

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ



**TÜRKİYE, FİLİSTİN, ÜRDÜN VE SUUDİ ARABİSTAN'DA YETİŞTİRİLEN
İVESİ KOYUNLARI GENETİK ORIJINLERİNİN MTDNA D-LOOP BÖLGESİ
DNA DİZİ ANALİZİNE GÖRE ARAŞTIRILMASI**

Faisal Saleh Khalel RASHAYDA
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ

HAZİRAN 2023

ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ



**TÜRKİYE, FİLİSTİN, ÜRDÜN VE SUUDİ ARABİSTAN'DA YETİŞTİRİLEN
İVESİ KOYUNLARI GENETİK ORIJINLERİNİN MTDNA D-LOOP BÖLGESİ
DNA DİZİ ANALİZİNE GÖRE ARAŞTIRILMASI**

Faisal Saleh Khalel RASHAYDA
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ

HAZİRAN 2023

ANTALYA

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



**TÜRKİYE, FİLİSTİN, ÜRDÜN VE SUUDİ ARABİSTAN'DA YETİŞTİRİLEN
İVESİ KOYUNLARI GENETİK ORIJINLERİNİN MTDNA D-LOOP BÖLGESİ
DNA DİZİ ANALİZİNE GÖRE ARAŞTIRILMASI**

**Faisal Saleh Khalel RASHAYDA
TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

**Bu tez Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi
tarafından FDK-2022-6084 nolu proje ile desteklenmiştir.**

HAZİRAN 2023

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TÜRKİYE, FİLİSTİN, ÜRDÜN VE SUUDİ ARABİSTAN'DA YETİŞTİRİLEN
İVESİ KOYUNLARI GENETİK ORIJINLERİNİN MTDNA D-LOOP BÖLGESİ
DNA DİZİ ANALİZİNE GÖRE ARAŞTIRILMASI

Faisal Saleh Khalel RASHAYDA
TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ

Bu tez 12/06/2023 tarihinde jüri tarafından Oybirliği ile kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Hasan MEYDAN (Danışman)
Prof. Dr. İbrahim Zafer ARIK
Doç. Dr. Demir ÖZDEMİR
Doç. Dr. Abdullah Nuri ÖZSOY
Doç. Dr. Taki KARSLI

ÖZET

TÜRKİYE, FİLİSTİN, ÜRDÜN VE SUUDİ ARABİSTAN'DA YETİŞTİRİLEN İVESİ KOYUNLARI GENETİK ORIJINLERİNİN MTDNA D-LOOP BÖLGESİ DNA DİZİ ANALİZİNE GÖRE ARAŞTIRILMASI

Faisal Saleh Khalel RASHAYDA

Doktora Tezi, Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Hasan MEYDAN

Haziran 2023; 106 sayfa

İvesi, kombine bir koyun ırkı olup et, süt ve yapağı üretimi için yetiştirilen ve elverişsiz çevre koşullarına iyi adapte olmuş dayanıklı bir ırktır. İvesi Türkiye'nin güneyinde, Irak, Suudi Arabistan, Filistin, Ürdün ve Suriye'de yetiştirilmektedir. Şiddetli kuraklık, hastalık, iklim değişikliği, yoğun seleksiyon ve melezleme gibi birçok faktör sebebiyle Verimli Hilal bölgesinde yetiştirilen İvesi koyunlarının genetik çeşitliliği ve biyolojik zenginliğinde ciddi bir düşüş meydana gelmiştir. Bu yüzden bu ırkların tanımlanması, filogenetik ilişkilerinin belirlenmesi ve buna bağlı olarak da korunması büyük önem arz etmektedir.

Bu tez çalışmasında Türkiye, Filistin, Ürdün ve Suudi Arabistan'da yetiştirilen İvesi koyunlarının mtDNA D-loop bölgesi dizilenmiş, evcilleştirilme süreçleri ve haplogrupları hakkında bilgiler elde edilmiş ve genetik benzerlik/farklılıkları ortaya koyularak filogenetik analizler yapılmıştır. Bu amaç doğrultusunda toplam 300 (n=75x4) koyundan elde edilen DNA materyal olarak kullanılmış, mtDNA'nın kontrol bölgesi (D-loop bölgesi) PCR ile çoğaltılmış ve dizi analizi gerçekleştirilmiştir. Analizler sonucunda, çalışılan koyun popülasyonlarında toplam 34 farklı polimorfik bölge ve 67 farklı haplotip tespit edilmiştir. Tüm popülasyonlar birlikte ele alındığında haplotip çeşitliliği ve nükleotid çeşitliliği sırasıyla 0.968 ± 0.006 ve 0.01656 olarak hesaplanmıştır. Çalışılan popülasyonlardan birbirine genetik olarak en uzak popülasyonların Türkiye ve Filistin popülasyonları olduğu görülmektedir ve bu iki popülasyon arasındaki genetik mesafe 0.022 olarak tahmin edilmiştir. Çalışılan popülasyonlarda tüm referans haplogruplar tespit edilmiş olup B haplogrubu baskın (%37) olarak bulunmuştur.

ANAHTAR KELİMELEER: Filogenetik analiz, Genetik çeşitlilik, Haplogrup, İvesi, MtDNA D-loop

JÜRİ: Doç. Dr. Hasan MEYDAN

Prof. Dr. İbrahim Zafer ARIK

Doç. Dr. Demir ÖZDEMİR

Doç. Dr. Abdullah Nuri ÖZSOY

Doç. Dr. Taki KARSLI

ABSTRACT

INVESTIGATING THE GENETIC ORIGIN OF AWASSI SHEEP IN TÜRKİYE, PALESTINE, JORDAN AND SAUDI ARABIA BASED ON SEQUENCING OF MTDNA D-LOOP REGION

Faisal Saleh Khalel RASHAYDA

PhD Thesis, Department of Biotechnology

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Hasan MEYDAN

June 2023; 106 pages

Awassi is a combined sheep breed, bred for meat, milk and wool production and is well adapted to unfavourable environmental conditions. It is widely bred in southern Türkiye, Iraq, Saudi Arabia, Palestine, Jordan and Syria. Due to many factors such as severe drought, disease, climate change, intensive selection and crossbreeding, the genetic diversity and biological richness of Awassi sheep reared in Fertile Crescent region has been severely reduced. Therefore, it is of great importance to identify these breeds, to determine their phylogenetic relationships and to protect them accordingly.

In this thesis, the mtDNA D-loop region of Awassi sheep reared in Türkiye, Palestine, Jordan and Saudi Arabia was sequenced, information about domestication processes and haplogroups were obtained and phylogenetic analyses were performed by revealing genetic similarities/differences. For this purpose, a total of 300 sheep ($n=75 \times 4$) were sampled, the control region (D-loop region) of mtDNA was amplified by PCR and then sequenced. As a result of the analysis, a total of 34 different polymorphic regions and 67 different haplotypes were detected in the studied populations. When all populations were considered together, haplotype diversity and nucleotide diversity were calculated as 0.968 ± 0.006 and 0.01656, respectively. Among the populations studied, the most genetically distant populations were the Turkish and Palestinian populations and the genetic distance between these two populations was estimated as 0.022. All reference haplogroups were detected in the studied populations and haplogroup B was found to be dominant (37%).

KEYWORDS: Awassi, Genetic diversity, Haplogroup, MtDNA D-loop, Phylogenetic analysis

COMMITTEE: Assoc. Prof. Dr. Hasan MEYDAN

Prof. Dr. İbrahim Zafer ARIK

Assoc. Prof. Dr. Demir ÖZDEMİR

Assoc. Prof. Dr. Abdullah Nuri ÖZSOY

Assoc. Prof. Dr. Taki KARSLI

ÖNSÖZ

Öncelikle bana doktora tezimi tamamlama sabrı ve kararlılığı verdiği için Allah'a şükürler olsun.

Projenin başarısı, benim dışımda, birçok kişinin desteği ve tavsiyelerinden büyük ölçüde etkilenmiştir. Her şeyden önce, doktora eğitimim boyunca bana verdiği tüm destekler ve tavsiyeler için danışmanım Doç. Dr. Hasan MEYDAN'a teşekkür etmek istiyorum. Bu çalışmayı tamamlamam için bana güç, kaynak ve cesaret verdiniz. Sizin bilginiz ve desteğiniz olmadan bu çalışmayı yapmak imkânsız olurdu. Emeği için ne kadar teşekkür etsem azdır. Onun öğrencisi olduğum için kendimi son derece ayrıcalıklı hissediyorum.

Ürdün Mutah Üniversitesi'nden Prof. Dr. Raed Al-Atiyat'a yardımı, teşviki, fikirleri ve araştırmama gösterdiği ilginin yanı sıra Ürdün'den sağladığı örnekler için içten teşekkürlerimi sunmayı bir borç bilirim.

Ayrıca Dr. Mohammad Manassra ve Dr. Abdulrahman Alharthi'ye Filistin ve Suudi Arabistan örneklerinin sağlanmasına yardımcı oldukları için içten teşekkürlerimi sunarım.

Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootečni Bölümüne bana laboratuvarlarını açtıkları için teşekkürlerimi sunarım.

Tüm üniversite arkadaşlarıma Antalya'da geçirdiğim süreyi keyifli ve unutulmaz kıldıkları için teşekkür ederim. Dr. Berkant İsmail Yıldız'a bunca yıldır arkadaşım olduğu ve laboratuvarında bana her zaman yardımcı olduğu için minnettarlığımı ifade etmek isterim. Bu çalışmada kullanılan istatistiksel analizlerdeki yardımları için Emine Toparslan'a da teşekkür ederim.

Son olarak, bugünlere gelmemde en büyük etkisi olan, annem, babam, eşim ve çocuklarım, bana yaşattığınız güzel anlar ve verdiğiniz psikolojik ve duygusal destek için tüm teşekkürlerim size.

Tarım Bakanı Sayın Riyad Attari'ye, Filistin Devleti Tarım Bakanlığı'na teşekkür etmek istiyorum. Ayrıca Bakanlığın Genel Müdürü Sayın Fatima Irsheed'e de doktora eğitimi için burs almamda bana yardımcı olduğu için teşekkür ederim.

Ayrıca tez projemin gerçekleşmesi sürecini destekleyen Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER	i
AKADEMİK BEYAN	v
SİMGELER	vi
KISALTMALAR	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK TARAMASI	6
2.1. Evcil Koyunun Taksonomideki Yeri ve Evcilleştirilmesi	6
2.2. İvesi Koyunu	10
2.3. Çiftlik hayvanlarının genetik çeşitliliğini değerlendirmek için kullanılan moleküler yöntemler ve Mitokondriyal dizi varyasyonu	13
2.4. Koyun mitokondriyal DNA haplogruplarının dağılımı	23
3. MATERYAL VE METOT	26
3.1. Kullanılan hayvan ırkları ve örnek sayıları	26
3.2. Araç ve gereçler	27
3.3. Tampon çözeltiler	28
3.4. Metot	28
3.4.1. DNA izolasyonu	28
3.4.2. MtDNA D-loop bölgesinin PCR ile çoğaltılması	30
3.4.3. Elektroforez	31
3.4.4. Agaroz jellerin hazırlanması	32
3.4.5. PCR ürünlerinin jele yüklenmesi ve görüntülenmesi	32
3.5. Moleküler veri analizi	33
3.5.1. MtDNA dizilerinin kontrolü	33
3.5.2. MtDNA'da nükleotid yer değiştirme oranları	34
3.5.3. Genetik çeşitlilik ve haplotip analizleri	34
3.5.4. Nötralite test sonuçları	35
3.5.6. Moleküler Varyans Analizi (AMOVA)	35

3.5.7. Neighbor joining filogenetik ağaç	35
3.5.8. Medyan-birleştirme ağ (median joining network) analizi	36
3.5.9. Genetik uzaklık değeri	37
3.5.10. İkişerli (pairwise) F_{ST} değeri	37
4. BULGULAR	39
4.1. DNA izolasyon sonuçlarının değerlendirilmesi	39
4.2. PCR Ürünlerinin Görüntülenmesi	39
4.3. DNA Dizi Analiz Sonuçları	40
4.3.1. mtDNA dizilerinin kontrolü	40
4.3.2. mtDNA'da nükleotid yer değiştirme oranları	43
4.4. İvesi Popülasyonlarındaki Genetik Çeşitlilik	44
4.4.1. Haplotip analizleri	44
4.4.2. Nötralite test sonuçları	45
4.4.3. Moleküler varyans analizi (AMOVA)	45
4.5. İvesi koyunlarına ait mtDNA dizi analizi sonuçları	46
4.5.1. Türkiye'de yetiştirilen İvesi koyunlarına ait analiz sonuçları	46
4.5.2. Filistin'de yetiştirilen İvesi koyunlarına ait analiz sonuçları	50
4.5.3. Ürdün'de yetiştirilen ivesi koyunlarına ait analiz sonuçları	55
4.5.4. Suudi Arabistan İvesi Irkına Ait Bireylerin mtDNA Dizi Analizi	61
4.5.5. Türkiye, Filistin, Ürdün ve Suudi arabistan'da yetiştirilen ivesi koyunlarına ait mtDNA dizi analizi	66
4.6. ivesi koyunları arasındaki genetik mesafe ve genetik farklılaşma	74
5. TARTIŞMA	76
5.1. DNA izolasyon sonuçları	76
5.2. PCR Analizleri	76
5.3. İvesi koyunlarına ait mtDNA dizi analizi sonuçları	76
5.3.1. Haplotip analizi sonuçları	77
5.3.2. Nötralite test sonuçları	78
5.3.3. Moleküler varyans analizi (AMOVA) sonuçları	78
5.3.4. Popülasyonlar arası genetik mesafe ve genetik farklılaşma	79

5.3.5. Neighbour joining filogenetik ağaç ve haplogrup sonuçları	80
6. SONUÇLAR.....	90
7. KAYNAKLAR.....	93
ÖZGEÇMİŞ	107



AKADEMİK BEYAN

Doktora Tezi olarak sunduğum “TÜRKİYE, FİLİSTİN, ÜRDÜN VE SUUDİ ARABİSTAN’DA YETİŞTİRİLEN İVESİ KOYUNLARI GENETİK ORIJINLERİNİN MTDNA D-LOOP BÖLGESİ DNA DİZİ ANALİZİNE GÖRE ARAŞTIRILMASI”adlı bu çalışmanın, akademik kurallar ve etik değerlere uygun olarak yazıldığını belirtir, bu tez çalışmasında bana ait olmayan tüm bilgilerin kaynağını gösterdiğimi beyan ederim.

12/06/2023

Faisal Saleh Khalel RASHAYDA

İmzası

SİMGELER

A	: Adenin Nükleotidi
Bç	: Baz Çifti
C	: Sitozin Nükleotidi
°C	: Santigrat Derece
G	: Guanin Nükleotidi
kb	: Kilobaz
M	: Molar
MgCl ₂	: Magnezyum Klorür
mM	: Mili Mol
mm	: Milimetre
µM	: Mikromolar
NaCl	: Sodyum Klorür
T	: Timin Nükleotidi
V	: Volt
µl	: Mikro Litre
%	: Yüzde
vd	: Ve diğerleri

KISALTMALAR

AMOVA	: Moleküler Varyans Analizi
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
DAD-IS	: Domestic Animal Diversity Information System
D-loop	: Displacement loop
dNTP	: Deoksi nükleotid trifosfat
EDTA	: Ethylene Daimin Tetra Acetic Acid
FAO	: Mitokondriyal DNA
HPG-A	: Haplogrup A
HPG-B	: Haplogrup B
HPG-C	: Haplogrup C
HPG-D	: Haplogrup D
HPG-E	: Haplogrup E
mtDNA	: Mitokondriyal DNA
NJ	: Neighbor Joining
Hd	: Haplotip Çeşitliliği
NCBI	: National Center for Biotechnology Information
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
SDS	: Sodyum Dodesil Sülfat
SNP	: Tek Nükleotid Polimorfizmi
TAE	: Tris-Acedate-EDTA

Bu tezde ondalık ayıraç için nokta (.) kullanılmıştır (örneğin “16.07”).

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. 1. Verimli Hilal bölgesindeki evcil hayvan türlerinin ilk evcilleştirilme tarihleri ve yayılışı.....	1
Şekil 2 1. Başlıca yedi yaban koyunu türünün coğrafi dağılımını gösteren harita..	8
Şekil 2 2. Evcil koyunun yabani koyunlar ile ilişkisi	9
Şekil 2 3. Verimli Hilal haritası	10
Şekil 2 4. Ortadoğu'da bulunan farklı ülkelerde yetiştirilen İvesi koyunları	11
Şekil 2 5. DNA temelli moleküler yöntemlerin karşılaştırılması	15
Şekil 2 6. Hayvanlarda mitokondri organelinin genel yapısı.....	16
Şekil 2 7. Mitokondrinin oluşumuyla alakalı endosimbiyotik teori	17
Şekil 2 8. mtDNA'nın moleküler yapısı.....	18
Şekil 2 9. Farklı coğrafi bölgelerdeki koyunların mtDNA HPG'lerinin coğrafik dağılımları.	25
Şekil 3. 1. mtDNA D-loop bölgesi ve kullanılan primerler.....	30
Şekil 3. 2. PCR ürünlerinin elektroforez cihazında yürütülmesi	32
Şekil 3. 3. Elektroforez sonrası jellerin görüntülenmesi.....	33
Şekil 4. 1. İzole edilen DNA örneklerinin %1'lik agaroz jel elektroforez görüntüsü	39
Şekil 4. 2. PCR işlemi sonrası mtDNA D-loop bölgesine ait 531 bp'lik jel görüntüsü.....	40
Şekil 4. 3. DNA dizi analizi sonuçlarının BLAST ile kontrol edilmesi	41
Şekil 4. 4. mtDNA D-loop bölgesine ait 531 bp'lik DNA dizi analizi elektroforegram sonuçları	42
Şekil 4. 5. mtDNA D-loop bölgesine ait DNA dizi analizi sonuçlarının MEGA7 programı ile hizalanması (alignment)	43
Şekil 4. 6. Türkiye'de yetiştirilen İvesi koyunlarına ve referans örneklerle (Urial, Muflon, Argali ve haplogrup A, B, C, D ve E) ait hizalanmış mtDNA D-loop dizilerine dayalı dendogram.....	46
Şekil 4. 7. Türkiye'de yetiştirilen İvesi koyunlarına ait haplotip sekansları.	47
Şekil 4. 8. Türkiye İvesi popülasyonunda oluşturulan ısı haritası	48
Şekil 4. 9. Türkiye İvesi popülasyonunda görülen haplotipler arasındaki nükleotit farklılıkları.....	48
Şekil 4. 10. Türkiye İvesi popülasyonu ve referans popülasyonlara (A, B, C, D ve E haplogrupları ve yabani tip koyunlar) ait Medyan-birleştirme ağ (median joining network) analizleri.....	49

Şekil 4. 11. Türkiye İvesi popülasyonu ve referans popülasyonlara (A, B, C, D ve E haplogrupları ve yabancı tip koyunlar) ait neighbour joining filogenetik ağaç.....	50
Şekil 4. 12. Filistin’de yetiştirilen İvesi koyunlarına ve referans örneklerle (Urial, Muflon, Argali ve haplogrup A, B, C, D ve E) ait hizalanmış mtDNA D-loop dizilerine dayalı dendogram.....	51
Şekil 4. 13. Filistin’de yetiştirilen İvesi koyunlarına ait haplotip sekansları.....	52
Şekil 4. 14. Filistin İvesi popülasyonunda oluşturulan ısı haritası	53
Şekil 4. 15. Filistin İvesi popülasyonunda görülen haplotipler arasındaki nükleotit farklılıkları.....	53
Şekil 4. 16. Filistin İvesi popülasyonu ve referans popülasyonlara (A, B, C, D ve E haplogrupları ve yabancı tip koyunlar) ait Medyan-birleştirme ağ (median joining network) analizleri.....	54
Şekil 4. 17. Filistin İvesi popülasyonu ve referans popülasyonlara (A, B, C, D ve E haplogrupları ve yabancı tip koyunlar) ait neighbour joining filogenetik ağaç.....	55
Şekil 4. 18. Ürdün’de yetiştirilen İvesi koyunlarına ve referans örneklerle (Urial, Muflon, Argali ve haplogrup A, B, C, D ve E) ait hizalanmış mtDNA D-loop dizilerine dayalı dendogram.....	56
Şekil 4. 19. Ürdün’de yetiştirilen İvesi koyunlarına ait haplotip sekansları.....	57
Şekil 4. 20. Ürdün İvesi popülasyonunda oluşturulan ısı haritası.....	58
Şekil 4. 21. Ürdün İvesi popülasyonunda görülen haplotipler arasındaki nükleotit farklılıkları.....	59
Şekil 4. 22. Ürdün İvesi popülasyonu ve referans popülasyonlara (A, B, C, D ve E haplogrupları ve yabancı tip koyunlar) ait Medyan-birleştirme ağ (median joining network) analizleri.....	60
Şekil 4. 23. Ürdün İvesi popülasyonu ve referans popülasyonlara (A, B, C, D ve E haplogrupları ve yabancı tip koyunlar) ait neighbour joining filogenetik ağaç.....	61
Şekil 4. 24. Suudi Arabistan’da yetiştirilen İvesi koyunlarına ve referans örneklerle (Urial, Muflon, Argali ve haplogrup A, B, C, D ve E) ait hizalanmış mtDNA D-loop dizilerine dayalı dendogram.	62
Şekil 4. 25. Suudi Arabistan’da yetiştirilen İvesi koyunlarına ait haplotip sekansları	63
Şekil 4. 26. Suudi Arabistan İvesi popülasyonunda oluşturulan ısı haritası.....	64
Şekil 4. 27. Suudi Arabistan İvesi popülasyonunda görülen haplotipler arasındaki nükleotit farklılıkları.....	64
Şekil 4. 28. Suudi Arabistan İvesi popülasyonu ve referans popülasyonlara (A, B, C, D ve E haplogrupları ve yabancı tip koyunlar) ait Medyan-birleştirme ağ (median joining network) analizleri	65

Şekil 4. 29. Suudi Arabistan İvesi popülasyonu ve referans popülasyonlara (A, B, C, D ve E haplogrupları ve yabancı tip koyunlar) ait neighbour joining filogenetik ağaç	66
Şekil 4. 30. Türkiye, Filistin, Ürdün ve Suudi Arabistan’da yetiştirilen İvesi koyunlarına ve referans örneklerle (Urial, Muflon, Argali ve haplogrup A, B, C, D ve E) ait hizalanmış mtDNA D-loop dizilerine dayalı dendogram.....	67
Şekil 4. 31. Türkiye, Filistin, Ürdün ve Suudi Arabistan’da yetiştirilen İvesi popülasyonlarında oluşturulan ısı haritası.....	71
Şekil 4. 32. Türkiye, Filistin, Ürdün ve Suudi Arabistan’da yetiştirilen İvesi popülasyonları ve referans popülasyonlara (A, B, C, D ve E haplogrupları ve yabancı tip koyunlar) ait Medyan-birleştirme ağ (median joining network) analizleri	73
Şekil 4. 33. Türkiye, Filistin, Ürdün ve Suudi Arabistan’da yetiştirilen İvesi popülasyonları ve referans popülasyonlara (A, B, C, D ve E haplogrupları ve yabancı tip koyunlar) ait neighbour joining filogenetik ağaç	74
Şekil 5. 1. Haplogrupların ülkelere göre dağılımı.....	84
Şekil 5. 2. Haplogrupların Verimli Hilal haritası üzerinde dağılımı.....	85
Şekil 5. 3. Koyunların evcilleştirildiği yerden Avrasya ve Afrika'ya ana yayılma rotaları.	88

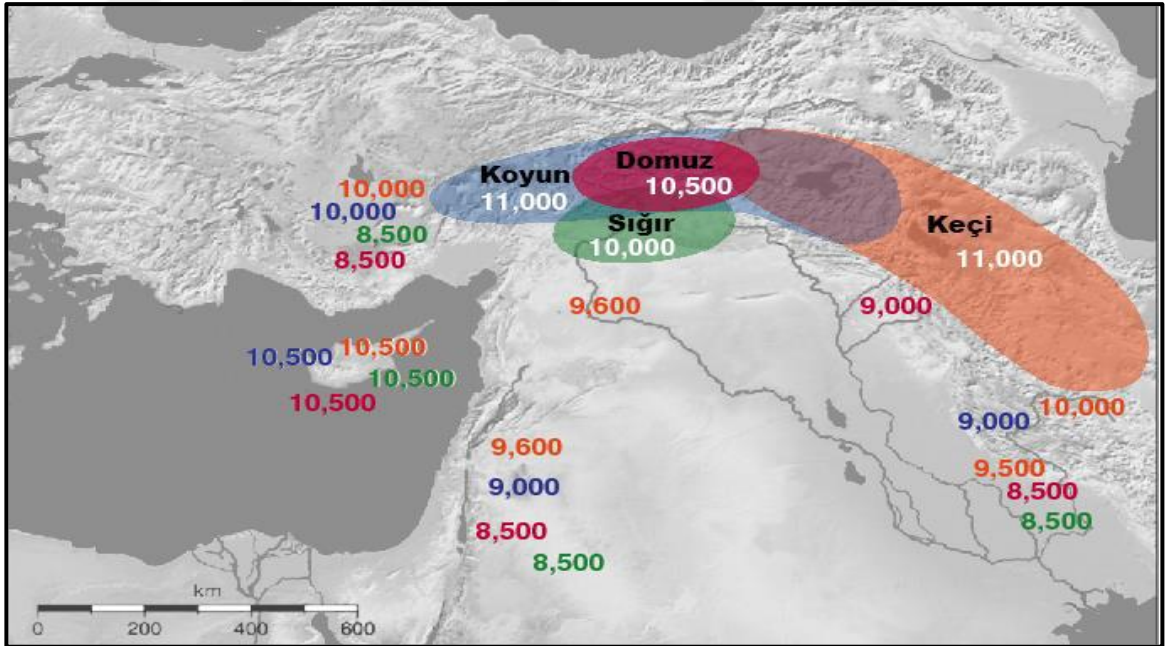
ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2. 1. Verimli Hilal İvesi koyunları için laktasyon yoluyla toplam süt verimi	12
Çizelge 2. 2. Koyun mtDNA'sında bulunan genlerin organizasyonu	21
Çizelge 3. 1. Çalışılan örnek sayıları ve referans dizileri	26
Çizelge 3. 2. Çalışmada kullanılan ekipmanlar ve kullanım amaçları.....	27
Çizelge 3. 3. Kullanılan çözeltiler ve içerikleri	28
Çizelge 3. 4. Gen bölgelerine ait primerler	30
Çizelge 3. 5. PCR Stok Tampon Çözeltisi.....	31
Çizelge 3. 6. PCR programı	31
Çizelge 4. 1. Nükleotid Yer Değiştirme Modelinin Tahmini	43
Çizelge 4. 2. Çalışılan popülasyonların genetik çeşitlilik parametreleri	45
Çizelge 4. 3. Nötralite testlerine ait Tajima's D ve Fu's F_s istatistikleri.....	45
Çizelge 4. 4. İvesi Koyunları ırkının moleküler varyans analizi	45
Çizelge 4. 5. Türkiye, Filistin, Ürdün ve Suudi Arabistan'da yetiştirilen İvesi koyunlarında haplotiplerin sekansları	69
Çizelge 4. 6. İvesi popülasyonları arasındaki genetik uzaklık değerleri.....	75
Çizelge 4. 7. İvesi popülasyonları arasındaki ikişerli genetik farklılaşma katsayıları.....	75

1. GİRİŞ

İnsanoğlu, avcılık uygulamalarını terk ederek hayvanların evcilleştirilmesi ve yetiştirilmesiyle tarihi bir adım atmıştır. Yaşam tarzındaki bu değişiklik, insanların sosyal yaşamları üzerinde önemli bir etkiye sahip olmuştur. Evcilleştirmenin ne zaman ve neden başladığı bilinmemekle birlikte vahşi kurtlardan, korunma ve avlanma amacıyla köpeklerin evrimi yaklaşık 14.000 yıl önceye dayandığı (MÖ 12.000) tahmin edilmektedir (Roots 2007). Çiftlik hayvanlarının evcilleştirmesinde öncelikli olarak 4 türün adı geçmektedir. Arkeolojik kazılardan elde edilen bilgilere göre koyun, keçi, domuz ve sığır gibi çiftlik hayvanlarının evcilleştirilmesinin ise günümüzden yaklaşık 12.000 ila 13.000 yıl önceye dayandığı (MÖ 10.000–11.000) düşünülmektedir (Zeder 2008). Genel olarak evcilleştirmenin, Orta Anadolu'dan kuzeybatı İran'a kadar uzanan bir bölgesi olan “Verimli Hilal” bölgesinde gerçekleştiğine inanılmaktadır (Şekil 1.1).

Dünya üzerinde oldukça geniş bir coğrafyada dağılım gösteren yabani koyunlar, evcil koyunların ataları olarak kabul edilmektedir. Evcil koyunların (*Ovis aries*), Uriyal, Argali ve Muflon koyunlarından türediği teorisi literatürde uzun süredir tartışıla gelmektedir. Bu koyunlar halen kendi bölgelerinde yaşamaktadırlar. Ancak arkeolojik kazılar ve moleküler genetik araştırmalar evcil koyunun Avrupa Muflonu (*Ovis musimon*) ve Asya Muflonu (*Ovis orientalis*) soyundan geldiğini göstermiştir (Hiendleder vd.2002).



Şekil 1.1. Verimli Hilal bölgesindeki evcil hayvan türlerinin ilk evcilleştirilme tarihleri ve yayılışı (Zeder 2008). Renkli alanlar içindeki tarihler yaklaşık evcilleştirme tarihlerini (MÖ), renkli alanların dışındaki tarihler ise evcilleştirmenin o bölgede ilk ortaya çıktığı yaklaşık tarihleri (MÖ) göstermektedir. Turuncu, keçi (*Capra hircus*); mavi, koyun (*Ovis aries*); yeşil, sığır (*Bos taurus*); kırmızı, domuz (*Sus scrofa*).

Verimli Hilal bölgesindeki evcil hayvan türlerinin ilk evcilleştirilme tarihleri ve yayılışı (Zeder 2008). Renkli alanlar içindeki tarihler yaklaşık evcilleştirme tarihlerini (MÖ), renkli alanların dışındaki tarihler ise evcilleştirmenin o bölgede ilk ortaya çıktığı yaklaşık tarihleri (MÖ) göstermektedir. Turuncu, keçi (*Capra hircus*); mavi, koyun (*Ovis aries*); yeşil, sığır (*Bos taurus*); kırmızı, domuz (*Sus scrofa*).

Arkeologlar ve genetikçilere göre, koyunlar ilk olarak yaklaşık MÖ 11.000 yılında Verimli Hilal'in Orta Anadolu ile Zagros Dağları'nın kuzeyi arasındaki bölge de dahil olmak üzere çeşitli bölgelerinde evcilleştirilmiştir. Bu bölgeler günümüzde Irak, Ürdün, Filistin, Suriye, İran ve Türkiye'ye karşılık gelmektedir (Zeder vd. 2008; Demirci vd. 2013; Larson ve Burger 2013). Bu ülkelerin koyun popülasyonları, Asya, Afrika ve Avrupa'daki diğer bölgelerdeki koyunlarla karşılaştırıldığında (mikrosatellit, SNP, mtDNA ve çekirdek DNA'sı çalışmalarına göre) daha yüksek düzeyde genetik çeşitlilik sergilemektedir (Pereira vd. 2009; Benjelloun vd. 2011; Gaouar vd. 2015; Ahmed vd. 2017; Al-Atiyat vd. 2018). Bulunan yüksek genetik çeşitlilik, bu ülkelerin çiftlik hayvanlarının evcilleştirilme merkezlerine yakın olmasından ya da bu evcilleştirilme merkezlerinin bazılarını içermesinden kaynaklanmaktadır (Naderi vd. 2007). Buna ek olarak, bilinen en eski hayvancılık biçimlerinden birini barındıran Bedevilik, tarih boyunca göçebe hayvan faaliyetleriyle, ülkelerin koyun popülasyonları arasında büyük miktarda gen akışı meydana getirmiştir. Türün gen akışının başka bir biçimi, Müslümanların Hac geleneği sırasında her yıl kurban edilen yüzbinlerce hayvanın (yani keçi, koyun, sığır ve deve) ithal edilmesidir. Bu, küçükbaş hayvan hareketliliğinin insan göçü ve ticaretten kaynaklandığını doğrulayan mevcut raporlarla tutarlıdır (Luikart vd. 2006; Naderi vd. 2007). Al-Atiyat vd. (2018) tarafından yapılan bir çalışmada, Suudi Arabistan koyun ırkları (Harri, Najdi, Awassi/Naemi, Arb ve Rufidi) ile Ürdün İvesi koyun ırkları popülasyon içi yüksek genetik varyasyona sahip olduğu bildirilmiştir. İvesi koyun ırkının genetik yapısı, Verimli Hilal'de yaygın bir ırk olduğu için önemlidir ve muhtemelen modern Avrupa koyun ırklarının çoğunu meydana getirmiştir (Koban 2004, Demirci vd. 2013; Al-Atiyat ve Aljumaah 2014).

Hayvan gen kaynaklarının kaybolmasına ve yerli hayvanlardaki genetik çeşitliliğin azalmasına karşı FAO aracılığıyla bazı sistemler ve veri tabanları (DAD-IS, SoWAnGR, MoDAD gibi) ortaya koyulmuştur. Bunlar sayesinde genetik varyasyonun ve farklılığın ölçümü için çalışmalar başlatılmıştır. FAO tarafından hayvan genetik kaynaklarının risk durumlarının sınıflandırması yapılmıştır. Bu sınıflandırmaya göre ırklar, yok olmuş ırklar, kritik durumda ırklar, yok olma tehlikesi altında ırklar, yok olma sınırında ırklar, risk durumu olmayan ırklar ve durumu bilinmeyen ırklar olarak risk gruplarına ayrılmıştır (FAO 2019).

Hayvansal ürünlere olan talep, dünya nüfusunun günlük beslenme gereksinimlerinin artmasıyla doğru orantılı olarak artmaktadır. Bu nedenle, artan gereksinimleri karşılayabilmek için hayvansal ürünlerin miktarının ve kalitesinin artırılmasına yönelik ıslah ve seleksiyon programları uygulanmaktadır. Bu programlar, var olan genetik çeşitliliği koruyacak şekilde planlanmalıdır. Aksi takdirde var olan genetik çeşitliliğin azalmasına ve hatta yok olmasına neden olma ihtimali yüksektir. Verimli Hilal ve evcilleştirme bölgelerine yakın olan ülkelerde yetiştirilen koyunlar, iklim değişikliği, şiddetli kuraklık ve hastalık tehditleri, geniş seleksiyon ve melezleme gibi birçok faktör nedeniyle

genetik çeşitlilik ve biyolojik zenginlikte keskin bir düşüşle karşı karşıya bulunmaktadır. Halihazırda sahip olduğumuz ırkların düşük performansını iyileştirmeyi amaçlayan ıslah çalışmaları veya hibrit ırkların kullanımının yaygınlaşması nedeniyle yerli gen kaynaklarının yok olma tehdidi giderek daha önemli hale gelmektedir. Gelecekte yerli ırkların hangi ayırt edici özelliklerinin gerekli olacağı belirsiz olduğundan, nesli tükenmekte olan tüm ırkların, ekonomik ve istihdam olanaklarının elverdiği ölçüde yeterli büyüklükte popülasyonlarla genetik kaynak olarak korunması gerektiğine kanaat getirilmiş ve birçok ülkede yerli gen kaynaklarının korunmasına yönelik projeler yürütülmüştür. Sahip olduğumuz gen kaynakları, kendine has eşsiz allelik kombinasyonlara sahip olabilirler. Tekrar kullanılabilmesi için hangi ırkların korunması gerektiği sorusu oldukça önemlidir. Bu yüzden ırkların öncelik sırasının belirlenmesinde, öncelikli olarak ırkların genetik yapısının ve aralarındaki ilişkinin incelenmesi gerekmektedir (Ata 2019).

Genetik çeşitliliğin belirlenmesine yönelik çalışmalar morfolojik özelliklere dayalı tanımlayıcı teknikler kullanılarak başlamıştır. Ancak bu teknikler ile sadece fenotipik varyasyon belirlenebilmektedir. Bu yüzden morfolojik özellikleri kullanmak yerine DNA temelli moleküler tekniklerden yararlanmak daha bilgilendirici ve doğrudur. Çünkü morfolojik tekniklerin doğruluğu ve güvenilirliği moleküler tekniklere göre daha düşüktür. Son yirmi yılda moleküler genetik temelli yöntemler ile genetik orijin ve evcilleştirme araştırmaları hız kazanmıştır. RFLP analizi, mitokondriyal DNA (mtDNA), yüksek yoğunluklu SNP panellerinin DNA dizilimi gibi yöntemler kullanılarak anne, baba ve otozomal kalıtım temelli çeşitli kullanılabilir yararlı teknikler sunulmuştur. Bu moleküler teknikler, evcilleştirme merkezlerinde erken aşamalarda uygulanmaya başlanmıştır. Evcilleştirme merkezlerine yakın bölgelerdeki hayvanların yüksek genetik çeşitliliğe sahip olduğu ve evcilleştirme merkezinden uzaklaştıkça genetik varyasyonda azalma meydana geldiği ortaya konulmuştur (Bradley vd. 1996, Loftus vd.1999). Çekirdek ve mtDNA moleküllerinin kullanıldığı moleküler tekniklerden yararlanılarak koyunlarda gen haritalaması, genlerin organizasyonları ile çalışmasalarının belirlenmesi, genlerin evriminin anlaşılması ve popülasyon genetik konularında araştırmalar yoğun bir şekilde yürütülmektedir. Böylece, koyunlarda yürütülen moleküler genetik çalışmalar hem temel genetik mekanizmaların anlaşılması konusundaki bilgilerimizin artmasını hem de koyunlara özgü genetik problemler hakkındaki bilgi birikiminin daha da iyileştirilmesini sağlamakta ve bireyler ve ırklar arasındaki farklılıkları daha doğru bir şekilde ortaya koymak mümkün olmaktadır (Meadows vd. 2005). DNA düzeyindeki çalışmalarda en etkili teknik, dizi analizi yoluyla DNA dizilerinin elde edilmesi ve yorumlanmasıdır. Bu sayede genomdaki tüm tek nükleotid polimorfizmleri (SNP'ler) ve mutasyonlar görüntülenebilmektedir. DNA dizi analizi, gen yapısı ve kontrol mekanizmaları hakkındaki sorularımızın çoğunu yanıtlamak için temel bir tekniktir (Cho vd. 1998).

Literatürde mtDNA genomu ile ilgili birçok çalışma bulunmaktadır. mtDNA genom çalışmaları, evcilleştirme ve bireysel farklılıklar da dahil olmak üzere birçok konuda yeni bilgiler sağlamıştır. Bu çalışmalar genellikle belirli bir uzunluktaki korunmuş mtDNA bölgelerine spesifik tasarlanan primerleri kullanarak farklılıkları bulmak için karşılaştırmayı amaçlamaktadır. Çalışmalar büyük ölçüde mitokondriyal genomun kontrol bölgesi (D-loop döngüsü) ve *CytB* bölümlerine dayanmaktadır (Pedrosa vd. 2005).

Verimli Hilal koyun ırkları; iklim değişikliği, kuraklık ve hastalık etmenleri, seleksiyon ve melezleme gibi birçok faktör nedeniyle biyolojik çeşitlilik ve biyolojik zenginlikte keskin bir düşüşle karşı karşıya kalmaktadır. Bu türlerin korunması, çoğu ülkenin ana endişelerinden biridir. Irklar arasındaki filogenetik ilişkilerin çözülmesine yönelik çalışmalar, hayvan genetik kaynaklarının korunmasında önceliklerin belirlenmesine yardımcı olacaktır (Reist-Martiet vd. 2003). Bu kapsamda artan bilgiyle, son teknolojik gelişmeleri ve yeni moleküler araçları göz önünde bulundurarak biyolojik çeşitliliğin korunması için daha fazlası yapılabilir. Bu araçlar, koyun dışında dünyada çok çeşitli türlerin evrimsel ilişkilerinin, taksonomilerinin ve demografik özelliklerinin kökenlerini ve evcilleştirme süreçlerini anlamamıza yardımcı olmaktadır (Rosa ve Paiva 2009; Grisolia ve Moreno-Cotulio 2012). Şimdiye kadar bu alanda gerçekleştirilmiş çok az çalışma mevcuttur. Spesifik olarak, Türkiye'deki İvesi koyunlarının atalarının Filistin, Ürdün, Suudi Arabistan veya İvesi koyunlarının Verimli Hilal'de bulunduğu herhangi bir ülkedeki ataları ile ilgili herhangi bir bilimsel çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışma, Verimli Hilal'de İvesi koyunlarını detaylı olarak inceleyen ilk çalışma olmaniteliğindedir. İvesi koyunlarının, potansiyel genetik orijini ve ilişkileri bu çalışmada ortaya koyulmaktadır. Ayrıca, İvesi genomunun seçilen bölgeleri, mtDNA'da haplotipleri veya grupları temsil eden yeni nükleotit dizileri veya bölgeleri için araştırılmıştır.

İvesi koyun ırkı, Türkiye'nin güneyinde, Filistin'de, Ürdün'de ve Suudi Arabistan'da yetiştirilmektedir. Neyazık ki İvesi, sayıları azalan yerli genetik kaynaklar arasında koruma projesi gerektiren genotipler arasında yer almaktadır. Bu açıdan bölge için değerli olan İvesi ırkının genetik çeşitliliğinin ve bu ırkın genetik kaynaklar arasındaki yerinin, özellikle yerli genotiplere olan genetik uzaklığının ve filogenetik ağaçtaki konumunun tespit edilmesi önem teşkil etmektedir. Ayrıca, Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) her ülkenin, yerli hayvanlar için ırk karakterizasyonu ve çeşitliliğine yönelik moleküler genetik karakterizasyon tekniklerini uygulaması gerektiğini tavsiye etmektedir. Bu nedenle yerli koyun ırklarının genetik çeşitliliğinin tespiti oldukça önemlidir. İvesi ırkının, diğer egzotik ırklarla plansız şekilde melezlenmesi de genetik çeşitliliği için önemli bir tehlikedir.

MtDNA dizisi, canlıların evrimsel orijinlerini ve popülasyonların dinamiklerini belirlemek için yoğun olarak kullanılan bir yöntemdir. Ayrıca mtDNA'nın yüksek mutasyon oranlarına sahip olması ve anaya bağlı kalıtım modeli göstermesi sebebiyle evcilleştirme çalışmalarında yoğun olarak kullanılmaktadır. Bunun sonucunda da yabani ve evcil hayvan popülasyonları arasındaki farklılığın değerlendirilmesine izin vermektedir (Bruford vd. 2003; Toro vd. 2009; Meadows vd. 2011; Demirci vd. 2013; Liu vd. 2016; Piljug vd. 2016). mtDNA, sığırların (Loftus vd. 1994), atların (Vila vd. 2001), domuzların (Larson vd. 2005), keçilerin (Sardina vd. 2006) ve koyunların (Wood ve Phua 1996; Hiendleder vd. 1998; Guo vd. 2005; Pedrosa vd. 2005; Pereira vd. 2006; Tapio vd. 2006; Meadows vd. 2006) genetik orijinlerini araştırmak için de kullanılmıştır. Bruford vd. (2003), mtDNA koyun soylarının çoğunun, "Verimli Hilal" bölgesinden orijinli olduğunu bildirmiştir. Olson vd. (2009)'ne göre birçok mitokondriyal gen yüksek oranda korunmaktadır, bu nedenle bu belirteçler çok uzun vadeli filogenetik ve taksonomik ilişkileri incelemek için kullanılabilir. Farklı koyun ırkları arasında ayırım gözetmeyen melezleme, bunların nükleer moleküler

belirteçlerle karakterizasyonunu zorlaştırmakta, ancak mtDNA belirteçleri dünya çapında birçok kırkın orijinleriyle ilgili sorunları çözmeye yardımcı olabilecek niteliktedir.

Koyunların evcilleştirilmesine dair en eski kanıtlar, Anadolu'nun da içinde yer aldığı Mezopotamya bölgelerinde bulunmuştur. Asya ile Avrupa'nın kesişim noktasındaki coğrafi konumu nedeniyle ve bu iki kıta arasındaki köprü vazifesi sebebiyle Anadolu ve Verimli Hilal, tarih öncesi çağlardan beri birçok medeniyete ev sahipliği yapmıştır. Bu bölgelerde keşfedilen birkaç Neolitik insan yerleşiminden elde edilen veriler, buranın özellikle keçiler ve koyunlar olmak üzere birçok evcil hayvan için önemli bir evcilleştirme merkezi olduğunu güçlü bir şekilde göstermektedir (Zeder 2008). Sonuç olarak, bu bölgede yetiştirilen koyun ırklarında genetik çeşitlilik, maternal (anaya bağlı) genetik köken, demografi ve demografik geçmişin belirlenmesi için genetik belirteçlerin araştırılması elzemdir. Türkiye'de yetiştirilen İvesi koyunlarının, ilk evcilleştirilmiş koyunların yaşayan en yakın akrabaları olabileceği varsayılmaktadır. Çünkü bu koyun evcilleştirme merkezleri varsayılan en erken evcilleştirme merkezlerine ev sahipliği yapmaktaya da coğrafi olarak çok yakın konumda bulunmaktadır. Varsayılan evcilleştirme merkezlerinde ve çevresinde bulunan ırkları incelemek, çiftlik hayvanlarının evrimsel tarihine ilişkin paha biçilmez bilgiler sağlayabilir. Ayrıca, daha önceden yapılmış olan birçok bilimsel çalışmanın ışığında, çiftlik hayvanlarının genetik çeşitliliğini ve maternal kökenlerini araştırmak için mtDNA'nın çok yararlı bir araç olacağı aşikardır.

Literatür taramamıza göre, Verimli Hilal'de bulunan farklı ülkelerde (Türkiye, Filistin, Ürdün ve Suudi Arabistan) yetiştirilen İvesi koyun ırklarına odaklanan, İvesi koyunlarının atalarına dair kanıt sağlayacak ve genetik yapısını araştırarak daha önce yapılmış bir bilimsel çalışma sayısı oldukça azdır. Yürütülen bu doktora tezi çalışması kapsamında,

1. evcilleştirme bölgelerindeki Türkiye, Filistin, Ürdün ve Suudi Arabistan'da yetiştirilen İvesi koyun ırklarının genetik çeşitlilik analizleri yapılmış,
2. hedef ülkelerde yetiştirilen İvesi koyunlarının mtDNA D-loop bölgesindeki polimorfizmler belirlenerek popülasyonlar arasındaki genetik ilişkiler (filogenetik ilişkiler) belirlenmiş ve
3. İvesi koyunlarının mtDNA D-loop kontrol bölgesi dizilenerek genetik kökeni ve haplogrupları ortaya konulmuştur.

Böylece çalışılan ülkelerdeki yerli genetik kaynakların korunmasına ve geliştirilmesine yönelik yapılacak olası seleksiyon çalışmalarına yardımcı olabilecek sonuçlar elde edilmiştir.

2. KAYNAK TARAMASI

2.1. Evcil Koyunun Taksonomideki Yeri ve Evcilleştirilmesi

Evcil koyunlar (*Ovis aries*), insan popülasyonlarının göç etmeleri sırasında yanlarında taşıdıkları başlıca hayvan olmalarından dolayı dünyadaki en yaygın hayvan türlerinden biridir. Tür, özellikle Asya ve Afrika'da yaygındır, bunu Avrupa, Kafkaslar ve diğer bölgeler takip etmektedir. Şu an dünyada süt, et ve yün üretimine yönelik olarak 1.300'den fazla koyun ırkı bulunmakta olup toplamda 1,26 milyar baş koyun olduğu tahmin edilmektedir (FAO 2021). Evcilleştirilmesinden bu yana koyunlar, kötü beslenmeye ve çevre koşullarına uyum sağlamaları ve toleransları sayesinde dünya çapında çiftlik hayvanlarının önemli bir parçası haline gelmiştir (Pariset vd. 2011; Lv vd. 2014). Koyun gıda ve yün kaynağı olarak yetiştirilmekte ve koyun yetiştiriciliği birçok kültürde ve ülkede vazgeçilmezdir (Becker vd. 2016). Son birkaç on yıldaki kapsamlı araştırmalara rağmen, evcilleştirilmiş koyunların evrimi, araştırmacılar arasında oldukça tartışmalı bir konu olmaya devam etmektedir (Meadows vd. 2011).

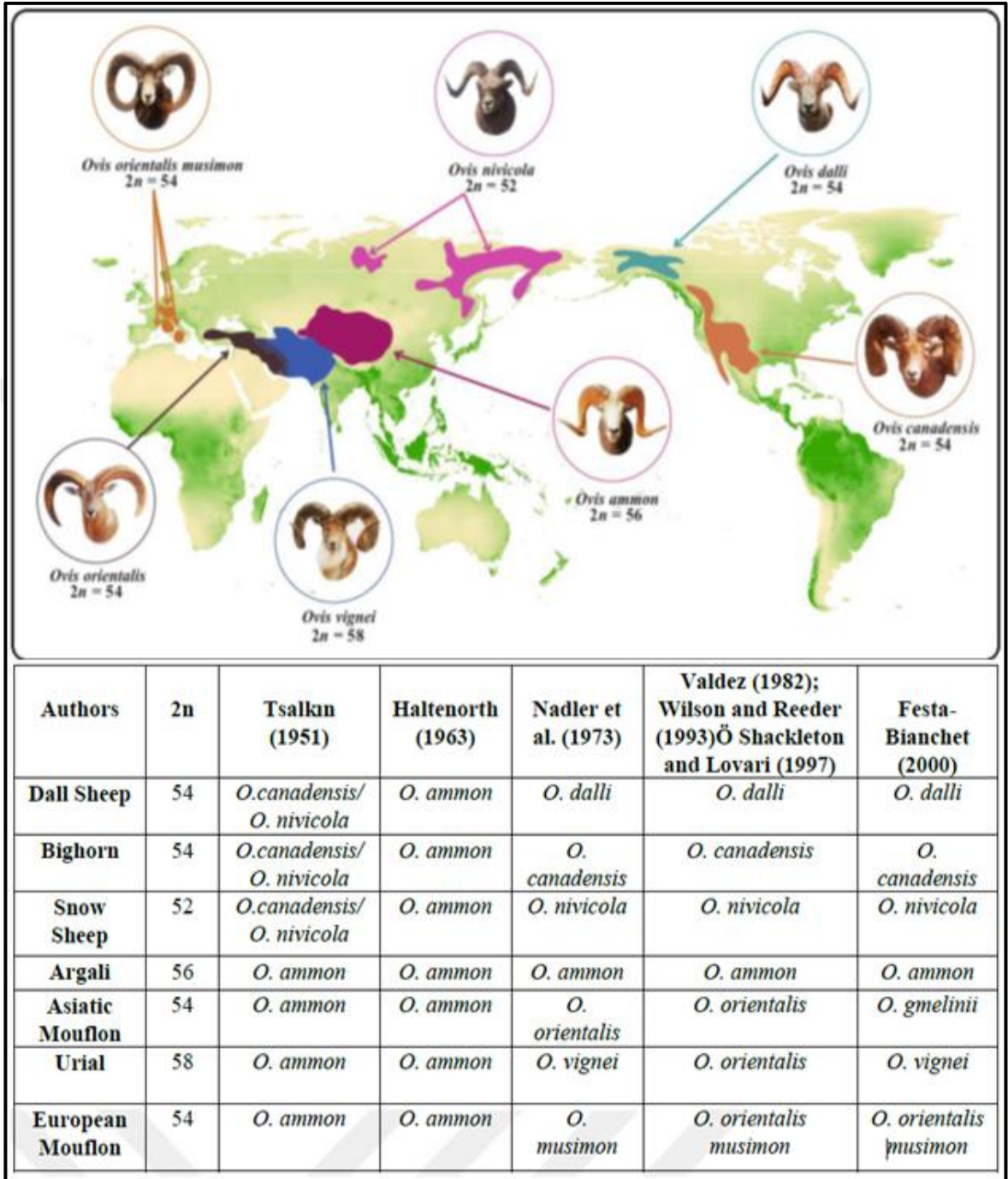
Ovis cinsi koyunlar, geviş getirenler *Bovidae* familyasına ve *Caprinae* alt familyasına aittir (Linnaeus 1758). *Ovis* cinsinin taksonomisi karmaşıktır ve araştırmacılar arasında hala fikir birliği sağlanamamıştır. Farklı çalışmalar ve sınıflandırmalar birçok yabancı koyun türü ve formlarını ortaya koymuşlardır (Shackleton 1997; Rpiquet ve Hassanin 2005; Bruford ve Townsend 2006). Bu nedenle, yabancı atalarından evcilleştirilmiş koyunların kökeni belirsizdir. Karyotip analizlerine, morfolojik karakterlere (boynuzların ve kuyruğun rengi, şekli ve uzunluğu), kromozom sayılarına ve coğrafi dağılımlarına göre çeşitli sınıflandırmalar ve düzeltmeler yapılmıştır (Nadler vd. 1973; Shackleton 1997; Festa-Bianchet 2000; Rezaei vd. 2010). Tüm bu veriler doğrultusunda evcil koyunun taksonomideki yeri aşağıdaki şekilde tanımlanmaktadır (Linnaeus 1758):

Alem:	Animalia (Hayvanlar)
Şube:	Chordata (Kordalılar, Sırt İplikliler)
Sınıf:	Mammalia (Memeliler)
Takım:	Ungulata (Tırnaklılar)
Grup:	Ruminantia (Geviş Getirenler)
Familya:	Bovidae (Boynuzlular)
Cins:	<i>Ovis</i> (Yabani ve Evcil Koyunlar)
Tür:	<i>Ovis aries</i> (Evcil Koyun)

Ovis cinsi genellikle yedi tür, birkaç alt tür ve melezden oluşmaktadır. Kapsamlı arkeolojik ve tarihsel kanıtların yanı sıra yakın tarihli moleküler ve sitogenetik araştırmalar, bu mevcut taksonlardan bir veya daha fazlasının modern evcil koyun kaynakları olduğunu düşündürmektedir (Nadler vd. 1973; Bunch 1978; Ryder 1983; Rezaei vd. 2010; Demirci vd. 2013). Bu taksonlar arasında Asya muflonu (*Ovis orientalis*, Pallas 1811), Avrupa muflonu (*Ovis orientalis musimon*, Pallas 1811), Urial (Arkar) (*Vignei* türleri, Blyth 1841), Argali (Ammon türleri, Linnaeus 1758), Dall veya ince boynuzlu koyun (Nelson 1884),

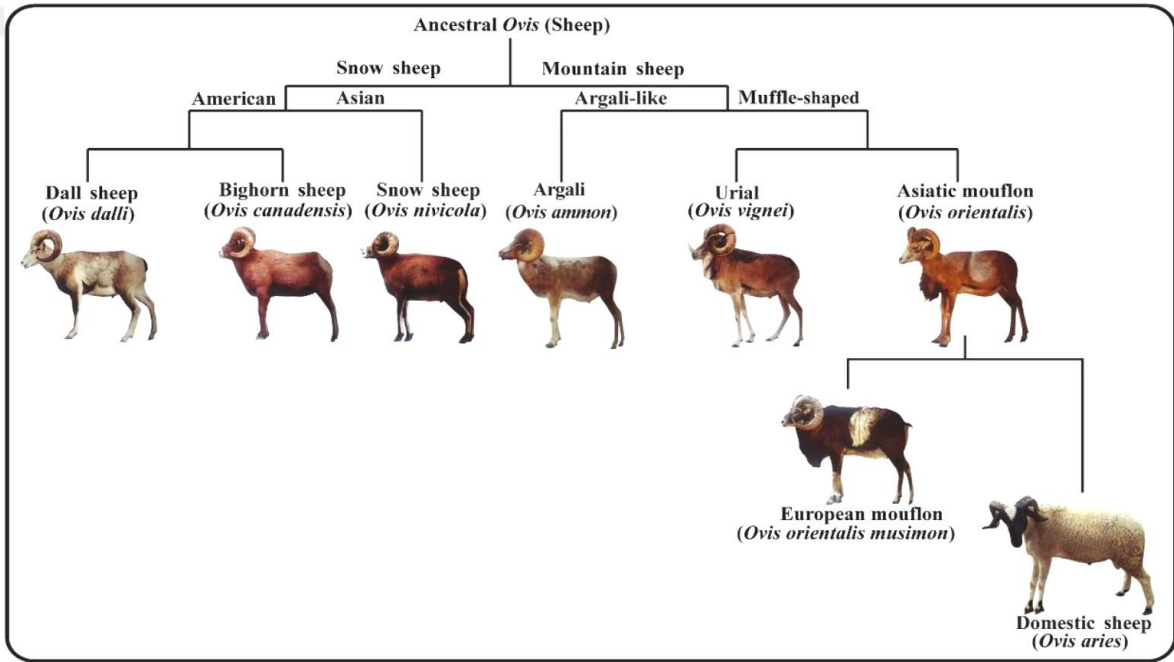
kalınboynuzlu koyun (*Ovis canadensis*, Shaw 1804) ve kar (Sibirya) koyunu (*Ovisnovicola*, Eschscholtz 1829) bulunmaktadır. Bu koyunlar kromozom sayısı bakımından farklılık göstermekte ve farklı ekolojik bölgelerde bulunmaktadır (Nadler vd. 1973). Esas olarak Avrasya'nın dağlık veya engebeli bölgelerinde, batı Kanada'da, Amerika Birleşik Devletleri'nde ve Meksika'da bulunmakta olup Antarktika, Avustralya veya Güney Amerika'da ise rastlanılmamıştır (Şekil 2.1).

Günümüzde, evcil koyunların atalarının, türün doğal yayılışına göre bazen *O. gmelinii* olarak isimlendirilen Asya muflon koyunu (*O. orientalis*) olduğuna inanılmaktadır. Ayrıca, *O. aries* ve *O. orientalis*'in DNA'ları (maternal ve paternal HPG) ve karyotiplerinde benzerlikler vardır ve her iki türün de diploid kromozom sayısı $2n=54$ 'tür (Rezaei vd. 2010; Yeomans vd. 2017). Muflon (*O. musimon*), urial (*O. vignei*) ve argali (*O. ammon*) dahil olmak üzere diğer yabani türler, evcil koyunların ataları olarak kabul edilmekte veya belirli ırklara katkıda bulunmaktadır. Bununla birlikte, Urial'in evcil koyunların atası olduğu hipotezi daha sonra evcil koyunlar ile Urial (*O. vignei*, $2n=58$) ve Argali (*O. ammon*, $2n=56$) arasındaki kromozom sayısı farkı nedeniyle sorgulanmıştır (Valdez vd. 1978). Yabani koyun ve *O. aries* türlerindeki mtDNA varyasyonu üzerine yapılan son araştırmalar, Şekil 2.2'de gösterildiği gibi, Urial (*O. vignei*) ve Argali'nin (*O. ammon*) evcil koyunlardan genetik olarak farklı olduğunu göstermiştir (Rezaei vd. 2010). Ayrıca, Çin'deki Erlitou sürüsünden (MÖ 3800-4100) koyunlar üzerinde yapılan bir aDNA (antik DNA) çalışması, Argali ve Urial'in eski evcilleştirilmiş koyunlarla yakından bağlantılı olmadığını doğrulamıştır.



Şekil 2.1. Başlıca yedi yaban koyunu türünün coğrafi dağılımını gösteren harita. Kromozom sayıları Nadler vd. (1973)'nin sınıflandırmasına göre verilmiştir.

Koyunların evcilleştirilmesi ve evrimsel tarihi hakkında, özellikle de yaban hayatı ile etkileşimleri konusunda çok az çalışma vardır ve dolayısıyla birçok belirsizlik söz konusudur (Meadows vd. 2011). Evcil koyunun kökenleri, dünyadaki yayılımı ve köken aldığı yabani türler veya alt türler hakkındaki bilgiler yetersizdir. Son birkaç on yılda yapılan arkeolojik ve genetik araştırmalar, modern ve antik koyun popülasyonlarının evcilleştirilmesi ve evrimsel tarihi hakkında bilgi sağlamıştır. Yapılan arkeolojik ve moleküler temelli çalışmaların sonucuna göre, Avrupa muflonu (*O. Musimon*)'nun Avrupa'nın evcılrlklarının potansiyel bir atasal kaynağı olmadığını ortaya koymuştur (Bunch 1978). Rezaei vd. (2010) yaptıkları çalışmada mtDNA, CytB ve 4 farklı nDNA lokusu kullanmışlar ve elde ettikleri verileri arkeolojik veriler ile birleştirmişlerdir. Sonuç olarak evcil koyunların ilk atasının Asya Muflonu olabileceği bildirilmiştir.

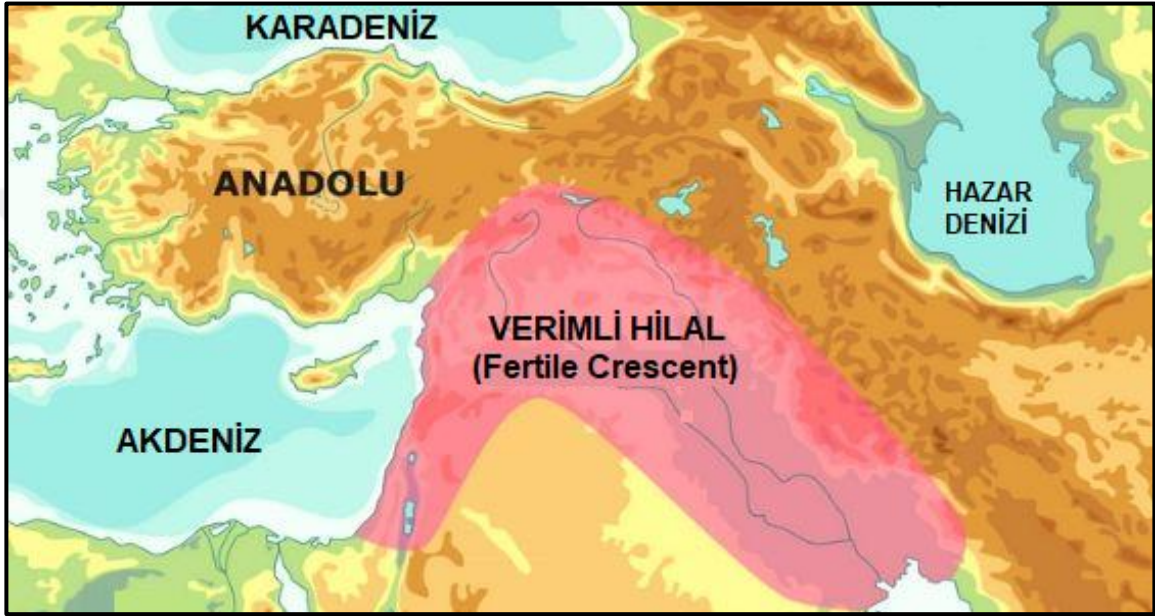


Şekil 2.2. Evcil koyunun yabani koyunlar ile ilişkisi (Rezaei vd. (2010) ve Castelló (2016)'dan elde edilmiştir).

Ovis, Neolitik çağdan önceki Avrupa fosil kayıtlarında bulunmamaktadır (Clutton-Brock 1981; Rezaei vd. 2010). Asya ve Avrupa'dan gelen evcil koyun ırklarının %4,43 oranında farklı mtDNA dizilerine sahip olduğunu söylemek ilginçtir. Asya muflon dizisi, Asya koyun ırklarından %4,52 ve Avrupa ırklarından %1,36 farklılık göstermektedir. Bu veriler, evcil koyunun Asya muflon atasından (*O. orientalis*) geldiği teorisini doğrulamaktadır (Hiendleder vd. 1998).

Koyun, insan topluluklarının tarım sistemlerinde önemli rol oynayan keçi, domuz ve inekle beraber ilk evcilleştirilen hayvan türlerinden biridir (Zeder 2008; Olivieri vd. 2012;

Becker vd. 2016). Arkeologlar ve genetikçiler tarafından kabul edilen hipotez, koyunların ilk olarak yaklaşık MÖ 10.000-11.000 yıllarında Verimli Hilal (Şekil 2.3)'in çeşitli bölgelerinden ve Orta Anadolu ile Zagros Dağları'nın kuzeyi arasındaki bölgelerde evcilleştirilmiştir. Bu bölgeler modern Irak, Ürdün, Filistin, Suriye, İran ve Türkiye'ye karşılık gelmektedir (Peters vd. 2005; Zeder 2008; Pariset vd. 2011; Rocha vd. 2011; Demirci vd. 2013; Larson ve Burger 2013).



Şekil 2.3. Verimli Hilal haritası

2.2. İvesi Koyunu

Koyun yetiştiriciliği, yerli halkın et ve sütle beslenmesini sağladığı için tüm dünyada olduğu gibi Orta Doğu'da da önemli bir rol oynamaktadır (Galal vd. 2008). Verimli Hilal'de, yerli veya melez ırkların yanı sıra İvesi ırkı koyun yetiştiriciliği de önem kazanmıştır. Bununla birlikte, İvesi ırkının et ve süt üretimi düşük olduğu için yetiştiricilerin egzotik ırkları tercih etmesiyle sayısı azalmıştır (Abdullah vd. 2002). Bugün Verimli Hilal'de Arap ülkeleri ve Türkiye dahil olmak üzere 50 civarında yerli koyun ırkı olduğu düşünülmektedir (FAO 2019). Yağlı kuyruklu koyunların yaygın olanı İvesi koyunlarıdır. Şekil 2.4'te Verimli Hilal'in farklı ülkelerinden İvesi ırkının görüntüleri görülmektedir. Yerli İvesi ırkı, süt ve et üstünlüğü üretimi açısından yabancı ırklarla rekabet edememesine rağmen; ürünleri, yerel tüketiciler tarafından tercih edilmesini sağlayan özel niteliklere sahiptir (Suliman vd. 2022). Ayrıca kısıtlı yem, yüksek sıcaklık gibi aşırı hava koşullarına tolerans, hastalık ve parazit direnci gibi son derece arzu edilen özelliklere sahiptir (Galal vd. 2008). Ayrıca İvesi ırkı, Verimli Hilal bölgesinin kültürünün önemli bir parçası olduğu için hayvanların genetik kaynaklarına değer katmıştır.



Şekil 2.4. Ortadoğu'da bulunan farklı ülkelerde yetiştirilen İvesi koyunları

Daha ayrıntılı olarak, İvesi ırkı, Akdeniz'in doğu kesiminde en yaygın, Ürdün'de ise tek yerli koyun ırkıdır (Al-Atiyat vd. 2021). Irk, Güney Batı Asya'daki kökenlerinden Güney Amerika da dahil olmak üzere tüm kıtalara yayılmıştır. Dünyada bu kadar yaygın dağılıma sahip Avrupa dışı tek koyun ırkıdır (Galal vd. 2008). İvesi ırkı, farklı ülkelerde farklı zamanlarda tanımlanmıştır. Vücudu kaplayan kremi beyaz renkte uzun, kaba yünü ve dışbükey bir alın profili vardır, başı uzun ve incedir. Kahverengi veya siyah renklidir. Koyunlar boynuzsuzken, koçların boynuzları normalde uçları dışa dönük olacak şekilde geriye ve aşağıya doğru bükülmektedir. Kulaklar orta büyüklüktedir ve genellikle sarkıktır. Koçlarda boyun genellikle uzun ve sağlamken, koyunlarda boyun incedir. Vücut uzun, bacaklar orta uzunlukta ve birbirinden uzaktır. Kuyruk kalın ve dolgundur, geniş ve orta uzunluktadır ve diz içlerinin hemen üzerinde bitmektedir. Kuyruk, sağrıdan aşağı doğru uzanan, kısa, kalın bir boğumda sonlanmadan önce alt kısma doğru genişleyen iki loba ayrılan tek bir gövdeden oluşmaktadır. Lobların alt yarısından büyük bir yarık geçmektedir (Galal vd. 2008).

Yetişkin bir İvesi koçunun ortalama vücut ağırlığı 85 kg iken, yetişkin bir koyunun ortalama vücut ağırlığı 56 kg'dır (Al-Atiyat vd. 2021). Bir İvesi koyunu, her laktasyonda tipik olarak 60-80 litre süt üretmektedir, modern bir çiftçilik ise 504 litreye kadar süt üretebilmektedir. Birçok araştırmaya göre, farklı ülkelerde İvesi'nin süt verimi 73 kg ile 506 kg arasında değişmektedir (Çizelge 2.1.). İvesi koyun üretimininde; seleksiyon, emzirme süresi, doğum türü, elektrik iletkenliği, mevsim, parite, sağım sıklığı ve üretim yılı gibi birçok önemli etmen katkıda bulunmaktadır (Ali vd. 2020).

Çizelge 2.1. Verimli Hilal İvesi koyunları için laktasyon yoluyla toplam süt verimi

İrk türü	Ülke	Üretim miktarı	Referans
Yerli İvesi	Irak	73 kg	Al-Samarai ve Al-Anbari (2009)
	Ürdün	80 kg	Talafha ve Ababneh (2011)
	Filistin	150 kg	Rashaydeh vd. (2020)
	Suriye	150 kg	Galal vd. (2008)
	Türkiye	121 kg	Biçer vd. (2019)
Islah edilmiş İvesi	İsrail	506 kg	Gootwine (2011)

Türkiye'de küçükbaş hayvanyetiştiriciliği, hayvancılık ve süt üretimi bakımından önemli bir yere sahiptir. Türkiye'deki koyun popülasyonunun %91'ini yerli ırklar, %9'unu ise kültür ırkı ve melezleri (Merinos) oluşturmaktadır. Türkiye'de 45 milyon civarında koyun bulunmaktadır (TÜİK 2022) ve İvesi koyunlarının oranı %4 civarındadır. Türkiye'de 2022 yılında toplam 21.563.492 ton süt üretilmiş olup bu üretim yaklaşık %5'i (1.067.342 ton) koyunlardan elde edilmiştir (TÜİK 2022). Evcil koyunlar arasında İvesi ırkı süt üretimi bakımından ilk sırada yer almaktadır (Gürsu ve Aygün 2014). Türkiye'de 2022 yılı verilerine göre toplam 21,5 milyon baş koyun kesilmiş olup bu kesilen koyunlardan yaklaşık 500 bin ton kırmızı et elde edilmiştir ve bu etin toplam et üretimindeki (2.2 milyon ton) payı % 22 civarındadır (TÜİK 2022).

Türkiye, barındırdığı birden fazla küçükbaş habitatı ile de koyun yetiştiriciliği için oldukça popüler bir ülkedir. Özetle, İvesi ırkı yüksek süt verimi ve gelişim özellikleri nedeniyle Türkiye'de yaygın olarak yetirilmektedir. Türkiye'de İvesi koyunlarının dağılım bölgeleri başlıca; Gaziantep, Şanlıurfa, Mardin, Hatay ve Adana yöreleridir. Son zamanlarda İvesi koyunları Ege Bölgesi ve Orta Anadolu'ya nüfuz etmiş ve bazı yerli ve egzotik ırklarla melezlendikten sonra süt üretimi için yaygın olarak kullanılmaktadır. Gürsu ve Aygün (2014), Türkiye'nin koyun yetiştiriciliği, koyun ürünleri pazarı ve üreme için iklimkoşulları için çok uygun bir ülke olduğunu belirtmişlerdir. Biçer vd. (2019), İvesi koyunlarının kahverengi ve siyah başlı ivesi koyunlarının 150 günlük süt verimi ve bazı doğurganlık özellikleri açısından karşılaştırdığını bildirmiştir. Çalışma sonunda kahverengi ve siyah başlı İvesi koyunlarının 150 günlük süt verimleri sırasıyla 111.6 kg ve 121.5 kg olarak belirlenmiştir. İki grup bakımından süt veriminde istatistiksel olarak önemli farklılıklar bulmuşlardır.

Filistin'deki koyun ırkları çoğunlukla yerel İvesi, ıslah edilmiş İvesi, Doğu Friesian ve Assaftır. Batı Şeria'da koyunlar, keçilere kıyasla et ve süt üretimine büyük katkıda bulunan başlıca küçükbaş hayvan türünü temsil eder. Filistin Merkez İstatistik Bürosu'na (PCBS 2019) göre, Batı Şeria'daki toplam koyun sayısı 730.894 başa ulaşmış olup İvesi ırkı %68'i temsil ederken, Assaf ve diğer ırklar ve melezler İvesi'den sonra ikinci sırada yer almaktadırlar. İvesi koyunu, tropikal çevre koşullarına, beslenme zorluklarına ve hastalık direncine büyük uyum sağlama avantajlarına sahip yağlı kuyruklu bir koyundur (Galal vd. 2008). Bu bakımdan bölge için değerli olan İvesi ırkının genetik yapısının tespit edilmesi ve bu ırkın genetik kaynaklar arasındaki yerinin, özellikle yerli genotiplere olan genetik

uzaklığının ve filogenetik ağaç üzerindeki konumunun tespit edilmesi önemlidir (Al-Atiyat vd. 2018; Al-Atiyat ve Aljumaah, 2014). İvesi koyunlarından süt üretimi önemlidir, bu nedenle kaybının önlenmesi ve bölgesel hayvancılık için sürdürülebilir hale getirilmesi (Rashaydeh vd. 2020) dolayısıyla genetik yapısının belirlenmesi oldukça kritik bir öneme sahiptir.

İvesi koyunu Ürdün'de, yerli ve popüler bir koyundur vekoyun popülasyonunun çoğu, kuraklığın en çok etkilediği Ürdün'ün kuzey bölgesinde bulunmaktadır (Al-Atiyat vd. 2021). Ürdün'de koyun yetiştiriciliği, tarihsel olarak kırsal kalkınmanın önemli bir bileşeni olmuştur ve çiftçilerin geçiminde hala sürdürülebilir bir rol oynamaktadır. Ürdün'deki koyun popülasyonunun yaklaşık 3,5 milyon olduğu tahmin edilmektedir (JMOA 2019) ve tek yerli ırk olarak İvesi (Al-Atiyat vd. 2014), ıslah edilmiş İvesi (improved awassi), Assaf ve Najdi gibi egzotik ırklardan (Abdullah vd. 2015; Al-Atiyat vd. 2018) oluşmaktadır. Bu ırklar, vücut morfolojisi ve konformasyon açısından büyük fenotip varyasyonları göstermiş ve bu nedenle farklı ırklar olarak kabul edilmiştir. Bunlar arasında İvesi koyunu, dayanıklılığı ve toleransı nedeniyle yetiştiriciler tarafından daha çok tercih edilmektedir. Ürdün'deki İvesi Koyunu, tropikal çevre koşullarına büyük uyum sağlama yeteneğine sahip, yağlı kuyruklu bir ırktır. İvesi koyunu, Orta Doğu ülkelerinin çoğunda genellikle yüksek süt üretimi için tercih edilen çok amaçlı bir koyun ırkı olarak kullanılmaktadır. Morfolojik özelliklerde, üretim ve üreme özelliklerinde çok az değişiklik göstermektedirler. Coğrafi yetiştirme alanı ve yetiştirme sisteminin bir sonucu olarak Baladi (yerel), Naiemi ve Sahrawi (çöl) gibi farklı Arapça isimlerle de anılmaktadır (Al-Atiyat ve Aljumaah 2014; Al-Atiyat vd. 2018; 2021).

Suudi Arabistan, sürekli kuraklığın ve yüksek gündüz sıcaklıklarının olduğu yarı kurak çevresel koşullara sahiptir. Özellikle Suudi Arabistan'ın orta ve kuzey bölgelerinde yüksek hava sıcaklıkları rapor edilmektedir. Suudi Arabistan'da koyunlar, en fazla bulunan besi hayvanı türüdür (17,5 milyon baş) ve toplam besi hayvanlarının %72'sini oluşturmaktadır. Sonuç olarak hayvancılıkta önemli ekonomik bir etkiye sahiptir ve diğer çiftlik hayvanlarıyla birlikte süt, et ve diğer ürünler sağlanmasına katkı sağlamaktadır (Sagas 2016). Esas olarak et ve süt üretimi için yetiştirilen Suudi yerli koyunlarının iki ana ırkı bulunmaktadır: Najdi ve Naimi. Morfolojik olarak Najdi ırkı boynuzsuz bir ırktır ve baş ve bacak terminalleri hariç tüm vücudu kaplayan tüylü siyah yün ile karakterize edilirken, Naimi ırkı boynuzludur ve ağırlıklı olarak kaba yün hariç tüm vücudunu kaplayan yağlı kuyruklu koyun ırklarına dahildir, başlar ise siyah ve kahverengi tüylerle kaplıdır (Alamer ve Al-Hozab 2004; Al-Dawood 2017). Bu ırklar Suudi Arabistan'a hâkim olan sıcak iklim koşullarına tolerans gösterdiği bilinen farklı morfolojik özelliklerle karakterize edilmektedir.

2.3. Çiftlik Hayvanlarının Genetik Çeşitliliğini Değerlendirmek İçin Kullanılan Moleküler Yöntemler ve Mitokondriyal Dizi Varyasyonu

İrk çeşitliliğinin moleküler genetik karakterizasyon teknikleri; akrabalı yetiştirmeyi değerlendirmek ve azaltmak, hayvan genetik kaynaklarını iyi yönetmek, ırk orijinlerini yeniden yapılandırmak, ilgili fenotiplerin genetik temellerini araştırmak ve koruma amacıyla ırklara öncelik vermek için yararlı bilgiler sağlamaktadır (Boettcher vd. 2010).

Son yirmi yılda, moleküler genetik tekniklerdeki ve biyoinformatikteki gelişmeler, çiftlik hayvanı türleri arasındaki genetik bağlantıları moleküler düzeyde anlama yeteneğimizi büyük ölçüde artırmıştır. Ek olarak, polimeraz zincir reaksiyonunun (PCR) icadı ve DNA dizisi verilerinin sürekli olarak artması, diğer bazı moleküler işaretleyici yaklaşımların evriminde önemli birdönüm noktasına işaret etmektedir (Schierwater vd. 2013). Bu teknikler şu anda farklı laboratuvarlarda türler arasındaki ve içindeki genetik çeşitliliği DNA düzeyinde incelemek için kullanılmaktadır (Saiki vd. 1988). Ayrıca, evcil hayvanların yabani atalarının incelenmesi ve tanımlanması, evcil hayvan türlerinin evrimsel tarihini coğrafi olarak haritalandırmaya yardımcı olduğu için de oldukça önemlidir (Naderi vd. 2008). Son yıllarda araştırmacılar, çeşitli moleküler belirteç türleri kullanarak çiftlik hayvanı genetiği üzerindeki çalışmalara yoğunlaşmaktadır. Arkeolojik keşiflere ek olarak, genetik araştırmaların sonuçları, çeşitli hayvan türlerinin evcilleştirilmesinin tarihini daha derinlemesine anlamamızı sağlamaktadır. Ayrıca, son zamanlarda moleküler veriler, daha geniş bir çıktı sağlamak için iklimsel ve sosyoekonomik verilerle coğrafi bilgi sistemlerine (GIS) dahil edilmiştir (Bertolini vd. 2018). Buna ek olarak, bu ilerlemeler, modern çiftlik hayvanı ırkları için uygun koruma stratejilerinin geliştirilmesini kolaylaştırabilir ve farklı ırkların genetik yapısına ilişkin yeni bilgiler sağlayabilmektedir.

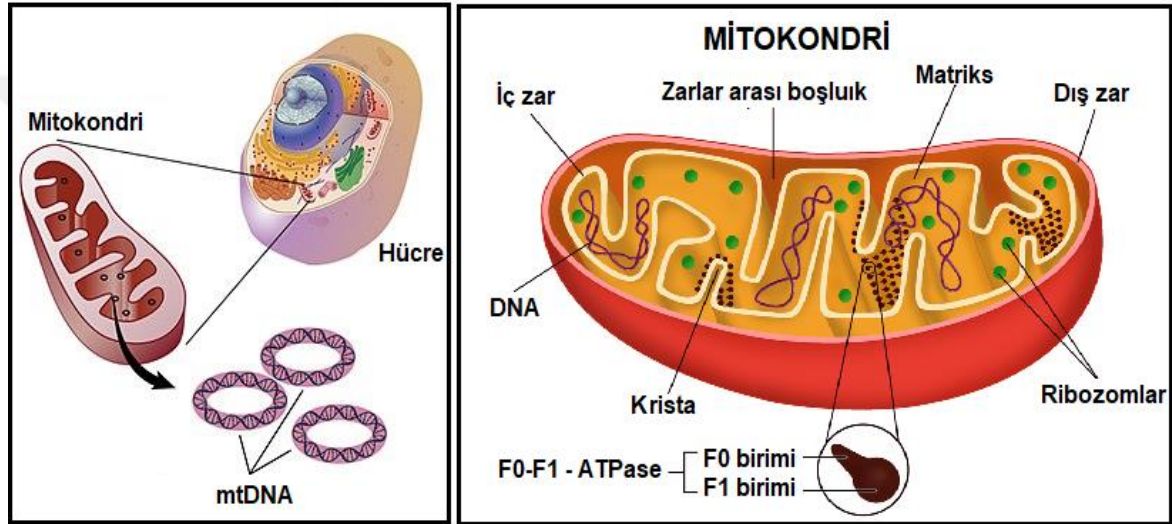
Hayvanlarda filogenetik ilişkilerin belirlenmesi, genetik varyasyonun belirlenmesi, popülasyonlar arasındaki ve içindeki benzerlik veya farklılıkların tespit edilmesi, genetik orijin ve evrim süreçlerinin belirlenmesi vb. konularda DNA temelli moleküler yöntemler yaygın olarak kullanılmaktadır. PCR (Polymerase Chain Reaction), mikrosatelitler, SNP'ler (Single Nucleotide Polymorphisms), DNA dizi analizi, RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism), RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA), AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism), STR (Simple Tandem Repeats) gibi yöntemler hayvancılıkta yaygın olarak kullanılmaktadır. Hayvanlarda yürütülecek olan DNA temelli moleküler çalışmalarda yararlanılan ve yaygın olarak kullanılan yöntemler arasındaki farklılıklarının bilinmesi son derece önemlidir. Filogenetik ilişkilerin belirlenmesi, genetik varyasyonun belirlenmesi, popülasyonlar arasındaki ve içindeki benzerlik veya farklılıkların tespit edilmesi, genetik orijin ve evrim süreçlerinin belirlenmesi vb. konularında yaygın olarak kullanılan DNA temelli moleküler yöntemlerin karşılaştırılması Şekil 2.5'te verilmiştir (Avise 2004).

Ele alınan kriter	AFLP	RAPD	STR	nRFLP	mtRFLP	Allozim
Aynı anda çalışılan lokus say.	Çok	Çok	Birkaç	Az	Bir	Çok
Lokus başına allel sayısı	Az	Az	Çok	Çok	Çok	Çok
Sonuçların tekrarlanabilirliği	Yüksek	Az	Yüksek	Yüksek	Yüksek	Yüksek
Varyasyon belirlenme oranı	Yüksek	Orta	Yüksek	Yüksek	Yüksek	Orta
Markerin kalıtım modeli	Dominant	Dominant	Kodominant	Kodominant	Anaya ait	Kodominant
Uygulanma kolaylığı	Orta	Kolay	Zor	Zor	Orta	Kolay
Uygulanma süresi	Kısa	Kısa	Uzun	Uzun	Kısa	Kısa
AFLP : Çoğaltılmış parça uzunluk polimorfizmi RAPD : Rasgele çoğaltılmış polimorfik DNA STR : Ardışık basit tekrarlar, basit dizilim tekrarları (SSR) ya da mikrosatelit nRFLP : Southern emdirim yöntemi kullanılarak belirlenen restriksiyon parça uzunluk polimorfizmi mtRFLP : Mitokondriyel genomda belirlenen restriksiyon parça uzunluk polimorfizmi Allozim : Enzim polimorfizmi						

Şekil 2.5. DNA temelli moleküler yöntemlerin karşılaştırılması

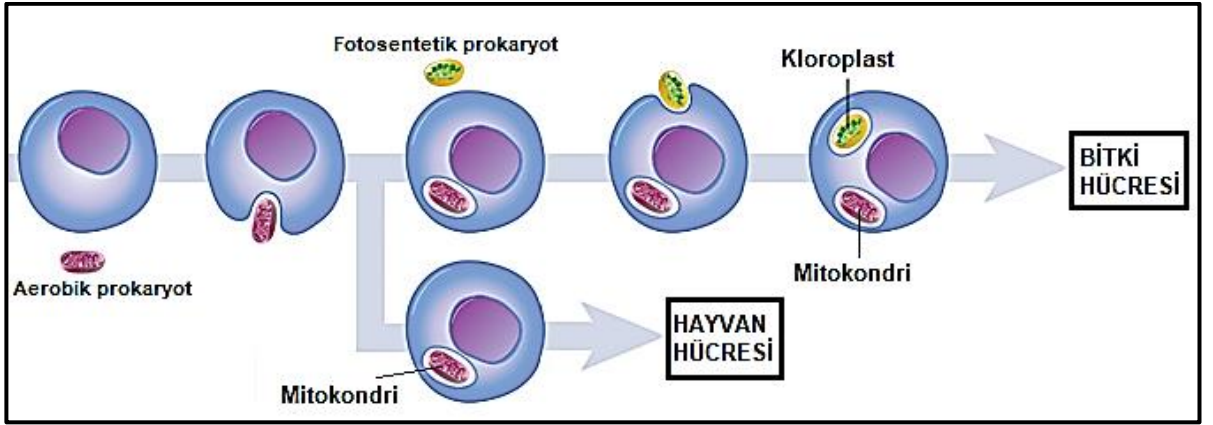
Ökaryotik canlıların sahip oldukları temel genetik materyal, nükleusun (çekirdek) içinde yer alan genetik materyaldir ve kromozomlar halinde paketlenmiş olarak yer almaktadır. Bu genetik materyale çekirdek DNA (nDNA)'sı da denilmektedir. Çekirdekte bulunan nDNA'lara ilave olarak sitoplazmik kalıtım materyalleri (ekstra kromozomal yapılar) de bulunmaktadır. Bu kalıtım materyalleri mitokondri organelinde yer alan mtDNA ve kloroplast organelinde yer alan cpDNA (kloroplast DNA) molekülleridir. CpDNA sadece bitki hücresinde yer alırken, mtDNA hem hayvan hem de bitki hücresinde yer almaktadır. Bu iki sitoplazmik kalıtım faktörü maternal kalıtım modeline sahip olup yumurtanın sitoplazması vasıtasıyla dölden dölle aktarılmaktadır. Hücre bölünmesi gerçekleştiği zaman mitokondri organeli de kendi kendine çoğalabilmektedir. Mitokondri, ökaryotik hücreler için gerekli olan ATP'nin çoğunun üretildiği organel olmasından dolayı, genellikle hücrenin "güç merkezi" veya "enerji merkezi" olarak adlandırılır (Pagliarini ve Rutter 2013). Hücrede bulunma sıklığı hücrenin enerji ihtiyacına göre değişmekle birlikte hücrenin şekline ve büyüklüğüne göre de değişmektedir. Mitokondrinin iç ve dış zarı arasında bir boşluk vardır. İç zar oldukça kıvrımlı bir yapıya (krista) sahip olmasına rağmen, organelin zar içinde kendi

kalıtsal materyali ve ribozomu vardır (Şekil 2.6). İki zar arasında bulunan F0 ve F1 birimleri (ATP sentaz veya kompleks V olarak da isimlendirilmektedir) birbirleri ile uyumlu bir şekilde çalışarak ATP sentezi gerçekleştirmektedir. Ayrıca mitokondri, lipidler ve demir gibi makromoleküllerin biyosentezinde de önemli bir rol oynar. Mitokondri, enerji üretimi ve biyosentezi destekleyen proliferasyon, farklılaşma ve stres koşullarına adaptasyon gibi biyolojik süreçlerin merkezinde yer alır (Chandel 2015). Mitokondri organeli, hücreye oksijen ve enerji sağlamaktan sorumlu olmasının yanı sıra, kendine özgü genomu ve hücrenin birincil enerji üreten organeli konumu nedeniyle, hastalıkların gelişimi ve yaşlanma sürecinde de oldukça önemlidir (Griffiths vd. 2012).



Şekil 2.6. Hayvanlarda mitokondri organelinin genel yapısı

Neredeyse tüm ökaryotik hücreler mitokondri organeline sahiptir. Bakterilerde, eritrositlerde ve yeşil alglerde mitokondri bulunmamaktadır. Bu organel sitoplazmada her yerde bulunabilir. Mitokondri ve kloroplastların oluşumuyla alakalı en kuvvetli teori endosimbiyotik teoridir (Şekil 2.7). Bu teoriye göre, mitokondri ve kloroplastlar muhtemelen bir zamanlar bağımsız organizmalar olarak yaşayan prokaryotik hücrelerden evrimleşmiştir ve bu iki organelin milyonlarca yıl önce simbiyoz halinde yaşayan prokaryotik hücreler olduğu varsayılmıştır. Endosimbiyotik teoriye göre aerobik bir prokaryotik hücre, başka bir hücre tarafından içine alınmış, aralarında endosimbiyotik bir ilişki kurulmuş ve bu prokaryotik hücre evrim sürecinde mitokondriye dönüşmüştür. Böylece ilk ökaryotik hücre meydana gelmiştir.

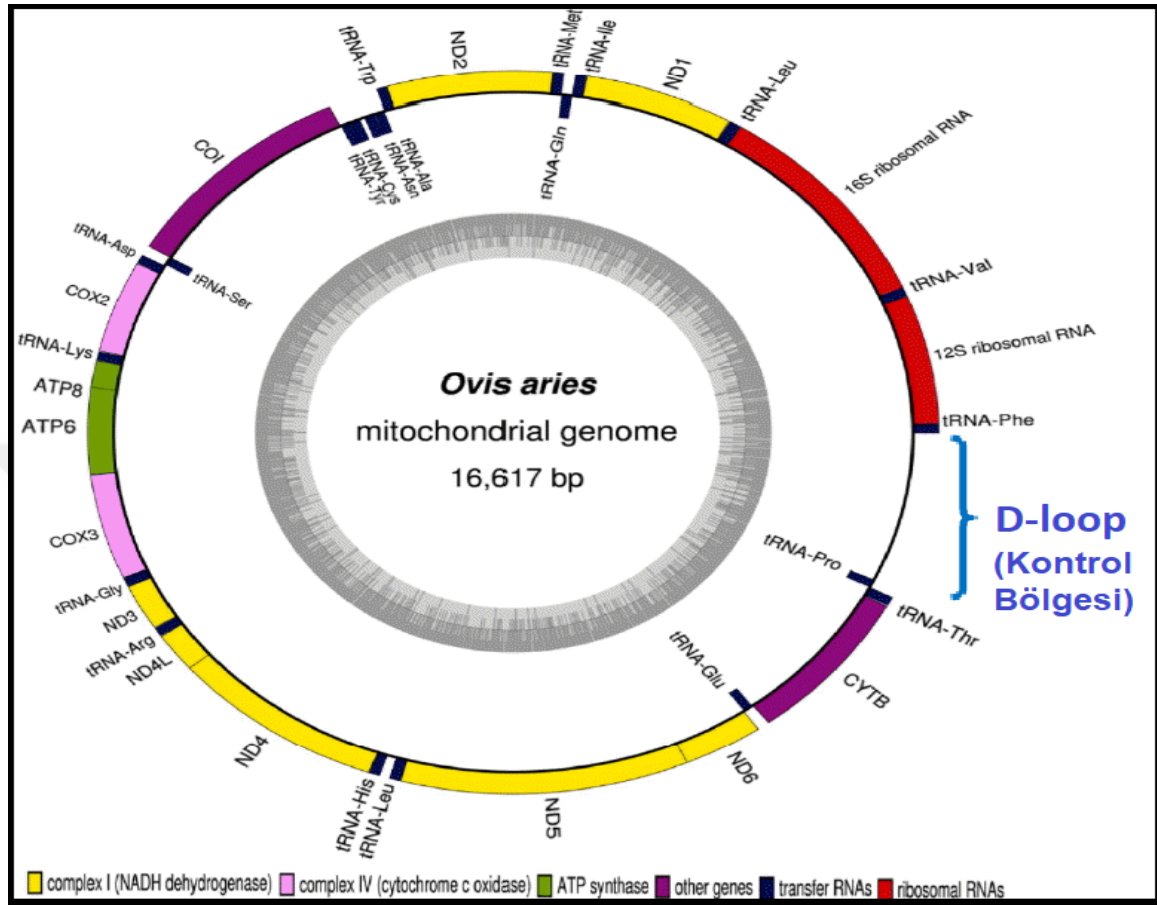


Şekil 2.7. Mitokondrinin oluşumuyla alakalı endosimbiyotik teori

Mitokondri organeli, işlevsel durumlarına göre sayıları, şekilleri ve büyüklükleri sürekli değişmektedir. Mitokondri küçük mtDNA halkalarına sahiptir. Yani mitondriyal DNA yapısal olarak ökaryotik DNA gibi düzyapıda (lineer) değil, bakteri DNA'sı gibi dairesel (sirküler) yapıdadır. Mitokondride mtDNA'nın birçok kopyası vardır. Bu mitokondriyal genler, matris bölgesinde bulunur ve mitokondrilerin enerji üretme işlerini gerçekleştirmek için ihtiyaç duyduğu genlerdir. Nükleer genomdan (nDNA) bağımsız olarak mtDNA, tek bir ebeveyn (anadan) nesiller boyunca aktarılır. Erkek ve dişi gametlerin zigot sitoplazmasına katkıları eşit olmadığı için mtDNA, dişi ebeveynin sitoplazması ile aktarılmaktadır. Bir ananın tüm çocukları onun mtDNA'sını almakta ve dişi yavrular bunu bir sonraki nesle aktarmaktadır. Sonuç olarak zigot herhangi bir baba mtDNA'sından yoksundur. Bu nedenle mtDNA'nın kalıtım modeli maternal (anasal) kalıtım modeli olarak bilinir.

MtDNA'nın en önemli özelliklerinden bir tanesinin maternal kalıtım modeli olmasına rağmen bir diğer önemli özelliği de rekombinant döllerin oluşmamasıdır. Bilindiği üzere mtDNA daire şeklinde ve çift sarmaldan oluşan bir kalıtım materyalidir. Bu yüzden homolog kromozomlar arasında gerçekleşen parça değişimi (crossing-over) bu molekülde gerçekleşmemekte ve bunun sonucu olarak rekombinant döller (yeni kombinasyonlar) oluşmamaktadır. MtDNA molekülünde mitokondrinin kendi DNA polimeraz enziminden kaynaklanan mutasyonlar oluşsa da bu mutasyonların oranı 2×10^{-8} civarındadır. Yapılan araştırmalar, yeni nükleotitlerin eklenmesi (insersiyon), var olan nükleotitlerin silinmesi (delesyon) ve var olan nükleotitlerin başka bir nükleotit ile yer değiştirmesi (substitution) gibi mutasyonların mtDNA'da sıklıkla meydana geldiğini ortaya koymuştur (Avisé 2004).

Özet olarak, mitokondriyal DNA dairesel, çift sarmallı bir moleküldür. Bu dairesel kromozomu her biri kendi başına replike olabilen (çoğalabilen) hafif ve ağır iplikler oluşturmaktadır. MtDNA'ların dış ipliklerini Ağır iplikler (H) oluşturmaktadır. Hafif iplikler (L) ise mtDNA'nın iç iplikleri olarak isimlendirilmektedir (Şekil 2.8).



Şekil 2.8. mtDNA'nın moleküler yapısı (Guo vd. 2016)

Hayvan mitokondriyal genomu 37 gen içermektedir. Bu genler: transfer RNA (tRNA) için 22 gen, iki ribozomal RNA (rRNA) geni (büyük ve küçük ribozomal alt birimler) ve 13 mRNA geni veya solunum zinciri yapısal proteinleri olarak da bilinmektedir (Kvist 2000). Mitokondriyal DNA'da bulunan genler Şekil 2.6.de gösterilmektedir. Nikotinamid Adenin Dinükleotit Dehidrojenaz (NADH) dehidrojenaz, sitokrom C oksidoredüktaz ve sitokrom C oksidaz ATP sentetazın tümü, protein kodlayan genler tarafından kodlanan enzimlerdir (Piljug 2016). Bu genler, ATP üretimi ve elektron taşıma enzimlerinin alt birimlerini temsil etmektedir. Sitokrom oksidaz, CO genleri tarafından kodlanmaktadır. NADH dehidrojenaz, ND genleri tarafından kodlanmaktadır. 15 rRNA veya protein kodlayan genin 14'ü aynı şekilde kopyalanmaktadır. 22 tRNA geninden 8'i saat yönünün tersine okunmakta ve 14'ü saat yönünde ifade edilmektedir. rRNA ve protein kodlayan genler arasında tRNA genleri gelmektedir. Bu şekil aynı zamanda H-ipliğinin orijinini OH ve L-ipliğinin orijinini OL olarak belirleyerek H ve L ipliklerinin sentez yönünü göstermektedir (Lewin 1987; Piljug 2016). Mitokondriyal DNA'da intron bölgeleri yoktur. Mitokondriyal DNA'nın farklı bölümleri, çeşitli hızlarda evrimleşmektedir. Ağır sarmalın replikasyon orijini ve her iki sarmalın promotor bölgeleri, D-loop bölgesi olarak da bilinen mDNA Kontrol Bölgesinde

bulunmaktadır. Bir enzim ya da protein eşdeğerinin bulunmaması nedeniyle mitokondriyal genomun bu bölgesi diğer mitokondriyal genom bölgelerine göre 3-5 kat daha hızlı evrim geçirmektedir (Wenink vd. 1994). D-loop bölgesi herhangi bir enzim ya da protein kodlamadığı için ve daha hızlı mutasyona uğradığı için, bu kontrol bölgesinin analizi ile popülasyonlar arasındaki genetik varyasyon daha doğru bir şekilde tespit edilebilmektedir ve popülasyon genetiği çalışmalarında (filogenetik analizler için) yaygın olarak kullanılmaktadır.

Mitokondriyal DNA, nükleer DNA'dan farklıdır ve replikasyon için kendi DNA polimeraz enzimine sahiptir. Mitokondriyal genomda intron bölgeler bulunmamaktadır ve bu intron bölgeler yerine küçük boşluklar (intergenik bölgeler) yer almaktadır. Mitokondriyal genoma süper ismi verilmektedir çünkü çok verimli bir şekilde organize edilmiştir ve mtDNA fonksiyonel ve filogenetik olarak birçok genin bulunduğu tek bir bağlantı grubundan oluşmuştur. Mitokondriyal DNA genotipleri, mitotipler veya haplotipler olarak tanımlanmaktadır. Mitotip kavramı, mitokondriyal genotip kelimelerinin kısaltmasından türetilmiştir ve sadece mitokondriyal genom açısından genotipi ifade etmektedir. Ancak haplotip kavramı mitotip kavramından daha geniş anlamda kullanılmakta ve mitokondriyal özellikler açısından genotipleri tanımlamak için kullanılmaktadır. Haplotip genotip, tek genomlu (n) organizmaların genotipidir. Haplotipler, aynı kromozom üzerindeki bağlantılar şeklinde bir nesilden diğerine aktarılan farklı bağlantı grupları veya gen setleridir (Piljug 2016).

mtDNA'nın evrim hızı, nükleer genoma göre çok daha yüksektir ve bazı bölgeler daha da hızlı gelişmektedir (Bazin vd. 2006; Neiman ve Taylor 2009). Önemli bir belirteç türü olan mitokondriyal genetik (mtDNA) belirteçler, ekstrasnükleer genetik materyal kullanılmaktadır ve genetik çeşitliliği araştırmak ve insanların, evcil ve yabani hayvanların evrimsel tarihini tanımlamak için yaygın olarak kullanılan bir moleküler belirteç haline gelmiştir (Bruford vd. 2003; Wu vd. 2012). mtDNA belirteçleri, adli tıp çalışmaları (Imes vd. 2012) ve antik DNA (aDNA) araştırmaları için de oldukça yararlıdır (Ho ve Gilbert 2010). 21. yüzyılın başından bu yana, evcil hayvanlardaki tam mtDNA nükleotit dizilerinin sayısı hızla artmaktadır. Bunun nedeni, daha iyi dizileme teknolojilerinin ve yüksek kaliteli ticari kitlerin geliştirilmesidir (Wang vd. 2014). Şimdiye kadar, en önemli sekiz hayvan türü için 1.240'tan fazla tam veya tama yakın mtDNA dizisi gen bankasına girilmiştir (Peng vd. 2015).

Maternal kalıtım modeline sahip olması, yüksek polimorfizm içeriği, rekombinasyon meydana gelmemesi, nükleer genomdan daha yüksek mutasyon oranı ve arkeolojik materyallerden kolayca elde edilebilmesi nedeniyle mtDNA, moleküler genetik çalışmalarında yaygın olarak kullanılmaktadır. MtDNA'nın en çok kullanıldığı alanlar aşağıda listelenmiştir (Özdil 2007):

- Belli bir bölgedeki popülasyonların tanımlanması,
- Haplotiplerin belirlenmesi,
- Mitotiplerin belirlenmesi,
- Haplogrupların belirlenmesi,
- Polülasyonların genetik kökenlerinin belirlenmesi,

- Evrim süreçlerinin belirlenmesi,
- Popülasyonların karşılaştırılması ve genetik farklılık/benzerliklerin belirlenmesi,
- Popülasyonlar arasındaki/içindeki genetik varyasyonun tespit edilmesi ve
- Popülasyonlar arasındaki filogenetik ilişkilerin belirlenmesi

gibi çalışmalarda mtDNA sıklıkla kullanılmaktadır.

Çift sarmal ve dairesel olan koyun mtDNA'sı 16.616 baz çiftinden oluşan bir kalıtım materyalidir. Bu mtDNA %33.68adenin nükleotidi, %25.86 sitozin nükleotidi, %13.10 guanin nükleotidi ve %27.36 timin nükleotidinden oluşturmaktadır (Hiendleder vd. 1998; Ho ve Gilbert 2010). Koyunlarda D-loop bölgesi olarak bilinen kontrol bölgesi diğer hayvanlara göre çok daha geniştir. Genel olarak koyun mtDNA D-loop bölgesi, replikasyon ve transkripsiyonun başlatıldığı kontrol bölgesidir ve hem L ipliği hem de H ipliği için promotor bölgeleri içermektedir (Zardoya vd. 1995). Koyun mtDNA'sında bulunan genler ve bu genlerin organizasyonu Çizelge 2.2'de verilmiştir.

Çizelge 2.2. Koyun mtDNA’ında bulunan genlerin organizasyonu (Hiendleder vd.1998)

Gen	Başlangıç	Bitiş	Uzunluk
tRNA-Phe	1	68	68
12S rRNA	69	1,026	958
tRNA-Val	1,027	1,093	67
16S rRNA	1,094	2,667	1,574
tRNA-Leu (UUR)	2,668	2,742	75
NADH1	2,745	3,700	956
tRNA-Ile	3,701	3,769	69
tRNA-Gln (L)	3,767	3,838	72
tRNA-Met	3,841	3,909	69
NADH2	3,910	4,951	1,042
tRNA-Trp	4,952	5,018	67
tRNA-Ala (L)	5,020	5,088	69
tRNA-Asn (L)	5,090	5,162	73
Origin of L-strand repl.	5,163	5,194	32
tRNA-Cys (L)	5,195	5,262	68
tRNA-Tyr (L)	5,263	5,330	68
COI	5,332	6,876	1,545
tRNA-Ser (UCN) (L)	6,874	6,944	71
tRNA-Asp	6,950	7,017	68
COII	7,019	7,702	684
tRNA-Lys	7,706	7,773	68
ATPase8	7,775	7,975	201
ATPase6	7,936	8,615	680
COIII	8,616	9,399	784
tRNA-Gly	9,400	9,468	69
NADH3	9,469	9,815	347
tRNA-Arg	9,816	9,884	69
NADH4L	9,885	10,181	297
NADH4	10,175	11,552	1,378
tRNA-His	11,553	11,621	69
tRNA-Ser (AGY)	11,622	11,681	60
tRNA-Leu (CUN)	11,683	11,753	71
NADH5	11,754	13,574	1,821
NADH6 (L)	13,558	14,085	528
tRNA-Glu (L)	14,086	14,154	69
Cyt <i>b</i>	14,159	15,298	1,140
tRNA-Thr	15,302	15,371	70
tRNA-Pro (L)	15,371	15,436	66
Control region	15,437	16,616	1,180

MtDNA’da en fazla varyasyonun meydana geldiği bölge olan D-loop bölgesi, ismini “displacement loop” kelimelerinden almıştır ve sıklıkla “kontrol bölgesi” olarak adlandırılmaktadır. MtDNA’nın replikasyonu ve ekspresyonu için kodlama yapmayan ana düzenleyici bölge olduğundan mtDNA kalıtım materyali, evcil hayvanların moleküler yönden araştırılması için en değerli bölgelerden biri olarak görülmektedir (Liu vd. 2016). MtDNA’da kodlanmayan tek bölge olan D-loop bölgesi yaklaşık 1180 baz çifti uzunluğundadır (Hiendleder vd. 1998) ve Prolin-tRNA ve Fenilalanin-tRNA genleri arasında yer almaktadır (Şekil 2.8). Genel olarak koyun mtDNA D-loop bölgesi, replikasyon ve transkripsiyonun başlatıldığı kontrol bölgesidir ve hem L ipliği hem de H ipliği için promotor bölgeleri içermektedir. İlk olarak H ipliğinin replikasyon başlangıç noktasından 5’ ucundan 3’ ucuna doğru sentez başlar. Sentezlenen yeni H ipliği, L ipliğinin replikasyon başlangıç noktasına geldiği zaman, ters yönde ilerler ve hafif iplik sentezlenir. MtDNA transkripsiyonunda ise hem ağır hem de hafif iplik aynı zamanda transkripsiyona uğramaktadır. Sonuç olarak, mRNA, rRNA ve tRNA’lar sentezlenmektedir (Zardoya vd. 1995; Wood ve Phua 1996; Hiendleder vd. 1998).

Kontrol bölgesi (D-loop), koyunlarda mtDNA’nın en hızlı evrimleşen bölgesidir ve özellikle tür içinde yüksek düzeyde varyasyon göstermektedir (Galtier vd. 2009; Gupta vd. 2015). Bu özellik, D-loop bölgesini çiftlik hayvanları genetik çeşitliliği ve genetik orijin çalışmaları için mükemmel bir aday bölge yapmaktadır. Sonuç olarak, bu bölge son on yılda birçok araştırmacı tarafından, özellikle bireysel evcilleştirme merkezlerinin ve bu merkezlerden dağılım yollarının tespit edilmesinde bir araç olarak kullanılmıştır (Naderi vd. 2007; Meadows vd. 2011; Miao vd. 2013).

Birden fazla mtDNA haplogruplarının (HPG) varlığı ve bunların ırklar içinde karışması, muhtemelen çoklu evcilleştirme olaylarından veya zaman içinde evcil ve yabani türler arasında evcilleştirme sonrası çiftleşmelerden kaynaklanmaktadır (Galtier vd. 2009). Bu nedenle, benzer mtDNA’ya sahip hayvanların ortak bir dişi ataya sahip olması gerekmektedir. Ayrıca, farklı laboratuvarlardan elde edilen hem HPG hem de dizi verileri ortak analiz için birleştirilebilir. Çiftlik hayvanlarının ve bunların yabani atalarının veya akrabalarının, özellikle keçiler ve koyunlar için, çevrimiçi veri tabanlarında bol miktarda mtDNA dizi verisi mevcuttur (örneğin NCBI, *National Center for Biotechnology Information*) ve ücretsiz olarak erişilebilmektedir. HPG’ler arasındaki mutasyonların ve evrim sürecinin sapma süresi tahmin edilirken, bazı tekrarlayan mutasyonlar tahminleri zorlaştırabilmektedir. Bu nedenle mtDNA sitokrom B (*cytB*) bölgesi ve oranı D-loop bölgesi, mutasyon/evrim analizlerinde ve daha güvenilir filogenetik ağaçlar elde etmek için moleküler genetik analizlerinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Luikart vd. 2001; Pedrosa vd. 2005; Lv vd. 2015). D-loop bölgesi veya *cytB* bölgesi dışındaki mtDNA belirteçleri, protein kodlayan bölgelere dayalı HPG tayini için de kullanılabilir. Örneğin, evcil keçi ve koyunlarda HPG tayini için mtDNA’da bulunan *ND2* ve *ND4* gen bölgeleri de HPG belirleme çalışmalarında kullanılmıştır (Nomura vd. 2013; Guo vd. 2005).

MtDNA’nın çeşitli gen bölgelerini (örneğin, D-loop, *HV1*, *cytB*) kullanan birçok çalışma, evcil koyunların çeşitli bölgelerdeki coğrafi dağılımı, genetik çeşitliliği ve evcilleştirilmesine ilişkin mevcut bilgilere katkıda bulunmuştur (Meadows vd. 2007; Naderi

vd. 2007; Meadows vd. 2011; Wu vd. 2012; Demirci vd. 2013; Lancioni vd. 2013; Nomura vd. 2013; Colli vd. 2015; Lv vd. 2015; Liu vd. 2016). Bununla birlikte, D-loop'un maternal HPG çalışmalarında kullanımı için en etkili bölge olduğu öne sürülmektedir (Meadows vd. 2011). Tüm mtDNA genomunun, daha iyi filocoğrafik ve filogenetik analizler için en güvenilir araç olduğu ve evcilleştirilmiş çiftlik hayvanlarının evrimi ve genetik çeşitliliğinin anlaşılmasını kolaylaştırdığı bildirilmektedir (Wu vd. 2012; Lancioni vd. 2013).

Koyunlarda, diğer çiftlik hayvanlarında olduğu gibi, mtDNA'da meydana gelen mutasyonlar zamanla yaygınlaşmakta ve o popülasyonda coğrafyaya özgü mtDNA varyantlarının (haplotiplerin/mitotiplerin) oluşmasına yol açmaktadır. Belirli bir genom dizisindeki benzersiz bir varyant seti, teknik olarak bir haplotip olarak adlandırılmaktadır. Filogenetik olarak ilişkili mtDNA haplotipleri aynı HPG'de gruplandırılabilir (Wallace 1994). HPG'leri oluşturan mtDNA varyantları, bir mtDNA profilini spesifik bir HPG olarak sınıflandırmak için bulunması gereken spesifik mutasyonlarla tanımlanmaktadır (Torroni vd. 1996; Naderi vd. 2007). Farklı HPG'ler keşfedilme sırasına göre alfabetik olarak adlandırılmaktadır, örneğin A, B, C ve D (Torroni vd. 1993). HPG'lerin akrabalığı filogenetik ağaçlarda görselleştirilebilmekte ve kümeleme için komşu birleştirme (Neighbor Joining) veya ağ analizi (Network) gibi belirli yöntemler kullanılabilir (Torroni vd. 2006; Wu vd. 2007).

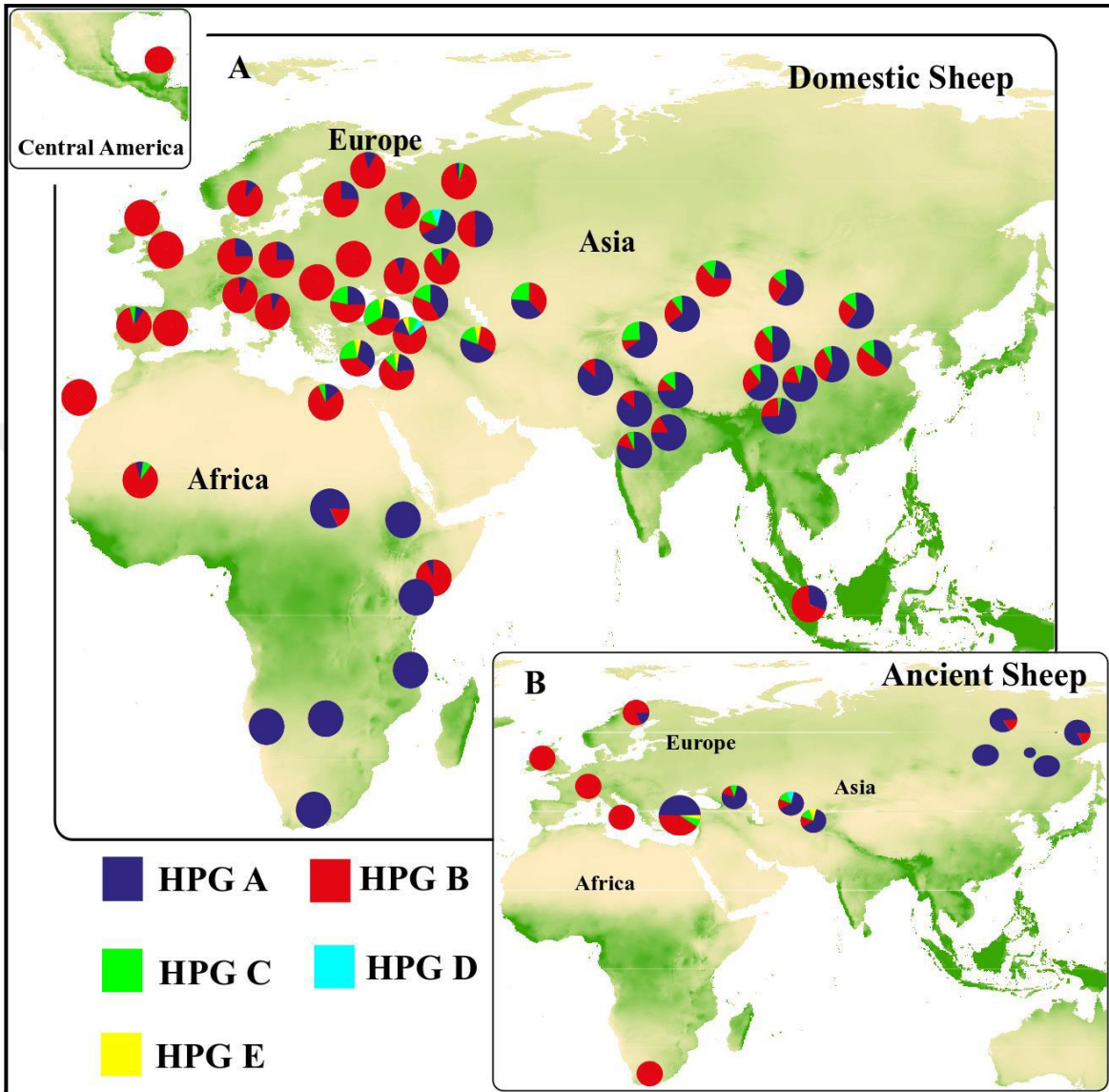
2.4. Koyun Mitokondriyal DNA Haplogruplarının Dağılımı

Moleküler genetik çalışmalarda kullanılan teknolojiye son gelişmeler ve koyun genetik çeşitliliğini karakterize etmek için mtDNA dizilemesinin kullanılması, evcil koyunların kökenlerinin ve insan göçleriyle beraber koyun göçlerinin de aydınlatılmasına olanak sağlamıştır. Günümüzdeki koyunların (geniş bir coğrafi aralıktan) tam mitokondriyal genomu (16.616 bp), mtDNA D-loop bölgesi (1.180 bp) ve *cytB* geni (1.140 bp) üzerinde yapılan çalışmalar, A, B, C, D ve E olarak adlandırılan beş farklı HPG'yi tanımlamıştır (Hiendleder vd. 1998; Hiendleder vd. 2002; Pedrosa vd. 2005; Meadows vd. 2007; Meadows vd. 2011). HPG A, B ve D ile HPG C ve E, mtDNA D-loop bölgesi ve *cytB* dizilerine göre ayrı kümeler oluşturmaktadır (Demirci vd. 2013). Meadows vd. (2007), D-loop bölgesine dayalı yaptıkları çalışmada farklı uzunluklarda (75 bp ve 76 bp) tekrarlayandizilertanımlamışlar ve bu farklı tekrarlayan dizilerin iki HPG kümesini ayırt eden bir belirteç görevi gördüğünü ortaya koymuşlardır. HPG A, B ve D'yi içeren küme 75 bp dizi içerirken; HPG C ve E'yi içeren küme 76 bp diziyi içermektedir (Demirci vd. 2013).

Günümüzdeki yerli, yabani ve antik koyunların mtDNA HPG dağılımlarına ilişkin daha fazla araştırma, koyunların ana HPG'lerinin ana göçlerine ilişkin fikir sağlamıştır. HPG A ve B, günümüzdeki ırklar arasında en yaygın iki HPG'dir (Şekil 2.9-A) ve neredeyse tüm bölgelerde çeşitli sıklıkta yabani ve antik koyunlarda bulunmaktadır (Hiendleder vd. 2002; Bruford and Townsend 2006; Cai vd. 2011; Gornas vd. 2011; Demirci vd. 2013; Dymova vd. 2017). Asya ve Afrika'da HPG A, Avrupa'da ise HPG B baskın tip olarak karşımıza çıkmaktadır (Wood & Phua 1996; Hiendleder vd. 1998; Demirci vd. 2013; Singh vd. 2013). Avrupa, Asya ve Yeni Zelanda'dan gelen koyunlardaki mitokondriyal genler *NADH3*, *NADH4*, *NADH4L* ve *cytB*'nin dizi analizleri, HPG A'nın Asya muflonunun (*O. orientalis*)

doğu popülasyonlarından ve HPG B'nin Türkiye ve Batı İran'daki Asya muflonu popülasyonlarından kaynaklandığını göstermektedir (Hiendleder vd. 2002; Demirci vd. 2013). Ayrıca, HPG A ve B Türkiye'den, kuzey Çin'den ve Moğolistan'daki Altay'ın güneyinden ve batı Sibirya'dan gelen antik koyunların arkeolojik kalıntılarında yüksek frekanslarda gözlenmiştir (Şekil 2.9-B). HPG A, Asya'da baskın olmaya devam etmektedir (Luo vd. 2005; Cai vd. 2007; Olivieri vd. 2012; Demirci vd. 2013; Dymova vd. 2017; Schroeder vd. 2017). HPG A'nın, Türkiye'de *O. gmelinii*'ye ait olan ve birçok nesildir izole edilmiş olan modern Anadolu yaban koyunları arasında da baskın olduğu bildirilmiştir (Demirci vd. 2013). Güney Afrika'da antik koyunlar ile yapılan bir çalışmada tüm örneklerde en yaygın haplogrubun HPG B olduğu tespit edilmiştir (Horsburgh ve Rhines 2010).

HPG C, özellikle Orta Doğu'da en yaygın üçüncü haplogruptur (Luo vd. 2005; Demirci vd. 2013; Schroeder vd. 2017). Modern HPG C çoğunlukla Türkiye'den gelen evcil koyunları içermektedir, ancak Şekil 2.9-A'da görüldüğü gibi Portekiz, Çin, Özbekistan ve Kuzey Kafkasya'dan (Stavropol bölgesi) koyunlarda da tanımlanmıştır (Guo vd. 2005; Pedrosa vd. 2005; Pereira vd. 2006; Tapio vd. 2006; Meadows vd. 2007; Demirci vd. 2013). HPG C'nin, HPG A ve B'den farklı bir evrimsel geçmişe sahip olduğuna inanılmaktadır (Guo vd. 2005). Son olarak, HPG D ve E, hem modern hem de antik koyun örnekleri arasında çok düşük frekanslarla ortaya çıkmıştır (Tapio vd. 2006; Meadows vd. 2007; Demirci vd. 2013; Schroeder vd. 2017). Bu iki HPG (D ve E), yalnızca Kafkasya'dan gelen modern evcil koyunlarda (Tapio vd. 2006) ve Orta Doğu'da (Suriye ve Türkiye) (Meadows vd. 2007) tespit edilmiştir. Buna ek olarak, şimdiye kadar yapılan çalışmalar, Türkiye'de yetiştirilen koyunların beş mtDNA HPG'na (A-E) da sahip olduğunu doğrulamıştır (Meadows vd. 2007; Demirci vd. 2013). Bu sonuçlar Anadolu'nun genetik çeşitliliğin önemli noktalarından biri ve önemli koyun evcilleştirme merkezi olduğunu bir kez daha ortaya koymuştur.



Şekil 2.9. Farklı coğrafi bölgelerdeki koyunların mtDNA HPG'lerinin coğrafik dağılımları. Modern evcil (A) ve antik (B) koyunlardan elde edilen farklı veri kümelerine dayalı HPG dağılımı. Pasta grafiği, çeşitli çalışmalardan elde edilen verilerle derlenmiştir (Luo vd. 2005; Bruford ve Townsend 2006; Pereira vd. 2006; Tapio vd. 2006; Cai vd. 2007; Meadows vd. 2007; Campana vd. 2010; Horsburgh ve Rhines 2010; Cai vd.2011; Gornas vd. 2011; Olivieri vd. 2012; Demirci vd. 2013; Niemi vd. 2013; Lv vd. 2015; Resende vd. 2016; Dymova vd. 2017; Schroeder vd. 2017; Zhao vd. 2017).

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Kullanılan Hayvan Irkları ve Örnek Sayıları

Bu tez çalışmasında toplam 300 İvesi koyunundan alınan DNA örnekleri materyal olarak kullanılmıştır (Çizelge 3.1). Ürdün, Filistin ve Suudi Arabistan'da yetiştirilen koyunlara ait DNA örnekleri laboratuvarımıza gönderilmiş ve PCR analizine kadar -20°C'de saklanmıştır. Yurt dışında yetiştirilen koyunlara ait DNA örneklerinin yollanmasında Prof. Raed Al-Atiyat (Ürdün), Dr. Mohammad Manassra (Filistin) ve Dr. Abdulrahman Alharthi (Suudi Arabistan) isimli araştırmacılar yardımcı olmuştur. Türkiye'ye yetiştirilen koyun örneklerine ait kanlar daha önceden Şanlıurfa Ceylanpınar Tarım İşletmesi'nden alınmış olup kandan DNA izolasyonları laboratuvarımızda yapılmıştır.

Bu tez projesi kapsamında çalışılan 300 koyun örneğine ek olarak, literatürde daha önce çalışılmış ve NCBI'ya yüklenmiş olan her bir mtDNA D-loop haplogrubundan 1 örnek ve yabani koyunlara ait (*O. musimon*, *O. ammon* ve *O. vignei*) çeşitli referans dizilerinde birer örnek istatistiksel analizler için kullanılmıştır (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1. Çalışılan örnek sayıları ve referans dizileri

Ülke	Örnek sayısı	Örneklerin cinsiyeti
Türkiye	75	70 ♀ + 5 ♂
Filistin	75	70 ♀ + 5 ♂
Suudi Arabistan	75	70 ♀ + 5 ♂
Ürdün	75	70 ♀ + 5 ♂

Haplogrup	NCBI Numarası	Kaynak
Haplogrup A	HM236174	Meadows vd. 2011
Haplogrup B	HM236176	Meadows vd. 2011
Haplogrup C	HM236178	Meadows vd. 2011
Haplogrup D	HM236180	Meadows vd. 2011
Haplogrup E	HM236182	Meadows vd. 2011
<i>O. musimon</i> (Muflon)	HM236185	Meadows vd. 2011
<i>O. ammon</i> (Argali)	HM236188	Meadows vd. 2011
<i>O. vignei</i> (Urial)	HM236186	Meadows vd. 2011

3.2. Araç ve Gereçler

Çalışmada kullanılan ekipmanlar ve kullanım amaçları Çizelge 3.2’de verilmiştir.

Çizelge 3.2. Çalışmada kullanılan ekipmanlar ve kullanım amaçları

Ekipman Türü ve Modeli	Çalışmadaki Kullanım Amacı
Soğutmalı santrifüj	DNA izolasyonu ve PCR aşamalarında ısıya duyarlı örneklerin santrifüj edilerek çöktürülmesi
Mini santrifüj	Örneklerin PCR aşamalarında ve DNA izolasyonunda kısa süreli santrifüj edilerek çöktürülmesi
Thermal cycler	PCR ile belirlenen bölgelerin çoğaltılması
Jel görüntüleme	PCR ürünlerinin agaroz jel üzerinde görüntülenmesi ve bilgisayar ortamına aktarılması
Otoklav	Malzemelerin sterilizasyonu
Hassas terazi	Tampon çözeltilerin hazırlanmasında sarf malzemelerin tartılması
Yatay elektroforez sistemi	DNA izolasyonu ve PCR ürünlerinin tespit edilmesi
Elektroforez güç kaynağı	Elektroforez işlemi için gerekli kesintisiz düzenli elektrik akımının sağlanması
Manyetik karıştırıcı	Tampon çözeltilerin hazırlanması
Mikrodalga fırın	Çözeltilerin ve Agarozjellerin hazırlanması
PH metre	Hazırlanan tamponların pH’larının ayarlanması
Laminar flow	PCR çalışmalarının steril ortamda yapılması
Vorteks	DNA izolasyonu ve PCR sırasında tüplerin karıştırılması
Buzdolabı	Örneklerin, sarf malzemelerin ve tamponların muhafazası
Derin dondurucu	Örneklerin, sarf malzemelerin ve tamponların muhafazası

3.3. Tampon Çözeltiler

Genomik DNA moleküllerinin izolasyonunda kullanılmış olan tampon çözeltiler aşağıda Çizelge 3.3'te verilmiştir.

Çizelge 3.3. Kullanılan çözeltiler ve içerikleri

TamponÇözelti	Molarite/Miktar		İçerik
Eritrosit Lizis Tampon Çözeltisi	0.32	M	Sukroz
	10.00	mM	EDTA
	5.00	mM	MgCl ₂
Fizyolojik Tampon Çözeltisi	75.00	mM	NaCl
	25.00	mM	EDTA
Lizis TE Tampon Çözeltisi	500.0	mM	Tris-HCl
	20.00	mM	EDTA
	10.00	mM	NaCl
SDS Solusyonu (%10)	10.00	g	SDS
	100.0	ml'yetamamlanır.	SafH ₂ O
6M naCl Çözeltisi	3.51	g	NaCl
	10.00	ml'yetamamlanır.	Saf H ₂ O
DNA Yükleme Tampon Çözeltisi	5.00	ml	Gliserol Bromfenol
	2.00	ml	EDTA
	1.50	ml	SafH ₂ O
	1.50	ml	
10 X TBE Elektroforez/Jel Stok Tampon Çözeltisi	108.0	gg	Tris
	55.0	ml	Borik Asit
	40.0	litreye tamamlanır.	0.5M EDTA (ph 8.0)
	1		Deiyonized H ₂ O
1 X TBE Elektroforez/JelTampon Çözeltisi	100	ml	10 X TBE
	1	litreye tamamlanır.	Deiyonized H ₂ O

3.4. Metot

3.4.1. DNA izolasyonu

Genomik DNA izolasyonunda, Miller vd. (1988) tarafından bildirilen protokol laboratuvar ortamında optimize edilerek (Meydan 2007) aşağıdaki şekilde gerçekleştirilmiştir.

1. -80 °C'de saklanan kan örnekleri oda sıcaklığında (23–25 °C) bekletilmiştir.
2. Her bir kan örneğinden 500 µl alınarak 1,5 ml'lik mikrosantrifüj tüpü içine koyulmuştur.

3. Örneklerin üzerine 1.000 µl Eritrosit Lizis Tampon Çözeltisi (Çizelge 3.3) ilave edilmiş ve kısa bir süre vorteksle iyice karıştırılarak 10 dakika oda sıcaklığında bekletilmiştir.
4. Bekletme süresinin sonunda örnekler 3.000 rpm de 10 dakika santrifüj edilmiştir.
5. Mikrosantrifüj tüplerin üst kısmında toplanan sıvı faz (süpernatant) dikkatlice uzaklaştırılmıştır. Dipte kalan peletlerin (hücre kısmı) rengi gözlenerek peletlerin rengi beyaz olana kadar Eritrosit Lizis Tampon Çözeltisi ile tekrar (en fazla 3 defa) muamele edilmiştir.
6. Peletlerin üzerine 1.000 µl Fizyolojik Tampon Çözeltisi (Çizelge 3.3) eklenmiş ve kısa bir süre vortekslenmiştir.
7. Örnekler 3.000 rpm de 10 dakika santrifüj edilmiş ve santrifüj sonunda sıvı kısım dikkatli bir şekilde uzaklaştırılmıştır.
8. Peletlerin üzerine 600 µl Lisis TE Tampon Çözeltisi (Çizelge 3.3) eklenmiş ve peletler iyice çözdürülmüştür.
9. Çözünen peletlerin üzerine 100 µl %10'luk SDS solusyonu (Çizelge 3.3) ve 5 µl proteinaz K (10 mg/ml) eklenerek hafifçe vortekslenmiş ve 65 °C'de 1,5 saat su banyosunda bekletilmiştir. İnkübasyon süresince her 15 dakikada bir elle karıştırılmıştır.
10. İnkübasyondan çıkarılan örneklerin üzerine 200 µl 6M NaCl Çözeltisi (Çizelge 3.3) eklenmiş ve 15 dakika vortekslenmiştir ardından 11.000 rpm de 10 dakikasantrifüj edilmiştir.
11. Santrifüj sonunda DNA moleküllerini içeren supernatant yeni bir mikrosantrifüj tüpüne aktarılmıştır.
12. Örnekler 10.000 rpm de 5 dakikasantrifüj edilmiş ve süpernatant yeni bir mikrosantrifüj tüpeaktarılmıştır. Örnekler üzerine örnek hacminin iki katı kadar (yaklaşık 1.000 µl) %99,9'luk etil alkol (-20 °C'den alınan) ilave edilmiştir.
13. Etil alkol eklendikten sonra mikrosantrifüj tüpü DNA iplikçikleri kümeleşinceye kadar hafifçe elle karıştırılmıştır.
14. Kümeleşen DNA iplikçiklerinin tüpün dibine çökmesi için tüp 10.000 rpm de 5 dakikasantrifüj edilmiştir.
15. Santrifüj sonunda etil alkol uzaklaştırılarak tüpün dibine çökmüş olan DNA peletinin üzerine 1.000 µl %70'lik etil alkol eklenerek 10.000 rpm'de 5 dakikasantrifüj edilmiştir.
16. Santrifüjünardından tüpün üstünde yer alan alkol uzaklaştırılmıştır.
17. Tüp içindeki alkolün tamamen uzaklaşması için örnekler çeker ocak içerisinde kurumaya bırakılmıştır.

18. Tamamen kuruyan örneklerin üzerine 100 µl saf su ilave edilmiş ve DNA peletinin çözünmesi için bir gece +4 °C 'de bekletilmiştir.

19. Örneklerden izole edilen genomik DNA moleküllerinin kalite ve miktarları %2'lik agaroz jelde ve BioDrop spektrofotometre cihazında kontrol edilmiştir.

20. Spektrofotometre ölçümleri sonucunda 260/280 dalga boylarında 1.8–2.0 saflık ile miktar olarak 50 ng/µl değerinin üzerinde bulunan ve ayrıca %2 'lik agaroz jellerinde tek parça olduğu tespit edilen her bir örneğe ait DNA molekülleri PCR işlemine kadar +4 °C 'de muhafaza edilmiştir.

3.4.2. MtDNA D-loop bölgesinin PCR ile çoğaltılması

Kontrol bölgesi üzerinde tandem tekrarlardan kaçınmak amacıyla 531 bp'lik kısa bir bölgenin çoğaltılması tercih edilmiştir (Chen vd. 2006). Çalışmada, AF010406 başvuru numarası (GenBank accession number) ile NCBI'da yer alan ve Hiendleder vd. (1998) tarafından tanımlanan mtDNA dizilimi üzerinde 16006. ile 16537. nükleotidler arasında yer alan D-loop bölgesi çoğaltılmıştır (Şekil 3.1). PCR çalışması için Çizelge 3.4'te verilen primer dizileri kullanılmıştır.

Çizelge 3.4. Gen bölgelerine ait primerler

	Primer dizileri	PCR ürünü	Kaynak
mtDNA D-loop	Forward: 5'-ACTGCTTGACCGTACATAGTAC-3' Reverse: 5'-AGTATTGAGGACGGGGTAA-3'	531 bp	Chen vd. 2006

.....						
.....						
15901	ttatatgtat	aaagtacatt	aaatgattta	ccccatgcat	ataagcatgt	acatttggtt
15961	cactgaagca	tgtagggtat	taaactgctt	gaccgtacat	agtacatgaa	gtcaaatacca
16021	ttctagtcaa	catgcgtatc	ctgtccatta	gatcacgagc	ttgttcacca	tgccgcgtga
16081	aaccaacaac	ccgctcagca	aggatccctc	ttctcgctcc	gggcccaacta	actgtggggg
16141	taactattta	atgaacttta	acaggcatct	ggttccttct	tcagggccat	ctcatctaaa
16201	atcgcccaact	ctttcccctt	aaataagaca	tctcgatgga	ctaatagacta	atcagcccat
16261	gcctaacata	actgtggtgt	catgcatttg	gtatttttta	atttttgagg	atgcttggac
16321	tcagctatgg	ccgtctgagg	cctgaccggg	agcatgaatt	gtagctggac	ttactgcat
16381	cttgagcatc	ctcataatgg	taagcatggg	cataatataa	ttaatgggca	caggacatat
16441	ctgctgtatc	gtgcatttat	atattctttt	ttccccctt	ccccttaaata	atttatcacc
16501	atttttaaca	cgcttcccc	tagatattaa	tataaat	ttta cccogtctc	aataactcaaa
16561	ttcatactcc	aaccgaagta	aatatatagg	cacctgggtc	acatacataa	cgcata

Şekil 3.1. mtDNA D-loop bölgesi ve kullanılan primerler (NCBI numarası: AF010406)

MtDNA D-loop bölgesinin PCR ile amplifiye edilmesi için Çizelge 3.5'te verilen PCR Stok Tampon Çözeltisi, her seferinde incelenecek örnek sayısı ile orantılı şekilde steril 1,5 ml'lik mikrosantrifüj tüpü içinde hazırlanmıştır. Bu PCR Stok Tampon Çözeltisinde her bir örnek için 49 µl alınarak tüplere dağıtılmıştır. Hazırlanan PCR Stok Tampon Çözeltisi tüplere dağıtıldıktan sonra örnekler için DNA'dan 1 µl alınarak bu çözeltinin üzerine eklenmiştir. Tüplerin kenarlarına yapışmış olan kısmı dibe çöktürmek için bu karışım 3-5 saniye mikrosantrifüj tüpünde 3.500 rpm'de santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası örneklerin bulunduğu tüpler PCR cihazına (Thermal cycler) yerleştirilmiş ve Çizelge 3.6'da verilen PCR programı uygulanmıştır.

Çizelge 3.5. PCR Stok Tampon Çözeltisi

Miktar	İçerik	Stok Derişim
1.0 µl	DNA	50 ng
2.0µl	Taq Buffer (KCl)	10X
2.4 µl	MgCl ₂	25mM
0.3 µl	dNTPs	2mM
0.3 µl	Forward Primer	10pmol
0.3 µl	Reverse Primer	10pmol
0.6 µl	Taq DNA polimeraz	5U/ng
43.1 µl	Su	
50.0 µl	Toplam	

Çizelge 3.6. PCR programı

94°C	→	3dk.	DNA eksenlerinin birbirlerinden ayrılması (<i>initial denaturation</i>)
94°C	→	10 sn.	DNA eksenlerinin birbirlerinden ayrılması (<i>denaturation</i>)
55°C	→	15 sn.	Primerin komplementer kalıp DNA eksenleriyle hibritlenmesi (<i>annealing</i>)
72°C	→	15 sn.	Üzerinde durulan DNA bölgesinin sentezinin yapılması (<i>extension</i>)
72°C	→	7 dk.	Üzerinde durulan bölgesinin sentezinin son kez yapılması (<i>final extension</i>)

3.4.3. Elektroforez

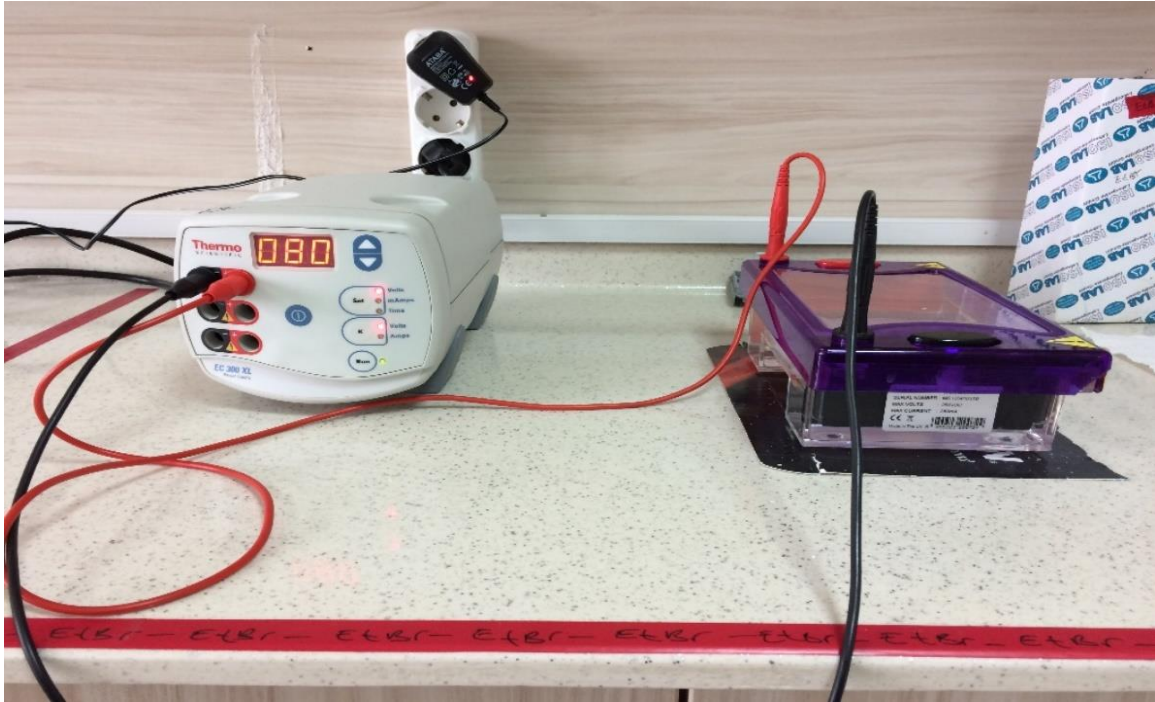
Elektroforez çözeltisi önce 10X Elektroforez/Jel Stok Tampon Çözeltisi olarak hazırlanmıştır (Çizelge 3.3). Ardından elde edilen örneklerin elektroforezi için hazırlanan bu stok tampon çözeltisinden 1X Elektroforez/Jel Tampon Çözeltisi hazırlanmış ve kullanılmıştır (Çizelge 3.3). Aynı zamanda 1X TBE solüsyonu elektroforez tampon çözeltisi olarak da kullanılmıştır. Jelin hazırlanması için 40 ml, Elektrolit Çözeltisi olarak da 450 ml 1X TBE Elektroforez/Jel Tampon Çözeltisi kullanılmıştır.

3.4.4. Agaroz jellerin hazırlanması

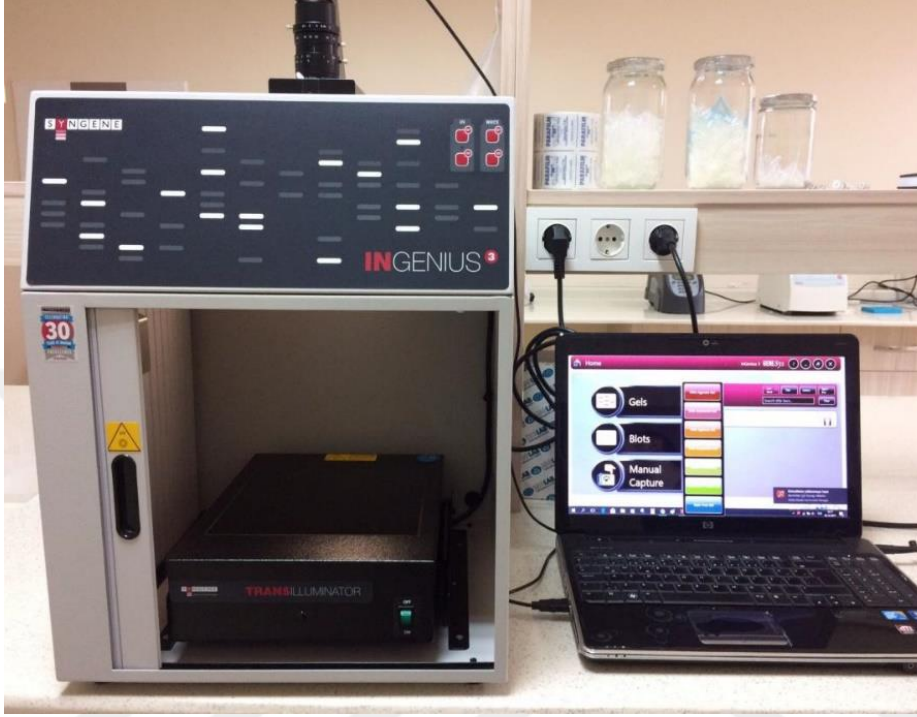
1 gr agaroz tartılarak erlen mayerin içerisine alınmış ve üzerine 100 ml 1 X TBE Elektroforez/Jel Tampon Çözeltisi eklenerek %1'lik agaroz jel elde edilmiştir. Karışım dairesel hareketlerle karıştırıldıktan sonra agarozu iyice eriyip homojenize edilmesi için mikrodalga fırında 2-4 dakika kaynatılmıştır. Kaynamış olan jelin üzerine 3 µl Etidyum Bromür eklenerek su altında soğutulmuş ve tarakları takılı halde bulunan jel tablasına dökülerek oda sıcaklığında katılaşması beklenmiştir. Yaklaşık 30 dakika sonra tarak, yavaş ve dikkatli bir şekilde çıkarılmıştır. Hazırlanan jel 1 X TBE Elektroforez/Jel Tampon Çözeltisi ile dolu olan yatay elektroforez tankına yerleştirilmiştir. Jel tanka yerleştirildikten sonra üzerini tamamen kaplayana kadar 1 X TBE Elektroforez/Jel Tampon Çözeltisi eklenmiştir.

3.4.5. PCR ürünlerinin jele yüklenmesi ve görüntülenmesi

PCR ürünleri bulunan tüpten, pipet yardımı ile 10 µl alınarak, 0,2 µl'lik PCR tüplerine konulmuş ve üzerine 3 µl DNA Yükleme Tampon Çözeltisi (Çizelge 3.3) eklenmiştir. Ardından karışım kuyucuklara dikkatlice yüklenmiştir. Elektroforez cihazında işlem sonunda görüntülenecek olan bantların büyüklüklerinin saptanması için ilk kuyucuğa 100 bp aralıklarla bant veren 1.5 kb büyüklüğünde 5 µl DNA ladder yüklenmiştir. Elektroforez işlemi 80 V/cm'de 40 dakikada tamamlanmıştır (Şekil 3.2). Elektroforez işleminin ardından jeller Jel Görüntüleme Sisteminde (Syngene-Genius) görüntülenmiş ve elde edilen görüntüler bilgisayar ortamına aktarılmıştır (Şekil 3.3).



Şekil 3.2. PCR ürünlerinin elektroforez cihazında yürütülmesi



Şekil 3.3. Elektroforez sonrası jellerin görüntülenmesi

3.5. Moleküler veri analizi

Bu tez çalışması kapsamında elde edilen dizi analizi sonuçlarının değerlendirilebilmesi ve yorumlanabilmesi için bir çok istatistik parametre ve biyoinformatik yöntem kullanılmıştır. Bu parametrelerin hesaplanabilmesi ve yöntemler için de bir çok yazılımdan yararlanılmıştır.

3.5.1. MtDNA dizilerinin kontrolü

Hizmet alımı olarak gerçekleştirilen DNA dizi analizi sonuçları FinchTV 1.5.0 (Geospiza Inc., Seattle, WA) programı kullanılarak görüntülenmiştir. Firmadan gelen her bir sonuç dosyası (.ab1 uzantılı dizileme sonuç dosyaları) bu programda açılmış ve her bir örneğin dizi analizleri tek tek gözle kontrol edilerek var olan mutasyonlar (SNP'ler) tespit edilmiştir. Örneklere ait DNA dizi analizi sonuçlarının FinchTV programı ile kontrol edilmesinden sonra, tüm örneklere ait mtDNA D-loop dizileri MEGA 7 (Kumar vd. 2016) programına girilmiş ve ClustalW algoritması kullanılarak hizlanmışlardır (alignent).

3.5.2. MtDNA’da nükleotid yer değiştirme oranları

Çalışılan bölgedeki nükleotid yer değiştirme oranlarının belirlenebilmesi için MEGA7 (Kumar vd. 2016) programı kullanılmıştır. Çalışılan tüm örneklerde Maximum Likelihood istatistik metodu ve Tamura-Nei (Tamura vd. 2004; 2013) modeli kullanılarak nükleotid değişimleri (transition/transversion eğilimi, *transition/transversion bias*, R) hesaplanmıştır. Bu hesaplama yapılırken aşağıdaki formül (Tamura vd. 2004; 2013) kullanılmıştır:

$$R = [A * G * k1 + T * C * k2] / [(A + G) * (T + C)]$$

A: adenin, G: guanin, T: timin, C: sitozin, k1: pürinler için toplam transisyon/transversiyon eğilimi ve k2: pirimidinler için toplam transisyon/transversiyon eğilimi.

Herhangi bir gen bölgesindeki toplam nükleotit yer değiştirme eğiliminin, DNA dizisinde meydana gelen evrimin genel bir özelliği olduğu bilinmekle birlikte, hayvan mitokondriyal DNA’larında (mtDNA) nükleer (nDNA) veya kloroplast DNA (cpDNA)’larına göre daha belirgindir (Wakeley 1996). Toplam transisyon/transversiyon eğiliminin (R) tahmin edilmesi, sadece DNA diziliminin evrimini anlamamız açısından değil, aynı zamanda DNA dizi mesafeslerinin ve filogenetik yapılandırılmanın daha güvenilir olması açısından önemlidir.

3.5.3. Genetik çeşitlilik ve haplotip analizleri

Çalışılan koyun popölasyonlarında yapılan genetik çeşitliliğin belirlenebilmesi için haplotip sayısı (h), haplotip çeşitliliği (Hd), polimorfik bölge sayısı (S), ortalama nükleotit farklılık sayısı (k) ve nükleotid çeşitliliği (π) istatistik parametreleri, DnaSP (Librado ve Rozas 2009) programından yararlanılarak hesaplanmıştır. Bunun için MEGA7 programı sonrası .meg olarak ya da fasta formatında kaydedilen dosyalar DnaSP programında açılmış ve “Generate” → “Haplotype Data File” seçenekleri kullanılarak haplotip analizleri gerçekleştirilmiştir. Bu analiz sonucunda elde edilen veriler RDF dosyası (.rdf, Roehl Data File) olarak ve Nexus dosyası olarak kaydedilmiştir.

Popölasyonlar içinde veya arasında var olan nükleotid çeşitliliğini ortaya çıkarmak popölasyon genetiği çalışmalarının en önemli amaçlarından birisidir. Nükleotid çeşitliliği, DNA dizilimindeki farklı nükleotidlerin veya bölgelerinin belirlenmesi ve bu bölgelerin diziye oluşturan nükleotid sayısına bölünmesi ile tahmin edilmektedir. Bu tahmin edilen değerler, popölasyonlar arasındaki ve içindeki genetik çeşitliliği ortaya koyabilmek için yoğun bir şekilde kullanılmaktadır (Nei ve Kumar 2000). Nükleotid çeşitliliği (π), iki dizi arasındaki bölge başına ortalama nükleotid farklılığı sayısı olarak da adlandırılır ve bir popölasyonun genetik çeşitliliğinin bir ölçüsüdür. Basitçe rastgele çiftleşen popölasyonlarda nükleotid düzeyinde heterozigotluktur (Nei 1987). Haplotip çeşitliliği (Hd) ise, bir veri setinde (popölasyon) rastgele seçildiklerinde iki dizinin farklı haplotiplerinin ortaya çıkma olasılığını ölçer. Bir popölasyondaki heterozigotluk seviyesi bu ölçü ile tahmin edilebilir.

3.5.4. Nötralite test sonuçları

Motoo Kimura (1968) tarafından ortaya atılan nötral teori, genetik çeşitliliğin büyük kısmının seleksiyonla değil, genetik sürüklenme ve mutasyonlar ile ortaya çıktığını ve bunun sonucunda da bazı allellerin rastgele nötral durumda kaldığını savunmaktadır. Bu nedenle nötralite teorisi, popülasyondaki çeşitliliğin yapılan pozitif ya da negatif bir seleksiyondan mı yoksa rastgele mi olduğunun test edilmesinde kullanılmaktadır (Hedrick, 2005). Çalışılan İvesi popülasyonlarında nötral teorisinin test edilmesi amacı ile ARLEQUIN (Excoffier ve Schneider 2005) programından faydalanılmış ve Tajima's D ile Fu's F_s istatistikleri hesaplanmıştır.

Tajima'nın D değerinin negatif bir değer almasının sebebi, düşük heterozigotluktan ve haplotip sayısının beklenenden düşük olmasından kaynaklanmaktadır. Başka bir deyişle beklentiye göre düşük frekanslı polimorfizmlerin fazlalığına ve nadir görülen allellerin fazla olmasına işaret eder. Negatif Tajima'nın D değeri seçici süpürmenin (selective sweep) ya da popülasyonda genişlemenin (population expansion) olduğuna işaret etmektedir. Tajima'nın D değerinin pozitif olmasının sebebi ise heterozigotluk değerinin yüksek olması ve beklenenden yüksek haplotip sayısının olmasından kaynaklanmaktadır. Başka bir deyişlenadir görülen allellerin çok az olmasına ve hem düşük hem de yüksek frekanslı polimorfizmlerin düşük seviyelerde olmasına işaret eder. Pozitif Tajima'nın D değeri popülasyonda dengeli bir seleksiyon (balancing selection) olduğunun göstergesidir (Tajima 1989).

Fu'nun F_s değerinin negatif olması, yakın zamandaki bir popülasyon genişlemesinden ve yüksek miktarda yeni haplotiplerin ortaya çıkmasından kaynaklanmaktadır. Fu'nun F_s değerinin pozitif bir değeri, yakın zamanda popülasyonun genetik darboğazdan geçtiğini ve şiddetli bir seleksiyona maruz kaldığının kanıtıdır.

3.5.6. Moleküler Varyans Analizi (AMOVA)

Moleküler marker yöntemleri kullanılarak elde edilen verilerin istatistik analizlerinde Moleküler Varyans Analizi (Analysis of Molecular Variance, AMOVA) kullanılmaktadır. Bu analiz Excoffier vd. (1992) tarafından Varyans Analizi (ANOVA) formülleri moleküler verilere göre düzeltilerek geliştirilen çok değişkenli bir analiz yöntemidir. AMOVA ile toplam genetik varyasyonun ne kadarının çalışılan popülasyonların farklı olmasından (among population), ne kadarının ise popülasyonlardaki bireylerin farklı olmasından (within population) kaynaklandığı belirlenebilmektedir. Bu çalışmada AMOVA analizi için ARLEQUIN (Excoffier vd. 2006) paket programı kullanılmıştır.

3.5.7. Neighbor joining filogenetik ağaç

Kümeleme analizlerinin belirlenmesinde genel olarak iki farklı tipte yöntem kullanılmaktadır. Bu yöntemler uzaklık-temelli (distance-based methods) ve model-temelli (model-based methods) yöntemlerdir. Uzaklık-temelli yöntemler herhangi iki birey arasındaki uzaklıkları veren ikiye bölünmüş uzaklık matrisi değerleri hesaplanır ve daha sonra bu

matriks uygun grafik (örneğin üç boyutlu ve çok boyutlu olarak) yöntemleriyle sunulmakta ve oluşan kümeler gözle tanımlanabilmektedir. Model-temelli yöntemlerde ise, bazı parametrik modellerden rastgele çekilen her bir kümeden elde edilen gözlemler (varsayımlar) üzerinde durulmaktadır. Her bir kümeye karşılık gelen parametre için elde edilen sonuç daha sonra standart istatistik yöntemleri (örneğin neighbor joining, maksimum likelihood ve Bayesian yöntemleri gibi) kullanılarak her bir bireyin üyesi olduğu kümenin sonucuyla birlikte değerlendirilir (Pritchard vd. 2000).

Bu tez çalışması kapsamında neighbor joining filogenetik ağaç çizimi için Nei (1978)'nin yansız genetik uzaklık (D) yöntemi kullanılmıştır. İki popülasyon ya da tür arasındaki genetik mesafe, gen farklılıklarını belirtmektedir. Bu değer allel frekanslarından yararlanılarak belirlenmekte olup, genetik mesafe tahmininde değişik yöntemler bulunmaktadır. En yaygın kullanılan yöntemlerden birisi Nei'nin (1972) genetik benzerlik değerinden hesaplanan, standart genetik uzaklık (D) yöntemi ile bundan türetilen yansız (unbiased) genetik mesafe (Nei 1978) değeridir. Eğer genetik mesafe değeri 0 ise popülasyonlar arasında fark yok demektir.

Bu çalışmada, genetik uzaklık (D) değerleri ile MEGA7 (Kumar vd. 2016) programından faydalanılarak (Bootstrap değeri = 1000) ve haplotip uzaklık değerleri (Hamming distance matrix) ile RStudio (v.4.0.3) yazılımı kullanılarak filogenetik ağaç çizimi gerçekleştirilmiştir. Isı haritalarının oluşturulabilmesi için, basit R komutlarını kullanarak haplotip dizileri matrisinden simetrik haplotip mesafe matrisi hesaplanmıştır. Bu hesaplama için haplotip dizilerini çiftler halinde karşılaştırılmış, aralarındaki nükleotid farklılıklarını belirlenmiş ve bu farklılıklar simetrik bir matrise yazılmıştır ve haritasının görselleştirilmesi için kullanılmıştır.

Filogenetik ilişkiler çoğunlukla çeşitli matematiksel modellere sahip bilgisayar programları kullanılarak hesaplanmaktadır. Parametreleri tahmin etmek için birçok yazılım paketi olmasına rağmen, bu parametreleri tek bir görevde hesaplayabilen ortak bir iş akışında birlikte çalışmazlar (Excoffier ve Heckel 2006). Bu yazılım paketlerini kullanmak için veri kümelerinin farklı girdi dosyası formatlarında olması gerekir. Bu nedenle kullanıcılar hemen her program için farklı girdi dosyaları hazırlamak zorunda kalmaktadır. Bu noktada analizlerin tek bir çerçevede yapılabileceği bir platforma ihtiyaç duyulmaktadır. R (programlama dili) istatistiksel hesaplama ve grafikler için bir yazılım olmakla birlikte, gelişmiş paket ve kütüphaneler sayesinde biyoinformatik alanında kullanımı giderek artmaktadır (Jombart 2008; Paradis vd. 2008; Paradis 2010; Popescu vd. 2012; Yu vd. 2017; Aktas 2020). Bu sebeplerden dolayı popülasyonlar arasındaki genetik ilişkilerin belirlenebilmesi ve filogenetik ağaçların çizilebilmesi için R ve RStudio programları yoğun bir şekilde kullanılmaktadır.

3.5.8. Medyan-birleştirme ağ (median joining network) analizi

Biyoinformatik ve bilgisayar alanındaki teknolojik gelişmeler ve moleküler verilerin yoğunluğunun artması, kullanıcı dostu yazılımlar aracılığıyla hipotezleri test ederek genel olarak evrimsel biyoloji ve özellikle de filogenetik alanındaki araştırmaları güçlendirmiştir.

Bu bağlamda, Medyan-birleştirme yaklaşımı 15 yılı aşkın bir süredir uygulanmaktadır. Medyan-birleştirme ağlarının evrimsel çalışmalara uygulanması önemli ölçüde artmıştır ve bu eğilimin öngörülebilir gelecekte azalacağına dair hiçbir belirti bulunmamaktadır (Kong 2015).

Medyan-birleştirme ağ analizlerinin (Bandelt vd. 1999) algoritması, çok sayıda örnekten elde edilen ancak küçük genetik farklılıklara sahip tür içi verileri kullanarak tek bir ağsı şekilde birden fazla makul ağaç içeren bir ağ üretmeyi amaçlamaktadır. Basitçe mutasyon sayısının bir ölçüsü olarak birbirlerine bağlanan en yakın haplotipleri göstermektedir. Daha teorik olarak, medyan-birleştirme ağ analizleri yöntemi iki algoritmanın özelliklerini birleştirmektedir: Kruskal'ın (1956) algoritması ve Farris'in (1970) maksimum-parsimoni (MP) sezgisel algoritması. Birincisi kısa bağlantıları tercih ederek minimum yayılan ağaçları bulmakta, ikincisi ise sırayla "medyan vektörler" adı verilen yeni köşeler eklemektedir. MtDNA gibi rekombinasyon içermeyen veri setleri için yoğun olarak kullanılmaktadır. Bu tez çalışması kapsamında Medyan-birleştirme ağ analizleri için NETWORK 10 (<http://www.fluxus-engineering.com/sharenet.htm>) programı kullanılmıştır.

3.5.9. Genetik uzaklık değeri

Genetik mesafe, (ister ortak atadan itibaren geçen süreyi ister farklılaşma derecesini ölçsün) türler arasındaki veya bir tür içindeki popülasyonlar arasındaki genetik farklılığın bir ölçüsüdür (Nei 1987). Birçok benzer alele sahip popülasyonların genetik mesafeleri küçük olmakla birlikte bu durum yakın akraba olduklarını ve yakın zamanda ortak bir ataya sahip olduklarını göstermektedir. Bu değer biyolojik çeşitliliğin kökenini anlamak için de kullanılmaktadır. Örneğin, evcilleştirilmiş hayvanların farklı ırkları arasındaki genetik mesafeler, genetik çeşitliliği korumak için hangi ırkların korunması gerektiğini belirlemek amacıyla sıklıkla araştırılmaktadır. Ayrıca aynı tür içerisindeki farklı ırkların da evcilleştirme süreci boyunca birbirlerinden genetik olarak ne kadar farklılaştıklarını göstermektedir.

Popülasyonların geçmişte gruplara ayrılması, aralarında gen akışının olması, popülasyonlar içerisinde genetik sürüklenme meydana gelmesi veya popülasyonların aynı seleksiyon etkisine maruz kalmasından dolayı bu popülasyonlar birbirlerine benzerlik gösterebilir ve genetik uzaklık değerleri düşük çıkar. Bunun tersi olarak, çok uzun süre aralarında herhangi bir gen akışının bulunmaması, etkili bir genetik sürüklenme ile büyük farkların oluşması veya popülasyonların farklı seleksiyon etkilerinde kalmasından dolayı popülasyonlar arasında genetik uzaklık değerleri yüksek çıkabilir. Genetik uzaklık değeri teorik olarak 0 ile 1 arasında hesaplanmakta olup değer yükseldikçe popülasyonlar arasındaki farklılık da artmaktadır. Bu tez çalışması kapsamında Nei'nin genetik mesafe değerleri MEGA7 (Kumar vd. 2016) programından faydalanılarak hesaplanmıştır.

3.5.10. İkişerli (pairwise) F_{ST} değeri

F_{ST} değeri, alt popülasyonlar arasındaki genetik farklılıkların ölçülmesi olup, alt popülasyonlardan rastgele ele alınan iki gametin ortak atadan gelme ihtimalini belirtmektedir. Bir lokus açısından popülasyonları karşılaştırmada kullanılmaktadır.

Popülasyonlarda genetik farklılaşmaların ölçümünde en yaygın kullanılan değerdir. F_{ST} 0 ile 1 arasında bir değer alır. Belirlenen F_{ST} değeri 1'e ne kadar yakın ise alt popülasyonlar ortak atadan oldukça uzak olduğu dolayısıyla F_{ST} değeri küçük olduğu zaman popülasyonların arasındaki varyasyonun da az olduğu söylenebilir. Yani iki popülasyon birbirine genetik olarak benziyor demektir.

Hartl ve Clark (2007)'a göre, popülasyonlar arasındaki genetik farklılık 4 farklı grupta toplanmıştır. Wright (1978)'a göre popülasyonlar arasındaki genetik farklılıklar 0.05'ten daha küçük ise bu farklılıkların biyolojik olarak herhangi bir anlam taşımadığı bildirilmiştir.

Eğer iki popülasyon arasındaki F_{ST} değeri;

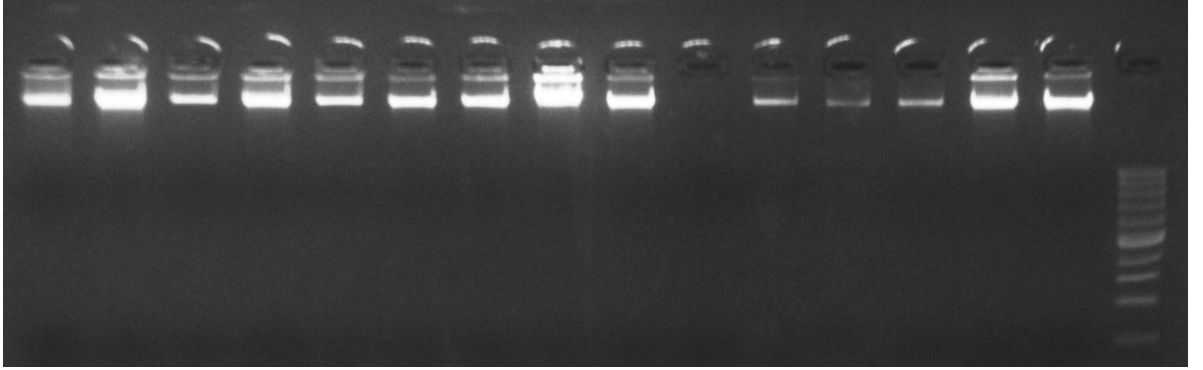
- 0-0.05 arasında bir değer alıyor ise küçük bir genetik farklılaşma;
- 0.05-0.15 arasında bir değer alıyor ise orta düzeyde farklılaşma;
- 0.15-0.25 arasında bir değer alıyor ise büyük bir genetik farklılaşma;
- 0.25'ten büyük değerler alıyorsa çok büyük bir genetik farklılaşmanın mevcut olduğu söylenebilir (Hartl ve Clark 2007).

Bu tez çalışması kapsamında ikişerli F_{ST} değerleri ARLEQUIN (Excoffier vd. 2006) paket programı kullanılarak hesaplanmıştır.

4. BULGULAR

4.1. DNA izolasyon sonuçlarının değerlendirilmesi

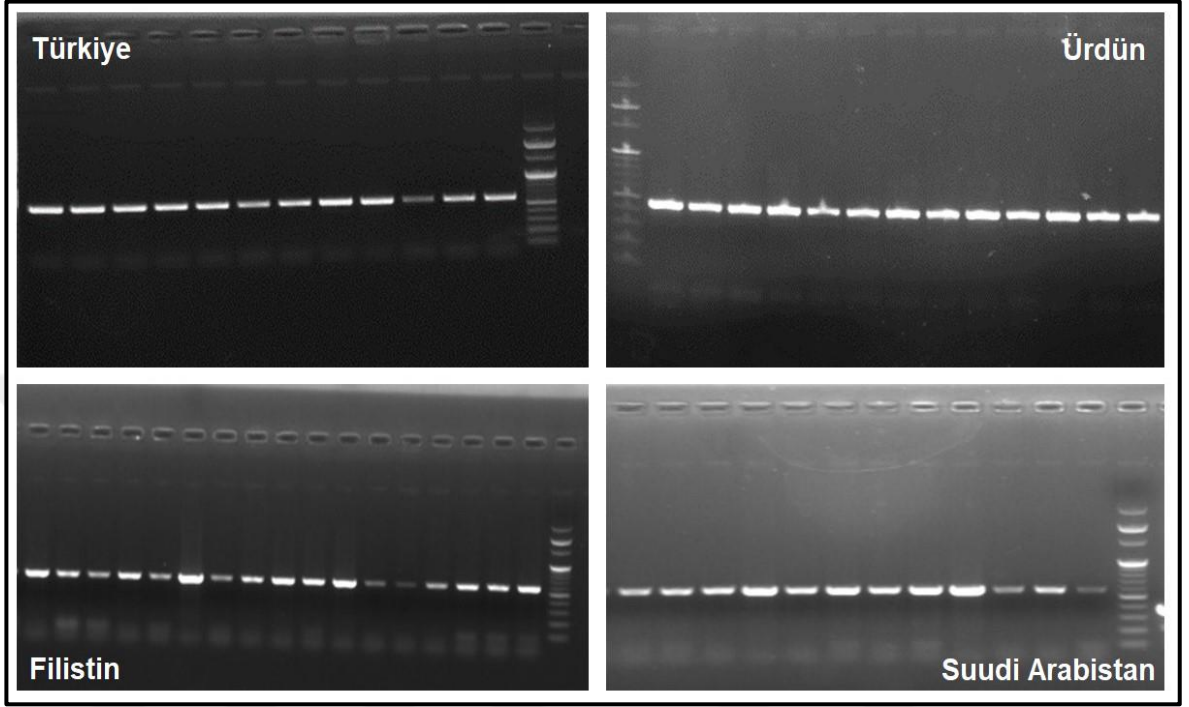
Daha önce de belirtildiği üzere genomik DNA izolasyonu sadece Türkiye’de yetiştirilen İvesi koyunları için yapılmış olup tuz çöktürme (salting-out) yöntemi uygulanmıştır. Çalışılan İvesi koyun popülasyonundan alınan kanlardan izole edilen genomik DNA’ların kalite kontrolü %1’lik agaroz jel elektroforezinde yapılmış ve görüntülenmiştir (Şekil 4.1). BioDrop analizlerine göre laboratuvarımızda izole edilen DNA’ların ortalama miktarı ve 260/280 saflık oranları sırasıyla 203.86 ± 6.70 ng/ μ l ve 1.81 ± 0.03 olarak hesaplanmıştır. Ayrıca diğer DNA örneklerinin de BioDrop’da ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Ölçüm sonuçları Filistin, Ürdün ve Suudi Arabistan için sırasıyla 153.46 ± 7.33 ng/ μ l ve 1.77 ± 0.05 ; 211.70 ± 5.22 ng/ μ l ve 1.83 ± 0.02 ; 144.97 ± 9.12 ng/ μ l ve 1.74 ± 0.04 olarak bulunmuştur.



Şekil 4.1. İzole edilen DNA örneklerinin %1’lik agaroz jel elektroforez görüntüsü

4.2. PCR Ürünlerinin Görüntülenmesi

Bu tez çalışması kapsamında üzerinde durulan 531 bç’lik gen bölgesi olan mtDNA D-loop bölgesi (kontrol bölgesi) uygun primerler ile PCR’da amplifiye edilmiştir. Her bir popülasyondaki örneklere ait olan PCR ürününleri, %1’lik agaroz jel elektroforezi sonrası UV ışığı altında kontrol edilmiştir (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. PCR işlemi sonrası mtDNA D-loop bölgesine ait 531 bp'lik jel görüntüsü

4.3. DNA Dizi Analiz Sonuçları

4.3.1. mtDNA dizilerinin kontrolü

Bu tez çalışması kapsamında mtDNA D-loop bölgesinin dizi analizi için BM Labosis (BM Yazılım Danış. ve Lab. Sis. Ltd. Şti) firmasından hizmet alımı gerçekleştirilmiştir. Firmadan gelen DNA dizi analizi sonuçları öncelikle BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) edilerek sonuçların doğruluğu kontrol edilmiştir. BLAST sonuçları incelendiğinde firmadan gelen DNA dizi analizi sonuçlarının, daha önceden yürütülmüş olan çalışmalar ile benzerlik gösterdiği görülmüştür (Şekil 4.3).

BLAST işleminden sonra, firmadan gelen her bir sonuç dosyası (.ab1 uzantılı sekans sonuç dosyaları) Finch TV isimli programda açılmış ve her bir örneğin dizi analizleri tek tek gözle kontrol edilmiştir. Özellikle kontrol işlemi yapılırken sekans piklerine dikkat edilmiş ve var olan mutasyonlar tespit edilmiştir (Şekil 4.4). Kontrol işlemi esnasında bazı örnekler için sekans sonuçlarının düzgün olmadığı/çalışmadığı tespit edilmiş olup bu örnekler için tekrar PCR işlemi gerçekleştirilmiş ve dizi analizi için firmaya tekrar gönderilmiştir.

NIH National Library of Medicine
National Center for Biotechnology Information

BLAST® » blastn suite » results for RID-7BBD2EFP01N

Home Recent Results Saved Strategies Help

[< Edit Search](#) [Save Search](#) [Search Summary](#) [How to read this report?](#) [BLAST Help Videos](#) [Back to Traditional Results Page](#)

Job Title Nucleotide Sequence

RID 7BBD2EFP01N Search expires on 05-31 16:02 pm [Download All](#)

Program BLASTN [Citation](#)

Database nt [See details](#)

Query ID lcl|Query_163379

Description None

Molecule type dna

Query Length 515

Other reports [Distance tree of results](#) [MSA viewer](#)

Filter Results

Organism only top 20 will appear ☐ exclude
Type common name, binomial, taxid or group name
[+ Add organism](#)

Percent Identity to **E value** to **Query Coverage** to

[Filter](#) [Reset](#)

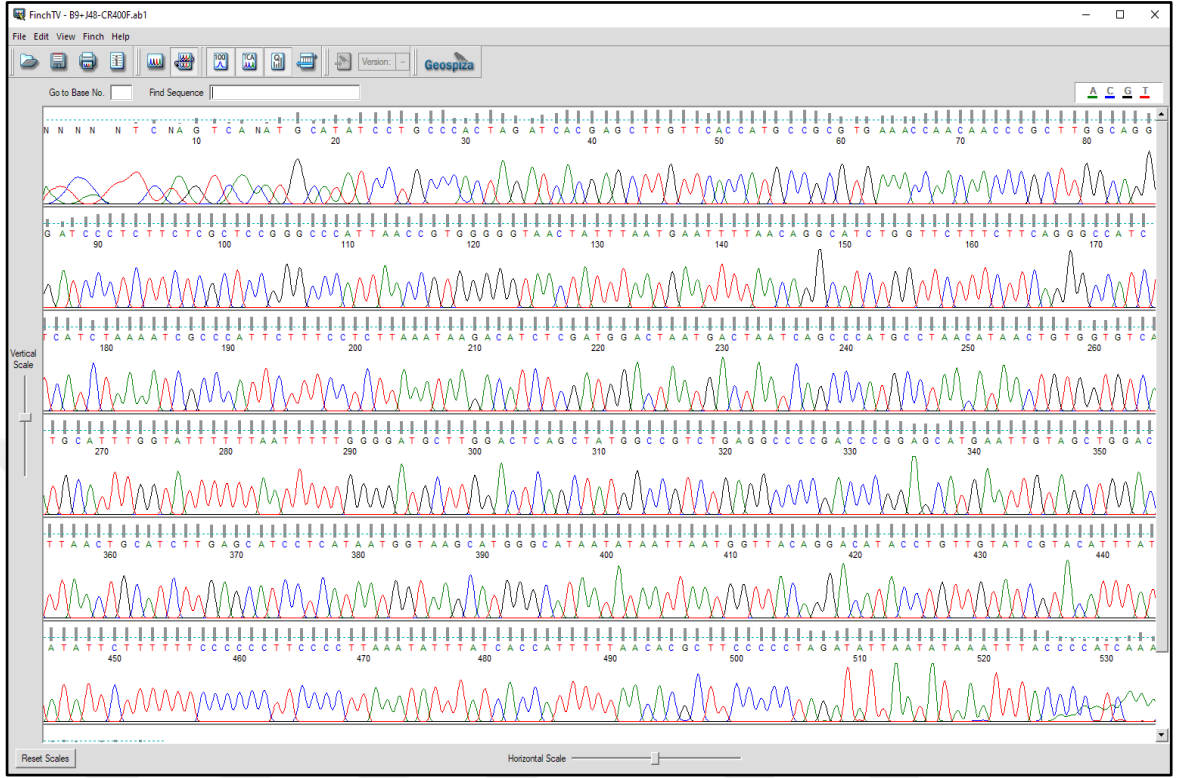
Descriptions Graphic Summary Alignments Taxonomy

Sequences producing significant alignments [Download](#) [Select columns](#) Show [?](#)

☒ select all 100 sequences selected [GenBank](#) [Graphics](#) [Distance tree of results](#) [MSA Viewer](#)

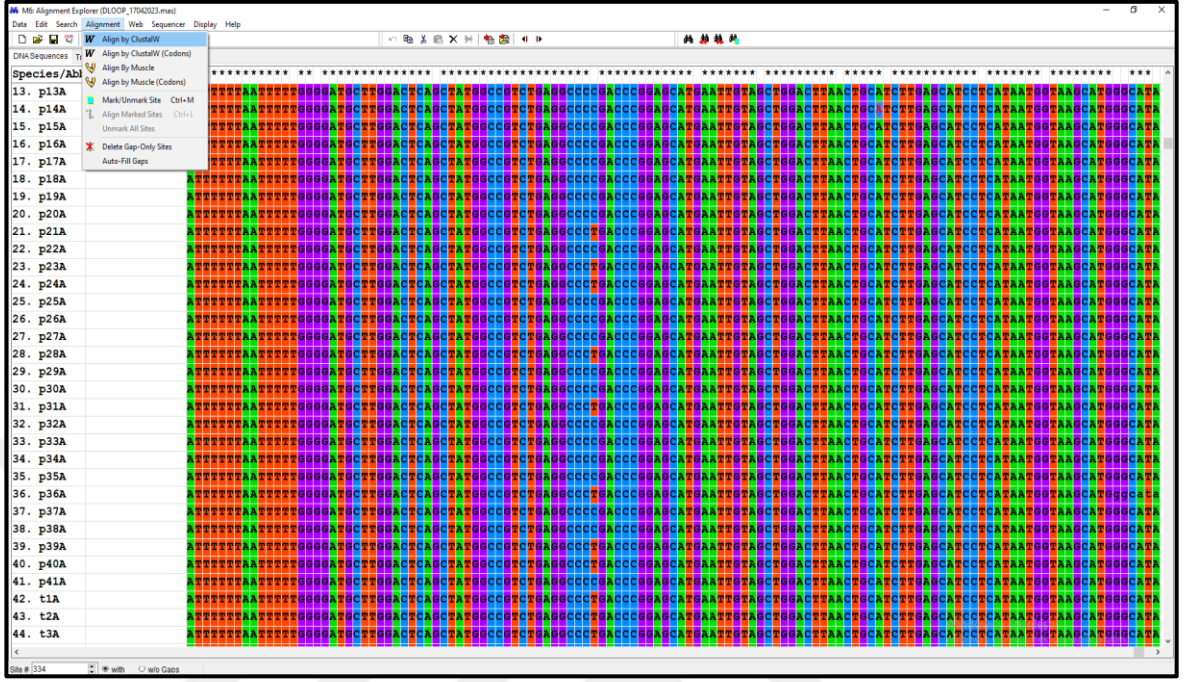
	Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
☒	Ovis aries isolate T170 D-loop, complete sequence, mitochondrial	Ovis aries	939	939	99%	0.0	99.80%	1184	MK174589.1
☒	Ovis aries IS_3 mitochondrial DNA, D-loop, partial sequence	Ovis aries	939	939	99%	0.0	99.80%	1203	LC486459.1
☒	Ovis aries clone TR0056 control region, partial sequence, mitochondrial	Ovis aries	939	939	99%	0.0	99.80%	1183	HM042811.1
☒	Ovis aries isolate H57 D-loop, partial sequence, mitochondrial	Ovis aries	937	937	99%	0.0	99.80%	527	JX567888.1
☒	Ovis aries isolate H4 D-loop, partial sequence, mitochondrial	Ovis aries	937	937	99%	0.0	99.80%	527	JX567835.1
☒	Ovis aries isolate T169 D-loop, complete sequence, mitochondrial	Ovis aries	933	933	99%	0.0	99.61%	1184	MK174588.1
☒	Ovis aries isolate T144 D-loop, complete sequence, mitochondrial	Ovis aries	933	933	99%	0.0	99.61%	1184	MK174563.1
☒	Ovis aries isolate HER_26 D-loop, complete sequence, mitochondrial	Ovis aries	933	933	99%	0.0	99.61%	1184	KF677126.1
☒	Ovis aries isolate DAG_40 D-loop, complete sequence, mitochondrial	Ovis aries	933	933	99%	0.0	99.61%	1184	KF677086.1
☒	Ovis aries isolate KRY_7 D-loop, complete sequence, mitochondrial	Ovis aries	933	933	99%	0.0	99.61%	1184	KF677027.1

Şekil 4.3. DNA dizi analizi sonuçlarının BLAST ile kontrol edilmesi



Şekil 4.4. mtDNA D-loop bölgesine ait 531 bç’lik DNA dizi analizi elektroforegram sonuçları

Bütün örneklere ait DNA dizi analizi sonuçlarının kontrol edilmesinden sonra, tüm örneklere ait mtDNA D-loop dizilerinin MEGA 7 (Kumar vd. 2016) programı ile hizalanmış (ClustalW algoritması kullanılarak) hali Şekil 4.5’te görülmektedir. Örneklerin hizalanmasından sonra MEGA7 programında hazırlanan dosya analizler için .mas ve .meg uzantılı olarak kaydedilmiştir.



Şekil 4.5. mtDNA D-loop bölgesine ait DNA dizi analizi sonuçlarının MEGA7 programı ile hizalanması (alignment)

4.3.2. mtDNA’da nükleotid yer değiştirme oranları

MEGA7 programında Maximum Likelihood istatistik metodu ve Tamura-Nei (Tamura vd. 2004; 2013) modeli kullanılarak hesaplanan nükleotid değişimleri (toplam transisyon/transversiyon eğilimi; *transition/transversion bias, R*) Çizelge 4.1’de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Nükleotid Yer Değiştirme Modelinin Maksimum Bileşik Olabilirlik Tahmini

	A	T	C	G
A	-	0.36	0.31	16.09
T	0.31	-	28.84	0.26
C	0.31	33.63	-	0.26
G	18.96	0.36	0.31	-

Her bir veri, bir nükleotitten (satır) başka bir nükleotide (sütun) yer değiştirme olasılığını (r) göstermektedir. Tabloda bulunan olasılık (r) değerlerinin toplamı 100’e eşittir. Transisyon (transition) nükleotit yer değiştirmelerinin (substitution) oranları koyu harflerle, transversiyon (transversion)nükleotit yer değiştirmelerinin (substitution) oranları ise italik

harflerle gösterilmiştir. Tablodan da anlaşılacağı üzere transisyon tipi nükleotit yer değişim oranları çok yüksek bulunmuştur.

Bu tez kapsamında üzerinde durulan gen bölgesindeki nükleotid frekansları %24.63 (Adenin), %29.32 (Timin), %25.14 (Sitozin) ve %20.90'dır (Guanin) şeklinde hesaplanmıştır. Bu gen bölgesindeki toplam nükleotit yer değiştirme eğilimi (toplam transisyon ve transversiyon eğilimi, bias) aşağıdaki eşitlik kullanılarak $R=40.26$ olarak tahmin edilmiştir. Her ne kadar R değerinin evrensel olmadığına dair çalışmalar bulunsa da genomik DNA için bu değer 2:1 olduğu ve mtDNA D-loop bölgesinde çok daha yüksek bir orana sahip olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmada mtDNA için yaklaşık $R=40$ (40:1) olarak hesaplanmıştır.

$$R = [A * G * k_1 + T * C * k_2] / [(A + G) * (T + C)] \text{ (Tamura vd. 2004; 2013)}$$

A: adenin, G: guanin, T: timin, C: sitozin, k_1 : pürinler için toplam transisyon/transversiyon eğilimi ($k_1=61.87$) ve k_2 : pirimidinler için toplam transisyon/transversiyon eğilimi ($k_2=92.23$).

4.4. İvesi Popülasyonlarındaki Genetik Çeşitlilik

4.4.1. Haplotip analizleri

Türkiye, Filistin, Ürdün ve Suudi Arabistan'da yetiştirilen İvesi popülasyonlarında yapılan genetik çeşitlilik analizleri için DNASP (Librado ve Rozas 2009) programından yararlanılmıştır. Popülasyonlarda var olan genetik çeşitliliğin değerlendirilebilmesi için haplotip sayısı (h), haplotip çeşitliliği (Hd), polimorfik bölge sayısı (S), ortalama nükleotit farklılık sayısı (k) ve nükleotid çeşitliliği (π) parametreleri tahmin edilmiştir. Haplotip çeşitliliği yalnızca bir popülasyonda rastgele seçildiklerinde iki dizinin farklı haplotiplerinin meydana gelme olasılığını ölçerken, nükleotid çeşitliliği iki dizi arasındaki bölge başına ortalama nükleotit farkı sayısıdır.

Yapılan haplotip analizleri sonucunda en yüksek haplotip sayısı ($h=32$) Ürdün İvesi popülasyonlarında görülmüştür. Haplotip çeşitliliği bakımından yine en yüksek varyasyon (0.970 ± 0.014) Ürdün İvesi koyunlarında tespit edilmiştir. Nükleotid çeşitliliği ve ortalama nükleotid farklılık sayısı bakımından ise en yüksek değerler (sırasıyla 0.01748 ve 6.450) Türkiye İvesi koyunlarında tahmin edilmiştir. Tüm popülasyonlar birlikte ele alındığı zaman ise ortalama haplotip çeşitliliği ve nükleotid çeşitliliği sırasıyla 0.968 ± 0.006 ve 0.01656 olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.2. Çalışılan popülasyonların genetik çeşitlilik parametreleri

Popülasyonlar	π	H_d	h	S	k
Filistin	0.01190	0.934±0.019	19	15	4.390
Ürdün	0.01709	0.970±0.014	32	23	6.306
Suudi Arabistan	0.01622	0.960±0.024	20	21	5.987
Türkiye	0.01748	0.933±0.048	11	22	6.450
Tüm popülasyonlar	0.01656	0.968±0.006	67	34	6.112

π : nükleotit çeşitliliği; H_d : haplotip çeşitliliği; h: haplotip sayısı; S: polimorfik bölge sayısı; k: ortalama nükleotit farklılık sayısı.

4.4.2. Nötralite test sonuçları

Türkiye, Filistin, Ürdün ve Suudi Arabistan'da yetiştirilen İvesi popülasyonlarında nötral teoremin test edilmesi amacı ile ARLEQUIN (Excoffier ve Schneider 2005) programı kullanılarak hesaplanan Tajima's D ve Fu's F_s istatistikleri Çizelge 4,3'te verilmiştir. Tajima test istatistiği değeri Türkiye İvesi koyun ırklarında negatif, diğer ülkelerde ise pozitif olarak hesaplanmıştır. Fu'nun F_s değeri çalışılan bütün popülasyonlarda negatif olarak bulunmuş olsa da en yüksek negatif değer Ürdün İvesi koyunlarında hesaplanmıştır.

Çizelge 4.3. Nötralite testlerine ait Tajima's D ve Fu's F_s istatistikleri

Popülasyonlar	Tajima's D	p-değeri	Fu's F_s	p-değeri
Filistin	0.800	0.818	-6.419	0.011*
Ürdün	0.673	0.792	-20.212	0.000***
Suudi Arabistan	0.388	0.676	-8.889	0.000***
Türkiye	-0.110	0.503	-1.939	0.165

* P<0.05; *** P<0.001

4.4.3. Moleküler varyans analizi (AMOVA)

Türkiye, Filistin, Ürdün ve Suudi Arabistan'da yetiştirilen İvesi popülasyonlarındaki genetik varyasyonun kaynağının tespit edilmesi amacıyla yapılan AMOVA analiz sonucu Çizelge 4.4'te verilmiştir.

Çizelge 4.4. İvesi ırkının moleküler varyans analizi

Varyasyon Kaynağı	SD	Karelerin Toplamı	Varyans Bileşenleri	Varyasyon Yüzdesi
Popülasyonlar arası	3	38.389	0.3179	10.12
Popülasyon içi	127	358.89	2.8259	89.88
Toplam	130	397.28	3.1438	

FST: 0.1011

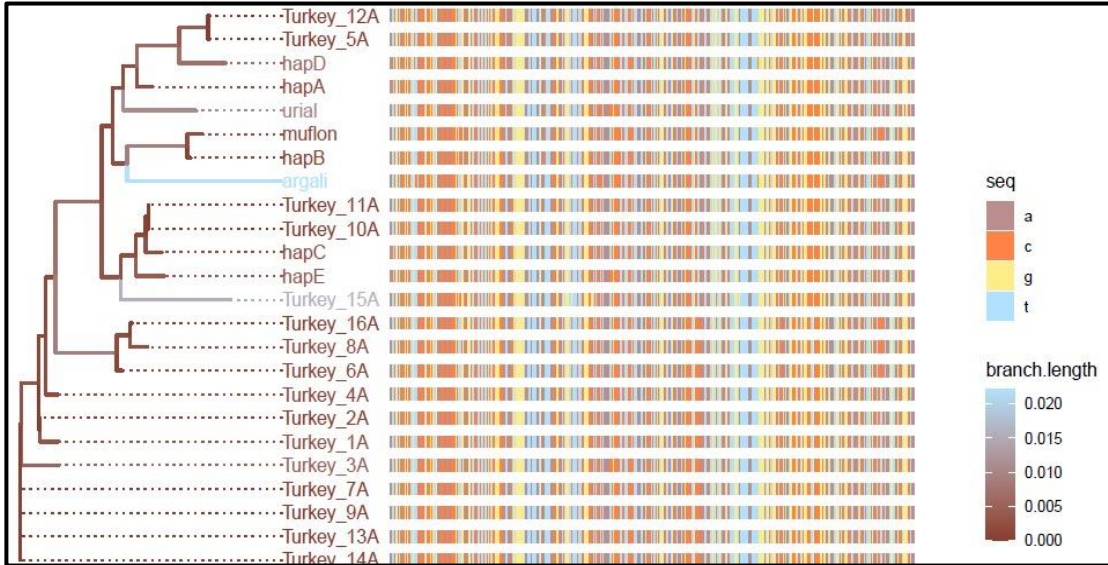
İvesi koyunlarında yapılan AMOVA analiz sonucunda var olan genetik varyasyonun %10.12'si üzerinde durulan 4 farklı popülasyon olmasından, %89.88'u ise popülasyon içi bireylerin birbirlerinden farklı olmasından kaynaklanmaktadır. AMOVA analiz sonuçlarına göre popülasyonlar arasında önemli bir fark gözlemlenmediği, farklılığın çok yüksek bir kısmının popülasyonlar içindeki bireyler arasında gerçekleştiği görülmektedir. Tüm popülasyonlar göz önüne alındığında F_{st} değeri 0.1011 olarak tahmin edilmiştir.

4.5. İvesi koyunlarına ait mtDNA dizi analizi sonuçları

4.5.1. Türkiye'de yetiştirilen İvesi koyunlarına ait analiz sonuçları

Türkiye İvesi ırkına ait örneklerin 531 baz çifti uzunluğundaki mtDNA D-loop bölgesi hizalandıktan sonra fasta formatında kaydedilmiş olup R ve R-studio programları kullanılarak dendrogram çizimi, haplotip analizleri, ısı haritası (heat-map) analizleri ve Neighbour Joining filogenetik ağaç çizimi gerçekleştirilmiştir. mtDNA D-loop haplotiplerine göre material olarak kullanılan koyun popülasyonları ve referans koyunlar arasındaki Medyan-birleştirme ağ (median joining network) analizleri NETWORK 5.0 programı ile gerçekleştirilmiştir.

Şekil 4.6'da Türkiye'de yetiştirilen İvesi koyunlarına ait bireylerin birbiriyle genetik ilişkisini gösteren filogenetik ağaç ve bireylerin isimlerine karşılık gelen hizalanmış mtDNA D-loop dizileri (531 bc) şematize edilmiştir. Hem filogenetik ağaçtaki hem de dal ölçeğindeki renkler, genetik uzaklığı temsil etmektedir. mtDNA D-loop dizileri, her nükleotit dört farklı renkle renklendirilmiştir. Hizalanmış dizilerdeki renk değişiklikleri, nükleotid farklılıklarını temsil etmektedir.



Şekil 4.6. Türkiye'de yetiştirilen İvesi koyunlarına ve referans örneklerine (Urinal, Muflon, Argali ve haplogrup A, B, C, D ve E) ait hizalanmış mtDNA D-loop dizilerine dayalı dendrogram.

Şekil 4.6, Türkiye İvesi koyunlarının birbirlerine benzer haplotipleri paylaştıklarını ve dünya çapındaki referans koyun haplogrupları olan C ve E'ye yakın mtDNA dizisine sahip olduklarını göstermektedir. Diğer örneklerin aksine, iki örnek (12A ve 5A) farklı mtDNA dizilimine sahip olmakla birlikte D, A ve B haplogrupları ile Urial, Muflon ve Argali koyunlarının haplotiplerine yakın benzerlik göstermektedir. Öte yandan, Urial, Muflon, Argali koyunları ve beş mtDNA haplogrubunu içeren Türk İvesi haplotiplerini içeren Medyan-birleştirme ağ analizleri ile benzer sonuçlar elde edilmiştir.

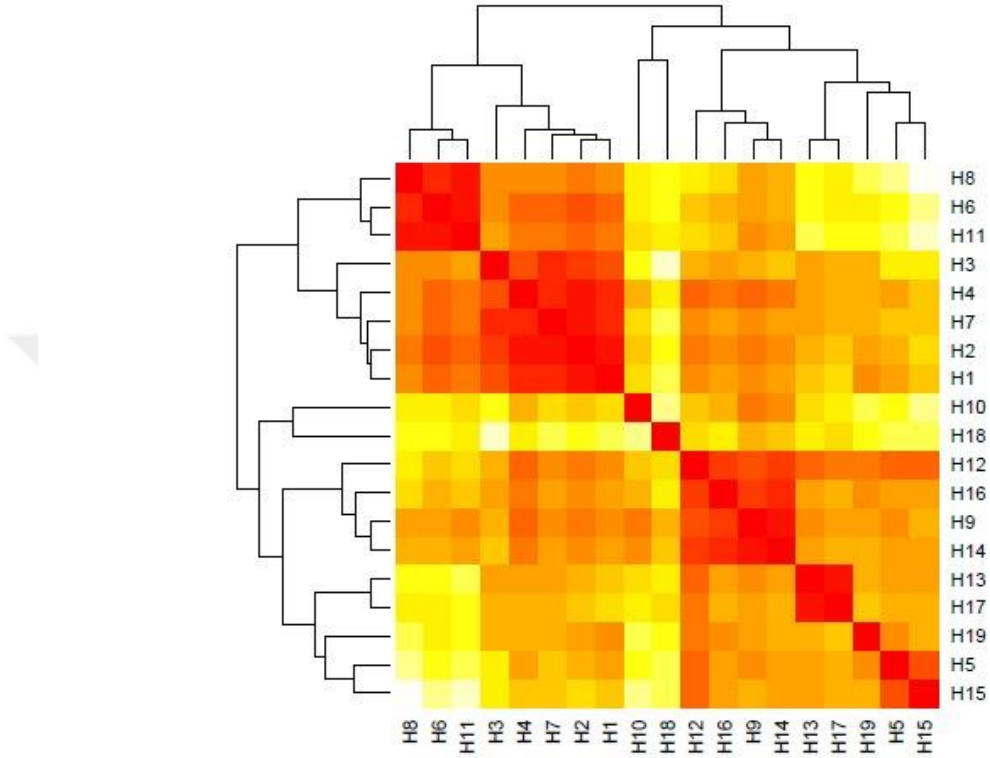
Türkiye İvesi ırkına ait bireylerin mtDNA D-loop dizi analizi sonrası 11 adet haplotiptespit edilmiştir. Türkiye İvesi popülasyonu içerisinde frekansı en yüksek olan haplotip H7 (%25) olarak bulunmuştur. Haplotipler arasında 22 polimorfik bölge tespit edilmiştir (Şekil 4.7).

Haplotipler	Polimorfik nükleotitler
H1	TTGACTTTCCATTCAAGTGTGG
H2	T.....
H3	..A.T.....CC.....
H4	T.C.....
H5	C.....CC.....TG..C..AA
H6	TC.....A.AC..
H7	T.....C.....
H8	..AGTC.....A.AC..
H9	...GTCC.....TG..C....
H10	.C.GTCC.GGG..T.G.C....
H11	...GTC.....A.AC..

Şekil 4.7. Türkiye’de yetiştirilen İvesi koyunlarına ait haplotip sekansları. Aynı nükleotidler (.) ile gösterilmiştir.

Türkiye’de yetiştirilen İvesi koyunlarına ait haplotipler arasındaki genetik uzaklık ısı haritası ile şematize edilmiş ve filogenetik ağaç ile gösterilmiştir (Şekil 4.8). Isı haritasında filogenetik ağacın her bir dalı, haritada karşılık gelen haplotipi temsil etmektedir. Haplotipler arası yakın genetik ilişkiler koyu renkle (kırmızı), uzak genetik ilişkiler ise açık renkle (beyaz) belirtilmiştir. Isı haritasında yer alan haplotiplerden 11 tanesi Türk İvesi koyunlarına ait olup diğer 8 tane haplotip (H12: HPG-A, H13: HPG-B, H14: HPG-C, H15: HPG-D, H16: HPG-E, H17: Muflon, H18: Argali, H19: Urial) referans örnekleredir. Ayrıca Türkiye’de yetiştirilen İvesi koyunlarına ait haplotipler arasında kaç nükleotit farklılık olduğu Şekil 4.9’da gösterilmiştir. Hem ısı haritası sonuçlarına göre hem de haplotipler arasındaki nükleotit farklılıklarına göre, Türkiye’de yetiştirilen İvesi koyunlarına ait haplotipleri içinde birbirine en yakın haplotipler H2-H1, H2-H4, H2-H7, H6-H11 ve H8-H11 haplotipleridir. Bu yakın bulunan haplotipler arasında sadece 1 nükleotit farklılık vardır. H5-H8 ve H5-H11

haplotipleri ise birbirine en uzak genetik mesafede tespit edilmiştir. Bu uzak bulunan haplotipler arasında sırasıyla 15 ve 14 nükleotit farklılık vardır.

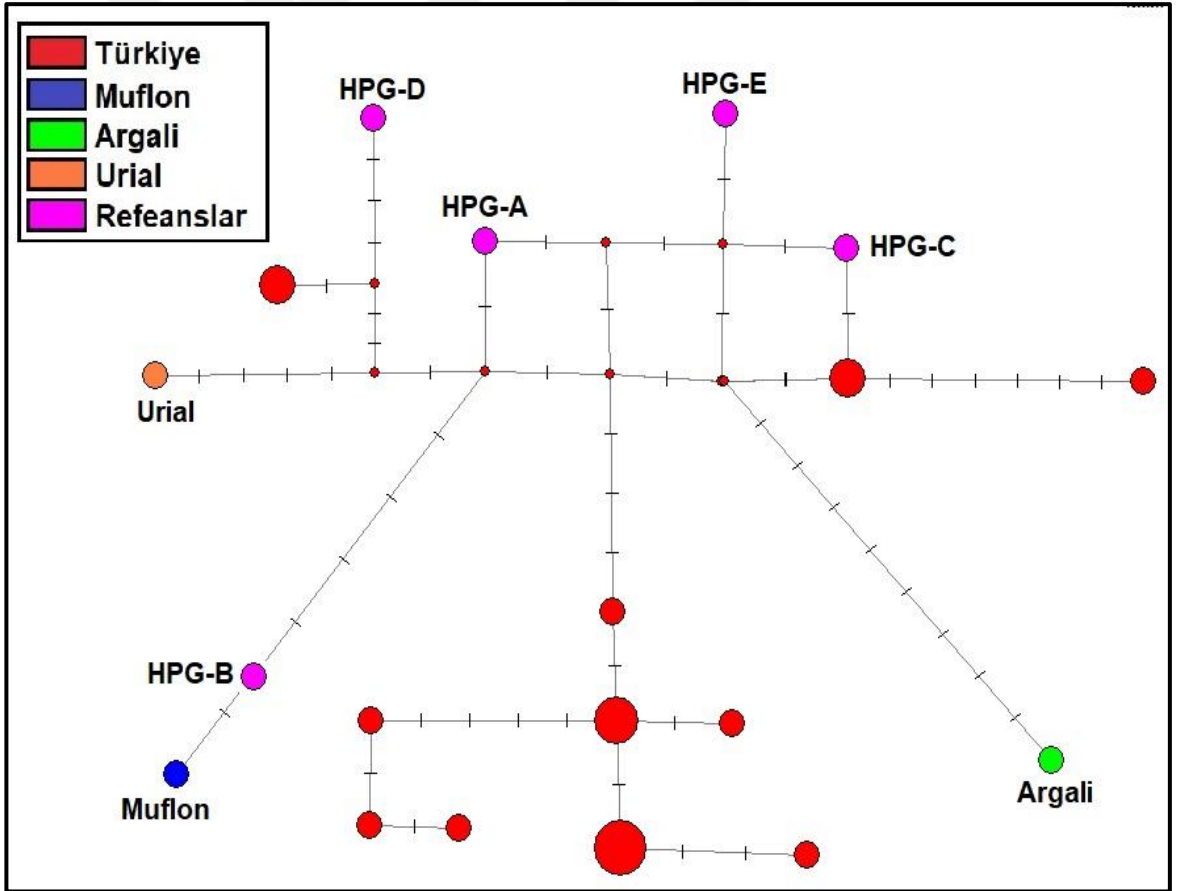


Şekil 4.8. Türkiye İvesi popülasyonunda oluşturulan ısı haritası

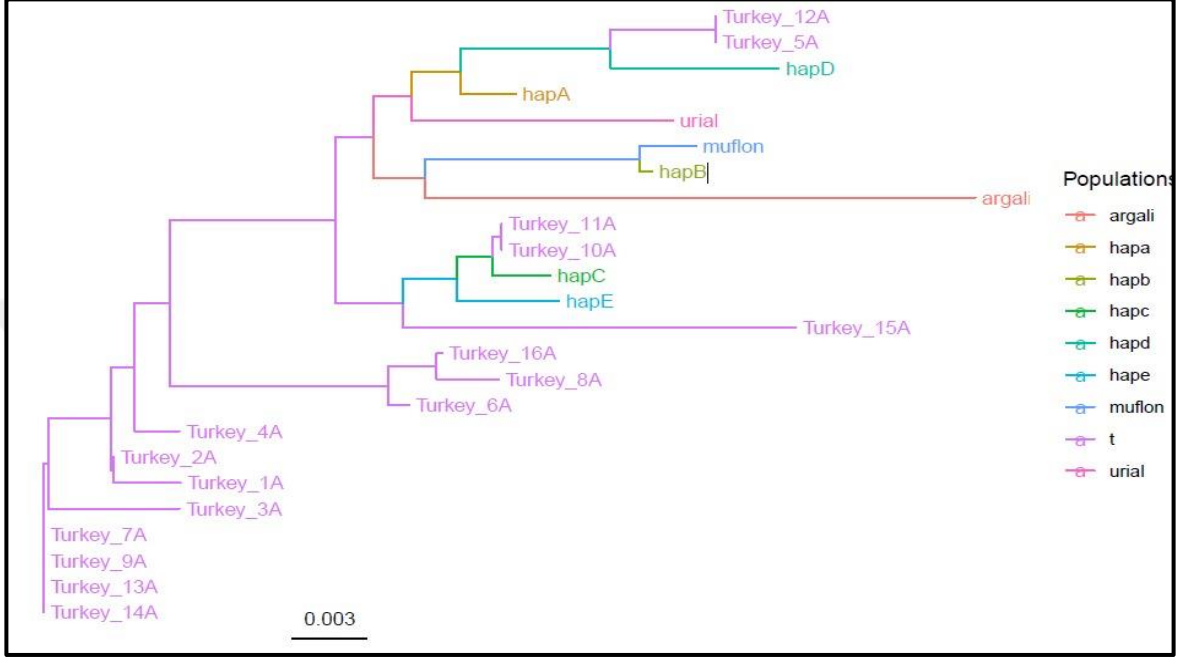
	H1	H2	H3	H4	H5	H6	H7	H8	H9	H10	H11
H1	0										
H2	1	0									
H3	4	3	0								
H4	2	1	4	0							
H5	8	9	12	8	0						
H6	5	4	7	5	13	0					
H7	2	1	2	2	10	5	0				
H8	7	6	7	7	15	2	7	0			
H9	7	6	9	5	7	8	7	8	0		
H10	11	10	13	9	13	12	11	12	6	0	
H11	6	5	8	6	14	1	6	1	7	11	0

Şekil 4.9. Türkiye İvesi popülasyonunda görülen haplotipler arasındaki nükleotit farklılıkları

Türkiye’de yetiştirilen İvesi koyunlarının birbirleri ile olan filogenetik ilişkilerini ortaya koymak ve daha önceden tanımlanmış referans haplogruplarla ve yabancı tip koyunlarla olan genetik bağlantılarını görmek için Medyan-birleştirme ağ (median joining network) analizleri NETWORK 5.0 programı ile gerçekleştirilmiştir (Şekil 4.10). Ayrıca çalışılan örneklerin DNA dizilimlerinde var olan benzerlik/farklılıklar temelindeki genetik ilişkilerin ortaya koyulabilmesi için neighbour joining filogenetik ağaç çizilmiştir (Şekil 4.11). Hem Medyan-birleştirme ağ (median joining network) analizleri hem de neighbour joining filogenetik ağaç sonuçlarına göre, Türkiye’de yetiştirilen İvesi koyunlarının referans koyun haplogrupları olan C ve E’ye yakın mtDNA dizisine sahip olduklarını göstermektedir. Diğer örneklerin aksine, iki örnek (12 A ve 5A) farklı mtDNA dizilimine sahip olmakla birlikte D, A ve B haplogrupları ile Urial, Muflon ve Argali koyunlarına yakın benzerlik göstermektedir.



Şekil 4.10. Türkiye İvesi popülasyonu ve referans popülasyonlara (A, B, C, D ve E haplogrupları ve yabancı tip koyunlar) ait Medyan-birleştirme ağ (median joining network) analizleri

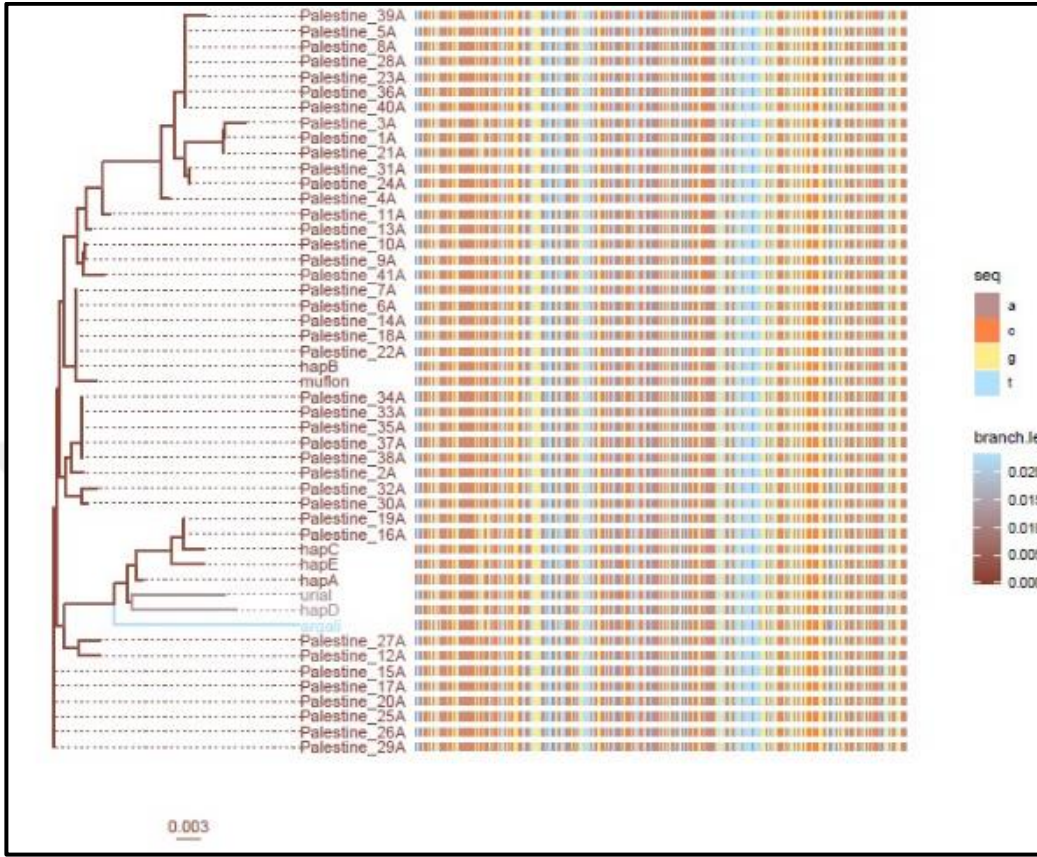


Şekil 4.11. Türkiye İvesi popülasyonu ve referans popülasyonlara (A, B, C, D ve E haplogrupları ve yabancı tip koyunlar) ait neighbour joining filogenetik ağaç

4.5.2. Filistin’de yetiştirilen İvesi koyunlarına ait analiz sonuçları

Filistin İvesi ırklarına ait örneklerin 531 baz çifti uzunluğundaki mtDNA D-loop bölgesi hizalandıktan sonra fasta formatında kaydedilmiş olup R ve R-studio programları kullanılarak dendrogram çizimi, haplotip analizleri, ısı haritası (heat-map) analizleri ve Neighbour Joining filogenetik ağaç çizimi gerçekleştirilmiştir. MtDNA D-loop haplotiplerine göre material olarak kullanılan koyun popülasyonları ve referans koyunlar arasındaki Medyan-birleştirme ağ (median joining network) analizleri NETWORK 5.0 programı ile gerçekleştirilmiştir.

Şekil 4.12’de, Filistin’de yetiştirilen İvesi koyunlarına ait bireylerin birbiriyle genetik ilişkisini gösteren filogenetik ağaç ve bireylerin isimlerine karşılık gelen hizalanmış mtDNA D-loop dizileri (531 bç) şematize edilmiştir. Hem filogenetik ağaçtaki hem de dal ölçeğindeki renkler, genetik uzaklığı temsil etmektedir. mtDNA D-loop dizileri, her nükleotit dört farklı renkle renklendirilmiştir. Hizalanmış dizilerdeki renk değişiklikleri, nükleotid farklılıklarını temsil etmektedir.



Şekil 4.12. Filistin’de yetiştirilen İvesi koyunlarına ve referans örneklere (Urial, Muflon, Argali ve haplogrup A, B, C, D ve E) ait hizalanmış mtDNA D-loop dizilerine dayalı dendrogram.

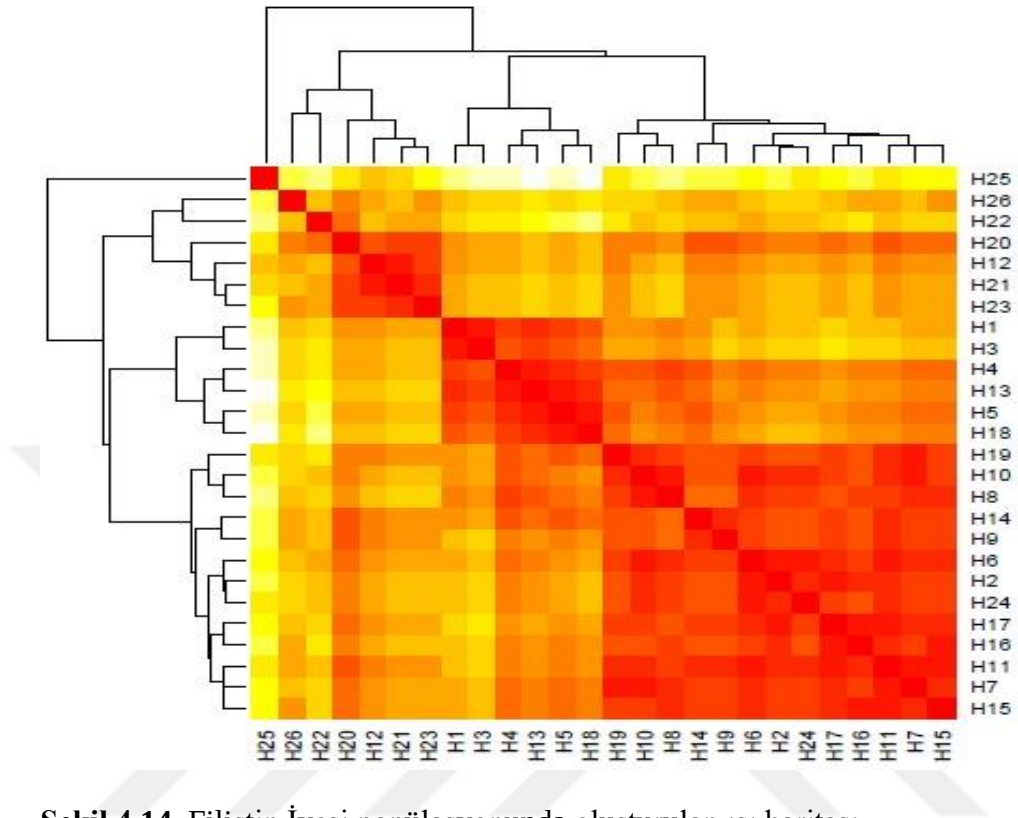
Şekil 4.12, Filistin İvesi koyunlarının birbirlerine benzer haplotipleri paylaştıklarını ve dünya çapındaki referans koyun haplogruplardan B’ye ve yabani tiplerden muflona yakın mtDNA dizisine sahip olduklarını göstermektedir. Diğer örneklerin aksine, iki örnek (16A ve 19A) farklı mtDNA dizilimine sahip olmakla birlikte C ve E haplogrupları ile Urial ve Argali koyunlarının haplotiplerine yakın benzerlik göstermektedir. Öte yandan, Urial, Muflon, Argali koyunları ve beş mtDNA haplogrubunu içeren Filistin İvesi haplotiplerini içeren Medyan-birleştirme ağ analizleri ile benzer sonuçlar elde edilmiştir.

Filistin İvesi ırkına ait bireylerin mtDNA D-loop dizi analizi sonrası 19 adet haplotip tespit edilmiştir. Filistin İvesi popülasyonu içerisinde frekansı en yüksek olan haplotip H5, H6 ve H11 olarak bulunmuştur. Haplotipler arasında 15 polimorfik bölge tespit edilmiştir (Şekil 4.13).

Haplotipler	Polimorfik nükleotitler
H1	TGAATTTCTCCATGG
H2	CA.G.CC.C.TGC..
H3	A.
H4	CA.....C..
H5	CA.....T.....
H6	CA...CC.C.TGC..
H7	CA...CC.CT.GC..
H8	CA...C.C..GC..
H9	CA...CC..TTGC.A
H10	CA...CC.C..GC..
H11	CA...CC.CTTGC..
H12	..G.CC...TTGC..
H13	CA.....
H14	CA...CC..TT.C..
H15	CA...C.CTTGC..
H16	CA.G..C.CTTGC..
H17	CA.G.CC.CTTGC..
H18	CA....G.T.....
H19	CA...C..CT.GC..

Şekil 4.13. Filistin’de yetiştirilen İvesi koyunlarına ait haplotip sekansları. Aynı nükleotidler (.) ile gösterilmiştir.

Filistin’de yetiştirilen İvesi koyunlarına ait haplotipler arasındaki genetik uzaklık ısı haritası ile şematize edilmiş ve filogenetik ağaç ile gösterilmiştir (Şekil 4.14). Isı haritasında filogenetik ağacın her bir dalı, haritada karşılık gelen haplotipi temsil etmektedir. Haplotipler arası yakın genetik ilişkiler koyu renkle (kırmızı), uzak genetik ilişkiler ise açık renkle (beyaz) belirtilmiştir. Isı haritasında yer alan haplotiplerden 19 tanesi Filistin İvesi koyunlarına ait olup diğer 7 tane haplotip (H20: HPG-A, H21: HPG-C, H22: HPG-D, H23: HPG-E, H24: Muflon, H25: Argali, H26: Urial) referans örneklerine aittir. Ayrıca Filistin’de yetiştirilen İvesi koyunlarına ait haplotipler arasında kaç nükleotit farklılık olduğu Şekil 4.15’te gösterilmiştir. Hem ısı haritası sonuçlarına göre hem de haplotipler arasındaki nükleotit farklılıklarına göre, Filistin’de yetiştirilen İvesi koyunlarına ait haplotipleri içinde birbirine en yakın haplotipler H1-H3, H2-H6, H2-H17, H4-H13, H5-H13, H6-H10, H6-H11, H7-H10, H7-H11, H8-H10, H11-H15, H11-H17, H15-H16 ve H16-H17 haplotipleridir. Bu yakın bulunan haplotipler arasında sadece 1 nükleotit farklılık vardır. H3-H17 haplotipleri ise birbirine en uzak genetik mesafede tespit edilmiştir. Bu uzak bulunan haplotipler arasında 11 nükleotit farklılık vardır.

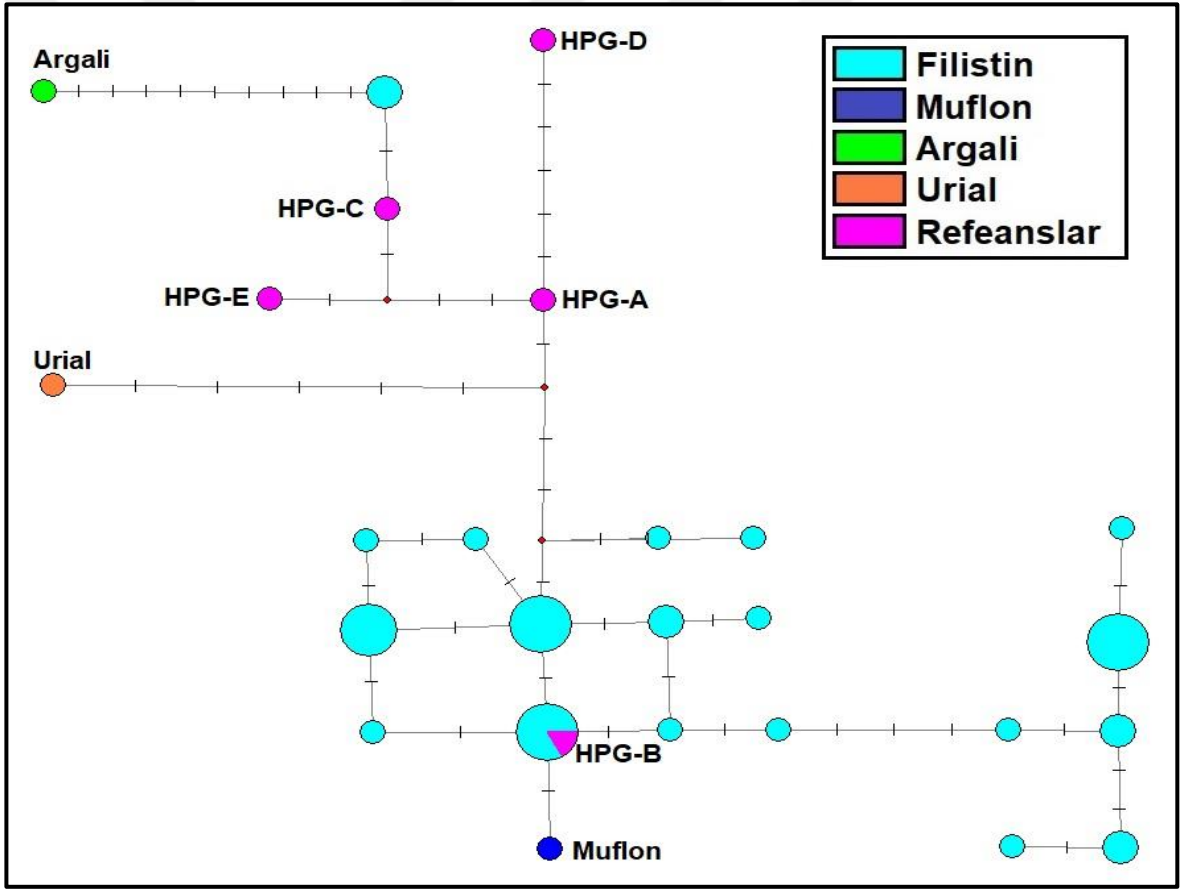


Şekil 4.14. Filistin İvesi popülasyonunda oluşturulan ısı haritası

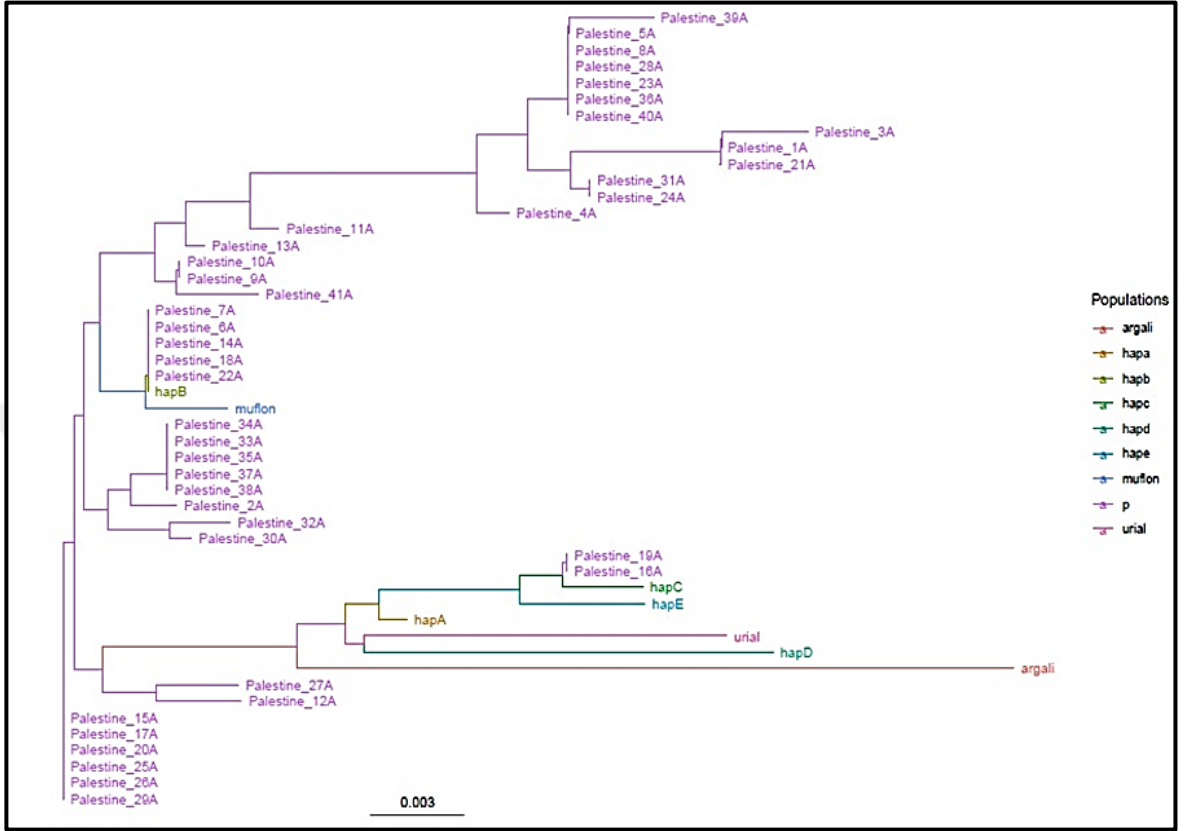
	H1	H2	H3	H4	H5	H6	H7	H8	H9	H10	H11	H12	H13	H14	H15	H16	H17	H18	H19
H1	0																		
H2	9	0																	
H3	1	10	0																
H4	3	6	4	0															
H5	3	8	4	2	0														
H6	8	1	9	5	7	0													
H7	8	3	9	5	5	2	0												
H8	6	3	7	3	5	2	2	0											
H9	9	4	10	6	6	3	3	5	0										
H10	7	2	8	4	6	1	1	1	4	0									
H11	9	2	10	6	6	1	1	3	2	2	0								
H12	7	8	8	8	8	7	7	9	6	8	6	0							
H13	2	7	3	1	1	6	6	4	7	5	7	9	0						
H14	7	4	8	4	4	3	3	5	2	4	2	6	5	0					
H15	8	3	9	5	5	2	2	2	3	3	1	7	6	3	0				
H16	9	2	10	6	6	3	3	3	4	4	2	8	7	4	1	0			
H17	10	1	11	7	7	2	2	4	3	3	1	7	8	3	2	1	0		
H18	4	9	5	3	1	8	6	6	7	7	7	9	2	5	6	7	8	0	
H19	7	4	8	4	4	3	1	3	4	2	2	6	5	4	3	4	3	5	0

Şekil 4.15. Filistin İvesi popülasyonunda görülen haplotipler arasındaki nükleotit farklılıkları

Filistinde’de yetiştirilen İvesi koyunlarının birbirleri olan filogenetik ilişkilerini ortaya koymak ve daha önceden tanımlanmış referans haplogruplarla ve yabancı tip koyunlarla olan genetik bağlantılarını görmek için Medyan-birleştirme ağ (median joining network) analizleri NETWORK 5.0 programı ile gerçekleştirilmiştir (Şekil 4.16). Ayrıca çalışılan örneklerin DNA dizilimlerinde var olan benzerlik/farklılıklar temelindeki genetik ilişkilerin ortaya koyulabilmesi için neighbour joining filogenetik ağaç çizilmiştir (Şekil 4.17). Hem Medyan-birleştirme ağ (median joining network) analizleri hem de neighbour joining filogenetik ağaç sonuçları, Filistinde’de yetiştirilen İvesi koyunlarının referans koyun haplogrubu olan B'ye ve Muflon yabancı koyununa yakın mtDNA dizisine sahip olduklarını göstermektedir. Diğer örneklerin aksine, iki örnek (16A ve 19A) farklı mtDNA dizilimine sahip olmakla birlikte C ve E haplogrupları ile Urial ve Argali koyunlarına yakın benzerlik göstermektedir.



Şekil 4.16. Filistin İvesi popülasyonu ve referans popülasyonlara (A, B, C, D ve E haplogrupları ve yabancı tip koyunlar) ait Medyan-birleştirme ağ (median joining network) analizleri

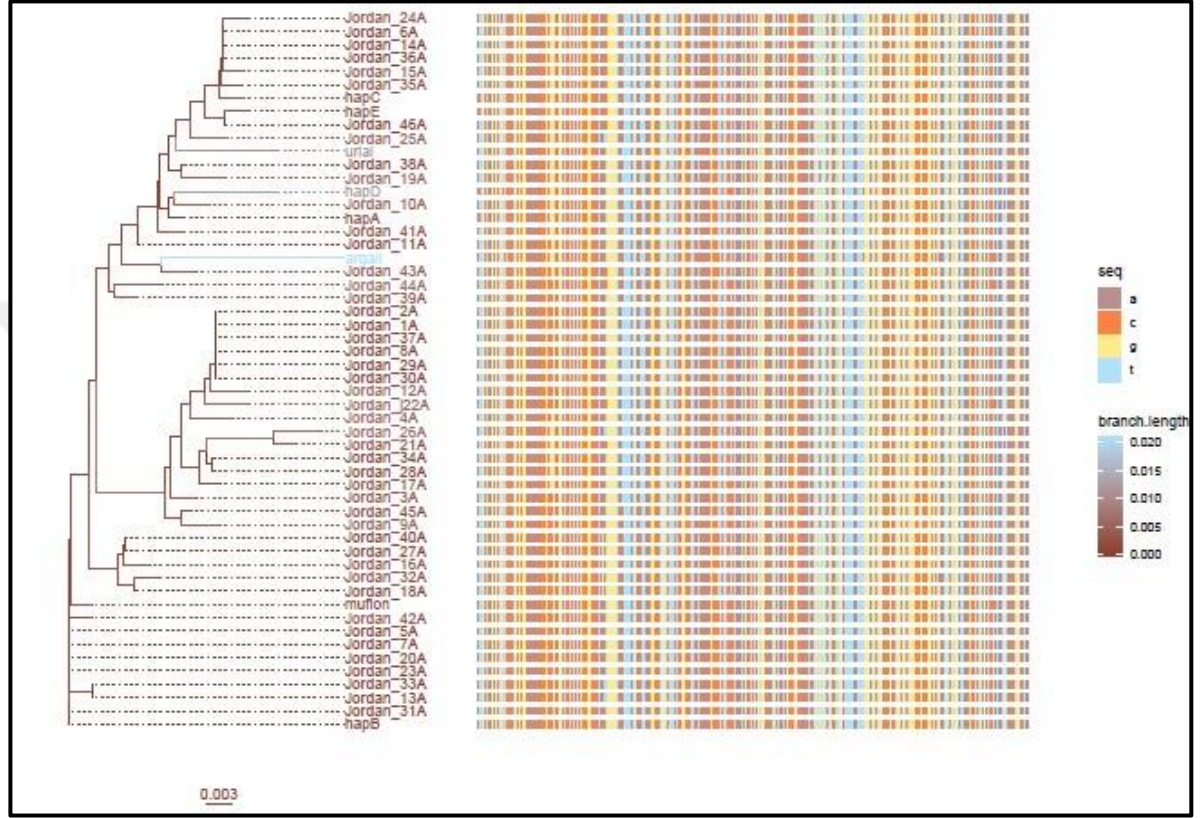


Şekil 4.17. Filistin İvesi popülasyonu ve referans popülasyonlara (A, B, C, D ve E haplogrupları ve yabancı tip koyunlar) ait neighbour joining filogenetik ağaç

4.5.3. Ürdün’de yetiştirilen ivesi koyunlarına ait analiz sonuçları

Ürdün İvesi ırkına ait örneklerin 531 baz çifti uzunluğundaki mtDNA D-loop bölgesi hizalandıktan sonra fasta formatında kaydedilmiş olup R ve R-studio programları kullanılarak dendrogram çizimi, haplotip analizleri, ısı haritası (heat-map) analizleri ve Neighbour Joining filogenetik ağaç çizimi gerçekleştirilmiştir. MtDNA D-loop haplotiplerine göre material olarak kullanılan koyun popülasyonları ve referans koyunlar arasındaki Medyan-birleştirme ağ (median joining network) analizleri NETWORK 5.0 programı ile gerçekleştirilmiştir.

Şekil 4.18’de, Ürdün’de yetiştirilen İvesi koyunlarına ait bireylerin birbiriyle genetik ilişkisini gösteren filogenetik ağaç ve bireylerin isimlerine karşılık gelen hizalanmış mtDNA D-loop dizileri (531 bc) şematize edilmiştir. Hem filogenetik ağaçtaki hem de dal ölçeğindeki renkler, genetik uzaklığı temsil etmektedir. mtDNA D-loop dizileri, her nükleotit dört farklı renkle renklendirilmiştir. Hizalanmış dizilerdeki renk değişiklikleri, nükleotid farklılıklarını temsil etmektedir.



Şekil 4.18. Ürdün’de yetiştirilen İvesi koyunlarına ve referans örneklerle (Urial, Muflon, Argali ve haplogrup A, B, C, D ve E) ait hizalanmış mtDNA D-loop dizilerine dayalı dendrogram.

Şekil 4.18, Ürdün İvesi koyunlarının bir kısmının referans koyun haplogruplarından B ve yabani tip Muflon ile, bir kısmının da A, C ve E haplogrupları ve yabani tip Urial ve Argali ile yakın mtDNA dizisine sahip olduklarını göstermektedir.

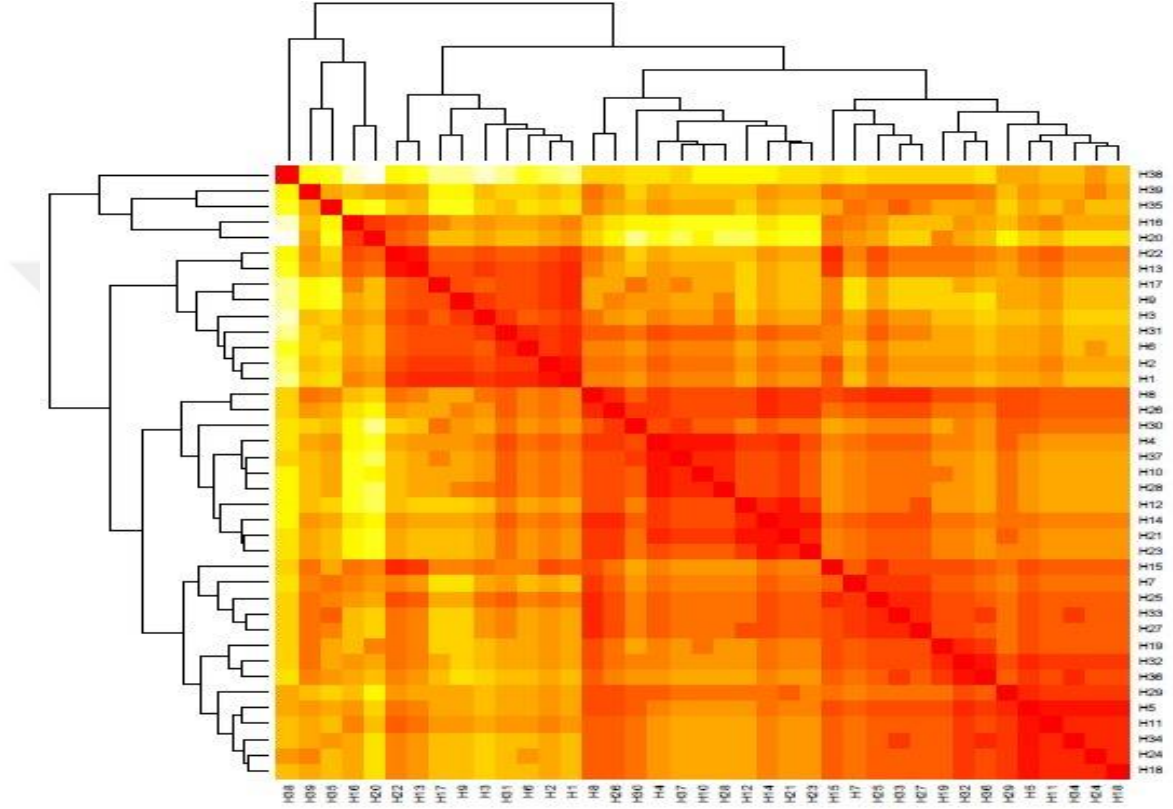
Ürdün’de yetiştirilen İvesi koyunlarına ait bireylerin mtDNA D-loop dizi analizi sonrası 32 adet haplotip tespit edilmiştir. Ürdün İvesi popülasyonu içerisinde frekansı en yüksek olan haplotip H1 ve H4 olarak bulunmuştur. Haplotipler arasında 23 polimorfik bölge tespit edilmiştir (Şekil 4.19).

Haplotipler	Polimorfik nükleotitler
H1	GCAAACCTTTTTCCAGTGATGGG
H2	C.....
H3	..G.....C.....A
H4	CC..C.TG.C.....
H5	.TGG..CC....TTG.C.....
H6	C.C.....
H7	.TG....CC...TTGAC...A..
H8	..G....CC...TTG.C.....
H9	...G.....A
H10	T.CC..C.TG.C.....
H11	.TGG..CC....T.G.C.....
H12	G..CC..CTTG.C.C....
H13	.TG.....
H14	G..CC...TTG.C.....
H15	.TG.....TT..C.....
H16	.TG...C.....T..A....AA.
H17	C.....C...
H18	ATGG..CC....TTG.C.....
H19	.TG..T.C..C.TTG.C.....
H20	.TG..T....C.T..A....AA.
H21	G..CC..CTTG.C.....
H22	.TG.....T.....
H23	G..CC...TTG.CA.....
H24	.TGG..CC.C..TTG.C.....
H25	.TG....CC...TT..C.....
H26	...G....CC...TTG.C.....
H27	.TG....CC...TTG.C.C....
H28	CC..C.TG.C.....A
H29	..GG..CC..CTTG.C.....
H30	...G..CCC....TG.C..C...
H31	CC.....
H32	.TG...CC..C.TTG.C.....

Şekil 4.19. Ürdün’de yetiştirilen İvesi koyunlarına ait haplotip sekansları. Aynı nükleotidler (.) ile gösterilmiştir

Ürdün’de yetiştirilen İvesi koyunlarına ait haplotipler arasındaki genetik uzaklık ısı haritası ile şematize edilmiş ve filogenetik ağaç ile gösterilmiştir (Şekil 4.20). Isı haritasında filogenetik ağacın her bir dalı, haritada karşılık gelen haplotipi temsil etmektedir. Haplotipler arası yakın genetik ilişkiler koyu renkle (kırmızı), uzak genetik ilişkiler ise açık renkle (beyaz) belirtilmiştir. Isı haritasında yer alan haplotiplerden 32 tanesi Ürdün’de yetiştirilen İvesi koyunlarına ait olup diğer 7 tane haplotip (H33: HPG-A, H34: HPG-C, H35: HPG-D, H36: HPG-E, H37: Muflon, H38: Argali, H39: Urial) referans örneklerine aittir. Ayrıca Ürdün’de yetiştirilen İvesi koyunlarına ait haplotipler arasında kaç nükleotit farklılık olduğu Şekil 4.21’de gösterilmiştir. Hem ısı haritası sonuçlarına göre hem de haplotipler arasındaki nükleotit farklılıklarına göre, Ürdün’de yetiştirilen İvesi koyunlarına ait haplotipleriçinde

birbirine en yakın haplotipler H1-H2, H4-H10, H4-H28, H5-H11, H5-H18, H5-H24, H12-H21, H13-H22, H14-H21 ve H14-H23 haplotipleridir. Bu yakın bulunan haplotipler arasında sadece 1 nükleotit farklılık vardır. H20-H30 haplotipleri ise birbirine en uzak genetik mesafede tespit edilmiştir. Bu uzak bulunan haplotipler arasında 16 nükleotit farklılık vardır.



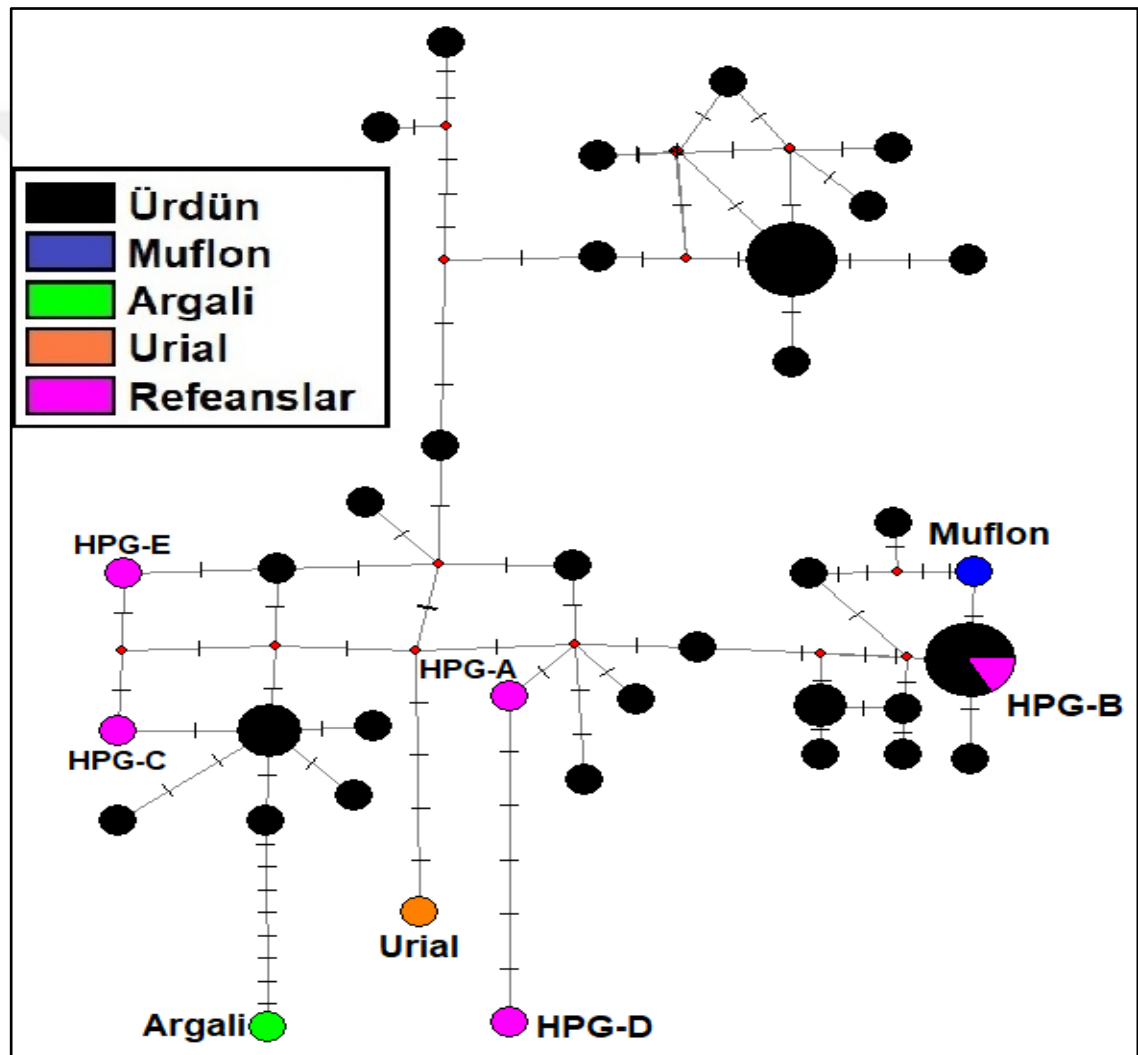
Şekil 4.20. Ürdün İvesi popülasyonunda oluşturulan ısı haritası

	H1	H2	H3	H4	H5	H6	H7	H8	H9	H10	H11	H12	H13	H14	H15	H16	H17	H18	H19	H20	H21	H22	H23	H24	H25	H26	H27	H28	H29	H30	H31	H32
H1	0																															
H2	1	0																														
H3	3	4	0																													
H4	6	5	7	0																												
H5	9	8	10	7	0																											
H6	2	3	5	6	9	0																										
H7	10	9	9	6	5	10	0																									
H8	7	6	6	3	4	7	3	0																								
H9	2	3	3	8	9	4	12	9	0																							
H10	7	6	8	1	8	7	7	4	9	0																						
H11	8	7	9	8	1	8	6	5	8	9	0																					
H12	9	8	10	3	8	9	7	4	11	4	9	0																				
H13	2	3	3	8	7	4	8	7	4	9	6	11	0																			
H14	7	6	8	3	6	7	5	2	9	4	7	2	9	0																		
H15	5	4	6	7	4	7	5	4	7	8	5	8	3	6	0																	
H16	7	8	8	13	8	9	7	10	9	14	7	14	5	12	6	0																
H17	2	3	5	8	9	4	12	9	4	9	8	11	4	9	7	7	0															
H18	10	9	11	8	1	10	6	5	10	9	2	9	8	7	5	9	10	0														
H19	9	8	10	7	4	9	5	4	11	6	5	8	7	6	4	10	11	5	0													
H20	8	9	9	14	11	10	8	11	10	13	10	15	6	13	7	3	10	12	7	0												
H21	8	7	9	2	7	8	6	3	10	3	8	1	10	1	7	13	10	8	7	14	0											
H22	3	4	4	9	6	5	7	6	5	10	5	10	1	8	2	4	5	7	6	5	9	0										
H23	8	7	9	4	7	8	6	3	10	5	8	3	10	1	7	13	10	8	7	14	2	9	0									
H24	10	9	11	8	1	8	6	5	10	9	2	9	8	7	5	9	10	2	5	12	8	7	8	0								
H25	7	6	6	5	4	7	3	2	9	6	5	6	5	4	2	8	9	5	4	9	5	4	5	5	0							
H26	7	6	8	3	4	7	5	2	7	4	5	4	9	2	6	12	9	5	6	13	3	8	3	5	4	0						
H27	9	8	8	5	4	9	3	2	11	6	5	4	7	4	4	10	11	5	4	11	5	6	5	5	2	4	0					
H28	7	6	6	1	8	7	7	4	7	2	9	4	9	4	8	14	9	9	8	15	3	10	5	9	6	4	6	0				
H29	9	8	10	5	2	9	7	4	9	6	3	6	9	6	6	10	9	3	6	13	5	8	7	3	6	4	6	6	0			
H30	8	7	9	4	5	8	8	5	8	5	6	7	10	5	9	13	6	6	9	16	6	11	6	6	7	3	7	5	5	0		
H31	2	3	3	4	9	2	8	5	4	5	8	7	4	5	7	9	4	10	9	10	6	5	6	10	5	5	7	5	9	6	0	
H32	9	8	10	7	2	9	5	4	11	8	3	8	7	6	4	8	9	3	2	9	7	6	7	3	4	6	4	8	4	7	9	0

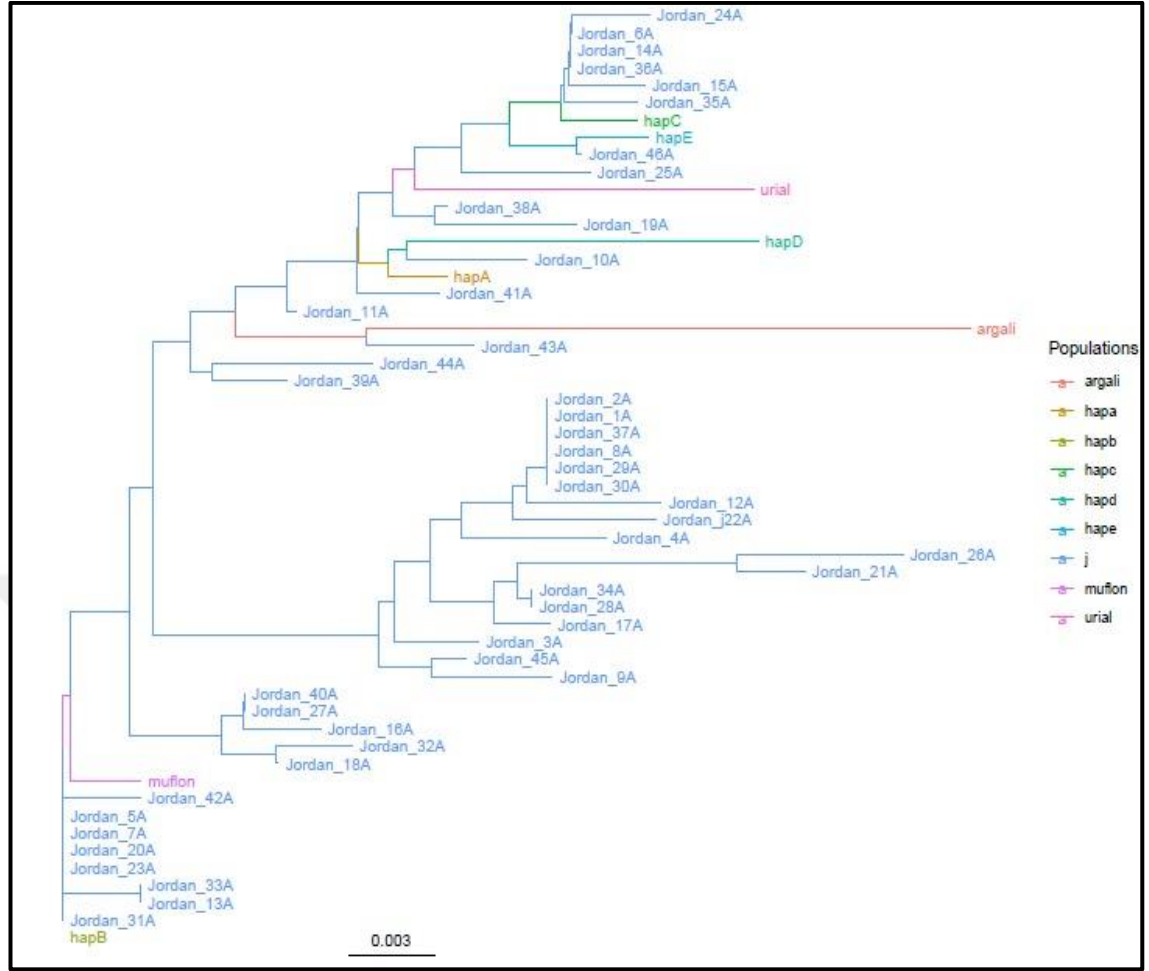
Şekil 4.21. Ürdün İvesi popülasyonunda görülen haplotipler arasındaki nükleotit farklılıkları

Ürdün’de yetiştirilen İvesi koyunlarının birbirleri olan filogenetik ilişkilerini ortaya koymak ve daha önceden tanımlanmış referans haplogruplarla ve yabani tip koyunlarla olan genetik bağlantılarını görmek için Medyan-birleştirme ağ (median joining network) analizleri NETWORK 5.0 programı ile gerçekleştirilmiştir (Şekil 4.22). Ayrıca çalışılan örneklerin DNA dizilimlerinde var olan benzerlik/farklılıklar temelindeki genetik ilişkilerin ortaya koyulabilmesi için neighbour joining filogenetik ağaç çizilmiştir (Şekil 4.23).

Hem Medyan-birleştirme ağ (median joining network) analizleri hem de neighbour joining filogenetik ağaç sonuçları, Ürdün İvesi koyunlarının bir kısmının haplogrup B ve yabani tip Muflon ile, bir kısmının da A, C ve E haplogrupları ve yabani tip Urial ve Argali ile yakın mtDNA dizisine sahip olduklarını göstermektedir.



Şekil 4.22. Ürdün İvesi popülasyonu ve referans popülasyonlara (A, B, C, D ve E haplogrupları ve yabani tip koyunlar) ait Medyan-birleştirme ağ (median joining network) analizleri

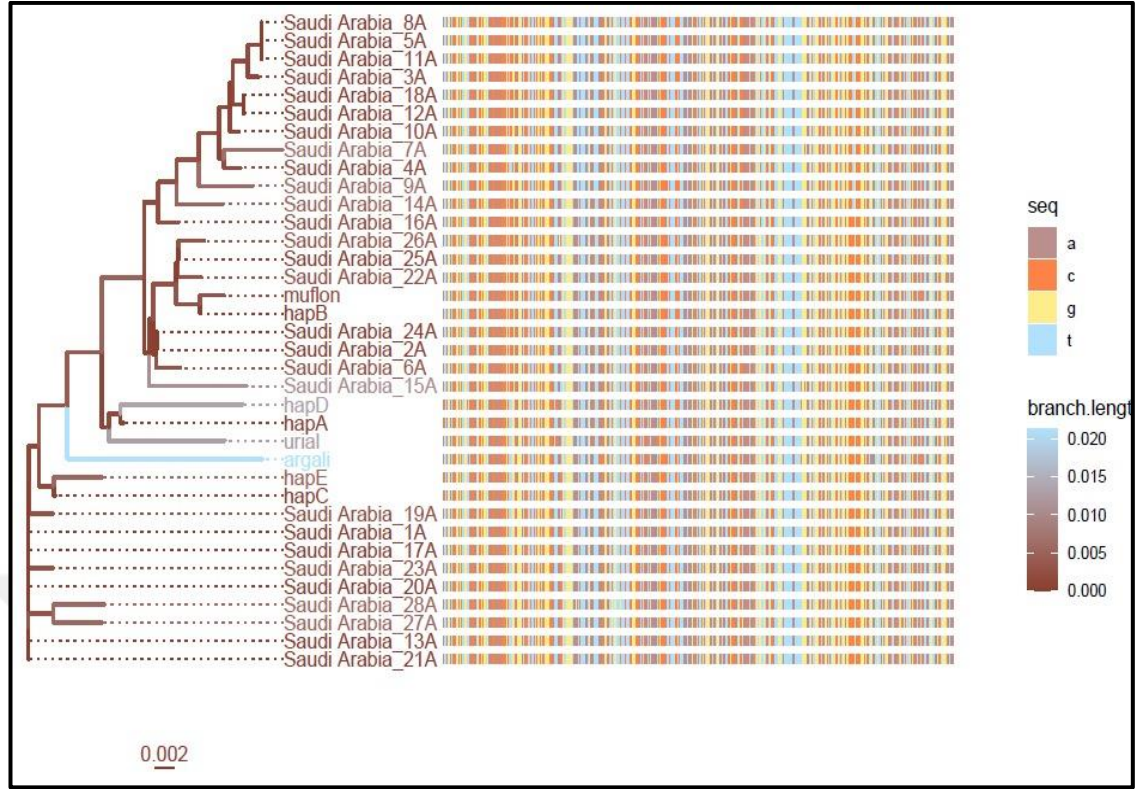


Şekil 4.23. Ürdün İvesi popülasyonu ve referans popülasyonlara (A, B, C, D ve E haplogrupları ve yabancı tip koyunlar) ait neighbour joining filogenetik ağaç

4.5.4. Suudi Arabistan İvesi Irkına Ait Bireylerin mtDNA Dizi Analizi

Suudi Arabistan İvesi ırklarına ait örneklerin 531 baz çifti uzunluğundaki mtDNA D-loop bölgesi hizalandıktan sonra fasta formatında kaydedilmiş olup R ve R-studio programları kullanılarak dendogram çizimi, haplotip analizleri, ısı haritası (heat-map) analizleri ve Neighbour Joining filogenetik ağaç çizimi gerçekleştirilmiştir. MtDNA D-loop haplotiplerine göre material olarak kullanılan koyun popülasyonları ve referans koyunlar arasındaki Medyan-birleştirme ağ (median joining network) analizleri NETWORK 5.0 programı ile gerçekleştirilmiştir.

Şekil 4.24'te, Suudi Arabistan'da yetiştirilen İvesi koyunlarına ait bireylerin birbiriyle genetik ilişkisini gösteren filogenetik ağaç ve bireylerin isimlerine karşılık gelen hizalanmış mtDNA D-loop dizileri (531 bç) şematize edilmiştir. Hem filogenetik ağaçtaki hem de dal ölçeğindeki renkler, genetik uzaklığı temsil etmektedir. mtDNA D-loop dizileri, her nükleotit dört farklı renkle renklendirilmiştir. Hizalanmış dizilerdeki renk değişiklikleri, nükleotid farklılıklarını temsil etmektedir.



Şekil 4.24. Suudi Arabistan’da yetiştirilen İvesi koyunlarına ve referans örneklere (Urial, Muflon, Argali ve haplogrup A, B, C, D ve E) ait hizalanmış mtDNA D-loop dizilerine dayalı dendrogram.

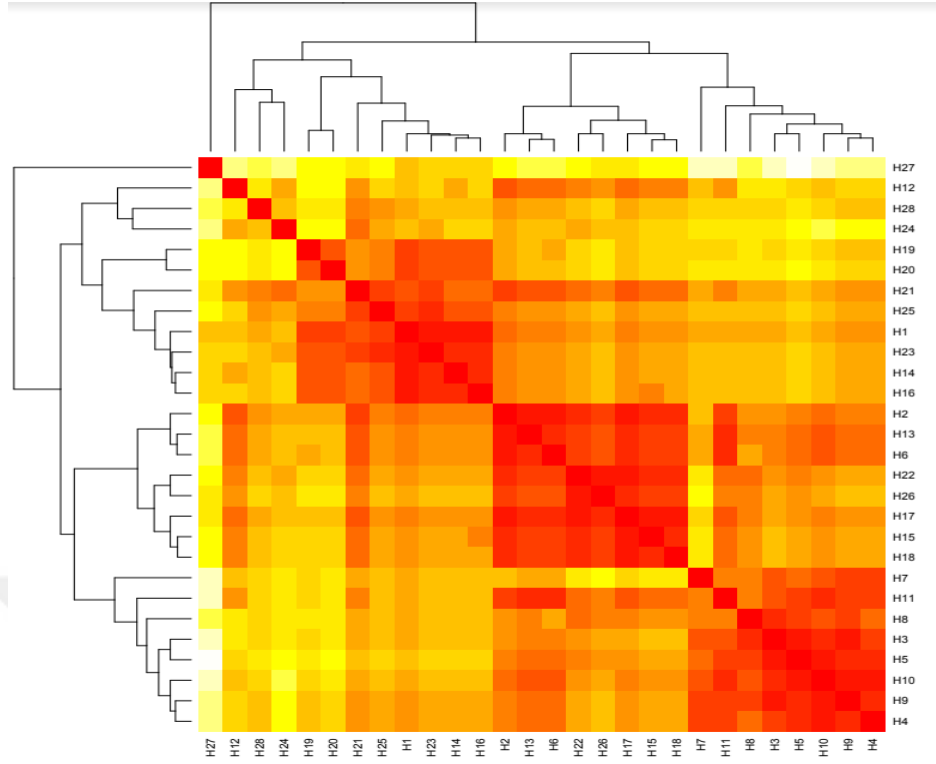
Şekil 4.24, Suudi Arabistan İvesi koyunlarının birbirlerine benzer haplotipleri paylaştıklarını ve dünya çapındaki referans koyun haplogruplardan B, C ve E’ye ve yabani tiplerden muflona yakın mtDNA dizisine sahip olduklarını göstermektedir. A ve D haplogruplarına benzer veya yakın olan örnekler rastlanılmamıştır.

Suudi Arabistan İvesi ırkına ait bireylerin mtDNA D-loop dizi analizi sonrası 20 adet haplotip tespit edilmiştir. Suudi Arabistan İvesi popülasyonları içerisinde frekansı en yüksek olan haplotip H1 olarak bulunmuştur. Haplotipler arasında 21 polimorfik bölge tespit edilmiştir (Şekil 4.25).

Haplotipler	Polimorfik nükleotitler
H1	TGGACCACTCCTTTGTGCTGG
H2	CAA..T..C.....
H3	C.A..T.T....CCA..T...
H4	.AA..T.T....CA..T...
H5	CAA..T.T....CCA..T...
H6	CAA..T..C....C.....
H7	..A..T.T....CA.AT.A.
H8	C.A..T.T...CC.A..T...
H9	C.A..T.T....CA..T...
H10	CAA..T.T....CA..T...
H11	CAA..T..C....CA..T...
H12	CAA.TT..C.....CA..A.
H13	CAA..T..C.....A.....
H14	T.....
H15	CAA..T..C..C.....A
H16	A
H17	CAA..T..C..C.....
H18	CAAG.T..C..C.....
H19	G...G...G..
H20	G..GG.....

Şekil 4.25. Suudi Arabistan’da yetiştirilen İvesi koyunlarına ait haplotip sekansları. Aynı nükleotidler (.) ile gösterilmiştir.

Suudi Arabistan’da yetiştirilen İvesi koyunlarına ait haplotipler arasındaki genetik uzaklık ısı haritası ile şematize edilmiş ve filogenetik ağaç ile gösterilmiştir (Şekil 4.26). Isı haritasında filogenetik ağacın her bir dalı, haritada karşılık gelen haplotipi temsil etmektedir. Haplotipler arası yakın genetik ilişkiler koyu renkle (kırmızı), uzak genetik ilişkiler ise açık renkle (beyaz) belirtilmiştir. Isı haritasında yer alan haplotiplerden 20 tanesi Suudi Arabistan’da yetiştirilen İvesi koyunlarına ait olup diğer 8 tane haplotip (H21: HPG-A, H22: HPG-B, H23: HPG-C, H24: HPG-D, H25: HPG-E, H26: Muflon, H27: Argali, H28: Uriyal). Ayrıca Suudi Arabistan’da yetiştirilen İvesi koyunlarına ait haplotipler arasında kaç nükleotit farklılık olduğu Şekil 4.27’de gösterilmiştir. Hem ısı haritası sonuçlarına göre hem de haplotipler arasındaki nükleotit farklılıklarına göre, Suudi Arabistan’da yetiştirilen İvesi koyunlarına ait haplotipleri içinde birbirine en yakın haplotipler H1-H14, H1-H16, H2-H6, H2-H13, H2-H17, H3-H5, H3-H9, H4-H10, H5-H10, H9-H10, H15-H17 ve H17-H18 haplotipleridir. Bu yakın bulunan haplotipler arasında sadece 1 nükleotit farklılık vardır. H5-H20, H12-H19 ve H12-H20 haplotipleri ise birbirine en uzak genetik mesafede tespit edilmiştir. Bu uzak bulunan haplotipler arasında 12 nükleotit farklılık vardır.



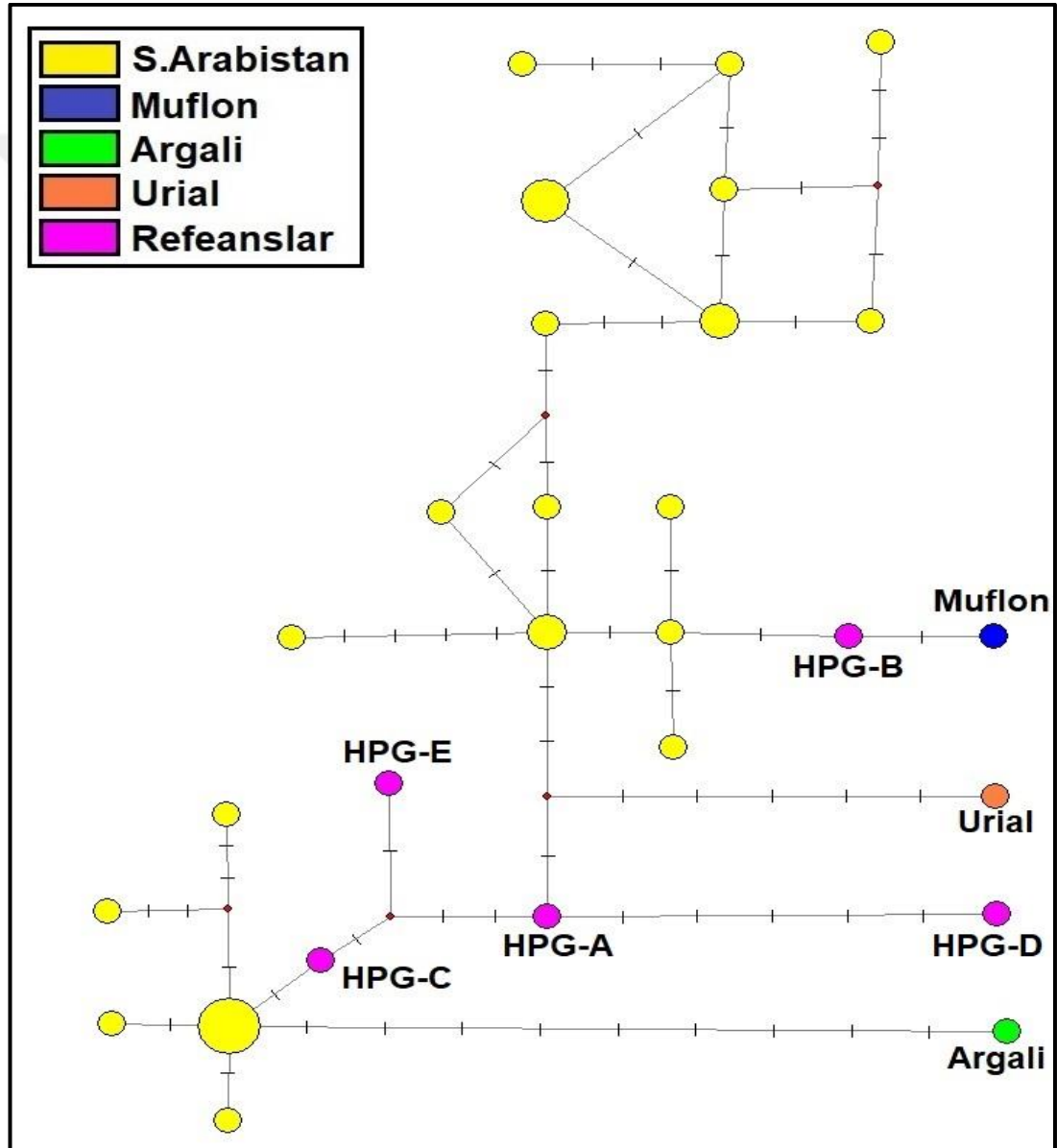
Şekil 4.26. Suudi Arabistan İvesi popülasyonunda oluşturulan ısı haritası

	H1	H2	H3	H4	H5	H6	H7	H8	H9	H10	H11	H12	H13	H14	H15	H16	H17	H18	H19	H20
H1	0																			
H2	5	0																		
H3	8	7	0																	
H4	7	6	3	0																
H5	9	6	1	2	0															
H6	6	1	6	5	5	0														
H7	8	9	4	3	5	8	0													
H8	8	7	2	5	3	8	6	0												
H9	7	6	1	2	2	5	3	3	0											
H10	8	5	2	1	1	4	4	4	1	0										
H11	8	3	4	3	3	2	6	6	3	2	0									
H12	9	4	11	10	10	5	9	11	10	9	7	0								
H13	6	1	6	5	5	2	8	6	5	4	2	5	0							
H14	1	6	9	8	10	7	9	9	8	9	9	8	7	0						
H15	7	2	9	8	8	3	11	7	8	7	5	6	3	8	0					
H16	1	6	9	8	10	7	9	9	8	9	9	10	7	2	6	0				
H17	6	1	8	7	7	2	10	6	7	6	4	5	2	7	1	7	0			
H18	7	2	9	8	8	3	11	7	8	7	5	6	3	8	2	8	1	0		
H19	3	8	10	9	11	8	10	11	9	10	10	12	9	4	10	4	9	10	0	
H20	3	8	11	10	12	9	11	11	10	11	11	12	9	4	10	4	9	10	4	0

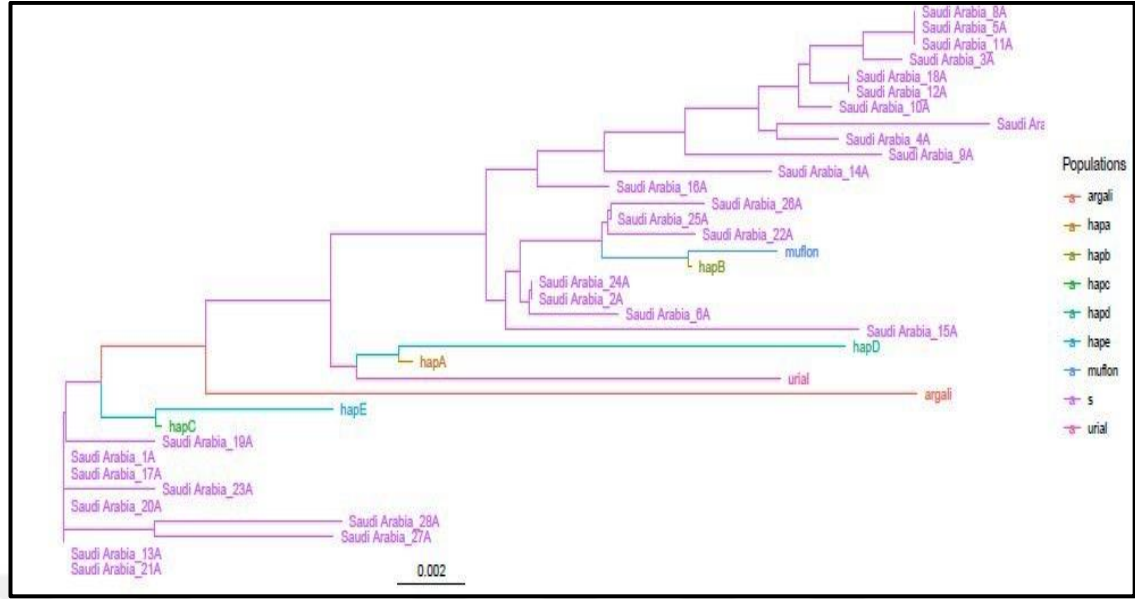
Şekil 4.27. Suudi Arabistan İvesi popülasyonunda görülen haplotipler arasındaki nükleotit farklılıkları

Suudi Arabistan'da yetiştirilen İvesi koyunlarının birbirleri olan filogenetik ilişkilerini ortaya koymak ve daha önceden tanımlanmış referans haplogruplarla ve

yabani tip koyunlarla olan genetik bağlantılarını görmek için Medyan-birleştirme ağ (median joining network) analizleri NETWORK 5.0 programı ile gerçekleştirilmiştir (Şekil 4.28). Ayrıca çalışılan örneklerin DNA dizilimlerinde var olan benzerlik/farklılıklar temelindeki genetik ilişkilerin ortaya koyulabilmesi için neighbour joining filogenetik ağaç çizilmiştir (Şekil 4.29). Hem Medyan-birleştirme ağ (median joining network) analizleri hem de neighbour joining filogenetik ağaç sonuçları, Suudi Arabistan'da yetiştirilen İvesi koyunlarının referans koyun haplogrupları olan B, C ve E'ye yakın mtDNA dizisine sahip olduklarını göstermektedir. Ayrıca yabani tip olan Muflon koyunları ile yakın genetik benzerlik gösterdiği görülmektedir. Suudi Arabistan İvesi koyunlarında A ve D haplogruplarına benzer veya yakın olan örneklerle rastlanılmamıştır.



Şekil 4.28. Suudi Arabistan İvesi popülasyonu ve referans popülasyonlara (A, B, C, D ve E haplogrupları ve yabani tip koyunlar) ait Medyan-birleştirme ağ (median joining network) analizleri

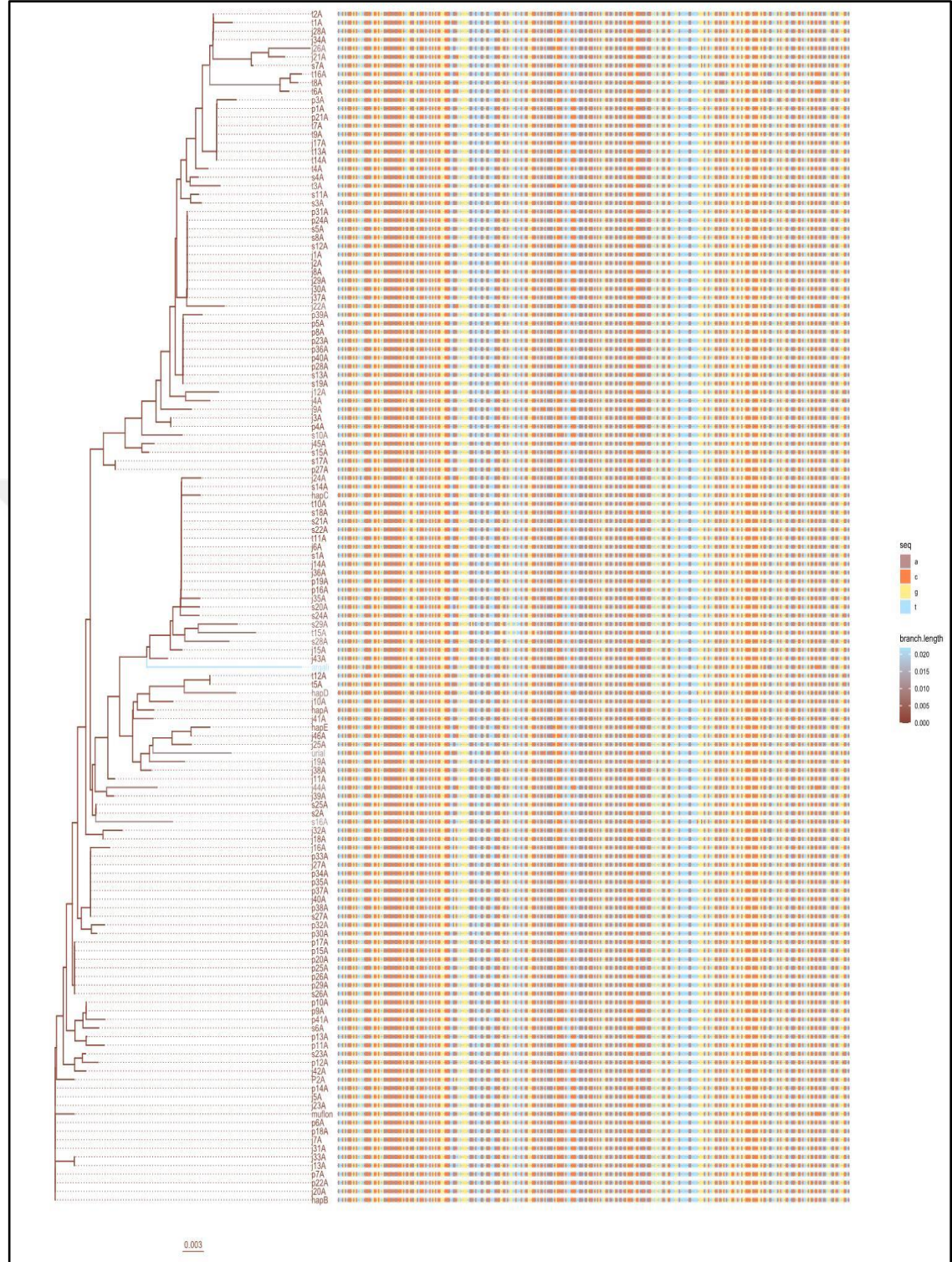


Şekil 4.29. Suudi Arabistan İvesi popülasyonu ve referans popülasyonlara (A, B, C, D ve E haplogrupları ve yabancı tip koyunlar) ait neighbour joining filogenetik ağaç

4.5.5. Türkiye, Filistin, Ürdün ve Suudi arabistan’da yetiştirilen ivesi koyunlarına ait mtDNA dizi analizi

Türkiye, Filistin, Ürdün ve Suudi Arabistan’da yetiştirilen İvesi koyunlarına ait örneklerin 531 bp uzunluğundaki mtDNA D-loop bölgesi hizalandıktan sonra fasta formatında kaydedilmiş olup R ve R-studio programları kullanılarak dendrogram çizimi, haplotip analizleri, ısı haritası (heat-map) analizleri ve Neighbour Joining filogenetik ağaç çizimi gerçekleştirilmiştir. MtDNA D-loop haplotiplerine göre material olarak kullanılan koyun popülasyonları ve referans koyunlar arasındaki Medyan-birleştirme ağ (median joining network) analizleri NETWORK 5.0 programı ile gerçekleştirilmiştir.

Şekil 4.30’da Türkiye, Filistin, Ürdün ve Suudi Arabistan’da yetiştirilen İvesi koyunlarına ait bireylerin birbiriyle genetik ilişkisini gösteren filogenetik ağaç ve bireylerin isimlerine karşılık gelen hizalanmış mtDNA D-loop dizileri (531 bp) şematize edilmiştir. Hem filogenetik ağaçtaki hem de dal ölçeğindeki renkler, genetik uzaklığı temsil etmektedir. mtDNA D-loop dizileri, her nükleotit dört farklı renkle renklendirilmiştir. Hizalanmış dizilerdeki renk değişiklikleri, nükleotid farklılıklarını temsil etmektedir.



Şekil 4.30. Türkiye, Filistin, Ürdün ve Suudi Arabistan’da yetiştirilen İvesi koyunlarına ve referans örneklerle (Urul, Muflon, Argali ve haplogrup A, B, C, D ve E) ait hizalanmış mtDNA D-loop dizilerine dayalı dendrogram.

Şekil 4.30 incelendiğinde Türkiye, Filistin, Ürdün ve Suudi Arabistan'da yetiştirilen İvesi koyunlarında daha önceden refereans olarak tanımlanmış tüm haplogruplar (A, B, C, D ve E) görülmektedir. Türkiye İvesi koyunlarında C, D ve E haplogrupları, Filistin İvesi koyunlarında B, C ve E haplogrupları, Ürdün İvesi koyunlarında A, B, C ve E haplogrupları, Suudi Arabistan İvesi koyunlarında ise B, C ve E haplogrupları tespit edilmiştir.

Türkiye, Filistin, Ürdün ve Suudi Arabistan'da yetiştirilen İvesi koyunlarına ait bireylerin mtDNA D-loop dizi analizi sonrası 74 adet haplotip tespit edilmiştir. Bu haplotiplerden 67 tanesi Türkiye, Filistin, Ürdün ve Suudi Arabistan'da yetiştirilen İvesi koyunlarına ait olup diğer 7 tane haplotip (H68: HPG-A, H69: HPG-C, H70: HPG-D, H71: HPG-E, H72: Muflon, H73: Argali, H74: Urial) referans örneklere aittir. İvesi popülasyonları içerisinde frekansı en yüksek olan haplotip H12 olarak bulunmuştur. Haplotipler arasında 38 polimorfik bölge tespit edilmiştir. Polimorfik nükleotitlerin hangi pozisyonlarda meydana geldiği, haplotip listesinin üst kısmında belirtilmiştir (Çizelge 4.5). Bu polimorfik nükleotitler temelinde, Türkiye'de 19, Filistin'de 19, Ürdün'de 32 ve Suudi Arabistan'da 20 farklı haplotip tespit edilmiştir.

Çizelge 4.5. Türkiye, Filistin, Ürdün ve Suudi Arabistan'da yetiştirilen İvesi koyunlarında haplotiplerin sekansları

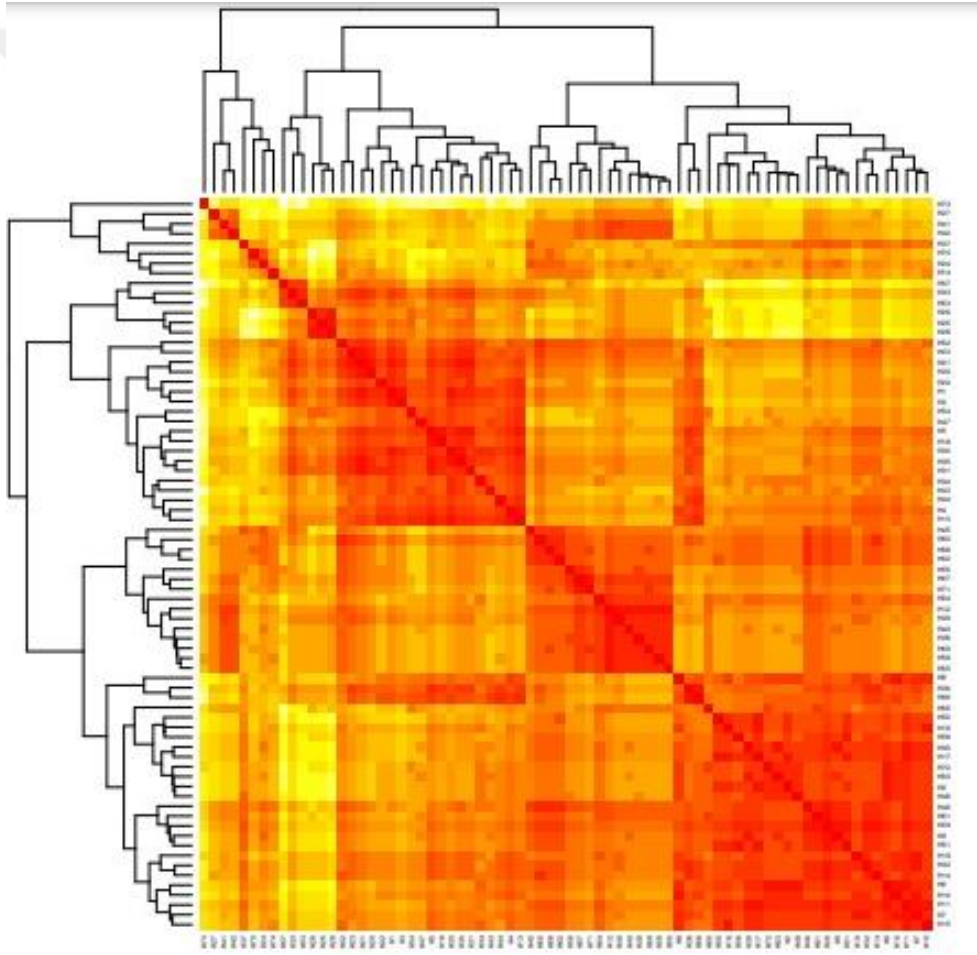
Haplotipler	Varyasyon görülen nükleotitler*
	4556699911111111111122222333333333344
	38901126222233556789901578001356778900
	467889164040742928149920068656
H1	TGTTCTGATACTATTACCATTTCCAATGGTGGATTGGG
H2	CA..G...CC.....C.TG....C.....
H3	A.....
H4	CA.....C.....
H5	CA.....T.....
H6	CA.....CC.....C.TG....C.....
H7	CA.....CC.....CT.G....C.....
H8	CA.....C.....C..G....C.....
H9	CA.....CC.....TTG....C.....A
H10	CA.....CC.....C..G....C.....
H11	CA.....CC.....CTTG....C.....
H12	G...C.C.....TTG....C.....
H13	CA.....
H14	CA.....CC.....TT....C.....
H15	CA.....C.....CTTG....C.....
H16	CA..G....C.....CTTG....C.....
H17	CA..G....CC.....CTTG....C.....
H18	CA.....G.....T.....
H19	CA.....C.....CT.G....C.....
H20	C.....T.....
H21	T.....
H22	A.....C.....
H23	C.....T.....
H24	..C.....C....CC.....TTG....C.....A.A
H25	C.....T....A.A...C...
H26	AG...C.....T....A.A...C...
H27	C.G...C.C..GGG...TT.G....C.....
H28	G...C.....T....A.A...C...
H29	CA.....CC.....TTG....C.....
H30	C.....
H31	A.....T.....
H32	CA.....CC.....T.G....C.....
H33	T....A.....A..
H34	C.....C.T.....
H35	C.....T.....
H36	CA.....CC.....T.....

Çizelge 4.5'in devamı

H37	CA...T..CC.....TTG.CA.C.....A..
H38	G..TC.C.....TTG....C.....
H39	CA.....CC.....CTTG....C.....A
H40	G...C.C.....TTG....C.....A
H41	G...C.C..G.....TGG....C...G....
H42	G...CGC..GG....TTG....C.....
H43	C.....C.....A
H44	CA.....C.....C.....
H45	CC.....TTG..A.C.....A..
H46	C.....CC.....TTG....C.....
H47	CAG.....A
H48	CA...T..CC.....C.TG....C.....
H49	G...C.C.....T.G....C.....
H50	CA..G...CC.....CTTG....C..C.....
H51	CA..G...CC.....TTG....C.....
H52	TT....C.....
H53	C.....T....A.....AA.
H54	CA....C.....C...
H55	.A.....G...C.C.....TTG....C.....
H56	T..C.....C.TTG....C.....
H57	T.....C.T....A.....AA.
H58	CA..G...CC.....TTG....CA.....
H59	G...C.C.....C..TTG....C.....
H60	CC.....TT....C.....
H61	CAG.....CC.....TTG....C.....
H62	CC.....TTG....C..C.....
H63	CA.....CC.....C.TG....C.....A
H64	C.G...C.C.....CTTG....C.....
H65	CAG...C.CC.....TG....C...C...
H66	CA.....CC.....
H67	C.C.....C.TTG....C.....
H68	C.....CC.....TTG....C.....
H69	C.....G...C.C.....TTG....C.....
H70	C.C.....C...CC.....TG.C..C.....A..
H71	C.....C.C.....C.TTG....C.....
H72	CA.....CC.....C.TG....C...C...
H73	...CT..G.....C.C...C.CTTG.C..CA...C...
H74	C.....C.....CC.TTG....C.....A.

* verilen rakamlar, yukarıdan aşağıya doğru varyasyon görülen nükleotidin pozisyonunu göstermektedir.

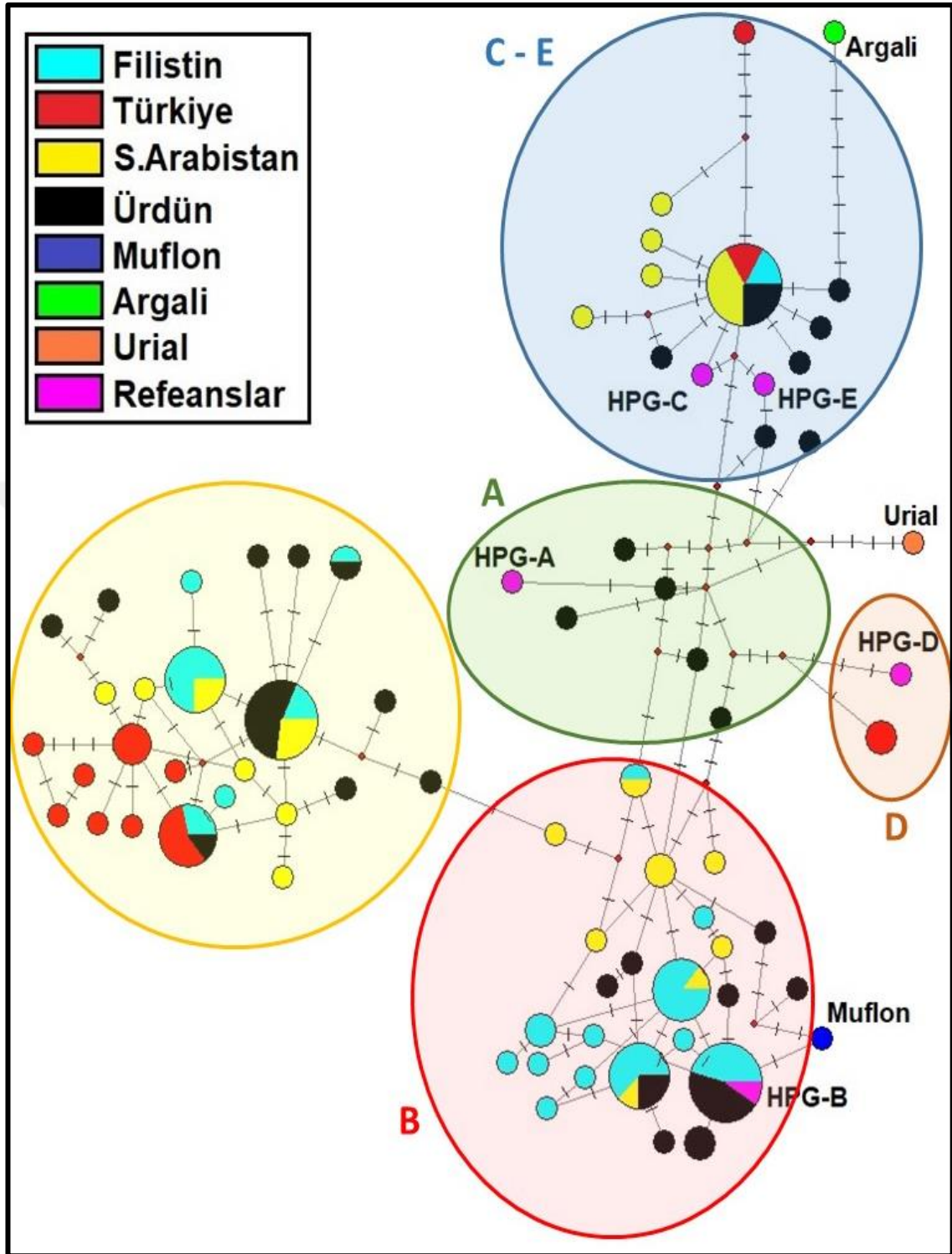
Türkiye, Filistin, Ürdün ve Suudi Arabistan'da yetiştirilen İvesi koyunlarına ait haplotipler arasındaki genetik uzaklık ısı haritası ile şematize edilmiş ve filogenetik ağaç ile gösterilmiştir (Şekil 4.31). Isı haritasında filogenetik ağacın her bir dalı, haritada karşılık gelen haplotipi temsil etmektedir. Haplotipler arası yakın genetik ilişkiler koyu renkle (kırmızı), uzak genetik ilişkiler ise açık renkle (beyaz) belirtilmiştir. Isı haritasında yer alan haplotiplerden 67 tanesi Türkiye, Filistin, Ürdün ve Suudi Arabistan'da yetiştirilen İvesi koyunlarına ait olup diğer 7 tane haplotip (H68: HPG-A, H69: HPG-C, H70: HPG-D, H71: HPG-E, H72: Muflon, H73: Argali, H74: Urial) referans örneklerdir. Isı haritası sonuçlarına göre ve haplotipler arasındaki nükleotit farklılıklarına göre (tablo büyüklüğünden dolayı teze koyulmamıştır), İvesi koyunlarına ait haplotiplerinde birbirine yakın birçok haplotip bulunmakta olup bu haplotipler sadece 1 nükleotit farklılık göstermektedir. H28-H37 ve H57-H65 haplotipleri ise birbirine en uzak genetik mesafede tespit edilmiştir. Bu uzak bulunan haplotipler arasında 16 nükleotit farklılık vardır.



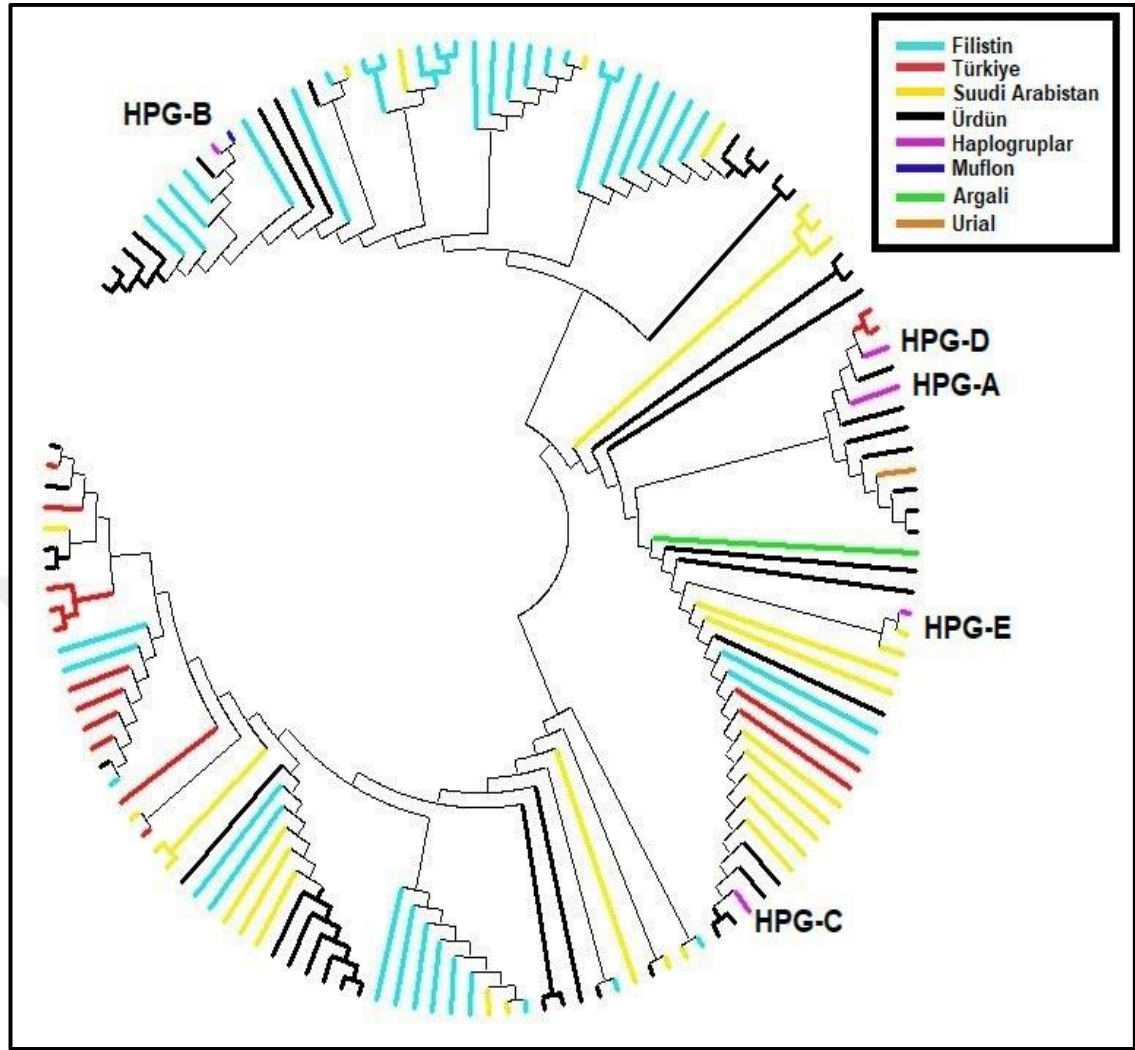
Şekil 4.31. Türkiye, Filistin, Ürdün ve Suudi Arabistan'da yetiştirilen İvesi popülasyonlarında oluşturulan ısı haritası

Türkiye, Filistin, Ürdün ve Suudi Arabistan’da yetiştirilen İvesi koyunlarının birbirleri olan filogenetik ilişkilerini ortaya koymak ve daha önceden tanımlanmış referans haplogruplarla ve yabani tip koyunlarla olan genetik bağlantılarını görmek için Medyan-birleştirme ağ (median joining network) analizleri NETWORK 5.0 programı ile gerçekleştirilmiştir (Şekil 4.32). Ayrıca çalışılan örneklerin DNA dizilimlerinde var olan benzerlik/farklılıklar temelindeki genetik ilişkilerin ortaya koyulabilmesi için neighbour joining filogenetik ağaç çizilmiştir (Şekil 4.33).

Medyan-birleştirme ağ (median joining network) analizleri sonucunda elde edilen şekle göre Türkiye, Filistin, Ürdün ve Suudi Arabistan’da yetiştirilen İvesi koyunlarında daha önceden referans olarak tanımlanmış tüm haplogruplar (A, B, C, D ve E) görülmüştür. Çalışılan İvesi koyunları 5 ana gruba ayrılmıştır. Birinci grup (kırmızı daireye alınmıştır) HPG-B haplogrubu olup Filistin, Ürdün ve Suudi Arabistan İvesi koyunlarından oluşmaktadır ve bu grup yabani koyun Muflona yakın genetik benzerlik göstermektedir. İkinci grup (mavi daireye alınmıştır) HPG-C ve HPG-E haplogrupları olup Türkiye, Filistin, Ürdün ve Suudi Arabistan İvesi koyunlarından oluşmaktadır. Üçüncü grup (yeşil daireye alınmıştır) HPG-A haplogrubu olup sadece Ürdün İvesi koyunlarından oluşmaktadır. Dördüncü grup (turuncu daireye alınmıştır) HPG-D haplogrubu olup sadece Türkiye İvesi koyunlarından oluşmaktadır. Son grup olan beşinci grup (sarı daireye alınmıştır) ise Türkiye, Filistin, Ürdün ve Suudi Arabistan İvesi koyunlarından oluşmakta olup şimdiye kadar tanımlanmış herhangi bir haplogruba dahil olmamıştır ve bu gruptaki örnekler tüm haplogruplardan ayrı kümelenmiştir. Bu durum koyunlarda yeni bir haplogrubun var olabileceğini düşündürmektedir (Şekil 4.32). Neighbour joining filogenetik ağaç sonuçları da Medyan-birleştirme ağ (median joining network) analizleri sonuçları ile benzerlik göstermektedir (Şekil 4.33).



Şekil 4.32. Türkiye, Filistin, Ürdün ve Suudi Arabistan'da yetiştirilen İvesi popülasyonları ve referans popülasyonlara (A, B, C, D ve E haplogrupları ve yabancı tip koyunlar) ait Medyan-birleştirme ağ (median joining network) analizleri



Şekil 4.33. Türkiye, Filistin, Ürdün ve Suudi Arabistan'da yetiştirilen İvesi popülasyonları ve referans popülasyonlara (A, B, C, D ve E haplogrupları ve yabani tip koyunlar) ait neighbour joining filogenetik ağaç

4.6. İvesi Koyunları Arasındaki Genetik Mesafe ve Genetik Farklılaşma

Bu tez çalışması kapsamında incelenen gruplar arasındaki genetik uzaklık değerleri Tablo 4.6'da verilmiştir. Çizelge 4.6 incelendiğinde birbirine genetik olarak en uzak olan iki popülasyonun Türkiye ve Filistin popülasyonları olduğu görülmektedir. Bu iki popülasyon arasında hesaplanan genetik uzaklık (genetic distance) değerinin 0.022 olduğu görülmüştür. Aynı şekilde Türkiye-Ürdün ve Türkiye-Suudi Arabistan arasındaki genetik uzaklık değerleri 0.021 ve 0.019 olarak hesaplanmıştır. Genetik uzaklık değerlerine göre birbirine en yakın olan popülasyonlar Filistin-Ürdün ve Filistin-Suudi Arabistan'dır. Bu popülasyonlar arasındaki genetik uzaklık değeri 0.016 olarak hesaplanmıştır.

Çizelge 4.6. Üzerinde durulan İvesi popülasyonları arasındaki genetik uzaklık değerleri

	Filistin	Türkiye	S. Arabistan	Ürdün
Filistin	-			
Türkiye	0.022	-		
S. Arabistan	0.016	0.019	-	
Ürdün	0.016	0.021	0.017	-

Türkiye, Filistin, Ürdün ve Suudi Arabistan’da yetiştirilen İvesi popülasyonlarının birbirinden genetik olarak ne kadar farklılaştığını ortaya koymak için popülasyonlar arasındaki ikişerli genetik farklılaşma katsayıları (pairwise F_{ST}) hesaplanmıştır (Çizelge 4.7). Yapılan hesaplamalara göre birbirinden en çok farklılaşan popülasyonların Türkiye ile Filistin olduğu (0.330) ve birbirinden en az farklılaşan popülasyonların Ürdün ile Suudi Arabistan (0.001) olduğu görülmektedir. Elde edilen sonuçlar genetik uzaklık değerleri ile uyum göstermektedir.

Çizelge 4.7. Üzerinde durulan İvesi koyunu popülasyonları arasındaki ikişerli genetik farklılaşma katsayıları

	Filistin	Türkiye	S. Arabistan	Ürdün
Filistin	-			
Türkiye	0.330	-		
S. Arabistan	0.100	0.112	-	
Ürdün	0.051	0.144	0.001	-

5. TARTIŞMA

5.1. DNA İzolasyon Sonuçları

Genomik DNA izolasyonu sadece Türkiye’de yetiştirilen İvesi koyunları için yapılmış olup tuz çöktürme (salting-out) yöntemi uygulanmıştır. Diğer ülkelerden tarafımıza DNA yollandığı için DNA izolasyonuna gerek kalmamıştır. Türkiye İvesi koyunlarından alınan kanlardan izole edilen genomik DNA’ların BioDrop analiz sonuçları 1.81 ± 0.03 olarak hesaplanmıştır. Ayrıca BioDrop ölçüm sonuçları Filistin, Ürdün ve Suudi Arabistan için sırasıyla 1.77 ± 0.05 , 1.83 ± 0.02 ve 1.74 ± 0.04 olarak bulunmuştur. Elde edilen genomik DNA’nın miktarı yapılan çalışma için yeterli görülmüş ve PCR reaksiyonları için uygun oranda seyreltilerek kullanılmıştır. Elde edilen DNA’nın saflık oranı (260/280) ise istenilen aralıkta çıkmıştır. Çünkü DNA saflık oranının PCR analizleri için 1.70-1.90 arasında olması istenir. Görüleceği üzere tarafımızdan elde edilen DNA’ların saflık oranı bu aralıktadır. Ayrıca yurt dışından gelen DNA örneklerinin de ölçümleri gerçekleştirilmiştir.

5.2. PCR Analizleri

Bu tez çalışması kapsamında üzerinde durulan 531 bp’lik bölge olan mtDNA D-loop bölgesi (kontrol bölgesi) literatürde bildirilen primerler ile PCR’da başarılı bir şekilde amplifiye edilmiştir. PCR ürünlerinin jel üzerinde kontrolü yapıldıktan sonra yeterli miktar ve kalitede olduğuna karar verilen örnekler DNA dizi analizi için +4 C’de muhafaza edilmiştir. PCR ürünlerinde sıkıntı yaşanan örnekler tekrar PCR işlemine tabi tutulmuş ve DNA dizi analizi için hazır hale getirilmiştir.

5.3. İvesi Koyunlarına Ait mtDNA Dizi Analizi Sonuçları

Şimdiye kadar gerçekleştirilen arkeolojik kanıtlara göre, Verimli Hilal’de insanoğlu tarafından evcilleştirilen en eski çiftlik hayvanlarından bir tanesi de koyundur (Zeder 2008; Di Lernia 2017). Evcilleştirilmiş koyunlar (*Ovis aries*), tek bir baskın lideri takip ettikleri için evcilleştirme için diğer hayvanlardan daha iyi adaylar olmuş olabilir (Geist 1971). Bu hayvanlar artık dünya çapında neredeyse her yere dağılmış durumdadır ve tüm çiftlik hayvanları arasında en bol bulunanlar arasındadır. Yerli koyunlar geleneksel olarak Verimli Hilal’in hayvancılık sektöründe önemli bir rol oynamış, genellikle kuru bir ortamda, su ve yem kıtlığında, ekstansif koşullar altında yüksek kaliteli ürünler üretmiştir. Koyun, Verimli Hilal’deki en önemli çiftlik hayvanıdır (FAO 2019). Genel olarak, bu hayvanlar yıllar içinde zorlu yerel koşullara çok iyi adapte olmuştur, ancak marjinal alanlarda tarımın giderek terk edilmesi ve kültür ırklarıyla kontrolsüz melezlenmeleri nedeniyle varlıkları tehdit altındadır.

Dünya çapında hayvan genetik kaynaklarının korunması ve sürdürülebilir kullanımına ilişkin artan bilgi ve farkındalık nedeniyle, çiftlik hayvanı türlerinin genetik çeşitliliğinin değerlendirilmesi ve evcilleştirme ve dağılım geçmişlerinin anlaşılması önemli konular haline gelmiştir. Aslında, daha önce yapılan çok sayıda çalışma, dünyanın çeşitli bölgelerindeki evcil koyun popülasyonlarının/ırklarının coğrafi dağılımının ve kökeninin mevcut anlayışına katkıda bulunmuştur. Verimli Hilal, koyunların genetik çeşitliliğinin ve kökeninin henüz doğru ve tam olarak analiz edilmediği birkaç coğrafi bölgeden biridir. Daha önce de belirtildiği gibi, Verimli Hilal, insan göçünde ve Asya ile

Afrika arasında deniz ve kara koridorları aracılığıyla malların, bitkilerin, mahsullerin ve hayvanların yayılmasında önemli bir rol oynamıştır (Boivin ve Fuller 2009).

Verimli Hilal'deki evcil hayvanların önemli bir genetik kaynak olması özellikle de koyunların bu bölgede vazgeçilmez evcil hayvanlardan birisi olması sebepleriyle, bu tez çalışması kapsamında İvesi koyunlarının genetik çeşitliliği, filogenetik evrimi ve ana kökeni hakkında bilgi sağlanması, koyun genetik kaynaklarının korunmasına katkı sağlanması amaçlanmıştır. Bu amaca yönelik olarak, Filistin, Türkiye, Ürdün ve Suudi Arabistan'da yetiştirilen İvesi koyunu popülasyonlarından mtDNA D-loop bölgesinin DNA diziverileri elde edilmiştir. Her popülasyondaki genetik varyasyon, mtDNA D-loop bölgesine dayalı olarak toplam veri setinden hesaplanmıştır. Ayrıca, incelenen popülasyonların olası kökenlerini belirlemek için en yaygın HPG'ler olan A, B, C, D ve E (Meadows vd. 2011) ve yaban koyunları (Muflon, Argali ve Urial) da analizlere dahil edilmiştir.

5.3.1. Haplotip analizi sonuçları

Türkiye, Filistin, Ürdün ve Suudi Arabistan'da yetiştirilen İvesi koyunu popülasyonlarındaki genetik çeşitliliği belirlemek için haplotip analizleri yapılmıştır. Çünkü popülasyonlarda var olan genetik çeşitliliğin derecesini belirleme kriterlerinden bir tanesi de haplotip sayıları ve haplotip çeşitliliğinin belirlenmesidir. Ayrıca nükleotit çeşitliliği de bu kriterlerden bir tanesidir. Haplotip çeşitliliği yalnızca bir popülasyonda rastgele seçildiklerinde iki dizinin farklı haplotiplerinin meydana gelme olasılığını ölçerken, nükleotid çeşitliliği iki dizi arasındaki bölge başına ortalama nükleotit farkı sayısıdır.

Teorik olarak, evcilleştirme bölgesinden uzaklaştıkça, bu bölgelerden giden hayvanların (gen havuzlarının) sınırlı sayıda haplotip/allel taşıması nedeniyle genetik çeşitliliğin düşük olması beklenmektedir (Loftus vd. 1999; MacHugh ve Bradley, 2001; Bruford vd. 2003). Verimli Hilal bölgesinde yetiştirilen koyun popülasyonları yüksek seviyede genetik çeşitlilik göstermektedir. Genel olarak, genetik çeşitlilik endeksleri (h ve π) gözle görülür derecede yüksektir. Evcilleştirme orijin merkezinden veya yakın bir bölgeden gelen genetik çeşitliliğin daha yüksek olması (yani daha yüksek h ve π) beklenir (Meadows vd. 2007).

Bu tez çalışması kapsamında, var olan genetik çeşitliliğin değerlendirilebilmesi için haplotip sayısı (h), haplotip çeşitliliği (H_d), polimorfik bölge sayısı (S), ortalama nükleotit farklılık sayısı (k) ve nükleotid çeşitliliği (π) parametreleri tahmin edilmiştir. Yapılan haplotip analizleri sonucunda en yüksek haplotip sayısı ($h=32$) Ürdün İvesi popülasyonunda, en düşük haplotip sayısı ($h=11$) Türkiye İvesi koyunlarında görülmüştür. Haplotip çeşitliliği bakımından yine en yüksek varyasyon (0.970 ± 0.014) Ürdün İvesi koyunlarında, en düşük varyasyon (0.933 ± 0.048) ise Türkiye İvesi koyunlarında tespit edilmiştir. Nükleotid çeşitliliği ve ortalama nükleotit farklılık sayısı bakımından ise en yüksek değerler (sırasıyla 0.01748 ve 6.450) Türkiye İvesi koyunlarında, en düşük değerler (sırasıyla 0.01190 ve 4.390) Filistin İvesi koyunlarında tahmin edilmiştir (Çizelge 4.2). Bu sonuçlar en yüksek genetik çeşitliliğin Ürdün'de yetiştirilen İvesi koyunlarında bulunduğunu göstermektedir.

Tüm popülasyonlar birlikte ele alınışında ise haplotip çeşitliliği ve nükleotit çeşitliliği sırasıyla 0.968 ± 0.006 ve 0.01656 olarak hesaplanmıştır. 34 farklı polimorfik nokta temelinde toplamda 67 haplotip elde edilmiştir. Bu çalışma sadece Verimli Hilal'deki İvesi koyunlarının genetik çeşitliliği, filogenetik evrimi ve anasal kökeni hakkında fikir vermekle kalmamış, aynı zamanda İvesi koyunlarına ait genetik çeşitliliğin Verimli Hilal'deki ülkelere dağıldığına dair kanıtlara da dikkat çekmiştir. Genel olarak, genetik çeşitlilik endeksleri (h ve π), Verimli Hilal'deki popülasyonlarda gözle görülür şekilde daha yüksektir (Çizelge 4.2). Ayrıca, bu çalışmada İvesi Koyunu popülasyonları arasında gözlemlenen h ($0,968$) ve π ($0,01656$) değerleri, Arap Yarımadası popülasyonu (Al-Araimi vd. 2017), Asya (Hindistan) koyunları (Arora vd. 2013) için bildirilenlerden daha yüksek, ancak diğer Asya (Çin) koyun popülasyonlarından (Liu vd. 2016) daha düşüktür. Türkiye’de yetiştirilen İvesi koyunlarında yapılan bir çalışmada mtDNA D-loop bölgesi temelinde haplotip çeşitliliği (H_d) ve nükleotid çeşitliliği (π) sırasıyla 0.9496 ± 0.011 ve 0.01407 olarak bulunmuştur (Öner vd. 2013). Türkiye İvesi koyunlarında yapılan bir diğer çalışmada ise haplotip çeşitliliği (H_d) ve nükleotid çeşitliliği (π) sırasıyla 0.753 ± 0.079 ve 0.01367 olarak bulunmuştur (Ata 2019). Irak’ta yetiştirilen İvesi koyunlarında yapılan bir çalışmada mtDNA D-loop bölgesi temelinde genetik çeşitlilik hesaplanmış olup haplotip çeşitliliği (H_d) ve nükleotid çeşitliliği (π) sırasıyla 0.739 ve 0.01452 olarak bulunmuştur (Aljubori vd. 2021). Bir merkezden veya yakın bir kökenden gelen yüksek genetik çeşitliliğin daha yüksek h ve π değerleri göstermesi beklenir (Troy vd. 2001; Meadows vd. 2007). Alternatif olarak, yüksek mtDNA çeşitliliği muhtemelen mitokondriyal genomun yüksek değişkenlik seviyesine bağlanabilir (Cozzi vd. 2004).

5.3.2. Nötralite test sonuçları

Türkiye, Filistin, Ürdün ve Suudi Arabistan'da yetiştirilen İvesi koyunlarında elde edilen nötralite test istatistiklerine göre Tajima'nın D değerinin sonuçlarına bakıldığında, elde edilen pozitif ve negatif değerlerin önem seviyesi bakımından önemli olmadığı ve ırkların nötral popülasyon değerlerinden uzaklaşmadıkları gözlemlenmiştir. Bu değer sadece Türkiye için negatif hesaplanmış olup diğer popülasyonlar için pozitif değer elde edilmiştir (Çizelge 4.3). Bu sonuçlar bize Türkiye’de yetiştirilen İvesi koyun popülasyonlarında heterozigotluğun düşük olduğunu ve haplotip sayısının beklenenden daha düşük olduğunu göstermektedir. Filistin, Ürdün ve Suudi Arabistan'da yetiştirilen İvesi koyun popülasyonlarında ise heterozigotluk değerinin yüksek olduğunu ve beklenenden yüksek haplotip sayısının elde edildiğini göstermektedir.

Daha güçlü ve hassas olan Fu'nun F_{st} testine göre çalışılan tüm popülasyonlar için negatif değer elde edilmiştir (Çizelge 4.3). Bu değerler Filistin, Ürdün ve Suudi Arabistan'da yetiştirilen İvesi koyun popülasyonları için önemli bulunmuştur ($P < 0.001$). Buna göre bu üç popülasyonda hesaplanan anlamlı ve negatif Fu'nun F_s değerleri, yakın zamandaki bir popülasyon genişlemesi meydana geldiğini ve yüksek miktarda yeni haplotiplerin ortaya çıktığını göstermektedir.

5.3.3. Moleküler varyans analizi (AMOVA) sonuçları

Daha önceden yapılan çalışmalar koyun ve keçi gibi göç esnasında kolay taşınabilen evcil hayvanlarda popülasyon içindeki varyasyonun popülasyonlar arasındaki varyasyondan çok daha yüksek olduğunu ortaya koymuştur. Özellikle, kıtalararası alt

bölüm (Asya ve Avrupa) koyunlarındaki toplam mtDNA varyasyonunun $\approx$ %20'si popülasyonlar arasındaki genetik varyasyondan kaynaklanmaktadır (Chen vd. 2006). Bu oran evcil keçilerde gözlenenden ($\approx$ %14) biraz daha yüksektir (Luikart vd. 2001). Bu tez çalışması kapsamında da benzer sonuçlar elde edilmiştir. Türkiye, Filistin, Ürdün ve Suudi Arabistan'da yetiştirilen İvesi popülasyonlarındaki genetik varyasyonun kaynağının tespit edilmesi amacıyla yapılan AMOVA analiz sonucunda gözlenen genetik varyasyonun çok büyük kısmının (% 89.88) popülasyonlar içindeki bireylerin farklı olmasından kaynaklandığı ve popülasyonlar arasındaki genetik varyasyonun düşük (% 10.12) olduğu görülmüştür (Çizelge 4.4). Farklı bölgelerdeki popülasyonlar arasındaki farklılaşmanın azalması, Verimli Hilal'de otlayacak taze otlaklar bulmak ve ticaret yapmak için yaygın olarak yapılan göçler veya Bedevilerin geleneksel mevsimlik veya yıllık uzun mesafeli göçleri kapsamında koyunların kıtalar arasındaki tarihsel hareketine bağlanabilir ve ülkelerdeki koyun popülasyonları arasındaki genetik varyasyonun azalmasına katkıda bulunabilir.

Mevcut sonuçlarla karşılaştırıldığında, bir çok koyun ırkında popülasyonlar içinde daha yüksek genetik varyasyon (%95.04 ila 97.00) ve popülasyonlar/farklı coğrafi bölgeler arasında düşük (%3.0 ila 4.94) genetik varyasyon bulunmuştur (Pariset vd. 2011; Rafia ve Tarang 2016; Moradi vd. 2017). Liu vd. (2016) genetik çeşitliliğin çoğunun popülasyon içi varyasyondan (%98.23), geri kalanının ise incelenen Tibet koyun ırkları arasındaki farklılıklardan (%1.77) kaynaklandığını bildirmiştir. Evcilleştirilmiş hayvan türlerinde, popülasyon içi genetik varyasyon, popülasyonlar arasındaki genetik farklılaşmadan çok daha yüksektir (Gizaw vd. 2011).

5.3.4. Popülasyonlar arası genetik mesafe ve genetik farklılaşma

Bu tez çalışması kapsamında üzerinde durulan İvesi popülasyonlarının genetik yakınlığı/uzaklığını ortaya koymak için genetik mesafe (genetic distance) değerleri hesaplanmıştır. Çizelge 4.6 incelendiğinde çalışılan popülasyonların birbirinden genetik olarak çok uzak olmadığı ve bu durumun AMOVA sonuçlarıyla tutarlı olduğu görülmüştür. Çalışılan popülasyonlardan birbirine genetik olarak en uzak popülasyonların Türkiye ve Filistin popülasyonları olduğu görülmektedir ve bu iki popülasyon arasındaki genetik mesafe 0.022 olarak tahmin edilmiştir. Aynı şekilde Türkiye-Ürdün ve Türkiye-Suudi Arabistan arasındaki genetik uzaklık değerleri 0.021 ve 0.019 olarak hesaplanmıştır. Sonuç olarak genetik mesafe değerlerine göre Türkiye'nin diğer 3 popülasyona daha uzak olduğu, Filistin, Ürdün ve Suudi Arabistan popülasyonlarının birbirlerine çok yakın olduğu tespit edilmiştir. Genetik uzaklık değerlerine göre birbirine en yakın olan popülasyonlar ise Filistin-Ürdün ve Filistin-Suudi Arabistan popülasyonlarıdır. Bu popülasyonlar arasındaki genetik uzaklık değeri 0.016 olarak hesaplanmıştır.

Popülasyonların evrimsel geçmişinin yeniden yapılandırılması, günümüzde moleküler evrimin en önemli konuları arasında yer almaktadır. Koyun ırkları arasındaki evrimsel ilişkileri değerlendirmek için, mikrosatellit markerlerin kullanıldığı çalışmalar mevcuttur. Bazı çalışmalarda, genetik mesafe değerleri kullanılarak farklı İvesi koyun popülasyonları için filogenetik ağaçlar oluşturulmuştur. Al-Atiyat vd. (2018) ve Raheem Alnajm vd. (2021) İvesi ve Naemi'nin (Suudi İvesi) daha yakın akraba olduğunu ortaya koymuşlardır. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar da bunu desteklemektedir. İvesi ve Morkaraman ırkları evrimsel ağaçta aynı gruba aittir (Yılmaz vd. 2014). Bu nedenle, hem

İvesi hem de Morkaraman ırklarının Doğu Anadolu'da, Türkiye'de yetiştirilmiş olması şaşırtıcı değildir. Buna karşılık, filogenetik ağaç, İvesi koyunları ile Merinos koyunları ve diğer tüm Türkiye yerli koyunları ile egzotik ırklar arasında, ırk kökenlerine uygun olarak güçlü bir ayırım olduğunu göstermiştir (Özdemir vd. 2011; Al-Atiyat 2015; Özmen vd. 2020). Bu sonuçlar, uzak konumları ve ortak atalarının uzun evrim geçmişi içeren bu popülasyonların tarihi hakkında bilinenlerle tutarlıdır. Önceki bir çalışma, genetik mesafe değerlerine göre İvesi koyunları ile İspanyol Merinosları arasında önemli bir farklılaşma olduğunu bildirmiştir (Arranz vd. 2001). FCA, ırkları üç boyutlu olarak konumlandırmak ve ırkların evrimsel ilişkilerini ortaya çıkarmak için kullanılan bir analizdir. Birçok çalışmada FCA (*Factorial Component Analysis*) analizi, farklı bölgelerde yetiştirilen İvesi koyunlarının ayrı ayrı gruplandırıldığını ortaya koymuştur (Al-Atiyat vd. 2012, 2014; Özmen vd. 2020; Arranz vd. 2001; Özdemir vd. 2011). Bir başka çalışmada ise İvesi koyun popülasyonlarının, diğer Türkiye yerli koyun ırklarından (Karakaş, Akkaraman, Morkaraman, Kangal-Akkaraman ve Norduz) belirgin bir şekilde ayrıldığı bildirilmiştir (Özmen vd. 2020).

İkişerli F_{ST} değeri popülasyonlar arasındaki genetik farklılaşmayı göstermektedir ve çalışılan popülasyonlarda özgün allellere göre, orta frekansa sahip allellerden daha çok etkilenmektedir. Bu tez çalışmasında Türkiye, Filistin, Ürdün ve Suudi Arabistan'da yetiştirilen İvesi popülasyonlarının birbirinden genetik olarak ne kadar farklılaştığını ortaya koymak için popülasyonlar arasındaki ikişerli genetik farklılaşma katsayıları (pairwise F_{ST}) hesaplanmıştır. Çizelge 4.7 incelendiğinde, birbirinden en çok farklılaşan popülasyonların Türkiye ile Filistin olduğu ve genetik farklılaşma katsayısının 0.330 olarak hesaplandığı görülmüştür. Birbirinden en az farklılaşan popülasyonların ise Ürdün ile Suudi Arabistan (0.001) olduğu görülmektedir.

Wright (1978)'a göre çalışılan popülasyonlar arasında hesaplanan genetik farklılaşma katsayıları 0.05'ten küçük ise görülen bu farklılıkların biyolojik olarak herhangi bir önemi yoktur ve o popülasyonlar birbirine benzer olarak nitelendirilir. Hartl ve Clark (2007)'in açıklamalarına göre, Filistin-Suudi Arabistan, Filistin-Ürdün, Türkiye-Suudi Arabistan ve Türkiye-Ürdün popülasyonları arasında orta seviyede bir genetik farklılaşma söz konusudur. Çünkü bu ikili popülasyonlar arasında hesaplanan değerler 0.05 ila 0.15 arasındadır. Türkiye ile Filistin arasında hesaplanan genetik farklılaşma katsayısının 0.25'ten büyük olduğu görülmüş ve bu iki popülasyon arasında çok büyük bir genetik farklılaşma olduğu belirlenmiştir. Hartl ve Clark (2007)'in genetik farklılaşma ile ilgili yapmış olduğu bu açıklamalara göre Ürdün ve Suudi Arabistan İvesi koyunları arasında neredeyse hiç genetik farklılaşma olmamıştır ve aynı popülasyon gibi düşünülebilir. Al-Atiyat vd. (2018) ve Raheem Alnajm vd. (2021)'nin elde ettiği sonuçlar da Ürdün İvesi koyunları ile ve Suudi Arabistan İvesi koyunlarının (Naemi) çok yakın akraba olduğunu ortaya koymuştur.

5.3.5. Neighbour joining filogenetik ağaç ve haplogrup sonuçları

Mitokondriyal DNA, özellikle kontrol bölgesi (mt-DNA D-loop), tür içi düzeyde yüksek miktarda varyasyon göstermektedir. Bu nedenle, tür içinde yüksek sayıda haplogrup ve haplotipler içermektedir. mtDNA Dloop, birçok hayvanın evrimsel tarihini, filogenisini çözmeye en yaygın olarak kullanılan moleküler belirteçtir. mtDNA haploit sayıda olduğu için etkin popülasyon büyüklüğü düşüktür ve bu nedenle kolayca genetik sürüklenmeye maruz kalmaktadır. Özellikle göçler sırasında bazı

haplotipler/haplogruplar kaybolmakta veya ortaya çıkmaktadır; dolayısıyla göçlerin etkisi ile coğrafya üzerinde genetik yeni yapılar oluşturmaktadır. mtDNA'nın bu özelliğinden yararlanılarak genetik çeşitliliğin coğrafik modelleri kolaylıkla görselleştirilebilir ve coğrafi örüntü ise filogenetik bağlamda değerlendirilebilir (Bruford vd. 2003).

Üzerinde çalışılan evcil hayvanların genetik orijinini belirlemek ve hangi haplogrupta yer aldığını bulmak için en çok başvurulan analizler neighbour joining filogenetik ağaç ve Medyan-birleştirme ağ (median joining network) analizleridir (Bruford vd. 2003). Çünkü maternal kalıtım gösteren mitokondriyal gen yüksek oranda korunmaktadır ve çok uzun vadeli filogenetik ve taksonomik ilişkileri incelemek için kullanılabilir. Bu analizler kullanılarak şimdiye kadar sığırlarda (Loftus vd. 1994), domuzlarda (Giuffra vd. 2000; Larson vd. 2005), keçilerde (Luikart vd. 2001), koyunlarda (Hiendleder vd. 1998, Pedrosa vd. 2005; Pereira vd. 2006, Meadows vd. 2006, 2011) referans haplogruplar belirlenmiş ve bu haplogruplara dahil olan evcil hayvanların genetik kökenleri üzerine bir çok tartışma yapılmıştır.

Türkiye, Filistin, Ürdün ve Suudi Arabistan'da yetiştirilen İvesi koyunlarına ait mtDNA D-loop dizilimlerinde var olan benzerlik/farklılıklar temelindeki genetik ilişkilerin ortaya koyulabilmesi için neighbour joining filogenetik ağaç çizilmiştir (Şekil 4.33). Bu analizlere daha önceden tanımlanmış referans haplogruplar ve yabani tip koyunlar da dahil edilmiştir. Yapılan analiz sonuçları incelendiği zaman 4 ülkenin koyun popülasyonlarının 4 farklı grupta toplandığı, HPG-C ve E nin aynı ana grupta yer aldığı, HPG-A ve D'nin de birbirine çok yakın gruplandığı görülmüştür.

Bu tez çalışması kapsamında yapılan Medyan-birleştirme ağ (median joining network) analizleri sonucunda elde edilen şekle göre Türkiye, Filistin, Ürdün ve Suudi Arabistan'da yetiştirilen İvesi koyunlarında daha önceden referans olarak tanımlanmış tüm haplogruplar (A, B, C, D ve E) görülmüştür. Çalışılan İvesi koyunları 5 ana gruba ayrılmıştır. Birinci grup (kırmızı daireye alınmıştır) HPG-B haplogrubu olup Filistin, Ürdün ve Suudi Arabistan İvesi koyunlarından oluşmaktadır ve bu grup yabani koyun Muflona yakın genetik benzerlik göstermektedir. İkinci grup (mavi daireye alınmıştır) HPG-C ve HPG-E haplogrupları olup Türkiye, Filistin, Ürdün ve Suudi Arabistan İvesi koyunlarından oluşmaktadır. Üçüncü grup (yeşil daireye alınmıştır) HPG-A haplogrubu olup sadece Ürdün İvesi koyunlarından oluşmaktadır. Dördüncü grup (turuncu daireye alınmıştır) HPG-D haplogrubu olup sadece Türkiye İvesi koyunlarından oluşmaktadır. Son grup olan beşinci grup (sarı daireye alınmıştır) ise Türkiye, Filistin, Ürdün ve Suudi Arabistan İvesi koyunlarından oluşmakta olup şimdiye kadar tanımlanmış herhangi bir haplogruba dahil olmamıştır ve bu gruptaki örnekler tüm haplogruplardan ayrı kümelenmiştir. Bu durum koyunlarda yeni bir haplogrubun var olabileceğini düşündürmektedir (Şekil 4.32).

Türkiye'de yetiştirilen İvesi koyunlarında yapılan Medyan-birleştirme ağ (median joining network) analizleri sonucunda çalışılan örneklerin bir kısmı HPG-C'ye yakın olarak gruplanırken bir kısmı da HPG-D ile beraber gruplanmıştır. Türkiye'de daha önceden yapılmış olan çalışmalarda HPG-D ve HPG-E (Pedrosa vd. 2005) ile birlikte nispeten yüksek HPG-C haplogruplarının varlığı gözlenmektedir (Meadows vd.2007). Bizim çalışmamızda elde edilen sonuçlar ile bu sonuçlar benzerlik göstermektedir. ODTÜ'de 2012 yılında yapılan bir doktora tez çalışmasında Türkiye'de yetiştirilen 13

farklı koyun ırkından 628 koyun, mtDNA D-loop bölgesi bakımından araştırılmış ve haplogruplar belirlenmiştir (Demirci 2012). Elde edilen sonuçlara göre Türkiye koyun ırklarının şimdiye kadar bulunan bütün haplogrupları (HPG A-E) içerdiği görülmüş ve HPG D ve HPG E'nin çok düşük oranda görüldüğü tespit edilmiştir. Bizim çalışmamızın aksine, HPG-B'nin Türkiye'de en yaygın haplotip olduğunu bildirmişlerdir. Demirci (2012)'nin örneklerdiği İvesi koyunlarında %37.25 HPG-A, %41.18 HPG-B ve %21.57 HPG-C elde edilmiştir. Türkiye İvesi koyunlarının materyal olarak kullanıldığı bir diğer çalışmada (Öner vd. 2012), %46.66 HPG-A, %33.33 HPG-B ve %20.00 HPG-C elde edilmiştir. Bizim çalışmamızda ise Türkiye İvesi koyunlarında HPG-A ve HPG-B görülmemiştir ve HPG-D tespit edilmiştir. Bu çalışmalar ile bizim çalışmamızda farklı sonuçlar elde edilmesinin sebebi farklı sürülerden İvesi koyunlarının örneklenmiş olması olabilir. Yürütülen bir başka doktora tez çalışmasında Türkiye'de yetiştirilen 15 farklı koyun ırkından 296 koyun, mtDNA D-loop bölgesi bakımından araştırılmış ve haplogruplar belirlenmiştir (Ata 2019). Elde edilen sonuçlara göre Türkiye İvesi koyun ırkının şimdiye kadar bulunan bütün haplogrupları (HPG A-E) içerdiği görülmüştür ve baskın olan haplogrubun HPG-B olduğu tespit edilmiştir. Bizim çalışmamız ve diğer çalışmaların sonuçları beraber dikkate alındığında HPG-E ve D'nin Türkiye İvesi koyunlarında nadir olarak görülen haplogruplar olduğu söylenebilir.

Şimdiye kadar yapılan çalışmalar, B haplogrubunun Türkiye yerli koyun ırkları için en yaygın haplogrup olduğunu ortaya koymuştur (Pedrosa vd. 2005; Meadows vd. 2007; Yüncü vd. 2009; Demirci vd. 2013). Tüm bu çalışmalarda üç temel haplotip bulunmuştur: haplogrup A (Asya tipi), B (Avrupa tipi) ve C (Orta Asya ve Orta Doğu tipi) (Heiendelberg vd. 1998, 2002; Pedrosa vd. 2005; Guo vd. 2005; Chen vd. 2006; Meadows vd. 2007). Bu haplogruplar dünya çapında dağılım gösteren günümüz evcil koyunlarında tespit edilmiştir. Bu çalışmaların aksine bizim tez çalışmamızda ise HPG-A ve B'ye rastlanılmamıştır. Bu durum örnekleme metotlarının farklılığından kaynaklanmış olabilir. Bu bulguların bir açıklaması, Türkiye'nin, Türkiye, İran, Hindistan ve Çin üzerinden geçen ve ürün ve hayvan ticaretine olanak tanıyan tarihi bir kervan yolu sistemi olan İpek Yolu'nun sonu olmasıdır. Bu anlamda, Türk yerli koyun ırkları arasında bulunan zayıf yapı, tarihsel insan hareketlerinin neden olduğu uzun vadeli güçlü gen akışına bağlanabilir.

Bu tez çalışması kapsamında, Filistin'de yetiştirilen İvesi koyunlarında yapılan Medyan-birleştirme ağ (median joining network) analizleri sonucunda çalışılan örneklerin büyük bir kısmı da HPG-B ile beraber gruplanırken bir kısmı da HPG-C'ye yakın olarak gruplanmıştır. Bu tez çalışması, Filistin İvesi koyunlarının genetik kökenini ve hangi haplogrupta yer aldığını belirlemek için ilk çalışma niteliğindedir. Bu yüzden elde ettiğimiz sonuçların diğer çalışmalar ile mukayese edilmesi mümkün olmamıştır. Ancak Filistin'e coğrafi olarak en yakın bölge olan İsrail'de yetiştirilen İvesi koyunları ele alındığında, Meadows vd. (2007)'un çalışma sonuçlarına göre İsrail İvesi koyunlarında %26.3 HPG-A, %54.4 HPG-B, %14.0 HPG-C ve %5.3 HPG-E elde edilmiştir. Başka bir çalışmada bir tane İsrail İvesi koyunun tüm mtDNA dizilemesi sonucunda HPG-E olduğu görülmüştür (Meadows vd. 2011). Her ne kadar İsrail İvesi koyunlarında A, B, C ve E haplogrupları tespit edilmiş olsa da bu tez çalışması kapsamında A haplogrubu belirlenememiştir.

Bu tez çalışması kapsamında, Suudi Arabistan'da yetiştirilen İvesi koyunlarında yapılan Medyan-birleştirme ağ (median joining network) analizleri sonucunda çalışılan

örneklerin yarısı HPG-B ile beraber gruplanırken diğer yarısı da HPG-C'ye yakın olarak gruplanmıştır. Al-Araimi ve ekibi tarafından yapılmış ve henüz yayınlanma aşamasında olan çalışmanın sonuçlarında göre Suudi arabistan İvesi koyunlarının %17.4 HPG-A, %73.9 HPG-B ve %8.6 HPG-C olduğu tespit edilmiştir. Her ne kadar Suudi Arabistan İvesi koyunlarında A, B ve C haplogrupları tespit edilmiş olsa da bu tez çalışması kapsamında A haplogrubu belirlenememiştir.

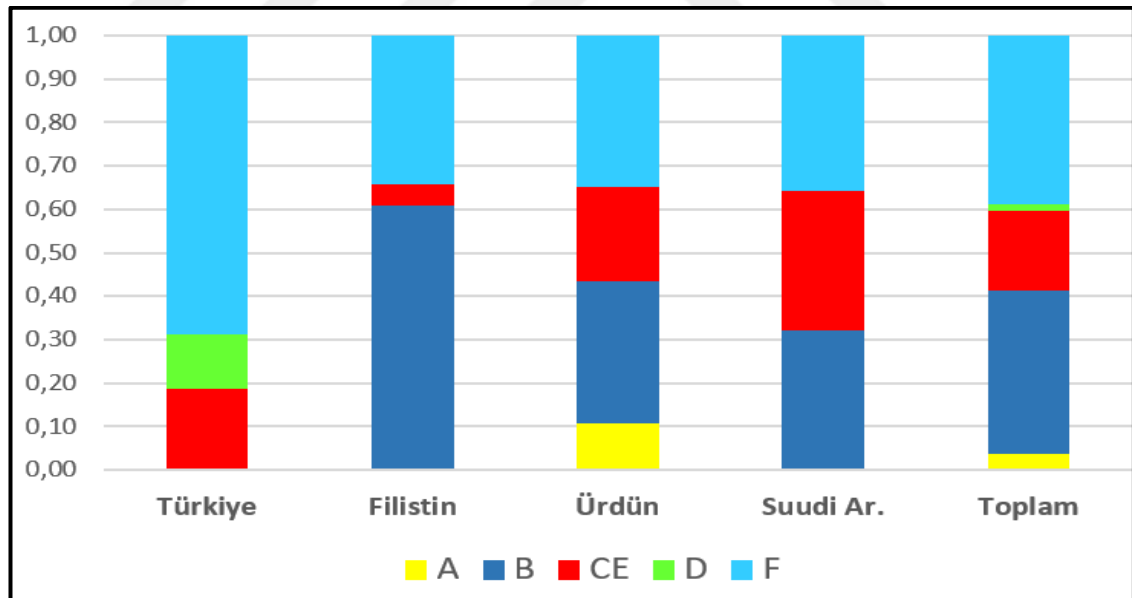
Bu tez çalışması kapsamında, Ürdün'de yetiştirilen İvesi koyunlarında yapılan Medyan-birleştirme ağ (median joining network) analizleri sonucunda çalışılan örneklerin büyük bir kısmı HPG-B ile beraber gruplanırken bir kısmı HPG-A'ya, bir kısmı da HPG-C ve E'ye yakın olarak gruplanmıştır. HPG-A sadece Ürdün İvesi koyunlarında tespit edilmiştir. Al-Araimi ve ekibi tarafından yapılmış ve henüz yayınlanma aşamasında olan çalışmanın sonuçlarında göre Suudi arabistan İvesi koyunlarının %34.2 HPG-A, %50.0 HPG-B, %10.5 HPG-C ve %5.3 HPG-E olduğu tespit edilmiştir. Yapılan bu tez çalışması ve daha önceden yürütülen bu çalışmanın sonuçları benzerlik göstermekte ve A, B, C ve E haplogruplarının Ürdün popülasyonunda var olduğunu ortaya koymaktadır. Her iki çalışmada da dominant haplogrup B olarak bulunmuştur. Bir diğer çalışmada ise çalışılan tüm Ürdün İvesi koyunlarının HPG-B olduğu tespit edilmiştir (Brake vd. 2021). Bütün bu sonuçlar Ürdün İvesi popülasyonunda HPG-B'nin baskın olduğunu ortaya koymuştur.

Verimli Hilal bölgesi ve yakınındaki bölgelerde yetiştirilen İvesi koyunlarında genetik çeşitlilik ve filogenetik ilişkiyi belirlemek için bugüne kadar az sayıda çalışma yapılmıştır. Tapio vd. (2006) Avrupa, Orta Asya ve Kafkas bölgelerinde yetiştirilen 48 ırktan 406 koyun örneğini incelenmişlerdir. Araştırma sonucunda incelenen koyun ırklarında 210 haplotip tanımlanmıştır. Haplotipler üç ana haplogruba (HPG A, B ve C) ve yeni belirlenen bir grup olan Haplogrup D'ye ayrılmıştır. Neighbour joining ağacı sonucu incelenen koyunların % 22'sinin HPG-A, % 71'inin HPG-B ve % 7'sinin HPG-C'ye ait olduğu belirlenmiştir. HPG-D'de sadece bir koyun bulunmuştur. Başka bir araştırmada ise benzer şekilde Pakistan koyunlarının çoğunluğu HPG-A içinde, Türkiye koyun ırklarının ise HPG-B içerisinde yer aldığı belirlenmiştir (Hussain 2022). Her iki ülke koyun ırkları içerisinde HPG-A ve B'nin bulunması göçlerin veya melezlemenin etkisinin olduğunu göstermektedir. Tapio vd. (2006) HPG-C'nin Kafkasya ve Orta Asya'da var olduğunu fakat Avrupa'da bulunmadığını bildirmiştir. Türkiye yerli koyun ırklarında HPG-C'nin frekansının yüksek olması Türkiye yerli koyun ırklarının oluşmasında Orta Asya koyun ırklarının etkisinin olduğunu, dolayısıyla Türklerin Orta Asya'dan göçlerinin Türkiye yerli koyun ırklarının şekillenmesinde rolünün olduğu hipotezini güçlendirmektedir. Bu tez çalışmasında da Türkiye İvesi koyunlarında HPG-C yüksek oranda bulunmuş olup, bu sonuç bahsi geçen hipotezi desteklemektedir.

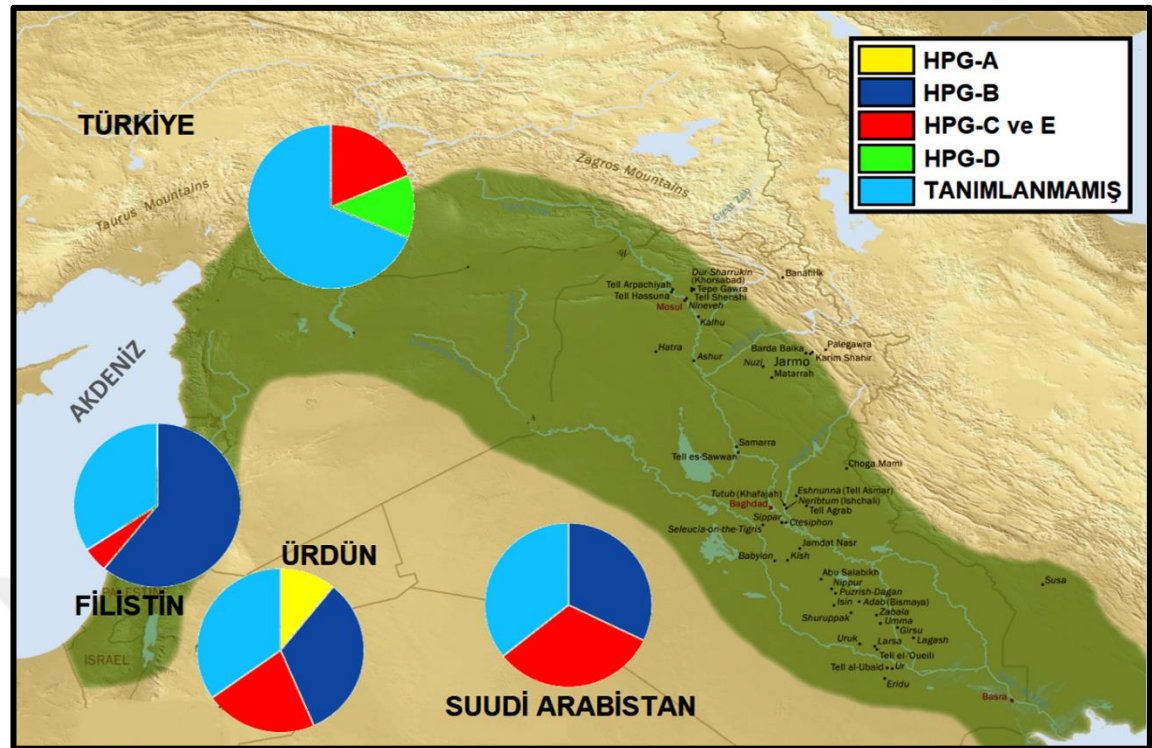
Bu tez çalışması kapsamında Medyan-birleştirme ağ (median joining network) analizleri sonucunda Türkiye, Filistin, Ürdün ve Suudi Arabistan'da yetiştirilen İvesi koyunlarında daha önceden refereans olarak tanımlanmış tüm haplogruplar (A, B, C, D ve E) görülmüştür ve çalışılan İvesi koyunları 5 ana gruba ayrılmıştır (Şekil 4.32). C ve E haplogrupları sadece 2 mutasyonla birbirlerinden ayrıldıkları ve birbirlerine çok yakın oldukları için beraber değerlendirilmiştir. Toplam popülasyonlarda HPG-A'nın oranı %4.0, HPG-B'nin oranı %37.0, HPG-C ve E'nin oranı %18.0, HPG-D'nin oranı %2.0 olarak ve herhangi bir haplogruba dahil olmayan örneklerin oranı %39.0 olarak tespit edilmiştir. Bu sonuçlara göre tüm popülasyonlar tek bir popülasyon olarak

düşünüldüğünde baskın olan haplogrubun B olduğu görülse de Türkiye’de yetiştirilen İvesi koyunlarında HPG-B’ye rastlanılmamıştır (Şekil 5.1). HPG-D sadece Türkiye İvesi koyunlarında (%13) tespit edilirken HPG-A ise sadece Ürdün İvesi koyunlarında (%11) tespit edilmiştir (Şekil 5.2).

İlginç bir şekilde Türkiye, Filistin, Ürdün ve Suudi Arabistan İvesi koyunlarının oluşturduğu bir grup şimdiye kadar tanımlanmış herhangi bir haplogruba dahil olmamıştır ve bu gruptaki örnekler tüm haplogruplardan ayrı bir şekilde kümelenmiştir (Şekil 4.32). Bu sonuç hem medyan birleştirme ağ analizlerinde hem de filogenetik ağaç çiziminde gözlemlenmiştir. Görüldüğü üzere herhangi bir haplogruba dahil olmayan örneklerin oranı (% 39) oldukça yüksektir (Şekil 5.1). Bu durum iki şekilde açıklanabilir: Birincisi bu tez çalışması için dizi analizi yapılan mtDNA bölgesi, bu koyun örneklerinin herhangi bir haplogrubta olup olmadığını belirlemek için kısa bir bölge olabilir. İkincisi ise, koyunlarda şimdiye kadar tanımlanmış (A, B, C, D ve E) haplogrupların dışında altıncı yeni bir haplogrubun var olabileceğidir. İkinci ihtimal birinciye göre daha yüksektir. Çünkü örnekleme yapılan ülkeler (Verimli Hilal bölgesi) koyunun evcilleştirme merkezine en yakın bölgeler arasındadır. Dolayısıyla bu ülkelerde bulunan koyunların daha fazla genetik çeşitliliğe sahip olması ve diğer bölgelerde olmayan allelleri içermesi muhtemeldir. Her ne kadar ikinci ihtimal daha yüksek olsa da yeni bir haplogrubun varlığını ortaya koymak için aynı örneklerin tekrar analiz edilmesi, bu ülkelerden daha fazla koyun örneğinin analiz edilmesi ve mtDNA D-loop bölgesinin dışında farklı mtDNA bölgelerinin (*cty-B* gibi) de dizilenmesi gerekmektedir. Ancak daha fazla örnekte daha fazla mtDNA bölgesinin dizilenmesi ile yeni bir haplogup ortaya koyulabilir.



Şekil 5.1. Haplogrupların ülkelere göre dağılımı



Şekil 5.2. Haplogrupların Verimli Hilal haritası üzerinde dağılımı

Yapılan filogenetik ilişki analizleri, Arap Yarımadası koyun popülasyonlarının dört maternal HPG'ye ait olduğunu ortaya koymuştur: A, B, C ve E. Bu sonuçlar, Arap Yarımadası koyun popülasyonunun yüksek seviyede mtDNA çeşitliliğine sahip olduğunu ve daha karmaşık bir evcilleştirme geçmişine sahip olabileceğini göstermektedir. Bahsi geçen sonuçlara benzer şekilde bu tez çalışması kapsamında da A, B, C, D ve E haplogrupları tespit edilmiş olup Verimli Hilal bölgesinde yüksek mtDNA genetik çeşitliliğinin olduğu bir kez daha ortaya koyulmuştur. Buna benzer sonuçlar aynı zamanda keçi (Naderi vd. 2007), sığır (Achilli vd. 2009), domuz (Larson vd. 2007) ve manda (Tanaka vd. 1996) gibi diğer evcil hayvanlarda tespit edilen modellere benzer şekilde birden fazla evcilleştirme merkezinin olduğuna işaret etmektedir. Şimdiye kadar yapılan çalışmalar Asya'da HPG-B'nin baskın ve HPG-A'nın daha az baskın olduğunu ortaya koymuştur. Ayrıca HPG-B'nin Avrupa kökenli koyun ırklarında da baskın olduğu bildirilmiştir (Meadows vd. 2005; Pariset vd. 2011; Meadows vd. 2011; Ferencakovic vd. 2013; Mariotti vd. 2013). Ancak, son zamanlarda yapılan çalışmalar HPG B'nin Asya ve Afrika'da bile her coğrafi bölgede modern evcil koyunlarda en yaygın maternal HPG olduğunu kanıtlamıştır (Álvarez vd. 2013; Liu vd. 2016; Resende vd. 2016).

Daha önce yapılan çalışmalar, Arap Yarımadası'ndaki koyun popülasyonları arasında HPG-A'nın yaygın olduğunu, Asya kökenli ırklardaki yüksek frekansı nedeniyle HPG A'nın bir "Asyatik soy" olduğunu ve Yakın Doğu kökenli olduğunu doğrulamıştır (Meadows vd. 2005; Tapio vd. 2006; Demirci vd. 2013; Singh vd. 2013; Liu vd. 2016). Bu tez çalışması kapsamında elde edilen sonuçlar ise bu bulgulara benzememektedir. Çünkü bizim çalışmamızda HPG-A sadece Ürdün'de tespit edilmiş olup toplamda oranı %4.0'tür. Ayrıca, şimdiye kadar yapılan çalışmalarda, HPG-C ve E, Arap Yarımadası koyun popülasyonları arasında sırasıyla %5.06 ve %3.80 (toplam oran %8.86) ile HPG-

A ve B'den daha az yaygın olarak tespit edilmiştir (Pereira vd. 2006; Tapio vd. 2006; Meadows vd. 2007; Demirci vd. 2013). Bu tez çalışmasında ise, HPG-C ve E'nin toplam oranı %18 olarak tespit edilmiştir ve daha önceden bildirilen oranlardan yüksektir. Her ne kadar daha önceden HPG-C ve E'ninaynı coğrafi bölgedeki popülasyonlar içinde hala nadir olduğu bildirilmiş olsa da bizim sonuçlarımız bunun aksini göstermektedir.

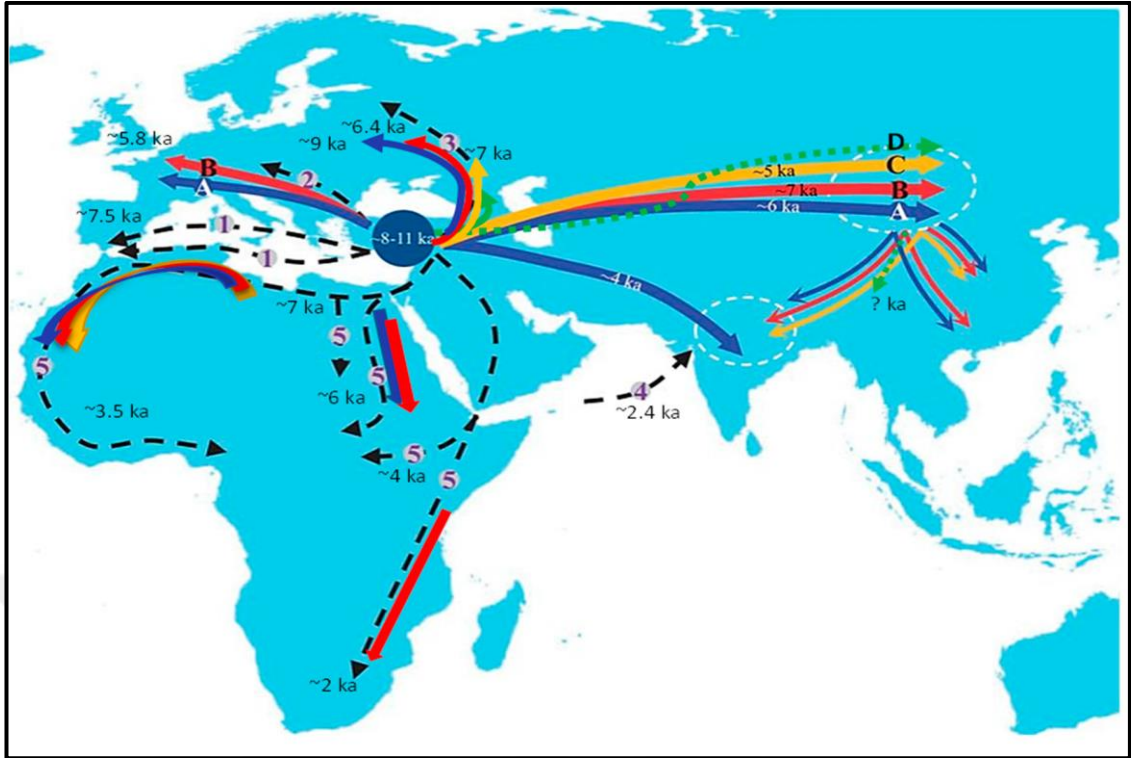
Arap yarımadası ve Afrika bölgelerinde daha önceden yapılan çalışmalarda birçok ülkede yetiştirilen koyunların haplogrupları belirlenmiştir. Bu çalışmalar sonucunda Irak, Kuveyt, Umman, Somali, Fas, Madagaskar, Birleşik Arap Emirlikleri ve Yemen'de (Al-Araimi vd. baskıda), Etiyopya'da (Nigussie vd. 2019), Mısır'da (Othman vd. 2016), İsrail'de (Reicher vd. 2012), Sudan'da (Salim vd. 2023) ve Cezayir'de yetiştirilen koyunlarda baskın olan haplogrubun HPG-B olduğu (Ghernouti vd. 2017) tespit edilmiştir. Bu tez çalışması kapsamında da baskın haplogrubun (Türkiye hariç) HPG-B olduğu belirlenmiştir. Dolayısıyla bahsi geçen çalışmalar ile bizim çalışmamızın sonuçları benzerlik göstermektedir. Daha önce de belirtildiği üzere Asya ve Afrika'da HPG-A, Avrupa'da ise HPG B baskın tip olarak karşımıza çıkmaktadır (Wood ve Phua 1996; Hiendleder vd. 1998; Demirci vd. 2013; Singh vd. 2013). Avrupa, Asya ve Yeni Zelanda'dan gelen koyunlardaki mitokondriyal genler *NADH3*, *NADH4*, *NADH4L* ve *cytB*'nin dizi analizleri, HPG B'nin Verimli Hilal bölgesindeki Asya muflonu popülasyonlarından kaynaklandığını göstermektedir.

Orta Asya ve yakın bölgelerinde daha önceden yapılan çalışmalar sonucunda Hindistan (Sharma vd. 2020, Mishra vd. 2023), Tibet ve Kazakistan (Guo vd. 2005) ve Çin koyunlarında baskın haplogrubun HPG-A olduğu (Guo vd. 2005; Meadows vd. 2005; Chen vd. 2006) tespit edilmiştir. Daha önce yapılan çalışmalar, Arap Yarımadası'ndaki koyun popülasyonları arasında HPG-A'nın yaygın olduğunu, Asya kökenli ırklardaki yüksek frekansı nedeniyle HPG A'nın bir "Asyatik soy" olduğunu ve Yakın Doğu kökenli olduğunu doğrulamıştır (Meadows vd. 2005; Tapio vd. 2006; Demirci vd. 2013; Singh vd. 2013; Liu vd. 2016). Popülasyon genetiği analizleri, farklı Çin koyunu popülasyonları arasında çarpıcı derecede homojenlik olduğunu göstermiştir. Bu durum hem medyan ağ birleştirme hem de AMOVA sonuçları ile ortaya konmuştur. Başka bir deyişle, Çin koyun popülasyonları arasında mtDNA varyasyonunda önemli bir coğrafi yapılanma olmadığını göstermiştir. Zayıf yapılanmayı açıklamak için başvurulabilecek temel faktör, tarihteki insan göç hareketleri ve ticaretin neden olduğu geniş gen akışı seviyeleridir (Luikart vd. 2001). Özetle, Çin evcil koyunlarında kayda değer mitokondriyal çeşitlilik gözlemlense depopülasyon içi çeşitliliğin yüksek seviyelerde olması (çoğu Çin koyunu popülasyonu her üç soyu da içermektedir) ve zayıf popülasyon alt yapısının gözlemlenmesi, coğrafi olarak bağımsız üç evcilleştirme olayının (Yakın Doğu dışındaki diğer bölgeler de dahil olmak üzere) meydana geldiğini düşündürmektedir (Chen vd. 2006). Dikkat çekici bir şekilde, A soyuna ait Çin koyunu dizilerinde iki merkezi kurucu haplotip içeren iki alt küme tespit edilmiştir ve A soyunda iki bağımsız evcilleştirme olayının meydana geldiğini göstermiştir. Bu durum, evcil koyunların kökenlerinin daha önce düşünülenlerden daha karmaşık ve etkileyici olduğu ve evcilleştirme yerinin sadece Yakın Doğu ile sınırlı olmadığı, aynı zamanda diğer bölgelerde de meydana geldiği konusunda önemli çıkarımlara sahiptir (Chen vd. 2006).

Arnavutluk, Yunanistan ve İtalya'dan toplam 18 yerli koyun ırkında ve yaban koyunlarında mitokondriyal DNA ve SNP temelinde genetik çeşitlilik tanımlanmış ve 154 haplotip tanımlanmıştır (Pariset vd. 2011). Yapılan analizler sonucunda evcil ve

yaban koyunlarında üç ana haplogrup (A, B ve C) bulmuşlardır. İncelenen koyunların %89'unun Haplogrup B, % 8'inin HPG A ve % 3'ünün de HPG C'ye ait olduğunu bildirmişlerdir. Yunanistan ve Arnavutluk koyun ırkları her üç haplogrupta da bulunurken, İtalyan koyun ırklarında ise sadece HPG B belirlenmiştir. Yunanistan ve Arnavutluk'ta HPG A bulunmasında Türklerin bu bölgelerde uzun süre hüküm sürmelerinden kaynaklanmış olabilir. HPG C'nin Orta Asya koyun ırklarında yaygın olarak bulunması ve Türkiye yerli koyun ırklarında da frekansının yüksek olması Türklerin Orta Asya'dan göçerken koyunlarını da beraberlerinde getirmelerinden kaynaklanabilir. Bu koyunların evcilleştirmesinin Yakın Doğu'da gerçekleştiği düşünülmektedir. Türkiye'nin hem evciltme bölgelerine yakın olması hem de Asya ve Avrupa arasında köprü konumunda ve göç yolları üzerinde bulunması Türkiye'deki genetik çeşitliliği açıklamakta ve Avrupa'nın koyun genetik yapısının belirlenmesinde rol oynadığını göstermektedir (Bruford vd. 2003).

Koyun mitokondriyal soylarının yüksek genetik çeşitliliği, gelişimsel olarak ilişkili birkaç atadan gelen evcilleştirmeden kaynaklanıyor olabilir (Sanna vd. 2015). Bu nedenle, mtDNA haplogruplarından HPG-B'nin Avrupa'da baskın olması (Şekil 5.3), Avrupa koyun popülasyonunun yalnızca birkaç bireyden genişlediğini göstermektedir. Böylesine düşük bir çeşitlilik, Neolitik yayılmadan önce Karadeniz bölgesindeki sürülerde zaten tespit edilmiştir (Scheu vd. 2012). Neolitik yayılma ile birlikte Avrupa'daki ilerleme hızlanmıştır. Koyunlar yaklaşık 10.000 yıl önce Orta Anadolu'ya ulaşmıştır (Zeder 2017). Buradan, Akdeniz ve Tuna vadisi üzerinden iki ana dağılım yolu Avrupa'ya ulaşmıştır. Bu iki Avrupa yolu, küçük ruminant lentivirüslerinin (SRLV) araştırılmasıyla da doğrulanmıştır (Molaei vd. 2020). Akdeniz rotası Kıbrıs'tan Balkan Yarımadası ve Apenin Yarımadası üzerinden Korsika ve Sardunya'ya ulaşmış, buradan da kuzey İtalya ve güney Fransa'ya yerleşmiştir. Evcilleştirilmiş koyunlar İber Yarımadası'na MÖ 7500 civarında ulaşmıştır. Tuna yolu nehir vadilerinden geçerek Orta Avrupa'ya gelmiştir (Zeder 2017). Koyunlar her iki şekilde de 5000 yıldan daha uzun bir süre önce Alplere girmiştir (olivieri vd. 2012). Ancak, Avrupa'ya muhtemelen Kafkasya ve Rusya üzerinden kuzey Avrupa'ya giden başka bir dağılım yolunun daha olduğu ortaya çıkmıştır (Tapio vd. 2006). B soyu muhtemelen Finlandiya'ya ilk ulaşan soy olmuş, onu Orta Çağ'ın başlarında A soyu takip etmiştir (Niemi vd. 2013). A soyu, yün arıtma çalışmaları yoluyla Avrupa'ya yayılmıştır, ancak Orta Avrupa'daki C ve D soylarının kökeni belirsizliğini korumaktadır. Avrupa'ya tarih öncesi bir insanla birlikte ya da çok daha sonra, örneğin Osmanlı genişlemesi sırasında gelmiş olabilirler (Gaspardiy vd. 2021).



Şekil 5.3. Koyunların evcilleştirildiği yerden Avrasya ve Afrika'ya ana yayılma rotaları. A (mavi oklar), B (kırmızı oklar), C (sarı oklar), D (yeşil oklar) ana mitokondriyal haplogruplarının rotalarını göstermektedir. 1 = Akdeniz rotası; 2 = Tuna rotası; 3 = Kuzey Avrupa rotası; 4 = Hint alt kıtasına eski deniz taşımacılığı; 5 = Afrika rotaları. (Machova vd. 2022'den çizilmiştir).

Asya'nın kolonizasyonu Avrupa'ya göre biraz daha karmaşıktır (Şekil 5.3). Büyük olasılıkla Asya'nın kolonizasyonu sırasında meydana gelen mitokondriyal soyların ABC analizine dayanan en uygun 3 model aşağıdaki şekilde ortaya koyulmuştur (Lv vd. 2015): 1) HPG-A ilk olarak Moğol Platosu'na ve Hint alt kıtasına yayıldı. Daha sonra Moğol Platosu'ndan kuzey ve güneybatı Çin'e yayılmıştır. HPG-A eski Tunç Çağı Çin'inde en yüksek oranda bulunan soydur (%95.5). 2) HPG-B ilk olarak Moğol Platosuna yönelmiş ve oradan kuzey ve güneybatı Çin ile Hindistan'ı kolonize etmiştir. 3), HPG-C ilk olarak Moğol Platosu'nda kolonileşmiştir. Oradan kuzey Çin'e ve ardından Hint alt kıtasına yönelmiştir. Dördüncü soy olan HPG-D de Orta Asya'da, özellikle Tibet Platosu'nun güneyinde, yerel ırklardan biri olan Linzhou'da bulunmuştur (Liu vd. 2016). Bununla birlikte, şu anda bu bölgeye varış zamanı veya rotası ile ilgili herhangi bir tahmin bulunmamaktadır. Bununla birlikte, Asya'ya giden anakara rotası tek rota olmayabilir. A ve B maternal soylarının Hindistan'a ithal edilmesinin bir başka olasılığı da İndus nehrinin ağzındaki antik Lóthal limanından deniz yolu gibi görünmektedir (Singh vd. 2013). Moğol Platosu, soyların Orta Doğu'dan Asya'ya yayıldığı bir göç merkezi görevi görmüştür (Kim vd. 2020). Özellikle A ve B soyları için Hindistan'da ve C soyu için kuzey Çin'de yüksek nükleotid çeşitliliği bulunmaktadır. Bazı araştırmalara göre, bu genetik çeşitlilik o kadar önemlidir ki, daha doğudaki bölgelerde bu soyların ortaya çıkmasına neden olan aynı evcilleştirilmiş hayvanlardan gelemiz. Bu nedenle, bağımsız

evcilleştirme olayları Hint alt kıtasında veya Çin'de de meydana gelmiş olabilir (Chen vd. 2003).

Mitokondriyal genom içindeki dizi varyasyonunun, evcil hayvan türlerinin kökeninin araştırılması için oldukça bilgilendirici olduğu kanıtlanmıştır. Sığır (Bradley vd. 1996), keçi (Luikart vd. 2001), domuz (Giuffra vd. 2000) ve koyun (Hiendleder vd. 2002) üzerinde yapılan çalışmalar, farklı mtDNA dizisi gruplarının varlığıyla kanıtlandığı üzere her birinin birden fazla maternal kökene sahip olduğunu ortaya koymuştur. Evcilleştirme olaylarının Asya (bufalo ve domuz), Yakın Doğu (sığır, koyun ve keçi) ve Amerika'da (alpaka ve lama) gerçekleştiği düşünülmektedir (Bruford vd. 2003).



6. SONUÇLAR

Koyunların evcilleştirilmesine dair en eski kanıtlar, Anadolu (Türkiye)'nin da içinde yer aldığı Mezopotamya bölgelerinde bulunmuştur. Asya ile Avrupa'nın kesişim noktasındaki coğrafi konumu nedeniyle ve bu iki kıta arasındaki köprü vazifesi sebebiyle Anadolu ve Verimli Hilal, tarih öncesi çağlardan beri birçok medeniyete ev sahipliği yapmıştır. Bu bölgelerde keşfedilen birkaç Neolitik insan yerleşiminden elde edilen veriler, buranın özellikle keçiler ve koyunlar olmak üzere birçok evcil hayvan için önemli bir evcilleştirme merkezi olduğunu güçlü bir şekilde göstermektedir. Şimdiye kadar yapılan arkeolojik ve moleküler temelli çalışmalar, sığır, domuz, koyun ve keçilerin evcilleştirilmesinde Verimli Hilal bölgeisinin çok önemli olduğunu ve Anadolu üzerinden Avrupa'ya yayıldığını bildirmektedir. Evcilleştirme tarihinde önemli bir yeri olan Verimli Hilal ülkelerindeki İvesi koyunlarının genetik varyasyonu, mtDNA çeşitliliği ve maternal geçmişleri hakkında yeterli ve açıklayıcı çalışma sayısı oldukça azdır. Bu yüzden bu bölgelerdeki evcil hayvanların araştırılması büyük önem arz etmektedir.

Bu tez çalışması kapsamında Verimli Hilal'de bulunan farklı ülkelerde (Türkiye, Filistin, Ürdün ve Suudi Arabistan) yetiştirilen İvesi koyunlarında mtDNA D-loop bölgesi dizilenerek; koyun evcilleştirme bölgelerinde yetiştirilen İvesi koyunlarının genetik çeşitlilik analizlerinin yapılması, hedef ülkelerde yetiştirilen İvesi koyun popülasyonları arasındaki genetik ilişkilerin (filogenetik ilişkiler) belirlenmesi ve bu popülasyonlardaki haplogrupların ortaya konulması amaçlanmıştır. Bu amaçlar doğrultusunda tamamlanan çalışma sonucunda aşağıdaki temel sonuçlar elde edilmiştir:

1. MtDNA D-loop bölgesinde 531 bç.'lik bölge sekanslanmış ve bu bölgede toplam 34 farklı polimorfik bölge tespit edilmiştir. Türkiye, Filistin, Ürdün ve Suudi Arabistan'da yetiştirilen İvesi koyunların sırasıyla 22, 15, 23 ve 21 polimorfik bölge görülmüştür. Bu polimorfik bölgeler temelinde toplamda 67 farklı haplotip bulunmuştur. Yapılan haplotip analizleri sonucunda en yüksek haplotip sayısı ($h=32$) Ürdün, en düşük haplotip sayısı ise ($h=11$) Türkiye İvesi koyunlarında görülmüştür.
2. Genetik çeşitliliğin değerlendirilebilmesi için haplotip çeşitliliği (H_d), ve nükleotid çeşitliliği (π) parametreleri tahmin edilmiştir. Haplotip çeşitliliği bakımından en yüksek varyasyon (0.970 ± 0.014) Ürdün, en düşük varyasyon (0.933 ± 0.048) ise Türkiye İvesi koyunlarında tespit edilmiştir. Tüm popülasyonlar birlikte ele alındığında ise haplotip çeşitliliği ve nükleotid çeşitliliği sırasıyla 0.968 ± 0.006 ve 0.01656 olarak hesaplanmıştır.
3. Popülasyondaki çeşitliliğin yapılan pozitif ya da negatif bir seleksiyondan mı yoksa rastgele mi olduğunun test edilmesi için nötralite testleri yapılmıştır. Tajima test istatistiği değeri Türkiye İvesi koyunlarında negatif, diğer ülkelerde ise pozitif olarak hesaplanmıştır. Bu sonuçlar bize Türkiye'de yetiştirilen İvesi koyun popülasyonunda heterozigotluğun düşük olduğunu ve haplotip sayısının beklenenden daha düşük olduğunu göstermektedir. Filistin, Ürdün ve Suudi Arabistan'da yetiştirilen İvesi koyun popülasyonlarında ise heterozigotluk değerinin yüksek olduğunu ve beklenenden yüksek haplotip sayısının elde edildiğini göstermektedir. F_u 'nun F_s değeri çalışılan bütün popülasyonlarda negatif olarak bulunmakla beraber Filistin, Ürdün ve Suudi Arabistan'da

yetiştirilen İvesi koyun popülasyonları için önemli bulunmuştur ($P < 0.001$). Buna göre bu üç popülasyonda hesaplanan anlamlı ve negatif F_u 'nun F_s değerleri, yakın zamandaki bir popülasyon genişlemesinin meydana geldiğini ve yüksek miktarda yeni haplotiplerin ortaya çıktığını göstermektedir.

4. Türkiye, Filistin, Ürdün ve Suudi Arabistan'da yetiştirilen İvesi popülasyonlarındaki genetik varyasyonun kaynağının tespit edilmesi amacıyla yapılan AMOVA analiz sonucunda gözlenen genetik varyasyonun çok büyük kısmının (%89.88) popülasyonlar içindeki bireylerin farklı olmasından kaynaklandığı ve popülasyonlar arasındaki genetik varyasyonun düşük (%10.12) olduğu görülmüştür.
5. Çalışılan popülasyonlardan birbirine genetik olarak en uzak popülasyonların Türkiye ve Filistin popülasyonları olduğu görülmektedir ve bu iki popülasyon arasındaki genetik mesafe 0.022 olarak tahmin edilmiştir. Aynı şekilde Türkiye-Ürdün ve Türkiye-Suudi Arabistan arasındaki genetik uzaklık değerleri 0.021 ve 0.019 olarak hesaplanmıştır. Sonuç olarak genetik mesafe değerlerine göre Türkiye'nin diğer 3 popülasyona daha uzak olduğu, Filistin, Ürdün ve Suudi Arabistan popülasyonlarının birbirlerine çok yakın olduğu tespit edilmiştir. Genetik uzaklık değerlerine göre birbirine en yakın olan popülasyonlar ise Filistin-Ürdün ve Filistin-Suudi Arabistan popülasyonlarıdır. Bu popülasyonlar arasındaki genetik uzaklık değeri 0.016 olarak hesaplanmıştır.
6. Türkiye, Filistin, Ürdün ve Suudi Arabistan'da yetiştirilen İvesi popülasyonlarının birbirinden genetik olarak ne kadar farklılaştığını ortaya koymak için popülasyonlar arasındaki ikerli genetik farklılaşma katsayıları (pairwise F_{ST}) hesaplanmıştır. Birbirinden en çok farklılaşan popülasyonların Türkiye ile Filistin olduğu ve genetik farklılaşma katsayısının 0.330 olarak hesaplandığı görülmüştür. Birbirinden en az farklılaşan popülasyonların is Ürdün ile Suudi Arabistan (0.001) olduğu görülmektedir.
7. Medyan-birleştirme ağ (median joining network) analizleri sonucunda Türkiye, Filistin, Ürdün ve Suudi Arabistan'da yetiştirilen İvesi koyunlarında daha önceden refereans olarak tanımlanmış tüm haplogruplar (A, B, C, D ve E) görülmüştür ve çalışılan İvesi koyunları 5 ana gruba ayrılmıştır. C ve E haplogrupları sadece 2 mutasyonla birbirlerinden ayrıldıkları ve birbirlerine çok yakın oldukları için beraber değerlendirilmiştir. Toplam popülasyonlarda HPG-A'nın oranı %4.0, HPG-B'nin oranı %37.0, HPG-C ve E'nin oranı %18.0 ve HPG-D'nin oranı %2.0 olarak tespit edilmiştir. Bu sonuçlara göre tüm popülasyonlar tek bir popülasyon olarak düşünüldüğünde baskın olan haplogrubun B olduğu görülse de Türkiye'de yetiştirilen İvesi koyunlarında HPG-B'ye rastlanılmamıştır (Şekil 5.1). HPG-D sadece Türkiye İvesi koyunlarında (%13) tespit edilirken HPG-A ise sadece Ürdün İvesi koyunlarında (%11) tespit edilmiştir.
8. İlginç bir şekilde Türkiye, Filistin, Ürdün ve Suudi Arabistan İvesi koyunlarının dahil olduğu bir grup şimdiye kadar tanımlanmış herhangi bir haplogruba dahil olmamıştır ve bu gruptaki örnekler tüm haplogrurlardan ayrı bir şekilde

kümelenmiştir. Herhangi bir haplogruba dahil olmayan örneklerin oranı (% 39) oldukça yüksek hesaplanmıştır. Bu durum iki şekilde açıklanabilir: Birincisi bu tez çalışması için dizi analizi yapılan mtDNA bölgesi, bu koyun örneklerinin herhangi bir haplogrubta olup olmadığını belirlemek için kısa bir bölge olabilir. İkincisi ise, koyunlarda şimdiye kadar tanımlanmış (A, B, C, D ve E) haplogrupların dışında altıncı yeni bir haplogrubun var olabileceğidir. İkinci ihtimal birinciye göre daha yüksektir.

9. Arkeolojik veriler ile moleküler genetik çıktılar birlikte değerlendirildiğinde koyun, keçi, sığır, domuz gibi çiftlik hayvanlarının ilk defa evcilleştirildikleri bölge olarak bildirilen Verimli Hilal bölgesi oldukça önemli bir pozisyonda bulunmaktadır. Bu tez çalışması kapsamında örnekleme yapılırken Türkiye, Filistin, Ürdün ve Suudi Arabistan İvesi koyunlarının dahil edilmesi çalışmanın özgünlüğünü arttırmaktadır.

7. KAYNAKLAR

- Abdullah, A. Y., Shaker, M. M., and Kridli, R. T. 2002. Growth, carcass characterization of Awassi, Awassi× Romanov, Awassi × Charolais ram lambs fed different plans of nutrition. *Animal Science*, 88-77.
- Abdullah, B. M., Al-Atiyat, R. M., Tabbaa, M. J., 2015. The Effects of Different Factors and Heterosis on Body Dimensions of Awassi, Chios and their Crossbred Lambs. *Jordan Journal Agriculture Sciences*, 11 (2): 423
- Achilli, A., Bonfiglio, S., Olivieri, A., Malusà, A., Pala, M., Kashani, B.H., Perego, U.A., Ajmone-Marsan, P., Liotta, L., Semino, O. and Bandelt, H.J. 2009. The multifaceted origin of taurine cattle reflected by the mitochondrial genome. *PLoS one*, 4(6): e5753.
- Ahmed, S., Grobler, P., Madisha, T. and Kotze, A. 2017. Mitochondrial D-loop sequences reveal a mixture of endemism and immigration in Egyptian goat populations. *Mitochondrial DNA Part A*, 28: 711-6.
- Aktaş, C. 2015. Haplotypes: manipulating DNA sequences and estimating unambiguous haplotype network with statistical parsimony.
- Alamer, M., and Al-hozab, A. 2004. Effect of water deprivation and season on feed intake, body weight and thermoregulation in Awassi and Najdi sheep breeds in Saudi Arabia. *Journal of Arid Environments*, 59(1): 71-84.
- Al-Atiyat, R. M., and Aljumaah, R. S. 2014. Genetic distances and phylogenetic trees of different Awassi sheep populations based on DNA sequencing. *Genetics and Molecular Research*, 13(3): 6557-6568.
- Al-Atiyat, R. M., Tabbaa, M. J., Barakeh, F. S., Awawdeh, F. T., and Baghdadi, S. H. 2021. Power of phenotypes in discriminating Awassi sheep to pure strains and from other breeds. *Tropical Animal Health and Production*, 53 (1): 139.
- Al-Atiyat, R.M., 2015. The power of 28 microsatellite markers for parentage testing in sheep. *Electronic Biotechnology*, 18(2):116-121.
- Al-Atiyat, R.M., Aljumaah, R.S., Alshaikh, M.A. and Abudabos, A.M. 2018. Microsatellite-Based Genetic Structure and Diversity of Local Arabian Sheep Breeds. *Frontiers in Genetics*, 9: 408.
- Al-Atiyat, R.M., Tabbaa, M.J., Salameh, N.M., Tarawneh, K.A., Al-Shmayla, L. and Al-Tamimie, H.J. 2012. Analysis of genetic variation of fat tailed-sheep in southern region of Jordan. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances*, 7(5): 376-389.
- Al-Dawood, A. 2017. Towards heat stress management in small ruminants-a review. *Annals of Animal Science*, 17(1): 59.
- Ali, W., Ceyhan, A., Ali, M., and Dilawar, S. 2020. The merits of Awassi sheep and its milk along with major factors affecting its production. *Agriculture, Food, Environment and Animal Sciences*, 1 (1): 50-69.
- Aljubouri, T. R. and Al-Shuhaib, M. B. S. 2021. Genotyping of mitochondrial D-loop sequences in three breeds of sheep. *Biologia*, 76(1): 203-211.

- Al-Samarai, F., & Al-Anbari, N. 2009. Genetic evaluation of rams for total milk yield in Iraqi Awassi sheep. *CeON Repository*, 18 (1): 3-32.
- Álvarez, I., Capote, J., Traoré, A., Fonseca, N., Pérez, K., Cuervo, M., Fernández, I. and Goyache, F. 2013. Mitochondrial analysis sheds light on the origin of hair sheep. *Animal genetics*, 44(3):344-347.
- Arora, R., Yadav, H. S. and Mishra, B. P. 2013. Mitochondrial DNA diversity in Indian sheep. *Livestock Science*, 153(1-3): 50-55.
- Arranz, J.J., Bayón, Y. and San Primitivo, F. 2001. Differentiation among Spanish sheep breeds using microsatellites. *Genetics Selection Evolution*, 33(5): 529-542.
- Ata, N.2019.Türkiye yerli koyun ırklarında mitokondriyal DNA çeşitliliği. PhD Thesis, Aydin Adnan Menderes Üniversitesi. TÜRKİYE, 108 p.
- Avise, J. C. 2012. *Molecular markers, natural history and evolution*. Springer Science and Business Media, Sinauer, pp. 100-684.
- Bandelt, H. J., Forster, P. and Röhl, A. 1999. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular biology and evolution*, 16(1): 37-48.
- Bazin, E., Glémin, S., and Galtier, N. 2006. Population size does not influence mitochondrial genetic diversity in animals. *science*, 312(5773): 570-572.
- Becker, C., Benecke, N., Grabundžija, A., Küchelmann, H. C., Pollock, S., Schier, W., and Schumacher, M. 2016. The textile revolution: research into the origin and spread of wool production between the Near East and Central Europe.
- Benjelloun, B., Pompanon, F., Ben Bati, M., Chentouf, M., Ibnelbachyr, M., El Amiri, B., Rioux, D., Boulanouarn, B. and Taberlet, P. 2011. Mitochondrial DNA polymorphism in Moroccan goats. *Small Ruminant Research*, 98: 201-5.
- Bertolini, F., Servin, B., Talenti, A., Rochat, E., Kim, E. S., Oget, C. and Crepaldi, P. 2018. Signatures of selection and environmental adaptation across the goat genome post-domestication. *Genetics Selection Evolution*, 50(1):1-24.
- Biçer, O., Keskin, M., Gül, S., Gündüz, Z., Oflaz, N. Z., and Behrem, S. 2019. Comparison of yield characteristics of brown and black headed Awassi sheep. *Mustafa Kemal Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 24(1): 58-61.
- Boettcher, P., Ajmone-Marson, P. and Lenstra J. 2010. Recent development in the genetic characterisation of animal genetic resources. *9th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production*. ss. 54, 1-6 Ağustos, Leipzig, Almanya.
- Boivin, N. and Fuller, D. Q. 2009. Shell middens, ships and seeds: Exploring coastal subsistence, maritime trade and the dispersal of domesticates in and around the ancient Arabian Peninsula. *Journal of World Prehistory*, 22: 113-180.
- Bradley, D. G., MacHugh, D. E., Cunningham, P., and Loftus, R. T. 1996. Mitochondrial diversity and the origins of African and European cattle. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 93(10):5131-5135.
- Brake, M.H., Migdadi, H.M., Sadder, M.T., Awabdeh, S., Jawasreh, K., Obeidat, W., Al Omari, R. and Haddad, N.J. 2021. Complete mitochondrial genome sequence of Awassi-Jo sheep breed (*Ovis aries*) in Jordan. *Mitochondrial DNA Part B*, 6(3):1263-1264.

- Bruford, M. W., and Townsend, S. J. 2006. Mitochondrial DNA diversity in modern sheep. *Documenting domestication: New genetic and archaeological paradigms*. University of California, London, ss.306-316.
- Bruford, M.W. and Townsend S.J. 2006. Mitochondrial DNA diversity in modern sheep. *Documenting domestication: New genetic and archaeological paradigms*, 306-16.
- Bruford, M.W., Bradley D.G. and Luikart G. 2003. DNA markers reveal the complexity of livestock domestication. *Nature Reviews Genetics* ,4: 900-10.
- Bunch T.D. 1978. Fundamental Karyotype in Domestic and Wild-Species of Sheep-Identity and Ranking of Autosomal Acrocentrics Involved in Biarmed Formations. *Journal of Heredity* 69: 77-80.
- Cai, D., Tang, Z., Yu, H., Han, L., Ren, X., Zhao, X. and Zhou, H. (2011). Early history of Chinese domestic sheep indicated by ancient DNA analysis of Bronze Age individuals. *Journal of Archaeological Science*, 38(4): 896-902.
- Castelló J.R. 2016. *Bovids of the World: Antelopes, Gazelles, Cattle, Goats, Sheep, and Relatives*. Princeton University Press, Princeton.
- Chanel, G., and Mühl, C. 2015. Connecting brains and bodies: applying physiological computing to support social interaction. *Interacting with Computers*, 27(5): 534-550.
- Chen, S. Y., Duan, Z. Y., Sha, T., Xiangyu, J., Wu, S. F. and Zhang, Y. P. 2006. Origin, genetic diversity, and population structure of Chinese domestic sheep. *Gene*, 376(2): 216-223.
- Cho, Y. G., Ishii, T., Temnykh, S., Chen, X., Lipovich, L., McCOUCH, S. R., and Cartinhour, S. 2000. Diversity of microsatellites derived from genomic libraries and GenBank sequences in rice (*Oryza sativa* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 100(5): 713.
- Clutton-Brock, J. 1981. Domesticated animals from early times. *Domesticated animals from early times*. pp 51/2 -208.
- Colli, L., Lancioni, H., Cardinali, I., Olivieri, A., Capodiferro, M.R., Pellecchia, M., Rzepus, M., Zamani, W., Naderi, S., Gandini, F., Vahidi, S.M., Agha, S., Randi, E., Battaglia, V., Sardina, M.T., Portolano, B., Rezaei, H.R., Lymberakis, P., Boyer, F., Coissac, E., Pompanon, F., Taberlet, P., Ajmone Marsan, P. and Achilli, A. 2015. Whole mitochondrial genomes unveil the impact of domestication on goat matrilineal variability. *BMC Genomics* 16: 1115.
- Demirci, S. 2012. MtDNA based genetic diversity of native sheep breeds and Anatolian mouflon (*Ovis gmelinii Anatolica*) in Turkey. Yüksek Lisans tezi, Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Ankara.
- Demirci, S., Koban Baştanlar, E., Dağtaş, N.D., Pişkin, E., Engin, A., Özer, F., Yüncü, E., Doğan, Ş.A., Togan, İ. 2013. Mitochondrial DNA Diversity of Modern, Ancient and Wild Sheep (*Ovis gmelinii anatolica*) from Turkey: New Insights on the Evolutionary History of Sheep. *PLOS ONE* ,8(12): e81952.
- Di Lernia, S. 2017. *The archaeology of rock art in Northern Africa*. Oxford University Press: Oxford, UK, ss. 96-969.

- Dymova, M. A., Zadorozhny, A. V., Mishukova, O. V., Khrapov, E. A., Druzhkova, A. S., Trifonov, V. A. and Filipenko, M. L. (2017). Mitochondrial DNA analysis of ancient sheep from Altai. *Animal Genetics*, 48(5): 615-618.
- Excoffier, L. and Heckel, G. 2006. Computer programs for population genetics data analysis: a survival guide. *Nature Reviews Genetics*, 7(10): 745-758.
- Excoffier, L., Laval, G. and Schneider, S. 2005. Arlequin (version 3.0): an integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics*, 1: 117693430500100003.
- Excoffier, L., Smouse, P. E., and Quattro, J. 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics*, 131(2): 479-491.
- FAO, 2019. The State of the World's Biodiversity for Food and Agriculture, FAO: Rome, Italy.
- FAO. 2020. Faostat-Production, <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QA>. [Erişim tarihi: 05.05.2022]
- Farris, J. S. 1972. Estimating phylogenetic trees from distance matrices. *The American Naturalist*, 106(951): 645-668.
- Ferencakovic, M., Curik, I., Pérez-Pardal, L., Royo, L.J., Cubric-Curik, V., Fernández, I., Álvarez, I., Kostelic, A., Sprem, N., Krapinec, K. and Goyache, F. 2013. Mitochondrial DNA and Y-chromosome diversity in East Adriatic sheep. *Animal Genetics*, 44(2):184-192.
- Festa-Bianchet M. 2000. A summary of discussion on the taxonomy of mountain ungulates and its conservation implications. Workshop on Caprinae taxonomy, Ankara, Turkey.
- Galal, S., Gürsoy, O., and Shaat, I. 2008. Awassi sheep as a genetic resource and efforts for their genetic improvement—A review. *Small Ruminant Research*, 79(2-3): 99-108.
- Galtier, N., Nabholz, B., Glémin, S., and Hurst, G. D. 2009. Mitochondrial DNA as a marker of molecular diversity: a reappraisal. *Molecular ecology*, 18(22): 4541-4550.
- Gaouar, S.B., Da Silva, A., Ciani, E., Kdidi, S., Aouissat, M., Dhimi, L., Lafri, M., Maftah, A. & Mehtar, N. 2015. Admixture and local breed marginalization threaten Algerian sheep diversity. *PLoS One*, 10: e0122667.
- Gáspárdy, A., Berger, B., Zabavnik-Piano, J., Kovács, E., Annus, K., Zenke, P., Sáfár, L. and Maróti-Agóts, Á. 2021. Comparison of mtDNA control region among descendant breeds of the extinct Zaupel sheep revealed haplogroup C and D in Central Europe. *Veterinary medicine and science*, 7(6): 2330-2338.
- Geist, V. (1971). Mountain sheep. A study in behavior and evolution. University of Chicago Press, ss. 383.
- Ghernouti, N., Bodinier, M., Ranebi, D., Maftah, A., Petit, D. and Gaouar, S.B.S. 2017. Control Region of mtDNA identifies three migration events of sheep breeds in Algeria. *Small Ruminant Research*, 155: 66-71.

- Giuffra, E.J.M.H., Kijas, J.M.H., Amarger, V., Carlborg, Ö., Jeon, J.T. and Andersson, L. 2000. The origin of the domestic pig: independent domestication and subsequent introgression. *Genetics*, 154(4):1785-1791.
- Gizaw, S., Getachew, T., Goshme, S., Valle-Zárate, A., van Arendonk, J.A., Kemp, S., Mwai, A.O. and Dessie, T. 2014. Efficiency of selection for body weight in a cooperative village breeding program of Menz sheep under smallholder farming system. *Animal*, 8(8):1249-1254.
- Gootwine, E. 2011. Mini review: breeding Awassi and Assaf sheep for diverse management conditions. *Tropical animal health and production*, 43: 1289-1296.
- Gornas, N., Weimann, C., El Hussien, A. and Erhardt, G. 2011. Genetic characterization of local Sudanese sheep breeds using DNA markers. *Small Ruminant Research*, 95(1): 27-33.
- Griffiths, T. L., Chater, N., Norris, D., and Pouget, A. (2012). How the Bayesians got their beliefs (and what those beliefs actually are). *Psychological Bulletin*, 138: 415– 422.
- Grisolia, A. B., and Moreno-Cotulio, V. R. 2012. Molecular markers and genetic diversity in Neotropical felids. *Analysis of Genetic Variation in Animals, InTech, Rijeka*, 105-118.
- Guo, J., Du, L. X., Ma, Y. H., Guan, W. J., Li, H. B., Zhao, Q. J., and Rao, S. Q. 2005. A novel maternal lineage revealed in sheep (Ovisaries). *Animal Genetics*, 36(4): 331-336.
- Guo, Z., Zhao, S., Fan, H., Du, Y., Zhao, Y., and Wang, G. 2016. Identification of sequence polymorphisms in the D-Loop region of mitochondrial DNA as a risk factor for colon cancer. *Mitochondrial DNA Part A*, 27(6): 4244-4245.
- Gupta, A. (2015). Biodiversity and Endangered Species.
- Gupta, A., Bhardwaj, A., Sharma, P. and Pal Y. 2015. Mitochondrial DNA-a tool for phylogenetic and biodiversity search in equines. *Biodiversity and Endangered Species*, 331 (2): 2-12.
- Gürsu, G., and Aygün, T. 2014. Some characteristics of milk yield in Awassi ewes maintained at village conditions. *Journal of Advanced Agricultural Technologies Vol, 1*(1).
- Hartl, D. L. and Clark, A. G. 2007. Principles of population genetics, fourthth edn. Sunderland, Massachusetts, USA Amsterdam, ss. 90-340.
- Hedrick, P. W. 2005. A standardized genetic differentiation measure. *Evolution*, 59(8): 1633-1638.
- Hiendleder, S., Kaupe, B., Wassmuth, R., Janke, A. 2002. Molecular analysis of wild and domestic sheep questions current nomenclature and provides evidence for domestication from two different subspecies. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 269 (1494):893-904.
- Hiendleder, S., Lewalski, H., Wassmuth, R. and Janke, A. 1998. The complete mitochondrial DNA sequence of the domestic sheep (Ovisaries) and comparison with the other major ovine haplotype. *J Mol Evol* 47, 441-8.

- Ho, S. Y., and Gilbert, M. T. P. 2010. Ancient mitogenomics. *Mitochondrion*, 10(1): 1-11.
- Horsburgh, K.A. and Rhines A. 2010. Genetic characterization of an archaeological sheep assemblage from South Africa's Western Cape. *Archaeological Science* 37: 2906-10.
- Hussain, M.S., 2022. Türkiye ve Pakistan koyun ırkları arasındaki mtDNA D-loop ilişkisinin araştırılması. Doktora tezi, Afyon Kocatepe Üniversitesi, Afyonkarahisar.
- Imes, D. L., Wictum, E. J., Allard, M. W., and Sacks, B. N. 2012. Identification of single nucleotide polymorphisms within the mtDNA genome of the domestic dog to discriminate individuals with common HVI haplotypes. *Forensic Science International: Genetics*, 6(5): 630-639.
- Jombart, T. 2008. adegenet: a R package for the multivariate analysis of genetic markers. *Bioinformatics*, 24(11): 1403-1405.
- Jordan Ministry of Agriculture. 2019. Annual Report of Animal Census and Statistics. Ministry of Agriculture. *Raporu*, No: 1750, Jordan.
- Kim, J., Kim, S., Lee, J.S., Kim, P.B. and Cui, Y. 2020. Influence of choice architecture on the preference for a pro-environmental hotel. *Journal of Travel Research*, 59(3): 512-527.
- Kimura, M. 1968. Evolutionary rate at the molecular level. *Nature*, 217: 624-626.
- Koban, E. 2004. Genetic diversity of native and crossbreed sheep breeds in Anatolia. Doktora tezi, Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Ankara.
- Kong, S. 2015. *On the use of median-joining networks: A philosophical and empirical evaluation of its suitability in evolutionary biology*. University of Toronto, Canada
- Kruskal, J. B. 1956. On the shortest spanning subtree of a graph and the traveling salesman problem. *Proceedings of the American Mathematical society*, 7(1): 48-50.
- Kumar, S., Stecher, G. and Tamura, K. 2016. MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular biology and evolution*, 33(7): 1870-1874.
- Kvist, L. 2000. Phylogeny and phylogeography of European Parids. Oulu University Library, Oulun Yliopisto, Oulu.
- Lancioni, H., Di Lorenzo, P., Ceccobelli, S., Perego, U. A., Miglio, A., Landi, V., and Achilli, A. 2013. Phylogenetic relationships of three Italian merino-derived sheep breeds evaluated through a complete mitogenome analysis. *PloS one*, 8(9): e73712.
- Lanier, H. C., and Olson, L. E. 2009. Inferring divergence times within pikas (*Ochotona* spp.) using mtDNA and relaxed molecular dating techniques. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 53(1): 1-12.
- Larson, G. and Burger, J. 2013. A population genetics view of animal domestication. *Trends in Genetics*. 29:197-205.

- Larson, G., Dobney, K., Albarella, U., Fang, M., Matisoo-Smith, E., Robins, J., and Cooper, A. 2005. Worldwide phylogeography of wild boar reveals multiple centers of pig domestication. *Science*, 307(5715):1618-1621.
- Lewin, B. 1987. Genes. Third edition., John Wiley and Sons, Canada, pp.422-431.
- Librado, P. and Rozas, J. 2009. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*, 25(11): 1451-1452.
- Liu, J., Ding, X., Zeng, Y., Yue, Y., Guo, X., Guo, T., and Yuan, C. 2016. Genetic diversity and phylogenetic evolution of Tibetan sheep based on mtDNA D-Loop sequences. *PLoS One*, 11(7): e0159308.
- Liu, J., Ding, X., Zeng, Y., Yue, Y., Guo, X., Guo, T., Chu, M., Wang, F., Han, J., Feng, R., Sun, X., Niu, C., Yang, B., Guo, J. and Yuan, C. 2016. Genetic Diversity and Phylogenetic Evolution of Tibetan Sheep Based on mtDNA D-loop Sequences. *PLoS One*, 11: e0159308.
- Loftus, R. T., Ertugrul, O., Harba, A. H., El-Barody, M. A. A., MacHugh, D. E., Park, S. D. E., and Bradley, D. G. 1999. A microsatellite survey of cattle from a centre of origin: the Near East. *Molecular Ecology*, 8(12): 2015-2022.
- Loftus, R. T., Ertugrul, O., Harba, A. H., El-Barody, M. A. A., MacHugh, D. E., Park, S. D. E. and Bradley, D. G. 1999. A microsatellite survey of cattle from a centre of origin: the Near East. *Molecular Ecology*, 8(12): 2015-2022.
- Loftus, R. T., Hugh, D. M., Ngere, L. O., Balain, D. S., Badi, A. M., Bradley, D. G., and Cunningham, E. P. 1994. Mitochondrial genetic variation in European, African and Indian cattle populations. *Animal Genetics*, 25(4): 265-271.
- Loftus, R.T., Hugh, D.M., Ngere, L.O., Balain, D.S., Badi, A.M., Bradley, D.G. and Cunningham, E.P. 1994. Mitochondrial genetic variation in European, African and Indian cattle populations. *Animal Genetics*, 25(4):.265-271.
- Luikart, G., Fernández, H., Mashkour, M., England, P., Taberlet, P., Zeder, M., Emshwiller, E., Smith, B. and Bradley, D. 2006. Origins and diffusion of domestic goats inferred from DNA markers. Documenting domestication: New genetic and archaeological paradigms, 294-305.
- Luikart, G., Gielly, L., Excoffier, L., Vigne, J. D., Bouvet, J., and Taberlet, P. 2001. Multiple maternal origins and weak phylogeographic structure in domestic goats. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98(10): 5927-5932.
- Luo, Y.-Z., Cheng, S.-R., Batsuuri, L., Badamdorj, D., Olivier, H. and Han J.-L. 2005. Origin and genetic diversity of Mongolian and Chinese sheep using mitochondrial DNA D-loop sequences. *Acta Genetica Sinica* 32: 1256-65.
- Lv, F. H., Agha, S., Kantanen, J., Colli, L., Stucki, S., Kijas, J. W., and Ajmone Marsan, P. (2014). Adaptations to climate-mediated selective pressures in sheep. *Molecular biology and evolution*, 31(12): 3324-3343.
- Lv, F. H., Peng, W. F., Yang, J., Zhao, Y. X., Li, W. R., Liu, M. J., and Li, M. H. 2015. Mitogenomic meta-analysis identifies two phases of migration in the history of eastern Eurasian sheep. *Molecular biology and evolution*, 32(10): 2515-2533.

- Machová, K., Málková, A. and Vostrý, L. 2022. Sheep post-domestication expansion in the context of mitochondrial and Y chromosome haplogroups and haplotypes. *Genes*, 13(4): 613.
- MacHugh, D. E. and Bradley, D. G. 2001. Livestock genetic origins: goats buck the trend. *National Academy of Sciences*, 98(10): 5382-5384.
- Mariotti, M., Valentini, A., Marsan, P.A. and Pariset, L. 2013. Mitochondrial DNA of seven Italian sheep breeds shows faint signatures of domestication and suggests recent breed formation. *Mitochondrial DNA*, 24(5): 577-583.
- Meadows, J. R., Cemal, I., Karaca, O., Gootwine, E., and Kijas, J. W. 2007. Five ovine mitochondrial lineages identified from sheep breeds of the near East. *Genetics*, 175(3): 1371-1379.
- Meadows, J.R., Cemal, I., Karaca, O., Gootwine, E. and Kijas, J.W. 2007. Five ovine mitochondrial lineages identified from sheep breeds of the near East. *Genetics* 175:1371-9.
- Meadows, J.R., Hiendleder, S. and Kijas, J.W. 2011. Haplogroup relationships between domestic and wild sheep resolved using a mitogenome panel. *Heredity*, 106: 700-6.
- Meadows, J.R.S., Hanotte, O., Drögemüller, C., Calvo, J., Godfrey, R., Coltman, D., Maddox, J.F., Marzanov, N., Kantanen, J. and Kijas, J.W. 2006. Globally dispersed Y chromosomal haplotypes in wild and domestic sheep. *Animal Genetics*, 37(5):444-453.
- Meadows, J.R.S., Kantanen, K. LI, J., Tapio, M., Sipos, W., Pardeshi, V., Gupta, V., Calvo, J.H., Whan, V., Norris, B., Kijas J.W. 2005. Mitochondrial Sequence Reveals high Levels of Gene Flow Between Breeds of Domestic Sheep from Asia and Europe. *Journal of Heredity* 96: 494-501.
- Miao, Y. W., Peng, M. S., Wu, G. S., Ouyang, Y. N., Yang, Z. Y., Yu, N., and Zhang, Y. P. 2013. Chicken domestication: an updated perspective based on mitochondrial genomes. *Heredity*, 110(3): 277-282.
- Miller, J. F., Dower, W. J. and Tompkins, L. S. 1988. High-voltage electroporation of bacteria: genetic transformation of *Campylobacter jejuni* with plasmid DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 85(3): 856-860.
- Mishra, A.K., Ahlawat, S., Sharma, R., Arora, R., Singh, S. and Jain, A. 2023. Assessment of genetic diversity of the fat-tailed Dumba sheep of India by mitochondrial and microsatellite markers. *Animal Biotechnology*:1-10.
- Molaei, V., Bazzucchi, M., De Mia, G.M., Otarod, V., Abdollahi, D., Rosati, S. and Lühken, G. 2020. Phylogenetic analysis of small ruminant lentiviruses in Germany and Iran suggests their expansion with domestic sheep. *Scientific reports*, 10(1):1-12.
- Moradi, M. and Hosseinzadeh, S. 2017. The Role of Corporate Governance in Firms Financial Distress: Pre-and Post-Internal Controls Instruction. *Financial Accounting Research*, 9(3):.67-90.
- Naderi, S., Rezaei, H. R., Pompanon, F., Blum, M. G., Negrini, R., Naghash, H. R., and Taberlet, P. 2008. The goat domestication process inferred from large-scale

- mitochondrial DNA analysis of wild and domestic individuals. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(46): 17659-17664.
- Naderi, S., Rezaei, H. R., Taberlet, P., Zundel, S., Rafat, S. A., Naghash, H. R., and Econogene Consortium. 2007. Large-scale mitochondrial DNA analysis of the domestic goat reveals six haplogroups with high diversity. *Plos one*, 2(10): e1012.
- Naderi, S., Rezaei, H.R., Taberlet, P., Zundel, S., Rafat, S.A., Naghash, H.R., el-Barody, M.A., Ertugrul, O., Pompanon, F. and Econogene, C. 2007. Large-scale mitochondrial DNA analysis of the domestic goat reveals six haplogroups with high diversity. *PLoS One*, 2: e1012.
- Nadler, C. F., Hoffmann, R. S., and Woolf, A. 1973. G-band patterns as chromosomal markers, and the interpretation of chromosomal evolution in wild sheep (*Ovis*). *Experientia*, 29(1): 117-119.
- Nei, M. 1972. Genetic distance between populations. *The American Naturalist*, 106(949): 283-292.
- Nei, M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*, 89(3): 583-590.
- Nei, M. and Kumar, S. 2000. *Molecular evolution and phylogenetics*. Oxford University Press, USA.
- Neiman, M., and Taylor, D. R. 2009. The causes of mutation accumulation in mitochondrial genomes. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 276(1660):1201-1209.
- Niemi, M., Blauer, A., Iso-Touru, T., Nystrom, V., Harjula, J., Taavitsainen, J.P., Stora, J., Liden, K. and Kantanen J. 2013. Mitochondrial DNA and Y-chromosomal diversity in ancient populations of domestic sheep (*Ovis aries*) in Finland: comparison with contemporary sheep breeds. *Genetics Selection Evolution*, 45:1-14.
- Nigussie, H., Mwacharo, J.M., Osama, S., Agaba, M., Mekasha, Y., Kebede, K., Abegaz, S. and Pal, S.K. 2019. Genetic diversity and matrilineal genetic origin of fat-rumped sheep in Ethiopia. *Tropical animal health and production*, 51:1393-1404.
- Nomura, K., Yonezawa, T., Mano, S., Kawakami, S., Shedlock, A. M., Hasegawa, M., and Amano, T. 2013. Domestication process of the goat revealed by an analysis of the nearly complete mitochondrial protein-encoding genes. *PLoS One*, 8(8): e67775.
- Olivieri, C., Ermini, L., Rizzi, E., Corti, G., Luciani, S., Marota, I., and Rollo, F. 2012. Phylogenetic position of a copper age sheep (*Ovis aries*) mitochondrial DNA. *PLoS One*, 7 (3): e33792.
- Olivieri, C., Ermini, L., Rizzi, E., Corti, G., Luciani, S., Marota, I. and Rollo, F. 2012. Phylogenetic position of a copper age sheep (*Ovis aries*) mitochondrial DNA. *PLoS One*, 7(3), e33792.
- Oner, Y., Calvo, J. H. and Elmaci, C. 2013. Investigation of the genetic diversity among native Turkish sheep breeds using mtDNA polymorphisms. *Tropical animal health and production*, 45: 947-951.

- Othman, O.E.M., Payet-Duprat, N., Harkat, S., Laoun, A., Maftah, A., Lafri, M. and Da Silva, A. 2016. Sheep diversity of five Egyptian breeds: Genetic proximity revealed between desert breeds: Local sheep breeds diversity in Egypt. *Small Ruminant Research*, 144: 346-352.
- Ozdemir, M., Bilgin, O.C. and Esenbuga, N., 2011. Determination of genetic distance between Turkish sheep breeds with various methods using some blood protein loci. *J. Animal and Plant Science*, 21(3):459-464.
- Ozmen, O., Kul, S. and Gok, T., 2020. Determination of genetic diversity of the Akkaraman sheep breed from Turkey. *Small Ruminant Research*, 182: 37-45.
- Özdil, F. 2007. Mitokondriyel DNA PCR-RFLP (Restriction Parça Uzunluk Polimorfizmi) markerleri kullanılarak Türkiye'nin farklı yörelerine ait bal arılarının tanımlanması. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Pagliarini, D. J., and Rutter, J. 2013. Hallmarks of a new era in mitochondrial biochemistry. *Genes and development*, 27(24): 2615-2627.
- Palestinian Central Bureau of Statistics. 2019. Agricultural statistics 2019/2020. Raporu, No: 22, Ramallah, Palestine.
- Paradis, E, Claude, J, Strimmer, K. 2008. Analyses of phylogenetics and evolution in R language. *Bioinformatics.*; 20(2): 289–290.
- Paradis, J. 2010. The interface between bilingual development and specific language impairment. *Applied psycholinguistics*, 31(2): 227-252.
- Pariset, L., Mariotti, M., Gargani, M., Joost, S., Negrini, R., Perez, T., and Valentini, A. (2011). Genetic diversity of sheep breeds from Albania, Greece, and Italy assessed by mitochondrial DNA and nuclear polymorphisms (SNPs). *J. TheScientificWorld*, 11: 1641-1659.
- Pedrosa, S., Uzun, M., Arranz, J. J., Gutiérrez-Gil, B., San Primitivo, F., and Bayón, Y. 2005. Evidence of three maternal lineages in Near Eastern sheep supporting multiple domestication events. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 272(1577): 2211-2217.
- Pedrosa, S., Uzun, M., Arranz, J.J., Gutierrez-Gil, B., San Primitivo, F. and Bayon Y. 2005. Evidence of three maternal lineages in Near Eastern sheep supporting multiple domestication events. *Biological Sciences* 272: 2211-7.
- Peng, M. S., Fan, L., Shi, N. N., Ning, T., Yao, Y. G., Murphy, R. W., and Zhang, Y. P. 2015. DOME: a canonical toolkit for mitochondrial DNA analyses in domesticated animals. *Molecular ecology resources*, 15(5): 1238-1242.
- Pereira, F., Davis, S. J., Pereira, L., McEvoy, B., Bradley, D. G., and Amorim, A. 2006. Genetic signatures of a Mediterranean influence in Iberian Peninsula sheep husbandry. *Molecular Biology and Evolution*, 23(7): 1420-1426.
- Pereira, F., Queiros, S., Gusmao, L., Nijman, I.J., Cuppen, E., Lenstra, J.A., Econogene, C., Davis, S.J., Nejmeddine, F. and Amorim, A. 2009. Tracing the history of goat pastoralism: new clues from mitochondrial and Y chromosome DNA in North Africa. *Molecular Biology and Evolution*, 26: 2765-73.

- Peters, J., Von den Dreisch, A., and Helmer, D. 2005. *The upper Euphrates-Tigris basin: cradle of agro-pastoralism*. pp 96-124.
- Piljug, A. Y., and Yildiz, M. A. T. D. 2016. Bosna Hersek yerli koyunları ve keçilerindeki mitokondriyal DNA (mtDNA) d-loop polimorfizmi. Master Thesis, Middle East Technical University. Ankara Üniversitesi TURKEY, 94 p.
- Popescu, A. A., Huber, K. T. and Paradis, E. 2012. ape 3.0: New tools for distance-based phylogenetics and evolutionary analysis in R. *Bioinformatics*, 28(11):1536-1537.
- Pritchard, J. K., Stephens, M., Rosenberg, N. A. and Donnelly, P. 2000. Association mapping in structured populations. *The American Journal of Human Genetics*, 67(1): 170-181.
- Rafia, P. and Tarang, A. 2016. Sequence variations of mitochondrial DNA displacement-loop in Iranian indigenous sheep breeds. *Iranian Journal of Applied Animal Science*, 6(2): 363-368.
- Raheem Alnajm, H., Alijani, S., Javanmard, A., Rafat, S.A. and Hasanpur, K. 2021. Estimation of Diversity Structure, Genetic Bottleneck of Three Iraqi Sheep Breeds using Microsatellite Markers. *Animal Environment*, 13(3):1-12.
- Rashaydeh, F. S., Sholi, N., and Al-Atiyat, R. M. 2020. Genetic polymorphisms of milk genes (β -lactoglobulin and κ -casein) in indigenous Awassi and improved Awassi sheep of Palestine. *Development*, 32(5).
- Reicher, S., Seroussi, E., Weller, J.I., Rosov, A. and Gootwine, E. 2012. Ovine mitochondrial DNA sequence variation and its association with production and reproduction traits within an Afec-Assaf flock. *Journal of animal science*, 90(7): 2084-2091.
- Reist-Marti, S. B., Simianer, H., Gibson, J., Hanotte, O., Rege, J. E. O., 2003. Weitzman's Approach and Conservation of Breed Diversity: *Application to African Cattle Breeds*. *Conservation Biology* 17: 1299-1311.
- Resende, A., Goncalves, J., Muigai, A.W. and Pereira, F. (2016) Mitochondrial DNA variation of domestic sheep (*Ovis aries*) in Kenya. *Animal genetics* 47: 377-81.
- Rezaei, H. R., Naderi, S., Chintauan-Marquier, I. C., Taberlet, P., Virk, A. T., Naghash, H. R., and Pompanon, F. 2010. Evolution and taxonomy of the wild species of the genus *Ovis* (Mammalia, Artiodactyla, Bovidae). *Molecular phylogenetics and evolution*, 54(2): 315-326.
- Rocha, J., Chen, S., and Beja-Pereira, A. 2011. Molecular evidence for fat-tailed sheep domestication. *Tropical animal health and production*, 43: 1237-1243.
- Roots, C. 2007. Domestication "Some Early Domesticates". Greenwood Press, London pp.13-540
- Ropiquet, A., and Hassanin, A. (2005). Molecular phylogeny of caprines (Bovidae, Antilopinae): the question of their origin and diversification during the Miocene. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, 43(1): 49-60.
- Rosa, A. D. M., and Paiva, S. R. 2009. [Erişim tarihi: 16.07.2022] <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/661935>

- Ryder, M. L. 1983. *Sheep and man*. Gerald Duckworth and Co. London, pp. 846
- SAGAS, 2016. General Authority for Statistics. The General Population and Housing Census. *Raporu*, No: 26, Saudi Arabia.
- Saiki, R.K., Gelfand, D.H., Stoffel, S., Scharf, S.J., Higuchi, R., Horn, G.T., Mullis, K.B. and Erlich, H.A. 1988 Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science* 239: 487-91.
- Saitou, N. and Nei, M. 1987. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular biology and evolution*, 4(4): 406-425.
- Salim, B., Alasmari, S., Mohamed, N.S., Ahmed, M.K.A., Nakao, R. and Hanotte, O. 2023. Genetic variation and demographic history of Sudan desert sheep reveal two diversified lineages. *BMC genomics*, 24(1):118.
- Sanna, D., Barbato, M., Hadjisterkotis, E., Cossu, P., Decandia, L., Trova, S., Pirastu, M., Leoni, G.G., Naitana, S., Francalacci, P. and Masala, B. 2015. The first mitogenome of the Cyprus mouflon (*Ovis gmelini ophion*): new insights into the phylogeny of the genus *Ovis*. *PloS one*, 10(12): e0144257.
- Sardina, M. T., Ballester, M., Marmi, J., Finocchiaro, R., Van Kaam, J. B. C. H. M., Portolano, B., and Folch, J. M. 2006. Phylogenetic analysis of Sicilian goats reveals a new mtDNA lineage. *Animal genetics*, 37(4): 376-378.
- Scheu, A., Geörg, C., Schulz, A., Burger, J. and Benecke, N. 2012. The arrival of domesticated animals in South-Eastern Europe as seen from ancient DNA. *Population Dynamics in Prehistory and Early History*, ed. by Kaiser, Elke, J. Burger, and W. Schier: 45-54.
- Schierwater, B., Streit, B., Wagner, G. P., and DeSalle, R. (Eds.). 2013. Molecular ecology and evolution: approaches and applications. Elsevier, *Birkhäuser*, pp. 58-69.
- Schroeder, O., Benecke, N., Frölich, K., Peng, Z., Kaniuth, K., Sverchkov, L. and Ludwig, A. 2017. Endogenous retroviral insertions indicate a secondary introduction of domestic sheep lineages to the Caucasus and Central Asia between the Bronze and Iron Age. *Genes*, 8(6): 165.
- Shackleton, D. M. 1997. Wild sheep and goats and their relatives: status survey and conservation action plan for Caprinae. Chicago Zoological Society, US, pp. 7-390.
- Sharma, R., Ahlawat, S., Sharma, H., Sharma, P., Panchal, P., Arora, R. and Tandia, M.S. 2020. Microsatellite and mitochondrial DNA analyses unveil the genetic structure of native sheep breeds from three major agro-ecological regions of India. *Scientific reports*, 10(1): 1-13.
- Singh, S., Kumar Jr, S., Kolte, A. P. and Kumar, S. 2013. Extensive variation and sub-structuring in lineage A mtDNA in Indian sheep: genetic evidence for domestication of sheep in India. *PLoS One*, 8(11): e77858.
- Suleman, R., Hui, T., Wang, Z., Alarcon-Rojo, A. D., Liu, H., and Zhang, D. 2022. Semi-Quantitative and Qualitative Distinction of Aromatic and Flavour Compounds in Charcoal Grilled, Electric Barbecue Grilled, Infrared Grilled and Superheated-

- Steam Roasted Lamb Meat Patties Using GC/MC, E-nose and E-tongue. *Separations*, 9(3): 71.
- Tajima, F. 1989. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics*, 123(3): 585-595.
- Talafha, A. Q., and Ababneh, M. M. 2011. Awassi sheep reproduction and milk production. *Tropical animal health and production*, 43:1319-1326.
- Tamura, K., Nei, M. and Kumar, S. 2004. Prospects for inferring very large phylogenies by using the neighbor-joining method. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(30): 11030-11035.
- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A. and Kumar, S. 2013. MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Molecular biology and evolution*, 30(12): 2725-2729.
- Tanaka, K., Solis, C.D., Masangkay, J.S., Maeda, K.I., Kawamoto, Y. and Namikawa, T. 1996. Phylogenetic relationship among all living species of the genus *Bubalus* based on DNA sequences of the cytochrome b gene. *Biochemical genetics*, 34: 443-452.
- Tapio, M., Marzanov, N., Ozerov, M., Činkulov, M., Gonzarenko, G., Kiselyova, T., and Kantanen, J. 2006. Sheep mitochondrial DNA variation in European, Caucasian, and Central Asian areas. *Molecular biology and evolution*, 23(9): 1776-1783.
- Toro, M. A., Fernández, J., and Caballero, A. 2009. Molecular characterization of breeds and its use in conservation. *Livestock Science*, 120(3): 174-195.
- Torrioni, A., Achilli, A., Macaulay, V., Richards, M. and Bandelt, H. J. 2006. Harvesting the fruit of the human mtDNA tree. *TRENDS in Genetics*, 22(6): 339-345.
- Torrioni, A., Huoponen, K., Francalacci, P., Petrosz, M., Morelli, L., Scozzari, R., and Wallace, D. C. 1996. Classification of European mtDNAs from an analysis of three European populations. *Genetics*, 144(4): 1835-1850.
- Torrioni, A., Schurr, T. G., Cabell, M. F., Brown, M. D., Neel, J. V., Larsen, M., and Wallace, D. C. (1993). Asian affinities and continental radiation of the four founding Native American mtDNAs. *American journal of human genetics*, 53(3): 563.
- Troy, C. S., MacHugh, D. E., Bailey, J. F., Magee, D. A., Loftus, R. T., Cunningham, P. and Bradley, D. G. 2001. Genetic evidence for Near-Eastern origins of European cattle. *Nature*, 410(6832): 1088-1091.
- TÜİK. 2022. "Hayvancılık Verileri", <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=101&locale=tr> [Son erişim tarihi: 14.01.2022].
- Vilà, C., Leonard, J. A., Gotherstrom, A., Marklund, S., Sandberg, K., Lidén, K., and Ellegren, H. 2001. Wide spread origins of domestic horse lineages. *Science*, 291(5503): 474-477.
- Wakeley, J. 1996. The excess of transitions among nucleotide substitutions: new methods of estimating transition bias underscore its significance. *Trends in ecology and evolution*, 11(4): 158-162.

- Wang, G. D., Xie, H. B., Peng, M. S., Irwin, D., and Zhang, Y. P. 2014. Domestication genomics: evidence from animals. *Annual Review of Animal Biosciences*, 2(1): 65-84.
- Wenink, P.W., Baker, A.J. and Tilanus, M.G.J. 1994. Mitochondrial control region sequences in two shorebird species, the Turnstone and the Dunlin, and their utility in their population genetic studies. *Molecular Biology and Evolution*. II (1): 22-31.
- Wilson, D. E., and Reeder, D. M. 1993. Mammal species of the world: a taxonomic and geographic reference (Vol. 1). JHU press.
- Wood, N. J., and Phua, S. H. 1996. Variation in the control region sequence of the sheep mitochondrial genome. *Animal genetics*, 27(1): 25-33.
- Wood, N. J., and Phua, S. H. 1996. Variation in the control region sequence of the sheep mitochondrial genome. *Animal genetics*, 27(1): 25-33.
- Wright, L. D. 1978. River deltas. *Coastal sedimentary environments*, 5-68.
- Wu, G. S., Yao, Y. G., Qu, K. X., Ding, Z. L., Li, H. and Palanichamy, M. G. 2007. dUAN zy, Li N, Chen YS, Zhang YP. Population phylogenomic analysis of mitochondrial DNA in wild boars and domestic pigs revealed multiple domestication events in East Asia. *Genome Biol*, 8: 245.
- Wu, Y. P., Huo, J. H., Guan, W. J., Xie, J. F., and Ma, Y. H. 2012. Sequence analysis of four caprine mitochondria DNA lineages. *Italian Journal of Animal Science*, 11(4): e69.
- Yeomans, L., Martin, L., and Richter, T. 2017. Expansion of the known distribution of Asiatic mouflon (*Ovis orientalis*) in the Late Pleistocene of the Southern Levant. *Royal Society open science*, 4 (8): 170409.
- Yilmaz, O., Cemal, I. and Karaca, O. 2014. Genetic diversity in nine native Turkish sheep breeds based on microsatellite analysis. *Animal Genetics*, 45(4):604-608.
- Yu, G., Smith, D. K., Zhu, H., Guan, Y. and Lam, T. T. Y. 2017. ggtree: an R package for visualization and annotation of phylogenetic trees with their covariates and other associated data. *Methods in Ecology and Evolution*, 8(1): 28-36.
- Yüncü, E., 2009. *Mitochondrial DNA (mtDNA) haplogroup composition in Turkish sheep breeds*. Master's thesis, Middle East Technical University, Istanbul, 88 p.
- Zardoya, R., Garrido-Pertierra, A., and Bautista, J. M. 1995. The complete nucleotide sequence of the mitochondrial DNA genome of the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Journal of Molecular Evolution*, 41:942-951.
- Zeder, M. A. 2008. Domestication and early agriculture in the Mediterranean Basin: Origins, diffusion, and impact. *National Academy of Sciences*, 105(33):11597-11604.
- Zeder, M.A. 2017. Domestication as a model system for the extended evolutionary synthesis. *Interface Focus*, 7(5): 20160133.
- Zhao, Y., Tian, J., Sui, S., Yuan, X., Chen, H., Qu, C. and Du, H. 2017. Loss of succinyl-CoA synthase ADP-forming β subunit disrupts mtDNA stability and mitochondrial dynamics in neurons. *Scientific Reports*, 7(1): 1-10.

ÖZGEÇMİŞ

Faisal Saleh Khalel RASHAYDA

ÖĞRENİM BİLGİLERİ

Doktora 2018-2023	Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarımsal Biyoteknoloji ABD, Antalya
Yüksek Lisans 2016-2018	Filistin Teknik Üniversitesi – Kadoorie, Tarımsal Biyoteknoloji, Filistin
Lisans 2006-2010	Mutah University Ziraat Fakültesi, Hayvan Koruma Bölümü, Ürdün

MESLEKİ VE İDARİ GÖREVLER

Filistin Tarım Bakanlığı 2010-Devam Ediyor	Yayım ve Kırsal Kalkınma Genel Müdürlüğü
---	--

ESERLER

Uluslararası hakemli dergilerde yayımlanan makaleler

1- **Rashaydeh, F.S.**, Sholi, N. and Al-Atiyat, R. M. 2020. Genetic polymorphisms of milk genes (β -lactoglobulin and κ -casein) in indigenous Awassi and improved Awassi sheep of Palestine. Development, 32(5).

2- Halawa, W., Al-Atiyat, R.M., Omar, J.A., **Rashaydeh, F.S.**, Ullah, F., Shakirullah and Yildiz, B.İ. 2023. Effect of Natural and Artificial Sucking on Performance and Mortality of Newborn Assaf Lambs. Pakistan Journal of Zoology (Accepted).

Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında basılan bildiriler

1- **RASHAYDA F.S**, YILDIZ B.İ, MEYDAN H, AL-ATİYET R., **2023**. Neoplastic Diseases in Sheep. “4. International Cukurova Agriculture and Veterinary Congress”, November 27-28, Adana/TURKIYE, Congress Book, Page: 4 (Sözlü/Özet).

2- **RASHAYDA F.S**, MEYDAN H. 2022. The Review Of The Genetic Diversity In Awassi Sheep Breeds In Fertile Crescent Based On Microsatellites. “ICABGEH”.

3- **RASHAYDA F.S**, MEYDAN H., AL-ATİYAT R.M. 2021. Genetic Variation Of B-Lactoglobulin And Kappa Casein Genes And Their Effect On Milk Composition In Local And Improved Awassi Sheep Reared In Palestine. “ICABGEH”.

