BIBAD *Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi 3 (1): 155-163, 2010*
ISSN: 1308-3961, www.nobel.gen.tr

Türkiye'de Bulunan Bazı Yerli Sığır Irklarının STR Markörler ile Genetik Karakterizasyonu

Yusuf ÖZŞENSOY[1,2] Ercan KURAR[1*] Müge DOĞAN[3] Zafer BULUT[3]
Vahdettin ALTUNOK[3] Ayşe IŞIK[4] Aysun ÇAMLIDAĞ[4] Mehmet NİZAMLIOĞLU[3]

[1]Selçuk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Genetik Anabilim Dalı, Konya, TÜRKİYE

[2]Bitlis Eren Üniversitesi, Sağlık Yüksek Okulu, Bitlis, TÜRKİYE

[3]Selçuk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Konya, TÜRKİYE

[4]Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, TAGEM, Çukurova Tarımsal Araştırma Enstitüsü, Adana, TÜRKİYE

[*]**Sorumlu Yazar**
e-posta: ekurar@selcuk.edu.tr

Geliş Tarihi : 30.11.2009
Kabul Tarihi : 28.12.2009

Özet

Değişen çevre koşulları dünya fauna ve florasını olumsuz yönde etkilemektedir. Bu çalışmanın amacı, "Türkiye Yerli Evcil Genetik Kaynaklarından Bazılarının in vitro Korunması ve Ön Moleküler Tanımlanması- I (TÜRKHAYGEN-I)" projesi kapsamında, Türkiye'de bulunan yerli sığır ırklarının mikrosatellit DNA markörler kullanılarak genetik karakterizasyonu ve filogenetik ilişkilerinin belirlenmesidir. Yerli Kara (YK), Boz Irk (BI), Güney Anadolu Kırmızısı (GAK), Yerli Güney Sarısı (YGS), Doğu Anadolu Kırmızısı (DAK) ve Zavot (ZAV) ırkı sığırlardan kan örnekleri alınmış ve standart fenol/kloroform yöntemi kullanılarak DNA izolasyonu yapılmıştır. Çalışmada kullanılan 20 mikrosatellit lokusu FAO ve Uluslar arası Hayvan Genetiği Derneği (ISAG) tarafından tavsiye edilen listeden seçilmiştir. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ürünleri Beckman Coulter CEQ-8000 Genetik Analiz Sistemi kullanılarak kapiller elektroforez ile ayrıştırılmış ve markör genotipleri tespit edilmiştir. İstatistiksel analizlerde toplam allel sayısı, Hardy-Weinberg Dengesine (HWE) uygunluk parametreleri hesaplanmış ve filogenetik ağaçlar çizilmiştir. Toplam 274 farklı allel tespit edilmiş olup, en düşük allel sayısı (8) INRA005 ve BM1824, en yüksek allel sayısı (23) ise TGLA122 lokusunda gözlenmiştir. Faktöriyel benzerlik analizlerinde (FCA), YGS, YK, DAK ve GAK ırklarının birbirlerine yakın, BI ve ZAV ırkları ise daha uzak yerleşim göstermişlerdir. Çalışmaya konu olan bu ırkların genetik parametreleri ve filogenetik ilişkileri genel olarak mevcut coğrafi konumları ile uyumlu bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: Genetik çeşitlilik, sığır, mikrosatellit, TÜRKHAYGEN-I

Genetic Characterization of Some Native Cattle Breeds in Turkey by Using STR Markers

Abstract

Changing environmental conditions have affecting the world's fauna and flora irreversibly. Objective was genetic characterization and determination of phylogenetic relationship of native cattle breeds in Turkey using microsatellite DNA markers as part of a national project titled "In vitro Conservation and Preliminary Molecular Identification of Some Turkish Domestic Animal Genetic Resources-I (TURKHAYGEN-I)". Blood samples were collected from Anatolian Black (YK), Anatolian Grey (BI), South Anatolian Red (GAK), Native Southern Anatolian Yellow (YGS), East Anatolian Red (DAK) and Zavot (ZAV) cattle. DNA samples were isolated using a standard phenol/chloroform method. A total of 20 microsatellite loci were selected from a list suggested by FAO and International Society of Genetics (ISAG). PCR products were separated by capiller electrophoresis on Beckman Coulter CEQ-8000 Genetic Analysis System, and marker genotypes were determined. In statistical analyses, numbers of alleles, deviation from Hardy-Weingberg Equilibrium parameters were calculated and phylogenetic trees were drawn. A total of 274 alleles were observed. The lowest allele number (8) was observed at INRA005 and BM1824 loci and the highest allele number (23) was calculated for TGLA122. YGS, YK, GAK and DAK populations were closely localized than BI and ZAV in factorial correspondence analysis. The resulting genetic parameters and phylogenetic relationship of breeds analyzed are consistent with their today's geographical locations.

Keywords: Genetic diversity, cattle, microsatellite, TURKHAYGEN-I

GİRİŞ

Değişen çevre koşulları hayvan genetik kaynaklarında erozyona neden olmaktadır. Bu kayıpların büyük bir çoğunluğu yaban hayvanlarında meydana gelmekte ise de evcil hayvanlar ve özellikle çiftlik hayvanlarındaki tehlike de küçümsenemeyecek boyuttadır. FAO (Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü) verilerine göre son yüzyıl içerisinde evcil hayvan ırklarının yarısı tamamen kaybolmuştur. Günümüzde bu ırkların önemli bir kısmı (%30) risk altında bulunmaktadır ve her ay altı ırkın nesli tükenmektedir [1]. Türkiye'de çok sayıda sığır ırkı ve yerel tip bulunmasına rağmen, bunlardan 14 tanesi yakın geçmişte yok olmuştur [2].

Biyolojik çeşitlilik kapsamında, yerli hayvan genetik kaynaklarının *in vitro* veya *in vivo* korunması ve moleküler düzeyde karakterizasyonu çalışmalarının ekonomik, bilimsel, kültürel ve ekolojik önemi

bulunmaktadır. Hayvan ıslah programlarında heterozisden yararlanmak, olası hastalık, iklim, yem kaynakları ve tüketim alışkanlıklarındaki değişikliklerde kullanılmak üzere doğal zenginliğimiz olan yerli hayvan ırklarının korunmasının kritik önemi bulunmaktadır.

Arkeolojik ve genetik veriler sığır, koyun ve keçi için en az iki farklı evcilleştirme merkezinin bulunduğunu göstermektedir [3–6]. Bu merkezlerden en eski olanı Doğu-Güneydoğu Anadolu bölgesini kapsamaktadır ve sığır, koyun ile keçinin bu bölgeden tüm Dünya'ya yayıldığı belirtilmektedir [6–10]. Dolayısıyla, Türkiye'de bulunan yerli evcil genetik kaynaklarının öncelikle korunması ve moleküler düzeyde karakterizasyon çalışmalarının yapılması gerekmektedir [8].

Genomda yaygın olarak bulunan (ortalama 40000 bç sıklığında) ve genel olarak tekrarlı CA/TG nükleotid dizilerinden meydana gelen mikrosatellit bölgeleri STR (Simple Tandem Repeat) markörü olarak [10] genetik çalışmalarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Yüksek polimorfizm göstermeleri, ko-dominant özellikleri ile Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ve kapiller elektroforez teknolojisi yardımıyla linkage gen haritalarının oluşturulması, populasyonların moleküler düzeyde karakterizasyonu, moleküler ıslah ve adli tıp çalışmalarında STR tercih edilen markör sistemi olmuştur [11].

Bu çalışmanın amacı; "Türkiye Yerli Evcil Genetik Kaynaklarından Bazılarının *in vitro* Korunması ve ön Moleküler Tanımlanması-I (TÜRKHAYGEN-I)" projesi (http://www.turkhaygen.gov.tr) kapsamında, Türkiye'de bulunan yerli sığır ırklarının STR markörler kullanılarak ön genetik karakterizasyonunun yapılması ve filogenetik ilişkilerinin belirlenmesidir.

MATERYAL VE YÖNTEM

TÜRKHAYGEN-I projesi kapsamında mevcut Güney Anadolu Kırmızısı (GAK, n=51), Yerli Kara (YK, n=51), Yerli Güney Sarısı (YGS, n=35), Boz Irk (BI, n=47), Doğu Anadolu Kırmızısı (DAK, n=14) ve Zavot (ZAV, n=13) ırkı sığırlardan örnekleme çalışması yapılmıştır. *V. jugularis'*den K_3-EDTA'lı tüplere alınan 10 ml kan örneklerinden standart fenol/kloroform yöntemi [12] kullanılarak DNA izolasyonu yapılmıştır. DNA kalitesi 260/280 nm UV'de Nanodrop ND-100 kullanılarak kontrol edilmiş ve stok DNA örnekleri hazırlanmıştır.

Çalışmada kullanılan enformatik değeri yüksek, farklı kromozomları temsil eden ve multipleks çalışmalarına uygun STR lokusları, ISAG ve FAO MoDAD tarafından tavsiye edilen markör listesinden [13] seçilmiştir. Kapiller elektroforez ve fragman analizinde kullanılması amacıyla her bir lokusun ileri primeri Beckman Coulter CEQ–8000 Genetik Analiz Sistemine uygun WELL-ART (D4, D3 veya D2) floresans ile işaretlenmiştir (Çizelge 1).

Polimeraz Zincir Reaksiyonları (PZR), her bir reaksiyonda 1x Mg++ free PCR buffer (Fermentas), 200 mM dNTP (Fermentas), 1.5 mM MgCl++, 0.375 ünite *Taq* polimeraz (Fermentas), 2–15 pM her bir primer çifti (Çizelge 1) ve 50ng DNA template olacak şekilde toplam 15 µl hacimde hazırlanmıştır. Touchdown PZR profili [14] 95°C'de 4 dakika ile tam bir denatürasyon sonrası I. aşamada 16 döngü için 94°C'de 30 saniye denatürasyon, primerlerin ideal bağlanma noktasının sağlanması için 60°C'den başlayarak her bir döngüde 0,5°C düşürülen ve 30 saniye süren annealing ve 72°C'de 30 saniye elongation sağlanmıştır. II. aşamada ise 94°C'de 30 saniye, 52°C'de 30 saniye ve 72°C'de 30 saniye olacak şekilde toplam 25 döngü uygulanmıştır. Son olarak örnekler tam bir adenilizasyon için 72°C'de 10 dakika tutulmuştur.

Yükseltgenen 0.5µl PZR ürününe 25µl Hi-Di-formamide içeren SLS (Sample Loading Solution) ve S–400 DNA standardı eklenerek, Beckman Coulter CEQ–8000 Genetik Analiz Sistemi kullanılarak kapiller elektroforez işlemi uygulanmıştır. FRAG–3 yöntemi (95°C'de 2 dakika denatürasyon, 2.0 kV'da 30 saniye injeksiyon ve 50°C kapiller ısısında 6 kV'da 35 dakika seperasyon) ile PZR ürünleri ayrıştırılmış ve FragTest programı kullanılarak her mikrosatellit lokusu için genotipler belirlenmiştir.

İstatistiksel analizlerde toplam allel sayısı, allel frekansları, Hardy-Weinberg Dengesine (HWE) uygunluk değerleri, Wright'ın F-istatistiklerinin hesaplanması, Faktoriyel Birleştirici Analizleri (FCA; Factorial Correspondence Analysis) ve filogenetik ağaçların çiziminde GenAlEx6 [15], Population 1.2.28 [16], TreeView [17], GenePop [18] ve GENETIX 4.0 [19] paket programları kullanılmıştır.

Çizelge 1. Çalışmada kullanılan STR lokuslarının bulundukları kromozom (BTA), primer dizileri ve beklenen allel büyüklükleri (bç: baz çifti).

No	Lokus	BTA	Primer dizisi	Allel (bç)	İşaretleme
1	BM1824	1	GAGCAAGGTGTTTTTCCAATC	170-218	D2
			CATTCTCCAACTGCTTCCTTG		
2	BM2113	2	GCTGCCTTCTACCAAATACCC	116-146	D4
			CTTAGACAACAGGGGTTTGG		
3	INRA023	3	GAGTAGAGCTACAAGATAAACTTC	193-235	D3
			TAACTACAGGGTGTTAGATGAACTCA		
4	ETH10	5	GTTCAGGACTGGCCCTGCTAACA	198-234	D4
			CCTCCAGCCCACTTTCTCTTCTC		
5	ILSTS006	7	TGTCTGTATTTCTGCTGTGG	277-309	D4
			ACACGGAAGCGATCTAAACG		
6	HEL9	8	CCCATTCAGTCTTCAGAGGT	141-173	D3
			CACATCCATGTTCTCACCAC		
7	ETH225	9	GATCACCTTGCCACTATTTCCT	135-165	D2
			ACATGACAGCCAGCTGCTACT		
8	CSRM60	10	AAGATGTGATCCAAGAGAGAGGCA	79-115	D4
			AGGACCAGATCGTGAAAGGCATAG		
9	HEL13	11	TAAGGACTTGAGATAAGGAG	178-200	D4
			CCATCTACCTCCATCTTAAC		
10	INRA005	12	CAATCTGCATGAAGTATAAATAT	135-149	D4
			CTTCAGGCATACCCTACACC		
11	CSSM66	14	ACACAAATCCTTTCTGCCAGCTGA	171-209	D4
			AATTTAATGCACTGAGGAGCTTGG		
12	SPS115	15	AAAGTGACACAACAGCTTCTCCAG	235-265	D4
			AACGAGTGTCCTAGTTTGGCTGTG		
13	TGLA53	16	GCTTTCAGAAATAGTTTGCATTCA	143-191	D3
			ATCTTCACATGATATTACAGCAGA		
14	ETH185	17	TGCATGGACAGAGCAGCCTGGC	214-246	D3
			GCACCCCAACGAAAGCTCCCAG		
15	TGLA227	18	CGAATTCCAAATCTGTTAATTTGCT	64-115	D4
			ACAGACAGAAACTCAATGAAAGCA		
16	ETH3	19	GAACCTGCCTCTCCTGCATTGG	90-135	D2
			ACTCTGCCTGTGGCCAAGTAGG		
17	TGLA126	20	CTAATTTAGAATGAGAGAGGCTTCT	104-131	D3
			TTGGTCTCTATTCTCTGAATATTCC		
18	TGLA122	21	CCCTCCTCCAGGTAAATCAGC	134-193	D3
			AATCACATGGCAAATAAGTACATAC		
19	BM1818	23	AGCTGGGAATATAACCAAAGG	248-278	D2
			AGTGCTTTCAAGGTCCATGC		
20	HAUT27	26	TTTTATGTTCATTTTTTGACTGG	120-158	D2
			AACTGCTGAAATCTCCATCTTA		

BULGULAR

Çalışmada, yirmi farklı mikrosatellit sistemi için ortak bir PZR profili ve protokolü kullanılmıştır. Esnek annealing özelliğinden faydalanılarak touchdown PZR protokolü ile 7 (CSRM60, ETH03, HEL9, CSRM66, INRA023, SPS115, ILSTS006), 7 (INRA005, HAUT27, TGLA122, TGLA126, TGLA227, BM1824, HEL13) ve 6 (BM2113, TGLA53, ETH225, ETH10, ETH185, BM1818) STR lokusunu içeren üç farklı multipleks oluşturulmuş ve genotipleme çalışmalarında kullanılmıştır.

Yirmi mikrosatellit lokusu için toplam 274 farklı allel tespit edilmiştir. En fazla allel sayısı (23) TGLA122 lokusunda, en düşük allel sayısı (8) ise INRA005 ve BM1824 lokuslarında olmak üzere ortalama allel sayısı 14 olarak gözlemlenmiştir. GAK, YGS ve YK populasyonlarında BI, DAK ve ZAV populasyonlarına göre genel olarak daha fazla allel gözlemlenmiştir (Çizelge 2).

Hardy-Weinberg Dengesi'nden olası sapmaların test edilmesi için Wright'ın F-istatistiğinden yararlanılmıştır. Çalışmaya konu olan tüm ırkların genel F_{IS} değeri 0.04252 (P<0.001) olarak hesaplanmıştır. Genel F_{IS} değerleri GAK (0.03324), YK (0.04962), BI (0.05524), YGS (0.06558) ve DAK (0.01293) populasyonları için ayrı ayrı hesaplanmıştır. F_{IS} değerlerinin önemsiz düzeyde pozitif olması bu populasyonların Hardy-Weinberg Dengesinde olduğunu göstermektedir. ZAV populasyonunda gözlenen F_{IS} değeri (-0.04046) ise heterozigot fazlalığını göstermektedir.

Populasyonlar arası genetik farklılığın tespiti amacıyla F_{ST} değerleri hesaplanmıştır (Çizelge 3). DAK ve ZAV haricinde, diğer populasyonlar arasında gözlenen F_{ST} değerleri istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Bütün populasyonlar için hesaplanan genel F_{ST} değeri ise 0.022 (P<0.001) olarak hesaplanmıştır.

Populasyonlar arası genetik uzaklıklar Nei'nin D_A genetik uzaklık metoduna [20] göre hesaplanmıştır. Populasyonlar arasında en yüksek uzaklık YGS ve

Çizelge 2. GAK, YK, BI, YGS, DAK ve ZAV populasyonlarında gözlenen allel sayıları (Na)

	Populasyon							
Lokus	**GAK**	**YK**	**BI**	**YGS**	**DAK**	**ZAV**	***Ortalama***	**Toplam**
CSRM66	13	13	12	15	11	9	*12*	16
CSRM60	11	13	10	13	7	6	*10*	19
ETH03	10	12	8	11	6	9	*9*	14
INRA023	13	10	10	10	8	8	*10*	14
HEL9	12	12	12	13	8	7	*11*	15
ILSTS006	9	9	9	8	6	4	*8*	10
SPS115	10	10	7	10	7	5	*8*	12
ETH185	12	12	11	12	7	9	*11*	15
BM1818	9	9	9	7	6	7	*8*	12
ETH225	12	10	7	9	8	8	*9*	13
ETH10	8	8	9	6	4	4	*7*	9
TGLA53	18	16	11	14	1	0	*10*	21
BM2113	10	9	9	11	8	8	*9*	12
INRA005	4	6	5	6	5	4	*5*	8
HAUT27	8	9	9	8	4	6	*7*	10
TGLA122	17	19	14	16	9	9	*14*	23
TGLA126	8	11	6	11	6	4	*8*	12
TGLA227	13	15	14	13	9	9	*12*	18
BM1824	6	6	5	6	4	4	*5*	8
HEL13	8	10	7	10	7	6	*8*	13
Ortalama	*11*	*11*	*9*	*10*	*7*	*6*	*9*	*14*

Çizelge 3. GAK, YK, BI, YGS, DAK ve ZAV populasyonları arasında gözlenen F_{ST} değerleri

Populasyon	GAK	YK	BI	YGS	DAK	ZAV
GAK	-	0.011***	0.041***	0.009**	0.033***	0.027***
YK		-	0.032***	0.006**	0.020***	0.021***
BI			-	0.032***	0.042***	0.031**
YGS				-	0.026***	0.028***
DAK					-	0.013
ZAV						-

***P<0.001, **P<0.01, *P<0.05

ZAV arasında (0.165), en düşük uzaklık ise YK ve YGS populasyonları arasında (0.082) saptanmıştır. GAK, YGS ve YK ırkları arasında D_A değerleri oldukça yakın, ancak genel olarak ZAV ile diğer populasyonlar arasında genetik mesafenin en uzak olduğu görülmektedir (Çizelge 4). D_A genetik uzaklık verileri kullanılarak komşu birleştirme ağacı (NJT; Neighbor Joining Tree) çizilmiştir (Şekil 1).

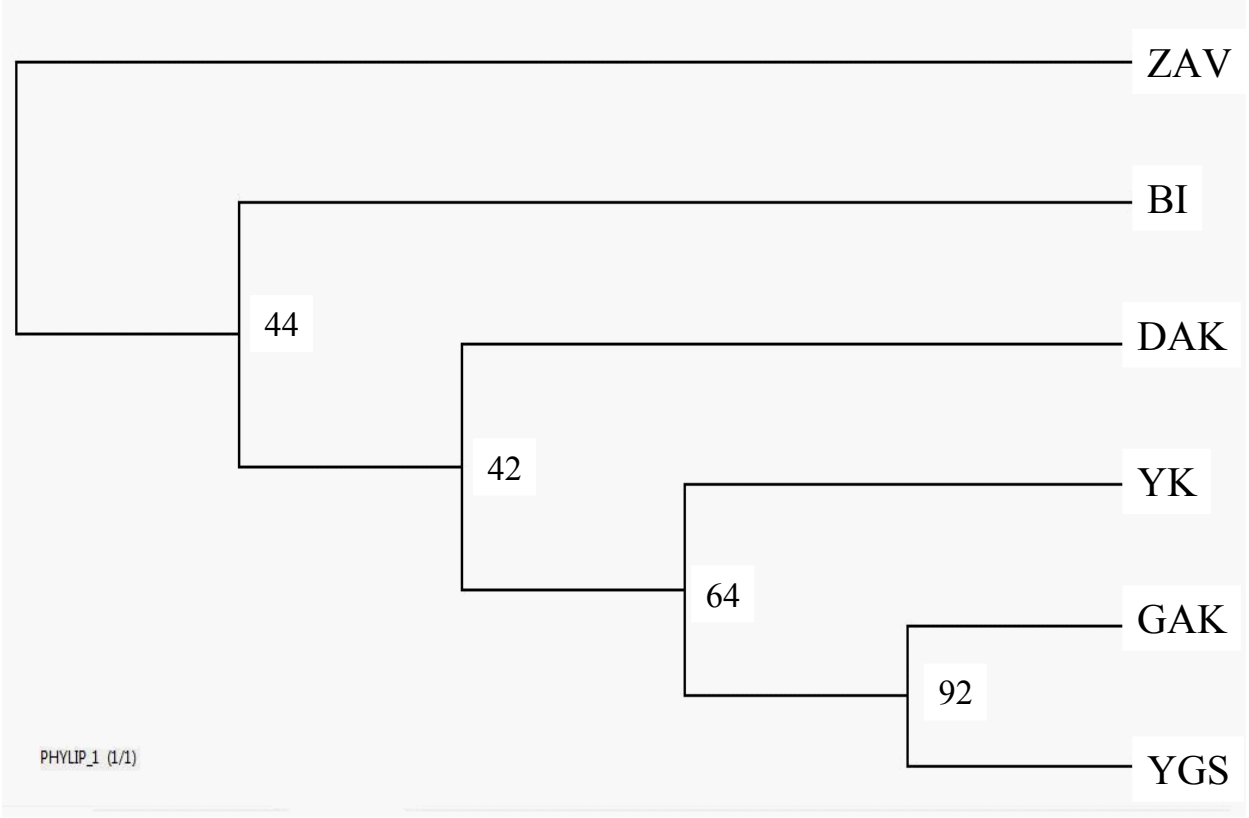
Populasyonu oluşturan bireylerin genetik yapılarına göre genetik ilişkinin tespiti amacıyla faktoriyel benzerlik analizi (FCA-Factorial Correspondence Analysis) yapılmıştır. FCA grafiğinde benzer genetik yapıya sahip olan bireyler 3-boyutlu düzlemde (uzay) yakın yerleşim gösterirler. Populasyonu oluşturan bireylerin genel olarak ait olduğu populasyon bölgesinde öbeklenmektedir. Ancak, bazı bireylerin diğer populasyon bölgelerinde yer aldığı gözlemlenmiştir. BI ve ZAV populasyonları tamamen ayrılarak uzayda kendi gruplarını oluşturmuştur. GAK, YGS ve YK bireyleri her ne kadar kendi gruplarını oluşturmuş olsalar da bu populasyonların nispeten beraber öbeklendiği gözlenmektedir. DAK populasyonuna ait bireyler ise YK-YGS-GAK öbeği ile ZAV ve BI grupları arasında yer almaktadır (Şekil 2).

TARTIŞMA VE SONUÇ

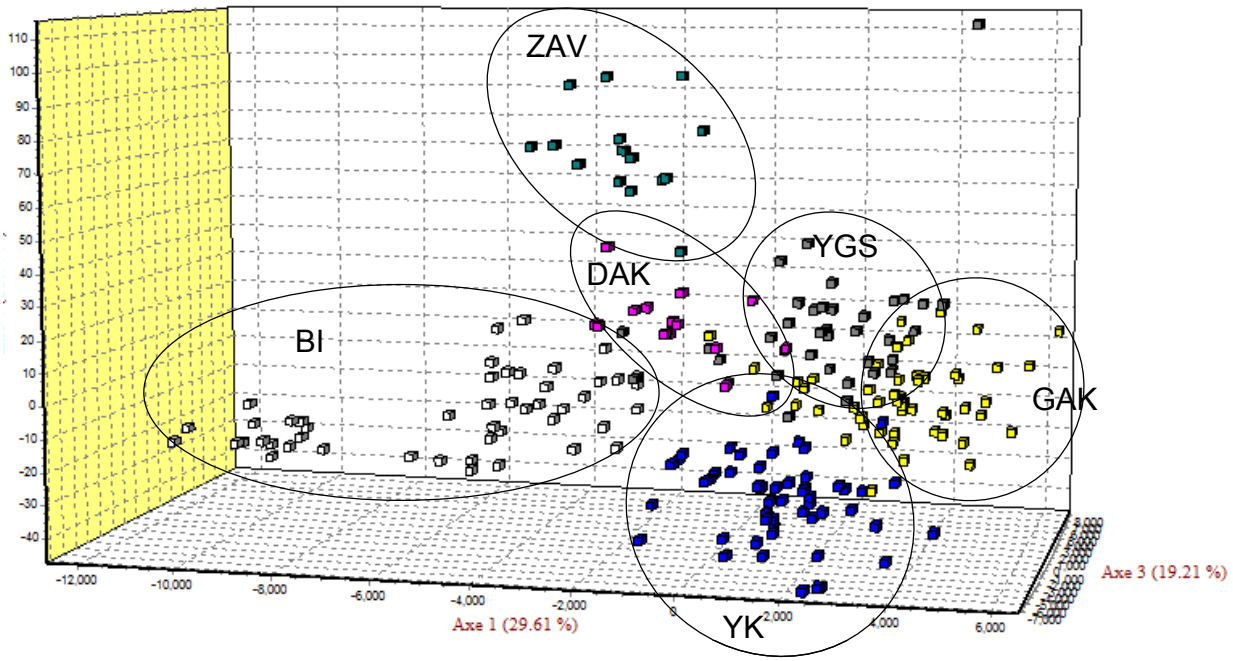
Bu çalışmada kullanılan YGS, DAK ve ZAV

Çizelge 4. Çalışmada kullanılan sığır ırkları arasında hesaplanan D_A genetik uzaklık değerleri (Nei ve ark. [20])

Populasyon	GAK	YK	BI	YGS	DAK	ZAV
GAK	-	0.088	0.119	0.085	0.141	0.148
YK		-	0.103	0.082	0.114	0.140
BI			-	0.108	0.127	0.136
YGS				-	0.131	0.165
DAK					-	0.154
ZAV						-



Şekil 1. GAK, YK, BI, YGS, DAK ve ZAV sığırlarında D_A genetik uzaklığa göre çizilen komşu birleştirme ağacı (NJT-Neighbour Joining Tree)



Şekil 2. GAK (sarı), YK (mavi), BI (beyaz), YGS (gri), DAK (kırmızı) ve ZAV (yeşil) sığır populasyonları arasındaki ilişkiyi gösteren faktoriyel benzerlik analizi (FCA) grafiği

populasyonları TURKHAYGEN-I projesi kapsamında henüz tamamlanmamıştır. Özellikle bu çalışmada kullanılan DAK ve ZAV örnekleri tüm populasyonu temsil edecek yeterince büyüklükte değildir. Dolayısıyla bu populasyonlar için gözlenen allel sayıları çalışmaya konu olan diğer populasyonların ortalama genel allel sayılarına göre daha düşük bulunmuştur. DAK ve ZAV populasyonlarında TGLA53 lokusu için kaliteli allel pikleri elde edilemediğinden istatistiksel analizlere dahil edilmemiştir. TGLA53 lokusunun bu populasyonlarda tekrar genotipleme çalışmasının yapılması gerekmektedir.

Ortalama allel sayısı en fazla TGLA122 lokusunda, en düşük ise INRA005 ve BM1824 lokuslarında gözlenmiştir. Bu bulgular, yerli ırklar [21–22] ve diğer populasyonlar ile yapılan çalışmalar ile uyum içerisindedir [23–27]. GAK, YK, DAK ve BI populasyonlarında gözlenen allel sayısı, bu ırklar ve ortak mikrosatellit lokusları kullanılarak yapılan çalışmalar ile genel olarak benzerlik göstermektedir [21]. Ancak, Altınalan [22] daha yüksek oranda allel sayısı tespit etmiştir. Bu farklılığın Altınalan'ın [22] markör genotiplerinin tespitinde kullandığı yöntem ve yorumdan kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Bu çalışmada gözlenen allel sayıları, Avrupa, Afrika ve Hindistan kökenli sığır ırkları kullanılarak yapılan çalışmalara [23–30] göre daha yüksek bulunmuştur. Dolayısıyla, Türkiye'de yetiştirilen ırkların daha yüksek genetik çeşitliğe sahip olduğu görülmektedir [7,9,21,22,30]. Bu durum, çalışmada kullanılan ırkların evcilleşme merkezine yakın yerleşim göstermesinden kaynaklanmaktadır [7,21]. Farklı markör sistemleri kullanılarak yapılan moleküler analizler [4,7,28] sonucunda, Anadolu-Ortadoğu bölgesine ait sığır ırklarının, Avrupa, Hindistan ve Afrika'da yetiştirilen sığır ırklarına göre daha fazla genetik çeşitliliğe sahip olduğunu ve Ortadoğu'dan Avrupa'ya doğru genetik çeşitliliğin göreceli azaldığı bildirilmiştir. Bu çalışmada BI'da gözlenen allel sayısının GAK, YGS ve YK ırklarına göre daha düşük olması, evcilleşme merkezinden uzaklaşmanın bir sonucu olabilir [7,21].

Wright'ın F_{IS} ve F_{ST} parametreleri [31] hesaplanmış ve populasyonların yapısının tanımlanmasında kullanılmıştır. F_{IS} değerleri -0.04046 (ZAV) ile 0.06558 (YGS) arasında değişmektedir. BI, DAK, YK ve GAK populasyonlarına ait F_{IS} değerleri diğer bir çalışmayla benzerlik göstermektedir [21]. Bu durum, ZAV hariç çalışmaya konu olan tüm populasyonların Hardy-Weinberg Dengesi'nde olduğunu göstermiştir. ZAV örnek sayısının nispeten küçük olması veya bu ırkın yapısı, gözlenen önemsiz derecedeki heterozigotluk fazlalığının bir nedeni olabilir. F_{ST} değerleri bu çalışmada kullanılan ırklar arasında genel olarak küçük genetik farklılaşmanın varlığını göstermektedir ve diğer çalışmalar ile benzerdir [21,22]. Bu sonuçlar, Türkiye'de yetiştirilen ırkların farklı morfolojik özelliklere sahip olmasına rağmen genetik olarak birbirlerine yakın olduğunu göstermektedir. Yalnızca DAK ve ZAV arasında tespit edilen genetik farklılaşmanın, çalışmada bu populasyonlar için kullanılan örnek sayısının yeterli olmamasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Mikrosatellit lokusları kullanılarak yapılan filogenetik analizlerde genetik uzaklıkların tespitinde Nei'nin D_A [20] yöntemi tercih edilmektedir [32]. D_A metoduna göre hesaplanan genetik uzaklıklar (Çizelge 4) ve çizilen filogenetik ağaçta (Şekil 1) bu populasyonların Türkiye'de yerleşimleri ile genel olarak uyumlu olduğu gözlenmiştir. Çizilen ağaçta, YGS ve GAK populasyonları yüksek oranda (%92) birlikte gruplanmaktadır. Oluşan bu gruba sırasıyla yüksek oranda YK (%64) ve daha düşük oranlarda DAK (%42) ile BI (%44) yerleşmektedir. Loftus ve ark. [7] ile Cymbron ve ark. [9]'nın yaptıkları çalışmalarda, Avrupa, Asya, Orta Doğu bölgelerinden sığır ırkları ile Anadolu'dan DAK, BI, YK ve GAK ırkları kullanılarak çizilen NJ ağaçlarında GAK-DAK-YK birbirine daha yakın olarak yerleşmiştir. Ancak, BI, GAK-DAK-YK grubuna daha yakın olmak üzere Anadolu'nun yerli ırkları ile Avrupa kökenli ırklar arasında bulunmaktadır. Nitekim tipik bir step sığırı olan Boz Irkın, Anadolu'ya Trakya'dan getirildiğine inanılmaktadır. Bulgaristan, Romanya ve Yunanistan'da da benzer sığırlar yetiştirildiği için bazı kaynaklarda Balkan Bölgesinin ortak yerli bir ırkı olarak kabul edilmektedir [33].

Görsel olarak populasyonu oluşturan bireylerin genetik yapılarının değerlendirilmesinde FCA analizleri kullanılmaktadır. NJ ağacı (Şekil 1) ve yukarıda detaylı tartışılan diğer genetik parametrelerin (Çizelge 3 ve 4) sonuçları ile FCA grafiği (Şekil 2) genel olarak uyum içerisindedir. YGS-GAK-YK bireyleri arasında beklenen bir öbeklenme gözlenmektedir. Özelikle, Kars'ın Zavot bölgesinde yetiştirilen ZAV populasyonunun FCA grafiği ve NJ ağacındaki yerleşimi dikkat çekicidir. Bu durum ve F-istatistiği sonuçlarının ZAV için kullanılan örnek sayısının yetersizliğinden veya bu populasyonun yapısından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Doğu Anadolu Bölgesinde bulunan hayvanların et veriminin artırılması amacıyla XIX. yüzyıl sonlarında Rusya'dan getirilen bazı ırklar ile Anadolu'dan YK'nın melezleme çalışmalarında kullanıldığı bildirilmektedir. Benzer çalışmalarda, 1960'dan sonra Marmara Bölgesinden getirilen İsviçre ve Karacabey Esmerleri kullanılmıştır [22,33] ve kontrolsüz melezleme çalışmaları devam etmektedir. TÜRKHAYGEN-I projesi kapsamında fenotipik olarak ırk özelliğini taşıyan bireylerden örnekleme yapılmaktadır. Ancak çalışmada kullanılan özelikle ZAV ve DAK populasyonlarında diğer ırkların genotipik etkisi bulunabilir. Özellikle Zavot'ta gözlenen bulguların, ZAV ve DAK örnekleme çalışmalarının tamamlanması ile tekrar değerlendirilmesi anlamlı olacaktır.

Sonuç olarak, bu çalışmada TÜRKHAYGEN-I projesi kapsamında *in vitro* koruma altına alınan yerli

sığır ırklarının mikrosatellit markörler kullanılarak ön genetik karakterizasyonu yapılmıştır. Bulgular, çalışmaya konu olan ırkların yerleşimi ve tarihsel gelişimi ile uyumlu olduklarını göstermektedir. YGS, DAK ve ZAV populasyonlarında örnekleme çalışmalarının tamamlanması sonrası bu populasyonlara ait moleküler verilerin daha detaylı analizler ile yorumlanması gerekmektedir. Maternal ve paternal etkilerin araştırılması için mtDNA ve Y- kromozomu markör sistemlerinin de karakterizasyon çalışmalarında kullanılması faydalı olacaktır.

Teşekkür

Bu çalışma ve Y.Ö. TÜBİTAK-KAMAG tarafından desteklenmiştir (106G005).

KAYNAKLAR

[1] FAO, 2004. What is agrobiodiversity? ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/007/y5609e/y5609e00.pdf. Erişim Tarihi 02.02.2010.

[2] Ertuğrul M, Akman N, Dellal G, Goncagül T., 2000. Hayvan gen kaynaklarının korunması ve Türkiye hayvan gen kaynakları. http://www.tmmobzmo.org.tr/docs/11.doc.

[3] Loftus RT, MacHugh DE, Bradley DG, Sharp PM, Cunningham EP., 1994. Evidence for two independent domestications of cattle. Proceedings of the National Academy of Sciences USA, 91:2757–2761.

[4] Troy CS, MacHugh DE, Balley JF, Magee DA, Loftus TR, Cunningham P, Chamberlain AT, Sykes BC, Bradley DG., 2001. Genetic evidance for Near-Eastern origins of European cattle. Nature, 410:1088–1091.

[5] Hiendleder S, Kaupe B, Wassmuth R, Janke A., 2002. Molecular analysis of wild and domestic sheep questions current nomenclature and provides evidence for domestication from two different subspecies. Proceedings of the Royal Society of London B, 269 (1494):893–904.

[6] Luikart G, Gielly L, Excoffier L, Vigne JD, Bouvet J, Taberlet P., 2001. Multiple maternal origins and weak phylogeographic structure in domestic goats. Proceedings of the National Academy of Sciences USA, 98 (10):5927–5932.

[7] Loftus RT, Ertugrul O, Harba AH, El-Barody MA, MacHugh DE, Park SD, Bradley DG., 1999. A microsatellite survey of cattle from a centre of origin: the Near East. Molecular Ecology, 8:2015–2022.

[8] Bruford MW, Towsend SJ., 2004. Case studies in the genetics of animal domestication:sheep In: Zeder M, Decker-Walters D, Bradley D, Smith BD, Eds: Documenting Domestication: New Genetics and Archaeological Paradigms, California University Press.

[9] Cymbron T, Freeman AR, Isabel Malheiro M, Vigne JD, Bradley DG., 2005. Microsatellite diversity suggests different histories for Mediterranean and Northern European cattle populations. Proceedings of the Royal Society of London B, 272 (1574):1837–1843.

[10] Weber JL, May PE., 1989. Abundant class of human DNA polymorphisms which can be typed using the polymerase chain reaction. American Journal of Human Genetics, 44:388–396.

[11] Kurar E, 2001. Comparative physical and linkage mapping of bovine chromosome 24 with human chromosome 18. Ph.D. Dissertation, University of Wisconsin-Madison, USA.

[12] Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T., 1989. Molecular clonning: A laboratory manual. Second Edition, Cold-Spring Harbor, New York, USA.

[13] Hoffmann I, Marsan PA, Barker JSF, Cothran EG, Hanotte O, Lenstra JA, Milan D, Weigend S, Simianer H., 2004. New MoDAD marker sets to be used in diversity studies for the major farm animal species: Recommendations of a joint ISAG/FAO working group. 29th ISAG (International Society of Animal Genetics) Congress, 11–16 September, 2004, Tokyo.

[14] Don RH, Cox PT, Wainwright BJ, Baker K, Mattick JS., 1991**.** Touchdown PCR to circumvent spurious priming during gene amplification. Nucleic Acid Research, 19 (14):4008.

[15] Peakall R, Smouse PE., 2006. GenAlEx6: Genetic analysis in Excel, Population genetic software for teaching and research. Molecular Ecology Notes, 6:288–295.

[16] Langella O., 1999. Population**s** 1.2.28 (12/5/2002): A population genetic software. CNRS UPR9034. http://www.pge.cnrs-gif.fr/bioinfo/populations/index.php.

[17] Page RDM, 1996. TREEVIEW: An application to display phylogenetic trees on personal computers. Computer Applications in the Biosciences, 12:357–358.

[18] Raymond M, Rousset F., 1995. GENEPOP (version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism. Journal of Heredity, 86:248–249.

[19] Belkhir K, Borsa P, Chikhi L, Goudet J, Bonhomme F., 1996. GENETIX 4.00 Windows™ software for sample genetics. Laboratoire Genome, Populations, Interactions, University of Montpellier, France.

[20] Nei M, Tajima F, Tateno Y., 1983. Accuracy of estimated phylogenetic trees from molecular data. II. Gene frequencies data. Journal of Molecular Evolution, 19:153–170.

[21] Özkan E, 2005. Türkiye'de yetiştirilen yerli ve kültür sığır ırklarının genetik yapılarının mikrosatelitler ile incelenmesi. Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri

Enstitüsü. Doktora Tezi.
[22] Altınalan A, 2005. Türkiye'deki yerli sığır ırklarının mikrosatellit DNA markırlarla genetik karakterizasyonu. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi.
[23] Martin-Burriel I, Garcia-Muro E, Zaragoza P., 1999. Genetic diversity analysis of six Spanish native cattle breeds using microsatellites. Animal Genetics, 30:177–182.
[24] Schmid M, Saitbekova N, Gaillard C, Dolf G., 1999. Genetic diversity in Swiss cattle breeds. Journal of Animal Breeding and Genetics, 116:1–8.
[25] Maudet C, Luikart G, Taberlet P., 2001. Genetic diversity and assignment tests among seven French cattle breeds based on microsatellite DNA analysis. Journal of Animal Science, 80:942–950.
[26] Beja-Pereira A, Alexandrino P, Bessa I, Carretero Y, Dunner S, Ferrand N, Jordana J, Laloë D, Moazami-Goudarzi K, Sanchez A, Canon J., 2003. Genetic characterization of Southwestern European bovine breeds: a historical and biogeographical reassessment with a set of 16 microsatellites. Journal of Heredity, 2:243-250.
[27] Radko A, Zyga A, Zabek T, Słota E., 2005. Genetic variability among Polish Red, Hereford and Holstein-Friesian cattle raised in Poland based on analysis of microsatellite DNA sequences. Journal of Applied Genetics, 46 (1):89–91.
[28] MacHugh DE, Shriver MD, Loftus RT, Cunningham P, Bradley DG., 1997. Microsatellite DNA variation and the evolution, domestication and phylogeography of taurine and zebu cattle (Bos taurus and Bos indicus). Genetics, 146:1071–1086.
[29] Mateus JC, Penedo MC, Alves VC, Ramos M, Rangel-Figueiredo T., 2004. Genetic diversity and differentiation in Portuguese cattle breeds using microsatellites. Animal Genetics, 35 (2):106–113.
[30] European Cattle Genetic Diversity Consortium., 2006. Marker-assisted conservation of European cattle breeds: an evaluation. Animal Genetics, 37 (5):475–481.
[31] Wright S., 1965. The interpration of sample structure by *F*-statistics with special regard to mating. Evolution, 19: 395-420.
[32] Takezaki N, Nei M., 1996. Genetic distances and reconstruction of phylogenetic trees from microsatellite DNA. Genetics, 144 (1):389–399.
[33] Alpan O, Aksoy AR., 2009. Sığır yetiştiriciliği ve Besiciliği. 3. Baskı, Zafer Ofset Matbaacılık.