primerler ile mtDNA ND1 ve ND2 bölgelerinin 512 bp (Şekil 3.1.) ve 931 (Şekil 3.2.) bp'lik bölgesinin çoğaltılması hedeflenmiştir.

ND 1 geni primerleri:

İleri (Foward Primer): 5'-CATATCAAGCCTAGCCGTATAC'-3

Geri (Reverse Primer): 5'-CTATGAATCCGAGCATCCTACC'-3

ND2 geni primerleri:

İleri (Foward Primer): 5'-CCGTTATACTTGGAACCATTATCG'-3

Geri (Reverse Primer): 5'-GACAATTCCCAACCACAAAACG'-3

```
ATGTTTATAATCAACGTTCTAACTCATCATTCCTATCTCCTAGCTGTAGCTTTTCTTACACTAGTTGAACGAAAAG
TTCTAGGTTATATACAATTTGAAAAGGCCCAAACGTTGTAGGGCCATATGGCTTACTTCAACCCATCGCCGACGCAAT
TAAACTCTTCATCAAAGAACCCTACGACCCGCCACATCCTCAATCTCAATATTCATTCTAGCCCCATCCTAGCACTA
ACCCTAGCCTTAACTATATGAATCCCCCTACCCATACCCCTATCCCCTCATCAATATAAACTTAGGAGTCTCTTCATAT
TAGCCATATCAAGCCTAGCCGTATACCTCAATCCTCTGATCAGGTTGAGCCTCCAACCTCAAATATGCTCTCATTGGAGC
CCTACGGGCAGTAGCACAAACATCTCTTATGAAGTAACACTAGCAATTTTACTATCAGTCTACTAATAAATGGG
TCCTTTACCCCTTCTACACTAATCATTACACAAGAACAAGTATGATTAACTCTCCAGCATGACCCCTAGCAATAATAT
GATTTATCTCAACACTAGCAGAAACAAACCGAGCACCATTGACCTCACCGAAGGAGAATCTGAAGTAGTATCAGGCTT
TAACGTAGAATATGCTGCCGGACCATTGCGCCCTATTCTTTATAGCAGAATATGCGAATATTATCATAATAACATCTTC
ACAACAACCCCTCTCTTAGGAGCATTTCACAACCCATACATACCAGAAGTTTACACAATCAACTTCACCATCAAAATCGC
TACTACTCTCAATTACCTTCTATGAATCCGAGCATCTACCCCGGATTCGGTTACGACCAACTAATACACTTCTATG
AAAAAATTTCTACCCCTAACACTAGCCCTATGCATATGACAGTATCGCTACCTATTCTCCTATCAAGCATCCCCCA
CAAACAT
```

Şekil 3. 1. RefSeq (NC_001941) *Ovis aries* ND1 Geni Dizi Bilgisi ve Primerler

```
ATAAATCCAATTATCCTCATTATTATTCTAATAACCGTTATACTTGGAACCATTATCGTTATGATTAGCACCCACTGA
TTGCTCATCTGAATTGGATTTGAAATAAATATACTTGCTATTATTCCATTATAATAAAAAAGCACAAACCCACGAGCC
ACAGAAGCATCAACCAATATTTCCCTAACTCAATCAACAGCCTCAATACTACTAATAATAGCCATTATCATTAACCTTA
ATATTCTCAGGCCAATGAACCGTAATAAACTATTTAATCCAATAGCCTCCATCTCATAACAATAGCCCTCGCTATA
AACTAGGTATAGCCCCATTCCACTTCTGAGTCCCAGAAGTAACACAAGGCATTCCTATCCTCAGGCCTAATCTTA
CTCACATGACAAAACTAGCACCCATGTCAGTACTTTACCAAATCCTTCCATCCATCAACCTAGACCTGATCCTAACCC
CTATCAATTCTATCTATTACAATCGGAGGCTGAGGAGGACTGAACCAAAACCACTACGAAAAATTATAGCCTATTCA
TCAATTGCCACATAGGCTGAATAACAGCAGTTTACTATATAATCCCACCATAACACTACTAAACCTAATTATTTAT
ATCATTATAACCTCTACCATATTTACTATTTATAGCCAACCTCAACCACAACCCCTATCATTATCACACACATGA
AATAAAGCACCCATCATAACAATTCTAGTCCTCATTACCCTCCTATCAATAGGAGGACTCCCCCACTATCAGGATTT
ATACCAAAATGAATAATTATCCAAGAAATAACAAAAATGACAGCATTATCTTACCCACCCTCATAGCAATTACAGCA
CTACTAAACCTATATTTTATATACGACTTACATACTCCACTGCACTCAGATATTTCCCTCCACAAACAACATAAAA
ATGAAATGACAATTCCCAACCACAAAACGAATAACCCCTCTACCAACAATAACTGTACTATCCACCATACTACTACCA
CTAACCCAATCCTCTCAATTCTAGAAT
```

Şekil 3. 2. RefSeq (NC_001941) *Ovis aries* ND2 Geni Dizi Bilgisi ve Primerler

3.2.4. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR)

Koyun ND1 ve ND2 gen bölgesinin PCR teknikleriyle çoğaltılması için yapılan bileşenleri (Çizelge 3.1.) gösterilmiştir. Bileşenler belirlenen miktarda buz kasetleri üzerinde, PCR tüpleri (0.2 ml) içerisinde hazırladıktan sonra, PCR şartları (Çizelge 3.2) önceden programlanmış olan *Boeco* marka PCR cihazına yerleştirilmiştir. PCR için *Taq* polimeraz, dNTP mix ve dH₂O *Sigma* marka kullanılmıştır.

Çizelge 3. 1. PCR bileşenleri

Bileşenler	Konsantrasyon	Miktar
Kalıp DNA	20-30 ng/μl	1.0 μl
PCR Buffer	10X	4.0 μl
İleri Primer	20 pmol/μl	1.0 μl
Geri Primer	20 pmol/μl	1.0 μl
dNTP mix	1.0 nM	1.0 μl
<i>Taq</i> DNA polimeraz	5U/μl	0.5 μl
dH ₂ O		32.0 μl
Toplam		40.0 μl

Çizelge 3. 2. PCR Şartları

Döngü işlemi	Sıcaklık (°C)	Döngü sayısı	Süre
Ön denaturasyon	95	1	4 dk
Denatürasyon	94	30	45 sn
Yapışma (T _m)	55		45 sn
Sentez	72		60 sn
Son uzama	72	1	5 dk
Bekleme	4	∞	∞

DNA izolasyonu sonucunda elde edilen ürünlerin PCR uygulanarak çoğaltılması ile alınan sonuçlar %1'lik agaroz jelde görüntülenmiştir (1 g agarose/100 ml 1XTBE). PCR sonucunda elde edilen ürünler yürütülürken belirteç olarak kullanılması amacıyla 100 bp'lik ladder (*Thermo*) tercih edilmiştir.

3.2.5. DNA dizileme

mtDNA’da bulunan gen bölgeleri ND1 ve ND2, PCR amlifikasyonu sonucunda elde edilen örnekler ile dizileme işlemi yapılmıştır (İontek, İstanbul). Genlerin dizilenmesi için ayrılan örnekler 40 µl ölçeğinde (20 µl PCR ürünü + 20 µl water) hazırlanarak işleme alınmıştır.

3.3. Genetik ve Biyoinformatik Analizler

Mitokonriyal ND1 ve ND2 proteini (GeneID:) için referans protein verileri Genbank veri tabanından karşılanmıştır (NCBI, 2021). Elde edilen sekans verileri, çoklu dizi hizalama uygulaması olan *MAFFT* (v7.467) aracılığıyla FFT-NS-1 algoritması kullanılarak hizalama işlemi yapılmıştır (Kato ve ark., 2019) (Çizelge 3.4.). Proteinlerin özellikleri *Expasy* programı ile analiz edilmiştir (Wilkins ve ark., 1999). Aminoasitlerdeki düzensel değişim analizi ve protein üç boyutlu yapısını görüntüleme işlemleri *SWISS-MODEL* uygulaması kullanılarak yapılmıştır.

Koyunlarda ND1 ve ND2 bölgesi DNA sekans verilerinden yararlanılarak temel biyoinformatik analizleri yapılmıştır. Yabani koyunlar mtDNA ND1 ve ND2 gen dizi bilgisi Genbank’tan (NCBI) temin edilerek genetik analizler yapılmıştır (Çizelge 3.3.). Genetik ağaçlar, Neighbour-Joining (NJ) (Saitou ve Nei, 1987) metodu kullanılarak *MEGA5* programında (Tamura ve ark., 2011) yapılmıştır.

Çizelge 3. 3. Koyunlarda Farklı Türlerle Ait Genbank Referans Kodları

Tür İsmi	Referans Kodu
<i>Ovis nivicola lydekkeri</i>	NC_039431
<i>Ovis aries</i>	NC_001941
<i>Ovis dalli</i>	NC_039432
<i>Ovis ammon ammon</i>	NC_047196
<i>Ovis vignei</i> breed Urial	NC_026064
<i>Ovis orientalis</i> breed Asian mouflon	NC_026063
<i>Ovis ammon</i>	NC_020656
<i>Ovis canadensis</i>	NC_015889

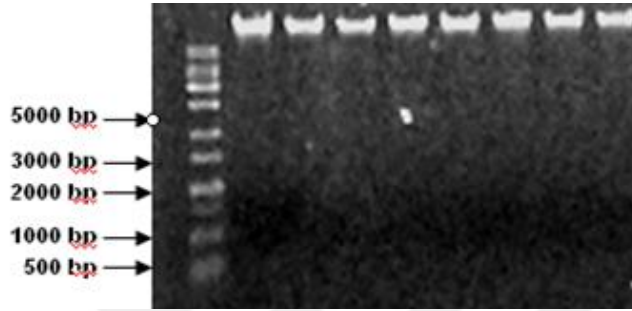
Çizelge 3. 4. Omurgalı Mitokondriyal DNA'ya Ait Kodon-Aminoasit Karşılaştırması

TTT F Phe	TCT S Ser	TAT Y Tyr	TGT C Cys
TTC F Phe	TCC S Ser	TAC Y Tyr	TGC C Cys
TTA L Leu	TCA S Ser	TAA * Ter	TGA W Trp
TTG L Leu	TCG S Ser	TAG * Ter	TGG W Trp
CTT L Leu	CCT P Pro	CAT H His	CGT R Arg
CTC L Leu	CCC P Pro	CAC H His	CGC R Arg
CTA L Leu	CCA P Pro	CAA Q Gln	CGA R Arg
CTG L Leu	CCG P Pro	CAG Q Gln	CGG R Arg
ATT I Ile i	ACT T Thr	AAT N Asn	AGT S Ser
ATC I Ile i	ACC T Thr	AAC N Asn	AGC S Ser
ATA M Met i	ACA T Thr	AAA K Lys	AGA * Ter
ATG M Met i	ACG T Thr	AAG K Lys	AGG * Ter
GTT V Val	GCT A Ala	GAT D Asp	GGT G Gly
GTC V Val	GCC A Ala	GAC D Asp	GGC G Gly
GTA V Val	GCA A Ala	GAA E Glu	GGA G Gly
GTG V Val i	GCG A Ala	GAG E Glu	GGG G Gly

4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

4.1. Genomik DNA İzolasyonu

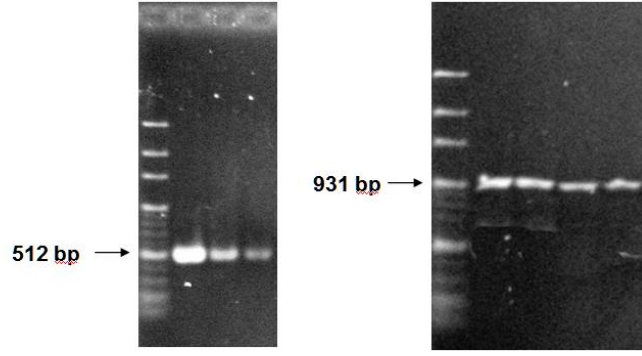
İvesi koyunlarından alınan kan örnekleri ile genomik DNA izole işlemi yapılmış olup koyunlarından izole ettiğimiz DNA örnekleri %1'lik agaroz jel görüntü resimleri gösterilmiştir (Şekil 4.1.).



Şekil 4. 1. İvesi Koyunu DNA örnekleri (ladder 1 kb, Thermo)

4.2. ND1 ve ND2 Gen Bölgelerinin PCR Sonuçları

İzole edilen DNA örneklerinin, ND1 ve ND2 gen bölgelerine tasarlanmış olan primerler kullanılarak PCR amplifikasyonu çalışması yapılmış ve örneklerden PCR ürünleri alınmıştır. Tasarlanmış olan OVS ND1 (Forward) ve OVS ND1 (Reverse) primerler ile ND1 geninin 512 bp'lik kısmı, OVS ND2 (Forward) ve OVS ND2 (Reverse) primerler ile de ND2 geninin 931 bp'lik kısmı PCR ile çoğaltılmış bulunmaktadır (Şekil 4.2.). PCR çalışmaları sonucunda elde edilmiş tüm PCR ürünlerini, PCR tüpleri içinde -20 °C'de muhafaza edilmiştir.



Şekil 4. 2.İvesi Koyunu ND1 (512 bp) ve ND2 (931 bp) genleri PCR fragmentleri (ladder 100 bp, Thermo)

Koyunların ND1 ve ND2 gen bölgeleri PCR ürünlerin DNA sekans analizi sonuçları elde edilmiştir.

4.3. Biyoinformatik Analizler

İvesi koyunlarında ND1 ve ND2 bölgesinin dizi bilgisi belirlenmiştir. ND1 ve ND2 gen bölgesinin primerler ile 512 ve 931 bp'lik kısmı çoğaltılmıştır. Gen dizisi analizi ve düzenleme sonucu örneklerin tümü için 350 ve 700 bp dizi bilgisi elde edilmiştir. Koyunlarda ND1 ve ND2 gen dizi bilgisi analiz edilerek, koyunlarda sırasıyla 2 ve 3 polimorfik bölgenin olduğu görülmüştür (Çizelge 4.1. ve Çizelge 4.2.).

Çizelge 4. 1. ND1 Sekans Dizi Bilgisi ve Tespit Edilen Mutasyonlar

RefSeq	TCTTATGAAGTAACACTAGCAATTATTTTACTATCAGTCCTACTAATAATGGGTCCTTT	480
İvesi	TCTTATGAAGTAACACTAGCAATTATTTTACTATCAGTCCTACTAATAATGGATCCTTT	60

RefSeq	ACCCTTTCTACACTAATCATTACACAGAACAAGTATGATTAATCTTCCCAGCATGACCC	540
İvesi	ACCCTTTCTACACTAATCATTACACAGAACAAGTATGATTAATCTTCCCAGCATGACCC	120

RefSeq	CTAGCAATAATATGATTTATCTCAACACTAGCAGAAACAAACCGAGCACCATTGACCTC	600
İvesi	CTAGCAATAATATGATTTATCTCAACACTAGCAGAAACAAACCGAGCACCATTGACCTC	180

RefSeq	ACCGAAGGAGAATCTGAAGTAGTATCAGGCTTTAACGTAGAATATGCTGCCGGACCATTC	660
İvesi	ACCGAAGGAGAATCTGAAGTAGTATCAGGCTTTAACGTAGAATATGCTGCCGGACCATTC	240

RefSeq	GCCCTATTCTTTATAGCAGAATATGCGAATATATCATAATAAACATCTTCACAACAACC	720
İvesi	GCCCTATTCTTTATAGCAGAATATGCGAATATATCATAATAAACATCTTCACAACAACC	300

RefSeq	CTCTTCTTAGGAGCATTTCACAACCCATACATACCAGAAGTTACACAATCAACTTCACC	780
İvesi	CTCTTCTTAGGAGCATTTCACAACCCATACATACCAGAAGTTACACAATCAACTTCACC	350

CLUSTAL O(1.2.4) multiple ND1 sequence alignment

Çizelge 4. 2. ND2 Sekans Dizi Bilgisi ve Tespit Edilen Mutasyonlar

RefSeq	CTAACTCAATCAACAGCCTCAATACTACTAATAATAGCCATTATCATTAACTTAATATTC	240
İvesi	CTAACTCAATCAACAGCCTCAATACTACTAATAATAGCCATTATCATTAACTTAATATTC	100

RefSeq	TCAGGCCAATGAACCGTAATAAACTATTTAACTCCAATAGCCTCCATACTCATAACAATA	300
İvesi	TCAGGCCAATGAACCGTAATAAACTATTTAACTCCAATAGCCTCCATACTCATAACAATA	160

RefSeq	GCCCTCGCTATAAACTAGGTATAGCCCATTCACCTTCTGAGTCCCAGAAGTAACACAA	360
İvesi	GCCCTCGCTATAAACTAGGTATAGCCCATTCACCTTCTGAGTCCCAGAAGTAACACAA	220

RefSeq	GGCATTCCCCTATCCTCAGGCCTAATCTTACTCACATGACAAAACTAGCACCCTATGTCA	420
İvesi	GGCATTCCCCTATCCTCAGGCCTAATCTTACTCACATGACAAAACTAGCACCCTATGTCA	280

RefSeq	GTACTTTACCAAATCCTTCCATCCATCAACCTAGACCTGATCCTAACCCCTATCAATTCTA	480
İvesi	GTACTTTACCAAATCCTTCCATCCATCAACCTAGACCTGATCCTAACCCCTATCAATTCTA	340

RefSeq	TCTATTACAATCGGAGGCTGAGGAGGACTGAACCAAACCAACTACGAAAAATTATAGCC	540
İvesi	TCTATTACAATCGGAGGCTGAGGAGGACTGAACCAAACCAACTACGAAAAATTATAGCC	400

RefSeq	TATTCAATCAATTGCCCATAGGCTGAATAACAGCAGTTTTACTATATAATCCCACCATA	600
İvesi	TATTCAATCAATTGCCCATAGGCTGAATAACAGCAGTTTTACTATATAATCCCACCATA	460

RefSeq	ACACTACTAAACCTAATTATTTATATCATTATAACCTCTACCATATTTACACTATTTATA	660
İvesi	ACACTACTAAACCTAATTATTTATATCATTATAACCTCTACCATATTTACACTATTTATA	520

RefSeq	GCCAACTCAACCACAACCACCTATCATTATCACACACATGAAATAAAGCACCCTATCATA	720
İvesi	GCCAACTCAACCACAACCACCTATCATTATCACACACATGAAATAAAGCACCCTATCATA	580

RefSeq	ACAATTCTAGTCCTCATTACCTCCTATCAATAGGAGGACTTCCCCACTATCAGGATTT	780
İvesi	ACAATTCTAGTCCTCATTACCTCCTATCAATAGGAGGACTTCCCCACTATCAGGATTT	640

RefSeq	ATACCAAAATGAATAATTATCCAAGAATAACAAAAATGACAGCATTATCTTACCCACC	840
İvesi	ATACCAAAATGAATAATTATCCAAGAATAACAAAAATGACAGCATTATCTTACCCACC	700

CLUSTAL O(1.2.4) multiple ND2 sequence alignment

Çizelge 4. 3. ND1 = DNA→ Protein Çevirisi

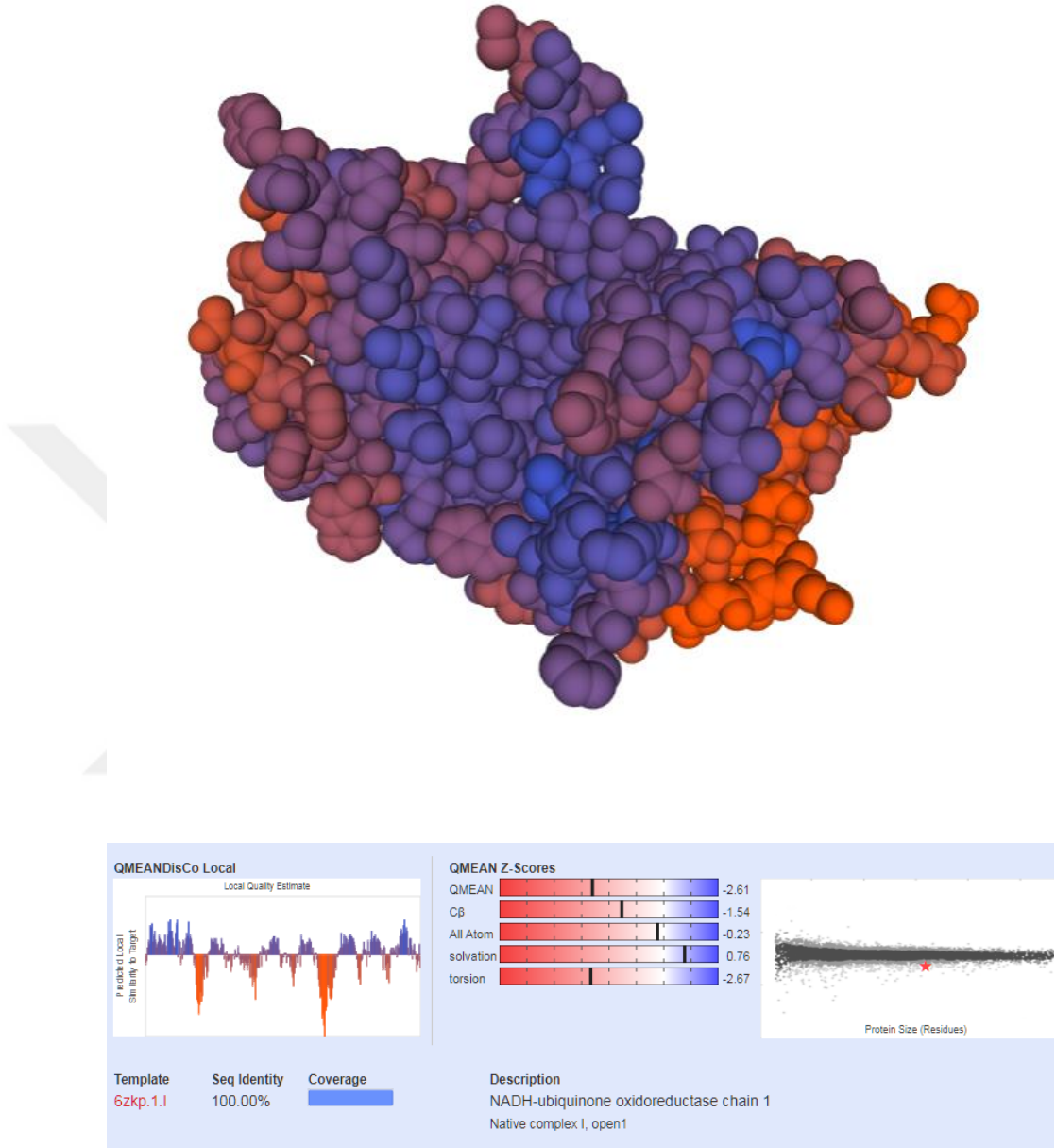
atg	ttt	ata	atc	aac	gtt	cta	aca	ctc	atc	att	cct	att	ctc	cta	gct	gta	gct	ttt	ctt
M	F	M	I	N	V	L	T	L	I	I	P	I	L	L	A	V	A	F	L
aca	cta	gtt	gaa	cga	aaa	gtt	cta	ggt	tat	ata	caa	ttt	cga	aaa	ggc	cca	aac	gtt	gta
T	L	V	E	R	K	V	L	G	Y	M	Q	F	R	K	G	P	N	V	V
ggg	cca	tat	ggc	tta	ctt	caa	ccc	atc	gcc	gac	gca	att	aaa	ctc	ttc	atc	aaa	gaa	ccc
G	P	Y	G	L	L	Q	P	I	A	D	A	I	K	L	F	I	K	E	P
cta	cga	ccc	gcc	aca	tcc	tca	atc	tca	ata	ttc	att	cta	gcc	ccc	atc	cta	gca	cta	acc
L	R	P	A	T	S	S	I	S	M	F	I	L	A	P	I	L	A	L	T
cta	gcc	tta	act	ata	tga	atc	ccc	cta	ccc	ata	ccc	tat	ccc	ctc	atc	aat	ata	aac	tta
L	A	L	T	M	W	I	P	L	P	M	P	Y	P	L	I	N	M	N	L
gga	gtc	ctc	ttc	ata	tta	gcc	ata	tca	agc	cta	gcc	gta	tac	tca	atc	ctc	tga	tca	ggt
G	V	L	F	M	L	A	M	S	S	L	A	V	Y	S	I	L	W	S	G
tga	gcc	tcc	aac	tca	aaa	tat	gct	ctc	att	gga	gcc	cta	cgg	gca	gta	gca	caa	aca	atc
W	A	S	N	S	K	Y	A	L	I	G	A	L	R	A	V	A	Q	T	I
tct	tat	gaa	gta	aca	cta	gca	att	att	tta	cta	tca	gtc	cta	cta	ata	aat	ggg	tcc	ttt
S	Y	E	V	T	L	A	I	I	L	L	S	V	L	L	M	N	G	S	F
acc	ctt	tct	aca	cta	atc	att	aca	caa	gaa	caa	gta	tga	tta	atc	ttc	cca	gca	tga	ccc
T	L	S	T	L	I	I	T	Q	E	Q	V	W	L	I	F	P	A	W	P
cta	gca	ata	ata	tga	ttt	atc	tca	aca	cta	gca	gaa	aca	aac	cga	gca	cca	ttt	gac	ctc
L	A	M	M	W	F	I	S	T	L	A	E	T	N	R	A	P	F	D	L
acc	gaa	gga	gaa	tct	gaa	cta	gta	tca	ggc	ttt	aac	gta	gaa	tat	gct	gcc	gga	cca	ttc
T	E	G	E	S	E	L	V	S	G	F	N	V	E	Y	A	A	G	P	F
gcc	cta	ttc	ttt	ata	gca	gaa	tat	ggg	aat	att	atc	ata	ata	aac	atc	ttc	aca	aca	acc
A	L	F	F	M	A	E	Y	A	N	I	I	M	M	N	I	F	T	T	T
ctc	ttc	tta	gga	gca	ttt	cac	aac	cca	tac	ata	cca	gaa	ctt	tac	aca	atc	aac	ttc	acc
L	F	L	G	A	F	H	N	P	Y	M	P	E	L	Y	T	I	N	F	T
atc	aaa	tcg	cta	cta	ctc	tca	att	acc	ttc	cta	tga	atc	cga	gca	tcc	tac	ccc	cga	ttc
I	K	S	L	L	L	S	I	T	F	L	W	I	R	A	S	Y	P	R	F
cgt	tac	gac	caa	cta	ata	cac	tta	cta	tga	aaa	aat	ttt	cta	ccc	cta	aca	cta	gcc	cta
R	Y	D	Q	L	M	H	L	L	W	K	N	F	L	P	L	T	L	A	L
tgc	ata	tga	cac	gta	tcg	cta	cct	att	ctc	cta	tca	agc	atc	ccc	cca	caa	aca		
C	M	W	H	V	S	L	P	I	L	L	S	S	I	P	P	Q	T		

Çizelge 4. 4. ND2 = DNA→ Protein Çevirisi

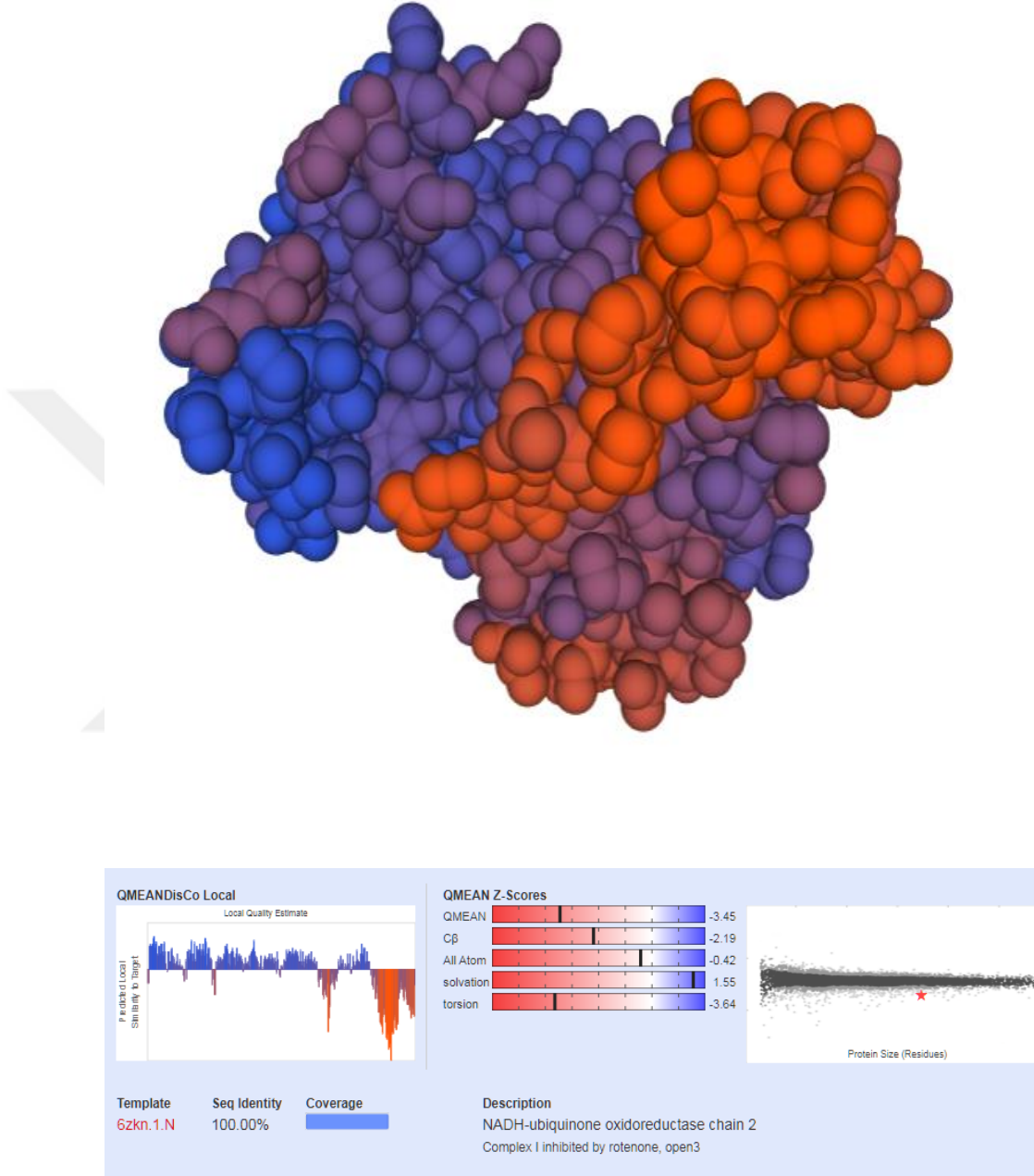
ata	aat	cca	att	atc	ctc	att	att	att	cta	ata	acc	gtt	ata	ctt	gga	acc	att	atc	gtt
M	N	P	I	I	L	I	I	I	L	M	T	V	M	L	G	T	I	I	V
atg	att	agc	acc	cac	tga	ttg	ctc	atc	tga	att	gga	ttt	gaa	ata	aat	ata	ctt	gct	att
M	I	S	T	H	W	L	L	I	W	I	G	F	E	M	N	M	L	A	I
att	ccc	att	ata	ata	aaa	aag	cac	aac	cca	cga	gcc	aca	gaa	gca	tca	acc	aaa	tat	ttc
I	P	I	M	M	K	K	H	N	P	R	A	T	E	A	S	T	K	Y	F
cta	act	caa	tca	aca	gcc	tca	ata	cta	cta	ata	ata	gcc	att	atc	att	aac	tta	ata	ttc
L	T	Q	S	T	A	S	M	L	L	M	M	A	I	I	I	N	L	M	F
tca	ggc	caa	tga	acc	gta	ata	aaa	cta	ttt	aat	cca	ata	gcc	tcc	ata	ctc	ata	aca	ata
S	G	Q	W	T	V	M	K	L	F	N	P	M	A	S	M	L	M	T	M
gcc	ctc	gct	ata	aaa	cta	ggg	ata	gcc	cca	ttc	cac	ttc	tga	gtc	cca	gaa	gta	aca	caa
A	L	A	M	K	L	G	M	A	P	F	H	F	W	V	P	E	V	T	Q
ggc	att	ccc	cta	tcc	tca	ggc	cta	atc	tta	ctc	aca	tga	caa	aaa	cta	gca	ccc	atg	tca
G	I	P	L	S	S	G	L	I	L	L	T	W	Q	K	L	A	P	M	S
gta	ctt	tac	caa	atc	ctt	cca	tcc	atc	aac	cta	gac	ctg	atc	cta	acc	cta	tca	att	cta
V	L	Y	Q	I	L	P	S	I	N	L	D	L	I	L	T	L	S	I	L
tct	att	aca	atc	gga	ggc	tga	gga	gga	ctg	aac	caa	acc	caa	cta	cga	aaa	att	ata	gcc
S	I	T	I	G	G	W	G	G	L	N	Q	T	Q	L	R	K	I	M	A
tat	tca	tca	att	gcc	caa	ata	ggc	tga	ata	aca	gca	gtt	tta	cta	tat	aat	ccc	acc	ata
Y	S	S	I	A	H	M	G	W	M	T	A	V	L	L	Y	N	P	T	M
aca	cta	cta	aac	cta	att	att	tat	atc	att	ata	acc	tct	acc	ata	ttt	aca	cta	ttt	ata
T	L	L	N	L	I	I	Y	I	I	M	T	S	T	M	F	T	L	F	M
gcc	aac	tca	acc	aca	acc	acc	cta	tca	tta	tca	cac	aca	tga	aat	aaa	gca	ccc	atc	ata
A	N	S	T	T	T	T	L	S	L	S	H	T	W	N	K	A	P	I	M
aca	att	cta	gtc	ctc	att	acc	ctc	cta	tca	ata	gga	gga	ctt	ccc	cca	cta	tca	gga	ttt
T	I	L	V	L	I	T	L	L	S	M	G	G	L	P	P	L	S	G	F
ata	cca	aaa	tga	ata	att	atc	caa	gaa	ata	aca	aaa	aat	gac	agc	att	atc	tta	ccc	acc
M	P	K	W	M	I	I	Q	E	M	T	K	N	D	S	I	I	L	P	T
ctc	ata	gca	att	aca	gca	cta	cta	aac	cta	tat	ttt	tat	ata	cga	ctt	aca	tac	tcc	act
L	M	A	I	T	A	L	L	N	L	Y	F	Y	M	R	L	T	Y	S	T
gca	ctc	acg	ata	ttt	ccc	tcc	aca	aac	aac	ata	aaa	atg	aaa	tga	caa	ttc	cca	acc	aca
A	L	T	M	F	P	S	T	N	N	M	K	M	K	W	Q	F	P	T	T
aaa	cga	ata	acc	ctc	cta	cca	aca	ata	act	gta	cta	tcc	acc	ata	cta	cta	cca	cta	aca
K	R	M	T	L	L	P	T	M	T	V	L	S	T	M	L	L	P	L	T
cca	atc	ctc	tca	att	cta	gaa													
P	I	L	S	I	L	E													

Çizelge 4. 5. İvesi koyunlarında ND1 ve ND2 geni mutasyon bölgeleri

Sample	Mutasyon	Sekans	Aminoasit
ND1-RefSeq	G474A	AAT GGG TCC	Gly
ND1-İvesi		AAT GGA TCC	Gly
ND1-RefSeq	G687A	TAT GCG AAT	Ala
ND1-İvesi		TAT GCA AAT	Ala
ND2-RefSeq	T273C	TTT AAT CCA	Asn
ND2-İvesi		TTT AAC CCA	Asn
ND2-RefSeq	C519T	CAA ACC CAA	Thr
ND2-İvesi		CAA ACT CAA	Thr
ND2-RefSeq	C558T	GCC CAC ATA	Asp
ND2-İvesi		GCC CAT ATA	Asp



Şekil 4. 3. Evcil koyun ND1 protein modeli



<https://swissmodel.expasy.org/interactive/9sLU6g/models/>

Şekil 4. 4. Evcil koyun ND2 protein modeli

İvesi koyunlarında, mitokondriyal ND1 ve ND2 geni DNA sekanslarında tespit edilen mutasyonlar sırasıyla; G474A, G687A ve T273C, C519T, C558T şeklinde görülmüştür (Çizelge 4.1. ve Çizelge 4.2.).

Yapılan analizler neticesinde protein model kalitesinin Z skorları incelendiğinde her iki protein modelinin de uygun sınırlarda olduğu ve mutasyon sonucu değişen bölgelere rağmen optimal protein modeli gösterdiği tespit edilmiştir. Koyun mitokondriyal ND1-ND2 protein modelleri incelendiğinde, mutasyonların (silent) proteininin yapısı ve özelliğinde önemli değişimlere neden olmadığı tespit edilmiştir. (Şekil 4.3. ve Şekil 4.4.).

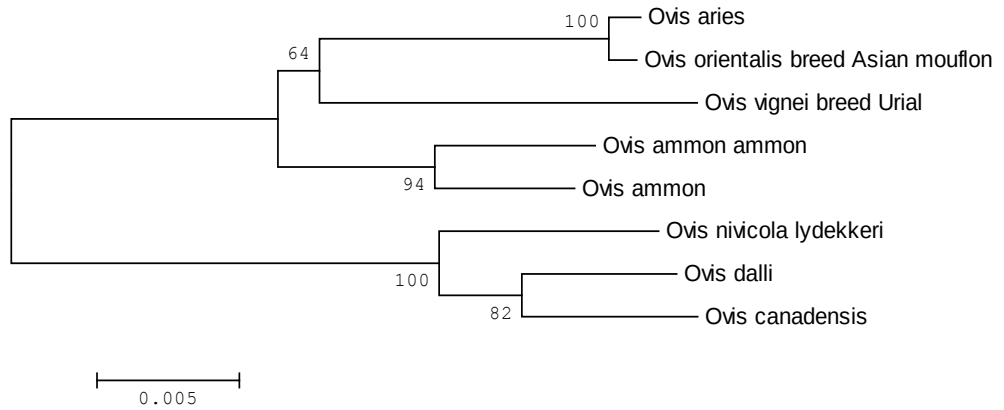
4.4. Evcil Koyun İle Yabani Koyunlar Arasında Genetik İlişkiler

Evcil koyun ile yabani koyunlar arasında dizi bilgileri (*Ovis nivicola lydekkeri* NC_039431, *Ovis aries* NC_001941, *Ovis dalli* NC_039432, *Ovis ammon ammon* NC_047196, *Ovis vignei* breed Urial NC_026064, *Ovis orientalis* breed Asian mouflon NC_026063, *Ovis ammon* NC_020656, *Ovis canadensis* NC_015889) birlikte değerlendirilerek filogenetik analizler yapılmıştır.

Mitokondriyal ND1 bölgesi DNA sekans bilgisine göre evcil koyun ile yabani koyunları arasındaki genetik uzaklıklar (Çizelge 4.6.) ve filogenetik ağaç verilmiştir (Şekil 4.5.). ND2 bölgesi DNA sekans bilgisine göre ise evcil ve yabani koyunlar arasındaki genetik uzaklıklar (Çizelge 4.7.) ve filogenetik ağaç ise Şekil 4.6.'da verilmiştir.

Çizelge 4. 6. ND1 genine göre koyunlar arasında genetik uzaklıklar

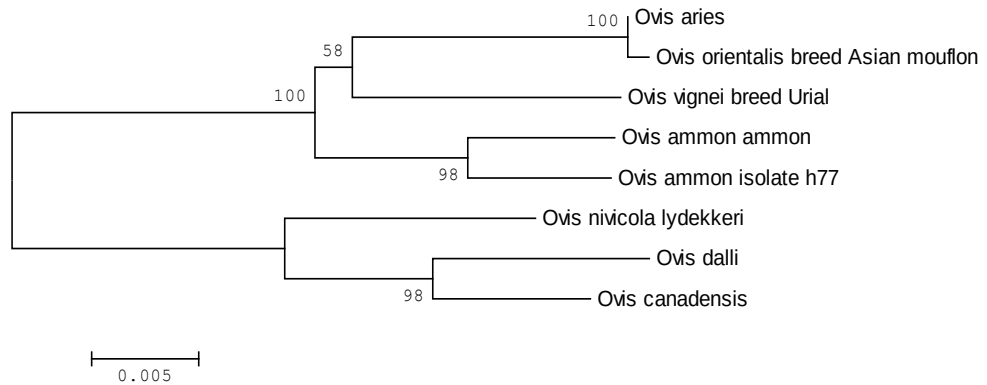
Species 1	Species 2	Dist (%)
Ovis aries	Ovis orientalis breed Asian mouflon	0,21
Ovis ammon ammon	Ovis ammon	1,06
Ovis dalli	Ovis canadensis	1,16
Ovis nivicola lydekkeri	Ovis dalli	1,59
Ovis nivicola lydekkeri	Ovis canadensis	1,7
Ovis aries	Ovis ammon	2,23
Ovis orientalis breed Asian mouflon	Ovis ammon	2,23
Ovis aries	Ovis ammon ammon	2,45
Ovis orientalis breed Asian mouflon	Ovis ammon ammon	2,45
Ovis aries	Ovis vignei breed Urial	2,45
Ovis orientalis breed Asian mouflon	Ovis vignei breed Urial	2,45
Ovis ammon ammon	Ovis vignei breed Urial	2,56
Ovis ammon	Ovis vignei breed Urial	2,56
Ovis nivicola lydekkeri	Ovis ammon ammon	4,2
Ovis nivicola lydekkeri	Ovis ammon	4,2
Ovis dalli	Ovis ammon ammon	4,31
Ovis dalli	Ovis ammon	4,31
Ovis dalli	Ovis orientalis breed Asian mouflon	4,43
Ovis nivicola lydekkeri	Ovis aries	4,54
Ovis canadensis	Ovis aries	4,54
Ovis nivicola lydekkeri	Ovis orientalis breed Asian mouflon	4,54
Ovis canadensis	Ovis orientalis breed Asian mouflon	4,54
Ovis canadensis	Ovis vignei breed Urial	4,54
Ovis dalli	Ovis aries	4,65
Ovis canadensis	Ovis ammon ammon	4,65
Ovis canadensis	Ovis ammon	4,65
Ovis nivicola lydekkeri	Ovis vignei breed Urial	4,76
Ovis dalli	Ovis vignei breed Urial	4,87



Şekil 4. 5. ND1 genine göre koyunlar arasında filogenetik ilişkiler

Çizelge 4. 7. ND2 genine göre koyunlar arasında genetik uzaklıklar

Species 1	Species 2	Dist (%)
Ovis aries	Ovis orientalis breed Asian mouflon	0,1
Ovis ammon ammon	Ovis ammon isolate h77	1,36
Ovis dalli	Ovis canadensis	1,75
Ovis nivicola lydekkeri	Ovis canadensis	2,54
Ovis aries	Ovis vignei breed Urial	2,54
Ovis orientalis breed Asian mouflon	Ovis vignei breed Urial	2,64
Ovis aries	Ovis ammon ammon	2,74
Ovis aries	Ovis ammon isolate h77	2,74
Ovis orientalis breed Asian mouflon	Ovis ammon ammon	2,84
Ovis orientalis breed Asian mouflon	Ovis ammon isolate h77	2,84
Ovis nivicola lydekkeri	Ovis dalli	2,94
Ovis vignei breed Urial	Ovis ammon ammon	2,94
Ovis vignei breed Urial	Ovis ammon isolate h77	2,94
Ovis nivicola lydekkeri	Ovis ammon ammon	5,16
Ovis nivicola lydekkeri	Ovis ammon isolate h77	5,16
Ovis nivicola lydekkeri	Ovis vignei breed Urial	5,27
Ovis canadensis	Ovis vignei breed Urial	5,37
Ovis nivicola lydekkeri	Ovis aries	5,47
Ovis canadensis	Ovis aries	5,58
Ovis nivicola lydekkeri	Ovis orientalis breed Asian mouflon	5,58
Ovis dalli	Ovis vignei breed Urial	5,58
Ovis canadensis	Ovis orientalis breed Asian mouflon	5,68
Ovis canadensis	Ovis ammon ammon	5,68
Ovis dalli	Ovis ammon isolate h77	5,68
Ovis canadensis	Ovis ammon isolate h77	5,68
Ovis dalli	Ovis ammon ammon	5,89
Ovis dalli	Ovis aries	5,99
Ovis dalli	Ovis orientalis breed Asian mouflon	6,1



Şekil 4. 6. ND2 genine göre koyunlar arasında filogenetik ilişkiler

İvesilerden alınan örnekler ile ND1 için elde edilen veriler neticesinde evcil koyunlar (*Ovis aries-Ovis orientalis breed Asian mouflon*) ile yabani koyunlar (*Ovis dalli-Ovis vignei breed Urial*) arasındaki genetik uzaklıklar sırasıyla % 0,21 - % 4,87 (0,0021-0,0487) olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.6.). ND1 geni Neighbour-Joining yöntemi kullanılarak yapılan genetik ağaçlandırma ise Şekil 4.5.'te gösterilmiştir. Diğer bir gen olan ND2 için genetik uzaklık ise evcil koyunlar (*Ovis aries-Ovis orientalis breed Asian mouflon*) ile yabani koyunlarda (*Ovis dalli-Ovis vignei breed Urial*) sırasıyla % 0,1 - % 6,1 (0,0010-0,0610) arasında hesaplanmıştır (Çizelge 4.7.). Yine ND2 geni için Neighbour-Joining ağaçlandırma yöntemi ile yapılan ağaçlandırma Şekil 4.6.'da gösterilmiştir.



5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Bu çalışmada, Şanlıurfa yöresi Tek Tek dağlarında yetiştirilen İvesi koyunlarında, mitokondriyal ND1 ve ND2 geni DNA sekanslarındaki mutasyonları tespit etmek amacıyla koyunlardan kan örnekleri alınmış ve DNA izolasyonları yapılmıştır. Yapılan PCR analizleri sonucunda ise tespit edilen mutasyonlar sırasıyla; G474A, G687A ve T273C, C519T, C558T şeklinde görülmüştür (Çizelge 4.1. ve Çizelge 4.2.). Bu mutasyonların protein sentezinde aminoasit dizilimine etkili olmadığı (silent mutasyon) tespit edilmiştir (Çizelge 4.3. ve Çizelge 4.4.).

Alınan kan örneklerinden mutasyon tespit edilen örnekler DNA sekansının belirlenmesi amacıyla dizi analizi yapılmıştır. Elde edilen dizi analizleri ile İvesi koyunların ND1 ve ND2 gen bölgesi dizileri belirlenmiştir (Çizelge 4.1. ve Çizelge 4.2.). Gen dizi bilgilerine göre ivesi koyunları ile yabani ırklar arasındaki filogenetik ağaçlar belirlenmiştir (Şekil 4.5. ve Şekil 4.6.). İvesilerden alınan örnekler ile ND1 için elde edilen veriler neticesinde evcil koyunlar (*Ovis aries-Ovis orientalis breed Asian mouflon*) ile yabani koyunlar (*Ovis dalli-Ovis vignei breed Urial*) arasındaki genetik uzaklıklar sırasıyla % 0,21 - % 4,87 (0,0021-0,0487) olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.6.). ND2 geni için genetik uzaklık ise evcil koyunlar (*Ovis aries-Ovis orientalis breed Asian mouflon*) ile yabani koyunlarda (*Ovis dalli-Ovis vignei breed Urial*) sırasıyla % 0,1 - % 6,1 (0,0010-0,0610) arasında hesaplanmıştır (Çizelge 4.7.).

Sonuç olarak, bu çalışmada gen dizi bilgisinin, koyun genetik çalışmalarına, hayvanların ıslah çalışmasına, biyoçeşitlilik ve gen koruma çalışmasına katkı sağlayacaktır. İvesi koyun ırkının morfolojik bakımdan farklılık gösteren varyeteleri arasındaki genetik ilişkilerin daha kapsamlı bir şekilde araştırılması gerekmektedir. Herhangi bir ırk ile ilgili genetik karakterizasyon çalışması yapılmış olsa dahi çiftlik hayvanlarında biyoçeşitlilik kaybının önlenmesinde ihtiyaç duyulan tedbirlerin alınabilmesi için belirli aralıklarda hayvanların sahip oldukları genotipler hakkında bilgiler toplanılması gerekmektedir.

Ülkemiz genetik biyoçeşitlilik yönünden dünyanın sayılı ülkelerinden olmasının yanı sıra arkeolojik bulgulara geçmişten günümüze evcilleştirmenin

merkezi olduğunu göstermektedir. Son yıllarda teknolojinin daha da ilerlemesiyle beraber moleküler genetik alanında çok sayıda yöntem ortaya çıkmış ve bu yöntemler sayesinde daha hızlı ve kesin sonuçlar elde edilmeye başlanmıştır. Bu yöntemlerin Türkiye çiftlik hayvanlarından elde edilecek verimlerin maksimum seviyeye çıkarılabilmesi için araştırmacılarca uygulanması elzemdir. Bu yeni yöntemlerin Marker Destekli Seleksiyon (MAS) çalışmalarına da öncülük edebileceği beklenmektedir.



KAYNAKLAR

- ÁLVAREZ, I., CAPOTE, J., TRAORÉ, A., FONSECA, N., PÉREZ, K., CUERVO, M., FERNANDEZ, I. ve GOYACHE, F. (2013). Mitochondrial analysis sheds light on the origin of hair sheep. *Animal genetics*, 44(3), 344-347.
- AJMONE-MARSAN, P. ve THE GLOBALDIV CONSORTIUM (2010). A global view of livestock biodiversity and conservation-GLOBALDIV. *Animal Genetics*, 41 (Suppl.):1-5. doi: 10.1111/j.1365-2052.2010.02036.x.
- AKÇA, N. (2016). Halk elinde yetiştirilen karacadağ zom koyununun süt bileşimi ve süt verim özellikleri (Master's thesis, Fen Bilimleri Enstitüsü).
- AKSAKAL, V., EMSEN, E., ÖZDEMİR, M. ve MACİT, M. 2009. Effects of Various Ages of Weaning on Growth Performance of Morkaraman Lambs. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 8 (8) : 1487-1490.
- BEN SLIMEN, H., SCHASCHL, H., KNAUER, F. ve SUCHENTRUNK, F. (2017). Selection on the mitochondrial ATP synthase 6 and the NADH dehydrogenase 2 genes in hares (*Lepus capensis* L., 1758) from a steep ecological gradient in North Africa. *BMC evolutionary biology*, 17(1), 46.
- BİRBEN, E. 2007. Polimeraz Zincir Reaksiyonu-Restriksiyon Parça Uzunluğu Polimorfizmi (PCR-RFLP) DNA'nın Restriksiyon Endonükleazlar ile Kesimi. *Astım Allerji İmmünoloji*, 5(1):53-55.
- DIAMOND, J. 2002. Evolution, consequences and future of plant and animal domestication. *Nature*, 418:700-707.
- DYMOVA, M. A., ZADOROZHNY, A. V., MİSHUKOVA, O.V., KHRAPOV, E. A., DRUZHKOVA, A. S., TRİFONOV, V. A., KİCHİĞİN, I. G., TİSHKİN, A. A., GRUSHİN, S. P. ve FİLİPENKO, M. L. 2017. Mitochondrial DNA analysis of ancient sheep from Altai. *Animal genetics*. 48(5) :615-618.
- EMSEN, H. 1982. Morkaraman ve ivesi Irkkan ile Bunların Kendi Aralarında ve Merinoslarla Melezlenmesinden Elde Edilen Yapağların Halı Sanayiinde Kullanılabilir Olanakları. Doçentlik Tezi. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi. Erzurum.
- ERTUĞRUL, M., DELLAL, G., ELMACI, C., AKIN, A.O., PEHLİCAN, E., SOYSAL, M.İ. ve ARAT, S. (2010). Çiftlik hayvanları genetik kaynaklarının korunması ve sürdürülebilir kullanımı, Ziraat Mühendisliği, VII Teknik Kongresi Bildiri Kitabı I, 179-198, Ankara, Türkiye.
- ERTUĞRUL, M., DELLAL, G., SOYSAL, İ., ELMACI, E., AKIN, O., ARAT, S., BARITÇI, İ., PEHLİVAN, E. ve YILMAZ, O. (2009). Türkiye yerli koyun ırklarının korunması, Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 23(2): 97-119.
- FUENTE, L.F., GABİNA, D., CAROLİNO, N. ve UGARTE E. 2006. The Awassi and Assaf Breeds In Spain and Portugal, European Association for Animal Production (EAAP), 57 Annual Meeting, Antalya, Sheep and Goat Commission, Session 14: Awassi Sheep, page 14-20.
- GALAL, S. (2005). Biodiversity in goats. *Small ruminant research*, 60(1-2), 75-81.
- GATESY, J., YELON, D., DESALLE, R. ve VRBA, E. S. 1992. Phylogeny of the Bovidae (Artiodactyla, Mammalia) based on mitochondrial ribosomal DNA-sequences. *Molecular Biology and Evolution*, 9, 433– 446.

- GOOTWINE, E. ve POLLOTT, G.E. 2000. Factors Affecting Milk Production in Improved Awassi Dairy Ewes. *British Society of Animal Science*, 71:607-615.
- GROENEVELD, L.F., LENSTRA, J.A., ENDING, H., TORO, M.A., SCHERF, B., PILLING, D., NEGRINI, R., FINLAY, E.K., JIANLIN, H., GROENEVELD, E., WEIGEND, S. ve THE GLOBALDIV CONSORTIUM. (2010). Genetic diversity in farm animals- a review. *Animal Genetics*. 41(Suppl.1):6-31. doi: 10.1111/j.1365-2052.2010.02038.x.
- GÜZ, N. ve KILINÇER, N. 2012. Böcek sistematğinde moleküler markörlerin kullanımı. *Türk. Entomol. Bült.*, 2 (2): 125-145.
- HIENDLEDER, S., MAINZ, K., PLANTE, Y. ve LEWALSKI, H. 1998. Analysis of mitochondrial DNA indicates that domestic sheep are derived from two different ancestral maternal sources. No evidence for contributions from Urial and Argali sheep. *J Hered.*, 89:113–120.
- HUSSAİN, T., BABAR, M. E., ve WAJİD, A. 2016. Extra nuclear DNA control region and cytochrome b gene based phylogeny of kail sheep breed of Azad Jammu and Kashmir: Implications towards conservation. *J. Anim. Plant Sci.*, 26(6):1890-1893.
- JI, F., SHARPLEY, M. S., DERBENEVA, O., ALVES, L. S., QIAN, P., WANG, Y., CHALKIA, D., LVOVA, M., XU, J., YAO, W., SIMON, M., PLATT, J., XU, S., ANGELIN, A., DAVILA, A., HUANG, T., WANG, P. H., CHUANG, L. M., MOORE, L. G., QIAN, G. ve WALLACE, D. C. (2012). Mitochondrial DNA variant associated with Leber hereditary optic neuropathy and high-altitude Tibetans. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 109(19), 7391–7396.
- KARACA, O. ve CEMAL, D. (1998). Bata Anadolu Koyunculugunda Genetik Kaynakların Korunma ve Kullanımı. *Ege Bölgesi 1. Tarım Kongresi*, 7-11 Eylül, Bildiri Özetleri Kitabı, 573-582, ADÜ Ziraat Fakültesi, Türkiye.
- VURAL, M.E., KARATAŞ, A., AKAY, N., KİRAZ, S. ve KONCAGÜL, S. (2014). Güney Karaman Ve Karacadağ Zom Koyunlarının Filogenetik Yapılarının Moleküler Tekniklerle Belirlenmesi Projesi, Gap Uluslararası Tarımsal Araştırma ve Eğitim Merkezi (GAPUTAEM), Gıda, Tarım Ve Hayvancılık Bakanlığı, sf. 157-176.
- KATOH, K., ROZEWICKI, J. ve YAMADA, K. D. (2019). MAFFT online service: multiple sequence alignment, interactive sequence choice and visualization. *Briefings in bioinformatics*, 20(4), 1160-1166.
- KUSZA, S., ZAKAR, E., BUDAI, C., CZISZTER, L.T., PADEANU, I., ve GAVOJDIAN, D. 2015. Mitochondrial DNA variability in Gyimesi Racka and Turcana sheep breeds. *Acta Biochimica Polonica*, 62(1): 273-280.
- LIU, J., LU, Z., YUAN, C., WANG, F. ve YANG, B. (2020). Phylogeography and Phylogenetic Evolution in Tibetan Sheep Based on MT-CYB Sequences. *Animals*, 10(7), 1177.
- LIU, J., DİNG, X., ZENG, Y., YUE, Y., GUO, X., GUO, T., CHU, M., WANG, F., HAN, J., FENG, J., SUN, X., NİU, C., YANG, B., GUO, J. ve YUAN, C. 2016. Genetic Diversity and Phylogenetic Evolution of Tibetan Sheep Based on mtDNA D-Loop Sequences. *PLoS ONE* 11(7).
- MEADOWS, J.R., CEMAL, I., KARACA, O., GOOTWINE, E. ve KIJAS, J.W. 2007. Five ovine mitochondrial lineages identified from sheep breeds of the near East. *Genetics*, 175(3):1371-1379.

- MOUSUMEE, M. A., HOSSAIN, M. M., HOQUE, M. R. ve BHUIYAN, M. S. A. (2021). Genetic Diversity and Maternal Origin of Indigenous Sheep of Bangladesh Using Mitochondrial DNA. *Iranian Journal of Applied Animal Science*, 11(2), 311-318.
- NADERI, S., REZAEI, H. R., TABERLET, P., ZUNDEL, S., RAFAT, S.A., NAGHASH, H. R., EL-BARODY, M. A., ERTUGRUL, O. ve POMPANON, F., 2007. Econogene Consortium. Large-scale mitochondrial DNA analysis of the domestic goat reveals six haplogroups with high diversity. *PLoS ONE*, 2(10): e1012.
- NADLER, C.F., KOROBITSINA, K.V., HOFFMANN, R.S. ve VORONTSOV, N.N. (1973). Cytogenetic differentiation, geographic distribution and domestication of palaeartic sheep (Ovis). *Zeitschrift für Säugetierkunde*, 38: 109–125.
- NCBI. 2021. Erişim Adresi: [<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/genomes/249>]. Erişim Tarihi: Eylül/2021.
- NIU, F., LUO, J., LIN, Z., FANG, J. ve LIU, M. 2017. Thaw-induced slope failures and stability analyses in permafrost regions of the Qinghai-Tibet Plateau, China. *Landslides*, 13(1): 55-65.
- ÖZŞENSOY, Y. ve KURAR, E. (2012). Markör Sistemleri ve Genetik Karakterizasyon Çalışmalarında Kullanımları. *Journal of Cell & Molecular Biology*, 10(2).
- PAIVA, S. R., FARIA, D. A., SILVÉRIO, V. C., MCMANUS, C., EGITO, A. A., DERGAM, J. A., GUIMARÃES, S.E.F., CASTRO, S.R., ALBUQUERQUE, M.S.M. ve MARIANTE, A. S. (2005). Phylogenetic relationships among brazilian sheep breeds. In Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia-Artigo em anais de congresso (ALICE). In: THE ROLE OF BIOTECHNOLOGY, 2005, Turin, Italy.[Anais...].[Sl: sn], 2005.
- QUICKGO, 2021. Gene Ontology and GO Annotations, Erişim: (<https://www.ebi.ac.uk/QuickGO/>)
- PERERA, B.M.A.O., ABEYGUNAWARDENA, H., VALE, W.G. ve CHANTALAKHANA, C. (2005). Buffalo. In: “Livestock and Wealth Creation - Improving the Husbandry of Animals Kept by Poor People in Developing Countries”. Nottingham University Press, 451-471, United Kingdom.
- RYDER, M. L. 1984. Sheep. In: *Evolution of Domesticated Animals* (IL Mason, ed), Longman, London, 63-85.
- SAITOU, N. ve NEI, M. (1987). The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular biology and evolution*, 4(4), 406-425.
- SCHLÖTTERER, C. 2004. The evolution of molecular markers — just a matter of fashion? *Nature Review*. 5: 63-69.
- SHI, Y., HU, Y., WANG, J., ELZO, M. A., YANG, X. ve LAI, S. (2018). Genetic diversities of MT-ND1 and MT-ND2 genes are associated with high-altitude adaptation in yak. *Mitochondrial DNA Part A*, 29(3), 485-494.
- SHIROKOVA, N.V., BAKOEV, N.F., KOLOSOVA, M.A., GETMANTSEVA, L.V. ve KOLOSOV, YU. A. 2018. Study of Nucleotide Sequence of Mtdna D-Loop In Merino Sheep Breeds of The Russian Federation. Posted in *Agriculture*, 11:77 .

- SOYSAL, M. İ. ve ÖZKAN, E. 2002. Zooteknik anlamda ırk. *Animalia Enformasyon Dergisi*, 17 : 200.
- SOYSAL, M.İ., GÜRCAN E.K. ve ÖZKAN, E. 2003a. Dünya’da ve Türkiye’de Çiftlik Hayvanları Genetik Çeşitliliğinin Korunması Sorunu GAP III. Tarım Kongresi, 2-3 Ekim 2003, Urfa, pp:615-623
- SOYSAL, M.I., ÖZKAN, E. ve GÜRCAN, E.K. 2003b. The Status of Native Farm Animal Genetic Diversity in Türkiye and in The World. *Trakia Journal of Sciences*, Vol. 1, No:3, pp1-12, 2003
- SÖNMEZ, R., 1974. Koyunculuk ve Yapağı Elazığ Üniversitesi Ziraat Fakültesi. 2. Baskı No: 108.
- STRINGFIXER, 2021. Mitokondriyal DNA. Erişim: https://stringfixer.com/tr/Mitochondrial_DNA
- TAPIO, M., MARZANOV, N., OZEROV, M., CINKULOV, M., GONZARENKO, G., KISELYOVA, T., MURAWSKI, M., VIINALASS, H. ve KANTANEN, J. (2006). Sheep mitochondrial DNA variation in European, Caucasian, and Central Asian areas. *Molecular biology and evolution*, 23(9).
- TATLI, F. (2021). Tek Tek Dağları Bölgesindeki Doğal Meraların Yem Değeri İle Merada Otlayan İvesi Kuzuların Besi Performansının Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Harran Üniversitesi, Şanlıurfa.
- TAMURA, K., PETERSON, D., PETERSON, N., STECHER, G., NEI, M., ve KUMAR, S. (2011). MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Molecular biology and evolution*, 28(10), 2731-2739.
- UZUN, M., GUTIÉRREZ-GIL, B., ARRANZ, J. J., SAN PRIMITIVO, F., SAATCI, M., KAYA, M. ve BAYÓN, Y. (2006). Genetic relationships among Turkish sheep. *Genetics, selection, evolution : GSE*, 38(5), 513–524.
- VARDAR, K.Ç., ARAS, S. ve CANSARAN, D.D. 2010. Bitki Islahında Moleküler Belirteçlerin Kullanımı ve Gen Aktarımı. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 67(1): 33-43.
- WILKINS. L., WOTTON, S.B., PARKMAN, I.D., KETTLEWELL, P.J. ve GRIFFITHS, P. 1999. Constant current stunning effect on bird welfare and carcass quality. *Journal of Applied Animal Welfare Science* 8: 465-471.
- ZEDER, M. A. ve HESSE, B. 2000 . The initial Domestication of Goats (*Capra Hircus*) in The Zagros Mountains 10,000 Years Ago. *Science*, 287(5461):2254-2257.
- ZEUNER, F.E. 1963. A History of Domesticated Animals. Harper & Row: New York.