

ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DENİZLİ TAVUK POPULASYONUNDA MİTOKONDRIYAL DNA D-LOOP
POLİMORFİZMİ

Hulusi Ozan TAŞKESEN

ZOOTEKNİ ANABİLİM DALI

ANKARA

2010

Her hakkı saklıdır

TEZ ONAYI

Hulusi Ozan TAŞKESEN tarafından hazırlanan “**Denizli Tavuk Populasyonunda Mitokondriyal DNA D-loop Polimorfizmi**” adlı tez çalışması 03.09.2010 tarihinde aŐaĐıdaki jüri tarafından oy birliği ile Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Zootekni Anabilim Dalı’nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Tez DanıŐmanı: Prof. Dr. Mehmet Ali YILDIZ

Jüri Üyeleri:

Başkan: Prof. Dr. Ceyhan ÖZBEYAZ

Üye : Prof. Dr. Mehmet Ali YILDIZ

Üye : Doç. Dr. Muhip ÖZKAN

Yukarıdaki sonucu onaylarım.

Prof. Dr. Orhan ATAKOL

Enstitü Müdürü

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

DENİZLİ TAVUK POPULASYONUNDA MİTOKONDRIYAL DNA D-LOOP POLİMORFİZMİ

Hulusi Ozan TAŞKESEN

Ankara Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Zootekni Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Mehmet Ali YILDIZ

Bu çalışmada, Türkiye yerli gen kaynaklarından Denizli tavuk ırkında mitokondriyal DNA (mtDNA) D-loop bölgesi bakımından genetik varyasyon araştırılmıştır. Araştırmada Denizli tavuk ırkına ait mensup toplam 20 tavuk ve 10 horoz kanı materyal olarak kullanılmıştır.

Denizli tavuk ırkında mtDNA D-loop bölgesinin DNA dizi analizi sonucunda yaygın olarak iki farklı haplotip tespit edilmiştir.

Denizli ırkında belirlenen haplotipler ile yabancı orman tavuğu (RJF) alt türlerinden *G. g. gallus*, *G. g. bankiva*, *G. g. spadiceus*, iki farklı Beyaz Leghorn, Plymouth, Silky, New Hampshire Red, Laos, Shamo ve Türkiye yerli tavuk ırklarından Gerze tavuk ırkları arasındaki filogenetik ilişki ortaya konmuştur. MtDNA D-loop bölgesi bakımından Denizli ırkı ile diğer ırklar arasındaki genetik farklılık 0.000 – 0.016 arasında hesaplanmıştır.

Eylül 2010, 60 sayfa

Anahtar Kelimeler: Türkiye yerli tavuk ırkı, Denizli, mtDNA, D-loop, haplotip, mitotip.

ABSTRACT

Master Thesis

MITOCHONDRIAL DNA D-LOOP POLYMORPHISM IN DENIZLI CHICKEN POPULATION

Hulusi Ozan TAŞKESEN

Ankara University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Animal Science

Supervisor: Prof. Dr. Mehmet Ali YILDIZ

In this study, genetic variation on D-loop region of mtDNA was carried out in Turkish native chicken Denizli. Total of 30 Denizli chicken (20 female, 10 male) were evaluated in this research.

Especially two haplotypes were determined in Denizli chicken breed based on the sequencing of mtDNA D-loop region.

Phylogenetic relationship between the haplotypes determined in Denizli chicken breed and Red Jungle Fowl (RJF) subspecies *G. g. gallus*, *G. g. bankiva*, *G. g. spadiceus*, two different White Leghorn, Plymouth, Silky, New Hampshire Red, Laos, Shamo and Gerze chicken breed was represented. Genetic distances between Denizli and other breeds regarding mtDNA D-loop region calculated between 0.000 – 0.016.

Eylül 2010, 60 pages

Key Words: Turkish native chicken breed, Denizli, mtDNA, D-loop, haplotype, mitotype.

TEŞEKKÜR

Laboratuvarında bana bu konuda çalışma imkânı sağlayan, çalıŐmalarımı yönlendiren, her konuda bilgi, öneri ve yardımlarını esirgemeyen, yazım aŐamasındaki sonsuz sabır ve özverilerinden dolayı danışman hocam sayın Prof. Dr. Mehmet Ali YILDIZ'a (Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootekni Bölümü Biyometri ve Genetik Anabilim Dalı) teşekkür ederim.

AraŐtırmanın yürütüldüğü laboratuvarında bana ilk günden beri hiçbir yardımlarını esirgemeyen hocam AraÇ. Gör. Hasan MEYDAN'a, ayrıca tezin yazım ve kaynak araştırması aŐamasındaki yardımından dolayı I. Beste EKEN'e teşekkür ederim.

Son olarak, varlığıma olan genetik katkısının dışında yıllardır bana sonsuz destek olan, sabırla birçok fedakârlıklar gösteren değerli annem Gülsün KINIK'a minnettarlığıma özellikle belirtmek isterim.

Hulusi Ozan TAŞKESEN
Ankara, Eylül 2010

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	i
ÖZET	ii
ABSTRACT	iii
TEŞEKKÜR	iv
SİMGELER DİZİNİ.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	viii
1. GİRİŞ	1
2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ÖZETLERİ	5
2.1 Evcil Tavuğun Sistemattteki Yeri ve Kökeni.....	5
2.2 Türkiye Yerli Tavuk Irkları.....	8
2.2.1 Denizli Tavuk Irkı.....	9
2.3 Moleküler Genetik Çalışmalarda Kullanılan Yöntemler	13
2.4 Mitokondriyal Genomun Yapısı	17
2.5 Tavuk (Gallus gallus) Mitokondriyal Genomu	22
2.5.1 Mitokondriyal DNA Kontrol Bölgesi (D-loop Bölgesi)	26
2.6 Kaynak Özetleri	30
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	38
3.1 Materyal.....	38
3.1.1 Canlı materyal.....	38
3.1.2 Araç ve gereçler.....	38
3.1.3 Tampon çözeltiler.....	40
3.2 Yöntem	41
3.2.1 Kandan genomik DNA izolasyonu.....	41
3.2.2 Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) ve DNA Dizi Analizi	42
4. BULGULAR ve TARTIŞMA.....	45
4.1. DNA İzolasyonu	45
4.2. Kontrol (D-loop) Bölgesinin PCR ile Çoğaltılması	45
4.3. DNA Dizi Analizi.....	46
5. SONUÇ	53
KAYNAKLAR.....	54
ÖZGEÇMİŞ.....	59

SİMGELER DİZİNİ

A	Adenin nükleotidi
AB	Avrupa Birliği
AFLP	Çoğaltılmış parça uzunluk polimorfizmi
ATP	Adenozin trifosfat
bç	Baz çifti
bdH ₂ O	Bidestile su
C	Sitozin nükleotidi
cDNA	Komplementer DNA
cM	Santimorgan
cpDNA	Kloroplast DNA
cyt b	Sitokrom b geni
dk	Dakika
DNA	Deoksiribonükleik asit
dNTP	Deoksinükleotid trifosfat
EDTA	Etilen diamin tetra asetik asit
FAO	Gıda ve Tarım Örgütü
G	Guanin nükleotidi
g	Gram
HCl	Hidroklorik asit
kb	Kilobaz
kg	Kilogram
MgCl ₂	Magnezyum klorür
mtDNA	Mitokondriyel DNA
mM	Milimolar
µM	Mikromolar
µL	Mikrolitre
NaCl	Sodyum klorür
nDNA	Çekirdek DNA
nM	Nanomolar
PCR	Polimeraz zincir reaksiyonu
RAPD	Rasgele çoğaltılmış polimorfik DNA
RFLP	Restriksiyon parça uzunluk polimorfizmi
RJF	Kırmızı orman tavuğu
rpm	Dakikadaki devir sayısı
SDS	Sodyum dodesil sülfat
SNP	Tek nükleotid polimorfizmi
SSR	Basit dizilim tekrarları
STR	Ardışık basit tekrarlar
T	Timin nükleotidi
TAE	Tris-asetet-EDTA tampon çözeltisi
TBE	Tris-borik asit-EDTA tampon çözeltisi
TE	Tris-EDTA çözeltisi
U	Ünite
VNTR	Değişken sayıda ardışık tekrarlar

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2. 1 Güney Asya'da Yabani Orman Tavuğunun coğrafi dağılımı.....	5
Şekil 2. 2 Tavuğun evcilleştirme yolları (Stevens 1991).....	7
Şekil 2.3 Denizli tavuk ırkı.....	11
Şekil 2.4 Mitokondri organeli.....	17
Şekil 2.5 Kuş ve memelilerin mitokondriyal genomları	19
Şekil 2.6 Tavuk mitokondriyal DNA'sı ve tavuk karyotipinin şematik gösterimi..	26
Şekil 2.7 Omurgalı mtDNA'sı ve D-loop bölgesinin şematik gösterimi.....	27
Şekil 2.8 Baştankara alt türlerinde D-loop bölgesine ait kısımların gösterimi.....	29
Şekil 4.1. PCR ürünlerinin % 2'lik agaroz jeli ile gerçekleştirilen elektroforez görüntüleri	46
Şekil 4.2. mtDNA D-loop bölgesi bakımından Denizli ve yabancı ırklar arasında nükleotit dönüşümlerinin beklenen miktarlarından elde edilen dendogram ...	51

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1 Denizli tavuk ırkı standardı (Anonim 2004).....	12
Çizelge 2.2 İnsan çekirdek DNA'sı ve mtDNA'sının karşılaştırılması (Butler 2005'ten değiştirilerek hazırlanmıştır).....	22
Çizelge 2.3. Beyaz Leghorn'larda mtDNA'da yer alan genlerin sırası ile isim ve büyüklükleri (Desjardins ve Morais 1990).....	25
Çizelge 3.1 Çalışmada kullanılan araç ve gereçlerin listesi.....	39
Çizelge 3.2 Kandan genomik DNA izolasyonu ile elektroforez ve agaroz jellerinin hazırlanmasında kullanılan stok ve tampon çözeltilerin bileşimleri	40
Çizelge 3.3. PCR Tüplerine Konulan Malzemeler ve Miktarları.....	43
Çizelge 3.4. PCR Protokolü	43
Çizelge 4.1. İzole edilen DNA örneklerinin derişim ve saflık değerleri	45
Çizelge 4.2. Denizli ırkının mtDNA kontrol (D-loop) bölgesinin diğer ırklar ile karşılaştırılması.....	48
Çizelge 4.3. mtDNA D-loop bölgesi bakımından GenBank ve Denizli haplotiplerine ait beklenen genetik uzaklıklar.....	50

1. GİRİŞ

Biyolojik sistemlerin temel özelliği olan varyasyon, pek çok faktöre bağlı olan tür, ırk ve gen kayıpları nedeni ile giderek önemli ölçüde azalmaktadır. İnsanların temel gereksinmelerinin karşılanması amacıyla dünyada 40 hayvan türünün yetiştiriciliği yapılmakta ve bu türler içerisindeki yaklaşık 7000 ırk gen kaynağı olarak kabul edilmektedir. Belirtilen ırkların % 30'dan fazlası yok olma riski taşımakta, bu durumun dünya tarımını yakın gelecekte olumsuz yönde etkileyeceği tahmin edilmektedir. Bu nedenle dünyada son yıllarda hayvan gen kaynaklarının korunmasına yönelik çalışma ve çabalarda önemli bir artış gözlemlenmektedir (Ertuğrul vd. 2010).

Yetiştiriciliği yapılan hayvan türlerine ilişkin genetik varyasyonun azalmasında etkili faktörler; ekonomik, sosyal ve çevresel gelişmelerin hayvancılıkta çeşitli düzeylerde entansifleşmeyi zorunlu kılması, kültür ırkları lehine yapılan seleksiyonlar ile az girdi ile yetişebilen ancak düşük verimli olan yerli ırkların yerini hızla kültür ırklarının alması olarak düşünülebilir (Ertuğrul vd. 2010).

Yerli ırklar ekonomik, bilimsel, kültürel ve ekolojik nedenlerle koruma altına alınmaktadır. Gerçekten de yerli ırklar, buldukları çevrenin koşullarına yüksek uyum sağlamış olmalarına bağlı olarak o çevre şartlarında kültür ırkları ve melezlerinden daha yüksek yaşama gücü ve hastalıklara direnç göstermektedirler. Ancak üzerinde durulan verimler ve ürün kalitesi bakımından yüksek nitelikli ırk ve hatlar elde edilmesine yönelik çalışmalar dâhilinde nispeten düşük verimli olan yerli ırkların ticari önemi ve dolayısıyla mevcudu giderek azalmakta buna bağlı olarak yerli ırklar yok olma tehlikesine maruz kalmaktadır (Ertuğrul vd. 2010).

Hayvansal üretim faaliyetlerinin geliştirilmesi, yüksek verimli olmanın yanı sıra çevre koşullarına uyumlu, hastalıklara dirençli ve yaşama gücü yüksek olan ırk ve hatların da geliştirilmesine bağlıdır. Bunun için biyolojik kaynaklar hem morfolojik hem de genetik açıdan iyi bir şekilde tanımlanmalıdır. Söz konusu kaynakların gerek tanımlanmasında gerekse bu kaynaklardan yararlanmada biyoteknoloji yöntemlerinden faydalanılması çağımızın gereklerinden biridir.

Tavuğun evcilleştirilmesinin M.Ö. 5400 ila 8000 yılları civarında, Asya'ya (Çin ve İndus Vadisi) dayandığı bildirilmektedir (International Chicken Genome Sequencing Consortium 2004, Liu vd. 2006). Bilinen dört yabani tavuk türü (*Gallus gallus*, *Gallus lafayettei*, *Gallus sonnerati*, *Gallus varius*) olmasına karşın birçok araştırmacı tarafından kabul edilen görüşe göre evcil tavuk, Asya kırmızı orman tavuğundan (*red jungle fowl* [*Gallus gallus*]) köken alarak dünyaya yayılmıştır (Hillel vd. 2003, Komiyama vd. 2004a, Liu vd. 2006, Eriksson vd. 2008). Kırmızı orman tavuğunun, evcil tavuğa atalık etmesi muhtemel beş alt türü vardır: Tayland ve komşu bölgelerindeki *G. g. gallus*; Burma ve Çin'in Yunnan bölgesindeki *G. g. spadiceus*; güney Çin ve Vietnam'daki *G. g. jabouillei*; Hindistan'daki *G. g. murghi* ve Java adalarındaki *G. g. bankiva*. Bu alt türlerden hangisi/hangilerinin, evcil tavuğun orijinini meydana getirdiği halen net olarak bilinmemektedir (Liu vd. 2006).

Tavuklarda genetik çalışmalar 20. yüzyıl'ın başlarına uzanmaktadır ve o günden günümüze kadar, yüzlerce iyi tanımlanmış mutant ve ıslah hatları geliştirilmiştir. Tavuk embriyosu, *in ovo* embriyogenesisin deneysel avantajlarına bağlı olarak gelişim biyologları için oldukça kullanışlı bir omurgalı sistemi sunmaktadır. Bunun dışında tavuk, immünolojide, onkogenesiste ve virolojideki seminal çalışmalarda kullanılmaktadır. Son yüzyılın başlarında tavuk genetik bağlantı haritası oluşturulmaya başlanmıştır ve günümüzde toplam 4000 cM uzunluğunda 2172 genetik lokus içerdiği bilinmektedir. Tavuk karyotipi, çok farklı büyüklüklerde olan ve buna bağlı olarak mikro ve makro olarak adlandırılan $2n=78$ adet kromozomdan meydana gelmektedir (International Chicken Genome Sequencing Consortium 2004). Bu kromozomlar, 8 çift makrokromozom, 30 çift mikrokromozom ve bir çift de eşey kromozomunu (ZW/ZZ) kapsamaktadır (Pereira 2004).

20. yüzyılın ortalarında kanatlılarda ticari amaçlı ıslah çalışmalarının başlamasından beri, tavuklardaki genetik varyasyon nispeten az sayıdaki özelleşmiş hatlara bölünmüştür. Bunun bir sonucu olarak, yüzyıllar süren evcilleştirme ve melezleme ile ortaya çıkan çok sayıdaki iki yönlü ırk kaybolma riski ile karşı karşıyadır. Ne var ki bu ırklar gelecekteki ıslah ve araştırma çalışmaları için gen kaynaklarıdır. Bu nedenle,

bu populasyonların gelecekteki yönetim ve korunması için referans sağlamak üzere ticari hatları, geleneksel ırkları, deneysel hatları ve kırmızı orman tavuğunu da içeren geniş bir tavuk populasyonunda moleküler seviyede genetik varyasyonun belirlenmesi gerekmektedir. Genetik kaynakların korunması hakkında alınacak kararların, üzerinde durulan özelliğe göre değişen çeşitli bilgi kaynaklarına dayanması gerekse de moleküler markerler önemli bir başlangıç rehberi olarak görev alabilirler. Evcil tavuklarda genetik kaynakların korunması için stratejiler geliştirilmesi sürecinde üzerinde durulan populasyonun genetik eşsizliğinin kantitatif olarak tayin edilebilmesi önem arz etmektedir ki bu da genetik uzaklıklardan anlaşılabilir. Moleküler teknolojiye son gelişmeler DNA seviyesindeki genetik varyasyonun belirlenmesi için yeni olanaklar sağlamaktadır (Hillel vd. 2003).

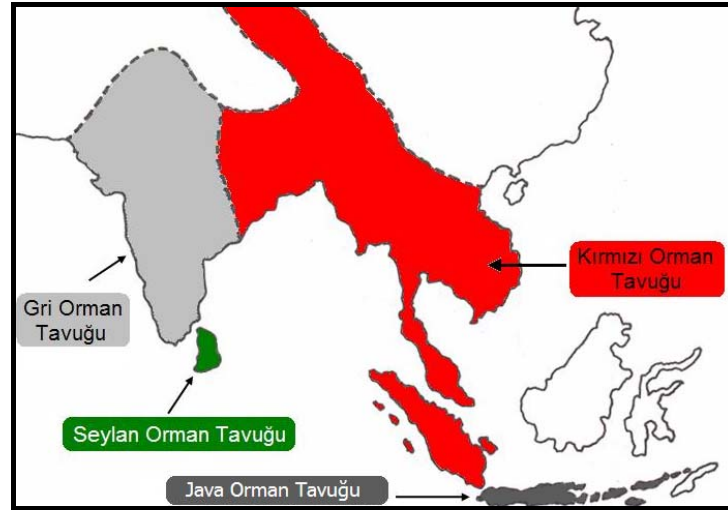
Bu yönde çalışma yürütülen alanlardan biri de mitokondriyal DNA (mtDNA)'dır. Maternal kalıtım göstermesi, haploit ya da mitotip yapısı ve hızlı evrim oranı ve rekombinasyon eksikliği (Wenink vd. 1994) yüzünden mtDNA, bir filogenetik analiz markeri olarak çok sayıda avantaja sahiptir ve moleküler sistemlerde en çok kullanılan markerlerden biridir (Sorenson vd. 1999). Tavuk mitokondriyal genomu yaklaşık 17 kb.'dan meydana gelen dairesel bir DNA olup, 2 rRNA, 22 tRNA ve 13 polipeptit kodlayan 37 gen içermektedir (Chinnery and Schon 2003, Guan vd. 2007, Bao vd. 2008). Bu genlerin ifadesi, omurgalılarda enerji üretimi, metabolizma, hücre homeostasis ve apoptosis için gereklidir. MtDNA farklı hızlarla evrimleşen farklı bölgelere sahiptir. Bu bölgelerden biri de mtDNA ağır ekseninin replikasyon orijini ve her iki eksenin (hafif ve ağır eksenler) promotor bölgelerini barındıran mtDNA Kontrol Bölgesi (D-loop bölgesi)'dir. Bu bölge, herhangi bir enzim ya da protein karşılığı olmayan bir bölge olmasına bağlı olarak, mitokondriyal genomun diğer kısımlarından 3-5 kat daha hızlı evrimleşmektedir (Wenink vd. 1994). Günümüzde evcil tavuğu (*Gallus gallus domesticus*) da kapsayan birçok omurgalının mtDNA Kontrol Bölgesi'nin tüm sekansının bilinmesine (Desjardins ve Morais 1990) rağmen kanatlılarda bu bölge üzerine çalışmalar halen başlangıç aşamasındadır.

Bu tez çalışmasında, Türkiye yerli tavuk ırklarından birisi olan Denizli tavuk ırkına ait popülasyonun mitokondriyal DNA molekülünde D-loop bölgesine ilişkin genetik varyasyonun tespit edilmesi amaçlanmıştır.

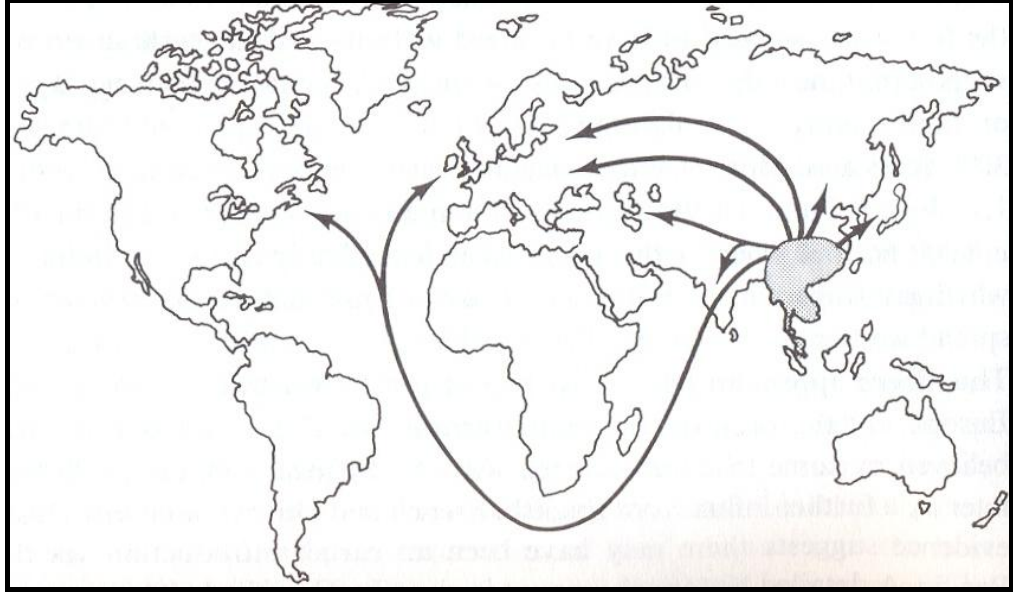
2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ÖZETLERİ

2.1 Evcil Tavuğun Sistematikteki Yeri ve Kökeni

Tavuk, Yakın ya da Orta Doğu'dan köken almayan tek yaygın evcil türdür. Günümüzde tüm araştırmacılarca kabul edilen ortak görüşe göre Tavuklar Asya'da, bugünkü Çin ve Hindistan yakınlarında evcilleştirilerek, dünyaya buradan yayılmışlardır (Şekil 2.2). Tavuğun evcilleştirilmesinin tarihi ise üzerinde görüş birliği sağlanmamış bir konudur. Stevens (1991)'in bildirişine göre tavuğun M.Ö. 2000 yıllarında, İndus Vadisi'nde evcilleştirildiğine inanılmaktaysa da daha yeni arkeolojik bulgulara göre bu evcilleştirme M.Ö. 6000 yıllarında Çin'de gerçekleşmiştir. Söz konusu tarihin M.Ö. 5400 ila 8000 yılları civarına dayandığı da bildirilmektedir (International Chicken Genome Sequencing Consortium 2004, Liu vd. 2006). Bilinen dört yabani tavuk türü (*Gallus gallus*, *Gallus lafayettei*, *Gallus sonnerati*, *Gallus varius*) olmasına karşın birçok araştırmacı tarafından kabul edilen görüşe göre evcil tavuk, Asya kırmızı orman tavuğundan (*red jungle fowl* [*Gallus gallus*]) köken alarak dünyaya yayılmıştır (Crawford 1990, Stevens 1991, Fumihito vd. 1995, Hillel vd. 2003, Komiyama vd. 2004a, Liu vd. 2006, Eriksson vd. 2008).



Şekil 2.1 Güney Asya'da kırmızı orman tavuğu (*Gallus gallus*), Seylan orman tavuğu (*Gallus lafayettei*), gri orman tavuğu (*Gallus sonnerati*) ve Java orman tavuğu (*Gallus varius*)'nun coğrafi dağılımı (Stevens 1991'den değiştirilerek çizilmiştir).



Şekil 2.2 Tavuğun evcilleştirme yolları (Stevens 1991)

Çeşitli tavuk populasyonlarının nükleer mikrosatelit analizleri ile kırmızı orman tavuğunun, evcil tavuğun esas atası olduğu desteklenmektedir (Hillel vd. 2003). Kırmızı orman tavuğunun, evcil tavuğa atalık etmesi muhtemel beş alt türü vardır: Tayland ve komşu bölgelerindeki *G. g. gallus*; Burma ve Çin'in Yunnan bölgesindeki *G. g. spadiceus*; güney Çin ve Vietnam'daki *G. g. jabouillei*; Hindistan'daki *G. g. murghi* ve Java adalarındaki *G. g. bankiva*. Bu alt türlerden hangisi/hangilerinin, evcil tavuğun kökenini meydana getirdiği halen net olarak bilinmemekte ve evcil tavuğun kökenine ilişkin tartışmalar, söz konusu kökenin monofiletik mi yoksa polifiletik mi olduğu noktasında toplanmaktadır. (Crawford 1990, Stevens 1991, Liu vd. 2006).

Stevens (1991)'in aktardıklarına göre, Darwin (1868), kanıtlarının güçlü olmadığını belirtmekle beraber, tavuğun tek bir kökenden evcilleştirildiğini ileri sürmüştür. Darwin (1868)'in görüşe ulaşmasını sağlayan ana noktalar şöyle özetlenmektedir: (i) evcil tavuk ve *Gallus gallus* çiftleşmekte ve döllerin döl verimi daha yüksek olmaktadır, (ii) *G.gallus* ve evcil tavuğun sesleri birbirine daha benzerdir, (iii) evcil tavukla yapılan melezlemelerden çoğunlukla *G.gallus*'unkilere benzeyen siyah-kırmızı benekli döllere elde edilmektedir. Fumihito vd. (1995), önceki çalışmalarına da atıfta bulunarak, evcil tavuğun monofiletik bir kökenden geldiğini öne sürmüştü, buna ek olarak evcil tavuğun, kırmızı orman tavuğunun (*Gallus gallus*) ada seviyesindeki alt türlerinden (örn.: *Gallus gallus bankiva*) değil; kıtasal alt türlerinden (örn.: *Gallus gallus gallus*, *Gallus gallus*

spadiceus) köken aldığını savunmuştur. Ne var ki Liu vd. (2006), Fumihito vd. (1996)'ın çalışmalarında kimi sınırlamalar olduğunu bildirmekte ve bunlar arasında araştırmacının elinde Çin ve Hindistan'dan evcil ve yabani kırmızı orman tavuğu alt türlerine ait örneklerin bulunmayışını ve kullanılan örnek genişliğinin çok küçük oluşunu (*G. g. gallus*, n=6; *G. g. bankiva*, n=3; *G. g. spadiceus*, n=3; *G. g. domesticus*, n=9) saymaktadır.

Buna karşılık moleküler kanıtlara dayanan daha yeni çalışmalar, daha eski çalışmalardaki tek bir kökenden gelme (monofiletik) görüşünün eksik ve/veya yanlış örneklemelerden kaynaklanabileceğini, farklı kökenlerden gelme (polifiletik) görüşünün daha olası olduğunu ve evcil tavuğun birden fazla tür ya da alt türden köken almış olabileceğini bildirmektedirler (Komiya vd. 2003, Komiya vd. 2004a Komiya vd. 2004b, Nishibori vd. 2005, Liu vd. 2006, Oka vd. 2007).

Tüm bu bilgiler ışığında evcil tavuğun sistematikteki yeri de şu şekilde tanımlanmaktadır (Crawford 1990):

Alem : Animalia (Hayvanlar)
Alt Alem : Metazoa (Çok hücreliler)
Şube : Chordata (Kordalılar)
Alt Şube : Vertabrata (Omurgalılar)
Sınıf : Aves (Kuşlar)
Takım : Galliformes
Familya : Phasianidae (Sülüngiller)
Cins : *Gallus*
Tür : *Gallus gallus*

2.2 Türkiye Yerli Tavuk Irkları

Türkiye’de yerli tavuk ırklarına ait ilk gözlemler Ekimci (1931) ve Bilgemre (1939, 1950) tarafından yapılmış, bunları Karaesmen (1944), Sönmez (1966) ve Hemşinlioğlu (1969) izlemiştir. Türkiye yerli tavuk ırkları olan Denizli v Gerze tavuklarına ait ilk çalışmalar son yıllarda Kaya (2008) tarafından yapılan doktora tez çalışmasında özetlenmiştir.

Kaya (2008) tarafından da özetlenen ilk çalışmalarda Ekimci (1931), yurdumuzdaki yerli tavuklara ilişkin bir inceleme ve deneme yapılmadığını, buna bağlı olarak hangi bölgelerde ne tür tavukların bulunduğu ilişkin esaslı bir bilgi olmadığını belirtmiştir. Eserinde Bartın, Gerze, Afyon Karahisar, Dumlupınar, Adapazarı, İnebolu, Bilecik ve diğer bölgelerde, fazla sayıda ve iri yumurtladıkları bildirilen tavuklar olduğunu ancak bunlar üzerinde herhangi bir inceleme yapılamadığından bu iddiaların geçerliliği hakkında bir bilgi edinilemediğini bildirmiştir. Yerli tavuk ırklarından yalnızca Denizli ve Hacı kadın tavuklarının saflıklarını koruduğunu bildirmiş ancak bunlara ek olarak *Sultan*, *Süslü*, *Timurlenk* ve *Berat* ırklarından da bahsetmiştir (Ekimci 1931).

Yüksek Ziraat Enstitüsü Genel ve Özel Zootečni Profesörü ve Tavukçuluk Enstitüsü Direktörü Ord. Prof. Dr. Kadri BİLGEMRE (1939, 1950)’ye göre, yurt genelindeki birçok yerli addedilen tavuk, çeşitli sebeplerle kendi içlerinde ve diğer ülkelerden getirilmiş hayvanlarla karışmış, melezleşmiş ve ırk niteliklerini kaybetmişlerdir. Bilgemre (1939), saf olduğu iddia edilen birçok tavuk ve horozda özellikle geçmişte Anadolu’ya yayılmış olan Plymouth ırkının izleri görüldüğünü, güney illerinde, Kocaeli’nin bir kısmında yerli tavukların renklerinin İtalyan tavuğuna benzediğini belirtmiştir. Karaesmen (1944) de bu konuya değinerek memleketin en ücra köşelerindeki tavuklar arasında bile başta Plymouth olmak üzere yabancı ırkların etkisinin gözlemlendiğini belirtmiştir. Bunlara ek olarak Bilgemre, yerli tavuklarımızın genellikle az verimli olduğunu, iklim baskısına daha dayanıklı ve daha kanaatkâr göründüklerini, ancak normal bakım şartlarında kültür ırklarından bazılarının da bir iki sene için verimlerini kaybetmeden, dış faktörlere karşı yerli ırklar kadar mukavemet kazandıklarını bildirmiştir (Bilgemre 1939, 1950, Kaya 2008).

Bundan sonra Türkiye'deki yerli tavuk ırklarıyla ilgili olarak rastlanan ilk çalışma Şekeroğlu (1994)'ün aktardığına göre Tatman (1971)'e aittir. Sözü geçen çalışmada Denizli tavuk ırkına ilişkin ilk detaylı derleme yapılmıştır. Denizli ve Gerze ırklarının yumurta verimi ve kalite özelliklerinin belirlendiği ilk bilimsel çalışma ise Şekeroğlu (1994)'na aittir. Özdoğan ve Gürcan (2006)'ın aktardıklarına göre 1995 yılında Nazlıgül vd. yerli ırkları da içeren kimi ırklarda bazı verim özelliklerinin belirlenmesi üzerine çalışmışlardır. Günümüze gelindikçe yerli ırklarda esas olarak verim özellikleri üzerinde duran çalışma sayısı nispeten artmıştır.

2.2.1 Denizli tavuk ırkı

Denizli tavuk ırkı üzerine ülkemizde çeşitli çalışmalar yapılmış olup bu çalışmalar Denizli tavuk ve horozlarının farklı karakterleri üzerinde durmuşlardır. Ayrıca 2004 yılında yerli hayvan ırk ve hatlarının tescili hakkında yayınlanan tebliğ kapsamında Denizli tavuk ırkı standardı oluşturularak resmi gazetede (<http://rega.basbakanlik.gov.tr/Eskiler/2004/12/20041212.htm>) yayınlanmıştır (Çizelge 2.1).

Ekimci (1931), çeşitli özellikler bakımından Denizli ırkı ile Leghorn ırkını kıyaslamıştır. Bu kıyaslamaya göre;

- Leghorn ırkı tavuklarının nemli iklimlerde, ağır ve killi topraklarda yaşama ve yumurtlamaya dayanamadığını, böyle şartlarda sıkça hastalandıklarını, büyüme geriliği ve verim düşüklüğü gösterdiklerini buna karşılık Denizli ırkına mensup tavukların kendi yörelerine ait bu olumsuz şartlarda iyi geliştiklerini ve yumurtladıklarını,
- Beyaz Leghorn tavuklarının cüsselerinin ufak olduğunu (1.5 kg) ve iyi semirtilemediklerini buna bağlı olarak da et veriminin düşük olduğunu ancak Denizli ırkının büyük cüsseli olduğunu (2.5 – 3 kg) ve kolay semirdiklerini,
- Beyaz Leghorn'un etinin sert, Denizli ırkının ise lezzetli olduğunu,

- Leghorn tavuklarının yumurtalarının hafif (50 – 52 g) olduğunu, Denizli tavuklarının yumurtlarının ise nispeten iri ve ağır (60 – 65, bazen 70 g) olduğunu bildirmiştir.

Ege bölgesine ait olduğu ancak başka bölgelerde de rastlandığı bildirilen (Karaesmen 1944) Denizli horozlarının uzun ötmeleri ile tanındıkları, vücut yapılışı itibariyle yumurtacı özellikleri gösterdikleri, beyaz tavukların genellikle renklilerden daha yüksek vücut yapılışı, büyük kuyruklu ve az verimli oldukları, beyazların iri, renklilerin ise küçük yumurta verdikleri, Denizli ırkı tavuklarının kuluçkaya yatmadığı bildirilmektedir (Bilgemre 1939, 1950). Bu özellikleri teyit eden Sönmez (1966) ve Hemşinlioğlu (1969) Denizli ırkının en göze çarpan özelliğinin gözleri çevresinde siyah bir halka oluşu olduğunu belirtmektedirler.

Şekeroğlu (1994)'nin aktardığına göre; Tatman (1971), yaptığı derlemede, Denizli tavuklarının dış görünüş itibariyle değişik özellikler gösteren beş varyetesinin olduğunu belirtmiş bunların ortak özelliklerinin; canlı, parlak, siyah ve sürmeli gözler, gri renkli bacaklar, balta ibik, siyah gaga, kırmızı ya da kırmızı-beyaz benekli kulakçıklar olduğunu bildirmiştir. Aynı derlemede yıllık yumurta verimlerinin 80-100 adet, dişilerde cinsel olgunluk yaşının ortalama 8 ay, cinsel olgunluk ağırlığının 2-2.5 kg olarak bildirildiği aktarılmaktadır (Şekeroğlu 1994).

Bunlara ilaveten Gerze ve Denizli tavuklarına ait yaşama gücü, % 5 ve % 50 verim yaşı ve ağırlıkları, yumurta verim ve ağırlığı, yem tüketimi ve kuluçka değerlerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada Gerze ırkına ait değerler Denizli ırkından yüksek bulunmuş (Şekeroğlu 1994), Denizli tavuklarında canlı ağırlık, yumurta ağırlığı ve yumurta ağırlığına ilişkin özellikleri incelemek için yapılan araştırmada 35 haftalık canlı ağırlık ortalaması 2597 ± 63.93 g, 35-42. haftalar arası yumurta ağırlığı ortalaması 56.47 ± 0.21 g olarak bildirilmiş (Atasoy ve Gürçan 2000), Denizli tavuklarının kan grubu allelleri üzerine yapılan çalışmada A, B, C, D, E ve L kan gruplarına ait alleller ile D kan grubu içinde yeni bir alleller belirlenmiş (Aksoy vd. 2000), Denizli ırkı günlük civcivlerde tüylenme özelliklerinden yararlanarak cinsiyeti belirleme olanakları incelenmiş (Aksoy vd. 2002), Denizli tavuklarında yumurtalarda kuluçka esnasında

meydana gelen ağırlık kaybının çeşitli yumurta kalite özellikleri ile ilişkisi incelenmiş (Türkyılmaz vd. 2005), Lalahan Hayvancılık Merkez Araştırma Enstitüsü'nde bulunan koruma altına alınmış Denizli tavuklarında 24 ve 52. haftalar arasında yumurta verimi incelenmiş (Özdoğan ve Gürcan 2006, Özdoğan vd. 2007), Denizli ırkına ait bir tavuk sürüsünde telek rengi özellikleri ve canlı ağırlık incelenmiş, pamuk kırı, demir kırı, pekmez kefi ve al tavuk ve horozların dağılımı belirlenmiştir (Kaplan ve Aksoy 2009).



Şekil 2.3 Denizli tavuk ırkı (<http://www.animallia.com/assets/images/turkirkleri/denizli%20tavugu.jpg>. 2010)

Çizelge 2.1 Denizli tavuk ırkı standardı (Anonim 2004)

Türü	Evcil tavuk (<i>Gallus domesticus</i>).					
İrki	Denizli.					
Varyetesi	Yok.					
Yayımla Alanı	Denizli ve yöresinden köken almıştır. Anadolu'nun pek çok yerinde görülebilir.					
Yetiştirme Amacı	Yumurta, özel merak.					
MORFOLOJİK ÖZELLİKLERİ						
Genel Tanımı	Erkek			Dişi		
Baş Yapısı	Normal büyüklüktedir.			Normal büyüklüktedir.		
İbik Yapısı	Balta ibiktir.			Balta ibiktir.		
Gaga Yapısı	Genellikle uzun, kalın ve üst gaga aşağı doğru eğimli, gaga rengi koyu gridir.			Erkeklerle göre kahlılığı ve eğimi daha az, gaga rengi koyu gridir.		
Burun Delikleri	Küçüktür.			Küçüktür.		
Yüz Yapısı	Uzun ve hafif tüylüdür.			Belirgin ve hafif tüylüdür.		
Göz Yapısı	Orta büyüklükte, yuvarlak, kahverengi ve sürmelidir.			Yuvarlak, orta büyüklükte ve kahverengidir.		
Gerdan	Yoktur.			Yoktur.		
Kulak ve Lopları	Kulaklar kısa tüylerle kaplı, kulak lopları belirgin, kırmızı renkte ya da kırmızı üzerinde beyazlık olabilir.			Kulakları kısa tüylerle kaplı, kulak lopları erkeklerle göre küçük, kırmızı renkte ya da üzerinde hafif beyazlık olabilir.		
Kakül	Yoktur.			Yoktur.		
Sakal	Geniş ve kısa ya da orta uzunluktadır.			Geniş ve erkeklerle göre kısadır.		
Boyun Yapısı	Uzun ve tüylüdür.			Orta uzunlukta ve tüylüdür.		
Ense Yapısı	Orta uzunlukta, kalın ve tüylüdür.			Kısa, kalın ve tüylüdür.		
Kuyruk Yapısı	Sağlam yapılı, gösterişli, vücuda bağlantısı dik ve, veya yatay şeklindedir.			Sağlam yapılı, orta boyda yukarı kalkık ve diktir.		
Kanat Yapısı	Büyük, güçlü ve tüylü kanatları vardır.			Büyük ve tüylüdür.		
Göğüs Yapısı	Orta derinlikte.			Orta derinlikte.		
Ayak ve Tırnak Yapısı	Bacaklar yüksek, sağlam yapılı, düz duruşlu, incik, ayak derisi ve pulları açık ya da koyu gri renkte, tüysüz, dört parmaklı ve mahmuzludur.			Bacaklar erkeklerle göre daha kısa, incik, ayak derisi ve pulları açık ya da koyu gri renkte, tüysüz, dört parmaklıdır.		
Telek Rengi	Vücudu örten tüy ve telekler siyahtır, boyun sırt ve kanatta renkli telekler bulunur. Bunlar renklerine göre demir kır, pamuk kır, kefi sarı, al ve siyah olmak üzere beş şekilde adlandırılır.			Bazılarının boynunda görülebilen eser miktardaki renk dışında tamamen siyahtır.		
Deri Rengi	Beyazdır.			Beyazdır.		
Yumurta Kabuk Rengi	Beyazdır.					
PERFORMANS ÖZELLİKLERİ						
	Erkek			Dişi		
	Min.	Max.	Ort.	Min.	Max.	Ort.
Ergin Canlı Ağırlıkları, g			2000			1500
Cinsel Olgunluk Yaşı, hafta			24			24-25
Yıllık Yumurta Verimi, adet	Ort.: 110					
Yumurta Büyüklüğü	Orta ağırlıktadır.					
DAVRANIŞ ÖZELLİKLERİ						
Erkekler ergin dönemde birlikte saldırgan özellik sergileyebilmektedir. Dişilerin özellikle kafeste türkek davranış gösterdikleri görülmektedir.						
IRKIN ÖZEL YETENEKLERİ						
Erkekler uzun ömürlüleri ile ünlüdür (yaklaşık 15-16 sn).						
YETİŞTİRME ŞARTLARI						
Ekstansif ve yarı entansif ortamlarda yetiştirilmektedir.						
GENETİK ÖZELLİKLERİ						
A,B,C,D,E,L kan grubu sistemlerine ait allel genler belirlenmiştir.						
Kanat ucu telekleri uzunluk farklılıklarından yararlanarak otoseks civcivler üretilebileceği ve ayak derisi rengine göre otoseks sürüler üretilebileceği belirlenmiştir.						
DİĞER ÖZELLİKLERİ						

2.3 Moleküler Genetik Çalışmalarda Kullanılan Yöntemler

Bütün canlılarda üzerinde durulan özellikler bakımından gözlenen fenotipik varyasyonun iki kaynağı bulunmaktadır. Bunlar çevre ve genotip olarak tanımlanmaktadır. Genotipten kaynaklanan varyasyon ya da genetik varyasyon; tür, ırk ya da bireylerin sahip oldukları genotipik farklılığı ifade etmektedir. Genotipik yapıyı oluşturan DNA molekülündeki dört baz çiftinin dizilimindeki kombinasyonlardan kaynaklanan çeşitli farklılıklar; bireylerin, ırkların ve türlerin birbirlerinden farklı genotipik yapılarda olmalarını sağlamaktadırlar (Özdil 2005).

Canlılarda yeni genetik varyasyonlar sürekli olarak meydana gelmektedir. Yeni genetik varyasyonlar; kromozomal ve nokta mutasyonları ile eşeyli çoğalan canlılarda rekombinasyonlara ilave olarak doğal seleksiyon ve ıslah çalışmalarından kaynaklanmaktadır. Bütün bu olguların sonucunda bir populasyonda gen ve genotip frekansları değişim göstermektedir. Bu değişim uzun yıllar herhangi bir canlı grubunda söz konusu olduğunda populasyonlar atalarına oranla çok farklı gen ve genotip kombinasyonlarına sahip olabilmekte ve dolaylı olarak canlıların evrim sürecine katkı sağlamaktadır (Özdil 2005).

Son 40 yıl içerisinde biyokimyasal ve DNA düzeyinde yapılan genetik varyasyon çalışmaları, biyolojik organizmaların genetik yapılarının belirlenmesi ve evrim çalışmalarında önemli ipuçları ortaya koymuştur. Biyokimyasal düzeyde genetik varyasyon tespit etmek üzere yapılan ilk çalışmalar, 20.yy.ın ilk yıllarında başlatılmıştır. Bu öncü çalışmalardan ilki insanlarda ABO kan grubu sisteminin kalıtsal varyasyon ile belirlendiğini göstermiştir. Bu çalışmadan hareketle farklı tekniklerin çeşitli organizmalarda genetik yapının belirlenmesi üzerine ve evrim çalışmalarında kullanılması 1960'lerden sonra hız kazanmıştır (Özdil 2005).

Genomik DNA düzeyinde bireyler arasındaki farklılıkların tespit edilmesi için geliştirilen DNA – DNA hibridizasyon tekniği, 1960'larda ökaryotik genomların organizasyonunu çalışmak için geliştirilmiştir. Bu teknik heterolog DNA tek eksenlerinin termodinamik yolla yeniden birleştirilmesi esasına dayanmaktadır.

1980'lerde pek çok türde filogenetik ilişkilerin açıklanmasında bu teknik kullanılmıştır, ancak bu tekniği kullanılması çeşitli teorik ve pratik zorluklar nedeniyle sınırlı düzeyde kalmıştır (Özdil 2005).

1978'de, Nobel ödüllü W. Arber, H. Smith ve D. Nathans, bakterilerden izole edilen ve DNA molekülünü spesifik bölgelerden kesen restriksiyon endonükleazları (kesim enzimleri) üzerine çalışarak moleküler biyoloji alanında büyük bir atılım yaratmışlardır (Tamarin 2002). Kesim enzimlerinin kullanıldığı çeşitli yöntemler yardımıyla DNA düzeyinde polimorfizmler tespit edilmeye başlanmıştır. Bu polimorfizmler genel olarak Kesim Parçacığı Uzunluk Polimorfizmleri (RFLP) olarak adlandırılmaktadırlar (Brown 2007).

1977 yılında, Paul Berg, Walter Gilbert ve Frederick Sanger'in bağımsız olarak geliştirdikleri DNA dizi analizi yöntemi de moleküler biyoloji alanında çığır açmıştır. DNA fragmentlerinin nükleotit dizilerinin belirlenmesini sağlayan yöntem moleküler genetik çalışmalarında önemli bir yere oturmuş ve farklı tekniklerle elde edilen bilgileri doğrulama ve güvenilirliğini artırmada en etkili yöntem olagelmiştir (Tamarin 2002). DNA dizi analizi uygulamalarının zahmetli ve pahalı olması bu tekniğin bir dezavantaj oluştursa da 90'lı yıllardan sonra oluşturulan otomatik DNA dizi analizi sistemleriyle bu sorun giderilebilmiştir (Özdil 2005).

Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) tekniğinin geliştirilmesi de moleküler biyoloji alanında önemli ilerlemeler sağlamış, bu teknik kullanılarak birçok organizmada DNA varyasyonunun tespit edilmesi kolaylaşmıştır (Özdil 2005).

Kullanılan ilk markerler genlerdir. 20. yüzyılın başlarında ilk genetik markerler meyve sineği (*Drosophila melanogaster*) gibi organizmalarda kullanılmış ve genleri esas almıştır. Genetik analizlerde kullanılabilmek için bir gen, her biri farklı bir fenotipi determine eden en az iki allele sahip olmalıdır. Örneğin Mendel'in bezelyelerde çalıştığı bitki boynun uzun ya da bodur olma halleri gibi. Başlangıçta çalışılan genler ancak gözle görülür bir fenotipi determine eden genlerdir (meyve sineğinde kanat şekli gibi). Ancak genetikçiler zamanla böyle genlerin çok sınırlı sayıda olduğu anlamışlardır.

Dahası bazı karakterler poligenik kalıtım gösterebilmektedirler. Buna bağılı olarak gözle görünen özelliklerden daha ayırıcı ve daha az karmaşık özelliklere ihtiyaç duyulmuştur. Aranılan yanıt biyokimyada bulunmuştur. Biyokimyasal yöntemlerle görünen fenotiplerden çok daha fazlasına ilişkin bilgi elde edilebilmektedir. Biyokimyasal sistemler bakımından tespit edilen genetik varyasyondan popülasyonlar arası farklılık ve benzerliklerin tespit edilmesinde, hayvanların kökenlerinin kontrolünde, türler arasındaki filogenetik ilişkilerin belirlenmesinde ve modern ıslah çalışmalarında yararlanılmaktadır (Brown 2007).

Popülasyonların tanımlanmasında, evcil hayvanların kökenlerinin belirlenmesinde RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism), SSLP (Simple Sequence Length Polymorphism), RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA), AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism), mikrosatelitler gibi çok değişik yöntemlerden yararlanılmaktadır. Bu yöntemlerden biri olan SNP (Single Nucleotide Polymorphisms; tek nükleotit polimorfizmleri), genomda bir allelin bir nükleotidine karşılık diğere allelin bir başka nükleotidinin bulunduğu durumlardır. Her genomda büyük miktarda SNP vardır. Bazıları RFLP yöntemleriyle belirlenebilse de çoğu için bu durum geçerli değildir zira buldukları diziler herhangi bir restriksiyon enziminle tanınmaz. Dört nükleotidin her biri genomda herhangi bir pozisyonda bulunabilir. Böylece her SNP için dört allel düşünülebilir. Teorik olarak bu mümkün olmasına karşın gerçekte her SNP için iki allel söz konusudur. Bu durum SNP'lerin genomda bir nükleotidi diğere dönüştüren nokta mutasyonları sonucu oluşmasından kaynaklanır (Brown 2007).

SNP'ler en yaygın DNA polimorfizmleridir. Yaklaşık 350 bç'de bir (Tamarin, 2002'e göre 1 kb'da bir; Ye vd., 2001'e göre 250 bç'de bir) gözlemlenmekte ve DNA dizi varyasyonunun % 90 – 95'ini teşkil etmektedirler. Replikasyon hataları gibi kendiliğinden ortaya çıkan nokta mutasyonlarından kaynaklanmaktadır. Büyük çoğunluğu genomun herhangi bir enzim ya da protein karşılığı olmayan bölgelerinde meydana gelmektedir (Russell 2006).

SNP'ler restriksiyon enzimleriyle muamele edilip Southern blot veya günümüzde daha yaygın olan PCR ile belirlenebilmektedir. Ancak SNP'nin genetik araştırmalardaki esas

önemi, belirlenmesi için hızlı ve etkili yöntemler geliştirilmesini beraberinde getirmiş olmasıdır. Bu yöntemlerin çoğu allel özgün oligonükleotit (ASO) hibridizasyon analizlerine dayanmaktadır (Russell 2006). Oligonükleotit kısa tek zincirli bir DNA molekülüdür. Genelde 50 nükleotitten kısadır ve invitro sentezlenir. Uygun koşullarda oligonükleotit bir başka DNA molekülü ile hibridize olur. Bunun gerçekleşmesi oligonükleotidin diğer DNA molekülü ile tamamen uyuşmasına bağlıdır. Eğer tek bir uyuşmama söz konusu ise hibridizasyon gerçekleşmez (Brown 2007). Buradan hareketle oligonükleotit hibridizasyonu bir SNP'nin iki allelini belirlemekte kullanılabilir.

Oligonükleotit hibridizasyonuna dayanarak geliştirilen yöntemler:

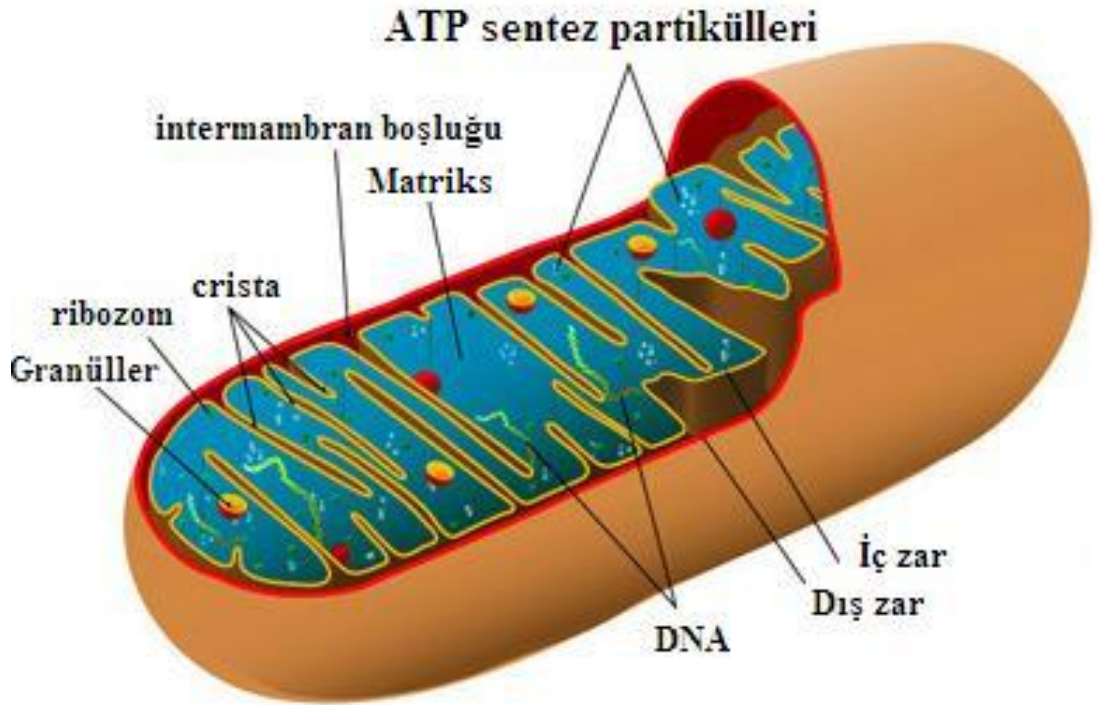
- DNA çip (mikroarray) teknolojisi: 2cm^2 'den küçük cam ya da silikon plakalar ya da naylon membran üzerine çok sayıda farklı oligonükleotit yüksek yoğunlukla yerleştirilir. Hedef DNA floresan ile işaretlenerek çipin üzerine konur, floresan mikroskopla çip incelenerek hibridizasyon tespit edilir (Russell 2006).
- Çözelti hibridizasyon teknikleri: Farklı oligonükleotitler içeren çözeltiler ve hibridize olmamış tek eksenli bir DNA ile iki eksenli ürünü ayırabilecek bir sistem kullanılarak gerçekleştirilir (Brown 2007).

DNA mikroarray ve çipleri çok sayıda hibridizasyon deneyini paralel biçimde yürütmeye olanak vermek için tasarlanmıştır. Bu teknolojilerin ana uygulamaları SNP gibi polimorfizmlerin görüntülenmesi ve farklı hücrelerin RNA populasyonlarının karşılaştırılması olmaktadır (Brown 2007).

SNP belirlenmesinde kullanılan diğer yöntemler de, 5' ya da 3' ucunda SNP ile uyuşmazlık (mismatch) olan bir oligonükleotit kullanılmaktadır. Uygun şartlar altında, böyle bir oligonükleotit, uyuşmazlık gösteren kalıp DNA ile kısa, baz eşleşmesi olmamış bir kuyruk ile birlikte hibridize olacaktır.

2.4 Mitokondriyal Genomun Yapısı

Mitokondri iki membrana sahip, özgün bir DNA molekülü (mtDNA) ve ribozomları olan ve sentezlediği çeşitli enzimler ile hücre içinde çok sayıda işlevi olan bir organeldir. Boyları 0.2 – 5 mikron arasında, oval ya da çubuk şeklindeki organeller olup, sayıları hücre başına birkaç taneden 2500'e kadar değişebilmektedir. Bakterilerde, yeşil alglerde ve memeli eritrositlerinde bulunmazlar. Kalınlıkları 70 Å olan iki zarla çevrilidirler. İçteki zar iç yüzeyin artırılması için belirli aralıklarla kıvrımlar meydana getirir, bu kıvrımların tarak şeklinde olanlarına “crista”, tüp şeklinde olanlarına “tubulus” denilmektedir. İç zarın kıvrımları elektron taşıma sistemi enzimlerini, aradaki sıvı kısım (matriks) ise mitokondri içine giren maddeleri parçalayan enzimleri içermektedir (Demirsoy 2001).

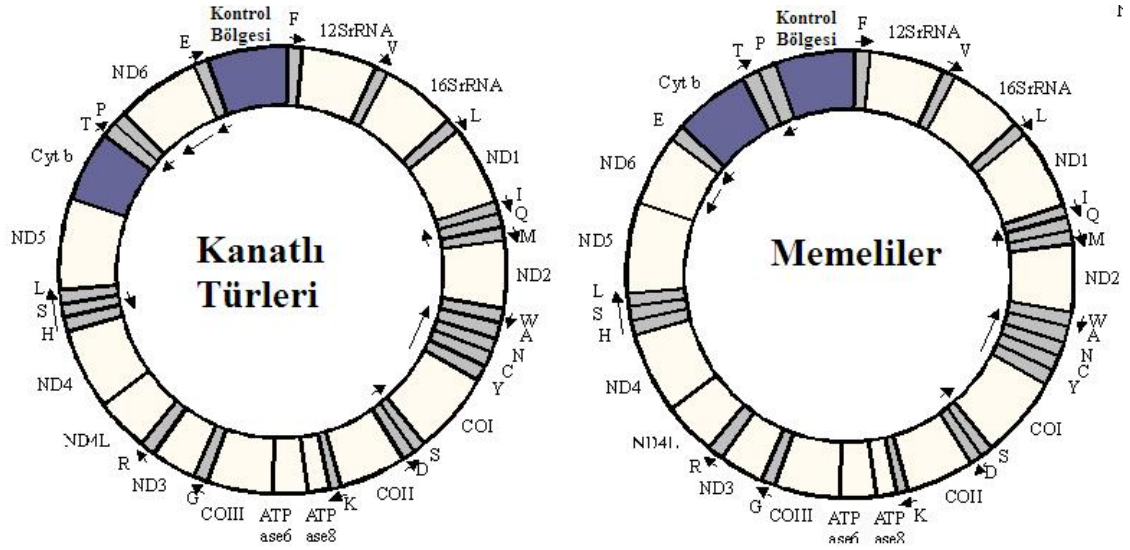


Şekil 2.4 Mitokondri organeli. (<http://en.citizendium.org/wiki/Mitochondrion>, 2010)

Mitokondriler, hücrel homeostazis, hücre içi iletişim, apoptozis ve amino asit, lipid, kolesterol, steroid ve nükleotit metabolizmasında rol alırlar. En önemlisi mitokondri hücrel enerji metabolizmasında β yağ asitlerinin oksidasyonu, üre döngüsü ve son olarak solunum zincirinde ATP üretimi ile temel bir role sahiptir. Mitokondriyal

solunum zinciri, iç mitokondriyal membrandaki beş enzim kompleksinden meydana gelir. Her kompleks çok sayıda alt ünitelerden oluşmakta olup bunların en büyüğü olan Kompleks I, 40 polipeptit içermektedir. Karbonhidrat, protein ve yağ metabolizmasından elde edilen indirgenmiş kofaktörler (NADH ve FADH₂) Kompleks I ve Kompleks II'ye elektron iletimini sağlamaktadırlar. Bu elektronlar, kompleks III ve IV ile iki hareketli elektron taşıyıcısı (ubiquinone ve sitokrom *c*) tarafından kompleksler arasında iletilmektedir. Kompleks I-IV'ün elektron transfer işlevi, prostetik gruplarda (örneğin demir-sülfür grupları) bulunan alt üniteler vasıtası ile gerçekleştirilmektedir. Açığa çıkan enerji, kompleks I, III ve IV tarafından, protonların mitokondriyal matriksin dışına, membranlar arası boşluğa itilmesinde kullanılmaktadır. Mitokondriyal membranın en büyük kısmını oluşturan bu proton kitlesi, adenzin difosfat (ADP) ve inorganik fosfattan Adenzin trifosfat (ATP) sentezlemek üzere Kompleks V tarafından kullanılır. Bütün bu süreç oksidatif fosforilasyon (OXPHOS) olarak adlandırılır. ATP, hücre içindeki tüm aktif metabolik süreçlerde kullanılan yüksek bir enerji kaynağıdır (Chinnery ve Schon 2003).

Kuş ve memeli mitokondriyal DNA (mtDNA) molekülü, küçük (türlerine göre değişmek üzere 15-20 kb) dairesel bir molekül olup, 22 tRNA, 2 rRNA ve 13 mRNA kodlayan 37 gen içermektedir. Sözü geçen 13 mRNA, mitokondrinin oksidatif fosforilasyonunda ve elektron taşınmasında görev alan proteinleri kodlamaktadırlar. Mitokondriyal genom çok etkin bir şekilde düzenlenmiştir. İntron (enzim ya da protein karşılığı olmayan DNA bölgesi) içermez. Buna karşılık genler arası küçük boşluklar içerir. Bir enzim ya da protein karşılığı bulunmayan esas bölgesi Kontrol bölgesidir ve bu bölge ağır (H) ve hafif (L) eksenlerin transkripsiyonu ile H ekseninin replikasyonundan sorumludur (Şekil 2.8).



Şekil 2.5 Kuş ve memelilerin mitokondriyal genomları (Desjardins and Morais (1990)'dan değiştirilerek çizilmiştir). tRNA genleri, tek harfli amino asit kodları ile tanımlanmıştır. Dış halka ağır (H) ve iç halka hafif (L) eksenini temsil etmektedir. Transkripsiyon yönü oklarla gösterilmiş, ok ile işaretlenmeyen kısımlarda gen, H ekseninden saat yönünde transkribe edilmektedir

Mitokondriyal DNA, birçok özelliği ile nükleer DNA'dan farklılık göstermektedir (Çizelge 2.2). İlk olarak mtDNA, oksidatif fosforilasyon (OXPHOS), tRNA ve rRNA'lar ile ilgili az sayıda (toplamda 13) protein sentezlemektedir. Geri kalan tüm mitokondriyal proteinler nükleer genomda kodlanmaktadır (Wang 1996, Fourtounis 1999). İnsanlarda da oksidatif fosforilasyonda görev alan 80 adet proteinden 13'ü mtDNA'da kodlanmaktadır (Chen and Butow 2005).

İkinci olarak mtDNA birçok türde maternal (anaya ait) kalıtım göstermektedir. Nükleer genlerde, ana ve babaya ait genetik materyalin, yumurtanın sperm ile döllenmesine bağlı olarak eşit şekilde aktarılması söz konusudur. Oluşan embriyo ana ve babadan gelen, homolog (benzer) kromozom setlerine sahiptir ve bu bilgi hücre bölünmesi ile sürekli aktarılmaktadır. Ne var ki, mitokondriyal genomda çoğunlukla maternal (anaya ait) kalıtım izlenmektedir. Zira spermeler birkaç yüz mtDNA kopyası taşırken, yumurta hücreleri yüz binlerce kopya içermektedir. Buna bağlı olarak mtDNA'nın % 0.1'den azı spermeler tarafından oluşturulmakta ve genotipi çok az etkilemektedir (Wang 1996, Fourtounis 1999, Chinnery and Schon 2003). Buna karşılık farelerdeki paternal (babaya ait) ve deniz midyelerindeki biparental kalıtım gibi az sayıdaki türde maternal kalıtım modelinden sapmalar görülmektedir (Kvist 2000). Ayrıca insanlarda ve hayvanlardaki

kimi genetik hastalıkların da mtDNA vasıtası ile maternal olarak dölden döle aktarıldığı belirtilmektedir (Wang 1996, Li 1998, Chinnery ve Schon 2003).

Mitokondriyal genomun üçüncü özelliği heteroplazmik yapısı ve gerek mitoz gerekse mayoz bölünme esnasındaki kopyalanma ayrımıdır (replicative segregation). Diploid canlılar her hücrede nükleer DNA'nın iki kopyasına sahipken, mtDNA'nın, hücre tipine göre değişmek üzere, 1000 – 100000 kopyasına sahiptirler. Bu kopyaların hepsi aynı kökene ait olabileceği gibi (homoplazmi), hücreler farklı kökenlere ait mtDNA moleküllerine de (veya mutant ve normal mtDNA'ların karışımlarına da) sahip olabilmektedir ve buna heteroplazmi denir. Bu mtDNA kopyaları mitoz ve mayoz bölünme sonrasında rasgele dağılabilmektedirler (Chinnery and Schon 2003). Bunun anlamı, aynı genotipe sahip hücre ya da bireylerin (tek yumurta ikizleri gibi) farklı fenotiplere sahip olabilecekleridir (Wang 1996). Mutant mtDNA'ların oranı türden türe, bireyden bireye, organdan organa ve hatta aynı bireydeki hücreler arasında çok büyük farklılıklar gösterebilmektedir. Hücrelerin, biyokimyasal solunum zincirinde bir hata olmaksızın % 70-90 mutant mtDNA kopyası barındırabilecekleri belirlenmiştir (Chinnery and Schon 2003). Ne var ki, insanlarda heteroplazmi yaygın değildir ve bu durum hücrelerin aynı mitokondriyal genotipe sahip olma eğiliminde olduklarının bir göstergesi kabul edilmektedir (Fourtounis 1999).

Bir başka özellik olarak mitokondriyal atasal genlerinin büyük bir kısmını kaybetmiş durumdadırlar (Fourtounis 1999). Bu durumun mtDNA'nın nükleer DNA'dan 10-20 kat daha hızlı gerçekleşen mutasyonlarına, tek taraflı (maternal) kalıtıma ve rekombinasyon eksikliğine bağlı olabileceği düşünülmektedir. Her hücre döngüsü boyunca yalnızca bir kez kopyalanan nükleer DNA'nın aksine mtDNA, beyin ve iskelet kasları gibi dokularda bile devamlı bir döngü halinde olup buna bağlı olarak mtDNA kopyalanması hücre döngüsünden bağımsız gerçekleşmektedir (*gevşek replikasyon*). Heteroplazmik hücrelerde yabancı ve mutant tip mtDNA'ların farklı oranlarda kopyalanması mümkündür (Chinnery and Schon 2003). Teorik olarak bu mekanizma mutant mtDNA'ların oranının değişmesine yol açabilir ki bu durum hızlı evrim oranına ilişkin bir açıklama sunabilir. mtDNA'daki mutasyon frekansının nükleer DNA'dan 10-20 kat daha fazla olduğu bilinmektedir. Gerçekten de mtDNA'da homolog kromozomlar

bulunmamasına bağlı olarak mayoz bölünme esnasında crossing-over gerçekleşmemesi dolayısıyla yeni kombinasyonların oluşmaması gerçeği göz önüne alındığında mitokondriyal genomdaki varyasyonların açıklanması nükleotit eksilmesi (delesyon), nükleotit eklenmesi (insersiyon), nükleotit değişimleri (transisyon ve transversiyon) ve yanlış eşleşmelerden (mismatch) kaynaklanmaktadır. Bu denli yüksek oranlarda mutasyon meydana gelmesi, mtDNA hata tamir mekanizmalarının etkin bir şekilde çalışmamasını akla getirmektedir. Gerçekten de Butler (2005), mitokondriyal genomda nükleer genoma göre daha az hata tamir mekanizmasının olduğunu, ayrıca mtDNA polimerazın *proof reading* (kontrol ve düzeltme) mekanizmasının bulunmadığını böylece replikasyon esnasında çok sayıda mutasyon meydana gelerek genetik varyasyonun arttığını bildirmektedir.

Mitokondriyal DNA boyut bakımından da nDNA'dan farklılık arz eder. Çekirdek genom birçok türde milyonlarca kb. büyüklüğündeyken, mtDNA türlere göre değişmek üzere 15-20 kb. büyüklüğündedir. Bu boyut farkı, kodlanan genlerin sayısı kadar nükleer genomun birçok ökaryotta çok geniş intron bölgeleri içermesine karşılık mtDNA'da intron bölgelerinin bulunmayışından kaynaklanmaktadır. MtDNA'da herhangi bir enzim ya da protein karşılığı bulunmayan bölgeler yalnızca küçük intergenik bölgeler ile bir enzim ya da protein karşılığı bulunmayan ancak replikasyon ve transkripsiyonda temel rol alan kontrol bölgesi'dir.

Bunlara ek olarak mtDNA, nükleer DNA'dan daha farklı bir genetik kod kullanmaktadır. Örneğin, evrensel (nükleer) genetik kodlamada UGA sonlandırma (STOP) kodunu iken mitokondriyal transkripsiyonda aynı kodon triptofan (Trp) amino asidini kodlamaktadır. Benzer şekilde mitokondriyal genetik kodda AUA kodunu izolösin (Ile) yerine metionin (Met) kodlamakta, AGA ve AGG kodonları ise arjinin (Arg) amino asidini kodlamak yerine STOP kodunu olarak görev almaktadırlar (Butler 2005).

Çizelge 2.2 İnsan çekirdek DNA'sı ve mtDNA'sının karşılaştırılması (Butler 2005'ten değiştirilerek hazırlanmıştır).

Özellik	Çekirdek DNA (nDNA)	Mitokondriyal DNA (mtDNA)
Genomun büyüklüğü	3.2 milyon kb.	16 kb.
Hücre başına kopya sayısı	2 (her ebeveynden bir allel)	1000 – 100000
Yapı	Kromozomlar halinde paketlenmiş	Dairesel
Kalıtım modeli	Her iki ebeveyne ait	Anaya ait
Kromozomal eşleşme	Diploid	Haploid
Rekombinasyon	+	–
Replikasyon tamiri	+	–
Özgünlük	Bireye özgü	Bireye özgü değil
Mutasyon oranı	Düşük	nDNA'nın 10-20 katı

2.5 Tavuk (*Gallus gallus*) Mitokondriyal Genomu

Tavuklarda genetik çalışmalar 20. yüzyıl'ın başlarına uzanmaktadır ve o günden günümüze kadar, yüzlerce iyi tanımlanmış mutant ve ıslah hatları geliştirilmiştir. Tavuk embriyosu, *in ovo* embriyogenesisin deneysel avantajlarına bağlı olarak gelişim biyologları için oldukça kullanışlı bir omurgalı sistemi sunmaktadır. Bunun dışında tavuk, immünolojide, onkogenesiste ve virolojideki seminal çalışmalarda kullanılmaktadır. Son yüzyılın başlarında tavuk genetik bağlantı haritası oluşturulmaya başlanmıştır ve günümüzde toplam 4000 cM uzunluğunda 2172 genetik lokus içerdiği bilinmektedir. Tavuk karyotipi, çok farklı büyüklüklerde olan ve buna bağlı olarak mikro ve makro olarak adlandırılan $2n=78$ adet kromozomdan meydana gelmektedir (International Chicken Genome Sequencing Consortium 2004). Bu kromozomlar, 8 çift makrokromozom, 30 çift mikrokromozom ve bir çift de eşey kromozomunu (dişiler ZW/ erkekler ZZ) kapsamaktadır (Pereira 2004).

Tavuk mitokondriyal genomunun tamamı ilk kez beyaz Leghorn tavuklarına ilişkin olarak Desjardins ve Morais (1990) tarafından yayınlanmıştır. 16775 bç. büyüklüğünde olduğu bildirilen tavuk mtDNA'sı diğer omurgalı mtDNA'larına nispeten farklı özellikler göstermekteyse de protein genleri memelilerdeki homologlarına çok benzemektedir ve aynı genetik kodu kullanarak translasyon gerçekleştirmektedirler.

Kodonların üçüncü pozisyonunda Guanin (G) nispeten ender bulunmakta ve çeşitli genler çakışmaktadır.

Üzerinde durulan birçok özellik bakımından tüm omurgalıların mtDNA'ları aynı olsa da kanatlı genomu bazı önemli farklılıklara sahiptir. Öncelikle kanatlılarda gen sırası diğer omurgalılardan farklıdır (Şekil 2.6). ND5 geni (nikotinamid adenin dinükleotit dehidrogenaz alt ünitesi 5), kanatlı mtDNA'sının L ekseninde 5'→3' yönünde sırası ile sitokrom b (*cyt b*), tRNA^{Thr}, tRNA^{Pro}, ND6 ve tRNA^{Glu} genlerince takip edilmektedir (Desjardins ve Morais 1990) (Şekil 2.5). Bu yeni düzenlemenin, en azından iki bağımsız delesyonun takip ettiği bir replikasyon kaymasına bağlı olan dublikasyonlarca meydana getirildiği düşünülmektedir (Quinn and Wilson 1993). İkinci olarak, diğer omurgalılarda tRNA^{Cys} ve tRNA^{Asn} arasında yer alan L eksen replikasyon orijini (O_L) kanatlı genomunda mevcut değildir (Desjardins ve Morais 1990). Bunlara ilaveten, COI (sitokrom oksidaz I) bölgesinin başlatma kodonu ATG yerine GTG'dir.

Tavuk mitokondriyal genomunda 37 gen kodlanmaktadır (Çizelge 2.3). Bu genlerin 24 tanesi mtDNA'nın translasyonunda rol almaktadır (22 tRNA ve 2 rRNA kodlanır). Geri kalan 13 gen; karbonhidrat ve yağların CO₂, H₂O ve ATP ortaya çıkarmak üzere oksitlendiği elektron taşıma zincirinin alt ünitelerini kodlamaktadırlar (Chinnery and Schon 2003).

COI ve *Cyt b* solunum esnasındaki elektron iletiminden; 16S rRNA ribozomun büyük alt biriminin sentezinden, 12S rRNA ribozomun küçük alt biriminin sentezinden sorumludurlar. Sitokrom b (*cyt b*), mitokondriyal oksidatif fosforilasyon sistemindeki beş protein kompleksinden biri olan kompleks III'ü oluşturan dokuz proteinden en iyi bilinenidir. Ekstra ya da intramembran bölgelerce bağlanan 8 transmembran bölge içerir (Şekil 2.9). Araştırmalarda en çok kullanılan mtDNA genlerinden biri olan *cyt b* ile ilgili atlarda ve Japon bildircinlerinde PCR-RFLP analizleri, mavi hint bildircinlerinde sekans analizleri ve 13 farklı kanatlı türünde filogenetik analizler yapıldığı bildirilmektedir (JunShen vd. 1999). Sitokrom b, mitokondriyal DNA tarafından kodlanan tek sitokromdur (Kvist 2000).

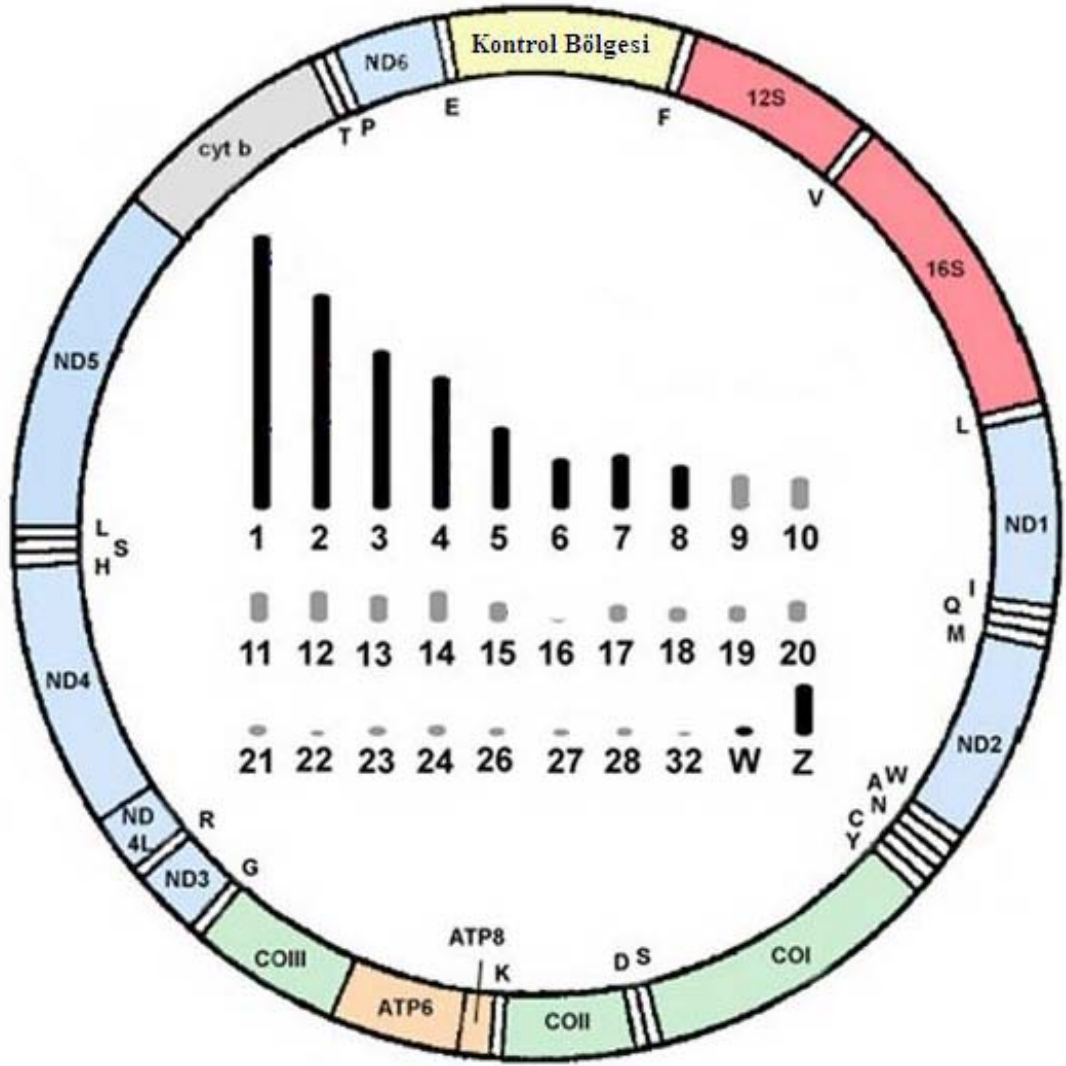
mtDNA'ca kodlanan genler enerji üretimi, metabolizma, hücrel homeostazis ve apoptozis için gereklidir (Guan 2007). Genellikle filogenetik araştırmalarda kullanılmalarına rağmen, az sayıdaki çalışmada, mtDNA'daki gen varyasyonlarının ekonomik üretime konu olan karakterlere etkisinden söz edilmektedir. Örneğın Mannen vd. (2003), mitokondriyal genomdaki SNP'lerin karkas özellikleriyle önemli ölçüde ilişkili olduğunu bildirmiş, Li (1998) NDIV geninin Beyaz Leghorn'larda Marek hastalığına direnç ile ilişkili olduğunu bildirmiştir.

ATP6 geni normal mitokondriyal fonksiyon için gerekli bir protein için gereken bilgiyi sağlar. ATP6 proteini ATP sintaz adı verilen büyük bir enzimin alt ünitesini oluşturur. Kompleks V olarak da bilinen bu enzim oksidatif fosforilasyonun son aşamasından sorumludur.

ND (Nicotinamide Dinucleotide) genleri NADH (Nicotinamide Adenine Dinucleotide Hydrogen) dehidrogenaz proteinlerinin yapılması için gerekli bilgiyi sağlarlar. Bu proteinler Kompleks I olarak da bilinen büyük bir enzimin parçasıdır. Kompleks I, oksidatif fosforilasyon için gerekli çeşitli enzim komplekslerinden biridir. Mitokondride bu kompleksler, iç mitokondriyal zar denilen, sıkı, özelleşmiş bir zarda yer alırlar. Burada oksijen ve basit şekerler kullanılarak adenosin trifosfat (ATP) üretilmesine dayanan oksidatif fosforilasyon süreci gerçekleşir. Oksidatif fosforilasyon sırasında mitokondriyal enzim kompleksleri ATP üretimini sağlayan kimyasal reaksiyonları gerçekleştirirler. Spesifik olarak mitokondriyal membran boyunca elektronların adım adım transferini sağlayan eşit olmayan bir elektriksel yük oluştururlar. Elektrik yükündeki bu farklılık ATP üretimi için enerji sağlar.

Çizelge 2.3 Beyaz Leghorn'larda mtDNA'da yer alan genlerin sırası ile isim ve büyüklükleri (Desjardins ve Morais 1990)

Gen veya bölge	Boyut (bç)	Gen veya bölge	Boyut (bç)
Kontrol bölgesi	1227	CO2	684
tRNA ^{Phe}	69	tRNA ^{Lys}	68
12S rRNA	976	ATPase8	165
tRNA ^{Val}	73	ATPase6	684
16S rRNA	1621	CO3	786
tRNA ^{Leu}	74	tRNA ^{Gly}	68
ND1	975	ND3	351
tRNA ^{Ile}	72	tRNA ^{Arg}	68
tRNA ^{Gln}	71	ND4L	297
tRNA ^{Met}	69	ND4	1380
ND2	1041	tRNA ^{His}	69
tRNA ^{Trp}	76	tRNA ^{Ser}	65
tRNA ^{Ala}	69	tRNA ^{Leu}	71
tRNA ^{Asn}	73	ND5	1818
tRNA ^{Cys}	66	Cytb	1143
tRNA ^{Tyr}	71	tRNA ^{Thr}	69
CO1	1548	tRNA ^{Pro}	70
tRNA ^{Ser}	75	ND6	522
tRNA ^{Asp}	69	tRNA ^{Glu}	68

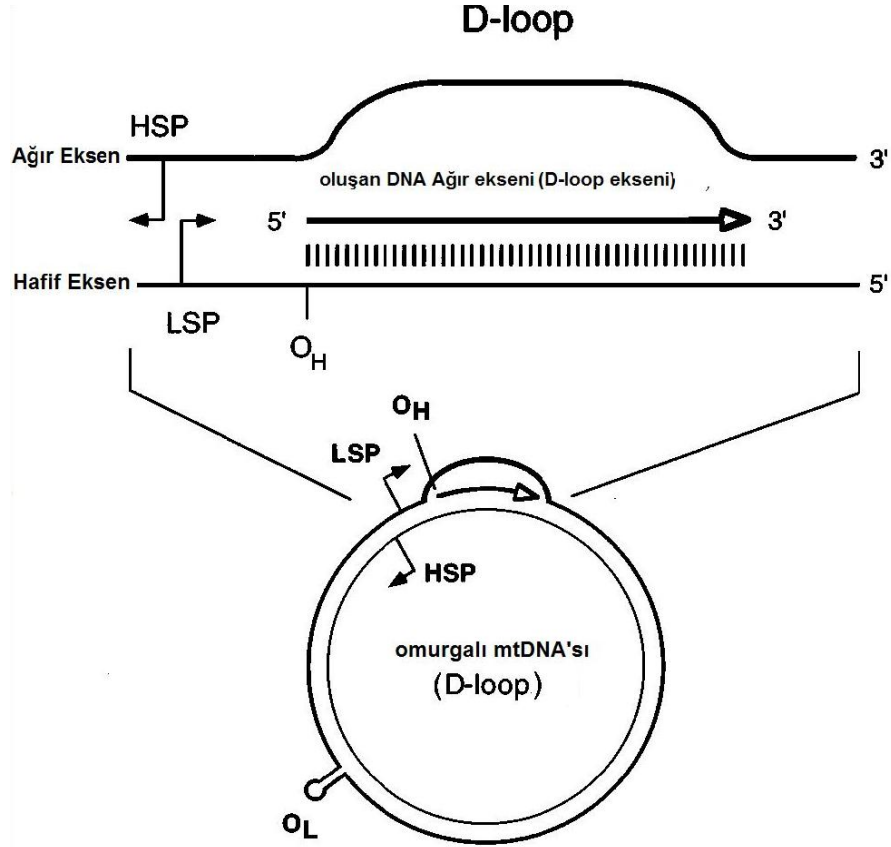


Şekil 2.6 Tavuk mitokondriyal DNA'sı ve tavuk karyotipinin şematik gösterimi (Pereira vd. 2004'ten değiştirilerek çizilmiştir). Gen isimleri: cyt b – sitokrom b; COI, COII ve COIII – sitokrom oksidazın I, II ve III numaralı alt birimleri; ND1-6 – NADH redüktazın 1-6 numaralı alt birimleri; tRNA'lar IUPAC tek harfli amino asit gösterimleri ile simgelenmişlerdir; ribozomal gen alt birimleri 12S ve 16S olarak gösterilmiştir. Dairesel mitokondriyal genomun içinde bir karyotip gösterimi yer almaktadır. 1-8 numaralı kromozomlar makrokromozomlar, W ve Z eşey kromozomları ve diğerleri mikrokromozomlardır. Klasik yöntemlerle gruplanamayan daha küçük mikrokromozomlar gösterilmemiştir.

2.5.1 Mitokondriyal DNA Kontrol Bölgesi (D-loop Bölgesi)

Mitokondriyal DNA ağır eksen (HS; Heavy strand) ve hafif eksen (LS; Light strand) olarak adlandırılan iki eksenden oluşmaktadır. Yapılan çalışmalarda, transkripsiyon promotorlarını barındıran ve ağır eksenin replikasyon başlangıç yeri ile yakın ilişkide olan herhangi bir enzim ya da protein karşılığı olmayan bir bölge saptanmıştır. Bu bölgeye mtDNA'nın yer değişim düğümü (displacement loop/ D-loop) denmektedir

(Şekil 2.11). Promotorlar ve sürekli eksen orijini, D-loop yapısının 5' ucuna yakın bulduklarından bu lokusun tamamı genel olarak D-loop düzenleme bölgesi ya da kontrol bölgesi olarak adlandırılır (Shadel and Clayton 1997).



Şekil 2.7 Omurgalı mtDNA'sı ve D-loop bölgesinin şematik gösterimi (Shadel and Clayton 1997). HSP: Ağır eksen promotörü, LSP: Hafif eksen promotörü, O_H: Ağır eksen replikasyon başlangıç yeri, O_L: Hafif eksen replikasyon başlangıç yeri. Tavuk mitokondriyal genomunda O_L bölgesi bulunmamaktadır.

Kontrol bölgesi mtDNA'da yer alan, herhangi bir enzim ya da protein karşılığı olmayan büyük bir bölgedir. Uzunluğu tavukta 1227 – 1231 bç. olarak bildirilmektedir (Deşjardins ve Morais 1990 ve Nishibori vd. 2003). H ekseni replikasyon başlangıç yerini ve her iki eksen için transkripsiyon promotörlerini içermektedir. Mitokondriyal genomun diğer bölgelerinden daha hızlı evrim geçirmekte ve kanatlı türlerinde son derece yüksek varyasyon göstermektedir (Wenink vd. 1994).

Kontrol bölgesi kanatlılarda üç kısma ayrılmaktadır (Şekil 2.12). Kontrol bölgesinin 5' ucundaki ilk bölge, "C-stretch" denilen sitozin yoğun bir bölge ile "sonlandırma ile ilişkili dizi" (TAS – Termination Associated Sequence) bölgelerini içermektedir. C-

yoğun bölgesinin yeri (5' ucu) kanatlılarda karakteristiktir. Kimi başka omurgalılarda (örn.: kurbağa) bu bölge bulunduysa da 5' ucunda yer almamaktadır. Orta bölge en korunumlu bölgedir. Çeşitli yapısal bileşenleri içermekte olup, farklı kuş familyalarında bile karakterize edilebilmektedir. Bu bileşenlerin üçü (F, D ve C kutuları) Desjardins ve Morais (1990) tarafından *Gallus domesticus*'ta ve Quinn ve Wilson (1993) tarafından *Anser caerulescens*'te tanımlanmıştır. Kuş familyaları arasında C ve F kutuları ile yüksek benzerlik gösteren B ve E kutuları da tanımlanmıştır. E ve D kutularının ortalarında, oksidatif fosforilasyonun düzenlenmesi ile ilişkili çekirdek transkripsiyon faktörlerini bağlama yeteneğindeki benzer dizilerden oluşan kısa bölgeler mevcuttur (sırası ile rebox ve mt3). Genellikle en değişken kısım, kontrol bölgesinin 3' ucundaki üçüncü kısımdır. Bu bölge "korunmuş sekans bloğu 1" (CSB1 – Conserved Sequence Block 1) ile başlar. Kanatlı türlerindeki Kontrol bölgesi dizi varyasyonlarının esas olarak bu bölgede gerçekleştiği ve tavuklarda bu bölgede dublikasyonlar bulunduğu bildirilmektedir (Desjardins ve Morais 1990). Mitokondriyal Transkripsiyon Faktörü (mtTFA) muhtemelen CSB1'e bağlıdır ve transkripsiyondan replikasyona çeşitli süreçlerden sorumludur. Üçüncü bölgenin geri kalanı fonksiyonel işlemlerden bağımsız gibi görünmektedir ve türler arası geniş insersiyon ve delesyonlar ile tür içi ardışık tekrarlar içermektedir (Kvist 2000).

2.6 Kaynak Özetleri

Dünya üzerinde çok sayıdaki tavuk ırk ve hatlarının tanımlanması ve filogenetik ilişkilerinin belirlenmesi için mitokondriyal genom üzerinde yürütülmüş çok sayıda çalışma mevcuttur. Bu kısımda, tavuk mtDNA'sı üzerine temel çalışmalar ile özellikle yerli tavuk ırkları üzerine çalışmalar özetlenmeye çalışılmıştır.

Tavuk mitokondriyal genomunun tamamı ilk kez Desjardins ve Morais (1990) tarafından yayınlanmıştır. Beyaz Leghorn tavukları üzerinde yürüttükleri çalışmada, 16775 bç. büyüklüğündeki tavuk mitokondriyal genomunu klonlayarak dizi analizine tabi tutmuşlardır. Memeli ve amfibi mtDNA'sı ile karşılaştırdıkları tavuk mtDNA'sının diğer omurgalılar gibi 37 gen kodladığını, bunların 13 tanesinin protein, 22 tanesinin tRNA ve 2 tanesinin rRNA kodladığını tespit etmişlerdir. Protein genlerinin diğer omurgalılardakilere çok benzediğini bildirmiş ancak bu korunmuş özelliklere karşın tavuk mtDNA'sının diğer omurgalı canlılardakinden farklı bir gen sırası takip ettiğini ve diğer omurgalı canlılarda tRNA^{Cys} ve tRNA^{Asn} genleri arasında yer alan hafif eksen replikasyon orijininin tavuklarda mevcut olmadığını bildirmişlerdir. Quinn ve Wilson (1993) da kaz mtDNA'sı üzerinde yürüttükleri çalışmada bu yeni gen sırasını doğrulamakta ve tavuk, bildircin ve kaz mtDNA'larında gen sırasının aynı olduğunu bildirmektedirler.

14 Tayland kırmızı orman tavuğu (10 *G.g. gallus* ve 4 *G.g. spadiceus*), 5 Endonezya kırmızı orman tavuğu (*G. g. bankiva*) ve 30 yeşil orman tavuğu (*Gallus varius*)'na ilaveten 26 evcil ırkı temsil eden 72 bireye ait mtDNA kontrol bölgesi üzerinde yürütülen RFLP ve dizi analizi temelli çalışmada *Gallus* cinsine özgü 60 bazlık ardışık bir dublikasyon saptanmıştır. Ayrıca Tayland ve Endonezya kırmızı orman tavukları arasında % 7.0 – 27.8'e varan sekans farklılığı saptanmıştır. Tayland kökenli *G. g. gallus*'tan gelen evcil tavuk ırkları arasında ise % 0.5 -3.0 düzeyinde varyasyon belirlenmiştir. Buradan hareketle araştırmacılar günümüz evcil tavuklarının tek bir kökenden geldiğini (monofiletik orijin) ileri sürmektedirler (Fumihito vd. 1994).

Aynı araştırmacılar tarafından 1996 senesinde yapılan çalışma da bu sonuçları destekler niteliktedir. 12 RJF (*Gallus gallus*) (*G. g.gallus* n=6; *G. g. spadiceus* n=3; *G. g. bankiva* n=3) ve 9 evcil ırk (*G. g. domesticus*), 4 yeşil orman tavuğu (*G. varius*), 2 Seylan orman tavuğu (*G. lafayettei*) ve 1 gri orman tavuğu (*G. sonnerati*) olmak üzere 28 örnekle yürüttükleri çalışmada mtDNA Kontrol Bölgesi'nin dizi analizlerini yapmışlardır. Elde ettikleri verileri kullanarak meydana getirdikleri filogenetik ağaçlar neticesinde *G. g. gallus*'un sözü geçen çalışmadaki tüm evcil ırkların esas orijini olduğunu belirlemişlerdir. Ayrıca *G. bankiva* dışında kalan *G. gallus* alt türleri arasında ciddi bir farklılık bulunmadığını bildirmişlerdir (Fumihito vd. 1996). Bu görüşler evcil tavuğun tek bir kökenden türediğini belirten Darwin (1868)'i doğrulamaktaysa da Darwin bu kökenin *G. bankiva* olduğunu bildirmektedir.

Beyaz Leghornlarda mtDNA varyasyonlarının çeşitli karakterlere etkilerine ilişkin olarak yapılan araştırmada ND IV geninin varyasyonlarının Beyaz Leghornlar'da Marek hastalığına direnç ile ilişkili olduğu ve mtDNA'daki varyasyonlara bağlı olarak 130 günlük canlı ağırlıkta fark oluştuğu bildirilmiştir (Li 1998, Li vd. 1998).

Sorenson vd. (1999), öncelikle kuşlar olmak üzere omurgalı canlılarda mtDNA dizilerinin polimeraz zincir reaksiyonuna (PCR) dayanarak belirlenebilmesi için kullanılmak üzere 83' test edilmiş 86 (D-loop için 6; tRNA^{Phe} için 2; 12srRNA için 3; tRNA^{Val} için 1; 16srRNA için 6; tRNA^{Leu} için 2; ND1 için 2; tRNA^{Gln} için 1; tRNA^{Met} için 3; ND2 için 2; tRNA^{Trp} için 2; tRNA^{Tyr} için 1; COI için 9; tRNA^{Ser} için 1; COII için 4; tRNA^{Lys} için 1; ATP8 için 1; ATP6 için 2; COIII için 3; ND3 için 4; ND4 için 5; tRNA^{His} için 1; tRNA^{Ser} için 1; ND5 için 7; cyt b için 8; tRNA^{Thr} için 1; tRNA^{Pro} için 1; ND6 için 4; tRNA^{Glu} için 2) adet primer önermişlerdir. Söz konusu primerler kullanılarak gerçekleştirilecek PCR işlemleri ile mtDNA dizilerinin, oğaltılmış mtDNA ile dizi analizinden daha hızlı belirlendiğini ve nispeten küçük veri kümeleri kullanılan çalışmalar için daha geniş bir mitokondriyal gen varyetesini olanaklı kıldığını bildirmişlerdir.

Benekli Çin bıldırcınları, yabani bıldırcınlar ve beyaz broyler tavukları ile her türden 20'şer örnek kullanarak yapılan çalışmada, 1075 b. byklğindeki mtDNA sitokrom

b (cyt b) genine ilişkin PCR-RFLP analizleri yapılmış, aynı tür içindeki bireylerde, üzerinde durulan lokus bakımından varyasyona rastlanmamıştır. PCR ile çoğaltılan Cyt b lokusu 10 farklı restriksiyon enzimi ile muamele edilmiş ve elektroforez işlemi sonucunda türler arasında toplam kesim parçacıkları ve haplotipler bakımından farklılık bulunduğu bildirilmiştir. Böylece aynı familyaya (Phasianidae) ait bu türler arasında mitokondriyal genlere dayalı analizlerle türler arası farklılıkların belirlenebileceği belirtilmiştir (Shen vd. 1999). Nishibori vd. (2002) de kendi çalışmalarında mavi göğüslü bıldırcınlar ve Japon bıldırcınları ile tavukları karşılaştırarak bu görüşleri doğrulamış ve filogenetik analizler sonucu, mitokondriyal genom bakımından mavi göğüslü bıldırcınlarla evcil tavuk arasında 88 bç.'lik fark olduğunu, D-loop, 12S_rRNA ve ATPase8 genleri bakımından ise mavi göğüslü bıldırcınlar ile tavuk arasındaki genetik benzerliğin sırası ile % 76.2, % 89.6 ve % 78.0 olduğunu belirlemişlerdir.

Chunky broyler tavuklarının mitokondriyal sitokrom b (Cyt b) genlerinin nükleotit dizileri belirlenmiş ve bunlar Beyaz Leghorn, Fayourni ve Siyah Minorca yumurtacı tavukları ile karşılaştırılmışlardır. Chunky broyler tavuklarında, karşılaştırma yapılan yumurtacı ırklara nispeten çok yüksek genetik farklılık (5 haplotip) bulunduğu bildirilmiştir. Chunky ırkı, diğer üç ırktan 552 ve 779. pozisyonlarda farklılık göstermektedir. Chunky ırkı içinde ve diğer ırklar ile Chunky arasında oluşturulan filogenetik ağaçlar, Chunky ırkının etçi yapısını diğer yumurtacı ırklardan farklı bir ırk ya da hattın oluşturmuş olabileceğini göstermiştir. Tavuk ırkları arasındaki nükleotit farklılığının temel sebeplerinden birinin seleksiyon olabileceği de belirtilmiştir (Shen vd. 2002).

Beyaz Leghorn ve beyaz Plymouth tavukları üzerinde yürütülen bir başka çalışmada bu iki ırka ait tüm mtDNA dizisi belirlenmiş ve Desjardins ve Morais (1990)'e ait verilerle karşılaştırılmıştır. Yapılan çalışmada beyaz Leghorn ve beyaz Plymouth ırkına mensup tavuklarda mitokondriyal genomun büyüklüğü sırası ile 16788 bç. ve 16785 bç. bulunmuştur. İki ırk arasında yapılan karşılaştırmalarda, DNA dizileri % 99.96 oranında benzer bulunmuş, yalnızca 6 nükleotit bakımından farklılık olduğu bildirilmiştir. Buna ek olarak bu çalışma, tavuk mitokondriyal DNA'sında, ND3 geninde yer alan ve sadece Galliformes takımında gözlenen ekstra sitozin (C) nükleotidinin varlığını da

doğrulamıştır (Nishibori vd. 2003). Ne var ki bu nükleotit Desjardins and Morais (1990)'a ait çalışmada yer almamaktadır. Bu çalışmada beyaz Leghorn tavuklarına ait veriler ile Desjardins ve Morais (1990)'e ait veriler karşılaştırıldığında 42 nükleotit yer değiştirmesi ve 15 nükleotit eksilmesi/artması gözlenmekte, bu nükleotit mutasyonları 20 amino asit yer değiştirmesi ve 1 amino asit eksilmesi/artması ile sonuçlanmaktadır. Ne var ki Nishibori vd. (2003) tarafından kullanılan örnek genişliğinin çok küçük olması (her ırktan ikişer örnek) ve beyaz Leghorn ırkının özgün bir hattının kullanılmış olması bu sonuca etki etmiş olabilir.

Japonya'nın yerli ırklarından biri olan Silky tavuklarında (*Gallus gallus var. domesticus*) yürütülen bir çalışmada, mitokondriyal DNA dizisi belirlenerek, Japon bıldırcını, sülün, keklik ve Beyaz Leghorn tavukları ile karşılaştırılmıştır. Silkie tavuğunun 16784 bç. uzunluğundaki mitokondriyal genomunun Beyaz Leghorn tavukları ile % 99.77 benzerlik gösterdiği, 39 nükleotit bakımından farklılık arz ettiği bildirilmiştir. Oluşturulan filogenetik ağaçlarda iki ırkın aynı filogenetik grupta oldukları da belirlenmiştir (Wada vd. 2004).

“Shamo” adı verilen geleneksel dövüş horozlarının kökenini belirlemek üzere yapılan çalışmada, Japonya'nın 11 farklı bölgesindeki dövüş horozlarından kan örnekleri alınarak (n=42) mtDNA D-loop bölgesinin 1100 bç'lik bir kısmının DNA dizilimi belirlenmiş ve filogenetik ağaçları oluşturulmuştur. Çalışmalar sonucunda *Shamo*'nun iki kökenden (Güneydoğu Asya ve Çin) geldiği belirlenmiştir (Komiya vd. 2003). Bunun ardından 2004'te yaptıkları çalışmalarda gene mtDNA D-loop bölgesinin dizi analizlerinden yararlanarak, 34 süs tavuğu, 42 dövüş horozu (*Shamo*) ve uzun ötlü bir ırktan (Nagadakimori) 9 tavuğun kökenlerini belirlemiş ve Japon evcil tavuk ırklarının *Shamo*'dan köken aldığını belirlemişlerdir (Komiya vd. 2004a). Bu görüşleri destekleyen bir diğer çalışmada da uzun ötlü tavuk ırklarının dövüş horozu olarak Çin'den Japonya'ya getirildiği ve böylece karışıp yayıldıkları belirtilmektedir (Komiya vd. 2004b). Bu görüşler Liu vd. (2006) tarafından da desteklenmektedir.

Beyaz Leghorn, Plumouth Rock ve Rhode Island Red ırklarına mensup altı tavuk (her ırktan iki birey) üzerinde yürütülen çalışmada, mtDNA D-loop bölgesinde tek nükleotit

polimorfizmleri (SNP) incelenmiş, D-loop bölgesinin dizi analizleri sonucunda literatürdeki mtDNA dizileri ile dört insersiyon bakımından farklılık tespit edildiği bildirilmiştir. Çalışılan altı tavuk arasında 11 SNP saptanmış, bunların beşi 217 ve 261. nükleotitler arasında bulunmuştur. Aynı çalışmada PCR ile D-loop bölgesindeki SNP'lerin belirlenmesi için 96 primer denendiği ve bunlardan 21 tanesinin 167 C/T dışında kalan SNP pozisyonlarındaki her iki allelin de belirlenmesini sağladığı bildirilmiştir (Harumi vd. 2004).

Evcil tavuğun polifiletik kökenden geldiği görüşünü destekleyen bir çalışmada, Güneydoğu Asya ve Çin'den 66 kırmızı orman tavuğu (*Gallus gallus*) ile 834 evcil tavuğa (*Gallus gallus domesticus*) ait mtDNA üzerinde analizler yapılmıştır. İncelenen *yüksek değişken segment I* (HVS-I)'den yola çıkarak oluşturulan filogenetik ağaçlar neticesinde, yedisi RJF ve evcil tavuğu da içeren 9 adet yüksek farklılık arz eden mtDNA sınıfı saptanmıştır. Tavuklarda ırka özgü bir filogenetik sınıf bulunmamıştır. A, B ve E sınıflarının Avrasya'da, C sınıfının Japonya ve Güneydoğu Çin'de, F ve G sınıflarının ise Çin'in Hunan bölgesinde dağıldığı bildirilmiştir. D sınıfının coğrafi dağılımı geçmişteki horoz dövüşleri ile ilgili bulunmuştur (Liu vd. 2006). Bu sonuçlar polifiletik orijini destekleyen Komiyama vd. (2003, 2004a, 2004b) ve Nishibori vd. (2005)'i doğrular niteliktedir.

Japonya'daki 20 yerli tavuk ırkına ek olarak Beyaz Leghorn, Rhode Island Red ve Endonezya yerli tavukları üzerinde yürütülen çalışmada 1231 -1232 bç. uzunluğundaki mtDNA D-loop bölgesinin DNA dizileri belirlenerek 7 haplogrup tanımlamıştır (A-G tipleri). A-C tipleri Jidori ve Shokoku ile bunlarla akraba olan ırklarda gözlenmiştir. Ancak C tipi Çin'den getirilen Shokoku'da gözlenmezken Endonezya yerli tavuk ırklarının çoğu bu tipe dâhil olmaktadır. Her grupta, evcil tavuklar Jidoru-Shokoku ve Shamo gruplarına ayrılmışlardır. Bu sonuçların Çin ve Kore tavuklarının Güneydoğu Asya'dan köken aldığına işaret ettiği belirtilmekte, kırmızı orman tavuğunun evcilleştirilmesini takiben dövüşçü ve dövüşçü olmayan iki tip tavuğun geliştirildiği, Japon yerli tavuklarının her ikisinden de köken aldığı bildirilmektedir (Oka vd. 2007).

33 broyler ve 20 Beyaz Leghorn tavuğu üzerinde yürütülen bir çalışmada, mitokondriyal genomdaki kodlayan bölgeler ile D-loop bölgesinde SNP analizleri gerçekleştirilmiştir. Mitokondriyal genomun tamamında varyasyon tarayan ilk araştırma olan bu çalışmada toplam 113 SNP tanımlanmıştır. Bunlardan 78'i bir enzim ya da protein karşılığı bulunan, 35'i ise herhangi bir enzim ya da protein karşılığı bulunmayan bölgelerde bulunmuştur. Bir enzim ya da protein karşılığı bulunan bölgelerdeki 78 SNP'den 41 tanesi sinonim, 19'u sinonim olmayan SNP'ler olup, 18'i tRNA ve rRNA'larda saptanmıştır. GenBank'ta yer alan çeşitli ırklara ait farklı sekansların karşılaştırılması ile yürütülen *in silico* analizler sonucunda 91 SNP saptanmış, bunlarda 19'u ayrıca deneysel analizlerde de saptanmıştır. Deneysel olarak saptanan 113 SNP'den 111'inin nükleotit yer değiştirmesi ve ikisinin nükleotit eksilmesi/artması olduğu bildirilmiştir. Her iki analiz sonucunda toplam 39 haplotip belirlenmiş olup bunların 22'si D-loop bölgesinde belirlenmiştir. Broiler ve beyaz Leghorn tavuklarına ait mtDNA D-loop bölgesinde tanımlanan SNP'lerin % 20'si çok önemli ($P<0.001$), % 42'si önemli bulunurken ($P<0.05$), kodlayan bölgelerdeki 22 SNP'den yalnızca 8'inin hesaplanan ilişkileri önemli bulunmuştur ($P<0.05$) (Guan vd. 2007).

Sri Lanka'nın (Seylan) beş farklı bölgesinden yerli tavuk örnekleri üzerinde yürütülen çalışmada, mtDNA Kontrol Bölgesi'ne ait nükleotit dizileri belirlenerek orman tavuğu türleri arasındaki ilişkiler araştırılmıştır. 8 Seylan orman tavuğunu da içeren 140 tavuğa ait mtDNA Kontrol Bölgesi incelenmiş, 42 haplotip ve 6 haplogrup oluşturan 44 SNP tespit edilmiştir. Seylan orman tavuğunda gözlenen SNP'ler özgün olup, yerli tavuklarda ve Seylan orman tavuğunda 62 bç.lik bir D-loop segmentinin bulunmadığı belirlenmiştir. Haplotip ve nükleotit farklılıkları sırası ile 0.901-0.965 ve 0.011-0.013 olarak tahmin edilmiştir. Bireyler arası varyasyon kuşlar arasındaki toplam varyasyonun % 92'si olarak hesaplanmıştır. Sri Lanka yerli tavuklarının kırmızı ve gri orman tavuğuna, Seylan orman tavuğundan daha yakın oldukları belirlenmiş olup bu durumun birden fazla orijine işaret ettiği belirtilmiştir (Silva vd. 2008).

18 Tibet, 13 Shouguang ve 14 Silky tavuğu olmak üzere 45 yerli tavuk ırkında mtDNA üzerinde yürütülen bir başka çalışmada yapılan dizi analizleri sonucunda Shouguang, Silky ve Tibet tavuklarının mitokondriyal genomlarının büyüklükleri sırası ile 16784,

16785 ve 16784-16786 bç. olarak bulunmuştur. tRNA genlerindeki 4 SNP, rRNA genlerinde 9 SNP ve bir nükleotit artması, D-loop bölgesinde 38 SNP ve bir nükleotit azalması ile protein kodlayan genlerdeki 66 SNP'den oluşan toplam 120 mutasyon tespit edilmiş ve bu mutasyonların tavuklarda hipoksia ile ilgisi olabileceği belirtilmiştir (Bao vd. 2008).

Avrupa tavuğunun Amerika kıtasına 15. yüzyılda İspanyollar tarafından götürüldüğü ancak, Passion ve Araucana gibi Şili ırkları ile akrabalık halindeki Kolombiya ırklarının Güney Amerika'daki Amerikan yerlileri arasında da bulunmasına ilişkin tartışmalar olduğu belirtilmektedir. Bu populasyonların orijinini belirlemek üzere yapılan bir çalışmada 41 yerli Şili örneğine ait mtDNA Kontrol Bölgesi'ne ilişkin veriler evcil tavuklara ait yaklaşık 1000 sekansla karşılaştırılmıştır. Modern Şili tavuklarına ait DNA dizilerinin Avrupa, Hindistan ve Güneydoğu Asya tavuk haplotipleri ile yakın ilişkili buldukları ve Avrupa'dan orijin aldıkları bildirilmiştir (Gongora vd. 2008).

Zimbabve'deki beş ekolojik bölgeye ait tavuk ekotiplerinin incelendiği ve mtDNA bakımından farklılıklarını belirlemek üzere D-loop bölgesinin 455 bç.'lik bir bölümünün çoğaltılarak filogenetik yapılarının incelendiği bir çalışmada 14 populasyondan 283 tavuğa ait mtDNA'lar incelenmiştir. 34 haplotip tanımlayan 32 değişken bölge gözlemlendiği bildirilmiş, bu 34 haplotipin; a) Zimbabve ve Malavi tavukları, b) broyler ve yumurtacı saf hatları ile kuzeybatı Avrupa tavukları ve c) Zimbabve, Sudan, kuzeybatı Avrupa ve saf hatların karışımından meydana gelen üç sınıf oluşturduğu belirtilmiştir. Sınıflar arasındaki farklılık toplam varyasyonun % 80'den fazlasını açıklamaktadır. Elde edilen sonuçların Zimbabve ve Malavi tavuklarının orijinine ilişkin olarak güneydoğu Asya ve Hindistan yarımadasını işaret ettiği bildirilmiştir (Muchadayi vd. 2008).

Literatür araştırmasında bu güne kadar Türkiye yerli tavuk ırklarının moleküler DNA markerleri kullanılarak tanımlanmasına ilişkin çok az sayıda çalışmaya rastlanmıştır. Bunlardan biri Kaya (2008)'ya ait doktora çalışması olup Denizli ve Gerze tavuk populasyonlarındaki genetik varyasyonun mikrosatelit markerler kullanılarak belirlenmesi üzerine yoğunlaşmıştır. Söz konusu çalışmadan elde edilen sonuçlar

kısmen Kaya ve Yıldız (2008) tarafından yapılan yayında özetlenmiştir. Türkiye yerli tavuk ırkları Denizli ve Gerze'nin 10 mikrosatelit markerle tanımlandığı bu çalışmada, 5 alt populyasyondan 125 bireyin genotipi belirlenmiştir. Lokuslarda ortalama allel sayısı 7.5, beklenen heterozigotluk (H_e) 0.665, PIC değeri 0.610 olarak hesaplanmıştır. Denizli ırkına ait H_e değeri (0.656), Gerze ırkına ait değerden (0.475) yüksek bulunmuştur. Denizli ve Gerze ırkları için PIC değerleri sırası ile 0.599 ve 0.426 bulunmuştur. Adı geçen çalışmada Denizli ve Gerze populyasyonlarının zengin bir genetik varyasyona sahip olduğu bildirilmektedir.

Türkiye yerli ırklarının mtDNA düzeyinde tanımlanmasına ilişkin olarak yayınlanmamış bir yüksek lisans tez çalışmasına rastlanmıştır. Denizli ve Gerze ırklarının mtDNA'nın 12SrRNA, 16SrRNA, Cyt b genleri ile Kontrol Bölgesi bakımından nükleotit dizilerinin belirlenerek *Gallus gallus* ve Brahma tavuklarıyla karşılaştırıldığı çalışma Hamburg, Habeş, Cüce Cochin, Pado, Siyah Fizan, Zibrit, Brahma, Denizli ve Gerze ırklarına mensup tavuklar ile yürütülmüştür (örnek sayıları belirtilmemiştir). Çalışmada D-loop bölgesi nükleotit dizilerinin karşılaştırılması sonucunda bu bölge bakımından Denizli ve Gerze ırkları arasında 9, Denizli ırkı ile *Gallus gallus* arasında 6 nükleotitlik fark bulunmuştur. Aynı bölgeye ilişkin olarak Denizli ve Brahma ırkları arasındaki farklılık ise 11 nükleotit olarak belirlenmiştir. Böylece Kontrol Bölgesi bakımından Denizli-Gerze ve Denizli-Brahma ırkları arasındaki genetik benzerliğin sırası ile % 99 ve % 98 olarak hesaplandığı bildirilmiştir (Kırdağ 2007).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Materyal

3.1.1 Canlı materyal

Bu çalışmada, Kaya (2008) tarafından gerçekleştirilen doktora tez çalışması çerçevesinde Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Lalahan Merkez Hayvancılık Araştırma Enstitüsü (Ankara) ve Denizli Horozu Üretim İstasyonu (Denizli)'nden alınmış olan 30 adet (20 dişi, 10 erkek) Denizli tavuğunun kan örnekleri materyal olarak kullanılmıştır. Kan örnekleri 2-5 ml olacak şekilde, antikoagülant olarak EDTA içeren tüplere, tek kullanımlık steril iğneler kullanılarak ergin tavukların kanat altı toplar damarından alınmış ve DNA izolasyonu yapılacak zamana kadar -80°C'de saklanmıştır.

3.1.2 Araç ve gereçler

Bu tez çalışması Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Zootehni Bölümü, Biyometri ve Genetik ABD, Genetik Laboratuvarı'nda yürütülmüştür. Araştırmada kandan DNA izolasyonu, PCR koşullarının optimizasyonu ve uygulanması, elektroforez işlemleri, çalışmada kullanılan jel ve çözeltilerin hazırlanması adı geçen laboratuvarda gerçekleştirilmiştir. Genotiplerin DNA dizi analizi ile belirlenmesi otomatik DNA dizi analizi sisteminde, Refgen Gen Araştırmaları ve Biyoteknoloji Limited Şirketi'nden (<http://www.refgen.com>) hizmetimi şeklinde yapılmıştır. DNA dizi analizi sonuçlarının değerlendirilmesinde FinchTV (ver.1.4.0) paket programı ile Mega 4.1 paket programı (Kumar vd. 2008) kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan araç ve gereçlerin listesi Çizelge 3.1'de verilmiştir.

Çizelge 3.1 Çalışmada kullanılan araç ve gereçlerin listesi

Adı (model)	Çalışmada kullanım amacı
Bidestile Saf Su Cihazı (Büchi Fontavapor 285) Ultra Saf Su Cihazı (Sg Ultra Clear Basic)	DNA izolasyonu ve PCR reaksiyonları için kullanılan tampon çözeltilerin hazırlanması
pH metre (Inolab 720)	Tampon çözeltilerin hazırlanması için gerekli pH'nın belirlenmesi
Otoklav (Hyrama)	Kullanılan malzemelerin sterilizasyonu
Nano Drop Spectrofotometre (ND 1000)	DNA örneklerinin yoğunluk ve saflık derecelerinin belirlenmesi
Sıcak Su Banyosu (Kotterman)	DNA izolasyonu
Istıtlı Manyetik Karıştırıcı (Janke& Kunkel KG)	Tampon çözeltilerin hazırlanması
Çalkalayıcı-Vortex (Julabo Paramix3) Çalkalayıcı-Vortex (Labnet VX100)	Tampon çözeltilerin hazırlanması ve DNA izolasyonu
Santrifüj (NÜVE NF1215 5000 rpm) Mikro Santrifüj (SIGMA 1-15, 14.000 rpm) Mikro Santrifüj (HERMLE Z 231M, 15.000 rpm)	DNA izolasyonu ve PCR aşamalarında örneklerin santrifüj edilerek çöktürülmesi
Soğutmalı Santrifüj (Thermo I. M. Rf 8467 0260, 16.800 Rpm, 30.000 g)	DNA izolasyonu sırasında örneklerin bozulmadan santrifüj edilmesi
Dijital Hassas Teraziler (Sartorius R 200 ve D 1000G)	Tampon çözeltilerin hazırlanmasında sarf malzemelerin tartılması
Gradient Thermal Cycler 96 Örnek. (Biorad-My Cycler) Thermal Cycler 25 Örneklik (Techne TC 312)	PCR ile lokusların çoğaltılması
Yatay Agaroz Jel Elektroforez Takımları (Thermo)	DNA izolasyonu ve PCR ürünlerinin tespit edilmesi, restriksiyon sonucu elde edilen bant modellerinin jelde belirlenmesi
Güç Kaynakları (HSI 2500 DC, Bimetra P25, Bio Rad Model 200/2.0)	Elektroforez sistemlerinin elektrik ortamlarının sağlanması
Jel Görüntüleme ve Analiz Sistemi (Kodak Gel Logic 200)	DNA izolasyonu, PCR ürünleri ile RFLP lokusların jelde görüntülenmesi ve bilgisayar ortamına aktarılması
Termal Yazıcı (Sony Digital Graphic Printer Up-D895)	DNA izolasyonu, PCR ürünleri ile RFLP lokusların arşivlenmesi için baskı yapılması
Mikro Dalga Fırını (Arçelik MD 500)	Agaroz jellerin hazırlanması
UV Transilluminatör (Vilber Lourmat) UV Lambası ve Gözlükleri (Mineralight Lamp UV-254/366 Nm)	DNA izolasyonu ve PCR ürünlerinin ön denemelerinin agaroz jel elektroforez ayrımı sırasında kontrollerinin yapılması
Derin Dondurucu (Rua Instruments, -80 C ⁰) Derin Dondurucu (Arçelik, -25) (2 adet) Derin Dondurucu Buzdolabı (Arçelik, +4)	Örnekler ile bazı sarf malzemelerin saklanması
Steril DNA İzolasyon Kabini (Metisafe Class II)	DNA izolasyonu ve PCR'ların steril bir ortamda yapılması
Çeker Ocak (Metisafe Class II)	Tampon çözeltilerin hazırlanması

3.1.3 Tampon çözeltiler

İzole edilmiş DNA örneklerinin saflıklarının belirlenmesi ve çoğaltılan mtDNA D-loop PCR ürünlerinin görüntülenebilmesi için agaroz ve poliakrilamid jel elektroforez yöntemlerinden yararlanılmıştır. Bu amaçlarla kullanılan tampon çözeltiler ile kandan DNA izolasyonu için kullanılan tampon çözeltilerin bileşimleri Çizelge 3.2’de verilmiştir.

Çizelge 3.2 Kandan genomik DNA izolasyonu ile elektroforez ve agaroz jellerinin hazırlanmasında kullanılan stok ve tampon çözeltilerin bileşimleri

Çözelti	Bileşimi
20 X TBE Elektroforez / jel tamponu ve yürütme tampon çözeltisi	216 g Tris 110 g Borik Asit 80 ml EDTA 1000 ml’ye tamamlanır
1 X TBE Elektroforez / jel tamponu ve yürütme tampon çözeltisi	20 X TBE’den seyreltme yapılır
DNA yükleme boyası	5.0 ml Gliserol 2.0 ml Bromofenol mavisi (% 5) 1.5 ml 0.5 M EDTA 1.5 ml Steril bdH ₂ O
Eritrosit Lizis Tampon Çözeltisi	0.32 M Sükroz 10 mM EDTA 5 mM MgCl ₂
Fizyolojik Tampon Çözeltisi	75 mM NaCl 25 mM EDTA
Lizis TE Tampon Çözeltisi	500 mM Tris-HCl 20 mM EDTA 10 mM NaCl
6 M NaCl Çözeltisi	3.51 g NaCl bdH ₂ O ile 10 ml’ye tamamlanır

3.2 Yöntem

3.2.1 Kandan genomik DNA izolasyonu

Kandan genomik DNA izolasyonu için Miller vd. (1988)'in önerdiği Tuz Çöktürme (Salting-out) yöntemi, çalışmanın yürütüldüğü laboratuvar koşullarına uygulanarak izolasyon aşağıda anlatıldığı şekilde gerçekleştirilmiştir.

- İlk olarak – 80 °C'den çıkarılan kanlar tamamen çözülene kadar oda sıcaklığında bekletilmiştir.
- Çözülen kanlardan 500 µl alınarak, steril 1,5 ml'lik ependorf tüplerine koyulmuştur.
- Kanların üzerine 1000 µl Eritrosit Liziz Tamponu eklenmiş ve kısa bir süre vorteksle karıştırılarak 10 dakika oda sıcaklığında bekletilmiştir.
- Bekletme süresinin sonunda örnekler 5000 devir/dakika'da 5 dakika santrifüj edilmiştir.
- Santrifüj sonunda sıvı kısım (süpernatant) uzaklaştırılmış ve dipte kalan peletlerin rengi gözlenmiştir (Eğer peletlerin rengi hala kırmızı ise renk beyaz olana kadar Eritrosit Lisis Tamponu ile tekrar muamele edilmiştir).
- Peletlerin üzerine 1000 µl Fizyolojik Tampon eklenmiş ve kısa bir süre vorteksle karıştırılmıştır.
- Örnekler 5000 devir/dakika'da 5 dakika santrifüj edilmiştir ve santrifüj sonunda sıvı kısım uzaklaştırılmıştır.
- Peletlerin üzerine 300 µl Liziz TE tampon çözeltisi eklenmiş ve peletlerin iyice çözünmesi sağlanmıştır.
- Çözülen peletlerin üzerine 100 µl %10'luk SDS çözeltisi ve 5 µl proteinaz K (10 mg/ml) eklenerek karıştırılmış ve 65 °C'de 1,5 saat su banyosunda inkübasyona bırakılmıştır. Inkübasyon süresince her 15 dakikada örnekler karıştırılmıştır.
- Inkübasyondan çıkarılan örneklerin üzerine 200 µl 6M NaCl çözeltisi eklenmiş ve 15 dakika vorteksle iyice karıştırılmıştır.
- Örnekler 11000 devir/dakika'da 10 dakika santrifüj edilmiştir.

- Santrifüj sonunda üstte kalan sıvı kısım dikkatli bir şekilde pipet yardımıyla çekilerek yeni bir steril ependorf tüpüne aktarılmış, işlem sırasında altta bulunan sıvı kısımdan almamaya özen gösterilmiştir.

- Yeni bir ependorfa koyulan örnekler tekrar 11000 devir/dakika'da 5 dakika santrifüj edilmiş ve yine üstte kalan sıvı kısım yeni bir ependorfa koyulmuştur. Bu aşama, bir önceki aşamadaki çekme sırasında alttaki sıvı kısımdan alınmış olabileceği düşünülerek gerçekleştirilmiştir.

- Ependorf tüpte bulunan sıvı örneğin üzerine, iki katı hacimde (yaklaşık 1000 µl) -20 °C'de saklanan saf etil alkolden eklenmiştir.

- Soğuk etil alkol eklendikten sonra ependorf tüpü DNA iplikçikleri kümeleşinceye kadar hafifçe karıştırılmıştır.

- Kümeleşen DNA iplikçiklerinin tüpün dibine çökmesi için tüp 12000 devir/dakika'da 5 dakika santrifüj edilmiştir.

- Santrifüj sonunda üstteki alkol uzaklaştırılarak tüpün dibine çökmüş olan DNA peletinin üzerine bu sefer % 70'lik etil alkolden 1000 µl eklenmiş ve 12000 devir/dakika'da 2 dakika santrifüj edilmiştir.

- Santrifüj sonunda alkol uzaklaştırılmış, tüpler kurumaları için çeker ocağa bırakılmışlardır

- Tamamen kuruyan ve içinde DNA bulunan tüpün üzerine 100 µl deiyonize bdH_2O konularak çözülmesi için bir saat kadar oda sıcaklığında bekletilmiştir.

İzole edilen DNA'ların, *ND1000* nanodrop spektrofotometre kullanılarak saflık ve derişimleri ölçülmüş ve DNA örnekleri PCR işlemine kadar + 4 °C'de saklanmıştır.

3.2.2 Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) ve DNA Dizi Analizi

Mitokondriyal DNA D-loop bölgesinin PCR ile çoğaltılması için Muchadeyi vd. (2008) tarafından önerilen primerler kullanılmıştır. İleri primer olarak 5'-GGCTTGAAAAGCCATTGTTG-3' ve ters primer olarak 5'-CCCCAAAAGAGAAGGAACC-3' primerleri kullanılarak PCR işlemi gerçekleştirilmiştir. Adı geçen primerler, evcil tavuk mtDNA'sında 16739-16758 numaralı bazlar arasında (ileri primer) ve 649-668 numaralı bazlar arasında (ters primer)

yer almakta (X52392, Desjardins ve Morais 1990) ve arada kalan 665 bazlık bölgeyi çoğaltmaktadır. Uygulanan PCR karışımı Çizelge 3.3'te, PCR protokolü ise Çizelge 3.4.'te verilmiştir.

Çizelge 3.3. Örnek Başına 0.2 ml'lik PCR Tüplerine Konulan Malzemeler ve Miktarları

Kullanılan Malzeme	Miktar
Genomik DNA (50-100 ng)	2 µl
Taq Buffer (+KCl –Mg)	1 µl
dNTP (0.2 mM)	2 µl
MgCl ₂ (25 mM)	1.2 µl
İleri Primer (10 pM)	1 µl
Geri Primer (10 pM)	1 µl
Taq DNA Polimeraz (0.5 U)	0.3 µl
Deiyonize bdH ₂ O	11.5 µl
Toplam Hacim	20 µl

Çizelge 3.4. PCR Protokolü

94°C	5 dakika	} 35 döngü	Ön denaturasyon (DNA eksenlerinin birbirlerinden ayrılması)
95°C	1 dakika		Denaturasyon (DNA eksenlerinin birbirlerinden ayrılması)
57°C	1 dakika		Annealing (Primerin komplementer kalıp DNA eksenine bağlanması)
74°C	1 dakika		Extension (Üzerinde durulan DNA bölgesinin sentezinin yapılması)
72°C	5 dakika		Son Extension (Üzerinde durulan DNA bölgesinin sentezinin son kez yapılması)

PCR ile çoğaltılan örneklerin görüntülenmesi için % 2'lik agaroz jelleri hazırlanarak PCR ürünleri elektroforez işlemine tabi tutulmuş, elektroforez işlemi sonrası Jel Kodak Gel Logic 200 Görüntüleme ve Analiz Sistemi kullanılarak jellerin fotoğrafları

çekilmiştir. PCR ürünlerinin agaroz jelinde kontrollerinin yapılmasını takiben örneklerin DNA dizi analizi, otomatik DNA dizi analizi sisteminde (*ABI PRISM 3130 Genetic Analyzer*), Refgen Gen Araştırmaları ve Biyoteknoloji Laboratuvarı'ndan hizmetimi şeklinde yapılmıştır.

DNA dizi analizi sonuçlarının okunmasında FinchTV (ver.1.4.0) paket programı, sonuçların değerlendirilmesinde MEGA 4.1 paket programı (Tamura vd. 2007, Kumar vd. 2008) kullanılmıştır. Belirlenen haplotiplerin ve GenBank'ta yayınlanmış farklı ırklara ait mtDNA D-loop dizilerinin karşılaştırılarak genetik uzaklıkların belirlenmesi amacı ile söz konusu programın "Distance (uzaklık)" ve "Compute pairwise (ikili grupları hesaplama)" fonksiyonları kullanılmış, hesaplamalar Kimura'nın iki parametre (Kimura's two parameter) yöntemine göre yapılmıştır. Filogenetik ilişkilerin açıklanması için dendogram oluşturulmasında da MEGA 4.1 paket programının "Bootstrap Test of Phylogeny" ve "Neighbor Joining (komşu birleştirme)" modelleri kullanılmıştır.

4. BULGULAR ve TARTIŞMA

4.1 DNA İzolasyonu

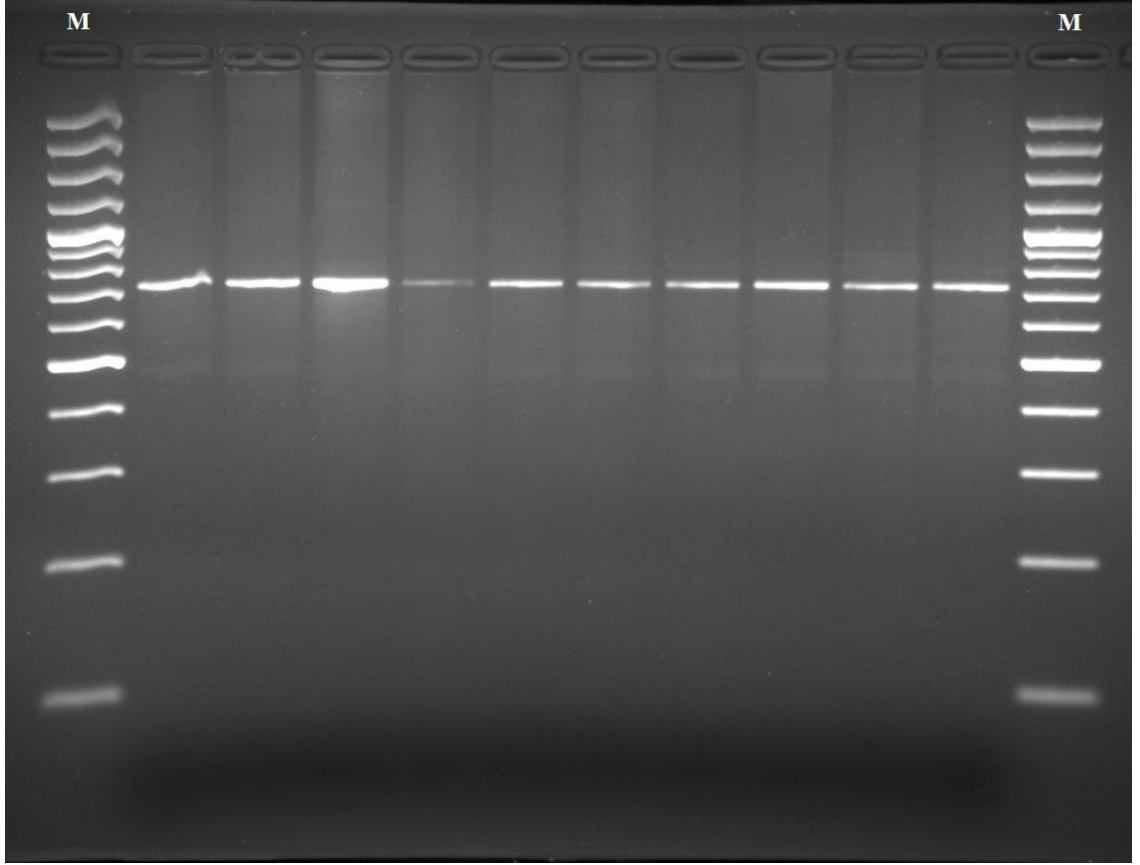
Denizli ırkına ait 30 örneğin DNA izolasyonları, 3.2.1.'de detaylı olarak anlatılan tuz çöktürme yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. DNA izolasyonunu takiben, elde edilen DNA örneklerinin saflık ve derişimleri *ND 1000* nanodrop spektrofotometre kullanılarak ölçülmüştür (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1 İzole edilen DNA örneklerinin derişim ve saflık değerleri

Örnek No	Derişim (ng/µl)	Saflık	Örnek No	Derişim (ng/µl)	Saflık
T1	167,01	1,89	T16	112,60	1,86
T2	137,95	1,87	T17	107,69	1,89
T3	166,73	1,89	T18	145,15	1,84
T4	174,87	1,87	T19	156,56	1,82
T5	125,75	1,80	T20	162,43	1,82
T6	134,66	1,87	T21	137,08	1,88
T7	134,64	1,87	T22	124,54	1,85
T8	141,10	1,89	T23	155,69	1,90
T9	153,02	1,88	T24	129,02	1,90
T10	155,03	1,90	T25	141,50	1,86
T11	154,36	1,84	T26	83,46	1,97
T12	146,11	1,83	T27	132,39	1,85
T13	169,00	1,84	T28	213,55	1,89
T14	166,20	1,88	T29	136,47	1,89
T15	209,97	1,88	T30	134,17	1,86

4.2 Kontrol (D-loop) Bölgesinin PCR ile Çoğaltılması

Materyal ve Yöntem bölümünde belirtilen ileri ve ters primerler kullanılarak yapılan PCR işlemi sonucunda, 1231 bç. uzunluğundaki mtDNA kontrol bölgesinin 705 bç.'lik bir kısmı çoğaltılmıştır. % 2'lik agaroz jelinde yapılan elektroforez işlemi sonucunda PCR ürünlerine ait bantlar görüntülenmiştir (Şekil 4.1).



Şekil 4.1 İleri primer olarak 5'-GGCTTGAAAAGCCATTGTTG-3' ve ters primer olarak 5'-CCCCAAAAGAGAAGGAACC-3' kullanılarak gerçekleştirilen PCR sonunda elde edilen PCR ürünlerinin (705 bç.) % 2'lik agaroz jeli ile gerçekleştirilen elektroforez görüntüleri (M: Fermentas GeneRuler 100 bp. DNA ladder, MS0241).

4.3 DNA Dizi Analizi

Denizli ırkına mensup 30 bireyin, çoğaltılan D-loop (kontrol bölgesi) bakımından DNA dizi analizi sonuçları, yabani orman tavuğunun (Red jungle fowl, RJF) alt türlerinden *G.g. gallus*, *G.g. bankiva* ve *G.g.spadiceus* (Genbank erişim numaraları sırası ile; AP003322, AP003323, AP003321), iki farklı Beyaz Leghorn (X52392 ve AP003317), Plymouth (AP003318), Silky (AB086102), New Hampshire Red (AY235571), Laos (AP003319), ve Shamo (AB268534) tavuk ırkları ile Kırdag (2007) tarafından bildirilen Denizli ırkına ait dizilim ile karşılaştırılmıştır (Çizelge 4.2). Denizli ırkı ile yapılan karşılaştırmada, karşılaştırmanın yapıldığı tüm ırklarda mtDNA'nın 199. pozisyonunda yer alan timin nükleotidinin, Denizli ırkına mensup 7 bireyde sitozone dönüştüğü saptanmış, Denizli ırkında bu bakımdan iki haplotip (Denizli1 ve Denizli2) belirlenmiştir.

Buna ilaveten, çalışmaya konu olan Denizli tavuklarının 212, 243, 246, 256, 261, 310, 315. pozisyonlardaki nükleotitler bakımından RJF'nin *G.g.spadiceus* alt türünden; 281, 306, 342. pozisyonlardaki nükleotitler bakımından *G.g.gallus* ve *G.g.bankiva* alt türlerinden ve 217 ile 446. pozisyonlar bakımından her üç RJF alt türünden farklılık gösterdiği belirlenmiştir.

Çalışmaya konu olan Denizli tavukları, çoğaltılan mtDNA kontrol bölgesi bakımından, Nishibori vd. (2003) tarafından White Leghorn ırkına ilişkin olarak bildirilen mtDNA dizisiyle (AP003317) farklılık arz etmezken, Desjardins and Morais (1990) tarafından bildirilen mtDNA dizisiyle (X52392), 167, 210, 217, 225, 243, 256, 261, 310 ve 446. nükleotitler bakımından farklılık göstermektedir. Ayrıca Desjardins and Morais (1990) tarafından bildirilen mtDNA dizisinin 51 ve 52. nükleotitleri arasında yer almayan ardışık üç sitozinlik bir dizinin Denizli ırkında bulunduğu belirlenmiştir. Söz konusu dizi, karşılaştırma yapılan diğer tavuk ırklarında da mevcuttur.

Denizli ile Silky ırkı arasında, çoğaltılan mtDNA Kontrol bölgesi bakımından, mtDNA'nın 167, 217, 225, 243, 256, 261, 310, 355 ve 446. pozisyonlarında; Shamo ırkı ile 217, 242, 261, 281, 342, 363, 367, 446. pozisyonlarında ve Laos ırkı ile 342. pozisyonunda nükleotit farklılıkları gözlenmiştir.

Çizelge 4.2. Denizli ırkının mtDNA kontrol (D-loop) bölgesinin diğer ırklar ile karşılaştırılması.

Nükleotit Pozisyonları		52	53	54	167	199	210	212	217	222	225	242	243	246	256	261	281	296	306	310	315	330	342	355	363	367	399	446	457	459	460	
Haplotaler	Genbank Erişim No.																															
RJF (<i>G.g.gallus</i>)	(AP003322)	C	C	C	T	T	C	G	T	A	C	G	C	C	C	T	G	T	C	T	C	C	G	T	C	T	G	C	T	C	A	
RJF (<i>G.g.bankiva</i>)	(AP003323)	C
RJF (<i>G.g.spadiceus</i>)	(AP003321)	A	.	.	.	T	T	T	C	A	C	T	C	T	.	A	
W. Leghorn ^a	(X52392)	-	-	-	C	.	T	.	.	.	T	.	T	.	T	C	A	C	T	C	.	.	A	
W. Leghorn ^b	(AP003317)	C	A	C	T	A	T	.	.	.
Plymouth	(AP003318)	C	A	C	T	A	T	.	.	.
N. H. Red	(AY235571)	C	G	A	C	T	.	.	T	A	T	.	.	.	
Silky	(AB086102)	.	.	.	C	T	.	T	.	T	C	A	C	T	C	.	.	A	C	
Laos	(AP003319)	C	A	C	T	T	.	.	.
Shamo	(AB268534)	A	.	.	.	C	.	C	T	T	C	
Denizli	Kırdağ (2007)				C	A	C	T	.	.	.	A	T	C	T	C	
Gerze	Kırdağ (2007)				C	A	C	T	.	.	.	A	.	.	.	A	T	.	.	.	
Denizli1 (n=7)		C	.	.	C	A	C	T	.	.	.	A	T	.	.	.	
Denizli2 (n=23)		C	A	C	T	.	.	.	A	T	.	.	.	
Gerze		C	A	C	T	.	.	.	A	T	.	.	.	

G.g.gallus standart kabul edilmiş ve bu dizi sırası ile aynı olanlar (.) ile gösterilmiştir. ^a Desjardins and Morais (1990). ^b Nishibori vd. (2003).

Denizli ırkı ile iki Amerikan ırkı olan New Hampshire Red ve Plymouth ırkları arasında yapılan karşılaştırmada ise çalışılan bölge bakımından New Hampshire Red ırkında 222 ve 330. nükleotitlerde olmak üzere iki farklılık tespit edilirken; Plymouth ırkı ile Denizli ırkı arasında söz konusu bölge bakımından, 199. nükleotitte Denizli ırkında var olan haplotip dışında bir nükleotit farklılığına rastlanmamıştır.

Bunlara ilaveten Kırdag (2007) tarafından bildirilen ve Karaman vd. (2007) tarafından, EU194446 erişim numarası ile GenBank'ta yayınlanan Denizli ırkına ait mtDNA D-loop bölgesi ile bu tez çalışmasına konu olan Denizli tavukları arasında 457, 459 ve 460. nükleotitlerde farklılık tespit edilmiştir.

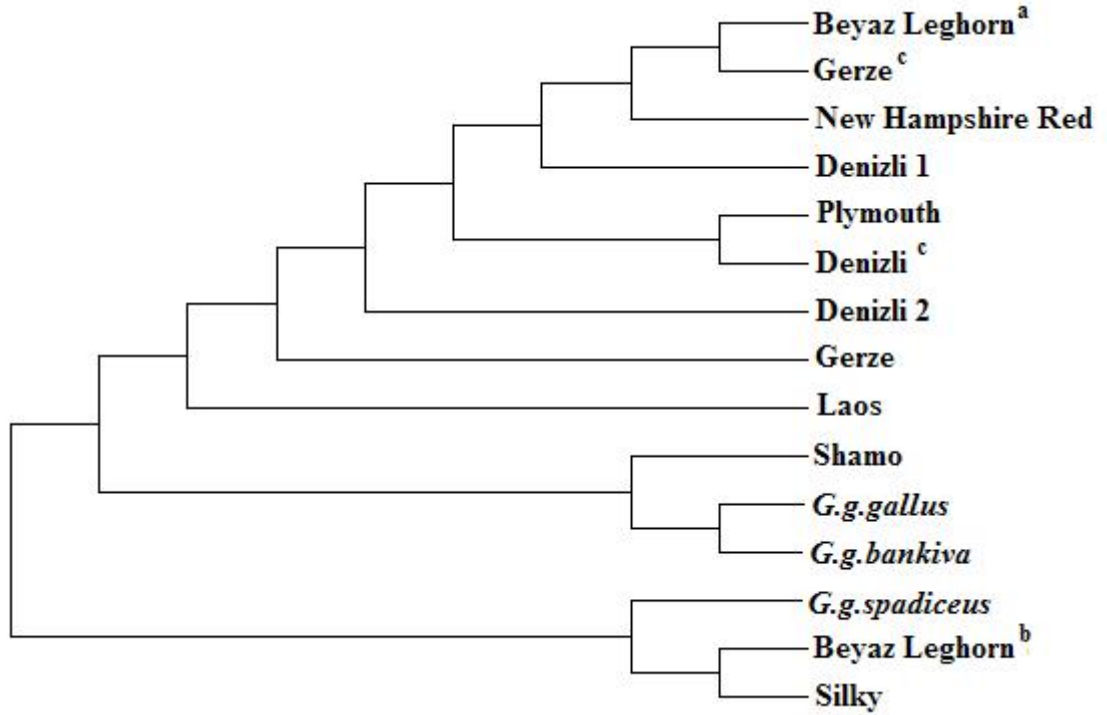
Bu bulgular çerçevesinde, karşılaştırılan haplotipler arasındaki genetik uzaklıklar, Kimura'nın iki parametre yöntemi (Kimura's two parameter method) kullanılarak, 0.000 – 0.024 aralığında tahmin edilmiştir (Çizelge 4.3). Tahmin edilen ortalama uzaklık değeri 0.013 ± 0.003 olarak hesaplanmıştır. mtDNA D-loop bölgesinin dizi analizi sonucunda, Denizli ırkının üzerinde durulan bu bölge bakımından diğer ırklarla benzer bir genetik yapıya sahip olduğu görülmektedir. Dizi analizi sonucunda Denizli ırkında iki haplotip tespit edilmiş olup, genetik varyasyonun bu derece düşük olması, mtDNA'nın bu bölgesinde genetik varyasyon seviyesinin genel olarak düşük olması, örneklemenin yapıldığı enstitüde birbirinden izole edilmiş farklı hatların kullanılmıyor olma olasılığı ve/veya sürü genişliğinin düşüklüğü dolayısıyla ana sayısının az olması olasılığına bağlanabilir.

Çizelge 4.3. mtDNA D-loop bölgesi bakımından GenBank ve Denizli haplotiplerine ait beklenen genetik uzaklıklar

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
[1]															
[2]	0,002														
[3]	0,022	0,020													
[4]	0,022	0,020	0,012												
[5]	0,012	0,010	0,018	0,018											
[6]	0,012	0,010	0,018	0,018	0,000										
[7]	0,016	0,014	0,022	0,022	0,004	0,004									
[8]	0,022	0,020	0,012	0,004	0,018	0,018	0,022								
[9]	0,010	0,008	0,020	0,020	0,002	0,002	0,006	0,020							
[10]	0,012	0,010	0,022	0,022	0,016	0,016	0,020	0,022	0,014						
[11]	0,018	0,016	0,024	0,024	0,006	0,006	0,010	0,024	0,008	0,022					
[12]	0,018	0,016	0,024	0,024	0,006	0,006	0,010	0,024	0,008	0,022	0,012				
[13]	0,014	0,012	0,020	0,020	0,002	0,002	0,006	0,020	0,004	0,018	0,008	0,008			
[14]	0,012	0,010	0,018	0,018	0,000	0,000	0,004	0,018	0,002	0,016	0,006	0,006	0,002		
[15]	0,012	0,010	0,018	0,018	0,000	0,000	0,004	0,018	0,002	0,016	0,006	0,006	0,002	0,000	

01 *G.g.gallus* (AP003322); 02 *G.g.bankiva* (AP003323); 03 *G.g.spadiceus* (AP003321); 04 Beyaz Leghorn (GenBank X52392); 05 Beyaz Leghorn (AP003317); 06 Plymouth (AP003318); 07 New Hampshire Red (AY235571); 08 Silky (AB086102); 09 Laos (AP003319); 10 Shamo (AB268534); 11 Denizli (Kırdağ 2007); 12 Gerze (Kırdağ 2007);; 13 Denizli1; 14 Denizli2; 15 Gerze.

Denizli popülasyonunda mtDNA D-loop bölgesinin DNA dizi analizi sonucunda gözlenen nükleotit farklılıkları temelinde, Kimura'nın iki parametre yöntemi kullanılarak popülasyonlar arasında tahmin edilen nükleotit dönüşümlerine ait beklenen miktarlarına ait genetik uzaklık değerleri ile 1000 Bootstrap tekrarı yapılarak Bootstrap genetik farklılıkları tahmin edilmiştir. Komşu birleştirme (Neighbor joining) kümeleme analizi sonucunda, karşılaştırılan popülasyonlar Şekil 4.2'deki gibi gruplandırılmıştır.



Şekil 4.2 mtDNA D-loop bölgesi bakımından Denizli ve yabancı ırklar arasında nükleotit dönüşümlerinin beklenen miktarlarından elde edilen dendrogram. ^aNishibori vd. (2003). ^bDesjardins and Morais (1990). ^cKırdağ (2007).

Buna göre;

- Çalışmaya konu olan ve aynı popülasyonun bireylerinden oluşan Denizli1 ve Denizli2 haplotipleri ile Kırdağ (2007) tarafından bildirilen Denizli popülasyonu farklı kümelerde yer almaktadır.
- İki Gerze popülasyonu gerek birbirleri ile gerekse Denizli popülasyonları ile farklı kümlerde yer almaktadırlar.
- Japon ırkları olan Silky ve Shamo farklı alt kümelerde yer almalarına rağmen daha üst bir kümede birleşmekte, bir başka Asya ırkı olan Laos ise ikisinden de ayrı bir kümede yer almaktadır.
- Java adaları orijinli *G. g. bankiva* ile Tayland çevresindeki *G. g. gallus* aynı kümede yer alırken, bir başka RJF alt türü olan *G. g. spadiceus*'un farklı bir kümede yer aldığı gözlenmektedir.
- Coğrafi ırk dağılımından beklenenin aksine, Plymouth, bir başka Amerikan ırkı olan New Hampshire Red'den uzak bir kümede yer almıştır.
- White Leghorn örnekleri birbirlerinden oldukça uzak kümelerde yer almışlardır.

Bu durum genel olarak, standart kabul edilen ve karşılaştırma yapılan GenBank DNA dizilerinin farklı çalışmalar için, farklı zamanlarda, farklı durumlardaki populasyonlardan örneklenmiş olmasına, örneklemelerin izole bölgelerden yapılmamış olmasına ve örnek genişliklerine bağlanabilir.

5. SONUÇ

MtDNA tür içi ve türler arasındaki filogenetik ilişkilerin tespit edilmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır. mtDNA maternal kalıtım yoluyla büyük ölçüde anadan aktarılmakta ve eşey hücrelerinin meydana gelmesini sağlayan mayoz bölünme sırasında yeni kombinasyonların meydana gelmemesi nedeniyle bir genetik varyasyon kaynağı olarak evrim sürecinde çok az değişime uğramaktadır. Bu nedenlerle evrim süreci ve filogenetik ilişkilerin tahmininde önemli bir genetik markerdir.

Bu tez çalışmasında, Türkiye Denizli ırkına mensup 30 tavuğun mtDNA D-loop bölgesi bakımından genetik varyasyonların belirlenerek, olası yeni haplotiplerin tespiti amacıyla D-loop PCR ile çoğaltımı ve DNA dizi analizi yapılmıştır. Çalışma sonucunda incelenen Denizli popülasyonunda, çoğaltılan mtDNA D-loop bölgesi bakımından iki haplotip tespit edilmiştir. Ayrıca 3 RJF alt türünden toplam 12 nükleotit, White Leghorn ırkından 12 nükleotit ve üç farklı Asyatik ırktan toplamda 14 nükleotit pozisyonunda farklılık gösterdiği tespit edilmiştir.

Bu tez çalışması, Türkiye yerli tavuk ırklarında mtDNA düzeyinde yürütülen üç çalışmadan biridir. Daha önce Kırdag (2007) tarafından yürütülen yüksek lisans tez çalışması Denizli ve Gerze ırklarını Brahma ırkı ile karşılaştırmış, Karaman vd. (2007)'nin sonuçları ise GenBank'ta yayınlanmıştır.

Bu çalışmada kullanılan yöntemler ve elde edilen sonuçlar, ileriki çalışmalara kaynak oluşturacaktır. Bu sonuçların, yerli tavuk ırkları için daha büyük örnek genişlikleriyle, birden fazla popülasyon ve birden fazla mtDNA bölgesi için genişletilerek çalışılması daha gelişmiş ve aydınlatıcı bilgiler edinilmesini sağlayacaktır. Bu bağlamda, Denizli ırkı ve diğer yerli ırkların SNP, mtDNA ve mikrosatelit markerler ile ırk ve varyete düzeyinde tanımlanmaları, yerli ırklardaki genetik varyasyonun artırılması ve korunabilmesi için popülasyonlar dâhilinde birbirinden izole olmuş farklı hatların meydana getirilmesi, moleküler düzeydeki çalışmalar için örnek genişliğinin mümkün oldukça yüksek tutulması önerilebilir.

KAYNAKLAR

- Akman, N., Aksoy, F., Şahin, O., Kaya, Ç. Y. ve Erdoğan, G. 2006. Cumhuriyetimizin 100. yılında Türkiye'nin hayvansal üretimi. Türkiye Damızlık Sığır Yetiştiricileri Merkez Birliği Yayınları, No:4.
- Aksoy, F.T., Ertuğrul, O., Atasoy, F., Gürler, S. and Erdoğan, M. A. 2000. Study on Blood Group Allels of Denizli Fowl, Turk J Vet Anim Sci., 24 (5),431-434.
- Aksoy, F.T., Atasoy, F., Onbaşlar, E.E. ve Apaydın, S. 2002. Denizli Irkı Günlük Cıvcivlerde Tüylene özelliklerinden Yararlanarak Cinsiyeti Belirleme Olanakları. Turk J Vet Anim Sci., 26 (3),567-575.
- Anonim. 2004. Yerli Hayvan Irk ve Hatlarının Tescili Hakkında Tebliğ (No: 2004/39). 12 Aralık 2004 Tarihli 25668 Sayılı Resmi Gazete. <http://rega.basbakanlik.gov.tr/Eskiler/2004/12/20041212.htm>. Erişim tarihi: 19.10.2009
- Anonim. 2009. www.tuik.org.tr. Erişim tarihi: 16.10.2009.
- Atasoy, F. ve Gürçan, İ.S. 2000. Bir Denizli Tavuğu Sürüsünde Canlı Ağırlık ve Yumurta Ağırlığı Özellikleri. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 47: 265-269.
- Brown, T. A. 2007. Genomes 3. 3rd Edition. Garland Science Publishing. New York.
- Bao, H.G., Zhao, C.J., Li, J.Y. and Wu, C.X. 2008. Sequencing and alignment of mitochondrial genomes of Tibetan chicken and two lowland chicken breeds. Sci China Ser C-Life Sci, Jan., vol.51, no.1, 47-51.
- Chen, X.J. and Butow, R.A., 2005. The organization and inheritance of the mitochondrial genome. Nature Reviews.
- Bilgemre, K. 1939. Modern Tavukçuluk. T.C. Yüksek Ziraat Enstitüsü Çalışmalarından Ders ve Müracaat Kitabı Sayı: 5, Ankara Yüksek ziraat enstitüsü, Ankara.
- Bilgemre, K. 1950. Tavuk Yetiştirmek. Ankara Üniversitesi Yayınları 27. Ders Kitabı:12. Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara.
- Butler, J. M., 2005. Forensic DNA Typing: Biology, Technology and Genetics of STR Markers. 2nd edition. Elsevier Academic Press. USA.
- Chen, X. J. and Butow, R. A. 2005. The organization and inheritance of the mitochondrial genome. Nature Reviews-Genetics. Advance online publication. Nature Publishing Group.
- Chinnery, P.F. and Schon, E.A. 2003. Mitochondria. J. Neurol Neurosurg Psychiatry 2003; 74: 1188-1199.
- Crawford, R.D. 1990. Poultry Breeding and Genetics. Elsevier Science Publishers B.V., USA.
- Darwin, C. 1868. Türlerin Kökeni. Onur Yayınları. Beşinci baskı, 1996. Ankara.
- Demirsoy, A. 2001. Yaşamın Temel Kuralları. Genel Biyoloji/Genel Zooloji: Cilt I/Kısım I. 16. Baskı. Meteksan A.Ş. Ankara.
- Desjardins, P. and Morais, R. 1990. Sequence and gene organization of the chicken mitochondrial genome: A novel gene order in high vertebrates. J. Mol. Biol. 212. 599-634.
- Ekimci, S. Z. 1931. Asri Tavukçuluk. Hüsnütabiat Matbaası, İstanbul.
- Eriksson, J., Larson, G., Gunnarsson, U., Bed'hom, B., Tixier-Boichard, M., Strömstedt, L., Wright, D., Jungerius, A., Vereijken, A., Randi, E., Jensen, P., and Andersson, L. 2008. Identification of the Yellow Skin Gene Reveals a Hybrid Origin of the Domestic Chicken. PLoS Genetics: Volume 4, issue 2, e1000010.

- Ertuğrul, M., Dellal, G., Elmacı, C., Akın, A. O., Pehlivan, E., Soysal, M. İ. ve Arat, S. 2010. Çiftlik hayvanları genetik kaynaklarının korunması ve sürdürülebilir kullanımı. Türkiye Ziraat Mühendisliği VII. Teknik Kongresi, 11-15 Ocak 2010.
- FAO, 2006. World Agriculture: towards 2030/2050. Interim Report. Rome. <http://www.fao.org/es/esd/AT2050web.pdf>. Erişim tarihi: 15.10.2009
- FAO, 2007a. The State of the World's Animal Genetic Resources for Food and Agriculture, edited by B. Rischkowsky and D. Pilling. Rome. 511 pp + CD www.fao.org/docrep/010/a1250e/a1250e00.htm. Erişim tarihi: 15.10.2009
- FAO, 2007b. Global Plan of Action for Animal Genetic Resources and the Interlaken Declaration. Rome. www.fao.org/ag/againfo/programmes/en/genetics/documents/Interlaken/GPA_en.pdf. Erişim tarihi: 15.10.2009
- Fourtounis, D. 1999. Mutations in the control region of the mitochondrial genome linked to traits of economic value in white leghorns. Thesis of Master degree. McGill University. Canada.
- Fumihito, A., Miyake, T., Sumi, S.I., Takada, M., Ohno, S. and Kondo, N. 1994. One subspecies of the red junglefowl (*Gallus gallus gallus*) suffices as the matriarchic ancestor of all domestic breeds. Proc. Natl. Acad. Sci. USA Vol. 91, pp. 12505-12509.
- Fumihito, A., Miyake, T., Takada, M., Ohno, S. and Kondo, N. 1995. The genetic link between the Chinese bamboo partridge (*Bambusicola thoracica*) and the chicken and junglefowls of the genus *Gallus*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. Vol. 92, pp. 11053-11056.
- Fumihito, A., Miyake, T., Takada, M., Shingu, R., Endo, T., Gojobori, T., Kondo, N. and Ohno, S. 1996. Monophyletic origin and unique dispersal patterns of domestic fowls. Proc. Natl. Acad. Sci. USA Vol. 93, pp. 6792-6795.
- Gongora, J., Rawlence, N. J., Mobegi, V. A., Jianlin, H., Alcalde, J.A., Matus, J.T., Hanotte, O., Moran, C., Austin, J.J., Ulm, S., Anderson, A.J., Larson, G. and Cooper, A. 2008. Indo-European and Asian origins for Chilean and Pacific chickens revealed by mtDNA. PNAS, vol.105, no.30, 10308-10313.
- Guan, X., Geng, T., Silva, P. and Smith, E.J. 2007. Mitochondrial DNA sequence and haplotype variation analysis in the chicken (*Gallus gallus*). Journal of Heredity, November 5, 2007.
- Harumi, T., Sano, A., Kagami, H., Tagami, T., Matsubara, Y. and Naito, M. 2004. Polymerase chain reaction detection of single nucleotide polymorphisms in the chicken mitochondrial D-loop region. Animal Science Journal, 75, 503-507.
- Hemşinlioğlu, M. 1969. Tavuk Yetiştirme Tekniği. Güzel Sanatlar Matbaası A.Ş. Ankara.
- Hillel, J., Groenen, M.A.M., Tixier-Boichard, M., Korol, A.B., David, L., Kirzhner, V.M., Burke, T., Barre-Dirie, A., Crooijmans, R.P.M.A., Elo, K., Feldman, M.W., Freidlin, P.J., Mäki-Tanila, A., Oortwijn, M., Thomson, P., Vignal, A., Wimmers, K., Weigend, S. 2003. Genet. Sel. Evol. 35: 533-557.
- International Chicken Genome Sequencing Consortium, Hillier, L. W., Miller, W., Birney, E., Warren, W., Hardison, R.C., Ponting, C.P., Bork, P., Burt, D. W., Groenen, M A M., Delany, M E., Dodgson, J.B., Chinwalla, A.T., Clifton, P.F., Clifton, S.W., Delehaunty, K.D., Fronick, C., Fulton, R.S., Graves, T.A., Dan Layman, C.K., Magrini, V., McPherson, J.D., Miner, T.L., Minx, P., Nash, W.E., Nhan, M.N., Nelson, J.O., Oddy, L.G., Pohl, C.S., Randall-Maher, J., Smith, S.M., Wallis, J.W., Yang, S.P., Romanov, M.N., Rondelli, C.M., Smith,

- B.P.J.,Morrice, D., Daniels, L., Tempest, H.G.,Robertson, L., Masabanda, J.S., Griffin, D.K., Vignal A., Fillon, V., Jacobbson, L., Kerje, S., Andersson, L., Crooijmans, R.P.M., Aerts, J., van der Poel, J.J., Ellegren, H., Caldwell, R.B., Hubbard, S.J., Grafham, D.V., Kierzek, A.M., McLaren, S.R., Overton, I.M., Arakawa, H., Beattie, K.J., Bezzubov, Y., Boardman, P.E., Bonfield, J.K., Croning, M.D.R., Davies, R.M., Francis, M.D., Humphray, S.J., Scott, C.E., Taylor, R.G., Tickle, C., Brown, W.R.A., Rogers, J., Buerstedde, J.M., Wilson, S.A., Stubbs, L., Ovcharenko, I., Gordon, L., Lucas, S., Miller, M.M., Inoko, H., Shiina, T, Kaufman, J., Salomonsen, J., Skjoedt, K., Wong, G.K., Wang, J, Liu, B., Wang, J., Yu, J., Yang, H., Nefedov, M., Koriabine, M., deJong, P.J., Goodstadt, L., Webber, C., Dickens, N.J., Letunic, I., Suyama, M., Torrents, D., von Mering, C., Zdobnov, E.M., Makova, K., Nekrutenko, A., Elnitski, A., Eswara L., King, P, Yang, D.C., Tyekucheva, S., Radakrishnan, S., Harris A., Chiaromonte, R.S F., Taylor, J., He, J., Rijnkels, M., Griffiths-Jones, S., Ureta-Vidal, A., Hoffman, M.M., Severin, J., Searle, S.M. J., Law, A.S, Speed, D., Waddington, D., Cheng, Z, Tuzun, E., Eichler, E, Bao, Z., Flicek, P., Shteynberg, D.D., Brent, M.R., Bye, J.M., Huckle, E. J., Chatterji, S., Dewey, C., Pachter, L., Kouranov, A., Mourelatos, Z.,Hatzigeorgiou, A. G., Paterson, A. H., Ivarie, R. , Brandstrom, M., Axelsson, E., Backstrom, N., Berlin, S. ,Webster, M. T., Pourquoi, O., Reymond, A., UCLA, C., Antonarakis, S. E., Long, M., Emerson, J. J., Betrán, E., Dupanloup, I., Kaessmann, H., Hinrichs, A.S., Bejerano, G.,Furey, T. S., Harte, R. A., Raney, B., Siepel, A., Kent, W. J., Haussler, D., Eyraş, E., Castelo, R, Abril, J. F. Castellano, S., Camara, F.Parra, G.Guigo, R.Bourque, G Tesler, G.Pevzner, P. A. Smit, A., Fulton, L. A., Mardis E. R., and Wilson, R. K. 2004. Sequence and comparative analysis of the chicken genome provide unique perspectives on vertebrate evolution. *Nature* 432, 695-716.
- Kaplan, G. ve Aksoy, F, T. 2009. Denizli ırkı bir tavuk sürüsünde telek rengi özellikleri ve canlı ağırlığın incelenmesi. Ankara. Üni. Vet. Fak. Derg., 56, 297-303.
- Karaesmen, F. 1944. Tavukçuluk. Yüksek Ziraat Enstitüsü Basımevi, Ankara.
- Kaya, M. 2008. Denizli ve Gerze tavuk populasyonlarındaki genetik çeşitliliğin bazı mikrosatelit markerler kullanılarak belirlenmesi. Yayınlanmamış doktora tezi. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü. Ankara.
- Kaya, M. and Yıldız, M. A. 2008. Genetic diversity among Turkish native chickens, Denizli and Gerze, estimated by microsatellite markers. *Biochem. Genet.* 46: 480-491.
- Kırdağ, N. 2007. Moleküler tekniklerin kanatlı filogenetik çalışmalarına uygulanması. Yüksek lisans tezi. Sütçü İmam Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü. Kahraman Maraş.
- Komiyama, T., Ikeo, K. and Gojobori, T. 2003. Where is the origin of the Japanese gamecocks? *Gene* 317, 195–202.
- Komiyama, T., Ikeo, K., Tateno, Y. and Gojobori, T. 2004a. Japanese domesticated chickens have been derived from Shamo traditional fighting cocks. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 33: 16–21.
- Komiyama, T., Ikeo, K. and Gojobori, T. 2004b. The evolutionary origin of long crowing chicken: its evolutionary relationship with fighting cocks disclosed by the mtDNA sequence analysis. *Gene* 333: 91–99.

- Kumar, S., Nei, M., Dudley, J. and Tamura, K. 2008. MEGA: A biologist-centric software for evolutionary analysis of DNA and protein sequences. *Briefings in bioinformatics*, Vol 9, No 4, 299-306.
- Kvist, L. 2000. Phylogeny and phylogeography of European Parids. Academic Dissertation. Faculty of Science, University of Oulu. Oulun Yliopisto.
- Li, S. 1998. Identification of DNA markers which are associated with egg production traits and Marek's disease resistance in chickens. PhD. Thesis. McGill University. Montreal.
- Li, S., Aggrey, E., Zadworny, D., Fairfull, W. and Kuhnlein, U. 1998. Evidence for a genetic variation in the mitochondrial genome affecting traits in white Leghorn chicken. *The American Genetic Association* 89:222–226
- Liu, Y., Wu, G., Yao, Y., Miao, Y., Luikart, G., Baig, M., Beja-Pereira, A., Ding, Z., Palanichamy, M. G. and Zhang, Y. 2006. Multiple maternal origins of chickens: Out of the Asian jungles. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 38: 12–19.
- Muchadeyi, F.C., Eding, H., Simianer, H., Wollny, C.B.A., Groeneveld, E. and Weigend, S. 2008. Mitochondrial DNA D-loop sequences suggest a southeast Asian and Indian origin of Zimbabwean village chickens. *Animal Genetics*, 39: 615-622.
- Miller, S.A., Dykes, D.D. and Polesk, H.F. 1988. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Research*, 16 (3):1215.
- Nishibori, M., Tsudzuki, M., Hayashi, T., Yamamoto, Y. and Yasue, H. 2002. Complete nucleotide sequence of the coturnix chinensis (blue-breasted quail) mitochondrial genome and a phylogenetic analysis with related species. *The Journal of Heredity*, 93 (6).
- Nishibori, M., Hanazono, M., Yamamoto, Y., Tsudzuki, M. and Yasue, H. 2003. Complete nucleotide sequence of mitochondrial DNA in White Leghorn and White Plymouth Rock chickens. *Animal Science Journal* 74, 437–439.
- Nishibori, M., Shimogiri, T., Hayashi, T. and Yasue, H. 2005. Molecular evidence for hybridization of species in the genus *Gallus* except for *Gallus varius*. *International Society for Animal Genetics, Animal Genetics*, 36, 367–375.
- Oka, T., Ino, Y., Nomura, K., Kawashima, S., Kuwayama, T., Hanada, H., Amano, T., Takada, M, Takahata, N., Hayashi, Y. and Akishinomiya, F. 2007. Analysis of mtDNA sequences shows Japanese native chickens have multiple origins. *Animal Genetics*. 38(3):287-293.
- Özdil, F. 2005. Moleküler marker teknolojisi ve hayvancılıkta kullanım olanakları. Doktora semineri. Ankara Üniversitesi. Ankara.
- Özdoğan, N. ve Gürcan, İ.S. 2006. Denizli ve Gerze yerli tavuk ırklarında yumurta verimine ait bazı özellikler. *Lalahan Hay. Araşt. Enst. Derg.*, 46(2);13-21.
- Özdoğan, N., Gürcan, İ.S. ve Bilgen, A. 2007. Denizli ve Gerze Yerli Tavuklarında Yumurta Ağırlığı ve Yumurta Ağırlığının Tekrarlanma Derecesi. *Lalahan Hay. Araşt. Enst. Derg.*, 47(1);21-28.
- Pereira, S.L. and Baker, A.J. 2004. Low number of mitochondrial pseudogenes in the chicken (*Gallus gallus*) nuclear genome: implications for molecular inference of population history and phylogenetics. *BMC Evolutionary Biology*, 4:17 doi:10.1186/1471-2148-4-17.
- Quinn, T.W. and Wilson, A.C. 1993. Sequence evolution in and around the mitochondrial control region in birds. *J Mol Evol* 37: 417-425.

- Russel, P. J. 2006. *iGenetics: A Molecular Approach*. 2nd Edition. Pearson Education Inc. San Fransisco.
- Shadel, G.S. and Clayton, D.A. 1997. Mitochondrial DNA maintenance in vertebrates. *Annu. Rev. Biochem.* 66: 409–435.
- Shen, X.J., Suzuki, H., Tsudzuki, M., Ito, S. and Nakamura, T. 1999. Comparison of cytochrome b region among Chinese painted quail, wild-starin quail and white broiler chicken based on PCR-RFLP analysis. *Jpn. Poult. Sci.*, 36: 287-294.
- Shen XJ, Ito S, Mizutani M. and Yamamoto Y. 2002. Phylogenetic analysis in chicken breeds inferred from complete cytochrome b gene information. *Biochem. Genet.*, 40 (3-4): 129-41.
- Silva, P., Guan, X., Ho-Shing,O., Jones, J., Xu, J., Hui, D., Noter, D. and Smith, E. 2008. Mitochondrial DNA-based analysis of genetic variation and relatedness among Sri Lankan indigenous chickens and the Ceylon junglefowl (*Gallus lafayetti*). *International Society for Animal Genetics, Animal Genetics*, 40, 1–9.
- Sorenson, M.D., Ast, J.C., Dimcheff, D.E., Yuri, T. and Mindell, D.P. 1999. Primers for a PCR-based approach to mitochondrial genome sequencing in birds and other vertebrates. *Molecular Phylogenetics and Evolution* Vol. 12, No. 2, July, pp. 105–114.
- Sönmez, R. 1966. Tavukçuluk. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları. No:111. İzmir, Bornova.
- Stevens, L. 1991. *Genetics and evolution of the domestic fowl*. Cambridge University Press. Cambridge.
- Şekeroğlu, A. 1994. Gerze (Hacıkadın) ve Denizli tavuk ırklarının yumurta verimi ve kalite özellikleri. Yayınlanmamış yüksek lisans tezi. Ondokuz Mayıs Üniversitesi. Samsun.
- Tamarin, R. H. 2002. *Principles of Genetics*. 7th Edition. The McGraw-Hill Companies Inc. New York.
- Tamura, K., Dudley, J., Nei, M. and Kumar, S. 2007. Molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software version 4.0. *Mol. Biol. Evol.* 24(8):1596–1599
- Turner, P. C., McLennan, A. G., Bates, A. D. and White, M. R. H. 2004. *Moleküler Biyoloji. Önemli Notlar*. 2. Baskı. Nobel Yayın Dağıtım. Ankara.
- Türkoğlu, M., Arda, M., Yetişir, R., Sarıca, M., Altan, A. ve Erensayın, C. 2004. *Tavukçuluk Bilimi (Yetiştirme ve Hastalıklar)*. Bey Ofset Matbaacılık Ltd. Şti., Ankara.
- Türkyılmaz, M.K., Dereli, E. ve Şahin, T. 2005. Denizli Tavuklarında Bazı Yumurta Özellikleri ile Yumurtaların Kuluçka İşlemi Sırasındaki Ağırlık Kaybı Üzerine Bir Araştırma. *YYÜ Vet Fak Derg*, 16 (2):89-92.
- Wada, Y., Yamada, Y., Nishibori, M. and Yasue, H. 2004. Complete nucleotide sequence of mitochondrial genome in Silkie fowl (*Gallus gallus var. domesticus*). *Journal of Poultry Science*, 41: 76-82.
- Wang, H. 1996. Contribution of the mitochondrial genome to nuclear gene expression in chicken cells. PhD. Thesis. University of Montreal. USA.
- Wenink, P.W., Baker, A.J. and Tilanus, M.G.J. 1994. Mitochondrial control region sequences in two shorebird species, the Turnstone and the Dunlin, and their utility in their population genetic studies. *Mol. Bid. Evol.* I I(1): 22-3 1.
- Ye, S., Dhillon, S., Ke, X., Collins, A. R. and Day, I. N. M. 2001. An efficient procedure for genotyping single nucleotide polymorphisms. *Nucleic Acids Research*, Vol.29, No. 17 e88.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Hulusi Ozan TAŞKESEN

Doğum Yeri : Ankara

Doğum Tarihi : 30.04.1984

Medeni Hali : Bekâr

Yabancı Dili : İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise : Atatürk Anadolu Lisesi (2002)

Lisans : Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootečni Bölümü (2007)

Yüksek Lisans: Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Zootečni Ana Bilim Dalı (Eylül 2007 – Ekim 2010)

Yayımları (SCI ve diğer):

- “Türkiye’de Yetiştirilen Norduz, Karakaş ve İvesi Koyunlarında Fec-B Geni Polimorfizminin PCR-RFLP Yöntemi Kullanılarak Belirlenmesi” H.O. TAŞKESEN, H. MEYDAN, F. ÖZDİL, M.A. YILDIZ, 6. Ulusal Zootečni Bilim Kongresi, Erzurum. 2008.
- “Siyah Alaca Sığırlarında K-Kazein Polimorfizminin PCR-RFLP Yöntemi Kullanılarak Belirlenmesi” H.O. TAŞKESEN, Y. GEDİK, H. MEYDAN, F. ÖZDİL, M.A. YILDIZ, 3. Ulusal Zootečni Öğrenci Kongresi, Kahraman Maraş. 2007.
- “Yem Kalitesi ve Gıda Güvenliği” B. ÇÖKTÜ, H.O. TAŞKESEN, 3. Ulusal Zootečni Öğrenci Kongresi, Kahraman Maraş. 2007.
- “Genetik Yapısı Değiştirilmiş Organizmaların Bal Arılarına Etkileri” G. AKKAYA, H. O. TAŞKESEN, 3. Ulusal Zootečni Öğrenci Kongresi, Kahraman Maraş. 2007.
- “Siyah Alaca Sığırlarında K-kazein Polimorfizminin PCR-RFLP Yöntemi Kullanılarak Belirlenmesi” H.O. TAŞKESEN, Y. GEDİK, H. MEYDAN, F. ÖZDİL, M.A. YILDIZ, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi 3. Öğrenci Kongresi, Ankara. 2007.

- “Siyah Alaca Sığırlarında BLAD Genetik Kusurunun PCR-RFLP Yöntemi Kullanılarak Belirlenmesi” H.O. TAŞKESEN, H. MEYDAN, F. ÖZDİL, M.A. YILDIZ, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi 2. Öğrenci Kongresi, Ankara. 2006.