



T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**TÜRKİYE KOYUN IRKLARINDAKİ GENETİK ÇEŞİTLİLİĞİN mtDNA
ve Y KROMOZOMAL BELİRTEÇLERİ KULLANILARAK
BELİRLENMESİ**

Yasemin ÖNER

DOKTORA TEZİ
ZOOTEKNİ ANABİLİM DALI

BURSA-2010



T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**TÜRKİYE KOYUN IRKLARINDAKİ GENETİK ÇEŞİTLİLİĞİN mtDNA
ve Y KROMOZOMAL BELİRTEÇLERİ KULLANILARAK
BELİRLENMESİ**

Yasemin ÖNER

Prof. Dr. Cengiz ELMACI
(Danışman)

DOKTORA TEZİ
ZOOTEKNİ ANABİLİM DALI

BURSA-2010

T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**TÜRKİYE KOYUN IRKLARINDAKİ GENETİK ÇEŞİTLİLİĞİN mtDNA
VE Y KROMOZOMAL BELİRTEÇLERİ KULLANILARAK
BELİRLENMESİ**

Yasemin ÖNER

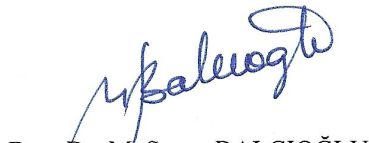
DOKTORA TEZİ
ZOOTEKNİ ANABİLİM DALI

Bu Tez 22./07./2010 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oybirliği ile kabul edilmiştir.


Prof. Dr. Cengiz ELMACI
Danışman


Prof. Dr. Erdoğan TUNCEL


Prof. Dr. M. İhsan SOYSAL


Doç. Dr. M. Soner BALCIOĞLU


Doç. Dr. Mehmet KOYUNCU

ÖZET

TÜRKİYE KOYUN IRKLARINDAKİ GENETİK ÇEŞİTLİLİĞİN mtDNA ve Y KROMOZOMAL BELİRTEÇLERİ KULLANILARAK BELİRLENMESİ

Bu çalışmada, her biri Y kromozomunda bulunan SRY genine ait iki, DBY ve AMELY genine ait tek bölge ile Y-özel bir mikrosatelit olan SRYM18 DNA dizi analiz yöntemleriyle incelenmiştir. SRY, DBY ve AMELY genine ait dizi analizi yapılan bölgelerde herhangi bir tek nükleotid polimorfizmi saptanmazken, SRYM18 mikrosatellitine ait 141,143 ve 145 bazlık üç farklı büyüklükte parça saptanmıştır.

Yerli koyun ırklarındaki anasal genetik çeşitliliğin belirlenmesi için bu on koyun ırkından dokuzu mtDNA kontrol bölgesinin 531 bç'lik dizi bilgileri kullanılarak incelenmiştir. Dokuz adet yerli ırkta mtDNA'nın kontrol bölgesinde bulunan 531 bazlık parçanın dizi analizi sonucunda yerli koyun ırklarında yüksek bir haplotip çeşitliliği belirlenmiştir. Ayrıca yerli koyun ırkları üç temel haplogrup olan A,B ve C içinde gruplanmış ve Akkaraman ırkından tek bir hayvan nadir E haplogrubunda saptanmıştır.

Anahtar kelimeler: SRY, SRYM18, genetik çeşitlilik, mtDNA, evciltme

ABSTRACT

DETECTION OF GENETIC DIVERSITY ON TURKISH SHEEP BREED BY USING mtDNA and Y CHROMOSOMAL MARKERS

In this study two SRY genes, one region of DBY and AMEL genes and SRYM18 Y-specific microsatellite (each of them are located on of Y chromosome) were investigated by using DNA sequence techniques in 10 Turkish native sheep breeds. While any base substitution was not found on the regions sequenced of SRY, DBY and AMELY, have been found three different base of size as 141, 143 and 145bp belong to SRYM18.

9 of 10 sheep breeds were investigated to determinate maternal genetic diversity on Turkish native sheep breeds by using sequence information of 531 bp of mtDNA control region. As a result of sequence analysis of 531 bp of mtDNA control region have been detected a high genetic diversity on Turkish native breeds. While these breeds have grouped into three major maternal haplo groups as A,B and C, one animal from Akkaraman breed was detected into rare E haplogroup.

Key words: SRY, SRYM18, genetic diversity, mtDNA, domestication

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
SİMGE ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	v
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ.....	6
2.1. Evciltme	6
2.2. Koyunun Önemi ve Taksonomideki Yeri.....	9
2.3. Mitokondri ve Mitokondriyal Genom.....	13
2.4. Y Kromozomu ve Erkeğe Özgü (Male-Spesific) Bölge.....	21
2.4.1. SRY (sex determinating region of Y).....	22
2.4.2. AMEL(Amelogenin).....	23
2.4.3. DBY (Dead Box Helicase Y).....	24
2.4.4. Y kromozomu ile ilgili çalışmalar.....	24
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	33
3.1. Materyal.....	33
3.1.1. Akkaraman.....	34
3.1.2. Morkaraman.....	34
3.1.3. Çine Çaparı.....	35
3.1.4. Dağlıç.....	35
3.1.5. Gökçeada.....	36
3.1.6. Hemşin	36
3.1.7. İvesi	37
3.1.8. Karayaka.....	37
3.1.9. Kıvrıcık.....	38
3.1.10. Sakız.....	38
3.2. Yöntem.....	39
3.2.1. Kan Örneklerinin Alınması ve DNA İzolasyonu.....	39
3.2.2. mtDNA Kontrol Bölgesinin Çoğaltılması.....	40
3.2.3. Y Kromozomuna Ait Parçaların Çoğaltılması.....	40
3.2.4. Dizi Analizleri.....	42
3.2.5. İstatistiksel Analizler.....	44
4. BULGULAR.....	46
4.1. Y kromozomuna Ait Dizilerden Elde Edilen Bulgular.....	46
4.1.1. SRY genine ait iki bölgeden elde edilen bulgular.....	46
4.1.2. AMELY genine ait bölgeden elde edilen bulgular.....	47
4.1.3. DBY genine ait bölgeden elde edilen bulgular.....	48
4.1.4. SRYM18 den elde edilen bulgular	49
4.2. mtDNA Dizi Analizlerinden Elde Edilen Bulgular.....	52

5. TARTIŞMA.....	61
6. SONUÇ.....	71
KAYNAKLAR.....	73
ÖZGEÇMİŞ.....	90
TEŞEKKÜR.....	91

SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ

AMEL	: Amelogenin
AKK	: Akkaraman
ÇÇ	: Çine Çaparı
cytb	: cytochrome b
CR	: kontrol bölgesi
DGL	: Dağlıç
DBY	: dead box RNA helicase Y
d-loop	: displacement loop
GD	: Gökçeada
HMS	: Hemşin
HV1, HV2	: hypervariable region 1 ve 2
IVS	: İvesi
KRY	: Karayaka
KVR	: Kıvırcık
NJ	: neighbor joining
MRK	: Morkaraman
mtDNA	: mitokondrial DNA
MSY	: Male specific region of Y
PAR	: pseudoautosomal bölge
PCR	: Polimeraz Chain Reaction
RAPD	: Random Applified Polimorfic DNA
RFLP	: Restriction Fragment Length Polymorphism
SKZ	: Sakız
SRY	: sex determinating region of Y
SNP	: single nucleotid polymorphism
STR	: short tandem repeat
TNP	: tek nükleotid polimorfizmi
UTY	: ubiquitously transcribed tetratricopeptide repeat gene
ZFY	: Zinc finger Y-chromosomal protein

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa
Çizelge 2.1. Çeşitli türlerin yaklaşık evciltirme zaman ve bölgeleri	6
Çizelge 2.2. Koyunun çeşitli araştırmacılar tarafından oluşturulan taksonomisi	10
Çizelge 3.1. Y kromozomuna ait bölgelerin incelenmesi amacıyla erkek hayvanlara ait kan örneklerinin alındığı ırklar, çiftlik sayıları ve bunları temsil eden örnek sayıları.....	33
Çizelge 3.2. mtDNA-CR bölgesinin incelendiği erkek ve dişi hayvanlara ait kan örneklerinin alındığı ırklar ve bunları temsil eden örnek sayıları.....	33
Çizelge 3.3. Y kromozomu üzerinde bulunan bölgeleri çoğaltmak amacıyla kullanılan primerler.....	41
Çizelge 4.1. SRYM18' e ait allellerin ırklara dağılımı.....	51
Çizelge 4.2. SRYM18 allellerinin ırklar arasındaki dağılımı.....	52
Çizelge 4.3. mtDNA kontrol bölgesinden elde edilen dizi analiz sonuçlarına göre belirlenen haplogrupların yerli koyun ırklarındaki dağılımı.	56
Çizelge 4.4. Populasyonların her biri için hesaplanan Hd, Pi ve k değerleri.....	57
Çizelge 4.5. Haplotip frekanslarına göre ırklar arasındaki Fst değerleri	57
Çizelge 4.6. Herbir haplogrup için ayrı ayrı gerçekleştirilen nötralite testlerinden elde edilen sonuçlar.....	57
Çizelge 4.7. AMOVA sonuçları.....	60

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 2.1. Uygarlığın başlangıcındaki önemli topluluk ve bölgeler.....	7
Şekil 2.2. Yabani koyunların dünya üzerindeki dağılımı.....	11
Şekil 2.3. Koyun ve diğer evcil hayvanların evcilleştirilme bölgeleri ve yaklaşık evciltirme zamanı	12
Şekil 2.4. İnsan mitokondriyal genomunun haritası.....	15
Şekil 2.5. Mitokondriyal DNA verilerine dayanılarak evcil koyun ve üç yabani aday ata arasında yapılan ilişkilendirme	20
Şekil 2.6. Y-kromozomunun yapısı ve genlerin yerleşimi.....	23
Şekil 3.1. Akkaraman koçu ve Akkaraman ırkının coğrafi dağılımı	34
Şekil 3.2. Morkaraman koçu ve Morkaraman ırkının coğrafi dağılımı.....	34
Şekil 3.3. Çine Çaparı koyunu ve Çine çaparı ırkının coğrafi dağılımı.....	35
Şekil 3.4. Dağlıç koçu ve Dağlıç ırkının coğrafi dağılımı.....	35
Şekil 3.5. Gökçeada koyunu ve Gökçeada ırkının coğrafi dağılımı.....	36
Şekil 3.6. Hemşin koyunu ve Hemşin ırkının coğrafi dağılımı.....	36
Şekil 3.7. İvesi ırkından bir hayvan ve İvesi ırkının coğrafi dağılımı.....	37
Şekil 3.8. Karayaka ırkından bir hayvan ve Karayaka ırkının coğrafi dağılımı...	37
Şekil 3.9. Kıvırcık ırkından bir koç ve kıvırcık ırkının coğrafi dağılımı.....	38
Şekil 3.10. Sakız ırkından bir koç ve Sakız ırkının coğrafi dağılımı.....	38
Şekil 4.1. SRY genine ait 549 bazlık bölgenin (a) erkek ve dişi hayvanda (b) ve 598 bazlık bölgenin (c) erkek hayvanlarda PCR ürünlerinin agaroz jellerde gözlenmesi.....	46
Şekil 4.2. SRY genine ait 549 bazlık bölgenin (AY604734) forward primer ile yapılan dizi analizinin kromotogram görüntüsü.....	47
Şekil 4.3. SRY genine ait 598 bazlık bölgenin (AY604735) forward primer ile yapılan dizi analizinin kromotogram görüntüsü.....	47
Şekil 4.4. AMELY ve AMELX e ait 182 ve 242 baz uzunluğundaki PCR ürünlerinin agaroz jellerde gözlenmesi.....	48
Şekil 4.5. AMELY genine ait 182 bazlık bölgenin forward primer ile okuma sonucu.....	48
Şekil 4.6. İki farklı koşulda gerçekleştirilen DBY genine ait PCR ürünlerinin agaroz jellerdeki görünümü.....	49
Şekil 4.7. DBY genine ait 171 bazlık bölgenin dizi analizinden elde edilen kromotografin görüntüsü.....	49
Şekil. 4.8. SRYM18 e ait 141 baz uzunluğundaki allelin GenScan programında görüntülenmesi.....	50
Şekil. 4.9. SRYM18'e ait 143 baz uzunluğundaki allelin GenScan programında görüntülenmesi.....	50
Şekil 4.10. SRYM18'e ait 145 baz uzunluğundaki allelin GenScan programında görüntülenmesi.....	50
Şekil 4.11. SRYM18 allelerinin bölgeler arasındaki dağılımı.....	52
Şekil 4.12. mtDNA kontrol bölgesine ait bölgenin PCR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü.....	53

Şekil 4.13.	mtDNA kontrol bölgesine ait forward primer ile yapılan dizi analizi görüntüsü	53
Şekil 4.14.	Referans diziler ve 135 örnekten elde edilen NJ ağacının görüntüsü...	54
Şekil 4.15.	Referans diziler ve 135 örnekten elde edilen NJ ağacının görüntüsü..	55
Şekil 4.16.	Network uygulamasında haplotiplerin görünümü.....	58
Şekil 4.17.	Populasyonun genelinden elde edilen ait mismatch dağılım grafiği....	58
Şekil 4.18.	Sadece Hpg A'ya ait mismatch dağılım grafiği.....	59
Şekil 4.19.	Sadece Hpg B'ya ait mismatch dağılım grafiği.....	59
Şekil 4.20.	Sadece Hpg C'ya ait mismatch dağılım grafiği.....	59
Şekil 4.21.	Network analizi sonucunda elde edilen dentrogram	60
Şekil 5.1.	Çin ırklarından 405 bireye ait diziler ile referans örnekleri kullanılarak oluşturulan NJ ağacı.....	69
Şekil 5.2.	GenBanktaki 16 referans dizinin 15990 ve 16616 arasındaki bölgeleri kullanılarak elde edilen NJ ağacı.....	70
Şekil 5.3.	GenBanktaki 16 referans dizinin 16006 ve 16537 arasındaki bölgeleri kullanılarak elde edilen NJ ağacı.....	70

1.GİRİŞ

Birleşmiş Milletler Biyoçeşitlilik Sözleşmesinde genetik kaynaklar, “Bugün veya gelecek için değer taşıyan genetik materyal” olarak tanımlanmaktadır (Anonim 2010). Bu tanım özgün potansiyel kullanım özelliklerine sahip evcil ya da yabani bir türdeki çeşitliliği ifade etmektedir. Irklar arasındaki farklılıklar genetik çeşitlilik bakımından çok önemlidir. Ancak günümüzde bu farklılıklar, dolayısıyla da genetik çeşitlilik artan dünya nüfusun gereksinimlerini karşılamak için yoğun biçimde yapılan seleksiyon, kontrolsüz melezlemeler ve gelişen teknolojinin etkileri altında kaybolma tehlikesi ile karşı karşıya kalmıştır. Aslında bu farklılıkların korunması, gelecekte ortaya çıkması olası çevresel değişikliklere ve piyasa eğilimlerinin değişme olasılığına karşı önlem oluşturması bakımından olduğu gibi kültürel, tarihi ve bilimsel açıdan da büyük önem taşımaktadır.

Gıda ve tarım için yaşamsal önem taşıyan biyolojik çeşitliliğin, artan dünya nüfusuyla beraber yaygınlaşan yanlış uygulamalar ve aşırı kullanım nedeniyle hızla azalması tüm dünyada bu tahribatı önlemeye ve geciktirmeye yönelik bilinçli çabalar başlatmıştır. Çiftlik hayvanlarında gen kaynaklarını korumaya yönelik ilk kapsamlı proje İspanya’da 1944’de İberya koyun ırkının korumasına yönelik olmuştur ve bunu 1969 ve 1970 yıllarında İngiltere ve Fransa’da başlatılan çalışmalar izlemiştir. Günümüzde 39 Avrupa ülkesinin 33’ünde fonksiyonel koruma çalışmaları sürdürülmektedir (Zjalik 2008).

Biyolojik Çeşitlilik Sözleşmesi metni, dünyadaki sanayileşme, şehirleşme gibi biyolojik çeşitlilik üzerindeki baskıları artıran süreçlerin hızlanması ile birlikte ortaya çıkan gereksinim üzerine, 1987 yılında Birleşmiş Milletler Çevre Programı (UNEP) tarafından başlatılan ve dört yıl süren bir çalışma sonunda oluşturulmuştur. Rio de Janeiro’da 1992 yılında gerçekleştirilen Dünya Sürdürülebilir Kalkınma Zirvesi’nde biyolojik çeşitliliğin azalmasının koordine edilmiş uluslararası çabalarla önlenebilecek önemli bir sorun olduğu kabul edilmiş ve Türkiye’nin de taraf olduğu Biyolojik Çeşitlilik Sözleşmesi’nin Rio’da imzalanmasıyla sonuçlanmıştır. Türkiye bu Sözleşmeyi 1992’de imzalamış, 1996 yılında da onaylamış ve Sözleşme 14 Mayıs 1997 yılında yürürlüğe girmiştir (Anonim 2009a).

Biyocoğrafik konumu nedeniyle ülkemiz gen kaynakları ve biyolojik çeşitlilik bakımından ayrıcalıklı bir duruma sahip olup, özellikle hayvan (fauna) çeşitliliğinin çok fazla olduğu bildirilmektedir (Anonim, 2009a). Populasyonların tümündeki genetik varyasyonun tamamını korumak mümkün değildir. Bu nedenle bu konuda yapılacak çalışmaların ilk aşaması genetik kaynakların gözden geçirilmesi ve koruma açısından uygun olan ırkların seçilmesidir (Togan ve ark. 2005). Bu bağlamda yapılacak çalışmalara yön verilmesi için ırklar arasındaki genetik farklılıkların ve genetik ilişkilerin iyi anlaşılması ve irdelenmesi gerekmektedir. Böyle bilgiler ırk içindeki ve farklı ırklardan olan hayvanlar arasındaki benzerlik ve farklılıkların hesaplamasında ve koruma faaliyetlerinin geliştirilmesinde kullanılabilirler.

Türkiye iklimi, topografyası ve bitki örtüsü koyun yetiştiriciliği açısından çok elverişlidir. Ülkemizde çok çeşitli şartlara uyum sağlamış birçok yerli koyun ırkı ve tipi bulunmaktadır. Bu avantajlar nedeniyle koyun hem ekonomik anlamda hem de genetik kaynak olarak önemli bir kullanım potansiyeline sahiptir (Karaca ve Cemal 1998). Ancak entansif tarıma ayak uydurmak için yapılan melezlemeler ve koyunculuk sektöründeki bilinçsizlik, yerli ırkların sahip oldukları özellikleri hızla kaybetmesine yol açmaktadır. Uygulanan yanlış politikalar nedeniyle hem yerli ırklarımız dejenere olmakta hem de Türkiye koyun varlığı günden güne azalmaktadır. 1990 yılında 39 711 000 baş olan koyun varlığımız 2008 yılına gelindiğinde 22 955 941 başa kadar gerilemiştir. Yani son 18 yıl içerisinde koyun varlığımızda % 42 oranında azalma gerçekleşmiştir (Anonim, 2009b).

Diğer taraftan ülkemizde koyunun gen kaynağı olarak taşıdığı öneme ve bu konuda alınması gereken önlemlerin aciliyetine rağmen yerli koyun ırklarımızın tanımlanmasına yönelik yeterince çalışma yapıldığını söylemek güçtür (Karaca ve Cemal 1998). Koyunun gen kaynağı olarak taşıdığı önem göz önüne alınarak, ülkemizdeki koyun ırklarının genetik karakterizasyonuna yönelik çalışmalar yapılmıştır. Bu amaçla geçmişte morfolojik farklılıklar kullanılırken daha sonra polimorfik biyokimyasal sistemler kullanılmış ve günümüzde de moleküler genetik yöntemlerle belirlenen DNA polimorfizmleri kullanılmaya başlanmıştır. Çeşitli araştırmacılar, RAPD (Random amplified polymorphic DNA) (Elmacı ve ark. 2007; Devrim ve ark. 2007; Binbaş ve Cemal 2007) mikrosatelitte (Cerit ve ark. 2004; Koban 2004; Soysal ve ark. 2001; Uzun ve ark. 2006) gibi genetik moleküler belirteçler kullanarak yerli koyun

ırklarımızda bulunan genetik çeşitliliği ve aralarındaki genetik ilişkileri incelemişlerdir. Ancak bu araştırmaların çoğunda az sayıda ırk ve az sayıda belirteç kullanıldığından elde edilen sonuçlar çelişkiler göstermektedirler. Türkiye yerli koyun ırklarında mtDNA (Pedrosa ve ark. 2005; Meadows ve ark. 2007) ve Y kromozomal belirteçler kullanılarak yapılan çalışma sayısı ise oldukça azdır (Meadows ve ark. 2006; Meadows ve Kijas 2009).

Hayvan populasyonları arasındaki ilişkileri ve bu populasyonlarda bulunan varyasyonun seviyesini araştırırken oldukça yararlı bilgiler sağlayan moleküler tekniklerdeki ilerlemeler, gelişen bilgisayar teknolojileriyle birleştiğinde populasyonlar arasındaki ilişkiler ve populasyon tarihlerinin moleküler verilere dayanılarak incelenmesi mümkün hale gelmiştir. Şimdiye kadar çeşitli moleküler belirteçler kullanılarak, çiftlik hayvanı türlerinden populasyonlar arasındaki farklılıklar incelenmiştir (Blott ve ark. 1998; Behl ve ark. 2002; Visser ve ark. 2004). Günümüzde otozomal mikrosatelit belirteçler populasyon tarihinin anlaşılmasında (Forbes ve ark. 1995; Walling ve ark. 2004) ve dünyanın çeşitli bölgelerindeki ırklar arasındaki ilişkilerin incelenmesinde başarıyla kullanılmaktadır (Arranz ve ark. 1998, 2001; Diez-Tascon ve ark. 2000; Soysal ve ark. 2001). Bu gibi çalışmalarda gözlenen varyasyonların, incelenen bu ırklar hakkındaki tarihi ve coğrafik bilgilerle genellikle uyumlu sonuçlar ortaya koyduğu gözlenmektedir.

Son zamanlarda evcil koyun ve bunların atalarının maternal ve paternal kökenlerinin mitokondriyal genom ve Y kromozomundaki polimorfizmler yoluyla analiz edilmesi, üzerinde yoğunlaşılacak yeni bir yaklaşım haline gelmiştir. Otosomal mikrosatelitler de olduğu gibi sadece tek bir ebeveyn yoluyla kalıtılan, mtDNA ve Y-kromozomal uni-paternal belirteçlerin kullanılması da populasyonlarda zamanla genetik çeşitlilikte meydana gelen değişimlerin gözlenmesi ve populasyonların kökenlerinin anlaşılmasına olanak vermektedir (Vila 1997).

mtDNA'ya ait varyasyonların incelenmesinin tür düzeyinde veya daha alt düzeydeki ilişkilerin belirlenmesi bakımından oldukça önemli oluşu (Avice ve ark. 1987) mtDNA'nın ve gösterdiği kalıtımın bir takım özelliklerinden ileri gelmektedir. Bu özelliklerin başında mtDNA'nın, çok az sayıda istisna dışında klonal ve maternal olarak oosit plazması yoluyla kalıtılması (Gyllensten ve ark. 1985,1991) gelmektedir. Ayrıca

çekirdek DNA'sından 5 ila 10 kat daha hızlı çoğalması ve rekombinasyonun gerçekleşmediği bir bölge olması (Brown 1985), türler arasındaki haplotip farklılığını ortaya koyması nedeniyle mtDNA'yı oldukça avantajlı bir genetik belirteç haline getirmektedir.

Y kromozomu ise memeli genomunun sadece babanın erkek döllerine haploid olarak aktardığı tek kısmıdır ve bu nedenle türlerin evrim sürecine erkeğin etkisini belirlemede etkin biçimde kullanılmaktadır (Gerald ve ark. 2005). Ayrıca türlerin kökenini, popülasyon genişlemesinin büyüklüğünü, popülasyonlar arası etkileşimi ve hayvanların göç yollarının belirlenmesi çalışmalarında önemlidir (Pidancier ve ark. 2006). Bu nedenle son yıllarda yapılan çalışmalar memeli Y kromozomunun analizi üzerine yoğunlaşmıştır (Hammer ve ark. 1997; Jobling ve Tyler-Smith 2000; Petit ve ark. 2002; Meadows ve ark. 2004, 2006). Yapılan çalışmalarda özellikle Y kromozomunda rekombinasyonun olmadığı erkeğe özgün bölge (male-specific region of Y=MSY) üzerinde durulmaktadır. Bu bölgede bulunan SRY (sex determining region of Y) geni erkeğe özgü bir genetik belirteçdir ve eşey ile ilgili fenotipin oluşması için gerekli gelişme sürecini yönlendirir (Gubbay ve ark. 1990; Sinclair ve ark. 1990). mtDNA genomundaki polimorfizmlerden elde edilen bilgileri desteklemek ve bunlarla bütünleştirmek için ikinci bir bağımsız ve bütünleyici bir genetik belirteç olarak Y kromozomunun erkeğe özgün bölgesindeki biallelik polimorfizmlerinden yararlanmak bu konuda yapılan araştırmaların güvenilirliğini arttırmaktadır (Natanaelsson ve ark. 2006).

Bu çalışmada Türkiye yerli koyun varlığının çok önemli bir kısmını oluşturan on yerli ırktan dişi ve erkeklerin mitokondriyal genomlarında yüksek düzeyde varyasyon gösteren ve ırkların filogenetik ilişkilerinin aydınlatılmasına yönelik çalışmalarda sıkça kullanılan mitokondriyal DNA kontrol bölgesinde bulunan polimorfizmlerin ve erkeklerde Y-kromozomunda bulunan dört çekirdek genine ait bölgeler ve bir mikrosatelit ait varyasyonların varlığı ve miktarı incelenmiştir. Y kromozomunun analizi için Sex Determining Region Y (SRY) geninin 5'-promotor bölgesinde bulunan 549 ve 598 bp'lik iki bölge, dead box helikase Y (DBY) geninin 3' untranslated bölgesinde bulunan 171 bp'lik bölge ve Amelogenin (AMEL) genine ait 182 bp'lik bölgelerin dizi analizi yapılarak daha önce bildirilmiş SNP (TNP= Tek Nükleotid Polimorfizmi)'lerin varlığı incelenmiş ve SRYM18 mikrosatelit lokusundaki farklı

parça büyüklükleri fragment analizi yapılarak belirlenmiştir. Bu çalışmada yerli koyun ırklarımız arasındaki benzerlik ve farklılıklar eşeye özgü belirteçler kullanılarak incelenmiş ve bu konudaki literatüre katkı sağlanmaya çalışılmıştır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1. Evciltme

Toplayıcılık ve avcılıktan tarım ve dolayısıyla hayvan yetiştiriciliğine geçilmesi insanlık tarihi açısından çok önemli bir aşamadır. Bunun sonucu meydana gelen evciltme ve tarımsal ekonomilere bağlı gelişmeler insanların toplumsal yapılarını, biyolojik çeşitliliği, yer kürenin jeomorfolojik yapısını ve atmosferindeki değişiklikleri yönlendirmiştir. Bu nedenlerle bitki ve hayvanların evciltmesi (Çizelge 2.1 ve Şekil 2.1) konusu akademik çevreler tarafından olduğu gibi kamuoyu tarafından da sürekli, yoğun bir ilgiyle karşılanmıştır (Zeder 2008).

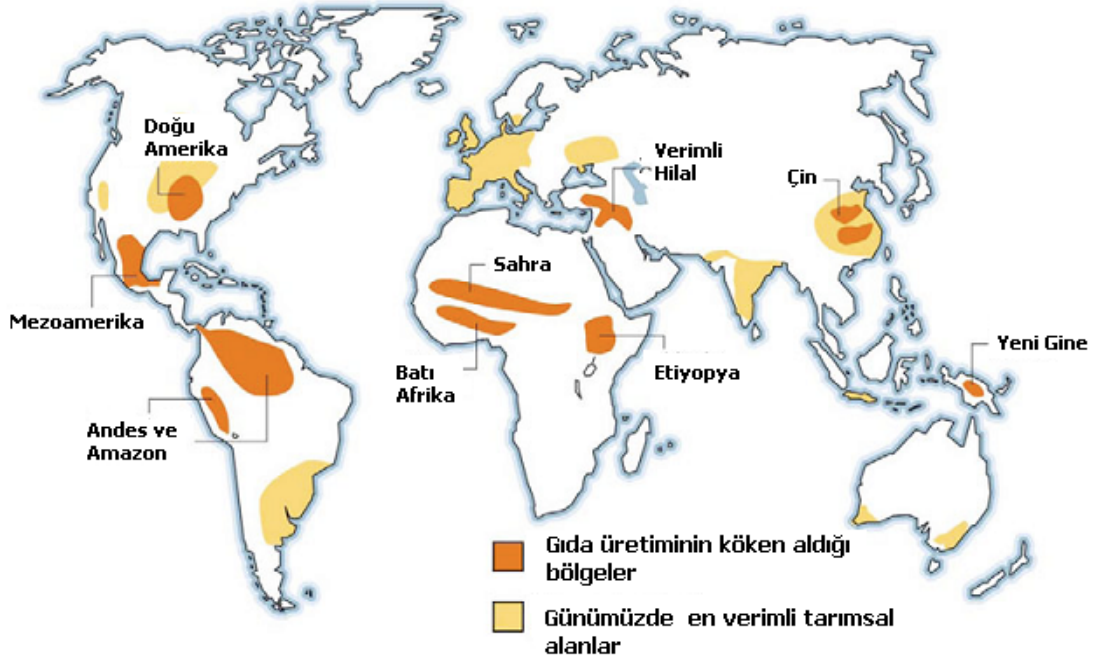
İlk evciltme olaylarının büyük bir kısmının Verimli Hilal (Fertile Crescent) adı verilen ve Suriye'nin tamamı, Türkiye'nin doğusu ve İran'ın kuzeyini içine alan bölgede meydana geldiği kesinlik kazanmıştır (Zeder 2008). Bu coğrafi bölge dünyada evcilmenin en önemli merkezi olarak kabul edilir ve hala çok değerli evcil hayvan ve bitki türlerine sahiptir (Diamond 2002).

Çizelge 2. 1. Çeşitli türlerin yaklaşık evciltme zaman ve bölgeleri (Taberlet 2008)

Tür	Evciltme Merkezi	Yaklaşık Evciltme Tarihi (MÖ)
Köpek (<i>Canis familiaris</i>)	Asya	15 000
Buğday (<i>Triticum sp.</i>)	Verimli Hilal	11 000
Arpa (<i>Hordeum vulgare</i>)	Verimli Hilal	11 000
Keçi (<i>Capra hircus</i>)	Verimli Hilal	10 000
Koyun (<i>Ovis aries</i>)	Verimli Hilal	10 000
Sığır (<i>Bos taurus</i>)	Verimli Hilal (ve Endüs Vadisi)	10 000
Domuz (<i>Sus Scrofa</i>)	Verimli Hilal, Çin (ve başka merkezler?)	10 000
Kabak (<i>Cucurbita pepo</i>)	Merkez Amerika	10 000
Mısır (<i>Zea Mays</i>)	Merkez Amerika	10 000
Pirinç (<i>Oryza sativa</i>)	Çin	8 000
Ararot (<i>Maranta arundinacea</i>)	Amazon	8 000
Patates (<i>Solanum tuberosum</i>)	And Dağları	7 000
Muz (<i>Musa sp</i>)	Yeni Gine	7 000
Eşek (<i>Equus asinus</i>)	Etopya	6 000
At(<i>Equus caballus</i>)	Asya	6 000
Keten (<i>Gossypium sp.</i>)	Amazon	5 000
Ay çiçeği (<i>Helianthus annuus</i>)	Doğu Amerika	4 800
Fasulye (<i>Phaseolus vulgaris</i>)	Merkez Amerika	4 000

Evciltme genellikle insan ihtiyaçları doğrultusunda adapte edilen herhangi bir populusyondaki bir süreç olarak tanımlanır. Evciltme sonucunda toplumların ürettiği besin maddesi miktarı artmış ve toplumlar etkin olarak besin üretebilir hale gelmiştir. Ayrıca bu beceriye sahip olan toplumlar artan nüfusunu beslemek için besin maddesi depolayabilme olanağına sahip olmuştur. Bu gelişmenin sonucu olarak toplumların nüfusu artmış ve yeni çevrelere yayılabilir hale gelmişlerdir. İnsanların kültürel evrimini de önemli biçimde etkileyen evciltme Neolitik devrim için de atılan ilk adım olmuştur (Child 2006). Hayvan evciltmesi süreci, saldırganlığın azalması, eğeyssel olgunluğa erken ulaşılmaması, kapalı alanlarda yaşamaya tolerans ve çeşitli morfolojik özellikler bakımından seleksiyonu kapsar. Bu süreç hem selekte edilen özellik hem de bu özelliklerle yakından ilgili diğer özellikler bakımından önemli değişikliklere yol açmıştır (Trut 1999; Diamond 2002).

Evciltmeyle birlikte ortaya çıkan gıda üretimi aslında Verimli Hilal bölgesi başta olmak üzere birbirinden bağımsız dokuz bölgede ortaya çıkmıştır. Verimli Hilal dışındaki bu bölgeler Çin, Mezo Amerika, Andes/Amazon, Amerika'nın doğusu, Sahra, tropikal Batı Afrika, Etopya ve Yeni Gine'dir (izelge 2.1, şekil 2.1) (Diamond 2002; Taberlet 2008).



şekil 2.1. Uygarlığın başlangıcındaki önemli topluluk ve bölgeler (Diamond 2002).

Geçen on yıllık süreçte evciltme ile ilgili önemli bilgi birikimi oluşmuş, çalışmalar özellikle Orta Doğu'dan köken alan dört çiftlik hayvanı olan koyun, keçi, sığır ve domuzun evciltmelerinin izleri ve ilk evcilmeyi takiben Akdeniz kıyılarına dağılımı üzerinde yoğunlaşmıştır (Zeder 2008). Hayvanların evciltmesi köpeğin evciltmesiyle (Trut 1999) başlamıştır. Çiftlik hayvanlarının evciltmesine ise koyun ve keçinin evciltmesiyle yaklaşık olarak M.Ö. 10 000- 9500 yıllarında başlanılmıştır. Çiftlik hayvanlarının evciltmesi bitkilerin evciltmeye başlamasından yaklaşık 1000 yıl önce (Şekil 2.1) ve bitki evciltmesinin merkez bölgesinin kuzey ve doğusunda bir bölgede meydana gelmiştir (Zeder 2008). Buğday, arpa, bezelye gibi pek çok evcil bitki ve koyun, keçi, domuz gibi evcil hayvan türünün evciltme bölgesi olan Verimli Hilal, bu bölgede o dönemde yaşamakta olan avcı-toplayıcı toplumların yerleşik düzene geçmelerine yol açmış ve böylece ilk çiftçi ve yetiştiricilerin de vatani olmuştur. Gıda üretiminin bu şekilde keşfiyle bu insan toplulukları çeşitli alanlarda güçlenmiş ve bu toplulukları göçleriyle insan genleri de Avrupa, Kuzey Afrika, Batı Hindistan ve Merkez Asya'ya yayılmaya başlamıştır. İnsanların bu hareketi ile birlikte beraberlerindeki bu evciltme ürünleri, tarımın henüz bilinmediği Avrupa'ya önce Yunanistan ve daha sonra İtalya'dan başlayarak yayılmıştır (Diamond 2002).

Bu nedenle çiftlik hayvanlarının yeni soyların (haplogrupların) araştırılması bağlamında yapılacak olan çalışmaların evciltmenin merkezinde, gen havuzunun en çeşitli olması beklenen yerde yapılması mantıklıdır. Bu gerekçe, insan popülasyonları yeni yerleşim bölgelerine yayılırken yollarında evcil hayvanlardan sadece bir kısmını alıp, büyük bir olasılıkla artan coğrafi uzaklıklarla genetik soyların azalmasına ya da kaybolmasına neden oldukları için akla yatkındır (Meadows ve ark. 2007). Dolayısıyla insanlık tarihi için bu derece önemli olan ve Türkiye'yi de içine alan evciltme bölgesinden daha fazla hayvan incelendikçe, evciltmeye dair elde edilen bilgiler de o denli artacaktır. Aynı zamanda koyun evciltmesi açısından bu derece önem taşıyan Türkiye'deki yerli koyun ırkları gelecekte önem kazanacak değerli genetik çeşitliliğe sahip olabilecekleri düşünülmektedir ve bu çeşitliliği iyi değerlendirmek için bu çeşitliliğin miktarının iyi belirlenmesi gerekmektedir (Anonim 2009c).

2.2. Koyunun Önemi ve Taksonomideki Yeri

Koyun adaptasyon yeteneği yüksek, çok yönlü bir tür olması nedeniyle insan toplulukları için büyük önem taşımaktadır (Ryder 1984; Kaymakçı ve Sönmez 1996). Koyun ekonomik anlamdaki öneminin yanı sıra, fizyolojik ve biyolojik özellikleri nedeniyle de memeli biyolojik fonksiyonlarının anlaşılması için de uygun bir modeldir (Maddox ve ark. 2001). Aynı zamanda evrimsel ve sistematik açıdan (Çizelge 2.2) en karmaşık memeli türlerinden birisidir (Rezaei ve ark. 2009). Taksonomik sınıflandırması oldukça karışık olan koyunun zoolojik sistemdeki yeri aşağıda belirtilmiştir (Tuncel 1995’de derlenmiştir)

Alem	: Animalia	(Hayvanlar)
Şube	: Chordata	(Sırt İplikliler)
Alt Şube	: Vertebrata	(Omurgalılar)
Sınıf	: Mamalia	(Memeliler)
Alt Sınıf	: Placentalia	(Yavru Zarlılar)
Takım	: Ungulata	(Tırnaklılar)
Alt Takım	: Artiodactyla(Paridigatata)	(Çift Tırnaklılar)
Grup	: Ruminantia	(Geviş Getirenler)
Familya	: Bovidae	(İçi boş boynuzlular)
Alt Familya	: Ovinae	(Koyunlar)
Cins	: Ovis	(Yabani ve Evcil Koyunlar)
Tür	: Ovis aries	(Evcil Koyun)

Farklı kromozom sayılarına sahip yabani koyun popülasyonları kendi aralarında çiftleştirildiklerinden ve de fertil döller verdiklerinden, evcil koyunun taksonomisi oldukça karışıktır (Nadler ve ark. 1973; Ryder 1984; Bunch ve ark. 2006; Taberlet 2008) (Çizelge 2.2). Evcil koyunun diploid kromozom sayısı 54 ‘dür ve 26 çift otozom ile birlikte iki cinsiyet kromozomu vardır. Diğer türlerden farklı olarak, günümüz evcil koyununun olası atası olabilecek yabani koyun popülasyonları hala varlıklarını sürdürmektedirler. Koyunun kökeni henüz tam anlaşılamamıştır ve evciltimesinin de

kronolojik olarak sınırları tam olarak aydınlatılamamış olan üç aşamada gerçekleşmiş bir süreç olduğu düşünülmektedir:

1. Senozoik zamanın sonunda yeryüzünde var olan ilk ruminant olarak kabul edilen *Gelocus*'dan köken alan büyük bir hayvan topluluğu ortaya çıkmıştır.
2. Buzul çağında bu ruminantların bir kısmı *Ovis* cinsine doğru farklılaşmıştır. Bazı kaynaklar (Ibáñez 1989) *Gelocus*'un *Caprinae* ve *Ovis*'in dahil olduğu *Ovinae* alt familyalarından oluşan *Bovidae* familya'sına farklılaştığını bildirirken, Piper ve Ruvinsky (1997) *Bovidae* familyasının dokuz alt familyadan oluşan bir grubuna (*Aepycerotinae*, *Alcelaphinae*, *Antilopinae*, *Bovinae*, *Caprinae*, *Cephalopinae*, *Hippotraginae*, *Peleinae* ve *Reduncinae*) dahil olduğunu ve *Caprinae* alt familyasının koyun ve keçiye farklılaştığını ileri sürmektedirler.
3. Günümüzde *Ovis* cinsinin vücut büyüklüğü, boynuz yapısı, post rengi ve biçimi, coğrafi dağılım ve diploid kromozom sayısına göre sınıflandırılmış yedi adet yabani türü bulunmaktadır (Rezaei ve ark. 2009) (Çizelge 2.2, Şekil 2.2).

Çizelge 2.2. Koyunun çeşitli araştırmacılar tarafından oluşturulan taksonomisi (Taberlet 2008)

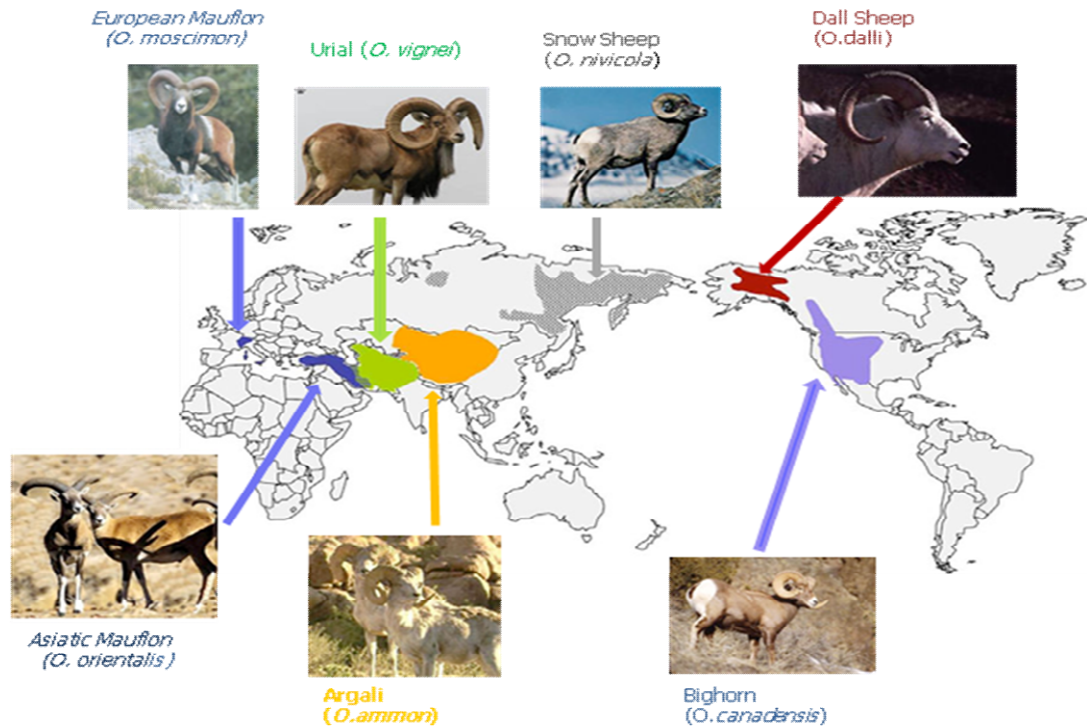
Araştırmacı	Tsalkin, 1951	Holdenorth, 1963	Nadler ve ark., 1973	Valdez, 1982 Wilson ve Reeder, 1993 Shackleton ve Lovari, 1997	Festa-Bianchet, 2000
Dall Koyunu (Dall Sheep) (2n=54)	<i>O. canadensis</i> / <i>O. nivicola</i>	<i>O. ammon</i>	<i>O. dali</i>	<i>O. dali</i>	<i>O. dali</i>
Kalın boynuzlu Koyun(Bighorn) (2n=54)	<i>O. canadensis</i> / <i>O. nivicola</i>	<i>O. ammon</i>	<i>O. canadensis</i>	<i>O. canadensis</i>	<i>O. canadensis</i>
Kar Koyunu (Snow Sheep) (2n=52)	<i>O. canadensis</i> / <i>O. nivicola</i>	<i>O. ammon</i>	<i>O. nivicola</i>	<i>O. nivicola</i>	<i>O. nivicola</i>
Argali (2n=56)	<i>O. ammon</i>	<i>O. ammon</i>	<i>O. ammon</i>	<i>O. ammon</i>	<i>O. ammon</i>
Asya Muflonu (Asiatic Mouflon) (2n=54)	<i>O. ammon</i>	<i>O. ammon</i>	<i>O. orientalis</i>	<i>O. orientalis</i>	<i>O. gmelinii</i>
Urial (2n=58)	<i>O. ammon</i>	<i>O. ammon</i>	<i>O. vignei</i>	<i>O. orientalis</i>	<i>O. vignei</i>
Avrupa Muflonu (European Mouflon)(2n=54)	<i>O. ammon</i>	<i>O. ammon</i>	<i>O. musimon</i>	<i>O. orientalis musimon</i>	<i>O. orientalis musimon</i>

Avrupa Muflonu (*O. musimon*) (2n=54) ve Asyatik Muflon (*O. orientalis*) (2n=54) Batı Asya ve Avrupa'da, Argali (*O. ammon*) (2n=56), merkez Asya'nın dağlık bölgelerinde, Urial (*O. vignei*) (2n=58) Anadolu'da, Dall koyunu (*O. dalli*) (2n=54) ya da ince boynuzlu koyun olarak isimlendirilen yabani koyun Kanada'nın batısındaki dağlık bölgelerde ve Amerika'da, kalın boynuzlu (Big-horn) (*O. canadensis*) (2n=54)

Kanada'dan Colorado'ya kadar olana kayalık bölgelerde ve Güneyde Meksika'ya kadar uzanan bir bölgede dağılım gösterir ve en son olarak Kar koyunu (Snow sheep) (*O. nivicola*) (2n=52) genellikle kuzeydoğu Asya'da bulunur (Şekil 2.2).

Yabani koyunların bu karmaşık sınıflandırması, bunların farklı kromozom sayılarına rağmen çiftleşmesi ve fertil döller vermesiyle daha da karmaşık hale gelmektedir.

Bu yabani türlerden evcil koyunun (*Ovis aries*) atası olabileceği ihtimali üzerinde en çok durulanlar urial (*O. vignei*), argali (*O. ammon*) ve muflon (Avrupa muflonu olarak da bilinen *O. musimon* ve Asyatik muflon *O. orientalis*) olarak bilinen türleridir. Rezaei ve ark. (2009) mtDNA'nın cytochrome b (Cytb) bölgesinden ve beş adet polimorfik çekirdek geninden elde ettikleri sonuçları arkeolojik veriler desteklenmiş ve bu üç yabani ata arasından Asyatik muflon Avrupa'ya ilk giren evcil koyunların atası olabileceği tahmin edilmiştir.

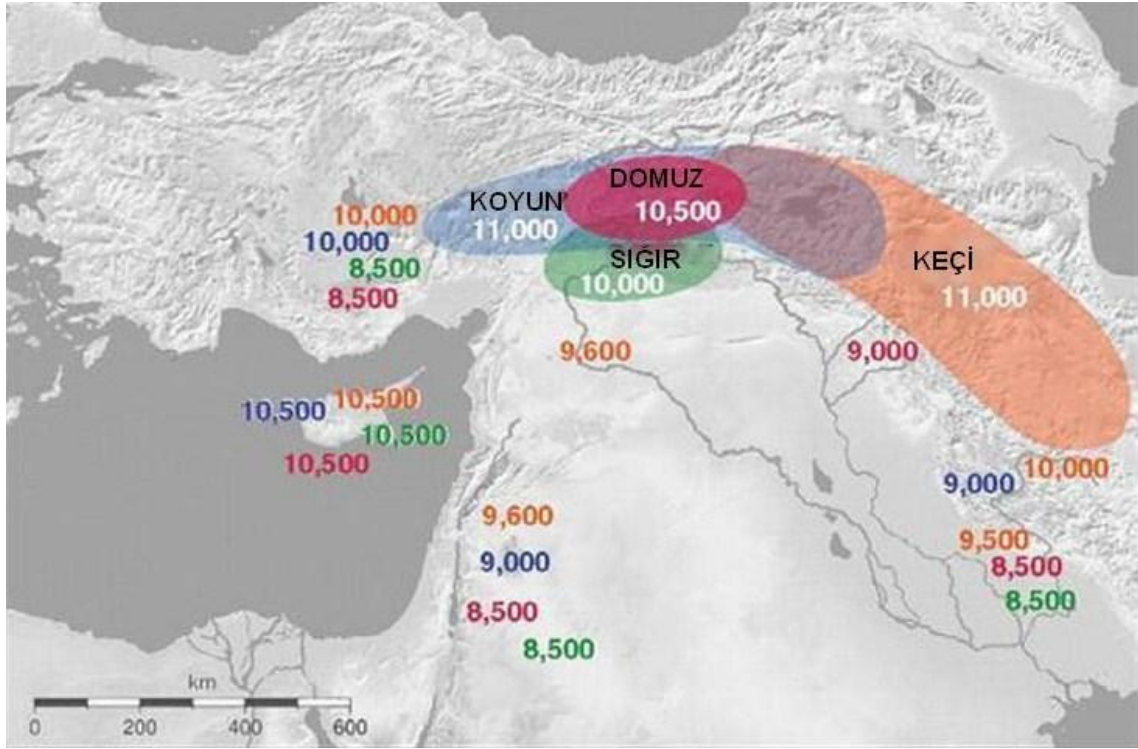


Şekil 2.2. Yabani koyunların dünya üzerindeki dağılımı (Taberlet 2008)

Arkeolojik bulgular koyunun yaklaşık 8000–9000 yıl önce, Yakın Doğu'da Verimli Yay'ın merkez bölgesinde evcilleştirilmeye başlandığı göstermektedir (Şekil 2.2) (Ryder 1984; Smith 1998). Pedrosa ve ark. (2005)'nin beş, Meadows ve ark.,

(2007)'nın sekiz yerli Türk koyun ırkının mitokondriyal DNA'larının incelenmesinden elde ettikleri sonuçlar koyunun evcilleştirilmesinde Türkiye'nin de büyük bir önemi olduğunu göstermiştir. Mitokondriyal genom verilerine dayanan bu moleküler veriler arkeolojik araştırmaların koyun evciltirme merkezi olarak ileri sürdükleri coğrafik bölgelerle uyumludur (Meadows ve ark. 2007; Rezaei ve ark. 2009).

Peters ve ark. (1999) Yakın Doğu'daki en eski insan yerleşimi olan ve MÖ 8500 olarak tarihlenen Nevalı Cori ve Çayönü Tepesini, Zeder (1999) günümüzde Zagros olarak bilinen ve Türkiye, Irak ve İran sınırında bulunan bir bölgeyi koyunun evciltirmesinin gerçekleştiği bir bölge olarak değerlendirmişlerdir. Ancak moleküler veriler ile arkeolojik bulgulara dayanılarak ulaşılan en son düşünce koyunun Doğu Anadolu'dan Kuzey Batı İran'a kadar geniş bir alanda evciltildiğidir (Şekil 2.3) (Zeder 2008; Taberlet 2008). Sistemik koyun yetiştiriciliğine ise klasik dönemin başında Yunanlılar tarafından başlandığı düşünülmektedir (Böyöni 1983).



Şekil 2.3. Koyun ve diğer evcil hayvanların evcilleştirilme bölgeleri ve yaklaşık evciltirme zamanı (Zeder 2008).

Evcilleştirme süreci günümüzde 1400'den fazla koyun ırkının oluşmasına neden olmuştur. Evcil koyunun (*Ovis aries*) kökeninin urial (*O. vignei*), argali (*O. ammon*) ve muflon (*O. musimon* ve *O. orientalis*) olduğu düşünülmekle birlikte son zamanlarda

yapılan araştırmalar (Hiendleder ve ark. 1998a, 2002), yoğun sitogenetik çalışmalar ile uyumlu olarak (Nadler ve ark. 1971; Woronzow ve ark. 1972) evcil koyunun atasının çok buyk bir olasılıkla mouflon türü olduğunu göstermektedir (şekil 2.5) (Taberlet 2008; Rezaei ve ark. 2009).

2.3. Mitokondri ve Mitokondriyal Genom

Mitokondriler hücrede oksidatif fosforilasyon yoluyla hücreye enerji sağlayan, hücre çekirdeğinin dışında, stoplazmada bulunan organellerdir. Mitokondrilerin kendilerine ait genomları ve kendilerine özgü genetik kodu bulunur. Memelilerde, hücrelerdeki mitokondriyal DNA (mtDNA) miktarı doku tipine göre değişmektedir. Moleküler biyolojik yöntemlerdeki ilerlemelerin mitokondriyal genlerin geniş çaplı incelenmesine olanak sağlaması ve filogenetik metotlardaki gelişmeler mitokondriyal genomların tek bir mono-filotik kökeni olabileceğini göstermektedir (Gray ve ark. 1999). Mitokondriyal olarak kodlanan proteinlere dayanılarak çıkartılan filogenetik yapılanma mitokondrinin atasının α -proteobakterial alt grubunda yer almasının muhtemel olduğunu göstermekte ve çeşitli bulgular özellikle Rickettsiaceae'yı işaret etmektedir (Yang ve ark. 1985; Olsen ve ark. 1994; Viale ve Arakaki 1994). Bu evrim süreci boyunca mitokondriyal genomun birçok temel geni çekirdek genomunun yapısına katılmakla birlikte mitokondri bu bakteriyel atadan izler taşımaktadır (Galper ve Darnell 1971).

mtDNA sadece dişi eşey hücreleriyle aktarılmaktadır (Hutchison ve ark. 1974). Memelilerin çoğunda sperm mitokondrisi fertilizasyon esnasında oosite aktarılır ancak embriyogenesis esnasında oosit aktivitesi tarafından yok edilir (Kaneda ve ark. 1995; Ankel-Simons ve Cummins 1996). Bunun nedenin, memelilerin oositlerindeki mtDNA moleküllerinin kopya sayısı çok fazla ($\geq 10^5$) (Michaels ve ark. 1982), spermlerindeki mtDNA kopya sayısı ise düşük (50-75) olduğundan babadan gelen mitokondrilerin yıkımı gerçekleşmese bile hücre içinde dağılma eğilimi göstermeleri olabileceği düşünülmüştür (Hecht ve ark. 1984). Diğer taraftan PCR (Polymerase Chain Reaction)-tabanlı hassas yöntemlerin kullanılmaya başlamasıyla birlikte *interspecific* (*Mus musculus* X *Mus spretus*) fare melezlerinde babadan gelen mtDNA'ların da bulunduğu

gösterilmiştir (Kaneda ve ark. 1995). Sperm kaynaklı mitokondrilerin eliminasyon mekanizması tam olarak anlaşılamamakla birlikte *interspecific* fare melezlerinde gözlenen bu durumun türe-özel olduğu düşünülmektedir. Ancak Zhao ve ark. (2004) üç kuzuda babadan gelen mtDNA'lar belirlemişler ve nadir karşılaşılan bu durumun evrimi etkileyebilecek bir olay olarak değerlendirilmesi gerektiğini de vurgulamışlardır.

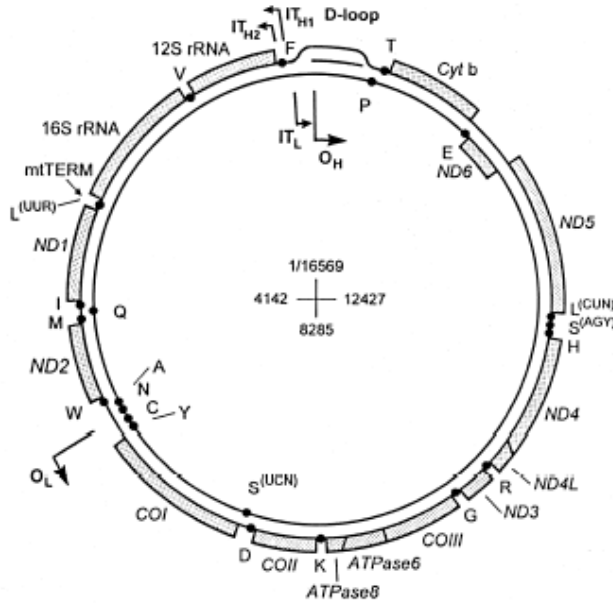
mtDNA nispeten küçük, bol miktarda bulunan ve kolay izole edilebilen bir genom olduğundan genom dizi projelerine sıkça araştırma konusu olmuştur. Nükleotid dizisi tam olarak ilk belirlenen mitokondriyal genom insan mitokondrisine aittir (Anderson ve ark. 1981). Koyun mitokondriyal genomunun tam dizisi ise Hiendleder ve ark. (1998b) tarafından bildirilmiştir.

Memeli mitokondriyal genomundaki gen organizasyonu ve yapısı oldukça iyi korunmuştur. Memeli mitokondriyal genomu 13 adet protein kodlayan gen, 22 tRNA ve 2 adet rRNA içeren, yaklaşık 16 600 nükleotid uzunluğunda halka biçiminde, çift zincirli bir DNA molekülüdür (Taanman 1999) (Şekil 2.4). Koyun mtDNAsında 16 616 nükleotid bulunur ancak bu uzunluk kontrol bölgesindeki 75 nükleotid uzunluğundaki ardışık tekrarların sayılarının farklılığından dolayı kesin değildir (Hiendleder ve ark. 1998b).

mtDNA'nın eksenlerinin isimlendirilmelerinde SeCl gradienti kullanılır. DNA çift zinciri G+T baz kompozisyona göre SeCl gradientinde farklı bantlar verir. Bu bantlar H (heavy) ve L (light) olarak isimlendirilirler ve çoğu bilgi H-zincirinde kodlanırken, L-zincirinde oksidatif fosforilasyonda görev alan enzimlerin yapısına giren proteinler kodlanırlar. Mitokondriyal genomdaki genler intron içermezler ve intergenik diziler ya hiç bulunmazlar ya da çok az sayıda bazdan oluşurlar. Metabolik olarak aktif omurgalı hücrelerindeki mtDNA'nın büyük bir kısmı D-loop (displacement loop) denilen (Şekil 2.4), L-zinciri komplementer üç zincirli kısa nükleotid dizisinden oluşmuş bir yapı içerir. Bu yapı öncü replikasyon zincirlerini ve transkription için major promotorlar içerir (Taanman 1999). Yüksek düzeyde polimorfik olan D-loop bölgesinde HV1 (16024-160383) ve HV2 (57-333) olarak isimlendirilen iki çok değişken (hypervariable) bölge bulunur. Bu bölge aynı zamanda replikasyon ve transkripsiyon açısından da çok önemli unsurlara sahip olduğundan, burada meydana gelecek dizi

farklılıkları bağlanma için önemli trans-activating unsurları değiştirerek DNA replikasyon düzeyinde etkili olabileceği düşünülmektedir (Pejovic ve ark. 2004).

mtDNA dizisi belirlendikten kısa bir süre sonra, mitokondriyal protein dizilerinin karşılaştırılması, mitokondriyal genoma ait genetik kodların, çekirdek genomundan farklı olduğunu göstermiştir (Taanman 1999).



Şekil 2.4. İnsan mitokondriyal genomunun haritası (16 569bp). Dıştaki halka, genlerin büyük bir çoğunluğunu kapsayan H-zinciri. İç kısımda bulunan halka ise L-zinciridir. D-loop üç zincirli bir yapı sergiler (IT_L , IT_{H1} ve IT_{H2} : Transkripsiyon bölgelerinin başlangıç noktaları. **12S ve 16S**: rRNA genleri **Protein kodlayan 13 gen**: gölgeli kutular ile belirtilmiştir) (Taanman 1999).

Mitokondriyal genomda meydana gelen mutasyonlar her zaman nötral değildir (Nachmann ve ark. 1994; Jenuth ve ark. 1997). İnsanda mitokondriyal hastalıklar ile mitokondriyal genomda belirlenen varyasyonlar hakkında yapılan araştırmalar da bunu desteklemektedir (Wallace 1992). Mitokondrilerin hücrelerin metabolik organelleri olması nedeniyle “mitokondriyal tıp” olarak isimlendirilen yeni bir araştırma alanı oluşmuş ve insandaki pek çok kanser çeşidinin oluşumunda rol oynadığı düşünülen mtDNA mutasyonlarının incelendiği pek çok çalışma yapılmıştır (Smeitink ve ark. 2006, Brandon ve ark. 2006, Czarnecka 2007, Czarnecka ve ark. 2009a, Czarnecka ve ark. 2009b). Yapılan bu araştırmalar mtDNA analizlerinin kanser tümörlerini tespit etme açısından çekirdek DNA’sına göre daha başarılı olduğu (Ha ve

ark. 2002) ve özellikle D-loop bölgesindeki polimorfizmlerin hücre fizyolojisine olan etkilerinden ötürü kansere yatkınlıkta rol oynayabileceklerini destekleyen sonuçlar ortaya koymuşlardır (Lee ve ark. 2004; Wang ve ark. 2005). Bu nedenle mtDNA' nın moleküler analizinin gelecekte klinisyenler tarafından erken teşhis ve koruma sürecinde kullanılabileceği düşünülmektedir (Czarnecka ve ark. 2009a).

Buna benzer olarak çiftlik hayvanlarında da mtDNA'daki polimorfizmlerin verim özelliklerine etkisi olup olmadığını anlamaya yönelik çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalardan bazıları (Schutz ve ark. 1993; Boettcher ve ark. 1996a), mtDNA'daki varyasyonlarla verim özellikleri arasında ilişkiler olduğu gösterilmiştir. Bu nedenle kalıtım derecesi ve damızlık değeri gibi genetik değerlendirmeler yapılırken sitoplazmik kalıtımın da göz önüne alınmasının bu değerlendirmelerin güvenilirliğini arttırılacağı düşünülmektedir (Boettcher ve ark. 1996b).

Mitokondriyal genomda kısa bir DNA parçasında çok sayıda değişken bölgenin bulunması, bu DNA bölgesini türler arası çalışmalar için çok kullanışlı bir hale getirmektedir. Maternal kalıtımla aktarılması ve rekombinasyonun olmayışı yüzünden mtDNA'daki varyasyon sadece dünyanın çeşitli bölgelerine bir merkezden yayılmış maternal hatlarda oluşan mutasyonların ardışık olarak birikmesiyle oluşur. Zaman içinde meydana gelen bu genetik farklılaşma "haplogrup" olarak isimlendirilen ve çift belirteç tarafından belirlenen (Jobling ve Tyler-Smith 2003) mono-filotik birimlerin oluşmasına yol açar. Moleküler farklılaşma sürecinin nispeten hızlı olması ve bu farklılaşmanın dünyanın farklı bölgelerine yapılan en son dağılımlar esnasında ve hemen sonra meydana gelmesi nedeniyle bu haplogrup ve subhaplogruplar belli coğrafik bölge ve populasyonlarda birikirler (Torroni ve ark. 2006). Kodlama yapmayan kontrol bölgesinde (CR=Control Region) bulunan daha fazla korunmuş bölgelerin genetik ilişkilerin belirlenmesi için uygun olduğu ifade edilmektedir (Bruford ve ark. 2003; Tapio 2006). Meadows ve ark. (2005) koyun mitokondriyal genomunun CytB, CR ve RNA bölgelerini kapsayan çalışmalarında, incelenen bu üç bölge arasında en yüksek TNP (Tek Nükleotid Polimorfizmi) sayısına ve en yüksek nükleotid çeşitliliğine sahip olan bölgenin CR bölgesi olduğunu belirlemişlerdir. Bu bölge türler arasında da oldukça fazla varyasyon gösterdiğinden coğrafik bölgelerdeki dağılım, evrim, populasyonlardaki genetik kayma ve hibridizasyon ve gen takibi açısından önemli bilgiler sağlamaktadır (Bruford ve ark. 2003).

mtDNA ile ilgili ilk çalışmalar 1980’lerde tüm molekülün sadece birkaç restriksiyon enzimiyle kesilmesiyle başlatılmıştır. Bunu takiben Brown’un (1980) farklı etnik kökenlerden ve coğrafik bölgelerden 21 insan mtDNA’sını restriksiyon enzimleriyle keserek incelediği araştırması mtDNA’ya ait RFLP (Restriksiyon Fragment Length Polymorphism) lerinin insanın genetik geçmişinin incelenmesinde kullanılabileceği ortaya konulmuştur. İlk geniş çaplı araştırmalar Amerikan yerlilerinde bunların Asya’dan gleri ve önemli tarihlerini açığa çıkarmaya yönelik olarak yapılmış (Torroni ve ark. 1993) ve mtDNA haplogruplarının alfabetik bir düzende (A, B, C ve D) isimlendirilmesine başlanılmıştır (Torroni ve ark. 1994; Richards ve ark. 1998). Bunu takiben çeşitli etnik grup ve populasyon ve farklı coğrafik bölgelerden insanlarla yapılan çok sayıda araştırma yapılmıştır. Yapılan bu çalışmalar, arkeolojik bulgularla uyumlu biçimde “Afrika’dan çıkış” hipotezini desteklemiş ve büyük ihtimalle geçmişteki farklı kolonileri gösteren çok sayıda oğul haplogrup veren temel bir haplogrup belirlemişlerdir. (Torroni ve ark. 1996; Richards ve ark. 1996; Cavalli-Sforza ve Minch 1997; Kong ve ark. 2003).

Sığır (Bradley ve ark., 1994), keçi (Luikart ve ark. 2001), domuz (Giuffra ve ark. 2000), köpek (Savolainen ve ark. 2002; van Asch ve ark. 2005) ve koyun (Hiendleder ve ark. 2002) gibi evcil hayvanlarda yapılan çalışmalar birden çok dişi haplogrubun varlığını ortaya koymuştur.

Günümüzde nesli tükenmiş politipik yabani bir tür olan *Bos primigenius*’ tan hörgüçlü sığırlar (Zebu=*Bos indicus*) ve hrgsz sığırlar (Taurine= *Bos taurus*) olarak iki alt tre evrimleşmiş olduğu kabul edilen sığır ile yapılan mtDNA çalışmaları dış görünüşe göre yapılan bu ayrımı değiştirmiş, Afrika Zebusu olarak tanınan sığırların babalarının Zebu ancak annelerinin Taurine olduğunu ortaya konulmuştur (Troy ve ark. 2001). Evcil sığırda mtDNA’ya ait T1, T2, T3 ve T4 olarak isimlendirilen dört haplotip grubu belirlenmiş ve bu sonuçlar Y kromozomal belirteçler kullanılarak yapılan incelemelerle birleştirildiğinde ortaya çıkan sonuçlar birbiriyle çelişse de (Cunningham 2003) sığırın genetik tarihi ve geçmişteki yetiştiricilik sistemleri hakkında yorum yapma olanağı veren tamamlayıcı bilgiler sağlamıştır (Hannote ve ark. 2000; Kikkawa ve ark. 2003; Mannen ve ark. 1998, 2004). Evcil sığırda mtDNA çalışmaları sadece filogenetik ilişkilerin ve ırk tarihinin belirlenmesiyle kalmamış bu bölgedeki varyasyonlar etkilerini transkripsiyon ve replikasyonda gösterdiklerinden fenotipe yansıyacak etkileri olduğu

düşünülmüştür (Schutz ve ark. 1993). Bu noktadan hareketle diğer çiftlik hayvanlarından farklı olarak mtDNA'daki varyasyonların bazı süt, et ve döl verim özellikleriyle ilişkileri çeşitli araştırmacılar tarafından incelenmiştir (Ron ve ark. 1993; Schutz ve ark. 1993; Boettcher ve ark. 1996a; Sutarno ve ark. 2002). Bununla beraber mtDNA'daki mutasyonların et örneklerinin hangi türe ait olduklarının belirlenmesine yönelik teknikler de geliştirilmiştir (Mannen ve ark. 2003).

Keçi mtDNA'sı ile yapılan çalışmalarda da birden fazla maternal hat belirlenmiş (A,B,C,D,E,F ve G) (Luikart ve ark. 2001; Wang ve ark. 2008; Naderi ve ark. 2007) ve kıtalar arasındaki genetik varyasyon çok düşük değerde hesaplanmıştır (Luikart ve ark. 2001; Naderi ve ark. 2007). Keçideki bu zayıf populasyon yapısı insanların göç esnasında beraberlerinde fazla sayıda keçi götördüklerini veya keçinin kıtalar arası ticaretinin fazla olduğu, kıtalar arasındaki gen akışının çok yüksek olduğu (Taberlet 2008) sonucuna ulaştırmıştır. Keçinin yabani atası da sığırdaki olduğu gibi günümüzde nesli tükenmiş yabani bir türdür. Keçinin uyum sağladığı çevre koşullarının fosil oluşumuna uygun olmayan coğrafik koşullar olması nedeniyle, genetik geçmişini aydınlatmak açısından mtDNA çalışmaları büyük önem taşımaktadır. Y kromozomal varyasyonların mtDNA'daki varyasyonlarla birlikte değerlendirildiği çalışmalardan elde edilen sonuçlar ve filogenetik gruplanmalar, birbirinden farklı olsa da, keçinin evrimi açısından birbiriyle benzer görüşü desteklemektedirler (Pidancier ve ark. 2006). Keçide mtDNA ile yapılan çalışmalar evcil keçinin (*C.hircus*) maternal atasının *C. aegagrus* (bezoar) olduğunu işaret ederken (Luikart ve ark. 2001), aynı şekilde Y kromozom haplotipleri de paternal atanın *C. aegagrus* (bezoar) olduğunu (Pidancier ve ark. 2006) göstermekte, arkeolojik bulgular da bunu desteklemektedir (Porter 1996). Fakat diğer taraftan evcil keçinin atası için başka görüşler de vardır.

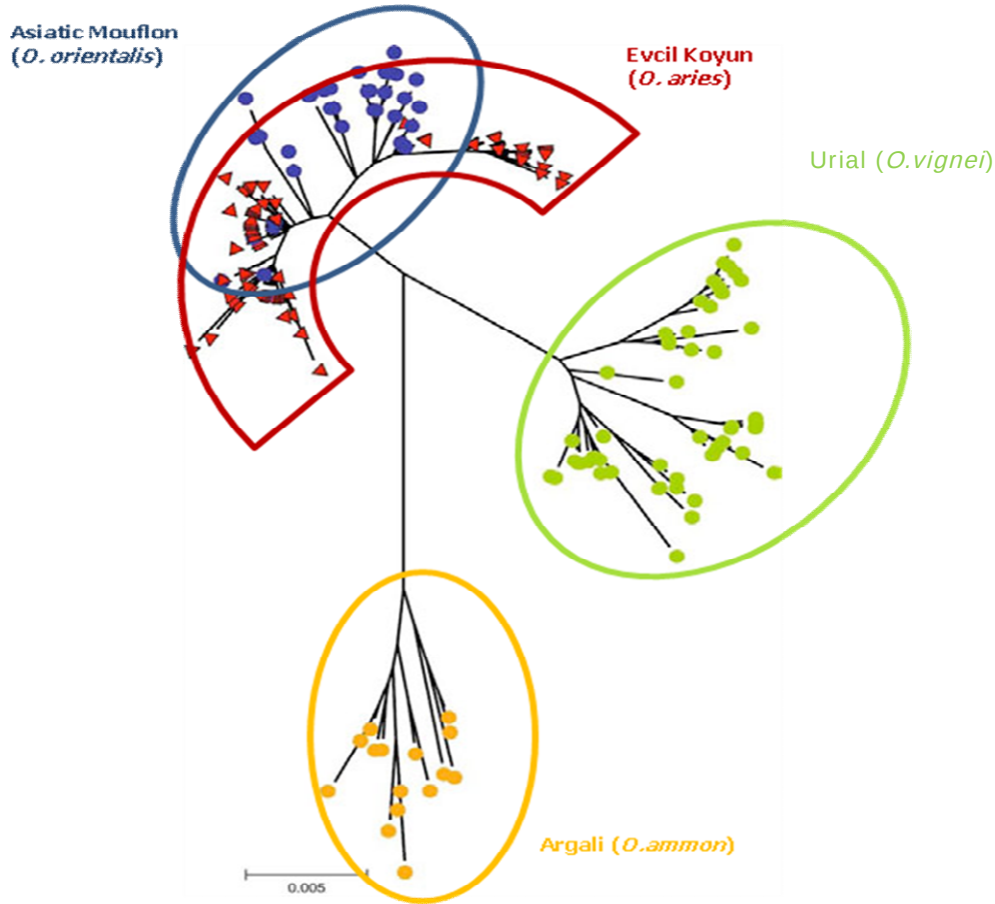
Koyun mtDNA'sı ile ilgili yapılan çalışmalarda genellikle *cyr b* (cytochrome b) geninde ve mtDNA kontrol bölgesindeki polimorfizmler incelenmiş ve evcil koyunda ilk olarak A ve B şeklinde isimlendirilen iki temel haplotip grubu bildirilmiştir (Wood and Phua 1996; Hiendleder ve ark. 1998a). 2005 yılında birbirinden bağımsız olarak yapılan iki çalışmada Türkiye ve Çin'deki koyun ırklarında C olarak isimlendirilen üçüncü bir haplotip grubunun olduğu belirlenmiştir (Guo ve ark. 2005; Pedrosa ve ark. 2005). Haplogrup C ayrıca Portekiz yerli ırklarında da düşük bir frekansta bildirilmiştir (Pereira ve ark. 2006). Ancak bu üçüncü C haplogrubunun yerli Türk ırklarından

Karayaka ve Akkaraman ırklarında yüksek bir frekansta olduğu gözlenmiştir (Pedrosa ve ark. 2005). Türkiye’deki koyun ırklarında bulunan A, B ve C haplogrupları arasındaki farklılaşmadan bu yana geçen zaman cytochrome b geninden hesaplanmıştır (yaklaşık 160 000- 75 000 yıl önce). Buna göre haplogruplar arasındaki farklılaşmanın koyunun evcileştirildiği tarihten oldukça uzun zaman öncesinde bir tarih belirlenmiştir (Pedrosa ve ark. 2005). Kuzey Kafkasya’daki yerli koyun ırkından tek bir hayvanda dördüncü bir hat belirlenmiş ve buna D denilmiştir (Tapio ve ark. 2006). Son olarak Meadows ve ark. (2007) Türkiye yerli ırklarıyla yaptıkları çalışmada beşinci bir haplotip grubu (E) bildirmişlerdir.

Bu haplotip gruplarının dağılımı dünyanın çeşitli coğrafik bölgelerine göre farklılık göstermektedir. A haplotip grubu Asya koyun ırkları arasında yaygın olarak gözlenirken (Hiendleder ve ark. 2002) Avrupa koyun popülasyonlarında tek haplotip grubunun B olduğu ve bu grubun yaygınlığının Avrasya’da bulunan ırklarda düşük olduğu bildirilmiştir (Hiendleder ve ark. 2002; Guo ve ark. 2005; Meadows ve ark. 2005). C grubunun ise Orta Doğu (Pedrosa ve ark. 2005; Bruford ve Townsend 2006) ve Asya koyun ırklarında yaygın olduğu gözlenmiştir (Guo ve ark. 2005).

Haplotip gruplarının göstermiş olduğu dağılım, arkeolojik verilerden elde edilen sonuçlarla bir arada değerlendirildiğinde koyunun birbirbirinden bağımsız birkaç evciltirme bölgesi olduğunu düşündürmekte ve koyunun evciltirme sürecinde Yakın Doğu bölgesinin ve özellikle de Türkiye’nin çok büyük önemi olduğu görüşünü de desteklemektedir. Birbirinden farklı maternal hatlar çoklu evciltme olayını düşündürmüş olsa da yabani ve evcil koyundan elde edilen mtDNA verileri, evcil koyuna ural ve argali koyunlarının bir katkısının olmadığını ve böylece evcil koyunun tek atası olarak muflon türünün dikkat çektiğini göstermiştir (Hiendleder ve ark. 1998a, 2002). En son olarak Rezaei ve ark. (2009) 290 yabani koyunda cytb geninin toplam 1140 bç’lik bölgesini incelemişler ve 125 farklı haplotipin varlığını ortaya koymuşlardır. Bu verilere dayanarak evcil koyunun (*O.aries*) tek bir yabani atasının Asyatik muflon olduğunu bildirmişlerdir (Şekil 2.5). Hatta, Urgali’nin ayrı bir soy olduğunu ancak Avrupa muflonun Asyatik muflon soyu içinde gruplandığı gösterilmiş (Rezaei ve ark. 2009) ve evcil koyunun atasının Asyatik muflon olduğu düşüncesi desteklenmiştir (Şekil 2.5).

Ülkemizdeki yerli koyun ırklarımızdan Dağlıç (Heindleder ve ark. 2002), Akkaraman, Hemşin, Karayaka, Morkaraman, Tuj (Pedrosa ve ark., 2005), Çine Çaparı, Sakız, Karya ve Karayaka (Meadows ve ark., 2007) ırklarında mtDNA'nın kontrol bölgeleri ve *cyr b* bölgelerindeki varyasyonlar incelenmiştir. Ancak Türkiye'nin konu açısından önemi göz önüne alındığında, evcil koyunun genetik tarihinin anlaşılması için daha fazla ırktan daha fazla sayıda bireyin mtDNA varyasyonları bakımından incelenmesi gerekliliği açıktır. Ayrıca Özdemir (2006)'de de belirtildiği gibi mtDNA'daki hızlı değişim potansiyeli nedeniyle bu bölgedeki varyasyonları belirlemeye yönelik çalışmalar ertelendikçe gerçek genetik yapıdan uzaklaşma olasılığını da arttıracaktır. Bu sebeple mtDNA'ya ait çalışmalara ayrı bir önem verilmeli ve ivedilik kazandırılmalıdır.



Şekil 2.5. Mitokondriyal DNA verilerine dayanılarak evcil koyun ve üç yabani aday ata arasında yapılan ilişkilendirme (Taberlet 2008).

2.4. Y Kromozomu ve Erkeğe Özgü (Male-Specific) Bölge

Memelilerin çoğunda erkeklik veya dişilik heteromorfik bir kromozom sistemi tarafından belirlenir (Aasen ve Medrano 1990). Memelilerde erkek bireyler heteromorfiktir yani cinsiyetin belirlenmesi Y kromozomunun var olup olmamasına bağlıdır (Welshons ve Russell 1959).

Üç büyük metasentrik kromozom dışında tüm otozomları telosentrik olan koyun karyotipinde (Ansari ve ark. 1996) en büyük akrosentrik kromozom, X kromozomuyken Y kromozomu çok küçük metasentrik bir kromozomdur ve kare şeklinde çok küçük bir noktaya benzetilir (Broad ve ark. 1997). Memelilerdeki Y kromozomu dejenere olmuş bir X kromozomudur yani her ikisi de tek bir ortak atadan farklılaşmışlardır (Graves 2002). Eşey kromozomlarının otozomlardan farklılaştığı ve Y kromozomunun ise memelilerin meydana gelmesinden 370 milyon yıl sonra ortaya çıktığı ileri sürülmekte ve tahmini olarak 170 ila 310 milyon yaşında olduğu düşünülmektedir (Graves 2002). Y kromozomunda bulunan çok sayıda housekeeping (=farklı koşullarda ekspresyonu değişmeyen temel bir gen) geni erkekte cinsiyet belirlemeyle ilgili özelliklerini kazandığı bu farklılaşma sürecinde kaybedilmiştir (Carvaldo ve Santos 2005). Y kromozomunun en eski kısmının X kromozomunun korunan bölgesiyle homolog olduğu ve yaklaşık 1000 tane gene sahip olduğu ve Y kromozomunun farklılaşmasının başlangıcından bu yana yani yaklaşık 170 ya da 310 milyon yıldır 996 geni kaybettiği zannedilmektedir. Bu hesaplama göre her bir milyon yılda Y kromozomundan 3 ila 6 adet gen kaybı olduğu düşünüldüğünde, insan Y kromozomunun önümüzdeki 10 milyon yıl içerisinde tamamen kaybolabileceği tahmin edilmektedir (Graves 2002).

Y kromozomu hemen hemen tamamen paternal kalıtım gösterir ve yaklaşık olarak % 99.99'u atalardan baba yoluyla oğula kalıtılır (Butler 2003). Y kromozomunun iki temel bölgesi vardır. Bunlarda birincisi X kromozomu ile rekombinasyona giren psöotozomal bölge (PAR, pseudoautosomal region=yalancı otozomal bölge) ve ikincisi X ve Y kromozomu arasında bir rekombinasyon olanağının bulunmadığı erkeğe özgü bölge (male-specific region of Y, MSY) dir. Başlangıçta NRY (Non recombining region of Y) olarak isimlendirilen bu bölgede aslında intrakromozomal (kromozom içinde) pek çok rekombinasyon meydana geldiği görülmüş bu nedenle MSY olarak yeniden

isimlendirilmiştir (Skaletsky ve ark. 2003). PAR'da X ve Y kromozomları arasında sürekli bir rekombinasyonun olması ve buna bağlı olarak da bu bölgenin X kromozomuna ait genlerin kopyalarını taşıması nedeniyle sadece erkek bireylerin döllere yaptığı katkının doğru bir göstergesi olarak kabul edilmemektedir (Burgoyne 1998; Lahn ve Page 1999). Y kromozomunun toplam uzunluğunun % 5'ini oluşturan bu bölge kromozomun uzun kolundaki (Yp) telomerik uçta bulunan PAR1 ve kısa kolundaki (Yq) telomerik uçta bulunan PAR2 bölgelerinin sırasıyla 2.5 Mb ve 1 Mb olan uzunluklarının toplamından oluşur (Skaletsky ve ark., 2003) (Şekil 2.6). Kromozomun uzunluğunun yaklaşık % 95'ini oluşturan MSY bölgesinde (Skaletsky ve ark. 2003) ise X ve Y kromozomları arasında rekombinasyonun olmaması ve bu bölgedeki genlerin rekombinasyonla kaybolma ihtimalinin bulunmaması nedeniyle Y kromozomu ile ilgili çalışmalar bu bölgeye yönelmiştir. Y kromozomunun erkeğe özgün bölgesi (MSY) fonksiyonel genler içeren ökromatik bölge ve fonksiyonel olmayan genlerin bulunduğu heterokromatin bölge arasında eşit olarak bölünmüştür. Ökromatik bölge de kendi içinde; X-Transposed bölge, X-Degenerative bölge ve Ampliconic Region olmak üzere üç ayrı kısma ayrılmıştır. Bu son bölgede protein kodlayan 78 gene ait 156 adet transkripsiyon faktörü ve farklı proteinler kodlayan 27 gen bulunmaktadır (Skaletsky ve ark. 2003) (Şekil 2.6). Aşağıda Y kromozomunda bulunan bu genlerden sunulan tez çalışmasında incelen üç adet gen ile ilgili kısa bilgiler verilmiştir.

2.4.1. SRY (sex determinating region of Y=Y kromozomunun eşey belirleyen bölgesi)

1990'larda SRY olarak isimlendirilen bir gen, bir takım patolojik koşullar kullanılarak, insan Y kromozomundan klonlanmış ve testis determinating factor için bir aday gen olabileceği düşünülmüştür (Sinclair ve ark. 1990). Fare SRY geninin gonadal farklılaşma sırasında ifade olduğunu belirlenmesinden sonra SRY geninin cinsiyeti belirleyen süreci yönlendirdiği anlaşılmıştır (Koopman ve ark. 1991). Bu gen MSY bölgesinde bulunan erkeğe özgü bir belirteçdir. İnsandaki SRY intron içermeyen ve sadece bir tek exonu sahip 204 amino asitlik bir protein kodlayan bir gendir. 80 amino asitlik bir dizi HMG (High Mobility Group) olarak bilinir ve SRY'ye erkek cinsiyetinin belirlenmesini sağlayan özelliğini kazandıran DNA bağlayan (DNA-binding) ve DNA esneten (DNA-bending) bölgelerden oluşur (Giese ve ark. 1994; Pontiggia ve ark. 1994). SRY'nin erkek cinsiyetinin oluşması yönündeki görevini bir transkripsiyon

yoluyla diş gelişiminde diş minesinin oluşumu ve diş gelişimi için önemli olan amelogenesis sürecini başlatır (Sasaki ve Shimokawa 1995; Butler ve ark. 2005).

İnsandaki amelogenin X kromozomunda, kromozomun kısa kolu üzerinde yerleşmiş olup 7 ekzondan oluşmaktadır. 7349 bp uzunluğundaki bu gen 191 amino asit büyüklüğündeki proteini sentezler. Aynı şekilde Y kromozomunun kısa kolu üzerinde yer alan ve 8110 bp uzunluğunda olan AMEL geni 206 amino asit büyüklüğündeki bir proteini sentezler (Anonim 2009f).

Sığır türlerinde ise AMELX'in kodladığı amelogenin proteini 213 amino asit, AMELY'nin kodladığı protein ise 192 amino asit büyüklüğündedir. Sığırdaki AMEL genin büyüklüğü 9.7 kb'tır ve 6 ekzon ile 5 introna sahiptir (Sasaki ve Shimokawa 1995). Koyunlarda ise AMEL genin yapısı henüz tam olarak aydınlatılmamıştır.

2.4.3. DBY (*Dead Box Helicase Y*)

Dead Box proteinlerin RNA helikazlar olabileceği düşünülmektedir. RNA'nın ikincil yapısını değiştiren transkripsiyonların başlatılması, nükleer ve mitokondrial splicinglerin gerçekleştirilmesi gibi hücrel aktivasyonlarda görev alırlar. Bu gen Dead Box proteinleri kodlar ve de amelogenin gibi DBY'nin de X kromozomunda homoloğu vardır. Bu gende meydana gelen mutasyonlar erkeklerde infertiliteye neden olur (Anonim 2009e; Anonim 2009f). İnsanda DBY (DDX3Y) Y kromozomunun uzun koluna yerleşmiştir ve 19 ekzondan meydana gelir ve büyüklüğü yaklaşık 15kb' dır (Anonim 2009f).

2.4.4. Y kromozomu ile ilgili çalışmalar

Y kromozomunun MSY bölgesi, dişiye özgü bir belirteç olan mtDNA'nın erkekteki karşılığı olarak da kabul edilebilir. Bu nedenle hem dişiye özgü dişi hatlarından hem de erkeğe özgü erkek hatlarından elde edilen bilgilere dayanarak oluşturulacak filogenik ilişkilerin daha aydınlatıcı olacağı ifade edilmektedir (Kikkawa ve ark. 2003). Aynı zamanda rekombinasyon, mutasyon hızlarının ve etkin populasyon büyüklüğünün X ve Y kromozomları açısından farklı özellikleri olduğundan, cinsiyete özgü belirteçlerdeki nükleotid çeşitliliğinin ($nucleotide\ diversity = \pi_Y$) hesaplanması bu konudaki çalışmaların etkinliğini arttıracaktır (Bradley ve ark. 1994; Teale ve ark. 1995; Hanotte ve ark. 2000; Kikkawa ve ark. 2003; Hellborg ve Ellegren 2004; Thanseem ve ark. 2006).

Memeli Y kromozomu analizlerine olan ilgi, cinsiyet belirlenmesindeki (Aasen ve Medrano 1990; Graves 2002) ve türlerin filocoğrafik tarihinin aydınlatılmasındaki önemli katkısından dolayı (Hammer ve ark. 1997; Yu ve ark. 2004; Meadows ve ark. 2004, 2006; Geraldles ve ark. 2005; Natanaelsson ve ark. 2006) giderek artmaktadır. Ayrıca populasyon tarihlerinin, kültürel deneyimlerin, çiftleşme durumlarının yönlendirilmesi, göçlerde dişi ve erkek davranışlarındaki farklılıklar, savaşlar ve kolonileşme gibi durumlara aydınlık kazandırması bakımından oldukça güvenilir olduğuna inanılmaktadır (Jobling ve Tyler-Smith 1995). Y kromozomal analizleri babalık testi, adli olaylarda kayıp kişilerin bulunması ve erkekler tarafından gerçekleştirilen cinsel saldırı olaylarının açığa çıkarılmasında da önemli rol oynar (Butter 2003).

Y kromozomundaki polimorfizm ilk olarak Casanova ve ark. (1985) tarafından bildirilmiştir. İnsanda erkeklerden alınan DNA'da Y'ye özel iki RFLP varyantının belirlenmesi Y kromozomundaki genetik belirteçlerin evrimsel çalışmalardaki potansiyeli hakkında büyük umutlara yol açmıştır. Y kromozomuna ait veriler kendilerinden beklenildiği kadar önemli gelişmelere yol açmasa da Y ile ilişkili (Y-linked) genetik belirteçler insanın filocoğrafik tarihinin aydınlatılmasına büyük ölçüde ışık tutmuştur (Hammer ve ark. 1997). Ancak ilkel olmayan populasyon genetik çalışmaları için Y kromozomuna ait veriler, hala Y kromozom belirteçleri ve dizi bilgilerinin yokluğundan (Petit ve ark. 2002) ve varyasyonun düşük olmasından dolayı (Hellborg ve Ellegren 2004; Meadows ve ark. 2004) yetersizdir. Bunun nedenleri geleneksel DNA polimorfizmlerini belirlemenin zor olması ve belirlenmiş olan polimorfizmlerin de evrimsel amaçlar açısından genellikle çok yararlı olmayışı ve henüz çok az sayıda populasyon incelenmiş olması olarak düşünülebilir. Örneğin insan Y kromozomunun dizi analizlerinin yapılması sonucu oldukça geniş bölgelerde bile ya hiç varyasyon gözlenmemiş ya da çok düşük düzeyde gözlenmiştir. 2.6 kb ve 4.2 kb'lık bölgelerin incelenmesi sonucu sırasıyla üç ve iki nükleotid değişimi belirlenmiştir (Seielstad ve ark. 1994; Hammer 1995).

Memeli türlerinde genelinde Y kromozomundan hesaplanan genetik çeşitlilik oldukça düşüktür (Meadows ve ark. 2004). Genomun diğer bölgelerine göre daha fazla mutasyon biriktiren, "junk" (= gereksiz) diziye sahip ve çok fazla hücre bölünmesi gerektiren sperm üretiminin mutagenik DNA replikasyonunun meydana gelme

ihtimalinin yumurtadan yüksek oluşu (Jobling ve Tyler-Smith 1995), Y kromozumundaki genetik çeşitliliğin bu kadar düşük olmasının nedenleri üzerinde düşünme ihtiyacı doğurmuştur. Farklı gen bölgelerindeki genetik çeşitliliğe etki eden en önemli faktörlerden birisi de etkin populasyon büyüklüğüdür (N_e = effective population size). Etkin populasyon büyüklüğü hem hemizigot hem de populasyonda sadece erkeklerde bulunan Y kromozomu açısından nükleotid çeşitliliğini kısıtlayan bir durumdur (Meadows ve ark. 2004). Jobling ve Tyler-Smith (1995) popülasyondaki her Y kromozomu için her bir otozomdan 4 ve X kromozomundan 3 adet bulunduğuna dikkat çekerek insan popülasyonlarında Y kromozomunun sınırlı etkin populasyon büyüklüğüne basit bir sayısal açıklama getirmişlerdir. Çok sayıda araştırmacının nükleotid çeşitliliğinin düşüklüğünün bir açıklaması olarak daha çok benimsediği bu konu insanlarda yapılan çalışmalarda Y kromozomuna ait nükleotid çeşitliliğinin otozomlarda hesaplananın dörtte biri kadar bir değerde bulunmasıyla desteklenmiştir (Hammer 1995). Popülasyon dinamikleri açısından çok önemli etkisi olan ikinci durum ise seleksiyondur. Evcil hayvanlar açısından evciltme sürecini izleyen kontrollü çiftleştirilmenin yapıldığı yetiştiricilik sistemleri erkeklerin bir sonraki generasyona yaptığı katkının eşit olmamasına yol açmıştır (Meadows ve ark. 2004). Çok sayıda dölü olan erkekler açısından etkin populasyon büyüklüğü daha da daralacak ve bu durum Y kromozomu açısından çeşitliliğin azalmasına yol açacaktır (Jobling ve Tyler-Smith 1995). Ayrıca insanlarda çok eşlilik ya da ölen bir yakının eşiyle yapılmak zorunda olunan evlilik gibi kültürel durumlar ya da erkekleri daha çok etkileyen savaş gibi toplumsal krizler erkek popülasyonlarında tekrarlanan bottleneck (=darboğaz)lere yol açmış olabileceği belirtilmektedir (Mitchell ve Hammer 1996). Alternatif bir açıklama da rekombinasyonun olmaması olayına dayanır: Y'ye özel bir gende meydana gelen selektif olarak avantajlı bir mutasyon, kromozomun geri kalanında fazla sayıda, herhangi bir varyasyona sahip olmayan ya da çok az sayıda "otostopçu" genle birlikte tüm popülasyona yayılır. Başka bir Y kromozomundaki varyantlar, seçilmiş bir Y kromozomunda rekombine olamayacaklarından kaybolurlar (Jobling ve Tyler-Smith 1995).

Y kromozomunun erkeğe özel bölgesinde bulunan az sayıda gende çok az sayıda varyasyon belirlenmesi, genomda 2 ila 8 baz uzunluğunda tekrarlanan düzenli diziler olan mikrosatelitlerin Y kromozomunun incelenmesinde otozomal mikrosatelitlerde

olduğu gibi bilgilendirici olduğu ve Y kromozomundaki mikrosatelitlerden hesaplanan çeşitlilik değerlerinin otozomal mikrosatelitlerden hesaplanana yakın sonuçlar verdiği gözlenmiş ve bunların evrim ve çeşitlilik hesaplamalarında kullanılabileceği anlaşılmıştır (Ciminelli ve ark. 1995; Goldstein ve ark. 1995). Roewer ve Epplen (1992)'in insanda günümüzde en yaygın olarak kullanılan ve tetranükleotid tekrarlardan oluşan ilk mikrosatelit belirteç olan DYS19'u bildirmelerinin ardından Y kromozomuna özgün mikrosatelitelerin ortaya çıkarılması çalışmaları diğer otozomal mikrosatelitelere göre çok yavaş ilerlemiştir (Mitchell ve Hammer 1996). Bu ilerleme o kadar yavaş olmuştur ki 2002 yılına gelindiğinde insanda Y kromozomuna ait sadece 30 adet mikrosatelit ortaya çıkarılabilmıştır (Butler 2003). Ancak günümüzde insanda bilinen ve insan topluluklarındaki erkek popülasyonlarının incelenmesinde (Cinnioğlu ve ark. 2004; Fujihara ve ark. 2009; Vermeulen ve ark. 2009; Hallenberg ve ark. 2009) kullanılan yaklaşık 200 adet mikrosatelit belirteç (Butler 2003) ve yine 200 ün üzerinde tek nükleotid polimorfizmi vardır (Joblin ve Tyler-Smith 2001). Günümüzde Y kromozomundan elde edilen veriler oldukça geniş alanda kullanılmaktadır. Bunun yanı sıra insan popülasyonlarında Y kromozomuna özel TNP ve STR (=Short Tandem Repeat)'ler kullanılarak, popülasyonların dünya üzerinde zamana bağlı dağılımları, popülasyonlar arası benzerlik ve farklılıkların belirlenmesi ile ilgili olarak oldukça fazla sayıda çalışma yapılmıştır (Vandenberg ve ark. 1999; Deng ve ark. 2004; Shen ve ark. 2000; Kayser ve ark. 2000; 2001; 2003; Sharma ve ark. 2007).

Y kromozomal TNP ve STR'ler yoluyla popülasyon tarihinin anlaşılmasına yönelik çalışmalar bugüne kadar insan popülasyonlarında öne çıkmasına rağmen da (Cinnioğlu ve ark. 2004; Fujihara ve ark. 2009; Vermeulen ve ark. 2009; Hallenberg ve ark. 2009), çiftlik hayvanlarında ise 1990'ların başında sığırlarda Y kromozomundaki varyasyonlarla ilgili çalışmalar başlatılmıştır (Bradley ve ark. 1994; Gwakisa ve ark. 1994; Kemp ve Teale 1994). Sığır Y kromozomunda yapılan çalışmaların büyük bir kısmı her ne kadar mtDNA'dan elde edilen sonuçlarla birbirini tamamen desteklemese de sığır popülasyonlarında da aydınlatıcı sonuçlar ortaya koydukları gösterilmiştir (Bradley ve ark. 1994; Hannote ve ark. 2000; Götherström ve ark. 2005; Pérez-Pardal ve ark. 2009; Mohamad ve ark. 2009). Sığır Y kromozomuna özgün STR'lerin kullanımı taurus türüne Zebu türünden baba hattı aracılığıyla gen akışı olduğunu göstermiştir (Bradley ve ark. 1994; Hannote ve ark. 2000). Götherström ve ark. (2005)

taurine türünde SNP ile belirlenen ve Y1 ve Y2 olarak isimlendirilen iki haplogrup belirlemiş ve bunların dağılımının coğrafik bölgelere göre değiştiğini bildirmişlerdir. Ancak buna rağmen bu araştırmacılar en azından sığır için TNP ve indellerin (=insersion/deletion) Y kromozom çeşitliliğini belirlemek için çok da uygun olmadıklarını ileri sürmüşlerdir. Diğer taraftan Ginja ve ark. (2009), Portekiz'e özel 13 ırkla 3 ithal ırkı ve de *Bos indicus*'a mensup 5 adet boğayı Y kromozomuna özel STR ve TNP'lerle inceledikleri araştırmalarında Y1, Y2 ve Y3 olarak üç haplogrup içinde gruplanan 13 haplotip belirlemişler ve 10 yeni haplogrup bildirmişlerdir. Y3 haplogrubunda sadece *Bos indicus*' tan 5 hayvan gruplanmış, diğer ırklardan hiçbir hayvan bu haplogrupta yer almamıştır. Ginja ve ark. (2009), Götherström ve ark. (2005)'nın aksine coğrafik bölgeler arasında önemli bir fark belirlememişlerdir.

Keçide Y kromozomal belirteçlerle yapılan çalışmalar sığırdaki yapılanlara göre hem sayıca az, hem de sığırdakiler kadar bilgilendirici değildir. Keçide AMEL, DBY ve ZFY (Zinc finger Y-chromosomal protein) genlerinin mevcut mutasyonlar bakımından incelendiği araştırmalar vardır (Pidancier ve ark. 2006; Sechi ve ark. 2009; Vidal ve ark. 2009). Ayrıca SRY geninin kodlama yapmayan bölgesinde tek baz değişimi belirlenmiştir (Prashant ve ark. 2009). Yapılan literatür incelemesi sonunda keçide bildirilen Y kromozomuna özgün herhangi bir STR'ye rastlanmamıştır. Keçide de bu alanda yapılan çalışmalar henüz geliştirilme aşamasındadır. Pidancier ve ark. (2006) AMELY ve ZFY genlerindeki polimorfizmlere dayanarak yaptıkları sınıflandırmada C1 ve C2 olarak iki yaygın haplogrup belirlerken, sadece Romanya'dan tek bir hayvanda C3 haplogrubu belirlenmiştir. Vidal ve ark. (2009) AMEL ve ZFY ve DBY genlerinden başka bölgeleri de inceleyerek H1, H2 ve H3 olarak isimlendirilen üç farklı haplotip belirlenmiştir. Bu çalışmaların arasında Pidancier ve ark. (2006)'nın mtDNA verilerini de kullanarak yaptıkları değerlendirme keçinin göç yollarının belirlenmesi açısından aydınlatıcı olmuştur. Diğer araştırmalar hem az sayıda hayvan ile hem de sınırlı bir coğrafik bölgede gerçekleştirilmiştir (Vidal ve ark. 2009; Sechi ve ark. 2009). Ayrıca bu araştırmacılar boynuz morfolojisi ve Y kromozomal filogeni arasında bir uyum olduğunu belirlemiş ve de boynuz morfolojisi ile ilgili bilgilerin mtDNA ve Y kromozomal verilerle birlikte kullanılıp, arkeolojik verilerle birleştirildiklerinde keçinin evriminin anlaşılmasında geçerli görüşler ortaya konulabileceğine dikkat çekmişlerdir.

Ancak tüm bu gelişmelere rağmen çiftlik hayvanlarında Y kromozomuna ait bilgiler oldukça azdır. Bunun nedeni; Y kromozomundaki belirteçlerin ve bilinen dizilerin azlığı ayrıca insan da dahil memeli türlerinin genelinde Y kromozomu üzerindeki varyasyonun genomun diğer bölgelerindeki varyasyondan oldukça düşük olmasıdır (Hellborg ve Ellegren 2004; Meadows ve ark. 2004). At (Lindgren ve ark. 2004), insan, kurt (Hellborg ve Ellegren 2004), köpek (Natanaelsson ve ark. 2006), şempanze (Yu ve ark. 2004), koyun (Meadows ve ark. 2004, 2006) ve tavşanlarda (Geraldès ve ark. 2005) yapılan çalışmalarda Y kromozomuna ait en yüksek nükleotid çeşitliliği (π_Y) 1.3×10^{-3} olarak tavşanda (Geraldès ve ark. 2005) ve bunu takiben 6.70×10^{-4} olarak şempanzede (Yu ve ark. 2004) hesaplanmıştır. Çiftleşmenin insan dahil pek çok popülasyona göre rastgele olduğu şempanzede belirlenen nispeten yüksek π_Y değeri, nükleotid çeşitliliğini belirleyen en önemli etkenin etkin popülasyon büyüklüğü olduğunun da bir göstergesidir (Meadows ve ark. 2004).

Çiftlik hayvanlarında kontrollü çiftleştirme yapıldığından erkek soylarının araştırılması daha fazla önem taşımaktadır. Yapılan kontrollü çiftleştirmeler, az sayıda erkek bireyin ebeveyn olarak seçilmesine ve bunların gelecek generasyonlara genetik katkılarını çok sayıda dölle yapmasına yol açar. Bu durum çiftlik hayvanlarında evciltmenin kökeni ile ilgili çalışmalarda Y kromozomundaki varyasyonların belirlenmesinin önemini arttırmaktadır (Meadows ve ark. 2004,2006).

Koyunlardaki Y kromozomu hakkında az sayıda çalışma henüz sadece MSY bölgesinden elde edilen sınırlı bilgiler ile yürütülmektedir (Meadows ve ark. 2004). Koyun Y kromozomuna ait bilgiler, koyun Y kromozomunun bağlantı haritasında PAR'da yerleşmiş altı adet genetik belirteç (Maddox ve ark. 2001), ve MSY bölgesinde ise SRY (Payen ve ark. 1996) ve ZFY (Lawson ve Hewitt 2002) genlerine ait dizilerdir. Sadece koyunda değil diğer türlerde de eşey tayini açısından en çok üzerinde durulan genlerden birisi olan AMELY (Pfeiffer ve Brenig 2005; Mitchell ve ark. 2006; Macé ve Crouau-Roy 2008; Dervishi ve ark. 2008) koyun, keçi ve sığırdaki karşılaştırmalı olarak incelenmiştir (Weikard ve ark. 2006). Koyun, AMELY genin dizisi keçi ile karşılaştırıldığında 15 bç'lik bir delesyon ve sığırla karşılaştırıldığında altı adet değişken bölge bildirmiştir. Koyun için “*Ovis Aries* chromosome Y amelogenin variant 1” (DQ469592) ve “*Ovis Aries* chromosome Y amelogenin variant 2” olarak isimlendirilen (DQ469593) iki farklı dizi bildirilmiş, ancak bu varyantların hangi koyun

ırklarında bulunduğu ve sıklıklarının frekansının ne olduğu hakkında bildirmemiştir. Ayrıca daha sonra bu polimorfizler, yapılan literatür incelemesine göre başka hiçbir araştırıcı tarafından bildirilmediğinden bu iki varyant Y kromozomuna göre yapılan filogenetik çalışmalarda değerlendirilememiştir. SRY gen bölgesinde bildirilen bir tek nükleotid polimorfizmi (Meadows ve ark. 2004) ve bugüne kadar koyun için bildirilmiş tek STR olan SRYM18 mikrosatellite lokusunundaki varyasyon (Meadows ve ark. 2006) dışında başka bir polimorfik bölge bildirilmemiştir. Meadows ve ark. (2004) yedi koyun ırkından elde edilen erkek hayvanlarda dokuz MSY parçası çoğaltmış ve herhangi bir tek nükleotid polimorfizmi olup olmadığını araştırmışlardır. Bu çalışmada SRY genine ait 528, 472 (AY604734.1) ve 598 baz çifti uzunluğundaki üç bölge, AMELY geninin 4. intronunda bulunan 622 baz çiftlik tek bölge, DBY genine ait 171 ve 339 baz çiftlik iki bölge, UTY genine ait 261 baz çiftlik tek bir bölge ile ZFY genine ait 572 ve 817 baz çiftlik ikişer bölge incelemişlerdir. Ancak incelenen bu bölgelerden sadece SRY geninin 5'-promotor bölgesinde bulunan 472 baz çiftlik bölgede A/G tek nükleotid polimorfizmi (TNP) belirlenmiş ve buna oY1 ismini vermişlerdir.

Meadows ve ark. (2004) nın koyunlarda yaptıkları çalışmadan yola çıkılarak keçilerde yapılan bir çalışmada AMELY, ZFY, UTY ve DBY gen bölgelerini aynı primerler kullanılarak çoğaltılmış ve de AMELY genindeki bölgede 4 bazlık bir delesyon, DBY' ye ait bölgede bir T $\nrightarrow$ G tek nükleotid değişimi ile ZFY genine ait bölgedeyse C $\nrightarrow$ T tek nükleotid değişimi belirlenmiş ve haplogrup sınıflandırmasını bu polimorfizmlere göre yapılmıştır, UTY genine ait bölgedeyse hiçbir polimorfizm belirlenmemiştir (Vidal ve ark. 2009).

Meadows ve ark. (2004, 2006) SRY genine ait tek nükleotid polimorfizminden yararlanarak nükleotid çeşitliliğinin (π_Y) 0.90×10^{-4} olduğu hesaplanmış ve bu değerin de diğer türlerde hesaplananlardan oldukça düşük bir değer olduğunu gözlemişlerdir (Meadows ve ark. 2004). Ancak koyun Y kromozomunda bulunan genetik çeşitliliğın ayrıntılı ilk analizi Meadows ve ark. (2006) tarafından beş ayrı kıtada bulunan koyun ırklarının erkekleri kullanılarak yapılmıştır. Dört yabani koyun türünden 61 bireyin ve 65 evcil koyun ırkından 458 bireyin SRYM18 mikrosatellite lokusunun ve SRY geninin 5'-promotor bölgesine bulunan oY1 SNP'si bakımından genotiplendirildiğı çalışmada evcil ırkların arasında bu tek nükleotid bakımından A-oY1 allelinin ırkların genelinde gözlendiğini ve frekansının % 71.4 gibi yüksek bir değer olduğunu, G-oY1 allelinin ise

daha nadir olduğunu bulmuşlardır (Meadows ve ark. 2006). Aynı araştırmacılar (Meadows ve Kijas 2009) yabani ve evcil koyun populasyonlarında yaptıkları araştırmada SRY geninde yedi farklı TNP daha belirlemiş ve bunlara oY2'den oY8'e kadar isim vermişlerdir. Bu araştırmanın sonucunda yeni TNP'lerin türler arasında değiştiğini ancak tür içinde sabit kaldığını belirlemişlerdir. Yabani koyun türlerini de içine alan bu çalışmada, mtDNA verilerine uyumlu olarak evcil koyun ile muflon türü arasında ortak haplotipler belirlemişlerdir. Brezilya koyun ırklarında SRY geni tek nükleotid polimorfizmleri bakımından incelenmiş A-oY1 ve G-oY1 allelerinin her ikisi de gözlenmiş, A-oY1 populasyonun genelinde yaygın olmasına rağmen yapağı verimleri yüksek ticari ırklar arasında G-oY1 allelinin frekansının daha yüksek olduğu görülmüştür (Paiva ve ark. 2006). Bu araştırmacılar A-oY1 ve G-oY1 allelerini birbirinden ayırmayı sağlayan *DdeI* kesim bölgesi de belirlemişlerdir.

SRYM18 mikrosatelit lokusunun koyun MSY bölgesinde bulunduğunu ve bu bölgenin çoğaltılması sonucu 106 bç'den 145bç'ne kadar değişen uzunlukta parçalar (106 bç, 110 bç, 131 bç, 139 bç, 141 bç, 143 bç, 145 bç, 147 bç, 149 bç ve 153 belirlenmiştir (Meadows ve ark. 2006; Meadows ve Kijas 2009). Bu parçalardan en büyük üçünün (147 bç, 149 bç ve 153 bç) analizi pentanükleotid bileşenlerin sabit olduğu ve dinükleotidlerin ise türler arasında değiştiğini göstermiştir.

oY1 tek nükleotid polimorfizmi ve SRYM18 mikrosatelite lokusundaki varyasyondan yararlanılarak oluşturulan 11 haplotip grubunun varlığı ve bunların en az iki erkek soyuna ayrıldığını bildirilmiştir (Meadows ve ark. 2006). Belirlenen bu 11 haplotipten H6'nın dünyadaki koyun ırkları arasında oldukça yaygın olduğu ve diğer 10 haplotipin ise dağılımlarının o kadar yaygın olmayıp, daha bilgilendirici olduğu ileri sürülmüştür (Meadows ve ark. 2006). Meadows ve Kijas (2009) yaptıkları bir araştırmada SRYM18'in yeni allelerini bildirilmiştir. Bilinen tüm allelerinin dizi okumalarının yapılmasıyla aynı uzunluktaki bazı allelerin birbirlerinden pentonükleotid [TTTTG]m, dinükleotid [TG]n tekrarları ve bir insertion/deletion (indel (G/-) ile birbirinden ayrıldığının belirlenmesi üzerine haplotip sayısı 12'ye çıkmıştır. Bunu takiben SRYM18 microsatellite lokusu ve oY1 tek nükleotid polimorfizminin incelendiği nadir araştırmalardan biri Ouna ve ark. (2006) tarafından yapılmıştır. Afrika kökenli olan ve olmayan toplam 35 farklı koyun ırkının incelendiği çalışmada beş farklı uzunlukta (131, 139, 141, 143 ve 145 bç) mikrosatelit alleli belirlenirken,

SRY genindeki oY1 tek nükleotid polimorfizmi bakımından incelenen hayvanların tamamının A-oY1 olduğu görülmüştür. Afrikada'ki bu hayvanlar arasında da en yaygın olan allel Meadows ve ark. (2006) ile Meadows ve Kijas (2009)'nın belirlediği gibi 143 bç'lik allel olarak belirlenmiştir. SRYM18 microsatellite lokusu başka araştırmacılar tarafından da araştırılmış yedi yerli İspanyol koyun ırkında SRYM18 lokusunun incelenmesi sonucu 139 bç, 141 bç ve 143 bç olarak üç farklı uzunlukta parça belirlemiş ve bunlar arasında en yaygın olanının 141 bç'lik allel olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmada 141 bç uzunluğundaki alleli sadece İspanya'da koruma altına alınmış Xalda koyun ırkının erkek hatlarında belirlenmiştir. 141 bç'lik bu allele sahip hayvanların pedigree kayıtları incelendiğinde daima iki atasal erkek hattın birisine ulaşılmış ve de bu iki atasal hattın Xalda ırkının iyileştirilmesinde kullanıldığını yani bu allele sahip koçların tercih edilen bir kullanım nedeni olması gerektiği vurgulanmıştır (Pérez-Pardal ve ark. 2007).

3. MATERİYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

Araştırmada Türkiye'nin çeşitli bölgelerinde yetiştirilen koyun ırklarının erkek ve dişilerinden alınan kan örneklerinden izole edilen DNA'lar materyal olarak kullanılmıştır. Y kromozomuna ait bölgelerin incelenmesi amacıyla on yerli koyun ırkından (Çizelge 3.1), mitokondriyal DNA'nın kontrol bölgesine ait 531 bç' lik parçanın incelenmesi amacıyla dokuz farklı koyun ırkından (Çizelge 3.2) kan örnekleri toplanmıştır. Elde edilen örneklerin populasyon büyüklüklerine bağlı olarak mümkün olduğu kadar farklı sürülerden (Çizelge 3.1 ve Çizelge 3.2) toplanmasına dikkat edilmiş, akrabalılıktan dolayı genotiplerin benzer olma olasılıkları engellenmeye çalışılmıştır. Araştırmada kullanılan koyun ırkları aşağıda kısaca tanıtılmıştır.

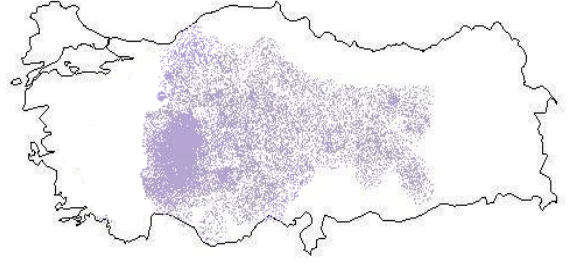
Çizelge 3.1. Y kromozomuna ait bölgelerin incelenmesi amacıyla erkek hayvanlara ait kan örneklerinin alındığı ırklar, çiftlik sayıları ve bunları temsil eden örnek sayıları

İrk	Örnek Sayısı	Çiftlik Say.
Sakız (Chios)	17	1
Akkaraman	15	7
Gökçeada (Imroz)	19	2
Kıvırcık	22	3
Karayaka	9	3
Dağlıç	13	4
Morkaraman	10	1
Hemşin	15	5
İvesi (Awassi)	15	13
Çine Çaparı	12	3
	147	42

Çizelge 3.2. mtDNA-CR bölgesinin incelendiği erkek ve dişi hayvanlara ait kan örneklerinin alındığı ırklar ve bunları temsil eden örnek sayıları

İrk	Birey sayısı			Çiftlik sayısı
	Dişi	Erkek	Toplam	
Sakız (Chios)	6	5	11	4
Akkaraman	10	9	19	9
Gökçeada (Imroz)	4	8	12	4
Kıvırcık	11	7	18	4
Karayaka	7	8	15	2
Dağlıç	14	6	20	4
Morkaraman	4	6	10	1
Hemşin	6	7	13	3
İvesi (Awassi)	10	7	17	12
	72	63	135	43

3.1.1. Akkaraman (AKK)



Şekil 3.1. Akkaraman koçu ve Akkaraman ırkının coğrafi dağılımı

Akkaraman tüm Orta Anadolu'ya yayılmıştır. Türkiye koyun varlığının en büyük kısmını oluşturur. Kötü hava koşullarına ve zor şartlara iyi uyum sağlamış bir ırktır. Süt ve et kalitesi düşüktür. Dişiler 35-40 kg, erkekler 40-50 kg arasındadır (Anonim 2010).

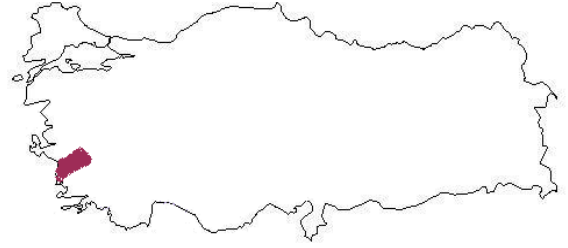
3.1.2. Morkaraman (MRK)



Şekil 3.2. Morkaraman koçu ve Morkaraman ırkının coğrafi dağılımı

Ülkemizde Akkaraman'dan sonra sayıca en fazla bulunan koyun ırkıdır. Doğu Anadolu bölgesinde yetiştirilir. Sağlam ve iri yapılı olup, Akkaraman ırkı gibi zor koşullara iyi uyum sağlamıştır. Sürü ve analık içgüdüsünün yüksek olması en belirgin özelliklerinden birisidir. Et miktar ve kalitesi düşüktür. Ergin ağırlık erkeklerde 50-90, dişilerde 40-60 kg arasında değişir (Anonim 2010).

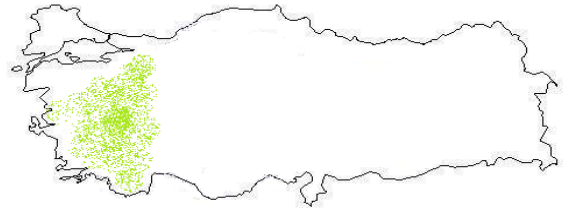
3.1.3. Çine Çaparı (ÇÇ)



Şekil 3.3. Çine Çaparı koyunu ve Çine çaparı ırkının coğrafi dağılımı

Aydın bölgesine özgü yağlı kuyruklu bir ırktır. Aydın ili sınırlarında bulunan Madran Dağı eteklerinde bulunan Çine ve Bozdoğan ilçelerinde yayılmıştır (Anonim 2009c). Süt verimi yüksek ve kurak hava şartlarına çok dayanıklı bir ırktır. Ergin ağırlık erkeklerde 55-60, dişilerde 35-40 kg arasında değişir (Anonim 2010). Son 15-20 yıldır Sakız ve Kıvırcık ırklarıyla yapılan melezlemeler yüzünden sayıca çok azalmışlardır. Bugün Çine Çaparı ırkı ağır yok olma tehdidi altındadır.

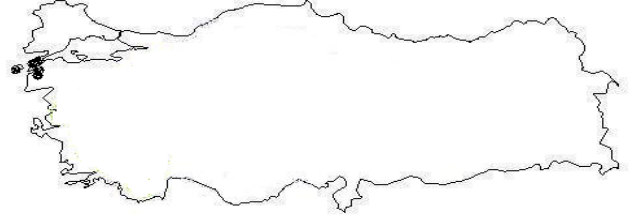
3.1.4. Dağlıç (DGL)



Şekil 3.4. Dağlıç koçu ve Dağlıç ırkının coğrafi dağılımı

Ülkemizde yerli koyun varlığı bakımından üçüncü sıradadır. Eskişehir, Kütahya, Afyon, Aydın, Muğla ve kısmen Isparta, Burdur ve Antalya illerinde (İç Batı Anadolu eşiği ve Göller Bölgesinde) (Anonim 2009c) bulunur. Canlı ağırlıkları az olmasına rağmen etleri lezzetlidir. Dişiler 35-40 kg, erkekler 50-60 kg arasındadır (Anonim 2010).

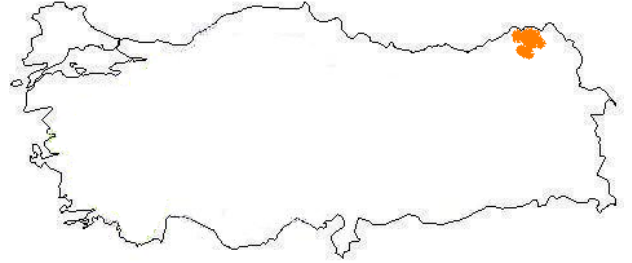
3.1.5. Gökçeada (GDA)



Şekil. 3.5. Gökçeada koyunu ve Gökçeada ırkının coğrafi dağılımı

İmroz olarak da bilinen Gökçeada ırkı ince- uzun kuyruklu bir ırktır. (Anonim 2009c). Gökçeada, Çanakkale ve Kuzey Batu Anadolu’da yetiştirilir. Küçük cüssesine rağmen süt verimi ve yaşama gücü oldukça yüksektir. Ergin ağırlık erkeklerde 55 kg, dişilerde 48 kg civarındadır (Anonim 2010).

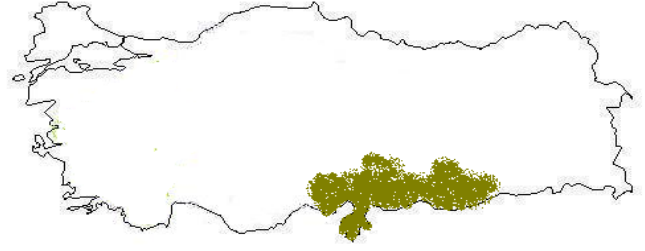
3.1.6. Hemşin (HMS)



Şekil. 3.6. Hemşin koyunu ve Hemşin ırkının coğrafi dağılımı

Kuzey Doğu Anadolu’da, Artvin dolaylarında yetişen, yağlı kuyruklu, yerel bir koyun ırkıdır. (Anonim 2009c). Sürü ve analık içgüdüğü yüksek ancak hırçın tabiatlıdır. Et veriminin az olmasına rağmen etleri lezzetlidir. Etleri orta kalitededir ve süt verimleri azdır. Ergin ağırlık erkeklerde 65-70 kg, dişilerde 55-60 kg arasındadır (Anonim 2010).

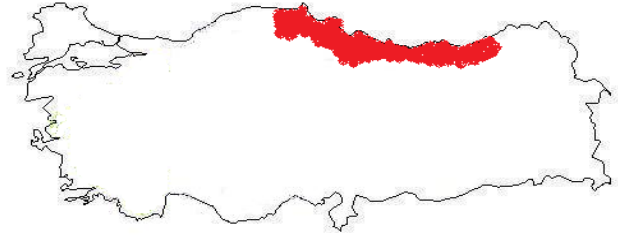
3.1.7. İvesi (İVS)



Şekil 3.7. İvesi ırkından bir hayvan ve İvesi ırkının coğrafi dağılımı

Suriye, Lübnan, Irak, Türkiye, İsrail, Ürdün`ün tipik ırkıdır. Bu ırka Arap koyunu da denir. Türkiye`de Güney Doğu Anadolu bölgesinde; Türkiye dışında Awwas veya Awassi diye anılan İvesi ırkı Batı literatüründe de Awassi olarak tanınır. Türkiye koyun popülasyonunun %3-4`ünü oluşturur. İvesi ırkının önemli sayılabilecek diğer bir özelliği de tanınmış birçok sütçü koyun ırkının aksine büyük sürüler halinde yetiştirilebilmesidir (Tuncel 1995, Kaymakçı ve Sönmez 1996). Ergin canlı ağırlık erkeklerde 74 kg, dişilerde 50 kg civarındadır (Anonim 2010).

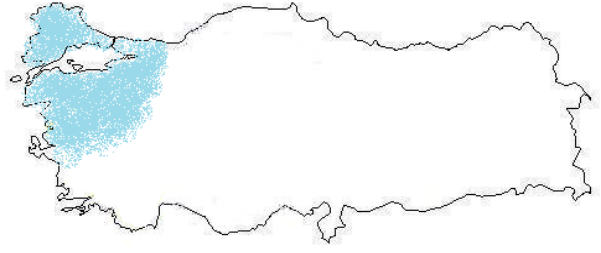
3.1.8. Karayaka (KRY)



Şekil 3.8. Karayaka ırkından bir hayvan ve Karayaka ırkının coğrafi dağılımı

Karayaka ırkı koyunlar Karadeniz kıyı şeridinde ve özellikle Ordu, Giresun, Samsun, Sinop ve Tokat illerinde yetiştirilen ince kuyruklu bir koyun ırkıdır. Türkiye koyun popülasyonunun %3.5`unu bu ırk oluşturur. Küçük cüsseli hayvanlardır. Et verimleri düşük ama et kaliteleri iyidir. Yerli ırklar arasında en kaba yapağılı ırktır. Ergin canlı ağırlık erkeklerde 55 kg, dişilerde 40 kg civarındadır (Anonim 2010).

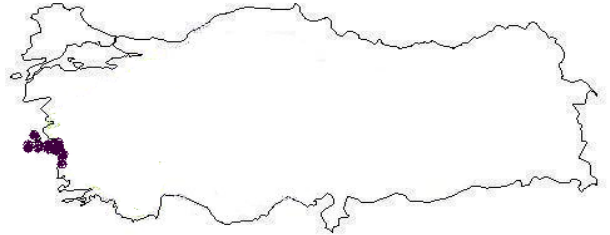
3.1.9. Kıvırcık (KVR)



Şekil 3.9. Kıvırcık ırkından bir koç ve kıvırcık ırkının coğrafi dağılımı

Türkiye, Bulgaristan ve Yunanistan'da yetiştirilen ince kuyruklu bir koyun ırkıdır. Yunanistan'da bu ırk Thraki adı ile bilinir. Bu ırk Türkiye'nin Trakya bölgesinin başlıca koyun ırkıdır. Ayrıca Marmara'nın güney ve doğusundaki illerde ve Ege bölgesinin bazı illerinde yetiştirilir. Türkiye'deki toplam koyun varlığının %6.4 ünü bu koyun ırkı oluşturur. Et kalitesi en iyi koyun ırkıdır, süt verimleri de oldukça yüksektir. Ergin canlı ağırlık erkeklerde 60-70 kg, dişilerde 45-55 kg arasında değişir (Anonim 2010).

3.1.10. Sakız (SKZ)



Şekil 3.10. Sakız ırkından bir koç ve Sakız ırkının coğrafi dağılımı

Bu ırk Yunanistan'ın Sakız adasından 1830'lü yıllarda getirilmiştir (Anonim 2009c). Sakız saf olarak İzmir bölgesinde özellikle de Çeşme ilçesinde bulunur. Erken gelişen bir ırktır. Yavru ve süt verimleri oldukça yüksek olan bu ırkın sürü içgüdüğü zayıftır bu yüzden genellikle 3-5 başlık küçük sürüler halinde bulunur. Canlı ergin ağırlık erkeklerde 70 kg, dişilerde 50 kg dolayındadır (Anonim 2010).

3.2. Yöntem

3.2.1. Kan Örneklerinin Alınması ve DNA İzolasyonu

Kan örnekleri farklı sayıda dişi ve erkek hayvanlardan, her ırkın doğal yetiştirme bölgelerinde bulunan çeşitli çiftliklerden alınmıştır, mitokondriyal DNA ve Y kromozomuna ait bölgelerin incelenmesi amacıyla farklı sayılarda dişi ve erkek hayvan kullanılmıştır. Her ırktan kullanılan hayvan sayısı ve kan örneklerinin alındığı çiftlik sayısı Çizelge 3.1 ve Çizelge 3.2’ de verilmiştir.

DNA izolasyonu amacıyla kullanılan kan örnekleri, boyun bölgesinde bulunan vena jugularis’den doğrudan antikoagulanlı 10 ml’lik vakumlu tüplere alınarak soğuk zincir altında laboratuara getirilmiş, DNA izolasyonları Fermentas (K0512) marka ticari izolasyon kiti kullanılarak, kitin kullanma klavuzundaki talimatların uygulanması ile aşağıda bildirilen şekilde gerçekleştirilmiştir.

1. Her bir hayvandan alınan kanlardan 200 µl kan örneğine, 400 µl lysis çözeltisi eklenmiş ve 65 °C’de 5 dakika inkübasyona bırakılmıştır.
2. İnkübasyon sonrası 600 µl kloroform eklenmiş ve homojen bir duruma gelinceye kadar karıştırmıştır. Daha sonra 10 000 rpm ’de 2 dakika santrifuj edilmiştir.
3. Santrifujun ardından, üste kalan ve DNA içeren sıvı faz temiz bir tüpe aktararak, çöktürme solusyonu eklenmiştir ve oda sıcaklığında ters yüz edilip, 10 000 rpm ’de 2 dakika santrifuj edilmiştir.
4. Süpernatantın tamamen uzaklaştırılmasının ardından tüpte kalan DNA peleti 100 µl 1.2 M NaCl çözeltisi ile tamamen çözündürülmüştür.
5. DNA içeren tüplere 1000 µl saf etanol ilave edilerek DNA’nin çökmesi beklenilmiş ve 10 000 rpm’de 3 dakikalık santrifujün ardından, etanolün tüplerden uzaklaştırılması beklenilerek ardından DNA’lar 100 µl TE çözeltisinde çözündürülerek kullanıma hazır hale getirilmiştir.

3.2.2. mtDNA Kontrol Bölgesinin Çoğaltılması

Tamamı Hiendleder ve ark. (1998b) tarafından tanımlanan koyun mtDNA genomunun (Acce Num: AF010406) 16007-16537 pozisyonları arasındaki 531 bç'lik kontrol bölgesi (CR) aşağıdaki primerler kullanılarak çoğaltılmıştır (Chen ve ark., 2006):

CR400F : 5'-ACT GCT TGA CCG TAC ATA GTA C-3'

CR1099R: 5'-AGT ATT GAG GAC GGG GTA A-3'

531 bç'lik bu bölgenin çoğaltılmasında aşağıdaki PCR döngüsü kullanılmıştır:

95 °C'de 3 dakika	} 35 döngü
94 °C'de 50 saniye	
51 °C'de 1 dakika	
72 °C'de 1 dakika	
72 °C'de 5 dakika	

Bu bölge, Chen ve ark. (2006) bildirdiği gibi mtDNA'da fazla bulunan ve de dizi analizi ve bunlardan elde edilen sonuçları yorumlamayı güçleştiren tandem tekrarlardan kaçınmak amacıyla seçilmiştir. PCR ürünleri ticari kit kullanılarak temizlendikten sonra DNA sıra analizi hizmet alımı şeklinde yapılmıştır. DNA sıra analizi için, PCR işleminde kullanılan primerler (CR400F ve CR1099R) kullanılmıştır.

3.2.3. Y Kromozomuna Ait Parçaların Çoğaltılması

Koyunun Y kromozomunun MSY'nda SRY geninin 5' upstream bölgesindeki bulunan 549 ve 598 bç'lik bölgeler ile bu yine bu bölgede bulunan bir mikrosatelitte belirteç (SRYM18), AMELY ve DBY geninin 3' UTR kısmına ait sırasıyla 182 bç ve 171 bç'lik bölgeler Çizelge 3.3 'de bildirilen primerler ile çoğaltılmıştır.

SRY genine ait iki bölgenin çoğaltılmasında 50 ng/µl DNA; 12.5 µl 2X PCR Master Mix (Fermentas, K0171) ve her iki primerden (Çizelge 3.3) 0.5 µM içeren toplam 25 µl reaksiyon karışımı kullanılmış ve PCR reaksiyonları *Techne TC-512* PCR cihazında gerçekleştirilmiştir. SRY genine ait her iki bölgenin de çoğaltılması da Çizelge 3.3'de bildirilen primerler kullanılarak 95°C de 3 dakika sürdürülen başlangıç denatürasyonu takiben, 94°C'de 1 dakika, 55°C'de 1 dakika ve 72 °C'de 1 dakikadan oluşan 35 döngülük PCR koşullarında gerçekleştirilmiştir.

DBY3 ve AMELY genlerine primerleri ile gerçekleştirilen PCR reaksiyonlarının her ikisi de aynı şekilde 200 mM dNTPs, 2mM MgCl₂, 50 mM KCl, 10 mM Tris-HCl, 0.1% Triton X-100, 0.7 U Taq polimeraz ve 0.1U Pfu polimeraz (Biotools) ve her bir primerden 5 pmol içeren 25 µl reaksiyon karışımı kullanılarak “Biometra T3000” PCR cihazında gerçekleştirilmiştir. DBY3 genine ait 171 bp’lik bölgenin çoğaltılmasında 94°C deki 2 dakikalık başlangıç denatürasyonu takiben, 94°C’de 30 saniye, 55°C’de 45 saniye ve 72 °C’de 45 saniyeden oluşan 35 döngülük PCR şartlarında gerçekleştirilmiş, elde edilen PCR ürünleri % 1.5’luk agaroz jellerde UV altında gözlenmiş, PCR ürünleri NucleoSpin® Extract II (Macherey-Nagel) PCR ürün temizleme kiti ile temizlenmiştir. AMEL genine ait parçalar 2 dakika süreyle 94°C de başlangıç denatürasyonu takiben, 94°C’de 45 saniye, 63°C’de 45 saniye ve 72 °C’de 45saniyeden oluşan 35 döngülük PCR şartlarında gerçekleştirilmiştir. AMEL geni hem X hem de Y kromozomunda bulunduğundan PCR ürünlerinin %2’lik agaroz jellerde yürütülmesi sonucu UV ışığında dişi bireylere ait sadece 242 bp’lik bir parça gözlenirken, erkek bireylerde X kromozomuna ait 242 bp’lik ve de Y kromozomuna ait 182 bp’lik iki parça gözlenmiştir. AMELY genine ait 182 bp’lik bu bölge UV altında jellerden kesildikten sonra NucleoSpin® Extract II (Macherey-Nagel) PCR ürün temizleme kiti ile ürün katoloğundaki talimatlara göre, aşağıda açıklandığı gibi temizlenmiştir.

Çizelge 3.3. Y kromozomu üzerinde bulunan bölgeleri çoğaltmak amacıyla kullanılan primerler (Meadows ve ark. 2004, 2006; Dervishi ve ark. 2008).

Gen	Bölge	bp	Primers (5' ‡ 3')	Analiz edilen hayvan sayısı
DBY	3' UTR	171	ACACTGGCACTTGAATGTTG CCTTGGCATGTTATAGTTTC	25
SRY	5'promotor (3F/3R)	549	TCAGTAGCTTAGGTACATTCA GTGCTACATAAATATGATCTGC	130
SRY	5'promotor (4F/4R)	598	ACTGCTTGGATGCCAAGATTAAG ACTCTGAACATAGCAGAAGCA	125
SRYM18			GGCATCACAAACAGGATCAGCAAT GTGATGGCAGTTCTCACAATCTCCT	147
AMELY	AMELY varyant2 cds bölgesi	182	CCGCCAGCAGCCCTTCC CCCCTTGGTCTTGTCTGTTGC	25

SRYM18 mikrosatelitinin çoğaltılması ve dizinde 5' ucundan florasan etiketle (FAM) işaretlenen forward primer kullanılarak (Meadows ve ark. 2006) yukarıda

bildirilen PCR konsantrasyonlarında, 10 µl'luk reaksiyon koşullarında gerçekleştirilmiştir (Çizelge 3.3). Elde edilen PCR ürünleri ABI310 (Applied Biosystems) otomatik dizi analizi cihazında genotiplenmiş ve elde edilen parça uzunlukları GenScan programı kullanılarak belirlenmiştir. Parça uzunluklarının belirlenmesinde daha önce Meadows ve ark. (2006) tarafından genotiplenmiş ve 143 bp uzunluğunda oldukları bildirilmiş İspanyol Muflon'lardan alınan örnekler referans olarak kullanılmıştır.

3.2.4. Dizi Analizleri

Elde edilen PCR ürünlerinin dizi analizine hazırlanmak üzere temizlenmesinde Roche ve NucleoSpin® Extract II (Macherey-Nagel) PCR ürün temizleme kiti ile ürün katoloğundaki talimatlara göre aşağıdaki gibi temizlenmiştir:

Elde edilen PCR ürünlerinin Roche marka PCR ürün temizleme kiti ile temizlenmesinde aşağıda özetlenen protokol kullanılmıştır.

1. PCR tamamlandıktan sonra her bir PCR tüpü için toplam hacim 100 µl'ye tamamlanarak 500 µl Binding Buffer ilave edilmiş ve iyice karıştırılmıştır.
2. Bu karışım "Collection tube" e sokulan " High Pure Filter tube" ün haznesine aktarılmış ve 1 dakika oda sıcaklığında, 12 000 rpm'de santrifuj edilmiştir.
3. "Filter tube" çıkartılmış ve açığa çıkan solusyon atılıp, "Collection tube" e geri sokulmuştur.
4. 500 µl wash buffer "Filter tube" ün haznesine aktarılmış ve tekrar 1 dakika oda sıcaklığında, 12 000 rpm'de santrifuj edilmiştir.
5. Atık solusyon boşaltılmış, aynı "Filter tube" aynı "Collection tube" e geri aktarılmış optimal saflığın sağlanması için 200 µl wash buffer eklendikten sonra 1 dakika oda sıcaklığında, 12 000 rpm'de santrifuj edilmiştir.
6. Atık solusyon ve "Collection tube" uzaklaştırılmış ve "Filter tube" 1.5 ml'lik temiz bir microsantrifuj tüpüne aktarıldıktan sonra 50 µl elution buffer ilave edilerek son olarak 1 dakika oda sıcaklığında, 12 000 rpm'de santrifuj edilmiştir.

NucleoSpin® Extract II (Macherey-Nagel) PCR ürün temizleme kiti ile ürün katoloğundaki talimatlara göre, aşağıda açıklandığı gibi temizlenmiştir. Hem DBY hem

de AMELY ye ait PCR ürünlerinin dizi analizleri Genetic Analyser ABI 3100 (Applied Biosystem, USA) dizi analiz cihazında gerçekleştirilmiştir.

NucleoSpin® Extract II (Macherey-Nagel) PCR ürün temizleme kitine göre PCR ürünlerinin doğrudan ve % 2'lik jellerden kesilerek temizlenmesi:

1. Bandlar UV ışığı altında agaroz jellerde gözlenir ve olabildiğince ince kesilerek bir önceden darası alınmış 1.5 ml'lik ependorflara konur. Her bir 100 mg agaroz için 100 ml binding buffer (NT) ilave edilerek agaroz jel parçalarının tamamen erimesi için 50 °C'de ve 5 ila 10 dakika, 2-3 dakika arayla vortexlenerek inkübe edilir. NucleoSpin® Extract II, PCR ürünlerinin doğrudan temizlenmesi için kullanıldığında bu aşamaya gerek olmaz.
2. NucleoSpin® Extract II colomnun içine 2ml'lik bir collection tüpünün içine konur ve 1.5 ml'lik ependorf tüpün içerisindeki erimiş agaroz ve binding buffer karışımı bunun içine aktararak 11 000 rpm'de 1 dakika santrifuj edilir.
3. Atık solusyon boşaltılarak NucleoSpin® Extract II colomn tekrar collection tüpünün içine yerleştirilir.
4. NucleoSpin® Extract II colomnun içine 700 ml (NT3) wash buffer ilave edilerek 11 000 rpm'de 1 dakika santrifuj edilir.
5. Atık solusyon boşaltılarak 11 000 rpm'de 1 dakika santrifuj tekrar edilir.
6. NucleoSpin® Extract II colomn 1.5 ml'lik temiz bir ependorfun içine yerleştirilir ve 30 µl elution buffer (NE) ilave edilerek 1 dakika oda sıcaklığında bekletildikten sonra 11 000 rpm'de 1 dakika santrifuj tekrar edilir.

Temizlenen PCR ürünleri, hizmet alımı yapılan firmanın talimatlarına göre, dizi analizine hazırlanmıştır. SRYM18 mikrosatelitine ait parça uzunluk analizi ABI 310 (Applied Biosystems) otomatik dizi analizi cihazında, 1.5 µl PCR ürünü, 0.45 µl markır ve 20 µl formadin içeren 48 adetlik plakalarda genotiplenmiştir.

3.2.5. İstatistiksel Analizler

mtDNA'nın kontrol bölgesinde bulunan parça ve Y kromozomundaki gen bölgelerinden elde edilen dizi analiz sonuçları BioEdit programında düzenlenmiş ve CLUSTALW (<http://www.ebi.ac.uk/clustalw/>) bilgisayar programı yardımıyla da hizalanmıştır. Dizilerin hizalanmasından elde edilen sonuçlarına göre fazla bölgelerinden kesilerek, GenBank ve EMBL veri bankalarındaki diğer dizilerle karşılaştırılmışlardır. Referans olarak A (AF010407, AY829388, DQ852286, DQ852287, DQ097452, DQ097451, DQ097450, DQ097449, DQ097447, DQ097445, DQ097443), B(AF010406, DQ852282, DQ852285), C (DQ097462, DQ097460, DQ852283 DQ852284) D (DQ852288, DQ852289) ve E(DQ852280, DQ852281) haplogruplarına dahil oldukları kesin olarak bilinen diziler ve Çin ırklarına ait, genbankta haplogrup isimleri verilmeyen ancak filogenetik ağaçta A haplogrubu ile gruplanan dört adet dizi (DQ308730, DQ308726, DQ308676, DQ308635, DQ308614) referans olarak seçilmiştir.

Toplam dizi varyasyon indexi, nükleotid çeşitliliği (Π ya da P_i) nükleotid sayısındaki varyasyonlar (D), herbir bölgedeki nükleotid substitution sayısı (K) ve haplotip yapısı gibi çeşitlilik parametreleri, mtDNA'dan elde edilen dizi analiz sonuçlarına göre Arlequin 3.0 (Excoffier ve ark. 2005) ve DNAsp (DNA Sequence Polymorphism Software) 4.1 (Rozas ve ark. 2003) paket programı kullanılarak hesaplanmıştır. mtDNA kontrol bölgesinde belirlenen dizi bilgilerinden genetik yapı analizlerinin gerçekleştirilmesi için kullanılan AMOVA testlerinde coğrafi bölgeler arasındaki farklılıkları belirlemek üzere oluşturulan gruplandırmada Dağlıç, Kıvırcık, Gökçeada ve Sakız bir grup, Morkaraman ve İvesi ikinci bir grup, Hemşin ve Karayaka bir başka grup ve Akkaraman tek başına bir grup olarak düşünülmüş ve analiz edilmiştir.

Herbir haplotip grubunun dağılım şeklindeki farklılıklar için popülasyon demografi testleri uyumsuzluk (mismatch) testleri yürütülerek yapılmış ve bu uyumsuzluk testlerinden elde edilen dağılımın desteklenmesinde aşağıda formülü verilen reggadness (r) istatistliği kullanılmıştır.

$$r = \sum_{i=1}^{d+1} (X_i - X_{i-1})^2$$

r = reggadness değeri

d= alleller arasındaki en büyük fark

x= allelik değişim frekansı

Filogenetik analiz ise MEGA 4 (Tamura ve ark. 2007) paket programı ile Kimura-2P (Kimura two parameter) modeli (Kumar ve ark. 2004) kullanılarak gerçekleştirilmiştir, Komşu birleştirme ağacı (Neighbor joining tree) bootstrop değeri olarak 1000 verilerek çizdirilmiştir.

Populasyonun genetik yapısı ile ilgili genel hesaplamalar için DnaSP (Rozas ve ark., 2003) programı kullanılarak gerçekleştirildi. A, B ve C haplogrupları için Fu'nun F istatistiğinin hesaplaması gerçekleştirilmiştir (Excoffier ve ark. 2005). mtDNA kontrol bölgesinden elde edilen haplotipler arasındaki ilişkiler Network 4.1.1.2 (<http://www.fluxus-engineering.com>) kullanılarak, nükleotid ağırlıklandırması yapılmadan (w= 10) median-joining diagram çizilerek görüntülenmiştir.

Haplotip çeşitliliği (Hd) (Nei 1987) ve nükleotid çeşitliliği (Π ya da P_i) populasyonlar genelinde ve tüm populasyonlar için aşağıdaki formül kullanılarak ayrı ayrı hesaplanmıştır.

$$Hd = (1 - \sum p_i^2) / n(n-1)$$

Hd= Haplotip çeşitliliği

n= örnek büyüklüğü

p_i = i. haplotipin örnek frekansı

$$\hat{\Pi} = \frac{\sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^{k'} x_i x_j d_{ij}}{L}$$

Π = nükleotid çeşitliliği

d_{ij} = i ve j haplotipleri arasında gözlenen nükleotid çeşitliliği

k= haplotip sayısı

p_i = i. haplotipin örnek frekansı

p_j =j. haplotipin örnek frekansı

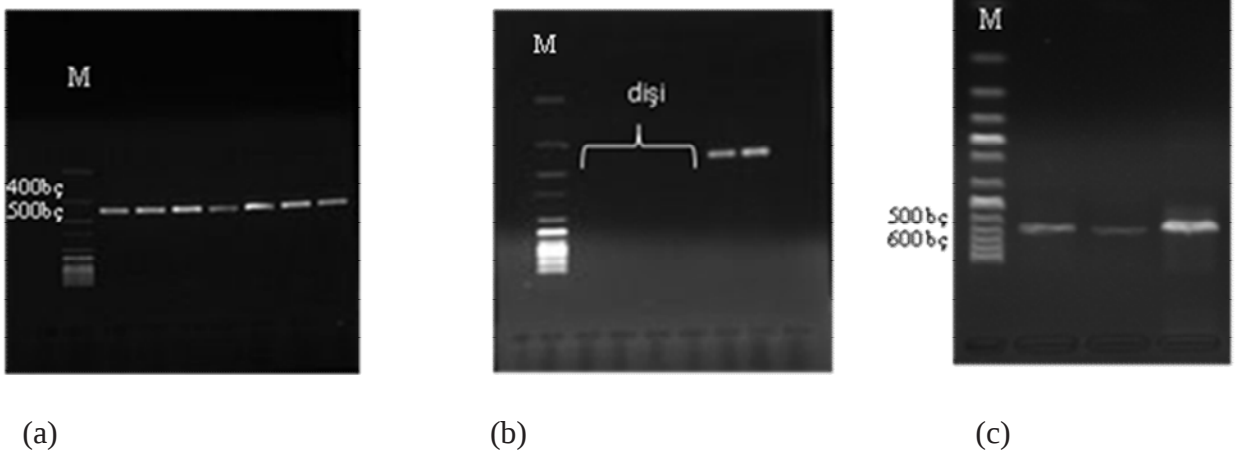
L= toplam dizi uzunluğu

4. BULGULAR

4.1. Y kromozomuna Ait Dizilerden Elde Edilen Bulgular

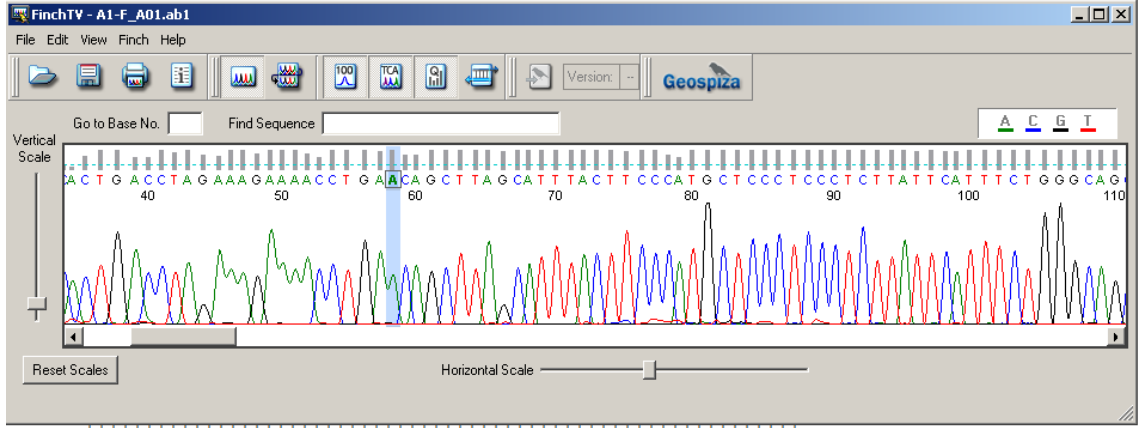
4.1.1. SRY genine ait iki bölgeden elde edilen bulgular

SRY genin 5' promotor bölgesine ait 549 ve 598 bp'lik bölgeler bu bölgelere uygun primerler kullanılarak (Çizelge 3.3) elde edilen PCR ürünleri (Şekil 4.1) çoğaltıldıktan sonra çoğalıp çoğalmadıkları % 1.5 'luk agaroz jellerle kontrol edilmiştir (Şekil 4.1a, b, c). Ayrıca SRY'nin 549 bazlık bölgesinin çoğaltılması esnasında aynı şartlarda 3 dişi hayvana ait DNA'lar için de PCR işlemi yapılmış ve de bu bölgenin dişilerde ürün vermediği görülmüştür (Şekil 4.1a, b, c).

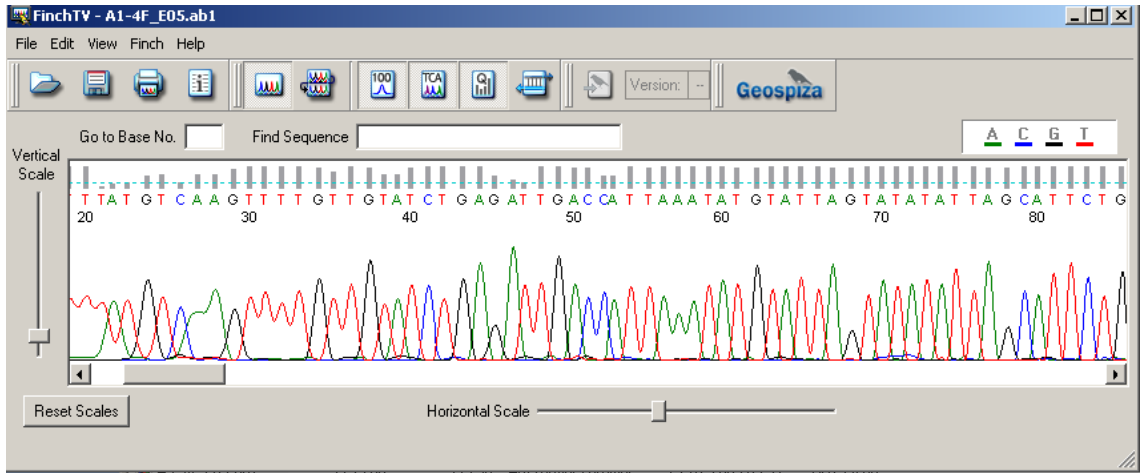


Şekil 4.1. SRY genine ait 549 bazlık bölgenin (a) erkek ve dişi hayvanda (b) ve 598 bazlık bölgenin (c) erkek hayvanlarda PCR ürünlerinin agaroz jellerde gözlenmesi. (M, Markır 100bp).

Elde edilen PCR ürünlerinin temizleme kitleriyle temizlenmesinden sonra DNA dizi analizine gönderilen örneklerden elde edilen dizilerin (Şekil 4.2 ve Şekil 4.3) gen bankasındaki referans dizilerle (AY604734 ve AY604735) karşılaştırılması sonucunda incelenen tüm bireylerin 99. pozisyonunda AY604734 referans dizisinden farklı olarak adenin bulunduğu belirlenmiş ancak her iki bölgede de incelenen bireyler arasında farklılık gözlenmemiş, elde edilen tüm dizilerin tüm erkek koyunlar için aynı olduğu belirlenmiştir.



Şekil 4. 2. SRY genine ait 549 bazlık bölgenin (AY604734) forward primer ile yapılan dizi analizinin kromotogram görüntüsü.

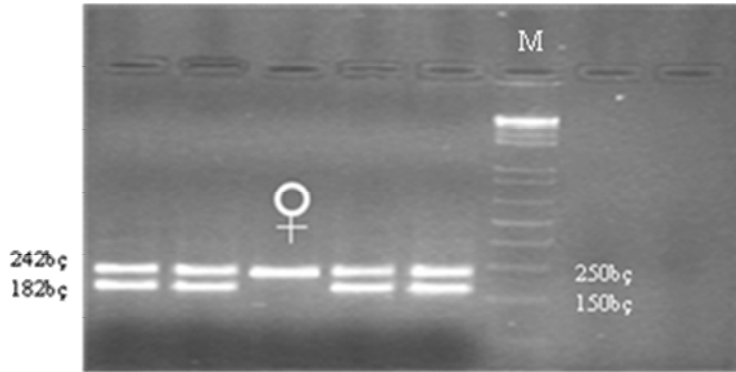


Şekil 4. 3. SRY genine ait 598 bazlık bölgenin (AY604735) forward primer ile yapılan dizi analizinin kromotogram görüntüsü.

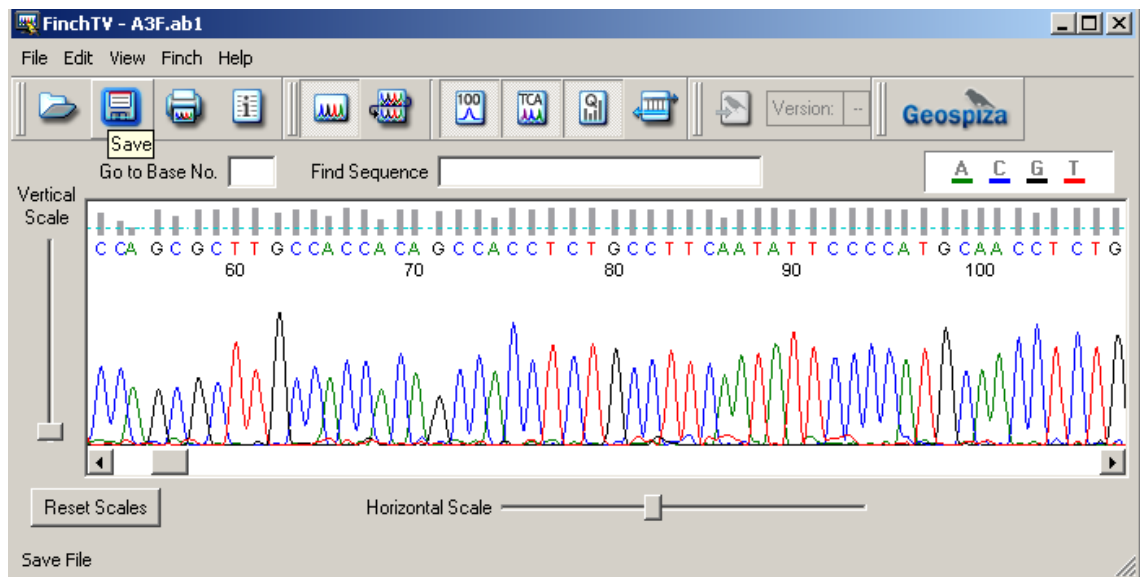
4.1.2. AMELY genine ait bölgeden elde edilen bulgular

AMELY genine ait 182 bazlık bölgenin analizi için %2'lik agaroz jeller dökülmüş ve de erkek hayvanlarda bu bölgeye ait her iki bant da UV altında gözlenmiştir (Şekil 4.4). Jellerde aynı zamanda dişi hayvanlara ait PCR ürünleri de yürütülerek, dişi hayvanlarda sadece X kromozomuna ait 242 bazlık bölge çoğalırken erkek hayvanlarda hem X kromozomuna ait bu 242 bazlık bölge, hem de Y kromozomuna ait 182 bazlık bölgenin çoğaldığı gözlenmiştir (Şekil 4.4). PCR ürünlerinin agaroz jellerde gözlenmesinin ardından UV ışığı altında, Y kromozomuna ait 182 bazlık bölgenin tek başına elde edilmesi için jellerden kesilmiş ve DNA dizi analizi için temizlendikten sonra dizi analizine gönderilmiştir (Şekil 4.5). Hem forward

hem de reverse primerlerle yapılan okumalarda tüm bireylere ait diziler Weikard ve ark. (2006) tarafından bildirilen Y kromozomundaki amelogenin varyant 2 olarak isimlendirilen (DQ469593) diziyle % 100 homoloji göstermiştir.



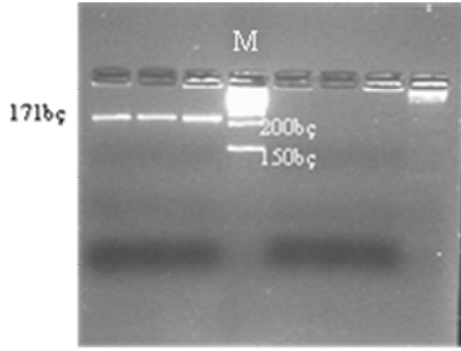
Şekil 4.4 AMELY ve AMELX e ait 182 ve 242 baz uzunluğundaki PCR ürünlerinin agaroz jellerde gözlenmesi (M, Markır 100bç).



Şekil 4.5. AMELY genine ait 182 bazlık bölgenin forward primer ile yapılan okuma sonucu

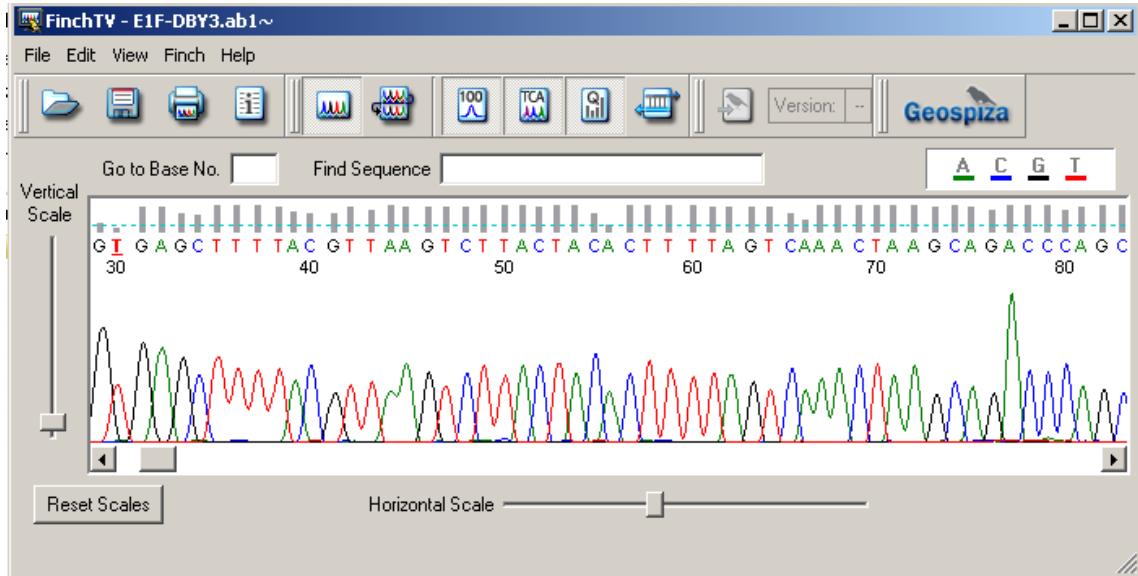
4.1.3. DBY genine ait bölgeden elde edilen bulgular

PCR koşulları optimize edildikten sonra (Şekil 4.6) AMELY gen bölgesi için yapıldığı gibi, farklı ırklardan SRYM18 parça uzunluklarına göre seçilen çeşitli sayılardaki erkek hayvanlar her iki primerle dizi analizine gönderilmiştir (Şekil 4.7).



Şekil 4.6. İki farklı koşulda gerçekleştirilen DBY genine ait PCR ürünlerinin agoroz jellerdeki görünümü. İlk üç örneğin yapıldığı PCR koşulları DBY genine ait 171 bazlık bölgenin çoğaltılmasında kullanılmıştır.

Yapılan dizi analizi sonucunda incelenen tüm bireylerin DBY geni bakımından aynı dizisiye sahip olduğu belirlenmiştir. Ayrıca gen bankasında yapılan aramalar sonucunda koyunda bu bölgeye ait herhangi bir dizi bulunamadığından bu bölge ile ilgili karşılaştırmada veri tabanından yararlanılamamıştır.

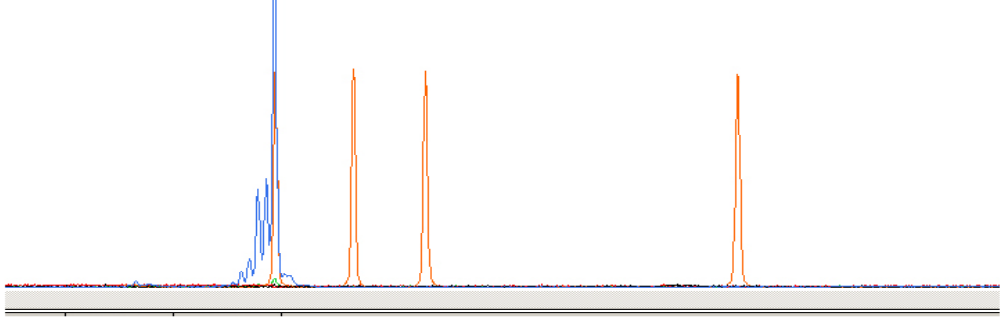


Şekil 4.7. DBY genine ait 171 bazlık bölgenin dizi analizinden elde edilen kromotografin görüntüsü.

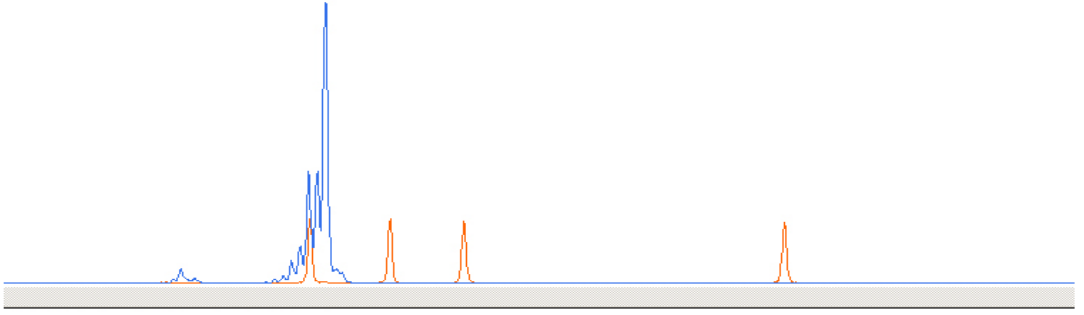
4.1.4. SRYM18 den elde edilen bulgular

SRYM18 mikrosatelitine ait bölge 96 örneklik plakalarda çoğaltılmıştır. GenScan programından yararlanılarak elde edilen parça analizi sonuçlarının karşılaştırılmalarında İspanyol muflonuna ait parçanın uzunluğu standart olarak kullanılmıştır. Buna göre 147 adet erkek hayvanın fragment analizi sonucunda 141, 143, 145 bp uzunluğunda üç farklı allel elde edilmiş ve bunların frekansları ile ırklara

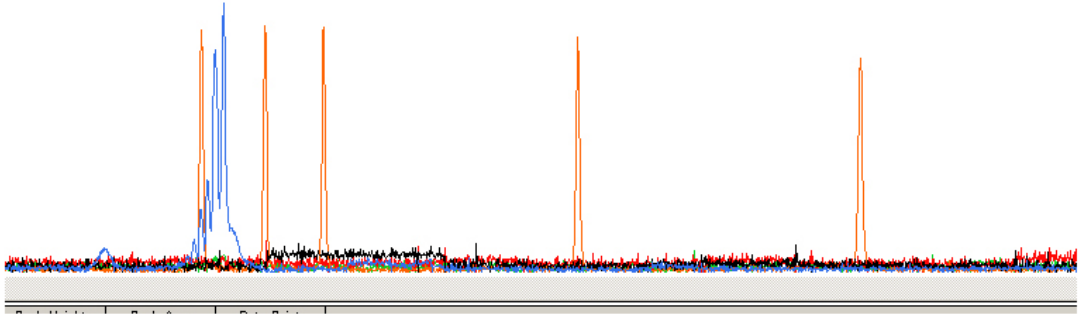
dağılımı Çizelge 4.1’de özetlenmiştir. Elde edilen uzunluklara ait görüntüler Şekil 4.8., 4.9., 4.10. da gösterilmiştir.



Şekil. 4.8. SRYM18 e ait 141 baz uzunluğundaki allelin GenScan programında görüntülenmesi



Şekil. 4.9. SRYM18’e ait 143 baz uzunluğundaki allelin GenScan programında görüntülenmesi.



Şekil. 4.10. SRYM18’e ait 145 baz uzunluğundaki allelin GenScan programında görüntülenmesi

Tüm erkek bireyler için aynı şekilde yapılan bu analizin sonucunda, bu allellerin her ırkta dağılımı Çizelge 4.1.'de verilmiştir.

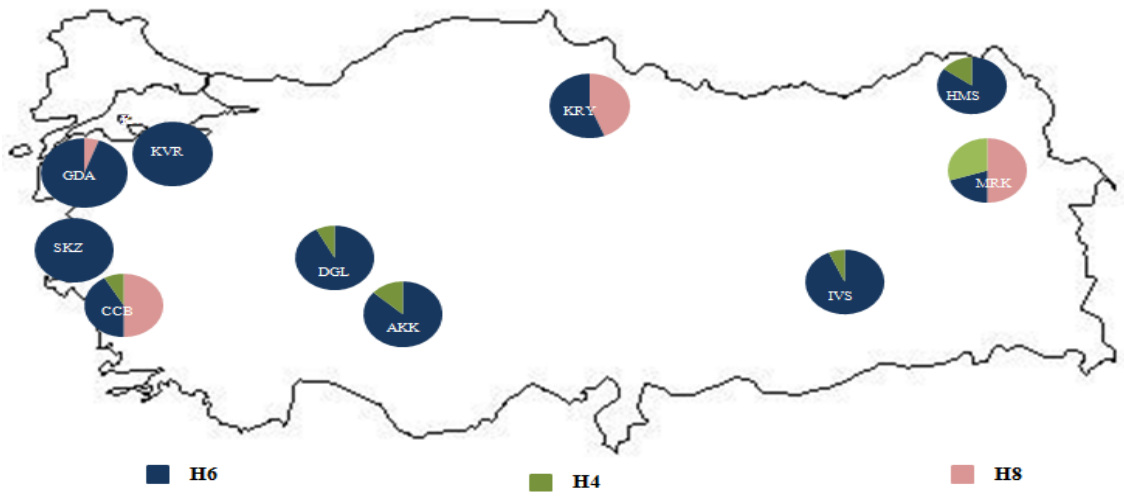
Çizelge 4.1. SRYM18' e ait allellerin ırklara dağılımı

İrk	Birey ve çift. Sayısı		Allel büyüklük ve Sayısı		
	n	Çiftlik	145	143	141
Sakız (Chios)	17	1	-	17	-
Akkaraman	15	7	2	13	-
Gökçeada (Imroz)	19	2	-	18	1
Kıvırcık	22	3	-	22	-
Karayaka	9	3	-	5	4
Dağlıç	13	4	1	12	-
Çine Çaparı	12	3	1	5	6
Morkaraman	10	1	3	2	5
Hemşin	15	5	2	13	-
İvesi (Awassi)	15	13	1	14	-
	147	42	10	121	16

SRYM18'den elde edilen bu değerler, yerli Türk koyun ırklarında paternal haplogrupların belirlenmesinde Meadows ve ark.'nın (2006) geliştirdikleri isimlendirmeye göre SRY geninin 5' promotor bölgesindeki 549 bazlık bölgedeki oY1 SNP (A $\neq$ G) ile birlikte değerlendirilmiş haplogruplar buna göre oluşturulmuştur. SRY genine ait parçanın dizi analizi sonucunda incelenen tüm bireyler A-oY1 aleline sahip olduklarından bu sınıflandırma SRYM18'in farklı uzunluklarına göre gerçekleştirilmiştir. Bu isimlendirmeye göre 141, 143 ve 145 baz uzunluklarındaki allelelere sahip gruplar sırasıyla H8, H6 ve H4 olarak isimlendirilmiş ve Türkiye yerli koyun ırklarında üç farklı paternal haplogrup belirlenmiş (Çizelge 4.2 ve Şekil 4.11) ve haplogrupların frekans değerlerinin ırklar arasında farklı olduğu gözlenmiştir (Çizelge 4.2). Haplogruplar arasında en yaygın olan ve ırkların genelinde predominant olarak belirlenen H6 haplogrubunun frekansının Morkaraman ırkında en düşük ve GD ırkında ise en yüksek olduğu gözlenmiştir. Çalışmada ele alınan tüm ırklar arasında sadece MRK ve ÇÇ'da üç haplotipinin tamamı gözlenmiştir. Bunun aksine SKZ ve KVR ırklarında ise sadece H6 haplotipi gözlenmiş ve bu grup bu ırklarda monomorf olarak belirlenmiştir. Frekans değerlerinin ortaya koyduğu en çarpıcı sonuç ince kuyruklu koyun ırkları grubundan hiçbir hayvanın H4 haplotipine dahil olmaması (Çizelge 4.2) olmuştur.

Çizelge 4. 2. SRYM18 haplotiplerinin ırklar arasındaki dağılımı

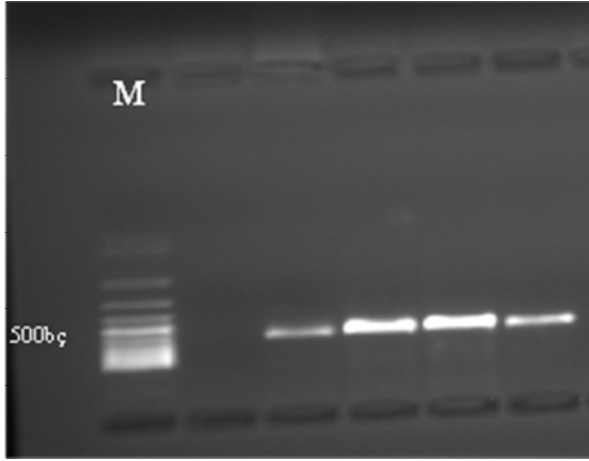
Hpt	n	Yağlı kuyruklu koyun ırkları						İnce kuyruklu koyun ırkları			
		AKK	MRK	DGL	IVS	ÇÇ	HMS	SKZ	KVR	GDA	KRY
H8	16	-	0.500	-	-	0.500	-	-	-	0.053	0.444
H6	121	0.867	0.200	0.923	0.933	0.417	0.877	1	1	0.947	0.556
H4	10	0.133	0.300	0.077	0.067	0.083	0.133	-	-	-	-



Şekil 4.11. SRYM18 allelerinin bölgeler arasındaki dağılımı

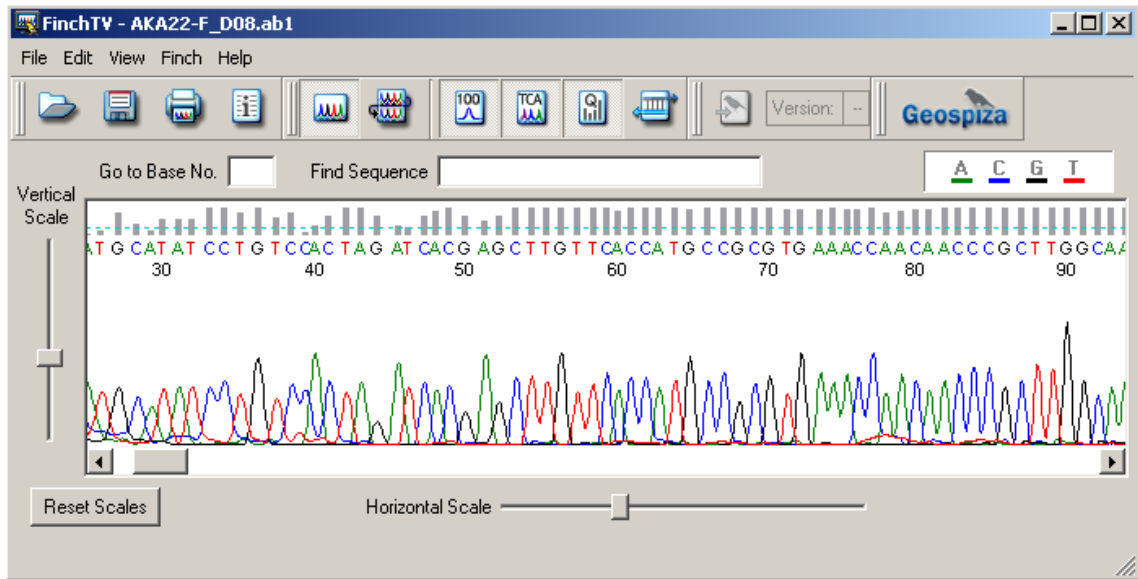
4.2. mtDNA Dizi Analizlerinden Elde Edilen Bulgular

Çalışmanın planlanması esnasında mtDNA'nın kontrol bölgesinin analizi için on ırdan 247 erkek ve dişi hayvanın analiz edilmesi düşünülmüş, ancak mtDNA'nın dizi analizleri sürecinde karşılaşılan analitik sorunlar yüzünden Çine Çaparı ırkının tamamı da dahil olmak üzere, bazı ırklardan bir grup birey analizlerden çıkartılmış ve çalışma Çizelge 3.2'de bildirilen toplam 135 adet erkek ve dişi bireylerle tamamlanmıştır.

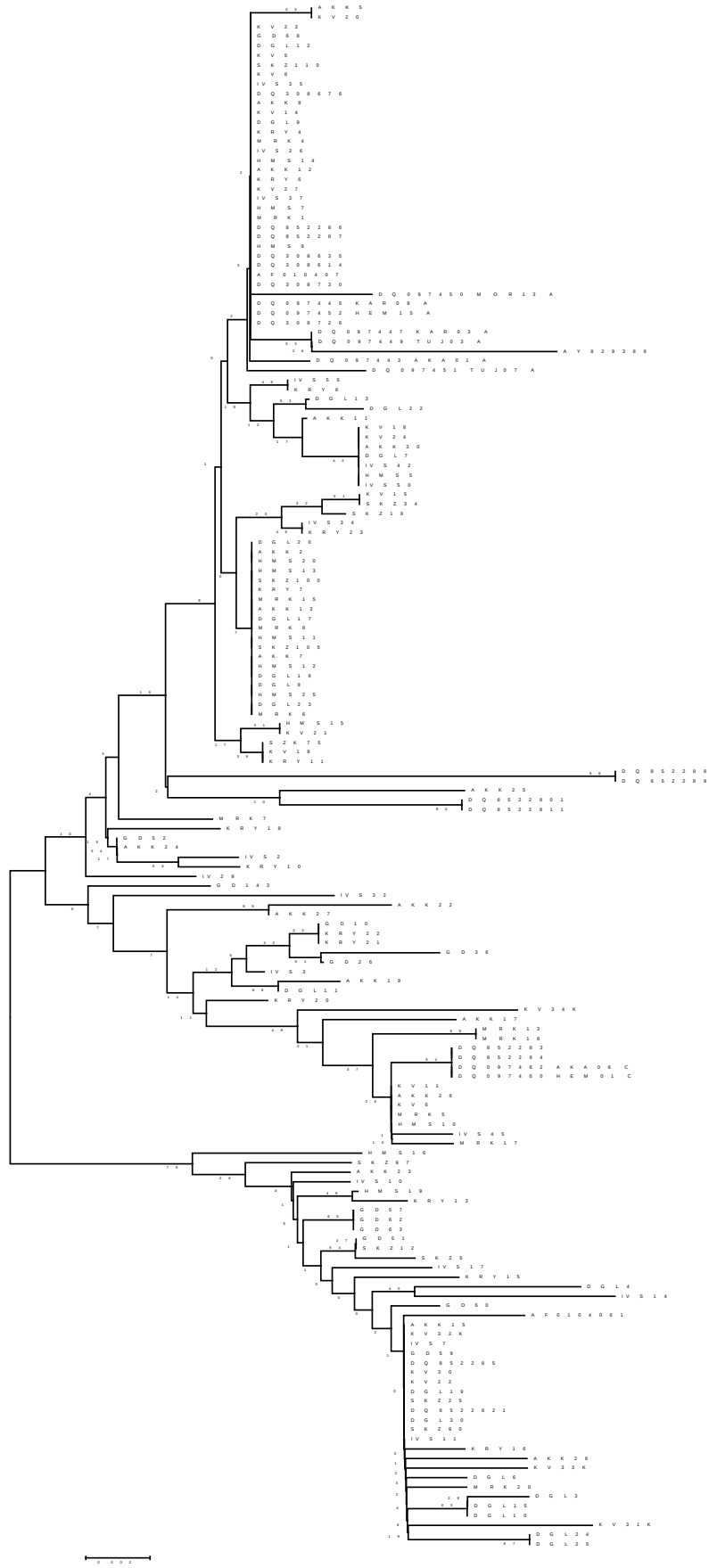


Şekil 4.12. mtDNA kontrol bölgesine ait bölgenin PCR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü. (M, Markır 100 bç).

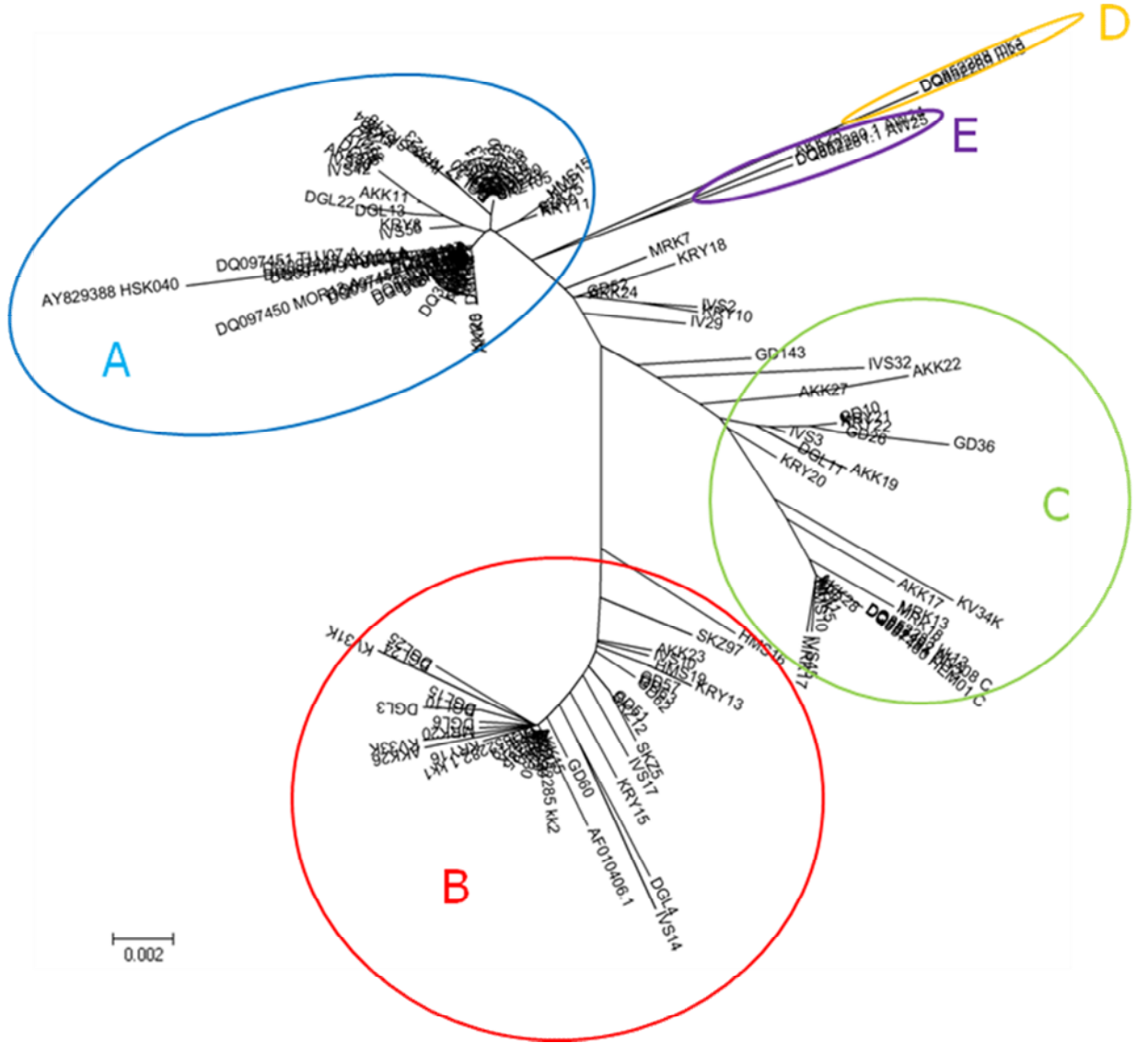
Temizlenen PCR ürünlerinin forward primerle okunmasından sonra elde edilen diziler kullanılarak analizler gerçekleştirilmiştir.



Şekil 4.13. mtDNA kontrol bölgesine ait forward primer ile yapılan dizi analizi görüntüsü



Şekil 4.14. Referans diziler ve 135 örnekten elde edilen NJ ağacının görüntüsü



Şekil 4.15. Referans diziler ve 135 örnekten elde edilen NJ ağacının görüntüsü

NJ ağacından gözlenen haplogruplanmaya göre bu çalışmada ele alınan yerli ırklarımız mtDNA kontrol bölgesinden elde edilen dizi analiz sonuçlarına göre üç temel haplogrup (A,B,C) oluşturmuştur (Şekil 4.14 ve Şekil 4.15). Bu sonucu, haplogruplar için ayrı ayrı yapılan mismatch dağılım testi ve ayrıca çalışmadaki tüm ırklar dahil edilerek popülasyonun tamamı için mismatch dağılım testleri gerçekleştirilmiş. Bunlar sonucunda elde edilen grafik ve network analizi sonucunda elde edilen dendrogram desteklemektedir (Şekil 4.16, Şekil 4.17)

DNAsp kullanılarak yapılan analiz sonucunda, toplam 63 haplotip bulunmuş ve haplotip çeşitliliği (Hd) $0.9496 \pm 0,011$, nükleotid çeşitliliği (Pi) ise $0.01407 \pm 0,00060$ olarak hesaplanmıştır. Analiz sonucunda toplam mutasyon sayısının 53 olduğu hesaplanmış ve bunlardan ikisi gap/missing data olduğundan değerlendirmeye alınmamıştır. Toplam 24 adet singleton (sadece tek bir kere meydana gelen mutasyonlar) değişken bölge bulunmuş ve sadece 29 adet polimorfizmin bilgilendirici olduğu belirlenmiştir. Populasyonlar genelinde nükleotid çeşitliliğinin ortalama değeri ise (k) 7.456 olarak hesaplanmıştır.

Elde edilen bu sonuca göre haplogrupların yerli ırklardaki dağılımı Çizelge 4.3'de verilmiştir.

Çizelge 4.3. mtDNA kontrol bölgesinden elde edilen dizi analiz sonuçlarına göre belirlenen haplogrupların yerli koyun ırklarındaki dağılımı.

Haplogrupların ırklara göre dağılımı										
HPG	n	AKK	DGL	GD	HMS	İVS	KVR	KRY	MRK	SKZ
A	64	8	10	1	10	7	11	6	5	6
B	39	3	9	6	2	5	5	3	1	5
C	24	5	1	4	1	3	3	3	4	-
D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
E	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-
Tanımlanamayan	7	1	-	1	-	2	-	2	1	-

Populasyonlar genelinde ve A, B ve C haplogrupları açısından nötralite testleri yapılmıştır ve bu testlerden elde edilen sonuçlara göre populasyonlar genelinde Fst değeri AMOVA testi ile Arlequin programı kullanılarak 0.39032 olarak hesaplanmıştır. Tajima D değeri ise -0.75767 ($P > 0.10$) ; Fu ve Li nin D* test istatistiği: -3.46734 ($P < 0.02$) Fu ve Li'nin F* test istatistiği -2.78185 ($P < 0.05$) ve Fu Fs istatistik değeri -39.544 olarak hesaplanmıştır. r değeri ise populasyonlar genelinde 0,0095 olarak hesaplanmıştır. Tüm populasyonlar için hesaplanan Hd ve Pi değeri Çizelge 4.4'de verilmiştir.

Çizelge 4.4. Populasyonların herbiri için hesaplanan Hd, Pi ve k değerleri

İrk	n	Haplotip sayısı	Hd	Pi	k
AKK	18	15	0.97386	0.01432	7.58824
DGL	20	12	0.92632	0.01402	7.43158
GD	12	10	0.95455	0.01266	6.71212
HMS	13	7	0.83333	0.00881	4.66667
İVS	17	13	0.96324	0.96324	8.16176
KVR	19	11	0.91228	0.91228	7.88304
KRY	14	12	0.97802	0.01364	7.23077
MRK	11	7	0.90909	0.01413	7.49091
SKZ	11	9	0.96364	0.01166	6.18182

mtDNA kontrol bölgesinde belirlenen dizi bilgilerinden genetik yapı analizlerinin gerçekleştirilmesi için uygulanan AMOVA (Analysis of Molecular Variance) sonucunda coğrafi bölgeler (gruplar arası) arasındaki farklılık önemsiz bulunurken (Çizelge 4.6), ırklar arasındaki farklılığın önemli olduğu belirlenmiştir. İrklar arasındaki Fst değerleri Çizelge 4.5’de gösterilmiştir.

Çizelge 4.5. Haplotip frekanslarına göre ırklar arasındaki Fst değerleri

	AKK	DGL	GD	HMS	İVS	KVR	KRY	MRK	SKZ
AKK	0.00000								
DGL	0.29730	0.00000							
GD	0.00901	0.25225	0.00000						
HMS	0.41441	0.79279	0.13514	0.00000					
İVS	0.09009	0.34234	0.78378	0.35135	0.00000				
KVR	0.00901	0.05405	0.03604	0.00901	0.12613	0.00000			
KRY	0.58559	0.74775	0.07207	0.76577	0.07207	0.00901	0.00000		
MRK	0.06306	0.15315	0.07207	0.22523	0.03604	0.00000	0.27928	0.00000	
SKZ	0.40541	0.94595	0.08108	0.74775	0.15315	0.09910	0.84685	0.17117	0.00000

Çizelge 4.6. Herbir haplogrup için ayrı ayrı gerçekleştirilen nötralite testlerinden elde edilen sonuçlar

	h	Tajima's D	Fu and Li's D*	Fu and Li's F*	Fu's Fs statistic	Hd	Pi
A	13	-0.03098 ^{ns}	1.22532 ^{ns}	0.95953 ^{ns}	-6.0890	0.7970±0.033	0.00276±0.00026
B	24	-2.41796**	-3.54112**	-3.74256**	-22.448	0.9180±0.037	0.00481± 0.00068
C	17	-1.23483 ^{ns}	-1.86892 ^{ns}	-1.95894 ^{ns}	-7.919	0.9490±0.032	0.00912±0.00082

ns: önemli değil

** : B grubunun Tajima's D istatistiği için P<0.01 diğerleri için P<0.02 düzeyinde önemli

Populasyonlar genelinde gerekli nötralite testlerinin yapılmasının ardından, aynı testler A, B ve C haplogrupları için ayrı ayrı uygulanmıştır ve her haplogrup için mismach dağılım testleri yapılmıştır (Şekil 4.18, Şekil 4.19 ve Şekil 4.20) ve bu testleri

yorumlamada yardımcı olması için her bir haplogrup için raggedness istatistiği (r) hesaplanmıştır. Buna göre A ve B ve C haplogrupları için hesaplanan r değerleri sırasıyla 0.0563, 0.0340 ve 0.0229'dir. Herbir haplogrup için gerçekleştirilen nötralite testleri sonucunda bulunan değerler çizelge 4.7'de özetlenmiştir.

RDF-Editor
Data editor

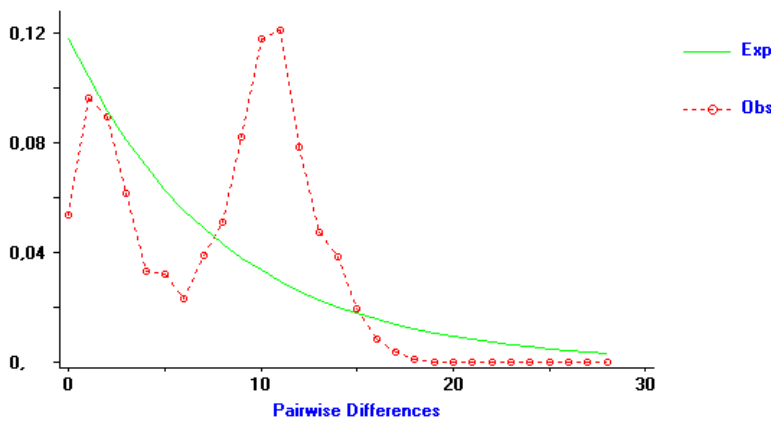
Sequence	Character 13	14	16	18	28	30	36	38	40	41	42	43	53	90	91	93	Frequency
H_1	C	G	C	T	G	A	C	T	C	A	C	A	G	T	G	C	19
H_2	C	G	C	T	G	A	C	T	C	A	C	A	G	T	G	C	2
H_3	C	G	C	T	G	A	C	T	C	A	C	A	G	T	G	C	20
H_4	C	G	C	T	G	A	C	T	C	A	C	A	G	T	G	C	1
H_5	C	A	T	T	G	G	T	T	C	A	T	A	G	C	A	C	1
H_6	C	A	T	T	G	A	T	C	C	A	C	A	G	T	G	C	1
H_7	C	A	T	T	G	A	T	T	C	A	C	A	G	T	G	C	1
H_8	G	A	T	C	G	A	T	T	C	A	C	A	G	T	G	C	1
H_9	C	A	T	T	G	G	T	T	C	A	T	A	G	T	A	C	1
H_10	C	A	T	T	G	A	C	T	C	A	C	A	G	T	G	C	2
H_11	C	G	C	T	G	A	T	T	C	A	C	A	G	T	G	C	1
H_12	C	A	T	T	G	G	T	T	C	A	T	A	G	C	A	C	1
H_13	C	A	T	T	G	A	T	T	C	A	C	A	G	T	G	C	1
H_14	C	A	T	T	G	A	T	C	C	A	C	A	G	T	G	C	5
H_15	C	G	C	T	G	A	C	T	C	A	C	A	G	T	G	C	7
H_16	C	A	T	T	G	T	G	T	C	A	T	A	G	C	A	C	1
H_17	C	A	T	T	G	G	T	T	C	T	T	A	G	C	A	C	1
H_18	C	A	T	T	G	G	T	T	C	A	T	A	G	C	A	C	1
H_19	C	A	T	T	G	G	T	T	C	A	T	A	G	C	A	C	2
H_20	C	A	T	T	G	A	T	T	C	A	C	A	G	T	G	C	1
H_21	C	G	C	T	G	A	C	T	C	A	C	A	G	T	G	C	1

Weight: 10 10 10 10 10 10 10 10 10 10 10 10 10 10 10 10 10

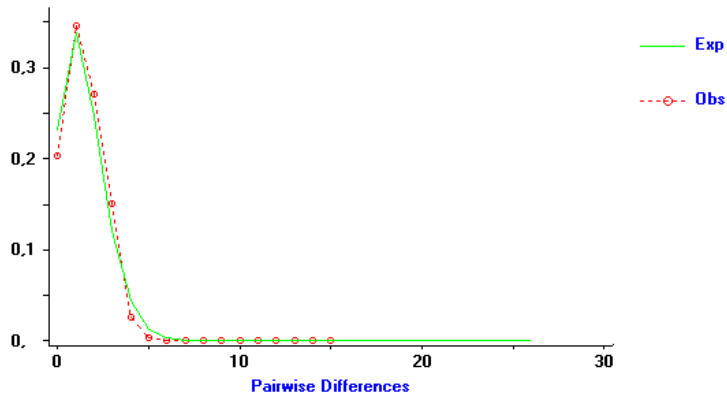
Press right mouse key to get additional functionality

Insert sequence, Delete Sequence, Save, Exit, Undo, Insert character, Delete character, Duplicate sequence, Add final sequence, Binarization, Replace ambiguous states, Switch input window, Duplicate character, Add final character

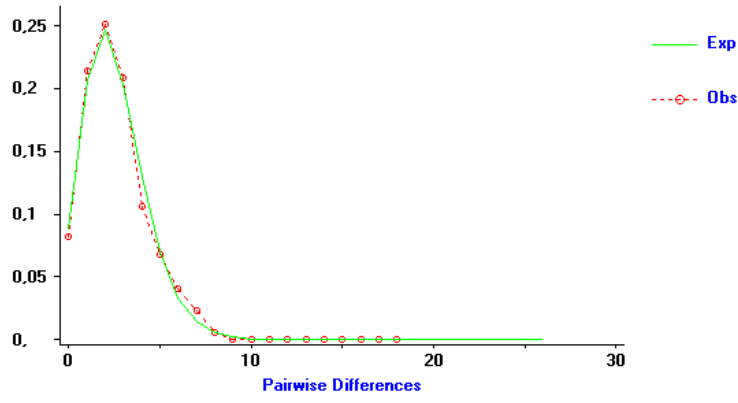
Şekil. 4.16. Network uygulamasında haplotiplerin görünümü



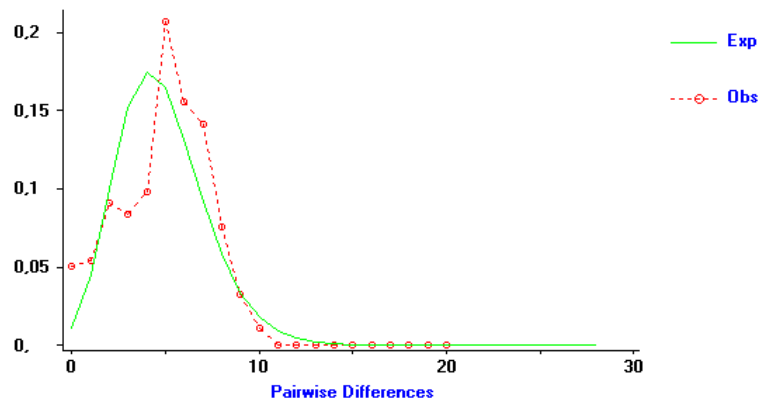
Şekil 4.17. Populasyonun genelinden elde edilen mismatch dağılım grafiği



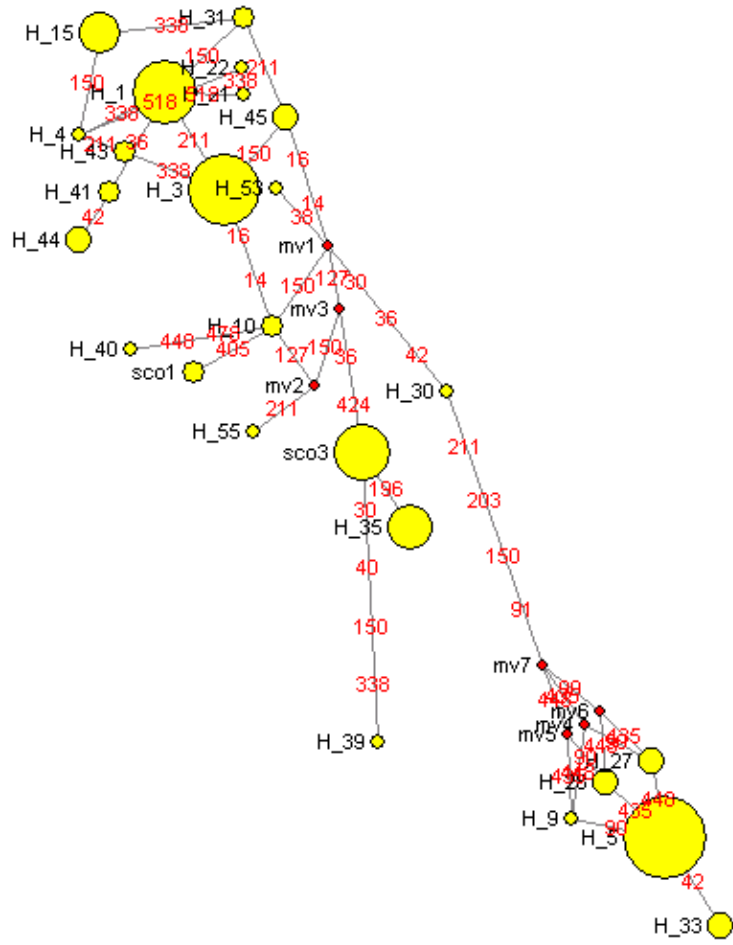
Şekil 4.18. Sadece Hpg A'ya ait mismatch dağılım grafiği



Şekil 4.19. Sadece Hpg B'ya ait mismatch dağılım grafiği



Şekil 4.20. Sadece Hpg C'ya ait mismatch dağılım grafiği



Şekil 4.21. Network analizi sonucunda elde edilen dendrogram

Çizelge 4.7. AMOVA sonuçları

Varyasyon kaynağı	S.d	Kareler toplamı	Varyans komponenti	Varyasyon oranı
Gruplar arası	3	20.516	0.01206 Va	0.30
Populasyonlar arası-grup içi	5	31.333	0.16559Vb	4.09
Populasyonlar içi	126	487.936	3.87251Vc	95.61
Toplam	134	539.785	4.05016	

Sd: Serbestlik derecesi

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada beş yerli koyun ırkı Akkaraman, Dağlıç, İvesi, Kıvırcık ve Gökçeada Y kromozomal polimorfizmler bakımından ilk kez incelenmiş ve elde edilen sonuçlar daha önce evcil koyun ırklarında Y kromozomuna ait aynı gen bölgelerinin incelenmesinden elde edilen sonuçlarla uyumlu bulunmuştur.

SRY genine ait 549 ve 598 bp'lik iki bölgesinde, DBY genin 3' UTR bölgesine ait 171 bp'lik kısmında ve AMELY genin 182 bp'lik bölgesinde herhangi bir nükleotid değişimine (TNP)'ye rastlanmamıştır. Bu sonuçlar Ouna ve ark. (2006) çeşitli koyun ırklarına ait çok fazla sayıda Afrika kökenli hayvan kullanarak yaptıkları çalışmanın sonucu ile uyumlu bulunmuştur. Aynı şekilde 65 evcil koyun ırkından 458 bireyin SRY geninin 5'-promotor bölgesinde bulunan oY1 SNP'si bakımından genotiplendirildiği çalışmada (Meadows ve ark. 2006) evcil ırkların arasında bu tek nükleotid bakımından A-oY1 allelinin ırkların genelinde gözlemlendiğini ve frekansının % 71.4 gibi yüksek bir değer olduğunu, G-oY1 allelinin ise daha nadir olduğunu bildirmişlerdir. Meadows ve Kijas (2009) daha fazla sayıda yabani koyun ırkını da dahil ederek yaptıkları çalışmalarında da A-oY1 alleli ırklar arasında evcil koyundaki diğer allele göre çok daha yaygın olduklarını göstermişlerdir. Paiva ve ark. (2006) Brezilya koyun ırklarında SRY geni tek nükleotid polimorfizmleri bakımından incelenmiş A-oY1 ve G-oY1 allellerinin her ikisi de gözlenmiş, A-oY1 populasyonun genelinde yaygın olmasına rağmen yapağı verimleri yüksek ticari ırklar arasında G-oY1 allelinin frekansının daha yüksek olduğuna dikkat çekerek konuyu bir başka açıdan değerlendirmişlerdir. Koyunda SRY geninin incelenmesi evcil koyunda sadece bu iki allelin varlığını ortaya koyarken yabani koyunda yedi adet allel ortaya koymuş, bu allel hiçbir evcil koyunda gözlenmezken, yabani koyun türlerine ait hiçbir allel de evcil koyun ırklarında belirlenmemiştir. Dünyada yapılan oldukça sınırlı sayıda araştırma (Meadows ve ark. 2006; Paiva ve ark. 2006; Ouna ve ark. 2006; Meadows ve Kijas 2009) SRY genin 5' promotor bölgesinin 549 bp'lik kısmında oY1-A alleli belirgin biçimde predominanttır. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar önceki çalışmalardan elde edilenleri destekler biçimde, çalışmada kullanılan on yerli ırkın erkeklerinde oY1-G alleleline rastlanmamıştır. Daha önce yerli Türk ırklarının incelendiği sadece bir adet çalışma bulunmaktadır (Meadows ve Kijas 2009). Bu çalışmada Sakız ırkında oY1-G

alleleline rastlanmıştır. Sunulan bu çalışmada bu mutasyona rastlanmayışı Sakız ırkına ait tüm hayvanların tek bir çiftlikten alınmasına bağlanabilir.

Dervishi ve ark. (2008) AMELY geninin çoğaltılması esnasında karşılaştıkları bazı PCR sorunlarını potansiyel polimorfizmlerin belirtisi olarak değerlendirmelerine rağmen, (Calvo, kişisel görüşme) ancak Dervishi ve ark. (2008) İşpanyol ırklarında AMELY AMELY genine ait 182 bç'lik bölgede yapılan çalışmada herhangi bir mutasyon bildirmemişlerdir. AMELY genine ait 182 bç'lik bölgenin inceleneyeği bireyler, SRYM18 mikrosatelitindeki farklı büyüklüklere göre seçilmiştir. Elde edilen dizilerin karşılaştırılması sonucu Dervishi ve ark. (2008)' nın inceledikleri tüm bireyler gibi farklı SRYM18 uzunluklarına sahip, farklı ırktan yerli hayvanlara ait diziler arasında bir varyasyon belirlenememiştir ve bu dizilerin hepsi Weikard ve ark. (2006) tarafından bildirilen Y kromozomundaki amelogenin varyant 2 olarak isimlendirilen (DQ469593) diziyle % 100 aynı homoloji gösterdiği saptanmıştır.

DBY geninin aynı 171 b 3' UTR bölgesinde keide yapılan bir çalışmada (Vidal ve ark. 2009) bir T  G tek nükleotid değişimi belirlenmiştir, ancak Meadows ve ark. (2004)'nın yaptıkları çalışmada olduğu gibi yerli koyun ırklarımızda da hiçbir dizi farklılığına rastlanmamıştır. Ancak gen bankasında koyunda bu bölgeye ait herhangi bir dizi belirlenememiş ve bu nedenle başka evcil koyun ırkları ile karşılaştırılamamıştır.

Keçide Y kromozomu üzerinde bulunan gen bölgelerinin incelenmesi, koyundakine nazaran daha yüksek bir paternal çeşitlilik olduğunu ortaya koymuştur. Yapılan alışmalar keide 3 paternal haplogrubun olduğunu göstermiştir (Pidancier ve ark. 2006; Vidal ve ark. 2009). Yapılan literatür incelemesi sonucunda keçi Y kromozomunda hiçbir STR bildirişine rastlanmamıştır. Ancak AMELY, ZFY, UTY, DBY ve SRY genlerinde çeşitli mutasyonlar bildirilmiştir (Pidancier ve ark. 2006; Vidal ve ark. 2009; Sechi ve ark. 2009; Prashant ve ark. 2009). Daha önce koyunun Y kromozomunda bulunan AMELY, ZFY, UTY ve DBY genlerine ait bölgeleri çoğaltmak için kullanılan (Meadows ve ark. 2004) aynıları keçi için de denenmiş (Vidal ve ark. 2009) ve DBY geninin söz konusu 171 bç'lik bölgesinde (T  C), ZFY genine ait bir bölgede de yine bir adet (C  T) SNP, AMELY genine ait bölgede ise dört bazlık bir delesyon (TATA) belirlenmiştir ancak UTY'de koyunda olduğu gibi keçiye ait hiçbir SNP'ye rastlanmamıştır. Pidancier ve ark. (2006)'da ise ZFY'den 919-929

bç'lik bölgenin ve AMELY'den 265-279 bç'lik bölgelerin incelenmesi sonucu erkeğe özel bu bölgelerde sırasıyla 17 ve 6 adet değişken bölge belirlenmiştir. Ancak Sechi ve ark. (2009) ZFY geninde hiçbir polimorfizme rastlamamışlardır. Keçide SRY genine ait polimorfizmler (Sechi ve ark. 2009; Prashant ve ark. 2009) ve DBY genine ait başka polimorfimler de belirlenmiş (Sechi ve ark. 2009) ve bu polimorfizmlerin koyundakilere göre daha bilgilendirici olduğunu belirtmişlerdir.

Sığırda da Y kromozomundaki SNP ve STR'ler, keçideki gibi koyunda olduğundan daha bilgilendiricidir (Bradley ve ark. 1994; Hannote ve ark. 2000; Götherström ve ark. 2005; Ginja ve ark. 2009; Pérez-Pardal ve ark. 2009; Mohamad ve ark. 2009). Sığır ve keçide yürütülen bu Y kromozomal analizler keçi ve sığırdaki paternal genetik çeşitliliğin koyundakine göre çok fazla olduğunu göstermektedir. Koyunda Y kromozomal analizleri konu alan çok sınırlı sayıda çalışma olmasına rağmen, koyunun diğer evcil türlere göre sayıca daha az paternal atası olduğu söylenebilir.

Meadows ve ark. (2004), daha önce sığırda erkeğe özgü olduğu başka araştırmacılar tarafından (Edwards ve ark. 2000) belirlenmiş çeşitli mikrosatellitleri koyunda denemişler ancak bunların erkeğe özgü olmadığını belirlemişlerdir. Aynı araştırmacılar (Meadows ve ark. 2006) koyuna ait BAC (=Bacterial Artificial Chromosome) kütüphanesinden izole ettikleri SRYM18'in ise koyunda erkeğe özgü olduğunu belirlemişlerdir. Sığırda dışında de bant veren bu bölgenin koyunda erkeğe özel olduğu görülmüştür. Bu mikrosatellitin bildirilmesinden sonra çeşitli araştırmacılar dünyanın çeşitli bölgelerinden evcil ve yabani hayvanları incelemiş çeşitli ülkedeki yerli ırkların bu mikrosatellitin farklı büyüklükteki allellerinin frekanslarının karşılaştırıldığı araştırmalar (Ouna ve ark. 2006; Pérez-Pardal ve ark. 2007; Meadows ve Kijas 2009) gerçekleştirilmiştir. Bunların en geniş kapsamlı olanı Meadows ve Kijas (2009) tarafından yapılmış ve bu çalışmada yedi yerli koyun ırkı (Çine Çaparı, Karakaş, Karayaka, Morkaraman, Norduz, Sakız ve Tuj) ve bir melez (Karya) SRY genindeki oY1 polimorfizmi ve SRYM18 parça uzunluğu ve dizisi bakımından incelenmiştir. Bu araştırmacılar Türkiye'den bu sekiz koyun ırkında Y kromozom haplogrupları bakımından beş farklı grup belirlemişlerdir. Irklar genelinde en yaygın allelin, bu çalışmada ve Ouna ve ark. (2006)'nın çalışmasında olduğu gibi 143 bç uzunluğundaki allel olduğu ortaya konmuştur. Pérez-Pardal ve ark. (2007)

İspanyol ırklarında yaptıkları çalışmada, Türkiye'deki yerli ırklarda (Çizelge 4.2) olduğu gibi üç allel bulmuş ancak bunlardan Türkiye yerli ırklarındakinden ve diğer çalışmalardan farklı olarak en yaygın SRYM18 allelinin 141 bç uzunluğundaki allel olduğunu bildirmişlerdir. Pérez-Pardal ve ark. (2007) 143 bç'lik allelinin sadece Xalda ırkında belirlemiş ve bu ırktan incelenen ve incelenen bireylerin tamamında bu allelin bulunduğunu, başka bir allelin bulunmadığını bildirmişlerdir. Ancak bu araştırmacılar parça uzunluk analizi yaparken referans kullanmadıklarından bulunan parça uzunluklarının güvenilirliği tartışılır durumdadır. Diğer taraftan İspanyol ırklarında bu allelin frekansını karşılaştırmak ve Xalda ırkının pedigree kayıtlarına güvenilirliği arttırmak amacıyla yapılan bu araştırma SRYM18 allelinin bu ırka yönelik koruma çalışmalarının etkinliğini arttırmak için ve paternal ataya ulaşmak açısından kullanılabilirliğini göstermiştir.

On yerli koyun ırkından toplam 147 erkek hayvanın Y kromozomal analizleri sonucunda sadece SRYM18'de polimorfizm belirlenmiştir (Çizelge 4.1, Çizelge 4.2 ve Şekil 4.11). Çizelge 4.2 ve Şekil 4.8, 4.9, 4.10 ve 4.11'de görüldüğü gibi üç farklı uzunlukta allel belirlenmiştir. Bu allelerden en yaygının 143 bç uzunluğundaki allel (Şekil 4.11) olduğu gözlenmiştir. 143 bç uzunluğundaki bu allel bakımından Sakız ve Kıvırcık ırkına ait populasyonların monomorfik olduğu gözlenmiştir (Çizelge 4.2 ve Şekil 4.11). Ouna ve ark. (2006) da kendi araştırmalarında üç yağlı koyun ırkının tek sadece 143 bç uzunluğundaki bu allele sahip olduğunu bildirmiştir. Çizelge 4.2'de görüldüğü gibi yerli ırklarımızda 143 bç bakımından monomorf olan populasyonlar Ouna ve ark. (2006)'nın araştırmalarındakinden farklı olarak ince kuyruklu koyun ırklarına aitti. SRY oY1 tek nükleotid polimorfizmi bakımından populasyonlar monomorf olduğundan ve de değişik uzunluktaki allelerin dizi analizleri yapılmadığından haplotip sınıflandırması SRYM18'in farklı uzunluktaki allelerine göre yapılmış ve üç haplotip belirlenmiştir. Meadows ve Kijas (2009) ise yerli Türk koyun ırklarında bu haplotiplerin dışında H7 ve H12 iki haplotip daha belirlemiş ve Türk ırklarında toplam beş farklı haplotip bildirilmiştir. Bu haplotiplerden H7 Karakaş koyunundan iki bireyde, H12 ise Sakız ırkından 6 bireyde belirlenmiştir. Bu haplogruplardan H7, 143 bç uzunluğundaki SRYM18 alleleline sahip olduğu halde oY1 tek nükleotid polimorfizmi bakımından G-oY1 alleleline sahip olduğundan, H12 ise A-oY1 allelini taşıırken, SRYM18'in 139 bç uzunluğundaki alleleline sahip olduğunda dolayı farklı

isimlendirilmişlerdir. Bu çalışmada tüm yerli koyun ırklarımız A-oY1 alleli bakımından monomorfik bulunmuştur ve bu sonuç Afrika kökenli 447, Afrika kökenli olmayan 44 adet toplam 35 ırktan koyunla yaptıkları ve bu erkek bireylerin hepsini oY1 bakımından A olarak belirledikleri çalışmanın sonuçlarıyla uyumludur (Ouna ve ark. 2006). Ayrıca Meadows ve Kijas (2009) aynı uzunluktaki bazı allelerin birbirlerinden pentonükleotid [TTTTG]m ve dinükleotid [TG]n tekrarları ile bir insertion/deletion (indel (G/-)'ların varlığına göre ayrıldığını belirlemiş olmaları çalışmalarında inceledikleri hiçbir haplogrubun Türk ırklarında bu gibi farklılıklara göre belirlenmemiş oluşundan dolayı, elde edilen sonuçların güvenilirliğini etkilemediği düşünülebilir.

Ouna ve ark. (2006)'nın Afrika'da yetiştirilen Afrika kökenli olan ve olmayan hayvanlarla yaptıkları araştırma pek çok açıdan, on yerli koyun ırkından elde edilen sonuçlarla uyumludur. Ouna ve ark. (2006) SRYM18 mikrosatelitindeki polimorfizmle birlikte SRY genindeki A $\neq$ G tek nükleotid değişimini incelemişlerdir. Türkiye'deki yerli ırklarda olduğu gibi Afrika'da incelenen ırklarından hiçbir hayvanda SRY genindeki G-oY1 alleleline rastlanmamıştır. Bu araştırmada ele alınan yerli ırkların genelinde H6 haplotipi predominat olmasına rağmen, Morkaraman ve Çine Çaparı ırklarında bu durum böyle değildir. Bu iki ırkta da üç allelin varlığı belirlenmiş ve bu ırkların en yüksek genetik çeşitliliğe sahip oldukları görülmüştür. Batı Afrikadaki iki ince kuyruklu koyun ırkında, toplam beş SRYM18 allelinden üçünü gözlemlemişlerdir. SRY geni açısından da belirlenen durum Ouna ve ark. (2006)'nın bulgularıyla uyumluydu. Morkaraman ve Çine Çaparı ırklarındaki bu yüksek haplotip çeşitliği, üç farklı popülasyondan alınan Çine Çaparı bireyleri için değilse de, akrabalık ilişkilerinin bilinmediği tek bir popülasyondan elde edilen Morkaraman bireyleri (Çizelge 4.1) açısından ilginçtir. Gözlenen bu varyasyon Morkaraman ırkının yapısındaki yüksek heterojeniden kaynaklanabileceği düşünülebilir. SRYM18 alellerinin dağılımının ortaya koyduğu çarpıcı bir sonuç da (Çizelge 4.2) 145 bp uzunluğundaki allelin ince kuyruklu koyun ırklarının hiç birisinde gözlenmemesidir. Benzer bir durum Afrika'daki koyun ırklarında gözlenmiş, 145 bp uzunluğundaki SRYM18 alleli % 8.8 gibi çok düşük bir frekansla da olsa sadece yağlı kuyruklu koyun ırklarında gözlenmiştir. Ouna ve ark. (2006) bu durumu arkeolojik bulgulardan destek alarak, Batı Afrika'daki ince ve yağlı kuyruklu koyun ırkların Doğu ve Güney Afrika'dan köken almış olabileceği şeklinde açıklamışlardır. Aynı zamanda yağlı ve

ince kuyruklu ırklar arasında Çizelge 4.2’de gözlenen bu ayrım, Uzun ve ark. (2006) 30 adet nükleer mikrosatelit ile yaptıkları çalışmada belirlenmiş, yağlı kuyruk ve ince kuyruklu ırklar arasında genetik açıdan çarpıcı farklar belirlenmiş ve yağlı ve ince kuyruk morfolojik ayrımının genom düzeyindeki farklılıkları yansıttığı sonucuna varılmıştır. Buna benzer bir durum da keçilerde boynuz morfolojisi bakımından farklılıkların, Y kromozomal verilere göre yapılan gruplanmayla uyumlu oluşu (Pidancier ve ark. 2006) koyunlarda kuyruk morfolojisine göre yapılan ayrımın genetik farklılıklarla da desteklenmesi durumuna tutarlılık kazandırmaktadır.

Y kromozomuna ait bu sonuçlar yerli koyun ırklarımızda, bu ırkların birbiriyle karşılaştırılarak bir arada yapıldığı ilk çalışmadır. Irklar arasındaki benzerlik ve farklılıkları değerlendirmeye yetecek kadar varyasyon bulunmaması yüzünden SRYM18’e ait frekans değerlerinin hesaplanması ve bunların karşılaştırılması dışında başka istatistik analiz yapılamamıştır. Roewer ve ark. (1996)’nın belirttiği gibi sadece haplotip grupları arasındaki yapısal ilişkileri değerlendirirken allel frekanslarının karşılaştırılması popülasyonlar arasındaki ilişkilerin anlaşılması için yeterli olmamaktadır. Bu değerlendirmeyi yapabilmek için gözlenen haplotipler arasındaki mutasyonel durumların dağılımının da bilinmesi en az bunların nispi frekanslarının bilinmesi kadar önemlidir. Elde edilen verilerin azlığının daha ileri analizler yapmaya olanak sağlamasa da, elde edilen sonuçlar (Çizelge 4.2 ve Şekil 4.11) daha ileri çalışmalar açısından yol gösterici niteliktedir. Koyunda Y kromozomuna ait bilgilerin paternal ata ya da ırklar arasındaki ilişkiler hakkında yorum yapmaya yetecek düzeyde olmadığı görülmektedir. Koyunda Y kromozomuyla ilgili araştırmaların daha fazla bilgilendirici farklılıklar ve STR’ler belirlemek üzerine yoğunlaşması gerektiği ihtiyacı açıktır. Elde edilen sonuçlardan yola çıkılarak yağlı ve ince kuyruklu ırklar arasında açık biçimde gözlenen bu farklılığın üzerine gidilmesinde fayda vardır.

Dokuz yerli koyun ırkının mtDNA’ya ait 531 bç’lik bölgelerinin analizi sonucu oldukça yüksek bir genetik çeşitlilik belirlenmiştir. İncelenilen bölgenin daha kısa olmasına karşın, haplotip çeşitliliği daha önce yerli ırklarda yapılan çalışmalara (Pedrosa ve ark. 2005; Meadows ve ark. 2007) yakın değerde bulunmuştur. Bulunan bu haplotip çeşitliliği (0.9496) Pedrosa ve ark. (2005) buldukları değere (0.9596) hemen hemen eşittir, haplotip çeşitliliği açısından Avrupa’daki ırklara nazaran oldukça zengin olan Asyatik ırklarda yapılan çalışmalardan Hindistan’daki (Perdeshi ve ark. 2007)

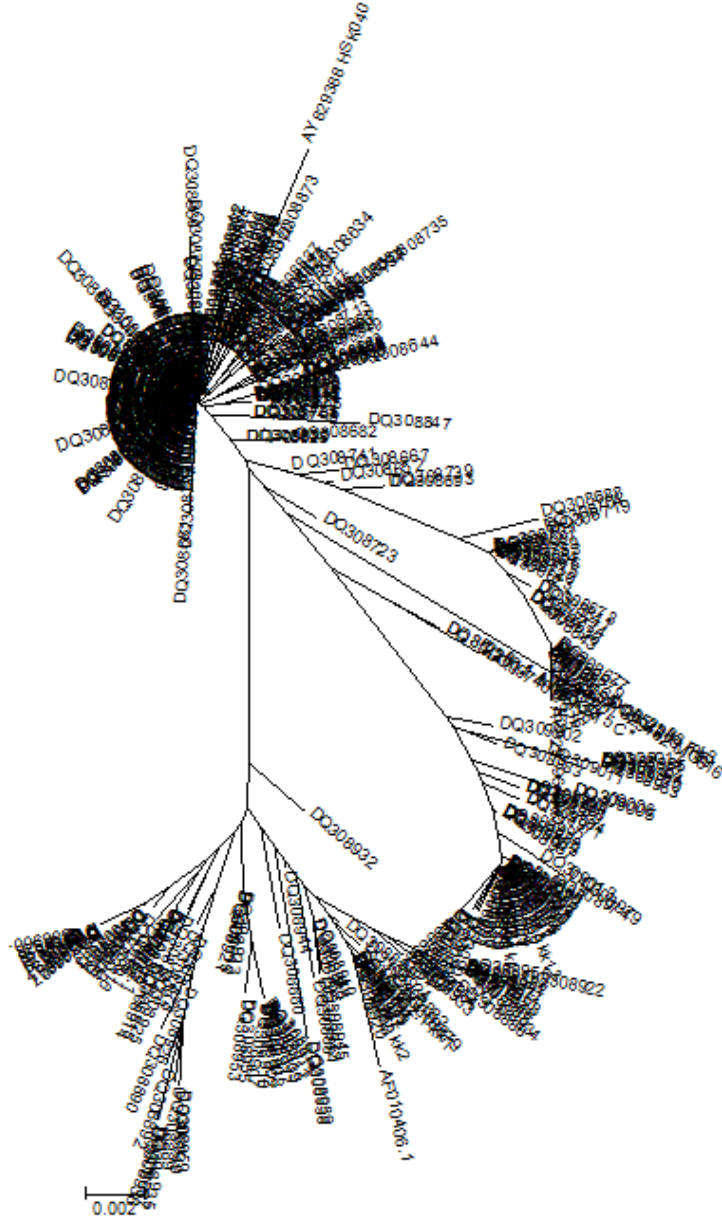
ırklarla yapılan çalışmalarda bildirilen değerden ise (0.981) çok az bir farkla düşüktü. Irklar arasında ise en yüksek haplotip çeşitliliği Akkaraman ırkında bulunuyordu (Çizelge 4.3).

Referans dizilerin kullanılmasıyla oluşturulan NJ ağacı, mismach dağılım grafiği ve network diyagramıyla elde edilen sonuçlar literatürle uyumlu olarak birbirinden farklı üç temel maternal haplogrup belirlenmiştir. Bu haplogruplardan A'nın yerli ırklar arasında en yaygın olanı olduğu gözlenmiştir ve 64 hayvanın bu haplogrupta gruplandığı belirlenmiştir. Bu bulgu maternal A ve B haplogruplarının Türkiye'deki yerli koyunlarda dağılımı açısından daha önce yapılmış ve içerdikleri ırk sayıları bakımından farklı olan çalışmalarla (Pedrosa ve ark. 2005; Meadows ve ark. 2007, Eren ve ark. 2008) uyumlu olmadığı görülmüştür. Hindistan ve Çin gibi Asya ülkelerinde (Chen ve ark. 2006; Perdeshi ve ark. 2007) yapılan çalışmalarda ise A haplogrubunun belirgin biçimde dominant olduğu gözlenmiştir, hatta Hindistan'da A haplogrubundaki yüksek haplotip çeşitliliğine rağmen A haplogrubundan başka bir haplogrup belirlenmediği bildirilmiştir. Türk ırklarında yapılan üç çalışmada ile elde edilen sonuçlar arasındaki uyumsuzluk örnekleme stratejilerine bağlanabileceği gibi (Eren ve ark. 2008), her bir çalışmada mtDNA'nın farklı uzunluktaki bölgelerinin incelenmesine de bağlanabilir. Türk ırklarıyla yapılan araştırmalarda buna benzer dağılım farklılıkları gözlenmiştir (Pedrosa ve ark. 2005; Meadows ve ark. 2007, Eren ve ark. 2008). Meadows ve ark. (2007) Karayaka ırkında C grubuna üyelik bildirmezken hem Pedrosa ve ark. (2005) hem de Eren ve ark. (2008) Karayaka ırkında hiç de düşük olmayan bir C haplogrubu miktarı belirlemişlerdir. Benzer bir tutarsızlık Tuj ırkı için yine C haplogrubuna katılım frekansı açısından Meadows ve ark. (2007) ve Pedrosa ve ark. (2005) tarafından yapılan çalışmalarda gözlenmiş, C haplogrubuna katılım bu iki araştırma grubu tarafından sırasıyla %1.7 ve %31 oranlarında oldukça farklı düzeyde belirlenmiştir. Bu sonuçlar örnekleme stratejilerine göre haplogruplara katılım oranının oldukça değişebileceğini göstermektedir. Bu çelişkili durumu ve A haplogrubunda grubunda yapılan sınıflandırmanın diğer haplogrupları birbirinden ayırmaktan daha güç olduğu (Tapio ve ark. 2006) bulgusuyla da açıklanabilir. Chen ve ark. (2006) Çin ırklarında yaptıkları ve üç temel haplogrup belirledikleri araştırmalarındaki sonuçlarda A haplogrubunun belirlenmesindeki sıkıntıya Meadows ve ark. (2007) de dikkat çekmiş, bu haplogrubu dahil subhaplogruplardan birinin nadir haplogruplarla da bir

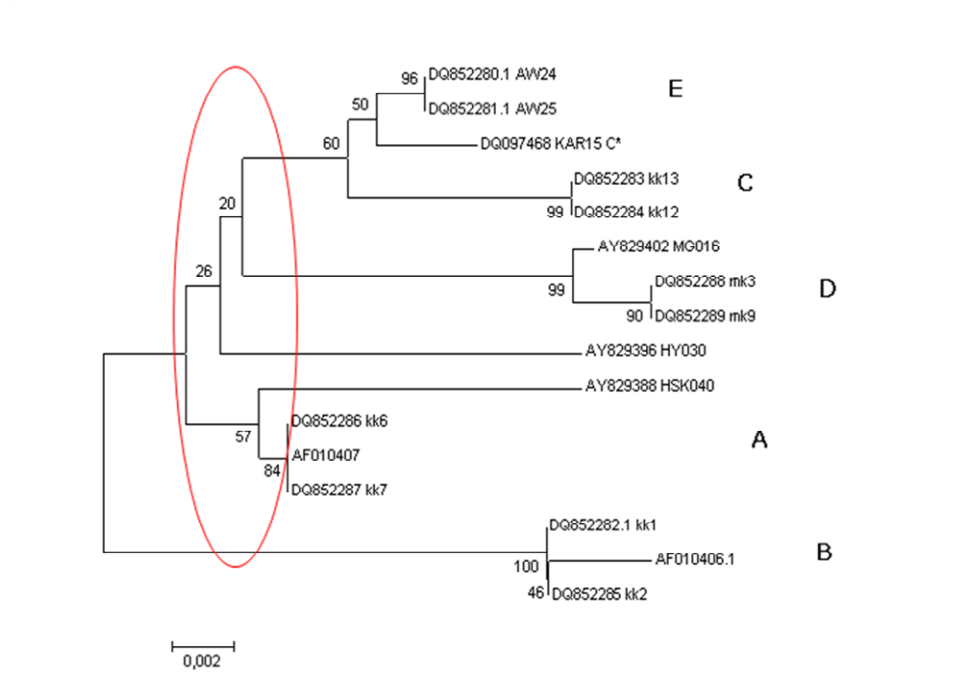
arada gruplanmazken aslında tam olarak A haplogrubuna da dahil olmadığını da bildirmişlerdir (Şekil 5.1). Dizi uzunluklarına göre elde edilen ağaçları karşılaştırmak için databaseden elde edilen ve hangi haplogruba dahil oldukları bilinen 16 referans örneği hem 531 bazlık dizisi için hem de 626 bazlık uzunlukları 1000 bootstrap değeri verilerek Kimura 2P modeli kullanılarak NJ ağacı çizdirilmiştir (Şekil 5.2 ve Şekil 5.3). Şekil 5.2 ve 5.3'ün incelenmesinden de görüleceği gibi dizi uzunluğunun kısaltılmasıyla hem dallanma modeli değişmiş hem de bazı bootstrap değerlerinde az da olsa bir azalma görülmüştür. Bu durum yerli ırklardan 135 adet hayvandan elde edilen J ağacındaki düşük bootstrap değerlerini açıklamaktadır. Bu sonuç Meadows ve ark. (2007) de belirttiği gibi mtDNA ile yapılan çalışmalarda daha kesin bir haplogruplandırma elde etmek için mtDNA'nın birden fazla bölgesinden elde edilen dizi analiz sonuçlarının kullanılması gerektiğini doğrulamaktadır.

Yerli koyun ırklarında daha önce yapılan çalışmalarda elde edilen nötralite testleri ve mismach dağılımlarından elde edilen sonuçlar (Çizelge 4.5) birbirleriyle uyumlu olarak, B ve C haplogruplarında popülasyon genişlemesi olduğunu ve de bunun C haplogrubunda B'ye göre daha eskiye dayandığını göstermektedir. Nötralite testlerinden Fu'nun F testlerinden elde edilen negatif değerler ve mismach dağılım grafiğinden elde edilen düzgün çan eğrisi biçimindeki dağılım hızlı popülasyon büyümesi olduğunu ifade etmekte ve bu her iki haplogrup için tahminlenen düşük raggretness değeriyle desteklenmektedir. Ayrıca B ve C haplogrubu için elde edilen negatif Tajima D değeri yeni mutasyonların yüksek düzeyde gözlendiğini göstermekte ve de nadir haplotiplerin sık tekrar edildiğini anlamına gelen negatif Fu ve Li'nin D* ve F* ile Fu'nun F test değerlerinin bu sonucu desteklediği gözlenmiştir. A haplogrubunda ise düşük negatif Tajima D değeri dışında tüm diğer değerlerin pozitif olması popülasyon genişliğinin sabit kalma eğiliminde olduğunu göstermektedir. C haplogrubunun mismach dağılım grafiğinin incelenmesi y ekseninden diğer iki haplogrubun oluşturduğu pike göre daha uzaklaşmış olduğu bu da popülasyon genişlemesinin daha eskiye dayandığını gösterir ayrıca bu dağılımda gözlenen küçük iki pik örnek sayısının genişletilmesi durumunda bu haplogruptan başka bir haplogrubun oluşturulabileceğini akla getirmektedir. Pedrosa ve ark. (2005)'nin bulgularıyla uyumlu olarak haplogruplar arasındaki en yüksek haplotip çeşitliliği de C haplogrubunda belirlenmiştir (Çizelge 4.5).

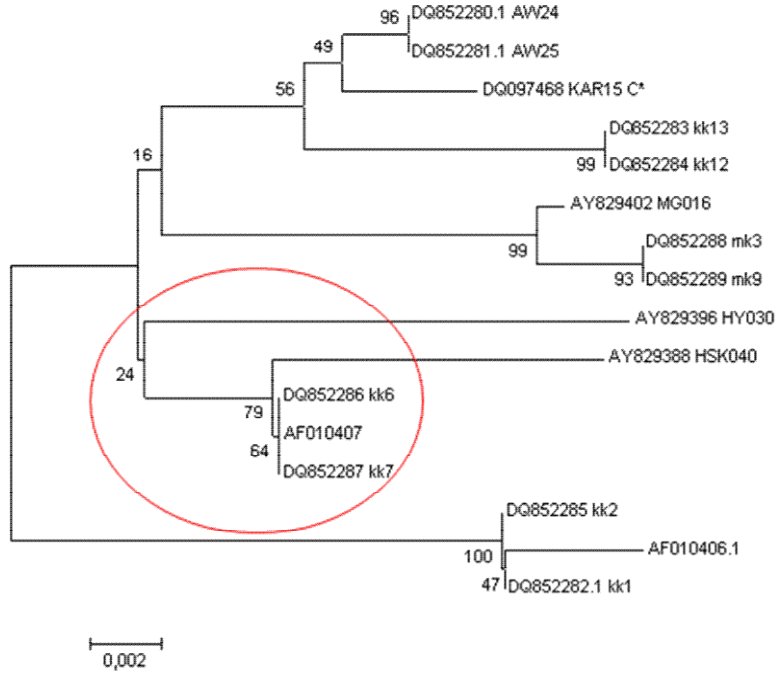
mtDNA dizi analiz verilerine göre gerçekleştirilen AMOVA’da Türkiye’deki yerli ırklar arasında önemli bir genetik çeşitlilik olduğu ve de ırkların genetik bakımdan birbirlerinden önemli düzeyde farklı olduğu gözlenmiştir (Çizelge 4.7).



Şekil 5.1. Çin ırklarından 405 bireye ait diziler ile referans örnekleri kullanılarak oluşturulan NJ ağacı.



Şekil 5.2. GenBanktaki 16 referans dizinin 15990 ve 16616 arasındaki bölgeleri kullanılarak elde edilen NJ ağacı



Şekil 5.3. GenBanktaki 16 referans dizinin 16006 ve 16537 arasındaki bölgeleri kullanılarak elde edilen NJ ağacı

6. SONUÇ

Türkiye coğrafik durumundan dolayı büyük bir kültürel ve ekolojik zenginliğe sahiptir. Birçok uygarlığa ev sahipliği yapmış olması da Türkiye'nin kültürel- biyolojik önemini arttırmaktadır. Genetik çeşitlilik konusunda yapılan çalışmaların sonuçlarıyla (Tapio ve ark. 2006; Meadows ve ark. 2007) arkeolojik verilerden elde edilen bulguların (Zeder 2008) bir arada değerlendirilmesi koyunun evciltmesinde Türkiye'nin ayrıcalıklı bir yere sahip olduğunu göstermektedir. Yerli ırkların genetik karakterizasyonlarının yapılması gen kaynaklarının korunmasına yönelik stratejilerin belirlenmesi açısından oldukça önemlidir. Konunun önemine rağmen yerli ırkların genetik karakterizasyonuna yönelik yapılan araştırma sayısı az ve niteliği yetersizdir. Dokuz yerli koyun ırkının mtDNA ve on yerli koyun ırkının Y kromozomal bölgelerinden elde edilen sonuçlara göre ülkemizde yapılan yanlış ve kontrolsüz melezleme çalışmalarına rağmen yerli ırklarımıza hala oldukça yüksek düzeyde çeşitlilik ve de ırklar arasında da genetik olarak belirgin bir farklılık bulunmaktadır. Bu sonuç gen kaynaklarının korunması amacıyla yapılacak çalışmalar açısından umut vericidir.

Bu çalışmada incelenen yerli koyun ırklarında mtDNA'nın kontrol bölgesi, Y kromozomundaki üç gene ait çeşitli büyüklüklerdeki toplam 1500 bp'lik bölgenin ve bir mikrosatelinin incelenmesi sonucu maternal ve paternal hatlarda polimorfizm belirlenmiştir. Hem ülkemizde hem de dünya genelinde koyunda Y kromozomuna ait varyasyonları konu alan oldukça sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu durum bu konuda yapılan her çalışmanın önemini arttırmaktadır. Yapılan çalışmada gözlenen önemli bir durum koyunda, paternal hat veya hatlara ait daha fazla bilgi edinilmesi için Y kromozomuna ait daha fazla genetik belirteç aranmasının zorunluluğudur. Ayrıca yağlı kuyruklu koyun ırklarıyla ince kuyruklu koyun ırkları arasında genetik bakımdan da gözlenen farkın Y kromozomunda paternal hatların incelenmesine yönelik yapılacak çalışmalarda çıkış noktası olarak seçilmesi önemli katkılar sağlayabilir. İleride planlanacak çalışmalarda her ırktan daha fazla sayıda erkek hayvanın, daha fazla coğrafik bölgeden seçilmesi ve bu hayvanlarda Y kromozomuna ait daha fazla belirtecin

incelenmesi koyunda paternal hatlara ait daha sağlıklı bilgi edinilmesini sağlayacak ve de koyunun evrimsel sürecine ışık tutmada daha etkin olacaktır.

Y kromozomuyla kıyaslandığında daha fazla araştırmanın yapıldığı mtDNA da ise bu göreceli fazlalığa rağmen aydınlığa kavuşmamış pek çok konu olduğu açıktır. Öncelikle mtDNA çalışmalarında maternal haplogruplandırmanın iyi yapılması ve de isimlendirme sisteminin iyi oluşturulması için mtDNA'nın sadece tek bir bölgesi değil, kontrol bölgesi dışındaki bölgeleri de analiz edilerek bir karara varılmalıdır. Tek bir bölgenin incelenmesi haplogruplandırmanın yapılmasında yetersiz kalmaktadır. Koyunun evrim sürecindeki kritik önemine rağmen Türkiye'deki koyun ırklarıyla daha önce yapılan çalışmaların yetersiz sayıda oluşu, bunların da az sayıda ırk ve bireyle gerçekleştirilmiş olması elde edilen çalışmaların yorumlanmasını güçleştirmektedir. Bu gibi durumlar göz önüne alınarak bundan sonraki çalışmaların daha fazla mtDNA bölgesi bakımından daha fazla ırkın karşılaştırılmasını hedefleyerek yürütülmesi gerekmektedir.

Bu çalışmada elde edilen sonuçlara göre özellikle mtDNA'nın kontrol bölgesinde belirgin bir varyasyon bulunmaktadır. Ancak Y kromozomal verilere ve mtDNA verilerine dayanarak Morkaraman ırkının doğasında yüksek düzeyde bir heterojeni olduğu koruma çalışmalarında ve de ilave belirteçler arama konusunda bu ırka ayrı bir önem verilmesi gerekliliği açıktır. Ayrıca Akkaraman ırkında da özellikle mtDNA verilerine göre yüksek düzeyde bir varyasyon olduğu ve de bu ırkın da Morkaraman gibi hem gen kaynağı olarak hem de genetik belirteç arama çalışmalarına materyal oluşturmak konusunda ayrıcalıklı bir yeri olduğu düşünülebilir.

Evcil türelerin maternal ve paternal kökenleri konusunda yapılacak çalışmaların sayıca artırılması ve de bu çalışmalarda kullanılacak hayvan materyalinin mevcut farklılıkları ortaya koyacak şekilde seçilmesine önem verilmeli ve de bu konuda elde edilen sonuçların paylaşılmasına da ekonomik zararları ve zaman kaybını önlemek açısından ayrıca özen gösterilmelidir.

KAYNAKLAR

- AASEN, E., J.F., MEDRANO. 1990. Ammplification of the ZFY and ZFX genes for sex identification in humans, cattle, sheep and goats. *Biotechnonology*. 8: 1279-1281.
- ANDERSON, S., A.T. BANKIER, B.G. BARRELL, M.H. DE BRUIJN, A. R. COULSON, J. DROUIN, I.C. EPERON, D.P. NIERLICH, B.A. ROE, F. SANGER, P.H. SCHREIER, A.J. SMITH, R. STADEN, I.G. YOUNG. 1981. Sequence and organization of the human mitochondrial genome. *Nature*. 90(5806): 457-465.
- ANKEL-SIMONS, F., J.M. CUMMINS. 1996. Misconceptions about mitochondria and mammalian fertilization: Implications for theories on human evolution. *Proc Natl Acad Sci USA*. 93(24): 13859– 13863.
- ANONİM, 2009a. www.cevreorman.gov.tr
- ANONİM, 2009b. www.tuik.gov.tr/
- ANONİM, 2009c. www.turkhaygen.gov.tr
- ANONİM, 2009d. www.uclan.ac.uk/information/services/Idu/research/melling.php
- ANONİM, 2009e. www.genecards.org/
- ANONİM, 2009f. www.ncbi.nih.gov
- ANONİM, 2010. www.tagem.gov.tr/yayin/tagem_ehgk_katakog.pdf
- ARRANZ, J.J., Y. BAYON, F. SAN PRIMITIVO. 1998. Genetic relationships among Spanish sheep using microsatellites. *Anim. Genet*. 29:435–440.
- ARRANZ, J.J., Y. BAYON, F. SAN PRIMITIVO. 2001. Differentiation among Spanish sheep breeds using microsatellites. *Genet. Sel. Evol*. 33:529–542.
- ANSARI, H.A., D.W. MAHER, P.D. PEARCE, T.E. BROAD. 1996. Resolving ambiguities in the karyotype of domestic sheep (*Ovis Aries*). *Chromosoma*. 105: 62-67.
- AVISE, J.C., J. ARNOLD, R.M. BALL, E. BERMINGHAM, T. LAMB, J.E. NEIGEL, C.A. REEB, N.C. SAUNDERS, N.C. 1987. Intraspecific phylogeography: the mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics. *Annu. Rev. Ecol. Syst*. 18:489–522.
- BEHL, R., R. KAUL, N. SHEORAN, J. BEHL, M.S. TANTIA, R.K. VIJH. 2002. Genetic identity of two Indian pig types using microsatellite markers. *Anim. Genet*. 33: 158-167.

- BİNBAŞ, P., İ. CEMAL. 2007. Detection of Genetic Diversity in Indigenous Çine Çaparı Sheep by RAPD Markers. 5. Ulusal Zootečni Bilim Kongresi, Poster Bildiri, 5-8 Eylül 2007, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Van
- BLOTT, S.C., J.L. WILLIAMS, C.S. HALEY. 1998. Genetik relationships among European cattle breeds Anim. Genet. 29:273-282.
- BOETTCHER, P.J., A.E. FREEMAN, S.D. JOHNSTON, R.K. SMITH, D.C. BEITS, B.T. MCDANIEL, 1996a. Relationship between polymorphism for mitochondrial deoxyribonucleic acid and yield traits of Holstein cows. J.Dairy Sci. 79:647-654.
- BOETTCHER, P.J., M.T. KUHN, A.E. FREEMAN. 1996b. Impact of cytoplasmic inheritance on genetic evaluations. J.Dairy Sci. 79:663-675.
- BOWLES, J., G. SCHEPERS, P. KOOPMAN. 2000. Phylogeny of the SOX family of developmental transcription factors based on sequence and structural indicators. Dev. Biol. 227(2):239-255.
- BOYONI, S. 1983. Domestication, dispersal and use of animal in Europe. World Animal Science A. Basic Information. Editors: Peel, L. and Tribe, D.E.T. Domestication, Conservation and use of Animal Resource. pp: 19. Elsevier.
- BRADLEY, D.G., D.E. MACHUGH, R.T. LOFTUS, R.S. SOW, C.H. HOSTE, E.P. CUNNINGHAM. 1994. Zebu-taurine variation in Y chromosomal DNA: a sensitive assay for genetic introgression in West African trypanotolerant cattle populations. Anim. Genet. 25(1):7-12.
- BRANDON, M., P. BALDI, D.C. WALLACE. 2006. Mitochondrial mutations in cancer. Oncogene. 25(34):4647-4662.
- BROAD, T.E., H. HAYES, S.E. LONG. 1997. Cytogenetics:physical chromosome maps. In: The Genetics of Sheep, edited by Piper L and Ruvinsky, A. Oxon, UK: CAB International, 1997, p. 241-295.
- BROWN, W.M. 1980. Polymorphism in mitochondrial DNA of humans as revealed by restriction endonuclease analysis. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 77: 3605-3609.
- BROWN, W.M. 1985. The mitochondrial genome of animals. In: Molecular Evolutionary Genetics (MacIntyre RJ, ed). New York: Plenum Press; 95-130.
- BRUFORD, M.W., D.G. BRANDLEY, G. LUIKART. 2003. DNA markers reveal the complexity of livestock domestication. Nature. 4: 900-910.
- BRUFORD, M.W., S.J. TOWNSEND. 2006. Mitochondrial DNA diversity in modern sheep: implications for domestication. In: Zeder MA, Bradley DG, Emshwiller E, Smith BD, editors. Documenting domestication: new genetic and archaeological paradigms. Berkeley, CA: University of California Press. p 307-317.

- BUNCH, T.D., C. WU, Y-P. ZHANG, S. WANG. 2006. Phylogenetic Analysis of Snow Sheep (*Ovis nivicola*) and Closely Related Taxa. *J. Heredity*. 97(1):21–30.
- BURGOYNE, P.S. 1998. The mammalian Y chromosome: a new perspective. *Bioassays*. 20(5): 363-366.
- BUTLER, J.M. 2003. Recent developments in Y-short tandem repeat and Y-single nucleotide polymorphism analysis. *Forensic Science Review* 15:92-111.
- BUTLER, J.M., A.E. DECKER, M.C. KLINE, P.M. VALLONE. 2005. Chromosomal Duplications Along the Y-Chromosome and Their Potential Impact on Y-STR Interpretation. *Journal of Forensic Science*. 50: (4):853-859.
- CALVO, J. 2009. Sözlü görüşme. Centro de Investigación y tecnología Agroalimentaria de Aragon. Unidad de Tecnología en la Producción Animal. Zaragoza-İspanya jhcalvo@aragon.es.
- CARVALDO, C.M.B., F.R. SANTOS. 2005. Human Y-chromosome variation and male dysfunction. *J. Mol. Gen. Medicine*. 1(2): 63-75.
- CASANOVA, M., P. LEROY, C. BOUCEKKINE, J. WEISSENBACH, C. BISHOP. 1985. A human Y-linked polymorphism and its potential for estimating genetic and evolutionary distance. *Science*. 230:1403-1406.
- CAVALLI-SFORZA, L.L., E.E. MINCH. 1997. Paleolithic and Neolithic lineages in the European mitochondrial gene pool. *Am. J. Hum. Genet*. 61(1):247-254.
- CERİT, H., A. ALTINEL, Ö. ELMAZ, K. AVANUS. 2004. Polymorphism Evaluation of Various Genomic Loci in the Kıvrıkcık Sheep Breed. *Turk J. Vet. Anim. Sci*. 28: 415-425.
- CHEN, S-Y., Z-Y, DUAN, T. XIANGYU, S-F. WU, Y-P. ZHANG. 2006. Origin, genetic diversity, and population structure of Chinese domestic sheep. *Gene*. 376(2): 216-223.
- CHILD, G. 2006. Tarihte neler oldu? “Neolitik Barbarlık” İstanbul Kırmızı Yayınları. İstanbul. Türkiye. s:63.
- CIMINELLI, B.M., F. POMPEI, P. MALASPINA, M. HAMMER, F. PERSICHETTI, P.F. PIGNATTI, A. PALENA, N. ANAGNOU, G. GUANTI, C. JODICE, L. TERRENATO, N. NOVELLETTO. 1995. Recurrent simple tandem repeat mutations during human Y-chromosome radiation in Caucasian subpopulations. *J. Mol. Evol*. 41:966-973.
- CINNIOGLU, C., R. KING, T. KIVISILD, E. KALFOĞLU, S. ATASOY, G. L. CAVALLERI, A.S. LILLIE, C.C. ROSEMAN, A.A. LIN, K. PRINCE, P.J. OEFNER, P. SHEN, O. SEMINO, L.L. CAVALLI-SFORZA, P.A. UNDERHILL. 2004. Excavating Y-chromosome haplotype strata in Anatolia. *Hum Genet*. 114(2):127-148.

CUNNINGHAM, P. 2003. Gene based technologies for the livestock industries in the third millennium. International Symposium on Applications of Gene-based Technologies for Improving Animal Production and Health in Developing Countries. 6-10 October 2003. Vienna.

CZARNECKA, A.M., A. GAMMAZZA, V. DI FELICE, G. ZUMMO, F. CAPPELLO, 2007. Cancer as a "Mitochondriopathy". J Cancer Mol. 3:71-79.

CZARNECKA, A.M., A. KLEMB, A. SEMCZUK, K. PLAK, B. MARZEC, T. KRAWCZYK, B. KOFLER, P. GOLIK, E. BARTNIK. 2009a. Common mitochondrial polymorphisms as risk factor for endometrial cancer. <http://www.intarchmed.com/content/2/1/33>.

CZARNECKA, A.M., T. KRAWCZYK, M. ZDROZNY, J. LUBINSKI, R.S. ARNOLD, W. KUKWA, A. SCINSKA, P. GOLIK, E. BARTNIK, J.A. PETROS. 2009b. Mitochondrial NADH-dehydrogenase subunit 3 (ND3) polymorphism (A10398G) and sporadic breast cancer in Poland. Breast Cancer Res Treat. DOI 10.1007/s10549-009-0358-5.

DENG W., B. SHI, X. HE, Z. ZHANG, J. XU, B. LI, J. YANG, L. LING, C. DAI, B. QIANG, Y. SHEN., R. CHEN. 2004. Evolution and migration history of the Chinese population inferred from Chinese Y-chromosome evidence. J. Hum. Genet. 49: 339-348.

DERVISHI, E., A. MARTINEZ-ROYO, P. SÁNCHEZ, J.L. ALABART, M.J. COCERO, J. FOLCH, J.H. CALVO. 2008. Reliability of sex determination in ovine embryos using amelogenin gene (AMEL). Theriogenology. 15:70(2):241-247.

DEVİRİM, A.K., N. KAYA, A., GÜVEN, H. KOCAMIŞ. 2007. A study of genomic polymorphism and diversity in sheep breeds in northeastern Anatolia. S. Rum. Res. 73:291-295.

DIAMOND, J. 2002. Evolution, consequences and future of plant and animal. Nature. 418:700-707.

DIEZ-TASCON, C., R.P. LITTLEJOHN, P.A. ALMEIDA, A.M. CRAWFORD. 2000. Genetic variation within the Merino sheep breed: analysis of closely related populations using microsatellites. Anim. Genet. 31:243-251.

EDWARDS C.J., C. GAILLARD, D.G. BRADLEY, D.E. MACHUGH. 2000. Y-specific microsatellite polymorphisms in a range of bovid species. Anim. Genet. 31: 127-130.

ELMACI, C., Y. ONER, S. OZİŞ, E. TUNCEL. 2007. RAPD analysis of DNA polymorphisms in Turkish sheep breeds. Biochem. Genet. 45(9-10):691-696.

- EREN, Y., E. KOBAN, E. TOGAN. 2008. Mitochondrial DNA (mtDNA) haplogroup compositions of three native Turkish Sheep Breeds and their implications on the conservation studies. 31st International Society of Animal Genetics, 20-24 July 2008, Netherlands.
- EXCOFFIER, L., G. LAVAL, S. SCHNEIDER. 2005. Arlequin (version 3.0): An integrated software package for population genetics data analysis. *Evol Bioinform Online*. 2005; 1: 47–50.
- FORBES, S. H., J.T. HOGG, F.C. BUCHANAN, A.M. CRAWFORD, F.W. ALLENDORF. 1995. Microsatellite evolution in congeneric mammals: domestic and bighorn sheep. *Mol. Biol. Evol.* 12: 1106–1113.
- FOSTER, J.W. J.A.M. GRAVES. 1994. An SRY related sequence on the marsupial X chromosome: implications for the evolution of the mammalian testis-determining gene. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 91: 1927–1931.
- FUJIHARA, J., H. TAKESHITA, E. TSUBOTA, R. IIDA. 2009. Allele frequencies and haplotypes for five Y-STRs (DYS441, DYS442, DYS443, DYS444, and DYS445) in Ovambo and Turks populations using multiplex PCR system. *Forensic Sci. Int. Genet.* 3(4):268-269.
- GALPER, J.B., J.E. DARNELL. 1971. Mitochondrial protein synthesis in HeLa cells. *J. Mol Biol.* 57(2):363-367.
- GERALDES, A., C. ROGEL-GAILLARD, N. FERRAND. 2005. High levels of nucleotide diversity in the European Rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) SRY gene. *Anim. Genet.* 36: 349-351.
- GIESE K, J. PAGEL, R. GROSSCHEDL. 1994. Distinct DNA-binding properties of the high mobility group domain of murine and human SRY sex-determining factors. *Proc Natl Acad Sci. USA* 91:3368–3374.
- GINJA, C., L.T. GAMA, M.C.T. PENEDO. 2009. Y Chromosome Haplotype Analysis in Portuguese Cattle Breeds Using SNPs and STRs. *J. Hered.* 100(2): 148-157.
- GIUFFRÀ, E., J. M. H. KIJAS, V. AMARGER, O. CARLBORG, J.-T. JEON, L. ANDERSSON. 2000. The Origin of the Domestic Pig: Independent Domestication and Subsequent Introgression. *Genetics*. 154:1785-1791.
- GOLDSTEIN, D.B., A. RUIZ LINARES, L.L. CAVALLI-SFORZA, M.W. FELDMAN. 1995. Genetic absolute dating based on microsatellites and the origin of modern humans. *Proc Natl Acad Sci.* 92:6723-6727.
- GOTHERSTROM, A., C. ANDERUNG, L. HELLBORG, R. ELBURG, C. SMITH, D.G. BRADLEY, H. ELLEGREN. 2005. Cattle domestication in the near East was followed by hybridization with aurochs bulls in Europe. *Proceedings of the Royal Society B* 272: 2345–2350.

- GRAVES, J.A.M. 2002. The rise and fall of the SRY. *Trends in Genetics*. 18, 259–64.
- GRAY, M.W., G. BURGER, B.F. LANG. 1999. Mitochondrial evolution. *Nature*. 283: 1476–1481.
- GUBBAY, J., J. COLLIGNON, P. KOPMAN, B. CAPEL., A. ECONOMOU, A. MUNSTERBERG, N. VIVIAN, P. GOODFELLOW, R. LOVELL-BADGE. 1990. A gene mapping to the sex-determining region of the mouse Y chromosome is a member of a novel family of embryonically expressed genes. *Nature*. 346: 216–217.
- GUO, J., L.X. DU, Y.H. MA, W.J. GUAN, H.B. LI, X. ZHAO, S-Q. RAO. 2005. A novel maternal lineage revealed in sheep (*Ovis aries*). *Anim. Genet.* 36:331–336.
- GWAKISA, P.S., S.J. KEMP, A.J. TEALE. 1994. Characterization of Zebu breeds in Tanzania using random amplified polymorphic DNA markers. *Anim. Genet.* 25: 89–94.
- GYLLENSTEN, U., D. WHARTON, A.C. WILSON. 1985. Maternal inheritance of mitochondrial DNA during backcrossing of two species of mice. *J. Hered.* 76:321–324.
- GYLLENSTEN, U, D. WHARTON, A. JOSEFSSON, A.C. WILSON. 1991. Paternal inheritance of mitochondrial DNA in mice. *Nature*. 352:255–257.
- HA, P.K., B.C. TONG, W.H. WESTRA, M. SANCHEZ-CESPEDES, P. PARRELLA, M. ZAHURAK, D. SIDRANSKY, D. J.A. CALIFANO, J.A. 2002. Mitochondrial C-tract alteration in premalignant lesions of the head and neck: a marker for progression and clonal proliferation. *Clin. Cancer Res.* 8(7):2260-2265.
- HALLENBERG, C., C. TOMAS, B. SIMONSEN, N. MORLING. 2009. Y-chromosome STR haplotypes in males from Greenland. *Forensic Sci. Int Genet.* 3(4):145-146.
- HAMMER, MF. 1995. A recent common ancestry for human Y. chromosomes. *Nature*. 378:376-378.
- HAMMER, M.F., A.B. SPURDLE, T. KARAFET, M.R. BONNER, E.T. WOOD, A. NOVELLETTO, P. MALASPINA, P., R.J. MITCHELL, S. HORAI, T. JENKINS, S.L. ZEGURA. 1997. The geographic distribution of human Y chromosome variation. *Genetics*. 145: 787–805.
- HANOTTE O., C.L.TAWAH, D.G. BRADLEY, M. OKOMO, Y. VERJEE, J. OCHIENG, J.E. REGE. 2000. Geographic distribution and frequency of a taurine *Bos taurus* and an indicine *Bos indicus* Y specific allele amongst sub-Saharan African cattle breeds. *Mol. Ecol.* 9: 387–396
- HECHT, N.B., H. LIEM, K.C. KLEENE, R.J. DISTEL, S.M. HO. 1984. Maternal inheritance of the Mouse mitochondrial genome is not mediated by a loss or gross alteration of the paternal mitochondrial DNA or by methylation of the oocyte mitochondrial DNA. *Dev. Biol.* 102: 452–461.

- HELLBORG, L., H. ELLEGREN. 2004. Low levels of nucleotide diversity in mammalian Y chromosomes. *Mol. Biol. Evol.* 21:158–163.
- HIENDLEDER, S., K. MAINZ, Y. PLANTE, H. LEWALSKI. 1998a. Analysis of mitochondrial DNA indicates that domestic sheep are derived from two different ancestral maternal sources: no evidence for contributions from Urial and Argali sheep. *J. Heredity*. 89: 113–120.
- HIENDLEDER, S., H. LEWALSKI, R. WASSMUTH, A. JANKE. 1998b. The Complete Mitochondrial DNA Sequence of the Domestic Sheep (*Ovis aries*) and Comparison with the Other Major Ovine Haplotype. *J. Mol. Evol.* 47:441–448.
- HIENDLEDER, S., B. KAUPÉ, R. WASSMUTH, A. JANKE. 2002. Molecular analysis of wild and domestic sheep questions current nomenclature and provides evidence for domestication from two different subspecies. *Proc. R. Soc. Lond. B.* 269: 893–904.
- HUTCHISON, C.A., J.E. NEWBOLD, S.S. POTTER, M.H. EDGELL. 1974. Maternal inheritance of mammalian mitochondrial DNA. *Nature*. 251:536–538.
- IBÁÑEZ, T. M. 1989. Estudio etnológico y productivo de la agrupación ovina rubia de el molar. *Doktora Tezi*. Departamento de Producción animal de la Facultad de Veterinaria de la Universidad Complutense de Madrid. Madrid.
- JENUTH, J.P., A.C. PETERSON, E.A. SHOUBRIDGE. 1997. Tissue specific selection for different mtDNA genotypes in heteroplasmic mice. *Nature Genetics*. 16: 93-95.
- JOBLING, M. A., C. TYLER- SMITH. 1995. Fathers and Sons: The Y chromosome and Human evolution. *Trends in Genetics*. 11: 449-456.
- JOBLING, M.A., C. TYLER-SMITH. 2000. New uses for new haplotypes the human Y chromosome, disease and selection. *Trends in Genetics*. 16: 356–362.
- JOBLING, M.A., C. TYLER-SMITH. 2001. Y-chromosomal SNP haplotype diversity in forensic analysis. *Forensic Science International*. 118:158-162.
- JOBLING, M.A., C.TYLER-SMITH. 2003. The human Y chromosome: An evolutionary marker comes of age. *Nature*. 4:598-612.
- KANEDA, H., J. HAYASHI, S. TAKAHAMA, C. TAYA, K.F. LINDAHL, H. YONEKAWA. 1995. Elimination of paternal mitochondrial DNA in intraspecific crosses during early mouse embryogenesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 92(10): 4542–4546.
- KARACA, O., CEMAL, İ., 1998. Batı Anadolu koyunculığında genetik kaynakların korunma ve kullanımı. Ege Bölgesi 1.Tarım Kongresi, s.573-582, 7-11 Eylül 1998, ADÜ Ziraat Fakültesi, Aydın.

- KAYMAKÇI, M., R. SÖNMEZ. 1996. İleri Koyun Yetiştiriciliği. Ege Üniv. Yayınları. S: 1-3.
- KAYSER M., L. ROEWER, M. HEDMAN, L. HENKE, J. HENKE. S. BRAUER, C. KRUGER, M. KRAWCZAK, M. NAGY, T. DOBOSZ, R. SZIBOR, P. KNIJFF, M. STONEKING, A. SAJANTILA. 2000. Characteristics and frequency of germline mutations at microsatellite loci from the human Y chromosome, as revealed by direct observation in father/ son pairs. *Am. J. Hum. Genet.* 66:1580–1588.
- KAYSER M., M. KRAWCZAK, L. EXCOFFIER, P. DIELTJES, D. CORACH, V. PASCALI, C. GEHRIG, L.F. BERNINI, J. JESPERSEN, E. BAKKER, L. ROEWER, P. KNIJFF. 2001. An extensive analysis of Y-chromosomal microsatellite haplotypes in globally dispersed human populations. *Am. J. Hum. Genet.* 68: 990–1018.
- KAYSER, M., S. BRAUER, H. SCHÄDLICH, M. PRINZ, M.A. BATZER, P.A. ZIMMERMAN, B.A. BOATIN, M.A. STONEKING. 2003. Populations of African, European, and Hispanic Ancestry Y Chromosome STR Haplotypes and the Genetic Structure of U.S. *Genome Res.* 13: 624-634.
- KEMP, S.J., A.J. TEALE. 1994. Randomly primed PCR amplification of pooled DNA reveals polymorphism in a ruminant repetitive DNA sequence which differentiates *Bos indicus* and *B. taurus*. *Anim Genet.* 25: 83–88.
- KIKKAWA, Y., T.TAKADA, K. SUTOPO, K. NOMURA, T. NAMIKAWA, H. YONEKAWA, T. AMANO. 2003. Phylogenies using mtDNA and SRY provide evidence for male-mediated introgression in Asian domestic cattle. *Anim. Genet.* 34: 96–101.
- KOBAN, E. 2004. Anadolu Yerli ve Melez Koyun Irklarını Genetik Çeşitliliği. Ortadoğu Teknik Üniversitesi. Doktora Tezi. Ankara.
- KONG, Q-P., Y.G. YAO, C. SUN, H.J. BANDELT, C.L. ZHU, Y.P. ZHANG. 2003. Phylogeny of East Asian mitochondrial DNA lineages inferred from complete sequences. *Am. J. Hum. Genet.* 73: 671–676.
- KOOPMAN, P., J. GUBBAY, N. VIVIAN, P.N. GOODFELLOW, R. LOVELL-BADGE. 1991. Male development of chromosomally female mice transgenic for Sry. *Nature* 351: 117-121.
- KOOPMAN, P., M. BULLEJS, J. BOWLES. 2001. Regulation of male sexual development by Sry and Sox9. *J. Exp. Zool.* 290: 463-474.
- KUMAR, S., K. TAMURA, M. NEI. 2004. MEGA 3: Integrated software for Molecular Evolutionary Genetics Analysis and sequence alignment. *Briefings in Bioinformatics* 5:150-163.
- LAHN, B.T., D.C. PAGE. 1999. Four evolutionary strata on the human X chromosome. *Science.* 286: 964–967.

- LAWSON, L.J., G.M. HEWITT. 2002. Comparison of substitution rates in ZFX and ZFY introns of sheep and goat related species supports the hypothesis of male-biased mutation rates. *J. Mol.Evol.* 54: 54–61.
- LEE, H.C., S.H. LI, J.C. LIN, C.C. WU, D.C. YEH, Y.H. WEI. 2004. Somatic mutations in the D-loop and decrease in the copy number of mitochondrial DNA in human hepatocellular carcinoma. *Mutat. Res.* 547(1-2):71-78.
- LINDGREN, G., N. BACKSTROM, J. SWINBURNE, L. HELLBORG, A. EINARSSON, K. SANDBERG, G. COTHRAN, C. VILA, M. BINNS, H. ELLEGREN. 2004. Limited number of patriline in horse domestication. *Nature Genetics.* 36: 335–336.
- LUIKART, G., L. GIELLY, L. EXCOFFIER, J.D. VIGNE, J. BOUVET, P. TABERLET. 2001. Multiple maternal origins and weak phylogeographic structure in domestic goats. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 98(10):5927-5932.
- MACÉ, M., B. CROUAU-ROY. 2008. A highly polymorphic insertion in the Y-chromosome amelogenin gene can be used for evolutionary biology, population genetics and sexing in Cetacea and Artiodactyla. *BMC Genet.* 10.1186/1471-2156-9-64.
- MADDOX, J.F., K.P. DAVIES, A.M. CRAWFORD, D.J. HULME, D. VAIMAN, E.P. CRIBIU, B.A. FREKING, K.J. BEH, N.E. COCKETT, N. KANG, C.D. RIFFKIN, R. DRINKWATER, S.S. MOORE, K.G. DODDS, J.M. LUMSDEN, T.C. VAN STIJN, S.H. PHUA, D.L. ADELSON, H.R. BURKIN, J.E. BROOM, J. BUITKAMP, L. CAMBRIDGE, W.T. CUSHWA, E. GERARD, S.M. GALLOWAY, B. HARRISON, R.J. HAWKEN, S. HIENDLEDER, H.M. HENRY, J.F. MEDRANO, K.A. PATERSON, L. SCHIBLER, R.T. STONE, B. VAN HEST. 2001. An Enhanced Linkage Map of the Sheep Genome Comprising More Than 1000 Loci. *Genome Res.* 11: 1275-1289.
- MANNEN, H., S. TSUJI, R.T. LOFTUS, D.G. BRADLEY. 1998. Mitochondrial DNA variation and evolution of Japanese Black cattle. *Genetics.* 150: 1169-1175.
- MANNEN, H., M. MORIMOTO, K. OYAMA, F. MUKAI, S. TSUJI. 2003. Identification of mitochondrial DNA substitutions related to meat quality in Japanese Black cattle. *J. Anim. Sci.* 81: 68-73.
- MANNEN, H., M. KOHNO, Y. NAGATA, S. TSUJI, D.G. BRADLEY, J.S. YEO, D. NYAMSAMBA, D., Y. ZAGDSUREN, M. YOKOHAMA, K. NOMURA, T. AMANO. 2004. Independent mitochondrial origin and historical genetic differentiation in North Eastern Asian cattle. *Mol. Phylogenet. Evol.* 32(2):539-544.
- McELREAVEY, K., M. FELLOUS. 1999. Sex determination and the Y chromosome. *Semid. Med. Gent.* 89: 176-185.
- MEADOWS, J.R.S., R.J. HAWKEN, J.W. KIJAS. 2004. Nucleotide diversity of the ovine Y chromosome. *Anim. Genet.* 35: 379–385.

- MEADOWS, J.R.S., K. LI, J. KANTANEN, M. TAPIO, W. SIPOS, V. PARDESHI, V. GUPTA, J.H. CALVO, V. WHAN, B. NORRIS., J.W. KIJAS. 2005. Mitochondrial Sequence Reveals high Levels of Gene Flow Between Breeds of Domestic Sheep from Asia and Europe. *J. Hered.* 96: 494-501.
- MEADOWS, J.R.S., O. HANOTTE, C. DROGEMULLER, J.H. CALVO, R. GODFREY, D. COLTMAN, J.F. MADDOX, N. MARZANOV, J. KANTANEN, J.W. KIJAS. 2006. Globally dispersed Y chromosomal haplotypes in wild and domestic sheep. *Anim. Genet.* 37: 444-453.
- MEADOWS, J.R.S., I. CEMAL, O. KARACA, E. GOOTWINE, J.W. KIJAS. 2007. Five Ovine mitochondrial lineages identified from sheep breeds of the Near East. *Genetics.* 175: 1371-1379.
- MEADOWS, J.R.S., J.W. KIJAS. 2009. Re-sequencing regions of the ovine Y chromosome and wild sheep reveals novel paternal haplotypes. *Anim. Genet.* 40(1): 119-123.
- MICHAELS, G.S., W.W. HAUSWIRTH, P.J. LAIPIS. 1982. Mitochondrial DNA copy number in bovine oocytes and somatic cells. *Dev. Biol.* 94: 246–251.
- MITCHELL, R.J. M.F. HAMMER. 1996. Human evolution and the Y chromosome. *Current Option in Genetics & Development.* 6: 737-742.
- MITCHELL, R.J., M. KRESKAS, E. BAXTER, L. BUFFALINO, R.A. VAN OORSCHOT. 2006. An investigation of sequence deletions of amelogenin (AMELY), a Y-chromosome locus commonly used for gender determination. *Ann. Hum Biol.* 33(2):227-240.
- MOHAMAD, K., M. OLSSON, M., H.T.A. VAN TOL, S. MIKKO, B.H. VLAMINGS, G. ANDERSSON, H. RODRÍGUEZ-MARTÍNEZ, B. PURWANTARA, R.W. PALING, B. COLENBRANDER, J.A. LENSTRA. 2009. On the origin of Indonesian Cattle. *PLoS ONE.* 4(5):e5490. doi:10.1371
- NACHMANN, M.W., S.N. BOYER, C.F. AQUADRO. 1994. Nonneutral evolution at the mitochondrial NADH dehydrogenase subunit 3 gene in mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences. USA.* 91: 6364-6368.
- NADERI, S., H.R. REZAEI, P. TABERLET, S. ZUNDEL, S.A. RAFAT, H.R. NAGHASH, M.A. EL-BARODY, O. ERTUGRUL, F. POMPANON, ECONOGENE CONSORTIUM. 2007. Large-scale mitochondrial DNA analysis of the domestic goat reveals six haplogroups with high diversity. *PLoS One.* 2(10):e1012.
- NADLER, C.F., D.M. LAY, J.D. HASSINGER. 1971. Cytogenetic analyses of wild sheep populations in northern Iran. *Cytogenetics.* 10:137–152.

- NADLER, C.F., K.V. KOROBITSYNA, R.S. HOFFMANN, N.N. VORONTSOV. 1973. Cytogenetic differentiation, geographic distribution, and domestication in Palearctic sheep (*Ovis*). *Zeitschf Saugetierk.* 38:109–125.
- NATANAELSSON, C., M.C.R. OSKARSSON, H. ANGLEBY, J. LUNDEBERG, E. KIRKNESS, P. SAVOLAINEN. 2006. Dog Y chromosomal DNA sequence: identification, sequencing and SNP discovery. *BMC Genetics.* 45(7):1-6.
- NEI, M. 1987. *Molecular Evolutionary Genetics*. Columbia University Press, New York, USA.
- OLSEN, G. J., C.R. WOESE, R. OVERBEEK. 1994. The winds of evolutionary change: breathing new life into microbiology. *J. Bacteriol.* 176: 1–6.
- OUNA, A.B, J.W. KIJAS, J.R.S. MEADOWS, M. LIMO, O. HANOTTE, D. MBURU. 2006. Analysis of genetic diversity and relationship between African male sheep using two Y chromosome specific markers. In: *Proceedings of the 30th International Conference on Animal Genetics: ISAG 2006: Biodiversity, the future pass through preservation*. Porto Seguro, BA, Brazil. The Conference, Porto Seguro, BA, Brazil.
- ÖZDEMİR, M. 2006. Türkiye Yerli Sığır Irklarında Mitokondriyal DNA Polimorfik Yapılarının PCR-RFLP ve DNA Dizi Analizi Yöntemleri ile İncelenmesi. Atatürk Üniversitesi. Doktora Tezi. Erzurum.
- PAIVA, S.R., C. DIAS, D.A. FARIA, C. MCMANUS, A.A. OLIVEIRA, R.N.B. LÔBO, W.H. DE SOUZA, J.A. DERGAM, M.S.M. ALBUQUERQUE, A.A. DO EGITO, A.R. CASTRO, A.S. MARIANTE. 2006. Y-chromosome variability of in Brezillian sheep breeds. 8th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production. August 13-18, 2006, Belo Horizonte, MG, Brasil.
- PAYEN E., E. PAILHOX, R. ABOU MERHI, L. GIANQUINTO, M. KIRSZENBAUM, A. LOCATELLI, C. COTINOT. 1996. Characterization of ovine SRY transcript and developmental expression of genes involved in sexual differentiation. *Int. J. Dev. Biol.* 40: 567–575.
- PEDROSA, S., M. UZUN, J.J. ARRANZ, B. GUTIÉRREZ-GIL, F. SAN PRIMITIVO, Y. BAYÓN. 2005. Evidence of three maternal lineages in Near Eastern sheep supporting multiple domestication events. *Proc. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 272:2211–2217.
- PEJOVIC, T., D. LADNER, M. INTENGAN, K. ZHENG, T. FAIRCHILD, D. DILLON, S. EASLEY, D. DILLON, D. MARCHETTI, P. SCHWARTZ. 2004. Somatic D-loop mitochondrial DNA mutations are frequent in uterine serous carcinoma. *Eur. J. Cancer.* 40(16):2519-2524.

- PERDESHI, V.C., N.Y. KADOO, M.N. SAINANI, J.R.S. MEADOWS, J.W. KIJJAS, V.S. GUPTA, 2007. Mitochondrial haplotypes reveal a strong genetic structure for tree Indian sheep breeds. *Anim. Genet.* 38: 460-466.
- PEREIRA, F., S.J.M. DAVIS, L. PEREIRA, B. MCEVOY, D.G. BRADLEY, A. AMORIM. 2006 Genetic signatures of a Mediterranean influence in Iberian Peninsula sheep husbandry. *Mol. Biol. Evol.* 23: 1420– 1426.
- PÉREZ-PARDAL, L., L.J. ROYO, I. ALVAREZ, I. FERNÁNDEZ, J.P. GUTIERREZ, F. GOYACHE. 2007. Caracterización preliminar de las líneas paternas de la raza ovina Xalda de Asturias mediante polimorfismos en el cromosoma Y. *I.T.E.A. Vol.Extra*, 28: pp. 378-380.
- PÉREZ-PARDAL L., L.J. ROYO, A. BEJA-PEREIRA, I. CURIK, A. TRAORÉ, I. FERNÁNDEZ, J. SOLKNER, J. ALONSO, I. ALVAREZ, R. BOZZI, S. CHEN, F.A. PONCE DE LEÓN, F. 2009. Y-specific microsatellites reveal an African subfamily in taurine (*Bos taurus*) cattle.doi: 10.1111/j.1365-2052.2009.01988.x
- PETERS, J., D. HELMER, A. VON DEN DRIESCH, M. SAÑA-SEGUI. 1999. Early animal husbandry in the Northern Levant. *Paléorient.* 25:27–57.
- PETIT, E., F. BALLOUX, L. EXCOFFIER. 2002. Mammalian population genetics: why not Y? *Trends in Ecology & Evolution.* 17: 28–33.
- PFEIFFER, I., B. BRENIG. 2005. X- and Y-chromosome specific variants of the amelogenin gene allow sex determination in sheep (*Ovis aries*) and European red deer (*Cervus elaphus*). *BMC Genet.* 16:6-16.
- PIDANCIER, N., S. JORDAN, G. LUIKART, P. TABERLET. 2006. Evolutionary history of the genus *Capra* (Mammalia, Artiodactyla): discordance between mitochondrial DNA and Y-chromosome phylogenies. *Mol. Phylogenet. Evol.* 40:739 - 749.
- PIPER, L., A. RUVINSKY. 1997. *The Genetics of Sheep*, Oxon: Cambridge University Press. p.88.
- PONTIGGIA A.R. RIMINI, V.R. HARLEY, P.N. GOODFELLOW, R. LOVELL-BADGE, M.E. BIANCHI. 1994. Sex-reversing mutations affect the architecture of SRY-DNA complexes. *EMBO J.* 13:6115–6124.
- PORTER, V. 1996. *Goats of the world*. Farming Press. Ipswich, UK. s. 3.
- PRASHANT, D.S., P.P. GOUR, A. DUBLEY, D.K. JAIN, B.K.J. NANDA, D. KUMAR. 2009. Complete nucleotide sequencing, SNP identification and characterization of SRY gene in Indian Sangamneri goat. *African Journal of Biotechnology.* 8(13): 2939-2942.

- REZAEI, H.R., S. NADERI, I.C. CHINTAUAN-MARQUIER, P. TABERLET, A.T. VIRK, H.R. NAGHASH, D. RIOUX, M. KABOLI, F. POMPANON. 2009. Evolution and taxonomy of the wild species of the genus *Ovis* (Mammalia, Artiodactyla, Bovidae). *Mol. Phylogenet. Evol.* doi:10.1016/j.ympev.2009.10.037.
- RICHARDS, M. H. CÔRTE-REAL, P. FORSTER, V. MACAULAY, H. WILKINSON-HERBOTS, A. DEMAINE, S. PAPIHA, R. HEDGES, H.J. BANDELT, B. SYKES. 1996. Paleolithic and neolithic lineages in the European mitochondrial gene pool. *Am. J. Hum. Genet.* 59: 185–203.
- RICHARDS, M., V.A. MACAULAY, H.J. BANDELT, B.C. SYKES. 1998. Phylogeography of mitochondrial DNA in western Europe. *Ann. Hum. Genet.* 62: 241–260.
- ROEWER, L., J.T. EPPLEN. 1992. Rapid and sensitive typing of forensic stains by PCR amplification of polymorphic simple repeat sequences in case work. *Forensic Sci Int.* 53:163-171.
- ROEWER, L., M. KAYSER, P. DIELTJES, M. NAGY, E. BAKKER, M. KRAWCZAK, P. KNIFF. 1996. Analysis of molecular variance (AMOVA) of Y-chromosome-specific microsatellites in two closely related human populations. *Hum Mol Genet.* 5(7):1029-1033.
- RON, M., O. YOFFE, J.I. WELLER. 1993. Sequence variation in D-loop mtDNA of cow lineages selected for high and low maternal effects on milk production. *Anim. Genet.* 24: 183-186.
- ROZAS, J., J.C. SANCHEZ-DELBARRÍO, X. MESSEGUER, R. ROZAS. 2003. DnaSP, DNA polymorphism analyses by the coalescent and other methods. *Bioinformatics.* 19: 2496–2497.
- RYDER, M.L, 1984. Sheep. In: *Evolution of domesticated animals*. New York: Longman. p:63- 84.
- SASAKI, S., H. SHIMOKAWA. 1995. The amelogenin gene. *Int. J. Dev. Biol.* 39: 127-133.
- SAVOLAINEN, P., Y. ZHANG, J. LUO, J. LUNDEBERG, T. LEITNER. 2002. Genetic Evidence for an East Asian Origin of Domestic Dogs. *Science.* 298: 1610-1613.
- SCHUTZ, M.M., A.E. FREEMAN, G.L. LINDBERG, D.C. BEITZ. 1993. Effects of maternal lineages grouped by mitochondrial genotypes on milk yield and composition. *J. Dairy Sci.* 76:621-629.
- SECHI, T., S. MIARI, D. PIRAS, L. CRASTA, G. MULAS, A. CARTA. 2009. Genetic variation of goat Y chromosome in the Sardinian population. *Ital. J. Anim. Sci.* 8(2): 159-161.

- SEIELSTAD, M.T., J.M. HEBERT, A.A. LIN, P.A. UNDERHILL, M. LBRAHLM, D. VOLLRATH, L.L. CAVALLI-SFORZA. 1994. Construction of human Ychromosomal haplotypes using a new polymorphic A to G transition. *Hum. Mol. Genet.* 3: 2159-2161.
- SHARMA, S., E. RAI, A.K. BHAT, A.S. BHANWER, R.N. BAMEZAI. 2007. A novel subgroup Q5 of human Y-chromosomal haplogroup Q in India. *BMC Evol. Biol.* 7(1):232-248.
- SHEN, P., F. WANG, P.A. UNDERHILL, C. FRANCO, W.H. YANG, A. ROXAS, R. SUNG, A.A. LIN, R.W. HYMAN, D. VOLLRATH, R.W. DAVIS, L.L. CAVALLI-SFORZA, P.J. OEFNER. 2000. Population genetic implications from sequence variation in four Y chromosome genes. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 97: 7354–7359.
- SINCLAIR, A.H., P. BERTA, M.S. PALMER, J.R. HAWKINS, B.L. GRIFFITHS, M.J. SMITH, J.W. FOSTER, A.M. FRISCHAUF, R. LOVELL-BADGE, P.N. GOODFELLOW. 1990. A gene from the human sex-determining region encodes a protein with homology to a conserved DNA binding motif. *Nature.* 346:240–244.
- SOYSAL, M.İ., İ.TOGAN, M. NİZAMLIOĞLU, A. ERGÜVEN. 2001. Türkiye yerli ve melez koyun ırklarının genetik yapılarının mikrosatelitlerle incelenmesi. TÜBİTAK VHAG Proje No. 1553.
- SKALETISKY, H., T. KURODA-KAWAGUCHI, P.J. MINX, H.S. CORDUM, L. HILLIER, L.G. BROWN, S. REPPING, T. PYNTIKOVA, J. ALI, T. BIERI, A. CHINWALLA, A. DELEHAUNTY, K., DELEHAUNTY, H. DU, G. FEWELL, L. FULTON, R. FULTON, T. GRAVES, S.F. HOU, P. LATRIELLE, S. LEONARD, E. MARDIS, R. MAUPIN, J. MCPHERSON, T. MINER, W. NASH, C. NGUYEN, P. OZERSKY, K. PEPIN, S. ROCK, T. ROHLFING, K. SCOTT, B. SCHULTZ, C. STRONG, A. TIN-WOLLAM, S.P. YANG, R.H. WATERSTON, R.K. WILSON, S. ROZEN, D.C. PAGE. 2003. The male-specific region of the human Y chromosome is a mosaic of discrete sequence classes. *Nature.* 423: 825–837.
- SMEITINK, J.A., M. ZEVIANI, D.M. TURNBULL, H.T. JACOBS. 2006. Mitochondrial medicine: a metabolic perspective on the pathology of oxidative phosphorylation disorders. *Cell Metab.* 3(1):9-13.
- SMITH, B.D. 1998. The emergence of agriculture. New York: Scientific American Library.
- SUTARNO, J.M., J. CUMMINS, J. GREEFF, A.J. LYMBERY. 2002. Mitochondrial DNA polymorphisms and fertility in beef cattle. *Theriogenolog.* 57: 1603-1610.
- TAANMAN, J-W. 1999. The mitochondrial genome: structure, transcription, translation and replication. *Biochim Biophys Acta.* 1410: 103–123.

- TABERLET, P. 2008. "The GLOBALDIV Summer School Edition 2008" Ders notları. Università Cattolica del Sacro Cuore, 8-12 Eylül 2008 Piacenza, İtalya.
- TAMURA, K., J. DUDLEY, M. NEI, S. KUMAR. 2007. MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0. *Mol. Biol. and Evol.* 24: 1596-1599.
- TAPIO, M. 2006. Origin and maintenance of genetic diversity in Northern European sheep. Faculty of Science, Department of Biology, University of Oulu. PhD tesis.
- TAPIO, M., N. MARZANOV, M. OZEROV, M. ČINKULOV, G. GONZARENKO, T. KISELYOVA, M. MURAWSKI, H. VIINALASS, J. KANTANEN. 2006. Sheep mitochondrial DNA variation in European, Caucasian and Central Asian areas. *Mol Biol Evol.* 23: 1776–1783.
- TEALE, A.J., J. WAMBUGU, P.S. GWAKISA, G. STRANZINGER, D. BRADLEY, S.J. KEMP. 1995. A polymorphism in randomly amplified DNA that differentiates the Y chromosomes of *Bos indicus* and *Bos taurus*. *Anim. Genet.* 26:243–248.
- THANSEEM, I., K. THANGARAJ, G. CHAUBEY, V.K. SINGH, L.V. BHASKAR, B.M. REDDY, A.G. REDDY, L. SINGH, L. 2006. Genetic affinities among the lower castes and tribal groups of India: inference from Y chromosome and mitochondrial DNA. *BMC Genet.* 7(42): 1-11.
- TOGAN, İ., İ. SOYSAL, C.C. BERKMAN, E. KOBAN. 2005. Irkların Korunmasında Moleküler İşaretler. *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi.* 2(1):44-49.
- TORRONI, A., T.G. SCHURR, M.F. CABELL, M.D. BROWN, J.V. NEEL, M. LARSEN, D.G. SMITH, C.M. VULLO, D.C. WALLACE. 1993. Asian affinities and continental radiation of the four founding Native American mtDNAs. *Am. J. Hum. Genet.* 53: 563–590.
- TORRONI, A., M.T. LOTT, M.F. CABELL, Y.S. CHEN, L. LAVERGNE, D.C. WALLACE. 1994. mtDNA and the origin of Caucasians: identification of ancient Caucasian-specific haplogroups, one of which is prone to a recurrent somatic duplication in the D-loop region. *Am. J. Hum. Genet.* 55: 760–776.
- TORRONI, A., K. HUOPONEN, P. FRANICALACCI, M. PETROZZI, L. MORELLI, R. SCOZZARI, D. OBINU, M.L. SAVONTAUS, D.C. WALLACE. 1996. Classification of European mtDNAs from an analysis of three European populations. *Genetics.* 144: 1835–1850.
- TORRONI, A., A. ACHILLI, M. VINCENT, M. RICHARDS, H-J. BANDELT. 2006. Harvesting the fruit of the human mtDNA tree. *Trens in Genetics.* 22(6): 339-345.

TROY, C.S., D.E. MACHUGH, J.F. BAILEY, D.A. MAGEE, R.T. LOFTUS, P. CUNNINGHAM, A.T. CHAMBERLAIN, C. BRYAN, B.C. SYKES, D.G. BRADLEY. 2001. Genetic Evidence for Near-Eastern origins of European Cattle. *Nature*. 410: 1088-1091.

TRUT, L.N. 1999. Early Canid Domestication: A Farm-Fox Experiment. *American Sci.* 87: 160- 169.

TUNCEL, E. 1995. Küçükbaş Hayvan Yetiştirme. Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ders Notları: 23. s:31

UZUN, M., B. GUTIÉRREZ-GIL, J.J. ARRANZ, F. SAN PRIMITIVO, M. SAATÇI, M. KAYA, Y. BAYÓN. 2006. Genetic relationships among Turkish sheep. *Genet. Sel. Evol.* 38: 513-524.

VAN ASCH, B., L. PERERIA, F. PERERIA, P. SANTA-RITA, M. LIMA, A. AMORIM. 2005. mtDNA diversity among four Portuguese autochthonous dog breeds: a fine-scale characterisation. *BMC Genetics*. 6: 1-8.

VANDENBERG, N., R.A. VAN OORSCHOT, R.A., C. TYLER-SMITH, R.J. MITCHELL. 1999. Y-chromosome-specific microsatellite variation in Australian aboriginals. *Human Biology*. 71(6): 915-931.

VERMEULEN, M., A. WOLLSTEIN, K. VAN DER GAAG, O. LAO, Y. XUE, Q. WANG, L. ROEWER, H. KNOBLAUCH, C. TYLER-SMITH, P. KNIJFF, M. KAYSER, M. 2009. Improving global and regional resolution of male lineage differentiation by simple single-copy Y-chromosomal short tandem repeat polymorphisms. *Forensic Sci. Int. Genet.* 3(4):205-213.

VIALE, A., A.K. ARAKAKI. 1994. The chaperone connection to the origins of the eukaryotic organelles. *FEBS Lett.* 341:146–151.

VIDAL, O., A. PÉREZ-SERRA, B. BADAoui, J. CAPOTE, A. MARTÍNEZ, J. DELGADO, C. PLA, M. AMILLS. 2009. XXXIX Jornadas de Estudio: XIII Jornadas sobre Producción Animal, Zaragoza, 12 y 13 de Mayo de 2009 / coord. por Margalida Joy Torrens, Vol. 1, 2009, ISBN 9788461323111. s: 54-56.

VILA, C., P. SAVOLAINEN, J.E. MALDONADO, I.R. AMORIM, J.E. RICE, R.L. HONEYCUTT, R.L., K.A.CRANDALL, J. LUNDEBERG, R.K. WAYNE. 1997. Multiple and Ancient Origins of the Domestic Dog. *Science*. 276: 1687-1689.

VISSER, C., C.A. HEFER, E. MARLE-KOSTER, A. KOTZE. 2004. Genetic variation of three commercial and three indigenous goat populations in South Africa. *South African J. Anim. Sci.* 34(1): 24-27.

WALLACE, D.C.1992. Diseases of the mitochondrial DNA. *Annual Review of Biochemistry*. 61: 1175-1212.

- WALLING, G.A., A.D. WILSON, B.L. MCTEIR, S.C. BISHOP, S.C. 2004. Increased heterozygosity and allele variants are seen in Texel compared to Suffolk sheep. *Heredity*. 92:102–109.
- WANG, Y., V.W. LIU, H.Y. NGAN, P. NAGLEY. 2005. Frequent occurrence of mitochondrial microsatellite instability in the D-loop region of human cancers. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1042:123-129.
- WANG, J., Y.L. CHEN, X.L. WANG, Z.X. YANG. 2008. The genetic diversity of seven indigenous Chinese goat breeds. *Small Ruminant Research*. 1(3): 231-237.
- WEIKARD, R., C. PITRA, C. KUHN. 2006. Amelogenin cross-amplification in the family Bovidae and its application for sex determination. *J. Mol. Reprod. Dev.* 73(10): 1333-1337.
- WELSHONS, W.J., L.B. RUSSELL. 1959. The Y chromosome as the bearer of male determining factors in the mouse. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 45: 560-566.
- WOOD, N. J., S.H. PHUA. 1996. Variation in the control region sequence of the sheep mitochondrial genome. *Anim. Genet.* 27: 25–33.
- WORONZOW, N.N., K.W. KOROBIŹGNA, C.F. NADLER, R. HOFMAN, T.N. ESALOJNITSKOW, J.K. GORELOW. 1972. Chromossomi dikich baranow i proisschojdenije domaschnich owjez. *Lirroda*. 3:74–81.
- YANG, D., Y. OYAIZU, H. OYAIZU, G.J. OLSEN, C.R. WOESE. 1985. Mitochondrial origins. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 82: 4443–4447.
- YU, N., M.I. JENSEN-SEAMAN, L. CHEMNICK, O. RYDER, W.H. LI. 2004. Nucleotide diversity in gorillas. *Genetics*. 166: 1375–1383.
- ZEDER, M.A. 1999. Animal domestication in the Zagros: A review of past and current research. *Paléorient*. 25:11–26.
- ZEDER MA. 2008. Domestication and early agriculture in the Mediterranean Basin: Origins, diffusion, and impact. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 105:(33): 11597-11604.
- ZHAO, X., N. LI, W. GUO, X. HU, Z. LIU, G. GONG, A. WANG, J. FENG, C. WU. 2004. Further evidence for paternal inheritance of mitochondrial DNA in the sheep (*Ovis aries*). *Heredity*. 93: 299–403.
- ZJALIK, M. 2008. “The GLOBALDIV Summer School Edition 2008” Ders notları. Università Cattolica del Sacro Cuore, 8-12 Eylül 2008 Piacenza, İtalya.

ÖZGEÇMİŞ

01. 01. 1976 tarihinde Eskişehir’ de doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Eskişehir’ de tamamladı. U.Ü.Z.F Zootečni Bölümünden 1999 yılında mezun oldu. Mezuniyetten sonra Eskişehir Yem Sanayi A.Ş’ de satış yönetmeni olarak çalıştı. 2001 yılında yüksek lisans eğitimine başladı. 2002 yılında U.Ü Fen Bilimleri Enstitüsü, Zootečni Anabilim Dalında araştırma görevlisi olarak çalışmaya başladı.

TEŞEKKÜR

Özveri ve emek gerektiren her tez çalışmasında olduğu gibi, bu tez de burada adı geçen kişilerden birisinin olmaması halinde son şeklini alamazdı. Akademik anlamda olduğu kadar, kişisel gelişimime de son derece katkısı olan böyle bir konuda çalışmakta olmaktan dolayı kendimi son derece şanslı hissediyorum ve bana verdiği tüm fırsat ve gösterdiği anlayıştan dolayı danışman hocam Prof. Dr. Cengiz ELMACI'ya öncelikle ve özellikle minnettarım. Kendisi sadece doktora tez çalışmamda değil, çalışma hayatımın başından itibaren attığım her adımda sadece yol gösterici olmakla kalmamış, karar alma sorumluluğunu ve bu sorumluluğu taşıma cesareti vermiştir.

Tezde kullanılan koyun ırkların büyük bir kısmından kan örneklerinin sağlanmasında yardımını esirgememiş çok sevgili arkadaşım Zir. Yük. Müh. Oya AKIN'a, yine kan örneklerinin alınmasında büyük yardımlarını gördüğüm Zir. Yük. Müh. Necdet AKAY, Dr. Sinan KOPUZLU'ya, Vet. Hekim Mehmet Emin VURAL'a, Zir. Yük. Müh. Erdoğan SEZGİN'e ayrıca kan örneklerinin alınmasındaki maddi-manevi desteğini benden esirgememiş değerli hocam Prof. Dr. İbrahim AK'a teşekkür ederim.

İstatistiksel analizlerin gerçekleşmesinde bana değerli zamanını ayıran arkadaşım Dr. Evren KOBAN'a (TÜBİTAK-MAM GMBE) tezle ilgili hertürlü sıkıntımı kendilerinininkiymiş gibi benimseyen ve en zorlu dönemde bu sorunların çözümü için, en az benim kadar kaygı duyan arkadaşım Yard. Doç. Dr. Emel ÖZKAN (N.K.Ü, Ziraat Fakültesi Zootečni Bölümü) ve tezin bana getirmiş olduğu birçok güzellikten birinin de kendisini tanımak olduğu, değerli arkadaşım Dr. Özge ÖZMEN'e (Fırat Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Zootečni Bölümü) katkılarından dolayı teşekkür ediyorum.

Tez konusunu önermekle benim bu yeni ve cazip konularla tanışmama neden olan ve kendi laboratuvarında tezin bir kısmının yapılması için bana fırsat yaratmış Dr. Jorge H. CALVO'ya ve yurt dışında olduğum bu süre içinde benden desteklerini esirgememiş, Belén LAHOZ, Chus De MIGUEL LÓPEZ, Elda DERVISHI, Juan Pablo VICO, Rebeca CALAVIA, Pilar SANCHEZ RUIZ, gösterdiği değerli yakınlık için Pilar SARTO AURED'a ayrı ayrı teşekkür ederim. Kendilerin tanıdığım andan itibaren her konuda olduğu gibi tez çalışması esnasında da maddi manevi her türlü desteklerini

gördüğüm, hem İspanya'ya alışmam da hem de bu dili öğrenmemde sonsuz faydaları olan, İspanya'da geçirdiğim her anı unutulmaz yapmak için çabalamış çok sevgili arkadaşlarım, Dr. Beatriz SERRANO PÉREZ, Camino POLO, Dr. Javier ÁLVAREZ RODRÍGUEZ, Raquel MÉNDEZ RUFAS'a minnettarım.

Çalışma hayatımın başlangıcından bu yana hep yanımda olan, zor anlarımda bana omuz vermeyi sürdürmüş çalışma arkadaşlarım, Dr. Şadıman KARAMAN, Dr. Şebnem KARA UZUN ve Şeniz ÖZİŞ'e sonsuz teşekkür ediyorum.

Onlar olmasaydı, hiçbir şey olamayacağım, çok sevgili, fedakâr aileme teşekkürü bir borç bilirim.