

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ**



**TÜRKİYE YERLİ SIĞIR IRKLARINDA GENETİK ÇEŞİTLİLİK VE
SELEKSİYON İZLERİNİN YÜKSEK YOĞUNLUKTA SNP VERİLERLE
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Eymen DEMİR

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ZOOTEKNİ

ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

AĞUSTOS 2023

ANTALYA

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ**



**TÜRKİYE YERLİ SIĞIR IRKLARINDA GENETİK ÇEŞİTLİLİK VE
SELEKSİYON İZLERİNİN YÜKSEK YOĞUNLUKTA SNP VERİLERLE
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Eymen DEMİR

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ZOOTEKNİ

ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

AĞUSTOS 2023

ANTALYA

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

**TÜRKİYE YERLİ SIĞIR IRKLARINDA GENETİK ÇEŞİTLİLİK VE
SELEKSİYON İZLERİNİN YÜKSEK YOĞUNLUKTA SNP VERİLERLE
DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Eymen DEMİR
ZOOTEKNİ
ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

**Bu tez Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi
tarafından FDK-2022-5876 nolu proje ile desteklenmiştir.**

AĞUSTOS 2023

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**TÜRKİYE YERLİ SIĞIR IRKLARINDA GENETİK ÇEŞİTLİLİK VE
SELEKSİYON İZLERİNİN YÜKSEK YOĞUNLUKTA SNP VERİLERLE
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Eymen DEMİR
ZOOTEKNİ
ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ

Bu tez 03/08/2023 tarihinde jüri tarafından Oybirliği ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Murat Soner BALCIOĞLU (Danışman)
Prof. Dr. Cengiz ELMACI
Doç. Dr. Aşkın GALİÇ
Doç. Dr. Sarp KAYA
Dr. Öğr. Üyesi Bahar ARGUN KARSLI

ÖZET

TÜRKİYE YERLİ SIĞIR IRKLARINDA GENETİK ÇEŞİTLİLİK VE SELEKSİYON İZLERİNİN YÜKSEK YOĞUNLUKTA SNP VERİLERLE DEĞERLENDİRİLMESİ

Eymen DEMİR

Doktora Tezi, Zootekni Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Murat Soner BALCIOĞLU

Ağustos 2023; 71 sayfa

Genetik çeşitlilik, çiftlik hayvanı populasyonlarının hayatta kalmaları ve farklı çevresel koşullara adaptasyon sağlamaları için gerekliyken, uzun süreli doğal ve yapay seleksiyon ise genom boyunca homozigotluğu arttırarak seleksiyon izi olarak ifade edilen genomik izler bırakabilmektedir. Bu çalışmada, Türkiye yerli sığır ırkları olarak bilinen Yerli Kara (YK), Doğu Anadolu Kırmızısı (DAK), Güney Anadolu Kırmızısı (GAK), Yerli Güney Sarısı (YGS), Boz Irk (BI) ve Zavot (ZAV) ırkında genetik çeşitlilik, populasyon yapısı ve seleksiyon izleri ilk defa yüksek yoğunlukta SNP verisiyle değerlendirilmiştir. Türkiye yerli sığır ırklarının genetik kökeni ve seleksiyon baskısı hakkında daha detaylı bilgi elde etmek için bu çalışmaya Siyah Alaca (SA) ve İsviçre Esmeri (İE) olarak bilinen iki kültür ırkı dahil edilmiştir. Her ırktan 20 örnek olacak şekilde toplam 160 bireyin örneklediği çalışmada, sadece YGS ırkına ait hayvanlar ulusal koruma programına dahil sürülerden seçilmiştir. ddRADseq yöntemi kullanılarak hazırlanan iki adet genomik DNA kütüphaneleri daha sonra Illumina HiSeq X Ten platformunda 150x2 olacak şekilde çift yönlü olarak sekanslanmıştır. Sekiz farklı sığır ırkında toplam 1.786.253 SNP belirlenmesine rağmen bunlardan 211.119 tanesi belirlenen kalite parametrelerini sağlayabilmiştir.

Ortalama gözlenen heterozigotluk (H_o) değerinin 0.380 olduğu çalışmada kültür ırklarıyla kıyaslandığında Türkiye yerli sığır ırklarında daha yüksek genetik varyasyon gözlemlenmiştir. Türkiye yerli sığır ırkları arasında genetik mesafe görece düşük olup en yüksek genetik mesafe değeri (0.064) YGS ve İE ırkları arasında tespit edilmiştir. Minör Allel Frekansı (MAF) (0.381), (H_o) (0.400) ve Beklenen Heterozigotluk (H_e) (0.456) gibi genetik çeşitlilik parametreleri en yüksek değerleri YGS ırkında almıştır. Populasyon yapısı analizleri filogenetik kökenlerine göre Türkiye yerli ve kültür sığır ırklarının birbirinden belirgin bir şekilde farklı olduğunu göstermiştir. Ayrıca YK, BI, GAK ve YGS ırkları arasında yüksek seviyede genetik karışım tespit edilirken, DAK ve ZAV ırklarının diğer yerli ve kültür sığır ırklarından farklı olduğu belirlenmiştir.

Homozigot aşırılığı (ROH) ve fiksasyon indeksi (F_{ST}) olarak bilinen iki farklı yaklaşımdan yararlanılarak çalışılan sığır ırklarında sırasıyla populasyonlar içi ve populasyonlar arası seleksiyon izleri tespit edilmiştir. F_{ST} yaklaşımında 23 otozomal kromozoma dağılmış 114 SNP'in seleksiyon baskısına maruz kaldığı belirlenmiştir. Bu SNP'lerden 78 tanesinin 190 protein kodlayan geni içerdiği belirlenmiştir. ROH yaklaşımında 309 protein kodlayan gene dağılmış olan 108 genomik bölgenin seleksiyon baskısına maruz kaldığı saptanmıştır. Yerli ırklarla kıyaslandığında kültür

sığır ırklarında daha fazla sayıda genin seleksiyon baskısı altında olduğu gözlemlenmiştir. Gerçekten de İE ve SA ırklarında sırasıyla 104 ve 125 protein kodlayan gen tespit edilirken yerli ırklarda seleksiyona maruz kalan gen sayısının 6 (YK ve YGS) ile 55 (DAK) aralığında değiştiği belirlenmiştir. Türkiye yerli sığır ırklarında seleksiyona maruz kalan bazı genlerin üreme (*CAMK4*), büyüme (*GDF11* ve *GHR*), çok sayıda hücrede karbondioksit transformasyonu gibi biyolojik süreçlerin (*CA10*) yanı sıra ısı (*XCL1*, *PEX14* ve *CORT*), kan kanseri (*AP4B1*, *BCL2L15* ve *PHTF1*), parazitik hastalıklar (*DDX59* ve *CAMSAP2*), mikobakteriyel enfeksiyonlar (*HEBP1* ve *ST32B*), dermatitis digitalis (*RORA*) ve kanama hastalıklarına direnç (*P2RY12*) gibi çevresel adaptasyonla ilişkili olduğu belirlenmiştir.

Çalışmada en yüksek genetik çeşitlilik ve en düşük seleksiyon baskısı ulusal koruma programlarına dahil olan sürülerden örneklenen YGS ırkında gözlemlenmiştir. Elde edilen sonuçlar, uygun koruma programlarıyla genom üzerindeki seleksiyon baskısının hafifletilebileceğini ve böylece heterozigotluk ve genetik çeşitliliğin artırılabilirliğini göstermiştir.

ANAHTAR KELİMELE: ddRADseq, genetik çeşitlilik, genomik varyasyon, seleksiyon sinyalleri, yeni nesil sekanslama

JÜRİ: Prof. Dr. Murat Soner BALCIOĞLU

Prof. Dr. Cengiz ELMACI

Doç. Dr. Aşkın GALİÇ

Doç. Dr. Sarp KAYA

Dr. Öğr. Üyesi Bahar ARGUN KARSLI

ABSTRACT

EVALUATION OF GENETIC DIVERSITY AND SELECTION SIGNATURES IN NATIVE TURKISH CATTLE BREEDS VIA HIGH-DENSITY SNP DATA

Eymen DEMİR

PhD Thesis in Animal Science

Supervisor: Prof. Dr. Murat Soner BALCIOĞLU

August 2023; 71 pages

Genetic diversity is essential for livestock populations to survive and develop adaptation against diverse environmental conditions, whereas long-term natural and artificial selection may extend homozygosity across the genome leaving genomic patterns called selection signatures. This study is the first attempt to assess genetic diversity, population structure, and selection signatures in native Turkish cattle breeds known as Anatolian Black (YK), East Anatolian Red (DAK), South Anatolian Red (GAK), South Anatolian Yellow (YGS), Turkish Grey Steppe (BI), and Zavot (ZAV) by high-density genomic data. In order to obtain deeper information about the genetic origin and selection pressure on native Turkish cattle breeds, two cosmopolitan cattle breeds namely Holstein Friesian (SA) and Brown Swiss (İE) were also involved in this study. Being 20 sample from each breeds, a total of 160 individuals were sampled from different regions of the country in which only YGS breed was sampled from the herds under national conservation program. ddRADseq method was utilised to prepare two genomic DNA libraries which were further sequenced via the Illumina HiSeq X Ten platform containing paired-end sequencing with 150x2 option. While a total of 1.786.253 SNPs were observed across eight cattle breeds, 211.119 SNPs were passed quality control processes.

Compared to cosmopolitan cattle breeds, a higher genetic variation was observed in native Turkish cattle with an average of 0.380 Observed Heterozygosity (H_o). Genetic distances were comparatively low between native cattle breeds, whereas the highest genetic distance (0.064) was detected between YGS and İE. The highest genetic diversity parameters such as Minor Allele Frequency (MAF) (0.381), (H_o) (0.400), and Expected Heterozygosity (H_e) (0.456) were observed in YGS breed. Population structure analyses showed that the native Turkish and cosmopolitan cattle breeds were clearly different from each other according to their phylogenetic origin. Besides, a high level of genetic admixture was detected among YK, BI, GAK, and YGS, whereas DAK and ZAV were distinct from the other native and cosmopolitan cattle breeds.

Two different approaches known as Runs of Homozygosity (ROH) and fixation index (F_{ST}) were utilised to detect selection signatures within and between studies cattle breeds, respectively. F_{ST} approach yielded 114 SNPs under selection pressure distributed on 23 autosomes. Of these SNPs, 78 overlapped with 190 protein-coding genes. ROH approach revealed 108 genomic regions overlapped with a total of 309 protein-coding genes under selection pressure. A higher number of genes under selection pressure was observed in cosmopolitan cattle breeds compared to the native

ones. Indeed, selection signatures on 104 and 125 protein-coding genes were detected in İE and SA, respectively, while the number of the genes under selection pressure ranged from 6 in YK and YGS to 55 in DAK among native breeds. Several genes under selection pressure in native Turkish cattle breeds were related to fertility (*CAMK4*), growth (*GDF11* and *GHR*), environmental adaptation such as heat tolerance (*XCL1*, *PEX14*, and *CORT*), resistance to bovine leukaemia (*AP4B1*, *BCL2L15*, and *PHTF1*), parasitic diseases (*DDX59* and *CAMSAP2*), mycobacterial infections (*HEBP1* and *ST32B*), dermatitis digitalis (*RORA*), bleeding disorders (*P2RY12*) as well as biological processes such as carbon dioxide transformation in several cells (*CA10*).

In this study, the highest genetic diversity and lowest selection pressure were observed in YGS breed which is sampled from the herds under national conservation program. Results of this study confirm that selection pressure over the genome could be facilitated via suitable conservation programs by which heterozygosity and genetic diversity could be increased in native cattle breeds.

KEYWORDS: ddRADseq, genetic diversity, genomic variation, next-generation sequencing, selection signals

COMMITTEE: Prof. Dr. Murat Soner BALCIOĞLU

Prof. Dr. Cengiz ELMACI

Assoc. Prof. Aşkın GALİÇ

Assoc. Prof. Sarp KAYA

Assit. Prof. Bahar ARGUN KARSLI

ÖNSÖZ

Türkiye sahip olduğu çok sayıda farklı sığır ırkı ile Dünya Hayvan Genetik Kaynaklarına büyük bir katkı yapmasına rağmen, bu ırklara ait genetik çeşitliliğin moleküler temelli incelendiği çalışma sayısı istenilen düzeyde değildir. Mevcut çalışmaların ise az sayıda lokus üzerinden yapılan mikrosatellit markerler ile sınırlı olduğu görülmektedir. SNP çip ve Yeni Nesil Sekans analizleriyle kıyaslandığında mikrosatellit markerler temelinde yapılan çalışmalar yerli sığır ırkları hakkında “daha az” genetik bilgi sunmaktadır. Halbuki yerli sığır ırklarımızın farklı iklimsel koşullar ve lokal hastalıklar gibi çevresel adaptasyonla ilişkili özgün genotip kombinasyonlarına sahip oldukları düşünülmektedir. Küresel iklim değişikliğinin olumsuz etkileri ile her geçen gün değişen çevre baskısı çiftlik hayvanı türleri üzerinde büyük stres yaratmaktadır. Bu stres faktörlerinin önüne geçmek, koruma ve ıslah stratejileri geliştirmek için önemli olan özgün genotip kombinasyonlarının yerli ırklarda tespit edilerek korunması ülke hayvancılığı açısından elzemdir. Yerli ırklarımızda genetik çeşitlilik Yeni Nesil Sekans Analizleri ile tüm genom seviyesinde periyodik olarak tespit edilmelidir. Diğer yandan Türkiye yerli sığır ırklarında seleksiyon izlerinin belirlenmesine yönelik herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Uzun yıllar boyunca hem doğal hem de yapay seleksiyonla fiks olmuş (sabitlenmiş) gen bölgelerinin sığır popülasyonlarında morfoloji, fizyoloji ve davranış özelliklerinin şekillenmesinde etken olduğu bilinmektedir. Türkiye coğrafi konumundan dolayı, sığırın evcilleştirilmesi ve Avrupa’ya göçünde büyük öneme sahiptir. Türkiye yerli sığır ırklarında seleksiyon izlerinin belirlenmesinin, evcilleştirme ve göç olaylarına moleküler temelli yeni bakış açıları sağlayacağı öngörülmektedir. Bu bağlamda, söz konusu tez çalışmada Türkiye yerli sığır ırklarında genetik çeşitlilik ve seleksiyon izleri ilk defa genom çapında analiz edilmiştir.

Bu konuda çalışmama imkan vererek doktora sürecim boyunca bana destek olan danışman hocam, sayın Prof. Dr. Murat Soner BALCIOĞLU’na teşekkür ederim. Tez konusunun belirlenmesi, istatistiksel analizlerin yapılması ve elde edilen sonuçların yorumlanmasının yanı sıra bende akademik bilincin gelişmesinde büyük katkıları olan sayın Doç. Dr. Taki KARSLI’ya (Eskişehir Osmangazi Üniversitesi) teşekkür ederim. ddRADseq yönteminin öğrenilmesi ve genomik kütüphanelerin oluşturulmasında hiçbir zaman yardımlarını esirgemeyen sayın Doç. Dr. Sarp KAYA’ya (Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi) teşekkür ederim. DNA ekstraksiyonu ve genomik kütüphanelerin oluşturulması aşamasında bana destek olan arkadaşlarım Ümit BİLGİNER ve Huriye DOĞRU’ya teşekkür ederim.

Doktora tezime ilgili “Slovak University of Agriculture in Nitra” kurumunda 12 ay boyunca araştırma yaptığım süre boyunca bana 2214-A Yurt Dışı Doktora Sırası Araştırma Burs Programı kapsamında (Proje Numarası: 1059B142100368) maddi destek sağlayan “Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu”na teşekkür ederim.

Tüm genomdan elde edilen yüksek yoğunlukta SNP verileriyle genetik çeşitlilik ve seleksiyon izlerinin belirlenmesine yönelik biyoinformatik analizlerin yapılmasında ve yorumlanmasında büyük katkıları olan sayın Prof. Dr. Radovan KASARDA (Slovak University of Agriculture in Nitra) ve sayın Doç. Dr. Nina MORAVČÍKOVÁ’ya (Slovak University of Agriculture in Nitra) teşekkür ederim.

Yoğun emek ve zaman gerektiren doktora tez sürecinde bana olan manevi desteği ve sevgisi için eşim Av. Ayőe Aycan AYAYDIN DEMİR'e teşekkür ederim.

Mevcut tez çalışması TÜBİTAK (1002-Hızlı Destek Programı, proje numarası: 221O553) ve Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi (BAP, proje kodu: FDK-2022-5876) tarafından maddi olarak desteklenmiştir.

Bu araştırmada yer alan tüm/kısmi nümerik hesaplamalar TÜBİTAK ULAKBİM, Yüksek Başarım ve Grid Hesaplama Merkezi'nde (TRUBA kaynaklarında) gerçekleştirilmiştir.

Yerli Güney Sarısı kan örnekleri için Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü'ne (TAGEM), Doğu Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü'ne ve Yerli Güney Sarısı Yerinde Koruma Alt Projesi çalışanlarına teőekkürlerimizi sunarız.



İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	iii
AKADEMİK BEYAN	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xiii
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK TARAMASI.....	3
2.1. Türkiye Yerli Sığır Irkları.....	3
2.2. Genetik Çeşitlilik ve Seleksiyon İzlerinin Önemi.....	6
2.3. Genetik Çeşitlilik ve Seleksiyon İzlerinin Belirlenmesinde Kullanılan Moleküler Yöntemler	7
2.4. ddRADseq Yöntemi	12
2.5. Genetik Çeşitlilik ve Seleksiyon İzlerinin Belirlenmesinde Kullanılan İstatistiksel Yaklaşımlar	13
2.6. Sığırlarda Genetik Çeşitlilik ve Seleksiyon İzleri Üzerine Yapılan Çalışmalar .	17
3. MATERYAL VE METOT.....	24
3.1. Hayvan Materyali	24
3.2. Kan Örneklerinden DNA Ekstraksiyonu ve Ölçümleri.....	25
3.3. DNA Kütüphanelerinin Oluşturulması ve Sekans Analizi	25
3.4. Biyoinformatik Analizler.....	28
3.4.1. Ham verinin işlenmesi.....	28
3.4.2. Ham verinin kalite kontrolü.....	30
3.4.3. Genetik çeşitlilik ve populasyon yapısı analizleri	30
3.4.4. Seleksiyon izlerinin belirlenmesinde kullanılan analizler	30
4. BULGULAR	32
4.1. DNA İzolasyonu ve Kütüphane Sonuçları.....	32
4.2. Sekans Analizinden Elde Edilen Bulgular.....	33
4.3. Sekans Verisinde Kalite Kontrolü.....	34
4.4. Genetik Çeşitlilik ve Populasyon Yapısı Analizleri.....	34
4.5. Seleksiyon İzleri Analizleri.....	39

4.5.1. ROH analizinden elde edilen bulgular	39
4.5.2. F_{ST} analizinden elde edilen bulgular	47
5. TARTIŞMA.....	51
6. SONUÇLAR.....	58
7. KAYNAKLAR	60
8. EKLER.....	72
ÖZGEÇMİŞ	



AKADEMİK BEYAN

Doktora Tezi olarak sunduğum “**Türkiye Yerli Sığır Irklarında Genetik Çeşitlilik ve Seleksiyon İzlerinin Yüksek Yoğunlukta SNP Verilerle Değerlendirilmesi**” adlı bu çalışmanın, akademik kurallar ve etik değerlere uygun olarak yazıldığını belirtir, bu tez çalışmasında bana ait olmayan tüm bilgilerin kaynağını gösterdiğimi beyan ederim.

03/08/2023

Eymen DEMİR

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

μ l	: Mikrolitre
kg	: Kilogram
Mbs	: Megabaz
ml	: Mililitre
ng	: Nanogram
°C	: Santigrad derece

Kısaltmalar

bç	: Baz Çifti
BI	: Boz Irk
BTA	: Sığır Kromozomu
DAK	: Doğu Anadolu Kırmızısı
ddRADseq	: Double Digest Restriction-Site Associated DNA
DPCA	: Diskriminant Temel Bileşenler Analizi
ECA	: Ergin Canlı Ağırlık
FAO	: Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü
F_{IS}	: Akrabalı Yetiştirme Katsayısı
F_{ST}	: Fiksasyon İndeksi
GAK	: Güney Anadolu Kırmızısı
GBS	: Sekans Yoluyla Genotipleme
GCCA	: Günlük Canlı Ağırlık Artışı
GWAS	: Genom Boyu İlişki Analizi
H_E	: Beklenen Heterozigotluk
H_O	: Gözlenen Heterozigotluk

HWE : Hardy-Weinberg Dengesi
İE : İsviçre Esmeri
LD : Bağlantı Dengesizliği
LS : Laktasyon Süresi
LSV : Laktasyon Süt Verimi
MAF : Minör Allel Frekansı
mtDNA : Mitokondriyal DNA
NJ : Komşu Birleştirme Ağacı
PCR : Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RLV : Bölgesel Azalmış Çeşitlilik
ROH : Homozigot Aşırılığı
SA : Siyah Alaca
SFS : Bölge Frekans Spektrumu
SNP : Tek Nükleotid Polimorfizmi
TAGEM : Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü
TGD : Tüm Genom Dizileme
TÜİK : Türkiye İstatistik Kurumu
YGS : Yerli Güney Sarısı
YK : Yerli Kara
YNS : Yeni Nesil Sekanslama
ZAV : Zavot

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Mikrosatellit marker genotipleme yönteminin temel basamakları	9
Şekil 2.2. SNP çip genotipleme yönteminin temel basamakları	10
Şekil 2.3. TGD yönteminin temel basamakları	11
Şekil 2.4. RADseq ve ddRADseq yöntemlerinde genomik DNA'dan kısa sekansların elde edilmesi	13
Şekil 2.5. Seleksiyon izlerinin belirlenmesinde kullanılan istatistiksel yaklaşımlar	15
Şekil 2.6. ROH segmentinin ortak atadan dolayı sonraki generasyonlarda oluşması	16
Şekil 3.1. Kan örneklerinin toplandığı bölgeler	24
Şekil 4.1. Birinci (a) ve ikinci (b) kütüphaneye ait alt kütüphanelerin agaroz jel görüntüsü.....	33
Şekil 4.2. Çalışılan populasyonlarda ırk bazında NJ kümeleme analizi.....	36
Şekil 4.3. Çalışılan populasyonlarda birey bazında NJ kümeleme analizi	37
Şekil 4.4. Çalışılan sığır ırklarında DPCA analizi.....	37
Şekil 4.5. Çalışılan sığır ırklarında ADMIXTURE kümeleme analizi.....	38
Şekil 4.6. Farklı atasal populasyon sayısı için hesaplanan çapraz-entropi kriterleri.....	39
Şekil 4.7. Yerli ve kültür sığır ırklarında otozomal kromozomlarda ROH dağılımına ait Manhattan grafiği	40
Şekil 4.8. Yerli ve kültür sığır ırklarında otozomal kromozomlarda F_{ST} istatistiğinin dağılımına ait Manhattan ve kutu grafiği.....	48

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Siyah Alaca ve Türkiye yerli sığır ırklarında ekonomik önemi olan bazı özellikler	5
Çizelge 3.1. Birinci sekans analizi için hazırlanan kütüphaneye ait bilgiler	26
Çizelge 3.2. İkinci sekans analizi için hazırlanan kütüphaneye ait bilgiler	26
Çizelge 3.3. Kısa okumaların 0-40 aralığındaki kalite parametreleri	29
Çizelge 3.4. Farklı Phread kalite skorlarına ait hata olasılığı ve doğruluk oranı	29
Çizelge 4.1. İlk 96 örneğe ait alt kütüphanelerin miktar ve kalite ölçümleri.....	32
Çizelge 4.2. Birinci ve ikinci kütüphaneye ait ham veri istatistikleri.....	33
Çizelge 4.3. Çalışılan sığır ırklarında okumalardan elde edilen ham veriler.....	34
Çizelge 4.4. Çalışılan sığır ırklarında bazı genetik çeşitlilik parametreleri.....	35
Çizelge 4.5. Çalışılan populasyonlarda genetik mesafe (üst köşegen) ve genetik farklılaşma katsayıları (alt köşegen)	36
Çizelge 4.6. YK sığır ırkında ROH analiziyle belirlenen SNP'lerin genomik lokasyonu ve kapsadığı genler.....	41
Çizelge 4.7. DAK sığır ırkında ROH analiziyle belirlenen SNP'lerin genomik lokasyonu ve kapsadığı genler.....	42
Çizelge 4.8. GAK sığır ırkında ROH analiziyle belirlenen SNP'lerin genomik lokasyonu ve kapsadığı genler.....	43
Çizelge 4.9. YGS sığır ırkında ROH analiziyle belirlenen SNP'lerin genomik lokasyonu ve kapsadığı genler.....	43
Çizelge 4.10. BI sığır ırkında ROH analiziyle belirlenen SNP'lerin genomik lokasyonu ve kapsadığı genler.....	44
Çizelge 4.11. ZAV sığır ırkında ROH analiziyle belirlenen SNP'lerin genomik lokasyonu ve kapsadığı genler.....	45
Çizelge 4.12. İE sığır ırkında ROH analiziyle belirlenen SNP'lerin genomik lokasyonu ve kapsadığı genler.....	46
Çizelge 4.13. SA sığır ırkında ROH analiziyle belirlenen SNP'lerin genomik lokasyonu ve kapsadığı genler.....	47
Çizelge 4.14. Yerli ve kültür sığır ırklarında F_{ST} yaklaşımıyla belirlenen SNP'lerin genomik lokasyonu ve kapsadığı genler.....	49

1. GİRİŞ

Sığır evcilleştirildiği tarihten itibaren, insanoğlunun temel besin kaynağı ve günlük yaşamının bir parçası olmuştur (Abbink vd. 2003; Caroli vd. 2009). Günümüzde sığır insan beslenmesi için gerekli esansiyel aminoasitler, vitaminler ve mineralleri içeren et ve süt gibi hayvansal kökenli ürünlerin elde edilmesi için hemen hemen tüm dünyada yetiştirilmektedir (Brito vd. 2021; Dawood vd. 2021).

Türkiye’de et ve süt üretiminde sığırların büyük önemi vardır. Üretimin büyük bir kısmı ise kültür ırkları tarafından karşılanmaktadır. Yerli sığır ırklarının üretimde payı ise çok azdır (TÜİK 2022). Bununla birlikte yerli sığır ırklarının uzun yıllar boyunca yetiştirildikleri bölgelerin iklimi ve yerel hastalıklara direnç geliştirdiği bilinmektedir (Demir ve Balcıoğlu 2019).

Evcil sığır genomunun şekillenmesine katkı sunan iki ana faktör “evcilleştirme” ve “göç” olaylarıdır (Larson ve Burger 2013; Saravanan vd. 2021; Senczuk vd. 2021). Genomik ve arkeolojik bulgular günümüz sığır ırklarının (*Bos taurus* ve *Bos indicus*) ortak bir atadan (*Bos primigenius*) köken aldığını iddia etmektedir. Günümüzde “hörgüçlü” olarak bilinen *Bos indicus* sığırının 8.000 yıl önce İndus vadisinde, “hörgüçsüz” olarak tanımlanan *Bos taurus* sığırının ise yaklaşık 10.000 yıl önce “Verimli Hilal” (Mezopotamya ve çevresi) olarak bilinen bölgede evcilleştirildiği bildirilmiştir (Larson ve Burger 2013; Senczuk vd. 2021). Evcilleştirmeyi izleyen yıllarda ilk çiftçilerin ekonomik önemi olan et ve süt veriminden ziyade davranış özellikleri bakımından sığırlarda kontrollü olmayan seleksiyon uygulamalarına başladıkları öne sürülmüştür (Larson ve Burger 2013). Ayrıca, sığırlar insanlarla birlikte yeni coğrafyalara göç etmiş ve doğal seleksiyon sayesinde yeni çevresel koşullara adaptasyon geliştirmişlerdir. Söz konusu evcilleştirme ve göç olayları sığırlarda genetik çeşitliliğin artmasına neden olmuştur (Groeneveld vd. 2010).

Sığırlarda zaman içerisinde “ırk” teriminin önem kazanmasıyla birlikte son 200 yıldır ortak fenotipe sahip olan hayvanların kapalı yetiştirilmesi nedeniyle göç hareketliliğinin düşmesi genetik çeşitlilikte azalmaya neden olmuştur. Özellikle uzun generasyonlar boyunca et ve süt verimi yönünden yapılan seleksiyon çalışmaları ilişkili genomik bölgelerde üstün genotipin sabitlenmesine ve homozigotluğun artmasına neden olmuştur. Doğal veya yapay seleksiyon sonucunda fikse olan (polimorfizm göstermeyen) bölgeler “seleksiyon izi” olarak tanımlanmaktadır (Saravanan vd. 2020).

Sığır genomunun şekillenmesini sağlayan “evcilleştirme” ve “göç” sürecinde Türkiye önemli bir rol oynamıştır. Türkiye, hörgüçsüz sığır evcilleştirme merkezin olan Verimli Hilal’in bir parçasıdır. Ayrıca coğrafi konumundan dolayı sığırın Asya’dan Avrupa’ya göç rotası üzerinde bulunmaktadır. Dolayısıyla Türkiye yerli sığır ırklarında seleksiyon izlerinin belirlenmesi sığırın evcilleştirilmesi ve Avrupa’ya göçü hakkında yeni bilgiler sunma potansiyeline sahiptir. Ancak Türkiye yerli sığır ırklarında seleksiyon izlerinin belirlendiği herhangi bir çalışma bulunmamakla beraber yapılan genetik çeşitlilik çalışmaları 20-22 mikrosatellit markerlerle sınırlı kalmıştır (Demir ve Balcıoğlu 2019; Öner vd. 2019; Özşensoy vd. 2019). Genomun küçük bir bölümünü oluşturan mikrosatellitlerin yerli sığır ırklarında toplam genetik çeşitliliği belirlemede yetersiz kaldığı açıktır (Demir vd. 2021a). Halbuki DNA sekans teknolojilerinde yaşanan hızlı gelişmeler, sığırlarda tüm genomun sekanslanmasına ve yüksek

yoğunlukta genomik veri elde edilmesine olanak tanımaktadır. Bu genomik veriler sığır ırklarında genetik çeşitliliğin tüm genom seviyesinde belirlenmesine ve seleksiyon izlerinin takip edilmesine olanak sağlamaktadır.

Bu tez çalışmasında ilk defa ddRADseq (Double Digest Restriction-Site Associated DNA) yöntemiyle tüm genom çapında elde edilen yüksek yoğunlukta genomik veri ile Türkiye yerli sığır ırklarında genetik çeşitlilik ve seleksiyon izlerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Genetik çeşitliliğin genom çapında belirlenmesi ile Türkiye yerli sığır ırklarında ilerleyen yıllarda yapılması muhtemel koruma, ıslah çalışmalarının planlanmasına ve bu ırkların sürdürülebilir kullanımına katkı sağlanması hedeflenmektedir. Ayrıca seleksiyon izlerinin belirlenmesiyle sığırın evcilleştirilmesi ve modern ırkların geliştirilmesi hakkında önemli bilgilerin elde edilmesi hedeflenmiştir.



2. KAYNAK TARAMASI

Bu bölümde Türkiye yerli sığır ırkları, sığırlarda genetik çeşitlilik ve seleksiyon izlerinin önemi ve belirlenmesinde kullanılan moleküler yöntemler ve istatistiksel yaklaşımlar hakkında genel bilgiler verilmiştir. Ayrıca mevcut tez kapsamında kullanılan ddRADseq yöntemi kapsamlı bir şekilde incelenerek konu ile ilgili daha önce yapılan çalışmalar özetlenmiştir.

2.1. Türkiye Yerli Sığır Irkları

Türkiye sahip olduğu farklı iklim koşulları ve coğrafik yapısıyla hem bitkisel hem de hayvansal üretimin küçük, orta ve büyük ölçekli yapılmasına olanak tanımaktadır. Özellikle bitkisel üretime uygun olmayan alanlar ve meralar hayvancılık sayesinde en uygun şekilde değerlendirilebilmektedir. Sığır yetiştiriciliği Türkiye'nin kültürel değerlerinden biri olup et ve süt üretiminin büyük bir kısmını karşılamaktadır. Dünya sığır genetik kaynaklarının yaklaşık 800 ırk ile ifade edildiği bilinmektedir (Moravčíková vd. 2017). Bu sığır ırklarından Boz Irk (BI), Doğu Anadolu Kırmızısı (DAK), Güney Anadolu Kırmızısı (GAK), Yerli Güney Sarısı (YGS), Yerli Kara (YK) ve Zavot (ZAV) Türkiye yerli sığır ırkları olup, Anadolu coğrafyasına aittir. 2009 yılında Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü (TAGEM) tarafından yayınlanan "Türkiye Evcil Hayvan Genetik Kaynakları" başlıklı raporda yerli sığır ırkları yayılma alanları, verim yönleri, genel tanımı, ırka özgü ayırıcı özellikleri ve yetiştirme koşulları detaylı bir şekilde tanımlanmıştır (Anonim 1).

BI özellikle Trakya ve Marmara bölgesinde ekstansif koşullarda yetiştirilen kombine verim yönlü bir ırktır. Populasyon büyüklüğünün yaklaşık 25.000 baş olarak tahmin edildiği (Karayel ve Karslı 2022) BI sığırlarının olumsuz iklim koşullarına, ani rasyon değişikliklerine, yetersiz beslenmeye ve hastalıklara dirençli olduğu bildirilmiştir (Anonim 1). Vücut renginin gri olması ve sürü koruma içgüdüsünden kaynaklanan sert mizaç davranışı gibi fenotipik özellikleri BI sığırının diğer yerli sığır ırklarından ayırt edilmesini kolaylaştırmaktadır. Ergin canlı ağırlık dişilerde 300-400 kg, erkeklerde ise 450-500 kg arasında günlük canlı ağırlık artışının 1000-1100 gram olduğu belirtilmiştir (Anonim 1).

Erzurum, Kars ve Ardahan başta olmak üzere Doğu ve Kuzeydoğu Anadolu Bölgesi'nde yayılma alanına sahip DAK, et ve süt verimi için ekstansif koşullarda yetiştirilmektedir. Populasyon büyüklüğünün yaklaşık olarak 135.000 olduğu belirtilmektedir (Karayel ve Karslı 2022). Küçük cüsseli olmakla birlikte engibeli alanlardaki otlakları değerlendirebildiği, hastalıklara ve olumsuz çevre koşullarına dirençli olduğu bilinmektedir. Vücut genel olarak kırmızı renkli olmakla birlikte kulak ve göz çevresinin siyah renkli olması bu ırkın morfolojik olarak diğer ırklardan ayırt edilmesini kolaylaştırmaktadır. Ergin canlı ağırlık dişilerde 250-350 kg, erkeklerde ise 350-450 kg arasında olup 200-220 günlük laktasyon döneminde 900-1000 kg süt verimine sahip olduğu belirtilmiştir (Anonim 1).

"Kilis sığırı" olarak da bilinen GAK, Kilis merkez olmak üzere Mersin ve Şanlıurfa'yı kapsayan Güney Anadolu Bölgesi'nde et ve süt verimi için yetiştirilen bir ırktır. Populasyon büyüklüğü tam olarak bilinmemekle birlikte Güney Anadolu ve Akdeniz'in sıcak iklimine adaptasyon geliştirdiği, kene ve kan parazitlerinden

kaynaklanan hastalıklara dayanıklı olduğu bildirilmiştir. Diğer ırklarla kıyaslandığında morfolojik ve verim özellikleri bakımından kolayca ayırt edilebilmektedir. Yerli sığır ırkları arasında süt verimi (1500-2500 kg/laktasyon) en yüksek ırk olmasına rağmen küçük meme başı fenotipinden dolayı makinalı sağıma uygun olmadıkları vurgulanmıştır. Ergin canlı ağırlık dişilerde 350-450 kg, erkeklerde ise 550-600 kg aralığında değiştiği bildirilmiştir (Anonim 1).

YGS sığır ırkı ağırlıklı olarak Mersin ve Şanlıurfa arasında kalan bölgede et ve süt verimi için ekstansif koşullarda yetiştirilmektedir. Populasyon büyüklüğü bilinmemekle birlikte hastalıklara ve kötü çevre şartlarına dayanıklı olduğu bildirilmiştir. Vücut rengi siyaha yakın kahverengidir. Diğer yerli sığır ırklarıyla kıyaslandığında engebeli arazilerde otlayabilme özelliği ile öne çıkan bir ırktır. Bu özellikleri sayesinde yetiştirici koşullarında insan müdahalesi olmadan 6-7 aylık sürede dağlara gönderilmekte ve kar yağışıyla birlikte sürü köylere dönebilmektedir. 180-200 günlük laktasyon döneminde ortalama 600-650 kg süt verimine sahip oldukları bildirilmiştir (Anonim 1).

Orta Anadolu başta olmak üzere geniş yayılma alanına sahip olan YK, kombine verim yönlü olup hem et hem de süt verimi için yetiştirilmektedir. Yaklaşık olarak 650.000 baş olarak tahmin edilen populasyon büyüklüğüyle yerli sığır ırkları içerisinde en yüksek sürü büyüklüğüne ve en geniş yayılma alanına sahip olduğu bildirilmiştir (Karayel ve Karslı 2022; Demir vd. 2021a). Yetersiz bakım ve besleme koşullarına dayanıklı olması yanında hastalık ve zararlılara da dirençli olduğu belirtilmiştir (Anonim 1). Siyah vücut rengi fenotipi, YK ırkını diğer yerli ırklardan ayıran en belirgin morfolojik özelliktir (Demir vd. 2021a). Ergin canlı ağırlık dişilerde 200-300 kg, erkeklerde ise 300-400 kg arasında olup 240-260 günlük laktasyon döneminde 1000-1100 kg süt verimine sahip olduğu belirtilmiştir (Anonim 1).

Resmi veri bulunmamakla birlikte en düşük populasyon büyüklüğüne sahip olan ZAV sığır ırkı, Kars ve Ardahan illerinde ekstansif koşullarda yetiştirilen kombine verim yönlü bir ırktır. Yetiştirildiği bölgenin zor iklim koşullarına ve hastalıklarına direnç geliştirdiği vurgulanmıştır. Beyaz vücut rengi fenotipi ZAV ırkının diğer yerli sığır ırklarından morfolojik olarak ayırt edilmesini kolaylaştırmaktadır. Ergin canlı ağırlık dişilerde 270-450 kg, erkeklerde ise 400-600 kg arasında olup 240-260 günlük laktasyon döneminde 1000-1100 kg süt verimine sahip olduğu belirtilmiştir (Anonim 1).

Yukarıda da belirtildiği üzere Tarım ve Köyişleri Bakanlığı tarafından 2009 yılında yayınlanan raporla Türkiye yerli sığır ırklarının yayılma alanı, verim özellikleri, morfolojik yapıları hakkında detaylı bilgiler sunulmaktadır. Ancak söz konusu sığır ırklarının sürü büyüklüğü ve genetik kökenleri hakkında geniş bir bilgi bulunmamaktadır. Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) 2022 yılı itibarıyla yerli sığırlarda populasyon büyüklüğünün toplam 1.231.265 baş olduğunu bildirmesine rağmen (Anonim 2), ırk bazında sürü büyüklüğü kesin bir şekilde bilinmemekte ve bazı çalışmalarda öne sürülen değerler tahminlerin ötesine geçmemektedir. Diğer yandan moleküler temelli yapılan çalışmalarla hörgüçsüz fenotipe sahip olan *Bos taurus*'tan köken aldığı belirtilen Türkiye yerli sığır ırklarının yetiştirilme geçmişi hakkında literatürdeki bilgi eksikliği giderilmeye çalışılmaktadır. *Bos taurus* ve *Bos indicus* sığırlarının farklı zamanlarda ve farklı coğrafyalarda evcilleştirilmekle birlikte bunların insan göçüyle yeni coğrafyalara getirildiği ve birbirleriyle melezlendiği bilinmektedir.

Türkiye'nin sınır komşusu olan İran *Bos taurus* ve *Bos indicus* sığırlarının melezlendiği coğrafyalardan biridir. Gerçekten de günümüzde İran'da yetiştirilen yerli sığır populasyonlarının bazıları hörgüçlü bazıları ise hörgüçsüz sığır ırklarıdır (Karimi vd. 2016). Demir vd. (2023) YK, DAK ve ZAV ırklarının genetik kökenleri hakkında detaylı bilgi elde etmek için 6 *Bos taurus* ve 11 *Bos indicus* kökenli sığır ırkıyla mitokondriyal DNA (mtDNA) temelinde karşılaştırma yapmışlardır. Çalışmada *Bos indicus*'a özgü olan I2 haplogrubu ZAV ırkında düşük frekansta (%8,89) bulunduğu bildirilmiştir. Araştırmacılar ZAV ırkının yetiştirildiği coğrafya göz önünde bulundurulduğunda bu durumun geçmişte İran hörgüçlü sığır ırklarıyla meydana gelen melezlemelerden kaynaklanabileceğini bildirmişlerdir. Benzer şekilde mtDNA temelinde yapılan bir çalışmada DAK ırkında düşük frekansta (%10) *Bos indicus* karışımının olduğu belirtilmiştir (Edwards vd. 2007). Türkiye, İtalya, Ukrayna, Romanya, Macaristan, Hırvatistan, Sırbistan, Bulgaristan ve Yunanistan'da yetiştirilen bazı sığır ırklarında mtDNA temelinde yapılan kapsamlı bir çalışmada en yüksek haplotip çeşitliliği BI sığırlarında tespit edilmiştir (Di Lorenzo vd. 2018). Araştırmacılar BI sığırının Avrupa kökenli Podolian sığır ırklarının gen havuzu olabileceğini ve sığırın Avrupa'ya yayılmasında Anadolu'nun önemli bir rota olabileceğini vurgulamışlardır.

Diğer yandan, Türkiye'de "kültür ırkı" olarak tanımlanan Siyah Alaca (SA) ve Simental başta olmak üzere, İsviçre Esmeri (İE) ve Jersey gibi sığır ırklarının populasyon büyüklüğü gün geçtikçe artmaktadır. Yerli sığır ırkları ile kıyaslandığında kültür ırklarının Ergin Canlı Ağırlık (ECA), Günlük Canlı Ağırlık Artışı (GCAA), Laktasyon Süresi (LS) ve Laktasyon Süt Verimi (LSV) bakımından daha avantajlı olduğu görülmektedir (Çizelge 2.1). Kültür ırklarının ekonomik önemi olan özellikler bakımından avantajlı olması yetiştirici tercihlerini değiştirerek yerli ırklar yerine kültür ırklarının yoğunlukla yetiştirilmesine neden olmuştur.

Çizelge 2.1. Siyah Alaca ve Türkiye yerli sığır ırklarında ekonomik önemi olan bazı özellikler

İrk	ECA (kg)	GCAA (g)	LS (gün)	LSV (kg)	Kaynak
Cinsiyet	Erkek		Dişi		Anonim 1
BI	450-500	1000-1100	210-230	1000-1200	
DAK	350-450	800-1000	200-220	900-1000	
GAK	550-600	700-900	200-250	1500-2500	
YGS	-	-	180-200	600-650	
YK	300-400	700-900	240-260	1000-1100	
ZAV	400-600	900-1000	275-300	2300-3300	
SA	900-1000	800-1200	364	6010	Çatıkkaş 2016; Genç ve Soysal 2018; Kaya 2019

Bu durum yerli sığır ırklarının populasyon büyüklüğünün yıllar içerisinde azalmasına neden olmuştur. Ancak, yerli sığır ırklarının uzun yıllar boyunca bu coğrafyanın iklimsel koşullarına ve lokal hastalıklarına direnç geliştirdiği unutulmamalıdır. Yerli sığır ırklarının yok olması, sahip oldukları özgün genotip kombinasyonlarının da kaybolmasına neden olacaktır.

2.2. Genetik Çeşitlilik ve Seleksiyon İzlerinin Önemi

Genetik çeşitlilik bir hayvan türünde herhangi bir özellik için farklı fenotiplerin görülmesine neden olan ırk ve alt populasyonlarda bulunan genetik varyasyonların tamamı olarak ifade edilmektedir. Genomu şekillendiren genetik çeşitlilik bir populasyona ait bireylerde farklı morfolojik, fizyolojik ve davranış özelliklerinin görülmesine neden olmaktadır (Frankham vd. 2002). Çiftlik hayvanlarında genetik çeşitlilik populasyonlar arası, populasyon içi ve populasyonlar arası bireyler içi olmak üzere üç seviyede incelenmektedir. Sığırlarda genetik çeşitliliğin korunması mevcut veya olası üretim sistemlerine ve hayvansal kökenli ürünlere olan talebin karşılanmasında önemlidir (Karşı vd. 2020). Ayrıca genetik çeşitlilik, lokal hastalıklar ve iklim değişikliği gibi farklı olumsuz çevre faktörlerine karşı sığırların adaptasyon geliştirebilmesi için gereklidir (Demir vd. 2021b). Ancak Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO; Food and Agriculture Organization) raporuna göre dünya genelinde yetiştirilen yerli sığır ırklarında bazı nedenlerden dolayı genetik çeşitliliğin azaldığı belirtilmiştir (Anonymous 1). Artan dünya nüfusu ile hayvansal ürünlere olan talebin artması, su kıtlığı, meraların azalması ve küresel iklim değişikliği gibi olumsuz faktörler yetiştiricilerin yüksek verimli ırklara yönelmesine neden olmaktadır (Demir vd. 2021b). Yüksek verim kapasitelerinden dolayı tüm dünyada yetiştirilmekte olan kültür ırklarında et ve süt verimi yönünde uygulanan seleksiyon işlemi, verim ile ilişkili gen bölgelerinde genetik çeşitliliğin azalmasına neden olmuştur (Anonymous 1). Yerli sığır ırkları ise yüksek genetik çeşitliliğe ve buna bağlı olan çevresel adaptasyonla ilişkili özgün genotip kombinasyonlarına sahiptir (Srivastava vd. 2019). Yetiştiricilerin kültür ırklarını tercih etmeleri, verim artışı için yapılan kontrolsüz melezlemeler, yerli sığır ırklarında populasyon büyüklüğünün daralmasıyla birlikte genetik çeşitliliğin azalmasına ve ırkların saflığını kaybederek genetik erozyona uğramasına neden olduğu bildirilmiştir (Rahman vd. 2013).

Çevresel faktörler tarafından yönlendirilen ve bir sonraki generasyonun gen havuzuna özgün genotipe sahip bazı hayvanların daha fazla katkı yapmasını sağlayan olguya “doğal seleksiyon” denilmektedir (Driscoll vd. 2009). Doğal seleksiyonun pozitif, negatif ve dengeleyici olmak üzere gen ve genotip frekansları üzerine farklı şekillerde etkisi söz konusu olabilmektedir (Oleksyk vd. 2010). Pozitif seleksiyonda herhangi bir özellik bakımından meydana gelen bir mutasyon hayvana avantaj sağlamaktadır. Bu yüzden avantaj sağlayan mutasyonu taşıyan bireylerin sayısı bir sonraki generasyonda önemli derecede artmaktadır. Negatif seleksiyonda ise herhangi bir özellik bakımından meydana gelen bir mutasyon dezavantaj sağlayacağı için mutasyonu taşıyan bireylerin sayısı bir sonraki generasyonda önemli derecede azalmaktadır. Dengeleyici seleksiyonda ise heterozigot bireylerin yaşama gücü yüksek olduğu için bir sonraki generasyonda her iki allel de görülmekte ve genetik çeşitlilik korunmaktadır (Kaplan vd. 1989; Charlesworth vd. 1993; Charlesworth vd. 2003).

Gen ve genotip frekanslarını önemli ölçüde değiştirebilen yapay seleksiyon ise belirli bir amaç için yetiştiriciler tarafından uygulanan ve hayvanların yaşama gücünden ziyade genellikle ekonomik önemi olan özelliklerin iyileştirilmesini amaçlayan bir süreçtir. Yapay seleksiyon “sistemik olmayan” ve “metodolojik” seleksiyon olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır (Gouveia vd. 2014). Sistemik olmayan seleksiyon uygulamalarının kısa süreli olduğu ve ilk çiftçiler tarafından uygulandığı bildirilmiştir

(Gouveia vd. 2014). Antik dönemlerde yapılan bu seleksiyonda çiftçilerin ırk ayırımı yapmadan seleksiyon uygulamalarını yürüttüğü bildirilmiştir (Saravanan vd. 2020). Metodolojik seleksiyon ise belli bir amaç için uzun süreli uygulanan seleksiyon işlemi olarak tanımlanmakta ve günümüzde ekonomik önemi olan özellikler bakımından (etçi ve sütçü) öne çıkan ırkların geliştirilmesinde kullanıldığı bilinmektedir. Belli bir ırk temelinde gerçekleştirilen metodolojik seleksiyon vücut yapısı, morfoloji, üreme, verim, farklı çevrelere adaptasyon ve hastalıklara direnç gibi özelliklerin iyileştirilmesi için yapılmakta ve bu özelliklerle ilişkili genomik bölgelerde değişikliklere yol açmaktadır (Saravanan vd. 2020).

Doğal seleksiyon sığır ırklarının yetiştirildikleri coğrafi bölgelere adaptasyon geliştirmelerine, yapay seleksiyon ise ekonomik önemi olan verim özelliklerinde artışa neden olmuştur. Doğal ve yapay seleksiyon sonucunda modern sığır genomu şekillenmiştir. Evcilleştirme ile birlikte ilk çiftçiler sığırların davranış özellikleri üzerine sistematik olmayan seleksiyon uygulamaları yapmışlardır (Gouveia vd. 2014). Günümüzde ise özellikle ekonomik önemi olan et ve süt verimi gibi özellikler üzerinde seleksiyon çalışmaları devam etmektedir.

Uzun yıllar boyunca uygulanan seleksiyonun (doğal ve yapay) hedef gen bölgelerinde meydana getirdiği homozigotlaşma “seleksiyon izi” olarak ifade edilmektedir (Kreitman 2000). Hayvana yarar sağlayan bir mutasyon temelinde generasyonlar boyunca yapılan seleksiyon söz konusu mutasyonun popülasyonda sabitlenmesinin (kalıcı olmasının) yanı sıra ilgili genomik bölgede genetik çeşitliliğin de azalmasına neden olmaktadır (Saravanan vd. 2020). Seleksiyonda hayvanlara avantaj sağlayan yararlı mutasyonların belirlenmesi için tüm genom seviyesinde seleksiyon izlerinin incelendiği çalışma sayısı gün geçtikçe artmaktadır. Seleksiyon izlerinin belirlenmesi teorik ve uygulamalı evrim genetiği için de önemlidir. Seleksiyona maruz kalmış bölgelerin belirlenmesi genomun şekillenmesini sağlayan evrim sürecini aydınlatılabileceği gibi gen ve genomik bölgelerin fiziksel ve işlevsel özelliklerinin belirlenmesini de sağlayabilmektedir. Örneğin, daha önce işlevi ve fenotipe etkisi bilinmeyen bir gen bölgesi için muhtemel alleller lehine veya aleyhine seleksiyon yapılırsa, birkaç generasyon sonra fenotipte meydana gelecek farklılıklardan dolayı söz konusu genin fonksiyonu hakkında bilgi elde edilebileceği bildirilmiştir (Gouveia vd. 2014).

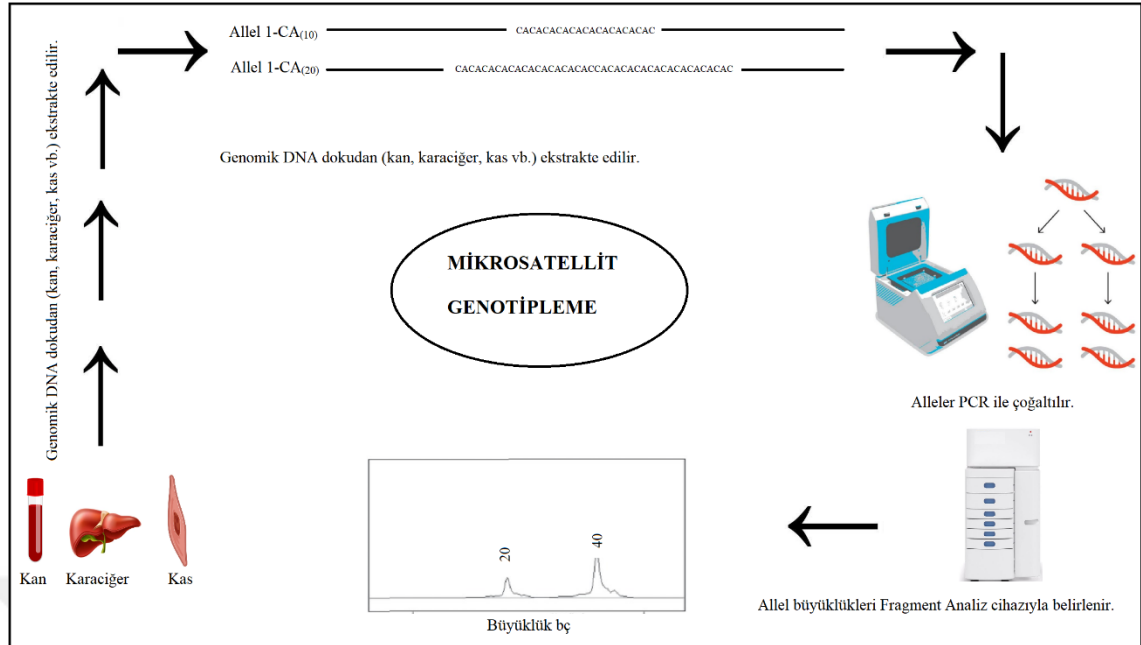
2.3. Genetik Çeşitlilik ve Seleksiyon İzlerinin Belirlenmesinde Kullanılan Moleküler Yöntemler

Zaman içinde moleküler genetik ve biyoinformatik alanlarında yaşanan hızlı gelişmeler, çiftlik hayvanlarında genetik çeşitliliğin belirlenmesinde, bir ya da birkaç gen yerine tüm genomun kullanımına olanak tanımıştır. 1970’lerin sonuna kadar sığırlarda genetik çeşitlilik genellikle kan grupları ve protein polimorfizmleriyle ortaya konulmuştur. Ancak düşük polimorfizm göstermelerinden dolayı bu markerlerden elde edilen bilgiler sınırlı kalmıştır (Baker ve Manwell 2009). 1980’lerde Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR; Polymerase Chain Reaction)’nın keşfedilmesiyle genetik çeşitlilik moleküler seviyede incelenmeye başlanmıştır. PCR’in keşfinden sonra Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi, Çoğaltılmış Parça Uzunluk Polimorfizmi, Allel Spesifik PCR ve mikrosatellitler gibi moleküler yöntemler genetik çeşitliliğin bir gen bölgesinden ziyade çoklu genlerin birlikte analiz edilerek ortaya çıkarılmasına olanak

tanımlanmıştır. 2009 yılında etçi sığır ırkı olan Hereford, 2013 yılında ise sütçü bir ırk olan Siyah Alaca sığırının tüm genomunun sekanslanması ise kullanılan moleküler yöntemlerde köklü değişikliklere neden olmuştur (Elsik vd. 2009; Köks vd. 2013). Bu sığır ırklarının genomu referans alınarak farklı yoğunluktaki (düşük, orta ve yüksek) SNP çipler ticari olarak üretilmeye başlanmıştır (Nicolazzi vd. 2015). Ayrıca Sekans Yoluya Genotipleme (GBS, Genotyping-by-Sequencing), RADseq ve ddRADseq gibi yöntemler çok sayıda bireyi içeren genomik kütüphanelerin oluşturulmasını, kısa okuma teknolojilerindeki gelişmeler ise bu kütüphanelerin kitlesel olarak genomu okuyabilmesi yoluyla tüm genomdan DNA dizilerinin elde edilmesine olanak sağlamıştır. (Peterson vd. 2012). Sığırlarda genetik çeşitliliğin belirlenmesi uzun bir geçmişe sahip olmasına rağmen seleksiyon izlerinin belirlenmesi SNP çipler ve Tüm Genom Dizileme (TGD) ile birlikte tespit edilebilir hale gelmiştir.

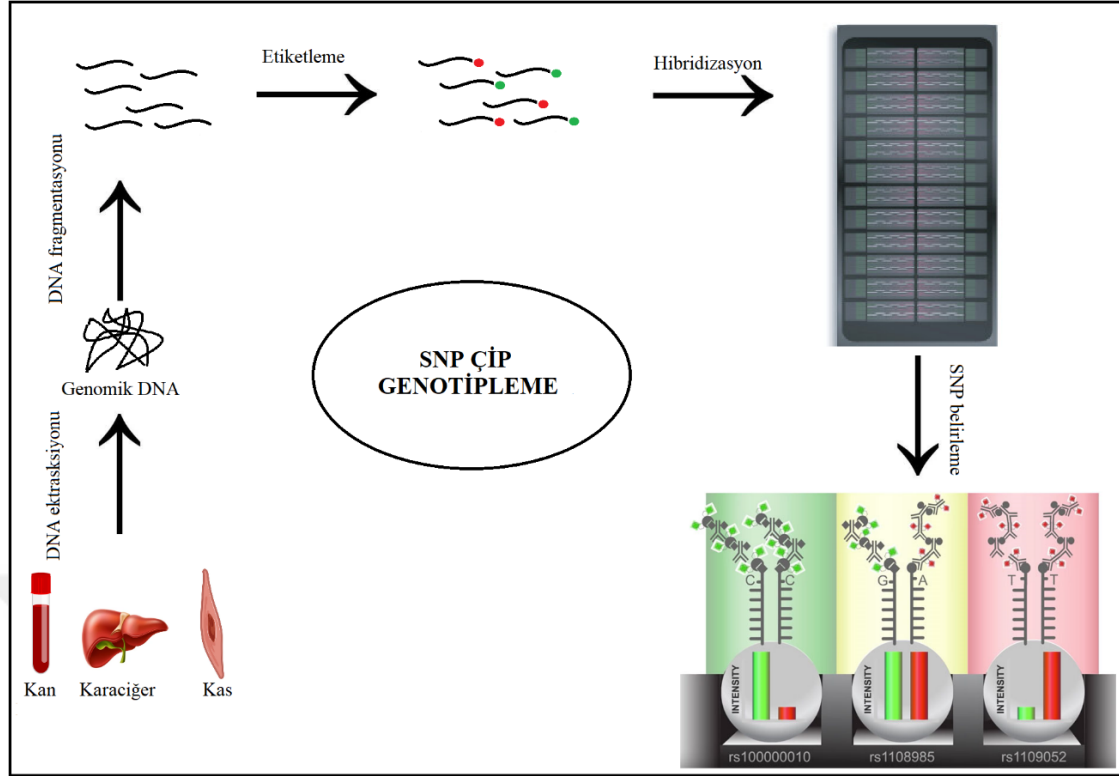
Olschewsky vd. (2021) 2005-2020 yıllarında yayınlanmış toplam 133 bilimsel çalışmayı derleyerek sığır, koyun, keçi, tavuk ve domuzlarda genetik çeşitliliğin ortaya çıkarılmasında Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi, Çoğaltılmış Parça Uzunluk Polimorfizmi, TGD, Y kromozomu, mtDNA, mikrosatellit ve Tek Nükleotid Polimorfizmi (SNP; Single Nucleotide Polymorphism) kıyaslamışlardır. Araştırmacılar çiftlik hayvanlarında genetik çeşitliliğin belirlenmesinde bugüne kadar en çok mikrosatellit (%48) ve SNP'lerin (%29) tercih edilmekle birlikte son yıllarda SNP ve TGD yöntemlerinde önemli derecede artış olduğunu vurgulamışlardır.

Mikrosatellitler genellikle 5 nükleotidden az olan ve ökaryot genom boyunca kodlanan ve kodlanmayan bölgelerde bulunan tekrar dizileri olarak bilinmektedir (Bruford ve Wayne 1993). Mikrosatellitlerin tekrar motifleri tür içinde korunduğu halde tekrar sayıları popülasyondan popülasyona hatta aynı popülasyona ait bireylerde farklılık gösterebilmektedir (Demir vd. 2021a). Tekrar motiflerinde görülen varyasyon farklı allellerin ortaya çıkmasına ve böylece bireylerin genotiplendirilmesine olanak tanımaktadır (Şekil 2.1). Yüksek oranda polimorfik olmaları, ko-dominant kalıtım göstermeleri, intron ve ekzonlarda bulunmaları, kolay uygulanabilmesi ve tekrarlanabilirliğinin yüksek olmasından dolayı mikrosatellit markerler sığır ırklarında genetik çeşitliliğin belirlenmesinde yoğun bir şekilde kullanılmışlardır (Demir ve Balcıoğlu 2019; Abdelmanova vd. 2021; Ocampo vd. 2021). Ayrıca, yerli çiftlik hayvanı ırklarında genetik karakterizasyonun yapılması ve elde edilen sonuçların karşılaştırılabilir olması için, FAO 2011 yılında sığır, koyun, keçi ve tavuk da dahil olmak üzere 9 farklı tür için 30'ar adet mikrosatellit marker önermiştir (Anonymous 2). Bu tarihten itibaren koyun (Dossybayev vd. 2019), keçi (Park vd. 2019) ve tavuklarda (Habimana vd. 2020) mikrosatellit markerler temelli çalışma sayısında önemli artışlar görülmüştür. Mikrosatellit markerlerden elde edilen genomik veri ile popülasyon içindeki genetik çeşitlilik gözlenen allel sayısı, etkili allel sayısı, allel frekansı, akrabalı yetiştirme katsayısı, gözlenen ve beklenen heterozigotluk gibi parametrelerin ölçülmesiyle ortaya çıkarılmaktadır (Goudet 1995; Yeh 1997). Popülasyonlar arası genetik farklılaşmanın belirlenmesi için ikişerli F_{ST} değeri, moleküler varyans analizi, temel bileşenler analizi, faktöriyel benzerlik analizi, STRUCTURE kümeleme analizleri ve genetik mesafe temelli filogenetik ağaçlar çizilmektedir (Yeh 1997; Pritchard vd. 2000; Belkhir vd. 2004).



Şekil 2.1. Mikrosatellit marker genotipleme yönteminin temel basamakları (Bilginer vd. 2022)

SNP'ler ise yaklaşık olarak her 1000 baz çiftinde (bç) meydana gelen transisyon veya transversiyon gibi DNA mutasyonlarının en basit formu olarak tanımlanmaktadır (Vignal vd. 2002). Yapılan çalışmalar basit mutasyonlar olarak bilinmelerine rağmen, SNP'lerin ekonomik önemi olan özellikler (Raschia vd. 2018) ve çevresel adaptasyonla (hastalıklar ve iklim değişikliği) ilişkili olduğunu ortaya çıkarmıştır (Rosse vd. 2017). Mikrosatellitler gibi SNP'ler de sığır genomunda hem kodlanan hem de kodlanmayan bölgelerde bulunabilmektedir. Günümüze kadar sığırlarda SNP'lerin incelenmesinde PCR temelli moleküler yöntemler kullanılmakla birlikte özellikle sığır genomunun sekanslanmasından sonra ticari olarak üretilen SNP çipler (Şekil 2.2) günümüzde yoğun bir şekilde kullanılmaya başlanmıştır (Flanagan ve Jones 2019). Uygulanabilirliğinin kolay olması ve doğruluk derecesinin yüksek olması SNP çiplerinin en önemli avantajlarından biridir (Georges vd. 2019). Günümüzde ticari firmalar tarafından sığır için geliştirilmiş 11 farklı SNP çip mevcuttur (Nicolazzi vd. 2015). Illumina Inc., tarafından geliştirilen LD, SNP50 v.2 ve HD SNP çipleri sığır genomunda sırasıyla toplam 6.909, 54.609 ve 777.962 varyasyonun belirlenmesine olanak tanımaktadır. Genomun farklı bölgelerinde bulunmaları, sayıca daha fazla olmaları ve daha fazla bilgi içermelerinden dolayı SNP çipler sığır (Kasarda vd. 2021), koyun (Cesarani vd. 2019), keçi (Kumar vd. 2018) ve tavuk (Li vd. 2019) ırklarında genetik çeşitliliğin ve seleksiyon izlerinin belirlenmesinde kullanılmışlardır.

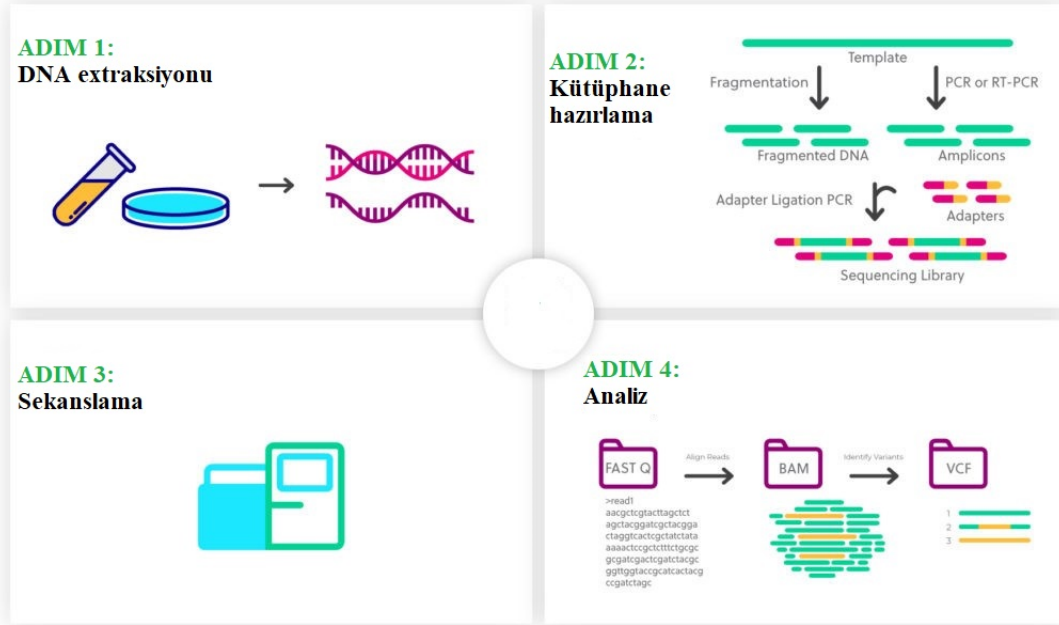


Şekil 2.2. SNP çip genotipleme yönteminin temel basamakları (Bilginer vd. 2022)

Mikrosatellit ve SNP çiplerle kıyaslandığında Yeni Nesil Sekanslama (YNS) tekniklerinin tüm genom hakkında daha fazla bilgi sunması, çiftlik hayvanlarında yapılan moleküler çalışmalarda köklü değişiklikler yaratmıştır. Ghosh vd. (2018) belirttiği üzere günümüzde YNS teknolojileri sayesinde aynı anda birden fazla hayvanın tüm genomu devasa paralel sekanslama sayesinde saatler içinde sekanslanabilmektedir (Şekil 2.3). YNS teknolojileri sayesinde elde edilen tüm genom verisi çiftlik hayvanlarında genetik çeşitliliğin ve seleksiyon izlerinin belirlendiği çalışmaların güvenilirliğini arttırmıştır.

Sığırlarda moleküler düzeyde yapılan analizlerde mikrosatellit markerler, SNP çipler ve YNS teknikleri iş gücü, zaman ve doğruluk derecesi bakımından birbiriyle kıyaslanabilir. Özellikle SNP çipler ile SNP verisinin elde edilmesi daha kolaydır. Çünkü mikrosatellit marker çalışmalarında her gen bölgesinin PCR için optimize edilmesi, çoğaltılması ve fragment analizinin yapılması, YNS yöntemlerinde ise DNA kütüphanelerinin hazırlanması gerekmektedir. Bu aşamalar hem iş gücü hem de zaman gerektirmektedir (Fernández vd. 2013). Diğer yandan SNP'ler biallelik olup teoride her bir SNP bakımından incelenen bireylerde 2 allel ve 3 farklı genotip elde edilmektedir. Mikrosatellit markerlerde ise bir populasyonda çok sayıda allel ve genotip gözlemlenebilmektedir. Örneğin, Rahal vd. (2021) Cezayir sığırlarında yaptıkları çalışmada *ILSTS006* mikrosatellit lokusunda toplam 22 allel tespit etmişlerdir. Ayrıca Schopen vd. (2008) bir mikrosatellit lokusu ile belirlenen genetik bilginin en az 3 SNP ile elde edilebileceğini bildirmiştir. Bu açıdan bakıldığında mikrosatellit lokusların bireysel olarak SNP'lerden daha bilgi verici olduğu düşünülebilir. Ancak mikrosatellit markerler az sayıda olup genomdaki bilginin çok az bir kısmını temsil ettiği için SNP

çipler ve YNS teknikleri karşısında yetersiz kalmaktadır (Bilginer vd. 2022).



Şekil 2.3. TGD yönteminin temel basamakları (Bilginer vd. 2022)

YNS ile kıyaslandığında SNP çiplerin bazı dezavantajları bulunmaktadır. Örneğin sığırlarda genetik çeşitlilik ve seleksiyon izlerinin belirlenmesinde en çok kullanılan SNP çip Illumina tarafından geliştirilen BovineSNP50K olup toplam 54.609 SNP'in tespit edilmesine olanak sağlarken Bhati vd. (2020) İsviçre'de yetiştirilen Original Braunvieh sığırında TGD ile toplam 15.772.811 SNP tespit etmiştir. Tüm genomdan daha fazla SNP üzerinden yapılan çalışmaların güvenilirliği daha yüksek olduğu bilinmektedir. Benzer şekilde Saravanan vd. (2021) *Bos taurus* ve *Bos indicus* sığır ırklarında genetik çeşitlilik ve seleksiyon izlerini Illumina BovineSNP50K ile tespit etmelerine rağmen YNS teknikleriyle tüm genomdan elde edilecek verilerin daha doğru sonuçlar vereceğini vurgulamışlardır. Diğer yandan SNP çiplerin referans ırklar temelinde geliştirilmiş olmaları yerli sığır ırklarında yapılacak bazı analizler için yetersiz kalmalarına, yerli ırklardaki bazı adaptif ve verim özellikleriyle ilişkili bazı genomik bölgelerin gözden kaçırılmasına neden olmaktadır (Hou vd. 2012). Türkiye yerli sığır ırkları da dahil olmak üzere lokal ırklar zaman içerisinde belirli bir coğrafyanın iklimsel koşullarına ve bölgenin patojenlerine karşı adaptif direnç kazanmış canlılardır. Söz konusu adaptasyonun kazanılmasında bazı özgün genotip kombinasyonlarının neden olduğu bilinmektedir. SNP çipler ise referans ırklar temelinde geliştirildikleri için lokal ırklardaki özgün mutasyonların ve nadir varyantların belirlenmesinde yetersiz kalmaktadır.

Yukarıda bahsedilen avantajlarından dolayı YNS teknikleri ile tüm genomdan elde edilen genetik verilerin çiftlik hayvanlarında yapılan farklı biyoinformatik analizleri gerçekleştirmede daha kullanışlı olduğu ve doğru sonuçlar verdiği belirtilmektedir (Fischer vd. 2017; Demir vd. 2022).

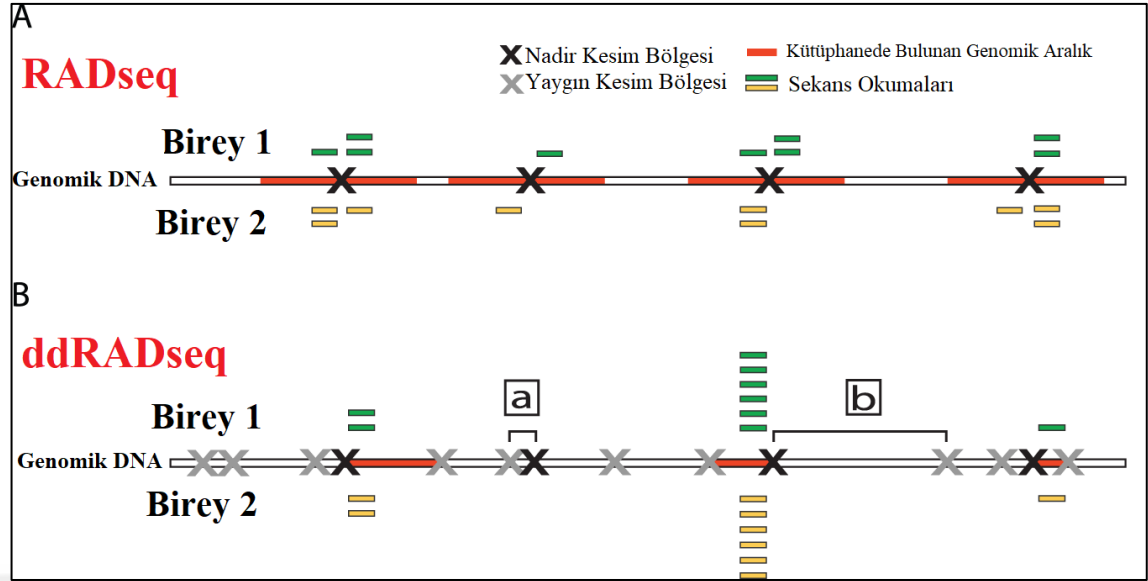
2.4. ddRADseq Yöntemi

Biyoinformatik araçların geliştirilmesine paralel olarak gelişen sekanslama teknolojisi, çiftlik hayvanlarında moleküler çalışmaların yüksek yoğunluktaki verilerle daha kapsamlı yapılmasına olanak tanımıştır. YNS teknolojileri sayesinde tüm genom sekansının kısa sürede ve uygun maliyetle yapılabilmesi metagenomik, Genom Boyu İlişki Analizi (GWAS, Genom-Wide Association Analysis) ve genom boyu yapısal varyasyonlar gibi alanlarının önünü açmıştır.

HiSeq, NovaSeq, Roche 454, Ion Torrent ve Nanapor gibi farklı sekanslama platformları olmasına rağmen günümüzde en çok Illumina markası altındaki platformlar platformu tercih edilmektedir (Ghosh vd. 2018). Son 20 yılda YNS teknolojileri sayesinde çiftlik hayvanlarının genomunun bir kısmı veya tamamı sekanslanmıştır. Et verimi yüksek olan Hereford ve sütçü bir ırk tanımlanan Siyah Alaca genomunun tamamen sekanslanmasıyla sığır genomunda yaklaşık 22.000 genin var olduğu tespit edilmiştir (Elsik vd. 2009; Köks vd. 2013). Bu sığırlara ait genom bilgisi yapılan yeni çalışmalar için referans genom olarak kullanılmakta ve sürekli güncellenmektedir (Demir vd. 2022).

Farklı firmalar tarafından geliştirilen YNS platformlarında tüm genomun sekanlanabilmesi için GBS, RADseq veya ddRADseq gibi yöntemlerle DNA kütüphanelerinin oluşturulması gerekmektedir. Bu yöntemlerden en çok tercih edileni ddRADseq tekniğidir. Peterson vd. (2012) RADseq yöntemini modifiye ederek ddRADseq tekniğini geliştirmiş ve insan, tavuk ve bal arısı dahil olmak üzere toplam 17 türde başarılı olduğunu bildirmiştir. RADseq yönteminde genomik DNA nadir kesim yapan bir restriksiyon enzimiyle kesilerek büyük DNA fragmentleri elde edildikten sonra sonikatörlerle parçalanarak uçlarına adaptör ve barkodlar takılmaktadır. ddRADseq yönteminde ise genomik DNA sık kesim yapan ve nadir kesim yapan restriksiyon enzimleri ile kesilmektedir (Şekil 2.4). Böylece sekans analizinden elde edilecek verilerde genetik bilgi kaybı önemli ölçüde önlenmektedir.

Enzimle kesilen DNA fragmentlerine P1 (moleküler barkod) ve P2 (adaptör primer) denilen ve sekansı bilinen parçalar bağlanmaktadır (Peterson vd. 2012). Moleküler barkodlar herhangi bir DNA fragmentinin hangi bireye ait olduğunu belirlemede oldukça önemlidir. Yöntemde kullanılan moleküler barkod sayısı tek bir sekans şeridinde genomu sekanslanacak birey sayısını belirlemede en önemli faktörlerden biridir. Bu aşamadan sonra farklı moleküler barkodlarla işaretlenen birden fazla bireye ait DNA fragmentleri adaptör primerler kullanılarak PCR ile çoğaltılmaktadır. Ardından aynı moleküler barkodu taşıyan bireylerin farklı adaptör primerlerle çoğaltılması gerekmektedir. Aksi takdirde elde edilen sekans verisinin hangi bireye ait olduğu belirlenmemektedir. “Pooling” olarak andlandırılan aşamada PCR ile çoğaltılan bütün fragmentler tek bir tüpte birleştirilmektir. Aynı tüpte birleştirilen DNA parçaları daha sonra agaroz jel elektroforezine tabii tutularak en yoğun fragmentlerin bulunduğu bir aralık tespit edilmektedir. Benzer uzunlukta olan DNA parçalarının seçilmesi sekans cihazında okuma derinliğinin artmasına neden olmaktadır (Peterson vd. 2012).



Şekil 2.4. RADseq ve ddRADseq yöntemlerinde genomik DNA'dan kısa sekansların elde edilmesi (Peterson vd. 2012)

Ucuz ve hızlı olması (yaklaşık 8 saat), düşük miktarda DNA materyali gerektirmesi (100 ng), YNS tekniklerine uygun olması, referans genoma ihtiyaç duymaması ve model olmayan canlılarda bile kullanılabilir olması ddRADseq yönteminin en önemli avantajlarından (Peterson vd. 2012). Sığırlarda genetik çeşitlilik ve seleksiyon izlerinin belirlenmesinde en çok kullanılan BovineSNP50K çipinde örnek başına maliyetin ortalama 67 dolar (Laoun vd. 2020), ddRADseq yönteminde ise örnek başına kütüphane hazırlama maliyetinin 5 dolar olduğu bildirilmiştir (Peterson vd. 2012). ddRADseq yönteminin başarısı laboratuvar koşullarının iyi bir şekilde optimize edilmesine bağlıdır. Cumer vd. (2021) bazı kelebek ve kayın ağacı populasyonlarında DNA konsantrasyonu, PCR döngü sayısı vb. laboratuvar aşamalarının ddRADseq yönteminde elde edilen toplam okuma ve SNP sayısını doğrudan etkilediğini belirlemişlerdir. Araştırmacılar ddRADseq yöntemiyle elde edilen ham verilerin işlenmesinde kullanılan istatistiksel parametrelerin de toplam okuma ve SNP sayısını etkilediğini vurgulamışlardır.

2.5. Genetik Çeşitlilik ve Seleksiyon İzlerinin Belirlenmesinde Kullanılan İstatistiksel Yaklaşımlar

Sığırlarda genetik çeşitlilik populasyon içi, populasyonlar arası ve populasyonlar arası bireyler içi gibi farklı seviyelerde incelenebilmekle birlikte, genetik çeşitliliğin belirlenmesinde kullanılan istatistiksel yaklaşımlar eldeki genotipik veri çeşidine göre farklılıklar gösterebilmektedir. Örneğin, mikrosatellit verisi ile yapılan analizlerde gözlenen allel sayısı, etkili allel sayısı, allel genişliği vb. parametreler sıklıkla kullanılmaktadır. Ancak doğaları gereği bi-allelizm olmalarından dolayı bu yaklaşımlar SNP verisi için kullanılamamaktadır. Minör Allel Frekansı (MAF), Gözlenen Heterozigotluk (H_O), Beklenen Heterozigotluk (H_E) ve akrabalı yetiştirme katsayısı (F_{IS}) hemen hemen bütün genotipik veri tiplerinde genetik çeşitliliğin belirlenmesinde kullanılan ortak parametrelerdir. Doğal populasyonlarda herhangi bir gen bakımından en az görülen varyant mutant allel, bu allelin görülme sıklığı ise MAF olarak

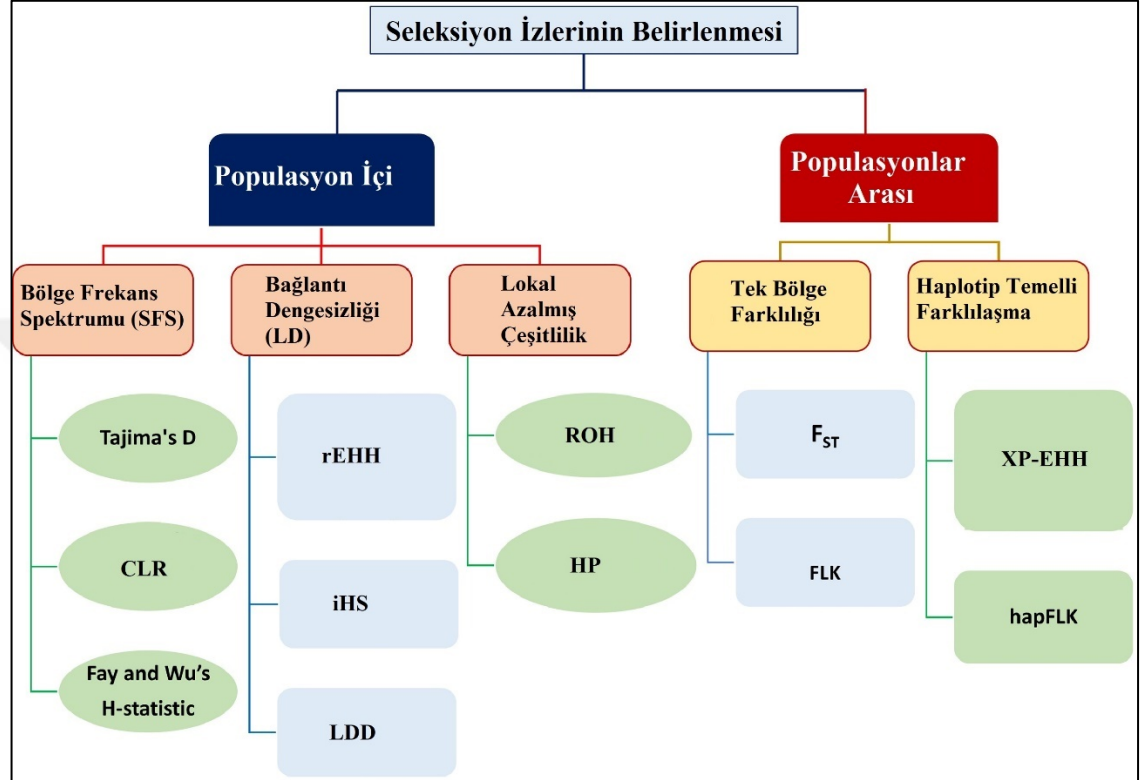
tanımlanmaktadır. Nadir görülmelerine rağmen mutasyonlar herhangi bir gen bakımından popülasyonda farklı varyantların oluşmasına ve genetik çeşitliliğin artmasına neden olmaktadır. Ancak popülasyonda az sayıda bireyde görülen mutasyonlar çoğu zaman sekanslama hatası olarak görülmekte ve biyoinformatik analizlerde göz ardı edilebilmektedir. H_O herhangi bir gen bakımından heterozigot bireylerin popülasyondaki oranını ifade etmektedir (Nei 1973). H_E ise Hardy-Weinberg dengesinde (HWE) olduğu varsayılan bir popülasyonda heterozigot bireylerin tüm popülasyonuna oranını ifade etmektedir (Nei 1973). Dolayısıyla H_O istatistiği gözlemlenebilir gerçek bir parametre iken H_E istatistiği varsayımsal bir istatistiktir. Seleksiyon, göç ve mutasyon gibi HWE dengesini bozan koşulların olmadığı durumlarda H_O ve H_E istatistiğinin birbirine yakın olması beklenmektedir. Bu iki değer yüksek veya düşük olması popülasyondaki toplam genetik çeşitlilik hakkında detaylı bilgiler vermektedir. F_{IS} ise Wright (1965) tarafından öne sürülen üç farklı F istatistiğinden biri olup bir popülasyonda söz konusu gen bakımından akrabalığın ölçüsünü ifade etmektedir. 0 ile 1 arasında değer alan F_{IS} parametresinin düşük olduğu popülasyonlarda genetik çeşitliliğin yüksek olması beklenmektedir.

Sığır da dahil olmak üzere çiftlik hayvanlarında seleksiyon izlerinin belirlenmesine olanak sağlayan çok sayıda istatistiksel yaklaşım bulunmaktadır. 1990'lı yılların başlarında ilk geliştirilen istatistiksel analizler (d_N/d_S istatistiği, Hudson Kreitman ve McDonald Kreitman testleri) gen substitüsyonlarından yararlanarak seleksiyon izlerinin belirlenmesini sağlamıştır (Nielsen 2005). Örneğin, d_N/d_S analizi nötral olduğu düşünülen substitüsyonun frekansının seleksiyona maruz kaldığı varsayılan substitüsyon frekansına oranlanması temeline dayanmaktadır. Bu yaklaşıma göre analiz sonucu 1 iken söz konusu gen bölgesinin seleksiyona maruz kalmadığı ve nötral evrim dengesinde olduğu varsayılmaktadır. Ancak sonucun 1'den fazla olması pozitif seleksiyonun, 1'den az olması ise negatif seleksiyonun göstergesi olduğu bildirilmiştir (Goldman ve Yang, 1994). SNP çip teknolojisi sayesinde tüm genomdan yüksek yoğunlukta SNP verisinin elde edilmesine paralel olarak yeni yaklaşımlar geliştirilmiştir (Şekil 2.5). Bu yaklaşımlar sayıca fazla olmakla birlikte temel olarak popülasyon içi ve popülasyonlar arası istatistiksel analizler olarak sınıflandırılmaktadırlar (Saravanan vd. 2020). Popülasyon içi istatistiksel analizler genomik veri seti ile seleksiyon izlerinin popülasyon içinde belirlenmesine olanak sağlayan Bölge Frekans Spekturumu (SFS, Site Frequency Spectrum), Bağlantı Dengesizliği (LD, Linkage Disequilibrium) ve Bölgesel Azalmış Çeşitlilik (RLV, Reduced Local Variability) yaklaşımından yararlanmaktadır (Weigand ve Leese 2018). Tek bölge ve haplotip temelli genetik farklılaşma yaklaşımları gibi popülasyonlar arası istatistiksel analizler ise lokusa özgün allel frekanslarından kaynaklanan genetik farklılaşma sayesinde seleksiyon izlerini farklı popülasyonları birbiriyle kıyaslayarak ortaya çıkarmaktadır (Zhao vd. 2015).

SFS temelli yaklaşımlar (Tajima'nın D istatistiği, CLR testi ve Fay ve Wu'nun H istatistiği) bir popülasyonda allel frekansı farklılıklarına dayanmaktadır. Bu yaklaşımlara göre seleksiyon baskısı sonucunda düşük ve yüksek frekansa sahip varyantların gözlem sayısının artması, orta frekansa sahip varyantların gözlem sayısının ise azalması beklenmektedir (Achaz 2009).

LD temelli yaklaşımlarda (rEHH, iHS ve LDD) seleksiyon baskısının bağlantı

dengelessnessini genom boyunca uzattığı varsayılmaktadır. Hayvana yarar sağlayan mutasyon temelinde oluşan herhangi bir haplotipin frekansı hızlı bir şekilde artabilmekte ve uzun bir genomik bölge aralığında rekombinasyonun meydana gelmesini engelleyebilmektedir. LD temelli istatistiksel analizlerde rekombinasyon görülmeyen genomik bölgeler analiz edilerek seleksiyona maruz kalan genler tespit edilmektedir.



Şekil 2.5. Seleksiyon izlerinin belirlenmesinde kullanılan istatistiksel yaklaşımlar (Saravanan vd. 2020)

RLV temelli yaklaşımlar genom ortalamasına kıyasla genetik çeşitliliğin önemli derecede azaldığı genomik bölgelerin seleksiyona maruz kaldığı temeline dayanmaktadır. Hayvana yarar sağlayan bir mutasyon üzerine yapılan seleksiyon bu genomik bölge civarında homozigotluğun artmasına neden olabilmektedir. Bu durum genomun belirli bir bölgesinde arka arkaya homozigot allellerin sabitlenmesine neden olacaktır (Saravanan vd. 2020).

Yukarıdaki yaklaşımlardan farklı olarak tek bölge ve haplotip temelli farklılaşma yaklaşımları en az iki populasyonun olduğu durumlarda tercih edilmektedir. Bu yaklaşımlarda analiz edilen populasyonlarda farklı şekillerde fikse olmuş veya olmaya yakın genomik bölgelerin seleksiyona maruz kaldığı varsayılmaktadır (Saravanan vd. 2020).

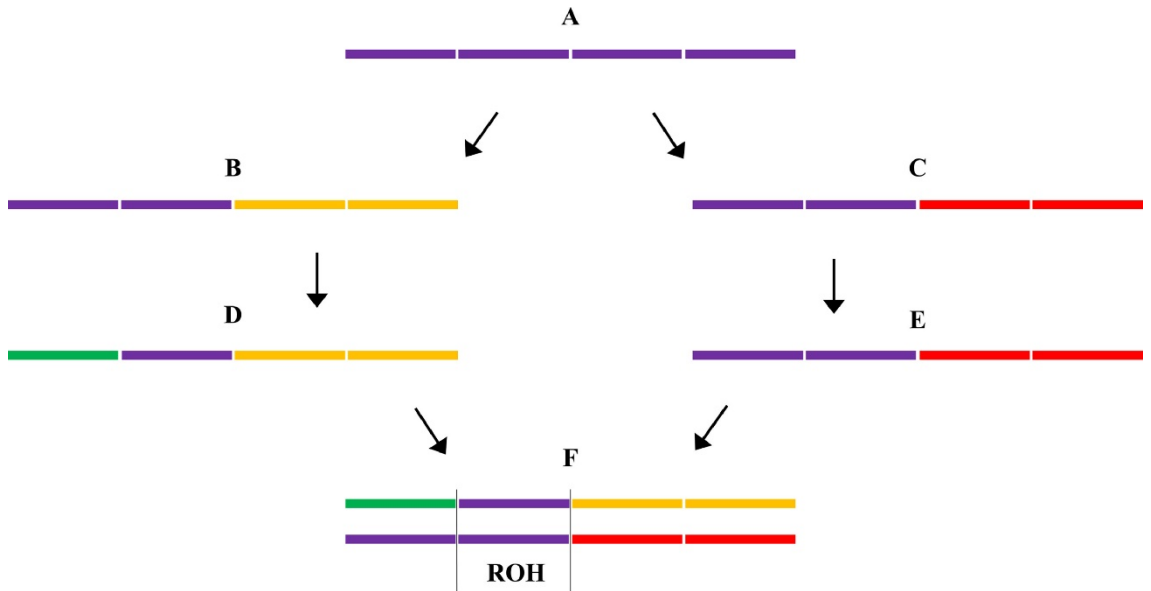
Sekans teknolojilerinde yaşanan hızlı gelişmeler, tüm genomdan yüksek yoğunlukta veri elde edilmesini sağlamasına rağmen seleksiyon izlerinin belirlenmesinde çok sayıda yaklaşım bulunmakta ve hangi yöntemin kullanılması gerektiği konusunda farklı görüşler bulunmaktadır. Bu durum seleksiyon baskısı ile

ilişkili genomik bölgelerin homozigotlaşmasının çeşitli faktörlerden (etkili popülasyon büyüklüğü, darboğaz etkisi, kurucu etkiler, rekombinasyon oranı, seleksiyonun tipi ve gücü) etkilenebilmesine ve bu faktörlerin etkilerinin önceden bilinmesinin her zaman mümkün olmamasından kaynaklanmaktadır (Gouveia vd. 2014). Benzer şekilde Moravčíková vd. (2019a) seleksiyon izlerinin belirlenmesinde hangi yöntemin kullanılacağı konusunda seleksiyon izinin doğası ve genomun söz konusu seleksiyona maruz kaldığı sürenin göz önünde bulundurulması gerektiğini vurgulamışlardır.

Yürütülen doktora tezinde sığırlarda seleksiyon izlerinin belirlenmesinde popülasyon içi ve popülasyonlar arası yaklaşımlardan homozigot aşırılığı ve fiksasyon indeksi (F_{ST}) istatistiği tercih edilmiş ve bu iki yöntem hakkında aşağıda daha detaylı bilgiler verilmiştir.

Homozigot aşırılığı (ROH, Runs of Homozygosity) bir bireyde ardışık homozigot genotiplerin bulunduğu sekans uzunluğunu ifade etmektedir (Ceballos vd. 2018). Dişi ve erkek bireyin aynı atadan aldıkları homozigot genotip kombinasyonlarını aynı yavruya aktarması durumunda ROH segmenti oluşmaktadır (Şekil 2.6).

Genetik sürüklenme, darboğaz etkisi ve yoğun seleksiyon uygulamaları homozigot hale gelen segmentlerin sayısını ve uzunluğunu arttırabilmektedir (Peripolli vd. 2017). Bireylerde ROH segmentlerinin belirlenmesi, popülasyonun yapısı, yetiştirilme geçmişi, demografik yapısı ve bireyler arasındaki genetik farklılık hakkında önemli bilgiler sunabilmektedir (Peripolli vd. 2017). Ayrıca ROH analizinden elde edilen sonuçlar temelinde yapılan çiftleştirme programları popülasyonda akrabalığın azalmasına ve genetik çeşitliliğin artmasına neden olmaktadır.



Şekil 2.6. ROH segmentinin ortak atadan dolayı sonraki generasyonlarda oluşması (Rebelato ve Caetano 2018)

DetectRUNS (Biscarini vd. 2018) ve PLINK (Chang vd. 2015) ROH istatistiğiyle seleksiyon izlerinin belirlenmesinde en çok kullanılan programlardır. PLINK sadece kayan pencere yaklaşımını (sliding-window) desteklerken, detectRUNS

hem kayan pencere hem de ardışık yürütme (consecutive runs) yaklaşımları temelinde R ortamında analizlerin yapılmasına olanak tanımaktadır. Bu yaklaşımlarda minimum SNP sayısı, SNP yoğunluğu, minimum ROH uzunluğu, ROH uzunluğunda göz ardı edilebilecek heterozigot ve kayıp gözlem sayısı gibi bazı parametrelerin araştırmacılar tarafından analizden önce belirlenmesi gerekmektedir. Peripolli vd. (2017)'nin de belirttiği gibi bu parametrelerin seçilmesinde ortak kabul görmüş bir metodolojinin olmaması ROH segmentlerinin tanımlanmasını ve farklı ülkelerde yetiştirilen sığır ırklarında elde edilen ROH sonuçlarının karşılaştırılmasını zorlaştırmaktadır. Ortak bir metodolojinin belirlenmesine yönelik ilk adım Lencz vd. (2007) tarafından minimum SNP sayısının bir formülle belirlenmesiyle atılmıştır.

$$l = \frac{\log_e \frac{a}{ns * ni}}{\log_e(1 - het)} \quad (2.1)$$

Formülde 1 ROH segmentindeki minimum SNP sayısını, *ns* birey başına SNP sayısını, *ni* birey sayısını ve *het* tüm SNP'ler temelinde heterozigotluk değerini ifade etmektedir. Ardından Meyermans vd. (2020) sığır da dahil olmak üzere 8 farklı türe ait orta yoğunlukta SNP verileri ile ROH analizi kriterlerini belirlemeye çalışmışlardır. Araştırmacılar ROH analizinden önce veri setinin bağlantı dengesizliği ve MAF gibi parametreler bakımından filtrelenmemesi gerektiğini önermişlerdir.

Allel frekansları bakımından populasyonlar arasında görülen farklılığın bir ölçüsü olan F_{ST} alt populasyonlarda farklı şekillerde sabitlenen lokusların tespitiyle seleksiyon izlerinin belirlenmesinde kullanılmaktadır (Saravanan vd. 2020). Sıfır ile bir aralığında değer alan F_{ST} değerinin 1'e yaklaşması pozitif seleksiyon, 0'a yaklaşması ise negatif seleksiyonun bir ölçüsü olarak kullanılmaktadır (Zhao vd. 2015). Seleksiyon izlerinin belirlenmesinde F_{ST} istatistiği SFS ve LD yaklaşımlarına göre daha avantajlıdır. Çünkü F_{ST} yaklaşımı SNP temelli olduğu için devam eden seleksiyon uygulamalarını bile açığa çıkarabilmektedir (Saravanan vd. 2020). PLINK (Chang vd. 2015) F_{ST} istatistiğiyle seleksiyon izlerinin belirlenmesinde en çok kullanılan programdır. Programın çalıştırabilmesi için veri setinden en az iki farklı populasyona ait gözlenen değerlerin olması gerekmektedir. Bu yaklaşımda her iki populasyonda sabitlenmiş veya bir populasyonda sabitlenmiş ama diğer populasyonda sabitlenmeye yakın genomik bölgeler tespit edilebilmektedir.

2.6. Sığırlarda Genetik Çeşitlilik ve Seleksiyon İzleri Üzerine Yapılan Çalışmalar

ddRADseq yöntemi ile oluşturulan DNA kütüphaneleri sekans aşamasından sonra yüksek yoğunlukta genomik verinin elde edilmesini sağlamaktadır. Sığırlarda tüm genom verisi genetik çeşitliliğin belirlenmesi, seleksiyon izlerinin takip edilmesi, ekonomik önemi olan verim özelliklerinin analizinde, hastalıklarla ilişkili gen bölgelerinin tespitinde, çevresel adaptasyonla ilişkili özgün mutasyonların ya da nadir varyantların tespit edilmesinde kullanılmaktadır (Rosse vd. 2017; Moravčíková vd. 2019a; Bhati vd. 2020).

Yukarıda farklı bölümlerde belirtildiği üzere, tüm genomdan elde edilen genetik verinin kullanım alanı oldukça geniş olmasına rağmen günümüze kadar Türkiye yerli

sığır ırklarında genom çapında elde edilmesini amaçlayan herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Türkiye yerli sığır ırklarında populasyon büyüklüğünün ve saflığının giderek azalması bilim çevrelerinde kaygıları arttırmış ve araştırmacıların bu alana ilgisi artmıştır. Sığırlarda son yıllarda genetik çeşitliliğin belirlenmesi yönünde yapılan çalışmalar 20-22 adet mikrosatellit markerin kullanılmasına dayandırılmıştır (Demir ve Balcıoğlu 2019; Öner vd. 2019). Mikrosatellit lokuslar genomun çok küçük bir kısmından ibaret olduğu için elde edilen sonuçlar genomu temsil etmemektedir. Genetik çeşitliliğin belirlenmesinde genomun büyük bir kısmının analiz edilmesi daha etkili sonuçlar elde etme bakımından önemlidir. Ayrıca, Türkiye yerli sığır ırklarında seleksiyon izlerinin belirlenmesini amaçlayan herhangi çalışmaya rastlanmamıştır. Buna karşılık Avrupa ülkelerinde yetiştirilen yerli ve kültür sığır ırklarında SNP çip veya tüm genom verisiyle gerçekleştirilen çok sayıda çalışma vardır. Bu çalışmalardan bazıları aşağıda özetlenmiştir.

Mancini vd. (2014) İtalya’da yetiştirilen Piedmontese, Marchigiana, Italian Holstein, Italian Brown ve Italian Pezzata Rossa sığır ırkında populasyon yapısı ve seleksiyon izlerinin belirlenmesi için toplam 2.935 boğayı Illumina BovineSNP50 çipi ile genotiplendirmişlerdir. Populasyon yapısı analizleri çalışılan 5 sığır ırkını genetik kökenleriyle uyumlu olarak farklı kümelerle atadığı belirtilmiştir. Araştırmacılar seleksiyon izlerinin belirlenmesinde F_{ST} yaklaşımını tercih etmişlerdir. Çalışmada kromozom 6’da 3 gen, kromozom 13’te ise toplam 14 gende seleksiyon sinyallerinin tespit edildiği ve bunların et ve süt verimiyle ilişkili olduğu bildirilmiştir.

Makina vd. (2015) Afrika’da yetiştirilen 6 farklı sığır ırkında (Afrikaner, n=44; Nguni, n=54; Drakensberger, n=47; Bonsmara, n=44; Angus, n=31 ve Siyah Alaca, n=29) seleksiyona maruz kalmış genomik bölgelerin belirlenmesi için, yüksek homozigotluk gösteren bölgeler ile ve allel frekansı farklılıklarına göre populasyonlar arasındaki genetik farklılıkları (F_{ST}) değerlendirmişlerdir. Kullanılan iki yöntemle göre toplam 47 genomik bölgede seleksiyon sinyallerinin olduğu, bu sinyallerden 12 tanesinin bütün populasyonlarda ortak olduğu bildirilmiştir. Ayrıca 10 adet seleksiyon sinyalinin ise daha önce yapılan çalışmalarla ortak olduğu vurgulanmıştır. Nguni sığır ırkında keratin genleri (*KRT222*, *KRT24*, *KRT25*, *KRT26* ve *KRT27*) ve *HSPB9* gen bölgesinin seleksiyona maruz kaldığı ve bu gen bölgelerinin daha önce Zebu sığırında tropik iklim koşullarına adaptasyonla ilişkili olduğu belirtilmiştir. Ayrıca çalışılan ırklarda sinir sistemi (*WNT5B*, *FMOD*, *PRELP* ve *ATP2B*), bağışıklık (*CYM*, *CDC6* ve *CDK10*), verim (*MTPN*, *IGFBP4*, *TGFBI* ve *AJAPI*) ve üreme (*ADIPOR2*, *OVOS2* ve *RBBP8*) ile ilişkili gen bölgelerinde seleksiyon izlerinin tespit edildiği bildirilmiştir.

İso-Touru vd. (2016) Avrasya’da (Sibirya, Sırbistan, Rusya, Ukrayna ve Finlandiya) yetiştirilen 10 farklı sığır ırkına ait toplam 293 hayvanı Illumina BovineSNP50 çipi ile genotiplendirerek genetik çeşitlilik ve seleksiyon izlerini belirlemişlerdir. Yapılan STRUCTURE analizinde çalışılan 10 ırkın 6 kümeye ayrıldığı bildirilmiştir. STRUCTURE ve PCA analizleri Yakutian ırkının diğer ırklardan önemli

derecede farklılaştığını ortaya koymuştur. XP-EHH temelinde yapılan analizlerde en az dört ırkta kromozom 6, 7, 13 ve 22'de güçlü seleksiyon izlerinin tespit edildiği belirtilmiştir. En güçlü seleksiyon sinyalinin Yakutian ırkında kromozom 7 ve 21'de belirlendiği ve bunların miRNA ve bağışıklık sistemiyle ilişki genler olduğu vurgulanmıştır. Araştırmacılar genel olarak tespit edilen seleksiyon izlerinin verim (kromozom 19), üreme (kromozom 24) ve et kalitesiyle (kromozom 7) ilişkili genler olduklarını bildirmişlerdir.

Cesarani vd. (2018) İtalya'da yetiştirilen 4 yerli (Modicana, Sarda, Sardo Bruna ve Sardo Moricana) ırk ve İE ırkında populasyon yapısı ve seleksiyon izlerinin belirlenmesi için toplam 88 bireyi Illumina Bovine50K çipi ile genotiplendirmiştir. Araştırmacılar heterozigotluk ve MAF değerleri açısından populasyonlar arasındaki farklılığın düşük olduğunu, PCA analizine göre ırkların yetiştirildiği coğrafi bölgelerle uyumlu bir şekilde birbirinden ayrıldığını belirtmişlerdir. Çalışmada seleksiyon izleri populasyonların ikiyeşerli karşılaştırılmasına olanak sağlayan F_{ST} yaklaşımıyla belirlenmiştir. Sardo Bruna ve İE ırkının karşılaştırıldığında kromozom 6'da süt verimi (*ABCG2*, *PKD2*, *SPP1* ve *LAP3*) ve vücut uzunluğu (*NCAPG* ve *LCORL*) ile ilişkili gen bölgelerinde; Sarda Bruna ve Sarda ırkı karşılaştırıldığında kromozom 8 ve 13'te miRNA ve translasyonla ilişkili bazı gen bölgelerinde; Sarda ve Sardo Modicana ırkı karşılaştırıldığında ise kromozom 7, 14 ve 21'de *UBE3A* geninde seleksiyon izlerinin tespit edildiği bildirilmiştir.

Cheruiyot vd. (2018) Tanzanya'nın Rungwe ve Lushoto bölgelerinde küçük yetiştiriciler tarafından yetiştirilen melez sığırlarda populasyon yapısı ve seleksiyon izlerini belirlemek için toplam 839 hayvanı GeneSeek GGP HD çipiyle genotiplendirmişlerdir. Çalışılan populasyonlarda genetik çeşitliliğin ırk seviyesinde yüksek olmakla birlikte Siyah Alaca genetik karışımının da yüksek (%7-%100) olduğu belirtilmiştir. Çalışmada seleksiyon izlerinin belirlenmesinde iHS, XP-EHH ve pcadapt yaklaşımı tercih edilmiş ve 108 aday gende seleksiyon sinyallerinin tespit edildiği bildirilmiştir. Araştırmacılar seleksiyon izlerinin tespit edildiği gen bölgelerinin verim ve adaptasyonla ilişkili biyolojik yollara dahil olduklarını vurgulamıştır.

Eusebi vd. (2018) uzun yıllar boyunca agonistik (agresif, kavgacı) davranış yönünde selekte edilmiş Lidia sığır ırkı genomu ile uysal davranış özelliği ile bilinen İspanya sığır ırklarının (Austriana de los Valles ve Morenas Gallegas) genomunu karşılaştırmıştır. Çalışmada 50K SNP BeadChip ile elde edilen yüksek yoğunluktaki SNP verisi kullanılarak BayeScan ve SelEstim yaklaşımlarıyla seleksiyona maruz kalmış gen bölgeleri tespit edilmiştir. Araştırmacılar her iki yöntem ile agresif ve uysal ırklarda farklılaşmış ve daha önce davranış özellikleriyle ilişkili gen bölgelerini içeren iki farklı genomik bölgenin tespit edildiğini belirtmişlerdir. Çalışmada seleksiyon izlerinin tespit edildiği *NCDN*, *GRIK3*, *LINGO2* ve *PLAA* genlerinin davranış gelişimini etkileyen metabolik yollarla ilişkili olduğu vurgulanmıştır.

Rodriguez-Valera vd. (2018) Charolais de Cuba sığır ırkında genetik çeşitlilik ve seleksiyon izlerinin belirlenmesi için 40 hayvanı Illumina Bovine50K çipi ile genotiplendirmişlerdir. Araştırmacılar istatistiksel analizlerin sonucunda 43 farklı ırka ait toplam 880 hayvanın genomik verisinin çalışmaya dahil edildiğini belirtmişlerdir. Araştırmacılar Charolais de Cuba sığır ırkının %93 oranında *Bos taurus* allelerini taşıdığını ve PCA analizinde Fransa kökenli Charolais sığır ırkına yakın konumlandığını belirtmişlerdir. EHH yaklaşımı ile toplam 409 SNP’te seleksiyon sinyallerinin tespit edildiği ve bunların bağışıklık sistemi, sıcaklığa tolerans, kas gelişimi ve et kalitesiyle ilişkili genomik bölgeler olduğu belirtilmiştir.

Yurchenko vd. (2018) sert iklim koşullarına adapte olmuş 9 farklı Rusya yerli sığır ırkına ait genom verisini GGPHD 150K SNP çip ile elde ederek Avrupa kökenli sığır ırklarıyla (SA, Angus, Jersey ve Fleckvieh) karşılaştırmışlardır. hapFLK yaklaşımının tercih edildiği çalışmada, araştırmacılar Rusya yerli sığır ırklarında sert iklim koşullarına adaptasyon (*AQP5*, *RAD50* ve *RETREG1*), süt verimi (*DGAT1* ve *ABCG2*), büyüme (*XKR4*) ve üreme (*CSF2*) ile ilişkili gen bölgelerinde seleksiyon izlerinin tespit edildiğini bildirmişlerdir.

Moravčíková vd. (2019a) et verimi yüksek olan Aberdeen Angus, Hereford, Limousin, Charolais, Piedmontese ve Romagnola sığır ırkında seleksiyon izlerinin belirlenmesi için toplam 399 hayvanı Illumina Bovine50K çipi ile genotiplendirmişlerdir. Çalışmada F_{ST} ve ROH yaklaşımının tercih edildiği çalışmada kromozom 2, 6, 13 ve 20’de deri rengi (*KIT* ve *KDR*), kas büyümesi (*GDF9*, *GHRH* ve *GHR*), çift kaslılık (*MSTN*), et kalitesi (*CAST*) ve kas içi yağlanma (*SCD*) ile ilişkili genlerde seleksiyon sinyallerinin tespit edildiği bildirilmiştir.

Moravčíková vd. (2019b) Slovak Spotted ve Slovak Pinzgau sığır ırkına ait toplam 236 hayvanda seleksiyon izlerinin belirlenmesi için F_{ST} ve LD yaklaşımını tercih ettikleri çalışmada Slovak Spotted ırkına ait hayvanların (n=85) Illumina BovineSNP50K ile, Slovak Pinzgau ırkına ait hayvanların (n=151) ise ICBF International Dairy and Beef v3 SNP çipi ile genotiplendirildiği belirtilmiştir. Araştırmacılar 9 farklı kromozoma (4, 5, 6, 7, 11, 12, 20, 22 ve 23) dağılmış olan toplam 18 genomik bölgede seleksiyon sinyallerinin tespit edildiğini ve bunların süt verimi (Casein gen ailesi, *HAL*, *IGF1*, *ABCG2* ve *SPP1*), karkas özellikleri ve vücut kompozisyonu (*MYBPC1*, *MYH9* ve *PACRGL*), üreme (*AMDHD1*), mizaç (*SNRPF*) ve deri rengiyle (*KIT* ve *KDR*) ilişkili genler olduğu vurgulanmıştır.

Bhati vd. (2020) İsviçre’de yetiştirilen Original Braunvieh sığır ırkında genetik çeşitlilik ve seleksiyon izlerini belirlemek için 49 hayvanın tüm genomunu sekanslamışlardır. Çalışmada toplam 15.772.811 SNP tespit edilmiştir. Araştırmacılar ortalama nükleotit çeşitliliğinin (1.6×10^{-3}) Avrupa kökenli ırklara kıyasla yüksek, akrabalı yetiştirme katsayısının (0.14) görece düşük olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmada seleksiyon izlerinin belirlenmesinde ise CLR ve iHS istatistikleri tercih

edilmiştir. CLR istatistiği ile 136, iHS istatistiğine göre ise 157 protein kodlayan gen bölgesinde seleksiyon sinyallerinin tespit edildiği ve bunların et kalitesi, yem tüketimi ve canlı ağırlık gibi et verimiyle ilişkili oldukları vurgulanmıştır.

İtalya’da süt ve et verimi için yetiştiriciliği yapılan Valdostana sığır ırkının kıl rengi, verim seviyesi, morfoloji ve mizaç bakımından birbirinden farklılaşmış üç varyetesi (Valdostana Red Pied, VPR; Valdostana Black Pied, VPN ve Valdostana Chestnut, VCA) bulunmaktadır. Mastrangelo vd. (2020) Valdostana varyetelerinde seleksiyon izlerini belirlemek için Bovine 50 SNP çipi ile elde edilen yüksek yoğunluktaki SNP verilerini F_{ST} , iHS ve Rsb parametreleriyle incelemişlerdir. VPR, VPN ve VCA varyetelerinde sırasıyla 13, 13 ve 16 genomik bölgenin seleksiyona maruz kaldığı bildirilmiştir. Söz konusu genomik bölgelerin süt verimi, et verimi, bağışıklık tepkisi ve davranış özellikleriyle ilişkili gen bölgeleri ile çakıştığı bildirilmiştir. Ayrıca bütün varyetelerde seleksiyona maruz kalmış KDR geninin kıl rengi, $CLOCK$ geninin ise bağışıklık sistemi ve sirkadiyen ritmin düzenlenmesi ile ilişkili olduğu belirtilmiştir.

Yanbian sığırı Çin’in yerli sığır ırklarından biri olup soğuğa dayanıklı olduğu bilinmektedir. Diğer yandan Afrika’da yetiştirilen N’Dama sığır ırkının ise çok yüksek ısıya dirençli olduğu bilinmektedir. Shen vd. (2020) Yanbian sığır ırkına ait toplam 9 bireyin tüm genomunu sekanslayarak yüksek ısıya dirençli olduğu bilinen N’Dama genomuyla kıyaslamıştır. Seleksiyon izlerinin belirlenmesi için XP-CLR ve F_{ST} yaklaşımını tercih eden araştırmacılar Yanbian sığırlarında $CORT$, $FGF5$ ve $CD36$ gen bölgelerinde seleksiyon sinyallerinin tespit edildiğini ve bunların soğuk stresine dirençle ilişkili olduklarını bildirmişlerdir.

Fabbri vd. (2021) 8 farklı İtalyan etçi sığır ırkı ile Charolais ve Limousine sığır ırklarında genetik çeşitlilik ve seleksiyon izlerini belirlemek için toplam 1.308 hayvanı GeneSeek GGP-LD v4 33K çipi ile genotiplendirmişlerdir. Çalışmada Charolais, Limousine, Sarda ve Sardo Bruno ırklarında yüksek frekanslı kısa ROH sekanslarının olduğu, Calvana ve Mucca Pisana ırklarında ise 16 Mbs’dan daha uzun ROH sekanslarının olduğu belirtilmiştir. En yüksek akrabalı yetiştirme katsayısı (0.3) Tuscan ırkında tespit edilmiştir. ROH istatistiği temelinde yapılan seleksiyon izi analizinde 8 farklı genomik bölgede seleksiyon sinyallerinin tespit edildiği ve bunların iltihap süreci, stres veya hasar sonucu hücrenin canlı kalması, sinaptik plastisite, öğrenme ve hafıza ile ilişkili oldukları belirtilmiştir.

Freitas vd. (2021) genetik çeşitlilik ve seleksiyon izlerini 32 farklı sığır ırkına ait toplam 986 hayvanda araştırmışlardır. Kontrol grubu olarak Daton Yak (*Bos grunniens*) ve Bali sığırı (*Bos javanicus*)’nın kullanıldığı çalışmada hayvanlar Illumina BovineSNP50K çipi ve GeneSekk GGP-HDV3 SNP paneli ile genotiplendirildiği bu çalışmada seleksiyon izlerinin belirlenmesinde ise F_{ST} , hapFLK ve ROH istatistiklerinin tercih edildiği belirtilmiştir. Çalışılan ırklarda genetik çeşitliliğin orta seviyede olduğu

ve gözlenen heterozigotluğun 0.023 (Daton yak) ile 0.366 (Sahne ırkı) aralığında değiştiği bildirilmiştir. Çalışmada tespit edilen seleksiyon sinyallerinin stres proteinleri, oksijen taşınması, anatomik özellikler, mtDNA devamlılığı, metabolik aktivite, yem tüketimi, karkas konformasyonu ve üremeyle ilişkili olduğu vurgulanmıştır. PCA analizinin ırkları verim yönleriyle uyumlu olarak ayırdığı belirtilmiştir.

Kasarda vd. (2021) Slovak Spotted sığır ırkında genetik çeşitlilik ve seleksiyon izlerinin belirlenmesi amacıyla toplam 85 hayvanı Illumina SNP50K çipi ile genotiplendirilmiştir. Araştırmacılar LD temelli analize göre etkili populasyon büyüklüğünün 58 olduğunu generasyon başına etkili populasyon sayısının ortalama 6.88 birey bazında azaldığını belirtmişlerdir. ROH yaklaşımının tercih edildiği çalışmada 21 gen bölgesinde seleksiyon sinyallerinin tespit edildiği ve bunların üreme (*SLC9C1* ve *PTPN12*), süt verimi (*IGF1* ve *ABCG2*), et verimi (*IFRD1* ve *PTPN4*), gelişim süreci (*FMNL2* ve *GLI2*), bağışıklık sistemi (*CD96* ve *CSK*) ve deri rengiyle (*KIT*) ilişkili olduğunu vurgulamışlardır.

Ma vd. (2021) Çin’de yetiştirilen Huaxia sığır ırkında populasyon yapısını belirlemek için atasal olarak köken aldığı Mongolian, Sahne, Charolais, Fleevicht, American Simmental, Canadian Simmental, Austrian Simmental ve Montbeliard sığır ırklarıyla karşılaştırmıştır. Toplam 228 hayvanın Illumina BovineHD SNP çipi ile genotiplendirildiği çalışmada PCA analizinin Huaxia sığır ırkının atasal kökenlerinden belirgin bir şekilde ayrıldığı belirtilmiştir. Seleksiyon izlerinin belirlenmesinde iHS ve CLR yaklaşımlarının tercih edildiği çalışmada sırasıyla 143 ve 199 gende seleksiyon sinyallerinin tespit edildiği belirtilmiştir. Araştırmacılar bu genlerden 9 tanesinin (*KCNK1*, *PDLIM5*, *CPXM2*, *CAPN14*, *MIR2285D*, *MYOF*, *PKDCC*, *FOXN3* ve *EDH3*) Huxia sığır ırkının karakteristik özellikleriyle (iyon bağlama, kas büyümesi ve farklılaşması ve hastalıklara direnç) ilişkili olduğu vurgulanmıştır.

Meyermans vd. (2021) yok olma tehlikesiyle karşı karşıya olan 98 Belgian Red ve 179 Belgian White Red sığırında genetik çeşitliliği belirlemede ROH, etkili populasyon büyüklüğü tahmini ve F_{ST} yaklaşımını değerlendirmişlerdir. Çalışmada Belgian Red örnekleri Illumina BovineSNP50K çipi ile, Belgian White Red örnekleri ise EuroGenomics MD çipi ile genotiplendirilmiştir. Her iki ırkta da akrabalı yetiştirme katsayısının çok yüksek (0.07 ve 0.061) ve etkili populasyon büyüklüğünün düşük olduğu (68 ve 86) bildirilmiştir. Araştırmacılar populasyon yapısının belirlenmesi için söz konusu populasyonları 52 sığır ırkıyla karşılaştırdıklarını ve PCA ve ADMIXTURE analizine göre bazı Belçika, Alman, Fransız ve İskandinav ırklara yakın konumlandıklarını bildirmişlerdir. Ayrıca F_{ST} istatistiğine göre yapılan analizde Belgian Red ırkında kromozom 6’da *KIT* geninde seleksiyon izinin tespit edildiği bildirilmiştir.

Saravanan vd. (2021) 7 farklı *Bos indicus* (Tharparkar, Gir, Sahiwal, Red Sindhi, Kankrej, Ongole and Haryana) ve 5 farklı *Bos taurus* (SA, İE, Jersey, Ayrshire ve Guernsy) sığır ırkına ait toplam 236 bireyde seleksiyon izlerinin belirlenmesi için iHS,

ROH ve F_{ST} yaklaşımını tercih etmişlerdir. Hayvanların Illumina BovineSNP50K çip ile genotiplendirildiği çalışmada iHS yaklaşımıyla 179 bölgede 518, ROH yaklaşımıyla 56 bölgede 277 ve F_{ST} yaklaşımıyla 231 bölgede 231 aday gende seleksiyon sinyallerinin tespit edildiği bildirilmiştir. Çalışmada söz konusu genlerin verim özellikleriyle birlikte ısı stresi ve hastalıklara hassasiyet gibi çevresel adaptasyonla ilişkili olduklarını belirtmişlerdir. Ayrıca araştırmacılar Illumina BovineSNP50K çipinin yeterli olmadığını daha yüksek yoğunlukta SNP çiplerin ve tüm genom sekanslama ile elde edilen genomik verilerle analizlerin yapılması gerektiğini vurgulamışlardır.

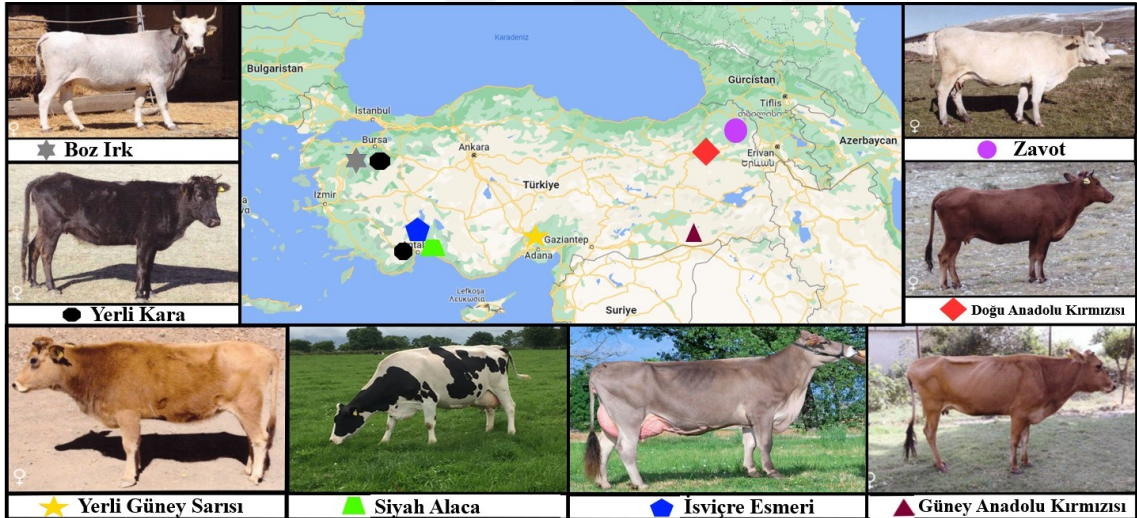
Kyselová vd. (2022) Czech Red (CR) ve Czech Spotted (CS) ırkları ve melezlerinde genetik çeşitlilik ve seleksiyon izlerini belirlemek için toplam 84 hayvanı Illumina BovineSNP50K çipi ile genotiplendirdikleri çalışmada gözlenen heterozigotluğun 0.362 (CR) ile 0.377 (CS) aralığında değiştiği belirtilmiştir. Araştırmacılar populasyonlarda akrabalı yetiştirme katsayılarının (F_{IS}) negatif değerler almakla birlikte populasyonlar arasındaki genetik farklılaşma katsayısının düşük (0.088) olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmada seleksiyon izlerinin belirlenmesinde F_{ST} istatistiğinin tercih edildiği ve kromozom 1, 3, 11, 12, 18 ve 22’de toplam 69 protein kodlayan bölgede seleksiyon sinyallerinin tespit edildiği bildirilmiştir. Araştırmacılar seleksiyon izlerinin belirlendiği gen bölgelerinin üreme özellikleri, et ve süt verimiyle ilişkili olduklarını vurgulamışlardır.

3. MATERYAL VE METOT

Araştırma materyalini Türkiye yerli sığır ırklarına [DAK (n=20), GAK (n=20), BI (n=20), YGS (n=20), ZAV (n=20) ve YK (n=20)] ait toplam 120 kan örneğinden izole edilen DNA'lar oluşturmıştır. Ayrıca genetik çeşitlilik, populasyon yapısı ve seleksiyon izlerinden elde edilecek sonuçların, ırkların genetik kökeni ve yetiştirilme geçmişi kapsamında değerlendirebilmesi için Türkiye'de yetiştiriciliği yapılan iki kültür sığır ırkına [SA (n=20) ve İE (n=20)] ait 40 örnek çalışmaya dahil edilmiştir. Çalışmada ddRADseq yöntemi kullanılarak DNA kütüphaneleri oluşturulmuş ve tüm genom sekanslama analizi Illumine HiSeq X Ten platformunda hizmet alımı yoluyla gerçekleştirilmiştir.

3.1. Hayvan Materyali

BI, GAK, DAK ve ZAV ırkına ait kan örnekleri sırasıyla Balıkesir, Şanlıurfa, Erzurum, ve Kars illerinden, SA ve İE ırkına ait kan örnekleri ise Antalya ilinden temin edilmiştir. YK ırkına ait kan örnekleri Eskişehir ve Antalya illerinden temin edilmiştir. YGS ırkına ait kan örnekleri ise Adana ilinden temin edilmiştir (Şekil 3.1). Kültür ırklarına ait kan örnekleri ticari işletmelerden temin edilmiştir. YGS ırkına ait kan örnekleri korumaya alınmış sürülerden alınırken, diğer yerli ırklara ait kan örnekleri köy sürülerinden toplanmıştır.



Şekil 3.1. Kan örneklerinin toplandığı bölgeler

Örnekleme yapılırken her ırktan en az üç farklı sürüden ve birbiriyle akraba olmayan bireylerden kan alınmasına dikkat edilmiştir. Sığırlardan kan örneklerinin alınması için gerekli izin Akdeniz Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından alınmıştır (protokol no: B.30.2.AKD.0.05.07.00./82). Toplanan kan örnekleri soğuk zincir altında Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootečni Bölümü Moleküler Genetik Laboratuvarı'na getirilerek DNA ekstraksiyonu aşamasına kadar -20 °C'de saklanmıştır.

3.2. Kan Örneklerinden DNA Ekstraksiyonu ve Ölçümleri

Tüm genom sekansının başarılı bir şekilde gerçekleştirilmesi öncelikle yeterli miktar ve kalitede DNA'nın ekstrakte edilmesine bağlıdır. Araştırmada toplanan kan örneklerinden DNA ekstraksiyonu GeneJET Genomic DNA Purification Kit (Katalog No: K0722, Thermo Scientific, ABD) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. DNA ekstraksiyon kitine ait el kılavuzunda belirtilen aşamalar izlenerek total kandan DNA ekstrakte edilmiştir. DNA ekstraksiyonunda takip edilen adımlar aşağıda belirtilmiştir.

1- Toplam 200 µl kan örneği 1.5 mL'lik santrifüj tüplerine aktararak üzerine 400 µl lizis solüsyonu ve 20 µl Proteinaz K eklenmiştir.

2- Karışım kısa bir süre vorteks cihazıyla karıştırıldıktan sonra 2 saat boyunca 56 °C'de su banyosuna bırakılmıştır.

3- Karışıma 200 µl saf etanol eklenerek kısa bir süre vorteks cihazıyla karıştırıldıktan sonra filtreli tüplere aktarılmıştır.

4- Karışım 1 dk boyunca 6000 x g'de santrifüj edildikten sonra toplama tüpünde kalan kısım uzaklaştırılarak filtre yeni bir toplama tüpüne aktarılmıştır.

5- Filtreli tüplere 500 µl Wash Buffer I eklenerek 1 dk boyunca 8000 x g'de santrifüj edilmiş ve toplama tüpünde biriken kısım uzaklaştırılmıştır. Filtre içeren kolon yeni bir toplama tüpüne aktarılmıştır.

6- Filtreli tüplere 500 µl Wash Buffer II eklenerek 3 dk boyunca 12000 x g'de santrifüj edilmiş ve toplama tüpünde biriken kısım uzaklaştırılmıştır. Filtre içeren kolon 1.5 mL'lik kapaklı santrifüj tüpüne aktarılmıştır.

7- Filtreli tüplere 80 µl saf su eklenerek 2 dk boyunca oda sıcaklığında bekletilmiştir. Ardından 8000 x g'de santrifüj edilerek izole edilen DNA'ların yeni tüpe aktarılması sağlanmıştır.

Ekstrakte edilen DNA'ların miktarının ölçülmesinde Qubit 4 Fluorometer cihazı kullanılmıştır. Ölçümü 8 ng/µl'den az olan örnekler yukarıda belirtilen aşamalar izlenerek DNA ekstraksiyonu tekrar edilmiştir.

3.3. DNA Kütüphanelerinin Oluşturulması ve Sekans Analizi

Bu çalışmada yerli ve kültür sığır ırklarına ait toplam 160 bireye ait DNA kütüphanesi ddRADseq yöntemiyle hazırlanmıştır. Çalışma kapsamında 24 moleküler barkod ve 4 indeks primer kullanılmıştır. ddRADseq yönteminde kullanılan moleküler barkod ve indeks primer sayısı Illumina platformunda tek bir sekans şeridinde tüm genomu sekanslanacak birey sayısını belirlemektedir. Bu durumda en fazla 96 birey (24x4=96) tek bir kütüphanede birleştirilebilmektedir. Dolayısıyla bu çalışmada 96'lık (Çizelge 3.1.) ve 64'lük (Çizelge 3.2.) iki ayrı kütüphane oluşturulmuştur.

Çizelge 3.1. Birinci sekans analizi için hazırlanan kütüphaneye ait bilgiler

Alt Kütüphane	Moleküler Barkod	Primer İndeks	Örnek Sayısı	Örnekler
1	GCATG, AACCA, CGATC, TCGAT, TGCAT, CAACC, GGTTG, AAGGA, AGCTA, ACACA, ATTAC, CATAT, CTGCG, CTTGG, GAGTC, GCCGT, GTAGT, TCCGG, TGGAA, TTACC, AATTA, ACGGT, ACTGG, ACTTC	ATCACG	24	YK 1-20, BI 1-4
2	GCATG, AACCA, CGATC, TCGAT, TGCAT, CAACC, GGTTG, AAGGA, AGCTA, ACACA, ATTAC, CATAT, CTGCG, CTTGG, GAGTC, GCCGT, GTAGT, TCCGG, TGGAA, TTACC, AATTA, ACGGT, ACTGG, ACTTC	TGACCA	24	BI 5-20, DAK 1-8
3	GCATG, AACCA, CGATC, TCGAT, TGCAT, CAACC, GGTTG, AAGGA, AGCTA, ACACA, ATTAC, CATAT, CTGCG, CTTGG, GAGTC, GCCGT, GTAGT, TCCGG, TGGAA, TTACC, AATTA, ACGGT, ACTGG, ACTTC	GCCAAT	24	DAK 9-20, GAK 1-12
4	GCATG, AACCA, CGATC, TCGAT, TGCAT, CAACC, GGTTG, AAGGA, AGCTA, ACACA, ATTAC, CATAT, CTGCG, CTTGG, GAGTC, GCCGT, GTAGT, TCCGG, TGGAA, TTACC, AATTA, ACGGT, ACTGG, ACTTC	ACTTGA	24	GAK 13-20, YGS 1-16

Çizelge 3.2. İkinci sekans analizi için hazırlanan kütüphaneye ait bilgiler

Alt Kütüphane	Moleküler Barkod	Primer İndeks	Örnek Sayısı	Örnekler
1	GCATG, AACCA, CGATC, TCGAT, TGCAT, CAACC, GGTTG, AAGGA, AGCTA, ACACA, ATTAC, CATAT, CTGCG, CTTGG, GAGTC, GCCGT, GTAGT, TCCGG, TGGAA, TTACC, AATTA, ACGGT, ACTGG, ACTTC	ATCACG	24	YGS 17-20, ZAV 1-20
2	GCATG, AACCA, CGATC, TCGAT, TGCAT, CAACC, GGTTG, AAGGA, AGCTA, ACACA, ATTAC, CATAT, CTGCG, CTTGG, GAGTC, GCCGT, GTAGT, TCCGG, TGGAA, TTACC, AATTA, ACGGT, ACTGG, ACTTC	TGACCA	24	SA 1-20, İE 1-4
3	GCATG, AACCA, CGATC, TCGAT, TGCAT, CAACC, GGTTG, AAGGA, AGCTA, ACACA, ATTAC, CATAT, CTGCG, CTTGG, GAGTC, GCCGT, GTAGT, TCCGG, TGGAA, TTACC, AATTA, ACGGT, ACTGG, ACTTC	GCCAAT	20	İE 5-20

Peterson vd. (2012) tarafından bildirilen ddRADseq yöntemine ait aşamalar kullanılarak DNA kütüphaneleri oluşturulmuştur. Bu aşamalar aşağıda özetlenmiştir.

1- DNA ekstraksiyonu aşamasında izole edilen bütün DNA'ların konsantrasyonunun 8 ng/μl'den az olmamasına özen gösterilmiştir. Farklı konsantrasyonlarda ekstrakte edilen DNA'lar 3 ng/μl olacak şekilde optimize edilmesi için gereken miktarlarda saf su eklenerek seyreltilmiştir.

2- Total DNA'lar *EcoRI* ve *MspI* restriksiyon enzimleriyle kesilmiştir. Bu amaçla toplam 20 μl karışım (17 μl total DNA, 0.5 μl *EcoRI*, 0.5 μl *MspI* ve 2 μl

Cutsmart Buffer) 4 saat boyunca 37 °C’de inkubasyona bırakılmıştır.

3- İnkubasyondan sonra kalan enzim ve buffer kalıntılarının uzaklaştırılması için manyetik kürecikler (Agencourt AMPure XP) ile DNA fragmentleri temizlenmiştir. Manyetik kürecikler belirli büyüklükteki DNA moleküllerini negatif yükleri nedeniyle kendi üzerlerine bağlamakta ve yıkamalar yoluyla solüsyon içerisindeki enzim ve diğer moleküllerin DNA’dan uzaklaştırılmasını sağlamaktadır. Her bir solüsyona x32 volüm manyetik küreciklerden eklendikten sonra DNA’lar alkol ile yıkanmış ve sonra 20 µl saf su eklenerek çözümleri sağlanmıştır. Bir sonraki aşamaya geçmeden önce kesilen DNA parçalarının miktarı Qubit 4 Fluorometer cihazıyla ölçülmüştür.

4- Restriksiyon enzimleriyle kesilen DNA örneklerinin konsantrasyonu 3 ng/µl ve hacmi 33 µl olacak şekilde optimize edilmiştir. Konsantrasyonu 3 ng/µl’den az olan örnekler için enzimle kesim aşaması tekrar yapılmış, konsantrasyonu yüksek olanlar örneklerle ise yeterli miktarda saf su eklenerek seyreltilmiştir.

5- Her hayvana ait DNA parçaları moleküler barkodlar ve indeks primerler kullanılarak işaretlenmiştir. Bu çalışmada toplam 24 farklı moleküler barkod ve 4 farklı indeks primer kullanılmıştır (Çizelge 3.1 ve Çizelge 3.2.). Moleküler barkod ve indeks primerlerin DNA parçalarına bağlanması için T4 Ligaz enzimi kullanılmıştır. Bu amaçla toplam 40 µl reaksiyon (33 µl DNA parçaları, 1 µl moleküler barkod, 1 µl indeks primer, 4 µl 10X Ligaz Buffer ve 1 µl T4 Ligaz) PCR ile çoğaltılmıştır. PCR koşulları ilk denatürasyon 98 °C’de 30 saniye, denatürasyon 98 °C’de 20 saniye, bağlanma 65 °C’de 30 saniye, uzama 72 °C’de 40 saniye ve son uzama 72 °C’de 10 dakika olacak şekilde 17 döngü olarak gerçekleştirilmiştir.

6- “Pooling” olarak adlandırılan aşamada aynı indekse ama farklı barkodlara sahip örnekler tek bir tüpte birleştirilmiştir. Bu çalışmada 4 farklı indeks kullanıldığı için 4 farklı tüp pooling için kullanılmıştır.

7- Pooling edilen örneklerde T4 Ligaz ve 10X Ligaz Buffer kalıntılarını uzaklaştırmak için 3. aşamada belirtilen manyetik küreciklerle temizleme işlemi tekrar uygulanmıştır.

8- Bu basamakta 350-450 bp aralığındaki DNA fragmentlerinin dört alt kütüphane seçilmesi Pippin Prep (Sage Science) cihazında %2’lik agaroz içeren 100-600bp aralığında DNA fragmenti seçimine izin veren 5 kanallı DNA jel kasetler kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu aralığın seçilmesinin sebebi restriksiyon enzimleri ile kesilmede en yüksek derinliğin bu aralıktan elde edilmesidir. Boyut seçilimi işlemi öncesi her bir alt kütüphaneden konsantrasyonu 2200 ng olacak şekilde 30 µl DNA alınarak boya ile de karıştırılarak DNA jel kasetindeki kuyucuklara yüklenmiştir. Sonrasında cihazın lazerinin kalibrasyonun için özel bir fixture kullanılarak optikler kalibrasyon gerçekleştirilmiştir. Dört ayrı kütüphanenin yüklendiği her bir kuyucukta 350-450 bp aralığında seçim gerçekleşmesi için makinede kütüphaneler 1 saat 20 dk yürütülmüştür. Yürütme işlemi sonrası kasetteki elution module kısmının üstündeki seal tape kaldırıldı ve 40ul lik solusyon bu hazneden çekildi. Elution module kısmından 40 ul’lik kütüphane ürününü attıktan sonra bu solusyonlarla PCR aşamasına geçilmiştir.

9- Adaptöleri takılan temizlenen ve belli bir büyüklükte seçilen alt

kütüphanelerdeki fragmentlerin zenginleştirilmesi Illumina platformundaki oligolar ile uyumlu PCR primerleri ile gerçekleştirilmiştir. Bunun için Iproof buffer, dNTP, MgCl₂, Forward ve Revers primerler (adaptöre takılı olanlara spesifik), DMSO ve IProof Taq polimeraz (Biorad) kullanıldı. PCR döngü sayısı DNA konsantrasyon miktarları 50 ng olacak şekilde ayarlanarak 17x olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. PCR ürünleri sonrasında jelde yürütülüp kontrol edildikten sonra pool edilip mikro küreciklerle temizlenip ölçümleri yapıldıktan sonra sekanslamaya gönderilmiştir.

10- Hazırlanan DNA kütüphaneleri sekansa gönderilmeden önce Qubit 4 Fluorometer ve Nanodrop cihazı kullanılarak miktar ve kaliteleri ölçülmüştür.

DNA ekstraksiyonu Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootečni Bölümü Moleküler Genetik Laboratuvarı'nda, genomik kütüphanelerinin oluşturulması ise Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Bilimsel ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi, Genetik Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir. DNA kütüphanelerinin sekanslanması ise hizmet alımı yoluyla Illumina HiSeq X Ten platformunda çift yönlü olarak 150bp x 2 şeklinde gerçekleştirildi.

3.4. Biyoinformatik Analizler

Illumina HiSeq X Ten platformunda PCR ürünleri her iki ucundaki moleküler barkod dizilimine göre sekans şeridine yapışmakta ve bir köprü şeklini (bridge amplification) alarak yeniden sentez yoluyla 150 bp uzunluğunda sekanslanmaktadır. Cihazın sekansladığı her bir 150 bp uzunluğundaki DNA parçası “okuma” olarak ifade edilmektedir. Sekans cihazından elde edilen kısa okumaların genetik çeşitlilik, populasyon yapısı ve seleksiyon izlerinin belirlenmesine yönelik analizlerde kullanılabilmesi için bir takım işleme ve filtreleme aşamalarından geçmeleri gerekmektedir. Ticari firmadan elde edilen ve tüm genomu kapsayan ham verinin işlenmesi yüksek bilgisayar gücü gerekmektedir. Ham verinin depolanması ve işlenerek analizlere hazır hale getirilmesinde TÜBİTAK ULAKBİM, Yüksek Başarım ve Grid Hesaplama Merkezi (TRUBA)'nin sağladığı kaynaklar kullanılmıştır.

3.4.1. Ham verinin işlenmesi

Sekans cihazından elde edilen ham veri setinde her bir alt kütüphane için 24 bireye ait forward ve reverse okumaları içeren FASTQ dosyaları bulunmaktadır. Söz konusu kısa okumaların uçlarında moleküler barkod ve indeks primer sekansları bulunmakla birlikte bazı okumaların laboratuvar koşullarının optimizasyonunda yaşanan sorunlardan dolayı barkodsuz ve/veya indeksiz olabileceği durumlar da gözlenebilmektedir. Dolayısıyla barkod ve indeks bilgileri bilinen okumaların bireylere atanması (demultiplexing), barkod ve indeks bilgisi olmayan kısa okumaların ise veri setinden uzaklaştırılması gerekmektedir. Bu çalışmada kısa okumaların bireylere atanması, barkod ve indeks bilgisi eksik kısa okumaların veri setinden uzaklaştırılması için STACKS 2 (Rochette vd. 2019) programı kullanılmıştır. Söz konusu programın “process_radtags” alt modülüne bireylerin isimleriyle birlikte moleküler olarak kodlandıkları barkod ve indeks bilgileri girilerek her bir alt kütüphane için demultiplexing aşaması gerçekleştirilmiştir.

Illumina platformlarından elde edilen FASTQ dosyaları sadece kısa okumalara

ait sekans bilgilerini değil aynı zamanda bu okumalara ait kalite değerlerini belirten sembolleri de içermektedir (Çizelge 3.3.). Her bir sembole karşılık ASCII kodu ve Phread skoru (Q) bulunmaktadır.

Çizelge 3.3. Kısa okumaların 0-40 aralığındaki kalite parametreleri

Sembol	ASCII	Q	Sembol	ASCII	Q	Sembol	ASCII	Q	Sembol	ASCII	Q
!	33	0	,	44	11	7	55	22	B	66	33
"	34	1	-	45	12	8	56	23	C	67	34
#	35	2	.	46	13	9	57	24	D	68	35
\$	36	3	/	47	14	:	58	25	E	69	36
%	37	4	0	48	15	;	59	26	F	70	37
&	38	5	1	49	16	<	60	27	G	71	38
'	39	6	2	50	17	=	61	28	H	72	39
(	40	7	3	51	18	>	62	29	I	73	40
)	41	8	4	52	19	?	63	30			
*	42	9	5	53	20	@	64	31			
+	43	10	6	54	21	A	65	32			

Phread skoru sekans cihazının herhangi bir nükleotidi tespit etme doğruluğunu ifade etmektedir. Örneğin Phread skorunun Q20 ve Q30 olması herhangi bir nükleotidin sırasıyla %99 ve %99.9 isabet derecesiyle doğru tespit edildiğini ifade etmektedir (Çizelge 3.4.).

Çizelge 3.4. Farklı Phread kalite skorlarına ait hata olasılığı ve doğruluk oranı

Phread Kalite Skoru	Hatalı Olasılığı	Doğruluk Oranı (%)
Q10	10 örnekte 1	90
Q20	100 örnekte 1	99
Q30	1000 örnekte 1	99.9
Q40	10000 örnekte 1	99.99
Q50	100000 örnekte 1	99.999
Q60	1000000 örnekte 1	99.9999

Bu çalışmada “demultiplexing” aşamasında toplam 160 bireye ait 320 FASTQ dosyası (160 forward ve 160 reverse okumaları) Chen vd. (2018) tarafından tavsiye edilen parametrelerle Fastp paket programında filtrasyondan geçirilmiştir. Söz konusu filtrasyon ile “N” olarak kaydedilmiş bilinmeyen nükleotidler, adaptör kalıntıları, Phread değeri 20’den az olan nükleotidler ve uzunluğu 50 bp’den az olan kısa okumalar veri setinden ayıklanmıştır.

Demultiplexing ve filtrasyon aşamasından sonra elde edilen ve her bireye ait bütün temiz okumaları içeren 320 FASTQ dosyası (160 forward ve 160 reverse okumaları) BWA-MEM programı (Li ve Durbin 2009) kullanılarak en güncel sıgır referans genomuna (ARS-UCD1.2) hizalanmıştır. Hizalamadan elde edilen SAM dosyaları SAMtools programı (Li ve Durbin 2009) kullanılarak önce BAM daha sonra SORTED.BAM formatına dönüştürülmüştür.

Referans genoma hizalanmış ham veri setinden sadece varyantların (SNP ve

InDeL) elde edilmesinde BCFtools programında (Danecek vd. 2021) belirtilen “mpileup-call-norm-filter-reheader” alt modülleri kullanılmıştır. “mpileup” aşamasında toplam 160 SORTED.BAM dosyası tek bir VCF dosyasında birleştirildikten sonra sadece varyantların elde edilmesi için “call” alt modülü kullanılmıştır. SNP verileri doğaları gereği bi-allelilik olup her bir SNP ya referans genomla aynı nükleotidleri içermekte ya da alternatif formlarına sahip olabilmektedir. Ancak bazı durumlarda okuma hatalarından dolayı veri setinde multiallelik varyantlar da bulunabilmektedir. “norm” aşamasında multiallelik varyantlar normalizasyon işleminden geçirilerek sadece biallelik olan SNP’ler elde edilmiştir. “filter” alt modülü kullanılarak Q ve derinlik değeri <20 olan varyantlar veri setinden uzaklaştırılmıştır. Yapılan literatür taramasında genetik çeşitlilik, populasyon yapısı ve seleksiyon izi analizlerinde sadece SNP’lerin kullanıldığı belirlendiğinden “call” modül tekrar kullanılarak veri setinde bulunan bütün InDel’ler uzaklaştırılmıştır. En son aşama olan “reheader” aşamasında bireyler ve ait oldukları ırk isimleri tekrar düzenlenerek sadece bi-allelilik SNP’leri içeren nihai VCF dosyası oluşturulmuştur.

3.4.2. Ham verinin kalite kontrolü

Bu çalışmada SNP çip ve TGD teknolojilerinden elde edilen ham verilerin kalite kontrolünde en çok kullanılan üç parametre PLINK programı (Chang vd. 2015) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Öncelikle Minör Allel Frekansı (MAF) 0.01’den düşük olan ve toplam populasyonun %10’undan daha fazla bireyde kayıp gözleme sahip SNP’ler veri setinden uzaklaştırılmıştır. Daha sonra kalan bütün SNP’ler bakımından %10’dan daha fazla kayıp gözleme sahip bireyler veri setinden elimine edilmiştir.

3.4.3. Genetik çeşitlilik ve populasyon yapısı analizleri

Çalışılan yerli ve kültür sığır ırklarında genetik çeşitlilik MAF, H_E , H_O ve F_{IS} istatistiklerinin hesaplanmasıyla belirlenmiştir. Populasyonlar arasındaki genetik farklılaşma ikişerli F_{ST} analizi (Weir ve Cockerham 1984) ve Nei (1973) genetik mesafe değerlerine göre tespit edilmiştir. Hamming genetik mesafe matrisi (Hamming 1950) kullanılarak bireyler ve ırklar temelinde Komşu Birleştirme Ağacı (NJ, Neighbour Joining Analysis) çizilmiştir. Populasyonların genetik yapısının belirlenmesinde ise Ayrışım Temel Bileşenler Analizi (DPCA, Discriminant Principal Component Analysis) ve Bayesian yaklaşım temelli kümeleme analizi olan ADMIXTURE tercih edilmiştir (Duchene ve Leclercq 1988; Alexander vd. 2009). ADMIXTURE temelli yapılan kümeleme analizinde çalışılan ırkları en iyi temsil eden optimal atasal populasyon sayısının belirlenmesinde çapraz-entropi kriteri kullanılmıştır (Alexander vd. 2009)

Genetik çeşitlilik parametreleri (MAF, H_E , H_O ve F_{IS}) PLINK (Chang vd. 2015) programının R ortamında (R Core Team 2021) çalıştırılmasıyla hesaplanmıştır. DPCA analizinin yapılması için “adegenet” paket programı (Jombart 2008) R ortamında (R Core Team 2021) çalıştırılmıştır. Genetik mesafe, ikişerli F_{ST} değerleri, NJ ve ADMIXTURE analizleri ise SambaR (De Jong vd. 2021) programının R ortamında (R Core Team 2021) çalıştırılmasıyla gerçekleştirilmiştir.

3.4.4. Seleksiyon izlerinin belirlenmesinde kullanılan analizler

Seleksiyon izlerinin belirlenmesinde populasyon içi ve populasyonlar arası

yaklaşımlar temelinde kullanılan çok sayıda istatistiksel analiz bulunmaktadır. Bu tez çalışmasında farklı sığır ırklarında en çok tercih edilen yaklaşımlar incelenerek populasyon içi seleksiyon izlerinin belirlenmesinde ROH istatistiğinin, populasyonlar arası seleksiyon izlerinin belirlenmesinde ise F_{ST} istatistiğinin kullanılması tercih edilmiştir.

ROH analizinin gerçekleştirilmesi için detectRUNS (Biscarini vd. 2018) paket programı R ortamında (R Core Team 2021) çalıştırılmıştır. Ardışık yürütme (consecutive runs) yaklaşımının tercih edildiği çalışmada minimum SNP sayısı Lencz vd. (2007) tarafından bildirilen formül kullanılarak her bir ırk için ayrı ayrı tespit edilmiştir. Ardışık iki SNP arasındaki maksimum boşluk (1 Mb), minimum ROH uzunluğu (500 kb), ROH segmentinde göz ardı edilebilecek en fazla heterozigot genotip (1) ve kayıp gözlem (2) gibi diğer parametreler için literatürde kabul görmüş ortak bir protokol bütün ırklar için kullanılmıştır. Belirlenen kriterleri sağlayan bütün SNP'lerden en yüksek sinyale sahip (%0.1) genomik bölgelerin seleksiyon baskısına maruz kaldığı düşünülmüştür.

Populasyonlar arası seleksiyon izlerinin belirlenmesine imkan sağlayan F_{ST} istatistiğinin belirlenmesinde PLINK (Chang vd. 2015) ve R (R Core Team 2021) programlarından yararlanılmıştır. Bunun için bütün yerli sığır ırkları birinci populasyon, kültür ırkları ise ikinci populasyon olacak şekilde yeniden kodlandırılarak veri girişi dosyası oluşturulmuştur. Her SNP için F_{ST} (Weir ve Cockerham 1984) değeri PLINK programıyla tespit edilmiştir (Chang vd. 2015). Teoride F_{ST} değerinin 0 ve 1 aralığında değer aldığı bilinmekle birlikte özellikle genetik olarak birbirinden farklılaşmış iki populasyon arasında bu gözlemin bazen negatif değerler de alabildiği bilinmektedir. Ancak seleksiyon izi analizlerinde negatif değere sahip SNP'lerin veri setinden ayıklanması gerekmektedir. Bu çalışmada negatif F_{ST} değerine sahip bütün SNP'ler filtrelenmiştir. F_{ST} yaklaşımıyla iki populasyon arasında sabitlenmiş ve/veya bir populasyonda sabitlenmiş ama diğer populasyonda sabitlenmeye yakın SNP'ler tespit edilmiştir. Bu bağlamda en yüksek F_{ST} değerlerine sahip (%0.1) SNP'lerin seleksiyon baskısına maruz kaldığı düşünülmüştür.

ROH ve F_{ST} yaklaşımıyla seleksiyon izlerinin belirlendiği SNP'ler genomda bulundukları lokasyona göre listelenmiş ve başlangıç ve bitiş noktalarına göre sınıflandırılmıştır. Referans sığır genomu kullanarak söz konusu genomik bölgelerin 100 kb öncesi ve 100 kb sonrası kontrol edilerek hangi genler üzerinde bulunduğu saptanmış ve bu genler üzerinde daha önce belirlenmiş QTL'ler tespit edilmiştir. Genomik bölgelerin tespit edilmesinde *Ensembl* (<https://www.ensembl.org/index.html>) ve NCBI Genome Data Viewer (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/gdv>), QTL ilişkili SNP'lerin tespit edilmesinde ise *CattleQTLdb* (<https://www.animalgenome.org/cgi-bin/QTLdb/BT/index>) veri tabanı kullanılmıştır. Ayrıca tespit edilen genlerin sığırlar üzerindeki fenotipik etkilerinin belirlenmesi için daha önce yapılan çalışmalar derlenmiştir.

4. BULGULAR

4.1. DNA İzolasyonu ve Kütüphane Sonuçları

Kan örneklerinden DNA ekstraksiyonu ticari bir kit (GeneJET DNA Purification Kit, Thermo K0721) kullanılarak gerçekleştirilmiştir ve konsantrasyonları Qubit 4 Fluorometer cihazı kullanılarak ölçülmüştür. Elde edilen DNA'ların konsantrasyonları 0.2-1000 ng/μl aralığında değişmiştir. Ancak konsantrasyonu 8 ng/μl'den az olan örnekler için DNA ekstraksiyonu tekrarlanmıştır.

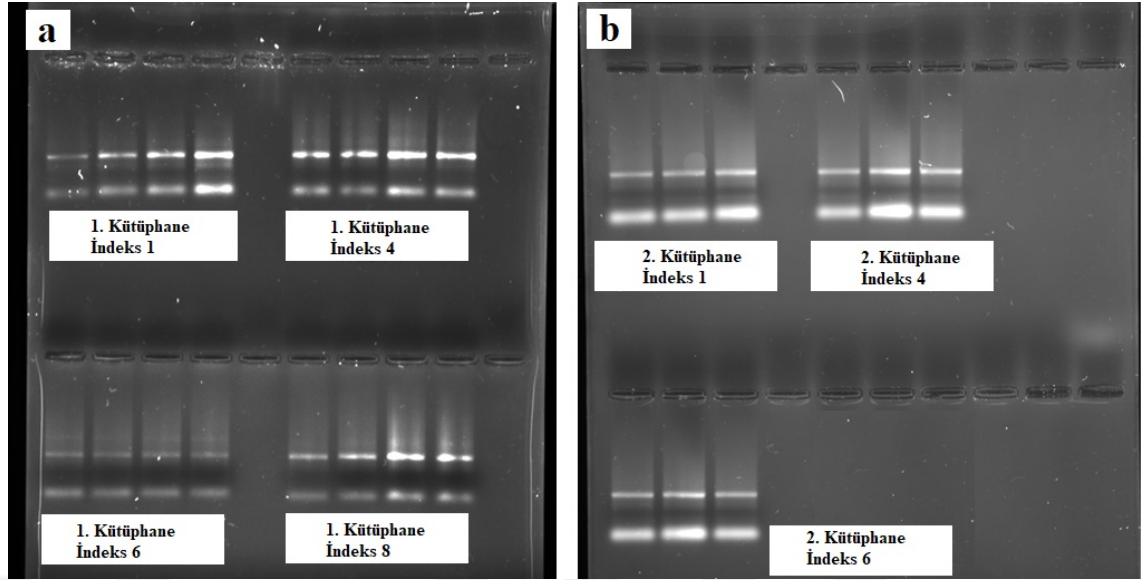
DNA kütüphanelerinin YNS'ya gönderilmesinden önce Qubit 4 Fluorometer ve Nanodrop ölçümleri yapılmıştır. Birinci ve ikinci sekans grubuna ait alt kütüphanelerin Qubit ve Nanodrop ölçümleri Çizelge 4.1.'de, agaroz jel görüntüleri ise Şekil 4.1'de verilmiştir.

Çizelge 4.1. İlk 96 örneğe ait alt kütüphanelerin miktar ve kalite ölçümleri

Kütüphane Numarası	Alt Kütüphane Numarası	İndeks Primeri	Qubit ölçümü (ng/μl)	Nanodrop ölçümü	
				260/280	ng/μl
1	1	ATCACG	34.7	1.87	216
	2	TGACCA	37.5	1.83	203
	3	GCCAAT	36.5	1.85	201
	4	ACTTGA	38.2	1.79	158
2	1	ATCACG	47.9	1.88	236
	2	TGACCA	47.6	1.86	222
	3	GCCAAT	48.7	1.84	225

Sekansa hazır hale getirilen alt kütüphanelerde Qubit ölçümleri 34.7-47.9 (ng/μl) aralığında, Nanodrop ölçümleri ise 158-236 (ng/μl) aralığında değişmiştir. 260/280 dalga boyuna göre yapılan kalite ölçümlerine (1.79-1.88) göre oluşturulan genomik DNA kütüphanelerinin protein kalıntılarını içermediği ve sekans analizleri için uygun olduğu belirlenmiştir.

Oluşturulan alt kütüphanelerdeki DNA fragmentleri agaroz jel elektroforezi kullanılarak görüntülenmiş (Şekil 4.1) ve okuma derinliğinin yüksek olması için 350-450 bp aralığındaki fragmentler seçilerek sekans analizine gönderilmiştir.



Şekil 4.1. Birinci (a) ve ikinci (b) kütüphaneye ait alt kütüphanelerin agaroz jel görüntüsü

4.2. Sekans Analizinden Elde Edilen Bulgular

PCR ile çoğaltılan DNA fragmentleri Illumina HiSeq X Ten platformu kullanılarak 150 bp'lik kısa okumalarla sekanslatılmıştır. Ortalama 179 milyon okumanın elde edildiği sekans analizinde ortalama 27.47 milyar nükleotid tespit edilmiştir (Çizelge 4.2.). En fazla nükleotid (yaklaşık 29.70 milyar) ve okuma (yaklaşık 196.7 milyon) birinci kütüphanenin indeks 4 isimli alt kütüphanesinde tespit edilmiştir. En düşük nükleotid (yaklaşık 22.47 milyar) ve okuma (yaklaşık 148.83 milyon) ise ikinci kütüphanenin indeks 6 isimli alt kütüphanesinde tespit edilmiştir. Çizelge 4.2.'den de anlaşılacağı üzere okuma sayısı arttıkça saptanan nükleotid sayısı da orantılı bir şekilde artmaktadır. Nükleotidlerin ortalama %51.7'sinin GC, ortalama %48.3'ünün ise AT olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.2.). Tüm alt kütüphanelerde GC oranı AT oranından yüksek bulunmuştur.

Çizelge 4.2. Birinci ve ikinci kütüphaneye ait ham veri istatistikleri

Kütüphane Numarası	Alt Kütüphane Numarası	Kütüphane	Nükleotid	Okuma sayısı	GC (%)	AT (%)	Q20 (%)	Q30 (%)
1	1	İndeks 1	27.304.689.458	180.825.758	51.5	48.5	88.8	82.4
	2	İndeks 4	29.698.853.046	196.681.146	51.8	48.2	92.5	86.9
	3	İndeks 6	29.661.440.984	196.433.384	51.9	48.1	91.9	86.2
	4	İndeks 8	26.655.227.284	176.524.684	51.6	48.4	91.1	85.2
2	1	İndeks 1	24.738.952.120	163.834.120	51.7	48.3	91.4	85.7
	2	İndeks 4	28.688.854.514	189.992.414	51.9	48.1	91.3	86.3
	3	İndeks 6	22.473.269.902	148.829.602	51.4	48.6	91.6	86.4
Ortalama			27.473.269.902	179.017.301	51.7	48.3	91.2	85.6

4.3. Sekans Verisinde Kalite Kontrolü

Sekans analizinden elde edilen ham okumalar önceki bölümlerde belirtilen STACKS 2 (Rochette vd. 2019) programıyla bireylere atanırken barkod ve indeks bilgisi olmayan okumalar filtrelenmiştir. Ardından Fastp paket programı sayesinde “N” ile işaretlenmiş nükleotidler, 50 nükleotidden az olan okumalar ve Phread skoru <20 olanlar veri setinden uzaklaştırılmıştır. İlk filtrasyon aşamasından sonra yaklaşık 55 milyon temiz okuma elde edilmiştir (Çizelge 4.3.). Tüm populasyon temelinde ortalama 6.88 milyon okuma tespit edilirken en düşük (5.84 milyon) ve en yüksek (8.38 milyon) okuma sayısı sırasıyla DAK ve GAK ırkında belirlenmiştir. 55 milyon okumanın yaklaşık 52.6 milyonu referans genoma hizalanmıştır. Referans genoma hizalanmayan okumalar veri setinden uzaklaştırılmıştır. En yüksek hizalama oranı (%97.26) GAK ırkında belirlenirken BI ırkında elde edilen 7.81 milyon okumadan 6.75 milyonu referans genoma hizalanmıştır. Genom seviyesinde herhangi bir nükleotidin kaç defa okunduğunu belirten kapsama derinliği ortalama 26.38 olarak tespit edilmiştir. En düşük (24.02) ve en yüksek (27.82) kapsama derinliği sırasıyla BI ve ZAV ırkında gözlenmiştir (Çizelge 4.3.).

Çizelge 4.3. Çalışılan sığır ırklarında okumalardan elde edilen ham veriler

İrk	Temiz Okuma Sayısı	Hizalanan Okuma Sayısı	Hizalanma Oranı (%)	Kapsama Derinliği (x)
YK	5.920.112	5.713.530	96.51	24.03
DAK	5.836.984	5.632.189	96.49	26.88
GAK	8.384.781	8.155.419	97.26	28.58
YGS	6.665.131	6.556.884	98.37	25.49
BI	7.810.477	6.752.178	86.45	24.02
ZAV	6.700.357	6.473.846	96.62	27.82
İE	6.006.734	5.806.558	96.67	26.70
SA	7.740.792	7.524.754	97.21	27.49
Ortalama	6.883.171	6.576.920	95.55	26.38

Referans genoma hizalanmış temiz okumalardan BCFtools programı (Danecek vd. 2021) kullanılarak varyantlar elde edilmiştir. 1.786.253 SNP ve 108.925 İnDel olmak üzere toplam 1.895.178 varyant elde edilmiştir. Öncelikle İnDel’lerin tamamıyla birlikte otozomal kromozomlarda bulunmayan (mtDNA, Y kromozomu ve X kromozomu) SNP’ler veri setinden uzaklaştırılmıştır. Geriye kalan SNP’lerden populasyonun %10’nundan daha fazla kayıp gözleme sahip olanlar filtrelenmiştir. Benzer şekilde bütün SNP’ler bakımından %10’dan daha fazla kayıp gözleme sahip bireyler filtrelenmiştir. Belirtilen kalite kriterlerine göre toplam 211.119 SNP ve 148 birey [YK (n=20), DAK (n=20), GAK (n=20), YGS (n=17), BI (n=18), ZAV (n=20), İE (n=14) ve SA (n=19)] olacak şekilde nihai genotipik veri seti genetik çeşitlilik, populasyon yapısı ve seleksiyon izlerinin belirlenmesi için kullanılmıştır.

4.4. Genetik Çeşitlilik ve Populasyon Yapısı Analizleri

Mevcut tez çalışmasında yerli ve bazı kültür sığır ırklarında genetik çeşitlilik

211.119 SNP temelinde MAF, H_O , H_E ve F_{IS} parametrelerinin hesaplanmasıyla değerlendirilmiştir (Çizelge 4.4.).

Çizelge 4.4. Çalışılan sığır ırklarında bazı genetik çeşitlilik parametreleri

İrk	MAF	H_O	H_E	F_{IS}
YK	0.345	0.384	0.375	0.003
DAK	0.345	0.357	0.445	-0.021
GAK	0.372	0.381	0.432	0.003
YGS	0.381	0.400	0.456	-0.038
BI	0.368	0.369	0.365	-0.003
ZAV	0.358	0.389	0.446	-0.025
İE	0.339	0.336	0.437	-0.042
SA	0.353	0.340	0.435	-0.020
Ortalama	0.358	0.370	0.424	-0.018

Tüm populasyonda ortalama 0.358 olan MAF istatistiği 0.339 (İE) ile 0.381 (YGS) aralığında değişmiştir. Ortalama gözlenen ve beklenen heterozigotluk sırasıyla 0.370 ve 0.424 olarak bulunmuştur. En düşük gözlenen heterozigotluk (0.336) İE ırkında, en yüksek gözlenen heterozigotluk değeri ise (0.400) YGS ırkında belirlenmiştir. DAK, GAK, ZAV, İE ve SA ırkında gözlenen heterozigotluk değerleri beklenen heterozigotluk değerlerinden daha düşük bulunmuştur. Diğer yandan YK, YGS ve BI ırkında gözlenen heterozigotluk istatistiğinin beklenen değerden daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

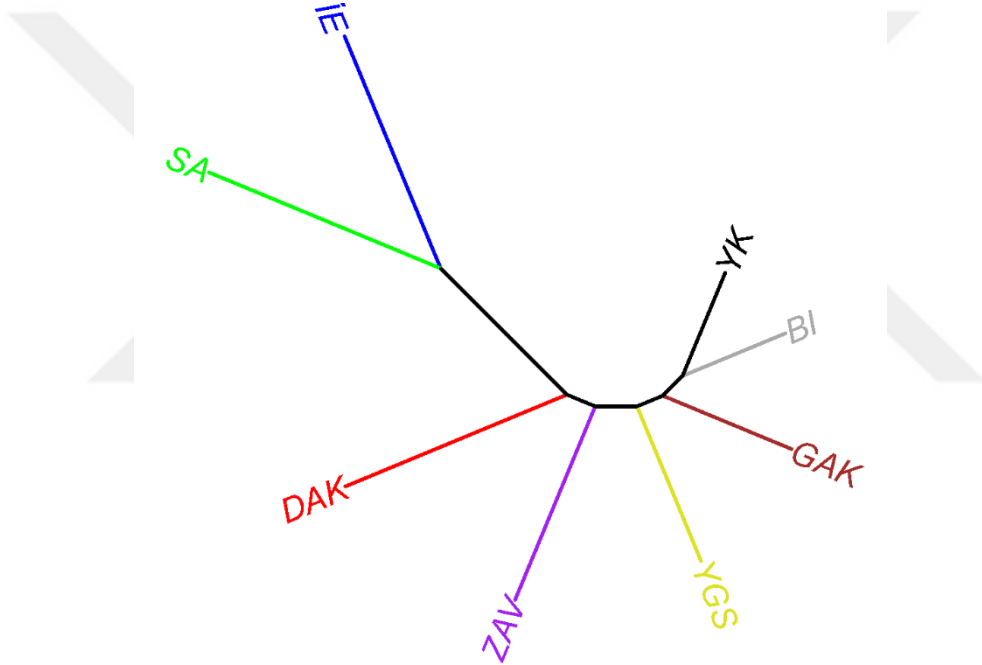
Tüm popülasyonların akrabalı yetiştirme katsayısı ortalama -0.018 olarak hesaplanmıştır. Akrabalı yetiştirme katsayısı YK ve GAK ırkında (0.003) pozitif değer alırken diğer ırklarda negatif değerler [-0.042 (İE) ile -0.003 (BI) aralığında] gözlemlenmiştir.

İrklar arasında genetik farklılaşmanın değerlendirilmesi için genetik mesafe (Nei 1973) ve ikişerli F_{ST} (Weir and Cockerham 1984) istatistikleri hesaplanmıştır (Çizelge 4.5.). En düşük genetik mesafe (0.018) BI ve YK ırkları arasında en yüksek genetik mesafe değeri (0.064) ise YGS ve İE ırkları arasında belirlenmiştir. Genetik mesafe analiziyle uyumlu olarak en düşük (0.012) ve en yüksek (0.032) genetik farklılaşma katsayısı sırasıyla BI-YK ve YGS-İE ırkları arasında tespit edilmiştir.

Hamming'in genetik mesafe (Hamming 1950) değerleri kullanılarak ırk ve birey bazında filogenetik ilişkiler NJ analiziyle değerlendirilmiştir. İrk bazında çizilen filogenetik ağaç yerli sığır ırklarını kültür ırklarından belirgin bir şekilde ayırmıştır (Şekil 4.2). Yerli ırklarda YK ve BI birlikte kümelenirken GAK, DAK, ZAV ve YGS filogenetik ağacın farklı dallarını oluşturmuştur.

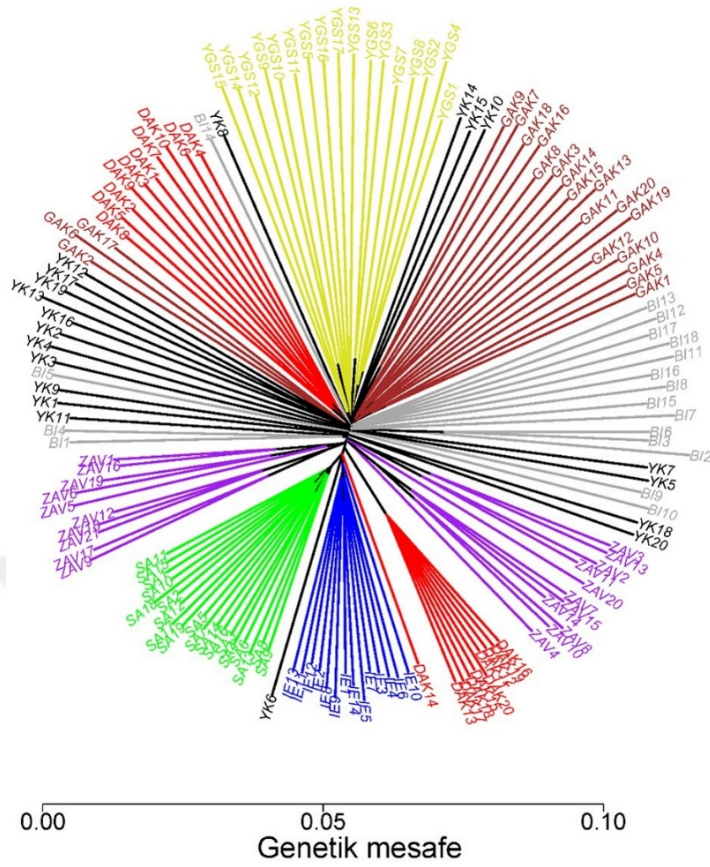
Çizelge 4.5. Çalışılan populasyonlarda genetik mesafe (üst köşegen) ve genetik farklılaşma katsayıları (alt köşegen)

	YK	DAK	GAK	YGS	BI	ZAV	İE	SA
YK	-	0.030	0.019	0.024	0.018	0.026	0.044	0.041
DAK	0.016	-	0.036	0.041	0.033	0.035	0.048	0.049
GAK	0.013	0.018	-	0.024	0.021	0.032	0.055	0.053
YGS	0.014	0.020	0.014	-	0.025	0.038	0.064	0.062
BI	0.012	0.017	0.013	0.015	-	0.028	0.047	0.045
ZAV	0.016	0.018	0.018	0.021	0.017	-	0.038	0.039
İE	0.023	0.022	0.026	0.032	0.024	0.019	-	0.038
SA	0.023	0.024	0.027	0.030	0.025	0.020	0.017	-

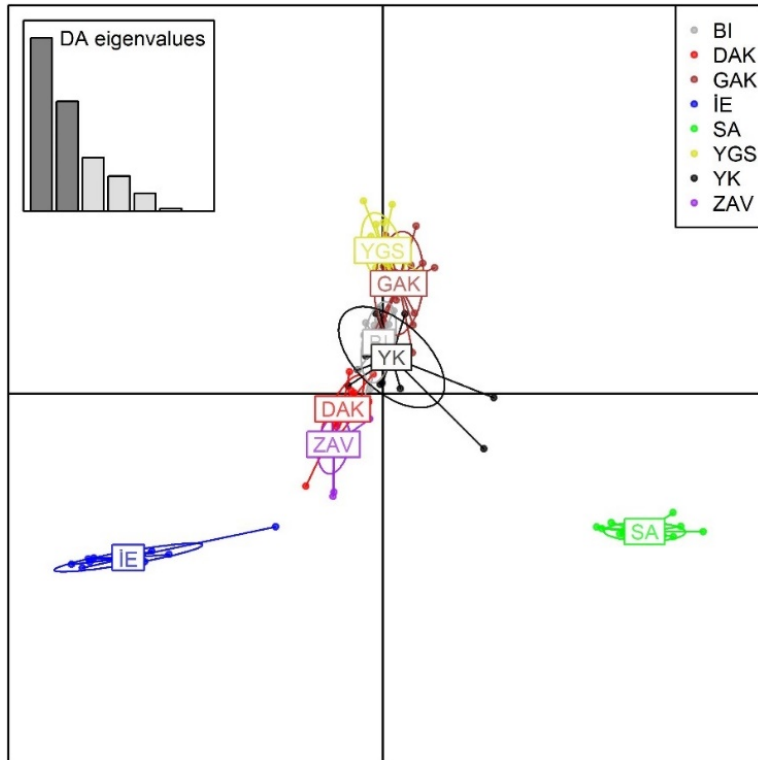


Şekil 4.2. Çalışılan populasyonlarda ırk bazında NJ kümeleme analizi

Benzer bulgular bireyler temelinde çizilen filogenetik ağaçta da görülmektedir. Kültür ırklarına ait bireyler yerli sığır ırkına ait bireylerden farklı olacak şekilde konumlanmıştır (Şekil 4.3). Birey bazında YK ve BI'a ait örneklerin genellikle birbiriyle iç içe konumlandığı, DAK ve ZAV ırkına ait bireylerin iki farklı populasyon gibi dağılım gösterdiği tespit edilmiştir. Hatta bazı DAK örneklerinin İE ırkına, bazı ZAV örneklerinin ise SA ırkına yakın olduğu görülmüştür. Yerli sığır ırklarından sadece YGS ırkına ait bireyler populasyonu temsil edecek şekilde birlikte konumlanmışlardır.



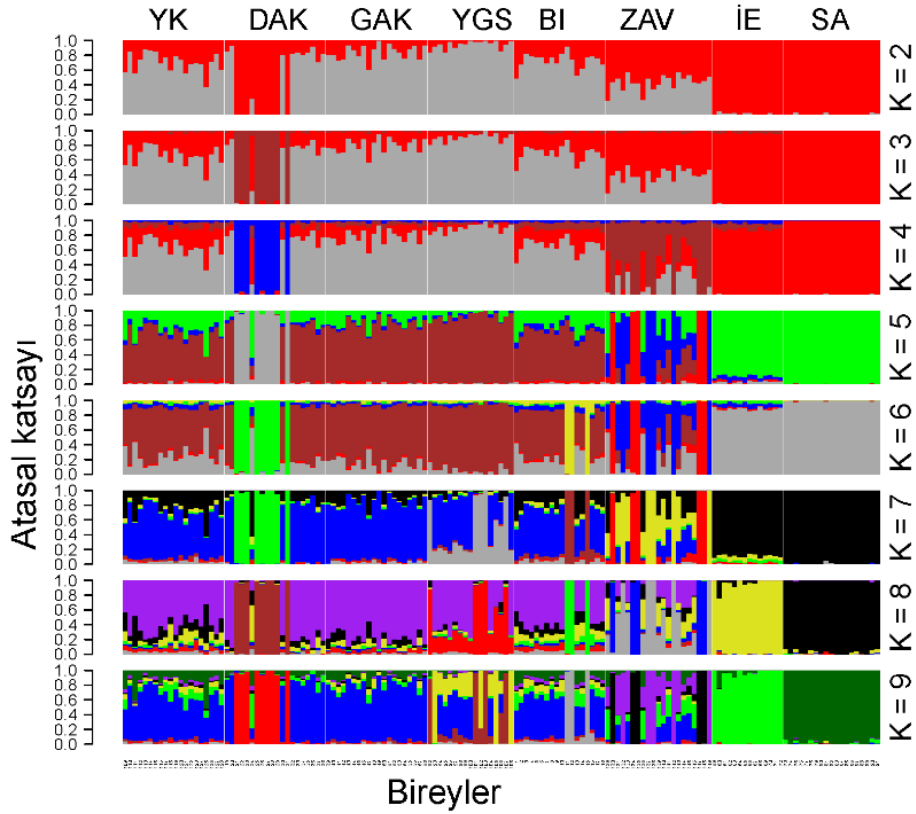
Şekil 4.3. Çalışılan populasyonlarda birey bazında NJ kümeleme analizi



Şekil 4.4. Çalışılan sığır ırklarında DPCA analizi

Çalışılan sığır ırklarında populasyon yapısının belirlenmesinde DPCA ve ADMIXTURE yaklaşımı kullanılmıştır. DPCA analizi yerli sığır ırklarını kültür sığır ırklarından belirgin bir şekilde ayırmıştır (Şekil 4.4). Özellikle YK ve BI örnekleri birbiriyle ve diğer ırklarla birlikte konumlanmışlardır. YGS ve GAK ile DAK ve ZAV ırklarına ait bazı örneklerin birbiriyle konumlandığı tespit edilmiştir.

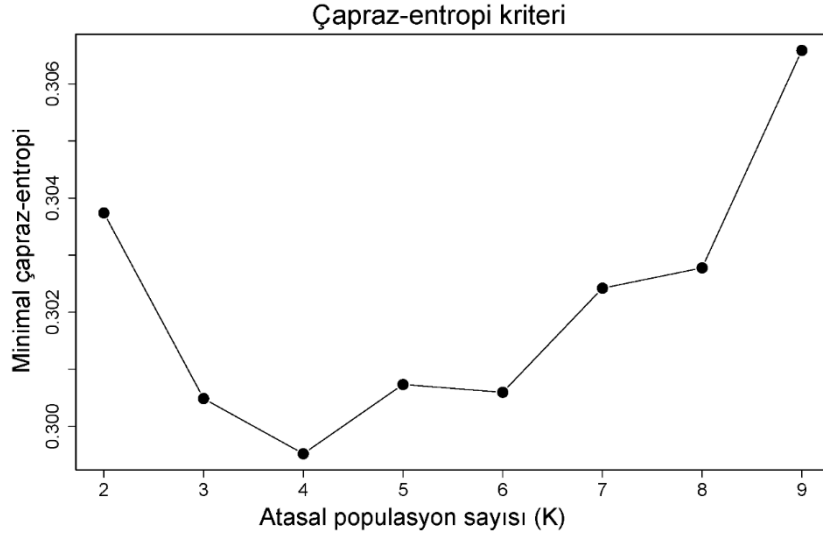
Bayesian temelli bir yaklaşım olan ADMIXTURE analizinde populasyon sayısının 2-9 aralığında değiştiği sonuçlar elde edilmiştir. Atasal populasyon sayısının 2 olduğu durumda DAK ve ZAV hariç yerli ve kültür sığır ırkları iki farklı populasyon olacak şekilde birbirinden ayrılmıştır (Şekil 4.5). Atasal populasyon sayısının üç (K=3) olduğu durumda DAK ırkı diğer yerli sığır ırklarından ayrılmaktadır.



Şekil 4.5. Çalışılan sığır ırklarında ADMIXTURE kümeleme analizi

Altı yerli ve iki farklı kültür ırkını en iyi temsil eden optimum atasal populasyon sayısı Alexander vd. (2009) tarafından bildirilen çapraz-entropi kriteri kullanılarak tespit edilmiştir (Şekil 4.6).

Söz konusu kritere göre çalışılan populasyonları en iyi temsil eden atasal populasyon sayısının 4 olduğu belirlenmiştir. K=4 olduğu durumda yerli ve kültür sığır ırkları birbirinden belirgin bir şekilde ayrılmaktadır. İE ve SA ırkları bir grup olarak kümelendirilmiştir. Yerli sığır ırkları içerisinde DAK ve ZAV ırklarının diğer yerli ırklardan ve birbirinden ayrı kümelendiği, YK, GAK, YGS ve BI ırklarına ait bireylerin ise tek bir populasyon olacak şekilde aynı atasal populasyondan köken almış olabileceği değerlendirilmiştir.



Şekil 4.6. Farklı atasal popülasyon sayısı için hesaplanan çapraz-entropi kriterleri

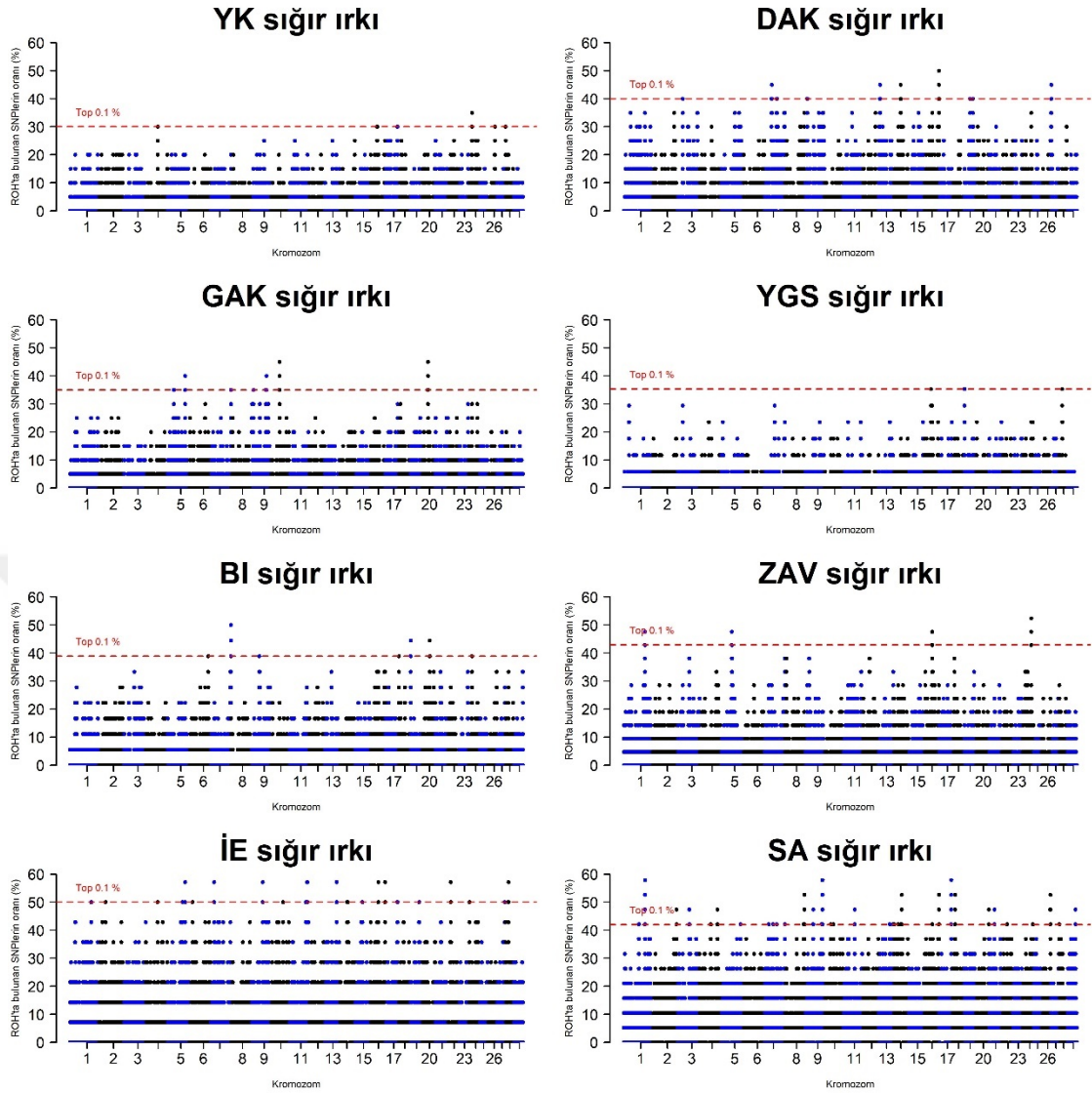
4.5. Seleksiyon İzleri Analizleri

Bu tez çalışmasında yerli ve bazı kültür sığır ırklarında seleksiyon izlerinin popülasyon içinde belirlenmesinde ROH, popülasyonlar arası belirlenmesinde ise F_{ST} yaklaşımı tercih edilmiştir. Söz konusu iki istatistiğe ait sonuçlar iki alt başlık altında detaylı bir şekilde verilmiştir.

4.5.1. ROH analizinden elde edilen bulgular

ROH istatistiği seleksiyon izlerinin popülasyon içinde hesaplanmasına olanak tanımaktadır. Literatür temelli belirlenen ROH tanımlama kriterleri kullanılarak yerli ve kültür sığır ırklarında seleksiyon izleri ve bu izlerin kapsadığı genler popülasyon seviyesinde aşağıda özetlenmiştir. Bu tez çalışmasında çalışılan ırklarda en yüksek seleksiyon sinyalinin (% 0.1) belirlendiği SNP'lerin ve genomik bölgelerin seleksiyona maruz kaldığı varsayılmıştır. Seleksiyon baskısının tespit edildiği genomik aralıkların protein kodlayan genleri kapsayıp kapsamadığının belirlenmesinde *Ensembl* ve NCBI Genome Data Viewer veri tabanları kullanılmıştır. Ayrıca söz konusu genomik aralıklarda daha önce kantitatif özelliklerle ilişkili olduğu bildirilen toplam SNP sayısı *CattleQTLdb* veri tabanı kullanılarak tespit edilmiştir.

YK sığır ırkında 6 kromozomal lokasyona (BTA) dağılmış toplam 255 SNP'in seleksiyona maruz kalarak toplam 8 genomik aralığa dağıldığı belirlenmiştir (Şekil 4.7). BTA 4, 16, 17, 24 ve 26'da sadece birer genomik bölgede, BTA 28'de ise 3 farklı genomik bölgeyi kapsayan seleksiyon baskısı tespit edilmiştir (Çizelge 4.6.). Geri kalan toplam 23 otozomal kromozomda herhangi bir seleksiyon baskısı belirlenememiştir.



Şekil 4.7. Yerli ve kültür sığır ırklarında otozomal kromozomlarda ROH dağılımına ait Manhattan grafiği

Seleksiyon izinin belirlendiği genomik bölgelerden BTA 4, 16 ve 26'da ikişer olmak üzere toplam 6 protein kodlayan gen tespit edilmiştir. BTA 17, 24 ve 28'de tespit edilen seleksiyon sinyallerinin herhangi bir protein kodlayan gen bölgesine denk gelmediği belirlenmiştir. BTA 4'te *PPR15* ve *CHN2*, BTA 16'da *XCL1* ve *DPT*, BTA 26'da ise *PRLHR* ve *CACUL1* genlerinin seleksiyona maruz kaldığı belirlenmiştir. Sığır QTL veri tabanına göre YK ırkında seleksiyon baskısının belirlendiği genomik bölgelerin toplam 20 QTL ilişkili SNP'i kapsadığı ve bunların et kalitesinde önemli bir gösterge olan etin mermerleşme derecesi, süt verimi ve içeriği, vücut konformasyonu ve üreme özellikleriyle ilişkili olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 4.6. YK sığır ırkında ROH analiziyle belirlenen SNP'lerin genomik lokasyonu ve kapsadığı genler

Kromozom	Başlangıç Pozisyonu	Bitiş Pozisyonu	SNP Sayısı	Genler
4	66443861	66816974	31	<i>PRRI5</i> ve <i>CHN2</i>
16	36147454	36417206	17	<i>XCL1</i> ve <i>DPT</i>
17	66795173	67091955	27	-
24	17790853	18660132	64	-
26	38781995	38985463	13	<i>PRLHR</i> ve <i>CACUL1</i>
28	480341	680367	59	-
	783746	994870	31	-
	990000	1190456	13	-
Toplam	-	-	255	6

DAK ırkında seleksiyon baskısının belirlendiği toplam 590 SNP'in 8 farklı kromozoma dağıldığı belirlenmiştir (Şekil 4.7). BTA 3, 9, 13, 14, 16 ve 27'de birer, BTA 7 ve 19'da ikişer olmak üzere toplam 10 farklı genomik aralıkta seleksiyon baskısı saptanmıştır. Söz konusu aralıklar toplam 55 farklı protein kodlayan geni kapsamaktadır (Çizelge 4.7.). BTA 27'de sadece *CLN8* geninin BTA 7'de ise toplam 16 farklı genin (*FAF2*, *RNF44*, *CDHR22*, *GPRIN1*, *SNCB*, *EIF4E1B*, *TSPAN17*, *UNC5A*, *HK3*, *UIMC1*, *GALNT10*, *SAP30L*, *HAND1*, *LARPI*, *CNOT8* ve *GEMIN5*) seleksiyona maruz kaldığı belirlenmiştir. Sığır QTL veri tabanına göre DAK ırkında seleksiyon baskısının belirlendiği genomik aralıkların toplam 171 QTL ilişkili SNP'i kapsadığı ve bunların çevresel adaptasyon (lösemi, tüberküloz ve ketozise hassasiyet/direnç, soğuğa tolerans ve kene direnci), et verimi (karkas ağırlığı) ve kalitesi (mermerleşme derecesi, renk, yumuşaklık, fosfor içeriği, kas içi yağlanma ve kemiksiz et verimi), yem tüketimi, canlı ağırlık, süt verimi ve içeriği, damızlıkta kullanma süresi, morfoloji ve bazı üreme özellikleriyle (cinsel olgunluk yaşı, çoklu doğum, doğum kolaylığı/zorluğu, gebelik süresi ve buzağılama ile ilk kızgınlık arası süre) ilişkili olduğu tespit edilmiştir.

GAK ırkında toplam 5 farklı kromozoma dağılmış 518 SNP'in seleksiyona maruz kaldığı belirlenmiştir. BTA 7, 10 ve 20'de birer, BTA 7'de iki ve BTA 9'da üç olmak üzere toplam 8 genomik aralıkta seleksiyon baskısı tespit edilmiştir (Şekil 4.7). BTA 9'da 77395554-77613709 aralığında istatistiksel açıdan önemli bir seleksiyon izi belirlenmesine rağmen söz konusu bölgenin herhangi bir protein kodlayan geni kapsamadığı belirlenmiştir. Aynı kromozomun 80569130-80795285 aralığının *AIG1* genini kapsamakla birlikte QTL veri tabanına göre kantitatif özelliklerle ilişkili herhangi bir SNP'i kapsamadığı belirlenmiştir. En yüksek seleksiyon baskısı 114 SNP'le BTA 20'de belirlenmesine rağmen en fazla seleksiyona maruz kalan gen sayısının (9) BTA 5'te olduğu saptanmıştır. GAK ırkında toplam 24 protein kodlayan genin seleksiyona maruz kaldığı (Çizelge 4.8.) ve bunların daha önce yapılan çalışmalarda kantitatif özelliklerle ilişkili olduğu bildirilen 680 SNP'i kapsadığı tespit edilmiştir. Sığır QTL veri tabanına göre bu SNP'lerin çevresel adaptasyon (digital dermatitis ve paratüberkülozise hassasiyet/direnç), kandaki tiroksin ve kalsiyum seviyesi, süt verimi

ve içeriği, laktasyon peristensisi, doğum kolaylığı/zorluğu, damızlıkta kullanma süresi, canlı ağırlık, et kalitesi (mermerleşme derecesi ve yumuşaklık) ve vücut konformasyon özellikleriyle ilişkili olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 4.7. DAK sığır ırkında ROH analiziyle belirlenen SNP'lerin genomik lokasyonu ve kapsadığı genler

Kromozom	Başlangıç Pozisyonu	Bitiş Pozisyonu	SNP Sayısı	Genler
3	29289193	29718622	15	<i>SYT6, OLFML3, HIPK1, DCLRE1B, AP4B1, BCL2L15, PTPN22, RSBNI ve PHTF1</i>
7	37920968	39029591	90	<i>FAF2, RNF44, CDHR22, GPRIN1, SNCB, EIF4E1B, TSPAN17, UNC5A, HK3 ve UIMC1</i>
	65543936	66731879	66	<i>GALNT10, SAP30L, HVE1, LARPI, CNOT8 ve GEMIN5</i>
9	9688212	10217119	57	<i>SDHAF4, SMAP1 ve B3GAT2</i>
13	6601677	7618841	119	<i>SPTLC3, ISM1, TASPI, ESF1, NDUFAF5 ve SEL1L2</i>
14	36181791	38113093	81	<i>KCNB2, TERF1, SBSPON, C14H8orf89, RPL7, RDH10 ve STAU2</i>
16	79311181	80330449	106	<i>DDX59, CAMSAP2, GPR25, INAVA, KIF21B, CACNA1S, TMEM9, IGFN1 ve PKP1</i>
19	31105452	31305456	2	<i>MYOCD ve ARHGAP44</i>
	45368407	45577127	10	<i>WNT3 ve NSF</i>
27	992531	1277293	44	<i>CLN8</i>
Toplam	-	-	590	55

Çizelge 4.8. GAK sığır ırkında ROH analiziyle belirlenen SNP'lerin genomik lokasyonu ve kapsadığı genler

Kromozom	Başlangıç Pozisyonu	Bitiş Pozisyonu	SNP Sayısı	Genler
5	34307507	34769643	15	<i>ARID2</i>
	96895453	97464072	77	<i>HEBP1, GPRC5D, GPRC5A, DDX47, APOLD1, CDKN1B, GPR19, CREBL2 ve DUSP16</i>
7	110125286	110446417	78	<i>CAMK4</i>
9	9655359	9928276	40	<i>FAM135A, SDHAF4 ve SMAP1</i>
	77395554	77613709	27	-
	80569130	80795285	61	<i>AIG1</i>
10	47748546	49131420	106	<i>C2CD4B, VPS13C ve RORA</i>
20	31646382	32792031	114	<i>SELENOP, CCDC152, GHR, FBXO4, RIMOC1 ve OXCT1</i>
Toplam	-	-	518	24

YGS ırkında 3 kromozoma dağılmış toplam 342 SNP'in seleksiyon baskısına maruz kaldığı belirlenmiştir. BTA 16 ve 28'de birer, BTA 19'da ise üç olmak üzere toplam 6 genomik aralıkta seleksiyon izi saptanmıştır (Şekil 4.7). En yüksek seleksiyon baskısı BTA 19'da olmakla birlikte seleksiyon baskısının belirlendiği iki genomik aralığın (235761-255858 ve 393958-414134) protein kodlayan herhangi bir geni kapsamadığı belirlenmiştir. BTA 16'da *XCL1* ve *DPT*, BTA 19'da *OR4C1F*, *OR4C1E* ve *CA10*, BTA28'de ise *ANK3* olmak üzere toplam 6 genin seleksiyona maruz kaldığı belirlenmiştir (Çizelge 4.9.). Sığır QTL veri tabanına göre YGS ırkında seleksiyon baskısının saptandığı genomik bölgelerin toplam 87 QTL ilişkili SNP'i kapsadığı ve bunların hastalıklara hassasiyet/direnç (tüberküloz ve solunum sistemi hastalıkları), sütün içeriği, et kalite özellikleri (yumuşaklık ve mermerleşme derecesi), morfoloji, vücut konformasyon ve üreme özellikleriyle ilişkili olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 4.9. YGS sığır ırkında ROH analiziyle belirlenen SNP'lerin genomik lokasyonu ve kapsadığı genler

Kromozom	Başlangıç Pozisyonu	Bitiş Pozisyonu	SNP Sayısı	Genler
16	35903126	36620155	47	<i>XCL1</i> ve <i>DPT</i>
19	0	345858	200	<i>OR4C1F</i> ve <i>OR4C1E</i>
	235761	255858	11	-
	393958	414134	15	-
28	794962	815133	5	<i>CA10</i>
Toplam	-	-	342	6

BI popülasyonunda 7 otozomal kromozoma dağılmış 667 SNP'in seleksiyona maruz kaldığı belirlenmiştir. BTA 6, 7, 9, 18, 20 ve 24'te birer, BTA 19'da ise beş

olmak üzere toplam 11 genomik aralıkta seleksiyon baskısı belirlenmiştir (Şekil 4.7). En düşük SNP sayısı (18) BTA 9’da, en yüksek SNP sayısı (241) ise BTA 19’da belirlenmiştir. En yüksek seleksiyon baskısı BTA 19’da belirlenmesine rağmen 4 farklı genomik aralığın herhangi bir protein kodlayan geni kapsamadığı ve sadece 794962-956560 aralığında *CA10* geninin bulunduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.10.). BTA 18’de (*VAC14*, *MTSS2*, *IL34*, *SF3B3* ve *COG4*) ve BTA 20’de ise 5 (*MTMR12*, *GOLPH3*, *PDZD2*, *C20H5orf22* ve *DROSHA*) olmak üzere toplam 19 farklı genin seleksiyona maruz kaldığı belirlenmiştir. Sığır QTL veri tabanına göre BI populasyonunda seleksiyon baskısının belirlendiği genomik bölgelerin toplam 110 QTL ilişkili SNP’i kapsadığı ve bunların hastalıklara hassasiyet/direnç (tüberküloz, solunum sistemi hastalıkları ve abomasum deplasmanı), süt içeriği, et kalitesi (mermerleşme derecesi ve yumuşaklık), morfoloji ve üreme özellikleriyle ilişkili olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 4.10. BI sığır ırkında ROH analiziyle belirlenen SNP’lerin genomik lokasyonu ve kapsadığı genler

Kromozom	Başlangıç Pozisyonu	Bitiş Pozisyonu	SNP Sayısı	Genler
6	103534482	104189752	94	<i>EVC2</i> , <i>STK32B</i> ve <i>CYTL1</i>
7	109698597	110564130	111	<i>TMEM232</i> , <i>SLC25A46</i> ve <i>CAMK4</i>
9	42624596	42929763	18	<i>PDSS2</i> ve <i>BEND3</i>
18	1414122	2201027	75	<i>VAC14</i> , <i>MTSS2</i> , <i>IL34</i> , <i>SF3B3</i> ve <i>COG4</i>
19	9434	29580	217	-
	129661	149661	1	-
	235761	255858	11	-
	393958	414134	6	-
	794962	956560	6	<i>CA10</i>
20	41322521	42079093	101	<i>MTMR12</i> , <i>GOLPH3</i> , <i>PDZD2</i> , <i>C20H5orf22</i> ve <i>DROSHA</i>
24	18585982	18660179	27	-
Toplam	-	-	667	19

ZAV ırkında 4 farklı kromozomda toplam 282 SNP’i içeren genomik aralıklarda seleksiyon baskısı tespit edilmiştir (Şekil 4.7). En düşük SNP sayısının (22) belirlendiği BTA 5’te en fazla protein kodlayan genin (*SARNP*, *GDF11*, *CD63*, *RDH5*, *BLOC1S1*, *ITGA7*, *METTL7B* ve *OR10P25*) bulunduğu tespit edilmiştir. Toplam 22 genin seleksiyona maruz kaldığı çalışmada en az gen sayısının (*CTIF*, *SMAD7* ve *DYM*) BTA 24’te olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.11.). ZAV ırkında seleksiyon baskısının belirlendiği bütün genomik aralıkların protein kodlayan genlerle birlikte daha önce yapılan çalışmalarda kantitatif özelliklerle ilişkili olduğu bildirilen 66 SNP’i kapsadığı tespit edilmiştir. Sığır QTL veri tabanına göre söz konusu SNP’lerin vücut rengi, taban ülseri ve ökçe erozyonuna hassasiyet/direnç, sütün içeriği, etin yumuşaklığı, canlı ağırlık, kandaki inhibin seviyesi, vücut konformasyon ve üreme özellikleriyle (gebelik

başına tohumlama sayısı, doğum kolaylığı/zorluğu, gebe kalma oranı) ilişkili olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 4.11. ZAV sığır ırkında ROH analiziyle belirlenen SNP'lerin genomik lokasyonu ve kapsadığı genler

Kromozom	Başlangıç Pozisyonu	Bitiş Pozisyonu	SNP Sayısı	Genler
1	116177074	116918572	52	<i>IGSF10, MED12L, P2RY12, GPR87 ve P2RY14</i>
5	57453070	57918639	22	<i>SARNP, GDF11, CD63, RDH5, BLOC1S1, ITGA7, METTL7B ve OR10P25</i>
16	42633592	43516411	104	<i>CASZ1, PEX14, DFFA, CORT, CENPS ve PGD</i>
24	48394070	49127122	104	<i>CTIF, SMAD7 ve DYM</i>
Toplam	-	-	282	22

İE ırkında 19 kromozoma dağılmış toplam 24 genomik aralıkta seleksiyon baskısı belirlenmiştir. Toplam 1377 SNP'i kapsayan bu aralıklardan 266 SNP'in BTA 16'da, 5 SNP'in ise BTA 27'de bulunduğu belirlenmiştir (Şekil 4.7). BTA 5, 11, 14, 16 ve 24'te ikiye, geri kalan kromozomlarda ise birer genomik aralıkta seleksiyon baskısı belirlenmiştir. BTA 14 (38406762-38606823), BTA 17 (66693239-67029272) ve BTA 24'te (4301042-4852644) seleksiyon baskısının belirlendiği üç genomik aralığın protein kodlayan herhangi bir geni içermediği belirlenmiştir. İE ırkında toplam 104 protein kodlayan genin seleksiyona maruz kaldığı belirlenmiştir. BTA 24'te sadece *NETO1*, BTA 27'de ise sadece *UBE2E2* geninde seleksiyon izine rastlanmıştır (Çizelge 4.12.). BTA 16'da ise toplam 16 protein kodlayan genin (*MTOR, EXOSC10, SRM, MASP2, TARDBP, CASZ1, PEX14, DFFA, CORT, KIF14, DDX59, CAMSAP2, GPR25, INAVA, KIF21B* ve *CACNA1S*) seleksiyona maruz kaldığı belirlenmiştir. Sığır QTL veri tabanına göre İE ırkında seleksiyon baskısının belirlendiği genomik bölgelerin toplam 496 QTL ilişkili SNP'i kapsadığı ve bunların genellikle ekonomik önemi olan özelliklerle (süt verimi, et verimi, süt ve etin içeri, kemiksiz et oranı, kas içi yağlanma, canlılık ağırlık, canlı ağırlık kazancı, vücut konformasyonu, yem tüketimi) ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca bazı QTL'lerin hastalıklara hassasiyet/direnç (paratüberkülozis, ketozis, metritis, beyaz çizgi hastalığı, abomasum deplasmanı, solunum ve ayak hastalıkları), metan üretimi, soğuğa direnç, göz çevresi pigmentasyonu, kandaki bazı maddelerin seviyesi (laktaz dehidrogenaz, kalsiyum ve kolesterol), üreme (kolay/güç doğum, lüteal aktivite, gebelik başına tohumlama sayısı, cinsel olgunluk yaşı, doğum indeksi, gebelik süresi ve normal spermlerin oranı), morfoloji ve vücut konformasyon özellikleriyle ilişkili olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.12. İE sığır ırkında ROH analiziyle belirlenen SNP'lerin genomik lokasyonu ve kapsadığı genler

Kromozom	Başlangıç Pozisyonu	Bitiş Pozisyonu	SNP Sayısı	Genler
1	116177117	117419971	67	<i>IGSF10, MED12L, P2RY12, GPR87 ve P2RY14</i>
2	36570205	37217437	60	<i>CD302, MARCHF7, BAZ2B, WDSUB1 ve TANC1</i>
4	65310509	65511177	44	<i>ADCYAP1R1, GHRHR, AQP1 ve MINDY4</i>
5	82601980	82802006	12	<i>STK38L, MED21 ve TM7SF3</i>
	96895453	97464072	76	<i>HEBP1, GPRC5A, DDX47, APOLD1, CDKN1B, GPR19, CREBL2 ve DUSP16</i>
6	16613290	16830328	18	<i>OSTC ve RPL34</i>
7	18062829	18440841	55	<i>GTF2F1, PSPN, ALKBH7, CLPP, ACER1, MLLT1, ACSBG2, RFX2 ve RANBP3</i>
9	60547939	61500709	80	<i>MDN1, LYRM2, ANKRD6, RRAGD, UBE2J1 ve GABRR1</i>
10	67547572	67989865	37	<i>LGALS3, DLGAP5, FBXO34, ATG14 ve TBPL2</i>
11	89931993	90132028	15	<i>RNF144A, RSAD2 ve CMPK2</i>
	97411203	98697357	122	<i>LMX1B, ZBTB43, ZBTB34, RALGPS1, ANGPTL2, GARNL3, SLC2A8, ZNF79 ve RPL12</i>
13	64146417	65189388	85	<i>NCOA6, GGT7, ACSS2, GSS, MYH7B, TRPC4AP, EDEM2, PROCR ve MMP24</i>
14	38406762	38606823	8	-
	42963914	43164979	37	<i>HEY1 ve MRPS28</i>
15	39771111	40487949	45	<i>TEAD1, PARVA ve MICAL2</i>
16	42461202	43516362	118	<i>MTOR, EXOSC10, SRM, MASP2, TARDBP, CASZ1, PEX14, DFFA ve CORT</i>
	79154550	80535587	148	<i>KIF14, DDX59, CAMSAP2, GPR25, INAVA, KIF21B ve CACNAIS</i>
17	66693239	67029272	77	-
19	46145628	46460736	10	<i>KANSL1, CDC27, MYL4 ve ITGB3</i>
22	13475209	14834746	107	<i>CTNNB1, ULK4, TRAK1, CCK ve LYZL4</i>
24	4301042	4852644	41	-
	5054223	5256673	15	<i>NETO1</i>
27	42233394	42433639	5	<i>UBE2E2</i>
28	15239817	16178052	95	<i>SLC16A9, MRLN, CCDC6 ve ANK3</i>
Toplam	-	-	1377	104

SA ırkında 22 kromozoma dağılmış toplam 1716 SNP'te seleksiyon izi belirlenmiştir. Bu SNP'lerin BTA 14'te 5 olmak üzere toplam 37 genomik aralığa dağıldığı belirlenmiştir (Şekil 4.7). En düşük SNP sayısı (15) BTA 13'te, en yüksek SNP sayısı ise (208) BTA 9'da belirlenmiştir. Toplam 125 protein kodlayana genin seleksiyona maruz kaldığı belirlenen SA ırkında BTA 3'te *ADGRL4*, BTA 28'de ise sadece *RHOU* geninde seleksiyon baskısı belirlenmiştir (Çizelge 4.13.). BTA 7'de ise toplam 18 protein kodlayan gende (*SLC22A4, PDLIM4, P4HA2, VDAC1, TCF7, SKP1, PPP2CA, CDKL3, UBE2B, CDKN2AIPNL, JADE2, GALNT10, SAP30L, HAND1, LARPI, CNOT8, GEMIN5* ve *CAMK4*) seleksiyon sinyali tespit edilmiştir. Bununla birlikte seleksiyon baskısının belirlendiği 5 genomik aralığın (BTA 9'da 89209270-89421919, BTA 14'te 39679593-39778909, BTA 21'de 29665636-29790449, BTA 24'te 57018996-57199284 ve BTA26'da 47949288-48372508) protein kodlayan herhangi bir geni içermediği tespit edilmiştir. Sığır QTL veri tabanına göre SA ırkında seleksiyon baskısının belirlendiği genomik bölgelerin toplam 775 QTL ilişkili SNP'i kapsadığı saptanmıştır. İE ırkında olduğu gibi SA ırkında da söz konusu SNP'lerin genellikle ekonomik önemi olan özelliklerle (süt verimi ve içeriği, et verimi ve içeriği, et rengi, karkas ağırlığı, et yumuşaklığı, etin mermerleşme derecesi, laktasyon persistensisi ve canlı ağırlık) ilişkili olduğu belirlenmiştir. Bununla birlikte bazı SNP'lerin hastalıklara hassasiyet/direnç (klinik mastitis, metritis, ketozis, tüberküloz,

paratüberkülozis, digital dermatitis, abomasum deplasmanı, kene direnci, solunum ve ayak hastalıkları), metan üretimi, yüksek ısı ve düşük ısıya direnç, kandaki bazı maddelerin (laktaz dehidrogenaz, bazofil, keratin kinaz, lemfositi trigliserit ve albumin) seviyesi, üreme (gebelik başına tohumlama sayısı, cinsel olgunluk yaşı, bir batında doğan yavru sayısı, doğum kolaylığı, ilk buzağılama yaşı, geri dönmeyenlerin oranı ve buzağılama ile ilk kızgınlık arası süre) ve vücut konformasyonu özellikleriyle ilişkili olduğu görülmüştür.

Çizelge 4.13. SA sığır ırkında ROH analiziyle belirlenen SNP'lerin genomik lokasyonu ve kapsadığı genler

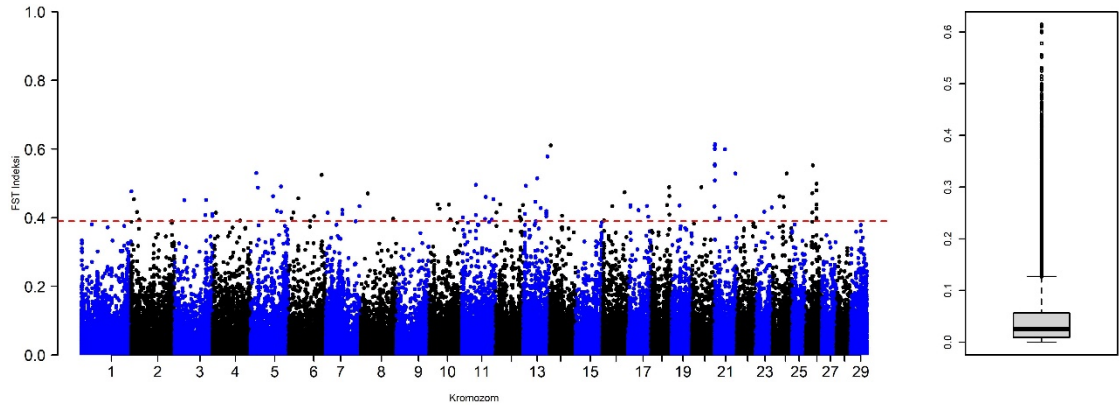
Kromozom	Başlangıç Pozisyonu	Bitiş Pozisyonu	SNP Sayısı	Genler
1	82922850	83232997	18	<i>ECE2, ALG3, VWA5B2, ABCF3, AP2M1, DVL3, EIF2B5 ve HTR3C</i>
	115802067	116955633	55	<i>SUCNR1 ve AADAC</i>
2	130547296	130876758	57	<i>WNT4, CDC42 ve CELA3B</i>
3	64209323	65843376	80	<i>ADGRL4</i>
4	61883754	62197328	4	<i>DPY19L2, DPY19L1 ve NPSR1</i>
	97843943	99173930	68	<i>LRGUK, SLC35B4, AKR1B1, AKR1B10, BPGM, CALD1 ve AGBL3</i>
5	105153944	105432674	26	<i>KCNA1, KCNA6 ve GALNT8</i>
7	22092906	22293299	14	<i>SLC22A4, PDLIM4 ve P4HA2</i>
	45693975	46221592	37	<i>VDAC1, TCF7, SKP1, PPP2CA, CDKL3, UBE2B, CDKN2AIPNL ve JADE2</i>
	65543936	66069047	32	<i>GALNT10, SAP30L, HAND1, LARPI, CNOT8 ve GEMIN5</i>
	110125286	110446412	76	<i>CAMK4</i>
8	103264546	103537705	64	<i>ZNF618, KIF12 ve COL27A1</i>
	106314341	107635400	64	<i>ASTN2 ve TLR4</i>
9	41297845	42957178	112	<i>ARMC2, FOXO3, AFG1L, SNX3, NR2E1 ve OSTM1</i>
	89209270	89421919	27	-
	93004781	93905784	69	<i>ARID1B</i>
10	35549448	35751318	15	<i>GPR176, EIF2AK4, SRP14 ve BMF</i>
	47842817	49131420	98	<i>C2CD4B, VPS13C ve RORA</i>
11	62068948	62932025	42	<i>UGP2, VPS54, PELI1 ve LGALS</i>
13	61256834	61459264	11	<i>BCL2L1, TPX2, MYLK2, FOXS1, DUSP15 ve TTL9</i>
	78640979	78840997	4	<i>RIPOR3, PARD6B, BCAS4 ve ADNP</i>
14	2373337	2574043	5	<i>PTP4A3</i>
	22958548	23158631	3	<i>TMEM68, TGS1 ve LYN</i>
	36469726	36726363	29	<i>C14H8orf89, RPL7 ve RDH10</i>
	39679593	39778909	11	-
	42406748	43998934	58	<i>STMN2, HEY1, MRPS28, TPD52, ZBTB10 ve ZNF704</i>
16	43162913	43403704	6	<i>PGD ve UBE4B</i>
	79512677	79842336	40	<i>INAVA, KIF21B, CACNA1S, TMEM9, IGFN1 ve PKP1</i>
17	66802251	67510574	92	<i>MNI, PITPN8 ve TTC28</i>
18	14213587	14981424	57	<i>ACSF3, CDH15, SLC22A31, ANKRD11, SPG7, RPL13, CPNE7 ve DPEP1</i>
20	70005637	70946151	159	<i>IRX2, IRX4, NDUFS6 ve MRPL36</i>
21	29665636	29790449	35	-
22	28631977	29178843	49	<i>PPP4R2, GXYLT2 ve SHQ1</i>
24	57018996	57199284	20	-
26	47949288	48372508	54	-
28	583103	1196479	58	<i>RHO</i>
29	42721152	43030852	67	<i>SLC22A11, SLC22A12, NRXN2, RASGRP2, PYGM, SF1 ve MAP4K2</i>
Toplam	-	-	1716	125

4.5.2. F_{ST} analizinden elde edilen bulgular

ROH istatistiğinin aksine F_{ST} yaklaşımı seleksiyon izlerinin popülasyonlar

arasında belirlenmesine olanak tanımaktadır. Mevcut tez kapsamında Türkiye yerli sığır ırklarına ait örnekler (n=115) birinci populasyon, kültür sığır ırklarına ait örnekler (n=33) ise ikinci populasyon olacak şekilde genotipik veri düzenlenmiştir. İki populasyon arasında her SNP için ayrı ayrı F_{ST} istatistiği belirlenmiş ve negatif değere sahip olan SNP'ler veri setinden uzaklaştırılmıştır. Pozitif değerlere sahip geri kalan veri setinden en yüksek seleksiyon sinyalinin (%0.1) belirlendiği SNP'lerin seleksiyona maruz kaldığı varsayılmıştır. Seleksiyon baskısının tespit edildiği genomik aralıkların protein kodlayan genleri kapsayıp kapsamadığının belirlenmesinde *Ensembl* ve NCBI Genome Data Viewer veri tabanları kullanılmıştır. Ayrıca söz konusu genomik aralıklarda daha önce kantitatif özelliklerle ilişkili olduğu bildirilen toplam SNP sayısı *CattleQTLdb* veri tabanı kullanılarak tespit edilmiştir.

Mevcut çalışmada 23 kromozoma dağılmış toplam 114 SNP'in seleksiyona maruz kaldığı belirlenmiştir (Şekil 4.8). En düşük SNP sayısı (1) BTA 1, 14, 15, 19 ve 20'de, en yüksek SNP sayısı ise (14) BTA 21'te tespit edilmiştir. Seleksiyon sinyallerin tespit edildiği toplam 36 SNP'in protein kodlayan herhangi bir gene denk gelmediği belirlenmiştir. Geri kalan 78 SNP'in ise toplam 190 protein kodlayan gen bölgelerinde olduğu tespit edilmiştir. BTA 20'nin 29941368 ile BTA 23'ün 26953303 ve 49911769 pozisyonlarındaki üç SNP'te seleksiyon sinyali bulunmasına rağmen bunların protein kodlayan gen bölgelerine yakın olmadıkları belirlenmiştir. En az SNP sayısı (2) BTA 4 ve 14'te, en yüksek SNP sayısı (24) ise BTA 11'de tespit edilmiştir (Çizelge 4.14).



Şekil 4.8. Yerli ve kültür sığır ırklarında otozomal kromozomlarda F_{ST} istatistiğinin dağılımına ait Manhattan ve kutu grafiği

Sığır QTL veri tabanına göre seleksiyon baskısının belirlendiği genomik bölgelerin toplam 1322 QTL ilişkili SNP'i kapsadığı ve bunların genellikle ekonomik önemi olan özellikler (süt verimi ve içeriği, etin rengi ve yumuşaklığı, kemiksiz et verimi, kas içi yağlanma, karkas ağırlığı, laktasyon persistensisi ve canlı ağırlık kazancı), hastalıklara hassasiyet/direnç (klinik mastitis, taban ülseri, abomasum deplasmanı, ketozis, tüberküloz, paratüberküloz, interdigital hiperplazi, ovaryum kisti

ve solunum hastalıkları), soğuğa direnç, metan üretimi, göz etrafındaki pigmentasyon, kandaki albümin ve dopamin seviyesi, üreme (cinsel olgunluk yaşı, doğum kolaylığı, ölü doğum, gebelik süresi, gebelik başına tohumlama sayısı ve embriyo sayısı) ve vücut konformasyonu özellikleriyle ilişkili olduğu görülmüştür.

Çizelge 4.14. Yerli ve kültür sığır ırklarında F_{ST} yaklaşımıyla belirlenen SNP'lerin genomik lokasyonu ve kapsadığı genler

Kromozom	Başlangıç Pozisyonu	Bitiş Pozisyonu	SNP Sayısı	Genler
1	158184244	158384244	1	<i>TXLNA</i> , <i>KPNA6</i> , <i>TMEM39B</i> ve <i>KHDRBS1</i>
2	83989	283989	1	-
	8372481	8572481	1	-
	17605398	17805398	1	<i>SESTD1</i> ve <i>CCDC141</i>
	24627345	24827345	1	<i>SLC25A12</i> ve <i>DYNCH2</i>
	128391166	128591166	1	<i>RCAN3</i> , <i>NIPAL3</i> , <i>STPG1</i> ve <i>GRHL3</i>
3	30759647	30959647	1	<i>ST7L</i> , <i>WNT2B</i> ve <i>CTTNBP2NL</i>
	97538604	97738604	1	-
	99591869	99791869	1	<i>SPATA6</i> , <i>SLC5A9</i> , <i>SKINT1</i> , <i>TRABD2B</i> ve <i>FOXD2</i>
	120311232	120511232	1	<i>SNED1</i> , <i>MTERF4</i> , <i>PASK</i> , <i>PP1R7</i> , <i>HDLBP</i> ve <i>SEPTIN2</i>
	120652863	120852863	1	<i>BOK</i> , <i>THAP4</i> , <i>ATG4B</i> , <i>DTYMK</i> , <i>ING5</i> , <i>D2HGDH</i> , <i>GAL3ST2</i> , <i>NEU4</i> ve <i>PDCD1</i>
4	10779436	10979436	1	<i>CALCR</i>
	86793252	86993252	1	<i>CADPS2</i>
5	18599173	18799173	1	-
	23756635	23956635	1	<i>PLXNC1</i>
	71152635	71352635	1	<i>SYN3</i>
	83452601	83652601	1	<i>ITPR2</i>
	95859973	96059973	1	<i>GRIN2B</i>
	96374077	96574077	1	-
6	10064260	10264260	1	-
	15616270	15816270	1	<i>CFI</i> , <i>PLA2G12A</i> , <i>CASP6</i> ve <i>MCUB</i>
	31201772	31401772	1	<i>GRID2</i>
	69326272	69526272	1	-
	81140852	81340852	1	<i>EPHA5</i>
	105068660	105268660	1	<i>SLC2A9</i>
7	6539937	6739937	1	<i>CALR3</i> , <i>EPS15L1</i> ve <i>KLF2</i>
	52763356	52963356	1	<i>ARAP3</i> ve <i>PCDH1</i>
	95409104	95609104	1	-
	106896644	107096644	1	<i>FBXL17</i>
8	23035515	23235515	1	<i>IFNB3</i>
	103324119	103524119	1	<i>KIF12</i> , <i>COL27A1</i> ve <i>MIR455</i>
10	27139112	27339112	1	<i>OR11G29</i> , <i>OR4Q3</i> , <i>OR4H12</i> , <i>OR4M1</i> , <i>OR4N2C</i> , <i>OR4ND4</i> , <i>OR4ND2</i> , <i>OR4NK6</i> , <i>OR4NK3</i> ve <i>OR4NK2</i>
	32861731	33061731	1	-
	61851038	62051038	1	<i>FBN1</i>
	66687518	66887518	1	-
	88217035	88417035	1	<i>IRF2BPL</i> , <i>CIPC</i> , <i>ZDHHC22</i> ve <i>TMEM63C</i>
11	3015345	3215345	1	<i>C11H2orf92</i> , <i>ZAP70</i> ve <i>TMEM131</i>
	18878196	19078196	1	<i>CRIM1</i> ve <i>FEZ2</i>
	44073100	44312483	2	<i>SEPTIN10</i>
	73218583	73482700	2	<i>ADGRF3</i> , <i>HADHB</i> , <i>HADHBA</i> , <i>GAREM2</i> , <i>RAB10</i> ve <i>KIF3C</i>
	75284323	75484323	1	<i>KLHL29</i>
	86588293	86788293	1	<i>ROCK2</i> , <i>SLC66A3</i> , <i>C11H2orf50</i> ve <i>KCNF1</i>
	94350768	94550768	1	<i>STRBP</i> , <i>CRB2</i> ve <i>DENND1A</i>
	99877227	100077227	1	<i>C11H9orf50</i> , <i>NTMT1</i> , <i>ASB6</i> ve <i>PRRX2</i>

(Devamı Arkada)

Çizelge 4.14'ün devamı.

12	2660061	2860061	1	DIAPH3
	14404037	14604037	1	-
	75304888	75504890	2	FARPI ve STK24
	78784682	78985913	2	TPP2 ve METTL21C
	80687868	80887868	1	-
	85852695	86052695	1	-
13	5519219	5719219	1	SNORA70
	8454855	8654855	1	-
	38151048	38351048	1	SNX5, SNORD17, MGME1, OVOL2, PET117 ve KAT14
	40140631	40340631	1	RALGAPA2
	44473688	44673688	1	KLF6
	55186696	55386696	1	CDH4
	73097941	73298019	4	CCN5, KCNK15, RIMS4 ve YWHAB
	76421400	76621400	1	-
14	3579601	3779601	1	TRAPPC9 ve KCNK9
15	82025970	82225970	1	GAT, GLYATL2 ve GLYAT
16	4647372	4847372	1	IL20, IL24, FCMR, PIGR, FCAMR ve C16H1orf116
	31642307	31842307	1	KIF26B
	70428610	70628610	1	RPS6KCI, ANGEL2 ve VASH2
17	7794160	7994236	4	-
	33390624	33590624	1	-
	59656333	59856333	1	-
	63987654	64187654	1	USP30, SVOP, DAQ ve SSH1
18	50703515	50903515	1	CEACAM1 ve LIPE
	56643714	56843714	1	LRRC4B, SYT3, C18H19orf81, SHANK1 ve CLEC11A
	57405302	57605302	1	VSIG10L, CLDND2, NKG7, LIM2, C18H19orf84 ve SIGLEC10
	57618211	57818211	1	SPACA ve HAS1
19	24180265	24380265	1	SPATA22, ASPA, TRPV3, TRPV1, SHPK, CTNS, TAX1BP3, EMC6 ve P2RX5
20	29841368	30041368	1	-
21	0	200000	2	-
	354528	554528	1	-
	399826	599998	4	-
	422882	622933	2	-
	774017	974017	1	-
	15768697	15968697	1	SV2B
	32891293	33091293	1	-
	65656516	65856516	1	RTL1
23	67417563	67617563	1	RCOR1, TRAF3 ve AMN
	26853303	27053303	1	-
	49811769	50011769	1	-
24	21664702	21864702	1	ZNF24, ZNF397 ve ZSCAN30
	32831255	33031255	1	LAMA3 ve ANKRD29
	36308588	36508588	1	-
	44379145	44579145	1	SETBP1
26	21213109	21413109	1	PKD2L1, SCD, WNT8B ve SEC31B
	21779271	22044526	2	SLF2, SEMA4G, MRPL43, TWNK, LZTS2, SFXN3, KAZALD1 ve TLX1
	22918221	23118221	1	GBF1, NFKB2, PSD, FBXL15, CUEDC2, MFSD13A, ACTR1A ve SUFU
	34764386	35013459	7	AFAP1L2 ve ABLIM1
Toplam	-	-	114	190

5. TARTIŞMA

Günümüze kadar Türkiye yerli ve kültür sığır ırklarında seleksiyon izlerinin incelendiği herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Genetik çeşitliliğin belirlendiği çalışmalar ise genellikle mikrosatellit lokus temelinde olup yüksek yoğunlukta SNP verilerinin kullanılarak genetik varyasyonun incelendiği herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Mevcut tez çalışmasında ise Türkiye’de yetiştiriciliği yapılan yerli ve bazı kültür sığır ırklarında genetik çeşitlilik ve seleksiyon izleri SNP verileri kullanılarak ilk defa değerlendirilmiştir. Mikrosatellitlerden elde edilen sonuçların SNP verilerle kıyaslanmasında kullanılan genotipleme yönteminden kaynaklanacak farklılıklar bulunmaktadır. Dolayısıyla bu bölümde mevcut tez kapsamında elde edilen bulguların başka ülkelerde yetiştirilen sığır ırklarında elde edilen sonuçlarla kıyaslanmıştır.

Mevcut tez çalışmasında ddRADSeq yöntemiyle 160 örnekten oluşturulan iki adet DNA kütüphanesi Illumina HiSeq X Ten platformu kullanılarak sekanslanmış ve elde edilen kısa okumalardan toplam 1.786.253 SNP elde edilmesine rağmen sadece 211.119 SNP filtrasyon aşamasından geçebilmiştir. Bu durumun en temel nedeni SNP’lerin büyük bir kısmının düşük MAF değerine sahip olmasıdır. Ayrıca yüksek MAF değerine sahip olsalar bile bazı SNP’ler bireye veya ırka özgü olmakta ve populasyonun tamamında bulunmamaktadır. Moleküler temelli çalışmalarda MAF değeri yüksek olsa bile genellikle populasyonun tamamında %10’dan fazla kayıp gözleme sahip SNP’lerin veri setinden uzaklaştırılması rutin bir uygulamadır (Saravanan vd. 2021). Örneğin, Wang vd. (2018) altı farklı Çin yerli sığır ırkında genetik çeşitliliği değerlendirmek için RADSeq yönteminden elde edilen toplam 12.043.701 SNP’den sadece 238.715 tanesinin kalite kriterlerini sağladığını belirtmişlerdir. Hindistan’ın yerli sığır ırkı olan Tharparkar populasyonunda ekonomik önemi olan özelliklerle ilişkili SNP’lerin belirlenmesini amaçlayan başka bir çalışmada ise RADSeq yöntemi kullanılarak elde edilen SNP’lerden sadece 146.011 tanesinin kalite kriterlerini karşıladığı bildirilmiştir (Devadasan vd. 2020). ddRADSeq yöntemi kullanılarak Hindistan’ın yerli sığır ırkı olan Sahiwal populasyonunda üreme özellikleriyle ilişkili varyasyonların incelenmesi için belirlenen SNP’lerden toplam 258.231 tanesinin kalite parametrelerini karşıladığı bildirilmiştir (Vineeth vd. 2020). RADSeq ve ddRADSeq yöntemi sadece sığırlarda değil diğer çiftlik hayvanı türlerinde de otozomal SNP’lerin elde edilmesinde kullanılmış ve filtrasyon sonrası SNP sayısının önemli ölçüde azaldığı görülmüştür. Örneğin, Chen vd. (2022) Çin’de yetiştirilen Yungling keçi ırkında populasyon yapısı ve seleksiyon izlerinin belirlenmesi için RADSeq yöntemiyle elde edilen toplam 1.849.256 SNP’den sadece 151.071 tanesinin analizlerde kullanılmak üzere kalite kriterlerini geçtiği bildirilmiştir. Hindistan’da yetiştirilen Murrah mandalarında seleksiyon izlerinin belirlenmesi için ddRADSeq yöntemiyle toplam 502.476 SNP’in tespit edildiği, ancak sadece 237.762 tanesinin filtrasyondan geçebildiği bildirilmiştir (Tyagi vd. 2021). Bu açıdan bakıldığında mevcut tez çalışmasında kalite kontrolünden geçen toplam SNP sayısının (211.119) literatürle uyumlu olduğu, hatta bazı çalışmalardan daha yüksek sayıda SNP’le analizlerin gerçekleştirildiği görülmektedir.

YNS yöntemlerinden elde edilen kısa okumalarda kapsama derinliği önemli bir kalite kriteridir. Kapsama derinliği, herhangi bir kromozomun belirli bir pozisyonunda

bulunan bir nükleotidi içeren toplam okuma sayısı olarak ifade edilmektedir (Jennings vd. 2017). Kapsama derinliğinin yüksek olması sekanstan kaynaklanan hataların önüne geçilmesi ve varyantların (SNP ve İnDel'ler) daha yüksek isabet derecesiyle belirlenmesine olanak tanımaktadır. Mevcut tez çalışmasında kapsama derinliği ırklar arasında birbirine yakın olmakla beraber en düşük değer 24.03 ile YK ırkında, en yüksek değer ise 28.58 ile GAK ırkında bulunmuştur. Tüm populasyon seviyesinde ortalama kapsama derinliği 26.58 olarak bulunmuştur. Bu değer çalışılan ırkların herhangi bir bireyine ait rastgele bir kromozomun belirli bir pozisyonundaki rastgele bir nükleotidin ortalama 26 okuma ile temsil edildiği anlamına gelmektedir. Vineeth vd. (2020) kapsama derinliği parametresini 2, 5 ve 10 olarak değerlendirilmiştir. Söz konusu çalışmada beklendiği üzere kapsama derinliği 2 olduğunda 258.231 SNP, 5 olduğunda 232.570 SNP ve 10 olduğunda 193.803 SNP elde edilmiştir. Benzer şekilde kapsama derinliği arttıkça elde edilen İnDel sayısı da azalmıştır (Vineeth vd. 2020). ddRADSeq yönteminin kullanıldığı başka bir çalışmada Simon vd. (2019) Hindistan'da yetiştirilen Malabari ve Attappady Black keçilerine ait kısa okumalardan SNP elde etmek için benzer şekilde kapsama derinliğini 2, 5 ve 10 olacak şekilde değerlendirmişlerdir. Benzer şekilde kapsama derinliği arttıkça elde edilen SNP ve İnDel sayısının azaldığını bildirmişlerdir. Mevcut tez çalışmasında ise SNP'ler elde edilirken en düşük kapsama derinliği 20 olarak belirlenmiş ve bu değer altında olan varyantlar veri setinden uzaklaştırılmıştır. Bu açıdan değerlendirildiğinde mevcut çalışmada benzer yöntemi kullanan çalışmalardan daha yüksek güvenilirliğe sahip SNP'lerin elde edildiği görülmektedir.

Araştırmada belirlenen toplam SNP'lerin (211.119) kromozomlara dağılımı incelendiğinde en yüksek SNP sayısı 11.148 ile BTA 1'de en düşük SNP sayısı ise 3.898 ile BTA 28'de tespit edilmiştir. Bu sonuçlar sığırın otozomal kromozomlarının büyüklüğüyle uyumlu bulunmuştur. Çünkü sığır türünde BTA 1 en uzun otozomal kromozom olup yaklaşık 158 milyon bp uzunluğundadır. En kısa üç otozomal kromozom ise sırasıyla BTA 25, BTA 27 ve BTA 28'dir. Mevcut SNP'lerin tüm sığır kromozomlarından, kromozom büyüklüklerine uyumlu olarak elde edilmesi çalışmanın güvenilirliği açısından önemlidir.

Çalışılan ırklarda genetik çeşitliliğin değerlendirilmesinde MAF, beklenen heterozigotluk, gözlenen heterozigotluk ve akrabalı yetiştirme katsayısı istatistiklerinden yararlanılmıştır. Ortalama 0.358 olarak belirlenen MAF istatistiği 0.339 (İE) ile 0.381 (YGS) aralığında değişmiştir. En düşük beklenen heterozigotluk değeri 0.336 olarak İE ırkında, en yüksek gözlenen heterozigotluk ise 0.400 olarak YGS ırkında tespit edilmiştir. Çalışılan ırklarda akrabalı yetiştirme katsayısı -0.038 (YGS) ile 0.003 (YK) aralığında değişmiştir. Çalışılan bütün ırklarda akrabalığın düşük bulunması beklenen bir durumdur. Çünkü örnekleme yapılırken her ırk için en az üç farklı işletmeden birbiriyle akraba olmayan bireyler seçilmiştir. Ayrıca yerli sığır ırklarında uygulanan sistematik bir seleksiyon çalışması yoktur. Genel olarak Türkiye yerli sığır ırklarında genetik çeşitliliğin kültür sığır ırklarına kıyasla daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Benzer şekilde farklı ülkelerde yetiştirilen yerli sığır ırklarında da genetik çeşitliliğin kültür sığır ırklarından daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Örneğin, Senczuk vd. (2020) toplam 30.176 SNP kullanarak SA, İE, Simental ve Jersey de dahil olmak üzere toplam 23 sığır ırkında genetik çeşitliliği değerlendirdikleri kapsamlı bir çalışmada aynı parametreleri kullanmışlardır. Ortalama MAF değerinin 0.286 olduğu

çalışmada en düşük gözlenen heterozigotluk (0.297) ve en yüksek akrabalı yetiştirme katsayısının (0.110) Jersey ırkında tespit etmişlerdir. Aynı çalışmada en yüksek gözlenen heterozigotluk değerinin (0.356) Slovenya ve Hırvatistan'da yetiştiriciliği yapılan Cika sığır ırkında tespit edildiği bildirilmiştir (Senczuk vd. 2020). Kasarda vd. (2020) ise dünya genelinde yetiştiriciliği yapılan 4 farklı etçi sığır ırkı (Aberdeen Angus, Charolais, Hereford ve Limousin) ve et verimi ile ön plana çıkan 2 İtalya yerli ırkı (Piedmontese ve Romagnola) ile kombine verimli Slovak Pinzgau sığırlarında genetik çeşitliliği 36.842 SNP üzerinden değerlendirmişlerdir. Çalışmada akrabalı yetiştirme katsayıları kültür ırklarında pozitif değerler alırken İtalya ve Slovak yerli sığır ırklarında negatif değerler almıştır. Benzer şekilde en yüksek gözlenen heterozigotluk değerleri sırasıyla Slovak Pinzgau (0.349) ve Piedmontese (0.348) ırkında belirlendiği vurgulanmıştır. Zwane vd. (2016) ise 26.472 SNP kullanarak üç farklı Afrika sığır ırkındaki (Afrikaner, Drakensberger ve Nguni) genetik çeşitliliği kültür ırkları olan Aberdeen Angus ve Hereford ile kıyaslamışlardır. Çalışmada en düşük gözlenen heterozigotluğun (0.20) Hereford, en yüksek akrabalı yetiştirme katsayısının (0.03) ise Aberdeen Angus ırkında tespit edildiğini bildirmişlerdir. Hem mevcut tez çalışmasında hem de yapılan kaynak taramasında genetik çeşitlilik parametrelerinin lokal popülasyonlarda kültür sığır ırklarından daha yüksek bulunması şaşırtıcı değildir. Çünkü kültür sığır ırklarında ekonomik önemi olan özelliklerin iyileştirilmesi için uzun yıllar boyunca ıslah çalışmaları yapılmaktadır. Ayrıca seleksiyon işlemi damızlık değeri yüksek olan boğalardan elde edilen spermaların yapay tohumlamada kullanılması da homozigotluğun önemli derecede artmasına neden olmaktadır.

Diğer yandan Türkiye yerli sığır ırklarında genetik çeşitlilik parametrelerinin farklı ülkelerde yetiştirilen lokal sığır ırklarına kıyasla daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Örneğin, Kim vd. (2018) üç farklı Kore yerli sığır ırkında (Brown Hanwoo, Brindle Hanwoo ve Jeju Black) 735.182 SNP kullanarak genetik çeşitliliği inceledikleri çalışmada gözlenen heterozigotluğun 0.266 (Jeju Black) ile 0.284 (Brindle Hanwoo) aralığında değiştiğini bildirmişlerdir. 35.048 SNP veri seti kullanılarak 10 farklı Avrasya sığır ırkında (Finnish Ayrshire, Western Finncattle, Northern Finncattle, Eastern Finncattle, Yaroslavskaya, Busha, Kalmykian, Podolian, Ukrainian Grey ve Yakutian) genetik çeşitliliğin değerlendirildiği başka bir çalışmada en yüksek MAF 0.242 ve gözlenen heterozigotluk değeri 0.323 olarak Busha ırkında belirlenmiştir (Iso-Touru vd. 2016). Bhuiyan vd. (2021) Bangladeş'te yetiştirilen 6 farklı hörgüçlü sığır ırkında (Red Chittagong, Pabna, Munshiganj, Deshi, North Bengal Grey ve Merged) genetik çeşitliliği belirlemek için toplam 35.960 SNP kullanmışlardır. Çalışılan ırklarda en yüksek MAF ve gözlenen heterozigotluk sırasıyla 0.272 ve 0.250 olacak şekilde Red Chittagong ırkında belirlendiğini bildirmişlerdir. Başka bir hörgüçlü sığır olan ve Hindistan'da yetiştirilen Tharparkar sığır ırkında 22.825 SNP üzerinden yapılan genetik çeşitlilik analizlerinde MAF ve gözlenen heterozigotluk sırasıyla 0.249 ve 0.339 olarak bildirilmiştir (Saravanan vd. 2022). Mozambik'te yetiştirilen Landim, Angone ve Tete sığır ırklarında genetik çeşitliliğin 39.436 SNP üzerinden değerlendirildiği çalışmada ise ortalama MAF, gözlenen heterozigotluk ve akrabalı yetiştirme katsayısının sırasıyla 0.232, 0.291 ve 0.065 olduğu belirtilmiştir (King vd. 2021). Türkiye'de yetiştirilen sığır ırklarında genetik çeşitliliğin diğer ülkelerde yetiştirilen sığır ırklarından yüksek olması da şaşırtıcı değildir. Bu durumun altında yatan birkaç neden olduğu düşünülmektedir. Bunlardan birincisi Türkiye coğrafi konumundan dolayı

hörgüçsüz sığırın (*Bos taurus*) evcilleştirme merkezine çok yakındır. Göç ile birlikte evcilleştirme merkezinden uzaklaşan populasyonların görece daha az atasal alleleri içermesinden dolayı genetik çeşitlilikte azalmaların görülmesinin doğal bir durum olduğu bildirilmiştir (Demir vd. 2023). Ancak Türkiye yerli sığır ırkları evcilleştirme bölgesine yakın olup daha fazla atasal varyasyonları populasyon içinde koruyabilmektedir. Bir diğer nedenin ise Türkiye yerli sığır ırklarında uygulanan ıslah çalışmasının olmaması olduğu düşünülmektedir. Ayrıca bu çalışmada genetik çeşitliliğin değerlendirilmesinde kullanılan SNP'lerin elde edildiği yöntem olan ddRADseq özgün varyasyonları belirlemede daha etkilidir ve analizlerde kullanılan SNP sayısı literatürdeki çalışmaların çoğundan fazladır.

Mevcut tez çalışmasında çalışılan yerli ve kültür sığır ırklarında genetik farklılaşma ve populasyon yapısının belirlenmesinde genetik mesafe, genetik mesafe temelinde çizilen NJ ağacı ve DPCA, ikişerli F_{ST} değerleri ve ADMIXTURE yaklaşımları tercih edilmiştir. Nei genetik mesafe ve ikişerli F_{ST} değerleri incelendiğinde yerli ve kültür ırkları arasında genetik mesafenin ve genetik farklılaşmanın yüksek olduğu tespit edilmiştir. Benzer şekilde çizilen NJ ağacı ve DPCA grafiği ile ADMIXTURE analizi yerli sığır ırklarının genetik olarak kültür sığır ırklarından farklı olduğunu ortaya koymuştur. Bu sonuçlar ırkların genetik kökenleriyle uyumludur. Diğer yandan YK, BI, GAK ve YGS populasyonları arasında genetik bir karışımın olduğu, DAK ve ZAV ırklarının ise diğer yerli sığır ırklarından belirgin bir şekilde farklı olduğu belirlenmiştir. Kaynaklarda Türkiye yerli ve kültür ırklarında populasyon yapısının mikrosatellit marker temelinde incelendiği bazı çalışmalar bulunmasına rağmen Türkiye sığır ırklarında filogenetik ilişkilerin ve populasyon yapısının yüksek yoğunlukta SNP ile incelendiği başka bir çalışma bulunmamaktadır. Mikrosatellit ve mtDNA temelinde yapılan çalışmaların sonuçları ise birbiriyle uyumlu değildir. Örneğin, Özşensoy vd. (2010) 20 mikrosatellit marker temelinde gerçekleştirdikleri çalışmada DAK ırkının genetik olarak ZAV ırkından ziyade YK ırkına daha çok benzerlik gösterdiğini bildirilmiştir. 20 mikrosatellit markerin kullanıldığı başka bir çalışmada ise Özşensoy vd. (2019) DAK ve ZAV ırkının birbiriyle kümелendiğini ve YK ırkının bunlardan genetik olarak farklılaştığını vurgulamışlardır. Yakın zamanda Demir vd. (2023) mtDNA D-loop gen bölgesiyle yaptıkları çalışmada YK ve DAK ırklarının birbirine genetik olarak benzer olduğunu, ZAV ırkının ise bunlardan belirgin bir şekilde farklılaştığını belirtmişlerdir. Diğer yandan 19 mikrosatellit marker temelinde yapılan çalışmada Boğa Kuru vd. (2022) DAK ve ZAV ırkının genetik olarak birbirine yakın olduklarını vurgulamışlardır. Türkiye yerli sığır ırklarında yapılan en kapsamlı mikrosatellit marker çalışmasında Öner vd. (2019) 22 lokus temelinde yaptıkları analizlerde DAK ırkının genetik olarak BI'a yakın olduğunu belirtmişlerdir. Görüldüğü üzere daha önce mikrosatellit ve mtDNA temelinde yapılan çalışmaların sonuçları birbirinden farklılık göstermektedir. Bu durum Demir vd. (2022) tarafından da değerlendirilmiş ve birbiriyle ortak yetiştirme geçmişine sahip ırklarda populasyon yapısının belirlenmesinde SNP chip ve NGS platformlarından elde edilen yüksek yoğunlukta genomik verilerin kullanılması gerektiği vurgulanmıştır. Bu bağlamda genom çapında toplam 211.119 bi-allel SNP verisinden faydalanan mevcut tez çalışmasının Türkiye yerli sığır ırklarında populasyon yapısını daha yüksek güvenilirlikle ortaya koyduğu düşünülmektedir.

Mevcut tez kapsamında Türkiye'de yetiştirilen yerli ve bazı kültür sığır

ırklarında seleksiyon izlerinin belirlenmesinde ROH ve F_{ST} yaklaşımı kullanılmıştır. ROH yaklaşımında tüm populasyonda 25 otozomal kromozoma dağılmış toplam 310 protein kodlayan gende seleksiyon izi belirlenmiştir. BTA 12, 21, 23 ve 25'te herhangi bir seleksiyon baskısı tespit edilememiştir. BTA 26 (*PRLHR* ve *CACUL1*) ve 27'de (*CLN8* ve *UBE2E2*) ikişer protein kodlayan gen, BTA 7'de ise toplam 39 gende (*GTF2F1*, *PSPN*, *ALKBH7*, *CLPP*, *ACER1*, *MLLT1*, *ACSBG2*, *RFX2*, *RANBP3*, *SLC22A4*, *PDLIM4*, *P4HA2*, *VDAC1*, *TCF7*, *SKP1*, *PPP2CA*, *CDKL3*, *UBE2B*, *CDKN2AIPNL*, *JADE2*, *FAF2*, *RNF44*, *CDHR22*, *GPRIN1*, *SNCB*, *EIF4E1B*, *TSPAN17*, *UNC5A*, *HK3*, *UIMC1*, *GALNT10*, *SAP30L*, *HAND1*, *LARPI*, *CNOT8*, *GEMIN5*, *TMEM232*, *SLC25A46* ve *CAMK4*) seleksiyon sinyali tespit edilmiştir. Seleksiyon baskısının belirlendiği 309 protein kodlayan gen bölgesinden toplam 45 tanesi en az iki populasyonda seleksiyona maruz kaldığı belirlenmiştir. BTA 1'de bulunan 5 gende (*IGSF10*, *MED12L*, *P2RY12*, *GPR87* ve *P2RY14*) hem ZAV hem de İE ırkında seleksiyon sinyali tespit edilmiştir. BTA 5'te bulunan 8 gen (*HEBP1*, *GPRC5A*, *DDX47*, *APOLD1*, *CDKN1B*, *GPR19*, *CREBL2* ve *DUSP16*) hem GAK hem de İE ırkında seleksiyona maruz kaldığı tespit edilmiştir. BTA 7'de bulunan *GALNT10*, *SAP30L*, *HAND1*, *LARPI*, *CNOT8* ve *GEMIN5* genleri DAK ve SA ırkında, *CAMK4* geni ise YGS, BI ve SA ırkında seleksiyon baskısına maruz kalmıştır. BTA 9'da toplam 2 gen (*SDHAF4* ve *SMAP1*) hem DAK hem de SAY ırkında seleksiyona maruz kalmıştır. BTA 10'da 3 protein kodlayan gen (*C2CD4B*, *VPS13C* ve *RORA*) GAK ve SA ırkında seleksiyona maruz kalmıştır. BTA 14'te *C14H8orf89*, *RPL7* ve *RDH10* genleri DAK ve SA ırkında, *HEY1* ve *MRPS28* genleri ise İE ve SA ırkında seleksiyona maruz kalmıştır. BTA 16'da seleksiyon baskısının belirlendiği toplam 24 genden 13 tanesi en az iki sığır populasyonunda seleksiyona maruz kalmıştır. Bunlardan *CASZ1*, *PEX14*, *DFFA* ve *CORT* genleri ZAV ve İE ırkında, *XCL1* ve *DPT* genleri YK ve YGS ırkında, *PGD* geni ZAV ve SA ırkında, *DDX59*, *CAMSAP2*, *GPR25*, *INAVA*, *KIF21B* ve *CACNA1S* genleri ise DAK, SA ve İE ırkında seleksiyona maruz kalmıştır. BTA 19'da *CA10* geni YGS ve BI populasyonlarında seleksiyona maruz kalmıştır. BTA 28'de *ANK3* geni hem YGS hem de İE ırkında seleksiyona maruz kalmıştır.

ROH yaklaşımıyla elde edilen sonuçlar ırk temelinde incelendiğinde yerli ırklarda en düşük seleksiyon baskısı 6 gen ile YK ve YGS ırkında, en yüksek seleksiyon baskısı ise 55 gen ile DAK ırkında tespit edilmiştir. Kültür ırklarında seleksiyon baskısının daha yüksek olduğu, SA ırkında 125, İE ırkında ise toplam 104 protein kodlayan genin seleksiyona maruz kaldığı tespit edilmiştir.

211.119 SNP üzerinden gerçekleştirilen çalışmada seleksiyon baskısının kültür ırklarında yüksek, yerli ırklarda ise düşük bulunması şaşırtıcı olmayıp ırkların yetiştirilme geçmişiyle uyumlu bulunmuştur. Çünkü kültür ırklarında ekonomik önemi olan (et ve süt verimi) özelliklerin iyileştirilmesi için uzun yıllar boyunca yoğun seleksiyon çalışmaları gerçekleştirilmektedir. Bununla birlikte yapay tohumlama teknolojisi dünya genelinde yetiştiricilerin erkek bireyleri elinde bulundurma gerekliliğini ortadan kaldırmıştır. Dolayısıyla dünya genelinde yetiştirilen SA ve İE gibi ırkların baba hattı sınırlı sayıda olmakta ve bu durum genomda homozigotluğun artmasına neden olmaktadır. Oysaki Türkiye yerli sığır ırkları tek verim yönlü hayvanlar olmayıp hem et hem de süt üretimi için yetiştirilmektedir. Ayrıca bu ırkların yetiştiriciliğinde yüksek girdilere ihtiyaç olmayıp küçük yetiştiricilerin meraların uygun olduğu dönemlerde hayvanları doğaya saldıgı bilinmektedir. Bu bağlamda Türkiye yerli

sığır ırklarında belirli bir amaç için (et veya süt verimi gibi) uzun yıllar boyunca uygulanan metodolojik bir seleksiyon çalışması bulunmamaktadır. Dolayısıyla yerli sığır ırklarında bazı genomik bölgelerin önemli derecede homozigotlaşmasına doğal seleksiyon baskısının neden olduğu düşünülmektedir. Ayrıca her ne kadar çiftleşmelerin genellikle rastgele olduğu düşünülse de özellikler küçük yetiştiriciler tarafından yetiştirilen köy sürülerinde damızlık boğa sayısının görece düşük olduğu bir gerçektir. Baba hattında az sayıda genotipin bulunması bazı durumlarda yapay seleksiyonunda olduğu gibi bazı genomik bölgelerin homozigotlaşmasına neden olmaktadır.

F_{ST} yaklaşımında ise 23 kromozomda toplam 190 protein kodlayan gende seleksiyon izleri tespit edilmiştir. BTA 9, 22, 25, 27, 28 ve 29'da herhangi bir seleksiyon baskısı tespit edilememiştir. BTA 4 (*CALCR* ve *CADPS2*) ve 14'te (*TRAPPC9* ve *KCNK9*) ikiye gen, BTA 11'de ise toplam 24 protein kodlayan gende (*IRF2BPL*, *CIPC*, *ZDHHC22*, *TMEM63C*, *C11H2orf92*, *ZAP70*, *TMEM131*, *CRIM1*, *FEZ2*, *SEPTIN10*, *ADGRF3*, *HADHB*, *HADHBA*, *GAREM2*, *RAB10*, *KIF3C*, *KLHL29*, *ROCK2*, *SLC66A3*, *C11H2orf50*, *KCNF1*, *STRBP*, *CRB2*, *DENND1A*, *C11H9orf50*, *NTMT1*, *ASB6* ve *PRRX2*) seleksiyon izi tespit edilmiştir. ROH yaklaşımıyla kıyaslandığında seleksiyon baskısının belirlendiği gen sayısı ve kromozomal pozisyonları arasında farklılıklar bulunmaktadır. Bu durum her iki yöntemin farklı ön koşulları gerektirmesinden kaynaklanmaktadır. Benzer sonuçlar daha önce yapılan çalışmalarda da bulunmuştur. Örneğin Saravanan vd. (2021) 53.714 SNP kullanarak hörgüçlü ve hörgüçsüz toplam 12 sığır ırkında seleksiyon izlerini belirlemek için iHS, ROH ve F_{ST} yaklaşımını tercih etmişlerdir. Aynı veri setini kullanmalarına rağmen iHS yaklaşımıyla 179 bölgede 518, ROH yaklaşımıyla 56 bölgede 277 ve F_{ST} yaklaşımıyla 231 bölgede 231 gende seleksiyon sinyallerinin tespit edildiğini bildirmişlerdir. Benzer şekilde Rajawat vd. (2022) 20.514 SNP ile 12 farklı sığır ırkında seleksiyon izlerinin belirlenmesinde 8 farklı istatistiksel yaklaşım (Tajima'nın D istatistiği, Fu ve Li'nin D istatistiği, CLR testi, ROH, iHS, F_{ST} , FLK ve hapFLK) kullanmışlardır. Aynı genotipik veri seti kullanılmasına rağmen ROH yaklaşımında 34 genomik aralıkta toplam 267 gende, F_{ST} yaklaşımında ise 58 genomik bölgede toplam 52 protein kodlayan gende seleksiyon izinin tespit edildiği bildirilmiştir.

Araştırmada çalışılan sığır ırklarında seleksiyon baskısının tespit edildiği genlerin hangi fenotipik özelliklerle ilişkili olduğunun belirlenmesinde sığır QTL veritabanı (*CattleQTLdb*) kullanılmıştır. Kültür sığır ırklarında seleksiyon baskısına maruz kalan genomik bölgelerin beklendiği gibi genellikle ekonomik önemi olan özelliklerle (süt verimi ve içeriği, et verimi ve içeriği, büyüme özellikleri ve vücut konformasyon özellikleri) ilişkili olduğu belirlenmiştir. Yerli sığır ırklarında ise ekonomik önemi olan özelliklerin yanı sıra çevresel adaptasyon, biyolojik süreçler, büyüme ve üreme özellikleriyle ilişkili bazı genlerin seleksiyona maruz kaldığı belirlenmiştir. Söz konusu genlerin fenotipe olan etkilerinin daha detaylı incelenmesi için daha önce yapılan çalışmalar incelenmiştir. Örneğin, YGS ve BI ırkında seleksiyon izinin tespit edildiği *CA10* geninin karbondioksiti bikarbonata dönüştürmede rol aldığı ve bu sürecin birçok farklı dokunun fizyolojik özellikleri için gerekli olduğu bildirilmiştir (Pastorekova vd. 2004). Ayrıca Olšanská vd. (2020) *CA10* geninin memeli türlerinde oldukça yüksek düzeyde korunduğunu vurgulamışlardır. Doğal popülasyonların hayatta kalması ve farklı çevresel koşullara adaptasyon sağlamasında üreme oldukça önemlidir. GAK ve BI ırkında seleksiyon sinyalinin tespit edildiği

CAMK4 geninin ovaryum ve testis hücrelerinde yüksek düzeyde ifade edildiği ve kalspermin ve kalmodülin-bağımlı protein kinaz IV'ü kodlayarak erkek ve dişi bireylerde üreme özelliklerini doğrudan etkilediği vurgulanmıştır (Padhi ve Ma 2015). YK ve YGS ırkında seleksiyon izinin tespit edildiği *XCL1* geninin ise mandalarda bağışıklık sistemi ve ısıya tolerans ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Li vd. 2019; Braz vd. 2021). Benzer şekilde ZAV ırkında seleksiyon sinyalinin tespit edildiği *PEX14* ve *CORT* genlerinin ısıya dirençle ilişkili olduğu belirtilmiştir (Singh vd. 2020). DAK ırkında seleksiyon izinin tespit edildiği *AP4B1*, *BCL2L15* ve *PHTF1* genlerinin sığırılarda kan kanserine dirençle (Brym vd. 2016; Sun vd. 2020), *DDX59* ve *CAMSAP2* genlerinin ise çok sayıda parazitik hastalığa dirençle ilişkili olduğu vurgulanmıştır (Twomey vd. 2019). Benzer şekilde BI ve GAK ırkında seleksiyon izlerinin belirlendiği *HEBP1* ve *ST32B* genlerinin sığır, koyun, deve ve geyiklerde *Mycobacterium avium* spp. *Paratuberculosis*'in neden olduğu Johne sendromu dahil olmak üzere çok sayıda mikobakteriyel enfeksiyona dirençle ilişkili olduğu bildirilmiştir (Pant vd. 2010; Wright vd. 2019). *P2RY12* geninde meydana gelen mutasyonların P2Y12 olarak adlandırılan otozomal resesif bir kanama hastalığına neden olduğu vurgulanmıştır (Cattaneo 2011). Yerli sığır ırklarında kanama hastalıklarıyla ilgili raporlanan herhangi bir çalışma olmadığı için bu genin YK sığır ırkında hastalığın aleyhine olacak şekilde sabitlendiği düşünölmektedir. Büyüme ve kas farklılaşmasında majör etkileri olan *GHR* ve *GDF11* genlerinde sırasıyla DAK ve ZAV ırkında seleksiyon baskısının tespit edilmesi literatürle uyumlu bulunmuştur. Gerçekten de TAGEM tarafından 2009 yılında yayınlanan rapora göre sadece bu iki ırkın erkek bireylerinde canlı ağırlık 600 kg'a yaklaşmaktadır (Anonim 1).

6. SONUÇLAR

Bu tez çalışmasında Türkiye’de yetiştirilen yerli ve bazı kültür sığır ırklarında genetik çeşitlilik ve seleksiyon izi ilk defa yüksek yoğunlukta SNP verilerle değerlendirilmiştir. Kültür ırklarıyla kıyaslandığında Türkiye yerli sığır ırklarının daha yüksek genetik çeşitliliğe sahip olduğu belirlenmiştir. Bu durum Türkiye’nin hörgüçsüz sığır evcilleştirme merkezine yakın olduğu için daha fazla atasal varyasyon içermesinden kaynaklanmaktadır.

Genetik çeşitliliğin yerli sığır ırklarında yüksek olması ve bu çeşitliliğin korunması ülkenin hayvansal üretim sektörü için çok önemlidir. Çünkü ülke nüfusuna paralel olarak artan hayvansal ürünlere talep, azalan mera ve otlaklar, su kıtlığı ve küresel iklim değişikliğinin etkileri ile değişen çevre koşulları altında karşılanmak zorundadır. Yerli sığır ırklarının sahip olduğu genetik çeşitlilik ve adaptif özellikler, sürdürülebilir hayvansal üretim ve seleksiyon uygulamaları açısından oldukça önemli olup mutlaka korunması gerekmektedir.

Araştırmada en yüksek genetik çeşitlilik YGS ırkında tespit edilmiştir. YK, DAK, GAK, BI ve ZAV sığır ırkına ait kan örnekleri küçük yetiştiricilere ait köy sürülerinden temin edilirken, YGS kan örnekleri koruma altına alınmış popülasyonlardan temin edilmiştir. YGS ırkında en yüksek genetik çeşitliliğin belirlenmesi koruma programlarının ne kadar önemli olduğunu bir kez daha göstermektedir. Mevcut koruma programlarının devam ettirilmesi ve moleküler yöntemler ile desteklenmesi ülke hayvancılığı için elzemdir. Özellikle yerli ırklar arasında en yüksek seleksiyon baskısının tespit edildiği DAK ırkında mevcut koruma programlarının tekrardan gözden geçirilmesi ve söz konusu genomik bölgelerin homozigotlaşmasına neden olan akrabalı yetiştirme, erkek birey sayısının az olması vb. olumsuz etkilerin ortadan kaldırılması gerekmektedir. Ayrıca bu tez çalışmasında yerli sığır ırklarında çeşitli verim ve adaptif özelliklerle ilişkili olduğu belirlenen gen bölgelerinin doğrulama çalışmaları yapılmalı, bu genler koruma ve ıslah çalışmalarına dahil edilmelidir.

Popülasyon yapısı analizlerinden elde edilen sonuçlar ırkların genetik kökeni ve yetiştirilme geçmişiyle uyumlu bulunmuştur. Türkiye’de uzun yıllardır yetiştirilen yerli sığır ırklarının Hollanda kökenli SA ve İsviçre kökenli İE sığır ırklarından belirgin bir şekilde farklı olduğu belirlenmiştir. Yerli ırklar arasında özellikle YK, BI, YGS ve GAK arasında genetik bir karışımın olduğu belirlenmiştir. Diğer yandan DAK ve ZAV ırkı yerli sığır ırklarından belirgin bir şekilde farklılaşmıştır. Türkiye’de en çok yetiştirilen ırk olan ve Orta Anadolu başta olmak üzere hemen hemen bütün bölgelerde yetiştirilen YK ırkından diğer ırklarla gen akışı olması doğaldır. ZAV ırkının çok dar bir bölgede yetiştirilmesi ve popülasyon büyüklüğün düşük olmasından dolayı diğer yerli sığır ırklarından farklılaştığı düşünülmektedir. Ayrıca bu tez kapsamında, DAK ve GAK ırkının sadece morfolojik olarak değil otozomal kromozomlar seviyesinde de birbirinden belirgin bir şekilde farklılaştığı tespit edilmiştir.

Sığır genomunun yaklaşık 22.000 gen içerdiği ve bunların en az bir özellikle ilişkili olduğu bilinmektedir. TGD analizlerinde neredeyse bütün genleri kapsayan genomik aralıklarda SNP verisi elde edilirken ddRADSeq ve GBS gibi yöntemlerde genomun bütün kromozomlarından TGD analizine göre daha az SNP elde edilmektedir.

Yine de Türkiye yerli sığır ırklarında seleksiyon baskısının çok önemli olmadığı ve kültür ırklarında daha yoğun bir seleksiyon baskısının bulunduğu tespit edilmiştir. Özellikle YK ve YGS ırkında sadece 6 protein kodlayan gen olmak üzere çok düşük seleksiyon izi tespit edilmiştir. YK ırkında düşük seleksiyon baskısının bulunmasının nedeni örnekleme yapılırken Balıkesir ve Antalya illerinden en az 6 farklı işletmeden kan örneklerinin temin edilmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Ayrıca YK ırkı, yerli sığır ırkları arasında en yüksek populasyon büyüklüğüne sahip olup daha fazla coğrafi yayılım göstermiştir. YGS ırkında seleksiyon baskısının düşük bulunmasının en temel nedeni ise örnekleminin korunan sürülerden temin edilmesidir. Bu sonuçlar ırkların coğrafi yayılımlarının, etkili populasyon büyüklerinin ve koruma programlarının ne kadar önemli olduğunu bir kez daha açığa çıkarmıştır. Bu çalışmadan elde edilen bulgular YGS ve YK ırkının diğer ülkelerde yetiştirilen lokal sığır ırklarında seleksiyon izlerinin belirlenmesinde kontrol grubu olarak kullanılabileceğini göstermiştir.

Gerçekleştirilen doktora tez çalışmasında Türkiye yerli sığır ırklarında genetik çeşitlilik ve seleksiyon izleri ilk defa yüksek yoğunlukta SNP verisi ile tespit edilmiştir. Yerli sığır ırklarında belirlenen genetik çeşitlilik ve adaptif varyantlar bu ırkların sürdürülebilirliği ve Türkiye hayvancılığı için umut vericidir. Yerli sığır ırklarında yapılan bu öncü çalışmanın daha fazla örnekle yapılacak benzer çalışmalarla desteklenmesi faydalı olacaktır. Yerli sığır ırklarında tüm genomdan elde edilen SNP'ler ile yapılacak genetik çeşitlilik ve seleksiyon çalışmalarının artırılması koruma ve ıslah çalışmalarının planlanmasına katkı sağlayacaktır. Ayrıca GBS, RADseq ve SNP çip gibi yöntemlerle elde edilen genomik verinin ekonomik önemi olan özellikler ile ilişkilendirildiği GWAS çalışmalarının yapılması da oldukça önemlidir. Yerli sığır ırklarında GWAS analizleri sonucu çeşitli fenotipik özelliklerle ilişkili aday genlerin belirlenmesi genomik seleksiyon çalışmalarının önünü açacaktır.

7. KAYNAKLAR

- Abbink, J. 2003. Love and death of cattle: the paradox in Suri attitudes toward livestock. *Journal of Anthropology Museum of Ethnography*, 68(3): 341-364.
- Abdelmanova, A.S., et al. 2021. Comparative study of the genetic diversity of local steppe cattle breeds from Russia, Kazakhstan and Kyrgyzstan by microsatellite analysis of museum and modern samples. *Diversity*, 13(8): 351.
- Achaz, G. 2009. Frequency spectrum neutrality tests: one for all and all for one. *Genetics*, 183(1): 249-258.
- Alexander, D.H. and Novembre, J., Lange, K. 2009. Fast model-based estimation of ancestry in unrelated individuals. *Genome Research*, 19(9): 1655-1664.
- Anonim 1: Türkiye evcil hayvan genetik kaynakları tanıtım kataloğu. <https://www.tarimorman.gov.tr/TAGEM/Belgeler/yayin/Katalog%20Türkçe.pdf> [Son erişim tarihi: 02.03.2023].
- Anonim 2: Tür ve ırklara göre hayvan sayısı. <https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=Hayvansal-Uretim-Istatistikleri-2022-49682> [Son erişim tarihi: 02.03.2023].
- Anonymous 1: The State of the World's Biodiversity for Food and Agriculture. <https://www.fao.org/3/CA3129EN/CA3129EN.pdf> [Son erişim tarihi: 02.03.2023].
- Anonymous 2: Molecular genetic characterization of animal genetic resources. <https://www.fao.org/publications/card/es/c/20b9d938-0b39-544c-9253-a855b5762ddc/> [Son erişim tarihi: 02.03.2023].
- Baker C.M.A. and Manwell, C. 2009. Chemical classification of cattle. 1. Breed groups. *Animal Genetics*, 11(2):127–150.
- Belkhir, K., Borsa, P., Chikhi, L., Raufaste, N., Bonhomme, F. 2004. GENETIX 4.05, logiciel sous Windows pour la génétique des populations. Université de Montpellier II, Montpellier, France.
- Bhati, M., Kadri, N.K., Crysnanto, D., Pausch, H. 2020. Assessing genomic diversity and signatures of selection in Original Braunvieh cattle using whole-genome sequencing data. *BMC Genomics*, 21(1): 1-14.
- Bhuiyan, M.S.A., Lee, S.H., Hossain, S.M.J., Deb, G.K., Afroz, M.F., Lee, S.H., Bhuiyan, A.K.F.H. 2021. Unraveling the genetic diversity and population structure of Bangladeshi indigenous cattle populations using 50K SNP markers. *Animals*, 11(8): 2381.
- Bilginer, U., Ergin, M., Demir, E., Yolcu, H.İ., Argun Karsli, B. 2022. Detection of genetic diversity in cattle by microsatellite and SNP markers-a review. *Animal Science Papers and Reports*, 40(4): 375-392.
- Biscarini, F., Cozzi, P., Gaspa, G., Marras, G. 2018. detectRUNS: Detect runs of homozygosity and runs of heterozygosity in diploid genomes. <https://cran.r-project.org/web/packages/detectRUNS/vignettes/detectRUNS.vignette.html> [Son erişim tarihi: 02.03.2023].

- Boğa Kuru, B., Kırmızıbayrak, T., Özşensoy, Y. 2022. Zavot cattle genetic characterization using microsatellites. *Tropical Animal Health and Production*, 54(6): 363.
- Braz, C.U., Rowan, T.N., Schnabel, R.D., Decker, J.E. 2021. Genome-wide association analyses identify genotype-by-environment interactions of growth traits in Simmental cattle. *Scientific Reports*, 11(1): 13335.
- Brito, L.F., Bédère, N., Douhard, F., Oliveira, H.R., Arnal, M., Peñagaricano, F., Schinckel, A.P., Baes, C.F., Miglior, F. 2021. Genetic selection of high-yielding dairy cattle toward sustainable farming systems in a rapidly changing world. *Animal*, 15(1): 100292.
- Bruford, M.W. ve Wayne, R.K. 1993. Microsatellites and their application to population genetic studies. *Current Opinion in Genetics and Development*, 3(6): 939-943.
- Brym, P., Bojarojć-Nosowicz, B., Oleński, K., Hering, D.M., Ruś, A., Kaczmarczyk, E., Kamiński, S. 2016. Genome-wide association study for host response to bovine leukemia virus in Holstein cows. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 175: 24-35.
- Caroli, A.M., Chessa, S., Erhardt, G.J. 2009. Invited review: Milk protein polymorphisms in cattle: Effect on animal breeding and human nutrition. *Journal of Dairy Science*, 92(11): 5335-5352.
- Cattaneo, M. 2011. The platelet P2Y₁₂ receptor for adenosin diphosphate: congenital and drug-induced defects. *Blood*, 117(7): 2102–2112.
- Ceballos, F.C., Joshi, P.K., Clark, D.W., Ramsay, M., Wilson, J.F. 2018. Runs of homozygosity: windows into population history and trait architecture. *Nature Reviews Genetics*, 19(4): 220-234.
- Cesarani, A., Sorbolini, S., Criscione, A., Bordonaro, S., Pulina, G., Battacone, G., Marletta, D., Gaspa, G., Macciotta, N.P.P. 2018. Genome-wide variability and selection signatures in Italian island cattle breeds. *Animal Genetics*, 49(5): 371-383.
- Cesarani, A., Sechi, T., Gaspa, G., Usai, M.G., Sorbolini, S., Macciotta, N.P.P., Carta, A. 2019. Investigation of genetic diversity and selection signatures between Sarda and Sardinian Ancestral black, two related sheep breeds with evident morphological differences. *Small Ruminant Research*, 177: 68-75.
- Chang, C.C., Chow, C.C., Tellier, L.C., Vattikuti, S., Purcell, S.M., Lee, J.J. 2015. Second-generation PLINK: rising to the challenge of larger and richer datasets. *Gigascience*, 4(1): 1-16.
- Charlesworth, B., Charlesworth, D., Barton, N.H. 2003. The effects of genetic and geographic structure on neutral variation. *Annual Review Ecology, Evolution and Systematics*, 34(1):99-125.
- Charlesworth, B., Morgan, M.T., Charlesworth, D. 1993. The effect of deleterious mutations on neutral molecular variation. *Genetics*, 134(4):1289-1303.
- Chen, S., Zhou, Y., Chen, Y., Gu, J. 2018. fastp: an ultra-fast all-in-one FASTQ preprocessor. *Bioinformatics*, 34(17): 884-890.

- Chen, Y., Li, R., Sun, J., Li, C., Xiao, H., Chen, S. 2022. Genome-wide population structure and selection signatures of Yunling goat based on RAD-seq. *Animals*, 12(18): 2401.
- Cheruiyot, E.K., Bett, R.C., Amimo, J.O., Zhang, Y., Mrode, R., Mujibi, F.D. 2018. Signatures of selection in admixed dairy cattle in Tanzania. *Frontiers in Genetics*, 9: 607.
- Cumer, T., Pouchon, C., Boyer, F., Yannic, G., Rioux, D., Bonin, A., Capblancq, T. 2021. Double-digest RAD-sequencing: do pre-and post-sequencing protocol parameters impact biological results?. *Molecular Genetics and Genomics*, 296(2): 457-471.
- Çatıkkaş, E. 2016. Aydın'da yetiştirilen Siyah-Alaca, Esmer ve Simmental ırkı sığırlarda karkas ve et kalite özellikleri üzerine bir araştırma. Yüksek lisans tezi, Adnan Menderes Üniversitesi, Aydın, 96 s.
- Danecek, P., et al. 2021. Twelve years of SAMtools and BCFtools. *Gigascience*, 10(2): giab008.
- Dawood, M., Kramer, L.M., Shabbir, M.I., Reecy, J.M. 2021. Genome-wide association Study for fatty acid composition in American Angus cattle. *Animals*, 11(8): 2424.
- De Jong, M.J., De Jong, J.F., Hoelzel, A.R., Janke, A. 2021. SambaR: An R package for fast, easy and reproducible population-genetic analyses of biallelic SNP data sets. *Molecular Ecology Resources*, 21(4): 1369-1379.
- Demir, E. and Balcıoğlu, M.S. 2019. Genetic diversity and population structure of four cattle breeds raised in Turkey using microsatellite markers. *Czech Journal of Animal Science*, 64(10): 411-419.
- Demir, E., Karsli, T., Balcıoğlu, M.S. 2021a. A comprehensive review on genetic diversity and phylogenetic relationships among native Turkish cattle breeds based on microsatellite markers. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 45(1): 1-10.
- Demir, E., Bilginer, U., Balcıoğlu, M.S., Karsli, T. 2021b. Direct and indirect contributions of molecular genetics to farm animal welfare: a review. *Animal Health Research Reviews*, 22(2): 177-186.
- Demir, E., Moravčíková, N., Karsli, T., Kasarda, R. 2022. Future perspective of NGS data for evaluation of population genetic structure in Turkish cattle. *Acta Fytotechnica et Zootechnica*, 25(2): 1336-9245.
- Demir, E., Moravčíková, N., Argun Karsli, B., Kasarda, R., Aytekin, I., Bilginer, U., Karsli, T. 2023. Mitochondrial DNA diversity of D-loop region in three native Turkish cattle breeds. *Archives Animal Breeding*, 66(1): 31-40.
- Devadasan, M.J., Kumar, D.R., Vineeth, M.R., Choudhary, A., Surya, T., Niranjana, S. K., Verma, A., Sivalingam, J. 2020. Reduced representation approach for identification of genome-wide SNPs and their annotation for economically important traits in Indian Tharparkar cattle. *3 Biotech*, 10: 1-6.
- Di Lorenzo, P., et al. 2018. Mitochondrial DNA variants of Podolian cattle breeds

- testify for a dual maternal origin. *PloS One*, 13(2): e0192567.
- Dossybayev, K., Orazymbetova, Z., Mussayeva, A., Saitou, N., Zhabbasov, R., Makhatov, B., Bekmanov, B. 2019. Genetic diversity of different breeds of Kazakh sheep using microsatellite analysis. *Archives Animal Breeding*, 62(1): 305-312.
- Driscoll, C.A., Macdonald, D.W., O'Brien, S.J. 2009. From wild animals to domestic pets, an evolutionary view of domestication. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(1): 9971-9978.
- Duchene, J. and Leclercq, S. 1988. An optimal transformation for discriminant and principal component analysis. *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence*, 10(6): 978-983.
- Edwards, C.J., Baird, J.F., MacHugh, D.E. 2007. Taurine and zebu admixture in Near Eastern cattle: a comparison of mitochondrial, autosomal and Y-chromosomal data. *Animal Genetics*, 38(5): 520-524.
- Elsik, C.G. vd. 2009. The genome sequence of taurine cattle: a window to ruminant biology and evolution. *Science*, 324(5926): 522-528.
- Eusebi, P.G., Cortés, O., Carleos, C., Dunner, S., Cañon, J. 2018. Detection of selection signatures for agonistic behaviour in cattle. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 135(3): 170-177.
- Fabbri, M.C., Dadousis, C., Tiezzi, F., Maltecca, C., Lozada-Soto, E., Biffani, S., Bozzi, R. 2021. Genetic diversity and population history of eight Italian beef cattle breeds using measures of autozygosity. *PloS One*, 16(10): e0248087.
- Fernández, M.E., Goszczynski, D.E., Lirón, J.P., Villegas-Castagnasso, E.E., Carino, M.H., Ripoli, M.V., Rogberg-Muñoz, A., Posik, D.M., Peral-Garcia, P., Giovambattista, G. 2013. Comparison of the effectiveness of microsatellites and SNP panels for genetic identification, traceability and assessment of parentage in an inbred Angus herd. *Genetics and Molecular Biology*, 36(2): 185-191.
- Fischer, M.C., Rellstab, C., Leuzinger, M., Roumet, M., Gugerli, F., Shimizu, K.K., Holderegger, R., Widmer, A. 2017. Estimating genomic diversity and population differentiation—an empirical comparison of microsatellite and SNP variation in *Arabidopsis halleri*. *BMC Genomics*, 18(1): 1-15.
- Flanagan, S.P. and Jones, A.G. 2019. The future of parentage analysis: From microsatellites to SNPs and beyond. *Molecular Ecology*, 28(3): 544-567.
- Frankham, R., Ballou, S.E.J.D., Briscoe, D.A., Ballou, J.D. 2002. Introduction to conservation genetics. Cambridge university press, İngiltere, 607 s.
- Freitas, P.H., Wang, Y., Yan, P., Oliveira, H.R., Schenkel, F.S., Zhang, Y., Xu, Q., Brito, L.F. 2021. Genetic diversity and signatures of selection for thermal stress in cattle and other two *Bos* species adapted to divergent climatic conditions. *Frontiers in Genetics*, 12: 604823.
- Genç, S. ve Soysal, M.İ. 2018. Türkiye’de Siyah Alaca sığır populasyonlarında süt ve döl verimi. *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 15(1): 76-85.
- Georges, M., Charlier, C., Hayes, B. 2019. Harnessing genomic information for

- livestock improvement. *Nature Reviews Genetics*, 20(3): 135-156.
- Ghosh, M., Sharma, N., Singh, A.K., Gera, M., Pulicherla, K.K., Jeong, D.K. 2018. Transformation of animal genomics by next-generation sequencing technologies: a decade of challenges and their impact on genetic architecture. *Critical Reviews in Biotechnology*, 38(8): 1157-1175.
- Goldman, N. and Yang, Z. 1994. A codon-based model of nucleotide substitution for protein-coding DNA sequences. *Molecular Biology and Evolution*, 11(5): 725-736.
- Goudet, J. 1995. FSTAT (version 1.2): a computer program to calculate F-statistics. *Journal of Heredity*, 86(6): 485-486.
- Gouveia, J.J.D.S., Silva, M.V.G.B.D., Paiva, S.R., Oliveira, S.M.P.D. 2014. Identification of selection signatures in livestock species. *Genetics and Molecular Biology*, 37(2): 330-342.
- Groeneveld, L.F., et al. 2010. Genetic diversity in farm animals—a review. *Animal Genetics*, 41(1): 6-31.
- Habimana, R., Okeno, T.O., Ngeno, K., Mboumba, S., Assami, P., Gbotto, A.A., Kaembou, C.T., Nishimwe, K., Mahoro, J., Yao, N. 2020. Genetic diversity and population structure of indigenous chicken in Rwanda using microsatellite markers. *PloS One*, 15(4): e0225084.
- Hamming, R.W. 1950. Error detecting and error correcting codes. *The Bell System Technical Journal*, 29(2): 147-160.
- Hou, Y., et al. 2012. Fine mapping of copy number variations on two cattle genome assemblies using high density SNP array. *BMC Genomics*, 13(1), 1-10.
- Iso-Touru, T., Tapio, M., Vilkki, J., Kiseleva, T., Ammosov, I., Ivanova, Z., Popov, R., Ozerov, M., Kantanen, J. 2016. Genetic diversity and genomic signatures of selection among cattle breeds from Siberia, eastern and northern Europe. *Animal Genetics*, 47(6): 647-657.
- Jennings, L.J., Arcila, M.E., Corless, C., Kamel-Reid, S., Lubin, I.M., Pfeifer, J., Temple-Smolkin, R.L., Voelkerding, K.V., Nikiforova, M. N. 2017. Guidelines for validation of next-generation sequencing-based oncology panels: a joint consensus recommendation of the Association for Molecular Pathology and College of American Pathologists. *The Journal of Molecular Diagnostics*, 19(3): 341-365.
- Jombart, T. 2008. adegenet: a R package for the multivariate analysis of genetic markers. *Bioinformatics*, 24(11): 1403-1405.
- Kaplan, N.L., Hudson, R.R., Langley, C.H. 1989. The “Hitchhiking Effect” revisited. *Genetics*, 123(4):887-899.
- Karayel, F. and Karşlı, T. 2022. Genotypic structure of four cattle breeds raised in Turkey by loci related to several diseases. *Mediterranean Agricultural Sciences*, 35(1): 39-45.
- Karimi, K., Strucken, E.M., Moghaddar, N., Ferdosi, M.H., Esmailizadeh, A., Gondro, C. 2016. Local and global patterns of admixture and population structure in

- Iranian native cattle. *BMC Genetics*, 17(1): 1-14.
- Karsli, T., Demir, E., Fidan, H.G., Aslan, M., Karsli, B.A., Arik, I.Z., Sahin Semerci, E., Karabag, K., Balcioglu, M.S. 2020. Determination of genetic variability, population structure and genetic differentiation of indigenous Turkish goat breeds based on SSR loci. *Small Ruminant Research*, 190: 106147.
- Kasarda, R., et al. 2020. Fine-scale analysis of six beef cattle breeds revealed patterns of their genomic diversity. *Italian Journal of Animal Science*, 19(1): 1552-1567.
- Kasarda, R., Moravčíková, N., Olšanská, B., Mészáros, G., Vostrý, L., Vostrá-Vydrová, H., Lehocká, K., Prišťák, J., Candrák, J. 2021. The evaluation of genomic diversity and selection signals in the autochthonous Slovak Spotted cattle. *Czech Journal of Animal Science*, 66(7): 251-261.
- Kaya, M. 2019. Laktasyondaki holştayn ineklerde canlı ağırlık ve beden kondisyon skorunun sayısal görüntü analizi yöntemi ile belirlenebilirliği, Doktora tezi, Adnan Menderes Üniversitesi, Aydın, 109 s.
- Kim, S., Cheong, H.S., Shin, H.D., Lee, S.S., Roh, H.J., Jeon, D.Y., Cho, C.Y. 2018. Genetic diversity and divergence among Korean cattle breeds assessed using a BovineHD single-nucleotide polymorphism chip. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 31(11): 1691-1699.
- King, F.J., Banga, C.B., Visser, C. 2021. Genetic diversity and population structure of three native cattle populations in Mozambique. *Tropical Animal Health and Production*, 53: 117.
- Köks, S., Lilleoja, R., Reimann, E., Salumets, A., Reemann, P., Jaakma, Ü. 2013. Sequencing and annotated analysis of the Holstein cow genome. *Mammalian Genome*, 24: 309-321
- Kreitman, M. 2000. Methods to detect selection in populations with applications to the human. *Annual Review of Genomics and Human Genetics*, 1(1): 539-559.
- Kumar, C., Song, S., Dewani, P., Kumar, M., Parkash, O., Ma, Y., Malhi, K.K., Yang, N., Mwacharo, J.M., He, X. Jiang, L. 2018. Population structure, genetic diversity and selection signatures within seven indigenous Pakistani goat populations. *Animal Genetics*, 49(6): 592-604.
- Kyselová, J., et al. 2022. Investigation of genetic diversity and selection signatures in Czech cattle genetic resources revealed by genome-wide analysis. *Livestock Science*, 256: 104825.
- Laoun, A., et al. 2020. Inference of breed structure in farm animals: Empirical comparison between SNP and microsatellite performance. *Genes*, 11(1): 57.
- Larson, G. and Burger, J. 2013. A population genetics view of animal domestication. *Trends in Genetics*, 29(4): 197-205.
- Lencz, T., Lambert, C., DeRosse, P., Burdick, K.E., Morgan, T.V., Kane, J.M., Kucherlapati, R., Malhotra, A.K. 2007. Runs of homozygosity reveal highly penetrant recessive loci in schizophrenia. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(50): 19942-19947.
- Li, D., et al. 2019. Population genomics identifies patterns of genetic diversity and

- selection in chicken. *BMC Genomics*, 20(1): 1-12.
- Liu, S., Ye, T., Li, Z., Li, J., Jamil, A.M., Zhou, Y., Hua, G., Liang, A., Deng, T., Yang, L. 2019. Identifying hub genes for heat tolerance in water buffalo (*Bubalus bubalis*) using transcriptome data. *Frontiers in Genetics*, 10: 209.
- Li, H. and Durbin, R. 2009. Fast and accurate short read alignment with Burrows–Wheeler transform. *Bioinformatics*, 25(14): 1754-1760.
- Ma, J., et al. 2021. Assessing the Genetic Background and Selection Signatures of Huaxi Cattle Using High-Density SNP Array. *Animals*, 11(12): 3469.
- Makina, S.O., Muchadeyi, F.C., van Marle-Köster, E., Taylor, J.F., Makgahlela, M.L., Maiwashe, A. 2015. Genome-wide scan for selection signatures in six cattle breeds in South Africa, *Genetics Selection Evolution*, 47(1): 1-14.
- Mancini, G., Gargani, M., Chillemi, G., Nicolazzi, E.L., Marsan, P.A., Valentini, A., Pariset, L. 2014. Signatures of selection in five Italian cattle breeds detected by a 54K SNP panel. *Molecular Biology Reports*, 41(2): 957-965.
- Mastrangelo, S., Ben Jemaa, S., Ciani, E., Sottile, G., Moscarelli, A., Boussaha, M., Montedoro, M., Pilla, F., 2020. Genome-wide detection of signatures of selection in three Valdostana cattle populations, *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 137(6): 609-621.
- Meyermans, R., Gorssen, W., Buys, N., Janssens, S. 2020. How to study runs of homozygosity using PLINK? A guide for analyzing medium density SNP data in livestock and pet species. *BMC Genomics*, 21(1): 1-14.
- Meyermans, R., Gorssen, W., Buys, N., Janssens, S. 2021. Genomics Confirm an Alarming Status of the Genetic Diversity of Belgian Red and Belgian White Red Cattle. *Animals*, 11(12): 3574.
- Moravčíková, N., Kukučková, V., Mészáros, G., Sölkner, J., Kadlečík, O., Kasarda, R. 2017. Assessing footprints of natural selection through PCA analysis in cattle. *Acta Fytotechnica et Zootechnica*, 20(2): 23-27.
- Moravčíková, N., et al. 2019a. Analysis of selection signatures in the beef cattle genome. *Czech Journal of Animal Science*, 64(12): 491-503.
- Moravčíková, N., Trakovická, A., Kadlečík, O., Kasarda, R. 2019b. Genomic signatures of selection in cattle through variation of allele frequencies and linkage disequilibrium. *Journal of Central European Agriculture*, 20(2): 576-580.
- Nei, M. 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 70(12): 3321-3323.
- Nicolazzi, E.L., Biffani, S., Biscarini, F., Orozco ter Wengel, P., Caprera, A., Nazzicari, N., Stella, A. 2015. Software solutions for the livestock genomics SNP array revolution. *Animal Genetics*, 46(4): 343-353.
- Nielsen, R. 2005. Molecular signatures of natural selection. *Annual Review of Genetics*, 39(1): 197-218.
- Ocampo, R.J., Martínez, J. F., Martínez, R. 2021. Assessment of genetic diversity and

- population structure of Colombian Creole cattle using microsatellites. *Tropical Animal Health and Production*, 53(1): 1-8.
- Oleksyk, T.K., Smith, M.W., O'Brien, S.J. 2010. Genome-wide scans for footprints of natural selection. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 365(1537): 185-205.
- Olšanská, B., Kasarda, R., Lehocká, K. Moravčíková, N. 2020. Genome-wide characterisation of regions under intense selection based on runs of homozygosity in Charolais cattle. *Acta Fytotechnica et Zootechnica*, 23(5): 350-355.
- Olschewsky, A. and Hinrichs, D. 2021. An overview of the use of genotyping techniques for assessing genetic diversity in local farm animal breeds. *Animals*, 11(7): 2016.
- Öner, Y., Yılmaz, O., Eriş, C., Ata, N., Ünal, C., Koncagül, S. 2019. Genetic diversity and population structure of Turkish native cattle breeds. *South African Journal of Animal Science*, 49(4): 628-635.
- Özşensoy Y, Kurar E, Doğan M, Bulut Z, Altunok V, Işık, A., Çamlıdağ A, Nizamlıoğlu, M. 2010. Türkiye’de bulunan bazı yerli sığır ırklarının STR markörler ile genetic karakterizasyonu. *Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi*, 3(1): 163-171.
- Özşensoy, Y., Kurar, E., Doğan, M., Bulut, Z., Nizamlıoğlu, M., Işık, A., Çamlıdağ, A., Altunok, V. 2019. Phylogenetic relationships of native Turkish cattle breeds using microsatellite markers. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 43(1): 23-29.
- Padhi, A., Ma, L. 2015. A testis-specific gene within a widely expressed gene: Contrasting evolutionary patterns of two differentially expressed mammalian proteins encoded by a single gene, CAMK 4. *Animal Genetics*, 46(6): 683-692.
- Pant, S.D., Schenkel, F.S., Verschoor, C.P., You, Q., Kelton, D.F., Moore, S.S., Karrow, N.A. 2010. A principal component regression-based genome-wide analysis approach reveals the presence of a novel QTL on BTA7 for MAP resistance in Holstein cattle. *Genomics*, 95(3): 176-182.
- Park, B.K., Kim, Y.S., Seong, J., Kong, H.S. 2019. Analysis of genetic diversity and relationships of Korean native black goat using microsatellite markers. *Journal of Animal Reproduction and Biotechnology*, 34(3): 183-189.
- Pastorekova, S., Parkkila, S., Pastorek, J. Supuran, C.T. 2004. Carbonic anhydrases: Current state of the art, therapeutic applications and future prospects. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 19: 199–229.
- Peripolli, E., Munari, D.P., Silva, M.V.G.B., Lima, A.L.F., Irgang, R., Baldi, F. 2017. Runs of homozygosity: current knowledge and applications in livestock. *Animal*

- Genetics*, 48(3): 255-271.
- Peterson, B.K., Weber, J.N., Kay, E.H., Fisher, H.S., Hoekstra, H.E. 2012. Double digest RADseq: an inexpensive method for de novo SNP discovery and genotyping in model and non-model species. *PloS One*, 7(5): e37135.
- Pritchard, J.K., Stephens, M., Donnelly, P. 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155(2): 945-959.
- R Core Team 2021. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, <https://www.R-project.org/> [Son erişim tarihi: 02.03.2023].
- Rahal, O., Aissaoui, C., Ata, N., Yilmaz, O., Cemal, I., Ameer Ameer, A., Gaouar, S. B.S. 2021. Genetic characterization of four Algerian cattle breeds using microsatellite markers. *Animal Biotechnology*, 32(6): 699-707.
- Rahman, M.M., Hoque, M.A., Saha, N.G., Faruque, M.O. 2013. Studies on management system and identification of the causes of genetic erosion of indigenous cattle in Mymensingh district. *Bangladesh Journal of Animal Science*, 42(1): 23-28.
- Rajawat, D., Panigrahi, M., Kumar, H., Nayak, S.S., Parida, S., Bhushan, B., Gaur, G.K., Dutt, T., Mishra, B.P. 2022. Identification of important genomic footprints using eight different selection signature statistics in domestic cattle breeds. *Gene*, 816: 146165.
- Raschia, M.A., Nani, J.P., Maizon, D.O., Beribe, M.J., Amadio, A.F., Poli, M.A. 2018. Single nucleotide polymorphisms in candidate genes associated with milk yield in Argentinean Holstein and Holstein x Jersey cows. *Journal of Animal Science and Technology*, 60(1): 1-10.
- Rebelato, A.B. and Caetano, A.R. 2018. Runs of homozygosity for autozygosity estimation and genomic analysis in production animals. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 53: 975-984.
- Rochette, N.C., Rivera-Colón, A.G., Catchen, J.M. 2019. Stacks 2: Analytical methods for paired-end sequencing improve RADseq-based population genomics. *Molecular Ecology*, 28(21): 4737-4754.
- Rodriguez-Valera, Y., Renand, G., Naves, M., Fonseca-Jiménez, Y., Moreno-Probança, T. I., Ramos-Onsins, S., Rocha, D., Ramayo-Caldas, Y. 2018. Genetic diversity and selection signatures of the beef 'Charolais de Cuba' breed. *Scientific reports*, 8(1): 1-9.
- Rosse, I.C., et al. 2017. Whole genome sequencing of Guzerá cattle reveals genetic variants in candidate genes for production, disease resistance, and heat tolerance. *Mammalian Genome*, 28(1): 66-80.

- Saravanan, K.A., Panigrahi, M., Kumar, H., Bhushan, B., Dutt, T., Mishra, B.P. 2020. Selection signatures in livestock genome: A review of concepts, approaches and applications. *Livestock Science*, 241: 104257.
- Saravanan, K.A., Panigrahi, M., Kumar, H., Parida, S., Bhushan, B., Gaur, G.K., Dutt, T., Mishra, B.P., Singh, R.K. 2021. Genomic scans for selection signatures revealed candidate genes for adaptation and production traits in a variety of cattle breeds. *Genomics*, 113(3): 955-963.
- Saravanan, K.A., Panigrahi, M., Kumar, H., Bhushan, B. 2022. Advanced software programs for the analysis of genetic diversity in livestock genomics: a mini review. *Biological Rhythm Research*, 53(3): 358-368.
- Schopen, G.C.B., Bovenhuis, H., Visker, M.H.P.W., Van Arendonk, J.A.M. 2008. Comparison of information content for microsatellites and SNPs in poultry and cattle. *Animal Genetics*, 39(4): 451-453.
- Senczuk, G., et al. 2020. The genetic heritage of Alpine local cattle breeds using genomic SNP data. *Genetics Selection Evolution*, 52(1): 1-12.
- Shen, J., Hanif, Q., Cao, Y., Yu, Y., Lei, C., Zhang, G., Zhao, Y. 2020. Whole genome scan and selection signatures for climate adaption in Yanbian cattle. *Frontiers in Genetics*, 11: 94.
- Senczuk, G., et al. 2021. On the origin and diversification of Podolian cattle breeds: testing scenarios of European colonization using genome-wide SNP data. *Genetics Selection Evolution*, 53(1): 1-16.
- Simon, S.E., Radhika, G., Aravindakshan, T.V., Thomas, M., Raji, K. 2019. Double digest restriction associated DNA sequencing for identification of single nucleotide polymorphisms in goats. *Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 50(2): 108-113.
- Singh, A.K., Upadhyay, R.C., Chandra, G., Kumar, S., Malakar, D., Singh, S.V., Singh, M.K. 2020. Genome wide Expression Analysis of the Heat Stress Response in Dermal Fibroblasts of Tharparkar (Zebu) and Karan-Fries (Zebu × Taurine) Cattle. *Cell Stress Chaperones*, 25: 327–344.
- Srivastava, A.K., Patel, J.B., Ankuya, K.J., Chauhan, H.D., Pawar, M.M., Gupta, J.P. 2019. Conservation of indigenous cattle breeds. *Journal of Animal Research*, 9(1): 1-12.
- Sun, T., et al. 2020. Genomic analyses reveal distinct genetic architectures and selective pressures in buffaloes. *GigaScience*, 9: giz166.
- Twomey, A.J., Berry, D.P., Evans, R.D., Doherty, M.L., Graham, D.A., Purfield, D.C. 2019. Genome-wide association study of endo-parasite phenotypes using imputed whole-genome sequence data in dairy and beef cattle. *Genetics Selection Evolution*, 51: 15.

- Tyagi, S.K., Mehrotra, A., Singh, A., Kumar, A., Dutt, T., Mishra, B. P., Pandey, A.K. 2021. Comparative signatures of selection analyses identify loci under positive selection in the Murrah Buffalo of India. *Frontiers in Genetics*, 12: 673697.
- Vignal, A., Milan, D., SanCristobal, M., Eggen, A. 2002. A review on SNP and other types of molecular markers and their use in animal genetics. *Genetics Selection Evolution*, 34(3): 275-305.
- Vineeth, M.R., Surya, T., Sivalingam, J., Kumar, A., Niranjana, S.K., Dixit, S.P., Singh, K., Tania, M.S., Gupta, I.D. 2020. Genome-wide discovery of SNPs in candidate genes related to production and fertility traits in Sahiwal cattle. *Tropical Animal Health and Production*, 52: 1707-1715.
- Wang, W., Gan, J., Fang, D., Tang, H., Wang, H., Yi, J., Fu, M. 2018. Genome-wide SNP discovery and evaluation of genetic diversity among six Chinese indigenous cattle breeds in Sichuan. *PLoS One*, 13(8): e0201534.
- Weigand, H. and Leese, F. 2018. Detecting signatures of positive selection in non-model species using genomic data. *Zoological Journal of Linnean Society*, 184(2): 528-58
- Weir, B.S. and Cockerham, C.C. 1984. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution*, 38(6): 1358-1370.
- Wright, S. 1965. The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating. *Evolution*, 19(3): 395-420.
- Wright, K., Plain, K., Purdie, A., Saunders, B.M., de Silva, K. 2019. Biomarkers for detecting resilience against mycobacterial disease in animals. *Infection and Immunity*, 88(1): e00401-19.
- Yeh, F.C., Yang, R.C., Boyle, T.B.J., Ye, Z.H., Mao, J.X. 1997. The user-friendly shareware for population genetic analysis. https://sites.ualberta.ca/~fyeh/popgene_info.html [Son erişim tarihi: 15.06.2023].
- Yurchenko, A.A., Daetwyler, H.D., Yudin, N., Schnabel, R.D., Vander Jagt, C.J., Soloshenko, V., Lhasaranov, B., Popov, R., Taylor, J.F., Larkin, D.M. 2018. Scans for signatures of selection in Russian cattle breed genomes reveal new candidate genes for environmental adaptation and acclimation. *Scientific Reports*, 8(1): 1-16.
- Zhao, F., McParland, S., Kearney, F., Du, L., Berry, D.P. 2015. Detection of selection signatures in dairy and beef cattle using high-density genomic information. *Genetics Selection Evolution*, 47(1): 1-12.
- Zwane, A.A., Maiwashe, A., Makgahlela, M.L., Choudhury, A., Taylor, J.F., van Marle-Köster, E. 2016. Genome-wide identification of breed-informative single-nucleotide polymorphisms in three South African indigenous cattle

breeds. *South African Journal of Animal Science*, 46(3): 302-312.



8. EKLER



ÖZGEÇMİŞ

EYMEN DEMİR

ÖĞRENİM BİLGİLERİ

Doktora 2018-2023	Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Zootečni Anabilim Dalı, Antalya
Yüksek Lisans 2015-2018	Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Zootečni Anabilim Dalı, Antalya
Lisans 2011-2015	Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Zootečni Bölümü, Antalya

MESLEKİ VE İDARİ GÖREVLER

Araştırma Görevlisi 2017-Devam ediyor	Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootečni Bölümü Biyometri ve Genetik Anabilim Dalı, Antalya
--	---

ESERLER

Uluslararası hakemli dergilerde yayımlanan makaleler

1- **Demir E.**, Moravčíková N., Argun Karslı B., Kasarda R., Aytekin I., Bilginer U., Karslı T. (2023). Mitochondrial DNA diversity of D-loop region in three native Turkish cattle breeds. Archives Animal Breeding, 66(1), 31-40. Doi: 10.5194/aab-66-31-2023.

- 2- Aslan M., **Demir E.**, Karsli T. (2022). Microsatellite diversity ve restriction enzyme-based polymorphisms of MHC loci in native Turkish goats. *Journal of Agricultural Sciences*, 28 (4), 626-634. Doi: 10.15832/ankutbd.924222.
- 3- **Demir E.**, Moravčíková N., Karsli T., Kasarda, R. (2022). Future perspective of NGS data for evaluation of population genetic structure in Turkish cattle. *Acta fytotechnica et zootechnica*. 25(2), 117-121. Doi: 10.15414/afz.2022.25.02.117-121.
- 4- **Demir E.**, Ceccobelli S., Bilginer U., Pasquini M., Attard G., Karsli T. (2022). Conservation ve Selection of Genes Related to Environmental Adaptation in Native Small Ruminant Breeds: A Review. *Ruminants*, 2(2), 255-270. Doi: 10.3390/ruminants2020017.
- 5- **Demir E.**, Bilginer U., Balcioglu M.S., Karsli, T. (2021). Direct ve indirect contributions of molecular genetics to farm animal welfare: a review. *Animal Health Research Reviews*, 22(2), 1-10. Doi: 10.1017/S1466252321000104.
- 6- **Demir E.**, Karsli T., Balcioglu M.S. (2021). A comprehensive review on genetic diversity ve phylogenetic relationships among native Turkish cattle breeds based on microsatellite markers. *Turkish Journal of Veterinary ve Animal Sciences*, 45(1), 1-10. Doi: 10.3906/vet-2006-107.
- 7- Ceccobelli S., Lasagna E., **Demir E.**, Rovelli G., Albertini E., Veronesi F., Sarti F.M. Rosellini D. (2020). Molecular identification of the “Facciuta Della Valnerina” local goat population reared in the Umbria Region, Italy. *Animals*, 10(4), 601. Doi: 10.3390/ani10040601.
- 8- **Demir E.**, Argun Karşlı B., Karşlı T., Balcioglu M.S. (2020). Determination of SacII ve MboII polymorphisms in the Nerve Growth Factor (NGF) gene in four native Turkish goat populations. *Mediterranean Agricultural Sciences*, 33(1), 145-148. Doi: 10.29136/mediterranean.633476.
- 9- **Demir E.**, Karsli T., Fidan H.G., Karsli B.A., Aslan M., Aktan S., Kamanlı S., Karabağ K., Şahin Semerci E., Balcioglu M.S. (2020). Polymorphisms in some cveidate genes associated with egg yield ve quality in five different white layer pure lines. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 26(6), 735-741. Doi: 10.9775/kvfd.2020.24242.
- 10- Karşlı T., **Demir E.**, Argun Karşlı B., Fidan H.G., Balcioglu M. (2020). Comparing Autosomal SSR ve PCR-RFLP Markers to Determine Phylogenetic Relationship Based on Genetic Distances in Livestock. *Hayvansal Üretim*, 61(2), 135-141. Doi: 10.29185/hayuretim.709504.
- 11- Karşlı T., **Demir E.**, Fidan H.G., Argun Karşlı B., Aslan M., Aktan S., Kamanlı S., Karabağ K., Şahin Semerci, E., Balcioglu, M.S. (2020). Polymorphisms in cveidate genes associated with egg yield ve quality in brown layer pure lines. *Mediterranean Agricultural Sciences*, 33(3), 433-439. Doi: 10.29136/mediterranean.698996.

- 12- Karsli B.A., **Demir E.**, Fidan H.G., Karsli T. (2020). Assessment of genetic diversity ve differentiation among four indigenous Turkish sheep breeds using microsatellites. Archives Animal Breeding, 63(1), 165-172. Doi: 10.5194/aab-63-165-2020.
- 13- Karsli T., **Demir E.**, Fidan H.G., Aslan M., Karsli B.A., Arik I.Z., Sahin Semerci E., Karabag K., Balcioglu M.S. (2020). Determination of genetic variability, population structure ve genetic differentiation of indigenous Turkish goat breeds based on SSR loci. Small Ruminant Research, 190 (106147), 1-5. Doi: 10.1016/j.smallrumres.2020.106147.
- 14- Rovelli G., Ceccobelli S., Perini F., **Demir E.**, Mastrangelo S., Conte G., Abeni F., Marletta D., Ciampolini R., Cassvero M., Bernabucci U., Lasagna E. (2020). The genetics of phenotypic plasticity in livestock in the era of climate change: a review. Italian Journal of Animal Science, 19(1), 997-1014. Doi: 10.1080/1828051X.2020.1809540.
- 15- **Demir E.**, Balcioglu M.S. (2019): Genetic diversity ve population structure of four cattle breeds raised in Turkey using microsatellite markers. Czech Journal of Animal Science, 64: 411-419. Doi: 10.17221/62/2019-CJAS.
- 16- Eren M.G., **Demir E.**, Balcioglu M.S. (2019). Antalya’da yetistirilen holstein sığırlarında kompleks vertebral malformasyon kalıtsal hastalığının allele özgü PCR ile belirlenmesi. Mediterranean Agricultural Sciences, 32(3), 443-446. Doi: 10.29136/mediterranean.578015.
- 17- Karşlı T., Balcioglu M.S., **Demir E.**, Fidan H.G., Aslan M., Aktan S., ... & ŞAHİN, E. (2017). Ankara Tavukçuluk Araştırma Enstitüsü'nde yetistirilen yumurtacı saf tavuk hatlarında yumurta verimi ile ilişkili IGF-I ve NPY aday genlerindeki polimorfizmlerin belirlenmesi. Türk Tarım-Gıda Bilim ve Teknoloji dergisi, 5(9), 1051-1056.

Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında basılan bildiriler

- 1- **Demir E.**, Balcioglu MS. (2018). Determination of genetic diversity in Anatolian Black cattle raised in Turkey using microsatellite marker method. 10th International Animal Science Conference (Tam Bildiri)
- 2- **Demir E.**, Balcioglu MS. (2018). Determination of genetic diversity in Turkish Grey Steppe cattle raised in Turkey using microsatellite marker method. 10th International Animal Science Conference (Tam Bildiri)
- 3- **Demir E.**, Karşlı T., Balcioglu M.S., Fidan H.G., Aslan M., Aktan S., Argun Karşlı B., Karabağ K., Şahin E. (2018). Determination of polymorphism in the Dopamine D2 Receptor (DRD2) gene in five white layer lines using PCR-RFLP method. International Poultry Science Congress of WPSA Turkish Branch (Tam Bildiri)

4- **Demir E.**, Balcıoğlu MS. (2018). DNA tamir mekanizmaları. 13. Ulusal Zootečni Öğrenci Kongresi (Özet Bildiri)

5- Karşlı T., Balcıoğlu M.S., **Demir E.**, Fidan H.G., Aslan M., Argun Karşlı B. (2017). Determination of polymorphisms on Insulin-like Growth Factor-I (IGF-I) ve Neuropeptide Y (NPY) genes in Denizli chickens by using PCR-RFLP method. III. International Agriculture Congress (Özet Bildiri)

6- Balcıoğlu M.S., Karşlı T., **Demir E.**, Aslan M., Fidan H.G., Aktan S., Şahin E., Karabağ K. (2017). Determination of polymorphism in the Ovocalyxin-32 (OCX32) gene in different six brown layer lines using PCR-RFLP method. III. International Agriculture Congress (Özet Bildiri)

7- Sahin E., Balcıoğlu M.S., Karşlı T., **Demir E.** (2017). Association between the MspI polymorphism in growth hormone gene ve milk yield in holstein cows. European Biotechnology Congress (Özet Bildiri)