



**MARMARA BÖLGESİ MANDA
POPULASYONLARININ GENETİK
YAPISININ MİKROSATELLİTLER İLE
İNCELENMESİ**

Büşra ULUCUTSOY

Yüksek Lisans Tezi

**Zootekni Anabilim Dalı
Danışman: Doç. Dr. Emel ÖZKAN ÜNAL
2021**

T.C.
TEKİRDAĞ NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**MARMARA BÖLGESİ MANDA POPULASYONLARININ GENETİK
YAPISININ MİKROSATELLİTLER İLE İNCELENMESİ**

Büşra ULUCUTSOY

ZOOTEKNİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN: Doç. Dr. Emel ÖZKAN ÜNAL

TEKİRDAĞ-2021

Her hakkı saklıdır.



Bu tez “Anadolu Mandasına Özgü Ebeveyn Kiti Oluşturulması” isimli proje tarafından TAGEM- 13/ARGE/29 numaralı proje ile desteklenmiştir.

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

MARMARA BÖLGESİ MANDA POPULASYONLARININ GENETİK YAPISININ MİKROSATELLİTLER İLE İNCELENMESİ

Büşra ULUCUTSOY

Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Zootečni Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Emel ÖZKAN ÜNAL

Bu çalışmada, Marmara Bölgesi'nde yetiştiriciliği yapılan dört farklı manda popülasyonunda (İstanbul, Tekirdağ, Balıkesir ve Bursa) 20 mikrosatellit belirteci kullanılarak genetik çeşitliliğin belirlenmesi amaçlanmıştır. Yapılan istatistik analizler sonucunda toplam 179 allel tespit edilmiştir. Lokus başına allel sayısı 5 (ILSTS033) ile 17 (ETH003) arasında değişmiştir. Çalışmada genetik çeşitliliğin bir diğer ölçütü olan gözlenen ve beklenen heterozigotluk değerlerine ait sonuçlar sırasıyla 0,547 ve 0,625 ile 0,583 ve 0,684 arasında değişmektedir. Çalışma kapsamında ırklara ait F_{IS} değerleri 0,11687 ile 0,0658 arasında bulunmuştur. Marmara Bölgesi'nde çalışılan dört farklı manda popülasyonuna ait F_{ST} değerleri, 0,00722 ile 0,04832 arasında değişmiş olup, çok az bir genetik farklılaşmanın varlığından söz edilebilir. Faktöriyel birleştirici analiz sonucuna göre, Tekirdağ ve Balıkesir popülasyonlarına ait bireylerin karışmış ve ortada, İstanbul ve Bursa popülasyonuna ait bireylerin ise, farklı eksenlerde daha net olarak birbirinden ayrılıp kümelendiği gözlenmiştir. Çalışmadan elde edilen veriler doğrultusunda yapılan temel bileşenler analizinde, İstanbul ve Tekirdağ popülasyonlarındaki bireylerin ayrı eksen üzerinde fakat birbirlerine yakın konumlarda bulunduğu gözlenmiş, bu durumun iki popülasyonun coğrafi yakınlığından kaynaklandığı düşünülmüştür. Tekirdağ ve Balıkesir popülasyonlarının ise aynı eksen üzerinde yakın konumlarda yer alması bu iki popülasyonun karışmış olabileceği fikrini güçlendirmiştir. Bu çalışma Marmara Bölgesi'ne özgü Anadolu mandası popülasyonlarında yapılan genetik anlamda ilk çalışma özelliğine sahip olup, ileride yapılacak diğer çalışmalara da kaynak olacağı düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler: *Bubalus bubalis*, mikrosatellit, manda, genetik çeşitlilik

2021, 130 sayfa

ABSTRACT

MSc. Thesis

AN INVESTIGATION OF GENETIC STRUCTURE OF BUFFALO POPULATIONS IN MARMARA REGION BY USING MICROSATELLITES

Büşra ULUCUTSOY

Tekirdağ Namık Kemal University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Animal Science

Supervisor: Assos. Prof. EMEL ÖZKAN ÜNAL

In this study, it was aimed to determine genetic diversity by using 20 microsatellite markers in four different buffalo populations (Istanbul, Tekirdağ, Balıkesir and Bursa) reared in the Marmara Region. As a result of the statistical analysis, a total of 179 alleles were detected. The number of alleles per locus ranged from 5 (ILSTS033) to 17 (ETH003). In the study, it was determined that the results of observed and expected heterozygosity values, which is another criterion of genetic diversity, varied between 0.547 and 0.625 and 0.583 and 0.684, respectively. In the study, the F_{IS} values of the breeds were found to be between 0.11687 and 0.0658. The F_{ST} values of four different buffalo populations studied in the Marmara Region ranged between 0.00722 and 0.04832, and there is very little genetic variation. According to the result of the factorial correspondence analysis, it was observed that the individuals belonging to the Tekirdağ and Balıkesir populations were mixed and clustered in the middle, while the individuals belonging to the Istanbul and Bursa populations were more clearly separated and clustered in different axes. In the principal component analysis made in line with the data obtained from the study, it was observed that the individuals in the Istanbul and Tekirdağ populations were on a separate axis but in close proximity to each other, and this was thought to be due to the geographical proximity of the two populations. The fact that Tekirdağ and Balıkesir populations are in close positions on the same axis strengthens the idea that these two populations may be mixed. This study is the first genetic study in Anatolian buffalo populations specific to the Marmara Region and will be a source for future studies.

Key words: *Bubalus bubalis*, microsatellite, buffalo, genetic diversity

2021, 130 pages

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
ÇİZELGE DİZİNİ.....	v
ŞEKİL DİZİNİ.....	vi
SİMGELER ve KISALTMALAR.....	ix
TEŞEKKÜR.....	xi
1. GİRİŞ.....	1
2. KURAMSAL TEMELLER	7
2.1. Mandanın (<i>Bubalus bubalis</i>) Tarihçesi, Morfolojisi ve Taksonomik Sistemdeki Yeri ..	7
2.2. Manda Irkları	9
2.2.1. Afrika Yabani Manda Irkları (<i>Syncerus caffer</i>) ve Genel Özellikleri	9
2.2.2. Asya Manda (<i>Bubalus bubalis</i>) Irkları	12
2.3. Mikrosatellitler ve Kullanım Alanları	17
2.3.1. DNA İzolasyonu	20
2.3.2. DNA Miktar Tayini Ve Kalite Kontrolü	21
2.3.3. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)	23
2.3.4. Fragment Analizi ve İstatistiksel Hesaplamalar	24
3. LİTERATÜR ÖZETLERİ.....	26
4. MATERYAL VE YÖNTEM.....	45
4.1. Materyal.....	45
4.1.1. Anadolu Mandasının Örneklenmesi	45
4.2. Yöntem	45
4.2.1. Genomik DNA'nın İzolasyonu, DNA'nın Yoğunluğu, Saflığı ve Miktarının Kontrolü	46
4.2.2. Mikrosatellit Primerlerinin PZR ile Yükseltgenmesi	46
4.2.3. Kullanılan Mikrosatellit Lokuslarına İlişkin Bilgiler	47
4.2.4. PZR Ürünlerinin Agaroz Jelde Yürütülmesi	53
4.3. Fragment Analizi ve İstatistiksel Hesaplamalar	53
4.3.1. Fragment Analizi	53
4.3.2. İstatistiksel Hesaplamalar	53
4.3.3. Genetik Varyasyon Ölçütleri	54

5. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	63
5.1. Allellik Varyasyon.....	63
5.2. Heterozigotluk Ölçümleri	64
5.2.1. Çalışılan Mikrosatellit Bölgelerinin Populasyonlarda Görülme Sıklığı ve Allel Uzunlukları.....	69
5.3. F İstatistikleri	80
5.4. Faktöriyel Birleştirici Analiz Sonuçları (Factorial Correspondence Analysis-FCA)...	82
5.5. Irklar Arası Genetik Uzaklıklar	83
5.5.1. Nei Standart Genetik Uzaklık Metodu (Ds)	83
5.5.2. D _A Genetik Uzaklık Metodu (Nei vd., 1983).....	84
5.6. Temel Bileşenler Analizi (Principal Component Analysis-PCA)	86
5.7. Allellerin Paylaşım Uzunluklarının Ölçümü (Allele Sharing Distance)	87
6. TARTIŞMA.....	90
6.1. Allellik Varyasyona Ait Bulguların Değerlendirilmesi	90
6.2. Çalışılan Populasyonlardaki Heterozigotluk Değerlerine Ait Bulguların Değerlendirilmesi.....	93
6.3. Çalışılan Populasyonlardaki F Parametrelerine İlişkin Bulguların Değerlendirilmesi.	95
6.4. Faktöriyel Benzerlik Analizi (Factorial Correspondence Analysis-FCA)'ne İlişkin Bulguların Değerlendirilmesi	97
6.5. Irklar Arası Genetik Uzaklık Metoduna İlişkin Bulguların Değerlendirilmesi	98
6.5.1. Nei Standart Genetik Uzaklık Metodu (Ds)	98
6.5.2. D _A Genetik Uzaklık Metodu (Nei vd.,1983)	98
6.6. Temel Bileşenler Analizi (Principal Component Analysis-PCA)'ne İlişkin Bulguların Değerlendirilmesi.....	100
6.7. Allellerin Paylaşım Uzunluklarının Ölçümü (Allele Sharing Distance)'ne Ait Bulguların Değerlendirilmesi	101
7. SONUÇ	103
KAYNAKLAR.....	105
EKLER	118
ÖZGEÇMİŞ	119

ÇİZELGE DİZİNİ

Çizelge 2.1. Mandanın Taksonomik Sistemdeki Yeri.....	8
Çizelge 3.1. Mikrosatellit işaretleyiciler kullanılarak mandada yapılan genetik çalışmalar.....	42
Çizelge 3.1. (devam) Mikrosatellit işaretleyiciler kullanılarak mandada yapılan genetik çalışmalar.....	43
Çizelge 3.1. (devam) Mikrosatellit işaretleyiciler kullanılarak mandada yapılan genetik çalışmalar.....	44
Çizelge 4.1. Mikrosatellit Lokuslarına İlişkin Genel Bilgiler (FAO, 2020).....	48
Çizelge 4.1. (devam) Mikrosatellit Lokuslarına İlişkin Genel Bilgiler (FAO, 2020).....	49
Çizelge 4.2. Çalışılan Lokuslara Ait PZR Bileşenleri.....	50
Çizelge 4.2. (devam) Çalışılan Lokuslara Ait PZR Bileşenleri.....	51
Çizelge 4.3. Fragman analizi için kullanılan "Applied Biosystems 3130 Genetic Analyzer" cihazının çalışma koşulları.....	52
Çizelge 5.1. Çalışılan populasyonlar ve lokuslar bazında gözlenen allel sayıları.....	63
Çizelge 5.2. Çalışmada gözlenen (H_O) ve beklenen (H_E) heterozigotluk değerlerinin her bir mikrosatellit lokusu için populasyonlara dağılımı, lokuslar ve populasyonlar bazında hesaplanan ortalama gözlenen heterozigotluk düzeyleri.....	65
Çizelge 5.3. Çalışılan Populasyonlarda Saptanan Ortalama Gözlenen (H_O) ve Beklenen (H_E) Heterozigotluk Değerleri.....	66
Çizelge 5.4. Tez kapsamında gözlenen özgün allellerin populasyonlara dağılımı ve gözlenen özgün allellerin frekansları.....	68
Çizelge 5.5. Çalışılan Populasyonların F_{IS} Değerlerine Dağılımı.....	81
Çizelge 5.6. Populasyonların İkili Karşılaştırılması Sonucunda Hesaplanan F_{ST} Değerleri Önemlilik Düzeyleri.....	81
Çizelge 5.7. Populasyonların İkili Karşılaştırılması Sonucunda Hesaplanan Standart Genetik Uzaklık Değerleri (Nei's Standart Genetik Uzaklığı, D_S ; 1972).....	83
Çizelge 5.8. Populasyonların İkili Karşılaştırılması Sonucunda Hesaplanan D_A Genetik Uzaklık Değerleri (Nei vd., 1983).....	85

ŞEKİL DİZİNİ

Şekil 1.1. Bazı dünya ülkelerine ait manda sayıları	3
Şekil 1.2. Türkiye'nin manda sayısının 1998-2018 yılları arasında değişimi (FAO, 2020)	4
Şekil 2.1. Mandanın Sınıflandırılması (Topaloğlu, 2019).....	9
Şekil 2.2. <i>Syncerus caffer caffer</i> (Cape manda).....	10
Şekil 2.3. <i>Syncerus caffer brachyceros</i> (Sudan mandası).....	10
Şekil 2.4. <i>Syncerus caffer nanus</i> (Cüce manda, Kongo Mandası).....	11
Şekil 2.5. <i>Syncerus caffer aequinoctialis</i> (Nil mandası).....	11
Şekil 2.6. <i>Syncerus caffer mathewsi</i> (Dağ mandası, Kongo Manda).....	12
Şekil 2.7. Bataklık Mandası (Carabao Mandası).....	13
Şekil 2.8. Murrah manda ırkı.....	13
Şekil 2.9. Surti manda ırkı.....	14
Şekil 2.10. Kundhi manda ırkı.....	14
Şekil 2.11. Pandharpuri manda ırkı.....	15
Şekil 2.12. Nili-Ravi manda ırkı.....	15
Şekil 2.13. Mehsana manda ırkı.....	16
Şekil 2.14. Anadolu mandası ırkı.....	17
Şekil 2.15. Mikrosatellit DNA'ya ait görsel (Saeed, Wang ve Wang, 2016).....	18
Şekil 2.16. Aynı lokusta farklı tekrar sayılarına sahip mikrosatellit allellerinin jel görünümü (Ağaoğlu ve Ertuğrul, 2010).....	19
Şekil 2.17. Mikrosatellit DNA Polimorfizm Tekniğinin Uygulama Basamakları.....	20
Şekil 2.18. DNA izolasyonu basamakları.....	21
Şekil 2.19. Nanodrop cihazı.....	22
Şekil 2.20. Agaroz Jel Elektroforezinin uygulama ve görüntüleme aşamaları.....	23
Şekil 2.21. PZR basamakları.....	24
Şekil 2.22. Fragment analizi sırasında görüntülenen pikler.....	25
Şekil 4.1. Marmara Bölgesi'nde Örnekleme Yapılan İller ve Örnek Sayılarının Gösterimi....	45
Şekil 5.1. CSSM061 Mikrosatellit Bölgesinin Populasyonlarda Görülme Sıklığı ve Allel Uzunlukları.....	69
Şekil 5.2. CSSM033 Mikrosatellit Bölgesinin Populasyonlarda Görülme Sıklığı ve Allel Uzunlukları.....	70
Şekil 5.3. ILSTS005 Mikrosatellit Bölgesinin Populasyonlarda Görülme Sıklığı ve Allel Uzunlukları.....	70

Şekil 5.4. CSSM022 Mikrosatellit Bölgesinin Populasyonlarda Görülme Sıklığı ve Allel Uzunlukları.....	71
Şekil 5.5. CSRM060 Mikrosatellit Bölgesinin Populasyonlarda Görülme Sıklığı ve Allel Uzunlukları.....	71
Şekil 5.6. BRN Mikrosatellit Bölgesinin Populasyonlarda Görülme Sıklığı ve Allel Uzunlukları.....	72
Şekil 5.7. ILSTS033 Mikrosatellit Bölgesinin Populasyonlarda Görülme Sıklığı ve Allel Uzunlukları.....	72
Şekil 5.8. CSSM032 Mikrosatellit Bölgesinin Populasyonlarda Görülme Sıklığı ve Allel Uzunlukları.....	73
Şekil 5.9. CSSM045 Mikrosatellit Bölgesinin Populasyonlarda Görülme Sıklığı ve Allel Uzunlukları.....	74
Şekil 5.10. CSSM062 Mikrosatellit Bölgesinin Populasyonlarda Görülme Sıklığı ve Allel Uzunlukları.....	74
Şekil 5.11. ILSTS030 Mikrosatellit Bölgesinin Populasyonlarda Görülme Sıklığı ve Allel Uzunlukları.....	75
Şekil 5.12. BMC1013 Mikrosatellit Bölgesinin Populasyonlarda Görülme Sıklığı ve Allel Uzunlukları.....	75
Şekil 5.13. CSSM057 Mikrosatellit Bölgesinin Populasyonlarda Görülme Sıklığı ve Allel Uzunlukları.....	76
Şekil 5.14. CSSME070 Mikrosatellit Bölgesinin Populasyonlarda Görülme Sıklığı ve Allel Uzunlukları.....	77
Şekil 5.15. CSSM036 Mikrosatellit Bölgesinin Populasyonlarda Görülme Sıklığı ve Allel Uzunlukları.....	77
Şekil 5.16. CSSM043 Mikrosatellit Bölgesinin Populasyonlarda Görülme Sıklığı ve Allel Uzunlukları.....	78
Şekil 5.17. ETH003 Mikrosatellit Bölgesinin Populasyonlarda Görülme Sıklığı ve Allel Uzunlukları.....	78
Şekil 5.18. CSSM047 Mikrosatellit Bölgesinin Populasyonlarda Görülme Sıklığı ve Allel Uzunlukları.....	79
Şekil 5.19. CSSM029 Mikrosatellit Bölgesinin Populasyonlarda Görülme Sıklığı ve Allel Uzunlukları.....	80
Şekil 5.20. ETH121 Mikrosatellit Bölgesinin Populasyonlarda Görülme Sıklığı ve Allel Uzunlukları.....	80
Şekil 5.21. Çalışılan Tüm Populasyonlara Ait Örneklerin Arasındaki İlişiyi Gösteren Faktöriyel Benzerlik Analiz Grafiği.....	82
Şekil 5.22. Marmara Bölgesi manda populasyonları için D_S genetik uzaklığı kullanılarak komşu birleştirme metodu ile çizilen filogenetik ilişki (Nei vd.,1972).....	84

Şekil 5.23. Marmara Bölgesi manda populasyonları için D_A genetik uzaklığı kullanılarak komşu birleştirme metodu ile çizilen filogenetik ilişki (Nei vd.,1983).....	85
Şekil 5.24. Marmara Bölgesi'ne ait dört farklı manda populasyonunun allel frekanslarına göre gerçekleştirilen 3 boyutlu Temel Bileşenler Analizi (PCA) Sonuç Grafiği.....	86
Şekil 5.25. Bireyler Arası Paylaşım Uzunluklarından (ASD) yararlanarak Komşu Birleştirme (NJT) Metodu ile çizilen ağaç.....	87
Şekil 5.26. Her populasyonu temsilen rastgele seçilmiş bireyler ile allel paylaşım uzunluklarına göre çizilen Komşu Birleştirme Ağacı.....	88
Şekil 5.27. Her populasyonu temsilen rastgele seçilmiş bireyler ile allel paylaşım uzunluklarına göre çizilen Komşu Birleştirme Ağacı.....	88



SİMGELER VE KISALTMALAR

AFLP	: Çoğaltılabilen Parça Uzunluğu Polimorfizmi (Amplified fragment length polymorphism)
ASD	: Allel Paylaşım Uzaklığı (Allele Sharing Distance)
BAL	: Balıkesir
BUR	: Bursa
bp	: Baz çifti (bç)
C ⁰	: Santigrad derece
D _A	: D _A Genetik Uzaklık Metodu (Nei vd., 1983)
dH ₂ O	: Distile su
PVPP	: Polivinilpolipirrolidon
DNA	: Deoksiribonükleik asit (Deoxyribonucleic acid)
D _S	: Nei Standart Genetik Uzaklık Metodu
DSA _i	: Bireyler arası allel paylaşım uzunluğu
EDTA	: Etilendiamintetraasetik asit (Ethylenediaminetetraacetic acid)
FAO	: Tarım ve Gıda Organizasyonu (Food and Agriculture Organization)
FCA	: Faktöriyel Birleştirici Analizi (Factorial Correspondence Analysis)
F _{IS}	: Saf yetiştirme katsayısı
F _{IT}	: Populasyonun akrabalı yetiştirme katsayısı ve Hardy-Weinberg dengesinden sapmanın ölçüsüdür.
F _{ST}	: Alt popülasyonlar arasındaki genetik farklılığın ölçüsü olarak ifade edilir.
H _E	: Beklenen heterozigotluk
H _O	: Gözlenen heterozigotluk
IST	: İstanbul
MgCl ₂	: Magnezyum Klorür
ml	: mililitre
MoDAD diversity)	: Evcil Hayvan Çeşitliliği Ölçümü Programı (Measurement of domestic animal diversity)
NJT	: Neighbour Joining Tree (Komşu Birleştirme Ağacı)
PCA	: Temel Bileşenler Analizi (Principal Component Analysis-PCA)

PZR : Polimeraz Zincir Reaksiyonu

RAPD : Rastgele oğaltılmış Polimorfik DNA Tekniği (Random Amplified DNA Polymorphism)

RFLP : Restriksiyon Enzimleri Uzunluk Polimorfizm Tekniği (Restriction Fragment Length Polymorphism)

SNPs : Tek Nükleotid Polimorfizm Tekniği (Single Nucleotide Polymorphism)

STR : Mikrosatellit DNA Polimorfizm Tekniği (SSR- Simple Sequence Repeat veya STR- Short Tandem Repeat)

STS : Dizisi Etiketlenmiş Alanlar Tekniği (Sequence Tagged Sites)

TBE : Tris-Borik asit-EDTA

TEK : Tekirdağ

V : Volt

μ l : Mikrolitre

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca bana her konuda desteğini eksik etmeyen danışman hocam Doç. Dr. Emel ÖZKAN ÜNAL'a, bilgisi ve tecrübesiyle yol gösteren ve üzerimde emeği olan Prof. Dr. M. İhsan SOYSAL ile Prof. Dr. Eser Kemal GÜRCAN hocama, akademik hayatın kapılarını bana aralayan Dr. Öğr. Üyesi Yahya Tuncay TUNA hocama, laboratuvar çalışmalarında beni pratik ve teknik anlamda bilgileriyle donatan Araş. Gör. Raziye IŞIK ve Araş. Gör. Ayşe ŞEN'e, tanıştığımız günden itibaren dostluğu, bilgisi ve tecrübesini benimle paylaşan Zir. Yük. Müh. Berrin OKUYUCU'ya, bugüne kadar aldığım her kararda yanımda olan, girdiğim her zorlu yolda bana mücadele etmeyi öğreten, bugünlere gelmemi sağlayan babam Behrem ULUCUTSOY, annem Bilgin ULUCUTSOY, ablalarım Ezgi ULUCUTSOY ile Sinem ULUCUTSOY'a, son olarak bu zorlu yolda üzüntüme ve sevincime ortak olup yanımda olan Zir. Müh. Halim ATAKAN'a sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Tezimde kullanacağım verileri elde etmemi sağlayan, “Anadolu Mandasına Özgü Ebeveyn Kiti Oluşturulması-TAGEM-13/ARGE/29” isimli projenin yürütücüsü GenoMetri Biyoteknoloji Ar&Ge ve Danışmanlık Hizmetleri A.Ş.’ müdürü Elif GEYİK KUŞ'a, proje danışmanlarına ve projede çalışan tüm ekibe teşekkürlerimi arz ederim.

Temmuz, 2021

Büşra ULUCUTSOY

Ziraat Mühendisi

1. GİRİŞ

Son yıllarda dünya nüfusu hızla artarak günümüzde 7 milyarı geçmiş ve açlık sınırının altındaki insan sayısı ise 820 milyonu aşarak ciddi boyutlara ulaşmıştır (FAO, 2020). Bu veriler doğrultusunda, beslenme ihtiyacına olan talepte de bir artış meydana geldiğini söylemek mümkündür. Ancak mevcut kaynaklar, beslenme ihtiyacını karşılamada yetersiz kalmaktadır

Beslenme, insanların vazgeçilemez temel ihtiyaçlarından birisi olup, bu ihtiyaç genellikle bitkisel ve hayvansal üretim sonucu karşılanmaktadır. Hızla artan dünya nüfusuyla birlikte bu üretime ait kaynaklar yetersiz gelmeye başlamıştır. İnsan beslenmesinde hayvansal üretim sonucu elde edilen protein kaynaklarının oldukça önemli bir yeri vardır. İhtiyaç duyulan hayvansal protein kaynakları, sığır, koyun, manda ve kanatlı hayvan türlerinden karşılanmaktadır. Bu protein kaynaklarında sürekliliği sağlayabilmek için, çiftlik hayvanlarında birden fazla verim yönünün geliştirilmesine yönelik çalışmalar artış göstermiş ve modern hayvancılık hızla yayılmaya başlamıştır. Dünya genelinde çiftlik hayvanı yetiştiriciliğinde iki farklı sistem öne çıkmaktadır. Bunlardan ilki özellikle küçükbaş hayvan yetiştiriciliğinde hala yaygın olarak kullanılan ekstansif (geleneksel) yetiştiriciliktir. Tarımda sanayinin gelişmesiyle beraber, artan nüfusun gıda talebini karşılamak için ekstansif yetiştiriciliğin yerini yavaş yavaş modern yetiştiricilik (entansif) almaya başlamıştır. Modern yetiştirme sistemleri daha çok süt sığırcılığı ile kümes hayvanları yetiştiriciliğinde ön plana çıkmış olup, ana mantık birim alandan daha çok verim alarak hayvan refahına da gereken özenin gösterilmesiyle üretimin gerçekleştirilmesidir (Soysal, 2009).

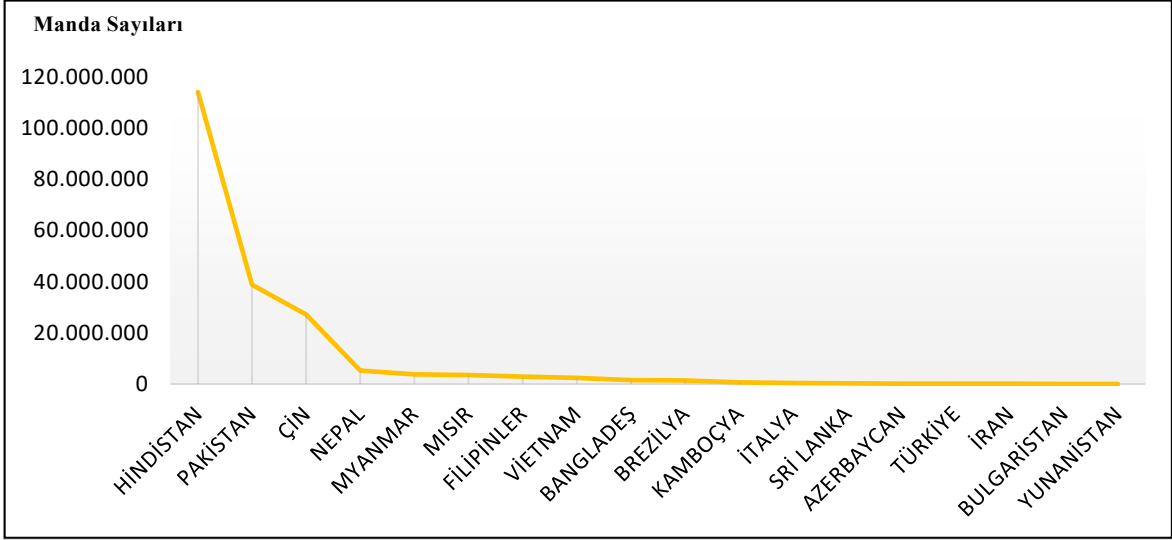
Ülkemizde entansif koşullarda yetiştiricilikte büyükbaş hayvanlar daha çok tercih edilmektedir. Özellikle son yıllarda süt sığırcılığına yönelim fazla olduğu için, manda yetiştiriciliğinin geri planda kaldığı gözlemlenmiştir. Mandanın entansif yetiştirme sistemine uygun bir çiftlik hayvanı olmadığı düşünülmüştür. Bunun sebebi, manda yetiştiriciliğinin entansif koşullarda maliyet olarak çok, kâr olarak az olabileceği düşüncesidir. Ancak hayvancılığı iyi düzeydeki dünya ülkelerine baktığımızda manda yetiştiriciliği hâlâ popülerliğini korumaktadır (Soysal, 2009).

Manda dünya genelinde süt, et ve çeki gücünden yararlanan, çiftçilerin yaşantısında önemli yere sahip Bovidae ailesinin bir türü olan çiftlik hayvanıdır. İngilizce karşılığı “Water buffalo” olup bu isimlendirme evcil mandayı yeteri kadar ifade etmemektedir. Manda

kelimesinin Türkçedeki kökeninin ise Hindistan'a ait bir coğrafi bölge olan Manda'dan geldiği tahmin edilmekte olup ülkemizde ayrıca, Kömüş, Çamış, Dombay, Dombey gibi isimlerle de ifade edilmektedir (Soysal, 2009). Mandalar genellikle Asya kıtasının tropikal ve sub-tropikal iklim geçiren bölgelerindeki ormanlarda yaşarlar. Yaşam alanları bataklıklar, ıslak çimler ile nemli toprakların olduğu, nehir ve akarsu yataklarına yakın, yiyecek, su gibi temel ihtiyaçlarını yeterli düzeyde karşılayabildikleri yerlerdir. Mandanın Pleistosen (buzul çağı) döneminde Güney Asya'dan Avrupa'ya dağıldığı düşünülmekte olup dünya manda nüfusunun büyük kısmı Asya kıtasında yayılım göstermeye devam etmektedir (Michelizzi vd., 2010). Günümüzde dünyanın birçok ülkesinde et, süt ve çeki gücünden yararlanılmak üzere manda yetiştiriciliği yapılmaktadır. Manda hastalıklara karşı kültür ırklarına kıyasla daha dirençli oluşu, beslenme sırasında çok özel koşullara ihtiyaç duyulmaması, minimum yemden maksimum yararlanabilmesi, kalitesi düşük yemleri bile en iyi şekilde değerlendirip et, süt gibi ürünlere dönüştürebilmesi yeteneklerine sahip olan oldukça değerli bir çiftlik hayvanıdır.

Türkiye'de manda yetiştiriciliği süt ve et yönüyle değer bulmaktadır. Manda sütü gıda sektöründe tereyağı, yoğurt, yüksek kalitede peynirler (mozarella), kaymak ve birçok süt ürününün yapımında kullanılırken, kozmetik sektöründe de cilt bakım ürünleri yapımında kullanılabilmesi özellikleriyle değerli bir içeriğe sahip olduğunu göstermektedir. Ülkemizde manda sütünden, kaymak, yoğurt, peynir, dondurma gibi yan ürünler elde edilmektedir. Mandalar sığırlara oranla daha ağır yük taşıyıp zorlu koşullara dirençli oldukları için Asya'da pirinç tarlalarında işgücünden yararlanılmaktadır. Ayrıca manda eti sığır etine oranla daha az yağ ve kolesterol içeriğine sahip olmasıyla da sağlıklı beslenme için ideal özellikleri taşımaktadır (Michelizzi vd., 2010). Manda eti saf tüketimden ziyade işlenmiş ürün olarak daha fazla tüketilmektedir. Ülkemizde de en fazla sucuk üretimi yapılarak manda eti tüketimi sağlanmaktadır.

2018 yılı FAO (Food and Agricultural Organization) verilerine göre dünyada 206.600,676 baş manda bulunmakta olup, 1998 yılına oranla yirmi yıllık süreçte % 28,6 oranında artış göstermiştir. Dünya manda nüfusunun -büyük çoğunluğunu Asya kıtası (% 97.1) oluşturmakta olup, onu sırasıyla Amerika (% 7), Afrika (% 2), Avrupa (% 0,2) ve Okyanusya (% 0) takip etmektedir (FAO, 2020). Şekil 1.1'de bazı ülkelere ait manda sayılarını gösteren grafiğe yer verilmiştir.

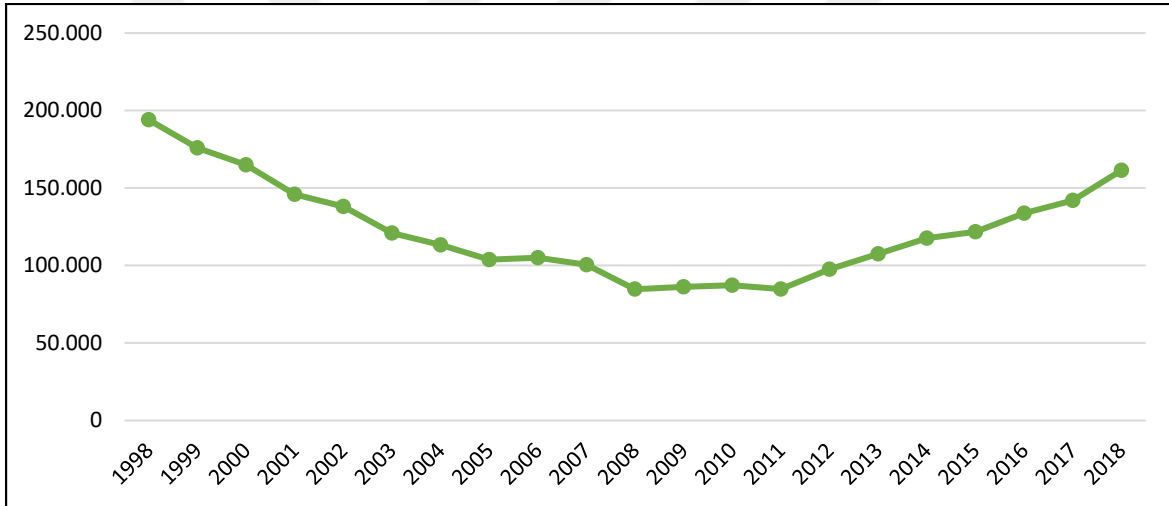


Şekil 1.1. Bazı dünya ülkelerine ait manda sayıları (FAO, 2020)

Dünya’da manda üretiminin en yoğun olduğu ülkeler sıralamasında, Hindistan (114.151.770 baş), Pakistan (38.848.000 baş) ve Çin (27.116.250 baş) başı çekmekte olup bu ülkeleri sırasıyla Nepal (5.277.819 baş), Myanmar (3.790,031 baş), Mısır (3.506.061 baş), Filipinler (2.882.655 baş), Vietnam (2.425.105 baş), Bangladeş (1.485.000 baş), Brezilya (1.390,066 baş), Kamboçya (651.945 baş), İtalya (401.337 baş), Sri Lanka (308.790 baş), Azerbaycan (176.195 baş), Türkiye (161.439 baş), İran (113.330 baş), Bulgaristan (12.809 baş) ve Yunanistan (9.239 baş) takip etmektedir (FAO, 2020). Türkiye’nin dünya sıralamasında alt basamaklarda yer alması dikkat çekmektedir.

Ülkemizde yetiştiriciliği yapılan manda ırkının Akdeniz mandalarından köken aldığı bilinmekte olup bu ırk 2004 yılında “Anadolu Mandası” olarak tescil edilmiştir (Anonim, 2004). Anadolu mandası, çok değerli bir ırk olmasına rağmen bir dönem değeri pek bilinmemiştir. Bu ırk eski dönemlerde özellikle de ‘Sanayi Devrimi’ öncesine bakıldığında üreticiler tarafından sıklıkla çeki gücünden yararlanmak için yetiştirilmekteydi. Tarımda sanayinin gelişmesiyle birlikte çeki gücünden yararlanılmak üzere evcil hayvan ırkları yerine makineler tercih edilmeye başlanmıştır. Türkiye’de birçok üretici bu sürecinde etkisiyle manda yetiştiriciliğinden vazgeçmiş olsa da tarımda sanayileşme tek başına bir etken olmamıştır. Süt sığırcılığına verilen değerin daha fazla olması, küçükbaş hayvan yetiştiriciliğinin getirisinin daha fazla olduğu yönündeki düşünceler, üretici tarafından uygulanan seleksiyon çalışmaları gibi birçok etken sonucunda bir dönem Anadolu mandası ırkı yok olma tehdidiyle karşı karşıya kalmıştır. Bu —ırkı yok olma tehdidinden kurtarmak ve

mevcut durumu iyileştirmek için 2008 yılında T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü (TAGEM) tarafından yürütülen “Halk Elinde Manda Islahı” projesi hayata geçirilmiştir. Bu proje ile birlikte ülkemizde Şekil 1.2’de de görüldüğü gibi 1998-2008 yılları arasında meydana gelen Anadolu mandası populasyonlarındaki azalmanın önüne geçilmesi hedeflenmiştir. Ayrıca Anadolu mandasının yetiştirilmesi, elde edilen et, süt gibi ana ürünlerin ve bu ürünlere bağlı olarak farklı nitelikteki gıda maddelerinin de üretimi bu proje ile devlet tarafından destek görmüş olup, üretici bu ırkı yetiştirmesi için teşvik edilmiştir. Proje kapsamında 2008 yılında Damızlık Manda Yetiştiriciliği Birlikleri Türkiye’nin çeşitli illerinde kurulmaya başlanmış ve manda yetiştiricileri devlet tarafından desteklenmiştir. 2012 yılında ise Türkiye Damızlık Manda Yetiştiricileri Merkez Birliği kurularak illere bağlı tüm birlikler tek bir çatı altında toplanmıştır. Merkez birliğine bağlı 28 üye il birliği faaliyetlerine hâlâ devam etmektedir.



Şekil 1.2. Türkiye’nin manda sayısının 1998-2018 yılları arasında değişimi (FAO, 2020)

Ülkemizde manda yetiştiriciliğinin dünya ülkelerinde olduğu gibi ileri düzeylere ulaşabilmesi için mevcut genetik durumun ortaya koyularak seleksiyon ve melezleme çalışmalarını destekleyen yenilikçi adımlar atılmalı, bu şekilde var olan verim arttırılmaya çalışılmalıdır. Türkiye’de Anadolu Mandasının korunmasına yönelik ilk atılım yukarıda bahsedildiği gibi ‘Damızlık Manda Yetiştiricileri Birlikleri’ kurulmasıyla yapılmıştır. Ancak yetiştirici birliklerinin kurulması tek başına yeterli olmayıp bu birliklerin çalışmaları genetik açıdan da desteklenmelidir.

Türkiye’de manda başına düşen süt ve et verimi, laktasyon süresi gibi özellikler manda yetiştiriciliğinde ileri ülkelerin oldukça gerisindedir. Bu ülkelerin bir mandadan aldıkları süt miktarı 1600-5000 kg arasında değişmekte iken (ortalama 2000 kg), ülkemizde bu rakam 700-1600 kg arasında ortalama 1000 kg’a yakın bir değerdedir. Bu bilgiler Türkiye’deki mandaların en kısa sürede öncelikli olarak korunmaları ve sonrasında melezleme ya da seleksiyona tabi tutularak ıslah edilmeleri; böylece verimlerinin artırılması gereğini göstermektedir. Birçok çalışmada, yerli gen kaynaklarının korunması için aşağıda belirtilen aşamaların sırası ile yapılması gerektiği belirtilmektedir (Soysal, Gürcan ve Özkan 2003). Irkların genetik yapıları belirlenmeli, sürü kayıtları tutulmalı (pedigri kayıtları), ırkların envanter çalışması yapılmalı, yetiştirici birlikleri kurulmalı, yerli ırklarda süt ve et verimi için uygun seleksiyon kriterleri belirlenmeli ve ayrıca diğer ülkelerde olduğu gibi orijinal etiketli agro-turizm ürünleri geliştirilmelidir. Tüm bu aşamaları başarı ile sonuçlandırmak için önemli olan ve öncelikli yapılması gereken aşama olarak, yerli ırkların genetik yapılarının moleküler teknikler kullanılarak incelenmesi, populasyonlar arası ve populasyonlar içi farklılıkların belirlenmesi ileri sürülmüştür (Maudet Luikart ve Taberlet, 2002; Bruford, Bradley ve Luikart, 2003).

Çiftlik hayvanlarında genetik yapının tanımlanması, ilerleyen süreçteki koruma programları ile ıslah stratejilerine yol göstereceği için oldukça önemlidir. Genetik çeşitliliği tanımlamak ise, mevcut genetik bilginin korumaya alınıp, gelecek nesillere sağlıklı bir şekilde aktarımını sağlamak için gereklidir. Günümüzde çiftlik hayvanlarında genetik çeşitliliği belirlemek amacıyla birçok teknik gelişmiş olup bunlardan bazıları; Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA Tekniği (Random Amplified Polymorphic DNA; RAPD), Restriksiyon Enzimleri Uzunluk Polimorfizm Tekniği (Restriction Fragment Length Polymorphism; RFLP), Çoğaltılabilen Parça Uzunluğu Polimorfizmi (Amplified Fragment Length Polymorphism; AFLP), Mikrosatellit DNA Polimorfizm Tekniği (Short Tandem Repeat; STR), Dizisi Etiketlenmiş Ajanlar Tekniği (Sequence Taq Sequence; STS), Tek Nükleotit Polimorfizm Tekniği (Single Nucleotid Polymorphism; SNP) olarak sıralanabilir. Bu çalışmada ökaryotların genomunda geniş yayılım gösteren basit dizi tekrarları olarak da bilinen “Mikrosatellit DNA Polimorfizm Tekniği”nden yararlanılmıştır. Mikrosatellitler oldukça polimorfik olup, yüksek düzeyde mutasyon oranına sahiptirler. Bu nedenlerle son yıllarda genetik çeşitlilik çalışmaları, populasyon genetiği, ebeveyn tayini, türlerin evrimsel kökeninin araştırılması gibi birçok alanda kullanılan bir teknik olmaya başlamıştır.

Mandada ‘Mikrosatellit DNA Polimorfizm Tekniği’ üzerine yapılan referans çalışmalar incelendiğinde Türkiye manda populusyonlarının genetik çeşitliliğinin araştırıldığı çalışma sayısının sınırlı olduğu görülmüştür. Bu tez çalışmasında Türkiye’nin yerli gen kaynaklarından olup 2004 yılında ırk olarak tescil edilen ‘Anadolu Mandası’ populusyonlarının Marmara Bölgesi’ndeki mevcut genetik varyasyonunu ortaya koymak amacıyla, 4 farklı ilden (İstanbul, Tekirdağ, Balıkesir, Bursa) toplam 223 birey örneklenmiş ve bu bireylerin DNA’sında 20 mikrosatellit lokusu yükseltgenerek elde edilen sonuçlar çeşitli istatistiksel metotlarla analiz edilmiştir. Çalışma sonucunda Marmara Bölgesi manda populusyonlarının gelecekteki koruma programları ve ıslah çalışmalarına katkıda bulunulması amaçlanmıştır.



2. KURAMSAL TEMELLER

2.1. Mandanın (*Bubalus bubalis*) Tarihçesi, Morfolojisi ve Taksonomik Sistemdeki Yeri

Manda özellikle süt, et ve çeki gücü yönünden yararlanılan çiftçilerin yaşantısında önemli ekonomik değere sahip, düşük verimli alanlarda kalitesi kötü kaba yemleri rahatça değerlendirebilen, bu besinleri kolayca sindirebilen, sığırlara oranla hastalıklara ve iklim değişimlerine karşı daha dirençli olan bir çiftlik hayvanıdır.

Mandanın orijini Pleistosen (buzul çağı) döneminde Hindistan ve Güney Asya ile sınırlanmış olup, Amerikan bizonu olarak tabir edilen ırk gerçek mandayı temsil etmemektedir. Evcil manda, morfolojik ve davranışsal olarak nehir (2n=50) ve bataklık (2n=48) mandası olmak üzere ikiye ayrılır. Bataklık tipi olan mandalar özellikle zorlu şartlara dayanıklı olup, Asya'da özellikle pirinç tarlalarında çeki gücünden yararlanılmaktadır. Nehir tipi olan mandalar ise dişi olanlarında laktasyon veriminin oldukça yüksek olması, erkeklerinde ise çeki gücü yönünden elverişli olmasından dolayı yetiştiriciliği yapılmaktadır.

Arkeolojik çalışmalara göre, nehir tipi mandanın bundan yaklaşık 5000 yıl önce İndus vadisinde evcilleştirildiği tahmin edilmektedir. O döneme ait heykel ve yazı gibi arkeolojik kalıntılara bakıldığında bölge halkının mandanın et, süt ve çeki gücünden yararlandığı tahmin edilmiştir. Evcil mandaya ait bu özelliklerin 9. yy'da Arap işgalciler tarafından Mısır'a orta çağda ise Haçlı Seferleri sırasında haçlılar tarafından Avrupa'ya geldiği bildirilmektedir (Saadullah, 1998). Manda günümüzde Asya, Avrupa, Okyanusya, Afrika ve Amerika gibi birçok kıtada yayılım göstermektedir. Arkeolojik kalıntılar, her iki türün de *Bubalis arnee*'den geldiğini ve bataklık mandasının morfolojik açıdan *arnee* ile daha çok benzediğini göstermektedir. Genetik kanıtlar ise iki türün birbirinden bağımsız şekilde evcilleştirildiği yönündedir. Nehir mandasının ilk olarak yaklaşık M.Ö. 4000-5000 yıl önce Fırat ve Dicle Havzası ya da İndus Vadisi'nde evcilleştirildiği düşünülmektedir (Cockrill, 1981) . Bataklık mandasının ise ilk evcilleştirilme zamanı ve yeri belirsiz olup, yine M.Ö. 3000-7000 yıl önce Çin'in Yangtze Vadisi'nde evcilleştirildiği tahmin edilmektedir. Ancak dağılımının daha sonra Çin'in merkez ve güney kesimlerine yayıldığı söylenmektedir (Chen ve Li, 1989).

Evcil mandalar Asya, Afrika, Avrupa ve Latin Amerika'da bulunmaktadır. Mandaların (*Bubalus Bubalis*) çeşitli morfolojik özellikleri vardır. Rengi, boynuz şekli, vücut büyüklüğü

nehir ve bataklık tipi mandalarda belirgin şekilde değişkenlik göstermektedir. Bataklık mandaları koyu gri ceket rengine, küçük yada orta büyüklükte gövdeye, dairesel yada yarı dairesel boynuzlara sahiptirler. Bazı bataklık mandaları beyaz ceket (albino) rengine sahiptir. Albino manda sıklığı ülkeden ülkeye farklılık göstermektedir (Mason, 1974). Hatta Endonezya'nın bazı bölgelerinde siyah-beyaz ceket rengine sahip mandalar görülmektedir ancak sayıları albino mandalara oranla daha azdır (Amano, Namikawa ve Suzuki 1980). Bataklık tipi mandalar daha çok et verim yönü ve çeki gücünden yararlanmak için tercih edilir. Özellikle İtalya'nın mozzarella peyniri nehir mandalarının kaliteli sütlerinden elde edilmektedir. Nehir tipi manda ırkları özellikle süt verim yönünden tercih edilmekte olup ortalama süt verimleri 1400-1600 kg arasında değişmektedir. Ayrıca bu grup mandalarda siyah veya kahverengi ceket rengi sıklıkla görülmektedir.

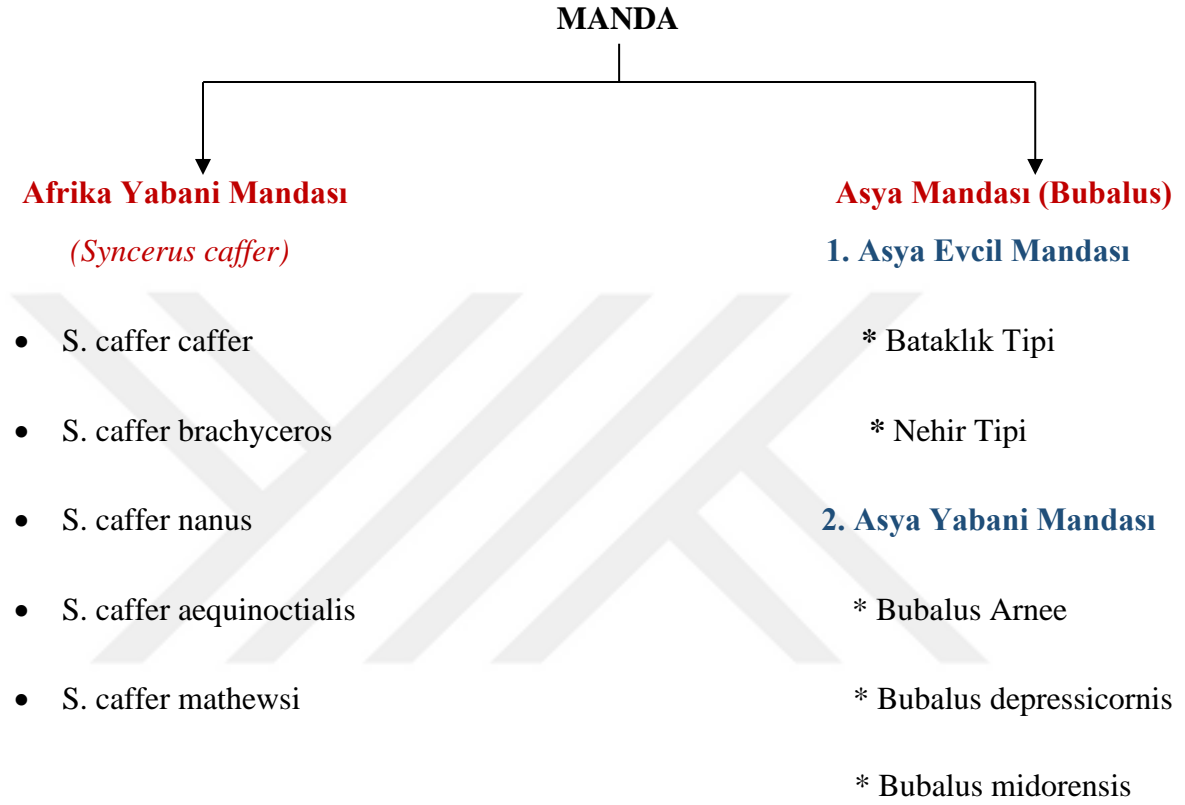
Manda, Bovidae (Sığırgiller) ailesinin, Bos cinsine ait bir sığır türüdür. Mandanın sistematikte yeri aşağıda gösterilmiştir (Çizelge 2.1).

Çizelge 2.1. Mandanın Taksonomik Sistemdeki Yeri (Topaloğlu, 2019)

ALEM	Hayvanlar (Animalia)
ŞUBE	İskeletliler (Chordata)
ALT ŞUBE	Omurgalılar (Vertebrata)
SINIF	Memeliler (Mammalia)
ALT SINIF	Tırnaklılar (Ungulata)
TAKIM	Çift Tırnaklılar (Artiodactyla/Poridigitata)
ALT TAKIM	Geviş Getirenler (Ruminantia)
AİLE	Boş Boynuzlular (Bovidae)
ALT AİLE	Sığır benzerleri (Bovinae)
KABİLE	Bovini
GRUP	Sığır (Bovina), Asya Mandası (Bubalina), Afrika Mandası (Syncerina)
CİNS	Bubalus ve Syncerus
TÜR	Bubalus Arnee, bubalis, mindorensis, depressicornis, quarlesi, caffer caffer, caffer nanus, equinoctialis

2.2. Manda Irkları

Manda genel olarak iki sınıfa ayrılmaktadır. Bunlar; Afrika Yabani Mandaları ile Asya Mandaları olup, Şekil 2.1’de detaylı olarak sınıflandırılmıştır.



Şekil 2.1. Mandanın Sınıflandırılması (Topaloğlu, 2019).

2.2.1. Afrika Yabani Manda Irkları (*Syncerus caffer*) ve Genel Özellikleri

2.2.1.1. *Syncerus caffer caffer*

Cape manda olarak da bilinen bu alttür, Afrika yabani manda ailesinin gösterişli ve vahşi üyesidir. Orta ve Batı Afrika'nın bataklıklarında yaşamını sürdürmektedir (Şekil 2.2).



Şekil 2.2. *Syncerus caffer caffer* (Cape manda)

(https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Syncerus_caffer_caffer.jpg)

2.2.1.2. *Syncerus caffer brachyceros*

Batı Afrika Savanna mandası ya da Sudan mandası olarak bilinir. (Şekil 2.3).



Şekil 2.3. *Syncerus caffer brachyceros* (Sudan mandası)

([https://species.wikimedia.org/wiki/Syncerus_caffer_brachyceros#/media/File:Lake_Chad_Buffalo_\(Syncerus_brachyceros\)_\(6861561885\).jpg](https://species.wikimedia.org/wiki/Syncerus_caffer_brachyceros#/media/File:Lake_Chad_Buffalo_(Syncerus_brachyceros)_(6861561885).jpg))

2.2.1.3. *Syncerus caffer nanus*

Batı Afrika Orman mandası olarak da bilinen bu alttür, Batı ile Orta Afrika kesimlerinde yayılım göstermektedir. . Fiziksel yapı olarak diğer yabani manda ırklarına oranla daha küçük olup boynuzları Cape mandasıyla kıyaslandığında daha az kavislidir (Şekil 2.4).



Şekil 2.4. *Syncerus caffer nanus* (Cüce manda, Kongo Mandası)

(https://species.wikimedia.org/wiki/Syncerus_caffer_nanus#/media/File:Syncerus_caffer_nanus_001.JPG)

2.2.1.4. *Syncerus caffer aequinoctialis*

Nil mandası olarak da isimlendirilmekte olup, Orta Afrika Savanna mandası olarak bilinir. Cape mandaya benzer ancak kıyaslandığında daha küçük ve açık renkli olduğu görülmektedir (Şekil 2.5).



Şekil 2.5. *Syncerus caffer aequinoctialis* (Nil mandası)

(<https://www.africanhuntinggazette.com/buffalo-nile-syncerus-caffer-aequinoctialis/>)

2.2.1.5. *Syncerus caffer mathewsi*

Evrensel olarak fazla tanınan bir ırk olmamakla birlikte kimi yerlerde dağ mandası yada kongo manda olarak da bilinmektedir., Uganda, Demokratik Kongo Cumhuriyeti ve Rwanda başlıca yaşamlarını sürdürdükleri coğrafi bölgelerdir (Şekil 2.6).



Şekil 2.6. *Syncerus caffer mathewsi* (Dağ mandası, Kongo Manda)
(<https://pbase.com/corotauria/image/141228041>)

2.2.2. Asya Manda (*Bubalus bubalis*) Irkları

2.2.2.1. Asya Evcil Mandası

A) Bataklık Tipi Manda: Çoğunlukla Filipinler ile Batı Hindistan bölgelerinde yaşam sürerler. Çeki gücü ve et verimi yönünden yararlanmak için yetiştiriciliği yapılır. Daha çok bataklık alanlarda yaşadığı için bu ismi almış olup $2n=48$ kromozoma sahiptirler. Genellikle gri-beyaz alaca, açık kahve ile açık gri renklerine sahiptirler (Şekil 2.7).



Şekil 2.7. Bataklık Mandası (Carabao Mandası)

(<https://en.wikipedia.org/wiki/Carabao>)

A) Nehir Tipi Manda: Batı Hindistan'dan Avrupa'ya kadar olan coğrafik bölgelerde yaşamlarını sürdürmektedirler. Temiz suları tercih ettikleri için nehir mandası ismini almışlardır. Daha çok süt üretimi amacıyla tercih edilmektedirler. Genellikle siyah ya da koyu gri renklerinde olup, hafif kıvrımlı ve yay şeklinde boynuzlara sahiptirler. 2n=50 kromozoma sahiptirler. Günümüzde birçok nehir mandası ırkı mevcut olup bunlardan bazıları; Murrah, Nili, Nili-Ravi, Pandharpuri, Kundhi, Akdeniz Mandası, Jafarabadi'dir.

B1) Murrah Manda ırkı: Süt verimi oldukça yüksek olan Hindistan'ın yerel bir ırkıdır. Genellikle siyah, kahve ve açık gri ceket renginde olan bu ırkta nadiren albino renk de görülmektedir. Tipik olarak kısa ve kavisli boynuzlara sahiptirler. Erkekler ortalama 750, dişiler ise ortalama 450 kg'dır (Şekil 2.8).



Şekil 2.8. Murrah manda ırkı

(<https://www.exportersindia.com/khurana-dairy-farm/murrah-buffalo-india-803365.htm>)

B2) Surti Manda Irkı: Hindistan kökenli bu ırk ülkenin, Gucerat, Anand, Kaira ve Baroda bölgelerinde bulunur. Surti mandası, orta büyüklükte ve uysal bir ırk olup, geniş kafa yapısına sahiptir. Orak şeklini almış düz boynuz yapısı geri yönde büyüyerek en uçta kıvrımlaşan bir form almıştır. Renk genelde siyah, gümüş gri yada kahverengidir (Şekil 2.9).



Şekil 2.9. Surti manda ırkı

(<https://www.dairyknowledge.in/article/surti>)

B3) Kundhi Manda Irkı: İndus Nehri'nin her iki tarafında da bulunan bir ırktır. Çoğunlukla siyah ve kahverengi ceket renginde olurlar. Ağırlıkları ortalama 300-450 kg arası değişmekte olup, süt verimleri yüksektir. Boynuz yapısı geniş, yukarı ve içe doğru kıvrılan bir formdadır (Şekil 2.10).



Şekil 2.10. Kundhi manda ırkı

(https://www.gowandi.com/033_kundhi-buffalo-breed/)

B4) Pandharpuri Mandaırkı: Bu ırk ismini Hindistan'ın Pandharpur bölgesinden almıştır. Süt verimi yüksek olup, genellikle siyahın tonları şeklinde renk dağılımına sahiptirler. Bazılarının bacak ile kuyruklarında beyaz lekeler görülebilmektedir. Boynuzlar geriye doğru ve oldukça uzundur (Şekil 2.11).



Şekil 2.11. Pandharpuri mandaırkı

(<https://www.dairyknowledge.in/article/pandharpuri>)

B5) Nili-Ravi Mandaırkı: Önceden Nili ve Ravi olmak üzere iki ayrı ırk olup, yapılan seleksiyon ve ıslah çalışmaları sonucunda tek bir olmuştur. Hindistan'ın Punjab eyaletinde bulunan bu ırk, genelde siyah renktedir. Birçok yönden Murrah ırkına benzese de boynuzları Murrah'a göre küçük ve daha az kıvrılmıştır. Süt verimi yüksektir (Şekil 2.12).



Şekil 2.12. Nili-Ravi mandaırkı

(<https://purefarmingtips.blogspot.com/2019/10/Niliravi-Bufferalo.html>)

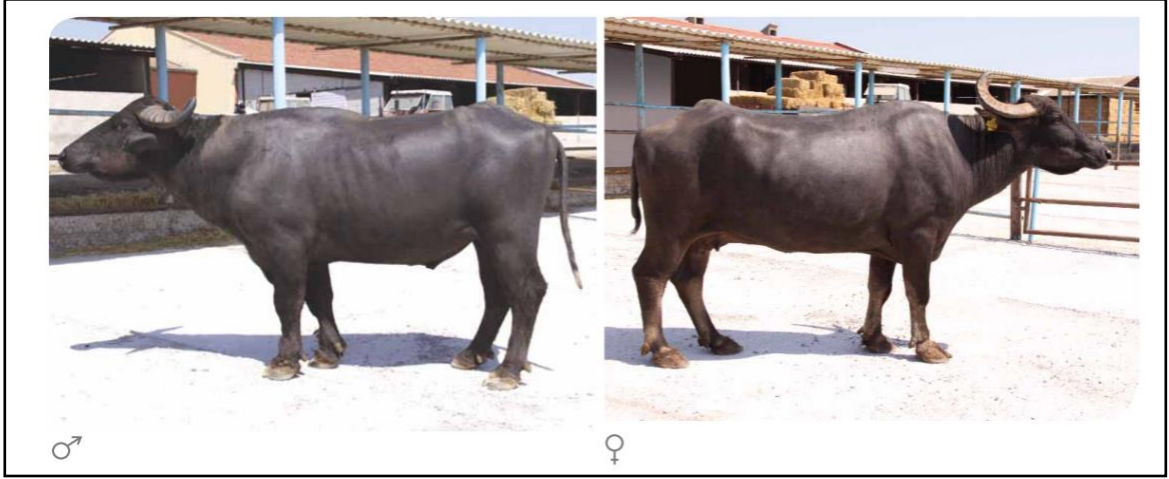
B6) Mehsana Manda Irkı: Murrah ile Surti manda ırklarından evrimleştığı düşünölmektedir. Hindistan'ın Gujarat eyaletinde bulunurlar. Boynuzlar orak şeklinde olup, Murrah'a göre daha az kavislidir. Genelde siyah renk olup, bazen siyah-kahve ya da kahverengi olabilirler (Şekil 2.13).



Şekil 2.13. Mehsana manda ırkı

<https://www.exportersindia.com/chaudhary-dairy-farm-company5099898/live-mehsana-buffalo-3189068.htm>

B7) Akdeniz Manda Irkı: Hint mandalarından köken aldığı bilinmektedir. İslamiyetin yayılmasıyla birlikte 7. yy. sıralarında bu ırkın Avrupa'ya gittiği düşünölmektedir. Genelde siyah, siyah-kahve ya da koyu gri renktedirler. Boynuzlar arkaya doğru ve düzdür. Türkiye'nin yerli ırkı olarak tescillenmiş Anadolu Mandası'nın da Akdeniz manda ırkından köken aldığı bilinmektedir. Anadolu mandasının ırk olarak tescillenışı 2004 yılında gerçekleşmiştir (Anonim, 2004). Ülkemiz mandaları genellikle siyah renkli olup, boynuzları geriye doğru yatık ve düz formdadır. Kaba bir vücut şekline sahip olan bu ırkın canlı ağırlığı 400-450 kg arasındır. Laktasyon süresi 200-250 gün arası değişmektedir. Genellikle et ve süt verim yönü için yetiştiriciliği yapılmaktadır (TAGEM, 2009).



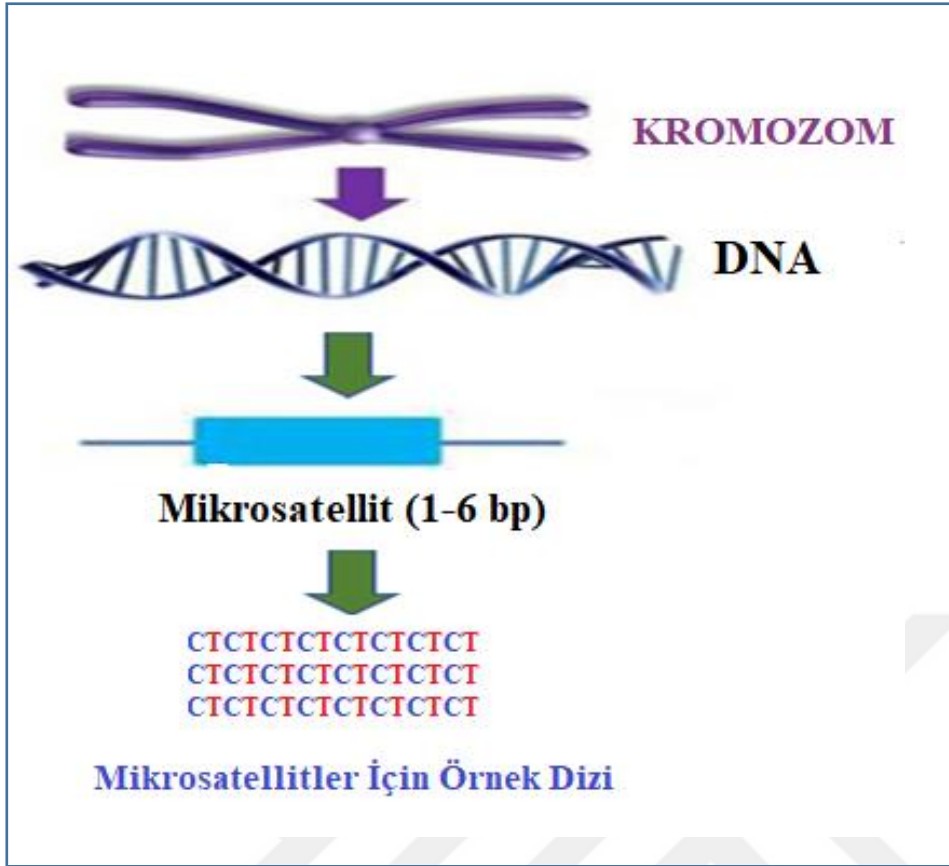
Şekil 2.14. Anadolu mandası ırkı

<https://www.tarimorman.gov.tr/TAGEM/Belgeler/yayin/Katalog%20T%C3%BCrk%C3%A7e.pdf>

2.3. Mikrosatellitler ve Kullanım Alanları

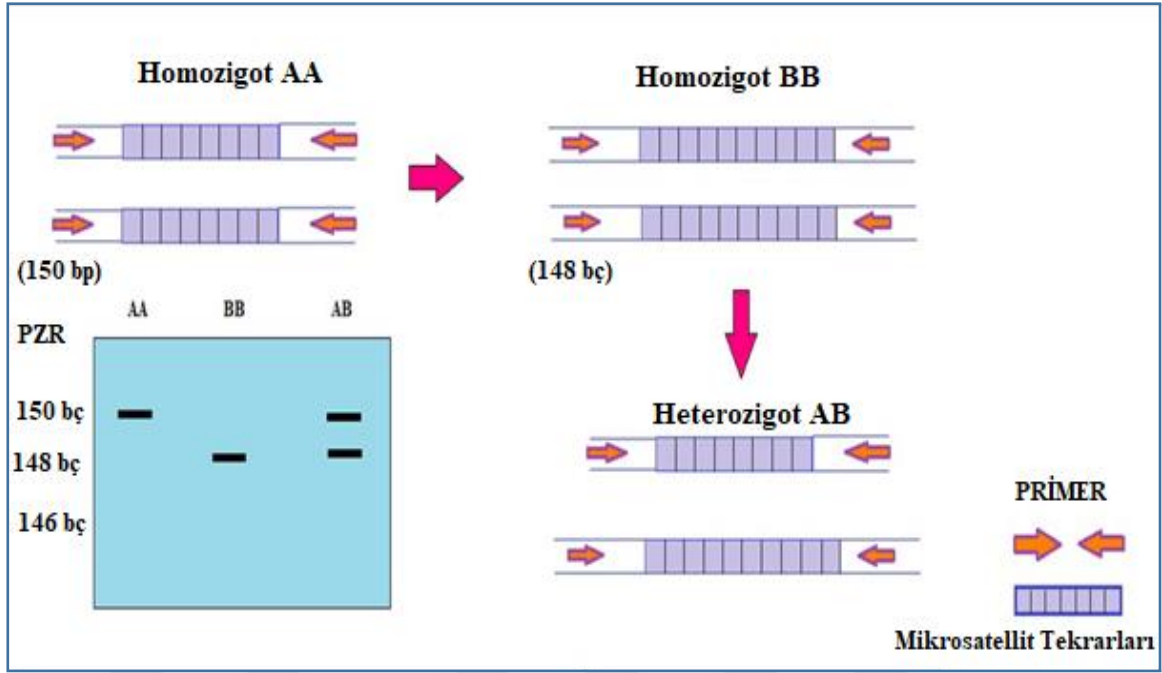
Herhangi bir ırkın genetik yapısının incelenmesi ve karakterizasyonunun yapılması, o ırkın korunması ve geliştirilmesi için oldukça önemlidir. Son yıllarda moleküler genetik tekniklere ilişkin teknolojilerin gelişmesiyle birlikte, genetik çalışmalarının hız kazanmaya başladığı görülmektedir. Irklar arası ve ırk içi genetik çeşitliliği belirlemek amacıyla, DNA düzeyinde birçok polimorfizm tekniği kullanılmaktadır. Mikrosatellit DNA Polimorfizm tekniği de bu tekniklerden birisi olup son yıllarda populasyon genetiği ve populasyonların evrim tarihi çalışmaları, ebeveyn tayini, gen haritalarının çıkartılması çalışmalarında en sık kullanılan moleküler belirteçler arasına girmişlerdir (Goldstein, Linares, Cavali Sofarzan, Feldman, 1995; Pariset, Savaresse, Cappuccio, Valentini, 2003).

Mikrosatellit işaretleyiciler, Basit Dizi Tekrarları (SSR- Simple Sequence Repeats) veya Kısa Ardışık Tekrarlar (STR - Short Tandem Repeats) isimleriyle de karşımıza çıkmakta olup ilk olarak 1980'lerin sonlarında literatürde göze çarpmaya başlamıştır (Litt ve Luty, 1989; Tautz, 1989; Weber, 1990). Tüm canlı organizmaların genomunda bulunan ve tekrarlayan diziler olarakta bilinen mikrosatellitler, primatlarda genellikle mononükleotid, omurgalı canlılarda ise dinükleotid (CA)_n formunda bulunurlar (Li, Korol, Fahima ve Nevo, 2004). Şekil 2.15'de mikrosatellit örnek diziyeye ait bir görsel verilmiştir.



Şekil 2.15. Mikrosatellit DNA'ya ait görsel (Saeed, Wang ve Wang, 2016)

Mikrosatellit lokuslarına ait allellerdeki nükleotit tekrar sayısı, bireyden bireye farklılık göstermekte olup, bu farklılık da lokuslarda yüksek polimorfizm oranlarına sebebiyet vermektedir. Mikrosatellitlerde her lokusa ait iki allel mevcut olup, bu allellerden birisi anneden birisi de babadan gelmektedir. Her tekrar formu, tek bir allel ile ilişkilendirildiği için de aynı lokusun biri anneden diğeri babadan gelmekte olan iki allelinde farklı tekrar oranları görülmektedir. Eğer bir mikrosatellit lokusuna ait iki allelde de tekrar sayıları birbiriyle aynı ise jel üzerinde tek çizgi formunda görünüp homozigot olarak, tekrar sayıları birbirinden farklı ise jel üzerinde çift çizgi olarak görünmekte olup heterozigot olarak nitelendirilmektedir.



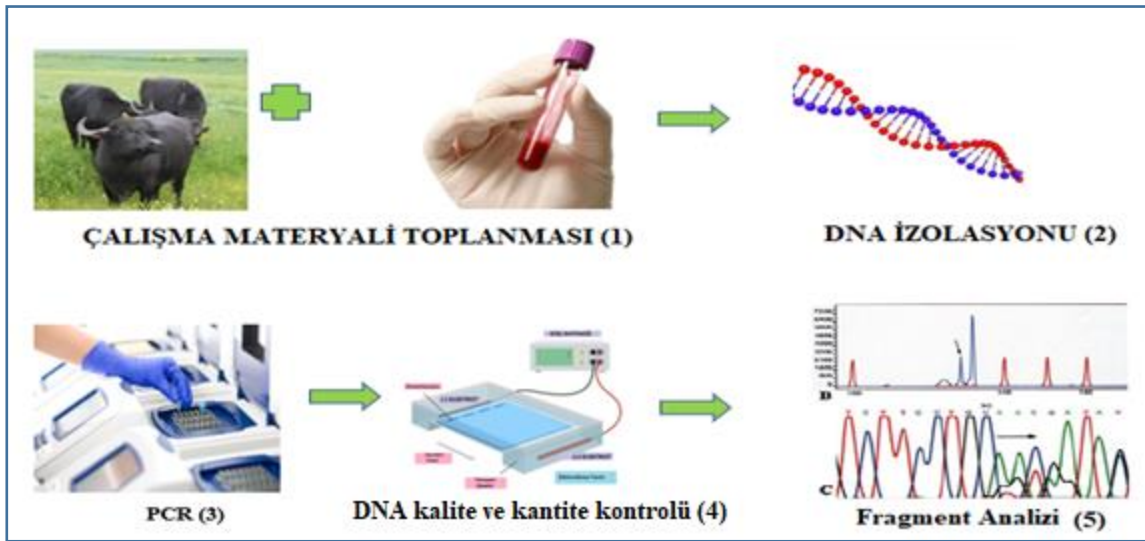
Şekil 2.16. Aynı lokusta farklı tekrar sayılarına sahip mikrosatellit allellerinin jel görünümü (Ağaoğlu ve Ertuğrul, 2010)

Mikrosatellit dizileri tüm canlı organizmalarda bulunmakta olup işlevleri tam anlamıyla bilinmemektedir (Ramel, 1997). Bu diziler DNA'nın genellikle "non-coding" yani protein kodlanmayan bölgelerinde yer almakta olup "coding (protein kodlayan)" kısmında yer alanlar genelde hastalık nedeni olarak nitelendirilmektedir (Moxon ve Wills, 1999). DNA'nın non-coding bölgesi, önceleri "Çöp DNA" olarak isimlendirilip bu kısımda gereksiz bilgi materyallerinin olduğu öne sürülmüştür. İlerleyen yıllarda yapılan bilimsel çalışmalar sonucunda çöp DNA'nın aslında çok kıymetli genetik bilgileri içinde barındırdığı anlaşılmış ve DNA'nın non-coding kısmına yönelik çalışmalar hız kazanmıştır. Değişken sayılarda ve farklı tekrar motifleriyle oluşan mikrosatellitler oldukça kararsız olmakla birlikte, yüksek polimorfizm gösterebilmekte olup, tüm genomda yaygın halde bulunmaktadır. Genomda tekrarlayan kısa veya uzun DNA segmentlerinin varlığı türlerin evrimsel kökenlerinin araştırılmasında son derece yol gösterici olabilmektedir (Künzler, Matsuo ve Schaffner, 1995). Bu sayede PZR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) ile yükseltgenerek gen haritalama, kanser araştırmaları, adli tıp ve aynı türe ait populasyonlardaki canlıların genetik açıdan karşılaştırılması gibi birçok farklı alanda kullanılmaktadırlar. Ayrıca "Mikrosatellit DNA Polimorfizm Tekniği" PZR'a dayalı olduğu için diğer birçok teknikten avantajlı olmaktadır.

Canlılarda "Mikrosatellit DNA Polimorfizm Tekniği" kullanılarak genotipin belirlenebilmesi için 4 ana basamak vardır. Bahsedilen basamakların dikkatli ve doğru

uygulanması verilerin de gerçeği yansıtır şekilde bulunmasını sağlamaktadır (Ün, Wimmers, Ponsuksili, Schmoll ve Schellander, 2000). Bu basamaklar aşağıda sıralanmış olup Şekil 2.17’de görsel olarak da verilmiştir.

- DNA İzolasyonu
- DNA miktar tayini ve kalite kontrolü
- PZR
- Fragment Analizi ve İstatistiksel Hesaplamalar



Şekil 2.17. Mikrosatellit DNA Polimorfizm Tekniğinin Uygulama Basamakları

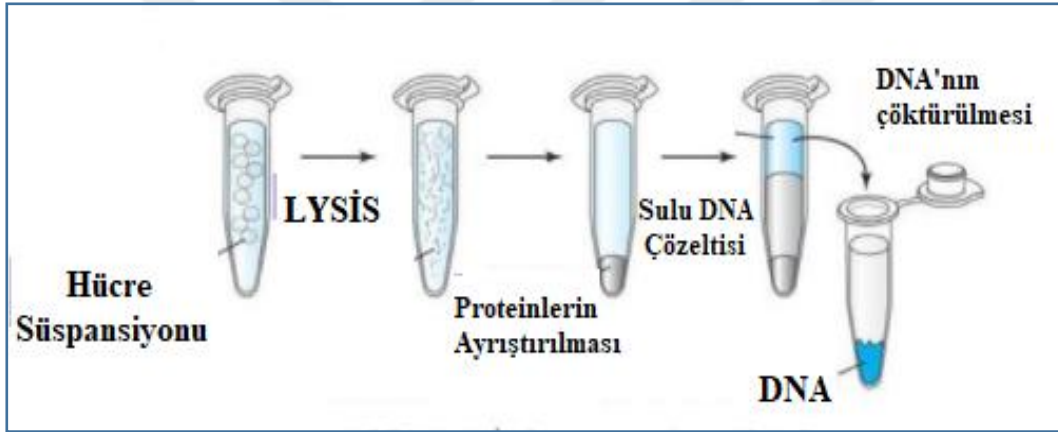
2.3.1. DNA İzolasyonu

DNA izolasyonu işlemi, DNA'nın bulunduğu hücreden ayrılması olarak tanımlanabilir. Herhangi bir bakteri veya virüsün tespiti, genetik hastalıkların tanısı gibi önemli işlemlerde DNA izolasyonu her zaman ilk adım olmaktadır. Başarılı bir DNA izolasyonu temelde üç basamaktan oluşmakta olup bunlar (Çalışkan, 2005);

- 1) **Lizis (Hücre Patlatma);** Elimizde bulunan materyale ait hücrelerden DNA içeriğine ulaşmak için öncelikle hücre yapısının çeşitli fiziksel (mekanik) ve kimyasal araçlar kullanarak bozulması gerekmektedir. Mekanik türde bozulmaları genellikle bitki hücrelerinde tercih edilmekte olup, sebebi bitki hücre duvarının daha sert olması olarak açıklanmaktadır. Hayvansal kökenli hücrelerde ise daha çok kimyasal yöntemler ile Lizis işlemi gerçekleştirilmektedir.

- 2) **Proteinlerin Uzaklaştırılması;** Lizis işleminden sonra hücre içeriği açığa çıkar ve saf DNA'ya ulaşmak için bu hücre içeriğindeki proteinlerin uzaklaştırılması gerekir. Bu işlem için genelde "Proteinaz K" olarak bilinen bir enzim kullanılmaktadır.
- 3) **DNA'nın farklı moleküllerden ayrıştırılması;** DNA fiziksel (santrifüjleme, çalkalama vb.) ve kimyasal (izopropanol, etanol vb.) etkenler kullanılarak ortamda bulunan diğer moleküllerden ayrıştırılmalıdır.

DNA, bazı ticari kitlerin kullanılmasıyla, İnorganik Chelex veya silika yöntemleri, tuzla çöktürme, fenol-kloroform-izoamil alkol metodu gibi birçok farklı şekilde izole edilebilmektedir. Bu çalışmada alınan kan örneklerinden DNA izolasyonunda ticari kit kullanılmıştır. Şekil 2.18'de DNA izolasyonu basamaklarını içeren bir görsel verilmiştir.



Şekil 2.18. DNA izolasyonu basamakları (<https://slideplayer.biz.tr/slide/13951720/>)

2.3.2. DNA Miktar Tayini Ve Kalite Kontrolü

Nükleik asitler ve proteinlerde miktar ve kalite parametreleri, spektrofotometrik yöntemler ve elektrofotometrik yöntemler olmak üzere iki şekilde ölçülebilir.

- 1) **Spektrofotometrik Yöntemler;** DNA'nın kalitesi, farklı dalga boylarındaki absorbans değerleri baz alınarak ölçülmektedir. Spektrofotometrede DNA ölçümü sırasında genelde 230 nm, 260 nm ya da 280 nm dalga boylarında absorblama (soğurma) sırasında okunan değerler gerçeği yansıtmaktadır. Okunan bu değerler ölçümü yapılan nükleik asitin saflığı hakkında bilgi vermektedir (Cseke, Kirakosyan, Kaufman, ve Westfall, 2011). Spektrofotometrik ölçümlerde genelde

Nanodrop adı verilen bir cihaz kullanılmakta olup Şekil 2.19’da bu cihaza ait bir görsel verilmiştir.



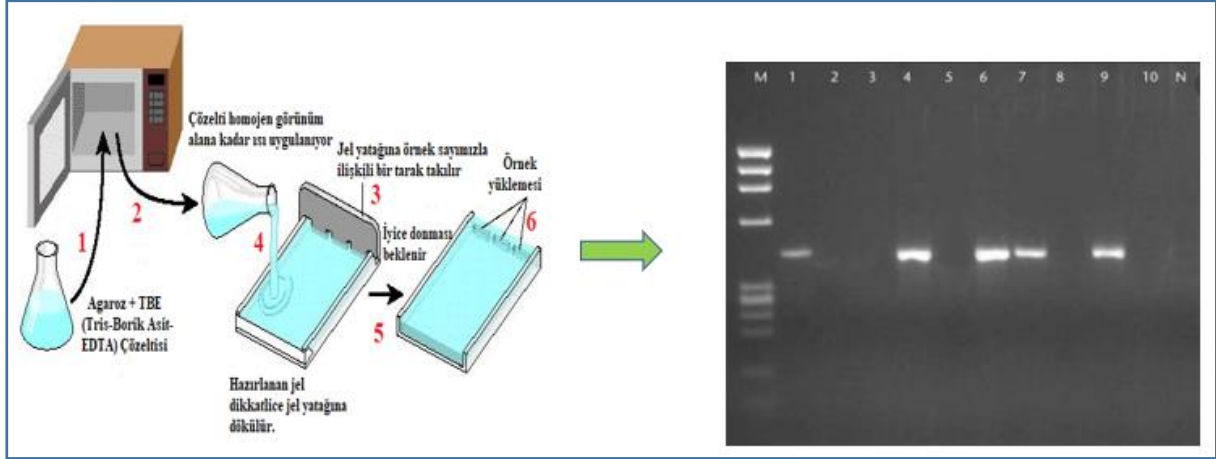
Şekil 2.19. Nanodrop cihazı

<https://si.vwr.com/store/product/15960653/microvolume-spectrophotometer-nanodrop-lite#gallery-1>

2) Elektrofotometrik Yöntemler; Bu yöntemin temeli, elektriksel bir alanda elektrik yüklü nükleik asitlerin ya da protein parçacıklarının, molekül yükü, molekül boyutu gibi etkenlere bağlı olarak bir elektrottan diğerine yürümesine dayanmaktadır. Mikrosatellit tekniğinden nükleik asit DNA olduğu için her zaman anottan katoda doğru bir hareket söz konusudur. Bunun sebebi ise DNA'nın negatif (-) yüklü olmasından kaynaklanmaktadır (Berik, 2002). Günümüzde çalışılan materyal ve konuya uygun olacak şekilde birden çok elektroforez metodu olup bunlar;

- Agaroz Jel Elektroforezi
- Poliakrilamid Jel Elektroforezi
- Değişken Alanlı (Pulsed Field) Jel Elektroforezi
- İzoelektrik Focusing
- İki Boyutlu Elektroforez • Kılcal (Kapiller) Elektroforez
- İmmünoelektroforez

Bu tez çalışmasında Mikrosatellit DNA Polimorfizm Tekniğ'inde kullanılmak üzere "Agaroz Jel Elektrofrez" metodundan yararlanılmış olup, Şekil 2.20'de bu elektrofrez çeşidine ait görsel paylaşılmıştır.



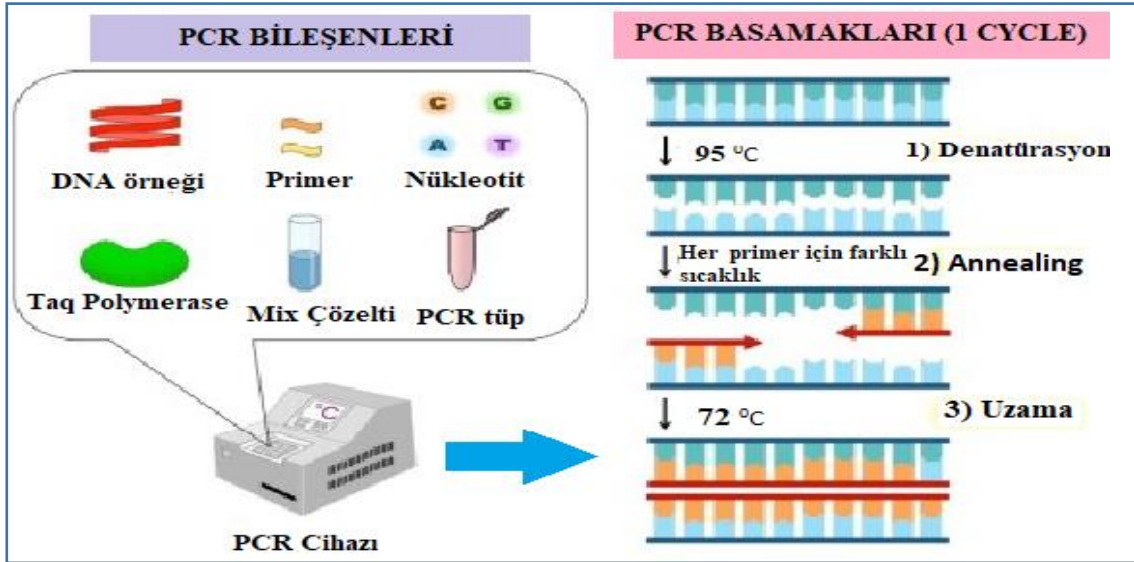
Şekil 2.20. Agaroz Jel Elektrofrezinin uygulama ve görüntüleme aşamaları (<https://avys.omu.edu.tr/storage/app/public/nuket.caliskan/135660/Mol.%20Pat.%208.pdf>)

2.3.3. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)

Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR), ilk olarak Kary Mullis tarafından 1985 yılında keşfedilmiş olup, patenti alınmıştır. Bu keşif 1993 yılında Kary Mullis'e Nobel ödülünü getirmiştir. PZR basitçe tanımlandığında, aslında herhangi canlı bir organizmanın genomik DNA'sında bulunan farklı işlevler için özelleşmiş gen bölgelerinin in vitro koşullarda çoğaltılmasını sağlayan bir DNA sentezi metodudur. Yani PZR genlerin istenen bölgelerinin kopyasını üretmeye olanak sağlamaktadır. PZR, temelde üç basamaktan oluşmakta olup bunlar, ayrılma (denatürasyon), bağlanma (annealing) ve uzama (extension) şeklinde isimlendirilmektedir. Bu üç basamağın bir defa tamamlanması "Döngü (cycle)" olarak isimlendirilmektedir. PZR işlemi bu basamakların defalarca tekrarından (30-40 döngü) oluşmaktadır. PZR basamaklarının kısaca ayrıntıları aşağıda detaylıca anlatılmış olup Şekil 2.21'de görsel olarak verilmiştir (Mullis, 1990).

- **Ayrılma (denatürasyon);** Yükseltgenmesi (amplifikasyonu) sağlanacak DNA'nın çift zincirli formunun yüksek sıcaklıklara (94 °C) maruz kalarak tek iplikçikli hale geldiği aşamadır.

- **Bağlanma (annealing);** Çalışılan primerler uygun sıcaklık koşullarında DNA’da yer alan hedef gen bölgelerine bağlanırlar. Her primerin kendine özgü bir bağlanma sıcaklığı vardır.
- **Uzama (extension);** PZR’da kullanılan Taq DNA Polimeraz enziminin ideal çalışma sıcaklığı 72 °C olup, hedef bölgeye bağlanan primerler bu enzim sayesinde uzarlar.

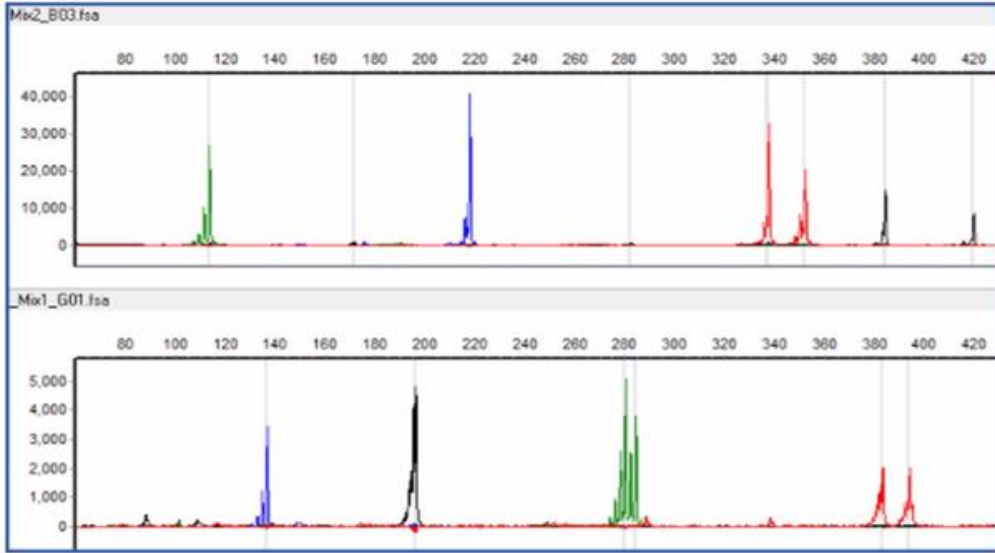


Şekil 2.21. PZR basamakları

(<https://molekulerbiyolojiyegenetik.org/polimeraz-zincir-reaksiyonu-nedir-ve-nasil-yapilir/>)

2.3.4. Fragment Analizi ve İstatistiksel Hesaplamalar

Nükleik asitlerin ayrımı ve fragment analizinde genellikle Kapiller (Kılcal) Elektroferez Tekniği kullanılmaktadır. Kapiller elektroferez, elektroforetik hareket, faz ayrımı, molekül boyutları gibi durumlardan bir ya da birkaçına bağlı elektrokinetik ayırım yapan bir tekniktir. Kapiller elektroferez yönteminde PZR ürünü ayrıştırılıp analiz edilmektedir. Mikrosatellit işaretleyiciler, floresan proba işaretlenmiş ileri (forward) ve proba işaretlenmemiş geri (reverse) primerlerden meydana gelmekte olup, PZR ile yükseltgendikten sonra, sisteme özel bir örnekle ile birlikte kapiller elektroferez sistemine yüklenmektedir. Fragment analizi sonucunda ise Şekil 2.22’deki gibi farklı renk boyutları temsil eden pikler oluşmakta ve bu piklerde allel uzunlukları okunmaktadır (Aşcıoğlu, Koluçak, Çetinkaya ve Akyüz, 2002).



Şekil 2.22. Fragment analizi sırasında görüntülenen pikler

(<https://www.biofidal.com/other-services/genotyping-fragment-analysis>)

Son yıllarda popülasyon genetiğinde çalışılmak üzere yeni teknikler ve daha etkili moleküler belirteçlerden yararlanılmaktadır (Luikart ve England, 1999). Gelişen her yeni teknikle birlikte farklı istatistiksel metotlarda kullanılmaya başlanmıştır. Mikrosatellit işaretleyiciler, popülasyonların genetik çeşitliliğini tanımlamaya yönelik çalışmalarda sıklıkla kullanılmakta olup farklı istatistiksel parametrelerle analiz edilmektedirler. Bu parametreler; allelik varyasyon, gözlenen ve beklenen heterozigotlukların ölçümü, Hardy-Weinberg dengesine uyum, Wright'ın F istatistikleri, Faktöriyel Benzerlik Analizi (Factorial Correspondence Analysis-FCA), Temel Bileşenler Analizi (Principal Component Analysis-PCA), Allellerin Paylaşım Uzunlukları, Genetik Uzaklık Analizleri olarak sıralanabilir.

3. LİTERATÜR ÖZETLERİ

Mikrosatellitler DNA dizilişinde 1-6 baz çifti uzunluğunda, genellikle 10-30 kopya olarak tekrar eden bölgeler olup, kısa ardışık tekrarlar (short tandem repeats-STR) olarak da adlandırılmaktadırlar. Mikrosatellitler, ko-dominant kalıtım özelliği göstermeleri (Beckmann ve Soller, 1990; Boyce vd., 1996; Ramamoorthi, Thilagam, Sivaselvam ve Karthickeyan, 2009), lokusa özgü olmaları (Condit ve Hubbel, 1991; Röder vd., 1995), genom içinde düzgün ve geniş yayılım göstermeleri (Liu, Biyashev ve Maroof, 1996; Taramino ve Tingey, 1996; Röder vd., 1998; Iamartino vd., 2005; Ramamoorthi vd., 2009) sahip oldukları yüksek mutasyon oranı (Boyce vd., 1996; Toro, Fernández ve Caballero, 2009) ve genom hakkında diğer moleküler belirteçlere göre daha fazla bilgi vermeleri (Jin, Gou, Hu, Gao ve Wang, 2006; Ramamoorthi vd., 2009) nedenleriyle bir çok türde genetik çeşitlilik tanımlamak için kullanılan bir DNA belirteçidir (Bruford vd., 2003). Mikrosatellit bölgeleri Mendel kalıtımı göstermekte olup, DNA'nın gen kodlayan bölgelerine çok yakın olmadıkları sürece seçilime uğramazlar. Bu nedenle genomun genetik çeşitliliği hakkında sadece zamana ve genetik sürüklenmeye bağlı tarafsız bilgi verirler (Jobling vd., 2004). Mikrosatellitler yüksek düzeyde polimorfizm göstermeleri nedeni ile gen haritalama ve populasyon genetiği çalışmalarında kullanılabilir. Yüksek mutasyon hızları nedeni ile kısa evrimsel tarihi olan çiftlik hayvanlarının evrimini incelemek için oldukça uygun belirteçlerdir.

Son yıllarda bu teknik ile ilgili olarak çeşitli çiftlik hayvanlarında hem Türkiye'de hem de dünyada önemli bilgiler elde edilmiştir (Edwards, Civitello, Hammond ve Caskey 1991; Beckman ve Weber, 1992; Forbes, Hogg, Buchanan, Crawford ve Allendorf, 1995; Diez-Tascon, Littlejohn, Almeida ve Crawford 2000; Maudet vd., 2002; Mateus, Penedo, Alves, Ramos ve Rangel-Figueiredo, 2004; Pandey, Sharma, Singh, Prakash ve Ahlawat, 2006; Agha vd., 2008; Di vd., 2011; Ağaoğlu ve Ertuğrul, 2012; Ünal, Soysal, Yüncü, Dağtaş ve Togan, 2014; Yılmaz vd., 2015; Loukovitis vd., 2016; Demir ve Balcıoğlu, 2019; Abdelmanova vd., 2020; Kefena vd., 2021)

Sığır, koyun gibi çiftlik hayvanlarında genetik çeşitliliğin ortaya konması amacıyla yapılan çalışmaların sayısı fazla olmasına rağmen, manda ile ilgili çalışmalar eksikti; ancak çalışmalar son yıllarda artış göstermektedir (Moore vd., 1995; Van Hoofth vd., 1999; Kumar vd., 2006; Nagarajan vd., 2009; Gargani, Pariset, Soysal, Özkan ve Valentini, 2010; Abou-Bakr vd., 2012; Ünal vd., 2014; Hussain vd., 2017; Mokhtar ve Merdan, 2020; Ünal, Işık, Şen, Geyik Kuş ve Soysal, 2021). Bu çalışmalar manda yetiştiriciliği yapılan ülkelerdeki

populasyonların genetik yapısını belirlemek, genetik çeşitliliği ortaya koyabilmek ve generasyon süresi oldukça uzun olan mandada uygulanan ıslah çalışmalarına katkıda bulunabilmek açısından oldukça yararlı çalışmalardır.

Türkiye’de Anadolu mandalarında yapılmış olan henüz 4 çalışma mevcuttur.

Türkiye’ye ait Anadolu mandası ırkında yapılan bir çalışmada 40 birey örneklenmiş olup, 11 otozomal sığır mikrosatellit lokusu ile çalışmıştır. Lokus başına allel sayısının 3-9 arasında olduğu, toplam 27 allelin tespit edildiği belirtilmiştir. Gözlenen ve beklenen heterozigotluklara ait değerlerin sırasıyla 0,550 ile 0,775 ve 0,494 ile 0,815 arasında değişmiş olduğu bildirilmiştir. Lokuslar bazında ortalama F_{IS} değerinin 0,043 olduğu ve bu değer - 0,101 ile 0,205 arasından değiştiği belirtilmiştir. Çalışma sonucunda göre Türkiye manda populasyonlarda yüksek bir genetik çeşitliliğin var olduğu bildirilmiştir (Soysal vd., 2007).

Türkiye’nin yerli gen kaynaklarından olan Anadolu Mandası’nda genetik çeşitliliği ölçmek için yapılan bir araştırmada altı farklı lokasyondan (Danamandıra, Pazar, Turhal, Merzifon, Afyon ve Coşkun) 155 birey örneklenmiştir. Genetik çeşitliliği analiz etmek için 26 heterolog (sığır) mikrosatellit lokusu ile çalışıldığı belirtilmiştir. Toplamda 254 allelin tespit edildiği, tüm lokuslar için ortalama allel sayısının 12,57 olarak hesaplandığı belirtilmiştir. Mikrosatellit lokusu başına allel sayısının 7 ile 17 arasında değiştiği bildirilmiştir. Gözlenen heterozigotluk değerlerinin, 0,50 (Afyon) ile 0,58 (Merzifon, Thural), beklenen heterozigotluk değerlerinin 0,62 (Pazar, Danamandıra) ile 0,81 (Merzifon) arasında değişmiş olduğu, 44 lokus/populasyon kombinasyonunda Hardy-Weinberg dengesinden önemli sapmalar gözlenildiği belirtilmiştir. Temel bileşenler analizi sonucunda Merzifon populasyonunun diğerlerine oranla genetik açıdan farklılıklar gösterdiği, ayrıca Danamandıra’daki bireylerin de bir kısmının ayrı kümelenmiş olduğu Afyon, Turhal, Coşkun ve Pazar populasyonlarının tek bir kümeyi temsil ettiği belirtilmiştir. Bu çalışmanın Anadolu Mandası populasyonlarının gelecekteki korumu programları ile ıslah stratejilerini geliştirmek için önemli bir adım olduğu bildirilmiştir (Gargani vd., 2010).

Ünal vd. (2014)’nin Türkiye’nin üç farklı bölgesinde (Kuzey, Kuzeybatı ve Doğu Trakya) Anadolu mandası populasyonlarındaki genetik çeşitliliği belirlemek amacıyla yaptıkları bir araştırmada, sekiz farklı ilden (İstanbul-Silivri, Tekirdağ-Saray, Balıkesir, Bursa, Afyon, Tokat, Sinop ve Samsun) toplamda 56 birey örneklenmiştir. Bu üç bölgedeki genetik çeşitliliği tanımlamak için 20 mikrosatellit lokusu kullanılmıştır. Lokus başına allel

sayıları 3 (CSSM57, ETH3) ile 10 (CSSM47) arasında tanımlanmış olup, toplam allel sayısı 103 olarak belirtilmiştir. Analiz edilen mikrosatellit lokusları için polimorfizm bilgi içeriği (PIC) değeri 0,4945 olarak hesaplanmış olup, bu değerin 0,14 (CSSM32) ile 0,82 (CSSM47) arasında değiştiği bildirilmiştir. Populasyonların beklenen heterozigotluk değerlerinin 0,5208 (Güney Marmara-Ege) ile 0,5359 (Karadeniz) arasında olduğu belirtilmiştir. Her bir lokusta gözlenen ve beklenen ortalama heterozigotluk değerleri populasyonlarda darboğaz olabileceğini ortaya koymuştur. Populasyonlardaki akrabalı yetiştirme oranı (F_{IS}), analiz edilen yirmi lokusun sadece dördünde pozitif olarak bulunmuş olup bu durum çalışılan dört populasyon için homozigot fazlalığı olduğu anlamına gelmektedir. Farklı populasyonlar için, allel paylaşım uzunluklarına göre yapılan komşu birleştirme ağacı analizine göre farklı coğrafi bölgelere ait farklı bireylerin birlikte kümelendiği görülmüştür. Bu çalışma, populasyonların birbirleriyle önemli ölçüde farklılaştığı ancak Karadeniz ile Trakya Bölgesi arasındaki genetik mesafenin daha az olduğunu göstermiştir. Aynı zamanda heterolog (sığır) mikrosatellit işaretleyicilerinin Anadolu mandası ırklarında genetik çeşitliliği değerlendirmek amacıyla kullanıma uygun olduğu vurgulanmış olup elde edilen sonuçların gelecekteki ıslah çalışmaları ile koruma programları için yol gösterici olacağı belirtilmiştir.

Türkiye'nin yerli manda ırkı olan Anadolu mandasına ait 17 populasyonda genetik çeşitliliği araştırmak için yapılan bir çalışmada toplamda 837 birey örneklenmiş olup, 20 mikrosatellit lokusundan yararlanılmıştır. Araştırma sonunda çalışılan mikrosatellit lokuslarında lokus başına allel sayısının 6 (ILSTS005) ile 17 (ETH003) arasında değişmiş olduğu belirlenmiştir. Polimorfik mikrosatellit lokuslarına ait ortalama gözlenen ve beklenen heterozigotluk değerleri ise sırasıyla 0,61 ve 0,70 olarak belirlenmiştir. Ortalama F_{IS} değerinin 0,091 olarak bulunduğu, tüm lokusların Hardy-Weinberg dengesinden sapmakta olduğu bildirilmiştir. F_{st} değeri sonuçlarına (0.032 ± 0.018) göre çalışılan 17 manda populasyonunun genetik olarak çeşitliliğinin az olduğu belirtilmiştir. Bu çalışmanın Türkiye'deki manda populasyonlarını koruma stratejilerinde bir temel olması açısından önemli olduğu bildirilmiştir (Ünal vd., 2021).

Dünya'nın farklı ülkelerinde ise mikrosatellitler kullanılarak mandada yapılmış olan birçok çalışma mevcuttur.

Asya ve Avustralya manda ırklarına ait 11 populasyonda genetik çeşitliliği incelemek için yapılan bir araştırmada, 261 birey örneklenmiş olup 25 lokus ile çalışılmıştır. Lokus başına allel sayısının 2 (CSSM015) ile 20 (CSSM047) arasında değiştiği, toplam allel

sayısının 201 olarak hesaplandığı belirtilmiştir. Çalışılan lokuslardan 8 tanesinin Hardy-Weinberg'den saptığı bildirilmiştir. Genetik mesafeler sonucuna göre çalışılan popülasyondaki bataklık ve nehir mandalarının günümüzden 10000 ile 15000 yıl kadar önce farklılaşmış olduğu belirtilmiştir (Barker vd., 1997).

Nepal'e özgü yabani, evcil ve melez manda popülasyonlarında yapılan bir çalışmada 45 birey örneklenmiş olup, 10 mikrosatellit lokusu ile çalışılmıştır. Lokus başına allel sayısının 3 (CSSM29) ile 11 (CSSM61) arasında olduğu, toplam allel sayısının ise 65 olarak hesaplandığı bildirilmiştir. Çalışılan üç popülasyon arasında genetik mesafenin düşük olduğu bildirilmiştir. Ayrıca daha fazla hayvanın genotiplendirilip çalışmaya dahil edilmesinin Nepal yabani manda nüfusunun koruma stratejilerine katkıda bulunacağı belirtilmiştir (Flamand, Vankan, Gairhe, Duong ve Barker, 2003).

Kuzey Hindistan'ın Bhadawari ve Tarai olmak üzere iki farklı manda ırkında genetik çeşitliliği araştırmak amacıyla yapılan bir çalışmada 22 heterolog sığır mikrosatellit lokusu kullanılmıştır. Her iki popülasyon için ortalama allel sayısı tüm lokuslarda 4,7 olarak hesaplanmış olup, polimorfik bilgi içeriği değeri ise 0,54 bulunmuştur. Her iki popülasyon için beklenen ve gözlenen ortalama heterozigotluklar sırasıyla 0,59 ve 0,64 olup bu değerler iki popülasyondaki nüfus farklılaşması seviyelerinin düşük olduğunu göstermiştir. Yalnızca Bhadawari ve Tarai mandaları üzerinde yapılan bu çalışma sonucunda, benzer araştırmaların tüm Hindistan manda nüfusunda tekrarlanabileceği bildirilmiştir (Arora, Lakhchaura, Prasad, Tania ve Vih, 2004).

Kumar vd. (2006)'nın Hindistan'a ait nehir mandası ırkları arasında genetik çeşitlilik ve ilişkileri tanımlamak için yaptıkları bir araştırmada sekiz ırktan alınan 383 örnekte yirmi yedi mikrosatellit lokusu çalışılmıştır. Çalışılan lokuslarda toplam allel sayısı 288 olarak tespit edilmiştir. Heterozigot eksikliğine bağlı olarak 26 lokus/ırk kombinasyonu için Hardy-Weinberg dengesinden önemli sapmalar gözlemlendiği bildirilmiştir. Tüm lokuslar için ortalama gözlenen ve beklenen heterozigotluklar sırasıyla 0,63-0,71 ve 0,78 arasında değişmiştir. Komşu birleştirme ağacındaki mesafeler, F_{ST} değerleri ve Bayesian kümeleme yaklaşımı sonuçlarına bakıldığında, Toda, Jaffarabadi ve Pandharpuri ırklarının her biri ayrı soy olarak, Bhadawari, Nagpuri, Surti, Mehsana ve Murrah'ı ise melez ırklar olarak tanımlandığı öne sürülmüştür. Moleküler varyans analizi sonuçları, morfolojik ve coğrafi parametrelerin bağlantılı olduğuna dair yapılan çalışmalara ait hipotezi çürütmüştür. Yapılan bu çalışmanın

Hint mandaları için gelecekteki ıslah stratejileri ve koruma programları için bilgi verici nitelikte olduğu bildirilmiştir.

Tayland'a özgü yerli bir ırk olan Thai nehir mandalarında genetik çeşitliliği ölçmek için yapılan bir araştırmada, Tayland'ın yedi farklı bölgesinden (Payao, Lopburi, Burirum, Srisagat, Surin, Suratthani and Samui Island) rastgele seçilen 80 bireye ait örneklerde 10 mikrosatellit lokusu çalışılmıştır. Çalışılan lokuslar; BM1818, BM1824, ETH3, ETH152, HEL13, HAUT27, ILSTS005, ILSTS030, CSSM36 ve CSSM46 olarak bildirilmiştir. Tüm populasyonlarda toplam 47 allel gözlenmiş olup, ortalama allel sayısı 4,7 olarak bildirilmiştir. Ortalama heterozigotluk 0,61; en düşük heterozigotluk değeri Samui (0,5314), en yüksek ise Surin (0,6798) blgelerindeki mandalarda gözlenmiştir. Nei'nin genetik mesafeler analizi sonuçları, Surin ile Burirum bölgelerinin en yakın, Samui ile Payao bölgelerinin ise genetik mesafe açısından en uzak olduğunu göstermiştir. Bu çalışma ile sayıca azalmaya başlayan Thai mandalarında ıslah ve seleksiyon çalışmalarına yeni bir yön verilmesinin hedeflendiği belirtilmiştir (Triwitayakorn vd., 2006).

Çin yerli nehir ve bataklık manda ırklarında genetik çeşitliliği ölçmek için yapılan bir araştırmada, 18 populasyondan alınan toplam 933 bireyde 30 mikrosatellit lokusu çalışılmıştır. Locus başına allel sayısı 1 (HMH1R) ile 17 (DRB3) arasında değişmiş olup toplam allel sayısı 394 bulunmuştur. Beklenen heterozigotluk 0,517 (Yanjın) ile 0,609 (Dehong) arasında değişmekte olup, genetik çeşitlilik en fazla Diandognan ile Dehong bölgelerinde, en az ise Fuling ile Yanjin arasında görülmüştür. Çin manda populasyonlarında genel olarak genetik varyasyon yüksek görülmüş olsa da genetik farklılaşma düzeyi düşük bulunmuş, orta düzeyde genetik değişkenlik olabileceği yorumu yapılmıştır. Bu çalışmanın Çin yerli manda ırklarında mikrosatellit lokusları kullanılarak yapılan ilk çalışma olduğu, gelecekte yapılacak çalışmalara da zemin hazırlayacağı bildirilmiştir (Zhang, Sun, Yu ve Zhang, 2007).

Hindistan'a ait manda ırklarında genetik çeşitliliği incelemek amacıyla yapılan bir çalışmada on iki populasyonda toplamda 527 hayvandan örnek alınmıştır. Alınan örneklerde 22 mikrosatellit lokusu çalışılmıştır. Tüm lokuslar için toplam allel sayısı 380 olup, ırk başına ortalama allel sayısı 5,86 (Panharपुरi) ile 9,41 (Nagपुरi), locus başına allel sayısı ise 11 (CSSM29) ile 29 (BM1818) arasında değişmektedir. Gözlenen ve beklenen heterozigotluk değerleri 0,53-0,70 (Toda ırkı) ve 0,63-0,73 (Nagपुरi ırkı) olarak hesaplanmıştır. Bayesian metoduyla yapılan istatistik analizler sonucunda çalışılan 12 populasyon genetik uzaklıklar bakımından 8 farklı kümeye ayrılmıştır. Çalışma sonunda genetik mesafe ile coğrafi uzaklıklar

arasında anlamlı olmayan korelasyonların saptandığı ve bu sonucun çalışılan populasyonlara ait bireylerin belirli amaçlar için farklı bölgelerde evcilleştirildiğine yönelik olan hipotezi desteklediği belirtilmiştir (Vijh, Tantia, Mishra ve Kumar, 2008).

İran'da Hazar Denizi'nin güney ve güneybatı bölgelerinde yayılım gösteren Guilan manda populasyonlarında genetik çeşitliliği incelemek üzere toplamda 60 bireyde yapılan çalışmada 14 mikrosatellit lokusu kullanılmıştır. Bu lokuslar; CSSM019, CSSM029, CSSM033, CSSM038, CSSM041, CSSM043, CSSM047, CSRM060, CSSM061, CSSM062, CSSM070, BMC1013, BRN ve ETH003'tür. Çalışılan bütün lokusların polimorfik olduğu gözlemlenmiş olup, toplam allel sayısının 58 olduğu bildirilmiştir. Tüm lokuslar için gözlenen ve etkili allel sayılarına ait ortalamalar sırasıyla 4,14 ile 3,17 bulunmuştur. CSSM062 lokusunun en polimorfik lokus olduğu tespit edilmiştir. Beklenen heterozigotluk değerlerinin 0,50 (CSSM029) ile 0,79 (CSSM062) arasında değiştiği, polimorfizm bilgi içeriği (PIC) değerinin 0,6 olarak hesaplandığı belirtilmiştir. Bu sonuçlardan yola çıkarak Guilan manda ırklarında yüksek oranda bir genetik çeşitliliğin mevcut olduğu bildirilmiştir (Aminafshar, Amirinia ve Torshizi, 2008).

Hindistan'ın Güney Kanara bölgesinde dağılım gösteren manda ırklarında genetik çeşitliliği araştırmak amacıyla 13 farklı lokasyondan toplamda 48 bireyden örnek toplanmış olup, on mikrosatellit lokusu çalışılmıştır. Bu lokuslar; ILSTS017, ILSTS073, ILSTS052, HEL013, ILSTS061, ILSTS058, ILSTS026, ILSTS008, ILSTS095, ILSTS036'dır. Populasyonlar için ortalama allel sayısı 6,30 olup, lokus başına gözlenen heterozigotluk değerleri 0,000 (ILSTS073) ile 0,896 (ILSTS017); beklenen heterozigotluk değerleri ise 0,378 (ILSTS008) ile 0,866 (ILSTS052) arasında değişkenlik göstermiştir. Analiz edilen on lokusun tamamının Hardy-Weinberg'den saptığı, allel frekans dağılımlarının ise normal olduğu belirtilmiştir. Bu duruma göre Kanara mandalarının yakın geçmişte genetik bir darboğaz yaşamadığı ifade edilmiştir. Bu çalışma ile çiftçilerin geçiminde önemli yere sahip Kanara mandalarının genetik olarak iyileştirilmesi açısından önemli olduğu belirtilmiştir (Kathiravan vd., 2008).

Pakistan'da yetiştiriciliği yapılan beş farklı manda ırkında genetik kompozisyonu belirlemek amacıyla yapılan bir çalışmada floresan işaretli üç mikrosatellit lokusu kullanılmış olup bu lokuslar; INRA005, ILSTS029, ILSTS033'tür. Tüm lokuslar için gözlenen allel sayısının 4 (INRA005) ile 6 (ILSTS033) arasında değiştiği belirtilmiştir.

İncelenen üç lokusa ait polimorfizm bilgi içeriği değerleri sırasıyla 0,58 (INRA005); 022 (ILSTS029) ve 0,66 (ILSTS033) olduğu ifade edilmiştir. Bu değerlerin Pakistan'a özgü beş manda ırkında üç mikrosatellit lokusunun uygunluğunu desteklediği belirtilmiştir. Gözlenen ve beklenen heterozigotluklara ait ortalama değerler sırasıyla 0,45 ile 0,53 olarak hesaplandığı, bu çalışmanın Azi-kheli manda ırklarında genetik tabanlı yapılan ilk çalışma olup, gelecekte yapılacak benzer çalışmalar için rehber olma niteliği taşıdığı belirtilmiştir (Babar, Hussain, Nadeem, Jabeen ve Javed, 2009).

Orta Hindistan bölgesinin önemli bir ırkı olan Nagpuri mandasındaki genetik çeşitliliğin değerlendirilmesi için yapılan bir çalışmada, toplam 48 bireyde, 25 heterolog (sığıır) mikrosatellit belirteci kullanılmıştır. Locus başına gözlemlenen allel sayısının 2'den (ILSTS073) 8'e (HEL13 ve ILSTS058) kadar değiştiği, ortalama allel sayısının ise 5,24 olduğu belirtilmiştir. Orta düzeyde heterozigotluğun (0,45) olduğu popülasyonda yeterli düzeyde genetik çeşitliliğin olduğu ifade edilmiştir. Çalışma sonunda allellerin frekans dağılımının Nagpuri mandasında herhangi bir darboğaz olmadığını gösterdiği, ancak gelecekteki ıslah programları ve koruma stratejilerinin geliştirilmesi için bu çalışmanın temel nitelikte olduğu bildirilmiştir (Kataria vd., 2009).

Batı Hindistan'ın Gujarat eyaleti Kachchh bölgesinde dağılım gösteren Banni mandasında genetik çeşitliliği incelemek amacıyla yapılan bir çalışmada, 15 heteolog (sığıır) mikrosatellit lokusu kullanılmıştır. Kullanılan lokuslar; CSRM060, ILSTS026, HEL13, ILSTS030, ILSTS033, ILSTS017, ILSTS019, ILSTS045, ILSTS058, ILSTS036, ILSTS095, ILSTS052, ILSTS073, ILSTS061 ve ILSTS008 olarak bildirilmiştir. Tüm lokuslar için toplam allel sayısının 81 olarak tespit edildiği belirtilmiştir. Locus başına allel sayısının 2 (ILSTS045 ve ILSTS073) ile 10 (ILSTS058) arasında değişmiş olduğu ifade edilmiştir. Locus başına gözlenen ve beklenen heterozigotlukların sırasıyla 0,125 (ILSTS045) ile 0,795 (ILSTS008) ve 0,183 (ILSTS019) ile 0,834 (ILSTS058) arasında olup ortalama 0,506 olarak hesaplandığı belirtilmiştir. Ortalama F_{is} değerinin (0,181) anlamlı oranda heterozigot eksikliği olduğunu doğruladığı ifade edilmiştir. Çalışılan on beş lokustan yedisi Hardy-Weinberg dengesinden önemli ölçüde sapmalar gösterdiği, bu çalışmanın sonunda, Banni mandasının iyi bir üretim sistemine sahip olma potansiyelinin diğer ırklara oranla fazla olması nedeniyle, genetik olarak iyileştirme programlarında öncelikli olması gerektiği bildirilmiştir (Mishra vd., 2009a).

Hindistan'a özgü Banni manda ırkında yapılan bir çalışmada, 95 birey örneklenmiş olup, 24 mikrosatellit lokusunda çalışılmıştır. Lokus başına allel sayısının 2-10 arasında değiştiği, ortalama allel sayısının 5,75 ve toplam allel sayısının 138 olduğu bildirilmiştir. Banni buffalolarında gözlemlenen ve beklenen ortalama heterozigotlukların 0,441 ve 0,572, Murrah mandalarında gözlenen ve beklenen ortalama heterozigotlukların ise 0,464 ve 0,610 olduğu belirtilmiştir. Genetik mesafe analizi sonuçlarına göre, iki manda popülasyonunun farklı yerlerde kümelenildiği bildirilmiş olup, bu ırkların yaklaşık 7286 yıl önce genetik olarak birbirinden ayrıldığı bildirilmiştir (Mishra vd., 2009b).

Hindistan'a özgü Murrah manda ırkında yapılan bir araştırmada, 24 birey örneklenmiş olup, 571 lokus ile çalışılmıştır. Çalışılan 571 lokustan 457'sinin iyi amlifiye olduğu belirtilmiştir. Lokus başına ortalama allel sayısının 2 ile 11 arasında olup, ortalama allel sayısının 4,64 olarak hesaplandığı bildirilmiştir. Çalışılan lokuslar için ortalama gözlenen heterozigotluk değerlerinin 0,04 ile 0,88 arasında değiştiği bildirilmiştir. Bu çalışma ile sığırlarda kullanılan mikrosatellit lokuslarının mandalar için kullanılabilirliğinin analiz edilmek istendiği belirtilmiştir (Nagarajan vd., 2009).

Kolombiya manda popülasyonlarının genetik çeşitliliğini ölçmek için yapılan başka bir araştırmada ise 12 manda sürüsünden 588 birey örneklenildiği ve 10 mikrosatellit lokusu çalışıldığı belirtilmiştir. Tüm lokuslar için gözlenen ortalama allel sayısı $3,6 \pm 10,9$ olarak hesaplanmıştır. Lokus başına gözlenen heterozigotluk değerleri $0,62 \pm 0,07$; beklenen heterozigotluk değerleri ise $0,70 \pm 0,13$ arasında bulunmuştur. Kolombiya'daki manda popülasyonlarında lokus başına gözlenen yüksek polimorfizm bilgi içeriği (PIC) değerleri ile gözlenen yüksek heterozigotluk dikkate alındığında yüksek oranda bir genetik çeşitlilik olduğuna ilişkin bir sonuç çıkarılmıştır. Çalışma sonunda Kolombiya manda popülasyonlarında genetik çeşitliliği ölçmek için daha fazla araştırma yapılması gerektiği bildirilmiştir (Ángel-Marín, Cardona, Moreno-Ochoa ve Cerón-Muñoz, 2010).

Brezilya mandalarında genetik çeşitliliği ölçmek için yapılan bir araştırmada beş farklı ırktan 200 bireye ait örnek toplanmıştır. Çalışılan ırklar; Carabao, Jafarabadi, Mediterrareo, Murrah ve Baio olarak bildirilmiştir. Alınan örneklerde yirmi beş mikrosatellit lokusu çalışılmıştır. Lokus başına ortalama allel sayısının 7,42 olarak bulunduğu, gözlenen ve beklenen heterozigotluklara ait ortalama değerlerin sırasıyla $0,530 \pm 0,156$ ile $0,558 \pm 0,129$ olarak hesaplanmış olduğu belirtilmiştir. F-istatistiklerine bağlı değerler sırasıyla F_{IS} : 0,07411; F_{IT} : 0,2591 ve F_{ST} : 0,1998 olarak bulunmuştur. Reynolds'un genetik mesafeler

analizine göre elde edilen sonuçlar, Baio ve Murrah'ı genetik olarak en yakın, Carabao ve Jaffarabadi'yi ise genetik olarak en uzak ırk olarak göstermiştir. Faktöriyel analiz sonuçlarına göre, Mediterrareo, Murrah ve Baio ırklarının bir yerde kümelenme gösterirken, Carabao ırkı ayrı bir yerde kümelenmiştir. Bu durum Carabao ırkının farklı bir alt türün üyesi olabileceği düşüncesini doğrulamıştır. Bu çalışma ile Brezilya'ya manda ırklarına ait genetik materyalin korunması ve gelecekte yapılacak ıslah çalışmaları ile koruma programları için zemin hazırlaması gerektiği belirtilmiştir (Marques vd., 2011).

Güney Hindistan'a ait dört farklı manda ırkında genetik çeşitliliği incelemek adına yapılan bir araştırmada, 176 bireyin örneklendiği ve 20 mikrosatellit lokusu ile çalışıldığı belirtilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, F_{ST} değerinin ortalama 0,083 olduğu ve çalışılan popülasyonlar arasından belirgin farklılıklar gözlemlendiği belirtilmiştir. Nei'nin genetik mesafeler analizine göre elde edilen değerlerin 0,177 (Güney Kanara ve Toda) ile 0,338 (Marathwada ve Murrah) arasında değiştiği belirtilmiştir. Yapılan temel bileşenler analizi sonucuna göre Murrah ve Marathwada mandalarının belirgin oranda ayrı kümelendiği, Toda ve Güney Kanara mandalarının ise iç içe geçmiş bir şekilde kümelendiği bildirilmiştir (Kathivaran vd., 2011).

Çin, Nepal ve Güney Doğu Asya manda ırklarında genetik çeşitliliği incelemek için yapılan bir araştırmada 18 mikrosatellit lokusu ile çalışıldığı belirtilmiştir. Locus başına allel sayısının 4-17 arasında değiştiği, çalışılan popülasyonlarda toplam 26 özgün allel olduğu bildirilmiştir. Nei'nin standart genetik mesafeleri analizine dayanarak yapılan hesaplamalarda tüm lokuslar için ortalama genetik çeşitliliğin 0,672 olduğu, lokuslar bazında genetik çeşitliliğin ise 0,052 (HMH1R) ile 0,880 (CSSM019) arasında değiştiği belirtilmiştir. Araştırma bulgularına göre Çin bataklık manda popülasyonları arasındaki genetik farklılaşmanın Güney Doğu Asya'dakine oranla daha az olduğu bildirilmiştir. Bu ilişki göz önüne alındığında bataklık mandalarının Çin'in en güneyinde ve Kuzey Tayland'da evcilleştirildiği varsayılmıştır. Hatta bu evcilleştirmenin ardından güneye Malezya yarımadasından Sumatra, Java ve Sulawesi'ye, kuzeye ise Çin'e oradan da Tayvan, Filipinler ve Borneo'ya yayıldığı belirtilmiştir (Zhang, Vankan, Zhang ve Barker, 2011).

Mısır mandalarında mikrosatellit lokusları kullanılarak genetik çeşitliliğin incelendiği bir araştırmada, 471 bireyde 11 mikrosatellit lokusu çalışılmıştır. Çalışılan mikrosatellit lokuslarından dokuzu polimorfik, ikisi monomorfik bulunmuştur. Popülasyonlar geneli toplam allel sayısı 198 bulunmuş, kullanılan lokus başına allel sayısının ise 17 (RM28-

BM415) ile 29 (BMC4203) arasında değiştiği ifade edilmiştir. Gözlenen heterozigotluk 0,517 (ILSTS097) ile 0,995 (BM143), beklenen heterozigotluk değerleri ise 0,916 (BM415) ile 0,952 (ILSTS093) arasında değişmiştir. Polimorfizm bilgi içeriğinin (PIC) ise 0,909 (BM415) ile 0,949 (ILSTS093-ILSTS097) arasında değiştiği belirtilmiştir. Çalışmanın sonucunda Mısır mandalarında Mikrosatellit DNA Polimorfizm Tekniği kullanarak yapılan genom analizi ve genetik çeşitlilik çalışmalarının ileride yapılacak benzer çalışmalarda yol gösterici olacağı bildirilmiştir (Abou-Bakr vd., 2012).

Uttar Pradesh ve Murrah mandalarında genetik çeşitliliği incelemek ve bu manda populusyonlarının genetik karakterizasyonunu ortaya koymak için yapılan bir araştırmada 573 bireyde toplamda 25 mikrosatellit lokusu çalışılmıştır. Uttar Pradesh mandalarında gözlenen ve beklenen heterozigotluklara ait ortalama değerler sırasıyla 0,597 ile 0,703; Murrah mandalarında ise sırasıyla 0,631 ile 0,642 olarak hesaplanmıştır. F-istatistiklerinin ortalama tahminleri tüm lokuslar için 0,139 (F_{IS}); 0,092 (F_{ST}) ve 0,215 (F_{IT}) olarak bulunmuştur. Bu değerlerin her iki populusyon için de sıfırdan farklı olduğu ve orta düzeyde bir genetik farklılaşma görüldüğü sonucuna varılmıştır. Filogenetik analizler sonucunda iki manda populusyonundaki bireylerin farklı kümeler oluşturduğu ortaya çıkmıştır. Utter Pradesh mandaları ile Bhadawari ve Tarai ırkı mandaların ayrı bir kümelenme oluşturduğu sonucuna varılmış olup, yapılan bu çalışma ile Hindistan manda ırkları üzerinde genetik çeşitliliği tanımlamak adına çalışmaların yoğunlaşması gerektiğinin önemli olduğu bildirilmiştir (Joshi vd., 2012).

Pakistan'a özgü Nili-Ravi ve Kundi manda ırklarında yapılan bir çalışmada, 50 birey örneklenmiş olup 9 mikrosatellit lokusu kullanıldığı belirtilmiştir. Yapılan analizler sonucu toplam allel sayısının 46 olduğu ve lokus başına allel sayısının 3 ile 8 arasında değiştiği belirtilmiştir. Gözlenen ve beklenen heterozigotluk değerlerinin sırasıyla 0,140-0,800 ile 0,319-0,741 arasında değiştiği belirtilmiştir Bu çalışmadan elde edilen sonuçlara göre çalışılan iki manda ırkı arasında düşük düzeyde bir genetik farklılaşma olduğu bildirilmiştir (Saif, Babar, Awan, Nadeem, Hashmi, Hussain, 2012).

Avustralya'ya ait 11 farklı manda populusyonunda genetik çeşitliliği incelemek üzere yapılan bir araştırmada, 524 birey örneklenmiş olup 10 mikrosatellit lokusu ile çalışılmıştır. Araştırma bulgularına göre, gözlenen ve beklenen heterozigotluk değerlerine ait ortalama sonuçların sırasıyla 0,35-0,46 ile 0,50-0,70 arasında değişmiş olduğu belirtilmiştir. Lokus başına allel sayısının 2,4-4,0 arasında değiştiği bildirilmiştir. Çalışma sonunda Avustralya

manda popülasyonlarında düşük genetik çeşitliliğin mevcut olduğu belirtilmiştir (McMahon vd., 2012).

Irak manda nüfusunda genetik çeşitliliği incelemek amacıyla ülkenin üç farklı kesiminden (Güney, Kuzey ve Orta), 96 bireye ait örnekler toplanmış ve altı mikrosatellit lokusu (ETH152, ETH02, ETH225, CSSM060, BM1706, INRA005) kullanılarak analiz edilmiştir. Locus başına toplam allel sayısının 3 (INRA005) ile 16 (ETH152) arasında değiştiği, ortalama allel sayısının ise 11,4 olduğu belirtilmiştir. ETH152, allel sayısı (16), beklenen heterozigotluk (0,86) ve polimorfizm bilgi içeriği (0,80) sonuçlarına göre en polimorfik locus seçilmiştir. Çalışmanın sonunda Irak manda popülasyonlarında yüksek oranda genetik çeşitlilik gözlemlendiği bildirilmiştir (Jaayid ve Dragh, 2013).

Acosta vd. (2014)'nin yaptıkları bir araştırmada 50 dişi mandada 16 mikrosatellit lokusunda çalışılarak Küba manda popülasyonundaki genetik çeşitliliğe bakılmıştır. Tüm lokuslardaki ortalama allel sayısının 5,44 olarak hesaplanmış olduğu, locus başına allel sayısının 2 (TGLA126) ile 9 (ETH225) arasında değişiklik gösterdiği belirtilmiştir. Gözlenen ortalama heterozigotlukların $0,46 \pm 0,23$, beklenen heterozigotlukların ise $0,54 \pm 0,19$ olarak hesaplandığı belirtilmiştir. Polimorfizm bilgi içeriği (PIC) değerinin 0,495 olduğu, bu değer kullanılarak belirlenen başka popülasyonlarda da genetik çeşitlilik çalışmaları yapmak için uygun olduğu anlamına geldiği ifade edilmiştir. Bu çalışmanın sonucunda Küba manda popülasyonlarında genetik karakterizasyonun ortaya koyulabilmesi için daha fazla araştırma yapılması gerektiği bildirilmiştir.

Mısır Nil Deltası bölgesinde bulunan altı farklı Mısır manda popülasyonu arasındaki genetik farklılaşma ve ilişkileri analiz edebilmek için yapılan bir çalışmada dokuz mikrosatellit lokusu kullanılmıştır. Bu lokuslar; BM1329, BMS483, BM143, AFR227, BMS2460, CSSM38, CSSM70, ETH02 ve BM1706 olarak bildirilmiştir. Toplam altı farklı bölgeden (Behera, Menoufia, Kaliobia, Giza, Sharkia ve Alexandria) 312 birey örneklenmiştir. Tüm lokuslar üzerinde F-istatistiklerinin ortalama tahminlerinin F_{IT} için $0,38 \pm 0,0018$; F_{IS} için $0,015 \pm 0,0003$ olarak hesaplanmış olduğu, bu sonuçların popülasyonlar arasında ve içinde düşük genetik farklılaşma olduğunu ifade ettiği belirtilmiştir. Çalışılan tüm lokusların Hardy-Weinberg'den (HWE) sapmalar gösterdiği belirtilmiştir. Popülasyonlar arası göç oranının (Nm) 11,94 olarak hesaplanmış olduğu, bu oranın çalışılan popülasyonlar arasında yüksek seviyede göç yaşandığını ortaya koyduğu belirtilmiştir. Bu çalışmanın sonucunda Nil deltası mandalarının tek bir ırk olarak kabul edilmesinin daha doğru olacağı

öne sürülmüş olup, genetik karakterizasyonu belirlemeye yönelik çalışmaların artması gerektiği bildirilmiştir (Attia, Abou-Bakr ve Nigm, 2014).

Pakistan'a ait beş manda ırkında (Nili, Ravi, Nili-Ravi, Kundhi ve Azi-Kheli), genetik çeşitliliği tanımlamak için 8 mikrosatellit lokusu kullanılmıştır (ETH10, INRA005,0 ILSTS029, ILSTS033, ILSTS049, ILSTS052, ETH225 ve CSSM60). Lokusların tamamının polimorfik olduğu, lokus başına ortalama allel sayısının 2,52 ve toplam allel sayısı 42 olduğu belirtilmiştir. İncelenen beş ırk için gözlenen ve beklenen ortalama heterozigotluk değerlerinin sırasıyla 0,43 ve 0,53; polimorfizm bilgi içeriği (PIC) değerinin 0,53 bulunmuş olduğu ve bu sonuçların çalışılan lokusların mandada yapılacak genetik çeşitlilik araştırmaları için uygun bulunduğu belirtilmiştir. Çalışılan populasyonlarda büyük olasılıkla rastgele olmayan çiftleşmelerden dolayı Hardy-Weinberg'den (HWE) anlamlı derece de sapmalar gözlemlendiği bildirilmiştir. Ortalama F_{is} değerinin 0,13 olarak bulunmuş olduğu, ILSTS049 dışındaki tüm lokusların, büyük olasılıkla çiftleşmeler rastgele olmadığından dolayı HWE'den önemli ölçüde saptığı belirlenmiştir. Populasyonlar için ortalama gen akışının (Nm) 3,31 olarak hesaplanmış olduğu, Nei'nin genetik uzaklık ölçümleri (D_s) sonucuna göre Nili ve Azi-Kheli (D_s= 0,1747) ırklarının eski dönemlerde, Nili ile Ravi ırklarının ise (D_s=0,374) yakın dönemde genetik açıdan farklılaşmış belirtilmiştir. Genetik çeşitlilik tahminlerinin incelenen populasyonlara ait fenotipik farklılaşma ile çakıştığı gözlemlenmiştir. Bu çalışmanın, Mikrosatellit DNA Polimorfizm Tekniği kullanarak, Pakistan manda ırklarında yapılan genetik tabanlı ilk araştırma olduğu, daha sonraki benzer çalışmalar için de yol gösterici olacağı bildirilmiştir (Hussain vd., 2017).

Küba mandalarında genetik karakterizasyonu iyileştirmek amacıyla mevcut biyolojik çeşitliliği belirlemek üzere yapılan bir araştırmada, 50 birey örneklenmiş olup, 30 heterolog (sığır) mikrosatellit lokusu ile çalışılmıştır. Çalışılan populasyonlar için lokus başına allel sayısının 2 (INRA63 ve MM12) ile 9 (ETH185) arasında değişiklik göstermiş olduğu, toplam allel sayısının 143 olarak hesaplandığı belirtilmiştir. Gözlenen ve beklenen heterozigotlukların sırasıyla 0,108 (HAUT24) ile 0,851 (CSSM66) ve 0,104 (MM12) ile 0,829 (INRA32) arasında değişmiş olduğu belirtilmiştir. Polimorfik bilgi içeriği değerinin (PIC); 0,097 (MM12) ile 0,806 (INRA32) arasında değişmiş olduğu bildirilmiştir. Analiz edilen 30 lokusun 14'ünde F_{IS} değerinin pozitif olduğu belirtilmiştir. Bu çalışmanın Küba manda ırklarında genetik çeşitliliğin belirlenmesinde mikrosatellit işaretleyicilerin

kullanımının gerekliliğini vurguladığı, gelecekteki ıslah programlarına yön vereceği bildirilmiştir (Uffo vd., 2017).

Romanya Tarımsal Araştırma İstasyonu'ndaki manda populasyonunda genetik çeşitliliği incelemek amacıyla yapılan bir araştırmada 22 bireyden alınan örneklerde altı mikrosatellit lokusu çalışılmıştır. Bu lokuslar; TGLA227, BM2113, TGLA53, SPS115, TGLA126 ve ETH3 olarak bildirilmiştir. İncelenen populasyonlar için tanımlanan allel sayısı toplamda 18 olup, lokus başına ortalama allel sayısı 3 olarak hesaplanmıştır. Gözlenen ve beklenen heterozigotluklar sırasıyla 0,5152 ve 0,4048 olup, F_{IS} değeri negatif (-0,25099) bulunmuştur. Bu durumun, populasyon içinde heterozigot fazlalığı olduğunu gösterdiği belirtilmiştir. Ayrıca gözlenen heterozigotluk değerinin (0,4048) sıfırdan büyük olduğu belirtilmiş olup, çalışılan populasyonun darboğaz yaşıyor olabileceği bildirilmiştir. Bu çalışmanın sonunda elde edilen verilerin, Romanya mandalarında gelecekte yapılacak ıslah çalışmalarında yol göstereceği bildirilmiştir (Popa vd., 2018).

İran manda populasyonunda genetik çeşitliliği araştırmak üzere yapılan bir çalışmada, İran manda nüfusunu temsilen üç farklı bölgeden (Azerbaycan, Erdebil ve Khuzestani) toplamda 200 birey örneklenmiş olup 10 mikrosatellit lokusu bu örneklerde çalışılmıştır. Tüm lokuslar için toplam 59 allel gözlenmiş, ortalama allel sayısının ise 5,90 olduğu belirtilmiştir. Lokuslar için polimorfizm bilgi içeriğinin (PIC) ortalama değeri 0,70; F_{ST} değeri ise 0,01 olarak hesaplanmıştır. Bu sonuçların populasyonlar arasında çok düşük bir genetik varyasyon seviyesi olduğu anlamına geldiği belirtilmiştir. Bu çalışmada elde edilen sonuçlara göre İran mandalarında genetik çeşitliliğin moleküler araçlar kullanarak belirlenmesinin, genetik kaynakların korunması açısından önem teşkil ettiğini bildirilmiştir (Yousefi, Miraei ve Sadeghi, 2019).

Hindistan'ın Pandharpuri manda ırkında mevcut genetik karakterizasyonu ortaya koyup, genetik çeşitliliği tanımlamak amacıyla yapılan bir araştırmada, 50 bireye ait örneklerde 23 mikrosatellit lokusu çalışılmıştır. Çalışılan lokuslardan 14'ünün (BM2113, BM1818, CSSM66, HEL13, INRA037, ILSTS05, HAUT27, INRA023, INRA035, HEL5, ETH3, NRA063, MM12 ve ETH10) Pandharpuri manda ırkı için polimorfik olduğu belirtilmiştir. Lokus başına allel sayısının 2 (INRA063) ile 9 (BM1818 ve HEL13) arasında değişmekte olduğu, ortalama etkili allel sayısının 4,28; tüm lokuslardaki toplam allel sayısının ise 87 olarak hesaplandığı belirtilmiştir. Beklenen heterozigotluk değerine ait ortalamaların $0,77 \pm 0,01$ arasında değiştiği, tüm polimorfik lokuslarda polimorfizm bilgi içeriğine (PIC) ait

ortalama değerin $0,73 \pm 0,01$ arasında olduğu belirtilmiştir. Bu alışmada Pandharpuri manda ırkında genetik çeşitliliği ölçmek için kullanılan mikrosatellit lokuslarının oldukça polimorfik olmasının, ileride yapılacak benzer çalışmalara kolaylık sağlayacağı bildirilmiştir (Khade, Panigrahi, Ahmad, Kumar ve Bhushan, 2020).

Mısır mandalarında genetik çeşitliliği incelemek için beş farklı bölgeden (Kahire, Kafr-El-Seyh, Menoufia, Ismailia ve Beni Suef) 80 bireye ait örnek toplanmış ve bu örneklerde 12 mikrosatellit lokusu çalışılmıştır. Çalışılan lokuslar; BMC1013, CSSM019, CSSM022, CSSM029, CSSM036, CSSM038, CSSM041, CSSM043, CSSM045, CSSM046, CSSM047, ETH3, BM1818, ILSTS005 ve ILSTS33 olarak belirtilmiştir. Sonuçlara göre incelenen beş populasyonun tamamında BM1818 lokusu hariç tüm lokuslarda Hardy-Weinberg'den önemli sapmalar gözlendiği bildirilmiştir. Bu durumun mevcut populasyonlardaki iftleşmelerin rastgele olmadığı yönündeki tahminleri güçlendirdiği bildirilmiştir. Tüm populasyonlar için ortalama F_{IT} değerinin yüksek (0,702), F_{ST} değerinin ise düşük (0,071) olarak hesaplanmış olduğu belirtilmiştir. Bu sonuçlara göre populasyonlarda düşük genetik farklılaşma ve yüksek oranda akrabalı yetiştirmenin olduğu yorumu yapılmıştır. En düşük genetik mesafenin Sids ve Ismailia populasyonlarında (0,200), en yüksek genetik mesafe ise Kafr-şeyh ve Ismailia populasyonları (0,373) arasında olduğu bildirilmiştir. Genetik mesafelere dayalı komşu birleştirme ağacı sonucuna göre Sids ile Ismailia populasyonun ayrı yerde kümelenmiş olduğu belirtilmiştir. Bu alışma ile Mısır manda ırklarında etkili bir yetiştirme programı yürütülmesi ve gelecekte yapılacak koruma programlarına yönelik zemin oluşturulmasının hedeflendiği bildirilmiştir (Mokhtar ve Merdan, 2020).

Endonezya bataklık mandalarında genetik çeşitliliği incelemek amacıyla yapılan bir araştırmada, yedi populasyondan (Aceh, North Sumatra, Banten, Central Java, West Nusa Tenggara, South Sulawesi ve Riau) alınan 199 bireye ait örneklerde  mikrosatellit lokusu çalışılmış olduğu ve toplam 9 allel tespit edildiği belirtilmiştir. Çalışılan lokuslar; CSSM66, ILSTS61 ve ILSTS17 olarak bildirilmiştir. Analiz sonuçlarına göre ILSTS61 lokusunun bataklık mandası populasyonları için yüksek heterozigotluk değerine sahip olduğu ifade edilmiştir. Ayrıca ILSTS61 lokusunun, beş populasyon için (Riau, Banten, Central Java, West Nusa ve Tenggara) Hardy-Weinberg dengesinde olduğu belirtilmiştir. Çalışılan  lokus için gözlenen heterozigotluk değerlerinin 0,000 (CSSM66) ile 0,620 (ILSTS61), beklenen heterozigotluk değerlerinin ise 0,060 (CSSM66) ile 0,770 (ILSTS61) arasında değişkenlik

gösterdiği bildirilmiştir. ILSTS61 lokusunun, en yüksek beklenen ve gözlenen heterozigotluk ile polimorfizm bilgi içeriği (PIC) değerlerine sahip olduğu tespit edilmiştir. Genetik mesafe analizine göre ise North Sumatra ile Riau popülasyonlarının genetik olarak en yakın, North Sumatra ile Banten popülasyonlarının ise genetik olarak en uzak mesafeye sahip oldukları bildirilmiştir. Bu çalışmanın sonunda, ILSTS61 lokusunun Endonezya bataklık mandası popülasyonlarında genetik çeşitliliği tespit etmek için oldukça polimorfik ve avantajlı olacağı, ayrıca Endonezya bataklık mandalarının doğu küme (Banten Central Java, South Sulawesi ve West Nusa) ile batı küme (Aceh, North Sumatra, Riau) olarak iki grupta incelenebileceği ve bu araştırmanın gelecekte yapılacak benzer çalışmalara yol gösterici olacağı belirtilmiştir (Saputra, Jakaria, Anggraeni ve Sumantri, 2020).

Pakistan'ın Nili-Ravi manda ırkında genetik çeşitliliği tanımlamak için yapılan bir araştırmada, Pencap eyaletinden 196 Nili-Ravi mandası örneklenmiş olup, 12 mikrosatellit lokusu çalışılmıştır. Çalışılan lokuslar; TGLA227, BM2112, ETH10, SPS115, TGLA126, TGLA122, INRA23, BM1818, ETH3, ETH225 ve BM1824 olarak bildirilmiştir. Bu lokuslardan 11'inin başarılı bir amplifikasyon gösterdiği, TGLA53 lokusunun amplifiye edilemediği belirtilmiştir. Lokus başına allel sayısının 5 (ETH3) ile 18 (ETH225) arasında değişmiş olup, ortalama 8,73 değerine sahip olduğu bildirilmiştir. Tüm popülasyonlardaki toplam allel sayısının ise 96 olduğu belirlenmiştir. Gen çeşitliliğinin 0,198 (BM1824) ile 0,841 (ETH225); gözlenen heterozigotluk değerlerinin 0,081 (ETH10) ile 0,831 (BM2113); polimorfizm bilgi içeriği (PIC) değerlerinin ise 0,191 (BM1824) ile 0,825 (ETH225) arasında değişmiş olduğu ifade edilmiştir. Bu çalışmanın sonucunda, Nili-Ravi manda ırkını genetik açıdan tanımlamaya yönelik çalışmaların sayıca artırılması gerektiği belirtilmiştir. Ayrıca mikrosatellit lokuslarının yüksek polimorfik yapısından dolayı bu genetik yapıyı tanımlamada en etkili metot olacağı bildirilmiştir (Bukhari, Ahmed, Khan, Shafique ve Sahi, 2020).

Hindistan'ın Maharashtra eyaleti Batı Vidarbha bölgesindeki Purnathadi manda ırkında mevcut genetik karakterizasyonu belirlemek ve genetik çeşitliliği ölçmek için yapılan araştırmada, 48 bireye ait toplanan örneklerde 25 heterolog (sığır) mikrosatellit lokusu çalışılmıştır. Kullanılan mikrosatellit lokuslarından 23'ünün iyi düzeyde amplifiye edilmiş olup, yeterli düzeyde polimorfizm gösterdiği belirtilmiştir. Polimorfik lokuslardaki allel frekans değerlerinin 0,010 (CSSM047, ILSTS056, ILSTS058 ve ILSTS089) ile 0,948 (ILSTS019) arasında değişim gösterdiği ifade edilmiştir. Çalışılan 23 lokustan 15'inin Hardy-Weinberg'den (HWE) anlamlı olmayan sapmalar gösterdiği, 8 mikrosatellit lokusunun

(BM1818, CSSM045, CSSM047, CSSM057, ILSTS025, ILSTS026, ILSTS033, ILSTS095) HWE dengesine göre önemli ölçüde anlamlı olduğu belirtilmiştir. Locus başına gözlenen allel sayısının 3 (ILSTS019) ile 13 (CSSM047) arasında değişmekte olup, ortalama $7,04 \pm 0,49$ olarak hesaplandığı bildirilmiştir. Gözlenen heterozigotluk değerlerine ait ortalamanın $0,615 \pm 0,043$ arasında değişirken, beklenen heterozigotluk değerlerine ait ortalamanın ise $0,655 \pm 0,037$ arasında değişmiş olduğu belirtilmiştir. Yüksek Shannon indeksi ve polimorfik bilgi içeriği (0,62) sonuçlarına ait ortalama değerlerin kullanılan lokusların çalışma için uygunluğunu ortaya koyduğu ifade edilmiştir. Mevcut bulgulara göre Purnathadi manda popülasyonunda koruma stratejilerinin geliştirilmesi ve genetik olarak iyileştirilmesi konularında daha fazla çalışma yapılmasının gerekli olduğu bildirilmiştir (Ali vd., 2020).

Mikrosatellit işaretleyiciler kullanılarak mandada yapılan genetik çalışmalar aşağıdaki çizelgelerde kısaca özetlenmiştir.

Çizelge 3.1. Mikrosatellit işaretleyiciler kullanılarak mandada yapılan genetik çalışmalar

ÜLKE	İRK (BİREY SAYISI)	LOKUS SAYISI	TOPLAM ALLEL SAYISI	HETEROZİGOTLUK	ALLEL	ÇALIŞMA
Türkiye	6 farklı Anadolu Mandası Pop. (155)	26 lokus	254 allel	H _O : 0,50 – 0,58 H _e : 0,62 – 0,81	7 – 17	Gargani vd., 2010
Türkiye	Anadolu Mandası (40)	11 lokus	27 allel	0,550 – 0,775	3 – 9	Soysal vd., 2007
Türkiye	Anadolu Mandası (56)	20 lokus	103 allel	0,5208 – 0,5359	3 – 10	Ünal vd., 2014
Türkiye	17 farklı Anadolu Mandası Pop. (837)	20 lokus	-	0.61 - 0.70	6-17	Ünal vd., 2021
Hindistan	Bhadawari ve Tarai manda ırkları (40)	22 lokus	-	0,59 – 0,64	-	Arora vd., 2004
Hindistan	8 farklı Hindistan manda ırkı (383)	27 lokus	288 allel	H _O : 0,63;0,71 H _e : 0,78	4 – 13	Kumar vd., 2006
Hindistan	12 farklı Hindistan Manda ırkı (527)	22 lokus	380 allel	H _O : 0,53 - 0,70 H _e : 0,63 - 0,73	11 – 29	Vijh vd., 2008
Hindistan	13 farklı Hindistan manda ırkı (48)	10 lokus	-	H _O : 0,000 – 0,896 H _e : 0,378 – 0,866	-	Kathivaran vd., 2008
Hindistan	Nagpuri manda ırkı (48)	25 lokus	131 allel	0,45	2 – 8	Kataria vd., 2009
Hindistan	Banni manda ırkı (397)	15 lokus	81 allel	H _O : 0,125 – 0,795 H _e : 0,183 – 0,834	2 – 10	Mishra vd., 2009a
Hindistan	Uttar Pradesh ve Murrah manda ırkı (573)	25 lokus	-	F _{ST} : 0,092 F _{IS} : 0,139	5 – 26	Joshi vd., 2012
Hindistan	Pandharpuri manda ırkı (50)	23 lokus	87 allel	H _e : 0,77 – 0,01	4 – 28	Khade vd., 2020
Hindistan	Purnathadi mandası (48)	25 lokus	-	H _O : 0,615 – 0,043 H _e : 0,655 – 0,037	3 – 13	Ali vd., 2020
Hindistan	4 farklı ırk (176)	20 lokus	-	F _{ST} : 0,014 – 0,183	-	Kathivaran vd., 2011
Hindistan	Banni manda ırkı (95)	24 lokus	138 allel	0,441 – 0,610	2 – 10	Mishra vd., 2009b
Hindistan	Murrah manda ırkı (24)	571 lokus		0,04 – 0,88	2 – 11	Nagarajan vd., 2009
Pakistan	Nili – Ravi manda ırkı (196)	12 lokus	96 allel	H _O : 0,081 – 0,831	5 – 18	Bukhari vd., 2020

Çizelge 3.1. (devam) Mikrosatellit işaretleyiciler kullanılarak mandada yapılan genetik çalışmalar

ÜLKE	İRK (BİREY SAYISI)	LOKUS SAYISI	TOPLAM ALLEL SAYISI	HETEROZİGOTLUK	ALLEL	ÇALIŞMA
Endonezya	7 farklı popülasyon (199)	3	9 allel	$H_0: 0,000 - 0,620$ $H_e: 0,060 - 0,770$	-	Saputra vd., 2020
Pakistan	5 farklı manda ırkı (123)	8	42 allel	0,43 – 0,53	2 – 10	Hussain vd., 2017
Pakistan	Nili-Ravi ve Kundi Irkları (50)	9	46 allel	0,140 – 0,800	3 – 8	Saif vd., 2012
Pakistan	Beş farklı manda ırkı	3	-	0,45 – 0,53	4 – 6	Babar vd., 2009
Çin	20 manda popülasyonu	30	394 allel	0,517 – 0,609	1 – 7	Zhang vd., 2007
Tayland	Thai nehir mandası ırkı (80)	10	47 allel	0,61	-	Triwitayakorn vd., 2006
Çin, Nepal ve Güneydoğu Asya	Çin, Nepal ve Güneydoğu Asya manda ırkları	18	-	0,367 – 0,584	4 – 17	Zhang vd., 2011
Nepal	Yabani, evcil ve melez manda popülasyonu (45)	10	65 allel	0,472 – 0,756	3 – 11	Flamand vd., 2003
Asya ve Avustralya	11 Asya bataklık ve nehir mandası (261)	25	201 allel	0,400 – 0,613	2 – 20	Barker vd., 1997
Avustralya	11 farklı manda Popülasyonu (524)	10	-	0,35 – 0,46	2,4– 4,0	McMahon vd., 2012
İran	Guilan manda popülasyonu (60)	14	58 allel	0,50 – 0,79	2 – 6	Aminafshar vd., 2008
İran	3 farklı popülasyon (200)	10	59 allel	$F_{ST}: 0,01$	-	Yousefi vd., 2019
Irak	3 farklı popülasyon (96)	6		0,86	3-16	Jaayid ve Dragh, 2013
Romanya	Romanya manda ırkı (22)	6	18 allel	0,5152- 0,4048	-	Popa vd., 2018

Çizelge 3.1. (devam) Mikrosatellit işaretleyiciler kullanılarak mandada yapılan genetik çalışmalar

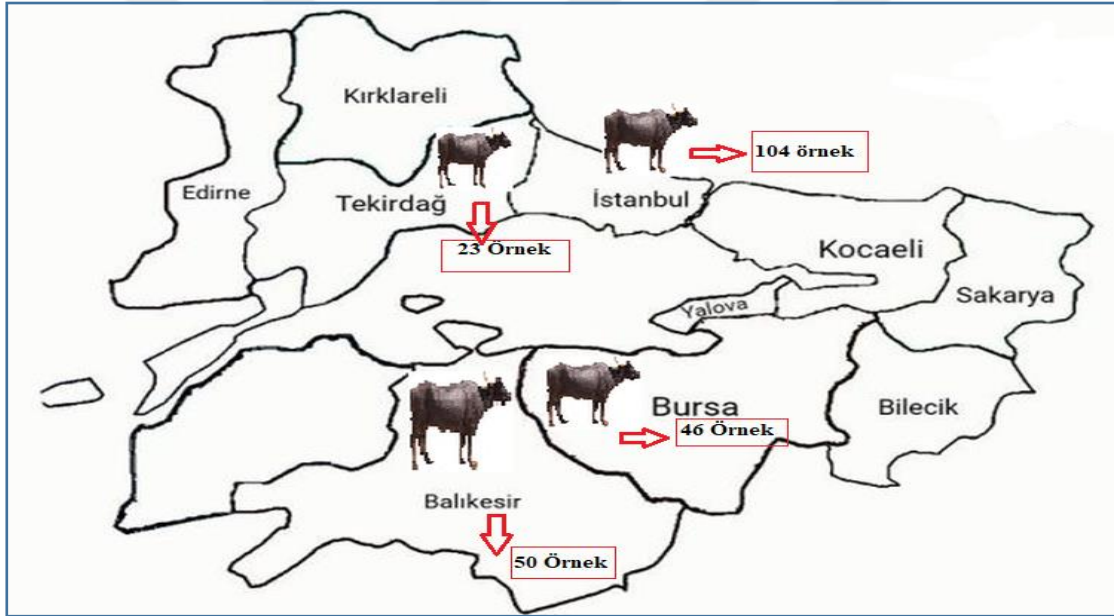
ÜLKE	IRK (BİREY SAYISI)	LOKUS SAYISI	TOPLAM ALLEL SAYISI	HETEROZİGOTLUK	ALLEL	ÇALIŞMA
Mısır	5 farklı manda ırkı (80)	12	-	F_{IT} : 0,702 F_{ST} : 0,071	-	Mokhtar ve Merdan, 2020
Mısır	6 farklı manda ırkı (312)	9	-	F_{IT} : 0,38- 0,0018 F_{IS} : 0,015 – 0,003	-	Attia vd., 2014
Mısır	Mısır manda ırkı (471)	11	198 allel	H_O : 0,517 – 0,995	17-29	Abou-Bakr vd., 2012
Brezilya	5 farklı manda ırkı (200)	25	178 allel	0,220 – 0,740	4-11	Marques vd., 2011
Küba	Küba manda populasyonu (50)	16	87 allel	H_O : 0,46 – 0,23 H_e : 0,54 – 0,19	2-9	Acosta vd., 2014
Küba	Küba manda populasyonu (50)	30	143 allel	H_O : 0,108 – 0,851	2-9	Uffo vd., 2017
Kolombiya	12 farklı manda populasyonu (588)	10	-	H_O : 0,62 – 0,07	-	Ángel-Marín vd., 2010

4. MATERYAL VE YÖNTEM

4.1. Materyal

4.1.1. Anadolu Mandasının Örnekleme

Bu çalışmanın biyolojik materyalini Türkiye'nin Marmara Bölgesi'nde yer alan dört farklı ildeki (İstanbul, Balıkesir, Bursa, Tekirdağ) Anadolu mandası popülasyonlarından örnekleme yapılmıştır (Şekil 4.1). Çalışmanın örnekleri "Anadolu Mandasına Özgü Ebeveyn Tayini Kiti Oluşturulması (TAGEM 13/ARGE/29)" projesi kapsamında proje danışmanlarından Doç. Dr. Emel ÖZKAN ÜNAL ve Genometri Biyoteknoloji Ar&Ge ve Dan. Hiz. Ltd. Şti. temsilcisi gözetiminde toplanmıştır.



Şekil 4.1. Marmara Bölgesi'nde Örnekleme Yapılan İller Ve Örnek Sayılarının Gösterimi

4.2. Yöntem

Bu çalışmada Marmara Bölgesi'nin dört farklı popülasyonunda 20 mikrosatellit lokusu kullanılarak popülasyon içi ve popülasyonlar arası farklılıklar incelenerek popülasyonların mevcut genetik yapısının ortaya konulması amaçlanmıştır.

Tez kapsamında çalışılan bireylere ait DNA'lar, Genometri Biyoteknoloji Ar&Ge ve Dan. Hiz. Ltd.Şti laboratuvarında mevcut olup, bu DNA örnekleri "P1: TAGEM-13/ARGE/29-Anadolu Mandasına Özgü Ebeveyn Kiti Oluşturulması" projesi kapsamında

toplanmıştır. DNA izolasyonları sonrasında çalışılan mikrosatellit lokuslarının Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ile yükseltgenmesi ve fragment analizi yine firma tarafından yapılmıştır. Teze ait veriler gerekli yasal izin verilerek ilgili firma tarafından tarafımıza verilmiştir. Firma izin belgesi EK.1’de sunulmuştur.

4.2.1. Genomik DNA’nın İzolasyonu, DNA’nın Yoğunluğu, Saflığı ve Miktarının Kontrolü

Bu tez çalışması kapsamında 223 bireyden alınan kan örnekleri, EDTA’lı tüplere ve tam kan olacak şekilde her hayvandan 2 ml olarak alınmıştır. Örneklerin çoğunun manda yavrularından alınması tercih edilmiştir. Örneklerin toplanmasıyla paralel bir şekilde her örneğin DNA izolasyonu aşaması Genometri Biyoteknoloji Ar&Ge ve Dan. Hiz. Ltd. Şti. tarafından yapılmıştır. DNA izolasyonu 200 µl kandan yapılmış ve Roche marka “High Pure PCR Template Preparation Kit” kullanılmıştır. DNA izolasyonu sonrası her örneğin DNA miktarları spektrofotometrik olarak ölçülmüştür (Thermo Scientific NanoDrop 2000c nanodrop spektrofotometre). Ölçümler sonucunda her örneğin 35 µg/µl-80 µg/µl aralığında olduğu belirlenmiştir.

DNA izolasyonları, yoğunluk, saflık ve miktar kontrolleri ve sulandırma işlemlerinin yapılmasının ardından, çalışılan mikrosatellit lokuslarının PZR ile yükseltgenmesine yönelik uygun koşulların belirlenmesi aşamasına geçilmiştir.

4.2.2. Mikrosatellit Primerlerinin PZR ile Yükseltgenmesi

Çalışmada kullanılan 20 farklı mikrosatellit bölgesi, BM Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) ve Uluslararası Hayvan Genetiği Derneği (International Society of Animal Genetics-ISAG) tarafından mandalarda kullanılması önerilen mikrosatellitlerden seçilmiş olup (<http://www.fao.org/3/aq569e/aq569e.pdf>), polimorfizm ve heterozigotluk düzeylerinin yüksek olması, farklı kromozom bölgeleri üzerinde bulunmaları, allel sayıları, allel uzunlukları gibi parametreler göz önünde bulundurularak seçim yapılmıştır. Seçilen mikrosatellit lokuslarına ilişkin floresans işaretli (forward-ileri) primer ile işaretli olmayan (reverse-geri) primerler sulandırılarak stok hazırlanmış olup, PZR’da kullanım sırasında primerler tekrar sulandırılıp -20 °C’de saklanmıştır.

4.2.3. Kullanılan Mikrosatellit Lokuslarına İlişkin Bilgiler

Bu tez çalışmasında kullanılan 20 mikrosatellit bölgesine ait genel bilgiler, PZR bileşenleri ve PZR koşulları Çizelge 4.1’de verilmiştir. Mikrosatellit lokuslarına ilişkin yükseltgenme koşulları Genometri Biyoteknoloji Ar&Ge ve Dan. Hiz. Ltd. Şti. tarafından optimize edilmiş ve tüm çalışmalar ilgili firmada yürütülmüştür. PZR bileşenleri ve koşullarına ilişkin bilgiler “TAGEM-13/ARGE/29- Anadolu Mandasına Özgü Ebeveyn Kiti Oluşturulması" isimli proje raporundan alınmıştır.

Geleneksel PZR ile optimize edilen farklı renk ve farklı allel uzunluğundaki ürünler aynı tüp içinde karıştırılarak (co-loading, multiloading) doğrudan fragment analizleri yapılmak üzere Genometri Biyoteknoloji Ar&Ge ve Dan. Hiz. Ltd. Şti.’nde bulunan “Applied Biosystems 3130 Genetic Analyzer” otomatik dizi analiz sistemine yüklenmiş; allel uzunlukları belirlenmiştir. Tekli ya da çoklu (multiplex) PZR ile yükseltgenen ürünlerin (farklı renk ve allel uzunluğundaki ürünlerin) bir tüpte karıştırılıp (co-loading, multiloading) yüklenebilmesi için farklı allel uzunluklarına sahip lokuslar ile setler (Mix I, II, III, 4 ve 5) oluşturulmuş ve aynı set içindeki her bir lokus üretici firmaya farklı floresan boyalarla (FAM, HEX, TAMRA) işaretletilmiştir (Çizelge 4.2).

Fragment analizi sırasında kullanılan cihazın çalışma koşullarına ait bilgiler ise Çizelge 4.3’de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Mikrosatellit Lokuslarına İlişkin Genel Bilgiler (FAO, 2020)

Lokus İsmi (Renk)	Primer (İleri/Geri)	Allel Genişliği	Bağlanma Sıcaklığı (°C)	Kromozom	GenBank (Accession Number)	Mix (PZR karışımları)
CSSM033 (FAM)	İleri: CACTGTGAATGCATGTGTGTGAGC Geri: CCCATGATAAGAGTGCAGATGACT	154-175 bp	65 °C	17(17)	U03805	1
ILSTS033 (TAMRA)	İleri: TATTAGAGTGGCTCAGTGCC Geri: ATGCAGACAGTTTTAGAGGG	126-138 bp	55 °C	13(12)	-	2
CSSM043 (HEX)	İleri: AAAACTCTGGGAAC TTGAAA ACTA Geri: GTTACAAATTTAAGAGACAGAGTT	222-258 bp	55 °C	1p(27)	U03824	4
CSSM047 (TAMRA)	İleri: TCTCTGTCTCTATCACTATATGGC Geri: CTGGGCACCTGAAACTATCATCAT	127-162 bp	55 °C	3q(8)	U03821	5
CSRM060 (FAM)	İleri: AAGATGTGATCCAAGAGAGAGGCA Geri: AGGACCAGATCGTGAAAGGCATAG	95-135 bp	60 °C	11(10)	AF232758	2
CSSM032 (FAM)	İleri: TTATTTTCAGTGTTTCTAGAAAAC Geri: TATAATATTGCTATCTGGAAATCC	208-224 bp	55 °C	1q(1)	U03811	2
BRN (HEX)	İleri: CCTCCACACAGGCTTCTCTGACTT Geri: CCTAACTTGCTTGAGTTATTGCC	121-147 bp	60 °C	11(10)	X59767	2
CSSM062 (FAM)	İleri: GTTAAACCCAGATTCTCCCTTG Geri: AGATGTAACAGCATCATGACTGAA	124-136 bp	55 °C	-	-	3
CSSM045 (HEX)	İleri: TAGAGGCACAAGCAAACCTAACAC Geri: TTGGAAAGATGCAGTAGAACTCAT	102-122 bp	60 °C	2q(2)	U03830	3
BMC1013 (FAM)	İleri: AAAAATGATGCCAACCAAATT Geri: TAGGTAGTGTTCCTTATTTCTCTGG	217-239 bp	54 °C	3p(19)	G18560	3
CSSME070 (TAMRA)	İleri: TTCTAACAGCTGTCACTCAGGC Geri: ATACAGATTAATAACCCACCTG	119-139 bp	50-55 °C	3p(19)	AF004364	4
ILSTS005 (HEX)	İleri: GGAAGCAATGAAATCTATAGCC Geri: TGTCTGTGAGTTTGTAAGC	173-186 bp	55 °C	11(10)	L23481	1
CSSM061 (HEX)	İleri: AGGCCATATAGGAGGCAAGCTTAC Geri: TTCAGAAGAGGGCAGAGAATACAC	100-126 bp	60°C	-	-	1
CSSM057 (FAM)	İleri: GTCGCTGGATAACAATTTAAAGT Geri: TGTGGTGTTAACCTTGTAATCT	102-130 bp	60 °C	9(7)	U03840	4

Çizelge 4.1. (devam) Mikrosatellit Lokuslarına İlişkin Genel Bilgiler (FAO, 2020)

Lokus İsmi (Renk)	Primer (İleri/Geri)	Allel Genişliği	Bağlanma Sıcaklığı (°C)	Kromozom	GenBank (Accession Number)	Mix (PZR karışımları)
ETH03 (FAM)	İleri: GAACCTGCCTCTCCTGCATTGG Geri: ACTCTGCCTGTGGCCAAGTAGG	96-192 bp	65 °C	3p(19)	Z22744	5
CSSM036 (FAM)	İleri: GGATAACTCAACCACACGTCTCTG Geri: AAGAAGTACTGGTTGCCAATCGTG	162-176 bp	55 °C	1p(27)	U03827	4
CSSM022 (FAM)	İleri: TCTCTCTAATGGAGTTGGTTTTTG Geri: ATATCCCACTGAGGATAAGAATTC	203-213 bp	55-60 °C	4q(5)	U03806	1
ILSTS030 (HEX)	İleri: CTGCAGTTCTGCATATGTGG Geri: CTTAGACAACAGGGGTTTTGG	146-158 bp	55 °C	2q(2)	L37212	3
ETH121 (HEX)	İleri: CCAACTCCTTACAGGAAATGTC Geri: ATTTAGAGCTGGCTGGTAAGTG	182-198 bp	59 °C	2q(2)	Z14037	5
CSSM029 (HEX)	İleri: GCTCCATTATGCACATGCCATGCT Geri: CGTGAGAACCGAAAGTCACACATTC	124-136 bp	55 °C	9(7)	U03807	5

Çizelge 4.2. Çalışılan Lokuslara Ait PZR Bileşenleri (Anadolu Mandasına Özgü Ebeveyn Kiti Oluşturulması isimli TAGEM 13 / ARGE /29 nolu proje bitiş raporundan alınmıştır).

MIX 1			MIX 2		
İçindekiler	Konsantrasyon	Miktar	İçindekiler	Konsantrasyon	Miktar
KCl Buffer	10 X	2.5 ul	KCl Buffer	10 X	2.5 ul
MgCl ₂	25 uM	1.5 ul	MgCl ₂	25 uM	1.5 ul
DMSO	100 %	1.5 ul	DMSO	100 %	2 ul
dNTP	10 uM	2.5 ul	dNTP	10 uM	2.5 ul
CSSM61	6 uM (hem F hem R)	0.3+0.3 ul	CSSM61	4 uM (hem F hem R)	0.8+0.8 ul
CSSM33	10 uM (hem F hem R)	0.5+0.5 ul	CSSM33	4 uM (hem F hem R)	0.3+0.3 ul
ILSTS005	10 uM (hem F hem R)	08.+0.8 ul	ILSTS005	15 uM (hem F hem R)	0.5+0.5 ul
CSSM22	10 uM (hem F hem R)	0.8+0.8 ul	CSSM22	15 uM (hem F hem R)	0.5+0.5 ul
Template		1 ul	Template		1 ul
Taq	0.2 ul=1unit	0.6 ul	Taq	0.2 ul=1unit	0.6 ul
dH ₂ O		10.6 ul	dH ₂ O		10.7 ul
Toplam Hacim		25 ul	Toplam Hacim		25 ul

NOT; F: Forward(ileri primer), R: Reverse (geri primer)

Çizelge 4.2. (devam) Çalışılan Lokuslara Ait PZR Bileşenleri (Anadolu Mandasına Özgü Ebeveyn Kiti Oluşturulması isimli TAGEM 13 / ARGE /29 nolu proje bitiş raporundan alınmıştır).

MİX 3			MİX 4			MİX 5		
İçindekiler	Konsantrasyon	Miktar	İçindekiler	Konsantrasyon	Miktar	İçindekiler	Konsantrasyon	Miktar
KCl Buffer	10 X	2.5 ul	KCl Buffer	10 X	2.5 ul	KCl Buffer	10 X	2.5 ul
MgCl ₂	25 uM	1.5 ul	MgCl ₂	25 uM	1.5 ul	MgCl ₂	25 uM	1.5 ul
DMSO	100 %	1.5 ul	DMSO	100 %	1.5 ul	DMSO	100 %	1.5 ul
dNTP	10 uM	2.5 ul	dNTP	10 uM	2.5 ul	dNTP	10 uM	2.5 ul
CSSM45	4 uM (hem F hem R)	0.5+0.5 ul	CSSM57	10 uM (hem F hem R)	0.1+0.1 ul	ETH003	10 uM (hem F hem R)	1+1 ul
CSSM62	4 uM (hem F hem R)	0.3+0.3 ul	CSSM70	10 uM (hem F hem R)	0.5+0.5 ul	CSSM029	10 uM (hem F hem R)	0.5+0.5 ul
ILSTS30	15 uM (hem F hem R)	0.5+0.5 ul	CSSM43	10 uM (hem F hem R)	0.5+0.5 ul	CSSM47	10 uM (hem F hem R)	0.5+0.5 ul
BMC1013	15 uM (hem F hem R)	1.2+1.2 ul	CSSM36	10 uM (hem F hem R)	0.3+0.3 ul	ETH121	30 uM (hem F hem R)	1+1 ul
Template		1 ul	Template		1 ul	Template		
Taq	0.2 ul=1unit	0.6 ul	Taq	0.2 ul=1unit	0.6 ul	Taq	0.2 ul=1unit	0.6 ul
dH ₂ O		10.4 ul	dH ₂ O		12.6 ul	dH ₂ O		9.4 ul
Toplam Hacim		25 ul	Toplam Hacim		25 ul	Toplam Hacim		25 ul

NOT; F: Forward (ileri primer), R: Reverse (geri primer)

Çizelge 4.3. Fragman analizi için kullanılan “Applied Biosystems 3130 Genetic Analyzer” cihazının çalışma koşulları (Anadolu Mandasına Özgü Ebeveyn Kiti Oluşturulması isimli TAGEM 13 / ARGE /29 nolu proje bitiş raporundan alınmıştır).

Run Module Ayarları	
Name	Value
Oven_Temperature	60 °C
Poly_Fill_Vol	6500 steps
Current_stability	5.0 uAmps
PreRun_Voltage	15.0 kVolts
Pre_Run_Time	180 sec.
Injection_Voltage	1.2 kVolts
Injection_Time	23 sec.
Voltage_Number_Of_Steps	20 nk
Voltage_Step_Invertal	15 sec.
Data_Delay_Time	60 sec.
Run_Voltage	15.0 kVolts
Run_Time	1200 sec.

4.2.4. PZR Ürünlerinin Agaroz Jelde Yürütülmesi

Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile elde edilen DNA bantlarının görüntülenmesinde %2'lik agaroz jeller kullanılmıştır. Kullanılan tankın boyutuna göre %2'lik olacak şekilde agaroz (gram), 0,5X TBE (Tris-Borik asit- EDTA) tamponu içerisinde mikrodalga fırında eritilerek hazırlanmış ve içerisine 10-20 µl RedSafe™ Nucleic Acid Staining solüsyonu ilave edilmiştir. Karışım Tarak içeren jel kasetine dökülerek oda sıcaklığında polimerize olması için beklenmiştir. Daha sonra 7 µl PZR ürününe 7 µl yükleme tamponu (loading buffer; 6X) ilave edilmiştir. Jel donduktan sonra örnekler, 120 Volt'ta 30-40 dakika yürütülmüştür. Daha sonra görüntüleme sistemi ile görüntülenmiştir. PZR ürünlerinin allel büyüklüklerinin kontrolü ve PZR reaksiyonunun gerçekleşip gerçekleşmediğinin kontrolü 100 bç'lik standart merdiven (ladder) yardımıyla hazırlanan bu %2'lik jellerle yapılmıştır.

4.3. Fragment Analizi ve İstatistiksel Hesaplamalar

4.3.1. Fragment Analizi

PZR ile yükseltgmeden sonra %2'lik jelde kontrolleri yapılan PZR ürünlerinin, kapiller elektroforez sisteminin kullanılması ile, örneğe özgü allel uzunlukları belirlenmiştir. Genometri Biyoteknoloji Ar&Ge ve Dan. Hiz. Ltd. Şti.'nde bulunan "Applied Biosystems 3130 Genetic Analyzer" otomatik dizi analiz cihazında fragment analizi yapılarak bilgisayar sisteminde özel analiz programlarıyla uzunluğu bilinen standart örnek yardımıyla analiz edilmiştir Bu standarda göre elde edilen veriler ilgili tarafından (allel uzunlukları) analiz programının (ABI PRISM® GeneScan Analysis Software) yüklü olduğu bilgisayarda tek tek gözle okunmuş ve sonuçlar Excel Office programına istatistik programlarda kullanılmak üzere kaydedilmiştir. Veriler tez kapsamında değerlendirilmek üzere Excel formatında tarafımıza teslim edilmiştir.

4.3.2. İstatistiksel Hesaplamalar

Yirmi mikrosatellit bölgesine ait veriler popülasyonlar içi ve popülasyonlar arası genetik varyasyonlar, heterozigotluk düzeyleri, Hardy-Weinberg dengesine uyum, Wright'ın F istatistik değerleri, genetik uzaklık hesaplamaları, temel öğeler analizi (PCA: Principal Component Analysis) ve Faktöriyel Birleştirici Analiz (FCA: Factorial Correspondence Analysis) yapılarak Marmara bölgesine ait 4 farklı il popülasyonları incelenmiştir.

Verilerin analizinde kullanılan istatistiki programlar; Genetix 4.05; Fstat Version 2.9.3.2 (2002), Populations 1.2.30, Arlequin ver.3.11, NTSYSpc Version 2.10q gibi istatistik programlarıdır. Konu ile ilgili istatistik programlar internetten indirilmiş olup, kaynaklar kısmında internet adresleri ayrıntılı olarak verilmiştir.

4.3.3. Genetik Varyasyon Ölçütleri

4.3.3.1. Allellik Varyasyonu

Çalışılan populasyonlar içerisinde bir mikrosatellit bölgesi içinde allellik varyasyonun olması yani farklı uzunluklarda allellerin görülmesi demek bu populasyonların içerisinde genetik çeşitliliğin olduğuna işarettir. Populasyonlardaki genetik varyasyonları ölçmenin yollarından birisi de allel frekanslarının hesaplanmasıdır. Farklı uzunluklardaki allellerin populasyonlar içerisinde dağılım oranları farklı olacağı için, populasyon genetiği çalışmalarında genetik çeşitliliği incelemek için allel frekanslarının hesaplanması çok önemlidir. Allel frekanslarının hesabı aşağıdaki eşitliğe göre gerçekleştirilir (Nei, 1987).

$$f(A_i) = \frac{(2n_{ii} + \sum_{j \neq i} n_{ij})}{2n} \quad (4.1)$$

X_i : A_i allelinin gen frekansını

n : Populasyondaki toplam birey sayısını

n_{ii} : A_i allelindeki toplam homozigot birey sayısını

n_{ij} ise A_i allelindeki toplam heterozigot birey sayısını temsil etmektedir.

Populasyonlardaki genetik çeşitliliğin tanımlanmasında kullanılan bir diğer unsur ise; her bir lokus için allel sayılarının ortalamasının yani allelik zenginliğin (n_A) belirlenmesidir. Lokus başına düşen ortalama allel sayısı (n_A) çalışılan populasyonunun örnekleme büyüklüğünden etkilenmektedir. Bu değer aşağıdaki şekilde hesaplanmaktadır (Nei, 1987).

$$n_A = \frac{\sum n_{Ai}}{r} \quad (4.2)$$

Formüldeki terimler;

n_A : Her bir lokus başına ortalama allel sayısı

n_{Ai} : i'inci lokusa ait allel sayısı

r : Toplam lokus sayısı

4.3.3.2. Heterozigotluk Ölçümleri

Genetik çeşitliliği incelemek üzere yapılan çalışmalarda en önemli parametrelerden birisi de heterozigotluk düzeylerinin belirlenmesidir. İncelenen lokuslar açısından heterozigotluk düzeyi, populasyonlar içerisinde tespit edilen heterozigot bireylerin ortalama yüzdesini ifade etmektedir. Nei (1987)'nin formüle ettiği matematiksel metot ile her bir lokusa ait heterozigotluk ve populasyon düzeyinde heterozigotluğun hesabı aşağıdaki formüle göre yapılabilmektedir.

$$\hat{h} = \frac{2n}{2n-1} (1 - \sum \hat{x}_i^2) \quad (4.3)$$

Tez kapsamında 20 mikrosatellit lokusu ile çalışılması nedeniyle, beklenen ve gözlenen heterozigotluklar için ortalama heterozigotluk değerleri de hesaplanmıştır. Her populasyon örneği için önce lokuslar bazında, sonra tüm lokuslar için gözlenen allel sayıları, ortalama allel sayıları, gözlenen heterozigotluk (H_O) ve beklenen heterozigotluk (H_E) değerleri hesaplanarak allelik ve genetik varyasyonlar saptanmıştır. Hesaplamalarda aşağıdaki formülden yararlanılmıştır.

Gözlenen Heterozigotluk (H_O) = Bir lokus için gözlenen heterozigot birey sayısı

$$\frac{\text{Toplam birey sayısı}}{\quad} \quad (4.4)$$

Beklenen heterozigotluk değerleri ($2pq$), her bir lokus için ayrı ayrı hesaplandıktan sonra tüm lokusların ortalaması alınmıştır. Bu tez çalışmasında çalışılan lokus ile popülasyondaki birey sayısı fazla olduğu için veri kümesi de büyük olacaktır. Bu nedenle tüm bu hesaplamaları manuel yapmak analiz sonuçlarında hata doğurabileceği için GENETIX

4.05 (Belkhir, Borsa, Chikhi, Goudet ve Bonhomme, 1996-2000) istatistiksel paket programından yararlanılmıştır.

4.3.3.3. F İstatistikleri

Akrabalı yetiştirme, bir populasyonda homozigot birey sayısının artıp, heterozigot birey sayısının azalmasını nitelemek için kullanılan bir terimdir. Kısacası akraba bireylerin çiftleşip bu genotipi döllerine de aktarması ve zaman içerisinde buldukları populasyonda heterozigot bireylerin sayıca azalmasıdır (Crow ve Kimura, 1970). Çalıştığımız herhangi bir populasyonda da akrabalı yetiştirme ortaya çıkma ihtimalini göz önüne aldığımızda , akrabalı yetiştirmeye ait bir ölçü tanımlanması zorunluluğu doğmuş ve “akrabalı yetiştirme katsayısı” terimi ortaya çıkmıştır. Akrabalı yetiştirmenin olduğu populasyonlarda Hardy-Weinberg’den sapmalar gözlenmektedir.

Akrabalık katsayısına ilişkin ortaya koyulan bazı istatistiksel formüller günümüzde hala geçerliliğini korumaktadır (Wright, 1965). Wright’ın F istatistikleri populasyonların yapısının tanımlanmasında çok geniş olarak kullanılan parametrelerdendir (Nagylaki, 1998). Çiftlik hayvanları içerisinde yapılan çiftleştirmeler populasyonlardaki akrabalı yetiştirmeyi (inbreeding) arttırmaktadır. Populasyonlar içerisinde akraba bireylerin çiftleştirilmesine akrabalı yetiştirme (inbreeding) ve üzerinde çalışılan lokuslar bakımından Hardy-Weinberg dengesinden olan sapmalara ise homozigotlaşma indeksi (F-fixation index) denilmektedir. Aynı ırkın farklı populasyonları arasındaki genetik çeşitliliği incelemek ve populasyonlar ya da ırklar arası farkı tanımlayabilmek için fiksasyon indeksleri kullanılabilir. Wright’ın formüllerinin uygulamasının zor olduğunu öne sürerek alternatif metotlar da geliştirmişlerdir (Cruden, 1949; Plum, 1954; Kudo, 1962; Maruyama ve Yasuda, 1970; Elandt-Johnson, 1971). Alternatif istatistiksel metotların ortaya çıkmasına rağmen Wright’ın F-fixation indeksleri günümüzde hala en sık kullanılan hesaplama şekli olarak tercih edilmektedir.

Bu indeksler; F_{IT} , F_{IS} , F_{ST} olarak isimlendirilmekte olup, aralarındaki ilişkinin formülü aşağıda verilmiştir.

$$1-FIS = (1-FST) (1-FIS) \text{ ya da } FST = FIT-FIS / 1-FIS \quad (4.5)$$

F_{IT} ; bütün bireylerin bir arada düşünülmesi ile ortaya çıkan toplam populasyonlardaki Hardy-Weinberg Dengesinden sapmanın ölçümüdür.

F_{IS} ; alt populasyonlarda görülen ortalama akrabalık katsayısıdır.

F_{ST} ; alt populasyonlar arası farktır.

F istatistikleri genetik varyasyonu; toplam populasyonlar, alt populasyonlar ve bireyler bazında inceler. F_{IS} , F_{IT} , F_{ST} değerleri beklenen ve gözlenen heterozigotluk değerlerine göre belirlenebilmektedir (Nei, 1987).

F_{IT} , çalışılan toplam populasyon içerisinde birbirine yakın akraba bireyler içerisinde birbirinin yerini tutan alellerdeki korelasyonları tanımlamaktadır. Diğer bir deyişle populasyon seviyesinde rastgele birleşen iki gametin ortak atadan gelme ihtimalini belirleyen bir değer olup tüm bireylerin bir arada düşünüldüğü toplam populasyondaki kendileşmenin ölçütüdür. Populasyonların “akrabalı yetiştirme katsayısı” olarak tanımlanabilir. Alt populasyon içerisindeki akrabalığın etkileri ve alt populasyonlar arası farkların etkileri dikkate alınarak hesaplanır. F_{IT} değerini hesaplamaya yönelik formül aşağıda verilmiştir (Özkan, 2005).

$$F_{IT} = (H_T - H_0) / H_T \quad (4.6)$$

H_T : Toplam populasyondaki heterozigotluk ortalaması (Nei 1987)

H_0 : Alt populasyonlarda gözlenen heterozigotluk ortalaması,

F_{IS} , alt populasyonlarda birbirine akraba olan bireylerin içinde homolog alleller arasındaki korelasyonları tanımlamaktadır. Alt populasyonlarda rastgele birleşen iki gametin ortak atadan gelme ihtimali olup, alt populasyondaki akrabalı yetiştirme katsayısıdır. Alt populasyonlar içerisinde Hardy-Weinberg dengesinden sapmaların ölçülebilmesi için F_{IS} alt populasyonlar seviyesinde bireylerin akrabalığına değinmektedir. F_{IS} değeri negatif olarak bulunur ise heterozigot fazlalığı, sıfır değerine yakın bulunur ise Hardy-Weinberg dengesinin mevcut olduğu ve pozitif olarak bulunur ise homozigot fazlalığının mevcut olup, 1'e yakın olması tamamen saf yetiştirme olması, 1'den 0'a doğru azalması ise saf yetiştirmeden giderek uzaklaşıldığı anlamlarına gelmektedir (Özkan, 2005). F_{IS} değerini hesaplamaya yönelik formül aşağıda verilmiştir (Özkan, 2005).

$$F_{IS} = H_S - H_0 / H_S \quad (4.7)$$

H_S : Alt populasyon içinde beklenen heterozigotluk ortalaması

H_0 : Alt populasyon içinde gözlenen heterozigotluk ortalaması

F_{ST} , alt populasyonlar arasında bulunan genetik farklılıkların ölçümü için belirlenen bir değer olup çalışılan lokuslar açısından topluları karşılaştırmada kullanılır. Alt populasyonlardan rastgele ele alınan iki gametin müşterek atadan gelme ihtimali olup alt populasyonlar arasındaki genetik farklılığın ölçüsüdür. 0 ila 1 arasında bir değer almakta olup belirlenen değer 1'e ne kadar yakın ise alt populasyonlar müşterek atadan oldukça uzaktır denilebilir. Eğer F_{ST} değeri;

- 0 – 0,05 arasında değer alması düşük oranda bir genetik farklılaşma,
- 0,05 – 0,15 arasında değer alması orta düzeyde bir genetik farklılaşma,
- 0,15 – 0,25 arasında değer alması yüksek oranda genetik farklılaşma
- 0,25'den büyük değerler alıyorsa çok yüksek oranda genetik farklılaşmanın olduğu yorumları yapılabilmektedir (Wright, 1978; Heinrichs, Medrano, ve Rapusas, 1985; Hartl, 1987; Hamrick ve Godt, 1990; Özkan, 2005; Ağaoğlu, 2010).

F_{ST} değerini hesaplamaya yönelik formül aşağıda verilmiştir.

$$F_{ST} = 1 - (H_S / H_T) \quad (4.8)$$

H_S : Alt populasyon içinde beklenen heterozigotluk ortalaması

H_T : Tüm populasyonlardaki heterozigotluk ortalaması (Nei, 1987)

Hesaplanan F_{IS} , F_{ST} ve F_{IT} değerlerinin istatistiksel olarak anlamlı olup olmadıklarını belirlemek için permütasyon testi yapılmıştır. Veriler 1000 defa permütasyona tabi tutulmuş ve her permütasyon sonucunda F_{IS} , F_{ST} ve F_{IT} değerleri hesaplanmıştır. Çalışmada permütasyon testinde her bir F istatistiği için bir hipotez kabul edilmektedir. F_{ST} değeri için hipotez; çalışılan populasyonlar birbirlerinden çalışılan lokuslar açısından farklı değildir. F_{IS}

ve F_{IT} değerleri için ise hipotez; populasyonlar çalışılan lokuslar açısından Hardy-Weinberg dengesindedir.

Daha sonraki yıllarda bir çok araştırıcı Wright (1969) tarafından ilk defa sunulan F istatistiklerine farklı sayıdaki örnek büyüklükleri arasındaki farklılıkların göz önüne alınmadığı belirtilmiştir. Bu nedenle F istatistiklerinin hesaplanması metodunda ve değerlerin yorumlanmasında araştırıcılar arasında bazı anlaşmazlıklar olmuştur. Weir ve Cocherham (1984) F katsayılarında bazı düzeltmeler yaparak F_{IT} , F_{ST} ve F_{IS} değerleri yerine sırası ile F, θ ve f parametrelerini kullanmışlardır. Bu parametrelerin hesaplanmasında örnek büyüklüğü, heterozigot frekansları ya da populasyonların sayısı dikkate alınmadan hesaplamalar yapılmıştır. Ayrıca hesaplanan bu değerler küçük veri setleri için uygundur. F, θ ve f parametreleri sırası ile F_{IT} , F_{ST} ve F_{IS} değerlerini belirtmektedir. Tezde Weir ve Cockerham'ın (1984) yaklaşımlarına göre populasyonların durumlarını incelemek için hesaplamalar yapılmıştır. Genetix 4.05 programında Weir ve Cockerham'ın yaklaşımını kullanılmaktadır. Fakat bu yaklaşımlardaki F, θ ve f değerleri Wright'ın yaklaşımlarındaki F_{IS} , F_{IT} ve F_{ST} parametrelerinin anlamlarını taşımaktadır (zkan, 2005).

4.3.3.4. Faktöriyel Benzerlik Analizi (Factorial Correspondence Analysis-FCA)

Faktöriyel Birleştirici Analiz (Factorial Correspondence Analysis-FCA), çalışılan bir populasyonda bireyler arasındaki ilişkinin düzeyini belirleyip, bu ilişkinin çoklu bir düzlem üzerine aktararak görüntülenmesini sağlayan bir istatistiksel analiz yöntemidir. Diğer bir deyişle, çalışılan populasyonun bireyleri arasında bir akrabalık olup olmadığını inceleyebilmek için yapılan ve bu ilişkiyi çizilecek üç eksenli doğrusal bir Şekil üzerinde görmeyi sağlayan bir analizdir (Lebart, Morineau ve Warwick, 1984). Bu tez çalışmasında FCA'ni yapabilmek için GENETIX 4.05 istatistiksel paket programından yararlanılmıştır (Belkhir vd., 1996-2000).

4.3.3.5. Irklar Arası Genetik Uzaklıklar Testi

Allel frekanslarına ait veriler, akraba olduğu düşünülen yakın ırkların evrimsel ilişkilerinin aydınlatılmasında önemlidir. Bu verileri kullanarak yapılan genetik uzaklık ölçümleri, ırklar arasındaki evrimsel ilişkiyi açıklamada sıklıkla kullanılmaktadır. Irklar arası genetik uzaklık ölçümleri için Komşu Birleştirme Ağacı (NJ-Neighbor Joining Tree) yöntemi (Saitou ve Nei, 1987) ile UPGMA yönteminden yararlanılmaktadır. UPGMA

yönteminde çalışılan populasyonların evrimleşme zamanının aynı olduğunun kabul edildiği bir yaklaşımdır. Diğer taraftan Komşu Birleştirme Ağacı yönteminde populasyonların evrimleşme tarihine ilişkin fark göz önüne alınmaktadır. Bu nedenle de UPGMA metodu eskiye oranla daha az kullanılmakta olup, onun yerine Komşu Birleştirme Ağacı metodu daha fazla kullanılmaya başlanmıştır (Takezaki ve Nei, 1996).

Bu tez çalışmasında, Marmara Bölgesi'nde dört farklı manda populasyonuna ait bireylerin birbirlerine olan genetik uzaklıkları, Nei'nin D_A ve D_S genetik uzaklık metotlarına göre GENETIX 4.05 istatistik yazılımı kullanılarak hesaplanmıştır (Belkhir vd., 1996-2000). Hesaplanan genetik uzaklık değerleri kullanılarak çizilen Komşu Birleştirme Ağacını oluşturmak için, POPULATION 1.2.32 ve TreeView programları kullanılmıştır (Goldstein ve Pollock, 1997; Nei vd., 1983).

- Nei'ye Göre Standart Genetik Uzaklık (D_S) Metodu

Nei'nin 1972 yılında geliştirdiği standart genetik uzaklık metoduna göre ırklar arası genetik uzaklıkları belirlemede beklenen değer in evrim süresi ile orantılı olduğu ve bu süre içerisinde mutasyon ve göç gibi faktörlerin etkilerinin hesaba katılması ile yapılmaktadır. Bu metod aşağıdaki şekilde tanımlanır;

$$D = -\ln I \text{ yada } D = -\log_e I \quad (4.9)$$

$$I = \frac{\sum xy}{\sqrt{\sum x \sum y}} \quad (4.10)$$

Sembollerin anlamı;

D: Standart Genetik Uzaklık

I: Populasyonlar arası genetik uzaklığı ölçebilmek için kullanılan bir değer olup basit genetik özdeşlik (basit genetik ayrılık-simple genetic identity) olarak isimlendirilir. değeri 0 ile 1 arasında değerler aldığı zaman genetik uzaklık (D) 0 ve ∞ arasında değer alır. (I) değeri 1'e eşit ise iki populasyonda tüm lokuslardaki gen frekansları bakımından aynıdır denilir. Eğer (I)

değeri 0'a eşit ise populasyonlarda çalışılan mikrosatellit bölgelerinde hiç bir ortak allelin olmadığı söylenebilir (Özkan, 2005).

\hat{J}_{XY} = X ve Y populasyonlarındaki Ai allelinin frekanslarının toplamı

\hat{J}_X = X populasyonundaki Ai allelinin frekansı

\hat{J}_Y = Y populasyonundaki Ai allelinin frekansı

-Nei'ye Göre D_A Genetik Uzaklık Metodu

Mikrosatellit lokuslarına ait verilerde genetik uzaklıkları belirlemek ve doğru ağaç topolojisini ortaya çıkarmak için en uygun yöntem D_A genetik uzaklık metodudur (Takezaki ve Nei, 1996).

$$D_A = 1 - \frac{1}{r} \sum_j^r \sum_i^{m_j} \sqrt{X_{ij}Y_{ij}} \quad (4.11)$$

x_{ij} = X örneğinde çalışılan j'inci lokusun i'ci allelinin frekansı

y_{ij} = Y örneğinde çalışılan j'inci lokusun i'ci allelinin frekansı

m_j = j'inci lokustaki allel sayısı

r = Çalışılan toplam lokus sayısı

4.3.3.6. Temel Bileşenler Analizi (Principal Component Analysis-PCA)

Mikrosatellit lokuslarından elde edilen verilerin birbirleriyle olan ilişkisini düzlemsel bir ortamda görsel bir şekilde ifade edebilmek için temel bileşenler analizinden (PCA) yararlanılmaktadır. Temel bileşenler analizi (Principal Component Analysis) matematiksel bir temel ile birbirleri ile olası ilişki içerisinde olan değişkenleri (variable), daha az sayıda birbirleri ile ilişkisiz olacak şekilde temel bileşenler (principal components) olarak isimlendirilen değişkenlere dönüştürmektedir. Birinci temel bileşen veri grubu içindeki varyasyonun olabildiğince fazla bir bölümünü tanımlamaktadır. Diğer temel bileşenler ise kalan varyasyonun sırasıyla mümkün olan en fazla bölümünü tanımlar. Temel öğeler analizinde belirlenen ilk birkaç eksen, mevcut varyasyonun büyük orada bireyler arası farklılıklardan kaynaklandığı görülmüştür (Dytham, 2003).

Çalışılan populasyonları görsel olarak az sayıda eksenle ayırmak ve mevcut varyasyonları önem sıralarına göre açıklayan değişken kombinasyonlarını gözlemleyebilmek için temel bileşenler analizinden (PCA) faydalanılmaktadır. Bu analiz aracılığıyla bireylerden elde edilen veriler ışığında populasyonlar tek bir nokta olarak doğrusal (linear) değişken kombinasyonları şeklinde oluşturulmuş, bağımsız 3 eksenle gösterilmiştir. Bu analizde ırkların yakınlık derecesi ırk içi ve varyasyonlardan arındırılmış olarak görülebilmektedir (Özkan, 2005). Bu çalışmada Temel Bileşenler Analizi için NTSYSpc 2.2 isimli istatistiksel paket programı kullanılmıştır (Rohlf, 1993).

4.3.3.7. Allellerin Paylaşım Uzunluklarının Ölçümü

Bireyler arasındaki genetik uzaklığı belirlerken allel paylaşım uzunluklarının (allele sharing distance) belirlenmesinin, mikrosatellit lokuslarına ait verilerin analiz edilmesinde uygun bir ölçüt olduğu bildirilmiştir (Bowcock vd., 1994). Bu yöntem, aynı türe ait farklı populasyonların içerisinde bulunan tüm bireylerin içerisinde ortak olan allelleri temel almaktadır. Bu yöntem çalışılan türlerin daha eski zamanlarda bazı alt populasyon gruplarına bölünmüş olması ihtimalini dikkate almaktadır. Bu sebeple temel populasyonlarda allel frekansının bölünmüş olan populasyonlardaki allel frekanslarından daha yüksek olması gerektiği varsayılmaktadır. Tüm allellerin çalışılan populasyonlara bölünmesi esnasında tamamı ile paylaşılmadığı esas alınarak hesaplamalar yapılmaktadır. Özetle, allellerin paylaşım oranlarındaki artışın, populasyonlardaki genetik benzerliği arttırdığı düşünülmektedir (Bowcock vd., 1994; Chakraborty vd., 1992).

Bireyler arasındaki allel paylaşım uzunlukları (DSA_i) şu şekilde hesaplanır;

$$DSA_i = 1 - PS \quad (4.12)$$

$$PS = \sum s / 2r \quad (4.13)$$

S= Tüm lokuslardaki toplam paylaşılan alellerin sayısı

r = Toplam lokus sayısıdır.

5. ARAŞTIRMA BULGULARI

5.1. Allellik Varyasyon

Çalışmada Marmara Bölgesi'nin farklı illerine ait (İstanbul, Tekirdağ, Balıkesir, Bursa) dört farklı populasyondan seçilmiş 223 bireyde 20 farklı mikrosatellit lokusu ile çalışılmış ve toplam 179 allel gözlemlenmiştir. Çalışmada en çok allel ETH003 mikrosatellit lokusunda (17 allel), en az allel ise ILSTS033 mikrosatellit lokusunda (5 allel) gözlemlenmiştir.

Populasyonlarda tespit edilen lokus başına düşen ortalama allel sayıları ve populasyonlar bazında allel sayıları Çizelge 5.1'de özetlenmiştir.

Çizelge 5.1. Çalışılan populasyonlar ve lokuslar bazında gözlenen allel sayıları

	İstanbul	Tekirdağ	Balıkesir	Bursa	Toplam	Ort./Lokus
CSSM061	9	8	8	8	9	8,25
CSSM033	6	3	5	4	7	4,5
ILSTS005	5	4	4	5	6	4,5
CSSM022	8	6	6	5	8	6,25
CSRM060	10	7	7	6	10	7,5
BRN	8	6	7	5	9	6,5
ILSTS033	5	5	5	5	5	5
CSSM032	7	4	6	4	8	5,25
CSSM045	12	9	11	9	13	10,25
CSSM062	10	7	6	6	10	7,25
ILSTS030	6	4	4	6	7	5
BMC1013	9	5	6	5	9	6,25
CSSM057	8	5	6	5	8	6
CSSME070	6	7	8	5	9	6,5
CSSM036	7	4	6	5	8	5,5
CSSM043	6	4	4	4	6	4,5
ETH003	15	8	12	11	17	11,5
CSSM047	12	10	12	9	12	10,75
CSSM029	7	5	5	4	8	5,25
ETH121	10	6	7	9	10	8
Toplam	166	117	135	120	179	
Ort./ırk	8,3	5,85	6,75	6		

Her bir mikrosatellit bölgesi(loku) için gözlenen allel sayılarının populasyonlara göre dağılımı, her bir ırk için gözlenen lokus başına düşen ortalama allel sayıları, çalışılan lokuslar açısından elde edilen ortalama allel sayıları ve çalışılan populasyonlar açısından elde edilen ortalama allel sayıları bu tabloda özetlenmiştir.

Populasyonlarda tespit edilen ortalama allel sayıları 8,3 allel/lokus İstanbul ilinden çalışılan populasyonda, 5,85 allel/lokus Tekirdağ ili populasyonunda, 6,75 allel/lokus Balıkesir ili populasyonunda ve 6 allel/lokus Bursa ili populasyonunda gözlemlenmiştir. En düşük ortalama allel sayısına sahip olan populasyonun Tekirdağ ilinde, en yüksek polimorfizm gösteren populasyonun ise İstanbul ili populasyonda olduğu gözlenmiştir. İstanbul ili populasyonunun allel sayısının yüksekliği çalışılan birey sayısının fazlalığından kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir.

5.2. Heterozigotluk Ölçümleri

Irkların genetik çeşitliliğinin bir ölçütü olan heterozigotluk hesaplamalarında çalışılan mikrosatellit lokusları ve ırklara göre beklenen ve gözlenen heterozigotluk değerleri Çizelge 5.2’de verilmiştir.

Populasyonlarda çalışılan mikrosatellit lokuslarına ait heterozigotluk değerleri incelendiğinde ortalama gözlenen (H_O) ve beklenen (H_E) heterozigotluk düzeyleri (0,547 ile 0,625) ve (0,583 ile 0,684) değerleri arasında değiştiği gözlemlenmiştir.

Çizelge 5.2. Çalışmada gözlenen (H_O) ve beklenen (H_E) heterozigotluk değerlerinin her bir mikrosatellit lokusu için popülasyonlara dağılımı, lokuslar ve popülasyonlar bazında hesaplanan ortalama gözlenen heterozigotluk düzeyleri.

		İstanbul	Tekirdağ	Balıkesir	Bursa
CSSM061	H_O	0.759	0.773	0.960	0.711
	H_E	0.818	0.831	0.797	0.741
CSSM033	H_O	0.485	0.455	0.340	0.196
	H_E	0.494	0.439	0.393	0.219
ILSTS005	H_O	0.490	0.565	0.620	0.467
	H_E	0.564	0.5498	0.557	0.412
CSSM022	H_O	0.573	0.5217	0.4400	0.400
	H_E	0.647	0.527	0.589	0.639
CSRM060	H_O	0.670	0.739	0.680	0.773
	H_E	0.766	0.684	0.735	0.711
BRN	H_O	0.530	0.478	0.640	0.478
	H_E	0.586	0.625	0.557	0.520
ILSTS033	H_O	0.471	0.652	0.520	0.608
	H_E	0.596	0.748	0.532	0.511
CSSM032	H_O	0.154	0.261	0.326	0.087
	H_E	0.295	0.567	0.415	0.126
CSSM045	H_O	0.592	0.739	0.720	0.544
	H_E	0.778	0.815	0.836	0.815
CSSM062	H_O	0.596	0.608	0.755	0.667
	H_E	0.799	0.816	0.801	0.717
ILSTS030	H_O	0.567	0.696	0.600	0.565
	H_E	0.541	0.696	0.621	0.623
BMC1013	H_O	0.780	0.435	0.500	0.413
	H_E	0.820	0.669	0.686	0.576
CSSM057	H_O	0.757	0.826	0.640	0.826
	H_E	0.789	0.754	0.718	0.747
CSSME070	H_O	0.721	0.826	0.660	0.739
	H_E	0.708	0.815	0.726	0.708
CSSM036	H_O	0.660	0.696	0.640	0.565
	H_E	0.673	0.598	0.656	0.513
CSSM043	H_O	0.442	0.636	0.531	0.304
	H_E	0.535	0.618	0.596	0.267
ETH003	H_O	0.673	0.545	0.620	0.522
	H_E	0.847	0.721	0.711	0.713
CSSM047	H_O	0.750	0.869	0.816	0.783
	H_E	0.830	0.887	0.887	0.848
CSSM029	H_O	0.548	0.435	0.500	0.644
	H_E	0.523	0.622	0.573	0.539
ETH121	H_O	0.606	0.739	0.660	0.652
	H_E	0.771	0.698	0.716	0.720
Ort./ırk	H_O	0.591	0.625	0.608	0.547
	H_E	0.669	0.684	0.655	0.583

Populasyonlar açısından en yüksek gözlenen ortalama heterozigotluk değerinin 0,625 ile Tekirdağ populasyonunda, en düşük gözlenen ortalama heterozigotluk değerinin ise 0,547 ile Bursa populasyonunda olduğu tespit edilmiştir. Çalışılan mikrosatellit bölgeleri bazında incelendiğinde gözlenen ortalama heterozigotluğun CSSM047 lokusunda (0,805) en yüksek, CSSM032 lokusunda (0,207) ise en düşük olduğu belirlenmiştir. Populasyonlar açısından beklenen heterozigotluk düzeyleri incelendiğinde ise; en yüksek beklenen heterozigotluk değerinin (H_E) 0,684 ile Tekirdağ populasyonunda olduğu tespit edilmiştir. Bursa populasyonunda ise 0,583 ile en düşük ortalama beklenen heterozigotluk değeri olduğu görülmektedir. Çalışılan lokuslar bazında beklenen heterozigotlukların CSSM047 lokusunda (0,863) en yüksek, CSSM032 lokusunda (0,351) ise en düşük değere sahip olduğu gözlemlenmiştir. Irklar bazında ortalama değerler incelendiğinde, beklenen heterozigotluk değerlerinin gözlenen heterozigotluk değerlerinden yüksek olduğu görülmüştür. Lokuslar açısından ortalama değerler incelendiğinde, beklenen heterozigotlukların gözlenen heterozigotluklardan genel olarak yüksek olduğu görülmektedir.

Çalışılan populasyonlar bazında ortalama değerler incelendiğinde (Çizelge 5.3), beklenen heterozigotluk değerlerinin tüm populasyonlarda gözlenen heterozigotluk değerlerinden yüksek olduğu görülmüştür. Lokuslar açısından ortalama değerler incelendiğinde ise, beklenen heterozigotlukların gözlenen heterozigotluklardan genel olarak pek çoğunda yüksek olduğu görülmektedir.

Çizelge 5.3. Çalışılan Populasyonlarda Saptanan Ortalama Gözlenen (H_O) ve Beklenen (H_E) Heterozigotluk Değerleri

Populasyon	H_O	H_E
İstanbul	0,591	0,669
Tekirdağ	0,625	0,684
Balıkesir	0,608	0,655
Bursa	0,547	0,583

Çalışmada Marmara bölgesi illerinden toplanan populasyonlarda toplam 33 özgün allel (private allele) olduğu gözlemlenmiştir (Çizelge 4.4). Dört farklı mikrosatellit bölgesine ait lokuslarda (CSSM032, CSSM062, BMC1013 ve ETH10) 3'er özgün allel, 8 farklı mikrosatellit bölgesine (CSSM033, CSRM060, BRN, CSSM045, CSSM057, CSSM036, CSSM043 ve CSSM029) ait lokuslarda 2'şer özgün allel ve 5 mikrosatellit bölgesine

(ILSTS005, CSSM022, ILSTS030, CSSME070, ETH121) ait lokuslarda ise 1'er özgün allelin gözlemlendiği belirlenmiştir (Çizelge 5.4).

Çalışmada kullanılan 20 mikrosatellit lokusundan 17'sinde özgün alleller olduğu belirlenmiştir. En fazla özgün allel sayısı İstanbul popülasyonunda (28 allel) gözlemlenmiştir. İstanbul popülasyonuna ait özgün allellerin frekansları değerleri incelendiğinde, CSSM045 lokusunda (113 bç allelinde) 0,107; BMC1013 lokusunda (300 bç allelinde) 0,063; ETH10 lokusunda ise (125 bç alleli) 0,072 olduğu gözlemlenmiştir. İstanbul popülasyonunda bu mikrosatellit lokuslarına ait özgün allellerin görülme sıklıkları (frekansı) %5 'den büyük olduğu için, bu popülasyon için ırkı ayırt edici özellikte oldukları söylenebilir.

İstanbul popülasyonundan sonra özgün allel sayısı en yüksek olan popülasyonlar, Tekirdağ (2), Balıkesir (2) ve Bursa (1) popülasyonları olup, Tekirdağ popülasyonunda CSSME070 lokusunun görülme sıklığı (frekansı) (114 bç alleli) 0,087'dir. Bu değer de %5'ten büyük olup, CSSME070 lokusunun Tekirdağ manda popülasyonu için ayırt edici olduğu düşünülmektedir. Ancak Türkiye manda popülasyonlarından alınacak daha fazla örnek ile aynı mikrosatellit bölgeleri ile çalışıldığında bu frekansların değişim gösterebileceği göz ardı edilmemelidir. Çalışmada en çok özgün allelin gözlemlendiği mikrosatellit lokuslarının; CSSM032, CSSM062, BMC1013 ve ETH10 bölgesi olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 5.4. Tez kapsamında gözlenen özgün allellerin populasyonlara dağılımı ve gözlenen özgün allellerin frekansları

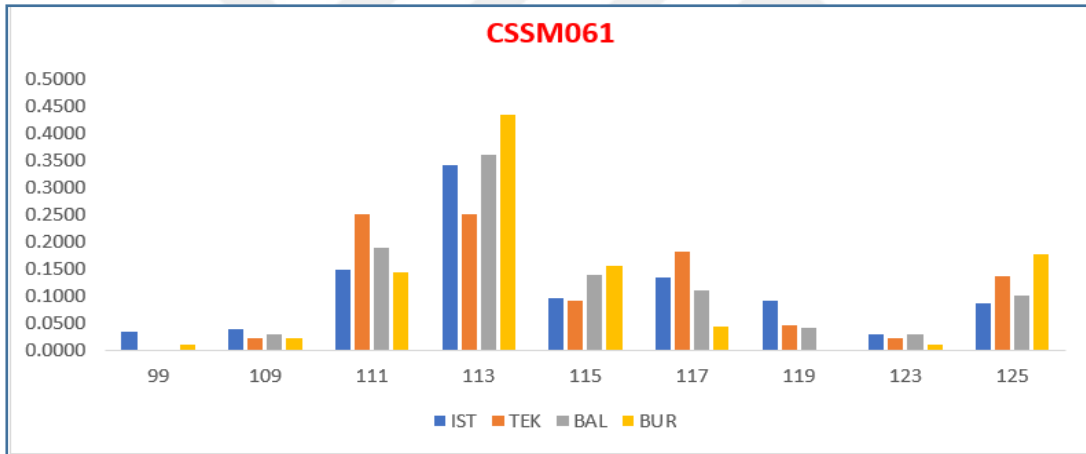
Mikrosatellit bölgeleri	Allel Uzunluğu (bp)	Frekans	Populasyon
CSSM033	151	0,005	IST
	159	0,010	IST
ILSTS005	173	0,022	TEK
CSSM022	259	0,010	IST
CSRM060	99	0,005	IST
	133	0,005	IST
BRN	125	0,011	BUR
	147	0,010	IST
CSSM032	235	0,010	BAL
	237	0,010	IST
	249	0,019	IST
CSSM045	113	0,107	IST
	125	0,029	IST
CSSM062	113	0,010	IST
	117	0,019	IST
	119	0,014	IST
ILSTS030	153	0,010	IST
BMC1013	296	0,010	IST
	300	0,063	IST
	302	0,010	IST
CSSM057	106	0,010	IST
	110	0,019	IST
CSSME070	114	0,087	TEK
CSSM036	153	0,005	IST
	167	0,005	IST
CSSM043	185	0,014	IST
	211	0,005	IST
ETH10	125	0,072	IST
	129	0,029	IST
	169	0,010	BAL
CSSM029	161	0,005	IST
	169	0,005	IST
ETH121	181	0,010	IST

IST: İstanbul, TEK: Tekirdağ, BAL: Balıkesir, BUR: Bursa

Her bir mikrosatellit belirtecinde gözlenen allellerin sayıları ve görülme sıklıkları (frekansları) görsel olarak incelenebilmesi için histogramlar çizilmiş olup aşağıda bu bilgiler detaylıca verilmiştir.

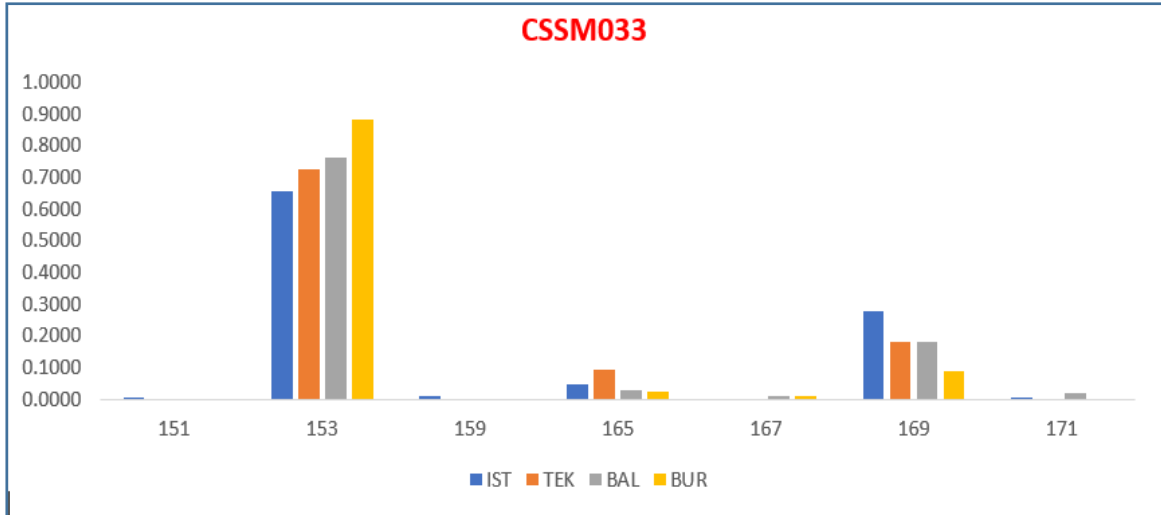
5.2.1. Çalışılan Mikrosatellit Bölgelerinin Populasyonlarda Görülme Sıklığı ve Allel Uzunlukları

Marmara bölgesi 4 farklı ilinden toplanan manda populasyonlarında CSSM061 isimli mikrosatellit bölgesinde görülen alleller incelendiğinde; İstanbul populasyonunda en sık görülen allelin 113 bç uzunluğunda olduğu, Tekirdağ populasyonunda 111 bç ile 113 bç allelleri olduğu, Balıkesir populasyonunda 113 bç, Bursa populasyonunda ise 113 bç allelinin en yüksek frekansı gösterdiği belirlenmiştir. Bu sonuçlara bakıldığında İstanbul, Balıkesir ve Bursa populasyonlarında en sık görülen allellerin uzunluğunun aynı olduğu (113 bç), Tekirdağ populasyonunda ise en sık görülen iki farklı uzunlukta allelin olduğu (113 bç -111 bç) ve bu allellerin görülme sıklığının (frekansının) eşit olduğu gözlemlenmiştir. Tüm populasyonlarda 113 bç uzunluğundaki allelin frekans değerlerine bakacak olursak, Marmara'nın Güney kesimlerinden Batı kesimlerine doğru gidildikçe allel frekans değerinin düştüğü gözlemlenmiştir.



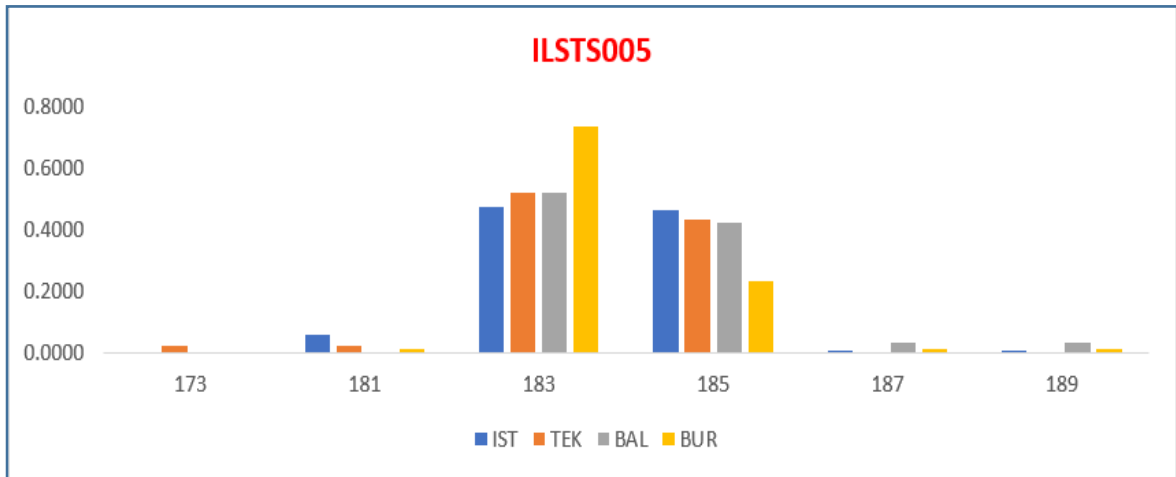
Şekil 5.1. CSSM061 Mikrosatellit Bölgesinin Populasyonlarda Görülme Sıklığı ve Allel Uzunlukları

CSSM033 mikrosatellit bölgesine ait sonuçlar incelendiğinde; İstanbul, Tekirdağ, Balıkesir ve Bursa populasyonlarında en sık görülen allel uzunluklarının 153 bç ve 169 bç olduğu, ancak allel frekanslarının farklılık gösterdiği gözlemlenmiştir. Yalnızca İstanbul populasyonunda gözlenen 151 bç (0,005) ve 159 bç (0,010) allel uzunluklarına ait frekans değerleri incelendiğinde, bu değerlerin %5'in altında olmasından dolayı CSSM033 lokusunda ırka ayırt edici bir özellikte olmadıklarını göstermektedir. Genel hatlarıyla bakıldığında Bölgesi'nin Güney kesimlerinden Batı kesimlerine gidildikçe CSSM033 mikrosatellit bölgesi için allel frekansının azaldığı sonucu çıkarılabilir.



Şekil 5.2. CSSM033 Mikrosatellit Bölgesinin Populasyonlarda Görülme Sıklığı ve Allel Uzunlukları

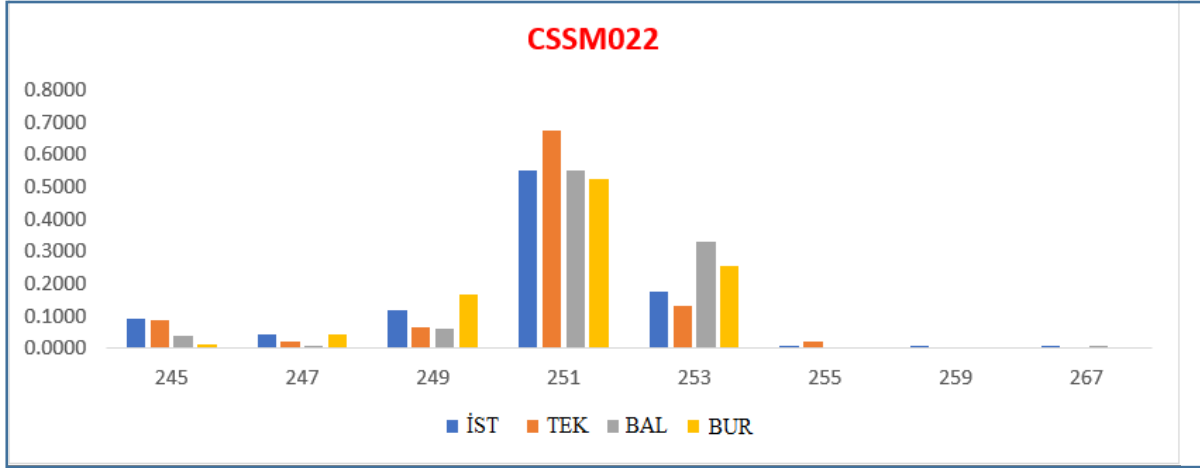
ILSTS005 mikrosatellit bölgesine ait sonuçlar incelendiğinde çalışılan populasyonlarda en sık görülen allel uzunlukları tüm populasyonlarda 183 bç ve 185 bç olduğu gözlenmiştir. Yalnızca Tekirdağ populasyonunda gözlenen 173 bç allel uzunluğuna ait allel frekansı değerine baktığımızda, bu değer % 5'in altında (0,022) olduğu ve CSSM033 lokusu için ırkı ayırt edici özellikte olmadığı belirlenmiştir.



Şekil 5.3. ILSTS005 Mikrosatellit Bölgesinin Populasyonlarda Görülme Sıklığı ve Allel Uzunlukları

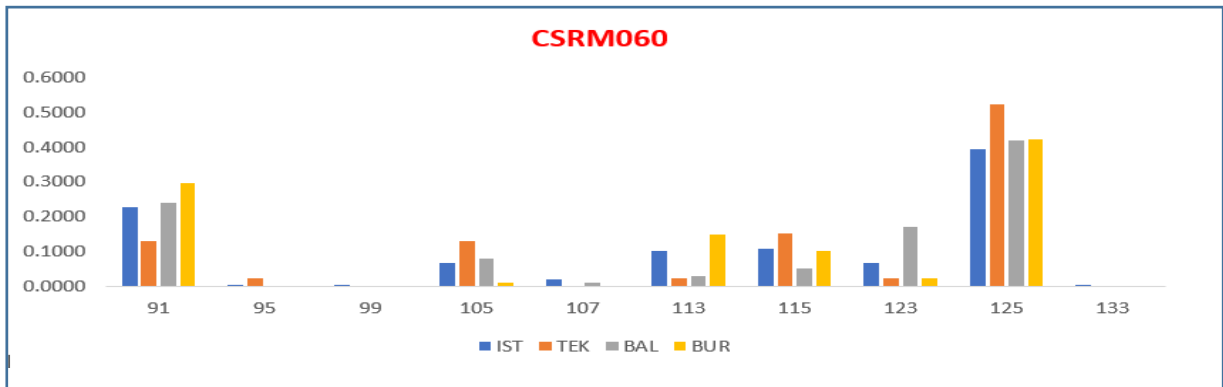
CSSM022 mikrosatellit bölgesine ait sonuçlar incelendiğinde çalışılan populasyonlarda en sık görülen allel uzunluğunun İstanbul, Tekirdağ, Balıkesir ve Bursa populasyonlarının tümünde 251 bç uzunluğunda olan allel olduğu görülmektedir. Yalnızca İstanbul populasyonunda gözlemlenen ve uzunluğu 259 bç, görülme sıklığı (frekans) ise

%5'in altında (0,010) olduğundan dolayı CSSM022 lokusu için ırkı ayırt edici nitelikte olmayan allel varlığı mevcuttur. Dört populasyondaki ilgili allel frekans değerleri incelendiğinde Marmara'nın Batı kesimlerinden Güney kesimlerine gidildikçe allel frekansının azaldığı belirlenmiştir.



Şekil 5.4. CSSM022 Mikrosatellit Bölgesinin Populasyonlarda Görülme Sıklığı ve Allel Uzunlukları

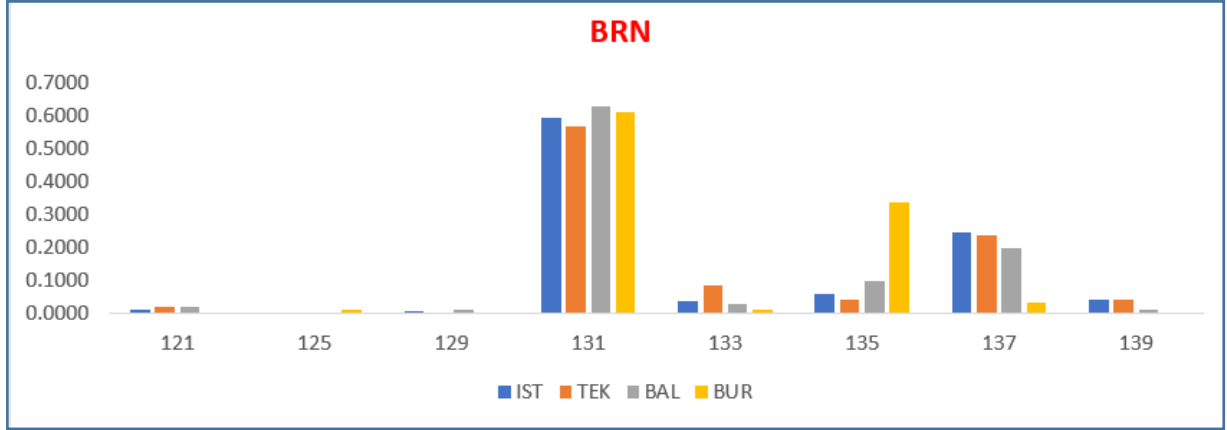
CSRM060 mikrosatellit bölgesine ait sonuçlar incelendiğinde çalışılan populasyonlarda en sık görülen allel uzunlukları, İstanbul, Tekirdağ, Balıkesir ve Bursa populasyonları için 125 bç olarak gözlemlenmiş olup, populasyonlara göre allel frekanslarının değişiklik gösterdiği belirlenmiştir. Sadece İstanbul populasyonunda gözlemlenen 99 bç ve 133 bç uzunluklarında allellerin var olduğu gözlemlenmiştir. Bu allellere ait frekans değerleri % 5'in altında (0,005) olduğu için, CSRM060 ırkı ayırt edici nitelikte olmadığı belirlenmiştir.



Şekil 5.5. CSRM060 Mikrosatellit Bölgesinin Populasyonlarda Görülme Sıklığı ve Allel Uzunlukları

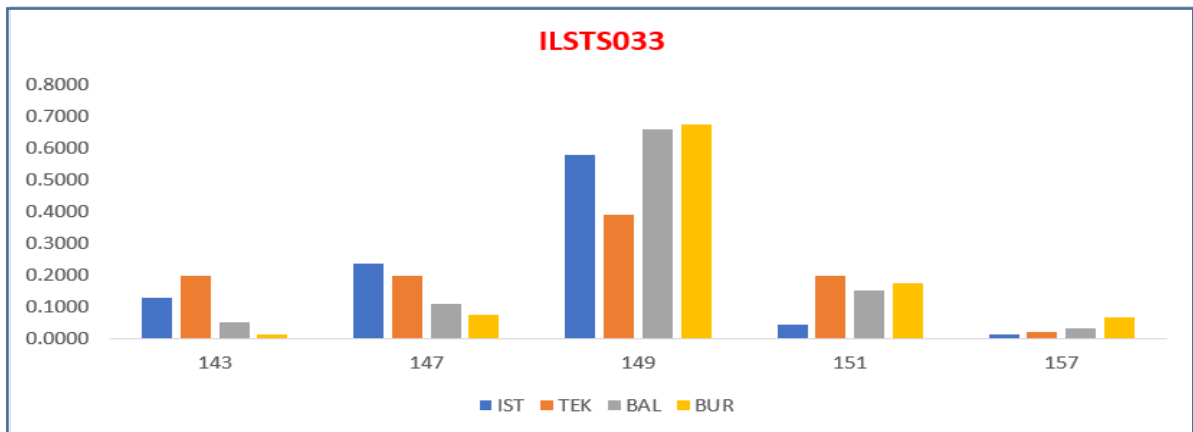
BRN mikrosatellit bölgesine ait sonuçlar incelendiğinde çalışılan populasyonlarda en sık görülen allel uzunlukları, İstanbul, Tekirdağ, Balıkesir ve Bursa populasyonları için 131

bç olarak gözlemlenmiştir. Sadece Bursa popülasyonunda gözlemlenen 125 bç uzunluğundaki allel varlığı mevcut olup, bu allelin görülme sıklığı (frekans) % 5'in altında (0,011) olduğu için BRN lokusu için ırkı tanımlayıcı özellikte olmadığı belirlenmiştir. İstanbul popülasyonunda da 147 bç uzunlukta allel varlığı mevcut olup bu allelin görülme sıklığı % 5'in altında (0,010) olduğu için ırkı ayırt edici özellikte olmadığı belirlenmiştir.



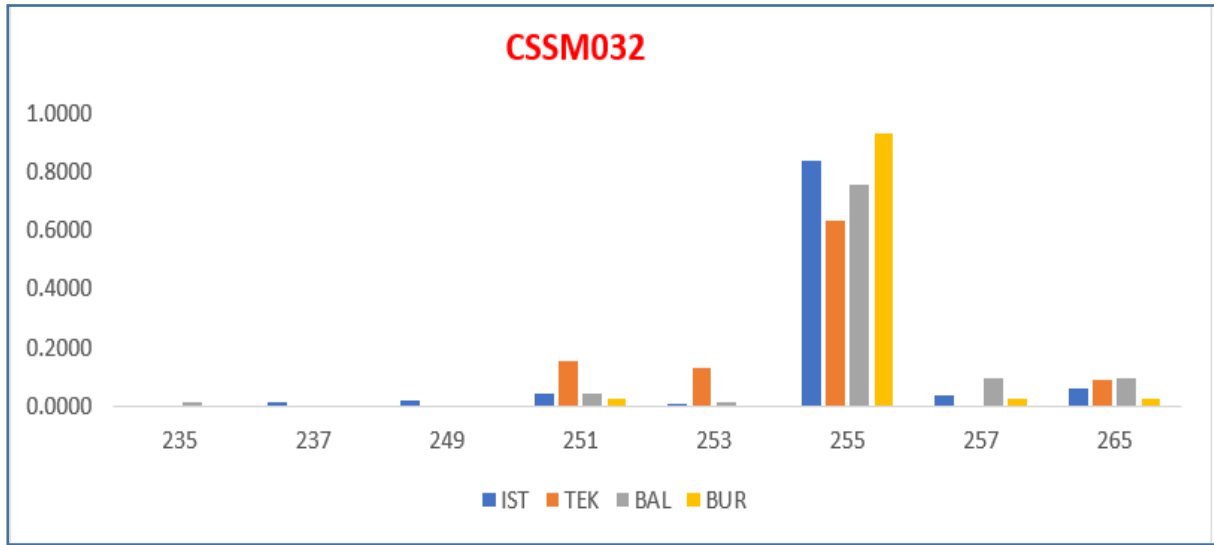
Şekil 5.6. BRN Mikrosatellit Bölgesinin Popülasyonlarda Görülme Sıklığı ve Allel Uzunlukları

ILSTS033 mikrosatellit bölgesine ait sonuçlar incelendiğinde çalışılan popülasyonlarda en sık görülen allel uzunlukları İstanbul, Tekirdağ, Balıkesir ve Bursa popülasyonları için 149 bç olarak gözlemlenmiş olup görülme sıklıkları popülasyona göre değişiklik göstermektedir. 149 bç uzunluğundaki allelin, görülme sıklığı incelendiğinde (frekans), Marmara'nın Güney kesimlerinden Batı kesimlerine doğru gidildikçe allel frekansı değerinin azaldığı belirlenmiştir.



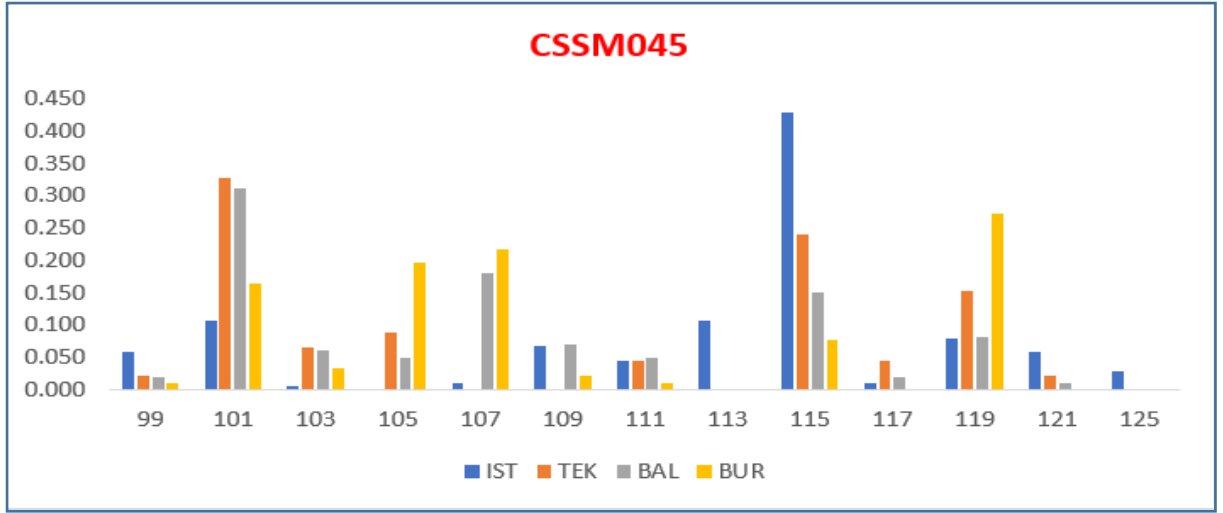
Şekil 5.7. ILSTS033 Mikrosatellit Bölgesinin Popülasyonlarda Görülme Sıklığı ve Allel Uzunlukları

CSSM032 mikrosatellit bölgesine ait sonuçlar incelendiğinde çalışılan populasyonlarda en sık görülen allel uzunlukları, İstanbul, Tekirdağ, Balıkesir ve Bursa populasyonları için 255 bç olarak gözlemlenmiştir. Yalnızca Balıkesir populasyonunda gözlemlenen 235 bç uzunluğundaki allellerin frekans değerleri % 5'in altında (0,010) olduğu için ırka ayırt edici özellikte olmadıkları belirlenmiştir. Ayrıca İstanbul populasyonunda 237 bç ve 249 bç uzunluğuna sahip allellerin mevcut olduğu gözlenmiş ancak bu allellerinde frekans değerleri %5 'in altında (0,019) olduğundan dolayı CSSM032 lokusu için ırkı ayırt edici özellikte olmadığı belirlenmiştir.



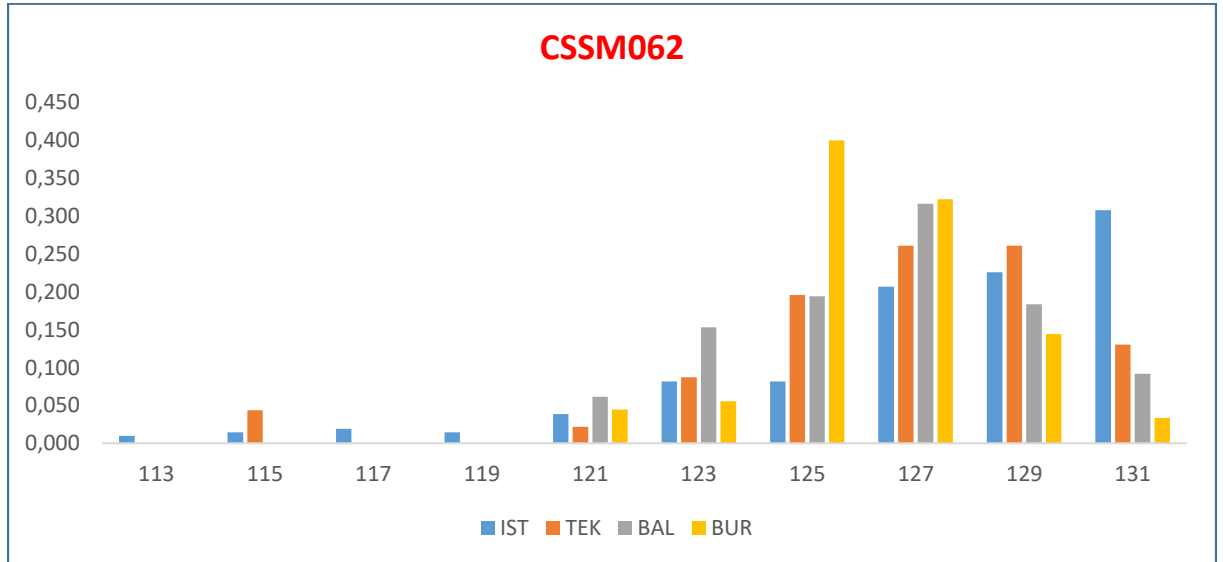
Şekil 5.8. CSSM032 Mikrosatellit Bölgesinin Populasyonlarda Görülme Sıklığı ve Uzunlukları

CSSM045 mikrosatellit bölgesine ait sonuçlar incelendiğinde çalışılan populasyonlarda en sık görülen allel uzunlukları, İstanbul populasyonu için 115 bç, Tekirdağ populasyonu için 101 bç, Balıkesir populasyonu için 101 bç ve Bursa populasyonu için 119 bç olduğu gözlemlenmiştir. Sadece İstanbul populasyonunda olduğu belirlenen 113 bç ve 125 bç uzunluğunda alleller tespit edilmiştir. Bu allel uzunluklarından 125 bç olanına ait allel frekans değeri % 5'in altında (0,029) olduğu için ırkı ayırt edici özellikte bulunmamıştır. Ancak İstanbul populasyonunda belirlenen 113 bç uzunluğundaki allellerin frekans değeri % 5'den yüksek (0,107) olarak belirlenmiş olup, CSSM045 lokusu için ırkı ayırt edici özelliğe sahip olduğu düşünülmektedir.



Şekil 5.9. CSSM045 Mikrosatellit Bölgesinin Populasyonlarda Görülme Sıklığı ve Uzunlukları

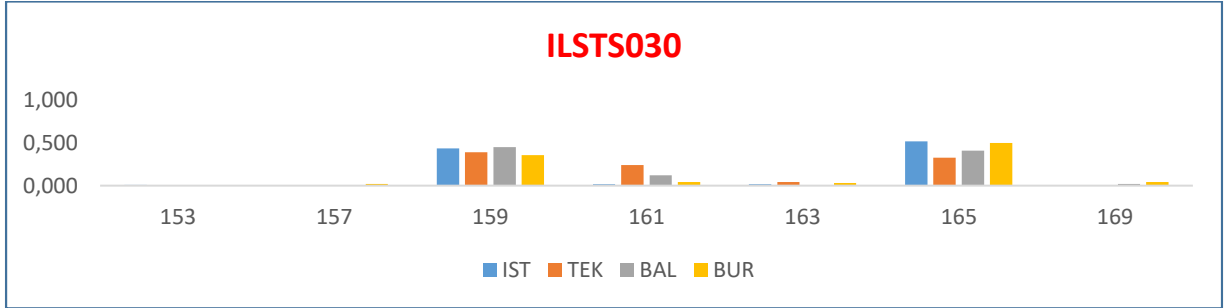
CSSM062 mikrosatellit bölgesine ait sonuçlar incelendiğinde çalışılan populasyonlarda en sık görülen allel uzunlukları, İstanbul popülasyonu için 131 bç, Tekirdağ popülasyonu için 127 bç ve 129 bç, Balıkesir popülasyonu için 127 bç, Bursa popülasyonu için 125 bç olduğu gözlemlenmiştir. Yalnızca İstanbul popülasyonunda görüldüğü belirlenen üç allel ait uzunluklar sırasıyla 113 bç (0,010), 117 bç (0,019) ve 119 bç (0,014) olarak gözlemlenmiştir. Ancak bu allel uzunluklarına ait frekanslar % 5'in altında olduğundan dolayı CSSM062 lokusu için ırkı tanımlayıcı özellikte olmadığı belirlenmiştir.



Şekil 5.10. CSMM062 Mikrosatellit Bölgesinin Populasyonlarda Görülme Sıklığı ve Allel Uzunlukları

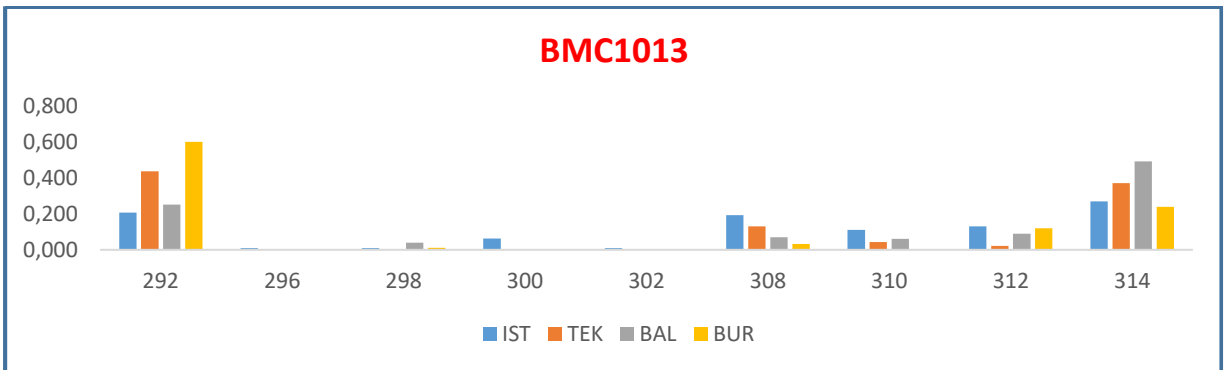
ILSTS030 mikrosatellit bölgesine ait sonuçlar incelendiğinde çalışılan populasyonlarda en sık görülen allel uzunlukları, İstanbul popülasyonu için 165 bç, Tekirdağ

populasyonu için 159 bç, Balıkesir populasyonu için 159 bç, Bursa populasyonu için 165 bç olduğu gözlemlenmiştir. Bu mikrosatellit lokusunda sadece İstanbul populasyonuna özel 153 bç uzunluğunda allel varlığı tespit edilmiş olup, bu allele ait frekans değeri % 5'in altında (0,010) olduğundan dolayı ILSTS030 lokusu için ırka ayırt edici özellikte olmadığı belirlenmiştir.



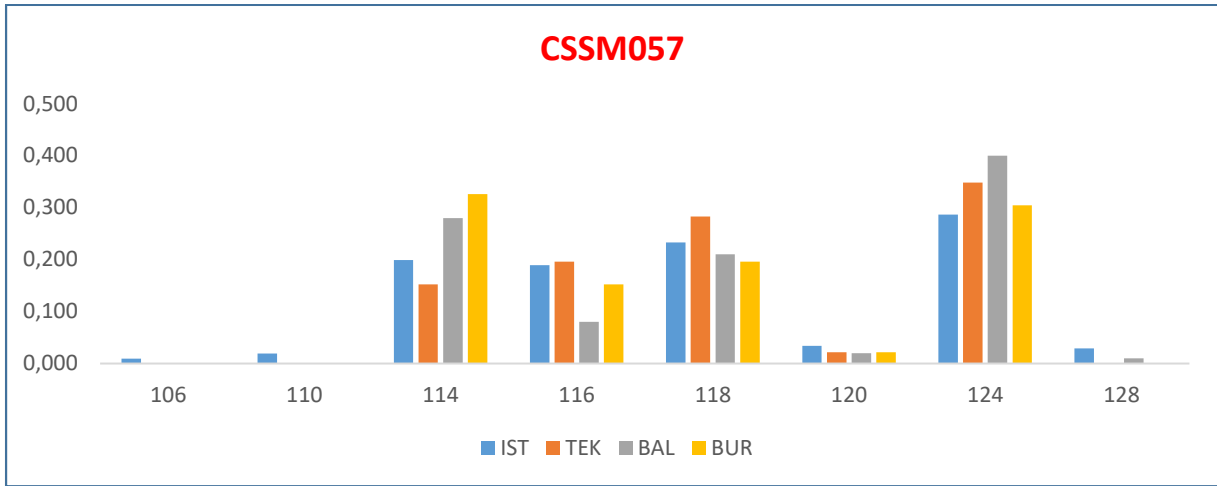
Şekil 5.11. ILSTS030 Mikrosatellit Bölgesinin Populasyonlarda Görülme Sıklığı ve Allel Uzunlukları

BMC1013 mikrosatellit bölgesine ait sonuçlar incelendiğinde çalışılan populasyonlarda en sık görülen allel uzunlukları, İstanbul populasyonu için 314 bç, Tekirdağ populasyonu için 292 bç, Balıkesir populasyonu için 314 bç, Bursa populasyonu için 292 bç olduğu gözlemlenmiştir. İstanbul populasyonuna baktığımızda, 296 bç (0,010), 300 bç (0,063) ve 302 bç (0,010) üç farklı uzunlukta allel varlığının olduğu ve bu allellere ait frekans değerlerinden sadece 300 bç allel uzunluğuna ait frekans değerinin % 5'in üzerinde olduğu gözlemlenmiştir. Bu sonuçtan yola çıkarak BMC1013 lokusu için İstanbul populasyonunda 300 bç'lik allel uzunluğunun ırkı ayırt edici özellikte olduğu belirlenmiştir.



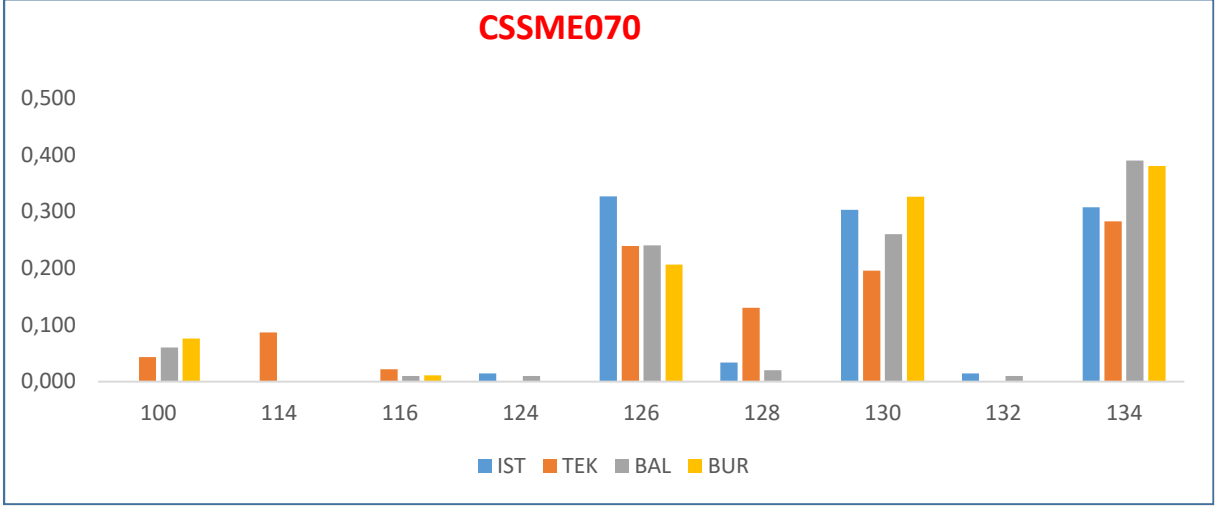
Şekil 5.12. BMC1013 Mikrosatellit Lokusunun Populasyonlarda Görülme Sıklığı ve Allel Uzunlukları

CSSM057 mikrosatellit bölgesine ait sonuçlar incelendiğinde çalışılan populasyonlarda en sık görülen allel uzunlukları, İstanbul, Tekirdağ ve Balıkesir populasyonları için 124 bç, Bursa populasyonu için ise 114 bç olduğu gözlemlenmiştir. İstanbul populasyonu için 106 bç ve 110 bç allel uzunlukları tespit edilmiş olup bu allellerin görülme sıklıklarına ait değerler sırasıyla 0,010 ve 0,019 olarak hesaplanmıştır. Bulunan değerlerden yola çıkarak CSSM057 lokusu için İstanbul populasyonunda bulunan bu allellere ait frekanslar % 5’den küçük olduğu için ırkı ayırt edici özellikte olmadığı belirlenmiştir.



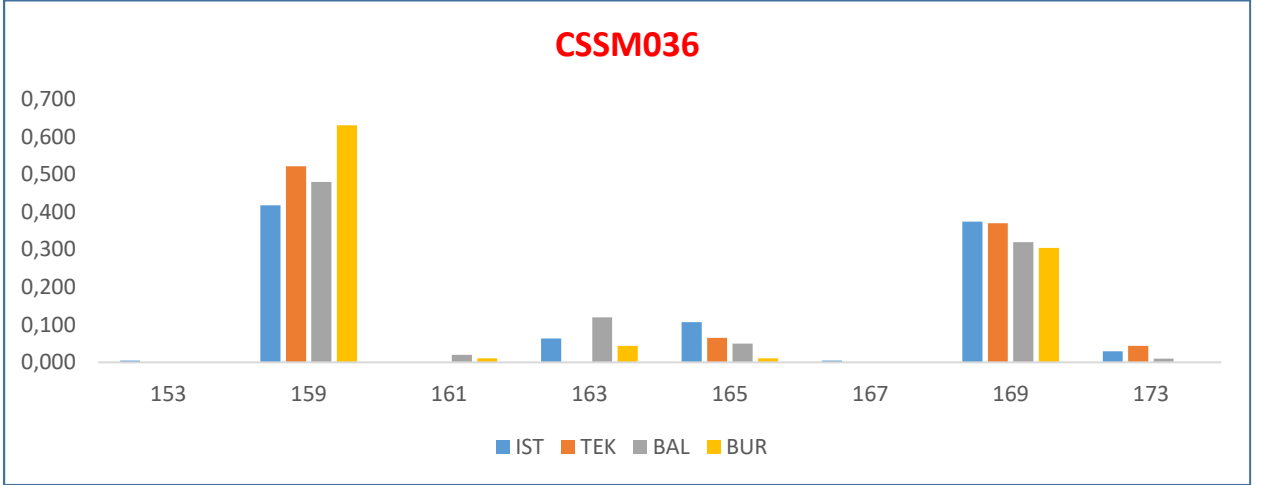
Şekil 5.13. CSSM057 Mikrosatellit Bölgesinin Populasyonlarda Görülme Sıklığı ve Allel Uzunlukları

CSSME070 mikrosatellit bölgesine ait sonuçlar incelendiğinde çalışılan populasyonlarda en sık görülen allel uzunlukları, İstanbul populasyonu için 126 bç, Tekirdağ, Balıkesir ve Bursa populasyonları için 134 bç olarak gözlemlenmiştir. CSMME070 lokusu için Tekirdağ populasyonunda 114 bç uzunluğunda 0,087 frekans değerine sahip allellerin mevcut olduğu ve frekans değerini %5’den büyük olduğu için bu allellerin ırkı ayırt edici özellikte olduğu belirlenmiştir.



Şekil 5.14. CSSME070 Mikrosatellit Bölgesinin Populasyonlarda Görülme Sıklığı ve Allel Uzunlukları

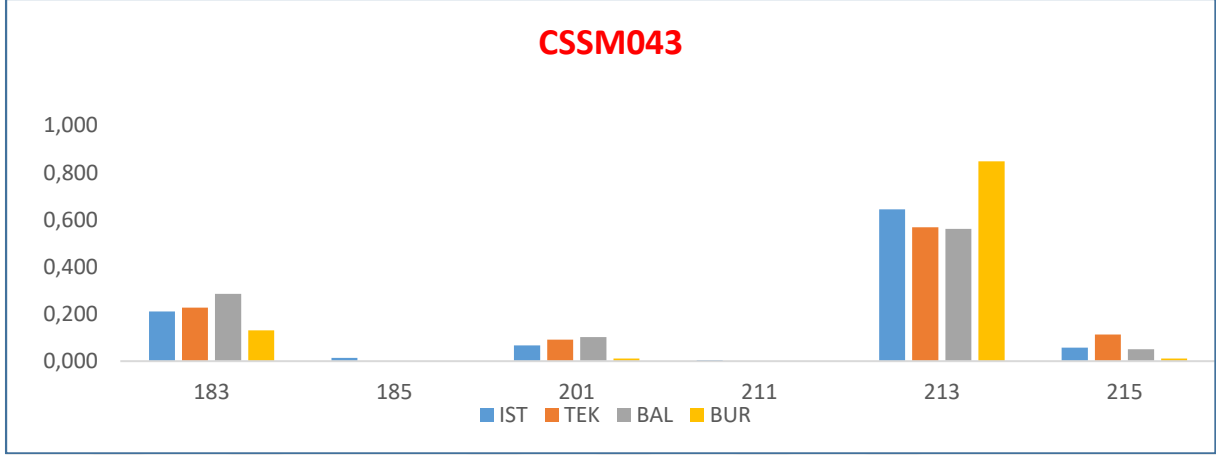
CSSM036 mikrosatellit bölgesine ait sonuçlar incelendiğinde çalışılan populasyonlarda en sık görülen allel uzunlukları, İstanbul, Tekirdağ, Balıkesir ve Bursa populasyonları için 159 bç olarak gözlemlenmiştir. İstanbul populasyonu için 153 bç ve 167 bç allel uzunluklarının mevcut olduğu görülmektedir. Ancak bu allel uzunluklarına ait frekans değerlerinin %5'den düşük olması (0,005) sebebiyle CSSM036 lokusu için ırkı ayırt edici özellikte olmadığı belirlenmiştir.



Şekil 5.15. CSSM036 Mikrosatellit Bölgesinin Populasyonlarda Görülme Sıklığı ve Allel Uzunluklarının

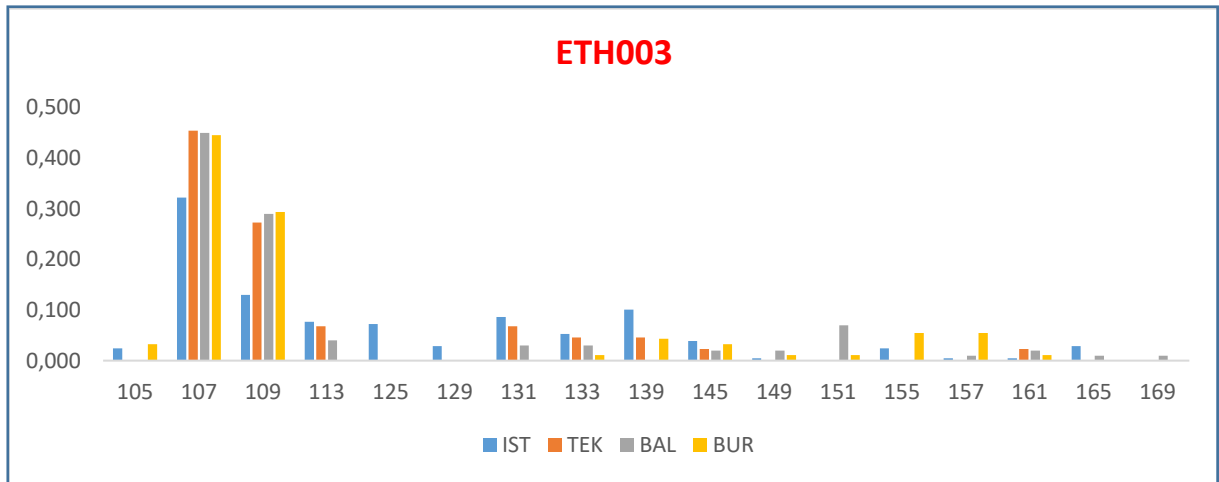
CSSM043 mikrosatellit bölgesine ait sonuçlar incelendiğinde çalışılan populasyonlarda en sık görülen allel uzunlukları, İstanbul, Tekirdağ, Balıkesir ve Bursa populasyonları için 213 bç olduğu gözlemlenmiştir. Çalışılan populasyonlar içinde sadece

İstanbul popülasyonunda 185 bç ve 211 bç uzunluğunda allellerin varlığı dikkat çekmiş olup, bu allel uzunluklarının görülme sıklıkları % 5'in altında (0,014 ile 0,005) olduğu için CSSM043 lokusu için ırkı ayırt edici özellikte olmadıkları belirlenmiştir.



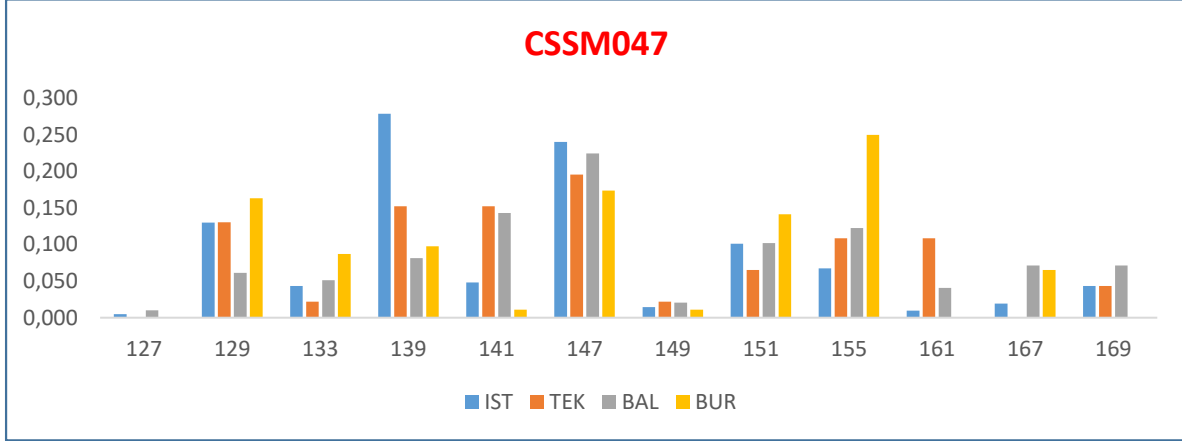
Şekil 5.16. CSSM043 Mikrosatellit Bölgesinin Popülasyonlarda Görülme Sıklığı ve Allel Uzunlukları

ETH003 mikrosatellit bölgesine ilişkin sonuçlar incelendiğinde çalışılan popülasyonlarda en sık görülen allel uzunlukları, İstanbul, Tekirdağ, Balıkesir ve Bursa popülasyonları için 107 bç olarak belirlenmiştir. Genel hatlarıyla bakıldığında, 107 bç ile 109 bç allel uzunluklarının ETH003 lokusu için Tekirdağ, Balıkesir ve Bursa popülasyonlarında yakın frekans değerlerine sahip oldukları gözlemlenmiştir.



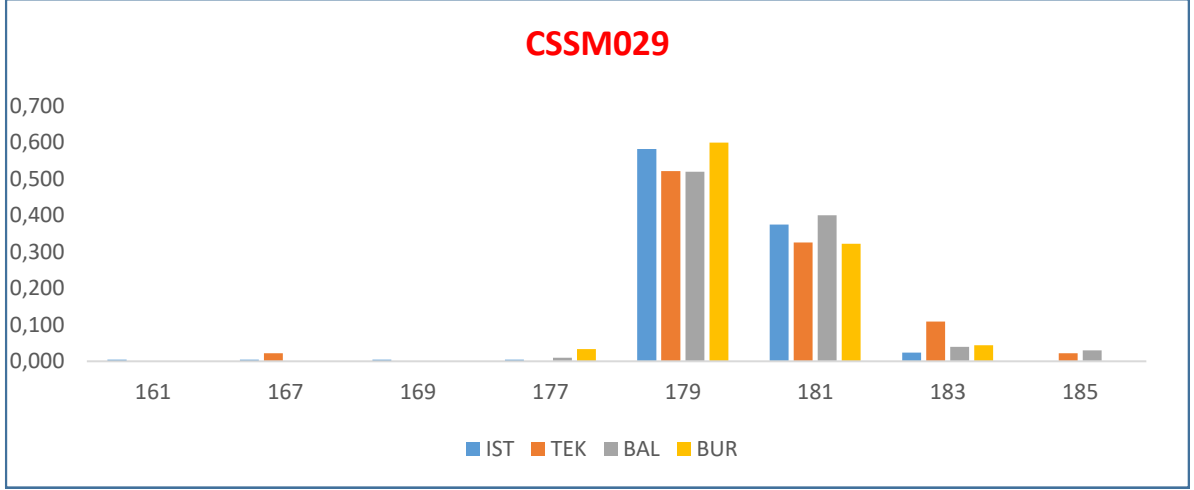
Şekil 5.17. ETH003 Mikrosatellit Bölgesinin Popülasyonlarda Görülme Sıklığı ve Allel Uzunlukları

CSSM047 mikrosatellit bölgesine ilişkin sonuçlar incelendiğinde çalışılan populasyonlarda en sık görülen allel uzunlukları, İstanbul populasyonu için 139 bç, Tekirdağ populasyonu için 147 bç, Balıkesir populasyonu için 147 bç ve Bursa populasyonu için 155 bç'dir. Frekans değerlerine bakıldığında ise, Marmara'nın Güney kesimlerinden Batı kesimlerine doğru gidildikçe allel frekansının azaldığı yorumu yapılabilir.



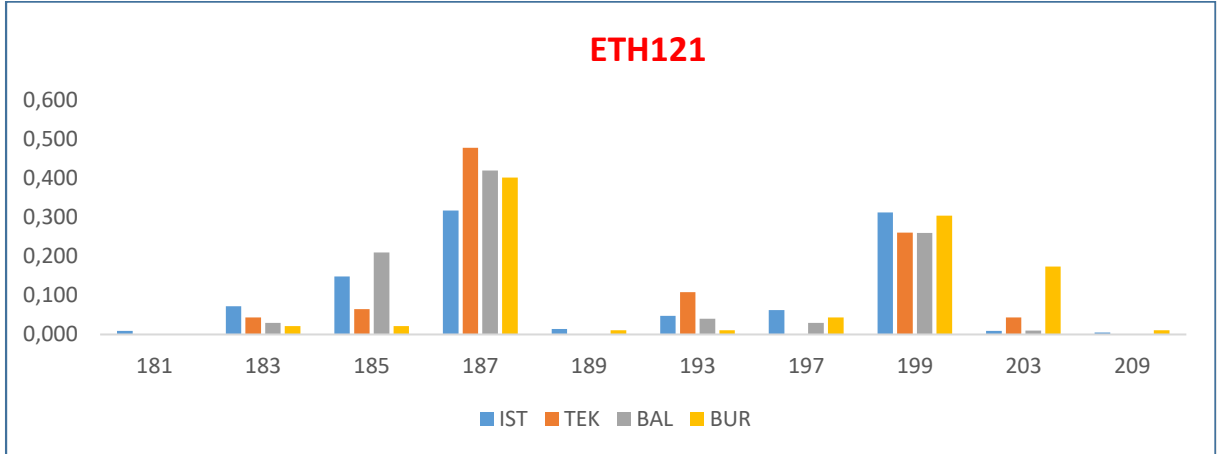
Şekil 5.18. CSSM047 Mikrosatellit Bölgesinin Populasyonlarda Görülme Sıklığı ve Allel Uzunlukları

CSSM029 mikrosatellit bölgesine ilişkin sonuçlar incelendiğinde çalışılan populasyonlarda en sık görülen allel uzunlukları, İstanbul Tekirdağ, Balıkesir ve Bursa populasyonları için 179 bç olup, bu uzunluk için Balıkesir ve Tekirdağ populasyonlarında görülen allel frekans değerlerinin eşit olduğu gözlemlenmiştir. İstanbul populasyonunda 161 bç ve 169 bç uzunluğunda allellerin varlığı gözlenmiş olup, bu allellerin frekansları % 5'den düşük (0,005) olduğu için CSSM029 lokusu için ırka ayırt edici olmadıkları belirlenmiştir. İstanbul ve Bursa populasyonlarını incelediğimizde ise Marmara'nın Güneyi'nden Batı kesimlerine gidildikçe, bu mikrosatellit lokusunun populasyonlarda görülme sıklığının azaldığı yorumu yapılabilmektedir.



Şekil 5.19. CSSM029 Mikrosatellit Bölgesinin Populasyonlarda Görülme Sıklığı ve Allel Uzunlukları

ETH121 mikrosatellit bölgesine ilişkin sonuçlar incelendiğinde çalışılan populasyonlarda en sık görülen allel uzunlukları, İstanbul, Tekirdağ, Balıkesir ve Bursa populasyonları için 187 bp olarak gözlemlenmiştir. Yalnızca İstanbul populasyonunda görülen 181 bp uzunluğunda allele ait allel frekansı değeri % 5'den küçük (0,010) olduğu için ETH121 lokusu için bu ırka ayırt edici özellikte olmadığı belirlenmiştir. Tekirdağ, Balıkesir ve Bursa populasyonlarına baktığımızda Marmara'nın Batısından Güney kesimlerine gidildikçe bu mikrosatellit lokusunun görülme sıklığının azaldığı yorumu yapılabilmektedir.



Şekil 5.20. ETH121 Mikrosatellit Bölgesinin Populasyonlarda Görülme Sıklığı ve Allel Uzunlukları

5.3. F İstatistikleri

Çalışmadaki 20 mikrosatellit bölgesine ait verilerden elde edilen F istatistik değerleri incelediğimizde populasyonların Hardy-Weinberg dengesinde olup olmadığını F_{IS} değerleri

ile gözlemlenebilir. Çalışılan populasyonlara ait F_{IS} değerlerine ait dağılım aşağıdaki çizelgede verilmiştir (Çizelge 5.5).

Çizelge 5.5. Çalışılan Populasyonların F_{IS} Değerlerine Dağılımı

Populasyon	F_{IS}	Önemlilik
IST	0,11687	Önemli
TEK	0,08858	Önemli
BAL	0,07191	Önemli
BUR	0,06258	Önemsiz

(*IST: İstanbul; TEK: Tekirdağ; BAL: Balıkesir; BUR: Bursa*)

Mikrosatellit lokuslarının dört ayrı populasyon için F_{IS} değeri sonuçları, 0,06258 ile 0,11687 arasında değiştiği gözlemlenmiş olup, bu değerlerin tüm populasyonlarda sıfıra yakın olduğu görülmüştür. F_{IS} değerinin önemlilik test sonucuna göre, İstanbul, Tekirdağ ve Balıkesir populasyonlarında önemli olduğu görülmüştür. Genel olarak populasyonlarda homozigot fazlalığının olduğu ancak bu durumun Bursa populasyonunda önemsiz olduğu gözlemlenmiştir. İstanbul, Tekirdağ ve Balıkesir populasyonlarının HWE'den saptığı gözlemlenmiştir.

Populasyonlar arası farkın önemli olup olmadığını görmek için F_{ST} değerleri hesaplanmış ve F_{IS} değerleri gibi bunlarında önemlilik testleri yapılmıştır.

Çizelge 5.6. Populasyonların İkili Karşılaştırılması Sonucunda Hesaplanan F_{ST} Değerleri Önemlilik Düzeyleri

	IST	TEK	BAL	BUR
IST	-	0,01567	0,01903	0,04832
TEK		-	0,00722 ^{OD}	0,03866
BAL			-	0,02857
BUR				-

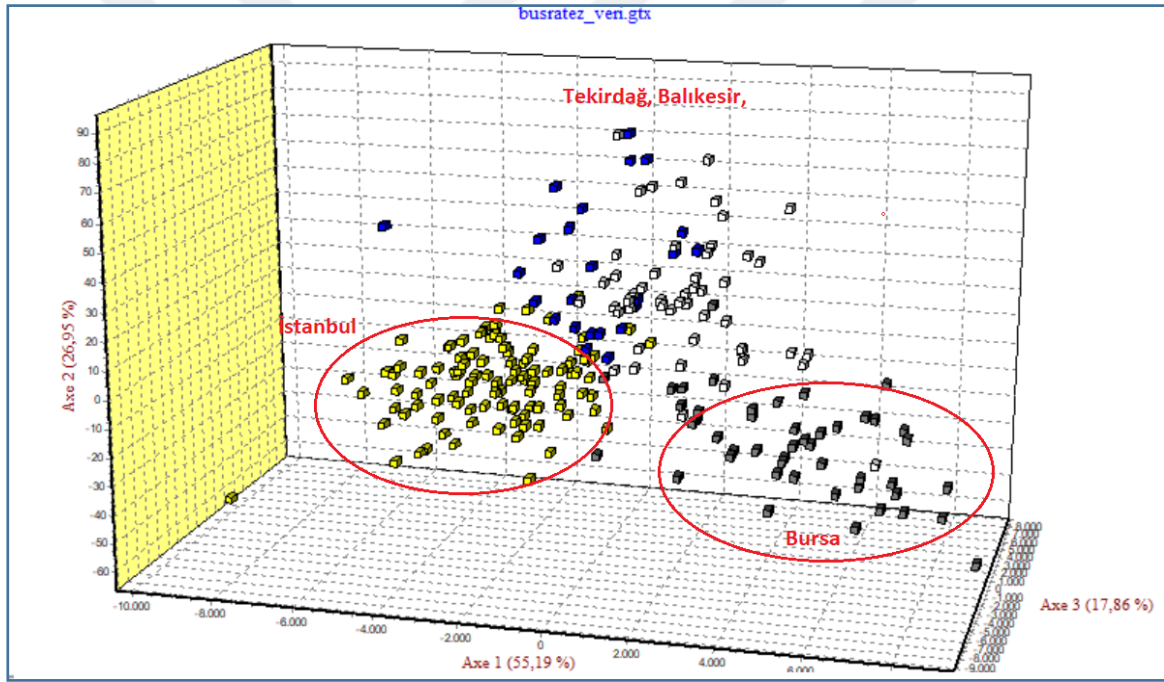
(*IST: İstanbul; TEK: Tekirdağ; BAL: Balıkesir; BUR: Bursa*)

Hesaplanan F_{ST} değerleri ve bunların önemlilik testi sonuçları incelendiğinde, çalışmada kullanılan tüm ırkların ikili karşılaştırmaları sonucu elde edilen F_{ST} değerlerinden Tekirdağ-Balıkesir populasyonları dışında tamamının $P > 0,001$ 'e göre önemli olduğu belirlenmiştir. Marmara Bölgesi Anadolu mandası ırkına ait çalışılan dört populasyon

incelendiğinde F_{ST} değerleri, 0,00722 ile 0,04832 arasında olduğu için populasyonlarda çok az bir genetik farklılaşmanın söz konusu olduğu belirlenmiştir.

5.4. Faktöriyel Birleştirici Analiz Sonuçları (Factorial Correspondence Analysis-FCA)

Faktöriyel Birleştirici Analizi, çalışılan populasyonların bireyleri arasındaki akrabalık ilişkilerini araştırmak için yapılan bir analiz olup, çalışılan bireylerin çoklu boyutta birbirine olan yakınlığının görülebilmesi için yapılmaktadır. Çalışılan populasyonlardaki bireylerin mevcut genetik varyasyonunun belirlenmesi, verilerin birbirleri ile ilişkilerinin çeşitli bağımsız ve bileşik değişken eksenleri (faktörler) açısından üç boyutlu düzlemsel ortamda görselleştirmek amacıyla çizilen faktöriyel birleştirici analizi grafikleri 3 farklı aşamada incelenmiştir.



Şekil 5.21. Çalışılan Tüm Populasyonlara Ait Örneklerin Arasındaki İlişiyi Gösteren Faktöriyel Benzerlik Analiz Grafığı

Marmara Bölgesi'ndeki dört farklı manda populasyonu birlikte değerlendirilip çizilen grafik incelendiğinde, Tekirdağ ve Balıkesir populasyonlarına ait bireylerin karışmış ve ortada yer aldığı görülmektedir. İstanbul ve Bursa populasyonlarına ait bireylerin ise, farklı eksenlerde gruplandığı grafik üzerinde görülmüş olup, bu populasyonlardaki bireylerin Tekirdağ ve Balıkesir populasyonlarındaki bireylere oranla daha net olarak birbirinden ayrılıp

kümelendiği gözlemlenmiştir. Ayrıca faktöriyel düzlemin orta kısımlarına baktığımızda dört popülasyona ait bireylerden genetik olarak bir karışımın da olduğu gözlenmektedir.

5.5. Irklar Arası Genetik Uzaklıklar

5.5.1. Nei Standart Genetik Uzaklık Metodu (D_s)

Bu çalışmada 20 farklı mikrosatellit bölgesinin dört farklı manda popülasyonunda çalışılması sonucunda elde edilen allellik verilerinden yola çıkarak, ırkların birbirine olan genetik uzaklık matrisi Nei Standart Genetik Uzaklık Metodu (D_s) (Nei, 1972)'na göre GENETIX programında hesaplanmıştır (Belkhir, 1996-2000).

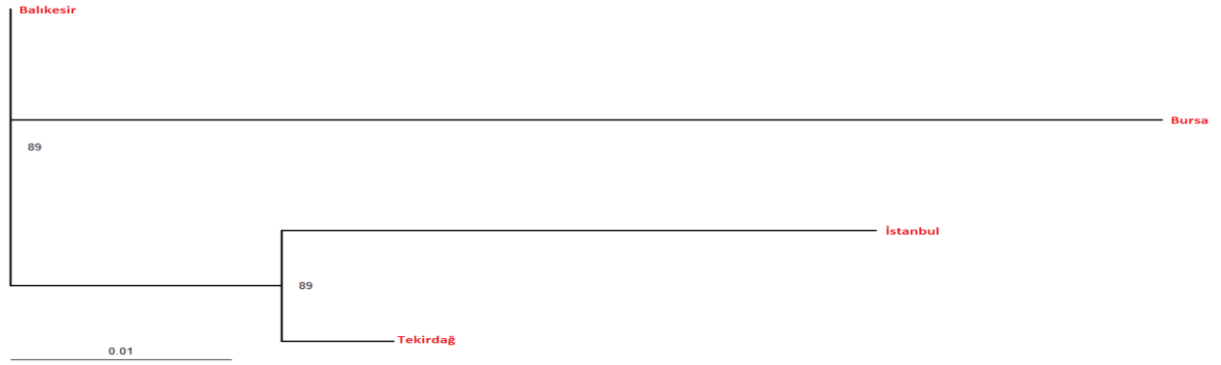
Çizelge 5.7. Popülasyonların İkili Karşılaştırılması Sonucunda Hesaplanan Standart Genetik Uzaklık Değerleri. (Nei's Standart Genetik Uzaklığı, D_s; 1972)

	IST	TEK	BAL	BUR
IST	-	0,0643*	0,0547*	0,099*
TEK	-	-	0,0484*	0,092*
BAL	-	-	-	0,063*
BUR	-	-	-	-

(IST: İstanbul; TEK: Tekirdağ; BAL: Balıkesir; BUR: Bursa)

Nei'nin standart genetik uzaklık metoduna göre hesaplanan genetik uzaklıklar incelendiğinde; çalışılan ırklar içerisinde en yüksek genetik uzaklık değerinin İstanbul ile Bursa popülasyonları arasında olduğu (0,099) belirlenmiştir. Popülasyonlar arasında en düşük genetik uzaklık değerinin ise Tekirdağ ile Balıkesir popülasyonları arasında olduğu (0,0484) gözlemlenmiştir.

Bu yakınlıktan sonra gelen en küçük genetik uzaklık değerleri ise Tekirdağ ile Balıkesir popülasyonları arasında 0,0484; coğrafi olarak daha yakın olan Balıkesir ve Bursa popülasyonları arasında 0,063; yine coğrafi olarak birbirine yakın olan İstanbul ile Tekirdağ popülasyonları arasında ise 0,0643 olarak belirlenmiştir (Çizelge 5.7). Hesaplanan D_s genetik uzaklık değerleri kullanılarak çizilen komşu birleştirme ağacı (NJT-Neighbor Joining Tree) Populations ve Treeview programı ile çizdirilmiş ve Şekil 5.22'de verilmiştir.



Şekil 5.22. Marmara Bölgesi manda populasyonları için DS genetik uzaklığı kullanılarak komşu birleştirme metodu ile çizilen filogenetik ilişki (Nei vd., 1972).

Çizilen ağacın güvenilirliğini belirlemek amacıyla yapılan “bootstrap” testi sonucunda aynı gruplanmanın verildiği değerler ağacın üzerinde belirtilmiştir. Diğer bir deyişle ağacın çizim işlemi 1000 defa tekrar edildiğinde yüzde kaçının aynı gruplanmayı verdiği ağacın üzerindeki dallanma noktalarında belirtilmiştir. Çalışılan mikrosatellit lokuslarından elde edilen verilerden elde edilen D_S genetik uzaklığına göre çizilen ağaçta; İstanbul ile Tekirdağ populasyonlarına (0,0643) ait örneklerde % 89 sıklıkla aynı grup dallanmanın mevcut olduğu gözlemlenmiştir. Ancak İstanbul populasyonunun bu dallanmada uzaklaştığı görülmektedir. İstanbul ve Tekirdağ populasyonlarının yine % 89 sıklıkla Bursa populasyonu ile arasında dallanma olduğu görülmüştür.

Nei'nin genetik uzaklık hesabına göre çizilen ağaçta; İstanbul ile Tekirdağ populasyonlarının en yakın ırklar olduğu görülmektedir. Bunun sebebi iki populasyonun da yakın coğrafi konumlarda bulunmaları olarak yorumlanabilir.

5.5.2. D_A Genetik Uzaklık Metodu (Nei vd., 1983)

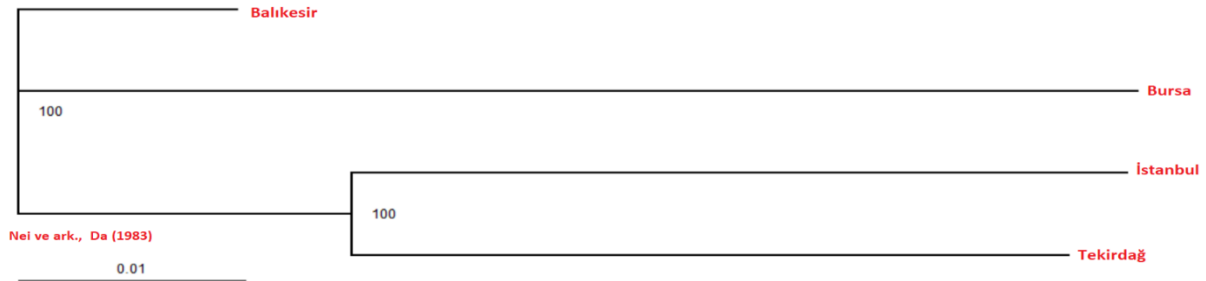
Mevcut allellik verilerden ırkların birbirine olan genetik uzaklıklarının D_A metoduna göre hesaplanması sonucunda elde edilen sonuçlar Çizelge 5.8'de verilmiştir.

Çizelge 5.8. Populasyonların İkili Karşılaştırılması Sonucunda Hesaplanan D_A Genetik Uzaklık Değerleri (Nei vd.,1983).

	IST	TEK	BAL	BUR
IST	-	-	-	-
TEK	0,0657**	-	-	-
BAL	0,0586**	0,0558**	-	-
BUR	0,0979**	0,0956**	0,0589**	-

(IST: İstanbul; TEK: Tekirdağ; BAL: Balıkesir; BUR: Bursa)

Nei ve ark.'nın (1983), D_A genetik uzaklık metoduna göre hesaplanan genetik uzaklık değerleri incelendiğinde; çalışılan populasyonlar içerisinde en yüksek genetik uzaklık değerinin, Bursa ile İstanbul populasyonlarına ait bireyler arasında (0,0979) olduğu görülmektedir. Irklar arasında en düşük genetik uzaklık değerinin ise Balıkesir ve Tekirdağ populasyonlarına ait bireyler arasında (0,0558) olduğu gözlemlenmiştir (Çizelge 5.8). Bu yakınlıktan sonra gelen en küçük genetik uzaklık değerinin ise Balıkesir ve İstanbul populasyonlarına ait bireyler arasında (0,0586) olduğu gözlenmiştir.



Şekil 5.23. Marmara Bölgesi manda populasyonları için D_A genetik uzaklığı kullanılarak komşu birleştirme metodu ile çizilen filogenetik ilişki (Nei vd., 1983).

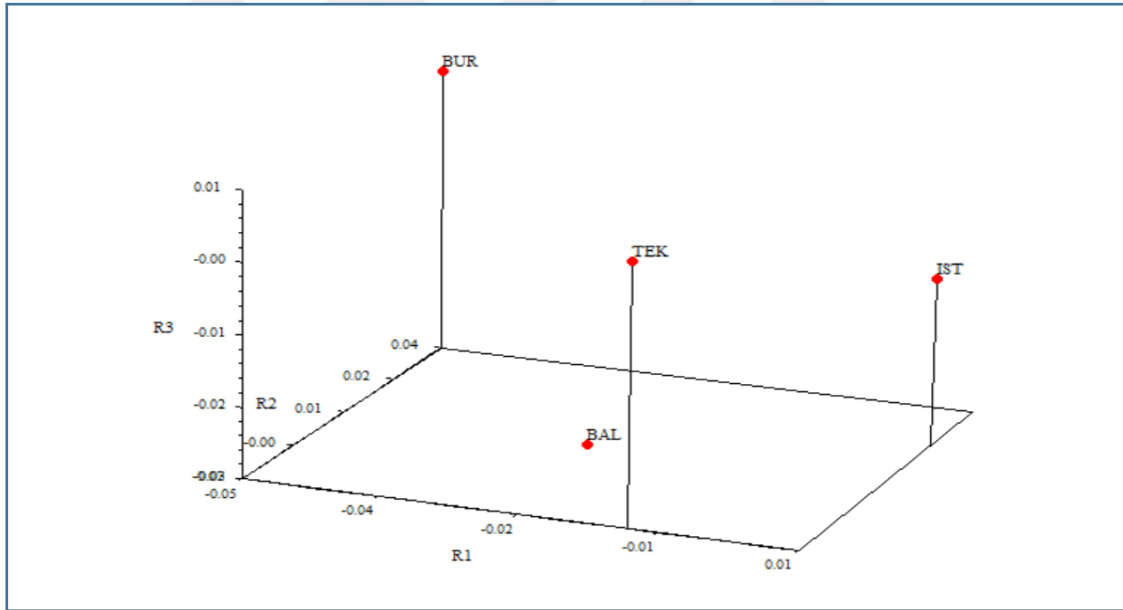
Çizilen ağacın güvenilirliğini belirlemek için yapılan “bootstrap” testi sonucunda aynı gruplanmanın verildiği değerler ağacın üzerinde belirtilmiştir. Diğer bir ifade ile ağacın çizim işlemi 1000 kez tekrar edildiğinde yüzde kaçının aynı gruplanmayı verdiği ağacın üzerindeki dallanma noktalarında belirtilmiştir. Çalışılan mikrosatellit lokuslarına ait verilerin analizinden elde edilen D_A genetik uzaklığına göre çizilen ağaçta; İstanbul populasyonu ile Tekirdağ populasyonuna ait bireylerde % 100 sıklıkta aynı grup dallanmanın olduğu belirlenmiştir. Daha sonraki dallanmalar incelendiğinde ise İstanbul ile Tekirdağ

populasyonlarının Bursa populasyonu ile arasında % 100 sıklıkta dallanma meydana geldiği gözlemlenmiştir.

Nei ve ark.'nın (1983) (D_A) genetik uzaklık metodunun kullanılması ile çizilen ağaç değerlendirildiğinde; İstanbul ile Tekirdağ populasyonlarının diğer populasyonlardan ayrı bir öbek oluşturduğu gözlemlenmiştir. Balıkesir ve Bursa populasyonlarının ise ayrı ayrı dallandığı belirlenmiştir. Bu sonuçlara bakılarak İstanbul ve Tekirdağ populasyonlarına ait bireylerin genetik uzaklık yönünden birbirine daha yakın olduğu yorumu yapılabilmektedir.

5.6. Temel Bileşenler Analizi (Principal Component Analysis-PCA)

Populasyonların birbirlerinden eksenler üzerinde ayrılması temel bileşenler analizi ile incelenmiştir. Temel bileşenler analizi 20 lokusa ait 179 allelin frekansı kullanılarak yapılmıştır.



(IST: İstanbul; TEK: Tekirdağ; BAL: Balıkesir; BUR: Bursa)

Şekil 5.24. Marmara Bölgesi'ne ait dört farklı manda populasyonunun allel frekanslarına göre gerçekleştirilen 3 boyutlu Temel Bileşenler Analizi (PCA) Sonuç Grafiği

Grafiğe bakıldığında Balıkesir populasyonundaki bireylerin karışmış ve ortada yer aldığı, Tekirdağ populasyonunun ise Balıkesir populasyonuna yakın konumlandığı görülmektedir. İstanbul ve Tekirdağ populasyonlarındaki bireylerinin aynı eksenle yakın konumlarda yer aldığı gözlemlenmektedir. Bu durumun söz konusu populasyonların coğrafi

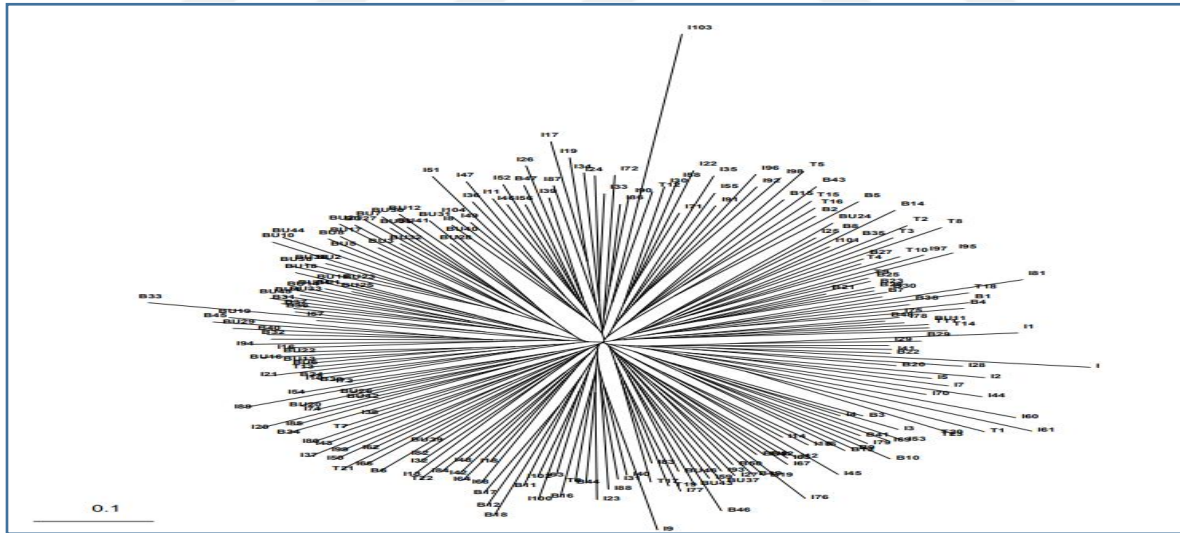
olarak birbirine yakın konumda olmasından kaynaklandığı görülmektedir. Ayrıca Balıkesir popülasyonuna ait bireylerin Tekirdağ popülasyonuna olan yakın konumu bu iki popülasyonun karışmış olabileceği fikrini güçlendirmektedir.

Bu sonuçlar, temel bileşenler analizi ile faktöriyel birleştirici analizi sonuçlarının da benzerlik gösterdiğini ortaya koymaktadır.

5.7. Allellerin Paylaşım Uzunluklarının Ölçümü (Allele Sharing Distance)

Marmara Bölgesi'ndeki dört farklı popülasyondan alınan örneklerin 20 mikrosatellit bölgesi açısından genetik olarak birbirlerine ne düzeyde benzedikleri ile bazı popülasyonlara ait bireylerin diğer popülasyonlardaki bireylerden ne kadar ayrılp ayrılmadığını araştırmak için allel paylaşım uzunlukları baz alınarak komşu birleştirme ağacı ile örneklerin arasındaki ilişki değerlendirilmiştir (Şekil 5.25). Çizilen şekilde popülasyonların daha anlaşılır olması için her popülasyon harflerle belirtilmiştir.

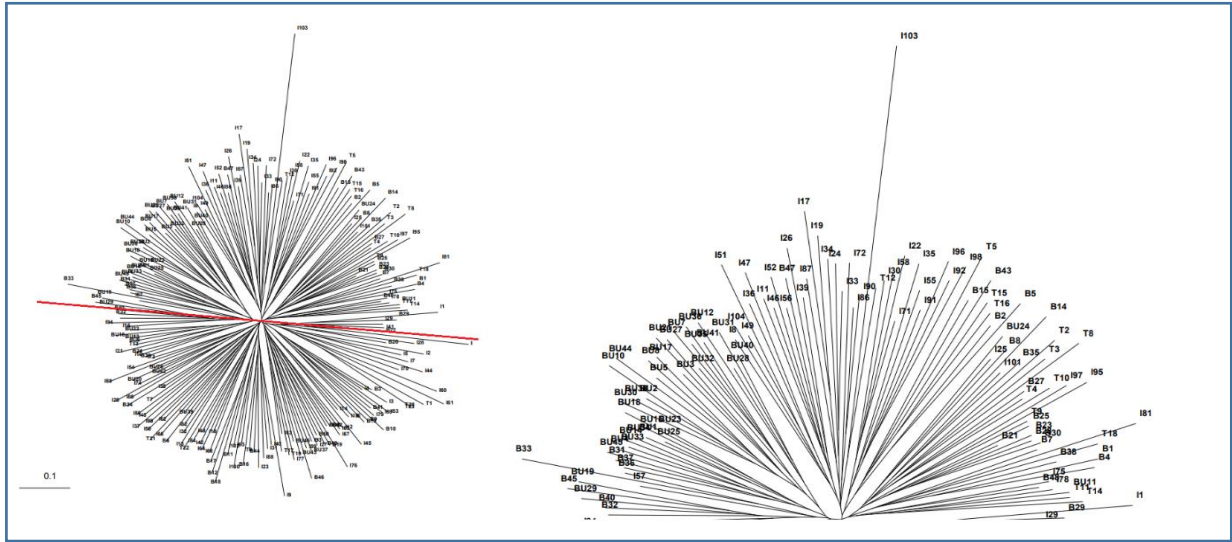
Popülasyonları temsil eden kısaltmalar şu şekildedir; I: İstanbul, T: Tekirdağ, B: Balıkesir, BU: Bursa.



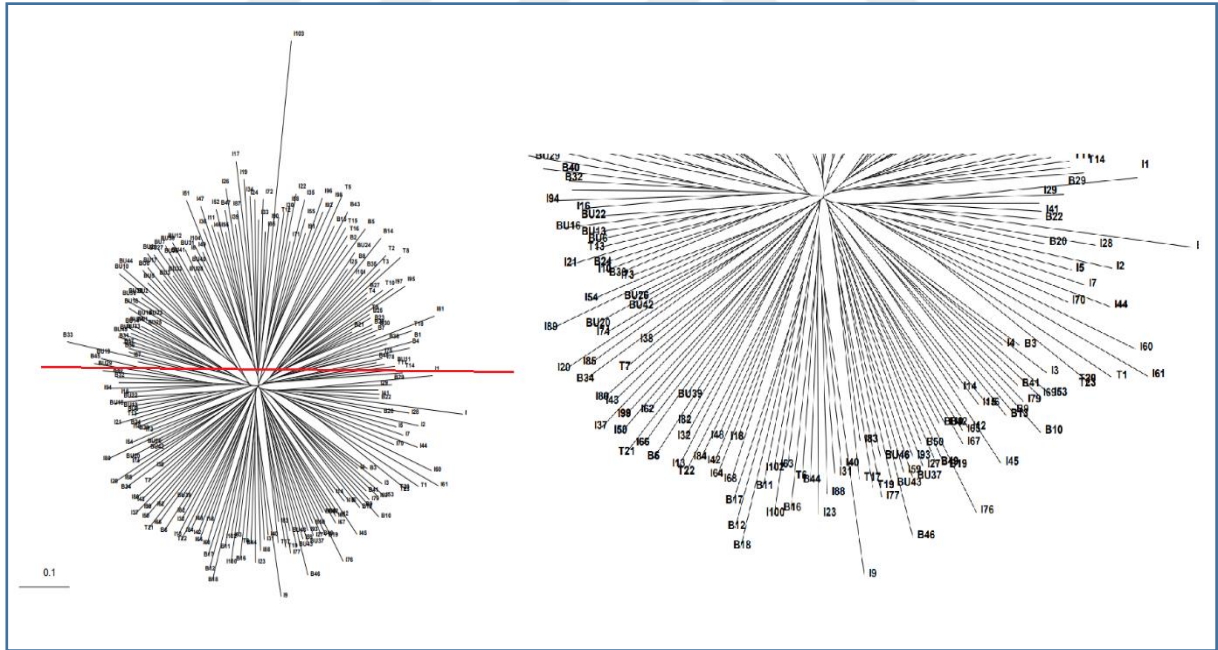
Şekil 5.25. Bireyler Arası Paylaşım Uzunluklarından (ASD) yararlanarak Komşu Birleştirme (NJT) Metodu ile çizilen ağaç.

Tüm bireylerin bir arada düşünülüp değerlendirmeye alınması ile çizilen ağaçta görüntü çözünürlüğü iyi olmadığı için her popülasyondan rastgele seçilen bireyler ile ağaç

tekrar çizilmiştir. Yeni çizilen ağacın iki farklı görünümü Şekil 5.26 ile Şekil 5.27’de verilmiştir.



Şekil 5.26. Her popülasyonu temsilen rastgele seçilmiş bireyler ile allel paylaşım uzunluklarına göre çizilen Komşu Birleştirme Ağacı.



Şekil 5.27. Her popülasyonu temsilen rastgele seçilmiş bireyler ile allel paylaşım uzunluklarına göre çizilen Komşu Birleştirme Ağacı.

Popülasyonlara ait bireylerin allel paylaşım uzaklıkları (ASD) metoduna göre çizilen komşu birleştirme ağacında aynı popülasyondan bireylerin büyük çoğunlukta bir arada

kümelendiği görölmektedir. Ayrıca Bursa ve İstanbul popülasyonlarına ait bireylerin iki ayrı grup halinde dallanmış olduğu, Tekirdağ ve Balıkesir popülasyonlarındaki bireylerin ise karışık formda dallanmış oldukları gözlemlenmiştir. Buna ek olarak İstanbul ve Bursa popülasyonlarına ait bazı bireylerin Tekirdağ ve Balıkesir popülasyonlarıyla karışık olarak dallandığı gözlemlenmiştir. Çizilen Komşu Birleştirme Ağacı, genel hatlarıyla bakıldığında dalları uzun bir formdadır. Evcil hayvan türlerinde genellikle gözlenen yıldız şeklindeki görüntünün çalışılan dört popülasyon içinde oluştuğu görölmektedir.



6. TARTIŞMA

6.1. Allelik Varyasyona Ait Bulguların Değerlendirilmesi

Bu tez çalışmasında, Marmara Bölgesi'ndeki manda populasyonlarında mikrosatellit işaretleyiciler aracılığıyla genetik çeşitliliği tanımlamak için, 4 farklı populyasyondan (İstanbul, Tekirdağ, Balıkesir ve Bursa) 223 birey örneklenmiştir.

Türkiye'de mikrosatellit işaretleyiciler kullanılarak mandada yapılan benzer çalışmalar da mevcuttur. Soysal vd. (2007)'nin Türkiye'nin yerli gen kaynaklarından olan Anadolu mandası üzerinde yapmış oldukları benzer bir çalışmada Silivri bölgesindeki farklı işletmelerden toplamda 40 bireyin örneklenmiş olduğu gözlenmektedir. Gargani vd. (2010)'nin yapmış oldukları başka bir çalışmada ise Türkiye'nin altı farklı ilden 155 birey, nal vd. (2014)'nin yine Anadolu mandası ırkında yapmış oldukları çalışmada Türkiye'nin coğrafi olarak üç farklı bölgesinde yer alan sekiz farklı ilden 56 birey ve son olarak yine nal vd. (2021)'nin yapmış oldukları çalışmada Türkiye'nin altı farklı bölgesinde yer alan 17 farklı ilden 837 birey ile çalışıldığı bildirilmiştir. Bu tez çalışması örneklenen birey sayısı bakımından nal vd. (2021)'nin çalışmasından sonra Türkiye'de en fazla birey sayısı ile gerçekleştirilen çalışma olma özelliğini de taşımaktadır. Türkiye'de literatürdeki çalışmalar ile karşılaştırıldığında bu tez çalışmasında tek bir coğrafi bölgede çalışılmasına karşın örneklenen birey sayısının fazlalığı önemsenecek düzeyde olmakla birlikte, bu durumun çalışılan populyasyonlar arasındaki genetik ilişkiyi değerlendirmede de önemli ölçüde katkı sağladığı söylenebilmektedir.

Dünyanın farklı ülkelerinde yapılan benzer çalışmalara bakıldığında, en fazla araştırmanın Asya kıtasında yapıldığı dikkatlerden kaçmamıştır. Asya kıtası mandanın ana vatani olarak bilinmekle birlikte dünya manda nüfusunun büyük kısmı bu kıtada yaşam sürmektedir. Bu sebeple literatür taramalarına bakıldığında mandada yapılan pek çok çalışmanın bu kıtada gerçekleştirilmesinin tesadüf olmadığı fark edilmektedir. Asya kıtasında yapılan çalışmalarda örneklenen birey sayılarının fazlalığı da dikkat çekmektedir. Asya'dan Avrupa kıtasına doğru gelindikçe yapılan çalışmalarda çalışılan birey sayısında azalmaların başladığı gözlemlenmiştir. Türkiye'nin Asya ve Avrupa arasında bir geçiş noktası olduğu bilinmektedir. Asya kıtasında yer alan ülkeler ile kıyaslandığında Türkiye'de mandada yapılan çalışmalarda örneklenen birey sayılarının az oluşu gözlemlenmektedir. Türkiye'nin yerli gen kaynaklarından olan Anadolu mandası ırkının, yakın zaman öncesinde yok olma

tehdidine maruz kalmasının bu duruma etkisinin olduğu söylenebilir. Dünyanın farklı kıtalarında çeşitli birey sayılarıyla mikrosatellit işaretleyiciler kullanılarak genetik çeşitliliği ölçmeye dayalı çalışmaların olduğu gözlemlenmiştir (Barker vd., 1997; Arora vd.,2004; Triwitayakorn vd., 2006; Vijn vd., 2008; Marques vd., 2011; Joshi vd., 2012; McMahon vd., 2012; Abou-Bakr vd., 2012; Yousefi vd., 2019; Bukhari vd., 2020).

Yapılan tez çalışmasında populasyonların genetik yapısını değerlendirmek amacıyla 20 mikrosatellit bölgesi ile çalışılmıştır. Çalışılan mikrosatellit bölgeleri, daha önce yapılan benzer çalışmalardan yola çıkılarak, lokusların allel içerikleri ile polimorfizm düzeylerine göre belirlenmiştir. Çalışılan mikrosatellit bölgeleri sayı bakımından literatür bilgileriyle kıyaslandığında, farklı sayıda mikrosatellit işaretleyici kullanarak yapılan çalışmaların mevcut olduğu ve kullanılan mikrosatellit işaretleyici sayılarının da istisnalar hariç (Nagarajan vd., 2009) ortalama 3-30 arasında değişkenlik gösterdiği gözlemlenmiştir.

Vijn vd. (2008)'nin Hindistan manda populasyonlarında yapmış oldukları benzer bir çalışmada 527 bireyde çalışılmak üzere 22 mikrosatellit lokusunun kullanıldığı gözlemlenmiştir. Bukhari vd. (2020)'nin Pakistan manda populasyonlarında yapmış oldukları başka bir benzer çalışmada ise örneklenen 196 bireyde 12 mikrosatellit bölgesi ile çalışıldığı gözlemlenmiştir. Yapılan literatür araştırmasına bakıldığında, benzer olan birçok çalışmada farklı sayılarda mikrosatellit lokusundan yararlanıldığı gözlemlenmiştir (Barker vd., 1997; Flamand vd., 2003; Mishra vd., Aminafshar vd., 2008; 2009a; Kathivaran vd., 2011; Joshi vd., 2012; Jaayid ve Dragh, 2013; Attia vd., 2014; Acosta vd., 2014; Hussain vd., 2017; Uffo vd., 2017; Popa vd., 2018; Saputra vd., 2020). Bu çalışmada kullanılan mikrosatellit işaretleyici sayısının, çalışılan birey sayısı ile bağlantılı olarak ele alındığında uygun sayıda olduğu çıkarımını yapmak mümkündür.

Bu tez çalışmasında 223 bireyde 20 mikrosatellit işaretleyici ile çalışılarak toplamda 179 allel gözlemlenmiştir. Gargani vd. (2010)'nin Türkiye'nin altı farklı bölgesinden alınan 155 bireye ait örnekler üzerinde yaptıkları bir çalışmada 26 mikrosatellit işaretleyici kullanılmış olup, toplam 254 allel tespit edilmiştir. Ünal vd. (2014)'nin 20 mikrosatellit işaretleyici kullanarak Türkiye'nin üç farklı bölgesinden 56 birey üzerinde yaptıkları bir çalışmada toplam 103 allel gözlemlenmiştir. Ünal vd. (2021)'nin yapmış oldukları başka bir benzer çalışmada örneklenen 837 bireyde 20 mikrosatellit lokusu ile çalışılmış olup, toplamda 190 allel tespit edildiği bildirilmiştir. Dünyadaki literatür verilerine bakıldığında farklı sayıda mikrosatellit lokusu ve birey sayısı ile yapılan çalışmalarda, çeşitli uzunluklarda allel

sayılarının mevcut olduğu gözlemlenmiştir (Barker vd., 1997; Kumar vd., 2006; Zhang vd., 2007; Nagarajan vd., 2009; Ángel-Marín vd., 2010; Marques vd., 2011; Saif vd., 2012; McMahon vd., 2012; Yousefi vd., 2019; Khade vd., 2020). Kumar vd. (2006)'nin yapmış oldukları çalışmada, 383 bireyde 27 mikrosatellit lokusu ile çalışılmış olup, 288 allel gözlemlenmiştir. Kataria vd. (2009)'nin yapmış oldukları başka bir benzer çalışmada 48 bireyde 25 mikrosatellit lokusu ile çalışılmış ve 131 farklı uzunlukta allel tespit edildiği gözlemlenmiştir. Verilen bu iki örnek çalışma Asya kıtasında yapılmış olup, mevcut tez çalışması ile kıyaslandığında genetik çeşitliliğin daha fazla olduğu gözlemlenmiştir. Evcil mandanın Asya kıtasından köken alması, bunun yanında çiftçilerin yaşamında hala önemli bir yerde olmaya devam etmesi gibi etkenlerin genetik çeşitliliğin azalmasına engel olduğu düşüncesini güçlendirmektedir. Asya kıtasından Türkiye'nin doğusuna doğru gelindikçe sınır komşularımız olan ülkelerde de genetik çeşitliliğin azalmaya başladığı dikkatlerden kaçmamıştır. Aminafshar vd. (2008)'nin İran manda nüfusunda yaptıkları bir çalışmada 60 bireyde 14 mikrosatellit lokusu ile çalışılmış olup 58 allel tespit edildiği bildirilmiştir. Yousefi vd. (2019)'nin yine İran mandalarında yapmış oldukları başka bir çalışmada örneklenen 200 bireyde 10 mikrosatellit lokusu ile çalışıldığı ve 59 allel gözlemlenmiş olduğu bildirilmiştir.

Bu tez çalışmasında kullanılan lokuslar içerdikleri allel sayısı sonuçlarına bakıldığında, lokus başına allel sayısının 5 (ILSTS033) ile 17 (ETH003) arasında değiştiği tespit edilmiştir. Literatür çalışmalarına bakıldığında, bu tez çalışmasında alelik içerik bakımından en düşük polimorfizm oranına sahip olan ILSTS033 lokusunun başka bir çalışmada ise en yüksek polimorfizm oranına sahip lokus olduğu gözlemlenmiştir (Babar vd., 2009).

Bu tez çalışmasında, lokus başına düşen ortalama allel sayısının (8,95 allel/lokus), yapılan benzer çalışmaların bazılarında bulunan değerlerden (4,7 ile 8,73 arasında) yüksek (Arora vd., 2004; Triwitayakorn vd., 2006; Kataria vd.,2009; Marques vd., 2011; Acosta vd., 2014; Yousefi vd., 2019; Bukhari vd., 2020) olduğu, bazılarında ise bulunan değerlerden (11,4 ile 12,57 arasında) düşük (Jaayid be Dragh, 2013; Gargani vd., 2010) olduğu bazı çalışmalarda ise ortalama allel sayısının bu tez çalışmasındaki ortalama değerden düşük (Mishra vd., 2009b; Nagarajan vd., 2009) olduğu belirlenmiştir.

Bu tez çalışmasında, Marmara bölgesi manda populasyonlarını temsilen 4 populasyon ile çalışılmıştır. Tespit edilen ortalama allel sayılarının; İstanbul için 8,30 allel/lokus, Tekirdağ için 5,85 allel/lokus; Balıkesir için 6,75 allel/lokus; Bursa için 6 allel/lokus olduğu

belirlenmiştir. Populasyonlardaki alellere ait ortalama değerlerin 5,85 ile 8,30 arasında değiştiği belirlenmiştir. Çalışılan dört populasyon arasında en yüksek ortalama allel sayısının İstanbul populasyonunda, en düşük ortalama allel sayısının ise Tekirdağ populasyonunda olduğu görülmüştür.

Gargani vd. (2010)'nin 26 mikrosatellit lokusu ile yaptıkları benzer bir çalışmada populasyonlara ait ortalama allel sayısı değerlerinin 5,14 ile 9,20 arasında bu çalışmadaki değerlere benzer olduğu gözlemlenmiştir. Ünal vd. (2014)'nin 20 mikrosatellit bölgesi ile yaptıkları başka bir benzer çalışmada populasyonlara ait ortalama allel sayısı değerlerinin 3,70 ile 4,35 arasında değiştiği belirtilmiştir. Ünal vd., (2021)'nin yaptıkları bir çalışmada ise populasyonlara ait ortalama allel sayılarının 5,70 ile 8,80 arasında değişmekte olduğu bildirilmiştir. Yapılan tez çalışmasında elde edilen, populasyonlara ait ortalama allel sayısı sonuçlarının Türkiye'de yapılan çalışmalar ile benzerlik gösterdiği gözlemlenmiştir. Dünyada yapılan benzer çalışmalara bakıldığında ise populasyonlara ait ortalama allel sayısının değerinin farklı aralıklarda bulunduğu gözlemlenmiştir (Triwitayakorn vd., 2006; Vijn vd., 2008; Kathiravan vd., 2008; Kataria vd., 2009; Mishra vd., 2009a; Mishra vd., 2009b; Nagarajan vd., 2009). Vijn vd., (2008)'nin Hindistan mandalarında yapmış oldukları bir çalışmada, populasyonlara ait ortalama allel sayısı değerlerinin 5,86 ile 9,41 arasında gözlemlendiği bildirilmiştir. Asya kıtasında yapılan bu çalışma sonucunda elde edilen ortalama allel sayısı değerleri, bu tez çalışmasıyla kıyaslandığında genetik çeşitliliğin Asya manda populasyonlarında daha yüksek olduğuna yönelik tahminlerin güçlenmiş olduğu görülmektedir.

6.2. Çalışılan Populasyonlardaki Heterozigotluk Değerlerine Ait Bulguların Değerlendirilmesi

Bu tez çalışmasında populasyonlara ait gözlenen ve beklenen heterozigotlukların sırasıyla 0,547 ile 0,625 ve 0,583 ile 0,684 arasında değiştiği belirlenmiştir. Bulunan sonuçların % 5'den büyük olması çalışılan populasyonların genetik çeşitlilik tahminleri için elverişli olduğu anlamına gelmektedir. Çalışılan mikrosatellit lokusları bazında gözlenen ve beklenen heterozigotluk ölçümlerine göre en yüksek ortalama heterozigotluk değerine sahip ve allel uzunluklarının en çok sayıda olduğu lokus CSSM047, heterozigotluk oranı en düşük olan ve allel uzunluklarının en az sayıda bulunduğu lokus ise CSSM032 olarak belirlenmiştir.

Yapılan çalışmaya göre, gözlenen ve beklenen heterozigotluklara ait en yüksek değerler Tekirdağ popülasyonunda (0,625 ile 0,684), en düşük değerler ise Bursa popülasyonunda (0,547 ile 0,583) bulunmuştur. Bu sonuçlara göre çalışılan dört popülasyon içinde, Tekirdağ popülasyonundaki genetik çeşitliliğin en yüksek, Bursa popülasyonundaki genetik çeşitliliğin ise en düşük olduğu yorumunda bulunulabilir. Tekirdağ iline ait popülasyonların Türkiye'nin Avrupa ile köprü olacak lokasyonda konumlanmasından dolayı bir ihtimal Avrupa mandaları ile karışmış olabileceği tahmin edilmektedir. Bursa popülasyonu Marmara Bölgesi'nin daha güney kesiminde yer almaktadır. Bu konumundan dolayı manda yetiştiriciliğinin yapıldığı birçok ile olan yakınlığı dikkat çekmekte olup genetik çeşitliliğin az olmasının üretici tarafından yapılan hatalı uygulamalar, kontrolsüz çiftleşme gibi durumlardan etkisi altında olabileceği tahmin edilmektedir.

Bu tez çalışmasında hesaplanan heterozigotluk değerleri sonuçlarının Türkiye'de yapılan diğer çalışmalar ile karşılaştırıldığında benzerlikler görüldüğü belirlenmiştir (Soysal vd., 2007; Gargani vd., 2010; Ünal vd., 2014). Ünal vd. (2021)'nin yapmış oldukları çalışmada Türkiye'nin Güneydoğu Anadolu ve Doğu Anadolu bölgelerine gidildikçe heterozigotluk değerlerinin artmış olduğu gözlemlenmiştir. Bu bölgelerdeki manda yetiştiriciliğinin çiftçilerin geçimi bakımından önemini korumaya devam etmesi ve bu bölgelerin konum olarak Asya kıtasına olan yakınlığı da genetik çeşitliliğin fazla olmasına etken olarak gösterilebilir. Aynı çalışmada Marmara Bölgesi'nde çalışılan popülasyonlara ait sonuçların da benzer olduğu gözlemlenmiştir. Ülkemizde mandada yapılan genetik çalışmalara genel hatlarıyla bakıldığında, Türkiye'nin Asya ile Avrupa kıtaları arasında bir köprü oluşturması ve göç yolları ile evcilleştirme merkezlerine olan yakınlığı gibi sebepler, özellikle bu merkezlere coğrafi olarak sınır sayılan bölgelerde genetik çeşitliliğin daha fazla olduğu tahminini güçlendirmektedir. Asya kıtasında yapılan çalışmalardan elde edilen beklenen ve gözlenen heterozigotluklara ait ortalama değerler bu çalışma ile kıyaslandığında, bazı çalışmalarda mevcut tez çalışmasından yüksek oranda heterozigotlukların var olduğu gözlenirken (Kumar vd., 2006; Vijn vd., 2008; Mishra vd., 2009a), bazı çalışmalarda ise düşük oranlarda heterozigotluklar gözlemlenmiştir (Acosta vd., 2014; Ali vd., 2020; Saputra vd., 2020).

Özgün alleller, popülasyon genetiği çalışmalarında geniş popülasyonlara temsil eden örneklemelere özgü olan allel grupları olup, nesilden nesile aktarılan genetik yapı hakkında bilgi verdikleri bilinmektedir. Bu tez çalışmasında 20 farklı mikrosatellit lokusu ile çalışılmış

olup, çalışılan 20 lokustan 17'sinde toplamda 33 özgün allel gözlemlenmiştir. CSSM032, CSSM062, BMC1013, ETH10 lokuslarında 3'er, CSSM033, CSRM060, BRN, CSSM045, CSSM057, CSSM036, CSSM043, CSSM029 lokuslarında 2'şer, ILSTS005, CSSM022, ILSTS030, CSSME070 ve ETH121 lokuslarında ise 1'er özgün allel tespit edildi. İstanbul popülasyonundan diğer popülasyonlara oranla daha fazla bireyin örneklenmiş olmasının özgün allel sayısını da arttırmış olabileceği düşünülmektedir. Heterozigotluk değerleri sonuçlarında Tekirdağ popülasyonunun genetik çeşitliliğinin yüksek olduğu belirlenmesine karşın özgün allel içeriğinin düşük çıkmasında ilk sebep örneklenen birey sayısının azlığı, ikinci sebep ise örneklemenin yapıldığı lokasyonların yakın olması olarak gösterilebilir. Bu tez çalışmasında en fazla özgün allel sayısına sahip popülasyon, İstanbul popülasyonu (28 allel) olup, gözlenen özgün allellere ait frekanslar ise 0,005 ile 0,107 arasında değişim göstermiştir. İstanbul popülasyonunda özellikle CSSM045 (0,107), BMC1013 (0,063) ve ETH10 (0,072) lokuslarındaki allel frekansları %5'den büyük olduğu için popülasyonu belirleyici özellikte oldukları belirlenmiştir. Diğer popülasyonlarda gözlenen özgün allel sayıları sırasıyla, Tekirdağ popülasyonu için 2, Balıkesir popülasyonu için 2 ve Bursa popülasyonu için 1 olarak gözlemlenmiştir. Tekirdağ popülasyonun CSSME070 lokusuna ait allel frekans değeri 0,087 olarak hesaplanmış olup, bu lokusun Tekirdağ popülasyonunda ırk belirleyici özelliğe sahip olduğu belirlenmiştir.

Zhang vd. (2007)'nin Çin'in bataklık ve nehir mandaları üzerinde 18 popülasyondan örneklenmiş 933 birey üzerinde 30 mikrosatellit lokusu kullanarak yaptıkları çalışmada, 37 özgün allelin belirlendiği görülmüştür. Belirlenen özgün allellerin çalışılan 18 popülasyondan yalnızca 14'ünde görüldüğü bildirilmiştir. Bu durum kalan dört popülasyon Özgün allel sayısının popülasyonlara dağılımı ise Nili-Ravi (5), Murrah (3), Guizhoubai (3), Haizi (3) ve Xinfeng (11) olarak ifade edilmiştir. Ayrıca çalışılan 18 popülasyondan sadece 5 tanesinde özgün allel varlığının gözlemlendiği bildirilmiştir.

6.3. Çalışılan Popülasyonlardaki F Parametrelerine İlişkin Bulguların Değerlendirilmesi

Bu çalışmadaki popülasyonlara ait F_{IS} değerlerinin 0,11687 (İstanbul) ile 0,06258 (Bursa) arasında değişmiş olduğu belirlenmiştir. F_{IS} değeri 0'a yaklaştıkça popülasyondaki homozigot birey sayısının arttığı ve genetik çeşitliliğin de buna bağlı olarak azaldığı bilinmektedir. Tez çalışmamızdaki popülasyonlara ait heterozigotluk düzeylerine ait sonuçları hatırlayacak olursak, Bursa popülasyonunda heterozigotluk oranının düşük olduğu ve bununla bağlantılı olarak genetik çeşitliliğin de düşük olduğu bilgisi verilmişti. F_{IS} değeri sonuçlarına

göre Bursa popülasyonuna ait değerin (0,06258) de bu bilgiyi doğruladığını ancak bu sonucun Bursa popülasyonu için önemli olmadığını görmekteyiz. Bir popülasyonda homozigot birey sayısı arttıkça o popülasyonun genetik çeşitliliği azalma gösterecektir. İstanbul popülasyonunda da düşük oranda heterozigotluk saptanmış olup F_{IS} değerine ait bilgiler bu sonucu doğrulamıştır. İstanbul popülasyonundaki homozigot birey sayısının fazla oluşunun, örneklemenin yapıldığı lokasyonların birbirine olan yakınlığı, çoğunlukla aile tipi işletmelerde manda yetiştiriciliği yapılması ve bununla bağlantılı olarak kontrolsüz çiftleştirmelerin artmış olmasından kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir.

Gargani vd. (2010)'nin yapmış oldukları çalışmada F_{IS} değerine ait sonuçların 0,08 (Thural) ve 0,30 (Merzifon) arasında değişmekte olduğu ve bu değerlerin istatistiksel olarak anlamlı bulunduğu belirtilmiştir. Merzifon popülasyonu için mevcut homozigot fazlalığının akrabalı yetiştirme ile popülasyondaki erkek birey sayısının fazlalığından kaynaklanmış olabileceği düşünülmüş olup akrabalı yetiştiricinin en olası sebep sayıldığı bildirilmiştir. Bu tez çalışmasında da İstanbul popülasyonu için homozigot fazlalığının sebepleri arasında akrabalı yetiştiricinin de etkisi olabileceği gösterilmiş olup, örnek verilen çalışmanın da bu durumla benzerlik benzerliği dikkat çekmektedir.

Bu tez çalışmasında popülasyonlar arası farkın önemli olup olmadığını anlamak için F_{ST} değerleri hesaplanmıştır ve bu değerlere önemlilik testi yapılmıştır. Önemlilik testi sonuçlarına göre F_{ST} değerleri incelendiğinde Tekirdağ-Balıkesir ikili karşılaştırması dışında geri kalan popülasyonların tamamının önemli olduğu belirlenmiştir. Bu çalışmada F_{ST} değerleri 0,00722 ile 0,04832 arasında değişmiştir. F_{ST} değerleri 0 ile 0,05 arasında değerler aldığı çalışılan popülasyonlarda çok az bir genetik farklılaşmanın var olduğu yorumu yapılabilmektedir.

Gargani vd. (2010)'nin yapmış oldukları çalışmada popülasyonlar arası farklılıklara ait F_{ST} değerleri Afyon-Coşkun popülasyonları arasında 0,005; Merzifon-Danamandıra popülasyonları arasında 0,123 olarak bulunmuştur. Ortalama genetik farklılaşmanın 0,062 olarak hesaplandığı çalışmada orta düzeyde bir genetik farklılaşmanın mevcut olduğu gözlemlenmiştir. Yapılan tez çalışması ile kıyaslandığında F_{ST} değerinin bu çalışmada 1'e daha yakın olarak bulunması dikkat çekmekte olup, bu durumun çalışılan popülasyon sayısının fazlalığından dolayı bireylerin ortak atadan gelme ihtimalinin azalmış olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Joshi vd. (2012)'nin Hindistan'a özgü Uttar Pradesh ve Murrah manda ırklarında yaptıkları bir çalışmada, ortalama F_{ST} değeri 0,092 olarak

hesaplanmış olup, orta düzeyde bir genetik farklılaşma olduğu bildirilmiştir. Bu çalışma ile kıyaslandığında Asya kıtasına ait ırklarda genetik farklılaşmanın daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Yousefi vd. (2019)'nin İran mandalarında yaptıkları benzer bir çalışmada, ortalama F_{ST} değeri 0,01 olarak hesaplanmış olup, çalışılan populasyonlarda düşük bir genetik farklılaşma olduğu bildirilmiştir. Mevcut tez çalışması ile kıyaslandığında İran manda nüfusu ile genetik farklılaşma açısından benzerliklerin olduğu görülmektedir.

6.4. Faktöriyel Benzerlik Analizi (Factorial Correspondence Analysis-FCA)'ne İlişkin Bulguların Değerlendirilmesi

Bu çalışmada faktöriyel birleştirici analiz sonucuna göre Tekirdağ ve Balıkesir populasyonlarına ait bireylerin karışmış ve ortada yer aldığı görülmektedir. İstanbul ve Bursa populasyonlarına ait bireylerin ise, farklı eksenlerde gruplandığı grafik üzerinde görülmüş olup, bu populasyonlardaki bireylerin Tekirdağ ve Balıkesir populasyonlarındaki bireylere oranla daha net olarak birbirinden ayrılıp kümelendiği gözlemlenmiştir. Ancak çalışılan dört populasyondan bireylerin düzlemin orta kısmında kesiştiği gözlemlenmiş olup ve bu populasyonların karışmış olabilecekleri düşünülmektedir. F_{ST} değerinde bulunan çok az miktardaki genetik farklılaşmanın bu düşüncüyü desteklediği belirlenmiştir. Türkiye'de yapılan çalışmalarda da bu tez çalışmasına benzer sonuçlara ulaşılmış olduğu gözlemlenmiştir. Ünal vd. (2014)'nin yaptıkları çalışmada Faktöriyel Birleştirici Analiz sonuçlarına göre çalışılan populasyonların farklı coğrafi bölgelerde yer almalarına rağmen bir noktada karışmış olduğu ve genetik mesafe olarak çok da uzak olmadıkları bildirilmiştir.

Asya kıtasında yapılan bir çalışmada Hindistan'ın Uttar Pradesh ve Murrah manda populasyonları üzerinde çalışılmış olup Faktöriyel Birleştirici Analiz sonucuna göre, iki populasyonun da ayrı olarak kümelendiği, genetik bir karışımın olmadığı bildirilmiştir. Bu sonucun mevcut tez çalışmasıyla benzer olmadığı gözlemlenmiş olup, Asya kıtasında genetik çeşitliliğin yüksek olduğuna yönelik düşünce güçlenmiştir (Joshi vd,2012).

Attia vd. (2014)'nin Mısır Nil Deltası'nda bulunan manda ırkları üzerinde yaptıkları bir araştırmada 312 birey örneklenmiş olup 9 lokus ile çalışılmıştır. Yapılan Faktöriyel Birleştirici Analiz sonucuna göre çalışılan 6 farklı populasyonun karışmış ve ortada yer aldığı bu sebeple çok düşük bir genetik farklılaşmanın mevcut olduğu bildirilmiştir.

6.5. Irklar Arası Genetik Uzaklık Metoduna İlişkin Bulguların Değerlendirilmesi

6.5.1. Nei Standart Genetik Uzaklık Metodu (Ds)

Bu çalışmada Nei'nin standart genetik uzaklık metoduna göre hesaplanan genetik uzaklıklar incelendiğinde; çalışılan irklar içerisinde en yüksek genetik uzaklık değerinin İstanbul ile Bursa populasyonları arasında olduğu (0,099) belirlenmiştir. Populasyonlar arasında en düşük genetik uzaklık değerinin ise Tekirdağ ile Balıkesir arasında olduğu (0,0484) belirlenmiştir. Çizilen ağaçta "0,1" şeklinde belirtilen birim parça, aslında genetik değişkenliği ifade etmektedir. Yani ağaç yatayda 0,1 birim uzadığında genetik değişkenlik de artmış olmaktadır. Çizilen ağaca göre, İstanbul ve Tekirdağ populasyonlarının coğrafi konumlarından dolayı aynı yerden dallanmış oldukları ancak İstanbul populasyonunda genetik çeşitliliğin Tekirdağ'a oranla daha fazla olduğu görülmüştür. Balıkesir populasyonunun ise coğrafi konumundan dolayı çizilen ağaçta Tekirdağ iline daha uzakta olduğu ancak Tekirdağ ile Balıkesir populasyonlarının arasında düşük genetik farklılaşma olduğunu ifade etmektedir. Bursa populasyonu ile İstanbul populasyonunun ise genetik olarak birbirlerine uzak mesafede oldukları belirlenmiştir. Bulunan sonuçların Faktöriyel Benzerlik Analizi ile benzer olduğu dikkat çekmektedir.

6.5.2. D_A Genetik Uzaklık Metodu (Nei vd.,1983)

Nei'nin D_A genetik uzaklık ölçme metodu mikrosatellit lokuslarıyla yapılan genetik çeşitlilik çalışmalarında sıklıkla kullanılmaktadır. Bu tez çalışmasında Nei'nin D_A genetik uzaklık metoduna ait bulgular değerlendirildiğinde çalışılan populasyonlar içinde en yüksek genetik uzaklık değerinin Bursa-İstanbul (0,0979) populasyonları arasında gözlemlenmiştir. En düşük genetik uzaklık değerinin ise Balıkesir ve Tekirdağ (0,0558) populasyonları arasında görüldüğü belirlenmiştir. Belirtilen bu yakınlıktan sonra gelen en küçük genetik uzaklık değerinin ise Balıkesir-İstanbul populasyonlarına ait bireyler arasında (0,0586) olduğu gözlemlenmiştir.

D_A genetik uzaklık metoduna göre çizilen ağaca bakıldığında, İstanbul-Tekirdağ populasyonlarının coğrafi olarak yakın olmasından kaynaklanarak birbirine yakın konumda dallanmış oldukları gözlemlenmiştir. Bu durum, Faktöriyel Benzerlik Analizi (Factorial Correspondence Analysis-FCA) sonucu ile karşılaştırıldığında İstanbul ve Tekirdağ

populasyonunun yakın yerlerde gruplanmış olması ancak İstanbul populasyonunun büyük çoğunluğunun ayrı bir küme oluşturduğu gözlemlenmiş olup bu durumun Nei'nin D_A genetik uzaklık metodu sonuçlarıyla uyum içinde olduğu söylenebilmektedir. Bursa ve İstanbul populasyonunun D_A genetik uzaklık metoduna göre çizilen topolojik ağaçtaki sonuçlarına bakıldığında, Bursa populasyonunun tek başına ve İstanbul populasyonuna yakın olarak dallanmış olduğu gözlemlenmiş olduğu, Bursa populasyonunun ağaçtaki dal uzunluğunun İstanbul ile yakın olduğu dikkat çekmektedir. Bu durumun sebebi yine Faktöriyel Benzerlik Analizi (Factorial Correspondence Analysis-FCA) sonuçları ile birlikte değerlendirildiğinde, İstanbul ile Bursa populasyonunun ayrı ayrı kümelendiği ancak çok az da olsa bireylerin birbiriyle karışmış olduğu noktaların var olması ile açıklanabilir. Bu tez çalışmasında yapılan F_{ST} analizi sonuçları çizilen ağaç ile karşılaştırıldığında Bursa-İstanbul populasyonu arasında hemen hemen orta düzeye yakın bir genetik farklılaşmanın olduğu, Balıkesir-Tekirdağ populasyonları arasında düşük bir genetik farklılaşma olduğu ancak bunun istatistiksel olarak anlamlı bulunmadığı ve bu sonuçların çizilen ağaca ait sonuçları desteklediği gözlemlenmiştir. Türkiye'de yapılan benzer çalışmalarda kullanılan mikrosatellit lokusu sayısı ile çalışılan birey sayısı değişkenlik gösterdiği için birbirine yakın ancak farklılık gösteren genetik uzaklık sonuçlarına ulaşılmıştır. Ünal vd. (2014)'nin yapmış oldukları çalışmada Nei'nin D_A genetik uzaklık metoduna göre en az genetik mesafe Trakya ve Karadeniz manda populasyonları arasında (0,02194) gözlemlenmiş olup, bu iki populasyonun en benzer populasyonlar olduğu belirlenmiştir. Mevcut tez çalışmasında da en az genetik mesafe Tekirdağ-Balıkesir populasyonları arasında yanı Batı Marmara ve Güney Marmara kesimlerinde gözlemlendiğinden dolayı bu iki kesimde genetik yapının birbirine yakın olduğu tahmini güçlenmektedir.

Dünya'da yapılan çalışmalara bakıldığında Nei'nin genetik uzaklık metodlarının yanında pek çok farklı metodun da genetik uzaklıkları değerlendirmek için kullanıldığı gözlemlenmiştir.

Arora vd (2004)'nin Bhadawari ve Tarai manda ırklarında 40 birey örnekleyerek yaptıkları bir çalışmada 22 lokus kullanılmıştır. Nei'nin standart genetik mesafe analizi kullanılarak hesaplanan genetik uzaklık değeri sonucuna göre Bhadawari ve Tarai manda populasyonları (0,155) arasında orta düzeyde bir genetik farklılaşma olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmadaki sonuçlar mevcut tez çalışması ile karşılaştırıldığında, daha az birey ile çalışılmasına rağmen, genetik uzaklık sonuçlarının daha yüksek olduğu dikkat çekmektedir.

Saputra vd. (2020)'nin Endonezya bataklık mandalarına ait yedi populasyonda yaptıkları benzer bir çalışmada 199 birey örneklenmiş olup 3 lokus ile çalışılmıştır. Nei'nin genetik mesafeler analizi sonucuna göre Endonezya bataklık mandalarında genetik uzaklık değerlerinin 0,021 ile 0,168 arasında değiştiği ve North Sumatra ve Riau populasyonlarının genetik olarak en yakın, North Sumatra ve Banten populasyonlarının ise genetik olarak en uzak populasyonlar oldukları bildirilmiştir. Bu çalışmada çalışılan birey sayısı ile mikrosatellit lokusu sayısı mevcut tez çalışmasından düşük olarak gözlemlenmiş olup, genetik olarak en uzak mesafelerin Türkiye'de bulunan sonuçlardan fazla olduğu dikkat çekmektedir. North Sumatra-Banten populasyonlarının birbirine olan coğrafi uzaklığı tıpkı bu tez çalışmasındaki Bursa-İstanbul populasyonu gibi bu duruma etki etmiş olabilir.

6.6. Temel Bileşenler Analizi (Principal Component Analysis-PCA)'ne İlişkin Bulguların Değerlendirilmesi

Bu tez çalışmasında 20 mikrosatellit lokusunun çalışılması sonucu elde edilen 179 allele ait allel frekansı sonuçlarından yola çıkarak Temel Bileşenler Analizi (Principal Component Analysis-PCA) yapılmıştır. Çalışmada kullanılan mikrosatellit lokus sayısı fazla olduğu için 3 eksenli (3 temel bileşen) bir görünüm elde edilmiştir. Analiz sonucunda çizilen düzleme göre, Balıkesir populasyonunun ortada ve karışmış olarak yer aldığı düşünülmekte olup, Tekirdağ populasyonu ile olan yakınlığı dikkat çekmiştir. Bu sonuçların Faktöriyel Benzerlik Analizi (Factorial Correspondence Analysis-FCA) ile uyumlu olduğu gözlemlenmiştir. İstanbul ile Tekirdağ populasyonlarının aynı ekseninde farklı konumlarda bulunduğu belirlenmiş olup, bu durumun iki populasyonun coğrafi olarak yakın konumda yer alması ile ilişkili olabileceği düşünülmüştür. Bursa populasyonunun diğer populasyonlardan ayrı bir ekseninde ve uzak konumda yer aldığı gözlenmekte olup bu sonucun yine Faktöriyel Benzerlik Analizi (Factorial Correspondence Analysis-FCA) ile genetik uzaklık tahminleri ile uyumlu olduğu gözlemlenmiştir. Türkiye'de yapılan benzer çalışmalara bakıldığında, Gargani vd. (2010)'nin yapmış olduğu çalışmada, çalışılan 155 hayvan arasındaki ikili genetik uzaklıklar üzerine bir Temel bileşenler analizi yapılmış olup bir koordinat düzleminde gösterilmiştir. Merzifon populasyonunun bu analiz sonunda en yüksek farklılaşmayı gösterdiği, Danamandıra populasyonunun bazı bireylerinin açıkça ayrılmış olduğu belirlenmiştir. Buna karşılık Afyon, Coşkun, Pazar ve Thural populasyonları tek bir kümeyi temsil etmişlerdir. Analiz sonunda Merzifon ve Danamandıra populasyonları arasında yüksek bir farklılaşma mevcut olduğu belirlenmiş olup, Coşkun populasyonunun ise diğer

populasyonlara dağılmış halde olduğu bildirilmiştir. Bu çalışma mevcut tez çalışmasıyla kıyaslandığında, Türkiye'deki mandalarda genetik olarak bir karışımın var olduğu, ancak çalışılan örneklerin toplandığı illerin birbirine olan coğrafi uzaklığı, örneklerin alındığı işletme tipi gibi etkenlerin bu karışımın hangi oranlarda meydana geldiğini etkilemiş olabileceği düşünülmektedir.

Dünya literatüründe yapılan benzer çalışmalara baktığımızda, Çin'e özgü bataklık ve nehir manda ırkları üzerinde 30 mikrosatellit lokusu ile yaptıkları benzer bir çalışmada Nei'nin genetik mesafe ölçümlerine dayanarak yapılan hesaplamaların Temel Bileşenler Analizi ile desteklendiği belirtilmiştir. Bu analize göre Dehong manda populasyonunun diğer populasyonlardan belirgin derecede ayrıldığı bildirilmiştir (Zhang vd., 2007). Bu tez çalışmasında yapılan Temel Bileşenler Analizi'ne ait sonuçlarında Nei'nin genetik mesafeler analizleriyle desteklendiği ve bu yönden dünyadaki çalışmalarla benzer olduğu gözlemlenmiştir.

6.7. Allellerin Paylaşım Uzunluklarının Ölçümü (Allele Sharing Distance)'ne Ait Bulguların Değerlendirilmesi

Bu çalışmada allel paylaşım uzunlukları baz alınarak oluşturulan Komşu Birleştirme Ağacı (Neighbor Joining Tree) metoduna göre, aynı illere ait populasyonların çoğunlukla birlikte dallandığı gözlemlenmiştir. Ayrıca İstanbul ve Bursa populasyonlarının birbirinden ayrılmış halde dallanmış oldukları belirlenmiştir. Hatta İstanbul ve Bursa illerine ait populasyonlar ile Tekirdağ ve Balıkesir illerine ait populasyonlardaki bireylerin bazı noktalarda allel paylaşım uzunlukları yönünden benzerlik göstermiş olup, karışmış olarak dallandığı gözlemlenmiştir. Bu sonuçların Faktöriyel Benzerlik Analizi ve Nei'nin genetik mesafeler analizi sonuçları ile olan uyumu dikkat çekmektedir. Türkiye'de yapılan benzer çalışmalara bakıldığında; Ünal vd. (2014)'nin yapmış oldukları çalışmada allel paylaşım uzunlukları temel alınarak çizilen komşu birleştirme ağacına göre, aynı coğrafi bölgelerden çalışılan bireyler arasında yüksek genetik benzerlik bildirilmiştir. Hatta farklı coğrafi bölgelerden bireyler arasında da allel paylaşım uzunlukları yönünden benzerlikler belirtilmiştir. Çalışılan populasyonların temelde genetik açıdan çok tutarlı bir farklılaşma göstermediği bildirilmiştir. Örnek verilen çalışmanın mevcut tez çalışmasındaki sonuçlar ile benzerliği dikkat çekmektedir.

Joshi vd. (2012)'nin yaptıkları benzer bir çalışmada Nei'nin D_a genetik mesafeler analizi ve allel paylaşım mesafelerine dayanan filogenetik analiz sonucunda bir komşu birleştirme ağacı çizilmiştir. Bu ağaca göre Uttar Pradesh ve Murrah populasyonlarının ayrı şekilde kümelendiğini, Tarai ve Bhadawari populasyonlarındaki bireylerin ise birlikte kümelendiği bildirilmiştir. Yakın coğrafi konumdaki bireylerin bir arada kümeleneş olmasının bu tez çalışmasındaki sonuçlar ile olan benzerliğı dikkat çekmiştir. Ancak çalışılan birey ve lokus sayısının bu tez çalışmasından fazla olduğı gözlemlenmiştir.



7. SONUÇ

Marmara Bölgesi manda populasyonlarında mikrosatellit işaretleyiciler kullanarak genetik çeşitliliğin hesaplanmasına yönelik gerçekleştirdiğimiz çalışmanın sonuçları özetlenecek olursa;

1. Bu çalışmanın Marmara Bölgesi'ndeki mandalarda genetik çeşitlilik üzerine yapılan ilk çalışma olduğu belirlenmiştir.
2. Yapılan literatür taramalarına göre Türkiye'de mandalarda genetik çeşitlilik üzerine yapılmış mevcut çalışmaların az oluşu dikkat çekmiştir.
3. Dünya'da yapılan diğer çalışmalar ile kıyaslandığında Türkiye'deki mevcut genetik varyasyonun azalmış olduğu gözlemlenmiştir.
4. Bu çalışmada Marmara Bölgesi'nin dört farklı ilinden (İstanbul, Tekirdağ, Balıkesir ve Bursa) toplamda 223 birey örneklenmiş olup, 20 mikrosatellit lokusu ile çalışılmıştır.
5. Çalışılan illere ait populasyonların ortalama allelik içerikleri en yüksek İstanbul ili populasyonunda en düşük ise Bursa ili populasyonunda gözlemlenmiş olup bu sonuca göre en yüksek genetik çeşitliliğin İstanbul ilinde en düşük genetik çeşitliliğin ise Bursa ilinde olduğu belirlenmiştir Bu duruma sebep olarak ise iki ile ait populasyonlarda eşit sayıda birey ile çalışılmamış olması da gösterilebilir.
6. Bu tez çalışmasında kullanılan mikrosatellit lokusu sayısı ile birey sayısına karşın allel sayısının azlığı, çalışılan populasyonlarda düşük genetik çeşitliliğin mevcut olduğunu göstermektedir.
7. Çalışılan populasyonlara ait heterozigotluk değerlerine bakıldığında, en yüksek değerlerin Tekirdağ, en düşük değerlerin ise Bursa populasyonunda görüldüğü bulunmuştur.
8. Yapılan F_{ST} testi sonuçlarına göre, çalışılan populasyonlarda düşük miktarda da olsa genetik çeşitliliğin var olduğu belirlenmiştir.
9. Bu tez çalışması sırasında taranan literatür verilerine baktığımızda Türkiye'de mikrosatellit işaretleyiciler kullanılarak en fazla sığır, koyun ve keçi gibi çiftlik hayvanlarında çalışmaların mevcut olduğu gözlemlenmiş olup, mandada sadece 4 çalışmanın yapıldığı belirlenmiştir.

Türkiye’de çiftlik hayvanları üzerindeki genetik çalışmalar çoğunlukla koyun, keçi ve sığır gibi hayvanlar üzerinde yapıldığı için Anadolu mandasında yapılan çalışmaların sayıca yetersiz olduğu gözlemlenmiştir.

Gelişmekte olan moleküler genetik teknikler de göz önüne alındığında Anadolu mandası üzerinde daha fazla çalışmanın yapılmasıyla birlikte, bu populasyonların genel yapısı ve evrimsel geçmişi hakkında daha fazla bilgi edinilebileceği yorumu yapılabilmektedir.



KAYNAKLAR

- Abdelmanova, A. S., Kharzinova, V. R., Volkova, V. V., Mishina, A. I., Dotsev, A. V., Sermyagin, A. A., ... ve Zinovieva, N. A. (2020). Genetic Diversity of Historical and Modern Populations of Russian Cattle Breeds Revealed by Microsatellite Analysis. *Genes*, 11(8), 940.
- Abou-Bakr, S., Ibrahim, M. A. M., Hafez, Y. M., Attia, M., Abdel-Salam, S. M., ve Mekkawy, W. (2012). Genetic characteristics of Egyptian buffalo using DNA microsatellite markers. *Egyptian J. Anim. Prod.*, 49(2), 121-126.
- Acosta, A., Uffo, O., Sanz, A., Obregón, D., Ronda, R., Osta, R., Martin-Burriel, I., Rodellar, C., ve Zaragoza, P. (2014). Genetic characterization of Cuban water buffalo population using microsatellite DNA markers. *Buffalo Bull*, 33(1), 101-106.
- Agha, S. H., Pilla, F., Galal, S., Shaat, I., D'andrea, M., Reale, S., ve Li, M. H. (2008). Genetic diversity in Egyptian and Italian goat breeds measured with microsatellite polymorphism. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 125(3), 194-200.
- Ağaoğlu Korkmaz Ö., (2010). *Türkiyede'ki Bazı Yerli Keçi Irklarında Mikrosatellit Polimorfizminin Belirlenmesi*. Doktora Tezi. Ankara Üniversitesi, Ankara.
- Ağaoğlu, Ö. K., ve Ertuğrul, O. (2010). Mikrosatellitlerin önemi ve kullanım alanları. *Veteriner Hekimler Derneği Dergisi*, 81(1), 39-43.
- Ağaoğlu, Ö. K., ve Ertuğrul, O. (2012). Assessment of genetic diversity, genetic relationship and bottleneck using microsatellites in some native Turkish goat breeds. *Small Ruminant Research*, 105(1-3), 53-60.
- Ali, S. S., Kuralkar, S. V., Das, R., Raina, V., Kataria, R. S., ve Vohra, V. (2020). Assessment of genetic diversity and bottleneck in Purnathadi buffaloes using short tandem repeat markers. *Animal Biotechnology*, 1-12.
- Amano, T., Namikawa, T., ve Suzuki, S. (1980). Genetic differences between swamp and river buffaloes in the electrophoretic variations of albumin and transferrin. *Proceedings of the Japan Academy, Series B*, 56(7), 463-468.
- Aminafshar, M., Amirinia, C., ve Torshizi, R. V. (2008). Genetic diversity in buffalo population of guilan using microsatellite markers. *J Anim Vet Adv*, 7, 1499-1502.

- Ángel-Marín, P. A., Cardona, H., Moreno-Ochoa, M., ve Cerón-Muñoz, M. F. (2010). Analysis of genetic diversity in Colombian buffalo herds. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 23(4), 411-421.
- Anonim, 2004. *Yerli Hayvan Irk ve Hatlarının Tescili Hakkında Tebliğ* (2004/39). 12 Aralık 2004 Tarih ve 25668 Sayılı Resmi Gazete. Ankara.
- Arora, R., Lakhchaura, B. D., Prasad, R. B., Tantia, M. S., ve Vijh, R. K. (2004). Genetic diversity analysis of two buffalo populations of northern India using microsatellite markers. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 121(2), 111-118.
- Aşcıoğlu, F., Koluçak, T., Çetinkaya, Ü., ve Akyüz, F. (2002). Kapiller elektroforez teknolojisinin klinik ve adli amaçlı DNA analizlerinde kullanımı: geleneksel jel elektroforez yöntemi ile karşılaştırma. *Adli Tıp Der.*, 16(2-4), 88-93.
- Attia, M., Abou-Bakr, S., ve Nigm, A. A. (2014). Genetic differentiation and relationship among Egyptian Nile Delta located buffalo using microsatellite markers. *Egyptian J. Anim. Prod.*, 51(2), 71-77.
- Babar, M. E., Hussain, T., Nadeem, A., Jabeen, R., ve Javed, M. (2009). Genetic characterization of Azakheli buffalo breed of Pakistan using microsatellite DNA markers. *Pak J Zool.*, 9, 361-6.
- Barker, J. S. F. (1994). *A global protocol for determining genetic distances among domestic livestock breeds*. In Proceedings of the 5th world congress on genetics applied to livestock production (Vol. 21, pp. 501-508). Guelph and Ontario, Canada.
- Barker, J. S. F., Moore, S. S., Hetzel, D. J. S., Evans, D., Byrne, K., ve Tan, S. G. (1997). Genetic diversity of Asian water buffalo (*Bubalus bubalis*): microsatellite variation and a comparison with protein-coding loci. *Animal genetics*, 28(2), 103-115.
- Beckmann, J. S., ve Soller, M. (1990). Toward a unified approach to genetic mapping of eukaryotes based on sequence tagged microsatellite sites. *Bio/technology*, 8(10), 930-932.
- Beckmann, J. S., ve Weber, J. L. (1992). Survey of human and rat microsatellites. *Genomics*, 12(4), 627-631.
- Belkhir K., Borsa P., Chikhi L., Goudet J. and 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).

- Berik, N. (2002). *İşlenmiş ve İşlenmemiş Su Ürünlerinin Elektroforez Yöntemi İle Cinslerinin Tanımı* (doktora tezi). İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Botstein, D., White, R. L., Skolnick, M., ve Davis, R. W. (1980). *Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms*. American journal of human genetics, 32(3), 314.
- Bowcock, A. M., Ruiz-Linares, A., Tomfohrde, J., Minch, E., Kidd, J. R., ve Cavalli-Sforza, L. L. (1994). High resolution of human evolutionary trees with polymorphic microsatellites. *Nature*, 368(6470), 455-457.
- Boyce, W. M., Hedrick, P. W., Muggli-Cockett, N. E., Kalinowski, S., Penedo, M. C. T., ve Ramey, R. R. (1997). Genetic variation of major histocompatibility complex and microsatellite loci: a comparison in bighorn sheep. *Genetics*, 145(2), 421-433.
- Bruford, M. W., Bradley, D. G., ve Luikart, G. (2003). DNA markers reveal the complexity of livestock domestication. *Nature Reviews Genetics*, 4(11), 900-910.
- Bukhari, A., Ahmed, N., Khan, F., Shafique, M., ve Sahi, A. S. (2020). Assessment of genetic diversity and genetic characterization of Nili Ravi buffalo breed utilizing microsatellite markers. *Advancements in Life Sciences*, 7(4), 277-280,
- Chakraborty, R., Deka, R., Jin, L., ve Ferrell, R. E. (1992). Allele sharing at six VNTR loci and genetic distances among three ethnically defined human populations. *American journal of human biology*, 4(3), 387-397.
- Chen, Y. C., ve Li, X. H. (1989). *New evidence of the origin and domestication of the Chinese swamp buffalo (Bubalus bubalis)*. Buffalo Journal, 1, 51-55.
- Cockrill, W. R. (1981). *The water buffalo: a review*. British Veterinary Journal, 137(1), 8-16.
- Condit, R., ve Hubbell, S. P. (1991). Abundance and DNA sequence of two-base repeat regions in tropical tree genomes. *Genome*, 34(1), 66-71.
- Cornuet, J. M., ve Luikart, G. (1996). *Description and power analysis of two tests for detecting recent population bottlenecks from allele frequency data*. Genetics, 144(4), 2001-2014.

- Crow, J. F., ve Kimura, M. (1970). An introduction to population genetics theory. *An introduction to population genetics theory*, New York, ABD.
- Cruden, D. (1949). The computation of inbreeding coefficients: for closed populations. *Journal of heredity*, 40(9), 248-251.
- Cseke, L.J., Kirakosyan, A., Kaufman, P.B. ve Westfall, M.V., (2011). Determination of DNA Quality and Quantity. *Molecular and Cellular Methods in Biology and Medicine*. (3. Baskı) içinde (s. 20-23). Londra: CRC Press.
- Çalışkan, M., (2005) *RAPD Analizi ile Güllerde (Rosa Sp.) Genetik Tanımlama*, (doktora tezi), T.C. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Demir, E., ve Balcioğlu, M. S. (2019). Genetic diversity and population structure of four cattle breeds raised in Turkey using microsatellite markers. *Czech Journal of Animal Science*, 64(10), 411-419.
- Di, R., Farhad Vahidi, S. M., Ma, Y. H., He, X. H., Zhao, Q. J., Han, J. L., ve Pu, Y. P. (2011). Microsatellite analysis revealed genetic diversity and population structure among Chinese cashmere goats. *Animal genetics*, 42(4), 428-431.
- Di Rienzo, A., Peterson, A. C., Garza, J. C., Valdes, A. M., Slatkin, M., ve Freimer, N. B. (1994). *Mutational processes of simple-sequence repeat loci in human populations*. Proceedings of the National Academy of Sciences, 91(8), 3166-3170,
- Diez-Tascón, C., Littlejohn, R. P., Almeida, P. A. R., ve Crawford, A. M. (2000). Genetic variation within the Merino sheep breed: analysis of closely related populations using microsatellites. *Animal Genetics*, 31(4), 243-251.
- Dytham, C.(2003). *Choosing and Using Statistics: A Biologist's Guide* (2nd Ed.). Blackwell Publishing Company.
- Edwards, A., Civitello, A., Hammond, H. A., ve Caskey, C. T. (1991). DNA typing and genetic mapping with trimeric and tetrameric tandem repeats. *American journal of human genetics*, 49(4), 746.
- Elandt-Johnson, R. C. (1971). *Probability models and statistical methods in genetics*. New York, London, Sydney, Toronto: John Wiley ve Sons, Inc.

- FAO, (2011). FAO Tarafından Çiftlik Hayvanlarında Kullanımı Uygun Görülen Mikrosatellit İşaretleyiciler. (Erişim adresi, <http://www.fao.org/3/i2413e/i2413e00.pdf>). (Erişim tarihi, 1 Ekim 2020).
- FAO, (2020); Food and Agricultural Organization of the United Nations. FAOSTAT | © FAO Statistics Division. (Erişim adresi, <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QA>). Erişim tarihi, (1 Ekim 2020).
- Fatima, S. (2006). *Study of genetic variability among Gohilwadi, Surti and Zalawadi goats using microsatellite analysis* (Doctoral thesis), Anand Agricultural University, Anand.
- Flamand, J. R. B., Vankan, D., Gairhe, K. P., Duong, H., ve Barker, J. S. F. (2003). Genetic identification of wild Asian water buffalo in Nepal. *Animal Conservation*, 6(3), 265-270,
- Food and Agriculture Organization of the United Nations, (2019). Dünya’da Gıda Güvenliği ve Beslenme Durumu.
- Forbes, S. H., Hogg, J. T., Buchanan, F. C., Crawford, A. M., ve Allendorf, F. W. (1995). Microsatellite evolution in congeneric mammals: domestic and bighorn sheep. *Molecular Biology and Evolution*, 12(6), 1106-1113.
- Gargani, M., Pariset, L., Soysal, M. I., Özkan, E., ve Valentini, A. (2010). Genetic variation and relationships among Turkish water buffalo populations. *Animal genetics*, 41(1), 93-96.7
- Goldstein, D. B., Linares, A. R., Cavalli-Sforza, L. L., ve Feldman, M. W. (1995). *An evaluation of genetic distances for use with microsatellite loci*. *Genetics*, 139(1), 463-471.
- Goldstein, D. B., ve Pollock, D. D. (1997). Launching microsatellites: a review of mutation processes and methods of phylogenetic inference. *Journal of heredity*, 88(5), 335-342.
- Goudet J (2001). FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices. [<http://www2.unil.ch/popgen/softwares/fstat.htm>].
- Hartl, D.L. (1987). *A Primer of Population Genetics* (2nd edition). Sinauer Associates, Sunderland, 303.

- Hamrick, J. L., ve Godt, M. W. (1990). *Allozyme diversity in plant species*. Plant population genetics, breeding, and genetic resources., 43-63.
- Hedrick, P., Fredrickson, R., ve Ellegren, H. (2001). *Evaluation of d₂, a microsatellite measure of inbreeding and outbreeding, in wolves with a known pedigree*. *Evolution*, 55(6), 1256-1260,
- Heinrichs, E.A., Medrano, F.G., Rapusas, H.R. (1985) *Genetic evaluation for insect resistance in rice*. International Rice Research Institute, Manila, Philippines.
- Hussain, T., Babar, M. E., Ali, A., Nadeem, A., Rehman, Z. U., Musthafa, M. M., ve Marikar, F. M. (2017). Microsatellite based genetic variation among the buffalo breed populations in Pakistan. *Journal of Veterinary Research*, 61(4), 535-542.
- Iamartino, D., Bruzzone, A., Lanza, A., Blasi, M., ve Pilla, F. (2005). Genetic diversity of Southern Italian goat populations assessed by microsatellite markers. *Small Ruminant Research*, 57(2-3), 249-255.
- Jaayid, T. A., ve Dragh, M. A. (2013). Genetic biodiversity in buffalo population of Iraq using microsatellites markers. *Journal of Agricultural Science and Technology*. A, 3(4A), 297.
- Jin, M., Gou, C-L., Hu, J-H., Gao, W-B, Wang, W. (2006). Correlation Analysis of Economic Traits in Liaoning New Breed of Cashmere Goats Using Microsatellite DNA Markers. *Acta Genetica Sinica* **33**(3): 230-235.
- Jobling, M. A., Hurles, M., ve Tyler-Smith, C. (2019). Human evolutionary genetics: origins, peoples and disease. *Garland Science*.
- Joshi, J., Salar, R. K., Banerjee, P., Sharma, U., Tantia, M. S., ve Vijh, K. R. (2012). Comparative evaluation of Murrah breeds with buffaloes of Indo-Gangetic Plains. *DHR-IJBLS*, 3(1), 93-105.
- Kataria, R. S., Sunder, S., Malik, G., Mukesh, M., Kathiravan, P., ve Mishra, B. P. (2009). Genetic diversity and bottleneck analysis of Nagpuri buffalo breed of India based on microsatellite data. *Russian journal of genetics*, 45(7), 826.
- Kathiravan, P., Sadana, D. K., Mishra, B. P., Kataria, R. S., Kaur, P., Kumar, A., ve Jayaprakash, N. S. (2008). Survey and characterization of South Kanara buffaloes in

India. *Animal Genetic Resources/Recursos génétiques animales.Recursos genéticos animales*, 43, 67-77.

- Kathiravan, P., Kataria, R. S., Mishra, B. P., Dubey, P. K., Sadana, D. K., ve Joshi, B. K. (2011). Population structure and phylogeography of Toda buffalo in Nilgiris throw light on possible origin of aboriginal Toda tribe of South India. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 128(4), 295-304.
- Kefena, E., Rosenbom, S., Beja-Pereira, A., Kurtu, M. Y., Han, J. L., ve Dessie, T. (2021). Genetic diversity and population genetic structure in native Ethiopian donkeys (*Equus asinus*) inferred from equine microsatellite markers. *Tropical Animal Health and Production*, 53(3), 1-9.
- Khade, K. A., Panigrahi, M., Ahmad, S. F., Kumar, P., ve Bhushan, B. (2020). Genetic characterization and assessment of diversity in Pandharpuri buffalo breed of India using heterologous microsatellite markers. *Animal biotechnology*, 31(5), 426-431.
- Kudo, A. (1962). A method for calculating the inbreeding coefficient. *American journal of human genetics*, 14(4), 426.
- Kumar S, Dixit SP, Verma NK, Singh DK, Pande A, Kumar S, Chander R, Singh LB, (2009). *Genetic diversity analysis of the Gohilwari breed of Indian goat (Capra hircus) using microsatellite markers*. *American J Animal ve Vet Sci*, 4(3): 49-57.).
- Kumar, S., Gupta, J., Kumar, N., Dikshit, K., Navani, N., Jain, P., ve Nagarajan, M. (2006). Genetic variation and relationships among eight Indian riverine buffalo breeds. *Molecular ecology*, 15(3), 593-600.
- Künzler, P., Matsuo, K., ve Schaffner, W. (1995). Pathological, physiological, and evolutionary aspects of short unstable DNA repeats in the human genome. *Biological Chemistry Hoppe-Seyler*, 376(4), 201-224.
- Lebart, L., Morineau, A., Warwick, K. M. (1984) *Multivariate Descriptive Statistical Analysis*. John Wiley, New York.
- Li, W. (1997). *Molecular evolution*. Sinauer associates incorporated
- Li, Y. C., Korol, A. B., Fahima, T., ve Nevo, E. (2004). Microsatellites within genes: structure, function, and evolution. *Molecular biology and evolution*, 21(6), 991-1007.

- Litt, M., ve Luty, J. A. (1989). A hypervariable microsatellite revealed by in vitro amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene. *American journal of human genetics*, 44(3), 397.
- Liu, Z. W., Biyashev, R. M., ve Maroof, M. S. (1996). Development of simple sequence repeat DNA markers and their integration into a barley linkage map. *Theoretical and Applied Genetics*, 93(5-6), 869-876.
- Loukovitis, D., Siasiou, A., Mitsopoulos, I., Lymberopoulos, A. G., Laga, V., ve Chatziplis, D. (2016). Genetic diversity of Greek sheep breeds and transhumant populations utilizing microsatellite markers. *Small Ruminant Research*, 136, 238-242.
- Luikart, G., Allendorf, F. W., Cornuet, J. M., ve Sherwin, W. B. (1998). *Distortion of allele frequency distributions provides a test for recent population bottlenecks*. *Journal of heredity*, 89(3), 238-247.
- Luikart, G., ve England, P. R. (1999). Statistical analysis of microsatellite DNA data. *Trends in Ecology ve Evolution*, 14(7), 253-256.
- Marques, J. R. F., Martínez, A. M., Costa, M. R., Albuquerque, M. S. M., Quiroz, J., Plá, J. L. V., ve Bermejo, J. V. D. (2011). Genetic diversity of Brazilian buffaloes (*Bubalus bubalis*) using DNA microsatellites. *Archivos de zootecnia*, 60(232), 1213-1221.
- Maruyama, T., ve Yasuda, N. (1970). Use of graph theory in computation of inbreeding and kinship coefficients. *Biometrics*, 209-219.
- Mason, I.L. 1974. Species, types and breeds, in W.R. Cockrill (ed.) *The husbandry and health of the domestic buffalo*: 1-47. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Mateus, J. C., Penedo, M. C. T., Alves, V. C., Ramos, M., ve Rangel-Figueiredo, T. (2004). Genetic diversity and differentiation in Portuguese cattle breeds using microsatellites. *Animal Genetics*, 35(2), 106-113.
- Maudet C., Luikart G., Taberlet P., (2002). Genetic Diversity And Assigment Test Among Seven French Cattle Breeds Based On Microsatellite DNA Analysis. *Journal Of Animal Science*, 80, 942-950.

- Michelizzi, V. N., Dodson, M. V., Pan, Z., Amaral, M. E. J., Michal, J. J., McLean, D. J., Womack, J.E. ve Jiang, Z. (2010). *Water buffalo genome science comes of age*. *International journal of biological sciences*, 6(4), 333.
- Mishra, B. P., Singh, K. P., Chavan, D. B., Sadana, D. K., Katana, R. S., Kathiravan, P., ve Ahlawat, S. P. S. (2009a). Characterization of Banni buffalo of Western India. *Animal Genetic Resources/Resources génétiques animales/Recursos genéticos animales*, 44, 77-86.
- Mishra, B. P., Kataria, R. S., Kathiravan, P., Bulandi, S. S., Singh, K. P., ve Sadana, D. K. (2009b). Evaluation of genetic variability and mutation drift equilibrium of Banni buffalo using multi locus microsatellite markers. *Tropical animal health and production*, 41(7), 1203-1211.
- McMahon, C. R., Isagi, Y., Kaneko, S., Bowman, D. M., Brook, B. W., ve Bradshaw, C. J. (2013). Genetic structure of introduced swamp buffalo subpopulations in tropical Australia. *Austral Ecology*, 38(1), 46-56.
- Mokhtar, S. A., ve Merdan, S. M. (2020). Genetic Differentiation between Egyptian Buffalo Populations Using Microsatellite Markers. *Journal of Animal, Poultry ve Fish Production*, 8(1), 21-28.
- Moore, S. S., Evans, D., Byrne, K., Barker, J. S. F., Tan, S. G., Vankan, D., ve Hetzel, D. J. S. (1995). A set of polymorphic DNA microsatellites useful in swamp and river buffalo (*Bubalus bubalis*). *Animal Genetics*, 26(5), 355-359.
- Moxon, E. R., ve Wills, C. (1999). DNA microsatellites: agents of evolution?. *Scientific American*, 280(1), 94-99.
- Mullis, K. B. (1990). Target amplification for DNA analysis by the polymerase chain reaction. In *Annales de biologie clinique* (Vol. 48, No. 8, pp. 579-582).
- Nagarajan, M., Kumar, N., Nishanth, G., Haribaskar, R., Paranthaman, K., Gupta, J., ve Kumar, S. (2009). Microsatellite markers of water buffalo, *Bubalus bubalis*-development, characterisation and linkage disequilibrium studies. *BMC genetics*, 10(1), 1-7.
- Nagylaki, T. (1998). Fixation indices in subdivided populations. *Genetics*, 148(3), 1325-1332.

- Nei, M., Tajima, F., ve Tatenno, Y. (1983). *Accuracy of estimated phylogenetic trees from molecular data*. *Journal of molecular evolution*, 19(2), 153-170.
- Nei, M. (1987). *Molecular evolutionary genetics*. New York: Columbia University Press,
- Özkan, E. (2005). *Türkiye’de yetiştirilen yerli ve kültür sığır ırklarının genetik yapılarının mikrosatelitler ile incelenmesi*. Doktora Tezi. Trakya Üniversitesi, Tekirdağ, Türkiye.
- Pandey, A. K., Sharma, R., Singh, Y., Prakash, B. B., ve Ahlawat, S. P. S. (2006). Genetic diversity studies of Kherigarh cattle based on microsatellite markers. *Journal of genetics*, 85(2), 117-122.
- Pariset, L., Savarese, M. C., Cappuccio, I., ve Valentini, A. (2003). Use of microsatellites for genetic variation and inbreeding analysis in Sarda sheep flocks of central Italy. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 120(6), 425-432.
- Piry, S., Luikart, G., ve Cornuet, J. M. (1999). *Computer note. BOTTLENECK: a computer program for detecting recent reductions in the effective size using allele frequency data*. *Journal of heredity*, 90(4), 502-503.
- Plum, M. (1954). Computation Of Inbreeding And Relationship Coefficients: In Populations with a Relatively Small Number of Different Male Ancestors. *Journal of Heredity*, 45(2), 92-94.
- Popa, D. C., Dudu, A., Georgescu, S. E., Burcea, A., Popa, R. A., ve Vidu, L. (2018). Analysis of genetic diversity of Romanian buffalo—a preliminary study. *Biotechnol Lett*, 25(2), 1418-1423.
- Ramel, C. (1997). Mini-and microsatellites. *Environmental Health Perspectives*, 105(suppl 4), 781-789.
- Ramamoorthi, J., Thilagam, K., Sivaselvam, S. N., ve Karthickeyan, S. M. K. (2009). Genetic characterization of Barbari goats using microsatellite markers. *Journal of veterinary science*, 10(1), 73.
- Rohlf F.J. (1993). NTSYS-pc—Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System, Version 2.2. New York: Exeter Software.

- Röder, M. S., Plaschke, J., König, S. U., Börner, A., Sorrells, M. E., Tanksley, S. D., ve Ganal, M. W. (1995). Abundance, variability and chromosomal location of microsatellites in wheat. *Molecular and General Genetics MGG*, 246(3), 327-333.
- Röder, M. S., Korzun, V., Wendehake, K., Plaschke, J., Tixier, M. H., Leroy, P., ve Ganal, M. W. (1998). A microsatellite map of wheat. *Genetics*, 149(4), 2007-2023.
- Saadullah, M. (1998). Buffalo Production in the Tropics. *Bangladesh Agricultural University, Mymensingh, Bangladesh*.
- Saeed, A. F., Wang, R., ve Wang, S. (2016). Microsatellites in pursuit of microbial genome evolution. *Frontiers in microbiology*, 6, 1462.
- Saif, R., Babar, M. E., Awan, A. R., Nadeem, A., Hashmi, A. S., ve Hussain, T. (2012). DNA fingerprinting of Pakistani buffalo breeds (Nili-Ravi, Kundi) using microsatellite and cytochrome b gene markers. *Molecular biology reports*, 39(2), 851-856.
- Saitou, N., ve Nei, M. (1987). The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular biology and evolution*, 4(4), 406-425.
- Sambrook J, Fritsch E F ve Maniatis T (1989). *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. Vol 3. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York.
- Saputra, F., Jakaria, J., Anggraeni, A., ve Sumantri, C. (2020). Genetic Diversity of Indonesian Swamp Buffalo Based on Microsatellite Markers. *Tropical Animal Science Journal*, 43(3), 191-196.
- Soysal, M. İ., Gürcan, E. K., ve Özkan, E. (2003). Dünya’da ve Türkiye’de Çiftlik Hayvanları Genetik Çeşitliliğinin Korunması Sorunu GAP III. *Tarım Kongresi*, 2-3.
- Soysal, M. I., Ozkan, E., Kok, S., Occidente, M., Tuna, Y. T., Gurcan, E. K., ve Matassino, D. (2007). Genetic characterization of indigenous anatolian water buffalo breed using microsatellite dna markers. *Italian Journal of Animal Science*, 6(sup2), 409-412.
- Soysal, M.İ., (2009). *Manda Ve Ürünleri Üretimi (1. baskı)*. Tekirdağ, Türkiye.
- TAGEM, 2009. Türkiye Evcil Hayvan Genetik Kaynakları. 10 Temmuz, 2020, Erişim adresi Ankara.http://www.tagem.gov.tr/Yayin/Tagem_Ehgk_Katalog.Pdf.
- Takezaki, N., ve Nei, M. (1996). Genetic distances and reconstruction of phylogenetic trees from microsatellite DNA. *Genetics*, 144(1), 389-399.

- Taramino, G., ve Tingey, S. (1996). Simple sequence repeats for germplasm analysis and mapping in maize. *Genome*, 39(2), 277-287.
- Tautz, D. (1989). Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers. *Nucleic acids research*, 17(16), 6463-6471.
- Topaloğlu M. Ő., (2019). Türkiye’de Yetiştirilen Mandaların mtDNA D-Loop ve *Sitokrom B* Gen Blgeleri İle Genetik eŐitliliđinin Belirlenmesi (Yüksek Lisans Tezi). Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi, Tekirdağ.
- Toro, M. A., Fernández, J., ve Caballero, A. (2009). Molecular characterization of breeds and its use in conservation. *Livestock Science*, 120(3), 174-195.
- Triwitayakorn, K., Moolmuang, B., Sraphet, S., Panyim, S., Na-Chiangmai, A., ve Smith, D. R. (2006). Analysis of genetic diversity of the Thai swamp buffalo (*Bubalus bubalis*) using cattle microsatellite DNA markers. *Asian-australasian journal of animal sciences*, 19(5), 617-621.
- Uffo, O., Martínez, N., Acosta, A., Sanz, A., Martín-Burriel, I., Osta, R., ve Zaragoza, P. (2017). Analysis of microsatellite markers in a Cuban water buffalo breed. *Journal of Dairy Research*, 84(3), 289-292.
- n, C., Wimmers, K., Ponsuksili, S., Schmoll, F., Schellander, K. (2000). Mikrosatellitler ve kullanım alanları. *Hayvansal retim*, 41(1).
- nal, E. ., Soysal, M. İ., Ync, E., Dağtaş, N. D., ve Togan, İ. (2014). Microsatellite based genetic diversity among the three water buffalo (*Bubalus bubalis*) populations in Turkey. *Archiv. Fr. Tierzucht*, 57, 1-12.
- nal, E. ., IŞık, R., Şen, A., Geyik Kuş, E., ve Soysal, M. İ. (2021). Evaluation of Genetic Diversity and Structure of Turkish Water Buffalo Population by Using 20 Microsatellite Markers. *Animals*, 11(4), 1067.
- Van Hooft, W. F., Hanotte, O., Wenink, P. W., Groen, A. F., Sugimoto, Y., Prins, H. H. T., ve Teale, A. (1999). Applicability of bovine microsatellite markers for population genetic studies on African buffalo (*Syncerus caffer*). *Animal Genetics*, 30(3), 214-220.
- Vijh, R. K., Tantia, M. S., Mishra, B., ve Bharani Kumar, S. T. (2008). Genetic relationship and diversity analysis of Indian water buffalo (*Bubalus bubalis*). *Journal of animal science*, 86(7), 1495-1502.

- Weber, J. L. (1990). Informativeness of human (dC-dA) n·(dG-dT) n polymorphisms. *Genomics*, 7(4), 524-530,
- Weir B. S. ve Cockerham C. C. (1984) Estimating F statistics for the analysis of population Structure. *Evolution* 38: 1358-1370,
- Wright, S. (1965). The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating. *Evolution*, 395-420.
- Wright, S. (1969). *Evolution and the genetics of populations: Vol. 2. The theory of gene frequencies*.
- Wright, S. (1978) The Theory Of Gene Frequencies. Evolution And The Genetics Of Populations. *University Of Chicago Press*. Vol. 4.
- Yılmaz, O., Sezenler, T., Sevim, S., Cemal, I., Karaca, O., Yaman, Y., ve KARADAĞ, O. (2015). Genetic relationships among four Turkish sheep breeds using microsatellites. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 39(5), 576-582.
- Yousefi, D. M., Miraei, A. S. R., ve Sadeghi, M. (2019). Study of genetic diversity of Iranian indigenous buffalo populations using microsatellite markers. *Genetika*, 51(1), 147-155.
- Zhang, Y., Sun, D., Yu, Y., ve Zhang, Y. (2007). Genetic diversity and differentiation of Chinese domestic buffalo based on 30 microsatellite markers. *Animal Genetics*, 38(6), 569-575.
- Zhang, Y., Vankan, D., Zhang, Y., ve Barker, J. S. (2011). Genetic differentiation of water buffalo (*Bubalus bubalis*) populations in China, Nepal and south-east Asia: inferences on the region of domestication of the swamp buffalo. *Animal genetics*, 42(4), 366-377.

EKLER

Ek 1. İzin belgesi



TEKİRDAĞ NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ
ZİRAAT FAKÜLTESİ, ZOOTEKNİ BÖLÜMÜ
BİYOMETRİ GENETİK ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞI'NA

15.10.2019

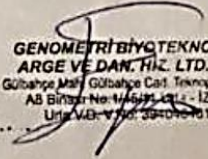
Genometri Biyoteknoloji Ar&Ge ve Danışmanlık Hizmetleri A.Ş. olarak Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootečni Bölümü Biyometri Genetik Anabilim Dalı öğretim üyelerinizden Prof. Dr. M. İhsan SOYSAL ve Doç. Dr. Emel ÖZKAN ÜNAL danışmanlığında yürütülen "Anadolu Mandasına Özgü Ebeveyn Kiti Oluşturulması- TAGEM-13/ARGE/29" isimli proje 01.07.2015 tarihinde başarı ile tamamlanmıştır. Proje kapsamında çalışılan manda popülasyonlarına ait 20 mikrosatellit bölgesine ait verilerin mevcut popülasyonların genetik çeşitliliğinin inceleneceği yüksek lisans çalışmasında ve araştırma makalesinde kullanılması tarafımızca uygun görülmektedir.

Genel Müdür

Mol. Biyolog, Elif GEYİK

Genometri Biyoteknoloji Ar&Ge ve

Danışmanlık Hizmetleri A.Ş.


GENOMETRİ BİYOTEKNOLOJİ
ARGE VE DAN. HİZ. LTD. ŞTİ.
Gülbağçe Mah. Gülbağçe Cad. Teknopark İzmir
AB Binası No:1/45/11 Kat: - İZMİR
Uric. MEB. V. No: 3940/0611

YENİ ADRESİMİZ
Gülbağçe Mah. Gülbağçe Cad.
Teknopark İzmir AB Binası
No:1/45/11 Uric. - İZMİR

GENOMETRİ BİYOTEKNOLOJİ AR & GE VE DANIŞMANLIK HİZMETLERİ LTD. ŞTİ.
İTÜ KOSGEB Tekmer B Blok Ayazağa Kampüsü No:7 A/2 Sarıyer - İSTANBUL T: +90 212 327 32 47 F: +90 212 327 32 48
www.genometri.com.tr • info@genometri.com.tr

ÖZGEÇMİŞ

Büşra ULUCUTSOY 1995 İstanbul, Eyüp’de doğdu. İlkokul, Ortaokul ve Lise eğitimini İstanbul’un Eyüp ilçesinde tamamlamıştır. 2013 yılında Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü’ne girdi, 2018 yılında mezun oldu. Aynı sene Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Zootekni Anabilim Dalı’nda yüksek lisans eğitimine başladı.

