

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**TÜRKİYE’DE BULUNAN BAZI YERLİ SIĞIR IRKLARININ
GENETİK YAPILARININ KARAKTERİZASYONU**

Yusuf ÖZŞENSOY

DOKTORA TEZİ

ZOOTEKNİ ANABİLİM DALI

Danışman
Yard. Doç. Dr. Ercan KURAR

KONYA - 2011

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**TÜRKİYE’DE BULUNAN BAZI YERLİ SIĞIR IRKLARININ
GENETİK YAPILARININ KARAKTERİZASYONU**

Yusuf ÖZŞENSOY

DOKTORA TEZİ

ZOOTEKNİ ANABİLİM DALI

Danışman
Yard. Doç. Dr. Ercan KURAR

Bu araştırma TÜBİTAK Kamu Araştırma Kurumu (KAMAG) tarafından 106G114
proje numarası ile desteklenmiştir.

Bu araştırma Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü
tarafından 08202009 proje numarası ile desteklenmiştir.

KONYA - 2011

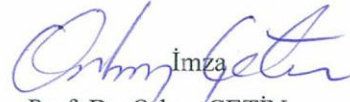
S.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne

Yusuf ÖZŞENSOY tarafından savunulan bu çalışma, jürimiz tarafından Zootekni Anabilim Dalında Doktora Tezi olarak oy birliği / ~~oy çokluğu~~ ile kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı:	Prof.Dr.Mehmet NİZAMLIOĞLU Selçuk Üniversitesi	
Danışman:	Yard.Doç.Dr. Ercan KURAR Selçuk Üniversitesi	
Üye:	Prof.Dr. Okan ERTUĞRUL Ankara Üniversitesi	
Üye:	Prof.Dr Mehmet Emin TEKİN Selçuk Üniversitesi	
Üye:	Prof.Dr. Kemal KIRIKÇI Selçuk Üniversitesi	

ONAY:

Bu tez, Selçuk Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim Yönetmenliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu tarih ve sayılı kararıyla kabul edilmiştir.


Prof. Dr. Orhan ÇETİN
Enstitü Müdürü

ii. ÖNSÖZ

Arkeolojik ve genetik verilerin sonucunda Avrupa ırklarının 2 farklı göç yolu izlediği, sığır, koyun, keçi, domuz ve manda'nın ilk defa evcilleştirilmeye iki farklı Asya Bölgesi'nde başladığı bildirilmektedir. Bu merkezlerden en eski olanının Doğu-Güneydoğu Anadolu bölgesini kapsadığı ve ırkların bu bölgeden tüm Dünya'ya özellikle Anadolu'dan Avrupa'ya yayıldığı belirtilmektedir. Genetik karakterizasyon çalışmalarında farklı biyokimyasal markör sistemleri, mtDNA, Y kromozomuna spesifik markörler kullanılmaktadır. Ancak mikrosatellitler birçok ülkede yerli ırkların karakterizasyon çalışmalarında yaygın olarak tercih edilmektedir. Türkiye yerli sığır ırkları üzerinde bu kapsamda çok fazla bir çalışma bulunmamaktadır. Dolayısıyla, Türkiye yerli evcil genetik kaynaklarının moleküler düzeyde karakterizasyon çalışmalarının yapılması gerekliliği ön plana çıkmaktadır. Bu çalışmada, Türkiye yerli sığır ırklarından Güney Anadolu Kırmızı, Yerli Kara, Yerli Güney Sarısı, Boz ırk, Doğu Anadolu Kırmızı ve Zavot ırkları mikrosatellitler kullanılarak genetik karakterizasyon çalışması yapılarak genetik yapıları ve filogenetik ilişkileri araştırılmıştır.

Tarım ve Köyişleri Bakanlığı ile Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü (TAGEM) çalışanları örnekleme çalışmalarını gerçekleştirmişlerdir. Kullanılan istatistiksel yöntemlerin ve programların öğrenilmesinde düzenlenen TÜRKHAYGEN-1 Projesi Popülasyon Genomiği - 1 ile Popülasyon Genomiği - 2 Çalıştaylarının büyük bir faydası olmuştur. Kullanılan moleküler biyoloji yöntemlerinin (Polimeraz Zincir Reaksiyonu, Jel elektroforez ve Kapiller Elektroforez) öğrenilmesi ve pratik kazanılmasında, Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Genetik Anabilim Dalı ve Biyokimya Anabilim Dalı tarafından yürütülen çalışmaların da büyük bir katkısı olmuştur.

Doktora eğitimim süresince her yönden maddi ve manevi desteğini esirgemeyen danışmanım Yard. Doç. Dr. Ercan KURAR'a sonsuz teşekkür ederim. Alanımda en iyi şekilde yetişmemde emekleri olan Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Zootekni Anabilim Dalı'nın saygı değer Öğretim Üyeleri ve Elemanlarına özellikle Araş. Gör. Dr. Şema ALAŞAHAN'a, teşekkürlerimi sunmak istiyorum.

TÜRKHAYGEN-1 Projesi kapsamında her türlü bilgi ve paylaşımı esirgemeyen proje ekibine, örneklerin toplanması aşamasında çalışan ve yardımcı olan Tarım ve Köyişleri Bakanlığı ile TAGEM'in değerli elemanlarına, laboratuvar imkânlarını kullanmama izin veren Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Mehmet NİZAMLIOĞLU'na, katkılarından dolayı Doç. Dr. Zafer BULUT, Araş. Gör. Müge DOĞAN'a ve Öğretim Elemanlarına, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü Prof. Dr. Orhan ÇETİN ve diğer çalışanlarına, çalışmamı maddi yönden destekleyen TÜBİTAK KAMAG ve S.Ü. BAP Koordinatörlüğü'ne teşekkür ederim.

Ayrıca eğitim hayatımın her aşamasında devamlı arkamda olduklarını hissettiren ve bugünlere gelmemde büyük emekleri olan annem ve babam başta olmak üzere tüm ailem ile tezimin yazım aşamasında her türlü desteğini, teşvik ve yardımını esirgemeyen sevgili eşim Nurgül ÖZŞENSOY' a teşekkür ederim.

Bu tez çalışması, “*Türkiye Yerli Hayvan Genetik Kaynaklarından Bazılarının İn Vitro Korunması ve Ön Moleküler Tanımlanması-I (TÜRKHAYGEN-1)*” isimli proje kapsamında TÜBİTAK KAMAG (106G005, 106G114) ve Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Koordinatörlüğü tarafından (08202009) desteklenmiştir.

iii. İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI

ÖNSÖZ

iii

İÇİNDEKİLER

v

SİMGELER VE KISALTMALAR

iv

1. GİRİŞ

1

1.1. Sığır Yetiştiriciliği

1

1.1.1. Sığırın Önemi ve Evciltilmesi

2

1.1.2. Sığırın Zoolojik Sistemdeki Yeri

3

1.1.3. Irk Karakterleri

4

1.1.4. Türkiye’de Sığırlarda Yapılan Islah Çalışmaları

4

1.2. Türkiye Yerli Sığır Irkları

5

1.2.1. Yerli Kara (YK)

5

1.2.2. Doğu Anadolu Kırmızısı (DAK)

6

1.2.3. Güney Anadolu Kırmızısı (GAK)

8

1.2.4. Yerli Güney Sarısı (YGS)

10

1.2.5. Boz Irk (BOZ)

12

1.2.6. Zavot (ZAV)

13

1.3. Genetik ve DNA

15

1.3.1. Sığır Genomu

15

1.3.2. Popülasyon Genetiği

16

1.4. Genetik Markörler

18

1.4.1 Morfolojik Markörler

18

1.4.2. Protein Markörleri

18

1.4.3. DNA Temelli Markörler

19

Restriction fragment lenght polymorphism (RFLP)

19

Sequence tagged sites (STSs) ve Expressed sequence tags (ESTs)

20

Single-strand conformational polymorphism (SSCP)

20

Randomly amplified polymorphic DNA (RAPD)

21

Amplified fragment length polymorphism (AFLP)

21

Single nucleotide polymorphisms (SNPs)

22

Mitokondrial DNA (mtDNA)

22

1.5. Mikrosatellitler - Single Tandem Repeats (STRs)

22

1.6. Hayvan Genetik Kaynakları, Korunması ve Önemi

24

1.7. Genetik Karakterizasyon Çalışmaları	29
1.7.1. Sığır Karakterizasyon Çalışmaları	31
1.8. Popülasyon Genomiği Analizlerinde Kullanılan İstatistiksel Yöntemler	42
1.8.1. Allel Sayıları ve Frekansları	42
1.8.2. Hardy-Weinberg Dengesi (HWE) Hesaplanması	42
1.8.3. Heterozigotluk	43
1.8.4. Wright'ın F İstatistiği	43
1.8.5. Polimorfizm Bilgi İçeriği (PIC)	45
1.8.6. Faktoriyel Birleştirici Analizi (FCA)	46
1.8.7. Temel Bileşenler Analizi (PCA)	46
1.8.8. Irklar Arası Genetik Uzaklıklar	46
1.8.9. Bireyler Arası Allel Paylaşım Uzaklıkları (Allele Sharing Distance)	48
1.8.10. Moleküler Genetik Verilerin Varyans Analizi (AMOVA)	49
1.8.11. Mantel Testi	50
1.8.12. Genetik Yapı (Structure) Testi	50
1.8.13. Bireylerin Irklara Atanması Testi (Assignment Test)	53
1.8.14. Populasyonların Yok Olma Riski Geçirip Geçirmedikleri Testi (Bottleneck)	54
1.9. Çalışmanın Amacı	55
2. GEREÇ ve YÖNTEM	57
2.1. Materyal	57
2.1.1. Hayvan Materyali ve Seçimi	57
2.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Çözeltiler	58
2.1.3. Kullanılan Cihaz ve Aletler	59
2.2. Yöntem	59
2.2.1. Kan Örneklerinin Toplanması	59
2.2.2. DNA İzolasyonu	60
2.2.3. DNA Kalitesinin Kontrolü	60
2.2.4. Mikrosatellit Markörler	61
2.2.5. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)	61
2.2.6. Kapiller Elektrophorez Yöntemi	63
2.3. İstatistiksel Analizler	64
3. BULGULAR	66
3.1. DNA İzolasyonu	66

3.2. Multipleks PZR ve Fragman Analizi	66
3.3. Populasyon İçi Genetik Varyasyon	68
3.3.1. Allel Sayıları ve Frekansları	68
3.3.2. Özgün Alleller	70
3.3.3. Heterozigotluk Düzeyi	70
3.4. Wright'ın F Parametreleri	73
3.5. Filogenetik Şema Ağaçları	78
3.6. Bireyler Arası Allel Paylaşım Uzaklıkları (ASD)	80
3.7. Faktöriyel Benzerlik Analizi (Factorial Correspondence Analysis-FCA)	82
3.8. Temel Bileşenler Analizi (PCA)	83
3.9. Polimorfizm Bilgi İçeriği (PIC)	84
3.10. Bireylerin Irklara Atanması Testi (Assignment Test)	85
3.11. Genetik Yapı (Structure) Testi	86
3.12. Moleküler Genetik Verilerinin Varyans Analizi (AMOVA)	87
3.13. Mantel Testi	88
3.14. Populasyonların Yok Olma Riski Geçirip Geçirmedikleri Testi (Bottleneck)	90
4. TARTIŞMA	91
4.1. Hayvan Materyali, DNA Kalitesi, Mikrosatellit Markörler ve PZR	91
4.2. Populasyon İçi Genetik Varyasyon	92
4.3. Heterozigotluk Düzeyi	99
4.4. Özgün Alleller	101
4.5. Wright F Parametreleri ve Hardy-Weinberg Dengesi	102
4.6. Filogenetik Şema Ağaçları	103
4.7. Bireyler Arası Allel Paylaşım Uzaklıkları (ASD)	105
4.8 Faktöriyel Birleştirme Analizi (Factorial Correspondence Analysis-FCA)	105
4.9. Polimorfizm Bilgi İçeriği (PIC)	107
4.10. Bireylerin Irklara Atanması Testi (Assignment Test)	108
4.11. Genetik Yapı (Structure) Testi	110
4.12. Moleküler Genetik Verilerinin Varyans Analizi (AMOVA)	111
4.13. Mantel Testi	112
4.14. Populasyonların Yok Olma Riski Geçirip Geçirmedikleri Testi (Bottleneck)	112
5. SONUÇ ve ÖNERİLER	114

5.1. Sonuç	114
5.2. Öneriler	114
6. ÖZET	117
7. SUMMARY	118
8. KAYNAKLAR	119
9. EKLER	130
EK A. Markör bazında allel frekansları	130
10. ÖZGEÇMİŞ	135
11. YAYINLANAN MAKALE ve KONGRE ÖZETLERİ	136

iv. SİMGELER VE KISALTMALAR

ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
AFLP	: Yükseltgenmiş parça uzunluk polimorfizm
AMOVA	: Moleküler Varyans Analizi
ANOVA	: Varyans analizi
ASD	: Allel paylaşım uzaklıkları
bç	: Baz çifti
BOZ	: Boz sığır ırkı
BTA	: Sığır kromozomu
BTYK	: Bilim ve Teknoloji Yüksek Kurulu
D _A	: Nei'nin D _A genetik uzaklık metodu
DAD-IS	: Evcil Hayvan Genetik Çeşitlilik Bilgi Sistemi
DAK	: Doğu Anadolu Kırmızısı sığır ırkı
DATAE	: Doğu Anadolu Tarımsal Araştırma Enstitüsü
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
dNTP	: Deoxyribonucleotide triphosphate
Ds	: Nei'ye göre standart genetik uzaklık metodu
EAAP	: Avrupa Zootečni Federasyonu
ESTs	: Ekspres olan sekans işaretleri
EtBr	: Ethidium bromide
FAO	: Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü
FCA	: Faktöriyel Birleştirici Analiz
F _{IS}	: Alt popülasyonlardaki homolog alleller arasındaki korelasyon
F _{IT}	: Toplam popülasyonlardaki homolog alleller arasındaki korelasyon
F _{ST}	: Her bir alt popülasyondan rastgele seçilen iki gamet arasındaki korelasyon
GAK	: Güney Anadolu Kırmızısı sığır ırkı
GSMH	: Gayri safi millî hâsıla
Hb	: Hemoglobin
He	: Beklenen heterozigotluk
Ho	: Gözlenen heterozigotluk
H _T	: Toplam beklenen heterozigotluk
HWE	: Hardy-Weinberg Dengesi

IAM	: Sınırsız allel modeli
IBRP	: Uluslararası sığır referans popülasyonu
IHB	: Interspecific Hybrid Backcross
ISAG	: Uluslar arası Hayvan Genetiği Derneği
IUCN	: Uluslar arası doğa ve doğal kaynakları koruma birliği
KAMAG	: Kamu Araştırmaları Grubu
Lalahan MHAE	: Lalahan Hayvancılık Merkez Araştırma Enstitüsü
LS	: En küçük kareler
M	: Molar
MCMC	: Markov Chain Monte Carlo
ME	: Asgari evrim
mg	: Miligram
MHAE	: Marmara Hayvancılık Araştırma Enstitüsü
ML	: Maksimum olasılık
ml	: Mililitre
μ l	: Mikro litre
μ M	: Mikro molar
mM	: Mili Molar
MoDAD	: Measurement of Domestic Animal Diversity
MP	: Maksimum cimrilik
mtDNA	: Mitokondrial DNA
MYBT	: Moleküler yaşam, bilim ve teknolojileri
N	: Toplam birey sayısı
n_a	: Ortalama allel sayısı
nDNA	: Çekirdekte bulunan DNA
ng	: Nano gram
NJ	: Komşu birleştirme metodu
NJT	: Komşu birleştirme ağacı
nM	: Nanomol
ns	: İstatiksel olarak anlamlı değil
OMIA	: Online Mendelian Inheritance in Animals
OTUs	: Operasyonel taksonomik birimlerin çiftleri
PCA	: Temel bileşenler analizi
PIC	: Poliformizm Bilgi İçeriği

pM	: Pikomol
PZR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
RAPD	: Rastgele yükseltilmiş polimorfik DNA
RE	: Restriksiyon endonükleaz
RFLP	: Restriksiyon parça uzunluk polimorfizmleri
rpm	: Dakikadaki devir sayısı
SD	: Serbestlik derecesi
SDS	: Sodyum dodecyl sülfat
SLS	: Örnek yükleme solüsyonu
SMM	: Basamak tarzı mutasyon modeli
SNPs	: Tek nükleotid polimorfizmleri
SSCP	: Tek zincir konformasyonel polimorfizm
SSR	: Basit dizi tekrarları
STSs	: İşaretlenmiş dizi bölgeleri
<i>Tag</i>	: <i>Thermus aquaticus</i>
TAGEM	: Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü
TBE	: Tris - Borik Asit – EDTA
TE	: Tris-EDTA
TPM	: İki safhalı model
TÜBA	: Türkiye Bilimler Akademisi
TÜBİTAK	: Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu
TÜİK	: Türkiye İstatistik Kurumu
UNEP	: Birleşmiş Milletler Çevre Programı
UPGMA	: Aritmetik ortalamaların kullanıldığı ağırlıksız çift grup
USDA	: Amerika Birleşik Devletleri Tarım Bakanlığı
UV	: Ultra viole
VNTR	: Değişken nükleotid art arda tekrarlar
WRC	: Dünya Kaynakları Enstitüsü
YGS	: Yerli Güney Sarısı sığır ırkı
YK	: Yerli Kara sığır ırkı
ZAV	: Zavot sığır ırkı

1. GİRİŞ

1.1. Sığır Yetiştiriciliği

Sığır yetiştiriciliği, Dünya ve Türkiye hayvan yetiştiriciliğinde büyük bir öneme sahiptir. Türkiye’de yetiştirilen büyükbaş hayvan varlığı (kültür, melez, yerli sığır ırkları ve manda dâhil) Türkiye İstatistik Kurumu’nun (TÜİK) 2009 verilerine göre bir önceki yıla oranla %1,2 azalma göstererek 10 811 165, büyükbaş hayvanlar içerisinde sığır sayısı ise %1,3 azalarak 10 723 958 baş olduğu açıklanmıştır (TÜİK 2010). Kültür ırklarında ve melezlerinde 1991 yılından başlayarak her yıl artış gözlenirken, yerli sığır ırklarında yıllara göre bariz bir düşüş olduğu görülmektedir (Çizelge 1.1.).

Çizelge 1.1. Tür ve ırklarına göre büyükbaş hayvan sayıları (TÜİK 2010).

Yıl	Sığır - Kültür	Sığır - Kültür melezi	Sığır - Yerli	Manda
1991	1 253 865	4 033 375	6 685 683	366 150
1992	1 337 410	4 131 507	6 481 990	352 410
1993	1 442 000	4 342 000	6 126 000	316 000
1994	1 512 000	4 543 000	5 846 000	305 000
1995	1 702 000	4 776 000	5 311 000	255 000
1996	1 795 000	4 909 000	5 182 000	235 000
1997	1 715 000	4 690 000	4 780 000	194 000
1998	1 733 000	4 695 000	4 603 000	176 000
1999	1 782 000	4 826 000	4 446 000	165 000
2000	1 806 000	4 738 000	4 217 000	146 000
2001	1 854 000	4 620 000	4 074 000	138 000
2002	1 859 786	4 357 549	3 586 163	121 077
2003	1 940 506	4 284 890	3 562 706	113 356
2004	2 109 393	4 395 090	3 564 863	103 900
2005	2 354 957	4 537 998	3 633 485	104 965
2006	2 771 818	4 694 197	3 405 349	100 516
2007	3 295 678	4 465 350	3 275 725	84 705
2008	3 554 585	4 454 647	2 850 710	86 297
2009	3 723 583	4 406 041	2 594 334	87 207

Türkiye’de yetiştirilen sığır ırklarının %34,72’sini kültür ırkları, %41,09’unu melez ırklar ve %24,19’unu yerli sığır ırkları oluşturmaktadır. Yerli sığır ırklarındaki düşüş ile kültür ırkı ve melezlerinin sayısının artmasının başlıca sebebi, yerli sığır ırklarının verimlerinin düşük olmasından ve özellikle yüksek verimli ırklara olan tercih nedeni ile Türkiye’ye yurtdışından değişik zamanlarda farklı kültür ırkları getirilerek yerli ırklar ile melezleme ve ıslah çalışmaları yapılmış olmasıdır.

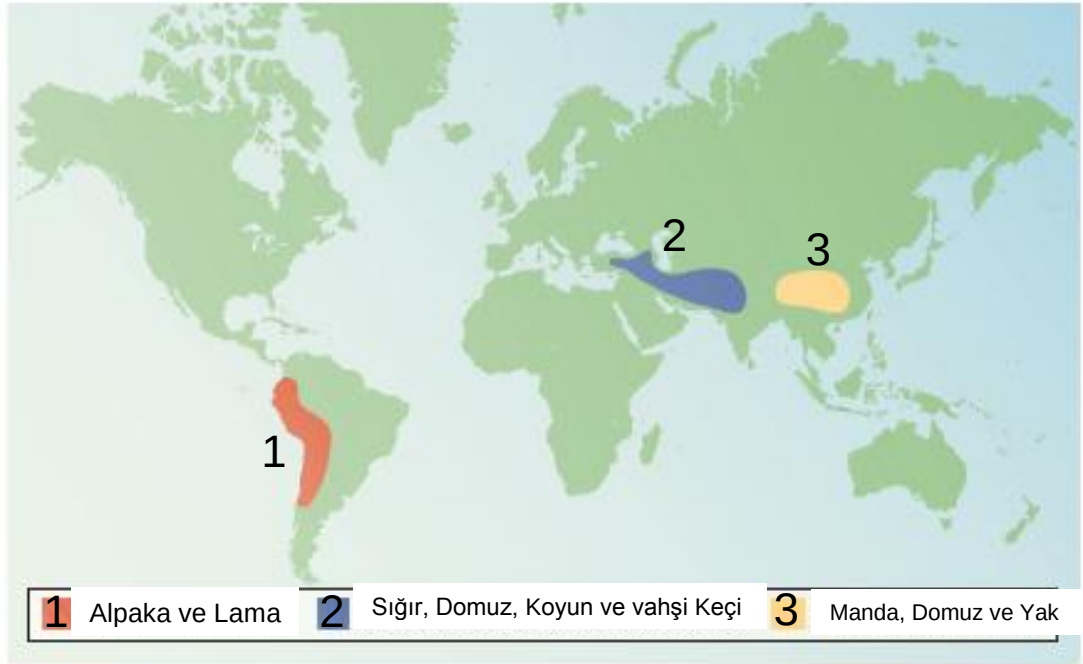
Türkiye süt üretimi, 2009 yılında önceki yıla göre %2,4 artış göstererek 12 542 186 ton olarak tespit edilmiş olup büyük bir kısmı (%92,35) sığırdan elde edilmiştir. Kırmızı et üretiminin ise bir önceki yıla göre %14,5 oranında azalarak 412 621 ton olduğu belirtilmiştir (TÜİK 2010). Türkiye’de üretilen toplam kırmızı et miktarları son 3 yıldaki verilere göre değerlendirildiğinde, 2007 yılında sığırlardan elde edilen miktar %74,96 (432 400 ton) iken sonraki iki yılda et miktarında bir önceki yıllara göre sırasıyla %14,20 (371 000 ton) ve %12,2 (325 738 ton) azalma göstermiştir (TÜİK 2008, 2009, 2010). Her yıl sığırlardan elde edilen et miktarındaki azalmaya ve sığır sayısında belirli bir düşüşe rağmen, 2009 yılında Türkiye’de elde edilen kırmızı et miktarının %78,94 (325 738 ton)’ünün sığırlardan elde edildiği dolayısıyla kırmızı et üretiminde sığırın payının arttığı görülmektedir.

1.1.1. Sığırın Önemi ve Evciltilmesi

Hayvancılığın Dünya ekonomisinde büyük bir öneme sahip olduğu bilinmektedir. Türkiye’de hayvancılık faaliyetlerinden elde edilen Gayri Safi Millî Hâsıla’da (GSMH) sığır yetiştiriciliğinin payı büyüktür. Sığırlardan elde edilen et ve süt, protein ve vitaminler yönünden zengin olması açısından insan beslenmesinde ayrı bir öneme sahiptir (Tarim.gov.tr 2004).

Evcil hayvan, “*insanlara ekonomik fayda sağlayan ve insan kontrolü altında yetiştirilip çoğaltılabilen hayvan*” olarak tanımlanmaktadır. Hayvanların evciltirme zamanı ve nasıl yapıldığına yönelik net bilgiler olmamakla birlikte ilk evciltmenin M.Ö. 12 000 yıllarında köpek üzerinde yapıldığı arkeolojik bulgulardan anlaşılmaktadır. Sığırların evciltmesinin M.Ö. 5 000 – 5 500 yıllarında özellikle Anadolu’da Çatalhöyük’te yapıldığına dair arkeolojik bilgiler bulunmaktadır (Yalçın 1981). Sığır, Anadolu’da evciltildikten sonra Güney ve Doğu Asya yönüne ayrıca Balkanlar üzerinden de Avrupa’ya yayıldığı bildirilmektedir (Akçapınar ve Özbeyaz 1999). Sığır, koyun, keçi, domuz ve manda’nın 2 farklı Asya Bölgesi’nde (Güneybatı Asya ve Doğu Asya), Lama ve Alpaca türlerinin ise Güney ve Kuzey Amerika’da (Şekil 1.1.) 8 000 – 10 000 yıl önce aynı anda ilk kez evcilleştirildiği belirtilmektedir. Ayrıca, Avrupa ve Afrika sığırlarının Taurin sığırından, Hindistan ve Afrika sığır ırklarının ise Zebu sığırından köken aldığı da bildirilmektedir (Bruford ve ark 2003).

Evcileştirme işlemi sırasında hayvan türlerinde morfolojik (vücut büyüklüğü, vücut örtüsünün rengi, deri ve kıllar, boynuzlar, iskelet yapısı, kaslar, yağ dokusu ile iç organlar) ve fizyolojik (dölverimi, süt verimi, erken gelişme ve yemden yararlanma gücü, konstitüsyon ve diğer verimler) bazı değişiklikler meydana gelmiştir (Yalçın 1981, Akçapınar ve Özbeyaz 1999).



Şekil 1.1. Bazı hayvan türlerinin ilk evcilleştirildiği bölgeler (Bruford ve ark 2003'den derlenmiştir).

1.1.2. Sığırın Zoolojik Sistemdeki Yeri

Zoolojik sistemde hayvanların sınıflandırılmasında âlem (grup), sınıf, alt sınıf, takım, alt takım, aile, alt aile, cins ve tür olmak üzere 9 basamak kullanılmaktadır. Bu sınıflandırmaya göre sığırın Zoolojik sistemdeki yeri Çizelge 1.2.'de gösterilmiştir.

Dünya'da yetiştirilen değişik evcil sığır ırklarının kökenlerini, *Bos taurus primigenius*, *Bos taurus brachyceros* (*Bos longifrons*), *Bos taurus frontosus*, *Bos taurus akeratus* ve *Bos taurus brachycephalus* yabani sığırlarından aldığı belirtilmektedir. Türkiye yerli ırklarından Boz ırkın *Bos taurus primigenius*, Yerli Kara gibi diğer Anadolu sığır ırklarının ise *Bos taurus brachyceros* yabani sığırından köken aldığı yönünde görüşler bulunmaktadır (Alpan 1993, Evrim ve Güneş 1996,

Akçapınar ve Özbeyaz 1999). Genetik parametreler üzerine yapılan bir çalışmada da (Loftus ve ark 1999), evcil sığır ırklarının kökenlerini temel olarak *Bos taurus* ve *Bos indicus* sığırlarından aldığı bildirilmektedir.

Çizelge 1.2. Sığırın Zoolojik Sistemdeki Yeri (Alpan 1993).

Zoolojik Sistem	Sınıflandırma
Âlem (Grup)	Omurgalılar
Sınıf	Memeliler
Alt Sınıf	Plasentalılar
Takım	Tırnaklılar
Alt Takım	Çift Tırnaklılar
Alt Alt Takım	Geviş Getirenler
Aile	Boş Boynuzlular
Cins	Sığırlar
Tür	Gerçek Sığır

1.1.3. Irk Karakterleri

Morfolojik olarak bir tür içindeki ırkların diğer ırklardan belirgin şekilde ayrılması yanında aynı ırk içindeki bireylerin de belirgin şekilde birbirlerine benzemeleri hayvan yetiştiriciliğinde önemlidir. Bir tür içerisinde bulunan değişik ırkları birbirinden ayıran özellikler “*ırk karakterleri*” olarak tanımlanmaktadır. Irk karakterleri, morfolojik (vücut örtüsünün rengi, nişaneleri, boynuzların bulunup bulunmaması, derinin özellikleri, vücut büyüklüğü, diğer vücut ölçülerinin yapısı vb), fizyolojik (erken gelişme yeteneği, verim gücü, yemden yararlanma gücü, konstitüsyon, adaptasyon, mizaç) (Yalçın 1981, Akçapınar ve Özbeyaz 1999) ve moleküler olarak sınıflandırılmaktadır.

1.1.4. Türkiye’de Sığırlarda Yapılan Islah Çalışmaları

Türkiye’de et, süt ve işgücünden yararlanma olanağının artırılması konusunda yerli ırkların yeterli olmayacağı görüşü üzerine başta verimin artırılması amacıyla Avrupa’dan kültür sığır ırkı damızlıklar getirilerek yerli ırkların ıslah çalışmaları yapılmıştır (Alpan 1993). Bu amaçla 1925 yılında İsviçre, Avusturya ve Batı Almanya’dan Esmer kültür ırkı, Macaristan’dan Simental kültür ırkı, 1935 yılında Avusturya’dan Esmer kültür ırkı, 1958 yılında Amerika Birleşik Devletleri (ABD), Hollanda, Danimarka ve Batı Almanya’dan Holştayn (Siyah-Alaca), ABD, İngiltere ve Danimarka’dan Jersey kültür ırkları zaman zaman ithal edilmeye başlanmış ve

belli dönemlerde yerli sığır ırkları ile melezleme çalışmalarına tabi tutulmuşlardır (Yalçın 1981, Alpan 1993). Esmer ve Holştayn verim yönünden kombine verim yönlü olan en yüksek verimli kültür ırkları olup Türkiye'nin hemen hemen her bölgesinde yetiştiriciliği yapılmaktadır. Jersey kültür ırkı ise özellikle süt verimi yönünden yetiştirilen bir ırk olup genellikle Karadeniz Bölgesi'nde yetiştirilmektedir (Yalçın 1981).

Türkiye'de sığır ıslahı çalışmalarında ağırlıklı olarak melezleme yöntemlerinden çevirme melezlemesi yöntemi kullanılmıştır. Holştayn ile Doğu Anadolu Kırmızısı, Esmer ile Boz ırk, Esmer ile Doğu Anadolu Kırmızısı, Esmer-Jersey-Holştayn ırkları ile Yerli Kara arasında melezleme çalışmaları yapılmıştır (Yalçın 1981, Evrim ve Güneş 1996, Kumlu 2003).

1.2. Türkiye Yerli Sığır Irkları

Türkiye'de yetiştiriciliği yapılan yerli ırkların toplam büyükbaş ve küçükbaş hayvan sayısının %6.80'ini oluşturduğu görülmektedir. Resmi Gazete'de (2004) yayınlanan 2004/39 numaralı "*Yerli Hayvan Irk ve Hatlarının Tescili Hakkında Tebliğ*"ine göre Yerli Kara (YK), Kilis (Güney Anadolu Kırmızısı-GAK), Yerli Güney Sarısı (YGS), Boz Irk (BOZ) ve Doğu Anadolu Kırmızısı (DAK) sığır ırkları yerli hayvan genetik kaynakları olarak tescil edilmişlerdir. Zavot (ZAV) ırkı yerli genetik kaynağı olarak düşünülmesine rağmen ilgili Tebliğe 2010 yılına kadar yapılan eklemelerde henüz tescil kapsamına girmemiştir. Resmi Gazete (2004)'de yayınlanan yerli sığır ırklarının özelliklerinden bazıları Çizelge 1.3. - 1.7. arasında özetlenmiştir.

1.2.1. Yerli Kara (YK)

Yerli Kara (YK) sığır ırkının (Resim 1.1.) kökenini *Bos taurus brachyceros*'dan (kısa boynuzlu grup) aldığı ve Türkiye'nin yerli sığır ırkları arasında sayı ve yayılma alanı olarak birinci sırayı aldığı belirtilmektedir. Yayılma alanı Orta Anadolu olup, bu bölgenin hemen hemen her yerinde yetiştirilmektedir (Alpan 1993, Fao.org 2010). YK sayısı 1990'lı yıllarda 4 500 000 civarında iken 1999 yılındaki son verilerde sayısının 100 000 – 1 000 000 arasında olduğu

belirtilmektedir (Fao.org 2010). YK ile ilgili ırk özellikleri Çizelge 1.3.'de verilmiştir.



Resim 1.1. Yerli Kara Sığırırırkı (Turkhyaygen.gov.tr 2007).

1.2.2. Doğu Anadolu Kırmızıısı (DAK)

Doğu Anadolu Kırmızıısı (DAK) ırkı (Resim 1.2.) kökenini *Bos taurus brachiceros* yabani sığırından aldığı ve Kafkasya kökenli olduğu belirtilmektedir. DAK popölasyonu 1998 verilerine göre 1 000 000 civarında olup Türkiye’de yetiştirilen sığır ırklarından sayı olarak ikinci sırayı almaktadır. Doğu ve Kuzey-Doğu Anadolu’da yetiştiriciliğı yapılan bu ırk, en yoğun şekilde Kars Bölgesi’nde bulunmaktadır. DAK bölgenin sert iklim şartlarına gayet iyi uyum sağlamış durumdadır (Alpan 1993, Fao.org 2010). DAK ile ilgili ırk özellikleri Çizelge 1.4.’de verilmiştir.



Resim 1.2. Doğu Anadolu Kırmızıısı Sığırırkı (Turkhyaygen.gov.tr 2007).

Çizelge 1.3. Yerli Kara Irkının Özellikleri (Resmi Gazete 2004).

Türü		Sığır (<i>Bos taurus</i>).	
İrki		Yerli Kara.	
Uluslararası Adı		Anatolian Black.	
Yerel Adı/Adlan		Yerli Kara, Kara Sığır.	
Yayılma Alanı		Orta Anadolu.	
Verim Yönü		Et ve süt.	
MORFOLOJİK ÖZELLİKLERİ			
Vücut Yapısı Genel Tanımı		Yükseklik ve ağırlık itibariyle küçük yapılı, kısa boynuzlu sığır ırklarındandır. Boyun genellikle orta uzunlukta, ince kıvrımlar mevcut olup, kasları az gelişmiştir. Boyunda genellikle ince kıvrımlar mevcuttur. Gerdan az gelişmiştir. Boğalarda ise boyun oldukça kısa, kaslı ve sağlam yapılıdır. Gerdan orta derecede gelişmiştir. Vücut uzuncadır. Göğüs orta derecede derindir. Yalnız kaburgaların kısa olması neticesinde göğüs, omuzlar arkasında çok dardır. Omuz genellikle dar ve uzun olup meyillidir. Sağrı sivri, meyillidir ve cidagoya nazaran daha yüksektir. Sırt çizgisi cidagonun yaptığı kabartı hariç tutulursa şakrama kadar düzdür. Arka kısım daha geniş ve yüksektir. Genellikle derisi serttir. İnce kemik yapılıdır. Bacaklar kısa, tırnaklar sağlamdır. Bilhassa kötü beslenme şartları altında yetişen yerli karalarda incik bölgesi gelişmez. Arka bacaklarda kılıç bacaklılığa çok rastlanır. X bacaklılıkta görülebilir.	
RENK	Deri Rengi	Deri ve merme siyahtır.	
	Kıl Rengi	Kuzguni siyahtır. Kıllar yazın kondisyonu iyi hayvanlarda kısa, ince ve parlaktır. Kışın genellikle uzun ve kabadır.	
	Tırnak	Siyahtır.	
	Boynuz	Siyahtır.	
	Buzağı	Kuzguni siyahtır.	
BAŞ ÖZELLİKLERİ	Baş Yapısı	Baş buruna doğru inceler. Göz çukurları belirgindir. Boğalarda baş büyükçedir, profili hafif dışbükeydir. İneklerde baş dar ve küçük, yüz uzun ve burun ucunda dışbükeylik bulunmaz.	
	Boynuz Yapısı	Ay biçiminde ve ufaktır. Boynuz genellikle ince yapılıdır. İyi oluşmamış, gayri muntazam şekilli boynuz yapısı sıkça görülmektedir. Boğalarda boynuz kısa, boynuz dibi ineklere oranla daha kalın ve genellikle yana doğru uzamıştır. İneklerde boynuzun yönü yana, yukarı ve öne doğru yönelmiştir. Çok kısa boynuzlar yana sonra hafifçe yukarı doğrudur	
VERİM ÖZELLİKLERİ			
	Min.	Mak.	Ort.
Laktasyon Süresi, gün	164.0	306.0	257.45
Laktasyon Dönemi Süt Verimi,	242.5	1508.5	1061.61
Süt Yağı, %	3.79	5.43	4.55
305 Günlük Süt Verimi, kg			1314.63
IRKA ÖZGÜ AYIRICI ÖZELLİKLERİ			
İrkin Özel Yetenekleri (Hastalıklara direnç, çevre şartlarına dayanıklılık)		Yetersiz koşullara oldukça dayanıldı, hastalık ve zararlılara karşı direnci yüksektir.	
Yetiştirme Koşullarının Özel Karakteristiği		Ekstansif koşullarda, ilkel bakım, besleme ve barındırma koşullarında yetiştirilir.	

Çizelge 1.4. Doğu Anadolu Kırmızısı Irkının Özellikleri (Resmi Gazete 2004).

Türü		Sığır (<i>Bos taurus</i>).	
İrki		Doğu Anadolu Kırmızısı (DAK).	
Uluslararası Adı		Eastern Anatolian Red.	
Yerel Adı/Adları		Doğu Anadolu Kırmızısı.	
Yayılma Alanı		Doğu Anadolu Bölgesi.	
Verim Yönü		Süt, et ve iş gücü.	
MORFOLOJİK ÖZELLİKLERİ			
Vücut Yapısı Genel Tanımı		Sırtta ester çizgisi bulunmaz. Göğüs dardır. Belden sağrıya doğru yükselme, sağrıdan kuyruğa doğru alçalma görülür. Genellikle sağrı dar, keskin, sivri ve düşüktür. Vücudun arka tarafı ön tarafından daha yüksektir	
RENK	Deri Rengi	Kırmızıya yakın kirli sarıdır.	
	Kıl Rengi	Beden rengi düz veya koyu kırmızı (karın ve memede küçük beyaz lekeler olabilir) merme ve kulak kenarındaki kıllarda siyah pigmentler bulunabilir. Açık, normal ve koyu kırmızı renklerin oranı, sırasıyla %21-32, %40-45 ve % 28-34'tür. Kimi hayvanlarda başın bazı kısımları ile boyun, göğüs ve bacaklar daha koyudur. Bazı hayvanlarda tırnak ile derinin birleştiği 2-3 cm genişliğindeki bölgede siyah tüyler olabilir.	
	Tırnak Rengi	Koyu gri renktedir.	
	Boynuz Rengi	Gri, parlak, boynuz dipleri daha açık renkte ve boynuz uçlarına doğru renk siyahlaşmaktadır. Sedef renkli boynuzlara da sıkça rastlanır.	
	Buzağı Rengi	Kırmızıdır.	
BAŞ ÖZELLİKLERİ	Baş Yapısı	Narin, ince, uzun, gözler çıkıntılı, alın çukurdur. Merme siyah renklidir.	
	Boynuz Yapısı	Pürüzsüz, kesiti yuvarlak, dip kısmı kalın, uca doğru ahenkli bir şekilde inceliyor sivrileşmektedir. Genelde hilal şeklinde olmakla birlikte farklı şekilde boynuz yapıları olabilmektedir. Yanlara düz ve kısa, ileri doğru eğik olabileceği gibi zaman zaman kulak arkasına veya geriye doğru kıvrılmış boynuz şekillerine de rastlanabilmektedir.	
VERİM ÖZELLİKLERİ			
	Min.	Mak.	Ort.
Laktasyon Süresi, gün	67.0	380.0	204.82
Laktasyon Dönemi Süt Verimi, kg	250.0	2247.0	938.92
Süt Yağı, %	2.71	6.75	3.45
305 Günlük Süt Verimi, kg	395.0	1394.0	826.30
IRKA ÖZGÜ AYIRICI ÖZELLİKLERİ			
İrkin Özel Yetenekleri (Hastalıklara direnç, çevre şartlarına dayanıklılık)	Şap vb. salgın hastalıklara özellikle yaşlı hayvanlar çok dayanıklıdır. Uygun olmayan ahır şartlarına çok dayanıklıdır. Kalitesiz yemlerden istifade edebilme yetenekleri yüksektir.		
Yetiştirme Koşullarının Özel Karakteristiği	Doğu Anadolu Bölgesinde yüksek rakımlı alanlarda yetiştirilirler. Sert kış şartlarında, havalandırma, ısıtılma sıcaklık bakımından elverişli ve sıhhi olmayan ahırlarda, küçük işletmelerce bakılıp beslenirler. Mayıs ayından itibaren meraya ve yaylalara çıkarılırlar. Genellikle, yılın 6 ayını merada geçirirler.		

1.2.3. Güney Anadolu Kırmızısı (GAK)

Güney Anadolu Kırmızısı (GAK) ırkının (Resim 1.3.) kökenini *Bos taurus brachyceros* yabani ırkından aldığı belirtilmektedir ve aynı zamanda Suriye, Lübnan,

Irak, Ürdün ve İsrail’de de yetiştiriciliği yapılmaktadır. GAK’ın Türkiye’de yayılma alanları Akdeniz bölgesi ile Güney-Doğu Anadolu’nun Suriye sınırları olup bölgenin soğuk iklimine uyum sağlamış ayrıca paraziter hastalıklara karşı dirençli olan bir ırktır. GAK popülasyonunun 1990’lı yıllarda 70 000 civarındayken 1998 verilerine göre 4 000 civarına düştüğü belirtilmektedir. GAK, yerli sığır ırkları arasında süt verimi en yüksek ırktır (Alpan 1993, Fao.org 2010). GAK ile ilgili ırk özellikleri Çizelge 1.5.’de verilmiştir.



Resim 1.3. Güney Anadolu Kırmızısı Sığırırk (Turkhygen.gov.tr 2007).

Çizelge 1.5. Güney Anadolu Kırmızısı Irkının Özellikleri (Resmi Gazete 2004).

Türü	Sığır (<i>Bos taurus</i>).
İrki	Kilis (Güney Anadolu Kırmızısı).
Uluslar arası Adı	Kilis (South Anatolian Red).
Yerel Adı/Adları	Kilis, Bahçıvan Sığırı.
Yayılma Alanı	Kilis merkez olmak üzere, İçel’den Şanlıurfa’ya kadar olan Güney Anadolu Bölgesidir.
Verim Yönü	Kombine, öncelikli süt ve et verimi.
MORFOLOJİK ÖZELLİKLERİ	
Vücut Yapısı Genel Tanımı	Asil ve zarif görümlü, boyun kısa, baş dik, cidago belirgin ve yüksektir. Yaş ilerledikçe gerdanda Zebulara benzer kıvrımlı ve sarkık bir deri yapısı gelişir ve özellikle erkeklerde hörgüç benzeri bir oluşum meydana gelir. Vücut dar ve göreceli olarak kısadır. Göğüs dar olup, sağrı kısadır. Yandan bakıldığında, cidagodan sırta ve bele doğru düşen kuyruk sokumuna kadar yükselen hafif kavisli bir sırt çizgisi görülür. Sağrı cidagodan daha yüksektir. Dar bel ve çıkıntılı kalçalardan meydana gelen derin bir açıklık çukuru vardır. Kuyruk bağlantı noktası sağrıdan yüksektir ve vücuda bağlantısı kuvvetlidir. Kuyruk ince, dik ve oldukça uzundur (arka inciklere kadar uzanabilmektedir). Bacaklar, genelde narin yapılı, ince ve oldukça uzundur, arka bacaklar ise daha incedir. Vücutta harmoni bozuktur. Bu nedenle sallantılı yürüyüş vardır.

Çizelge 1.5 (Devam). Güney Anadolu Kırmızısı Irkının Özellikleri (Resmi Gazete 2004).

RENK	Deri Rengi	Siyaha yakın kahverengidir.	
	Kıl Rengi	Sarıdan kırmızıya ve kahverengiye kadar olan renklere rastlanmaktadır. En çok rastlanan renk sarımsı kırmızıdır. Sarı renkli hayvanlarda vücutta koyulaşma noktaları yoktur veya çok azdır. Buna karşılık kırmızı renklilerde koyulaşan noktaları daha belirgin ve geniştir. Koyu sarı ve kırmızı renklilerde yanaklarda, göz etrafında, kulak kenarında ve kuyruk ucunda vücuda nazaran koyulaşma bulunur. Bazen göz kapakları, boynuz, tırnak ve burun ucuna kadar tamamen sarı hayvanlara rastlanır. Genel olarak burun etrafında vücut renginden daha açık bir halka vardır. Bacakların iç yüzeyleri, memeler ve karın altı vücuda nazaran daha açık renktedir. Kaba ve uzun tüylü olanlarda renk kirli sarı; kısa ve parlak tüylü olanlarda ise altın sarısı-kayısı sarısıdır. Vücudun ön kısmı arkaya nazaran daha koyudur. Kuyruk püskülü siyah renklidir. Sıcak aylarda kıllar oldukça parlak, kısa ve açık sarıya yakın bir renk almakta, soğuk aylarda ise kıllar uzamakta ve renk koyulaşmaktadır.	
	Tırnak Rengi	Siyaha yakın renktedir.	
	Boynuz Rengi	Siyaha yakın koyu gridir.	
	Buzağı Rengi	Koyu tarçini renktedir.	
BAŞ ÖZELLİKLERİ	Baş Yapısı	Alın, düz ve kısa olup boynuzlar arasından göz kenarı çıkıntıları üzerine doğru açılarak genişlemektedir. Yüz, alına göre dar ve mermeye doğru hafifçe içbükey bir yapı gösterir.	
	Boynuz Yapısı	Düz yüzeylidir. Boynuzlar yukarı ve iki yana doğru uzanır (hafif kavisli hilal şeklindedir); dar, ince ve kısadır. Yukarı ve öne doğru çıkıntılı boynuzlar da görülmektedir. İneklerde boynuzlar daha kısadır. Boynuzlar arası ve boynuz dibinin etrafı diğer vücut kısımlarından daha uzun kıllarla kaplıdır.	
VERİM ÖZELLİKLERİ			
	Min.	Mak.	Ort.
Laktasyon Süresi, gün	101.0	482.0	238.31
Laktasyon Dönemi Süt Verimi, kg	402.0	4675.0	1875.36
Süt Yağı, %	2.0	4.6	3.2
305 Günlük Süt Verimi, kg	402.0	4455.5	2259.84
IRKA ÖZGÜ AYIRICI ÖZELLİKLERİ			
İrkin Özel Yetenekleri (Hastalıklara direnç, çevre şartlarına dayanıklılık)	Türkiye'nin en iri ve süt verimi en yüksek yerli ırkıdır. Güney Anadolu ve Akdeniz'in sıcak iklimine adapte olmuştur. Kene ve kan parazitlerin meydana getirdiği hastalıklara dayanıklıdır. İlkel şartlarda (bakım ve beslemenin düzenli olmadığı) çok az sorunla yetiştirilebilirler. Uzun mesafeleri yürüyebilme yeteneğindedirler.		
Yetiştirme Koşullarının Özel Karakteristiği	Büyük bir kısmı ekstansif koşullarda küçük aile işletmeciliği şeklinde ilkel sayılabilecek bakım, besleme ve barındırma koşullarında yetiştirilir. Mera devresi bölgede yılın ¾'ünü, bazı yerlerde ise tamamını kapsar. Ahırda yemleme yalnız kış aylarında yapılmaktadır. Kışın sert geçtiği yerlerde (Şanlıurfa ve Gaziantep gibi) ahırlar genellikle taştan yapılmıştır. Kışın ılık geçtiği yerler de (Hatay, Adana gibi) ise ahırlar genellikle sazdan ve kerpiçten yapılmıştır.		

1.2.4. Yerli Güney Sarısı (YGS)

Yerli Güney Sarısı (YGS) sığır ırkı (Resim 1.4.) önceleri GAK'ın alt varyetelerinden birisi (Çukurova, Dörtöl, Kilis, Halep) olduğu belirtilmekle birlikte

(Evrım ve Güneş 1996) 2004’de çıkarılan Tebliğ (Resmi Gazete 2004) ile Çukurova ve Dörtöl alt varyeteleri YGS adıyla ayrı bir ırk olarak tescil edilmiştir. YGS popölasyon büyüklüğü 1990’lı yıllarda 20 000 olarak bildirilmiştir (Fao.org 2010) YGS ile ilgili ırk özellikleri Çizelge 1.6.’da verilmiştir.



Resim 1.4. Yerli Güney Sarısı Sığır Irkı (Turkhaygen.gov.tr 2007).

Çizelge 1.6. Yerli Güney Sarısı Irkının Özellikleri (Resmi Gazete 2004).

Türü	Sığır (<i>Bos taurus</i>).	
İrki	Yerli Güney Sarısı.	
Uluslar arası Adı	Native Southern Yellow.	
Yerel Adı/Adları	Yerli sarı, Çukurova, Dörtöl, Siverek.	
Yayılma Alanı	Mersin’den başlayarak Hatay’a ve Şanlıurfa’ya kadar olan illerde, başlıca Toros ve Amonos dağları ile Akdeniz arasında kalan bölgelerde ve kısmen bu dağların kuzey ve doğusunda yayılmıştır.	
Verim Yöntü	Süt, Et.	
MORFOLOJİK ÖZELLİKLERİ		
Vücut Yapısı Genel Tanımı	Küçük yapılıdır. Sırt yüksekliği ölçü noktası cidagodan 1.07 cm kadar aşağıdadır. Sağrı yüksekliği cidagodan daha fazladır. Sırt hattı düzdür. Sırt hattı cidagodan itibaren kuyruk sokumuna kadar iki yana keskin bir şekilde iner. Bu nedenle vücut dar görünümlüdür. Cidago-sırt yükseklik farkı itibariyle Yerli Karaları, sağrı-kuyruk sokumu yükseklik farkı itibariyle de Doğu Anadolu Kırmızısı sığırılarını andırmaktadır	
RENK	Deri Rengi	
	Kıl Rengi	Kirli sarıdan kırmızı tarçini renge kadar değişmektedir. Göz etrafı, yüzün yan kısımları, boyun ve kürekler vücudun esas rengine nazaran koyucadır. Burun ucu siyaha kadar değişen koyu renkte, burun ve ağız etrafında vücuda nazaran hafif açık renkli, bazen kirli beyaz bir halka mevcuttur. Bacakların iç tarafları açık renklidir, kuyruk ucu püskülü genel olarak vücuda nazaran koyudur. Kılları kalın ve uzun olanlarda renk kirli sarı görünmektedir. Derisi ince, kılları kısa ve ince olanlarda renk daha parlaktır ve daha çok açık kırmızı renge rastlanır.
	Tırnak Rengi	Siyahtır.
	Boynuz Rengi	Siyahımsı koyudur.
	Buzağı Rengi	

Çizelge 1.6 (Devam). Yerli Güney Sarısı Irkının Özellikleri (Resmi Gazete 2004).

VERİM ÖZELLİKLERİ			
	Min.	Mak.	Ort.
Laktasyon Süresi, gün	158.0	235.0	188.7
Laktasyon Dönemi Süt Verimi, kg	444.0	794.0	633.4
Süt Yağı, %	3.0	4.1	3.64
305 Günlük Süt Verimi, kg			
IRKA ÖZGÜ AYIRICI ÖZELLİKLERİ			
İrkin Özel Yetenekleri (Hastalıklara direnç, çevre şartlarına dayanıklılık)			
Yetiştirme Koşullarının Özel Karakteristiği	Ekstansif koşullarda küçük aile işletmeciliği şeklinde ilkel sayılabilecek bakım, besleme ve barındırma koşullarında yetiştirilirler. Küçük yapılı olmaları nedeniyle dağlık bölgelere daha iyi uyum sağlamışlardır. Yaygın olarak köy sürüleri şeklinde yetiştirilirler.		

1.2.5. Boz Irk (BOZ)

Bos taurus primigenius yabani sığır ırkından köken aldığı belirtilen Boz Irk (Resim 1.5.) Anadolu ve Trakya'nın tipik step sığır ırkıdır. Balkan bölgesinin ortak yerli sığırını olarak kabul edilen BOZ popülasyonu 1975'li yıllarda 930 000 iken bu sayı 2004 verilerine göre 20 395'e kadar düşmüştür. BOZ, Türkiye'de koruma altına alınan ilk ırktır. Boz ırk yapısı gereği ağırlıklı olarak iş gücü yönünden yetiştiriciliği yapılmıştır (Alpan 1993, Fao.org 2010). BOZ ile ilgili ırk özellikleri Çizelge 1.7.'de verilmiştir.



Resim 1.5. Boz Sığır Irkı (Turkhaygen.gov.tr 2007).

Çizelge 1.7. Boz Irkın Özellikleri (Resmi Gazete 2004).

Türü		Sığır (<i>Bos taurus</i>).	
İrkı		Boz ırk.	
Uluslararası Adı		Anatolian Grey, Turkish Grey.	
Yerel Adı/Adları		Boz, Step Sığırı, Plevne Sığırı.	
Yayılma Alanı		Trakya, Güney Marmara, Kuzey Ege ve Orta Anadolu’nun Batısı.	
Verim Yönü		Et, süt.	
MORFOLOJİK ÖZELLİKLERİ			
Vücut Yapısı Genel Tanımı		Beden sağlam yapılıdır. Sağrının kuyruk sokumuna yakın kısmı oldukça dardır, bu nedenle üstten bakıldığında üçgen şeklinde görünür. Erkeklerde vücut önden arkaya doğru daralır. Sağrı cidagoya göre daha yüksektir.	
RENK	Deri Rengi	Koyu gridir.	
	Kıl Rengi	Açık gümüşiden koyu kül rengine kadar değişir. Boğaların göz etrafında gözlük gibi koyu halka vardır. Boğalarda mermenin üst sınırında siyah bir halka vardır. Kulakların içi siyah kıllarla kaplıdır. İnekler boğalara göre daha açık renkli olurlar. Genellikle boyun, döş göğüs, omuzların alt kısımları ve bacaklar vücudun diğer yerlerine göre daha koyudur.	
	Tırnak Rengi	Siyahtır.	
	Boynuz Rengi	Dipleri sarımsı beyaz, uçları siyahtır.	
	Buzağı Rengi	Açık kahverengi doğar, büyüdükçe renk griye dönüşür.	
BAŞ ÖZELLİKLERİ	Baş Yapısı	Baş dar ve uzun, alın kareye yakın, yüz dikdörtgen şeklindedir.	
	Boynuz Yapısı	Dairesel kesitli, boğumsuzdur.	
VERİM ÖZELLİKLERİ			
	Min.	Mak.	Ort.
Laktasyon Süresi, gün	78.0	350.0	220.13
Laktasyon Dönemi Süt Verimi, kg	157.0	2965.0	1095.63
Süt Yağı, %	2.5	6.12	3.93
İRKA ÖZGÜ AYIRICI ÖZELLİKLERİ			
İrkin Özel Yetenekleri (Hastalıklara direnç, çevre şartlarına dayanıklılık)	Ani yem değişikliklerine dayanıklıdırlar. Oldukça gelişmiş bir sindirim sistemine sahiptirler. Düşük kalitedeki yemleri değerlendirebilirler. Her türlü olumsuz doğa şartlarına ve yetersiz beslenmeye dayanıklıdırlar. Hastalık ve zararlılara karşı oldukça dayanıklıdırlar, hastalandıkları takdirde çok hızlı iyileşirler. Doğada hiçbir insan müdahalesi olmadan yaşama, beslenme ve üreme yeteneğine sahiptirler. Güçlü ve sert tırnaklara sahiptirler. İklima uyma kabiliyeti çok yüksektir.		
Yetiştirme Koşullarının Özel Karakteristiği	İrkin doğal yaşam alanları genelde dağlık bölgelerdeki orman içleri ve engebeli arazilerdir. Bu tür alanlarda hiçbir insan müdahalesi olmadan beslenip üreyebilmektedirler.		

1.2.6. Zavot (ZAV)

Kars ilinin Zavot Bölgesi'nde yetiştirilmektedir (Resim 1.6.), Ukrayna Step ırkı, Simental, İsviçre Esmeri kültür ırkları ile bölgenin yerli ırklarının (DAK) melezlenmesi sonucu elde edilen ve soğuk iklim şartlarına dayanıklı yerli genetik

kaynağıdır. Henüz tescil kapsamına girmemiştir (Evrin ve Güneş 1993, Fao.org 2010). ZAV popülasyonu 1990 yılında 30 000 civarında iken bu sayı 1998 yılındaki verilere göre 1 000 – 10 000 civarına düştüğü ve 2003 yılında risk altındaki sürü grubuna girdiği belirtilmektedir (Fao.org 2010). ZAV ile ilgili ırk özellikleri Çizelge 1.8.'de verilmiştir.



Resim 1.6. Zavot Sığır Irkı (Turkhygen.gov.tr 2007).

Çizelge 1.8. Zavot Irkın Özellikleri (TAGEM 2009).

Türü		Sığır (<i>Bos taurus</i>).
İrki		Zavot.
Yerel Adı/Adları		Zavot.
Yayılma Alanı		Kars, Ardahan illeri ve çevresi.
Verim Yönü		Kombine, süt ve et.
MORFOLOJİK ÖZELLİKLERİ		
Vücut Yapısı Genel Tanımı		Vücut orta irilikte ve sağlam yapılıdır. Sırt hattı düz, kemikler sağlam, deri elastiktir.
RENK	Deri Rengi	Genelde beyaz renkli olup açık sarı renkli olanlarına da rastlanır.
	Kıl Rengi	Merme açık, koyu veya lekeli olabilir.
BAŞ ÖZELLİKLERİ	Baş Yapısı	Baş süt tipi sığır ırklarına benzemektedir.
	Boynuz Yapısı	Erkekler ve dişiler boynuzludur
VERİM ÖZELLİKLERİ		
	Min.	Mak.
Laktasyon Süresi, gün	275	300
Laktasyon Dönemi Süt Verimi, kg	2300	3300
Süt Yağı, %	3.5	4.5
İRKA ÖZGÜ AYIRICI ÖZELLİKLERİ		
İrkin Özel Yetenekleri		Bölgeye adapte olmuş, zor iklim şartlarına ve hastalıklara karşı dayanıklıdır
Yetiştirme Koşullarının Özel Karakteristiği		Karasal iklim hüküm sürdüğü, engebeli arazilerde ve ilkel barınakların bulunduğu şartlarda yetiştirilmektedir. Mayıs ayından itibaren meraya ve yaylalara çıkarılırlar. Genellikle yılın altı ayını merada geçirirler. Mera süresince ek yemleme yapılmaksızın köy sürüleri şeklinde yetiştirilir.

1.3. Genetik ve DNA

Gregor Johan Mendel, 1858–1865 yıllarında bezelyeler üzerinde yaptığı denemelerin sonuçlarını 1865 yılında yayınlayarak genetiğin temel ilkelerini önermiştir (Bateson 1902). Yirminci yüzyılın başlarında somatik karakterlerin kromozomlar üzerinde bulunduğu ve kromozomların gelişim ve karakterlerin kalıtımında önemli görevlerinin bulunduğu da keşfedilmiştir. II. Dünya savaşı sonrası genetik materyalinin detaylı olarak anlaşılmasına başlanması nedeniyle moleküler biyoloji yöntemleri ile uygulamalarında (rekombinant DNA çalışmaları, DNA biyoteknolojileri) büyük ilerlemeler görülmüştür.

1.3.1. Sığır Genomu

Sığır genom projesine ilk kez 2003 yılında Texas-Amerika’da Dr. Richard Gibbs ve Dr. George Weinstock tarafından başlanmıştır. Geviş getiren memeliler arasında uluslar arası bir konsorsiyum ile genom projesi tamamlanan ilk tür sığırdır. Sığır genomu ve genom bilgisi evrimsel biyoloji, çiftlik hayvanı üretimi, popülasyon genetiği ve karşılaştırmalı genomik çalışmaları için önemlidir (Csiro.au 2006). ENSEMBL genom veri tabanındaki (Ensembl.org 2010) son güncellemelerle birlikte, 30 çift kromozomdan oluşan sığır genomu 3 247 516 410 bç den meydana gelmektedir ve 25 000 – 30 000 gen içermektedir. Sığır genomu 225 837 tane gen exon bölgesi içerirken bu exonlardan 31 599 tanesinin transkripsiyonu bildirilmiştir (Ensembl.org 2010). Hayvanlarda Online Mendel Kalıtımı (Online Mendelian Inheritance in Animals- OMIA) veritabanına (Angis.org.au 2011) göre sığırlarda toplam genetik tabanlı 395 karakter tespit edilmiş olup bunlardan 93 tanesinin tek bir lokusta olduğu ve 59 tanesi ise moleküler seviyede karakterize edilmiştir. Ayrıca 134 sığıra ait fenotipin insan ile 238 fenotipin ise diğer türlerin (insan hariç) fenotipleri ile benzer olduğu ve dolayısıyla sığırın model organizma olarak kullanılabileceği bildirilmektedir (Angis.org.au 2011).

Ekonomik öneme sahip özelliklerin ve hastalıklara sebep olan gen bölgelerinin tespiti amacıyla genom tarama çalışmalarında genetik haritalama yöntemleri sık kullanılmaktadır. Sığırdaki ilk genom haritalama çalışması 350 markör kullanılarak 13 kromozomu kapsayacak şekilde yapılmıştır (Fries ve ark 1993).

Afrika, Avustralya, Avrupa ve Amerika'dan pedigri bilinen sığır sürüleri kullanılarak Uluslar arası Sığır Referans Popülasyonu (IBRP) oluşturulmuştur (Barendse ve ark 1993). Yapılan I. nesil bağlantı (linkage) haritaları (Barendse ve ark 1994, Bishop ve ark 1994) tüm sığır genomunu tam anlamıyla kapsamamaktaydı. Bu nedenle IBRP paneli veya A.B.D. Tarım Bakanlığı (USDA) referans popülasyonu kullanılarak daha yüksek çözünürlükte II. nesil bağlantı haritaları kısa sürede oluşturulmuştur (Barendse ve ark 1997, Kappes ve ark 1997). Sığırlarda genetik bağlantı haritalama çalışmalarında kullanılmak üzere, genetik çeşitliliğin oldukça farklı olması nedeniyle farklı iki türün (*Bos taurus* X *Bos gaurus*) birleştirilmesi ile Interspecific Hybrid Backcross (IHB) paneli oluşturulmuştur (Riggs ve ark 1997). Bu panel, sığır 2. kromozomu (BTA2), BTA28 (Riggs ve ark 1997), BTA7 (Gao ve Womack 1997) ve BTA19 (Yang ve Womack 1997) haritalama çalışmalarında kullanılmıştır.

Tüm sığır genomunu kapsayan çalışmaların yapılmasının mümkün olmadığı tahmin edilmekteydi. Bu amaçla, farklı çalışmalara ait genotip verilerinin birleştirilmesi ile oluşturulacak konsensüs bağlantı haritaları oluşturulmaktadır. Ayrıca genom bakımından birbirlerine yakın olan türlerin bağlantı haritaları kullanılarak homolog kromozom bölgeleri tanımlanabilmektedir. Örneğin sığır 7. kromozomunun, insan 5. kromozom q kolu ve insan 19. kromozomun p kolu ile homolog olduğu tespit edilmiştir (Gao ve Womack 1997).

1.3.2. Popülasyon Genetiği

Popülasyon, aynı türden olan, aynı coğrafyada yaşayan, potansiyel olarak birbirleri ile çiftleşebilen ve aynı özelliklere sahip bireylerin oluşturduğu topluluktur. Popülasyon genetiğinin inceleme alanına bireylerden daha ziyade bir popülasyonun tümünün genetik yapısı girmektedir. Popülasyonun zaman içerisinde nasıl bir gelişim gösterdiğini incelemek amacıyla farklı lokusların allel frekansları dikkate alınmaktadır (Alpan 1992, Passarge 2000, Yıldırım ve ark 2008). Popülasyon genetiği çalışmaları, popülasyonlarda belirli genetik varyasyonun nasıl korunduğunu ve bazı varyasyonların nasıl ortadan kaybolduğunu araştırmaktadır. Ayrıca gen frekanslarının gelecek nesillerdeki oranlarını tahmin etmeye çalışan, allellerin dağılımını ve bunların frekanslarını değiştiren veya koruyan faktörler üzerinde

araştırma yapan genetiğin alt dallarından birisini oluşturmaktadır (Klug ve Cummings 2000, Passarge 2000).

İngiliz matematikçisi Geoffrey H. Hardy ve Alman fizikçisi Wilhelm Weinberg, 1908 yılında ayrı ayrı yaptıkları çalışmalar sonucunda a) allel frekansları yoluyla genotip frekanslarının tahmin edilmesi, b) denge durumunda allel ve genotip frekanslarının generasyonlar arasında değişmemesi ve c) rasgele çiftleşmenin sağlandığı tek generasyonda dengeye ulaşması olmak üzere 3 prensip ve koşula göre popülasyondaki frekansların bir dengede olduğunu bildirmişlerdir (Passarge 2000, Yıldırım ve ark 2008). Zararlı olan homozigot alleller popülasyonda çok fazla meydana gelmediğinden dolayı yok olacaklardır. Bununla birlikte yeni mutasyonlar meydana gelerek yeni nesillerde bir denge korunmuş olacaktır ki bu duruma Hardy-Weinberg dengesi (HWE) denilmektedir (Passarge 2000). HWE temel olarak, yeteri kadar geniş ve rasgele çiftleşmeler yapılan popülasyonlarda, mutasyon, seleksiyon, genetik kayma ve göçün (popülasyondan bir allel kaybolduğunda veya yeni bir allel geldiğinde) olmadığı durumlarda geçerli olmakta ve denge korunabilmektedir (Passarge 2000).

Bir lokusa ait bir allelin bulunma sıklığına o allelin frekansı (sıklığı) veya gen frekansı denilmektedir. Bireyin genotip frekansı bazında değil popülasyon bazında allel frekansını tanımlamaktadır. Örneğin, bir lokusa ait *A* ve *a* allellerinin frekansları sırasıyla *p* ve *q* ile tanımlanırsa toplam frekansları %100 (yani 1.0) olmalıdır. Gen frekanslarının hesaplanmasında değişik metotlar kullanılmakta olsa da en sık kullanılan yöntem allellerin sayımına dayanmaktadır. Bu metot da fenotipe bakarak bütün genotiplerin tespit edilebildiği karakterler için kullanılmaktadır (Alpan 1992, Klug ve Cummings 2000, Passarge 2000).

İki allelli lokusun dağılımı $(p+q)^2 = 1$ şeklinde binomial ilişki gösterir ve genotip dağılımı $p^2 + 2pq + q^2 = 1$ olacaktır. Popülasyon genetiğinde yapılan çalışmaların ilk aşaması ilgili lokusta bulunan allel frekanslarının hesaplanmasıdır. Bu amaçla, çok sayıda bireyin genotipinin belirlenmesi gerekmektedir. Popülasyondaki her bir karakter için ikiden fazla genetik varyantın bulunmasına genetik polimorfizm denilmektedir (Alpan 1992, Klug ve Cummings 2000, Passarge 2000).

1.4. Genetik Markörler

Moleküler biyoloji alanındaki gelişmeler sonucunda günümüzde markörler genel olarak genomun spesifik bir bölgesini tanımlamak amacıyla kullanılmaktadır. Genom analizleri ve genetik çalışmalarda morfolojik, protein ve DNA markörleri olmak üzere 3 tip markör kullanılmaktadır (Liu 1998).

1.4.1 Morfolojik Markörler

Genler ve kromozomlar hakkında yeterli bilgi eksikliğinden dolayı ilk çalışmalar, göz rengi, kanat yapısı, boynuzluluk, deri rengi gibi basit Mendel kalıtımı gösteren özellikler üzerinde yapılmıştır. Bu gibi morfolojik karakterler, spesifik genler için güvenilir indikatörler olarak kullanılabilirler ve bu özellikleri kodlayan genlerin kromozom üzerinde yerlerinin tanımlanmasında faydalı olmaktadır. Çok sayıdaki morfolojik markör insan, hayvan ve bitki genetik çalışmalarında kullanılmaktadır. Morfolojik markörlerin gözlenmesi kolay olmasına rağmen allel sayılarının nispeten az olmasından dolayı kullanımı kısıtlı kalmaktadır (Liu 1998).

1.4.2. Protein Markörleri

DNA'dan öncelikle transkripsiyon yoluyla mRNA ve en sonunda da translasyon yoluyla proteinler elde edilmektedir. Amino asit bileşimi, moleküler ağırlıkları ve antikor-antijen ilişkilerindeki farklılıklar nedeniyle proteinler için farklı alleller bulunabilmektedir. Moleküler büyüklük ve aminoasit bileşimi farklılıklardan dolayı proteinler, jel elektroforez yöntemi kullanılarak kolaylıkla ortaya çıkarılabilir ve genetik markör olarak kullanılabilirler. Genetik çalışmalarda ilk zamanlarda protein polimorfizmlerinin araştırılması amacıyla kan antijenleri ve izoenzim markörleri yaygın olarak kullanılmıştır. İzoenzimler, alternatif bir enzim formudur ve aynı enzim aktivitesine sahip olmalarına rağmen elektroforetik hareketleri farklılık göstermektedir (Liu 1998). Genetik çalışmalarda kan ve doku proteinleri de yaygın olarak kullanılmaktadır. Fakat özellikle kan grubu ve protein markör sistemlerinin genomun bazı bölgelerinde toplanmış bulunmaları, polimorfizm değerlerinin nispeten düşük olması, spesifik olarak kan örneklerine gereksinim duyulması, iş yükünün ağır olması ve analizlerin uzun zaman alması nedeniyle ve moleküler

biyolojideki gelişmelere bağlı olarak yerini DNA esaslı markörlere bırakmıştır (Kurar 2001, Özşensoy 2007).

1.4.3. DNA Temelli Markörler

DNA markörleri, bir tür içerisindeki farklı bireylerde sekans polimorfizmi gösteren DNA bölgeleridir ve varyasyonun belirlenmesinde günümüzde en sık kullanılan yöntemdir (Liu 1998). Polimeraz Zincir Reaksiyonunun (PZR) keşfinden sonra genetik çalışmalarda PZR temelli markörler daha çok tercih edilmeye başlanmıştır. Karry Mullis tarafından 1985 yılında ilk kez ortaya konulan bu teknoloji sayesinde genomun spesifik bölgeleri *in vitro* şartlarda çoğaltılabilmekte ve elektroforez teknikleri ile görüntülenmesi mümkün hale gelmiştir. DNA teknolojisi ve moleküler biyolojideki hızlı gelişmeye paralel olarak daha ekonomik, kolay ve polimorfik olmalarından dolayı özellikle PZR temelli DNA markör sistemleri (RFLP, RAPD, EST, STS, SSCP, AFLP, STR ve SNP) genetik çalışmalarda daha yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır (Weber ve May 1989, Liu 1998). Bu markör sistemlerinden aşağıda kısaca bahsedilmiştir.

Restriction fragment lenght polymorphism (RFLP)

Restriksiyon endonükleaz (RE) enzim kesimleri ile oluşturulan farklı DNA parça uzunlukları restriksiyon parça uzunluk polimorfizmleri (RFLPs) olarak adlandırılmaktadır (Klug ve Cummings 2000). RFLP teknolojisi ile DNA dizisinde bulunan dizilim farklılıkları kolayca tespit edilebilmektedir. RFLP'lerin belirlenmesinde DNA öncelikle bir RE enzimi ile kesilerek DNA parçacıkları agaroz jel elektroforezinde ayrıştırılır. DNA dizilim farklılıklarına göre genom bölgesinde farklı RE kesim alanları ve dolayısıyla bireyler arasında farklı DNA fragman profilleri oluşacaktır. Alkali jelde denatüre olmuş DNA fragmanları nitroselüloz kâğıdı üzerine alınır. İşaretli bir DNA probu kullanılarak spesifik DNA fragmanları ve profili tespit edilebilir (Botstein ve ark 1980).

RFLP markörlerin en önemli avantajı spesifik sekans bilgisine ihtiyaç bulunmamasıdır. RFLP yöntemi, türler, cinsler hatta büyük popülasyonların analizinde kullanılabilir. Güvenilir olup, basit Mendel yasalarına uygun

olarak kodominant (dominant ve resesif allel tanımlanabilir) özelliktedirler. Polimorfizm oranı çok yüksek olmasından dolayı ilk pedigri ve haritalama analizlerinde tercih edilen markör sistemi olmuştur. RFLP markör sisteminin dezavantajları ise; analizin yapılabilmesi için yeterli miktarda DNA'ya ihtiyaç bulunmakla birlikte teknolojik olarak pahalı, uzun ve yorucu bir yöntemdir (Botstein ve ark 1980).

Sequence tagged sites (STSs) ve Expressed sequence tags (ESTs)

İşaretlenmiş dizi bölgeleri (STSs) markörleri, yaklaşık 300 baz çifti (bç) den oluşan küçük genom bölgelerini tanımlarlar ve özellikle hayvanlarda ve bitkilerde haritalama çalışmalarında yaygın şekilde kullanılmaktadır (Liu 1998). STS markörleri, genomun fonksiyonel olmayan daha ziyade intron bölgelerinden geliştirilmişlerdir. Dolayısıyla, STS'ler türler arası ve bir tür içi dizilim farklılıklarına ve varyantlara sahiptir. Bağlantı analiz yöntemlerinde tercih edilen markör sistemleridir.

Ekspres olan sekans işaretleri (ESTs) markörleri genomun fonksiyonel olan (eksprese olan) kısımlarını tanımlamak amacıyla kullanılmaktadır (Liu 1998). EST markörleri, fonksiyonları nedeniyle türler arasında da benzerlik gösterirken, DNA dizilimi bakımından yeterince farklılık gösterememektedir. EST veritabanına göre sıgırlarda toplam 1 596 954 EST bulunmakta, en fazla EST *Bos taurus* türünde (1 559 494), en az EST ise *Bos grunniens* türünde (74) bulunmaktadır (Ncbi.nlm.nih.gov 2010).

Single-strand conformational polymorphism (SSCP)

Tek zincir konformasyonel polimorfizm (SSCP) markörleri, bir DNA dizilim bölgesindeki (1000 bç den daha kısa) sekans varyantları ve mutasyonları (nokta mutasyonları) belirlemede kullanılan bir markör sistemidir (Orita ve ark 1989). PZR ile çoğaltılan bir genom bölgesi, uygun ısıda denatürasyona tabi tutularak mutasyon bölgesinde II. ve III. DNA yapılarının oluşturulması esasına dayanmaktadır. Varyasyona bağlı olarak oluşan II. ve III. yapıdaki DNA molekülleri jel elektroforezinde farklı bant profilleri oluşturarak varyantların tespitine olanak

sağlamaktadır. Teknoloji olarak basit olmasına rağmen, her bir mutasyon için farklı ortamların oluşturulması gerekliliği, bu tekniğin uygulamasını kısıtlayan en önemli etkindir (Liu 1998).

Randomly amplified polymorphic DNA (RAPD)

Rastgele yükseltilmiş polimorfik DNA (RAPD) markörleri, PZR tabanlı olup ilk kez Williams ve ark (1990) tarafından geliştirilmiştir. Rastgele nükleotid dizilimine sahip olan tek bir primerin kullanılmasıyla DNA parçaları yükseltilmekte ve oluşan farklı bant profiline göre DNA polimorfizmi tespit edilebilmektedir. Bu markör kullanılarak yapılan çalışmalarda, aynı lokustaki iki farklı allel belirli büyüklükteki bantların varlığıyla ya da yokluğuyla ayırt edilebilmektedir (Liu 1998).

RAPD markörlerinin avantajları, DNA sekans bilgisine ihtiyacın olmaması, diğer markörlere göre ucuz ve daha az miktarda DNA ile kısa sürede sonuçlar alınabilmesi olması rağmen en önemli dezavantajı diğer markörlere göre özellikle RFLP ye göre güvenilirliğinin düşük olmasıdır. Bundan dolayı genellikle RFLP ile birlikte değerlendirmeye alınırlar (Williams ve ark 1990).

Amplified fragment length polymorphism (AFLP)

Yükseltgenmiş parça uzunluk polimorfizm (AFLP) tekniği, RE enzimleri ile kesilmiş genomik DNA parçalarının seçici PZR ile çoğaltılması temeline dayanmaktadır. Bu teknik, DNA'nın enzimlerle kesilmesi ve oligonükleotid adaptörlerin bağlanması, kesilen bölgelerin seçici PZR yöntemiyle çoğaltılması ve çoğalan bölgenin jelde analiz edilmesi olmak üzere 3 temel aşamadan meydana gelmektedir. RE ile kesilen parça bölgeleri nükleotid dizilimi bilinmeden PZR ile görüntülenebilmektedir. Parmak izi analizlerinde ağırlıklı olarak kullanılan AFLP markör sistemi, RFLP markörüne benzer özelliklere sahip olmakla birlikte RFLP'ye göre analizi daha kolaydır ve daha az miktarda DNA'ya gereksinim duymaktadır (Vos ve ark 1995).

Single nucleotide polymorphisms (SNPs)

Tek nükleotid polimorfizmleri (SNPs) genomun herhangi bir bölgesindeki tek nükleotid dizilim farklılıklarıdır. Genomda oldukça yaygın bulunan bu markörlere intron ve ekzon bölgelerinde, 500–1000 bç sıklıkta rastlanılabilir (Wang ve ark 1998). Sığırlarda her 443 bç de ortalama bir SNP bulunduğu (Vignal ve ark 2002) bildirilmekle birlikte coğrafik ve biyolojik olarak 19 farklı sürüden 497 sığırdan yapılan çalışma sonucunda 37 470 SNPs probu geliştirilmiştir (The Bovine HapMap Consortium 2009). ENSEMBL veri tabanındaki bilgilere göre, sığır genomunda toplam 2 074 230 SNP bulunmakta, en fazla SNP BTA1’de (150 231 adet) en az SNP ise mtDNA’da (5 adet) tespit edilmiştir (Ensembl.org 2010). Genellikle iki allele sahip olan SNP markörlerinin polimorfizmleri daha düşük kalmaktadır. Geliştirilen yeni moleküler biyoloji teknikleri örneğin mikroarrayler ile çok sayıda SNP’in analizleri daha hızlı ve ekonomik olarak yapılabilmektedir.

Mitokondrial DNA (mtDNA)

Maternal kalıtım gösteren mtDNA, sirküler (çembersel) yapıda, çift zincirli ve toplam genetik materyalin %0,3’ünü oluşturmaktadır (Başaran 2004). mtDNA’da gözlenen mutasyon nDNA’ya göre daha hızlıdır. Bu polimorfizmin sebebi olarak, mtDNA’da meydana gelen mutasyonların nDNA’da meydana gelenlerden yaklaşık 10–20 kat daha fazla olması, tamir mekanizmasının bulunmaması gösterilmektedir. Sonuçta oluşan mutasyon hızı, mtDNA’nın baz diziliminde çok farklı varyasyonların oluşmasına yol açmaktadır (Passarge 2000, Başaran 2004). mtDNA, göç haritalarının çıkarılması, arkeolojik kazılarda elde edilen kemiklerden kimlik tespiti çalışmalarında kullanılmaktadır (Başaran 2004). Sığır mtDNA’sı toplam 16 338 bç den meydana gelmektedir ve 13 protein kodlayan gen bölgesi bulunmaktadır (Ensembl.org 2010).

1.5. Mikrosatellitler - Short Tandem Repeats (STRs)

Genomda bir lokusta arka arkaya gelen rastgele tekrar dizilerine Tek art arda tekrarlar (STRs) denilmektedir. STR’lerin 1–6 bç tekrarlarından oluşmuş markörlere mikrosatellit markörler veya basit dizi tekrarları (SSR; Simple Sequence Repeat)

denilmektedir (Weber ve May 1989, Liu 1998). Genomda 9–100 bç arasında değişen rastgele dizi tekrarları ise minisatellit markörler veya Değişken nükleotid art arda tekrarlar (VNTR; Variable Nucleotid Tandem Repeats) olarak tanımlanmaktadır. Mikrosatellitlerin tekrar sayısı genelde 100'den, minisatellitlerin tekrar sayısı ise 1000'den daha azdır (Liu 1998). Mikrosatellitler prokaryot ve ökaryot genomun herhangi bir bölgesinde bulunabilmektedir. Prokaryotlarda birçok biyolojik fonksiyona sahip olduğu halde ökaryot hücrelerde rolü tam olarak bilinmemektedir (Bennett 2000). Mikrosatellit markörler, yaygın olarak 2 nükleotidli tekrarlardan [(CA)_n] oluşmakla birlikte farklı formlarda da (AC, AT, AAC, AAT, CCG vb) bulunabilmektedir (Ellegren ve ark 1997, Orti ve ark 1997, Tóth ve ark 2000, Bruford ve ark 2003). Sığır genomunda ortalama 40,000 bç sıklığında mikrosatellit markörü bulunmakta ve 4357 mikrosatellit belirlenmiştir. En fazla lokus BTA1'de (286) en az lokus ise Y kromozomunda (40) bulunmaktadır (Institut National de Recherche Agronomique 2010).

Mikrosatellit (STR) markörleri, PZR teknolojisinin yardımıyla genetik çalışmalarda en çok tercih edilen markör sistemini oluşturmaktadır (Weber ve May 1989, Liu 1998). Mikrosatellitlerde tekrar bölgelerini kuşatan DNA dizileri bir tür içerisinde bireylerde aynı olmasına rağmen tekrar dizilim sayıları bireyler hatta bireyin homolog kromozomları arasında dahi farklılık gösterebilmektedir. Üç nükleotid tekrarlı mikrosatellit bölgelerinin %60 oranında polimorfik olduğu, 2 bç tekrarlı mikrosatellitlerin ise %100 polimorfik özelliğe sahip olduğu belirlenmiştir (Metta ve ark 2004).

Mikrosatellitler diğer moleküler markör tiplerine göre birçok avantaja sahiptir. Mikrosatellitler, genomda yaygın olarak bulunmaları, oldukça yüksek oranda polimorfizm göstermeleri, PZR teknolojisi ile kolayca analiz edilebilmeleri, ko-dominant özellikte olmaları nedeniyle farklı genom ve popülasyon analizlerinde (gen haritalarının oluşturulması, popülasyonların moleküler düzeyde analizi, karakterleri kontrol eden kantitatif gen ve kromozom bölgelerinin tayini, moleküler ıslah, filogenetik çalışmaları ile adli tıpta birey ve ebeveyn tayini işlemleri) tercih edilmektedir (MacHugh ve ark 1997, Kurar 2001, Freeman ve ark 2005). Bir türün mikrosatellit karakterizasyonu ve tanımlanması için genomik kütüphanenin taranmasına ihtiyaç duyulmamaktadır (Ashley ve Dow 1994).

Mikrosatellitler (STR) ve diğer markör sistemlerinden farklı olarak mikrosatellitler ile SNP'ler birleştirilmesi ile yeni markör sistemi STRSNP oluşturulmuştur (Agrafioti ve Stumpf 2007). Son zamanlarda artık mikrosatellit markörleri yerine SNP kullanılmaya başlanmıştır (Li ve ark 2006, Gautier ve ark 2007, McKay ve ark 2008, The Bovine HapMap Consortium 2009).

1.6. Hayvan Genetik Kaynakları, Korunması ve Önemi

Farklı amaçlı hayvansal üretimde 40'dan fazla evcil hayvan türü yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu türlerden en az 4500 sürü evrensel hayvan genetik kaynağını oluşturmaktadır ve bu sürülerin %30'dan daha fazlası yok olma veya genetik erozyon riski altında bulunmaktadır. Bu türlerin Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Organizasyonu (FAO) tarafından ulusal hayvan genetik kaynağı olarak korunmaları gerektiği bildirilmiştir. Bu amaçla da her bir türün öncelikle genetik çeşitliliğinin korunması için önlemler alınmalıdır (Barker 1999). Evcil hayvanlarda genetik çeşitlilik, ırk içi ve ırklar arası olmak üzere iki çeşittir. Bu çeşitliliğin hesaplanması, önemli ekonomik özelliklere sahip hayvanların seçilmesinde veya bazı çevresel faktörlere karşı hayvanların adaptasyon sağlamasında doğal seleksiyon olarak kullanılabilir (Toro 2006).

Hayvansal üretimde genetik çeşitlilik, ıslah programlarının temelini oluşturmaktadır. Genetik çeşitlilik, belli bir coğrafik bölgeye uyum sağlamış, ilgili bölgede yaygın olarak yetiştirilen canlı türlerinin, bu türlere ait ırkların genetik niteliklerini (kalıtsal bilginin zenginliğini) ve içinde yaşadıkları ekosistem de birbirleri ile ilişkilerinin niteliğini ifade eder. Dünya genetik çeşitliliğinin bir parçası olmasından dolayı yabani türlerde büyük önem taşımaktadırlar (Arat 2003, Soysal 2004a). Varyasyon, pek çok faktöre bağlı olarak tür, ırk ve gen düzeyinde giderek önemli ölçüde azalmakta ve yok olmaktadır. Tropik bölgelerdeki kadar olmasa bile genetik erozyon Türkiye için de risktir (Ertuğrul ve ark 2000).

Türkiye, iklimsel çeşitliliği ve Avrupa, Asya ile Afrika kıtaları arasında geçit bölgesinde yer alması nedeniyle zengin bitki ve hayvan genetik kaynaklarına sahiptir (Soysal 2004a, 2004b). Türkiye yerli sığır ırkları, uzun süredir kültür ırkları ile melezleme çalışmaları nedeniyle yok olma tehlikesi altına girmiş ayrıca saf

genotipleri de kaybolmaya başlamıştır. Risk altında bulunan hayvanların ise yaşlarının ilerlemesi nedeniyle verim verme yetenekleri azalmıştır. Yerli ırklar bulundukları bölgelerin her türlü çevre şartlarına (coğrafik şartlar, iklim koşulları, yem kaynakları, hastalıklar) uyum sağladıklarından, bölgenin hastalıklarına dirençli ve bölgedeki verimsiz yem kaynaklarını değerlendirebilen kanaatkâr hayvanlardır. Bu nedenle, ileride o bölgede görülebilecek hastalıklara, iklim ve yem kaynaklarındaki değişikliklere kültür ırkları ve melezleri uyum sağlamakta zorlanabilirler ve çok kolay bir şekilde hastalığa yakalanabilirler. Ayrıca yerli ırkların sahip oldukları bazı özelliklerin günümüzde önemi yok gibi görülmesine rağmen, ileride bu özelliklere ihtiyaç duyulmayacağını garanti etmek mümkün olmamaktadır. Bu amaçla genetik varyasyonu muhafaza eden yerli hayvanlar, genetik kaynak olmaları bakımından geleceğin sigortaları olarak kabul edilmektedirler. Türkiye’de hayvan genetik kaynakları yeterince değerlendirilememiş hatta bazıları ya hiç ya da tam olarak tanımlanmadan yok olmuş veya yok olma tehlikesi ile karşı karşıya kalmıştır. Biyolojik çeşitlilik kapsamında, yerli hayvan genetik kaynaklarının *in vitro* veya *in vivo* korunması ve moleküler düzeyde karakterizasyon çalışmalarının ekonomik, bilimsel, kültürel ve ekolojik önemi bulunmaktadır. Nüfus artışı ve ekonomik baskı geleneksel tarım sistemlerindeki değişimi hızlandırırken biyolojik çeşitlilik kaybolmaktadır. Bu nedenler göz önünde bulundurulduğunda, yerli ve saf ırkların korunması gerekliliğinin önemi bir kez daha görülmektedir (Ertuğrul ve ark 2000, Soysal 2004b, Özşensoy 2006).

FAO 2000 yılı kaynaklarında, son yüzyıl içerisinde 383 çiftlik hayvanının %16’sının yok olduğunu ve %15’inin ise yok olma tehlikesi içerisinde olduğu belirtilmektedir. Ayrıca 1892’den günümüze kadar 617 çiftlik hayvan ırkının yok olduğu ve yaklaşık 1 000 çiftlik hayvan sürüsünün ise risk altında olduğu bildirilmektedir (Soysal ve ark 2004, Bennewitz ve ark 2006). Biyolojik, ekonomik ve kültürel sonuçlarından dolayı bu türlerin acil olarak korunmaya alınması gerektiği bildirilmektedir (Bennewitz ve ark 2006). Dünyadaki mevcut sığır ırklarından %50’sinin Avrupa’da yer aldığı FAO tarafından bildirilmiştir. FAO, ırkların durumu ve genetik kaynakları ile ilgili olarak yok olmuş (extinct), kritik durumda (critical maintained), yok olma tehlikesi altında (endangered), tehlikeli bakım düzeyi (yok olma sınırında - endangered maintained), risk yok (not at risk) ve bilinmiyor (unknown) olmak üzere 6 sınıf belirlemiştir (Soysal ve ark 2004). Türkiye’de

yetiştirilen sığır ırk ve tiplerinin son yüzyılın başında mevcut durumu Çizelge 1.9.'da gösterilmiştir.

Genetik kaynakların korunması ile ilgili ilk görüş 1928 yılında ilk bitki gen bankasını kuran Sovyet botanikçi Vavilov ile başlamıştır. Şikago'da 1959 yılında düzenlenen bir sempozyumda da hayvan genetik kaynakların korunması gerekliliği ilk kez ele alınmış ve 1960'lı yıllardan itibaren hayvan genetik kaynakların korunmasına ilişkin girişimler hız kazanmıştır (Ertuğrul ve ark 2000). Yapılan genetik karakterizasyon çalışmaları sonucunda, yüksek heterozigotluk ve allelik çeşitliliğine sahip ırkların genetik çeşitlilik yönünden genetik deposu oldukları kabul edilmiştir. Özellikle evcilleştirme bölgesine yakın olan yerli ırkların genetik kaynağı deposu olarak korunması gerekliliğe de vurgulanmıştır (Giovambattista ve ark 2001, Egito ve ark 2007, Sharma ve ark 2008, Medugorac ve ark 2009).

Çizelge 1.9. Türkiye Yerli Sığır Irk ve Tiplerinin Mevcut Durumu (Ertuğrul ve ark 2000'den uyarlanmıştır).

İrk-Tip	Tehdit Altında	Yok Olmuş
Yerli Kara	X	
Boz Irk	X	
DAK	X	
Kilis Sığırı	X	
Kultak Sığırı	X	
Zavot	X	
Halep Sığırı		X
Çukurova Sığırı		X
Dört Yol Sığırı		X
Kırım (Leh) Sığırı		X
Kıbrıs Sığırı		X
Seferihisar Sığırı		X
Kafkasya Sığırı		X
Malakan Sığırı		X
Diyarbakır Sığırı		X
Karacadağ Sığırı		X
Urga Sığırı		X
Siyah (Kalmuk) Sığırı		X
Eleşkirt Sığırı		X
Karaisalı Sığırı		X

Hayvan genetik kaynaklarının korunmasına 1940 yıllarında başlanmıştır. İngiltere'de Rare Breed Survival Trust; Avrupa'da, Tarımsal Çeşitliliğin Korunması (Safeguard for Agricultural Varieties); Amerika'da, Amerika Çiftlik Hayvanlarını Koruma Teşkilatı (American Livestock Breeds Conservancy) gibi organizasyonlar tarafından hayvan türlerinin korunması üzerine çalışmalar başlatılmıştır. FAO 1995

yılı üye ülkeler konferansında da bu yönde kararlar alınmıştır (Barker 1999). Türkiye yaban ve evcil hayvan genetik kaynaklarının korunması, moleküler düzeyde tanımlanması bu alanda çalışan insan kaynaklarının eğitimi ve desteklenmesinin önemi Türkiye Bilimler Akademisi (TÜBA) tarafından hazırlanan TÜBA-Moleküler Yaşam, Bilim ve Teknolojileri (MYBT) Öngörü Projesi (Tuba.gov.tr 2006), Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) tarafından hazırlanan VİZYON-2023 “Ulusal Bilim ve Teknoloji Politikaları 2003-2023 Strateji Belgesi” (Tubitak.gov.tr 2004), TÜBİTAK Bilim ve Teknoloji Yüksek Kurulu (BTYK)’nın XI. Toplantısı (Tubitak.gov.tr 2005), I. Tarım Şurasında (Tarim.gov.tr 1997) ve II. Tarım Şurasında (Tarim.gov.tr 2004) belirtilmiştir. Bu konuyla ilişkili olarak ayrıca FAO, Birleşmiş Milletler Çevre Programı (UNEP), Avrupa Zootehni Federasyonu (EAAP), Uluslar arası Doğa ve Doğal Kaynakları Koruma Birliği (IUCN), Dünya Kaynakları Enstitüsü (WRC), Tarım ve Köyişleri Bakanlığı ile Çevre-Orman Bakanlığı gibi ulusal ve uluslar arası örgütler tarafından hayvan genetik kaynaklarının saptanması, korunması ve değerlendirilmesi alanlarında projeler ve çalışmalar yapılmaktadır (Ertuğrul ve ark 2000, Soysal 2004a). Son yıllarda yapılan genetik ve arkeolojik çalışmalar sonucu elde edilen sonuçlar, bizlere bitki ve hayvan genetik kaynakların nasıl yönetilmesi ve korunması hakkında çok önemli bilgiler sunmaktadır (Bruford ve ark 2003).

Dünya genetik çeşitliliği korumak amacıyla görev üstlenmiş olan FAO tarafından Dünya çapında “Evcil Hayvan Genetik Çeşitlilik Bilgi Sistemi (DAD-IS: Domestic Animal Diversity Information System) oluşturulmuş ve üye ülkelerden alınan bilgiler bu veritabanına işlenmektedir (Soysal 2004a). EAAP resmi sitesinde ise coğrafi bölgelere göre birlikler oluşturulmuş olup Türkiye 9. grupta (Güney Doğu Avrupa grubu) diğer Balkan ülkeleri ile birlikte yer almaktadır (Eaap.org 2010). Ayrıca kısmen özel sektör olmak üzere kamu kurum ve kuruluşlarında çalışmalar başlatılmıştır. Bu çalışmalardan en önemlisi Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) – Kamu Araştırmaları Grubu (KAMAG) tarafından 106G005 kodlu proje ile desteklenip 2007 yılında başlayan, “*Türkiye Yerli Hayvan Genetik Kaynaklarından Bazılarının İn Vitro Korunması ve Ön Moleküler Tanımlanması-I*” (TÜRKHAYGEN-1) isimli projedir. Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü (TAGEM) tarafından 1995 yılında uygulamaya konulan Evcil Hayvan Genetik Kaynakları Koruma Projesi kapsamında, koruma altına alınan yerli sığır

ırkları ile hangi yöntemle nerede koruma kapsamına alındığına dair bilgiler Çizelge 1.10.'da özetlenmiştir. Ayrıca Tarım ve Köyişleri Bakanlığı tarafından Resmi Gazetede (2003) “*Hayvan Gen Kaynaklarının Korunması Hakkında Yönetmelik*” yayınlanarak yerli hayvan gen kaynaklarının korunması kapsamında uyulacak ve uygulanacak yöntemler anlatılmıştır.

Çizelge 1.10. Koruma altına alınmış Türkiye yerli sığır ırkları, korundukları yerler ve koruma metotları (Sosyal 2004b'den derlenmiştir).

Koruma Altındaki Sığırırkı	Koruma Yeri	Koruma Metodu
Yerli Kara	Lalahan Hayvancılık Merkez Araştırma Enstitüsü	<i>Ex situ, in vivo, in vitro</i>
Doğu Anadolu Kırmızısı	Doğu Anadolu Tarımsal Araştırma Enstitüsü	<i>Ex situ, in vivo</i>
Güney Doğu Anadolu Kırmızısı	Çukurova Tarımsal Araştırma Enstitüsü	<i>Ex situ, in vivo</i>
Boz ırk	Marmara Hayvancılık Araştırma Enstitüsü	
Güney Anadolu Kırmızısı	Ceylanpınar Tarım İşletmesi	<i>Ex situ, in vivo</i>

Çeşitli genetik analiz yöntemleri kullanılarak yakın zamanda yok olma tehlikesi altında olabilecek sürülerin tespit edilmesi ve bu sürülere yönelik koruma planlarının ön plana alınması gerekliliği vurgulanmaktadır (Bennewitz ve ark 2006). Dolayısıyla koruma altına alınacak ırklarda 1) popülasyonlar arasında genetik farklılığın araştırılması, 2) çizilen filogenetik ağaçlar ile popülasyonlar arasında karışımın belirlenmesi ve 3) ırklar arasında genetik mesafenin çok fazla olduğunun belirlenmesi gerekliliği ortaya çıkmaktadır (Toro 2006). Genetik Koruma Programı Kılavuzu oluşturulması amacıyla 17 mikrosatellit ve 13 biyokimyasal markör kullanılarak 10 Avrupa sığır ırkında (Moazami-Goudarzi ve ark 1997) ve Norveç'in 17 farklı türünde (Ruane 2000) genetik varyasyon belirleme çalışması yapılmıştır. Bir türün veya ırkın doğal hayatta korunma programına alınması için yok olma tehlike derecesinin, ekonomik değere sahip olan özelliklerinin, bilimsel özelliklerinin, ekolojik dağılım durumunun, kültürel-tarihsel değerinin ve genetik olarak farklı özelliklerinin tespit edilmesi ve bu kriterlere göre öncelik verilmesi gerektiği belirtilmektedir (Ruane 2000). Moleküler ve kantitatif özellikler arasındaki ilişki genel olarak zayıf olduğundan moleküler varyasyon kantitatif özelliklerdeki varyasyonun sadece %4 ünü açıklayabilmektedir. İlişkinin düşük olması nedeniyle koruma programlarına karar vermeden önce bu durumun göz önüne alınması gerekliliği vurgulanmaktadır (Toro 2006).

Hayvan genetik kaynaklarından yok olma tehdidi altında olan popülasyonlarının korunması amacıyla 1) *in situ* (canlı hayvanlardan oluşan sürülerin saf yetiştirilerek korunması) 2) *ex situ* (a) spermaların derin dondurulması, (b) embriyoların derin dondurulması ve 3) DNA segmentleri halinde (gen havuzu oluşturularak korunması) olmak üzere temelde 3 yöntem kullanılmaktadır. Bu yöntemler ayrı ayrı uygulanabileceği gibi bir arada da uygulanabilmektedir (Ertuğrul ve ark 2000, Kumlu 2003).

Bu yöntemler erkek hayvanların rotasyona tabi tutularak kullanılması (*in situ*), spermalarının dondurularak saklanması, dondurulan spermaların *in situ* programlarında kullanılması ve koruma altına alınan hayvan sürülerinin soy kütüklerinin tutulması ile koruma programları oluşturulması önerilmektedir (Reist-Marti ve ark 2005). Bu önerilen koruma yöntemlerinin kullanım kolaylığı, sağlayacağı fayda ve maliyeti düşünülerek yapılan bir çalışma sonucunda *in situ* şeklinde koruma yapılmasının diğer yöntemlerden farklı olarak birçok yetiştirme-üreme programında kolaylıkla kullanılabileceği ve daha çok fayda sağlayacağı, üçüncü yöntemin ise daha az maliyetli olduğu tespit edilmiştir (Reist-Marti ve ark 2005, 2006). Koruma yapacak ülkenin ekonomik durumu da göz önüne alındığında en ucuz yöntemin; bir sürünün yıllık ortalama koruma planı maliyeti, ortalama 1 000 – 4 400 ABD doları arasında olduğu belirtilmektedir. Bunun yanında koruma programlarının seçilmesi konusunda sürünün sahip olduğu özelliklerin korunmasının ön planda olması gerektiği de tavsiye edilmektedir (Reist-Marti ve ark 2006). Özellikle yok olma tehlikesi altında olan ve küçük popülasyonlar şeklinde hayatta olan ırkların *ex-situ* koruma şeklinde korunma altına alınması gerektiği de ayrıca vurgulanmaktadır (Bradshaw ve ark 2007).

1.7. Genetik Karakterizasyon Çalışmaları

Genetik karakterizasyon çalışmaları, ırklar arası ve ırk içi genetik çeşitliliğin belirlenmesi ve ırkların tanımlanması amacıyla önemli bir yere sahiptir. Dünyada ve Türkiye’de 1980’li yıllarda yerli ırkların genetik yapıları ve bazı verim özellikleri ile olan ilişkileri kan ve süt protein polimorfizmi kullanılarak incelenirken en son gelişmelerle birlikte mikrosatellit DNA’ların kullanılması en önde gelmektedir.

Genetik karakterizasyon çalışmalarında mikrosatellitler, insan (Bowcock ve ark 1994, Deka ve ark 1995, Decorte 2010), sığır (MacHugh ve ark 1997, Loftus ve ark 1999, Edwards ve ark 2000a, 2000b, Cañón ve ark 2001, Bradshaw ve ark 2007), keçi (Luikart ve ark 2001, Maudet ve ark 2002a), koyun (Mukesh ve ark 2006, Lawson Handley ve ark 2007, Molaei ve ark 2009), köpek (Boyko ve ark 2009, Kang ve ark 2009), at (Luis ve ark 2007), eşek (Aranguren-Mendez ve ark 2002), domuz (Behl ve ark 2002, 2006, Sollero ve ark 2009), manda (Flamand ve ark 2003) ve diğerk birçok hayvan türlerinde (Cosse ve ark 2007, Vijh ve ark 2007, Li ve ark 2009) kullanılmaktadır.

Mikrosatellitlerin, farklı ırk ve türde kullanılabilirliğinin araştırıldığı çalışmalar yapılmıştır. Sığır mikrosatellitlerin yabani sığır ırklarında %90 oranında (Nguyen ve ark 2007), Yak sığırında %94,3 oranında (Nguyen ve ark 2005a), Bizon sığırında %100 oranında (Roth ve ark 2006) ve farklı bir tür olan Saola’da ise 2 tane Y-kromozom markörüyle birlikte %96,8 oranında (Nguyen ve ark 2005b) kolaylıkla yükseltgendiğı ve kullanılabileceğı belirtilmiştir. Ancak Ellegren ve ark (1997) türe özgü mikrosatellitlerin diğerk türlerde daha kısa ürünler verdiğini ve hatalı sonuçlar nedeniyle bu yaklaşımın faydalı olmayacağını bildirmişlerdir.

Genetik karakterizasyon çalışmalarında mikrosatellitler dışında farklı biyokimyasal markör sistemleri de (Moazami-Goudarzi ve ark 1997, Kantanen ve ark 1999, 2000, Ceriotti ve ark 2003, Ibeagha-Awemu ve ark 2004, Ibeagha-Awemu ve Erhardt 2005) kullanılmıştır. Ayrıca mtDNA (Loftus ve ark 1994, Bradley ve ark 1996, Kim ve ark 2003, Mannen ve ark 2004) ve Y kromozomuna spesifik mikrosatellitler de (Edwards ve ark 2000b, Cai ve ark 2006, Li ve ark 2007a, Kantanen ve ark 2009) ağırlıklı olarak kullanılmaktadır. Farklı markör sistemleri insan ve hayvan popölasyonlarının analizlerinde ayrı ayrı veya ortaklaşa kullanılabilmektedir (Mohamad ve ark 2009, Decorte 2010). Ayrıca genetik karakterizasyon çalışmalarında markör sistemleri dışında pedigree kayıtlarından da yararlanılmaktadır (Trinderup ve ark 1999, Honda ve ark 2004, 2006).

İrkların kökeni ve evcilleştirilme bölgelerinin tespit edilmesi amacıyla genetik karakterizasyon ve arkeolojik çalışmalar yapılmaktadır. Avrupa ırklarının göç yollarının Tuna Nehri boyunca Kuzeyden Merkezi Avrupa’ya ve Akdeniz kıyısı

boyunca olmak üzere 2 farklı göç yolu izlediği, sığır, koyun, keçi, domuz ve manda'nın iki Asya Bölgesi'nde ilk evcilleştirilmeye başlandığı bildirilmektedir (Bruford ve ark 2003). Bu merkezlerden en eski olanı Doğu-Güneydoğu Anadolu bölgesini kapsamaktadır (Bkz Şekil 1.1.) ve ırkların bu bölgeden tüm Dünya'ya özellikle Anadolu'dan Avrupa'ya yayıldığı belirtilmektedir (Loftus ve ark 1994, Loftus ve ark 1999, Luikart ve ark 2001, Troy ve ark 2001, Hiendleder ve ark 2002, Bruford ve Townsend 2004, Cymbron ve ark 2005). Özellikle sığır ırklarının Avrupa'ya giriş yolunun Doğu Bölgesi'nden olduğu tespit edilmiştir (Negrini ve ark 2007). Köpekler üzerinde yapılan genetik çalışma sonucunda ise birçok ülkeden örnekler alınmış ve köpeklerin orijini olarak Doğu-Asya bölgesinin olabileceği belirtilmiştir (Boyko ve ark 2009). Bu çalışmaların sonucu, Anadolu'nun, evcil hayvanların ilk evcilleştirildiği bölgeyi kapsadığı veya evcilleştirme bölgelerine çok yakın bir konumda bulunduğunu göstermektedir (Bruford ve ark 2003).

1.7.1. Sığır Karakterizasyon Çalışmaları

Dünya'nın farklı bölgelerinde bulunan yerli ve yabani sığır ırklarının genetik karakterizasyon çalışmaları kısaca özetlenecektir.

Çin Halk Cumhuriyeti (Çin)'nin farklı coğrafik bölgesini içerisine alacak şekilde 5 yerli sığır ırkından (Yanbian, Luxi, Nanyang, Jinnan, Qinchuan) 250 örnek ve 10 mikrosatellit markörü kullanılarak çalışma yapılmıştır. Bu çalışma, Çin ırklarında mikrosatellit DNA markörleri kullanılarak yapılan ilk genetik karakterizasyon çalışmasıdır (Zhou ve ark 2005). Yanbian sığır ırkı hariç diğer 4 ırkta, Avrupa sığır ırkları ile karşılaştırıldığında daha yüksek heterozigotluğun ve Yanbian sığır ırkında ise en düşük genetik varyasyonun gözlemlendiği tespit edilmiştir. Ayrıca çizilen komşu birleştirme ağacında coğrafik olarak birbirine yakın olan 4 ırk beraber odaklanırken, yerleşim bölgesi olarak diğer ırklardan uzakta olan Yanbian sığır ırkının diğer 4 sığır ırkından tamamen ayrıldığı da tespit edilmiştir. Yanbian sığır ırkında heterozigotluğun düşük olmasının sebebi olarak bu ırkın kaybolma tehlikesi içerisinde olabileceği düşüncesi ön plana çıkmaktadır (Zhou ve ark 2005). Diğer çalışmalarda (Li ve ark 2007b, Zhang ve ark 2007, Sun ve ark 2008) aynı şekilde Yanbian sığır ırkının ayrı bir grup içerisinde yer aldığı belirlenmesi bu fikri desteklemektedir. Çin Holştaynı ile Yanbian sığır ırkı birbirine yakın odaklanma

göstermektedir (Sun ve ark 2008). Başka bir çalışmada kullanılan ırklar arasında toplam 24 özel allel bulunurken bunlardan 10 tane özel allelin Çin Holştayn'ında tespit edildiği ve en geniş genetik çeşitliliğe sahip olduğu belirlenmiştir (Mao ve ark 2008).

Çin'in yerli sığır ırkları ile beraber 3 Avrupa sığır ırkının (Germany Yellow, Simmental ve Charolais) (Li ve ark 2007b, Zhang ve ark 2007), Kuzeydoğu Asya ırkları ile Avrupa Holştaynının (Kim ve ark 2002) ve Kuzeydoğu Asya ırkları ile Afrika Taurin ve Amerika Bizon'u (Kim ve ark 2003) birlikte değerlendirilmiştir. Bu çalışmalarda kullanılan Asya ırklarının çizilen filogenetik ağaçta diğer kıtaların yerli ırklarından tamamen ayrı bir grupta yer aldığı belirlenmiştir. Çin'de yetiştiriciliği yapılan Yak sığır ırkı ile Manda'nın da birlikte değerlendirildiği çalışmalarda, Çin'in yerli ırklarından Merkezi Çin bölgesi, Güney Çin bölgesi ve Kuzey Çin bölgesine ait olan sığır ırklarının ayrı birer grup (Li ve ark 2007b), Yak ve Manda'nın ise düşük genetik çeşitlilik göstererek birlikte ayrı bir grup oluşturduğu tespit edilmiştir (Mao ve ark 2008). Ayrıca, Çin'in 9 farklı Yak sığır ırkı ile Güneydoğu Asya'nın yabani sığır ırkı olan Gayal üzerine yapılan çalışma sonucunda ise, Gayal ırkı hariç diğer sürüler yüksek polimorfizm göstererek Yak sürüleri arasında %94,4 oranında bir genetik varyasyonun bulunduğu tespit edilmiştir. Yak sürüleri kendi içerisinde 3 farklı grup oluştururken Gayal ırkı bu sürülerden tamamen farklı bir grup oluşturmuştur (Zhang ve ark 2008). Çin'in farklı bölgelerinden örnekleme ile yapılan çalışmalarla elde edilen sonuçların ırkların coğrafik konumları ve tarihsel gelişimleri ile uyumlu oldukları belirtilmektedir (Zhou ve ark 2005, Sun ve ark 2008). Çin'in 27 farklı yerli sarı sığır ırkı ile 3 Avrupa sığır ırkının birlikte değerlendirildiği bir çalışma (Zhang ve ark 2007) sonucunda, %92 oranında ırkların birbirlerinden ayrılarak yerli ırkların kendi içerisinde 2 grup oluşturduğu, Avrupa ırklarının ise ayrı bir grup oluşturduğu tespit edilmiştir. Çin yerli sarı sığır ırklardan 4 farklı bölgeyi içine alan 4 grubun *Bos indicus* tipinden, Çin'in farklı bir bölgesi ile Moğolistan'ı içine alan grubun *Bos taurus*'un 1. tipinden ve Avrupa sığır ırklarını içine alan grubun ise *Bos taurus*'un 2. tipinden köken aldığı belirlenmiştir (Zhang ve ark 2007). Çin yerli sığırlarının Y kromozomuna ait UMN2404 ve UMN0103 mikrosatellit markörleri kullanılarak yapılan çalışmada 3 farklı bölgeden (Merkezi, Kuzey ve Güney Çin Bölgesi) 25 sığır ırkından 423 örnek kullanılmıştır (Cai ve ark 2006). Örneklerden 248 tanesinde (%58,6) Indicine (Amerikan Brahman'ı), 175 tanesinde

ise (%41,4) Taurin (İngiltere Angus'u) alleli tespit edilmiştir. Indicine allellerinin Güney grubunda (%92,4), Taurin allellerinin ise Kuzey grubunda (%95,5) dominant olduğu bildirilmiştir. Bu farklılığın sebebi olarak Çin'in tarihsel yapısı, coğrafik özellikleri ve iklimsel yapısından kaynaklanacağı belirtilmektedir. Sonuç olarak Tibet sığırlarının kökeninin *Bos primigenius*'dan aldığı da belirtilmektedir (Cai ve ark 2006).

Yak sığırının evcilleştirildiği bölge olarak Asya kıtası özellikle de Çin'in Tibet bölgesi (Bkz Şekil 1.1.) olduğu belirtilmektedir (Bruford ve ark 2003). Bu amaçla Tibet Yak sığırı (1 sürü) ile birlikte sürünün yayılım alanının en kuzey bölgesini içeren Moğolistan (5 sürü) ve Rusya (1 sürü) bölgelerinde yetiştirilen Yak ırkları birlikte değerlendirilmiş ve sonuç olarak Moğolistan'da yetiştirilen 4 sürü ile Rus Bölgesi'ndeki sürünün genetik olarak benzer olduğu ve aynı küme içerisinde yer aldığı, 1 Moğolistan sürüsü ile Çin sürüsünün ise ayrı ayrı kümelenme gösterdikleri belirlenmiştir (Xuebin ve ark 2005). Bu çalışmada elde edilen sonuca benzer şekilde Çin Yak sürülerinin diğer ırklardan kolaylıkla ayrıldığı belirlenmiştir (Zhang ve ark 2008).

Amerika kıtasında yetiştiriciliği yapılan ırkların genetik karakterizasyon çalışmaları sonucunda birçok ırkın diğer ırklardan net bir şekilde ayrıldığı belirlenmiştir. Brenneman ve ark (2007)'nın özellikle tropikal bölgelere uyum sağlamış Amerikan Brahman, Senepol ve Romosinuano (Kosta Riko ve Venezüella'da yetiştirilen iki alt popülasyonu) ırklarında genel olarak allel sayısı yüksek bulunmuştur. Ancak allel sayısı, allel zenginliği ve allel çeşitliliğinin en fazla Brahman ırkında olduğu bulunmuş ve bu ırk diğer ırklardan ayrı bir konumda yer aldığı tespit edilmiştir. Kanada'da yetiştiriciliği yapılan ırklar (Hansen ve ark 2002), Arjantin, Bolivya ve Brezilya'da yetiştirilen Creole ırkı (Giovambattista ve ark 2001, Lirón ve ark 2006, Egito ve ark 2007), Kolombiya'da yetiştirilen Brahman (Novoa ve Usaquén 2010), Kuzey Amerika da yetiştiriciliği yapılan Holştayn (Vallejo ve ark 2003) ve Alaska (MacNeil ve ark 2007) sığır ırklarının genetik karakterizasyon çalışmaları yapılarak ırkların genetik yapısı ve kökenleri hakkında bilgiler edinilmeye çalışılmıştır. Arjantin ve Bolivya ırkları (Giovambattista ve ark 2001, Lirón ve ark 2006) Holştayn ırkından uzak mesafede yer alırken, İsviçre Esmeri ve Kanada ırklarının (Hansen ve ark 2002) Holştayn ile yakın bir konumda yer aldığı

belirtilmektedir. Bu çalışmalardan Brezilya Creole ırkı (Egito ve ark 2007) ile Alaska Bölgesi'nde (MacNeil ve ark 2007) yetiştirilen sığır ırklarının diğer tüm Amerika ırklarından farklı birer genetik yapıya sahip oldukları bildirilmekle birlikte özellikle Alaska bölgesinin Chirikof adası sığır ırkının genetik kaynağı olarak değerlendirilmesi gerektiği belirtilmektedir (MacNeil ve ark 2007).

Afrika kıtasında genel olarak *Bos indicus* (Zebu) ve *Bos taurus* (Taurin)'dan köken alan ırklar yetiştirilmektedir. Bu yüzden bu kıtada yapılan çalışmalar genelde bu iki kökenden gelen ırkların birlikte değerlendirilmesi ile yapılmaktadır. Zebu ile Taurin kökenli ırklar ayrı birer küme oluşturarak birbirlerinden ayrıldıkları (Loftus ve ark 1999, Freeman ve ark 2004, Ibeagha-Awemu ve Erhardt 2005, Kantanen ve ark 2009) hatta Zebu kökenli ırklarında bölgeleri arasında (Doğu ile Batı arasında) farklılıklar olduğu tespit edilmiştir (Freeman ve ark 2004). Genetik çeşitliliğin Zebu ırklarında Taurin ırklarına göre daha yüksek olduğu da belirtilmiştir (Ibeagha-Awemu ve ark 2004). Zebu ve Taurin ırkları birbirlerinden ayrılırken Afrika Taurin ırkları da Avrupa Taurin ırklarından ayrılarak ayrı bir küme oluşturmaktadır (Ceriotti ve ark 2003). Afrika kıtasında yetiştiriciliği yapılan Zebu ırkları kendi içlerinde birbirlerinden ayrılırken, Afrika Zebusu ve Taurini ile Asya Zebusu ve Avrupa Taurini arasındaki ilişkinin incelendiği bir çalışmada (MacHugh ve ark 1997), Zebu kökenli ırkların Taurin kökenli ırklardan, Afrika Taurinin de Avrupa Taurin ırklarından ayrıldıkları net bir şekilde gözlemlenmiştir. Bu çalışma sonucunda, Asya Zebu ırklarına ait spesifik allelleri içeren 10 lokusun varlığı da tespit edilmiştir. Bu lokuslardaki spesifik allellik, Afrika Zebularında orta düzeydeyken diğer Taurin ırklarında çok az ya da hiç tespit edilememiş ve Zebu sığırlarının evcilleştirilme merkezinin (orijininin) belirlenmesinde önemli olduğu bildirilmiştir (MacHugh ve ark 1997).

Habeşistan'da yetiştirilen ırklarda genetik farklılığın popülasyon içerisinde yüksek (%98,7), ırklar içerisinde ise düşük seviyede bulunduğu bildirilmiştir (Dadi ve ark 2008). Kamerun ile Nijerya yerli ırkları ile yapılan bir çalışma (Ibeagha-Awemu ve Erhardt 2005) sonucunda da Habeşistan ırkları (Dadi ve ark 2008) gibi ırkların kontrol altında olmadan yetiştiriciliğinin yapıldığı, ırkların genetik olarak karışım altında oldukları, risk altında bulundukları bildirilmiştir. Bu ırkların öncelikle koruma altına alınmaları ve aynı zamanda kontrollü yetiştiriciliğin yapılması

gerektiği de önerilmektedir (Ibeagha-Awemu ve Erhardt 2005, Zerabruk ve ark 2007). Bu çalışmalar sonucunda bazı ırklarda karışım olduğu, Hindistan'ın diğer bölgelerinde yetiştiriciliği yapılan ırkların birbirlerinden ayrıldıkları ve genetik çeşitliliklerin ırkların ayrılması için yeterli oldukları tespit edilmiştir (Metta ve ark 2004, Pandey ve ark 2006, Sodhi ve ark 2008). Merkezi ve Batı Afrika ülkelerinin yerli sığır ırkları mikrosatellitler yanında morfolojik olarak da değerlendirilmiş ve 21 morfolojik ölçümden 6 tanesi yönünden ırklar arasında büyük farklılıklar olduğu belirlenmiştir (Ndumu ve ark 2008).

Güney Avrupa'daki İberiyen bölgesinin içine aldığı Portekiz (Mateus ve ark 2004a, 2004b) ve İspanya (Martin-Burriel ve ark 1999, 2007, Casellas ve ark 2004, Cañón ve ark 2008) ayrıca Batı Avrupa ülkesi olan Fransa'da (Maudet ve ark 2002b) kendi bölgelerine ait yerli ırklar üzerinde ayrı ayrı çalışmalar yapılmıştır. Ayrıca bu üç ülkenin ırklarını kapsayan (Beja-Pereira ve ark 2003) bir konsorsiyum çalışması da yapılmıştır. On Portekiz sığır ırkından 3 ayrı grup olacak şekilde örnekleme çalışması yapılmış, Kuzey Amerika kıtasındaki Amerikan Charolais ve Güney Amerika ülkesi Brezilya'nın Caracu sığırı ile birlikte değerlendirilmiştir (Mateus ve ark 2004a). Yerli ırklarda allelik çeşitlilik yüksek bulunurken, Brezilya ırkı ile Portekiz ırkları arasında herhangi bir ilişkinin olmadığı belirlenmiştir (Mateus ve ark 2004a). Portekiz sığır ırklarında koruma programı oluşturulması amacıyla 29 markör ile 2 farklı model (Weighted log-linear model –WLM- ile Weighted log-linear mixed model –WLMM-) kullanılmıştır. WLM ve WLMM modelleri arasında çok az bir farklılık olduğu bulunmuş olup yabani ve yerli sığır ırkları tamamen birbirlerinden ayırt edilmiştir (Mateus ve ark 2004b). İspanya yerli sığır ırklarını 3 grup şeklinde ayrılarak yapılan çalışmada (Martin-Burriel ve ark 1999) İspanya'nın Kuzeybatı Bölgesi'nde yetiştirilen sığır ırklarının birbirlerine çok yakın, diğer bölgelerde yetiştirilen sığır ırklarında ise genetik çeşitliliğin düşük seviyede bulunduğu belirlenmiştir. Ayrıca İspanya'nın Lidia Bölgesi'ndeki farklı çiftliklerden alınan sürülerin yakın akraba oldukları ve farklı yapıda oldukları halde aynı küme içerisinde yer aldıkları (Cañón ve ark 2008), benzer şekilde iki farklı deri rengine sahip olan ırklarında aynı genetik yapıya sahip oldukları bildirilmiştir (Casellas ve ark 2004).

Martin-Burriel ve ark (2007) İspanya'nın en vahşi yabani sığır ırkında (Betizu sığır ırkı) en düşük genetik çeşitlilik elde edildiğini ve diğer yabani sığır

ırklarından tamamen ayrıldığını tespit etmişlerdir. Diğer ırklarda kendi içerisinde önemli farklılıklar elde edilmiş olsa da sonuç olarak ırkların coğrafik ve tarihsel gelişimlerine uygun olarak kümelandikleri bulunmuştur. Fransa'nın merkezinde yetiştirilen Charolais orijinli sürü, Doğu Fransa'da yetiştirilen Limousin orijinli sürü, Holştayn sığır sürüsü ile diğer Fransa Alp Dağları bölgelerinde yetiştirilen sürülerin ayrı ayrı kümelandikleri ve birbirlerinden ayrıldıkları tespit edilmiştir (Maudet ve ark 2002b). Holştayn ırkı sürüsü diğer türlerden ayrı kümelenmesine benzer şekilde, Kuzey Hollanda Bölgesi'nde bulunan Eski Dünya ve Yeni Dünya Holştayn sürülerinde yapılan çalışmada da Holştayn sürülerinin hepsi bir grup içerisinde aynı genetik yapıda oldukları tespit edilmiştir (Hanslik ve ark 2000). Bu çalışmada Holştayn ırkının ayrı genetik yapıya sahip olduğu ortaya konulmuştur. İtalya ırklarının Esmer ve Holştayn ırkları ile karşılaştırılması sonucunda, ırklar arasında düşük genetik mesafe ve orta derecede bir ayrılma olup en yüksek genetik çeşitlilik İtalya ırklarında tespit edilmiştir (Dalvit ve ark 2008). İtalya ırkları kendi aralarında (Ciampolini ve ark 1995) ve farklı ülke ırkları ile karşılaştırıldığı (Del Bo ve ark 2001) zaman İtalya ırkları arasında ve içerisinde benzerliğin yüksek olduğu bildirilmiştir. Moioli ve ark (2004) İtalya ırkları içerisinde en yüksek genetik çeşitliliğin, heterozigotluğun ve genetik varyasyonun Podolica ırkında olduğunu ve bu ırkın ayrılma testinde %90 oranından kendi kümesi içerisine atandığını rapor etmişlerdir.

İberiyan Bölgesi'nde yetiştirilen ve Kuzey ile Kuzeybatı Bölgesi'nde bulunan ırkların diğer ırklardan tamamen ayrıldıkları tespit edilmiştir (Martin-Burriel ve ark 1999, Beja-Pereira ve ark 2003, Martin-Burriel ve ark 2007). Bu sürülerin ayrı bir konumda bulunmasının sebebi olarak, Avrupa ve Kuzey Afrika sığır ırkları ile daha önceden melezlemeye tabi tutuldukları teorisinin doğru olmadığı ve bu sürülerde Afrika genetik etkisinin bulunmadığı bildirilmiştir. Ayrıca bu bölgede ağırlıklı olarak tarımsal yayılım bölgesinin Doğu-Batı bölgesi üzerinde olmasından kaynaklandığı belirtilmektedir. İberiyan sığır ırkları ile Fransa sığır ırkları arasında da herhangi bir genetik etki tespit edilememiştir (Beja-Pereira ve ark 2003). Coğrafik olarak yakın olan popülasyonların benzer genetik yapıda çıkması ve birlikte kümelenmesinin sebebi olarak ise coğrafik izolasyon, yakın akrabalı yetiştirme ve farklı seleksiyon işlemlerine tabi tutulmaları olarak belirtilmektedir (Beja-Pereira ve ark 2003). İspanya-Fransa Bölgesi'nde yok olma tehlikesinde bulunan sığır ırkları (Rendo ve

ark 2004) arasında orta/yüksek derecede genetik farklılık ve bu bölgelerde yetiştirilen ırkları kapsayan diğer çalışmalara (Martin-Burriel ve ark 1999, Cañón ve ark 2001, Maudet ve ark 2002b) göre daha fazla oranda heterozigotluk bulunmuştur.

Kuzey Avrupa sığır ırklarının koruma programının oluşturulması ve genetik yapısının araştırılması amacıyla çalışmalar yapılmıştır. Tapio ve ark (2006), Kuzey Avrupa ırklarında olası genetik erozyonun tespiti amacıyla 9 ülkeden 35 ırk üzerinde yapılan analizlerde, ırkların 3 farklı küme (Siyah ve Beyaz tip, Baltic tip ve Nordic tip) oluşturacak şekilde kümelendiklerini ve yalnızca 11 ırkın tehlike altında olmadığını tespit etmişlerdir. Ayrıca Kuzey Avrupa sığır ırklarının yüksek genetik çeşitliliğe (Kantanen ve ark 1999) ve benzer heterozigotluk ile allellik çeşitliliğe sahip olduğu (Kantanen ve ark 2000) belirlenmiştir. Cymbron ve ark (2005) uluslar arası bir konsorsiyum çalışması sonucunda Güney Asya, İngiliz Adaları, Yakın Doğu ve Kuzey Avrupa ile Akdeniz bölgesi ırklarının birbirlerinden ayrıldığını belirlemişlerdir. İngiltere'nin ata soyu olarak belirtilen Devon ve Kerry ırkları Dexter ırkı ile karşılaştırılmıştır. En yüksek ortalama allel sayısının, beklenen ve gözlenen heterozigotluğun Dexter ırkında olduğu belirlenmiş ve diğer iki ırkın ayrı birer ırk olmadığı, Dexter'in birer alt popülasyonu olduğu belirtilmektedir (Bray ve ark 2009). İngiltere'nin yerli ırklarından sadece Jersey ırkını kapsayacak şekilde yapılan çalışmada beklenen heterozigotluğun ve ortalama allel sayısının yüksek olduğu (Chikhi ve ark 2004), diğer yerli ırklarla birlikte değerlendirildiği zaman Dexter ırkı ile Jersey ırkının birlikte kümelendiği (Wiener ve ark 2004) belirlenmiştir.

Güney Avrupa ırklarında yapılan çalışmada toplam genetik çeşitliliğin %7'si ırklar arasında %93'ü ise bireyler arasındaki farklılıktan kaynaklandığı belirlenirken (Cañón ve ark 2001), Kuzey-Güney-Doğu Avrupa ırklarında genetik çeşitliliğin yaklaşık %90'ının popülasyonlar arasında olduğu belirlenmiştir (Li ve ark 2007c). Tüm sığır otozomal kromozomları kapsayacak şekilde 2641 SNP kullanılarak farklı kıtalardaki ırkları kapsayan çalışmada ise toplam genetik çeşitliliğin %71'inin popülasyonlar içerisinde olduğu tespit edilmiştir (McKay ve ark 2008). Yerli ırkların bulundukları bölgede genetik kaynağı olarak korunması amacıyla, Kuzey Avrupa (Trinderup ve ark 1999), Doğu Avrupa (Ritz ve ark 2000, Radko ve ark 2005) ve Batı Avrupa (Peelman ve ark 1998, Schmid ve ark 1999) bölgelerinde bulunan yerli sığır ırkları üzerine de genetik karakterizasyon çalışmalarının sonucunda öncelikli

olarak Kuzey Sibirya ırklarının korunma altına alınması gerektiği bildirilmiştir (Li ve ark 2007c).

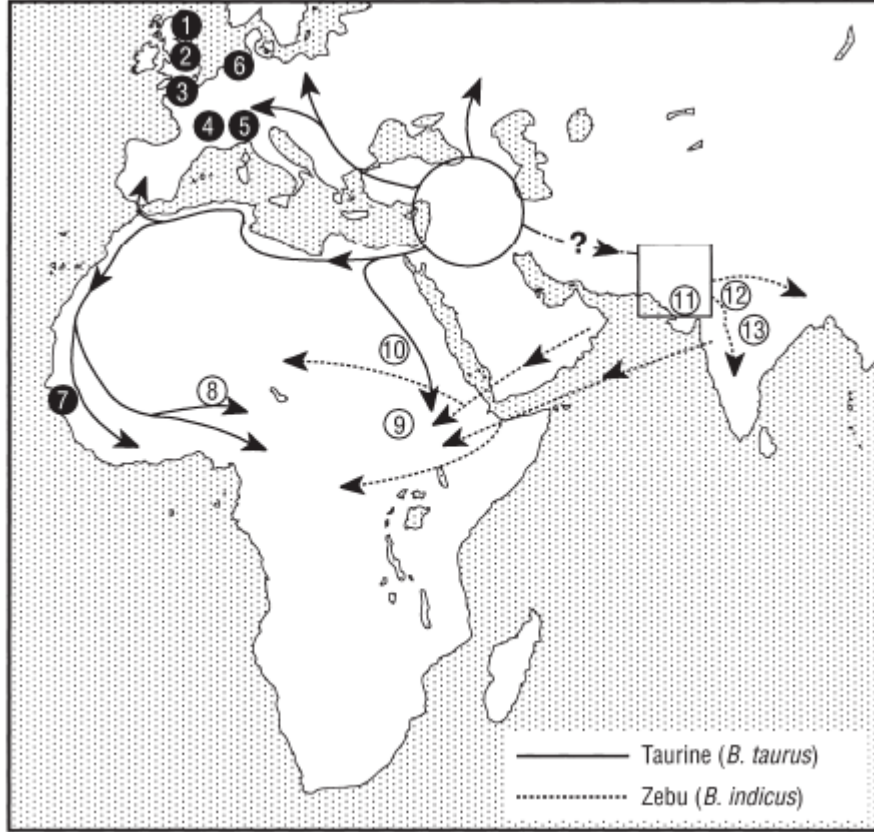
Yabani sığır ırklarını içeren çalışmalardan, Vietnam'ın Gaur sığır ırkı (Nguyen ve ark 2007), Orta Avrupa ülkesi Almanya ve Batı Avrupa ülkesi İtalya'da yok olma tehlikesi altında bulunan sığır ırkları (Edwards ve ark 2000a) ve Kuzey Avustralya'nın Banteng sığır ırkı (Bradshaw ve ark 2007) üzerinde çalışmalar da yapılmıştır. Banteng sığır ırkının taurin kökenli 4 ırk ile karşılaştırılması sonucunda Banteng sığır ırkında düşük heterozigotluk ve düşük genetik çeşitlilik bulunmuş ve bunun sebebi olarak da rastgele çiftleşmenin olmamasından kaynaklandığı belirtilmektedir (Bradshaw ve ark 2007). Banteng ırkında genetik kaybın yüksek olduğu bulunurken (Bradshaw ve ark 2007), yok olma tehlikesi altında bulunan bir ırk ile diğer ırklar arasında fazla genetik bir farkın olmadığı belirlenmiştir (Edwards ve ark 2000a).

Afrika ve Avrupa ırklarının birlikte değerlendirildiği çalışmada, kıtalar arasındaki genetik mesafenin kıtalar içi genetik mesafelerden daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (Gautier ve ark 2007). Benzer şekilde Avrupa ırklarındaki ortalama genetik çeşitlilik seviyesinin Afrika ırklarından düşük olduğu bildirilmiştir (Freeman ve ark 2004). AFLP yöntemi kullanılarak yapılan diğer bir çalışmada ise Podolian ırklarının Afrika ve Zebu ırkları arasında yer aldığı ayrıca diğer Avrupa ırklarının bu ırklardan ayrı bir konumda birlikte yer aldıkları tespit edilmiştir (Negrini ve ark 2007).

Avrupa, Asya (Hindistan) ve Afrika kıtalarına ait sığır ırklarının mtDNA karakterizasyonu sonucunda, tüm Avrupa ve Afrika sığır ırklarının aynı kökenden, tüm Hindistan sığır ırklarının ise başka bir kökenden geldikleri tespit edilmiştir (Loftus ve ark 1994). Bu çalışmada kullanılan Asya, Afrika, Avrupa sığır ırklarının coğrafik orijinleri ve göç yolları Şekil 1.2.'de gösterilmiştir.

Asya kıtası ile Avrupa kıtası arasında bir köprü olan Türkiye'de de benzer çalışmalar yapılmıştır. Türkiye yerli sığır ırklarının genetik yapılarının tespit edilmesi amacıyla kan ve süt protein polimorfizmi kullanılmıştır (Üstdal 1980, Ertuğrul 1990, Özbeyaz 1991). Teknolojinin ilerlemesi ile Türkiye yerli sığır ırkları

genetik karakterizasyon çalışmalarında mikrosatellit ve mtDNA markörleri kullanılmıştır (Altınalan 2005, Özkan 2005, Özdemir 2006, Özşensoy ve ark 2010). Türkiye’de yetiştirilen yerli koyun (Bulut 2004), kedi (Eroğlu 2007), keçi (Bulut ve ark 2008, Kul 2010, Ağaoğlu 2010), at (Aksu ve ark 2010), köpek (Koban 2001, Erdoğan ve ark 2008) ve geyik (Gürler ve ark 2010) ırkları üzerinde mikrosatellitler ve mtDNA kullanılarak genetik karakterizasyon çalışmaları yapılmıştır.



Şekil 1.2. Asya, Afrika ve Avrupa sığır ırklarının göç yolları ve coğrafik orijinleri (Beyaz: Zebu, Siyah: Taurin ırklarını göstermektedir). 1) Aberdeen Angus, 2) Hereford, 3) Jersey, 4) Charolais, 5) Simmental, 6) Friesian, 7) N'Dama, 8) White Fulani, 9) Kenana, 10) Butana, 11) Tharparkar, 12) Sahiwal, 13) Hariana ırklarını göstermektedir. Orijinal evcilleştirme durumu geniş halka ile gösterilirken, Asya Zebu ırkı yapısı kare şeklinde gösterilmiştir (Loftus ve ark 1994’den derlenmiştir).

Yedi farklı mikrosatellit markörü kullanılarak Türkiye yerli sığır ırklarından YK, DAK, GAK ve BOZ ile Holştayn, İsviçre Esmeri ve Jersey sığır ırkları kullanılarak genetik karakterizasyon çalışması yapılmıştır (Özkan 2005). Yerli ırkların, kültür sığır ırklarına göre allel sayısı ve beklenen heterozigotluk düzeylerinin daha fazla olduğu tespit edilmiştir. İncelenen tüm yerli ırkların tek bir gen havuzuna ait olduğu, Türkiye’nin doğusundan batısına doğru gidildikçe 5

mikrosatellit bölgesi açısından allel frekanslarında bir azalma olduğu tespit edilmiştir. Elde edilen bu farklılıkların, Türkiye'nin sığırın evcilleştirilme merkezine coğrafi yakınlığından ve Zebu karışımından kaynaklanabileceği belirtilmektedir. Ayrıca kültür ırklarından yerli ırklara belli oranlarda (%6,54–30,50) karışım olduğu belirtilmektedir. Irklara özel 11 adet allel tespit edilirken sadece DAK ırkına ait özel allel tespit edilememiştir. Tüm popülasyonların Hardy-Weinberg dengesinde olduğu da belirtilmiştir.

Altınalan (2005) yapmış olduğu bir çalışmada, 4 Türkiye yerli sığır ırkı (YK, DAK, GAK ve BOZ) ile 1 kültür ırkını (Holştayn) 26 mikrosatellit markörü kullanarak genetik ilişkilerini ve genetik varyasyonlarını araştırmıştır. Çalışılan ırklarda ortalama allel sayısı en fazla BOZ ırkta (13.27) en az ise Holştayn ırkında (11.04) tespit edilmiştir. Yapılan analizler sonucu yerli ırkların kültür ırkı ile ayrı bir konumda yer aldığı tespit edilmiştir. Yerli ırklardan YK ile GAK'ın birbirlerine en yakın ırklar olduğu, kültür ırkının ise DAK ve BOZ'a daha yakın bir konumda bulunduğu bulunmuştur.

Türkiye yerli sığır ırkları üzerinde mtDNA polimorfik yapılarının tespit edilmesi amacıyla da çalışma yapılmıştır (Özdemir 2006). Yerli sığır ırklarından YK, DAK, GAK, BOZ ırkları mtDNA'sının D-Loop ve ND5 bölgeleri incelenmiş ve kullanılan popülasyonlar arası ve popülasyonlar içi genetik çeşitliliğin yüksek olduğu tespit edilmiştir. Popülasyonlar arası genetik farklılık değerlerine ait permütasyon testi sonucunda DAK-BOZ ve DAK-GAK popülasyonlarının önemli derecede ($P<0,05$) farklı bulunduğu, GAK-BOZ, BOZ-YK, GAK-YK ve DAK-YK arasında herhangi bir farklılık tespit edilemediği bildirilmiştir. Ayrıca BOZ ve GAK popülasyonlarının Avrupa ırklarına daha yakın iken DAK ve YK popülasyonlarının Avrupa ve Afrika orijinli ırklar arasında yer teşkil ettiği belirtilmektedir (Özdemir 2006).

Loftus ve ark (1999) 20 farklı mikrosatellit markör kullanarak, 8 Yakın Doğu, 3 Avrupa, 1 Batı Afrika ve Hindistan'dan 2 Zebu ırkı olmak üzere toplam 14 farklı sığır ırkı üzerinde çalışma yapmışlardır. Bu çalışmada, Türkiye yerli sığır ırklarından BOZ, YK, GAK ile DAK ırkları da kullanılmış ve ırklar arasında ortalama heterozigotluk düzeylerinin yüksek olduğu dolayısıyla bu ırkların Anadolu üzerinden

Avrupa'ya yayıldığını açık bir şekilde gösterilmiştir. Kuzey ve Batı Avrupa ırkları ile Busa olarak adlandırılan Anadolu ve Balkan ırkları (Türkiye, Makedonya, Arnavutluk, Kosova) karşılaştırıldığında en geniş genetik çeşitliliğin Busa ırklarında olduğu tespit edilmiştir (Medugorac ve ark 2009). Ayrıca Troy ve ark (2001)'nin Afrika, Avrupa ve Yakın Doğu ırklarında mtDNA ile genetik karakterizasyon çalışması sonucunda Avrupa sığır ırklarının Yakın Doğu ırklarından köken aldığı ortaya konulmuştur. Özellikle Asya kıtasında yetiştiriciliği yapılan ırkların diğer Avrupa ırklarından ayrı olarak kümelenmesi, genetik çeşitliliğinin diğer kıtalara göre yüksek çıkması sığır ırkının ilk evcilleştirilme bölgesinin bu bölgeler olduğunun birer kanıtı olmaktadır.

Yapılan genetik karakterizasyon çalışmalarının geneli hakkında bilgi edinilmek amacıyla bir anket yapılarak hangi ırklarda, hangi yöntemler ve hangi istatistiksel analizlerin kullanıldığına dair bir çalışma yapılmıştır (Baumung ve ark 2004). Bu anket çalışmasında 132 soru sorulmuş olup 57 araştırmacıyı, 87 farklı projeyi ve 93 farklı ülkeyi kapsamaktadır. Bu anket sonucunda; yapılan genetik çeşitlilik çalışmalarında markör sistemi olarak mikrosatellit %90 (sığır çalışmalarında %87) oranında kullanıldığı bildirilmektedir. FAO/MoDAD tarafından tavsiye edilen lokusların yaygın olarak kullanıldığı, en az çalışmanın küçük ruminant ırklarında, en fazla sayıda çalışmanın ise sığır ırklarında yapıldığı belirtilmektedir. Yapılan çalışmaların %12'sinde sadece 1 sürü kullanılırken, %54'ü 10 sürüden daha az sürüyü kapsamaktadır. Tüm çalışmalarda kullanılan sürülerin %95'inde bir sürüde en az 25 hayvanla çalışıldığı belirtilmiştir. İstatistiksel analizlerin kullanılma oranı ise; Nei'nin standart genetik mesafesinin (D_S) kullanılma oranı %74, D_A %51 ve Reynolds genetik mesafesini kullananlar %30 olarak bildirilirken verilerin analizinde en yaygın olarak PHYLIP, GENETIX, POPGENE, ARLEQUIN, PAUP, BIOSYS-1 programları kullanılmıştır. Neighbour joining %59, plotting için PHYLIP %64 TreeView %42 oranında kullanıldığı da bildirilmiştir (Baumung ve ark 2004).

1.8. Popülasyon Genomiği Analizlerinde Kullanılan İstatistiksel Yöntemler

1.8.1. Allel Sayıları ve Frekansları

İrklar arasında allellik çeşitliği gösteren allellik varyasyon, verilerin istatistiksel analizinde ilk hesaplanan parametredir. Her bir markör için ortalama allel sayısı (n_a) genetik çeşitliliği ortaya koyan bir faktördür. Ortalama allel sayısının (n_a) ve allel frekanslarının (X_i) hesaplanmasında Nei (1987) kullanılmıştır;

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

n_a : Her bir lokus için ortalama allel sayısı;

n_{ai} : i lokusta bulunan allel sayısı;

r : Toplam lokus sayısı,

$$X_i = (2m_{ii} + \sum_{j \neq i} m_{ij}) / 2m$$

X_i = A_i allelinin frekansı

m : toplam birey sayısı,

m_{ii} : A_i allelindeki homozigot birey sayısı

m_{ij} : A_i allelindeki heterozigot birey sayısı (Nei 1987).

1.8.2. Hardy-Weinberg Dengesi (HWE) Hesaplanması

İstatistiksel önemlilik testleri veri setinin belirli bir hipoteze uyup uymadığını belirlemek amacıyla kullanılmaktadır. Genom çalışmalarında hipotez testleri için en yaygın kullanılan istatistiksel test ki-kare (χ^2) testidir. Bu test, normal dağılım testleri gibi analiz gerektirmedikinden ve sadece grupların sayıları kullanıldığından dolayı genetik birçok problemin anlaşılabilmesi amacıyla kullanılabilir. χ^2 testinin hesaplanmasında kullanılan formül aşağıda verilmiştir (Thompson ve Thompson 1986, Liu 1998).

$$\chi^2 = \sum (O-E)^2 / E$$

O: Gözlenen değer

E: Beklenen değer

1.8.3. Heterozigotluk

Bir lokusun en önemli özelliklerinden bir tanesi heterozigotluk derecesidir. Bir lokusun heterozigotluğu, bir popülasyondaki bir bireyin lokus için heterozigotluğunun olasılığı olarak tanımlanmaktadır. Bir lokusta yüksek allel ya da allelik frekans dağılımı mevcut ise daha geniş heterozigotluk elde edilecektir (Liu 1998).

Her bir markörde hesaplanan bireysel heterozigotluğun frekansı gözlenen heterozigotluğu (H_o) vermektedir ve “ $H_o = \text{Bir lokustaki heterozigot birey sayısı} / \text{Toplam birey sayısı}$ ” formülüyle hesaplanmaktadır. Allel frekansı, birden fazla markör kullanıldığı zaman bir popülasyondaki genetik varyasyonun derecesini belirlemek için heterozigotluk hesaplanması ile elde edilmektedir. Hesaplanan bu yöntemle beklenen heterozigotluğun frekansı elde edilmektedir (Nei ve Kumar 2000). Beklenen heterozigotluğun (H_e) hesaplanmasında örnek büyüklüğünün önemli bir etkisi bulunmaktadır. Bu olumsuzluğu ortadan kaldırmak amacıyla Nei ve Roychoudhury (1974) aşağıdaki formülü geliştirmişlerdir;

$$\hat{h} = 2m (1 - \sum X_i^2) / (2m-1)$$

$\hat{h}$: her bir lokusun ortalama beklenen heterozigotluk oranı;

m : Toplam birey sayısı

X_i : A_i allelinin frekansı.

1.8.4. Wright'ın F İstatistiği

Popülasyonlarda Hardy-Weinberg dengesinden sapmalar homozigotlaşma indeksi (F =Fixation index) veya F -istatistiği olarak isimlendirilmekte ve F_{IT} , F_{IS} ve F_{ST} olmak üzere 3 parametre kullanılmaktadır. F indeksi popülasyonlar ya da ırklar arasındaki genetik çeşitliliği hesaplamakta kullanılmaktadır (Wright 1965, 1978). Kontrollü çiftleştirmelerin yapılmadığı popülasyonlarda, her bir alt popülasyondaki genotip frekansları Hardy-Weinberg dengesini izlemek zorunda değildir ve her bir alt popülasyonda F değeri 0 olmayabilir (Nei ve Kumar 2000).

Homozigotlaşma indeksi parametrelerinden F_{IT} toplam popülasyonlardaki, F_{IS} ise alt popülasyonlardaki homolog alleller arasındaki korelasyonu (akrabalı yetiştirme katsayısı) vermektedir. F_{ST} ise her bir alt popülasyondan rastgele seçilen iki gamet arasındaki korelasyonu ve alt popülasyonların genetik farklılaşma derecelerini hesaplamada kullanılmaktadır (Nei ve Kumar 2000). Homozigotlaşma indeksi parametreleri (F_{IT} , F_{IS} ve F_{ST}) arasındaki ilişki aşağıdaki şekilde formüle edilmektedir.

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

Homozigotlaşma indeksi parametrelerinin hesaplanmasında, popülasyonlar içindeki gözlenen heterozigotluk (H_o), popülasyonlar içindeki beklenen heterozigotluk (H_e) ve toplam beklenen heterozigotluk (H_T) olmak üzere temel üç heterozigotluk değeri kullanılmaktadır. Bu heterozigotlukların hesaplanması aşağıda verilmiştir (Nei ve Kumar 2000). Popülasyonlardaki genetik çeşitliliğin belirlenmesinde ortalama heterozigotluğun hesaplanması yaygın olarak kullanılmaktadır (Nei ve Roychoudhury 1974).

$$H_o = \sum_k W_k \sum_{i \neq j} X_{kij}$$

$$H_e = 1 - \sum_k W_k \sum_i X_{ki}^2$$

$$H_T = 1 - \sum_k W_k X_{ki}^2$$

$$X_{kij}(i \neq j) = k. \text{ popülasyondaki } A_i A_j \text{ allelin frekansı}$$

$$W_k = 1/s$$

Heterozigotluk hesaplamaları kullanılarak, homozigotlaşma indekslerinin hesaplanması aşağıdaki gibidir.

$$F_{IS} = (H_e - H_o) / H_e \quad \text{veya} \quad F_{IS} = 1 - H_o / H_e$$

$$F_{IT} = (H_T - H_o) / H_T \quad \text{veya} \quad F_{IT} = 1 - H_o / H_T$$

$$F_{ST} = (H_T - H_e) / H_T \quad \text{veya} \quad F_{ST} = 1 - H_e / H_T$$

Rastgele birleşen iki gametin ortak atadan gelme ihtimalini F_{IT} değeri popülasyon seviyesinde, F_{IS} ve F_{ST} ise alt popülasyonlar seviyesinde belirlemektedir. Homozigotlaşma indeksi parametrelerinden F_{IT} ve F_{IS} negatif değer alabilirken F_{ST}

H_T değeri daima H_e değerine eşit ya da daha büyük bir değer aldığından dolayı negatif bir değer olamaz (Nei ve Kumar 2000). Negatif F_{IS} değeri heterozigot fazlalığının göstergesidir. Pozitif F_{IS} değeri ise saf yetiştirmeyi dolayısıyla homozigot fazlalığını, sıfır değerine yakın bulunması ise HWE’de olduğunu ve saf yetiştirmeden uzaklaşıldığını ifade etmektedir. F_{ST} için ise, hesaplanan değer 1.0’a ne kadar yakın ise alt popülasyonların ortak atadan gelme ihtimali uzak, sıfıra yaklaştığı zaman popülasyonlar arasında varyasyonun küçük olduğunu ve iki popülasyonun birbirine genetik olarak benzediğinin göstergesidir.

F_{ST} değeri kullanılarak küçük (0- 0,05), orta (0,05- 0,15), büyük (0,15– 0,25) ve çok büyük (>0,25) genetik farklılaşma derecesi tespit edilebilir (Özkan 2005). Multilokus F_{ST} değerlerinin, toplam genetik çeşitliliğin %6,8-7’sini, bireyler arasındaki farklılığın %93–93,2’sini açıklayabildiği belirlenmiştir (Cañón ve ark 2001, Jordana ve ark 2003).

1.8.5. Polimorfizm Bilgi İçeriği (PIC)

Bir popülasyonda polimorfizmin ölçülmesinde Polimorfizm Bilgi İçeriği (PIC; Polymorphic Information Content) sık kullanılan yöntemlerden bir tanesidir. PIC ne kadar yüksek ise bileşiklik (linkage) bilgi içeriği de o kadar yüksek olacağı düşünülmektedir. Ayrıca allellerin sayısı fazla olduğu zaman PIC yaklaşık olarak heterozigotluğa eşit olacaktır (Liu 1998).

Mikrosatellit markörlerin heterozigotluk düzeyleri türlere ve bir türün ırklarına göre değişebilmektedir. PIC heterozigotluk ve allel sayıları ile belirlenmektedir. Popülasyon genetiği analizlerinde kullanılan markörlerin PIC değerleri 0,50’ten büyük ise ($0,50 < PIC$) yüksek oranda bilgi verici, 0,50 ila 0,25 arasında ise ($0,25 < PIC < 0,50$) oldukça bilgi verici ve 0,25 den küçük ise ($PIC < 0,25$) düşük oranda bilgi verici olarak değerlendirilmektedir. Çok sayıda allele sahip olan ve PIC değeri 1’e yakın olan markörler en çok tercih edilen markörlerdir (Botstein ve ark 1980). PIC’nin beklenen değerinin hesaplanmasında kullanılan formül;

$$PIC = 1 - \sum_{i=1}^n P_i^2 - \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^n 2P_i^2 P_j^2$$

P_i ve P_j allel frekanslarını,

i ve j de allelleri ifade etmektedir. (Botstein ve ark 1980).

1.8.6. Faktöriyel Birleştirici Analizi (FCA)

Faktöriyel birleştirici analiz (FCA; Factorial Correspondence Analysis), popülasyonlardaki bireyler arasındaki ilişkiyi ortaya çıkarmak amacıyla genotipik verilerin çok boyutlu bir düzlemde incelenmesi prensibine dayanmaktadır. Bu analizde, çoklu boyutta diyagram çizilebilmesi amacıyla her bir bireyin genotiplerinin lineer transformasyonu mantığı kullanılmaktadır (Özkan 2005). Çizilen diyagram ile her bir birey diğer bir birey ile karşılaştırılıp bireylerin ortak bir sınıf oluşturularak bir grupta toplanması sağlanmaktadır (Lebart ve Mirkin 1992).

1.8.7. Temel Bileşenler Analizi (PCA)

Temel bileşenler analizi (PCA; Principal Component Analysis), temel olarak popülasyonları görsel olarak en az grupta ve ekseninde toplamak amacı ile yapılmaktadır. Bu amaçla popülasyonlarda tespit edilen mevcut varyasyonları önem sırasına göre açıklamak için değişik kombinasyonlar oluşturulmaktadır. Popülasyonlara ait bireylerden elde edilen veriler kullanılarak popülasyonlar tek bir nokta olarak değerlendirilip kombinasyonları oluşturulmakta ve 3 boyutlu eksen üzerinde yerleştirilmektedir. Oluşturulan bu eksenlerden birinci temel bileşen eksenini verilerdeki varyasyonun en fazla olan kısmını açıklamaktadır. İkinci ve diğer bileşenler ise kalan varyasyonun sırasıyla en büyük kısmını açıklamaktadır (Dytham 2003, Özkan 2005). PCA'da her bir eksen diğerlerinden bağımsız olarak alana yayılmakta ve oluşturulmaktadır (Cañón ve ark 2001).

1.8.8. Irklar Arası Genetik Uzaklıklar

Fauna ve flora türlerinin evrimsel gelişim süreçlerinin nasıl oluştuğu biyolojik bilimlerin anlamaya çalıştığı temel sorunlardan birisidir. Bu problemin çözümünde ve anlaşılmasında en çok kullanılan yöntem 1950'li yıllardan sonra kullanılmaya

başlanılan filogenetik ağaçların çizilmesidir (Setubal ve Meidanis 1997). Popülasyonların ya da tür gruplarının evrimsel sürecini anlamak içinde ağırlıklı olarak filogenetik ağaçlar üzerinde çalışmalara önem verilmiştir (Tateno ve ark 1982, Nei ve ark 1983, Nei ve Kumar 2000).

Lokuslardaki gen farklılıklarının sayısına genetik uzaklık (mesafe) denilmektedir (Nei 1972). Moleküler veriler kullanılarak popülasyonlar arası genetik uzaklıkların hesaplanması ile filogenetik ağaçların oluşturulması amacıyla farklı istatistiksel yöntem kullanılmaktadır. En sık kullanılanları; mesafe metotları, maksimum cimrilik (MP; Maximum Parsimony) ve maksimum olasılık (ML; Maximum Likelihood) metotlarıdır (Nei ve Kumar 2000).

Mesafe metotlarında, popülasyona ait birey çiftlerinin tümü hesaba katılarak hesaplanan mesafe değerleri arasındaki ilişkiler göz önüne alınıp filogenetik ağaç çizilmektedir. NJ metodunun prensibi, popülasyonlardaki genetik ilişkiyi şematize etmekte ve sırasıyla operasyonel taksonomik birim (OTUs) çiftlerinin komşularını bularak ağacın dallarının boyunu en aza indirmek için genetik uzaklıkların görsel olarak belirtilmesi amacı ile çizilebilmektedir. Mesafe metotlarında ağaçların çizilmesi için aritmetik ortalamaların kullanıldığı ağırlıksız çift grup yöntemi (UPGMA; Unweighted Pair-Group Method using arithmetic Averages), en küçük kareler (LS; Least Squares) metodu, asgari evrim (ME; Minimum Evolution) metodu, komşu birleştirme (NJ; Neighbor Joining) metodu kullanılan metotlardandır.

- **Nei'ye Göre Standart Genetik Uzaklık (Ds) Metodu:** Nei'nin (1972) geliştirdiği standart genetik uzaklık (Ds) metoduna göre ırklar arası genetik uzaklıkları belirlemede beklenen değer evrim süresi ve coğrafik uzaklık veya alanla ilişkili olarak mutasyon ve göç yollarının etkileri hesaba katılarak yapılabilmektedir. Ds genetik mesafe ölçümü lokuslardaki allel farklılıklarını hesaba katmakta olup kullanılan istatistiksel yöntem;

$$D_s = -\log_e I$$

$$I = [J_{XY} / \sqrt{J_X J_Y}] \text{ (Nei 1972)}$$

Ds= Standart Genetik Uzaklık

I = İki popülasyon arasındaki genlerin tanımlanmasını ifade etmektedir.

$$J_X = \sum_j^r \sum_i^{m_j} X_{ij}^2 / r \text{ (X popülasyonundaki lokusun ortalama homozigotluğu)}$$

$$J_Y = \sum_j^r \sum_i^{m_j} Y_{ij}^2 / r \text{ (Y popülasyonundaki lokusun ortalama heterozigotluğu)}$$

$$J_{XY} = \sum_j^r \sum_i^{m_j} X_{ij} Y_{ij} / r$$

$$X_{ij} = \text{(X popülasyonundaki } j. \text{ lokusun } i. \text{ allelinin frekansı)}$$

$$Y_{ij} = \text{(Y popülasyonundaki } j. \text{ lokusun } i. \text{ allelinin frekansı)}$$

$$m_j = j. \text{ Lokustaki allellerin sayısı}$$

$$r = \text{Kullanılan lokus sayısı (Nei 1972, Takezaki ve Nei 1996).}$$

I değeri 0 ile 1.0 arasında ise genetik uzaklık (D) 0 ve ∞ arasında değer alır. I=1.0 ise iki popülasyonun tüm lokuslardaki gen frekansları bakımından birbirine benzer olduğu, I=0 durumunda ise popülasyonlarda kullanılan markör bölgelerinde hiç bir ortak allelin olmadığı tespit edilmektedir (Özkan 2005).

- **Nei'nin D_A Genetik Uzaklık Yöntemi:** Popülasyonlar ya da türlerin evrimsel yakınlık ilişkisinin tespit edilmesi çalışmalarında mikrosatellitler etkin olmalarından dolayı yaygın olarak kullanılmaktadır (Takezaki ve Nei 1996, 2008). Mikrosatellit verilerinden genetik uzaklıkları belirlemek ve doğru ağaç topolojisi elde etmek için geleneksel olarak çizilen mesafe ağaçlarından farklı bir yöntem geliştirilmesi gerektiği belirlenmiştir. Geliştirilen yeni model ile diğer mesafe ölçümlerine göre en uygun yöntemin Nei'nin D_A genetik uzaklık yöntemi olduğu bildirilmiştir (Nei ve ark 1983, Takezaki ve Nei 1996).

$$D_A = 1 - (1/r) \left[\sum_j^r \sum_i^{m_j} \sqrt{X_{ij} Y_{ij}} \right]$$

$$X_{ij}: \text{X örneğinde } j. \text{ lokusun } i. \text{ allelinin frekansı.}$$

$$Y_{ij}: \text{Y örneğinde } j. \text{ lokusun } i. \text{ allelinin frekansı}$$

$$m_j: j. \text{ lokustaki allel sayısı}$$

$$r: \text{Toplam lokus sayısı}$$

1.8.9. Bireyler Arası Allel Paylaşım Uzaklıkları (Allele Sharing Distance)

Allel Paylaşım Uzaklıkları (ASD; Allele Sharing Distance) yöntemi, bir türün popülasyonları içerisindeki tüm bireylerde bulunan ortak allelleri temel almaktadır.

Bu yöntem, popülasyonların daha önceki bir zamanda alt popülasyonlara ayrılma olasılığı ihtimali düşünülerek temel popülasyondaki allel frekanslarının alt popülasyonlardaki allel frekanslarından yüksek olacağı varsayımına dayanmaktadır (Chakraborty ve ark 1992, Bowcock ve ark 1994). Popülasyonlar arasında allel paylaşımı her toplumda bulunmamakta ve bulunan popülasyonlarda ise genel olarak daha fazla frekansa sahip olmaktadır (Chakraborty ve ark 1992). Bu varsayımda allel paylaşımın oranlarındaki artışın popülasyonlardaki genetik benzerliği artırdığı belirtilmektedir (Chakraborty ve ark 1992, Bowcock ve ark 1994) ve aşağıdaki formülle hesaplanmaktadır;

$$DSA = 1 - P_s$$

$$P_s = (\sum S / 2r)$$

DSA: Bireyler arasındaki allel paylaşım uzaklıkları

P_s : İki bireyin lokus allelleri arasındaki benzerlik ölçüsü

S= Tüm lokuslardaki toplam paylaşılan allellerin sayısı

r = Toplam lokus sayısı (Bowcock ve ark 1994)

1.8.10. Moleküler Genetik Verilerin Varyans Analizi (AMOVA)

Moleküler varyans çalışmalarında, bir tür içerisindeki DNA haplotipleri arasındaki metrik mesafenin tespit edilmesi amacıyla varyans analizi (ANOVA) yapılması gerekmektedir. Fakat geleneksel varyans analizi moleküler verilerin analizi için yetersiz kalmasından dolayı, farklı bir istatistiksel yaklaşıma gereksinim duyulmaktadır. ANOVA testi üzerinde düzenlemeler yapılarak tekrardan tanımlanan bu varyans analizi Moleküler Varyans Analizi (AMOVA; Analysis of Molecular Variance) olarak isimlendirilmektedir. Bu analiz, popülasyon genetiği çalışmalarında moleküler bilgiler kullanılarak popülasyonlar arasındaki farklılaşmaların (evrimsel kökenin) ve farklılaşma ile ilgili hipotezlerin tespit edilmesi amacıyla kullanılmaktadır (Excoffier ve ark 1992).

Mikrosatellitler, RFLP, AFLP, mtDNA ve sekans bilgileri gibi birçok moleküler veri bu yöntem ile analiz edilebilmektedir. Bu analiz ile genetik çeşitlilik,

gruplar arası, popülasyonlar arası/gruplar içi ve popülasyonlar içi olmak üzere 3 düzeyde incelenmektedir (Excoffier ve ark 1992).

1.8.11. Mantel Testi

Mantel testi ile iki farklı uzaklık matriksi arasındaki korelasyon dolayısıyla bir parametrenin diğer bir parametre ile arasındaki ilişkiyi incelemektedir (Mantel 1967, Rousset ve Raymond 1997). Diğer bir deyişle; Mantel test eşit boyutlu olan iki matrisin benzerliğinin karşılaştırıldığı bir analiz metodudur (Özkan 2005). Popülasyonların coğrafi uzaklık değerleri ile D_A genetik uzaklık matrisi ve F_{ST} değerleri matrisi arasında bir ilişki Mantel testi ile analiz edilmekte ve permütasyon testi kullanılarak sonuçların önemlilik testleri yapılabilmektedir (Mantel 1967, Rousset ve Raymond 1997, Özkan 2005). Bu test sonucunda elde edilen korelasyon katsayısı kullanılarak çok iyi ($r \geq 0,9$), iyi ($0,8 \leq r < 0,9$), zayıf ($0,7 \leq r < 0,8$) veya çok zayıf ($r < 0,7$) ilişki tespit edilebilmektedir (Rohlf 2000).

1.8.12. Genetik Yapı (Structure) Testi

Popülasyon genetiği çalışmalarında popülasyonları oluşturan bireylerin sınıflandırılması önem arz etmektedir. Bu amaçla bireylerin benzer gruplarının tespit edilmesi için structure (genetik yapı) testi yaygın olarak kullanılmaktadır (Pritchard ve ark 2000, Evanno ve ark 2005). Genetik yapı testi ile mikrosatellitler, RFLP, AFLP ve SNP gibi farklı markör sistemleri ile elde edilen genotipik veriler kullanılarak (özellikle allel frekansları arasındaki ilişkiden yararlanılmaktadır) ilgili popülasyonun yapısının belirlenmesi ve popülasyonlara ait bireylerin popülasyonlara tayin edilmesi gerçekleştirilmektedir (Pritchard ve ark 2000, 2007, Rosenberg ve ark 2001). Ayrıca bireylerde herhangi bir genetik karışımın olup olmadığı da tespit edilebilmektedir. Çalışmaya konu olan tüm hayvanlar öncelikle tek bir popülasyonun üyesi gibi kabul edilip, genetik benzerlikleri karşılaştırılarak farklı kümeler oluşturulması prensibine dayanmaktadır (Pritchard ve ark 2000, 2007).

Bu testte, popülasyonlar arasında HWE dengesi ve bileşiklilik dengesi (linkage equilibrium) bulunduğu düşünülerek bir varsayım modeli oluşturulmaktadır. Bu varsayımdan dolayı, bileşik markörlerin bu yöntemde faydalı olmayacağı

belirlenmektedir. Oluşturulan bu varsayımda, K sayısı kadar popülasyonun olduğu kabul edilmektedir (K sayısı bilinmiyor olabilir). Çalışılan her bir lokusta bulunan allel frekansı setleri dikkate alınıp popülasyonlar birbirlerinden ayrılarak tanımlanmaktadır. Bu yöntem ile her bir hayvan kullanılan popülasyonlara atanmaktadır fakat bir bireyin genotipinde bir karışım var ise bu birey iki veya daha fazla popülasyona da atanabilmektedir (Pritchard ve ark 2000, 2007).

Ayrıca bu teste Bayesian yaklaşımı ve Markov Chain Monte Carlo (MCMC) metodu kullanılmaktadır. Bu test metodunda popülasyonlara ait bireyleri ilgili popülasyonlara ayırmak ve doğru parametreleri belirleyebilmek için doğru/uygun olan Markov Zinciri sayısının ve uzunluğunun saptanmasına ihtiyaç vardır (Pritchard ve ark 2000). Bu nedenle doğru uzunluğu ve sayıyı bulabilmek için, farklı çalışmalarda çeşitli periyot uzunluk değerleri (length of burning period) ve MCMC sayıları denenerek, en uygun sayının 10 000 ile 100 000 arasında olmasının yeterli olduğu belirtilmiştir (Pritchard ve ark 2000, 2007, Evanno ve ark 2005, Koban ve ark 2008). Bireylerin soylarının belirlenmesi amacıyla; 1) karışımın olmadığı model (her bireyin sadece bir popülasyona ait olduğu varsayımı), 2) karışımın olduğu model (her bir birey K sayısı kadar olan popülasyona ait olma olasılığı), 3) bileşiklik modeli (karışımın olduğu modele benzemektedir fakat bileşik lokusların aynı popülasyondan geldiği varsayımı) ve 4) önceki bilgi modeli (bazı bireylerin veya tüm bireylerin önceden bazı popülasyonlara atanmasına izin vermektedir) kullanılmaktadır (Pritchard ve ark 2007).

Bireylerin toplam kaç popülasyona atandığının tespit edilmesi amacıyla kullanılan K değerinin belirlenmesi için farklı yöntemler önerilmektedir (Pritchard ve ark 2000, Evanno ve ark 2005). Bu yöntemlerden birincisinde gerçek K değerini belirlemek için K değerinin bir önceki olasılığını tahmin edilmesi amacıyla hesaplama yapılmaktadır (Pritchard ve ark 2000). Bu değer, $\ln \Pr(X|K)$ (Estimated $\ln$ Prob of Data) olarak tanımlanmakta ve girilen her bir K değeri için bir $\ln \Pr(X|K)$ değeri bulunmaktadır. Her bir K değeri için hesaplanan $\ln \Pr(X|K)$ değerleri çizelge haline getirilmekte ve tekrar sayısına göre bu $\ln \Pr(X|K)$ değerlerinin ortalaması alınmaktadır. Daha sonra her K değeri için hesaplanan ortalamalar alınarak en uygun K değerinin hesaplanması için bir formül geliştirilmiştir. Bu formülde her $\Pr(K)$ değeri hesaplanmaktadır. Hesaplama pay kısmı hesaplanacak K değerinin

ortalaması, payda da ise 1. K değerinden son K değerine kadar her bir K için hesaplanan ortalamalar alınmaktadır. Ortalamalar, örneğin K=3 değerinin ortalaması $=e^{X3}$ şeklinde yazılmaktadır. K 1–7 arasında alındığı zaman K=3 için kullanılacak formül aşağıdaki şekilde olacaktır.

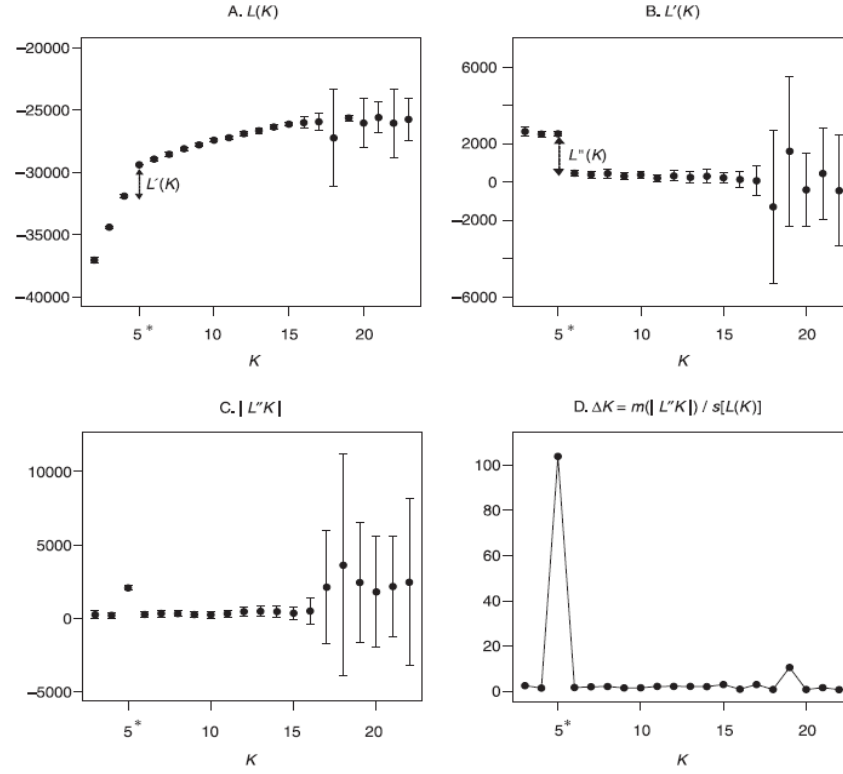
$$\frac{e^{X3}}{e^{X1} + e^{X2} + e^{X3} + e^{X4} + e^{X5} + e^{X6} + e^{X7}}$$

Pritchard ve ark (2000, 2007)'nın önerdiği K değeri hesaplama yönteminin (Estimated Ln Prob of Data), yakın akrabalı yetiştirme ya da coğrafi uzaklıklardan kaynaklanan ayrılmalar nedeniyle yapı analizine uygun olmayacağı ve uygun K değerinin hesaplanmasında hatalara neden olacağı belirtilmektedir. Ayrıca bu yöntemin 2 veya 4 popülasyonun tespit edilmesinde faydalı olacağı daha fazla sayıda çalışılan popülasyonlarda fayda sağlamayacağı bildirilmektedir (Evanno ve ark 2005). Bu durumlar göz önüne alındığı zaman ikinci bir yöntem olarak ΔK temelli istatistiksel yöntemin kullanılması gerektiği önerilmektedir (Evanno ve ark 2005). Bu yöntemde doğru popülasyon sayısını (K) tespit etmek amacıyla, diğer yöntemde kullanılan hesaplama yöntemi değiştirilerek $\ln(K)$ referans alınan $\ln P(D)$ değerleri hesaplanmaktadır. Hesaplanan ΔK değerinin çalışılan popülasyonlarda doğru bir K değerinin tespit edilmesini sağladığı bildirilmektedir. Ayrıca hesaplama sonucunda kullanılan K sayısındaki artışa paralel olarak $L(K)$ varyansında bir artış olduğu belirlenmiştir (Evanno ve ark 2005).

Evanno ve ark (2005)'nin önerdiği bu hesaplama yönteminin aşamaları aşağıda açıklanmıştır. Ayrıca hesaplanan bu 4 aşamanın grafiksel gösterimi Şekil 2.2.'de özetlenmiştir.

- 1) Her bir K için tekrarlama sayılarındaki ortalama olasılık $[L(K)]$ hesaplanmaktadır,
- 2) K değerlerinin, ardışık olasılık değerleri arasındaki ortalama fark $L'(K) = L(K) - L(K - 1)$ formülü kullanılarak hesaplanmaktadır,
- 3) Ardışık $L'(K)$ değerleri arasındaki mutlak değer $|L''(K)| = |L'(K + 1) - L'(K)|$ formülü ile hesaplanmakta ve

- 4) Son olarak ise, $L''(K)$ mutlak değerinin ortalaması, tekrarlama sayıları için hesaplanan $L(K)$ değerinin standart sapmasına bölünerek ΔK değeri hesaplanmaktadır [$\Delta K = m(|L''(K)|)/s[L(K)]$].



Şekil 2.2. Gerçek K popülasyon sayısının belirlenmesinde kullanılan 4 aşamanın grafiksel açıklaması. A) Her bir K değeri için tekrarlama sayısı ile ortalama $L(K)$ ($\pm$ SD)'nın hesaplanması. B) $L'(K) = L(K) - L(K-1)$ ile hesaplanan, dağılım olasılığın değişim oranı (ortalama $\pm$ SD), C) $|L''(K)| = |L'(K+1) - L'(K)|$ ile hesaplanan olasılık dağılımının ikinci dereceden değişim oranının mutlak değerleri (ortalama $\pm$ SD). D) $\Delta K = m(|L''(K)|)/s[L(K)]$ formülü ile ΔK 'nın hesaplanması. (Evanno ve ark 2005'den derlenmiştir).

1.8.13. Bireylerin Irklara Atanması Testi (Assignment Test)

Çalışılan popülasyonlardaki bireylerin birbirlerinden ayrılması ve genetik olarak bir popülasyon kümesine atanması amacıyla assignment test kullanılmaktadır. Assignment test, bireylerin bilinmeyen popülasyon kaynağının tespit edilmesi amacıyla, allel frekansları ve bireylerin genotipleri kullanılarak farklı popülasyonları tespit etmekte ve her bir bireyi bu popülasyonlara atamaktadır (Cornuet ve ark 1999, Davies ve ark 1999, Rosenberg ve ark 2001). Bu test alloenzim, mikrosatellitler,

RFLP gibi moleküler markörler ile yapılan çalışmalarda kullanılabilmekte ve lokuslar arasında bileşiklilik eşitliği (linkage equilibrium) varsayımı dayanmaktadır (Rannala ve Mountain 1997). Popülasyon genetiği, evrimsel kökenin araştırılması ve sosyal yapının oluşturulmasında göç önemli bir yer tutmaktadır. Bu amaçla bireylerin ait olduğu popülasyonun tespit edilmesi amacıyla yapılan bu teste göç olmadığı düşünülerek hesaplama yapılmaktadır (Rannala ve Mountain 1997).

Bu test, bireyler ve popülasyonlar arasındaki genetik uzaklık mesafe temelli olup genotip olasılık ve genetik mesafe olmak üzere iki metot yaygın şekilde kullanılmaktadır (Cornuet ve ark 1999).

- **Olasılık Metodu (Likelihood Based Methods - Bayesian Metot):** Bu metotta popülasyonlar içerisinde en yüksek genotipin görülme olasılığı dikkate alınarak popülasyonların bireyleri birbirinden ayrılmaktadır. Her bir popülasyondaki her bir lokusun allelik frekanslarının yoğunluğu eşit olarak kabul edilmekte ve hesaplama yapılmaktadır (Rannala ve Mountain 1997, Cornuet ve ark 1999, Davies ve ark 1999). Genetik uzaklık metodundan daha verimli bir yöntem olup bireyleri popülasyonlarına %100 doğru atadığı belirtilmektedir (Cornuet ve ark 1999).

- **Genetik Uzaklık Metodu (Distance Based Methods):** Bu yöntem diğer metottan farklı olarak olasılık üzerine hareket etmemekte, bireyleri genetik uzaklık bakımından kendisine en yakın popülasyona atamaktadır (Cornuet ve ark 1999).

1.8.14. Popülasyonların Yok Olma Riski Geçirip Geçirmedikleri Testi (Bottleneck)

Popülasyonların yakın geçmişte bir yok olma tehlikesi (dar boğazdan geçme olasılığı- Bottleneck Test) geçirip geçirmediğini belirlemek için kullanılan testtir. Bu test, popülasyonlardaki allelik çeşitlilikte gözlenen heterozigotluğun (H_o) beklenen heterozigotluktan (H_e) daha büyük olduğu hipotezini temel almakta ve popülasyon büyüklüğünde son yıllarda bir azalma görüldüğü hipotezine dayanılarak hesaplama yapılmaktadır (Cornuet ve Luikart 1996, Luikart ve Cornuet 1998, Piry ve ark 1999). Bu test ile hesaplama yapılırken allel frekansları ele alınmakta, popülasyonlarda göç-mutasyon dengesi olduğu varsayımı kullanılmakta ve örnek sayısı, gözlenen allel

sayısı ile beklenen heterozigotlukların dağılımından yola çıkılarak her bir popülasyonda her bir lokus için hesaplamalar yapılmaktadır (Piry ve ark 1999).

Bu test, popülasyonlardaki önemli heterozigot fazlalığı olan lokusların sayısını belirlemek amacıyla a) işaret testi (sign test), b) standardize farklılık testi (standardized differences test) ve c) wilcoxon testi (wilcoxon sign-rank test) olmak üzere 3 farklı test kullanılmaktadır. Bu testlerden standardize fark testi 20 veya daha fazla polimorfik lokusun kullanıldığı çalışmalarda kullanılırken Wilcoxon testi 20 lokustan daha az lokus kullanılan çalışmalarda bile kullanılabileceği önerilmektedir. Wilcoxon testinin yüksek istatistik güce sahip olmasından dolayı Bottleneck için en uygun test olduğu bildirilmektedir (Cornuet ve Luikart 1996, Luikart ve Cornuet 1998, Piry ve ark 1999). Bottleneck testinde hesaplanan P değeri, 1) sınırsız allel modeli (IAM; Infinite Allele Model), 2) basamak tarzı mutasyon modeli (SMM; Stepwise Mutation Model) ve 3) 2-safhalı model (TPM; Two Phase Model of Mutation) olmak üzere 3 olası mutasyon modeli altında 1000 simülasyon yapılarak bulunmaktadır. Bu modellerden TPM diğer 2 modelin (IAM ve SMM) ikisini de kullanmakta olup bu modelin heterozigot fazlalığını test etmek için en kullanışlı model olduğu bildirilmektedir (Cornuet ve Luikart 1996, Luikart ve Cornuet 1998, Piry ve ark 1999).

1.9. Çalışmanın Amacı

Bu çalışmanın amacı, Türkiye’de bulunan yerli sığır ırklarından bazılarının (Boz Irk, Yerli Kara, Güney Anadolu Kırmızısı, Doğu Anadolu Kırmızısı, Yerli Güney Sarısı ve Zavot) 20 farklı mikrosatellit markörü kullanılarak ön moleküler genetik karakterizasyonunun yapılmasıdır. Bu çalışma ile elde edilen veriler, tescil çalışmalarında, ırk içi ve ırklar arası genetik çeşitliliğin araştırılması, genetik kaynakların korunması ve gen bankası projelerinde ayrıca DNA düzeyinde ebeveyn ve birey testi çalışmalarında kullanılabilecektir.

Bu çalışmada, avantajlardan dolayı (bkz 1.5.) mikrosatellit markör sistemi ile ırklar arasındaki genetik farklılıkların ortaya konulması amacıyla kapiller elektroforez ve fragman analizi teknolojisi kullanılmıştır.

Yapılacak karakterizasyon çalışması sonucu, değişik ülkelerde yapılan ve türlerin kökeni hakkında bilgi edinme çalışmalarına da katkı sağlaması planlanmaktadır. Bu  alışma sonucunda elde edilen veriler evcilleştirilmenin kökeni, hayvan g   bölgelerinin belirlenmesine katkı sağlayarak tarihe yardımcı olması ve ışı  tutması ayrıca beklenmektedir.

Bu  alışma, Türkiye'nin imzalamış olduğu “Genetik Kaynakların Korunması Sözleşmesi'nde” vaat edilen çalışmaları da kapsamaktadır. Ayrıca bu çalışma ile elde edilen veriler tescil çalışmalarında, genetik kaynakların korunması projelerinde de kullanılabilir. Yerli sığı  ırklarımızın  n moleküler karakterizasyonu yapılması sonucu, en azından genetik yapı bakımından ırklara özel allellerin belirlenmesi söz konusu olabilecektir.

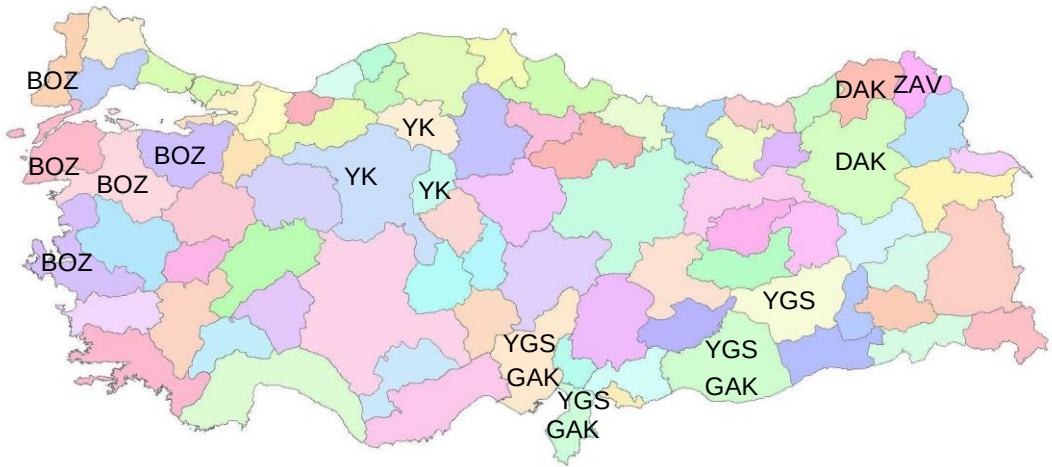
2. GEREÇ ve YÖNTEM

2.1. Materyal

2.1.1. Hayvan Materyali ve Seçimi

Tez kapsamında Güney Anadolu Kırmızısı (GAK, 51), Yerli Kara (YK, 51), Boz Irk (BOZ, 47), Yerli Güney Sarısı (YGS, 50), Doğu Anadolu Kırmızısı (DAK, 32) ve Zavot (ZAV, 14) ırkları ait toplam 245 baş sığır kullanılmıştır. Örnekleme çalışması “*Türkiye Yerli Hayvan Genetik Kaynaklarından Bazılarının İn Vitro Korunması ve Ön Moleküler Tanımlanması-I*” (TÜRKHAYGEN-1) projesi (106G005) kapsamında Tarım Bakanlığı tarafından yapılmıştır. Çalışmada kullanılan yerli sığır ırklarında yapılan örnekleme çalışmalarında, Türkiye’nin değişik bölgelerindeki (Şekil 2.1.) işletme ve yetiştiricilerden (Çizelge 2.1.) akraba olmayan, ırkın morfolojik özelliklerini taşıyan hayvanların rasgele seçilmesine özen gösterilmiştir.

Örnekleme çalışması yapılan YK (2), BOZ (13) ve DAK (3) ırklarından bazı hayvanlar TAGEM tarafından, Lalahan Hayvancılık Merkez Araştırma Enstitüsü (Lalahan HMAE), Marmara Hayvancılık Araştırma Enstitüsü (MHAE) ve Doğu Anadolu Tarımsal Araştırma Enstitüsü’nde (DATAE) koruma altında bulunan sürülerden (bkz Çizelge 1.10.) alınmıştır.



Şekil 2.1. Örnekleme Çalışması.

Çizelge 2.1. Popülasyonların seçildiği iller ve işletme sayısı.

Popülasyon	İl	İlçe	İşletme sayısı
GAK	Şanlıurfa	Halfeti	4
		Hilvan	10
		Viranşehir	1
		Merkez	1
		Harran	1
		Bozova	7
	Adana	Ceyhan	2
	Hatay	Hassa	1
YK	Ankara	Kırıkhan	9
		Elmadağ	1
		Çamlıdere	13
		Kızılcahamam	4
	Çankırı	Güdül	14
		Korgun	5
	Kırıkkale	Merkez	2
		Balışeyh	1
BOZ	Balıkesir	Bandırma	1
	Edirne	Enez	2
	Bursa	Mustafa Kemal Paşa	6
		Gürsu	1
		Görükle	1
	Çanakkale	Gelibolu	1
	İzmir	Bergama	1
YGS	Adana	Saimbeyli	8
		Tufanbeyli	2
		Kozan	1
		Feke	15
	Hatay	Dört Yol	2
	Şanlıurfa	Siverek	5
	Diyarbakır	Ergani	1
DAK	Artvin	Yusufeli	7
	Erzurum	Merkez	1
		Olur	9
		Narman	1
ZAV	Ardahan	Merkez	12

2.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Çözeltiler

Laboratuvar çalışmalarında kullanılan kimyasal maddeler ve hazırlanan çözeltiler Çizelge 2.2.'de özetlenmiştir.

Çizelge 2.2. Kullanılan bazı çözeltiler ve hazırlanışı.

<u>10X LYSIS BUFFER</u> 770 mM NH ₄ Cl 46 mM KHCO ₃ 10 mM EDTA	<u>10X TBE (pH: 8,3)</u> 108 g Tris 55 g Borik Asit 9,3 g EDTA-Na ₂ dH ₂ O ile 1000 ml'ye tamamlanır ve NaOH kullanılarak pH 8,3 e ayarlanır.
<u>1 M NaCl (1 lt)</u> 58,44 g NaCl Distile su ile 1 lt'ye tamamlanır.	<u>6X Loading Dye</u> %40 sükröz 25 mg Bromfenolblue TE ile 100 ml'ye tamamlanır.
<u>TE</u> 10 mM Tris-HCl (pH:8) 1 mM EDTA (pH:8)	<u>SALT EDTA</u> 75 mM NaCl 25 mM EDTA

2.1.3. Kullanılan Cihaz ve Aletler

Tez çalışmasının değişik aşamalarında kullanılan cihaz ve aletler genel olarak Çizelge 2.3.'de özetlenmiştir.

Çizelge 2.3 Kullanılan Cihazlar, Alet ve Ekipmanlar.

Cihaz	Model
Soğutmalı Santrifüj (+4 ⁰ C)	Hettich 320R, ALMANYA
PZR Isısal Döngü Cihazı (Thermal Cycler)	MJ-Research PTC-200, ABD
CEQ-8000 Genetic Analysis System	Beckman Coulter ABD
Nanodrop ND-1000	Thermo Fisher Scientific Inc. ABD
Jel görüntüleme sistemi	Bio-Rad Gel Doc-2000, ABD
Otomatik Pipet seti	Eppendorf, ABD
Otoklav	HIYAMARA, JAPONYA
Mini Santrifüjler	VWR International, ALMANYA
Vorteks	VWR International, ALMANYA
Hassas tartı	Precisa XT 1200 C, İSVİÇRE
pH metre	WTW İmolab, TÜRKİYE
Mikrodalga fırın	Beko, TÜRKİYE
Yatay Jel Elektropherez Seti (agaroz jel sistemi)	Maxicell primoEC340, ABD
Buz Makinesi	Scotsman AF 100, İTALYA
Etüv	N-Biotek Inc, KORE

2.2. Yöntem

2.2.1. Kan Örneklerinin Toplanması

Kan örnekleri 10 ml olacak şekilde *Vena jugularis*'ten K₃EDTA'lı tüplere alınmış ve analiz edilecekleri zamana kadar -20 °C'de saklanmıştır.

2.2.2. DNA İzolasyonu

Kan örneklerinden standart fenol/kloroform yöntemi (Sambrook ve ark 1989) kullanılarak DNA izolasyonu yapılmıştır. 50 ml'lik falkon tüplere 10 ml kan örneği konulduktan sonra üzerine 0,5 ml 0,5 M EDTA (pH 8.0) eklenmiş ve 2X Lysis buffer çözeltisi ile 50 ml'ye tamamlanmıştır. Tüpler ters düz edilerek nazikçe 10 dakika (dk) karıştırıldıktan sonra 30 dk boyunca buzun içinde bekletilmiştir. Buzdan alınan tüpler 3000 rpm'de +4 °C'de 10 dk santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası tüpün süpernatant fazı dökülüp (tüpdeki tüm solüsyonlar dökülür) ve tüpteki pellet üzerine 3 ml Tuz / EDTA solüsyonu eklenerek vortekste iyice karıştırılmıştır. Vorteksleme aşamasından sonra tüplere 0,3 ml %10'luk SDS (Sodium Dodecyl Sulfate) ve 150 µl Proteinaz K (10 mg / ml) eklenerek 55 °C'de 3 saat etüvde inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda alınan tüplerin üzerine 3 ml fenol (pH 8.0) eklenmiştir. Tüpler 20 saniye oldukça sert bir şekilde çalkalandıktan sonra 5 dk da yumuşak şekilde ters yüz edilmiştir. 3000 rpm de +4 °C de 10 dk santrifüj sonrasında süpernatant kısmı yeni steril tüplere alınmıştır. Üzerine 3 ml fenol:kloroform:isoamil alkol (25:24:1) eklenerek tüpler tekrar 20 saniye oldukça sert bir şekilde çalkalandıktan sonra 5 dk da yumuşak şekilde ters yüz edilmiştir. Daha sonra tüpler 3000 rpm de +4 °C de 10 dk santrifüje bırakılmıştır. Oluşan yeni üst faz (süpernatant kısmı) yeni tüplere alınıp üzerine süpernatantın 1/10'u oranında 3 M Sodyum Asetat (pH 5.2) ve 2 katı kadar soğuk %95'lik etanol eklenmiştir. Yoğunlaşan DNA cam çubuk veya pipet ucu ile yeni ependorf tüpe aktarılmıştır. Pellet kurutulup alkol uzaklaştırıldıktan sonra 0,5 ml 10 mM Tris HCL– 10 mM EDTA ile sulandırılmıştır.

2.2.3. DNA Kalitesinin Kontrolü

DNA örneklerinin miktar ve kalite kontrolleri 260/280 nm UV'de Nanodrop ND-1000 Spektrofotometre kullanılarak kontrol edilmiştir. DNA örneklerinin kalitesi ve miktarının kontrolünde agaroz jel elektroforez sistemi de kullanılmıştır. İki µl DNA örneği 6X Loading Dye ile birlikte %0,6'luk agaroz jelinde 100 V/h elektroforez işlemine tabi tutulduktan sonra EtBr ile boyanarak Bio-Rad Gel Doc 2000 sistemi kullanılarak görüntülenmiştir. Daha sonra 100 ng/µl konsantrasyonunda stok DNA solüsyonları oluşturulmuştur. Kontrolleri yapılan DNA örnekleri kullanılacakları zamana kadar -20 °C'de saklanmıştır.

2.2.4. Mikrosatellit Markörler

Polimorfik, enformatik değeri yüksek, farklı kromozomlar üzerinde olan ve multiplex çalışmalarına uygun, 20 sığır mikrosatellit markörü Uluslar arası Hayvan Genetiği Derneği (ISAG-International Society of Animal Sciences) ve FAO MoDAD (Measurement of Domestic Animal Diversity) tarafından tavsiye edilen markör listesinden (Hoffmann ve ark 2004) seçilmiştir (Çizelge 2.4.). Kapiller elektroforez ve fragman analizinde kullanılması amacıyla forward primerler Beckman Coulter CEQ-8000 Genetik Analiz Sistemine (Resim 2.1.) uygun WELL-RED (D4, D3 veya D2) floresans ile işaretlenmiştir. PZR oligoları Sigma-Proligo tarafından sentezlenmiştir.



Resim 2.1. Beckman Coulter CEQ-8000 Genetik Analiz Sistemi.

2.2.5. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)

Mikrosatellite analizlerinde masraf ve iş gücünün azaltılması amacıyla multipleks PZR ve genotiplleme yöntemi uygulanmıştır. Pilot çalışmalar sonucunda farklı WELL-RED (D4, D3 ve D2) ile işaretlenmiş 7 (CSSM66, ETH03, HEL9, CSRM60, INRA023, SPS115, ILSTS006), 7 (INRA05, HAUT27, TGLA122, TGLA126, TGLA227, BM1824, HEL13) ve 6 (BM2113, TGLA53, ETH225, ETH10, ETH185, BM1818) adet lokus olacak şekilde üç farklı multipleks havuz sistemi oluşturulmuş (Çizelge 2.5.) ve genotiplleme çalışmalarında kullanılmıştır. Tüm lokusların PZR analizlerinde kullanılabileceği ortak bir PZR kondisyonunun oluşturulmasına çalışılmıştır. Multipleks PZR protokollerinin her bir reaksiyonunda 1x Mg⁺² free PZR buffer (Fermentas), 200 µM dNTP (Fermentas), 1.5 mM MgCl⁺², 0,375 ünite *Taq* polimeraz (Fermentas), 2–17 pM her bir primer çifti (Çizelge 2.5.)

ve ~100 ng template DNA kullanılarak her bir PZR reaksiyonu toplam 15 µl hacimde olacak şekilde hazırlanmıştır.

Çizelge 2.4. Kullanılan sığır mikrosatellit markör listesi.

No	Lokus	BTA*	Primer	Allel	İşaretleme**
1	BM1824	1	GAGCAAGGTGTTTTCCAATC CATTCTCCAAGTCTTCCTTG	170-218	D2
2	BM2113	2	GCTGCCTTCTACCAAATACCC CTTAGACAACAGGGGTTTGG	116-146	D4
3	INRA023	3	GAGTAGAGCTACAAGATAAACTTC TAACTACAGGGTGTTAGATGAACTCA	193-235	D3
4	ETH10	5	GTTCAGGACTGGCCCTGCTAACA CCTCCAGCCCACTTTCTCTTCTC	198-234	D4
5	ILSTS006	7	TGTCTGTATTTCTGCTGTGG ACACGGAAGCGATCTAAACG	277-309	D4
6	HEL9	8	CCCATTTCAGTCTTCAGAGGT CACATCCATGTTCTCACCAC	141-173	D3
7	ETH225	9	GATCACCTTGCCACTATTTCTCT ACATGACAGCCAGCTGCTACT	135-165	D2
8	CSRM60	10	AAGATGTGATCCAAGAGAGAGGCA AGGACCAGATCGTGAAAGGCATAG	79-115	D4
9	HEL13	11	TAAGGACTTGAGATAAGGAG CCATCTACCTCCATCTTAAC	178-200	D4
10	INRA005	12	CAATCTGCATGAAGTATAAATAT CTTCAGGCATACCCTACACC	135-149	D4
11	CSSM66	14	ACACAAATCCTTTCTGCCAGCTGA AATTTAATGCACTGAGGAGCTTGG	171-209	D4
12	SPS115	15	AAAGTGACACAACAGCTTCTCCAG AACGAGTGTCTAGTTTGGCTGTG	235-265	D4
13	TGLA53	16	GCTTTCAGAAATAGTTTGCATTCA ATCTTCACATGATATTACAGCAGA	143-191	D3
14	ETH185	17	TGCATGGACAGAGCAGCCTGGC GCACCCCAACGAAAGCTCCCAG	214-246	D3
15	TGLA227	18	CGAATTCCAAATCTGTTAATTTGCT ACAGACAGAACTCAATGAAAGCA	64-115	D4
16	ETH03	19	GAACCTGCCTCTCCTGCATTGG ACTCTGCCTGTGGCCAAGTAGG	90-135	D2
17	TGLA126	20	CTAATTTAGAATGAGAGAGGCTTCT TTGGTCTCTATTCTCTGAATATTCC	104-131	D3
18	TGLA122	21	CCCTCCTCCAGGTAAATCAGC AATCACATGGCAAATAAGTACATAC	134-193	D3
19	BM1818	23	AGCTGGGAATATAACCAAAGG AGTGCTTTCAAGGTCCATGC	248-278	D2
20	HAUT27	26	TTTTATGTTTCATTTTTTGAAGTGG AACTGCTGAAATCTCCATCTTA	120-158	D2

*Sığır Kromozom Numarası

**WELL-RED işaretleme; D4=Mavi, D3=Yeşil, D2=Siyah

Çizelge 2.5. PZR multipleks havuz sistemi ve primer miktarları.

Havuz	Markör	İşaretleme*	Primer miktarı (µl)**
I	CSSM66	D4	0,10
	CSRM60	D4	0,04
	ETH03	D2	0,15
	INRA023	D3	0,33
	HEL9	D3	0,20
	ILSTS006	D4	0,17
	SPS115	D4	0,17
II	ETH185	D3	0,20
	BM1818	D2	0,26
	BM2113	D4	0,10
	ETH225	D2	0,12
	TGLA53	D3	0,20
	ETH10	D4	0,10
III	INRA005	D4	0,10
	HAUT27	D2	0,12
	TGLA122	D3	0,17
	TGLA126	D3	0,22
	TGLA227	D4	0,06
	BM1824	D2	0,12
	HEL13	D4	0,21

*D4 mavi, D3 yeşil, D2 siyah.

** Her bir Forward ve Reverse markörlerden 0,1 µl de 5'er pM bulunmaktadır.

Esnek annealing özelliğine sahip olması ve farklı primerlerin aynı kondisyonlarda yükseltgenmesine olanak sağlaması nedeniyle Touchdown PZR protokolü (Don ve ark 1991) multipleks PZR çalışmalarında tercih edilmiştir. Polimeraz zincir reaksiyonları, MJ Research PTC-200 thermal cyler ve Touchdown PZR profili kullanılarak iki aşamada gerçekleştirilmiştir. PZR profili; 95 °C'de 4 dk ile tam bir denatürasyon sağlandıktan sonra I. aşamada 16 döngü için 94 °C'de 30 saniye denatürasyon, primerlerin ideal bağlanma noktasının sağlanması için 60 °C'den başlayarak her bir döngüde 0,5 °C düşürülen ve 30 saniye süren annealing ve 72 °C'de 30 saniye elongation sağlandı. II. aşamada ise 94 °C'de 30 saniye denatürasyon, 52 °C'de 30 saniye annealing ve 72 °C'de 30 saniye elongation olacak şekilde toplam 25 döngü kullanıldı. Son olarak örnekler 72 °C'de 10 dk tutularak tam bir adenilizasyona olanak sağlanmıştır.

2.2.6. Kapiller Elektroforez Yöntemi

Floresans WELL-RED işaretli primerler (Çizelge 2.4.) kullanılarak yükseltgenen her bir 0,5 µl PZR ürünü havuzundan S-400 DNA standardı (CEQ-

Size Standart-400, Beckman Coulter p/n 608098) içeren 25 µl Hi-Di deionize formamide (SLS; Sample Loading Solution) eklendi ve üzerine 1 damla mineral yağ damlatılarak Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalında bulunan Beckman Coulter CEQ-8000 Genetik Analiz Sistemine (Resim 2.1.) yüklenmiştir. FragTest-3 protokolü (90 °C’de 2 dk denatürasyon, 2.0 kV 30 saniye injeksiyon, 6 kV 35 dk seperasyon ve 50 °C kapiller ısısı) ile 33 cm DNA seperasyon kapilleri (Beckman Coulter p/n 608087) kullanılarak kapiller elektroforez ile ayrıştırılmış ve alleller CEQ fragman analiz programı kullanılarak “default” kalibrasyonu ile belirlenmiştir.

2.3. İstatistiksel Analizler

Elde edilen genotipik veriler kullanılarak Raymond ve Rousset (1995) tarafından tavsiye edildiği şekilde, temel parametreler olan toplam allel sayısı, allel frekansları, gözlenen (H_o) ve beklenen heterozigotluk (H_e), poliformizm bilgi içeriği (PIC), Hardy-Weinberg Dengesine (HWE) uygunluk değerleri ve Wright’ın F istatistikleri hesaplanmıştır. Ayrıca, Faktoriyel Birleştirici Analizi (FCA; Factorial Correspondence Analysis), Temel Bileşenler Analizi (PCA: Principal Components Analysis), filogenetik ağaçların çizimi, bireyler arası allel paylaşım uzaklıkları (ASD; Allele Sharing Distance), bireylerin ırklara atanması testi (Assignment Test), Genetik Yapı Testi (Structure Test), Moleküler Varyans Analizi (AMOVA) ve Mantel test yapılmıştır. Ayrıca popülasyonların yok olma riski geçirip geçirmedikleri de test edilmiştir. Bu parametreler, GenAlEx6 (Peakell ve Smouse 2006), Structure 2.2 (Pritchard ve ark 2007), Population 1.2.28 (Langella 1999), TreeView (Page 1996), FSTAT (Goudet 1995), Arlequin 3.5. (Excoffier ve Lischer 2010), GENETIX 4.05 (Belkhir ve ark 1996–2004), PowerstatsV12 (Promega 2000) ve Bottleneck 1.2.02 (Piry ve ark 1999) paket programları kullanılarak hesaplanmıştır.

FSTAT programı (Goudet 1995) kullanılarak Wright’ın F istatistik değerleri (F_{IS} , F_{IT} ve F_{ST}), Hardy-Weinberg (HWE) dengesinden sapma oranları, alleller arasındaki ilişkiler belirlenmiştir. GenAlEx6 programı (Peakell ve Smouse 2006) kullanılarak allel sayıları, HWE uygunluk testi, Assignment Test, H_o ve H_e , PCA hesaplanırken, PIC değerleri PowerstatsV12 (Promega 2000) programı ile hesaplanmıştır. GENETIX 4.05 paket programı (Belkhir ve ark 1996–2004) ile FCA,

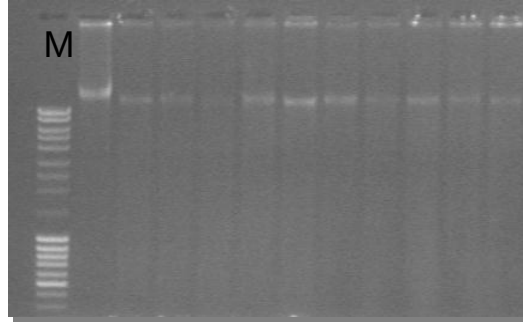
Arlequin 3.5. programı (Excoffier ve Lischer 2010) ile AMOVA ve Mantel test, Structure 2.2 programı (Pritchard ve ark 2007) ile genetik yapı testi, Bottleneck 1.2.02 (Piry ve ark 1999) programı ile popülasyonların yok olma riski geçirip geçirmediikleri, Populations 1.2.28 istatistik programı (Langella 1999) ve TreeWiew (Page 1996) ile ırklar arası genetik uzaklığın belirlenmesi için dendrogramlar (Neighbor-Joining Tree, Komşu birleştirme ağacı) ve bireyler arası allel paylaşım uzaklıkları (ASD) çizilmiştir.

Bu çalışma için etik kurul raporu, Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Etik Kurulu'ndan 19.11.2007 tarih ve 2007/063 sayılı izni ile alınmıştır.

3. BULGULAR

3.1. DNA İzolasyonu

Çalışmada kullanılan 6 ırktan toplam 245 örnekten standart fenol/kloroform yöntemi kullanılarak DNA izolasyonu yapılmıştır. DNA örneklerinin kalitesi %0,6'lık agaroz jel elektroforez ile kontrol edilmiştir (Resim 3.1.). DNA örneklerinin genotipleme analizlerinde kullanılabilecek kalitede olduğu gözlenmiştir.

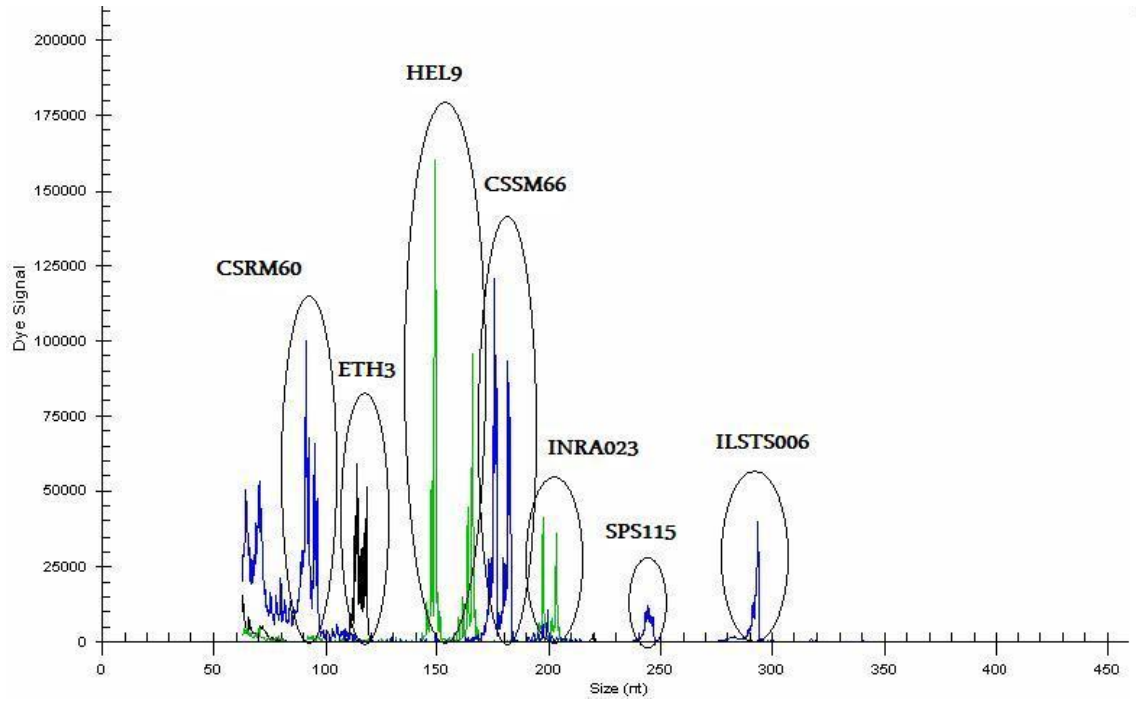


Resim 3.1. DNA örneklerin %0,6'lık agaroz jel elektroforez ile kontrol edilmesi. (M: Mass Ruler DNA Ladder).

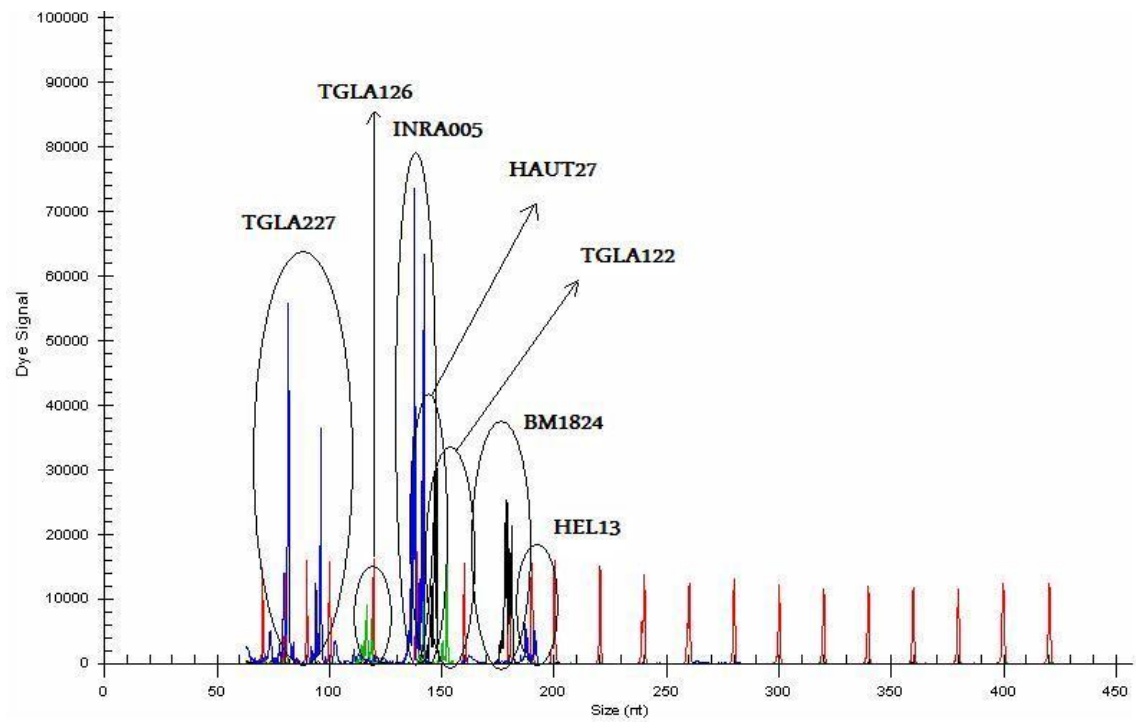
3.2. Multipleks PZR ve Fragman Analizi

PZR analizleri için 7 (CSSM66, ETH03, HEL9, CSRM60, INRA023, SPS115, ILSTS006), 7 (INRA05, HAUT27, TGLA122, TGLA126, TGLA227, BM1824, HEL13) ve 6 (BM2113, TGLA53, ETH225, ETH10, ETH185, BM1818) mikrosatellit markörünü içeren üç farklı multipleks havuz sistemi (Çizelge 2.5.) oluşturulmuştur.

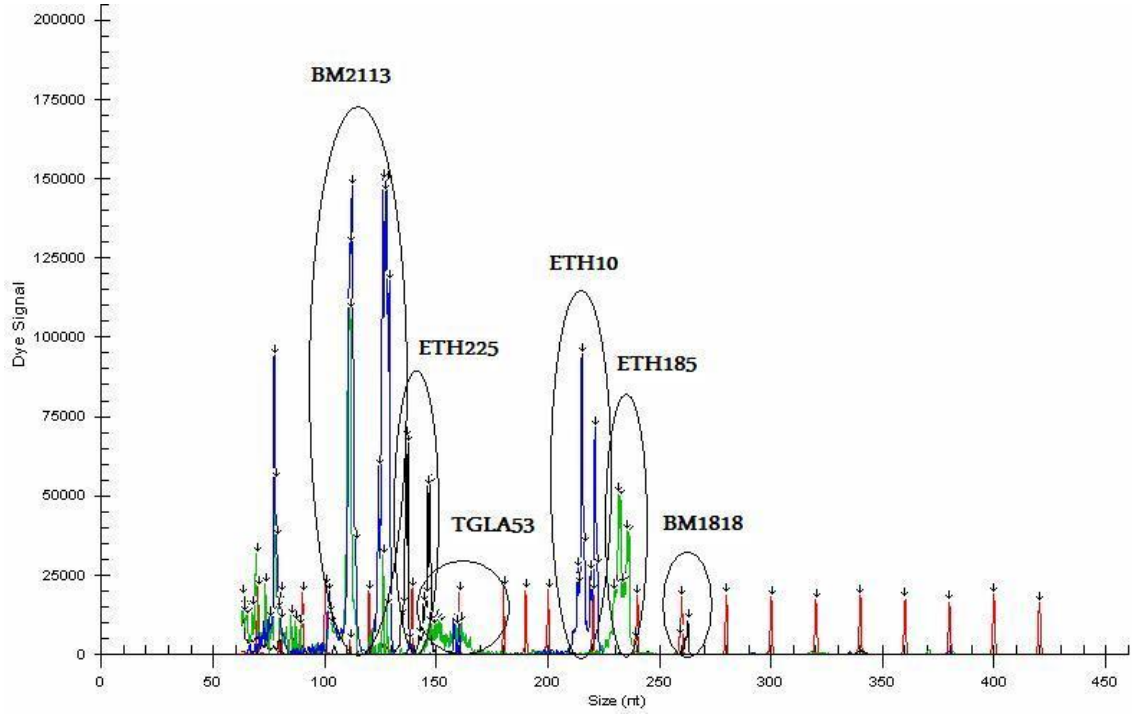
Fragman analizlerinin sonuçları (Grafik 3.1., 3.2., 3.3.) oluşturulan 3 farklı havuz sisteminin genotipleme çalışmalarında başarıyla kullanılabileceğini göstermektedir.



Grafik 3.1. Miks-1 markörlerinin elektroferogramı.



Grafik 3.2. Miks-2 markörlerinin elektroferogramı.



Grafik 3.3. Miks-3 markörlerinin elektroferogramı.

3.3. Popülasyon İçi Genetik Varyasyon

Genel popülasyon parametreleri (gözlenen allel sayıları, ortalama allel sayıları, allel frekansları, popülasyonlarda gözlenen toplam allel sayıları, beklenen, gözlenen ve toplam heterozigotluk değerleri ile popülasyonlara ait özel alleller) GenAlEx6 ve FSTAT paket programları kullanılarak hesaplanmıştır.

3.3.1. Allel Sayıları ve Frekansları

Altı popülasyon ve 20 mikrosatellit markörüne ait toplam 266 farklı allel gözlemlenmiştir (Çizelge 3.1.). En fazla allel sayısı GAK ve YK popülasyonlarında TGLA122 marköründe (19 allel) tespit edilmiştir. En az allel sayısı (4 allel) ise YGS popülasyonunda INRA005 lokusunda, ZAV’da ise ILSTS006, ETH10, TGLA126 ve BM1824 markörlerinde gözlenmiştir. Markörler seviyesinde değerlendirildiğinde ise en fazla allel sayısı TGLA122 (24 allel) ve TGLA53 (23 allel) en az allel sayısı ise INRA005 (7 allel) marköründe gözlenmiştir. Mikrosatellit markörler incelendiği zaman en fazla ortalama allel TGLA53 (15,17 allel) ve TGLA122 (14,50 allel) markörlerinde, en az ortalama allel ise INRA005 (5 allel) ve BM1824 (5,33 allel)

markörlerinde gözlenmiştir. Popülasyonlara göre değerlendirildiğinde ise tespit edilen ortalama allel sayısı en fazla GAK (10,50 allel), YK (10,60 allel) ve YGS (10,65 allel), en az ise ZAV popülasyonunda (6,90 allel) tespit edilmiştir. İncelenen 6 popülasyonda ortalama allel sayısı ise 13,30 allel olarak tespit edilmiştir. Kullanılan markörlerin popülasyonlarda gözlenen ortalama allel sayısı (13,30) ile karşılaştırıldığında ZAV popülasyonunun, çalışılan 20 markörün tümünde ortalama allel sayısından daha az sayıda allele sahip olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 3.1. Popülasyonlarda gözlenen allel sayıları.

Markör	Popülasyonlar							Toplam
	GAK	YK	BOZ	YGS	DAK	ZAV	Ortalama	
CSSM66	13	13	12	13	13	8	12,00	14
CSRM60	10	13	11	12	7	5	9,67	15
ETH03	10	11	9	11	9	9	9,83	14
INRA023	13	10	10	11	10	8	10,33	14
HEL9	11	12	12	14	11	8	11,33	16
ILSTS006	11	11	10	9	8	4	8,83	13
SPS115	9	10	8	9	8	6	8,33	10
ETH185	12	12	12	12	10	9	11,17	16
BM1818	8	10	9	10	7	7	8,50	12
ETH225	13	11	8	9	8	8	9,50	13
ETH10	8	8	8	9	7	4	7,33	9
TGLA53	18	14	18	18	10	13	15,17	23
BM2113	10	9	9	12	8	8	9,33	13
INRA005	5	6	6	4	5	4	5,00	7
HAUT27	8	9	9	8	8	6	8,00	9
TGLA122	19	19	14	16	10	9	14,50	24
TGLA126	6	8	8	11	8	4	7,50	11
TGLA227	12	12	13	12	11	9	11,50	16
BM1824	6	7	5	5	5	4	5,33	8
HEL13	8	7	7	8	6	5	6,83	9
Ortalama	10,50	10,60	9,90	10,65	8,45	6,90	9,50	13,30

Her bir markörde gözlenen allellerin sayı ve görülme sıklığının görsel olarak karşılaştırılabilmesi için her bir ırka ait histogramlar çizilmiştir (EK A). Kullanılan 20 markörden ILSTS006 (294 alleli) ve TGLA122 (142 alleli) markörlerinde tüm popülasyonlarda aynı allel en fazla tekrarlamaktadır. CSSM66 (184 alleli), HEL9 (152 alleli), INRA005 (140 alleli), TGLA126 (117 alleli), CSRM60 (91 alleli), SPS115 (245 alleli), ETH10 (215 alleli), TGLA53 (157 alleli), HAUT27 (147 alleli) ve BM1824 (183 alleli) markörlerinde ise 5 popülasyonda aynı allel en fazla tekrarlamaktadır.

3.3.2. Özgün Alleller

Bu çalışmada toplam 39 özgün allel tespit edilmiştir (Çizelge 3.2.). En fazla özgün allelin, ortalama allel sayısı en fazla olan YGS ırkında (11 allel) olduğu gözlenmektedir. En az ortalama allel sayısı ZAV popülasyonuna ait olmasına rağmen en düşük özgün allel sayısı DAK (1) popülasyonunda tespit edilmiştir. En fazla özgün allel sayısı (4) TGLA53 ve TGLA122 lokuslarında gözlenmiştir. En az özgün allel sayısı ise CSSM66 ve CSRM60 markörlerinde (1 adet) olduğu belirlenmiştir. Diğer özgün allellerin markörlere göre dağılımı ise INRA023, TGLA126, HEL13 ve ETH225 markörlerinde 2'şer adet, HEL9, ILSTS006, ETH185, TGLA227, BM1818, BM2113 ve BM1824 markörlerinde 3'er adet olduğu gözlenmiştir. ETH03, SPS115, ETH10, INRA005 ve HAUT27 lokuslarında özgün allel tespit edilememiştir. Gözlenen özgün allellerin frekansları 0,010 ile 0,071 arasında değişim göstermektedir. En yüksek frekansa (0,071) ait alleller 130 (BM2113) ile 281 (BM1818) olup ZAV popülasyonunda gözlenmiştir.

3.3.3. Heterozigotluk Düzeyi

Popülasyonlarda her bir markör için gözlenen (H_o) ve beklenen (H_e) heterozigotluk değerleri Çizelge 3.3.'de özetlenmiştir.

Ortalama H_o ve H_e heterozigotluk düzeyleri popülasyon bazında sırasıyla 0,691–0,763 ile 0,740–0,804 değerleri arasında değiştiği belirlenmiştir. H_o ve H_e değerleri sırasıyla GAK (0,759–0,799), YK (0,761–0,803), BOZ (0,691–0,767), YGS (0,763–0,804), DAK (0,756–0,784) ve ZAV (0,754–0,740) popülasyonlarında hesaplanmıştır. Markörler bazında ortalama H_o değeri 0,634–0,844, H_e değeri 0,664–0,881, toplam heterozigotluk (H_T) değerinin ise 0,702–0,904 arasında değiştiği belirlenmiştir. En yüksek ortalama gözlenen heterozigotluk (0,844) TGLA227 ve en yüksek beklenen heterozigotluk (0,881) ile en yüksek toplam heterozigotluk (0,904) değerleri TGLA53 marköründe tespit edilmiştir. En düşük gözlenen ortalama heterozigotluk (0,634) HAUT27, en düşük beklenen heterozigotluk (0,664) ETH10 ve en düşük toplam heterozigotluk (0,702) değeri INRA005 marköründe tespit edilmiştir. Gerek markörler gerek popülasyonlar açısından ortalama beklenen ve gözlenen heterozigotluk değerleri incelendiğinde

tespit edilen heterozigotluk değerlerinin birbirinden fazla uzak olmadığı ve popölasyonlar da genel olarak yüksek oranda heterozigotluk gözleendiği belirlenmiştir.

Çizelge 3.2. Popölasyonlarda gözlenen özğün alleller ve frekansları.

Popölasyon	Markör	Allel	Frekans
GAK	INRA023	219	0,010
	ILSTS006	284	0,010
	ETH225	133	0,031
	ETH225	135	0,010
	TGLA53	183	0,010
	TGLA122	156	0,010
	BM1824	195	0,010
	HEL13	197	0,010
YK	CSSM66	176	0,010
	CSRM60	117	0,010
	ILSTS006	278	0,010
	BM1818	279	0,010
	TGLA122	184	0,010
	TGLA227	88	0,010
	BM1824	191	0,010
	BM1824	201	0,010
BOZ	INRA023	217	0,011
	HEL9	140	0,011
	ILSTS006	306	0,064
	ETH185	218	0,011
	ETH185	250	0,011
	TGLA53	153	0,033
	TGLA122	166	0,011
	TGLA227	108	0,032
YGS	HEL9	142	0,020
	HEL9	178	0,010
	ETH185	242	0,031
	BM1818	255	0,011
	TGLA53	189	0,010
	BM2113	120	0,010
	BM2113	158	0,010
	TGLA122	190	0,012
	TGLA126	107	0,020
	TGLA126	109	0,010
	HEL13	179	0,010
DAK	TGLA227	76	0,016
ZAV	BM1818	281	0,071
	TGLA53	181	0,036
	BM2113	130	0,071

Çizelge 3.3. Gözlenen (Ho) ve beklenen (He) heterozigotluk değerleri.

	GAK		YK		BOZ		YGS		DAK		ZAV		Ortalama		
Markör	Ho	He	Ho	He	Ho	He	Ho	He	Ho	He	Ho	He	H _T	Ho	He
CSSM66	0,902	0,868	0,824	0,876	0,702	0,846	0,898	0,882	0,844	0,852	0,714	0,816	0,871	0,814	0,857
CSRM60	0,686	0,737	0,725	0,790	0,702	0,797	0,780	0,762	0,719	0,730	0,857	0,724	0,786	0,745	0,757
ETH3	0,843	0,803	0,804	0,760	0,553	0,749	0,800	0,803	0,813	0,800	0,786	0,806	0,818	0,766	0,787
INRA023	0,843	0,854	0,804	0,842	0,745	0,723	0,816	0,822	0,625	0,791	0,929	0,819	0,829	0,794	0,809
HEL9	0,824	0,874	0,882	0,846	0,660	0,761	0,840	0,859	0,906	0,867	0,643	0,814	0,856	0,792	0,837
ILSTS006	0,540	0,761	0,843	0,791	0,723	0,718	0,633	0,757	0,625	0,780	0,571	0,691	0,764	0,656	0,750
SPS115	0,620	0,739	0,667	0,811	0,532	0,771	0,714	0,787	0,688	0,772	0,643	0,768	0,787	0,644	0,775
ETH185	0,800	0,801	0,725	0,811	0,745	0,749	0,750	0,799	0,710	0,810	1,000	0,791	0,816	0,788	0,794
BM1818	0,778	0,758	0,686	0,741	0,787	0,839	0,750	0,807	0,710	0,717	0,929	0,765	0,801	0,773	0,771
ETH225	0,714	0,847	0,784	0,813	0,638	0,768	0,708	0,815	0,742	0,804	0,786	0,788	0,838	0,729	0,806
ETH10	0,667	0,781	0,784	0,765	0,894	0,785	0,646	0,764	0,710	0,690	0,214	0,199	0,745	0,652	0,664
TGLA53	0,800	0,878	0,725	0,875	0,870	0,896	0,875	0,896	0,821	0,848	0,929	0,893	0,904	0,837	0,881
BMS2113	0,745	0,864	0,745	0,819	0,745	0,813	0,729	0,816	0,871	0,848	1,000	0,844	0,848	0,806	0,834
INRA005	0,745	0,707	0,627	0,688	0,596	0,698	0,700	0,695	0,774	0,677	0,643	0,671	0,702	0,681	0,689
HAUT27	0,706	0,725	0,725	0,775	0,511	0,785	0,540	0,703	0,677	0,710	0,643	0,684	0,760	0,634	0,730
TGLA122	0,780	0,814	0,941	0,911	0,723	0,741	0,829	0,873	0,688	0,828	0,714	0,778	0,855	0,779	0,824
TGLA126	0,784	0,754	0,706	0,766	0,660	0,746	0,776	0,833	0,774	0,758	0,786	0,656	0,767	0,748	0,752
TGLA227	0,843	0,838	0,725	0,830	0,787	0,845	0,900	0,870	0,806	0,871	1,000	0,847	0,878	0,844	0,850
BM1824	0,706	0,738	0,725	0,740	0,596	0,572	0,800	0,712	0,806	0,741	0,714	0,704	0,720	0,725	0,701
HEL13	0,860	0,838	0,765	0,813	0,660	0,739	0,780	0,815	0,806	0,776	0,571	0,735	0,804	0,740	0,786
Ortalama	0,759	0,799	0,761	0,803	0,691	0,767	0,763	0,804	0,756	0,784	0,754	0,740			

Ho: Gözlenen, He: Beklenen ve H_T: Toplam Heterozigotluk

3.4. Wright'ın F Parametreleri

Hardy-Weinberg dengesinin (HWE) tespiti amacıyla F istatistiği parametrelerinden yararlanılmıştır. Bu amaçla her bir popülasyon içinde 1 000 kez permütasyon FSTAT paket programı kullanılarak yapılmış olup %95 ve %99 güven aralığına göre hesaplanan F_{IS} değerleri popülasyon (Çizelge 3.4.) ve markör (Çizelge 3.5.) bazında hesaplanmıştır. Markör bazında F_{IS} değerlerinin hesaplanmasında Jackknife yöntemi de kullanılmıştır.

Çizelge 3.4. Popülasyonlar arasında bulunan genetik farklılıkların F_{IS} değerleri (popülasyonlar bazında).

Popülasyon	F_{IS}
GAK	0,060***
YK	0,063***
BOZ	0,110***
YGS	0,061***
DAK	0,053**
ZAV	0,018 ns

ns: istatistiksel olarak anlamlı değil, **: $p < 0,01$, ***: $p < 0,001$

Popülasyonlar için hesaplanan genel F_{IS} değerlerinin 0,018 ile 0,110 arasında değiştiği, tüm popülasyonlar için genel F_{IS} değerinin ise 0,045 olduğu belirlenmiştir. Popülasyonların F_{IS} değeri çalışılan popülasyonların hepsinde pozitif değerde olup en düşük F_{IS} değeri ZAV (0,018) popülasyonunda en yüksek F_{IS} değeri ise BOZ (0,110) popülasyonunda tespit edilmiştir. F_{IS} değerleri ZAV popülasyonunda önemsiz ($P > 0,05$) ancak diğer popülasyonlarda istatistiki bakımdan önemli olduğu tespit edilmiştir.

Markörler bazında F_{IS} değerlerinin -0,033 ile 0,169 arasında değiştiği ve ortalama F_{IS} değeri ise 0,085 olduğu gözlenmiştir. Ortalama F_{IS} değerleri FSTAT programında Jackknife tekniğiyle analiz edildiğinde elde edilen F_{IS} değerleri 0,009 (BM1824) ile 0,190 (SPS115) arasında değiştiği ve ortalama F_{IS} değerinin ise %95 güven aralığında 0,067, %99 güven aralığında ise 0,062 olarak belirlenmiştir. En düşük F_{IS} değeri BM1824 (-0,033), en yüksek F_{IS} değeri ise SPS115 (0,169) marköründe belirlenmiştir. Toplam F_{IS} değerleri sadece BM1818 (-0,003) ve

BM1824 (-0,033) markörlerinde negatif değerli bulunmuşken diğer 18 markörde pozitif değerde belirlenmiştir. BOZ popülasyonunda 3, YGS popülasyonunda 4, YK popülasyonunda 5, GAK popülasyonunda 6, DAK popülasyonunda 7 ve ZAV popülasyonunda 9 tane markörde negatif F_{IS} değeri tespit edilmiştir.

Çizelge 3.5. Popülasyonlar arasında bulunan genetik farklılıkların F_{IS} değerleri.

Markör	Popülasyonlar							Toplam Jackknife Ort $\pm$ Stnd.Hata
	GAK	YK	BOZ	YGS	DAK	ZAV	TOPLAM	
CSSM66	-0,029	0,070	0,180	-0,008	0,026	0,161	0,050	0,057 $\pm$ 0,042
CSRM60	0,079	0,091	0,130	-0,013	0,031	-0,147	0,016	0,083 $\pm$ 0,047
ETH03	-0,040	-0,048	0,272	0,014	0,000	0,062	0,026	0,064 $\pm$ 0,054
INRA023	0,023	0,056	-0,019	0,017	0,225	-0,097	0,019	0,056 $\pm$ 0,029
HEL9	0,067	-0,033	0,144	0,032	-0,030	0,245	0,053	0,062 $\pm$ 0,042
ILSTS006	0,300	-0,055	0,004	0,174	0,214	0,209	0,125	0,130 $\pm$ 0,068
SPS115	0,171	0,188	0,320	0,103	0,126	0,199	0,169	0,190 $\pm$ 0,039
ETH185	0,011	0,115	0,017	0,072	0,140	-0,230	0,007	0,073 $\pm$ 0,029
BM1818	-0,015	0,083	0,072	0,082	0,027	-0,178	-0,003	0,061 $\pm$ 0,023
ETH225	0,167	0,045	0,179	0,142	0,093	0,040	0,096	0,147 $\pm$ 0,033
ETH10	0,156	-0,015	-0,128	0,165	-0,011	-0,040	0,018	0,092 $\pm$ 0,056
TGLA53	0,099	0,181	0,041	0,034	0,050	-0,003	0,050	0,093 $\pm$ 0,027
BM2113	0,147	0,100	0,095	0,116	-0,011	-0,148	0,034	0,095 $\pm$ 0,027
INRA005	-0,045	0,098	0,157	0,003	-0,128	0,079	0,012	0,039 $\pm$ 0,042
HAUT27	0,036	0,073	0,359	0,241	0,063	0,097	0,132	0,189 $\pm$ 0,083
TGLA122	0,052	-0,023	0,035	0,063	0,201	0,119	0,055	0,071 $\pm$ 0,019
TGLA126	-0,030	0,088	0,127	0,079	-0,005	-0,163	0,006	0,055 $\pm$ 0,032
TGLA227	0,004	0,136	0,080	-0,024	0,091	-0,145	0,008	0,070 $\pm$ 0,039
BM1824	0,053	0,030	-0,030	-0,114	-0,072	0,023	-0,033	0,009 $\pm$ 0,046
HEL13	-0,016	0,069	0,118	0,053	-0,022	0,257	0,058	0,064 $\pm$ 0,029
Ortalama	0,060	0,063	0,110	0,061	0,053	0,018	0,045	0,085 $\pm$ 0,010
							95%	0,067 $\pm$ 0,105
							99%	0,062 $\pm$ 0,112

F_{IT} tüm popülasyonların homolog alleller arasındaki korelasyonu (akrabalı yetişme katsayısı) vermektedir ve Çizelge 3.6.'da özetlenmiştir. Toplam 1 000 kez permütasyon sonucu elde edilen tüm markörlerin ortalama F_{IT} ve F_{ST} değerleri sırasıyla 0,075 ve 0,031 olarak tespit edilmiştir.

Popülasyonlar arası varyasyonun tespiti amacıyla F_{ST} değerleri de hesaplanmıştır ve "önemlilik testi" yapılmıştır (Çizelge 3.7.). Bu çizelge değerlendirildiğinde YK ve DAK popülasyonları arasında istatistiki olarak bir önem tespit edilemezken diğer popülasyonlar arasında F_{ST} değerlerinin $P < 0,05$ oranında bir önemlilik bulunduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 3.6. Tüm popülasyonlara ait ortalama F_{IT} ve F_{ST} değerleri.

Markör	F_{IT}	F_{ST}
CSSM66	0,066	0,017
CSRM60	0,053	0,038
ETH3	0,064	0,038
INRA02	0,043	0,024
HEL9	0,074	0,022
ILSTS0	0,142	0,019
SPS115	0,182	0,015
ETH185	0,034	0,027
BM1818	0,034	0,037
ETH225	0,131	0,039
ETH10	0,124	0,108
TGLA53	0,074	0,025
BM2113	0,050	0,016
INRA00	0,030	0,018
HAUT27	0,166	0,039
TGLA12	0,089	0,036
TGLA12	0,025	0,019
TGLA22	0,039	0,031
BM1824	-0,006	0,026
HEL13	0,079	0,022
Ortalama	0,075	0,031

Çizelge 3.7. Popülasyonlar arası F_{ST} değerleri.

Popülasyon	GAK	YK	BOZ	YGS	DAK	ZAV
GAK	0,000	0,012*	0,024*	0,009*	0,014*	0,024*
YK		0,000	0,020*	0,009*	0,010ns	0,024*
BOZ			0,000	0,023*	0,025*	0,031*
YGS				0,000	0,013*	0,027*
DAK					0,000	0,026*
ZAV						0,000

ns: istatistiksel olarak anlamlı değil, *: $p < 0,05$

HWE'nin tespiti amacıyla Ki-kare (χ^2) değerleri GenAlEx6 paket programı kullanılarak hesaplanmıştır (Çizelge 3.8a., 3.8b., 3.8c.). GAK popülasyonunda ILSTS006 ve BM2113 markörlerinde $P < 0,05$, SPS115 ve TGLA53 markörlerinde $P < 0,01$, ETH225 ve ETH10 markörlerinde ise $P < 0,001$ düzeyinde toplam 6 markörde önemlilik tespit edilmişken diğer 14 markörde önemlilik bulunamamıştır. YK popülasyonunda SPS115, HAUT27, TGLA53, TGLA122 ve ETH225 lokuslarında önemlilik tespit edilmişken diğer 15 markörde önemlilik bulunamamıştır. BOZ popülasyonunda 10 markörde önemlilik tespit edilmişken diğer 10 markörde önemlilik bulunamamıştır. YGS'de HEL9, SPS115, ETH185, ILSTS006, ETH10, HAUT27, TGLA227 ve TGLA53 markörlerinde önemlilik tespit edilmiştir. DAK popülasyonunda ETH185, ETH225, HEL13, HAUT27 ile BM1818

lokuslarında, ZAV popülasyonunda ise yalnızca SPS115, BM2113 ve ETH185 olmak üzere toplam 3 markörde önemlilik bulunmaktadır. INRA023, INRA005, TGLA126 ve BM1824 lokusları tüm popülasyonlarda önemsiz bulunmuştur. CSSM66 (BOZ), CSRM60 (BOZ), ETH03 (BOZ), HEL9 (YGS), BM1818 (DAK), TGLA122 (YK) ve HEL13 (DAK) markörleri ise sadece birer popülasyonda önemli bulunurken diğer tüm popülasyonlarda önemsiz bulunduğu belirlenmiştir.

Çizelge 3.8a. Popülasyonların HWE değerleri.

Markör	GAK				YK			
	SD	χ^2	P	Önem	SD	χ^2	P	Önem
CSSM66	78	85,600	0,260	ns	78	72,530	0,654	ns
CSRM60	45	40,883	0,647	ns	78	50,429	0,994	ns
ETH03	45	24,391	0,995	ns	55	68,582	0,103	ns
INRA023	78	65,288	0,847	ns	45	48,749	0,325	ns
HEL9	55	59,725	0,308	ns	66	68,653	0,388	ns
ILSTS006	55	76,023	0,032	*	55	41,153	0,917	ns
SPS115	36	60,145	0,007	**	45	66,267	0,021	*
ETH185	66	46,576	0,967	ns	66	53,847	0,858	ns
BM1818	28	17,651	0,935	ns	45	25,095	0,993	ns
ETH225	78	150,006	0,000	***	55	97,930	0,000	***
ETH10	28	80,830	0,000	***	28	23,885	0,688	ns
TGLA53	153	207,734	0,002	**	91	131,645	0,003	**
BM2113	45	69,941	0,010	*	36	31,501	0,682	ns
INRA005	10	15,196	0,125	ns	15	7,771	0,933	ns
HAUT27	28	34,158	0,196	ns	36	55,560	0,020	*
TGLA122	171	192,768	0,122	ns	171	223,516	0,004	**
TGLA126	15	11,956	0,682	ns	28	39,008	0,081	ns
TGLA227	66	62,371	0,604	ns	66	64,505	0,529	ns
BM1824	15	11,520	0,715	ns	21	14,439	0,850	ns
HEL13	28	33,580	0,215	ns	21	12,398	0,928	ns

ns=önemsiz, * $P<0,05$, ** $P<0,01$, *** $P<0,001$

Çizelge 3.8b. Popülasyonların HWE değerleri.

Markör	BOZ				YGS			
	SD	χ^2	P	Önem	SD	χ^2	P	Önem
CSSM66	66	124,299	0,000	***	78	64,748	0,859	ns
CSRM60	55	85,656	0,005	**	66	40,960	0,993	ns
ETH03	36	52,208	0,039	*	55	43,258	0,874	ns
INRA023	45	30,024	0,958	ns	55	58,546	0,347	ns
HEL9	66	72,604	0,270	ns	91	114,326	0,050	*
ILSTS006	45	42,320	0,586	ns	36	67,107	0,001	**
SPS115	28	56,820	0,001	**	36	54,610	0,024	*
ETH185	66	94,571	0,012	*	66	93,930	0,014	*
BM1818	36	38,843	0,343	ns	45	30,105	0,957	ns
ETH225	28	79,648	0,000	***	36	25,250	0,910	ns
ETH10	28	26,611	0,539	ns	36	67,033	0,001	**
TGLA53	153	189,930	0,023	*	153	217,751	0,000	***
BM2113	36	146,284	0,000	***	66	52,143	0,893	ns
INRA005	15	13,924	0,531	ns	6	5,691	0,459	ns
HAUT27	36	87,334	0,000	***	28	54,848	0,002	**
TGLA122	91	63,888	0,986	ns	120	120,030	0,482	ns
TGLA126	28	23,721	0,696	ns	55	65,455	0,158	ns
TGLA227	78	106,478	0,018	*	66	104,823	0,002	**
BM1824	10	3,771	0,957	ns	10	6,722	0,751	ns
HEL13	21	13,555	0,888	ns	28	27,333	0,500	ns

ns=önemsiz, * $P<0,05$, ** $P<0,01$, *** $P<0,001$

Çizelge 3.8c. Popülasyonların HWE değerleri.

Markör	DAK				ZAV			
	SD	χ^2	P	Önem	SD	χ^2	P	Önem
CSSM66	78	85,661	0,259	ns	28	24,016	0,681	ns
CSRM60	21	12,213	0,934	ns	10	9,210	0,512	ns
ETH03	36	31,266	0,693	ns	36	27,090	0,858	ns
INRA023	45	55,020	0,146	ns	28	18,254	0,920	ns
HEL9	55	63,036	0,213	ns	28	34,466	0,186	ns
ILSTS006	28	24,030	0,680	ns	6	8,400	0,210	ns
SPS115	28	24,740	0,642	ns	15	26,740	0,031	*
ETH185	45	65,750	0,023	*	36	75,600	0,000	***
BM1818	21	59,938	0,000	***	21	15,028	0,822	ns
ETH225	28	44,921	0,022	*	28	28,952	0,415	ns
ETH10	21	11,913	0,942	ns	6	0,202	1,000	ns
TGLA53	45	36,699	0,806	ns	78	82,273	0,349	ns
BM2113	28	27,848	0,473	ns	28	49,583	0,007	**
INRA005	10	10,342	0,411	ns	6	1,829	0,935	ns
HAUT27	28	49,263	0,008	**	15	10,145	0,811	ns
TGLA122	45	38,773	0,732	ns	36	43,483	0,183	ns
TGLA126	28	14,896	0,980	ns	6	4,496	0,610	ns
TGLA227	55	47,392	0,757	ns	36	30,200	0,740	ns
BM1824	10	13,138	0,216	ns	6	8,167	0,226	ns
HEL13	15	26,250	0,035	*	10	17,284	0,068	ns

ns=önemsiz, * $P<0,05$, ** $P<0,01$, *** $P<0,001$

3.5. Filogenetik Şema Ağaçları

Popülasyonlar arası genetik uzaklık (Çizelge 3.9.) ve genetik kimliklendirme matrisleri (Çizelge 3.10.) GenAlEx6 programı kullanılarak Nei (1972)'ye göre hesaplanmıştır. Nei'nin D_A genetik uzaklığı parametresi kullanılarak komşu birleştirme metodu (NJ) ile filogenetik ağaçlar çizilmiştir (Şekil 3.1., Şekil 3.2.).

Çizelge 3.9. Popülasyonlar arası Nei'nin D_A genetik uzaklık matrisi.

Popülasyon	GAK	YK	BOZ	YGS	DAK	ZAV
GAK	0,000	0,100	0,193	0,074	0,110	0,155
YK		0,000	0,160	0,076	0,084	0,153
BOZ			0,000	0,185	0,192	0,203
YGS				0,000	0,106	0,180
DAK					0,000	0,165
ZAV						0,000

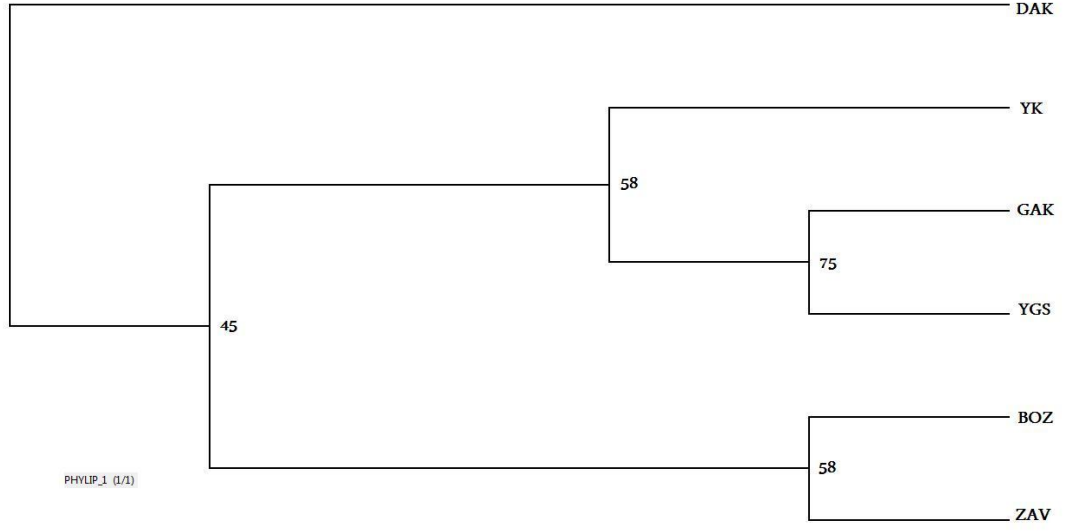
Çizelge 3.10. Popülasyonlar arası Nei'nin genetik kimliklendirme matrisi (%).

Popülasyon	GAK	YK	BOZ	YGS	DAK	ZAV
GAK	1,000	0,905	0,824	0,928	0,896	0,857
YK		1,000	0,852	0,927	0,919	0,859
BOZ			1,000	0,831	0,825	0,816
YGS				1,000	0,899	0,835
DAK					1,000	0,848
ZAV						1,000

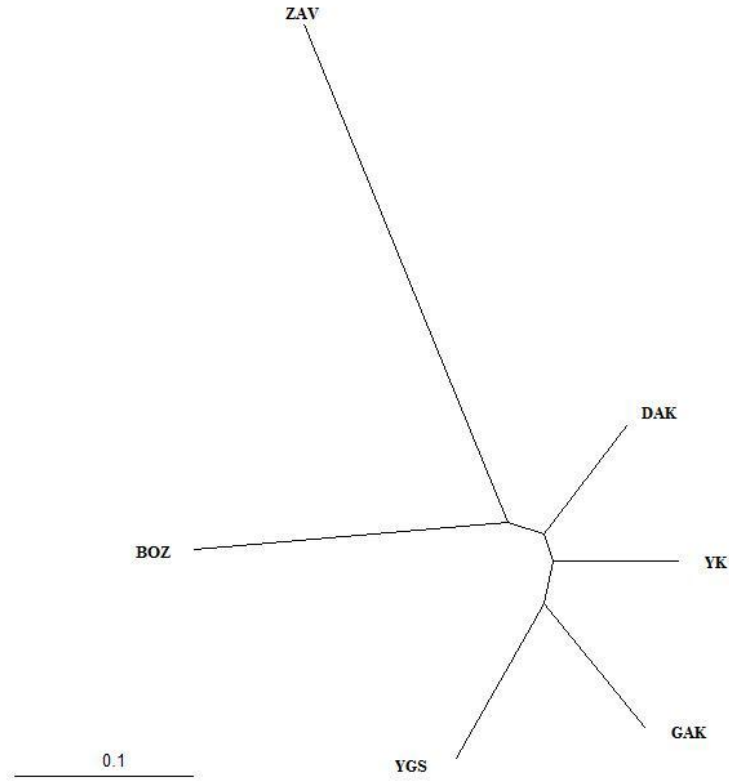
Nei'nin genetik uzaklık değerleri incelendiğinde en yüksek genetik uzaklık (0,203) BOZ ile ZAV arasında, en düşük genetik uzaklık (0,074) ise GAK ve YGS popülasyonları arasında tespit edilmiştir. Nei'nin genetik kimliklendirme matrisine göre, en yakın genetik yapı (%92,8) en düşük genetik uzaklığa sahip olduğu belirlenen GAK ile YGS popülasyonları arasında gözlenmiştir. En yüksek genetik uzaklığa sahip olan BOZ ile ZAV popülasyonları arasında ise en uzak (%81,6) genetik yapı bulunmaktadır.

Komşu birleştirme ağacının (Şekil 3.1.) güvenilirliğini belirlemek amacıyla yapılan 1 000 tekrarlı "bootstrap" testi sonucunda gruplanma değerleri tespit edilerek dallanma noktalarında belirtilmiştir. Popülasyonların gruplandırılma olasılıkları genel olarak ~%50 ve daha fazla olduğu gözlenmiştir. Popülasyonların kümelenmeleri değerlendirildiği zaman DAK popülasyonu diğer tüm popülasyonlardan tamamen ayrı bir konumda bulunmaktadır. ZAV ile BOZ

popülasyonunun, YGS ile GAK popülasyonunun birlikte kümelendikleri, YK popülasyonunun ise YGS ve GAK kümesine yakın konumda yerleştiği belirlenmiştir.



Şekil 3.1. D_A genetik uzaklığı kullanılarak komşu birleştirme metodu ile çizilen filogenetik ilişki.



Şekil 3.2. D_A genetik uzaklığı kullanılarak komşu birleştirme metodu ile çizilen Radyal ağaç.

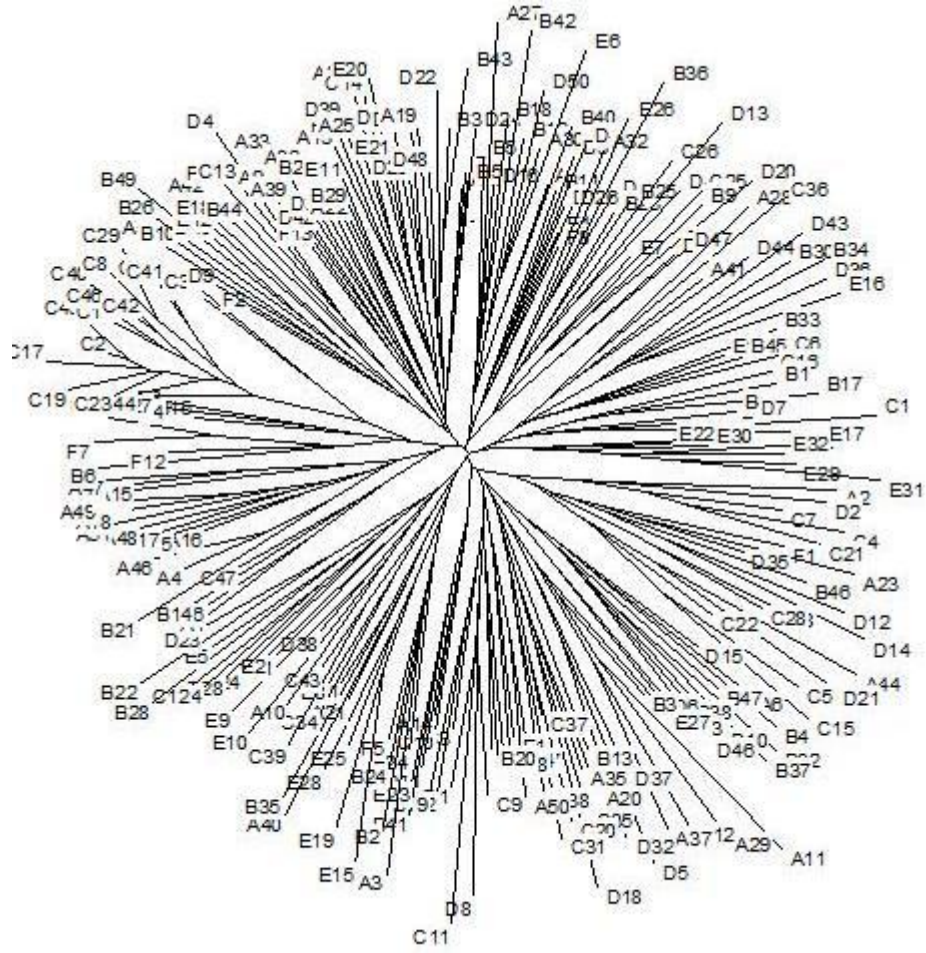
NJT Radyal ağacı (Şekil 3.2.) değerlendirildiğinde, çalışılan popülasyonlardan ZAV ve BOZ popülasyonlarının diğer popülasyonlardan tamamen ayrıldığı ve genetik olarak uzak olduğu görülmektedir. DAK ve YK'nın diğer popülasyonlardan ayrı bir noktadan kök aldığı, YGS ve GAK popülasyonlarının ise aynı noktadan kök almasına rağmen genetik olarak birbirlerinden uzaklaştıkları da görülmektedir. DAK popülasyonunun diğer popülasyonlardan genetik olarak tamamen ayrı bir noktada olduğu da ayrıca gözlenmiştir.

3.6. Bireyler Arası Allel Paylaşım Uzaklıkları (ASD)

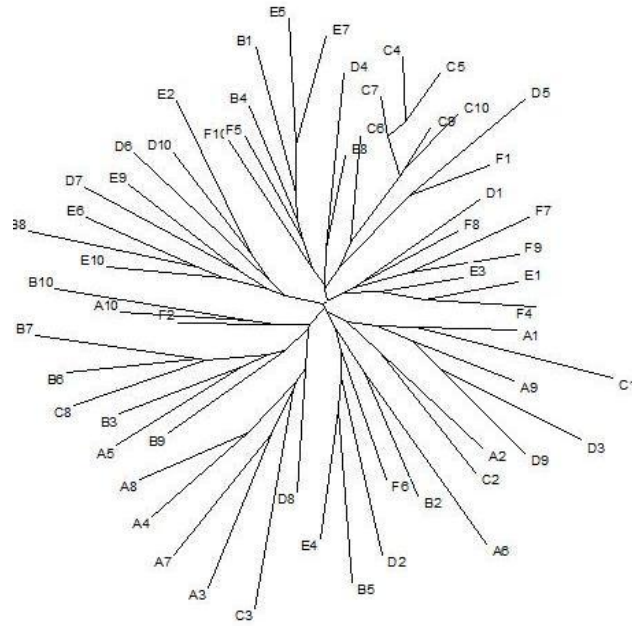
Çalışmada kullanılan 6 popülasyondaki bireylerin çalışılan 20 mikrosatellit markör açısından genetik olarak birbirine ne derece benzedikleri, bazı popülasyonlara ait bireylerin daha farklı ayrılıp ayrılmadığını araştırmak için allel paylaşım uzaklığı (ASD) metodu ölçüt olarak alınmış ve bireylerin birbirleri ile olan ilişkileri komşu birleştirme ağacı ile Şekil 3.3a.'da gösterilmiştir. Grafik üzerinde daha anlaşılır hale getirilmesi amacıyla popülasyonların her biri bir harf ile isimlendirilmiştir.

Bireyler arası ASD ile çizilen bu ağaçta aynı popülasyonlara ait bireylerin yer yer bir arada olduğu, fakat araya başka popülasyonlardan bireylerinde karıştığı görülmektedir. Ancak bazı dallarda popülasyonlardaki bireylerin sadece kendi gruplarını oluşturdukları belirlenmiştir.

Tüm örneklerin birlikte değerlendirilmesi ile çizilen ASD ağacında çözünürlük düşük bulunmuş olup popülasyonların tam ayırımı söz konusu olmamaktadır. Bundan dolayı her popülasyondan rastgele seçilen 10'ar bireyle ASD ağacı tekrar çizilmiştir (Şekil 3.3b.). Türkiye yerli sığır ırklarına ait örneklerde ASD yöntemi kullanılarak çizilen komşu-birleştirme ağaçlarının her ikisinde de dalların uzun olduğu ve evcil ırklarda görüldüğü gibi yıldız şeklinde bir görünüme sahip olduğu belirlenmiştir.



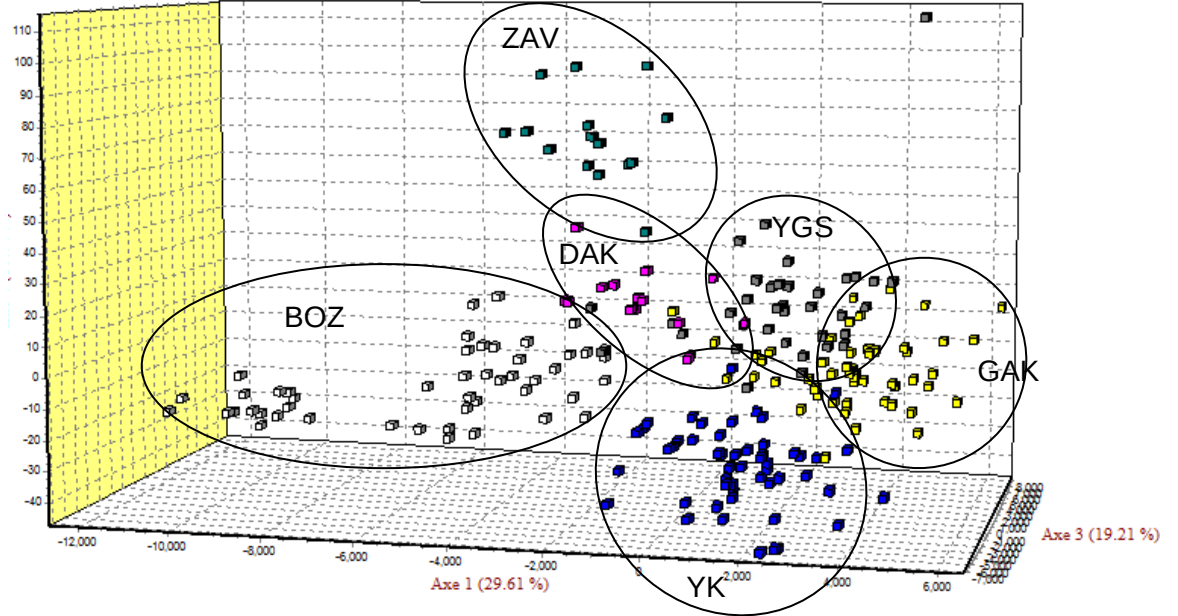
Şekil 3.3a. Bireyler arası allel paylaşım uzaklıkları (ASD). A: GAK, B: YK, C: BOZ, D: YGS, E: DAK, F: ZAV.



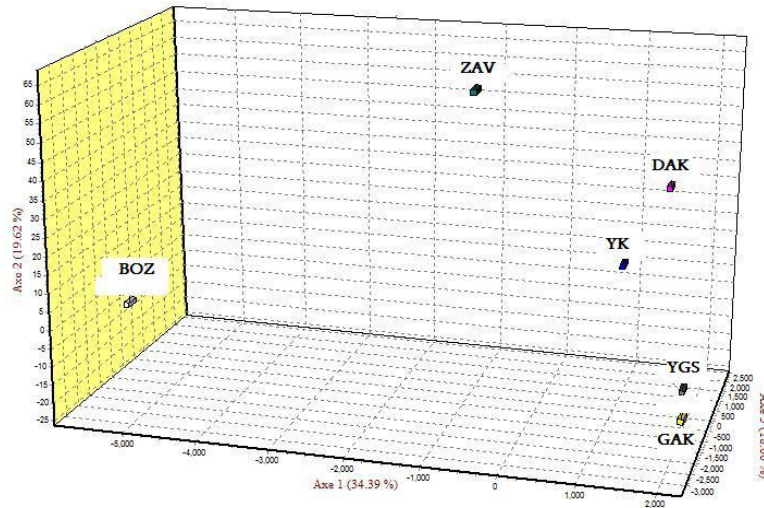
Şekil 3.3b. Her popülasyondan 10 örnek ile çizilen ASD. A: GAK, B: YK, C: BOZ, D: YGS, E: DAK, F: ZAV.

3.7. Faktöriyel Benzerlik Analizi (Factorial Correspondence Analysis-FCA)

Çalışmaya konu olan hayvanlar genetik benzerliklerine göre bireyler (Şekil 3.4.) ve popülasyonlar düzeyinde (Şekil 3.5.) üç boyutlu bir düzlemde GENETIX 4.05 paket programı kullanılarak yerleştirilmiştir.



Şekil 3.4. Çalışılan popülasyonlara ait bireyler arasındaki ilişkiyi gösteren Faktöriyel Benzerlik Analizi Grafiği (FCA).



Şekil 3.5. Çalışılan popülasyonlar arasındaki ilişkiyi gösteren Faktöriyel Benzerlik Analizi Grafiği (FCA).

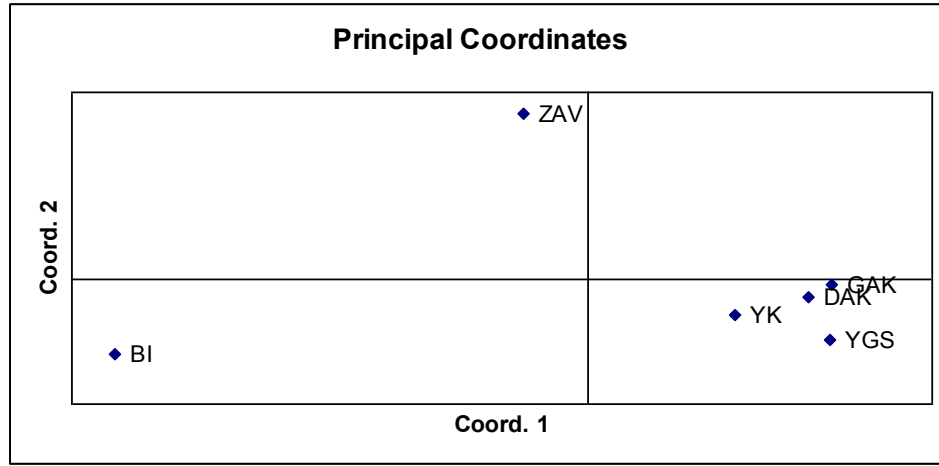
FCA grafiği incelendiğinde BOZ popölasyonunun çalışılan diğer tüm popölasyonlardan tamamen ayrılarak iki farklı grup oluşturduğu gözlenmiştir. GAK ve YGS popölasyonlarının birbirlerine karıştikları, YK popölasyonundaki bireylerinde bu popölasyonlara çok yakın konumda bulundukları ve nadirde olsa bireylerinin diğer popölasyonlara karıştığı gözlenmiştir. ZAV ve DAK popölasyonlarının ise bu popölasyonlardan ve birbirlerinden ayrıldıkları ve farklı konumda toplandıkları belirlenmiştir.

Popölasyonu oluşturan hayvanların bir bütün olarak ele alınıp çizilen FCA grafiğinde (şekil 3.5.) YGS ve GAK popölasyonlarının birbirlerine çok yakın konumda 1. ekseninde yerleştikleri, bu popölasyonlara en yakın popölasyonun ise YK popölasyonu olduğu belirlenmiştir. YK, DAK ve ZAV popölasyonları 2. ekseninde, BOZ popölasyonu ise 3. ekseninde yer almıştır. DAK, ZAV ve BOZ popölasyonları diğer popölasyonlardan tamamen ayrı bir noktada yerleştikleri özellikle BOZ popölasyonunun diğer tüm popölasyonlardan tamamen ayrı bir noktayı işgal ettiği ve bu popölasyonun diğer yerli popölasyonlardan tamamen farklı bir yapıda olduğu da belirlenmiştir.

3.8. Temel Bileşenler Analizi (PCA)

Allel frekansları kullanılarak temel bileşenler analizi (PCA) yapılmıştır. GenAlEx6 paket programı kullanılarak çizilen 3 eksenli görünüme sahip olan mesafe matrisine göre PCA grafiği şekil 3.6.'da özetlenmiştir.

Mesafe matrisi aracılığıyla çizilen PCA grafiğinin genetik varyasyonun kapsama yüzdeleri eksenlerine göre sırasıyla 1. ekseninde %46,89; 2. ekseninde %32,90 ve 3. ekseninde %11,90 olarak tespit edilmiştir. PCA grafiği incelendiğinde diğer verilerle benzer şekilde GAK, YGS ve YK popölasyonlarının bir arada toplandıkları gözlenmiştir. DAK popölasyonu, bu üç popölasyonla aynı ekseninde yer alırken ZAV ve BOZ popölasyonları farklı eksenlerde yer almışlardır.



Şekil 3.6. PCA grafiği.

3.9. Polimorfizm Bilgi İçeriği (PIC)

Çalışmada kullanılan mikrosatellit belirteçlerin PIC değerleri PowerstatsV12 (Promega 2000) programı ile hesaplanmıştır (Çizelge 3.11.).

Çizelge 3.11. Popülasyonların markörler düzeyinde PIC değerleri.

Markör	Popülasyonlar						Ortalama
	GAK	YK	BOZ	YGS	DAK	ZAV	
CSSM66	0,85	0,85	0,83	0,85	0,84	0,79	0,84
CSRM60	0,70	0,77	0,77	0,73	0,69	0,67	0,72
ETH03	0,78	0,73	0,72	0,78	0,78	0,79	0,76
INRA023	0,30	0,38	0,75	X	0,76	0,79	0,60
HEL9	0,86	0,83	0,74	0,84	0,85	0,79	0,82
ILSTS006	0,70	0,76	0,70	0,73	0,75	0,64	0,71
SPS115	0,72	0,79	0,74	0,76	0,74	0,73	0,75
ETH185	0,78	0,79	0,73	0,77	0,79	0,76	0,77
BM1818	0,72	0,71	0,82	0,78	0,67	0,74	0,74
ETH225	0,83	0,79	0,74	0,79	0,78	0,76	0,78
ETH10	0,75	0,73	0,75	0,73	0,63	0,19	0,63
TGLA53	0,87	0,86	0,89	0,89	0,83	0,88	0,87
BM2113	0,85	0,80	0,79	0,79	0,83	0,83	0,82
INRA005	0,66	0,64	0,65	0,63	0,62	0,60	0,63
HAUT27	0,69	0,75	0,75	0,67	0,68	0,65	0,70
TGLA122	0,80	0,90	0,71	0,86	0,81	0,75	0,81
TGLA126	0,71	0,73	0,71	0,81	0,72	0,59	0,71
TGLA227	0,82	0,81	0,83	0,86	0,86	0,83	0,84
BM1824	0,69	0,70	0,54	0,66	0,70	0,65	0,66
HEL13	0,82	0,79	0,70	0,79	0,74	0,69	0,76
Ortalama	0,75						

PIC değerleri GAK popölasyonunda 0,30 (INRA023) ile 0,87 (TGLA53) arasında; YK popölasyonunda 0,38 (INRA023) ile 0,90 (TGLA122) arasında; BOZ popölasyonunda 0,54 (BM1824) ile 0,89 (TGLA53) arasında; YGS popölasyonunda 0,63 (INRA005) ile 0,89 (TGLA53) arasında; DAK popölasyonunda 0,62 (INRA005) ile 0,86 (TGLA227) arasında ve ZAV popölasyonunda ise 0,19 (ETH10) ile 0,88 (TGLA53) arasında değiştiği belirlenmiştir. YGS popölasyonunda INRA023 marköründe PIC değeri hesaplanamamıştır. Markörlerin ortalama PIC değerleri 0,60 (INRA023) ile 0,87 (TGLA53) arasında, genel ortalama PIC değer ise 0,75 hesaplanmıştır. Elde edilen sonuçlara göre tüm lokuslarda ortalama PIC değerleri >0,50 bulunmuş ve yüksek oranda bilgi verici olduğu belirlenmiştir.

3.10. Bireylerin Irklara Atanması Testi (Assignment Test)

Çalışmada kullanılan 6 popölasyon ve 20 mikrosatellit markör kullanılarak popölasyonlardaki toplam 245 bireyin genotipik olarak hangi popölasyona ait olabileceğinin belirlenmesi amacıyla GenAlEx6 paket programı kullanılarak assignment testi yapılmıştır (izelge 3.12.). Test sonucu %99 gővenlikle ($\alpha=0,01$ hata ile) test edilmiş ve 245 bireyden 213 birey (%87) kendi popölasyonuna atandığı gözlenirken 32 bireyin (%13) farklı popölasyonlara atandığı belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar FCA, PCA ve ASD verilerine benzer şekilde bulunmuştur.

Çizelge 3.12. incelendiğinde assignment test sonucunda farklı popölasyonlara atanan bireylerin 21 tanesi (%66) ok az bir farkla (özellikle YGS popölasyonunda) ikinci sırada kendi popölasyonuna atandığı belirlenmiştir. Geri kalan 11 bireyin ise (%34) kendi popölasyonuna atanma ihtimali yönünden en az 3. sırada bulunduğu belirlenmiştir.

Çizelge 3.12. Irkların ayrılma testi sonuçları.

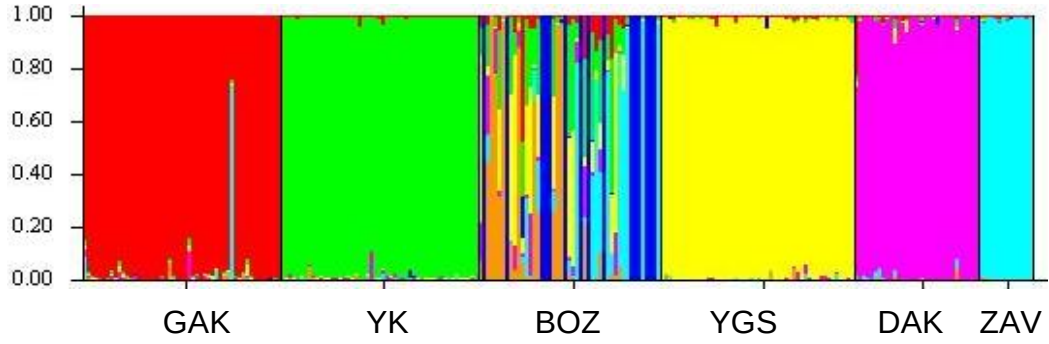
Pop	Birey	GAK	YK	BOZ	YGS	DAK	ZAV	İrk
GAK	1	-28,923	-27,937	-32,410	-29,888	-28,627	-27,516	ZAV
	10	-29,459	-30,191	-35,654	-29,000	-29,119	-36,021	YGS
	14	-25,995	-26,673	-31,273	-28,193	-25,873	-29,889	DAK
	28	-32,208	-33,187	-36,851	-33,588	-32,046	-37,065	DAK
	34	-29,325	-31,029	-33,557	-29,145	-31,769	-35,533	YGS
	39	-30,625	-31,475	-32,819	-31,237	-31,504	-28,476	ZAV
	43	-26,638	-24,645	-30,786	-25,764	-27,825	-31,402	YK
YK	62	-28,362	-29,490	-30,795	-27,951	-28,984	-31,109	YGS
	72	-27,646	-27,846	-32,162	-30,003	-30,122	-36,005	GAK
	75	-32,756	-28,066	-35,466	-32,889	-27,740	-32,796	DAK
	77	-33,155	-33,902	-36,284	-34,192	-33,954	-36,888	GAK
	78	-26,569	-28,782	-32,685	-30,336	-27,864	-26,223	ZAV
	81	-37,537	-31,412	-34,274	-33,932	-30,562	-33,097	DAK
	95	-28,988	-29,611	-31,975	-30,452	-32,200	-30,338	GAK
BOZ	108	-30,851	-28,060	-30,392	-29,816	-31,957	-36,541	YK
	111	-32,939	-29,646	-29,495	-28,939	-33,809	-35,642	YGS
	112	-28,486	-29,212	-28,147	-26,078	-28,639	-32,582	YGS
	116	-32,572	-32,724	-33,125	-31,099	-32,293	-38,083	YGS
	122	-33,091	-29,852	-30,531	-30,229	-33,198	-35,436	YK
	130	-28,785	-27,474	-27,790	-30,855	-29,043	-31,207	YK
	149	-29,953	-29,766	-28,701	-28,459	-30,588	-27,270	ZAV
YGS	153	-34,297	-35,473	-36,341	-34,484	-36,594	-39,384	GAK
	164	-26,930	-27,939	-32,507	-27,011	-30,162	-31,571	GAK
	169	-29,544	-31,930	-33,075	-29,580	-31,070	-30,236	GAK
	184	-21,215	-24,752	-23,091	-21,571	-22,780	-26,314	GAK
	185	-23,799	-25,353	-26,762	-23,293	-22,678	-25,645	DAK
	187	-23,195	-22,706	-24,826	-23,761	-22,157	-24,120	DAK
	192	-32,943	-31,390	-32,511	-29,121	-28,826	-36,894	DAK
DAK	195	-30,656	-27,961	-33,382	-28,716	-28,428	-29,414	YK
	199	-30,979	-28,221	-32,393	-30,423	-32,189	-35,506	YK
	200	-25,360	-28,703	-30,593	-26,966	-27,166	-30,731	GAK
	213	-28,019	-28,810	-32,358	-25,843	-26,277	-36,700	YGS

3.11. Genetik Yapı (Structure) Testi

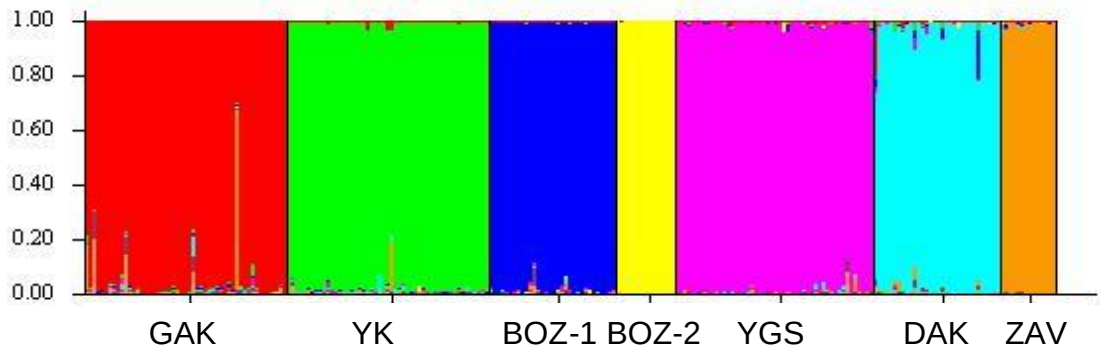
Bu çalışmada, K değerinin 1–7 arasında olma ihtimali denenmiştir. MCMC sayısı 100 000 ve periyot uzunluk değerleri olarak ise 50 000 alınmış ve her bir K değerinin 10 kez tekrar edilecek şekilde ayarlanarak popülasyonların genetik yapısı ve bireylerin karışım oranı Structure 2.2. programı (Pritchard ve ark 2000) ile tespit edilmiştir (Şekil 3.7.).

Yapılan test sonucunda BOZ popülasyonu hariç diğer popülasyonların önceki analizlerden NJT, FCA ve PCA sonuçları ile uyumlu olduğu gözlenmiştir. BOZ popülasyonunda ise çok karışım olduğu gözlenmiştir. Özellikle FCA analizi

sonucunda BOZ popülasyonunun iki farklı noktada odaklandığı (Şekil 3.4.) gözlenmiştir. Bu bireylerin oluşturduğu iki BOZ popülasyonu kullanılarak Structure testi tekrarlanmıştır (Şekil 3.8.). Bu analiz sonucunda BOZ popülasyonunun da diğer popülasyonlar ile birlikte diğer analizlere benzer şekilde uyum gösterdiği gözlenmiştir.



Şekil 3.7. Structure testi K=7.



Şekil 3.8. İki BOZ popülasyonu ile oluşturulan structure analizi K=7.

3.12. Moleküler Genetik Verilerinin Varyans Analizi (AMOVA)

İrk içi ve ırklar arası genetik varyasyon Moleküler Varyans Analizi (AMOVA analizi) yapılarak tespit edilmiştir. Bu analizde, coğrafik konum ve çalışmanın diğer parametreleri (FCA, genetik uzaklıklar) dikkate alınarak gruplamalar yapılmış ve Arlequin paket programı ile 1 000 permütasyon yapılarak analiz edilmiştir.

AMOVA'nın ilk aşamasında araştırmaya konu olan tüm popülasyonlar tek bir grup olacak şekilde analiz edilmiştir (Çizelge 3.13.). Toplam genetik varyasyonun

%98'inin popülasyonlar içinde, %2'sinin ise popülasyonlar arasında olduğu belirlenmiştir. Çalışmada popülasyonlar içi farklılıkların istatistiki olarak önemli olduğu ($P<0,05$) bulunmuştur.

Çizelge 3.13. Popülasyonlar tek bir grup şeklinde değerlendirildiği AMOVA.

Kaynak	SD	KT	VK	VY	P
Popülasyonlar arasında	5	103 598	0,16091 Va	2,00	
Popülasyonlar içinde	484	3 811,341	7,87467 Vb	98,00	0,02
Genel	489	3 914,939	8,03558		

SD: Serbestlik derecesi, KT: Kareler toplamı, VK: Varyans Bileşenleri, VY: Varyasyon Yüzdesi, P: İhtimal

İkinci aşama AMOVA'da, FCA ve NJT sonuçları dikkate alınarak BOZ, DAK ve ZAV popülasyonlarının ayrı birer grup, GAK, YK ve YGS popülasyonları ise tek bir grup olacak şekilde toplam 4 grup oluşturularak değerlendirilmiştir (Çizelge 3.14.).

Çizelge 3.14. Popülasyonların 4 grup şeklinde değerlendirildiği AMOVA.

Kaynak	SD	KT	VK	VY	P
Gruplar arasında	3	73 245	0,12971 Va	1,61	0,016
Gruplardaki popülasyonlar arasında	2	30 353	0,07206 Vb	0,89	0,009
Popülasyonlar içinde	484	3 811,341	7,87467 Vc	97,50	0,025
Genel	489	3 914,939	8,07644		

SD: Serbestlik derecesi, KT: Kareler toplamı, VK: Varyans komponentleri, VY: Varyasyon Yüzdesi, P: İhtimal

Bu durumda, toplam genetik varyasyonun %1,61'inin gruplar arasında, %0,89'unun gruplardaki popülasyonlar arasında ve %97,50'sinin ise popülasyonlar içinde olduğu belirlenmiştir. Çalışmada, gruplar arasındaki ve popülasyonlar içindeki farklılıkların $P<0,05$ oranında, gruplara (4) ait popülasyonlar arasında ise $P<0,01$ düzeyinde olduğu tespit edilmiştir.

3.13. Mantel Testi

Çalışmada kullanılan hayvanların coğrafik yerleşimleri (Şekil 2.1.) dikkate alınarak harita üzerinde her bir popülasyon için merkezi noktalar örnekleme çalışması yapılan bölgelerin orta noktası olacak şekilde belirlenmiş (Çizelge 3.15.) ve her bir popülasyonun diğer bir popülasyona olan uzaklıkları iller arası mesafenin

1/1000 km olacak şekilde bu noktalar aracılığıyla ölçülmüştür (Çizelge 3.16.). Elde edilen uzaklıklar ölçü değerleri ile D_A genetik uzaklık matrisi ve F_{ST} değerleri matrisi arasında bir ilişki olup olmadığı Arlequin (Excoffier ve Lischer 2010) paket programı kullanılarak Mantel test ile analiz edilmiştir. *Korelasyon katsayısının yorumlanması Rohlf (2000) 'e göre yapılmıştır.* Sonuçlar AMOVA testinde yapıldığı gibi tüm popülasyon tek bir grup ve 4 grup olacak şekilde değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlar Çizelge 3.17.'de özetlenmiştir.

Çizelge 3.15. Popülasyonların hesaplanan merkezi noktaları.

Popülasyon	Merkezi Noktaları
GAK	Gaziantep
YK	Ankara
YGS	Kahramanmaraş
BOZ	Çanakkale
DAK	Erzurum
ZAV	Ardahan

Çizelge 3.16. Popülasyonların hesaplanan genetik uzaklık değerleri (1/1000 km).

Popülasyon	GAK	YK	BOZ	YGS	DAK	ZAV
GAK		0,673	1,308	0,080	0,641	0,880
YK			0,653	0,593	0,876	1,110
BOZ				1,235	1,506	1,710
YGS					0,643	0,882
DAK						0,239
ZAV						

Çizelge 3.17. Mantel testi sonuçları.

Popülasyonlar	Kriter	Korelasyon katsayısı (r)	P	Önem
1 grup	D_A Uzaklık / Coğrafi Uzaklık	0,700571	0,002	$P < 0,01$
	F_{ST} Değerleri / Coğrafi Uzaklık	0,724395	0,012	$P < 0,05$
4 grup	D_A Uzaklık / Coğrafi Uzaklık	0,700571	0,001	$P < 0,01$
	F_{ST} Değerleri / Coğrafi Uzaklık	0,724395	0,008	$P < 0,01$

Popülasyonlar tek grup veya 4 grup olarak değerlendirildiğinde genetik uzaklık (D_A uzaklık) değerleri ile coğrafi uzaklık değerleri arasındaki korelasyon

(0,700571) zayıf düzeyde, pozitif ve istatistiksel olarak önemli ($P<0,01$) olduğu bulunmuştur.

F_{ST} değerleri ile coğrafi uzaklık arasındaki korelasyon (0,724395) zayıf ve pozitif bulunmuş, popülasyonlar tek grup olarak değerlendirildiğinde ($P<0,05$), popülasyonlar 4 grup olarak değerlendirildiğinde ise ($P<0,01$) düzeyinde istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir.

3.14. Popülasyonların Yok Olma Riski Geçirip Geçirmedikleri Testi (Bottleneck)

Türkiye yerli sığır ırklarının yakın bir zamanda yok olma riski geçirip geçirmediklerinin (darboğazdan geçme) ihtimallerinin Bottleneck testi ile analiz edilmiştir. Analizde 1 000 permütasyon ile 2 safhalı model (TPM) kullanılmış ve Bayesian yaklaşımını kullanan Wilcoxon testi ile önemlilikleri tespit edilmiştir. Bu testte her bir popülasyonun önemlilik testinde ki sıfır hipotezi “Popülasyonlar yakın zamanda yok olma riski geçirmemişlerdir” şeklinde kurulmuştur. Elde edilen sonuçlara göre GAK (0,123), YK (0,066), BOZ (0,522), YGS (0,053) popülasyonlarında yakın zamanda yok olma tehlikesi göstermediği ($P>0,05$) fakat DAK (0,001) ve ZAV (0,029) popülasyonlarının ise $P<0,05$ düzeyinde olmasına rağmen tüm popülasyonların normal L dağılımı gösterdiğinden dolayı yakın zamanda yok olma riski geçirmedikleri belirlenmiştir.

4. TARTIŞMA

4.1. Hayvan Materyali, DNA Kalitesi, Mikrosatellit Markörler ve PZR

Karakterizasyon çalışmalarında kullanılacak hayvan materyalinin geniş bir bölgeden seçilmesi gerekliliği bildirilmiştir (Freeman ve ark 2005). Bu çalışmada, örnekleme çalışmaları kullanılan 6 popülasyondan hayvanların yetiştiriciliği yapılan birçok bölgeyi kapsayacak şekilde yapılmıştır (Çizelge 2.1., Şekil 2.1.). Örnekleme çalışmalarında hayvanlar arasında akrabalık ilişkisinin olmamasına ve ırkın morfolojik özelliklerini taşımasına özen gösterilmiştir. Benzer durumda çok geniş bir bölgeyi kapsayacak şekilde örnekleme yapılan çalışmalarda (Bennewitz ve ark 2006) bulunmaktadır.

DNA örneklerinin miktar ve kalite kontrolleri 260/280 nm UV’de Nanodrop ND-1000 Spektrofotometre kullanılarak kontrol edilmiştir. Bu ölçüm oranının 1.8-2.0 arasında olması protein kalıntısının olmadığı ve kaliteli bir DNA elde edildiğinin göstergesi olarak belirtilmektedir (Miller ve ark 1988). Bu çalışmada da DNA örneklerinin bu kalitede elde edildiği gözlenmiştir.

Mikrosatellit (STR) markörleri, PZR teknolojisinin yardımıyla genetik çalışmalarda en çok tercih edilen markör sistemini oluşturmaktadır (Weber ve May 1989, Liu 1998). Mikrosatellit markörler hayvan popülasyonlarının genetik karakterizasyon çalışmalarında yaygın olarak (%90 oranında) kullanılmaktadır (Baumung ve ark 2004). İki nükleotid tekrarlı mikrosatellit markörlerin (%100), 3 nükleotidli markörlerden (%60) daha polimorfik olduğu bildirilmiştir (Metta ve ark 2004). Bu nedenle bu tez çalışmasında 2 nükleotid tekrarlı 20 farklı mikrosatellit markörü FAO-MoDAD/ISAG listesinden (Hoffmann ve ark 2004) seçilmiştir. FAO/ISAG listesinde bulunan aynı markörlerin kullanılması, konsorsiyum çalışmaları ile (MacHugh ve ark 1997, Loftus ve ark 1999, Edwards ve ark 2000a, Freeman ve ark 2004) farklı ülkelerde bulunan farklı popülasyonlara ait genotipik verilerin birlikte analiz edilmesine olanak sağlamaktadır. Bu çalışmada kullanılan 20 mikrosatellitin, 6 popülasyonda da yüksek oranda polimorfik (~%100) olduğu belirlenmiştir.

Çalışmada masraf ve iş gücünün azaltılması amacıyla multipleks PZR ve genotipleme yöntemi uygulanmıştır. Bu çalışmada 7, 7 ve 6 adet lokus olacak şekilde üç farklı multipleks havuz sistemi oluşturulmuş (Çizelge 2.5.) ve genotipleme çalışmalarında kullanılmıştır.

Touchdown PZR her bir örnek için reaksiyonun bağlanma ısısının tek tek belirlenmesi için gradient yapılması ve/veya reaksiyonun Mg^{++} konsantrasyonun belirlenmeye çalışılmasının yerine alternatif olarak kullanılan bir metottur. Esnek annealing özelliğine sahip olması ve farklı primerlerin aynı kondisyonlarda yükseltgenmesine olanak sağlaması nedeniyle Touchdown PZR protokolü (Don ve ark 1991) bu çalışmada olduğu gibi diğer çalışmalarda da (Cai ve ark 2006, Ndumu ve ark 2008) tercih edilmiştir.

PZR ürünleri kapiller elektroforez yöntemi ile ayrıştırılmıştır. Daha önceki sığır karakterizasyon çalışmalarında da kapiller elektroforez (Moazami-Goudarzi ve ark 1997, Schmid ve ark 1999, Ritz ve ark 2000, Canon ve ark 2001, Maudet ve ark 2002b, Chikhi ve ark 2004, Rendo ve ark 2004, Wiener ve ark 2004, Radko ve ark 2005, Sodhi ve ark 2008) ve jel elektroforez (Kantanen ve ark 1999, Giovambattista ve ark 2001, Hansen ve ark 2002, Ibeagha-Awemu ve ark 2004, Zhou ve ark 2005, Cai ve ark 2006, Pandey ve ark 2006) yöntemleri kullanılmıştır.

4.2. Popülasyon İçi Genetik Varyasyon

Mikrosatellitler kullanılarak hayvan popülasyonlarına ait genetik varyasyonun tespit edilmesinin genetik haritaların (linkage) oluşturulması, ekonomik öneme sahip özelliklerin tespiti ve yüksek heterozigotluğa sahip ırkların seçilmesinde fayda sağlayacağı belirtilmektedir (Vallejo ve ark 2003). Popülasyondaki genetik değişiklik, genellikle allel frekansındaki değişiklik ile tanımlanabilmektedir. Bu yüzden allel frekansının hesaplanması, popülasyon genetiği ve evrimsel köken çalışmalarında kullanılan temel parametrelerden bir tanesini oluşturmaktadır (Nei ve Kumar 2000). Allel frekansının hesaplanması ile her bir popülasyonun genotip olarak orijinlerinin olasılıkları hakkında bilgi edinilebilmektedir (Pritchard ve ark 2000). Mikrosatellitlerin kodominat özellikte olmalarından dolayı bir lokusa ait tüm allel ve genotipleri dolayısıyla frekansları hesaplanabilmektedir (Nei ve Kumar 2000).

Bu çalışmada, 6 popülasyondan 245 örneğin 20 mikrosatellit markörü kullanılarak genetik karakterizasyon çalışması yapılması sonucunda toplam 266 farklı allel gözlemlenmiştir (Çizelge 3.1.). Bu çalışmada kullanılan 4 sığır ırkı (GAK, DAK, YK ve BOZ) ile yapılan diğer çalışmalarda toplam 1582 (Altınalan 2005) ve 102 (Özkan 2005) allel gözlenmiştir. Altınalan (2005)'ın yaptığı çalışmada çok fazla allel sayısının tespit edilmesinin sebebi 26 mikrosatellit kullanılmasından ve genotipleme yönteminden kaynaklandığı düşünülmektedir. Toplam allel sayısının diğer bir çalışmada (Özkan 2005) daha az bulunmasının nedeni olarak kullanılan mikrosatellit sayısının sınırlı (7 adet) olması düşünülmektedir. Bu çalışmada örnek ve mikrosatellit sayısı (20 adet) yüksek tutulmuştur.

Bu çalışmada, Türkiye yerli sığır ırklarının toplam (266) ve ortalama allel sayısı (13,30) değerleri Avrupa (Ciampolini ve ark 1995, Moazami-Goudarzi ve ark 1997, Martin-Burriel ve ark 1999, Schmid ve ark 1999, Edwards ve ark 2000a, Cañón ve ark 2001, Del-Bo ve ark 2001, Maudet ve ark 2002b, Beja-Pereira ve ark 2003, Chikhi ve ark 2004, Moioli ve ark 2004, Tapio ve ark 2006, Martin-Burriel ve ark 2007, Cañón ve ark 2008, Dalvit ve ark 2008), Amerika (Hansen ve ark 2002), Asya (Kim ve ark 2002, Mao ve ark 2008, Zhang ve ark 2008), Afrika ve Hindistan'da (Ibeagha-Awemu ve ark 2004, Metta ve ark 2004, Pandey ve ark 2006, Sodhi ve ark 2008) yetiştirilen ırklar ile konsorsiyum (MacHugh ve ark 1997, Loftus ve ark 1999, Edwards ve ark 2000a) sonucu yapılan çalışmaların toplam (67–255) ve ortalama allel sayıları (6–11) ile karşılaştırıldığında, Türkiye yerli sığır ırklarında görülen allellik çeşitliliğin daha yüksek olduğu dikkat çekmektedir. Bu değerleri düşük bulunan bu çalışmalarda lokus sayısı genellikle 20'den azdır, ancak bazılarında 20'den fazla sayıda lokus kullanılmıştır. Bu çalışmalar dışında fazla sayıda mikrosatellit ve örnek sayısı kullanılan çalışmalarda allel sayısı genellikle yüksek bulunmuştur. Fakat ortalama allel sayıları bu çalışmadan daha düşük tespit edilmiştir (Mateus ve ark 2004a, Brenneman ve ark 2007, Li ve ark 2007c, Sun ve ark 2008). Toplam ve ortalama allel sayılarının yüksek bulunmasının sebebi olarak, kullanılan örnek sayısı, Türkiye'nin evcilleştirme bölgesine yakınlığı, örnekleme çalışmalarında kullanılan kriterler ve lokusların genetik çeşitliliğinin yüksek olması düşünülmektedir.

Yirmi bir lokustan 8 (Moioli ve ark 2004), 23 lokustan 15 (Maudet ve ark 2002b), 20 lokustan 13 (Martin-Burriel ve ark 1999) 23 lokustan 11 (Peelman ve ark 1998, Sodhi ve ark 2008), 10 lokustan 9 (Zhou ve ark 2005) ve 11 lokusunun hepsi (Rendo ve ark 2004, Radko ve ark 2005, Novao ve Usaquen 2010) bu çalışmada kullanılan lokuslar ile ortak olan bazı çalışmalarda hesaplanan toplam allel sayıları bu çalışmadan daha düşük bulunmuştur. Ayrıca toplam 12 lokus kullanılan çalışmanın 9 tanesi (Chikhi ve ark 2004) ve 9 mikrosatellitten 8 tanesi (Liron ve ark 2006) bu çalışma ile aynı olmasına rağmen toplam allel sayısı 100'den daha az bulunmuştur. Avrupa ırklarında bu çalışmada da kullanılan 8 (Del-Bo ve ark 2001), 7 (Cañón ve ark 2001, Beja-Pereira ve ark 2003, Dalvit ve ark 2008) ve 3 (Ciampolini ve ark 1995) ortak lokus ile yapılan çalışmalarda toplam allel sayısı ~150 ve ortalama allel sayısı 10 veya daha düşük bulunmuştur. Afrika ırklarında bu çalışma ile ortak 7 (Ibeagha-Awemu ve ark 2004) ve 12 (Ibeagha-Awemu ve Erhardt 2005) lokus kullanılmış ve toplam allel sayısı düşük bulunmuştur. Otuz lokus kullanılan bir çalışmada (Mateus ve ark 2004a) bu çalışma ile 14 lokus ortak olup toplam allel sayısı (390) yüksek olmasına rağmen popülasyonlarda gözlenen ortalama allel sayısı (5,67–8,13) düşük bulunmuştur. Özellikle bu çalışmada da kullanılan 13 lokusu içeren konsorsiyum çalışmalarında (Loftus ve ark 1999, Edwards ve ark 2000a) ortalama allel sayısı çok düşük bulunmuştur. Yirmi lokusun hepsi ortak olan bir çalışmada (Schmid ve ark 1999) ise toplam allel sayısı (255) bu çalışmadan düşük bulunmuştur. Avrupa sığır ırklarından protein antijen sistemi yanında 10 mikrosatellit lokus kullanılmış ve bu çalışmada kullanılan lokuslardan 3 lokus (INRA005, CSSM66 ve HEL9) ortak çalışılmış ve toplam ortalama allel sayısı 6'dan düşük bulunmuştur (Kantanen ve ark 2000). Bu çalışmada ise bu üç lokusta ortalama allel sayısı sırasıyla 5, 12 ve 11,33 olarak tespit edilmiştir. Ortak lokus sayısı fazla olan çalışmalarda bile bu çalışmadan düşük oranda toplam ve ortalama allel sayısının elde edilmesi bu çalışmada kullanılan popülasyonların özelliklerinden ve Türkiye'nin sığır evcilleştirme merkezine yakınlığından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Asya ırkları üzerinde yapılan çalışmada (Zhang ve ark 2007) 30 mikrosatellitten 29 tanesinin allellik zenginliğe sahip olduğu, toplam allel sayısı 480 ve ortalama allel sayısı ise 9,10 tespit edilmiştir. Asya ırklarında çok fazla lokus ve örnekte çalışılmasına rağmen bu çalışmaya göre daha düşük ortalama allellığe sahip olduğu gözlenmiştir. Bunun sebebi olarak kullanılan örneklerin daha geniş bölgeyi

kapsayacak şekilde seçilmiş olması ve yeterli sayıda mikrosatellit lokusu ile çalışıldığı olarak düşünülmektedir.

Elde edilen ortalama allel sayısı, Türkiye yerli sığır ırkları kullanılarak yapılan diğer çalışmalar (Loftus ve ark 1999, Altınalan 2005, Cymbron ve ark 2005, Özkan 2005) ile karşılaştırıldığı zaman benzer bulunmuştur. Ayrıca 19 lokus kullanılan ve 13 lokusu bu çalışma ile ortak olan ve Türkiye yerli sığır ırklarından DAK, GAK, YK ve BOZ ırklarının da kullanıldığı Avrupa ırkları üzerine yapılan geniş çalışma (Cymbron ve ark 2005) ile 8 ortak lokus kullanılan Brezilya yerli ırkları ile yapılan diğer bir çalışmada (Egito ve ark 2007) benzer sonuçlar alınmıştır. Birbirleri ile aynı lokusların kullanıldığı iki çalışmada da (Cañón ve ark 2001, Beja-Pereira ve ark 2003) benzer sonuçlar alındığı gözlenmiştir. Avrupa, Hindistan ve Afrika sığır ırklarında ise ortalama allel sayısı (11,4) değerlerinin arasında olduğu Yakın Doğu ırklarında ise 4–8 arasında değiştiği belirlenmiştir (Loftus ve ark 1999).

Bu çalışmada en fazla allel sayısı TGLA122 (24 allel) en az allel sayısı ise INRA005 (7 allel) marköründe gözlenmiştir. Diğer çalışmalarda da (Peelman ve ark 1998, Martin-Burriel ve ark 1999, Schmid ve ark 1999, Kim ve ark 2002, Maudet ve ark 2002b, Moioli ve ark 2004, Özkan 2005, Zhou ve ark 2005, Egito ve ark 2007, Li ve ark 2007c, Zhang ve ark 2007, Dalvit ve ark 2008, Mao ve ark 2008) genel olarak en yüksek allel sayısı TGLA122 lokusunda tespit edilmiştir. HEL13 ve TGLA53 lokuslarında allel sayısı yüksek olarak tespit edilmiş olup (Çizelge 3.1.) diğer çalışmalar ile (Sun ve ark 2008, Martin-Burriel ve ark 1999, Zhang ve ark 2008) uyum içerisindedir. Bu sonuçlara göre TGLA122 lokusu başta olmak üzere allel sayısı fazla tespit edilen lokusların sığır karakterizasyon çalışmalarında tercih edilmesinin anlamlı olacağı düşünülmektedir.

Bu çalışmada en düşük allel sayısı INRA005 (7) ve BM1824 (8) lokuslarında tespit edilmiştir. Bu durum diğer çalışmalar ile INRA005 (Moazami-Goudarzi ve ark 1997, Schmid ve ark 1999, Kim ve ark 2002, Chikhi ve ark 2004, Zhou ve ark 2005, Ciampolini ve ark 2006, Pandey ve ark 2006, Li ve ark 2007c, Zhang ve ark 2007, Sun ve ark 2008, Novao ve Usaquen 2010) ile uyum içerisindedir. ZAV ve YGS popülasyonlarında INRA005 lokusuna ait ortalama allel sayısı belirgin düzeyde düşük olduğu tespit edilmiştir. Bunun sebebi olarak ZAV popülasyonunda çalışılan

örnek sayısının sınırlı olmasının etkisi düşünülmektedir. INRA005 lokusu polimorfik olmasına rağmen genel olarak düşük allel sayısına sahip olmasından dolayı karakterizasyon çalışmalarında kullanılmaması gerektiği düşünülmektedir.

Bu çalışmada kullanılmayan markörlerden ILSTS005 markörü (Schmid ve ark 1999, Martin-Burriel ve ark 1999, Del-Bo ve ark 2001, Maudet ve ark 2002b, Beja-Pereira ve ark 2003, Özkan 2005) sığır ırklarında düşük allele sahip olduğu belirlenmiştir. Bu çalışmada, örneklerin daha geniş bölgeyi kapsayacak şekilde seçilmiş olması tespit edilen yüksek allelik polimorfizmin bir nedeni olabilir. Aynı zamanda, çalışmaya konu olan ırkların sığırın evcilleştirme bölgesine yakın olmasının bir nedeni olduğu düşünülmektedir (Loftus ve ark 1994, Loftus ve ark 1999, Troy ve ark 2001, Bruford ve ark 2003, Cymbron ve ark 2005).

Popülasyon bazında ortalama allel sayıları 6,90 (ZAV) ve 10,65 (YGS) arasında değişmektedir. ZAV hariç çalışmaya konu olan popülasyonlarda ortalama allel sayılarının genel olarak (GAK; 10,50, YK; 10,60, DAK; 8,45 ve BOZ; 9,90) bir birine benzediği tespit edilmiştir. Yerli ırklar ile yapılan diğer çalışmalarda ise en yüksek ortalama allel sayısı BOZ (Altınalan 2005) ve GAK (Özkan 2005) ırklarında tespit edilmiştir. Yerli ırk olarak tescil edilen GAK, YGS, DAK, YK ve BOZ popülasyonlarında her bir lokustaki ortalama allel sayısı yaklaşık 8 olarak bildirilmektedir (Resmi Gazete 2004). Bu çalışmada ise DAK popülasyonunda tüm lokuslardaki ortalama allel sayısı ~8, diğer tüm ırklarda ise bu orandan daha fazla sayıda allel tespit edilmiştir. Bunun sebebi, çalışmada kullanılan örneklerin daha geniş bir alanı kapsayacak şekilde alınmasıdır. Henüz tescil kapsamına girmeyen ZAV popülasyonunda ise örnek sayısının az olmasına rağmen ortalama allel sayısı nispeten yüksek orandadır. Popülasyonlarda gözlenen ortalama allel sayısı Batı Anadolu Bölgesi'nde yetiştirilen BOZ popülasyonun da, İç Anadolu'da yetiştirilen GAK, YK ve YGS'den düşük bulunmuştur. Doğu Anadolu Bölgesi'nde yetiştirilen DAK ve ZAV popülasyonunda az bulunmasının sebebi olarak örnekleme sayısının düşük olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Kuzey-Batı Avrupa ırkları ile karşılaştırıldığı zaman, en geniş genetik çeşitlilik Busa olarak adlandırılan Anadolu ve Balkan ırkları (Türkiye, Makedonya, Arnavutluk ve Kosova) ve Yakın Doğu sürülerinde (Cymbron ve ark 2005,

Medugorac ve ark 2009) belirlenmiştir. Farklı ülkeleri kapsayan konsorsiyum çalışmasında (Freeman ve ark 2004), Afrika sığır ırklarından N'Dama ırkının en düşük genetik çeşitliliğe sahip olduğu belirlenmiştir. Kuzey Avrupa yerli sığır ırkları diğer bölge ırkları ile karşılaştırıldığı zaman en yüksek genetik çeşitliliğe (Kantanen ve ark 1999) kendi içlerinde ise benzer allelik çeşitliliğe ve heterozigotluğa (Kantanen ve ark 2000) sahip olduğu belirlenmiştir. Mikrosatellitler kullanılarak Zebu ırklarında Taurin ırklarından daha yüksek genetik çeşitlilik elde edilirken protein markör lokuslarında ırklar birbirine benzer bulunmuştur (Ibeagha-Awemu ve ark 2004). Sürüler arasında karşılaştırma yapılması sonucunda saf olarak belirtilen ırklarda genetik çeşitlilik farklılığı bulunmuştur (Honda ve ark 2004, 2006). Bu çalışmada Türkiye yerli sığır ırklarında görülen ortalama allel sayılarının yüksek olmasının bir sebebi olarak Türkiye'nin coğrafi konum itibariyle eski medeniyetlere ev sahipliği yapması düşünülmektedir. Aynı zamanda, Asya Bölgesi'ndeki 2 farklı sığır evcilleştirme merkezinin en eskisi olan Doğu-Güneydoğu Anadolu bölgesini kapsamaktadır ve Türkiye'nin evcilleştirme bölgesine yakınlığının etkisi bulunmaktadır (Loftus ve ark 1994, Loftus ve ark 1999, Troy ve ark 2001, Bruford ve ark 2003, Cymbron ve ark 2005).

Fransa, Belçika, İspanya, İsviçre, Nordik, Kuzey İtalya ve İngiltere ırklarının birlikte değerlendirildiği bir konsorsiyum oluşturulmuştur ve Avrupa sığır ırklarının moleküler markör destekli korunma çalışmaları için 2 metot geliştirilmiştir. Bu yöntemlerden Weitzman'e göre genetik farklılık popülasyonlar arasındaki genetik mesafeyle elde edilmektedir. Alternatif olarak popülasyonlar arasında ve içerisinde çeşitlilik en az benzer markör hesaplanması ile optimize edilebilmektedir. Bu iki yöntem 69 Avrupa sığır ırkında 30 mikrosatellit ile genetik çeşitlilik hesaplanmasında kazancın belirlenmesinde kullanılmıştır (European Cattle Genetic Diversity Consortium 2006). İki farklı yönteminde ırkların genetik varyasyon kaynağı olarak yerli popülasyonların öneminin belirlenmesinde kullanılabileceği belirtilmektedir (Tapio ve ark 2006).

Bu çalışmada frekansları yüksek bulunan ILSTS006 lokusunun 296 allelinin, ETH225 lokusunun 145 ve 147 allellerinin, ETH10 lokusunun 215 ve 219 allellerinin, BM2113 lokusunun ise 132 ve 136 allellerinin frekanslarının doğudan batıya doğru azaldığı belirlenmiştir (EK A). ETH10 lokusunun 215 alleli örnek sayısı

kısıtlı olmasına rağmen ZAV popülasyonunda, HAUT27 lokusunun 151 alleli ise BOZ popülasyonunda en yüksek frekansta gözlenmiştir. Önceki çalışmalarda (MacHugh ve ark 1997, Loftus ve ark 1999, Ibeagha-Awemu et al. 2004, Cymbron ve ark 2005, Lirón ve ark 2006) kullanılan 9 lokusun (BM2113, CSSM66, ETH10, ETH225, BM2113, TGLA227, TGLA122, HEL13 ve INRA005) Zebu spesifik allel içeren lokuslar olduğu bildirilmektedir. Ancak, kullanılan genotipleme sistemleri arasındaki farklılıklardan dolayı bu çalışmada daha önce tanımlanan Zebu spesifik alleller tanımlanamamıştır. Bu çalışmada elde edilen ve yüksek frekanslara sahip olan lokusların ve allellerinin Zebu spesifik allellerinden olacağı ve doğudaki ırklarda Zebu karışımının olabileceği düşünülmektedir. Zebu spesifik allelleri içeren diğer lokusların (ETH152, HEL1, HRH1, ILSTS001, ILSTS005, ILSTS014, OCAM, RASA ve TGLA48) Taurin ile Zebu ırklarının tanımlanmasında kullanılabileceği bildirilmektedir (MacHugh ve ark 1997, Loftus ve ark 1999, Ibeagha-Awemu ve ark 2004). Zebu spesifik bu lokusların da Türkiye yerli sığır ırklarının karakterizasyon çalışmalarında kullanılmasına gereksinim bulunmaktadır.

GAK, DAK, YK ve BOZ ile yapılan Hemoglobin (Hb) polimorfizm çalışmasında (Özbeyaz 1991) Hb lokusunda yüksek allel frekansı tespit edilmiştir. Üstdal (1980)'ın yaptığı bir çalışmada da GAK, YK ve DAK ırklarında HbA alleli yönünden yüksek frekans elde edilmiştir. Özbeyaz (1991) GAK'ın diğer üç ırktan farklı allel frekansına sahip olduğunu ve kullanılan GAK örneklerinin saf olarak yetiştirildiği bir işletmeden alındığı bildirilmiştir. Özbeyaz (1991)'ın yaptığı çalışmada GAK ile YK'nın bu çalışmadan farklı olarak birbirinden ayrı çıkmasının sebebi olarak örnekleme çalışmalarının etkisi olduğu düşünülmektedir.

Popülasyonlardaki genetik çeşitliliğinin belirlenmesi amacıyla daha fazla lokus ile çalışılması önerilmektedir. On iki lokus ile popülasyonlardaki genetik varyasyonun düşük hesaplandığı (Chikhi ve ark 2004) ve 21 mikrosatellit lokusunun ise yerli ırkların genetik yapılarının incelenmesinde yeterli olmadığı bildirilmiştir (Moioli ve ark 2004). Yirmi bir (Pandey ve ark 2006) ve 23 lokus (Sodhi ve ark 2008) kullanılarak genetik varyasyonun fazla olduğu, 30 mikrosatellit ile yapılan bir çalışmada (Mateus ve ark 2004a) ise %90'dan daha fazla oranda genetik varyasyon tespit edilmiştir. Ayrıca yakın ilişkili sürülerin ayırt edilmesinde de 30 mikrosatellitin faydalı şekilde kullanılabileceği bildirilmiştir (Moazami-Goudarzi ve ark 1997).

Ancak kullanılacak mikrosatellit markör sayısı, mikrosatellit lokuslarının enformatif değerleri ve popülasyonların genetik yapıları ile ilişkilidir. Bu çalışmada 20 mikrosatellit lokusu kullanılarak hesaplanan genetik varyasyonun popülasyonlar arasında ve içinde yüksek olduğu belirlenmiştir.

4.3. Heterozigotluk Düzeyi

Kullanılan markörlerin enformatif değerlerinin tespitinde popülasyon bazında heterozigotluk düzeyleri kullanılmaktadır. Popülasyonlarda gözlenen (H_o) ve beklenen (H_e) heterozigotluk düzeylerinin 0,691–0,763 ile 0,740–0,804 değerleri arasında değiştiği belirlenmiştir. Markörler bazında ortalama H_o , H_e ve H_T değerleri sırasıyla 0,634–0,844, 0,664–0,881 ve 0,702–0,904 olarak tespit edilmiştir. Türkiye’deki yerli sığır ırklarının beklenen ve gözlenen heterozigotluk değerlerinin farklı kıtalarda yapılan çalışmalardaki (MacHugh ve ark 1997, Moazami-Goudarzi ve ark 1997, Loftus ve ark 1999, Martin-Burriel ve ark 1999, Schmid ve ark 1999, Edwards ve ark 2000, Hanslik ve ark 2000, Kantanen ve ark 2000, Cañón ve ark 2001, Maudet ve ark 2002b, Beja-Pereira ve ark 2003, Chikhi ve ark 2004, Ibeagha-Awemu ve ark 2004, Mateus ve ark 2004b, Rendo ve ark 2004, Wiener ve ark 2004, Pandey ve ark 2006, Tapio ve ark 2006, Zerabruk ve ark 2007, Cañón ve ark 2008, Mao ve ark 2008, Mohamad ve ark 2009) beklenen ve gözlenen heterozigotluk değerlerinden daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

Freeman ve ark (2005) Yakın Doğu, Avrupa, Asya ve Afrika ırklarını kapsayacak şekilde yaptıkları konsorsiyum çalışmasında, Yakın Doğu orijinli ırkların heterozigotluk değerlerinin 0,750’den büyük ($>0,750$) olduğu belirlenmiştir. Genetik çeşitliliği düşük olan ırklarda heterozigotlukta düşük bulunmuştur (Kim ve ark 2002, Bradshaw ve ark 2007, Martin-Burriel ve ark 2007, Mao ve ark 2008, Zhang ve ark 2008). Türkiye yerli ırklarının ortalama heterozigotluk değerlerinin diğer ülkelere göre yüksek ve Yakın Doğu ırklarına benzer oranda bulunması (Loftus ve ark 1999) evcilleştirme bölgesine yakınlık ile ilgili olduğunu ve bu türlerin Anadolu üzerinden Avrupa’ya yayıldığını açık bir şekilde göstermektedir. En yüksek ortalama H_o (0,763) ile en yüksek ortalama H_e (0,804) en fazla ortalama allel sayısına sahip olan YGS popülasyonunda tespit edilmişken en düşük ortalama H_o (0,691) BOZ popülasyonunda, en düşük ortalama H_e ise en az ortalama allel sayısına sahip olan

ZAV popülasyonunda gözlenmiştir. Altınalan (2005) Türkiye yerli ırkları bazında en düşük ve en yüksek H_o ile H_e değerlerini sırasıyla BOZ (0,433) - DAK (0,449) ile YK (0,859) - BOZ (0,883) popülasyonlarında tespit etmiştir. Özkan (2005) ise en düşük ve en yüksek H_o ile H_e değerlerini sırasıyla YK (0,735) – DAK (0,665) ile YK (0,811) – BOZ (0,775) arasında gözlemlemiştir. Türkiye yerli sığır ırkları kullanılan bir konsorsiyum çalışmasında H_e değeri 0,540–0,790 arasında değişirken, GAK, YK, DAK ve BOZ popülasyonlarında yaklaşık 0,780 bulunmuştur (Loftus ve ark 1999). Diğer çalışmalarda (Loftus ve ark 1999, Altınalan 2005, Özkan 2005) kullanılmayan ZAV popülasyonunda allel sayısı ile birlikte H_e değerinin düşük olması sınırlı örnek sayısından kaynaklandığı düşünülmektedir. BOZ popülasyonunda gözlenen heterozigotluğun diğer yerli ırklar ile diğer çalışmalardan elde edilen heterozigotluk değerlerinden de yüksek olmasının sebebi olarak bu ırkın diğer ırklardan tamamen ayrı bir genetik yapıya sahip olduğunun göstergesidir. YGS popülasyonunda hem allel sayısının fazla olması hem de H_e ile H_o değerlerinin yüksek olması ise bu ırkın da ayrı bir genetik yapıya sahip olmasının bir göstergesi olarak düşünülmektedir.

Fransa ve İspanya’da bulunan yabani sığır ırkları arasında orta/yüksek seviyede genetik farklılıklar tespit edilmiş, elde edilen bu heterozigotluğun Avrupa sığır ırklarında (Cañón ve ark 2001, Martin-Burriel ve ark 1999, Maudet ve ark 2002b) elde edilen heterozigotluktan daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Avrupa sığır ırklarında ise ırklar arasında geniş allelik çeşitlilik ve heterozigotluk bulunduğu tespit edilmiştir (Kantanen ve ark 1999, 2000). Asya sığır ırklarında ise genetik varyasyon oranının %10 civarında olduğu ve en yüksek heterozigotluk ve genetik çeşitliliğin Çin ırklarında olduğu tespit edilmiştir (Kim ve ark 2002).

Bir lokus için $>70\%$ heterozigotluk hesaplanabilmesi için kullanılacak genetik markörlerin yüksek polimorfik özelliğe sahip olması gerektiği belirtilmektedir (Liu 1998). Çalışmada kullanılan tüm markörlerin $\sim 100\%$ polimorfik yapıya sahip olduğu belirlenmiştir. Bununla birlikte en düşük ortalama allel sayısı ile en düşük toplam allel sayısına sahip olan INRA005 lokusunun, en düşük H_T değerine sahip olduğu gözlenmiştir. En düşük gözlenen (HAUT27) ve en düşük beklenen (ETH10) heterozigotluğa sahip olan markörlerin ise toplam allel sayıları ile ortalama allel sayıları tüm markörlerin ortalama ve toplam allel sayılarının ortalamalarından

da düşük olduğu belirlenmiştir. En yüksek H_o ve H_T değerlerine sahip olan TGLA53 markörünün aynı zamanda en yüksek toplam ve ortalama allel sayısına sahip olduğu gözlenmiştir. En yüksek H_o değerine sahip olan TGLA227 lokusunun da toplam ve ortalama allel sayısı bakımından tüm markörlerin ortalama ve toplam allel sayılarının ortalamalarından yüksek olduğu belirlenmiştir. INRA005 markörünün diğer çalışmalarda da (Sun ve ark 2008) düşük allel sayısı ve heterozigotluğa sahip olduğu gözlenmektedir. Bu sonuçlara göre INRA005 markörünün genel olarak düşük değerlere sahip olmasından dolayı genetik karakterizasyon çalışmalarında kullanılmaması gerektiği söylenebilir.

Ekonomik öneme sahip özelliklerin seçiminde yüksek heterozigotluğa sahip ırkların kullanılmasının önemi belirtilmiştir (Vallejo ve ark 2003). Asya ırklarının Avrupa ırklarına göre daha yüksek heterozigotluğa sahip olduğu bildirilmektedir (Zhou ve ark 2005). Asya kıtasının yerli sığır ırkları ile Avrupa sığır ırklarının birlikte değerlendirilmesi ve koruma planlarının oluşturulması amacıyla, simülasyon ve model oluşturma yöntemi kullanılarak yapılan bir çalışma sonucunda, özellikle Kuzey Avrupa ile Asya kıtasının ırklarının öncelikli olarak koruma altına alınmasının gerekliliği vurgulanmıştır (Bennewitz ve ark 2006). Bu çalışmada elde edilen yüksek heterozigotluk değerleri bu ırkların ekonomik özellikleri yönünden de koruma altına alınması gerektiğini göstermektedir.

4.4. Özgün Alleller

Özgün alleller (private allel) popülasyona spesifik olmaları ve bir ırkın tanımlanmasında kullanılabileceklerinden dolayı önem arz etmektedir. Bu çalışmada toplam 39 özgün allel tespit edilmiştir. En fazla özgün allele (4) sahip olan TGLA53 ve TGLA122 markörlerinin ortalama (15) ve toplam (23 ve 24) allel sayıları çalışmada kullanılan diğer tüm markörlerden de yüksektir. Ayrıca, TGLA53 markörünün en yüksek beklenen ve toplam beklenen heterozigotluğa da sahip olduğu görülmektedir. Ortalama allel sayısı en az (5) olan (Çizelge 3.1.) INRA005 lokusunda herhangi bir özgün allel tespit edilememişken, BM1824 marköründe 3 özgün allel gözlenmiştir. Ayrıca en yüksek frekansa (0,071) sahip özgün alleller 130 (BM2113) ile 281 (BM1818) olup ZAV popülasyonunda gözlenmiştir. Gözlenen bu

yüksek frekansların ZAV popülasyonunun diğer yerli ırklardan ayrı bir genetik yapıya sahip olduğunun bir göstergesi olarak düşünülmektedir.

Genel olarak özgün allellerin frekansları düşük oranlarda (Çizelge 3.2.) gözlenmiş olup ırk belirteci olarak kullanılamayacağı düşünülmektedir. Benzer şekilde 30 (Martin-Burriel ve ark 1999) ve 10 (Kantanen ve ark 2000) mikrosatellit lokus ile yapılan çalışmalarda da ırklara özgü alleller gözlemlenmiş fakat bu allellerin frekanslarının küçük olması nedeni ile ırk belirleyici özelliklerinin olmadığı belirtilmiştir. Asya ırklarında yapılan bir çalışmada 24 özgün allelden 10 tanesi Çin Holştayn'ında bulunmuş ve bu ırkın en geniş genetik çeşitliliğe sahip olduğu belirlenmiştir (Mao ve ark 2008). Arjantin ve Bolivya ırkları üzerinde çalışılan 9 mikrosatellitten 8 tanesi bu çalışma ile ortak olmakla birlikte sadece 3 özgün allel tespit edilmiştir (Liron ve ark 2006). Türkiye yerli ırklarında yapılan diğer çalışmalarda ise 719 (Altınalan 2005) ve 11 (Özkan 2005) özgün allel tespit edilmiştir. Altınalan (2005)'ın çalışmasında yüksek sayıda allel ve özgün allel tespit edilmesinin sebebi olarak kullanılan genotipleme farklılığından kaynaklandığı düşünülmektedir.

4.5. Wright F Parametreleri ve Hardy-Weinberg Dengesi

Wright'in homozigotlaşma indeksleri popülasyon yapısının tanımlanması amacıyla sıkça kullanılan parametreleri oluşturmaktadır (Nagylaki 1998). F_{IS} değeri alt popülasyonlardaki homolog alleller arasındaki korelasyonu (akrabalı yetiştirme katsayısı) tanımlamaktadır. F_{IT} ise tüm popülasyonların homolog alleller arasındaki korelasyonu (akrabalı yetiştirme katsayısı) vermektedir. F_{IS} değerlerinin hesaplanmasında Jackknife yöntemi de kullanılmıştır. Jackknife yöntemi her bir aşamada çalışılan popülasyonlardan birer tanesini çıkararak geriye kalan popülasyonlar üzerinde markörleri analiz ederek F değerini hesaplamaktadır. Pozitif F_{IS} değeri saf yetiştirmeyi dolayısıyla homozigot fazlalığını, sıfır değerine yakın bulunması ise ilgili popülasyonun HWE'de olduğunu ve saf yetiştirmeden uzaklaşıldığını ifade etmektedir. Popülasyonlar için hesaplanan genel F_{IS} değerlerinin 0,018 ile 0,110 arasında değiştiği, tüm popülasyonlar için genel F_{IS} değerinin ise 0,045 olduğu belirlenmiştir. F_{IS} değerlerinin diğer çalışmalardan (Chikhi ve ark 2004, Ciampolini ve ark 2006, Dadi ve ark 2008, Dalvit ve ark 2008) daha yüksek

oranda olduğu belirlenmiştir. Bu çalışmada pozitif ve sıfıra yakın bir F_{IS} değeri bulunduğundan dolayı, popülasyonlarda genel olarak saf yetiştirmeden uzaklaşıldığı fakat heterozigot fazlalığının olduğu bulunmuştur. F_{IS} değerleri ZAV popülasyonu hariç diğer tüm popülasyonlarda istatistiki bakımdan önemli olduğu ($p < 0,01$ ve $p < 0,001$) tespit edilmiştir. Bunun sebebi olarak ta çalışılan ZAV popülasyonuna ait örnek sayısının az olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

F_{ST} her bir alt popülasyondan rastgele seçilen iki gamet arasındaki korelasyonu ve alt popülasyonların genetik farklılaşma derecelerini hesaplamada kullanılmaktadır. F_{ST} değeri kullanılarak küçük (0- 0,05), orta (0,05- 0,15), büyük (0,15- 0,25) ve çok büyük ($>0,25$) genetik farklılaşma derecesinin tespit edilebileceği belirtilmektedir (Özkan 2005). Popülasyonlar arası farklılıkların anlamlılık düzeylerini ikişerli olarak karşılaştırılması sonucu hesaplanan ortalama F_{IT} ve F_{ST} değerleri sırasıyla 0,075 ve 0,031 olarak tespit edilmiştir. Multilokus F_{ST} değerlerinin, toplam genetik çeşitliliğin %6,8-7'sini, bireyler arasındaki farklılığın %93-93,2'sini açıklayabildiği belirlenmiştir (Cañón ve ark 2001, Jordana ve ark 2003). Bu sonuçlara göre popülasyonlar arasında küçük genetik farklılaşma olduğu belirlenmiştir. Dolayısıyla, Türkiye yerli sığır ırklarının koruma altına alınması gerekliliği düşünülmektedir.

4.6. Filogenetik Şema Ağaçları

Mesafe ölçmeye dayalı yöntemlerden evrimsel mesafe verisinden çizilen filogenetik ağaçlardan bir tanesi Komşu Birleştirme Ağaçlarıdır (NJ-Neighbour Joining Tree). Bu metodun bilinen diğer analizlere göre en faydalı metot olduğu bildirilmektedir (Saitou ve Nei 1987). Kullanılan markör sayısı ve popülasyon tipine bağlı olarak filogenetik bir ağaç yapılacağı gösterilmiştir (Takezaki ve Nei 1996). NJ ile çizilen filogenetik ağaçlar gibi grafiksel metotlar sadece bireylerin homojen kümelerinin tespiti amacıyla kullanılan istatistiksel işlemlerdir (Rosenberg ve ark 2001). Diğer yöntemlerden maksimum cimrilik (MP) metodu morfolojik karakterler için, maksimum olasılık (ML) metodu ise filogenetik sonuç çıkarma amacıyla geliştirilmiş yöntemlerdir (Nei ve Kumar 2000). NJ, ML ve MP metotlarının yararlığı karşılaştırılmış ve NJ ile ML yöntemlerinin MP yöntemine göre daha faydalı olduğu, ML yöntemin de NJ ye göre çok az bir farkla daha etkili olduğu

belirlenmiştir. Gamma mesafeli NJ yönteminin ise ML yöntemine göre daha faydalı olacağı da belirtilmiştir. Bu yöntemlerin ağaçların uzunlukları yönünden değerlendirildiğinde, ML ile NJ yöntemleri daha kullanışlı olacaktır. Sonuç olarak tüm denemeler sonucunda en faydalı kullanılacak yöntemin NJ yöntemi olduğu belirtilmektedir (Tateno ve ark 1994). Çalışmalarda daha çok Nei'nin genetik uzaklık mesafesi kullanılırken Hansen ve ark (2002) 4 farklı yöntemi denemişler ve R_{ST} yönteminin popülasyonların orijinlerine daha duyarlı bir yöntem olduğu belirlemişlerdir.

Çizilen NJT (Şekil 3.1., Şekil 3.2.) ile GAK ve YGS'nin en fazla (%75) gruplanan popülasyonlar olduğu, en az (%45) oranında ise BOZ ve ZAV popülasyonlarının Orta Anadolu'da yetiştirilen YK popülasyonundan ayrıldığı gözlenmektedir. BOZ ve ZAV popülasyonları ile YK, GAK ve YGS popülasyonlarının uzaklıkları %58 oranında aynı mesafede yer aldıkları belirlenmiştir. Popülasyonlar arasında %40 civarında bir varyasyonun olması ırkların tam olarak ayrılması için yeterli güce sahip olduğu bildirilmektedir (Lirón ve ark 2006). Nei'nin genetik uzaklık ile genetik kimliklendirme değerleri ile birlikte çizilen NJT'ler birlikte değerlendirildiğinde, tüm popülasyonların yetiştiriciliği yapılan bölgeler ile uyumlu olacak şekilde konumlandığı belirlenmiştir. Türkiye'nin en doğusunda yetiştiriciliği yapılan popülasyonlar (DAK ve ZAV) ile en batısında yetiştirilen popülasyon (BOZ) arasında uzak bir mesafe bulunması ilk evcilleştirilme bölgesinin Anadolu'yu da kapsayan bölgede yapıldığının bir kanıtı olduğu düşünülmektedir. GAK, YK, DAK ve BOZ ırklarının da kullanıldığı bir çalışmada çizilen NJT grafiğinde, DAK ile YK birbirine yakın odaklanırken GAK ve BOZ ayrı birer dal üzerinde odaklanmıştır (Loftus ve ark 1999). Bu çalışmadan farklı olarak GAK ve YK birbirine uzak konumlanmıştır. DAK ve özellikle BOZ ırklarından sınırlı örnek kullanılması bunun bir sebebi olarak düşünülmektedir. mtDNA analizlerinde (Troy ve ark 2001, Loftus ve ark 1994) Yakın Doğu sığır ırklarının diğer ırklardan tamamen ayrıldıkları da belirlenmiştir.

Genetik uzaklık mesafeleri NJT ağaçları ile birlikte değerlendirildiği zaman YGS, GAK ve YK popülasyonlarının ayrılmasına rağmen, birbirlerine yakın konumda bulunmalarının sebebi olarak yetiştiriciliği yapılan bölgelerin birbirlerine yakın olmasından kaynaklanacağı düşünülmektedir. Ayrıca Türkiye'nin doğusundan

batisına doğru gidildikçe popülasyonların birbirlerinden ayrıldıkları da gözlenmektedir. Bu sonuca benzer şekilde, Asya (Zhou ve ark 2005, Sun ve ark 2008) ve Avrupa (Martin-Burriel ve ark 1999, Kantanen ve ark 2000, Del Bo ve ark 2001, Beja-Pereira ve ark 2003, Mateus ve ark 2004a, Martin-Burriel ve ark 2007) sığır ırklarının birbirleri ile olan ilişkileri coğrafik ve tarihsel gelişimleri ile uyumlu olacak şekilde bulunmuştur. Türkiye yerli sığır ırkları ile yapılan çalışmada (Özkan 2005) ise BOZ ile YK birbirine çok yakın, GAK popülasyonunun ise YK başta olmak üzere diğer popülasyonlara uzak yerleşim gösterdiği tespit edilmiştir. Ancak, GAK ile YK popülasyonlarının yerleşim bölgesi olarak birbirlerine yakın çıkması beklenmektedir. Bunun sebebi olarak çalışmada (Özkan 2005) örnekleminin özellikle de Boz ırkın sadece bir bölgeden ve tek bir yerden yapılmış olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

4.7. Bireyler Arası Allel Paylaşım Uzaklıkları (ASD)

Popülasyonlara ait bireylerin genetik olarak birbirine ne derece benzediklerini araştırmak için allel paylaşım uzaklığı (ASD) metodu ile ağaç çizilmiştir (Şekil 3.3a, 3.3b.). ASD metodu, temel olarak popülasyonlara ait tüm bireylerin ortak olan allellerini kullanmaktadır. Çizilen ASD ağacında aynı popülasyonlara ait bireylerin yer yer bir arada olduğu, fakat araya başka popülasyonlardan bireylerinde karıştığı görülmektedir. Türkiye yerli sığır ırkları ile yapılan bir çalışmada (Özkan 2005) 7 mikrosatellit lokusu kullanılmış ve çizilen ASD ağacında bu çalışma ile benzer sonuçlar alınmıştır. Bu çalışma ile birlikte diğer çalışmada (Özkan 2005) farklı sayıda mikrosatellit lokus kullanılmış olmasına rağmen benzer sonuçların alınması Türkiye yerli sığır ırklarının bazılarında gerçekten bir karışımın olduğunu göstermektedir. Edwards ve ark (2000) 20 mikrosatellit ile çizilen ağaçta bu çalışmaya benzer şekilde aynı ırka ait bireylerin bir arada toplandığını (özellikle Simmental) fakat bazı popülasyonlara ait bireylerin başka popülasyonlar ile karışmış olduğunu belirlemişlerdir.

4.8. Faktöriyel Birleştirme Analizi (Factorial Correspondence Analysis-FCA)

Faktöriyel benzerlik analizi çok boyutlu ortamda bireylerin yakınlığının görülmesi için yapılan bir analiz yöntemidir. GENETIX 4.05 paket programı

kullanılarak popülasyonların üç boyutlu düzlemdeki görsel grafikleri elde edilmiştir (Şekil 3.4., Şekil 3.5.). Yetiştirildikleri bölgeler olarak birbirine yakın olan GAK ve YGS popülasyonlarına ait hayvanların NJT ağaçlarına benzer şekilde birbirlerine karıştıkları ve dolayısıyla diğer analizlerle benzerlik gösterdiği gözlenmiştir. FCA grafikleri, NJT ağaçları ve diğer istatistiki parametreler değerlendirildiği zaman GAK, YGS ve YK popülasyonları arasında bir karışım olduğu, DAK, ZAV ve BOZ popülasyonlarının ise ayrı genotiplere sahip birer popülasyon olacakları düşünülmektedir. BOZ'un iki farklı grup oluşturduğu gözlenmiştir. Bu durum örnekleme çalışmasının yapıldığı bölgelere (Şekil 2.1.) göre iki farklı genotipe sahip bireyler olduğu düşünülmektedir. Bu çalışmada elde edilen Boz ırkın diğer ırklardan farklı genetik yapıya sahip olduğu düşüncesini GAK, DAK, YK ve BOZ popülasyonlarında yapılan Hb polimorfizm çalışması sonucunda sadece BOZ ırkta gözlenen bir Hb frekansının tespit edilmiş olması (Özbeyaz 1991) destekler niteliktedir. Özkan (2005)'in yaptığı çalışmada NJT bulgularına benzer şekilde GAK-YK-BOZ popülasyonlarının birbirlerinden ayrı birer konumda öbeklendiği, DAK popülasyonunun ise bu ırklar ile karışım içerisinde olduğu bildirilmiştir. Bunun sebebi olarak Özkan (2005)'in örnekleme çalışmalarını bir bölgeden yapmasının ve az sayıda (7) mikrosatellit lokusu kullanmasının etkisi düşünülmektedir. Altınalan (2005)'in çalışmasında ise YK ile GAK bir grup, BOZ ile DAK ise ayrı birer grup oluşturmuştur. Altınalan (2005)'in bulguları bu çalışma ile benzerlik göstermektedir. DAK (Kafkas kökenli), BOZ (Balkan kökenli) ve ZAV (melez) ırklarının diğer yerli ırklardan (GAK, YK ve YGS) ayrı birer konumda bulunması bu ırkların Anadolu'ya daha sonradan getirildiği (Alpan 1993, Evrim ve Güneş 1996, Fao.org 2010) görüşünü kuvvetlendirmektedir.

Irkların kökeni olarak belirtilen *Bos indicus* ve *Bos primigenius* ile Afrika ırkları ayrı ayrı kümeler oluştururken, Avrupa, *Bos taurus* ve Yakın Doğu ırkları birbirlerine yakın kümelenme gösterdiği de belirlenmiştir (Troy ve ark 2001). Ayrıca farklı çiftliklerden alınan sürülerin yakın akraba oldukları ve farklı yapıda oldukları halde aynı küme içerisinde yer aldıkları (Cañón ve ark 2008) ve benzer şekilde iki farklı deri rengine sahip olan ırkların da aynı genetik yapıya sahip oldukları bildirilmiştir (Casellas ve ark 2004). Asya'nın Kuzey, Güney ve Merkezi sığır ırkları diğer ülke sığır ırkları ile karşılaştırıldığında tüm ırkların bölgelerine uygun şekilde ayrı ayrı kümelendikleri tespit edilmiştir (Li ve ark 2007b)

Avrupa ırklarındaki ortalama genetik çeşitlilik seviyesi Afrika ırklarına göre daha düşük bulunmuştur. Hindistan ve Afrika Indikus'ları, Avrupa ve Afrika Taurin'lerinden uzakta ve birbirlerinden ayrı bir konumda yer almıştır. N'Dama en düşük genetik çeşitliliğe sahip olduğu belirlenmiştir. (Freeman ve ark 2004). Zebu ırklarında mikrosatellit genetik çeşitliliği taurin ırklarından daha yüksek iken protein markörleri kullanılarak yapılan çalışmalarda ırklar birbirine benzer bulunmuştur. Avrupa ve Afrika Taurin'lerinden ziyade Afrika Zebularında Hindistan'da yetiştirilen Zebu'nun genetik karışım oranı yüksek olarak bulunmuştur. Kamerun ve Nijerya zebu sığırları genetik olarak birbirleri ile yakın ilişkili oldukları bildirilmiştir. Avrupa ve Afrika taurinleri ile Afrika zebuları arasında büyük genetik ayrılımların olduğu da belirtilmektedir. (Ibeagha-Awemu ve ark 2004). Ayrıca genetik çeşitliliği yüksek olan ırkların birbirlerinden tamamen ayrıldıkları belirlenmiştir (Pandey ve ark 2006, Sodhi ve ark 2008). Avrupa, Asya, Yakın Doğu bölgelerine ait ırklarda genetik ve coğrafik benzerlik olmasına rağmen Avrupa ırkları arasında yetiştirme farklılığı ile ilişkili olarak genetik farklılaşma anlamlı bulunmuştur (Li ve ark 2007c).

Asya kıtası ırklarının, Avrupa ırkı olan Holştayn ile karşılaştırıldığı tüm çalışmalarda tamamen ayrıldığı tespit edilmiştir. Bu çalışmalar (Kim ve ark 2002, Li ve ark 2007b, Zhang ve ark 2007) sığır ırkının kökeninin Anadolu'yu da içine alan Asya kıtası olduğunun birer kanıtı olarak kabul edilmektedir. Afrika kıtası ırkları da Holştayn ile karşılaştırılmıştır (Dadi ve ark 2008). Ayrıca, Asya kıtasında yetiştiriciliği yapılan ırkların diğer Avrupa ırklarından ayrı olarak kümelenmesi ve genetik çeşitliliğinin diğer kıtalara göre yüksek çıkması, sığır ırkının ilk evcilleştirilme bölgesinin bu bölgeler olduğunu desteklemektedir (Troy ve ark 2001). Bu sonuçlara göre, Türkiye yerli sığır ırklarının da başta Holştayn olmak üzere diğer kültür ırkları ile karşılaştırılacak bir çalışmanın yapılması, ayrıca uluslar arası bir konsorsiyum çalışmasına katılarak genetik farklılıklarının ortaya konulması bu verilerin güvenilirliğine katkı sağlaması açısından faydalı olacağı düşünülmektedir.

4.9. Polimorfizm Bilgi İçeriği (PIC)

Bir popülasyonda polimorfizmin ölçülmesinde Polimorfizm Bilgi İçeriği (PIC) sık kullanılan yöntemlerden bir tanesidir (Liu 1998). Popülasyon genetiği analizlerinde kullanılan markörlerin PIC değerleri 0,5'ten büyük ise ($0,5 < \text{PIC}$)

yüksek oranda bilgi verici, 0,5–0,25 arasında ise ($0,25 < PIC < 0,5$) oldukça bilgi verici ve 0,25 den küçük ise ($PIC < 0,25$) düşük oranda bilgi verici olarak değerlendirilmektedir (Botstein ve ark 1980).

Çalışmada kullanılan mikrosatellit markörlerin PIC değerleri PowerstatsV12 (Promega 2000) programı ile hesaplanmıştır (Çizelge 3.11.). Markörler bazında ortalama PIC değerleri 0,60 (INRA023) ve 0,87 (TGLA53) arasında değişmekte olup genel ortalama PIC değeri 0,75 bulunmuştur. Tüm lokuslarda ortalama PIC değerleri $>0,50$ bulunmuş ve yüksek oranda bilgi verici olduğu belirlenmiştir. Bu çalışma ile ortak 11 mikrosatellit lokusu ile Kolombiya yerli sığır ırkı (Brahman) üzerinde yapılan bir çalışmada (Novao ve Usaquen 2010) PIC değerleri 0,34–0,87 arasında değiştiği ve ortalama PIC değerinin 0,64 olduğu bulunmuştur. Başka bir çalışmada (Radko ve ark 2005) kullanılan 11 lokusun hepsi bu çalışma ile ortak olup elde edilen PIC değeri ETH03 lokusu hariç 0,50 oranında tespit edilmiştir.

4.10. Bireylerin Irklara Atanması Testi (Assignment Test)

Bir bireyin başka bir popülasyon içerisinde kümelenme göstermesi aynı küme içerisindeki bireylerin allel paylaşımı olduğunun bir göstergesidir. Aynı küme içerisinde çıkan bireylerin Assignment test ile tespit edilmesi gerekmektedir (Davies ve ark 1999). Farklı platformlarda yerli hayvan ırklarının tanımlanmasında kullanılmak amacıyla test paneline olan ihtiyaç gündeme gelmektedir. Genotipik verilerin farklı hayvan popülasyonlarının tanımlanmasına yönelik literatürde farklı simülasyon çalışmaları yapılmıştır.

Örneğin, MacHugh ve ark (1998) Avrupa kökenli 7 farklı sığır ırkını 20 mikrosatellit lokusu ile analiz etmişler ve en az 10 mikrosatellit ile %100 doğru sürü tahmini yapılabileceği belirlemişlerdir. İngiltere’de 30 mikrosatellit lokusu ile Highland, Jersey ve Guernsey ırklarında $>95\%$ oranlarda ırk tespiti yapılabilmektedir. Fakat bu test paneli Angus, Hereford, Dexter ile özellikle Ayrshires ve Holştayn ırklarında yeterli bulunmamıştır (Wiener ve ark 2004). Ciampolini ve ark (2006) 15 mikrosatellit lokusu ile %96,3 oranında 4 İtalyan sığır ırkında ırk tespitinin yapılabileceğini göstermişlerdir. İspanya, Portekiz ve Fransa’nın 18 lokal sığır ırkında 16 mikrosatellit markörü kullanılarak %99 oranında ırk tespitinin

yapılabileceği bildirilmiştir (Canon ve ark 2001). Saf ırklarda 13 mikrosatellit lokus analizinin $>95\%$ hassasiyette, 18 mikrosatellit lokusu içeren bir panelin ise en düşük eşik değerlerinde dahi 90% oranında ırk tespitine olanak sağlayabileceği bildirilmiştir (Bjørnstad ve Røed 2002). Bu çalışmalar saf olduğu kabul edilen ve genellikle yerel ırklar kullanılarak yapılmıştır. Hem simülasyon hem de bireyler üzerinde yapılan çalışmalar sonucunda 3 log ünitesinde hep doğru, 2 log ünitesinde ise hatalı atama yapıldığı tespit edilmiştir (Ciampolini ve ark 2006). Ayrıca, 3 farklı olasılık değerleri dikkate alınarak yapılan hesaplamalar ile elde edilen sonuçlar ($\alpha=0,05$, $\alpha=0,01$ ve $\alpha=0,001$) incelendiğinde, istenen kesinlik düzeyinin arttığı durumlarda bir bireyin tayin edilebildiği ırk sayısının düştüğü ve kendi ırkları da dahil hiçbir ırka tayin edilemeyen birey sayısının artmakta olduğu bulunmuştur (Maudet ve ark 2002b).

Melezlerde ırk kompozisyonun tespiti amacıyla ViaGen (<http://www.viagen.com>) isimli firma, 94 mikrosatellit lokus içeren bir panel ile 17 farklı sığır ırkını ve bunların melezlerin analiz etmişler ve $>95\%$ oranında başarı ile ırk kompozisyonunu tespit etmeyi başarmışlardır (Davis ve ark 2005). ViaGen Firması bu paneli kullanarak geliştirdikleri veritabanı ile BreedSure™, AnguSure™ ve Inducator™ testlerinin patent haklarını almış olup ticari test olanaklarını sunmaktadırlar (Viagen.com 2007). Fakat güncel web sayfasına bilgilerine göre ViaGen firmasının bu analizlerden sadece AnguSure™ testini yaptığı gözlenmiştir (Viagen.com 2011).

Bu çalışma kapsamında, 20 mikrosatellit lokus panelinin ve genotip verilerinin ırk tespitinde kullanılabilirliğinin tespiti amacıyla assignment testleri GenAlEx6 (Peakell ve Smouse 2006) programı kullanılarak yapılmıştır. Bu program ilgili popülasyonlarda gözlenen en yüksek genotipin görülme olasılığına (likelihood) göre bireylerin ırk tanımlamasını yapmaktadır ve bir ırka logaritmik bir değer ile atamaktadır (Paetkau ve ark 1995, 2004). Yapılan analizler sonucunda, çalışmaya konu olan bazı bireylerin farklı popülasyonlarda yer aldıkları gözlemlenmiştir (Çizelge 3.12.). Bu çalışmada, assignment test sonucu 99% güvenlikle ($\alpha=0,01$ hata ile) test edilmiş ve 213 bireyin (87%) kendi popülasyonuna atandığı, 32 bireyin (13%) ise farklı popülasyonlara atandığı belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar FCA, PCA ve NJT verileri ile uyum içersindedir. Sınırlı örnek sayısına rağmen ZAV

popülasyonundaki tüm bireylerin kendi popülasyonuna atandıkları gözlenmiştir. Avrupa sığır ırklarında yapılan assignment testinde sürülerin yüksek yüzdeler ile kendi popülasyonuna atandıkları belirlenmiştir (Canon ve ark 2001). Nesli tükenmiş ırklar üzerine koruma programı oluşturulması amacıyla yapılan bir çalışmada (Ginja ve ark 2010), Algarvia ırkı ile genetik kökenleri aynı olduğu düşünülen aynı zamanda fenotipik olarak benzeyen Portekiz ırkları üzerinde farklı moleküler yöntemler (mtDNA ve Y kromozumuna spesifik markörler) kullanılmış ve ırkların aynı küme içerisinde yer aldığı ve ırk tanımlama testinde (assignment test) ırkların birbirlerine atandıkları belirlenmiştir.

4.11. Genetik Yapı (Structure) Testi

İrkların orijinleri ve saflıkları ile ilgili olarak yapı testi yapılması gerekliliğinin önemi vurgulanmaktadır (Ciampolini ve ark 2006). Popülasyonların yapısının belirlenmesi ve popülasyonlara ait bireylerin popülasyonlara tayin edilmesi amacıyla K değerinin çalışılan popülasyon sayısından fazla bir değer olacak şekilde belirlenmesi ve çeşitli periyot uzunluk değerleri (length of burning period) ile MCMC sayıları için en uygun sayının 10 000–100 000 arasında olmasının yeterli olduğu belirtilmiştir (Pritchard ve ark 2000, 2007, Evanno ve ark 2005, Koban ve ark 2008). Bu çalışmada, K değeri olarak çalışılan 6 popülasyondan sayıca fazla olması amacıyla 1–7 arasında bir popülasyon olma ihtimali denenmiştir. MCMC sayısı 100 000 ve periyot uzunluk değerleri olarak ise 50 000 alınmış ve her bir K değerinin 10 kez tekrar edilecek şekilde ayarlanarak popülasyonların genetik yapısı ve bireylerin karışım oranı tespit edilmeye çalışılmıştır. Evanno ve ark (2005) tarafından önerilen yöntemle göre yapılan denemeler sonucunda popülasyonlardaki bireyleri ve popülasyonları en iyi ayıran K=7 olarak belirlenmiştir.

MCMC değeri olarak en yaygın 100 000 değeri kullanılmaktadır (Freeman ve ark 2005). Yapılan yapı testinde 8 ırk için en uygun K değerinin 8 olduğu belirtilmektedir ve bu değerde ırkların %90 civarında bireyin her bir ırka tayin edildiği de belirlenmiştir (Wiener ve ark 2004). Türkiye yerli ırkları ile kültür ırkları olmak üzere 7 popülasyon birlikte değerlendirildiğinde K değeri olarak 1–15 popülasyon olma olasılığı denenmiş ve en uygun K değerinin 7, 8 ve 9 olduğu belirlenmiştir (Özkan 2005). K değeri olarak çok fazla bir aralık denenmiş

olduğundan dolayı bu sonucun diğer analizleri ile çok uyumlu olmadığı görülmektedir. Yirmi bir popülasyon kullanılarak yapılan bir çalışmada K değerinin 1–20 arasında olma ihtimali denenmiş ve 100 tekrar sonucunda en uygun K=3 bulunmuştur (Li ve ark 2007c). Aynı ırk olarak değerlendirilen 3 ırkın genetik yapı testi sonucuna göre 2 ırkın, diğer ırkın (Dexter) birer alt popülasyonu olduğu belirlenmiştir (Bray ve ark 2009). Wiener ve ark (2004) 8 farklı ırka ait hayvanların 2–11 popülasyon olma olasılığının en iyi şekilde ayrılmasında K=8 değerinin uygun olduğunu ve hayvanların >%90 oranla bir ırka tayin edildiği belirlemişlerdir.

Bu çalışmada BOZ popülasyonu hariç diğer popülasyonların NJT, FCA ve PCA sonuçları ile uyumlu olduğu gözlenmiştir. İtalya yerli sığırları olan Maremmana ve Podolica ırklarının Bozstep sığır ırkı grubundan olduğu belirtilmektedir (Moioli ve ark 2004). Yapılan konsorsiyum sonucunda Doğu Afrika ırklarında Zebu karışımı belirlenirken Asya ve Yakın Doğu ırklarının *Bos Indicus*'tan orijin aldığı belirlenmiştir (Freeman ve ark 2005).

4.12. Moleküler Genetik Verilerinin Varyans Analizi (AMOVA)

AMOVA, popülasyon genetiği çalışmalarında moleküler bilgiler kullanılarak popülasyonlar arasındaki farklılaşmaların (evrimsel kökenin) ve farklılaşma ile ilgili hipotezlerin tespit edilmesi amacıyla kullanılmaktadır (Excoffier ve ark 1992). Bu çalışmada iki aşamalı AMOVA testi uygulanmıştır. Birinci aşamada tüm bireyler tek bir grup olarak, ikinci aşamada ise NJT, FCA sonuçlarına göre popülasyonlar 4 gruba ayrılarak değerlendirilmiştir (Çizelge 3.13., Çizelge 3.14.). Bu sonuçlara göre popülasyonlar tek bir grup veya 4 grup olarak değerlendirildiği zaman da genetik varyasyonun ~%98'i popülasyonlar içinde gözlenmiş ve $P(0,02) < 0,05$ düzeyinde önemlilik tespit edilmiştir.

Wiener ve ark (2004) AMOVA analizi sonucunda toplam genetik varyasyonun %87'sinin ırklar içerisinde, %13'ünün ise ırklar arasında olduğunu belirlemişlerdir. Mateus ve ark (2004a)'nın tüm gruplarının AMOVA sonuçları incelendiğinde, ırklar içerisindeki varyasyonun genelde %90,73'ten büyük olduğu belirlenmiştir. Çalışılan ırkların tümünün birlikte değerlendirildiği AMOVA analizi sonuçları incelendiğinde ise toplam genetik varyasyonun %91,04'ünün

popülasyonlar içinde, %8,96'sının ise popülasyonlar arasında olduğu belirlenmiştir (Mateus ve ark 2004a). Başka bir çalışmada (Wiener ve ark 2004) ise elde edilen varyansın %87 oranında popülasyonlar arasında olduğu bildirilmiştir. Avrupa, Asya, Yakın Doğu bölgelerini içeren konsorsiyum çalışmasının AMOVA testi sonucunda genetik varyasyonun %90'ının popülasyonlar içinde olduğu tespit edilmiştir (Li ve ark 2007c).

4.13. Mantel Testi

Mantel testi ile iki farklı uzaklık matrisi arasındaki korelasyon, dolayısıyla bir parametrenin diğer bir parametre ile arasındaki ilişki incelenmektedir (Mantel 1967, Rousset ve Raymond 1997). Çalışmada kullanılan popülasyonlarda örneklerin toplandıkları coğrafik bölgelerinin orta noktası belirlenerek aralarındaki mesafe ölçülmüş (Çizelge 3.16.) ve Mantel test sonuçları (Çizelge 3.17.) elde edilmiştir. Bu sonuçlara göre popülasyonların F_{ST} değerleri ile coğrafik uzaklıkları arasındaki korelasyon ($r=0,724395$) ve genetik uzaklık (D_A uzaklık) değerleri ile coğrafi uzaklık değerleri arasındaki korelasyon ($r=0,700571$) zayıf, pozitif ve önemli ($P<0,5$ ve $P<0,01$) olduğu belirlenmiştir.

Türkiye yerli sığır ırkları üzerinde yapılan bir çalışma (Özkan 2005) sonucunda D_S genetik uzaklık ile coğrafik uzaklık değerleri arası korelasyonun önemli olduğu ($r=0,76$, $P<0,02$) belirlenmiştir. Fransız ırkları içerisinde genetik uzaklık ile coğrafi uzaklık arasında da önemli bir korelasyonun ($r=0,70$, $P=0,012$) olduğu (Maudet ve ark 2002b), başka bir çalışma da ise Mantel test sonucunda coğrafik ve genetik mesafe arasındaki korelasyonun önemsiz ($r=0,036$, ns) olduğu belirlenmiştir (Chikhi ve ark 2004).

4.14. Popülasyonların Yok Olma Riski Geçirip Geçirmedikleri Testi (Bottleneck)

Türkiye yerli sığır ırklarının yakın bir zamanda yok olma riski geçirip geçirmediğlerinin (darboğazdan geçme) ihtimalleri için yapılan testte, mikrosatellit veriler için en güvenilir olarak ifade edilen wilcoxon testi ile önemlilikleri araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre GAK, YK, BOZ ve YGS

popülasyonlarının yakın bir zamanda yok olma tehlikesi geçirmediikleri ve normal L dağılımında oldukları belirlenmiştir. DAK ve ZAV popülasyonlarının ise $P < 0,05$ olmalarına rağmen normal L dağılımı gösterdiklerinden dolayı yok olma tehlikesi geçirmediikleri belirlenmiştir. Yok olma riski geçirmeyen popülasyonlardan YK (0,066) ve YGS (0,053)'nin değerleri çok düşük olduğu da görülmüştür. GAK, YK, DAK ve BOZ ile yapılan diğer çalışmada (Özkan 2005) tüm olasılıkların $> 0,41$ olduğu ($P > 0,05$) belirlenmiş ve ortak çalışılan popülasyonlar yönünden bu çalışmadan DAK popülasyonu hariç benzer sonuçlar elde edilmiştir. Bu çalışmada DAK ve ZAV popülasyonunda özellikle düşük değer elde edilmesinin nedeni olarak çalışılan örnek sayısının sınırlı olmasının etkisi düşünülmektedir. Bununla birlikte diğer ırklardan elde edilen değerlerin BOZ hariç düşük olmasının sebebi olarak yerli sığır ırklarının sayısının son zamanlarda çok azalmış olmasından (TÜİK 2009, 2010, Fao.org 2010) kaynaklandığı düşünülmektedir.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

5.1. Sonuç

Genetik karakterizasyon çalışmaları popülasyon içi ve popülasyonlar arası genetik çeşitlilik seviyesinin belirlenmesi dolayısıyla koruma programlarının geliştirilmesi, evcilleştirilme ve göç yollarının tespiti gibi çalışmalar için oldukça önemlidir. DNA markörleri özellikle polimorfik mikrosatellit lokusları bu amaçla yaygın olarak tercih edilmektedir.

Yapılan bu çalışma ile Türkiye yerli sığır ırklarında Güney Anadolu Kırmızı, Yerli Kara, Yerli Güney Sarısı, Boz ırk, Doğu Anadolu Kırmızı ve Zavot ırkları 20 mikrosatellit markör kullanılarak genetik karakterizasyon çalışması yapılarak genetik yapıları ve filogenetik ilişkileri araştırılmıştır.

Yapılan filogenetik ağaç çizimi, structure testi, FCA grafikleri sonuçlarına göre YGS popülasyonunun ayrı bir ırk olmakla birlikte coğrafi konum olarak yakın bölgelerde bulunan GAK ve YK ile benzer genetik yapıya sahip olduğu ve karışım içerisinde bulunduğu, DAK, ZAV ve BOZ popülasyonlarının ise ayrı birer genetik yapıda oldukları belirlenmiştir. Ortalama allel sayısının Doğu'dan Batı'ya doğru azaldığı tespit edilmiştir. Bunun sebebi olarak da Anadolu'nun evcilleştirilme bölgesine yakın konumda bulunması gösterilmektedir.

ILSTS006 lokusunun 264 ve 296 allellerinin, ETH225 lokusunun 145 ve 147 allellerinin, ETH10 lokusunun 215 allelinin frekansları diğer allellerin frekanslarından belirgin düzeyde yüksek bulunmuştur. Aynı zamanda bu allellerin frekanslarının doğudan batıya doğru azaldığı belirlenmiştir. Bu lokus allellerinin Zebu spesifik allellerinden olduğu ve doğudaki ırklarda Zebu karışımının olabileceği düşünülmektedir.

5.2. Öneriler

Yerli ırklar bulundukları bölgelerin her türlü çevre şartlarına (coğrafi şartlar, iklim koşulları, yem kaynakları, hastalıklar) uyum sağladıklarından, bölgenin

hastalıklarına dirençli ve bölgedeki verimsiz yem kaynaklarını değerlendirebilen kanaatkâr hayvanlardır. Türkiye yerli sığır ırkları da uzun süredir kültür ırkları ile yapılan melezleme çalışmaları nedeniyle yok olma tehlikesi altına girmiş ayrıca saf genotipleri de kaybolmaya başlamıştır. Türkiye yerli sığır ırklarının ise ırk bazında sayıları son yıllarda tespit edilmemiştir. Bu amaçla yerli ırkların ırk bazında mevcut sayılarının belirlenmesi gerekmektedir. Tarım ve Köyişleri Bakanlığının yerli sığır ırklarının envanter çalışmasını acilen yapması ve elde edilecek sonuca göre her bir yerli ırk için gerekli koruma stratejisinin belirlenip koruma tedbirleri alması gerekmektedir.

Türkiye yerli sığır ırklarının ıslah çalışmalarında kültür sığır ırkları kullanılmıştır. Ayrıca Dünya’da yapılan çalışmalarda Holştayn ırkının ayrı genetik yapıya sahip olduğu ortaya konulmuş (Hanslik ve ark 2000), Asya ve Afrika ırkları da özellikle Holştayn ile birlikte değerlendirilmiştir. Bu kapsamda Türkiye yerli sığır ırklarının Holştayn başta olmak üzere melezleme çalışmalarında kullanılan kültür ırkları ile karşılaştırılarak karakterizasyon çalışması yapılması uygun olacaktır.

Yerli sığır ırklarından GAK, YK, YGS, BOZ ve DAK popülasyonlarının Resmi gazete (2004)’de yayınlanan tebliğ ile ırk tescili yapılmıştır. Ancak, ZAV popülasyonu henüz ırk olarak tescil edilmemiştir. Yapılan çalışmada ZAV popülasyonunun diğer ırklardan ayrıldığı ve ayrı bir ırk olarak tescil edilmesi gerektiği düşünülmektedir.

DAK ve özellikle ZAV popülasyonlarına ait örnek sayılarının sınırlı olması nedeniyle ileride yapılacak çalışmalarda örnek sayısının artırılması anlamlı olacaktır.

Genetik karakterizasyon çalışmalarından mikrosatellit ve mtDNA ile birlikte Y kromozomu spesifik markör sistemleri de kullanılmaktadır. Gelecekte yapılacak çalışmalarda da somatik markör ile birlikte maternal ve paternal kalıtım gösteren markör sistemlerinin kullanılması önerilmektedir (Bruford ve ark 2003). Arjantin ve Bolivya ırkları üzerinde yapılan mikrosatellit analizlerinde Taurin ve Zebu karışımı bulunmamıştır. Ancak Y kromozomu ve mtDNA ile yapılan çalışmalar birlikte değerlendirildiği zaman Y kromozomu verilerinde bu ırklarda Zebu karışımının olduğu belirlenmiştir (Liron ve ark 2006). Bu kapsamda Türkiye yerli sığır ırklarının

da bu çalışma da kullanılan mikrosatellitler dışında SNP, mtDNA ve Y kromozomu gibi farklı moleküler markör sistemleri ile analiz edilip, sonuçlar karşılaştırılarak değerlendirilmeli ve buna göre koruma stratejileri geliştirilmelidir. Çok sayıda mikrosatellitin popölasyon genetiği çalışmalarında kullanılmasını, çalışılan örnek sayısı ile örneklerin toplandığı ölke sayısının da etki ettiği belirtilmektedir. (Freeman ve ark 2005). Bu nedenle uluslar arası konsorsiyumlar ile farklı ölkelerin ırklarının bir arada değerlendirilmesi önerilmektedir.

Türkiye yerli ırklarıyla birlikte, sayıları iyice azalmış olan yaban hayvanları ile bölgeye has yerli ırkların da korunma altına alınması amacıyla çalışmalar yapılması gerekmektedir.

6. ÖZET

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Türkiye’de Bulunan Bazı Yerli Sığır Irklarının Genetik Yapılarının Karakterizasyonu

Yusuf ÖZŞENSOY

Zootekni Anabilim Dalı (VET)

DOKTORA TEZİ / KONYA–2011

Değişen çevre koşulları dünya fauna ve florasını olumsuz yönde etkilemektedir. Genetik karakterizasyon çalışmaları, popülasyon içi ve popülasyonlar arası genetik çeşitlilik seviyesinin belirlenmesi, koruma programlarının geliştirilmesi, evcilleştirilme ve göç yollarının tespiti gibi çalışmalar için oldukça önemlidir. DNA markörleri, özellikle polimorfik mikrosatellit lokusları bu amaçla yaygın olarak tercih edilmektedir. Bu çalışmanın amacı, “*Türkiye Yerli Evcil Genetik Kaynaklarından Bazılarının in vitro Korunması ve Ön Moleküler Tanımlanması- I (TÜRKHAYGEN-I)*” projesi kapsamında, Türkiye’de bulunan Güney Anadolu Kırmızısı (GAK), Yerli Kara (YK), Boz Irk (BOZ), Yerli Güney Sarısı (YGS), Doğu Anadolu Kırmızısı (DAK) ve Zavot (ZAV) ırklarının 20 farklı mikrosatellit DNA markörü (CSSM66, ETH03, HEL9, CSRM60, INRA023, SPS115, ILSTS006, INRA05, HAUT27, TGLA122, TGLA126, TGLA227, BM1824, HEL13, BM2113, TGLA53, ETH225, ETH10, ETH185, ve BM1818) kullanılarak genetik karakterizasyonu ve filogenetik ilişkilerinin belirlenmesidir.

Çalışmada kullanılan 6 ırka ait toplam 245 örnekten standart fenol/kloroform yöntemi kullanılarak DNA izolasyonu yapılmıştır. ISAG ve FAO-MoDAD tarafından tavsiye edilen listeden seçilen 20 mikrosatellit marköründen üç farklı multipleks havuz sistemi oluşturulmuş ve Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ile yükseltgenmiştir. PZR ürünleri Beckman Coulter CEQ–8000 Genetik Analiz Sistemi kullanılarak kapiller elektroforez ile ayrıştırılmış ve her bir markörün genotipleri tespit edilmiştir. Toplam 266 farklı allel gözlemlenmiş ve her markör için tespit edilen ortalama allel sayısının 6,90 (ZAV) ile 10,65 (YGS) arasında değiştiği gözlenmiştir. Toplam allel sayısı bakımından en fazla allel TGLA122 (24), en az allel sayısı ise INRA005 (7) marköründe gözlenmiştir. Toplam 39 farklı özgün allel belirlenmiştir.

Ortalama H_o ve H_e heterozigotluk düzeyleri, popülasyon bazında sırasıyla 0,691–0,763 (BOZ-YGS) ile 0,740–0,804 (ZAV-YGS) değerleri arasında değiştiği belirlenmiştir. Markörler bazında ortalama H_o , H_e ve H_T değerlerinin sırasıyla 0,634–0,844 (HAUT27-TGLA227), 0,664–0,881 (ETH10-TGLA53) ve 0,702–0,904 (INRA005-TGLA53) arasında değiştiği belirlenmiştir. Hesaplanan genel F_{IS} değerlerinin 0,018-0,110 arasında değiştiği, F_{IS} değerlerinin ZAV popülasyonunda önemsiz ($P>0,05$) ancak diğer popülasyonlarda istatistiki bakımdan önemli olduğu tespit edilmiştir. F_{ST} değerleri bakımından YK ve DAK popülasyonları arasında istatistiki olarak bir fark tespit edilemezken diğer popülasyonlar arasındaki farklar önemli ($P<0,05$) bulunmuştur.

Popülasyonların genetik yapıları ve olası farklılıklar filogenetik ağaç, FCA ve yapı analizleri ile araştırılmıştır. Çizilen NJT’ler ve FCA analizi değerlendirildiği zaman tüm popülasyonların yetiştiriciliği yapılan bölgeler ile uyumlu konumda olduğu belirlenmiştir. GAK, YGS ve YK popülasyonları arasında bir karışım olduğu ve birbirlerine yakın kümelandikleri, DAK, ZAV ve BOZ popülasyonlarının ise ayrı konumlarda kümelandikleri belirlenmiştir. Özellikle BOZ ve ZAV popülasyonlarının diğer yerli popülasyonlardan tamamen farklı bir yapıda olduğu da belirlenmiştir.

Anahtar Sözcükler: Genetik Çeşitlilik; Genetik Karakterizasyon; Mikrosatellit; Sığır; TÜRKHAYGEN–1

7. SUMMARY

Genetic Characterization of Some Turkish Cattle Breeds

Changes in environmental conditions have affecting the world's fauna and flora irreversibly. Characterization studies are important for determination of genetic diversity in and between the populations, development of reservation strategies and determination of domestication centers and migration routes. DNA based markers especially polymorphic microsatellite loci are widely preferred for this purpose. Objective of this study was genetic characterization and thereby determination of phylogenetic relationship of native cattle breeds including Anatolian Black (AB), Anatolian Grey (AG), South Anatolian Red (SAR), Southern Anatolian Yellow (SAY), East Anatolian Red (EAR) and Zavot (ZAV) in Turkey using 20 microsatellite DNA markers (CSSM66, ETH03, HEL9, CSRM60, INRA023, SPS115, ILSTS006, INRA05, HAUT27, TGLA122, TGLA126, TGLA227, BM1824, HEL13, BM2113, TGLA53, ETH225, ETH10, ETH185 and BM1818) as part of a national project titled “*In vitro* Conservation and Preliminary Molecular Identification of Some Turkish Domestic Animal Genetic Resources-I (TURKHAYGEN-I)”.

DNA samples were isolated from a total of 245 samples representing 6 breeds using a standard phenol/chloroform method. Three different multiplex pools were generated from 20 microsatellite loci that were selected from a list suggested by FAO and International Society of Genetics (ISAG) and were amplified using Polymerase Chain Reaction (PCR). PCR products were separated by capillary electrophoresis on a Beckman Coulter CEQ-8000 Genetic Analysis System, and marker genotypes were determined. A total of 266 different alleles were observed and population based mean allele numbers were varied between 6,90 (ZAV) and 10,65 (SAY). Based on the loci, the highest and the lowest allele numbers were at the TGLA122 (24) and INRA005 (7) loci, respectively. A total of 39 different private alleles were observed.

It was observed that mean H_o and H_e values of populations were varied as 0,691–0,763 (AG-SAY) and 0,740–0,804 (ZAV-SAY). Mean H_o , H_e and H_T values of markers were observed as 0,634–0,844 (HAUT27-TGLA227), 0,664–0,881 (ETH10-TGLA53) and 0,702–0,904 (INRA005-TGLA53), respectively. General F_{IS} values were between 0,018 and 0,110. F_{IS} values were statistically significant in all populations except ZAV ($P>0,05$). F_{ST} values were significant ($P<0,05$) between all populations except the F_{ST} value between AB and EAR populations, which was found to be insignificant.

Genetic structures and likely differences of the populations were investigated using phylogenetic trees, FCA and structure analysis. The resulting NJTs and FCA suggested that breeds analyzed are consistent with their today's geographical locations. There was an admixture between SAR, SAY, and AB populations and these populations were closely localized. Especially, AG and ZAV populations were separately localized from the other populations and also exhibited a totally different structure.

Key Words: Cattle; Genetic Characterization; Genetic Diversity; Microsatellite; TURKHAYGEN-1

8. KAYNAKLAR

1. Agrafioti I, Stumpf MPH. SNPSTR: a database of compound microsatellite-SNP markers. *Nucleic Acids Research*. 35, Database issue D71–D75. 2007.
2. Ağaoğlu ÖK. Türkiye'deki bazı yerli keçi ırklarında mikrosatellit polimorfizminin belirlenmesi. Doktora Tezi. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Ankara, 2010.
3. Akçapınar H, Özbeyaz C. Hayvan yetiştiriciliği temel bilgileri. Ankara, 1999.
4. Aksu S, Aktopraklıgil D, Koban E, Aslan Ö, Denizci M, Balcıoğlu K, Özdemir Bahadır A, Erdağ B, Bağış H, Arat S. Gen kaynaklarının ve biyoçeşitliliğin korunması kapsamında yerli at ırklarının genetik karakterizasyonu. *Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi*. 2010;3(1):129–38.
5. Alpan O, Akcan A, Poyraz Ö. Temel genetik. Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Ders Teksiri No:16. Elazığ, 1995.
6. Alpan O. Hayvan ıslahında genetik esaslar, uygulamalar ve populasyon genetiği. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi. Ankara, 1992.
7. Alpan O. Sığır yetiştiriciliği ve besiciliği. 3. Basım, Ankara, 1993.
8. Altınalan A. Türkiye'deki yerli sığır ırklarının mikrosatellit DNA markırlarla genetik karakterizasyonu. Doktora Tezi. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana, 2005.
9. Angis.org.au. OMIA- Online Mendelian Inheritance in Animals. 2011. <http://omia.angis.org.au/> Erişim: 01.01.2011.
10. Aranguren-Méndez J, Jordana J, Gomez M. Genetic conservation of five endangered Spanish donkey breeds. *Journal of Animal Breeding and Genetics*. 2002;119(4):256–63.
11. Arat S. Klonlama ve kök hücre araştırmaları. I. Türk Veteriner Jinekoloji Kongresi, 4–6 Eylül 2003, syf: 9–14, Konya.
12. Ashley MV, Dow BD. The use of microsatellite analysis in population biology: Background, methods and potential applications. *EXS*. 1994;69:185–201.
13. Barendse W, Armitage SM, Kossarek LM, Shalom A, Kirkpatrick BW, Ryan AM, Clayton D, Li L, Neibergs HL, Zhang N, Grosse WM, Weiss J, Creighton P, McCarthy F, Ron M, Teale AJ, Fries R, McGraw RA, Moore SS, Georges M, Soller M, Womack JE, Hetzel DJS. A genetic linkage map of the bovine genome. *Nature Genetics*. 1994;6:227–35.
14. Barendse W, Armitage SM, Ryan AM, Moore SS, Clayton D, Georges M, Womack JE, Hetzel J. A genetic map of DNA loci on bovine chromosome 1. *Genomics*. 1993;18(3):602–8.
15. Barendse W, Vaiman D, Kemp SJ, Sugimoto Y, Armitage SM, Williams JL, Sun HS, Eggen A, Agaba M, Aleyasin SA, Band M, Bishop MD, Buitkamp J, Byrne K, Collins F, Cooper L, Coppettiers W, Denys B, Drinkwater RD, Easterday K, Elduque C, Ennis S, Erhardt G, Ferretti L, Flavin N, Gao Q, Georges M, Gurung R, Harlizijs B, Hawkins G, Hetzel J, Hirano T, Hulme D, Jorgensen C, Kessler M, Kirkpatrick BW, Konfortov B, Kostia S, Kuhn C, Lenstra JA, Leveziel H, Lewin HA, Leyhe B, Lil L, Martin Burriel I, McGraw RA, Miller JR, Moody DE, Moore SS, Nakane S, Nijman IJ, Olsaker I, Pomp D, Rando A, Ron M, Shalom A, Teale AJ, Thieven U, Urquhart BGD, Vage D-I, Van de Weghe A, Varvio S, Velmala R, Vilki J, Weikard R, Woodside C, Womack JE, Zanotti M, Zaragoza P. A medium-density genetic linkage map of the bovine genome. *Mammalian Genome*. 1997;8(1):21–8.
16. Barker JSF. Conservation of livestock breed diversity. *Animal Genetic Resources Information*. 1999;25:33–43.
17. Başaran A. Tıbbi biyoloji ders kitabı. Güneş & Nobel Tıp Kitapevleri. 7. Baskı. Bursa. 2004.
18. Bateson W. *Mendel's principles of heredity*, with a translation of Mendel's original papers on hybridisation. Cambridge University Press Warehouse, WC. 1902.
19. Baumung R, Simianer H, Hoffmann I. Genetic diversity studies in farm animals – a survey. *Journal of Animal Breeding and Genetics*. 2004;121:361–73.
20. Behl R, Kaul R, Sheoran N, Behl J, Tania MS, Vijn RK. Genetic identity of two Indian pig types using microsatellite markers. *Animal Genetics*. 2002;33(2):158–9.
21. Behl R, Sheoran N, Behl J, Vijn RK. Genetic analysis of Ankamali pigs of India using microsatellite markers and their comparison with other domesticated Indian pig types. *Journal of Animal Breeding and Genetics*. 2006;123(2):131–5.
22. Beja-Pereira A, Alexandrino P, Bessa I, Carretero Y, Dunner S, Ferrand N, Jordana J, Laloe D, Moazami-Goudarzi K, Sanchez A, Cañon J. Genetic characterization of Southwestern European bovine breeds: A historical and biogeographical reassessment with a set of 16 microsatellites. *Journal of Heredity*. 2003;94(3):243–50.
23. Belkhir K, Borsa P, Chikhi L, Raufaste N, Bonhomme F. GENETIX 4.05, logiciel sous Windows TM pour la génétique des populations. Laboratoire Génome, Populations, Interactions, CNRS UMR 5000, Université de Montpellier II, Montpellier (France). 1996–2004 <http://www.genetix.univ-montp2.fr/genetix/genetix.htm>.

24. Bennett P. Demystified... Microsatellites. *Journal of Clinical Pathology: Molecular Pathology*. 2000;53:177–183.
25. Bennewitz J, Kantanen J, Tapio I, Li MH, Kalm E, Vilkki J, Ammosov I, Ivanova Z, Kiselyova T, Popov R, Meuwissen THE. Estimation of breed contributions to present and future genetic diversity of 44 North Eurasian cattle breeds using core set diversity measures. *Genetics Selection Evolution*. 2006;38:201–20.
26. Bishop MD, Kappes SM, Keele JW, Stone RT, Sunden SLF, Hawkins GA, Toldo SS, Fries R, Grosz MD, Yoo J, Beattie CW. A genetic linkage map for cattle. *Genetics*. 1994;136:619–39.
27. Bjørnstad G, Røed KH. Evaluation of factors affecting individual assignment precision using microsatellite data from horse breeds and simulated breed crosses. *Animal Genetics*. 2002;33:264–70.
28. Botstein D, White RL, Skolnick M, Davis RW. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *American Journal of Human Genetics*. 1980;32:314–31.
29. Bowcock AM, Ruiz-Linares A, Tomfohrde J, Minch E, Kidd JR, Cavalli-Sforza LL. High resolution of human evolutionary trees with polymorphic microsatellites. *Nature*. 1994;368(6470):455–7.
30. Boyko AR, Boyko RH, Boyko CM, Parker HG, Castelhamo M, Corey L, Degenhardt JD, Auton A, Hedimbi M, Kityo R, Ostrander EA, Schoenebeck J, Todhunter RJ, Jones P, Bustamante CD. Complex population structure in African village dogs and its implications for inferring dog domestication history. *The Proceedings of the National Academy of Sciences (USA)*. 2009;106(33):13903–8.
31. Bradley DG, MacHugh DE, Cunningham P, Loftus RT. Mitochondrial diversity and the origins of African and European cattle. *The Proceedings of the National Academy of Sciences (USA)*. 1996;93(10):5131–5.
32. Bradshaw CJA, Isagi Y, Kaneko S, Brook BW, Bowman DMJS, Frankham R. Low genetic diversity in the bottlenecked population of endangered non-native Banteng in Northern Australia. *Molecular Ecology*. 2007;16:2998–3008.
33. Bray TC, Chikhi L, Sheppy AJ, Bruford MW. The population genetic effects of ancestry and admixture in a subdivided cattle breed. *Animal Genetics*. 2009;40:393–400.
34. Brenneman RA, Chase Jr CC, Olson TA, Riley DG, Coleman SW. Genetic diversity among Angus, American Brahman, Senepol and Romosinuano cattle breeds. *Animal Genetics*. 2007;38:50–3.
35. Bruford MW, Bradley DG, Luikart G. DNA markers reveal the complexity of livestock domestication. *Nature Reviews Genetics*. 2003;4(11):900–10.
36. Bruford MW, Towsend SJ. Case studies in the genetics of animal domestication: sheep In: Zeder M, Decker-Walters D, Bradley D, Smith BD, Eds: Documenting Domestication: New genetics and archaeological paradigms. California University Press. 2004.
37. Bulut Z, Kurar E, Özşensoy Y, Altunok V, Nizamlioğlu M. Genetic diversity among goat populations in Turkey. XXXI. Conference of the International Society for Animal Genetics. 20–24 July 2008, Netherlands.
38. Bulut Z. Türkiye’deki bazı koyun ırklarının genetik yapılarının mikrosatellitlerle incelenmesi. Doktora Tezi. Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Konya, 2004.
39. Cai X, Chen H, Wang S, Xue K, Lei C. Polymorphisms of two Y chromosome microsatellites in Chinese cattle. *Genetics Selection Evolution*. 2006;38:525–34.
40. Cañón J, Alexandrino P, Bessa I, Carleos C, Carretero Y, Dunner S, Ferran N, Garcia D, Jordana J, Laloë D, Pereira A, Sanchez A, Moazami-Goudarzi K. Genetic diversity measures of local European beef cattle breeds for conservation purposes. *Genetics Selection Evolution*. 2001;33(3):311–32.
41. Cañón J, Tupac-Yupanqui I, García-Atance MA, Cortés O, García D, Fernández J, Dunner S. Genetic variation within the Lidia bovine breed. *Animal Genetics*. 2008;39(4):439–45.
42. Casellas J, Jiménez N, Fina M, Tarrés J, Sánchez A, Piedrafita J. Genetic diversity measures of the bovine Alberes breed using microsatellites: variability among herds and types of coat colour. *Journal of Animal Breeding and Genetics*. 2004;121:101–10.
43. Ceriotti G, Caroli A, Rizzi R, Crimella C. Genetic relationships among taurine (*Bos taurus*) and zebu (*Bos indicus*) populations as revealed by blood groups and blood proteins. *Journal of Animal Breeding and Genetics*. 2003;120:57–67.
44. Chakraborty R, Deka R, Jin L, Ferrell RE. Allele sharing at six VNTR loci and genetic distances among three ethnically defined human populations. *American Journal of Human Biology*. 1992;4:387–97.

45. Chikhi L, Goossens B, Treanor A, Bruford MW. Population genetic structure of and inbreeding in an insular cattle breed, the Jersey, and its implications for genetic resource management. *Heredity*. 2004;92(5):396–401.
46. Ciampolini R, Cetica V, Ciani E, Mazzanti E, Fosella X, Marroni F, Biagetti M, Sebastiani C, Papa P, Filippini G, Cianci D, Presciuttini S. Statistical analysis of individual assignment tests among four cattle breeds using fifteen STR loci. *Journal of Animal Science*. 2006;84(1):11–9.
47. Ciampolini R, Moazami-Goudarzi K, Vaiman D, Dillmann C, Mazzanti E, Foulley JL, Leveziel H, Cianci D. Individual multilocus genotypes using microsatellite polymorphisms to permit the analysis of the genetic variability within and between Italian beef cattle breeds. *Journal of Animal Science*. 1995;73(11):3259–68.
48. Cornuet J-M, Luikart G. Description and power analysis of two tests for detecting recent population bottlenecks from allele frequency data. *Genetics*. 1996;144:2001–14.
49. Cornuet J-M, Piry S, Luikart G, Estoup A, Solignac M. New methods employing multilocus genotypes to select or exclude populations as origins of individuals. *Genetics*. 1999;153:1989–2000.
50. Cosse M, González S, Maldonado JE. Cross-amplification tests of ungulate primers in the endangered Neotropical pampas deer (*Ozotoceros bezoarticus*). *Genetics and Molecular Research*. 2007;6(4):1118–22.
51. Csiro.au. The bovine genome Project. 2006, <http://www.csiro.au/science/ps1ng.html>. Erişim: 01.12.2010.
52. Cymbron T, Freeman AR, Isabel Malheiro M, Vigne JD, Bradley DG. Microsatellite diversity suggests different histories for Mediterranean and Northern European cattle populations. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. 2005;272(1574):1837–43.
53. Dadi H, Tibbo M, Takahashi Y, Nomura K, Hanada H, Amano T. Microsatellite analysis reveals high genetic diversity but low genetic structure in Ethiopian indigenous cattle populations. *Animal Genetics*. 2008;39(4):425–31.
54. Dalvit C, De Marchi M, Dal Zotto R, Zanetti E, Meuwissen T, Cassandro M. Genetic characterization of the Burlina cattle breed using microsatellites markers. *Journal of Animal Breeding and Genetics*. 2008;125(2):137–44.
55. Davies N, Villablanca FX, Roderick GK. Determining the source of individuals: Multilocus genotyping in nonequilibrium population genetics. *Tree*. 1999;14(1):17–21.
56. Davis S, Guerra T, Robles L, Guo W, Davis S, Gregg K. Cattle breed identification with microsatellite markers. *Plant & Animal Genomes XIII Conference*. 15–19 January 2005. San Diego, California.
57. Decorte R. Genetic identification in the 21st century—current status and future developments. *Forensic Science International*. 2010;201:160–4.
58. Deka R, Jin L, Shriver MD, Yu LM, DeCruo S, Hundrieser J, Bunker CH, Ferrell RE, Chakraborty R. Population genetics of dinucleotide (dC-dA)_n(dG-dT)_n polymorphisms in world populations. *The American Journal of Human Genetics*. 1995;56(2):461–74.
59. Del Bo L, Polli M, Longeri M, Ceriotti G, Looft C, Barre-Dirie A, Dolf G, Zanotti M. Genetic diversity among some cattle breeds in the Alpine area. *Journal of Animal Breeding and Genetics*. 2001;118:317–25.
60. Don RH, Cox PT, Wainwright BJ, Baker K, Mattick JS. ‘Touchdown’ PCR to circumvent spurious priming during gene amplification. *Nucleic Acids Research*. 1991;19(14):4008.
61. Dytham C. Choosing and using statistics: A biologist’s guide. Blackwell Publishing Company. (2nd Ed.), 2003.
62. Eaap.org. European Federation of Animal Science (EAAP). 2010. <http://www.eaap.org/>. Erişim 15.08.2010.
63. Edwards CJ, Dolf G, Looft C, Loftus RT, Bradley DG. Relationships between the endangered Pustertaler–Sprinzen and three related European cattle breeds as analysed with 20 microsatellite loci. *Animal Genetics*. 2000a;31:329–32.
64. Edwards CJ, Gaillard C, Bradley DG, MacHugh DE. Y-specific microsatellite polymorphisms in a range of bovid species. *Animal Genetics*. 2000b;31:127–30.
65. Egito AA, Paiva SR, Albuquerque Mdo SM, Mariante AS, Almeida LD, Castro SR, Grattapaglia D. Microsatellite based genetic diversity and relationships among ten Creole and commercial cattle breeds raised in Brazil. *BMC Genetics*. 2007;8:83. <http://www.biomedcentral.com/1471-2156/8/83>.
66. Ellegren H, Moore S, Robinson N, Byrne K, Ward W, Sheldon BC. Microsatellite evolution—a reciprocal study of repeat lengths at homologous loci in cattle and sheep. *Molecular Biology and Evolution*. 1997;14(8):854–60.

67. Ensembl.org. ENSEMBL - Browse a Genome. 2010. http://www.ensembl.org/Bos_taurus/Info/Index. Erişim 01.12.2010.
68. Erdoğan M, Tepeli C, Dosay Akbulut M, Uğuz C, Brenig B, Özbeyaz C. Türk yerli köpek ırkları arasındaki genetik farklılığın belirlenmesi. II. Ulusal Veteriner Zootečni Kongresi. 3-4 Temmuz 2008, Erzurum.
69. Eroğlu T. Türkiye'deki bazı kedi ırklarının genetik yapılarının mikrosatellitlerle incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Konya, 2007.
70. Ertuğrul M, Akman N, Dellal G, Goncagül T. Hayvan gen kaynaklarının korunması ve Türkiye hayvan gen kaynakları. Türkiye Ziraat Mühendisliği V. Teknik Kongresi. 17-21 Ocak 2000, syf: 285-300, Ankara.
71. Ertuğrul O. Türkiye sığır ırklarında kan grubu polimorfizmi. Doktora Tezi. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Ankara, 1990.
72. European Cattle Genetic Diversity Consortium. Marker-assisted conservation of European cattle breeds: an evaluation. *Animal Genetics*. 2006;37:475-81.
73. Evanno G, Regnaut S, Goudet J. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: A simulation study. *Molecular Ecology*. 2005;14:2611-20.
74. Evrim M, Güneş H. Sığır yetiştiriciliği (Özel Zootečni) ders notları. İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayını. İstanbul, 1996.
75. Excoffier L, Lischer HEL. Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*. 2010;10:564-67.
76. Excoffier L, Smouse PE, Quattro JM. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: Application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics*. 1992;131:479-91.
77. Fao.org. Breeds reported by Turkey. 2010 (DAD-IS). <http://dad.fao.org/>. Erişim 02.08.2010.
78. Flamand JRB, Vankan D, Gairhe KP, Duong H, Barker JSF. Genetic identification of wild Asian water Buffalo in Nepal. *Animal Conservation*. 2003;6:265-70.
79. Freeman AR, Bradley DG, Nagda S, Gibson JP, Hanotte O. Combination of multiple microsatellite data sets to investigate genetic diversity and admixture of domestic cattle. *Animal Genetics*. 2005;37:1-9.
80. Freeman AR, Meghen CM, MacHugh DE, Loftus RT, Achukwi MD, Bado A, Sauveroché B, Bradley DG. Admixture and diversity in West African cattle populations. *Molecular Ecology*. 2004;13(11):3477-87.
81. Fries R, Eggen A, Womack JE. The bovine genome map. *Mammalian Genome*. 1993;4(8):405-28.
82. Gao Q, Womack JE. A genetic map of bovine chromosome 7 with an interspecific hybrid backcross panel. *Mammalian Genome*. 1997;8(4):258-61.
83. Gautier M, Faraut T, Moazami-Goudarzi K, Navratil V, Foglio M, Grohs C, Boland A, Garnier JG, Boichard D, Lathrop GM, Gut IG, Eggen A. Genetic and haplotypic structure in 14 European and African cattle breeds. *Genetics*. 2007;177:1059-70.
84. Ginja C, Penedo MC, Sobral MF, Matos J, Borges C, Neves D, Rangel-Figueiredo T, Cravador A. Molecular genetic analysis of a cattle population to reconstitute the extinct Algarvia breed. *Genetics Selection Evolution*. 2010;42:18. <http://www.gsejournal.org/content/42/1/18>.
85. Giovambattista G, Ripoli MV, Peral-Garcia P, Bouzat JL. Indigenous domestic breeds as reservoirs of genetic diversity: The Argentinean Creole cattle. *Animal Genetics*. 2001;32:240-7.
86. Goudet J. FSTAT (Version 1.2): A computer program to calculate F-Statistics. *Journal of Heredity*. 1995;86(6):485-486.
87. Gürler Ş, Bozkaya F, Kankılıç T, Özü D, Kence M. Mikrosatelit analizi ile ceylanlarda (*Gazella subgutturosa*) genetik çeşitlilik. III. Ulusal Veteriner Zootečni Kongresi. 15-17 Temmuz 2010, Afyonkarahisar.
88. Hansen C, Shrestha JNB, Parker RJ, Crow GH, McAlpine PJ, Derr JN. Genetic diversity among Canadianne, Brown Swiss, Holstein, and Jersey cattle of Canada based on 15 bovine microsatellite markers. *Genome*. 2002;45:897-904.
89. Hanslik S, Harr B, Brem G, Schlötterer C. Microsatellite analysis reveals substantial genetic differentiation between contemporary New World and Old World Holstein Friesian populations. *Animal Genetics*. 2000;31:31-8.
90. Hiendleder S, Kaupe B, Wassmuth R, Janke A. Molecular analysis of wild and domestic sheep questions current nomenclature and provides evidence for domestication from two different

- subspecies. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. 2002;269(1494):893–904.
91. Hoffmann I, Marsan PA, Barker JSF, Cothran EG, Hanotte O, Lenstra JA, Milan D, Weigend S, Simianer H. New MoDAD marker sets to be used in diversity studies for the major farm animal species: Recommendations of a joint ISAG/FAO working group. 29th ISAG (International Society of Animal Genetics) Congress. 11–16 September 2004, Tokyo.
 92. Honda T, Fujii T, Nomura T, Mukai F. Evaluation of genetic diversity in Japanese Brown cattle population by pedigree analysis. *Journal of Animal Breeding and Genetics*. 2006;123:172–79.
 93. Honda T, Nomura T, Yamaguchi Y, Mukai F. Monitoring of genetic diversity in the Japanese Black cattle population by the use of pedigree information. *Journal of Animal Breeding and Genetics*. 2004;121:242–52.
 94. Ibeagha-Awemu EM, Erhardt G. Genetic structure and differentiation of 12 African *Bos indicus* and *Bos taurus* cattle breeds, inferred from protein and microsatellite polymorphisms. *Journal of Animal Breeding and Genetics*. 2005;122(1):12–20.
 95. Ibeagha-Awemu EM, Jann OC, Weimann C, Erhardt G. Genetic diversity, introgression and relationships among West/Central African cattle breeds. *Genetics Selection Evolution*. 2004;36(6):673–90.
 96. Institut National de Recherche Agronomique. Welcome to Bovmap Database. 2010. <http://dga.jouy.inra.fr/cgi-bin/lgbc/main.pl?BASE=>. Erişim: 01.12.2010.
 97. Jordana J, Alexandrino P, Beja-Pereira A, Bessa I, Cañon J, Carretero Y, Dunner S, Laloë D, Moazami-Goudarzi K, Sanchez A, Ferrand N. Genetic structure of eighteen local South European beef cattle breeds by comparative F-statistics analysis. *Journal of Animal Breeding and Genetics*. 2003;120:73–87.
 98. Kang BT, Kim KS, Min MS, Chae YJ, Kang JW, Yoon J, Choi J, Seong JK, Park HC, An J, Lee MH, Park HM, Lee H. Microsatellite loci analysis for the genetic variability and the parentage test of five dog breeds in South Korea. *Genes & Genetic Systems*. 2009;84(3):245–51.
 99. Kantanen J, Edwards CJ, Bradley DG, Viinalass H, Thessler S, Ivanova Z, Kiselyova T, Cinkulov M, Popov R, Stojanović S, Ammosov I, Vilkki J. Maternal and paternal genealogy of Eurasian taurine cattle (*Bos taurus*). *Heredity*. 2009;103(5):404–15.
 100. Kantanen J, Olsaker I, Adalsteinsson S, Sandberg K, Eythorsdottir E, Pirhonen K, Holm LE. Temporal changes in genetic variation of north European cattle breeds. *Animal Genetics*. 1999;30(1):16–27.
 101. Kantanen J, Olsaker I, Holm LE, Lien S, Vilkki J, Brusgaard K, Eythorsdottir E, Danell B, Adalsteinsson S. Genetic diversity and population structure of 20 North European cattle breeds. *Journal of Heredity*. 2000;91(6):446–57.
 102. Kappes SM, Keele JW, Stone RT, McGraw RA, Sonstegard TS, Smith TP, Lopez-Corrales NL, Beattie CW. A second-generation linkage map of the bovine genome. *Genome Research*. 1997;7(3):235–49.
 103. Kim KI, Lee JH, Lee SS, Yang YH. Phylogenetic relationships of Northeast Asian cattle to other cattle populations determined using mitochondrial DNA D-loop sequence polymorphism. *Biochemical Genetics*. 2003;41(3–4):91–8.
 104. Kim KS, Yeo JS, Choi CB. Genetic diversity of North-East Asian cattle based on microsatellite data. *Animal Genetics*. 2002;33:201–4.
 105. Klug WS, Cummings MR. Genetik kavramlar, Ed Cihan Öner, Palme Yayıncılık. 6. Baskı, Ankara, 2000.
 106. Koban E, Berkman C, Özkan E, Dinç H, Togan İ. TÜRKHAYGEN–1 projesi popülasyon genomu–1 çalışmayı. 8–10 Temmuz 2008, ODTÜ/Ankara.
 107. Koban E. Genetic identity of Anatolian Shepherd Dog (ASD) population using microsatellites. Yüksek Lisans Tezi (Master of Science). The Middle East Technical University, Ankara, 2001.
 108. Kul BÇ. Türkiye yerli keçi ırklarının mitokondrial DNA çeşitliliği ve filocoğrafyası. Doktora Tezi. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. 2010, Ankara.
 109. Kumlu S. Hayvan ıslahı. Türkiye Damızlık Sığır Yetiştiriciliği Merkez Birliği Yayınları, Ankara, 2003.
 110. Kurar E. Comparative physical and linkage mapping of bovine chromosome 24 with human chromosome 18. Doktora Tezi (Ph.D. Dissertation), University of Wisconsin-Madison, USA, 2001.
 111. Langella O. Populations 1.2.30 A population genetic software. CNRS UPR9034. 1999, http://www.bioinformatics.org/project/?group_id=84
 112. Lawson Handley L-J, Byrne K, Santucci F, Townsend S, Taylor M, Bruford MW, Hewitt GM. Genetic structure of European sheep breeds. *Heredity*. 2007;99:620–31.

113. Lebart L, Mirkin BG. Correspondence analysis and classification. Seventh International Conference on Multivariate Analysis. 21–24 Eylül 1992, Barcelona.
114. Li J, Wang G, Bai Z. Genetic variability in four wild and two farmed stocks of the Chinese freshwater pearl mussel (*Hyriopsis cumingii*) estimated by microsatellite DNA markers. *Aquaculture*. 2009;287:286–91.
115. Li MH, Adamowicz T, Switonski M, Ammosov I, Ivanova Z, Kiselyova T, Popov R, Kantanen J. Analysis of population differentiation in North Eurasian cattle (*Bos taurus*) using single nucleotide polymorphisms in three genes associated with production traits. *Animal Genetics*. 2006;37(4):390–2.
116. Li MH, Tapio I, Vilkki J, Ivanova Z, Kiselyova T, Marzanov N, Cinkulov M, Stojanović S, Ammosov I, Popov R, Kantanen J. The genetic structure of cattle populations (*Bos taurus*) in Northern Eurasia and the neighbouring Near Eastern regions: implications for breeding strategies and conservation. *Molecular Ecology*. 2007c;16:3839–53.
117. Li MH, Zerabruk M, Vangen O, Olsaker I, Kantanen J. Reduced genetic structure of north Ethiopian cattle revealed by Y-chromosome analysis. *Heredity*. 2007a;98:214–21.
118. Li RL, Zhang GX, Wang ZG, Wang H, Han X, Wang DL, Wang JH. Analysis of the genetic structure of 12 Chinese and foreign cattle breeds using DNA microsatellite markers. *Yi Chuan*. 2007b;29(12):1463–70.
119. Lirón JP, Peral-García P, Giovambattista G. Genetic characterization of Argentine and Bolivian Creole cattle breeds assessed through microsatellites. *Journal of Heredity*. 2006;97(4):331–9.
120. Liu BH. Statistical genomics: Linkage, mapping, and QTL analysis. CRC Press LLC, Boca Raton New York, 1998.
121. Loftus RT, Ertuğrul O, Harba MH, El-Barody AA, MacHugh DE, Park SDE, Bradley DG. A microsatellite survey of cattle from a centre of origin: The Near East. *Molecular Ecology*. 1999;8:2015–22.
122. Loftus RT, MacHugh DE, Bradley DG, Sharp PM, Cunningham P. Evidence for two independent domestications of cattle. *The Proceedings of the National Academy of Sciences (USA)*. 1994;91(7):2757–61.
123. Luikart G, Cornuet J-M. Empirical evaluation of a test for identifying recently bottlenecked populations from allele frequency data. *Conservation Biology*. 1998;12(1):228–37.
124. Luikart G, Gielly L, Excoffier L, Vigne JD, Bouvet J, Taberlet P. Multiple maternal origins and weak phylogeographic structure in domestic goats. *The Proceedings of the National Academy of Sciences (USA)*. 2001;98(10):5927–32.
125. Luís C, Juras R, Oom MM, Cothran EG. Genetic diversity and relationships of Portuguese and other horse breeds based on protein and microsatellite loci variation. *Animal Genetics*. 2007;38(1):20–7.
126. MacHugh DE, Loftus RT, Cunningham P, Bradley DG. Genetic structure of seven European cattle breeds assessed using 20 microsatellite markers. *Animal Genetics*. 1998;29(5):333–40.
127. MacHugh DE, Shriver MD, Loftus RT, Cunningham P, Bradley DG. Microsatellite DNA variation and the evolution, domestication and phylogeography of taurine and zebu cattle (*Bos taurus* and *Bos indicus*). *Genetics*. 1997;146(3):1071–86.
128. MacNeil MD, Cronin MA, Blackburn HD, Richards CM, Lockwood DR, Alexander LJ. Genetic relationships between feral cattle from Chirikof Island, Alaska and other breeds. *Animal Genetics*. 2007;38(3):193–7.
129. Mannen H, Kohno M, Nagata Y, Tsuji S, Bradley DG, Yeo JS, Nyamsamba D, Zagdsuren Y, Yokohama M, Nomura K, Amano T. Independent mitochondrial origin and historical genetic differentiation in North Eastern Asian cattle. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 2004;32(2):539–44.
130. Mantel N. The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Research*. 1967;27(2):209–20.
131. Mao Y, Chang H, Yang Z, Zhang L, Xu M, Chang G, Sun W, Song G, Ji D. The analysis of genetic diversity and differentiation of six Chinese cattle populations using microsatellite markers. *Journal of Genetics and Genomics*. 2008;35:25–32.
132. Martín-Burriel I, García-Muro E, Zaragoza P. Genetic diversity analysis of six Spanish native cattle breeds using microsatellites. *Animal Genetics*. 1999;30:177–82.
133. Martín-Burriel I, Rodellar C, Lenstra JA, Sanz A, Cons C, Osta R, Reta M, De Argüello S, Sanz A, Zaragoza P. Genetic diversity and relationships of endangered Spanish cattle breeds. *Journal of Heredity*. 2007;98(7):687–91.

134. Mateus JC, Eding H, Penedo MCT, Rangel-Figueiredo MT. Contributions of Portuguese cattle breeds to genetic diversity using marker-estimated kinships. *Animal Genetics*. 2004b;35:305–13.
135. Mateus JC, Penedo MCT, Alves VC, Ramos M, Rangel-Figueiredo T. Genetic diversity and differentiation in Portuguese cattle breeds using microsatellites. *Animal Genetics*. 2004a;35:106–13.
136. Maudet C, Luikart G, Taberlet P. Genetic diversity and assignment tests among seven French cattle breeds based on microsatellite DNA analysis. *Journal of Animal Science*. 2002b;80:942–50.
137. Maudet C, Miller C, Bassano B, Breitenmoser-Würsten C, Gauthier D, Obexer-Ruff G, Michallet J, Taberlet P, Luikart G. Microsatellite DNA and recent statistical methods in wildlife conservation management: Applications in Alpine ibex [*Capra ibex(ibex)*]. *Molecular Ecology*. 2002a;11(3):421–36.
138. McKay SD, Schnabel RD, Murdoch BM, Matukumalli LK, Aerts J, Coppieters W, Crews D, Dias Neto E, Gill CA, Gao C, Mannen H, Wang Z, Van Tassell CP, Williams JL, Taylor JF, Moore SS. An assessment of population structure in eight breeds of cattle using a whole genome SNP panel. *BMC Genetics*. 2008;9:37. <http://www.biomedcentral.com/1471-2156/9/37>.
139. Medugorac I, Medugorac A, Russ I, Veit-Kensch CE, Taberlet P, Luntz B, Mix HM, Förster M. Genetic diversity of European cattle breeds highlights the conservation value of traditional unselected breeds with high effective population size. *Molecular Ecology*. 2009;18(16):3394–410.
140. Metta M, Kanginakudru S, Gudiseva N, Nagaraju J. Genetic characterization of the Indian cattle breeds, Ongole and Deoni (*Bos indicus*), using microsatellite markers – a preliminary study. *BMC Genetics*. 2004;5(16): <http://www.biomedcentral.com/1471-2156/5/16>.
141. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Research*. 1988;16(3):1215.
142. Moazami-Goudarzi K, Laloë D, Furet JP, Grosclaude F. Analysis of genetic relationships between 10 cattle breeds with 17 microsatellites. *Animal Genetics*. 1997;28(5):338–45.
143. Mohamad K, Olsson M, van Tol HT, Mikko S, Vlamings BH, Andersson G, Rodríguez-Martínez H, Purwantara B, Paling RW, Colenbrander B, Lenstra JA. On the origin of Indonesian cattle. *PLoS One*. 2009;4(5):e5490. <http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0005490>.
144. Moioli B, Napolitano F, Catillo G. Genetic diversity between Piedmontese, Maremmana, and Podolica cattle breeds. *Journal of Heredity*. 2004;95(3):250–6.
145. Molaee V, Osfoori R, Eskandari Nasab MP, Qanbari S. Genetic relationships among six Iranian indigenous sheep populations based on microsatellite analysis. *Small Ruminant Research*. 2009; 84:121–24.
146. Mukesh M, Sodhi M, Bhatia S. Microsatellite-based diversity analysis and genetic relationships of three Indian sheep breeds. *Journal of Animal Breeding and Genetics*. 2006;123(4):258–64.
147. Nagylaki T. Fixation indices in subdivided populations. *Genetics*. 1998;148:1325–32.
148. Ncbi.nlm.nih.gov. dbEST: database of "Expressed Sequence Tags. 2010. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/dbEST/dbEST_summary.html. Erişim 01.12.2010.
149. Ndumu DB, Baumung R, Hanotte O, Wurzinger M, Okeyo MA, Jianlin H, Kibogo H, Sölkner J. Genetic and morphological characterisation of the Ankole Longhorn cattle in the African Great Lakes region. *Genetics Selection Evolution*. 2008;40(5):467–90.
150. Negrini R, Nijman IJ, Milanese E, Moazami-Goudarzi K, Williams JL, Erhardt G, Dunner S, Rodellar C, Valentini A, Bradley DG, Olsaker I, Kantanen J, Ajmone-Marsan P, Lenstra JA, European Cattle Genetic Diversity Consortium. Differentiation of European cattle by AFLP fingerprinting. *Animal Genetics*. 2007;38(1):60–6.
151. Nei M, Kumar S. *Molecular evolution and phylogenetics*. Oxford University Press. USA, 2000.
152. Nei M, Roychoudhury K. Sampling variances of heterozygosity and genetic distance. *Genetics*. 1974;76:379–90.
153. Nei M, Tajima F, Tateno Y. Accuracy of estimated phylogenetic trees from molecular data II. Gene frequency data. *Journal of Molecular Evolution*. 1983;19:153–70.
154. Nei M. Genetic distance between populations. *The American Naturalist*. 1972;106(949):283–92.
155. Nei M. *Molecular evolutionary genetics*. Columbia University Pres. New York, 1987.
156. Nguyen TT, Genini S, Bui LC, Voegeli P, Stranzinger G, Renard JP, Maillard JC, Nguyen BX. Genomic conservation of cattle microsatellite loci in wild gaur (*Bos gaurus*) and current

- genetic status of this species in Vietnam. BMC Genetics. 2007;8:77
<http://www.biomedcentral.com/1471-2156/8/77>.
157. Nguyen TT, Genini S, Ménétrey F, Malek M, Vögeli P, Goe MR, Stranzinger G. Application of bovine microsatellite markers for genetic diversity analysis of Swiss Yak (*Poephagus grunniens*). Animal Genetics. 2005a;36:484–89.
 158. Nguyen TT, Ménétrey F, Genini S, Nguyen VL, Vögeli P, Nguyen BX, Stranzinger G. Application of bovine microsatellite markers on Saola (*Pseudoryx nghetinhensis*). Journal of Animal Breeding and Genetics. 2005b;122(3):195–8.
 159. Novoa MA, Usaquén W. Population genetic analysis of the Brahman cattle (*Bos indicus*) in Colombia with microsatellite markers. Journal of Animal Breeding and Genetics. 2010;127:161–8.
 160. Orita M, Iwahana H, Kanazawa H, Hayashi K, Sekiya T. Detection of polymorphisms of human DNA by gel electrophoresis as single-strand conformation polymorphisms. Proceedings of the National Academy of Sciences USA. 1989;86:2766–70.
 161. Orti G, Pearse DE, Avise JC. Phylogenetic assessment of length variation at a microsatellite locus. Proceedings of the National Academy of Sciences USA. 1997;94(20):10745–49.
 162. Özbeyaz C. Türkiye yerli sığır ırklarında hemoglobin polimorfizmi. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi. 1991;38(1–2):53–9.
 163. Özdemir M. Türkiye yerli sığır ırklarında mitokondriyal DNA polimorfik yapılarının PCR-RFLP ve DNA dizi analizi yöntemleri ile incelenmesi. Doktora Tezi. Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum, 2006.
 164. Özkan E. Türkiye’de yetiştirilen yerli ve kültür sığır ırklarının genetik yapılarının mikrosatelitler ile incelenmesi. Doktora Tezi. Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ, 2005.
 165. Özşensoy Y, Kurar E, Doğan M, Bulut Z, Altunok V, Işık A, Çamlıdağ A, Nizamlioğlu M. Türkiye’de bulunan bazı yerli sığır ırklarının STR markörler ile genetik karakterizasyonu. Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi. 2010;3(1):163–71.
 166. Özşensoy Y. Genetik bağlantı analizi ve uygulama alanları. Doktora Semineri. Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2007, Konya.
 167. Özşensoy Y. Nükleer transfer ve uygulama alanları. Doktora Semineri. Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2006, Konya.
 168. Paetkau D, Calvert W, Stirling I, Strobeck C. Microsatellite analysis of population structure in Canadian polar bears. Molecular Ecology. 1995;4(3):347–54.
 169. Paetkau D, Slade R, Burden M, Estoup A. Genetic assignment methods for the direct, real-time estimation of migration rate: a simulation-based exploration of accuracy and power. Molecular Ecology. 2004;13(1):55–65.
 170. Page RDM. TREEVIEW: An application to display phylogenetic trees on personal computers. Computer applications in the biosciences. 1996;12:357–58.
 171. Pandey AK, Sharma R, Singh Y, Prakash BB, Ahlawat SP. Genetic diversity studies of Kherigarh cattle based on microsatellite markers. Journal of Genetics. 2006;85(2):117–22.
 172. Passarge E. Renkli genetik atlası. Çevirenler: Lüleci G, Sakızlı M, Alper Ö. Nobel Tıp Kitapevleri. İstanbul, 2000.
 173. Peakall R, Smouse PE. GENALEX 6: Genetic analysis in excel. Population genetic software for teaching and research. Molecular Ecology Notes. 2006;6:288–95.
 174. Peelman LJ, Mortiaux F, Van Zeveren A, Dansercoer A, Mommens G, Coopman F, Bouquet Y, Burny A, Renaville R, Portetelle D. Evaluation of the genetic variability of 23 bovine microsatellite markers in four Belgian cattle breeds. Animal Genetics. 1998;29(3):161–7.
 175. Piry S, Luikart G, Cornuet JM. BOTTLENECK: A computer program for detecting recent reductions in the effective population size using allele frequency data. The Journal of Heredity. 1999;90(4):502–3.
 176. Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P. Inference of population structure using multilocus genotype data. Genetics. 2000;155:945–59.
 177. Pritchard JK, Wen X, Falush D. Documentation for structure software: Version 2.2. <http://dendrome.ucdavis.edu/resources/tooldocs/structure/readme.pdf>, 2007. Erişim: 10.12.2010
 178. Promega. PowerStatsV12.xls software. Free program distributed by Promega Corporation – USA, 2000. www.promega.com/geneticidtools/powerstats/PowerStatsV12.xls Erişim: 30.12.2010.
 179. Radko A, Zyga A, Zabek T, Słota E. Genetic variability among Polish Red, Hereford and Holstein-Friesian cattle raised in Poland based on analysis of microsatellite DNA sequences. Journal of Applied Genetics. 2005;46(1):89–91.

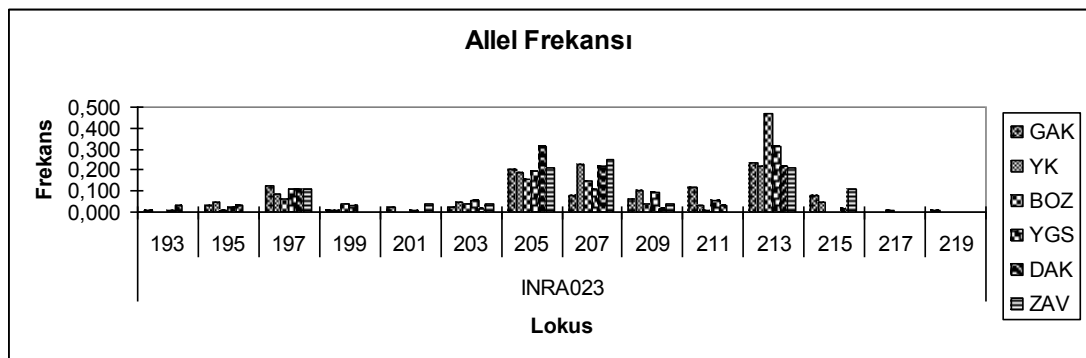
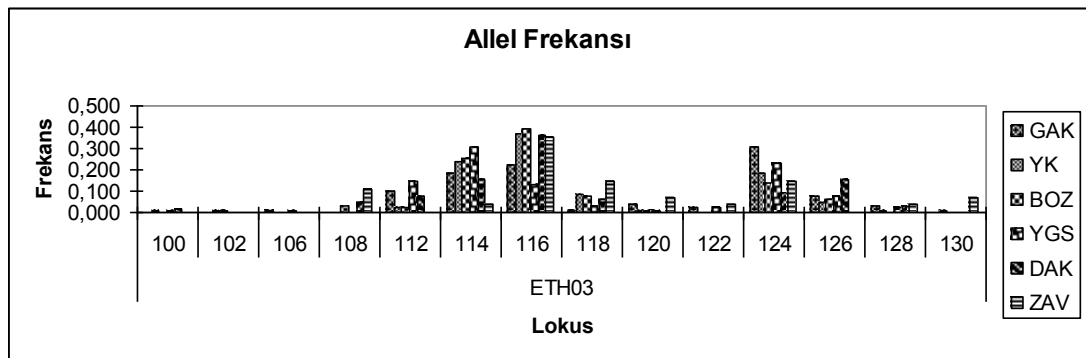
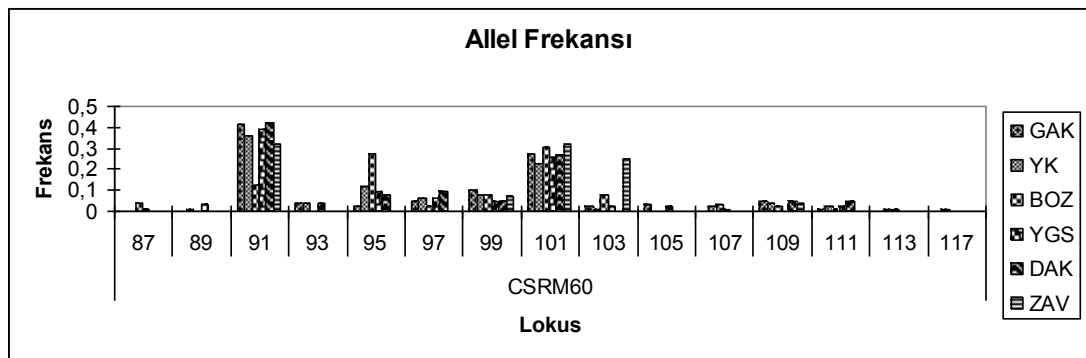
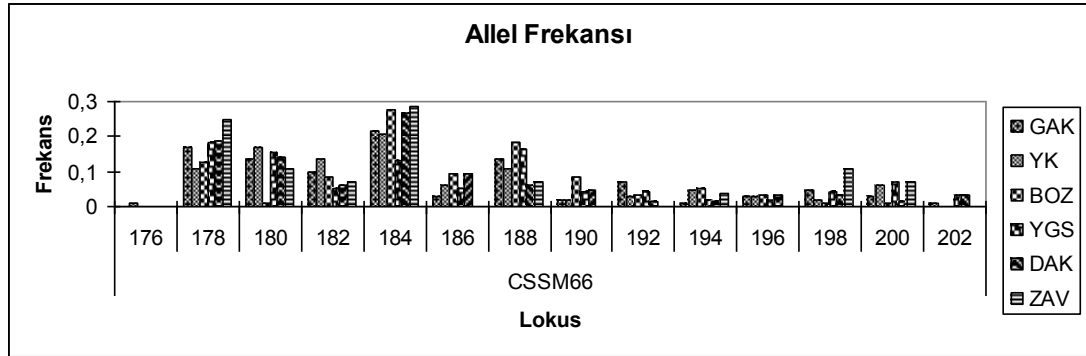
180. Rannala B, Mountain JL. Detecting immigration by using multilocus genotypes. The Proceedings of the National Academy of Sciences (USA). 1997;94:9197–9201.
181. Raymond M, Rousset F. An exact test for population differentiation. *Evolution*. 1995;49(6):1280–83.
182. Reist-Marti SB, Abdulai A, Simianer H. Conservation programmes for African cattle: design, cost and benefits. *Journal of Animal Breeding and Genetics*. 2005;122(2):95–109.
183. Reist-Marti SB, Abdulai A, Simianer H. Optimum allocation of conservation funds and choice of conservation programs for a set of African cattle breeds. *Genetics Selection Evolution*. 2006;38(1):99–126.
184. Rendo F, Iriondo M, Jugo BM, Aguirre A, Mazón LI, Vicario A, Gómez M, Estonba A. Analysis of the genetic structure of endangered bovine breeds from the Western Pyrenees using DNA microsatellite markers. *Biochemical Genetics*. 2004;42(3–4):99–108.
185. Resmi Gazete. 25145 sayılı “Hayvan gen kaynaklarının korunması hakkında yönetmelik”. 21.06.2003.
186. Resmi Gazete. 25668 sayılı Yerli hayvan ırk ve hatlarının tescili hakkında tebliğ. Tebliğ No: 2004/39, 12.12.2004.
187. Riggs PK, Owens KE, Rexroad CE III, Amaral MEJ and Womack JE. Development and initial characterization of a *Bos taurus* x *B. gaurus* interspecific hybrid backcross panel. *Journal of Heredity*. 1997;88(5):373–79.
188. Ritz LR, Glowatzki-Mullis ML, MacHugh DE, Gaillard C. Phylogenetic analysis of the tribe bovini using microsatellites. *Animal Genetics*. 2000;31(3):178–85.
189. Rohlf FJ. NTSYSpc numerical taxonomy and multivariate analysis system version2.1 user guide. 2000. http://www.cipotato.org/csd/Materials/SSR_2004/software/htmls_page/ntsysguide21.pdf
190. Rosenberg NA, Burke T, Elo K, Feldman MW, Freidlin PJ, Groenen MAM, Hillel J, Mäki-Tanila A, Tixier-Boichard T, Vignal A, Wimmers K, Weigend S. Empirical evaluation of genetic clustering methods using multilocus genotypes from 20 chicken breeds. *Genetics*. 2001;159:699–713.
191. Roth T, Pfeiffer I, Weising K, Brenig B. Application of bovine microsatellite markers for genetic diversity analysis of European bison (*Bison bonasus*). *Journal of Animal Breeding and Genetics*. 2006;123(6):406–9.
192. Rousset F, Raymond M. Statistical analyses of population genetic data: New tools, old concepts. *Tree*. 1997;12(8):313–17.
193. Ruane J. A framework for prioritizing domestic animal breeds for conservation purposes at the national level: A Norwegian case study. *Conservation Biology*. 2000;14(5):1385–93.
194. Saitou N, Nei M. The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*. 1987;4(4):406–25.
195. Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T. *Molecular cloning: A laboratory manual*, 2nd edition. Cold Spring Harbor Laboratory Pres. Cold Spring Harbor. 1989.
196. Schmid M, Saitbekova N, Gaillard C, Dolf G. Genetic diversity in Swiss cattle breeds. *Journal of Animal Breeding and Genetics*. 1999;116:1–8.
197. Setubal J, Meidanis J. *Introduction to computational molecular biology*. PWS publishing company. USA. 1997.
198. Sharma R, Pandey AK, Singh Y, Mishra BP, Singh PK, Singh G. Estimation of genetic diversity in Siri cattle from India. *Genetika*. 2008;44(11):1532–8.
199. Sodhi M, Mukesh M, Ahlawat SP, Sobti RC, Gahlot GC, Mehta SC, Prakash B, Mishra BP. Genetic diversity and structure of two prominent zebu cattle breeds adapted to the arid region of India inferred from microsatellite polymorphism. *Biochemical Genetics*. 2008;46(3–4):124–36.
200. Sollera BP, Paiva SR, Faria DA, Guimarães SEF, Castro STR, Egito AA, Albuquerque MSM, Piovezan U, Bertani GR, da S. Mariante A. Genetic diversity of Brazilian pig breeds evidenced by microsatellite markers. *Livestock Science*. 2009;123:8–15.
201. Soysal Mİ, Gürcan EK, Özkan E. Dünyada ve Türkiye’de çiftlik hayvanlarının genetik çeşitliliğinin korunması sorunu. In: Soysal Mİ, Editör. “Türkiye yerli hayvan genetik kaynaklarımız”, Tekirdağ, 2004, 101–112.
202. Soysal Mİ. Tarım ve genetik çeşitlilik. In: Soysal Mİ, Editör. “Türkiye yerli hayvan genetik kaynaklarımız”, Tekirdağ, 2004a, 113–123.
203. Soysal Mİ. Türkiye tarımının genel durumu. In: Soysal Mİ, Editör. “Türkiye yerli hayvan genetik kaynaklarımız”, Tekirdağ, 2004b, 23–47.
204. Sun W, Chen H, Lei C, Lei X, Zhang Y. Genetic variation in eight Chinese cattle breeds based on the analysis of microsatellite markers. *Genetics Selection Evolution*. 2008;40:681–92.

205. TAGEM. Türkiye evcil hayvan genetik kaynakları. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü. Ankara, 2009.
206. Takezaki N, Nei M. Empirical tests of the reliability of phylogenetic trees constructed with mikrosatellite DNA. *Genetics*. 2008;178:385–92.
207. Takezaki N, Nei M. Genetic distances and reconstruction of phylogenetic trees from mikrosatellite DNA. *Genetics*. 1996;144:389–99.
208. Tapio I, Värvi S, Bennewitz J, Maleviciute J, Finland E, Grislis Z, Meuwissen TH, Miceikiene I, Olsaker I, Viinalass H, Vilkkı J, Kantanen J. Prioritization for conservation of Northern European cattle breeds based on analysis of mikrosatellite data. *Conservation Biology*. 2006;20(6):1768–79.
209. Tarım.gov.tr. 1. Tarım Şurası Sonuç Raporu. 25–27 Kasım 1997, http://tarimsurasi.tarim.gov.tr/I_sura_sonuc_lari.htm, Ankara. Erişim tarihi: 01.01.2009
210. Tarım.gov.tr. II. Tarım Şurası Sonuç Raporu, 29–30 Kasım - 1 Aralık 2004, http://tarimsurasi.tarim.gov.tr/sura_sonuc_raporu.htm, Ankara. Erişim tarihi: 01.01.2009
211. Tatenı Y, Nei M, Tajima F. Accuracy of estimated phylogenetic trees from molecular data I. Distantly related species. *Journal of Molecular Evolution*. 1982;18:387–404.
212. Tatenı Y, Takezaki N, Nei M. Relative efficiencies of the Maximum-Likelihood, Neighbor-Joining, and Maximum-Parsimony methods when substitution rate varies with site. *Molecular Biology and Evolution*. 1994;11(2):261–77.
213. The Bovine HapMap Consortium. Genome-wide survey of SNP variation uncovers the genetic structure of cattle breeds. *Science*. 2009;324(5926):528–32.
214. Thompson JS, Thompson MW. *Genetics in medicine*. W.B. Saunders Company. Fourth Edition, USA, 1986.
215. Toro MA. Assessing genetic diversity between breeds for conservation. *Journal of Animal Breeding and Genetics*. 2006;123:289.
216. Tóth G, Gáspári Z, Jurka J. Mikrosatellites in different eukaryotic genomes: Survey and analysis. *Genome Research*. 2000;10(7):967–81.
217. Trinderup M, Jørgensen JN, Hansen M. Conservation considerations on Danish Shorthorn Cattle using pedigree analysis. *Animal Genetic Resources Information*. 1999;26:27–33.
218. Troy CS, MacHugh DE, Bailey JF, Magee DA, Loftus RT, Cunningham P, Chamberlain AT, Sykes BC, Bradley DG. Genetic evidence for Near-Eastern origins of European cattle. *Nature*. 2001;410(6832):1088–91.
219. Tuba.gov.tr. Türkiye Bilimler Akademisi (TÜBA) - Moleküler Yaşam, Bilim Ve Teknolojileri (MYBT) Öngörü Projesi, 2006, <http://www.tuba.gov.tr/index.php?id=118> Erişim: 17.08.2010.
220. Tubıtak.gov.tr. Bilim ve Teknoloji Yüksek Kurulu Onbirinci Toplantısı, Gelişmelere İlişkin Değerlendirmeler ve Kararlar. 10 Mart 2005, http://www.tubitak.gov.tr/tubitak_content_files/BTYPD/btyk/11/11btyk_karar.pdf Ankara. Erişim: 01.12.2010
221. Tubıtak.gov.tr. Biyoteknoloji ve Gen Teknolojileri Stratejisi Vizyon 2023 Projesi, Biyoteknoloji ve Gen Teknolojileri Strateji Grubu, Ağustos 2004, Ankara. <http://www.scribd.com/doc/8958114/Biyoteknoloji-ve-Gen-Teknolojileri-Stratejisi> Erişim: 01.01.2011
222. Turkhaygen.gov.tr. Türkiye yerli hayvan genetik kaynaklarından bazılarının in vitro korunması ve ön moleküler tanımlanması-I (TÜRKHAYGEN–1). 2007, <http://www.turkhaygen.gov.tr> Erişim: 03.08.2010.
223. TÜİK. Hayvansal Üretim 2007. TÜİK haber bülteni. Sayı:88;28.05.2008, <http://www.tuik.gov.tr/PreHaberBultenleri.do?id=1979> Erişim: 01.08.2010
224. TÜİK. Hayvansal Üretim 2008. TÜİK haber bülteni. Sayı:83;14.05.2009, <http://www.tuik.gov.tr/PreHaberBultenleri.do?id=4053> Erişim: 01.08.2010
225. TÜİK. Hayvansal Üretim 2009. TÜİK haber bülteni. Sayı:87;18.05.2010, <http://www.tuik.gov.tr/PreHaberBultenleri.do?id=6250> Erişim: 01.08.2010
226. Üstdal KM. Türkiye’deki bazı yerli sığır ırklarında hemoglobin, transferrin ve süt proteinlerinin biyokimyasal polimorfizmi üzerinde araştırmalar. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi. 1980;27(1–2):31–44.
227. Vallejo RL, Li YL, Rogers GW, Ashwell MS. Genetic diversity and background linkage disequilibrium in the North American Holstein cattle population. *Journal of Dairy Science*. 2003;86:4137–47.
228. Viagen.com. Viagen 2007 <http://www.viagen.com> Erişim: 01.03.2007.
229. Viagen.com. Viagen 2011 <http://www.viagen.com> Erişim: 01.01.2011.

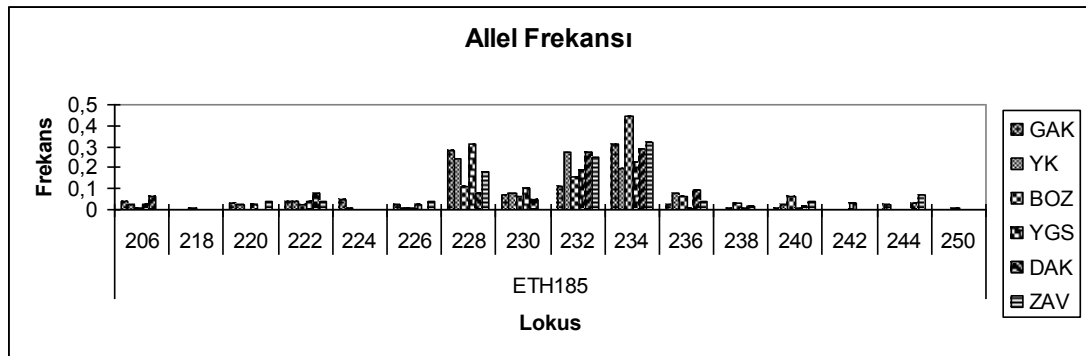
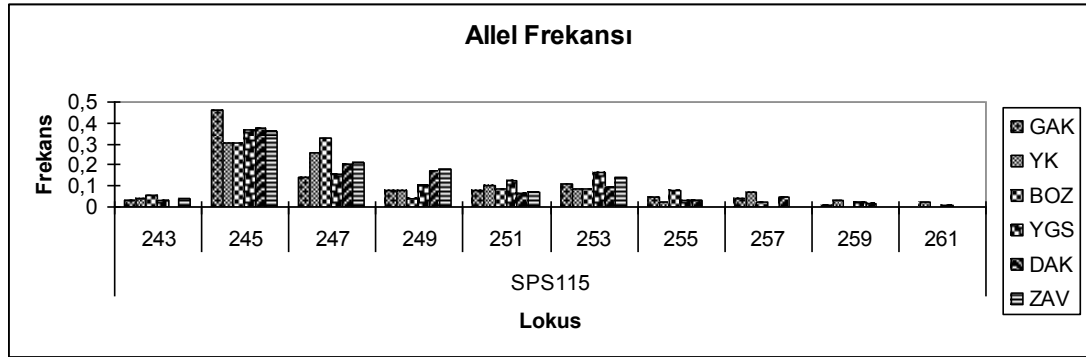
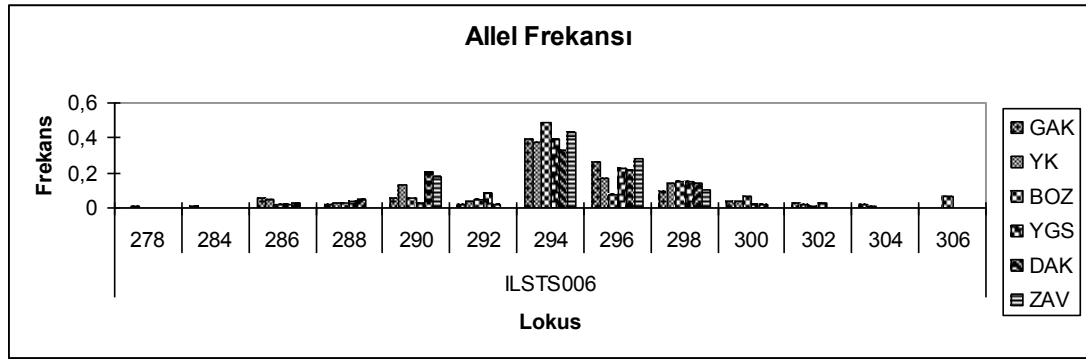
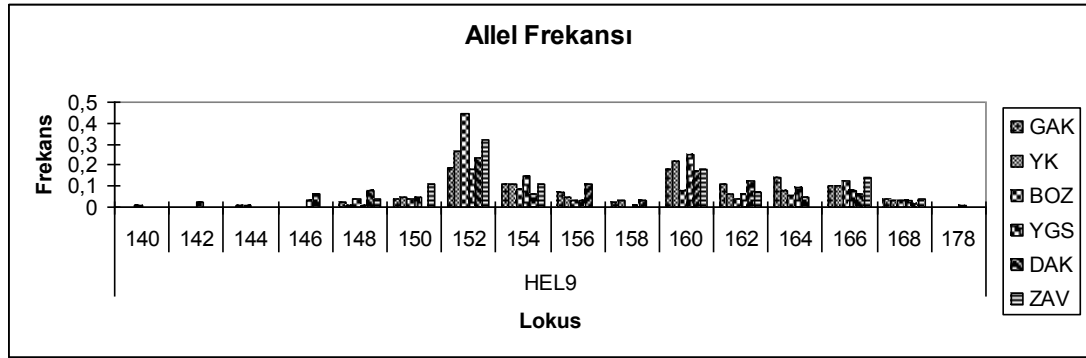
230. Vignal A, Milan D, Sancristobal M, Eggen A. A review on SNP and other types of molecular markers and their use in animal genetics. *Genetics Selection Evolution*. 2002;34:275–305.
231. Vijh RK, Tania MS, Mishra B, Kumar ST. Genetic diversity and differentiation of dromedarian camel of India. *Animal Biotechnology*. 2007;18(2):81–90.
232. Vos P, Hogers R, Bleeker M, Reijans M, van de Lee T, Hornes M, Frijters A, Pot J, Peleman J, Kuiper M, Zabeau M. AFLP: A new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Research*. 1995;23(21):4407–14.
233. Wang DG, Fan JB, Siao CJ, Berno A, Young P, Sapolsky R, Ghandour G, Perkins N, Winchester E, Spencer J, Kruglyak L, Stein L, Hsie L, Topaloglou T, Hubbell E, Robinson E, Mittmann M, Morris MS, Shen N, Kilburn D, Rioux J, Nusbaum C, Rozen S, Hudson TJ, Lipshutz R, Chee M, Lander ES. Large-scale identification, mapping, and genotyping of single-nucleotide polymorphisms in the human genome. *Science*. 1998;280(5366):1077–82.
234. Weber JL, May PE. Abundant class of human DNA polymorphisms which can be typed using the polymerase chain reaction. *American Journal of Human Genetics*. 1989;44:388–96.
235. Wiener P, Burton D, Williams JL. Breed relationships and definition in British cattle: A genetic analysis. *Heredity*. 2004;93(6):597–602.
236. Williams JGK, Kubelik AR, Livak KJ, Rafalski JA, Tingey SV. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Research*. 1990;18(22):6531–35.
237. Wright S. The interpretation of sample structure by F-statistics with special regard to systems of mating. *Evolution*. 1965;19:395–420.
238. Wright S. The theory of gene frequencies. *Evolution and the genetics of populations*. University of Chicago Press. Vol.4, USA, 1978.
239. Xuebin Q, Jianlin H, Lkhagva B, Chekarova I, Badamdorj D, Rege JEO, Hanotte O. Genetic diversity and differentiation of Mongolian and Russian Yak populations. *Journal of Animal Breeding and Genetics*. 2005;122:117–26.
240. Yalçın BC. Genel zootečni. İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi. İstanbul, 1981.
241. Yang YP, Womack JE. Construction of a bovine chromosome 19 linkage map with an interspecies hybrid backcross. *Mammalian Genome*. 1997;8(4):262–66.
242. Yıldırım A, Karadağ Y, Kandemir N, Sakin MA. Genetik. Nobel Yayın Dağıtım, Ankara, 2008.
243. Zerabruk M, Bennewitz J, Kantanen J, Olsaker I, Vangen O. Analysis of genetic diversity and conservation priorities for six North Ethiopian cattle breeds. *Journal of Animal Breeding and Genetics*. 2007;124(4):236–41.
244. Zhang G, Chen W, Xue M, Wang Z, Chang H, Han X, Liao X, Wang D. Analysis of genetic diversity and population structure of Chinese Yak breeds (*Bos grunniens*) using microsatellite markers. *Journal of Genetics and Genomics*. 2008;35:233–38.
245. Zhang GX, Wang ZG, Chen WS, Wu CX, Han X, Chang H, Zan LS, Li RL, Wang JH, Song WT, Xu GF, Yang HJ, Luo YF. Genetic diversity and population structure of indigenous yellow cattle breeds of China using 30 microsatellite markers. *Animal Genetics*. 2007;38:550–59.
246. Zhou GL, Jin HG, Zhu Q, Guo SL, Wu YH. Genetic diversity analysis of five cattle breeds native to China using microsatellites. *Journal of Genetics*. 2005;84(1):77–80.

9. EKLER

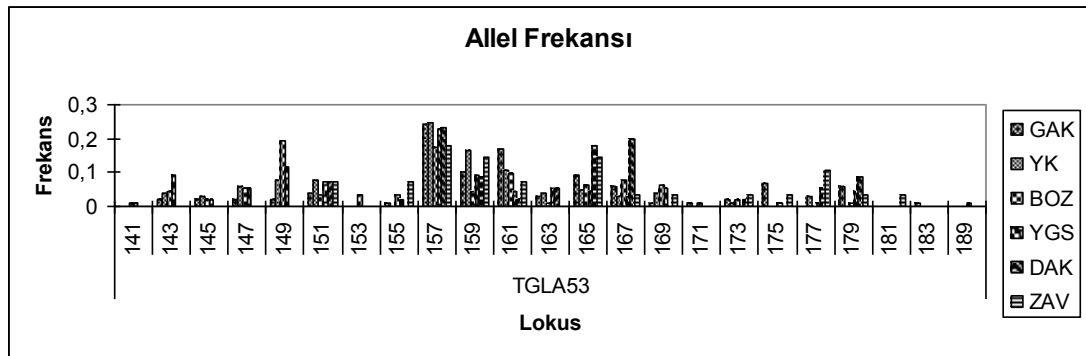
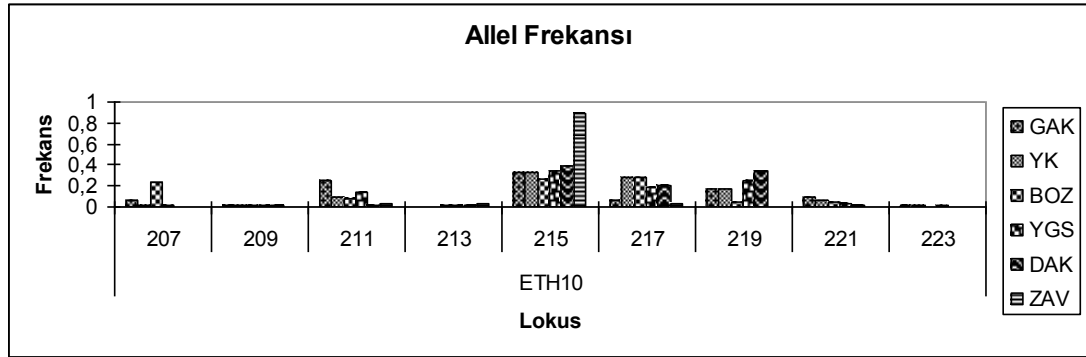
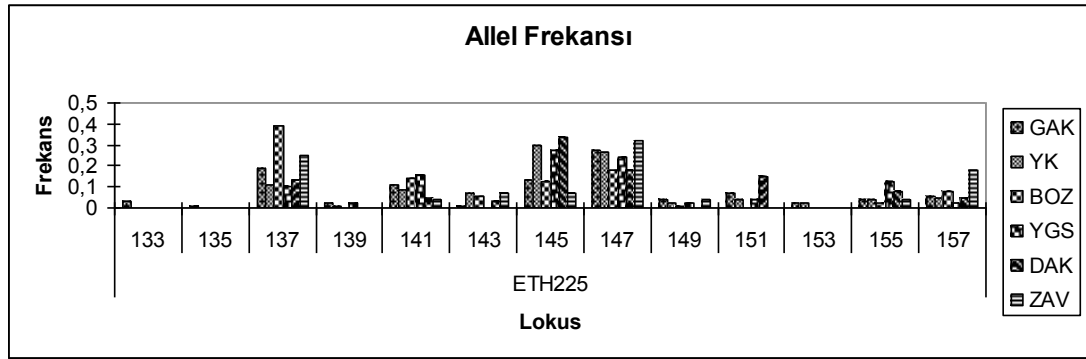
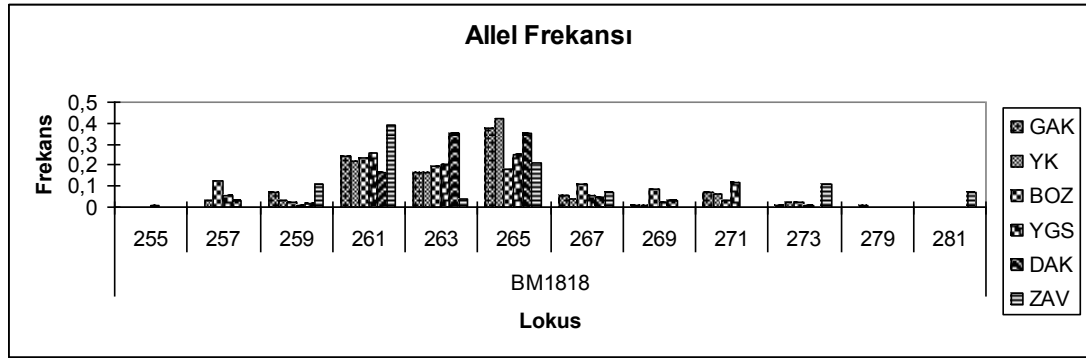
EK A. Markör bazında allel frekansları



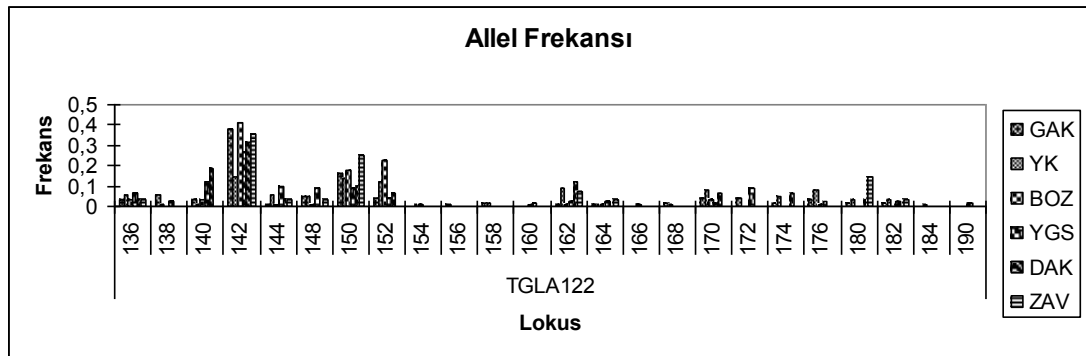
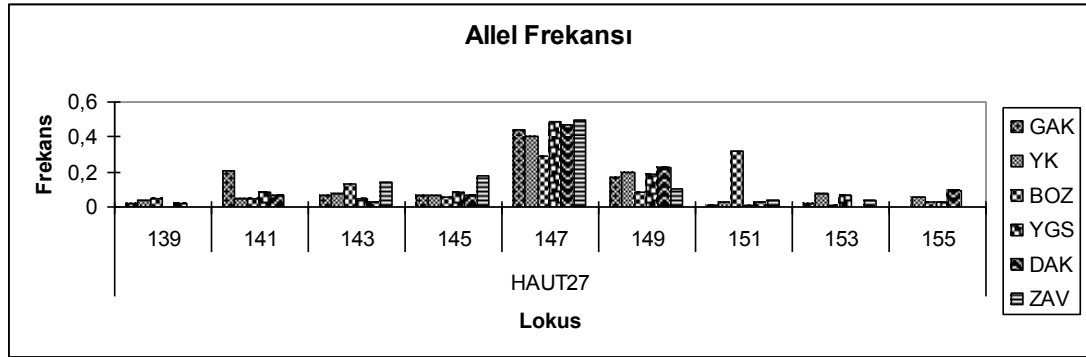
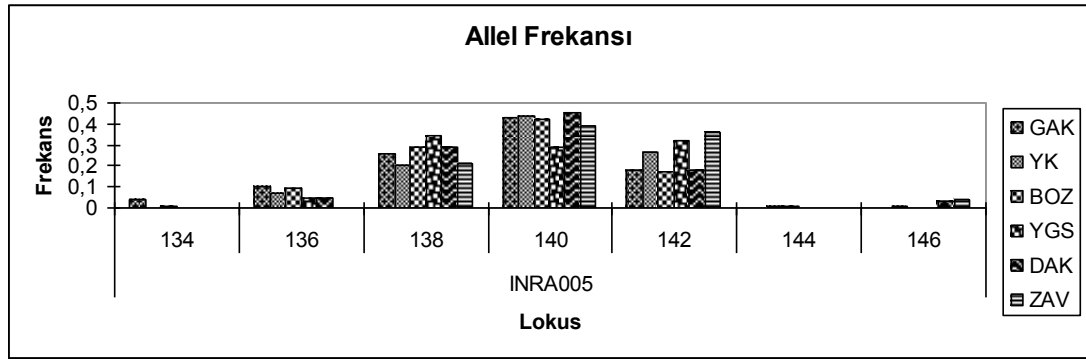
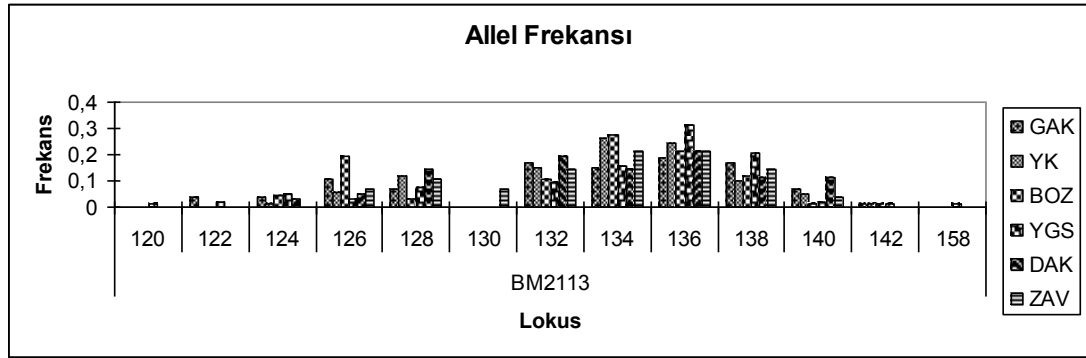
EK A (Devam). Markör bazında allel frekansları



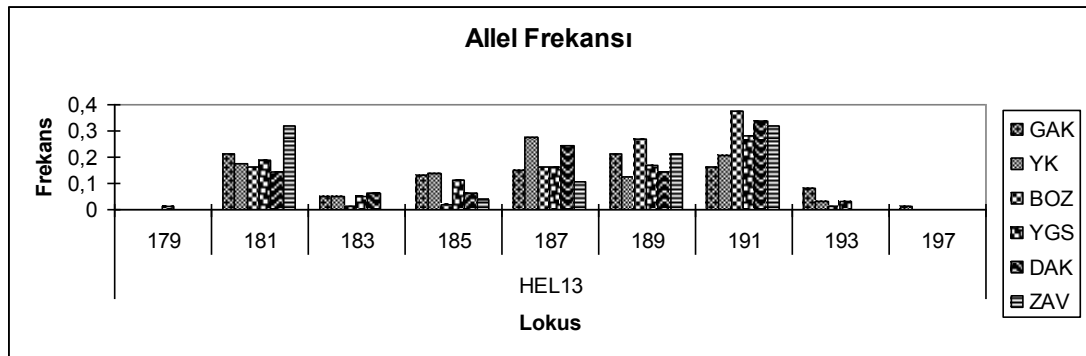
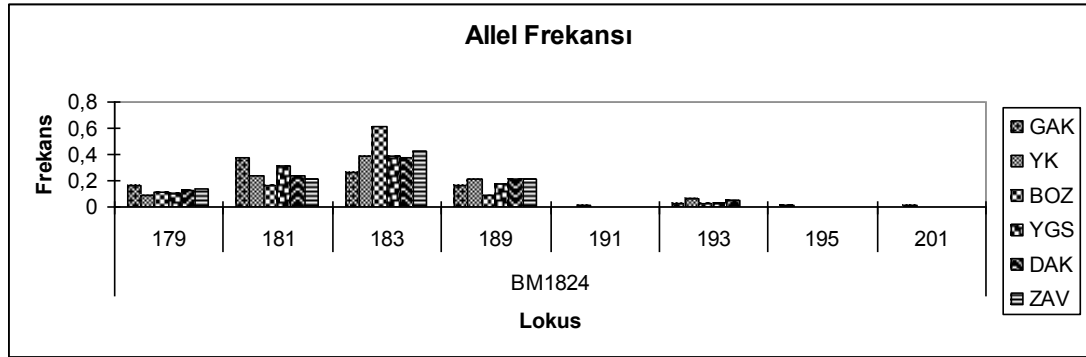
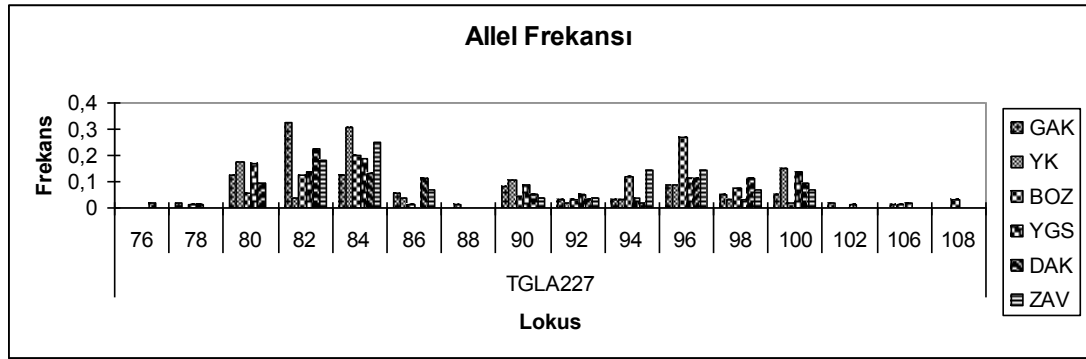
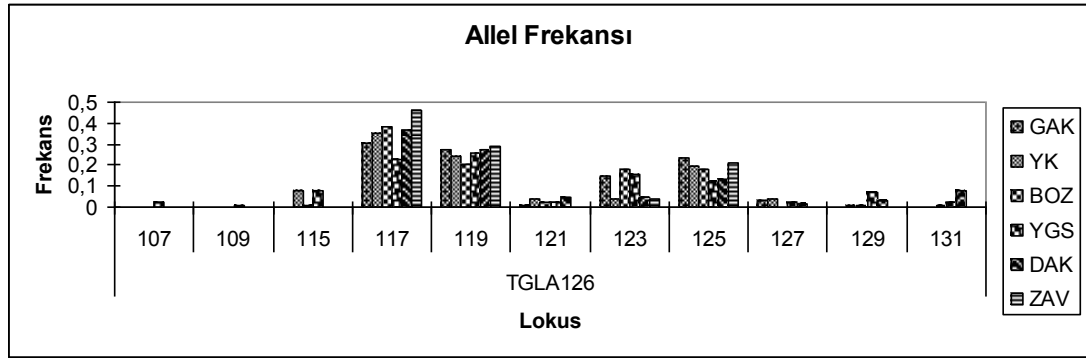
EK A (Devam). Markör bazında allel frekansları



EK A (Devam). Markör bazında allel frekansları



EK A (Devam). Markör bazında allel frekansları



10. ÖZGEÇMİŞ

Yusuf ÖZŞENSOY, 1981 yılında Ankara ili Sincan ilçesine bağlı Yenipeçenek mahallesinde dünyaya geldi. İlk, orta ve lise öğrenimini Sincan'da tamamladı. Akdeniz Üniversitesi Burdur Veteriner Fakültesini 1999 yılında kazandı ve 2004 yılında yüksek lisans diploması ile mezun olarak veteriner hekim unvanını aldı.

Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsüne bağlı olarak Veteriner Fakültesi Zootečni Anabilim Dalında Şubat 2005'de Doktora eğitimine başladı. Bitlis Eren Üniversitesi Sağlık Yüksekokulu Ebelik Bölümüne açılan Öğretim Görevlisi ilanına başvurup kazanarak 2009 yılının Mayıs ayında Öğretim Görevlisi olarak göreve başladı ve halen aynı yerde görevine devam etmektedir. Evlidir.

11. YAYINLANAN MAKALE ve KONGRE ÖZETLERİ

- 1) **Yusuf Özşensoy**, Ercan Kurar, Müge Doğan, Zafer Bulut, Vahdettin Altunok, Ayşe Işık, Aysun Çamlıdağ, Mehmet Nizamlioğlu (2009). Türkiye’de bulunan bazı yerli sığır ırklarının STR markörler ile genetik karakterizasyonu. IX. Ulusal Ekoloji ve Çevre Kongresi, 7–10 Ekim 2009, Nevşehir.
- 2) **Yusuf Özşensoy**, Ercan Kurar, Müge Doğan, Zafer Bulut, Vahdettin Altunok, Ayşe Işık, Aysun Çamlıdağ, Mehmet Nizamlioğlu (2010). Türkiye’de bulunan bazı yerli sığır ırklarının STR markörler ile genetik karakterizasyonu. Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi, 3(1):163–171.
- 3) **Yusuf Özşensoy**, Ercan Kurar, Müge Doğan, Zafer Bulut, Vahdettin Altunok, Ayşe Işık, Aysun Çamlıdağ, Mehmet Nizamlioğlu (2010). Mikrosatellit markörlerinin Türkiye yerli sığır ırklarının tanımlanması ve kimliklendirme çalışmalarında kullanılabilirliği. III. Ulusal Veteriner Zootečni Kongresi, 15–17 Temmuz 2010, Afyonkarahisar.
- 4) **Yusuf Ozsensoy**, Ercan Kurar, Muge Dogan, Zafer Bulut, Vahdettin Altunok, Ayse Isik, Aysun Camlidag, Mehmet Nizamlioglu (2010). Genetic diversity of six Anatolian native cattle breeds. 32nd Conference of the International Society for Animal Genetics, 26–30 July 2010, Edinburgh. (Poster)