

T.C.
NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**TÜRKİYE YERLİ KEÇİ IRKLARINDA MİKROSATELLİT DNA
BELİRTEÇLERİ KULLANILARAK GENETİK ÇEŞİTLİLİĞİN
BELİRLENMESİ**

Nimet GÜMÜŞ

TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN: Doç. Dr. Fulya ÖZDİL

TEKİRDAĞ-2018

Her hakkı saklıdır.

Doç. Dr. Fulya ÖZDİL danışmanlığında, Nimet GÜMÜŞ tarafından hazırlanan “Türkiye Yerli Keçi Irklarında Mikrosatellit DNA Belirteçleri Kullanılarak Genetik Çeşitliliğin Belirlenmesi” isimli bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Juri Başkanı: Doç. Dr. Emel ÖZKAN ÜNAL

İmza :

Üye: Doç. Dr. Fulya ÖZDİL (Danışman)

İmza :

Üye: Yrd. Doç. Dr. Muhammet KAYA

İmza :

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu adına

Prof. Dr. Fatih KONUKCU

Enstitü Müdürü

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

TÜRKİYE YERLİ KEÇİ IRKLARINDA MİKROSATELLİT DNA BELİRTEÇLERİ KULLANILARAK GENETİK ÇEŞİTLİLİĞİN BELİRLENMESİ

Nimet GÜMÜŞ

Namık Kemal Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Fulya ÖZDİL

Bu çalışmada; Türkiye’de yetiştirilen 4 yerli keçi ırkında (Ankara, Kilis, Honamlı ve Kıl Keçisi) 9 mikrosatellit belirteci kullanılarak genetik çeşitliliğin belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışılan mikrosatellit belirteçlerine ait veriler ile yapılan istatistik analizler sonucunda; lokus başına düşen ortalama allel sayısının 13.66 allel / lokus ve heterozigotluk düzeylerinin 0.4878 ile 0.9600 arasında olduğu belirlenmiştir. Irklar kapsamında hesaplanan ortalama gözlenen ve beklenen heterozigotluk değerlerinin ise sırasıyla 0.7552 ve 0.7964 olduğu belirlenmiştir. Çalışma kapsamında incelenen ırklara ait F_{IS} değerlerinin; -0.016 ile 0.105 arasında değiştiği saptanmıştır. Elde edilen F_{IS} değerleri incelendiğinde; çalışılan tüm populasyonlarda değerlerin sıfıra yakın olduğu ve sadece Ankara ve Kıl keçisi ırklarında istatistiki olarak önemli olduğu bulunmuştur. Ankara ve Kıl keçisi ırklarında F_{IS} değerlerinde gözlemlenen bu sapmanın homozigot fazlalığı nedeni ile olabileceği düşünülmektedir. Çalışma kapsamında hesaplanan F_{ST} değerleri incelendiğinde; tüm ırklarda değerlerin (0.0223 ila 0.0456) arasında değiştiği ve ırklar arasında az bir genetik farklılaşmanın olduğu belirlenmiştir. Hesaplanan F_{ST} değerlerinin ikili karşılaştırılması sonucunda tüm değerlerin ($P < 0.001$ ’e göre) istatistiki olarak önemli olduğu bulunmuştur.

Türkiye yerli keçi ırklarında 9 mikrosatellit belirteci kullanılarak yapılan faktöriyel birleştirici analiz ve temel bileşenler analizi sonuçları incelendiğinde; Honamlı keçi ırkına ait bireylerin diğer ırklar ile nispeten daha karışmış olarak gruplandığı, fakat diğer yerli keçi ırklarının birçok bireyinin (Kilis, Kıl ve Ankara Keçisi) birbirlerinden daha net olarak ayrıldığı ve bu ırklara ait bireylerin birbirleri ile genel olarak farklı eksenlerde gruplandığı görülmüştür.

Çalışmada kullanılan belirteçlerin Türkiye yerli keçi ırklarında tümünün polimorfik yapıda oldukları belirlenmiştir. Bu nedenle; Türkiye yerli keçi ırklarının genetik karakterizasyon çalışmalarında öncelikli olarak kullanımları önerilebilmektedir. Elde edilen tüm sonuçlar birlikte değerlendirildiğinde; 9 mikrosatellit belirteçinden elde edilen veriler ile yapılan istatistik analiz sonuçlarına göre; Honamlı keçi ırkına ait bireyler hariç, diğer ırklara ait bireylerin genetik olarak birbirlerinden daha net olarak ayrıldığı gözlemlenmektedir. Bu çalışma kapsamında elde edilen sonuçlar, “Halk Elinde Ülkesel Küçükbaş Hayvan Islahı Projesine” dahil olan işletmelerdeki populasyonların genetik yapılarının belirlenmesine ve mevcut durumlarının incelenmesine olanak sağlamaktadır.

Anahtar kelimeler: Keçi, *Capra hircus*, mikrosatellit, genetik çeşitlilik, Türkiye

2018, 84 sayfa

ABSTRACT

MSc. Thesis

THE IDENTIFICATION OF GENETIC DIVERSITY IN TURKISH NATIVE GOAT BREEDS BY USING MICROSATELLITE DNA MARKERS

Nimet GÜMÜŞ

Namık Kemal University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Agricultural Biotechnology

Supervisor: Doç. Dr. Fulya ÖZDİL

In this study; 4 native goat breeds reared in Turkey (Ankara, Kilis, Honamlı and Hair Goat) were used to determine the genetic diversity by using 9 microsatellite markers. The average number of alleles per locus was determined to be 13.66 alleles / locus and the heterozygosity levels ranged from 0.4878 to 0.9600. The mean observed and expected heterozygosity values were calculated as 0.7552 and 0.7964 respectively. F_{IS} values of four local breeds were found between -0.016 to 0.105. When the F_{IS} values were examined; it was found that the values were close to zero in all the studied populations except that it is statistically significant only in Ankara and Hair Goat breeds. This may be due to the excess of homozygotes. The F_{ST} values were calculated between 0.023 to 0.0456 in all the studied breeds indicating that small genetic differentiation was found among breeds.

When the results of the factorial correspondence and the principal component analysis in Turkish native goat breeds were investigated, the Honamlı goat individuals were grouped relatively more close with the other breeds, but the other native goat breeds (Kilis, Hair and Ankara Goat) were more clearly separated from each other and the individuals belonging to these breeds were grouped in different axis. All the studied microsatellite markers used in this study were found to be polymorphic in Turkish native goat breeds. Therefore; these markers can be recommended to use for the genetic characterization studies of Turkish native goat breeds.

When all the results were evaluated together, except for the Honamlı goat breed, all the other goat breeds of Turkey, were genetically separated from each other. The results of this study will allow to determine the genetic structure and current situation of the goat populations reared in the farms which are included in the "Publicly-Enrolled National Sheep and Goat Breeding Project of Turkey".

Key words: Goat, *Capra hircus*, microsatellite, genetic diversity, Turkey.

2018, 84 pages

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	i
ABSTRACT	ii
ÇİZELGE DİZİNİ	v
ŞEKİL DİZİNİ	vi
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	viii
DENKLEMLER DİZİNİ	ix
ÖNSÖZ	x
1.GİRİŞ	1
2. KURAMSAL TEMELLER	3
2.1. DNA Düzeyindeki Polimorfizm Teknikleri	6
2.1.1. Mikrosatellitlerin Önemi ve Kullanım Alanları	8
2.2. Türkiye Yerli Keçi Irkları ve Önemi	9
2.2.1. Ankara Keçisi (Tiftik Keçisi)	11
2.2.2. Kıl Keçisi	13
2.2.3. Kilis Keçisi	14
2.2.4. Honamlı Keçisi	15
2.3. Kaynak Araştırması	17
3. MATERYAL VE YÖNTEM	25
3.1. Materyal	25
3.2. Örneklerin Hazırlanması.....	26
3.2.1. Fenol-Kloroform Yöntemi ile Kandan DNA İzolasyonu	26
3.2.2. Genomik DNA'nın agaroz jelde kontrol edilmesi.....	28
3.2.3. Çalışmada Kullanılan Mikrosatellit Belirteçler	28
3.2.4. Mikrosatellit Belirteçlerin Optimizasyonu	29
3.2.5. PCR Ürünlerinin Agaroz Jelde Kontrol Edilmesi	32
3.2.6. Mikrosatellit Belirteçlerin Bant Uzunluklarının Hesaplanması	32
3.3. Elde Edilen Verilerin Analizinde Kullanılan İstatistik Metodları	33
3.3.1. Allelik Varyasyon ve Heterozigotluk Ölçümü.....	34
3.3.2. F İstatistikler	35
3.3.3. Faktöriyel Birleştirici Analiz	38
3.3.4. Irklar Arası Genetik Uzaklıklar	38

3.3.5. Temel Bileşenler Analizi	40
4. BULGULAR	42
4.1. DNA İzolasyonu Sonuçları.....	42
4.2. Mikrosatellit Bölgelerin PCR Sonuçları.....	42
4.3. Fragment Analizi Sonuçları.....	45
4.4. İstatistik Analiz Sonuçları	48
4.4.1. Allelik Varyasyonlar ve Heterozigotluğun Ölçülmesi	48
4.4.2. F İstatistikleri.....	63
4.4.3. Faktöriyel Birleştirici Analiz Sonuçları (Factorial Correspondence Analysis-FCA).....	65
4.4.4. Irklar Arası Genetik Uzaklıklar	67
4.4.5. Temel Bileşenler Analizi (Principal Component Analysis-PCA).....	69
5. TARTIŞMA	71
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	76
7. KAYNAKLAR.....	78
ÖZGEÇMİŞ	84

Çizelge 2.1 Türkiye yerli keçi ırk ve tiplerinin durumu	11
Çizelge 3.1. Çalışılan popülasyonlar, örnek sayıları ve örneklerin toplandığı yerler.....	25
Çizelge 3.2. Hazırlanan çözeltilerin miktar ve içerikleri.....	27
Çizelge 3.3. Çalışmada kullanılan mikrosatellit belirteçler.....	28
Çizelge 3.4. Mikrosatellit belirteçlerin PCR reaksiyon bileşenleri.....	29
Çizelge 3.5. Mikrosatellitlerin PCR çalışma sıcaklıkları.....	30
Çizelge 4.1. Allel sayılarının çalışılan ırklar ve mikrosatellit bölgeleri bazında dağılımı.....	49
Çizelge 4.2.Çalışmada gözlenen heterozigotluk (H_o) ve beklenen heterozigotluk (H_e) değerlerinin her bir lokus için popülasyonlara dağılımı, lokuslar ve ırklar bazında hesaplanan ortalama beklenen heterozigotluk düzeyleri.....	50
Çizelge 4.3.İrklarda Saptanan Ortalama Gözlenen (H_O) ve Beklenen (H_e) Heterozigotluk Değerleri.....	51
Çizelge 4.4.Çalışmada gözlenen özgün allellerin lokuslar ile ırklar açısından dağılımı ve frekansları.....	52
Çizelge 4.5.Çalışılan popülasyonların F_{IS} değerleri ve istatistiksel önemlilik	63
Çizelge 4.6.Popülasyonların F_{ST} değerleri ve önemlilik düzeyleri.....	64
Çizelge 4.7.Yerli keçi ırklarının birbirlerine olan D_S genetik uzaklıkları.....	67
Çizelge 5.1.Kaynak araştırması özet çıkarımlar	71

Şekil 2.1. Mikrosatellitlerin dizi tekrarlarının örnek şeması (Sezer 2008).....	8
Şekil 2.2. Ankara keçisi (TAGEM Türkiye Evcil Hayvan Genetik Kaynakları Tanıtım Kataloğundan alınmıştır.)	12
Şekil 2.3. Kıl keçisi (TAGEM Türkiye Evcil Hayvan Genetik Kaynakları Tanıtım Kataloğundan alınmıştır.)	14
Şekil 2.4. Kilis keçisi (TAGEM Türkiye Evcil Hayvan Genetik Kaynakları Tanıtım Kataloğundan alınmıştır.)	15
Şekil 2.5. Honamlı keçisi (TAGEM Türkiye Evcil Hayvan Genetik Kaynakları Tanıtım Kataloğundan alınmıştır.)	16
Şekil 3.1. Çalışmada kullanılan popülasyonların toplandığı iller.....	26
Şekil 3.2. Çalışmada kullanılan ABI cihazından bir görünüm.....	33
Şekil 4.1.DNA örneklerinin % 0.8'lik agaroz jelde görünüşleri.....	42
Şekil 4.2.CSRD0247 mikrosatellit belirtecinin PCR görüntüsü.....	42
Şekil 4.3.ILSTS87 mikrosatellit belirtecinin PCR görüntüsü.....	43
Şekil 4.4.INRA132 mikrosatellit belirtecinin PCR görüntüsü.....	43
Şekil 4.5. INRABERN172 mikrosatellit belirtecinin PCR görüntüsü.....	43
Şekil 4.6. SRCRSP05 mikrosatellit belirtecinin PCR görüntüsü.....	44
Şekil 4.7. ILSTS019 mikrosatellit belirtecinin PCR görüntüsü.....	44
Şekil 4.8. INRA006 mikrosatellit belirtecinin PCR görüntüsü.....	44
Şekil 4.9. INRA23 mikrosatellit belirtecinin PCR görüntüsü.....	45
Şekil 4.10.BM1329 mikrosatellit belirtecinin PCR görüntüsü.....	45
Şekil 4.11.CSRD0247 ve ILSTS87 belirteçlerinin fragment analizi sonrası allel uzunluk görüntüsü.....	46
Şekil 4.12.SRCRSP05 belirtecinin fragment analizi sonrası allel uzunluk görüntüsü.....	46
Şekil 4.13.INRA132 ve INRA23 belirteçlerinin fragment analizi sonrası allel uzunluk görüntüsü.....	46
Şekil 4.14. ILSTS019 belirtecinin fragment analizi sonrası allel uzunluk görüntüsü.....	47
Şekil 4.15. BM1329 belirtecinin fragment analizi sonrası allel uzunluk görüntüsü.....	47

Şekil 4.16. INRABERN172 belirtecinin fragment analizi sonrası allel uzunluk görüntüsü .	47
Şekil 4.17. INRA006 belirtecinin fragment analizi sonrası allel uzunluk görüntüsü.....	48
Şekil 4.18. CSRD0247 Mikrosatellit Bölgesinin Irklarda Görülme Sıklığı ve Frekansları.....	54
Şekil 4.19. ILSTS087 Mikrosatellit Bölgesinin Irklarda Görülme Sıklığı ve Frekansları.....	55
Şekil 4.20. INRA006 Mikrosatellit Bölgesinin Irklarda Görülme Sıklığı ve Frekansları.....	56
Şekil 4.21. SRCRSP05 Mikrosatellit Bölgesinin Irklarda Görülme Sıklığı ve Frekansları.....	57
Şekil 4.22. INRA23 Mikrosatellit Bölgesinin Irklarda Görülme Sıklığı ve Frekansları.....	58
Şekil 4.23. INRA132 Mikrosatellit Bölgesinin Irklarda Görülme Sıklığı ve Frekansları.....	59
Şekil 4.24. INRABERN172 Mikrosatellit Bölgesinin Irklarda Görülme Sıklığı ve Frekans...	60
Şekil 4.25. BM1329 Mikrosatellit Bölgesinin Irklarda Görülme Sıklığı ve Frekansları.....	61
Şekil 4.26. ILSTS019 Mikrosatellit Bölgesinin Irklarda Görülme Sıklığı ve Frekansları.....	62
Şekil 4.27.Çalışılan tüm yerli ırklara ait örneklerin arasındaki ilişkiyi gösteren faktöriyel birleştirici analiz grafiği.....	66
Şekil 4.28.Yerli keçi ırkları için D_S genetik uzaklığı kullanılarak komşu birleştirme metodu ile çizilen filogenetik ilişki.....	68
Şekil 4.29. 4 yerli keçi ırkının 9 mikrosatellit lokusunun allel frekanslarına göre gerçekleştirilen 3 boyutlu temel bileşenler analizi (PCA) sonuç grafiği.....	69

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

bp	: Baz çifti (bç)
C ⁰	: Santigrad derece
DNA	: Deoksiribo nükleik asit (Deoxyribonucleic acid)
dNTP	: Deoksinükleosid Trifosfat((Deoxynucleoside triphosphate)
D _s	: Nei'nin Standart Genetik Uzaklığı (Nei, 1972)
DG	: Dışlama gücü
EDTA	: Etilendiamintetraasetik asit(Ethylenediaminetetraacetic acid)
FAO	: Gıda Tarım Örgütü
FCA	: Faktöriyel Birleştirici Analizi (Factorial Correspondence Analysis)
F _{IS}	: Saf yetiştirme katsayısı
F _{ST}	: Populasyonlar arası standardize varyans
H _O	: Gözlenen ortalama heterozigotluk
H _E	: Beklenen ortalama heterozigotluk
HWE	: Hardy-Weinberg Dengesi
ISAG	: Uluslararası Hayvan Genetiği Derneği
KHCO ₃	: Potasyum bi karbonat
µg	: Mikrogram
µl	: Mikrolitre
ml	: Mililitre
mM	: Milimolar
MgCl ₂	: Magnezyum Klorür
NH ₄ Cl	: Amonyum klorid
NaCl	: Sodyum Klorür
ng	: nanogram
Nm	: Gen akışı
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Polymerase Chain Reaction)
PCA	: Temel Bileşenler Analizi (Principle Component Analysis)
PIC	: Polimorfik Bilgi İçeriği
rpm	: Bir dakikadaki rotor devir sayısı (Rotor per minute)
SDS	: Sodyumdedoksisülfat
TAGEM	: Tarımsal Araştırma Genel Müdürlüğü
Taq	: Restriksiyon Enzimi
TBE	: Tris/ Borik asit/ EDTA Tamponu
TE	: Tris EDTA tamponu
UV	: Ultraviyole (Ultraviolet)

DENKLEM 3.1. A_i Allelinin Gen Frekansı	34
DENKLEM 3.2. Her Bir Lokus İçin Ortalama Allel Sayısı.....	34
DENKLEM 3.3. Populasyonların Ortalama Beklenen Heterozigotluk Oranı	35
DENKLEM 3.4. F Parametreleri Arasındaki İlişki	35
DENKLEM 3.5. F_{ST} - Alt Populasyonlar Arasındaki Genetik Farklılığın Ölçüsü.....	36
DENKLEM 3.6. F_{IS} - Alt Populasyonlardaki Ortalama Akrabalı Yetiştirme Katsayısı.....	36
DENKLEM 3.7. Nei'nin Standart Genetik Uzaklık Yöntemi.....	39
DENKLEM 3.8. Populasyonlar Arası Genetik Uzaklığın Ölçülmesi.....	39
DENKLEM 3.9. Nei'nin D_A Uzaklık Yöntemi.....	40

ÖNSÖZ

Özellikle son 20 yıldır moleküler teknolojilerin hızla gelişmesiyle genetik araştırmaların oldukça arttığı dikkat çekmektedir. Genetiğin her alanında olduğu gibi hayvan genetiği alanında da bu teknolojinin kullanımı hızla artış göstermiştir. Moleküler teknolojiler; popülasyonların tanımlanması, evrim hakkındaki bilgilerin geliştirilmesi, genom haritalarının çıkarılması, ebeveyn tayini çalışmaları, kalıtsal hastalıkların belirlenmesi ve hayvan ıslahı gibi birçok konuda yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu teknikler ile yerli ırkların genetik yapıları incelenebilmekte, ırklar içi/arası genetik çeşitlilik düzeyleri belirlenebilmektedir. Bu bağlamda; kodominant belirteçlerden biri olan mikrosatellit lokuslarının kullanılması oldukça yaygındır. Bu çalışmada; Türkiye’deki bazı yerli keçi ırklarının mikrosatellit belirteçleri kullanımı ile genetik çeşitliliğinin belirlenmesi ve ırkların mevcut genetik yapısının incelenmesi amaçlanmıştır. Öncelikle saygıdeğer danışmam hocam Doç. Dr. Fulya ÖZDİL’e ve Doç. Dr. Emel ÖZKAN’a bu tezin başından sonuna kadarki tüm aşamalarında göstermiş oldukları özveri ve sabırlarından dolayı sonsuz teşekkür ederim. Tez jürisinde yer alan, değerli hocalarım Doç. Dr. Emel ÖZKAN, Yrd. Doç. Dr. Muhammet KAYA ve Doç. Dr. Fulya ÖZDİL’e; tezin moleküler ve istatistiksel analizlerinin yapılması aşamasında olan yardımlarından dolayı Doç. Dr. Emel ÖZKAN’a ve tezin yazım aşamasında gösterdiği özveri ve yardımlardan dolayı değerli hocam Doç. Dr. Fulya ÖZDİL’e gönülden teşekkür ederim. Çalışma süresince laboratuvar ortamını benimle paylaşan, beni destekleyen ve yardımını esirgemeyen laboratuvar çalışma arkadaşım; Ezgi GÜZEY’e, tez çalışmamın her aşamasında maddi ve manevi desteğini ve yardımlarını esirgemeyen babam Necdet GÜMÜŞ’e ve kardeşim Semiha GÜMÜŞ’e yürekten teşekkür ederim. Namık Kemal Üniversitesi, Tarımsal Biyoteknoloji Bölümünde bugünlere gelmemde emeği olan, beni yetiştiren ve yönlendiren, yüksek lisans çalışmam süresince laboratuvar çalışmaları, sonuçların analiz edilmesi ve tezin yazım aşamasında bana yardımcı olan, destek ve hoşgörü gösteren tüm bölüm hocalarıma ve arkadaşlarıma gönülden teşekkür ederim.

Bu tez çalışması, Namık Kemal Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından NKUBAP.03.YL.16.027 no’lu ‘Türkiye Yerli Keçi Irklarında Mikrosatellit DNA Belirteçleri Kullanılarak Genetik Çeşitliliğin Belirlenmesi’ başlıklı yüksek lisans projesi ile TAGEM-14/AR-GE/15 nolu “Türkiye Yerli Keçi Irklarında Mikrosatellit DNA Polimorfizm Tekniğinin Kullanılması ile Ebeveyn Tayini” başlıklı proje kapsamında desteklenmiştir. Desteklerinden dolayı NKÜBAP birimine ve TAGEM’e teşekkür ederim.

Aralık 2017

Nimet GÜMÜŞ

1.GİRİŞ

Dünyanın hemen her ülkesinde, özellikle gelişmekte olan ülkelerde; gelişme ve nüfus artışı nedeniyle hayvansal ürünlere talep artmakta, artan talebin karşılanması amacıyla hayvanların verimlerinin artırılması çabaları yoğunlaşmaktadır. Bu çabalar; çoğunlukla ülke, bölge ve hatta yörenin kendine özgü koşullarına uygun olmalarından dolayı yetiştirilmekte olan yerli ırkların ıslahı, kültür ırkları ile melezlenmesi yolu ile verimlerinin artırılmasına yönelik olmakta, hatta pek çok yerde yerli ırkların yerini yüksek verimli kültür ırkları almaktadır. Belirtilen bu nedenlerle özellikle yerli ırklarda genetik varyasyonun hızla azaldığı gözlemlenmektedir. Oysa bu yerli ırklar, yüz, hatta bin yıllardır yetiştirildikleri çevrenin özel koşullarına adapte olmaları sonucu ortaya çıkmış, verimleri düşük olmakla birlikte özgün niteliklere sahip, dayanıklı, kanaatkâr, yetersiz çevre koşullarında yaşamlarını sürdürüp üreyebilen hayvanlardır (Ertuğrul ve ark. 2000). Bu ırkların yok olması, sahip oldukları özgün niteliklerin de yok olması anlamındadır. Gelecekte ortaya çıkabilecek değişikliklerin bu özelliklerin hangisine gereksinim duyulabileceğini şimdiden tahmin etmek olanaksızdır. Öte yandan, yerli ırkların bugün bilinmeyen, araştırılmamış veya saptanamamış olan olası üstün nitelikleri ancak bu ırkların varlıklarını sürdürebilmeleri halinde elde tutulabilir ve gerektiğinde hizmete sunulabilir.

Türkiye, çiftlik hayvanları yetiştiriciliği ve hayvan sayısı açısından oldukça önemli bir ülke olmasına rağmen, yerli ırkların sayısının çokluğu ve bu ırkların verimlerinin düşük olması nedeniyle hayvansal ürünlerin üretimi açısından yıllarca oldukça geri sıralarda yer almıştır. Çiftlik hayvanlarının ıslahı ekonomik bir süreç olup başlıca amacı verimlilik ve karlılığın artırılmasıdır. Yüksek verime sahip ırklar elde ederken uygulanan seleksiyon esnasında genetik çeşitliliği de korumak mümkün değildir. Bir taraftan yerli ırkların gen havuzlarını olduğu gibi korumak, diğer taraftan bu yerli ırkları seleksiyon ve melezleme çalışmalarında kullanarak daha verimli yeni ırklar elde etmemiz gerekmektedir. Ülkemizde uzun yıllar, paralel sürdürülmesi gerekli bu tutumlardan sadece ikincisi uygulanmıştır. Özellikle 1970'li yıllardan günümüze kadarki süreçte uygulanan programsız seleksiyon ve melezleme çalışmalarında bazı yerli ırklar ya kaybedilmiş ya da melez ırklar oluşturulmuştur (Özkan 2005).

Ancak son yıllarda T.C. Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı tarafından yerli hayvan ırkları yok olmadan bunların korunması ve mevcut koşullarda ıslahının gerektiği bilincine varılmış ve bu amaçla çalışmalar ve projeler başlatılmıştır. Hayvan Genetik Kaynaklarının geliştirilmesi kapsamında 24/2/2005 tarihli ve 25737 sayılı Resmî Gazete’de yayımlanan 2005/8503 sayılı "Hayvancılığın Desteklenmesi Hakkında Bakanlar Kurulu Kararı" ve 17/1/2006 tarihli ve 26052 sayılı Resmî Gazete’de yayımlanan 2006/9922 sayılı "Hayvancılığın Desteklenmesi Hakkında Kararda Değişiklik Yapılmasına Dair Karar" a dayanarak Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü (TAGEM) Koordinatörlüğünde “**Halk Elinde Ülkesel Küçükbaş Hayvan Islahı Projesi**” hazırlanmıştır. Söz konusu proje 2005 yılında sadece 2 ırk ile 2 ilde başlatılmış ancak 2006 yılından itibaren 12 ırk ile 13 ilde uygulanır hale gelmiştir. Bu proje kapsamında birinci 5 yıllık dönemde görülen yaygın etkisinin yüksek olması ve çalışılan tüm populasyonlarda somut ilerlemeler kaydedilmesi sonucunda projenin geliştirilerek sürdürülmesine karar verilmiştir. 2013 yılına gelindiğinde söz konusu proje, 25 ırk ve 58 ilde uygulanır hale gelmiştir. Hazırlanan bu proje hiç kuşkusuz halkın bizzat konu ile ilişkilendirilmesi bakımından oldukça önemlidir. Ayrıca bu proje saf yetiştirme ve seleksiyon yolu ile koyun ve keçi yetiştiriciliğinin geliştirilmesi ve ıslahı bakımından cumhuriyet tarihimizin en önemli hamlesini oluşturmaktadır (Anonim 2013).

Yerli hayvan ırklarının yok olmadan korunması gerektiği bilincinin geliştirilmiş olması sevindirici olmakla beraber aynı zamanda bu ırkların genetik yapılarının da korunması gerekmektedir. Türkiye’deki mevcut yerli hayvan ırklarının genetik yapılarının benzer ve farklı yönlerinin klasik yöntemlerin yanında moleküler teknikler ile de araştırılması gerekmektedir. Çünkü ırk içi ve ırklar arası genetik yapının korunması ve verimlerin artırılması genotiplerin belirlenmesine bağlıdır (Ağaoğlu 2010).

Bu tez çalışmasında TAGEM-14/AR-GE/15 nolu “Türkiye Yerli Keçi Irklarında Mikrosatellit DNA Polimorfizm Tekniğinin Kullanılması ile Ebeveyn Tayini” başlıklı proje kapsamında çalışılan yerli keçi ırklarından toplanan bir kısım örnekte çalışılmıştır. Türkiye yerli keçi ırklarından 4’ünden (Ankara, Kıl, Kilis ve Honamlı) toplam 184 bireyde 9 farklı mikrosatellit belirteçleri (marker) ile mevcut genetik yapı ve polimorfizm araştırılmıştır. Söz konusu örnekler “Halk Elinde Ülkesel Küçükbaş Hayvan Islahı Projesine” dahil olan işletmelerden temin edilmiş olup; çalışılan populasyonlarda anne, baba ve yavru bireylerin birlikte yer almamış olmasına dikkat edilmiştir.

2. KURAMSAL TEMELLER

Tüm dünyada özellikle son 50 yılda hayvancılığın ilerlemesi ve yeni ıslah yöntemlerinin devreye girmesiyle birlikte; çalışmalar, hayvanlardan birim başına elde edilen verimin artırılması üzerine yoğunlaştırılmış ve bu süreçte yerli ırklar ihmal edilmişlerdir.

Yerli ırklar, yetiştirildikleri çevrenin özel koşulları nedeniyle ortaya çıkmış, verimleri düşük olmakla birlikte özgün niteliklere sahip, dayanıklı, kanaatkâr, yetersiz çevre koşullarında yaşamlarını sürdürüp üreyebilen hayvanlardır (Ertuğrul ve ark. 2000). Yerli ırkların ıslahı, kültür ırkları ile melezlenmesi yolu ile verimlerinin artırılmasına çalışılmakta, hatta pek çok yerde yerli ırkların yerini yüksek verimli kültür ırkları almaktadır. Bu nedenlerle varyasyon hızla azalmakta ve yerli ırklar azalarak yok olma tehlikesi ile karşı karşıya kalmaktadır. Yerli ırkların korunmasında genetik çalışmalar önemli bir yere sahiptir.

Çiftlik hayvanlarında genetik yapıyı belirleme amaçlı kullanılan herhangi bir belirteç, genomik bir bölgenin tanımlayıcısıdır ve bu belirteç aracılığıyla tespit edilen alleller, bu bölgenin polimorfizm oranını göstermektedirler. Son yıllarda DNA düzeyinde polimorfizmlerin ortaya konmasında ve özellikle hayvan genetiği çalışmalarında moleküler belirteçler, artan düzeyde kullanılmaya başlanmıştır (Fatima 2006).

Hayvanlarda genetik yapıyı belirleme amaçlı yaygın kullanılan belirteçlerden biri olan mikrosatellitler, benzersiz karakteristik özellikleri, uygulama kolaylıkları nedeniyle biyoçeşitliliğin ve ırklara ait genetik yapının belirlenmesinde sıklıkla tercih edilmektedirler. Mikrosatellit varyasyonlarına bakılarak; genetik uzaklık tahminleri, genetik ilişkiler, farklı ırkların karakterizasyonu, türler arası farklılıklar, populasyon yapısı, genetik sürüklenme, pedigrî analizleri hakkında çıkarımlar yapılabilmektedir (Vignal ve ark. 2002). Populasyonların genetik yapılarının belirlenmesinde mikrosatellitler diğer belirteçlere göre daha yaygın kullanılmakta olup, gen kaynaklarını koruma çalışmalarında da sıklıkla başvurulan yöntemlerden biri konumundadır (Slate ve ark. 1998, Maudet ve ark. 2002, Shivaji ve ark. 2003, Seilsuth ve ark. 2016).

“Hayvan Gen Kaynakları” terimi, günümüzde ya da gelecekte insanoğlu için; gıda ve tarım üretiminde kullanılan veya ekonomik, bilimsel ve kültürel öneme sahip bütün hayvan türlerini, ırklarını ve soylarını (yabani akrabaları ile birlikte) ifade etmektedir (Rege ve Gibson; 2003). Sığır, koyun, keçi, tavuk, domuz, at ve manda gibi yaygın olan türler dünyanın çeşitli bölgelerinde ve kültürlerinde önemli bir yere sahiptirler. Ancak ekonomik faktörler başta olmak üzere, sosyo-ekonomik çeşitli nedenler ile hayvan gen kaynakları tüm dünyada hızlı bir şekilde yok olmaktadır (Ertuğrul ve ark. 2009).

Tüm dünyada bulunan çok sayıdaki ırkın yok olma tehlikesi ile karşı karşıya kalmasına neden olan 3 temel etkenin söz konusu olduğu bildirilmektedir (Ertuğrul ve ark. 2009). Bu etkenler;

- 1.** Genlerin bir ırktan bir başka ırka hızlı bir şekilde aktarılmasına olanak sağlayan çok etkili yeni teknolojilerin geliştirilmesi (örneğin, suni tohumlama) ile genetik erozyonun meydana gelmesine neden olması.
- 2.** Hayvan yetiştiricileri üzerinde ağır ekonomik baskılar yaratan gıda üretimindeki yoğun endüstrileşme, çok uluslu yetiştirme şirketlerinin ortaya çıkması ve hayvanlarda tek bir verim özelliği üzerinde yoğunlaşmalar (süt sığırcılığında süt verimi, yumurta tavukçuluğunda yumurta sayısı vs. gibi) populasyonlarda tek verim bakımından üstün bireylerin artmasına neden olmaktadır. Bunun sonucu olarakta tek verim yönlü ırkların oranının giderek artması (Örneğin; Siyah-Alaca (Holstein) süt sığır ırkı gibi).
- 3.** Sınırsız ve rasgele yapılan melezleme çalışmaları özellikle ekonomik olarak gelişmekte olan ülkelerde birçok ırkın, ırk özelliğini kaybetmesine yol açması.

Yukarıda belirtilen bu nedenlerin yanı sıra, özellikle gelişmekte olan ülkelerde hayvansal ürünlere olan yoğun talep artışı ile diğer ülkelerden denetimsiz şekilde getirilen yabancı genotipler de genetik kayıplara neden olmaktadır. Yeryüzündeki gen kayıplarının büyük bölümü bitkiler, omurgasızlar, deniz ve tatlı su faunası, sürüngenler, kuşlar ve diğer yaban hayvanlarında meydana gelmekteyken, çiftlik hayvanlarında meydana gelen gen kayıpları da küçümsenemez boyuttadır (Kence 1987, Ertuğrul ve ark. 2009).

Çiftlik hayvanlarının verimliliğini artırma yönünde uygulanan çalışmalar istenilen özelliklerde olumlu artışlara neden olurken, çevre koşullarına adaptasyon ve hastalıklara karşı dayanıklılık gibi özelliklerde gerilemeye yol açmaktadır. Bu nedenle yüksek adaptasyon kabiliyetinde olan yerli ırklara ait genotiplerin mutlaka korunması gerektiği bildirilmektedir (Özkan 2005). Günümüzde ekonomik açıdan önemli olmayan genotiplere gelecekte ne ölçüde ihtiyaç duyulacağını tahmin edebilmek mümkün değildir. Ancak biliyoruz ki yerli gen kaynakları, gelecekte Türkiye’de veya dünyada yeni tiplerin oluşturulmasında temel genetik materyaldir ve onların korunması aynı zamanda heterosiz olanaklarının korunması anlamına da gelmektedir (Özkan 2005).

Birçok çalışmada, yerli gen kaynaklarının korunması için aşağıda belirtilen aşamaların sırası ile yapılması gerektiği belirtilmektedir (Soysal ve ark. 2003a).

1. Irkların genetik yapıları belirlenmeli,
2. Sürü kayıtları tutulmalı (pedigri kayıtları),
3. Irkların envanter çalışması yapılmalı,
4. Yetiştirici birlikleri kurulmalı,
5. Yerli ırklarda süt ve et verimi için uygun seleksiyon kriterleri belirlenmeli ve
6. Diğer ülkelerde olduğu gibi orijinal etiketli agro-turizm ürünleri geliştirilmelidir.

Tüm bu aşamaları başarı ile sonuçlandırmak için en önemli ve öncelikli yapılması gereken aşama, yerli ırkların genetik yapılarının belirlenmesi, ırklar arası ve ırklar içi farklılıkların ortaya konmasıdır (Luikart ve ark. 1999, Bruford ve ark. 2003, Soysal ve ark. 2003b, Seilsuth ve ark. 2016).

Türkiye’de yerli hayvan ırklarının korunması amacıyla çeşitli hayvan türlerinde yürütülen en kapsamlı proje “Türkiye Yerli Evcil Hayvan Genetik Kaynaklarından Bazılarının In Vitro Korunması ve Ön Moleküler Tanımlanması-I (TÜRKHAYGEN-1)” başlıklı projedir. Söz konusu projede Türkiye yerli hayvan genetik kaynaklarını koruma altına alacak bankalar oluşturulmuş, yerli evcil hayvan ırklarının genetik karakterizasyonları yapılarak, sonuçlardan tescil çalışmalarında yararlanılmıştır. Proje 13 koyun ırkı, 6 sığır ırkı, 5 keçi ırkı, Anadolu mandası, 5 at ırkını kapsamaktadır (Anonim 2017a).

T.C. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı tarafından yerli koyun ve keçi ırklarında 2005 yılında iki ırk ile başlanan ve 2006 yılından itibaren 12 ırk ile 13 ilde yürütülen “Halk Elinde Hayvan Islahı Ülkesel Projeleri” kapsamında yerli koyun ve keçi ırklarının korunması ve ıslahta belirlenen kriterler çerçevesinde damızlık seçimlerinin yapılması söz konusu olmakta ve proje artan ırk sayısı ve yetiştirici sayısı ile devam etmektedir.

Tüm bu projeler ve yapılmış olan bilimsel çalışmalar birlikte incelendiğinde; ülkemizde yerli hayvan ırklarının yok olmadan korunması gerektiği bilincinin geliştirilmiş olması, sevindirici olmakla beraber aynı zamanda bu ırkların genetik yapılarının moleküler yöntemler ile belirlenmesine yönelik çalışmalarda da artışlar görülmektedir. Bu amaçla kullanılan DNA düzeyindeki polimorfizm teknikleri aşağıda açıklanmaktadır.

2.1 DNA Düzeyindeki Polimorfizm Teknikleri

Evrimsel süreçte tüm türlerin farklılaşmasından ve bir türün üyeleri arasındaki farklılıklardan genetik çeşitliliğin sorumlu olduğu belirtilmektedir (Ekmekçi ve ark. 2008). Genlerde, genetik çeşitliliğe yol açan bu değişikliklerden biri polimorfizmdir. Genomda çoğunluğu tek nükleotit düzeyinde olmak üzere (insanda on milyon kadar), ikili, üçlü nükleotit tekrar sayılarında değişiklikler ve daha azı kromozom düzeyinde bazı yapısal düzenlemeler şeklinde genetik polimorfizmler vardır (Ekmekçi ve ark. 2008).

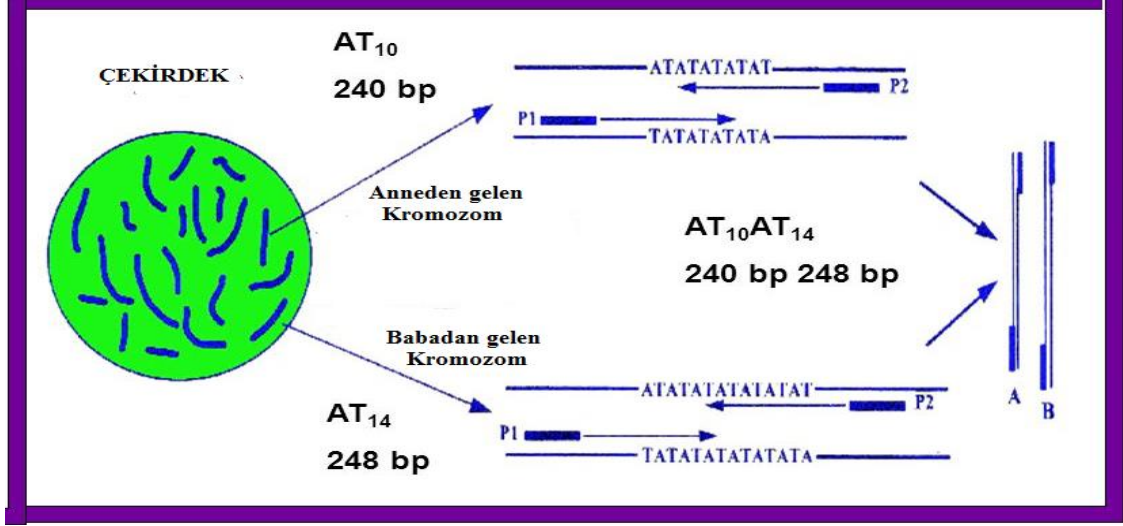
Hayvanlarda genetik yapıyı tanımlamaya yönelik moleküler genetik yöntemlerin kullanımı gün geçtikçe artmaktadır. Özellikle genetik kaynak olarak değerli durumda olan popülasyonlara yönelik moleküler tanımlama yöntemleri, koruma programlarına yol gösterici rol oynamakta ve koruma faaliyetlerinin etkinliği de bir anlamda test edilebilmektedir. Koruma programlarının asıl amacı var olan genetik çeşitliliği en az kayıpla gelecek kuşaklara aktarmaktır. Genetik çeşitlilik de ancak DNA düzeyinde yapılan çalışmalarla etkili bir şekilde ortaya konabilmektedir. Bu amaçla çeşitli moleküler genetik yöntemler geliştirilmiş ve kullanılmaktadır. Bu yöntemlerden bazıları, Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA (Random Amplified Polymorphic DNA; RAPD), Çoğaltılmış Parça Uzunluk Polimorfizmi (Amplified Fragment Length Polymorphism; AFLP), Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi

(Restriction Fragment Length Polymorphism; RFLP), Tek Eksen Konformasyon Polimorfizmi (Single Strand Conformation Polymorphism; SSCP), Mikrosatellit veya Kısa Ardarda Tekrarlar (Short Tandem Repeats, STR) veya Basit Dizi Tekrarları (Simple Sequence Repeat; SSR), Dizisi Etiketlenmiş Alanlar (Sequence Tag Sequence; STS) ve Tek Nükleotid Polimorfizmleri (Single Nucleotide Polymorphism; SNP) vb. şeklindedir. Bu belirteçler ile hem nükleer (çekirdek) genomda hem de mitokondriyal genomda var olan varyasyonun ortaya konması ile türler, ırklar ve hatta ırk içindeki bireyler arasındaki varyasyonun derecesi araştırılabilmektedir (Shivaji ve ark. 2003).

Herhangi bir belirteç, genomik bir bölgenin tanımlayıcısıdır ve bu belirteç aracılığı ile tespit edilen alleller bu bölgenin polimorfizmini ortaya koymaktadır. Moleküler belirteçler; DNA düzeyinde polimorfizmlerin ortaya konmasında ve özellikle hayvan genetiği çalışmalarında yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Fatima 2006).

Bu belirteçlerden biri olan mikrosatellitler, benzersiz karakteristik özellikleri, uygulama kolaylıkları nedeniyle biyoçeşitliliklerin belirlenmesinde sıklıkla tercih edilmektedirler. Mikrosatellitlerde en sık görülen tekrarlayan DNA biçimlerinin genel yapıların (CA) şeklinde ikili tekrarlardır (Passarge 1995). Tekrarlayan bu nükleotid dizileri; kromozomal sentromeri çevreledikleri için “satellit (uydu)” ismini almışlardır (Primrose 1998, Butler 2005).

Mikrosatellit DNA belirteçleri; 2-6 nükleotid uzunlukta kısa, tekrarlanan DNA dizilerini ifade etmektedir. Mikrosatellitler; basit dizi tekrarları (Simple Sequence Repeats, SSR) ya da kısa ardarda tekrarlar (Short Tandem Repeats, STR) olarak da adlandırılmaktadır (Bruford ve Wayne 1993, Butler 2005, Allendorf ve Luikart 2007). Mikrosatellit belirteçleri, her bir lokusa göre değişen ve genel olarak 75 ile 300 baz çifti uzunluğunda olabilmektedir (Allendorf ve Luikart 2007). Mikrosatellitler Şekil 2.1.'de gösterildiği gibi anne ve babadan gelen kromozomlarda bulunan kısa ardışık tekrar dizilerinin uzunluklarını ifade etmektedir.



Şekil 2.1. Mikrosatellitlerin dizi tekrarlarının örnek şeması (Sezer 2008).

2.1.1 Mikrosatellitlerin Önemi ve Kullanım Alanları

Mikrosatellit bölgelerinde gözlemlenen varyasyonlarına bakılarak; genetik uzaklık tahminleri, genetik ilişkiler, farklı ırkların karakterizasyonu, türler arası farklılıklar, popülasyon yapısı, genetik sürüklenme, soy değerlendirilmesi hakkında çıkarımlar yapılabilmektedir. Mikrosatellitler diğer belirteçlere göre daha yaygın olarak kullanılan ve özellikle koruma çalışmalarında sıklıkla başvuru alan belirteçlerdir. Basit, ardarda tekrarlanan di-, tri- nükleotid dizilerin ökaryotik genomlarda polimorfik yapıda oldukları ortaya konulmuştur (Litt ve Luty 1989). Bu dizilerin tekrar sayıları yüksek oranda polimorfizm gösterip genom boyunca rastgele dağılıma sahip olduklarını göstermektedir (Luty ve ark. 1990). Bu özellikleri dolayısıyla mikrosatellitler gen haritalanması çalışmalarında kullanılabilirler (Georges ve ark. 1990). Küçük popülasyonlarda ve nesli tükenen türlerde çalışırken yüksek oranda polimorfik olmaları, mikrosatellitlerin tercih edilmelerinin nedenlerinden biridir. Bu yüksek polimorfizm oranının, yüksek mutasyon oranından kaynaklandığı bildirilmektedir (Allendorf ve Luikart 2007).

Mikrosatellitler, kodominant kalıtım (eşbaskın) göstermeleri (Beckmann ve Soller 1990, Boyce ve ark. 1996, Ramamoorthi ve ark. 2009), lokusa özgü olmaları (Condit ve Hubbel 1991, Roder ve ark. 1995), genom içinde düzgün ve geniş yayılım göstermeleri (Liu ve ark. 1996, Taramino ve Tingey 1996, Roder ve ark. 1998, Ramamoorthi ve ark. 2009,

Iamartino ve ark. 2005) yüksek mutasyon oranı (Boyce ve ark. 1996, Toro ve ark. 2009) ve genom hakkında diğer moleküler belirteçlere göre daha fazla bilgi vermelerinin (Jin ve ark. 2006, Ramamoorthi ve ark. 2009) yanı sıra PCR'a dayalı bir teknik olmasından dolayı çok tercih edilen ve birçok türde kullanılan DNA belirteçlerindedir.

Son yıllarda genotiplerin belirlenmesi, ırklar içi ve ırklar arası genetik benzerlik ya da farklılıkların ortaya konması ve heterozigotluk düzeylerinin hesaplanması gibi çalışmalarda da kullanılan moleküler tekniklerden en yaygın olanı, mikrosatellit DNA polimorfizm tekniğidir. Bu teknik daha doğru, daha hassas ve daha kısa sürede bilgi verebilmektedir. Ayrıca mikrosatellit DNA tekniği, maddi açıdan kıyaslandığında diğer moleküler genetik tekniklere göre daha ucuz bir tekniktir. DNA düzeyinde çalışılan teknolojilerden biri olan bu yöntem, yüksek düzeyde varyasyon gösteren bölgelerin incelenebilmesine olanak sağlamaktadır. Mikrosatellit DNA bölgelerinin bitki ve hayvanların genomunda oldukça yüksek oranda varyasyon gösterdiği birçok çalışmada bildirilmektedir (Beckmann ve Soller 1990, Boyce ve ark. 1996, Ramamoorthi ve ark. 2009, Condit ve Hubbel 1991, Roder ve ark. 1995 Liu ve ark. 1996, Taramino ve Tingey 1996, Iamartino ve ark. 2005, Özkan 2005, Jin ve ark. 2006, Toro ve ark. 2009).

2.2 Türkiye Yerli Keçi Irkları ve Önemi

Türkiye'nin coğrafi konum olarak Asya, Avrupa ve Afrika'nın oluşturduğu eski kıtalar arasında bir geçit bölgesinde yer alması nedeni ile yerli gen kaynakları açısından zengin genetik çeşitliliğe sahip olduğu bilinmektedir. Birçok çiftlik hayvanının (koyun, sığır, keçi ve manda) ilk olarak Anadolu ve civarında evcilleştirildiği, söz konusu evcil hayvanlarda yüksek genetik çeşitlilik görüldüğü birçok çalışmada ortaya konmaktadır (Bruford ve ark. 2003, Renfrew 1991, Loftus ve ark. 1999, Troy ve ark. 2001, Lenstra ve ark. 2005).

Özellikle 2000'li yıllardan sonra yapılan arkeolojik bulgulara göre keçi ilk evcilleştirilen herbivordur (Joshi ve ark. 2004, Zeder ve Hesse 2000). Yabani keçi (*Capra aegagrus*) 7 milyon yıl önce gelişmiş; yaklaşık 11.000 yıl önce evciltirilerek bugünkü evcil keçinin (*Capra aegagrus hircus*) ortaya çıktığı bildirilmektedir (Mason 1984, Fernandez ve ark. 2005, Zeder 2008). Bu nedenle yaklaşık 11.000 yıldır ekonomik olarak önem

göstermektedir. Son yıllarda evcilleştirme çalışmalarında genetik araştırmaların önemi artmıştır. Evcilleştirme merkezlerine yaklaşıldıkça, genetik çeşitliliğin artması, uzaklaşıldıkça azaldığı bilgisine dayanarak çalışmalar yürütülmektedir (Bradley ve ark. 1996, Loftus ve ark. 1999).

Keçi yetiştiriciliği, özellikle kırsal kesimde yaşayanlar için hayvansal protein kaynağı açısından önemli bir yere sahiptir. Keçi; et, süt, tiftik, kıl, deri, post ya da gübre gibi verimlerinden yararlanılan evcil hayvan türlerinden biridir (Akçapınar 1994). Keçi; diğer çiftlik hayvanlarına göre elverişsiz bakım ve besleme koşullarına karşı daha dayanıklı olması ve az masrafla yetiştirilebilmesi nedeniyle özellikle geri kalmış ülkelerde hayvancılık sektöründe önemli bir yer tutmaktadır (Şengonca 1989, Şimşek ve Bayraktar, 2006). Çeşitli yem maddelerine karşı seçici olmaması; oransal (relatif) süt veriminin diğer çiftlik hayvanlarından çok daha yüksek olması gibi faktörler keçinin önemli özelliklerindedir (Akçapınar 1994).

Türkiye'de yaklaşık 10.5 milyon baş keçi bulunmaktadır (Anonim 2016). Küçükbaş hayvanların ortalama % 20'sini oluşturan keçi varlığında 1990'ların başından bu yana oldukça yüksek oranda azalmalar olmuştur. 1991 yılında 11 milyon civarında olan keçi sayısı 2008'de % 48 oranında azalarak 6 milyonun altına düşmüştür. Ancak "Halk Elinde Ülkesel Küçükbaş Hayvan Islahı Projesi"nin etkisiyle toplam keçi sayısının yine 90'lı yıllardaki rakamına ulaştığı bildirilmektedir (Anonim 2016).

Türkiye hayvancılığı içinde keçi yetiştiriciliği önemli bir yere sahiptir. Türkiye'deki keçi ırkları Kıl Keçisi, Ankara Keçisi, Kilis Keçisi, Honamlı Keçisi, Norduz Keçisi gibi çeşitli ırklardan oluşmaktadır (Akçapınar 1994). Bu ırklar içinde sayıca ilk sırada olan ırk, Kıl Keçisi (10 milyon baş), ikinci sırada olan ırk ise Ankara Keçisi (208 bin baş) 'dir (Anonim 2016). Türkiye yerli keçi ırklarının durumları ve ırklara yönelik olarak koruma etkinliklerine ilişkin bilgiler Çizelge 2.1 'de (Ertuğrul ve ark. 2009) verilmiştir.

Çizelge 2.1. Türkiye yerli keçi ırk ve tiplerinin durumu (Ertuğrul ve ark. 2009)

IRK	Yok olma tehdi di yok	Tehdit altında	Ağır tehdit altında	Koruma durumu
Ankara Keçisi		✓		✓
Kıl Keçisi	✓			✓
Kilis Keçisi	✓			✓
Norduz Keçisi			✓	✓
Honamlı keçisi		✓		✓

2.2.1 Ankara Keçisi (Tiftik Keçisi)

Ankara Keçisi Ankara ili başta olmak üzere, İç Anadolu bölgesi ile Güneydoğu ve Doğu Anadolu bölgesinin bazı illerinde yayılma alanı göstermektedir. Özel bakım ve besleme istemez. Sarp kayalık ve engebeli arazilerde rahatlıkla yetiştirilir (Anonim 2009).

Vücut küçük yapılı, ince ve zariftir. Başın yandan görünüşü dişilerde hafif iç bükey ya da düz, tekelerde ise dış bükeydir. Sağrı omuzdan biraz yüksek, arka bacaklar önlerden biraz daha uzundur. Yüz ve bacaklar dışında bütün bedeni tarsal ve carpal eklemlere kadar ince yumuşak parlak ve lüleli tiftikle örtülüdür. Vücut rengi beyazdır. Daha az olarak krem, sarı, gümüşü gri, kahverengi ve siyah renkte olanlarına da rastlanır. Erkek ve dişiler boynuzludur. Boynuz yapısı erkeklerde burğu şeklinde kuvvetli, uzun ve geriye doğru hafifçe kıvrık, dişilerde ise daha zayıf, kısa ve arkaya kıvrıktır (Anonim 2009).

Geç gelişen bir ırktır. Uzun yol yürümeye elverişlidir. Ankara Keçisinin en önemli verimi tiftiktir. Tiftik sağlam, elastik, ince, nemi çekme ve iyi boya alması özelliğiyle, tekstil ve triko sanayinin önemli bir hammaddesidir (Anonim 2009). Türkiye'nin yıllık tiftik üretimi 200 tona gerilemiştir. Ankara Keçisi varlığı da yaklaşık 3 milyon baştan 208 bin başa kadar

düşmüştür. Türkiye ham tiftik ürününün zaman içinde meydana gelen bu ciddi düşüşün başlıca sebebi tiftiğe olan talebin azlığı ve fiyat yetersizliğidir. Bakım, besleme maliyetlerindeki artışlar ve meraların azlığı yetiştiriciyi kar edemez hale getirmiştir. Bu nedenle Türkiye’de Ankara Keçisi varlığı hızla azalmaya devam etmektedir (Anonim 2017b).

Ankara keçisi bazı araştırmacılara göre “*Capra prisca*” isimli yaban keçisinden (dağ keçisi) köken almıştır. Bu keçinin kökeni ile ilgili araştırmalarda Ankara keçilerinin, Türkler’in Orta Asya’dan Anadolu’ya gelirken beraberlerinde getirdikleri bir keçi ırkı olduğu gösterilmektedir (Ryder 2001, Hayes 2009).



Şekil 2.2 Ankara keçisi (Anonim 2009; Türkiye Evcil Hayvan Genetik Kaynakları Tanıtım Kataloğundan alınmıştır).

Ankara keçileri ilk defa Anadolu toprakları dışına, 1849 yılında, ABD Hükümeti tarafından Anadolu’ya yollanan Dr. James P. Davis isimli bilim adamına, Sultan Abdülmecit tarafından yedi baş keçi ve iki baş teke hediye edilmesiyle çıkmıştır. Daha sonra Teksas’ta yapılan ıslah çalışmaları sonucunda bölgeye adapte olan Ankara Keçileri’nden oluşturulan sürülerden elde edilen verimlerle ABD, dünyada ikinci büyük tiftik üreticisi olmuştur (Coleby 2002).

2.2.2 Kıl Keçisi

Kıl Keçisi Ege, Akdeniz, Marmara, Güneydoğu Anadolu, Doğu Anadolu ve İç Anadolu Bölgelerinde yayılma alanı göstermektedir. Yılın hemen hemen tamamında merada barındırılabilirdi ifade edilmektedir (Anonim 2009).

Genellikle vücut orta irilikte olmakla birlikte, bölgeden bölgeye büyük farklılıklar göstermektedir. Rengin genellikle siyah olması nedeniyle bazı bölgelerde karakeçi olarak adlandırılmaktadır. Bununla birlikte gri, kahverengi, mavi alaca ve kırmızı renkli olanları da görülür. Tek renkli siyah bireylerde yüzde iki taraflı ağza kadar inen kahverengi veya beyaz lekelerle, bacak uçları ve süt aynası çevresindeki renk açılması yaygındır. Deri rengi koyudur. Erkekler ve dişiler çoğunlukla boynuzludur. Boynuzlar erkeklerde gelişmiştir, boynuz uçları arasındaki mesafe 60-70 cm'ye ulaşabilmektedir. Anadolu'nun her türlü iklim ve arazi koşullarına adapte olmuş, kötü bakım ve besleme koşullarında yetiştirilebilen, sağlam vücut yapılı, hastalıklara karşı dirençli, sıcak ve soğuğa karşı dayanıklı bir ırktır (Anonim 2009).

Kıl Keçileri Türkiye'deki keçi varlığının % 97.9 'unu oluşturmaktadır (Anonim 2016). Bu ırkın Türkiye'ye komşu Arap ülkelerinde, İran'da ve Afganistan'da da yetiştirilmekte olduğu bildirilmiştir (Akçapınar 1994). Kıl keçileri, Türkiye'de Anadolu'nun iklim, çevre ve yetiştirme koşullarına çok iyi uyum sağlamış, hastalıklara dayanıklı, zayıf meraları kaliteli proteine dönüştürebilen hayvanlardır.



Şekil 2.3 Kıl keçisi (Anonim 2009; Türkiye Evcil Hayvan Genetik Kaynakları Tanıtım Kataloğundan alınmıştır.)

Kıl keçilerinin süt veriminin oldukça düşük seviyelerde (60-100 kg) bulunduğu, ikiz doğum oranının % 15 civarında olduğu ve bu keçilerin daha çok et üretimi için yetiştirildiği bilinmektedir. (Sönmez 1974, Tuncel ve Bayındır 1983, Yıldız ve Esen 1998, Anonim 2017b).

2.2.3 Kilis Keçisi

Kilis Keçisi Kilis, Gaziantep, Adıyaman ve Hatay illerinde yayılma alanı göstermektedir. Sağlam vücut yapılı, engebeli arazilerde uzun yürüyüş kabiliyetli, sıcak ve soğuğa dayanıklı ve hastalıklara karşı dirençlidir. Sütü özellikle Maraş dondurması üreticileri tarafından tercih edilir (Anonim 2009).

Vücut orta iri ve uzun yapılıdır. Göğüs ve sağrı iyi gelişmiştir. Sırt hattı düzdür. Boyun uzundur. Kilis yöresinde yetiştirilenler genellikle dışbükey bir baş profiline sahip iken, Hatay ilindeki keçilerde baş profili düzdür. Çok iri sarkık kulaklıdır. Kulak uzunluğu ortalama 28 cm dir. Çoğunlukla çene altında bir çift küpe bulunmaktadır. Vücut rengi çoğunlukla siyah olmasına rağmen, koyu kestane, kırmızı, kızıl-kahve renklerle lokal beyaz lekelerle de rastlanabilmektedir. Baş ve kulaklar, vücut renginde olduğu gibi kimilerinde tamamıyla siyah

iken, kimilerinde kırçıl veya kahverengi akıtmalı olabilmektedir. Boynuzlu ve boynuzsuz olanları mevcuttur. Erkekleri kalın, kuvvetli ve uzun, dişileri kısa, ince ve geriye kıvrık boynuzludur. Çok iyi gelişmiş, sarkık meme tipindedir. Meme lobları belirgin derecede ayrılmış, meme başları yana doğru dönüktür (Anonim 2009).



Şekil 2.4. Kilis keçisi (Anonim 2009; Türkiye Evcil Hayvan Genetik Kaynakları Tanıtım Kataloğundan alınmıştır.)

Kilis keçisi, Kıl keçileri ile Suriye kökenli Halep keçisinin melezlenmesi ile meydana gelmiştir (İriadam 2004). Sayıları 100 bin civarında olan Kilis keçileri, Türkiye yerli ırkları içerisinde süt verimi en yüksek olan ırktır (Ertuğrul 2007, Anonim 2017a).

2.2.4 Honamlı Keçisi

Honamlı keçisi, Akdeniz bölgesinin Toros Dağları etekleri, Antalya, Isparta ve Konya üçgeni üzerinde yayılma alanı göstermektedir. İri cüsseli, yüksek bacaklıdır. Alt çene üst çeneden uzundur. Gözleri belirgin bir şekilde iri ve canlıdır. Kulaklar küçük ve kalındır. Burun belirgin bir şekilde dışbükeydir. Uysal ve insana çok yakın bir ırktır (Anonim 2009).

Honamlı, “Hun namlı”, Hun diyarından gelen ilk yörük aşireti olduğu için bu adı almıştır. Honamlı aşireti Horasandan gelmiştir. Gelenlerin büyük bir çoğunluğu Adana,

Antalya, Isparta ve Konya illerine yerleşmişlerdir. Bir kısmı hala göçebe hayatını sürdürmektedir (Tuztaş 2007).

Göçer yetiştiricilerin (Yörük) uzun yıllardır yetiştiricilik tercihleri sonucu oluşmuş bir ırk olduğu belirtilmektedir. Kaba ve ince kılları, kıl keçisine oranla daha kısadır. Ayrıca kuyruk yapıları da Kıl keçilerinden daha uzun ve püskül görünümüne sahiptir. Genellikle siyah renkli olmakla birlikte beyaz lekeler, kızıl ve gri renkte olanlarına da rastlanmaktadır. Siyah renklilerde yüzün iki tarafında ağza kadar inen kahverengi veya beyaz akıtma bulunmakta, bacak uçları ve süt aynası çevresinde renk daha açık olmaktadır. Deri koyu renklidir. Erkek ve dişiler genellikle boynuzludur. Tekelerde boynuzlar dişilere göre daha iyi gelişmiştir. Boynuz kendi eksenini etrafında kıvrımlı, kulakların etrafında geriye doğru yay çizer, uçları aşağı ve öne doğru uzar (Anonim 2009).



Şekil 2.5 Honamlı keçisi (Anonim 2009; Türkiye Evcil Hayvan Genetik Kaynakları Tanıtım Kataloğundan alınmıştır.)

Geniş ölçüde, Akdeniz bölgesinde yörükler tarafından, bölgelerinde bulunan fundalıklar, çalı formundaki bitkiler, orman içi meralar, anızlar ve nadasa bırakılmış alanlardaki otlarla neredeyse masrafsız bir şekilde yetiştirilir. Göçebe yörükler keçi kılından yapılan çadırlarda yaşarlar. Bu nedenle keçiler gıda ve barınma yönünden Yörükler için önem taşımaktadır (Anonim 2009).

2.3. Kaynak Araştırması

Referans çalışmalarda yapılan incelemeler sonucunda keçilerde mikrosatellit belirteçleri ile yürütülen genetik çalışmaların bir kısmı aşağıda özetlenmiştir.

Kore ve Çin'de bulunan üç yerli keçi ırkının genetik çeşitliliğini karakterize etmek için Kim ve ark. (2002)'nin yaptığı bir çalışmada, Kore keçisi, Çin keçisi ve Saanen'lerde 84 tane bireyde dokuz mikrosatellit belirteci ile allel çeşitliliği, heterozigotluk, polimorfizm bilgi içeriği, F-istatistikleri ve Nei standart mesafeleri gibi analizler yapılmıştır. Beklenen ortalama heterozigotluk değerlerine göre en düşük genetik çeşitlilik Kore keçisinde ($H_E = 0.381$), en yüksek genetik çeşitlilik ise Çin keçisinde ($H_E = 0.669$) görülmüştür. Önem testlerine göre, Hardy-Weinberg dengesinden sapmaların, heterozigot eksikliklerinin olduğunu göstermiştir ($F_{IS} = 0.053$). Tüm populasyon ve lokuslar üzerinde istatistiksel olarak önemli görülmüştür. F_{ST} ve Nm sonuçlarına dayanılarak, Kore keçisi ile diğer iki ırkı arasında büyük bir genetik farklılık görülmüştür. Kore keçi bireylerinin diğer iki keçi ırkından ayrı tek bir küme oluşturduğu görülmüştür.

Martinez ve ark. (2004)'nin Blanca Serrana Andaluza keçi ırkının genetik karakterizasyonunu belirlemek için yaptığı çalışmada, beş sürüde elli bireyden alınan örneklerle 27 mikrosatellit belirteç kullanılmıştır. Martinez ve ark.(2004)'nin kullandığı bu belirteçlerden iki tanesinin (INRA23 ve CSR0247) sunulan bu çalışma ile ortak belirteç olduğu görülmüştür. Sonuçlar, beklenen ve gözlemlenen ortalama heterozigotluk değerlerinin sırasıyla, 0.71 ve 0.66 olduğunu göstermiştir. Analizler sonucu nesli tükenmekte olan bu ırkın, yüksek bir genetik çeşitliliğe sahip olduğu görülmektedir. Ortalama allel sayısı 8.22 'dir. Irkın mevcut durumu, mikrosatellitlerin HW dengesinde olması ve F_{IS} 'in düşük bir değer (0.07) göstermesi, bu ırkın koruma planında yer alması gerekliliğini göstermiştir.

Canon ve ark. (2006)'nin 15 Avrupa ve Orta Doğu ülkesinde 1426 keçi (45 ırk) üzerinde yaptıkları geniş kapsamlı çalışmada; 30 mikrosatellit belirtecini analiz etmişlerdir. Çalışmada 45 ırkta toplam 449 farklı allel gözlenmiştir ve ortalama allel sayısı 14,9 olarak belirlenmiştir. Beklenen ve gözlenen ortalama heterozigotluk değerleri sırasıyla 0,69 ve 0,62

olduğu gözlenmiştir. Tüm populasyonlarda heterozigot azlığı görülmüştür ($F_{IS}=0,10$). Ortalama F_{ST} değeri 0,07 olarak belirlenmiştir. Bayes analiz sonucu Orta Doğu, Orta Akdeniz, Batı Akdeniz ve kuzey Avrupa olarak en az 4 ayrı küme açığa çıkardığı görülmüştür. Irklar arasındaki genetik değişkenliğin yaklaşık % 41'i ırkların coğrafi kökeni ile açıklanabilir. Güney doğudan, kuzey batıya doğru genetik çeşitlilikteki azalma; ırklar düzeyinde farklılaşmanın seviyesinin artmasını beraberinde getirdiği belirlenmiştir. Bu gözlemler; evcil çiftlik hayvanlarının Orta Asya'dan batı ve kuzey Avrupa yönünde göç ettiklerini ve ırk oluşumu kuzey Avrupa'da Orta Asya'ya göre daha sistematik olduğunu göstermiştir.

Belirteçler tarafından sağlanan bilgiler vasıtasıyla ortaya konan genetik çeşitlilik, ırkların populasyon yapısının değerlendirilmesi, yok olma riskinin belirlenmesi ve bunların yönetimi ve korunması için stratejik planlar yapılmasını sağlamaktadır. Mikrosatellit lokuslarının analizinin, evrimin ve hayvan populasyonlarının farklılaşmasının altında yatan tarihsel süreçlerin yeniden inşasında oldukça bilgilendirici olduğu bilinmektedir. Guadarrama keçi ırkının yok olma tehdidi altında olması Serrano ve ark. (2009) 'nın yaptığı çalışma ile bu ırkın genetik konumunu belirlemek için 10 mikrosatellit belirteç kullanılmıştır. Beklenen ortalama heterozigotluk oranı 0.62-0.77 arasında değişmektedir. Genetik farklılaşma orta düzeydedir (ortalama F_{ST} 0.074). Bayes kümelemesi analizi, populasyonda 16 alt küme oluştuğunu göstermiştir. Fakat coğrafi uzaklıklar ile genetik farklılıklar arasında hiçbir korelasyon bulunmamıştır. Guadarrama keçi populasyonunun alt küme oluştuğunu etkileyen başlıca nedeni, çiftçiler arasındaki yönetim faktörleri olabirliğini göstermiştir. Genetik çeşitlilik, Guadarrama keçi ırkında biyoçeşitlilik açısından iyi bir konumdadır. Hastalık, bu ırkın nüfus sayımını etkileyen ilk sebep olduğundan, nüfusun alt populasyonlarının korunması avantaj olacaktır. Moleküler belirteçlerin sistematik kullanımı, bu populasyonların kapsamlı yönetimini kolaylaştıracak ve süt verimini artırmak için mevcut ıslah programı ile birlikte, ırkı korumak için iyi bir strateji oluşturacaktır.

Türkiye' ye özgü 5 yerli keçi ırkında (Ankara, Kilis, Honamlı, Kıl ve Norduz Keçisi) genetik çeşitliliği belirlemek amacıyla yürütülen bir çalışmada (Korkmaz Ağaoğlu 2010); 20 farklı mikrosatellit belirteci kullanmıştır. Korkmaz Ağaoğlu (2010)'nun yaptığı çalışmada kullandığı CSRD247, INRA23 ve SRCRSP05 belirteçleri sunulan bu çalışma ile ortak belirteçler olduğu görülmektedir. Ayrıca Ankara, Kilis, Honamlı ve Kıl Keçisi ırklarının

sunulan bu çalışma ile ortak ırklar olduğu görülmektedir. Yapılan analizler sonucunda; lokus başına düşen ortalama allel sayısının 15.65 allel / lokus ve heterozigotluk düzeylerinin 0.5192 ile 0.9400 arasında olduğu belirlenmiştir. Yerli keçi ırkları arasında F_{ST} değerlerine göre; Ankara Keçisi ile diğer ırklar arasında orta düzeyde bir farklılaşma varken, diğer ırkların birbirleri arasında az bir genetik farklılaşmanın olduğu belirlenmiştir. Bu çalışma sonucunda toplam 66 özgün allel gözlemlenmiş, ancak bu özgün allellerin frekanslarının 0.0098 ile 0.0306 arasında değiştiği görülmüştür. Çalışmada kullanılan Ankara Keçisi, Kilis Keçisi, Honamlı Keçisi, Kıl Keçisi ve Norduz Keçisinde sıfıra yakın ve pozitif F_{IS} değerleri elde edilmiştir. Ancak bu değerler sadece Ankara ve Kilis Keçisinde istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Bu çalışmada allelik varyasyon analizi, heterozigotluk analizi, F istatistikleri, faktöriyel birleştirici analizi ve temel bileşenler analizi gibi yapılan istatistik analiz sonuçlarına göre; Ankara Keçisi ırkının diğer ırklardan ayrı gruplandığı, fakat diğer yerli keçi ırklarının (Kilis Keçisi, Honamlı Keçisi, Kıl keçisi ve Norduz Keçisi) birbirlerinden kesin olarak ayrılamadığı görülmüştür.

Hoda ve ark. (2011)'inin Arnavutluk' ta yaptığı çalışmada 6 yerli keçi ırkında 183 bireyde 30 mikrosatellit belirteç kullanılarak genetik çeşitliliği analiz edilmiştir. Çalışma kapsamında tüm yerel ırklarda mikrosatellit belirteçlerinin polimorfik olduğu gözlemlenmiş ve toplam 331 allel olduğu bildirilmiştir. Lokus başına düşen ortalama allel sayısının 11.03 olduğu bildirilmektedir. Ortalama gözlenen heterozigotluk değeri 0.67 ve ortalama beklenen heterozigotluk değerlerinin 0.75 olduğu gözlemlenmiştir. Ortalama F_{ST} değeri 0.020 dir. Lokuslara göre ortalama F_{IS} değerinin 0.090 populasyonlar için hesaplanan ortalama F_{IS} değerlerinin ise 0.093 olduğu görülmüş olup tüm ırklar için genetik yakınlığın oldukça yüksek olduğu bildirilmiştir.

Gembrong keçi ırklarını karakterize etmek için Sulabda ve ark. (2012)'nin yaptığı çalışma ile genetik iyileşmenin yanı sıra koruma stratejisinin planlanmasına yardımcı olacak olan genetik çeşitlilik için genotipleri belirlenmiştir. On dört mikrosatellit PCR ile çoğaltılmıştır. PCR ürünü, otomatik DNA sekansöründe % 6 bis-Akrilamid jeli üzerinde çalıştırılmıştır. Sonuç, tüm belirteçlerin Gembrong keçi ırkının mikrosatellit lokuslarında başarılı bir şekilde çoğaldığını göstermiştir. Araştırılan tüm mikrosatellitlerin SCRSP23, INRA063 ve CSR247 dışında çok polimorfik olduğu bulunmuştur. Tüm örneklerde toplam 32 allel görülüp, lokus başına allel sayısı 1 (SCRSP23, INRA063 ve CSR247) ile 5 (HSC)

allel arasında değişmiştir. Alel boyutları 85 bp (SCRSP23) ila 302 bp (HSC) arasındadır. Ortalama gözlemlenen ve beklenen heterozigotluklar sırasıyla 0.00 (lokus SCRSP23, INRA063 ve CSRD247) ila 0.7308 (lokus HSC) ve 0.00 ila 0.6765 (lokus HSC) arasında değişmiştir. Sulabda ve ark. (2012) 'nın yaptığı çalışmada kullanılan belirteçlerden 5 tanesi (ILSSTS19, SRCRSP5, INRA23, CSRD247 ve ILSTS87) sunulan bu çalışma ile ortak belirteç olduğu belirlenmiştir.

Mahmoudi ve ark. (2012)'nin yaptığı çalışmada soyların sürdürülebilir gelişiminin planlanması ve korunması için moleküler düzeyde genetik analizlerin yapılması amaçlanmıştır. İran keçisi popülasyonu dünyanın keçi genetik kaynaklarının çok değerli bir parçası olarak kabul edildiği belirtilmiştir. Korki Jonub Horasan (KJK) keçi ırkının genetik tanımlama ve darboğaz analizi 13 mikrosatellit belirteç kullanılarak yapılmıştır. Gözlemlenen allel sayısı toplam 98 olup, ortalama 7,54 allel belirlenmiştir. 13 lokustan 4'ü Hardy-Weinberg dengesinde olup ortalama F_{IS} değeri -0,059'dur. Ortalama gözlenen heterozigotluk değeri 0.845 ve ortalama beklenen heterozigotluk değeri 0.798 olduğu belirlenmiştir. Sadece 3 lokusun pozitif ve 10 lokusun negatif F_{IS} değeri olduğu görülmüştür. Genetik darboğaz analizi ayrıca incelenmiştir. Veriler KJK keçilerinin yakın geçmişte darboğaz tehlikesi ile karşılaşmadığını göstermektedir.

Bulut ve ark. (2014)'nin yaptığı çalışmada, popülasyonların moleküler düzeyde karakterizasyonu, ırk içi ve ırklar arası genetik çeşitlilik ve uzaklıkların belirlenmesine olanak sağlamaktadır. Bu çalışmada mikrosatellit belirteçlerinin Türkiye'de bulunan bazı keçi ırklarında ebeveyn tayini çalışmalarında kullanılabilirliği araştırılmıştır. Kilis, Yayladağ, Honamlı, Kıl, Ankara, Saanen, Alpin ve Malta ırkı keçilerden toplam 248 adet kan örneği toplanmıştır. Mikrosatellit lokusları FAO ve ISAG tarafından tavsiye edilen listeden seçilmiştir. Toplam 11 farklı lokus kullanılarak polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile spesifik genom bölgeleri çoğaltılmıştır. PCR ürünlerine kapiller elektroforez ile fragman analizi uygulanmıştır. İstatistiksel analizlerde allel sayısı, gözlenen heterozigotluk (H_o), beklenen heterozigotluk (H_e), Hardy-Weinberg Dengesine (HWE) uygunluk ve dışlama gücü (DG) parametreleri her bir lokus için hesaplanmıştır. Allel sayıları farklı lokuslar için 3 ile 25 arasında değişmektedir. Ortalama H_o değeri 0.357-0.856, ortalama H_e değeri ise 0.601-0.861 arasında değiştii gözlenmiştir. Enformatif 11 lokusun kullanılması ile toplam

DG değerinin Malta ırkında 0.998, diğer ırklarda ise 0.999 olacağı ve dolayısıyla keçi kimliklendirme çalışmalarında başarıyla kullanılabilceği tahmin edilmektedir. Bulut ve ark. (2014)'nin yaptığı çalışmada, kullanılan belirteçlerden 3 tanesi (INRA23, CSRD247 ve ILSTS87) sunulan bu çalışma ile ortak belirteç olduğu belirlenmiştir. Ayrıca sunulan bu çalışmada kullanılan ırkların (Ankara, Honamlı, Kıl ve Kilis Keçisi) tamamını Bulut ve ark. (2014)'nin yaptığı çalışmada da kullanılmıştır.

Malezya'daki keçi populasyonlarının genetik karakterizasyonunu korunma ve genetik iyileştirme için Marina ve ark (2014)'nin yaptıkları çalışmada Katjang, Jamnapari, Boer ve Savanna keçi populasyonlarını incelemişlerdir. Malezya keçi ırklarının genetik çeşitliliğini, ışlah programında doğru kullanım için 30 farklı mikrosatellit belirteç kullanılmıştır. Marina ve ark (2014)'nin kullandığı belirteçlerden CSRD247, ILSTS087, İNRABERK172, SRCRSP05 ve BM1329 sunulan bu çalışmayla ortak belirteçler olduğu grlmüştir. Katejang, Jamnapari, Boer ve Savanna ırklarında lokus başına alel sayısının düşük seviyede olup, ortalama alel sayısı 5.69 olduğu gözlenmiştir. Ortalama gözlenen heterozigotluk değeri 0.41 ve ortalama beklenen heterozigotluk değeri 0.72 olduğu belirlenmiştir. F_{IS} belirlemelerinin sonuçları, alel sayılarının düşük olmasıyla birlikte, dört ırkta da akrabalığın olduğunu göstermektedir.

Türkiye'de Yıldırım (2015)'in yaptığı çalışmada populasyonların moleküler düzeyde karakterizasyonu, populasyon içi ve populasyonlar arası genetik uzaklıkların belirlenebilmesi amacıyla Kilis, Shami, Honamlı, Saanen, Kıl ve Ankara Keçisi ile Yaban keçileri arasındaki genetik benzerlik ve farklılıklar 320 adet birey kullanılarak araştırılmıştır. Toplam 20 farklı mikrosatellit belirteci (MM12, ILSTS030, CSSM39, RT1, CSRP26, ETH10, BMC1009, BM848, INRABERN172, ILSTS11, TGLA122, ILSTS05, ETH152, CSSM43, IDVGA29, FCB20, INRA05, BM203, FCB304, MB25) kullanılarak polimeraz zincir reaksiyonu ile bölgeler oğaltılmış olup kapiller elektroforeze tabi tutularak genotipleri (allelere) belirlenmiştir. Yıldırım (2015)'in yaptığı çalışmada kullandığı INRABERN172 belirteci sunulan bu çalışma ile ortak belirteç olduğu görülmektedir. Ayrıca sunulan bu çalışmada kullanılan ırkların (Ankara, Honamlı, Kıl ve Kilis Keçisi) tamamını Yıldırım (2015)'nin yaptığı çalışmada da kullanılmıştır. İstatistiksel analizlerde temel parametreler olan toplam alel sayısı, alel frekansları, gözlenen heterozigotluk (H_0), beklenen heterozigotluk (H_e),

Hardy-Weinberg Dengesine (HWE) uygunluk parametreleri hesaplanmıştır. Toplam allel sayılarının farklı lokuslar için 4 ile 25 arasında değiştiği gözlenmiştir. Ortalama gözlenen heterozigotluk (H_o) değerlerinin 0.499 ile 0.632 arasında, beklenen heterozigotluk (H_e) değerlerinin ise 0.609 ile 0.705 arasında değiştiği belirlenmiştir. Ortalama F_{ST} değeri 0.095 dir. Yapılan Structure analizi ve FCA grafiğine göre, yaban keçilerinin genetik olarak diğer evcil keçilerden daha saf olduğu ve ayrı olarak gruplanabildiği gözlemlenmiştir. Ayrıca yapılan analizlerde Ankara keçilerinin Eskisehir ve Lalahan diye tabir edilen hatlarının genetik olarak bir farklılığının bulunmadığı belirlenmiştir.

Ürdün'de keçi ırklarının genetik çeşitliliğini araştırmak için Al- Atiyat ve ark. (2015)'ın yaptığı çalışmada altı mikrosatelit belirteç (BM143, CSRD247, INRA40, OARAE54, ILSTS005 ve MCM527) kullanılmıştır. Al-Atiyat ve ark. (2015)' ın yaptığı çalışmada kullandığı CSRD247 mikrosatellit belirteci sunulan bu çalışmada ortak belirteç olarak görülmüştür. Çalışmada Jabali, Dhawi, Shami ve Sahrawi keçi ırkları kullanılmıştır. Her populasyon ve lokus için beklenen ve gözlemlenen allellerin sayısı (sırasıyla 6.92, 0.703, 0.685 ve 9.83, 0.728, 0.624) dır. Ortalama populasyon farklılaşma katsayısı (F_{ST}) 0.019 ve akrabalık katsayısı (F_{IS}) 0.048 olarak bulunmuştur. F_{IS} değerleri sırasıyla Jabali 0.064, Dhawi -0.020 Shami -0.070 ve Sahrawi 0.123 'tür. F_{ST} değerleri Shami ve Sahrawi arasında en büyük (0.078) ve Jabali ile Dhawi arasında en küçük (0.024) tür. Genetik uzaklık matrisine bakıldığında, dört ırkı temsil eden dört taksondan oluştuğu görülmüştür. Dhawi ırkının hem Cebali hem Sahrawi'ye yakın olduğunu gösterilmiştir. Bu üç ırk birlikte kümeleşirken, Shami ayrı bir kümede bulunmuştur. Bu çalışmanın Ürdün'de ilk defa mikrosatellitlerle yapılan genetik çeşitliliği ve keçi ırklarının farklılaşmasını gösteren bir çalışma olduğu belirtilmiştir.

Marvari ırkı keçilerinde var olan genetik varyasyon ve diğer keçi türleri ile genetik ilişkileri belirlemek için Yadav ve ark. (2015)'nın Hindistan'da yaptıkları çalışmada; kullanılabilecek veriler elde etmeyi amaçlanmışlardır. Marvari ırkı keçilerden toplam 146 kan örneği, Hindistan'ın Batı Rajasthan bölgesindeki farklı köylerden gelen genetik olarak akraba hayvanlardan rasgele toplanılmıştır. Allel ve genotip frekansları, heterozigotluklar ve polimorfizm bilgi içeriği (PIC) değerleri bakımından Marvari keçilerinde genetik değişkenliği belirlemek için 15 mikrosatellit belirteç kullanılmıştır. Bu belirteçlerden iki tanesi (ILSTS087 ve ILSTS019) sunulan bu çalışmada ortak belirteç olarak kullanıldığı görülmüştür. Lokus başına düşen allel sayısının 2 (ILSTS-087) ila 9 (ILSTS-058) allel

arasında değiştiği belirlenmiştir. Gözlemlenen heterozigotluk (H_o), 0.1428 (lokus ILSTS-087) ila 0.9285 (lokus ILSTS-034) arasında değişmektedir. Ortalama gözlenen heterozigotluk değeri (0.5485) populyasyonda önemli olup, heterozigot fazlalığı göstermektedir. Beklenen heterozigotluk 0.240 (lokus ILSTS-005) ila 0.681 (lokus ILSTS-011) arasında değişmekte olup, ortalama değeri 0.544 olarak hesaplanmıştır. Sonuç olarak, bu ırkın Batı Rajasthan'a özgü ve uyum sağlayabilmesi için gelecekteki biyolojik çeşitlilik çalışmalarını planlamak için kullanılabileceği bildirilmektedir. Araştırılan mikrosatellit belirteçlerin çoğu, bu keçi ırkının genetik karakterizasyonu ve çeşitlilik analizi için kullanılabilir olduklarını ispatlamıştır.

Girgentana süt ürünleri için genetik bir izlenebilirlik sistemi geliştirmeyi amaçlayan Sardina ve ark. (2015)'nin yaptığı çalışmada, Sicilyalı süt keçi ırkları arasından, Girgentana süt ürünlerinde mikroorganizmaları ayırt edebilen mikrosatellit belirteçleri belirlemeyi amaçlamışlardır. Sicilyalı süt keçi ırkları arasından Girgentana, Maltese ve Derivata di Siria keçi ırklarından 338 bireyde toplam 20 mikrosatellit belirteç kullanılarak analiz edilmiştir. Sardina ve ark. (2015)'in yaptığı çalışmada kullandığı CSR247, SRCRSP05, BM1329 mikrosatellit belirteçleri sunulan bu çalışmada ortak belirteçler olarak grlmştir. Ortalama gözlenen heterozigotluk (H_o) değerinin 0.582, beklenen heterozigotluk (H_e) değerinin ise 0.647 olduğu belirlenmiştir. Süt rnlerinin izlenebilirliği için yararlı olan belirli mikrosatellit belirteçler tanımlanmıştır. Ayrıca 8 adet mikrosatellit belirtecin Maltese ve Derivata di Siria'da bulunan, Girgentana'da bulunmayan allelleri gözlenmiştir. Elektroferogram sonuçları göz önüne alındığında, sadece FCB20, SRCRSP5 ve TGLA122 mikrosatellit belirteçleri, Maltese ve Derivata di Siria keçi ırklarında karışımın belirlenmesi için Girgentana süt ürünlerinin genetik izlenebilirlik sistemine uygulanabilirliği gözlenmiştir.

Hassen ve ark. (2016)'nin yaptıkları alışma, Suriye keçi populyasyonlarının morfolojik çeşitliliği, genetik çeşitliliği ve populyasyon alt yapısını değerlendirmeyi amaçlamıştır. Genel olarak, Suriye'de keçi genotipleri Jabali (dağ keçisi), Baladi (yerel keçi) ve Shami (şam) (en iyi bilinen süt keçisi) olarak 3'e ayrılmaktadır. Kalitatif (kıl rengi, göz rengi, boynuz uzunluğu, boynuz yn, burun profili) ve niceliksel (boy kısalığı, göğüs çevresi, top boyu, vücut uzunluğu, kulak uzunluğu ve kulağı yüksekliliği) zellikler morfolojik verileri göstermektedir. Suriye 'nin on ilinde yetiştirilen  keçi populyasyonunda toplam 5.730 birey kullanılarak analiz edilmiştir. Morfolojik analiz sonuçları,  keçi populyasyonu arasında net olarak morfolojik farklılıkların olduğunu doğrulamıştır.  keçi populyasyonu temel olarak

düz (Baladi,% 71.1 ve Jabali,% 82.8) ve kavisli (Shami,% 89.5) burun profilleri ile ayırt edilmekte olduğu belirlenmiştir. Üç ırkın 398 bireyinden elde edilen genetik çeşitlilik ve populasyon alt yapıları 12 adet mikrosatellit belirteç kullanılarak genotiplendirilmiş olup, kullanılan tüm mikrosatellitlerin polimorfik olduğu görülmüştür. Hassen ve ark.(2016)' ın yaptığı çalışmada kullandığı ILSTS087 ve ILSTS019 mikrosatellit belirteçleri sunulan bu çalışmada ortak belirteçler olarak görülmüştür. Baladi, Jabali ve Shami keçi populasyonlarında toplam 41 farklı alel olduğu tespit edilmiştir. Suriye keçi populasyonlarında ortalama gözlenen ve beklenen heterozigotluk değerleri sırasıyla 0.52 ve 0.80 bulunmuş ve ortalama allel sayısı 13.97 olduğu gözlemlenmiştir. Shami keçi ırkında 0.29, Jabali keçi ırkında 0.33, Baladi keçi ırkında 0.34 akrabalık değeri (F_{IS}) elde edilmiştir. Araştırılan keçiler arasında F_{IS} değerleri pozitif olup, heterozigot eksiklikleri olduğu belirlenmiştir. Bireylerdeki yüksek genetik çeşitlilik, populasyonun mevcut keçi yönetim sistemlerinin yanı sıra genetik iyileştirme programlarının da tasarlanması için iyi bir temel oluşturduğu gözlenmiştir.

Wang ve ark. (2017)'nin yaptığı çalışmada 4 yerli ırk ve 2 yabancı ırk olmak üzere Çin'de 6 süt keçi ırkının genetik yapısını ve filogenetik ilişkilerini analiz etmek için 15 mikrosatellit belirteç kullanmışlardır. Wang ve ark (2017)'nin kullandığı belirteçlerden İNRA023 ve BM1329 sunulan bu çalışmayla ortak belirteçler olduğu görülmüştür. Sonuçlar, süt keçi ırklarının 347 örneğinde toplam 172 alel tespit edildiğini, ortalama allel sayısının 8.06 olduğunu göstermektedir. Ortalama gözlenen heterozigotluk değeri 0.7016 ve ortalama beklenen heterozigotluk değeri 0.7545 olduğu belirlenmiştir. BMS0812 mikrosatellit lokusu hariç kalan tüm lokuslar oldukça polimorfik (polimorfizm bilgi içeriği [PIC]> 0.5) olduğu görülmüştür. F_{ST} ve filogenetik ağaç topolojilerine göre orta düzeyde bir genetik farklılaşma durumu göstermiştir (0.05 <gen fiksasyon katsayısı ortak bir [F_{ST}] atası> 0.15). Sonuçlar göstermektedir ki, Wendeng ile Laoshan süt keçileri ve Guanzhong süt keçisi ile Xinong Saanen süt keçisi yakın bir genetik ilişkiye sahip olduğunu göstermiştir. Bu çalışma genetik yönetim stratejilerinin kullanımında, yerli ırkların genetik çeşitliliğini korumak ve süt keçi populasyonlarını geliştirme bakımından yararlı olacağı düşünülmektedir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

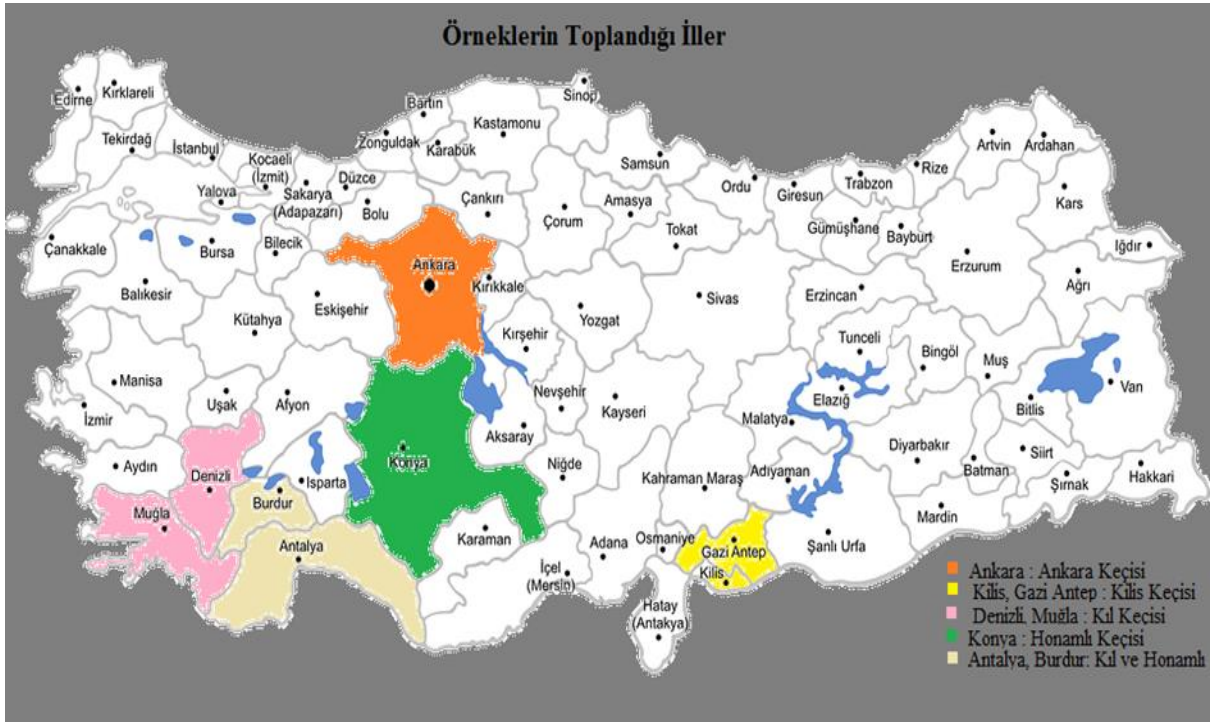
3.1 Materyal

Çalışmada TAGEM-14/AR-GE/15 nolu “Türkiye Yerli Keçi Irklarında Mikrosatellit DNA Polimorfizm Tekniğinin Kullanılması İle Ebeveyn Tayini” başlıklı proje kapsamında örnek alınan 4 yerli (Ankara, Kıl, Honamlı, Kilis) keçi ırkı ile çalışılmıştır. Çalışılan örnekler, “Halk Elinde Ülkesel Küçükbaş Hayvan Islahı Projesine” dahil olan populasyonlardan rasgele seçilmiş olup; anne, baba ve yavru bireylerin birlikte alınmamasına dikkat edilmiştir. Her bir ırka ait bireylerden 10 ml kan örneği alınmış ve bu kan örneklerinden DNA izole edilmiştir. Çalışmada kullanılan populasyonlar ve örnek sayıları Çizelge 3.1’de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Çalışılan populasyonlar, örnek sayıları ve örneklerin toplandığı yerler

POPULASYON	ÖRNEK SAYISI	Örneklerin Toplandığı Yerler
Ankara Keçisi	50	Ankara (Beypazarı, Gütül)
Kıl Keçisi	43	Denizli, Muğla, Antalya, Burdur,
Kilis Keçisi	41	Gaziantep, Kilis
Honamlı Keçisi	50	Konya, Antalya, Burdur
Toplam	184	

Çalışmada kullanılan populasyonların toplandığı iller aşağıda Türkiye haritası üzerinde (Şekil 3.1.) gösterilmiştir.



Şekil 3.1. Çalışmada kullanılan populasyonların toplandığı iller

3.2 Örneklerin Hazırlanması

Çalışmada her populasyondaki bireylerden alınan kan örnekleri izolasyon sürecine kadar -20°C 'de muhafaza edilmiştir. Tüm bireylerin DNA izolasyonları Fenol – Kloroform – Isoamil alkol yöntemine göre yapılmıştır (Sambrook ve ark. 1989).

3.2.1 Fenol-Kloroform Yöntemi ile Kandan DNA İzolasyonu

K_3 EDTA'lı tüplere alınan kan örnekleri ($\cong 10$ ml) kullanılıncaya kadar -20°C 'de saklanmıştır. Genomik DNA, kandan fenol kloroform isoamil alkol (25:24:1) ekstrasyon yöntemi ile izole edilmiştir. 10 ml'lik kanlar 50 ml'lik falkon tüplere konduktan sonra kırmızı kan hücrelerini lize etmek için (2X) Lysis çözeltisi ile 50 ml'ye tamamlanır. Buz içerisinde bir gece bekletildi. Ertesi gün tüpler ters düz edilerek nazikçe 10 dakika karıştırılmakta ve daha sonra tüpler 3000 rpm'de $+4^{\circ}\text{C}$ 'de 10 dakika santrifuj edilmektedir. Bir sonraki aşamada üst faz dökülmekte ve sonra pelet 3 ml Tuz / EDTA solüsyonu, 0.3 ml %10'luk SDS

(Sodium Dodecyl Sulfate) ve 150 µl Proteinaz K (10 mg / ml) konarak vorteks aletinde karıştırılır. Daha sonra 55 °C'de 3 saat inkübasyona bırakılır. İnkübasyondan alınan tüplere 3 ml fenol konur. Tüpler alt üst edilerek yavaşça karıştırıldıktan sonra 3000 rpm'de (devir / dakika) +4 °C'de 10 dakika santrifuj edilmektedir. Daha sonra bir başka tüpün içerisine üst faz alınır ve üzerine 3 ml fenol:kloroform isoamil alkol (25:24:1) konur. Tekrar tüpler alt üst edilerek yavaşça karıştırıldıktan sonra 3000 rpm'de + 4 °C'de 10 dakika santrifuj edilir. Üst faz ucu kesik pipet ucu ile alınarak yeni bir cam tüpün içerisine konur. Üzerine 2 katı kadar saf alkol (% 96'lık) eklenir. Tüpler nazikçe sallanır. Tüm bu işlemler ile elde edilen DNA, ucu çengel şeklinde olan pastör pipeti ile alınarak içerisinde 500 µl Tris – EDTA (PH:7.5 – TE) solusyonu olan 1.5 ml'lik ependorf tüplere konulup -20 °C'de muhafaza edilmiştir. DNA izolasyonu aşamasından sonra DNA çözeltisinin kullanılacak olan miktarı +4 °C'de tutulurken geri kalan kısmı -20 °C'de saklanmıştır. Hazırlanan çözeltilerin miktar ve içerikleri Çizelge 3.2'de verilmiştir.

Çizelge 3.2. Hazırlanan çözeltilerin miktar ve içerikleri

Çözelti	Molarite /Miktar	İçerik
Lysis Çözeltisi (10X)	700 mM 46 mM 10 mM	NH ₄ Cl (Amonyum Klorid) KHCO ₃ (Potasyum Bikarbonat) EDTA
Tuz / EDTA Çözeltisi	75 mM 25 mM	NaCl EDTA
Tris – EDTA Çözeltisi	10 mM 1 mM	Tris EDTA
TBE Çözeltisi (10X)	121.14 g/mol 61.83 g/mol 292.25 g/mol Distile su ile 1 litreye tamamlanır.	Tris Borik Asit EDTA

3.2.2 Genomik DNA'nın agaroz jelde kontrol edilmesi

İzolasyon sonrası elde edilen genomik DNA'lar, % 0.8'lik agaroz jellerde kontrol edilmiştir. 0.24 gr agaroz 30 ml (1X) TBE (Tris-Borik asit-EDTA) tamponu içerisinde mikrodalga fırında eritilerek hazırlanmıştır. Daha sonra bu karışım içerisine 7 µl Red Safe ilave edilip karışım tarak içeren jel tepsisine dökülerek oda sıcaklığında polimerize olması için beklenmiştir. Ardından tarak dikkatlice alınmış ve daha sonra %10 oranında sulandırılmış 1 µl DNA örneğine 5 µl Bromofenol mavisi solusyonu ile 5 µl dH₂O (distile su) ilave edilmiştir. Karışımın tamamı jel kuyularına yüklenip, jel, 1X TBE (Tris-Borikasit-EDTA) tamponu içeren elektroforez tankında 100 V'da 40 dakika yürütülmüştür. Daha sonra jel, UV görüntüleme sisteminde (Quantum Jel Görüntüleme Sistemi, Vilber Lourmat) gözlemlenmiştir. Bantların önlerinde ve arkalarında başka bantların olmamasına dikkat edilmiştir.

3.2.3 Çalışmada Kullanılan Mikrosatellit Belirteçler

Bu tez çalışmasında 9 farklı mikrosatellit belirteci ele alınmıştır. Mikrosatellit bölgelerinin seçiminde, farklı kromozom bölgeleri üzerinde olmalarına, polimorfizm düzeyinin yüksek olmasına, heterozigotluk düzeylerinin yüksekliğine, allel sayılarına ve allel uzunluklarının birbirine olan uzaklıklarına, genetik çeşitliliğin belirlenmesinde kullanılabilecek mikrosatellit bölgelerinin olmasına dikkat edilmiştir. Çalışılan mikrosatellit belirteçleri ile ilgili bilgiler Çizelge 3.3'de verilmiştir.

Çizelge 3.3. Çalışmada Kullanılan Mikrosatellit Belirteçler

	Mikrosatellit	Florasın Boya	Kromozom	Allel Uzunluğu (bp)
1.	CSRD247	FAM	14	209-261
2.	ILSTS087	FAM	6	137-155
3.	INRA006	FAM	3	106-126
4.	SRCRSP05	FAM	21	158-180

5.	INRA23	TET	1	197-219
6.	INRA132	TET	23	144-174
7.	INRABERN172	TET	26	136-152
8.	ILSTS019	HEX	25	144-158
9.	BM1329	HEX	6	167-181

3.2.4 Mikrosatellit Belirteçlerin Optimizasyonu

Çalışmada kullanılan mikrosatellitlerin Polimeraz Zincir Reaksiyonunun (PCR) gerçekleşmesi için uygun reaksiyon bileşenleri Çizelge 3.4 'te gösterilmiş olup mikrosatellit lokusların PCR'da en uygun çalışma sıcaklıkları Çizelge 3.5'de verilmiştir.

Çizelge 3.4. Mikrosatellit belirteçlerin PCR reaksiyon bileşenleri

Mikrosatellit	Ana Stok	Son Konsantrasyon	Kullanılan miktar (µL)
CSR0247 ILSTS87 INRA132 SRCRSP05	10X PCR Buffer	1 X	2.0 µl
	MgCl ₂ (25 mM)	2.25 mM	1.8 µl
	dNTPler (10 mM)	1 mM	0.5 µl
	İleri Primer (10 µM)	0.5 µM	0.25 µl
	Ters Primer (10 µM)	0.5 µM	0.25 µl
	Taq polimeraz (5U/ µL)	0.5 U	0.1 µl
	DNA	10 ng	2.0 µl
	Yukarıdaki içerikler dH ₂ O ile 20 µl'ye tamamlanır.		
INRA23 INRABERN172 ILSTS019	10X PCR Buffer	1 X	2.0 µl
	MgCl ₂ (25 mM)	1.875 mM	1.5 µl
	dNTPler (10 mM)	1 mM	0.5 µl
	İleri Primer (10 µM)	0.5 µM	0.25 µl
	Ters Primer (10 µM)	0.5 µM	0.25 µl
	Taq polimeraz (5U/ µL)	0.5 U	0.1 µl
	DNA	10 ng	2.0 µl
	Yukarıdaki içerikler dH ₂ O ile 20 µl'ye		

		tamamlanır.	
INRA006	10X PCR Buffer	1 X	2.0 µl
	MgCl ₂ (25 mM)	1.5 mM	1.2 µl
	dNTPler (10 mM)	1 mM	0.5 µl
	İleri Primer (10 µM)	0.5 µM	0.25 µl
	Ters Primer (10 µM)	0.5 µM	0.25 µl
	Taq polimeraz (5U/ µL)	0.5 U	0.1 µl
	DNA	10 ng	2.0 µl
		Yukarıdaki içerikler dH ₂ O ile 20 µl'ye tamamlanır.	
BM1329	10X PCR Buffer	1 X	2.0 µl
	MgCl ₂ (25 mM)	2.25 mM	1.8 µl
	dNTPler (10 mM)	2 mM	1.0 µl
	İleri Primer (10 µM)	1 µM	0.5 µl
	Ters Primer (10 µM)	1 µM	0.5 µl
	Taq polimeraz (5U/ µL)	1 U	0.2 µl
	DNA	10 ng	2.0 µl
		Yukarıdaki içerikler dH ₂ O ile 20 µl'ye tamamlanır.	

Çizelge 3.5. Mikrosatellitlerin PCR Çalışma Sıcaklıkları

Mikrosatellit adı	PCR Sıcaklıkları
CSRD0247 - ILSTS087	94 C° de 5 dk
	94 C° de 30 sn
	55.7 C° de 30 sn
	72 C° de 40 sn
	72 C° de 15 dk
	} 35 döngü
INRA23-INRA006	94 C° de 5 dk
	94 C° de 1 dk
	60 C° de 1 dk
	72 C° de 1 dk
	72 C° de 20 dk
	} 35 döngü

SRCRSP005	94 C° de 5 dk 94 C° de 1 dk } 51.9 C° da 1 dk } 33 döngü 72 C° de 1 dk } 72 C° de 20 dk
INRA132	94 C° de 5 dk 94 C° de 30 sn } 54.5 C° de 30 sn } 35 döngü 72 C° de 2 dk } 72 C° de 15 dk
INRABERN172	94 C° de 5 dk 94 C° de 30 sn } 58 C° de 45 sn } 35 döngü 72 C° de 2 dk } 72 C° de 20 dk
ILSTS019	94 C° de 5 dk 94 C° de 30 sn } 55.7 C° de 30 sn } 35 döngü 72 C° de 2 dk } 72 C° de 15 dk
BM1329 (Touchdown)	94 C° de 10 dk 95 C° de 30 sn } 60 C° da 30sn } 12 döngü 72 C° de 1 dk } 95 C° de 30 sn } 56.6 C° da 1 dk } 23 döngü 72 C° de 1 dk } 72 C° de 10 dk

3.2.5 PCR Ürünlerinin Agaroz Jelde Kontrol Edilmesi

PCR sonucunda elde edilen PCR ürünlerine ait bantların gözlenmesi için % 2'lik agaroz jeller kullanılmıştır. % 2'lik agaroz jelin hazırlanmasında 1X TBE solusyonu ve 7 µl Red Safe kullanılmıştır. Hazırlanan agaroz jel mikrodalga fırında kaynatıldıktan sonra elektroforez tankına konup 30 dakika polimerizasyon için bekletilmiştir. Katılaştıktan sonra jelden tarak çıkartıldıktan sonra jelin üst kısmı tamamen örtülünceye kadar 1X TBE solusyonu ile tamamlanmıştır. PCR ürünleri kuyulara yüklenmeden önce yükleme çözeltisi (loading buffer) ile karıştırılarak boyanmıştır. Jel 1X TBE solusyonunun bulunduğu tank içerisinde 100 V elektrik akımında bantlar jelin sonuna gelinceye kadar yürütülmüştür. PCR ürünleri UV görüntüleme sisteminde görüntülenmiştir.

3.2.6 Mikrosatellit Belirteçlerin Bant Uzunluklarının Hesaplanması

Son yıllarda geliştirilen kapiller elektroforez tekniği, elektroforetik hareket kabiliyeti, faz ayırımı ve moleküler boyuttaki farklılıklara ya da bunların birkaçına bağlı olarak elektrokinetik ayırım yapan bir yöntemdir. Bu yönteminin LIF (laser-induced fluorescence) ile desteklenmesi sonucunda bu teknik DNA parçalarının ayırımında en hızlı gelişen yöntem olmuştur. Geleneksel jel yönteminde DNA, zincire bağlanan bazı kimyasallar yardımıyla görünür hale getirilirken, kapiller elektroforez tekniğinde DNA'nın algılayıcı sistem tarafından tanınması floresan boya ile işaretli primerler sayesinde olmaktadır. Bu amaçla primerler farklı renkte floresan boya ile işaretlenmektedir. Bu da benzer büyüklükte fakat farklı renkler ile işaretlenen fragmanların aynı zamanda analizini sağlamaktadır. Bu yöntem ile ticari kitler geliştirilmiş, aynı reaksiyonda 9, 10 ve 16 polimorfik DNA bölgesini bir PCR reaksiyonuyla çoğaltılıp yine bir yürütmeye analiz etme şansı doğmuştur. Geleneksel jel yönteminde ise bir arada çoğaltılabilen ve analiz edilebilen bölge sayısı sınırlıdır. Böylece kapiller elektroforezi ile zaman tasarrufu yanında emekten de tasarruf sağlanmaktadır. Çalışmada fragment analizi için ABI kapiller elektroforez (Applied Biosystems 3130) Genetik Analiz Sistemi kullanılmıştır (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. Çalışmada kullanılan ABI cihazından bir görünüm

PCR sonucunda çoğaltılan mikrosatellit lokusları agaroz jelde kontrol edildikten sonra PCR ürünleri, fragment analizi için ABI 3130 cihazında analiz edilmiştir. Elde edilen sonuçlar Peak Scanner Software v1.0 bilgisayar programında okunarak allel uzunlukları belirlenmiştir. Bu şekilde örnek alınan 4 yerli (Ankara, Kıl, Honamlı, Kilis) keçi popülasyonunun tüm bireylerinin, 9 lokustaki allel uzunlukları hesaplanmıştır.

3.3 Elde Edilen Verilerin Analizinde Kullanılan İstatistik Metodları

Son yıllarda popülasyon genetiği çalışmalarında, güçlü moleküler belirteçlerden yararlanılmaktadır. Gelişen moleküler teknikler ile elde edilen verilere uygun istatistik metodlara her geçen gün bir yenisi eklenmekte ve geliştirilmektedir (Luikart ve England 1999). Bu moleküler belirteçlerden biri olan ve kodominant kalıtım özelliği gösteren mikrosatellit lokuslarına ilişkin genetik çeşitliliğin analiz edildiği çalışmalarda son yıllarda farklı model temelli programlar kullanılmaktadır. Bu güncel programlar ile popülasyonlara ilişkin popülasyonlar içi ve popülasyonlar arası genetik çeşitlilik, allel sayıları ve frekansları, gözlenen ve beklenen heterozigotluk değerleri, Wright'ın F istatistikleri, faktöriyel hesaplamaları, filogenetik ağaçların çizimi, temel bileşenler analizi (PCA: Principal components analysis) gibi testler yapılarak sonuçlar yorumlanabilmektedir.

3.3.1. Allelik Varyasyon ve Heterozigotluk Ölçümü

Çalışılan populasyonlar içerisinde bir lokus içinde allelik farklılıkların olması yani farklı uzunluklarda allellerin görülmesi demek bu populasyonların içerisinde genetik çeşitliliğin olması demektir. Populasyonlardaki genetik varyasyonları ölçmenin yollarından biriside allel frekanslarının hesaplanmasıdır. (Nei, 1987). Bu hesaplamaların yapılmasında GENETIX 4.5 isimli istatistiksel paket programı kullanılmıştır (Belkhir ve ark. 1996-2000).

$$f(A_i) = \left(2n_{ii} + \sum_{j \neq i} n_{ij} \right) / 2n$$

(Denklem 3.1)

$f(A_i)$: A_i allelinin gen frekansı; n ; örnek içerisindeki birey sayısı, n_{ii} ve n_{ij} sırasıyla; A_{ii} ve A_{ij} genotiplerinin sayılarını ifade eder (Nei, 1987). Her bir lokus için ortalama allel sayısı (n_a) veya allelik zenginlik; genetik çeşitliliğin diğer bir faktörüdür.

$$n_a = \left(\sum_i n_{ai} \right) / r$$

(Denklem 3.2)

n_a : her bir lokus için ortalama allel sayısı;

n_{ai} : i 'inci lokusta bulunan allel sayısı;

r : toplam lokus sayısını ifade eder (Nei, 1987).

Çalışmada çok sayıda lokusla çalışılması dolayısıyla, tüm lokusların çalışılması sonucunda beklenen ve gözlenen heterozigotluklar için ortalama heterozigotluk hesaplanır. Her ırk/ırk örneği için önce lokuslar bazında, sonra tüm lokuslar için gözlenen allel sayıları, ortalama allel sayıları, gözlenen heterozigotluk (H_O) ve beklenen heterozigotluk (H_E) hesaplanarak allelik ve genetik varyasyonlar saptanmıştır. Gözlenen heterozigotluk değeri bir lokusta görülen heterozigot birey sayısının, toplam birey sayısına oranıdır. Beklenen heterozigotluğun veya gen çeşitliliğinin tahmini için Nei (1987) örnek boyutunun neden olduğu eğilimi ortadan kaldıran bir formül geliştirmiştir.

$$\hat{h} = \frac{2n}{2n-1} \left(1 - \sum \hat{x}_i^2\right)$$

(Denklem 3.3)

\hat{h} : populasyonların ortalama beklenen heterozigotluk oranı;

n : Birey sayısı

X_i : A_i 'nin allel frekansı (Nei, 1987).

Beklenen heterozigotluk değerleri, her bir lokus için ayrı ayrı hesaplandıktan sonra tüm lokusların ortalaması alınmıştır. Eğer çok sayıda lokus ile çalışılıyorsa; tüm lokuslara ait gözlenen ve beklenen heterozigotluklar için ortalama heterozigotluk değeri hesaplanır. Bu hesaplamaların yapılmasında GENETIX 4.5 isimli istatistiksel paket programı kullanılmıştır (Belkhir ve ark. 1996-2000).

3.3.2. F İstatistikleri

Wright'ın F istatistikleri populasyonların yapısının tanımlanmasında çok geniş olarak kullanılan parametrelerdendir (Naghlaki, 1998). Çiftlik hayvanları içerisinde yapılan çiftleştirmeler populasyonlardaki akrabalı yetiştirmeyi (inbreeding) arttırmaktadır. Populasyonlar içerisinde akraba bireylerin çiftleştirilmesine akrabalı yetiştirme (inbreeding) ve Hardy-Weinberg dengesinden olan sapmalara ise homozigotlaşma indeksi (F- fixation index) denilmektedir. Aynı ırkın farklı populasyonları arasındaki genetik çeşitliliği incelemek ve populasyonlar ya da ırklar arası farkı tanımlayabilmek için fiksasyon indeksleri kullanılabilir. Bu indeksler Wright (1965) tarafından geliştirilmiş olup sembolleri F_{IT} , F_{IS} ve F_{ST} 'dir.

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

(Denklem 3.4)

F_{IT} = Bütün bireylerin bir arada düşünülmesi ile ortaya çıkan toplam populasyonlardaki Hardy-Weinberg Dengesinden sapmanın ölçümüdür.

F_{IS} = Alt populasyonlarda görülen ortalama akrabalık katsayısıdır.

F_{ST} = Alt populasyonlar arası farktır.

Wright sabitlerinden biri olan F_{ST} , aynı tür içindeki populasyon çiftleri arasındaki uzaklığı, genetik farklılaşmanın derecesini hesaplayarak belirler (Nei, 1977).

$$F_{ST} = 1 - \frac{H_S}{H_T}$$

(Denklem 3.5)

H_S : Populasyonlar içindeki ortalama beklenen heterozigotluk.

H_T : İki populasyon tek bir populasyon gibi değerlendirildiğinde beklenen heterozigotluk (Nei ve Kumar, 2000).

Diğer bir sabit olan F_{IS} , populasyondaki bireyler içinde homolog alleller arasındaki korelasyonu belirtir. Örnekler içerisinde Hardy-Weinberg dengesindeki sapmayı ölçer.

$$F_{IS} = 1 - \frac{H_O}{H_S}$$

(Denklem 3.6)

H_S : Populasyon içinde ortalama beklenen heterozigotluk.

H_O : Populasyon içinde ortalama gözlenen heterozigotluk (Nei ve Kumar, 2000).

F istatistikleri genetik varyasyonu; toplam populasyonlar, alt populasyonlar ve bireyler bazında inceler. F_{IS} , F_{IT} ve F_{ST} değerleri beklenen ve gözlenen heterozigotluk değerlerine göre belirlenebilmektedir (Nei, 1987). Bu tez çalışmasında sadece F_{IS} ve F_{ST} değerleri hesaplanmıştır.

F_{IS} , alt populasyonlarda birbirine akraba olan bireylerin içinde homolog alleller arasındaki korelasyonları tanımlar. Yani alt populasyonlarda rastgele birleşen iki gametin müşterek atadan gelme ihtimalidir. Alt populasyonlardaki akrabalı yetiştirme katsayısı olarak tanımlanır. Alt populasyonlar içerisinde Hardy-Weinberg dengesinden sapmaların ölçülebilmesi için F_{IS} alt populasyonlar seviyesinde bireylerin akrabalığına değinmektedir.

F_{IS} değeri negatif olarak bulunur ise heterozigot fazlalığı, sıfır değerine yakın bulunur ise Hardy-Weinberg dengesinin mevcut olduğu ve pozitif olarak bulunur ise homozigot fazlalığının mevcut olduğu görülmektedir (Özkan, 2005). F_{IS} değerleri teorik olarak “0 ila 1 arasında” değişir. F_{IS} değerinin “1” olması demek tamamen saf yetiştirmeyi ifade ederken, “1’den 0’a uzaklaşması” hali saf yetiştirmeden uzaklaşıldığını ifade etmektedir. F_{IS} değerinin negatif olması ise heterozigot fazlalığı gösterir. F_{IS} önemlilik testlerinde F_{IS} değerlerinin ($P < 0.001$, $P < 0.01$ ve $P < 0.05$ ’e göre) önemlilik düzeyini belirler.

F_{ST} , alt populasyonlar arasında bulunan genetik farklılıkların ölçümü için belirlenen bir değerdir. Bir lokus açısından populasyonları karşılaştırmada kullanılır. Alt populasyonlardan rastgele ele alınan iki gametin müşterek atadan gelme ihtimali olup alt populasyonlar arasındaki genetik farklılığın ölçüsüdür. 0 ila 1 arasında bir değer alır. Belirlenen değer 1’e ne kadar yakın ise alt populasyonlar müşterek atadan oldukça uzaktır denilebilir (Özkan, 2005).

Eğer F_{ST} değeri; 0 - 0.05 arasında bir değer alıyor ise küçük, 0.05 - 0.15 arasında bir değer alıyor ise orta düzeyde, 0.15 – 0.25 arasında bir değer alıyor ise büyük, 0.25’ten de büyük ise çok büyük bir genetik farklılaşmanın olduğu söylenebilir. F_{ST} değeri küçük olduğu zaman populasyonların arasındaki varyasyonun küçük olduğu söylenebilir. Yani iki populasyon birbirine genetik olarak benziyor demektir. Kısaca özetleyecek olursak; F_{IS} değeri populasyonlarda akrabalı yetiştiricilikten yada yakın akrabalı yetiştiricilikten (inbreeding) kaynaklanan Hardy-Weinberg frekansından sapmaları tespit eder (Özkan, 2005).

Hesaplanan F_{IS} ve F_{ST} değerlerinin istatistiksel olarak anlamlı olup olmadıklarını belirlemek için permütasyon testi yapılmıştır. Veriler 1000 defa permütasyona tabi tutulmuş ve her permütasyon sonucunda F_{IS} ve F_{ST} değerleri hesaplanmıştır. F_{ST} değeri için hipotez; Populasyonlar birbirlerinden farklı değildir. F_{IS} için ise hipotez; populasyonlar Hardy – Weinberg dengesindedir (Özkan, 2005). Bu çalışmada F hesaplamaları için GENETIX 4.5 ve FSTAT istatistiksel paket programları kullanılmıştır (Belkhir ve ark. 1996-2000, Goudet 2001).

3.3.3. Faktöriyel Birleştirici Analiz

Faktöriyel birleştirici analiz (Factorial Correspondence Analysis), bireylerin birbirleriyle ilişkilerinin elde edilen veriler doğrultusunda çok boyutlu düzlemde incelenmesidir. Diğer bir deyişle bireyler arasındaki akrabalığı araştırma için yapılan bir analiz olup çoklu boyutta bireylerin birbirlerine yakınlığının görülmesini sağlayan bir analizdir. Genellikle 3 eksenli çizilen şekil bireyler arası farkı görselleştirmektedir (Lebart ve ark. 1984). Bu analiz için GENETIX 4.5 yazılım programı kullanılmıştır (Belkhir ve ark. 1996-2000).

3.3.4. Irklar Arası Genetik Uzaklıklar

Mikrosatellit verilerinin analizinde irklar arası genetik uzaklıkları belirlemede farklı metodlar kullanılabilen ve bu metodlara göre komşu birleştirme dendogramları çizilebilmektedir. Komşu Birleştirme Ağacı (Neighbour Joining Tree) genetik uzaklıkların görsel olarak belirtilmesi amacı ile çizilebilmektedir. Komşu Birleştirme Ağacı (Neighbour Joining Tree) metoduna göre çizilen ağaç, 20 yıl öncesine kadar çok kullanılan UPGMA metoduna göre daha çok tercih edilen bir methodtur. Bunun nedeni, UPGMA metodunda popülasyonların evrim zamanı her popülasyon için aynı kabul edilip ağaç ona göre çizilmektedir. Ancak popülasyonların birey sayıları farklı olduğundan aynı zaman aralığında farklı miktarlarda değişim olduğu düşünülmektedir. Bu nedenle komşu birleştirme metoduna göre (Neighbour Joining) çizilen ağaçta bu fark gözönüne alınabilmektedir. Komşu Birleştirme Ağacı metoduna göre ağaç oluşturmanın diğer yöntemlere göre üstünlüklerinin olduğu belirtilmiştir (Saitou ve Nei, 1987; Li, 1997).

Çalışmada genetik uzaklıkların belirlenmesinde, Nei Standart Genetik Uzaklık Metodu ve Nei ve ark.'na ait olan D_S genetik uzaklık metodu (1972) kullanılmıştır. Nei'nin 1972 yılında geliştirdiği standart genetik uzaklık metoduna göre irklar arası genetik uzaklıkları belirlemede beklenen değer in evrim süresi ile orantılı olduğu ve bu süre içerisinde mutasyon ve göç gibi faktörlerin etkilerinin hesaba katılması ile yapılan bir metottur. Bu çalışmada

ırkların birbirlerine olan genetik uzaklıkları Nei Genetik Uzaklık Metoduna göre GENETIX 4.5 yazılım programı kullanılmıştır (Belkhir ve ark. 1996-2000). Hesaplanan D_s genetik uzaklık değerleri kullanılarak çizilen komşu birleştirme ağacı (NJ-Neighbor Joining Tree) POPULATION 1.2.32 ve TreeView programları kullanılmıştır (Goldstein ve Pollock 1997, Nei ve ark. 1983).

-Nei'ye Göre Standart Genetik Uzaklık (D_s) Metodu

Nei'nin (1972) geliştirdiği standart genetik uzaklık (D_s) metoduna göre ırklar arası genetik uzaklıkları belirlemede beklenen değer in evrim süresi ile orantılı olduğu ve bu süre içerisinde mutasyon ve göç gibi faktörlerin etkilerinin hesaba katılması ile yapılabilmektedir. Bu metod aşağıdaki şekilde tanımlanır:

$$D = -\ln I \text{ ya da } D = -\log_e I \quad (\text{Denklem 3.7})$$

$$I = \hat{J}_{XY} / \sqrt{\hat{J}_X \hat{J}_Y} \quad (\text{Denklem 3.8})$$

D = Standart Genetik Uzaklık

I = Populasyonlar arasındaki genetik uzaklığı ölçebilmek için kullanılan bir değer olup basit genetik özdeşlik (basit genetik aynılık-simple genetic identity) olarak isimlendirilir. I değeri 0 ile 1 arasında değerler aldığı zaman genetik uzaklık (D) 0 ve ∞ arasında değer alır. (I) değeri 1'e eşit ise iki populasyonda tüm lokuslardaki gen frekansları bakımından aynıdır denilir. Eğer (I) değeri 0'a eşit ise populasyonlarda çalışılan mikrosatellit bölgelerinde hiç bir ortak allelin olmadığı söylenebilir (Özkan, 2005).

\hat{J}_{XY} = X ve Y populasyonlarındaki A_i allelinin frekanslarının toplamı

\hat{J}_X = X populasyonundaki A_i allelinin frekansı

\hat{J}_Y = Y populasyonundaki A_i allelinin frekansı

- Nei'nin D_A Genetik Uzaklık Metodu

Mikrosatellit verilerinden genetik uzaklıkları belirlemek ve doğru ağaç topolojisi elde etmek için en uygun yöntem D_A genetik uzaklık yöntemidir (Takezaki ve Nei, 1996).

$$D_A = 1 - \frac{1}{r} \sum_j^r \sum_i^{m_j} \sqrt{X_{ij}Y_{ij}}$$

(Denklem 3.9)

X_{ij} : X örneğinde J'inci lokusun i'inci allelinin frekansı.

Y_{ij} : Y örneğinde J'inci lokusun i'inci allelinin frekansı

m_j : j'inci lokustaki allel sayısı

r : Toplam lokus sayısı

Nei'nin genetik uzaklık değeri 0 ile 1 arasında değişir.

3.3.5. Temel Bileşenler Analizi

Verilerin birbirleri ile ilişkilerinin çeşitli faktörler açısından 3 boyutlu düzlemsel ortamda görselleştirilmesi için temel bileşenler analizi (PCA) yapılabilmektedir. Temel bileşenler analizi (Principal Component Analysis) matematiksel bir prosedür ile birbirleri ile muhtemel ilişki içerisinde olan değişkenleri (variable) daha az sayıda birbirleri ile ilişkisiz ve temel bileşenler (principal components) olarak adlandırılan değişkenlere dönüştürmektedir. Birinci temel bileşen verilerdeki mevcut varyasyonun mümkün olduğunca fazla bir bölümünü tanımlamaktadır. Diğer temel öğeler ise kalan varyasyonun sırasıyla mümkün olan en fazla bölümünü tanımlamaktadır. Diğer temel bileşenler ise kalan varyasyonun sırasıyla mümkün olan en fazla bölümünü tanımlar. Temel öğeler analizinde belirlenen ilk birkaç eksen, mevcut varyasyonun büyük bir çoğunluğunun bireyler arasındaki farklılıktan kaynaklandığı görülmüştür (Dytham 2003).

Sonuç olarak, grupları görsel olarak az sayıda eksenle ayırmak ve mevcut varyasyonları önem sıralarına göre açıklayan değişken kombinasyonlarını gözlemlemek için temel öğeler analizi (PCA) vasıtası ile çalışılabilmektedir. Temel bileşenler analizi ile bireylerden elde edilen bilgiler ışığında populasyonlar tek bir nokta olarak doğrusal (linear) değişken kombinasyonları ile oluşturulmuş bağımsız eksenlerden 3'ü üzerinde gösterilmiştir. Bu analizde ırkların yakınlık derecesi ırk içi varyasyonlardan arındırılmış olarak

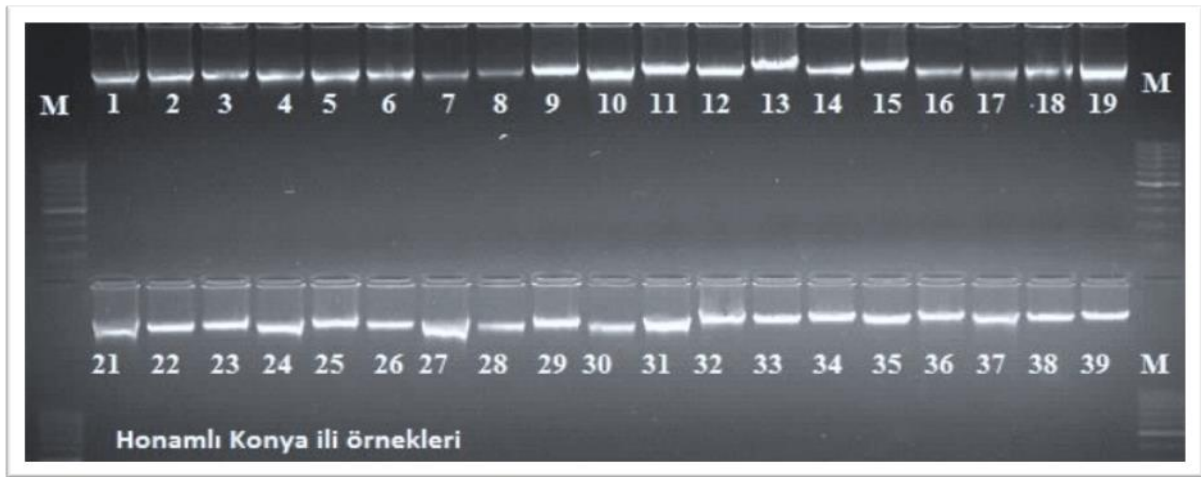
görülebilmektedir (Özkan, 2005). Bu çalışmada Temel Bileşenler analizi için NTSYSpc 2.2 isimli istatistiksel paket programı kullanılmıştır (Rohlf 1993).



4. BULGULAR

4.1. DNA İzolasyonu Sonuçları

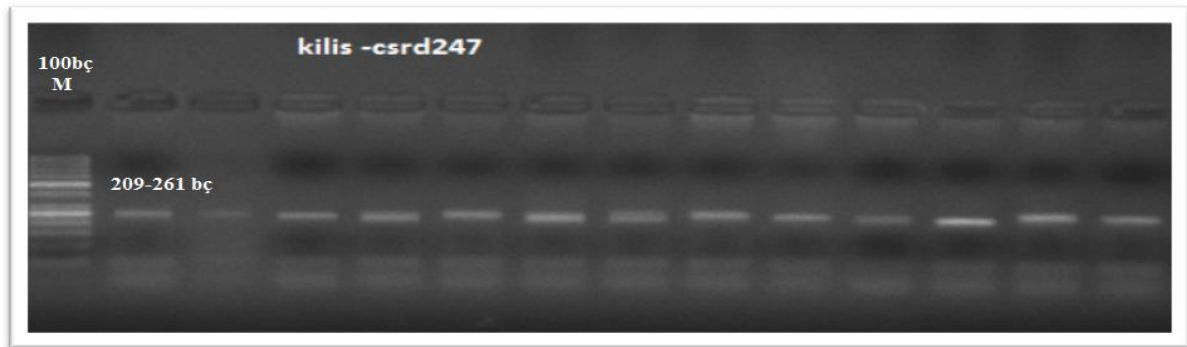
Ankara Keçisi, Kilis Keçisi, Honamlı Keçisi ve Kıl Keçisine ait populasyonlara ait bireylerden izole edilen toplam 184 adet DNA örneği stoktan 1/10 oranında sulandırılarak, % 0.8 'lik agaroz jelde kontrol edilmiştir. Elektroforez sonrası DNA örneklerinin jel görüntüsü Şekil 4.1 'de verilmiştir (Şekil 4.1.).



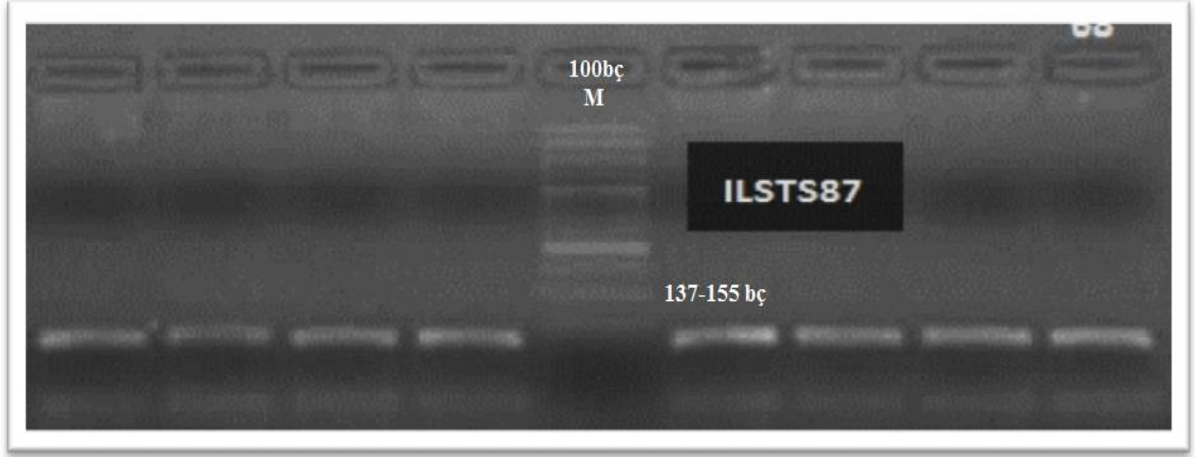
Şekil 4.1. DNA örneklerinin % 0.8'lik agaroz jelde görünüşleri

4.2. Mikrosatellit Bölgelerin PCR Sonuçları

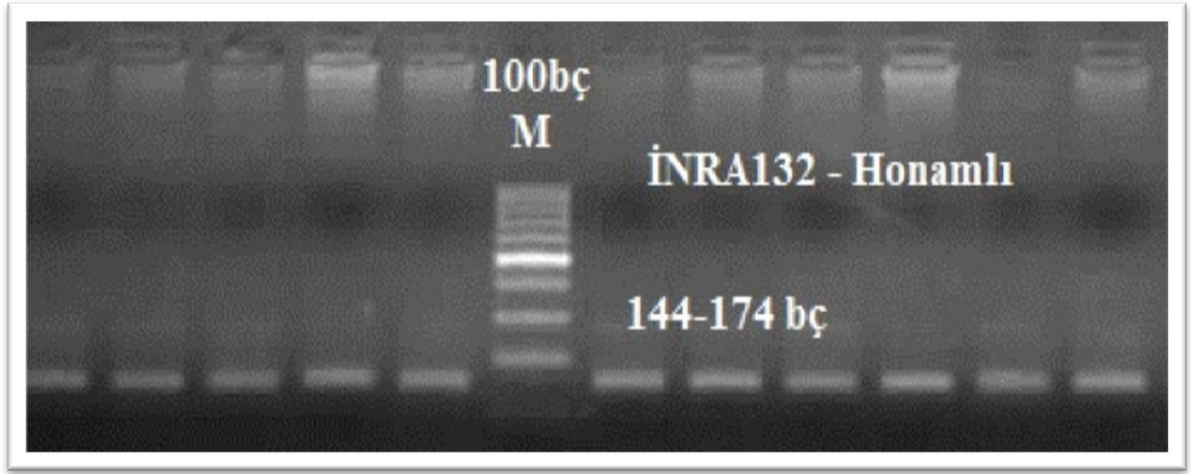
Çalışmada kullanılan 9 mikrosatellit belirtecine ait PCR görüntüleri aşağıda verilmiştir.



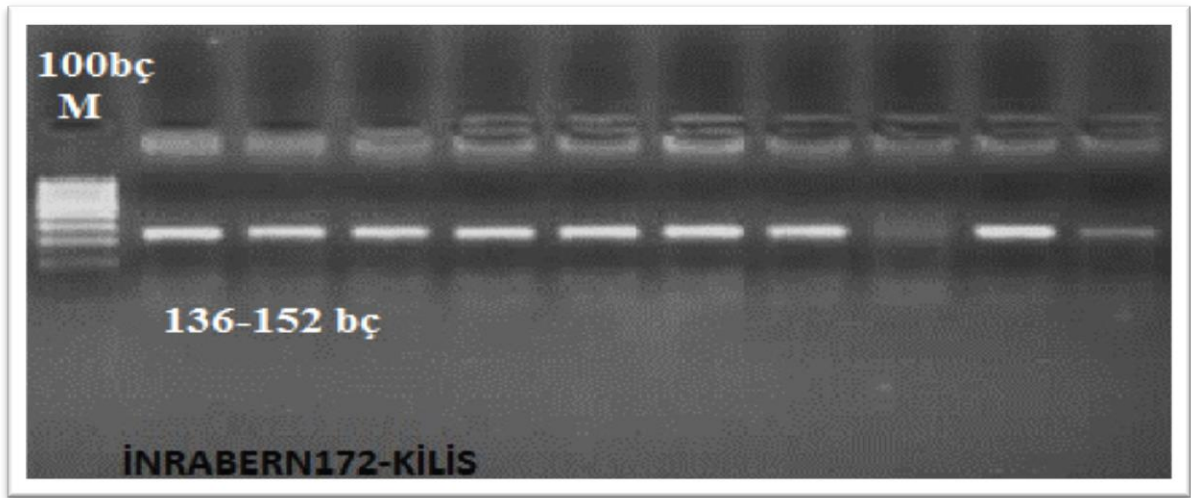
Şekil 4.2. CSRD0247 Mikrosatellit Belirtecinin PCR Görüntüsü



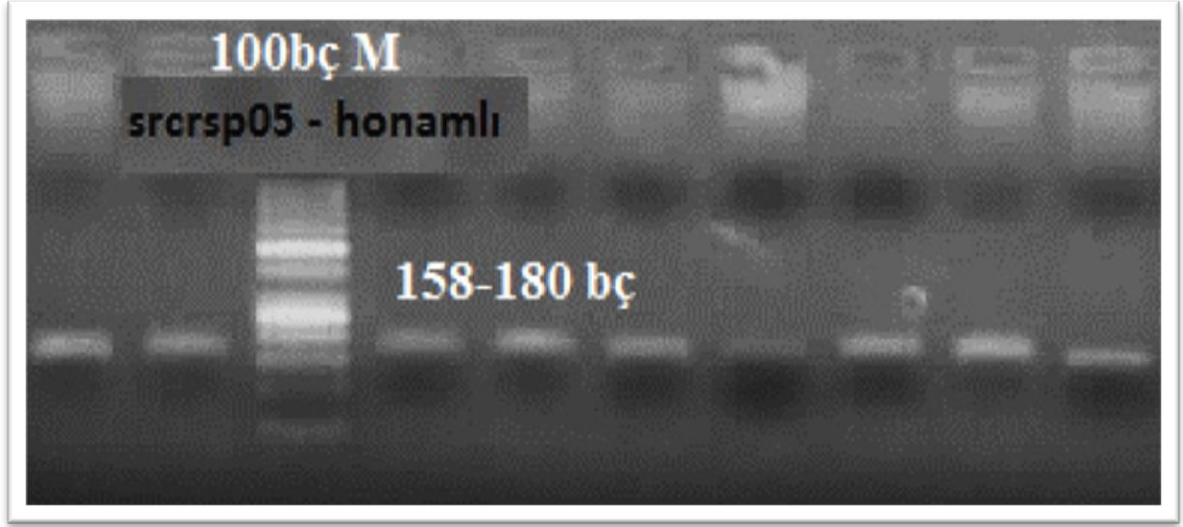
Şekil 4.3. ILSTS87 Mikrosatellit Belirtecinin PCR Görüntüsü



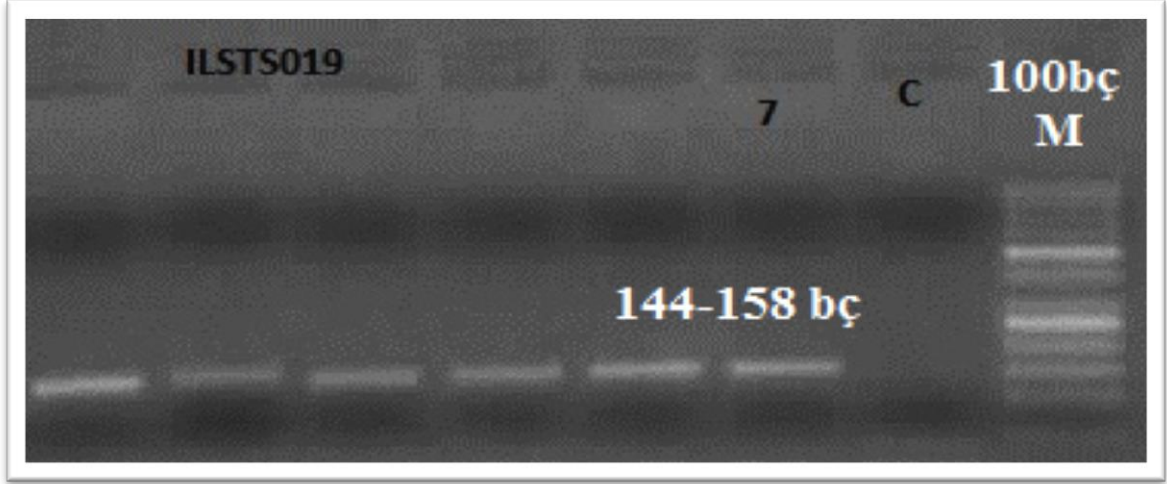
Şekil 4.4. INRA132 Mikrosatellit Belirtecinin PCR Görüntüsü



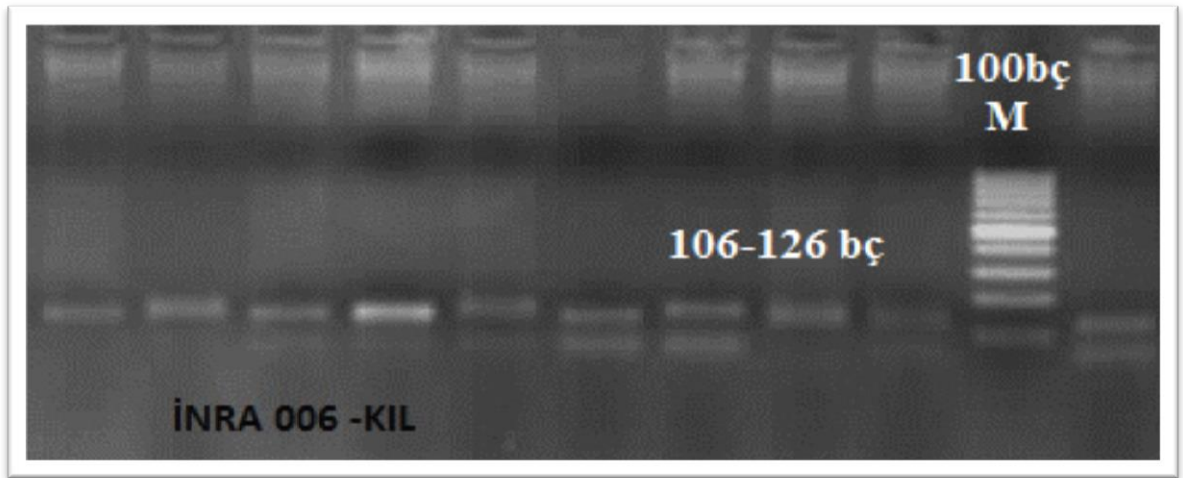
Şekil 4.5. INRABERN172 Mikrosatellit Belirtecinin PCR Görüntüsü



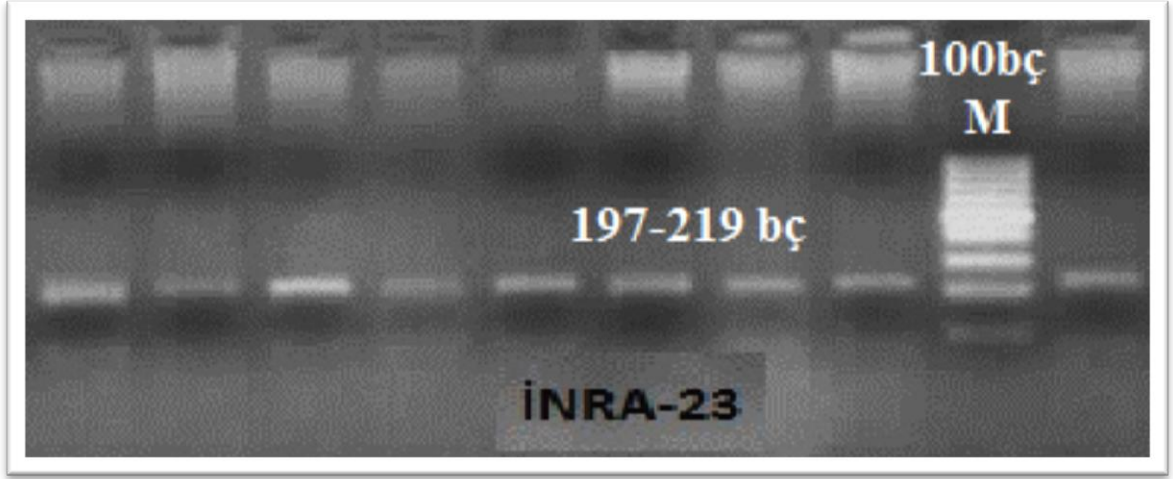
Şekil 4.6. SRCRSP05 Mikrosatellit Belirtecini PCR Görüntüsü



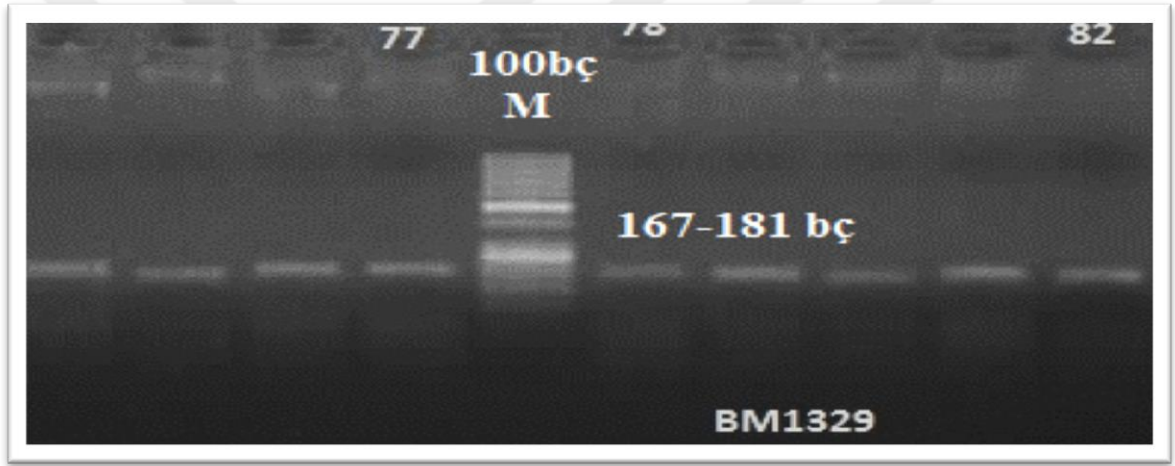
Şekil 4.7. ILSTS019 Mikrosatellit Belirtecini PCR Görüntüsü



Şekil 4.8. INRA006 Mikrosatellit Belirtecini PCR Görüntüsü



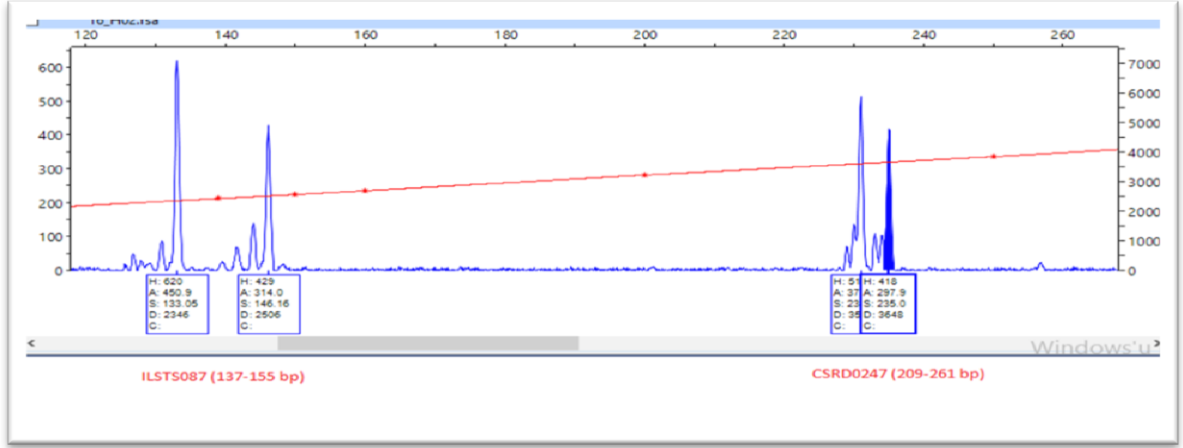
Şekil 4.9. INRA23 Mikrosatellit Belirtecinin PCR Görüntüsü



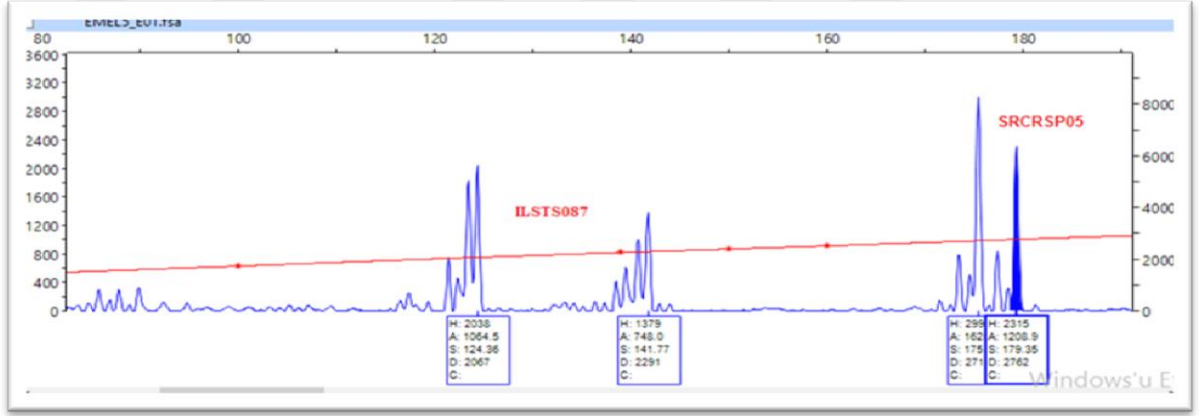
Şekil 4.10. BM1329 Mikrosatellit Belirtecinin PCR Görüntüsü

4.3. Fragment Analizi Sonuçları

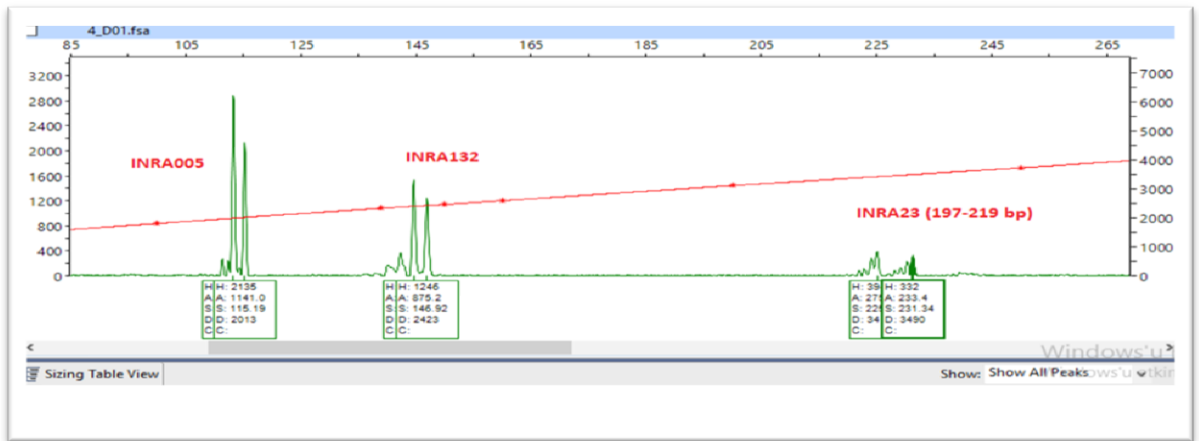
PCR sonrası elde edilen PCR ürünleri agaroz jelde kontrol edildikten sonra ko-loading yapılarak, allel uzunluklarının belirlenmesi amacıyla fragment analizine gönderilmiştir. Fragment analizleri ABI 3130 cihazı kullanılarak, hizmet alımı şeklinde anlaşmalı firmada yapılmıştır. Fragment analizi sonrası allel uzunlukları Peak Scanner v1.0 programında okunmuştur. Belirlenen allel uzunluklarına ait örnek görüntüler Şekil 4.11 - 4.17 'de verilmiştir.



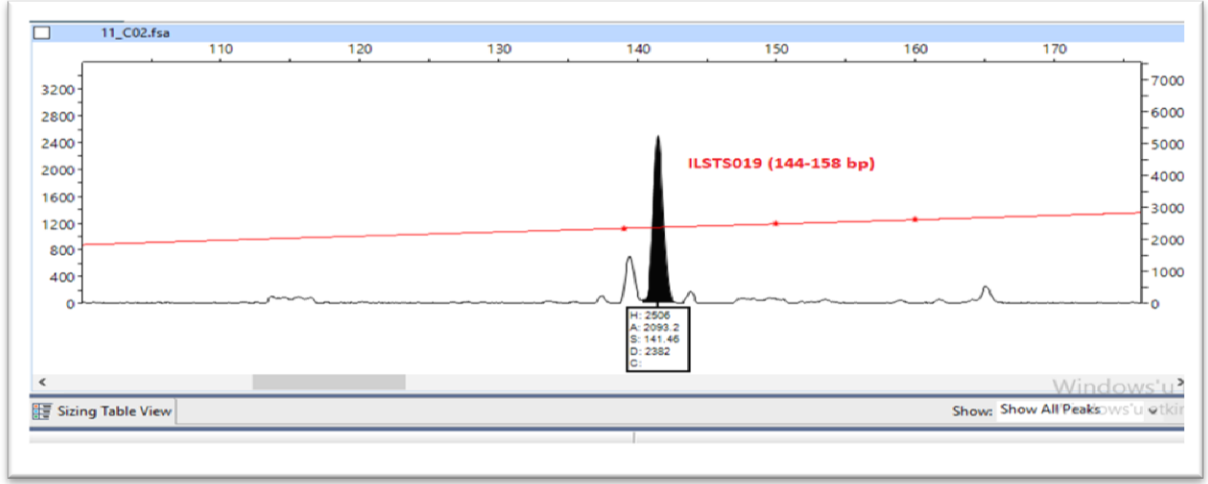
Şekil 4.11. CSRD0247 ve ILSTS87 Belirteçlerinin Fragment Analizi Sonrası Allel Uzunluk Görüntüsü



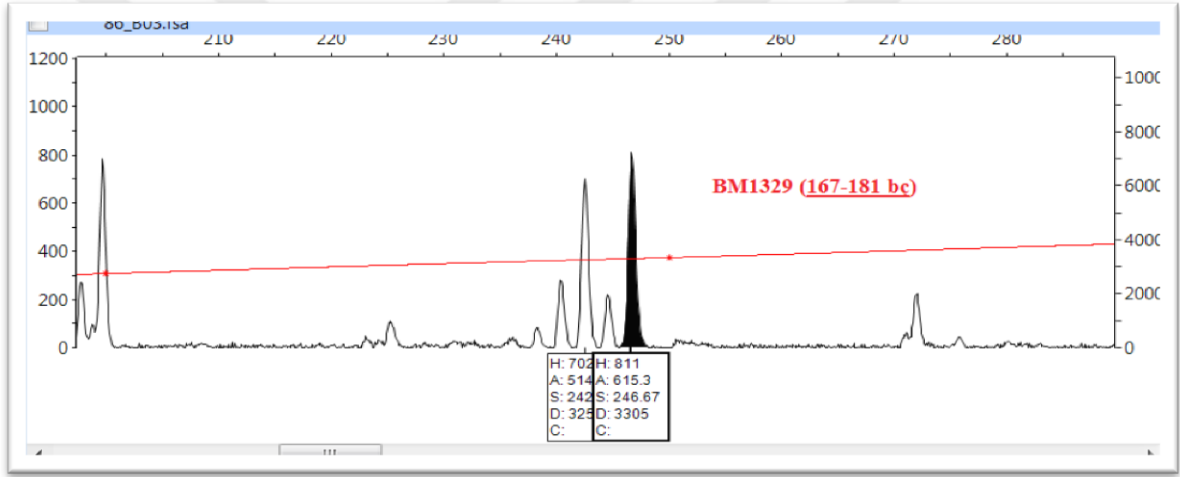
Şekil 4.12. SRCRSP05 Belirteciniin Fragment Analizi Sonrası Allel Uzunluk Görüntüsü



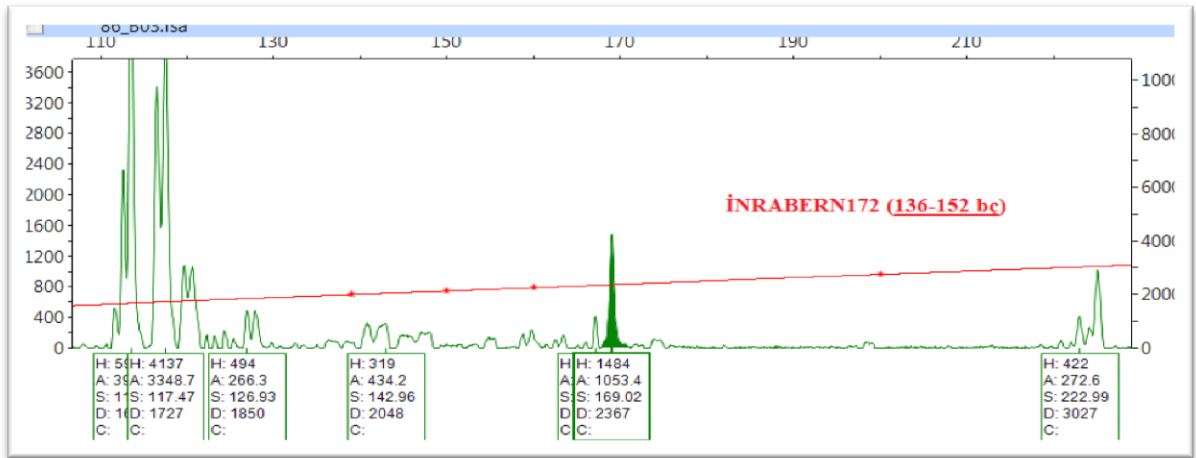
Şekil 4.13. INRA132 ve INRA23 Belirteçlerinin Fragment Analizi Sonrası Allel Uzunluk Görüntüsü



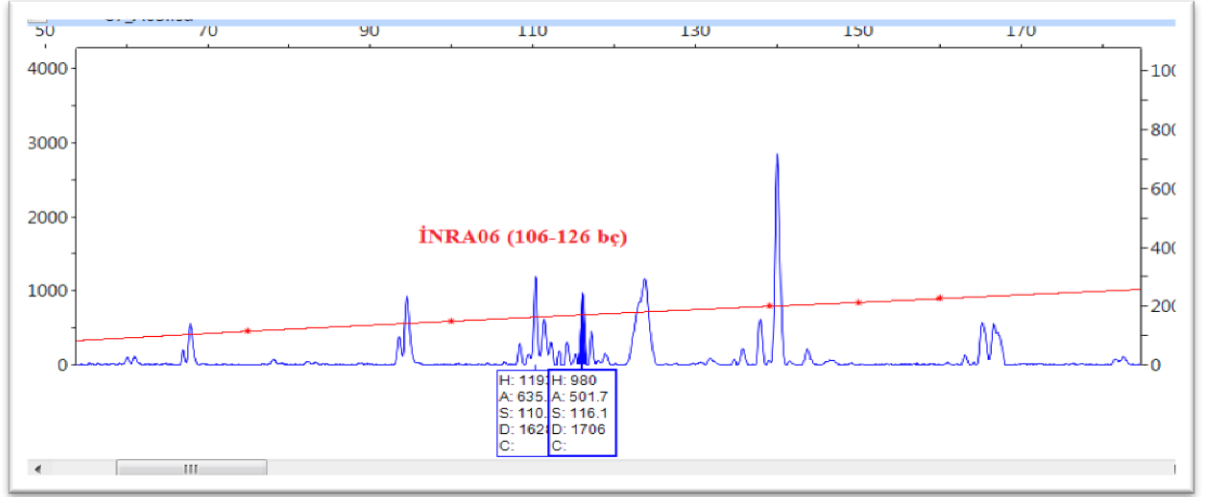
Şekil 4.14. ILSTS019 Belirtecini Fragment Analizi Sonrası Allel Uzunluk Görüntüsü



Şekil 4.15. BM1329 Belirtecini Fragment Analizi Sonrası Allel Uzunluk Görüntüsü



Şekil 4.16. INRABERN172 Belirtecini Fragment Analizi Sonrası Allel Uzunluk Görüntüsü



Şekil 4.17. INRA006 Belirtecinin Fragment Analizi Sonrası Allel Uzunluk Görüntüsü

4.4. İstatistik Analiz Sonuçları

4.4.1. Allelik Varyasyonlar ve Heterozigotluğun Ölçülmesi

Çalışmada 4 farklı yerli keçi popülasyonunda 184 birey ve 9 farklı mikrosatellit belirteci ile çalışılmış ve toplam 123 allel gözlemlenmiştir. Çalışmada en çok allel SRCRSP05 ve INRA23 mikrosatellit bölgelerinde (17 allel) ve en az allel ise ILSTS019 mikrosatellit bölgesinde (10 allel) gözlemlenmiştir. Her bir mikrosatellit lokusu için gözlenen allel sayılarının ırklara göre dağılımı, her bir ırk için gözlenen belirteç başına düşen ortalama allel sayıları, çalışılan ırklar açısından elde edilen ortalama allel sayıları ve belirteç başına toplam allel sayıları Çizelge 4.1 verilmiştir.

Çizelge 4.1. Allel sayılarının çalışılan ırklar ve mikrosatellit bölgeleri bazında dağılımı

Mikrosatellit Bölgesi	Ankara Keçisi	Honamlı Keçisi	Kıl Keçisi	Kilis Keçisi	TOPLAM	Ort./Lokus	Toplam allel sayısı
CSRD0247	10	10	9	8	37	9.25	12
ILSTS087	9	9	11	8	37	9.25	11
INRA006	14	12	12	11	49	12.25	15
SRCRSP05	12	12	13	9	46	11.50	17
INRA23	8	15	14	14	51	12.75	17
INRA132	12	12	14	9	47	11.75	16
INRABERN172	7	12	11	9	39	9.75	13
BM1329	9	9	10	7	35	8.75	12
ILSTS019	5	6	9	6	26	6.50	10
TOPLAM	86	97	103	81			123
Ort./ Irk	9.5	10.7	11.4	9			

Çalışmada gözlenen allel sayıları, ortalama allel sayıları, gözlenen ve beklenen heterozigotluk değerleri GENETIX 4.05 ve FSTAT paket programları kullanılarak hesaplanmıştır (Belkhir ve ark. 1996-2000, Goudet 2001). Populasyonlarda tespit edilen ortalama allel sayıları Ankara Keçisi ırkında 9.5 allel/lokus, Honamlı Keçisi ırkında 10.7 allel/lokus, Kıl Keçisi ırkında 11.4 allel/lokus ve Kilis Keçisi ırkında 9 allel/lokus olarak tespit edilmiştir. Bu çalışmanın sonuçlarına göre; Kıl Keçisi ırkında en yüksek ortalama allel sayısının olduğu görülmektedir.

İrkların genetik çeşitliliğinin bir ölçütü olan heterozigotluk hesaplamalarında çalışılan mikrosatellit bölgeleri ve ırklara göre gözlenen ve beklenen heterozigotluk değerleri aşağıdaki çizelgelerde gösterilmiştir.

Çizelge 4.2. Çalışmada gözlenen heterozigotluk (H_o) ve beklenen heterozigotluk (H_E) değerlerinin her bir lokus için popülasyonlara dağılımı, belirteçler ve ırklar bazında hesaplanan ortalama gözlenen heterozigotluk düzeyleri

		Ankara Keçisi	Honamlı Keçisi	Kıl Keçisi	Kilis Keçisi	Ort./Lokus
CSR0247	H_o	0.7209	0.7708	0.5161	0.7561	0.6909
	H_E	0.8309	0.7607	0.7969	0.8425	0.8077
ILSTS087	H_o	0.7200	0.6400	0.7442	0.6098	0.6785
	H_E	0.7788	0.700	0.8561	0.5522	0.7217
INRA006	H_o	0.6977	0.8800	0.8605	0.9512	0.8473
	H_E	0.8911	0.8889	0.8906	0.8777	0.8870
SRCRSP05	H_o	0.8776	0.8571	0.8810	0.8780	0.8734
	H_E	0.8841	0.8205	0.8405	0.8205	0.8414
INRA23	H_o	0.7600	0.8000	0.8372	0.8293	0.8066
	H_E	0.6937	0.8521	0.8785	0.8049	0.8073
INRA132	H_o	0.6200	0.7400	0.8605	0.8780	0.7746
	H_E	0.8305	0.9075	0.9026	0.7856	0.8565
INRABERN172	H_o	0.7143	0.7000	0.7619	0.8250	0.7503
	H_E	0.8022	0.8543	0.8026	0.8323	0.8228
BM1329	H_o	0.7391	0.7800	0.7561	0.7805	0.7639
	H_E	0.8237	0.8127	0.8118	0.7934	0.8104
ILSTS019	H_o	0.4898	0.9600	0.5116	0.4878	0.6123
	H_E	0.5401	0.6697	0.6640	0.5805	0.6135

Çizelge 4.3. Irklarda Saptanan Ortalama Gözlenen (H_O) ve Beklenen (H_E) Heterozigotluk Değerleri

IRKLAR	H_O	H_E
Ankara Keçisi	0.7043	0.7861
Honamlı Keçisi	0.7919	0.8073
Kıl Keçisi	0.7476	0.827
Kilis Keçisi	0.7773	0.7655
Ortalama	0.7552	0.7964

Populasyonlarda belirteçlere ait heterozigotluk düzeylerine bakıldığında gözlenen (H_O) ve beklenen heterozigotluk (H_E) düzeyleri sırası ile 0.4878 ile 0.9600 ve 0.5401 ile 0.9075 değerleri arasında değiştiği belirlenmiştir.

Irklar açısından en yüksek gözlenen ortalama heterozigotluk 0.7919 ile Honamlı Keçi ırkında tespit edilmiştir. En düşük gözlenen ortalama heterozigotluk değeri 0.7043 ile Ankara Keçi ırkında tespit edilmiştir. Çalışılan belirteçler bazında gözlenen ortalama heterozigotluk değerleri ele alındığında; SRCRSP05 belirteçinin 0.8734 ile en yüksek heterozigotluk, ILSTS019 belirteçinin 0.6123 ile en düşük heterozigotluk değerine sahip olduğu belirlenmiştir.

Irklar açısından beklenen heterozigotluk değerleri incelendiğinde en yüksek beklenen heterozigotluk değeri (H_E) 0.8270 ile Kıl Keçisi ırkında tespit edilmiştir. Kilis Keçi populasyonu 0.7655 ile en düşük beklenen heterozigotluk değerine sahiptir. Beklenen heterozigotluk değerleri lokuslar bazında incelendiğinde; 0.8870 ile en yüksek ortalamaya sahip olan INRA006 belirteçinin olduğu tespit edilmiştir. En düşük ortalama heterozigotluk değeri ise 0.6135 ile ILSTS019 belirteçinin olmuştur. Bu lokusun beklenen ve gözlenen ortalama heterozigotluk değerlerinin düşük gözlenmesi, en düşük toplam allel sayısına sahip olmasındandır.

Bu çalışmada toplam 22 özgün allel gözlemlenmiştir. Çalışılan populasyonlar arasında CSR0247, INRA006, INRA23, ILSTS019, INRABERN172 isimli mikrosatellit bölgelerine ait belirteçlerde 2 'şer özgün allelin gözlemlendiği; ILSTS087 isimli mikrosatellit bölgesinde 1 özgün allelin bulunduğu; BM1329 isimli mikrosatellit bölgesinde 3 özgün allelin bulunduğu; INRA132, SRCRSP05 isimli mikrosatellit bölgelerinde 4'er özgün allelin bulunduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.4).

Çalışmada en fazla özgün allel sayısı (12 allel) Kıl Keçisi ırkında olduğu belirlenmiştir. Bu ırkın gözlenen özgün allellerin frekanslarının ise 0.0116 ila 0.0357 arasında değişim gösterdiği belirlenmiş olup bu değerlerin oldukça düşük olduğu gözlemlenmiştir. Bu allellerin görülme sıklığı (frekansı) düşük (%5 'in altında) olduğu için ırk belirleyici özellikleri yoktur (Ağaoğlu 2010). Fakat çalışılan kıl keçisi örnek sayısı (43) az olduğundan daha fazla birey ile çalışılırsa bu frekanslarda değişim olabileceği düşünülmektedir. Çalışmada en yüksek sayıda özgün allelin görüldüğü mikrosatellit belirteçler INRA132 ve SRCRSP05 isimli belirteçler olarak bulunmuştur. Çalışmada kullanılan bütün lokuslarda özgün alleller belirlenmiştir.

Çizelge 4.4. Çalışmada gözlenen özgün allellerin belirteçler ile ırklar açısından dağılımı ve frekansları

Lokuslar	Allel Uzunluğu (bp)	Frekans	İrk
CSR0247	227	0.0366	Kilis Keçisi
	245	0.0208	Honamlı Keçisi
ILSTS087	153	0.0349	Kıl Keçisi
INRA006	100	0.0233	Ankara Keçisi
	128	0.0233	Kıl Keçisi
SRCRSP05	150	0.0102	Honamlı Keçisi
	152	0.0102	Honamlı Keçisi
	154	0.0119	Kıl Keçisi

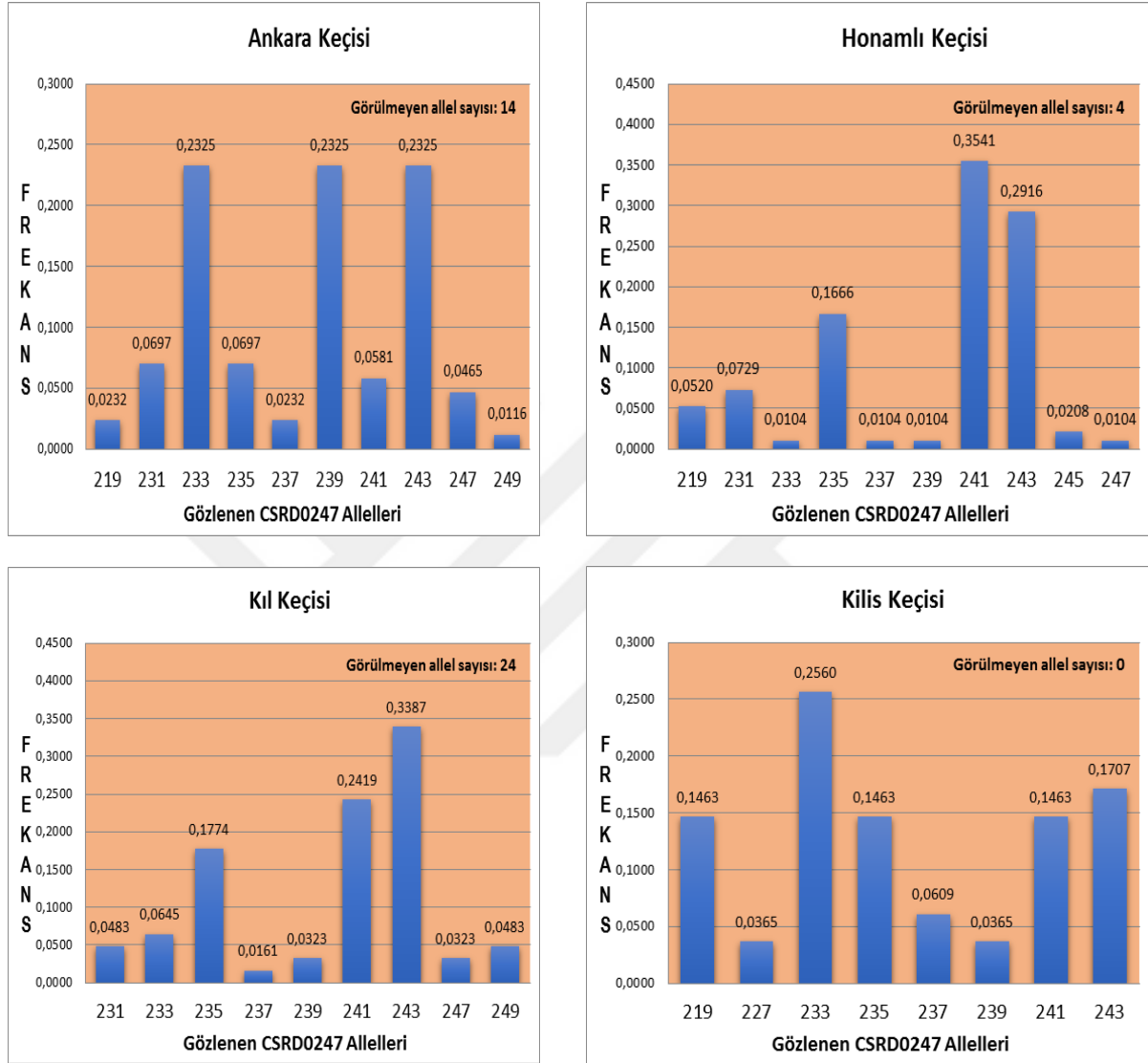
	182	0.0119	Kıl Keçisi
INRA 23	211	0.0116	Kıl Keçisi
	249	0.0122	Kilis Keçisi
INRA 132	133	0.0100	Ankara Keçisi
	165	0.0116	Kıl Keçisi
	167	0.0349	Kıl Keçisi
	169	0.0116	Kıl Keçisi
INRABERN172	180	0.0200	Honamlı Keçisi
	184	0.0357	Kıl Keçisi
BM1329	232	0.0326	Ankara Keçisi
	234	0.0122	Kıl Keçisi
	238	0.0100	Honamlı Keçisi
ILSTS019	152	0.0349	Kıl Keçisi
	158	0.0116	Kıl Keçisi

Çalışmada her bir belirteçte gözlenen allellerin sayı ve görülme sıklığının görsel olarak karşılaştırılabilmesi için her bir ırka ait histogramlar çizilmiş olup, aşağıda tek tek verilmiştir.

a) CSRD0247 Mikrosatellit Bölgesinin Irklarda Görülme Sıklığı ve Frekansları

Yerli keçi ırklarında CSRD0247 isimli mikrosatellit bölgesinin en sık görülen allelleri incelendiğinde; Ankara Keçisinde en sık görülen allellerin 233, 239 ve 243 bç uzunluğunda olduğu, Kilis Keçisi ırkında en sık görülen allelin 233 bç uzunluğunda olduğu, Honamlı Keçisi ırkında en sık görülen allelin 241 bç uzunluğunda olduğu ve Kıl Keçisi ırkında en sık görülen allelin 243 bç uzunluğunda olduğu belirlenmiştir. Bu bulgulara göre Kıl Keçisi ve Kilis Keçisinin en sık görülen allellerinin (243 bç ve 233 bç) Ankara Keçisi ırkında aynı

uzunlukta olduğu görülmüştür. Tüm ırklarda 243 bç uzunluğundaki allelin frekans değerlerine bakıldığında, güney doğudan batıya doğru gidildikçe frekansın yükseldiği, 233 bç uzunluğundaki allelin frekans değerinin ise düştüğü görülmektedir.

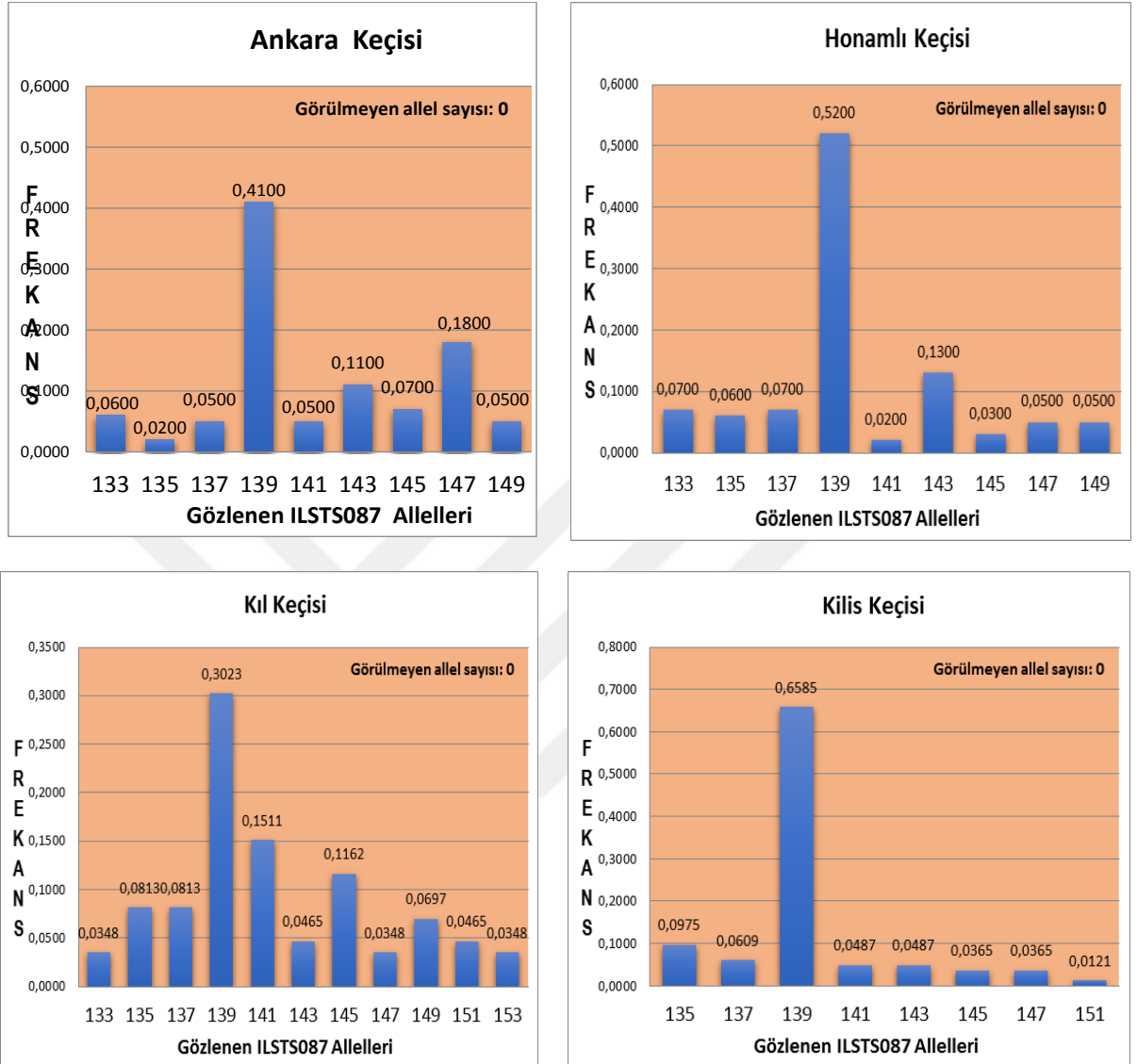


Şekil 4.18. CSRD0247 Mikrosatellit Bölgesinin Irklarda Görülme Sıklığı ve Frekansları

b) ILSTS087 Mikrosatellit Bölgesinin Irklarda Görülme Sıklığı ve Frekansları

ILSTS087 mikrosatellit bölgesinin yerli keçi ırklarında en sık görülen allelleri incelendiğinde; Ankara Keçisi, Kilis Keçisi, Honamlı Keçisi ve Kıl Keçisi ırklarında en sık görülen allelin 139 bç uzunluğunda olduğu belirlenmiştir. Bu sonuçlar incelendiğinde; Kilis Keçisi ırkının en yüksek frekansa sahip olduğu, Kıl Keçisi ırkının ise en düşük frekansa sahip olduğu görülmüştür. Bu mikrosatellit bölgesinde Türkiye'nin güneydoğusundan (Kilis Keçisi)

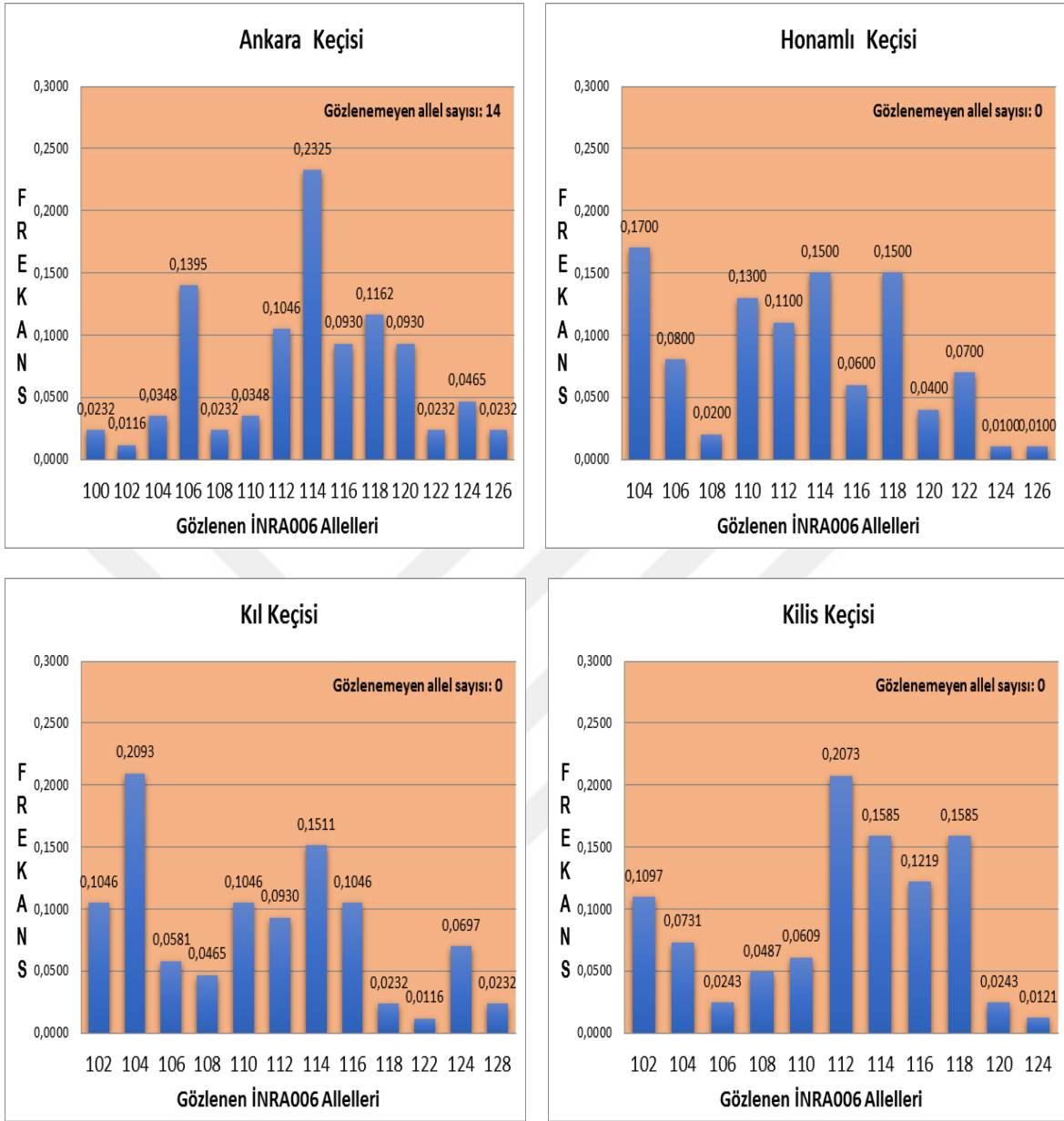
batısına (Kıl Keçisi) doğru gidildikçe 139 bç uzunluğunun frekanslarında bir azalma görüldüğü belirlenmiştir.



Şekil 4.19. ILSTS087 Mikrosatellit Bölgesinin Irklarda Görülme Sıklığı ve Frekansları

c) INRA006 Mikrosatellit Bölgesinin Irklarda Görülme Sıklığı ve Frekansları

INRA006 mikrosatellit bölgesi sonuçları incelendiğinde; Ankara Keçisi'nde en sık görülen allelin 114 bç uzunluğunda olduğu, Kilis Keçisi ırkında en sık görülen allelin 112 bç uzunluğundadır. Örneklemelerinin aynı bölgeden alınan, Honamlı Keçisi ve Kıl Keçisi ırklarında en sık görülen allelin 104 bç uzunluğunda olduğu görülmektedir.

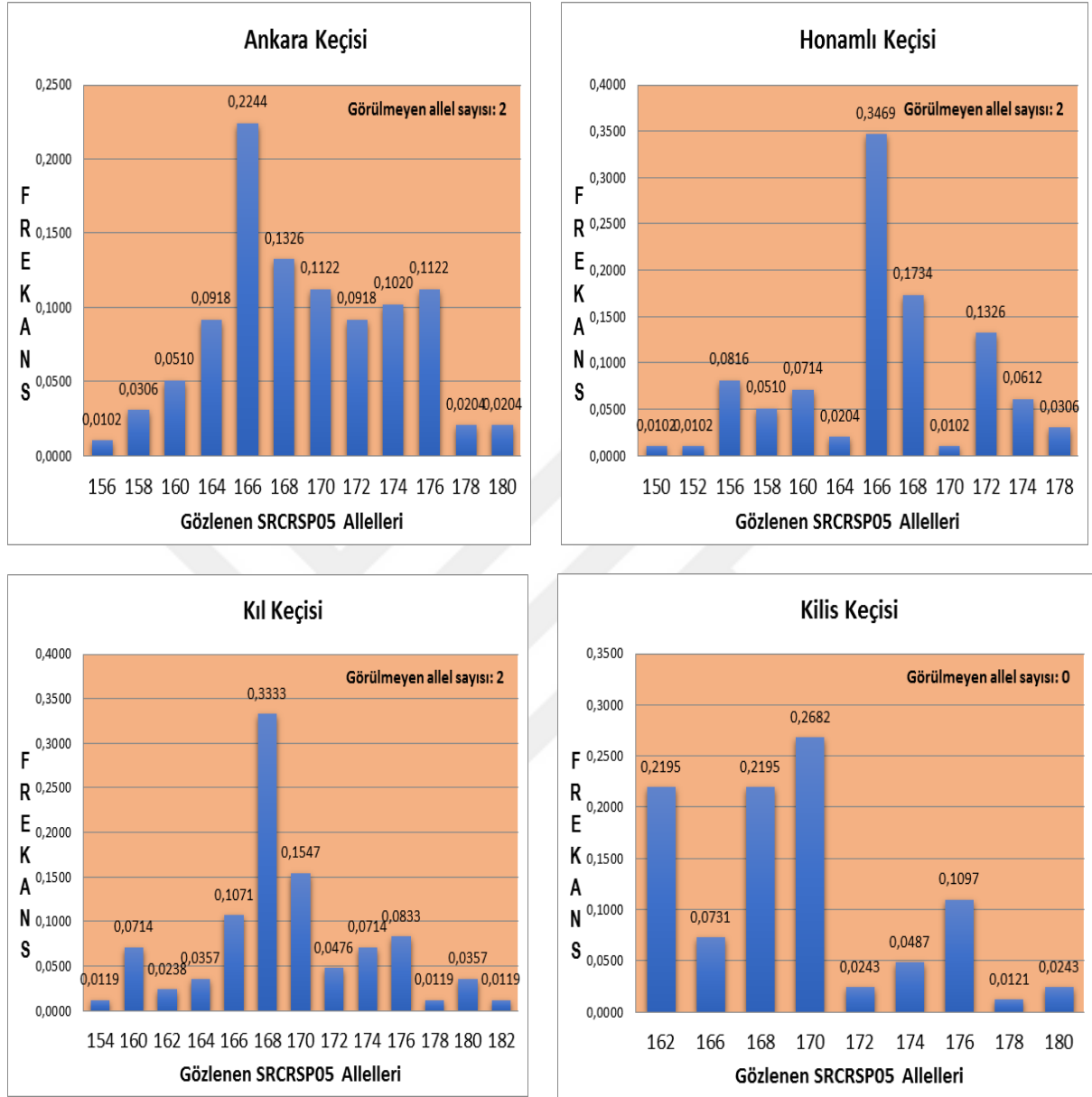


Şekil 4.20. INRA006 Mikrosatellit Bölgesinin Irklarda Görülme Sıklığı ve Frekansları

d) SRCRSP05 Mikrosatellit Bölgesinin Irklarda Görülme Sıklığı ve Frekansları

SRCRSP05 mikrosatellit bölgesi sonuçları incelendiğinde; yakın bölgelerden örneklemleri alınan Ankara Keçisi ve Honamlı Keçisi ırklarında en sık görülen allelin 166 bp uzunluğunda olduğu, Kilis Keçisi ırkında en sık görülen allelin 170 bp uzunluğunda olduğu, Kıl Keçisi ırkında en sık görülen allelin 168 bp uzunluğunda olduğu belirlenmiştir. Ankara Keçisi ve Honamlı Keçisinin 166 bp uzunluğundaki allelindeki frekans değerlerine

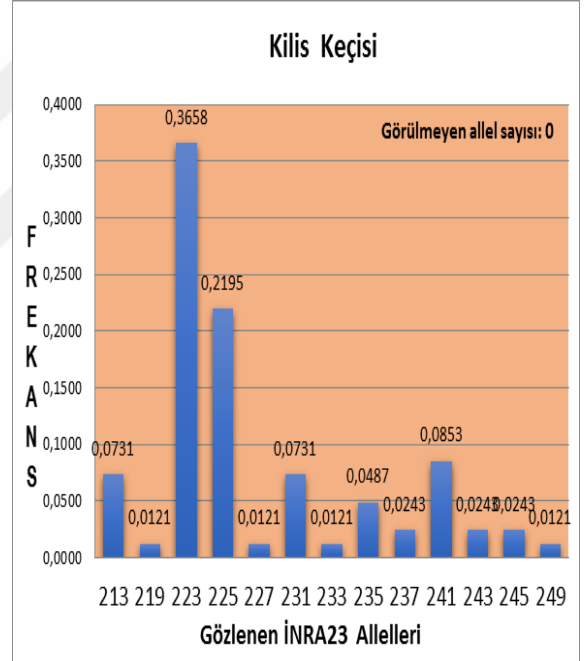
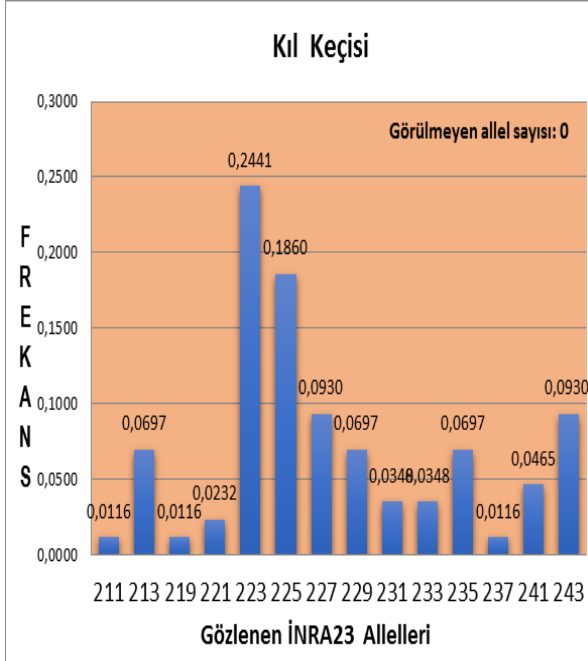
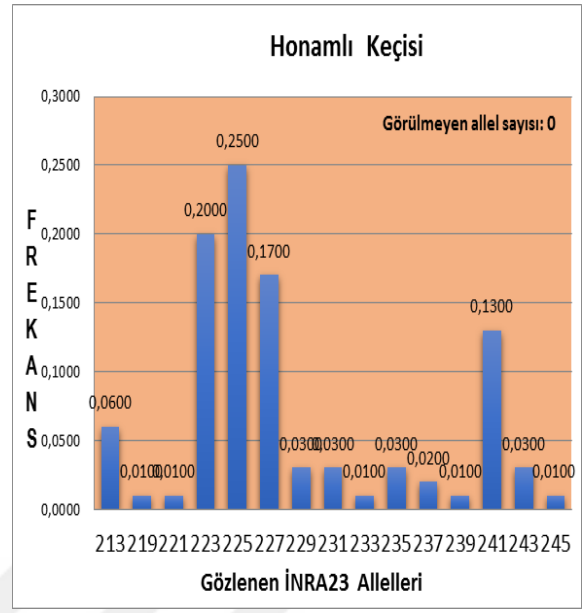
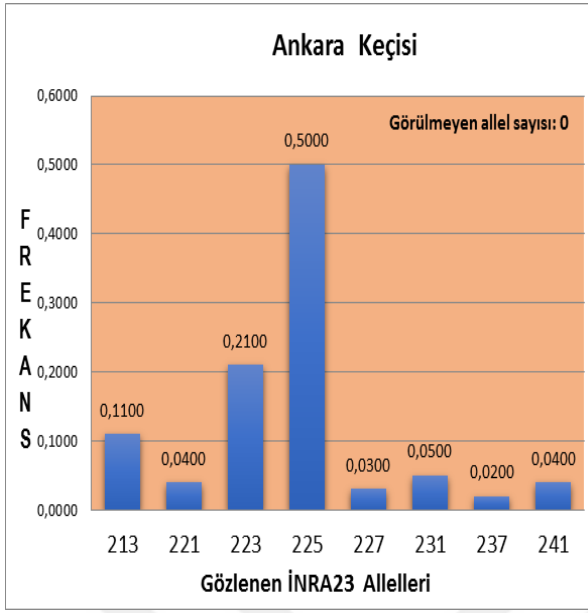
bakıldığında Honamlı Keçi ırkının daha yüksek, Ankara Keçi ırkının daha düşük frekansa sahip olduğu görülmüştür.



Şekil 4.21. SRCRSP05 Mikrosatellit Bölgesinin Irklarda Görülme Sıklığı ve Frekansları

e) INRA23 Mikrosatellit Bölgesinin Irklarda Görülme Sıklığı ve Frekansları

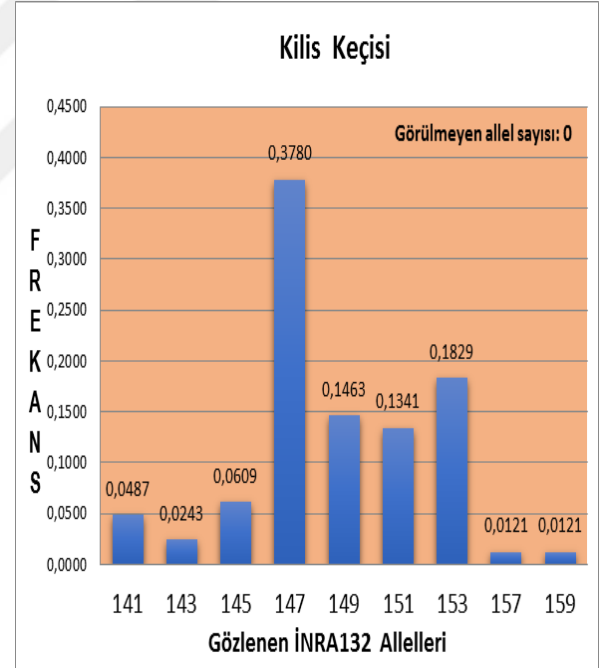
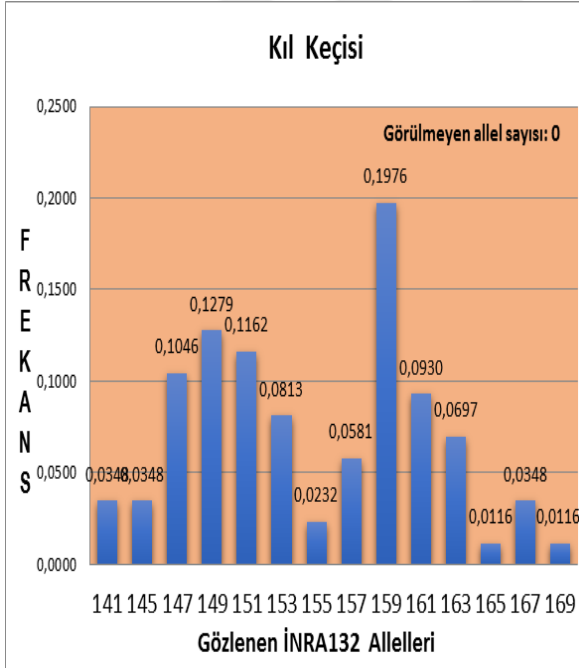
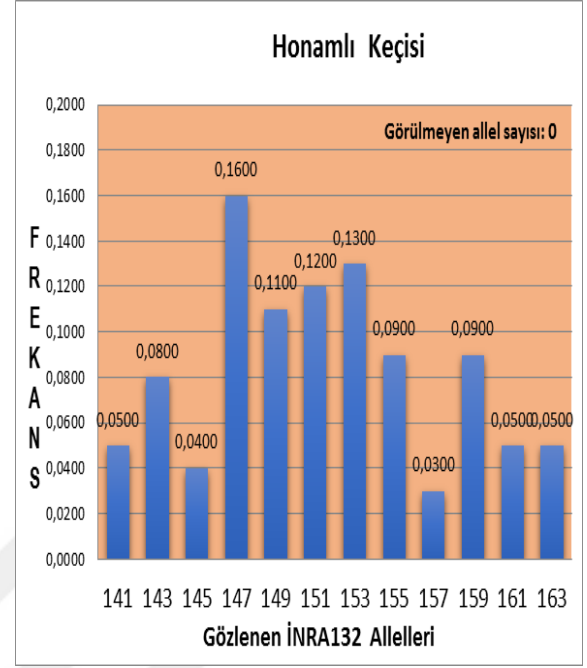
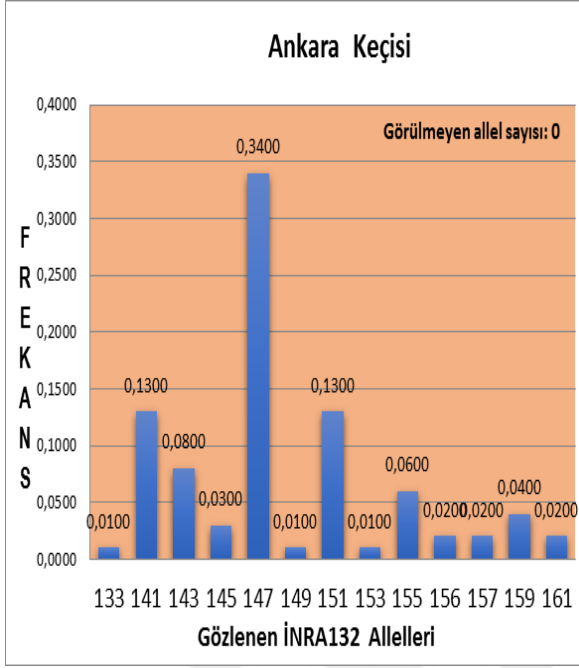
INRA23 mikrosatellit bölgesi sonuçları incelendiğinde; Ankara Keçisi ve Honamlı Keçisi ırklarında en sık görülen allelin 225 bp uzunluğunda olduğu, Kilis Keçisi ve Kıl Keçisi ırklarında en sık görülen allelin 223 bp uzunluğunda olduğu görülmüştür. Frekans değerlerine bakıldığında, genel olarak doğudan batıya doğru frekans değerlerinin düştüğü görülmüştür.



Şekil 4.22. INRA23 Mikrosatellit Bölgesinin Irklarda Görülme Sıklığı ve Frekansları

f) INRA132 Mikrosatellit Bölgesinin Irklarda Görülme Sıklığı ve Frekansları

INRA132 mikrosatellit bölgesi sonuçları incelendiğinde; Ankara Keçisi, Honamlı Keçisi ve Kilis Keçisi ırklarında en sık görülen allelin 147 bç uzunluğunda olduğu, Kıl Keçisi ırkında en sık görülen allelin 159 bç uzunluğunda olduğu belirlenmiştir. Frekans değerlerine bakıldığında, genel olarak doğudan batıya doğru frekans değerlerinin düştüğü görülmüştür.

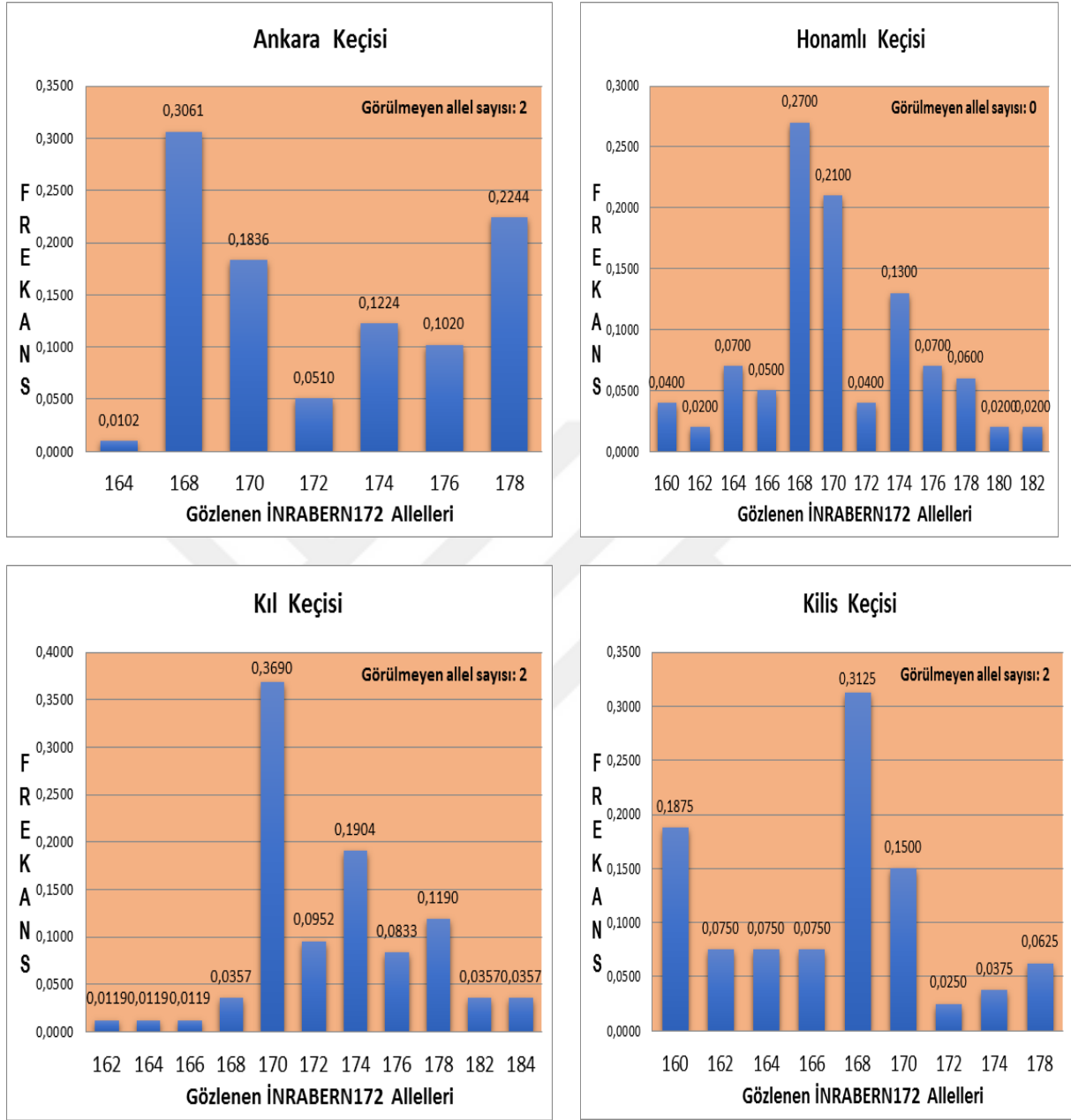


Şekil 4.23. INRA132 Mikrosatellit Bölgesinin Irklarda Görülme Sıklığı ve Frekansları

g) INRABERN172 Mikrosatellit Bölgesinin Irklarda Görülme Sıklığı ve Frekansları

INRABERN172 mikrosatellit bölgesinin yerli keçi ırklarında en sık görülen allelleri incelendiğinde; Ankara Keçisi, Honamlı Keçisi ve Kilis Keçisi ırklarında en sık görülen allelin 168 bç uzunluğunda olduğu, Kıl Keçisi ırkında en sık görülen allelin 170 bç

uzunluğunda olduğu görülmüştür. Frekans değerlerine bakıldığında, genel olarak doğudan batıya doğru frekans değerlerinin düştüğü görülmüştür.

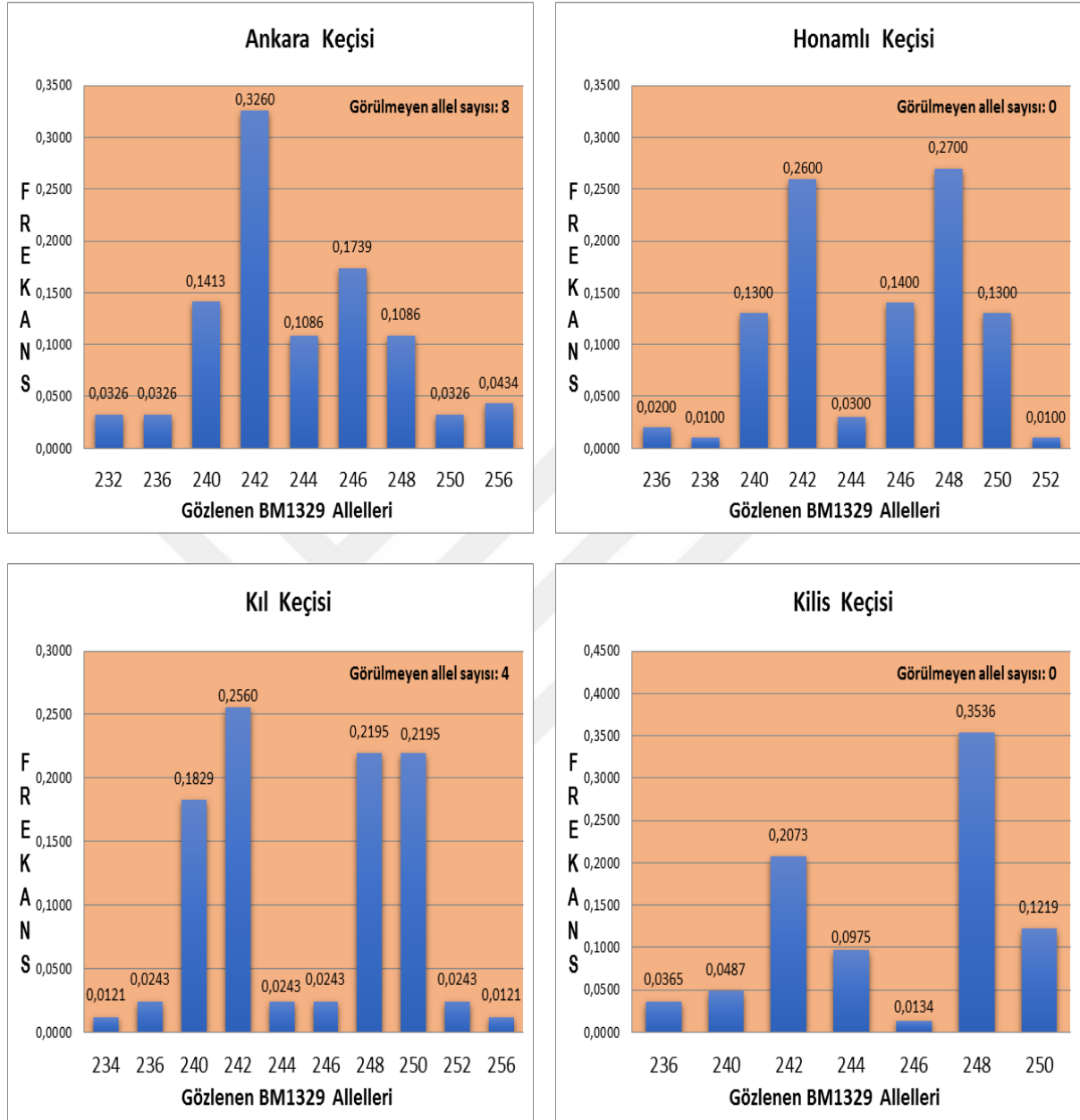


Şekil 4.24. INRABERN172 Mikrosatellit Bölgesinin Irklarda Görülme Sıklığı ve Frekansları

h) BM1329 Mikrosatellit Bölgesinin Irklarda Görülme Sıklığı ve Frekansları

BM1329 mikrosatellit bölgesinin yerli keçi ırklarında en sık görülen allelleri incelendiğinde; Ankara Keçisi ve Kıl Keçisi ırklarında en sık görülen allelin 242 bç uzunluğunda olduğu, Honamlı Keçisi ve Kilis Keçisi ırklarında en sık görülen allelin 248 bç

uzunluğunda olduğu belirlenmiştir. Frekans değerlerine bakıldığında, genel olarak doğudan batıya doğru frekans değerlerinin düştüğü görülmüştür.

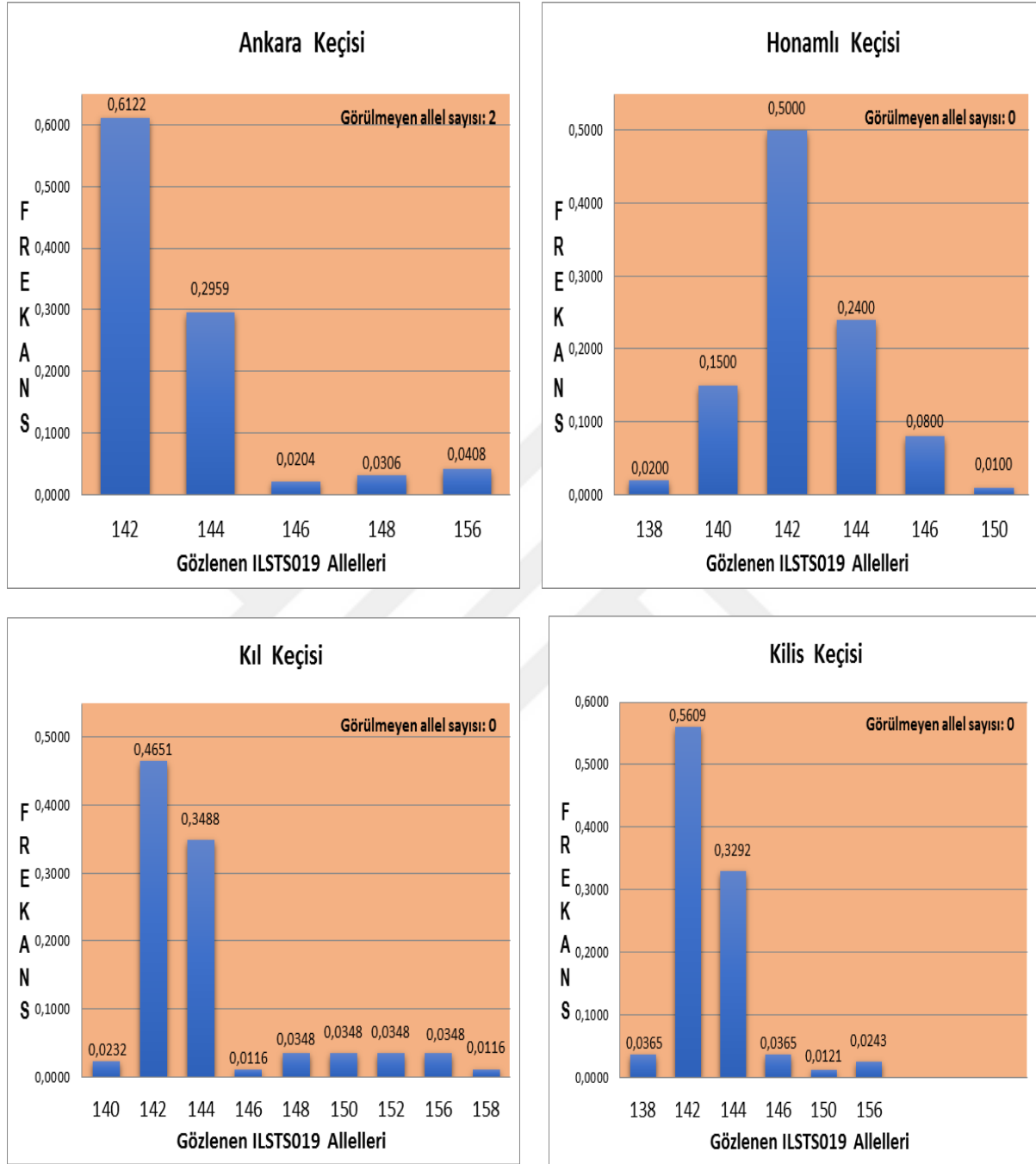


Şekil 4.25. BM1329 Mikrosatellit Bölgesinin Irklarda Görülme Sıklığı ve Frekansları

i) ILSTS019 Mikrosatellit Bölgesinin Irklarda Görülme Sıklığı ve Frekansları

ILSTS019 mikrosatellit bölgesi sonuçları incelendiğinde; Ankara Keçisi, Kilis Keçisi, Honamlı Keçisi ve Kıl Keçisi ırklarında en sık görülen allelin 142 bç uzunluğunda olduğu belirlenmiştir. Bu sonuçlar incelendiğinde; Ankara Keçisi ırkının en yüksek frekansa sahip olduğu, Kıl Keçisi ırkının ise en düşük frekansa sahip olduğu görülmektedir. Frekans

değerlerine bakıldığında, Ankara Keçi ırkının dışındaki ırklarda genel olarak doğudan batıya doğru frekans değerlerinin düştüğü görülmüştür.



Şekil 4.26. ILSTS019 Mikrosatellit Bölgesinin ırklarda görülme sıklığı ve frekansları

Mikrosatellit bölgelerinin ırklarda görülme sıklığı ve frekans değerlerinin sonuçları incelendiğinde; genel olarak doğudan batıya doğru frekans değerlerinin düştüğü görülmüştür.

4.4.2. F İstatistikleri

Çalışmada kullanılan 9 belirteç birlikte değerlendirildiğinde; ırkların Hardy-Weinberg dengesinde olup olmadığını F_{IS} değerleri ile belirlenmektedir (Wright 1965). F_{IS} değeri popülasyonlarda akrabalı yetiştiricilikten ya da yakın akrabalı yetiştiricilikten (inbreeding) kaynaklanan Hardy-Weinberg frekansından sapmaları tespit eder. Çalışılan popülasyonların F_{IS} değerlerine Çizelge 4.5.'te verilmiştir.

Çizelge 4.5. Çalışılan Popülasyonların F_{IS} Değerleri ve istatistiksel önemlilik

Popülasyon	F_{IS} Değerleri	İstatistiksel Önemlilik
Ankara Keçisi	0,105***	ÖNEMLİ
Honamlı Keçisi	0,019	ÖNEMSİZ
Kıl Keçisi	0,097***	ÖNEMLİ
Kilis Keçisi	-0,016	ÖNEMSİZ

***($P<0.001$); **($P<0.01$); * ($P<0.05$)

Mikrosatellit bölgelerinin 4 farklı keçi ırkında çalışılması sonucunda elde edilen verilerden genel ortalama F_{IS} değeri 0.0512 olup hesaplanan F_{IS} değerlerinin -0,016 ile 0,105 arasında değiştiği saptanmıştır. F_{IS} değerlerinin önemlilik test sonuçlarına göre Ankara Keçisi ve Kıl Keçisinde önemli olduğu görülmektedir. Ankara ve Kıl Keçisinde homozigot fazlalığından söz edilebilir. Kilis Keçisinde ise F_{IS} değeri negatif olarak belirlenmiş olup yapılan istatistik analiz sonrasında önemsiz ($P<0.001$, $P<0.01$ ve $P<0.05$ 'e göre) olduğu belirlenmiştir. Bu değerlerin negatif olmasının çalışılan örneklerde heterozigot genotiplerin fazlalığından kaynaklanmış olabileceği fikrini akla getirmektedir. Honamlı keçisi kapsamında çalışılan bireylerin F_{IS} değeri (0.019) incelendiğinde, sıfıra oldukça yakın bir değer olduğu ve istatistiksel olarak önemsiz ($P<0.001$, $P<0.01$ ve $P<0.05$ 'e göre) olduğu belirlenmiştir.

Tüm çalışılan populasyonların F_{IS} değerlerini incelediğimizde, Ankara ve Kıl keçisine ait populasyonların istatistiki olarak önemli olan bir homozigot fazlalığı olduğu, Kilis keçisine ait populasyonda önemsiz bir heterozigot fazlalığı olduğu ve Honamlı keçi ırkında ise Hardy Weinberg dengesinin sözkonusu olduğu görülmektedir.

Populasyonlarda görülen olası homozigot fazlalığının sebepleri; genetik drift nedeniyle populasyonu oluşturan alt populasyonların varlığı, null allellerin varlığı, yetiştirici tarafından yapılan uygulamalar (kontROLSÜZ çiftleştirme, melezleme ve seleksiyon uygulamaları gibi), örnekleme için coğrafi olarak yakın bölgelerden yapılması ihtimali, akrabalı yetiştirme (inbreeding), örnekleme hatası gibi uygulamalar olabilir (Gour ve ark. 2006). Çalışılan populasyonlarda görülen ve istatistiki olarak önemli olduğu gözlemlenen homozigot fazlalığının null allel olasılığından, örnekleme yapıldığı populasyon sayısının yetersizliğinden, yetiştirici tarafından yapılan uygulamalardan veya örnekleme yapıldığı sürülerin ıslah sürüsü olması aynı zamanda bu sürülerde azda olsa uygulanmaya çalışılan seleksiyondan kaynaklanmış olabileceği fikrini akla getirmektedir.

Çalışılan populasyonlar arası genetik farklılıkların istatistiki olarak önemli olup olmadığını görmek için F_{ST} değerleri hesaplanmış ve F_{IS} değerleri gibi bunlarında önemlilik testleri 1000 permütasyon yapılarak test edilmiştir. Populasyonların ikili karşılaştırılmalarıyla hesaplanan F_{ST} değerleri ve önemlilik düzeyleri aşağıdaki çizelgede verilmiştir (Çizelge 4.6).

Çizelge 4.6. Populasyonların F_{ST} değerleri ve önemlilik düzeyleri

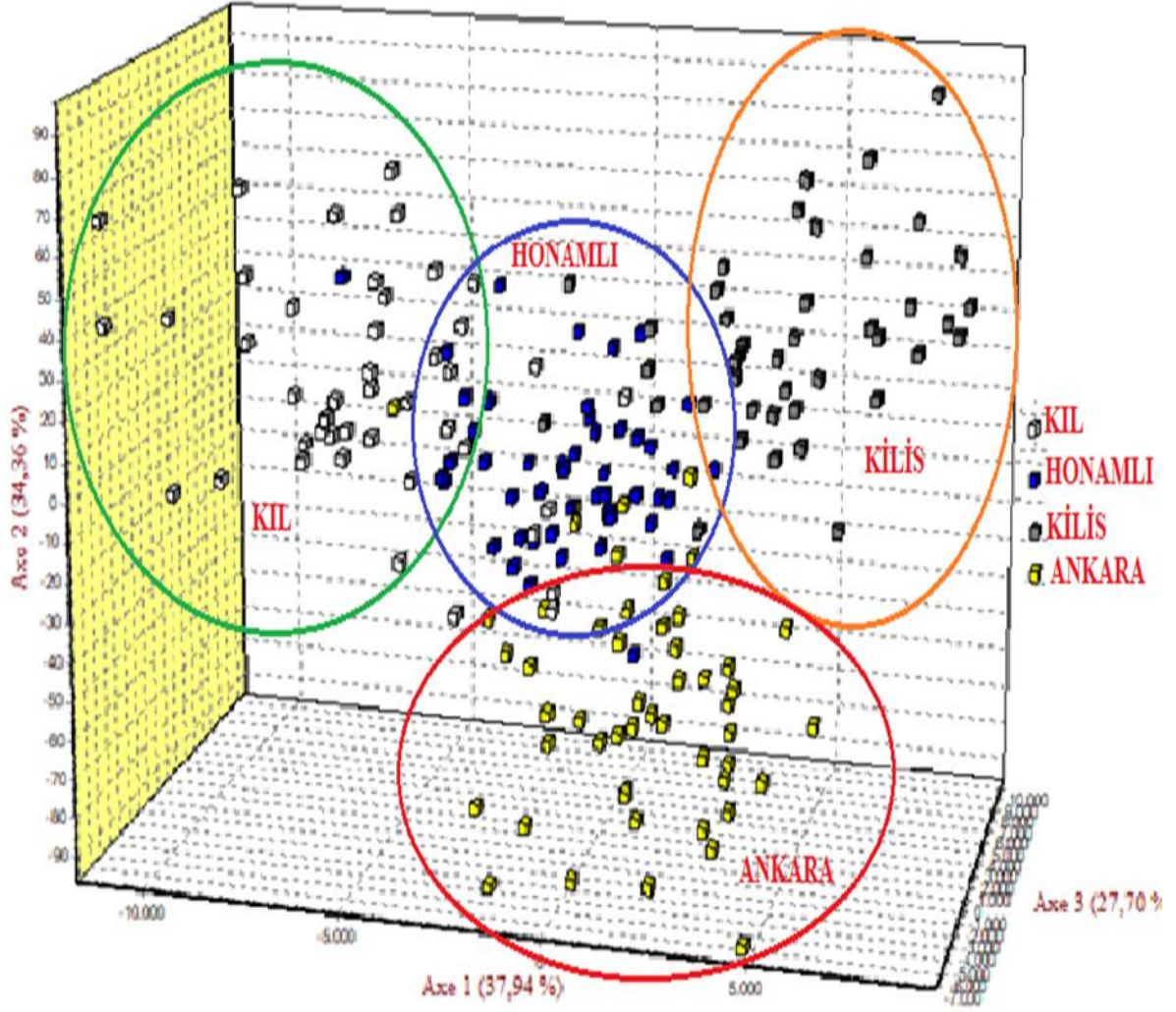
	Ankara Keçisi	Honamlı Keçisi	Kıl Keçisi	Kilis Keçisi
Ankara Keçisi	-	0.0318 ^{***}	0.0416 ^{***}	0.0386 ^{***}
Honamlı Keçisi		-	0.0223 ^{***}	0.0371 ^{***}
Kıl Keçisi			-	0.0456 ^{***}
Kilis Keçisi				-

***($P < 0.001$); **($P < 0.01$); * ($P < 0.05$)

Hesaplanan F_{ST} değerleri ve bunların önemlilik testi sonuçları incelendiğinde; çalışmada kullanılan tüm ırkların ikili karşılaştırmaları sonucu elde edilen F_{ST} değerlerinin (farklılıkların) $P < 0.001$ 'e göre önemli olduğu bulunmuştur. Türkiye yerli keçi ırkları arasındaki F_{ST} değerleri farklılıkları incelendiğinde; çalışmada kullanılan 4 yerli keçi ırkında da (Ankara Keçisi, Honamlı Keçisi, Kıl Keçisi ve Kilis Keçisi) değerlerin 0.0223 - 0.0456 arasında olduğundan çok az bir genetik farklılaşma söz konusu olduğu belirlenmiştir. Örneklemenin yapıldığı populusyon sayısının yetersizliğinden, yetiştirici tarafından yapılan uygulamalardan veya örneklemenin yapıldığı sürülerin ıslah sürüsü olması aynı zamanda bu sürülerde azda olsa uygulanmaya çalışılan seleksiyondan kaynaklanmış olabileceği fikrini akla getirmektedir.

4.4.3. Faktöriyel Birleştirici Analiz Sonuçları (Factorial Correspondence Analysis-FCA)

Faktöriyel birleştirici analizi her bir örnek arasındaki akrabalığı araştırmak için yapılan bir analiz olup çoklu boyutta örneklerin birbirine yakınlığının görülebilmesi için yapılmaktadır. Örneklerin genetik varyasyonunun belirlenmesi, verilerin birbirleri ile ilişkilerinin çeşitli bağımsız ve bileşik değişken eksenleri (faktörler) açısından üç boyutlu düzlemsel ortamda görselleştirmek amacı ile çizilen faktöriyel birleştirici analizi grafikleri 3 farklı aşamada incelenmiştir. Faktöriyel birleştirici analiz grafiğinde, populusyonların örneklerini tanımlayan renkler sırası ile; Sarı: Ankara Keçisi; Gri: Kilis Keçisi; Mavi: Honamlı Keçisi; Beyaz: Kıl Keisidir.



Şekil 4.27. Çalışılan tüm yerli ırklara ait örneklerin arasındaki ilişkiyi gösteren faktöriyel birleştirici analiz grafiği

Yerli ırkların birlikte değerlendirildiği bu analiz sonucunda elde edilen grafik incelendiğinde; Honamlı keçi popülasyonuna ait bireylerin büyük bir çoğunluğunun diğer yerli ırkların bireyleri ile karışmış ve ortada yer aldığı görülmektedir. Ankara, Kıl ve Kilis yerli keçisi örneklerinin büyük bir çoğunluğunun ise, farklı eksenlerde gruplandığı grafikte görülüp, ırklar birbirlerinden Honamlı bireylerine oranla daha net olarak birbirlerinden ayrılmış oldukları dikkati çekmektedir. Honamlı ırkına ait bireylerde görülen bu durumun Anadolu'ya göçer sırasında yapılan melezlemelerden dolayı diğer keçi popülasyonları ile karışımından kaynaklanmış olabileceği fikrini akla getirmektedir.

4.4.4. Irklar Arası Genetik Uzaklıklar

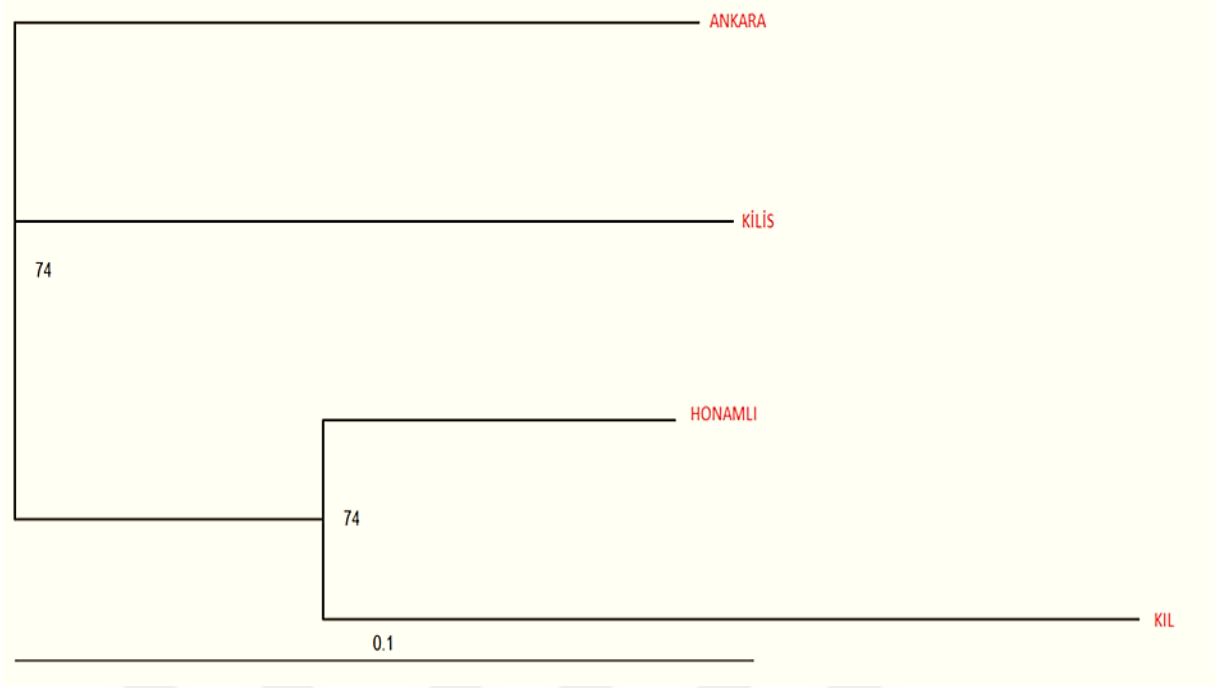
Bu çalışmada 9 farklı mikrosatellit bölgesinin Türkiye yerli keçi ırklarında çalışılması sonucunda elde edilen allelik verilerden, ırkların birbirine olan genetik uzaklık matrisi Nei Standart Genetik Uzaklık Metodu (D_S) (Nei 1972)'na göre GENETIX programında hesaplanmıştır (Belkhir 1996-2000).

Nei'nin standart genetik uzaklık metoduna göre hesaplanan genetik uzaklıklar incelendiğinde; çalışılan ırklar içerisinde en yüksek genetik uzaklık değerinin Kilis Keçisi ile Kıl Keçisi ve Ankara Keçisi ile Kıl Keçisi ırkları arasında olduğu (0.247) belirlenmiştir. Irklar arasında en düşük genetik uzaklık değerinin ise çalışılan ırklar içerisinde coğrafi olarak birbirine yakın olan yerli keçi ırklarından Honamlı Keçisi ve Kıl Keçisi (0.158) arasında olduğu görülmektedir (Çizelge 4.7).

Çizelge 4.7. Yerli keçi ırklarının birbirlerine olan D_S genetik uzaklıkları

	Ankara	Honamlı	Kıl	Kilis
Ankara	-	0.179 ^{***}	0.247 ^{***}	0.190 ^{***}
Honamlı		-	0.158 ^{***}	0.189 ^{***}
Kıl			-	0.247 ^{***}
Kilis				-

Bu yakınlıktan sonra gelen en küçük genetik uzaklık değerinin Ankara Keçisi ve Honamlı Keçisi ırkları (0.179) arasında olduğu gözlenmiştir. Bu hesaplanan D_S genetik uzaklık değerleri kullanılarak çizilen komşu birleştirme ağacı (NJ-Neighbor Joining Tree) Populations 1.2.32 ve TreeView programı ile çizdirilmiş ve Şekil 4.28 'da verilmiştir (Goldstein ve Pollock 1997, Nei ve ark. 1983).



Şekil 4.28. Yerli keçi ırkları için D_S genetik uzaklığı kullanılarak komşu birleştirme (NJ) metodu ile çizilen filogenetik ağaç

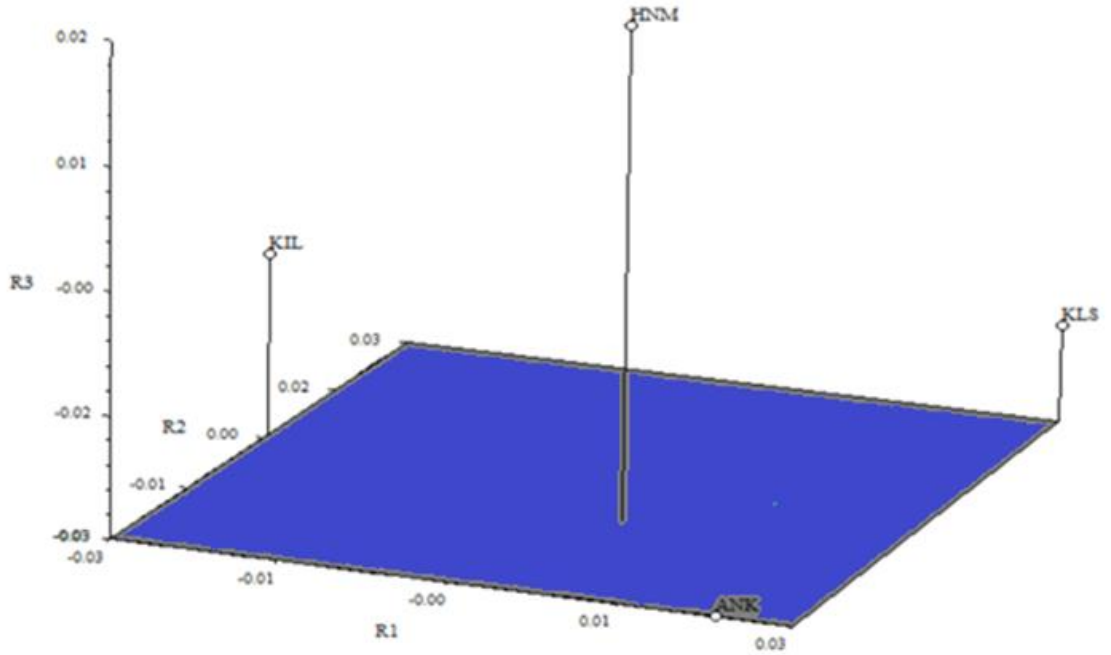
Nei ve ark.'nın (1983) (D_S) genetik uzaklık metodunun kullanılması ile çizilen ağaç değerlendirildiğinde; Ankara Keçisi ve Kilis Keçisi ırklarının, Honamlı ve Kıl Keçisi ırklarından ayrı bir küme oluşturduğu görülmüştür. Yerli keçi ırkları arasındaki genetik uzaklıklar incelendiğinde; Honamlı Keçisi ırkının Kıl Keçisi ırkı ile birbirine daha yakın olduğu (0.158) belirlenmiştir.

Çizilen ağacın güvenilirliğini belirlemek için yapılan “bootstrap” testi sonucunda aynı gruplanmanın verildiği değerler ağacın üzerinde belirtilmiştir. Diğer bir ifade ile ağacın çizim işlemi 1000 kez tekrar edildiğinde yüzde kaçının aynı gruplanmayı verdiği ağacın üzerindeki dallanma noktalarında belirtilmiştir. Mevcut mikrosatellit verilerinden elde edilen genetik uzaklığına göre çizilen ağaçta; Honamlı ve Kıl Keçisi ırklarına (0.158) ait örneklerde %74 sıklıkla aynı grup dallanmanın mevcut olduğu görülmüştür. Ancak Kıl Keçisi uzaklaşmış olarak görülmektedir. Honamlı ve Kıl Keçisi ırklarının yine % 74 sıklıkla Kilis Keçisi ırkı arasında dallanmanın mevcut olduğu görülmüştür.

Nei'nin genetik uzaklık hesabına göre; Honamlı ve Kıl Keçileri en yakın ırklar olarak görülmekte, bu ırklara ilişkin örnekleme yakın coğrafi bölgelerden yapılmış olmasının yanısıra, Honamlı ırkının Anadolu'ya göçü sırasında karışımın daha çok kıl keçisi ile olmuş olması fikrini akla getirmektedir.

4.4.5. Temel Bileşenler Analizi (Principal Component Analysis-PCA)

Populasyonların birbirlerinden eksenler üzerinde ayrılması temel bileşenler analizi ile incelenmiştir. Temel bileşenler analizi 9 lokusun 123 allelinin frekansı kullanılarak yapılmıştır. PCA analizi temel 3 bileşene sahiptir. İlk eksen, varyasyonun % 41'i hakkında katkıda bulunmuştur. İkinci ve üçüncü eksenler sırasıyla varyasyonun % 33'üne ve %26'sına katkıda bulunmuştur.



Şekil 4.29. 4 yerli keçi ırkının 9 mikrosatellit lokusunun allel frekanslarına göre gerçekleştirilen 3 boyutlu Temel Bileşenler Analizi (PCA) sonuç grafiği

Honamlı keçi popülasyonuna ait bireylerin diğler yerli ırkların bireyleri ile karışmış ve ortada yer aldığı görülmektedir. Ankara ve Kilis yerli keçi ırklarının Honamlı Keçi popülasyonuna karışmış olarak aynı ekseninde hareket ettiği, Kıl keçisinin farklı ekseninde sadece Honamlı keçi popülasyonuna karışmış olarak görülmektedir. Honamlı ırkına ait bireylerde görülen bu durumun Anadolu'ya göçler sırasında yapılan melezlemelerden dolayı diğler keçi popülasyonları ile karışımından kaynaklanmış olabileceği fikrini güçlendirmektedir.

Bu sonuçlar; temel bileşenler analizi ve faktöriyel birleştirici analizi sonuçları ile benzerlik göstermektedir.



5. TARTIŞMA

Bu çalışmada özellikle son 10-15 yıldır uygulanmaya başlanan DNA polimorfizm tekniklerinden biri olan mikrosatellit belirteç yöntemi kullanılmış olup, bu teknik ile Türkiyede farklı bölgelerde yetiştiriciliği yapılan 4 yerli keçi ırkında genetik benzerlik ve farklılıkların moleküler genetik teknikler ile incelenmesi amaçlanmıştır. Bu kapsamda çalışmada 9 mikrosatellit bölgesi kullanılmış ve bu belirteçler açısından popülasyonlar arası ve popülasyonlar içi genetik çeşitlilikleri incelenmeye çalışılmıştır. Elde edilen verilerin istatistiki olarak değerlendirilmesi sonucu gözlemlenen sonuçların; diğer araştırmacıların sonuçları ile kolaylıkla karşılaştırılabilmesi amacıyla Çizelge 5.1’de özet çıkarımlar yapılmıştır.

Çizelge 5.1. Kaynak araştırması özet çıkarımlar

KITA	ÜLKE	YIL	YAZAR	IRK	LOKUS	ALLEL	H _E	H _O	F _{IS}	F _{ST}
Anadolu Orta Doğu	Türkiye	2018	Bu çalışma	4	9	13.66	0.7964	0.7552	0.051	
	Türkiye	2015	Yıldırım	8	20	7.218	0.6440	0.5780		0.095
	Türkiye	2014	Bulut ve ark.	9	11	7,82	0,724	0,698		
	Türkiye	2010	Ağaoğlu	5	20	15.65	0.8139	0.7338	0.036	0.033
Ort.						11.087	0.7445	0.6912		
Asya	Suriye	2016	Hassen ve ark.	3	12	13.97	0.80	0.52	0.32	0.06
	Hindistan	2015	Yadav ve ark.	1	15	2,38	0.544	0.5485		
	Ürdün	2015	Al-Atiyar ve ark.	4	6	9,83	0.724	0.685	0.048	
	Malezya	2014	Marina ve ark.	4	30	5,69	0.72	0.41	0.43	0.06
	Çin	2017	Wang ve ark.	6	15	8,06	0.7545	0.7013	0.012	0.075
	İran	2012	Mahmoudi ve ark.	1	13	7.538	0.798	0.845	0.059	
	Endonezya	2012	Sulabda ve ark.	1	14	2,57	0,318	0,335		
	Kore	2002	Kim ve ark.	3	9	4,8	0,556	0,539	0,053	0,202
Ort.						6,85	0.648	0.572		

Avrupa	İtalya	2015	Sardina ve ark.	3	20	8.368	0.647	0.582		
	İspanya	2009	Serrana ve ark.	1	10	9.035	0.7718	0.7026	0.023	0.074
	İspanya	2004	Martinez ve ark.	1	27	8,22	0.71	0.6628	0.071	
	İspanya	2006	Canon ve ark.	45	30	14.26	0.690	0.62	0.100	0.07
	Arnavutluk	2011	Hoda ve ark.	6	30	11,03	0.75	0.67	0.090	0.020
Ort.						10,18	0.712	0.646		

Ağaoğlu (2010)'nun Türkiye'de yetiştirilen 5 farklı keçi ırkında (Ankara Keçisi, Kilis Keçisi, Honamlı Keçisi, Kıl Keçisi ve Norduz Keçisi) 20 mikrosatellit lokusu ile yapmış oldukları çalışmada; toplam 313 allel elde edilmiş ve allel sayıları 9 ile 24 arasında değişmiştir. Sunulan bu tez çalışmasında ise Türkiye'ye özgü 4 yerli keçi ırkında 9 mikrosatellit lokusu ile yapılmış olup, 123 allel elde edilmiş ve allel sayıları 10 ile 17 arasında değişmiştir. Her iki çalışmaya baktığımızda kullanılan lokusların 3 tanesi (CSR0247, INRA23 ve SRCRSP05) ve çalışılan ırkların 4 tanesi (Ankara Keçisi, Kilis Keçisi, Honamlı Keçisi ve Kıl Keçisi) aynı olduğu görülmektedir. Ağaoğlu (2010)'nun çalışmasında toplam birey sayısının ve çalışılan lokusların daha fazla olmasından dolayı allel sayısının yüksek olması normal görülmüştür.

Sunulan bu çalışmada; yerli keçi ırklarında görülen ortalama allel sayısı (13.66) yüksekliğinin sebebinin, Türkiye'nin coğrafi konum olarak keçinin evcilleştirme merkezine yakın olmasından kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca Asya'dan Avrupa'ya ve diğer bölgelere göç sırasında Anadolu'nun bu göç bölgelerinde yer alması ve tarım insanların göç ederken keçilerini beraberlerinde götürmeleri bu durumun nedenlerinden biri olabilir. Daha önceki yıllarda keçi ırkları ile yapılan gerek arkeolojik gerekse genetik çalışmalar; evcilleştirme merkezlerinden birinin Anadolu civarında olduğunu göstermektedir (Bruford ve ark. 2003).

Sunulan bu çalışmanın ortalama heterozigotluk değerlerine bakıldığında Türkiye 'nin Asya ve Avrupa ülkelerinden yüksek olduğu görülmektedir. Buna sebep olarak Türkiye'nin

Asya'dan Avrupa'ya ve diğer bölgelere göç yolları üzerinde bulunması ve kontrolsüz melezleme çalışmaları gösterilebilir (Hassen ve ark. 2016, Hoda ve ark. 2011, Yadav ve ark. 2015, Al-Atiat ve ark. 2015, Sulabda ve ark. 2012, Sardina ve ark. 2015, Serrana ve ark. 2009, Martinez ve ark. 2004).

Ağaoğlu (2010)'nun çalışmasında gözlenen ve beklenen heterozigotluk değerleri sırasıyla; 0.5192 ile 0.9400 ve 0.5693 ile 0.9192 arasında değişmiştir. Sunulan bu tez çalışmada ise; gözlenen (H_O) ve beklenen heterozigotluk (H_E) düzeyleri sırası ile 0.4878 ile 0.9600 ve 0.5401 ile 0.9475 değerleri arasında değiştiği görülmüştür. Bu iki çalışmanın gözlenen ve beklenen heterozigotluk değerlerinin birbirine oldukça yakın olduğu görülmüştür.

Ağaoğlu (2010)'nun yaptığı çalışmada, Nei'nin standart genetik uzaklık metoduna göre hesaplanan genetik uzaklıkları incelendiğinde; çalışılan ırklar içerisinde en yüksek genetik uzaklık değerinin Ankara Keçisi ve Norduz Keçisi ırkları arasında olduğu (0.380) belirlenmiştir. Irklar arasında en düşük genetik uzaklık değerinin ise çalışılan ırklar içerisinde coğrafi olarak birbirine yakın olan yerli keçi ırklarından Honamlı Keçisi ve Kıl Keçisi (0.067) arasında olduğu görülmektedir. Bu ırklara ilişkin örnekleme yakın coğrafi bölgelerden yapılması bu durumu açıklamaktadır. Bu yakınlıktan sonra gelen en küçük genetik uzaklık değerinin Kıl Keçisi ve Norduz Keçisi ırkları (0.068) arasında olduğu gözlenmiştir. Yine diğer istatistik metodlarla da ortaya koyulan sonuçlar gibi Ankara keçisi genetik olarak en uzak ırk olarak görülmektedir.

Sunulan bu çalışmada en yüksek genetik uzaklık değerinin Kilis Keçisi ile Kıl Keçisi (0.247) ve Ankara Keçisi ile Kıl Keçisi ırkları arasında olduğu (0.247) belirlenmiştir. En düşük genetik uzaklık değerinin ise çalışılan ırklar içerisinde coğrafi olarak birbirine yakın olan yerli keçi ırklarından Honamlı Keçisi ve Kıl Keçisi (0.158) arasında olduğu görülmektedir. Bunun nedeninin de; ortak olan 3 mikrosatellit lokusu (CSR247, INRA23 ve SRCRSP05) olmasına rağmen kullanılan tüm mikrosatellit lokuslarının aynı olmamasından ya da bu çalışmada kullanılan ırkların genetik olarak fazla farklı olmamalarından kaynaklanmış olabileceği söylenebilir. Irklar arasındaki en düşük genetik uzaklık değerlerine göre belirlenen ırkların aynı olduğu görülmektedir.

Yıldırımın (2015) te yaptığı çalışmada N_e inin D_A genetik uzaklık değerlerini kullanarak yaptığı filogenetik ilişkiyi gösteren ağaçta Kıl, Honamlı ve Yaban Keçisi bir grupta, Kilis ve Ankara Keçisi iki ayrı farklı grupba ayrıldığını belirlemiştir.

Ağaoğlu (2010); yerli keçi ırkları arasında F_{ST} değerlerine göre; Ankara Keçisi ile diğer ırklar arasında orta düzeyde bir farklılaşma varken, diğer ırkların birbirleri arasında az bir genetik farklılaşmanın olduğu belirlenmiştir. Çalışmada kullanılan Ankara Keçisi, Kilis Keçisi, Honamlı Keçisi, Kıl Keçisi ve Norduz Keçisinde sıfıra yakın ve pozitif F_{IS} değerleri elde edilmiştir. Ancak bu değerler sadece Ankara Keçisi ve Kilis Keçisinde istatistiki olarak önemli bulunmuştur. Sunulan bu çalışmada ise tüm yerli keçi ırklarının daha düşük düzeylerde genetik farklılaşmalarından söz edilebilir.

Faktöriyel birleştirici analiz sonucu elde edilen grafik incelendiğinde; Ağaoğlu (2010)' da yaptığı çalışmada Ankara Keçisi popülasyonuna ait örnekler bu eksenlerde diğer yerli ırklardan ayrı olarak gruplanmıştır. Fakat diğer yerli keçi popülasyonlarına (Kilis, Honamlı, Kıl ve Norduz Keçileri) ait örneklerin gruplandığı kısımda, Honamlı ve Kilis Keçi ırklarının bazı örnekleri hariç, ırkların örnekleri birbirlerinden tam olarak ayrılmamaktadır. Bu öbeklenmedeki yerli ırklara ait bireylerde karışım söz konusudur.

Sunulan bu çalışmada ise, faktöriyel birleştirici analiz sonucu Honamlı keçi popülasyonuna ait örneklerde diğer yerli ırkların bireyleri görülmektedir. Ankara, Kıl ve Kilis yerli keçi popülasyonlarının bazı örnekleri hariç, bu ırkların farklı yerlerde gruplandığı grafikte görülüp, ırklar birbirlerinden tam olarak ayrılmaktadır. Honamlı Keçi popülasyonunun Anadolu'ya göçler sırasında yapılan melezlemelerden dolayı diğer keçi popülasyonlarına karışımı söz konusudur.

Ağaoğlu (2010); yaptığı çalışmada Temel bileşenler analizi sonucunda Ankara Keçisi popülasyonundan; Kilis Keçisi, Kıl Keçisi ve Norduz Keçisi popülasyonlarının ayrılmış olduğunu belirlemiştir. Sunulan bu çalışmada ise, Temel bileşenler analizi sonucunda Honamlı keçi popülasyonuna ait bireylerin diğer yerli ırkların bireyleri ile karışmış ve ortada yer aldığı görülmektedir. Ankara ve Kilis yerli keçi ırklarının Honamlı Keçi popülasyonuna

karışmış olarak aynı ekseninde hareket ettiği, Kıl keçisinin farklı ekseninde sadece Honamlı keçi popülasyonuna karışmış olarak görülmektedir. Honamlı ırkına ait bireylerde görülen bu durumun Anadolu'ya göçler sırasında yapılan melezlemelerden dolayı diğer keçi popülasyonları ile karışımından kaynaklanmış olabileceği fikrini güçlendirmektedir.

Türkiye'ye özgü yerli keçi ırklarının genetik çeşitlilik analiz sonuçlarına baktığımızda diğer ülkelerin keçi ırkları üzerinde yapılan çalışmalar ile de karşılaştırıldığında; Türkiye yerli keçi ırklarında ortalama heterozigotluk değerlerine göre Avrupa ve Asya ülkelerinden yüksek bulunmuştur (Hassen ve ark. 2016, Hoda ve ark. 2011, Yadav ve ark. 2015, Al-Atiat ve ark. 2015, Sulabda ve ark. 2012, Sardina ve ark. 2015, Serrana ve ark. 2009, Martinez ve ark. 2004).

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Türkiye 4 yerli keçi ırkının (Ankara Keçisi, Kilis Keçisi, Honamlı Keçisi ve Kıl Keçisi) genetik çeşitliliklerinin belirlenmesi amacı ile yapılan bu çalışmada aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir. Bu çalışmada; mikrosatellit belirteçler ile genetik çeşitliliğin belirlenmesinde kullanılan 9 mikrosatellit lokusu ile ilgili PCR optimizasyonları başarıyla gerçekleştirilmiştir.

Üzerinde çalışılan Ankara Keçisi, Kilis Keçisi, Honamlı Keçisi ve Kıl Keçisinde 9 mikrosatellit belirteciine ait yapılan analizler sonucunda; lokus başına düşen ortalama allel sayısının (13.66 allel / lokus) ve heterozigotluk düzeylerinin (0.4878 ile 0.9600 arasında) oldukça yüksek olduğu belirlenmiştir. Bunun nedeni; Anadolu'nun coğrafi konum olarak çiftlik hayvanları evcilleştirme merkezlerine yakın oluşu, Anadolu'nun göç yolları üzerinde yer alması ve çeşitli ırklar arasında göçler sırasında melezlemeler olması nedeniyle gen kaynaklarının çeşitliliğinin artması olarak belirtilebilir. Türkiye'de hayvan yetiştiriciliğinde; sistemli bir seleksiyonun uygulanmaması da bu durumun başka bir nedeni olarak söylenebilir.

4 farklı keçi ırkında çalışılması sonucunda elde edilen ortalama F_{IS} değerlerinin 0.0512 olduğu saptanmıştır ve bu değerler tüm popülasyonlarda sıfıra oldukça yakın bulunmuştur. Ancak bu değerler sadece Ankara Keçi (0.105) ve Kıl Keçisinde (0.097) istatistiki olarak önemli bulunmuş olup bu ırklarda homozigot fazlalığı olduğu söylenebilir. F_{ST} değerlerine göre; tüm ırklarda az bir genetik farklılaşmanın olduğu belirlenmiştir ve bu farklılaşma istatistiki olarak önemli bulunmuştur.

Bu çalışmada; 9 farklı mikrosatellit bölgesi ile çalışılması sonucunda toplam 22 özgün allel gözlemlenmiştir. Ancak bu özgün allelerin frekanslarının 0.0100 ile 0.0366 arasında değiştiği görülmüştür.

Sonuçlar temel bileşenler analizi ve faktöriyel birleştirici analizi sonuçları ile benzerlik göstermektedir. Nei'nin genetik uzaklık metoduna göre hesaplanan değerleri ile

populasyonların ikili karşılaştırılmaları sonucu elde edilen F_{ST} değerlerinin hemen hemen benzer oldukları gözlemlenmiştir.

Çalışmada yapılan allelik varyasyon analizi ve heterozigotluk analizi, F istatistikleri, faktöriyel birleştirici analizi ve genetik uzaklık analiz metodlarının sonuçlarına göre; Honamlı Keçisi ırkının bireylerinin diğer ırklara oranla karışmış olarak gruplandığı fakat diğer yerli keçi ırklarının (Kilis Keçisi, Kıl Keçisi ve Ankara Keçisi) nispeten birbirlerinden ayrıldığı ve bu ırklara ait örneklerin birbirleri ile genel olarak farklı yerlerde gruplandığı görülmüştür.

Türkiye'ye özgü 4 yerli keçi ırkında 9 mikrosatellit belirteci ile yapılan çalışmada kullanılan belirteçler genel anlamda oldukça polimorfiktir. Bu bağlamda; Türkiye'ye özgü 4 yerli keçi ırkında kullanılan lokuslar genetik karakterizasyon çalışmalarında oldukça kullanışlıdır ve genetik çeşitliliğin belirlenmesinde tercih edilebilir.

Çalışma sonucunda elde edilen allel çeşitliliği ve heterozigotluk değerleri birlikte değerlendirildiğinde; Türkiye'ye özgü yerli keçi ırklarında allel sayısının ve heterozigotluğun yüksek olduğu dikkati çekmektedir. Bunun; Türkiye'nin konum itibariyle evcilleştirme merkezine yakın olması (Bruford ve ark. 2003), Türkiye'de yetiştirilen yerli keçi ırklarına sistemli bir seleksiyonun uygulanmamış olması gibi farklı nedenler olduğu söylenebilir.

7. KAYNAKLAR

- Akçapınar H (1994). Keçi Yetiştiriciliği, A.Ü. Veteriner Fakültesi Zootečni Anabilim Dalı, Ders Notu.
- Al-Atiyat RM, Al-Tamimi HJ, Salameh NM., Tabbaa MJ (2015). Genetic Diversity of Different Jordan Goat Breeds Using Microsatellite Markers. *The Journal of Animal and Plant Sciences*, 25: 1532-1539.
- Allendorf FW, Luikart G (2007). *Conservation and the Genetics of Populations*. First Edition, Wiley-Blackwell, MA, USA.
- Anonim (2009). Türkiye Evcil Hayvan Genetik Kaynakları Tanıtım Katoloğu. Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü. <http://www.tagem.gov.tr>. (Erişim tarihi: 15.01.2018).
- Anonim (2013). Halk Elinde Küçükbaş Hayvan Islahı Ülkesel Projesi Sunuları. <http://www.tarim.gov.tr/TAGEM/Link/32/Halk-Elinde-Hayvan-Islahi-Ulkesel-Projesi>. (Erişim tarihi: 22.07.2017).
- Anonim (2016). TÜİK Hayvancılık İstatistikleri. <https://biruni.tuik.gov.tr/hayvancilikapp/hayvancilik.zul> (Erişim tarihi: 01.12.2017).
- Anonim (2017a). <http://www.turkhaygen.gov.tr/data/> Proje Belgeleri (Erişim tarihi: 22.10.2017).
- Anonim (2017b). Tiftikbirlik <http://www.tiftikbirlik.com.tr> (Erişim tarihi: 12.07.2017).
- Beckman JS, Soller M (1990). Toward a unified approach to genetic mapping of eukaryotes based on sequence tagged microsatellite sites. *BioTechnology*, 8: 930–932.
- Belkhir K, Borsa P, Chikhi L, Goudet J, Bonhomme F (1996-2000). GENETIX 4.00 Windows™ software for sample genetics. Laboratoire Génome, Populations, Interactions, University of Montpellier, France (Université Montpellier II//www.univ-montp2.fr/~genetix/genetix/genetix.htm//December 2004).
- Boyce WM, Hedrick NE, Muggli-Cockett NE, Kalinowski S, Penedo MC, Ramey RR (1996). Genetic variation of major histocompatibility complex and microsatellite loci: A comparison in Bighorn sheep. *Genetics*, 145: 421-433.
- Bradley DG, Machugh DE, Cunningham P, Loftus RT (1996). Mitochondrial diversity and the origins of African and European cattle. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 93: 5131–5135.
- Bruford MW, Wayne RK (1993). Microsatellites and their application to population genetic studies. *Curr. Op. Genet. Devel.*, 3: 939-943.
- Bruford MW, Bradley D.G, Luikart G (2003). DNA Markers Reveal the Complexity of Livestock Domestication. *Nature Genetics*, 4: 2-12.
- Bulut Z, Kurar E, Özşensoy Y, Altunok V, Nizamlıoğlu M (2014). Türkiye’de Bulunan Bazı Keçi Irklarında Mikrosatellit DNA Markörlerinin Kimliklendirme Çalışmalarında Kullanılabilirliğinin Araştırılması. *Journal of Cell and Molecular Biology*, 12(1&2): 39-45.
- Butler JM (2005). *Forensic DNA Typing: Biology, Technology, and Genetics of STR Markers* (2nd Edition). Elsevier Academic Press, New York.

- Canon J, Garcia D, Garcia-Atance MA, Obexer-Ruff G, Lenstra JA, Ajmone-Marsan P, Dunner S, The Econogene Consortium (2006). Geographical Partitioning of Goat Diversity in Europe and the Middle East. *Animal Genetics*, 37(4): 327-334.
- Coleby P (2002). *Natural Goat & Alpaca Care (Second Edition)* Csiro Publishing, Australia
- Condit R, Hubbell SP (1991). Abundance and DNA sequence of two-base repeat regions in tropical tree genomes. *Genome*, 34: 66-71.
- Dytham, C.(2003). *Choosing and Using Statistics: A Biologist's Guide*. Blackwell Publishing Company, (2nd Ed.)
- Ekmekçi A, Konaç, Önen Hİ (2008). Gen Polimorfizmi ve Kansere Yatkınlık. *Marmara Medical Journal*, 21; 282-295.
- Ertuğrul M (2007). Akkaraman, Morkaraman, Karagül, İvesi, Kıl Keçisi, Kilis Keçisi, Norduz Keçisi. www.turkhaygen.gov.tr/data/belgeler.asp (Erişim tarihi: 05.10.2015).
- Ertuğrul M, Akman N, Dellal G, Goncagül T (2000). Hayvan Gen Kaynaklarının Korunması ve Türkiye Hayvan Gen Kaynakları. Türkiye Ziraat Mühendisliği V. Teknik Kongresi. 17-21 Ocak 2000 Ankara. S: 285-300.
- Ertuğrul M, Dellal G, Soysal Mİ, Elmacı C, Akın O, Arat S, Barıtcı İ, Pehlivan E, Yılmaz O. (2009) Türkiye Yerli Koyun Irklarının Korunması. Türkiye Ulusal Koyunculuk Kongresi, 12-13 Şubat. İzmir.
- Fatima S (2006). Study of Genetic Variability Among Gohilwadi, Surti and Zalawadi Goats Using Microsatellite Analysis. Department of Animal Genetics and Breeding, College of Veterinary Science & Animal Husbandry, Anand Agriculture University, Anand. Yüksek Lisans Tezi.
- Fernandez J, Villanueva B, Pong- Wong R, Toro MA (2005). Efficiency of the use of molecular markers in conservation programmes. *Genetics*, 170: 1313-1321.
- Georges M, Mishra A, Sargeant L, Steele M, Zhao X (1990). Progress towards a primary DNA marker map in cattle.4th World Congress Genetics Applied Livestock Production, 13: 107-112.
- Goldstein DB, Pollock DD (1997). Launching Microsatellites: a review of mutation processes and methods of phylogenetic inference. *Journal of Heredity*, 88: 335-342.
- Goudet J (2001). FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices. [<http://www2.unil.ch/popgen/softwares/fstat.htm>].
- Gour DS, Malik G, Ahlawat SPS, Pandey AK, Sharma R, Gupta N, Gupta SC, Bisen PS, Kumar D (2006). Analysis of Genetic Structure of Jamunapari Goats by Microsatellite Markers. *Small Ruminant Research*, 66: 140-149.
- Hassen H, Rischkowsky B, Termanini A, Jessry G, Haile A, Baum M, Lababidi S (2016). Morphological and Molecular Genetic Diversity of Syrian Indigenous Goat Populations. *Academic journals*, 15(18): 745-758.
- Hayes JL (2009). The Angora Goat; Its Origin, Culture and Products. (In) Report Upon Wool and Manufactures of Wool.
- Hoda A, Hyka, G, Dunner S, Obexer-Ruff, G, Consortium E (2011).Genetic Diversity of Albanian Goat Breeds Based on Microsatellite Markers. *Arch.Zootec.*, 60 (231): 607-615.

- Iamartino D, Bruzzone A, Lanza A, Blasi M, Pilla F (2005). Genetic diversity of Southern Italian goat populations assessed by microsatellite markers. *Small Ruminant Research*, 57: 249-255.
- İriadam M (2004). Kilis Keçilerine ait Bazı Hematolojik ve Biyokimyasal Parametreler. *Ankara Univ. Vet. Fak. Dergisi*, 51: 83-85.
- Jin M, Gou C-L, Hu J-H, Gao W-B, Wang W (2006). Correlation Analysis of Economic Traits in Liaoning New Breed of Cashmere Goats Using Microsatellite DNA Markers. *Acta Genetica Sinica*, 33(3): 230-235.
- Joshi MB, Rout KP, Mandal AK, Tyler-Smith C, Singh L, Thangaraj K (2004). Phylogeography and Origin of Indian Domestic Goats. *Mol. Biol. Evol.*, 2: 454- 462
- Kence A (1987). Türkiye'nin biyolojik zenginlikleri. Türkiye Çevre Sorunları Vakfı Yayını No: 87.06.Y.0011.6. S. 17-24.
- Kim KS, Yeo JS, Lee JW, Kim JW, Choi CB (2002). Genetic Diversity of Goats from Korea and China Using Microsatellite Analysis. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.*, 15(4): 461-465.
- Korkmaz Ağaoğlu Ö (2010). Türkiye'deki bazı yerli keçi ırklarında mikrosatellit polimorfizminin belirlenmesi. Doktora Tezi. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Ankara.
- Lebart L, Morineau A, Warwick, KM (1984). *Multivariate descriptive analysis: Correspondence analysis and related techniques for large matrices.* John Wiley & Sons Inc. 250 pp.
- Lenstra JA (2005). Evolutionary and Demographic History of Sheep and Goats Suggested by Nuclear, mtDNA and Y-Chromosome Markers, The Role of Biotechnology. Villa Gualino, Turin, Italy – 5-7 March.
- Li, W-H (1997). *Molecular evolution.* Sinauer Associates, Inc.
- Litt M, Luty JA (1989). A hyper variable microsatellite revealed by in vitro amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene. *Am. J. Hum. Genet.*, 44: 397-401.
- Liu ZW, Biyashev RM, Saghai-Marroof MA (1996). Development of simple sequence repeat DNA markers and their integration into a barley linkage map *Theor. Appl. Genet.*, 93:869-876.
- Loftus RT, Ertuğrul O, Barbar AH, El-Barody MAA, Machugh DE, Park SDE, Bradley DG (1999). A microsatellite survey of cattle from a centre of origin: the Near East. *Molecular Ecology* 8: 2015–22.
- Luikart, G, England PR (1999). Statistical analysis of microsatellite DNA data. *Trends in Ecology and Evolution*, 14(7): 253-256.
- Luikart G, Biju-Duval M-P, Ertuğrul O, Zagdsuren Y, Maudet C, Taberlet P (1999). Power of 22 microsatellite markers in fluorescent multiplexes for parentage testing in goats (*Capra hircus*). *Animal Genetics*, 30: 431-438.
- Luty JA, Guo Z, Willard HF, Ledbetter DH, Ledbetter S, Litt M (1990). Five polymorphic microsatellite VNTRs on the human X chromosome. *Am. J. Hum. Genet.*, 46: 776-783.
- Mahmoudi B., Esteghamat O., Shahriyar A., Babayev M. (2012). Genetic Characterization and Bottleneck Analysis of Korke Jonub Khorasan Goats by Microsatellite Markers. *Journal of Cell and Molecular Biology*, 10(2):61-69.

- Marini A., A.B., Hifzan, R.M., Tan, S.G., Panandam, J.M. (2014). Assessment of Genetic Diversity on Goat Breeds in Malaysia Using Microsatellite Markers. *Mal. J. Anim. Sci.*, 17(1): 19-26.
- Martinez A.M., Carrera M.P., Acosta J.M., Rodriguez-Gallardo P.P., Cabello A., Camacho E., Delgado J.V. (2004). Genetic Characterisation of the Blanca Andaluza Goat Based on Microsatellite Markers. *South African Journal of Animal Science*, 34(supplement 1).
- Mason IL (1984). Goats. in: Mason, I.L. (ed) *Evolution of Domesticated Animals*. Longmans: London, UK.
- Maudet C, Bassano B, Breitenmoser-Würsten C, Gauthier D, Miller C, Giacometti M, Obexer-Ruff G, Ormèa, P, Toigo C, Taberlet P, Luikar TG (2002). Microsatellite DNA And Recent Statistical Methods In Wildlife Conservation Management: Applications In Alpine Ibex (*Capra Ibex* [Ibex]) *Molecular Ecology*, 11: 421-436.
- Naghlaki T. (1998). Fixation Indices In Subdivided Populations. *Genetics* Vol :148 1325/1332 (March 1998).
- Nei M (1972). Genetic Distance Between Populations. *American Naturalist*, 106, 283-292.
- Nei M, Tajima F, Tateno Y (1983). Accuracy of Estimated Phylogenetic Trees from Molecular Data. II. Gene frequency data. *J. Mol. Evol.*, 19:153-170.
- Nei M., Kumar S. (2000). *Molecular Evolution and Phylogenetics*. First ed. New York, USA: Oxford University Press.
- Özkan E (2005). Türkiye’de Yetiştirilen Yerli ve Kültür Sığır Irklarının Genetik Yapılarının Mikrosatellitler ile İncelenmesi. Doktora Tezi. Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Tekirdağ.
- Passarge E (1995). *Color Atlas of Genetics*. (Second Edition). Thieme Press., New York.
- Primrose SB (1998). *Principles of Genome Analysis. A Guide to Mapping and Sequencing DNA from Different Organisms*. Oxford: Blackwell.
- Ramamoorthi J, Thilagam, K, Sivaselvam SN, Karthickeyan SMK (2009). Genetic characterization of Barbari goats using microsatellite markers. *J. Vet. Sci.*,10(1):73-76.
- Rege JEO, Gibson JP (2003). Animal genetic resources and economic development: issues in relation to economic valuation. *Ecol. Econ.* 45 319-330.
- Renfrew C. (1991). Before Babel: Speculations on the Origins of Linguistic Diversity. *Cambridge Archaeol.* 1: 3-23.
- Roder MS, Plaschke J, König SU, Börner A, Sorrells ME, Tanksley SD, Ganai MW (1995). Abundance, variability and chromosomal location of microsatellites in wheat. *Mol Gen Genet.*, 246 (3): 327-333.
- Roder MS, Korzun V, Wendekake K, Plaschke J, Tixier MH, Leroy P, Ganai MW (1998). A microsatellite map of wheat. *Genetics*, 149:2007–2023.
- Rohlf F.J. (1993). *NTSYS-pc—Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System*, Version 2.2. New York: Exeter Software.
- Ryder ML (2001). Textile fibres from goats, içinde: *Encyclopedia of Genetics*, (ed.) Reeve ECR, Htzroy Dearborn Publishers, U.S.A., 379-381.
- Saitou, N, Nei, M (1987). The neighbor-joining method: a new method for reconstruction phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*, 4: 406-425.

- Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T (1989). Molecular cloning: A laboratory manual (2nd ed.), 3 vol., Cold-Spring Harbor, New York.
- Sardina M, Tortorici L, Mastrangelo S, Gerlondo R, Tolone M, Portolano B (2015). Application of Microsatellite Markers as Potential Tools for Traceability of Girgentana Goat Breed Dairy Products. Food Research International. 74: 115-122.
- Seilsuth S, Seo JH, Kong HS, Jeon GJ (2016). Microsatellite Analysis of the Genetic Diversity and Population Structure in Dairy Goats in Thailand. Asian Australas. J. Anim. Sci., 3:327-332.
- Serrano M, Calvo JH, Martinez M, Marcos-Carcavilla A, Cuevas J, Gonzalez C, Jurado JJ, Tejada PD (2009). Microsatellite Based Genetic Diversity and Population Structure of the Endangered Spanish Guadarrama Goat Breed. BMC Genetics, 10:61.
- Sezer A (2008). İlman İklim Meyve Türlerinde Çeşit ve Tiplerin Moleküler Tekniklerle Karakterizasyonu. Fındık Araştırma Enstit, <http://www.slideplayer.biz.tr/slide/2970341>
- Shivaji S, Kholkute SD, Verma SK, Gaur A, Umapathy G, Singh A, Sontakke S, Shailaja K, Reddy A, Monika S, Sivaram V, Jyotsna B, Bala S, Ahmed MS, Bala A, Chandradhekar BV, Gupta S, Prakash S, Singh L (2003). Conservation of wild animals by assisted reproduction and molecular marker technology. Indian J Exp Biol, 41(7):710723.
- Slate J, Coltman DW, Googman SJ, Maclean I, Pemberton JM, Williams JL (1998). Bovine microsatellite loci are highly conserved in Red deer (*Cervus elaphus*), Sika deer (*Cervus nippon*) and Soay sheep (*Ovis aries*). Anim. Genet. , 29: 307-315.
- Soysal Mİ, Gürçan EK, Özkan E (2003a). Dünya’da ve Türkiye’de Çiftlik Hayvanları Genetik Çeşitliliğinin Korunması Sorunu. GAP III. Tarım Kongresi, 2-3 Ekim, 615-623. Urfa.
- Soysal Mİ, Özkan E, Gürçan EK (2003b). The Status of Native Farm Animal Genetic Diversity in Türkiye and in the World. Trakia Journal of Sciences, Vol. 1, No:3, pp 1-12.
- Sönmez R (1974). Melezleme Yolu ile Yerli Kıl Keçilerinin Süt Keçisine Çevrilme Olanakları. E.Ü. Ziraat Fak. Yayınları No:226.
- Sulabda IN, Susari NNW, Heryani NLGS, Puja IK (2012). Genetic Diversity of Gembrong Goat Based on DNA Microsatellite Markers. Global Veterinaria 9(1): 113-116.
- Şengonca M (1989). Küçük Baş Hayvan Yetiştirme. Uludağ Üniversitesi Basımevi. Uludağ Üni. GÜçlendirme Vakfı. Yayın No: 27. 170 S.
- Şimşek ÜG, Bayraktar M (2006). Kıl keçisi ve Saanen x kıl keçisi (F₁) melezlerine ait büyüme ve yaşama gücü özelliklerinin araştırılması. F. Ü. Sağlık Bil. Derg. 20(3): 229-238.
- Taramino G, Tingey S (1996). Simple sequence repeats for germplasm analysis and mapping in maize. Genome, 39: 277-287.
- Toro MA, Fernandez J, Caballero A (2009). Molecular characterization of breeds and its use in conservation. Livestock Science, 120:174–195.
- Troy CS, Machugh DE, Bailey JF, Magee DA, Loftus RT, Cunningham P, Chamberlain AT, Sykes BC, Bradley DG (2001). Genetic evidence for Near Eastern origins of European cattle. Nature 410:1088–1091.
- Tuncel E, Bayındır İ (1983). Türkiye’de Keçilerin Genetik Islahı. Avrupa Zootekni Federasyonu Sempozyumu, Ankara.

- Tuztaş AH (2007). Günümüzde Isparta'da Yaşayan Yörüklerin Siyasi ve Kültür Tarihleri, http://www.antropoloji.net/index.php?option=com_content&view=article&id=137:isparta-yoruklerin-siyasi-tarihi&catid=81&Itemid=476 (Erişim Tarihi:12.09.2015)
- Vignal A, Milan D, San Cristobal M, Eggen AV (2002). A Review on SNP and Other Types of Molecular Markers and Their Use in Animal Genetics. *Genet. Sel. Evol.*, 34: 275-305.
- Wang G. Z., Chen S.S., Chao T.L., Ji Z.B., Hou L., Qin Z.J., Wang J.M. (2017). Analysis of Genetic Diversity of Chinese Dairy Goats Via Microsatellite Markers. *J. Anim. Sci.*, 95:2304–2313.
- Wright S (1965). The interpretation of sample structure by F-statistics with special regard to systems of mating. *Evolution*, 19: 95-420.
- Yadav AS, Gahlot K, Gahlot GC, Asraf M, Yadav ML (2015). Microsatellite DNA Typing for Assessment of Genetic Variability in Marwari Breed of Indian Goat. *Veterinary World*, 8:848-854.
- Yıldırım İ (2015). Türkiyede Bulunan Evcil ve Yaban Keçilerinin Genetik Benzerlik ve Farklılıklarının Mikrosatellitlerle Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Konya.
- Yıldız N, Esen F (1998). Koyun ve Keçi Yetiştiriciliği. F.Ü. Vet. Fak. Ders Teksiri, No:35.
- Zeder MA (2008). Domestication and Early Agriculture in the Mediterranean Basin: Origins, Diffusion and Impact. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 105 (33): 11597-11604.
- Zeder MA, Hesse B (2000). The Initial Domestication of Goats (*Capra hircus*) in the Zagros Mountains 10000 years ago. *Science*, 287: 2254-2257.

ÖZGEÇMİŞ

1991 yılında İstanbul'un Pendik ilçesinde doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimimi aynı ilçede tamamladıktan sonra, 2009 yılında Namık Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarımsal Biyoteknoloji Bölümüne kayıt oldu. Üniversiteden bir yıl İngilizce hazırlık eğitimi alarak 2014 yılında aynı fakülteden Ziraat Mühendisi olarak mezun oldu. Eylül 2014'de Namık Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisansa başladı.

