

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ**



**KIL, HONAMLI, KABAKULAK VE NORDUZ KEÇİLERİNDE MAJÖR
DOKU UYGUNLUK KOMPLEKSİ (MHC) İLE İLİŞKİLİ LOKUSLAR
KULLANILARAK GENETİK ÇEŞİTLİLİĞİN BELİRLENMESİ**

Mehmet ASLAN

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ZOOTEKNİ

ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TEMMUZ 2019

ANTALYA

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ**



**KIL, HONAMLI, KABAKULAK VE NORDUZ KEÇİLERİNDE MAJÖR
DOKU UYGUNLUK KOMPLEKSİ (MHC) İLE İLİŞKİLİ LOKUSLAR
KULLANILARAK GENETİK ÇEŞİTLİLİĞİN BELİRLENMESİ**

Mehmet ASLAN

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ZOOTEKNİ

ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TEMMUZ 2019

ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KIL, HONAMLI, KABAKULAK VE NORDUZ KEÇİLERİNDE MAJÖR
DOKU UYGUNLUK KOMPLEKSİ (MHC) İLE İLİŞKİLİ LOKUSLAR
KULLANILARAK GENETİK ÇEŞİTLİLİĞİN BELİRLENMESİ**

Mehmet ASLAN
ZOOTEKNİ
ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Bu tez Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi
tarafından FYL-2018-4301 nolu proje ile desteklenmiştir.**

TEMMUZ 2019

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KIL, HONAMLI, KABAKULAK VE NORDUZ KEÇİLERİNDE MAJÖR DOKU
UYGUNLUK KOMPLEKSİ (MHC) İLE İLİŞKİLİ LOKUSLAR
KULLANILARAK GENETİK ÇEŞİTLİLİĞİN BELİRLENMESİ**

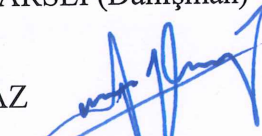
Mehmet ASLAN
ZOOTEKNİ
ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Bu tez 26/07/2019 tarihinde jüri tarafından Oybirliği/~~Oyçokluğu~~ ile kabul edilmiştir.

Dr. Öğr. Üyesi Taki KARSLI (Danışman)



Doç. Dr. Onur YILMAZ



Doç. Dr. Hasan MEYDAN



ÖZET

KIL, HONAMLI, KABAKULAK VE NORDUZ KEÇİLERİNDE MAJÖR DOKU UYGUNLUK KOMPLEKSİ (MHC) İLE İLİŞKİLİ LOKUSLAR KULLANILARAK GENETİK ÇEŞİTLİLİĞİN BELİRLENMESİ

Mehmet ASLAN

Yüksek Lisans Tezi, Zootekni Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Taki KARSLI

Temmuz 2019; 54 Sayfa

Majör Doku Uygunluk Kompleksi (MHC) omurgalılarda doğal ve kazanılmış bağışıklık sisteminde önemli rol oynar. Bu çalışmada Türkiye’de yetiştiriciliği yapılan Kıl (KIL), Honamlı (HNM), Kabakulak (KBK) ve Norduz (NRD) keçilerinde tüberküloza direnç, ısıya tolerans ve genetik çeşitlilik MHC’ne bağlı lokuslar kullanılarak değerlendirilmiştir. Ayrıca MHC’ne bağlı lokuslar kullanılarak keçi populasyonları arasındaki filogenetik ilişki incelenmiştir. Tüberküloza direnç ve ısıya tolerans ile ilişkili MHC sınıf II DRB bölgesi üzerindeki polimorfizmlerin belirlenmesi için PCR-RFLP yöntemi kullanılmıştır. Genetik çeşitliliğin belirlenmesinde MHC geni üzerindeki beş farklı Mikrosatellit lokus kullanılmıştır.

PCR-RFLP analizleri sonuçlarına göre Türkiye’de yetiştirilen KIL, HNM, KBK ve NRD keçilerinde MHC sınıf II DRB geni üzerinde Tüberküloza direnç (genotip pp - *PstI* ve genotip Tt - *TaqI*) ve ısıya tolerans ile ilişkili (genotip AA - *BsaHI*) genotipler değişen frekanslarda belirlenmiştir. Ancak çalışılan keçilerde ısıya tolerans ile ilişkili GG, GC ve CC (*AluI*) genotipleri tespit edilememiştir. Çalışmada elde edilen sonuçlar, KIL, HNM, KBK ve NRD keçilerinde MHC sınıf II DRB geni üzerindeki *PstI* ve *TaqI* polimorfizmlerinin tüberküloz için Marker Destekli Seleksiyon (MAS) çalışmalarında kullanılabileceğini göstermektedir. Isıya tolerans için ise *BsaHI* polimorfizminin kullanılabileceği ancak *AluI* polimorfizminin MAS çalışmaları için uygun olmadığı anlaşılmaktadır.

Tüm mikrosatellit lokusların polimorfik bulunduğu çalışmada, ortalama allel sayısı 8.20 (NRD) ile 8.80 (KIL ve KBK) aralığında, ortalama gözlenen heterozigotluk 0.68 (NRD) ile 0.80 (KBK) aralığında ve akrabalı yetiştirme katsayısı -0.017 (KBK) ile 0.13 (HNM) aralığında değişmiştir. Moleküler varyans analizi (AMOVA) toplam genetik varyasyonun % 8.62’sinin populasyonlar arasındaki farklılıklardan kaynaklandığını göstermiştir. Keçi populasyonları arasında genetik farklılaşma (ikişerli F_{ST} katsayıları) 0.01 (KIL-KBK ve HNM-KBK arasında) ile 0.19 (HNM-NRD ve NRD-KBK arasında) değişmiştir. Filogenetik analizlere göre çalışılan populasyonların (UPGMA dendogramı, FCA ve Structure analizi) iki grupta kümelendiği gözlemlenmiştir. KIL, HNM ve KBK birinci grupta yer alırken, ikinci grup NRD keçilerinden oluşmuştur.

Sonuç olarak Türkiye'de yetiştiriciliği yapılan KIL, HNM, KBK ve NRD keçilerinde MHC'ne bağlı lokuslarda yüksek genetik çeşitlilik ve düşük akrabalık tespit edilmiştir. Ayrıca KIL, KBK ve HNM keçilerinde ilgili lokuslar için genetik farklılık belirlenememiştir. Bu çalışmada elde edilen bulgular KIL, HNM, KBK ve NRD keçilerinde adaptif bağışıklık özellikleri üzerine ileride yapılması muhtemel ıslah çalışmaları için büyük potansiyel olduğunu göstermektedir.

ANAHTAR KELİMELEER: Genetik Çeşitlilik, Keçi, Majör Doku Uygunluk Kompleksi, Mikrosatellit, PCR-RFLP

JÜRİ: Dr. Öğr. Üyesi Taki KARSLI

Doç. Dr. Hasan MEYDAN

Doç. Dr. Onur YILMAZ



ABSTRACT

DETERMINATION OF GENETIC DIVERSITY IN HAIR, HONAMLI, KABAKULAK AND NORDUZ GOATS USING LOCI ASSOCIATED WITH MAJOR HISTOCOMPATIBILITY COMPLEX (MHC)

Mehmet ASLAN

MSc Thesis in Animal Science

Supervisor: Assist. Prof. Dr. Taki KARSLI

July 2019; 54 pages

The Major Histocompatibility Complex (MHC) plays an important role in innate and adaptive immune systems in vertebrates. In this master thesis, the resistance to tuberculosis, the tolerance to heat and genetic diversity in Hair, Honamlı, Kabakulak and Norduz goats raised in Turkey were evaluated using MHC-linked loci. The phylogenetic relation was also investigated between goat populations using MHC-linked loci. PCR-RFLP method was used for the determination of polymorphisms on MHC class II DRB region related to resistance to tuberculosis and tolerance to heat. Five different microsatellite loci on the MHC gene were used to determine the genetic diversity.

According to results of PCR-RFLP analysis in the KIL, HNM, KBK and NRD goats reared in Turkey, the genotypes were determined with ranging frequencies on MHC class II DRB gene associated with resistance to tuberculosis (genotype pp - *PstI* and *AluI* genotype Tt - *TaqI*) and heat tolerance (genotype AA - *BsaHI*). However, GG, GC and CC (*AluI*) genotypes associated with heat tolerance could not be determined. The obtained results from this study indicate that *PstI* and *TaqI* polymorphisms on MHC class II DRB gene in the KIL, HNM, KBK and NRD goats may be used in Marker Assisted Selection (MAS) studies for Tuberculosis. It was concluded that *BsaHI* polymorphism may be used for heat tolerance but *AluI* polymorphism are not suitable for MAS studies.

In the study, all microsatellite loci were found as polymorphic. The mean number of alleles ranged from 8.20 (NRD) to 8.80 (KIL and KBK), mean observed heterozygosity values varied from 0.68 (NRD) to 0.80 (KBK) and inbreeding coefficient (F_{IS}) ranged from -0.017 (KBK) to 0.13 (HNM). Analyses of Molecular Variance (AMOVA) indicated that 8.62 % of the total genetic variation was due to differences between populations. Genetic differentiation between goat populations (pairwise F_{ST} coefficients) ranged from 0.01 (between KIL-KBK and HNM-KBK) to 0.19 (between HNM-NRD and NRD-KBK). According to phylogenetic analysis (UPGMA dendrogram, FCA and Structure analysis) goat populations were clustered in

two groups. KIL, HNM and KBK were in the first group while second group consist of NRD goats.

As a result, high genetic diversity and low inbreeding were determined for MHC-linked loci in KIL, HNM, KBK and NRD goats reared in Turkey. Also, genetic difference could not be determined in KIL, HNM and KBK goats for related loci. The finding obtained from this study show that there is great potential for possible breeding studies for adaptive traits in KIL, HNM, KBK and NRD goats in future.

KEYWORDS: Genetic Diversity, Goat, Majör Histocompatibility Complex, Microsatelite, PCR-RFLP

COMMITTEE: Assist. Prof. Dr. Taki KARSLI

Assoc. Prof. Dr. Hasan MEYDAN

Assoc. Prof. Dr. Onur YILMAZ

ÖNSÖZ

Her geçen gün artan dünya nüfusuna paralel olarak artış gösteren hayvansal ürün talebinin karşılanması için çiftlik hayvanı türlerinde ekonomik önemi olan özellikler için yapılan yoğun ıslah çalışmaları devam etmektedir. Günümüzde yapılan klasik ıslah çalışmalarına ek olarak Genomik Seleksiyon (GS) ve Marker Destekli Seleksiyon (MAS) çalışmalarından da yararlanılmaktadır. Çiftlik hayvanlarında ekonomik önemi olan özellikler (et, süt, döl verimi vb.), çeşitli hastalıklara (mastitis, tüberküloz vb.) direnç ya da duyarlılık ve termo- fizyolojik özellikler (ısıya tolerans) ile ilişkili çok sayıda aday gen belirlenmiştir. Bu aday genler tek başlarına ya da birkaçı birlikte MAS'da kullanılabilir. Bu bağlamda bu tez çalışması ile Kıl, Honamlı, Kabakulak ve Norduz keçilerinde genetik çeşitliliğin MHC ile ilişkili lokuslar kullanılarak değerlendirilmesi ve mevcut literatür eşliğinde Türkiye'de ve dünyada yetiştirilen diğer keçi ırkları ile karşılaştırılmış ve ayrıca tüberküloz hastalığına direnç ya da duyarlılık ve ısıya tolerans ile ilişkili olduğu daha önce değişik çalışmalarda bildirilen genotiplerin varlığını araştırarak ileride yapılması muhtemel Marker Destekli Seleksiyon (MAS) çalışmaları için önemli bir bilgi birikimi ortaya çıkmıştır. Ayrıca çalışmada ülkemizde yetiştiriciliği yapılan Kıl, Honamlı, Kabakulak ve Norduz keçileri arasındaki filogenetik ilişki MHC ile bağlantılı lokuslar kullanılarak test edilmiştir.

Bu konuda bana çalışma fırsatı sunan ve tezin her aşamasında yardımcı olan danışman hocam sayın Dr. Öğr. Üyesi Taki KARSLI'ya sonsuz teşekkür ederim.

Laboratuvar olanaklarımızın yetersiz kaldığı durumlarda laboratuvar olanaklarını kullanımına izin veren Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü öğretim üyesi sayın Prof. Dr. Bülent UZUN ve Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü öğretim üyesi Prof. Dr. Kemal KARABAĞ' a teşekkür ederim.

Her zaman yanımda olan beni bugünlere getiren desteklerini ve inaçlarını esirgemeyen aile fertlerimden annem Havvali ASLAN, babam Erdal ASLAN ve kardeşlerim Ömer ASLAN ve İlayda ASLAN'a sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	iii
ÖNSÖZ	v
AKADEMİK BEYAN.....	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ	xii
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK TARAMASI	5
2.1.Keçinin Zoolojik Sistemdeki Yeri.....	5
2.2.Keçilerin Evcilleştirilmesi.....	5
2.2. Araştırma Kullanılan Keçi Genotipleri	6
2.2.1. Kıl keçisi.....	6
2.4.2. Honamlı keçisi	7
2.4.3. Norduz keçisi	7
2.4.4. Kabakulak keçisi.....	8
2.4. Araştırma Kullanılan Moleküler Marker Yöntemler.....	8
2.4.1. PCR-RFLP yöntemi.....	9
2.4.2. Mikrosatellit DNA marker yöntemi.....	9
2.5. Kaynak Taramaları	10
3. MATERYAL VE METOT	16
3.1. Materyal.....	16
3.1.1. Çalışmada kullanılan araç ve gereçler	16
3.2. Metot.....	16
3.2.1. Genomik DNA izolasyonu.....	16
3.2.2. Genomik DNA miktarının hesaplanması.....	18
3.2.3. Mikrosatellit ve PCR-RFLP analizleri	18
3.2.4. PCR-RFLP Analizleri.....	19
3.2.5. Mikrosatellit Analizleri.....	20
3.2.6. İstatistik analizler.....	21

4. BULGULAR VE TARTIŞMA	23
4.1. DNA İzolasyonu ve PCR İşlemi	23
4.2. Tüberküloza Direnç Genotipleri İçin RFLP Analizleri	23
4.2.1. <i>Pst</i> I polimorfizmi	23
4.2.2. <i>Taq</i> I polimorfizmi	25
4.3. Isıya Tolerans Genotipleri İçin RFLP Analizleri	26
4.3.1. <i>Bsa</i> HI polimorfizmi	26
4.3.2. <i>Alu</i> I polimorfizmi	27
4.4. MHC Bağlı Mikrosatellit Lokuslar İle Genetik Çeşitlilik	29
4.4.1. Çalışılan lokuslarda elde edilen allel genişlikleri ve frekansları	30
4.4.1.1. Kıl keçisi populasyonlarında temel genetik çeşitlilik parametreleri	31
4.4.1.2. Honamlı keçisi populasyonlarında temel genetik çeşitlilik parametreleri	32
4.4.1.3. Kabakulak keçisi populasyonlarında temel genetik çeşitlilik parametreleri	33
4.4.1.4. Norduz keçisi populasyonlarında temel genetik çeşitlilik parametreleri	34
4.4.2. Çalışılan populasyon arası genetik farklılaşma	36
4.4.2.1. İkişerli F_{ST} değerleri	36
4.4.2.2. Moleküler varyans analizi (AMOVA)	36
4.4.2.3. Çalışılan populasyonlarda tespit edilen özgün allel sayıları	37
4.4.3. Çalışılan populasyon arası filogenetik ilişki	38
5. SONUÇLAR	42
6. KAYNAKLAR	44
8. EKLER	50
ÖZGEÇMİŞ	

AKADEMİK BEYAN

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “Kıl, Honamlı, Kabakulak Ve Norduz Keçilerinde Majör Doku Uygunluk Kompleksi (MHC) İle İlişkili Lokuslar Kullanılarak Genetik Çeşitliliğin Belirlenmesi” adlı bu çalışmanın, akademik kurallar ve etik değerlere uygun olarak yazıldığını belirtir, bu tez çalışmasında bana ait olmayan tüm bilgilerin kaynağını gösterdiğimi beyan ederim.

26/07/2019

Mehmet ASLAN



SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

A	: Adenin Nükleotidi
bç	: Baz Çifti
C	: Sitozin Nükleotidi
°C	: Santigrat Derece
dk	: Dakika
G	: Guanin Nükleotidi
He	: Beklenen Heterozigotluk
Ho	: Gözlenen Heterozigotluk
kb	: Kilobaz
M	: Molar
MgCl ₂	: Magnezyum Klorür
mM	: Mili Mol
Na	: Gözlenen Allel Sayısı
NaCl	: Sodyum Klorür
Ne	: Etkili Allel Sayısı
Sn	: Saniye
T	: Timin Nükleotidi
V	: Volt
µl	: Mikro Litre

Kısaltmalar

AG	: Allel Genişliği
AFLP	: Çoğaltılmış Parça Uzunluk Polimorfizmi
AMOVA	: Moleküler Varyans Analizi
CD	: Küme belirleme
CLA	: Caprine Leukocyte Antigen
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
EDTA	: Ethylene Daimin Tetra Acetic Acid
F _{IS}	: Alt Populasyonlardaki Ortalama Akralılık Katsayısı
F _{IT}	: Tüm Populasyonda Ortalama Akralılık Katsayısı
F _{ST}	: Alt Populasyonlar Arası Genetik Farklılık
HLA	: Human Leukocyte Antigen
HNM	: Honamlı keçisi
KBK	: Kabakulak keçisi
MHC	: Major Histocompatibility Complex
NRD	: Norduz keçisi
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PIC	: Polimorfizm Bilgi İçeriği
RFLP	: Kesilmiş Parça Uzunluk Polimorfizmi
RAPD	: Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA
SDS	: Sodyum Dodesil Sülfat
SNP	: Tek Nükleotid Polimorfizmi
SSR	: Basit Dizi Tekrarları

TAE : Tris-Acedate-EDTA
TCR : T hücresi antijen reseptörü
TE : Tris-EDTA
UV : Ultraviyole



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Verimli Hilal bölgesinde çiftlik hayvanların kökeni ve dağılımı	6
Şekil 2.2. Kıl keçisi	6
Şekil 2.3. Honamlı keçisi	7
Şekil 2.4. Norduz keçisi	8
Şekil 2.5. Kabakulak keçisi ve oğlakları.....	8
Şekil 2.6. PCR-RFLP yöntemi.....	9
Şekil 2.7. Mikrosatellit DNA marker yöntemi	10
Şekil 4.1. DNA izolasyonu agaroz jel görüntüsü (%1).....	24
Şekil 4.2. MHC sınıf II DRB bölgesi için PCR ürünlerinin agaroz jel görüntüsü.....	23
Şekil 4.3. PCR ürünlerinin <i>PstI</i> restriksiyon enzimi ile kesimi	24
Şekil 4.4. PCR ürünlerinin <i>TaqI</i> restriksiyon enzimi ile kesimi.....	25
Şekil 4.5. PCR ürünlerinin <i>BsaHI</i> restriksiyon enzimi ile kesimi	27
Şekil 4.6. PCR ürünlerinin <i>AluI</i> restriksiyon enzimi ile kesimi.....	28
Şekil 4.7. Mikrosatellit lokuslar için agaroz jel görüntüsü	30
Şekil 4.8. SMHCC1 lokusuna ait fragment analizi cihazı görüntüsü	30
Şekil 4.9. Çalışılan populasyonlarda UPGMA dendogramı	39
Şekil 4.10. Çalışılan populasyonlarda FCA analizi	39
Şekil 4.11. Structure Harvester programında elde edilen ΔK değerleri.....	40
Şekil 4.12. Çalışılan keçi populasyonlarında Structure kümeleme analizi görüntüsü	40

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Evcil keçinin zoolojik sistemdeki yeri.....	5
Çizelge 3.1. DNA izolasyonu için kullanılan tampon çözeltilerin molaritesi/miktarı ve içerikleri	18
Çizelge 3.2.Çalışmada kullanılan lokuslara ait bazı temel bilgiler.....	19
Çizelge 3.3. PCR programı ve bileşenleri.....	19
Çizelge 3.4. PCR-RFLP işlemi sonunda oluşması beklenene bant büyüklükleri.....	20
Çizelge 3.5. Mikrosatellit lokusların çoğaltılması için PCR programı ve bileşenleri	21
Çizelge 4.1. <i>Pst</i> I enzimi ile kesim işlemi sonucu oluşan gen ve genotip frekansları	24
Çizelge 4.2. <i>Taq</i> I enzimi ile kesim işlemi sonucu oluşan gen ve genotip frekansları	26
Çizelge 4.3. <i>Bsa</i> HI enzimi ile kesim işlemi sonucu oluşan gen ve genotip frekansları ..	27
Çizelge 4.4. <i>Alu</i> I enzimi ile kesim işlemi sonucu oluşan gen ve genotip frekansları.....	29
Çizelge 4.5. Kıl keçilerinde elde edilen temel genetik çeşitlilik parametreleri	31
Çizelge 4.6. Honamlı keçilerinde elde edilen temel genetik çeşitlilik parametreleri	32
Çizelge 4.7. Kabakulak keçilerinde elde edilen temel genetik çeşitlilik parametreleri ..	34
Çizelge 4.8. Norduz keçilerinde elde edilen temel genetik çeşitlilik parametreleri	35
Çizelge 4.9. Keçi populasyonları arasında elde edilen ikişerli <i>F</i> _{st} değerleri	36
Çizelge 4.10. AMOVA analizi sonuçları.....	37
Çizelge 4.11. Dört farklı keçi genotipinde tespit edilen özgün alleller	38
Çizelge 4.12. Çalışılan populasyonlarda Nei'nin (1978) genetik uzaklık ve benzerlik değerleri.....	38
Çizelge 4.13. Strucure Harvester'da elde edilen <i>K</i> değerleri.....	40

1. GİRİŞ

İlk evcilleştirilen türler arasında bulunan keçi (*Capra hircus*) evcilleştirildiği tarihten bu yana insanlar için önemli bir çiftlik hayvanı olmuştur. Keçiler özellikle az gelişmiş ve gelişmekte olan ülkeler için önemli bir çiftlik hayvanı türüdür (Daşkiran vd. 2004, Canon vd. 2006, Abdel Aziz 2010). Keçi türünün hayvansal üretim değerine yaptığı katkı diğer ruminantlara göre düşük olmakla birlikte, özellikle tarım arazilerinin kısıtlı olduğu dağlık ve engebeli arazilerde yetiştirebilmesi, elverişsiz bakım ve besleme koşullarına karşı daha dayanıklı olması nedeniyle hayvansal üretimde önemli bir yeri vardır (Daşkiran vd. 2004, Şimşek ve Bayraktar 2006, Demirbaş vd. 2009). Keçi yetiştiriciliği bazı istisnalar dışında çoğunlukla bitkisel üretime uygun olmayan alanlarda küçük aile işletmeleri tarafından yapılmaktadır. Keçi yetiştiriciliği kırsal alanlarda önemli bir istihdam dalı olması bakımından ülke ekonomileri açısından oldukça önemlidir (Canon vd. 2006; Demirbaş vd. 2009).

Türkiye yerli keçi ırkları başlıca Ankara, Kıl, Kilis, Honamlı ve Norduz keçilerinden oluşmaktadır. Kilis keçileri, Kıl keçileri ile Suriye kökenli Halep keçisinin melezlenmesi ile elde edilmiş olup, Güneydoğu Anadolu bölgesinde ve özellikle Suriye'nin sınır komşuları olan Şanlıurfa, Gaziantep, Kilis ve Hatay illerinde yaygın olarak yetiştirilmektedir (İriadam 2004, Alizadehasl ve Ünal 2011). Adını Van ili Gürpınar ilçesi Norduz vadisinden alan Norduz keçisi; Siirt, Bitlis, Muş, Bingöl illeri ile Van'ın bazı ilçelerinde ve bu ilçelerin İran'a sınır köylerinde yetiştirilmektedir (Kırk vd. 2004). Honamlı keçileri ise Akdeniz bölgesinde Antalya, Burdur, Isparta ve Konya illerinde yörüklerin yoğun olarak yaşadığı bölgelerde yetiştirilmektedir (Erduran ve Kırbaş 2010).

Türkiye'de yetiştiriciliği en fazla yapılan keçi ırkı olan Kıl keçilerinin, cüsse, döl ve süt verimi bakımından birbirinden oldukça farklılaşan Çandır, Kabakulak, Pavga gibi alt grupları olduğu belirtilmektedir. Bunlar içerisinde Kabakulak genotipinin yetiştirilme alanı Antalya ili Elmalı ve Kaş ilçelerini de kapsayacak şekilde Muğla ilinin Fethiye ilçesine kadar uzanmaktadır. Yakın bir tarihe kadar Honamlı ırkı da bu alt gruplardan biri olarak kabul edilmekteyken yakın zaman önce ayrı bir ırk olarak tescili yapılmıştır. Yukarıda belirtilen Çandır, Kabakulak, Pavga alt gruplar (tipler) hakkında literatürde ciddi bir bilgiye rastlanmamıştır.

TÜİK'in 2018 yılı verilerine göre, Türkiye'de keçi varlığı 11.000.000 baş civarında olup bunun yaklaşık % 98'i Kıl keçilerinden, % 2'si de Ankara keçilerinden oluşmaktadır (Anonim 1). Türkiye keçi sayısı bakımından FAO'nun 2017 yılı verilerine göre Avrupa'da birinci, dünyada ise 19. sırada yer almaktadır (Anonymous). TÜİK'in 2017 yılı verilerine göre, Antalya yaklaşık 800.000 baş keçi sayısı ile Türkiye'nin en fazla keçi bulunan ilidir (Anonim 2). FAO'nun 2017 yılı verilerine göre, Antalya'da bulunan keçi sayısı 31 farklı Avrupa ülkesini geride bırakmaktadır (Anonymous).

Çiftlik hayvanlarında genetik iyileştirme binlerce yıl önce çiftlik hayvanı türlerinin evcilleştirilmesi, değişik iklim ve üretim sistemlerine adaptasyonu ile başlamıştır. 1700'lü yılların sonunda başlayan ırkların daha da geliştirilmesini, 20. yüzyılda hayvan ıslahı ve genetiği biliminin ortaya çıkması takip etmiştir. Daha ileri genetik iyileşme moleküler genetik tekniklerin ortaya çıkması ile mümkün olmuştur (Rothchild ve Plastow 2014). Hayvan ıslahı ve genetiğinde ortaya çıkan gelişmeler,

yetiştirici tercihlerine göre yüksek verimli ırkların geliştirilmesine olanak sağlamıştır. Geçtiğimiz 30 yılda ise moleküler biyoloji, moleküler genetik ve biyoteknoloji alanında yaşanan hızlı gelişim hayvan ıslahçıları için yeni fırsatlar sunmuştur.

DNA teknolojileri günümüzde birçok alanda olduğu gibi hayvancılık bilimlerinde de yoğun şekilde kullanılmaktadır. Restriksiyon enzimlerinin keşfi, DNA'nın yapısının belirlenmesinden sonra PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) tekniği keşfedilmiştir. PCR'in keşfinden bu yana çok sayıda PCR temelli moleküler işaretleyiciler tespit edilmiştir. Geçtiğimiz 20 yılda hayvancılık bilimleri alanında en yaygın kullanılan moleküler işaretleyiciler arasında Kesilmiş Parça Uzunluk Polimorfizmi (RFLP), Çoğaltılmış Uzunluk Parça Polimorfizmi (AFLP), DNA Sekans Analizi, Mikrosatellit işaretleyiciler ve Tek Nükleotid Polimorfizmi (SNP) gösterilebilir. Son yıllarda özellikle yeni nesil sekans analizleri ile SNP belirleme, belirlenen bu SNP'lerin çeşitli verimler ve hastalıklarla ilişkilendirilmesi üzerine yoğun araştırmalar yapılmaktadır. Bu ve benzer teknolojiler çiftlik hayvanlarında genetik kaynaklarının korunması programlarında, filogenetik analizlerde, ekonomik önemi olan özelliklerin (döl, et, süt verimi vb.) seleksiyonla miktar ve kalitesinin artırılmasında, genetik hastalıkların ya da hastalıklara dirençli bireylerin belirlenmesinde kullanılmaktadır (Karslı vd. 2013).

Hayvansal üretimde sağlık koruma çalışmalarının önemi son yıllarda üreticiler ve tüketiciler için giderek artmaktadır. Hayvanlarda ölüm oranının artmasına, büyüme oranı ve döl veriminin azalmasına aynı zamanda et ve sütün miktar ve kalitesinin düşmesine yol açan enfeksiyon hastalıkları hayvan yetiştiriciliğinde sıkça karşılaşılan olumsuz bir durumdur. Bu hastalıkların üretim maliyetlerine olan olumsuz etkilerinin yanı sıra antibiyotik gibi ilaçların kullanımlarına sınırlama getiren gıda güvenliği ve hayvan refahı gibi yeni kavramların gelişmesi, sağlık koruma çalışmalarına yeni yaklaşımlar getirmiş ve bağışıklık sistemi, hastalıklara direnç/duyarlılık gibi özelliklerin kalıtımına yönelik çalışmalara ilginin artmasına yol açmıştır (Öner ve Elmacı 2011). Ayrıca Tüberküloz gibi hastalıklarda hasta hayvanların kesime gönderilmesi ile populasyon sayısındaki azalmaya bağlı olarak mevcut genetik çeşitlilik olumsuz yönde etkilenmektedir.

Hayvancılıkta verim seviyesinin düşmesine ve ekonomik kayba neden olan en önemli faktör hastalıklardır. Bu nedenle hastalıkların mümkün olduğunca azaltılması gerekmektedir (İlhan 2015). Bir hayvanda bir hastalığın gelişmesi bireyin genotipi ve çevrenin karşılıklı etkileşiminin sonucudur. Hastalık, çevresel faktörler ile genetik eğilim buluştuğunda ortaya çıkar. Hastalığı önlemek çevresel faktörlerin iyileştirilmesi, aşılama ve ilaç kullanımının yanı sıra genetik olarak hastalıklara dirençli bireylerin seçilmesi önemlidir. Bunun için dirençlilik ile ilgili özel genlerin veya dirençlilik ile ilgili genetik markerlerin tanımlanması gerekir. Hastalıklara direncin genetik kontrolü çok karmaşıktır ve vücudun birçok sistemini ve bu sistemlerin birbiri ile ilişkisini kapsar. Bu sistemlerin en önemlisi ise bağışıklık sistemidir (Ekim 2010). Bu nedenle immün sistem üzerinde önemli rol oynayan MHC (Major Histocompatibility Complex - Major Doku Uygunluk Kompleksi) genleri hayvancılıkta üzerinde durulması gereken genler arasında yer almaktadır (İlhan 2015).

Major Doku Uygunluk Kompleksi omurgalıların çoğunda bulunan çok büyük genomik bölge ya da gen ailesidir ve MHC moleküllerini kodlar. İmmünite ve

otoimmünitede (vücut içinde kendiliğinden antikor oluşması) önemli rol oynayan MHC moleküllerinin Sınıf I ve Sınıf II olmak üzere iki genel sınıfı vardır. Sınıf I MHC molekülleri neredeyse tüm hücrelerde bulunur ve proteinleri (antijen) T hücrelerine taşır. Sınıf II MHC molekülleri immün sistemlerde esas olarak makrofaj ve B hücrelerinde bulunur ve antijen sunan hücreler (Antigen Presenting Cells - APC) olarak bilinir. Kazanılmış bağışıklık sisteminin en önemli hücrelerinde birisi olan T hücrelerinin protein yapıdaki antijene karşı oluşturacağı özgün yanıtın gerçekleşebilmesi için antijenlerin, antijen sunan hücreler APC tarafından alınması, işlenmesi ve yüzeylerinde bulunan bazı moleküllere bağlanarak T hücrelerine sunulması gerekmektedir. Bu amaçla kullanılan yüzey molekülleri MHC molekülleridir (Zhao vd. 2011; Yalçın 2013).

Çiftlik hayvanlarında MHC gen bölgesindeki polimorfizmler ile çeşitli hastalıklara direnç ve duyarlılık arasında (Singh vd. 2012; Shen vd.2014; Kim vd. 2015 Kannaki vd. 2017), termo-fizyolojik özellikler arasında (Guang-Xin vd. 2015) ilişki olduğunu bildiren çok sayıda çalışma vardır. MHC genleri omurgalılarda adaptif genetik varyasyonun araştırılmasında en çok kullanılan moleküler işaretleyiciler haline gelmiştir (Guang-Xin vd. 2015). Ayrıca MHC bağlı genler ile ırklar içindeki genetik çeşitliliğin belirlenmesi ya da ırklar arasındaki filogenetik ilişkilerin gösterilmesi konusunda (Salles vd. 2011; Guang-Xin vd. 2015) yapılan yoğun çalışmalar vardır. Aynı kökenden gelen, geçmişte aynı coğrafi geçmişi paylaşan hayvan grupları hastalıklara benzer dirençleri geliştireceği için MHC bağlı genler filogenetik ilişkinin aydınlatılmasında oldukça kullanışlı işaretleyicilerdir.

Çiftlik hayvanlarında geçmişten günümüze kadar geçen süreçte şekillenen genetik çeşitlilik türlerin ya da ırkların sürdürülebilir kullanımı ve gelecekte değişmesi muhtemel çevre koşullarında yapılacak ıslah çalışmaları için oldukça önem taşımaktadır. Bir türdeki genetik çeşitlilik o türü oluşturan tüm ırklar ve alt gruplardaki (tip, ekotip vb.) genetik çeşitliliğin toplamını yansıtmaktadır. Her geçen gün artan dünya nüfusuna paralel olarak artan hayvansal ürün talebinin karşılanması için çiftlik hayvanı türlerinde ekonomik önemi olan özellikler için yapılan yoğun ıslah çalışmaları devam etmektedir. Günümüzde yapılan klasik ıslah çalışmalarına ek olarak Genomik Seleksiyon (GS) ve Marker Destekli Seleksiyon (MAS) çalışmalarından da yararlanılmaktadır. Çiftlik hayvanlarında ekonomik önemi olan özellikler (et, süt, döl verimi vb.), çeşitli hastalıklara direnç ya da duyarlılık (mastitis, tüberküloz vb.) ve termo-fizyolojik özellikler (ısıya tolerans) ile ilişkili çok sayıda aday gen belirlenmiştir. Bu aday genler tek başlarına ya da birkaçı birlikte MAS çalışmalarında kullanılabilir.

Daha önce çeşitli araştırma grupları tarafından bildirilen tüberküloz hastalığı ile ısıya tolerans bakımından dirençli genotiplerin Kıl, Honamlı, Kabakulak ve Norduz keçilerinde belirlenmesi ülkemizde klasik ıslah çalışmalarına ek olarak yapılacak MAS çalışmalarına katkı sağlayacaktır. Sıcaklığın özellikle yaz aylarında yüksek olduğu ve tüberküloz hastalığının yaygın olarak görüldüğü bölgemizde dirençli genotiplerin belirlenmesi bölge ekonomisi açısından önem taşımaktadır. Bunun yanı sıra küresel ısınmanın her geçen gün hızla arttığı düşünülecek olursa, hayvanlarda ısıya toleransın her geçen gün daha fazla önem kazanacağı ve ülkemiz hayvancılığı açısından

gelecekteki ıslah çalışmalarında daha kritik rol oynayacağı açıktır. Bu bağlamda gerçekleştirilen yüksek lisans tezinde;

1-) Türkiye yerli keçi genotipleri olan Kıl, Honamlı, Kabakulak ve Norduz keçilerinde tüberküloz hastalığına direnç ve ısıya tolerans ile ilişkili olduğu daha önce değişik çalışmalarda bildirilen genotiplerin varlığının araştırılması,

2-) Tüberküloz hastalığına direnç ya da ısıya tolerans ile ilişkili genotiplerin tespit edilmesi halinde ileride yapılması muhtemel MAS çalışmalarında kullanım olanaklarının tartışılması,

3-) Kıl, Honamlı, Kabakulak ve Norduz keçilerinde genetik çeşitliliğin MHC ile ilişkili lokuslar kullanılarak değerlendirilmesi ve mevcut literatür eşliğinde Türkiye’de ve dünyada yetiştirilen diğer keçi ırkları ile karşılaştırması,

4-) Türkiye’de yetiştiriciliği yapılan Kıl, Honamlı, Kabakulak ve Norduz keçileri arasındaki filogenetik ilişkinin MHC ile bağlantılı lokuslar kullanılarak test edilmesi amaçlanmıştır.

2. KAYNAK TARAMASI

2.1. Keçinin Zoolojik Sistemdeki Yeri

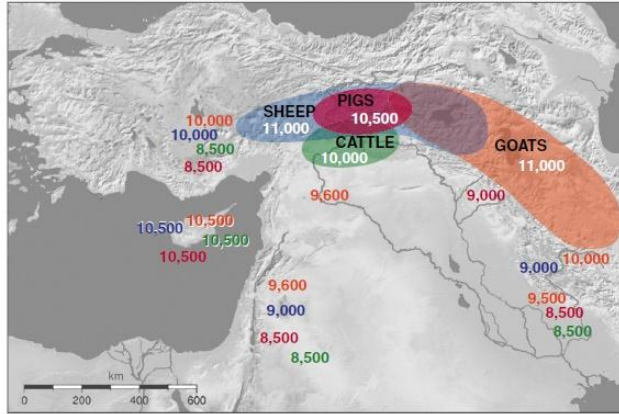
Evcil keçi (*Capra aegagrus hircus*), boynuzlugiller (Bovidae) familyasının keçi türü (Caprinae) alt familyasından *Capra* cinsini oluşturan memelilere verilen isimdir. Evcil keçinin zoolojik sistemdeki yeri Çizelge 2.1’de belirtilmiştir.

Çizelge 2.1. Evcil keçinin zoolojik sistemdeki yeri (Yamak 2018)

Alem	Kingdom	Hayvanlar	Animale
Şube	Phylum	Omurgalılar	Vertebrata
Sınıf	Class	Memeliler	Mammalia
Alt Sınıf	Subclassis	Plasentalılar	Placentalia
Takım	Ordo	Tırnaklılar	Ungulata
Alt Takım	Subordo	Çift Tırnaklılar	P. Artiodactyles
Grup	Gruppia	Geviş getirenler	Ruminantia
Aile	Familia	Boş boynuzlular	Cavicornia
Alt aile	Subfamilia	Keçi	Caprinae
Cins	Genus	Yaban ve evcil keçiler	Capra
Tür	Species	Evcil keçi	Capra hircus

2.2. Keçilerin Evcilleştirilmesi

Keçiler M.Ö. 10-11 bin yıllarında sığır, koyun ve domuzla beraber ilk evcilleştirilen çiftlik hayvanı türleri arasındadır. Keçinin evcilleştirme bölgeleri hakkında tartışmalı görüşler olsa da Türkiye’nin Güney Doğu Anadolu Bölgesini içerisine alan Fırat ve Dicle nehirleriyle sınırlanan Verim Hilal olarak adlandırılan bölgenin evcilleştirme merkezlerinden birisi olduğu, gerek arkeolojik gerekse moleküler çalışmalar tarafından işaret edilmektedir (Zeder 2008). Evcil keçilerin *Capra falconeri* (Burgu boynuzlu keçi), *Capra aegagrus* (Kılıç boynuzlu keçi), *Capra caucasica* (Kafkasya yaban keçisi), *Capra Ibex sibirica* (Sibiryaya yaban keçisi) ve *Capra pyrenaica* (İber yarım adası yaban keçisi) yabani formlarından köken aldığı düşünülmektedir (Yamak 2018).



Şekil 2.1. Verimli Hilal bölgesinde çiftlik hayvanların kökeni ve dağılımı (Zeder 2008)

2.2. Araştırma Kullanılan Keçi Genotipleri

2.2.1. Kıl keçisi

Kıl Keçisi genel olarak Akdeniz, Ege ve Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde yetiştiriciliği yapılmasına karşın, Türkiye'nin bütün bölgelerinde bulunmaktadır. Türkiye keçi varlığının yaklaşık %96'lık kısmını Kıl keçileri oluşturmaktadır. Vücut rengi genellikle siyah olmakla birlikte renk bakımından beyaz gri, kahverengi ve alaca gibi farklı renk varyasyonlarına sahip kıl keçilerine de rastlanılmaktadır. Erişkin erkek ve dişi keçilerin ortalama canlı ağırlıkları sırasıyla 45-90 kg ve 40-65 kg civarındadır. Erkekler ve dişiler çoğunlukla boynuzludur. Boynuzlar erkeklerde gelişmiştir, boynuz uçları arasındaki mesafe 60-70 cm'ye ulaşabilmektedir. Boynuz, dişilerde geriye doğru kıvrılmakta bazen bir iki kıvrım yapabilmektedir. Genellikle her türlü iklim ve coğrafi koşullara uyum sağlayan, kötü beslenme ve bakım koşullarında yetiştirilebilen, ısı toleransı yüksek ve hastalıklara karşı dayanıklı bir keçi ırkı olarak tanımlanmaktadır. Kıl keçisine yönelik gerçekleştirilen farklı çalışmalarda süt verimi ve süt yağı oranı sırasıyla 80-100 litre ve %3-4 düzeyindedir. Doğuran keçi başına oğlak sayısı ise 1 olarak bildirilmiştir (Anonim 3).



Şekil 2.2. Kıl keçisi (Anonim 4)

2.4.2. Honamlı keçisi

Honamlı Keçisi Akdeniz Bölgesinin Toros Dağları, Antalya, Konya ve Isparta çevresinde yetiştirilen keçi türüdür. Kıl keçilerden farkı dış bükey bir burun yapısı ve kısa üst dudak yapısına sahiptirler. Genellikle siyah renkli olmalarının yanı sıra alın ve ayaklarında beyaz lekeler görülmektedir. Ortalama doğum ağırlığı ve ergin keçi ağırlığı sırasıyla 3-3.5 kg ve 85 kg olarak bildirilmiştir. Laktasyon süt verimi ise 160-170 kg arasında değişim göstermektedir (Anonim 5). Son yıllarda ağır tehditi altında olan Honamlı keçisinin tanımlanması ve genetik kaynak olarak korunmasını konu alan çok sayıda proje devreye sokulmuştur.



Şekil 2.3. Honamlı keçisi (Anonim 4)

2.4.3. Norduz keçisi

Van İli Gürpınar ilçesinden köken alan Norduz keçileri, yüzyıllarca bu bölgedeki ekolojik koşullara adapte olmuş özel bir keçi türüdür. Norduz ırkının oluşmasında bölgedeki orta-yüksek ve yüksek yaylaların varlığının iklim ve buradaki coğrafi yapı ve bitki çeşitliliğinin etkili olduğu düşünülmektedir. Süt veriminin yüksekliğiyle bilinen Norduz keçilerinden üretilen sütler ailenin süt ihtiyacının karşılanmasında ve yöresel Van otlu peynirinin üretiminde koyun sütleriyle birlikte kullanılmaktadır. Bölgede yaşanan sosyal ve ekonomik nedenlerle meydana gelen kırsaldan şehire göç Norduz keçilerinin sayısının hızla azalmasına neden olmuştur. Ağır bir yok olma tehditi ile karşı karşıya olduğu bildirilen Norduz keçisinin genetik kaynak olarak koruma çalışmalarına hız verilmiştir. Vücut rengi bakımından genellikle siyah renkli olan Norduz keçilerin kül rengi, gri, beyaz, krem, siyah-beyaz ve kahverengi gibi farklı renk varyasyonlarına sahip oldukları da bilinmektedir. Erkekler boynuzludur, boynuzlar uzun, sağlam, yukarı doğru ve her iki yanda arkaya doğru hafif eğimlidir. Dişiler genel olarak boynuzsuzdur ve boynuzlu dişilerin boynuz yapısı erkekler göre daha küçük ve incedir. Bazen spiral şekilde aşağı doğru eğimlidir. Norduz keçilerinin laktasyon süt verimleri 90-95 kg arasında gerçekleşmektedir. Doğum ağırlığı 2.71-3.01 kg, 18 aylık canlı ağırlığı 48 kg ve günlük canlı ağırlık artışı 133 g olduğu bildirilmiştir (Anonim 6).



Şekil 2.4. Norduz keçisi (Anonim 4)

2.4.4. Kabakulak keçisi

Kıl keçisinin bir tipi olarak kabul edilen ve isimlerini kulak boylarının uzunluğundan alan Kabakulak keçilerinde kulak uzunluğu 30 cm'e kadar çıkabilmektedir. Türkiye'de daha çok Batı Akdeniz bölümü Fethiye, Kaş ve Elmalı yörelerinde yetiştiriciliği yapılmaktadır. Vücut renkleri genellikle siyah olmakla birlikte alaca renkli olanlarına da rastlanmaktadır. Kulak renkleri daha çok beyaz renkte rastlanır. Kabakulak keçilerinde erkeklerin ergin canlı ağırlığının ortalama 40 kg dişilerin ise 55 kg dolayında olduğu bildirilmiştir (Gezer 2018).



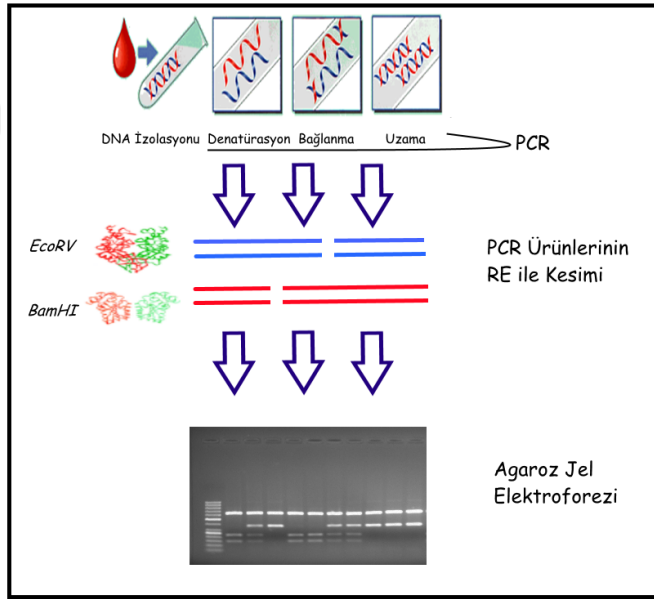
Şekil 2.5. Kabakulak keçisi ve oğlakları

2.4. Araştırma Kullanılan Moleküler Marker Yöntemler

Yürütülen yüksek lisans tezinde, Türkiye'de yetiştirilen farklı keçi populasyonlarında MHC sınıf II DRB gen bölgesi üzerinde ısıya tolerans ve tüberküloz ile ilişkili olduğu daha önceki çalışmalarda bildirilen polimorfizmler (SNP'ler) PCR-RFLP yöntemi ile belirlenmiştir. Çalışılan populasyonlarda genetik çeşitliliğin tespiti için yine MHC geni üzerinde bulunan tekrarlı dizilerdeki farklılıklar mikrosatellit marker yöntemi ile tespit edilmiştir.

2.4.1. PCR-RFLP yöntemi

Bilinen nokta mutasyonlarının taranması için geliştirilen Polimeraz Zincir Reaksiyonu temelli Kesilmiş Parça Uzunluk Polimorfizmi (PCR-RFLP) yöntemi esas olarak üç aşamadan oluşmaktadır. Bu yöntemde ilk aşama olan DNA izolasyonunu tek nükleotid polimorfizmini de içeren gen bölgesinin PCR işlemi çoğaltılması takip eder. Son aşamada ise çoğaltılan PCR ürünleri mutasyonu tanıyan restriksiyon enzimi (RE) ile kesilmesi ve kesim işlemi sonrası kesim ürünlerinin büyüklüklerine göre genotiplerin belirlenmesi gerçekleştirilmektedir. Kesim ürünlerinin görüntülenmesinde bantların büyüklüklerine bağlı olarak değişmekle birlikte, çoğunlukla agaroz jel kullanılır. RFLP yöntemi genellikle diğer marker yöntemlerine göre ucuz olmakla birlikte kullanılan enzimin fiyatı maliyeti artırabilir (Karşlı vd. 2008, 2010, 2013).

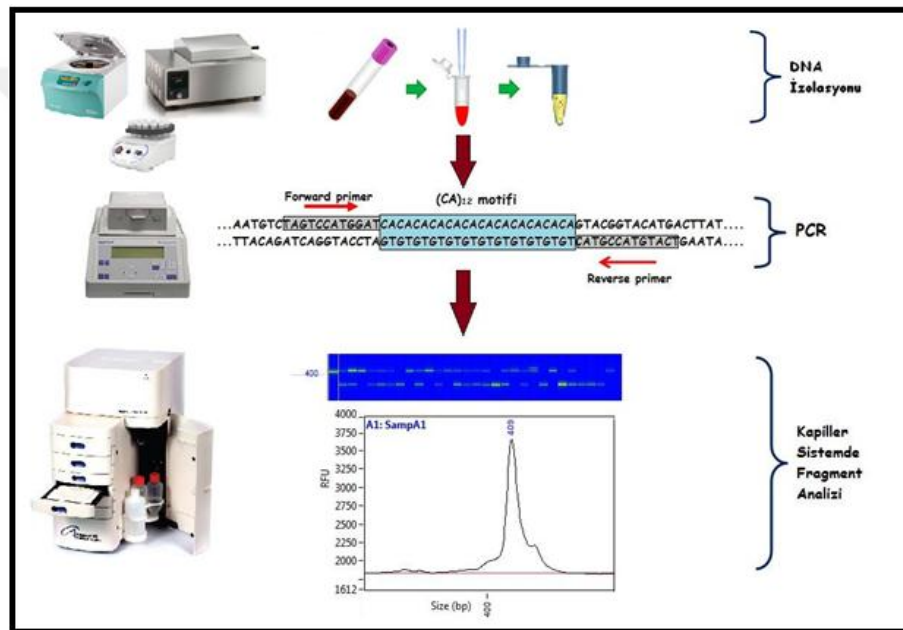


Şekil 2.6. PCR-RFLP yöntemi (Karayel 2018)

2.4.2. Mikrosatellit DNA marker yöntemi

Mikrosatellitler ökaryotik genomu boyuncarastgele dağılmış olan intron ya da ekzonlarda bulunabilen tekrarlı DNA dizileridir. *Basit Dizi Tekrarları* (Simple Sequence Repeats, SSR) veya *Kısa Ardışık Tekrarlar* (Short Tandem Repeats, STR) olarak da bilinen mikrosatellitler polimorfik DNA bölgeleridir. Mikrosatellit bölgelerdeki polimorfizmler tekrar sayılarındaki farklılıklardan kaynaklanmaktadır. Mikrosatellit bölgelerdeki polimorfizm oranının genomun diğer bölgelerindeki polimorfizm oranına göre fazla olmasının altında yatan iki temel neden vardır. Bunlardan ilki, krossing-over sırasında eşit olmayan parça değişimi sonucu oluşan yeni kombinasyonlar (Unequal Crossing Over, UCA) diğeri ise replikasyon sırasındaki DNA eksen kayması (slippage) ya da diğeri ismi ile replikasyon kaymasıdır. Bu nedenlerle genomdaki tekrarlı bölgelerde daha fazla mutasyon oluşmaktadır (Korkmaz Ağaoğlu ve Ertuğrul 2010; Karşlı 2015). Mikrosatellitler yüksek polimorfizme sahip olmaları nedeniyle genetik çeşitlik çalışmaları için son derece kullanışlı işaretleyicilerdir.

Mikrosatellit işaretleyici yöntemi DNA izolasyonundan sonra tekrarlı bölgelerin PCR ile çoğaltılması ve çoğaltılan bu bölgelerin büyüklüklerinin belirlenmesi esasına dayanır. Genetik varyasyonun tespitinde PCR ürünlerinin (tekrarlı DNA dizilerini içeren bölgeler) büyüklükleri belirlenirken 1 bazın bile önemli olduğu düşünüldüğünde agaroz jel mikrosatellit işaretleyici yönteminde sapmalı sonuçlar vermektedir. Poliakrilamid jelin ayırma gücü agaroz jele göre daha iyi olmasına rağmen mikrosatellitler ile gerçekleştirilen çalışmalardan elde edilen fragmanların belirlenmesinde tercih edilmemektedir. Mikrosatellitlerden elde edilen fragmanların boyutlarının belirlenmesinde sıklıkla kapiller elektroforez yöntemi kullanılmaktadır. Kapiller elektroforez sistemlerinin maliyetleri diğer jel sistemlerine göre yüksek olmakla birlikte, uygulama kolaylığı, aynı anda çok sayıda örnekle çalışılabilmesi, otomasyona uygun olması ve 1 baza kadar yüksek güvenilirlikte okuma yapmaları gibi nedenlerle tercih edilmektedir (Klug vd. 2011; Karşı 2015).



Şekil 2.7. Mikrosatellit DNA marker yöntemi (Karşı 2015)

2.5. Kaynak Taramaları

Tüberküloz ruminantlarda *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*'in (MAP) neden olduğu kronik, bulaşıcı bir solunum hastalığıdır. Özellikle sığırlarda gözüken Tüberküloz koyun, keçi, domuz ve at gibi hayvanlarda da görülebilmektedir. Tüberküloz küçük ruminantlarda az rastlanılan bir hastalıktır ve genellikle kesim sonrası bazı organlardaki lezyonlar ile fark edilmektedir. Genellikle bakteri akciğere girdiğinde çoğalmaya başlayarak lenf nodüllerine yayılmaktadır. Subklinik seyir izleyen hastalığın belirlenmesi oldukça zordur. Hasta hayvanlarda zayıflama, ileri aşamalarda ise soluk sayısında artış ve soluk alıp vermede zorluk ve ağırlı öksürük, granülomatöz enterit, kalıcı ishal görülmektedir. Zoonoz bir hastalık olduğu için insanlara geçebilir. Özellikle tüberkülozlu hayvanlarla aynı ortamda bulunan hayvan bakıcıları ve enfekte ürünleri tüketenler risk altındadır. Hastalık insanlara geçebildiği için toplum sağlığı

açısından da bir tehdit oluşturmaktadır(Ekim 2010; Allen vd. 2010; Kadarmideen vd. 2011; Singh vd. 2012).

Barınaklarda hayvanlara düşen birim alanın artırılması, hijyen koşullarına dikkat edilmesi, kapalı barınakların sürekli havalandırılması, dışarıdan sürüye kontrolsüz hayvan girişinin engellenmesi hastalığın yayılmasını engelleyebilmektedir (Özhan vd. 2001; Özbey vd. 2008). Hastalığın tespitinde daha çok kullanılan test tüberkülin deri testi (TDT) olmasına karşın interferon gama salınım testi, floresan antikor tekniği, bactec radyometrik yöntem, elisa, kromatografi, RFLP ve PCR gibi yöntemler de teşhiste kullanılabilir. Tüberküloz süt ve döl veriminde azalmaya neden olmaktadır. Hastalık tespit edilen hayvanların sürüden çıkarılması (kesime gönderilmesi) önemli ekonomik kayıplara neden olmaktadır.

Hava sıcaklığının çok yüksek veya düşük olması durumunda hayvanlarda sıcaklık stresi meydana gelmektedir. Bu gibi durumlarda hayvanlarda verim seviyesinin azalması ya da temel biyolojik aktivitelerin gerçekleşmemesi gibi durumlar ortaya çıkmaktadır (Kocaman vd. 2007). Ortam sıcaklığının yükselmesi, rektal sıcaklıkta artışlara, bu artış ise vücutta bazı fizyolojik değişimler ve verim seviyesinin düşmesine neden olmaktadır (Kaykı 2017). Çevre sıcaklığının yüksek olması hayvanın üreme yeteneğini büyük oranda düşürmektedir. Gebelik oranının düşmesi ile yüksek sıcaklık-nem indeksi arasında doğrusal bir ilişki söz konusudur. Yüksek sıcaklık ve radyasyon özellikle laktasyondaki hayvanlar için bir stres etkenidir. Bu nedenlerden dolayı hayvanlarda üreme fonksiyonlarında ve davranışlardaolumsuzluklar meydana gelmektedir (Altınçekiç ve Koyuncu, 2012).

Son yıllarda küresel ısınmanın etkileri ve bunların çiftlik hayvan ırkları üzerindeki olumsuz sonuçları araştırmacı ve üreticilerin önemli kaygılar arasındadır. Çeşitli bilimsel araştırmalar küresel ısınmanın etkilerinin artarak devam edeceğini öngörmektedir. Küresel ısınmanın olumsuz etkileri nedeniyleçiftlik hayvanları yetiştiriciliğinin normalin üzerindeki sıcaklıklarda gerçekleştirilmesi söz konusu olacaktır. Son yıllarda araştırmacılar ıslah kriterlerine, ekonomik önemi olan verim özellikleri, hastalıklara direnç ve bunların yanı sıra ısıya tolerans gibi kriterleri de almaktadır. Araştırmacılar özellikle çeşitli gen bölgelerindeki polimorfizmlerin termofizyolojik özellikler ile ilişkisini incelemektedir. Bu incelemeler sonucunda termofizyolojik özellikler ile istatistiki olarak ilişkili bulunan gen bölgeleri Marker Destekli Seleksiyon çalışmalarında aday gen olarak kullanılabilir (Yakubu vd. 2016; Yakubu vd. 2017; El-Zarai vd. 2019).

Çiftlik hayvanlarında tüberkülozunda dahil olduğu çeşitli hastalıklara direnç ve ısıya tolerans bakımından en yaygın çalışılan gen bölgelerinden birisi Major Doku Uygunluk Kompleksi (Major Histocompatibility Complex – MHC) genleridir. Çünkü MHC genleri immün sistem üzerinde önemli rol oynamaktadır (İlhan 2015). MHC çok uzun süredir hastalıklara direnç ya da duyarlılıkta bağışıklık düzenleyici önemli bir sistem olarak tanımlanmıştır. Bu nedenle MHC genleri omurgalılarda adaptif genetik varyasyonun araştırılmasında en çok kullanılan moleküler markerler haline gelmiştir (Guang-Xin vd. 2015).

Kazanılmış bağışıklık sisteminin en önemli hücrelerinde birisi olan T hücrelerinin protein yapıdaki antijene karşı oluşturacağı özgün yanıtın gerçekleşebilmesi için antijenlerin, antijen sunan hücreler (antigen presenting cells, APC) tarafından alınması, işlenmesi ve yüzeylerinde bulunan bazı moleküllere bağlanarak T hücrelerine sunulması gerekmektedir. Bu amaçla kullanılan yüzey molekülleri MHC molekülleridir (Zhao vd. 2011; Yalçın 2013).

Omurgalıların çoğunda bulunan MHC oldukça büyük bir genomik bölgeye sahip geniş bir gen ailesidir. Bu bölgeler MHC moleküllerini kodlamaktadır. İmmünite ve otoimmünitede önemli rol oynayan MHC gen bölgesi memelilerde iki alt familyadan (MHC sınıf I ve MHC sınıf II) oluşmaktadır (Li vd. 2006). Keçilerde MHC, keçî lenfosit antijen sistemi (caprine lymphocyte antigen - CLA) olarak da adlandırılır.

Sınıf I MHC molekülleri, neredeyse tüm hücrelerde bulunan ve kovalent olmayan bağlarla bir arada tutulan, iki polipeptid zincirinden (α ve β_2 mikroglobulin) oluşmuştur. MHC sınıf I'de başta CLA A, B ve C olmak üzere CLA E, F, G, H ve X molekülleri kodlanır. MHC sınıf I moleküllerinin ana görevi intrasitoplazmik yerleşim gösteren yabancı antijenleri CD8⁺ sitotoksik T hücrelerine sunmaktır (Davla, 2004; Li vd. 2006).

MHC sınıf II molekülleri, kovalent olmayan bağlarla bir arada tutulan α ve β olmak üzere iki adet transmembran glikoprotein zincirinden oluşan heterodimerlerdir. Her iki zincirin de hücre zarı dışında sırasıyla α_1 , α_2 ve β_1 , β_2 olmak üzere 2 domaini bulunmaktadır. α_1 ve β_1 kıvrımlarının tepe noktası molekülün en polimorfik kısmıdır ve bunların arasında oluşan bölgeye antijen bağlanır. Antijen bağlanma bölgesi aynı zamanda α ve β zincirlerinin birbiri ile bağlandığı bölgedir ve bu bölge MHC I molekülüne göre daha esnektir. Alfa zinciri A, beta zinciri ise B genleri tarafından kodlanmaktadır. Bu nedenle Sınıf II bölgesinde yer alan DR, DQ ve DP bölgeleri sırasıyla DRA, DRB, DQA ve DQB, DPA, DPB olarak ikiye ayrılmaktadır. DR bölgesinde alfa zincirini kodlayan tek bir gen bulunurken, beta zinciri için 9 farklı gen bölgesi bulunmaktadır. Bunların bir kısmı kodlama yapmayan genler olup; sadece DRB1, DRB3, DRB4, DRB5 kodlayıcı genlerdir ve farklı beta zincirlerini kodlamaktadırlar. MHC II moleküllerinin görevi fagositozla internalize edilen bakterileri CD4⁺ yardımcı T hücrelerine sunmaktır (Davla, 2004).

Çiftlik hayvanlarında MHC gen bölgesindeki polimorfizmler ile çeşitli hastalıklara direnç ve duyarlılık (Singh vd. 2012; Shen vd. 2014; Kim vd. 2015 Kannaki vd. 2017) ve termo-fizyolojik özellikler (Guang-Xin vd. 2015) arasında yüksek bir ilişki olduğu bildirilmektedir. Ayrıca MHC bağlı genler ile ırkî ve ırklar arasındaki genetik çeşitliliğin belirlenmesi ve filogenetik ilişkilerin ortaya konulduğu araştırmalara da rastlanılmaktadır (Salles vd. 2011; Guang-Xin vd. 2015). Aynı kökenden gelen, geçmişte aynı coğrafi geçmişî paylaşan hayvan grupları hastalıklara benzer dirençleri geliştireceği için MHC'ne bağlı genler filogenetik ilişkinin aydınlatılmasında oldukça kullanışlı markerler olarak karşımıza çıkmaktadır.

Amills vd. (2004) üç farklı bölgede yetiştirilen İspanyol dağ keçilerinde populasyon yapısını ve filogenetik ilişkiyi incelemişlerdir. Araştırmacılar çalışmada MHC sınıf II DRB gen bölgesindeki varyasyonları sekans analizi ve PCR-RFLP yöntemi ile araştırmışlardır. Ayrıca 13 mikrosatellit lokus ile tüm genomda genetik

çeşitliliği incelemişler ve MHC gen bölgesinden elde edilen veriler ile karşılaştırmışlardır. Araştırmacılar gözlenen heterozigotluğun düşük seviyelerde olduğunu (0.429-0.579) bildirmişlerdir. Ayrıca MHC lokuslarının populasyonlarda genetik çeşitliliğin, populasyon yapısının ve demografik geçmişinin aydınlatılmasında oldukça etkili olduğunu vurgulamışlardır.

Dongxiao ve Yuan (2004) yaptıkları çalışmada Mongolian koyunları, Mongolian keçileri, Kazak koyunları ve Kazak keçilerinin *DRB3* gen bölgesinde PCR-RFLP metodu kullanarak 18 genotip ve 7 allel tespit edilmiştir. Çalışmada kesim enzimi olarak *HaeIII* kesim enzimi kullanılmıştır. Analiz sonuçları ise Mongolian ve Kazak koyunları arasında genotipik ve allelik frekanslarında önemli farklılıklar bulunurken Mongolian ve Kazak keçileri arasında da aynı şekilde genotipik ve allelik frekanslarında önemli farklılıklar bulunmuştur. Bunun sebebi ise bu iki ırkın farklı bölgelerin coğrafi ve iklimsel koşullarında bulunmalarına yorumlanmıştır.

Li vd. (2006) 12 Çin yerel keçi populasyonundan toplam 459 örnekte MHC geninin *DRB* bölgesi 2. ekzonunda PCR-RFLP yöntemi ile allelik varyasyonu incelemişlerdir. Araştırmacılar çalışmadan elde ettikleri sonuçlara koyun ve sığır MHC genlerini de dahil ederek filogenetik ilişkiyi incelemişlerdir. *HaeIII* restriksiyon enzimi kullanılarak yapılan çalışmadan 6 farklı allel elde edilmiştir. Çalışmada elde edilen verilerden oluşturulan dendogramda ırklar genetik kökenlerine uygun olarak ayrılırken koyun ve sığırlardan daha farklı bir yerde kümelenmişlerdir. Araştırmacılar iklim, hastalık, topografya, mera koşulları ve patojenler gibi potansiyel farklı ekolojik faktörlerin keçi populasyonlarında allel ve genotip frekanslarını önemli ölçüde etkileyebileceğini ve bununda ırkların filogenetik ayrımında çok kullanışlı olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca MHC gen bölgesinin ekolojik faktörlerin etkisiyle farklılaşan genetik yapıyı değerlendirmede oldukça etkili olduğu vurgulanmıştır.

Baghizedah vd. (2009) Raeini kaşmir keçilerinde yaptıkları çalışmada PCR-RFLP metodu kullanılarak MHC sınıf II 2. ekzon *DRB* genindeki varyasyonu incelemişlerdir. Nested PCR işleminde P-I:5'-TATCCCGTCTCTGCAGCACTTTC-3'; P-II: 5'-TCGCCGCTGCACACTGAACTCTC-3' ve P-III 5'-CGT ACC CAG AGT GAG TGA AGT ATC-3' primerleri kullanılarak elde edilen 285 bp'lik PCR ürünleri, RFLP işlemi için *PstI* ve *TaqI* restriksiyon enzimleri ile kesime bırakılmıştır. *TaqI* restriksiyon enzimi ile kesim işlemi sonucu üç genotip (TT, Tt, tt), *PstI* restriksiyon enzimi ile kesim işlemi sonucu üç genotip (PP, Pp, pp) tespit edilmiştir. Populasyonda TT, Tt ve tt genotip frekanslarının sırasıyla 0.46, 0.44 ve 0.120 olarak; PP, Pp, pp genotip frekanslarının ise sırasıyla 0.21, 0.59 ve 0.20 olduğu bildirilmiştir.

Zhao vd. (2011) Güneybatı Çin'de yetiştirilen 10 yerli keçi ırkında MHC *DRB3* geninin ikinci ekzonundaki polimorfizmi PCR-RFLP yöntemiyle araştırmışlardır. Çalışmada PCR işleminde F:5'-TATCCCGTCTCTGCAGCACTTTC-3' ve R: 5'-TCGCCGCTGCACACTGAACTCTC-3' primerleri kullanılarak 285 bp'lik bantlar elde edilmiş daha sonra bu PCR ürünleri RFLP işlemi için *PstI* ve *HaeIII* restriksiyon enzimleri ile ayrı ayrı kesime bırakılmıştır. *PstI* restriksiyon enzimi ile kesim sonucunda 3 allel 4 genotip, *HaeIII* restriksiyon enzimi ile kesim sonucunda 8 allel 13 genotip olduğu raporlanmıştır. Araştırmacılar incelenen lokus için tüm keçi ırklarında tüm ırkların Hardy-Weinberg dengesinden saptığını bildirmişlerdir. Ayrıca çalışılan keçi ırklarının yapılan filogenetik analizlere göre kökenlerine ve coğrafi geçmişlerine

uyumlu olarak iki gruba ayrıldığını, Dazu ırkının Chengdu Grey, Jintang Black ve Nanjiang ırkları ile aynı kümede yer aldığını raporlamışlardır. Araştırmacılar MHC sınıf II DRB3 genindeki varyasyonun keçi ırkları arasındaki filogenetik ilişkinin gösterilmeinde kullanışlı olduğunu bildirmişlerdir.

Petlane vd. (2012) yaptığı bir çalışmada Saanen, Etawah Grade (PE) ve Etawah Grade-Saanen melezi (PESA) süt keçilerinde kronik mastitis için PCR-RFLP kullanarak TLR4 ve MHC-DRB genlerinin genetik polimorfizmini araştırmışlardır. TLR4 (382 bp) F:5'-AGA CAG CAT TTC ACT CCC TC-3'; R:3'-ACC ACC GAC ACA CTG ATG AT-3' ve CLA-DRB (285 bp) F:5'-TAT CCC GTC TCT GCA GCA CTT TC-3';R:5'-TCG CCG CTG CAC ACT GAA ACT CTC-3' primerleri kullanarak genomik DNA'nın çoğaltılması için PCR işlemi yapılmıştır. *TLR4* lokusu *AluI* enzimiyle muamele edilirken CLA-DRB lokusu *PstI* ve *TaqI* enzimleriyle kesim işlemi yapılmıştır. *TLR4* lokusunun *AluI* enzimiyle kesilmesiyle sonuçların monomorfik olduğunu ve her üç ırkın da allel T ile sabitlendiğini ve DRB lokusunun *TaqI* ve *PstI* enzimlerinin kesim sonuçları ise bütün ırklar için polimorfik olduğunu gösterilmiştir. Sonuçlar, *TLR4* için *AluI*'nin hastalıklara karşı direnç için iyi bir belirteç olmadığını, PIC sonuçları ise PE ve PESA'daki DRB lokusunun *TaqI* enzimi kesimi sonucu düşük olduğunu (PIC <0.25), PESA, PE ve DRB lokusu *PstI* kesimi için bütün keçi ırklarında orta derecede bilgilendirici olduğunu (0.25 <PIC <0.5) göstermiştir.

Singh vd. (2012) keçilerde MHC Sınıf II DRB gen bölgesindeki varyasyonlar ile tüberküloz hastalığına direnç ve duyarlılık arasındaki ilişkiyi incelemişlerdir. PCR-RFLP yönteminin kullanıldığı çalışmada önce P-I:5'-TAT CCC GTC TCT GCA GCA CTT TC-3'; P-II: 5'-TCGCCGCTGCACACTGAACTCTC-3' ve P-III 5'-CGT ACC CAG AGT GAG TGA AGT ATC-3' primerleri kullanılarak Nested PCR işlemi uygulanmış ve 285 bp'lik PCR ürünleri elde edilmiştir. Daha sonra RFLP işlemi için *PstI* ve *TaqI* restriksiyon enzimleri kullanarak P ve T olarak adlandırdıkları iki diallellik tek nükleotid polimorfizmi belirlenmiştir. Araştırmacılar çalışmada elde ettikleri genotipler ile dirençli ve duyarlı bireyler arasında yaptıkları ilişki analizleri sonucunda pp ve Tt genotiplerinin dirençli grupta önemli derecede yüksek (Pcorr < 0.001); P ile T allellerinin ise duyarlı bireylerde önemli derecede yüksek (Pcorr < 0.001) olduğunu bildirmişlerdir. Özetle çalışma sonunda p ve t allellerinin tüberküloza dirençle, P ve T allellerinin ise tüberküloza duyarlılıkla ilişkili olduğu raporlanmıştır.

Shrivastava vd. (2015) Rohilkhandi keçilerinde yaptıkları çalışmada, PCR-RFLP ve DNA sekans analizi teknikleriyle Majör Doku Uygunluk Kompleksi Sınıf II DRB1 gen bölgesindeki polimorfizmleri incelemişlerdir. Çalışmada DRB1 geni 2. ekzon üzerindeki bölge F:5'-TAT CCC GTC TCT GCA GCA CAT TTC-3' ve R:5'-TCG CCG CTG CAC ACT GAA ACT CTC-3' primerler kullanılarak PCR ile çoğaltılmış ve 284 bp uzunluğundaki bantlar elde edilmiştir. RFLP işlemi için PCR ürünleri *BsaI* ve *TaqI* restriksiyon enzimleri ile kesilmiş ve *BsaI* enzimi için iki, *TaqI* enzimi için üç genotip elde edilmiştir. Her iki RFLP işleminden elde edilen genotipler için populasyonun Hardy-Weinberg dengesinde (HWE) olduğu bildirilmiştir. Araştırmacılar ayrıca Rohilkhandi keçilerinde sekans analizinden elde ettikleri dizileri koyun ve keçi ırkları ile karşılaştırmış ve ilgili gen bölgesi için Rohilkhandi keçilerinin Garole ve Scottish blackface koyunları ile benzerlik gösterdiğini ve bu koyun ırklarında gastrointestinal nematodlara karşı dirençli olduğunu vurgulamışlardır.

Guang-Xin vd. (2015) Çin’de farklı coğrafi lokasyonlarda yetiştirilen 10 farklı yerel keçi ırkında genetik çeşitliliği MHC ile ilişkili dört mikrosatellit lokus (BF1, BM1818, BM1258 ve DYMS1) kullanarak incelemişlerdir. Çalışmada ortalama allel sayısının 4.75 (Hechuan white goat) ile 11.50 (Jianyang big ear goat) arasında; gözlenen heterozigotluğun ise 0.25 (Jining Qing goats) ile 0.54 (Chuannan black goats) arasında değiştiği bildirilmiştir. Araştırmacılar sonuç olarak ırkların geldikleri tarımsal-ekolojik bölgelere uyumlu olarak dört gruba ayrıldığını ve MHC gen bölgelerinin ırkların geçmişlerini aydınlatmada çok etkin olduğunu bildirmişlerdir.

Yakubu vd. (2017) üç Nijerya keçi ırkında (West African Dwarf (WAD), Red Sokoto (RS) ve Sahel (SH) keçi MHC-DRB geni 2. ekzonun PCR-RFLP genotipleriyle termo-fizyolojik özellikler arasındaki ilişkiyi incelemişlerdir. Çalışmada Amills vd. (1995) tarafından tanımlanan F:5’-TATCCCGTCTCTGCAGCACATTTC-3’, R:5’-TCGCCGCTGCACACTGAAACTCTC-3’ primerler kullanılarak 284 bp uzunluğundaki PCR ürünleri elde edilmiştir. Elde edilen PCR ürünleri *Bsa*HI, *Alu*I, *Hae*III, ve *Sac*II restriksiyon enzimleriyle kesim işlemi sonucu oluşan her bir genotipin rektal sıcaklık (TT), deri sıcaklığı (ST), solunum oranı (RR, dakikadaki solunum sayısı), nabız sayısı (PR, dakikadaki nabız sayısı) gibi termo-fizyolojik özelliklerle ilişkisi incelenmiştir. Araştırmacılar AA (*Bsa*HI), GG, GC ve CC (*Alu*I) ile GG, GA, AA (*Hae*III) genotiplerinin ısıya tolerans bakımından daha iyi olduğunu belirtmişlerdir. Çalışmada SH ve RS ırklarının ısıya tolerans yeteneklerinin WAD ırkına göre daha iyi olduğu belirtilmiştir. Araştırmacılar MHC genlerinin adaptif seleksiyonu çok iyi yansıttığını ve ırkların filogenetik analizlerinde oldukça kullanışlı olduğunu belirtmişlerdir.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

Gerçekleştirilen bu tez çalışmasının materyalini Honamlı, Kıl, Kabakulak ve Norduz keçilerine ait kan örneklerinden izole edilen DNA'lar oluşturmıştır. Çalışmada kullanılan kan örnekleri Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından FBA-2017-2334 proje numarası ile desteklenen “Antalya İlinde Yetiştirilen Kıl Keçisi Populasyonlarında Genetik Varyasyonun Mikrosatellit Markerler Kullanılarak Belirlenmesi” başlıklı proje kapsamında temin edilmiştir. Çalışmada Kıl keçilerine ait kan örnekleri Manavgat, Akseki ve Kaş ilçelerindeki üç farklı işletmeden, Honamlı keçilerine ait örnekler Korkuteli ve Elmalı ilçelerindeki üç farklı işletmeden, Kabakulak keçilerine ait kan örnekleri Kaş ilçesindeki üç farklı işletmeden ve Norduz keçilerine ait kan örnekleri ise Van ilindeki iki farklı işletmeden alınmıştır. Yürütülen araştırmada Kıl keçilerine ait 40, Honamlı ve Kabakulak keçilerine ait 30’ar, Norduz keçilerine ait 20 örnek olmak üzere toplam 120 örnek kullanılmıştır. Gerçekleştirilen çalışma Akdeniz Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından 763/2018.10.10 protokol numarası ile onaylanmıştır.

3.1.1. Çalışmada kullanılan araç ve gereçler

DNA izolasyonu, PCR ve PCR-RFLP işlemleri Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootekni Bölümü Genetik Laboratuvarı’nda gerçekleştirilmiştir. Laboratuvar bünyesinde DNA izolasyonu (Su banyosu, vorteks, santrifüj, hassas terazi), PCR işlemleri (Thermal Cycler, otomatik pipetler) ve görüntüleme sistemleri (Yatay Elektroferez Takımları) mevcuttur. Mikrosatellit lokusların fragment büyüklüklerinin belirlenmesi ise Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü Genetik Laboratuvarı’nda bulunan otomatik kapiller fragment analiz cihazı (Fragment Analyzer-Advanced Analytical Technologies-AATI, Ames, Iowa, USA) kullanılarak yapılmıştır.

3.2. Metot

3.2.1. Genomik DNA izolasyonu

Gerçekleştirilen Yüksek lisans tezinde genomik DNA’nın izolasyonunda Miller vd (1988) tarafından bildirilen DNA izolasyon protokolü laboratuvar koşullarına optimize edilerek aşağıdaki şekilde uygulanmıştır.

1. -20 °C’de muhafaza edilen kan örnekleri çözülene kadar oda sıcaklığında (24–25 °C) bekletilmiştir.
2. Her bir kan örneğinden 500 µl alınarak 1.5 ml’lik ependorf tüp içine konulmuştur.
3. Örneklerin üzerine 1.000 µl Eritrosit Lisis Tampon Çözeltisi(Çizelge 3.1.) ilave edilmiş ve kısa bir süre vorteksle iyice karıştırılarak 10 dakika oda sıcaklığında bekletilmiştir.
4. Bekletme süresinin sonunda örnekler 3.000 rpm de 10 dk santrifüj edilmiştir.
5. Ependorf tüplerin üst kısmında toplanan sıvı kısım (süpernatant) dikkatli bir şekilde uzaklaştırılmıştır. Dipte kalan peletlerin (hücre kısmı) rengi gözlenerek peletlerin rengi beyaz olana kadar Eritrosit Lisis Tampon Çözeltisi ile tekrar (ortalama 2-3 defa) muamele edilmiştir.

6. Peletlerin üzerine 1.000 µl Fizyolojik Tampon Çözeltisi (Çizelge 3.1.) eklenmiş ve kısa bir süre karıştırılmıştır.
7. Örnekler 3.000 rpm de 10 dk santrifüj edilmiş ve santrifüj sonunda sıvı kısım dikkatli bir şekilde tekrar uzaklaştırılmıştır.
8. Peletlerin üzerine 600 µl Lisis TE Tampon Çözeltisi (Çizelge 3.1.) eklenmiş ve peletlerin iyice çözünmesi sağlanmıştır.
9. Çözülen peletlerin üzerine 100 µl SDS solusyonu ve 5 µl proteinaz K (20 mg/ml) eklenerek hafifçe karıştırılmış ve 65 °C’de 1.5 saat su banyosunda tutulmuştur. İnkübasyon süresince her 15 dakikada bir hafifçe karıştırılmıştır.
10. İnkübasyondan çıkarılan örneklerin üzerine 200 µl 6M NaCl Çözeltisi (Çizelge 3.1.) eklenmiş ve 15 dk vorteksle iyice karıştırılmıştır.
11. Örnekler 10.000 rpm de 10 dk santrifüj edilmiştir.
12. Santrifüj sonunda üstte kalan ve DNA moleküllerini içeren sıvı kısım yeni bir ependorf tüp içine koyulmuştur.
13. Örnekler 10.000 rpm de 5 dk tekrar santrifüj edilmiş ve yine üstte kalan sıvı kısım yeni bir ependorf tüp içine alınmıştır.
14. Örnekler üzerine örnek hacminin iki katı hacimde (yaklaşık 1.000 µl) %99,9’luk saf etil alkolden (–20 °C’de saklanan) ilave edilmiştir.
15. Etil alkol ilave edildikten sonra ependorf tüpü DNA iplikçikleri kümeleşinceye kadar 10-15 kez hafifçe karıştırılmıştır.
16. Kümeleşen DNA’ların tüpün dibine çökmesi için 10.000 rpm de 5 dk santrifüj edilmiştir.
17. Santrifüj sonunda etil alkol uzaklaştırılarak tüpün dibine çökmüş olan DNA peletinin üzerine 1.000 µl %70’lik etil alkol ilave edilerek 10.000 rpm de 5 dk santrifüj edilmiştir.
18. Santrifüj işleminden sonra tüpün üstünde yer alan alkol uzaklaştırılmıştır.
19. Tüp içindeki alkolün tamamen uzaklaşmasını sağlamak amacıyla örnekler çeker ocak içinde kurumaya bırakılmıştır.
20. Tamamen kuruyan örnekler üzerine 100 µl TE Tampon Çözeltisi (Çizelge 3.1.) ilave edilmiş olup, DNA peletinin çözülmesi için bir gece buzdolabında +4 °C’de bekletilmiştir.
21. Genomik DNA izolasyonunun miktar ve saflık kontrollerinin yapılmasında NanoDrop Spektrofotometre’den yararlanılmış ve elde edilen veriler bilgisayar ortamına aktarılmıştır.
22. Örneklerden izole edilen genomik DNA moleküllerinin tek parça olup olmadıklarının (kırılıp kırılmadığı) kontrolleri %1’lik agaroz jellerinde yapılmıştır.

Çizelge 3.1. DNA izolasyonu için kullanılan tampon çözeltilerin molaritesi/miktarı ve içerikleri

Tampon Çözelti	Molarite/Miktar	İçerik
Eritrosit Lisis Tampon Çözeltisi	0,32 M 10 mM 5 mM	Sukroz EDTA MgCl ₂
Fizyolojik Tampon Çözeltisi	75 mM 25 mM	NaCl EDTA
Lisis TE Tampon Çözeltisi	500 mM 20 mM 10 mM	Tris-HCl EDTA NaCl
TE Tampon Çözeltisi	10 mM 1mM	Tris EDTA
6M NaCl Çözeltisi	3.51 g 10 ml'ye tamamlanır	NaCl Deiyonize H ₂ O

3.2.2. Genomik DNA miktarının hesaplanması

DNA izolasyon işleminin başarılı olup olmadığı %1'lik agaroz jel ile kontrol edilmiştir. Agaroz jelin hazırlanmasında 1 gr agaroz, 100 ml 1X TAE (Tris-Acetate-EDTA) ve 3 µl Etidyum Bromür kullanılmıştır. Karışım mikrodalga fırında ısıtıldıktan sonra musluğun altında suya tutularak 50°C civarına düşürülmüş ve jel kabına kabarcık oluşmayacak şekilde yavaşça dökülmüş ve oda sıcaklığında soğumaya bırakılmıştır. Daha sonra jel elektroforez tankına alınmış ve 5 µL DNA örneği 1 µL 6X Loading Dye ile karıştırıldıktan sonra kuyulara yüklemiş ve 80 V/h elektroforez işleminde 15 dakika yürütülmüştür. DNA izolasyonu başarılı olan örneklerde DNA miktar ve kalitesinin belirlenmesi için spektrofotometre kullanılmıştır. DNA miktarları belirlenmesinden sonra PCR işleminde kullanılmak üzere DNA'lar 50 ng/µl olacak şekilde ayarlanmıştır. Miktarı ayarlanan DNA örnekleri PCR işlemine kadar -20'de saklanmıştır.

3.2.3. Mikrosatellit ve PCR-RFLP analizleri

Kaynak taramaları kısmında da belirtildiği üzere keçilerde tüberküloz hastalığına direnç ve ısıya tolerans ile ilişkili olduğu belirlenen MHC'ne bağlı çok sayıda lokus vardır. Ayrıca keçi populasyonlarında MHC'ne bağlı mikrosatellit lokuslar ile genetik çeşitliliğin ve filogenetik analizlerin yapıldığı çalışmalar mevcuttur.

Bu çalışma kapsamında daha önce değişik keçi populasyonlarında yapılan çalışmalarda Tüberküloz ile ilişkili olduğu belirtilen MHC sınıf II DRB gen bölgesinde *PstI* ve *TaqI* polimorfizmleri ve yine MHC sınıf II DRB gen bölgesindeki *BsaHI* ve *AluI* polimorfizmleri PCR-RFLP yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Çalışılan populasyonlarda genetik çeşitlilik ve filogenetik analizler için MHC gen bölgesindeki beş mikrosatellit lokusu kullanılmıştır.

Yürütülen yüksek lisans tezinde çalışılan lokuslar, PCR işleminde kullanılan primer dizileri ve kullanılan yöntemler Çizelge 3.2'de özetlenmiştir.

Çizelge 3.2.Çalışmada kullanılan lokuslara ait bazı temel bilgiler

	Gen	Yöntem	Primer	PCR Ürünleri (bç)	RE Enzimi	Kaynak
Tüberküloz	MHC sınıf II DRB bölgesi	PCR-RFLP	F: 5'- TATCCCGTCTCTGCAGCACATTTC-3' R: 5'- TCGCCGCTGCACACTGAACTCTC-3'	284	<i>Pst</i> I, <i>Taq</i> I	(Amils vd. 1995; Singh vd. 2012)
Isıya Tolerans	MHC sınıf II DRB bölgesi				<i>Bsa</i> HI, <i>Alu</i> I	(Yakubu vd. 2017)
Genetik Çeşitlilik	BF1	Mikrosatellit	F: 5'- CAACGGTCTGCAACCGAATTACC-3' R: 5'- CAATCCGTGGGTTGGAACACAA-3'	159-165		(Salles vd. 2011; Guang-Xin vd. 2015; Boz kaya vd. 2007)
	BM1818		F: 5'- AGCTGGGAATATAACCAAAGG-3' R: 5'- AGTGCTTTCAAGGTCCATGC-3'	244-266		
	BM1258		F: 5'- GTATGTATTTTCCACCTGC-3' R: 5'- GTCAGACATGACTGAGCCTG-3'	98-126		
	DYMS1		F: 5'- TCCTGGGGATTCCCAATACC-3' R: 5'- CATAGAGTCTTCACTGGTG-3'	171-199		
	SMHCC1		F: 5'- ATCTGGTGGGTACAGTCCATG-3' R: 5'- GCAATGCTTTCTAAATTCTGA-3'	175-199		

3.2.4. PCR-RFLP Analizleri

Çalışmada MHC sınıf II DRB gen bölgesindeki polimorfimlerin belirlenmesi için PCR-RFLP işlemi uygulanmıştır. PCR işleminde Çizelge 3.2’de belirtilen primerler kullanılmıştır. PCR programı ile bileşenleri Çizelge 3.3’de özetlenmiştir. PCR işlemleri (Thermo Arktik) marka Gradient Thermal Cycler’da AmpONE (GeneAll) marka Taq DNA polimeraz seti kullanılarak gerçekleştirilmiştir. PCR işlemleri 0.2 ml’lik PCR tüplerinde son hacim 50 µl (4µl DNA + 46µl PCR karışımı) olacak şekilde uygulanmıştır.

Çizelge 3.3. PCR programı ve bileşenleri

PCR Bileşeni	Miktar µl (1X)	PCR programı	
ddH ₂ O	30.9	İlk denatürasyon	94°C de 5 dk
HQ buffer	3.2	Denatürasyon	94°C de 45 sn
10X buffer	5	Bağlanma	63 °C de 45 sn
dNTPs	5 (2,5 mM/ µl)	Uzama	72 °C de 45 sn
Forward Primer	0.8 (10 pmol/µl)	Son uzama	72 °C de 10 dk
Reverse Primer	0.8 (10 pmol/µl)		
Taq	0.3		
DNA	4		

35 döngü

PCR işlemlerinin sonuçları agaroz jel ile kontrol edilmiştir. PCR işlemi ile çoğaltılan DNA fragmentleri 9µl PCR ürünü 1µl dye (boya) olacak şekilde toplam 10µl hacminde % 1.5’ lik agaroz jele yüklenmiş ve 75 V’da 60-90 dk arasında yürütülmüştür. Bu sayede MHC sınıf II DRB bölgesi için çoğaltıldığı düşünülen 284 bç uzunluğundaki

PCR ürünlerinin jelde ayrılması sağlanmış ve bu bantlar görüntüleme cihazında UV ışık altında görünür hale getirilmiştir. Daha sonra PCR işlemlerinde başarı ile çoğaltılan örneklerin RFLP işlemi için restriksiyon enzimleri (RE) ile kesimine geçilmiştir.

RFLP işlemi için PCR ürünleri Çizelge 3.2’de verilen restriksiyon enzimleri ile kesime bırakılmıştır. Kesim işlemi için 10 µl PCR ürünü, 5 µl ddH₂O, 4.5µl enzim buffer ve 0.5 µl (5U) kesim enzimi olacak şekilde toplam hacim 20 µl olarak kesime bırakılmıştır. Kesim işlemi 0.2 ml’lik PCR tüpleri kullanılarak Thermal Cycler cihazında gerçekleştirilmiştir. Kesim işlemi üretici firma tarafından RE’lerinin ürün kataloglarında belirtilen kesim sıcaklıklarında dört saat süre ile yapılmıştır.

Kesim işleminden sonra kesim ürünlerinin kontrolü yani keçi populasyonlarında mevcut genotiplerin tespiti için tekrar agaroz jel elektroforez işlemi gerçekleştirilmiştir. Bu işlem için kesim ürünlerinin olası bant büyüklüklerine göre % 2-3 arası yoğunlukta agaroz jel hazırlanmıştır (Çizelge 3.3). 10 µl kesim ürünü ve 1 µl yükleme boyası (loading dye) olacak şekilde 11 µl olarak jelin kuyucuklarına yüklenen kesim ürünleri, 60 V’da ortalama 120 dk yürütülmüştür. Elektroforez sonucunda bantların büyüklüklerine bakılarak çalışılan keçi populasyonlarının ilgili genler için hangi genotipleri taşıdığına karar verilmiştir.

Çizelge 3.4. PCR-RFLP işlemi sonunda oluşması beklenen bant büyüklükleri

Gen	RE Enzimi	PCR Ürünleri (bç)	Kesim Ürünleri (bç)
MHC sınıf II DRB bölgesi	<i>PstI</i>	284	PP: 226, 44, 15 Pp: 270, 226, 44, 15 pp: 270, 15
MHC sınıf II DRB bölgesi	<i>TaqI</i>		TT: 163, 121 Tt: 284, 163, 121 tt: 284
MHC sınıf II DRB bölgesi	<i>BsaHI</i>		GG: 174,112 GA: 284,174, 112 AA: 284
MHC sınıf II DRB bölgesi	<i>AluI</i>		GG: 158, 84, 42 GC: 200, 158, 84, 42 CC: 200, 84

3.2.5. Mikrosatellit Analizleri

Çalışılan keçi ırklarını oluşturan populasyonlardaki mevcut genetik çeşitlilik ve bu ırklar arasındaki filogenetik ilişki MHC bağlı beş mikrosatellit lokus kullanılarak incelenmiştir. Mikrosatellit marker yöntemi DNA üzerinde tekrarlı bölgelerdeki farklılıkların belirlenmesi esasına dayanmaktadır. PCR ile çoğaltılan tekrarlı bölgelerin büyüklüğü kapiller elektroforez sistemleri ile belirlenir. Gerçekleştirilen çalışmada kullanılan PCR programı ve içerikleri Çizelge 3.5’de gösterilmiştir. PCR işlemleri (Thermo Arktik) marka Gradient Thermal Cycler’da AmpONE (GeneAll) marka Taq DNA polimeraz seti kullanılarak gerçekleştirilmiştir. PCR işlemleri 0.2 ml’lik PCR tüplerinde son hacim 40 µl (2.5µl DNA + 37.5µl PCR karışımı) olacak şekilde yapılmıştır.

Çizelge 3.5. Mikrosatellit lokusların çoğaltılması için PCR programı ve bileşenleri

PCR Bileşeni	Miktar μ l (1X)	PCR programı	
H ₂ O	23.6	İlk denatürasyon	94°C de 5 dk
HQ buffer	4	Denatürasyon	94°C de 45 sn
10X buffer	4	Bağlanma	55-58 °C de 45 sn
dNTPs	5 (2,5 mM/ μ l)	Uzama	72 °C de 45 sn
Forward Primer	0.3(10 pmol/ μ l)	Son uzama	72 °C de 10 dk
Reverse Primer	0.3(10 pmol/ μ l)		
Taq	0.3		
DNA	2,5		

30 döngü

PCR işleminin başarılı olup olmadığı %1’lik agaroz jel kullanılarak kontrol edilmiştir. 10 μ l PCR ürünü ve 1 μ l loading dye(yükleme boyası) toplam hacim 11 μ l olacak şekilde jele yüklenmiştir. 75V’da 60 dk yürütülen örnekler görüntüleme cihazına konularak tahmini büyüklüklerine karar verilmiştir. Çalışmayan örneklerin PCR işlemi tekrarlanmıştır. Bu sayede çalışmayan örneklerin fragment analiz cihazına yüklenmesi engellenmiş ve burada oluşabilecek ekonomik kayıpların önüne geçilmiştir.

PCR ürünlerinin büyüklükleri 96’lık otomatik kapiller elektrofoz sisteminde (Advanced Analytical Technologies-AATI, Ames, Iowa, USA) Advanced Analytical DNF-900 (35-500 bp) kullanılarak tespit edilmiştir. Kullanılan jel 35-500 bp aralığında okuma yapmaktadır. PCR ürünleri cihaza 96’lık PCR plakalarında (Axgen PCR-96-FLT-C), her kuyucuğa 3 μ l PCR ürünü ve 22 μ l dilution buffer gelecek şekilde son hacim 25 μ l olarak yüklenmiştir.

3.2.6. İstatistik analizler

MHC sınıf II DRB gen bölgesindeki tüberküloz ve ısıya tolerans ile ilişkili farklı tek nükleotid polimorfizmleri (SNPs) PCR-RFLP analizleri ile belirlenmiştir. Bu lokuslar için gen ve genotip frekansları POPGENE (Yeh vd 1997) paket programı kullanılarak hesaplanmıştır. Ayrıca çalışılan keçi ırklarında her gen bölgesi için Hardy Weinberg dengesinden sapma olup olmadığı ki-kare (χ^2) testi (Hartl and Clark 1989) ile test edilmiştir.

MHC sınıf II DRB geni üzerindeki tekrarlı bölgeler üzerindeki farklılıklar Mikrosatellit yöntemi ile belirlenerek genetik çeşitlilik analizleri için kullanılmıştır. Bu amaçla mikrosatellit analizlerle elde edilen verilerden allel genişlikleri (AG) ve gen frekansları CONVERT (Glaubitz 2004) programı kullanılarak belirlenmiştir. Ayrıca elde edilen verilerin diğer programların veri formatına dönüştürülmesinde ve özgün allillerin belirlenmesinde CONVERT (Glaubitz 2004) programı kullanılmıştır. Allel sayısı (Na), etkili allel sayısı (Ne), gözlenen ve beklenen heterozigotluk değerleri (Ho ve He) POPGENE (Yeh vd. 1997) paket programı kullanılarak hesaplanmıştır. Kullanılan

mikrosatellit lokusların genetik varyasyonu göstermedeki gücü olan Polimorfizm bilgi içeriği (PIC) değerleri Microsatellite Toolkit (Park 2001) uygulaması ile belirlenmiştir.

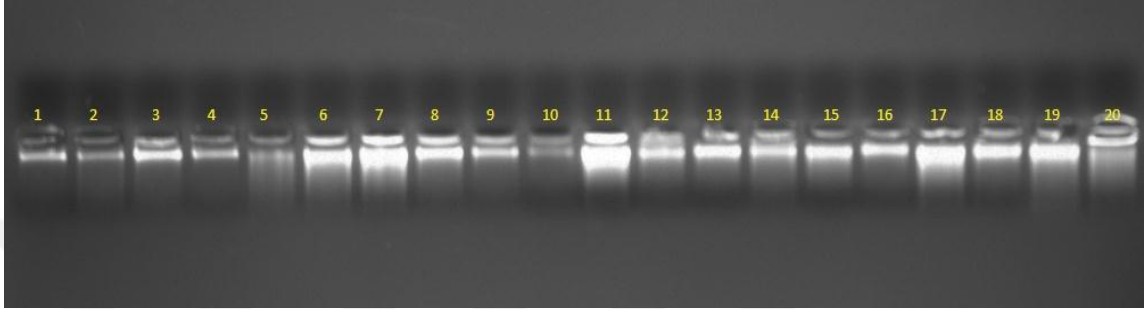
Populasyonlardaki akrabalık seviyesinin göstergesi olan akrabalı yetiştirme katsayısı değerleri (F_{IS}) Fstat v.1.2 (Goudet 1995) programı ile elde edilmiştir. Mevcut genetik varyasyonun ne kadarının populasyonlardan ne kadarının populasyonlardaki bireylerden kaynaklandığını ortaya koymak için Arlequin v. 3.5. (Excoffier vd 2006) paket programında Moleküler Varyans Analizi (Analysis of Molecular Variance, AMOVA) Arlequin gerçekleştirilmiştir. Ayrıca Çalışılan dört farklı keçi populasyonunda beş mikrosatellit lokus için null allellerin varlığı ML-NULLFREQ programı (Kalinowski ve Taper 2006) kullanılarak test edilmiştir.

Populasyonlar arasındaki filogenetik ilişkinin belirlenmesi amacıyla Mikrosatellit ve PCR-RFLP lokuslar birlikte değerlendirilmiştir. Bu amaçla UPGMA (Unweighted Pair-Group Method with Arithmetic Mean) dendogramı, NJ (Neighbor Joining) ağacı, Faktöriyel İlişki Analizi (FCA, factorial correspondence analysis) ile Structure kümeleme analizleri yapılmıştır. UPGMA dendogramı ve NJ ağacı Poptree v.2 (Takezaki vd. 2010) programı ile FCA analizi Genetix v. 4.05 (Belkhir vd. 2004) programı ile Structure kümeleme analizi ise Structure 2.2. (Pritchard vd. 2000) programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Structure kümeleme analizinde en iyi K değerinin (en uygun grup sayısı) belirlenmesinde Structure Harvester (Earl and von Hold 2012) uygulaması kullanılmış ve kümeleme görsellerinin elde edilmesinde web tabanlı CLUMPAK (Kopelman vd. 2015) uygulaması kullanılmıştır.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

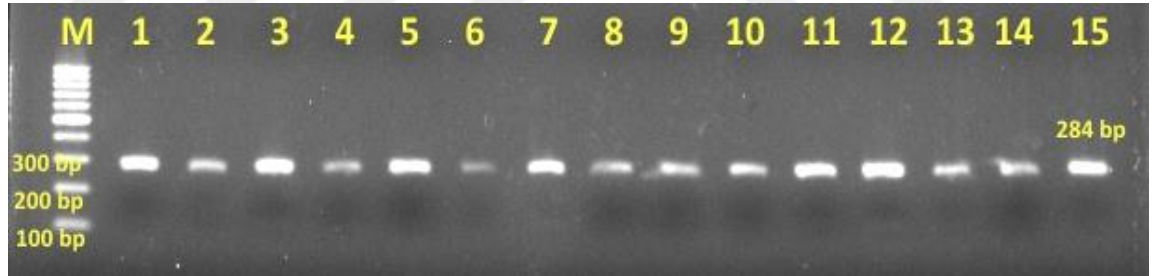
4.1. DNA İzolasyonu ve PCR İşlemi

DNA miktarlarının yaklaşık olarak 100-800 ng/μl arasında değiştiği tespit edilmiştir. Elde edilen DNA'lar PCR uygulaması için 50 ng/μl olacak şekilde seyreltilmiştir. DNA izolasyonu başarısız olan örneklerde izolasyon işlemi tekrar edilmiştir.



Şekil 4.1. DNA izolasyonu agaroz jel görüntüsü (%1)

Çalışılan keçi populasyonlarında Tüberküloz hastalığına direnç ve ısıya tolerans için MHC sınıf II DRB bölgesinde PCR-RFLP analizleri ile genotipler belirlenmiştir. İlgili gen bölgesinde tüm polimorfik bölgeler için öncelikle PCR işleminde 284 bp büyüklüğünde DNA parçaları çoğaltılmıştır (Şekil 4.2).

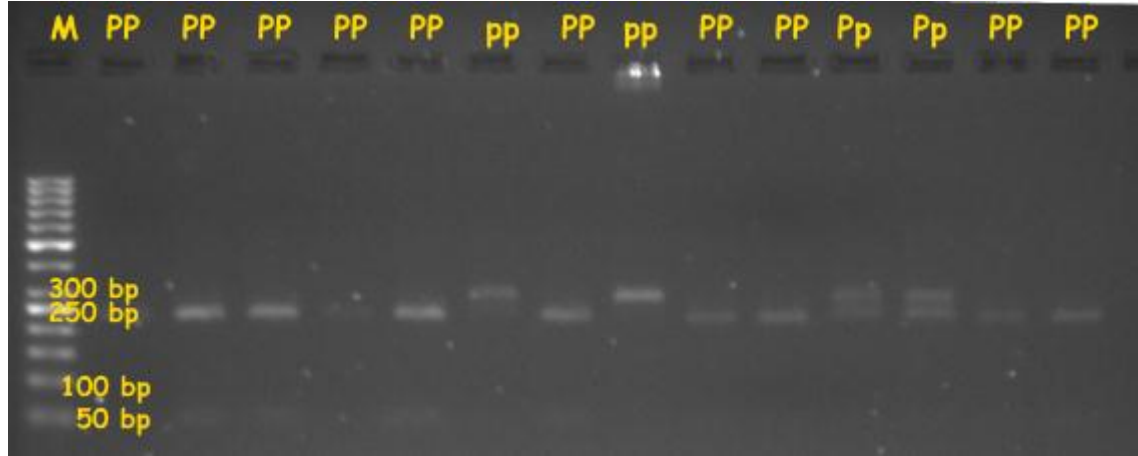


Şekil 4.2. MHC sınıf II DRB bölgesi için PCR ürünlerinin agaroz jel görüntüsü
Marker (M): Thermo 100 bp; Kat. No: SM0241; %1'lik agaroz jel

4.2. Tüberküloza Direnç Genotipleri İçin RFLP Analizleri

4.2.1. *Pst*I polimorfizmi

Çalışılan keçi populasyonlarında Singh vd. (2012) tarafından Tüberküloza dirençli olduğu bildirilen genotiplerin tespiti için 284 bp uzunluğundaki PCR ürünleri *Pst*I restriksiyon enzimi ile kesilmiştir. Kesim işlemi sonrası elde edilen bantlara ait agaroz jel görüntüsü Şekil 4.3'de verilmiştir. Kesim işlemi sonucu PP genotipi için 15, 44 ve 226 bp'lik üç bant, Pp genotipi için 15, 46, 226 ve 270 bp'lik dört bant, pp genotipi için 15 ve 270 bp'lik iki bant oluşması gerekmektedir. Singh vd. (2012) tarafından pp genotipini taşıyan hayvanların tüberküloza daha dirençli olduğunu bildirilmiştir. Dolayısıyla p alleli direnç allelidir.



Şekil 4.3. PCR ürünlerinin *PstI* restriksiyon enzimi ile kesimi

Marker (M): Thermo 50 bp; Kat. No: SM0371; %3'lik agaroz jel

Çalışılan keçi populasyonlarında P allel için en yüksek allel frekansı Norduz keçilerinde (0.95) en düşük ise Kabakulak keçilerinde (0.73) elde edilmiştir. Çalışılan populasyonlarda PP genotipinin frekansı 0.57 (KBK) ile 0.90 (NRD) aralığında olmuştur. Pp genotipinin frekansı 0.10 (NRD) ile 0.33 (KBK) aralığında değişirken pp genotipinin frekansı 0.00 (NRD) ile 0.100 (HNM ve KBK) aralığında değişmiştir. Yapılan ki-kare testi sonuçlarına göre Honamlı keçilerinde MHC sınıf II DRB geni *PstI* polimorfizmi için Hardy-Weinberg dengesinden sapma gözlenirken KIL, KBK ve NRD populasyonlarının Hardy-Weinberg dengesinde olduğu tespit edilmiştir

Çizelge 4.1. *PstI* enzimi ile kesim işlemi sonucu oluşan gen ve genotip frekansları

İrk	n	Allel Frekansı		Genotip Frekansı			χ^2
		P	p	PP	Pp	pp	
KIL	34	0.81	0.19	0.68(23)	0.26(9)	0.06 (2)	0.89 ^a
HNM	31	0.82	0.18	0.74 (23)	0.16 (5)	0.10 (3)	6.20*
KBK	30	0.73	0.27	0.57 (17)	0.33 (10)	0.10 (3)	0.65 ^a
NRD	20	0.95	0.05	0.90 (18)	0.10 (2)	0.00 (0)	0.06 ^a

$\chi^2_{0.01;1}:3.84$; $\chi^2_{0.05;1}:6.63$; * $p<0.05$; ** $p<0.01$; a: Hardy-Weinberg dengesinden sapma önemsiz

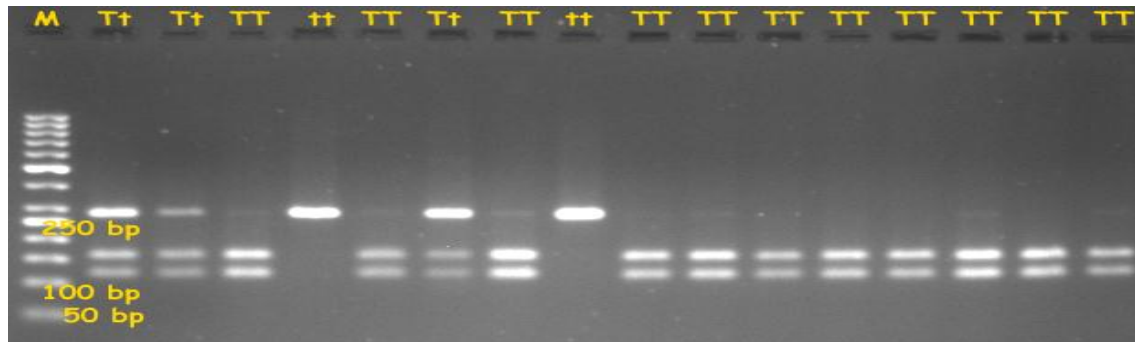
Singh vd. (2012) Hindistan'da yetiştirilen Jamunapari keçilerinde Tüberküloza duyarlı grupta pp genotip frekansını %65.04 olarak tespit ederken, Tüberküloza dirençli grupta bu genotipin frekansını %90 olarak bildirmişlerdir. Yine aynı araştırmacılar tarafından yapılan çalışmada tüberküloza duyarlı grupta p allelinin frekansının 0.79, tüberküloza dirençli grupta ise 0.95 olduğu bildirilmiştir. Gerçekleştirilen yüksek lisans tez çalışmasında Türkiye'de yetiştiriciliği yapılan KIL, HNM, KBK ve NRD keçilerinde elde edilen p allel frekansı Singh vd. (2012) tarafından Jamunapari

keçilerinde bildirilen değerden çok daha düşüktür. Patlane vd. (2012) Endonezya’da yetiştirilen Saanen, Etawah Grade-Saanen melezi (PESA) ve Etawah Grade (PE) keçilerinde p allel frekanslarını sırasıyla 0.28, 0.35 ve 0.39 olarak bildirmişlerdir. Bu değerler sunulan bu çalışmada KIL, HNM, KBK ve NRD keçilerinde elde edilendeğerlere göre nispeten yüksek olmuştur. Diğer iki çalışmada tüberküloza direnç alleli olan p allel frekansının yerli keçi ırklarımıza oranla yüksek olmasının farklı nedenleri olabilir. Bu nedenlerden en önemlisinin diğer ırkların yetiştirildiği bölgelerdeki tüberküloz görülme sıklığının ülkemize göre çok daha fazla olması oluğu düşünülmektedir. Dünyada ruminantlar arasında Tüberküloz Afrika ve Güney Asya’da diğer bölgelere göre daha yaygın olarak görülmektedir (Humblet vd. 2009). Diğer çalışmaların gerçekleştirildiği ülkeler Hindistan ve Endonezya gibi Güney Asya ülkeleridir. Burada yetiştirilen hayvanların uzun yıllar içerisinde bu hastalığa karşı daha fazla direnç geliştirmiş olabileceği düşünülmektedir.

KIL, HNM ve KBK keçilerinde tüberküloza direnç alleli olan “p” allelinin frekansı NRD keçilerindeki frekansa göre nispeten daha yüksektir. Yürütülen tez çalışmasında “p” alleleline ait en yüksek allel frekansı KBK keçilerinde tespit edilmiştir. Çalışılan ırkların hepsinde tüberküloza direnç alleli olan p allelinin varlığı tespit edilmiştir. Ayrıca HNM ırkı dışındaki populasyonların ilgili gen bölgesi bakımından Hardy-Weinberg dengesinde olduğu görülmüştür. Bu sonuçlar çalışılan yerli keçi genotiplerinde MHC sınıf II DRB geni bakımından yeterli genetik varyasyona sahip olduğuna ve bu genin MAS çalışmalarında kullanılabileceğine işaret etmektedir.

4.2.2. *TaqI* polimorfizmi

MHC sınıf II DRB bölgesi üzerinde Tüberküloz hastalığına direnç ile ilişkili olduğu bildirilen bir diğer polimorfizm *TaqI* restriksiyon enzimi ile belirlenmektedir. 284 bç uzunluğundaki PCR ürünlerinin *TaqI* restriksiyon enzimi ile kesilmesi sonucu TT genotipi için 163 ve 121 bç uzunluğunda iki bant, Tt genotipi için 284, 163 ve 121 bç uzunluğunda üç bant, tt genotipi için 284 bç uzunluğunda tek bant elde edilmesi gerekmektedir. Oluşması muhtemel bu genotiplerden Tt genotipini taşıyan hayvanların Tüberküloza daha dirençli olduğu bildirilmiştir (Singh vd. 2012). PCR ürünlerinin *TaqI* restriksiyon enzimi ile kesimine ait agaroz jel görüntüsü Şekil 4.4’de verilmiştir.



Şekil 4.4. PCR ürünlerinin *TaqI* restriksiyon enzimi ile kesimi

Marker (M): Thermo 50 bp; Kat. No: SM0371; %3’lik agaroz jel

Tüm keçi populasyonlarında MHC sınıf II DRB bölgesinin *TaqI* restriksiyon enzimi için polimorfik olduğu tespit edilmiştir. MHC sınıf II DRB bölgesinin *TaqI* enzimi ile kesim işlemi sonucu oluşan gen ve genotip frekansları Çizelge 4.2’de verilmiştir. Tüberküloza direnç genotipi olan Tt genotipinin frekansı en yüksek KIL keçilerinde (0.59) ortaya çıkarken düşük HNM keçilerinde (0.27) elde edilmiştir. “t” alleleline yönelik allel frekansları çalışılan ırklarda 0.20 (HNM) ile 0.51 (KBK) aralığında değişirken çalışılan tüm ırkların MHC sınıf II DRB geni *TaqI* polimorfizmi için Hardy-Weinberg dengesinde olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.2. *TaqI* enzimi ile kesim işlemi sonucu oluşan gen ve genotip frekansları

İrk	n	Allel Frekansı		Genotip Frekansı			χ^2
		T	t	TT	Tt	tt	
KIL	39	0.65	0.35	0.36 (14)	0.59 (23)	0.05 (2)	3.58 ^a
HNM	30	0.80	0.20	0.67 (20)	0.27 (8)	0.06 (2)	0.83 ^a
KBK	30	0.49	0.51	0.20 (6)	0.57 (17)	0.23 (7)	0.54 ^a
NRD	20	0.60	0.40	0.45 (9)	0.30 (6)	0.25 (5)	2.82 ^a

$\chi^2_{0.01;1}:3.84$; $\chi^2_{0.05;1}:6.63$; * $p<0.05$; ** $p<0.01$; a: Hardy-Weinberg dengesinden sapma önemsiz

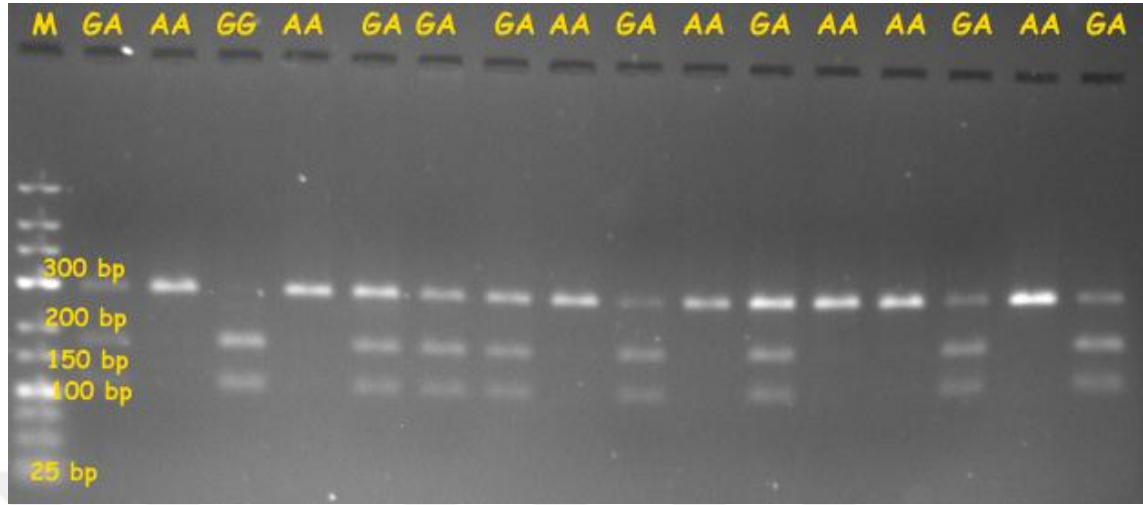
Singh vd. (2012) Jamunapari keçilerinde Tüberküloza direnç genotipinin (Tt) frekansını dirençli grupta 0.70, duyarlı grupta 0.45 olarak, Patlane vd. (2012) Saanen, Etawah Grade-Saanen melezi (PESA) ve Etawah Grade (PE) keçilerinde sırasıyla 0.39, 0.17 ve 0.15 olarak bildirmişlerdir. Sunulan bu çalışmada KIL (0.59), HNM (0.67), KBK (0.57) ve NRD (0.30) ırklarında elde edilen değerler Singh vd. (2012) tarafından dirençli grupta elde edilen değerlerden düşük olarak elde edilirken genel olarak Patlane vd. (2012) tarafından bildirilen değerlerden yüksek olmuştur. Yerli keçi populasyonlarımız içerisinde ise tüberküloza direnç genotipi (Tt) KIL ve KBK populasyonlarında HNM ve NRD populasyonlarına oranla daha yüksektir. Çalışılan tüm ırkların MHC sınıf II DRB geni *TaqI* polimorfizmi için Hardy-Weinberg olduğu belirlenmiştir. Bu sonuçlar yerli keçi ırklarımızda ileride Tüberküloza direnç için uygulanabilecek MAS çalışmalarında MHC sınıf II DRB geninde *PstI* ve *TaqI* polimorfizmlerinin birlikte kullanılabileceğine işaret etmektedir.

4.3. Isıya Tolerans Genotipleri İçin RFLP Analizleri

4.3.1. *BsaHI* polimorfizmi

Keçi MHC sınıf II DRB geni üzerinde Yakubu vd. (2017) tarafından ısıya tolerans ile ilişkili olduğu bildirilen genotiplerin tespiti için 284 bp uzunluğundaki PCR ürünleri *BsaHI* restriksiyon enzimi ile kesimi bırakılmıştır. Kesim işlemi sonrası GG genotipi için 112 ve 174 bp’lik iki bant, GA genotipi için 112, 174 ve 284 bp’lik üç bant ve AA genotipi için 284 bp’lik tek bant oluşması gerekmektedir. Yakubu vd. (2017) AA genotipini taşıyan hayvanların ısıya tolerans bakımından daha iyi olduğunu

bildirmişlerdir. Gerçekleştirilen yüksek lisans tezinde elde edilen agaroz jel görüntüsü Şekil 4.5’de verilmiştir.



Şekil 4.5. PCR ürünlerinin *BsaHI* restriksiyon enzimi ile kesimi
Marker (M): Thermo 25 bp; Kat. No: SM1191; %3’lik agaroz jel

Isıya tolerans için MHC sınıf II DRB geni *BsaHI* enzimi ile kesim işlemi sonucu oluşan gen ve genotip frekansları Çizelge 4.3’de özetlenmiştir. Çalışmada GG genotipi KIL ve HNM populasyonlarında tespit edilemezken KBK (0.03) ve NRD (0.05) populasyonlarında düşük frekanslarda belirlenmiştir. Isıya tolerans genotipi olan AA genotipinin frekansı 0.22 (KIL) ile 0.68 (HNM) aralığında değişmiştir. KIL keçilerinde ilgili gen bakımından Hardy-Weinberg dengesinden sapma gözlenirken, KBK, HNM ve NRD populasyonları Hardy-Weinberg dengesindedir.

Çizelge 4.3. *BsaHI* enzimi ile kesim işlemi sonucu oluşan gen ve genotip frekansları

İrk	n	Allel Frekansı		Genotip Frekansı			χ^2
		G	A	GG	GA	AA	
KIL	40	0.39	0.61	0.00(0)	0.78 (31)	0.22 (9)	16.01**
HNM	31	0.16	0.84	0.00 (0)	0.32 (10)	0.68 (21)	1.14 ^a
KBK	30	0.28	0.72	0.03 (1)	0.50 (15)	0.47 (14)	1.60 ^a
NRD	20	0.30	0.70	0.05 (1)	0.50 (10)	0.45 (9)	0.73 ^a

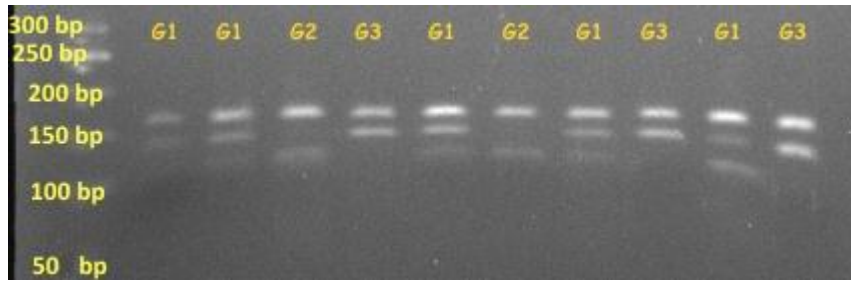
$\chi^2_{0.01;1}$:3.84; $\chi^2_{0.05;1}$:6.63; * p<0.05; **p<0.01; a: Hardy-Weinberg dengesinden sapma önemsiz

Yakubu vd. (2017) West African Dwarf (WAD), Red Sokoto (RS) ve Sahel (SH) keçi ırklarında ısıya tolerans yeteneğiyle ilişkili olduğu bildirilen AA genotipinin frekanslarını sırasıyla 0.45, 0.22 ve 0.10 olarak bildirmişlerdir. Sunulan tez

çalışmasında Honamlı keçilerinden elde edilen AA genotip frekansı (0.68) hem Yakubu vd. (2017) tarafından WAD, RS ve SH ırkları için bildirilen değerlerden hemde sunulan bu çalışmada hayvan materyali olarak kullanılan KIL, KBK ve NRD keçilerinden elde edilendeğerlerden yüksek olmuştur. HNM ırkı daha çok Teke bölgesi olarak adlandırılan Antalya, Isparta ve Burdur illerinde yetiştirilen bir ırktır. Bu ırk son yıllarda Kıl keçilerinin canlı ağırlığını artırmak için mezeleşse de bu bölgeye özel kapalı bir popülasyondur. Bölgenin iklimsel koşulları düşünüldüğünde HNM ırkının ilgili gen bakımından diğer ırklardan farklılaştığı düşünülebilir. Çalışılan KIL keçi popülasyonunda gözlemlenen MHC sınıf II DRB geni *BsaHI* polimorfizminin Hardy-Weinberg dengesinden sapma gösterdiği tespit edilmiştir. Genel olarak KIL, HNM, KBK ve NRD popülasyonlarında AA genotipinin olduğu ve bu gen bölgesinin ısıya tolerans yeteneği için yapılacak MAS çalışmalarında kullanılabileceği görülmektedir.

4.3.2. *AluI* polimorfizmi

Çalışılan keçi popülasyonlarında MHC sınıf II DRB bölgesi için PCR işleminde 284 bp büyüklüğündeki fragmentler elde edildikten sonra ısıya tolerans ile ilişkili olduğu daha önceki çalışmalarda belirlenen genotiplerin tespiti için RFLP yani enzimle kesim işlemine geçilmiştir. Materyal ve Metot kısmında belirtildiği üzere 284 bp'lik PCR ürünleri *AluI* restriksiyon enzimi ile kesildiği zaman oluşan farklı genotiplerden üç tanesinin ısıya toleransla ilişkili olduğu tarafından bildirilmiştir. Kesim işlemi sonucu oluşan GG genotipi (158, 84, 42 bp'lik üç bant), GC genotipi (200, 158, 84 ve 42 bp'lik dört bant) ve CC genotipini (200 ve 84 bp'lik iki bant) taşıyan hayvanların ısıya tolerans yeteneklerinin daha iyi olduğu bildirilmiştir (Yakubu vd. 2017). Bu çalışmada Türkiye'de yetiştiriciliği yapılan KIL, KBK, HNM ve NRD keçilerinde söz konusu üç genotip tespit edilememiştir. PCR ürünlerinin *AluI* restriksiyon enzimi ile kesimine ait agaroz jel görüntüsü Şekil 4.6'da verilmiştir.



Şekil 4.6. PCR ürünlerinin *AluI* restriksiyon enzimi ile kesimi

Marker (M): Thermo 50 bp; Kat. No: SM0371; %2'lik agaroz jel

Elde edilen genotipler için gen ve genotip frekansları ile popülasyonların Hardy-Weinberg dengesinde olup olmadıkları Çizelge 4.4'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.4. *AluI* enzimi ile kesim işlemi sonucu oluşan gen ve genotip frekansları

İrk	n	Allel Frekansı		Genotip Frekansı			χ^2
		A ₁	A ₂	G1	G2	G3	
KIL	40	0.84	0.16	0.75 (30)	0.17 (7)	0.08 (3)	5.10*
HNM	30	0.67	0.33	0.50 (15)	0.33 (10)	0.17 (5)	1.88 ^a
KBK	30	0.73	0.27	0.53 (16)	0.40 (12)	0.07 (2)	0.01 ^a
NRD	20	0.37	0.63	0.20 (4)	0.35 (7)	0.45 (9)	1.28 ^a

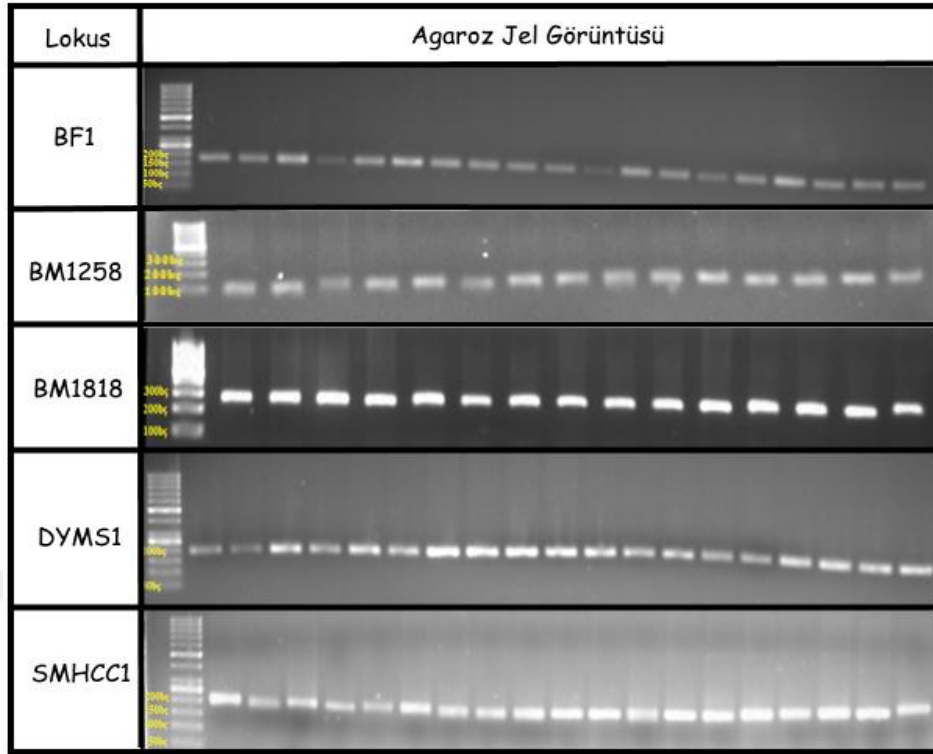
$\chi^2_{0.01;1}:3.84$; $\chi^2_{0.05;1}:6.63$; * $p<0.05$; ** $p<0.01$; a: Hardy-Weinberg dengesinden sapma önemsiz

Çalışılan ırklarda A₁ allelinin frekansının en yüksek değeri Kıl keçilerinde (0.84) en düşük değeri ise Norduz keçilerinde (0.37) elde edilmiştir. Çalışılan populasyonlarda G1 genotipinin frekansı 0.20 (NRD) ile 0.75 (KIL) aralığında, G2 genotipinin frekansı 0.17 (KIL) ile 0.40 (KBK) aralığında değişirken G3 genotipinin frekansı 0.07 (KBK) ile 0.45 (NRD) aralığında değişmiştir. Çalışılan ırklardan sadece KIL populasyonu MHC sınıf II DRB bölgesi için *AluI* polimorfik bölgesi için Hardy-Weinberg dengesinden sapmak göstermiştir.

Yakubu vd. (2017) Sahel, Red Sokoto, Doğu Afrika cüce keçi ırkında MHC sınıf II DRB bölgesi *AluI* polimorfizmi çalışmış ve elde edilen genotipler içerisinde GG, GC ve CC genotiplerinin ısıya tolerans bakımından direnç genotipleri olduğunu bildirmişlerdir. Gerçekleştirilen yüksek lisans tezinde Türkiye’de yetiştirilen dört yerli keçi populasyonunda direnç genotipleri tespit edilememiştir. Bu nedenle yerli keçi populasyonları ısıya tolerans bakımından değerlendirilememiştir. Ancak çalışılan MHC sınıf II DRB bölgesinin *AluI* restirksiyon enzimi açısından polimorfik olduğu ve ilgili gen bölgesi için üç populasyonda (HNM, KBK, NRD) yeterli genetik varyasyon olduğu görülmüştür. Yerli keçi populasyonlarımızda bu gen bakımından oluşan genotipler ile termo-fizyolojik özellikler arasında ilişki analizleri yapılması faydalı olabilir.

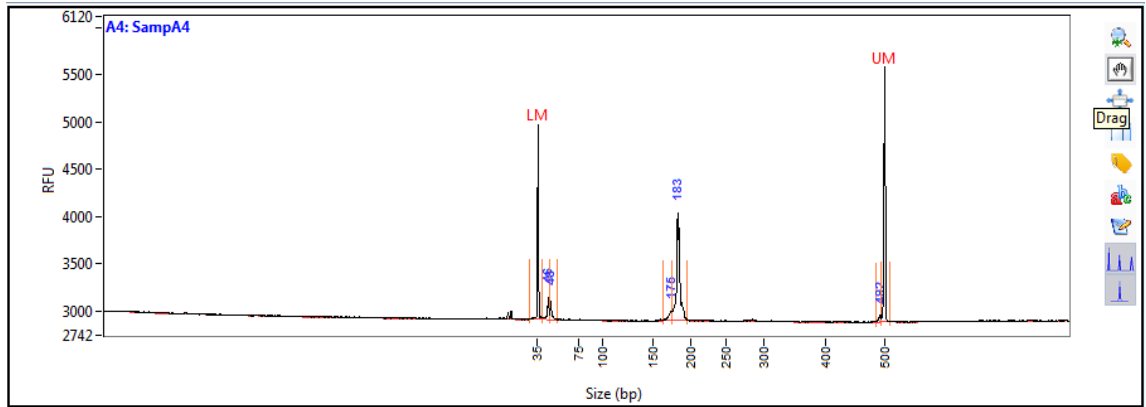
4.4. MHC Bağlı Mikrosatellit Lokuslar İle Genetik Çeşitlilik

Gerçekleştirilen yüksek lisans tezinde genetik çeşitliliğin tespiti için MHC’ne bağlı beş adet mikrosatellit lokus (BF1, BM18, BM1258, DYMS1, SMHCC1) kullanılmıştır. Bu lokuslar için Materyal Metot kısmında baz dizileri belirtilen primerler ile PCR işlemi gerçekleştirilmiştir. Her bir lokus için PCR ürünlerine ait örnek agaroz jel görüntüsü Şekil 4.7’de verilmiştir.



Şekil 4.7. Mikrosatellit lokuslar için agaroz jel görüntüsü

PCR işleminden sonra PCR ürünlerinin büyüklükleri kapiller elektroforez cihazında tespit edilmiştir. Fragment analiz cihazındaki okumalara ait bir örnek ise Şekil 4.8’de gösterilmiştir.



Şekil 4.8. SMHCC1 lokusuna ait fragment analizi cihazı görüntüsü

4.4.1. Çalışılan lokuslarda elde edilen allel genişlikleri ve frekansları

Çalışılan her bir lokus için elde edilen allel genişlikleri ve frekansları EK1-5 gösterilmiştir. Çalışılan keçi ırklarında beş mikrosatellit lokusta elde edilen allel genişlikleri değişik keçi ırklarında aynı lokuslar ile çalışan araştırmacılar tarafından

bildirilen değerler ile örtüşmektedir (Garrine CMLP 2007; Salles vd. 2011; Guang-Xin vd. 2015; Seilsuth vd. 2016).

4.4.1.1. Kıl keçisi populasyonlarında temel genetik çeşitlilik parametreleri

Kıl keçisi populasyonlarında beş mikrosatellit lokusta elde edilen temel genetik çeşitlilik parametreleri Çizelge 4.5’de verilmiştir. Kıl keçilerinde lokus başına ortalama allel sayısı 8.80 olarak hesaplanırken, etkili allel sayısı 4.83 olarak belirlenmiştir. Gözlenen ve beklenen heterozigotluk değerleri ise sırasıyla 0.74 ve 0.80 olarak hesaplanmıştır. Populasyonlardaki akrabalık seviyesinin göstergesi olan Fis değeri ise 0.04 olarak tespit edilmiştir.

Çizelge 4.5. Kıl keçilerinde elde edilen temel genetik çeşitlilik parametreleri

Lokus	n	AG	Na	Ne	Ho	He	Fis
BF1	31	156-166	6	3.15	0.90	0.69	-0.32
BM1818	32	252-268	9	4.89	0.63	0.81	0.21
BM1258	31	100-114	8	5.90	0.71	0.84	0.15
SMHCC1	32	181-195	8	5.49	0.68	0.83	0.16
DYMS1	32	175-205	13	4.73	0.78	0.80	0.01
Ortalama ± St. Sap.			8.80 ± 2.59	4.83 ± 1.05	0.74 ± 0.11	0.80 ± 0.06	0.04

Na: allel sayısı; Ne etkili allel sayısı; Ho: gözlenen heterozigotluk; He; beklenen heterozigotluk; Fis: akrabalı yetiştirme katsayısı

Guang-Xin vd. (2015) Çin’de farklı coğrafi lokasyonlarda yetiştirilen 10 farklı yerel keçi ırkında genetik çeşitliliği MHC ile ilişkili BF1, BM1818, BM1258 ve DYMS1 lokuslarını kullanarak incelemişlerdir. Araştırmacılar allel sayısını en düşük Hechuan keçi ırkında (4.75) tespit ederken en yüksek Jianyang big ear keçi ırkında (11.25) belirlemişlerdir. Gözlenen heterozigotluk değerlerinin 0.25 (Jining Qing) ile 0.54 (Chuannan black) aralığında, beklenen heterozigotluk değerlerinin ise 0.49 (Hechuan) ile 0.78 (Jianyang big ear) aralığında değiştiği bildirilmiştir. Akrabalı yetiştirme katsayısının 0.23 (Hechuan) ile 0.51 (Jining Qing) aralığında değiştiği raporlanmıştır. Araştırmacılar dört lokustan elde ettikleri ortalama Na, Ho, He ve Fis değerlerini sırasıyla 7.15, 0.40, 0.60 ve 0.34 olarak hesaplamışlardır.

Salles vd. (2011) Çin yerel ırklarından Xuhuai, Hindistan ırklarından Changthangi ve Pashmina, Kenya’da yetiştirilen Small East African (SEA), Galla ve Vendi ırklarından oluşan altı ırkta MHC ile ilişkili BF1, BM1818, BM1258, DYMS1 ve SMHCC1 lokuslarını kullanarak genetik çeşitliliği araştırmışlardır. Araştırmacılar Xuhuai, Changthangi, Pashmina, Small East African (SEA), Galla ve Vendi ırklarında ortalama allel sayısını sırasıyla 9.25, 10.00, 10.20, 14.50, 9.00 ve 9.20 olarak hesaplamışlardır. Çalışılan ırklarda en düşük Ho değerinin Vendi ırkında (0.483) en yüksek Ho değerinin ise Galla ırkında (0.577) olduğu bildirilmiştir. Beklenen heterozigotluk değerlerinin ise 0.833 (Pashmina) ile 0.879 (Vendi) ırkında olduğu

bildirilmiştir. Araştırmacılar çalışılan altı ırkta tüm lokuslar için H_e değerlerinin H_o değerlerinden oldukça yüksek olduğunu belirtmişlerdir. Populasyonlarda heterozigot eksikliğine bağlı olarak yüksek düzeyde akrabalık mevcuttur.

Yukarıda belirtilen çalışmalarda elde edilen genetik çeşitlilik parametreleri tez kapsamında elde edilen parametreler ile karşılaştırıldığında, Kıl keçilerinde diğer populasyonlara göre daha yüksek oranda genetik çeşitlilik ve daha düşük akrabalık olduğu tespit edilmiştir. F_{IS} değeri -1 ile +1 arasında değer alabilir. Negatif değerler populasyonda heterozigot fazlalığına pozitif değerler ise homozigot fazlalığına işaret etmektedir. F_{IS} değeri 0.05'in altında ise akrabalığın olmadığı, 0.05 ile 0.15 aralığında ise akrabalığın olduğu ancak tehlike seviyesinde olmadığı, 0.15 ile 0.25 aralığında tehlike seviyesinin düşük, 0.25-0.40 arasında olması durumunda tehlike seviyesinde olduğunu, 0.40'ın üzerinde olmasında ise kritik seviyenin aşıldığı ve populasyonlarda akrabalığın azaltılması yönünde çalışmaların yürütülmesi gerektiği vurgulanmıştır (Ramadan vd. 2012). Sunulan çalışmada hayvan materyali olarak kullanılan Kıl keçilerinde beş mikrosatellit lokus için elde edilen F_{IS} değeri (0.04) populasyonlarda akrabalıkla ilişkili herhangi bir tehlike olmadığını işaret etmektedir. Kıl keçileri Türkiye'de en fazla yetiştiriciliği yapılan keçi ırkıdır ve Türkiye keçi varlığının yaklaşık %90'ını oluşturmaktadır. Bu bağlamda Kıl keçilerinde yüksek genetik varyasyon ve düşük akrabalık beklenen bir durumdur.

4.4.1.2. Honamlı keçisi populasyonlarında temel genetik çeşitlilik parametreleri

Honamlı ırkında elde edilen temel genetik çeşitlilik parametreleri Çizelge 4.6'da özetlenmiştir. Honamlı keçilerinde ortalama allel ve etkili allel sayıları sırasıyla 8.40 ve 5.10 olarak hesaplanmıştır. Gözlenen heterozigotluk değeri 0.47 (BM1258) ile 0.90 (DYMS1) aralığında değişirken, ortalama H_o değeri 0.76 olarak hesaplanmıştır. Ortalama H_e değeri ise 0.79 olarak belirlenmiştir. Lokuslarda elde edilen F_{IS} değerleri 0.10 (DYMS1) ile 0.43 (BM1258) aralığında değişirken bu parametrenin ortalaması 0.13 olmuştur

Çizelge 4.6. Honamlı keçilerinde elde edilen temel genetik çeşitlilik parametreleri

Lokus	n	AG	Na	Ne	Ho	He	F _{IS}
BF1	24	158-166	5	2.65	0.86	0.63	0.21
BM1818	18	246-266	9	7.36	0.89	0.89	-0.03
BM1258	30	98-114	9	5.54	0.47	0.83	0.43
SMHCC1	30	175-199	11	4.38	0.66	0.78	0.14
DYMS1	30	179-203	8	5.59	0.90	0.83	-0.10
Ortalama ± St. Sap.			8.40 ± 2.19	5.10 ± 1.74	0.76 ± 0.19	0.79 ±0.10	0.13

Na: allel sayısı; Ne etkili allel sayısı; Ho: gözlenen heterozigotluk; He; beklenen heterozigotluk; Fis: akrabalı yetiştirme katsayısı

Bu çalışmada Honamlı ırkında MHC ile ilişkili beş mikrosatellit lokusta elde edilen ortalama allel sayısı (8.40) Guang-Xin vd. (2015) tarafından MHC bağlı dört lokusta Çin yerli ırkları Chuanzhong (6.00), Enshi (5.50), Hechuan (4.75), Jining Qing (5.00), Tibetan (6.00) ve Yichang (5.75) ırklarında bildirilen değerlerden yüksek, Jianyang big ear (11.50) ve Meigu (10.50) ırklarında bildirilen değerlerden düşük olmuştur. Elde edilen bulgular Dazu Black (7.75) ve Chuannan black (8.75) ırklarında bildirilen değer ile benzerlik göstermektedir. Salles vd. (2011) tarafından MHC bağlı beş lokusta (BF1, BM1818, BM1258, DYMS1 ve SMHCC1) Çin yerel ırklarından Xuhuai, Hindistan ırklarından Changthangi ve Pashmina, Kenya’da yetiştirilen Small East African (SEA), Galla ve Vendi ırklarından oluşan altı ırkta bildirilen allel sayısı ortalamasından (9.20-14.20) düşük olmuştur. Ayrıca Seilsuth vd. (2016) tarafından Tayland’da yetiştiriciliği yapılan Anglonubian, Alpine, Jamunapari, Saanen ve Toggenburg keçilerinde BM1818 lokusunda elde edilen allel sayıları (6-8 aralığında) sunulan bu çalışmadaki Honamlı ırkında BM1818 lokusunda elde edilen allel sayısından düşük olmuştur.

Bizim çalışmamızda Honamlı ırkında ilgili lokuslar için elde edilen Ho (0.76) ve He (0.79) değerleri Guang-Xin vd. (2015) tarafından 10 ırkta bildirilen Ho (0.25-0.54) ve He (0.49-0.78) değerlerinden yüksek olarak elde edilmiştir. Benzer şekilde elde edilen değerler Salles vd. (2011) yedi popülasyonda bildirilen Ho (0.483-0.577) değerlerinden de yüksek olmuştur. Benzer olarak Honamlı ırkında elde edilen F_{IS} değeri (0.13) hem Guang-Xin vd. (2015) tarafından bildirilen F_{IS} (0.23-0.51) değerlerinden, hemde Salles vd. (2011) tarafından bildirilen F_{IS} değerlerinden düşük olmuştur. Honamlı ırkında elde edilen genetik çeşitlilik parametreleri Kıl keçilerindekiler ile karşılaştırıldığında benzer olduğu söylenebilir. Akrabalık seviyelerinin literatürdeki değerlere göre Honamlı ırkında daha düşük olduğu görülürken, Kıl keçilerine göre biraz daha yüksek olduğu söylenebilir.

Honamlı ırkında MHC bağlı lokuslar için literatürde bildirilen değerlere göre yüksek genetik çeşitlilik olduğu görülmüştür. Honamlı ırkı Teke bölgesi olarak adlandırılan Antalya, Burdur ve Isparta illerinde yoğun olarak yetiştirilmektedir. Yüksek canlı ağırlıkları ile dikkat çeken Honamlı ırkının son yıllarda yetiştiriciliği giderek artmaktadır. Özellikle Teke bölgesinde çok yoğun damızlık değişimleri yaşanmakta ve popülasyon büyüklükleri giderek artmaktadır. Bu nedenle Honamlı ırkında genetik varyasyonun yüksek olduğu düşünülmektedir. Kıl keçilerine göre akrabalık seviyesi daha yüksek olsada tehlikeli seviyelerde değildir. Akrabalığın honamlı keçilerinde bir miktar yüksek olması Honamlı keçilerinin nispeten Kıl keçilere göre daha küçük bir popülasyona sahip olması göz önüne alındığında normal bir bulgu olarak değerlendirilebilir.

4.4.1.3. Kabakulak keçisi popülasyonlarında temel genetik çeşitlilik parametreleri

Kabakulak keçilerinde elde edilen temel genetik çeşitlilik parametreleri Çizelge 4.7’de verilmiştir. Gerçekleştirilen yüksek lisans tezinde KBK keçilerinde beş lokus için hesaplanan ortalama Na, Ne, Ho ve He değerleri sırasıyla 8.80, 5.36, 0.80 ve 0.82 olarak belirlenmiştir. F_{IS} değerleri -0.21 (BF1) ile 0.25 (DYMS1) aralığında bulunurken, ortalama F_{IS} değeri -0.01 olarak hesaplanmıştır.

Çizelge 4.7. Kabakulak keçilerinde elde edilen temel genetik çeşitlilik parametreleri

Lokus	n	AG	Na	Ne	Ho	He	F _{IS}
BF1	30	154-168	8	3.53	0.87	0.73	-0.21
BM1818	30	250-270	11	6.50	0.77	0.86	0.09
BM1258	29	98-112	8	4.78	0.79	0.80	0.00
SMHCC1	30	179-195	9	6.45	0.63	0.86	0.25
DYMS1	27	179-203	8	5.52	0.96	0.83	-0.18
Ortalama ± St. Sap.			8.80 ± 1.30	5.36 ± 1.25	0.80 ± 0.12	0.82 ± 0.05	-0.01

Na: allel sayısı; Ne etkili allel sayısı; Ho: gözlenen heterozigotluk; He; beklenen heterozigotluk; Fis: akrabalı yetiştirme katsayısı

KBK keçilerinde elde edilen genetik çeşitlilik parametreleri ve akrabalı yetiştirme katsayısı bu çalışmada Kıl ve HNM keçilerinde elde edilen değerlere benzerlik göstermektedir. KBK keçilerinde elde edilen ortalama Na, Ho ve He değerleri literatürde (Guang-Xin vd. 2015; Salles vd. 2011) değişik keçi populasyonlarında bildirilen Na, Ho ve He değerlerinden yüksek iken, F_{IS} değeri daha düşük olmuştur. Bu çalışmada KBK keçilerinde BM1258 lokusunda 8 allel belirlenirken Garrine (2007) Mozambik'te yetiştirilen Pafuri, Tete, Maputo ve Cabo Delgado keçi ırklarında BM1258 lokusunda gözlenen allel sayılarını sırasıyla 14, 9, 9 ve 10 olarak bildirmiştir.

Bu çalışmada KBK keçilerinde genel olarak Kıl ve HNM keçilerine benzer şekilde MHC'ne bağlı lokuslarda yüksek genetik varyasyon olduğu ve akrabalığın görülmediği söylenebilir. Bu sonuçlar Antalya ilindeki keçilerin neredeyse tamamını oluşturan Kıl, HNM ve KBK keçilerinde yüksek genetik çeşitlilik ve düşük akrabalığa işaret etmektedir. Bu durum keçi yetiştiriciliğinde ileride yapılacak ıslah ve koruma çalışmaları için oldukça umut vericidir.

4.4.1.4. Norduz keçisi populasyonlarında temel genetik çeşitlilik parametreleri

Norduz keçilerinde elde edilen genetik çeşitlilik parametreleri ve akrabalı yetiştirme katsayıları Çizelge 4.8'de gösterilmiştir. Norduz ırkında en yüksek allel sayısı BM1818 lokusunda (11) en düşük ise BF1 ve BM1258 lokuslarında (6) gözlenmiştir. En düşük Ne sayısı BF1 lokusunda (2.52) belirlenirken, en yüksek SMHCC1 (6.25) lokusunda hesaplanmıştır. Ortalama Na ve Ne sayıları sırasıyla 8.20 ve 4.66 olarak hesaplanmıştır. Noduz keçilerinde Ho değerleri 0.44 (BM1258) ile 0.95 (DYMS1) aralığında değişirken, he değerleri 0.60 (BM1258) ile 0.86 SMHCC1 arasında değişmiştir. Ortalama Ho ve He ve F_{IS} değerleri sırasıyla 0.68, 0.74 ve 0.09 olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4.8. Norduz keçilerinde elde edilen temel genetik çeşitlilik parametreleri

Lokus	n	AG	Na	Ne	Ho	He	F _{is}
BF1	20	168-180	6	2.52	0.55	0.62	0.09
BM1818	20	250-270	11	5.67	0.65	0.84	0.21
BM1258	18	106-120	6	4.36	0.44	0.60	0.30
SMHCC1	20	177-199	10	6.25	0.80	0.86	0.05
DYMS1	20	185-205	8	4.52	0.95	0.79	-0.22
Ortalama			8.20 ±	4.66 ±	0.68 ±	0.74 ±	0.09
± St. Sap.			2.28	1.44	0.20	0.12	

Na: allel sayısı; Ne etkili allel sayısı; Ho: gözlenen heterozigotluk; He; beklenen heterozigotluk; Fis: akrabalı yetiştirme katsayısı

Norduz keçilerinde MHC bağlı beş lokus için elde edilen ortalama Na değeri (8.20) Guang-Xin vd. (2015) tarafından Chuanzhong (6.00), Enshi (5.50), Hechuan (4.75), Jining Qing (5.00), Tibetan (6.00) ve Yichang (5.75) keçilerinde bildirilen değerlerden yüksek iken aynı çalışmada Jianyang big ear (11.50) ve Meigu (10.50) ırklarında bildirilenlerden düşük olmuştur. Aynı şekilde Salles vd. (2011) tarafından altı farklı keçi ırkında bildirilen değerlerden de (9.20-14.50) düşük olmuştur. NRD ırkında elde edilen ortalama Na değeri Kıl, HNM ve KBK ırklarında elde edilen değerler ile benzerlik göstermektedir. NRD ırkında elde edilen ortalama Ho değeri (0.68) Salles vd. (2011) tarafından altı farklı keçi ırkında elde edilen değerlerden (0.48-0.57), Guang-Xin vd. (2015) tarafından 10 Çin keçi popülasyonunda elde edilen değerden (0.25-0.54) yüksek olmuştur.

NRD keçi popülasyonunda elde edilen temel genetik çeşitlilik parametreleri diğer yerli popülasyonlarımızdaki benzer olarak yüksek genetik çeşitliliğe işaret etmektedir. NRD popülasyonunda diğer yerli popülasyonlarımıza göre Ho değerinin daha düşük çıkmasının altında popülasyon büyüklüğü olduğu düşünülmektedir. Çünkü NRD ırkında popülasyon büyüklüğü diğer keçi ırklarımıza göre daha düşüktür ve daha sınırlı bir alanda yetiştirilmektedir. Yerli keçi genotiplerimizde literatürde bildirilen diğer keçi ırklarına göre genetik çeşitliliğin daha yüksek olmasının altında birkaç neden olabilir. Bunlardan ilkinin ülkemizin evciltme bölgesinde içinde yer almaktadır. MHC bağlı genler immün sistemle yakından ilişkilidir. Türkiye yerli keçi ırkları binlerce yıldır yetiştirildiği bölgelerde çok sayıda hastalığa karşı direnç geliştirmiş oldukça dayanıklı ırklardır. Bu nedenle MHC genlerinde genetik varyasyonun yüksek olabileceği düşünülmektedir. Bir diğer neden ise yerli ırklarımız üzerinde sistemli ve uzun süreli bir seleksiyon işlemi uygulanmaması olabilir. Seleksiyon işleminde seleksiyon kriterlerine bağlı olarak belli gen ya da genlerin frekansları artarken genel olarak genetik varyasyon azalmaktadır.

Bu çalışmada NRD ırkında BM1818 lokusu (0.20) dışında çalışılan beş mikrosatellit lokus için elde edilen null allel frekansları tüm popülasyonlarda 0.20 'nin altındadır. Mahammi ve ark. (2016)'na göre null allel frekansları 0.20'nin altında ise null allellerin etkisi önemsiz düzeydedir. NRD popülasyonunda BM1818 lokusu için çıkan yüksek akrabalık katsayısının ($F_{IS}=0.21$) nedeni null alleller olabilir. Diğer

populasyonlarda ve lokuslarda ise null allel etkileri göz ardı edilebilir. Son olarak NRD populasyonunda genetik çeşitliliğin düşük olmasının nedeni bu çalışmadaki örnek sayısının diğer populasyonlara göre düşük olması olabilir. Örnek sayısının az olması yanlış örneklemeye bağlı olarak hata yapma payını artırmaktadır.

4.4.2. Çalışılan populasyon arası genetik farklılaşma

Moleküler çalışmalar ile populasyonlar arası genetik farklılaşmayı değerlendirmede farklı parametreler kullanılabilir. Bu çalışmada populasyonlar arası genetik farklılaşma ikişerli F_{ST} , moleküler varyans analizi ve özgün alleller ile değerlendirilmiştir.

4.4.2.1. İkişerli F_{ST} değerleri

İkişerli F_{ST} değeri populasyonları ikişerli olarak karşılaştırarak populasyonlar arasındaki genetik farklılaşmayı veren bir değer olarak tanımlanmaktadır. Bu çalışmada elde edilen ikişerli F_{ST} değerleri Çizelge 4.9’da verilmiştir. Gerçekleştirilen çalışmada en düşük ikişerli F_{ST} değeri (0.01) Kıl ile KBK arasında ve KBK ile HNM arasında elde edilmiştir. En yüksek ikişerli F_{ST} değeri (0.19) HNM ile NRD ve KBK ile NRD arasında elde edilmiştir. NRD ile diğer üç populasyon arasındaki genetik farklılaşma istatistiki olarak önemli bulunurken Kıl, HNM ve KBK populasyonları arasındaki genetik farklılaşma önemli olmamıştır.

Çizelge 4.9. Keçi populasyonları arasında elde edilen ikişerli F_{ST} değerleri

	KIL	HNM	KBK	NRD
KIL	0.00			
HNM	0.02	0.00		
KBK	0.01	0.01	0.00	
NRD	0.17*	0.19*	0.19*	0.00

* $p < 0.05$

Guang-Xin vd. (2015) tarafından 10 Çin yerel keçi ırkında elde edilen ikişerli F_{ST} değerleri 0.02 ile 0.36 arasında değişmektedir. Bizim dört yerli genotipte elde ettiğimiz değerler çoğunlukla daha düşüktür. KIL, HNM ve KBK arasında genetik farklılaşma neredeyse yok denenecek düzeydedir. Keçilerin yetiştirme geçmişleri düşünüldüğünde bu sonuçlar şaşırtıcı değildir. KIL, KBK ve HNM aynı coğrafi bölgede yüzlerce yıldır bir arada yetiştirilmektedir. Bu nedenle bu genotipler arasında gen alışverişi oldukça doğaldır. NRD keçileri ise bu üç keçi genotipinden çok uzak bir bölgede, Van ili ve civarında yetiştirilmektedir ve aralarında gen alışverişi yoktur. Kapalı yetiştirilen populasyonlarda genetik farklılaşmanın artması beklenen bir durumdur.

4.4.2.2. Moleküler varyans analizi (AMOVA)

Moleküler varyans analizi normal varyans analizinin (ANOVA) moleküler verilere uyarlanmış halidir. Populasyonlardaki genetik varyasyonun kaynağının

belirlenmesinde oldukça bilgi vericidir. Yapılan çalışmada AMOVA analizi sonucunda elde edilen değerler Çizelge 4.10’da gösterilmiştir.

Çizelge 4.10. AMOVA analizi sonuçları

Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Varyans (%)
Populasyonlar Arası	3	28.07	8.62*
Populasyonlar İçi			
Bireyler Arası	108	164.00	1.25
Bireyler İçi	112	165.50	90.14*
Toplam	223	357.57	100

*p < 0.05

AMOVA analizi sonuçlarına göre genetik varyasyonun %8.62’sinin populasyonlar arasındaki farklılıklardan, %1.25’inin populasyonlardaki bireylerden, %90.14’ünün ise tüm populasyonları oluşturan bireyler arası farklılıklardan kaynaklandığı anlaşılmıştır. Özetle populasyonları oluşturan bireylerin kendi içindeki farklılıklar yok denecek kadar azdır. Mevcut genetik varyasyon populasyonlar arasından ve bu populasyonları oluşturan bireyler arasındaki farklılıktan kaynaklanmaktadır. Bu değerleri ikişerli F_{ST} değerleri ile birlikte değerlendirdiğimiz zaman, mevcut farklılığın özellikle NRD populasyonunun diğer üç populasyon ile arasındaki farklılıktan kaynaklandığını söyleyebiliriz.

4.4.2.3. Çalışılan populasyonlarda tespit edilen özgün allel sayıları

Populasyonlar arası genetik farklılaşmayı değerlendirebileceğimiz bir diğer parametre özgün allellerdir. Özgün allel yalnızca bir populasyonda bulunan diğer populasyonlarda bulunmayan allellerdir. Populasyonlar arası göç varsa özgün alleller azalmaktadır. Eğer populasyonlar kapalı olarak yetiştiriliyorsa özgün allellerin artması beklenmektedir. Gerçekleştirilen yüksek lisans tezinde dört farklı populasyonda beş lokus için 10 adet özgün allel elde edilmiş ve bunlar Çizelge 4.11’de gösterilmiştir. Çizelge incelendiğinde NRD ırkından 9 adet özgün allel ve HNM ırkından sadece 1 adet özgün allel elde edildiği görülmektedir. Bu alleller gerçekten özgün allel olabileceği gibi okuma hataları kaynaklı da olabilir. NRD ırkında elde edilen yüksek özgün allel sayısı ve frekansı ikişerli F_{ST} ve AMOVA analizi sonuçlarını desteklemektedir. KIL ve KBK keçileri arasında geçmişte yoğun bir gen akışı olduğu bu durumun genetik farklılaşmayı ve dolayısıyla özgün allel tespit edilememiştir. NRD ırkı ise diğer populasyonlardan oldukça farklı bir coğrafi bölgede yetiştirilmesi sonucu genetik olarak farklılaşmıştır.

Çizelge 4.11. Dört farklı keçi genotipinde tespit edilen özgün alleller

Lokus	Allel (bç)	Allel Frekansı	Populasyon
BF1	170	0.08	NRD
	174	0.13	NRD
	176	0.60	NRD
	178	0.10	NRD
	180	0.08	NRD
BM1818	246	0.11	HNM
BM1258	118	0.14	NRD
	120	0.14	NRD
DYMS1	193	0.25	NRD
	195	0.20	NRD

4.4.3. Çalışılan populasyon arası filogenetik ilişki

Çalışılan keçi populasyonları arasındaki filogenetik ilişkiyi incelemek için Nei (1978)'nin minimum mesafe matrisi kullanılarak genetik benzerlik ve mesafe değerleri hesaplanmıştır. Genetik mesafe değerlerinden yararlanarak (Unweighted Pair-Group Method) dendogramı oluşturulmuştur. Genetik mesafe ve benzerlik değerleri Çizelge 4.12'de, UPGMA dendogramı Şekil 4.9'da gösterilmiştir.

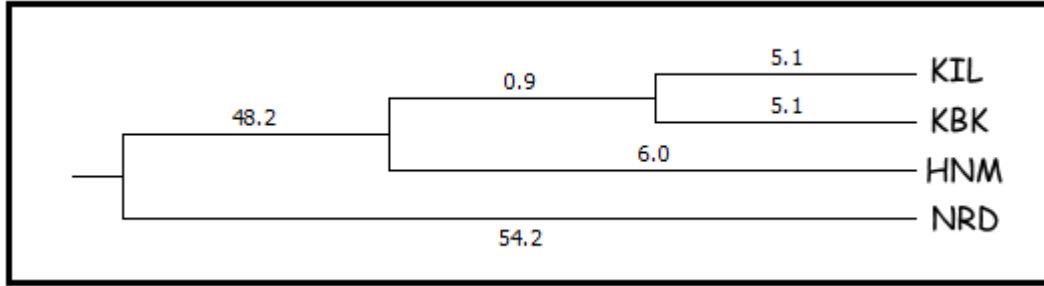
Yürütülen yüksek lisans tezinden en yüksek genetik mesafe değeri (1.19) KBK ile NRD populasyonları arasında elde edilirken, en yüksek genetik benzerlik değeri (0.87) KIL ve KBK populasyonları arasında elde edilmiştir.

Çizelge 4.12. Çalışılan populasyonlarda Nei'nin (1978) genetik uzaklık ve benzerlik değerleri

	KIL	HNM	KBK	NRD
KIL	****	0.84	0.87	0.34
HNM	0.16	****	0.86	0.33
KBK	0.13	0.13	****	0.30
NRD	1.06*	1.09*	1.19*	****

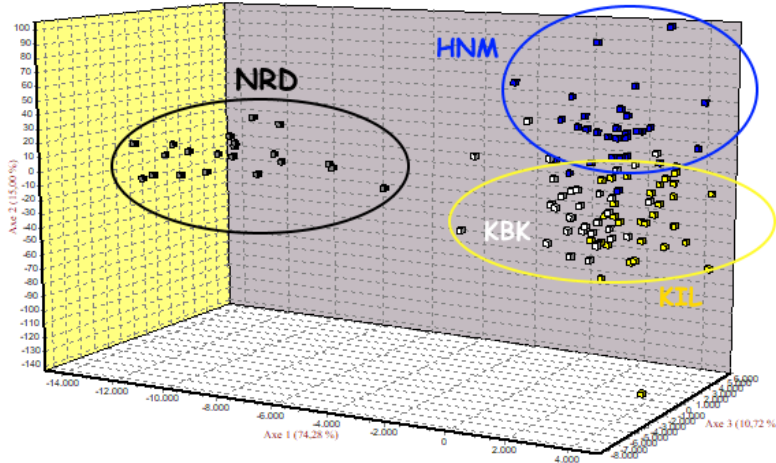
*p < 0.05; Genetik mesafe değerleri (köşegen altı), genetik benzerlik değerleri (köşegen üstü)

Nei (1978)'nin genetik benzerlik değerlerinden oluşturulan UPGMA dendogramına göre KIL, KBK ve HNM bir grupta yer alırken NRD ırkı bunlardan farklı bir grupta yer almıştır. Bu çalışmada KIL ve KBK ırkları HNM ırkına göre biraz daha yakın gözükmeyle beraber bu üç keçi genotipi arasındaki fark istatistiki açıdan önemli değildir.



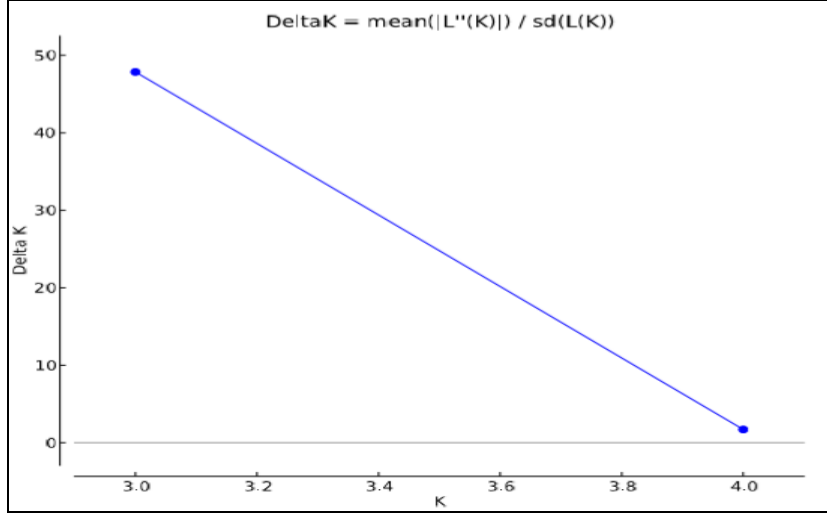
Şekil 4. 9. Çalışılan populasyonlarda UPGMA dendogramı

Keçi populasyonları arasındaki filogenetik ilişkinin üç boyutlu düzlemde gösterildiği FCA analizi sonuçları Şekil 4.10'da verilmiştir. UPGMA dendogramı ile benzer olarak FCA analizi sonuçlarına göre NRD ırkı diğer üç ırktan ayrı bir yerde kümelenirken, KBK, KIL ve HNM keçileri arasında geçişler olduğu görülmektedir. KBK ve KIL keçilerinin HNM keçilerine göre daha yakın kümelendiği görülmektedir.



Şekil 4.10. Çalışılan populasyonlarda FCA analizi

Bayesian temelinde kümeleme yaklaşımı olan Structure analizinden önce en iyi K değeri (en uygun küme ya da grup sayısı) Evanno vd (2005) tarafından geliştirilen web tabanlı STRUCTURE HARVESTER (Earl ve Vonholdt 2012) programı kullanılarak belirlenmiştir. Programda yapılan analiz sonuçlarına göre en yüksek ΔK değerinin 3 ($K=3$) olduğu görülmüştür (Şekil 4.11 ve Çizelge 4.13). Yani çalışılan populasyonlar arasındaki filogenetik ilişki en doğru olarak bu dört populasyon üç gruba ayrıldığında açıklanmaktadır.



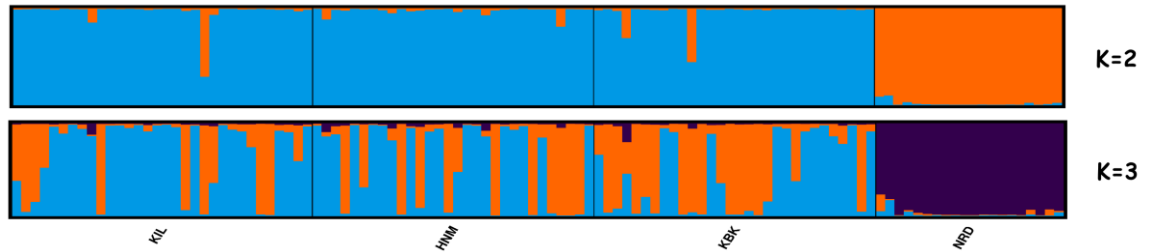
Şekil 4.11. Structure Harvester programında elde edilen ΔK değerleri

Çizelge 4.13. Strucure Harvester’da elde edilen K değerleri

K	Reps	Mean LnP(K)	Stdev LnP(K)	Ln'(K)	Ln''(K)	Delta K
2	100	-2617.895000	5.068926	—	—	—
3	100	-2530.851000	1.852026	87.044000	88.638000	47.860028
4	100	-2532.445000	9.728458	-1.594000	16.682000	1.714763
5	100	-2550.721000	14.190147	-18.276000	—	—

(sarı satır en uygun K değeri)

En iyi K değerinin belirlenmesinden sonra Structure analizinden elde edilen sonuçlar edilmesinde web tabanlı CLUMPAK (Kopelman vd. 2015) uygulaması kullanılarak kümeleme analizi görüntüsü oluşturulmuştur (Şekil 4.12).



Şekil 4.12. Çalışılan keçi populasyonlarında Structure kümeleme analizi görüntüsü

Structure analizi sonuçlarına göre dört populasyon iki kümeye ayrıldığında (K=2) KIL, HNM ve KBK populasyonları bir kümede yer alırken NRD diğer kümede yer almaktadır. En iyi K değerinde (K=3) NRD ırkı diğer üç ırktan tamamen ayrılırken, KIL, KBK ve HNM ırkları arasında halen gen geçişleri görülmektedir.

Çalışmada elde edilen ikişerli F_{ST} , genetik benzerlik değerleri, UPGMA dendogramı, FCA ve Structure analizi sonuçları bir arada değerlendirildiğinde KIL ve KBK keçileri arasında bazı morfolojik farklılıklar olmasına rağmen genetik olarak farklılık olmadığı görülmektedir. HNM ırkının Kıl keçilerine göre oldukça farklı morfolojik özellikleri olmasına ve farklı bir ırk olarak kabul edilmesine rağmen çalışılan genler bakımından net bir ayrım görülmemiştir. Korkmaz Ağaoğlu ve Ertuğrul (2011) 20 mikrosatellit lokusla yaptıkları çalışmada HNM ve KIL ve NRD keçileri arasında, Bulut vd. (2016) 11 mikrosatellit lokusla HNM ve KIL keçileri arasında net bir ayrım sağlayamamıştır. Bu çalışmalara benzer olarak HNM ve KIL keçileri arasında net bir ayrım elde edilememesine rağmen NRD keçileri coğrafi lokasyonları, yetiştirilme geçmişleri ve kökenleri ile uyumlu olarak ayrı bir kümede yer almıştır. Bu durum MHC bağlı genlerin diğer otozomal lokuslara göre filogenetik ilişkinin aydınlatılmasında daha kullanışlı olduğunu göstermektedir.

5. SONUÇLAR

Gerçekleştirilen yüksek lisans tezinde Antalya ilinde yetiştiriciliği yapılan KİL, HNM ve KBK keçileri ile Van ilinde yetiştirilen NRD keçilerinde MHC'ne bağlı genler kullanılarak tüberküloz hastalığına direnç, ısıya tolerans ve genetik çeşitlilik durumları araştırılmıştır. Araştırmadan elde edilen sonuçlar aşağıda maddeler halinde belirtilmiştir.

1-) Yürütülen yüksek lisans tezinde tüberküloza dirençle ilişkili olduğu daha önceki çalışmalarda raporlanan MHC sınıf II DRB geninde *PstI* (pp genotipi) ve *TaqI* (Tt genotipi) polimorfizmleri Türkiye'de yetiştiriciliği yapılan dört farklı keçi genotipinde değişen frekanslarda gösterilmiştir. Bu sonuçlar yerli keçi ırklarımızda ileride tüberküloza direnç için uygulanabilecek MAS çalışmalar için MHC sınıf II DRB geninde *PstI* ve *TaqI* polimorfizmlerinin oldukça kullanışlı olduğunu göstermekte ve birlikte kullanılabileceğine işaret etmektedir. Ayrıca ilgili gen için tüberküloza direnç genotipleri olan pp ve Tt genotipinin frekansları KBK keçilerinde diğer ırklara oranla yüksek frekanslarda tespit edilmiştir. Bu durum sadece ırkların değil ırkı oluşturan tip ya da varyetelerinde genetik çeşitliliğe yaptığı katkının önemli olduğunun göstermekte ve korunma gerekliliği açısından önemini vurgulamaktadır.

2-) Çalışılan dört farklı keçi populasyonlarında ısıya tolerans ile ilişkili MHC sınıf II DRB geninde *BsaHI* polimorfizmi (AA ısıya tolerans için direnç genotipi) yüksek frekanslarda gösterilirken, *AluI* polimorfizmi (GG, GC ve CC ısıya tolerans için direnç genotipleri) belirlenememiştir. *BsaHI* polimorfizminin yerli keçi genotiplerinde ısıya tolerans için yapılacak MAS çalışmalarında kullanılabileceği anlaşılmıştır. Bununla birlikte MHC sınıf II DRB bölgesinin *AluI* restiksiyon enzimi açısından polimorfik olduğu belirlenmiş ancak ısıya tolerans için direnç genotipleri tespit edilmiştir. Çalışılan keçi populasyonlarında polimorfik bu bölgelerin termo-fizyolojik özellikler ile ilişki analizlerinin yapılmasının faydalı olacağı düşünülmektedir. Eğer polimorfik bölgelerin termo-fizyolojik özellikler ile ilişkisi tespit edilirse bu gen bölgesi ısıya tolerans için yapılacak MAS çalışmalarında kullanılabilir.

3-) Çalışılan keçi genotiplerinde MHC bağlı beş farklı mikrosatellit lokus için elde edilen genetik çeşitlilik parametreleri, populasyonlarda yüksek genetik çeşitlik olduğuna, ayrıca akrabalık seviyelerinin yok denecek kadar az olduğuna işaret etmektedir. Bu sonuçlar yerli keçi ırklarımızın geleceği açısından oldukça umut vericidir. Elde edilen veriler ışığında çalışılan populasyonlarda MHC gen bölgesinde belirlenen yüksek genetik çeşitlilik hastalıklara direnç, ısıya tolerans gibi adaptif özellikler bakımından ileride değişmesi muhtemel çevre koşullarında yapılacak ıslah çalışmaları için büyük potansiyel olduğunu göstermektedir.

4-) Yürütülen yüksek lisans tezinde dört farklı keçi genotipinde MHC bağlı beş mikrosatellit lokusta elde edilen ikişerli F_{ST} , genetik benzerlik değerleri, UPGMA dendrogramı, FCA ve Structure analizi sonuçları Kıl ve KBK keçilerinin genetik olarak farklı olmadığını ortaya koymuştur. KBK keçileri Kıl keçilerinden bazı fenotipik özellikleri (kulak büyüklüğü) ile ayrılrsa da Kıl keçilerinden genetik olarak farklı değildirler. HNM keçileri Kıl keçilerinden biraz daha farklılaşmış olmasına rağmen da net bir ayrım söz konusu değildir.

5-) Gerçekleştirilen çalışmada NRD keçileri daha önce otozomal mikrosatellit lokuslar ile yapılan çalışmaların aksine MHC bağlı lokuslar ile diğer keçi ırklarından net olarak

ayrılmıştır. MHC bağılı lokusların ırklar arasındaki filogenetik ilişkinin aydınlatılmasında kullanışlı olduğunu göstermektedir. Ancak yakın ırklar, alt tip ya da varvete düzeyinde filogenetik ilişkinin aydınlatılmasında uygun olmadığı, bu gibi durumlarda çalışılacak lokus sayısının artırılmasında ya da Yeni Nesil Sekans analizleri gibi yüksek yoğunlukta veri elde edilen yöntemler ile çalışılmasının faydalı olacağı düşünülmektedir.



7. KAYNAKLAR

- Abdel Aziz, M. 2010. Present status of the world goat populations and their productivity. *Lohmann Information*, 45 (2): 42-52.
- Alizadehasl, M. ve Ünal, N. 2011. Some morphological traits of Kilis, Norduz and Honamlı indigenous goats breeds. *Lalahan Hayavancılık Araştırma Enstitüsü Dergisi* 51(2):81-92.
- Allen, A.R., Minozzi, G., Glass, E.J., Skuce, R.A., McDowell, S.W.J., Woolliams, J.A. and Bishop, S.C. 2010. Bovine tuberculosis: the genetic basis of host susceptibility. *Proceedings of the Royal Society B*, 277(1695): 2737–2745.
- Altınçekiç, Ş. ve Koyuncu, M. 2012. Çiftlik hayvanları ve stres. *Hayvansal Üretim*, 53(1): 27-37.
- Amills, M., Francino, O. and Sanchez, A. 1995. Nested PCR allows the characterization of TaqI and PstI RFLPs in the second exon of the caprine MHC class II DRB gene. *Vet Immunol Immunopathol* 48: 313–321
- Amills, M., Jimenez, N., Jordana, J., Riccardi, A., Fernandez-Arias, A., Guiral, J., Bouzat, J.L., Folch, J. and Sanchez, A. 2004. Low diversity in the major histocompatibility complex class II DRB1 gene of the Spanish ibex, *Capra pyrenaica*. *Heredity*, 93, 266-272
- Anonim 1: Türkiye İstatistik Kurumu (TUIK) Hayvancılık İstatistikleri, Küçükbaş Hayvan Sayıları, http://tuik.gov.tr/PreTablo.do?alt_id=1002 [Son Erişim Tarihi: 02.05.2019]
- Anonim 2: Türkiye İstatistik Kurumu (TUIK) İllere Göre Keçi Sayısı Dağılımı, http://www.tuik.gov.tr/HbGetir.do?id=24656&tb_id=5 [Son Erişim Tarihi: 02.01.2019]
- Anonim 3: <https://www.tarim.gov.tr/TAGEM/Belgeler/yayin/Katalog%20Türkçe.pdf> [Son Erişim Tarihi: 23.05.2019]
- Anonim 4: <https://www.tarim.gov.tr/TAGEM/Belgeler/yayin/Katalog%20Türkçe.pdf> [Son Erişim Tarihi: 23.05.2019]
- Anonim 5: <https://www.tarim.gov.tr/TAGEM/Belgeler/yayin/Katalog%20Türkçe.pdf> [Son Erişim Tarihi: 23.05.2019]
- Anonim 6: <https://www.tarim.gov.tr/TAGEM/Belgeler/yayin/Katalog%20Türkçe.pdf> [Son Erişim Tarihi: 23.05.2019]
- Anonymous : Food and Agriculture Organization (FAO) FAOSTAT, Live Animals, <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QA> [Son Erişim Tarihi: 02.05.2019]
- Baghizadeh, A., Bahaaddini, M., Mohamadabadi, M.R. Askari N. 2009. Allelic Variations in Exon 2 of Caprine MHC Class II DRB3 Gene in Raeini Cashmere Goat. *American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci.*, 6 (4): 454-459
- Belkhir, K., Borsa, P., Chikhi, L., Raufaste, N., Bonhomme, F. 2004. GENETIX 4.05, logiciel sous Windows pour la génétique des populations. Université de Montpellier II, Montpellier, France.

- Canon, J., Garcia, D., Garcia-Atance, M.A., Obexer-Ruff, G., Lenstra, J.A., Ajmone-Marsan, P., Dunner, S., ECOGENE Consortium. 2006. Geographical partitioning of goat diversity in Europe and the Middle East. *Animal Genetics*, 37, 327–334.
- Daşkiran, İ., Yılmaz, A., Çetin, A.Ö. 2004. Norduz keçisi yetiştiriciliği ve bazı tanımlayıcı vücut ölçüleri. 4 Ulusal Zootekni Kongresi. Süleyman Demirel Üniv. 1-4 Eylül Isparta.
- Davla, K., 2004. Her yerde karşımda; nedir bu HLA tiplendirimi. XXXI. Ulusal Hematoloji Kongresi, IV. Hematoloji İlk Basamak Kursu, 23-28 Eylül 2004
- Demirbaş, N., Tosun, D., Taşkın, T. 2009. AB üyesi kimi Akdeniz ülkeleri ve Türkiye’de koyun-keçi üretim ve dış ticareti. *Hayvansal Üretim*, 50(1): 45-53.
- Dongxiao, S. and Yuan, Z., 2004, Polymorphisms of the second exon of MHC-DRB gene in Chinese local sheep and goat. *Biochemical Genetics*. 42(9-10):385–390.
- Earl, D.A. (2012) STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conserv. Genet. Resour.* 4, 359– 361.
- Ekim B. 2010. Türkiye yerli sığır ırklarında doğal dirençlilik ilişkili makrofaj protein 1 (NRAMP1)’’ gen polimorfizminin araştırılması. Mikrobiyoloji anabilim dalı doktora tezi. Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- El-Zarei, M. F., Alseaf, A. M., Alhaidary, A. A., Mousa E. F., Okab, A. B., Samara, E. M., Abdoun, K. A. 2019. Short-term heat shock proteins 70 and 90 mRNA expression profile and its relation to thermo-physiological parameters in goat exposed to heat stress. *International Journal of Biometeorology*, 63: 459–465
- Erduran, H. ve Kırbaş, M. 2010. Goat Farming and Breeding Studies in Konya Province, National Congress of Goat Husbandry, first ed. Çanakkale.
- Ertuğrul, M., Dellal, G., Elmacı, C., Akın, A.O., Pehlivan, E., Soysal, M.İ., Arat, S. 2010. Çiftlik hayvanları genetik kaynaklarının korunması ve sürdürülebilir kullanımı. TMMOB Ziraat Mühendisleri Odası Türkiye Ziraat Mühendisliği VII. Teknik Kongresi. Bildiriler Kitabı-1, 179-198, 11-15 Ocak, Ankara.
- Excoffier, L., Laval, G., Schneider, S. 2006. ARLEQUIN version 3.01: an integrated software package for population genetics data analysis. University of Bern, Institute of Zoology, Switzerland.
- Bozkaya, F., Kuss, A.W., Geldermann, H. 2007. DNA variants of the MHC show location-specific convergence between sheep, goat and cattle. *Small Rumin. Res.*, 70, 174-182.
- Garrine CMLP (2007). Genetic characterization of indigenous goat populations of Mozambique. MSc thesis. Department of Production Animal studies in Faculty of Veterinary Science, University of Pretoria.
- Gezer, G. 2018. Antalya İli Elmalı, Kaş ve Muğla İli Fethiye Yörelerinde Yetiştirilen Kıl Keçilerinin Bazı Morfolojik Özellikleri. Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Zootekni Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi. Antalya

- Glaubitz J.C. 2004. CONVERT (version 1.2): A user-friendly program to reformat diploid genotypic data for commonly used population genetic software packages. *Mol. Ecol. Notes*, 4: 309–310.
- Goudet, J. 1995. FSTAT (Version 1.2): A computer program to calculate F-Statistics. *J. Heredity*, 86: 485-486.
- Guang-Xin E, Yong-Fu H., Yong-Ju Z., Yue-Hui M., Ri-Su N., Jia-Hua Z., Hui-Jiang G., Xin W. 2015. Genetic variability of ten Chinese indigenous goats using MHC-linked microsatellite markers. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 167; 196–199
- Hartl, D. and Clark, A. G. 1989. *Principles of Population Genetics*, Second Edition. Sunderland, Mass. Sinauer Associates.
- Humblet M.F., Boschioli M.L., Saegerman C. 2009. Classification of worldwide bovine tuberculosis risk factors in cattle: a stratified approach. *Vet. Res.*, 40:50.
- İriadam, M. 2004. Kilis keçilerine ait bazı hematolojik ve biyokimyasal parametreler. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 51, 83-85
- İlhan, F. 2015. Türkiye’de Yetiştirilen Bazı Koyun Irklarında MHC (Major Histocompatibility Complex) Gen Bölgesinde Genetik Varyasyonun Belirlenmesi. Doktora Tezi, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya, 75 s.
- Kadarmideen, H.N., Ali, A.A., Thomson, P.C., Müller, B., Zinsstag J. 2011. Polymorphisms of the SLC11A1 gene and resistance to bovine tuberculosis in African Zebu cattle. *Animal Genetics*, 42: 656–658
- Kalinowski, S.T., Taper, M.L. 2006. Maximum likelihood estimation of the frequency of null alleles at microsatellite loci. *Conserv Genet*, 7: 991-5.
- Kannaki T.R, Reddy M.R., Raja Ravindra K.S., Chatterjee R.N. 2017. Genetic diversity analysis of the major histocompatibility complex (MHC) region in Indian native chicken breeds and pureline chickens using the LEI0258 microsatellite marker. *Indian J. Anim. Res.*, 51 (6): 998-1001.
- Karayel, F. 2018. Türkiye’de yetiştirilen bazı sığır ırklarında mastitis, şap ve tüberküloz hastalıklarına dirençle ilişkili genlerdeki Polimorfizmlerin belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Akdeniz üniversitesi, Antalya, 45s
- Karlı, T., Balcıoğlu, M.S., Alkan, S. 2008. Sığırlarda otozomal resesif kalıtım gösteren bazı genetik hastalıklar ve moleküler tanısı. *Hayvancılık Araştırma Dergisi*, 18(1): 32-39
- Karlı, T. 2010. Türkiye koyun ırklarında BMPR-IB (Booroola) geninde Fecb allel varlığının PCR-RFLP yöntemi ile araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Akdeniz Üniversitesi, Antalya, 72s
- Karlı, T., Karabağ, K., Balcıoğlu, M. S. 2013. Çiftlik hayvanlarında DNA teknolojileri ve biyoteknoloji kullanımı. İç Anadolu Bölgesi 1. Tarım ve Gıda Kongresi. Cilt III (Hayvansal Üretim). 46-52. 2-4 Ekim. Niğde.

- Karlı, T. 2015. Ankara tavukçuluk araştırma istasyonunda bulunan kahverengi yumurtacı saf hatlarda genetik varyasyonun mikrosatellit markerler kullanılarak belirlenmesi. Doktora tezi. Akdeniz Üniversitesi. Antalya.
- Kayk, M.2017.Farklı Mevsimlerde, Saanen Keçilerinde Hsp 60 ve Hsp 70 Gen Ekspresyon Profili ve Bazı Fizyolojik Stres Parametreleri İle İlişkisi.Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi, Aydın, 64s
- Kırk, K., Aşkın, Y., Cengiz, F. 2004. Norduz keçilerinin yapay tohumlama ile döl verim karakteristiklerinin belirlenmesi. IV. Ulusal Zootekni Bilim Kongresi, 1- 3 Eylül, Isparta.
- Kim, E.S., Sonstegard, T.S., da Silva, M.V., Gasbarre, L.C., Van Tassell, C.P.2015. Genome-wide scan of gastrointestinal nematode resistance in closed Angus population selected for minimized influence of MHC. PLoS One.10(3):e0119380. Epub 2015/03/25. pmid:25803687
- Klug, W.S., Cummings, M.R. and Spencer, C.A. 2011. Genetik Kavramlar. Palme Yayıncılık, Ankara, 677s.
- Kocaman, İ., Konukçu, F., İstanbulluoğlu, A. 2007. Hayvan barınaklarında ısı ve nem dengesi. KSÜ Fen ve Mühendislik Dergisi, 10(1):134-140.
- Kopelman, N. M., J. Mayzel, M. Jakobsson, N. A. Rosenberg and I. Mayrose. 2015. Clumpak: a program for identifying clustering modes and packaging population structure inferences across K. Molecular Ecology Resources, 15: 1179-1191.
- Korkmaz Ağaoğlu, Ö.K. ve Ertuğrul, O. 2010. Mikrosatellitlerin önemi ve kullanım alanları. *Veteriner Hekimler Derneği Dergisi*, 81 (1): 39-43.
- Li, M., Li K., Kantanen, J., Feng, Z., Fan, B., Zhao, S.H. 2006. Allelic variations in exon 2 of caprine MHC class II DRB3 gene in Chinese indigenous goats. *Small Ruminant Research* 66: 236–243
- Mahammi F.Z., Gaouar S.B.S., Laloe D., et al. 2016. A molecular of patterns of genetic diversity in local chickens from western Algeria in comprasion with commercial lines and wild jungle fowls. *J Anim Breed Genet*, 133: 59-70.
- Miller, S., Dykes, D., Plesky, H.A. 1988. Simple Salting out Procedure for Extracting DNA from Human Cells. *Nucleic Acids Research*, 16: 1215
- Nei, M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics, Genetics Soc America*. 89: 583-590
- Öner, Y. ve Elmacı, C. 2011. Sığırlarda BoLA-DRB3 Geni Polimorfizmi. *Hayvansal Üretim* 52(1): 67-74
- Özbey, G., Kalender, H ve Muz A. 2008. Sığır Tüberkülozu'nun Epidemiyolojisi ve Teşhisi. *Fırat Üniv. Sağlık Bilimleri Dergisi*, 22(5): 307-314.
- Özhan, M., Tüzemen, N. ve Yanar, M. 2001. Büyükbaş Hayvan Yetiştirme. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ofset Tesisi, Ders Kitabı, Erzurum, 604s.
- Park, S.D.E. 2001. Trypano tolerance in West African cattle and the population genetic effects of selection. PhD thesis, University of Dublin, Dublin. Software available at <http://www.animalgenomics.ucd.ie/sdepark/ms-tool>

- Petlane, M., Noor, R. R., Maheswari, R. R. A. 2012. The Genetic Diversity of TLR4 MHC-DRB Genes in Dairy Goats Using PCR-RFLP Technique. Media Peternakan, August 2012, pp. 91-95
- Pritchard, J.K., Matthew S. and Donnelly, P. 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155 (2): 945-95.
- Ramadan, S., Kayang B. B., Inoue, E., Nirasawa K., Hayakawa H., Ito, S., Inoue-Murayama, M. 2012. Evaluation of genetic diversity and conservation priorities for Egyptian chickens. *Open Journal of Animal Sciences*, 2, 183-190
- Rothchild, M.F. and Plastow G.S. 2014. Applications of genomics to improve livestock in the developing world. *Livestock Science*, 166: 76-83.
- Salles, P.A., Santos SC., Rondina D., Weller M. 2011. Genetic variability of six indigenous goat breeds using major histocompatibility complex-associated microsatellite markers. *J. Vet. Sci.*, 12 (2) (2011), pp. 127-132.
- Seilsuth, S., Seo, J. H., Kong, H. S. and Jeon, G. J. 2016. Microsatellite Analysis of the Genetic Diversity and Population Structure in Dairy Goats in Thailand. *Asian Australas. J. Anim. Sci.*, 29(3): 327-332.
- Shen, H., Han, G., Jia, B., Jiang, S., Du, Y. (2014) MHCDRB1/DQB1 gene polymorphism and its association with resistance/susceptibility to cystic Echinococcosis in Chinese merino sheep. *Journal of Parasitology Research*, 2014, 1
- Shrivastava, K., Kumar, P., Sahoo, N.R., Kumar, A., Khan, M.F., Kumar, A., Prasad, A., Patel, B.H.M., Nasir, A., Bhushan, B., Sharma, D. 2015. Genotyping of major histocompatibility complex Class II DRB gene in Rohilkhandi goats by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism and DNA sequencing, *Veterinary World* 8(10): 1183-1188.
- Singh P.K., Singh M.K., Saxena V.K., Horin P., Singh A.V., Sohal JS. 2012. Effect of genetic variation in the MHC Class II DRB region on resistance and susceptibility to Johne's disease in endangered Indian Jamunapari goats. *International Journal of Immunogenetics*, 39, 314-320.
- Şimşek, G.Ü. ve Bayraktar, M. 2006. Kıl keçisi ve Saanen x Kıl keçisi (F1) melezlerine ait büyüme ve yaşama gücü özelliklerinin araştırılması. *Fırat Üniv Sağ Bil Derg*, 20(3): 229-238.
- Takezaki, N., Nei, M., Tamura, K. 2010. POPTREE2: software for constructing population trees from allele frequency data and computing other population statistics with windows-interface. *Molecular Biology and Evolution*, 27 (4):747-752.
- Yakubu, A., Salako, A.E., Donato, M.D., Takeet, M.J., Peters, S.O., Wheto, M., Okpeku, M., Imumorin IG. 2016. Interleukin-2(IL-2) gene polymorphism and association with heat tolerance in Nigerian goats. *Small Rumin Res* 141:127-113
- Yakubu, A., Salako AE., De Donato M., Peters SO., Takeet MI., Wheto M., Okpeku M., Imumorin IG. 2017. Association of SNP variants of MHC Class II DRB

- gene with thermo-physiological traits in tropical goats. *Trop Anim Health Prod.*, 49:323–336.
- Yalçın, B. 2013. Major doku uygunluk kompleksi (MHC) molekülleri: genel özellikleri ve hastalıklarla ilişkisi. Yıldırım Beyazıt Üniversitesi Tıp Fakültesi, Deri ve Zührevi Hastalıklar Anabilim Dalı. *Türkderm* 2013; 47: Özel Sayı 1: 12-7, Ankara.
- Yamak, U. S. 2018. Hayvan Yetiştirme ve Besleme . Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootekni Bölümü. *Zootekni Ders Kitabı* ,Samsun, 319 s.
- Yeh, F.C., Yang, R.C., Boyle, T.B.J., Ye, Z.H., Mao, J.X. 1997. POPGENE, The user-friendly shareware for population genetic analysis, Molecular Biology and Biotechnology Centre, University of Alberta, Canada.
- Zeder M.A. 2008. Domestication and early agriculture in the Mediterranean Basin: Origins, diffusion, and impact. *Proc Natl Acad Sci USA* 105: 11597–11604.
- Zhao, Y., Xu, H., Shi, L., Zhang, J. 2011. Polymorphisms in Exon 2 of MHC Class II DRB3 Gene of 10 Domestic goats in Southwest China. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* Vol.24, No.6: 752–756.

8. EKLER**EK-1.** BF1 lokusunda elde edilen allel frekansları

Allel (bç)	Kıl	Honamlı	Kabakulak	Norduz
154	0.0000	0.0000	0.0167	0.0000
156	0.0323	0.0000	0.0167	0.0000
158	0.1613	0.0517	0.2333	0.0000
160	0.0484	0.0345	0.0667	0.0000
162	0.4516	0.5000	0.4500	0.0000
164	0.0161	0.0690	0.0500	0.0000
166	0.2903	0.3448	0.1333	0.0000
168	0.0000	0.0000	0.0333	0.0250
170	0.0000	0.0000	0.0000	0.0750
174	0.0000	0.0000	0.0000	0.1250
176	0.0000	0.0000	0.0000	0.6000
178	0.0000	0.0000	0.0000	0.1000
180	0.0000	0.0000	0.0000	0.0750
N	31	29	30	20

EK-2. BM1818 lokusunda elde edilen allel frekansları

Allel (bç)	Kıl	Honamlı	Kabakulak	Norduz
246	0.0000	0.1111	0.0000	0.0000
250	0.0000	0.0000	0.0333	0.0250
252	0.0469	0.0000	0.0333	0.0250
254	0.1250	0.1667	0.0333	0.0750
256	0.1250	0.0833	0.0500	0.0250
258	0.3750	0.1111	0.2333	0.0250
260	0.0469	0.1944	0.1500	0.3250
262	0.1406	0.0833	0.2333	0.1750
264	0.0156	0.0556	0.0667	0.0750
266	0.0781	0.1667	0.1000	0.1250
268	0.0469	0.0000	0.0333	0.0250
270	0.0000	0.0278	0.0333	0.1000
N	32	18	30	20

EK-3. BM1258 lokusunda elde edilen allel frekansları

Allel (bç)	Kıl	Honamlı	Kabakulak	Norduz
98	0.0000	0.0833	0.0517	0.0000
100	0.1452	0.3167	0.3103	0.0000
102	0.1452	0.1667	0.2759	0.0000
104	0.0968	0.0167	0.0345	0.0000
106	0.0645	0.0667	0.1207	0.0278
108	0.2903	0.1500	0.1207	0.6111
110	0.1290	0.1167	0.0345	0.0278
112	0.1129	0.0667	0.0517	0.0000
114	0.0161	0.0167	0.0000	0.0556
118	0.0000	0.0000	0.0000	0.1389
120	0.0000	0.0000	0.0000	0.1389
N	31	30	29	18

EK-4. SMHCC1 lokusunda elde edilen allel frekansları

Allel (bç)	Kıl	Honamlı	Kabakulak	Norduz
175	0.0000	0.0167	0.0000	0.0000
177	0.0000	0.0167	0.0000	0.1000
179	0.0000	0.0333	0.0167	0.0750
181	0.0312	0.0500	0.0500	0.0000
183	0.0312	0.0000	0.1000	0.0000
185	0.2031	0.1667	0.1667	0.0250
187	0.1250	0.0667	0.0500	0.0250
189	0.2188	0.1000	0.2000	0.1750
191	0.2500	0.4167	0.2167	0.3000
193	0.1094	0.0167	0.1500	0.0750
195	0.0312	0.0833	0.0500	0.0750
197	0.0000	0.0000	0.0000	0.0250
199	0.0000	0.0333	0.0000	0.1000
N	32	30	30	20

EK-5. DYMS1 lokusunda elde edilen allel frekansları

Allel (bç)	Kıl	Honamlı	Kabakulak	Norduz
175	0.0156	0.0000	0.0000	0.0000
177	0.0156	0.0000	0.0000	0.0000
179	0.0312	0.0500	0.0185	0.0000
181	0.0312	0.0500	0.0556	0.0000
183	0.0938	0.2000	0.2222	0.0000
185	0.1562	0.2333	0.2037	0.0250
187	0.0312	0.0167	0.0741	0.0750
189	0.0625	0.1667	0.1481	0.0750
191	0.3906	0.2167	0.2407	0.0250
193	0.0000	0.0000	0.0000	0.2500
195	0.0000	0.0000	0.0000	0.2000
199	0.0156	0.0000	0.0000	0.0000
201	0.0156	0.0000	0.0000	0.0000
203	0.1250	0.0667	0.0370	0.0250
205	0.0156	0.0000	0.0000	0.3250
N	32	30	27	20

ÖZGEÇMİŞ

MEHMET ASLAN

mehmetaslan15@outlook.com



ÖĞRENİM BİLGİLERİ

Yüksek Lisans	Akdeniz Üniversitesi
2016-2019	Fen Bilimleri Enstitüsü, Zootečni Bölümü, Antalya
Lisans	Akdeniz Üniversitesi
20012-2016	Ziraat Fakültesi, Zootečni Bölümü, Antalya

ESERLER

Uluslararası hakemli dergilerde yayımlanan makaleler

1- Karşlı T., Balcıoğlu M.S., Demir E., Fidan H.G., **Aslan M.**, Aktan S., Kamanlı S., Karabağ K., Şahin E. (2017). Ankara Tavukçuluk Araştırma Enstitüsü'nde Yetiştirilen Yumurtacı Saf Tavuk Hatlarında Yumurta Verimi İle İlişkili IGF-I ve NPY Aday Genlerindeki Polimorfizmlerin Belirlenmesi. Türk Tarım-Gıda ve Teknoloji Dergisi.5(9), 1051-1056.

Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında basılan bildiriler

1- Karşlı T., Balcıoğlu M.S., Demir E., Fidan H.G., **Aslan M.**, Argun K.B. (2017). Determination of polymorphism on Insulin-like growth factor-I (IGF-I) and Norepinephrine Y (NPY) genes in Denizli chickens by using PCR-RFLP method. III. International Agriculture Congress (Özet Bildiri/Sözlü Sunum).

2- Balcıoğlu M.S., Karşlı T., Demir E., **Aslan M.**, Fidan H.G., Aktan S., Şahin E., Karabağ, K. (2017). Determination of the Ovocalyxin-32 gene in different six Brown layer lines using PCR-RFLP method. III. International Agriculture Congress (Özet Bildiri/Sözlü Sunum).

Projeler

1-Antalya İlinde Yetiştirilen Kıl Keçisi Populasyonlarında Genetik Varyasyonun Mikrosatellit Markerler Kullanılarak Belirlenmesi. Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projeleri Kordinasyon Birimi (BAP). Normal Araştırma Projesi. (Araştırmacı). (Bütçe 50.000 TL)

2-Kıl, Honamlı, Kabakulak Ve Norduz Keçilerinde Majör Doku Uygunluk Kompleksi (MHC) İle İlişkili Lokuslar Kullanılarak Genetik Çeşitliliğin Belirlenmesi. Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projeleri Kordinasyon Birimi (BAP). Yüksek Lisans Araştırma Projesi. (Araştırmacı). (Bütçe 15.000 TL)

