

**TÜRKİYE YERLİ KEÇİ  
IRKLARINDA MİKROSATELLİT  
DNA POLİMORFİZM TEKNİĞİNİN  
KULLANILMASI İLE EBEVEYN  
TAYİNİ**

**Ezgi GÜZEY SÜRME**

**Yüksek Lisans Tezi**

**Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı**

**Danışman: Prof. Dr. Sezen ARAT**

**2018**

**T. C.**

**TEKİRDAĞ NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ**

**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**TÜRKİYE YERLİ KEÇİ IRKLARINDA  
MİKROSATELLİT DNA POLİMORFİZM TEKNİĞİNİN  
KULLANILMASI İLE EBEVEYN TAYİNİ**

**Ezgi GÜZEY SÜRME**

**TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI**

**DANIŞMAN: Prof. Dr. Sezen ARAT**

**TEKİRDAĞ-2018**

**Her hakkı saklıdır.**

**Bu tez çalışması T.C Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel M¼d¼rl¼ę¼ tarafından AR-GE Projeleri Kapsamında TAGEM-14/AR-GE/15 Proje Numarası ile desteklenmiştir.**

Prof. Dr. Sezen ARAT danışmanlığında, Ezgi GÜZEY SÜRMEYEN tarafından hazırlanan “Türkiye Yerli Keçi Irklarında Mikrosatellit DNA Polimorfizm Tekniğinin Kullanılması ile Ebeveyn Tayini” isimli bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı’nda **Yüksek Lisans** tezi olarak **oybirliği** ile kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı: Prof. Dr. Sezen ARAT (Danışman)

*İmza:*

Üye: Prof. Dr. Cemal ÜN

*İmza:*

Üye: Doç. Dr. Emel ÖKAN ÜNAL

*İmza:*

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu adına

Prof.Dr. Fatih KONUKCU

**Enstitü Müdür**

## ÖZET

Yüksel Lisans Tezi

### TÜRKİYE YERLİ KEÇİ IRKLARINDA MİKROSATELLİT DNA POLİMORFİZM TEKNİĞİNİN KULLANILMASI İLE EBEVEYN TAYİNİ

**Ezgi GÜZEY SÜRME**

Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof.Dr. Sezen ARAT

Son yıllarda Dünya'daki gelişmeler doğrultusunda tarımsal kamu kaynaklarının önemli bir kısmının yerel ırklarımızın korunması ve ıslahı ile ilgili çalışmalara yönlendirilmiş olması yerel ırklarımıza ilişkin genetik ıslah çalışmalarının önem kazanmasına neden olmuştur. Mikrosatellitler yüksek polimorfizm göstermesi nedeniyle genetik çalışmalarda tercih sebebidir. Bu tez çalışması 9 farklı mikrosatellit bölgesinin yerli keçi ırkında (Ankara Keçisi, Honamlı Keçisi Kıl Keçisi, Kilis Keçisi) babalık testi için kullanılabilirliğini araştırmak amacıyla yapılmıştır. Yapılan analizler sonucu çalışılan tüm lokuslar arasında beklenen heterozigotluk değerinin 0,6240 ile 0,8966 arasında, gözlenen heterozigotluk değerinin 0,6432 ile 0,8553 arasında değiştiği, hiçbir lokusun heterozigotluk değerinin 0.50'den düşük olmadığı belirlenmiştir. Çalışmada polimorfizm (PIC) bilgi içeriği değerinin 0.570 ile 0.890 arasında değiştiği, bu değerlerin 0.500'nin üzerinde olması sebebiyle çalışılan tüm mikrosatellit bölgelerinin oldukça bilgi verici olduğu değerlendirilmiştir. Mevcut çalışmada ayrıca 9 mikrosatellit lokusundan 8'inde en sık gözlenen allel frekansının 0.161 ile 0.457 arasında olduğu, sadece bir tanesinde bu değer 0.540 olduğu görülmüştür. İlave olarak her iki ebeveynin bilinmemesi halinde baba adayı tekelerden hesaplanan birleştirilmiş dışlama gücü değerinin 0.999, her iki ebeveynin bilinmemesi halinde, yavrulardan hesaplanan birleştirilmiş dışlama gücü değerinin 0.998, tek bir ebeveynin bilinmesi durumunda yavrulardan hesaplanan birleştirilmiş dışlama gücü değerinin ise 0.999 olduğu belirlenmiştir. Tüm lokusların güvenilirliğinin test edilmesi amacıyla her ırktan rastgele seçilen yavrularda 9 farklı mikrosatellit bölgesi sonuçlarına göre baba olma olasılık değerleri hesaplanmış ve %41.45 ile %78.87 arasında değerler elde edilmiştir. Bu sonuçlar çerçevesinde, her ne kadar yüksek dışlama gücü değerleri vermiş olsalar da doğru baba olma olasılığının hesaplanması için çalışılan 9 mikrosatellit bölgesinin yeterli olmadığı, daha fazla gen bölgesinin çalışılması ile baba olma olasılığı değerlerinin yükseltilmesi gerektiği ortaya çıkmaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** Pedigri, Mikrosatellit, Keçi, Ebeveyn Tayini

## ABSTRACT

MSc. Thesis

### PARENTAGE TESTING IN TURKISH NATIVE GOAT BREEDS BY USING MICROSATELLITE DNA POLYMORPHISM TECHNIQUE

**Ezgi GÜZEY SÜRME**

Namık Kemal University in Tekirdağ  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Agricultural Biotechnology

Supervisor: Prof. Dr. Sezen ARAT

In recent years, a significant portion of agricultural public resources in the direction of development in the world have been directed to work on the protection and improvement of our local breeds, which has led to the importance of genetic breeding studies on local breeds. Because of the high polymorphism of microsatellites, genetic studies are preferred. This thesis study was carried out to investigate the applicability of 9 different microsatellite regions for paternity testing in domestic goat breed (Ankara Goat, Honam Goat Goat, Kilis Goat). From the analyzes conducted, it was determined that the expected heterozygosity value of all locus studied ranged from 0.6240 to 0.8966, the observed heterozygosity value varied from 0.6432 to 0.8553, and that no locus heterozygosity value was lower than 0.50. In study, polymorphism (PIC) value of information content changed between 0.570 and 0.890, and these values were over 0.500, so that all microsatellite regions studied were highly informative. The present study also found that the most frequent allele frequency in 8 of 9 microsatellite loci is between 0.161 and 0.457, only 0.540 in one. In addition, it was determined that the combined exclusion power value calculated from the father's candidate monopolies is 0.999, if both parents are unknown, the combined exclusion power value calculated from the offspring is 0.998, and the combined exclusion power value calculated from the offspring when a single parent is known, is 0.999. In order to test the reliability of all loci, the probability of being a father according to the results of 9 different microsatellite regions was calculated in randomly selected offspring, and values ranging from 41.45% to 78.87% were obtained. Although the results of these results show that 9 microsatellite regions are not sufficient for the calculation of the probability of being a true father even though they have given high exclusion power values, it is revealed that the work of more gene regions and the probability of being a father should be increased.

**Key words:** Pedigree, Microsatellite, Goat, Parental Detection

2018, 72 Pages

# İÇİNDEKİLER

Sayfa

<b>ÖZET</b> .....	<b>i</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>ii</b>
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	<b>iii</b>
<b>ÇİZELGE DİZİNİ</b> .....	<b>v</b>
<b>ŞEKİL DİZİNİ</b> .....	<b>vi</b>
<b>SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ</b> .....	<b>viii</b>
<b>DENKLEMLER DİZİNİ</b> .....	<b>x</b>
<b>ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR</b> .....	<b>xi</b>
<b>1.GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
<b>2. KURAMSAL TEMELLER</b> .....	<b>3</b>
2.1 Keçi Yetiştiriciliği Alanında Gelişmeler Ve Halk Elinde Islah Projesi.....	4
2.2 Hayvancılıkta Ebeveyn Tayini Ve Önemi.....	6
2.3 Ebeveyn Tayininde Kullanılan Yöntemler.....	6
2.3.1 Babalık testleri.....	6
2.3.2 Mikrosatellit belirteçler.....	8
2.3.3 Mikrosatellit tekniğinin uygulama basamakları.....	10
<b>3. MATERYAL VE YÖNTEM</b> .....	<b>12</b>
3.1 Materyal.....	12
3.1.1 Biyolojik Materyal.....	12
3.1.2 Kullanılan cihaz ve ekipmanlar.....	14
3.1.3 Kullanılan kimyasallar.....	15
3.2 YÖNTEM .....	16
3.2.1 Genomik DNA izolasyonu.....	16
3.2.2 DNA kalite ve miktar kontrolü .....	17
3.2.3 Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) metodu ile mikrosatellit bölgelerinin yükseltgenmesi aşaması.....	17
3.2.4 PZR ürünlerinin agaroz jelde gözlemlenmesi.....	22
3.3 Fragment, Veri ve İstatistik Analizler.....	23
3.3.1 Fragment analizler.....	23
3.3.2 İstatistik analizler.....	24

<b>4. BULGULAR.....</b>	<b>30</b>
4.1 Genomik DNA İzolasyonu.....	30
4.2 Mikrosatellit Belirteçlerin Yükseltgenme Sonuçları.....	32
4.2.1 Agaroz Jel Görüntüleme Sonuçları.....	32
4.3 İstatistik ve Fragment Analiz Bulguları.....	36
4.3.1 Özgün allel bulguları.....	46
4.3.2 Null Allel Frekansı Bulguları.....	48
4.3.3 Dışlama Gücü Ve Birleştirilmiş Dışlama Gücü Değerleri.....	49
4.4 Babalık Tahmini Sonuçları.....	53
<b>5.TARTIŞMA VE SONUÇ .....</b>	<b>58</b>
<b>6.KAYNAKLAR.....</b>	<b>65</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ .....</b>	<b>71</b>



## ÇİZELGE DİZİNİ

### Sayfa

Çizelge 3.1: Çalışılan keçi ırkları, ırkların kısaltılmış isimleri ve projede ırklara ait kullanılan birey sayıları, örnekleme yapıldığı iller .....	13
Çizelge 3.2: Kullanılan Cihazlar .....	14
Çizelge 3.3: Çalışmada kullanılan kimyasallar ve çözeltiler.....	15
Çizelge 3.4: Çalışmada kullanılan 9 mikrosatellit bölgesine ait bilgiler .....	18
Çizelge 3.5: Mikrosatellit bölgelerin yükselgenmesinde kullanılan primerler .....	18
Çizelge 3.7: Mikrosatellit belirteçlerin yükseltgenme koşulları.....	21
Çizelge 3.8: Genotiplere göre babalık indeksi hesaplanması formülleri.....	29
Çizelge 4.1: Ankara, Honamlı, Kıl ve Kilis keçisi ırklarına bireylerin 9 mikrosatellit lokusu verilerinden yararlanılarak hesaplanan bazı istatistikler. ....	45
Çizelge 4.2: Özgün Alleller ve Frekansı .....	47
Çizelge 4.3: Null alleller ( Etkisi olmayan, Etkisiz allel).....	48
Çizelge 4.4: Ankara, Honamlı, Kıl ve Kilis Keçisi ırklarına ait, yavru, anne ve baba adaylarına ait 9 mikrosatellit lokusu verilerinden yararlanılarak hesaplanan dışlama gücü ve birleştirilmiş dışlama gücü değerleri .....	50
Çizelge 4.5: Ankara Keçisi ırkına ait sürülerden toplanan işletmelerden rastgele seçilen yavrularda 9 farklı mikrosatellit bölgesine göre babalık testi sonuçları ( <sup>1</sup> anne genotipinin bilinmediği durumda; <sup>2</sup> anne genotipinin bilindiği durumda).....	54
Çizelge 4.6: Honamlı Keçisi ırkına ait sürülerden toplanan işletmelerden rastgele seçilen yavrularda 9 farklı mikrosatellit bölgesine göre babalık testi sonuçları ( <sup>1</sup> anne genotipinin bilinmediği durumda; <sup>2</sup> anne genotipinin bilindiği durumda).....	55
Çizelge 4.7: Kıl Keçisi ırkına ait sürülerden toplanan işletmelerden rastgele seçilen yavrularda 9 farklı mikrosatellit bölgesine göre babalık testi sonuçları ( <sup>1</sup> anne genotipinin bilinmediği durumda; <sup>2</sup> anne genotipinin bilindiği durumda).....	56
Çizelge 4.8: Kilis Keçisi ırkına ait sürülerden toplanan işletmelerden rastgele seçilen yavrularda 9 farklı mikrosatellit bölgesine göre babalık testi sonuçları ( <sup>1</sup> anne genotipinin bilinmediği durumda; <sup>2</sup> anne genotipinin bilindiği durumda).....	57

## ŞEKİL DİZİNİ

### Sayfa

Şekil 2.1: Genel yetiştirme planı ıslah modeli (Anonim 2018b).....	5
Şekil 2.2: Mikrosatellit DNA görseli ( Saeed ve ark.2016).....	10
Şekil 2.3: Mikrosatellit Tekniğinin Uygulama Basamakları.....	11
Şekil 3.1: Çalışma Kapsamındaki Yerli Keçi Irkları(T.C. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı).....	12
Şekil 3.2: PZR basamakları.....	19
Şekil 4.1: Kilis Keçisi ırklarına ait bazı bireylerin DNA izolasyonu sonrasında agaroz jel (%0.6) üzerinde gözlemlenen DNA bantları.....	30
Şekil 4.2: Honamlı Keçisi ırklarına ait bazı bireylerin DNA izolasyonu sonrasında agaroz jel (%0.6) üzerinde gözlemlenen DNA bantları.....	30
Şekil 4.3: Ankara ırkına ait bazı bireylerin DNA izolasyonu sonrasında agaroz jel (%0.6) üzerinde gözlemlenen DNA bantları.....	31
Şekil 4.4: Kıl ırkına ait bazı bireylerin DNA izolasyonu sonrasında agaroz jel (%0.6) üzerinde gözlemlenen DNA bantları.....	31
Şekil 4.5: SRCRSP05 mikrosatellit belirtecinin PZR ile yükseltgenmesi sonucu elektroforez görüntüsü.....	32
Şekil 4.6: INRA0023 mikrosatellit belirtecinin PZR ile yükseltgenmesi sonucu elektroforez görüntüsü.....	33
Şekil 4.7: ILSTS019 mikrosatellit belirtecinin PZR ile yükseltgenmesi sonucu elektroforez görüntüsü.....	33
Şekil 4.8: BM1329 mikrosatellit belirtecinin PZR ile yükseltgenmesi sonucu elektroforez görüntüsü.....	33
Şekil 4.9: CSRD247 mikrosatellit belirtecinin PZR ile yükseltgenmesi sonucu elektroforez görüntüsü.....	34
Şekil 4.10: ILSTS087 mikrosatellit belirtecinin PZR ile yükseltgenmesi sonucu elektroforez görüntüsü.....	34
Şekil 4.11: INRA006 mikrosatellit belirtecinin PZR ile yükseltgenmesi sonucu elektroforez görüntüsü.....	35
Şekil 4.12: INRABERN172 mikrosatellit belirtecinin PZR ile yükseltgenmesi sonucu elektroforez görüntüsü.....	35

Şekil 4.13: INRA132 mikrosatellit belirtecinin PZR ile yükseltgenmesi sonucu elektroforez görüntüsü.....	36
Şekil 4.14: CSR0247 ve ILSTS87 belirteçlerinin fragment analizi sonrası allel uzunluk görüntüsü.....	36
Şekil 4.15: INRA132 ve INRA23 belirteçlerinin fragment analizi sonrası allel uzunluk görüntüsü.....	37
Şekil 4.16: SRCRSP05 belirteçinin fragment analizi sonrası allel uzunluk görüntüsü.....	37
Şekil 4.17: ILSTS019 belirtecinin fragment analizi sonrası allel uzunluk görüntüsü.....	37
Şekil 4.18: INRABERN172 belirtecinin fragment analizi sonrası allel uzunluk görüntüsü..	38
Şekil 4.19: BM1329 belirtecinin fragment analizi sonrası allel uzunluk görüntüsü.....	38
Şekil 4.20: INRA006 belirtecinin fragment analizi sonrası allel uzunluk görüntüsü.....	39
Şekil 4.21: Çalışılan tüm popülasyonlarda mikrosatellit lokuslarının allel frekansları.....	40
Şekil 4.22: CSR0247 mikrosatellit lokusunun çalışılan ırklar bazında allel frekansı dağılımı.....	41
Şekil 4.23: ILSTS087 mikrosatellit lokusunun çalışılan ırklar bazında allel frekansı dağılımı.....	41
Şekil 4.24: INRA006 mikrosatellit lokusunun çalışılan ırklar bazında allel frekansı dağılımı	42
Şekil 4.25: SRCRSP05 mikrosatellit lokusunun çalışılan ırklar bazında allel frekansı dağılımı.....	42
Şekil 4.26: INRA23 mikrosatellit lokusunun çalışılan ırklar bazında allel frekansı dağılımı	43
Şekil 4.27: INRA132 mikrosatellit lokusunun çalışılan ırklar bazında allel frekansı dağılımı	43
Şekil 4.28: INRABERN172 mikrosatellit lokusunun çalışılan ırklar bazında allel frekansı dağılımı.....	44
Şekil 4.29 BM1329 mikrosatellit lokusunun çalışılan ırklar bazında allel frekansı dağılımı	44
Şekil 4.30: ILSTS019 mikrosatellit lokusunun çalışılan ırklar bazında allel frekansı dağılımı.....	45
Şekil 4.31: Tüm Bireyler Ve 9 Mikrosatellit Lokus İçin Hesaplanan PE1 Babalığı Dışlama Olasılıkları.....	51
Şekil 4.32: Tüm Bireyler Ve 9 Mikrosatellit Lokus İçin Hesaplanan PE2 Babalığı Dışlama Olasılıkları.....	51
Şekil 4.33: Tüm Bireyler Ve 9 Mikrosatellit Lokus İçin Hesaplanan PE3 Babalığı Dışlama Olasılıkları.....	52
Şekil 4.34: Tüm Bireyler Ve 9 Mikrosatellit Lokus İçin Kombine Hesaplanan Babalığı Dışlama Olasılıkları.....	52

## SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ

AFLP	: Çoğaltılabilen Parça Uzunluğu Polimorfizmi (Amplified Fragment Length Polymorphism)
ABI 310	: DNA Sekans Analizatörü
bp	: Baz çifti (bç)
C <sup>0</sup>	: Santigrad derece
CO <sub>2</sub>	: Karbondioksit
DNA	: Deoksiribo nükleik asit (Deoxyribonucleic acid)
dNTP	: Deoksinükleosid Trifosfat((Deoxynucleoside triphosphate)
DG	: Dışlama gücü
EDTA	: Etilendiamintetraasetik asit(Ethylenediaminetetraacetic acid)
FAO	: Gıda Tarım Örgütü
H <sub>O</sub>	: Gözlenen ortalama heterozigotluk
H <sub>E</sub>	: Beklenen ortalama heterozigotluk
ISAG	: Uluslararası Hayvan Genetiği Derneği
KHCO <sub>3</sub>	: Potasyum bi karbonat
ml	: Mililitre
mM	: Milimolar
MgCl <sub>2</sub>	: Magnezyum Klorür
NH <sub>4</sub> Cl	: Amonyum klorid
NaCl	: Sodyum Klorür
ng	: nanogram
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Polymerase Chain Reaction)
PIC	: Polimorfik Bilgi İçeriği
rpm	: Bir dakikadaki rotor devir sayısı (Rotor per minute)
SDS	: Sodyumdedoksisülfat
STR	: Ardışık basit tekrarlar
SSCP	: Tek Zincir Konformasyon Polimorfizmi Tekniği (Single Strand Conformation Polymorphism)
TAGEM	: Tarımsal Araştırma Genel Müdürlüğü
Taq	: Restriksiyon Enzimi
TBE	: Tris/ Borik asit/ EDTA Tamponu
TE	: Tris EDTA tamponu

UV : Ultraviyole (Ultraviolet)  
 $\mu\text{l}$  : Mikrolitre  
 $\mu\text{g}$  : Mikrogram

## DENKLEMLER DİZİNİ

### Sayfa

Denklem 3.1: Allellik Frekans .....	24
Denklem 3.2: Ortalama Allel Sayısı.....	24
Denklem 3.3: Polimorfizm Bilgi İçeriği (PIC; Polymorphic Information Content) (Laborda ve ark. 2005).....	26
Denklem 3.4: Karşılaşma (uyuşma) olasılığı .....	27
Denklem 3.5: Ayrımlama gücü (Power of Discrimination=PD) (Özkan 2005).....	27
Denklem 3.6: Baba olma olasılığı (POP) .....	28

## ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Son yıllarda birçok alanda olduğu gibi hayvancılık alanında da dünyadaki teknolojik gelişimlerin daha yakından takip edilmesi bu alana desteklerin artmasına sebep olmuştur. Özellikle klasik ıslahda uzun yıllar alacak verim artışlarının modern teknolojiler ile desteklenmesi yönünde eğilimler artmakta ve bu durum da söz sahibi otoritelerin bu alana desteklerine yön vermektedir. Bu bağlamda Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı küçükbaş hayvan yetiştiriciliğinde verim artışının sağlanması amacıyla yürütülen çalışmalara ivme kazandırmak amacıyla moleküler tekniklerin kullanılması ile yerli keçi ırklarında ebeveyn tayini sağlayacak mikrosatellit belirteçlerin tespitine yönelik bir projeyi desteklemiştir. Bu tez çalışması desteklenen bu projenin bir kısmını içermektedir.

Tez çalışmalarım ve öğrenim sürecimde her daim yanımda olan desteğini esirgemeyen tez danışmanım, Bölüm Başkanım değerli hocam Prof. Dr. Sezen ARAT'a, laboratuvar ve analiz sürecinde arkadaşça yaklaşımı ve aydınlatıcı bilgileri ile yoluma ışık tutan sevgili hocalarım; Doç.Dr.Emel ÖZKAN ÜNAL ve Doç.Dr.Fulya ÖZDİL' e, çalışma arkadaşım Nimet Gümüş'e tez çalışmama katkılarından dolayı teşekkür ederim.

Hep yanımda olan kıymetli annem ve babam Mehtap - Özkan GÜZEY' e, kardeşten öte olan bitanecik ablam Özge KARTAL'a ve bilgisayar teknik desteği için değerli eşi Mehmet KARTAL'a, yüksek lisans sürecimde de yol arkadaşım olan değerli eşim Kemal SÜRME'ne, tez yazım sürecimde eşlik eden 2 ay sonra gelecek oğlum'a hayatımda kattıkları ve yanımda oldukları için teşekkür ederim.

EZGİ GÜZEY SÜRME'N

Mayıs, 2018

## 1.GİRİŞ

Beslenme insanlığın temel ihtiyacı olup, bu ihtiyacımızın önemli bir kısmını hayvansal ürünler karşılamaktadır. Çiftlik hayvanlarının et ve sütlerinin yanı sıra deri, gübre, yapağı gibi hayvansal çıktılarında da yararlanılmaktadır. Hayvancılık sektörü ülkemizin ekonomisinde tarımın bir alt kolu olarak büyük rol oynamaktadır. Bu nedenle hayvancılığın geliştirilmesi ve yerli ırklarımızın korunması için çeşitli çalışmalar yürütülmektedir. Yerli ırklar genetik çeşitliliğin devamını sağlamakta ve gelecekteki temel genetik materyali oluşturmaktadır. Aynı zamanda melez tiplerde oluşabilecek duyarlılıklara ( hastalık, yaşama gücü vb.) karşı direncin arttırılmasında kullanılabilirler (Soysal ve ark. 2003). Geniş varyasyona sahip, hastalıklara dirençli, coğrafi koşullara uyum sağlanmış yerli genotiplerin ıslahı sürdürülebilir hayvancılığın temelini oluşturur.

Türkiye’de bugüne kadar yapılan genetik ıslah çalışmalarında çoğunlukla dışarıdan alınan yüksek verimli ırklar ile yerli ırkların melezlenerek geliştirilmesi amaçlanmıştır. Saf yetiştirme ve seleksiyon yoluyla genetik ıslah yöntemleri de denenmiş ancak ülke düzeyinde yetiştiricilere yansıyacak seviyelere ulaşamamıştır. Doğum ya da aşım sırasında meydana gelebilecek birey kimliklendirme hataları ile kayıt yetersizlikleri tüm kazanımların yok olmasına neden olabilmektedir. Özellikle çoğul doğum yapan ve sürüler halinde yetiştirilen çiftlik hayvanlarında, ebeveyn takibi oldukça zordur ve soy kütüğüne hatalı veriler kaydedilebilmektedir (Koşum 1995). Bu durum özellikle küçükbaş hayvan ırklarının seleksiyon ile genetik ıslahında karşılaşılan en önemli sorunun doğru pedigri kayıtlarının tutulmaması olduğunu göstermektedir. Son yıllarda küçükbaş hayvan yetiştiriciliğindeki en önemli adımlar; yetiştirici birliklerinin kurulması ve kamu kaynaklarının önemli bir kısmının yerli ırklarımızın korunması ve ıslahı ile ilgili çalışmalara yönlendirilmesi olmuştur. “Halk Elinde Küçükbaş Hayvan Islahı Ülkesel Projesi”, Hayvancılığın Desteklenmesi Hakkında 2005/8503 sayılı Bakanlar Kurulu Kararı ile 2005 yılında başlatılmıştır. Bu proje saf yetiştirme ve seleksiyon yolu ile küçükbaş hayvan ıslahının yetiştirici ile birlikte yapılmasını hedeflemesi bakımından çok önemli bir hamle olarak değerlendirilebilir. Ancak projenin başarısını etkileyebilecek en önemli kriterin doğru pedigri kayıtlarının tutulması olduğu ve bu konuda zorlukların aşılamadığı bildirilmektedir. Bununla birlikte dünyada doğal aşım uygulamalarındaki bu sorun moleküler genetik tekniklerle aşılmıştır ve ülkemizde de aynı yöntemin kullanılması zorunludur.



Günümüzde genotiplerin belirlenmesi, ırklar içi ve ırklar arası benzerlik ve farklılıkların hesaplanması, bağlantı (linkage) analizleri, moleküler ıslah, ebeveyn tayin edilmesi (paternity testing) çalışmalarında kullanılan moleküler genetik tekniklerden en yaygın olanı “mikrosatellit DNA polimorfizmi” tekniğidir (Ün ve ark. 2000, Calvo ve ark. 2006, Agha ve ark. 2008, Ağaoğlu Korkmaz ve ark. 2010, Özşensoy ve Kurar 2012). Genomda 2-6 bç (baz çifti) uzunluğunda, 6-30 arasında değişen tekrar sayısına sahip DNA dizileri olan mikrosatellitler yüksek polimorfizm göstermesi nedeniyle genetik çalışmalarda tercih sebebidir. Farklı ırklarla yürütülen ebeveyn tayin ile ilgili çalışmalarda keçilerde de mikrosatellitlerin yüksek doğruluk oranları verdiği belirtilmektedir (Luikart ve ark.1999, Luna-González ve ark. 2012)

Bu tez çalışmasında keçilerde ebeveyn tayininde kullanılması Uluslararası Hayvan Genetiği Derneği (ISAG- International Society of Animal Genetics) ve bilimsel araştırmalar tarafından önerilen 9 farklı mikrosatellit bölgesinin yerli keçi ırklarımızda kullanılabilirliğinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla seçilen mikrosatellit bölgelerinden elde edilen veriler çeşitli istatistik metodlara göre analiz edilmiş (heterozigotluk, dışlama gücü, ayırlama gücü, polimorfik bilgi içeriği, babalık oranı, eşleşme olasılığı gibi ölçütlerle), serbest aşımın uygulandığı sürülerden alınan örneklerde aday babalar arasından doğru babanın tahmin edilmesinde bu mikrosatellitlerin ne oranda doğru sonuç verdikleri araştırılmıştır.

## 2. KURAMSAL TEMELLER

Keçi, insanlar tarafından evcilleştirilen ve dünyada en yaygın yetiştiriciliği yapılan türlerden biridir. Keçi yetiştiriciliği gelişmekte olan ülkelerin ekonomisinde önemli rol oynamaktadır (Araújo ve ark. 2010). Uzun yıllar et, süt, yapağı gibi değerleri ile ekonomiye katkı sağlayan (Sahlu ve Goetsch 2005), kırsal nüfus için önemli ve güvenilir bir gelir kaynağı olan keçiler; özellikle insanlar ve diğer hayvanlar tarafından değerlendirilemeyen düşük kaliteli mera alanlarını, makilik, çalılık ve fundalık alanları değerlendirebilen, bakım ve beslenmeleri kolay, kanaatkâr hayvanlardır.

Küresel iklim değişikliklerinin olumsuz etkilerine karşı diğer çiftlik hayvanlarının tersine kendilerine avantaj sağlayan fizyolojik özellikleri sebebiyle son yıllarda keçi yetiştiriciliğinin dünyadaki popülaritesi artmaktadır (FAO 2014). Dünyanın birçok yerinde yetiştiriciliği yapılan bu tür çoğunluklar arazi yapısı, iklim ve bitki örtüsünün uygunluğu sebebiyle Akdeniz ülkelerinde ve ılıman iklim kuşağındaki Orta Doğu ülkelerinde daha yaygındır. Türkiye’de de keçi yetiştiriciliği özellikle de yoksul ailelerin hayvansal protein ihtiyaçlarının karşılanmasında önemli bir kaynak olarak oldukça önemlidir (Günlü ve Alaşahan 2010). Türkiye’de keçi yetiştiriciliğinin karlı ve verimli bir yapıya kavuşturulması için yapılması gerekenlerin başında etkili bir ıslah ve yetiştirme programının uygulamaya konulması gelmektedir.

Koyun yetiştiriciliğinde olduğu gibi keçide de genetik ıslah çalışmalarında iki yöntem tercih edilmektedir. Bunlardan birincisi; yerli ve yabancı ırklar kullanılarak yetiştiriciliğin yapılacağı bölgenin şartlarına uygun yeni genotiplerin geliştirilmesi, ikincisi ise yerli ırkların saf yetiştirilmesi ve seleksiyon ile verimli ırkların geliştirilmesidir (Kaymakçı 2006).

Ülkemizde keçi yetiştiriciliğinde genetik yapının ve çevre şartlarının geliştirilmesi amacıyla birçok çalışma yapılmış ancak yerli ırklarımızın saf olarak yetiştirilmesi yolu ile yapılan ıslah çalışmaları çoğunlukla yetiştiricilere mal edilmesi bakımından hep sınırlı kalmıştır. Öngörülen; yerli ırkların korunması ve geliştirilmesinin oldukça önem arz ettiğidir. Yerli ırkların yayıldıkları bölgeye adapte olmuş olmaları, yeni geliştirilecek ırklar için genetik kaynak olmaları ve gelecekte ortaya çıkabilecek çeşitli çevresel olumsuzluklara karşı koyabilecek en uygun ırk olabileceği ihtimali nedeniyle önem kazanmaktadır (Soysal, 2009). Söz konusu yerli ırkların genetik yapısının korunması yeni geliştirilecek ırklar için olduğu kadar bölgesel yetiştiricilik için de oldukça önemlidir. Melezleme veya seleksiyon

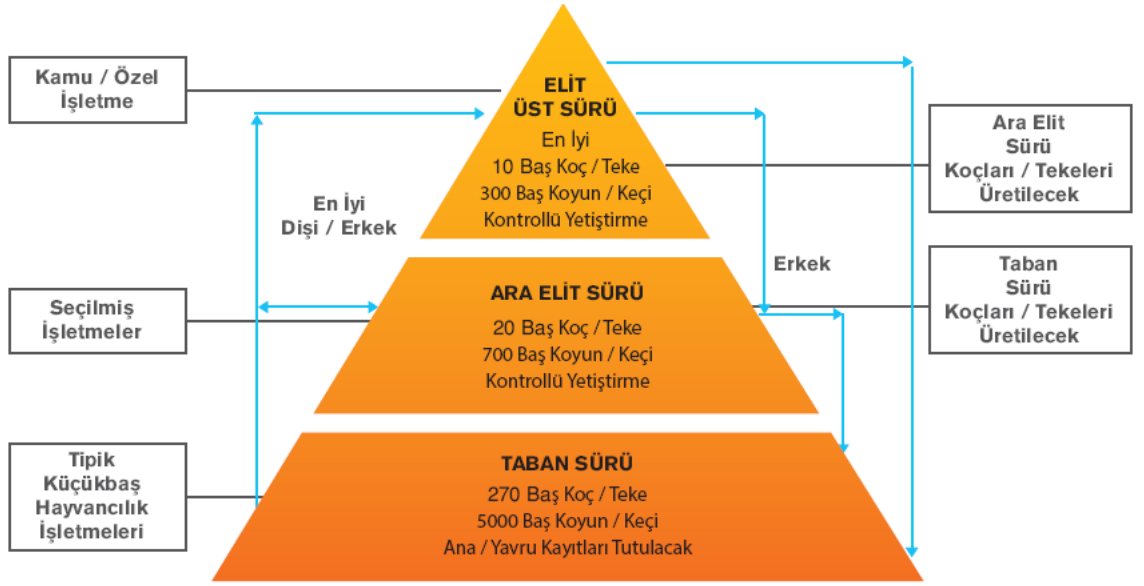
çalışmalarında geliştirilen ırklarda çeşitli adaptasyon sorunları, verim kaybı, hastalık direnci gibi birçok özellik bakımından kayıp verileceği öngörülmüş ve ıslah stratejileri ile yerli ırkları korumaya yönelik çalışmaların birlikte ele alınmasını öngören destekler arttırılmaya başlamıştır.

## **2.1 Keçi Yetiştiriciliği Alanında Gelişmeler Ve Halk Elinde Islah Projesi**

Türkiye’de özellikle son yıllarda yerli keçi ırklarının korunması ve ıslahına yönelik pek çok çalışma başlatılmıştır. Bu projelerden en önemlilerinden birisi hem koruma ve hem de ırkın geliştirilmesini amaçlaması bakımından ‘Halk Elinde Hayvan Islahı Ülkesel Projesi’ dir. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü’nün Koordinatörlüğünde Hayvan Genetik Kaynaklarının Geliştirilmesi kapsamında 2005 yılında 2 ırk ile 2 ilde başlatılan ve 2006 yılından itibaren 12 ırk veya genotiple 13 ilde uygulanan “Halk Elinde Hayvan Islahı Ülkesel Projesi” nin ilk 5 yıllık dönemi 2010 yılında sona ermiştir.

Projenin amacı; yerli koyun ve keçilerimizin et, süt, kıl-tiftik ve döl verimlerinin artırılması, küçükbaş hayvancılıkta nitelikli damızlık ihtiyacının karşılanması, damızlıkçı işletmelerin kurulması, birlik ve yetiştiricilere hayvan ıslahı uygulamalarının ve organizasyonun öğretilmesi, yetiştiricilerinin ekonomik seviyelerinin yükseltilerek ülke ekonomisine artı değer sağlanması olarak belirtilmektedir (Anonim 2018a). Proje kapsamında yapılan destekleme ödemeleri kapsamında yetiştirici aktif olarak projede görev almakta, veri toplamakta ve ıslah uygulamalarına doğrudan katkı sağlamaktadır (Ankaralı ve ark. 2009).

Projesi kapsamında oluşturulan sürülerde açık çekirdek ve tabakalı yetiştirme sistemini içine alan bir yaklaşım biçimi kullanılmaktadır. Buna göre her bir ırk için ayrı ayrı elit üst sürü (çekirdek), ara elit sürü ve alt sürülerin (taban) oluşumunun sağlanması planlanmıştır (Şekil 2.1). Bu projede günümüze kadar bu ırklardan bazılarında taban sürü, ara elit sürülerin ve elit sürülerin oluşumları gerçekleştirilmiştir.



Şekil 2.1: Genel yetiştirme planı ıslah modeli (Anonim 2018b)

## **2.2 Hayvancılıkta Ebeveyn Tayini Ve Önemi**

Damızlık niteliğindeki yüksek verimli, hastalıklara dirençli ve uyum kabiliyeti yüksek hayvanların elde edilmesi seleksiyon çalışmalarının en önemli amacıdır. Seleksiyon çalışmalarının temel dayanağını ise verim denetimlerine dayalı fenotipik tanımlamalar, soy kütüğü (Pedigri) bilgileri ve form özellikleri oluşturmaktadır. Bunun yanında, moleküler genetik alanında yaşanan çarpıcı gelişmeler sonucunda son yıllarda genomik tanımlama ve buna dayalı genomik seleksiyon uygulamaları da devreye girmiştir. Genomik seleksiyona taban oluşturacak genomik tanımlamalar anlamında da fenotipik tanımlamaya yönelik verim denetimlerine olan gereksinim kaçınılmazdır. İslah hedefine yönelik olarak gerçekleştirilecek verim denetimlerinin belirli zaman aralıkları ile hassas ölçümlerle gerçekleştirilip kaydedilmesi gerekmektedir. Bunun yanında soy kütüğü kayıtlarının varlığı ve doğruluğu da oldukça önemlidir.

Genetik belirteçler hayvan genotiplendirilmesinde, pedigriyi yetiştiriciliğe yardımcı olan en güçlü araçlardır. Genetik çeşitliliğin detaylı bir şekilde analiz edilmesini ve değerlendirilmesini sağlayan bir lokusun allelik varyasyonu hakkında bilgi sağlar. Hem ırk içi hem de ırklar arası çeşitlilik parametreleri moleküler genetik işaretleyiciler kullanılarak belirlemeye yardımcı olur (Sunnuck 2000).

## **2.3 Ebeveyn Tayininde Kullanılan Yöntemler**

### **2.3.1 Babalık testleri**

Hayvan ıslahında, hayvanların damızlık değerlerinin doğru tahmin edilebilmesi amacıyla soy kütüğü oluşturulmasında ebeveyn bilgilerinin doğruluğu en önemli olgudur. Ebeveynlerin doğru tespit edilebilmesi doğru hayvanın seleksiyonunda kilit noktadır. Özellikle sürüler halinde bir arada yetiştirilen; koyun ve keçi gibi çoğuz doğum yapan çiftlik hayvanlarında, kontrollü yetiştiriciliği sağlamak için en yaygın kullanılan yöntem olan elde aşım her zaman mümkün olmamaktadır. Bu durum, çeşitli sorunları da beraberinde getirmektedir. Serbest aşım uygulamalarında hatta kızgınlık senkronizasyonunun ve yapay tohumlamanın uygulanması durumunda bile yavrunun ebeveyn tayininde bir takım sıkıntılar

ortaya çıkmakta ve yavrunun ebeveyn bilgileri pedigri kayıtlarına yanlış olarak işlenebilmektedir.

Babalık testlerinde amaç; kontrolsüz çiftleşmenin gerçekleştiği populasyonlarda, yabancı populasyonlarda ve yanlış pedigri kayıtları tutulan işletmelerde ebeveynleri bilinmeyen canlıların biyolojik babasını belirlemektir. Baba ve yavrunun genetik yakınlığı incelenerek sonuca ulaşmak mümkündür.

Babalık testleri için 1960'lı yıllardan sonra Mendel kalıtımı gösteren kan grubu ve protein sistemleri keşfedilmiş ve ebeveyn tayini çalışmalarında kullanılmıştır. Daha sonraları konuyla ilgili olarak Uluslararası Hayvan Genetiği Derneği (ISAG) tarafından standartlar geliştirilmiştir. DNA teknolojisi ve moleküler biyolojideki hızlı gelişmeye paralel olarak daha ekonomik, kolay ve polimorfik olmalarından dolayı özellikle polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) temelli DNA markör sistemleri tercih edilmeye başlanmıştır. Özellikle son yıllarda seleksiyonda isabet derecesini artırmak amacıyla seçilecek bireylerin pedigri bilgilerinin doğruluğunu sınamak amacıyla babalık testlerinden oldukça yüksek düzeyde yararlanılmaktadır (Ün 2014).

Hayvan yetiştiriciliğinde ırklar içi ve ırklar arası farklılıklarının belirlenmesinde kullanılan ilk teknik moleküler işaretleme yöntemi olarak proteinlerin elektroforetik analizi çalışmalarıdır. 2000'li yıllara kadar moleküler genetik çalışmalar ilk etapta protein polimorfizmi tekniği kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Özşensoy ve Kurar 2012).

Yetiştiricilikte ebeveyn kontrollerinde kullanılan diğer bir yöntem ise; kan grupları yöntemi ile ebeveyn tayini idi. Bu yöntemde yavru ile ebeveynlerin kan tipleri uygunluğu bakımından incelenip ebeveynin doğru tespit edildiği kabul görmüştür (Baron ve ark. 2002, Visscher ve ark. 2002) Ancak, kan grupları ile ebeveyn testi şüphelilerin tespit edilmesi şeklinde değil uygun olmayanların dışlanması esasına dayanır. Ancak bu yöntemlerdeki hata payı %15-20 civarındadır. Kan grubu ve protein işaretleyicilerinin belli kromozomlar üzerinde yoğunlaşması, polimorfizm değerlerinin düşük çıkması, kan örneklerine gereksinim duyulması, iş yükünün ağır olması ve analizlerin uzun zaman alması gibi dezavantajları bulunmaktadır ( Cerit 2003).

Günümüzde moleküler teknikler ile çalışılan ve gelişen yöntemler artık yetiştiriciliğe de yansımaktadır. Populasyonlardaki genetik varyasyonların anlaşılması için DNA düzeyinde

analizlerin kullanılması, fenotipik yöntemlere göre daha çok bilgi içermektedir. Çünkü DNA sekansları insersiyon/delesyon, mutasyon, krossing over, gen transferleri vb sebeplerle polimorfizm hakkında daha gerçek bilgiler edinmemizi sağlamaktadır.

DNA markörları farklı genotiplere ait DNA'nın sekans farklılıklarını değişik şekillerde ortaya koyabilmektedir. Son yıllarda geliştirilen ve birçok avantaja sahip olan çeşitli markörlar mevcuttur. Günümüze kadar insanlarda ve hayvanlarda ebeveyni doğrulamak ve tayin etmek için farklı belirteçler denenmiş, ebeveyn tayinine yönelik birçok moleküler belirteç yöntemi kullanılmış ve geliştirilmiştir. Bu yöntemler arasında kan grubu antijenleri, DNA parmak izi (DFP), Restriksiyon Parça Uzunluğu Polimorfizmi (RFLP), Çoğaltılmış Parça Uzunluk Polimorfizmi (AFLP), tek nükleotid polimorfizmleri (SNP) ve Mikrosatellit Belirteçler yöntemleri sıralanabilir. Mikrosatellit belirteçler ebeveynlerden kromozomlarla geçen kısa ardışık tekrar dizilerin uzunluklarını ifade eder. Mikrosatellitler diğer belirteçlere göre daha yaygın kullanılmaktadır (Silver 1989, Mitra ve ark. 1999, Gerber ve ark. 2000, Thomsen ve ark. 2002, Jones ve Arden 2003).

### **2.3.2 Mikrosatellit belirteçler**

Mikrosatellit DNA lokusları; 2-6 nükleotid uzunlukta kısa, tekrarlanan DNA dizilerini ifade etmektedir (Butler 2005, Freeland 2005). Mikrosatellitler genellikle;

1. Kodominant özellikte olmaları nedeniyle babalık tespiti (paternitiy testing) çalışmalarında,
2. Populasyon genetiği araştırmalarında,
3. Rekombinasyon ve genetik haritalama çalışmalarında
4. Delesyon, duplikasyon araştırmalarında,
5. Yerli gen kaynaklarının korunması çalışmalarında

lokusa özgü olması ve genom içinde düzgün ve geniş yayılım göstermesi nedeniyle yaygın olarak kullanılmaktadır. Yüksek mutasyon oranı ve genom hakkında diğer moleküler belirteçlere göre daha fazla bilgi vermeleri yanında PZR'a dayalı bir teknik olmasından dolayı çok tercih edilen ve birçok türde kullanılan bir DNA belirteçidir (Ramamoorthi ve ark. 2009), Condit 1991). Mikrosatellit belirteçler, yaygın olarak 2 nükleotidli tekrarlardan [(CA)<sub>n</sub>]

oluşmakla birlikte farklı formlarda da (AC, AT, AAC, AAT, CCG vb) bulunabilmektedir (Ellegren ve ark. 1997, Orti ve ark. 1997, Bruford ve ark. 2003).

Mikrosatellit (STR) markörleri, polimeraz zincir reaksiyonu ile yapılan genetik çalışmalarda en çok tercih edilen markör sistemini oluşturmaktadır (Weber ve May 1989, Liu 1998). Mikrosatellitlerin kullanım kolaylığı ve elde edilen sonuçların doğruluk derecesiyle de tercih sebebi belirteçlerdir. (Lopez-Herráez ve ark. 2005). Mikrosatellitler, DNA'nın diğer nötr bölgelerine kıyasla daha yüksek bir mutasyon oranına sahiptir. DNA'nın replikasyonu esnasında DNA komplementlerinin yanlış eşleşmesi yüksek mutasyon durumunu açıklar.

Mikrosatellit DNA polimorfizm tekniği, 1997 yılından beri Amerika Federal Soruşturma Bürosu (Federal Bureau of Investigation in the United States) tarafından adli davada suçluların belirlenmesi amacıyla insanlık yararına kullanılmak için kabul görmüştür. İnsanlarda ebeveynlerin ve suçluların belirlenmesi çalışmalarında 13 farklı mikrosatellit bölgesinin kullanılabileceği CODIS (FBI Combined DNA Index System Database) tarafından kabul edilmiştir. Sığırlarda ebeveyn tayininde ise 9 mikrosatellit bölgesinin kullanılabileceği Uluslar Arası Hayvan genetiği Topluluğu (ISAG/ International Society of Animal Genetics) ve Uluslararası Hayvan Kayıt Komitesi (ICAR- International Committee for Animal Recording) tarafından kabul edilmektedir.

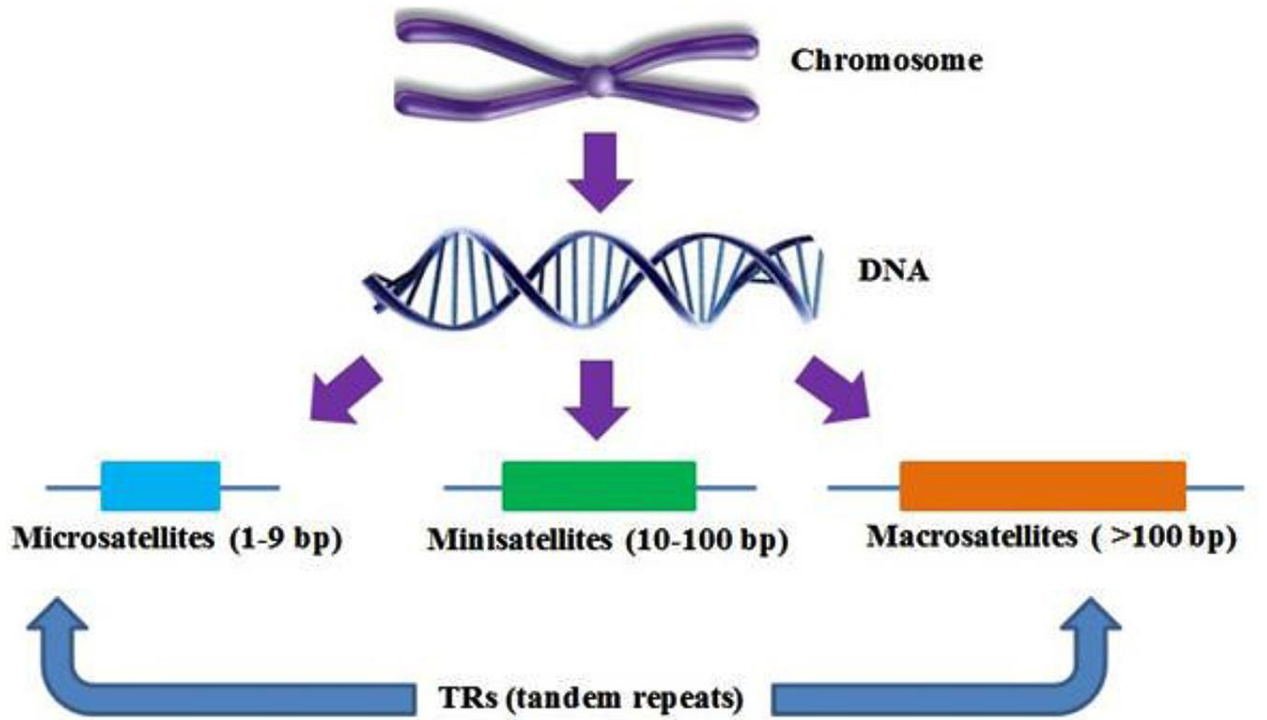
İnsan, sığır, koyun ve keçiler için çok sayıda mikrosatellit markör kullanılmaktadır (Fadiel ve ark. 2005). Koyun genomunda yaklaşık 1400 (Maddox ve Cockett 2007), sığır genomunda 2402 mikrosatellit markör haritalanmıştır (Anonim 2018c). Keçi genom haritasında (INRA veri tabanında) 423 mikrosatellit lokus bulunduğu belirtilmiştir (Anonim 2018d).

Günümüzde keçilerde genom çalışmaları diğer çiftlik hayvanlarında olduğu kadar yaygın olmasa da; ebeveyn doğrulama paneli geliştirmek için yeteri kadar mikrosatellit lokus mevcuttur. Bugüne kadar çeşitli hayvan türlerinde mikrosatellit markörlerle doğru sonuca en düşük maliyet ile ulaşılabilecek panel geliştirme çalışmaları yapılmış ve halen bu çalışmalar devam etmektedir.

Yapılan çalışmalar incelendiğinde 2000'li yıllardan sonra keçilerde ebeveyn tayininde mikrosatellit DNA polimorfizm tekniğinin kullanımının yaygınlaşmaya başladığı görülmektedir. Yeni Zelanda da her yıl 8000 küçükbaşta ebeveyn testi yapılırken (Crawford ve ark. 2006), Fransa da bu sayının 2500 – 3000 olduğu bildirilmiştir (Amigues ve ark. 2003). Son yıllarda koyun ve keçi yetiştiriciliğinde moleküler markörler bugüne kadar yapılan



çalışmaların sağladığı bilgi birikimi ve teknolojinin maliyetinin düşürülmesiyle daha yaygın olarak kullanılmaya başlamıştır (Dodds ve ark. 2007). Yapılan çalışmaların sonuçları incelendiğinde, çalışılacak mikrosatellit bölgelerinin öncelikle yerli keçi ırkları ebeveyn testinde kullanılabilirliğinin test edilmesi ve yerli ırklarımız için en uygun (dışlama gücü yüksek ve baba olma olasılığını %99,7'in üzerinde olmak) mikrosatellit bölgelerin seçilmesi gerektiği görülmektedir. Polimorfizm düzeyinin yüksek olduğu belirlenen lokuslar, istenen kriterleri de sağlıyorsa daha sonraki aşamalarda ilgili ırkların ebeveyn testi analizlerinde ve bireylerin tanımlanmasında kullanılabilir.



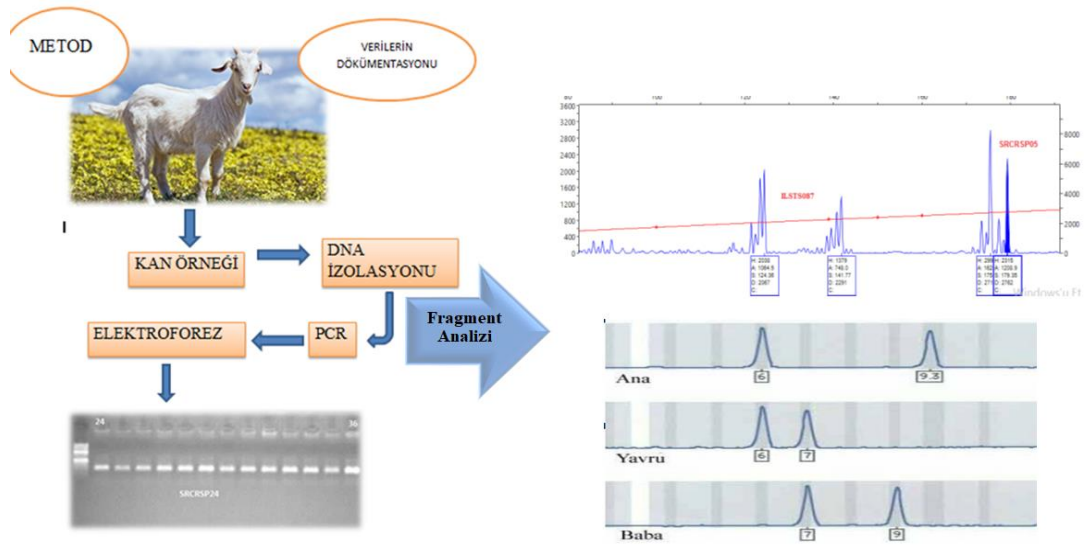
Şekil 2.2: Mikrosatellit DNA görseli ( Saeed ve ark.2016)

### 2.3.3 Mikrosatellit tekniğinin uygulama basamakları

Mikrosatellitler hayvanlarda popülasyon genetiği çalışmalarında ve pedigrî çalışmalarında (Koskinen ve Bredbacka 1999, 2000) yaygın bir biçimde kullanım alanı bulmuştur. Mikrosatellitlerin parental identifikasyonu ve akrabalık ilişkilerini saptamada kullanılabilmesi için allel frekanslarının belirlenmesi ve üzerinde çalışılan lokusların istatistiksel parametrelerinin hesaplanması gerekir.

Mikrosatellitler aracılığıyla genotipin belirlenmesi 4 basamaktan oluşmaktadır. Sağlıklı ve güvenilir veri elde edilebilmesi bakımından her basamak üzerinde titizlikle durulması gerekmektedir. Bu basamaklar Şekil 2.3’de gösterildiği şekilde sıralanabilir (Ün ve ark. 2000).

1. DNA İzolasyonu
2. PCR
3. Elektroforez
4. Fragment ve İstatistik Analizler



Şekil 2.3: Mikrosatellit Tekniğinin Uygulama Basamakları

### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1 Materyal

##### 3.1.1 Biyolojik Materyal

Bu çalışmanın biyolojik materyalini Türkiye'nin farklı coğrafi bölgelerinin çevre koşullarına uyum sağlamış, farklı verim özellikleri açısından yetiştiriciliği yapılan 4 yerli keçi ırkına (Kıl, Ankara, Kilis, Honamlı) ait bireyler oluşturmuştur (Şekil 3.1).



**ANKARA KEÇİSİ**



**HONAMLI KEÇİSİ**



**KIL KEÇİSİ**



**KİLİS KEÇİSİ**

**Şekil 3.1:** Çalışma Kapsamındaki Yerli Keçi Irkları (T.C. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı)

Tez çalışmasında kullanılan Kıl keçisine ait bireylerin kan örnekleri Antalya, Burdur, ve Denizli illerindeki halk elinde ıslah projesi kapsamında seçilmiş sürülerden, Honamlı keçisine bireylerin kan örnekleri Konya, Burdur, Antalya ilindeki halk elinde ıslah projesi kapsamında seçilmiş sürülerden, Ankara keçisi ırkına ait bireylerin kan örnekleri Ankara ili Beypazarı ve Güdül ilçelerine ait köylerden, ve Kilis keçisi ırkına ait bireylerin kan örnekleri ise Gaziantep ili Kilis ilçesindeki halk elinde Islah projesi kapsamında çalışılan seçilmiş sürülerden (Çizelge 3.1) alınmıştır.

Bu ırklar “Halk Elinde Küçükbaş Hayvan Islahı Ülkesel Projesi” kapsamında çalışılmakta olan yerli saf ırklarının bazılarıdır. Bu ırklara ait her bir taban sürü, ara elit sürü ve elit sürüden seçilmiş olan yavrular, bu yavruların anneleri ve aday babadan (tekesden) kan örneği (10 mlK<sub>3</sub>EDTA’lı tüplere) alınmış ve DNA izolasyonuna kadar -20 °C’de muhafaza edilmiştir.

**Çizelge 3.1:** Çalışılan keçi ırkları, ırkların kısaltılmış isimleri ve projede ırklara ait kullanılan birey sayıları, örneklemenin yapıldığı iller

IRK	Kısaltma	Birey Sayısı (n)			Örneklemenin yapıldığı Yer
		Anne	Yavru	Koç	
Ankara Keçisi	ANK	40	38	14	Ankara (Beypazarı, Güdül)
<b>TOPLAM</b>		92			
Kıl Keçisi	KIL	36	28	15	Antalya, Burdur
<b>TOPLAM</b>		79			
Honamlı Keçisi	HNM	60	57	44	Antalya, Burdur, Konya
<b>TOPLAM</b>		161			
Kilis Keçisi	KLS	30	30	11	Gaziantep / Kilis
<b>TOPLAM</b>		71			

### 3.1.2 Kullanılan cihaz ve ekipmanlar

Tez çalışmasında kullanılan cihazlar çizelge 3.2 de verilmiştir.

**Çizelge 3.2:** Kullanılan Cihazlar

<b>Cihaz</b>	<b>Model</b>
Buzdolabı +40C	Profilo, Vestel
Hassas Terazı	AND GF-600
Otoklav	Alp CL40M
Ph Metre	Jenco 6173
Soğutmalı Santrifüj (+4°C)	Hettich 320R
Mikrodalga Fırın	Beko
Vorteks	Biosan
Derin Dondurucu -80 C <sup>0</sup>	Hettich
Santrifüj	Hettich Universal 32R
Jel Görüntüleme Ve Analiz Sistemi	Vilber Lourmat, QUANTUM ST4
Çeker Ocak	Yener Çelik Lab.Buro.Mob.San.Tic.LTD
Etüv	Binder ED 53
Güç Kaynağı	Thermo EC
Otomatik Pipetler	Thermo
Dik Tip Derin Dondurucu(-86)	Thermo,702
PCR Thermal Cyclus Cihazı	Techne TC-5000, Bio-Rad,

### 3.1.3 Kullanılan kimyasallar

Çalışmada kullanılan kimyasal ve çözeltiler Çizelge 3.3 de verilmiştir.

**Çizelge 3.3:** Çalışmada kullanılan kimyasallar ve çözeltiler

<b><u>LYSIS BUFFER</u></b> 0,01M NaCl 1µM EDTA 0,01 M Tris (pH=8.0) % 0,10 SDS	<b><u>10X TBE</u></b> 121,14 g/mol Tris 61,83 g/mol Borik Asit , 292,25 g/mol EDTA-Na2	<b><u>TUZ (SALT)/EDTA BUFFER</u></b> 75 mM NaCl 25 mM EDTA (PH :8.0)
<b><u>TE (pH=7.5)</u></b> 10 mM Tris-HCl 1 mM EDTA	<b><u>PROTEİNAZ K</u></b> 100 mg Proteinaz K 10 ml dH2O ,(10 mg/ml)	<b><u>10X LYSIS BUFFER</u></b> _770 mM NH4Cl 46 mM KHCO3 10 mM EDTA (dH20 ile toplam hacim 1 lt olacak şekilde)
<b><u>SDS</u></b> 10 gr SDS 100 ml dH2O	<b><u>FENOL</u></b> 1 birey için 3 ml.	<b><u>FENOL:KLOROFORM:İSOAMİL</u></b> <b><u>ALKOL (25:24:1)</u></b> 1 birey için 3 ml.

## 3.2 Yöntem

### 3.2.1 Genomik DNA izolasyonu

PZR çalışmalarında kullanılmak üzere; DNA izolasyonu yapılacak olan kan örneklerinin toplanmasında kanın pıhtılaşmasını önleme amacı ile EDTA'lı tüpler kullanılır. Heparin, PZR için inhibitör olarak etki gösterebileceğinden PZR çalışmaları için kan örneklerinin toplanmasında EDTA'lı tüpler tercih edilmektedir (Arı 2004). Çalışmada 4 farklı yerli keçi ırkına ait anne, yavru ve baba adayı tekelerden EDTA'lı tüplere 10 ml kan örneği alınmış ve DNA izolasyonuna kadar  $-20^{\circ}\text{C}$ 'de dondurularak saklanmıştır.

Moleküler genetik amaçlarla kullanılacak olan DNA'nın elde edilmesi için kullanılacak metodun mümkün olduğunca yüksek molekülü ve proteinlerden arındırılmış bir izolasyon sağlanması gerekmektedir. Bu amaçla çalışmada yaygın olarak başarıyla kullanılan Fenol Kloroform isoamil alkol metodu (Sambrook ve ark. 1989) ile DNA izolasyonu yapılmıştır.

Her birey için alınan 10ml kan örneğine kan hücrelerinin parçalanması için buz içerisinde 40ml 2x lysis buffer (10X Lysis çözeltisi:  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (Ammonium Chloride) 770mM,  $\text{KHCO}_3$  (Potassium Bicarbonate) 46mM, EDTA 10mM) eklenerek 1 gece  $+4$  derecede bekletilmiştir. Ardından 3.000 rpm de 15 dk santrifüj edilerek kan hücreler çöktürülmüştür. Supernatant uzaklaştırılıp, kalan katı kısma 0.3 ml %10'luk SDS (Sodium Dodecyl Sulfate) ve 150  $\mu\text{l}$  Proteinaz K (10 mg / ml) ve 3 ml Tuz EDTA solüsyonu (Tuz / EDTA çözeltisi: NaCl 75 mM, EDTA 25mM) eklenerek 3 saat  $55^{\circ}\text{C}$  de etüvde bekletilmiştir. Bu süre sonunda 3ml fenol eklenmiş 15 dk 3.000 rpm de santrifüj edilmiştir. Gözle net bir şekilde ayrılabilir 2 faz oluşmuştur. Üst faz dikkatlice yeni bir santrifüjtüpüne alınmış, üzerine 3 ml fenol kloroform isoamil alkol (25:24:1) eklenip tekrar 3.000 rpm de 10 santrifüj edilmiştir. Üst faz alınarak 2/3 ü kadar soğuk %100 alkol eklenerek DNA gözle görünür hale getirilmiştir. Alınan DNA kurutulup ve üzerine 0.4 ml TE ile sulandırılmıştır. PZR da kullanılmak üzere tekrar sulandırılmıştır (1/10) (100 ng/  $\mu\text{l}$ ).

### **3.2.2 DNA kalite ve miktar kontrolü**

DNA örneklerinin miktar tayini Qubit 2,0 Fluorometer ve elektroforez yöntemleri ile belirlenmiştir. DNA bantları % 0,8'lik agaroz jelde UV ışık altında görüntülenmiştir. Agaroz jel elektroforezinde 0,8 gr agaroz 100 ml (1X) TBE tamponu mikrodalga fırında eritilerek hazırlanmıştır. DNA bantlarının UV ışık altında görüntülenmesi için 2,5 µl Red-Safe (10mg/ml) ilave edilmiştir. Homojen karışım agaroz jel elektroforezi kasetlerine dökülerek oda sıcaklığında donması beklenmiş ve yükleme kuyuları oluşturan taraklar jel zedelenmeden çıkarılmıştır. Elektroforez tankına katottan anota hareketi sağlamak için 1X TBE tampon eklenmiştir. Hazırlanan jele örneklerin yüklenmesi için 3 µl DNA örneğine 3 µl loading dye ve 3 µl dH<sub>2</sub>O solusyonu karıştırılıp, karışımın tamamı jelin kuyucuklarına yüklenmiş ve jel 100 V voltajda ve 500 A akımda 30 dakika yürütülmüştür. Jel; UV ışık altında bilgisayar programı aracılığı ile gözlemlenmiştir.

DNA izolasyonları, kalite ve miktar kontrolleri ve sulandırılma işlemlerinin tamamlanmasının ardından, mikrosatellit bölgelerinin polimeraz zincir reaksiyonu metodu ile yükseltgenmesine ilişkin uygun koşulların belirlenmesi aşamasına geçilmiştir.

### **3.2.3 Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) metodu ile mikrosatellit bölgelerinin yükseltgenmesi aşaması**

Çalışmada kullanılan 9 farklı mikrosatellit bölgesi keçilerde ebeveyn tayininde kullanılması ISAG ve bilimsel araştırmalar tarafından önerilen mikrosatellitler arasından polimorfizm ve heterozigotluk düzeylerinin yüksek olması, farklı kromozom bölgelerinde yer almaları, allel sayıları, allel uzunlukları gibi veriler dikkate alınarak seçilmiştir. Bu lokuslara ilişkin floresans işaretli (forward-ileri primer) ve işaretli olmayan (reverse-geri primer) liyofilize primerler 100 pikomol/µl olacak şekilde sulandırılarak hazırlanmış ve bu stoktan PZR'nda kullanılmak üzere 10 pikomol/µl olacak şekilde ddH<sub>2</sub>O (bi-distile) ile sulandırılıp -20°C'de stoklanmıştır. Çalışma için seçilen mikrosatellit bölgelerine ilişkin bilgiler Çizelge 3.4'de, primer dizileri Çizelge 3.5'de verilmiştir.



**Çizelge 3.4:** Çalışmada kullanılan 9 mikrosatellit bölgesine ait bilgiler

Mikrosatellit	*Renk	Kromozom	Allel Uzunlukları (bp)
CSRD0247	FAM	14	209 – 261
ILSTS087	FAM	6	137 – 155
SRCRSP05	FAM	21	158-180
INRA006	FAM	3	106-126
INRA23	TET	1	197 – 219
INRA132	TET	23	144 – 174
INRABERN172	TET	26	136-196
ILSTS019	HEX	25	144 – 158
BM1329	HEX	6	167-181

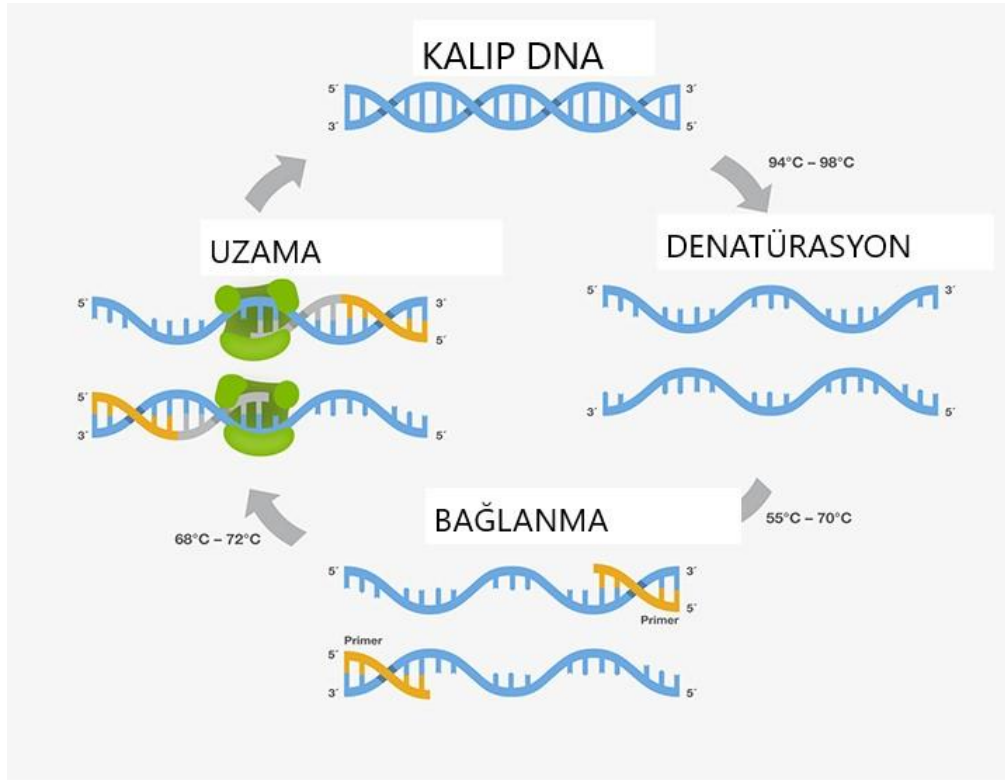
\*FAM :mavi, TET:yeşil, HEX:sarı

**Çizelge 3.5:** Mikrosatellit bölgelerin yükseklenmesinde kullanılan primerler

Mikrosatellit adı	Primerler	Kaynak
INRA23	İleri ;GAGTAGAGCTACAAGATAAACTTC Geri:TA ACTACAGGGTGT TAGATGAACTCA	Vaiman ve Mercie 1994
INRA006	İleri: AGGAATATCTGTATCAACCT CAGTC Geri:CTGAGCT GGGTGGGAGCTATAAATA	Vaiman ve Mercie 1994
INRA132	İleri: AACAT T T CAGCT GAT GGT GGC Geri: TTCTGTTTTGAGTGGTAAGC TG	Vaiman ve Mercie 1994
CSRD0247	İleri:GGACTTGCCAGAACTCTGCAAT Geri:CACTGTGGTTTGTATTAGTCAGG	Al-Atiyat ve ark. 2015
ILSTS87	İleri:AGCAGACATGATGACTCAGC Geri:CTGCCTCTTTTCTTGAGAGC	Bulut ve ark. 2014, Hoffmann ve ark. 2004
SRCRSP05	İleri:GGACTCTACCAACTGAGCTACAAG Geri:TGAAATGAAGCTAAAGCAATGC	Ağaoğlu ve ark. 2010
INRABERN172	İleri:CCAGGGCAGTAAAATGCATAACTG	Saitbekova ve ark.

	Geri:GGCCTTGCTAGCCTCTGCAAAC	1999
<b>BM1329</b>	İleri:T TG TTT AGG CAA GTC CAA AGT C Geri: AAC ACC GCA GCT TCA TCC	Carmen 2007
<b>ILSTS19</b>	İleri:AGGGACCTCATGTAGAAGC Geri:ACTTTTGGACCCTGTAGTGC	Yadav 2015

Polimeraz zincir reaksiyonu (polimerase chain reaction), belirli reaksiyon komponentlerinin belirli oranlarda bir araya getirilip ısı siklusunun kontrollü olarak değiştirilmesiyle, in-vivo DNA replikasyonunun yapay olarak (in-vitro) gerçekleştirilmesi şeklinde tanımlanabilir. Reaksiyon için gerekli olan komponentler, tek iplikçikli DNA (denatüre edilmiş DNA), oligonükleotitler (primers), desoksिनükleotid trifosfat (dNTPs) ve DNA polimeraz enzimi gibi komponentlerdir (Şekil 3.2).



**Şekil 3.2:** PZR basamakları

Bir PZR reaksiyonu için karışımdaki  $MgCl_2$  konsantrasyonu oldukça kritiktir. Hazırlanan ideal mixte yaklaşık 0.5-2.5 mM  $MgCl_2$  olmalıdır.  $MgCl_2$  iyonları enzim aktivitesine, primer bağlanmasına ve DNA'nın çözünme ısısına etki eder. dNTP'ler  $MgCl_2$

iyonunu bağlanması nedeniyle dNTP konsantrasyonundaki artış serbest MgCl<sub>2</sub> konsantrasyonunda azalmaya neden olur bu nedenle optimizasyon bu durum göz önünde bulundurulmalıdır. Düşük MgCl<sub>2</sub> konsantrasyonu ürün oluşumunu azaltırken, yüksek MgCl<sub>2</sub> konsantrasyonu ise spesifik olmayan ürün oluşumuna neden olabilir. Bu nedenle öncelikle uygun PZR protokolünün ve PZR koşulların belirlenmesi için farklı bağlanma sıcaklığı (annealing temperature), farklı MgCl<sub>2</sub> konsantrasyonları ve dNTP konsantrasyonları denenerek optimizasyon çalışmaları yapılmıştır. Optimizasyon aşamasında her bir sütunu dereceli değişen özellikli ısı döngü cihazı (gradient PZR cihazı) kullanılmıştır. Optimizasyonlar sonrasında ilgili mikrosatellit bölgelerinin yükseltgenmesi aşamasına geçilmiştir.

Günümüzde gelişen PZR sisteminde, birden fazla primerin aynı anda çalışmasıyla oluşan multipleks-PZR grupları tercih sebebidir. Aynı reaksiyonda, birden fazla bölgenin çalışılarak, birden fazla bölge için sonuçların kısa sürede alınabildiği bu PZR sistemi oldukça yaygın bir biçimde kullanılmaktadır. Çok pratik sonuçlar veren multipleks-PZR sistemlerinin optimizasyonu tek bir primer ile çalışılan PZR'a göre, kullanılacak primerler arasındaki uyumun sağlanması ve diğer parametrelerin düzenlenmesi gerektiğinden daha zor olsa da, elde edilen sonuçların kalitesi nedeniyle PZR sisteminin günümüzdeki devrim niteliğindeki bu şekli multipleks-PZR yaygın biçimde kullanılmaya ve geliştirilmeye devam etmektedir. Bu tez çalışmasında bağlanma sıcaklıkları ve PZR döngü koşulları aynı olan primerler için (CSR0247 ve ILSTS087 ) multipleks PZR yapılmıştır.

Optimizasyon çalışması sonrası belirlenen PZR reaksiyon bileşenleri Çizelge 3.6 'da ve mikrosatellit bölgesinin yükseltgenme koşulları Çizelge 3.7'de verilmiştir.

**Çizelge 3.6: PZR Reaksiyon Bileşenleri**

Mikrosatellit	Ana Stok	Son Konsantrasyon	Kullanılan miktar (µL)
<b>CSR0247 ILSTS87 INRA132 SRCRSP05</b>	10X PCR Buffer	1 X	2.0 µl
	MgCl <sub>2</sub> (25 mM)	2.25 mM	1.8 µl
	dNTPler (10 mM)	1 mM	0.5 µl
	İleri Primer (10 µM)	0.5 µM	0.25 µl
	Geri Primer (10 µM)	0.5 µM	0.25 µl
	Taq polimeraz (5U/ µL)	0.5 U	0.1 µl
	DNA	10 ng	2.0 µl
	Toplam hacim dH <sub>2</sub> O ile 20 µl olacak şekilde hazırlanır.		

<b>INRA23 INRABERN172 ILSTS019</b>	10X PCR Buffer	1 X	2.0 µl
	MgCl <sub>2</sub> (25 mM)	1.875 mM	1.5 µl
	dNTPler (10 mM)	1 mM	0.5 µl
	İleri Primer (10 µM)	0.5 µM	0.25 µl
	Geri Primer (10 µM)	0.5 µM	0.25 µl
	Taq polimeraz (5U/ µL)	0.5 U	0.1 µl
	DNA	10 ng	2.0 µl
		Toplam hacim dH <sub>2</sub> O ile 20 µl olacak şekilde hazırlanır.	
<b>INRA006</b>	10X PCR Buffer	1 X	2.0 µl
	MgCl <sub>2</sub> (25 mM)	1.5 mM	1.2 µl
	dNTPler (10 mM)	1 mM	0.5 µl
	İleri Primer (10 µM)	0.5 µM	0.25 µl
	Geri Primer (10 µM)	0.5 µM	0.25 µl
	Taq polimeraz (5U/ µL)	0.5 U	0.1 µl
	DNA	10 ng	2.0 µl
		Toplam hacim dH <sub>2</sub> O ile 20 µl olacak şekilde hazırlanır.	
<b>BM1329</b>	10X PCR Buffer	1 X	2.0 µl
	MgCl <sub>2</sub> (25 mM)	2.25 mM	1.8 µl
	dNTPler (10 mM)	2 mM	1.0 µl
	İleri Primer (10 µM)	1 µM	0.5 µl
	Geri Primer (10 µM)	1 µM	0.5 µl
	Taq polimeraz (5U/ µL)	1 U	0.2 µl
	DNA	10 ng	2.0 µl
		Toplam hacim dH <sub>2</sub> O ile 20 µl olacak şekilde hazırlanır.	

**Çizelge 3.7:** Mikrosatellit belirteçlerin yükseltgenme koşulları

Mikrosatellit Bölgesi	PZR Yükseltgenme Koşulları	Okuma Grubu
<b>CSR0247 ILSTS087</b>	94 C <sup>0</sup> de 5 dk. 94 C <sup>0</sup> de 30 sn. } 55.7 C <sup>0</sup> de 30 sn. } 35 döngü 72 C <sup>0</sup> de 40 sn. } 72 C <sup>0</sup> de 15 dk.	1
<b>INRA023</b>	94 C <sup>0</sup> de 5 dk. 94 C <sup>0</sup> de 1 dk. } 60 C <sup>0</sup> de 1 dk. } 35 döngü 72 C <sup>0</sup> de 1 dk. } 72 C <sup>0</sup> de 20 dk.	1
	94 C <sup>0</sup> de 5 dk. 94 C <sup>0</sup> de 30 sn. } 54.5 C <sup>0</sup> de 30 sn. } 35 döngü	1

<b>INRA132</b>	72 C <sup>0</sup> 'de 2 dk. 72 C <sup>0</sup> 'de 15 dk.		
<b>SRCRSP005</b>	94 C <sup>0</sup> 'de 5 dk. 94 C <sup>0</sup> 'de 1dk. } 51.9 C <sup>0</sup> 'de 1 dk. } 33 döngü 72 C <sup>0</sup> 'de 1dk. } 72 C <sup>0</sup> 'de 20 dk.		2
<b>BM 1329</b>	94 C <sup>0</sup> 'de 10 dk. 95 C <sup>0</sup> 'de 30 sn. } 60 C <sup>0</sup> - 0.7 C <sup>0</sup> 30 sn. } 12 döngü 72 C <sup>0</sup> 'de 1dk. } 95C <sup>0</sup> 'de 30 sn } 56.6 C <sup>0</sup> 'de 1dk. } 23 döngü 72 C <sup>0</sup> 'de 1dk. } 72 C <sup>0</sup> 'de 10dk.		2
<b>INRA006</b>	94 C <sup>0</sup> 'de 5 dk. 94 C <sup>0</sup> 'de 1dk.. } 60 C <sup>0</sup> 'de 1dk. } 35 döngü 72 C <sup>0</sup> 'de 1dk. } 72 C <sup>0</sup> 'de 20 dk.		2
<b>INRABERN172</b>	94 C <sup>0</sup> 'de 5 dk. 94 C <sup>0</sup> 'de 30 sn. } 58 C <sup>0</sup> 'de 45 sn. } 35 döngü 72 C <sup>0</sup> 'de 2 dk. } 72 C <sup>0</sup> 'de 20 dk.		2
<b>ILSTS019</b>	94 C <sup>0</sup> 'de 5 dk. 94 C <sup>0</sup> 'de 30 sn. } 55.7 C <sup>0</sup> 'de 30 sn. } 35 döngü 72 C <sup>0</sup> 'de 2 dk. } 72 C <sup>0</sup> 'de 15 dk.		1

### 3.2.4 PZR ürünlerinin agaroz jelde gözlemlenmesi

DNA zincirlerinin elektroforezi için agaroz ve poliakrilamid jelleri kullanılmaktadır. Her iki jel türü de hem DNA analizleri hem de nükleik asit preparatlarının kazanımı için kullanılmaktadır. Elektroforez sırasında fosfat grupları iyonize edilir ve polinükleotitler polianyon şeklinde geride kalırlar. Bu polinükleotitler elektroforez sırasında yüksek voltajın etkisiyle katottan anota doğru yolalırlar. Katottan anota doğru hareketin hızı moleküler büyüklüğe göre değişim gösterip küçük moleküller daha hızlı büyük moleküller daha yavaş ilerlemektedirler. Bu özellikten yararlanarak DNA kesitlerinin büyüklüğü ölçülmektedir.

Ancak bu ölçümün yapılabilmesi için daha önceden büyüklüğü bilinen standart bir örneğin ölçümü yapılacak olan diğer DNA larla birlikte elektroforeze tabii tutulması gerekmektedir.

Çalışmada PCR sonucunda elde edilen PCR ürünlerine ait bantların gözlenmesi için % 2'lik agaroz jel kullanılmıştır. Bu jelin hazırlanmasında 1X TBE solusyonu ve 7 µl Red Safe kullanılmıştır. Hazırlanan agaroz jel mikrodalga fırında ısı ile homojen hale getirildikten sonra elektroforez tankında 30 dakika polimerizasyon için bekletilmiştir. Katılaştıran jelden tarak çıkartıldıktan sonra jelin üst kısmı tamamen örtülünceye kadar 1X TBE solusyonu ile tamamlanmıştır. PCR ürünleri kuyulara yüklenmeden önce yükleme çözeltisi (loading buffer) ile karıştırılarak boyanmıştır. Jel 1X TBE solusyonunun bulunduğu tank içerisinde 100 V elektrik akımında bantlar jelin sonuna gelinceye kadar yürütülmüştür. PCR ürünleri UV görüntüleme sisteminde görüntülenmiştir.

### **3.3 Fragment, Veri ve İstatistik Analizler**

#### **3.3.1 Fragment analizler**

Çalışma kapsamında elde edilen Polimeraz Zincir reaksiyonu ile ilgili mikrosatellit bölgelerinin çoğaltması sonucunda bantlar gözlemlendikten sonra kapiller elektroforezi (ABI 3100)'nin kullanılması ile mikrosatellit DNA bölgelerinin allel uzunlukları belirlenmiştir. Bu analiz Gen Araştırmaları ve Biyoteknoloji Laboratuvar'ı tarafından hizmet alımı şeklinde yapılmıştır. Kapiller elektroforez sonuçları Peak Scanner Software v1.0 programı kullanılarak allel uzunlukları belirlenmiştir.

Her bir ırk için çalışılan mikrosatellit bölgelerine göre veriler düzenlenmiş ve allel frekansı hesaplamaları yapılmıştır. Allel frekansı, diğer tüm aleller arasında belirli bir allel oranı olarak tanımlanır (Fairbanks ve Anderson 1999). Bu frekanslardan yararlanarak ebeveyn tayininde kullanılacak olan; her lokustan elde edilen allellerin sıklıkları (frekansları), heterozigotluk oranı, dışlama gücü (exclusion probability= PE, combined exclusion probability / CEP ), babalık indeksi (PI= Paternity index; combined Paternity index), baba olma olasılığı, Polimorfizm bilgi içeriği (PIC, Polymorphism Information Content), ayırtılma gücü (Power of discrimination, PD); karşılaştırma (uyuşma) olasılığı ( Probability of matching, MP)'nin hesaplanması yapılmıştır. Bu ölçütler, bir genetik işaretleyicinin

bireyin tanımlanmasında (identification) ve ebeveyn belirlemede kullanılabilirliğini ölçmektedir (Ron ve ark. 1993, Luikart ve ark. 1999, Luis ve ark. 2002, Vissher ve ark. 2002, Baron ve ark. 2002).

Bu parametrelerin hesaplanmasında Genetix 4.04 ( Belkhir ve ark. 2001), Allel sayıları için GenAlEx 6 (Peakall ve Smouse 2006), Cervus 3.0 ve PIC değerleri için PowerStatsV12 (Promega 2000) programları kullanılmıştır.

### 3.3.2 İstatistik analizler

Yapılan bu çalışmada seçilen ırklar arasında ilk hesaplanan istatistiksel parametre allellik çeşitliliği gösteren allellik varyasyonun hesaplanmasıdır. Allel frekansı bireyler arasındaki genotipik farklılıkları saptamada da kullanılır. Allellik frekans aşağıdaki denkleme göre hesaplanmıştır.

$X_x = \frac{2n_{xx} + \sum_{y=1} n_{xy}}{2n}$
$X_x$ =Ai allelindeki genin frekansı
$n$ =Populasyondaki toplam birey sayısı
$n_{xx}$ =Ai allelindeki toplam homozigot birey sayısı
$n_{xy}$ =Ai allelindeki toplam heterozigot birey sayısı

**Denklem 3.1:** Allellik Frekans

Her bir markör için ortalama allel sayısı (na) genetik çeşitliliği ortaya koyan bir faktördür. Ortalama allel sayısının (na) hesaplanmasında (Nei 1987) kullanılmıştır .

$na = \frac{\sum n_{Ai}}{r}$
$na$ : Her bir lokus için ortalama allel sayısı
$\sum n_{Ai}$ : i lokusta bulunan toplam allel sayısı;
$r$ : Çalışmadaki toplam lokus sayısı,

**Denklem 3.2:** Ortalama Allel Sayısı

Çalışma kapsamındaki lokuslar için beklenen ve gözlenen heterozigotluk hesaplanmıştır. Tüm lokuslar için gözlenen alel sayıları, ortalama alel sayıları, gözlenen heterozigotluk (HO) ve beklenen heterozigotluk (HE) hesaplanarak alelik ve genetik varyasyonlar saptanmıştır.

### **Gözlenen heterozigotluk:**

Bir lokusta görülen heterozigot birey sayısı / Toplam Birey Sayısı

Tüm lokuslar için ayrı ayrı hesaplanan gözlenen heterozigotluk değeri toplam lokusların ortalaması alınarak bulunmuştur. Bu hesaplamaların yapılmasında GENETIX 4.02 (Belkhir ve ark. 2001) istatistik programı kullanılmıştır. Beklenen heterozigotluk içinde tüm lokuslar tek tek hesaplanmış, ardından tüm lokusların ortalaması alınarak bulunmuştur.

### **F istatistikleri ;**

Bu çalışmada F İstatistikleri (Wright 1965); en sık gözlenen alleli ( $F_A$ ) ve en sık gözlenen allelin frekansını ( $F_{NA}$ ) araştırmak için kullanılmıştır. F istatistikleri ile genetik varyasyonu; tüm populasyonlar, populasyonların alt populasyonları ve bireyleri ele alarak incelemektedir.

### **Polimorfizm Bilgi İçeriği (PIC; Polymorphic Information Content) :**

Bir populasyonda polimorfizmin ölçülmesinde sık kullanılan yöntemlerden biridir. Polimorfizm bilgi içeriğinin yüksek olması linkage bilgi içeriğinde o kadar yüksek olacağı düşünülmektedir.  $PIC \geq 0.75$  ise yeterince bilgi verici kabul edilir. Allel sayısı fazla olduğu zaman PIC yaklaşık olarak heterozigotluğa eşit olacaktır (Liu 1998). PIC değerleri, genetik haritalamada yararlı bir bilgi indeksi olup çalışılan lokusların allel sıklıklarına ve allel sayısına bağlı olarak değişmektedir. PIC değerinin, 0.75'e eşit veya üzerinde olması bilgilendirme açısından uygundur. Bu takdirde ebeveynler sıklıkla heterozigot olup, belirlenme şansını artırır. PIC değerleri 0,5'ten büyük ise ( $0,5 < PIC$ ) yüksek oranda bilgi verici, 0,25 den küçük ise ( $PIC < 0,25$ ) düşük oranda bilgi verici olarak nitelendirilmektedir (Botstein ve ark 1980). PIC aşağıdaki denklem ile hesaplanmıştır (Denklem 3.3).



$PIC_i = 1 - \sum_{i=1}^n P_{ij}^2$	PIC <sub>i</sub> = i.'ci lokusun polimorfizm bilgi içeriği
	P <sub>ij</sub> = n sayıda alleli olan i Lokusunun j allel frekansı
	i,j = allel sıklığı

**Denklem 3.3:** Polimorfizm Bilgi İçeriği (PIC; Polymorphic Information Content) (Laborda ve ark. 2005).

**Dışlama Gücü ve Birleştirilmiş Dışlama Gücü (Exclusion probability = PE, combined exclusion probability = CEP)**

Dışlama Gücü (Exclusion probability) değeri; aday babalar arasından doğru olmayan adayların dışlanması olasılığını ifade eden bir değerdir. Bu değer direk olarak allel frekanslarından yararlanılarak hesaplanmakta olup babalık testinin etkinliğini ölçen bir parametredir. Birleştirilmiş dışlama gücü değeri ise, birden fazla lokusun dışlama olasılığının toplamı olup bu değer ne kadar yüksek ise, aday babalar arasından doğru babanın tahmin edilebilme olasılığı o kadar yüksek olmaktadır. Çalışmada dışlama gücü ve birleştirilmiş dışlama gücü değerleri 3 farklı şekilde hesaplanmıştır.

- a) Her iki ebeveynin bilinmemesi halinde baba adayı koçlardan hesaplanan dışlama gücü değerleri,
- b) Her iki ebeveynin bilinmemesi halinde, damızlık aday yavrulardan hesaplanan dışlama gücü değerleri,
- c) Bir ebeveynin bilinmesi halinde, damızlık aday yavrulardan hesaplanan dışlama gücü değerleri

Dışlama gücü değerinin hesaplanmasında GenA1Ex 6 Programı (Peakall, R. and Smouse, PE, 2006) kullanılmıştır.

**Karşılaşma (uyuşma) olasılığı (Probability of Matching =PM)**

Çalışılan bireyler arasında aynı genotipteki bireylerin saptanmasını sağlayan “karşılaştırma olasılığı” aşağıdaki denklem ile hesaplanmaktadır (Kimberly, 2001; Brenner ve Morris, 1990)

$P_M = \sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^n p_{ij}^2$
<p>i ve j = allel sıklığı</p> <p><math>p_{ij}</math> = Beklenen genotip sıklığıdır.</p>

**Denklem 3.4:** Karşılaşma (uyuşma) olasılığı

**Ayrımlama gücü (Power of Discrimination=PD):**

Çalışmadaki farklı genotipteki bireyleri ifade eder. Birden fazla bireyin ayrımlama gücünü hesaplamak için aşağıdaki denklem kullanılır (Denklem 3.5).

$PD_{kom.} = 1 - \prod_{i=1}^n (1 - P_{Di}) - 1 - \prod_{i=1}^n (1 - P_m)$	<p><b>Kombine ayrımlama gücü: denkleminin açılımı:</b></p> <p>1-(P1*P2*P3*.....Pn) n= lokus sayısı</p> <p>Di: Bireye ait lokus</p> <p>Pm: Tek lokusun eşleşme olasılığı</p> <p>PD: Ayrımlama gücü</p>
--	---

**Denklem 3.5:** Ayrımlama gücü (Power of Discrimination=PD) (Özkan 2005)

**Babalık İndeksi ve Birleştirilmiş Babalık İndeksi (Paternity Index-PI; Combine Paternity Index – CPI)**

Babalık indeksi, aday babalar arasından test edilen bireyin doğru babası olma olasılığını hesaplamada kullanılan bir değerdir. Babalık indeksi değerleri aşağıdaki Çizelgedeki formüllerden yararlanılarak hesaplanmıştır (Çizelge 3.8).

Babalık indeksi değerlerinin hesaplanmasının ardından birleştirilmiş babalık indeksi (CPI-Combine Paternity Index) ve baba olma olasılığı (POP-Probability of Paternity) değerleri aşağıdaki denklemler (Morris, JW, 1983) kullanılarak hesaplanmaktadır.

**Birleştirilmiş babalık indeksi:**  $(CPI) = (PI_1) * (PI_2) * (PI_3) * \dots * (PI_n)$

$PI_1$ = Birinci lokus için babalık indeksi

$PI_2$ = İkinci lokus için babalık indeksi

$PI_3$ = Üçüncü lokus için babalık indeksi

.....  $PI_n$ = n. ci lokus için babalık indeksi

$\text{Baba olma olasılığı: } (POP) = \frac{(CPI)}{CPI + (1 - 0.5) \times 100}$
---

**Denklem 3.6:** Baba olma olasılığı (POP)

Belirtilen denklem ile hesaplanmaktadır (Morris, JW, 1983).

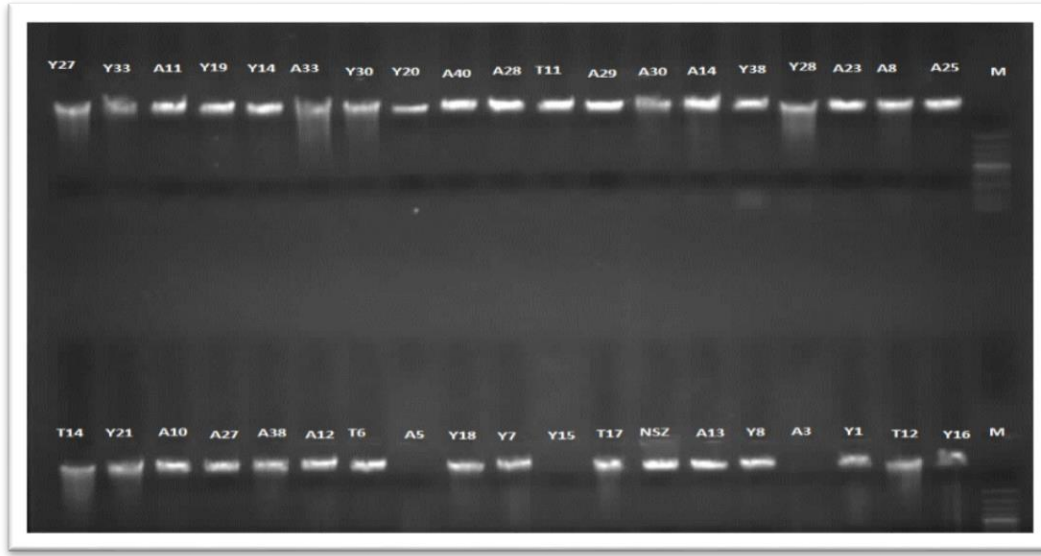
**Çizelge 3.8:** Genotiplere göre babalık indeksi hesaplanması formülleri

	<b>Anne</b>	<b>Çocuk</b>	<b>Aday baba</b>	<b>Babalık indeksi</b>
1	P	P	P	$1/p$
2	P	P	PQ	$1/2p$
3	P	PQ	PQ	$1/2q$
4	PQ	PQ	PQ	$1/(p+q)$
5	PQ	P	P	$1/p$
6	PQ	PQ	P	$1/(p+q)$
7	PQ	P	PQ	$1/2p$
8	P	PQ	Q	$1/q$
9	PQ	QR	R	$1/r$
10	P	PR	QR	$1/2r$
11	PQ	QR	PR	$1/2r$
12	PR	PR	QR	$1/[2(p+r)]$
13	PR	QR	QR	$1/2q$
14	PR	R	QR	$1/2r$
	Anne Bilinmiyorsa			
15		PQ	QR	$1/4q$
16		PQ	Q	$1/2q$
17		PQ	PQ	$(p+q)/4pq$
18		Q	QR	$1/2q$
19		Q	Q	$1/q$

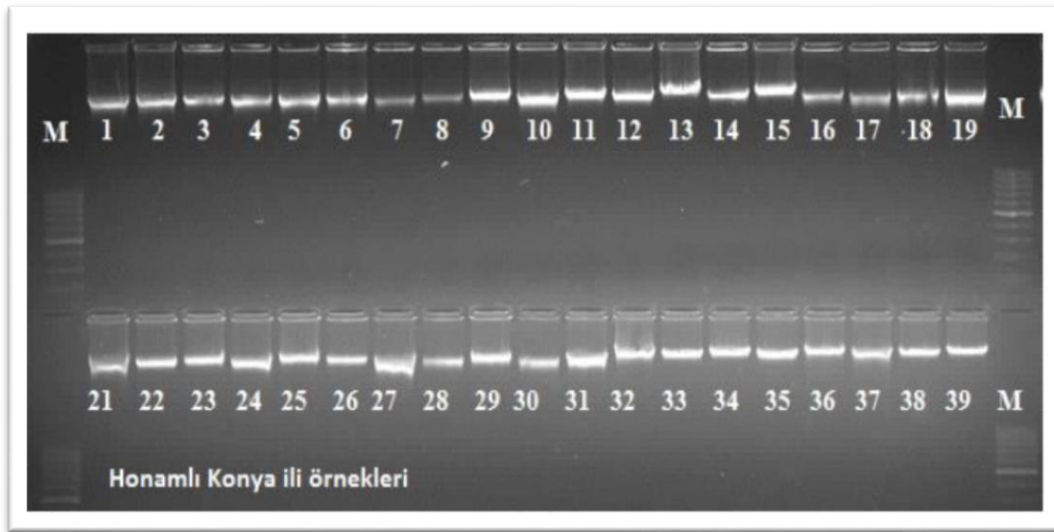
## 4. BULGULAR

### 4.1 Genomik DNA İzolasyonu

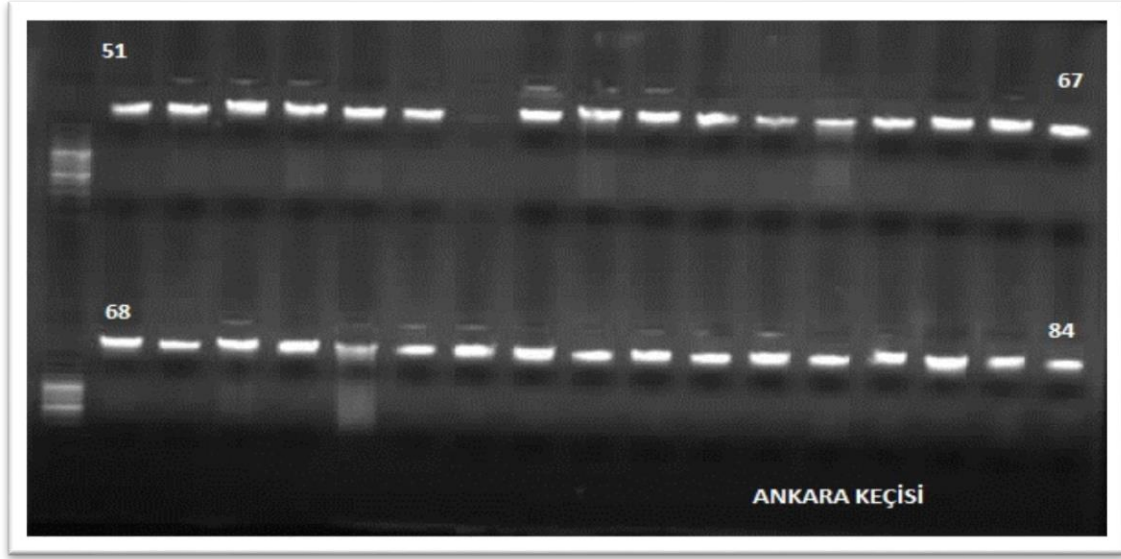
İzolasyon sonrasında her bir bireye ait DNA bantları % 0.8'lik agaroz jellerde görüntülenmiş, stok DNA örneklerinin bazılarının yoğunluğu yüksek olduğu için deneylerin başlangıç aşamasında her bireye ait stok DNA'lardan alınan bir miktar DNA örneği başka bir tüp içerisinde TE solüsyonu ile 1/10 oranında sulandırılmıştır. DNA örneklerinin analizlerde kullanılabilir kalitede olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.1-4.4).



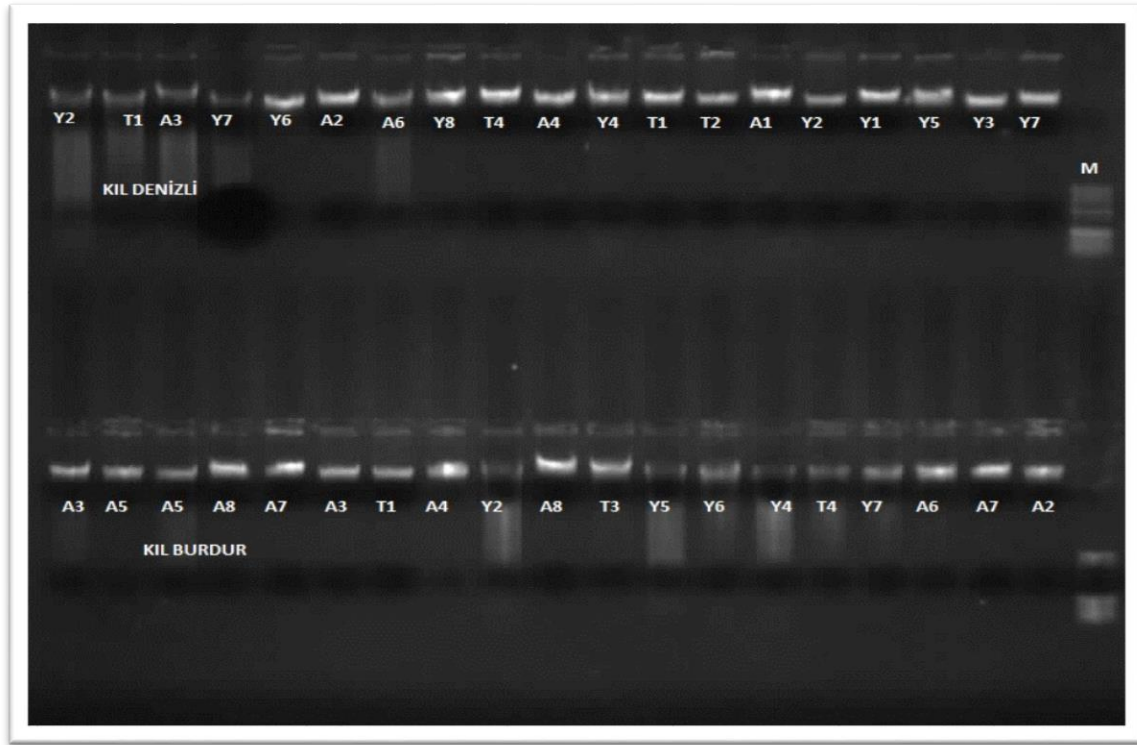
**Şekil 4.1:** Kilis Keçisi ırklarına ait bazı bireylerin DNA izolasyonu sonrasında agaroz jel (%0.6) üzerinde gözlemlenen DNA bantları.



**Şekil 4.2:** Honamlı Keçisi ırklarına ait bazı bireylerin DNA izolasyonu sonrasında agaroz jel (%0.6) üzerinde gözlemlenen DNA bantları.



**Şekil 4.3:** Ankara ırkına ait bazı bireylerin DNA izolasyonu sonrasında agaroz jel (%0.6) üzerinde gözlemlenen DNA bantları.



**Şekil 4.4:** Kıl ırkına ait bazı bireylerin DNA izolasyonu sonrasında agaroz jel (%0.6) üzerinde gözlemlenen DNA bantları.

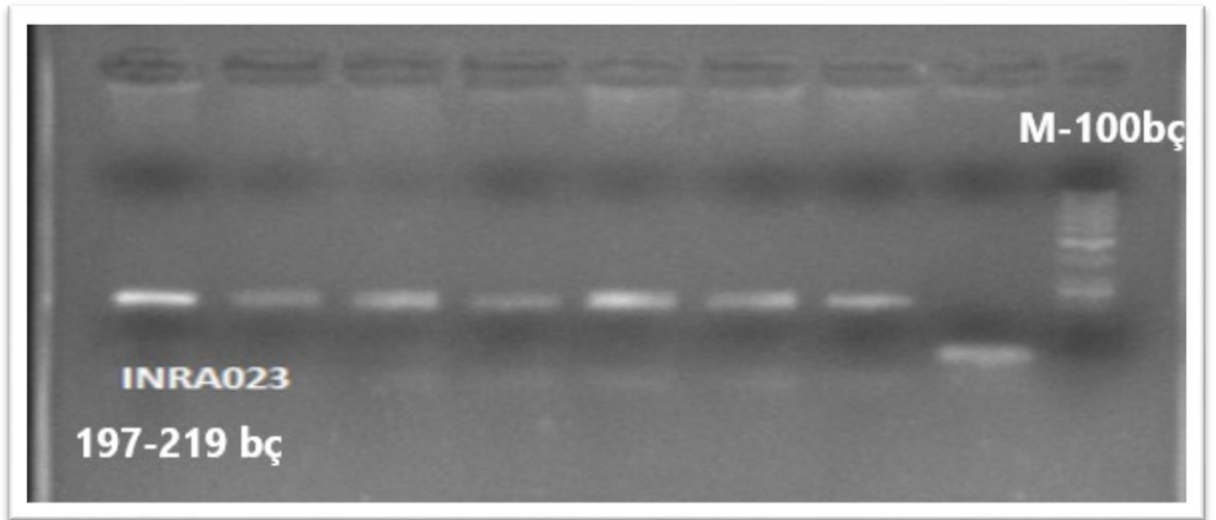
## 4.2 Mikrosatellit Belirteçlerin Yükseltgenme Sonuçları

### 4.2.1 Agaroz Jel Görüntüleme Sonuçları

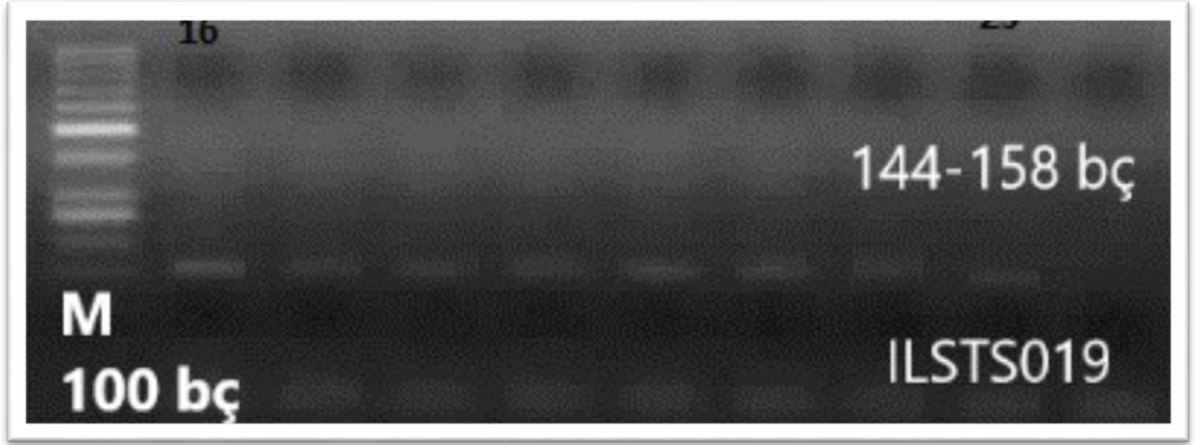
Çalışma kapsamındaki 9 mikrosatellit lokusunun PZR ile yükseltgenmesi sonucu elektroforez yöntemi ile incelenmiş ve size markör ile boyutları kontrol edilmiştir (Şekil 4.5 – 4.13).



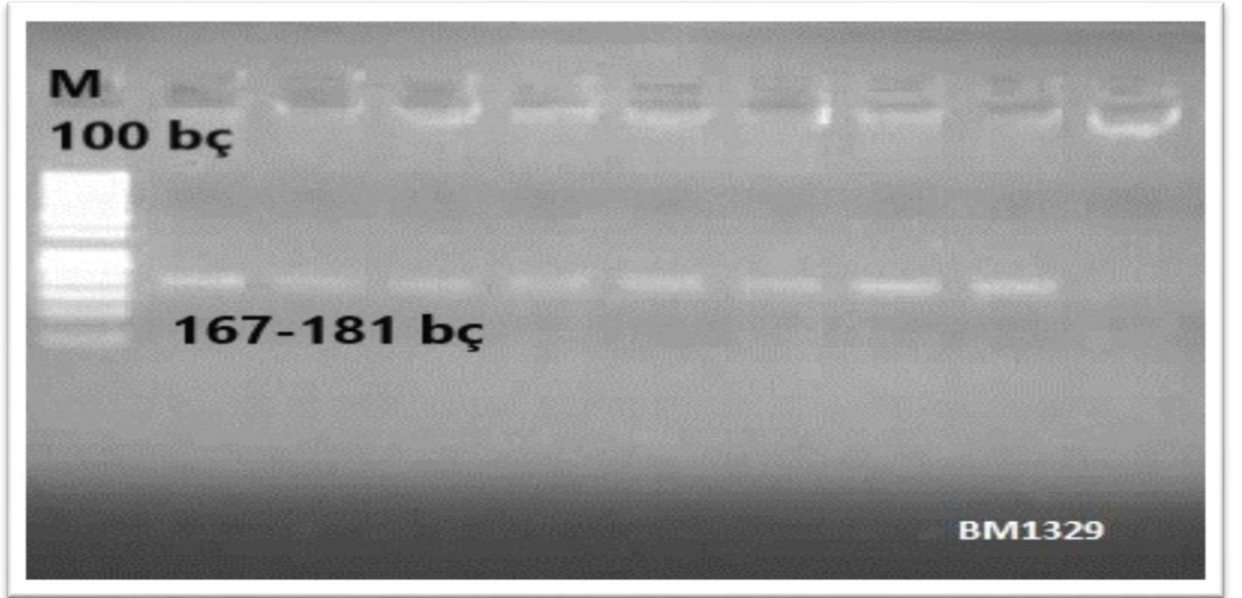
**Şekil 4.5:** SRCRSP05 mikrosatellit belirtecinin PZR ile yükseltgenmesi sonucu elektroforez görüntüsü



**Şekil 4.6:** INRA0023 mikrosatellit belirtecinin PZR ile yükseltgenmesi sonucu elektroforez görüntüsü

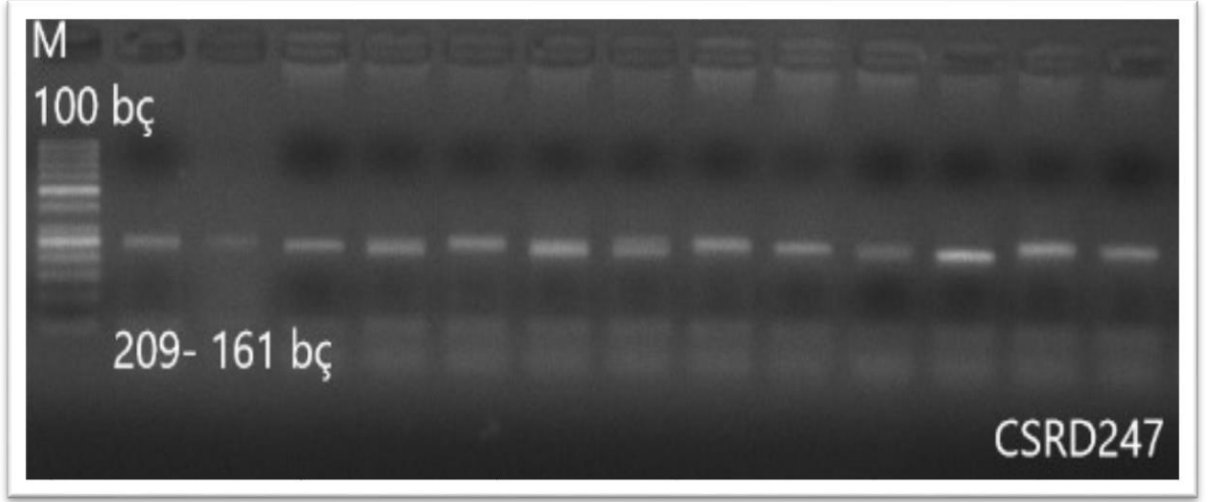


**Şekil 4.7:** ILSTS019 mikrosatellit belirtecinin PZR ile yükseltgenmesi sonucu elektroforez görüntüsü

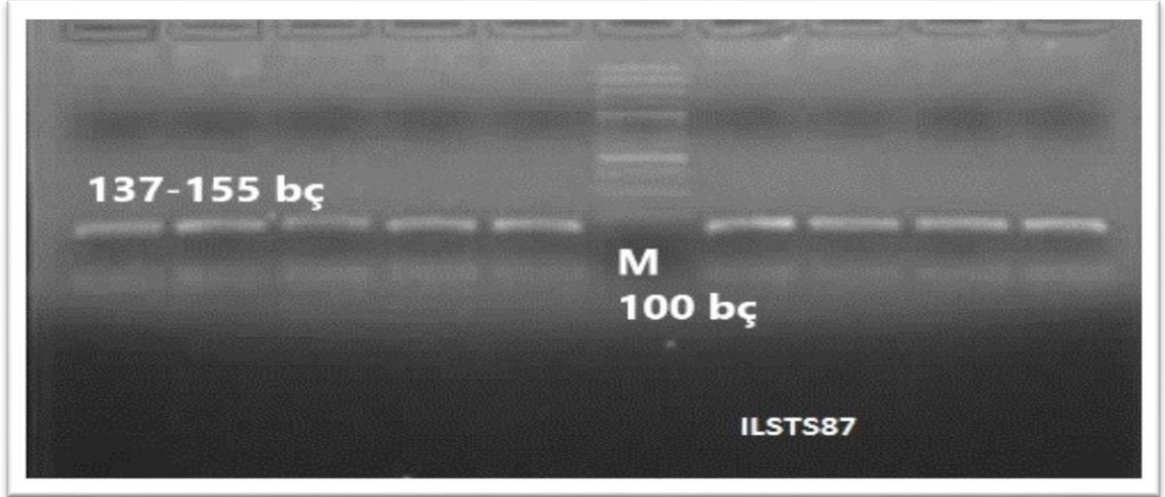


**Şekil 4.8:** BM1329 mikrosatellit belirtecinin PZR ile yükseltgenmesi sonucu elektroforez görüntüsü

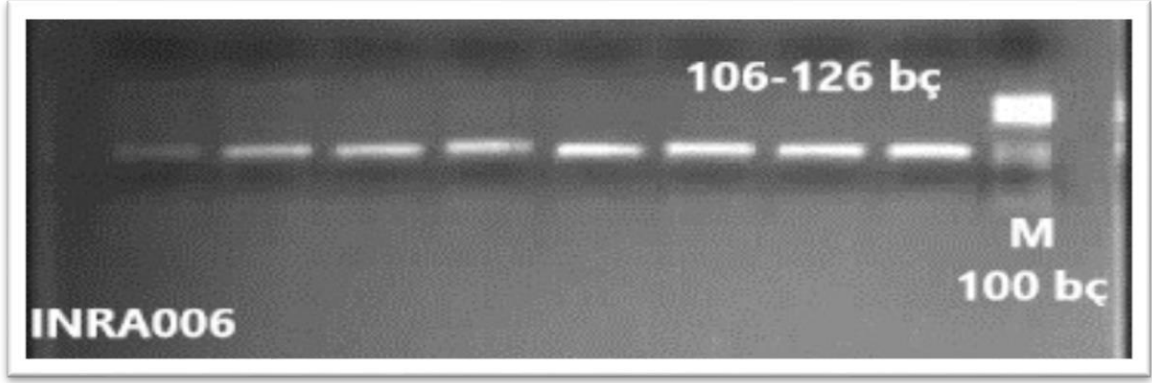




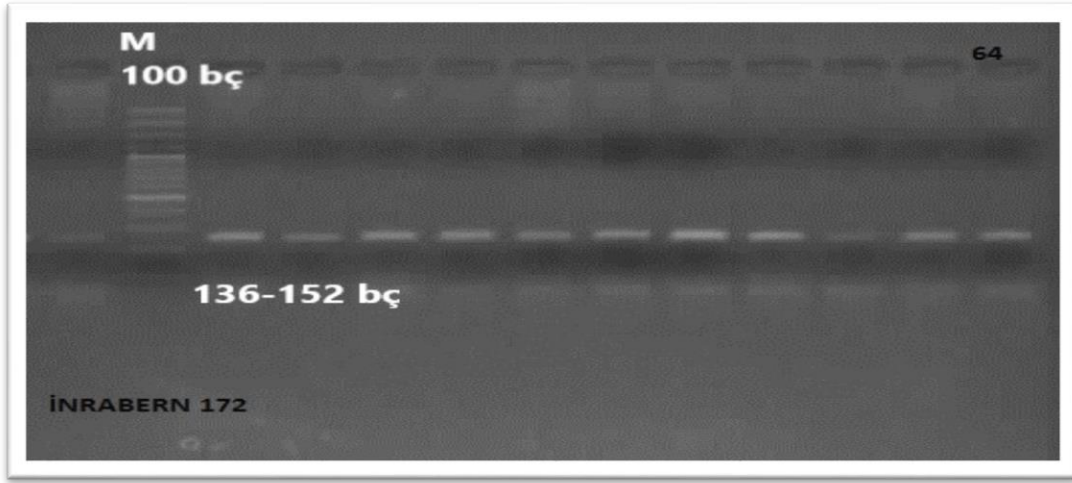
**Şekil 4.9:** CSRD247 mikrosatellit belirtecinin PZR ile yükseltgenmesi sonucu elektroforez görüntüsü



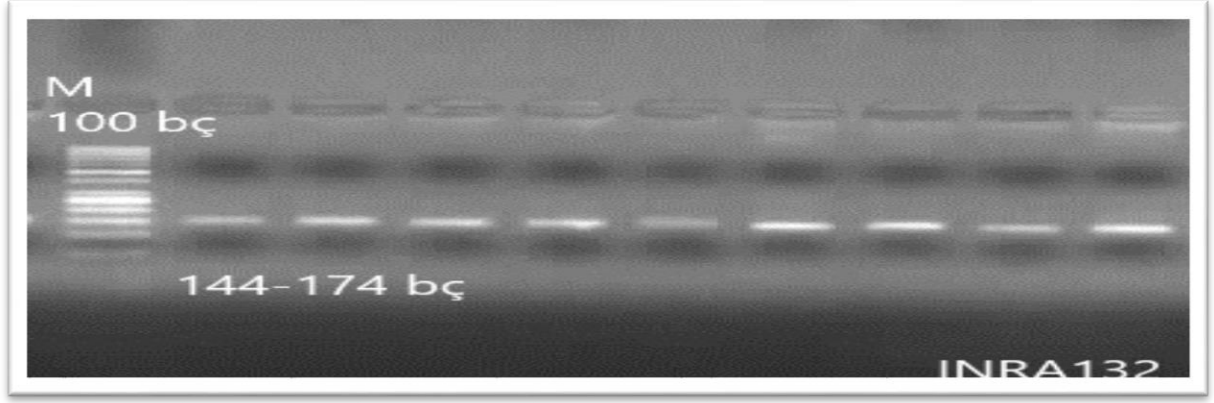
**Şekil 4.10:** ILSTS087 mikrosatellit belirtecinin PZR ile yükseltgenmesi sonucu elektroforez görüntüsü



**Şekil 4.11:** INRA006 mikrosatellit belirtecinin PZR ile yükseltgenmesi sonucu elektroforez görüntüsü



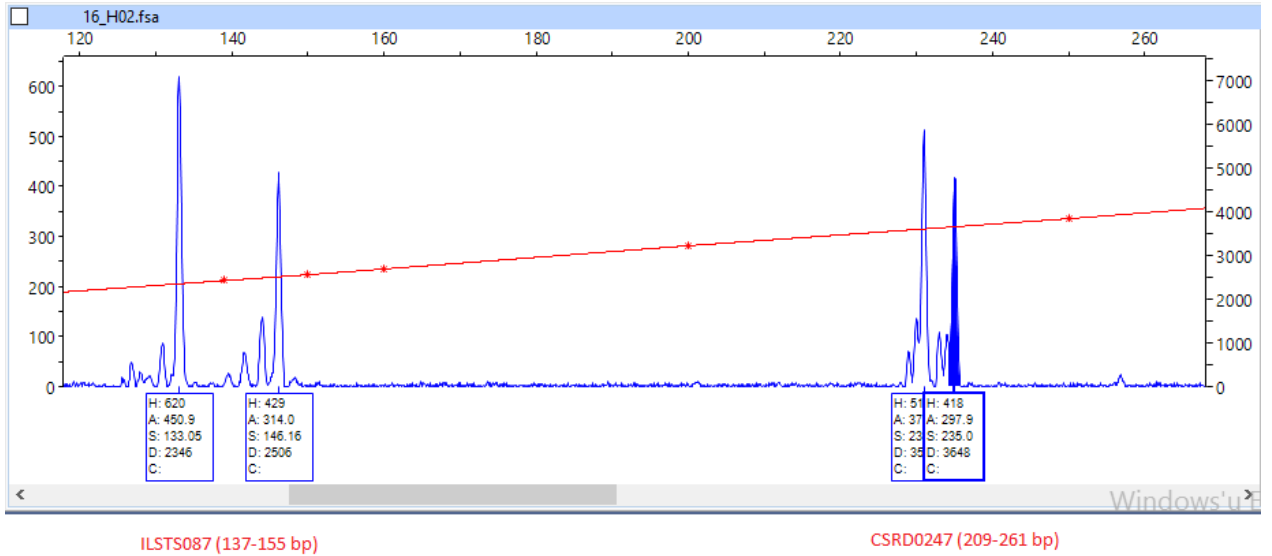
**Şekil 4.12:** INRABERN172 mikrosatellit belirtecinin PZR ile yükseltgenmesi sonucu elektroforez görüntüsü



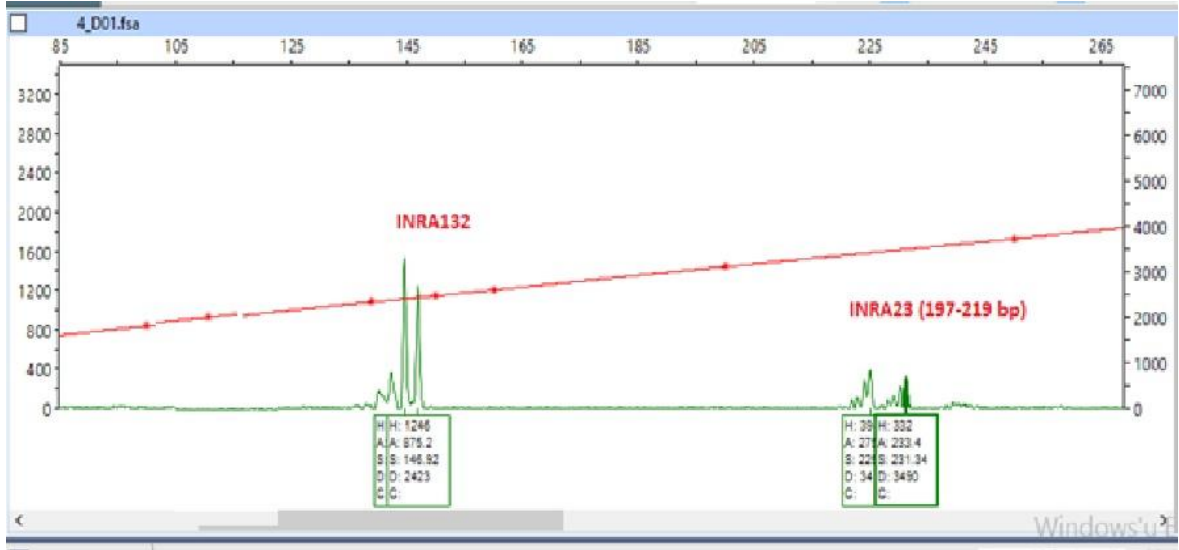
**Şekil 4.13:** INRA132 mikrosatellit belirtecinin PZR ile yükseltgenmesi sonucu elektroforez görüntüsü

### 4.3 İstatistik ve Fragment Analiz Bulguları

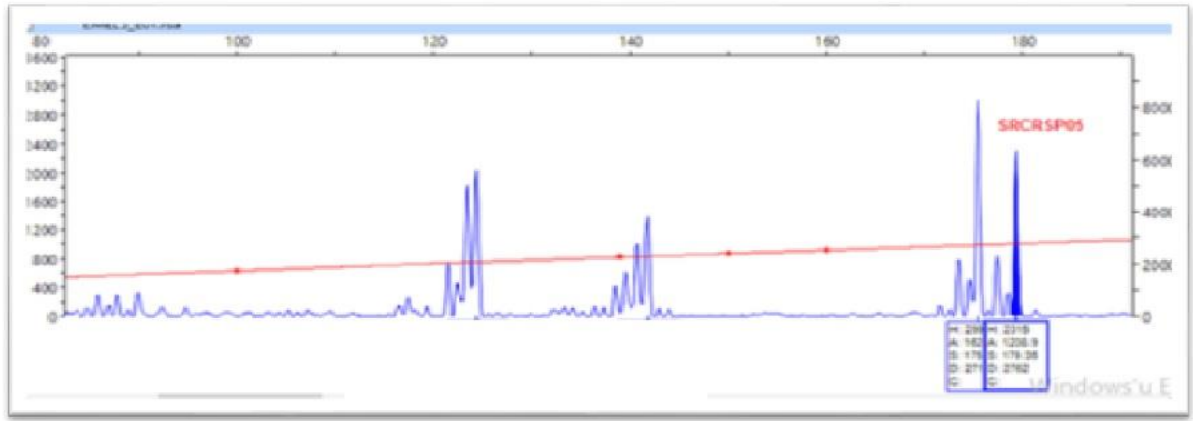
Ebeveyn tayini çalışmasında 9 farklı mikrosatellit lokusu ile yapılan polimeraz zincir reaksiyonu sonrası agaroz jel elektroforez yönteminin yanı sıra daha açıklayıcı ve teknolojik bir yöntem olan kapiller elektroforezi (ABI 310 Genetic Analyzer) kullanılmıştır. Bu analiz Gen Araştırmaları ve Biyoteknoloji Laboratuvar'ı tarafından yapılmıştır. Analiz sonuçları Peak Scanner Software v1.0 programında incelenmiş ve allel uzunluk görüntüleri Şekil 4.14-4.20' de istatistik sonuçları çizelge 4.1' de allel frekansı değerleri Şekil 4.21-4.30'de verilmiştir.



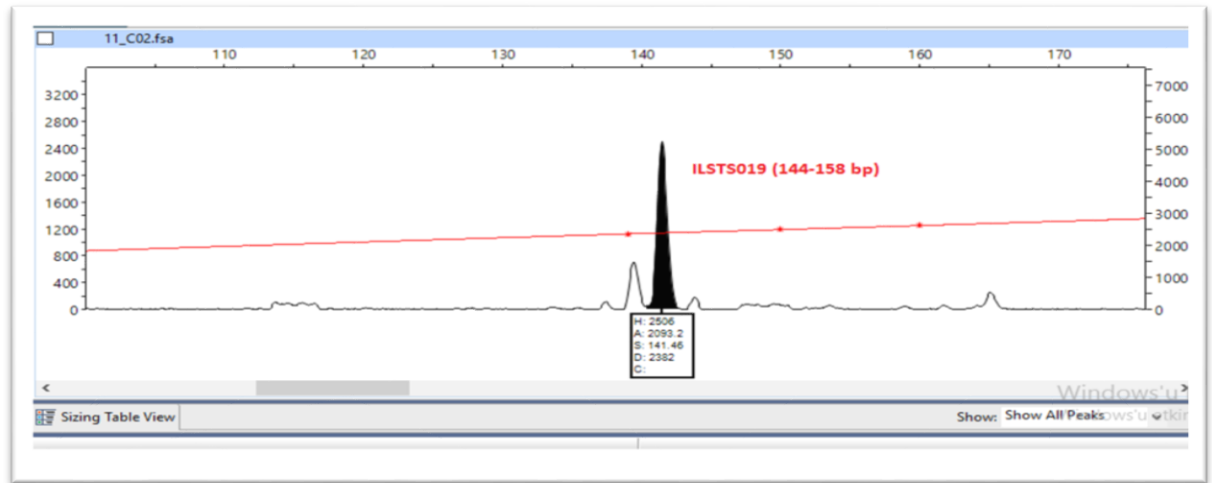
**Şekil 4.14:** CSRD0247 ve ILSTS87 belirteçlerinin fragment analizi sonrası allel uzunluk görüntüsü



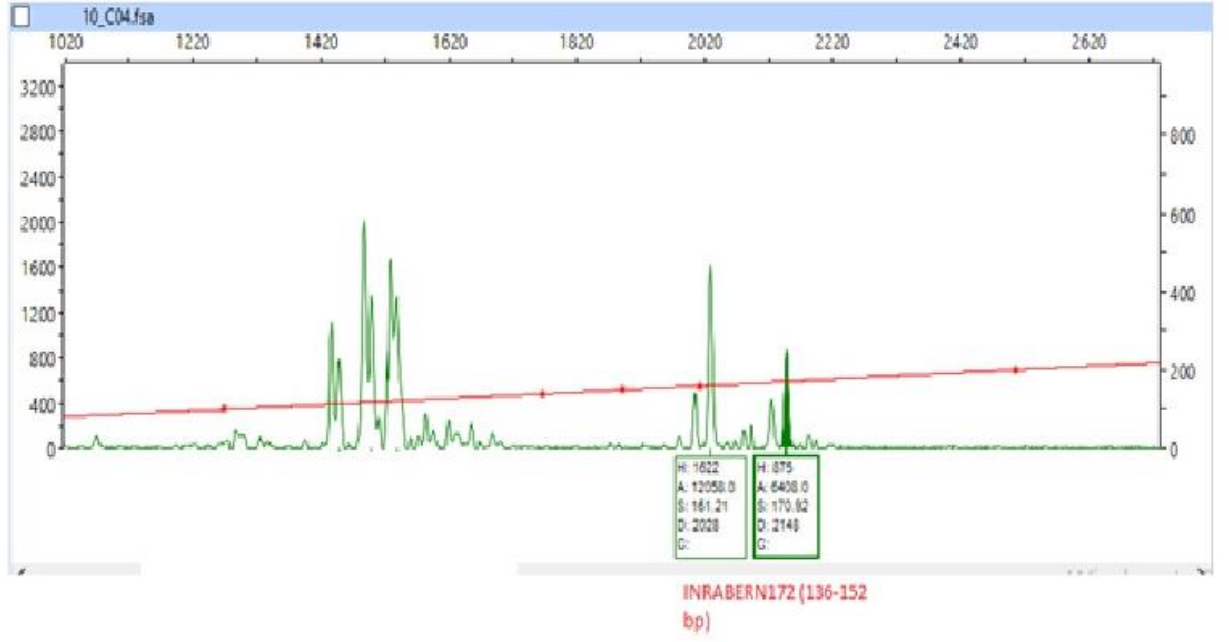
Şekil 4.15: INRA132 ve INRA23 belirteçlerinin fragment analizi sonrası allel uzunluk görüntüsü



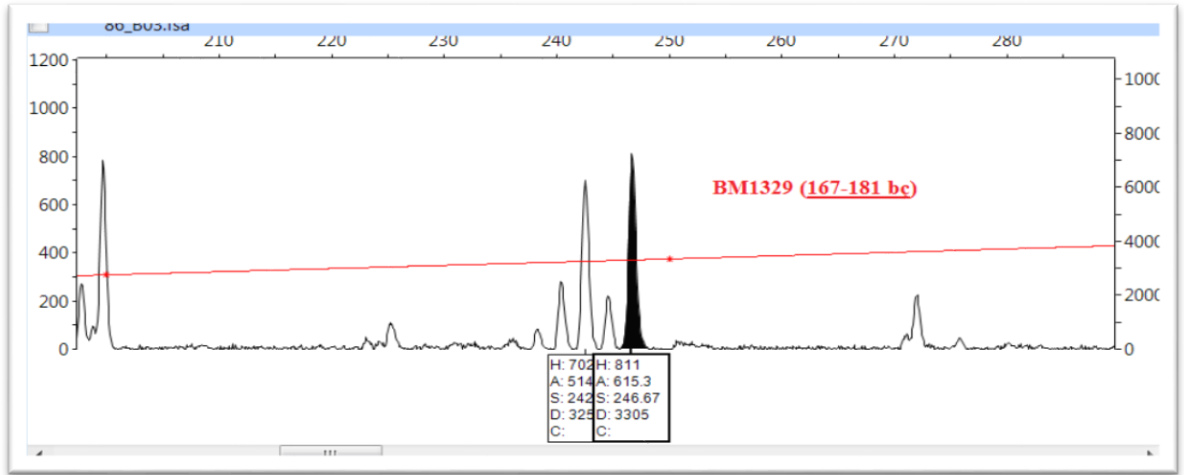
Şekil 4.16: SRCRSP05 belirteçinin fragment analizi sonrası allel uzunluk görüntüsü



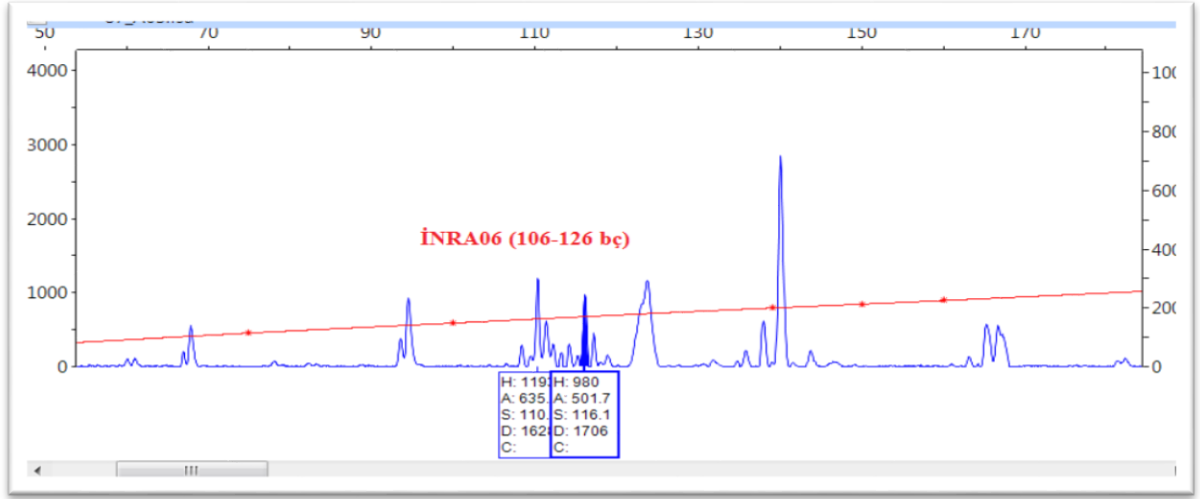
Şekil 4.17: ILSTS019 belirtecinin fragment analizi sonrası allel uzunluk görüntüsü



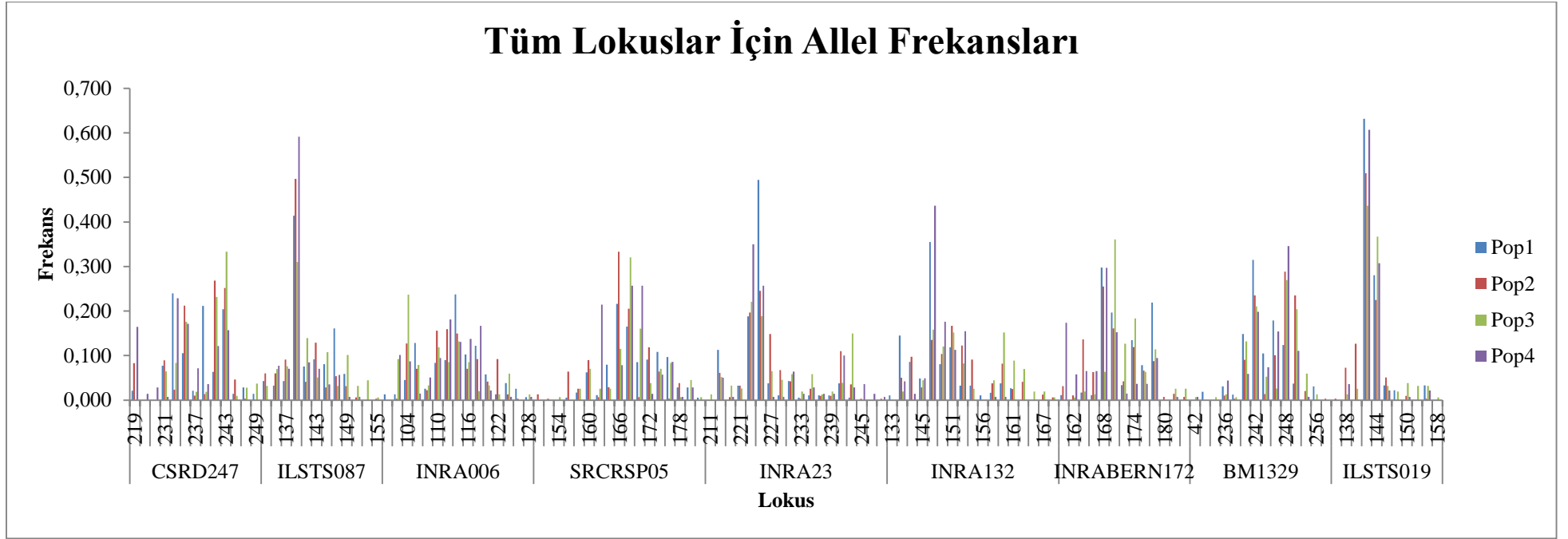
**Şekil 4.18:** INRABERN172 belirtecini fragment analizi sonrası allel uzunluk görüntüsü



**Şekil 4.19:** BM1329 belirtecini fragment analizi sonrası allel uzunluk görüntüsü



Şekil 4.20: INRA006 belirtecinin fragment analizi sonrası allel uzunluk görüntüsü



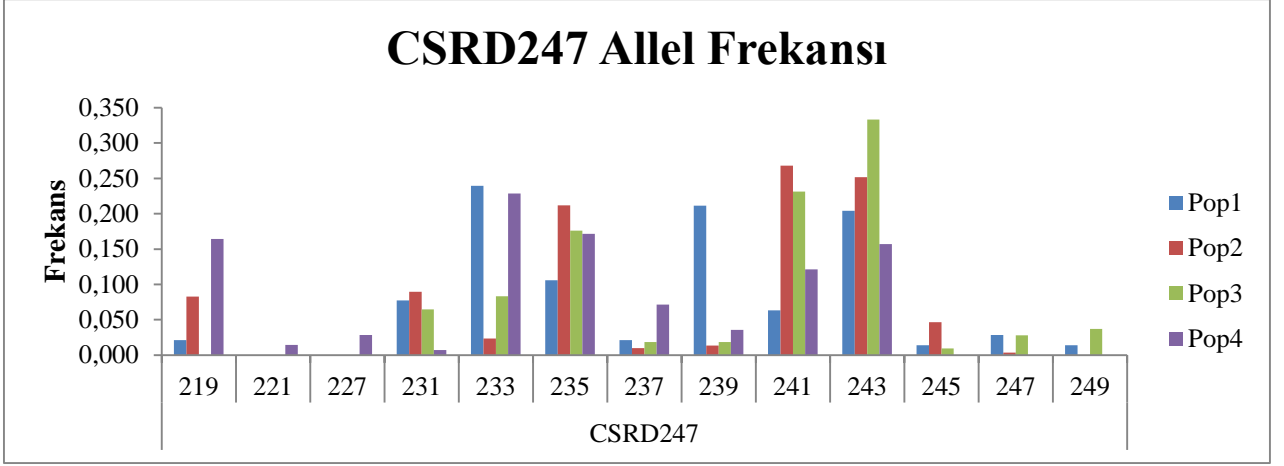
**Şekil 4.21:** Çalışılan tüm popülasyonlarda mikrosatellit lokuslarının allel frekansları

Pop1: Ankara Keçisi

Pop2: Honamlı Keçisi

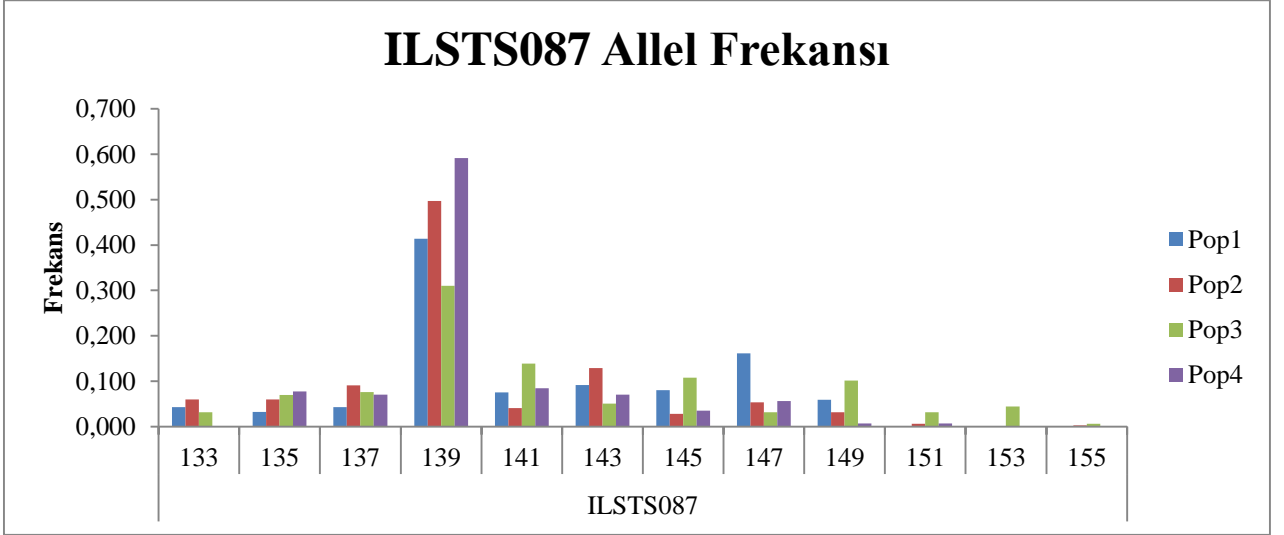
Pop3: Kil Keçisi

Pop4: Kilis keçisi Allel Frekansları Değerleri



**Şekil 4.22:** CSRD247 mikrosatellit lokusunun çalışılan ırklar bazında allel frekansı dağılımı

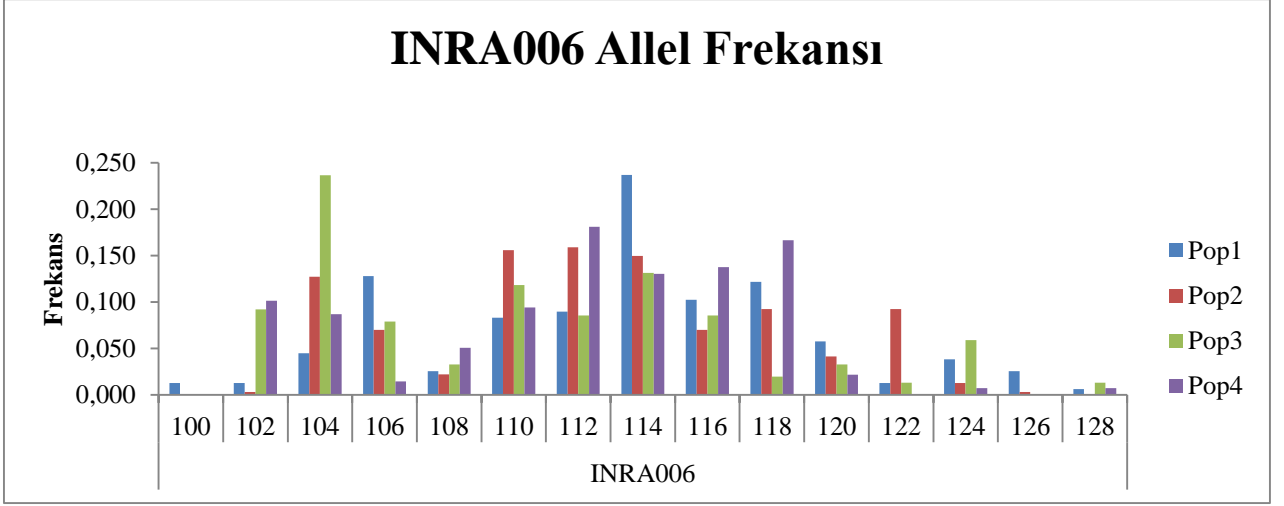
Pop1: Ankara Keçisi Pop2: Honamlı Keçisi Pop3: Kil Keçisi Pop4: Kilis keçisi



**Şekil 4.23:** ILSTS087 mikrosatellit lokusunun çalışılan ırklar bazında allel frekansı dağılımı

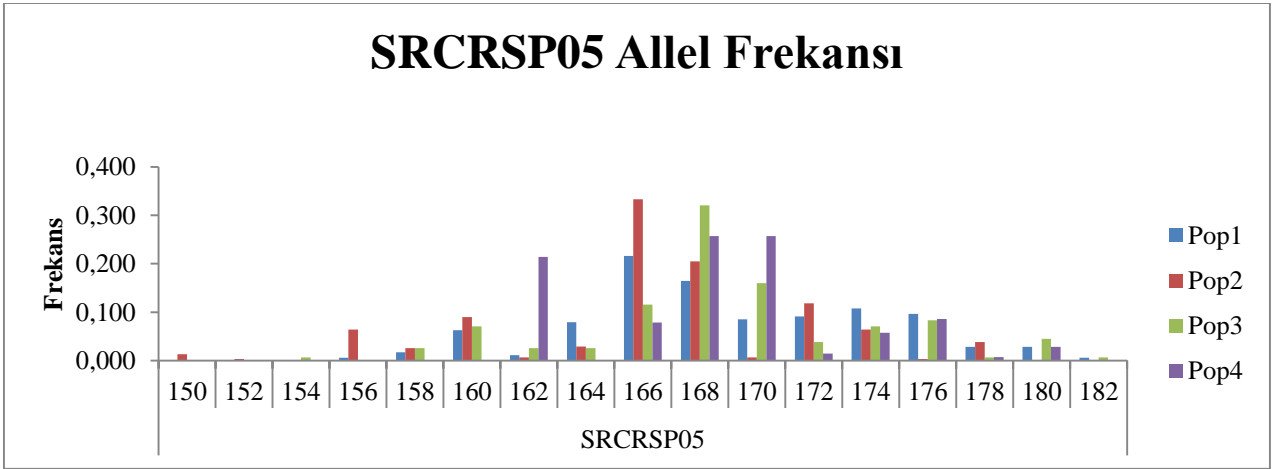
Pop1: Ankara Keçisi Pop2: Honamlı Keçisi Pop3: Kil Keçisi Pop4: Kilis keçisi





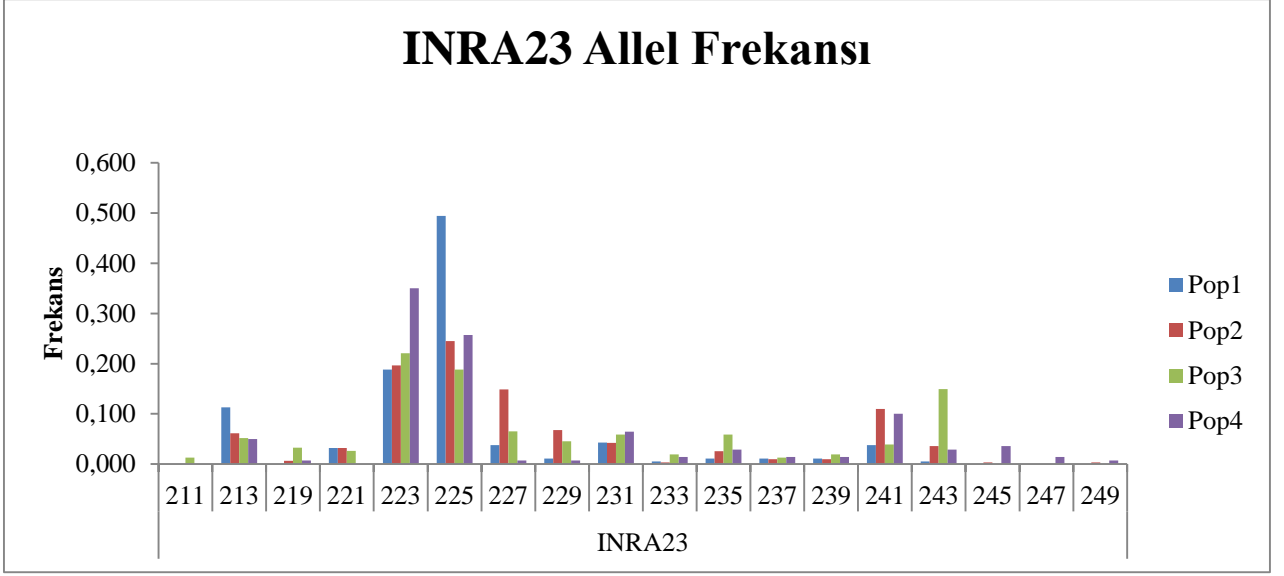
**Şekil 4.24:** INRA006 mikrosatellit lokusunun çalışılan ırklar bazında allel frekansı dağılımı

Pop1: Ankara Keçisi Pop2: Honamlı Keçisi Pop3: Kil Keçisi Pop4: Kilis keçisi



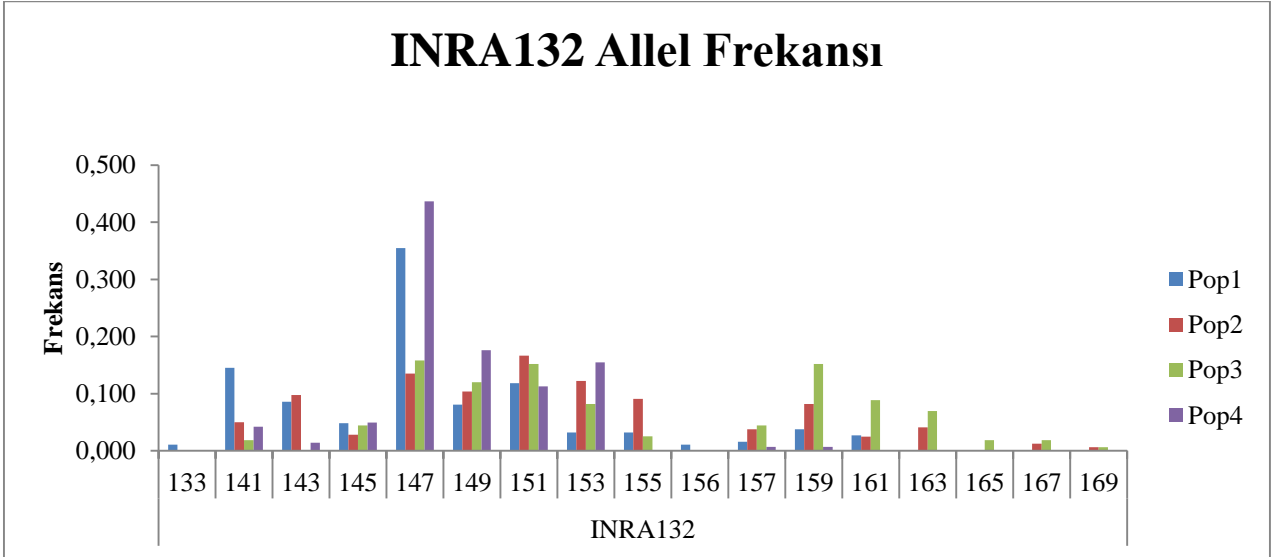
**Şekil 4.25:** SRCRSP05 mikrosatellit lokusunun çalışılan ırklar bazında allel frekansı dağılımı

Pop1: Ankara Keçisi Pop2: Honamlı Keçisi Pop3: Kil Keçisi Pop4: Kilis keçisi



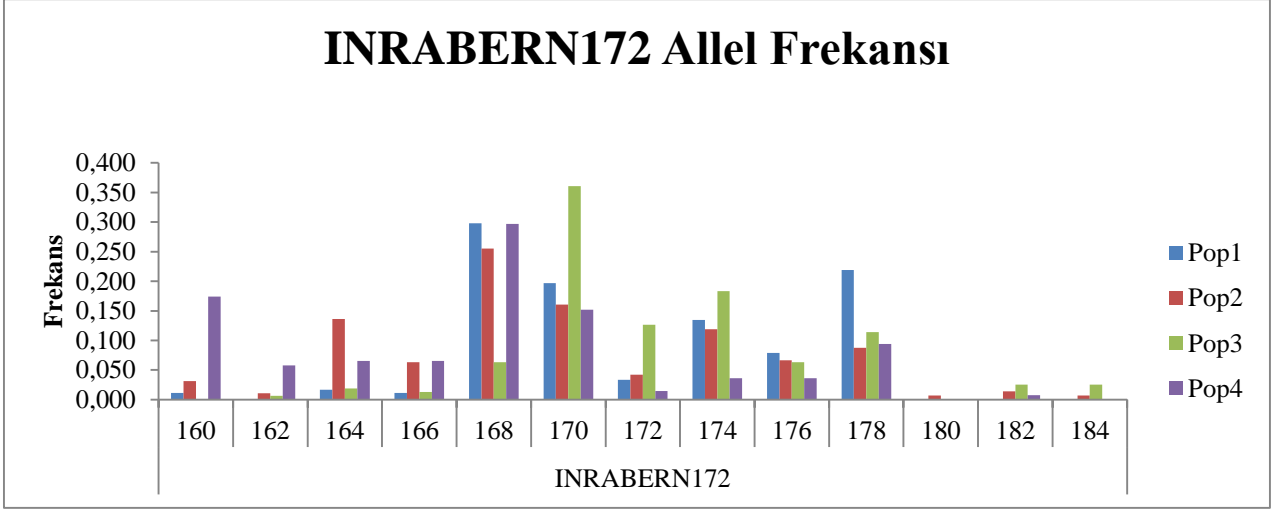
**Şekil 4.26:** INRA23 mikrosatellit lokusunun çalışılan ırklar bazında allel frekansı dağılımı

Pop1: Ankara Keçisi Pop2: Honamlı Keçisi Pop3: Kil Keçisi Pop4: Kilis keçisi



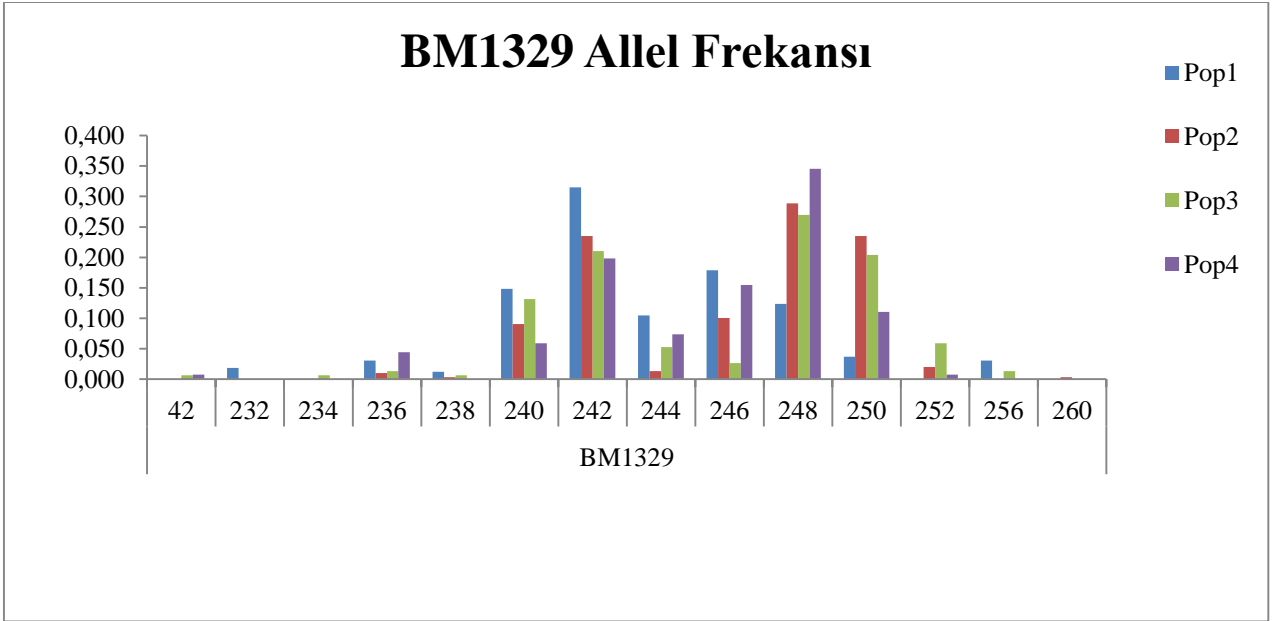
**Şekil 4.27:** INRA132 mikrosatellit lokusunun çalışılan ırklar bazında allel frekansı dağılımı

Pop1: Ankara Keçisi Pop2: Honamlı Keçisi Pop3: Kil Keçisi Pop4: Kilis keçisi



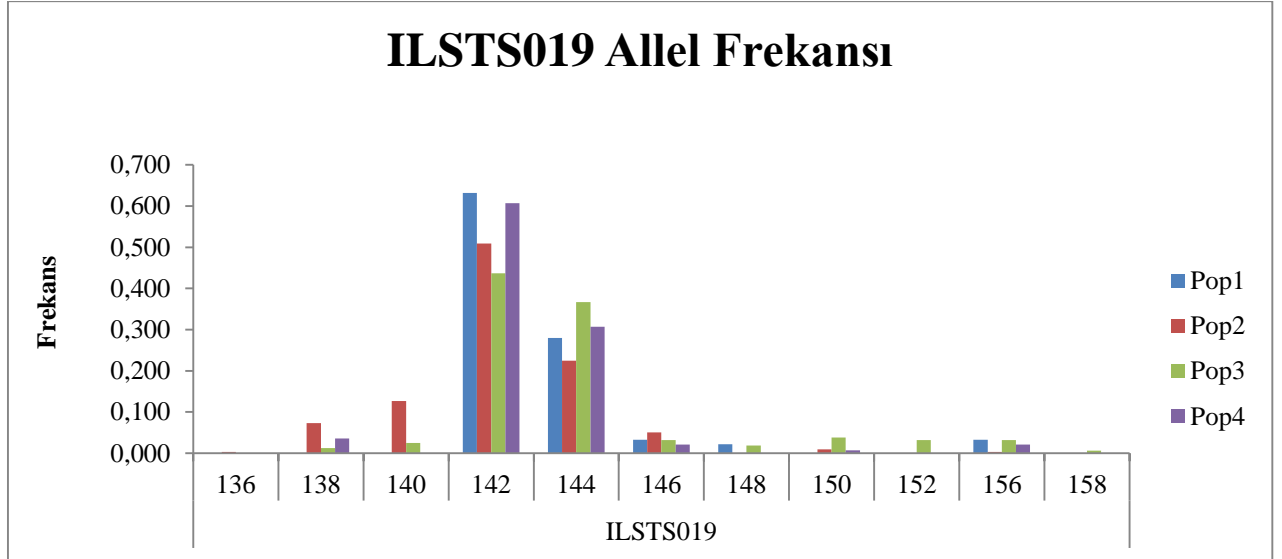
**Şekil 4.28:** INRABERN172 mikrosatellit lokusunun çalışılan ırklar bazında allel frekansı dağılımı

Pop1: Ankara Keçisi Pop2: Honamlı Keçisi Pop3: Kil Keçisi Pop4: Kilis keçisi



**Şekil 4.29** BM1329 mikrosatellit lokusunun çalışılan ırklar bazında allel frekansı dağılımı

Pop1: Ankara Keçisi Pop2: Honamlı Keçisi Pop3: Kil Keçisi Pop4: Kilis keçisi



**Şekil 4.30:** ILSTS019 mikrosatellit lokusunun çalışılan ırklar bazında allel frekansı dağılımı

Pop1: Ankara Keçisi Pop2: Honamlı Keçisi Pop3: Kil Keçisi Pop4: Kilis keçisi

**Çizelge 4.1:** Ankara, Honamlı, Kıl ve Kilis keçisi ırklarına bireylerin 9 mikrosatellit lokusu verilerinden yararlanılarak hesaplanan bazı istatistikler.

Lokus	n <sub>A</sub>	H <sub>0</sub>	H <sub>E</sub>	PIC	FA	FNA	Allel Uzunluğu (bç)	PD	MP
<b>CSRD247</b>	13	0.7428	0.8493	0.830	243	0.235	<b>219-249</b>	<b>0.959</b>	<b>0.041</b>
<b>ILSTS087</b>	12	0.6990	0.7551	0.740	139	0.457	<b>133-155</b>	<b>0.917</b>	<b>0.083</b>
<b>INRA006</b>	15	0.8553	0.8966	<b>0.890</b>	114	0.161	<b>100- 128</b>	<b>0.977</b>	<b>0.023</b>
<b>SRCRSP05</b>	17	0.8418	0.8672	0.850	168	0.228	<b>150-182</b>	<b>0.967</b>	<b>0.033</b>
<b>INRA23</b>	18	0.7848	0.8369	0.820	225	0.295	<b>211-249</b>	<b>0.955</b>	<b>0.045</b>
<b>INRA132</b>	17	0.7282	0.8778	0.870	147	0.244	<b>133-169</b>	<b>0.965</b>	<b>0.035</b>
<b>INRABERN172</b>	13	0.7467	0.8563	0.840	168	0.234	<b>160-184</b>	<b>0.960</b>	<b>0.040</b>
<b>BM1329</b>	13	0.7219	0.8205	0.800	248	0.259	<b>232-260</b>	<b>0.936</b>	<b>0.064</b>
<b>ILSTS019</b>	11	0.6432	0.6240	<b>0.570</b>	142	0.540	<b>136-158</b>	<b>0.813</b>	<b>0.187</b>
<b>Ortalama</b>	14.33	0.7515	0.8204	<b>0.8011</b>	-	-	-	-	-
<b>CPD</b>								<b>0.989</b>	-

(\*Lokuslarda görülen Allel Sayısı (n<sub>A</sub>), Gözlenen (H<sub>0</sub>) ve Beklenen (H<sub>e</sub>) Heterozigotluk, Polimorfizm Bilgi İçeriği (PIC; Polimorphism Information Content), En sık gözlemlenen allel (FA), En sık gözlenen allelin frekansı (frequency of the most frequent allele - FNA), PD (Ayrımlama Gücü - Power of discrimination); MP (Karşılaştırma (uyuşma) olasılığı-probability of matching), CPD (Birleştirilmiş Ayrımlama Gücü - Combine Power of discrimination).)

Tez çalışması kapsamında yükseltgenen 9 mikrosatellit bölgesine ait gözlenen allel sayısı ( $n_A$ ), gözlenen heterozigotluk ( $H_o$ ), beklenen heterozigotluk ( $H_e$ ), Polimorfik Bilgi İçeriği (PIC) değeri, en sık gözlenen allel uzunluğu (FA), en sık gözlenen allel frekansı değerleri ve çalışmada gözlemlenen allel uzunluk aralığı (Allele size range) değerleri Çizelge 4.1’de verilmiştir. Ankara, Honamlı, Kıl ve Kilis keçisi ırklarına sürülerden örneklenen 84 teke, 166 anne ve 153 yavru olmak üzere toplam 408 bireyde 9 mikrosatellit bölgesi (lokus) çalışılmış ve toplamda 129 allel gözlemlenmiştir. En çok allel INRA23 adlı mikrosatellit bölgesinde (18 allel) ve en az allel ise ILSTS019 (11 allel) isimli mikrosatellit bölgelerinde gözlemlenmiştir.

#### **4.3.1 Özgün allel bulguları**

Özgün alleller popülasyona özgüdürler ve bir ırkın tanımlanmasında kullanılabilirler bu nedenle önem arz etmektedirler (Özşensoy 2012). Çalışmada toplam 19 özgün allel gözlemlenmiştir. En fazla Kıl Keçisi ırkında (7) ve ILSTS019 mikrosatellit lokusunda özgün allel gözlenmiştir. Ortalama özgün allel frekansı en az olan; honamlı keçisi ırkında 0.0058 ve ardından ankara keçisi ırkı 0.0135 dir. En yüksek özgün allel frekansı ise kilis keçisi 0.019 ve yakın olarak kıl keçisinde 0.0181 gözlenmiştir. Özgün allel, belirleyici olması için frekansının 0,05 ve üzeri değerlerde olması gerekmektedir. Gözlenen özgün allellerin frekansları 0.003 ile 0.032 arasında değişim göstermektedir. En yüksek frekansa (0.044) ait alleller 153 (ILSTS087) kıl keçisi ırkında gözlenmiştir (Çizelge 4.2). Özgün allel frekansı hesaplamalarında Genetix 405 programı kullanılmıştır.

Çizelge 4.2: Özgün Alleller ve Frekansı

Lokuslar	Özgün Allel (bp)	Frekans	İrk
INRA006	100	0.013	AK
INRA132	133	0.011	AK
INRA132	156	0.011	AK
BM1329	232	0.019	AK
SRCRSP05	150	0.013	HNM
SRCRSP05	152	0.003	HNM
INRABERN172	180	0.007	HNM
BM1329	260	0.003	HNM
ILSTS019	136	0.003	HNM
ILSTS087	153	0.044	KIL
SRCRSP05	154	0.006	KIL
INRA23	211	0.013	KIL
INRA132	165	0.019	KIL
BM1329	234	0.007	KIL
ILSTS019	152	0.032	KIL
ILSTS019	158	0.006	KIL
CSR247	221	0.014	KLS
CSR247	227	0.029	KLS
INRA23	247	0.014	KLS

#### 4.3.2 Null Allel Frekansı Bulguları:

Mikrosatellit belirteçleri null (etkisiz) allelleri ortaya çıkarma eğilimindedir ve bu genellikle spesifik belirteçler için popülasyonda daha homozigot lokuslar tarafından endikedir. Genellikle, null allel çoğaltılmadığı için anne ve yavruların bazı lokuslarında genotipik uyumsuzluğa neden olur. Null allel frekansının pozitif tahminiyle bir lokus, homozigotların aşırı olduğunu gösterirken, null bir allelin mevcut olduğunu göstermez. 0.05'ten daha fazla bir null allel frekansı olan bir markör, ebeveyn doğrulamasında tercih edilmez, çünkü bu markörler homozigot alleli olan birçok bireyi göstermek eğilimindedir (Marshall ve ark.1998).

Null allel frekansı çalışma sonuçları incelendiğinde; 0.000 (ILSTS019) ila 0.0829 (INRA132) arasında değişmekte olup, ortalama 0.043'tür. Null allel frekansları 0.05'den büyük olanlar Çizelge 4.3'de koyu yazılmıştır. Null allel frekansları hesaplamaları GENEPOP 4.2 programı ile yapılmıştır.

**Çizelge 4.3:** Null alleller ( Etkisi olmayan, Etkisiz allel)

Lokuslar	Null Allel Frekansı
<b>CSR247</b>	<b>0.0584*</b>
<b>ILSTS087</b>	0.0360
<b>INRA006</b>	0.0302
<b>SRCRSP05</b>	0.0188
<b>INRA23</b>	0.0309
<b>INRA132</b>	<b>0.0829*</b>
<b>INRABERN172</b>	<b>0.0761*</b>
<b>BM1329</b>	0.0543
<b>ILSTS019</b>	0.0000
<b>ORT</b>	0.0430

### 4.3.3 Dışlama Gücü Ve Birleştirilmiş Dışlama Gücü Değerleri

Mikrosatellit DNA polimorfizm tekniğinin kullanılması ile ebeveyn tayininde, bir popülasyonda bulunan rastgele bir bireyin potansiyel ebeveyn olasılığının dışlanması ve testlerin güvenilirliğinin istatistiksel olarak test edilmesinde kullanılan parametrelerden biri dışlama gücü (PE- aday babalar arasından doğru olmayan adayların dışlanması olasılığını) değeridir.

Babalığı dışlama olasılıkları, yalnızca belirteçlerin her birinin alel frekanslarına dayanan varsayım değerlerdir ve bu nedenle herhangi bir aile yapısına göre hesaplanabilir. PE1, aday babanın ve yavruların genotiplerinin bilindiği durumlarda, her bir mikrosatellit belirtecin babalığı dışlama değeridir.

PE2, PE1'den aday babanın yavruları ve bilinen annenin genotipinden farklıdır. Test edilen tüm ebeveyn tahmini sonuçları, bir popülasyon olarak ele alınmış ve markörlerin birleştirilmiş ortalamaları PE1 (0.9999) ve PE2 (0.9986) olarak hesaplanmıştır.

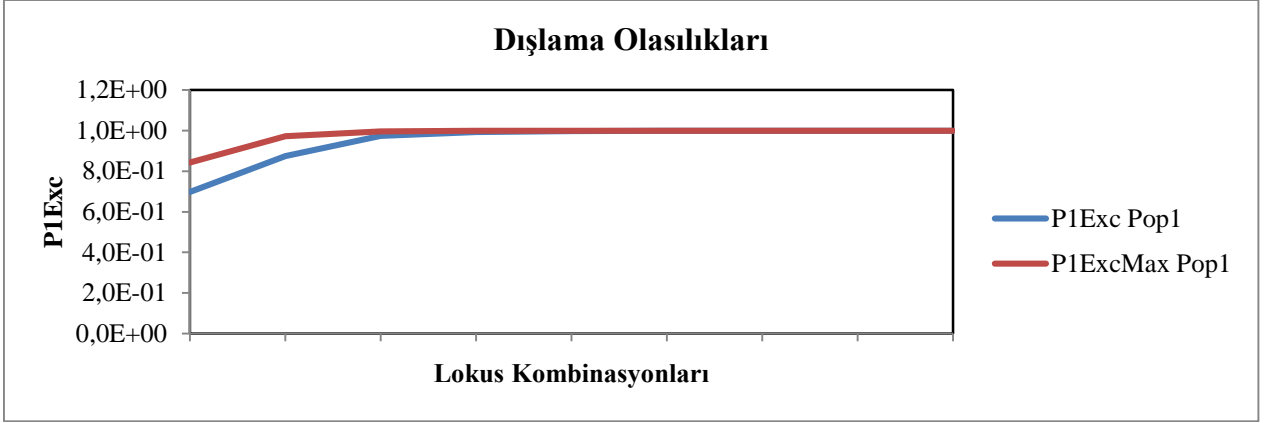
Analiz edilen 9 mikrosatellit markör, tüm dışlama olasılık parametreleri için ortalamanın üstünde hesaplanmıştır. INRA006, değerlendirilen tüm parametrelere (PE1, PE2, PE3) en iyi sonucu vermiştir. Çalışmada seçilen 9 lokusun 4 keçi ırkında dışlama gücü değerleri çizelge (Çizelge 4.4) ve grafik (Şekil 4.31-4.34) olarak aşağıda verilmiştir.



**Çizelge 4.4:** Ankara, Honamlı, Kıl ve Kilis Keçisi ırklarına ait, yavru, anne ve baba adaylarına ait 9 mikrosatellit lokusu verilerinden yararlanılarak hesaplanan dışlama gücü ve birleştirilmiş dışlama gücü değerleri

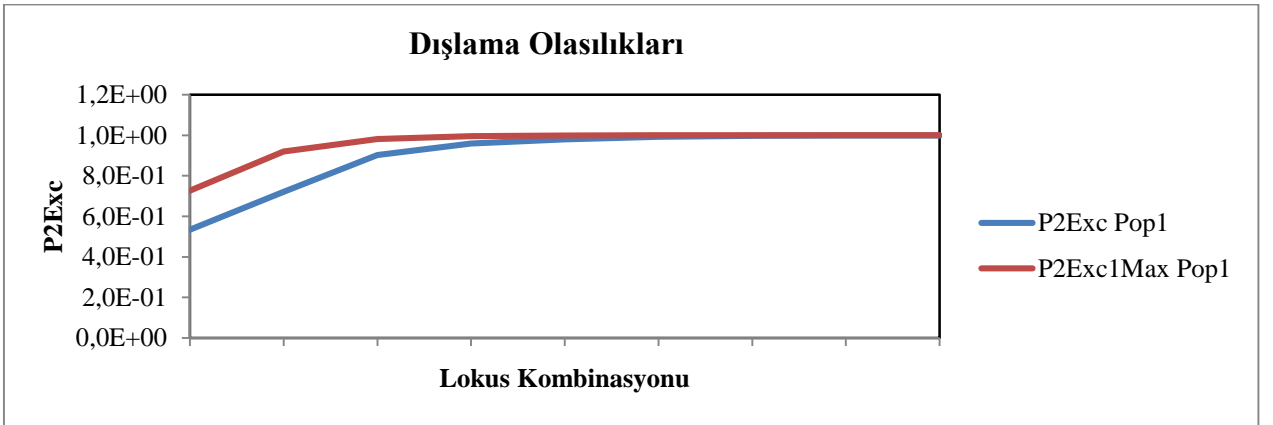
<b>Lokus</b>	<b>PE<sub>1</sub></b>	<b>PE<sub>2</sub></b>	<b>PE<sub>3</sub></b>
<b>CSR247</b>	0.699	0.534	0.868
<b>ILSTS087</b>	0.587	0.399	0.798
<b>INRA006</b>	<b>0.788</b>	<b>0.649</b>	<b>0.929</b>
<b>SRCRSP05</b>	0.738	0.584	0.900
<b>INRA23</b>	0.688	0.522	0.866
<b>INRA132</b>	0.759	0.610	0.913
<b>INRABERN172</b>	0.715	0.554	0.881
<b>BM1329</b>	0.648	0.474	0.826
<b>ILSTS019</b>	0.385	0.222	0.570
<b>Birleştirilmiş Dışlama Olasılığı (Combine Exclusion Probability CEP)</b>	0.9999	0.9986	0.9999

(\*PE<sub>1</sub>, Her iki ebeveynin bilinmemesi halinde baba adayı tekelerden hesaplanan dışlama gücü değerleri; \*\*PE<sub>2</sub>, Her iki ebeveynin bilinmemesi halinde, damızlık aday yavrulardan hesaplanan dışlama gücü değerleri \*\*\* PE<sub>3</sub>; Bir ebeveynin bilinmesi halinde, damızlık aday yavrulardan hesaplanan dışlama gücü değerleri)



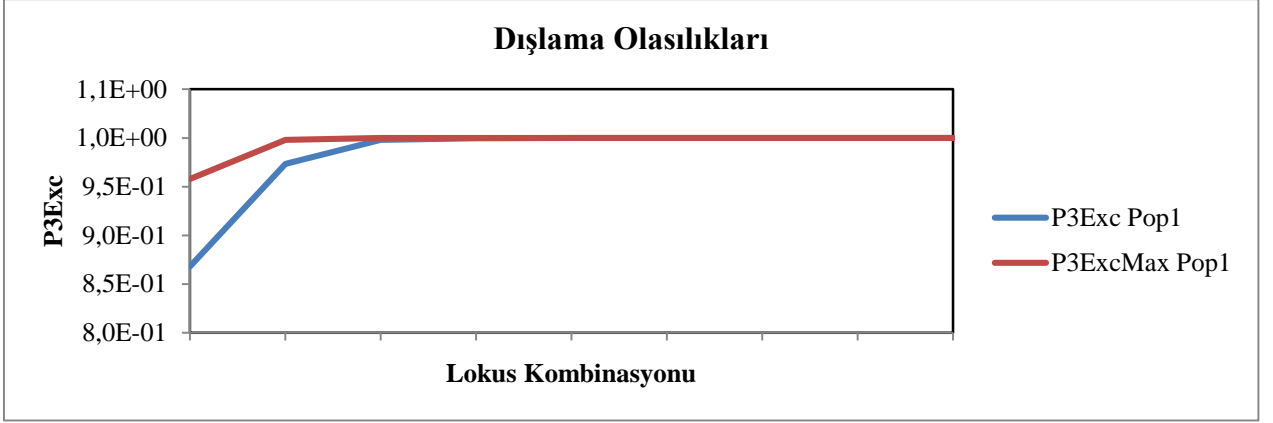
**Şekil 4.31:** Tüm Bireyler ve 9 Mikrosatellit Lokus İçin Hesaplanan PE1 Babalığı Dışlama Olasılıkları

PE1 'de her iki ebeveyninde bilindiği durumda babalığı dışlama olasılığını göstermektedir. Kırmızı çizgi maksimum dışlama olasılığını göstermektedir. Şekilde de görüldüğü üzere doğru ebeveynin seçilmesi 0.5 den yüksektir.



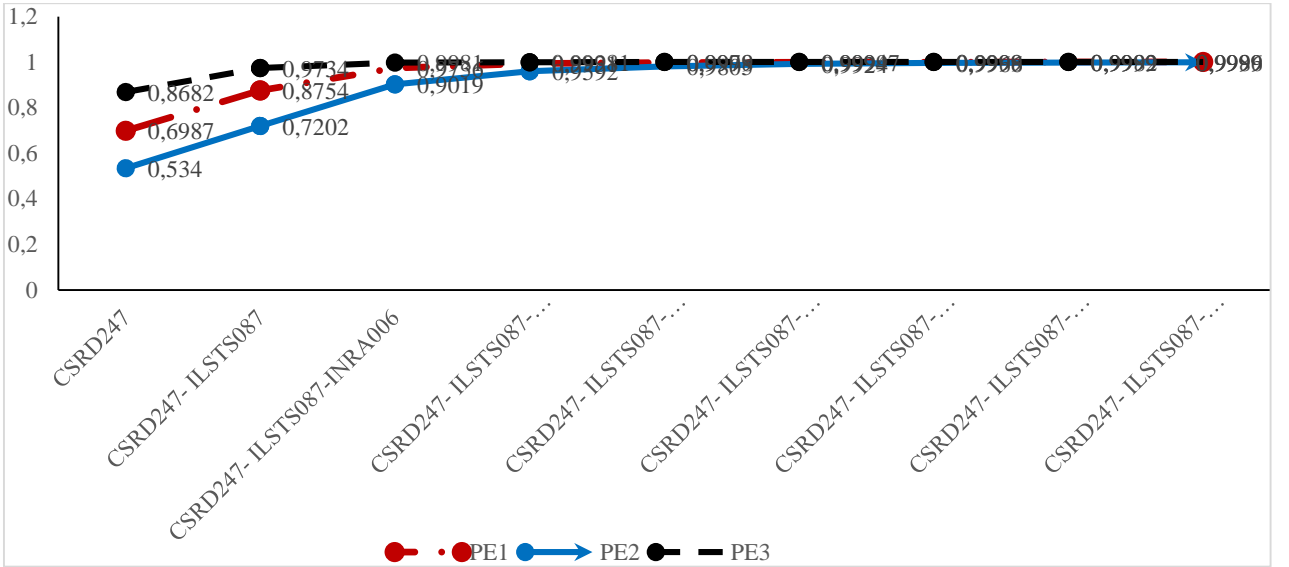
**Şekil 4.32:** Tüm Bireyler ve 9 Mikrosatellit Lokus İçin Hesaplanan PE2 Babalığı Dışlama Olasılıkları

PE2'de bir ebeveynin bilindiği diğer ebeveyninse bilinmediği durumda hesaplanmış babalığı dışlama olasılığını göstermektedir PE2 değeri 0.5' den yüksek önem derecesinde gözlenmiştir.



**Şekil 4.33:** Tüm Bireyler ve 9 Mikrosatellit Lokus İçin Hesaplanan PE3 Babalığı Dışlama Olasılıkları

PE3 ‘iki ebeveyninde bilinmediği durumda hesaplanan dışlama olasılığıdır. Dışlama olasılığı en yüksek değerde 0.8 üzerinde bulunmuştur. PE3 değeri maksimum dışlama olasılığı ile dışlama olasılığının en yakın noktada birleşimini de göstermektedir.



**Şekil 4.34:** Tüm Bireyler ve 9 Mikrosatellit Lokus İçin Kombine Hesaplanan Babalığı Dışlama Olasılıkları

#### **4.4 Babalık Tahmini Sonuçları**

Doğru babayı en güvenilir şekilde tespit etmek amacıyla 4 keçi ırkında baba olma olasılığı (POP) analizi yapılmış bunun sonucunda babalık oranlarının Ankara keçisinde % 43.66 ila % 78.42 arasında, Honamlı keçisinde % 41.897 ila. % 77.987 arasında, Kıl keçisinde % 45.266 ile % 78.879 arasında, Kilis keçisinde % 41.456 ile %76.652 arasında değiştiği tespit edilmiştir. Sonuçlar Çizelge 4.5- 4.8'de gösterilmiştir.

**Çizelge 4.5:** Ankara Keçisi ırkına ait sürülerden toplanan işletmelerden rastgele seçilen yavrularda 9 farklı mikrosatellit bölgesine göre babalık testi sonuçları (<sup>1</sup> anne genotipinin bilinmediği durumda; <sup>2</sup> anne genotipinin bilindiği durumda)

<u>Yavru Kulak No</u>	<u>Aday Test Edilen Babalar Kulak No</u>					<u>Doğru Baba</u>	<u>Baba Olma Olasılığı (POP)</u>
<b>TR06- 4816<sup>1</sup></b>	AK-Teke1	AK-Teke 2	TR062525650	TR062525652	TR061614650	AK-Teke1	% 43.66
<b>AK-Yavru 1<sup>2</sup></b>	AK-Teke1	AK-Teke 2	TR062525650	TR062525652	TR061614650	AK-Teke1	% 52.966
<b>AK-Yavru3<sup>1</sup></b>	AK-Teke1	AK-Teke 2	TR062525650	TR062525652	TR061614650	AK-Teke1	% 54.73
<b>AK-Yavru3<sup>2</sup></b>	AK-Teke1	AK-Teke 2	TR062525650	TR062525652	TR061614650	AK-Teke1	% 67.28
<b>AK-Yavru4<sup>1</sup></b>	AK-Teke1	AK-Teke 2	TR062525650	TR062525652	TR061614650	AK-Teke2	% 47.89
<b>AK-Yavru4<sup>2</sup></b>	AK-Teke1	AK-Teke 2	TR062525650	TR062525652	TR061614650	AK-Teke2	% 59.87
<b>AK-Yavru9<sup>1</sup></b>	TR062525650	TR062525652	TR064307733	TR064307739	TR061828054	TR062525650	% 46.87
<b>AK-Yavru9<sup>2</sup></b>	TR062525650	TR062525652	TR064307733	TR064307739	TR061828054	TR062525650	% 66.80
<b>AK-Yavru10<sup>1</sup></b>	TR062525650	TR062525652	TR064307733	TR064307739	TR061828054	TR062525652	% 59.56
<b>AK-Yavru10<sup>2</sup></b>	TR062525650	TR062525652	TR064307733	TR064307739	TR061828054	TR062525652	% 78.42
<b>AK-Yavru21<sup>1</sup></b>	TR061358859	TR061358862	TR061469077	TR061929108	TR061468524	TR061468524	% 52.66
<b>AK-Yavru21<sup>2</sup></b>	TR061358859	TR061358862	TR061469077	TR061929108	TR061468524	TR061468524	% 74.45
<b>AK-Yavru33<sup>1</sup></b>	TR061358859	TR061358862	TR061469077	TR061929108	TR061468524	TR061469077	% 48.92
<b>AK-Yavru33<sup>2</sup></b>	TR061358859	TR061358862	TR061469077	TR061929108	TR061468524	TR061469077	% 66.87

**Çizelge 4.6:** Honamlı Keçisi ırkına ait sürülerden toplanan işletmelerden rastgele seçilen yavru­larda 9 farklı mikrosatellit bölgesine göre babalık testi sonuçları (<sup>1</sup> anne genotipinin bilinmediği durumda; <sup>2</sup> anne genotipinin bilindiği durumda)

<u>Yavru Kulak No</u>	<u>Aday Test Edilen Babalar Kulak No</u>					<u>Doğru Baba</u>	<u>Baba Olma Olasılığı (POP)</u>
<b>HNM-B -Yavru 1<sup>1</sup></b>	TR451058369	TR151004789	TR15910276	TR15845718	TR15628592	TR451058369	% 41.897
<b>HNM-B -Yavru 1<sup>2</sup></b>	TR451058369	TR151004789	TR15910276	TR15845718	TR15628592	TR451058369	% 49.865
<b>HNM-B-Yavru15<sup>1</sup></b>	TR15526860	TR15628589	TR15614346	TR151052396	TR15845718	TR15628589	% 57.987
<b>HNM-B-Yavru15<sup>2</sup></b>	TR15526860	TR15628589	TR15614346	TR151052396	TR15845718	TR15628589	% 63.98
<b>HNM-A-Yavru6<sup>1</sup></b>	TR071515381	MORTEKE	TR071941974	TR071941960	TR071902240	TR071941960	% 48.654
<b>HNM-A-Yavru6<sup>2</sup></b>	TR071515381	MORTEKE	TR071941974	TR071941960	TR071902240	TR071941960	%51.893
<b>HNM-A-Yavru7<sup>1</sup></b>	TR071515381	MORTEKE	TR071941974	TR071941960	TR071902240	TR071941974	% 56.123
<b>HNM-A-Yavru7<sup>2</sup></b>	TR071515381	MORTEKE	TR071941974	TR071941960	TR071902240	TR071941974	% 65.432
<b>HNM-K-Yavru2<sup>1</sup></b>	TR423925475	TR423924022	TR423924057	TR425051143	TR425051194	TR423925475	% 67.987
<b>HNM-K-Yavru2<sup>2</sup></b>	TR423925475	TR423924022	TR423924057	TR425051143	TR425051194	TR423925475	% 77.651
<b>HNM-K-Yavru8<sup>1</sup></b>	TR426593732	TR422513464	TR424981575	TR422512512	TR421059403	TR422512512	% 67.459
<b>HNM-K-Yavru8<sup>2</sup></b>	TR426593732	TR422513464	TR424981575	TR422512512	TR421059403	TR422512512	% 77.987
<b>HNM-K-Yavru16<sup>1</sup></b>	TR423924435	NO'SUZ	TR425052080	TR425396202	TR425052089	TR425052080	% 48.970
<b>HNM-K-Yavru16<sup>2</sup></b>	TR423924435	NO'SUZ	TR425052080	TR425396202	TR425052089	TR425052080	% 56.234

**Çizelge 4.7:** Kıl Keçisi ırkına ait sürülerden toplanan işletmelerden rastgele seçilen yavrularda 9 farklı mikrosatellit bölgesine göre babalık testi sonuçları (<sup>1</sup> anne genotipinin bilinmediği durumda; <sup>2</sup> anne genotipinin bilindiği durumda)

<u>Yavru Kulak No</u>	<u>Aday Test Edilen Babalar Kulak No</u>					<u>Doğru Baba</u>	<u>Baba Olma Olasılığı (POP)</u>
<b>KIL -B- Yavru 1<sup>1</sup></b>	TR1511225556	TR151125557	TR15627632	TR151004432	No'suz 1	TR1511225556	% 56.438
<b>KIL -B- Yavru 1<sup>2</sup></b>	TR1511225556	TR151125557	TR15627632	TR151004432	No'suz 1	TR1511225556	% 62.567
<b>KIL -B- Yavru 8<sup>1</sup></b>	TR1511225556	TR151125557	TR15627632	TR151004432	No'suz 2	TR151004432	% 45.695
<b>KIL-B-Yavru 8<sup>2</sup></b>	TR1511225556	TR151125557	TR15627632	TR151004432	No'suz 2	TR151004432	% 57.981
<b>KIL-D-Yavru 1<sup>1</sup></b>	TR20739271	TR20739364	TR20931187	TR20931178	TR151004432	TR20739271	% 48.567
<b>KIL-D-Yavru 1<sup>2</sup></b>	TR20739271	TR20739364	TR20931187	TR20931178	TR151004432	TR20739271	% 59.654
<b>KIL-D-Yavru 8<sup>1</sup></b>	TR20739271	TR20739364	TR20931187	TR20931178	TR48623080	TR20931187	% 58.987
<b>KIL-D-Yavru 8<sup>2</sup></b>	TR20739271	TR20739364	TR20931187	TR20931178	TR48623080	TR20931187	% 64.892
<b>KIL-M-Yavru2<sup>1</sup></b>	TR481015159	TR48765077	TR48236971	TR48623080	TR071058216	TR48623080	% 71.987
<b>KIL-M-Yavru2<sup>2</sup></b>	TR481015159	TR48765077	TR48236971	TR48623080	TR071058216	TR48623080	% 77.876
<b>KIL-M-Yavru8<sup>1</sup></b>	TR481015159	TR48765077	TR48236971	TR48623080	TR071058216	TR481015159	% 45.266
<b>KIL-M-Yavru8<sup>2</sup></b>	TR481015159	TR48765077	TR48236971	TR48623080	TR071058216	TR481015159	%54.744
<b>KIL-A-Yavru8<sup>1</sup></b>	TR0720121682	TR071427221	TR07998876	TR071058216	TR48623080	TR071058216	% 67.927
<b>KIL-A-Yavru8<sup>2</sup></b>	TR0720121682	TR071427221	TR07998876	TR071058216	TR48623080	TR071058216	% 78.879

**Çizelge 4.8:** Kilis Keçisi ırkına ait sürülerden toplanan işletmelerden rastgele seçilen yavrularda 9 farklı mikrosatellit bölgesine göre babalık testi sonuçları (<sup>1</sup> anne genotipinin bilinmediği durumda; <sup>2</sup> anne genotipinin bilindiği durumda)

<u>Yavru Kulak No</u>	<u>Aday Test Edilen Babalar Kulak No</u>					<u>Doğru Baba</u>	<u>Baba Olma Olasılığı (POP)</u>
<b>KLS - Yavru 1<sup>1</sup></b>	TR79-439803	TR79-439803	TR79-514168	TR79-388770	TR79- 371647	TR79- 439803	% 54.660
<b>KLS -Yavru 1<sup>2</sup></b>	TR79- 439803	TR79-439803	TR79-514168	TR79-388770	TR79- 371647	TR79- 439803	% 62.876
<b>KLS-Yavru 3<sup>1</sup></b>	TR79- 439803	TR79- 439803	TR79-514168	TR79-388770	TR79- 371647	TR79- 439803	% 64.321
<b>KLS- Yavru 3<sup>2</sup></b>	TR79- 439803	TR79- 439803	TR79-514168	TR79-388770	TR79- 371647	TR79- 439803	% 71.728
<b>KLS-Yavru 13<sup>1</sup></b>	TR79-514168	TR79-388770	TR79- 371647	TR79-330661	TR79-408662	TR79-514168	% 42.654
<b>KLS- Yavru 13<sup>2</sup></b>	TR79-514168	TR79-388770	TR79- 371647	TR79-330661	TR79-408662	TR79-514168	% 51.765
<b>KLS-Yavru 24<sup>1</sup></b>	No'suz 1	TR79-523018	TR79-475498	TR79-407418	TR79-330661	No'suz1	% 66.986
<b>KLS- Yavru 24<sup>2</sup></b>	No'suz 1	TR79-523018	TR79-475498	TR79-407418	TR79-330661	No'suz1	% 71.854
<b>KLS- Yavru 27<sup>1</sup></b>	No'suz 1	TR79-523018	TR79-475498	TR79-407418	TR79-330661	TR79-523018	% 42.987
<b>KLS-Yavru 27<sup>2</sup></b>	No'suz 1	TR79-523018	TR79-475498	TR79-407418	TR79-330661	TR79-523018	% 51.456
<b>KLS-Yavru 18<sup>1</sup></b>	TR79-514168	TR79-388770	TR79- 371647	TR79-330661	TR79-408662	TR79-388770	% 63.269
<b>KLS-Yavru 18<sup>2</sup></b>	TR79-514168	TR79-388770	TR79- 371647	TR79-330661	TR79-408662	TR79-388770	%76.652
<b>KLS-Yavru 30<sup>1</sup></b>	No'suz 1	TR79-523018	TR79-475498	TR79-407418	TR79-330661	TR79-407418	% 41.456
<b>KLS-Yavru 30<sup>2</sup></b>	No'suz 1	TR79-523018	TR79-475498	TR79-407418	TR79-330661	TR79-407418	% 53.567



## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Son yıllarda keçi yetiştiriciliği, Dünya ve AB ülkelerinde, artmaktadır. Bu artışta ekonomik, fizyolojik ve biyolojik faktörler etkili olmaktadır. Keçi anatomik ve fizyolojik yapısı gereği değerlendirilemeyen alanları kaliteli hayvansal ürünlere dönüştürebilmektedir. Bu yönüyle önemli bir biyolojik varlıktır. Keçi yetiştiriciliği Türkiye’de yaygın olarak yürütülmektedir. Özellikle de yoksul ailelerin hayvansal protein ihtiyaçlarının karşılanmasında önemli bir kaynak olma durumundadır. Türkiye’nin ekonomik ve coğrafi şartları bu türden daha fazla ve etkin olarak yararlanmak için uygundur. Ancak ülkemizde küçükbaş hayvanlardan özellikle de keçilerden birim hayvan başına elde edilen verim istenilen düzeyde değildir. Türkiye’de keçi yetiştiriciliğinin karlı ve verimli bir yapıya kavuşturulması için yapılması gerekenlerin başında etkili bir ıslah ve yetiştirme programının uygulamaya konulması gelmektedir (Günlü ve Alaşahan 2010). Diğer çiftlik hayvanlarında olduğu gibi keçi yetiştirildiğinde de Türkiye’nin içinde bulunduğu bu durumu düzeltebilmek için öncelikle mevcut yerli ırkların ıslah edilmesi gerekmektedir. Yerli ırkların ıslah edilmesinde yeterince geç kalmış olduğumuzu düşünürsek daha kısa sürede sonuç alabilmemiz için uygulamaya koyduğumuz veya koyacağımız klasik ıslah programlarının değişik aşamalarında modern biyoteknolojiden faydalanmak bir zorunluluk olarak ortaya çıkmaktadır. Bunların başında pedigri yetiştiriciliğinin gerekliliği olan moleküler tekniklerle ebeveyn testi gelmektedir. Bu tez çalışması TAGEM -14/AR-GE/15 No’lu ‘Türkiye Yerli Keçi Irklarında Mikrosatellit DNA Polimorfizm Tekniğinin Kullanılması İle Ebeveyn Tayini’ projesi kapsamında araştırılması hedeflenen mikrosatellit bölgelerinden bir kısmını içermektedir. Bu çalışma kapsamında 9 mikrosatellit bölgesi 4 farklı yerli keçi ırkımızda incelenmiş ve ebeveyn tayininde kullanılabilirliği araştırılmıştır.

Keçilerde ebeveynlerin belirlenmesinde Uluslararası Hayvan Genetiği Topluluğu (ISAG) ve bazı bilimsel çalışmalar (Araújo ve ark. 2010, Siwek ve Knol 2010, Luna-González ve ark. 2012) tarafından farklı sayılarda (18-23) mikrosatellit bölgesinin kullanılması önerilmektedir. Yurt dışında birçok laboratuvarında (<http://www.vgl.ucdavis.edu/services/index.php>), keçilerde ebeveyn tayininde mikrosatellit DNA polimorfizm tekniği kullanılarak ebeveynlerin belirlenmesi yapılmaktadır.

Bir ebeveyn doğrulama panelinin etkinliği, kullanılan markör sayısına tamamen bağlı değildir, bunun yerine bu markörlerin bilgisine bağlıdır. Bu durum, polimorfik bilgi içeriği (PIC), heterozigotluk (H), dışlama gücü (exclusion probability- PE), ayırtılma gücü (Power of discrimination, PD) gibi parametrelerle ölçülür ve bu belirteçlerin allel ve allel frekanslarına bağlı olarak populasyonlar arasında farklılıkları incelenir (Curi and Lopes 2002). Bu parametrelerin incelendiği çeşitli çalışmalar aşağıda ayrı ayrı özetlenmiş ve bu tez çalışması kapsamında elde edilen sonuçlarla karşılaştırılmıştır.

Aljumaah ve arkadaşları (2012) tarafından Suudi Arabistan'da Ardi keçilerinde genetik çeşitliliğe yönelik yapılan bir çalışmada 14 mikrosatellit markör kullanılarak allel frekansları hesaplanmış, gözlenen heterozigotluk ( $H_o$ ) 0.6341, beklenen heterozigotluk ( $H_e$ ) 0.8172 olarak bulunmuştur. Sekiz allel için, etkili allel sayısı (NE) 5.4705, PIC 0.7810, Hardy Weinberg dengesi (HWE), 0,0001 olarak hesaplanmıştır. Çalışmamızla 1 mikrosatellit bölgesi (INRA23) benzerdir.

Agha ve ark (2008) farklı keçi ırklarında genetik çeşitliliği araştırmak için 4 tanesi bu tez çalışması ile ortak (ILSTS019, SRCRSP5, ILSTS087, CSRD247) olmak üzere 7 mikrosatellit belirteç kullanmıştır. Çalışmada üçü Mısır'dan (Mısır Baladi, Barki ve Zeraibi) ve ikisi İtalya'dan (Maltese ve Montefalcone) olmak üzere 5 farklı keçi ırkından bireyler üzerinde yapılmıştır. Yüksek polimorfik bilgi içeriği değeri en fazla % 5 in üzerinde lokus-ırk kombinasyonları belirlenmiş ve bu değerde lokusların yararlı olduğu bildirilmiştir. İrkların beklenen heterozigotluğu 0.670 - 0,792 arasında varyasyon göstermiş, kullanılan tüm mikrosatellit belirteçler, araştırılan ırklarda polimorfik bilgi içeriği yüksek ( $PIC > 0.5$ ) bulunmuştur. Yüksek polimorfik bilgi içeriği değerine sahip bu mikrosatellitlerin genetik çeşitlilik çalışmalarında kullanılabileceği belirtilmiştir.

Yapılan bu tez çalışmasında ise toplamda 129 allelin tespit edildiği 9 farklı mikrosatellit bölgesinin (CSR0247, ILSTS087, INRA023, INRA132, SRCRSP005, BM 1329, INRA006, INRABERN172, ILSTS019) 4 farklı yerli keçi ırkına ait 116'sı anne, 153'ü yavru, 84'ü teke olmak üzere toplamda 403 bireyde ( Ankara Keçisi, Honamlı Keçisi, Kıl Keçisi, Kilis Keçisi) babalık oranını belirlemede kullanılabilirliği aynı parametreler doğrultusunda değerlendirilmiştir. Değerlendirilen mikrosatellit markörlerin allel frekanslarına dayalı ebeveyn tayini araştırmasında benzer birçok çalışmada olduğu gibi, gözlenen ve beklenen heterozigotluklar (Ho, He), polimorfizm bilgi içeriği, ayırtılma gücü (PD) araştırılmıştır. En çok allel; INRA23 lokusunda (18 Allel) , en az ise ILSTS019 lokusunda (11 Allel) gözlenmiştir. Ortalama allel sayısı; 14,33 bulunmuştur. Beklenen heterozigotluk (He) en yüksek INRA006 lokusunda (0,8966), en düşük ILSTS019 lokusunda (0,6240) olup, 9 lokusun ortalaması 0,8204 olarak bulunmuştur. Gözlenen heterozigotluk (Ho) en yüksek INRA006 lokusunda (0,8553) , en düşük ILSTS019 lokusunda (0,6432) gözlenmiş, ortalama değer ise 0,7515 olarak bulunmuştur. Bu sonuçlar benzer ebeveyn belirleme çalışmalarının sonuçları ile karşılaştırıldığında (Friedrich 2009, Cristina da Silva ve ark. 2014, Ganai ve Yadav 2005, Luikart ve ark. 1999, Araújo ve ark. 2010) gözlemlenen ve beklenen heterozigotluk değerlerinin yakın aralıklarda olduğu belirlenmiştir. Heterozigotluğun çok düşük olduğu mikrosatellit bölgelerinin ebeveyn tayininde kullanılması sonucunda doğruluk derecesi düşmektedir. Bu çalışmada kullanılan 9 mikrosatellit bölgesinde hiçbir lokusun heterozigotluk değerinin 0.50'den düşük olmadığı belirlenmiştir.

Çalışmada polimorfizm (PIC) bilgi içeriği değeri INRA006 lokusunda (0.890) en yüksek, ILSTS019 lokusunda (0.570) en düşük olarak tespit edilmiş, lokusların ortalaması 0,8011 olarak bulunmuştur. Polimorfizm bilgi içeriği değerinin 0.500'nin üzerinde olması çalışılan mikrosatellit lokuslarının oldukça enformatik olduğunu göstermektedir (Botstein ve ark. 1980). Çalışma sonuçları bu bilgi çerçevesinde değerlendirildiğinde çalışılan tüm mikrosatellit bölgelerinin ebeveyn tayininde kullanılabilmesi ve yeterli düzeyde bilgi verici olabileceği değerlendirilebilir.

Çalışılan mikrosatellit bölgelerinin ebeveyn testindeki etkinliğini gösteren bir diğer parametre sık gözlenen allel frekansı değeridir. Ebeveyn testi çalışmalarında allel frekansının 0.50 ve üzerinde olduğu mikrosatellit bölgesinin bireyleri tanımlamada etkili olmadığı belirtilmektedir (Rehout ve ark. 2006). Mevcut çalışmada 9 mikrosatellit lokusundan 8'inde

en sık gözlenen allel frekansının 0.161 ile 0.457 arasında olduğu, sadece bir tanesinde (ILSTS019) bu değerin 0.540 olduğu görülmüştür. Çalışma kapsamında ayırlama gücü (PD) en yüksek allel INRA006 (0.977) ortalama birleştirilmiş ayırlama gücü ise 0.989'dur. Sık gözlenen allel frekansları dikkate alındığında tez kapsamında çalışılan 8 mikrosatellit bölgelerinin doğru ebeveyni belirleme amacıyla kullanılmasının mümkün olduğu sonucuna varılabilir.

Mikrosatellit lokusların kullanılması ile populasyonların genetik farklılıklarının incelendiği ve ebeveyn tayini çalışmalarında null allele frekansı  $r = 0.05$  ise bölgenin güvenilir olduğu ve istatistiki olarak önemsiz olduğu ifade edilmektedir. Eğer null allel frekansı  $0.05 \leq r \leq 0.20$  ise, orta bir değer ve istatistiki olarak kabul edilebilir olduğu belirtilmektedir. Eğer null allel frekansı  $r = 0.20$  ise çok yüksek bir değer olduğu ve güvenilirliğin oldukça düşük olduğu bildirilmektedir (Chapuis ve Estoup, 2007). Tez çalışması kapsamında çalışılan mikrosatellit bölgelerinin null allel frekansı 0.05'den yüksek olduğunda bu bölgenin güvenilirliğin düşük ve dolayısıyla heterozigotluk kaybına yönelik şüphenin mevcut olabileceğini düşündürmektedir. Ancak değerler  $0.05 \leq r \leq 0.20$  arasında olduğunda istatistiki olarak kabul edilebilir bir aralıktadır. Bu frekans değerleri dikkate alındığında Türkiye yerli keçi ırklarında çalışılan tüm mikrosatellit bölgelerinin ebeveyn tayini ve populasyonlar arası farklılıklarının incelenmesinde kullanılmasının uygun olabileceği düşünülmektedir.

Bunlara ilave olarak mikrosatellit DNA polimorfizm tekniğinin kullanılması ile ebeveyn tayininde, bir populasyonda bulunan rastgele bir bireyin potansiyel ebeveyn olma olasılığının dışlanması ve testlerin güvenilirliğinin istatistiksel olarak test edilmesinde kullanılan parametrelerden biri dışlama gücü (PE- aday babalar arasından doğru olmayan adayların dışlanması olasılığını) değeridir. Birçok araştırmada olduğu gibi (Glowatzki - Mullis ve ark 2007, Araújo ve ark. 2010, Siwek ve Knol 2010) bu çalışmada babalık testinin temelini oluşturan dışlama gücü olasılığı (PE) değerleri de hesaplanmıştır. Çalışmada seçilen 9 mikrosatellit lokusu dikkate alınarak yapılan hesaplamada, her iki ebeveynin bilinmemesi halinde baba adayı tekelerden hesaplanan birleştirilmiş dışlama gücü değerinin 0.999, her iki ebeveynin bilinmemesi halinde, yavrulardan hesaplanan birleştirilmiş dışlama gücü değerinin 0.998, tek bir ebeveynin bilinmesi durumunda yavrulardan hesaplanan birleştirilmiş dışlama gücü değerinin ise 0.999 olduğu belirlenmiştir.

Cristina da Silva ve ark. (2014)'nın Brezilya yerli keçilerinde mikrosatellit DNA tekniğinin kullanılması ile ebeveyn tayininde kullanılabilecek bir panel oluşturulmasına yönelik yaptıkları bir çalışmada, 16 farklı mikrosatellit bölgesi ile çalışılmıştır. Çalışma sonunda lokusların allel sayıları, beklenen ve gözlenen heterozigotluk değerleri, polimorfik bilgi içeriği değerleri (PIC), dışlama olasılık değerleri incelenmiş, hesaplanan dışlama gücü değerlerinin 0.9999'dan daha yüksek olduğu ve 16 mikrosatellit bölgelerinin ebeveyn belirlemede kullanılabileceği belirtilmiştir. Bu çalışmada kullanılan mikrosatellit bölgelerinden 3 tanesi (ILSTS087, SRCRSP05, INRABERN172) bu tez kapsamında da çalışılmıştır.

Araújo ve ark. (2010)'nun yaptıkları bir çalışmada ise, Brezilya'da yetiştiriciliği yapılan 3 keçi ırkında (toplam 292 birey) 11 mikrosatellit bölgesinin ebeveyn testinde kullanılabilirliği test edilmiştir. Bu çalışma sonuçları incelendiğinde, ebeveynlerin her ikisinin bilinmiyor olması halinde hesaplanan birleştirilmiş dışlama gücü değerinin 0.9883 olduğu, ebeveynlerden birinin (babanın) bilinmesi halinde bu değer 0.9996 olduğu belirlenmiştir. Bu mikrosatellitlerden 4 tanesi (ILSTS087, SRCRSP05, INRA006, INRABERN172) bu tez çalışmasındakiler ile ortaktır.

Glowatzki-Mullis ve ark.(2007)'nin yaptığı mikrosatellit DNA polimorfizm tekniğini kullanarak ebeveyn tayini çalışmasında 426 bireyde, 2 tanesi bu tez çalışmada da incelenmiş olan (BM1329, CSR0247) 17 markör kullanılmış ve Bezoar keçisi (0.859) hariç tüm ırklar için toplam dışlama gücü 0.999 olarak bulunmuştur.

Siwek ve Knol'in (2010) İtalyan yerli keçilerinde yaptığı bir çalışmada, mikrosatellit DNA tekniğinin kullanılması ile ebeveyn tayininde kullanılabilecek uygun lokusların seçilmesine çalışılmıştır. Bu çalışmada ISAG panelinde yer alan 3 lokus, Econogen projesinde yer alan 14 farklı lokus ve keçide genetik çeşitliliğin çalışıldığı 6 lokus olmak üzere toplamda 23 farklı mikrosatellit bölgesinde çalışılmıştır. Çalışma sonunda lokusların allel sayıları, beklenen ve gözlenen heterozigotluk değerleri, polimorfik bilgi içeriği değerleri (PIC), dışlama olasılıkları, Hardy Weinberg Dengesine uyum ve yanlış ebeveyn olma olasılığı (probability of excluding wrong paternities- Pe) değerleri hesaplanmıştır. Elde edilen sonuçlar incelendiğinde, 20 lokusun ebeveyn belirlemede yeterli olamayacağı ilave lokusların çalışılması gerektiği bildirilmiştir. Çalışılan lokusların 4 tanesi (ILSTS087, SRCRSP05, INRABERN172, BM1329) bu tez çalışmasında da incelenmiştir.

Ülkemizde Kilis, Yayladağ, Honamlı, Kıl, Ankara, Saanen, Alpin ve Malta ırkı keçilerinde 11 farklı mikrosatellit bölgesinin kullanılması ile babalık testinin yapıldığı bir çalışmada elde edilen birleştirilmiş dışlama gücü değerinin 0.999 olduğu belirlenmiştir. Ortalama  $H_0$  değerlerinin 0.357- 0.856, ortalama  $H_E$  değerlerinin ise 0.601 - 0.861 arasında değiştiği gözlenmiştir. Çalışmada bu 11 lokusun kullanılması ile hesaplanan dışlama gücü değerinin Malta ırkında 0.998, diğer ırklarda ise 0.999 olduğu ve dolayısıyla keçilerde kimliklendirme çalışmalarında başarıyla kullanılabileceği bildirilmiştir (Bulut ve ark. 2014). Çalışılan lokusların 4 tanesi (ILSTS087, CSR0247, INRA23) bu tez çalışmasında da incelenmiştir.

Luikart ve ark. (1999) tarafından Moğol yerli kaşmir, Türk Ankara keçisi, İsviçre Saanen'i ve İspanyol Murciana-Grenadina ırklarında 22 farklı mikrosatellit bölgesinin kullanılarak ebeveyn testinin yapıldığı bir çalışmada ebeveynlerden bir tanesinin bilinmesi halinde hesaplanan dışlama gücü değerlerinin 0.9999' dan daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Bu mikrosatellit bölgelerinden 2 tanesi (INRABERN172, SRCRSP005) bu tez çalışmasında da kullanılmıştır.

Mevcut tez çalışmasında ise seçilen 9 mikrosatellit lokusunun dışlama gücü (CPE) değeri keçilerde yapılan diğer çalışmalar ile karşılaştırıldığında elde edilen değerlerin bazı araştırmalar ile benzer veya daha yüksek olduğu görülmektedir. Bu sonuçlar tek başına değerlendirildiğinde ve diğer çalışmalarla kıyaslandığında çalışılan 9 mikrosatellit bölgesinin doğru ebeveyni belirlemede yeterli olabileceği gibi bir sonuç çıkarılabilir. Ancak güvenilirliğinin test edilmesi amacı ile her ırktan rastgele seçilen yavrularda yapılan çalışmada 9 farklı mikrosatellit bölgesi sonuçlarına bakıldığında baba olma olasılık değerlerinin %41.45 ila %78.87 arasında olduğu görülmektedir. Ebeveyn testi ya da babalık testinde kabul edilen babalık yüzdesinin %99.73'ten daha yüksek olması istenmektedir. Bu sonuca ulaşılmadıkça kesin bir babalık tayinine karar verilemeyeceği tüm Dünya ülkelerinde kabul görmektedir (Cerit 2003).

Sonuç olarak bu değerlendirmeler çerçevesinde, incelen çeşitli parametreler göz önüne alındığında çalışılan mikrosatellit bölgelerinin ebeveyn tayini için değerlendirilebileceği ancak her ne kadar yüksek dışlama gücü değerleri vermiş de olsalar doğru baba olma olasılığı (%99.73'e eşit ya da büyük)'nın hesaplanması için 9 mikrosatellit bölgelerinin yeterli

olmadığı, daha fazla gen bölgesinin çalışılması ile baba olma olasılığı değerlerinin yeniden hesaplanması gerektiği ortaya çıkmaktadır.

## 6. KAYNAKLAR

- Agha SH, Pilla F, Galal S, Shaat I, D'Andrea M, Reale S (2008). Genetic diversity in Egyptian and Italian goat breeds measured with microsatellite polymorphism. *J. Anim. Breed. Genet.* 125:194-200.
- Ağaoğlu Korkmaz Özgecan, Kul Bengi Çınar, Akyüz Bilal, Özkan Emel, Ertuğrul Okan, Erol Halil (2010) . Keçi Türünde Mikrosatellit Polimorfizminin Belirlenmesinde Farklı Çoklu-PZR (Multipleks PCR) Sistemleri. *Vet Hekim Der Derg* 81(2): 21-27.
- Al-Atiyat RM (2015). The power of 28 microsatellite markers for parentage testing in sheep. *Electronic Journal of Biotechnology*,18 (2): 116-121.
- Aljumaah R S, Musthafa M M, Al-Shaikh M A, Badri O M and Hussein M F (2012). Genetic diversity of Ardi goat based on Microsatellite analysis. *African Journal of Biotechnology* 11(100): 16539-16545.
- Amigues Y, Bed'Hom B ve Boscher M.-Y (2003). Genetic testing of sheep and goat in Labogena. *Proceedings of the International Workshop on Major Genes and QTL in Sheep and Goat, CD-ROM Communication No. 1-10.*
- Ankaralı B, Sözen Ö ve Daşkiran İ (2009). Halk Elinde Ülkesel Küçükbaş Hayvan Islahı Projesi. *Türkiye Koyunculuk Kongresi, Bildiriler Kitabı, 12-13 Şubat. sf. 219-224.*
- Anonim (2018a): Halk-Elinde-Hayvan-Islahi-Ulkesel-Projesi Sunusu <https://www.tarim.gov.tr/TAGEM/Link/32/Halk-Elinde-Hayvan-Islahi-Ulkesel-Projesi>. (erişim tarihi 03.03.2018).
- Anonim (2018b): Halk-Elinde-Hayvan-Islahi-Ulkesel-Projesi Sunusu <http://albinacmsfile.albinasoft.com/Dosyalar/61/287/LK287D103062015105519063.pdf>. (erişim tarihi 03.03.2018).
- Anonim (2018c). INRA bovmap database. <http://dga.jouy.inra.fr/cgi-bin/lgbc/summary.operl?BASE=cattle>. (erişim tarihi 24.05.2018)
- Anonim (2018d). INRA goat map database. <http://dga.jouy.inra.fr/cgi-bin/lgbc/summary.operl?BASE=goat> (erişim tarihi 24.05.2018)
- Araújo MA, Guimarães SEF, Pereira CS, Lopes PS, Rodrigues MT, Machado TMM (2010). Paternity in Brazilian goats through the use of DNA microsatellites. *R. Bras. Zootec.* 39(5):1011-1014.
- Baron EE, Martinez ML, Verneque RS ve Coutinho LL (2002). Parentage Testing and Effect of Misidentification on the Estimation of Breeding Value in Gir Cattle. *Genetics and Molecular Biology*, 25 (4): 389-394.
- Belkhir K, Borsa P, Chikhi L, Goudet J ve Bonhomme F (1996-2000). GENETIX 4.00 Windows™ software for sample genetics. Laboratoire Génome, Populations, Intéractions, University of Montpellier, France (Université Montpellier II//www.univ-montp2.fr/~genetix/genetix/genetix.htm//December 2004).



- Botstein D, White RL, Skolnick M, Davis RW (1980). Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *American Journal of Human Genetics*. 32:314–31.
- Bulut Z, Kurar E, Özşensoy Y, Altunok V, Nizamlıoğlu M (2014). Türkiye’de bulunan bazı keçi ırklarında mikrosatellit DNA markörlerinin kimliklendirme çalışmalarında kullanılabilirliğinin araştırılması. *Journal of Cell and Molecular Biology*, 12(1&2): 39-45.
- Brenner, C. and J. Morris. 1990. Paternity index calculations in single locus hypervariable DNA probes: validation and other studies, p. 21-53. In *Proceedings for the International Symposium on Human Identification 1989*. Promega Corporation, Madison, WI.
- Butler JM (2005). *Forensic DNA Typing: Biology, Technology, and Genetics of STR Markers* (2nd Edition). Elsevier Academic Press, New York.
- Bruford MW, Bradley DG, Luikart G (2003). DNA markers reveal the complexity of livestock domestication. *Nat Rev Genet*, 4(11): 900–910.
- Calvo JH, Bouzada JA, Jurado JJ ve Serrano M (2006). Genetic Substructure of the Spanish Manchega sheep breed. *Small Ruminant Research*. 64: 116-125.
- Carmen M (2007) *Genetic Characterization Of Indigenous Goat Populations Of Mozambique*. University Of Pretoria.
- Cemal İ (2014). *Verim Denetimleri Ve Genomik Tanımlama*. Koyun Keçi Genetik İslah Çalıştayı.
- Cerit H (2003). Bir Holstein Sığır Populasyonunda Bazı genomik lokusların Allel Frekanslarının belirlenmesi ve Birey Tanımlanmasındaki Önemi. *Türk J. Vet. Anim Sci*, 2227: 81/91
- Cervus, 3.0, Cervus is a computer program for assignment of parents to their offspring using genetic markers. Cervus, a Windows package for parentage analysis using a likelihood approach. CERVUS was written by Tristan Marshall. (tristan.marshall@ed.ac.uk) (Marshall, T., 1998/2006) <http://www.fieldgenetics.com/pages/home.jsp>
- Chapuis MP, Estoup A. (2007). Microsatellite null alleles and estimation of population differentiation. *Montferrier/Lez, France. Molecular Biology and Evolution*, Volume 24, Issue 3, 1 March 2007, Pages 621–631, <https://doi.org/10.1093/molbev/msl191>.
- Cristina da Silva E, McManus CM, Guimarães MP, SLM, Gouveia AMG, Facó O, Pimentel DM, Caetano AR, Paiva SR (2014). Validation of a microsatellite panel for parentage testing of locally adapted and commercial goats in Brazil. *Genetics and Molecular Biology*, 37( 1): 54-60.
- Condit R, Hubbell SP (1991). Abundance and DNA sequence of two-base repeat regions in tropical tree genomes. *Genome*, 34: 66-71.
- Curi RA and Lopes CR (2002) Evaluation of nine microsatellite loci and misidentification paternity frequency in a population of Gyr breed bovines. *Braz J Vet Res Anim Sci*, 39:129- 135.

- Crawford AM, Bailey MJ, Anderson RM ve McEwan KM (2006). Uptake of DNA testing by the livestock industries of New Zealand, Proceedings of the Eighth World Congress on Genetics Applied to Livestock Production Belo Horizonte, Brazil.
- Dodds KG, McEwan JC ve Davis GH (2007). Integration of molecular and quantitative information in sheep and goat industry breeding programmes. *Small Ruminant Research*, 70: 32-41.
- Ellegren H, Moore S, Robinson N, Byrne K, Word W, Sheldons BC (1997). Microsatellite Evolution A Reciprocal Study of Repeated Lengths at Homologous Loci In Cattle and Sheep. *Mol. Biol. Evol*, 14(8):854-860.
- Fadiel A, Anidi I ve Eichenbaum KD (2005). Farm animal genomics and informatics: an update. *Nucleic Acids Research*, 33: 19.
- FAO (2014). Food and Agricultural Organization of the United Nations. FAOSTAT | © FAO Statistics Division.. <http://faostat.fao.org/site/573/DesktopDefault.aspx?PageID=573#ancor> (Erişim Tarihi: 25.03. 2014).
- Fairbanks DJ ve Andersen WR (1999). *The Continuity of life* Brooks / Cole Publishing Company. Wadsworth Publishing Company, 511 Forest Lodge Road, Pasific Grove CA 93940. ISBN 0-534-25272-9.
- Freeland JR (2005). *Molecular ecology*. John Wiley&Sons, Ltd., England.
- Friedrich H (2009). Evaluation of microsatellite markers for parentage verification in South African Angora goats. Department of Animal & Wildlife Sciences, Faculty of Natural and Agricultural Sciences, University of Pretoria, Pretoria. October 2009.
- Ganai NA and Yadav BR (2005). Parentage Determination in Three Breeds of Indian Goat Using Heterologous Microsatellite Markers. *Applications of Gene-Based Technologies for Improving Animal Production and Health in Developing Countries*. 613-620.
- Gerber S, Mariette S, Streiff R, Bodenes C and Kremer A (2000). Comparison of microsatellites and amplified fragment length polymorphism markers for parentage analysis. *Molecular Ecology*, 9: 1037-1048.
- Glowatzki-Mullis ML, Muntwyler J, Gaillard C (2007). Cost-effective parentage verification with 17-plex PCR for goats and 19-plex PCR for sheep. *Anim Genet*, 38(1):86-8.
- Günlü Aytakin ve Alaşahan Sema (2010). Türkiye’de Keçi Yetiştiriciliği ve Geleceği Üzerine Bazı Değerlendirmeler. *Vet Hekim Der Derg* 81(2): 15-20.
- 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, Tokyo.
- Jones AG, Ardren WR (2003). Methods of parentage analysis in natural populations. *Mol ecol*, 12: 2511-2523

- Kaymakçı M (2006). İleri Koyun Yetiştiriciliği. Genişletilmiş II. Baskı, Bornova – İzmir.
- Kimberly, A.H.; Statistical Analyses of STR data profiles in DNA. (2001). [http://promega.de/profiles/103/ProfilesinDNA\\_103\\_14.pdf](http://promega.de/profiles/103/ProfilesinDNA_103_14.pdf)
- Koskinen MT, Bredbacka P (1999). A convenient and efficient microsatellite-based assay for resolving parentages in dogs. *Anim Genet*, 30:148-149.
- Koskinen MT, Bredbacka P (2000). Assessment of the population structure of five Finnish dog breeds with microsatellites. *Anim Genet*, 31:310-317.
- Koşum N (1995): Koyunculukta uygulanan babalık testleri ve önemi. *Hayv Üret*, 36: 25-32.
- Laborda PR, Oliveira KM, Garcia AAF, Paterniani, MEAGZ, Souza AP (2005). Tropical maize germplasm: what can we say about its genetic diversity in the light of molecular markers *Theoretical and Applied Genetics*, 111:1288-1299.
- Lopez- Herráez D, Schäfer H, Mosner J, Fries H-R and Wink M (2005). Comparison of microsatellites and single nucleotide polymorphism markers for the genetic analysis of a Galloway cattle population. *Verlag der Zeitschrift für Naturforschung*, 60: 637-643.
- Luna-González A, Hernández-Arteaga S, Sánchez-Garza M, López-Revilla R, Medina-Esparza L, Cruz-Vázquez C (2012). Microsatellite loci and paternity analysis in Nubia and Boer goats. *Arch Med Vet*, 44: 123-127.
- Luikart G, Biju-Duval M-P, Ertugrul O, Zagdsuren Y, Maudet C and Taberlet P (1999). Power of 22 microsatellite markers in fluorescent multiplexes for parentage testing in goats (*Capra hircus*). *Animal Genetics*, 30: 431 – 438.
- Liu BH (1998). *Statistical genomics: Linkage, mapping, and QTL analysis*. CRC Press LLC, Boca Raton New York.
- Luis C, Gus Cothran E and Oom MM (2002). Microsatellites in Portuguese Autochthonous Horse Breeds: Usefulness for Parentage Testing. *Genetics and Molecular Biology*, 25(2) : 131 – 134.
- Maddox JF and Cockett NE (2007). An update on sheep and goat linkage maps and other genomic resources. *Small Ruminant Research*, 70: 4-20.
- Marshall TC, Slate J, Kruuk L. EB and Pemberton JM (1998). Statistical confidence for likelihood- based paternity inference in natural populations. *Molecular Ecology*, 7 (5):639-655.
- Mitra A, Yadav BR, Ganai NA and Balakrishnan CR (1999). Molecular markers and their applications in livestock improvement. *Current Science – Bangalore*, 77(8), 1045-1053. ISSN: 0011-3891.
- Morris, JW. Relationships Between Power of Exclusion and Probability of Paternity. In: Walker R, ed. *Inclusion Probabilities in Parentage Testing*. Arlington, VA: American Association of Blood Banks, 1983:103/112.
- Nei M (1987). *Molecular evolutionary genetics*. Columbia University Press, New York.

- Orti G, Pearse DE, Avise JC (1997). Phylogenetic assessment of length variation at a microsatellite locus. *Proc Natl Acad Sci USA*, 94(20): 10745–10749.
- Ozkan E (2005). Türkiye’de yetiştirilen yerli ve kültür sığır ırklarının genetik yapılarının mikrosatellitler ile incelenmesi. Trakya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi
- Ozşensoy Y, Kurar E (2012). Markör Sistemleri ve Genetik Karakterizasyon Çalışmalarında Kullanımları. *Journal of Cell and Molecular Biology* 10(2):11-19.
- Peakall R. and Smouse E (2006). GENALEX6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes*, 6: 288 – 295.
- Promega (2000). PowerStatsV12.xls software. Free program distributed by Promega Corporation – USA,
- Ramamoorthi J, Thilagam, K, Sivaselvam SN, Karthickeyan SMK (2009). Genetic characterization of Barbari goats using microsatellite markers. *J. Vet. Sci.*,10(1):73-76.
- Rehout V, Hradeck AE, Citek J (2006). Evaluation of parentage testing in the Czech population of Holstein cattle. *Czech Journal of Animal Science*, 51:503– 509.
- Ron M, Blanc Y, Band M, Ezra E and Weller JI (1996). Misidentification rate in the Israeli dairy cattle population and its implications for genetic improvement. *Journal of Dairy Science* 79: 676 – 681
- Sahlu T and Goetsch A L (2005). A foresight on goat research. *Small Ruminant Research*. 60: 7-12.
- Sambrook J, Fritsch E F and Maniatis T (1989). *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. Vol 3. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York.
- Saeed AF, Wang R, Wang S (2016). Microsatellites in Pursuit of Microbial Genome Evolution. Fuzhou, China *Front Microbiol.* 05 January 2016 <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01462>
- Saitbekova, N., Gaillard, C., Obexer-Ruff, G., Dolf, G. (1999). Genetic diversity in Swiss goat breeds based on microsatellite analysis. *Anim Genet.* 30 (1): 36-41.
- Silver H (1989). Paternity testing. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*, 27(5): 391 – 408.
- Siwek M, Knol EF (2010). Parental reconstruction in rural goat population with microsatellite markers. *Ital. J. Anim. Sci*, 9: 260–264.
- Soysal Mİ, Gürçan EK, Özkan E (2003). Dünya’da ve Türkiye’de Çiftlik Hayvanları Genetik Çeşitliliğinin Korunması Sorunu. GAP III. Tarım Kongresi, 2-3 Ekim, 615-623. Urfa
- Soysal Mİ (2009). Evcil Hayvan Genetik Kaynakları Çeşitliliği Tehdit Altında. 6. Zootekni Bilim Kongresi Erzurum 24-26 Haziran 2009.

- Sunnucks P (2000). Efficient genetic markers from population biology. *Trends in Ecology and Evolution*.15: 199-203.
- Thomsen H, Reinsch N, Xu N, Looft C, Grupe S, Kuhn C, Brockmann GA, Schwerin M, Leyhe-Horn B, Hiendleder S, Erhardt G, Medjugaroc I, Russ I, Forster M, Brenig B, Reinhardt F, Reents R, Blumel J and Averdunk G (2002). Mapping of the bovine blood group systems J, N', R', and Z show evidence for oligo-genetic inheritance. *Animal Genetics*, 33: 107-117.
- Ün C, Klaus Wimmers, Siriluck Ponsuksili, Friedrich Schmoll, Karl Schellander (2000) , Mikrosatellitler ve Kullanım Alanları , *Hayvansal Üretim* 41: 9-14.
- Vaiman D, Mercie, D (1994). A set of 99 cattle microsatellites: characterisation, synteny mapping, and polymorphism. *Mamm. Genome*, 5:288-297.
- Visscher PM, Woolliams JA, Smith D and Williams JL (2002). Estimation of Pedigree errors in the UK dairy population using microsatellite markers and the impact on selection. *Journal of Dairy Science*, 85: 2368 – 2375.
- Yadav AS, Kritika Gahlot, Gyan Chand Gahlot, Mohd Asraf and Mohan Lal Yadav (2015).Microsatellite DNA typing for assessment of genetic variability inMarwari breed of Indian goat. *Veterinary World*, 8(7): 848-854.
- 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*, 44:388–96.
- Wright S (1965). The interpretation of population structure by Fstatistics with special regard to systems of mating. *Evolution*, 19: 395–420.

## ÖZGEÇMİŞ

Ezgi GÜZEY SÜRMEYEN: 16.03.1991 Tarihinde ANKARA’da doğdu. İlköğrenimini Bandırma Zübeyde Hanım İlköğretim Okulu’nda, ortaöğrenimini Lefkoşa Şehit Hüseyin Ruso Ortaokulu’nda, lise öğrenimini İzmir Mehmet Seyfi Eraltay Lisesi’nde tamamladı. Namık Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalından 2014 yılında mezun oldu. 2014 yılında Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalında yüksek lisansa başladı. 2014 yılı güz döneminden günümüze yüksek lisans eğitimine devam etmektedir.