

**ANKARA ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**BOSNA HERSEK YERLİ KOYUNLARI VE KEÇİLERİNDEKİ  
MİTOKONDRIYAL DNA (mtDNA) D-LOOP POLİMORFİZMİ**

**Adelina PILJUG**

**ZOOTEKNİ ANABİLİM DALI**

**ANKARA  
2016**

**Her hakkı saklıdır**

## **TEZ ONAYI**

Adelina PILJUG tarafından hazırlanan “**Bosna Hersek Yerli Koyunları Ve Keçilerindeki Mitokondriyal DNA (mtDNA) D-Loop Polimorfizmi**” adlı tez çalışması 12/08/2016 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Zootekni Anabilim Dalı’nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

**Danışman:** Prof. Dr. Mehmet Ali YILDIZ

### **Jüri Üyeleri**

**Başkan** : Prof. Dr. Mehmet Ali YILDIZ  
Ankara Üniversitesi Zootekni Anabilim Dalı

**Üye** : Prof. Dr. Orhan KAVUNCU  
Kastamonu Üniversitesi Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi  
Genetik ve Biyomühendislik Bölümü

**Üye** : Prof. Dr. Ensar BAŞPINAR  
Ankara Üniversitesi Zootekni Anabilim Dalı

**Yukarıdaki sonucu onaylarım.**

**Prof. Dr. İbrahim DEMİR**

**Enstitü Müdür V.**

## ETİK

Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez içindeki bütün bilgilerin doğru ve tam olduğunu, bilgilerin üretilmesi aşamasında bilimsel etiğe uygun davrandığımı, yararlandığım bütün kaynakları aktif yaparak belirttiğimi beyan ederim.

12/08/2016

Adelina PILJUG

## ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

### BOSNA HERSEK YERLİ KOYUNLARI VE KEÇİLERİNDEKİ MİTOKONDRIYAL DNA (mtDNA) D-LOOP POLİMORFİZMİ

Adelina PILJUG

Ankara Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Zootekni Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Mehmet Ali YILDIZ

Bu araştırmada Bosna Hersek yerli koyun ve keçi ırklarının mitokondriyal DNA D-loop bölgesindeki genetik polimorfizm ve filogenetik ilişkileri ile PCR tekniği ve sekans analizi belirlenmiştir. Mitokondriyal DNA (mtDNA) filogenetik çalışmalarında kullanılan en önemli belirteçlerden biridir. Bosna Hersek'te yerli Pramenka koyunu ve Alaca dağ keçisi çok değerli genetik kaynaklardır. Bu yerli ırklar hastalıklara dayanıklıdır ve yüksek irtifalı bölgeler için uygundur. Bu mtDNA D-loop bölgelerinin sekans analizlerinin sonucunda Bosna Hersek endemik koyun ve keçi ırklarında yüksek genetik varyasyonu tespit edilmiştir. Bu sonuçlara göre Bosna Hersek Pramenka koyunu A haplogrubuna ait olduğu görölmektedir. Ayrıca Bosna Hersek Alaca keçisinin de A haplogrubuna ait olduğunu görölmektedir. Bosna Hersek yerli koyun ve keçi ırkları üzerinde yapılan bu genetik alışma, Akdeniz Bölgesi'nde koyun ve keçi kökeni ile evcilleştirilme sürecinin anlaşılmasına yardımcı olacağı beklenmektedir. Bu araştırma sonuçları Bosna Hersek yerli koyun ve keçi kaynaklarının korunması için bir teorik temel vermektedir.

**Auğustos 2016, 82 sayfa**

**Anahtar Kelimeler:** Bosna Hersek yerli Pramenka koyun ırkı, Bosna Hersek yerli keçi ırkı, mtDNA, D-loop, polimorfizm

## **ABSTRACT**

Master Thesis

### **MITOCHONDRIAL DNA (mtDNA) D-LOOP REGION POLYMORPHISMS IN BOSNIAN NATIVE SHEEP AND GOAT BREEDS**

Adelina PILJUG

Ankara University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Animal Science

Supervisor: Prof. Dr. Mehmet Ali YILDIZ

In this research the mitochondrial DNA D-loop regions of Bosnian native sheep and goat breeds were analyzed by PCR technique and sequenced to determine their genetic polymorphisms and phylogenetic relationships. Mitochondrial DNA (mtDNA) is one of the most important marker being used in phylogenetic studies. Bosnian native Pramenka sheeps and spotted goats are valuable genetic resources in Bosnia and Herzegovina. These native breeds are resistant to diseases and well suited to a region with high altitude in which livestock breeding is difficult. As a result of sequence analysis of mtDNA D-loop regions have been detected a high genetic diversity on Bosnian native sheep and goat breeds. These results indicate that the Bosnian Pramenka sheeps belong to haplogroup A. Bosnian spotted goats also belong to haplogroup A. It is expected that genetic study on Bosnian native sheep and goat breeds will light on understanding the origin and process of sheep and goat domestications in the Mediterranean area. These results give a theoretical basis for the protection of Bosnian native sheep and goat genetic resources.

**August 2016, 82 pages**

**Key Words:** Bosnian native Pramenka sheep breed, Bosnian native goat breed, mtDNA, D-loop, polymorphism

## TEŞEKKÜR

Bu konuda, yüksek lisans yapma imkanı bulduğum Ankara Üniversitesi yöneticileri ve öğretim üyeleri ile çalışmamda bana verdiği destek ve yardımlarından dolayı tez danışmanım Prof. Dr. Mehmet Ali YILDIZ'a (Ankara Üniversitesi Zootekni Anabilim Dalı) teşekkür etmeyi kendime bir borç biliyorum.

Araştırmalarımda yardımını eksik etmeyip, bana destek veren değerli Prof. Dr. Orhan KAVUNCU'ya (Kastamonu Üniversitesi Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi Genetik ve Biyomühendislik Bölümü) minnetle teşekkür ederim.

Araştırmanın yürütüldüğü laboratuarda bana ilk günden bu yana desteğini esirgemeyen değerli arkadaşım Araş. Gör. Özge ŞAHİN'e ve Araş. Gör. Yasemin GEDİK'e çok teşekkür ederim.

Laboratuvar bilgilerime katkılarından dolayı Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Hepatoloji Enstitüsüne ve Teknokent RefGen'e de teşekkür ederim.

Son olarak, hayatım boyunca her hedefimde beni destekleyen ve asla yalnız bırakmayan, emeklerini asla ödeyemeyeceğim değerli aileme ve Yasin ŞENYURT'a bana duydukları güven ve fedakarlıkları için sonsuz teşekkür ediyorum. Çalışmamı aileme ithaf ediyorum.

Adelina PILJUG  
Ankara, Ağustos 2016

## İÇİNDEKİLER

<b>TEZ ONAY SAYFASI</b>	
<b>ETİK</b> .....	<b>i</b>
<b>ÖZET</b> .....	<b>ii</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>iii</b>
<b>TEŞEKKÜR</b> .....	<b>iv</b>
<b>SİMGELER DİZİNİ</b> .....	<b>vii</b>
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b> .....	<b>ix</b>
<b>ÇİZELGELER DİZİNİ</b> .....	<b>x</b>
<b>1. GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
<b>2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ÖZETLERİ</b> .....	<b>7</b>
2.1 Bosna Hersek'te Tarım .....	7
2.2 Koyun ve Keçi Evcilleştirilmesi .....	10
2.2.1 Evcil Koyunun Taksonomideki Yeri .....	12
2.2.2 Evcil Keçinin Taksonomideki Yeri.....	15
2.3 Bosna Hersek'teki Yerli Hayvan Irkları.....	20
2.3.1 Bosna Hersek Yerli Koyun Irkı (Pramenka Irkı).....	22
2.3.2 Bosna Hersek Yerli Keçi Irkı.....	23
2.4 Moleküler Genetik ve Filogenetik Çalışmalarında Kullanılan Yöntemler.....	24
2.5 Mitokondriyal DNA (mtDNA) ve D-loop Bölgesi.....	26
2.5.1 Koyun mtDNA'sı ve D-loop Bölgesi .....	36
2.5.2 Keçi mtDNA'sı ve D-loop Bölgesi .....	40
2.6 Kaynak Özetleri .....	45
<b>3. MATERYAL VE YÖNTEM</b> .....	<b>49</b>
3.1 Materyal .....	49
3.1.1 Canlı materyal .....	49
3.1.2 Araç ve gereçler.....	50
3.1.3 Tampon çözeltiler .....	52
3.2 Yöntem .....	53
3.2.1 Genomik DNA izolasyonu .....	53
3.2.2 Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR).....	55
3.2.2.1 Koyun PCR analizi.....	55
3.2.2.2 Keçi PCR analizi .....	57
3.2.3 DNA Sekans analizi.....	58
<b>4. ARAŞTIRMA BULGULARI</b> .....	<b>59</b>
4.1 DNA İzolasyon .....	59
4.2 mtDNA D-loop Bölgesinin PCR ile Çoğaltılması ve DNA Sekans Analizi.....	60
4.2.1 Koyun D-loop'un PCR ile çoğaltılması ve DNA sekans analizi.....	60
4.2.2 Keçi D-loop'un PCR ile çoğaltılması ve DNA sekans analizi.....	67
<b>5. SONUÇ</b> .....	<b>74</b>

<b>KAYNAKLAR .....</b>	<b>76</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>82</b>

## SİMGELER DİZİNİ

A	Adenin nükleotidi
AFLP	Amplified Fragment Length Polymorphism (Amplified Fragment Length Polymorphism)
Arg	Arginin aminoasidi
ATP	Adenozin trifosfat
bç	Baz çifti
bdH <sub>2</sub> O	Bidestile Su
BHG	Bosna Hersek Pramenka haplotipi
BHS	Bosna Hersek alacalı dağ keçi haplotipi
C	Sitozin nükleotidi
CO	Sitokrom c oksidaz
CSB-1,2,3	Korunmuş dizi blokları
cyt b	Sitokrom b geni
DAD-IS	Domestic Animal Diversity Information System
D-loop	Kontrol bölge (Displacement loop)
DNA	Deoksiribonükleik asit
dNTP	Deoksinükleotid trifosfat
EDTA	Etilen diamin tetra asetik asit
ETAS	Genişletilmiş terminasyon ilişkili dizileri (Extended Terminal Associated Sequence)
FAO	Gıda ve Tarım Örgütü
G	Guanin nükleotidi
HPGs	Haplogruplar
HSP	H-ipliğin replikasyon promotorları
HVR-1,2	Çok değişken bölgedir (Hypervariable region)
Ile	İzolösin aminoasidi
kb	Kilobaz
kg	Kilogram
LSP	L-ipliğin replikasyon promotorları
MgCl <sub>2</sub>	Magnezyum klorür
mM	Milimolar
Met	Metiyonin aminoasidi
MoDAD	Measurement of Domestic Animal Diversity
MJ	Median-joining tree
mRNA	Mesajcı RNA (Messenger RNA)
mtDNA	Mitokondriyal DNA
mtTFA	Mitokondriyal transkripsiyon faktörü
µM	Mikromolar
µL	Mikrolitre
NaCl	Sodyum klorür
NADH	Nikotinamid Adenin Dinükleotit
nDNA	Çekirdek DNA
NJ	Komşu birleştirme (Neighbor-joining tree)
OH	H-ipliğin replikasyon orjini
PCR	Polimeraz zincir reaksiyonu

Phe	Fenilalanin aminoasidi
pM	Pikomol
Pro	Proline aminoasidi
RAPD	Rasgele çoğaltılmış polimorfik DNA (Random Amplified Polymorphic DNA)
RFLP	Restriksiyon parça uzunluk polimorfizmi (Restriction Fragment Length Polymorphism)
RNA	Ribonükleik asit
rRNA	Ribozomal RNA
SNPs	Tek Nükleotid Polimorfizmleri (Single Nucleotide Polymorphisms)
SoWAnGR	State of the World's Animal Genetic Resources
SSR	Basit Dizilim Tekrarları (Simple Sequence Repeats)
STR	Ardışık Basit Tekrarlar (Simple Tandem Repeats)
T	Timin nükleotidi
Taq	Ateşe dayanıklı (Thermus)
TAS	Terminasyon ilişkili dizileri
tRNA	Taşıyıcı RNA (Transfer RNA)
Trp	Triptofan aminoasidi

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Bosna Hersek'in Avrupa'da yerleşimi.....	7
Şekil 2.2 Bosna Hersek'in dağlık haritası üzerinde irtifalar.....	8
Şekil 2.3 Koyun, keçi ve diğer evcil hayvanların ilk evcilleştirilme yerleri ve evcilleştirilme zamanı (Zeder 2008).....	11
Şekil 2.4 Koyun, keçi ve diğer evcil hayvanların Tuna ve Akdeniz rotasıyla batıya doğru dağılımı ve evcilleştirilme zamanı (Zeder 2008).....	11
Şekil 2.5 Yabani koyunların dünya üzerindeki dağılımı (Taberlet 2008).....	15
Şekil 2.6 Yabani keçilerin dünya üzerindeki dağılımı (Pidancier vd. 2006) .....	17
Şekil 2.7 Keçide mtDNA haplotipleri ve komşu birleştirme analizleri (Luikard vd. 2001).....	18
Şekil 2.8 Bosna Hersek Pramenka Koyunu .....	23
Şekil 2.9 Bosna Hersek'in alacalı boynuzlu keçisi.....	24
Şekil 2.10 mtDNA'nın yapısı (Strachan and Read 2010).....	28
Şekil 2.11 D-loop'un mtDNA'da bulunduğu yer.....	30
Şekil 2.12 İnsanın ve hayvanların D-loop bölgelerinin karşılaştırması (Sultana ve Mannen 2004) .....	31
Şekil 2.13 Koyun mtDNA'sındaki D-loop bölgesi (Xingbo vd. 2001) .....	37
Şekil 2.14 Koyun mtDNA'sındaki D-loop yapıları (Zardoya vd. 1995) .....	38
Şekil 2.15 Keçi mtDNA'daki polimorfik D-loop bölgesi (Sultana ve Mannen 2004) ...	42
Şekil 2.16 A, B, C ve D haplogruplara ait keçi mtDNA'sındaki D-loop yapıları (Sultana ve Mannen 2004) .....	43
Şekil 3.1 Bosna Hersek haritası üzerinde canlı materyal örneklerinin alındığı yerler....	50
Şekil 4.1 Forward primer 5'- CTCACCATCAACCCCAAAGC -3' (YG-F) ve reverse primer 5'- TCATCTAGGCATTTTCAGTG -3' (YG-R) kullanılarak izole edilip çoğaltılan ve D-loop bölgesini içeren 1266 bp'lık bölgenin %2'lik agaroz jel elektroforezindeki görüntüsü.....	60
Şekil 4.2 mtDNA D-loop bölgesi bakımından Bosna Hersek Pramenka ve yabani keçi ırklar arasında nükleotit dönüşümlerinin beklenen miktarlarından elde edilen NJ ağacının görüntüsü.....	65
Şekil 4.3 mtDNA D-loop bölgesi bakımından karşılaştırma yapılan GenBank dizileri ve 12 Bosna Hersek Pramenka haplotipi kullanılarak MJ ağacı yöntemi ile çizilen network şeması. BHS 1 – BHS 12 (Bosna Hersek Pramenka haplotipleri). .....	66
Şekil 4.4 Forward primer 5'- CGTGTATGCAAGTACATTAC -3' (CAP-F) ve reverse primer 5'- CTGATTAGTCATTAGTCCATC -3' (CAP-R) kullanılarak çoğaltılan 663 bp'lık bölgenin %2'lik agaroz jel elektroforezi görüntüleri .....	67
Şekil 4.5 mtDNA D-loop HVR-1 bölgesi bakımından Bosna Hersek alaca keçi ve yabani keçi ırkları arasında nükleotit dönüşümlerinin beklenen miktarlarından elde edilen NJ ağacının görüntüsü .....	72
Şekil 4.6 mtDNA D-loop bölgesi bakımından karşılaştırma yapılan GenBank dizileri ve 16 Bosna Hersek alacalı dağ keçi haplotipi kullanılarak MJ ağacı yöntemi ile çizilen network şeması .....	73

## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1 Koyun taksonomisi (Rezaei vd. 2010).....	14
Çizelge 2.2 Bosna Hersek tüm yerli hayvan ırkları .....	22
Çizelge 2.3 Koyun mtDNA genomunun organizasyonu (Hiendleder vd. 1998).....	36
Çizelge 2.4 Keçi mtDNA genomunun organizasyonu (Parma vd. 2003).....	41
Çizelge 3.1 Çalışmada kullanılan Bosna Hersek yerli ırklar ve örnek sayısı .....	49
Çizelge 3.2 Araç ve gereç listesi .....	51
Çizelge 3.3 Çalışmada kullanılan tampon çözeltilerin miktarı/molarite ve içerikleri .....	52
Çizelge 3.4 Örnek Başına 0.2 ml'lik PCR Tüplerine Konulan Malzemeler ve Miktarları.....	56
Çizelge 3.5 Koyun PCR Protokolü .....	56
Çizelge 3.6 Örnek Başına 0.2 ml'lik PCR Tüplerine Konulan Malzemeler ve Miktarları.....	57
Çizelge 3.7 Keçi PCR Protokolü.....	58
Çizelge 4.1 Bosna Hersek yerli koyun ve keçi ırklarının izole edilen DNA örneklerinin derişim ve saflık değerleri .....	59
Çizelge 4.2 Bosna Hersek yerli Pramenka koyunlarında mtDNA D-loop bölgesi bakımından tespit edilen haplotipler .....	62
Çizelge 4.3 mtDNA D-loop bölgesi bakımından GenBank ve Bosna Hersek Pramenka haplotiplerine ait beklenen genetik uzaklıklar .....	64
Çizelge 4.4 Bosna Hersek Alaca dağı keçisinde mtDNA D-loop'un HVR-1 bölgesi bakımından tespit edilen haplotipler.....	69
Çizelge 4.5 mtDNA D-loop'un HVR-1 bölgesi bakımından GenBank ve Bosna Hersek Alaca keçi haplotiplerine ait beklenen genetik uzaklıklar .....	71

## 1. GİRİŞ

Günümüz dünyasında biyolojik varyasyona sahip hayvansal genetik kaynakların korunması gelecek kuşaklar için büyük önem taşımaktadır. Bu varyasyona, bazı kaynaklarda, populasyonlar arası söz konusu olduğunda çeşitlilik, populasyon içi söz konusu olduğunda polimorfizm de denmektedir (Hartl ve Clark 2007). Genetik varyasyon terimi canlı türlerin kalıtsal bilgilerinin zenginliğini ifade etmektedir. Biyolojik varyasyonun korunması herhangi bir ülkenin değil tüm dünyanın mevcut varlıklarından birisinin korunması anlamına gelmektedir. Buna bağlı olarak ırklar arasındaki farklılıklar genetik varyasyon bakımından çok önemlidir.

Günümüzde bu biyolojik ve genetik varyasyonlar, tür, ırk ve gen düzeyinde azalma veya yok olma nedeniyle giderek önemli ölçüde azalmaktadır. Bu azalma bütün ökaryotik organizmalarda söz konusu olmakla birlikte bu tezde, tezin konusu icabı, hayvancılık ele alınacaktır. Hayvancılıkta bu azalmaya neden olan önemli faktörler olarak ekonomik, sosyal ve çevresel gelişmelerin çeşitli düzeylerde entansifleşmeyi zorunlu kılması, kültür ırkları lehine yapılan seleksiyonlar ile az girdi ile yetişebilen ancak düşük verimli olan yerli ırkların yerini hızla kültür ırklarının alması gösterilebilir. Şu an dünyada yaklaşık 40 hayvan türünün %30'dan fazlası özellikle gelişmekte olan ülkelerde yetersiz yararlanma nedeniyle yok olma riski taşımaktadırlar. Bu durumun ise yakın gelecekte dünya tarımını çok olumsuz yönde etkileyeceği tahmin edilmektedir. Bu nedenle dünyada özellikle son yıllarda hayvan gen kaynaklarını koruma konusundaki çalışmalarda hızlı bir artış gözlenmektedir (Ertuğrul vd. 2010).

Ayrıca bu yerli hayvansal gen kaynaklarının korunmasının yanı sıra kayıt altına alınması, tanımlanması, sürdürülebilir kullanımı ve bu konuda toplumsal bilincin sağlanması önemlidir. Buna bağlı olarak hayvan genetik kaynaklarının, yani genetik varyasyonun korunması ile ilgili fırsat ve tehditlerin değerlendirilmesi gerekmektedir. Bu yüzden birçok ırkın çeşitli verim özellikleri yönünden tanımlanması çalışmaları devam etmektedir. Yerli (endemik) hayvan populasyonlarının modern ırklarla rekabet

edebilmeleri için kültürel ırklardaki gen kombinasyonlarına sahip olmaları çok önemlidir.

Günümüzde koyun ve keçi yetiştiriciliği, sahip olduğu özellikler nedeni ile tarımda çok sayıda ve çeşitli yararlar sağlamaktadır. Pek çok çalışmadan edilen bilgilere göre koyun (*Ovis aries*) ve keçi (*Capra hircus*) yaklaşık 11.000 yıl önce evcilleştirilmiş ve köpekten sonra evciltmiş ilk hayvan türünün koyun olduğu bulunmuştur (Pariset vd. 2011, Ryder 1984). Genelde hayvan evciltmesi sayesinde 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. Böylece gelişmenin sonucu olarak toplumların nüfusu artmış ve yeni çevrelere yayılabilir hale gelmiştir. İnsanların kültürel evrimini de önemli biçimde etkileyen evciltme Neolitik devrim içinde atılan ilk adım olmuştur (Child 2006).

Koyun ve keçi yetiştiriciliğinin insanların ilk hayvansal üretim alanı olduğu bildirilmektedir (Zeder 2008). Evcil koyunların (*Ovis aries*) kökeni üç temel yabani koyundan oluşturmaktadır. Bu yabani koyunlar Muflon, Arkar (Urial) ve Argali adları ile bilinmektedir. Bu yabani koyunlar halen orijinal yetişme bölgelerinde yaşamaktadır. Muflonun, Asya (*Ovis orientalis*) ve Avrupa Muflonu (*Ovis musimon*) olmak üzere iki varyetesi vardır. Asya Muflonuna Kafkasya'nın bazı bölgelerinde, Avrupa Muflonuna ise Sardunya ve Korsika adalarında bugün dahi rastlanmaktadır. Ayrıca, keçilerin kökeninin üç veya beş temel keçiden geldiği düşünülmektedir. Bazı araştırmalarda evcil keçilerin (*Capra hircus*) kökeninin üç türden *C. aegagrus*, *C. falconeri* ve *C. prisca* olduğu belirtilmektedir (Yarkın 1965). Diğer bazı araştırmalara göre ise evcil keçi, beş yabani keçi türünden köken almaktadır. Bu beş yabani keçi türü *C. ibex*, *C. prisca*, *C. caucasica*, *C. aegagrus* (Bezoar) ve *C. falconeri* (Markhor)'dir (Batu 1951).

Bugün dünyanın çeşitli bölgelerinde ve birbirinden oldukça farklı çevre koşullarında 1400'den fazla koyun ırkı, 580'den fazla keçi ırkı olduğu bilinmektedir (Anonymous 2000b). Uluslararası düzeyde gen kaynaklarının korunması çalışmaları FAO tarafından

kontrol edilmektedir. Yalnızca son yüzyılda Avrupa’da hayvan ırklarının %18’i kaybedilmiş olduğu için çok büyük bir tehditle karşı karşıya bulunmaktadır. Bunun yanında gelecek 20 yılda yok olma riskinin %40 olacağı varsayılmaktadır. Son yıllarda dünyada yapılan ıslah çalışmalarının birçok ırkın gen havuzunu daralttığı veya tamamen yok ettiği belirlenmiştir. Endemik türlerin içinde varyasyonunun kaybedilmesi, ekonomik, ekolojik, bilimsel ve toplumsal etkileri bakımından da önemlidir.

Hayvan gen kaynaklarının kaybolmasına karşı FAO aracılığıyla DAD-IS (*Domestic Animal Diversity Information System*) veri tabanlı program, SoWAnGR (*State of the World’s Animal Genetic Resources*) belgelemesi için koruma programı başlatmıştır (Anonim 2000a; Lawson Handley vd. 2007). Ayrıca, MoDAD (*Measurement of Domestic Animal Diversity*), Çiftlik Hayvanları Genetik Farklılığı Ölçüm Sistemi de kurulmuştur. Bu sistem genetik varyasyonun ve farklılığın ölçümü için çalışmalar başlatmıştır. Bu iki sistem, Hayvan Gen Kaynakları Küresel Strateji Programı (*The Global Strategy For Farm Animals Genetic Resources*) ile beraber uluslararası düzeyde koordine edilmektedir (Anonymous 2000b). 2000 yılında FAO tarafından hayvan genetik kaynaklarının risk durumlarının sınıflandırması yapılmıştır. Bu sınıflandırmaya göre ırklar, yok olmuş ırklar, kritik durumda ırklar, yok olma tehlikesi altında ırklar, yok olma sınırında ırklar, risk durumu olmayan ırklar ve durumu bilinmeyen ırklar olarak risk gruplarına ayrılmıştır.

Öte yandan, Avrupa’da Hayvan Gen Kaynakları Koruma Ulusal Programı aktif bir biçimde yürütülürken Bosna Hersek’te bu program aktif olmayıp henüz hazırlanma aşamasında bulunmaktadır. Bosna Hersek’te çevre koşullarına yüksek uyum sağlamış endemik hayvan ırkları bulunmaktadır. Bu hayvanlar buldukları çevrenin koşullarına yüksek uyum sağladıkları için hastalıklara karşı dirençlidirler. Bosna Hersek’teki yerli hayvanların varlığı günden güne azalmaktadır. Bu yerli (endemik) hayvan ırklarının çoğu yok olma tehdidi altındadır. Bu yüzden acil olarak Bosna Hersek yerli hayvan ırklarının genetik yapısını incelemek gerekmektedir. Bulunan sonuçları karşılaştırmalı olarak değerlendirmek gerekmektedir. Bosna Hersek’te bu hayvan popülasyonlarının değerlendirilmesi için bunların genetik yapılarının ve mevcut ırkların karşılaştırmalı

olarak iyi araştırılması gerekmektedir. Bu yerli ırklar ekonomik, bilimsel, kültürel ve ekolojik nedenlerle koruma altına alınmalıdır.

Bu araştırmada Bosna Hersek yerli koyun ve keçi ırklarındaki mitokondriyal DNA D-loop bölgesinin varyasyonları (*polimorfizm*) incelenmiştir. Başlangıçta DNA üzerinde yapılan genetik varyasyona ilişkin çalışmalar, hayvanların genetik yapılarının belirlenmesi ve evrim çalışmalarında önemli ipuçları ortaya koymuştur. Bu anlamda mitokondri organeli üzerinde mitokondriyal DNA ile ilgili birçok bilimsel araştırma halen devam etmektedir. Bu mitokondri organelinde bulunan mitokondriyal DNA'nın keşfedilmesi genetik biliminin gelişmesine çok önemli katkılar sağlamıştır.

Mitokondriyal DNA anasal (*maternal*) kalıtım modeline sahip olmasıyla çekirdek genomundan bağımsız olarak generasyonlar boyunca tek bir ebeveynden aktarılmaktadır. Ayrıca **mitokondriyal** DNA çekirdek DNA'dan ayrı özelliklere sahip olup replikasyonu, çekirdek DNA polimerazından farklı bir DNA polimeraz enziminin etkisi ile olmaktadır. Mitokondri genomunda intronlar olmadığı için intronun yerinde küçük intergenik aralıklar vardır. Bu intergenik ayırıcılar okuma çerçevelerinde bazen üst üste gelebilmektedir.

Sonuç olarak mitokondriyal genom çok verimli bir şekilde düzenlenmektedir. Mitokondriyal DNA'nın anasal kalıtım göstermesi, haploit ya da mitotip yapısı ve hızlı evrim oranı ile rekombinasyon eksikliği yüzünden filogenetik analiz markeri olarak kullanılmaktadır. Dolayısıyla moleküler sistematiğe en çok kullanılan markerlardan biridir. Tüm bu özelliklerinden dolayı mtDNA molekülü fonksiyonel ve filogenetik olarak çok sayıda genin var olduğu tek bir bağlantı grubundan meydana gelmiş süper gen olarak tanımlanmaktadır. Mitokondriyal DNA genotipleri moleküler klonlar, mitotipler (*mitotypes*) ya da haplotipler (*haplotypes*) olarak tanımlanmaktadır. Mitotip kavramı, "*mitochondrial genotype*" kelimelerinin kısaltılması ile türetilip sadece mitokondriyal genom bakımından genotipi ifade etmektedir. Ancak haplotip kavramı mitotip kavramından daha geniş anlamda kullanılmakta olup mitokondriyal özellikler bakımından genotiplerin tanımlanmasında kullanılmaktadır (Özdil 2007).

Temel olarak hayvansal mitokondriyal genom çift iplikli, halkasal bir DNA'dır. Mitokondriyal DNA 37 geni içermektedir. Bu genler şunlardır: 22 transfer RNA (tRNA) geni, 2 adet ribozomal RNA (rRNA) geni (ribozomun büyük ve küçük alt birimleri) ve 13 adet mesajcı RNA (mRNA) geni, protein kodlayan genler veya solunum zincirindeki yapısal proteinler olarak da bilinmektedir (Kvist 2000). Bu genlerin ifadesi, hayvanlarda enerji üretimi, metabolizma, hücrel homeostasis ve apoptosis ile diğer işlevler için gereklidir. Yani hayvansal mitokondriyal DNA mitokondride işlev gören bazı proteinleri şifrelediği gibi mitokondrinin protein sentez makinesinin bazı bileşenleri için de şifre taşımaktadır.

Mitokondriyal DNA farklı hızlarla evrimleşen farklı bölgelere sahiptir. Ayrıca mtDNA çift iplikli olarak kendi başına replike olabilen hafif (L) ve ağır (H) iplikten oluşmaktadır. mtDNA üzerinde bulunan farklı bölgelerden biri ağır (H) ipliğin replikasyon orijinini ve diğeri her iki ipliğin (*hafif ve ağır iplikler*) promotör bölgelerini barındıran mtDNA Kontrol Bölgesi (D-loop bölgesi)'dir. Bu bölge, herhangi bir enzim ya da protein karşılığı olmayan bir bölge olmasına bağlı olarak, mitokondriyal genomun diğer kısımlarından 3-5 kat daha hızlı evrimleşmektedir (Brown vd. 1982, Wenink vd. 1994).

Özetle koyunlar ve keçilerle ilgili filogenetik çalışmalarda mitokondri DNA'sı, türlerin coğrafi dağılımına göre farklılıklar göstermesi, genomik DNA'ya oranla daha hızlı evrimleşmesi, rekombinasyon olmayışı ve ana tarafından kalıtmalı olması gibi özelliklerinden dolayı sıklıkla tercih edilen belirteçlerden birisidir (Çınar 2010). Şimdiye kadar filogenetik analizler sayesinde koyunların haplogrup kimliği üzerinde birçok mtDNA çalışmaları yapılmış ve koyunlarda beş mitokondriyal haplogrubun varlığı ortaya koyulmuştur. Bunlar A, B, C, D ve E haplogubudur. Ayrıca, keçilerde yedi farklı mitokondriyal haplogrubların olduğu bilinmektedir. Bunlar A, B, C, D, E, F ve G haplogrublarıdır.

Bosna Hersek'teki yerli koyunlar ve keçilerle ilgili yapılmış çalışmalarda mitokondriyal DNA'lar (mtDNA) üzerindeki D-loop bölgesine rastlanmadığı için bu çalışmada D-loop

varyasyonu incelenmiştir. Bu çalışmada Bosna Hersek endemik koyun ve keçi ırklarının haplogrupları belirlenmiştir. Özgün olduğu düşünülen bu çalışmanın Bosna Hersek'e hayvancılık alanında ve çalışma yapan araştırmacılarımız bilimsel açıdan yararlı olması beklenmektedir.

## 2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ÖZETLERİ

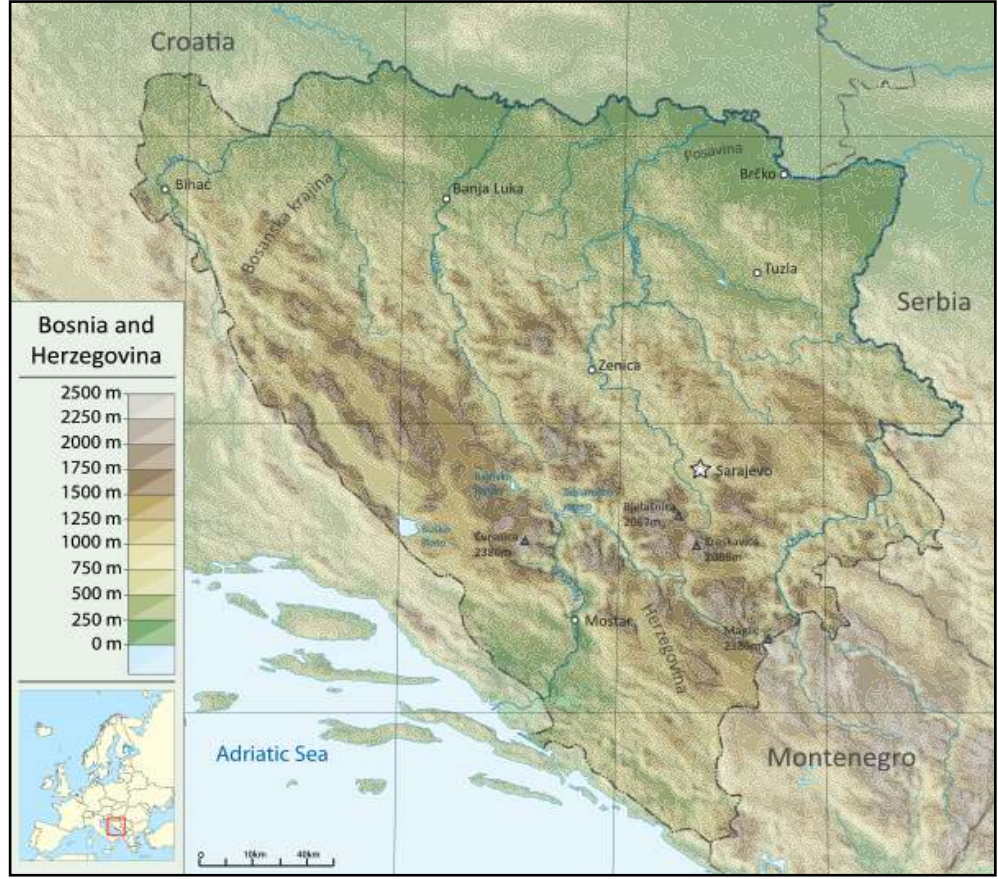
### 2.1 Bosna Hersek'te Tarım

Bosna Hersek, Avrupa'nın güneyinde bulunan 51.209 km<sup>2</sup>'lik yüzölçüme sahip bir ülkedir. Aşağıda şekil 2.1'deki haritada Bosna Hersek'in Avrupa'da bulunduğu yer gösterilmiştir (<http://kcm.co.kr> 1997).



Şekil 2.1 Bosna Hersek'in Avrupa'da yerleşimi

Bosna Hersek'in büyük bölümü dağlık ve ormanlık yapıda olup ülkenin büyük bir bölümü hayvansal tarım üretimine uygundur. Ülkenin kuzeybatı bölgesinin yanı sıra nehirler üzerindeki vadilerde ve Hersek bölgesinde bitkisel üretimi yapılmaktadır. Bu bölgede tarımsal ürün olarak buğday, yulaf, arpa, mısır gibi, bakliyat, yem, kök ve yumrulu bitkiler, tütün, üzüm ve diğer meyve ve sebze ürünleri yetiştirilmektedir. Bosna Hersek'in kuzeyinde ılımlı karasal iklimi, ortasında dağ iklimi ve güneyinde ise Akdeniz iklimi görülmektedir. Ülkenin güneyinde meyve sebze üretimi Akdeniz iklimi sayesinde çeşitlilik arz etmektedir. Şekil 2.2'de Bosna Hersek'in dağlık haritası üzerinde irtifaları gösterilmiştir (<https://hr.wikipedia.com> 2011).



Şekil 2.2 Bosna Hersek'in dağlık haritası üzerinde irtifalar

Genel olarak Bosna Hersek topraklarının %50,3'ü tarımsal arazi, %48,3'ü ise ormanlarla kaplıdır. Tarımsal arazinin ise %62'si ekilebilir durumdadır. Tarımsal arazinin yaklaşık %56'sı çayır ve otlak, %40'ı işlenebilir arazi ve %4'ü ise meyve bahçeleri ve bağlardan oluşmaktadır (www.btso.org.tr 2013). Buna göre denilebilir ki, ülkede çayır mera ve otlaklar çıktıktan sonra geriye kalan tarım arazisi yaklaşık 1,5 milyon hektardır. Bunun yanında Bosna Hersek'te bol bol temiz ve kolayca erişilebilen zengin yeraltı ve yerüstü su kaynakları bulunmaktadır.

Bosna Hersek'teki tarımsal potansiyelin kısmen kullanılabildiği düşünülmektedir. Bunun önemli sebeplerinden biri sektörün finansal kaynak ihtiyacıdır. Çünkü sektörde tarımsal üretimin eski teknoloji ve araç gereçlerin yenilenmesi ihtiyacı olup tarım sektörünün mevcut yapısının iyileştirilmesi konusunda yatırım yapılması gerekmektedir. Eskiden beri sınırlı miktarda ve modern olmayan yöntemlerle yapılan

bitkisel ve hayvansal üretim, yaşanan savaş sırasında önemli oranda azalma göstermiştir. Özellikle hayvan varlığında büyük gerileme yaşanmıştır. Bunlara rağmen bugün modern tarım teknikleri ile üretim yapmak, tarımda ileri ülkelerin seviyesine ulaşmak için çaba harcanmaktadır (www.btso.org.tr 2013).

Bosna Hersek'in tarım sektöründe hayvancılık ilk sırada yer almaktadır. Bu ülke doğal koşullar itibariyle hayvancılık için elverişli şartlara sahiptir. Savaştan önce hayvancılık önemli ölçüde gelişmiştir. Ancak hayvancılık sektörü savaş yıllarında gerilemiş olup yeniden toparlanması hedeflemektedir. Bosna Hersek'te hayvancılık ve et sektörü savaşta büyük darbe almış olmasına rağmen altyapı ve bilgi birikimi halen mevcuttur. 2008 yılı itibariyle tarımsal ürünlerin satış değerinin %21'ini bitkisel ürünler oluştururken, %79'unu hayvancılık ürünleri oluşturmaktadır (Küçükkiremitçi vd. 2010). Özellikle, 2014 yılından itibaren Bosna Hersek hayvancılık sektöründe önemli gelişmeleri kaydedilmiştir. Bosna Hersek'in Türkiye'ye 15 tonluk et ihracat etmesinin yanı sıra süt ve süt ürünleri Avrupa Birliği'ne sınırsız miktarda ihracat edilmeye başlanmıştır.

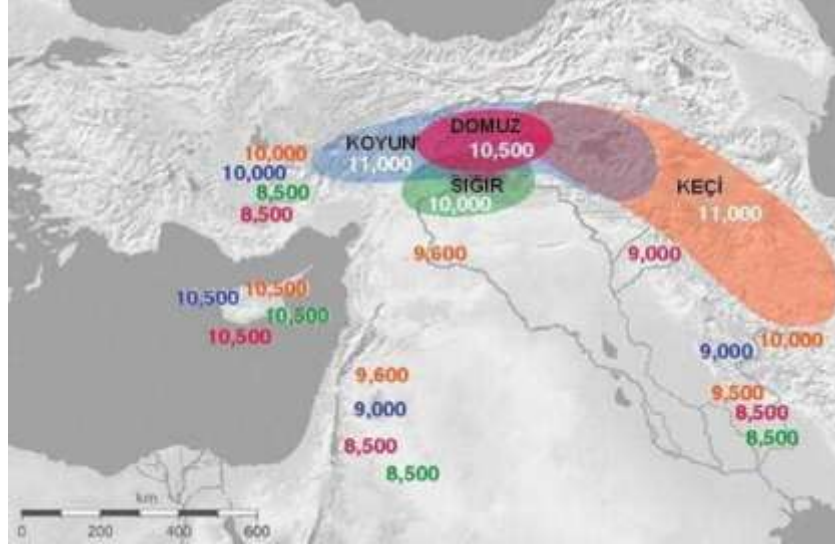
Aslında Bosna Hersek'te hayvancılığın toplam tarımsal üretimdeki payının %50 dolaylarında olduğu varsayılmaktadır. Ülke topraklarının büyük bir kısmı (özellikle su kaynakları açısından zengin olan dağlık orta kesim) yem, otlaklar ve iklimsel koşullar göz önüne alındığında büyükbaş ve küçükbaş hayvancılık, et-süt ve çiftlik üretimi açısından uygundur. Ancak, hayvancılıkta da mevcut potansiyelin yeterince kullanılmadığı düşünülmektedir. Ülkede savaş öncesi dönemde tamamı devlet kontrolünde yaklaşık 970 bin civarında olan büyükbaş hayvan sayısı savaş nedeniyle 200 bin civarına düşmüş ve buna paralel olarak et ve süt üretiminde de çarpıcı düşüşler yaşanmıştır. Hayvancılığın yeniden yapılandırılmasına yönelik olarak savaş sonrası dönemde aktarılan finansman ile özellikle 2003 yılından sonra keçi haricinde tüm hayvan cinslerinde sayıca artış kaydedilmiştir (Küçükkiremitçi vd. 2010). Hayvancılık, Bosna Hersek'te hızlı bir gelişme göstermesine rağmen istenilen düzeye ulaşamamıştır.

Özet olarak Bosna Hersek iklimi, topografyası ve bitki örtüsü, koyun ve keçi yetiştiriciliği için çok elverişlidir. Bosna Hersek'in hayvancılığında ağırlıklı olarak küçükbaş hayvan yetiştiriciliği yapılırken, büyükbaş hayvan yetiştiriciliği de önem

tasımaktadır. Bosna Hersek küçük süt işletmeleri ve peynir-yoğurt tesislerinin (mandıraların) yanı sıra büyük büyükbaş hayvan çiftlikleri, koyun-keçi sütü işleyen tesisler kurulmasına çok uygundur. Buna bağlı olarak ilerdeki zamanda büyük hayvan çiftlikleri kurulması planlanmaktadır. Planlanan projeler başlıca keçi, sığır, koyun ve tavuk çiftlikleriyle ilgilidir.

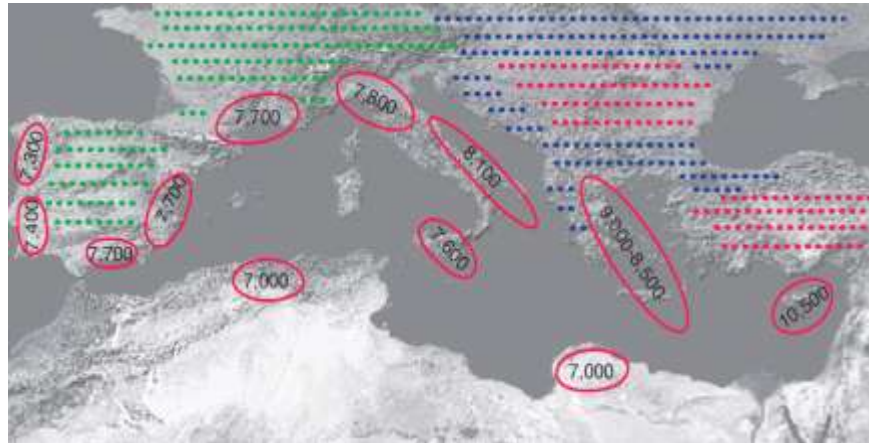
## **2.2 Koyun ve Keçi Evcilletirilmesi**

Dünyada koyun ve keçi birçok özellikleri nedeniyle önemli yere sahiptir. Bu hayvanların adaptasyon yeteneği yüksektir ve bu hayvanlar, insanların tüketimi için uygun hallerde et, süt, yapağı ve deri gibi çeşitli ürünlere dönüştürülebilmektedir. Ayrıca ekonomik anlamdaki öneminin yanında fizyolojik ve biyolojik özellikleri sebebiyle de büyük önem taşımaktadır. İnsanlık için dönüm noktalarından birisi sayılan “Evcilletirme”, Neolitik ağda, yaklaşık 11.000 yıl önce Verimli Hilal (*Fertile Crescent*) olarak bilinen topraklarda balamıtır (Zeder 2008). Çiftlik hayvanlarının evcilletirmesinde öncelikli olarak 4 türün adı geçmektedir. Bunlar sığır, domuz, koyun ve keçidir (ekil 2.3). Evcilletirme tarihleri yakın olmakla beraber koyun ve keçinin ilk evcilletiren türler olduğu bilinmektedir (Zeder 2008). Şekil 2.3’te koyunların ve keçilerin ilk evcilletirilme bölgeleri ve evcilletirilme zamanı görülmektedir.



Şekil 2.3 Koyun, keçi ve diğer evcil hayvanların ilk evcilleştirilme yerleri ve evcilleştirilme zamanı (Zeder 2008)

Şekil 2.3'de görüldüğü gibi koyun ve keçilerin ilk evcilleştirilmeleri Yakın Doğu'da bulunan bölgelerde gerçekleştirilmiştir. Bunların Verimli Hilal olarak bilinen Anadolu'dan Kuzey Batı İran'a kadar geniş bir alanında evcilleştirildiği düşünülmektedir. Ayrıca evcil koyunun (*Ovis aries*) yaklaşık 10.000 yıl önce ve evcil keçinin (*Capra aries*) ise yaklaşık 10.000 yıl önce yetiştirilmeye başlandığı bildirilmektedir (Luikard vd. 2001, Zeder 2008).



Şekil 2.4 Koyun, keçi ve diğer evcil hayvanların Tuna ve Akdeniz rotasıyla batıya doğru dağılımı ve evcilleştirilme zamanı (Zeder 2008)

Şekil 2.4'te koyun, keçi ve diğer hayvanların Neolitik dönemde evciltme bölgesinden, Tuna ve Akdeniz rotasıyla batıya doğru dağılımı ve evcilleştirilme zamanı görülmektedir.

### 2.2.1 Evcil Koyunun Taksonomideki Yeri

Koyunun sahip olduğu özellikler nedeniyle çok yararlı bir küçükbaş hayvan türü olduğu bilinmektedir. Günümüzde çoğu araştırmacılarca kabul edilen ortak görüşe göre evcil koyunun (*Ovis aries*) yaklaşık 11.000 yıl önce evcilleştirilmeye başlandığı düşünülmektedir. Ryder'in (1984) araştırmasına göre ise koyunun 8000 - 9000 yıl önce evcilleştirilmeye başlandığı gösterilmiştir. Sistematik koyun yetiştiriciliğine klasik dönemin başında Yunanlılar tarafından başlandığı düşünülmektedir (Boyoni 1983).

Tüm bu bilgiler ışığında evcil koyunun taksonomideki yeri de şu şekilde tanımlanmaktadır (Linnaeus 1758):

<b>Alem</b>	: Animalia	(Hayvanlar)
<b>Şube</b>	: Chordata	(Kordalılar, Sırt İplikliler)
<b>Alt Şube</b>	: Vertebrata	(Omurgalılar)
<b>Sınıf</b>	: Mammalia	(Memeliler)
<b>Alt Sınıf</b>	: Placentalia	(Yavru Zarlılar)
<b>Takım</b>	: Ungulata	(Tırnaklılar)
<b>Alt Takım</b>	: Artiodactyla (Paridigatata)	(Çift Tırnaklılar)
<b>Grup</b>	: Ruminantia	(Geviş Getirenler)
<b>Familya</b>	: Bovinae	(İçi boş boynuzlular)
<b>Alt Familya</b>	: Ovinae	(Koyunlar)
<b>Cins</b>	: <i>Ovis</i>	(Yabani ve Evcil Koyunlar)
<b>Tür</b>	: <i>Ovis aries</i>	(Evcil Koyun)

Günümüz evcil koyununun olası atası olabilecek yabani koyun populasyonları hala varlıklarını sürdürmektedirler. Koyunun kökeni henüz tam anlaşılmamıştır ve evciltirmesinin de kronolojik olarak sınırları tam olarak aydınlatılmamış olan üç aşamada gerçekleşmiş bir süreç olduğu düşünülmektedir (Öner 2010):

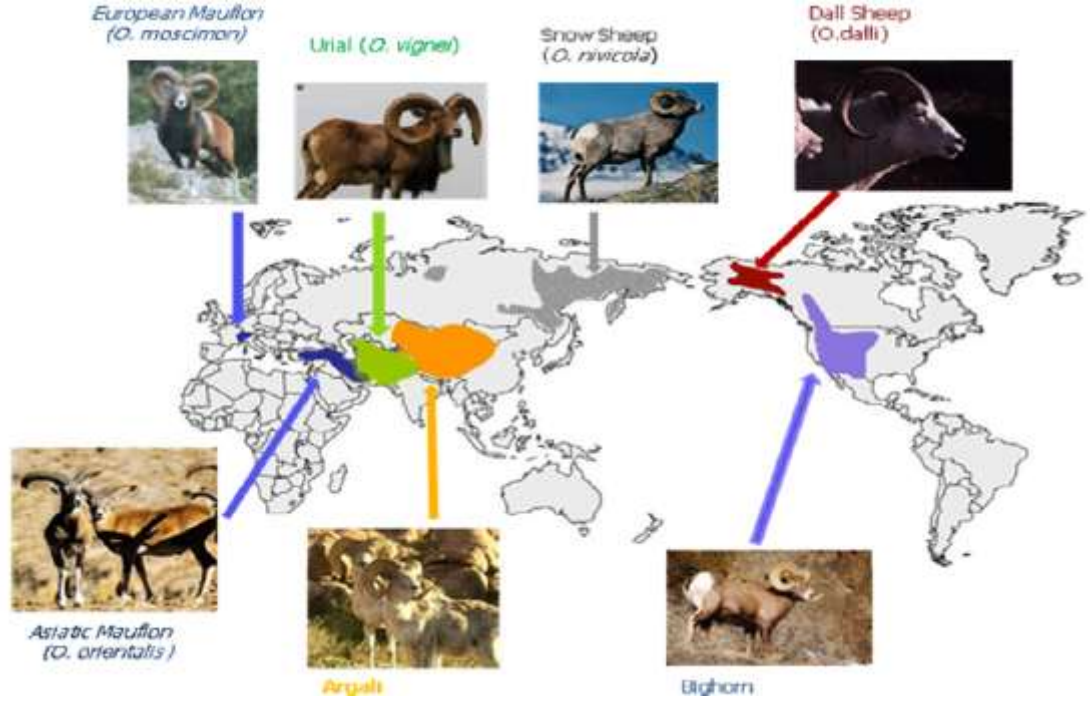
1. Senozoik zamanın sonunda yeryüzünde var olan ilk ruminant olarak kabul edilen *Gelocus*'dan köken alan büyük bir hayvan topluluğu ortaya çıkmıştır.
2. Buzul çağında bu ruminantların bir kısmı *Ovis* cinsine doğru farklılaşmıştır. Bazı araştırmacılar *Gelocus*'un *Caprinae* ve *Ovis*'in dahil olduğu *Ovinae* alt familyalarından oluşan *Bovinae* familyasına farklılaştığını bildirirken, Pipet ve Ruvinsky (1997) *Bovinae* familyasının dokuz alt familyadan oluşan bir grubuna (*Aepycerotinae*, *Alcelaphinae*, *Antilopinae*, *Bovinae*, *Caprinae*, *Cephalopinae*, *Hippotraginae*, *Peleinae* ve *Reduncinae*) dahil olduğu 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 vd. 2010). Aşağıdaki çizelgede çeşitli araştırmacılar tarafından oluşturulan koyunun taksonomisi gösterilmiştir.

Evrimsel ve sistematik açıdan en karmaşık memeli türü koyundur. Çünkü farklı kromozom sayılarına sahip yabani koyun populasyonları kendi aralarında çiftleştirilip fertil döller vermektedir (Nadler vd. 1973; Ryder 1984) (Çizelge 2.1).

Çizelge 2.1 Koyun taksonomisi (Rezaei vd. 2010)

Authors	2n	Tsalkın (1951)	Haltenorth (1963)	Nadler et al. (1973)	Valdez (1982); Wilson and Reeder (1993)Ö Shackleton and Lovari (1997)	Festa-Bianchet (2000)
<b>Dall Sheep</b>	54	<i>O.canadensis/ O. nivicola</i>	<i>O. ammon</i>	<i>O. dalli</i>	<i>O. dalli</i>	<i>O. dalli</i>
<b>Bighorn</b>	54	<i>O.canadensis/ O. nivicola</i>	<i>O. ammon</i>	<i>O. canadensis</i>	<i>O. canadensis</i>	<i>O. canadensis</i>
<b>Snow Sheep</b>	52	<i>O.canadensis/ O. nivicola</i>	<i>O. ammon</i>	<i>O. nivicola</i>	<i>O. nivicola</i>	<i>O. nivicola</i>
<b>Argali</b>	56	<i>O. ammon</i>	<i>O. ammon</i>	<i>O. ammon</i>	<i>O. ammon</i>	<i>O. ammon</i>
<b>Asiatic Mouflon</b>	54	<i>O. ammon</i>	<i>O. ammon</i>	<i>O. orientalis</i>	<i>O. orientalis</i>	<i>O. gmelinii</i>
<b>Urial</b>	58	<i>O. ammon</i>	<i>O. ammon</i>	<i>O. vignei</i>	<i>O. orientalis</i>	<i>O. vignei</i>
<b>European Mouflon</b>	54	<i>O. ammon</i>	<i>O. ammon</i>	<i>O. musimon</i>	<i>O. orientalis musimon</i>	<i>O. orientalis musimon</i>

Çizelge 2.1’de gösterilen Avrupa Muflon (*O.musimon*) ve Asyatik Muflon (*O.orientalis* veya *Ovis gmelinii*) Batı Asya ile Avrupa’da bulunmaktadır. Argali (*O.ammon*) Orta Asya’nın dağlık bölgelerinde, Urial (Arkar) (*O.vignei*) ise Anadolu’da, Dall koyunu (*O.dalli*) veya ince boynuzlu koyun olarak isimlendirilen yabancı koyuna ise Kanada’nın batısındaki dağlık bölgelerde ve Amerika’da rastlanmaktadır. Kalın boynuzlu (Bighorn) (*O.canadensis*) Kanada’dan Colorado’ya kadar olana kayalık bölgelerde ve güneyde Meksika’ya kadar uzanan bir bölgede dağılım gösterir ve en son olarak da Kar koyunu (Snow sheep) (*O. Nivicola*) genellikle kuzeydoğu Asya’da bulunmaktadır. Şekil 2.5’te yabancı koyunların dünya üzerindeki dağılımı görülmektedir.



Şekil 2.5 Yabani koyunların dünya üzerindeki dağılımı (Taberlet 2008)

Günümüzde evcil koyunun (*Ovis aries*) atası olabileceği ihtimali üzerinde en çok durulan Muflon (Avrupa Muflonu olarak bilinen *O. Musimon* ve Asyatik muflon *O. Orientalis* ve *Ovis gmelinii*), Urial (*O. vignei*) ve Argali (*O. Ammon*) olarak bilinen türlerdir. Bugünkü koyun ırklarının pek çoğu kökenini Urial (*O. vignei*)’dan almıştır. Şimdi dünyanın çeşitli bölgelerinde ve birbirinden oldukça farklı çevre koşullarında 1400’den fazla koyun ırkı yetiştirilmektedir. Rezaei ve ark. (2010) çalışmasına göre evcil koyunun (*Ovis aries*) kökeninin Urial (*O.vignei*), Argali (*O.ammon*) ve Muflon (*O.musimon* ve *O.orientalis*) atalarından büyük olasılıkla Muflon olduğu düşünülmektedir. Ayrıca bu üç yabani ata arasından Asyatik Muflon’un Avrupa’ya ilk giren evcil koyunların atası olabileceği tahmin edilmektedir.

### 2.2.2 Evcil Keçinin Taksonomideki Yeri

Keçiler eski çağlardan itibaren insan toplulukları için ekonomik ve kültürel amaçlarla kullanılmaktadır. Kültür yetiştiriciliğinde “küçükbaş hayvan” grubunda sayılan keçi eti,

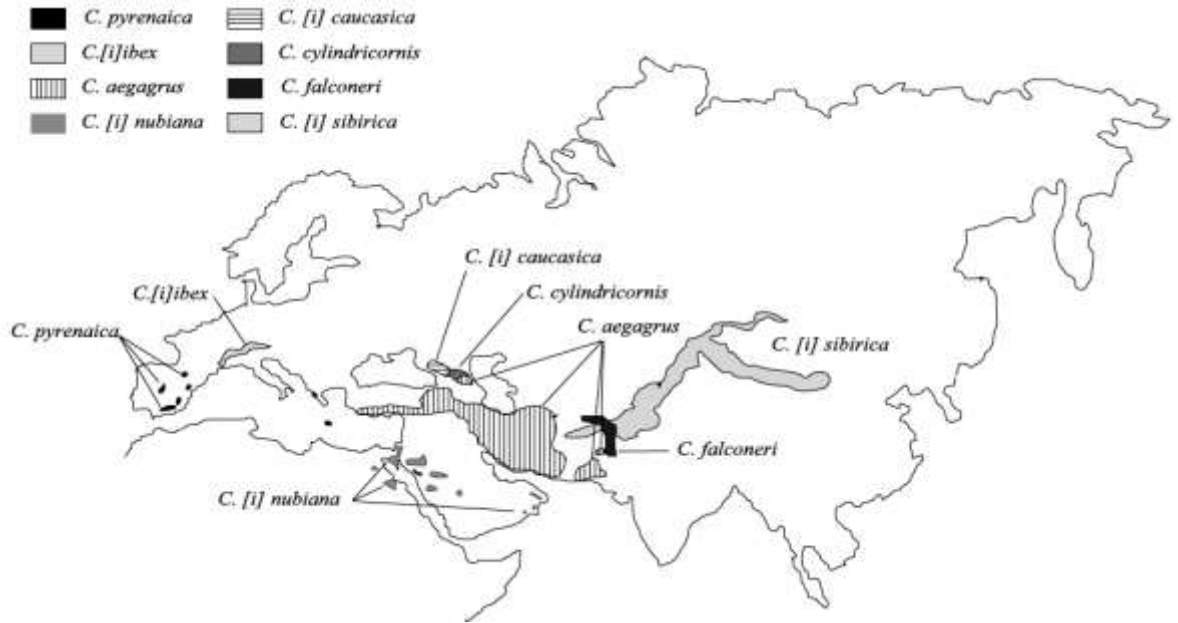
sütü, kılı ve derisinin kullanılabilmesi sebebiyle önemli bir çiftlik hayvanıdır. Keçinin taksonomik sınıflandırması aşağıda belirtilmiştir (Linnaeus 1758).

<b>Alem</b>	: Animalia	(Hayvanlar)
<b>Şube</b>	: Chordata	(Kordalılar, Sırt İplikliler)
<b>Alt Şube</b>	: Vertebrata	(Omurgalılar)
<b>Sınıf</b>	: Mammalia	(Memeliler)
<b>Alt Sınıf</b>	: Placentalia	(Yavru Zarlılar)
<b>Takım</b>	: Ungulata	(Tırnaklılar)
<b>Alt Takım</b>	: Artiodactyla (Paridigatata)	(Çift Tırnaklılar)
<b>Grup</b>	: Ruminantia	(Geviş Getirenler)
<b>Familya</b>	: Bovinae	(İçi boş boynuzlular)
<b>Alt Familya</b>	: Caprinae	(Keçiler)
<b>Cins</b>	: <i>Capra</i>	(Yabani ve Evcil Keçiler)
<b>Türler</b>	: <i>Capra aegagrus</i>	(Yaban Keçisi -Bezoar İbex)
	( <i>Capra hircus aegagrus</i> )	
	: <i>Capra caucasica</i>	(Batı Kafkas Tur'u)
	: <i>Capra cylindricornis</i>	(Doğu Kafkas Tur'u)
	: <i>Capra falconeri</i>	(Markhor)
	: <i>Capra ibex</i>	(Alpine İbex)
	: <i>Capra nubiana</i>	(Nubian İbex)
	: <i>Capra pyrenica</i>	(Spanish İbex)
	: <i>Capra sibirica</i>	(Siberian İbex)
	: <i>Capra walie</i>	(Walia İbex)
	: <i>Capra hircus</i>	(Evcil Keçi)

Keçilerin ilk ne zaman, nerede evcilleştirildiği ve hangi ırkların ilk olarak ortaya çıktığı konusundaki bilinmeyenler, arkeoloji ve genetik biliminin ortak katkıları ile hızla aydınlanmaya başlamıştır (Zeder 2008). Bu arkeoloji ve genetik bilgileri farklı belirteçlerden yararlanarak değerlendirilmektedir. Arkeolojik bilgiler morfolojik ve morfolojik olmayan belirteçler başlıkları altında toplanırken, genetik bilgiler moleküler

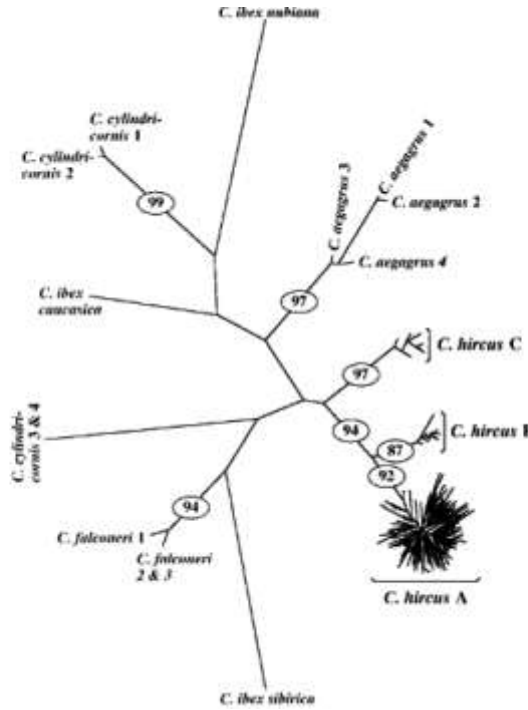
belirteçlerden yararlanılarak değerlendirilmektedir. Öncelikle, keçilerin boynuz morfolojisine göre yapılan ve yaygın olarak kabul gören klasik sınıflandırma sonuçlarına uyumlu sonuçlar alınamaması mitokondriyal DNA analizlerine yönelmesine sebep olmuştur.

Koyun yetiştiriciliğinin yanı sıra keçi yetiştiriciliğinin ilk hayvansal üretim alanlarından biri olduğu düşünülmektedir. Şekil 2.3’de görüldüğü gibi evcil keçinin Verimli Hilal olarak bilinen Yakın Doğu alanında yaklaşık 11.000 yıl önce evçilleştirilmeye başlandığını görülmektedir (Luikard vd. 2001, Zeder 2008). Bazı araştırmalara göre evcil keçilerin (*Capra hircus*) kökeni üç temel yabani keçiden oluşmaktadır. Bunlar *C. aegagrus*, *C. falconeri* ve *C. Prisca* (Yarkın 1965). Diğer araştırmalara göre ise evcil keçinin beş yabani keçi türünden köken aldığı gösterilmiştir. Bu beş yabani keçi türleri *C. ibex*, *C. prisca*, *C. caucasica*, *C. aegagrus* (Bezoar) ve *C. falconeri* (Markhor)’dur (Batu 1951). Şekil 2.6’ta zoolojik sınıflandırma ile *Capra* cinsine ait yabani keçilerin dünya üzerindeki dağılımı gösterilmiştir.



Şekil 2.6 Yabani keçilerin dünya üzerindeki dağılımı (Pidancier vd. 2006)

Buna ek olarak evcil keçilerin genetik yapısını araştıran en önemli genetik çalışma Luikart vd. (2001) tarafından yapılmıştır ve materyal olarak eski dünyadan (Avrupa, Asya, Afrika) 88 ırkı temsil eden örnekleri kapsamaktadır. Bu genetik çalışmasında Avrupa, Asya, Afrika, Ortadoğu ve Yakındoğu'dan 44 farklı şehirden toplanan 406 evcil ve 14 yaban keçisine ait materyaller incelenmiştir. Bu elde edilen verilerin keçilerde evciltmenin tarihi ve ırkların ortaya çıkışı için önemli bir kilometre taşı olduğu söylenmektedir. Bu çalışma mitokondriyal DNA'nın (mtDNA) en değişken bölgesinin dizi analizini kapsayıp coğrafi olarak ırklar arası ilişkilere bakılmıştır. Bunun yanında mtDNA haplogruplarının ilk farklılaştığı zamanı hesaplamak için tüm Cyt b geninin dizi analizi yapılmıştır. Çalışma sonucunda belirlenen 3 haplogrubun (A, B ve C) 200.000 yıl önce birbirlerinden farklılaştıkları ve bundan binlerce yıl sonra evciltmeye farklı zamanlarda, farklı yerlerde katılarak yayılım gösterdiklerini belirlemişlerdir (Luikart vd. 2001).



Şekil 2.7 Keçide mtDNA haplotipleri ve komşu birleştirme analizleri (NJ) (Luikart vd. 2001)

Bu şekilde görülen büyük yıldız-şekilli küme (*C.hircus A*) 316 mtDNA tipini içermektedir. Daha küçük olan diğer iki hat ise (*C.hircus B ve C*) sırasıyla, sadece 8 ve 7 mtDNA tipi içermektedir. *C.hircus B* sadece Doğu ve Güney Asya'da görülürken, *C.hircus C* Moğolistan, Slovenya ve İsviçre'den alınan örneklerde görülmüştür. Evcil keçiye en yakın yaban keçisi *C. aegagrus* olarak belirlenirken (ortalama 61,3 baz değişimi), ikinci benzer dizin *C. cylindricornis*'de (ortalama 84,5 baz değişimi) görülmüştür. Elde edilen veriler, keçinin birden fazla anasal orjinden köken aldığı (parafiletik) ya da ilk evciltmenin ardından diğer haplogrupların introgresyonu (gen havuzuna dahil olma) olduğu düşüncelerini pekiştirmektedir (Çinar-Kul 2010).

Bu bulgular ışığında yanlış eşleşme dağılım analizi de yapılmış ve bu sonuçlardan hareketle introgresyon sırası için bir varsayım üretilmiştir (Çinar-Kul 2010). Bu varsayıma göre 10.000 yıl önce ilk evciltmenin A haplogrubundan bir dişi hayvanla başladığı, bundan 6000 yıl sonra C haplogrubu ve 2000 yıl sonra da B haplogrubundan dişi hayvanların evciltmeye dahil edildiği düşünülmektedir. Ayrıca yine bu çalışmaya göre, genetik çeşitliliğin daha çok ırklar içinde olması ve coğrafi farklılık göstermemesi, keçilerin kıtalar arası yoğun bir şekilde yer değiştirmelerinin bir sonucu olabileceği şeklinde yorumlanmıştır (Çinar-Kul 2010). Sığırlarda toplam mtDNA varyasyonunun % 84'ü kıtalararası farklılıktan gelirken, bu değer keçilerde sadece %10'da kalmaktadır.

Ancak bu önemli araştırmada varılan bir diğer sonuç da, özellikle evciltme bölgesinden yapılan örnekleme sayısının artırılması durumunda keçilerde evciltmenin tarihini değiştirebilecek sonuçlara varılabileceğidir (Luikart vd. 2001). Bu önemli çalışmanın ardından evcil keçi ırklarında A, B ve C haplogruplarına ek olarak Joshi vd. (2004) tarafından D haplogrubu, Sardina vd. (2006) tarafından F haplogrubu, Naderi vd. (2007) tarafından G haplogrubu olduğu da bildirilmiştir. Ancak bu haplogrubu taşıyan örnek sayıları yetersiz olduğu için, gen havuzuna introgresyon zamanının hesaplanmasında kullanılan uyumsuzluk dağılım analizinden tutarlı sonuçlar alınamamıştır (Naderi vd. 2007).

Ayrıca Fernandez vd. (2006)'nin Fransa'da neolitik radyoizotop işaretleme ile tarihlendirdikleri ve Neolitik döneme ait olduklarını bildirdikleri yaban keçisi örneklerinde yaptıkları bir diğer çalışma da sunduğu bilgiler açısından ayrı bir öneme sahiptir. Bu çalışma ile adı geçen Neolitik göç rotalarından özellikle Akdeniz yoluyla olan dağılımın önemli olduğu ve ilk evciltmeye katkıda bulunan haplogrupların A ve C hatları olduğu hipotezi ortaya atılmıştır (Şekil 2.3). Fernandez vd. (2006) tarafından bulunan bu sonuç işaret ettiği iki nokta açısından önemlidir. Birincisi evciltmenin olası ilk merkezlerini ikiye indirmesidir (ya Türkiye ya da İran). Her iki bölgeden de Akdeniz yoluyla Avrupa'ya Neolitik göçler olmuştur. İkincisi ise diğer hatların evciltmeye katılması Avrupa'ya neolitik göçlerin olduğu dönemden sonradır. Çünkü Naderi ve arkadaşlarının (2007) ağırlıklı olarak A haplogrubunu ortaya koyduğu Güney Avrupa'da incelenen antik kemikler evcil keçi ırklarında görülmekte olan A, B, C, D, F ve G haplogruplarından sadece ikisini (A ve G) taşımaktadır. Bu haplogrupların daha sonra yine Türkiye ya da İran'daki evciltme merkezlerinde mi gen havuzuna katıldıkları yoksa Pakistan, Hindistan gibi diğer türlerin (sığır, manda vb.) evciltme merkezi olan bölgelerden mi dahil oldukları hala tam olarak net değildir. Naderi vd. (2007) tarafından yapılan çalışmada, Luikart vd. (2001) çalışmasında kullanılan ve sadece A haplogrubu bulunan ırklarda ayrıca D haplogrubunun da bulunduğu gösterilmiştir. Bu sonuç, daha fazla sayıda örnekleme çalışmanın önemini göstermesi açısından önemlidir (Çinar-Kul 2010).

### **2.3 Bosna Hersek'teki Yerli Hayvan Irkları**

Bosna Hersek'te çevre koşullarına yüksek uyum sağlamış yerli hayvan ırkları bulunmaktadır. Bunlar modern ırklarından daha düşük verim performansına sahiptirler. Bu Bosna Hersek yerli hayvanları buldukları çevrenin koşullarına yüksek uyum sağladıkları için hastalıklara karşı dirençlidirler. Bosna Hersek'te bu yerli hayvanların sayısı hızla azalmaktadır. Bu yerli hayvanlar hem ekonomik anlamda hem de genetik kaynak olarak önemli bir kullanım potansiyeline sahiptir. Bosna Hersek'te yerli hayvanların gen kaynağı olarak taşıdığı öneme ve bu konuda alınması gereken önlemlerin aciliyetine rağmen yerli hayvan ırklarının tanımlanmasına yönelik çalışmaların

yeterli olduğu söylenemez. Diğer taraftan Bosna Hersek yerli hayvan ırkları üzerinde yakın zamanlara kadar genetik çalışmalar yapıldığını söylemek de mümkün değildir. Ancak son zamanlarda bu yerli hayvan ırklarının gen kaynağı olarak taşıdığı önem göz önüne alınarak bunların genetik karakterizasyonuna yönelik çalışmalar yapılmaya başlanmıştır.

Yerli hayvan populasyonlarının önemi, modern ırklarda olmayan genlere sahip olmalarından kaynaklanmaktadır. Gelecekte de bu genlere sahip olabilmek için bu yerli hayvanların korunması gerektiği açıktır. Buna bağılı olarak Avrupa’da yerli hayvan ırklarının korunması için “Hayvan Genetik Kaynakları Koruma Ulusal Programı” vardır. Diğer birçok Avrupa ülkesinin aksine Bosna Hersek’te Hayvan Genetik Kaynakları Koruma Ulusal Programı hala hazırlanma aşamasında bulunmaktadır; yani aktif olarak yoktur.

Özet olarak Bosna Hersek’te bulunan yerli hayvanların varlığı günden güne azalmaktadır. Bugün Bosna Hersek yerli ırklarının çoğu yok olma tehtidi altındadır. Oysa bu yerli ırkların ekonomik, bilimsel, kültürel ve ekolojik nedenlerle koruma altına alınması gerekmektedir. Çizelge 2.2’de Bosna Hersek yerli hayvan ırklarının tanımlanması gösterilmiştir.

Çizelge 2.2 Bosna Hersek tüm yerli hayvan ırkları

Hayvan türü	Bosnian Native Breeds	Bosna Hersek endemik hayvan ırkları
Sığır	Busha and Gatcko cattles	Buşa ve Gatačko Sığır
Koyun	Pramenka sheep	Pramenka Koyunu
Keçi	Bosnian spotted goat	Bosna Hersek Boynuzlu Alaca Dağ Keçisi
At	Bosnian mountain horse	Bosna Hersek Dağlık Atı
Eşek	Bosnian donkey	Bosna Hersek Eşeği
Köpek	Torniak and Barak dogs	Tornyak ve Sert Kıllı Barak Köpekleri
Balık	Freshwater Trout and Glavatica fishs	Neretva'daki Tatlısu Alabalığı ve Glavatista Balığı

### 2.3.1 Bosna Hersek yerli koyun ırkı (Pramenka Irkı)

Bosna Hersek'te tüm endemik hayvanlar içerisinde Pramenka koyun ırkı en yaygın olanıdır. Pramenka koyunu Bosna Hersek'te çok değerli bir hayvan ırkıdır. Yerel dilde **pramen** kelimesi, bu dağ koyununun yapağı karakteristiği olarak kaba elyaf türü anlamına gelmektedir. Bosna Hersek yerli koyunlarındaki yünlerin en büyük kısmı beyaz veya nadiren siyah olmaktadır. Ayrıca, diğer vucut kısımları yani kafası ve ayakları tamamen siyah ya da az siyah olabilmektedir. Pramenka koyunları boynuzsuz, Pramenka koçları ise boynuzlu veya boynuzsuz olabilmektedir. Pramenka koyunlarının ortalama ömürlük 9 yıldır.

Pramenka koyun ırkının ülkenin dağlık alanlarda ve kırsal bölgelerde bir gelir kaynağı olarak çok önemli rol oynamaktadır. Pramenka koyunu düşük verimlilik performansına sahip olsa da süt kalitesi yüksektir. Bu yerli koyunlar Bosna Hersek'in Vlaşiç, Kupres ve Privor dağlarında bulunmaktadır (Şekil 3.1). Nadir olarak Hersek bölgesinde de rastlanmaktadır. Pramenka ırkının çoğuna Vlaşiç Dağı'nda rastlanmaktadır. Bazen

Vlaşıç'teki Pramenka koyununa Dubian Pramenka da denmektedir. Bu Bosna Hersek yerli koyunlarının sütünden Vlaşıç Dağı'nda bunların meşhr geleneksel peynirleri yapılmaktadır. Bugün Bosna Hersek'te bu yerli koyunların sayısı sadece birkaç bin olduğu için bu endemik ırkı tehlike sınırında olarak sınıflandırmaktadır. Yani bu ırkın populasyon genişliğinin hızlı bir şekilde azaldığını gösterilmiştir. 1939 yılında Bosna Hersek'te Pramenka koyununun sayı 4 milyon olmuştur. 1990 yılında ise bunların sayısı yaklaşık 1.3 milyon olmuştur. Bugün Pramenka ırkının toplamının bu sayının yarısına kadar olduğunu tahmin edilmektedir.



şekil 2.8 Bosna Hersek Pramenka Koyunu

### 2.3.2 Bosna Hersek yerli keçi ırkı

Bosna Hersek'in boynuzlu Alaca Dağ Keçisi yerli bir hayvan türüdür. Bu yerli ırkı dağlık yerel evre koşullarına çok uyum sağlamıştır. Bosna Hersek'in yerli keçi ırkı dağlık bölgelerin hayvanıdır. Ağaçların filizlerini yemek suretiyle beslenmektedir. Bunun süt verimleri azdır ve etleri orta kalitededir. Bu açıdan Bosna Hersek yerli keçilerin çok önemi yoktur. Bu yerli dağ keçi kötü yetiştirme koşullarına çok dayanıklıdır, oldukça küçük, hafif ve çok canlı bir ırktır. Bosna Hersek yerli keçileri iki renkli oldukları için Bosna Hersek yerli keçilerine Alaca Keçiler de denmektedir.

Bunların vücut rengi, hem beyaz renkte hem kırmızımsı gri veya açık siyah renk tonu arasında bir renkten oluşabilmektedir. Ayrıca, bunların erkekleri boynuzludur dişiler de boynuzlu ama biraz daha küçük ve ince boynuz yapısına sahiptirler.

Eskilerde ormanlara zarar verdiği için sayılarının azaltılması yoluna gidilmiştir. Ayrıca Bosna'da savaş sırasında bu yerli hayvan sayısında önemli oranda azalma gözlenmiştir. Günümüzde Bosna Hersek'te bu yerli keçilerin sayısı çok az olduğu için yok olmaya yaklaşmıştır. Yani bu keçi için durum Pramenka koyunlarından oldukça farklıdır. Bosna Hersek'in bazı bölgelerinde alacalı dağı keçisi yok olmuştur. Bugün Bosna Hersek yerli keçi ırkı çok kritik yok olma tehlikesi altındadır. Bu nedenle bu alacalı boynuzlu dağ keçisiyle ilgili çalışmalarda koruma öncesinde genotip gruplarının tanımlanması çalışmalarına önem verilmesi gerekmektedir.



Şekil 2.9 Bosna Hersek boynuzlu alaca dağ keçisi

## **2.4 Moleküler Genetik ve Filogenetik Çalışmalarında Kullanılan Yöntemler**

Aslında hayvan genetiği ya da kalıtım, genetik materyalin kalıtımı, varyasyonu ve hastalıklarla ilişkilerini inceleyen bir bilim dalıdır. Günümüzde moleküler ve diğer genetik alanlarında hayvansal hücreler üzerinde birçok araştırmalar yapılmaktadır.

Hayvansal hücrede toplam genetik materyal olarak genomik DNA'nın (nDNA) yanı sıra mitokondrielerde mitokondriyal genomu (mtDNA) bulunmaktadır.

Son yıllarda hayvan genetiği alanındaki önemli konulardan biri olarak yer alan mtDNA çalışmaları, araştırma yapan bilim insanı sayısının da artması ile birlikte ortaya çıkmıştır. mtDNA, genomik DNA ile karşılaştırıldığında son derece polimorfiktir. Bu mtDNA'ya ait varyasyonların incelenmesi tür düzeyinde veya daha alt düzeydeki ilişkilerin belirlenmesi bakımından çok önemlidir. Ayrıca populasyonlar arasındaki ilişkilere ve populasyonlarda bulunan varyasyona yönelik moleküler genetik yöntemlerle gelişen bilgisayar teknolojileri sayesinde incelenmesi mümkün ve kolay hale gelmiştir. Genetik çalışmalarda gözlenen varyasyonların, incelenen ırklar hakkındaki tarihi ve coğrafik bilgilerle uyumlu sonuçlar ortaya koyduğu bilinmektedir. Hayvan populasyonları içinde veya populasyonların arasındaki farklılıkların/benzerliklerin tespit edilmesi amacıyla DNA molekülü seviyesinde daha duyarlı yeni yöntemler geliştirilmiştir. Böylece moleküler genetik yöntemlerle belirlenen DNA polimorfizmleri için moleküler belirteçler kullanılmaya başlanmıştır.

Çeşitli araştırmacılar, RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*) ve mikrosatelit gibi moleküler genetik belirteçler kullanarak yerli koyun ırklarında bulunan genetik varyasyonu ve aralarındaki genetik ilişkileri incelemişlerdir. Ancak bu araştırmaların çoğunda az sayıda ırk ve az sayıda belirteç kullanıldığından elde edilen sonuçlar çelişkiler göstermektedir (Pedrosa vd. 2005, Meadows vd. 2007). Son zamanlarda hem yerli hem de evcil hayvan ırklarında mtDNA ve y-kromozomu belirteçleri kullanılarak çok sayıda önemli çalışma yapılmaktadır. Böylece tür düzeyinde veya daha alt düzeydeki ilişkilerin belirlenmesi bakımından mtDNA'ya ait varyasyonun incelenmesi çok önemlidir.

Sonuç olarak populasyonlar içi ve populasyonlar arası farklılıkların veya benzerliklerin tespit edilmesi amacıyla geliştirilen ve yaygın olarak kullanılan yöntemler arasında Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR, *Polymerase Chain Reaction*), Rasgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA (RAPD, *Random Amplified Polymorphic DNA*), Restriksiyon

Fragment Uzunluk Polimorfizmi (RFLP, *Restriction Fragment Length Polymorphism*), Tek Nükleotid Polimorfizmleri (SNPs, *Single Nucleotide Polymorphisms*), Çoğaltılmış Parça Uzunluk Polimorfizmi (AFLP, *Amplified Fragment Length Polymorphism*), Basit Dizilim Tekrarları (SSR, *Simple Sequence Repeats*), Ardışık Basit Tekrarlar (STR, *Simple Tandem Repeats*), mikrosatelitler (*microsatellites*) ve DNA dizi analizi (*DNA sequencing*) gibi yöntemler önemli olarak yer almaktadır.

DNA sekans analizi popülasyonların farklılaşmasında rol oynayan mutasyonları daha iyi ortaya koyabildiği ve mutasyon oluşum hızını kullanarak popülasyonların ayrıldığı zamanın hesaplanmasına katkı sağladığı için filogenetik çalışmalarda tercih edilmektedir (Öner 2010). Buna bağlı olarak filogenetik terimine sık rastlanmaktadır. Filogenetik terimi, bir türün ya da yüksek taksonomik grupların soy gelişimi, diğer gruplardan farklılaşması ve evrim geçmişi anlamında kullanılmaktadır. Böylece bir grubun Filogenisi denilince evrimsel tarihi kast edilmektedir. Filogenetik çalışmalarda mtDNA'nın D-loop ve cyt b bölgeleri üzerinde sıkça araştırmalar yapılmaktadır. mtDNA'nın cyt b bölgesi evcilleştirilmenin zamanını öğrenmek için kullanılmaktadır.

## **2.5 Mitokondriyal DNA (mtDNA) ve D-loop Bölgesi**

Mitokondri organeli hemen hemen bütün ökaryotik hücrelerde ve ökaryotik mikroorganizmalarda bulunmaktadır. Bakterilerde, eritrositlerde ve yeşil alglerde mitokondri yoktur. Genel olarak mitokondriler 10-20 gün arasında yaşar. Bu organel hücre sitoplazmanın her yerinde bulunmaktadır. Mitokondri organeli, 1.5 milyar yıl önce serbest yaşayan bir aerobik bakteriden evrimleşip, anaerobik bir konukçu hücreye girmiştir. Dolayısıyla başlangıçta simbiyotik yaşayan prokaryotik bir organizma olduğu sanılmaktadır. Simbiyoz ilişkide ortak yaşayan canlılar uzun süreler hatta ömür boyu birbirleriyle ilişki halinde kalmaktadır. Simbiyotik yaşam, evrimsel süreçte gerçekten önemli bir adımdır ve prokaryotlardan ökaryotların evrimine imkan vermiştir (*endosimbiyoz*). Böylece mtDNA'nın ökaryotik hücrelerde var oluşu *endosimbiyotik teoriyle* açıklanmaktadır. Mitokondri hücreye oksijen elde edilmesinden ve dolayısıyla enerji temininden sorumlu bir organeldir. Ayrıca bu organel, hücrenin enerji üretim

merkezi olarak kabul edilmesinin yanında hastalıklar ve yaşlanma ile ilgili olarak kendine has genomu nedeniyle önemli rol oynamaktadır (Griffiths vd. 2012).

Fonksiyonel durumuna göre sayı, şekil ve büyüklükleri devamlı değişmektedir. Mitokondride küçük halka şeklinde mtDNA bulunmaktadır. Başka bir deyişle, mitondriyal DNA yapısal olarak ökaryot DNA'sı gibi lineer değil, bakteri DNA'sı gibi halkasaldır. Mitokondriyal DNA'nın mitokondride birçok kopyası (2-12) vardır. Bu mitokondri genleri matriks bölgesinde bulunup mitokondrinin enerji üretme işlerini yerine getirebilmesi için ihtiyaç duyduğu genlerdir.

Mitokondriyal DNA çekirdek genomundan bağımsız generasyonlar boyunca tek bir ebeveynden aktarılmaktadır. Erkek ve dişi gametlerin zigota sitoplazma katkıları eşit olmadığı için dişi ebeveynin sitoplazmayla birlikte mitokondriyal DNA'sı kalıtılmaktadır. Spermin sitoplazma içermemesi ve mitokondrilerinin fertilizasyona katılmayan kuyruk kısmında toplanması nedeniyle, zigottaki mitokondriler sadece yumurtaya aittir. Anne tüm yavrularına mitokondriyal DNA'sını aktarırken sadece dişi yavrular bunu ikinci kuşağa aktarmaktadır. Sonuçta zigotta erkek ebeveyn mitokondriyal DNA'sı bulunmamaktadır. Bu nedenle mitokondriyal DNA sadece anne tarafından kalıtıldığı için mtDNA'nın kalıtım modeline *anasal (maternal) kalıtım* modeli denmektedir.

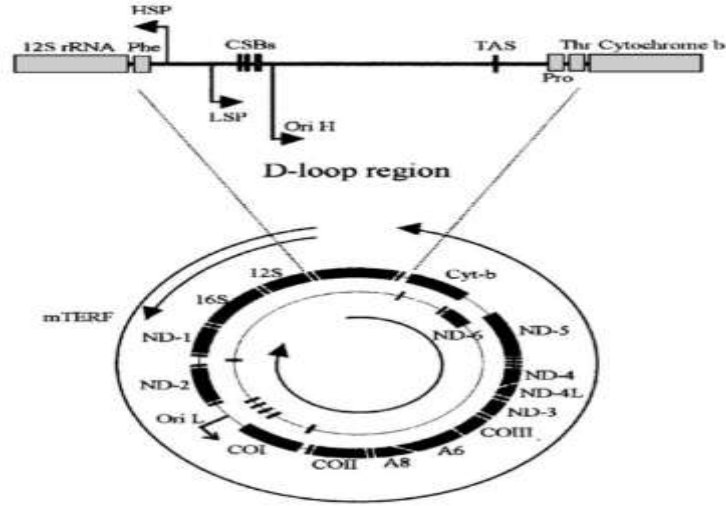
Özet olarak mitokondriyal DNA çift iplikli, halkasal bir moleküldür. Bu halkasal kromozom her biri kendi başına replike olabilen *hafif* ve *ağır* iplikten oluşmaktadır. *Ağır iplik*, İngilizce *heavy strand* (H) kelimelerinin kısaltılmasıyla türetilip mitokondriyal DNA'ların dış ipliğini ifade etmektedir. *Hafif iplik* ise, İngilizce *light strand* (L) kelimelerinin kısaltması olup mitokondriyal DNA iç ipliği olarak ifade edilmektedir. Transkripsiyonun kutuplaşması ve transkripte edilen iplik, mtDNA'nın yapısını gösteren Şekil 2.10'da beyaz ve siyah oklarla gösterilmiştir.



genlerden 14'ü aynı yol ile transkribe edilir. 22 tRNA geninden ise 14 gen saat yönünde ifade edilirken 8'i saat yönünün tersinde okunur. tRNA genleri protein kodlayan genler ve rRNA arasında bulunmaktadır. Ayrıca bu şekilde H-ipliğin  $O_H$  olarak gösterilen orjini ve L-ipliğin  $O_L$  olarak gösterilen orjini, H ve L ipliklerin sentezinin yönünü gösterir. H-ipliğin ise  $P_H$  olarak işaretlenmiş olan orjini ve L-ipliğin  $P_L$  olarak işaretlenmiş orjini H ve L ipliklerin transkripsiyon yönünü gösterir. Son yıllardaki çalışmalara göre AGA veya AGG'nin stop kodonları olduğu görülmüştür. Bunun yanı sıra AUG, AUA veya AUU kodonlarının start kodonlar olduğu görülmüştür (Lewin 1987). Mitokondriyal DNA'da intron bölgeleri bulunmamaktadır. Ancak bazı canlıların mitokondriyal DNA'sında örneğin *S.cerevisiae* mayasında intronlar vardır. Mitokondriyal DNA farklı hızlarla evrimleşen farklı bölgelere sahiptir. Bu bölgelerden biri de mtDNA ağır ipliğinin replikasyon orijinini ve her iki ipliğin (hafif ve ağır iplikler) promotor bölgelerini barındıran mtDNA Kontrol Bölgesi veya D-loop bölgesidir. Bu bölge, herhangi bir enzim ya da protein karşılığı olmayan bir bölge olmasına bağlı olarak, mitokondriyal genomun diğer kısımlarından 3-5 kat daha hızlı evrimleşmektedir (Wenink vd. 1994).

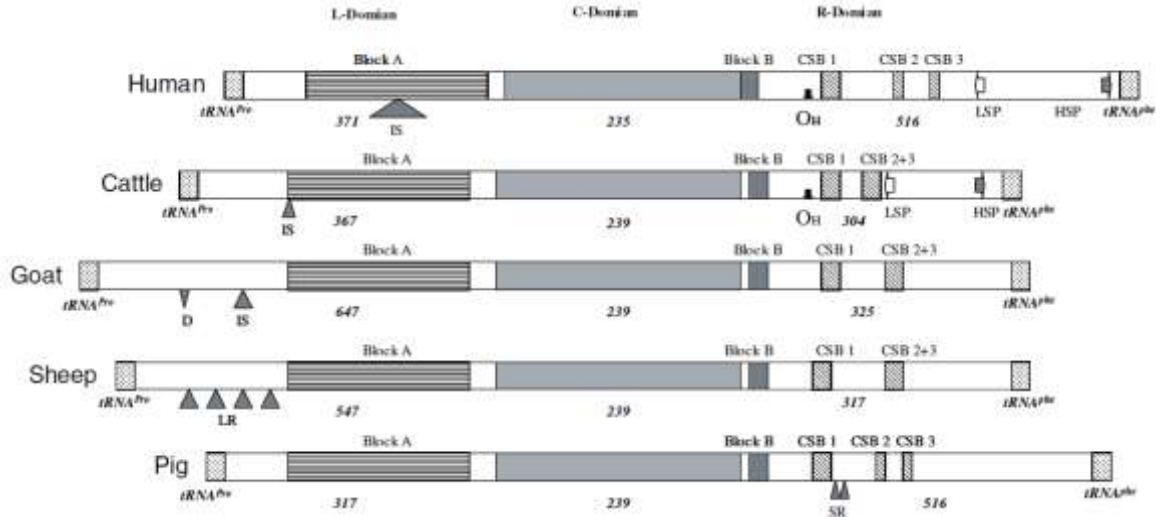
Mitokondriyal DNA'da kodlanmayan tek bölge yaklaşık 1000 baz çifti uzunluğundaki D-loop bölgesidir. ***D-loop, displacement loop*** kelimelerinin kısaltılmasından türetilip ***kontrol bölge*** olarak da bilinmektedir. Bu D-loop bölgesi H-ipliğin replikasyonunu kontrol eder ve iki iplik içinde promotor bölge rolünü oynamaktadır. Mitokondriyal DNA molekülünde replikasyon ve transkripsiyonun başlatıldığı kontrol bölgesi, omurgalılarda D-loop, *Drosophila*'da A ve T'ce zengin bölge olarak adlandırılan ve herhangi bir ürün karşılığı bulunmayan bölge olarak ifade edilmektedir (Cornuet ve Garnery 1991). Başka bir deyişle mitokondriyal DNA'nın ***kontrol bölgesi*** kodlayıcı olmayan bir bölgedir. mtDNA'nın D-loop bölgesi hem H-iplikli replikasyon orjini hem de L-iplikli ve H-iplikli transkripsiyonun promotorlarını içermektedir. Mitokondriyal DNA replikasyonu D-loop mekanizmasına göre oluşmaktadır. Öncelikle H-ipliğin replikasyon orijininin 5'-3' yönüne doğru sentez başlar. Yeni sentezlenen H-iplik, L-ipliğin replikasyon orijinine geldiğinde, ters yönde ilerler ve hafif iplik sentezlenir. Mitokondriyal DNA transkripsiyonu ise D-loop bölgesindeki promotordan birbirine ters yönde başlar ve iki iplik de, aynı anda tamamen transkripsiyona uğramaktadır. Sonuçta,

rRNA, tRNA ve mRNA'lar oluşur. D-loop bölgesi en fazla varyasyonun görüldüğü bölgedir.



Şekil 2.11 D-loop'un mtDNA'da bulunduğu yer

Son zamanlarda D-loop bölgesinin mitokondriyal genomunun geri kalandan daha hızlı geliştiği gösterilmiştir. Yani evrim oranı mitokondriyal genomun diğer kısımlardan 3-5 kat daha hızlıdır (Wenink vd. 1994). D-loop bölgesi herhangi bir enzim ya da protein karşılığı olmayan bir bölgedir. Bu bölgenin küresel populasyon yapısının aydınlatılmasında güçlü bir araç olduğu kanıtlanmıştır. Yani D-loop bölgesinin analizi ile ırklar arasındaki ayrım, filogenetik ağaca, daha belirgin olarak yansımaktadır. mtDNA'daki D-loop bölgesi ve sitokrom b birçok analizler için kullanılmasının yanında filogenetik ve populasyon genetiği analizleri için de sıkça kullanılmaktadır.



Şekil 2.12 İnsanın ve hayvanların D-loop bölgelerinin karşılaştırması (Sultana ve Mannen 2004)

Şekil 2.12’de görüldüğü gibi D-loop bölgesi üç bölüme ayrılmaktadır. D-loop’un bu bölümleri şunlardır: L-Domain (*5’-end, left domain*) sol etki alanı, C-Domain (*central domain*) merkez alanı ve R-Domain (*3’-end, right domain*) sağa etki alanıdır. Burada  $O_H$  olarak gösterilen işaret H-ipliğin replikasyon orjinini göstermektedir. Ayrıca, LSP ve HSP olarak gösterilen işaretler ise insan D-loop bölgesindeki H-ipliğin ve L-ipliğin replikasyon promotorlarını göstermektedir.

Genel olarak mtDNA’daki D-loop’un birinci bölümü bir C-streç (*C-stretch*) ve terminasyon ilişkili dizileri (TAS) içermektedir. Bu bölüm H ve L iplikli transkripsiyonunun düzenlenmesi ve H iplikli replikasyondan sorumludur. En fazla korunan ikinci bölüm olup F-, C- ve D-kutuları gibi yapısal elemanları içermektedir. Üçüncü bölüm, kontrol bölgesinin 3’ ucunda en fazla varyasyon gösteren bölümdür. Bu bölüm korunmuş dizi bloğu 1 (CSB-1, *Conserved Sequence Block 1*) ile başlamaktadır. Muhtemelen mitokondriyal transkripsiyon faktörü (mtTFA) CSB-1’e bağlıdır. mtTFA-CSB-1 kompleksi bağlı olduğunda transkripsiyonun replikasyona geçişine aracılık etmektedir. Bu bölümün geri kalanı fonksiyonel kısıtlamalar ve büyük interspesifik insersiyonlar veya delesyonlar için özgür gibi görünüyor. Ayrıca, bu üç tane korunmuş dizi bloğunun (CSB-1, CSB-2, CSB-3) sağ etki alanındaki (*3’-end, right domain*) RNA’dan DNA’ya sentezin geçişine dahil oldukları görülmüştür. Buna bağlı olarak

birden fazla terminasyon ilişkili dizileri (TASs) ve 5'- TACAT -3' olarak korunmuş pentanükleotidi (ikincil yapılar) sol etki alanındaki (5'-end, *left domain*) H-ipliğin sentez tevkif ile ilgili olduğunu gösterilmiştir. Bunun yanında D-loop bölgesine ait önemli özellikler olarak polipirimidin sistemi ve doğrudan tekrarlar (*direct repeats*) olduğunu bildirilmiştir. (Zardoya vd. 1995). Mitokondriyal DNA'daki sitokrom b'nin yanında D-loop bölgesi birçok analizler için kullanılmasının yanında filogenetik ve popülasyon genetiği analizleri için de uygundur.

Görüldüğü gibi mtDNA'nın çok önemli yapısı vardır. Ayrıca, mtDNA'nın bulunduğu mitokondri organelinde birçok önemli rol oynadığı görülmüştür. Genelde mitokondri iç bölmesinde kendi nükleik asitlerinin bulunması, mitokondriye kendi enzimlerinin bir kısmını çekirdekten bağımsız sentezleme olanağı sağlamaktadır. Mitokondriler işlevlerini tamamen bağımsız yürüten organeller değildir. Çünkü dış ve iç zarlarında ve matriksinde bulunan proteinlerinin bir bölümü çekirdek DNA'sıyla şifrelenerek sitoplazmada sentezlenmekte ve mitokondri içine transfer edilmektedir. Mitokondrinin kendi RNA transkripsiyonu için gerekli enzimlerin hemen hemen tümü çekirdek genleriyle sentezlenmektedir. Böylece mitokondriyal proteinlerin %2'si mitokondriyal genom tarafından sentezlenirken, %98'i çekirdek genleri tarafından sentezlenerek, mitokondriye taşınmaktadır. Mitokondrilerin matriks bölgesinde replikasyon, transkripsiyon ve translasyon için tüm sistemi mevcuttur. Çekirdek genom materyali (nDNA) ile karşılaştırıldığında hayvansal kökenli mtDNA molekülü arasında önemli farklılıklar bulunmaktadır (Cornuet ve Garnery 1991, Griffiths vd. 1996). Bu farklılıklar şöyle özetlenebilir:

- a) Mitokondriyal DNA eşeyli çoğalan türlerde çoğunlukla *anasal kalıtım* göstermektedir.
- b) Hayvansal mtDNA molekülünün çoğunlukla daire şeklinde olduğu bildirilmektedir.
- c) Çekirdek genom materyali histon proteinleri içerirken mtDNA molekülünde histon proteinleri bulunmamaktadır.
- d) Mitokondriyal genomdaki tüm bölgelerin protein, enzim, rRNA ve tRNA gibi bir ürün karşılığı bulunmaktadır. Mitokondriyal DNA'da intron bölgeleri

bulunmamaktadır. Mitokondriyal DNA'da kodlanmayan tek bölge yaklaşık 100 baz çifti uzunluğundaki D-loop bölgesidir.

- e) Çekirdek DNA ile karşılaştırıldığında mitokondriyal DNA molekülü daha küçüktür (yaklaşık 16.3-17 kb). Çekirdek DNA ise çok daha büyüktür (yaklaşık milyon kb).
- f) Bir hücre çekirdeğinde anne ve babaya ait 2 allel gen bulunurken, her mitokondri 2-10 adet mtDNA genomu içermektedir. Her bir insan hücresinde yüzlerce mitokondri olduğu düşünülürse, binlerce de mitokondriyal DNA mevcut olduğu söylenebilir. Normalde bunlar tamamen tanımlanmış olup genotipleri *homoplazmik*dir. Normal mtDNA yanında mutant tipler de mevcutsa hücre genotipi *heteroplazmik* olarak adlandırılır. Heteroplazmik mtDNA'lar yavru hücrelere düzensiz dağılım göstererek geçmektedir. Sonuçta tekrar tekrar bölünen hücreler, sadece mutant veya sadece normal mtDNA'lar içeren genotipe dönüşebilmektedir.
- g) Mitokondriyal DNA'nın evrim hızı çekirdek DNA'ya göre 10-20 kat daha fazladır. Bunun nedeni, oksijen radikallerine daha fazla maruz kalması, koruyucu ve tamir sistemlerinin yokluğudur. Bu yüzden mtDNA mutasyonlara daha açıktır.
- h) Mitokondriyal DNA'daki bazı kodonlar protein sentezi sürecinde çekirdekteki DNA molekülünde belirtilen evrensel kurallardan farklı anlamlar taşıyabilmektedir. Örneğin,
- 1) UGA kodonunun çekirdek DNA'da stop (STOP), mtDNA'da ise triptofan (Trp) amino asidi anlamı bulunmaktadır.
  - 2) AUA kodonunun çekirdek DNA'da izolösün (Ile) amino asidi, mtDNA'da ise metiyonin (Met) amino asidi anlamı bulunmaktadır.

- 3) AGA, AGG kodonlarının, çekirdek DNA'da arginin (Arg) amino asidi, mtDNA'da ise stop anlamı bulunmaktadır (Özdil 2007). Genetik şifrenin özgün olma evrensel kuralını boan bu durum araştırılmaya değer bir konudur.

Mitokondriyal DNA çekirdek DNA'dan ayrı özelliklere sahip olup çekirdek DNA polimerazından farklı bir DNA polimeraz enziminin etkisi ile replike olabilmektedir. Mitokondri genomunda intronlar olmadığı için intronun yerinde küçük intergenik aralıklar vardır. Bu intergenik ayırıcıları okuma bazen çerçevelerde üst üste gelebilmektedir. Sonuç olarak mitokondriyal genom çok verimli bir şekilde düzenlenmektedir. Bu tüm özelliklerden dolayı mitokondriyal DNA molekülü fonksiyonel ve filogenetik olarak çok sayıda genin var olduğu tek bir bağlantı grubundan meydana gelmiş süper gen olarak tanımlanmaktadır. Mitokondriyal DNA genotipleri moleküler klonlar, mitotipler (*mitotypes*) ya da haplotipler (*haplotypes*) olarak tanımlanmaktadır. Mitotip kavramı, *mitochondrial genotype* kelimesinin kısaltılması ile türetilip sadece mitokondriyal genom bakımından genotipi ifade etmektedir. Ancak haplotip kavramı mitotip kavramından daha geniş anlamda kullanılmakta olup mitokondriyal özellikler bakımından genotiplerin tanımlanmasında kullanılmaktadır. Haplotip genotip, tek genomlu (n sayıda kromozom içeren) canlıların genotipine denmektedir (Özdil 2007). Haplotip kavramı, aynı kromozom üzerinde bağlantı (*linkage*) halinde bulunan ve birlikte dölden döle aktarılan özgün bağlantı grupları ya da gen setleri olarak ifade edilmektedir.

Mitokondriyal DNA dizisi farklı taksonomik seviyelerde haplotiplerin kaynaşmasının tarihini belirlemek için kullanılabilir. Mitokondriyal DNA markör olarak kullanılmaktadır. Aslında mitokondriyal DNA'nın nötral bir markör olup olmadığı tartışma konusudur. Mitokondriyal DNA'nın evrimi büyük ihtimalle orta zararlı modele veya nötrale yakın modele uymaktadır. 14 farklı çalışmadan elde edilen moleküler verilerin nötralite testlerine dayanarak (Fry 1999) tür içindeki nadir haplotiplerin fazla olduğunu ve bunun az miktarda da zararlı mutasyonları taşıdığını iddia etmiştir. Ballard ve Kreitman'nın (1995) çalışması mitokondriyal DNA'daki herhangi bir kısımda olan bir seleksiyonun popülasyondaki tüm moleküllerin polimorfizmi üzerinde etkili

olduğunu göstermiştir. Dolayısıyla rekombinasyon eksikliği mitokondriyal genomda duyarlı bir genetik sürüklenmeye (*genetic drift*) neden olabilmektedir. Soyular boyunca heterojenlik oranları ve polimorfizmin yerine geçebilecek aminoasit değişikliklerindeki aşırılık, seleksiyonun mtDNA polimorfizminde bir rolü olduğunu desteklemektedir. Ancak Ballard ve Kreitman (1995) mitokondriyal DNA evriminde genetik sürüklenmenin güçlü bir etken olabileceğini vurgulamıştır. Mitokondriyal DNA sıkı nötr olsun ya da olmasın popülasyon yoğunluğunun süreçleri için hassas bir belirteçtir (*indicator*). Böylece ilişkili bireyler veya popülasyonlarının içindeki anasoylu ilişkiler gibi coğrafi kümelerin meydana çıkarması için mitokondriyal DNA'nın uzaklaşma analizleri kullanılabilir. Ayrıca, filogenetik olarak yakın ilişkili takson çözülmesinde mitokondriyal DNA çok yararlı olabilir. Sonuçta DNA moleküler markör olarak pek çok avantaja sahiptir. Muhtemelen verimsiz replikasyon tamiri nedeniyle mitokondriyal DNA çekirdekteki DNA'dan daha hızlı gelişmektedir. Mitokondri genomlarının farklı bölgeleri farklı oranlarda gelişmektedir (Kvist 2000). Aşağıda mtDNA markerlerinin kullanılm alanları görülmektedir. Bunlar şöyledir:

- 1) Popülasyonların tanımlanması,
- 2) Popülasyon ve ekotiplerin orijinlerinin belirlenmesi,
- 3) Popülasyonların coğrafi dağılımlarının ortaya konması,
- 4) Alt tür içerisindeki haplotiplerin belirlenmesi,
- 5) Popülasyonlar arasındaki gen akışı ve hibritlenme seviyelerinin tahmin edilmesi,
- 6) Anasal kalıtım modellerinin izlenmesi,
- 7) Popülasyonlar içi/arası genetik varyasyon düzeylerinin hesaplanması ve
- 8) Popülasyonların genetik benzerlik ve farklılıklarından yararlanılarak filogenetik ilişkilerin tespit edilmesi çalışmalarında yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Özdil 2007).

mtDNA'nın farklı bölgeleri amaçlarına göre kullanılırken bütün molekül bir bağlantı grubu olarak kalıtılmaktadır. Ne kadar sayıda mitokondriyal genler incelenirse incelenirse bu bir gen ağacını oluşturur. Mitokondriyal DNA, çekirdekteki genlerin efektif popülasyon boyutunun yaklaşık dörtte birine sahiptir.

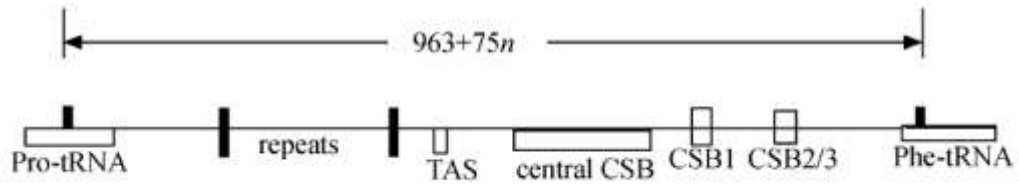
### 2.5.1 Koyun mtDNA'sı ve D-loop Bölgesi

Koyun mtDNA'sı 16.616 baz çiftinden oluşan, çift iplikli, halkasal bir DNA'dır (NC\_001941.1). Bu mtDNA'nın L-ipliği %33,7 (A), %25,8 (C), %13,1 (G) ve %27,4 (T) bazlarından oluşmaktadır (Hiendleder vd. 1998). Ayrıca, koyun mtDNA'sında yaklaşık %63 oranında A+T'ce zengin bölge bulunmaktadır. Aslında bu bölge koyunlarda D-loop bölgesidir ve diğer memelilere göre daha büyüktür. Genelde koyun mtDNA D-loop bölgesi replikasyon ve transkripsiyonun başlatıldığı kontrol bölgesidir. Koyunlarda bu bölge hem H-iplikli replikasyon orjini hem de L-iplikli ve H-iplikli transkripsiyonun promotorlarını içermektedir (Zardoya vd. 1995). Çizelge 2.3'te koyun mtDNA'sının organizasyonu gösterilmiştir.

Çizelge 2.3 Koyun mtDNA genomunun organizasyonu (Hiendleder vd. 1998)

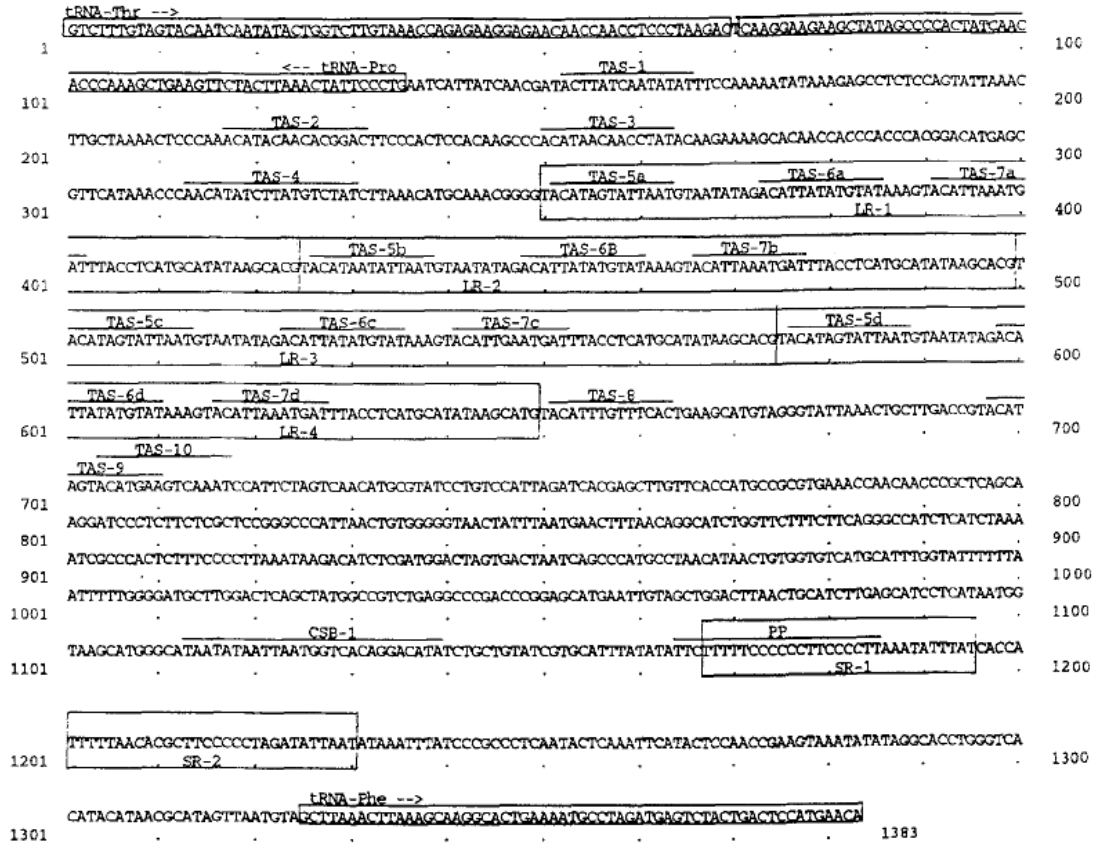
Feature	From	To	Size	Start codon	Stop codon <sup>b</sup>	3' spacer
tRNA-Phe	1	68	68			
12S rRNA	69	1,026	958			
tRNA-Val	1,027	1,093	67			
16S rRNA	1,094	2,667	1,574			
tRNA-Leu (UUR)	2,668	2,742	75			AA
NADH1	2,745	3,700	956	ATG	TAA	
tRNA-Ile	3,701	3,769	69			
tRNA-Gln (L)	3,767	3,838	72			AT
tRNA-Met	3,841	3,909	69			
NADH2	3,910	4,951	1,042	ATA	Taa	
tRNA-Trp	4,952	5,018	67			A
tRNA-Ala (L)	5,020	5,088	69			A
tRNA-Asn (L)	5,090	5,162	73			
Origin of L-strand repl.	5,163	5,194	32			
tRNA-Cys (L)	5,195	5,262	68			
tRNA-Tyr (L)	5,263	5,330	68			C
COI	5,332	6,876	1,545	ATG	TAA	
tRNA-Ser (UCN) (L)	6,874	6,944	71			TAAAC
tRNA-Asp	6,950	7,017	68			T
COII	7,019	7,702	684	ATG	TAA	AAT
tRNA-Lys	7,706	7,773	68			T
ATPase8	7,775	7,975	201	ATG	TAA	
ATPase6	7,936	8,615	680	ATG	TAA	
COIII	8,616	9,399	784	ATG	Taa	
tRNA-Gly	9,400	9,468	69			
NADH3	9,469	9,815	347	ATA	TAA	
tRNA-Arg	9,816	9,884	69			
NADH4L	9,885	10,181	297	ATG	TAA	
NADH4	10,175	11,552	1,378	ATG	Taa	
tRNA-His	11,553	11,621	69			
tRNA-Ser (AGY)	11,622	11,681	60			A
tRNA-Leu (CUN)	11,683	11,753	71			
NADH5	11,754	13,574	1,821	ATA	TAA	
NADH6 (L)	13,558	14,085	528	ATG	TAA	
tRNA-Glu (L)	14,086	14,154	69			ACTA
Cyt b	14,159	15,298	1,140	ATG	AGA	CAA
tRNA-Thr	15,302	15,371	70			
tRNA-Pro (L)	15,371	15,436	66			
Control region	15,437	16,616	1,180			

Bu şekilde 1. baz tRNA-Phe geninin sol etki alanı (5'-end, *left domain*) olduğunu göstermektedir. Burada görüldüğü gibi koyun mtDNA'sında ATPaz6 ve ATPaz8'in alt birimleri, sitokrom c oksidazın I-III (COI-III) alt birimleri, Cyb'nin alt birimleri, NADH dehidrogenaz'ı 1, 2, 3, 4, 4L, 5 ve 6 alt birimleri ve çeşitli tRNA genleri bulunmaktadır. Tüm koyun mtDNA'sına baktığımızda D-loop'un varyasyonu en yüksek seviyededir.



Şekil 2.13 Koyun mtDNA'sındaki D-loop bölgesi (Xingbo vd. 2001)

Koyun mtDNA'sında D-loop bölgesi Proline (Pro) tRNA ve Fenilalanin (Phe) t-RNA genleri arasında bulunmaktadır (Zardoya vd. 1995, Wood ve Phua 1996, Hiendleder vd. 1998). Şekil 2.13'te şematik olarak koyun mtDNA'sının D-loop bölgesi gösterilmiştir. Şekil 2.14'te daha ayrıntılı koyun mtDNA D-loop bölgesi ve onun içinde bulunan yapılar görülmektedir.



Şekil 2.14 Koyun mtDNA'sındaki D-loop yapıları (Zardoya vd. 1995)

Bu şekilde tRNA-Thr ve tRNA-Pro arasında 1383 bp'lık diziler gösterilmiştir. D-loop bu gösterilen 1383 bp'lı dizi içerisinde tRNA-Pro ve tRNA-Phe (L-iplik) genleri arasında yer almaktadır. Koyun mtDNA'sında D-loop bölgesi yaklaşık 1180 bp'dan oluşup on tane terminasyon ilişkili dizileri (TASs, *Termination Association Sequences*) ve bir tane korunmuş dizi bloğu 1 (CSB-1, *Conserved Sequence Block 1*) içermektedir. Bu TAS bloğu genişletilmiş terminasyon ilişkili dizileri (ETAS, *Extended Terminal Associated Sequence*) olarak da bilinmektedir. Bunun birinci dizisi (TAS-A) koyun mtDNA'sında 16.006 ve 16.020 baz çiftleri arasında bulunmuştur. Koyun D-loop'un CSB-1 bloğu sağa etki alanında (3'-end, *right domain*) bulunmaktadır. Diğer deyişle CSB-1 koyun mtDNA'sının 16.417 ve 16.444 baz çiftleri arasında yer almaktadır. Ancak, CSB-2 ve CSB-3 dizileri koyun D-loop bölgesinde bulunmamaktadır. Bunların yerinde, 16.477 ve 16.488 bp arasında, *kısa tandem tekrarı* (SR-1 ve SR-2, *Short Tandem Repeat*) vardır.

Ayrıca, koyun D-loop bölgesinin üç farklı terminasyon ilişkili dizileri içeren sol etki alanında (5'-end, *left domain*) *tandem tekrarı* görülmüştür. Bu terminasyon ilişkili diziler TAS-5, TAS-6 ve TAS-7'dir. Şekil 2.5.6'da LR-1 ve LR-2 olarak gösterilen bu tekrarlar, sol etki alanında (5'-end, *left domain*) bulunan tRNA-Proline (Pro) genine yakın olup yaklaşık 75 bp'den oluşan tandem tekrarlarıdır. Her *tandem tekrarı* ayna simetrisindeki (*mirror symmetry*) iki oktamerli dizileri (TTAATTAA, TACATA) içermektedir. Bu ayna simetrisindeki iki oktamerli diziler istikrarlı kök döngülerini oluşturabilmektedir. Koyun D-loop bölgesinde farklı sayıda bulunan bu 75 bp'lik *tandem tekrarlar* heteroplazmiye sebep olması nedeniyle koyun mtDNA D-loop bölgesinin uzunluğunu değiştirmektedir (Zardoya vd. 1995). Buna bağlı olarak ikinci ya da sonraki tandem tekrarı 75 bp veya 76 bp'lik olabilmektedir. Bu tandem tekrarının uzunluğu belirteç rolü alıp bunları iki farklı haplogrup kümesine (*clusters*) ayırmaktadır. Birinci kümede yer alan A, B ve D haplogrupları 75 bp'lik tandem tekrarlara sahiptir. İkinci kümede yer alan C ve E haplogrupları ise 76 bp'lik tandem tekrarlara sahiptir. Buna ek olarak, Meadows ve ark. (2011) tarafından Avrupa muflon (*O.musimon*) ve Argali (*O.ammon*) yabani koyunlarında dörtlü 75 bp'lik tandem tekrarı bulunurken Uriyal (*O.vignei*) yabani koyununda ise dörtlü 76 bp'lik tandem tekrarları bulunmuştur.

Bugün beş tane olan haplogruplardan (HPGs) en yaygın bulunanı A ve B haplogruplarıdır. Nadir bulunanlar ise E ve D haplogruplarıdır. Avrupa'da B haplogrubuna, Asya'da ise A haplogrubuna sıkça rastlanmaktadır (Pedrosa vd. 2005, Demirci vd. 2013, Sanna vd. 2015). Ayrıca, görüldüğü gibi koyun haplogruplarına ait olan belli özellikler vardır. Koyun B haplogrubunda tRNA-Pro geninde dört tane 75 bp'lik tandem tekrarına rastlanmaktadır. Koyun A haplogrubunda kısmen dizilenmiş mtDNA'larda ise üç tane tandem tekrarı bulunabilmektedir. Ancak, koyun mtDNA'sının heterojenlik boyutuna bağlı olarak tandem tekrarların sayısı beş veya altı tane olabilir. Bunun dışındaki dört tane tandem tekrarı olan koyun mtDNA'larına homoplasmik denmektedir. Genelde koyunun hem A hem de B haplogrupları için dört tane tandem tekrar ortak özelliktir. Bu iki tane koyun haplogruplarının D-loop bölgeleri arasında %4,25 bp fark bulunmuştur. Ayrıca, koyun D-loop bölgesinde tüm nokta mutasyonlarının görülmesi mümkündür. Sonuçta, koyun L ve H ipliklerinin promotorları ile H-ipliğin replikasyon orjini tamamen korunmuştur. Ayrıca, koyun

tandem tekrarlarının simetrikal sekansları da fazlasıyla korunmuştur (Hiendleder vd. 2002).

### **2.5.2 Keçi mtDNA'sı ve D-loop Bölgesi**

Keçi mtDNA'sı da çift iplikli halkasal yapıya sahip olup 16.643 baz çiftinden oluşmaktadır (No:GU295658.1). Ayrıca keçilerin mtDNA'sı 37 gen içermektedir. Bunlar: 2 adet ribozomal RNA geni (12S ve 16S rRNA), 22 transfer RNA (tRNA) geni ve 13 adet protein kodlayan gen veya mesajcı RNA (mRNA) genleri olarak da bilinmektedir (Parma vd. 2003). Bu 13 adet protein kodlayan gen, NADH dehidrogenaz'ın 1, 2, 3, 4, 4L, 5 ve 6 alt birimleri, sitokrom c oksidazın I, II ve III alt birimleri, ATPaz'ın 6 ve 8 alt birimleri ve sitokrom b' den oluşmaktadır. L-iplikte, bunlardan sadece NADH dehidrogenaz'ın 6. alt birimi ve sekiz tRNA kodlanmıştır. H-iplikte ise diğerleri kodlanmıştır (Parma vd. 2003). Keçilerdeki bu protein kodlayan gen sığır ve koyundaki protein kodlayan genleriyle karşılaştırıldığında %1,2 ve %12,2 arasında farklılık olduğu gösterilmiştir. Ayrıca bu protein kodlayan genler ayrı ayrı bakıldığında keçi ve sığır arasında %7,3 farklılık olduğu keçi ve koyun arasında ise %4,7 farklılık olduğu gösterilmiştir (Parma vd. 2003).

Pietro vd. (2003) çalışmasına göre mtDNA'nın L-ipliği %33,47 (A), %27,40 (T), %25,92 (C) ve %13,10 (G) oranında bazlardan oluşmaktadır. Keçi mtDNA'sının ND2, ND3 ve ND5 genleri hariç tüm protein kodlayan genleri metionini (AUG) start kodon olarak vardır. ND2, ND3 ve ND5 genlerinde ise izolösün (ATA) start kodonu olarak vardır (Parma vd. 2003). Çizelge 2.4'te keçi mtDNA genomun organizasyonu gösterilmiştir.

Çizelge 2.4 Keçi mtDNA genomun organizasyonu (Parma vd. 2003)

Name of gene	Location	Size (bp)		Start codon	Stop codon
tRNA-Phe	1-68*	68	H <sup>†</sup>		
12S rRNA	69-639	956	H		
tRNA-Val	1025-1091	67	H		
16S rRNA	1092-2663	1562	H		
tRNA-Leu (UAA)	2664-2738	75	H		
NADH dehydrogenase subunit 1 (ND1)	2741-3694	954	H	ATG	TAA
tRNA-Ile	3697-3765	69	H		
tRNA-Gln	3763-3834	72	L		
tRNA-Met	3837-3905	69	H		
NADH dehydrogenase subunit 2 (ND2)	3906-4946	1041	H	ATA	TAG
tRNA-Trp	4948-5014	67	H		
tRNA-Ala	5016-5084	69	L		
tRNA-Asn	5086-5158	73	L		
O <sub>L</sub>	5161-5196	37	H		
tRNA-Cys	5191-5258	67	L		
tRNA-Tyr	5259-5326	68	L		
Cytocrome c oxidase subunit I (COI)	5328-6869	1542	H	ATG	TAA
tRNA-ser (UGA)	6870-6938	69	L		
tRNA-Asp	6946-7013	68	H		
Cytocrome c oxidase subunit II (COII)	7015-7695	681	H	ATG	TAA
tRNA-Lys	7702-7768	67	H		
ATPase subunit 8 (ATPase8)	7770-7964	195	H	ATG	TAA
ATPase subunit 6 (ATPase6)	7928-8605	678	H	ATG	TAA
Cytocrome c oxidase subunit III (COIII)	8608-9390	783	H	ATG	TNN <sup>‡</sup>
tRNA-Gly	9392-9460	69	H		
NADH dehydrogenase subunit 3 (ND3)	9461-9805	345	H	ATA	TNN
tRNA-Arg	9808-9876	69	H		
NADH dehydrogenase subunit 4L (ND4L)	9877-10173	296	H	ATG	TAA
NADH dehydrogenase subunit 4 (ND4)	10167-11544	1377	H	ATG	TNN
tRNA-His	11545-11614	70	H		
tRNA-Ser (AGY)	11615-11674	60	H		
tRNA-Leu (UAG)	11676-11745	70	H		
NADH dehydrogenase subunit 5 (ND5)	11746-13560	1818	H	ATA	TAA
NADH dehydrogenase subunit 6 (ND6)	13553-14077	525	L	ATG	TAA
tRNA-Glu	13778-14146	69	L		
Cytochrome b (Cytb)	14151-15287	1140	H	ATG	AGA
tRNA-Thr	15294-15363	70	H		
tRNA-Pro	15363-15428	66	L		
D-loop	15429-16640	1212			

D-loop bölgesi, keçilerde yaklaşık 1212-1213 bp değişken bölge ile en fazla varyasyonun görüldüğü bölgedir. mtDNA D-loop bölgesinde mutasyonların en çok dağılım gösterdiği iki çok değişken bölge bulunmaktadır. Bu bölgeler 1.çok değişken bölge (1. *Hypervariable region*, HVR-1) ve 2.çok değişken bölgedir (2. *Hypervariable region*, HVR-2). Keçi D-loop'un L-domain'de HVR-1, R-domain'de ise HVR-2 bulunmaktadır. Günümüzde keçilerin filogenetik çalışmalarındaki geçmişini anlayabilmek için mtDNA'nın en değişken bölgesi olan ve D-loop kontrol bölgesinde bulunan 1.çok değişken bölgenin (HVR-1) dizi analizi yapılmaktadır. HVR-1 bölgesi HVR-2 bölgesinden daha polimorfiktir. D-loop'un HVR-1 bölgesinde yaklaşık %83,4 mutasyon olmakta HVR-2 bölgesinde ise %16,6 mutasyon olmaktadır. HVR-1 bölgesinin uzunluğu insersiyon/delesyon mutasyonlarından dolayı değişmektedir. Ayrıca, burada baz değişimleri (*substitutions*) olarak transisyonlara (*transitions*) ve transversiyonlara (*transversions*) da rastlanabilmektedir (Naderi vd. 2007). Şekil 2.15'te keçi D-loop

bölgesindeki 17'lik bp delesyon ve 76 bp'lik insersiyon polimorfizmlerinin olduğu yerler gösterilmiştir.



Şekil 2.15 Keçi mtDNA'daki polimorfik D-loop bölgesi (Sultana ve Mannen 2004)

Şekil 2.15'te L-domain alanında D işaret 17 bp'lik delesyonu, IS işaret ise insersiyon dizi veya uzun tekrarları (*long repeats*) göstermektedir. Keçinin D-loop bölgesinin, sığır ve koyundaki D-loop bölgesinden çok daha uzun olduğu bulunmuştur. Buna sebep olarak keçi D-loop bölgesinde tüm nükleotid sayısının %50'sinden fazlasını oluşturan en uzun L-domain (647/1213) etki alanıdır (Sultana ve Mannen 2004).

**A** AACCACTATTAACCACATCTATTAATATACCCCCAAAAATATTAAGAGCCTCCCCAGTATTAAATTTACTAAAAATTTCAAATATACAAC 90  
**B** -----  
**C** -----  
**D** -----

**A** ACAAACCTCCCACTCCACAAGCCTACAGACATGTCAACAACCCACACGTATAAAAAACATCCCAATCCTAACCCCACTTAGATAC----- 180  
**B** -----T-----C-----CCACAC  
**C** -----T-----CCACAC  
**D** -----T-----CCACAC

**A** -----CCACACAMTATLACGIGLITGCAAGTACMTLACACCGCTCGCCLACACACAAMTACMTTACLAACMCCMLNLAACGC 270  
**B** AAACGCCAACA-----G-----C-----G-----  
**C** AAACGCCAACA-----G-----C-----A-----T-----C-----C-----A-----  
**D** AAACGCCAACA-----G-----C-----A-----T-----C-----C-----A-----

**A** GGACATACAGCCTTCATATAGTTTACTGTATATCTACCCTACACACATGCAGTACTAATCCAGCATAAACGTAATGTATGTACATTACAT 360  
**B** -----A-----TG-----  
**C** -----A-----T-T-----C-----A-----  
**D** -----T-----A-----

**A** TTTATGATCTACTTTCATGTGTACGTACATAATATTAATGTAAACAAGGACATGATATGTATATAGTACATTAACCGATTTTCCACATGCAT 450  
**B** -----C-----A-----  
**C** -----G-----C-----C-----A-----G-T-G-----C-----  
**D** -----C-A-----A-----G-----

**A** ATTAGCAC CTACATCAGTATTAATGTAAATAAGACATAGTATGTATATTGTACATTAACCGATCTTCCCATGCATATAAGCATGTATA 540  
**B** -----T-T-----A-----A-----C-----C-----C-----C-----  
**C** -----T-----G-----A-----A-----C-----C-----  
**D** -----T-----A-----G-A-----A-----C-----C-----

**A** ATGCTCTCTATCGGCAGTACATAGTACATTTACTGCATATTCGTACATGGCACATAGAGTCAAATCCATTCTTGCCAACATGCGTATCCT 630  
**B** -----CT-----TA-----G-----T-----CC-----A-----GA-----T-C-----T-----C-----  
**C** -----A-----AT-----G-C-----T-T-----C-----A-G-----GA-----G-C-C-T-----A-----C-----  
**D** -----A-----G-----T-----A-----A-----A-----G-C-----T-----G-----C-----

**A** GTCCACTAGATCACGAGCTTGTGACCATGCCCAGTAAACCAGCAACCCGCTTGGCAGGGATCCCTCTTCTCGCTCCGGGGCCATTAAAC 720  
**B** -----C-----  
**C** -----T-----C-----A-----T-----  
**D** -----A-----

**A** CGTGGGGTAGCTATTTAATGAACTTTATCAGACATCTGGTCTTCTTCTCAGGGCCATCTCACCTAAAAATCGCCCACTCTTCCCTCTTAA 810  
**B** -----T-----T-----  
**C** T-----T-----  
**D** -----T-----

**A** ATAAGACATCTCGATGGACTAATGACTAATCAGCCCATGCTCACACATAACTGTGCTGTACATATTGGTATTTTAAATTTTCGGGGA 900  
**B** -----  
**C** -----T-----  
**D** -----

**A** TGCTTGGACTCAGCTATGGCCGCTGAGGCCCGACCCCGAGCATAAATTTGTAGCTGGACTTAACTGCATCTTGGATCCCCATAATGG 990  
**B** -----  
**C** -----T-----G-----  
**D** -----

**A** TAGGCATGGGCATTGCAGTTAATGGTCACAGGACATATTTATTATGTTGCATTTTCATCATGCATCCGCTCCACCTTTCCCCCCC-TCCCT 1080  
**B** -----C-----C-----T-----  
**C** -----A-----C-----C-----C-----C-----C-----  
**D** -----C-----C-----C-----

**A** CTTAGATATATACCACCGTTTTAAACACGCTCCCTCCTAGATATTAGTGCAAAATTTTTCTACTTCCAATACTCAAATCTTTACTCCAGC 1170  
**B** -----A-----  
**C** -----A-----  
**D** -----A-----T-----

**A** CAAGGTAATAATATAAGTGCCTGGTCTTTTACATGGTAAGTG 1213  
**B** -----  
**C** -----  
**D** -----

Şekil 2.16 A, B, C ve D haplogruplara ait keçi mtDNA'sındaki D-loop yapıları (Sultana ve Mannen 2004)

Şekilde 2.16'da A, B, C ve D keçi haplogruplarının mtDNA'larındaki D-loop bölgesinin organizasyonu ve polimorfizmleri gösterilmiştir. Burada siyah üçgen sembolüyle 76 bp'lik insersiyon (*insertion*), kesintisiz çizgi ile de 17 bp delesyon (*deletion*) gösterilmiştir. Şekilde TAS-A veya A bloğu, çift alt çizgili olarak gösterilmiş merkezi alanı (*central domain*), üst çizgili olarak gösterilmiş B bloğu, kesik çizgili olarak gösterilmiş CSB-1 ve alt çizgili olarak gösterilmiş CSB-2 ve CSB-3 bloğu görülmektedir. Burada TAS elementler noktalı üst çizgiyle gösterilmiştir. Ayrıca, yukarıdan aşağıya gösterilen ok işareti H-ipliğin replikasyon orijini göstermektedir. Sola ← ok işareti ile L-ipliğin replikasyon promotörü, sağ → ok işaretiyle H-ipliğin replikasyon promotörü gösterilmiştir. Ayrıca, keçi D-loop bölgesinin sol etki alanında (*5'-end, left domain*) 6 tane korunmuş A blok bulunmaktadır. Bu D-loop'un ikinci bölümü merkez alanı (*central domain*) veya C alanı olarak da bilinmektedir. Keçi D-loop bölgesinin sağ etki alanında (*3'-end, right domain*) B bloğu ve CSB-1, CSB-2 + 3 korunmuş diziler bulunmaktadır. Aslında CSB-2 + 3 korunmuş dizi kaynaşmış CSB-2 ve CSB-3 korunmuş dizileridir. Keçi D-loop bölgesi, keçilerde yaklaşık 1212-1213 bp değişken bölgedir. Keçi D-loop'un 1 - 657 bp arasında sol etki alanı (*left domain*), 648 - 886 bp arasında merkez alanı (*central domain*) ve 887 - 1213 bp arasında sağ etki alanı (*right domain*) bulunmaktadır. Keçilerde merkez alanı, B bloğu ve CSB-1 dizi A bloğundan daha korunmuş olduğu bildirilmiştir (Sultana ve Mannen 2004).

tRNA-Pro geninin 174. nükleotid pozisyonunda 17 bp delesyon ve 379. nükleotid pozisyonunda ise 76 bp insersiyon polimorfizmi bulunursa A haplogrubu olduğu anlamına gelmektedir. Yani bu polimorfizmin her ikisinin de A haplogrubuna ait olduğu gözlenmiştir. Ayrıca, D-loop bölgesinde 76 bp'lik veya 77 bp'lik iki ardışık tekrar (*tandem repeats*) bulunmaktadır. Bu ardışık tekrarlar keçi mtDNA dizisinde 15.810 - 15.957 pozisyonları arasında bulunmaktadır (Parma vd. 2003). Diğer bir araştırmaya göre ise keçi mtDNA'sında üç ardışık tekrar bulunmuştur (Luikard vd. 2001).

Keçilerdeki D-loop bölgesi keçilerin filogenetik analizi için sıkça kullanılmaktadır. Bugün altı tane keçi mitokondriyal haplogruplarından (HPGs) en yaygın bulunanı A haplogrubudur. Evcil ve yabani keçiler arasında belli sayıda nükleotid değişimleri bulunmaktadır. Takada vd. (1997) çalışmasına göre evcil keçi ve yabani Bezoar (*Capra*

*aegagrus*) keçileri arasında özel bir nükleotid değişimi bulunmuştur. Ayrıca, A ve B haplogruplarında insersiyon ve delesiyon bulunmuştur. Keçi A haplogrubunun mtDNA D-loop bölgesinin 554. baz çiftinde C nükleotidi 558. baz çiftinde T nükleotidi bulunup insersiyon tespit edilmiştir. Ayrıca, keçi B haplogrubunun ise mtDNA D-loop bölgesinin 554. baz çiftinde C nükleotidi 558. baz çiftinde T nükleotidi bulunup delesiyon olduğu görülmüştür. Bu A haplogrubu dünyanın tüm bölgelerinde görülmektedir. Haplogrup C'ye Avrupa'da ve Asya'da rastlanmaktadır. Haplogrup B ve D ise sadece Asya'da görülmüştür.

## 2.6 Kaynak Özetleri

Günümüzde koyun ırk ve hatlarının tanımlanması ve filogenetik ilişkilerinin belirlenmesi için mitokondriyal genom üzerinde yürütülmüş birçok çalışma mevcuttur. Bu bölümde, koyun mtDNA'sı üzerine yapılmış çalışmalar ile özellikle yerli koyun ırkları üzerine çalışmalar özetlenmeye çalışılmıştır. Keçilerde yapılan çalışmalara da temas edilmiş, ancak Balkanlarda endemik keçilerde mtDNA ile ilgili bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Farklı yerli hayvan popülasyonların tanımlanması için coğrafi ve ekolojik izolasyonu, fenotipik farklılığı ve popülasyonlar arasındaki genetik farklılaşma seviyesi hakkında bilgileri kullanmak gerekmektedir.

Dünyada hayvanların evcilleştirilmesi köpeğin evciltmesiyle başladığını bilinmektedir. Çiftlik hayvanlarının evciltmesine ise koyun ve keçinin evciltmesiyle yaklaşık olarak M.Ö. 10.000 - 9.500 yıllarında başlanılmıştır. Çiftlik hayvanlarının evciltmesi bitkilerin evciltmeye başlamasından yaklaşık 1.000 yıl önce ve bitki evciltmesinin merkez bölgesinin kuzey ve doğusunda bir bölgede meydana gelmiştir (Zeder 2008). Bundan dolayı çiftlik hayvanlarının haplogruplarının araştırılması bağlamında yapılacak olan çalışmaların evciltmenin merkezinde, gen havuzunun en çeşitli olması beklenen yerde yapılması mantıklıdır. Bu gerekçe, insan popülasyonları yeni yerleşim bölgelerine yayılırken yanlarında evcil hayvanlardan sadece bir kısmını

aldıkları için ve büyük bir olasılıkla artan coğrafi uzaklıklarla genetik soyların bazıları azaldığı ya da kaybolduğu neden oldukları için akla yatkındır (Meadows vd. 2007). Bosna Hersek'teki yerli koyun ve keçi ırklarının da bu bağlamda gelecekte önem kazanacak değerli genetik çeşitliliğe sahip olabilecekleri düşünülmektedir. Aynı zamanda bu çeşitliliği iyi değerlendirmek için bu çeşitliliğin miktarının iyi belirlenmesi gerekmektedir.

Şimdiye kadar koyunların haplogrup kimliği üzerinde birçok mtDNA çalışmaları yapılmış ve koyunlarda beş mitokondriyal haplogrubun varlığı ortaya koyulmuştur. Bunalar: A ve B haplogrupları (Wood ve Phua 1996, Hiendleder vd. 1998), C haplogrubu (Guo vd. 2005, Pedrosa vd. 2005, Bruford ve Townsend 2006.), D haplogrubu (Tapio vd. 2006) ve E haplogrubudur (Meadows vd. 2007, 2011). Bu A ve B haplogruplarının en sık görülen haplogruplar olduğu bulunmuştur. Bu varyantlar ilk kez Wood ve Phua (1996) tarafından belgelenmiş ve Hiendleder ve arkadaşların (1998) çalışmasıyla sınıflandırılmıştır. Asya muflonu (*Ovis orientalis*) A haplogrubuna ait olup Avrupa muflonu (*Ovis musimon*) ise B haplogrubuna aittir (Hiendleder vd. 2002). Ancak, koyun mtDNA verilerine göre Urial ve Argali türlerinin evcil koyuna hiçbir katkıları olmadığı ortaya konulmuş ve böylece evcil koyunun tek atasının muflon türleri olduğunu kanıtlanılmıştır (Hiendleder vd. 1998, 2002).

Genel olarak Balkan Yarımadası (*Balkan Peninsula*) koyun yetiştiriciliğinde çok uzun bir geleneğe sahiptir. Ryder (1984) Balkan koyunun yaklaşık 7000-8000 yıl önce Orta Doğu'dan Avrupa'ya girmesiyle evcilleştirildiğini belirtmektedir. Balkanlar'daki yerli koyunlar süt, peynir ve kaba yünü (yapağı) kullanılmaktadır. Balkanlar'daki tüm yerli koyun ırklarına *Pramenka koyunları* denmektedir. Farklı biyocoğrafi ve sosyokültürel şartlar altında gelişmiş Pramenka koyun ırkları çok sayıda farklı türleri ve fenotipleri içerir. Bunlardan biri Bosna Hersek Pramenka koyun türüdür. Balkanlar'da tüm Pramenka koyunları arasında farklılıkları bulunmaktadır. Činkulov ve arkadaşlarının (2008) yaptığı çalışmaya göre Balkanlar'daki yerli koyunlarda A ve B haplogrupları bulunmuştur. Sırbistan ve Hırvatistan'daki Pramenka koyunların A haplogrupa ait olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, Karadağa, Kosova, Makedonya ve Arnavurluk'taki

endemik koyunların B haplogrupa ait olduğunu bildirilenmiştir. Balkanlar'daki endemik koyunlar genetik çeşitliliğin değerli bir kaynağını oluşturmaktadır.

Genel olarak keçilerde yedi farklı mitokondriyal haplogrup olduğu bilinmektedir. Bu haplogruplar A, B, C, D, E, F ve G ile gösterilmektedir. Luikart ve arkadaşlarının (2001) çalışmasında 44 tane farklı ülkeden 406 tane keçide mtDNA'taki D-loop'un 481 baz çiftli HVR (*Hypervariable sequence*) bölgesi incelemiştir. Bu çalışmanın sonucunda keçilerde 3 mitokondriyal haplogrubun varlığı ortaya koyulmuştur. Bu üç haplogrup şunlardır: A haplogrubu, B haplogrubu ve C haplogrubudur. A haplogrubu tüm kıtalarında, B haplogrubu ise sadece Asya'nın doğu ve güneyde yani Hindistan, Pakistan, Moğolistan ve Malezya ülkelerinde yaşayan keçilerde bulunmuştur; yani sadece Asya'da rastlanmaktadır. Ayrıca, A haplogrubu dünyanın tüm bölgelerinde görülmektedir. Bu A haplogrubu her zaman en yüksek frekanslarda bulunurken Asya'da %89, Avrupa'da %98, Orta Doğu'da ve Afrika'da ise %100 yüksek frekanslarda rastlanmaktadır (Pereira vd. 2005). C haplogrubu Moğolistan, Pakistan, Hindistan, İsviçre ve Slovenya'daki keçilerde bulunmuştur. Yani Avrupa'da ve Asya'da görülmektedir.

Ancak, Joshi vd. (2004) çalışmasına göre Hindistan'nın farklı bölgelerinden toplanan 363 tane keçide mtDNA'daki D-loop'un 475 baz çiftli bir bölgesi çalışılmıştır. Bunların sonucuna göre keçilerde 4 mitokondriyal haplogrubun varlığı ortaya koyulmuştur. Bu beş haplogrup şunlardır: A, B, C ve D haplogruplarıdır. Ayrıca, Sultana ve Mannen'in (2004) çalışmasına göre ise 4 haplogrubun varlığı ispatlanmıştır. D haplogrubu Pakistan ve Hindistan yerli keçilerde bulunmuştur. Bu D haplogrubu daha sonra Kuzey Avrupa'da da bulunmuştur. F haplogrubu Sicilya, G haplogrubu ise Yakın Doğu ve Afrika'nın kuzeyinde bulunmuştur (Naderi vd. 2007). Böylece keçilerin tarihi daha kompleks olduğunu göstermektedir. Buna ek olarak Çınar'ın (2010) çalışmasına göre Türkiye yerli keçi ırklarında A, D ve G haplogrupları olmak üzere üç farklı haplogrup belirlenmiştir.

Mitokondriyal DNA, türlerin coğrafi dağılımına göre farklılıklar göstermesi, çekirdek DNA'ya (nDNA) oranla daha hızlı evrimleşmesi ve maternal kalıtılmasına bağlı olarak

dişi ebeveynin geçmişi açısından fikir verici olması gibi özelliklerinden dolayı, hayvanlarda genetik polimorfizm çalışmalarında sıklıkla tercih edilen belirteçlerden birisi olmuştur (Luikart vd. 2001). Bu nedenlerle hayvan filogenetik çalışmalarında populusyon geçmişlerinin ortaya konulması, coğrafi ve genetik uzaklık bağıntılarının araştırılması, populusyonların farklılaşma zamanlarının belirlenmesi gibi konularda sıklıkla tercih edilirler (Naderi vd. 2008, Wu vd. 2009).

Hayvan filogenetik çalışmalarında mitokondrial DNA'nın D-loop ve Cyt b bölgeleri sıklıkla tercih edilmektedir (Hiendleder vd. 1998, Luikart vd. 2001). D-loop ve cyt b bölgelerinin, keçilerin evciltilmesi ile ilgili tarihin aydınlatılmasında büyük önemi vardır. Keçilerde D-loop bölgesi ile ilgili olarak Luikart vd. (2001), Mannen vd. (2001), Sultana ve Mannen (2004), Joshi vd. (2004), Pereira vd. (2005), Sardina vd. (2006), Fernandez vd. (2006), Naderi vd. (2007), Naderi vd. (2008) ait çalışmalar literatüre katkıları açısından önemlidirler.

### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1 Materyal

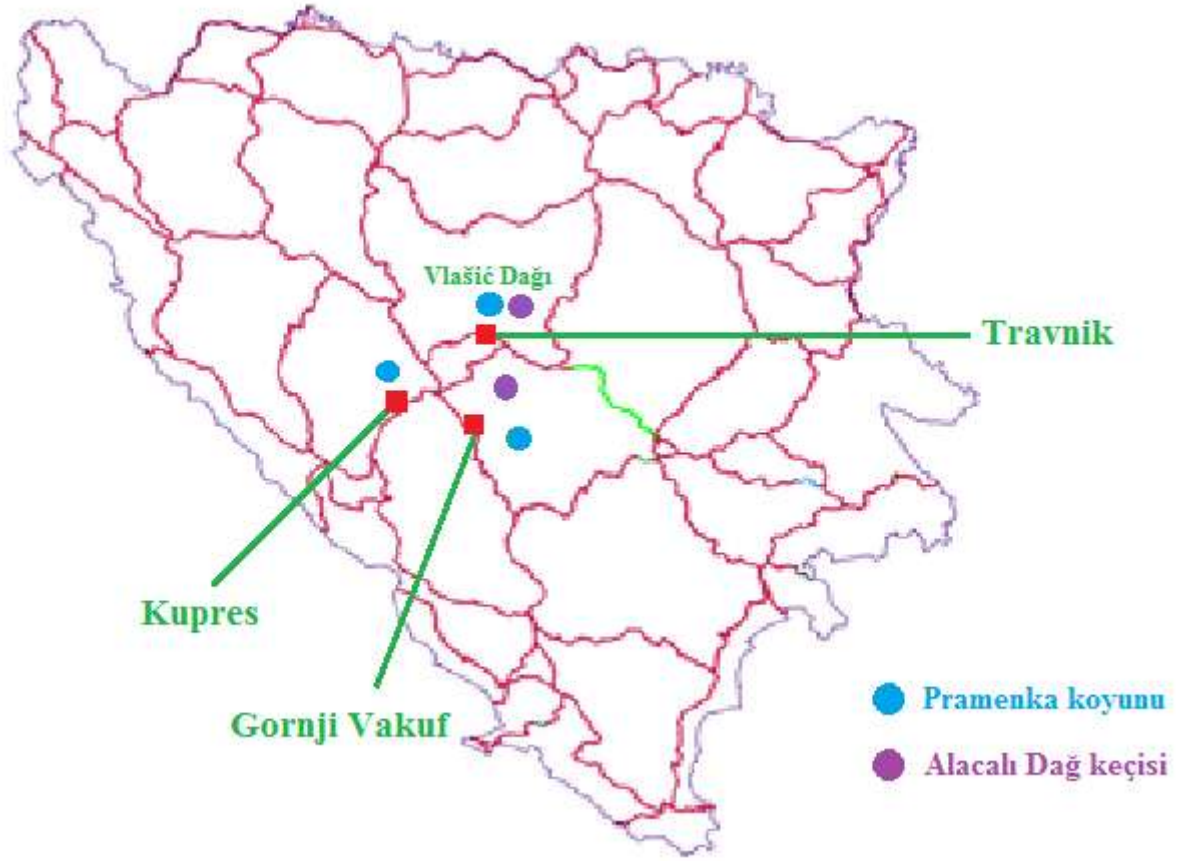
##### 3.1.1 Canlı materyal

Bu tez çalışmasında Bosna Hersek yerli ırklarına ait toplam 31 koyun ve 23 keçi kanı materyal olarak kullanılmıştır (Şekil 3.1). Kan örnekleri, antikoagülant olarak 2-5 mL'lik EDTA içeren tüplerde tek kullanımlık steril iğneler kullanılarak Bosna Hersek'teki yerli koyun ve keçilerden alınmış olup DNA izolasyonu yapılacak zamana kadar -80°C'de saklanmıştır. Çalışmada kullanılan Bosna Hersek yerli koyun ve keçilerin dişi ve erkek sayıları çizelge 3.1'de ve coğrafi konumu şekil 3.1'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.1 Çalışmada kullanılan Bosna Hersek yerli ırklar ve örnek sayısı

<b>İrk</b>	<b>Pramenka koyun ırkı</b>	<b>Alaca Dağ Keçi ırkı</b>
♀	29	22
♂	2	1
<b>Toplam</b>	<b>31</b>	<b>23</b>

Şekil 3.1'de Bosna Hersek'ten canlı materyal örneklerinin alındığı yerler gösterilmiştir.



Şekil 3.1 Bosna Hersek haritası üzerinde canlı materyal örneklerinin alındığı yerler

### 3.1.2 Araç ve gereçler

Bu tez çalışması Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Zootekni Bölümü, Biyometri ve Genetik ABD, Genetik Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir. Bu laboratuvarda araştırmayla ilgili olarak DNA izolasyonu, PCR koşullarının optimizasyonu ve uygulanması, elektroforez işlemleri, çalışmada kullanılan jel ve çözeltilerin hazırlanması yapılmıştır. Çizelge 3.2'de çalışmada kullanılan araç ve gereçlerin detayları açıklanmıştır.

Çizelge 3.2 Araç ve gereç listesi

Araç (Model)	Çalışmada Kullanım Amacı
Bidestile Saf Su Cihazı (Büchi Fontavapor 285) Ultra Saf Su Cihazı (Sg Ultra Clear Basic)	DNA izolasyonu ve PCR reaksiyonları için kullanılan tampon çözeltilerin hazırlanması
pH metre (Inolab 720)	Tampon çözeltilerin hazırlanması için gerekli pH'nın belirlenmesi
Otoklav (Hyrarna)	Kullanılan malzemelerin sterilizasyonu
Nano Drop Spectrofotometre (ND 1000)	DNA örneklerinin konsantrasyonları ve saflık derecelerinin belirlenmesi
Sıcak Su Banyosu (Kotterman)	DNA izolasyonu
Isıtıcılı Manyetik Karıştırıcı (Janke & Kunkel KG)	Tampon çözeltilerin hazırlanması
Çalkalayıcı-Vortex (Julabo Paramix3) Çalkalayıcı-Vortex (Labnet VX100)	Tampon çözeltilerin hazırlanması ve DNA izolasyonu
Santrifüj (NÜVE NF1215 5000 rpm) Mikro Santrifüj (SIGMA 1-15, 14.000 rpm) Mikro Santrifüj (HERMLE Z 231M, 15.000 rpm)	DNA izolasyonu ve PCR aşamalarında örneklerin santrifüj edilerek çöktürülmesi
Soğutmalı Santrifüj (Thermo I. M. Rf 8467 0260, 16.800 Rpm, 30.000 g)	DNA izolasyonu sırasında örneklerin bozulmadan santrifüj edilmesi
Dijital Hassas Teraziler (Sartorius R 200 ve D 1000G)	Tampon çözeltilerin hazırlanmasında sarf malzemelerin tartılması
Gradient Thermal Cycler 96 Örnek. (Biorad) Thermal Cycler 25 Örneklik (Techne TC 312)	PCR ile lokusların çoğaltılması
Yatay Agaroz Jel Elektrophorez Takımları (Thermo)	DNA izolasyonu ve PCR ürünlerinin tespit edilmesi, restriksiyon sonucu elde edilen bant modellerinin jelde belirlenmesi
Güç Kaynakları (HSI 2500 DC, Bimetra P25, Bio Rad Model 200/2.0)	Elektrophorez sistemlerinin elektrik ortamlarının sağlanması
Jel Görüntüleme ve Analiz Sistemi (Kodak Gel Logic 200)	DNA izolasyonu, PCR ürünleri ile RFLP lokusların jelde görüntülenmesi ve bilgisayar ortamına aktarılması
Termal Yazıcı (Sony Digital Graphic Printer Up-D895)	DNA izolasyonu, PCR ürünleri ile RFLP lokusların arşivlenmesi için baskı yapılması
Mikro Dalga Fırını (Arçelik MD 500)	Agaroz jellerin hazırlanması
UV Transilluminatör (Vilber Lourmat) UV Lambası ve Gözlükleri (Mineralight Lamp UV-254/366 Nm)	DNA izolasyonu ve PCR ürünlerinin ön denemelerinin agaroz jel elektrophorez ayrımı sırasında kontrollerinin yapılması
Derin Dondurucu (Rua Instruments, -80 C <sup>0</sup> ) Derin Dondurucu (Arçelik, -20) Derin Donduruculu Buzdolabı (Arçelik, +4)	Örnekler ile bazı sarf malzemelerin saklanması
Steril DNA İzolasyon Kabini (Metisafe Class II)	DNA izolasyonu ve PCR'ların steril bir ortamda yapılması
Çeker Ocak (Metisafe Class II)	Tampon çözeltilerin hazırlanması

### 3.1.3 Tampon çözeltiler

Bu çalışmada Bosna Hersek yerli koyun ve keçilerin DNA izolasyonundan sonra DNA örneklerinin saflıklarının belirlenmesi ve çoğaltılan mtDNA D-loop PCR ürünlerinin görüntülenebilmesi için agaroz jel elektroforez yöntemi kullanılmıştır. Bu amaçla kullanılan tampon çözeltilerin miktarı ve içerikleri çizelge 3.3’de verilmiştir.

Çizelge 3.3 Çalışmada kullanılan tampon çözeltilerin miktarı/molarite ve içerikleri

Tampon Çözelti	Miktar/Molarite	İçerik
<b>Eritrosit Lisis Tampon Çözeltisi</b>	0.32 M 10 mM 5 mM	Sükroz EDTA MgCl <sub>2</sub>
<b>Fizyolojik Tampon Çözeltisi</b>	75 mM 25 mM	NaCl EDTA
<b>Lisis TE Tampon Çözeltisi</b>	500 mM 20 mM 10 mM	Tris-HCl EDTA NaCl
<b>6 M NaCl Çözeltisi</b>	5.64 g 10 mL’ye tamamlanır	NaCl Steril bdH <sub>2</sub> O
<b>DNA Yükleme Tampon Çözeltisi /Boyası</b>	5.0 mL 2.0 mL 1.5 mL 0.5 M 1.5 mL	Gliserol Bromfenol mavisi EDTA Steril bdH <sub>2</sub> O
<b>10 x TBE Elektroforez/ Jel Tamponu Çözeltisi</b>	108 g 55 g 40 mL 1000 mL’ye tamamlanır	Tris (Trizma Base) Borik Asit EDTA (0.5 M) bdH <sub>2</sub> O
<b>20 x TBE Elektroforez/ Jel Tamponu Çözeltisi</b>	216 g 110 g 80 ml 1000 mL’ye tamamlanır	Tris (Trizma Base) Borik Asit EDTA Steril bdH <sub>2</sub> O
<b>1 x TBE Elektroforez/ Jel Tamponu Çözeltisi</b>	10 x TBE’den veya 20 x TBE’den seyreltme yapılır	

## 3.2 Yöntem

Bosna Hersek endemik koyun ve keçilerinden alınan kan örneklerine; sırasıyla genomik DNA izolasyonu, D-loop bölgesinin Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) ile çoğaltılması ve ardından DNA sekans analizi uygulanmıştır.

### 3.2.1 Genomik DNA İzolasyonu

Kandan genomik DNA izolasyonunda Miller vd. (1988) tarafından bildirilen DNA izolasyon protokolü laboratuvar ortamında uygulanmıştır. Aşağıda protokolde verilen sıraya göre Bosna Hersek yerli koyun ve keçi kanlarından genomik DNA izolasyonu yapılmıştır.

1. Başlangıçta  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'lık derin dondurucuda muhafaza edilen kan örnekleri çıkarılıp tamamen çözülene kadar oda sıcaklığında ( $24\text{--}25\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) bekletilmiştir.
2. Her bir kan örneğinden  $500\text{ }\mu\text{L}$  alınarak steril  $1,5\text{ mL}$ 'lik ependorf tüplerine koyulmuştur.
3. Kan örneklerinin üzerine  $1000\text{ }\mu\text{L}$  **Eritrosit Lisis Tampon Çözeltisi** (Çizelge 3.3) ilave edilmiş ve kısa bir süre vorteksle karıştırılarak  $10$  dakika oda sıcaklığında bekletilmiştir.
4. Bekletme süresinin sonunda örnekler  $8000\text{ rpm}$  de  $5$  dakika santrifüj edilmiştir.
5. Santrifüj sonunda ependorf tüplerin üst kısmında toplanan sıvı kısım (süpernatant) dikkatli bir şekilde uzaklaştırılmıştır. Dipte kalan peletlerin rengi gözlenerek peletlerin rengi beyaz olana kadar Eritrosit Lisis Tampon Çözeltisi ile tekrar muamele edilmiştir.
6. Peletlerin üzerine  $1000\text{ }\mu\text{L}$  **Fizyolojik Tampon Çözeltisi** (Çizelge 3.3) eklenmiş ve kısa bir süre vorteksle karıştırılmıştır.
7. Örnekler  $8000\text{ rpm}$  de  $5$  dakika santrifüj edilmiş ve santrifüj sonunda sıvı kısım uzaklaştırılmıştır.

8. Peletlerin üzerine 600 µL **Lisis TE Tampon Çözeltilisi** (Çizelge 3.3) eklenmiş ve peletlerin iyice çözünmesi sağlanmıştır.
9. Çözülen peletlerin üzerine 100 µL %10'luk SDS solusyonu ve 5 µL proteinaz K (10 mg/ml) eklenerek karıştırılmış ve 65 °C'de 1,5 saat su banyosunda inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresince her 15 dakikada örnekler karıştırılmıştır.
10. İnkübasyondan çıkarılan örneklerin üzerine 200 µL **6M NaCl Çözeltilisi** (Çizelge 3.3) eklenmiş ve 15 dakika vorteksle iyice karıştırılmıştır.
11. Örnekler 11000 rpm de 10 dakika santrifüj edilmiştir.
12. Santrifüj sonunda üstte kalan sıvı kısım dikkatli bir şekilde yeni bir ependorf tüpüne aktarılmıştır.
13. Örnekler 8000 rpm de 5 dakika santrifüj edilmiş ve yine üstte kalan sıvı kısım yeni bir ependorfa koyulmuştur.
14. Örneklerin üzerine örnek hacminin iki katı hacimde (yaklaşık 1000 µL) -20 °C'de saklanan %99,9'luk saf etil alkolden eklenmiştir.
15. Saf etil alkol eklendikten sonra ependorf tüpü DNA iplikçikleri kümeleşinceye kadar hafifçe karıştırılmıştır.
16. Kümeleşen DNA iplikçiklerinin tüpün dibine çökmesi için tüp 12000rpm de 5 dakika santrifüj edilmiştir.
17. Santrifüj sonunda etil alkol uzaklaştırılarak tüpün dibine çökmüş olan DNA peletinin üzerine 1000 µL % 70'lik etil alkol eklenmiş ve 12000 devrpm de 5 dakika santrifüj edilmiştir.
18. Santrifüj sonunda tüpün üstünde yer alan alkol uzaklaştırılmış ve alkölün tamamen uzaklaşmasını sağlamak amacıyla örnekler kurumaları için çeker ocağa bırakılmışlardır.
19. Tamamen kuruyan ve içinde DNA bulunan tüpün üzerine 100 µL steril bdH<sub>2</sub>O konularak çözülmesi için bir saat kadar oda sıcaklığında bekletilmiştir.

DNA izolasyonu yapıldıktan sonra *ND1000* nanodrop spektrometre'de DNA'ların saflığı ve derişimleri ölçülmüş ve PCR işlemi yapılanaya kadara -20°C'de saklanmıştır.

### 3.2.2 Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

Bosna Hersek yerli koyun ve keçi D-loop gen bölgelerinin Polimeraz Zincir Reaksiyonu tekniği (*Polymerase Chain Reaction*) ile çoğaltılmasında kullanılan PCR karışımı belirtilen miktarlarda kuru buz üzerindeki 0.2 ml'lik PCR ependorf tüpleri içerisinde hazırlandıktan sonra, PCR şartları programlanıp PCR cihazına yerleştirilmiştir. Aşağıdaki alt başlıklarda koyun ve keçi PCR protokolleri gösterilmiştir.

#### 3.2.2.1 Koyun PCR Analizi

Gen Bankası (No:AF010406.1) internet portalından evcil koyun için tüm mitokondriyal genoma ait referans diziden D-loop, tRNA-Pro, tRNA-Phe gen bölgesini içeren dizi bilgilerini kullanarak, D-loop bölgesini içeren 1434 bp'lık kısmı primerler kullanarak çoğaltılmıştır. Bu analizi için Hiendleder vd. (1998) tarafından belirlen ileri ve ters primerler kullanılmıştır. Bunlar:

YG-F (Forward Primeri) : 5' - CTCACCATCAACCCCAAAGC -3'

YG-R (Reverse Primeri): 5' - TCATCTAGGCATTTTCAGTG -3' .

Uygulanan PCR karışımı çizelge 3.4'de ve PCR protokolü ise çizelge 3.5'de verilmiştir.

Çizelge 3.4 Örnek Başına 0.2 ml'lik PCR Tüplerine Konulan Malzemeler ve Miktarları

Kullanılan Malzeme	Miktar
50 ng DNA	1 µl
10 x Taq Buffer (+KCl -MgCl <sub>2</sub> )	2,5 µl
1,5 mM MgCl <sub>2</sub>	1,5 µl
0.2 mM dNTP	2,5 µl
5 pM Forward Primer	1 µl
5 pM Reverse Primer	1 µl
5 U Taq DNA Polimeraz	0.25 µl
bd H <sub>2</sub> O Deiyonize su	15.25 µl
<b>Toplam Hacim</b>	<b>25 µl</b>

PCR reaksiyonunun gerçekleşmesi için MyCycler Thermal Cycler (Biorad) cihazı kullanılmıştır. Aşağıda gösterilen PCR şartları altında koyun PCR reaksiyonu gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 3.5 Koyun PCR Protokolü

95°C	3 min.	} 35 döngü	Initial Denaturation
95°C	30 sec.		Denaturation
52°C	45 sec.		Annealing
72°C	90 sec.		Extension
72°C	15 min.		Final Extension

PCR ile çoğaltılan örneklerin görüntülenmesi için %2'lik agaroz jelleri kullanılmıştır. 100 V'te yaklaşık 45 dakika'lık agaroz elektroforezinin ardından Jel Kodak Gel Logic 200 Görüntüleme ve Analiz Sistemi kullanılarak jellerin fotoğrafları çekilmiştir. Koyun elektroforez analizinde marker olarak GenRular Express Ladder kullanılmıştır.

### 3.2.2.2 Keçi PCR Analizi

Gen Bankası (No:GU295658.1) internet portalından evcil keçi için tüm mitokondriyal genoma ait referans diziden D-loop üzerinde bulunan 1.çok değişken bölgesinin (1. *Hypervariable region*, HVR-1) dizi bilgileri kullanılmıştır. Yani 663 bazlık bir bölgenin çoğaltılması için Luikart vd. (2001) tarafından kullanılan primerler, forward ve reverse primerleri olarak kullanılmıştır. Bu primerler şunlardır:

CAP-F (Forward Primeri): 5' - CGTGTATGCAAGTACATTAC -3'

CAP-R (Reverse Primeri): 5' - CTGATTAGTCATTAGTCCATC -3'.

Çizelge 3.6 Örnek Başına 0.2 ml'lik PCR Tüplerine Konulan Malzemeler ve Miktarları

Kullanılan Malzeme	Miktar
35 - 50 ng DNA	1 – 1,5 µl
10 x Taq Buffer (+KCl –MgCl <sub>2</sub> )	2,5 µl
2 mM MgCl <sub>2</sub>	2 µl
0.2 m dNTP	2,5 µl
10 pM Forward Primer	1 µl
10 pM Reverse Primer	1 µl
5 U Taq DNA Polimeraz	0.25 µl
bd H <sub>2</sub> O Deiyonize su	14,75 - 14.25 µl
<b>Toplam Hacim</b>	<b>25 µl</b>

PCR rekasyonunun gerçekleşmesi için MyCycler Thermal Cycler (Biorad) cihazına koyulmuştur. Aşağıda gösterilen PCR şartları altında keçilerin PCR reaksiyonu gerçekleşmiştir.

Çizelge 3.7 Keçi PCR Protokolü

95°C	10 min.		Initial Denaturation
95°C	30 sec.	35 döngü	Denaturation
55°C	30 sec.		Annealing
72°C	1 min.		Extension
72°C	5 min.		Final Extension

%2'lik agaroz jelinde yapılan elektroforez işlemi sonucunda PCR ürünlerine ait bantlar görüntülenmiştir. Agaroz elektroforezde DNA'ların yürütülmesinin yanında marker olarak 100 bp'lık ladder kullanılmıştır.

### 3.2.3 DNA Sekans Analizi

PCR ürünlerinin agaroz elektroforezde band görüntülerinin belirlenmesinin ardından örneklerin DNA sekans analizi yapılmıştır. Bosna Hersek endemik koyun ve keçilerin DNA sekans analizi Teknokent'teki Refgen Gen Araştırmaları ve Biyoteknoloji Laboratuvarı'nda yapılmıştır. PCR ürünün temizlenmesinden sonra *BIORAD T100* Thermal Cycler cihazında sekans PCR yapılmıştır. Sekans PCR'in gerçekleştirilmesinin ardından sekans PCR ürünün temizlenmesi yapılmıştır. Bundan sonra bu temizlenmiş sekans PCR ürünlerinin sekanslanmaları *ABI PRISM 3130* Genetic Analyzer cihazında gerçekleştirmiştir. Bu analizde elde edilen sekans verileri Finch TV (ver.1.4.0) paket programında okunmuştur. Ayrıca, sonuçların değerlendirmesi için MEGA6 (Tamura vd. 2004, Tamura vd. 2013), SplitTree4 (Huson ve Bryant 2006) ve ARLEQUIN 3.5 (Excoffier ve Lischer 2010) paket programları kullanılmıştır. Filogenetik analizi için haplotiplerin genetik farklılığı ve dendogram oluşturulmasında MEGA 6 paket programının *Neighbor-joining tree* (NJ, komşu birleştirme) modelleri kullanılmıştır. Ayrıca filogenetik analizi için *Median-joining tree* (MJ ağacı) yönemi SplitsTree 4 paket programı kullanarak yapılmıştır.

## 4. ARAŞTIRMA BULGULARI

### 4.1 DNA İzolasyon

Bosna Hersek yerli koyun ve keçi ırklarına ait örneklerin DNA izolasyonu, bölüm 3.2.1’de detaylı olarak anlatılmıştır. DNA izolasyonunun ardından, DNA’ların saflığı ve derişimleri *ND1000 nanodrop* spektrometrede ölçülmüştür. DNA’nın saflık değeri 1.8 – 2.0 arasında olması tercih edilmektedir. Çizelge 4.1’de bu DNA’ların saflığı ve derişimlerinin sonucu gösterilmiştir.

Çizelge 4.1 Bosna Hersek yerli koyun ve keçi ırkların izole edilen DNA örneklerinin derişim ve saflık değerleri

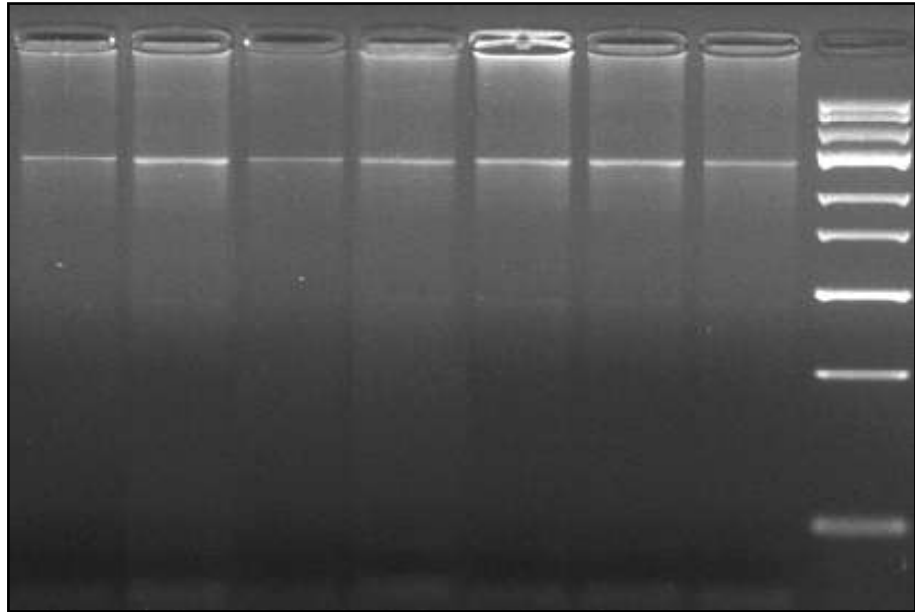
Koyun DNA Örnekleri	Derişim (ng/µL)	Saflık	Keçi DNA Örnekleri	Derişim (ng/µL)	Saflık
BH S 51	61,33	1,21	BH G 1	39,16	1,56
BH S 52	129,38	1,64	BH G 2	57,08	1,53
BH S 53	318,51	1,87	BH G 3	94,34	1,74
BH S 54	324,39	1,83	BH G 4	221,02	1,66
BH S 55	282,17	1,85	BH G 5	312,79	1,67
BH S 56	278,77	1,80	BH G 6	789,92	1,9
BH S 57	333,98	1,88	BH G 7	221,14	1,56
BH S 58	204,82	1,69	BH G 8	340,04	1,46
BH S 59	332,36	1,77	BH G 9	181,97	1,68
BH S 60	267,66	1,82	BH G 10	194,73	1,57
BH S 61	195,32	1,85	BH G 11	288,95	1,65
BH S 62	227,67	1,84	BH G 12	265,17	1,66
BH S 63	320,12	1,88	BH G 13	2225,92	1,49
BH S 64	244,02	1,83	BH G 14	122,51	1,61
BH S 65	302,22	1,85	BH G 15	456,92	1,8
BH S 66	376,1	1,86	BH G 16	670,11	1,91
BH S 67	924,89	1,83	BH G 17	579,51	1,82
BH S 68	313,66	1,86	BH G 18	220,97	1,82
BH S 69	317,4	1,85	BH G 19	1116,45	1,88
BH S 70	242,6	1,86	BH G 20	182,37	1,79
BH S 71	192,05	1,81	BH G 21	119,55	1,68
BH S 72	336,21	1,78	BH G 22	172,87	1,64
BH S 73	351,75	1,83	BH G 23	154,77	1,66
BH S 74	234,65	1,83			
BH S 75	17,69	1,55			
BH S 76	61,63	1,78			
BH S 77	134,01	1,84			
BH S 78	119,55	1,80			
BH S 79	273,9	1,83			
BH S 80	217,04	1,84			
BH S 81	389,79	1,85			

## 4.2 mtDNA D-loop Bölgesinin PCR ile Çoğaltılması ve DNA Sekans Analizi

Bosna Hersek endemik koyun ve keçi ırklarının D-loop bölgesinin gen dizileri belirlenmiştir. Gen dizi bilgilerine göre koyunlarda ve keçilerde mtDNA polimorfizmi, haplotipleri ve haplogrupları belirlenmiştir. Ayrıca, belirlenen koyun ve keçideki haplotipler ile belli haplogruplara ait yabancı ırklar arasında filogenetik ilişkiler ortaya konmaya çalışılmıştır.

### 4.2.1 Koyun D-loop'un PCR ile Çoğaltılması ve DNA Sekans Analizi

Bosna Hersek Pramenka koyunlarının PCR analizi sonucunda D-loop bölgesi içeren mtDNA'nın 1434 bp'lık kısmı çoğaltılmıştır. Genel olarak koyunlarda D-loop bölgesi 1180 bp'tır. PCR analizinin ardından %2'lik agaroz elektroforez işlemi sonucunda PCR ürünlerine ait bantlar görüntülenmiştir. Şekil 4.1'de bu bantları görülmektedir.



Şekil 4.1 Forward primer 5' - CTCACCATCAACCCCAAAGC -3' (YG-F) ve reverse primer 5' - TCATCTAGGCATTTTCAGTG -3' (YG-R) kullanılarak izole edilip çoğaltılan ve D-loop bölgesini içeren 1434 bp'lık bölgenin %2'lik agaroz jel elektroforezindeki görüntüsü

Bosna Hersek Pramenka koyunlarına mensup 31 bireyin, çoğaltılan D-loop bölgesi bakımından DNA dizi analizi sonuçları, yabancı koyunun türlerinden *Ovis Orientalis* (*Ovis gmelinii* - Asyatik muflonu), *Ovis Musimon* (Avrupa Muflonu), *Ovis vigne* (Urial), *Ovis Ammon* (Argali), *Ovis canadensis* (Bighorn), *Ovis aries voucher* (Çin koyunu), *Ovis aries Balkan Pramenka* (Hırvatistan ve Sırbistan Pramenka koyunu, S-H S1) ve *Ovis aries* (Evcil koyun) ırklarına ait dizilimler ile karşılaştırılmıştır (Çizilge 4.2). Bu yabancı koyun referans türlerin GenBank erişim numaraları sırası ile KF677293, AF039577, KF938361, HM236188, NC\_015889, KP998473, KF938347 ve AF039577 alınmıştır. Yapılan karşılaştırmada, Bosna Hersek endemik Pramenka koyununa ait 31 birey içinde yapılan karşılaştırmada, mtDNA D-loop bölgesi bakımından 12 farklı haplotip (BHS 1 – BHS12) belirlenmiştir. Bu belirlenen haplotipler arasında BHS 1 haplotipi en yaygın haplotip olup (n=11), bunu BHS 2 (n=6), BHS 3 (n=3) ve BHS 4 (n=3) haplotipleri ise takip etmektedir. Diğer 8 haplotipin her biri birer örnekte görülmüştür.

Ayrıca Bosna Hersek Pramenka koyunun karşılaştırma yapılan diğer ırklar ile çeşit nükleotitler bakımından farklılıklar gösterdiği saptanmıştır (Çizilge 4.2). Bu değerlendirme çerçevesinde karşılaştırılan haplotipler arasında MEGA 6 paket programında genetik uzaklıklar (*Pairwise distance*) saptanmıştır (Çizelge 4.3). Burada elde edilen sonuçlarına göre *Ovis candensis* diğerlerinin hepsinden uzak bulunmuştur. Bosna Hersek Pramenka koyunlarında belirlenen haplotipler birbirinden genellikle çok uzak değildir. Nitekim Şekil 4.2'deki NJ ağacında bu durum daha belirgin olarak görülmektedir.

Bu analizin çerçevesinde koyun popülasyonunun genişleme bulguları ARLEQUIN 3.5 paket programı kullanılarak incelenmiştir. ARLEQUIN paket programında yapılan sonuçların incelenmesinden de benzer sonuçlara varmak mümkündür.

Çizelge 4.2 Bosna Hersek yerli Pramenka koyunlarında mtDNA D-loop bölgesi bakımından tespit edilen haplotipler

Haplotipler	GenBank Erişim No.	Nükleotit numarası																																					
		204	205	206	208	211	214	217	219	221	222	224.1	227	245	247	275	278	291	293	300	301	353	366	374	378	388	425	431	440	448	449	462	463	465	468	474	482		
<i>Ovis orientalis</i>	KF677293	T	T	A	A	T	A	A	G	G	C	-	C	A	T	A	C	C	C	T	G	C	C	G	T	C	C	A	C	G	T	T	A	A	T	G	T		
<i>Ovis musimon</i>	AF039577	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	T	.	.	.	T	T	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
<i>Ovis vignei</i>	KF938361	C	C	.	G	.	G	A	.	.	T	T	.	.	.	.	T	T	.	.	T	.	.	T	T	.	T	.	T	.	.	C	.	.	.	.	.		
<i>Ovis ammon</i>	HM236188	C	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	T	.	A	T	T	A	.	T	T	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.		
<i>O. canadensis</i>	NC_015889	C	.	C	G	.	C	G	T	A	T	.	C	.	C	A	-	A	C	C	T	.	T	.	A	.	.	.	A	.	A	G	.	.	.	.	.		
<i>Ovis aries</i>	AF039577	.	.	.	.	.	.	A	.	.	-	T	.	.	.	T	T	.	.	.	.	.	.	.	C	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
<i>O.aries voucher</i>	KP998473	.	.	G	.	.	G	.	.	.	-	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	G	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.		
S-H S1	KF938347	.	.	.	.	.	.	.	.	.	-	T	.	.	.	T	.	.	.	.	T	.	.	.	T	T	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.		
BHS 1 (n=11)		.	.	.	.	.	.	.	.	.	-	T	.	.	.	T	.	.	.	.	T	.	.	.	T	T	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.		
BHS 2 (n=6)		.	.	.	.	.	.	.	.	.	-	T	.	.	.	T	.	.	.	.	T	.	.	.	T	T	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.		
BHS 3 (n=3)		.	.	.	.	.	.	.	.	.	-	T	.	.	.	T	.	.	.	.	T	.	.	.	T	T	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.		
BHS 4 (n=3)		.	.	.	.	.	.	.	.	.	-	T	.	.	.	T	.	.	.	.	T	.	.	.	T	T	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.		
BHS 5 (n=1)		.	.	.	.	.	.	.	.	.	-	T	.	.	.	T	.	.	.	.	T	T	.	.	T	T	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.		
BHS 6 (n=1)		.	.	.	.	.	.	.	.	.	-	T	.	.	.	T	.	.	.	.	T	T	.	.	T	T	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.		
BHS 7 (n=1)		.	.	.	.	.	.	.	.	.	-	T	.	.	.	T	.	.	.	.	T	.	.	.	T	T	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.		
BHS 8 (n=1)		.	.	.	.	.	.	.	.	.	-	T	.	.	.	T	.	.	.	.	T	.	.	.	T	T	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.		
BHS 9 (n=1)		.	A	.	.	.	.	A	.	.	-	T	.	.	.	T	.	.	.	.	T	.	.	.	T	T	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.		
BHS 10 (n=1)		.	.	.	A	.	.	.	.	.	-	T	.	.	.	T	.	.	.	.	T	.	.	.	T	T	.	.	.	C	C	.	.	.	.	.	.		
BHS 11 (n=1)		.	.	.	.	.	.	.	.	.	-	T	.	.	.	T	.	.	.	.	T	.	.	.	T	T	.	.	.	C	C	.	.	.	.	.	.		
BHS 12 (n=1)		.	.	.	.	.	.	.	.	.	-	T	.	.	.	T	.	.	.	.	T	T	.	.	T	T	.	T	.	C	C	.	.	.	.	.	.		

Not: *Ovis orientalis* DNA dizisi standart olarak kullanılmıştır ve bu DNA dizi sırası ile aynı olanlar nokta (.) ile gösterilmiştir.

Çizelge 4.2 Bosna Hersek yerli Pramenka koyunlarında mtDNA D-loop bölgesi bakımından tespit edilen haplotipler (devamı)

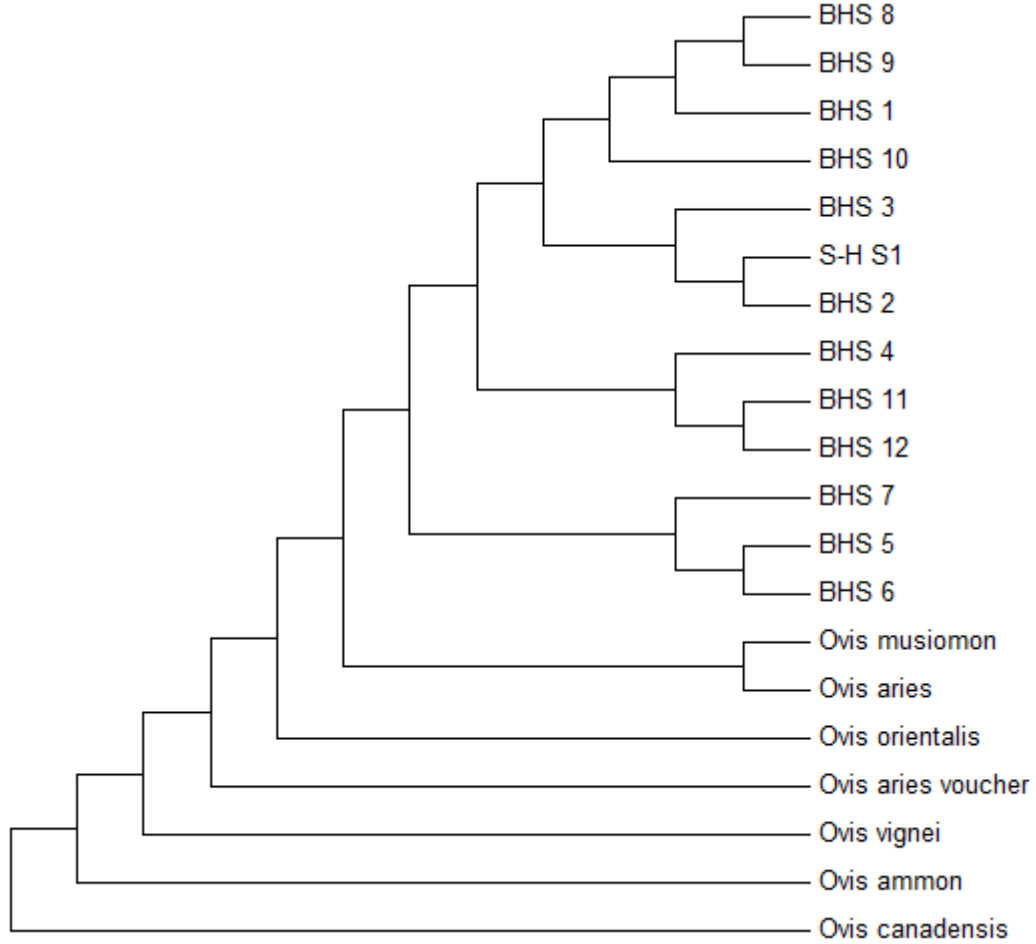
Haplotipler	GenBank Erişim No.	Nükleotit numarası																																					
		487	490	491	495	498	499	500	504	505	506	514	515	516	522	523	524	525	527	528	529	530	531	535	537	538	539	540	541	544	545	549	551	552	560	575	587		
<i>Ovis orientalis</i>	KF677293	T	A	T	T	C	C	C	G	C	A	A	T	G	T	T	G	T	T	C	A	C	T	G	A	T	G	T	A	G	T	A	A	C	C	A	A		
<i>Ovis musimon</i>	AF039577	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.
<i>Ovis vignei</i>	KF938361	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	C	C	.	.	.	.	.	.	.	.	A	C	.	A	C	.	A	C	.	T	T	G	G
<i>Ovis ammon</i>	HM236188	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	A	.	C	.	.	.	.	.	.	C	A	.	A	C	.	G	T	T	G	G	.		
<i>O. canadensis</i>	NC_015889	.	G	.	.	.	.	T	.	.	.	.	A	.	.	.	A	A	.	.	.	T	C	A	T	A	C	A	G	A	C	T	.	T	T	.	G		
<i>Ovis aries</i>	AF039577	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.
<i>O.aries voucher</i>	KP998473	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	C	A	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	G	.	.	.	.	G	G	
S-H S1	KF938347	.	G	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	
BHS 1 (n=11)		.	G	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
BHS 2 (n=6)		.	G	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	
BHS 3 (n=3)		.	G	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	
BHS 4 (n=3)		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
BHS 5 (n=1)		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
BHS 6 (n=1)		.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
BHS 7 (n=1)		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
BHS 8 (n=1)		.	G	.	.	T	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
BHS 9 (n=1)		.	G	.	.	T	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
BHS 10 (n=1)		.	G	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
BHS 11 (n=1)		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	
BHS 12 (n=1)		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	

Not: *Ovis orientalis* DNA dizisi standart olarak kullanılmıştır ve bu DNA dizi sırası ile aynı olanlar nokta (.) ile gösterilmiştir.

Çizelge 4.3 mtDNA D-loop bölgesi bakımından GenBank ve Bosna Hersek Pramenka haplotiplerine ait beklenen genetik uzaklıklar

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
1. <i>Ovis orientalis</i>																			
2. <i>Ovis musimon</i>	0.052																		
3. <i>Ovis vignei</i>	0.082	0.076																	
4. <i>Ovis ammon</i>	0.090	0.067	0.073																
5. <i>Ovis canadensis</i>	0.467	0.493	0.464	0.432															
6. <i>Ovis aries</i>	0.052	0.000	0.076	0.067	0.493														
7. <i>Ovis aries voucher</i>	0.079	0.067	0.092	0.091	0.483	0.067													
8. S-H S1	0.064	0.020	0.079	0.064	0.481	0.020	0.073												
9. BHS 1	0.055	0.023	0.079	0.070	0.481	0.023	0.076	0.008											
10. BHS 2	0.064	0.020	0.079	0.064	0.481	0.020	0.073	0.000	0.008										
11. BHS 3	0.061	0.023	0.082	0.067	0.488	0.023	0.070	0.003	0.005	0.003									
12. BHS 4	0.052	0.020	0.076	0.067	0.483	0.020	0.073	0.015	0.008	0.015	0.013								
13. BHS 5	0.052	0.020	0.070	0.062	0.483	0.020	0.073	0.020	0.013	0.020	0.018	0.005							
14. BHS 6	0.055	0.023	0.073	0.064	0.488	0.023	0.076	0.018	0.010	0.018	0.015	0.008	0.003						
15. BHS 7	0.050	0.018	0.073	0.064	0.477	0.018	0.070	0.018	0.010	0.018	0.015	0.003	0.003	0.005					
16. BHS 8	0.058	0.026	0.082	0.073	0.490	0.026	0.079	0.010	0.003	0.010	0.008	0.010	0.015	0.013	0.013				
17. BHS 9	0.061	0.028	0.082	0.076	0.499	0.028	0.082	0.013	0.005	0.013	0.010	0.013	0.018	0.015	0.015	0.008			
18. BHS 10	0.061	0.028	0.076	0.076	0.483	0.028	0.082	0.013	0.005	0.013	0.010	0.008	0.013	0.010	0.010	0.008	0.010		
19. BHS 11	0.058	0.020	0.079	0.064	0.489	0.020	0.067	0.010	0.013	0.010	0.008	0.005	0.010	0.013	0.008	0.015	0.018	0.013	
20. BHS 12	0.063	0.026	0.073	0.059	0.500	0.026	0.073	0.015	0.018	0.015	0.013	0.010	0.010	0.013	0.013	0.021	0.023	0.018	0.005

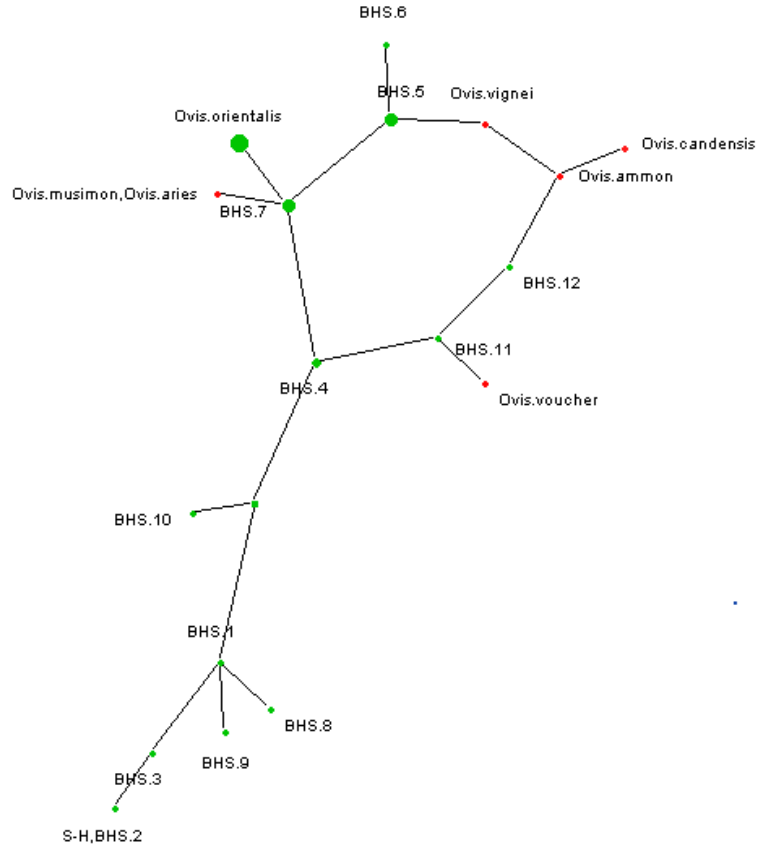
*Neighbor-joining tree* (NJ ağacı, komşu birleştirme) kümeleme analizi sonucunda, karşılaştırılan populasyonlar aşağıdaki şekilde gruplandırılmıştır.



Şekil 4.2 mtDNA D-loop bölgesi bakımından Bosna Hersek Pramenka ve yabani keçi ırklar arasında nükleotit dönüşümlerinin beklenen miktarlarından elde edilen NJ ağacının görüntüsü

MEGA paket programı ile elde edilen ve şekil 4.2’de gösterilen NJ ağacına göre Bosna Hersek Pramenka haplotipleri *Ovis orientalis* kümesinin altında yer aldığı görülmektedir. Bosna Hersek Pramenka kümesinin altında başka kümelerin oluştuğu görülmektedir. Bunun yanında S-HS1 koyunu da Bosna Hersek Pramenka kümesinde yer almıştır. Ayrıca BHS haplotipleri genel olarak birbirlerine oldukça yakın iken, *Ovis canadensis* ırkına oldukça uzak kümelerde yer almışlardır.

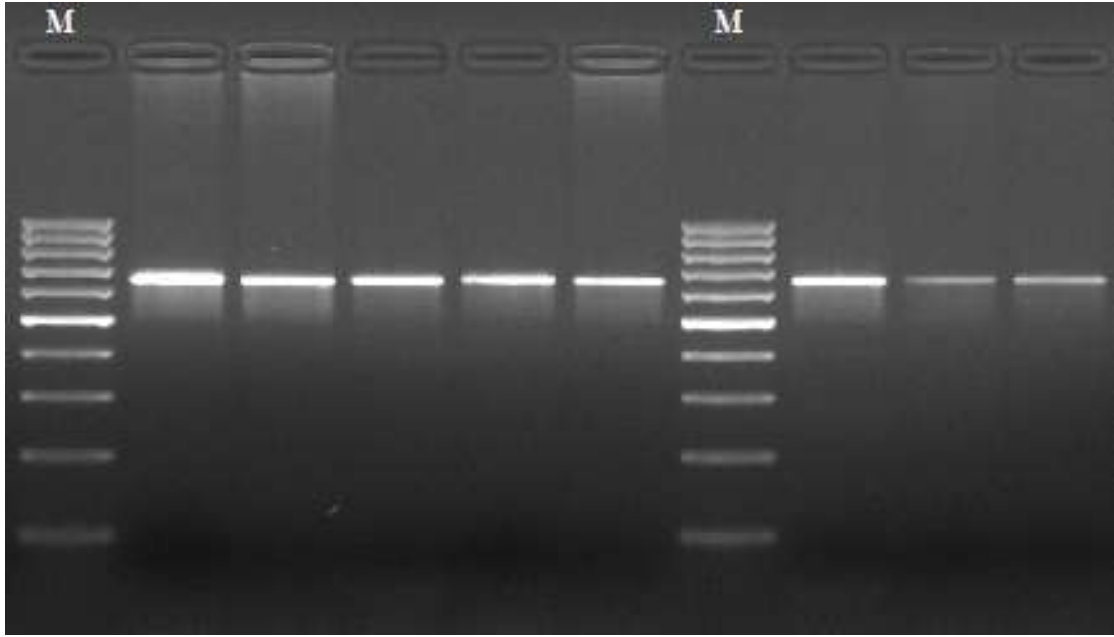
Belirlenen 12 Bosna Hersek Pramenka haplotipi ve karşılaştırma yapılan diğer ırklara ait nükleotit farklılıklarından yararlanılarak SplitsTree 4 (splitstree4\_windows\_4\_14\_4: <http://ab.inf.uni-tuebingen.de/data/software/splitstree4/download/welcome.html>) paket programı ile mtDNA D-loop bölgesi bakımından haplotipler sınıflara ayrılmıştır (Şekil 4.3). Buna göre BHS 7 haplotipi *Ovis orientalis*'e en yakın yer aldığı görülmektedir. Bu haplotipten sonra iki tane sınıf oluştuğu görülmüştür. Bu iki sınıfta BHS 4 ve BHS 5 haplotipleri yer almışlardır. Diğer haplotiplerin çoğu BHS 4 haplotipi üzerinde yeni sınıflarda yer almışlardır. Ayrıca BHS 11 ve BHS 12 haplotipleri mutasyon ile *Ovis aries voucher* ve *Ovis Ammon*'a yakın yer aldığı görülmektedir. Aşağıdaki şekilde *median-joining tree* (MJ ağacı) analizinin sonucu gösterilmiştir.



Şekil 4.3 mtDNA D-loop bölgesi bakımından karşılaştırma yapılan GenBank dizileri ve 12 Bosna Hersek Pramenka haplotipi kullanılarak MJ ağacı yöntemi ile çizilen network şeması. BHS 1 – BHS 12 (Bosna Hersek Pramenka haplotipleri)

#### 4.2.2 Keçi D-loop'un PCR ile Çoğaltılması ve DNA Sekans Analizi

Bosna Hersek Alaca Dağ Keçilerinin PCR analizi sonucunda 1212 bp'lık mtDNA D-loop'daki birinci çok değişken bölgenin (HVR-1) 663 bp'lık bir kısmı çoğaltılmıştır. PCR analizi yaptıktan sonra %2'lik agaroz jel elektroforezi işlemi sonucunda PCR ürünlerine ait bantlar görüntülenmiştir. Şekil 4.4'te bu bantlar görülmektedir.



Şekil 4.4 Forward primer 5'- CGTGTATGCAAGTACATTAC -3' (CAP-F) ve reverse primer 5'- CTGATTAGTCATTAGTCCATC -3' (CAP-R) kullanılarak çoğaltılan 663 bp'lık bölgenin %2'lik agaroz jel elektroforezi görüntüleri (M: GeneRuler 100 bp DNA Ladder)

Bosna Hersek keçi ırkına mensup 23 hayvanın, çoğaltılan D-loop HVR-1 bölgesi bakımından DNA dizi analizi sonuçları, yabancı keçi türlerinden *Capra aegagrus* (Yabancı keçisi - Bezoar İbex), *Capra caucasica* (Batı Kafkas Turu), *Capra falconeri* (Markhor), *Capra ibex* (Alpine İbex), *Capra nubiana* (Nubian İbex), *Capra pyrenaica* (Spanish İbex), *Capra sibirica* (Siberian İbex) ve *Capra hircus* (Evcil keçi) ırklarına ait dizilimler ile karşılaştırılmıştır (Çizilge 4.4). Bu yabancı keçi referans türlerin GenBank erişim numaraları sırası ile NC\_028161, NC\_020683, NC\_020622, NC\_020623, NC\_020624, NC\_020625, NC\_020626 ve NC\_005044 alınmıştır. Bosna Hersek Alaca

Dağı Keçisine ait 23 birey içinde yapılan karşılaştırmada, mtDNA D-loop bölgesi bakımından 16 farklı haplotip (BHG 1 – BHG16) belirlenmiştir. Bu belirlenen haplotipler arasında BHG 1 haplotipi en yaygın haplotip olup (n=3), buna BHG 2, BHG 3, BHG 4, BHG 5 ve BHG 6 haplotipleri takip etmektedir (n=2). Diğer 10 tane haplotipin her biri bireysel dağılım (n=1) göstermiştir.

Buna ek olarak çalışmaya konu olan Bosna Hersek yerli keçisinin karşılaştırma yapılan diğer ırklar ile çeşit nükleotitler bakımından farklılıklar gösterdiği saptanmıştır (Çizilge 4.4). Bosna Hersek alaca dağı keçilerin D-loop HVR-1 bölgesindeki TAS bölümü polimorfik olduğu görülmüştür. Bu bölgede büyük oranda supstitusyonların ve küçük oranda delesyonun olduğunu görülmüştür.

Bu değerlendirme çerçevesinde karşılaştırılan haplotipler arasında MEGA 6 paket programında genetik uzaklıklar (*Pairwise distance*) saptanmıştır (Çizelge 4.5). Bu analizin çerçevesinde keçi popülasyonunun genişleme bulgular ARLEQUIN 3.5 paket programı kullanılarak incelenmiştir. Nitekim bu sonuçların incelenmesinden de benzer sonuçlara varmak mümkündür.

Çizelge 4.4 Bosna Hersek Alaca Dağı Keçisinde mtDNA D-loop'un HVR-1 bölgesi bakımından tespit edilen haplotipler

Haplotipler	GenBank Erişim No.	Nükleotit numarası																																					
		317	318	321	325	326	327	330	334	335	340	342	352	352.1	353	356	368	371	378	384	385	388	389	391	398	412	421	422	431	448	451	461	463	476	489	491	498		
<i>C. aegagrus</i>	NC_028161.1	C	A	C	G	C	A	A	A	T	C	T	-	G	T	T	A	T	A	C	G	T	T	-	C	G	G	T	T	A	T	A	G	A	A	A			
<i>C. caucasica</i>	NC_020683.1	T	.	T	A	.	.	G	.	.	.	C	-	A	C	.	.	C	.	.	.	.	C	-	T	.	A	.	C	.	C	.	A	.	G	.			
<i>C. falconeri</i>	NC_020622	T	.	T	G	.	.	.	G	.	.	C	-	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	-	T	.	G	C	.	.	.	.	.	.	.	G	.		
<i>C. hircus</i>	NC_005044	T	.	.	G	.	.	.	G	.	.	T	-	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	-	.	A	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.		
<i>C. ibex</i>	NC_020623	T	G	.	A	T	G	.	.	.	A	T	-	A	.	.	.	.	.	.	.	C	.	T	.	A	A	.	.	.	.	.	.	.	G	.			
<i>C. nubiana</i>	NC_020624	T	.	.	G	.	.	.	.	T	.	C	-	A	.	.	.	G	.	.	.	.	-	-	-	T	A	A	.	A	.	.	.	A	.	G	.		
<i>C. pyrenaica</i>	NC_020625	T	.	T	G	.	.	.	.	T	.	C	-	A	.	.	.	.	.	.	.	C	C	C	-	.	A	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.		
<i>C. sibirica</i>	NC_020626	-	.	.	G	.	.	.	.	C	C	.	C	C	.	G	.	.	.	A	-	-	-	-	T	A	A	.	C	C	-	.	A	.	.	.			
BHG 1 (n=3)		T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	-	.	.	.	.	.	.	T	.	C	C	-	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.			
BHG 2 (n=2)		T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	-	.	.	.	.	.	.	T	.	C	C	-	.	A	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.			
BHG 3 (n=2)		T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	-	.	.	.	.	.	.	T	.	C	C	-	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.			
BHG 4 (n=2)		T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	-	.	.	.	.	.	.	T	.	C	C	-	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.		
BHG 5 (n=2)		T	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	-	.	.	.	.	.	.	T	.	C	C	-	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.		
BHG 6 (n=2)		T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	-	.	.	.	.	.	.	T	.	C	C	-	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.		
BHG 7 (n=1)		T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	-	.	.	.	.	.	.	T	.	.	C	-	.	A	A	.	G	.	.	.	.	.	.	.	G	.	
BHG 8 (n=1)		T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	-	A	.	.	.	.	.	T	.	.	C	-	T	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	
BHG 9 (n=1)		T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	-	.	.	.	.	.	.	T	.	.	C	-	T	A	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.
BHG 10 (n=1)		T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	-	.	.	.	.	.	.	T	.	C	C	-	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.
BHG 11 (n=1)		T	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	-	.	.	.	.	.	.	T	.	.	C	-	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	
BHG 12 (n=1)		T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	-	.	.	.	.	.	.	T	.	C	C	-	.	A	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	
BHG 13 (n=1)		T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	-	.	.	.	.	.	.	T	.	C	C	-	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.
BHG 14 (n=1)		T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	-	.	.	C	.	.	.	T	.	C	.	-	.	A	.	.	C	G	.	.	.	.	.	.	G	.	
BHG 15 (n=1)		T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	-	.	.	.	.	.	.	T	.	C	C	-	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	
BHG 16 (n=1)		T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	-	.	.	.	.	.	.	T	.	C	C	-	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.

Not: *C. aegagrus* DNA dizisi standart olarak kullanılmıştır ve bu DNA dizi sırası ile aynı olanlar nokta (.) ile gösterilmiştir.

Çizelge 4.4 Bosna Hersek Alaca Dağı Keçisinde mtDNA D-loop'un HVR-1 bölgesi bakımından tespit edilen haplotipler (devamı)

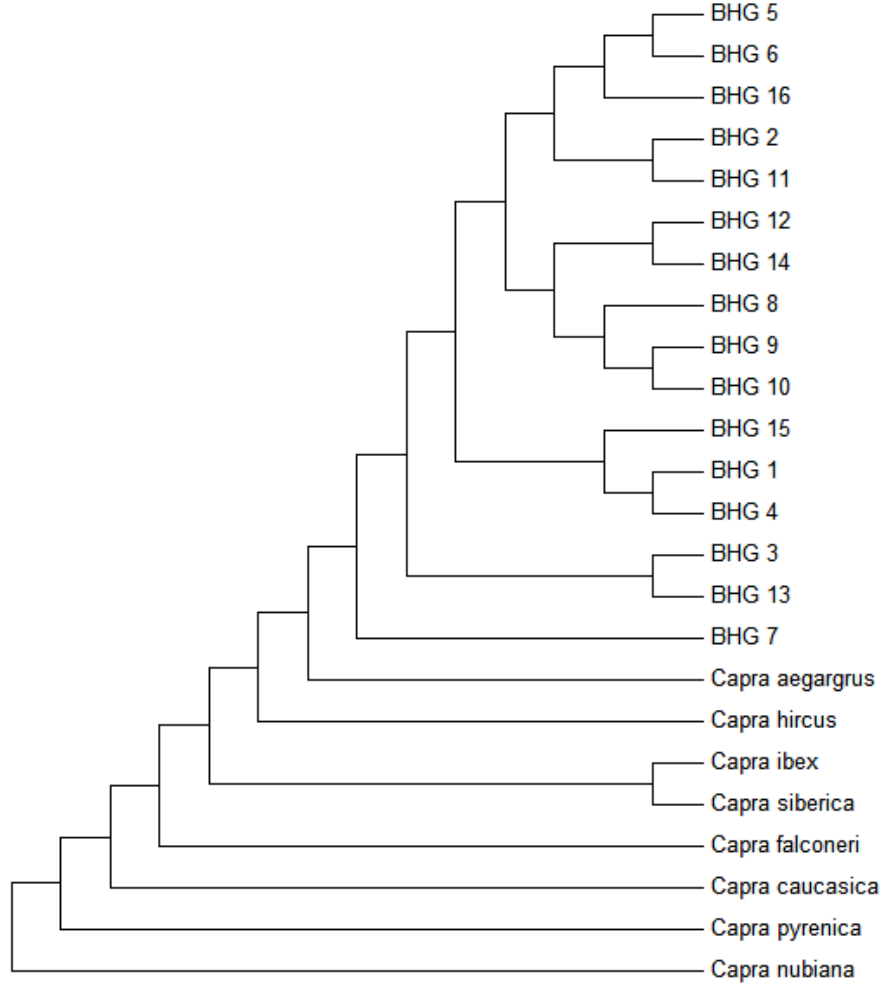
Haplotipler	GenBank Erişim No.	Nükleotit numarası																																			
		499	508	521	528	540	543	547	549	550	551	555	556	559	560	563	570	571	572	575	581	589	598	600	601	605	615	616	632	633	634	635	637	638	640	642	647
<i>C. aegagrus</i>	NC_028161.1	T	C	C	C	G	T	C	A	T	T	C	T	T	G	A	A	G	T	A	C	T	G	A	C	G	C	A	G	T	A	T	C	C	G	T	G
<i>C. caucasica</i>	NC_020683.1	C	.	.	.	.	C	.	.	.	C	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	G	.	A	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.
<i>C. falconeri</i>	NC_020622	G	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	A	A	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	G	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.
<i>C. hircus</i>	NC_005044	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	A	.	G	.	.	.	.	C	.	.	.	A	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
<i>C. ibex</i>	NC_020623	.	A	T	A	.	.	G	.	.	T	C	C	A	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.
<i>C. nubiana</i>	NC_020624	.	.	T	A	.	.	.	.	.	A	C	.	A	G	.	.	.	.	.	.	.	.	T	T	.	.	A	C	G	G	T	T	C	C	A	
<i>C. pyrenaica</i>	NC_020625	.	A	T	A	.	.	G	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	A	.	.	.	.	T	.	.	.	
<i>C. sibirica</i>	NC_020626	.	A	T	.	.	.	G	.	.	.	.	.	A	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
BHG 1 (n=3)		.	.	.	T	.	.	T	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
BHG 2 (n=2)		C	T	.	T	.	.	T	.	C	C	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
BHG 3 (n=2)		.	T	T	T	.	.	T	.	.	C	.	C	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
BHG 4 (n=2)		.	.	.	T	.	.	T	.	.	C	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
BHG 5 (n=2)		.	T	.	T	.	.	T	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
BHG 6 (n=2)		.	T	.	T	.	.	T	.	.	C	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
BHG 7 (n=1)		.	.	.	.	.	.	T	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
BHG 8 (n=1)		.	.	.	T	.	.	T	.	.	C	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
BHG 9 (n=1)		.	T	.	T	.	.	T	.	.	C	.	C	C	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
BHG 10 (n=1)		.	T	.	T	.	.	T	.	.	C	.	C	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
BHG 11 (n=1)		C	T	.	.	.	.	T	.	.	C	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
BHG 12 (n=1)		.	T	T	T	.	.	T	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
BHG 13 (n=1)		.	T	T	.	.	C	T	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
BHG 14 (n=1)		.	.	.	T	.	.	T	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
BHG 15 (n=1)		.	.	.	T	.	A	T	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
BHG 16 (n=1)		.	.	.	.	.	.	T	.	.	C	.	.	C	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.

Not: *C. aegagrus* DNA dizisi standart olarak kullanılmıştır ve bu DNA dizi sırası ile aynı olanlar nokta (.) ile gösterilmiştir.

Çizelge 4.5 mtDNA D-loop'un HVR-1 bölgesi bakımından GenBank ve Bosna Hersek Alaca Dağ Keçi haplotiplerine ait beklenen genetik uzaklıklar

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23
1. <i>Capra aegargrus</i>																							
2. <i>Capra caucasica</i>	0.143																						
3. <i>Capra falconeri</i>	0.130	0.184																					
4. <i>Capra hircus</i>	0.046	0.177	0.119																				
5. <i>Capra ibex</i>	0.210	0.297	0.269	0.206																			
6. <i>Capra nubiana</i>	0.455	0.481	0.489	0.468	0.623																		
7. <i>Capra pyrenica</i>	0.118	0.151	0.166	0.133	0.176	0.425																	
8. <i>Capra siberica</i>	0.186	0.220	0.243	0.199	0.252	0.617	0.187																
9. BHG 1	0.040	0.154	0.141	0.062	0.210	0.482	0.115	0.207															
10. BHG 2	0.049	0.158	0.152	0.079	0.210	0.516	0.115	0.207	0.021														
11. BHG 3	0.046	0.169	0.145	0.069	0.198	0.482	0.111	0.212	0.018	0.021													
12. BHG 4	0.040	0.154	0.141	0.062	0.210	0.482	0.115	0.207	0.000	0.021	0.018												
13. BHG 5	0.049	0.170	0.149	0.072	0.220	0.512	0.122	0.213	0.015	0.018	0.021	0.015											
14. BHG 6	0.046	0.169	0.145	0.069	0.215	0.502	0.118	0.207	0.012	0.015	0.018	0.012	0.003										
15. BHG 7	0.043	0.143	0.137	0.059	0.206	0.488	0.118	0.190	0.015	0.024	0.021	0.015	0.024	0.021									
16. BHG 8	0.056	0.158	0.145	0.059	0.215	0.475	0.118	0.195	0.015	0.024	0.033	0.015	0.024	0.021	0.024								
17. BHG 9	0.069	0.165	0.141	0.065	0.210	0.468	0.122	0.203	0.027	0.030	0.027	0.027	0.024	0.021	0.030	0.018							
18. BHG 10	0.069	0.165	0.141	0.065	0.210	0.468	0.122	0.203	0.027	0.030	0.027	0.027	0.024	0.021	0.030	0.018	0.000						
19. BHG 11	0.052	0.146	0.156	0.075	0.210	0.516	0.115	0.207	0.024	0.015	0.024	0.024	0.021	0.018	0.021	0.033	0.033	0.033					
20. BHG 12	0.056	0.165	0.152	0.079	0.219	0.502	0.107	0.190	0.027	0.018	0.027	0.027	0.030	0.027	0.030	0.024	0.037	0.037	0.033				
21. BHG 13	0.046	0.161	0.141	0.062	0.210	0.488	0.115	0.203	0.012	0.027	0.018	0.012	0.021	0.018	0.015	0.027	0.033	0.033	0.024	0.027			
22. BHG 14	0.062	0.165	0.148	0.079	0.232	0.509	0.125	0.203	0.021	0.024	0.033	0.021	0.024	0.021	0.030	0.018	0.030	0.030	0.033	0.033	0.024	0.033	
23. BHG 15	0.046	0.162	0.149	0.059	0.220	0.499	0.122	0.208	0.012	0.027	0.024	0.012	0.027	0.024	0.021	0.021	0.034	0.034	0.030	0.027	0.021	0.027	
24. BHG 16	0.043	0.158	0.148	0.072	0.219	0.495	0.122	0.207	0.015	0.024	0.027	0.015	0.018	0.015	0.024	0.024	0.030	0.030	0.021	0.037	0.021	0.024	0.027

*Neighbor-joining tree* (NJ, komşu birleştirme) kümeleme analizi sonucunda, karşılaştırılan populasyonlar aşağıdaki şekilde gruplandırılmıştır.



Şekil 4.5 mtDNA D-loop HVR-1 bölgesi bakımından Bosna Hersek Alaca Dağ Keçi ve yabani keçi ırkları arasında nükleotit dönüşümlerinin beklenen miktarlarından elde edilen NJ ağacının görüntüsü

Buna göre tüm Bosna Hersek Alaca Dağ Keçi haplotipleri *Capra aegargus* kümesinin altında yer aldığı görülmektedir. Ayrıca haplotiplerinin çoğu bu kümenin altındaki kümelerde yer almışlardır. Bosna Hersek Alaca Dağ Keçi haplotipleri ve *Capra nubiana* ırkı birbirlerinden oldukça uzak kümelerde yer almışlardır. Nitekim çizelge 4.5'in incelenmesinden de benzer sonuçlara varmak mümkündür.



## 5. SONUÇ

Bu tez araştırmasında, Bosna Hersek yerli koyunlarının ve keçilerin mitokondriyal genomlarında yüksek düzeyde varyasyon gösteren ve ırkların filogenetik ilişkilerinin aydınlatılmasına yönelik çalışmalarda sıkça kullanılan mitokondriyal DNA D-loop bölgesinde bulunan polimorfizmlerin varlığı ve miktarı incelenmiştir. Bu çalışmada, mitokondriyal DNA D-loop bölgesi analiz edilip yeni haplotipler belirlenmiştir. Araştırma sonucunda incelenen Bosna Hersek endemik koyun ve keçi ırklarının haplogrupları belirlenmiştir.

Bu çalışma, Bosna Hersek yerli koyun ve keçi ırklarında mtDNA düzeyinde yürütülen ilk çalışmadır. Daha önce Bosna Hersek yerli koyun üzerinde Brka ve arkadaşlar tarafından yapılan genetik araştırmalar olmuştur. Ancak, Bosna Hersek yerli koyun ve keçi ırkları üzerinde böyle bir filogenetik araştırma yapılmamıştır. mtDNA D-loop bölgelerinin sekans analizlerinin sonucunda Bosna Hersek yerli koyun ve keçi ırklarında yüksek genetik varyasyon tespit edilmiştir.

Bu araştırmanın sonucunda incelenen Bosna Hersek Alaca Dağ Keçi popülasyonunda çoğaltılan mtDNA D-loop'un HVR-1 bölgesi bakımından 16 haplotip tespit edilmiştir. Bosna Hersek Alaca Dağ Keçisinin A haplogrubuna ait olduğu görülmüştür. Bu A haplogrubu dünyanın tüm kıtalarında görülmektedir. Keçi A haplogrubu her yerde en yüksek frekanslarda olup Avrupa'da %98, Asya'da %89, Orta Doğu'da ve Afrika'da ise %100'lük frekanslarda rastlanmaktadır (Pereira vd. 2005). Bu çalışmada, Bosna Hersek Alaca Dağ Keçisinin çeşitli yabancı keçi türleri ve evcil keçi ile karşılaştırmaları yapılmış ve bunlarla çeşitli nükleotitler bakımından farklılık gösterdiği tespit edilmiştir.

Bunun yanı sıra incelenen Bosna Hersek Pramenka koyun popülasyonunda çoğaltılan mtDNA D-loop bölgesi bakımından 12 haplotip tespit edilmiştir. Bosna Hersek Pramenka koyunlarının A haplogrubuna ait olduğu görülmüştür. Genel olarak koyun A ve B haplogruplarının en sık görülen haplogruplar olduğu bilinmektedir. Asya muflonu (*Ovis orientalis*) A haplogrubuna ait iken Avrupa muflonu (*Ovis musimon*) ise B

haplogubuna aittir (Hiendleder vd. 2002). Nitekim koyun A haplogrubuna Avrupa'da rastlanmayıp Asya'da rastlanmaktadır.

Özet olarak elde edilen sonuçlara göre Bosna Hersek Pramenka Koyunu ve Alaca Dağ Keçisi çok değerli genetik kaynaklardır. Bu sebeple gelecekte de bu genlere sahip olmaları çok önemlidir. Bu Bosna Hersek yerli hayvanlar buldukları çevrenin koşullarına yüksek uyum sağladıkları için hastalıklara karşı güçlü olup direnç göstermektedirler. Bu çalışmanın, araştırmada kullanılan yöntemler ve elde edilen sonuçlar bakımından ileride yapılacak olan Bosna Hersek yerli koyun ve keçileri ile ilgili çalışmalara kaynak oluşturacak nitelikte olduğu düşünülmektedir. Ayrıca Bosna Hersek Pramenka Koyun ve Alaca Keçi ırkları üzerinde yapılan bu genetik çalışmanın, Akdeniz Bölgesi'nde koyun ve keçilerin kökeninin ile evcilleştirilme sürecinin anlaşılmasına yardımcı olacağı beklenmektedir. Bulunan sonuçlar, Bosna Hersek yerli koyun ve keçi kaynaklarının korunması için teorik bir temel vermektedir.

## KAYNAKLAR

- Anonymous. 1997. Web Sitesi: [http://kcm.co.kr/bethany\\_eng/c\\_code/bosnia.html](http://kcm.co.kr/bethany_eng/c_code/bosnia.html). Erişim Tarihi: 13/08/2014
- Anonymous. 2000a. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). Domestic Animal Diversity Information System (DAD-IS 2.0):<http://www.fao.org/dad-is/>
- Anonymous. 2000b. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). World Watch List for Domestic Animal Diversity; 3 rd Edition. ISBN 92-5-104511-9
- Anonymous. 2011. Web Sitesi: [www.wikipedia.org/wiki/Zemljopis\\_Bosne\\_i\\_Hercegovine#/media/File:Bosnia\\_and\\_Herzegovina\\_topographic\\_map.svg](http://www.wikipedia.org/wiki/Zemljopis_Bosne_i_Hercegovine#/media/File:Bosnia_and_Herzegovina_topographic_map.svg), Erişim Tarihi: 13/08/2014
- Anonymous. 2013. T.C.Saraybosna Büyükelçiliği Ticaret Müşavirliği, Bosna Hersek Ülke Raporu <http://www.btso.org.tr/documents/countryreport/7.pdf>
- Baker, A.J. and Marshall, H.D. 1997. Mitochondrial control region sequences as tools for understanding evolution. In Avian Molecular Evolution and Systematics (ed. Mindell DP). Academic Press, San Diego, California
- Ballard, J.W.O. and Kreitman, M. 1995. Is mitochondrial DNA a strictly neutral marker?, Trends Ecol Evol., 485pp
- Batu, S.1951. Türkiye Yerli Keçi Irkları ve Keçi Yetiştirme Bilgisi. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Kitabı No:2
- Boyoni, S. 1983. Domestication, dispersal and use of animals in Europe. World Animal Science A. Basic Information. Editors: Pell, L. and D.E.T. Domestication, Conservation and Use of Animal Resources, Elsevier, p.19.
- Brown, W.M., Prager, E.M., Wang, A. and Wilson, A.C. 1982. Mitochondrial DNA Sequences of Primates: Tempo and Mode of Evolution. J. Mol. Evol., 18: pp.225-239
- Bruford, M.W. and Townsend, S.J. 2006. Mitochondrial DNA diversity in modern sheep: implications for domestication. In: Zeder, M.A., Bradley,D.G., Emshwiller, E., Smith, B.D. (Eds.), Documenting Domestication:New Genetic and Archaeological Paradigm. , 1st ed. University ofCalifornia Press, CA, pp.307–317
- Brka, M., Omanović, H., Alibegović, G. S., Dokso, A. and Zečević, E. 2011. Kozarstvo. Poljoprivredno-prehrambeni fakultet, ISBN 978-9958-597-24-4. Sarajevo

- Cornuet, J.M. and Garnery, L. 1991. Mitochondrial DNA variability in honeybees and its phylogeographic implications. *Apidologie*, pp.627- 642
- Child, G. 2006. Tarihte neler oldu? “Neolitik Barbarlık” İstanbul Kırmızı Yayınları, İstanbul. Türkiye. S:63
- Ćinkulov, M., Popovski, Z., Porcu, K., Tanaskovska, B., Hodžić, A., Bytyqi, H., Mehmeti, H., Margeta, V., Djedović, R., Hoda, A., Trailović, R., Brka, M., Marković, B., Važić, B., Vegara, M., Olsaker, I. and Kantanen, J. 2008. Genetic diversity and structure of the West Balkan Pramenka sheep types as revealed by microsatellite and mitochondrial DNA analysis. *J. Anim. Breed. Genet.* ISSN 0931-2668
- Çinar-Kul, B. 2010. Türkiye Yerli Keçi Irklarının Mitokondrial DNA Çeşitliliği ve Filocoğrafyası. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara
- Demirci, S., Baştanlar, E.K., Dağtaş, N.D., Pişkin, E., Engin, A., Özer, F., Yüncü, E., Doğan, Ş.A. and Togan, İ. 2013. Mitochondrial DNA Diversity of Modern, Ancient and Wild Sheep (*Ovis gmelinii anatolica*) from Turkey: New Insights on the Evolutionary History of Sheep. *PLOS One*. 8(12):e81952, p.7.
- Ertuğrul, M., Dellal, G., Elmacı, C., Akın, A. O., Pehlivan, E., Soysal, M. İ. and Arat, S. 2010. Çiftlik hayvanları genetik kaynaklarının korunması ve sürdürülebilir kullanımı. Türkiye Ziraat Mühendisliği VII. Teknik Kongresi, pp.11-15
- Excoffier, L. and Lischer H.E. L. 2010. Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*. 10: 564-567
- Fernandez, H., Hughes S., Vigne, J.-D., Helmer, D., Hodgins, G., Miquel, C., Hanni, C., Luikart, G. and Taberlet, P. 2006. Divergent mtDNA lineages of goats in an Early Neolithic site, far from the initial domestication areas. *PNAS* 103: pp.15375-15379
- Griffiths, A. J. F., Wessler, S.R., Carroll, S. B. and Doebley, J. 2012. Introduction to Genetic Analysis. 10th Edition. Freeman and Worth Publishing Group, LLC, 41 Madison Avenue, pp.103-105, New York
- Guo, J., Du, X., Ma, Y.H., Guan, W.J., Li, H.B., Zhao, Q.J., Li, X. and Rao, S.Q. 2005. A novel maternal lineage revealed in sheep (*Ovis aries*). *Anim Genet*. 36(4):331-6
- Hartl, D.L. and Clark, A.G. 2007. Principles of Population Genetics Principles of Population Genetics. 4th Edition Sinauer Associates 978-0-878-93308-2
- Hiendleder, S., Lewalski, H., Wassmuth, R. and Janke, A. 1998. The complete mitochondrial DNA sequence of the domestic sheep (*Ovis aries*) and comparison with the other major ovine haplotype. *Journal of Molecular Evolution*, Springer-Verlag, 47(4):441-8

- Hiendleder, S., Kaupe, B., Wassmuth, R. and Janke, A. 2002. Molecular analysis of wild and domestic sheep questions current nomenclature and provides evidence for domestication from two different subspecies. *Pro. R. Soc. Lon. B*, 269(1494): pp. 894–896
- Huson, D.H. and Bryant, D. 2006. Application of Phylogenetic Networks in Evolutionary Studies, *Mol. Biol. Evol.*, 23(2):254-267, <http://ab.inf.uni-tuebingen.de/data/software/splitstree4/download/welcome.html>
- Joshi, M.B., Rout, P.K., Mandal, A.K., Tyler-Smith, C., Singh, L. and Thangaraj, K. 2004. Phylogeography and Origin of Indian Domestic Goats. *Mol. Biol. Evol.* 21: 454-462
- Karaca, O. and Cemal, İ. 1998. Batı Anadolu koyuncululuğunda genetik kaynakların korunma ve kullanımı. Ege Bölgesi 1. Tarım Kongresi, s.573-582, 7-11 Eylül 1998, ADÜ Ziraat Fakültesi, Aydın
- Kvist, L. 2000. Phylogeny and phylogeography of European Parids. Oulu University Library, Oulun Yliopisto, Oulu
- Küçükkiremitçi, O., Genç, Ö., Şimşek, M., Ekinci, A., Ersoy, E. and Sekmen, F. 2010. Bosna Hersek Sektör Raporları Tarım Sektörü, Türkiye Kalkınma Bankası a.ş. Ekonomik ve Sosyal Araştırmalar Müdürlüğü, Ankara
- Lawson Handley, L.J., Byrne, K., Santucci, F., Townsend, S., Taylor, M. and Bruford, M.W. 2007. Genetic structure of European sheep breeds. *Nature Publishing Group, Heredity* 99, p.620.
- Lewin, B. 1987. *Genes*. Third edition., John Wiley & Sons, pp.422-431., Canada
- Linnaeus, C. 1758. *Systema naturæ per regna tria naturæ, secundum classes, ordines, genera, species, cum characteribus, differentiis, synonymis, locis* 1 (10th ed.). Stockholm: Laurentius Salvius. pp.1–4,1–824
- Luikart, G., Gielly, L., Excoffier, L., Vigne, J.D., Bouvet, J. And Taberlet, P. 2001. Multiple maternal origins and weak phylogeographic structure in domestic goats. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 98(10):5927-5932
- Mannen, H., Nagata, Y. and Tsuji, S. 2001. Mitochondrial DNA reveal that domestic goat (*Capra hircus*) are genetically affected by two subspecies of Bezoar (*Capra aegagrus*). *Biochem Genet.* Jun; 39(5-6):145-54
- Meadows, J.R.S., Cemal, I., Karaca, O., Gootwine, E., Kijas, J.W. 2007. Five Ovine Mitochondrial Lineages Identified From Sheep Breeds of the Near East. *Genetics*. 175: 1371-1379

- Meadows, J.R.S., Hiendleder, S. and Kijas, J.W. 2011. Haplogroup relationships between domestic and wild sheep resolved using a mitogenome panel. Macmillan Publishers, Heredity 106, pp.700–706
- Miller, S.A., Dykes, D.D. and Polesk, H.F. 1988. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. Nucleic Acids Research, 16 (3):1215
- Nadler, C.F., Lay, D.M. and Hassinger, J.D. 1971. Cytogenetic analyses of wild sheep populations in northern Iran. Cytogenetics. 10:137–152
- Naderi, S., Rezaei, H.R., Taberlet, P., Zundel S., Rafat, S.A., Naghash, H.R., Elbarody, M.A.A., Ertugrul, O. and Pompanon, F. 2007. Large-scale mitochondrial DNA analysis of the domestic goat reveals six haplogroups with high diversity. PLoS ONE, 2,10; e1012
- Naderi, S., Rezaei, H.R., Pompanon, F., Blum, M.G. and Negrini, R. 2008. The Goat Domestication Process Inferred from Large-Scale Mitochondrial DNA Analysis of Wild and Domestic Individuals. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 105, 17659-17664
- Öner, Y. 2010. Türkiye Koyun Irklarındaki Genetik Çeşitliliğin mtDNA ve y Kromozomal Belirteçleri Kullanılarak Belirlenmesi. Uludağ Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bursa
- Özdil, F. 2007. Mitokondriyel DNA PCR-RFLP (Restriction Parça Uzunluk Polimorfizmi) markerleri kullanılarak Türkiye'nin farklı yörelerine ait bal arılarının tanımlanması. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara
- Pariset, L., Mariotti, M., Gargani, M., Joost, S., Negrini, R., Perez T., Bruford, M., Marsan, P.A. and Valentini, A. 2011. Genetic Diversity of Sheep Breeds from Albania, Greece, and Italy Assessed by Mitochondrial DNA and Nuclear Polymorphisms (SNPs). The Scientific World Journal, 11:1641-1659
- Parma, P., Feligini, M, Greeppi, G and Enne, G. 2003. The complete nucleotide sequence of goat (*Capra hircus*) mitochondrial genome. Goat mitochondrial genome. Taylor & Francis LTD. DNA Seq. 14(3):199-203
- Pedrosa, S., Uzun, M., Arranz, J.J., Gutierrez-Gil, B., San Primitivo, F. and Bayo'n, Y. 2005. Evidence of three maternal lineages in near eastern sheep supporting multiple domestication events. Proceeding of The Royal Society B. pp.272, 2212
- Pereira, F., Pereira, L., Asch, B.V., Bradley, D.G. and Amorim, A. 2005. The mtDNA catalogue of all Portuguese autochthonous goat (*Capra hircus*) breeds: high diversity of female lineages at the western fringe of European distribution. Molecular Ecology pp.14,2316
- Pidancier, N., Jordan, S., Luikard, G. and Taberlet, P. 2006. Evolutionary history of the genus *Capra* (Mammalia, Artiodactyla): Discordance between mitochondrial

DNA and Y-chromosome phylogenies. ELSEVIER Molecular Phylogenetics and Evolution pp.40,741

Piper, L., and Ruvinsky, A. 1997. The Genetics of Sheep, Oxon: Cambridge University Press.p.88.

Rezaei, H.R, Naderi, S., Chintauan-Marquier, I.C., Taberlet, P., Virk, A.T., Naghash, H.R. Editor. 2010. Evolution and taxonomy of the wild species of the genus *Ovis* (Mammalia, Artiodactyla, Bovidae). Molecular Phylogenetics and Evolution 54: 315–326

Ryder, M.L, 1984. Sheep. In: Evolution of domesticated animals. New York: Longman. p:63- 84

Saccone, C., Pesole, G. and Sbisà, E. 1991. The Main Regulatory Region of Mammalian Mitochondrial DNA: Structure-Function Model and Evolutionary Pattern. J. Mol. Evol. 33: 83-91

Sanna, D., Barbato, M., Hadjisterkotis, E., Cossul, P., Decandia, L., Trova, S., Pirastru, M., Leoni, G.G., Naitana, S., Francalacci, P., Masala, B., Manca, L. and Mereu, P. 2015. The First Mitogenome of the Cyprus Mouflon (*Ovis gmelini ophion*): New Insights into the Phylogeny of the Genus *Ovis*. PLOS One DOI:10.1371, p.2.

Strachan, T. and Read, A. 2010. Human Molecular Genetics. 4th Edition. Garland Science, Taylor & Francis Group, New York

Sardina, M.T., Ballester, M., Marmi, J., Finocchiaro, R., van Kaam, J.B., Portolano, B. and Folch, J.M. 2006. Phylogenetic analysis of Sicilian goats reveals a new mtDNA lineage. Animal Genetics, 37: 376–378

Sultana, S. and Mannen, H. 2004. Polymorphism and evolutionary profile of mitochondrial DNA control region inferred from the sequences of Pakistani goats. Animal Science Journal, 75, 303-309

Tamura, K., Nei, M., Kumar, S. 2004. Prospects for inferring very large phylogenies by using the neighbor-joining method. Proceedings of the National Academy of Sciences, USA 101:11030-11035

Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipowski, A. and Kumar, S. 2013. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. Molecular Biology and Evolution 30: 2725-2729

Takada, T., Kikkawa, Y., Yonekawa, H., Kawakami, S. and Amano, T. 1997. Bezoar (*Capra aegagrus*) Is a Matriarchal Candidate for Ancestor of Domestic Goat (*Capra hircus*): Evidence from the Mitochondrial DNA Diversity. Plenum Publishing Corporation. Biochemical Genetics, Vol. 35, Nos. 9/10

- Tapio, M., Marzanov, N., Ozerov, M., Činkulov, M., Gonzarenko, G., Kiselyova, T., Murawski, M., Viinalass, H. and Kantanen, J. 2006. Sheep Mitochondrial DNA Variation in European, Caucasian, and Central Asian Areas. *Mol. Biol. Evol.* 23(9):1776–1783
- Taberlet, P. 2008. “The GLOBALDIV Summer School Edition 2008” Ders notları. Università Cattolica del Sacro Cuore, 8-12 Eylül 2008 Piacenza, İtalya
- Trut, L.N. 1999. Early Canid Domestication: A Farm-Fox Experiment. *American Sci.* 87:160-169
- Wenink, P.W., Baker, A.J. and Tilanus, M.G.J. 1994. Mitochondrial control region sequences in two shorebird species, the Turnstone and the Dunlin, and their utility in their population genetic studies. *Mol. Bid. Evol.* 11( 1): 22-31
- Wood, N.J. and Phua, S.H. 1996. Variation in the control region sequence of the sheep mitochondrial genome. *Anim Genet* 27:25–33
- Wu, Y.P., Guan, W.J., Zhao, Q.J., He, X.H., Pu, Y.B., Huo, J.H., Xie, J.F., Han, J.L., Rao, S.Q. and Ma, Y.H. 2009. A fine map for maternal lineage analysis by mitochondrial hypervariable region in 12 Chinese goat breeds. *Animal Science Journal* 80: 372–80
- Xingbo, Z., Mingxing, C., Ning, L. and Changxin, W. 2001. Paternal inheritance of mitochondrial DNA in the sheep (*Ovine aries*). *Science in China (Series C), Life Sciences*, pp.321-326
- Yarkın, İ. 1965. Keçi-Deve-Domuz Yetiştirilmesi. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ders Kitabı No:82
- Zardoya, R., Villalta, M., Lopez-Perez, M.J., Garrido-Pertierra, A., Montoya, J. and Bautista, J.M. 1995. Nucleotide sequence of the sheep mitochondrial D-loop and its flanking tRNA genes. *Curr Genet* 28:94–96
- Zeder, M.A. 2008. Domestication and early agriculture in the Mediterranean Basin: Origins, diffusion and impact. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 105 (33): 11597-11604

## ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Adelina PILJUG  
Uyruk : Boşnak  
Doğum Yeri : Kakanj, Bosna Hersek  
Doğum Tarihi : 06.07.1990  
Medeni Hali : Bekar  
Anna Diller : Boşnakça, Hrvatça, Sırpça  
Yabancı Dil : Türkçe, İngilizce, Fransızca  
E-mail: : adelinapiljug@yahoo.com

### Eğitim Durumu

Lise : Muhsin Rizvić Lisesi (High school), Kakanj, Bosna Hersek (2009)  
Lisans : Saraybosna Üniversitesi Ziraat ve Gıda Fakültesi, Saraybosna,  
Bosna Hersek (2012)  
Yüksek Lisans : Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootekni Anabilim Dalı  
Biyometri ve Genetik Bilim Dalı, Ankara, Turkey (2016)

### Uluslararası Kongre

**Şahin, Ö., Piljug, A.** 2016. A QTL Analysis on *Tribolium confusum*. International Molecular Biology and Biotechnology Congress, on 25-29<sup>th</sup> August Skopje/Macedonia.