

169787

T.C.

AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ANTALYA YÖRESİ KIL KEÇİLERİNDE GENETİK
POLİMORFİZMİN
RAPD-PCR YÖNTEMİ İLE BELİRLENMESİ

EMİNE ŞAHİN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ZOOTEKNİ ANABİLİM DALI

2005

**ANTALYA YÖRESİ KIL KEÇİLERİNDE GENETİK
POLİMORFİZMİN
RAPD-PCR YÖNTEMİ İLE BELİRLENMESİ**

EMİNE ŞAHİN

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
ZOOTEKNİ ANABİLİM DALI**

2005

**ANTALYA YÖRESİ KIL KEÇİLERİNDE GENETİK
POLİMORFİZMİN
RAPD-PCR YÖNTEMİ İLE BELİRLENMESİ**

EMİNE ŞAHİN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ZOOTEKNİ ANABİLİM DALI

2005

Bu çalışma, 2003.02.0121.012 proje numarası ile Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi tarafından desteklenmiştir.

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ANTALYA YÖRESİ KIL KEÇİLERİNDE GENETİK POLİMORFİZMİN
RAPD-PCR YÖNTEMİ İLE BELİRLENMESİ**

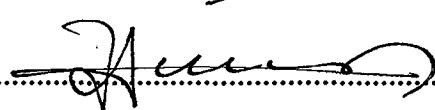
EMİNE ŞAHİN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ZOOTEKNİ ANABİLİ DALI

Bu tez 06/04/2005 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından (95) not takdir edilerek oybirliği ile kabul edilmiştir.

Yrd.Doç.Dr. M. Soner BALCIOĞLU (Danışman).....

Prof.Dr. İbrahim Zafer ARIK.....

Doç.Dr. Hüseyin BASIM.....

ÖZET

ANTALYA YÖRESİ KIL KEÇİLERİNDE GENETİK POLİMORFİZMİN RAPD-PCR YÖNTEMİ İLE BELİRLENMESİ

Emine ŞAHİN

Yüksek Lisans Tezi, Zootekni Bölümü

Danışman: Yrd. Doç. Dr. M. Soner BALCIOĞLU

Nisan 2005, 48 sayfa

Bu çalışmada amaç, RAPD-PCR yöntemi kullanarak Antalya yöresi kıl keçileri arasındaki genetik polimorfizmi belirlemektir.

RAPD-PCR, Antalya bölgesinden 7 dişi ve 7 erkek Kıl keçisi için toplam 20 farklı primer kullanılarak çalıştırılmıştır. Bütün RAPD primerleri 100-600 bp aralığında belirlenmiştir. RAPD-PCR kullanarak Opp08 primeri ile toplam 121 DNA fragmenti elde edilirken, Opp03 primeri ile 29 DNA bandı elde edilmiştir. Tüm primerlerin kullanılmasıyla toplam 1363 bant değerlendirilmiştir. Toplam 153 bandın 142'si polimorfik bulunmuştur. Genetik benzerlik (bant paylaşım frekansı, F_{xy}) oranı ve genetik uzaklık sırasıyla 0,6464 ve 0,3536 olarak bulunmuştur. Ortalama heterozigotluk oranı $0,3691 \pm 0,1472$ olarak tahmin edilmiştir.

ANAHTAR KELİMELEER: Kıl keçisi, polimorfizm, RAPD-PCR

JÜRİ: Yrd.Doç. Dr. M. Soner BALCIOĞLU

Prof. Dr. İ. Zafer ARIK

Doç. Dr. Hüseyin BASIM

ABSTRACT

THE DETERMINATION OF GENETIC POLYMORPHISM IN ANTALYA REGION HAIR GOAT BY RAPD-PCR

Emine ŞAHİN

M.S. in the Department of Animal Science

Adviser: Assist. Prof. Dr. M. Soner BALCIOĞLU

Nisan 2005, 48 page

The main purpose of this research is to determine genetic polymorphism among Hair goats in Antalya province by RAPD-PCR.

RAPD-PCR was employed by using total 20 different primers for 7 male and 7 female hair goats from Antalya province. All the RAPD fragments determined were 100-600 bp in size. The RAPD-PCR using primer Opp08 resulted in 121 DNA fragments. On the other hand, the RAPD-PCR using primer Opp03 resulted in 29 DNA fragments. Total 1363 DNA bands were evaluated. One hundred forty two bands of the total one hundred fifty three bands were polymorphic. Genetic similarity (Band Sharing Frequency, F_{xy}) and genetic distance were 0,6464 and 0,3536, respectively. The expected heterozygosity was estimated as $0,3691 \pm 0,1472$.

KEY WORDS: Hair goat, polymorphism, RAPD-PCR

COMMITTEE: Assist. Prof. Dr. M. Soner BALCIOĞLU

Prof. Dr. İ. Zafer ARIK

Assoc. Prof. Dr. Hüseyin BASIM

ÖNSÖZ

Son zamanlarda, genetik potansiyelin belirlenmesinde moleküler biyoloji tekniklerinden yaygın olarak yararlanılmaktadır. Çiftlik hayvanlarında ekonomik önemi olan karakterlerin, gözle yapılan ölçümlerinin yanında moleküler tekniklerin uygulanmasıyla, bu özelliklerin DNA düzeyinde genetik olarak tespiti de sağlanabilir. Moleküler biyoloji tekniklerinin ilerlemesi ile DNA tiplerinin belirlenmesine yönelik yöntemler de güncellenmiştir.

Moleküler biyoloji tekniklerinden biri olan DNA parmakizi tekniği, hayvan popülasyonları ve bu popülasyonları oluşturan hayvanlar arasındaki ilişkinin belirlenmesinde ve yetiştirme stratejilerinin oluşturulması çalışmalarında kullanılmaktadır. DNA parmakizi yöntemlerinin, canlıların genetik yapılarını araştırılmasında son yıllarda dünya üzerinde yaygın bir şekilde kullanılmasına karşın, bu tür çalışmalar ülkemizde yeni yeni kullanılmaya başlanmıştır. Yerli çiftlik hayvanlarımıza ait DNA düzeyindeki varyasyonun belirlenmesi, ülkemiz hayvancılığında gen kaynaklarımızın tanınması, korunması ve geliştirilmesi açısından büyük bir önem taşımaktadır.

Bana bu konuda çalışma imkanı sunan danışmanım Sayın Yrd.Doç.Dr. M. Soner BALCIOĞLU' na (Akdeniz Üniversitesi Zootekni Bölümü), laboratuvar çalışmalarında bilgisini ve imkanlarını esirgemeyen Sayın Doç.Dr. Hüseyin BASIM' a (Akdeniz Üniversitesi Bitki Koruma Bölümü), analizlerin yapılmasında katkısı olan Sayın Doç.Dr. M. Ali YILDIZ' a (Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootekni Bölümü), tezin bütün aşamalarında yardım eden Arş.Gör. Kemal KARABAĞ' a (Akdeniz Üniversitesi Zootekni Bölümü), çalışmalar sırasında manevi destek veren Sayın Doç.Dr. Fehmi GÜREL' e (Akdeniz Üniversitesi Zootekni Bölümü) ve özellikle aileme teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT	ii
ÖNSÖZ.....	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ	vii
1. GİRİŞ	1
2. KURAMSAL BİLGİLER VE KAYNAK TARAMALARI	4
2.1. RAPD-PCR Yöntemi	10
3. MATERYAL VE METOT	17
3.1. Materyal	17
3.2. Metot	17
3.2.1. Kan örneklerinin alınması.....	17
3.2.2. DNA izolasyonu	17
3.2.3. Genomik DNA miktarının hesaplanması.....	19
3.2.4. Primerlerin seçimi	19
3.2.5. Polimeraz zincir reaksiyonu tekniği (Polymerase chain reaction)	21
3.2.6. Elektrolit çözeltisi.....	22
3.2.7. Jelin hazırlanması	22
3.2.8. PCR ürünlerinin jele yüklenmesi ve elektroforez işlemi	23
3.2.9. Jelin boyanması ve RAPD bant fotoğraflarının elde edilmesi	24
3.2.10. Bantların değerlendirilmesi	24
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	26
4.1. RAPD-PCR Bantlarının Analizi.....	26
5. SONUÇ.....	41
6. KAYNAKLAR	43
ÖZGEÇMİŞ.....	48

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

DNA	Deoksiribonükleik asit
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism
AFLP	Amplified Fragment Length Polymorphism
RAPD	Randomly Amplified Polymorphic DNA
PCR	Polymerase Chain Reaction
vd	ve diğerleri
kg	Kilogram
vb	ve benzeri
QTL	Quantitative Trait Loci
VNTR	Variable Number of Tandem Repeat
Taq	Thermus Aquaticus
bç	Baz çifti
MgCl ₂	Magnezyum klorür
A	Adenin
G	Guanin
T	Timin
C	Cytosin
TE	Tris-EDTA
EDTA	Ethylendinitrilotetraacetic acid
ng	Nanogram
ml	Mililitre
µl	Mikrolitre
OD	Optic Density
M	Molar
rpm	Rotation per minute
d	Döngü
da	Dakika
dNTP	Dinükleotidtrifosfat
MgSO ₄	Magnezyum sülfat

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. RAPD-PCR yönteminin aşamaları.....	12
Şekil 4.1. 19 nolu primere ait RAPD bant görüntüsü	28
Şekil 4.2. Du01 primerine ait RAPD bant görüntüsü	29
Şekil 4.3. Ra33 primerine ait RAPD bant görüntüsü.....	30
Şekil 4.4. Ra59 primerine ait RAPD bant görüntüsü.....	30
Şekil 4.5. Opp08 primerine ait RAPD bant görüntüsü	31
Şekil 4.6. Op09 primerine ait RAPD bant görüntüsü	33
Şekil 4.7. Opp03 primerine ait RAPD bant görüntüsü	34



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Türkiye’deki bazı türlere ait hayvan sayısı, süt ve et üretimindeki payları..	4
Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan primerler	26
Çizelge 4.1. Kullanılan primerler ile elde edilen bant sayısı ve uzunlukları.....	26
Çizelge 4.2. Her bir primer için bant frekansları	36
Çizelge 4.3. Kullanılan primerlere ait her bir lokus için heterozigotluk oranları.....	37



1. GİRİŞ

Ülkemiz tarımsal geliri içinde hayvancılık faaliyetlerinin önemli bir yere sahip olması, hayvancılıktan elde edilen verimlerin artırılmasını gerektirmektedir. Ülkemizde hayvan varlığının sayısal olarak fazlalığına karşın verimliliğin az olması, hayvancılık faaliyetlerinin tarım sektörüne ve ülkenin genel ekonomisine katkısı azaltmaktadır. Bundan dolayı evcil hayvan ıslahı ile uğraşan araştırmacıların en önemli hedefi, mevcut ekonomik koşullarda yetiştiricilere en fazla geliri getirecek genotipleri geliştirmektir.

Evcil hayvanların verimlerinin ıslahında öncelikle üzerinde durulan özellik bakımından populasyonun genetik yapısının çok iyi tanımlanması gerekir. Populasyonların genetik özelliklerinin iyi bir şekilde belirlenmesi, ıslah faaliyetlerinin hızlı, güvenilir ve daha verimli olmasını sağlamaktadır (Dayıoğlu vd 1989). Son yıllarda, hayvansal üretimde nicelik ve nitelik bakımından sağlanan önemli gelişmelerde, genetik analize dayalı ve uygulamalı genetiğin gerektirdiği metotlarla çalışmanın da büyük katkısı vardır.

Populasyonların genetik özelliklerinin belirlenmesinde yakın zamanlara kadar polimorfik biyokimyasal sistemler kullanılmaktaydı. Daha sonra, DNA düzeyinde genetik varyasyonu saptamaya yönelik tekniklerin geliştirilmesiyle bireylerin genotiplerini doğrudan belirleme imkanı elde edilmiştir. Günümüzde DNA düzeyinde saptanan genetik varyasyon; çiftlik hayvanlarında genetik farklılığın tanımlanmasında, farklı ırk ve eko-tipler arasındaki genetik ilişkilerin tahmin edilmesinde ve pedigri tayini gibi çalışmalarda yoğun olarak kullanılmaktadır (Cerit 2003). Son yıllarda canlıların genetik yapılarının araştırılmasında DNA parmakizi yöntemleri yaygın bir şekilde kullanılmasına karşın, bu tür çalışmaların ülkemizde kullanılması oldukça yenidir. Doğrudan nükleik asit sıralanışındaki varyasyonu belirlemeye yönelik yöntemlerin çoğu tek nükleotid bazındaki değişimi belirleyebilecek kapasitededir. Bu nedenle her birey için özgün bir parmak izi modelinin saptanması mümkündür. Genetik varyasyonun bu yöntemlerle duyarlı bir şekilde ölçülebilmesi, araştırmacıları DNA markerleri ile çalışmaya yönlendiren önemli sebeptir.

Günümüze kadar, DNA markerlerinin kullanımı ile genetik varyasyonun saptanması amacıyla çok sayıda yöntem geliştirilmiştir. Bunların başlıcaları RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism; Restriksiyon Fragment Uzunluk Polimorfizmi), AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism; Çoğaltılmış Fragment Uzunluk Polimorfizmi), Mikrosatelit (Microsatellite) ve RAPD (Randomly Amplified Polymorphic DNA; Rasgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA)'dir. Bu tekniklerin hemen hepsi PCR (Polymerase Chain Reaction; Polimeraz Zincir Reaksiyonu) temelinde çalışmaktadır. Çeşitli yöntemler kullanılarak nükleik asit düzeyinde saptanan polimorfizmin Mendel kalıtımı göstermesi, bunların genetik marker olarak kullanımını olanaklı hale getirmektedir (Bardakçı ve Skibinski 1994). Bugüne kadar nükleik asit düzeyindeki bu tip çalışmalara; koyun (Crawford vd 1994, Cushwa vd 1996), keçi (Yongjum vd 1998, Saitbekova vd 1999, Ajmone-Marsan 2001, Li vd 2002), sığır (Ajmone-Marsan vd 1997, Güneren 1999, Horng ve Huang 2000), muhtelif kanatlı türleri (Dunnington vd 1990, Plotsky vd 1995, Burt vd 1995, Smith vd 1996, Wei vd 1997, Sharma vd 2001) ve domuz (Yen vd 2001) gibi bir çok çiftlik hayvanı türünde rastlanmıştır.

DNA polimorfizm yöntemlerinden birisi olan rasgele çoğaltılmış polimorfik DNA (Randomly Amplified Polymorphic DNA-PCR; RAPD-PCR) yöntemi, rasgele primerler kullanılarak, PCR' da özgün DNA fragmentlerinin çoğaltılması temeline dayanır. Diğer polimorfizm yöntemlerine göre daha basit, göreceli olarak daha ucuz ve daha az iş gücü gerektirdiğinden yaygın olarak kullanılmaktadır.

Türkiye çiftlik hayvanlarında yapılan polimorfizm çalışmalarının önemli bir bölümü biyokimyasal polimorfizme yöneliktir (Balcıoğlu 1995, Karabağ 2000, Özbeyaz vd 2001). Türkiye'de, sığırlarda (Güneren 1999 ve Cerit 2003) ve bıldırcınlarda (Yeğenoğlu 1999) olmak üzere DNA düzeyinde yapılan çok az sayıda çalışmaya rastlanmıştır. Ancak keçilerde benzer çalışmalara dünyada çok az sayıda, Türkiye'de ise hiç rastlanmamıştır.

Türkiye'deki yerli çiftlik hayvanlarına ait türler, Türkiye coğrafyasının özelliklerine bağlı olarak farklı bölgelere adapte olmuş, çok çeşitli ırk ve eko-tiplerden

meydana gelmiştir. Bu çiftlik hayvanları arasında küçükbaş hayvan yetiştiriciliğinin Türkiye ekonomisinde özel bir önemi vardır.

Akdeniz bölgesi bitki örtüsünün makilerce zengin olması, dağların sarp ve engebeli bir yapıya sahip olması, Antalya ve çevresinde keçi yetiştiriciliğinin yaygın olmasında en önemli etkenlerden birisidir. Kıl keçilerinden elde edilen et ve kıl üretiminin yörede ekonomiye katkısı oldukça fazladır. Özellikle keçi eti, Antalya yöresinde yaşayan insanlar tarafından koyun etine nazaran daha fazla tercih edildiğinden, ekonomik olarak bu bölgedeki yetiştiriciler için oldukça önemli bir yere sahiptir.

Yerli çiftlik hayvanlarımıza ait DNA düzeyindeki varyasyonun belirlenmesi, ülkemiz hayvancılığında gen kaynaklarımızın tanınması, korunması ve geliştirilmesi açısından büyük bir önem taşımaktadır. Bu çalışmada, Türkiye keçi varlığının büyük bir bölümünü kapsayan ve Antalya yöresinde de yoğun biçimde yetiştiriciliği yapılan kıl keçilerinin, RAPD-PCR yöntemi ile DNA parmak izlerini çıkarmak ve DNA düzeyinde genetik polimorfizmi belirlemek amaçlanmıştır. Böylece, bu yöntemin kullanılmasıyla elde edilebilecek bulgular doğrultusunda, yerli bir ırkımız olan kıl keçisine ait bant modelleri belirlenebilecektir.

2. KURAMSAL BİLGİLER VE KAYNAK TARAMALARI

Küçükbaş hayvan yetiştiriciliği, genel olarak zayıf meralar, nadas, anız ve bitkisel üretime uygun olmayan alanları değerlendirerek et, süt, yapağı, kıl ve deri gibi ürünlere dönüştüren bir üretim etkinliğidir. Türkiye'nin doğal kaynaklarının, özellikle çayır-meraların keçi ve koyun türlerine daha uygun oluşu ve özellikle kırsal kesimdeki halkın tüketim alışkanlıkları gibi etmenler, küçükbaş yetiştiriciliği için uygun bir ortam yaratmaktadır.

Türkiye'deki yerli çiftlik hayvanlarına ait türler, Türkiye coğrafyasının özelliklerine bağlı olarak farklı bölgelere adapte olmuş, çok çeşitli ırk ve eko-tiplerden meydana gelmiştir. Bu çiftlik hayvanları arasında küçükbaş hayvan yetiştiriciliğinin Türkiye ekonomisinde özel bir önemi vardır. Çizelge 2.1.'de de görüldüğü gibi, Türkiye' de toplam 6 700 000 baş keçi vardır. Türkiye et üretiminin %7,2'si, süt üretiminin ise %2,7'si bu keçilerden sağlanmaktadır (FAO 2004).

Çizelge 2.1. Türkiye'deki bazı türlere ait hayvan sayısı, süt ve et üretimindeki payları (FAO 2004)

Türler	Hayvan sayısı (2004)	2004 yılı Üretimi			
		Et (ton)	Süt (ton)	Et, %	Süt, %
Koyun	25 000 000	267 000	750 000	44,3	7,2
Sığır	9 800 000	290 000	9 400 000	48,2	89,7
Keçi	6 700 000	43 500	280 000	7,2	2,7
Manda	136 000	1 700	48 000	0,3	0,4
Toplam	41 636 000	602 200	10 478 000	100	100

Özellikle tropik ve subtropik ülkelerdeki halkın besin ihtiyaçlarının karşılanmasında keçilerin önemli bir yeri vardır. Dünyanın farklı iklim ve coğrafi koşullarına sahip bir çok ülkede yoğun olarak keçi yetiştiriciliği yapılmaktadır. Hindistan, Meksika, Nijerya, Irak, Libya, Fas, Yunanistan ve Türkiye gibi ülkelerde rutubeti az, kurak ve yarı kurak alanlarda keçi yetiştiriciliği oldukça yaygındır (www.ziraatci.com). Keçi, ağız yapısının verdiği avantaj ile farklı beslenme koşullarına adaptasyon yeteneği ve engebeli araziye uygun yapısal özelliklerinden dolayı olumsuz çevre şartlarına son derece uyumlu bir hayvandır. Bu nedenle, arazi,

iklim ve mera koşullarının elverişsiz olduğu yerlerde keçi yetiştiriciliği tercih edilmektedir.

Türkiye’de keçi yetiştiriciliğini genel olarak üç grup altında toplamak mümkündür. Bunlar; sayısal varlığı en yüksek olan kıl keçisi yetiştiriciliği, Ankara keçisi yetiştiriciliği ve genellikle ailelerin süt ihtiyaçlarını karşılamak amacı ile çok az sayıda yapılan süt keçisi yetiştiriciliğidir (Aydın 1999).

Türkiye’de en yaygın olarak yetiştirilen keçi ırkı, halk arasında kara keçi olarak da bilinen kıl keçisidir. Dağlık ve engebeli yerlerde yetiştiriciliği çok yaygındır. Türkiye’nin çeşitli bölgelerinde yetiştirilen kıl keçileri, bölgenin beslenme koşullarıyla yakın ilişkili olarak, vücut yapısı ve büyüklüğü yönünden farklılık göstermektedir. Kıl keçisi, sıcak ve soğuğa toleranslı, makiliklerden iyi yararlanabilen, hastalıklara karşı dayanıklı, uzak mesafelere iyi yürüyebilen süt ve et verimi yeterli, yüksek kalitede deri veren ve oransal olarak iri vücut yapılı bir keçi ırkıdır. Kıl keçilerinin vücut rengi genellikle siyah olmakla birlikte kahverengi, kurşuni, açık sarı ve sarımsı hatta beyaz renkli olanlara rastlanır. Hem keçiler hem de tekeler büyük çoğunlukla boynuzludur. Kıl keçilerinin her iki cinsiyetinde de sakal bulunur. Kulaklar genellikle uzundur. Döl verimi çok yüksek olmayıp, bir doğumda genellikle bir yavru verir. Sütteki yağ oranı %5-5,5 arasındadır. Kıl keçilerinde canlı ağırlık 45-65 kg ve kıl verimi 0,5-1 kg kadardır (Özder 1997).

Akdeniz bölgesi bitki örtüsünün makilerce zengin olması, dağların sarp ve engebeli bir yapıya sahip olması, diğer çiftlik hayvanları için elverişsiz bir durum yaratırken, özellikle Antalya ve çevresinde keçi yetiştiriciliğinin yaygın şekilde tercih edilmesine neden olmuştur. Antalya yöresi kıl keçisi varlığı (570 470 baş) bakımından Türkiye’nin en zengin bölgelerinden birisidir (Anonim 2003).

Muhtelif çiftlik hayvanlarına ait ırkların tanımlanmasında ve bu ırkların birbirleriyle olan benzerlik ve farklılıkların ortaya konulmasında ölçüt olarak çeşitli morfolojik ve metrik özellikler (canlı ağırlık, vücut ölçüleri, çeşitli verim özellikleri vb.) kullanılmıştır. Bu özellikler sürekli olarak seleksiyon baskısı altındadır. Buna karşılık, polimorfik biyokimyasal karakterler ve DNA düzeyinde saptanan değişik

markerler bakımından belirlenen farklılıklar, genellikle doğrudan seleksiyona konu olmazlar. Seleksiyon etkisi altındaki özellikler ile biyokimyasal özellikler arasında çok yakın bir genetik ilişki bulunmuyorsa üzerinde durulan polimorfik karakterler çoğunlukla seleksiyona karşı nötraldir ve populasyonların genotipik yapılarını ve birbirleriyle olan genetik ilişkilerini tarafsız olarak tahmin etmede son derece kullanışlıdır (Balcıoğlu 1995). Bu nedenle son yıllarda çiftlik hayvanlarının genetik olarak tanımlanmasında biyokimyasal ve DNA marker sistemlerinden giderek daha fazla yararlanılmaktadır.

Hayvanların verimlerinin ıslahında, öncelikle üzerinde durulan özellik bakımından populasyonun genetik yapısının çok iyi tanımlanması gerekir. Bir populasyonu oluşturan bireylerin biyokimyasal ve moleküler genetik yöntemlerle araştırılması, o populasyonun genetik yapısına ilişkin daha ayrıntılı ve kesin bilgilerin elde edilmelerine olanak vermektedir (Asal 1989). Populasyonların bu şekilde genetik özelliklerinin iyi bir şekilde belirlenmesi, ıslah faaliyetlerinin hızlı, güvenilir ve daha verimli olmasını sağlar (Dayıoğlu vd 1989).

Populasyonların genetik özelliklerinin belirlenmesinde bir dönem, polimorfik biyokimyasal sistemler oldukça sık kullanılmıştır. Daha sonra, DNA düzeyinde genetik varyasyonu saptamaya yönelik tekniklerin geliştirilmesiyle, bireylerin bu tip markerler bakımından genotiplerini doğrudan belirleme imkanı doğmuştur. DNA düzeyinde saptanan genetik varyasyon, çiftlik hayvanlarında genetik varyasyonun tanımlanmasında, farklı ırk ve ekotipler arasındaki genetik ilişkilerin tahmin edilmesinde, ayrıca pedigrî tayinlerinde yoğun olarak kullanılmaktadır (Cerit 2003). Kantitatif bir özellik için yüksek etkili allelleri taşıyan bireylerin saptanması damızlık seçiminin en zor yanıdır. Gerek hayvanlarda gerekse bitkilerde, biyokimyasal ve DNA markerleri ile çeşitli ekonomik özellikler arasında muhtemel genetik ilişkiler üzerinde durulmaktadır. Özellikle kantitatif karakterleri belirleyen poligen blokların (QTL; Quantitative Trait Loci; Kantitatif Özellik Lokusları) haritalanmasında muhtelif DNA markerleri üzerinde yoğun olarak çalışılmaktadır. DNA markerlerinin ıslah programlarında kullanılmalarının birçok avantajları bulunmaktadır; DNA örnekleri organizmanın herhangi bir dokusundan ve yaşam sürecinin herhangi bir aşamasında

alınabilir ve alınan bu DNA örnekleri uzun süre saklanabilir, kantitatif karakterlerin aksine çevre koşullarından etkilenmez. Kantitatif özellikler ve DNA markerleri arasında yüksek genetik korelasyonun belirlenmesi halinde bu durum, damızlıkların erken yaşta seçilmesini mümkün kılacak ayrıca özellikle tek cinsiyette görülen karakterler bakımından damızlıkların belirlenmesinde çok yararlı olacaktır.

Bir populasyonun tanımlanabilmesi ve sahip olduğu özelliklerin belirlenebilmesi için, populasyon içi ve populasyonlar arasında kolaylıkla ölçülebilecek parametrelerin bilinmesine gereksinim vardır (Rassman vd 1991, Tautz 1992, Suzuki vd 1993). Türkiye yerli çiftlik hayvanlarının genetik özelliklerinin tanımlanması konusunda yapılan çalışmaların yeterli olduğunu söylemek mümkün değildir. Bu populasyonların genetik özelliklerinin belirlenmesi ilk planda bilinmesi gereken noktalardan birisidir. Bu durum aynı zamanda yok olma tehlikesi taşıyan gen kaynaklarının korunması için de zorunludur.

Polimorfizm kısaca, bir populasyonda iki yada daha fazla alternatif fenotipin varlığı olarak tanımlanır. Genetik polimorfizm ise, en az iki allelli bir lokusta, nadir allelin populasyondaki frekansının tekrarlanan mutasyonlarla açıklanamayan oranlarda olması şeklinde tanımlanmaktadır (Bushman ve Schmid 1968). Populasyonda belirli bir lokusta genin farklı formları bulunuyorsa bu lokus polimorfik olarak kabul edilir. Bir gen lokusunun polimorfik olabilmesi için, nadir allelin populasyondaki nispi frekansının en az 0,05 veya 0,01 düzeyinde olması gerektiği bildirilmiştir (Hedrick 1985).

Polimorfizm, çeşitli biyokimyasal özelliklere ait farklı genetik formlar (çeşitli protein ve kan grubu faktörleri), kromozomlara ait morfolojik farklılıklar (kromozomal polimorfizm) ve DNA'daki nükleotid dizilişindeki farklılıklar (DNA polimorfizmi) temelinde araştırılabilir.

Son zamanlarda, genetik potansiyelin belirlenmesinde moleküler genetik tekniklerinden yaygın olarak yararlanılmaktadır. Yetiştirme programlarında ekonomik önemi olan karakterlerin ölçümlerinin yanında, gelişmiş moleküler tekniklerin

uygulanmasıyla, bu özellikleri belirleyen genlerin kromozom üzerindeki yerlerinin tespiti de yapılabilmektedir. Moleküler biyoloji tekniklerinin ilerlemesi ile DNA düzeyinde farklı polimorfizm belirleme yöntemleri geliştirilmiştir.

DNA parmakizi tekniği, ilk kez Jeffreys vd (1985) tarafından Leicester Üniversitesi'nde insanlar üzerinde yapılan çalışmalar sonucunda tanımlanmış ve uygulanmıştır. Daha sonra diğer canlılarda uygulanmasına yoğun bir şekilde başlanmıştır. Kedi ve köpekler (Jeffreys ve Morton 1987), atlar, koyunlar ve domuzlar (Morton vd 1987) üzerinde yapılan çalışmalardan başarılı sonuçlar alınmıştır. Bu teknikle her bireye özgü DNA bantları elde edilebilmektedir. Elektroforez sonunda oluşturulan bireye özgü bu DNA bant modelleri DNA parmakizi (DNA fingerprint) olarak tanımlanmaktadır.

DNA parmakizi bireylerin DNA karakteristiklerinin tespitinde kullanılmak üzere geliştirilmiştir. Bireylere ait elde edilen DNA bant modelleri tıpkı parmakizi gibi kişiye özgü olduğundan dolayı, DNA parmakizi teknikleri günümüzde canlıların genetik özelliklerini saptamak için yoğun bir şekilde kullanılmaktadır. Bireyin özgünlüğü ve tüm dokularda aynı DNA'ya sahip olması DNA analizlerinin temel ilkeleridir.

Tüm dünyada moleküler biyoloji ve genetik alanında yapılan çalışmalar büyük bir hızla ilerlemektedir. Böylece tür içi ve türler arası genetik farklılıklar bireylerin DNA'larının karşılaştırılması ile moleküler düzeyde araştırılabilmektedir. Bazı sıraları arasındaki bu farklılıklar aynı zamanda genom haritalarının oluşturulmasında, kalıtsal hastalıkların teşhisinde, organ transplantasyonlarında, populasyon genetiği çalışmalarında önemli rol oynamaktadır. Ayrıca bu parmakizleri adli tıpta, ebeveyn testlerinde, tıbbi tanıda, bitki ve hayvan türlerine ait populasyonlar arasındaki ilişkilerin belirlenmesinde ve yabani formların araştırılmasında uygulama alanı bulmaktadır (Kirby 1988).

DNA markerleri ile genetik varyasyonun saptanması 1980'li yılların başında ilk kez restriksiyon fragment uzunluk polimorfizmi (RFLP) tekniğinin kullanılması ile

gerçekleştirilmiştir (Griffiths vd 1996). Günümüze kadar çok sayıda yöntem geliştirilmiştir. Bunların başlıcaları; RFLP, AFLP, Mikrosatellit ve RAPD'dır ve bu tekniklerin hemen hepsi PCR temelinde çalışmaktadır.

Genetik marker olarak kullanılan RFLP, restriksiyon enzimlerinin DNA'daki kesim yerlerinin dağılımını etkileyen nokta mutasyonları veya kromozomda kesim bölgeleri arasında DNA fragment uzunluğunu etkileyen büyük kromozomal değişimler sonucunda meydana gelmektedir.

Genomik DNA boyunca nükleotid ya da nükleotid grupları değişik aralıklarla tekrarlanır. Bu tekrarların sayısı ve tekrarlanma aralığı zoolojik sistemdeki farklı sınıflara göre birey düzeyine kadar varyasyonlar göstermektedir (Watson vd 1992). Bu değişken sayıda tekrar eden ve minisatellit olarak adlandırılan VNTR (Variable Number of Tandem Repeat)'lerin bir alt grubu, kısa tekrarlar halinde olan ve uzunlukları 2-6 nükleotidten oluşan mikrosatellitlerdir (Machugh vd 1994).

Mikrosatellit parmakizi yöntemi bir çok çalışmada kullanılmıştır (Ganai ve Yadav 2001, Behl vd 2003, Xiang ve Valentini 2004). Mikrosatellit bölgelerinin çevresinde, belirli bir bölgenin baz dizilerine ait bilginin olması gerekir. Ancak, PCR tekniğinde kullanılacak olan primerlerin baz dizilerinin oluşturulabilmesi için, incelenecek genomik DNA'nın ilgili bölgesindeki baz dizisinin bilinmesi gerekir. Bu da mikrosatellit parmakizi yönteminin en büyük dezavantajı olarak kabul edilmektedir (Meghen vd 1994).

Ganai ve Yadav (2001), Hindistan bölgesine ait 3 keçi ırkında yaptıkları çalışmada 16 mikrosatellit markeri kullanmışlardır. Bu çalışmalarında, ortalama heterozigotluk değerini $0,5400 \pm 0,2000$, polimorfizm oranını ise $0,4800 \pm 0,2000$ olarak bulmuşlardır.

İki Hindistan keçi ırkında (Bengal ve Chegu) yapılan bir başka çalışmada Behl vd (2003), 22 mikrosatellit markeri kullanarak genetik farklılığı belirlemeye çalışmışlardır. Yapılan bu çalışmada heterozigotluk, Bengal için $0,6900 \pm 0,1100$ ve

Chegu için ise $0,6600 \pm 0,0700$ olarak tahmin edilmiştir. Polimorfizm değerleri ise, Bengal için $0,7900 \pm 0,0800$ ve Chegu için de $0,7800 \pm 0,0500$ olarak hesaplanmıştır.

Nyamsamba vd (2002) Moğol keçi ırklarında yaptıkları çalışmada, 8 farklı bölgeden aldıkları örneklerle 10 mikrosatellit markeri deneyerek genetik farklılığı ortaya koymaya çalışmışlardır. Bu çalışmada heterozigotluk oranları 0,6690-0,7300 değerleri arasında tahmin edilmiştir.

AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism; Çoğaltılmış Fragment Uzunluk Polimorfizmi), restriksiyon enzimi kesimiyle oluşturulan DNA fragmentlerinden bir kısmının selektif çoğaltımına dayanan bir polimorfizm belirleme yöntemi olarak tanımlanmıştır (Vos vd 1995).

Ajmone-Marsan vd (2001), 7 farklı İtalya keçi ırkında 7 primer kullanarak AFLP yöntemiyle yaptıkları çalışmada, bu keçi ırkları arasındaki genetik benzerliği 0,5700-0,8700 değerleri arasında, ortalama 0,7200 olarak bulmuşlardır. Bu ırklar arasında ortalama heterozigotluk oranı ise 0,2100-0,2400 değerleri arasında olduğu ve dolayısıyla ırklar arasında önemli bir farklılığın olmadığı belirtilmiştir.

2.1. RAPD-PCR Yöntemi

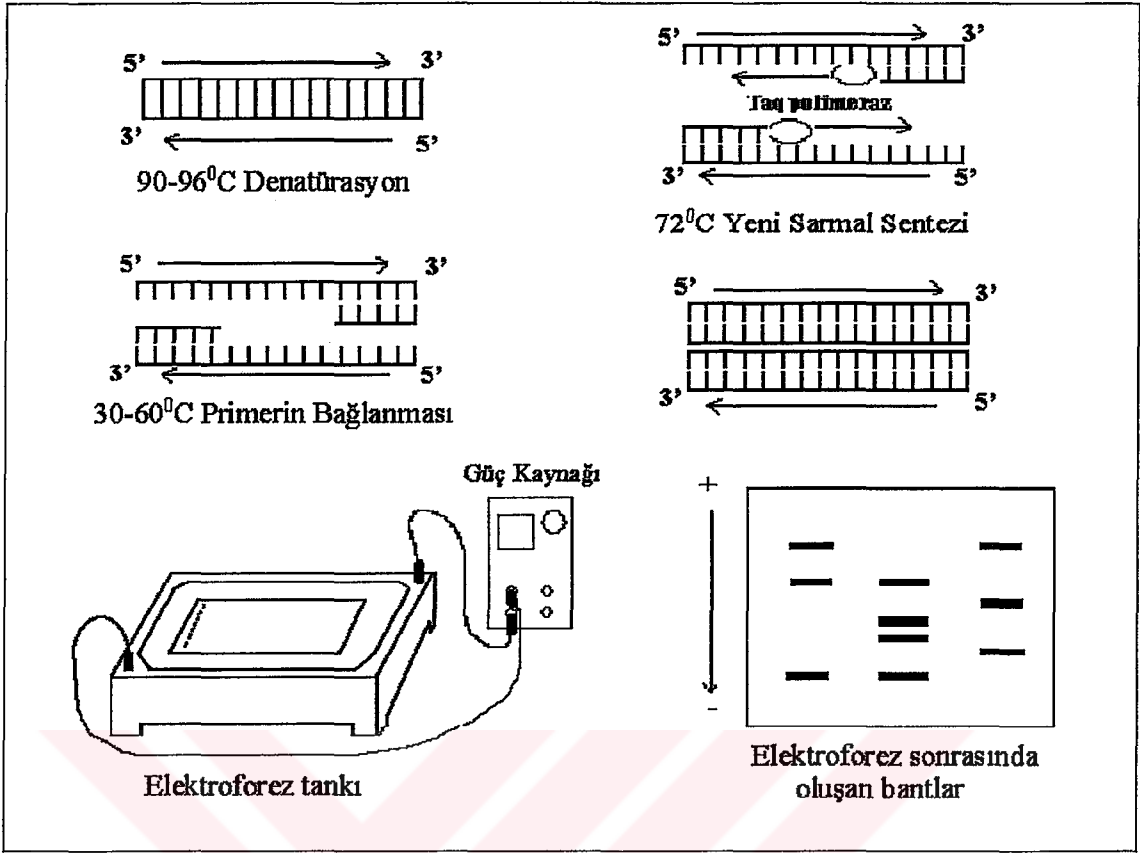
PCR, hücreden arındırılmış bir yöntem olarak, DNA'nın çoğaltılmasını sağlayan ve DNA düzeyinde yapılan araştırmalar için kullanılan çok önemli bir araçtır. PCR analizi; moleküler biyoloji, insan genetiği, evrim, gelişim ve adli vakalar gibi bir çok konuda uygulama olanağı bulmuştur (Flaman vd 1994, Suazo vd 1998, Cerit 2003, Öz Aydın 2004). PCR tekniğinin uygulanmaya başlanmasıyla, DNA parmakizi tekniğinin yaygınlaşmasında ve değişik yöntemlerin geliştirilmesinde önemli yol kat edilmiştir.

PCR, DNA molekülleri popülasyonunda, özgün hedef DNA dizilerinin *in vitro* şartlarda, sentetik olarak hazırlanmış primer adı verilen oligonükleotidler yardımıyla çoğaltılması esasına dayanmaktadır (Mullis ve Faloona 1987). Bu yöntemin

uygulanabilmesi için son derece az miktarlardaki DNA bile yeterlidir. PCR ile belirli bir bölgeyi çoğaltabilmek için, o bölgeye komplementer primerlerin kullanılması gerekir. Bu primerler, çoğaltılacak tek zincirli DNA molekülündeki tamamlayıcı dizilerle hibridlenir. Daha sonra yüksek ısıya dayanıklı bir bakteri olan *Thermus aquaticus*'dan elde edilen DNA polimeraz (Taq polimeraz), çalışılan DNA'daki hedef bölgenin sentezini yapar.

DNA'yı oluşturan bazı bölgeler, aynı nükleotid sıralarının genom üzerinde tekrarlanmasından oluşmuştur. Mutasyonlar sonucunda bu bölgelerden bazılarının yerlerinden koparak yer değiştirdikleri ya da rastlantısal olarak aynı dizinin değişik yerlerde olduğu kabul edilir. Böylece, genomda yeni varyasyonlar ortaya çıkmıştır. Bu durumda, bir genomun diğerine benzeme olasılığı çok düşüktür. Bu varyasyonlar tür, ırk, hatta fert bazında görülmektedir. Organizmalarda var olan bu farklılıktan yararlanarak Williams vd (1990) ile Welsh ve McClelland (1990) aynı zamanda farklı laboratuvarlarda, türler arası ve türler içi akrabalığı ve genetik varyasyonu DNA düzeyinde belirleyebilmek için kullanılabilecek bir metot geliştirmişlerdir. RAPD-PCR (Randomly Amplified Polymorphic DNA-PCR; Rasgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA-PCR) adı verilen bu metot kısa zamanda bir çok canlı türünde kullanım alanı bulmuştur.

RAPD yönteminin temel prensibi, ilgili olan türe ait genomik DNA üzerinde, nükleotid sırasında belirli bir ölçü olmadan rasgele hazırlanan primerlerin (yaklaşık 10 bp), düşük bağlanma sıcaklığında tesadüfi olarak, komplementeri olan hedef bölgelere yapışması ve bu bölgelerin PCR tekniği ile geometrik olarak çoğaltılması esasına dayanmaktadır (Bardakçı 2001). PCR tekniğiyle çoğaltılmış bu DNA parçacıkları elektroforez tekniğiyle agaroz jelde birbirinden ayrılırlar. Elektriksel ortamda molekül büyüklüklerine göre sıralanan DNA parçacıkları daha sonra ethidium bromide ya da radyoaktif maddelerle boyanarak ultraviyole ışık altında görünür hale getirilir (Williams vd 1990, Scott vd 1992, Morgan vd 1993, Rothuizen ve Wolferen 1994) (Şekil 2.1.).



Şekil 2.1. RAPD-PCR yönteminin aşamaları

RAPD-PCR yöntemiyle elde edilen ve agaroz jelde belirlenen DNA bantlarına 'RAPD bantları' adı verilmektedir. Bantların varlığı ya da yokluğuyla sonuçlar değerlendirilmektedir. RAPD tekniği ile DNA üzerinde bazı kısımların (fragment) çoğaltılması, kullanılan primerlerin uzunluğuna, primerin G-C içeriğine ve primer dizisindeki tek bir nükleotidin bulunduğu yere göre değişiklik gösterir.

Canlıların sahip olduğu DNA'lar büyük ölçüde farklı olduğundan, primerlerin kullanılmasıyla ortaya çıkartılan RAPD belirteçleri de farklı olacaktır. İşte bu farklılık organizmaların karşılaştırılabilmesini sağlamaktadır. RAPD bantları, Mendel kalıtım yolunu izler ve çeşitli türlerin gen haritalarının yapılmasında kullanılabilirler (Cushwa vd 1996). İlgili özelliği belirleyen genlerle ilişkisi bilinen DNA belirleyicileri, gen klonlaması, hastalıkların tanısında ve yetiştirme programlarında, hayvan ve bitkilere gen aktarılması konularında kullanılabilir (Rothuizen ve Wolferen 1994).

Genel olarak RAPD tekniği diğer tekniklerle (RFLP, AFLP ve Mikrosatellitler) karşılaştırıldığında en büyük avantajı; az miktarda ve düşük kalitede DNA'nın yeterli olması ve DNA baz sırasına ilişkin ön bilgiye gereksinim duyulmamasıdır (Williams vd 1990).  oğaltmada tüm organizmalar için aynı oligonükleotid primer seti kullanılabilmekte ve bu oligonükleotidler özgün bölgelere rasgele bağlanarak çoğaltma yapmaktadırlar. RAPD tekniğinin, diğer yöntemlere göre basit, daha ucuz ve daha az iş gücü gerektirmesi de bu yöntemi avantajlı hale getirmektedir. RAPD ile RFLP yöntemleri aynı oranda güvenli ve etkili iken, RAPD yönteminin uygulamasının daha hızlı ve kolay olduğu, ırklar ya da hatlar arasındaki ilişkilerin aranmasına yönelik çalışmalarda RAPD'in tercih edildiği görülmüştür (Hallden vd 1994). Bununla birlikte, her iki yöntemin toplam maliyeti, kullanılan belirleyicilerin artması ve azalması ile orantılı olarak değişmektedir (Williams vd 1990).

RAPD, genetik akrabalığın ve genetik farklılığın hesaplanması, tür tanımlaması ve çeşitli çiftlik hayvanı türlerinde genetik haritalamayı kapsayan bir çok çalışma için kullanılmıştır (Kantanen vd 1995, Cushwa vd 1996, Cushwa ve Medrano 1996, Deepak vd 1998, Yongjum vd 1998, Sharma vd 2001, Albustan vd 2001). Bu  alışmalar, RAPD'in potansiyel bir genetik marker olarak etkinliğini yansıtmıştır. Ayrıca radyoaktiviteye, Southern transferine veya DNA hibridizasyonuna gerek duyulmamaktadır.

RAPD yöntemi ile elde edilen polimorfik batların dominant olduğu ve bu nedenle heterozigot bireylerin tespitlerinin yapılamadığı bildirilmiştir (Williams vd 1990, Welsh vd 1991). RAPD yönteminin uygulama aşamasında bazı faktörlerin optimize edilmesi durumunda Mendel Kalıtım yolunu izleyen bantların da bu yöntemle tespitinin mümkün olduğu bildirilmektedir (Rothuizen ve Wolferen 1994).

RAPD metodunun güvenilirliğini ve tekrarlanabilirliğini etkileyen pek çok faktör bulunmaktadır (Bowditch vd 1991). Hedef DNA, MgCl₂ konsantrasyonu, Taq DNA polimeraz konsantrasyonu, primer konsantrasyonu, dNTP konsantrasyonu, primer bağlanması, başlangıç denatürasyonu, primer karışımları RAPD tekniğini etkileyen temel değişkenlerdir. Ayrıca PCR'da oluşan çelişkili sonuçlar için, yabancı DNA

tarafından oluşturulan kontaminasyona ek olarak DNA izolasyon tekniğindeki varyasyonlar, kullanılan doku kaynağı, PCR koşulları ve PCR cihazının tipi sorumlu olabilmektedir. RAPD çalışmalarında her farklı tür için reaksiyon koşullarının optimizasyonu şarttır. Bunun amacı özgünlüğü ve tekrarlanabilirliği kontrol etmektir.

Son yıllarda RAPD yöntemi, sığır, tavuk, hindi, at, koyun ve keçi gibi çeşitli çiftlik hayvanlarında geniş kullanım alanı bulmuştur (Kantanen vd 1995, Smith vd 1996, Wei vd 1997, Sharma vd 2001, Apostolidis vd 2001, Tahmoorespur vd 2003). Keçiler üzerinde RAPD yöntemi ile yapılan çalışmalar, ortaya çıkartılabilen polimorfizmlerin, türlerin genetik yapısının ve tür bazında populasyonlar arası ve içi farklılığın belirlenmesinde kullanılabileceğini göstermiştir (Plotsky vd 1995, Cushwa vd 1996, Romanov ve Weigend 2001).

Yongjun vd (1998), Tibet Kaşmir keçilerinin, populasyon içi genetik varyasyonunu ve DNA polimorfizmini 28 bireye ait örnekte araştırmışlardır. Çalışmalarında DNA fragmetleri, 37 primerden seçilmiş yüksek polimorfizme sahip 5 primer kombinasyonu ile çoğaltılmıştır. Sonuçta, 61 lokus ve 2926 bant elde etmişlerdir. Bu lokusların % 90'ının, bantların ise % 83'ünün polimorfik olduğunu bulmuşlardır. Bu çalışmada populasyon içi ortalama benzerlik 0,6734, populasyondaki ortalama genetik uzaklık ise 0,3266 olarak bulunmuştur.

Li vd (2002), 3 Shanxi bölgesi yerli keçi populasyonları (Bai, Hei ve Qing) arasındaki genetik ilişkiyi RAPD yöntemi ile belirledikleri çalışmada, 102 bireye ait kan örneklerinden elde ettikleri DNA fragmentlerini, 60 primer ile çoğaltmışlardır. Elde edilen DNA fragmentleri 180 ve 2870 bp aralığında bantlar vermiştir. Kullanılan 8 primer ile toplam 76 fragment elde edilmiş ve bunlardan 44 fragment bu keçi populasyonları için polimorfik bantlar meydana getirmiştir. Polimorfizm oranını 0,5789 olarak, populasyonlar arası genetik uzaklığı ise 0,0810-0,2040 arasında tahmin etmişlerdir.

Ahmet Ali (2003), Mısır'da yetiştirilen 4 farklı koyun ırkında (Baladi, Barki, Rahmani ve Suffolk) yaptığı çalışmada, DNA fragmentlerini çoğaltmak için 19 rasgele

primer kullanarak RAPD markerler ile genetik analizi yapmıştır. Irklar arasında, polimorfizm seviyeleri ile RAPD modellerini ortaya çıkarmıştır. Irklar arasındaki genetik benzerlik 0,8190-0,9570 değerleri arasında bulunmuş, Barki' nin, Bahrani (% 95,7) ve Baladi' ye (% 91,3) daha yakın olduğunu belirtilmiştir.

Cushwa vd (1996), RAPD yöntemiyle 53 primer kullanarak, 5 farklı koyun ırkı (Coopworth, Merinos, Perendale, Romney ve Texel) ve bu ırkların melezlerinde polimorfizm oranını 0,6500-0,9600 arasında ortalama 0,8500 olarak tahmin etmişlerdir.

Romanov ve Weigend (2001), RAPD markerleri kullanarak Ukrayna ve Almanya'da bulunan 5 tavuk ırkına ait genetik polimorfizm araştırmışlardır. Ukrayna popülasyonunun orta düzeyde genetik varyasyona, Almanya popülasyonunun ise daha düşük düzeyde genetik varyasyona sahip olduğu belirlenmiştir. Sonuçta bu çalışmada da RAPD markerlerinin basit ve hızlı bir moleküler araç olduğu belirtilmiştir.

Lee ve Chang (1994) tarafından yapılan çalışmada ise RAPD metodu, farklı türlerin tanımlanması amacıyla kullanılmıştır. Bu çalışmada, sadece tek bir primer ve bir PCR programı kullanılmıştır. Sonuç olarak, RAPD-PCR tekniğinin insan, sığır, keçi, domuz, köpek, sıçan, tavşan, tavuk ve ördeğe ait parmakizleri karşılaştırılarak, bu türleri tanımlamada kullanılabileceğini göstermişlerdir.

Huang vd (2003), hayvanların tür tanımlamasında RAPD parmakizini temel olarak yaptıkları çalışmada, devekuşu, Tayvan tavukları, Aboracres broyleri, leghorn, bıldırcın, kumru, Belville ırkı hindiler, sülün, kaz, ördek, Holstein ve Landrace domuzlarının genomik DNA örnekleri, rasgele primerler yardımıyla çoğaltılmıştır. Aynı türler aynı primer ile çalışılmıştır, temel bantların tümü benzer sonuçlar göstermiştir.

RAPD tekniği ayrıca İlhak ve Arslan (2003) tarafından, et ve et ürünlerinin orijininin tespit edilmesi amacıyla, sığır, koyun, keçi ve yabani domuz etinin ayırt edilmesinde kullanılmıştır. Kullanılan diğer yöntemlerdeki (anatomik farklılıklar, duyuusal analizler, proteine dayalı testler vs.) zorluklar ve bazı dezavantajlar nedeniyle,

doğru sonuç veren, basit ve hızlı, özellikle DNA'nın in vitro olarak kısa sürede çoğaltılmasını sağlayan PCR temeline dayanan RAPD yöntemi kullanmışlardır. RAPD yöntemiyle, 10 bazlık bir primer (CGC CCT GGT C) kullanılarak, et ve et ürünlerinin hangi hayvan türüne ait olduğunun belirlenmesinde kullanılabileceği gösterilmiştir.

RAPD gibi DNA düzeyinde genetik varyasyonu saptamaya yönelik tekniklerin geliştirilmesi, bireylerin genotiplerini daha doğru saptamaya olanak sağlamaktadır. Bu anlamda, DNA düzeyinde tespit edilebilecek varyasyonlar ıslah çalışmalarında önemli kazanımlar sağlayacaktır.



3. MATERİYAL VE METOT

3.1. Materyal

Bu çalışmada, Antalya ve çevresinde özel işletmeler elinde bulundurulan farklı kıl keçisi sürüleri materyal olarak kullanılmıştır. Bu sürülerden rasgele alınan 7 farklı kıl keçisi popülasyonunun her birinden, 1 dişi ve 1 erkek olmak üzere toplam 14 hayvandan kan örnekleri alınmıştır.

3.2. Metot

3.2.1. Kan örneklerinin alınması

DNA izolasyonu için gerekli kan örnekleri keçilerin boyun toplar damarından (vena jugularis), vakumlu kan alma tüpleri ve kanül kullanılarak alınmıştır. Her hayvandan yaklaşık 5 ml kan alınmıştır. Alınan kan örnekleri kısa sürede laboratuara getirilerek DNA izolasyon işlemine kadar -20 °C’de saklanmıştır.

3.2.2. DNA izolasyonu

DNA izolasyonu için DNA izolasyon kitleri kullanılmıştır (Bio Basic Inc.). Bu DNA izolasyon kitinin içeriği aşağıda verilmiştir.

- 40 ml Cell Lysis Solution
- 60 ml Precipitation Solution
- 25 ml TE Buffer
- 20 ml 1,2 M NaCl
- 6 mg Proteinase K
- 3 mg Rnase A

Proteinase K ve Rnase A -20 °C’de, diğer solüsyonlar ise oda sıcaklığında muhafaza edilmiştir.

DNA izolasyon işlemi aşağıda anlatılan aşamalar takip edilerek gerçekleştirilmiştir.

- 1,5 ml'lik mikro tüpe, 300 µl kan örneği konulmuş ve üzerine 400 µl Cell Lysis Solution eklenerek kısa bir süre (5-10 saniye) vortekslenmiştir.

- 3 µl Proteinaz K eklenerek, 65 °C'de ara sıra çalkalamak suretiyle 13 dakika inkübe edilmiştir.

- Bu işlemin ardından tüpe 500 µl kloroform eklenmiş ve yaklaşık 10 saniye vorteksle çalkaladıktan sonra 12000 rpm (rotation per minute, d/da)'de 4 dakika santrifüj (Hettich marka) yapılmıştır.

- Santrifüjden alınan tüplerin içerisinde üç faz gözlenmiştir. Üst kısımdan (süpernatant) 500 µl alınıp yeni bir tüpe aktarılmıştır. Bu tüpe 500 µl Çökeltme (precipitation) solüsyonu eklenerek iyice karıştırılmıştır. Bu aşamada DNA sarmalları solüsyon içerisinde asılı şekilde gözlenmiştir.

- 2 dakika oda sıcaklığında bekletildikten sonra 2 dakika santrifüj yapılmıştır. Bu işlem sonucunda DNA ihtiva eden kısım tüpün dibine çöktüğü için, üst kısımdaki sıvı (süpernatant) dikkatlice dökmüş ve tüpe 100 µl NaCl eklenmiştir. Bu aşamada tüplerdeki DNA'nın pelet haline geldiği görülmüştür.

- Bu pelet DNA, tamamen çözülene kadar pipet ucu yardımıyla karıştırıldıktan sonra üzerine 3 µl RNAz eklenmiş ve 37 °C'de 13 dakika su banyosunda inkübe edilmiştir.

- İnkübasyonun ardından tüpe, -20 °C'de saklanan % 99,5'lik alkolden 300 µl eklenmiş ve vorteksle çalkaladıktan sonra 10 dakika -20 °C'de bekletilmiştir.

- Daha sonra 3-4 dakika yüksek hızda (12000-13000 rpm) santrifüj yapılmıştır. Bu işlem sonunda DNA peleti tüpün dibine çökmüştür. Tüpteki alkol yavaşça dökmüş ve % 70'lik soğuk alkol ile DNA'lar tekrar yıkanmıştır.

- 3 dakika santrifüj yapıldıktan sonra DNA'ların tüplerden akmamasına dikkat edilerek alkol uzaklaştırılmıştır. Tüpler ağzı açık ve yatay konumda 10 dakika oda sıcaklığında kurutulmuştur.

- Son aşamada DNA'nın bulunduğu tüpe 100 µl TE (Tris-Edta buffer) tamponu eklenerek DNA'lar çözündürülmüştür. Kullanıma hazır hale getirilen saf DNA'ların

bulunduğu tüpün kapaklarının etrafı buharlaşmayı engellemek amacıyla parafilm ile iyice sarıldıktan sonra +4 °C’de saklanmıştır.

3.2.3. Genomik DNA miktarının hesaplanması

Polimeraz zincir reaksiyonunda kullanılacak genomik DNA miktarının bilinmesi PCR işleminin sağlıklı yapılabilmesi için önemlidir. Genomik DNA’nın hesaplanması yöntemi, DNA içeren saf suyun emdiği ultraviyole radyasyon miktarının spektrofotometre ile ölçülmesi esasına dayanmaktadır (Güneren 1999). DNA miktar ölçümleri 260 nm ve 280 nm dalga boylarında yapılmıştır. 260 nm ve 280 nm’de okunan değerlerin oranı (OD_{260} / OD_{280}) nükleik asidin saflığının ölçüsünü vermektedir. Bunlardan, 260 nm dalga boyunda yapılan okuma, örnekteki nükleik asit konsantrasyonunun hesaplanmasına olanak sağlamaktadır. 1 OD (Optic Density) örnekte yaklaşık 50 µl/ml (40 ng) çift sarmallı DNA, olduğu kabul edilmektedir.

Nükleik asitlerle yapılan çalışmalarda, DNA ve RNA örneklerinin bulunduğu sıvının OD_{260} / OD_{280} oranının 1,8 ve 2,0 olması istenir. Nükleik asit süspansiyonunda protein ya da fenol artıklarının bulunması durumunda bu oran önemli ölçüde azalmakta ve nükleik asit miktarının kesin olarak hesaplanması güçleşmektedir (Güneren 1999).

Toplam 14 hayvandan izole edilen DNA miktarlarının belirlenmesi, Akdeniz Üniversitesi Sağlık Bilimleri Araştırma ve Uygulama Merkezi’nde yapılmıştır. DNA miktarının ölçülmesinden sonra, bu ölçümlerden 1 µl’de 20ng DNA olacak şekilde, steril saf su ile seyreltme yapılmıştır.

3.2.4. Primerlerin seçimi:

Bu çalışmada daha önce farklı çalışmalarda da kullanılan 20 adet 10 bazlık primerler kullanılmıştır. Kullanılan primerlerin isimleri baz dizilişleri ve bağlanma sıcaklıkları çizelge 3.2. de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan primerler ve baz sıraları

No	Primerin İsmi	Baz Sırası (5' → 3')	Bağlanma Sıcaklığı (°C)
1	18	GGG CTA GGG T	34
2	19	ACC GGG AAC G	34
3	21	AAA GCT GCG G	32
4	Du01	AGT CCT CGC C	34
5	Du07	GGG CTA GGG T	34
6	Du08	ACC GGG AAC G	34
7	Ra33	TGC GGA CGT C	34
8	Ra35	AAG CTC CCC G	34
9	Ra59	CGG GCA ACG T	34
10	Opp08	ACA TCG CCC A	32
11	Opp11	AAC GCG TCG G	34
12	Opp15	GGA AGC CAA C	32
13	Opq04	AGT GCG CTG A	32
14	Opq06	GAG CGC CTT G	34
15	Op08	TGG ACC GGT G	34
16	Op09	CTC ACC GTC C	34
17	Opp03	CTG ATA CGC C	32
18	Opa07	GAA ACG GGT G	32
19	Opm10	TCT GGC GCA C	34
20	Opb19	ACC CCC GAA G	34

3.2.5. Polimeraz zincir reaksiyonu tekniği (PCR, Polimerase Chain Reaction)

Daha 6nceden yapılmış araştırmalarda uygulanan PCR teknikleri (protokolleri) (Flaman vd 1994, Suazo vd 1998, 6z Aydın 2004) bu 7alışmada denenerek en iyi sonucu veren miktar ve oranlar ile program 7alıştırılarak optimize edilmiştir.

Bireysel DNA 6rnekleri, PCR reaksiyonunda kullanmak amacıyla 20 ng/ μ l yoğunluğuunda ayarlanmıştır. 0,5 ml'lik PCR t6plerine her bir DNA'dan 1'er μ l konulmuştur. PCR t6plerinin reaksiyon hacmi toplam 25 μ l olacak şekilde hazırlanmıştır. PCR reaksiyonu i7in gerekli kimyasallar ve miktarları aşağuıda verilmiştir.

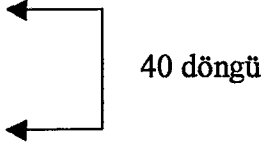
1 6rneklik reaksiyon karışımı;

- 14,5 μ l Steril distile su
- 2 μ l 10 X Buffer
- 2,5 μ l $MgSO_4$
- 4 μ l dNTP_s
- 0,5 μ l Primer
- 0,5 μ l Taq Polimeraz

PCR uygulamaları i7in Eppendorf Master Gradient Thermal Cycler marka cihaz kullanılmıştır. Cihazın kapak sıcaklığuı 102 $^{\circ}C$ 'ye ve blok sıcaklığuı 94 $^{\circ}C$ 'ye ayarlanmıştır. B6ylece PCR sırasında reaksiyon karışımının buharlaşması 6nlenmiştir. 6ncelikle, her bir PCR t6p6ne 1 μ l DNA konulmuştur ve cihaza yerleştirilerek 94 $^{\circ}C$ 'de 2 dakika bir 6n sıcaklığuı tabi tutulmuştur (hot start). Daha sonra, hazırlanan reaksiyon karışımı (master mix) her bir PCR t6p6ne (24 μ l +1 μ l DNA= 25 μ l) paylaştırılmıştır.

PCR programı, ayrılma (denaturasyon: DNA iplik7iklerinin ayrılması), yapışma (annealing: primerlerin DNA zincirindeki komplementer olan b6lgelere yapışması) ve uzama veya sentez (extention: DNA'ya yapışmış olan primer ile Taq polimeraz yardımıyla DNA zincirinin sentezlenmesi) aşamalarından oluşmaktadır.

Genel olarak, denaturasyon sıcaklığı 90-95 °C, annealing sıcaklığı 30-60 °C ve ekstention sıcaklığı 70-75 °C arasında değişmektedir. Bu çalışmada uygulanan döngü sıcaklık ve süreleri aşağıda verilmiştir.

- 94 °C'de 2 dakika
 - 94 °C'de 50 saniye
 - 32 °C'de 55 saniye
 - 72 °C'de 50 saniye
 - 72 °C'de 5 dakika
- 

Bu şekilde toplam 40 döngü uygulanmış ve son olarak 72 °C'de 5 dakika bekletilerek PCR programı tamamlanmıştır. PCR' dan sonra tüpler yani PCR ürünleri elektroforez işlemine kadar, 4 °C'de kapakları parafilm ile sarılarak saklanmıştır.

3.2.6. Elektrolit çözeltisi

Elektroforezde tampon çözeltisi olarak Tris-Acetate-EDTA (EthylenDinitriloTetraAceticacid) (TAE) kullanılmıştır. Bu çözelti pH: 8.0 olacak şekilde ve 50X yoğunluğunda hazırlanarak 1 lt suda çözündürülmüştür. Bu stok çözeltiden 20 ml alıp saf su ile 1 lt'ye tamamlanmış ve böylece elektroforez için 1X'lik TAE tamponu hazırlanmıştır. Aşağıda bu çözeltinin hazırlanmasında kullanılan kimyasallar ve miktarları verilmiştir;

- 242 gr Tris base (0,5 M)
- 51,1 ml Glacial Asetic Asit
- 100 ml EDTA (0,5 M, pH: 8.0)

3.2.7. Jelin hazırlanması

PCR'da elde edilen DNA parçalarını elektroforezde birbirinden ayırmak için agaroz jel (Bio Basic Inc.) kullanılmıştır. Yapılan denemeler sonucunda %1,5'luk agaroz jel en uygun oran olarak görülmüştür. Agaroz, TAE tampon çözeltisi ile bir

erlen meyerde, homojen bir karışım olması amacıyla ara sıra karıştırılarak, mikrodalgada (2-3 dakika) ısıtılarak hazırlanmıştır.

Jel kalıbına, jele DNA yüklenebilmesi için gerekli olan kuyucukları oluşturması amacıyla tarak yerleştirilmiştir. Sürekli sallamak suretiyle soğutulan jel, jel kalıbına hava kabarcıklarının olmamasına dikkat edilerek dökülmüş ve katılaşıncaya kadar soğumaya bırakılmıştır. Jel donduktan sonra tarak yavaşça çıkarılmış ve elektroforez tankının içine, jelin üst kısmını kapatacak kadar elektrolit çözeltisi dökülmüştür.

3.2.8. PCR ürünlerinin jele yüklenmesi ve elektroforez işlemi

PCR' da çoğaltılan DNA fragmentlerinin UV ışığı altında görüntülenebilmesi için, Dye adı verilen bir çözelti hazırlanmıştır. Bu PCR ürünlerinin her birinden 15'er µl alınıp, bir tüp içerisinde 3 µl Dye ile mikropipet yardımıyla karıştırılarak boyanmıştır. Boyanmış olan DNA fragmentlerini içeren bu karışım jeldeki kuyucuklara dikkatli bir şekilde yüklenmiştir. Aşağıda Dye'in hazırlanmasında kullanılan kimyasallar ve oranları verilmiştir.

- % 0,25' lik Bromfenol Blue
- % 0,25' lik Xylene Cyanol
- % 30' luk Glyserol (suda)

Bantların baz çifti olarak, uzunluklarının tahmin edilebilmesi amacıyla standart olarak DNA Molecular Weight marker (1 Kb Ladder) kullanılmıştır. Bu markerden 3 µl alıp yine bir tüp içerisinde 3 µl Dye ile boyandıktan sonra bu karışım da jele yüklenmiştir ve 75 V'da 2,5-3 saat elektroforezde yürütülmüştür. Böylece RAPD bantlarının jel içerisinde, elektriksel ortamda molekül büyüklüklerine göre sıralanıp ayrılması sağlanmıştır.

Elektroforez uygulaması sonucunda RAPD bantlarına ait iyi görüntüler elde edebilmek için; jelin yoğunluğunu, elektrik akımını ve elektroforez süresini optimize

etmek gerekmektedir. Bu amaçla yapılan birçok deneme sonucunda yukarıda belirtilen koşullar doğrultusunda çalışma devam ettirilmiştir.

3.2.9. Jelin boyanması ve RAPD bant fotoğraflarının elde edilmesi

Elektroforez işlemi sona erdikten sonra jel, 0,5 µg/ml oranında Ethidium Bromide içeren bir tampon çözeltisinde 15-20 dakika bekletilmiştir. Ethidium Bromide ile boyanan jel, UV ışığı altında görülebilecek hale gelmiştir. RAPD bantları, Jel Görüntüleme Sisteminde görüntülenmiş ve fotoğrafları çekilmiştir.

3.2.10. Bantların değerlendirilmesi

RAPD-PCR bantları çekilen jel fotoğrafları incelenerek değerlendirilmiş ve mevcut bantlar 1, olmayan bantlar ise 0 olacak şekilde bir veri matrisi oluşturulmuştur. Elde edilen veri matrisi kullanılarak benzerlik oranı, polimorfizm oranı ve heterozigotluk oranları gibi istatistikler NTSYS programı ile hesaplanmıştır.

Bantların uzunlukları belirlenirken standart olarak DNA Molecular Weight marker (1 Kb Ladder) dikkate alınmıştır. Bireyler arasındaki genetik benzerlik (Fxy) aşağıda verilen formüle göre hesaplanmıştır (Nei 1987).

$$F_{xy} = 2M_{xy} / (M_x + M_y)$$

Burada; M_{xy}: İki birey arasındaki ortak RAPD bant sayısı,

M_x : Birinci bireyin toplam RAPD bant sayısı,

M_y : İkinci bireyin toplam RAPD bant sayısıdır.

Ortalama heterozigotluğun (H) hesaplanmasında aşağıda verilen formül kullanılmıştır (Nei 1987).

$$H = \sum h/r$$

Burada; r: Lokus sayısı,

h: Beklenen tek lokus heterozigotluğudur ve aşağıdaki gibi hesaplanır;

$$h=1- \sum X_i^2$$

Burada ; X_i^2 : homozigot genotiplerin oranlarıdır.

Polimorfizm oranı ise elde edilen polimorfik bant sayısının toplam bant sayısına oranı olarak hesaplanmıştır.



4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1 RAPD-PCR Bantlarının Analizi

Araştırmada değerlendirilen RAPD-PCR bant modelleri, Antalya çevresinde yetiştirilen kıl keçi populasyonundan rasgele alınan 7 dişi ve 7 erkek hayvana aittir. Bu bantlar 20 primer kullanılarak elde edilmiştir. Kullanılan primerler ve verdikleri bantların sayısı ve yaklaşık uzunlukları çizelge 4.1.'de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Kullanılan primerler ile elde edilen bant sayısı ve uzunlukları

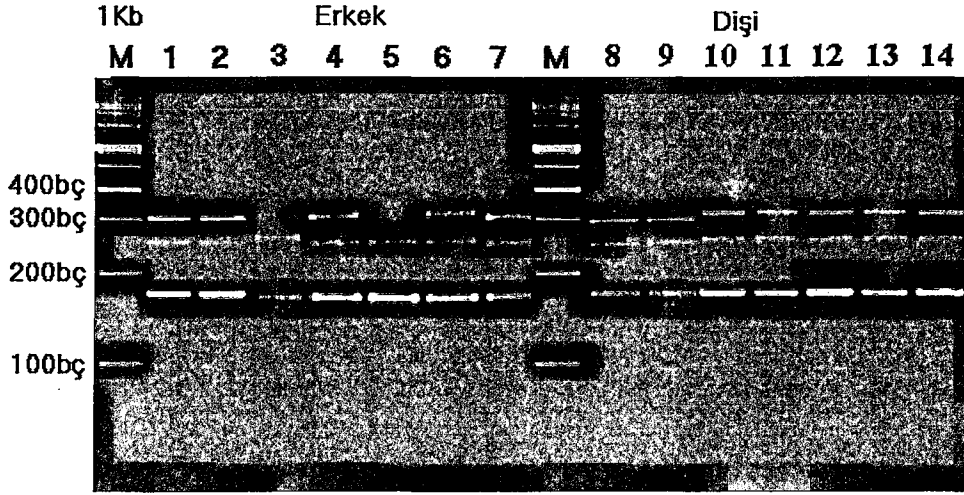
No	Primerin Adı	Bant Aralığı (bp)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	Toplam Bant Say.
ERKEK BİREYLER										DİŞİ BİREYLER							
1	18	80-300	2	4	2	3	6	8	8	2	2	3	5	3	7	6	61
2	19	170-300	3	3	3	3	2	3	3	3	4	3	4	3	4	3	44
3	21	50-450	7	7	7	7	6	5	8	8	5	7	3	8	5	0	83
4	Du01	80-240	3	3	5	2	4	2	4	6	4	3	3	3	3	3	48
5	Du07	80-350	7	4	7	2	6	8	5	6	6	8	8	6	6	0	79
6	Du08	150-300	0	3	1	0	2	3	3	3	4	3	3	3	3	0	31
7	Ra33	160-600	4	4	4	6	6	3	2	6	4	4	4	4	4	0	55
8	Ra35	100-400	5	8	8	6	8	8	9	8	8	9	8	6	6	7	104
9	Ra59	130-400	5	4	5	5	7	1	9	8	7	7	7	1	7	5	78
10	Opp08	50-400	7	8	8	10	10	11	9	11	10	8	10	5	3	11	121
11	Opp11	100-400	6	3	7	6	6	8	2	5	7	6	6	6	4	8	80
12	Opp15	150-450	6	2	2	4	7	4	5	6	7	3	7	4	8	8	73
13	Opq04	100-300	3	3	4	4	4	2	4	5	6	6	7	7	7	0	62
14	Opq06	100-200	7	5	4	4	4	7	8	6	4	4	6	5	8	8	80
15	Op08	170-350	2	4	5	5	5	8	1	4	4	4	4	4	8	8	66
16	Op09	150-280	0	3	1	0	3	1	3	2	3	3	3	4	3	4	33
17	Opp03	200-450	2	2	2	3	2	2	3	4	2	3	0	0	4	0	29
18	Opa07	160-450	5	6	6	6	7	6	5	6	4	6	0	6	8	0	71
19	Opm10	100-350	7	8	6	7	7	8	6	6	5	9	5	6	2	7	89
20	Opb19	120-400	6	9	7	8	4	9	8	3	3	7	5	0	7	0	76
Toplam Bant Sayısı			87	93	94	91	106	107	105	108	99	106	98	84	107	78	1363

Bu çizelgede görüldüğü gibi, kullanılan primerler yardımıyla elde edilen bantların uzunlukları genel olarak 100-600 bp aralığında değişmektedir. Opp08 primeri toplamda 121 ile en fazla bant sayısına (Şekil 4.1.) ve Opp03 primeri ise 29 ile en az bant sayısına (Şekil 4.2.) sahiptir. Bütün primerler toplamda 1363 bant meydana getirmiştir. Bu bantların 683 tanesi erkeklerde ve 680 tanesi de dişi bireylerde gözlenmiştir.

NTSYS programı ile yapılan analizler sonucunda, her bir lokusa ait bant frekansları ve yine her bir lokusa ait heterozigotluk oranları hesaplanmış ve sonuçlar sırasıyla çizelge 4.2. ve çizelge 4.3.'de verilmiştir. Çizelge 4.2 de verilen RAPD bantlarına ait lokus numaraları, DNA fragment büyüklükleri bakımından her primer için büyükten küçüğe doğru sıralanarak numaralandırılmıştır. Aşağıda her bir primer için elde edilen polimorfik bant sayıları ve çizelge 4.2. ve çizelge 4.3 ile ilgili açıklamalar yapılmıştır. Buna ek olarak kullanılan primerlere ait elde edilen bazı fotoğraflar örnek olarak verilmiştir (Şekil 4.1-4.7).

Çizelge 4.1. de görüldüğü gibi, 18 nolu primer ile, 100-300 bp aralığında 6'sı polimorfik olmak üzere toplam 8 bant elde edilmiştir. 100 bp ve daha düşük bölgede 2 bandın tüm bireylerde monomorfik olduğu görülmüştür. Diğer bantlarda ise polimorfizm saptanmıştır. 1, 3, 8 ve 9 nolu bireyler en az bant veren bireylerdir. En fazla bant ise 6 ve 7 nolu bireylerde görülmüştür. Çizelge 4.2.'de görüldüğü gibi, mevcut lokuslarda en yüksek frekansa 1 ve 7 nolu lokuslar sahipken, en düşük frekansa ise 3 nolu lokuslar sahiptir. Bu lokuslar arasında en yüksek varyasyon 3. lokusta görülmektedir ve çizelge 4.3.'de de görüldüğü gibi en yüksek heterozigotluk bu lokustadır (0,4809).

19 nolu primerin kullanılmasıyla elde edilen toplam 4 bant 100-300 bp aralığında elde edilmiş ve bu bantların 2'si polimorfik bulunmuştur. Bu aralıklarda mevcut 2 bandın monomorfik olduğu belirlenmiştir. Aynı bantlara sahip olan 9, 11 ve 13 nolu bireyler en fazla bantta sahiptir, en az bant sayısına 5 nolu bireyde rastlanmıştır (Şekil 4.1.).

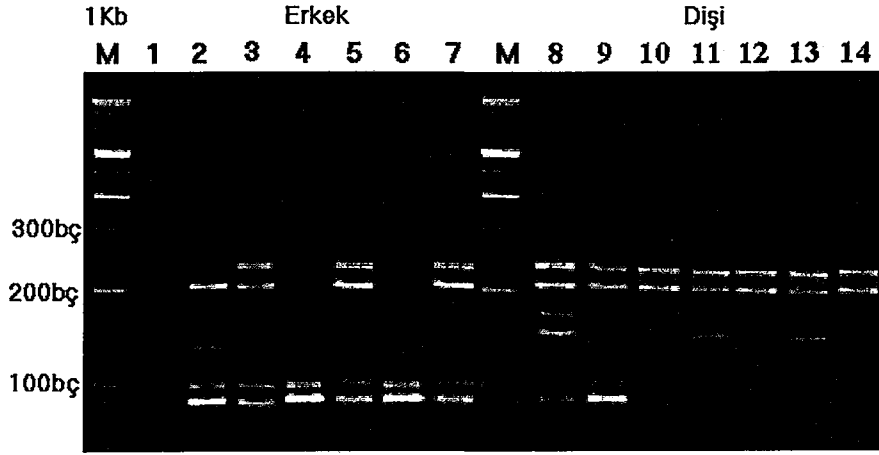


Şekil 4.1. 19 nolu primere ait RAPD bant görüntüsü

Çizelge 4.2.'de en yüksek frekansın 4. lokusa, en düşük frekans ve en yüksek varyasyonun ise 1. lokusa ait olduğu görülmektedir. Dolayısıyla en yüksek heterozigotluk (0,3917) 1. lokusta görülmektedir (Çizelge 4.3.).

21 nolu primer kullanılarak, hepsi polimorfik olmak üzere toplam 8 bant elde edilmiştir ve bu bantlar 100-500 bp aralığına yayılmıştır. 7, 8 ve 12 nolu bireyler en fazla banda sahip bireylerdir. 14 nolu bireyin bu primer ile hiç bant vermediği görülmüştür (Çizelge 4.1.). Diğer bireylerde ise polimorfik bir çok bant gözlenmiştir. Burada ise en yüksek frekans 3. lokus, en düşük frekans ise 5. ve 7. lokuslarda görülmektedir (Çizelge 4.2.). 1. ve 6. lokusların en yüksek heterozigot oranlarına (0,4809) sahip oldukları da çizelge 4.3.'de görülmektedir.

Ahmed Ali (2003) 4 farklı koyun ırkında (Barki, Rahmani, Baladi ve Suffolk) toplam 19 primer denemiş ve bunların 5'i polimorfik bant vermiştir. Kullanılan 18, 19 ve 21 numaralı primerler bu çalışmada da kullanılmıştır. Bu primerlerden 18 ve 19 nolu primer kıl keçilerinin aksine bu 4 koyun ırkında hiç polimorfik bant vermediği, 21 nolu primerin ise polimorfik olduğu bildirilmiştir.

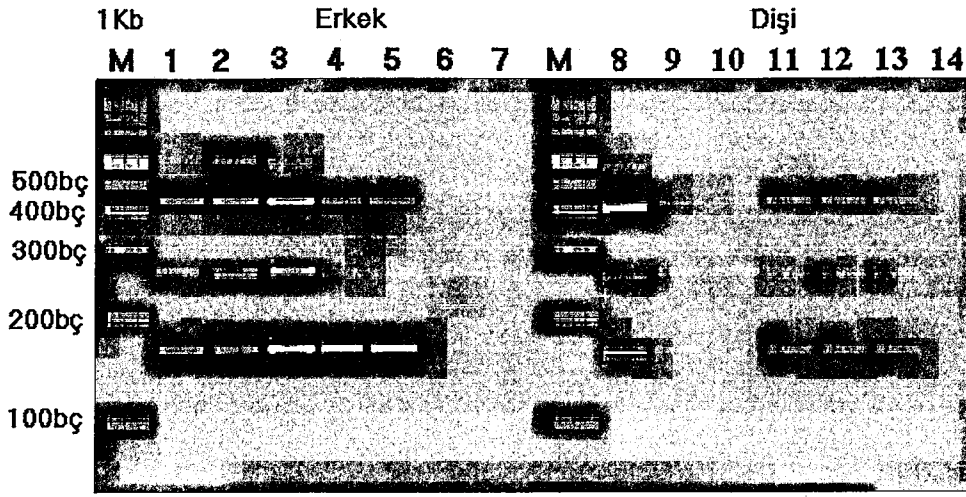


Şekil 4.2. Du01 primerine ait RAPD bant görüntüsü

Du01 primerinin kullanılmasıyla, 100-300 bç aralığında elde edilen toplam 6 bandın hepsi polimorfiktir. Bu primer ile çalışıldığında, 4 ve 6 nolu bireyler en az banda sahip bireyler olarak belirlenmiştir. 8 nolu birey ise en fazla banda sahiptir (Şekil 4.2.). Çizelge 4.2.'de görüldüğü gibi 3. lokus en yüksek frekansa sahiptir ve en düşük frekansa ise 2. ve 5. lokuslar sahiptir. 1. lokusta ise varyasyonun en yüksek olduğu görülmektedir. Buna bağlı olarak en yüksek heterozigotluk (0,4976) da 1. lokusta görülmüştür (Çizelge 4.3.).

Du07 ile, 100-400 bç aralığında elde edilen 8 bandın tümü polimorfiktir. 14 nolu birey hiç bant vermemekle birlikte en az bandı 4 nolu birey vermiştir. En fazla banda 6, 10 ve 11 numaralı bireyler sahiptir (Çizelge 4.1.). Du07 primeri ile 5. lokus en yüksek müşterek bant frekansına sahipken 7. ve 8. lokuslar en düşük frekansa sahip lokuslardır. Varyasyonun en yüksek olduğu lokus ise 1. lokustur (Çizelge 4.2.). Ayrıca bu lokus en yüksek heterozigotluk (0,4976) oranına sahiptir (Çizelge 4.3.).

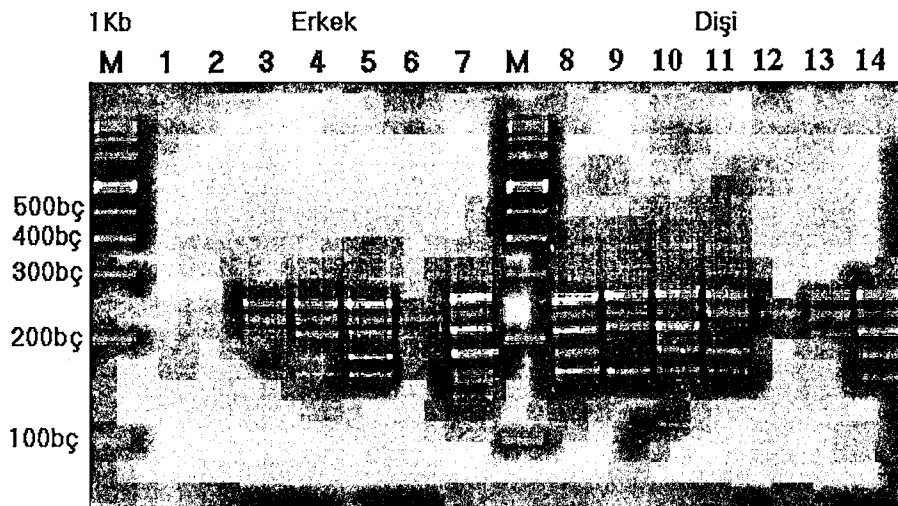
Du08 primeri, 100-300 bç aralığında hepsi polimorfik olmak üzere toplam 4 bant vermiştir. 1, 4 ve 14 nolu bireylerde hiç bant görülmemiştir. 9 nolu birey en fazla banda sahiptir (Çizelge 4.1.). En yüksek frekans 4. lokusta, en düşük frekans ise 3. lokusta görülmektedir. En yüksek varyasyonun 1. ve 3. lokuslarda olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.2.). Heterozigotluğun en yüksek olduğu lokuslar ise yine 1. ve 3. lokuslardır (0,4972) (Çizelge 4.3.).



Şekil 4.3. Ra33 primerine ait RAPD bant görüntüsü

Ra33, 100-600 bp aralığında hepsi polimorfik olmak üzere toplam 6 bant vermiştir. 14 nolu birey hiç bant vermemiştir, bununla birlikte 4, 5 ve 8 nolu bireyler en fazla banda sahip bireylerdir (Şekil 4.3.). En yüksek frekansa 3. lokus, en düşük frekansa ise 2. lokus sahiptir (Çizelge 4.2.). En yüksek varyasyonun görüldüğü lokuslar 4. ve 6. lokuslardır ve bu lokuslar en yüksek heterozigotluk oranına (0,4972) sahip olan lokuslardır (Çizelge 4.3.).

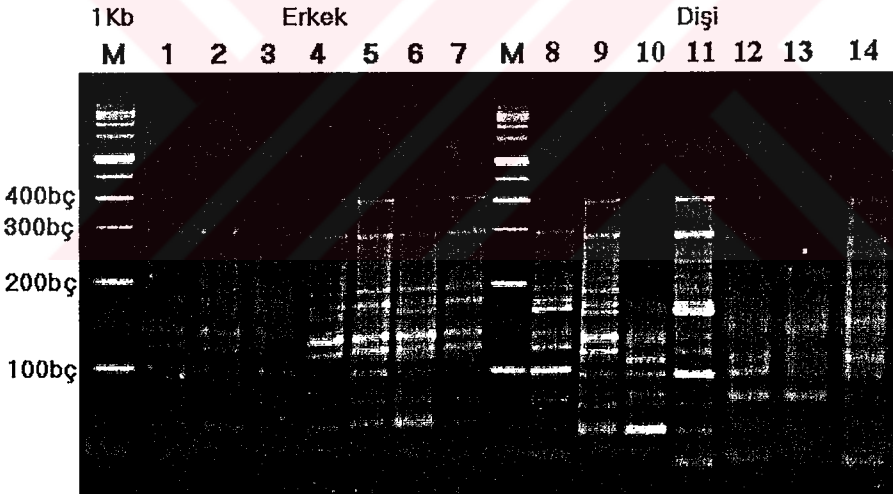
Ra35 primeri ile elde edilen, 100-400 bp aralığında toplam 10 banttan 9 tanesinin polimorfik olduğu görülmüştür (Çizelge 4.1.). En yüksek frekans 8. lokusta, en düşük frekans ise 1., 4., 7. ve 9. lokuslarda mevcuttur. Ayrıca, 9. lokusta en yüksek varyasyon görülmektedir (Çizelge 4.2.). En yüksek heterozigotluk (0,4972) yine 9. lokusta görülmektedir (Çizelge 4.3.).



Şekil 4.4. Ra59 primerine ait RAPD bant görüntüsü

Ra59 ile, 100-400 bç aralığında toplam 9 polimorfik bant elde edilmiştir. Bu bant aralığında 7 nolu birey en fazla banda sahiptir ve 6 ve 12 nolu bireyler ise tek bant ile en az banda sahiptirler. Ra59 ile bu bireylerde bir çok polimorfik bant elde edilmiştir (Şekil 4.4.). 8. lokus en yüksek frekansa, 4. lokus ise en düşük frekansa sahiptir. Varyasyonun en yüksek olduğu lokuslar ise 3., 5., 7. ve 9. lokuslardır (Çizelge 4.2.). Ayrıca en yüksek heterozigotluk (0,4976) oranları bu lokuslarda görülmektedir (Çizelge 4.3.).

Ra33, Ra35 ve Ra59 primerleri, Yongjun vd (1998) tarafından Tibet Keşmir keçilerinde denenmiştir. Fakat yapılan bu çalışmada toplam 37 primerden elde edilen 5 tane ikili primer kombinasyonları kullanılmıştır. Ra33 primeri, Ra20 primeri ile birlikte denenmiş ve toplamda 16 bant elde edilmiştir. Ra35 primeri, Ra09 primeri ile kombine edilerek çalışılmış ve toplamda 10 bant elde edilmiştir. Yaptığımız çalışmada da Ra35 primeri ile 10 bant elde edilmiştir. Ra59 primeri tek başına toplam 11 bant vermiştir.



Şekil 4.5. Opp08 primerine ait RAPD bant görüntüsü

Opp08 primeri ile, 100-400 bç aralığında toplam 12 bant elde edilmiştir. Bu lokusların 11 tanesinde polimorfizm görülmüştür. 6, 8 ve 14 nolu bireyler en fazla banda sahip bireylerdir. 13 nolu birey de en az banda sahiptir. Opp08 bütün primerler göz önünde tutulduğunda, bu bireylerde en fazla bant veren primerdir (Şekil 4.5.). En yüksek frekans 12. lokusta ve en düşük frekanslar ise 1., 2., 6., 7. ve 8. lokuslarda görülmektedir. En yüksek varyasyonun görüldüğü lokuslar ise 4. ve 10. lokuslardır

görülmektedir. En yüksek varyasyonun görüldüğü lokuslar ise 4. ve 10. lokuslardır (Çizelge 4.2.). Bu primere ait heterozigotluk oranlarında (0,4976) en yüksek değere 4. ve 10. lokuslarda rastlanmıştır (Çizelge 4.3.).

Opp11 primeri ile, 100-400 bç aralığında elde edilen toplam 10 bandın 9'u polimorfiktir. 200 ve 300bç'lik bölgede bütün bireyler için monomorfik bant bulunmaktadır. En fazla banda 6 ve 14 nolu, en az banda ise 7 nolu birey sahiptir (Çizelge 4.1.). En yüksek frekans 9. lokusta ve en düşük frekans ise 1. ve 7. lokuslarda belirlenmiştir (Çizelge 4.2.). Burada da 8. lokusta en yüksek varyasyon ve dolayısıyla en yüksek heterozigotluk oranı (0,4972) görülmektedir (Çizelge 4.3.).

Opp15 primeri ile, 100-500 bç aralığında elde edilen 8 bandın hepsi polimorfiktir. En fazla bant 13 ve 14 nolu bireylerde görülürken en az bant 2 ve 3 nolu bireylerde görülmektedir (Çizelge 4.1.). Bu primerin kullanılmasıyla 1. lokusta en yüksek frekans, 5. lokusta ise en düşük frekans elde edilmiştir. Varyasyonun en yüksek olduğu lokus ise 4. lokustur (Çizelge 4.2.). En yüksek heterozigotluk (0,4976) da 4. lokustadır (Çizelge 4.3.).

Opq04 primeri kullanıldığında, 100-300 bç aralığında belirlenen 7 bandın hepsi polimorfik olarak tespit edilmiştir. 14 nolu bireyde hiç bant gözlenmemiştir. 6 nolu birey en az banda, 11, 12 ve 13 nolu bireyler ise en fazla banda sahiptir (Çizelge 4.1.). 2. ve 6. lokuslarda en yüksek frekansa, 4. ve 7. lokuslarda ise en düşük frekansa rastlanmıştır. 1. lokus ise varyasyonun en yüksek olduğu lokustur (Çizelge 4.2.). En yüksek heterozigotluk (0,4809) oranına da 1. lokus sahiptir (Çizelge 4.3.).

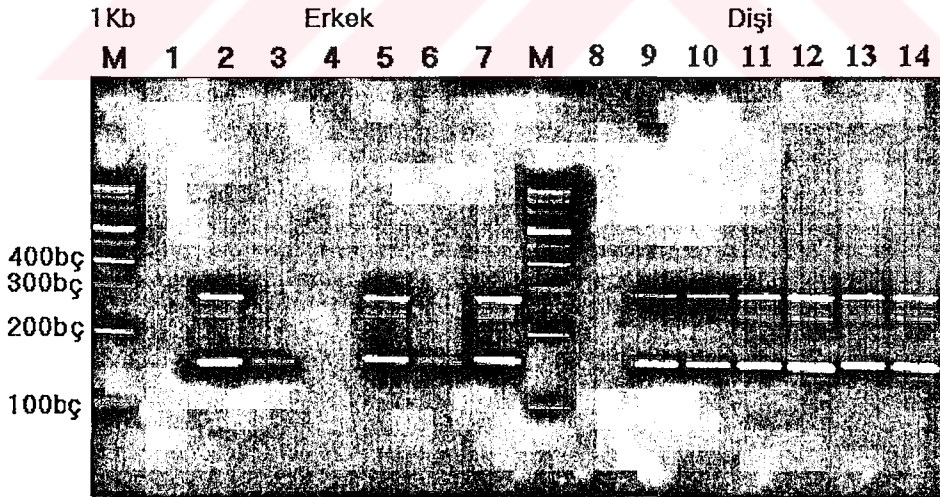
Bu primer Japon bildircinlarının DNA parmakizlerinin çıkarılması amacıyla kullanılmıştır (Yeğenoğlu 1999). Japon bildircinlarında yapılan çalışmada daha fazla sayıda bant vermesine rağmen, bu primerin keçilerde de polimorfizmi belirlemede etkili olarak kullanılabileceği belirlenmiştir.

Opq06 ise, toplam 8 bant vermiştir ve bu bantların 5'i polimorfiktir. Bu primer ile 100-200 bç aralığında monomorfik bantlar elde edilmiştir. 3, 4, 5, 9 ve 10 nolu

(Çizelge 4.1.). 6. lokusta en yüksek frekans elde edilirken 1. lokusta en düşük frekansa rastlanmıştır. 3. lokus varyasyonun en yüksek olduğu lokustur (Çizelge 4.2.). En yüksek heterozigotluk (0,4809) 3. lokusta görülmüştür (Çizelge 4.3.).

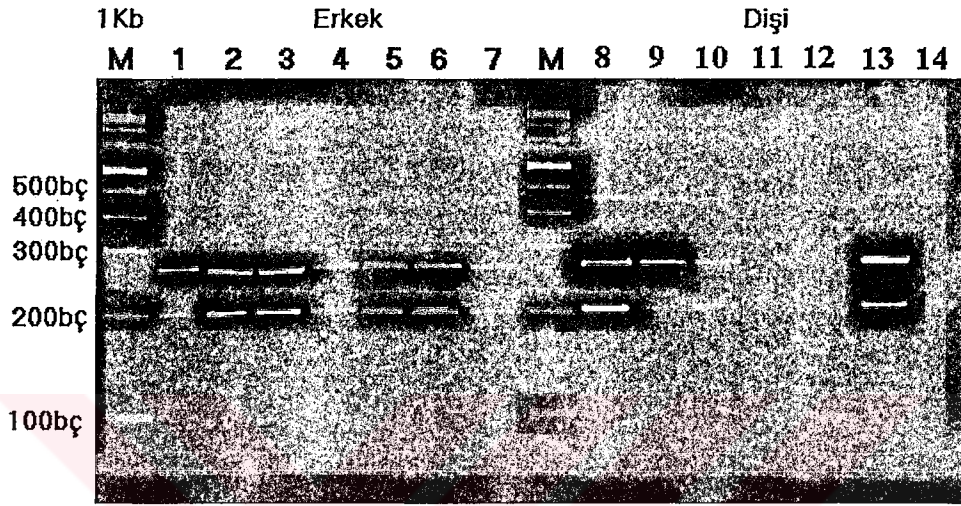
Li vd (2002), Shanxi ırkı yerli keçileri üzerinde yaptıkları çalışmada toplam 60 primer kullanmışlar ve bu primerlerden 8'i ile polimorfik bantlar elde etmişlerdir. Bu çalışmada da, bu primerler arasından Opp08 primeri kullanılmış ve toplam 10 bant, Opp15 primeri ile de toplam 12 bant elde edilmiştir. Opq04 ve Opq06 primerleri de bu çalışmada kullanılmış ve polimorfik bantlar elde edilmiştir. Opq04 primeri ile 9 bant elde edilirken Opq06 primeri ile toplam 10 bant elde edilmiştir.

Op08 primeri ile, 100-400 bç aralığında elde edilen toplam 8 bandın hepsi polimorfiktir. 13 ve 14 nolu bireyler en fazla banda sahiptir, 7 nolu birey ise tek bir bantla en az banda sahiptir (Çizelge 4.1.). 1. ve 2. lokusların en yüksek frekansa, 6. ve 7. lokusların ise en düşük frekansa sahip oldukları görülmektedir. Bu primer ile 3. ve 5. lokuslarda ise en yüksek varyasyon görülmektedir (Çizelge 4.2.). En yüksek heterozigotluk da (0,4702) 3. ve 5. lokuslarda görülmektedir (Çizelge 4.3.).



Şekil 4.6. Op09 primerine ait RAPD bant görüntüsü

Op09 primeri ile, 100-300 bç aralığında, hepsi polimorfik olmak üzere, toplam 4 bant elde edilmiştir. 1 ve 4 nolu birey hiç bant vermezken 12 ve 14 nolu birey en fazla bant veren bireylerdir (Şekil 4.6.). En yüksek frekans 4. lokusta, en düşük frekans ise 3. lokustadır. 1. lokusta ise varyasyonun en yüksek olduğu görülmektedir (Çizelge 4.2.). Ayrıca en yüksek heterozigotluk oranı (0,4976) da 1. lokusta görülmektedir (Çizelge 4.3.).



Şekil 4.7. Opp03 primerine ait RAPD bant görüntüsü

Opp03 primeri bu bireylerde, 200-500 bç aralığında toplam 4 bantla, en az bant veren primer olmasına karşılık bu bantların hepsi polimorfiktir. 11, 12 ve 14 nolu bireyler hiç bant vermezken, 8 ve 13 nolu bireyler en fazla bant veren bireylerdir (Şekil 4.7.). En yüksek frekans 2. lokusta, en düşük frekans ise 3. ve 4. lokuslarda görülmüştür. En yüksek varyasyonun bu lokuslarda olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.2.). En yüksek heterozigotluğun (0,4972) 3. ve 4. lokuslarda olduğu görülmektedir (Çizelge 4.3.). Li vd (2002), Shanxi ırkı yerli keçileri üzerinde yaptıkları çalışmada Opp03 primeri kullanılmış ve bu primer ile toplam 3 bant elde edilmiştir.

Opa07, 100-500 bç aralığında toplam 9 bant vermiştir ve bu bantların hepsi polimorfiktir. 11 ve 14 nolu bireyler hiç bant vermezken 13 nolu birey en fazla bant vermiştir (Çizelge 4.1.). 5. lokusta en yüksek frekansın, 4. lokusta ise en düşük frekansın olduğu görülmektedir. En yüksek varyasyon 9. lokusta görülmektedir (Çizelge 4.2.). En yüksek heterozigotluk (0,4976) dolayısıyla 9. lokusta görülmektedir.

frekansın olduğu görülmektedir. En yüksek varyasyon 9. lokusta görülmektedir (Çizelge 4.2.). En yüksek heterozigotluk (0,4976) dolayısıyla 9. lokusta görülmektedir.

Opm10 ile, 100-400 bç'lik alanda toplam 9 bant elde edilmiştir ve bu bantların 8'i polimorfiktir. 100 bç'lik bölgeye yakın kısımda monomorfik bantlar elde edilmiştir. En fazla banda 10 nolu birey sahipken en az banda ise 13. nolu bireyin sahip olduğu görülmüştür (Çizelge 4.1.). Ortak bant sayısının en fazla 7. lokusta, en düşük 4. lokusta olduğu belirlenmiştir. Bu primerin kullanılmasıyla en yüksek varyasyon ise 1., 3. ve 8. lokuslarda olmak üzere hemen hemen birbiriyle aynı bulunmuştur (Çizelge 4.2.). En yüksek heterozigotluk (0,4976) ise yine bu lokuslarda görülmektedir (Çizelge 4.3.).

Son olarak Opb19 primeri ile, 100-400 bç aralığında toplam 11 bant elde edilmiştir ve hepsi polimorfiktir. 12 ve 14 nolu bireyler hiç bant vermezken 2 ve 6 nolu bireyler en fazla banda sahiptir (Çizelge 4.1.). Bu primer ile de 2. lokusta ortak bantlar bakımından en yüksek frekans, 3. ve 10. lokuslarda ise en düşük frekans görülmektedir (Çizelge 4.2.). Varyasyonun en yüksek olduğu lokus ise 6. lokustur ve bu lokusta en yüksek heterozigotluk oranına (0,4972) rastlanmaktadır (Çizelge 4.3.).

Çizelge 4.2. Her bir primer için bant frekansları

Sıra No	Primer Adı	Allel Sayısı	Polim. Allel S.	Allel	LOKUSLAR											
					1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	18	8	6	1 0	0,8452 0,1548	0,7071 0,2929	0,5976 0,4024	0,8018 0,1982	- 1,0000	- 1,0000	0,8452 0,1548	0,8452 0,1548				
2	19	4	2	1 0	0,2673 0,7327	- 1,0000	- 1,0000	0,8864 0,1136								
3	21	8	8	1 0	0,5976 0,4024	0,3780 0,6220	0,7071 0,2929	0,6547 0,3453	0,2673 0,7327	0,5976 0,4024	0,2673 0,7327	0,3780 0,6220				
4	Du01	6	6	1 0	0,5345 0,4655	0,3780 0,6220	0,9636 0,0364	0,8452 0,1548	0,3780 0,6220	0,5976 0,4024						
5	Du07	8	8	1 0	0,5345 0,4655	0,3780 0,6220	0,3780 0,6220	0,5976 0,4024	0,8452 0,1548	0,7559 0,2441	0,2673 0,7327	0,2673 0,7327				
6	Du08	4	4	1 0	0,5345 0,4655	0,5976 0,4024	0,4629 0,5371	0,9636 0,0364								
7	Ra33	6	6	1 0	0,7071 0,2929	0,3780 0,6220	0,8018 0,1982	0,4629 0,5371	0,5976 0,4024	0,4629 0,5371						
8	Ra35	10	9	1 0	0,2673 0,7327	0,3780 0,6220	- 1,0000	0,2673 0,7327	0,8018 0,1982	0,7071 0,2929	0,2673 0,7327	0,8864 0,1136	0,2673 0,7327	0,4629 0,5371		
9	Ra59	9	9	1 0	0,7071 0,2929	0,8018 0,1982	0,4629 0,5371	0,3780 0,6220	0,5345 0,4655	0,5976 0,4024	0,5345 0,4655	0,8452 0,1548	0,5345 0,4655			
10	Opp08	12	11	1 0	0,3780 0,6220	0,3780 0,6220	0,7071 0,2929	0,5345 0,4655	0,7071 0,2929	0,3780 0,6220	0,3780 0,6220	0,3780 0,6220	0,7559 0,2441	0,4629 0,5371	- 1,0000	0,7559 0,2441
11	Opp11	10	9	1 0	0,2673 0,7327	0,7559 0,2441	0,7071 0,2929	0,6547 0,3453	- 1,0000	0,8864 0,1136	0,2673 0,7327	0,4629 0,5371	0,9258 0,0742	0,8864 0,1136		
12	Opp15	8	8	1 0	0,7559 0,2441	0,6547 0,3453	0,7071 0,2929	0,5345 0,4655	0,2673 0,7327	0,6547 0,3453	0,5976 0,4024	0,3780 0,6220				
13	Opq04	7	7	1 0	0,5976 0,4024	0,7559 0,2441	0,6547 0,3453	0,2673 0,7327	0,7071 0,2929	0,7559 0,2441	0,2673 0,7327					
14	Opq06	8	5	1 0	0,3780 0,6220	- 1,0000	0,5976 0,4024	0,7559 0,2441	0,6547 0,3453	0,8864 0,1136	- 1,0000	- 1,0000				
15	Op08	8	8	1 0	0,8864 0,1136	0,8864 0,1136	0,3780 0,6220	0,7559 0,2441	0,3780 0,6220	0,2673 0,7327	0,2673 0,7327	0,8452 0,1548				
16	Op09	4	4	1 0	0,5345 0,4655	0,5976 0,4024	0,3780 0,6220	0,9258 0,0742								
17	Opp03	4	4	1 0	0,8018 0,1982	0,9258 0,0742	0,4629 0,5371	0,4629 0,5371								
18	Opa07	9	9	1 0	0,6547 0,3453	0,5976 0,4024	0,4629 0,5371	0,3780 0,6220	0,9636 0,0364	0,6547 0,3453	0,6547 0,3453	0,8452 0,1548	0,5345 0,4655			
19	Opm10	9	8	1 0	0,4629 0,5371	0,3780 0,6220	0,4629 0,5371	0,2673 0,7327	0,7071 0,2929	0,6547 0,3453	0,8864 0,1136	0,5345 0,4655	- 1,0000			
20	Opb19	11	11	1 0	0,7559 0,2441	0,9636 0,0364	0,3780 0,6220	0,8864 0,1136	0,8452 0,1548	0,4629 0,5371	0,8018 0,1982	0,6547 0,3453	0,7071 0,2929	0,3780 0,6220	0,7071 0,2929	

RAPD-PCR yöntemiyle belirlenen her bir lokusa ait bant frekanslarının verildiği çizelge 4.2.'nin kullanılmasıyla primerlere ait, her bir lokustaki bant frekanslarından elde edilen heterozigotluk oranları çizelge 4.3.'de verilmiştir. Çizelgeden de görüldüğü gibi polimorfik lokuslarda Nei (1987)'ye göre hesaplanan heterozigotluk oranları 0,2014-0,4976 arasında değişim göstermiş ve ortalama heterozigotluk oranı $0,3691 \pm 0,1472$ olarak hesaplanmıştır.

Çizelge 4.3. Kullanılan primerlere ait her bir lokus için heterozigotluk oranları

Lokus	Ör. büyü.	h	Lokus	h	Lokus	h
18-1	14	0,2617	Ra35-8	0,2014	Opq06-3	0,4809
18-2	14	0,4142	Ra35-9	0,3917	Opq06-4	0,3690
18-3	14	0,4809	Ra35-10	0,4972	Opq06-5	0,4522
18-4	14	0,3179	Ra59-1	0,4142	Opq06-6	0,2014
18-5	14	0,0000	Ra59-2	0,3179	Opq06-7	0,0000
18-6	14	0,0000	Ra59-3	0,4972	Opq06-8	0,0000
18-7	14	0,2617	Ra59-4	0,4702	Op08-1	0,2014
18-8	14	0,2617	Ra59-5	0,4976	Op08-2	0,2014
19-1	14	0,3917	Ra59-6	0,4809	Op08-3	0,4702
19-2	14	0,0000	Ra59-7	0,4976	Op08-4	0,3690
19-3	14	0,0000	Ra59-8	0,2617	Op08-5	0,4702
19-4	14	0,2014	Ra59-9	0,4976	Op08-6	0,3917
21-1	14	0,4809	Opp08-1	0,4702	Op08-7	0,3917
21-2	14	0,4702	Opp08-2	0,4702	Op08-8	0,2617
21-3	14	0,4142	Opp08-3	0,4142	Op09-1	0,4976
21-4	14	0,4522	Opp08-4	0,4976	Op09-2	0,4809
21-5	14	0,3917	Opp08-5	0,4142	Op09-3	0,4702
21-6	14	0,4809	Opp08-6	0,4702	Op09-4	0,1374
21-7	14	0,3917	Opp08-7	0,4702	Opp03-1	0,3179
21-8	14	0,4702	Opp08-8	0,4702	Opp03-2	0,1374
Du01-1	14	0,4976	Opp08-9	0,3690	Opp03-3	0,4972
Du01-2	14	0,4702	Opp08-10	0,4972	Opp03-4	0,4972
Du01-3	14	0,0701	Opp08-11	0,0000	Opa07-1	0,4522
Du01-4	14	0,2617	Opp08-12	0,3690	Opa07-2	0,4809
Du01-5	14	0,4702	Opp11-1	0,3917	Opa07-3	0,4972
Du01-6	14	0,4809	Opp11-2	0,3690	Opa07-4	0,4702
Du07-1	14	0,4976	Opp11-3	0,4142	Opa07-5	0,0701
Du07-2	14	0,4702	Opp11-4	0,4522	Opa07-6	0,4522
Du07-3	14	0,4702	Opp11-5	0,0000	Opa07-7	0,4522
Du07-4	14	0,4809	Opp11-6	0,2014	Opa07-8	0,2617
Du07-5	14	0,2617	Opp11-7	0,3917	Opa07-9	0,4976
Du07-6	14	0,3690	Opp11-8	0,4972	Opm10-1	0,4972
Du07-7	14	0,3917	Opp11-9	0,1374	Opm10-2	0,4702
Du07-8	14	0,3917	Opp11-10	0,2014	Opm10-3	0,4972
Du08-1	14	0,4976	Opp15-1	0,3690	Opm10-4	0,3917
Du08-2	14	0,4809	Opp15-2	0,4522	Opm10-5	0,4142
Du08-3	14	0,4972	Opp15-3	0,4142	Opm10-6	0,4522
Du08-4	14	0,0701	Opp15-4	0,4976	Opm10-7	0,2014
Ra33-1	14	0,4142	Opp15-5	0,3917	Opm10-8	0,4976
Ra33-2	14	0,4702	Opp15-6	0,4522	Opm10-9	0,0000
Ra33-3	14	0,3179	Opp15-7	0,4809	Opb19-1	0,3690
Ra33-4	14	0,4972	Opp15-8	0,4702	Opb19-2	0,0701
Ra33-5	14	0,4809	Opq04-1	0,4809	Opb19-3	0,4702
Ra33-6	14	0,4972	Opq04-2	0,3690	Opb19-4	0,2014
Ra35-1	14	0,3917	Opq04-3	0,4522	Opb19-5	0,2617
Ra35-2	14	0,4702	Opq04-4	0,3917	Opb19-6	0,4972
Ra35-3	14	0,0000	Opq04-5	0,4142	Opb19-7	0,3179
Ra35-4	14	0,3917	Opq04-6	0,3690	Opb19-8	0,4522
Ra35-5	14	0,3179	Opq04-7	0,3917	Opb19-9	0,4142
Ra35-6	14	0,4142	Opq06-1	0,4702	Opb19-10	0,4702
Ra35-7	14	0,3917	Opq06-2	0,0000	Opb19-11	0,4142
Ortalama ve standart hata				0,3691± 0,1472		

Toplam 153 lokustan 142'sinin polimorfik olduğu tespit edilmiştir. Yapılan analizler sonucunda polimorfizm oranı %92,81 olarak bulunmuştur. Ortalama genetik benzerlik 0,6464, genetik uzaklık ise 0,3536 olarak tahmin edilmiştir.

Li vd (2002), Shanxi bölgesi keçilerinde RAPD yöntemiyle, 8 primer kullanarak yaptıkları çalışmada; Bai, Hei ve Qing keçi ırklarında elde edilen DNA fragmentleri 180 ve 2870 b aralığında bantlar vermiştir. Bu çalışmada toplam 76 fragment elde edilmiş ve bunlardan 44 fragment bu keçi populasyonları için polimorfik bantlar meydana getirmiştir. 8 primer ile elde edilen polimorfizm oranı %57,89, genetik uzaklık ise 0,2040-0,0810 arasında tahmin edilmiştir. Bu sonuçlarla mukayese edildiğinde, Antalya çevresinde yetiştirilen kıl keçilerinde genetik varyasyonun Shanxi bölgesi keçi ırklarına göre daha yüksek olduğu görülmektedir.

Yongjun vd (1998), Tibet Keşmir keçilerinde 5 primer ile 2926 bant elde edildiğini ve bu bantların %83'ünün polimorfik olduğunu belirtmişlerdir. Çalışmada populasyon içi ortalama benzerlik 0.6734, populasyondaki ortalama genetik uzaklık ise 0,3266 olarak bulunmuştur. Bu araştırmada, Antalya bölgesi kıl keçileri için tahmin edilen ortalama genetik benzerlik (0,6464) ve genetik uzaklığın (0,3536) bu değerlere yakın olduğu söylenebilir.

Ajmone-Marsan vd (2001)'nin 7 farklı İtalya keçi ırkında AFLP yöntemiyle belirlediği çalışmada genetik benzerlik 0,57-0,87 arasında ortalama 0,72 olarak bulunmuştur. Bu ırklarda ortalama heterozigotluk oranı ise 0,21-0,24 değerleri arasında tahmin edilmiştir. Bu değerlere bakıldığında, Antalya bölgesi kıl keçilerinde genetik varyasyonun İtalya keçi ırklarına göre daha yüksek olduğu söylenebilir.

Ganai ve Yadav (2001)'ın mikrosatellit markerler ile, Hindistan bölgesine ait 3 keçi ırkında yaptıkları çalışmada 16 mikrosatellit markeri kullanmışlardır. Bu çalışmalarında, ortalama heterozigotluk değerini $0,54 \pm 0,20$, polimorfizm oranını ise $0,48 \pm 0,20$ olarak bulmuşlardır. Ganai ve Yadav'ın yaptığı bu çalışma ile kıyaslandığında, Antalya'daki kıl keçilerine ait heterozigotluğun (0,3691) daha düşük ve polimorfizm oranının (%92,81) da daha yüksek olduğu sonucu görülmektedir.

İki Hindistan keçi ırkında (Bengal ve Chegu) yapılan bir başka çalışmada Behl vd (2003) 22 mikrosatellit markeri kullanmışlardır. Yapılan bu çalışmada, heterozigotluk Bengal için $0,69\pm0,11$ ve Chegu için ise $0,66\pm0,07$ olarak bulunmuştur. Polimorfizm değerleri ise Bengal için $0,79\pm0,08$ ve Chegu için de $0,78\pm0,05$ olarak hesaplanmıştır. Bu çalışma ile kıyaslandığında tahmin edilen heterozigotluğun ($0,3691$) daha düşük, polimorfizm oranının ($\%92,81$) ise daha yüksek olduğu görülmektedir.

Nyamsamba vd (2002)'nin Moğol keçi ırklarında yaptıkları çalışmada, 8 farklı bölgeden aldıkları örneklerle 10 mikrosatellit markeri deneyerek genetik farklılığı ortaya koymaya çalışmışlardır. Bu çalışmada heterozigotluk $0,6690$ - $0,7300$ değerleri arasında değişim göstermektedir. Antalya bölgesindeki kıl keçileri ile kıyaslandığında, heterozigotluk oranının ($0,3691$) daha düşük olduğu belirlenmiştir.

Barker vd (2001) 11 Asya keçi populasyonları arasındaki genetik ilişkiyi 25 mikrosatellit lokusu, 59 protein lokusu ile ortaya koymaya çalışmışlardır. Ele alınan protein lokusunun 16 tanesinde polimorfizm görülmüştür. Bu çalışma sonucunda, populasyonlardaki genetik farklılık protein lokusları için $0,1170$ - $0,5720$ arasında ortalama $0,3390$, mikrosatellit lokusu için ise $0,2590$ - $0,7020$ değerleri arasında ortalama $0,5200$ olarak tahmin edilmiştir. Antalya bölgesi kıl keçileri için tahmin edilen ortalama genetik uzaklık ($0,3536$) dikkate alındığında, protein lokuslarına ait hesaplamanın bu değere yakın olduğu fakat mikrosatellit lokusu için hesaplanan değer daha düşük olduğu söylenebilir.

Ahmed Ali (2003) tarafından Mısır'daki 4 koyun ırkında (Barki, Rahmani, Baladi ve Suffolk), toplam 19 RAPD primer denenmiş ve bunların 5'i polimorfik bant vermiştir. Sonuç olarak bu ırklar arasındaki benzerlik $0,8190$ - $0,9570$ arasında bulunmuştur. Antalya bölgesindeki kıl keçileri ($0,6464$) ile kıyasladığında, Ahmed Ali (2003) tarafından yapılan bu çalışmada Mısır'daki koyun ırkları arasındaki genetik benzerliğin daha yüksek olduğu söylenebilir.

Cushwa vd (1996), RAPD yöntemiyle 53 primer kullanarak, 5 farklı koyun ırkı (Coopworth, Merino, Perendale, Romney ve Texel) ve bu ırkların melezlerinde polimorfizm oranını %65-%96 arasında ortalama % 85 olarak bulmuştur. Bu sonuçlara bakıldığında polimorfizm oranının Antalya kıl keçilerine göre kısmen daha az olduğu söylenebilir.



5. SONUÇ

Tarımsal üretim sistemlerinde, sürdürülebilirliğin en önemli unsurlarından birisi genetik kaynaklardır (Romanov ve Weigend 2001). Türkiye, sahip olduğu gen kaynakları yönünden dünyanın en zengin ülkelerinden birisidir. Gen kaynaklarının yönetimi ve gelecekte ıslah programlarında bu populasyonların değerlendirilebilmesi için, genetik yapılarının ve farklı ırklar arasındaki genetik benzerlik ve farklılıkların çok iyi araştırılması gerekmektedir. Bu durum, özellikle hızlı bir şekilde genetik erozyona uğrayan ve dünya gündemindeki yerli gen kaynaklarının korunmasına yönelik projelerde son derece önemlidir.

Çiftlik hayvanlarının genetik özelliklerinin değerlendirilmesinde, geçtiğimiz yüzyılın ikinci yarısından yakın zamana kadar değişik biyokimyasal özelliklerden yararlanılmıştır. Günümüzde modern moleküler genetik yöntemlerin geliştirilmesi, çiftlik hayvanlarının genetik özelliklerinin doğrudan DNA düzeyindeki farklılıklara dayanarak yapılabilmesine izin vermektedir. Bu yöntemlerden birisi de RAPD yöntemidir. Bu yöntemin çiftlik hayvanlarına ait bir çok türde genetik haritalamada dahil olmak üzere (Cushwa vd 1996) genetik çeşitliliği ve populasyonlar arasındaki genetik ilişkileri ortaya koymada oldukça başarılı sonuçlar verdiği bildirilmiştir (Bardakçı ve Skibinski 1994, Plotsky vd 1995, Smith vd 1996, Romanov ve Weigend 2001, Tahmoorespur vd 2003). RAPD yöntemi ırk içi ve ırklar arasındaki genetik varyasyonun en azından bir ön değerlendirmesini yapmada son derece kullanışlı olduğu bildirilmiştir (Romanov ve Weigend 2001).

Bu çalışmanın iki hedefi bulunmaktadır; bunlardan birincisi Antalya bölgesi kıl keçilerinde genetik varyasyonun belirlenmesi, ikinci de genetik varyasyonun belirlenmesinde RAPD yönteminin kullanılabilirliğini ortaya koymaktır. Karabağ vd (2002) ve Balcıoğlu vd (2005), Antalya bölgesi kıl keçilerinde genetik polimorfizmi biyokimyasal özellikleri kullanarak belirlemişler ve incelenen özellikler bakımından kıl keçisi populasyonunun ele alınan karakterler bakımından polimorfik bir yapıya sahip olduğunu bildirmişlerdir. Benzer sonuç RAPD yöntemiyle de DNA düzeyinde belirlenmiştir. Genetik çeşitliliği ortaya koymada kullanılan primer sayısının

standardı bu konuda yapılan bir çok çalışmaya (Yongjun vd 1998, Barker vd 2001, Ahmed Ali 2003) göre oldukça yüksek sayılabilir. Kullanılan 20 primerin tamamı polimorfik bulunmuştur. Kullanılan primerlerden Opp08 primeri (ACA TCG CCC A) en fazla band sayısına (12 lokusun 11'i polimorfik), 19 (ACC GGG AAC G) olarak isimlendirdiğimiz primer en az polimorfizme sahiptir (4 lokusun 2'si polimorfik). Bunun yanında Opp03 primeri (CTG ATA CGC C) toplamda en az bant sayısına (29) sahiptir. Polimorfik lokus oranı 0,9281 olmak üzere oldukça yüksek bulunmuştur. Ayrıca tahmin edilen ortalama heterozigotluk oranı da ($0,3691 \pm 0,1472$) genetik varyasyonun oldukça yüksek olduğunu göstermektedir.

Moleküler genetikle ilgili yöntemler genellikle gelişmiş laboratuvar gerektiren pahalı yöntemlerdir. RAPD yöntemi diğer yöntemlerle karşılaştırıldığında uygulanabilirlik açısından daha kolay ve ucuz bir yöntemdir. Antalya bölgesi kıl keçilerinde yapılan bu araştırma sınırlı imkanlarla kurulmuş bir laboratuvar da bu alanda yapılan ilk çalışma olmasına karşın yeterli düzeyde güvenilir sonuçlar elde edildiği söylenebilir. DNA düzeyinde polimorfizm belirleme yöntemlerinden RAPD yönteminin Kıl keçilerinde başarılı bir şekilde kullanılabileceği ortaya konmuştur.

Sonuç olarak, RAPD markerleri bakımından kıl keçisine ait bireyler arasında genetik polimorfizm ortaya konularak, en azından bu hayvanlar hakkında tanımlayıcı bir ön bilginin elde edildiği söylenebilir. Laboratuvar ve bütçe imkanları genişletildiğinde, DNA düzeyinde farklı polimorfizm belirleme yöntemlerinin de kullanıldığı daha kapsamlı çalışmalarla, Türkiye'nin tüm kıl keçisi popülasyonu içerisinde olması muhtemel farklı ekotipleri de içine alan, hatta diğer yerli çiftlik hayvanlarını da kapsayacak araştırmaların planlanıp gerçekleştirilmesi yerinde olacaktır. Bu şekilde, doğal gen kaynaklarımıza ait genetik bilgiler elde edilmiş olacaktır. Bu durum, ilerde yapılması muhtemel yerli gen kaynaklarının korunması programları için de gereklidir.

6. KAYNAKLAR

- AHMED ALI, B. 2003. Genetics similarity among four breeds of sheep in Egypt detected by RAPD markers. *African Journal of Biotechnology*, 2 (7): 194-197.
- AJMONE-MARSAN, P., VALENTINI, A., CASSANDRO, M., VECCHIOTTI-ANTALDI, G., BERTONI, G., KUIPER, M. 1997. AFLP Markers for DNA fingerprinting in cattle. *Animal Genetics*, 28: 418-426.
- AJMONE-MARSAN, P., NEGRINI, R., CREPALDI, P., MILANESI, E., GORNI, C., VALENTINI, A. and CICOGLA, M. 2001. Assessing genetic diversity in Italian goat populations using AFLP markers. *Animal Genetics*, 32: 281-288.
- ALBUSTAN, S.A., ALNAQEEB, M.A., MURAD, N.Y., AL-ALAWI, A.F. 2001. Genetic variation of inbred laboratory rats by RAPD-PCR. *Kuwait J. Sci. Eng.* 28 (2).
- ANONİM 2003. Antalya Tarım İl Müdürlüğü Kayıtları.
- ANONİM 2005. <http://www.ziraatci.com>.
- APOSTOLIDIS, A.P., MAMURIS, Z., KARKAVELIA, E., ALIFAKIOTIS, T. 2001. Comparison of Greek breeds of horses using RAPD markers, *J. Animal Breed. Genet.*, 118: 45-46.
- ASAL, S. 1989. Koyunlarda transferrin polimorfizmi üzerine bir çalışma. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yıllığı, 40 (2): 373-383, Ankara.
- AYDIN, U. 1999. Entansif besiyе alman ve köy koşullarında yetiştirilen kıl keçisi oğlaklarının kesim ve karkas özelliklerinin karşılaştırılması. Yüksek lisans Tezi, Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Zootekni Anabilim Dalı, Antalya.
- BALCIOĞLU, M.S. 1995. Türkiye yağlı kuyruklu koyun ırklarında genetik varyasyon. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Zootekni Anabilim Dalı, Ankara.
- BALCIOĞLU, M.S., KARABAĞ, K., ELMACI, C., YOLCU, H.İ. 2005. Transferrin polymorphism in hair goat in Turkey. *Indian Vet. J.* (Basımda).
- BARDAKÇI, F. and SKIBINSKI, D.O.F. 1994. Application of the RAPD techniques in Tilapia fish: species and subspecies identification. *Heredity*. 73: 117-123.
- BARDAKÇI, F. 2001. RAPD markers. *Turk J. Biol.*, 25: 185-196.
- BARKER, J.S.F., TAN, S.G., MOORE, S.S., MUKHERJEE, T.K., MATHESON, J.L., SELVARAJ, O.S. 2001. Genetic variation within and relationships among populations of Asian goats (*Capra hircus*). *J. Anim. Breed. Genet.* 118: 213-233.
- BEHL, R., SHEORAN, N., BEHL, J., VIJH, R.K., TANTIA, M.S. 2003. Analysis of 22 heterologous microsatellite markers for genetic variability in Indian goats. *Animal Biotechnology*, 14 (2): 167-175.
- BOWDITCH, B.M., ALBRIGHT, D.G., WILLIAMS, J.G.K., BRAUN, M.J. 1991. Use of RAPD markers in comparative genome studies. *Methods in Enzymology*, Vol. 224.
- BURT, D.W., ALBRIGHT, D.G., WILLIAMS, J.G.K., PONCE DE LEON, F.A., BRAUN, M.J. 1995. Chicken genome mapping: A new era in avian genetics. *Trends Genetics*, 11: 190-194.
- BUSHMANN, H. and SCHMID, D.O. 1968. Serumgruppen bei Tieren. Paul Parey. Berlin.
- CERİT, H. 2003. Bir Holştayn sığır populasyonunda bazı genomik lokusların allel frekanslarının belirlenmesi ve birey tanımlanmasındaki önemi. *Turk J. Vet. Anim. Sci.*, 27: 81-91.

- CRAWFORD, A.M., MOTGOMERY, G.W., PIERSON, C.A., BROWN, T., DODDS, K.G., SUNDEN, S.L.F., HENRY, H.M., EDE, A.J., SWARBRICK, P.A., BERYMAN, T., PENTY, J.M., HILL, D.F. 1994. Sheep linkage mapping: nineteen linkage groups derived from analysis of paternal half-sib families. *Genetics*, 137: 573-579.
- CUSHWA, W.T. and MEDRANO, J.F. 1996. Applications of the random amplified polymorphic DNA (RAPD) assay for genetic analysis of livestock species. *Animal Biotechnology*, 7 (1): 11-31.
- CUSHWA, W.T., DODDS, K.G., CRAWFORD, A.M., MEDRANO, J.F. 1996. Identification and genetic mapping of random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers to the sheep genome. *Mammalian Genome*, 7: 580-585.
- DAYIOĞLU, H., EMSEN, H. ve DOĞRUL, F. 1989. Atatürk üniversitesi koyun sürülerinin transferrin polimorfizimi yönünden genetik yapısı. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 20 (2): 38-45.
- DEEPAK, S., APPA RAO, K.B.C. VE TOTEY, S.M. 1998. Estimation of genetic diversity among various breeds of poultry using randomly amplified polymorphic DNA. World Poultry Congress, 259-262, Israel.
- DUNNINGTON, E.A., GAL, O., PLOTSKY, Y., HABERFELD, A., KIRK, T., GOLDBERG, A., LAVI, U., CAHANER, A., SIEGEL, P.B. VE HILLEL, J. 1990. DNA fingerprintings of chickens selected for high and low body weight for 31 generations. *Animal Genetics*, 21: 247-257.
- FAO (2004). The global strategy for the management of farm animal genetic resource. www.fao.org.
- FLAMAN, J.M., FREBOURG, T., MOREAU, V., CHARBONNIER, F., MARTIN, C., ISHIOKA, C., FRIEND, S.H., IGGO, R. 1994. A rapid PCR fidelity assay. *Nucleic Acids Research*, 22 (15): 3259-3260.
- GANAI, N.A. and YADAV, B.R. 2001. Genetic variation within and among three Indian breeds of goat using heterologous microsatellite markers. *Animal Biotechnology*, 12 (2): 121-136.
- GÜNEREN, G. 1999. Polimeraz zincir reaksiyonu ile rasgele çoğaltılmış polimorfik DNA parmakizi yönteminin (RAPD-PCR) Türkiye yerli sığır ırklarında uygulanma olanakları. Doktora Tezi. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Zootekni Anabilim Dalı, Ankara.
- HALLDEN, C., NILSSON, N.O., RADING, I.M., SALL, T. 1944. Evaluation of RFLP markers in a comparison of Brassica napus breeding lines. *Theoretical and Applied Genetics*, 88 (1): 123-128.
- HEDRICK, P.W. 1985. Genetics of populations. Jones and Bartlett Publishers. BOSTON.
- HORNG, Y.M. and HUANG, M.C. 2000. Male-specific band in random amplified microsatellite polymorphism fingerprints of Holstein cattle. *Proc. Natl. Sci. Counc.*, 24 (1): 41-46.
- HUANG, M.C., HORNG, Y.M., HUANG, H.L., SIN, Y.L., CHEN, M.J. 2003. RAPD fingerprinting for the species identification of animal. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.*, 16 (10): 1406-1410.
- İLHAK, İ. ve ARSLAN, A. 2003. RAPD yöntemiyle sığır, koyun, keçi ve yabani domuz etinin ayırt edilmesi. Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi, 17 (1): 59-63.

- JEFFREYS, A.J., WILSON, V., THEIN, S.L. 1985. Hypervariable 'minisatellite' regions in human DNA. *Nature*, 314: 67-73.
- JEFFREYS, A.J. and MORTON, D.B. 1987. DNA fingerprints of dogs and cats. *Animal Genetics*, 18: 1-15.
- KANTANEN, J., VILKKI, J., ELO, K., MAKI-TANILA, A. 1995. RAPD in cattle and sheep: application for detecting genetic variation. *Animal Genetics*, 26: 315-320.
- KARABAĞ, K. 2000. Antalya yöresi kıl keçilerinde biyokimyasal polimorfizm. Yükseklikans Tezi. Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Zootekni Anabilim Dalı, Antalya.
- KARABAĞ, K., BALCIOĞLU, M.S., FIRAT, M.Z., YOLCU, H.İ. 2002. Antalya ilinde yetiştirilen kıl keçilerinde potasyum ve hemoglobin polimorfizmi. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.*, 26: 761-764.
- KIRBY, L. 1988. DNA fingerprinting: An Introduction. Freeman. New York.
- LEE, J.C. and CHANG, J.G. 1994. RAPD-PCR fingerprints in forensic species identification. *Forensic Science International*, 67: 103-107.
- LI, B., DU, M., GUO, X. and ZHOU, Z. 2002. Genetic analysis of shanxi native goats using RAPD markers. 7th Word Congress on Genetics Applied to Livestock Production, August 19-23, Montpellier, France.
- MACHUGH, D.E., LOFTUS, R.T., BRADLEY, D.G., SHARP, P.M., CUNNINGHAM, P. 1994. Microsatellite DNA variation within and among European cattle breeds. *Proc. R. Soc. Lond. B.*, 256: 25-31.
- MEGHEN, C., MACHUGH, D.E., BRADLEY, D.G. 1994. Genetic characterization of West African cattle. *World Animal Review-FAO*, 78: 59-66.
- MORGAN, U.M., CONSTANTINE, C.C., GREENE, W.K., THOMPSON, R.C. 1993. RAPD analysis of Giardia DNA and correlation with isoenzyme data. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. (England)*, 87 (6): 702-705.
- MORTON, D.B., YAXLEY, R.E., PATEL, I., HOWES, S.J., DEBENHAM, P.G. 1987. Use of DNA fingerprint analysis in identification of the sire. *Veterinary Record*, 121: 592-593.
- MULLIS, K.B. and FALOONA, F.A. 1987. Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase catalysed chain reaction. *Methods in Enzymology*, 155: 335-350.
- NEI, M. 1987. Molecular evolutionary genetics. Columbia University Press. New York.
- NYAMSAMBA, D., TAKAHASHI, H., NOMURA, K., ZAGDSUREN, Y., MINEZAWA, M., AMANO, T. 2002. Microsatellite analysis of Mongolian goat populations: High genetic variation within and low genetic differentiation between populations. 7th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, August 19-23. Montpellier, France.
- ÖZ AYDIN, S. 2004. RAPD Belirleyicileri ve bitki sistematigi. Dumlupınar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 6: 113-129.
- ÖZBEYAZ, C., YILDIZ, M.A., ÇAMDEVİREN, H. 2001. Türkiye'de yetiştirilen farklı Esmer sığır sürüleri arasındaki genetik ilişkiler. *Turk J. Vet. Anim. Sci.*, 25: 453-461.
- ÖZDER, M. 1997. Keçi ırkları. Keçi Yetiştiriciliği. Ed. Kaymakçı ve Aşkın, Ankara 51 ss.
- PLOTSKY, Y., KAISER, M.G. and LAMONT, S.J. 1995. Genetic characterization of highly inbred chicken lines by two DNA methods: DNA fingerprinting and polymerase chain reaction using arbitrary primers. *Animal Genetics*, 26: 163-170.

- RASSMAN, K., SCHLOTTERE, C., TAUTZ, D. 1991. Isolation of simple-sequence loci for use in polymerase chain reaction-based DNA fingerprinting. *Electrophoresis*, 12: 113-118.
- ROMANOV, M.N. and WEIGEND, S. 2001. Using RAPD markers for assessment of genetic diversity in chickens. *Arch. Geflügelk*, 65 (4): 145-148.
- ROTHUIZEN, J. and VAN WOLFEREN, M. 1994. Randomly amplified DNA polymorphisms in dogs are reproducible and display Mendelian transmission. *Animal Genetics*, 25: 13-18.
- SAITBEKOVA, N., GAÏLLARD, C., OBEXER-RUFF, G., DOLF, G. 1999. Genetic diversity in Swiss goat breeds based on microsatellite analysis. *Animal Genetics*, 30: 36-41.
- SCOTT, M.P., HAYMES, K.M., WILLIAMS, S.M. 1992. Parentage analysis using RAPD-PCR. *Nucleic Acids Research*, 20: 5493.
- SHARMA, D., APPA RAO, K.B.C., TOTEY, S.M. 2001. Measurement of within and between population genetic variability in quails. *British Poultry Science*, 41: 29-32.
- SMITH, E.J., JONES, C.P., BARTLETT, J., NESTOR, K.E. 1996. Use of randomly amplified polymorphic DNA markers for the genetic analysis of relatedness and diversity in chickens and turkey. *Poultry Science*, 75: 579-584.
- SUAZO, A., MCTIERMAN, R., HALL, H.G. 1998. Differences between African and European honey bees in RAPD. *Journal of Heredity*, 89: 32-36.
- SUZUKI, R., KEMP, S.J., TEALE, A.J. 1993. Polymerase chain reaction analysis of mitochondrial DNA polymorphism in N'Dama and Zebu cattle. *Animal Genetics*, 24:339-43.
- TAHMOORESPUR, M., NASSIRY, M.R., MOHAMMADY, A. 2003. The use of 17 RAPD primers in some of Iranian sheep breeds. www.bsas.org.uk/downloads/annlproc/Pdf2003/144.pdf.
- TAUTZ, D. 1992. Hypervariability of simple sequences as a general source of polymorphic DNA marker. *Nucleic Acid Research*, 12: 4127- 4138.
- VOS, P., HOGERS, R., BLEEKER, M., REIJANS, M. 1995. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Research*, 23 (21): 4407-4414.
- WATSON, J.D., GILMAN, M., WITKOWSKI, J., ZOLLER, M. 1992. Recombinant DNA. Second Edition, New York: Scientific American Books, Chapters 22-27.
- WEI, R., DENTINE, M.R., BITGOOD, J.J. 1997. Random amplified polymorphic DNA markers in crosses between inbred lines of Rhode Island Red and White Leghorn chickens. *Animal Genetics*, 28: 291-294.
- WELSH, J. and MCCLELLAND, M., 1990. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. *Nucleic Acids Res.* 18: 7213-7218.
- WELSH, J., HONEYCUTT, R.J., MCCLELLAND, M., SOBRAL, B.W.S. 1991. Parentage determination in maize hybrids using arbitrarily primed polymerase chain reaction. *Theoretical and Applied Genetics*, 82: 473-476.
- WILLIAMS, J.G.K., KUBELIK, A.R., LIVAK, K.J., RAFALSKI, J.A., TINGEY, S.V., 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Research*, 18 (22): 6531-6535.
- XIANG-LONG, L. and VALENTINI, A. 2004. Genetic diversity of chinese indigenous goat breeds based on microsatellite markers. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 121 (5): 350-355.

- YEĞENOĞLU, E.D., 1999. Japon bıldırcınlarında (*Coturnix Coturnix Japonica*) DNA izolasyonu ve DNA parmakizlerinin çıkarılması. Yüksek lisans Tezi. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Zootekni Anabilim Dalı, İzmir.
- YEN, N.T., HUANG, M.C., TAI, C. 2001. Genetic variations of randomly amplified polymorphic DNA polymorphisms in Taoyuan and Duroc pigs. *J. Anim. Breed. Genet.* 118: 111-118.
- YONGJUN, L., SHILIN, C., NING M., SHUHONG, Z., YONGXIN, C. and CIWANDOBUI, 1998. random amplified polymorphic DNA study of Tibetan cashmere goat. Proceedings of 6th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, University of New England and CSIRO, Armidale, Australia, 24: 103-106.



ÖZGEÇMİŞ

Emine Şahin 1981 yılında Samsun' un Terme ilçesinde doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini burada tamamladı. 1997 yılında girdiği Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootečni Bölümü'nden 2001 yılında mezun oldu. Şubat 2002 yılında Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Zootečni Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans öğrenimine başladı. Halen bu bölümde Arş. Gör. olarak görev yapmaktadır.

