

HASMER, HASAK VE ALMAN SİYAH BAŞ KOYUN IRKLARININ GENETİK YAPILARININ MİKROSATELLİT MARKERLARLA İNCELENMESİ

Zafer Bulut¹@

Mehmet Nizamlıoğlu¹

İnci Togan²

Analysis of Genetic Structures of Hasmer, Hasak and German Black Head Sheep Breeds by Using Microsatellite Markers

Özet: Bu çalışmada, 1 saf (Alman Siyah Baş) ve 2 melez (Hasmer ve Hasak) olmak üzere 3 farklı koyun ırkı arasındaki genetik farklılık/benzerlik araştırılmıştır. Bu amaçla, moleküler markerlardan 3 adet mikrosatellit markeri (OarFCB20, OarJMP29 ve OarJMP58) kullanılmıştır. Irklar arası genetik çeşitliliğin oldukça yüksek olduğu ve F_{ST} değerlerinin istatistiki olarak önemli ($P < 0.001$) olduğu belirlenmiştir. Hasmer ve Hasak ırkları için hesaplanan F_{ST} değerinin istatistiki olarak önemsiz ($P > 0.05$) olduğu ve bu iki ırkın genetik olarak birbirlerinden farklı olmadıkları gözlemlenmiştir. Bütün popülasyonlarda ırk içi F_{IS} değerleri önemsiz ($P > 0.05$) olarak bulunmuş ve Hardy-Weinberg dengesinden sapmanın olmadığı gözlenmiştir.

Anahtar Kelimeler : Koyun, Genetik Yapı, Mikrosatellit

Summary: In this study, level of genetic diversity was investigated in one pure (German Black Head) and two crossbreed (Hasmer and Hasak) sheep breeds. For this purpose, three microsatellite markers (OarFCB20, OarJMP29 and OarJMP58) were used. It was observed that genetic diversity between these breeds were high and F_{ST} values were statistically significant ($P < 0.001$). The F_{ST} values calculated for Hasmer and Hasak were found statistically insignificant ($P > 0.05$) and no genetic difference was observed between these two crossbreeds. However, F_{IS} values were found statistically insignificant ($P > 0.05$) and there was no departure from the Hardy Weinberg equilibrium in any of these populations.

Key Words: Sheep, Genetic Structure, Microsatellite

Giriş

Türkiye'de, çiftlik hayvanları içerisinde % 59.3'lük bir dilimi teşkil eden (DİE 2002) koyun sayısının %97 gibi büyük bir bölümünü yerli koyun ırkları, %3'lük bir bölümünü ise, başta Merinos ve melezleri olmak üzere yabancı koyun ırkları oluşturmaktadır (Yalçın 1990).

Türkiye'de Cumhuriyetin kuruluşundan bu yana koyun ıslahı konusunda özellikle melezlemeye dayanan birçok çalışma yapılmıştır. Bunlar içerisinde Merinoslaştırma, hem ilki oluşturmakta hem de uzun yıllar sürdürülen ısrarlı çalışmalar, Türkiye'nin verimi yüksek kültür ırkı sayılabilecek bir ırkı yani Türk Merinosu'nu ortaya çıkarmıştır (Tekin ve ark 2001). Merinos ile yerli ırklar arasında melezlemeler yapılarak iki değişik Türk Merinosu tipi geliştirilmiştir. Bunlar; Karacabey Merinosu ve Orta Anadolu (Konya) Merinosu'dur (Yalçın 1990).

Çiftlik hayvanlarında genetik çeşitlilik, doğal gen kaynaklarının korunması gibi olgular giderek önem

ve ilgi kazanmaktadır. Başta koyun olmak üzere diğer çiftlik hayvanlarında da verim düzeylerini artırmak amacıyla yapılmakta olan melezleme çalışmaları genetik çeşitliliği azaltma temayülündedir. Çoğunlukla kültür ırklarının kalıtsal içerikteki payını artırma doğrultusundaki melezleme çalışmaları, yerli ırkların genotiplerinin giderek azalması ile sonuçlanmaktadır. Bu nedenle Türkiye'deki mevcut koyun ırklarının genetik varyasyon niteliklerini ayırıcı ve özgül yanlarının klasik teknikler dışında daha ayrıntılı moleküler tekniklerle de belirlenmesine gerek vardır (Soysal ve ark 2001).

Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) tekniğinin geliştirilmesiyle biyoteknoloji alanında son 20 yıl içerisinde hayal edilemeyecek ilerlemeler olmuştur. Farklı canlı türlerine ait popülasyonların bireylerinin çeşitli DNA bölgeleri yükseltgenip incelenilmeye başlanmıştır. Bir türün popülasyonları gibi evrimsel olarak yakın canlı gruplarının karşılaştırmalı olarak çalışılacağı ya da popülasyonlarda yakın zamanda oluşmuş olan bir olayın izlerinin aranacağı bir durumda

Geliş Tarihi : 18.10.2004

@: zbulut@selcuk.edu.tr

1. Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, KONYA

2. Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Biyoloji Bölümü, ANKARA

* Bu makale Selçuk Üniversitesi BAP Koordinatörlüğü (2001/097) tarafından desteklenen "Türkiye'deki Bazı Koyun Irklarının Genetik Yapılarının Mikrosatellitlerle İncelenmesi" isimli doktora tezinden özetlenmiştir.

en çok kullanılan genetik işaretlerden biri de mikrosatellitlerdir (Togan ve ark 2003).

Mikrosatellitler, ırkları tanımlamada kullanılan oldukça uygun DNA markerlarıdır (Loftus ve ark 1999) ve mikrosatellitlerin yüksek polimorfik yapıları (Goldstein ve Schlötterer 1998) koyun ırkları arasında önemli farklılıklar olduğunu göstermiştir (Buchanan ve ark 1994, Byrne ve ark (baskıda)).

Türkiye'de DNA düzeyindeki çalışmalar oldukça yeni sayılabilecek durumdadır. Bu çalışmada DNA'daki 3 mikrosatellit bölgesi kullanılarak 1 saf ve 2 melez koyun ırkında genetik yapı araştırılmıştır.

Materyal ve Metot

Çalışmada 1 saf (Alman Siyah Baş) ve 2 melez (Hasmer ve Hasak) olmak üzere 3 farklı koyun ırkından toplam 60 örnek kullanıldı.

Kullanılan hayvan materyali içerisinde bulunan Hasmer ve Hasak koyun genotipleri melezleme çalışmalarıyla elde edilmiştir. Konya Merinosu'nun Alman Siyah Baş (ASB) ve Hampshire Down (HD) etçi ırkları ile melezlenmesinden F1'ler, ASB G1 ve HD G1'ler elde edilmiştir. Bu iki baba hattından elde edilen melezlerin birbirinden ayırt edilemeyecek kadar benzediği bildirilmektedir. Bu 2 baba hattından gelen melezler karıştırılarak dengeli bir tohumlama ile Hasmer tipi elde edilmiştir (HD(F1) x HD(G1) x ASB (F1) x ASB (G1)). Hasmer tipi için açıklanan gerekçe ve yaklaşımlar ile ASB ve HD'un Akkaraman ile olan melezlerine ise Hasak ismi verilmiştir (Tekin ve ark 2001).

Çalışma materyali olarak kan kullanılmıştır. Bireyler seçilirken özellikle bireyler arasında yakın akrabalık ilişkisi olmamasına özen gösterilmiştir. Alınan kan örneklerinden DNA'yı izole etmek için Standart Fenol/Kloroform Yöntemi uygulanmıştır.

Araştırmada genomik DNA'da 3 mikrosatellit (OarFCB20, OarJMP29 ve OarJMP58) bölgesi polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) yöntemiyle amplifiye edildi. PZR karışımı her bir örnek için son hacim 15 µl olacak şekilde 0,5 ml'lik steril ependorf tüplerinde hazırlanmıştır. MgCl₂ konsantrasyonu OarFCB20 lokusu için 4.5 mM, OarJMP29 ve OarJMP58 lokusu için 1.5 mM olarak kullanılmıştır. PZR işlemi radyoaktif işaretli dNTP (α-³²P) kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Poliakrilamid jel elektroforezi (PAGE) ile PZR ürünleri değerlendirilerek allellerin fenotipleri belirlenmiştir. PAGE işlemi, DNA dizisi analizi (Thermo EC 160) aleti ve 35 X 45 cm cam plakalar kullanılarak dikey (vertikal) olarak gerçekleştirilmiştir.

Jelin yürütme işlemi tamamlandıktan sonra kromatografi kağıdı (Whatman 3 MM) üzerine alınmıştır. Kağıt üzerine geçen jelin yüzeyi stretch film yardımıyla kaplanmış ve vakumlu bir jel kurutucu (Thermo Savant SGD2000 Slab Gel Dryer) kullanılarak 80 °C'de 20-25 dk kurutulmuştur. Kurutma işleminden sonra jel, karanlık odada ışık almayan bir metal kaset (Exposure Casette, Sigma E-9510) içerisine yerleştirilmiş ve üzerine özel 35 X 45 cm ebadında otoradyografi filmi (Kodak Biomax MR-2, Sigma Z35,041-9) yerleştirilmiştir. Kullanılan radyoaktif maddenin yeni veya eski oluşuna göre jeller kaset içerisinde 2-5 gün süreyle bekletilmiştir. Daha sonra kasetler Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Cerrahi Anabilim Dalı'nda bulunan otomatik film banyosu cihazında (AFP Imaging Mini-Med/90) karanlık odada açılarak banyo edilmiştir.

Banyo işleminden sonra jel üzerinde görünen DNA bantları DNA ladderlar yardımıyla negatoskop üzerinde okunarak her bir mikrosatellit lokusuna ait allellerin fenotipleri (baz çifti uzunlukları) aynı jel üzerinde yürütülen DNA standardı (DNA Sequencing Kit) yardımıyla belirlenmiştir ve böylece çalışılan bireylerin genotipleri saptanmıştır.

Bireylerin çalışılan mikrosatellit lokuslarına dayalı genotipleri belirlendikten sonra, veriler bilgisayarda değerlendirilmiştir. Irk içi genetik çeşitlilik (varyasyon) düzeyleri; 1- Gözlenen (Ho) ve beklenen (He) heterozigotluklar ile, 2- Lokus ve ırk için gözlenen ve ortalama allel sayıları olarak ve Wright'ın F istatistik değerleri GENETIX 4.0 programı (Belkhir ve ark 1996-2000) kullanılarak hesaplanmıştır. F_{ST} değerleri ırklar arası farklılaşmayı ölçmek için, F_{IS} değerleri de ırk içi Hardy-Weinberg dengesinden sapmayı ölçmek için kullanılmıştır. Faktöriyel birleştirici analizi de (Factorial Correspondence Analysis, FCA) aynı yazılım kullanılarak yapılmıştır.

GeneClass programı kullanılarak Yerleşme Testi (Assignment Test) yapılmış (Comuet and Lulikart 1996) ve Populations 1.0 istatistik programı (<http://www.cnrs-gif/pge/bioinfo/populations>) kullanılarak ırklar arasında Nei (1987)'nin D_A genetik uzaklıkları belirlenmiştir. Saitou ve Nei (1987)'nin komşu birleştirme ağacı (Neighbor-Joining Tree, NJT) yöntemi ile çizilen dendrogramla bu uzaklıklar görselleştirilmiştir.

Bulgular

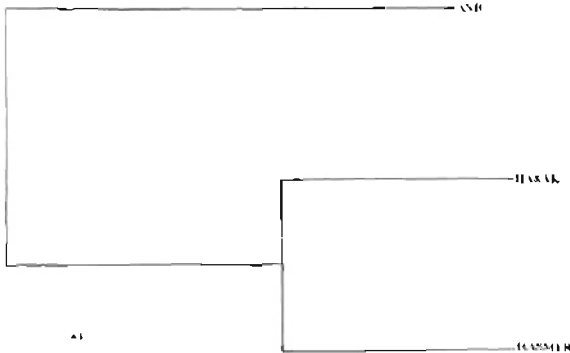
Çalışmada, toplam 3 populasyon, 60 birey ve 3 mikrosatellit lokusu kullanılmıştır. Çalışılan 3 mikrosatellit lokusunda toplam 43 allel gözlemlenmiştir. Bu allellerin 13 tanesi OarFCB20, 18 tanesi

OarJMP29 ve 12 tanesi OarJMP58 lokusundadır ve gözlemlenen alleller içerisinde 17 tanesi sadece tek bir ırkda görüldüğünden, o ırka özgü (private allele)'dür. Bu özgün alleller 3 adet ASB, 6 adet Hasak ve 8 adette Hasmer ırkında gözlemlenmiştir (Tablo 1).

Tablo 1. Irklarda Görülen Genetik Çeşitlilik

	ASB	HASAK	HASMER
Numune Sayısı	20	20	20
Oar FCB20	7	8	12
He	0.760	0.844	0.906
Ho	0.900	1.000	0.900
Oar JMP29	8	11	11
He	0.871	0.826	0.878
Ho	0.800	0.750	0.850
Oar JMP58	8	9	10
He	0.832	0.828	0.712
Ho	0.900	0.800	0.800
Ortalama/Lokus	7,6	9,3	11,0
Özgün Allel	3	6	8
Ortalama He/Lokus	0.821	0.833	0.832
Ortalama Ho/Lokus	0.867	0.850	0.850

He: Beklenen heterozigotluk, Ho: Gözlenen heterozigotluk değerlerini göstermektedir



Şekil 1. Komşu Birleştirme (NJT) Metodu ile Çizilen Ağaç

Irklar için genetik çeşitliliğin (Tablo 1) oldukça yüksek olduğu ($H_o = 0.850 - 0.867$, $H_e = 0.821 - 0.833$) gözlemlenmiştir. Irklar için hesaplanan genel F_{IS} değerlerinin -0.022 ile -0.057 arasında değiştiği belirlenmiş ve F_{IS} değerlerinin istatistikî olarak "önemli" olmadığı ($P > 0.05$) (Tablo 2), böylece hiçbir ırk için Hardy-Weinberg dengesinden sapma olmadığı gözlenmiştir.

Tablo 2. F_{IS} Değerleri Tablosu

İrk	F_{IS}
ASB	-0.057ns
HASAK	-0.022 ns
HASMER	-0.022 ns

ns : İstatiksel olarak anlamlı değil

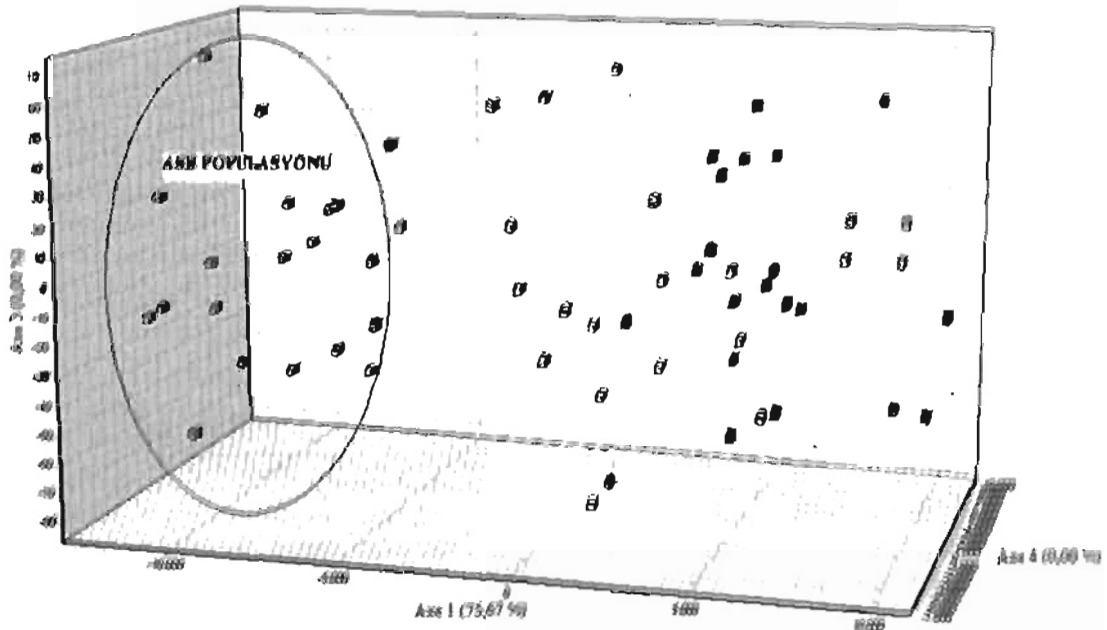
İrklar arası farkın önemli olup olmadığını görmek için hesaplanan ikili sonuçlarına göre ASB ırkının diğerlerinden farklı ve bu farkın istatistikî olarak önemli ($P < 0.001$) olduğu fakat melezleme çalışmalarıyla elde edilen Hasak ve Hasmer ırkları karşılaştırmaları sonucu elde edilen F_{ST} değerinin istatistikî olarak önemsiz ($P > 0.05$) olduğu (Tablo 3) ve bu iki ırkın birbirinden genetik olarak farklı olmadığı gözlemlenmiştir. Ayrıca bütün ırklar arasında görülen ortalama F_{ST} değeri 0.072 olarak bulunmuştur.

Tablo 3. F_{ST} (Altı diagonal) ve D_A (Üstü diagonal) Değerleri Tablosu

	ASB	HASAK	HASMER
ASB	-	0.459	0.322
HASAK	0.113***	-	0.185
HASMER	0.087***	0.010ns	-

(* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, ns : istatiksel olarak anlamlı değil)

Tablo 3'te bulunan üstü diagonal ırkların birbirinden uzaklıklarını D_A değerleri cinsinden vermektedir. D_A değerlerine göre en yüksek genetik uzaklığın ($D_A = 0.459$) Hasak ile ASB arasında, en düşük genetik uzaklığın ise ($D_A = 0.185$) Hasak ile Hasmer ırkları arasında olduğu hem tablodan (Tablo 3), hem de D_A genetik uzaklığı kullanılarak çizilen ağaçtan (Şekil 1) gözlenebilmektedir.



Şekil 2. Factorial Correspondence Analysis (FCA) Grafiği

Sarı:ASB, Beyaz: Hasmer, Mavi: Hasak

Tablo 4. Bazı evcil hayvan ırklarında mikrosatellitler ile yapılan çalışmaların karşılaştırılması

Tür İsmi	Lokus	He	Ortalama Allel Sayısı	Kaynak
Koyun	10 Adet	0.184 - 0.732	2.4 - 4.4	Gutiérrez-Espelata ve ark (2000)
Koyun	15 Adet	0.574 - 0.760	4.4 - 10.9	Grigaliunaite ve ark (2003)
Koyun	3 Adet	0.726 - 0.782	6.67 - 9	Soysal ve ark (2001)
Koyun	20 Adet	0.679 - 0.763	-	Diez-Tascon ve ark (2000)
Siğir	17 Adet	0.53 - 0.66	6 - 7.7	Moazami-Goudarzi ve ark (1997)
Siğir	20 Adet	0.54 - 0.79	-	Loftus ve ark (1999)
Keçi	20 Adet	0.51 - 0.58	-	Saitbekova ve ark (1999)
Keçi	17 Adet	0.611 - 0.784	5.24 - 7.77	Li ve ark (2002)
Koyun	3 Adet	0.816 - 0.864	7.6 - 11	Sunulan Çalışma

Çizilen ağaca bakıldığında 2 grup oluşmuştur, bunlardan Alman Siyah Baş (ASB) ayrı bir grup, Hasak ve Hasmer ise birlikte bir grup oluşturmuştur.

İrklar arasındaki farkı yansıtan bir önceki ağaçtan sonra ırklara ait bireylerin ne kadar ayrışabildiğini görmek için Factorial Correspondence Analysis (FCA) grafiği çizilmiştir (Şekil 2). FCA grafiğinde (Şekil 2) ASB ırkı bireylerinin ayrılmış olduğu, Hasak ve Hasmer ırklarına ait bireylerin ise bir arada kümelendiği gözlenmiştir.

Nitekim Gene Class (1.0.02) programı kullanılarak yapılan yerleştirme (assignment) testinde,

bireyler kendi ırklarından başka, en az 2 farklı ırka daha dahil edilmektedir. Yani bireyler çalışılan 3 lokus bakımından genotip olarak kendi fenotiplerindeki ırka gruplanmamıştır.

Tartışma ve Sonuç

- a- İrk İçi Genetik Çeşitlilik ve Hardy-Weinberg Dengesinde Olmak

Sunulan çalışmada, 3 mikrosatellit lokusu (OarFCB20, OarJMP29 ve OarJMP58) yönünden ırk içi ve ırklar arası genetik varyasyonun (çeşitliliğin) evcil hayvanlarda mikrosatellitlerle yapılan ve yukarıda Tablo 4'de özellenen bazı ça-

lişmalardan yüksek olduğu gözlenmiştir.

Yapılan bazı çalışmalarda tespit edilen toplam allel sayılarına bakıldığında, Farid ve ark (2000) 10 koyun ırkında 10 mikrosatellit lokusu kullandıkları çalışmada toplam 93 adet allel, Soysal ve ark (2001) 3 mikrosatellit lokusuyla Türkiye'deki 5 koyun ırkında yaptıktan çalışmada ise toplam 45 adet allel tespit ettiklerini bildirmektedirler. Ayrıca birçok çalışmada ırklara özgün alleller (private allel) belirtilmiştir ve koyunlarda yapılan bu çalışmalara bakıldığında: Gutierrez-Espelata ve ark (2000) 7 adet özgün allel, Grigallunaito ve ark (2003) 36 adet özgün allel, Arranz ve ark (2001a) ise 15 adet özgün allel tespit ettiklerini bildirmektedirler. Sunulan çalışmada ise 5 ırkda, 3 mikrosatellit bölgesinde toplam 43 adet allel tespit edilmiş ve bu allellerden 17 tanesinin özgün allel olduğu belirlenmiştir. Çalışılan koyun ırklarının, diğer araştırmacıların bildirdiği değerlere göre daha yüksek allel sayısına ve genetik çeşitliliğe sahip olduğu görülmektedir. Bunun en önemli sebebinin Türkiye'nin coğrafi bölge olarak koyunun evciltirme kaynağına yakın olmasıyla ilişkili olduğu şeklinde düşünülmektedir (Yalçın 1986, Bruford ve ark 2003). Nitekim çalışmada kullanılan melez ırkların oluşumuna daha öncede belirtildiği gibi yerli koyun ırklarımızda genetik olarak katkısı vardır ve bu melez ırklar yerli ırklarımıza ait allelleri de taşımaktadır.

Özgün allel sayısının ise yukarıdaki belirtilen çalışmalara benzer değerler gösterdiği gözlenmektedir. Fakat özgün allellerin frekanslarının düşük olması (0.0250 – 0.1750) allellerin ırkları belirleyen ayırtaçlar olarak kullanılmasına imkan vermemektedir.

Gutierrez-Espelata ve ark (2000) koyunlarda yaptıkları bir çalışmada, bütün ırkların Hardy-Weinberg (HW) dengesinde olduklarını gözlemleyen, Arranz ve ark (1998)'nin koyunlarda yaptıkları diğer bir çalışmada ise, çalışılan ırkların bazı lokuslar açısından HW dengesinden sapmalar gösterdiği bildirilmektedir. F_{IS} değeri akrabalı yetiştirme katsayısı olarak da bilinmektedir ve sunulan çalışmada ırk içi HW dengesinden sapma olmaması, seçilen bireylerin yakın akraba olmamasından kaynaklanmaktadır.

b- İrklar ve İrkların Bireyten Arasındaki Genetik Farklılıklar

İrklar arası genetik farklılıkların belirlenmesi için hesaplanan F_{ST} değerlerine göre aralarında fark gözlenmeyen tek ikili olan Hasak ve Hasmer melezlerinin her ikisinde de Hampshire Down ve Alman Siyah Baş ırklarının katkılan bulunmaktadır. Bu nedenle bu ikili birbirlerine çok benzeyebilir. Yine

de kullanılan mikrosatellit lokusu sayısı artınlacak olursa bu ikili arasında da fark görölme ihtimali yüksek olacaktır. İrkların ikili karşılaştırılmalan sonucu hesaplanan F_{ST} değerlerine göre en küçük değer, Hasak ile Hasmer arasında gözlenen 0.010 olup, en yüksek değer ise ASB ile Hasak arasında gözlenen 0.113 değeridir.

Koyunlarda yapılan diğer çalışmalarda bulunan ortalama F_{ST} değerlerini Gutierrez-Espelata ve ark (2000) 0.264, Farid ve ark (2000) 0.163, Byrne ve ark (baskıda) 0.18 olarak tespit etmişlerdir. Sunulan çalışmada bulunan ortalama F_{ST} değeri (0.072) bahsedilen çalışmalardan oldukça düşüktür. O halde, çalışmada kullanılan ırklar birbirinden farklı olsa da genetik olarak aralarındaki farklılaşma Avrupa ırklar arasında rastlanan düzeyde değildir. Yukarıda bahsedilen Gutierrez-Espelata ve ark (2000) ile Farid ve ark (2000)'nin çalışmalarında 10'ar mikrosatellit lokusu kullanılmıştır. Byrne ve ark (baskıda) ise 20 mikrosatellit lokusu kullanmışlardır. Sunulan çalışmada ise ancak 3 mikrosatellit lokusu çalışılabilmiştir. Araştırmada kullanılan ırkların melezleri ile genotipik olarak yakın olması beklenen bir durumdur. Ayrıca çalışılan ırklar sınırlı bir coğrafyayı temsil etmektedirler. Bütün bu nedenlerden ortalama F_{ST} değerinin diğer araştırmacıların gözlediklerinden daha düşük olması beklenmelidir.

Arranz ve ark (2001b)'nin İspanyol koyun ırklarında yaptıkları çalışmada, F_{ST} değeri 0,068 olarak belirlenmiş ve İspanyol koyun ırkları arasında yakın bir genetik ilişki olduğunu ortaya koymuşlardır. Bu sonuç yukarıda bahsedildiği şekilde yerel bir coğrafyayı temsil etmektedir ve sunulan çalışmadaki F_{ST} sonuçlarını destekler niteliktedir.

İrklar arası farklılıklar F_{ST} değerlerine göre istatistik olarak önemli olmalarına rağmen, ırklar birbirlerinden kesin çizgilerle ayrılan, bireyleri birbirine çok benzeyen özgün dağılımlar göstermemektedir. Bu durum 3 boyutlu düzlemde FCA metoduna göre çizilen grafikte de (Şekil 2) gözlenmiştir.

Arranz ve ark (2001b) koyunlarda 18 mikrosatellit lokusu kullanarak yaptıktan çalışmada, bireylerin hangi ırka ait olduklarını belirlemek için yerleştirme (assignment) testini ve seçeneklerden Bayesian metodunu kullanarak en yüksek performansı elde ettiklerini belirtmişlerdir. Sunulan çalışmada da aynı yöntem kullanılmıştır.

Maudet ve ark (2002)'nin Fransız sığır ırklarında yaptıkları çalışmada, yerleştirme testinin güven aralığının (örneğin $P < 0,05$ 'ten 0,001'e) ve ırklar arasında benzerliğinin ardmasıyla testin yerleştirme gü-

cünün azaldığını gözlemişlerdir.

Sunulan çalışmada da, Bayesian metodu kullanılarak 3 mikrosatellit lokusuyla yerleştirme testi yapılmış fakat daha önce 3 boyutlu FCA grafiğinde gözlenen örtüşen dağılımla oluşan beklentimize paralel olarak bireylerin kendi ırklarında tam olarak gruplanmadığı, bir bireyin kendi ırkından başka en az 2 farklı ırkta daha gruplandığı gözlemlenmiştir. Bu durumun Byrne ve ark (baskıda)'da da gözlemlendiği gibi genel bir durum olmakla beraber, Maudet ve ark (2002)'nin belirttiği gibi ırklar arasındaki genetik farklılıkların çok büyük olmamasından da kaynaklandığı düşünülmektedir.

Genellikle mikrosatellitlerle yurt dışında yapılan çalışmaların çoğunda PCR işleminden sonraki elektroforez işlemi DNA Genetik Analizatör cihazlarında otomatik olarak tamamlanmış ve bu sayede en az 15-20 mikrosatellit lokusuyla çalışmalar yapılabilmiştir. Sunulan çalışmada PZR işleminden sonraki elektroforez işleminin manuel olarak yapılmasından dolayı daha az mikrosatellit lokusu ile çalışılabilmektedir. Ancak, çalışma Türkiye'de DNA markerları ile yapılan çalışmalar arasında ilklerden birisi olmasıyla önem kazanmaktadır. Bu alanda bundan sonra planlanan çalışmalara yol göstermesi ve veri tabanı sağlanması açısından önemlidir.

Sonuç olarak, ırklarda görülen genetik çeşitliliğin oldukça yüksek çıktığı ($H_o = 0.850 - 0.867$ ve $H_e = 0.821 - 0.833$), çalışılan ırkların örneklerinin Hardy-Weinberg dengesinde oldukları, ırkların ikili karşılaştırmaları sonucunda bulunan F_{ST} değerlerinin istatistiksel olarak önemli ($P < 0.001$) ancak farklılaşma düzeylerinin diğer birçok koyun ırkı arasında görülenden az olduğu belirlenmiştir. Sadece melezleme çalışmalarıyla elde edilen Hasak ve Hasmer ırklarının karşılaştırmaları sonucu elde edilen F_{ST} değerinin istatistiksel olarak önemsiz olduğu ve bu iki ırkın genetik olarak birbirlerinden farklı olmadıkları gözlenmiştir.

Kaynaklar

Arranz JJ, Bayon Y, Primitivo FS (1998) Genetic relationships among Spanish sheep using microsatellites. *Anim Genet*, 29(6):435-440.

Arranz JJ, Bayon Y, Primitivo FS (2001a) Genetic variation at microsatellite loci in Spanish sheep. *Small Ruminant Research*; 39(1):3-10

Arranz JJ, Bayon Y, Primitivo FS (2001b) Differentiation among Spanish sheep breeds using microsatellites *Genet Sel Evol* ;33(5):529-42.

Belkhir K, Borsa P, Chikhi L, Goudet J and Bonhomme F (1996-2000) Genetix 4.0 Windows™ software population

genetics, Laboratoire Genome, Populations, Interactions, University of Montpellier, France.

Bruford MW, Bradley DG, Luikart G (2003) DNA markers reveal the complexity of livestock domestication, *Nat Rev Genet.*, 4(11), 900-910.

Buchanan FC, Adams LJ, Littlejohn RP, Maddox JF and Crawford AM (1994) Determination of Evolutionary Relationships Among Sheep Breeds Using Microsatellites. *Genomics*, 22(2):397-403.

Byrne K, Chikhi L, Townsend SJ, Cruickshank RH, Alderson GLH and Bruford MV (2004) Genetic diversity within and among European sheep types and its implications for breed conservation, *Molecular Ecology* (Basımda).

Comuet JM and Luikart G (1996) Description and power analysis of two tests for detecting recent population bottlenecks from allele frequency data, *Genetics*, 144(4), 2001-2014.

DİE (2002) Tarım İstatistikleri Özeti, 1982-2001, DİE, Ankara.

Diez-Tascon C, Littlejohn RP, Almeida PAR, Crawford AM (2000) Genetic variation within the Merino sheep breed: analysis of closely related populations using microsatellites. *Anim Genet*; 31, 243-251.

Farid A, O'Reilly E, Kelsey Jr. CR (2000) Genetic analysis of ten sheep breeds using microsatellite markers. *Canadian Journal of Animal Science*. 80, 9-17.

Goldstein DB and Schlötterer C (1998) *Microsatellites: Evolution and Application*, Oxford University Press, Oxford and Vienna.

Grigaliunaite I, Tapio M, Viinalass H, Grislis Z, Kantanen J, Miceikiene I (2003) Microsatellite variation in the Baltic sheep breeds. *Veterinarija ir Zootechnika*, 21(43), 66-73.

Gutiérrez- Espeleta GA, Kalinowski ST, Boyce WM and Hedrick PW (2000) Genetic variation and population structure in desert bighorn sheep: implication for conservation. *Conservation Genetics*, 1:3-15.

Li MH, Zhao SH, Bian C, Wang HS, Wei H, Liu B, Yu M, Fan B, Chen SL, Zhu MJ, Li SJ, Xiong TA, Li K (2002) Genetic relationships among twelve Chinese indigenous goat populations based on microsatellite analysis. *Genet. Sel. Evol.*, 34, 729-744.

Loftus RT, Ertugrul O, Harba AH, El-Barody MAA, MacHugh DE, Park SDE and Bradley DG (1999) A microsatellite survey of cattle from a centre of origin: The Near East. *Molecular Ecology*, 8, 2015-2022.

Maudet C, Luikart G and Taberlet P (2002) Genetic diversity and assignment test among seven French cattle breeds based on microsatellite DNA analysis1, *J. Anim. Sci.*, 80, 942-950.

Moazami-Goudarzi K, Laloe D, Furet JP, Grosclaude F (1997) Analysis of genetic relationships between 10 cattle breeds with 17 microsatellites *Anim Genet* ; 28(5):338-45.

Nei M (1987) *Molecular Evolutionary Genetics*. Columbia University Press, Newyork.

Saitbekova N, Gailhard C, Obaxer-Ruff G, Doll G (1999) Genetic diversity in Swiss goat breeds based on microsatellite analysis. *Anim Genet*. 30(1):36-41.

Saitou N and Nei M (1987) The neighbor-joining method: a new method for reconstruction phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*. 4: 406-425.

Soysal Mİ, Togan İ, Nizamliođlu M, Ergüven A, Altunok V, Tuna YT, Özkan E, Gürkan K, Bulut Z, Koban E (2001) Türkiye Yeri ve Melez Koyun İrklannın Genetik Yapılarının Mikrosatellitlerle İncelenmesi. VHAG-1553, TÜBİTAK.

Tekin ME, Gürkan M, Karabulut O ve Düzgün H (2001) Merinos, Akkaraman ve İvesi İrklannın Bazı Etçl İrklar İle

Melezlerinde (Hasmer, Hasak, Hasiv ve Linmer) Performans Testi ve Seleksiyon Çalışmaları. I. Döl Verimi ve Yaşama Gücü. *Hayvancılık Araştırma Dergisi*, 2 (1), 1-8.

Togan İ, Soysal Mİ, Altunok V, Özkan E, Koban E (2003) Populasyon genetiği çalışmalarında kullanılan yeni istatistik yöntemler. GAP 3. Tarım Kongresi, 2-3 Ekim, Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Şanlıurfa.

Yalçın BC (1986) *Sheep and Goats in Turkey*. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome-Italy.

Yalçın BC (1990) Koyun İrkları " Koyun-Keçi Hastalıkları ve Yetiştiriciliği". Aytuđ CN, Alaçam E, Özkoç U, Yalçın BC, Gökçen H ve Türker H. TÜM VET Hayvancılık Hizmetleri Yayını, No 2. 387-422, Teknografik Matbaası, İstanbul.