

**TÜRKİYE'DE YETİŞTİRİLEN  
MANDALARIN mtDNA D-LOOP VE  
*SİTOKROM B* GEN BÖLGELERİ  
İLE GENETİK ÇEŞİTLİLİĞİN  
BELİRLENMESİ**

**ŞEREF M. TOPALOĞLU**

**Yüksek Lisans Tezi**

**Zootekni Anabilim Dalı**

**Danışman: Doç. Dr. Emel ÖZKAN ÜNAL**

**2019**

**T.C.**  
**TEKİRDAĞ NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**TÜRKİYE'DE YETİŞTİRİLEN MANDALARIN mtDNA D-LOOP VE *SİTOKROM B*  
GEN BÖLGELERİ İLE GENETİK ÇEŞİTLİLİĞİN BELİRLENMESİ**

**ŞEREF M. TOPALOĞLU**

**ZOOTEKNİ ANABİLİM DALI**

**DANIŞMAN: Doç. Dr. EMEL ÖZKAN ÜNAL**

**TEKİRDAĞ-2019**

**Her hakkı saklıdır.**

Doç. Dr. Emel ÖZKAN ÜNAL danışmanlığında, Şeref M. TOPALOĞLU tarafından hazırlanan “Türkiye’de Yetiştirilen Mandaların mtDNA D-loop ve *Sitokrom b* Gen bölgeleri ile Genetik Çeşitliliğin Belirlenmesi” isimli bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından Zootekni Ana Bilim Dalı’nda Yüksek Lisans tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı: Prof. Dr. M. İhsan SOYSAL

*İmza:*

Üye: Prof. Dr. Cengiz ELMACI

*İmza:*

Üye: Doç. Dr. Emel ÖZKAN ÜNAL

*İmza:*

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu adına

Doç. Dr. Bahar UYMAZ

**Enstitü Müdürü**

## ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

### TÜRKİYE’DE YETİŞTİRİLEN MANDALARIN mtDNA D-LOOP VE *SİTOKROM B* GEN BÖLGELERİ İLE GENETİK ÇEŞİTLİLİĞİN BELİRLENMESİ

ŞEREF M. TOPALOĞLU

Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Zootekni Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Emel ÖZKAN ÜNAL

Bu çalışmada, Türkiye’nin 6 bölgesinden toplanan 16 farklı manda popülasyonunda mtDNA D-loop ve *Cyto-b* gen bölgesi çeşitlilikleri, popülasyonlar arası farklılıklar ve bu popülasyonların coğrafi dağılımları ile olan ilişkisinin ortaya konulması amaçlanmıştır. Bölgeler bazında en yüksek haplotip çeşitliliği  $H=0.934 (\pm 0.024)$  değeri ile İç Anadolu bölgesi popülasyonlarında olduğu belirlenmişken, en düşük haplotip çeşitliliği ise  $0.910 (\pm 0.036)$  değeri ile Doğu/Güney Doğu Anadolu bölgesi popülasyonlarında gözlenmiştir. Bölgelere göre nükleotid çeşitliliği sonuçları değerlendirildiğinde ise, en yüksek değer Marmara/ Ege bölgesi popülasyonlarında  $0,00908 (\pm 0.00073)$ , en düşük değerin ise Karadeniz bölgesi popülasyonlarında  $0.00634 (\pm 0.0073)$  olduğu gözlenmiştir. Tüm veriler birlikte değerlendirildiğinde, D-loop bölgesinin, *Cyto b* gen bölgesinden daha yüksek mutasyona sahip olduğu ve bu bölgenin Türkiye manda popülasyonlarındaki genetik çeşitliliğin tanımlanmasında daha detaylı bilgi verebileceği belirlenmiştir. mtDNA üzerindeki iki ayrı bölge sonuçları incelendiğinde, Türkiye’de yetiştirilen mandaların iki ayrı farklı manda grubundan köken aldığı belirlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** *Bubalus bubalis*, manda, mtDNA, D-loop, *sitokrom b*, genetik çeşitlilik

2019, 86 sayfa

## ABSTRACT

MSc. Thesis

### DETERMINATION OF GENETIC DIVERSITY BY mtDNA D-LOOP AND CYTOCHROME B GENE REGIONS OF WATER BUFFALO REARED IN TURKEY

ŞEREF M. TOPALOĞLU

Tekirdağ Namık Kemal University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Animal Science

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. EMEL ÖZKAN ÜNAL

This study aimed to reveal the genetic diversity among the sub-population of Turkey's water buffalo population (*Bubalus bubalis*) and relationship between the distribution of polymorphic variants and geographical regions with respect to mtDNA D-loop and cyto-b gene regions. Experimental material of genetic characterization were consisted of 197 blood samples obtained from 16 provinces of 6 geographical regions of Turkey. According to the results of the mtDNA D loop gene region, the highest haplotype variance observed was  $H = 0.934 (\pm 0.024)$  in Central Anatolian populations, while the lowest haplotype diversity was  $0.910 (\pm 0.036)$  in Eastern / South Eastern Anatolian populations. When the results of nucleotide diversity according to gene regions were evaluated, it was observed that the highest value was  $0.00908 (\pm 0.00073)$  in the population of Marmara / Aegean region and  $0.00634 (\pm 0.0073)$  in the Black Sea region populations. When all the result are evaluated together, the D-loop region showed more higher mutation of the gene regions comparing with cyto-b region and it's concluded that d-loop gene region have more potential informatic content in Turkey's water buffalo population. The maternal inheritance of water buffalo populations had shown that there were two distinct mitochondrial lineages in Turkey.

**Keywords:** *Bubalus bubalis*, water buffalo, mtDNA, D-loop, *cytochrome b*, genetic diversity

**2019, 86 pages**

## İÇİNDEKİLER

<b>ÖZET</b> .....	<b>i</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>ii</b>
<b>İÇİNDEKİLER TABLOSU</b> .....	<b>iii</b>
<b>ÇİZELGE DİZİNİ</b> .....	<b>iv</b>
<b>ŞEKİL DİZİNİ</b> .....	<b>v</b>
<b>SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ</b> .....	<b>vii</b>
<b>1.GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
<b>2.KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ÖZETLERİ</b> .....	<b>6</b>
2.1.Manda ( <i>Bubalus Bubalis</i> ) Hakkında Genel Bilgiler, Sınıflandırması ve Kökeni.....	6
2.2.Yabani Manda Irkları.....	11
2.2.1.Afrika Yabani Mandaları ( <i>Syncerus caffer</i> ) .....	11
2.2.2. Asya Mandaları ( <i>Bubalus Bubalis</i> ) .....	13
2.3.Mitokondrial Dna (Mtdna) Çalışmaları.....	19
<b>3. MATERYAL VE YÖNTEM</b> .....	<b>29</b>
3.1 Anadolu Mandası Örnekleme ve DNA İzolasyonu.....	29
3.2. DNA'ların Yoğunluğunun, Saflığının ve Bütünlüğünün Kontrolü .....	32
3.3. mtDNA D-loop ve <i>Cyto b</i> Gen Bölgesi Çalışılmasına İlişkin Metotlar .....	32
3.3.1. mtDNA D-loop Bölgesinin Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ile Yükseltgenmesi ..	32
3.3.2. mtDNA <i>Cyto-b</i> Bölgelerinin Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ile Yükseltgenmesi .	36
3.3.3. mtDNA D- loop ve <i>Cyto b</i> Gen Bölgelerinin Dizilenmesi ve Verilerin Analizi.....	40
3.4. İstatistik Metodlar.....	41
3.4.1.Haplotip Çeşitliliği (HÇ): .....	41
3.4.2.Haplotip frekansı (HF): .....	42
3.4.3.Nükleotid Çeşitliliği (NÇ): .....	42
3.4.4. Filogenetik Analizler: .....	42
3.4.5.Nükleotid Yer Değiştirme Oranlarının Belirlenmesi: .....	43
3.4.6. Genetik Uzaklığın Ölçümü:.....	43
<b>4.BULGULAR</b> .....	<b>45</b>
4.1. DNA'ların Yoğunluğunun, Saflığının ve Bütünlüğünün Kontrolü .....	45
4.2. mtDNA D-loop ve <i>Cyto-b</i> Bölgelerinin Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile Yükseltgenmesi (PZR) .....	47
4.3. D-loop ve <i>Cyto-b</i> Bölgeleri Dizi Analizleri .....	49
4.4. mtDNA Verileri Analiz Sonuçları .....	54
4.4.1. mtDNA Kontrol Bölgesi (D-loop) Analiz Sonuçları.....	54
4.4.2. mtDNA <i>Cyto b</i> Bölgesi Analiz Sonuçları .....	74
<b>5. SONUÇ ve ÖNERİLER</b> .....	<b>85</b>
<b>KAYNAKLAR</b> .....	<b>87</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ</b> .....	<b>97</b>

## ÇİZELGE DİZİNİ

<b>Çizelge 1.1.</b> Kıtalara ve farklı ülkelere göre 1997-2017 yılları arasındaki değişim (FAO,2019)	2
<b>Çizelge 2.1.</b> Mandanın sistematikteki yeri	6
<b>Çizelge 2.2.</b> Bazı mandaların kromozom sayıları	7
<b>Çizelge 2.3.</b> Mandada yapılan mtDNA çalışmaları ve gözlenen haplotip sayıları	24
<b>Çizelge 3.1.</b> Örnekleme yapıldığı bölge, il, birey sayısı ve örneğin alındığı köyler	31
<b>Çizelge 3.2.</b> Proje kapsamında D-loop bölgesini yükseltgemedede kullanılan primerler	33
<b>Çizelge 3.3.</b> D-loop bölgesi PZR reaksiyonunda kullanılan kimyasal yoğunlukları	35
<b>Çizelge 3.4.</b> D-loop bölgesi PZR reaksiyonu yükseltgenme koşulları	36
<b>Çizelge 3.5.</b> Proje kapsamında <i>Cyto-b</i> bölgesini yükseltgemedede kullanılan primerler	36
<b>Çizelge 3.6.</b> <i>Cyto b</i> gen bölgesi PZR reaksiyonunda kullanılan kimyasal yoğunlukları	39
<b>Çizelge 3.7.</b> <i>Cyto b</i> gen bölgesi PZR reaksiyonu yükseltgenme koşulları	39
<b>Çizelge 4.1.</b> İncelenen popülasyonlarda mtDNA D-loop bölgesi çeşitliliği ile ilgili istatistiki değerler	56
<b>Çizelge 4.2.</b> Çalışma kapsamında incelenen 183 bireyden sadece bir bireyde görülen özgün haplotipler	58
<b>Çizelge 4.3.</b> Birden fazla bireyde görülen haplotiplerin sayısı (n)'nin bölge ve illere göre dağılımı	60
<b>Çizelge 4.4.</b> Tez çalışması kapsamında bölge grupları dikkate alınarak incelenen popülasyonlar için Nei'nin Dxy ve Da genetik mesafe ölçümü metotlarına göre elde edilen uzaklık matrisi (Dxy; sol aşağıya doğru mavi renkli, Da; sağ aşağıya doğru, kırmızı renkli)	64
<b>Çizelge 4.5.</b> Çalışılan popülasyonların $F_{ST}$ değerleri	65
<b>Çizelge 4.6.</b> İncelenen popülasyonlarda mtDNA <i>Cyto b</i> gen bölgesi çeşitliliği ile ilgili istatistiki değerler	75
<b>Çizelge 4.7.</b> Çalışma kapsamında incelenen 197 bireyden sadece bir bireyde görülen özgün haplotipler	77
<b>Çizelge 4.8.</b> Birden fazla bireyde görülen haplotiplerin sayısı (n)'nin bölge ve illere göre dağılımı	79
<b>Çizelge 4.9.</b> Tez çalışması kapsamında bölge grupları dikkate alınarak incelenen popülasyonlar için Nei'nin Dxy ve Da genetik mesafe ölçümü metotlarına göre elde edilen uzaklık matrisi (Dxy; sol aşağıya doğru mavi renkli, Da; sağ aşağıya doğru, kırmızı renkli)	81

## ŞEKİL DİZİNİ

Şekil 1. 1. 1997-2017 yılları arasındaki hayvan varlığı değişimi (TÜİK,2019) .....	3
Şekil 2.1. Manda ırkları ve sınıflandırılması .....	10
Şekil 2.2. Afrika Mandası ( <i>Syncerus caffer caffer</i> ).....	11
Şekil 2.3. Orman mandası ( <i>Forest Buffalo - Syncerus caffer nanus</i> ).....	11
Şekil 2.4. Sudan Mandası .....	12
Şekil 2.5. Orta Afrika Savanna Mandası .....	12
Şekil 2.7. Yabani manda ( <i>Bubalus arnee</i> ) .....	13
Şekil 2.8. Lowland Anoa .....	14
Şekil 2.9. Mountain anoa ( <i>Bubalus quarlesi-Berganoa</i> ) .....	14
Şekil 2.10. Tamaraw ( <i>Bubalus mindorensis</i> ) .....	15
Şekil 2.11 Manda mtDNA'sının gösterimi (Michelizzi ve ark., 2010).....	21
Şekil 2.12. 924 bç uzunluğundaki mtDNA kontrol bölgesi sekansları kullanılarak oluşturulan Medyan Birleştirme Ağı. ....	28
Şekil 3.1. Tez kapsamında çalışılan bireylerin Türkiye haritası üzerindeki dağılımları. ....	30
Şekil 3.2. Mandada ( <i>Bubalus bubalis</i> ) mtDNA/D-loop bölgesi (GenBank No:AF547270) nükleotit dizisi üzerinde kullanılan primerler .....	34
Şekil 3.3. Mandada ( <i>Bubalus bubalis</i> ) mtDNA/Cyto-b bölgesi (GenBank No:AF547270) nükleotit dizisi üzerinde kullanılan primerlerin gösterimi .....	38
Şekil 3.4. Çalışmada kullanılan PZR Cihazından Bir Görünüm .....	40
Şekil 4.1. Tez kapsamında çalışılan bireylere ait stok DNA 'lardan bazılarının % 0.8'lik agaroz jel görüntüsü .....	46
Şekil 4.2. Tez kapsamında çalışılan bireylere ait DNA 'lardan bazılarının sulandırma sonrası % 0.8'lik Agaroz jel görüntüsü (M: her sıranın sonunda 100bp DNA ladder, MBI Fermentas).....	46
Şekil 4.3. D-loop .....	48
Şekil 4.4. Muş 3 nolu bireyin D-loop I (a) ve D-loop II (b) bölgesi primerleri ile yükseltgenen bölgelerinin birleştirilmiş kromotogramının kısmi görüntüsü. ....	50
Şekil 4.5. Hizalanmış D-loop gen bölgesi dizisi. Farklı popülasyonlara ait hizalanmış dizilerin 120 baz çiftlik (bç)'lik bir bölümünü gösteren Bioedit (Hall, 1999) program görüntüsü.....	51
Şekil 4.6 Afyon ili 1 nolu bireyin <i>Cyto b I</i> (a) ve <i>Cyto b II</i> (b) gen bölgesi primerleri ile yükseltgenen bölgelerinin birleştirilmiş kromotogramının kısmi görüntüsü. Yukarı kısımda birleştirilmiş dizisi, birleştirilmiş dizisinin altında ise ileri ve geri sekans dizileri ayrı olarak verilmektedir.....	52
Şekil 4.7. Hizalanmış <i>Cyto - b</i> gen bölgesi dizileri kısmi olarak göstermektedir. ....	53
Şekil 4.8. Tez çalışması kapsamında seçilen bireylerin 4 farklı bölge olarak gruplandırılması. ....	54
Şekil 4.9. Haplotiplere ait nükleotit değişimlerinin gösterimi (Hap1→Hap35) .....	62
Şekil 4.10. Haplotiplere ait nükleotit değişimlerinin gösterimi (Hap36→Hap55) .....	63
Şekil 4.11. Nei'nin Dxy uzaklığına göre çizilen filogenetik ağaç.....	64
Şekil 4.12. Bölge grup popülasyonlarına ait $F_{ST}$ uzaklığı için NJ ağacı. ....	65
Şekil 4.13. 1084 bç uzunluğundaki mtDNA kontrol bölgesi sekansları kullanılarak oluşturulan Medyan Birleştirme Ağı. ....	69
Şekil.4.14 1084 bç uzunluğundaki mtDNA kontrol bölgesi sekansları kullanılarak oluşturulan Medyan Birleştirme Ağı II. grup örnekleri. ....	70



<b>Şekil. 4.15.</b> Türkiye'nin farklı bölgelerinden örneklenen populasyonlarda yapılan mtDNA D-loop bölgesi Komşu Birleştirme Ağacı. ....	71
<b>Şekil. 4.16</b> Türkiye'nin farklı bölgelerinden örneklenen populasyonlarda yapılan mtDNA D-loop bölgesi Komşu Birleştirme Ağacı I. Grup örnekleri. ....	73
<b>Şekil.4.17</b> Haplotiplere ait nükleotit değişimlerinin gösterimi (Hap1→Hap22) .....	80
<b>Şekil 4.18.</b> 1226 bç uzunluğundaki mtDNA <i>Cyto b</i> bölgesi sekansları kullanılarak oluşturulan Medyan Birleştirme Ağı. ....	82
<b>Şekil. 4.19.</b> Türkiye'nin farklı bölgelerinden örneklenen populasyonlarda yapılan mtDNA <i>Cyto b</i> bölgesi Komşu Birleştirme Ağacı. ....	83

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

A :	Adenin nükleotidi
C :	Sitozin nükleotidi
bç:	Baz çifti
dk :	Dakika
cm:	Santimetre
Cyto b:	Mt DNA Sitokrom b gen bölgesi
D -loop:	mtDNA kontrol bölgesi (displacement loop)
DNA:	Deoksi ribonükleik asit
FAO:	Gıda ve Tarım Örgütü (Food and Agricultural Organization)
g :	Gram
G :	Guanin nükleotidi
Hç:	Haplotip çeşitliliği
Hf:	Haplotip frekansı
kg:	Kilogram
kb:	kilobaz
M :	Molarite
mg :	Miligram
ml :	Mililitre
µl :	Mikrolitre
mm :	Milimetre
mM :	Milimolar
mtDNA:	Mitokondrial DNA
µM:	Mikromolar
M.Ö :	Milattan Önce
M.S.	Milattan Sonra
Nç:	Nükleotid Çeşitliliği
ng :	Nanogram
nm:	Nanomol
nDNA:	nükleer DNA
PZR:	Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)
pmol :	Picomol
rpm :	Dakikadaki devir sayısı (Rounds per minute)

%	:	Yüzde
T	:	Timin nükleotidi
TAGEM:		Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü
TBE:		Tris-Borate-EDTA
TÜİK:		Türkiye İstatistik Kurumu
U	:	Ünite (Enzim birimi)
Volt	:	Voltaj (V)
yy:		Yüz yıl
°C	:	Santigrat derece
±	:	Standart hata

## ÖNSÖZ

Son yıllarda artan dünya nüfusuna paralel olarak besin maddelerine olan talebin artması, tüketicilerin daha bilinçli hale gelmesi, dengeli ve yeterli beslenmenin sağlanmasında çiftlik hayvanlarının önemini daha da artmıştır. Hayvansal ürünlere olan talebin artması beraberinde bu hayvanların birden fazla verim yönünde geliştirilmesini zorunlu hale getirmektedir. Çiftlik hayvanlarında ekonomik önemi olan kantitatif karakterler üzerinde yapılan seleksiyon çalışmaları ile ırkların sahip oldukları genetik varyasyon daralmakta ve bu durum ise popülasyonlarda sağlanabilecek genetik ilerlemeyi zorlaştırmaktadır. Ayrıca yerli ırkların yetiştirildiği bölgelerde üretimi artırmak amacıyla genetik olarak üstün hayvan ırklarının doğrudan ya da dolaylı olarak devreye sokulması, potansiyel önemi olan diğer yerli gen kaynaklarının kaybolma riskini artırmaktadır. Yerli gen kaynaklarının ileride kullanılması olasılığı durumları için korunmaları gerektiğinden, özgün genetik yapılarının belirlenmesi önem arz etmektedir. Son zamanlarda genetik varyasyonun belirlenmesi, filogenetik analiz, seleksiyon ve gıdaların orijinlerinin tespiti gibi çeşitli alanlarda kendine özgü birçok özelliğe sahip ve moleküler düzeyde tanımlamaya imkân sağlayan Mitokondrial DNA (mtDNA) gibi kalıtım faktörlerinden geniş biçimde faydalanılmaktadır. Moleküler genetik tekniklerden biri olan mtDNA analizleri hem ırkların evrimleşme sürecini ortaya çıkararak hem de genetik içerik açısından popülasyonlar hakkında bilgi vererek yerli ırkların korunması sürecinde genetik yapının incelenmesine katkıda bulunur. Bu tez çalışmasında, Türkiye'nin farklı bölgelerinde yetiştiriciliği yapılan Anadolu mandası popülasyonlarından seçilen bireylerde mtDNA kontrol bölgesi (D-loop, n=183) ve *sitokrom b* (*Cyto b*, n=197) gen bölgelerine ait genetik polimorfizm ve filogenetik ilişkilerin DNA dizileme yöntemi ile incelenmesi yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar farklı istatistiksel yöntemler kullanılarak analiz edilmiş, Türkiye manda popülasyonları arasındaki genetik benzerlik ya da farklılıkların belirlenmesi ve mandanın evcilleştirilme sürecinin aydınlatılması amaçlanmıştır. Eğitimim boyunca ve Yüksek lisans tez çalışmam süresince, her zaman bana destek veren, yanımda olan ve her konuda yardımlarını esirgemeyen, danışman hocam Doç. Dr. Emel ÖZKAN ÜNAL'a, her daim benden tecrübelerini, manevi desteğini eksik etmeyen Prof. Dr. M. İhsan SOYSAL hocama, yol göstericiliği ve bana kattığı bilgi birikimiyle bu noktaya gelmemde emeği geçen, Prof. Dr. Eser Kemal GÜRCAN hocama, eğitimim boyunca her anımda beni destekleyen aileme ve tüm bölüm hocalarım ile bana emeği geçen herkese teşekkürü borç bilirim.

Haziran, 2019

Şeref M. TOPALOĞLU

## 1. GİRİŞ

Süt, et ve çeki hayvanı olarak Dünyada önemli bir ekonomik değere sahip bir çiftlik hayvanı olan manda, büyük bir çoğunluğu (% 97.4) Asya kıtasının tropik ve sub-tropik kısımlarında (Güney Asya, % 80.76) olmak üzere, 40' a yakın ülkede yetiştirilmektedir. İngilizce adı "Water Buffalo" olan manda Türkiye'de ayrıca Dombay, Camız, Camış ve Kömüş gibi isimlerle de anılmaktadır. Türkçedeki manda kelimesinin Hindistan'da coğrafi bir bölge olan Manda'dan geldiği düşünülmektedir (Soysal, 2006).

Manda başta sütünden olmak üzere eti, derisi ve iş gücünden yararlanılmak üzere yetiştirilen Bovidae ailesinden bir türdür. Değişik çevre koşullarına uyum sağlayabilen, düşük kaliteli ve ucuz kaba yemleri değerlendirebilen oldukça kanaatkâr olan mandalar, günümüzde yukarıda sözü edilen bölgelerdeki 40'a yakın ülkede çeşitli yoğunluklarda yetiştirilmektedir (Sarıözkan, 2011). 2017 yılı için FAO' nun (Food and Agricultural Organization) elde ettiği istatistiklere göre Dünyada 200.967.747 baş manda bulunmaktadır. Bu sayı Dünya genelinde 1997 yılına göre % 27.9 oranında artış göstermiştir. Kıtalar ve bazı ülkelere ait 1997 ve 2017 yıllarındaki manda sayıları ve değişim oranları aşağıdaki Çizelge 1.1'de verilmiştir.

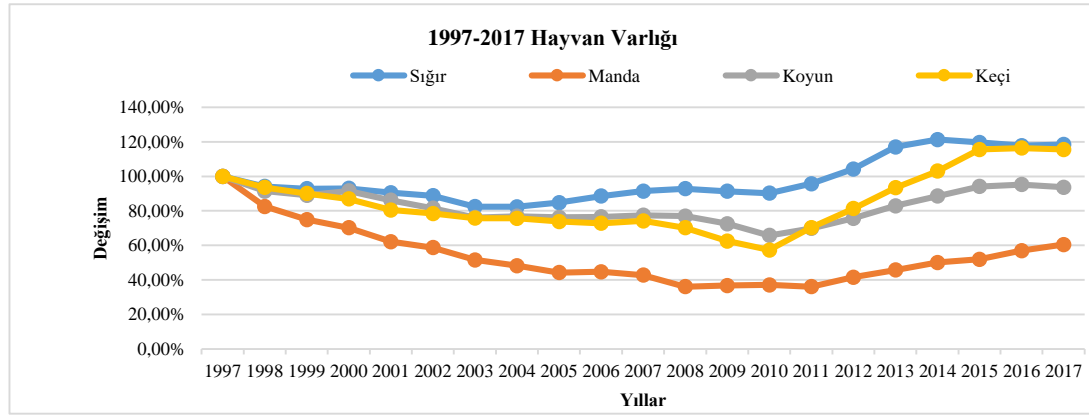
Çizelge 1.1 incelendiğinde bazı ülkelerde manda sayısında önemli artışlar olurken, Türkiye'nin de içinde bulunduğu bazı ülkelerde ise bu sayıda önemli düşüşlerin olduğu dikkat çekmektedir. FAO 2017 yılı istatistiklerine göre; Dünya'da manda yetiştiriciliğinin en yaygın olduğu ülkeler sırasıyla Hindistan (113.329.671), Pakistan (37.700.000) ve Çin'in (23.471.754) olduğu dikkat çekmektedir. Bu ülkeleri Nepal (5.177.998), Myanmar (3.746.870), Mısır (3.375.727), Filipinler (2 881 894), Bangladeş (1.478.000) Endonezya (1.395.191) ve Brezilya (1.381.395) izlemektedir. Ayrıca Avrupa'da, diğer Avrupa ülkelerine oranla daha yoğun olarak yetiştiriciliği yapılan İtalya'da, 400.792 baş manda olduğu görülmektedir (FAO, 2017). Sonuçları incelediğimizde (FAO, 2017), ülkeler bazında manda sayısının en fazla artış gösterdiği (%50 ve üzeri) ülkelerin başında Yunanistan'ın olduğu ardından İtalya, Pakistan, Bangladeş, Myanmar (Burma) ve Nepal'in geldiği görülmektedir. Manda sayısının en çok azaldığı ülkelerin başında ise İran'ın (-%72.73) geldiği dikkati çekmektedir. İran'ın ardından %30'un üzerinde azalmanın görüldüğü diğer ülkelerin ise sırasıyla Tayland, Sri Lanka, Endonezya, Türkiye ve Azerbaycan olduğu görülmektedir.

Çizelge 1.1. Kıtalar ve farklı ülkelere göre 1997-2017 yılları arasındaki değişim (FAO,2019)

<b>KİTALAR</b>	<b>1997</b>	<b>2017</b>	<b>Değişim</b>	<b>Dağılım</b>
<b>Afrika</b>	3.095.946	3.375.752	% 9	% 1.7
<b>Amerika</b>	983.902	1.387.987	% 41.1	% 0.7
<b>Asya</b>	152.815.109	195.772.907	% 28.1	% 97.4
<b>Avrupa</b>	200.146	430.836	% 115.3	% 0.2
<b>Okyanusya</b>	195	265	% 35.9	% 0.0
<b>Dünya</b>	157.095.298	200.967.747	% 27.9	% 100.0
<b>ÜLKELER</b>	<b>1997</b>	<b>2017</b>	<b>Değişim</b>	
<b>Hindistan</b>	89.918.000	113.329.671	<b>% 26.04</b>	
<b>Pakistan</b>	20.838.000	37.700.000	<b>% 80.92</b>	
<b>Çin</b>	19.645.851	23.471.754	<b>% 19.47</b>	
<b>Tayland</b>	2.864.715	996.307	<b>- % 65.22</b>	
<b>Mısır</b>	3.095.921	3.375.727	<b>% 9.04</b>	
<b>Endonezya</b>	3.064.532	1.395.191	<b>- % 54.47</b>	
<b>Nepal</b>	3.362.440	5.177.998	<b>% 53.99</b>	
<b>Vietnam</b>	2.943.615	2.491.662	<b>- % 15.35</b>	
<b>Filipinler</b>	2.968.130	2.881.894	<b>-% 2.91</b>	
<b>Myanmar (Burma)</b>	2.297.140	3.746.870	<b>% 63.11</b>	
<b>Brezilya</b>	977.767	1.381.395	<b>% 41.28</b>	
<b>Laos</b>	1.223.800	1.189.000	<b>-% 2.84</b>	
<b>Bangladeş</b>	854.000	1.478.000	<b>% 73.07</b>	
<b>Sri Lanka</b>	726.400	283.550	<b>- % 60.96</b>	
<b>Kamboçya</b>	766.300	655.498	<b>- % 14.46</b>	
<b>Türkiye</b>	235.000	142.073	<b>-% 39.54</b>	
<b>Azerbaycan</b>	302.000	196.651	<b>-% 34.88</b>	
<b>İtalya</b>	150.000	400.792	<b>% 167.20</b>	
<b>Bulgaristan</b>	11.438	12.273	<b>% 7.30</b>	
<b>Yunanistan</b>	735	2 702	<b>% 267.62</b>	
<b>İran</b>	465.000	126.765	<b>-% 72.73</b>	

Çizelge 1.1’den anlaşıldığı gibi özellikle son yıllarda Türkiye’de manda sayısında önemli değişimler olmuştur. Genellikle ekstansif koşullarda yapılmakta olan manda yetiştiriciliği birçok avantaja sahiptir. Kalitesiz kaba yemi süt ve ete dönüştürebilmesi, diğer çiftlik hayvanlarına göre hastalıklara daha dayanıklı olması, süt ve etinin kolesterol ve yağ içeriğinin düşük olması, diğer

çiftlik hayvanlarının (sığır ve koyun) yararlanmadığı alanlardan yararlanabilmesi nedeni ile birçok ülkede manda sayıları artmıştır. Bazı ülkelerde gözlemlenen artışa rağmen Türkiye’de ise manda sayıları 1997 yılından itibaren 2008 yılına kadar giderek azalmış hatta yok olma tehlikesi ile karşı karşıya kalmışlardır. FAO istatistikleri incelendiğinde, 2011 yılından sonra manda sayısında T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı, Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü (TAGEM) tarafından yürütülen “Halk Elinde Manda Islahı” projesi kapsamında verilen desteklemeler sonrasında manda sayısında artış görülmeye başlanmıştır.



**Şekil. 1. 1.** 1997-2017 yılları arasındaki hayvan varlığı değişimi (TÜİK,2019)

Şekil 1.1’ den anlaşıldığı gibi özellikle 2011 yılından sonra Türkiye manda popülasyonunda önemli bir (% 67.68 oranında) artış görülmektedir. TÜİK verilerine göre 2018 yılı manda varlığımız 178.397’dir (<https://www.tarimorman.gov.tr/sgb/Belgeler/SagMenuVeriler/HAYGEM.pdf>).

Türkiye’de manda yetiştiriciliği süt ve et yönüyle değer bulmaktadır. Manda sütü, başta kaymak olmak üzere yoğurt, peynir ve dondurma yapımında; eti ise özellikle sucuk üretiminde kullanılmaktadır. Manda sütünden yapılan tereyağı kıvamının yumuşak olması sebebiyle tercih edilmemektedir. 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 veriler doğrultusunda Türkiye’deki mandaların en kısa sürede öncelikli olarak korunmaları, sonrasında melezleme ya da seleksiyona tabi tutularak ıslah edilmeleri ve böylece verimlerinin de artırılması gerekliliğinin mevcut olduğu görülmektedir.

Birçok çalışmada, yerli gen kaynaklarının korunması ve ıslahı için aşağıda belirtilen aşamaların sırası ile yapılması gerektiği belirtilmektedir (Soysal *ve ark.*, 2003).

**1.** Irkların genetik yapıları belirlenmeli, **2.** Sürü kayıtları tutulmalı (pedigri kayıtları), **3.** Irkların envanter çalışması yapılmalı, **4.** Yetiştirici Birlikleri kurulmalı, **5.** yerli ırklarda süt ve et verimi için uygun seleksiyon kriterleri belirlenmeli ve ayrıca **6.** diğer ülkelerde olduğu gibi orjinal 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 olduğu ileri sürülmüştür (Maudet *ve ark.*, 2002; Bruford *ve ark.*, 2003).

Moleküler genetik teknikler (mikrosatellit, mtDNA) hem ırkların evrimleşme sürecini ortaya çıkararak hem de genetik içerik açısından populasyonlar hakkında bilgi vererek yerli ırkların korunması sürecinde genetik yapının incelenmesine katkıda bulunacaktır. Böylece hangi populasyonların birbirine benzediği, hangilerinde gen alışverişine müsaade edilebileceği, hangilerinin farklı, özgün ve olası lokal adaptasyon özelliklerine sahip olup olmadığı hakkında bir ön bilgi elde edilecektir.

Mandada mtDNA (D-loop, *sitokrom b*) gen bölgesi üzerinde yapılan referans çalışmalar incelendiğinde, Türkiye manda populasyonlarının genetik yapılarının incelendiği sınırlı sayıda çalışma olduğu görülmüştür. Yürütülen bir proje çalışmasında, Türkiye'nin farklı bölgelerinden toplanan (8 il, 4 farklı bölge (Trakya, Güney Marmara, Ege-İç Batı Anadolu ve Karadeniz bölgesi)) 56 bireyde mtDNA D-loop ve *sitokrom b* gen bölgesi polimorfizmlerinin ortaya konduğu (TURKHAYGEN-1, <http://www.turkhaygen.gov.tr/data/belgeler.asp>) görülmektedir. Bu projenin dışında herhangi bir araştırmaya rastlanmamıştır.

Bu tez çalışmasında; Türkiye yerli gen kaynakları içerisinde önemli bir yer tutan Türkiye manda populasyonlarının genetik çeşitliliğinin ortaya konulması amaçlanmaktadır. Ayrıca bu çalışma yüksek sayıda birey ve populasyon ile çalışılması, mevcut haplotip ve nükleotid çeşitliğin incelenmesi, yerli gen kaynaklarını koruma çalışmalarına katkı sağlayacak verilerin elde edilmesine olanak sağlayabilecek ilk çalışma olacaktır. Çalışmada, Anadolu mandasına ait 4 farklı bölgedeki (Marmara/ Ege Bölgesi, Karadeniz Bölgesi, Doğu-Güney Doğu Anadolu Bölgesi ve İç Anadolu Bölgesi) 16 ilden toplanan yaklaşık 197 bireyin mtDNA D-loop (n=183) ve *Sitokrom b* (n=197) gen bölgeleri kullanılarak genetik karakterizasyonu yapılmıştır. Elde edilen DNA dizi verileri farklı istatistiksel yöntemler kullanılarak analiz



edilmiş, Türkiye manda populasyonları arası ve içerisindeki benzerlik ve farklılıkların belirlenmesine çalışılmıştır.

## 2.KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ÖZETLERİ

### 2.1.Manda (*Bubalus Bubalis*) Hakkında Genel Bilgiler, Sınıflandırması ve Kökeni

Günümüzde diğer çiftlik hayvanlarında olduğu gibi mandalarında ilk ne zaman ve nerede evcilleştirildiği, hangi ırkların ilk olarak ortaya çıktığı konularındaki bilinmeyenler, arkeoloji ve genetik bilimlerinin ortak katkıları ile aydınlatılmaya çalışılmaktadır (Zhang ve ark., 2011; Hassan ve ark., 2009; Yang ve ark., 2008, Lei ve ark., 2007'a, 2007b; Kierstein ve ark., 2004). Bu çalışmalarda arkeolojik bilgiler morfolojik ve morfolojik olmayan belirteçler başlıkları altında toplanırken, genetik bilgiler moleküler belirteçlerden yararlanılarak elde edilmektedir.

Manda, Bovidae (Sığırgiller) ailesinin, Bos cinsine ait bir sığır türüdür. Mandanın sistematikteki yeri Çizelge 2.1'de gösterilmiştir.

Çizelge 2.1. Mandanın sistematikteki yeri

<b>ALEM</b>	Hayvanlar (Animales)
<b>ŞUBE</b>	İskeletliler (Chordata)
<b>ALT ŞUBE</b>	Omurgalılar (Vertebrata)
<b>SINIF</b>	Memeliler (Mammalia)
<b>ALT SINIF</b>	Tırnaklılar (Ungulata)
<b>TAKIM</b>	Çift tırnaklılar (Artiodactyla / Poridigitata)
<b>ALT TAKIM</b>	Geviş getirenler (Ruminantia)
<b>AİLE</b>	Boş boynuzlular (Bovidae)
<b>ALT AİLE</b>	Sığır benzerleri (Bovinae)
<b>KABİLE</b>	Bovini
<b>GRUP</b>	Sığır (Bovina), Asya Mandası (Bubalina), Afrika Mandası (Syncerina)
<b>CİNS</b>	Bubalus ve Syncerus
<b>TÜR</b>	<i>Bubalus Arnee, Bubalus bubalis, Bubalus mindorensis, Bubalus depressicornis depressicornis, Bubalus depressicornis quarlesi, Syncerus caffer caffer, Syncerus caffer namus, Syncerus equinoctialis</i>

Sığır ailesinde yer almasına rağmen mandalar bazı özellikleri ile sığırlardan farklılıklar göstermektedir. Mandanın boynuz kesiti ırklara göre yuvarlak ya da üçgen olup oldukça kalındır. Boynuzların üzerleri düz ya da kalın enine çizgili şekildedir. Boynuzlar, ırklara göre değişik şekillerde olup aşağı, yukarı ya da geriye yönelebildiği gibi uçları içe doğru kıvrık da olabilir. Boynuzlardaki bu özellikler manda ırklarının ayırt edilmesinde önemli bir göstergedir. Mandanın beden yapısı kaba görünüşlü fakat sağlamdır. Bacakları ve ayakları kuvvetlidir; ayakları sığırdan daha büyük ve geniştir. Bu özellik mandaya bataklıkta ve suda kolay hareket etme ve yüzmeye olanağı sağlamaktadır. Kulaklar daha uzun, kuyruk daha kısa ve az kıllı, sağrı daha düşük fakat

daha geniştir. Sağrının genişliği ve eğimi mandaya daha kolay doğum yapma olanağını vermektedir.

Mandada kıl ve deri rengi ırklara göre farklılık göstermektedir. Gri, kahverengi, kızıl ve siyah renkli mandalar olduğu gibi, beyaz renkli (albino) ve alaca renkli olabilmektedirler. Kıl örtüsünün sıklığı ve uzunluğu yetiştirme koşulları, iklim ve mevsime bağlı olarak değişmektedir. Türkiye mandalarında deri rengi, gri ve kahverengiden siyaha kadar; kıl örtüsü ise kızıl kahverengiden siyaha kadar değişebilmektedir. Doğumdan sonra kızıl kahverengiye dönüşen kıl örtüsü daha sonra dökülerek yerini daha seyrek olan koyu gri ya da siyah renkli kıllara bırakır. Mandalarda ergin deri kalınlığı genel olarak 6.0-7.6 mm olup sığır derisinden daha kalındır. Ancak kıl örtüsü ve deri altı ter bezleri sığır derisine göre 1/10 oranında daha azdır. Ter bezlerinin ve kıl örtüsünün azlığı nedeniyle, yazın sıcak aylarında beden ısısını kendiliğinden ayarlayamaz, rahatsız olur; bu dengeyi sağlamak için de suya, bataklığa ya da çamura girer. Bunun yanı sıra derilerindeki kıl yoğunluğunun az olması nedeniyle soğuk havaya karşı dirençleri sığırlardan daha azdır. Ayrıca manda üreme organları sığır üreme organlarından fiziksel olarak bazı farklılıklar göstermektedir. Ayrıca manda kromozom sayısı ile de sığırdan ayrılır; sığırdaki  $2n=60$  olan kromozom sayısı nehir mandalarında  $2n=50$ , bataklık mandalarında ise  $2n=48$ 'dir. Bataklık ve nehir mandalarıyla yapılan melezlemelerde  $2n=49$  kromozomlu ve verimli döller alınabilmektedir. Melezleme hangi tipe doğru yapılırsa, kromozom sayısı o yönde değişmektedir. Çizelge 1.3'de manda türlerine ait kromozom sayıları gösterilmiştir.

**Çizelge 2.2.** Bazı mandaların kromozom sayıları

<b>Manda Tipi/ Türü</b>	<b>Kromozom Sayısı (2n)</b>
Nehir Mandası	50
Bataklık Mandası	48
Afrika Mandası	52
Kongo Mandası	54

Mandalar, Afrika yabani mandaları ve Asya mandaları olmak üzere 2 gruba ayrılmaktadır. Afrika yabani mandaları ise kendi içerisinde 5 farklı alt cins grubuna ayrılmaktadır (Şekil 2.1).

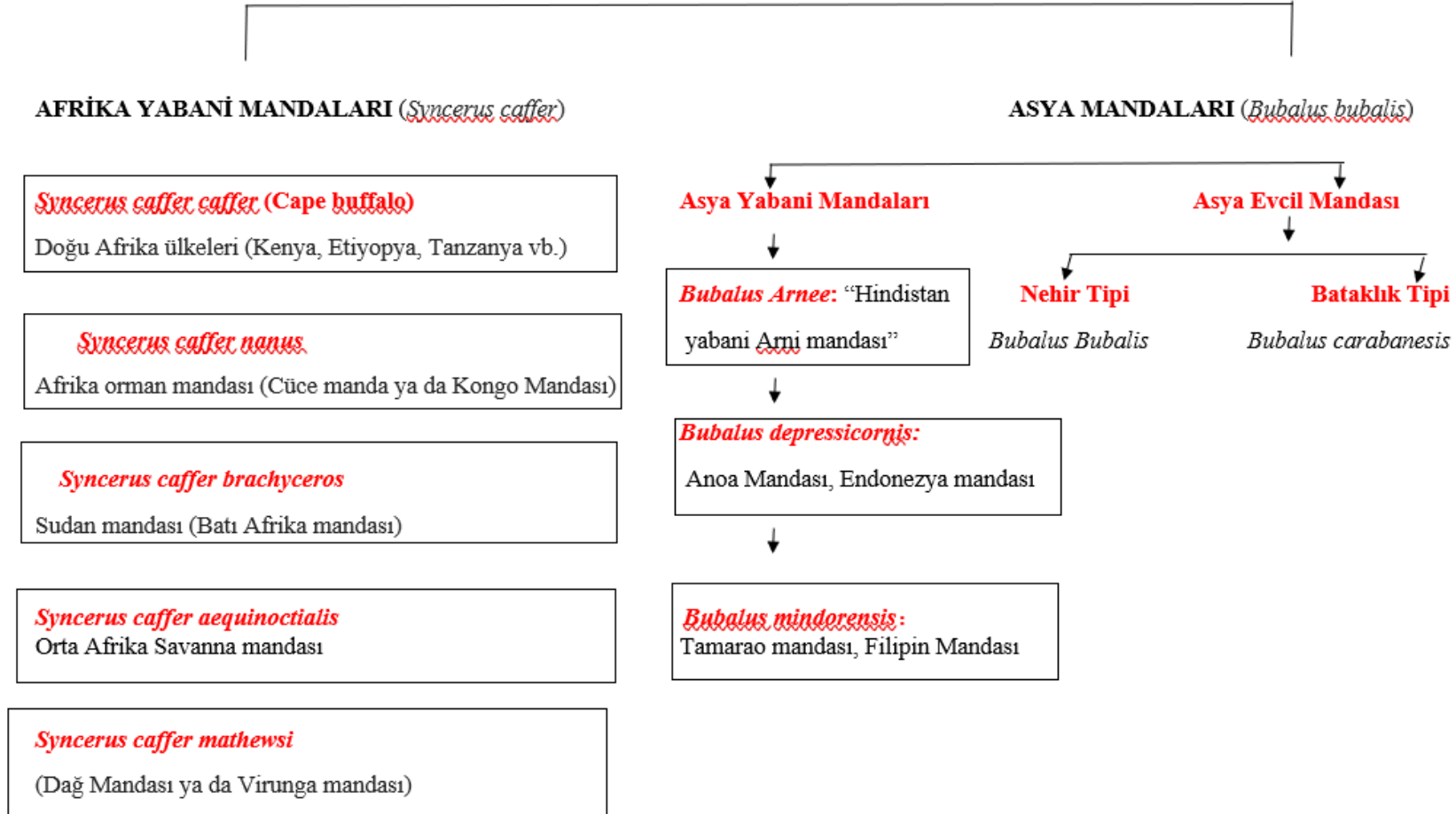
Asya mandaları ise, kendi içerisinde 2 farklı alt cins grubuna (Asya yabani mandaları, Asya evcil mandaları) ayrılmaktadır. Asya mandaları grubunda olan evcil mandalar bataklık ve nehir mandaları olarak 2 alt gruba ayrılmaktadır (Şekil 1.2.). Orijinlerinin Hindistan olduğu belirtilen nehir mandaları, daha çok et ve süt üretmek için yetiştirilen kombine verimli ırklardır. *Carabao* ismiyle anılan bataklık mandaları ise, süt üretimi için pek uygun olmayıp, daha çok Çin ve Güneydoğu Asya'da bulunan ve et üretimi yanında tarla sürmek için de kullanılan ırklardır (Küçükkebağcı ve Şahin, 2002). Türkiye'deki mandaların, nehir mandalarının alt grubu olan Akdeniz mandalarından köken aldığı düşünülmekte olup, Anadolu Mandası olarak da adlandırılmaktadır (Soysal ve ark., 2005).

Mandanın temelde nehir ve bataklık mandası olarak iki geniş gruba ayrıldığı kabul edilmekle birlikte bu iki grubun iki ayrı evcilleştirmenin ürünleri olup olmadığı bilinmemektedir. Literatürde yerli nehir ve bataklık mandanın kökenine ilişkin çelişkili öneriler bulunmaktadır (Tanaka ve ark., 1996; Lau ve ark., 1998; Kierstein ve ark., 2004). Son zamanda mtDNA belirteci kullanılarak yapılan çalışmanın sonuçları ile filogenetik, ekolojik, fenotipik parametreler ve yayılım alanları bilgileri beraberce değerlendirildiğinde bataklık ve nehir mandalarının iki ayrı evcilleştirmenin ürünü oldukları ve iki alt tür kategorisinde sayılabilecekleri öne sürülmüştür (Kumar ve ark., 2007).

Mandaların ilk evcilleştirilmesine “Hindistan yabani mandası Arni” ler ile başlandığı düşünülmektedir. İlk zamanlarda Arni'ler sıcak ve nemli bataklıklarda, göl kenarlarında, otlak bölgelerde, ormanlık bölgelerde bakılmışlardır. Asya'da pirinç tarlalarında bu hayvanların gücünden yararlanılmıştır. Hindistan'dan çok sıcak ve nemli olan Asya, Japonya, Havai adalarında, Avustralya, Doğu Asya, Güney Asya, Orta ve Doğu Afrika, Güney Avrupa'da yayılma alanı bulmuşlardır. Güney Avrupa'da mandalar tarlalarda sürüm işleminde kullanılmıştır. Yakın Doğu'da ilk evcilleşmiş mandalar M.Ö. 3. yüz yılın başlarında görülmüştür. Avrupa'da tarih öncesinde evcilleşmiş mandalar görülmüştür. İlk defa Büyük İskender'in askerleri Hindistan seferinde manda görmüşlerdir. İtalya'da Kral Arululava 595–596 yıllarında Avar Hanından hediye olarak manda almıştır. Bazılarına göre Avrupa'da Atilla seferinden sonra görülmüştür. Bazılarına göre ise Haçlıların Batı Avrupa'ya dönüşü sırasında görülmüştür (Yılmaz, 2013).

Yapılan genetik çalışmalarda ise; bir grup araştırmacı mandaların İndus Vadisi'nde ya da Dicle-Fırat Havzası'nda (Cockrill *ve ark.*, 1981) evcilleştirildiğini, diğer bir grup ise Çin'de (Chen ve Li, 1989) evcilleştirildiğini iddia etmektedir.

## MANDA



Şekil 2.1. Manda ırkları ve sınıflandırılması

## 2.2.Yabani Manda Irkları

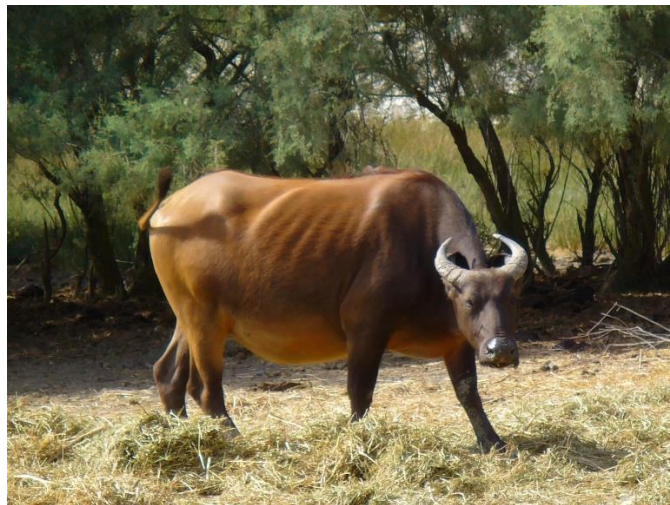
### 2.2.1.Afrika Yabani Mandaları (*Syncerus caffer*)

A) *Syncerus caffer caffer*: Kara manda, Afrika mandası ya da Cape mandası olarak adlandırılmaktadır (Şekil 2.2.). İnsanlar için en tehlikeli manda türü olduğu, buna karşılık yavrularının evcilleştirilerek çiftlik hayvanı olarak kullanılabilirdiği bildirilmektedir. Doğu Afrika ülkelerinde yaygın olarak yaşamaktadır.



Şekil 2.2. Afrika Mandası (*Syncerus caffer caffer*)  
([http://natureimages.eu/species/mammals/images/syncerus\\_caffer/1200x800/2.jpg](http://natureimages.eu/species/mammals/images/syncerus_caffer/1200x800/2.jpg))

B) *Syncerus caffer nanus*: Kongo mandası ya da Kızıl manda olarak adlandırılan bir yabani manda türüdür (Şekil 2.3.). Afrika orman mandası olarak bilinmektedir.



Şekil 2.3. Orman mandası (Forest Buffalo - *Syncerus caffer nanus*)  
([https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/8/8c/Syncerus\\_caffer\\_nanus\\_001.](https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/8/8c/Syncerus_caffer_nanus_001.))



C) *Syncerus caffer brachyceros*: Sudan mandası ya da Batı Afrika mandası olarak adlandırılan bir yabani manda türüdür (Şekil 2.4.). Batı Afrika ülkelerinde yaygın olarak yaşamaktadır.



Şekil 2.4. Sudan Mandası (Batı Afrika Mandası- *Syncerus caffer brachyceros*)

(<https://www.inaturalist.org/photos/9767812>)

D) *Syncerus caffer aequinoctialis*: Bu alt tür Orta Afrika ülkelerinde yaşamaktadır (Şekil 2.5.). Sahelo-Sudanian grubu içinde (savanlar ve galeri ormanlar): güneydoğu Çad, kuzey Orta Afrika Cumhuriyeti (Chari Nehri'nin doğusunda), kuzey Demokratik Cumhuriyeti Kongo, güneydoğu Sudan ve batı Etiyopya. Eritre'de soyu tükenmiştir.



Şekil 2.5. Orta Afrika Savanna Mandası

([https://www.igoterra.com/photo\\_info.asp?userid=&aktpage=1&photoid=10238&thingid=101728&countryid=&taxa\\_group\\_id=0](https://www.igoterra.com/photo_info.asp?userid=&aktpage=1&photoid=10238&thingid=101728&countryid=&taxa_group_id=0))



E) *Syncerus caffer mathewsi*: Dağ mandası ya da Virunga mandası olarak bilinmektedir (Şekil 2.6.). Demokratik Kongo Cumhuriyeti, Ruanda ve Uganda'nın dağlık bölgelerinde yaşıyor.



Şekil 2.6. Dağ Mandası ya da Virunga mandası (*Syncerus caffer mathewsi*)

(<https://www.agefotostock.com/age/en/Stock-Images/Rights-Managed/DAE-11056064>)

### 2.2.2. Asya Mandaları (*Bubalus Bubalis*)

A) *Bubalus arnee*: Hint ya da Asya mandası olarak adlandırılır (Şekil 2.7.). Günümüz evcil mandalarının, *Bubalus arnee*'nin evcilleştirilmesi ile elde edildiği düşünülmektedir.



Şekil 2.7. Yabani manda (*Bubalus arnee*) (<http://www.tremarctos.com/wp-content/uploads/2015/07/Wild-Water-Buffalo-e1441583264457.jpg>)

B) *Bubalus depressicornis*: Dağ mandası ya da Selebes mandası adı da verilir (Şekil 2.8.). Endonezya'nın Selebes Bölgesinde yaşamaktadır. İki farklı alt varyetesi (*Bubalus*

*depressicornis depressicornis* , *Bubalus depressicornis quarlesi*) bulunmaktadır (Şekil 2.8 ve 2.9.). *Bubalus depressicornis quarlesi*; Selebes mandasının daha küçük yapılı bir tipi (varyetesi)' dir.



Şekil 2.8. Lowland Anoa (*Bubalus depressicornis*)

(<https://tr.pinterest.com/pin/206391595399539437>)



Şekil 2.9. Mountain anoa (*Bubalus quarlesi*-Berganoa)



C. *Bubalus mindorensis*: Tamarao ya da Mindora mandası olarak da adlandırılmaktadır (Şekil 2.10.). Filipinler' in Mindora Adası'nda yaşamaktadır.



Şekil 2.10. Tamaraw (*Bubalus mindorensis*)

([https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/0/0b/Bubalus\\_mindorensis\\_by\\_Gregg\\_Yan\\_01.jpg](https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/0/0b/Bubalus_mindorensis_by_Gregg_Yan_01.jpg))

### 2.2.3 Evcil Manda Irkları

Evcil manda ırkları, bataklık mandası (Swamp Buffalo) ve nehir mandası (River Buffalo) olmak üzere yaşam biçimleri, vücut yapıları, fizyolojik ve verim özellikleri yönüyle iki gruba ayrılmaktadırlar. Bazı otoritelerce bataklık ve nehir mandalarının *Bubalus bubalis*'in varyetesi oldukları kabul edildiğinden bataklık mandalarına *Bubalus bubalis limneticus*, nehir mandalarına ise *Bubalus bubalis fluviatilis* adı verilmektedir.

**A. Bataklık Mandası:** İş gücü yönünden gelişmiş olan bu manda grubu güney batı Çin, Burma Assam Laos, Filipinler, Endonezya, Malezya, Tayland ve Vietnam gibi Asya ülkelerinde yetiştirilmektedir (Ziauddin ve Rao, 1991). Ancak 1890 yılından itibaren başta Brezilya olmak üzere bazı G. Amerika ülkelerine getirilmiş olup bu bölgelerde de yetiştirilmesine devam edilmektedir. Aynı şekilde, Avustralya'nın kuzey bölgelerine yetiştirilmek ve et ihtiyacını karşılamak amacıyla Endonezya'dan ithal edilmiştir. Bataklık mandası daha çok bataklık ve çamurlu arazileri tercih etmektedir. Et tipinde bir hayvan olup iş gücünden ve etinden yararlanılmaktadır. Süt verimleri çok düşüktür; ancak malaklarını besleyebilecek kadar süt (genel olarak 400 kg/laktasyon) vermektedirler. Çin ve Filipinler gibi bataklık mandasının yoğun olduğu ülkelerde Murrah, Nili-Ravi gibi sütçü manda ırklarıyla melezlenerek süt verimlerinin artırılmasına çalışılmıştır.

Bataklık mandası genelde "Carabao" ismiyle adlandırılmaktadır. Vücudu et verimi yönüyle gelişmiş olup süt verimleri oldukça az, ancak yavrularına yetecek kadardır. Boynuzları ay şeklinde, oldukça uzun ve kalındır. Deri ve kıl örtüsü gri-beyaz alaca, açık kahve, açık gri tonlarındadır. Bazen beyaz renkli albino olanlarına da rastlanmaktadır.

**B. Nehir Mandası:** Daha çok süt için Asya, G. Amerika, K. Afrika, Güneydoğu Avrupa ve Ortadoğu ülkelerinde yetiştirilen en yaygın manda grubudur. 1890'lı yıllardan itibaren Brezilya'ya sırasıyla Akdeniz, Murrah ve Jafarabadi ırkı nehir mandaları ithal edilerek yetiştirilmeye başlanmış, zamanla manda yetiştiriciliği Trinidad-Tobago, Venezuela ve Arjantin gibi Güney Amerika ülkelerine yayılmıştır.

Nehir mandalarının süt verimlerinin bataklık mandalarına göre yüksek olması en önemli özelliğidir. Vücut renkleri genellikle siyah ya da koyu kahve renklidir. Meme yapıları ıslah edilenlerde iyi gelişmiştir. Sütçü nehir manda ırklarının bir kısmı uzun yıllar süren ıslah ve seleksiyon yöntemleriyle yüksek verim kabiliyetine ulaştırılmıştır.

**B1. Murrah Irkı:** Özellikle Hindistan/ Haryana, Punjab'da yetiştirilen yüksek süt verimine sahip manda ırkıdır. Hindistan'da geliştirilmiş olduğu düşünülmektedir. Renk genellikle siyah olmakla birlikte, kahverengi ya da açık gri olanlarına da rastlanmaktadır. Albino olanlarına ise çok seyrek rastlanmaktadır. Boynuzları genellikle kısa olup önce yanlara sonra yukarıya ve içeriye kıvrılmış şekildedir. Erginlerinin vücut ağırlığı erkeklerde 450-800 kg, dişilerde ise 350-700 kg'dır. Bazen vücut ağırlığı erkeklerde 1000 kg, dişilerde ise 900 kg'ı bulabilir. Cidago yükseklikleri erkeklerde 142 cm, dişilerde 133 cm civarındadır. Süt yağı ortalama olarak %7 olup, süt verimi değişik kaynaklarca 300 günde 1400-2000 kg olarak bildirilmekteyse de 3000-5000 kg civarında süt verenlerinin olduğu da bilinmektedir. Günümüzde saf ve melez olarak Hindistan, Pakistan, Brezilya, Bulgaristan, Azerbaycan, Filipinler ve Çin gibi ülkelerde yetiştirilmektedir.

**B2. Nili-Ravi Irkı:** Pakistan'da geliştirilmiş iki manda varyetesinin ortak ismidir. Nili mandaları süt verimi yönüyle, Ravi mandaları ise et verimleriyle önemli olmalarına rağmen aralarında büyük bir farklılık yoktur. Derileri genellikle siyahtır. Sürülerin %15'i kahverengidir. Dışarı çıkık gözleri vardır. Boynuz yapıları ile Murrah ırkına benzerler. Meme yapıları iyi gelişmiştir. Erkekleri 600 kg, dişileri ise 450 kg canlı ağırlığındadır. Süt verimleri 300 günde 2000 kg'dır. Laktasyon süresi 290-323 gün civarında olup, kuruda kalma süresi 198 gün, servis periyodu 211 gün, buzağılama aralığı 530 gün civarındadır.

**B3. Kundi Irkı:** Hindistan/ Sindhi'de sütü için yetiştirilen siyah renkli, iri bir manda ırkıdır. Murrah ırkıdan köken almış olup Murrah ve Nili-Ravi ırklarına benzemektedir. İndus Nehri boyunca uzanan bölgelerde yetiştirilmektedir. Rengi genellikle siyah olup kahverengi olanlarına da rastlanılmaktadır. Canlı ağırlıkları 320-450 kg, süt verimleri genellikle 9 kg/gün civarında olup 18 kg/gün süt verenlerine de rastlanıldığı bildirilmektedir. Süt verimleri 300 günde 2000 kg, 316 günde ise 2120 kg civarındadır.

**B4.Surti Irkı:** Hindistan'da yetiştirilmektedir. Derisi ve kılları siyah ya da kahverengidir. Canlı ağırlıkları erkeklerde 640-730 kg, dişilerde ise 550-650 kg; cidago yükseklikleri erkeklerde 131 cm, dişilerde 124 cm; laktasyon süreleri 350 günü bulmaktadır. 305 gündeki süt verimleri ortalama 1364 SSkkg kadar olmakla birlikte 1765-2090 kg civarında süt verenleri de bulunmaktadır. Ortalama süt yağı yüzdesi 7.9' dur. Kuruda kalma süreleri 111 gün civarındadır. Boynuz yapıları ve fiziksel görünümleri yönüyle Akdeniz ırkı mandalara benzemektedir.

**B5. Mehsana Irkı:** Pakistan ve Hindistan'da yetiştirilmektedir. Deri ve kıllar siyahtır. Bazen açık gri ya da kahverengi de olmaktadır. Bu manda ırkı Surti ve Murrah ırkı mandaların melezlenmesi ile elde edilmiştir. Cidago ykseklıği erkek ve dişilerde 132 cm civarındadır. Canlı ağırlıkları erkeklerde 450-475 kg, dişilerde ise 410-450 kg civarındadır. Süt verimleri Murrah ve Surti ırklarının verimlerine benzemektedir.

**B6. Jafarabadi Irkı:** Renkleri siyahtır. Boynuzları oldukça uzun olup önce aşağıya sonra da yukarıya doğru kıvrılarak yönelmiş şekildedir. Erkeklerin canlı ağırlığı 590 kg, dişilerin ise 494 kg civarındadır. Ancak bu rakamın oldukça üzerinde canlı ağırlığa sahip erkek ve dişilere de rastladığı bildirilmektedir. Bu manda ırkı, "Gir" ya da "Bhavanagri" adları ile anılmaktadır. Cidago ykseklıği erkeklerde 142 cm, dişilerde 140 cm; süt verimleri 1800-2700 kg ya da 18 kg/günü bulmaktadır. Süt yağı oranı ortalama % 8.5 kadardır. Bu manda ırkı günümüzde Hindistan dışında Brezilya ve Trinidad-Tobago'da yetiştirilmektedir.

**B7. Akdeniz (Mediterranean) Irkı:** Bu ırk, Afganistan, İnan, Irak, Azerbaycan, Türkiye, Mısır, İtalya, Bulgaristan, Romanya, Eski Yugoslavya, Macaristan, Arnavutluk, Yunanistan ve Brezilya'da yetiştirilmektedir. Bazı otoriteler, Mısır ve Azerbaycan mandalarının Akdeniz ırkı manda grubunda yer aldığını, fakat birbirlerinden ayrı birer manda ırkı olduklarını göstermiştir. Türkiye'deki Anadolu mandalarının ise Akdeniz ırkı manda grubunda yer aldığının ve onun kkk yapılı bir tipi olduğunun ne srldğı bildirilmektedir.

Akdeniz ırkı mandaların beden yapıları ve verim özellikleri yetiştirildikleri ülkelerdeki iklim, bakım, besleme koşullarına ve ıslah edilip edilmediklerine göre değişmektedir. Örneğin Mısır mandalarında genel olarak canlı ağırlık 360-800 kg ve süt verimi 1300-2000 kg arasında değişmekte olup laktasyon süreleri ortalama 277 gün civarındadır. İtalyan mandalarında canlı ağırlık 550-650 kg ve süt verimi genel olarak 1500-2000 kg kadardır. Bunun yanında 270 günde % 9.6 yağlı 3369 kg, 307 günde %9.39 yağlı 5962 kg ve %9.57 yağlı 3323 kg gibi süt verebilen mandalar bulunmaktadır. Genel olarak, İtalyan mandalarından günlük ortalama 11-13 kg süt alınabilmektedir.

Türkiye’de manda yetiştiriciliği Karadeniz Bölgesi sahil şeridinde Samsun ve Sinop’ta, iç kesimlerde ise Tokat, Çorum ve Amasya’da; İç Anadolu Bölgesi’nde Sivas ve Yozgat’ta, Ege Bölgesi’nde Afyon’da; Marmara Bölgesi’nde Bursa, Balıkesir, Tekirdağ ve İstanbul’da; Doğu Anadolu Bölgesi’nde Muş’ta, Güneydoğu Anadolu Bölgesi’nde Diyarbakır’da yoğunlaşmıştır. Verim yönü açısından kombine (et ve süt) verim yönlüdürler. Türkiye manda popülasyonları hakkında Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü (TAGEM) tarafından özetlenen bilgiler aşağıda verilmektedir (TAGEM, 2009).

Türkiye'deki Anadolu mandalarının ergin canlı ağırlığı 400-450 kg kadar olup süt verimleri ortalama 800-1000 kg ve sütteki yağ oranı %6-8 arasındadır. Laktasyon süreleri 200-250 gündür. Damızlık yaşı 24 – 26 aydır. Doğum ağırlığı dişilerde 28 – 30 kg, erkeklerde 30-32 kg’dır. Vücut kaba, köşeli yapılı ve kaslı, sağrı düşük, eklemler kalın ve kuvvetlidir. Ergin mandalarda kıl örtüsü siyah veya koyu gridir. Nadiren baş, ayak ve kuyruk ucunda beyaz kıllar olabilir. Meme siyahtır. Derisi kalın ve serttir. Erkek ve dişiler boynuzludur. Boynuzda taban arkaya veya yana, uçları ise yukarıya, içeriye veya hafif arkaya doğru yönelmiştir. Boynuzda dipten uca doğru azalan halkalar bulunur. Başlıca et ve süt üretimi için kullanılmaktadır.

Türkiye’deki Anadolu mandası popülasyonlarında genetik çeşitliliğin yüksek olabileceği düşünülmektedir. Bunun nedeni olarak Türkiye’nin konum olarak geçiş bölgesinde (Asya, Avrupa ve Afrika) olması ve Türkiye’nin birçok çiftlik hayvanının (koyun, sığır, keçi) ilk evcilleştirme merkezine yakın olması durumları gösterilebilir. Mandanın evcilleştirme merkezinin de bu civarda olabileceği öne sürülebilir. Ancak, Türkiye’deki mandalarda gözlenen büyük sayı azalışının da genetik çeşitliliğe yansımış ve bu çeşitliliği azaltmış olmasının mümkün olabileceği düşünülmektedir. Anadolu mandasının mtDNA D-loop ve *Sitokrom b* gen bölgeleri açısından polimorfizmi ilk kez bu kadar fazla sayıda birey ve

örnekleme bölgesi ile bu tez çalışması kapsamında incelenmiş olup, populasyonların genetik yapısı belirlenmeye çalışılmıştır.

### 2.3.Mitokondrial Dna (Mtdna) Çalışmaları

Canlılarda kalıtımın kaynağı olarak çekirdek ve çekirdek dışı sitoplazmik kalıttan söz edilmektedir. Sitoplazmik kalıtım ünitesi bitkilerde kloroplastken, hayvan ve insanlarda mitokondridir. Mitokondri genel olarak tüm ökaryotlarda bulunan ve hüresel reaksiyonlar için gerekli enerjinin sağlandığı hücrenin en önemli organellerindendir. Çift zar ile çevrilidir ve büyüklüğü 0.5-1 µm olup her bir hücredeki sayıları 500-1000 arasında değişmesine karşın bu sayının yumurta hücrelerinde embriyogenesis öncesinde replikasyon olmaması ve daha fazla enerjiye ihtiyaç duyulması gibi sebeplerle 10.000'lere ulaştığı bildirilmektedir (Cummins 1998; Rokas *ve ark.*, 2003).

Mitokondri üre siklusu, glukoneogenez, β- oksidasyon, krebs siklusu ve en önemlisi de oksidatif fosforilasyonda görevli yüzlerce proteini barındırıp hücrenin enerji santrali görevini üstlenerek toplam enerjinin %90'dan fazlasını üretmektedir. Mitokondride ayrıca laktasyonun kısmi bir evresini oluşturan birkaç metabolik reaksiyonun da gerçekleştiği bölgelerinin olduğu bildirilmektedir (Boettcher *ve ark.*, 1996).

Mitokondri, ökaryotik hücrelerde aerobik solunumdan sorumlu organeldir. Bu organeller hücre çekirdeğinden ayrı olarak kendilerine has özelliklere sahip ve birçok fonksiyonun yürütülmesinde rol oynayan DNA içerirler. Maternal kalıtım gösteren mitokondrial DNA (mtDNA), çift zincirli, halkasal yapıda ve aerobik solunumu destekleyen genleri içermektedir. Hücre çekirdeğinde yalnızca tek bir nükleer DNA (nDNA) bulunurken mitokondri içerisinde birkaç kopya mtDNA bulunmaktadır. Mitokondri DNA'sı, türlerin coğrafi dağılımına göre farklılıklar göstermesi, genomik DNA'ya oranla daha hızlı evrimleşmesi ve maternal kalıtılmasına bağlı olarak dişi ebeveynin geçmişi açısından fikir verici olması gibi özelliklerinden dolayı, birçok çiftlik hayvanında genetik polimorfizm çalışmalarında sıklıkla tercih edilen belirteçlerden birisidir (Kul *ve ark.*, 2016).

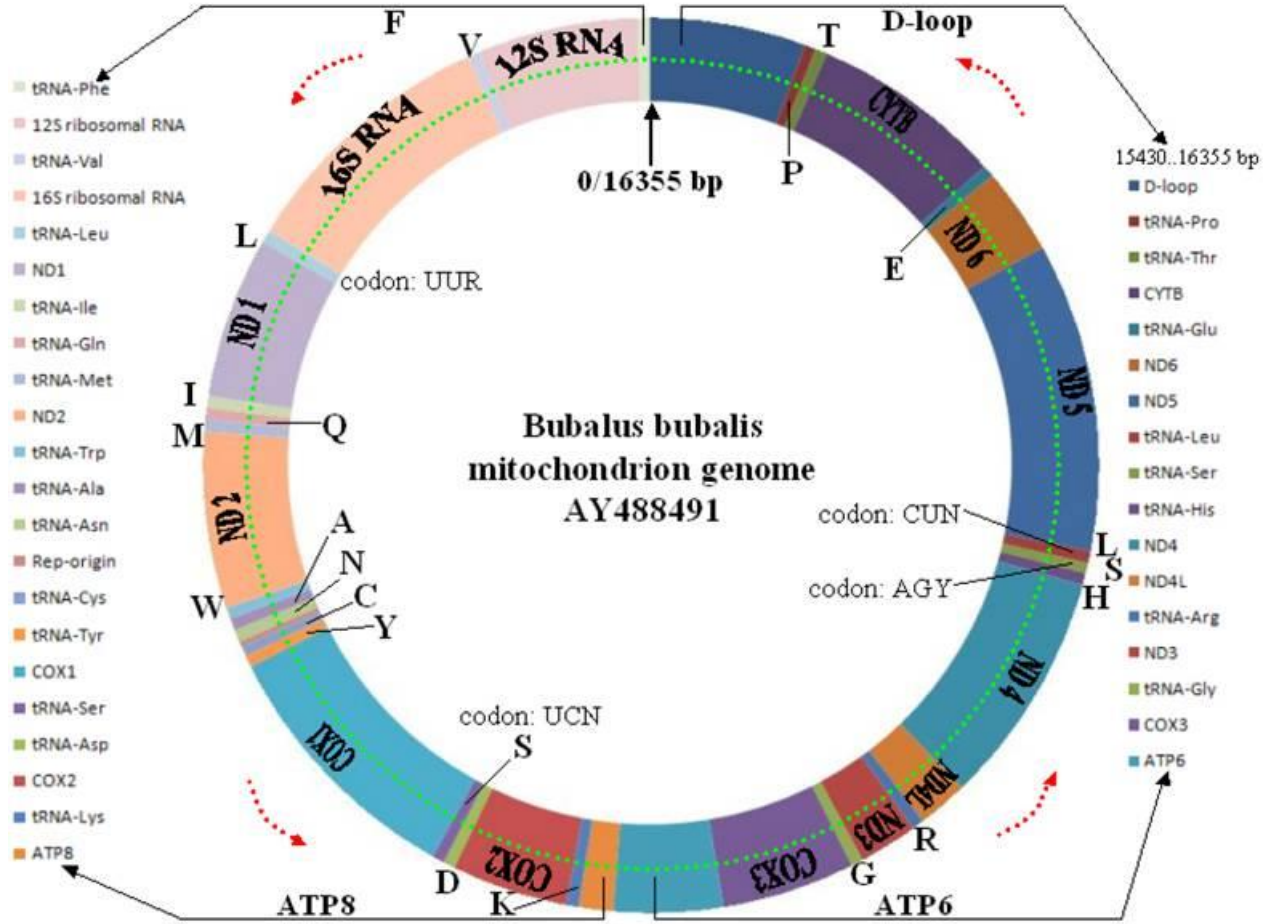
Mutasyon hızı oldukça yüksek olan mtDNA'nın yüksek memelilerde nükleer DNA'dan daha hızlı değişime uğradığı birçok araştırmacı tarafından bildirilmektedir. mtDNA'nın D-loop bölgesinin mutasyon hızının diğer kısımlarına göre %2-4 kat, nükleer DNA'ya göre ise en az

10 kat daha hızlı olduğunu bildirmektedir (Avise, 1991). mtDNA'nın etkili bir tamir mekanizmasından yoksun olması (Bogenhagen 1999), histon gibi koruyucu proteinlerin görülmemesi, iç mitokondriyal membranda meydana gelen oksidatif fosforilasyon ile açığa çıkan oldukça yüksek mutajenik etkiye sahip oksijen radikalleriyle fiziksel ilişki içerisinde bulunması (Richter 1988), ayrıca mevcut mutant mitokondrinin etkisi ile mtDNA mutasyon hızının artması (Lightowers *ve ark.*, 1997) gibi faktörler, mtDNA'da meydana gelen polimorfizmin nükleer DNA'dan daha yüksek oranda görülmesinin muhtemel sebeplerini oluşturmaktadır.

Özellikle son yıllarda mitokondriyal DNA (mtDNA); populasyonların genetik benzerlik veya farklılıklarından yararlanılarak filogenetik ilişkilerin tespit edilmesi çalışmalarında moleküler belirteç olarak kullanılmaktadır (Naderi *ve ark.*, 2007). Bu nedenlerle diğer türlerde olduğu gibi manda ırklarının filogenetik çalışmalarında populasyon geçmişlerinin ortaya konulması, coğrafi ve genetik uzaklık bağıntılarının araştırılması, populasyonların farklılaşma zamanlarının belirlenmesi gibi konularda sıklıkla tercih edilmektedir (Kathiravan *ve ark.*, 2011, Babar *ve ark.*, 2011, Kierstein *ve ark.*, 2004, Kumar *ve ark.*, 2007).

Mitokondride bulunan DNA'nın (mtDNA) organel içerisinde, sayıları 2-15 arasında değişen kopyaları bulunmaktadır. Dairesel bir forma sahip olan mtDNA, insanlarda 16 569 bazdan oluşurken; çiftlik hayvanlarında 16-18 kilobaz (kb) arasında değişkenlik gösterir (Saara, 2000; Klug ve Cummings, 2002; Lodish *ve ark.*, 2000). Sığır, manda, koyun, keçi türlerinde mtDNA'nın 13 protein kodlayan gen (bazen 12) bölgesi, 22 adet tRNA geni ve 2 adet ribozomal RNA (16S ve 12S) geni ve protein kodlamayan yalnızca replikasyon orijini içeren bazı gen bölgeleri (noncoding)'nden oluştuğu bilinmektedir (Sadava, 1993; Anderson *ve ark.* 1982). Benzer şekilde manda mtDNA'sının da 13 protein kodlayan gen bölgesi, 22 adet tRNA geni ve 2 adet ribozomal RNA geninden oluştuğu bildirilmektedir (Michelizzi *ve ark.*, 2010). Mandada mtDNA aşağıdaki kısımlardan oluşmakta olup yaklaşık 16 kb uzunluğundadır (Şekil.2.11).





Şekil 2.11 Manda mtDNA'sının gösterimi (Michelizzi ve ark., 2010)

Mitokondrial DNA (mtDNA) anneden gelen kalıtım niteliği ile ataların ve anneden gelen genetik etkinin tanımlanmasını mümkün kılan araçtır (Bollongino ve ark., 2012). mtDNA ata türleri evcilleştirmenin coğrafi bölgelerine (Naderi ve ark., 2008) göre yollarını (Groeneveld ve ark. 2010; Lenstra ve ark. 2012) tanımlamada da kullanılır. DNA çalışmalarının çoğu mitokondriyal genomun aşırı değişken kontrol bölgelerini hedef alır ve haplogruplar arasındaki ilişkiyi belirtirler (Achilli ve ark. 2009). Belli sayıda haplogrupların varlığı elit düzeyde farklı evcilleştirme olduğu anlamına gelmektedir. Bir tek ced yabancı populasyon birden fazla haplogrup içerebilir (Naderi ve ark., 2008; Cieslak ve ark., 2010; Bollongino ve ark., 2012). Bölgesel haplogrup dağılımları durağan olduğundan mtDNA sıklıkla erken dönem göçlerin varlığını gösterir (Cieslak ve ark., 2010; Miao ve ark. 2013; Lenstra ve ark, 2014). Haplogruplar benzer haplotipler grubu olup ortak cetten gelen bir sülalede birden fazla mutasyonun paylaşıldığı haplotip bir ya da daha çok polimorfik bölgede allelerin kombinasyonudur.

Şu ana kadar manda mtDNA'sı üzerinde yapılan çalışmalar, oldukça fazla mitokondriyal haplotipin varlığını ortaya koymaktadır (Çizelge 2.31). Mandada en sık çalışılan mtDNA bölgesi, kontrol bölgesi (D-loop) ve *sitokrom b* (*Cyto b*) bölgesidir.

Kontrol bölgesi (D-loop) mtDNA'nın en hızlı evrimleşen bölgesidir. Yaklaşık 1260 baz çifti (bç) uzunluğundadır ve yer değişim halkasını (displacement loop=D-loop) içermektedir (Yüncü, 2009). Bu bölge farklı sayıda bitişik tekrarlar içerdiğinden, uzunluğu birey bazında değişkenlik gösterebilir. Ayrıca bu bölge çok hızlı evrimleşme gösterdiği için çeşitliliğin coğrafi desenlerini belirleme çalışmaları ve evrimsel çalışmalar için sıklıkla kullanılır (Bruford ve ark., 2003).

Sitokrom b mitokondrinin solunumla ilgili zincirinde elektron iletiminden sorumlu genlerden biridir. Bu gen, ND6 ve tRNA<sup>Ser</sup> (S) genleri arasında yer alan yaklaşık 1140 bç'lik bir bölgedir. Sitokrom b gen bölgesi çeşitli nedenlerden dolayı filogenetik ve evrimsel çalışmalarda en yaygın olarak kullanılan genlerden biridir. Kontrol bölgesi gibi bu bölge nispeten hızlı evrimleşme geçirmekte, çalışma sonuçları kolayca mukayese edilebilmekte, derin akrabalık ilişkilerini açıklamak için yeterli düzeyde korunmaktadır.

### 2.3.1 Mandada Yapılan mtDNA Çalışmaları

Mandalarda mtDNA verileri, popülasyonlarının moleküler çeşitliliğinin kapsamını ve coğrafi dağılımını değerlendirmek, evcilleştirme ve evcilleştirme sonrası evrim tarihine ilişkin hipotezleri güçlendirmek amacıyla özellikle son yıllarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Dünyanın farklı ülkelerinde yetiştirilen manda popülasyonları üzerinde yapılan mtDNA D-loop ve *Sitokrom b* gen bölgesi çalışmalarında görülen haplotip sayıları Çizelge 2.3.1'de özetlenmeye çalışılmıştır.

Çizelge 2.3.1'de mandalar üzerinde yürütülen mtDNA (D-loop ve *sitokrom b*) gen bölgelerine ilişkin sonuçlar incelendiğinde, oldukça fazla sayıda haplotipin görüldüğü dikkati çekmektedir.

Yue ve ark. (2013)'nın Çin bataklık mandalarının bir kez mi, yoksa birden çok kez mi evcilleştirildiğini araştırmak için yaptıkları bir çalışmada, 22 popülasyondan alınan 471 bireyde (455 Çin bataklık mandası ve 16 nehir mandası bireyi) 915 baz uzunluğundaki mtDNA D-loop gen bölgesinde çalışılmıştır. Çalışmada elde edilen verilerin filogenetik analizi sonrasında Çin bataklık mandalarının 2 farklı kökenden (A ve B olarak tanımlanan) geldiğini, bu iki kökenden

biri olan A soyu olarak tanımlanan grubun tüm populasyonlarda yaygın olduğu belirlenmiştir. Tüm populasyonlarda yaygın olan A soyunun güneybatı Çin'deki populasyonlarda en yüksek genetik çeşitliliğe sahip olduğu ve 3 farklı evcilleştirme merkezinin (Güneydoğu, Orta ve Güneybatı Çin) olduğu düşünülen Çin'de A soyunun Güneybatı Çin'in populasyonlarında evcilleştirilmesi için en muhtemel yer olduğu belirlenmiştir. Bunların birlikte B soyu olarak tanımlanan grubun ise oldukça karmaşık bir model oluşturduğu ve evcilleştirme merkezinin tam yerinin kesin olarak tespit edilemediği bildirilmektedir. Yangtze Nehri boyunca tarih boyunca insan hareketlerinin ve beraberinde manda populasyonlarında göçlerin yaygın olduğu ve güçlü bir gen akışının söz konusu olduğu bildirilmiştir. Çalışma güneybatı Çin'in A soyu için en muhtemel evcilleştirme merkezi olduğunu ve bataklık mandası evcilleşmesinde birincil merkez olabileceğini göstermiştir.

Pakistan manda ırklarının (Nili-Ravi, Kundi) hem mikrosatellit hemde *Cyto-b* gen bölgesi polimorfizmlerinin incelendiği bir çalışmada (Saif ve ark., 2012); 1061 bç uzunluğundaki *Cyto-b* gen bölgesi 50 bireyde çalışılmış 10 farklı haplotipin ve 15 farklı polimorfik bölgenin olduğu belirlenmiştir. Bu çalışmada *Cyto-b* gen bölgesinde görülen varyasyonun, Pakistan manda populasyonlarının kökenlerinin gruplandırılmasına herhangi bir destek sağlayamadığı ve toplam varyasyonun sadece küçük bir kısmının gruplar arası varyasyondan kaynaklandığını göstermiştir.

**Çizelge 2.3.** Mandada yapılan mtDNA çalışmaları ve gözlenen haplotip sayıları

Ülke	İrk (n=birey sayısı)	mtDNA bölgesi	Haplotip sayısı	Çalışma
Çin	Çin bataklık ve nehir mandaları (22 populasyon- n=471 )	D-loop	157	Yue ve ark., 2013
Pakistan	2 Pakistan nehir mandası (n=50)	Cyto- b	10	Saif ve ark., 2012
Çin	13 Çin bataklık mandası (n=270)	Cyto- b	55	Lei ve ark., 2011
Hindistan	4 Hindistan nehir mandası (16), Murrah, Toda ve Çin bataklık mandaları	D-loop	28	Kathiravan ve ark., 2011
Pakistan	Pakistan nehir mandası (n=123)	D-loop	52	Babar ve ark., 2011
Mısır	Mısır nehir mandası (48)	D-loop	28	Hassan ve ark., 2009
Çin	Çin bataklık mandası	D-loop	43	Lei ve ark., 2007
Hindistan	8 Hindistan ırkı (n=217; n=80)	D-loop Cyto- b	135	Kumar ve ark., 2007
Çin	6 farklı Çin mandası tipi (n=30)	D-loop	12	Lei ve ark., 2007'a
Brezilya ve İtalya	İtalya ve Brezilya'dan toplanan 4 farklı ırk (n=80)	D-loop	36	Kierstein ve ark., 2004
Malezya	Farklı ülkelerden toplanan nehir ve bataklık mandası (n=80)	D-loop Cyto- b	33	Lau ve ark., 1998
Japonya	Farklı ülkelerden toplanan nehir ve bataklık mandası ve yaban mandası (n=48)	Cyto- b	15 haplotip	Kikkawa ve ark., 1997
Türkiye	8 farklı il populasyonu (n=56)	D-loop Cyto- b	25 haplotip	TURKHAYGEN I proje sonuç raporu

Çin’de yetiştiriciliği yapılan manda populasyonlarının evrimsel kökenlerini daha iyi anlamak için yapılan bir çalışmada, 13 farklı Çin yerel bataklık manda populasyonunu temsil eden 270 bireyde 1140 bç uzunluğundaki mtDNA *Cyto b* gen bölgesinde çalışılmıştır (Lei ve ark., 2011). Ayrıca bu çalışmada dizilimi yapılan 270 bireye ait sonuçlara ek olarak GenBank’tan alınan 19 nehir ve 23 bataklık manda dizisini içeren toplam 42 bireye ait *Cyto b* gen bölgesi dizisi (Çin, Tayland, Japonya, Filipinler, Endonezya, İtalya, Sri Lanka, Bangladeş ve Pakistan) birlikte analiz edilerek Çin’deki bataklık mandalarının evrimsel geçmişi irdelenmiştir. Çalışmada 55 farklı haplotipin görüldüğü, bu haplotiplerin 2 farklı köken (nehir ve bataklık) oluşturduğu gözlemlenmiştir. 14 farklı nehir mandası haplotipinin aynı grup altında kümelendiği, diğer grupta ise bataklık mandalarına ait haplotiplerin 2 farklı kümelene (A ve B soyu) oluşturduğu görülmüştür. Tüm veriler birlikte değerlendirildiğinde Çin yerel bataklık mandalarının 2 farklı kökenden geldiği belirlenmiştir.

Kathiravan ve ark. (2011)’nin yaptığı bir çalışmada ise; Hindistan’ın 2 farklı bölgesinden alınan (Güney Kanara (9) ve Marathwada (7)) toplam 16 bireyde mtDNA D-loop gen bölgesi polimorfizmi çalışılmıştır. Çalışmada dizilimi yapılan 16 bireye ait sonuçlar GenBank’tan alınan farklı ülkelere ait örnekler (Murrh, Toda ve Çin bataklık mandaları) ile analiz edilerek Hindistan manda bireylerinin kökenleri hakkında bilgi elde edilmeye çalışılmıştır. Çin bataklık mandalarına ait bireyler dış grup (outgroup) olarak alınmıştır. Yapılan istatistikî analizler sonrasında 15 farklı polimorfik bölgenin olduğu ve 28 farklı haplotipin olduğu gözlenmiştir.

Kumar ve ark., (2007)’nin yaptıkları bir çalışmada Hindistan’ın 8 farklı ırk ve 8 farklı bölgeden (kuzey, kuzey-batı, orta ve güney Hindistan) toplanan 217 bireyde mtDNA gen bölgelerine ilişkin (D-loop, *Cyto b*) polimorfizm çalışılmıştır. Bu çalışmada elde edilen DNA dizileri daha önceki bir çalışmada (Kierstein ve ark., 2004) yayınlanmış olan Akdeniz mandaları ve Bataklık mandaları dizi sonuçları ile karşılaştırmaları yapılmıştır. Tüm veriler birlikte değerlendirildiğinde nehir ve bataklık mandalarının birbirlerinden ayrıldığı, 2 farklı gruplanmanın söz konusu olduğu görülmektedir. Çalışmada D-loop gen bölgesinde 135 farklı haplotipin görüldüğü ve bu haplotipler ile Akdeniz mandalarına ait 11 haplotip ve bataklık mandalarına ait 10 haplotip arasındaki filogenetik ilişkilerin irdelenmesi sonucunda iki farklı kümelene (cluster) olduğu, nehir ve bataklık manda haplotiplerinin birbirlerinden tamamen ayrıldıkları görülmüştür. Aynı çalışmada nehir mandası bireylerinin ise kendi içerisinde 2 farklı alt gruba ayrıldığı, I. grupta Hindistan nehir mandaları ve Akdeniz mandalarına ait haplotiplerin büyük bir kısmının birlikte gruplandığı diğer 10 haplotipin (4

Akdeniz mandası haplotipi, 6 Hindistan nehir mandası haplotipi) bu gruptan ayrı olarak gruplandırıldığı dikkat çekmektedir. *Cyto b* gen bölgesinde ise 8 ırk ve 8 farklı bölgeden toplanan 80 bireyde çalışılmış ve Hindistan mandalarında 4 farklı haplotipin görüldüğü bildirilmiştir.

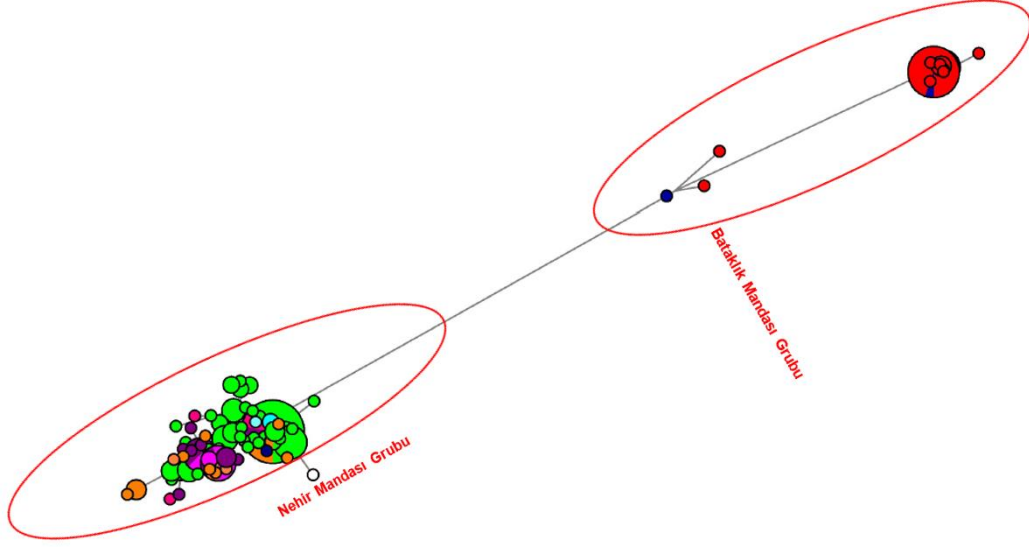
Lau ve ark., (1998)'nin Asya nehir ve bataklık manda populasyonlarında D-loop ve *cyto b* gen bölgeleri genetik çeşitliliğinin incelendiği çalışmasında; nehir manda populasyonlarında *sitokrom b* gen bölgesinde tek bir haplotip, bataklık manda populasyonlarında ise 4 farklı haplotipin olduğu belirlenmiştir. *Sitokrom b* gen bölgesinde tüm popülasyonlarda görülen haplotipin atasal haplotip olduğu hem bataklık hem de nehir manda populasyonlarında görüldüğü bildirilmiştir. Aynı çalışmada D-loop gen bölgesinde 33 farklı haplotipin görüldüğü ve bu haplotipler arasındaki filogenetik ilişkilerin irdelenmesi sonucunda iki farklı kümelenmenin (cluster) olduğu belirlenmiştir.

Tüm haplotiplerin bataklık manda populasyonlarına ait bireylerden oluşan ilk kümelenmede (I. cluster) sadece 11 farklı haplotip yer almıştır. İkinci kümelenmede (II. cluster) ise 22 farklı haplotipin yer aldığı ve bu haplotiplerin içerisinde sadece bataklık mandalarından 12 farklı haplotipin yer aldığı, 8 haplotipin nehir mandaları populasyonlarında, 2 haplotipin ise hem nehir hem de bataklık mandası populasyonlarında görüldüğü belirlenmiştir. Lau ve ark.'nın bu çalışmasında elde edilen veriler birlikte değerlendirildiğinde, evcilleştirilmiş bataklık ve nehir mandalarının muhtemelen yabancı Asya mandası olarak bilinen (*Bubalus arnee*) bataklık mandası benzeri atalardan evcilleştirilmiş olduğu ve günümüz Asya bataklık ve nehir mandasının buradan köken aldığı fikri desteklenmiştir. Aynı çalışmada ortaya atılan hipotezde, mandanın Güney – Doğu Asya anakarasında ortaya çıktığını ve nehir türünün burada geliştiği ve evcilleştirildiği, daha sonra kuzeyden Çin'e ve batıdan Hint yarımadasına yayıldığı öne sürülmektedir.

D-loop ve *Cyto b* gen bölgesi üzerinde Pakistan, Mısır, Çin, Brezilya, İtalya, Hindistan, Tayland, Tayvan, Sri Lanka, Filipinler, Bangladeş vb. ülkelerde yapılan çalışmalara ait sonuçlar irdelendiğinde de (Babar ve ark., 2011, Hassan ve ark., 2009, Lei ve ark., 2007, Kierstein ve ark., 2004, Kikkawa ve ark., 1997) haplotip sayısının oldukça değişkenlik gösterdiği ve haplotip sayısının yüksek olduğu dikkat çekmektedir.

Türkiye manda populasyonları üzerinde yapılan çalışmalar incelendiğinde mtDNA polimorfizmini inceleyen referans bir çalışmaya rastlanmamıştır. Ancak Namık Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootekni Bölümü, Biyometri Genetik Anabilim Dalının TURKHAYGEN I projesi kapsamında yürüttüğü ön bir çalışmada; Türkiye'nin farklı

bölgelerinden toplanan (8 farklı ildeki populasyonlardan seçilen) 56 bireyde mtDNA D-loop ve *Cyto b* gen bölgelerine ait polimorfizmler incelenmiştir. Çalışma sonuçları proje raporunda özetlenmiş fakat herhangi bir dergide (birey sayısının azlığı nedeni ile) yayınlanmamıştır. Bu çalışmada Türkiye'nin farklı bölgelerinden toplanan populasyonlardaki genetik çeşitliliğin incelenmesi, populasyonlar arası farklılıkların ortaya konulması ve mandanın evcilleştirilme tarihinin aydınlatılmasına katkıda bulunulmaya çalışılmıştır. Bu çalışmada; 52 Türkiye mandası bireyinde D-loop bölgesinde toplam 25 haplotip olduğu belirlenmiştir. Bu 25 haplotipten 19'unun özgün olduğu yani 8 farklı ilden toplanan 52 manda bireyi içerisinde sadece bir hayvanda görüldüğü belirlenmiştir. Türkiye mandası populasyonlarından 52 bireyin DNA dizisi, diğer ülkelerde yapılan çalışmalarda nehir ve bataklık mandası bireyleri referans alınarak karşılaştırılmaları yapılmıştır. 2 farklı ülkede (Çin, Brezilya) yetiştirilen bataklık mandası ırklarından seçilen 41 dizi (Lei *ve ark.*, 2007; Kierstein *ve ark.*, 2004) ve yine farklı ülkelere seçilen (Hindistan (n=92), Mısır (n=4), İtalya (n=1), Brezilya (n=3)) nehir mandalarında yapılan çalışmalardan toplam 100 bireye ait dizi (Hassan *ve ark.*, 2009; Parma *ve ark.*, 2004; Kumar *ve ark.*, 2007; Sandhu *ve Kumar*, 2002) kullanılarak mtDNA D-loop bölgesi sekansının Medyan Birleştirme Ağı Analizi ile karşılaştırılması yapılmıştır. Çalışmada nehir ve bataklık mandalarının birbirlerinden net olarak ayrıldığı görülmüştür. Fakat bataklık mandalarının bazı haplotiplerinin nehir ve bataklık mandası grupları arasında yer aldığı belirlenmiştir. Bataklık mandalarına ait grupta 13 farklı haplotip görülmekte iken, Türkiye mandasının da içinde yer aldığı grupta 68 farklı haplotip gözlenmiştir. Türkiye'deki 52 bireye ait veriler ile diğer ülke verilerinin karşılaştırılması sonucunda Türkiye manda populasyonlarının Akdeniz nehir mandaları grubuna ait bireyler ile gruplandığı bataklık mandalarından tamamen ayrıldığı gözlemlenmiştir (Şekil 2.12).



**Şekil 2.12.** 924 bp uzunluğundaki mtDNA kontrol bölgesi sekansları kullanılarak oluşturulan Medyan Birleştirme Ağ. (**Kırmızı renk:** Çin örneklerini, **Mavi renk:** Brezilya örneklerini, **Yeşil renk:** Hindistan örneklerini, **Beyaz renk:** İtalya örneğini, **Turuncu renk:** Ege-Güney Marmara bölgesi örneklerini, **Mor renk:** Karadeniz bölgesi örneklerini, **Pembe renk:** Trakya bölgesi örneklerini, **Turkuaz rengi:** Mısır bölgesi örneklerini ifade etmektedir).

Bu tez çalışması kapsamında son yıllarda uygulanmaya başlanan DNA tekniklerinden biri olan mtDNA (D-loop ve sitokrom b gen bölgesi) polimorfizm yöntemi kullanılmış olup, bu teknik ile Türkiye’de yetiştirilen manda popülasyonlarının kendi içerisindeki genetik yapılarının belirlenmesine ve filogenetik olarak popülasyonlar arası mevcut durumun incelenmesine çalışılmıştır.



### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

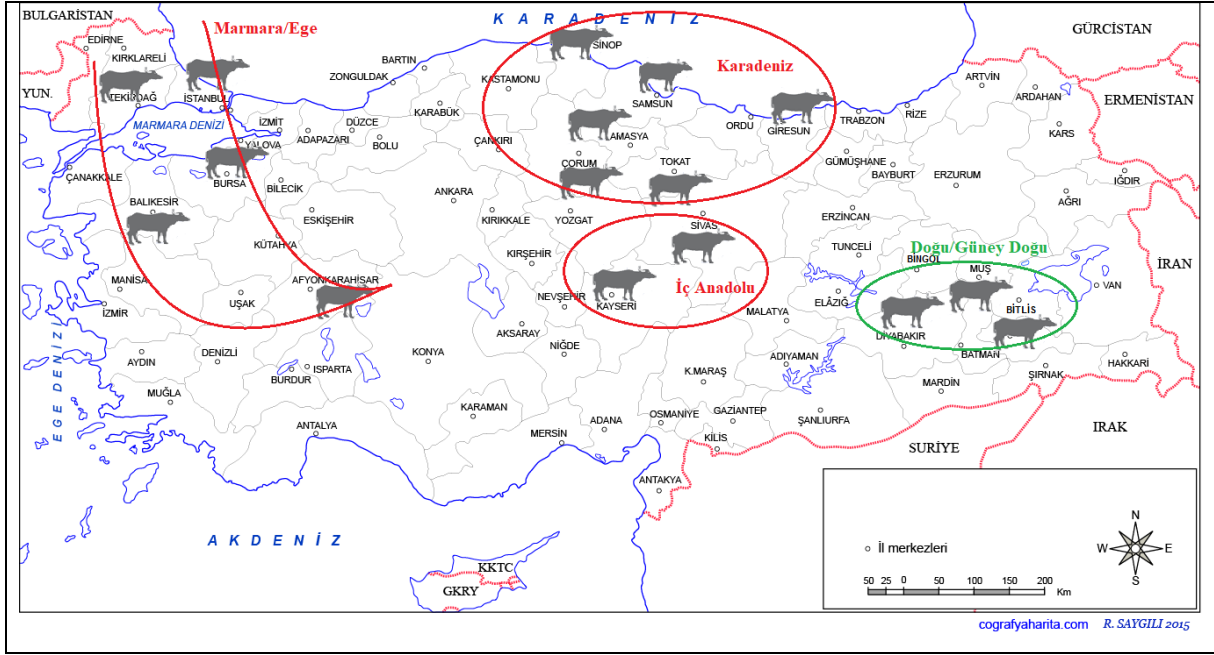
Bu çalışmada, Türkiye'nin 6 bölgesinden toplanan 16 farklı manda popülasyonunda mtDNA D-loop ve *Cyto-b* gen bölgesi çeşitlilikleri, popülasyonlar arası farklılıklar ve bu popülasyonların coğrafi dağılımları ile olan ilişkisinin ortaya konulması amaçlanmıştır.

Tez kapsamında çalışılan bireylere ait DNA'lar Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootekni Bölümü, Biyometri Genetik Anabilim Dalı laboratuvarında mevcut olup, bu DNA'lar 2 farklı proje (P1: TAGEM-13/ARGE/29- Anadolu Mandasına Özgü Ebeveyn Kiti Oluşturulması; P2: TÜBAP 626- Türkiye'deki Anadolu Mandası ve Bozstep Sığır Irkının Genetik Yapılarının Mikrosatellit DNA Polimorfizmi Tekniği ile İncelenmesi ve Korunma Stratejilerinin Oluşturulması) kapsamında daha önceki yıllarda kan örneği toplanarak standart fenol-kloroform-isoamil alkol metoduna (Sambrook *ve ark.*, 1989) göre izole edilen DNA'lardan temin edilmiştir. Bütün gen havuzunun temsil edilebilmesini sağlamak için her yetiştiriciden sadece 2-3 birey örneklenmiştir. DNA izolasyonları sonrasında ilgili gen bölgelerinin (D-loop, *Cyto b*) Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile yükseltgenilmesi ve ardından dizi analizi uygulanmıştır. DNA dizi analizi sonrası elde edilen verilerin filogenetik analizleri yapılmıştır. DNA dizilerinin karşılaştırılmasıyla yapılan filogenetik analizler, türler arası ve tür içi evrimsel ilişkileri, canlılar arasındaki genom benzerlikleri ve farklılıkları hakkında bilgi vermektedir. Çalışma kapsamında elde edilen sonuçlar öncelikle Türkiye popülasyonları içerisinde değerlendirilmiş, yorumlanmış ve farklı haplogruplara atanan örnekler kendi içerisinde değerlendirilmiştir. Ayrıca elde edilen veriler GenBank'tan alınan verilerle birlikte değerlendirilerek filogenetik olarak değerlendirilmiştir.

#### 3.1 Anadolu Mandası Örnekleme ve DNA İzolasyonu

Bu araştırmanın materyalini, Türkiye'de manda yetiştiriciliğinin yapıldığı 6 farklı bölge (Marmara- Ege Bölgesi, Doğu -Güney Doğu Anadolu Bölgesi, Karadeniz Bölgesi, İç Anadolu Bölgesi) ve 16 farklı ilden (Afyon (AF), Balıkesir (BA), Bursa (BU), İstanbul/Silivri (SIL), Tekirdağ/Saray (SAR), Sinop (SI), Samsun (SA), Tokat(T), Çorum(C), Amasya (A), Giresun(G), Muş (MU), Bitlis (B), Diyarbakır(D), Kayseri (K) ve Sivas (S)) toplam 200 farklı birey oluşturmaktadır (Çizelge 3.1.)

Çalışma kapsamında Türkiye manda populasyonlarının sahip olduğu genetik çeşitliliğin güvenilir düzeyde temsil edilebilmesi için populasyonlara ait bireylerin birbirine uzak bölgelerden olmasına ve akraba olmamalarına dikkat edilmiş, coğrafi alan bilgileri kaydedilmiştir. Örneklerin toplandığı bölgeler ve iller harita üzerinde gösterilmektedir (Şekil 3.1.).



Şekil 3.1. Tez kapsamında çalışılan bireylerin Türkiye haritası üzerindeki dağılımları.

**Çizelge 3.1.** Örneklemenin yapıldığı bölge, il, birey sayısı ve örneğin alındığı köyler

Bölge	İl	n*	n**	Örneğin alındığı köy
Marmara / Ege Bölgesi	İstanbul/Silivri (SIL)	7	5	Silivri (Danamandıra köyü) ve Selimpaşa (Nakkaş köyü)
	Balıkesir (BA)	7	7	Halalca köyü, Yakupköy, Balıklı köyü
	Bursa (BU)	7	7	Mustafa Kemal Paşa: Karaoğlan köyü
	Afyon (AF)	13	7	Merkez, Akçin köyü
	Tekirdağ /Saray (SAR)	7	7	Saray, Güngörmez köyü, Ayvacık köyü Saray – Merkez- Sefa alan
	<b>TOPLAM</b>	<b>41</b>	<b>33</b>	
Karadeniz Bölgesi	Samsun (SA)	6	7	Bafra: Sarı köy, Doğanca Beldesi, Yakıntaş köyü
	Sinop (SI)	7	7	Merkez, Dibekli Köyü
	Tokat (T)	6	7	Merkez: Çamaltı köyü ve Süngüt köyü, Pazar:Çiftlik Köyü
	Çorum (C)	12	21	Çorum merkez ve köyleri
	Amasya (A)	19	16	Amasya merkez ve köyleri
	Giresun (G)	19	20	Giresun merkez ve köyleri
	<b>TOPLAM</b>	<b>69</b>	<b>78</b>	
Doğu / Güney Doğu Anadolu	Muş (M)	10	19	Muş merkez ve köyleri
	Bitlis (B)	13	19	Bitlis merkez ve köyleri
	Diyarbakır (D)	13	15	Diyarbakır merkez ve köyleri
	<b>TOPLAM</b>	<b>36</b>	<b>53</b>	
İç Anadolu Bölgesi	Kayseri (K)	18	18	Kayseri merkez ve köyleri
	Sivas (S)	19	18	Sivas merkez ve köyleri
	<b>TOPLAM</b>	<b>37</b>	<b>36</b>	
		<b>183</b>	<b>200</b>	

n\*: D-loop gen bölgesi kapsamında çalışılan birey sayısı, n\*\*: *Cyto-b* gen bölgesi kapsamında çalışılan birey sayısı

### 3.2. DNA'ların Yoğunluğunun, Saflığının ve Bütünlüğünün Kontrolü

Tez kapsamında çalışılan DNA'ların yoğunluğunun kontrol edilmesi amacıyla spektrofotometrik ölçüm yapılmıştır (Thermo Scientific NanoDrop 2000c nanodrop spektrometre). Spektrofotometre ile miktar tayini yapılan DNA'ların bütünlüğünün (degrade olup olmadığının) kontrolü için % 0.8'lik agaroz jel elektroforez tekniği kullanılmıştır. Bunun için; 0.8g agaroz tartılarak 100ml 1X TBE (Tris-Borate-EDTA) içinde homojen bir görünüm alana kadar mikrodalga fırında eritilmiştir. Agaroz jel karışımı, ılık suyun altında yaklaşık 60°C 'ye düşene kadar tutulduktan sonra 10µl Safe Red™ eklenmiş ve köpürmemesine dikkat edilerek karıştırılmıştır. Agaroz jel karışımı, taraklar içeren jel kasedine dökülerek yarım saat donması beklenmiş ve süre sonunda taraklar çıkartılarak, 1X TBE içeren elektroforez tankına alınmıştır. DNA'ların görüntülenmesi amacıyla, 3µl DNA, 3µl 2X yükleme solüsyonu ve 6µl distile su karıştırılmış ve kuyucuklara yüklenmiştir. Elektroforez işlemi 180 V'da 20–25 dakika uygulanmıştır. Görüntüleme sistemi (Vilber Lourmat marka jel görüntüleme cihazı) yardımıyla DNA bantlarının varlığı ve bütünlüğü kontrol edilmiştir.

Tüm DNA'ların miktar ve bütünlüğünün kontrolü sonrası DNA'lar PZR'da kullanılmak üzere (yaklaşık 100ng/µl olacak şekilde) 1/10 veya 1/20 oranında saf su ile sulandırma yapılmış, hemen kullanılacak olanlar +4°C'de, saklanacak olanlar ise -20°C'de muhafaza edilmiştir.

### 3.3. mtDNA D-loop ve *Cyto b* Gen Bölgesi Çalışılmasına İlişkin Metotlar

#### 3.3.1. mtDNA D-loop Bölgesinin Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ile Yükseltgenmesi

Türkiye manda populasyonlarından alınan örneklerde mtDNA dizi analizi çalışmaları için öncelikle kontrol bölgesi (D-loop) üzerinde en fazla değişkenlik gösteren ve haplo-grupların ayırımına olanak sağlayan yaklaşık 1025 bp'lik bir bölgenin yükseltgenmesi sağlanmıştır. Tez kapsamında çalışılan bölgelere ait primer dizilimleri ve referans alınan çalışmalar Çizelge 3.2.'de verilmiştir.

**Çizelge 3.2.** Proje kapsamında D-loop bölgesini yükseltgemedede kullanılan primerler

<b>Çalışma</b>	<b>Çalışılan Primer</b>
Kumar <i>ve ark.</i> , 2007	HVR-I İleri F: 5'-GGAAGAAACTGCAGTCTCACCAT-3', Geri R: 5'-ATGGGCTGATTAGCCATTAGTCC-3'
Kumar <i>ve ark.</i> , 2007	HVR-II F: 5'-GGTTCTTTCTTCAGGGCCATCTC-3', R: 5'-CAGTGCCTTGCTTTGGGTAAAGC-3'
Kathiravan <i>ve ark.</i> , 2011	Mito(D-loop) F :5'-TAGTGCTAATACCAACGGCC-3' Mito(D-loop) R :5'-AGGCATTTTCAGTGCCTTGC-3'

Türkiye manda popülasyonlarının mtDNA kontrol bölgesinin çoğaltılması amacıyla referans olarak alınan Kumar *ve ark.*'nın (2007) çalışmasında önerilen HVR-I primerleri ile ilgili kontrol bölgesinin yükseltgenmesi bu çalışma kapsamında incelenen bireylerde yapılamamıştır. Laboratuvarımızda daha önceki projeler kapsamında toplanmış olan sığır ve mandalardan elde edilen DNA örneklerinde optimizasyonlar birlikte yapılmıştır. Yapılan optimizasyon çalışmalarında sığırdaki başarı ile yükseltgenme yapılabilirken mandada bu primerlerin çalışmadığı belirlenmiştir.

Bu nedenle çalışmamızda Kumar *ve ark.*'nın (2007) çalışmasında önerilen HVR-II ve Kathiravan *ve ark.*'nın (2011) çalışmasında önerilen primerler kullanılarak kontrol bölgesi polimorfizmi Türkiye'deki farklı illerden toplanan manda popülasyonlarında taranmıştır. Şekil 3.3.1'de GenBank'tan referans olarak alınan manda mtDNA / D-loop gen bölgesi nükleotid dizisi üzerinde kullanılan primerler gösterilmektedir.

## Bubalus bubalis mitochondrion, complete genome

GenBank: AF547270.1

LOCUS AF547270 16358 bp DNA circular MAM 25-JUL-2016  
DEFINITION Bubalus bubalis mitochondrion, complete genome.  
ACCESSION AF547270  
VERSION AF547270.1  
KEYWORDS .  
SOURCE mitochondrion Bubalus bubalis (water buffalo)  
ORGANISM Bubalus bubalis  
Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi;  
Mammalia; Eutheria; Laurasiatheria; Cetartiodactyla; Ruminantia;  
Pecora; Bovidae; Bovinae; Bubalus.  
REFERENCE 1 (bases 1 to 16358)  
AUTHORS Verma,S.K., Prasad,K. and Singh,L.  
TITLE Sequencing and characterization of complete mitochondrial genome of  
the Indian water buffalo (Bubalus bubalis)  
JOURNAL Unpublished  
REFERENCE 2 (bases 1 to 16358)  
AUTHORS Verma,S.K., Prasad,K. and Singh,L.  
TITLE Direct Submission  
JOURNAL Submitted (18-SEP-2002) Centre for Cellular and Molecular Biology,  
Uppal Road, Hyderabad, AP 500007, India  
FEATURES  
source Location/Qualifiers  
1..16358  
/organism="Bubalus bubalis"  
/organelle="mitochondrion"  
/mol\_type="genomic DNA"  
/db\_xref="taxon:89462"  
D-loop join(15807..16358,1..375)  
tRNA 376..444  
/product="tRNA-Phe"

ORIGIN  
1 actaatgtct aatcagccca tgctcacaca taactgtct gtcatacatt tggatTTTT  
61 ttatttttggg ggatgcttgg actcagctat ggccgtcaaa ggccccgacc cggagcataa  
121 attgttagctg gacttlaactg catcttgagg accagcataa tggtaggcac gggacattac  
181 agttaatggf cacaggacat aaatatatta ttcattcttc cccccctcct atcaaacccc  
241 cccttaataa tttaccacca tttttaacat gcttctccct agatgcttat tCGAATTtat  
301 cacacttcca atactcaaat tagcactcca aacaaagtaa ctatataagc acctaaccac  
361 tcaactcaca atacagttaa tGTA**GCTTAA** **AACCAAAGCA** **AGGCACTGAA** **AATGCCT**aga  
421 tgagttctcc caactcagata aacacatagg tttgggtcca gccttcctgt taactcttaa  
481 taactttca catgcaagca tccgcattcc ggtgagaatg cctctaggf caacaaaact  
541 aagaggagcg ggcatcaagc acacacctg agctcacgac gccttgctta accacacccc  
.....  
15661 aatgaagaca agtctttgta gtatattaaa tacactggtc ttgtaaacca gaaaaggaga  
15721 acaaccaacc tccccaaagc tcaggggaaga ggctatagcc ccaactaccac cacccaaagc  
15781 tgaagttcta tttaaactac tccttgaata ttattaatat acctccaca atgcaagag  
15841 ccttctcagt attaaattca ctaaaacttg caacaactta acactgacti tacactctaa  
15901 cctaacatta gaaataactg caaccatcaa cacacctaac ctgcgatgta cggcatacaa  
15961 catatggtct taccactccg aatgggggaa tgtacataac attaagttaa caaggacata  
16021 atatgtatat agtacattac attatatgcc ccatgcgat aagcaagtac ataaacatgc  
16081 atgatagtac atagtacata taattattga tcgtacatag cacatttaag tcaaatccat  
16141 tcttatcaac atgctatccc ctccactag atcacgagct tgatcccat gccgctgaa  
16201 accagcaacc cttcaggcaa ggatccctct tctgctccg ggcctatgt atgtgggggt  
16261 agctatttaa tgaatttaa caggcatctc **GTTCTTCTT** **CAGGCCATC** **TCatctaaaa**  
16321 tccgccattc tttcctctta aataagacat ctcgatgg

**Şekil 3.2.** Mandada (Bubalus bubalis) mtDNA/D-loop bölgesi (GenBank No:AF547270) nükleotit dizisi üzerinde kullanılan primerler

D-loop bölgesi PZR ile yükseltgenmede reaksiyon başına kullanılacak kalıp DNA miktarı, MgCl<sub>2</sub>, primer ve dNTP konsantrasyonları ile en uygun primer bağlanma sıcaklığının

belirlenmesi amacıyla gradient PZR kurularak optimizasyon yapılmıştır. PZR'ın ardından, yükseltgeme ürünleri % 2'lik agaroz jelde 200V altında 20 dakika elektroforez yapılarak kontrol edilmiştir.

PZR amplifikasyonları 20µl toplam hacimde hem 1.5mM hem de 2mM MgCl<sub>2</sub> yoğunluğunda kalıp DNA'dan 50-100ng, her bir primerden 10pmol, her bir dinükleotid trifosfattan (dNTP'ler) 200µM, 1U Taq DNA polymerase (MBI Fermentas) ve 1X PCR buffer (10mM Tris-HCl, pH 9,0; 50mM KCl) olacak şekilde, MyCycler™ termal döngü cihazında yapılmıştır (BIO-RAD). 94°C'de 5dk'lık ilk denatürasyonun ardından 94°C'de 30s denatürasyon, 50–60°C aralığında değişen (gradient) bağlanma sıcaklığında 30s ve 72°C'de 2 dk uzama aşamalarını içeren 35 döngüyü takiben 72°C'de 15dk son uzama yaptırılarak tamamlanmıştır. D-loop bölgesi en uygun kimyasal yoğunlukları ve en uygun yükseltgenme koşulları Çizelge 3.3.'de sunulmuştur.

**Çizelge 3.3.** D-loop bölgesi PZR reaksiyonunda kullanılan kimyasal yoğunlukları

<b>Bileşenler</b>	<b>Stok Konsantrasyonu (Miktar)</b>
10x Buffer	10 X PCR Tamponu (2.0 µl)
MgCl <sub>2</sub>	25 mM (2 µl)
dNTP	200 µM (1.0 µl)
İleri / Geri primer	10 pmol (1.0 µl)
Taq DNA polymerase	5 U/ µl (0.1 µl)
Kalıp DNA	50-100 ng DNA (2 µl)
Yukarıdaki içerikler ddH <sub>2</sub> O ile 20 µl'ye tamamlanır.	

**Çizelge 3.4.** D-loop bölgesi PZR reaksiyonu yükseltgenme koşulları.

Sıcaklık	Süre	Döngü	
94 C <sup>0</sup> 'de	4 dk	1	İlk denatürasyon
94C <sup>0</sup> 'de	30 s		Denatürasyon
57 C <sup>0</sup> 'de	30 s	35	Primer bağlanma
72 C <sup>0</sup> 'de	2dk		Uzama
72 C <sup>0</sup> 'de	15 dk	1	Son Uzatma

### 3.3.2. mtDNA *Cyto-b* Bölgelerinin Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ile Yükseltgenmesi

Türkiye manda popülasyonlarından seçilen örneklerde mtDNA *sitokrom b* (*Cyto b*) bölgesinin yaklaşık 1140 bp uzunluğundaki bir parçası Kumar ve ark.'nın (2007) çalışmasından alınan *Cyto-I* ve *Cyto-II* primerleri ile çalışılmıştır. Tez kapsamında çalışılan *Cyto b* bölgesine ait primer dizilimleri ve referans alınan çalışmalar Çizelge 3.5'de verilmiştir.

**Çizelge 3.5.** Proje kapsamında *Cyto-b* bölgesini yükseltgemedeki kullanılan primerler

Çalışma	Çalışılan Primer
Kumar ve ark., 2007	<i>Cyto-I</i> İleri: 5'-ATCATTCTGAGGGGCAACAG-3', Geri: 5'-CTTCAGCTTTGGGTGTTGGT-3'
	<i>Cyto-II</i> İleri: 5'-GACAATATCCGAAAATCCAC-3', Geri: 5'-TTC ACTCA ACCAGACTAGTACC-3'

Şekil 3.3.' te GenBank'tan referans olarak alınan manda mtDNA/ *Cyto b* gen bölgesi nükleotid dizisi üzerinde kullanılan primerler gösterilmiştir.



## Bubalus bubalis mitochondrion, complete genome

GenBank: AF547270.1

LOCUS AF547270 16358 bp DNA circular MAM 25-JUL-2016  
DEFINITION Bubalus bubalis mitochondrion, complete genome.  
ACCESSION AF547270  
VERSION AF547270.1  
KEYWORDS .  
SOURCE mitochondrion Bubalus bubalis (water buffalo)  
ORGANISM [Bubalus bubalis](#)  
Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi;  
Mammalia; Eutheria; Laurasiatheria; Cetartiodactyla; Ruminantia;  
Pecora; Bovidae; Bovinae; Bubalus.  
REFERENCE 1 (bases 1 to 16358)  
AUTHORS Verma,S.K., Prasad,K. and Singh,L.  
TITLE Sequencing and characterization of complete mitochondrial genome of  
the Indian water buffalo (Bubalus bubalis)  
JOURNAL Unpublished  
REFERENCE 2 (bases 1 to 16358)  
AUTHORS Verma,S.K., Prasad,K. and Singh,L.  
TITLE Direct Submission  
JOURNAL Submitted (18-SEP-2002) Centre for Cellular and Molecular Biology,  
Uppal Road, Hyderabad, AP 500007, India  
FEATURES Location/Qualifiers  
source 1..16358  
/organism="Bubalus bubalis"  
/organelle="mitochondrion"  
.  
CDS 14529..15668  
/codon\_start=1  
/transl\_table=2  
/product="cytochrome b"  
/protein\_id="[AAQ12190.1](#)"  
/translation="MTNIRKSHPLMKILNNAFIDLPAISPNISSWVNFSGLLGICLILQ  
ILTGLFLAMHYTSDTTAFSSVAHICRDVNYGWIIRYMHANGASMFICLYMHVGRGM  
YGSYTFLETWNIGVILLFAVMATAFMGYVLPWQQMSFWGATVITNLLSAIPYIGTSL  
VEWIWGGFSVDKATLTRFFAFHFILPFIIAALAMVHLLFLHETGSNNTGISSDQKI  
PFHPYTIKIDILGALLLILALMLLVLFPTDLLGDPDNYTPANPLNTPPHIKPEWYFLF  
AYAILRSIPNKLGGVLALVLSILILILMPLLHTSKQRSMMFRPFSQCLFWILVANLLT  
LTWIGGQVVEHPYIIIGQLASITYFLILVLMPTASMIENLLKW"  
tRNA 15673..15741  
/product="tRNA-Thr"  
tRNA complement(15741..15806)  
/product="tRNA-Pro"

ORIGIN

```
1 actaatgtct aatcagccca tgctcacaca taactgtgct gtcatacatt tggatttttt
61 ttattttggg ggaatgcttg actcagctat ggccgtcaaa ggccccgacc cggagcataa
.....
14461 tcacgtgga tcaaccacg accaatgata tgaaaaacca tcgttgatcat tcaactacaa
14521 gaacatcaat GACCAATATC CGAAAATCCC ACccactaat aaaaattcta aacaatgcat
14581 tcattgatct ccctgctcca tcaaatatct catcatgatg aaactttgac tctctcctag
14641 gcatctgctt aattctgcaa atcctcaccg gcctattcct agcaatacac tacacatccg
14701 acacaacaac agcattctcc tccgtcgccc acatctgccc agacgtgaac tatggatgaa
14761 ttattcgata catacagcca aacggagctt caatattttt catctgctta tatatacaccg
14821 taggacgagg catatactac ggatcatata cttttctaga aacatgaaac atcggagtaa
14881 ttctattatt cgcagtaata gccacagcat ttataggata cgtactgcca tGAGGACAAA
14941 TATCATTCTG AGGGGCAACA Gtcatcacca accttctctc agcaatccca tacattGGTA
15001 CTAGTCTGGT TGAGTGAATc tggggaggat tctcagtaga caaagcaacc ctcaccggat
15061 tcttcgcatt tcacttcate ctcccattca ttatcgcagc acttgcaata gtccacctat
15121 tattcctcca cgaaacagga tccaacaacc caacaggaat ctcatcagac acagacaaaa
15181 tcccattcca cccctactac accattaaag acatcctagg cgcctacta ctaatcctag
15241 ccctgatact attagtaacta ttcacaccgg acctcctcgg agaccagac aactacaccg
15301 cagcaaaccc actcaacaca cctcccaca tcaaacctga atggtacttc ctattcgcct
15361 acgcaatctt acgatcaatt cctaacaacc taggaggggt tctagcccta gttctctcca
15421 tcctaatcct cattctcatg cccctgctac acacatccaa acaacgaagt atgatgttcc
15481 gaccattcag ccaatgccta ttctgaatcc tagtagcaaa cctgctaaca ctcacatgaa
15541 ttggaggaca gccagtcgaa cacccatata ttatcatcgg acaactagca tccatcacat
15601 atttccttct catcctagtg ctaataccaa cggccagcat aatcgaaaat aatctcttaa
15661 aatgaagaca agtctttgta gtatattaaa tacactggtc ttgtaaacca gaaaaggaga
15721 acaaccaacc tcccgaagac tcagggaaga ggctatagcc ccactACCAA CACCCAAAGC
15781 TGAAGttcta tttaaactac tccctgaata ttattaatat acctccacaa atgcaaaagc
.....
16261 agctatntaa tgaattntaa caggcatctg gttctttctt cagggccatc tcactntaaa
16321 tcgcccattc tttcctntta aataagacat ctcgatgg
```

Şekil 3.3. Mandada (*Bubalus bubalis*) mtDNA/Cyto-b bölgesi (GenBank No:AF547270) nükleotit dizisi üzerinde kullanılan primerlerin gösterimi

*Cyto b* bölgesi PZR ile yükseltgenmede reaksiyon başına kullanılacak kalıp DNA miktarı, MgCl<sub>2</sub>, primer ve dNTP konsantrasyonları ile en uygun primer bağlanma sıcaklığının belirlenmesi amacıyla gradient PZR kurularak optimizasyon yapılmıştır. PZR'ın ardından, yükseltgeme ürünleri % 2'lik agaroz jelde 200V altında 20 dakika elektroforez yapılarak kontrol edilmiştir.

PZR amplifikasyonları 20µl toplam hacimde hem 1.5mM hem de 2mM MgCl<sub>2</sub> yoğunluğunda kalıp DNA'dan 50-100ng, her bir primerden 10pmol, her bir dinükleotid trifosattan (dNTP'ler) 200µM, 1U Taq DNA polymerase (MBI Fermentas) ve 1X PCR buffer (10mM Tris-HCl, pH 9,0; 50mM KCl) olacak şekilde, MyCycler™ termal döngü cihazında yapılmıştır (BIO-RAD). 94°C'de 5dk'lık ilk denatürasyonun ardından 94°C'de 30s

denatürasyon, 50–60°C aralığında değişen (gradient) bağlanma sıcaklığında 30s ve 72°C’de 2 dk uzama aşamalarını içeren 35 döngüyü takiben 72°C’de 15dk son uzama yaptırılarak tamamlanmıştır. *Cyto b* bölgesi en uygun kimyasal yoğunlukları (Çizelge 3.6.) ve en uygun yükseltgenme koşulları aşağıdaki Çizelge 3.7. de sunulmuştur.

**Çizelge 3.6.** *Cyto b* gen bölgesi PZR reaksiyonunda kullanılan kimyasal yoğunlukları

<b>Bileşenler</b>	<b>Stok Konsantrasyonu (Miktar)</b>
10x Buffer	10 X PCR Tamponu (2.0 µl)
MgCl <sub>2</sub>	25 mM (1.8 µl)
dNTP	200 µM (0.5 µl)
İleri / Geri primer	10 pmol (1 µl)
Taq DNA polymerase	5 U / µl (0.1 µl)
Kalıp DNA	50-100 ng DNA (2 µl)
Yukarıdaki içerikler ddH <sub>2</sub> O ile 20 µl’ye tamamlanır.	

**Çizelge 3.7.** *Cyto b* gen bölgesi PZR reaksiyonu yükseltgenme koşulları.

<b>Sıcaklık</b>	<b>Süre</b>	<b>Döngü</b>	
94 C <sup>0</sup> ’de	4 dk	1	İlk denatürasyon
94C <sup>0</sup> ’de	30 s		Denatürasyon
59 C <sup>0</sup> ’de	30 s	35	Primer bağlanma
72 C <sup>0</sup> ’de	2dk		Uzama
72 C <sup>0</sup> ’de	15 dk	1	Son Uzatma

Her bir PZR’nda negatif kontrol (örnek DNA ilavesi yapılmamış bir tüp) hazırlanarak polimeraz zincir reaksiyonu sırasında herhangi bir kontaminasyonun olup olmadığı kontrol edilmiştir. mtDNA D-loop ve *sitokrom b* bölgelerinin çoğaltılmasında MyCycler Personal Thermal Cycler (BIO-RAD) isimli PZR cihazı kullanılmıştır (Şekil 3.4.).



Şekil 3.4. Çalışmada kullanılan PZR Cihazından Bir Görünüm

### 3.3.3. mtDNA D- loop ve *Cyto b* Gen Bölgelerinin Dizilenmesi ve Verilerin Analizi

Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile yükseltgenen mtDNA D-loop ve *Cyto b* bölgesi ürünü agaroz jel ile kontrol edilip, spesifik olmayan başka dizilerin kontaminasyonunu önlemek amacıyla Roche PZR temizleme kiti ile temizlenmiştir. Temizlenen ürün Sanger’ın (1973) zincir bitirme yöntemiyle Applied Biosystems®marka, 8 kapilerli 3500 cihazında DNA dizileme işlemi yapılmıştır. DNA dizilemesi MedSanTek firmasına hizmet alımı şeklinde yaptırılmıştır. Dizileme işlemi için yükseltgemedeki kullanılan primerler kullanılarak iki yönlü dizileme yapılmıştır. Her bir örnek için hem ileri hem de geri primerlerin kullanılmasıyla elde edilen kromatogramlar ChromasPro Version 1.7.4 programında (Technelysium Pty Ltd, <http://www.technelysium.com.au/ChromasPro.html>) açılarak alt alta sıralanmış, geri primerin “reverse komplement” alınarak ileri primer dizisi ile karşılaştırılmış ve konsensus diziler elde edilmiştir. Cihazın pikleri hatalı okuyup okumadığı da elektroferogramlar gözle incelenerek ve konsensus dizilerle karşılaştırılarak kontrol edilmiştir. Her bir örnek için elde edilen konsensus

diziler ve GenBank'tan (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) indirilen referans diziler, BioEdit Version 7.0.4.1 (Hall, T. 1999) programı altında "ClustalW Multiple Alignment" (Thompson *ve ark.*, 1994) yazılımı kullanılarak aynı baz dizileri alt alta gelecek şekilde hizalanmıştır. Hizalamanın ardından tüm dizilerin aynı uzunlukta olması için sondan ve baştan fazla okunmuş diziler kesilip, analiz dışı bırakılmıştır. Sonraki analizler D-loop bölgesi ile ilgili olarak kalan 900 bp ve *Cyto b* bölgesi için ise 1240 bp'lik bölge kullanılarak sürdürülmüştür. Hizalanmış diziler fasta formatında kaydedilerek istatistik programlarında kullanılmak üzere dosyalanmıştır. DNA dizilim verilerini değerlendirmek için ChromasPro 2.4.3, BioEdit, DnaSP v6.0, MEGA 7.0, Network 5, Arlequin ver 3.5.2.2 bilgisayar programları kullanılmıştır. Bu programlar ile DNA dizilerinin hizalanması, nükleotit değişimlerinin (mutasyonların) saptanması ve farklılıkla ilgili parametrelerin hesaplanması, filogenetik ağacın oluşturulması, filogenetik ağacın çeşitli parametreler açısından değerlendirilmesi, dizi analizine dayalı filogenetik çalışmalarda kullanılan istatistik metotlarla yorumlanması yapılmıştır.

### 3.4. İstatistik Metodlar

**3.4.1.Haplotip Çeşitliliği (HÇ):** Haplotip, genetikte birlikte kalıtılan kromozomlar üzerinde birbirleriyle ilişkili lokuslardaki allel kombinasyonu veya DNA dizisi olarak tanımlanabilir. Haplotip çeşitliliği değeri, çalışılan populasyonlar ve bireyler arasındaki paylaşılan haplotiplerin veya dizilerin oranını ya da frekansını göstermektedir. mtDNA üzerinde yakın mesafede bulunan genler ya da nükleotit bölgeleri gamete birlikte aktarılırlar ve bu bağlı bölgeler daima birlikte buldukları için Haplotip adını alırlar (Hemrick, 2005). Çalışılan populasyon ya da ırkların haplotip çeşitliliği ırkları karşılaştırma açısından bilgi verici bir değerdir ve aşağıda verilen denklemle hesaplanabilir.

$$HÇ = \left( \frac{n}{n-1} \right) \left( 1 - \sum_{i=1}^k x_i^2 \right)$$

Burada  $x_i$  değeri  $i$ .ci haplotipin frekansını,  $n$  ise gen kopya sayısı,  $k$  haplotip sayısını ifade etmektedir ve mtDNA için 1'dir. (Nei ve Tajima, 1981; Nei 1987, Jobling *ve ark.*, 2004). Çalışma kapsamında ele alınan populasyonlar arasındaki haplotip çeşitliliği ve standart sapma değerlerinin hesaplanmasında DnaSP v6.0 programı kullanılmıştır (Rozas *ve ark.*, 2017).

**3.4.2.Haplotip frekansı (HF):** Genetikte birlikte iletilen kromozomlar üzerinde birbirleriyle ilişkili lokuslardaki alel kombinasyonuna veya DNA dizisine haplotip adı verilmektedir. Haplotip frekansı, bir popülasyonunun genetik çeşitliliğini ortaya koyan bir değerdir. Bu çalışmada mandalarda mtDNA D-loop (HS: 55) ve *Cyto b* (HS: 24) gen bölgelerinde farklı sayıda haplotiplerin olduğu gözlemlenmiştir. Tez kapsamında çalışılan 16 farklı popülasyonda, her bir popülasyona ait haplotip frekansları aşağıdaki formül yardımı ile hesaplanmıştır.

$$HF = \frac{\text{İlgili Haplotipleri Taşıyan Toplam Birey Sayısı}}{\text{Toplam Birey Sayısı}}$$

**3.4.3.Nükleotid Çeşitliliği (NÇ):** Nükleotid çeşitliliği popülasyon içerisinde pozisyon başına düşen nükleotid farklılıklarının veya diziler arasındaki nükleotid farklılıklarının ortalaması olup genetik varyasyonun ölçüsü olarak gösterilmektedir. Moleküler tekniklerinin uygulandığı çalışmalarda popülasyonlar içi, popülasyonlar arası ve türler arasında bulunan nükleotid varyasyonunun belirlenmesi ve anlaşılır kılınması popülasyon genetiğinin temelini oluşturmaktadır. Farklı popülasyonlardan elde edilen DNA dizileri üzerinde gözlemlenen nükleotid varyasyonunun ölçümünün en basit yolu incelenen bölgede değişken nükleotid bölgelerinin belirlenmesidir ve incelenen bir DNA dizisi ise ayırt edici bölgelerin diziyi oluşturan toplam nükleotit sayısına bölünmesi ile bulunmaktadır.

Ele alınan ırklar arasındaki nükleotid (NÇ) çeşitliliğinin belirlenmesi amacıyla DnaSP v6.0 programı kullanılmıştır (Rozas *ve ark.*, 2017) .

**3.4.4. Filogenetik Analizler:** Filogenetik, çeşitli organizma grupları (türler, ırklar, popülasyonlar, alt popülasyonlar vs.) arasındaki evrimsel ilişkinin araştırılmasını amaçlar. Çalışılan organizmaların sahip olduğu moleküler mekanizmalar, tek bir ataya sahip olduklarını göstermektedir. Ortak atadan evrimleşmeleri sayesinde türler, birbirleriyle ilişkilendirilebilirler. Bu ilişkiler filogeni olarak adlandırılmaktadır. Filogeniler, türlerin genomlarının zaman içerisinde nasıl değiştiklerini anlayabilmemizi sağladıklarından dolayı faydalıdır. Çalışılan gruplar arası filogenetik ilişkinin, grafiksel olarak gösterimi ise “filogenetik ağaçlar” aracılığıyla olur.

Tez çalışması kapsamında farklı illerden toplanan populasyonlar içi ve arası ilişkisinin ve haplotipik yapının görsel olarak ayırt edilebilmesi ve daha iyi anlaşılabilmesi amacıyla, elde edilen diziler filogenetik ağaç ve network oluşturulmasında kullanılmıştır. Bu amaçla, MEGA 7.0 programı (Kumar *ve ark.*, 1993-2019) kullanılarak çiftler bazında veri silme (Pairwise Deletion) ve 1000 bootstrap seçenekleri altında en uygun modele göre NJ ağacı ile her bir haplotipe göre Network 5.0.1.1 programı (Bandelt *ve ark.*, 1999) kullanılarak Medyan Katılma Ağı “Median Joining Network”u oluşturulmuştur. Veri analizi sonrası belirlenen haplotiplerin ve NCBI GenBank’tan alınmış farklı ülke ırklarına ait mtDNA D-loop ve *Cyto-b* gen bölgesi dizilerinin karşılaştırılarak genetik uzaklıkların belirlenmesi amacı ile söz konusu programın “Distance (uzaklık)” ve “Compute pairwise (ikili grupları hesaplama)” fonksiyonları kullanılmış, hesaplamalar en uygun modelleme yöntemine göre yapılmıştır.

**3.4.5. Nükleotid Yer Değiştirme Oranlarının Belirlenmesi:** Nükleotid yer değiştirmelerinin sayısının belirlenmesi için farklı yazarlar tarafından birçok matematiksel model oluşturulmuştur. DNA’da nükleotid yer değişim modeli fikri ilk olarak Jukes ve Cantor tarafından 1969 yılında ortaya atılmıştır. Tek parametre modeli olarak da bilinen JC69 modeli herhangi bir DNA dizisinde nükleotid değişimleri eşit olasılıkla olmakta, her 3 nükleotid’den her biri belirli bir zaman aralığında mutlaka  $\alpha$  frekansıyla değişmektedir prensibine dayandırılmıştır (Nei ve Kumar, 2000). Ancak gerçek diziler incelendiğinde değişimlerin eşit olmadığı transisyonel yani pürin/pürin (A $\leftrightarrow$ G) ya da pirimidin / pirimidin (C $\leftrightarrow$ T), değişimlerinin transversiyonel yani pürin / pirimidin ya da pirimidin /pürin değişimlerine (A ya da G  $\leftrightarrow$  C ya da T) oranla daha sık olduğu görülmüştür (Nei ve Kumar, 2000). Kimura bu gözlemi dikkate alarak 1980 yılında Kimura 2 parametre modelini önermiştir. Bu çalışmada nükleotid yer değiştirme oranlarının ve populasyonlar arası farklılıkların belirlenmesi amacıyla DnaSP v6 programı (Rozas *ve ark.*, 2017) kullanılmıştır. Bu değerlerin hesaplanmasında Kimura iki parametre (K2P) modelinden yararlanılmıştır.

**3.4.6. Genetik Uzaklığın Ölçümü:** Irklar arası genetik uzaklıkların incelenmesinde, Nei’nin “Standart Genetik Uzaklık” hesaplaması ve Wright’ın F istatistiği hesaplamaları baz alınarak yapılmıştır. Bu amaçla MEGA 7.0 programı ve Arlequin ver3.5.2.2 programı (Excoffier ve Lischer, 2010) kullanılmıştır. Elde edilen ırklar arası uzaklık matrislerine göre PHYLIP 3.69 programında NEIGHBOR yazılımı (Felsenstein, 2005) ve TreeView programı kullanılarak ağaçlar oluşturulmuştur. Genetik mesafe ölçümünde kullanılacak nükleotid yer değişimi

modellerinden hangisinin kullanılacağı ile ilgili uygun yöntemi belirlemek için Kumar ve ark. (1993) tarafından önerilen sistemden yararlanılmıştır. En uygun nükleotid yer değişim modelini belirlemek için ModelTest, v3.7 (Posada ve Crandall,1998) programı kullanılmış, oldukça yakın skorlar veren K2P, GTR ve HKY modelleri tercih edilmiştir.

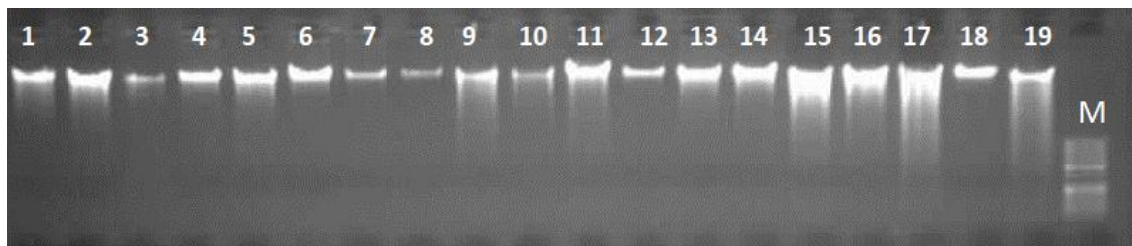


## 4. BULGULAR

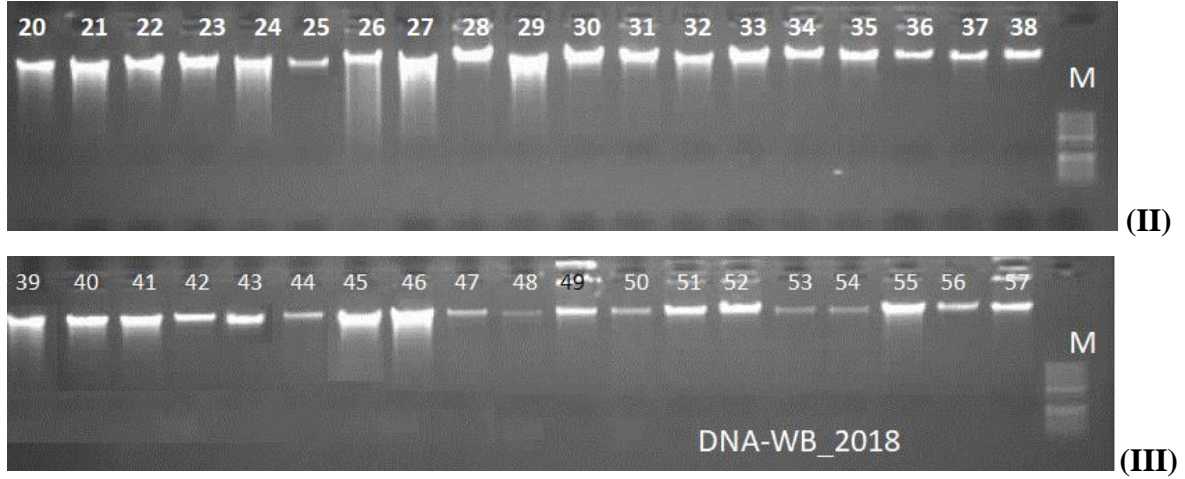
### 4. 1. DNA'ların Yoğunluğunun, Saflığının ve Bütünlüğünün Kontrolü

Elde edilen stok DNA'ların yoğunluk ve saflığının kontrol edilmesi amacıyla spektrofotometrik ölçüm yapılmıştır. Bu amaçla Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootekni Bölümü Biyometri ve Genetik Anabilim Dalında bulunan NanoDrop spektrofotometre cihazı kullanılmıştır. DNA'ların yoğunluk ve saflık analizinde 260 nm dalga boyunda elde edilen değerle 280 nm dalga boyunda elde edilen değerlerin oranı (A260/A280) ve 260 nm dalga boyunda elde edilen değerle 230 nm dalga boyunda elde edilen değerlerin oranı (A260/A230) kullanılmıştır. 1.8'in altında elde edilen A260/A280 değeri protein kontaminasyonunu, 2'nin üzerinde elde edilen A260/A280 değeri RNA kontaminasyonunu ve 2'nin altında elde edilen A260/A230 değeri ise fenol kontaminasyonunu işaret ettiğinden A260/A280 oranı 1.80 ile 2.00; A260/A230 oranı ise 1.8 ile 2.2 aralığında olan DNA'lar çalışmaya dahil edilmiştir.

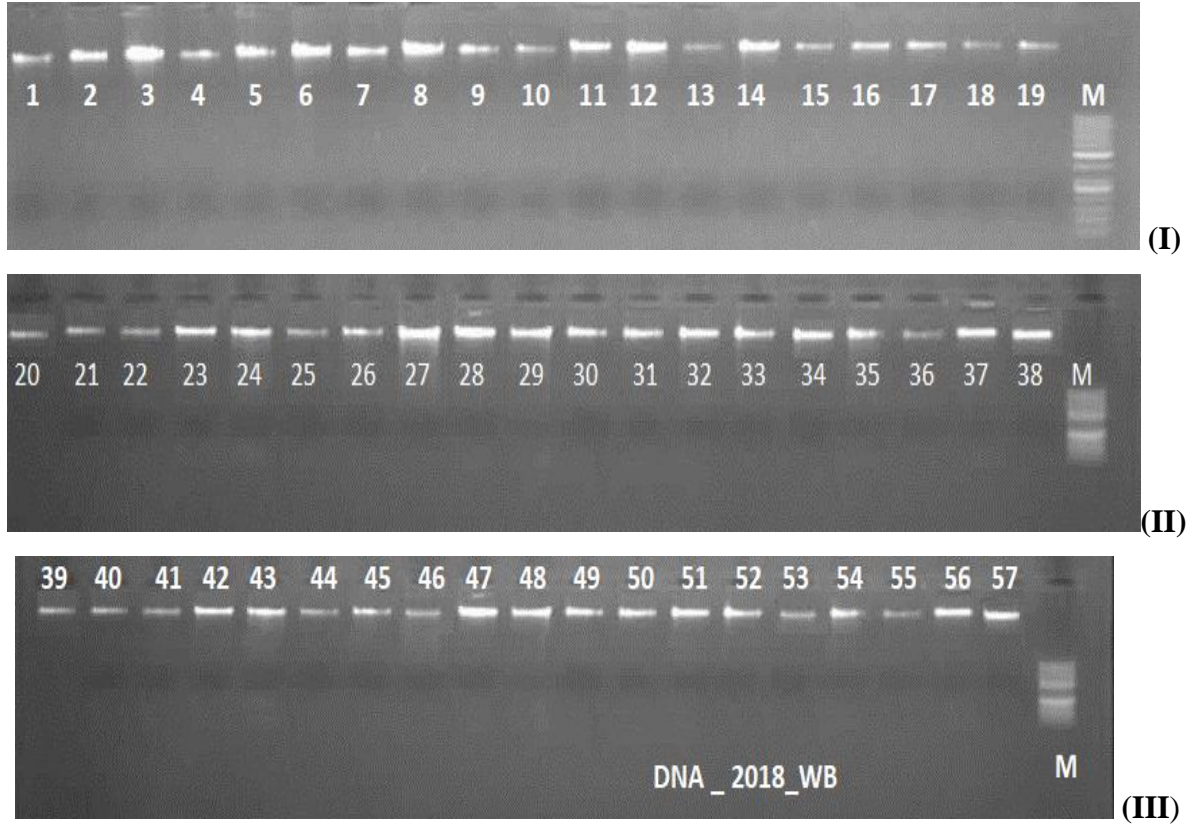
Spektrofotometre ile miktar ve saflık tayini yapılan stok DNA'ların bütünlüğünün (degrade olup olmadığının) kontrolü için % 0.8'lik agaroz jel hazırlanmıştır. Agaroz jelin hazırlanması amacıyla, 0.8 gr agaroz tartılarak 100ml 1XTBE (Tris-Borik asit-EDTA) içinde homojen bir görünüm alana kadar mikrodalga fırında eritilmiştir. Agaroz jel karışımı, ılık suyun altında yaklaşık 60°C'ye düşene kadar tutulduktan sonra karışım taraklar içeren jel kasetine dökülerek yarım saat donması beklenmiş ve süre sonunda taraklar çıkartılarak, 1XTBE içeren elektroforez tankına alınmıştır. Stok DNA'ların görüntülenmesi amacıyla, 2µl DNA, 2µl 2X yükleme solüsyonu ve 4µl distile su karıştırılmış ve kuyucuklara yüklenmiştir. Elektroforez işlemi 120 Volt'da 25–30 dakika uygulanmıştır. Jel SYBR safe ile boyanmış ve görüntüleme sistemi yardımıyla DNA bantlarının varlığı ve bütünlüğü kontrol edilmiştir (Şekil.4.1, Şekil.4.2). Tüm stok DNA'ların saflık ve yoğunluklarının uygun standartlarda olduğu belirlenmiştir. Elde edilen stok DNA'lar için, PZR'da kullanılmak üzere (yaklaşık 100ng/µl olacak şekilde) 1/10 veya 1/20 oranında saf su ile sulandırma yapılmış, hemen kullanılacak olanlar +4°C'de, saklanacak olanlar ise -20°C'de muhafaza edilmiştir.



(I)



**Şekil 4.1.** Tez kapsamında çalışılan bireylere ait stok DNA 'lardan bazılarının % 0.8'lik agaroz jel görüntüsü (M: her sıranın sonunda 100bp DNA ladder, MBI Fermentas)



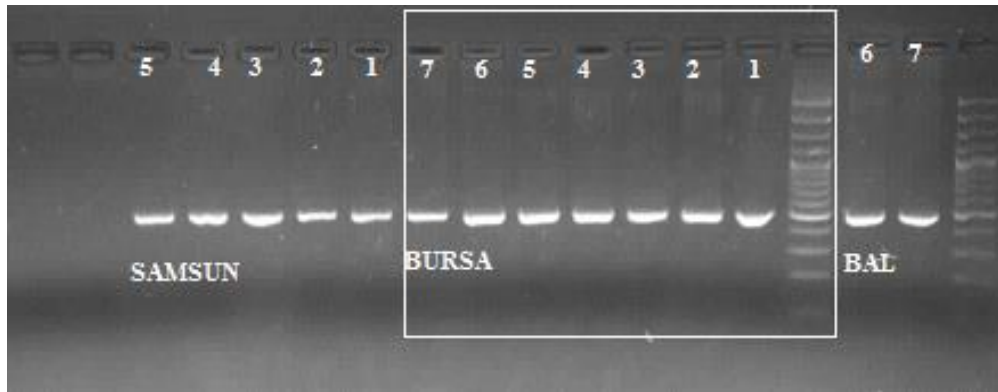
**Şekil 4.2.** Tez kapsamında çalışılan bireylere ait DNA 'lardan bazılarının sulandırma sonrası % 0.8'lik Agaroz jel görüntüsü (M: her sıranın sonunda 100bp DNA ladder, MBI Fermentas)

#### 4.2. mtDNA D-loop ve *Cyto-b* Bölgelerinin Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile Yükseltgenmesi (PZR)

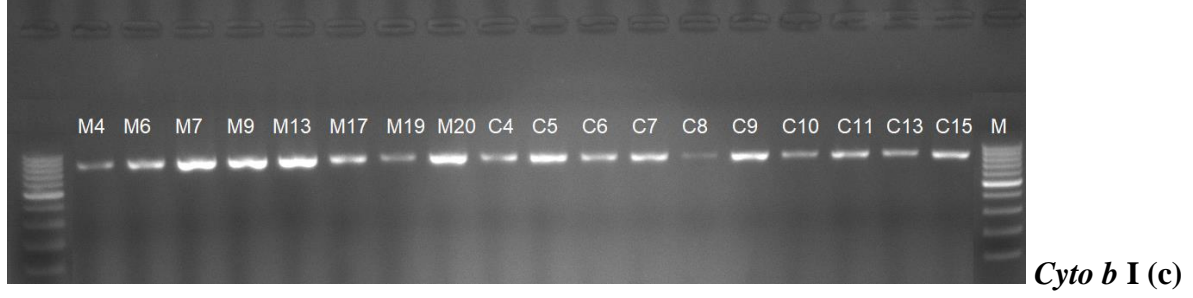
Bu çalışmada kontrol bölgesi (D-loop) ve Sitokrom b (*Cyto-b*) bölgesi 2'şer çift primer seti kullanılarak Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ile yükseltgenmiştir. Sonuçlar RedSafe (Nucleic Acid Staining Solution) içeren %2'lik agaroz jelde yürütülmüş ve Vilber Lourmat Marka QUANTUM ST4 model görüntüleme cihazında incelenmiştir. Ana karışımda kontaminasyonun olup olmadığını anlayabilmek için DNA içermeyen negatif kontroller ve yükseltgenen DNA'ların beklenen uzunluklarda olup olmadığını anlayabilmek için DNA merdivenleri (size marker) kullanılmıştır. Şekil. 4.2.1(a) D-loop birinci primer bölgesini, (b) D-loop ikinci primer bölgesini (c) *Cyto-b* birinci primer bölgesini, (d) *Cyto-b* ikinci primer bölgesinin PZR sonuçlarını göstermektedir.



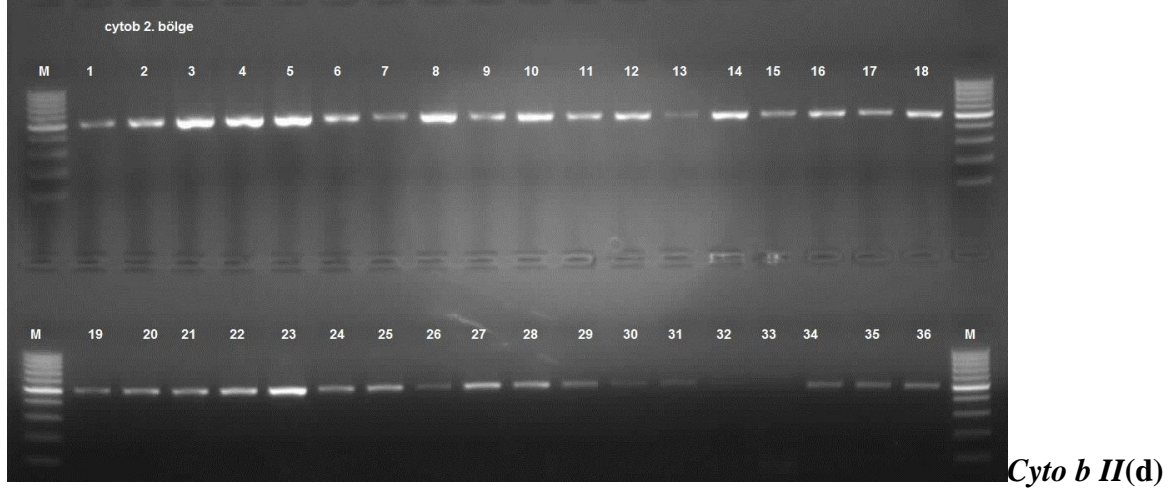
D-loop I (a)



D loop II (b)



*Cyto b I (c)*



*Cyto b II(d)*

**Şekil 4.3.** D-loop (**a:** I. Primer Bölgesi, **b:** II. Primer bölgesi) ve Cyto-b (**c:** I. Primer Bölgesi, **d:** II. Primer bölgesi) bölgesi PZR sonrası agaroz jel görüntüsü.

D-loop bölgesi I. primer yükseltgenme bölgesi sonucu (a) jel sonuçları incelendiğinde ilk kuyu (C) negatif kontrol örneğini, diğer kuyular (1, 2, 3, 4..., 31) proje kapsamında çalışılan bireyleri ve jelde son kuyu DNA merdivenini (GeneRuler 100 baz çifti (bç) DNA Merdiveni) içermektedir. D-loop bölgesi (b) şeklinde II. primer yükseltgenme bölgesi sonucu görülmektedir. Jelde ilk iki kuyu negatif kontrolü, 3-7. kuyular Samsun ili örneklerini (1-5), 8-14. kuyular Bursa ili örneklerini (1-7), 15. kuyu DNA merdivenini, daha sonraki 2 kuyu Balıkesir örneklerini ve son kuyu da DNA merdivenini (GeneRuler 100 baz çifti (bç) DNA Merdiveni) içermektedir.

Sitokrom b bölgesi (c) şeklinde I. primer yükseltgenme bölgesi sonucu görülmektedir. Jelde ilk kuyuda DNA merdivenini (GeneRuler 100 baz çifti (bç) DNA Merdiveni), 2 - 9. kuyular Muş ili örneklerini (4 - 20), 10 - 19. kuyular Çorum ili örneklerini (4 - 15), 20. kuyu DNA merdivenini içermektedir. Sitokrom b bölgesi (d) şeklinde II. primer yükseltgenme bölgesi sonucu görülmektedir. Jelde ilk kuyuda DNA merdiveni (GeneRuler 100 baz çifti (bç) DNA Merdiveni), 2-19. kuyularda Muş ve Bitlis ili örnekleri yer almaktadır. Alt gruptaki

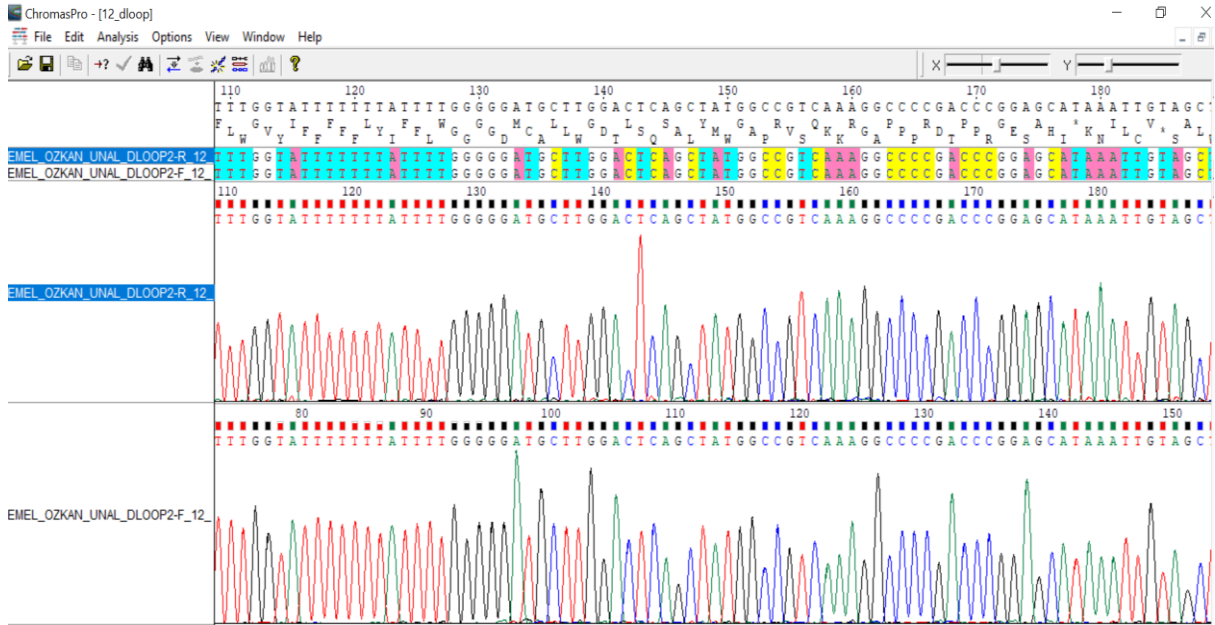


kısımda ise ilk kuyuda DNA merdiveni (GeneRuler 100 baz çifti (bç) DNA Merdiveni), 2-19. kısımda ise Giresun ili örnekleri yer almaktadır.

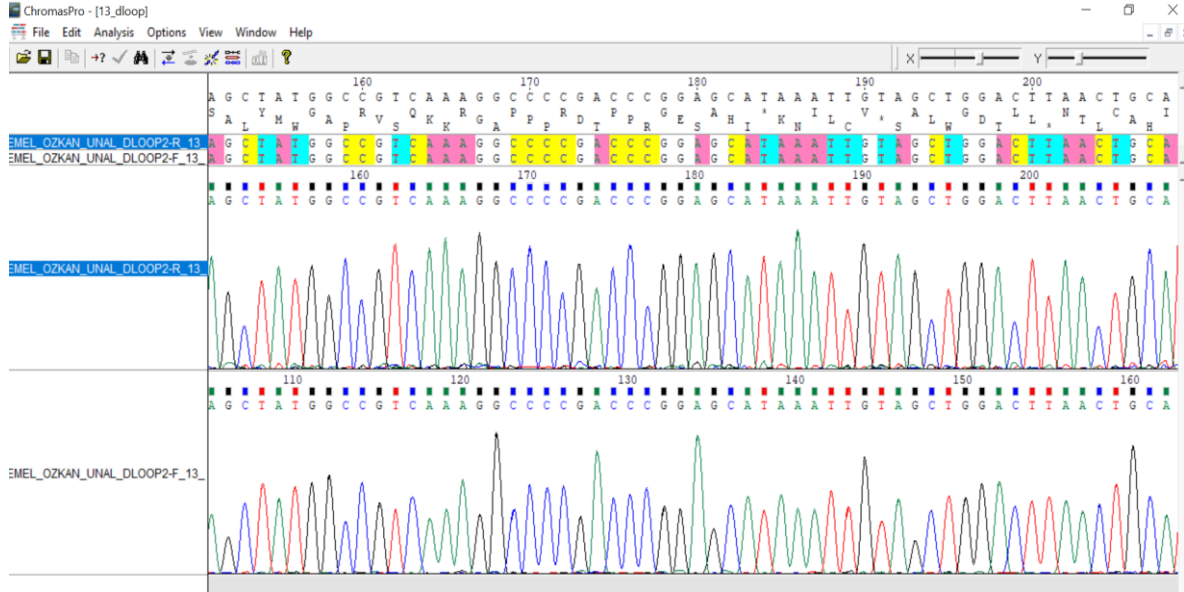
### 4.3. D-loop ve *Cyto-b* Bölgeleri Dizi Analizleri

Türkiye'nin farklı bölgelerine ait yaklaşık 200 bireye ait örneğin mtDNA D-loop ve *Cyto-b* bölgesi otomatik Applied Biosystems ABI 3500™ DNA analiz cihazı kullanılarak ileri ve geri primerler kullanılarak DNA dizilimleri yapılmıştır. Kromotogramlar ChromasPro v1.7.4. (<http://www.technelysium.com.au/ChromasPro.html>) programı kullanılarak gözlenmiş ve birleştirilmiştir. Ortaya çıkan birleştirilmiş diziler FASTA formatında kaydedilmiştir. Birleştirme sonrasında D-loop bölgesinde 183 birey, *Cyto-b* bölgesinde ise 200 bireyin dizilimleri elde edilmiştir.

Şekil 4.4.'de D-loop gen bölgelerine ait kısmi kromotogram örnekleri verilmektedir. I ve II D-loop gen bölgesi diziliminin kontrolleri sonrası her iki bölgenin sekansları ChromasPro v1.7.4. programı kullanılarak birleştirilmiştir.



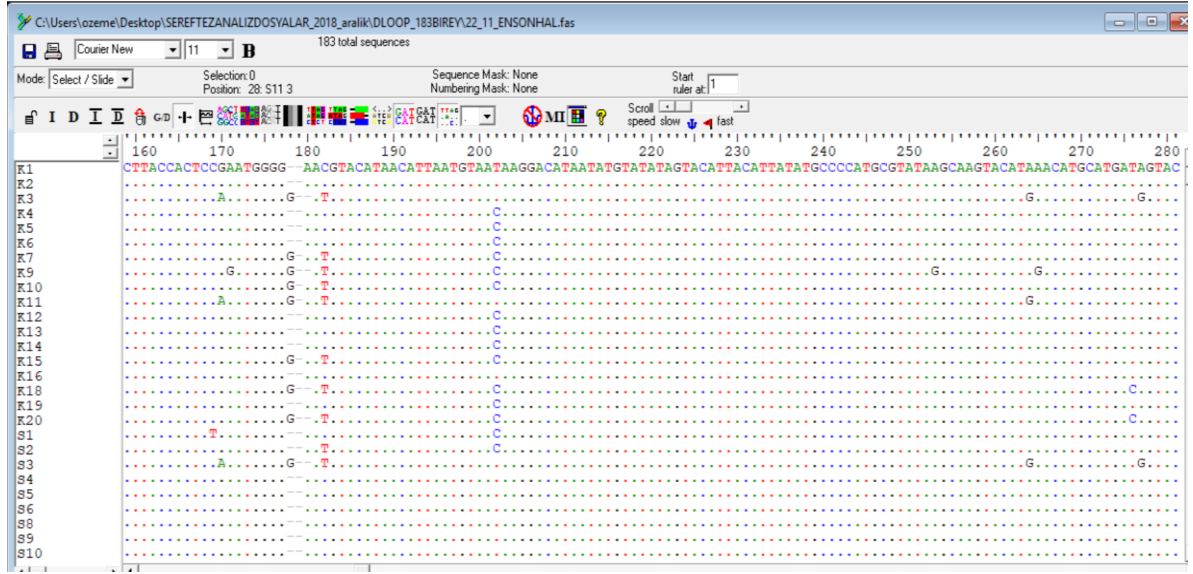
a) D-loop I. gen bölgesi kromotogramı



**b) D- loop II. gen bölgesi kromotogramı**

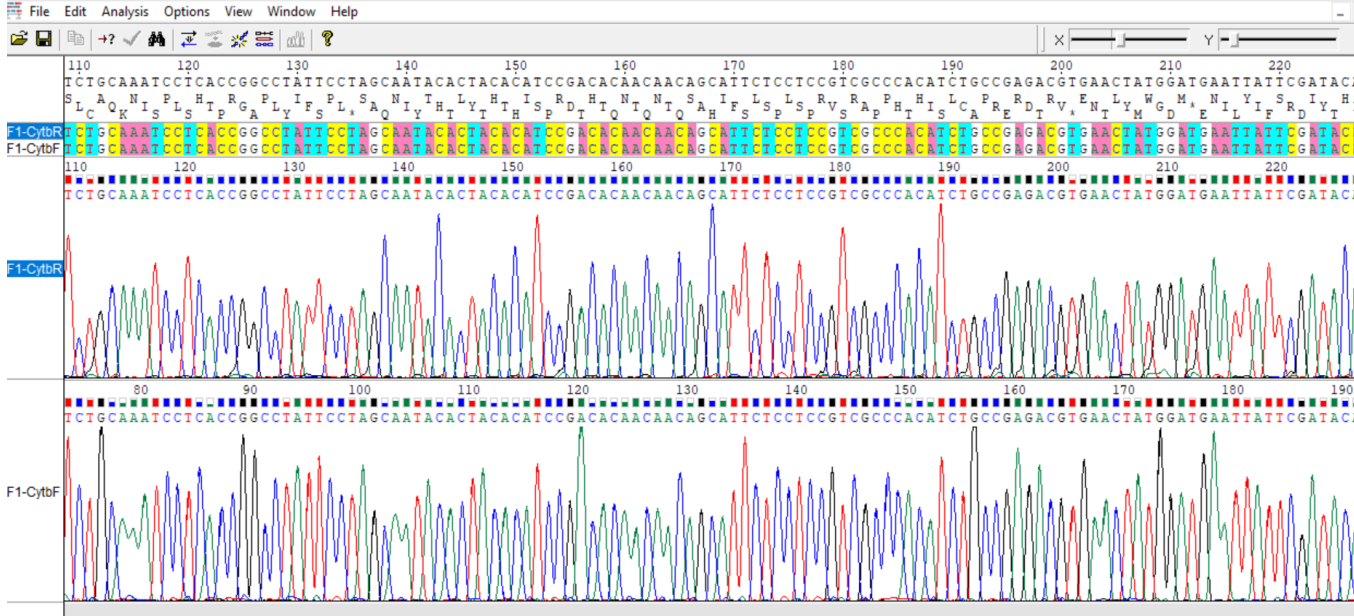
**Şekil 4.4.** Muş 3 nolu bireyin D-loop I (a) ve D-loop II (b) bölgesi primerleri ile yükseltgenen bölgelerinin birleştirilmiş kromotogramının kısmi görüntüsü. Yukarı kısımda birleştirilmiş sekans dizisi, birleştirilmiş sekans dizisinin altında ise ileri ve geri sekans dizileri ayrı olarak verilmektedir.

Birleştirilme sonrasında dizilerin hizalanması Bioedit v7.0.4.1 (Hall, 1999) programının içinde bulunan ClustalW Çoklu Hizalama uygulaması kullanılarak yapılmıştır. Hizalama sonuçları, yanlış yerleştirilen boşlukların olması ihtimaline karşı gözle kontrol edilmiştir. Ayrıca tüm populasyon içinde sadece tek bir bireyin bir bölgesinde gözlenen mutasyonlar kromotogramlar üzerinden iki kere kontrol edilmiştir. Şekil 4.5.'de hizalanmış D-loop gen bölgesi dizileri kısmi olarak göstermektedir.



Şekil 4.5. Hizalanmış D-loop gen bölgesi dizisi. Farklı popülasyonlara ait hizalanmış dizilerin 120 baz çiftlik (bç)'lik bir bölümünü gösteren Bioedit (Hall, 1999) program görüntüsü.

Şekil 4.6.'da *Cyto-b* gen bölgelerine ait kısmi kromotogram örnekleri verilmektedir. I ve II *Cyto b* gen bölgesi diziliminin kontrolleri sonrası her iki bölgenin sekansları ChromasPro v1.7.4. programı kullanılarak birleştirilmiştir.



a) *Cyto b* I. gen bölgesi kromotogramı

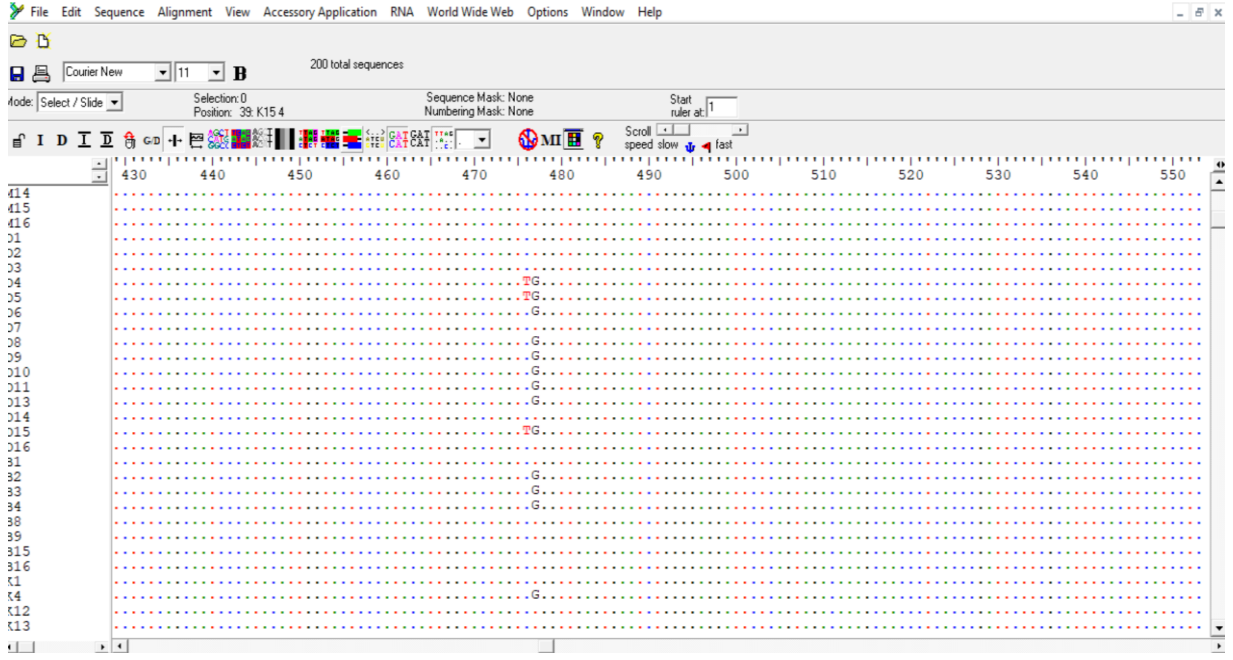


b) Cyto b II. gen bölgesi kromotogramı

**Şekil 4.6** Afyon ili 1 nolu bireyin *Cyto b I* (a) ve *Cyto b II* (b) gen bölgesi primerleri ile yükseltgenen bölgelerinin birleştirilmiş kromotogramının kısmi görüntüsü. Yukarı kısımda birleştirilmiş dizisi, birleştirilmiş dizisinin altında ise ileri ve geri sekans dizileri ayrı olarak verilmektedir.

I. ve II. *Cyto-b* gen bölgesi dizilerinin ayrı ayrı birleştirilmesi ve kontrolleri sonrası her iki bölgenin dizileri ChromasPro v1.7.4. programı kullanılarak birleştirilmiştir. Birleştirilme sonrasında *Cyto b* gen bölgesi dizilerinin hizalanması Bioedit v7.0.4.1 (Hall, 1999) programının içinde bulunan ClustalW Çoklu Hizalama uygulaması kullanılarak yapılmıştır. Hizalama sonuçları, yanlış yerleştirilen boşlukların olması ihtimaline karşı gözle kontrol edilmiştir. Ayrıca tüm populasyon içinde sadece tek bir bireyin bir bölgesinde gözlenen mutasyonlar kromotogramlar üzerinden iki kere kontrol edilmiştir.





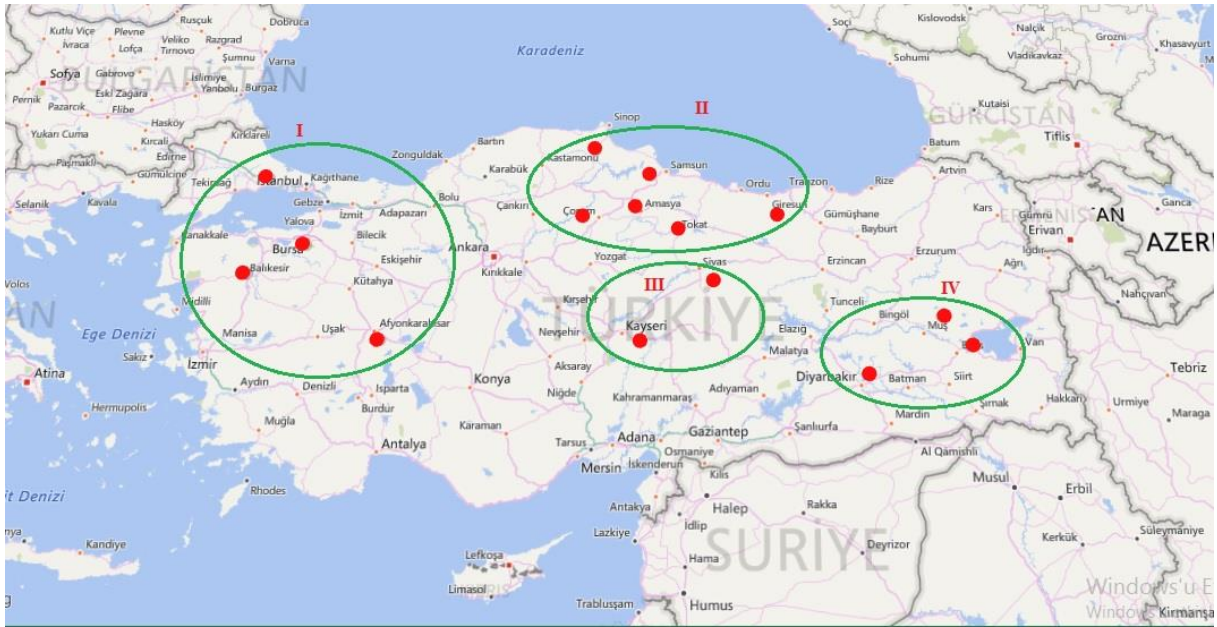
Şekil 4.7. Hizalanmış *Cyto - b* gen bölgesi dizileri kısmi olarak göstermektedir.

## 4.4. mtDNA Verileri Analiz Sonuçları

### 4.4.1. mtDNA Kontrol Bölgesi (D-loop) Analiz Sonuçları

#### 4.4.1.1 Sekanslara Dayalı Olarak Saptanan Nükleotid ve Haplotip Çeşitliliği

Dört farklı bölge olarak gruplandırılan (Şekil 4.8.) toplam 183 bireyde D- loop gen bölgesi (1 ve 2. primer bölgesi) başarı ile yükseltgenmiş ve hizalaması yapılmıştır. Çalışılan populasyonlarda D-loop bölgesi çeşitliliği ile ilgili istatistikî değerler (haplotip sayısı, haplotip çeşitliliği, polimorfik bölge sayısı, Parsimonik bilgi verici bölge sayısı ve nükleotid çeşitlilikleri) DnaSP v.6 programındaki (Librado ve Rozas, 2009) “Polymorphism” aracı kullanılarak hesaplanmıştır.



Şekil 4.8. Tez çalışması kapsamında seçilen bireylerin 4 farklı bölge olarak gruplandırılması.

Tez kapsamında çalışılan populasyonlarda mtDNA D-loop gen bölgesi çeşitliliği ile ilgili sonuçlar Çizelge 4.4.1’ de verilmektedir. Çizelgedeki sonuçlar incelendiğinde, bölgeler bazında en yüksek haplotip çeşitliliği  $H=0.934 (\pm 0.024)$  değeri ile İç Anadolu bölgesi populasyonlarında olduğu belirlenmişken, en düşük haplotip çeşitliliğinin ise  $0.910 (\pm 0.036)$  değeri ile Doğu/Güney Doğu Anadolu bölgesi populasyonlarında gözlenmiştir. Bölgelere göre nükleotid çeşitliliği sonuçları değerlendirildiğinde ise, en yüksek değer Marmara/ Ege bölgesi populasyonlarında  $0.00908 (\pm 0.00073)$ , en düşük değer ise Karadeniz bölgesi populasyonlarında  $0.00634 (\pm 0.00073)$  olduğu gözlenmiştir.

Çalışmada polimorfik bölge sayısının İç Anadolu Bölgesi populasyonlarında diğer populasyonlara oranla daha yüksek olduğu bulunmuştur. Parsimonik bilgi verici bölge sayısı sonuçları bölgelere göre incelendiğinde, Doğu / Güney Doğu Anadolu Bölgesi populasyonlarında diğer bölge populasyonlarına oranla daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Aynı tabloda, D- loop bölgesi için Doğu / Güney Doğu Anadolu Bölgesi populasyonlarında az sayıda haplotip olduğunu ama en az iki haplotipin diğerlerinden farklı olabileceğini göstermektedir. Çalışmada Karadeniz bölgesinden 6 farklı ilden rastgele seçilen 69 bireyde çalışılmış olup bu bireylerde 22 farklı haplotipin mevcut olduğu belirlenmiştir. Marmara bölgesinden 5 farklı ilden seçilen 41 bireyde 21 haplotip, İç Anadolu bölgesinden 2 farklı ilden seçilen 37 bireyde 19 haplotip, Doğu / Güney Doğu Anadolu bölgesinden 3 farklı ilden seçilen 36 bireyde ise 18 haplotipin olduğu belirlenmiştir.

İncelenen 183 Türkiye mandası bireyinde toplam 55 farklı haplotip belirlenmiştir. Bu 55 haplotipten 35'i özgündür, yani 16 farklı ilden toplanan 183 manda bireyi içerisinde sadece bir hayvanda belirlenmiştir. Bu haplotipler ve görüldüğü populasyonlar Çizelge 4.4.1.'de verilmiştir. Tez kapsamında çalışılan 183 birey dikkate alındığında, incelenen tüm populasyonlar bazında yaklaşık %19 oranında özgün haplotip taşıdığı dikkat çekmektedir.

Çizelge 4.1.'deki değerler incelendiğinde Diyarbakır ve Sivas illerinden rastgele seçilerek mtDNA kontrol bölgesi çalışılan (n=13) ve (n=19) bireyden 5'er tanesinin haplotiplerinin diğer populasyonlarda yer almayan özgün haplotiplere sahip olduğu belirlenmiştir. Benzer şekilde Afyon ilinden seçilen 13 bireyden 4 tanesinin özgün haplotipler gösterdiği belirlenmiştir. Kayseri ve Bursa ilinden toplanan örneklerde 3'er özgün haplotip, Muş, Çorum, Samsun, İstanbul/Silivri ve Balıkesir örneklerinde 2'şer özgün haplotip, Bitlis, Amasya, Giresun, Sinop ve Tokat illerinden toplanan populasyonlarda ise 1'er tane özgün haplotip olduğu gözlemlenmiştir. Özgün haplotip sayıları bölgeler bazında irdelendiğinde, en yüksek özgün haplotip sayısının (n=11 özgün haplotip) Marmara / Ege bölgesi illerinden alınan populasyonlarda gözlemlendiği, diğer bölgelerdeki illerden alınan populasyonlarda gözlenen özgün allel sayısının ise eşit (n=8'er özgün haplotip) olduğu belirlenmiştir.

**Çizelge 4.1.** İncelenen popülasyonlarda mtDNA D-loop bölgesi çeşitliliği ile ilgili istatistiki değerler

<b>Bölge</b>	<b>Populasyon</b>	<b>N<sub>ss</sub></b>	<b>HS</b>	<b>HÇ± SS</b>	<b>PB</b>	<b>PBVS</b>	<b>NÇ± SS</b>	<b>k</b>
<b>Marmara / Ege Bölgesi (MEG)</b>	İstanbul / Silivri (SIL)	7	4	0.714± 0.181	16	4	0.00609± 0.00259	5.333
	Balıkesir (BA)	7	4	0.810± 0.130	15	13	0.00913± 0.00173	8.000
	Bursa (BU)	7	5	0.857± 0.137	19	11	0.00860± 0.00289	7.524
	Tekirdağ/Saray (SAR)	7	5	0.905± 0.103	20	13	0.01046± 0.00221	9.143
	Afyon (AF)	13	10	0.949± 0.051	9	5	0.00284± 0.00051	2.487
	<b>Toplam</b>	<b>41</b>	<b>21</b>	<b>0.915± 0.029</b>	<b>34</b>	<b>19</b>	<b>0.00908± 0,00073</b>	<b>7.919</b>
<b>Karadeniz Bölgesi (KRD)</b>	Samsun (SA)	6	4	0.800± 0.172	8	1	0.00327± 0.00114	2.867
	Sinop (SI)	7	5	0.905± 0.103	19	15	0.00968± 0.00221	8.476
	Tokat (T)	6	3	0.733± 0.155	3	1	0.00137± 0.00049	1.200
	Çorum (C)	12	10	0.970± 0.044	14	7	0.00451± 0.00085	3.939
	Amasya (A)	19	8	0.865± 0.053	25	19	0.00754± 0.00159	6.585
	Giresun (G)	19	9	0.889± 0.046	20	16	0.00654± 0.00126	5.719
	<b>Toplam</b>	<b>69</b>	<b>22</b>	<b>0.924± 0.014</b>	<b>34</b>	<b>21</b>	<b>0.00634± 0.00075</b>	<b>5.519</b>

N<sub>ss</sub> = Örnek sayısı; HS= Haplotip sayısı; HÇ= Haplotip çeşitliliği; PB= Polimorfik bölge; PBVS=Parsimonik bilgi verici bölge sayısı; NÇ= Nükleotit çeşitliliği; SS= Standart sapma; k=Ortalama Nükleotid Farklılıklarının Sayısı

Çizelge 4.1 (Devamı)

Bölge	Populasyon	N <sub>ss</sub>	HS	HÇ± SS	PB	PBV S	NÇ± SS	k
<b>Doğu / Güney Doğu Anadolu Bölgesi (DGA)</b>	Muş (M)	10	9	0.978±0.054	24	8	0.00800±0.00206	7.000
	Bitlis (B)	13	8	0.859±0.089	25	12	0.00704±0.00207	6.154
	Diyarbakır (D)	13	10	0.923±0.069	23	9	0.00622±0.00158	5.436
	<b>Toplam</b>	<b>36</b>	<b>18</b>	<b>0.910±0.036</b>	<b>30</b>	<b>27</b>	<b>0.00680±0.00111</b>	<b>5.946</b>
<b>İç Anadolu Bölgesi (ICA)</b>	Kayseri (K)	18	10	0.882±0.063	31	19	0.00914±0.00173	7.993
	Sivas (S)	19	11	0.889±0.058	28	9	0.00572±0.00160	4.994
	<b>Toplam</b>	<b>37</b>	<b>19</b>	<b>0.934± 0.024</b>	<b>39</b>	<b>26</b>	<b>0.00750±0.00129</b>	<b>6.544</b>
<b>Toplam</b>		<b>183</b>	<b>55</b>	<b>0.939± 0.008</b>	<b>55</b>	<b>36</b>	<b>0.00754± 0.00050</b>	<b>6.528</b>

N<sub>ss</sub> = Örnek sayısı; HS= Haplotip sayısı; HÇ= Haplotip çeşitliliği; PB= Polimorfik bölge; PBVS=Parsimonik bilgi verici bölge sayısı; NÇ= Nükleotid çeşitliliği; SS= Standart sapma; k=Ortalama Nükleotid Farklılıklarının Sayısı

Çalışmada bazı haplotiplerin ise aynı populasyon içinde iki veya daha fazla bireyde görüldüğü belirlenmiş ve bu sonuçlar Çizelge 4.2.' de özetlenmiştir.

**Çizelge 4.2.** Çalışma kapsamında incelenen 183 bireyden sadece bir bireyde görülen özgün haplotipler

<b>Haplotip</b>	<b>Örneğin alındığı il / ilçe</b>	<b>Bölge</b>
<b>H2, H5, H6</b>	Kayseri	İç Anadolu Bölgesi
<b>H11, H13, H15, H16, H19</b>	Sivas	
<b>H24, H25</b>	Muş	Doğu/Güney Doğu Anadolu Bölgesi
<b>H26, H27, H28, H29, H30</b>	Diyarbakır	
<b>H31</b>	Bitlis	
<b>H32</b>	Amasya	Karadeniz Bölgesi
<b>H36</b>	Giresun	
<b>H37, H38</b>	Çorum	
<b>H47, H48</b>	Samsun	
<b>H49</b>	Sinop	
<b>H51</b>	Tokat	
<b>H39, H40</b>	İstanbul/ Silivri	Marmara / Ege Bölgesi
<b>H41, H42</b>	Balıkesir	
<b>H44, H45, H46</b>	Bursa	
<b>H52, H53, H54, H55</b>	Afyon	

Çalışmada her 4 bölge grubundaki popülasyonlarda görülen haplotipler H3, H7, H12 ve H18'dir. En yaygın görülen haplotipler H3 ve H12 olup her biri toplam 25'er bireyde görülmüştür. Bu haplotiplerin illere göre dağılımları Tablo.4.4.2'de gösterilmektedir. İkinci sırada 4 farklı bölge grubunda gözlemlenen H7 ve H18 olarak isimlendirilen grup olup, her biri toplam 16'ar bireyde görülmüştür. Üçüncü sırada en yaygın gözlemlenen haplotipler H14 ve H21 olup her biri toplam 11'er bireyde gözlemlenmiştir. Diğer haplotip gruplarında gözlenen birey sayıları 6- 2 arasında değişim göstermektedir (H17, H10, H22, H20, H1, H4, H8, H9, H23, H33, H34, H35, H43, H50).

İller bazında haplotipler incelendiğinde; bazı haplotiplerin sadece tek bir popülasyonda fakat birden fazla bireyde görüldüğü belirlenmiştir. H1 grubu sadece Kayseri ilinden rastgele seçilen bireylerden 3 tanesinde, H4 ve H9 grubu ise aynı ilden seçilen sadece 2'şer bireyde gözlemlenmiştir. H33 grubu Amasya ilinden toplanan örneklerden 3 tanesinde gözlemlenmiştir. H34 ise Giresun ilinden toplanan 2 bireyde gözlemlenmiştir. H43; Balıkesir ilinden toplanan 2 bireyde, H50 ise Tokat ilinden toplanan 3 bireyde gözlemlenmiştir. Tüm haplotip sonuçları birlikte değerlendirildiğinde, çalışılan 183 bireyde 4 farklı bölge grubunun birbirinden net bir biçimde ayrılmadığını göstermektedir.

**Çizelge 4.3.** Birden fazla bireyde görülen haplotiplerin sayısı (n)'nin bölge ve illere göre dağılımı.

<b>Haplotip</b>	<b>MEG</b>	<b>KRD</b>	<b>DGA</b>	<b>ICA</b>
<b>H1</b>	-	-	-	Kayseri (2), Sivas (1)
<b>H3</b>	İstanbul/Silivri (4), Bursa (1), Tekirdağ / Saray (1), Afyon (3)	Giresun (2), Çorum (2), Sinop (2), Tokat (2)	Muş (1)	Kayseri (6), Sivas (1)
<b>H4</b>	-	-	-	Kayseri (2)
<b>H7</b>	Balikesir (3), Bursa (3), Tekirdağ / Saray (2)	Amasya (2), Giresun (1), Sinop (2)	Diyarbakır (1), Bitlis (1),	Kayseri (1)
<b>H8</b>	-	Çorum (1)	-	Kayseri (1)
<b>H9</b>	-	-	-	Kayseri (2)
<b>H10</b>	Afyon (1)	-	Muş (1), Bitlis (1)	Kayseri (1), Sivas (1)
<b>H12</b>	Tekirdağ / Saray (2), Afyon (1)	Amasya (6), Giresun (2), Çorum (1)	Muş (1), Diyarbakır (4), Bitlis (5)	Sivas (3)
<b>H14</b>	Afyon (2)	Giresun (1), Çorum (2)		Sivas (6)
<b>H17</b>	-	Amasya (2), Çorum (1)	Bitlis (1),	Sivas (2)



Çizelge 4.3 (Devamı)				
<b>H18</b>	Tekirdağ / Saray (1), Afyon (1)	Amasya (1), Giresun (5), Çorum (2), Samsun (3)	Diyarbakır (1), Bitlis (1),	Sivas (1)
<b>H20</b>	Tekirdağ/Saray (1)	Amasya (1)	Muş (1), Bitlis (1),	-
<b>H21</b>	Tekirdağ / Saray (1)	Amasya (3), Giresun (4), Corum (1)	Muş (1), Diyarbakır (1),	-
<b>H22</b>	İstanbul/Silivri (1)	-	Muş (2), Bitlis (2)	-
<b>H23</b>	-	-	Muş (1), Diyarbakır (1)	-
<b>H33</b>	-	Amasya (3)	-	-
<b>H34</b>	-	Giresun (2)	-	-
<b>H35</b>	Afyon (1)	Giresun (1), Sinop (1)	-	-
<b>H43</b>	Balıkesir (2)	-	-	-
<b>H50</b>	-	Tokat (3)	-	-

**MEG:** Marmara / Ege bölgesi, **KRD:** Karadeniz Bölgesi, **DGA:** Doğu / Güney Doğu Anadolu Bölgesi, **ICA:** İç Anadolu Bölgesi



Noktalar referans dizi ile aynı nükleotit dağılımını göstermektedir. Referans diziden farklılık gösteren bazlar ise açık olarak yazılmıştır.

```

5111112222222222222222333333333344444444445556667777778
5067780134556666677799133355779011244456780162661333482
190122718372456716723056738363819301376525118298013012
Hap_1  AGCGACTTCGAAAAAACCTATAACATTTGCTGGTCTCTCCAGCGAGGGGGTCTC
Hap_36  .....TC.....A.....A.
Hap_37  .....TC..A...G.....T...C.....A.....
Hap_38  .....TC.....G.....A.....
Hap_39  .....TC.....G...C.....T...A...A.....
Hap_40  .....TC.....G.....A...A.....
Hap_41  ....TCA.....A...C.....A...A.....
Hap_42  .....C.....T.....A.....
Hap_43  .....TC.....T.....A...A.....
Hap_44  .....TC.....T...C..C.A...T.T.G.TA...AAA...T
Hap_45  .....C.....G.....A.....
Hap_46  .....TC.....T...C..C.A...T.TG...A...AAA.C..T
Hap_47  .....TC.....G.....T..CC.....C.....A.....
Hap_48  .....TC.....G.....T..CC.....TC.....A.....
Hap_49  .....TC...G.....T...C..C.A...T.TG.TA...AAA...T
Hap_50  .....T.....T...C..C.A...T.TG.TA...AAA...T
Hap_51  .....TC.....G..T...T..CC.....A.....
Hap_52  .....C.....G.....A.....
Hap_53  .....C.....C.....A.....
Hap_54  .....TC.....T.....T...A...A.....
Hap_55  .....TC.....T.....A.....T...A...A.....

```

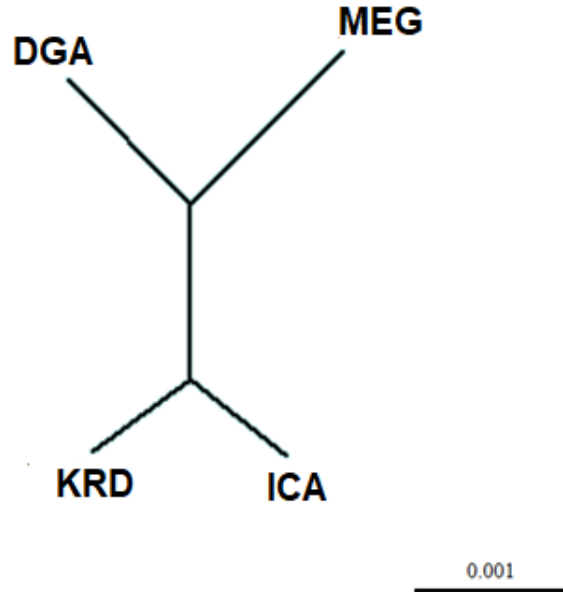
Şekil 4.10. Haplotiplere ait nükleotit değişimlerinin gösterimi (Hap36→Hap55)

#### 4.4.1.2 Irklar arası Genetik Uzaklık

Nei'nin genetik uzaklık ölçüm metotlarına göre hesaplanarak elde edilen ırklar arası genetik uzaklık matrisi Çizelge 4.4.'de, Nei'nin Dxy metoduna göre oluşturulan ağaç ise Şekil 4.11. 'de verilmiştir. Genetik uzaklık (Dxy) değerleri DnaSP 6.11.01 programı (Rozas ve ark., 1995- 2017) ile hesaplanmıştır. Elde edilen matrikse göre PHYLIP 3.69 programında NEIGHBOR yazılımı (Felsenstein, 2005) ve TreeView programı kullanılarak ağaçlar çizdirilmiştir.

**Çizelge 4.4.** Tez çalışması kapsamında bölge grupları dikkate alınarak incelenen popülasyonlar için Nei'nin Dxy ve Da genetik mesafe ölçümü metotlarına göre elde edilen uzaklık matrisi (Dxy; sol aşağıya doğru mavi renkli, Da; sağ aşağıya doğru, kırmızı renkli)

	MEG	KRD	DGA	ICA
MEG		0.00043	0.00049	0.00047
KRD	0.00818		0.00001	0.00017
DGA	0.00845	0.00658		0.00028
ICA	0.00879	0.00711	0.00743	



**Şekil 4.11.** Nei'nin Dxy uzaklığına göre çizilen filogenetik ağaç.

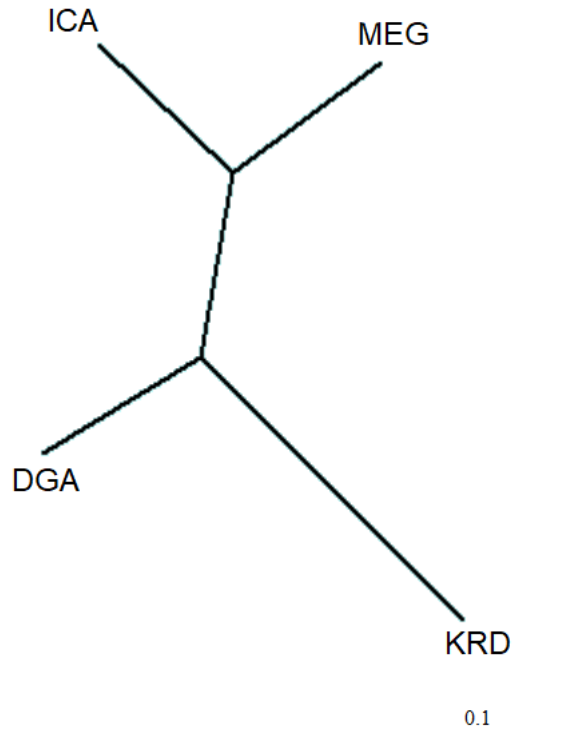
Farklı bölge gruplarındaki popülasyonlar arası  $F_{ST}$  değerleri matrisi Çizelge 4.5 'de, bu değerlere göre oluşturulan ağaç ise Şekil 4.12'de verilmiştir.  $F_{ST}$  değerleri Arlequin ver3.11 programı (Excoffier ve Lischer, 2010) ile hesaplanmıştır. Elde edilen matrisle göre PHYLIP

3.69 programında NEIGHBOR yazılımı (Felsenstein, 2005) ve TreeView programı kullanılarak ağaçlar çizdirilmiştir.

**Çizelge 4.5.** Çalışılan populasyonların  $F_{ST}$  değerleri

	<b>MEG</b>	<b>KRD</b>	<b>DGA</b>	<b>ICA</b>
<b>MEG</b>	0.0000	0.04650*	0.05414*	0.04319*
<b>KRD</b>		0.0000	0.00537 <sup>OD</sup>	0.01713 <sup>OD</sup>
<b>DGA</b>			0.0000	0.03141*
<b>ICA</b>				0.0000

\*  $P < 0.05$ , Ö.D = İstatistiki olarak önemli değil.



**Şekil 4.12.** Bölge grup populasyonlarına ait  $F_{ST}$  uzaklığı için NJ ağacı.

Yukarıda elde edilen sonuçlar incelendiğinde,  $F_{ST}$  uzaklık hesaplama metodu ile çizilen ağaçla, Nei'nin  $D_{xy}$  genetik mesafe ölçüm metoduna göre çizilen ağacın aynı topolojiye sahip

olmadığı görülmüştür. Nei'nin Dxy genetik mesafe ölçüm metoduna göre çizilen ağaçta, Karadeniz Bölgesi illerine ait populasyonlar (Samsun, Sinop, Tokat, Çorum, Amasya, Giresun) ile İç Anadolu Bölgesi illerine (Kayseri ve Sivas) ait populasyonların aynı dalda yer almakta olduğu ve yakın mesafe (0.00711)'de olduğu gözlemlenmektedir. Doğu /Güney Doğu bölgesi illerine ait populasyonların (Diyarbakır, Muş, Bitlis) ise Marmara/Ege bölgesi illerine (Tekirdağ-Saray, İstanbul -Silivri, Balıkesir, Bursa, Afyon) ait populasyonlar ile aynı dalda olduğu, fakat aralarındaki mesafenin (0.00845) diğer gruba göre göreceli olarak daha uzak olduğu dikkat çekmektedir. Nei'nin Dxy genetik mesafe ölçüm metoduna göre hesaplanan genetik uzaklık değerleri incelendiğinde, birbirine en uzak görünen populasyonların Marmara/Ege Bölgesi illerine ait populasyonlar ile İç Anadolu Bölgesi illerine ait populasyonlar arasında (0.00879) olduğu, birbirine en yakın populasyonların ise Karadeniz Bölgesi illerine ait populasyonlar ile Karadeniz Bölgesi illerine ait populasyonlar arasında (0.00658) olduğu görülmektedir.

$F_{ST}$  uzaklık hesaplama metodu ile çizilen ağacın sonuçları incelendiğinde ise, İç Anadolu bölgesi illerine ait grubun Marmara/Ege bölgesi illerine ait populasyonlar ile gruplandığı ve Karadeniz Bölgesine ait populasyonların ise Doğu/Güney Doğu Anadolu Bölgesi populasyonlarının aynı dalda yer almakta olduğu görülmektedir.  $F_{ST}$  uzaklık hesaplama metoduna göre hesaplanan değerler incelendiğinde, Doğu/Güney Doğu Anadolu illerine ait populasyonlar ile Marmara / Ege Bölgesi illerine ait populasyon değerlerinin birbirlerinden en uzak ve istatistiki olarak ( $P < 0.05$ 'e göre) önemli olduğu, İç Anadolu bölgesi illerine ait populasyonlar ile Karadeniz Bölgesi illerine ait populasyon değerlerinin ise birbirlerine en yakın ve istatistiki olarak önemsiz olduğu gözlemlenmiştir. İncelenen populasyonlara ait  $F_{ST}$  ve önemlilik değerleri incelendiğinde, Marmara / Ege Bölgesi populasyonu ile Karadeniz bölgesi, Doğu/Güney Doğu Anadolu ve İç Anadolu Bölgesi populasyonları arasında  $P < 0.05$ 'e göre düşük düzeyde farklılık olduğu görülmektedir. Karadeniz bölgesi populasyonu ile Doğu Anadolu Bölgesi ve İç Anadolu Bölgesi populasyonları arasında bu bölge açısından farklılığın olmadığı dikkati çekmektedir. Ayrıca Doğu/Güney Doğu Anadolu populasyonu ile İç Anadolu Bölgesi arasında da  $P < 0.05$ 'e göre düşük düzeyde farklılık olduğu görülmektedir.

#### 4.4.1.3 Medyan Birleştirme Ağı (Median Joining-MJ) Analizi

Haplotip varyasyonunu gözlemek amacıyla, projede elde edilen tüm manda bireylerinin (n=183) mtDNA kontrol bölgesi sekansları kullanılarak Medyan Birleştirme Ağı (Median Joining-MJ) (Bantelt *ve ark.*, 1999), NETWORK 5.0 (fluxus-engineering.com) programı ile çizilmiştir. Filogenetik networkun ortaya konulabilmesi için “Yıldız daralması-star contraction”, ardından Median-Joining algoritması kullanılmış ve haplotiplerin bir merkez etrafında toplandığı ve hemen hemen her dizinin bir haplotipi ifade ettiği gözlenmiştir. Networkte daireler haplotipleri ifade etmektedir. Haplotiplerin frekansı dairelerin büyüklüğü ile doğru orantılı olarak artmakta ya da azalmaktadır. Haplotipler arası dal uzunlukları ise mutasyon sayıları ile doğru orantılıdır.

Sonuçlar Şekil 4.13’ de gösterilmektedir. Şekilde kırmızı renk; Marmara-Ege Bölgesi (Afyon, Balıkesir, Bursa, İstanbul-Silivri, Tekirdağ- Saray) illerine ait populasyonları, mavi renk; Karadeniz Bölgesi (Samsun, Sinop, Tokat, Amasya, Giresun, Çorum) ) illerine ait populasyonları, yeşil renk; Doğu-Güney Doğu Anadolu Bölgesi (Diyarbakır, Muş, Bitlis) ) illerine ait populasyonları, Turuncu renk; İç Anadolu Bölgesi (Kayseri, Sivas) örneklerini temsil etmektedir.

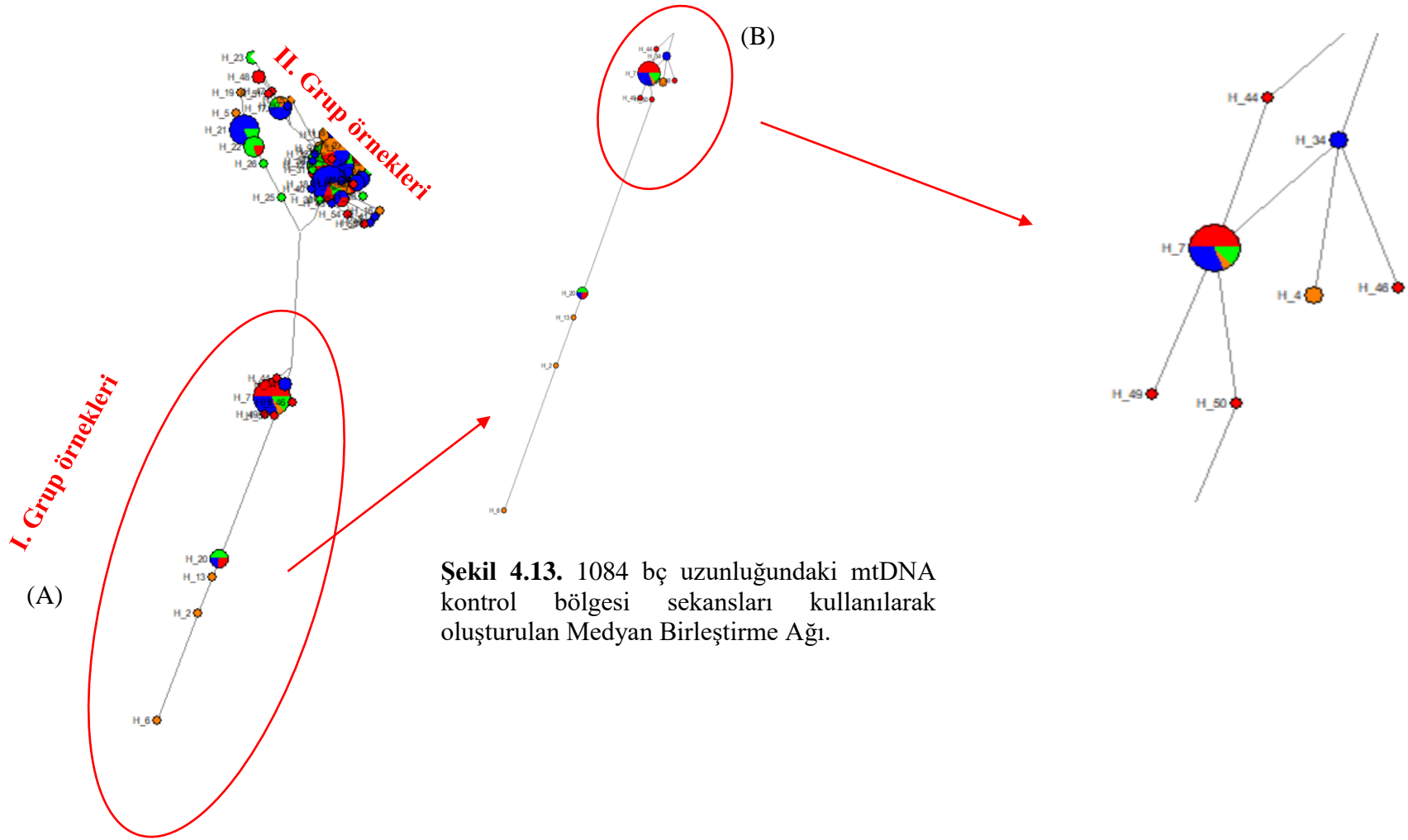
Medyan Birleştirme Ağı analizi sonuçları incelendiğinde, Türkiye’nin 16 farklı il ve 4 farklı bölge grubundan toplanan örneklerin 2 farklı grup oluşturduğu görölmektedir. Birinci grupta 11 farklı haplotipin (H2, H4, H6, H7, H13, H20, H34, H44, H46, H49, H50), II. grupta ise diğer 44 haplotipin yer aldığı görölmektedir. Birinci grubun oluşturduğu kümede; H7’in merkezi (central) bir düğüm oluşturduğu, diğer 10 haplotipin buradan ayrıldığı fikrini akla getirmektedir. Birinci grup örnekleri olarak isimlendirilen kümelenme, 183 bireyden 31’ini kapsamakta ( $\cong$  %17) olup, bu örnekler içerisinde 4 farklı bölgeye (ICA, MEG, KRD, DGA) ait örneklere rastlanmaktadır. Bu grup içerisinde İç Anadolu bölgesi illerinden 6 birey, Marmara/Ege bölgesi illerinden 13 birey, Karadeniz bölgesi illerinden 8 birey ve Doğu-güney Anadolu Bölgesi illerinden 4 birey yer almaktadır (Şekil.4.13)

II. grup olarak isimlendirilen (Şekil 4.14.) kümelenmede 44 farklı haplotipin yer aldığı ve 183 bireyden 152’sinin ( $\cong$  %83) bu kümelenmede yer aldığı görölmektedir. Bu grup

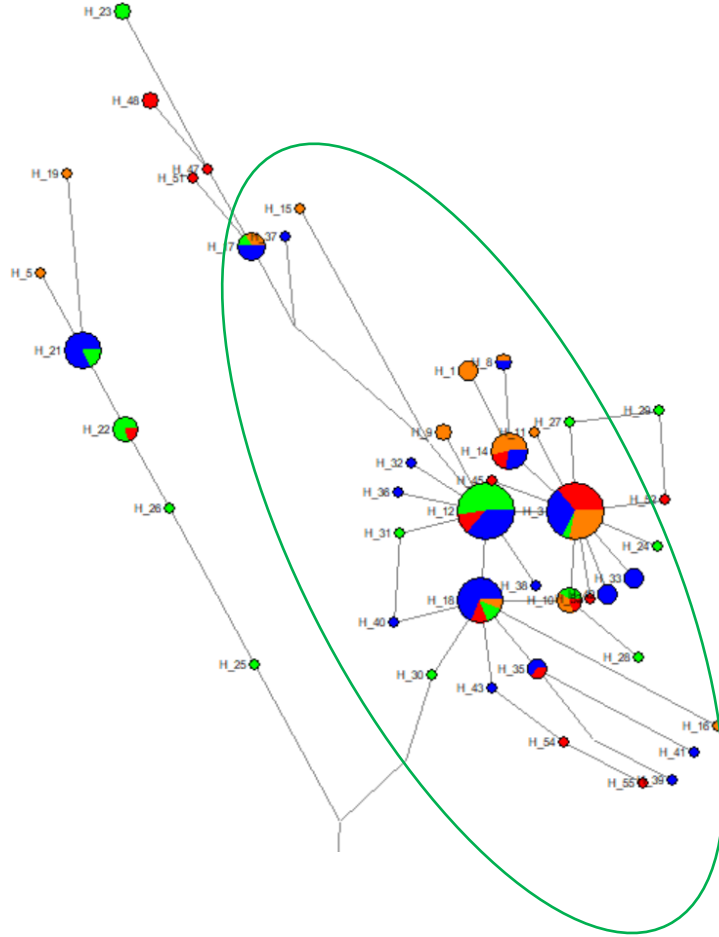
içerisinde 2 farklı dallanmanın olduğu ve birinci dallanmada en yaygın haplotiplerin H3 (n=25) ve H12 (n=25) olduğu, H3'ün İç Anadolu Bölgesi illerinden 7 bireyde, Marmara/Ege Bölgesi illerinden 9 bireyde, Karadeniz Bölgesi illerinden 8 bireyde, Doğu/Güney Doğu Anadolu Bölgesi illerinden 1 örnekte gözlemlendiği, H12'nin ise Doğu / Güney Doğu Anadolu illerinden 13 bireyde, Karadeniz Bölgesi illerinden 9 bireyde, Marmara-Ege Bölgesi illerine ait 3 bireyde görüldüğü belirlenmiştir. II. grup kümelenmede diğer yaygın olarak gözlemlenen haplotiplerin H18 (n=16), H21(n=11) ve H14 (n=11) olduğu belirlenmiştir. H18'in birinci dallanmada yer aldığı ve Karadeniz Bölgesi illerinden 11 bireyde, Marmara-Ege Bölgesi ve Doğu-Güney Doğu Anadolu Bölgesi illerinden 2'şer bireyde ve İç Anadolu Bölgesi illerine ait popülasyondan 1 bireyde görüldüğü belirlenmiştir. II. grup olarak isimlendirilen kümelenmede H14'ün İç Anadolu Bölgesi illerinden 6 bireyde, Marmara-Ege Bölgesi illerinden 2 bireyde ve Karadeniz Bölgesi illerine ait popülasyondan 3 bireyde olduğu, H21'in ise Karadeniz Bölgesi illerinden 9 bireyde ve Doğu-Güney Doğu Bölgesi illerinden 2 bireyde görüldüğü belirlenmiştir.

Medyan Birleştirme Ağı analizi sonuçlarının tümü birlikte değerlendirildiğinde, Türkiye'nin farklı illerinden toplanan manda popülasyonlarına ait örneklerde, 2 farklı grubun söz konusu olduğu belirlenmektedir. I. grup olarak isimlendirilen kümelenmede daha az sayıda örnek ve haplotip yer almakta, II. grup olarak isimlendirilen kümelenmede ise daha fazla örnek ve haplotipin görüldüğü dikkat çekmektedir. Proje kapsamında çalışılan popülasyonların örnek sayısı, haplotip dağılımları ve farkların özgünlüğü hakkında kesin bir grüplama yapmak için Komşu Birleştirme Ağacı metodu kullanılarak analiz sonuçlarının desteklemesi yapılmıştır.





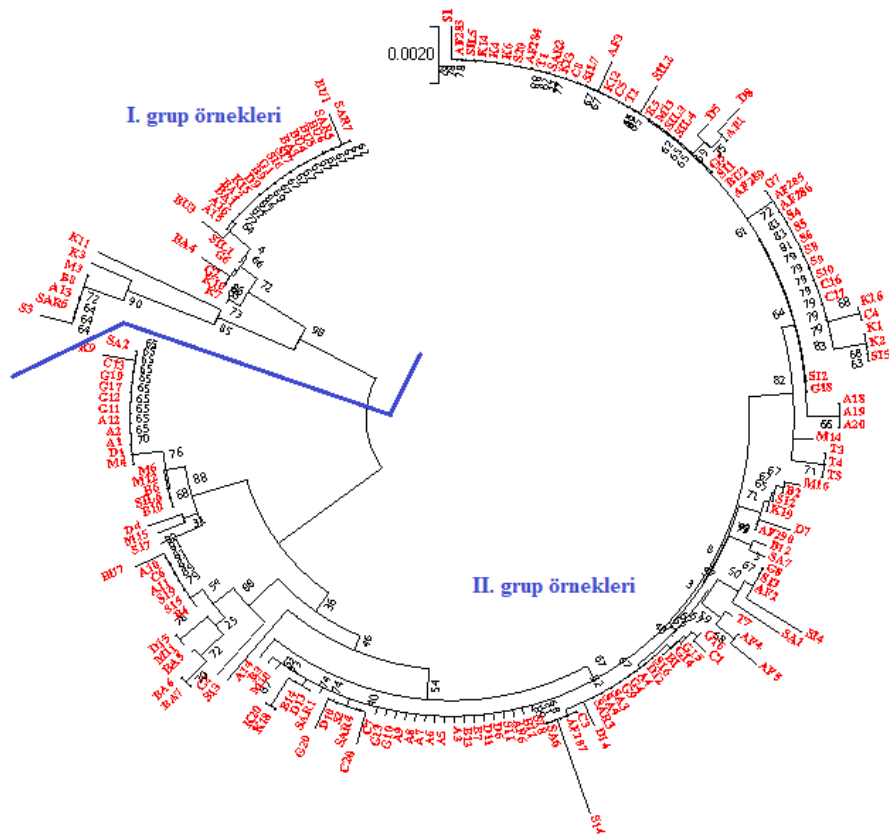
**Şekil 4.13.** 1084 bç uzunluğundaki mtDNA kontrol bölgesi sekansları kullanılarak oluşturulan Medyan Birleştirme Ağı.



Şekil.4.14 1084 bç uzunluğundaki mtDNA kontrol bölgesi sekansları kullanılarak oluşturulan Medyan Birleştirme Ağı II. grup örnekleri.

#### 4.4.1.4 Komşu Birleştirme Ağacı Metodu Kullanılarak mtDNA D-loop Dizileri ile Haplotiplerin Dağılımı

Çalışmada Türkiye'nin farklı illerine ait populasyonlardan seçilen 183 bireyin mtDNA D-loop bölgesi dizisi kullanılarak en uygun nükleotid değişim modeli MEGA programının "Modeller" seçeneği yardımıyla bulunmaya çalışılmıştır. Yapılan analiz sonucunda, ağaç çizimi için en uygun modelin gamma dağılımlı ( $\Gamma=0.61$ ) HKY (HKY+I+G) (Hasegawa *ve ark.*, 1985) evrimsel modeli olduğu bulunmuştur. Örneklerin dağılımını ve haplotiplerin dağılımını tayin edebilmek amacıyla mtDNA D-loop bölgesi dizileri ile Komşu Birleştirme Ağacı, MEGA 7 programı (Tamura *ve ark.*, 2011) kullanılarak oluşturulmuş ve sonuçlar Şekil 4.15.' te verilmiştir. HKY modeli MEGA 7 programının içeriğinde olmadığı için serbest parametreler açısından HKY modelini kapsayan en yakın model Tamura-Nei (Tamura ve Nei, 1993) modeli ( $\Gamma=0.61$ , gamma dağılımı ile) ağaç çiziminde kullanılmıştır.



Şekil. 4.15. Türkiye'nin farklı bölgelerinden örneklenen populasyonlarda yapılan mtDNA D-loop bölgesi Komşu Birleştirme Ağacı.



**Şekil. 4.16** Türkiye'nin farklı bölgelerinden örneklenen populasyonlarda yapılan mtDNA D-loop bölgesi Komşu Birleştirme Ağacı I. Grup örnekleri.

Komşu birleştirme ağacı (NJT) metodu kullanılarak Türkiye yerli manda populasyonlarının (n=183) kontrol bölgesi (mtDNA D-loop) dizileri ile mtDNA haplotiplerinin incelenmesi sonucunda elde edilen sonuçların Medyan Birleştirme Ağı analiz sonuçları ile oldukça uyumlu olduğu gözlemlenmiştir. Her iki analiz yönteminde de Türkiye'nin farklı illerinden toplanan manda populasyonlarına ait örneklerde, 2 farklı grubun söz konusu olduğu belirlenmektedir. I. grup olarak isimlendirilen kümelenmede daha az sayıda örnek ve haplotip yer almakta, II. grup olarak isimlendirilen kümelenmede ise daha fazla örnek ve haplotipin görüldüğü dikkat çekmektedir.

## 4.4.2. mtDNA Cyto b Bölgesi Analiz Sonuçları

### 4.4.2.1 Sekanslara Dayalı Olarak Saptanan Nükleotid ve Haplotip Çeşitliliği

Bu çalışmada 4 farklı bölge olarak gruplandırılan toplam 197 bireyde *Cyto b* gen bölgesi (1 ve 2. primer bölgesi) primerleri başarı ile yükseltgenmiş ve hizalaması yapılmıştır. Çalışılan populasyonlarda *Cyto b* bölgesi çeşitliliği ile ilgili istatistikî değerler (haplotip sayısı, haplotip çeşitliliği, polimorfik bölge sayısı, Parsimonik bilgi verici bölge sayısı ve nükleotid çeşitlilikleri) DnaSP v.6 programındaki (Librado ve Rozas, 2009) “Polymorphism” aracı kullanılarak hesaplanmıştır.

Tez kapsamında çalışılan populasyonlarda mtDNA *Cyto-b* gen bölgesi çeşitliliği ile ilgili sonuçlar Çizelge 4.6.’ da verilmektedir. Tablodaki sonuçlar incelendiğinde, bölgeler bazında en yüksek haplotip çeşitliliği  $H=0.752 (\pm 0.056)$  değeri ile Doğu/Güney Doğu Anadolu bölgesi populasyonlarında olduğu belirlenmişken, en düşük haplotip çeşitliliği ise  $0.443 (\pm 0.066)$  değeri ile Karadeniz bölgesi populasyonlarında gözlenmiştir. Bölgelere göre nükleotid çeşitliliği sonuçları değerlendirildiğinde ise, en yüksek değerin Doğu / Güney Doğu Anadolu bölgesi populasyonlarında  $0.00138 (\pm 0.00024)$ , en düşük değerin ise Karadeniz bölgesi populasyonlarında  $0.00070 (\pm 0.00014)$  olduğu gözlenmiştir.

Çalışmada polimorfik bölge sayısının Doğu / Güney Doğu Anadolu Bölgesi populasyonlarında diğer populasyonlara oranla daha yüksek olduğu bulunmuştur. Parsimonik bilgi verici bölge sayısı sonuçları bölgelere göre incelendiğinde, Doğu / Güney Doğu Anadolu Bölgesi populasyonlarında diğer bölge populasyonlarına oranla daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Tabloda aynı gen bölgesinde az sayıda haplotipin görüldüğü populasyonlar Marmara/ Ege Bölgesinde olup, en az 2 haplotipin diğerlerinden farklı olabileceğini fikrini akla getirmektedir. *Cyto b* gen bölgesinde en fazla sayıda haplotipin gözlemlendiği coğrafi bölge Doğu / Güney Anadolu bölgesi populasyonları olup bu bölgeden 3 ilden rastgele seçilen 53 bireyde çalışılmıştır. Karadeniz bölgesinden 6 farklı ilden rastgele seçilen 75 bireyde çalışılmış olup bu bireylerde 6 farklı haplotipin mevcut olduğu, İç Anadolu bölgesinden 2 farklı ilden seçilen 36 bireyde 10 haplotipin olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.6. İncelenen populasyonlarda mtDNA *Cyto b* gen bölgesi çeşitliliği ile ilgili istatistiki değerler

Bölge	Populasyon	N <sub>ss</sub>	HS	HÇ± SS	PB	PBVS	NÇ± SS	k
<b>Marmara / Ege Bölgesi</b>	İstanbul / Silivri (SIL)	5	2	0.600± 0.175	3	3	0.00145± 0.00042	1.80000
	Balıkesir (BA)	7	2	0.571± 0,119	2	2	0.00092± 0.00019	1.14286
	Bursa (BU)	7	2	0.476± 0.171	2	2	0.00077± 0.00028	0.95238
	Tekirdağ/Saray (SAR)	7	3	0.667± 0.160	3	2	0.00108± 0.00026	1.33333
	Afyon (AF)	7	2	0.286± 0.196	2	-	0.00046 ± 0.00032	0.57143
	<b>Toplam</b>	<b>33</b>	<b>5</b>	<b>0.604± 0.061</b>	<b>6</b>	<b>5</b>	<b>0.00117± 0.00019</b>	<b>1.45455</b>
<b>Karadeniz Bölgesi</b>	Samsun (SA)	7	2	0.286± 0.196	1	-	0.00023± 0.00016	0.28571
	Sinop (SI)	7	4	0.810± 0.130	4	2	0.00123± 0.00029	1.52381
	Tokat (T)	7	-	-	-	-	-	-
	Çorum (C)	21	4	0.414± 0.124	4	2	0.00051± 0.00019	0.62857
	Amasya (A)	13	3	0.500± 0.136	3	2	0.00081± 0.00022	1.0000
	Giresun (G)	20	4	0.489± 0.117	8	2	0.00103± 0.00038	1.27368
	<b>Toplam</b>	<b>75</b>	<b>6</b>	<b>0.443± 0.066</b>	<b>10</b>	<b>4</b>	<b>0.00070± 0.00014</b>	<b>0.868</b>

Bölge	Populasyon	N <sub>ss</sub>	HS	HÇ± SS	PB	PBVS	NÇ± SS	k
<b>Doğu / Güney Doğu Anadolu Bölgesi</b>	Muş (M)	19	4	0.526± 0.126	5	5	0.00080± 0.00024	0.99415
	Bitlis (B)	19	8	0.807± 0.079	14	4	0.00173± 0.00051	2.14035
	Diyarbakır (D)	15	7	0.838± 0.068	7	3	0.00132± 0.00027	1.63810
	<b>Toplam</b>	<b>53</b>	<b>14</b>	<b>0.752± 0.056</b>	<b>18</b>	<b>8</b>	<b>0.00138± 0.00024</b>	<b>1.70537</b>
<b>İç Anadolu Bölgesi</b>	Kayseri (K)	18	7	0.739± 0.099	6	4	0.00116± 0.00026	1.44444
	Sivas (S)	18	5	0.641 ±0.097	5	1	0.00074± 0.00019	0.91503
	<b>Toplam</b>	<b>36</b>	<b>10</b>	<b>0.683± 0.072</b>	<b>8</b>	<b>5</b>	<b>0.00098± 0.00018</b>	<b>1.21111</b>
<b>Toplam</b>		<b>197</b>	<b>22</b>	<b>0.624± 0.037</b>	<b>27</b>	<b>11</b>	<b>0.00106± 0.00010</b>	<b>1.309</b>

N<sub>ss</sub> = Örnek sayısı; HS= Haplotip sayısı; HÇ= Haplotip çeşitliliği; PB= Polimorfik bölge; PBVS=Parsimonik bilgi verici bölge sayısı; NÇ= Nükleotit çeşitliliği; SS= Standart sapma; k=Ortalama Nükleotid Farklılıklarının Sayısı



Tez kapsamında çalışılan populasyonlarda toplam 197 bireyde 22 farklı haplotip belirlenmiştir. Bu 22 haplotipten 12'si özgündür, yani 16 farklı ilden toplanan 197 manda bireyi içerisinde sadece bir hayvanda belirlenmiştir. Bu haplotipler ve görüldüğü populasyonlar Çizelge 4.7.' de verilmiştir. Tez kapsamında çalışılan 197 birey dikkate alındığında, incelenen tüm populasyonlar bazında yaklaşık % 6.09 oranında özgün haplotip görülmüştür.

**Çizelge 4.7.** Çalışma kapsamında incelenen 197 bireyden sadece bir bireyde görülen özgün haplotipler

Haplotip	Örneğin alındığı il / ilçe	Bölge
H19, H20	Kayseri	İç Anadolu Bölgesi
H21, H22	Sivas	
H4, H8	Diyarbakır	Doğu/Güney Doğu Anadolu Bölgesi
H10, H16, H17, H18	Bitlis	
H14	Sinop	Karadeniz Bölgesi
H15	Giresun	

Çizelge 4.7.' deki değerler incelendiğinde Diyarbakır ve Bitlis illerinden rastgele seçilerek mtDNA *cyto b* gen bölgesi çalışılan (n=15) ve (n=19) populasyonlarda diğer populasyonlarda yer almayan en fazla sayıda özgün haplotiplere (6 haplotip) sahip olduğu belirlenmiştir. İç Anadolu bölgesi populasyonlarında 4 farklı özgün haplotip, Karadeniz bölge ili populasyonlarında ise en fazla sayıda birey ile çalışılmış olmasına rağmen sadece 2 farklı özgün haplotipe rastlanmıştır. Marmara / Ege bölgesi illerinden alınan populasyonlarda hiçbir özgün haplotipin görülmediği belirlenmiştir.

Çalışmada bazı haplotiplerin ise aynı populasyon içinde iki veya daha fazla bireyde görüldüğü belirlenmiş ve bu sonuçlar Çizelge 4.8.' de özetlenmiştir. Tablodaki sonuçları incelediğimizde 4 bölge grubundaki populasyonlarda görülen haplotiplerin H1, H2 ve H9

olduğu, en yaygın görülen haplotipin ise H1 (n=117) olduğu görülmektedir. Bu haplotiplerin illere göre dağılımları gösterilmektedir. İkinci sırada yaygın olduğu gözlemlenen haplotip (4 farklı bölge grubunda) H9 olup toplam 25 bireyde gözlenmiştir. Üçüncü sırada en yaygın gözlemlenen haplotip H11 olup toplam 14 bireyde gözlemlenmiştir. Dördüncü sırada en yaygın görülen haplotipler; H2 ve H6 olup her birinde 9'ar bireyde gözlemlenmiştir. Diğer haplotip gruplarında gözlenen birey sayıları 6- 3 arasında değişim göstermektedir (H3, H5,H7, H12, H13). İller bazında haplotipler incelendiğinde; bazı haplotiplerin ise sadece tek bir popülasyonda fakat birden fazla bireyde görüldüğu belirlenmiştir (H3, H5, H12). H3 grubu sadece Muş ilinden rastgele seçilen bireylerden 2 tanesinde, H5 grubu ise Diyarbakır ilinden seçilen 2 bireyde gözlemlenmiştir.H12 haplotip grubu ise İstanbul / Silivri ilinden seçilen 2 bireyde görülmüştür.

Tüm haplotip sonuçları birlikte değerlendirildiğinde, en yaygın olarak gözlemlenen haplotip grubunun H1 olduğu ve tez çalışması kapsamında değerlendirilen 197 bireyden 117'sinde görüldüğu dikkat çekmekte olup, 4 farklı bölge grubunun birbirinden net bir biçimde ayrılamadığı belirlenmiştir.

**Çizelge 4.8.** Birden fazla bireyde görülen haplotiplerin sayısı (n)'nin bölge ve illere göre dağılımı.

<b>Haplotip</b>	<b>MEG</b>	<b>KRD</b>	<b>DGA</b>	<b>ICA</b>
<b>H1</b>	İstanbul/Silivri (3), Tekirdağ / Saray (4), Afyon (6), Balıkesir (3), Bursa (2)	Samsun (6), Sinop (3), Tokat (7), Amasya (9), Giresun (14), Çorum (16),	Muş (13), Diyarbakır (4), Bitlis (8)	Kayseri (9), Sivas (10)
<b>H2</b>	Tekirdağ / Saray (1)	Amasya (1), Çorum (1)	Muş (2), Diyarbakır (1), Bitlis (2)	Sivas (1)
<b>H3</b>	-	-	Muş (2)	-
<b>H5</b>	-	-	Diyarbakır (2)	-
<b>H6</b>	-	-	Diyarbakır (5), Bitlis (3)	Kayseri (1)
<b>H7</b>	-	-	Diyarbakır (1)	Kayseri (1)
<b>H9</b>	Tekirdağ / Saray (2), Balıkesir (4), Bursa (5),	Sinop (2), Amasya (3), Giresun (4), Çorum (1)	Bitlis (2)	Kayseri (2)
<b>H11</b>	-	Samsun (1), Sinop (1), Giresun (1), Çorum (3)	-	Kayseri (3), Sivas (5)
<b>H12</b>	İstanbul/Silivri (2)	-	-	-
<b>H13</b>	Afyon (1)	-	Muş (2)	-

**MEG:** Marmara / Ege bölgesi, **KRD:** Karadeniz Bölgesi, **DGA:** Doğu / Güney Doğu Anadolu Bölgesi, **ICA:** İç Anadolu Bölgesi

Çalışmada tüm haplotiplere ait nükleotit dizilimleri çıkartılmış ve Parsimonik açıdan bilgilendirici olanlar seçilerek aşağıda listelenmiştir (**Şekil.4.17**). Çalışmada 16 farklı ilden alınan 197 bireyde 22 farklı haplotip gözlemlenmiştir.

	635681222334445555555566911	
	17086089360770001139949211	
	8111448674692641372223	
	78	
H_1	CGACCAGGCATGCTCGGACTTTAGTTA	117
H_2	.....C.....C..	9
H_3	.....C.	2
H_4	.....A..	1
H_5	.....TG.....	2
H_6	.....G.....	9
H_7	..T.....G.....C..	2
H_8	.....TG.....C.	1
H_9	..T.....C..	25
H_10	.....C.....	1
H_11	..T.....	14
H_12	.A.....A..G	2
H_13	.....A..G	3
H_14	T.....	1
H_15	...T..AAGC.....	1
H_16	.....T.....	1
H_17	.....GAA..GAGC....	1
H_18	..T.....C..	1
H_19	.....C....A.....C..	1
H_20	.....C..	1
H_21	..T.....T.....	1
H_22	.....T.....	1

**Şekil.4.17** Haplotiplere ait nükleotit değişimlerinin gösterimi (Hap1→Hap22)

Şekle göre ilk sırada yer alan Haplotip1, tüm illerden seçilen 117 bireyde gözlemlenen bir haplotip olup referans olarak seçilerek analiz edilmiştir. Noktalar referans dizi ile aynı nükleotit dağılımını göstermektedir. Referans diziden farklılık gösteren bazlar ise açık olarak yazılmıştır.

#### 4.4.2.2 Irklar arası Genetik Uzaklık

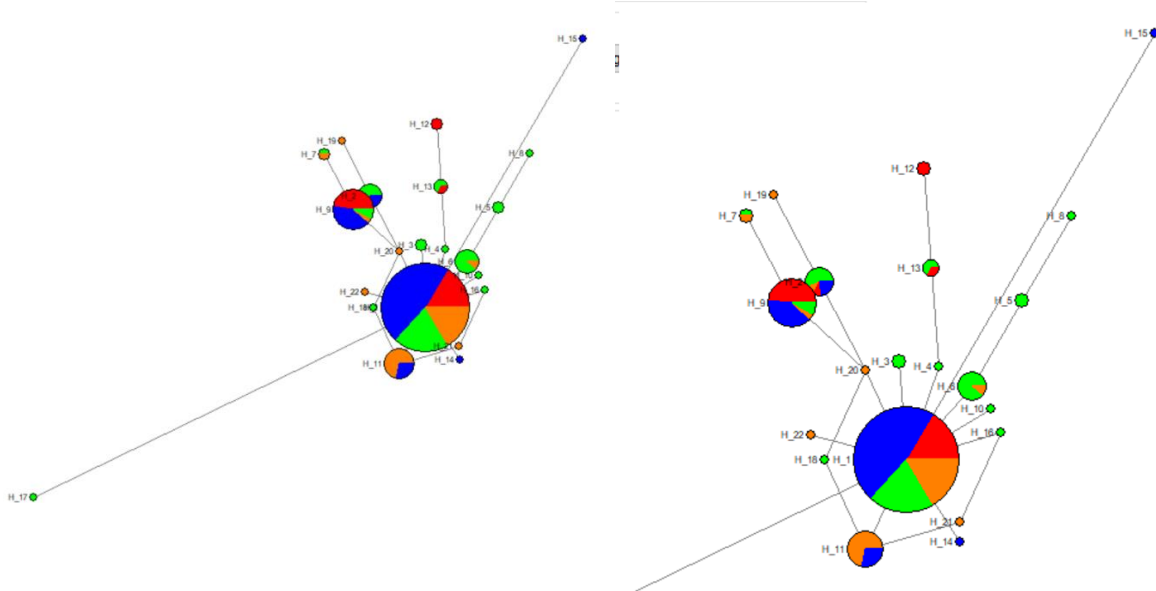
Nei'nin genetik uzaklık ölçüm metotlarına göre hesaplanarak elde edilen ırklar arası genetik uzaklık matrisi Çizelge 4.9.' da verilmiştir. Genetik uzaklık (Dxy) değerleri DnaSP 6.11.01 programı (Rozas ve ark., 1995- 2017) ile hesaplanmıştır. Elde edilen matris değerleri incelendiğinde çok düşük farklılıkların görülmüş olması nedeni ile ağaç çizimleri yapılmamıştır.

Çizelge 4.9. Tez çalışması kapsamında bölge grupları dikkate alınarak incelenen populasyonlar için Nei'nin Dxy ve Da genetik mesafe ölçümü metotlarına göre elde edilen uzaklık matrisi (Dxy; sol aşağıya doğru mavi renkli, Da; sağ aşağıya doğru, kırmızı renkli)

	<b>MEG</b>	<b>KRD</b>	<b>DGA</b>	<b>ICA</b>
<b>MEG</b>	-	<b>0.00007</b>	<b>0.00013</b>	<b>0.00012</b>
<b>KRD</b>	<b>0.00100</b>	-	<b>0.00006</b>	<b>0.00001</b>
<b>DGA</b>	<b>0.00143</b>	<b>0.00112</b>	-	<b>0.00006</b>
<b>ICA</b>	<b>0.00120</b>	<b>0.00085</b>	<b>0.00126</b>	-

Haplotip varyasyonunu gözlemek amacıyla, projede elde edilen tüm manda bireylerinin (n=183) mtDNA kontrol bölgesi sekansları kullanılarak Medyan Birleştirme Ağı (Median Joining-MJ) (Bantelt ve ark., 1999), NETWORK 5.0 (fluxus-engineering.com) programı ile çizilmiştir. Filogenetik networkun ortaya konulabilmesi için “Yıldız daralması-star contraction”, ardından Median-Joining algoritması kullanılmış ve haplotiplerin bir merkez etrafında toplandığı ve hemen hemen her dizinin bir haplotipi ifade ettiği gözlenmiştir. Networkte daireler haplotipleri ifade etmektedir. Haplotiplerin frekansı dairelerin büyüklüğü ile doğru orantılı olarak artmakta ya da azalmaktadır. Haplotipler arası dal uzunlukları ise mutasyon sayıları ile doğru orantılıdır.

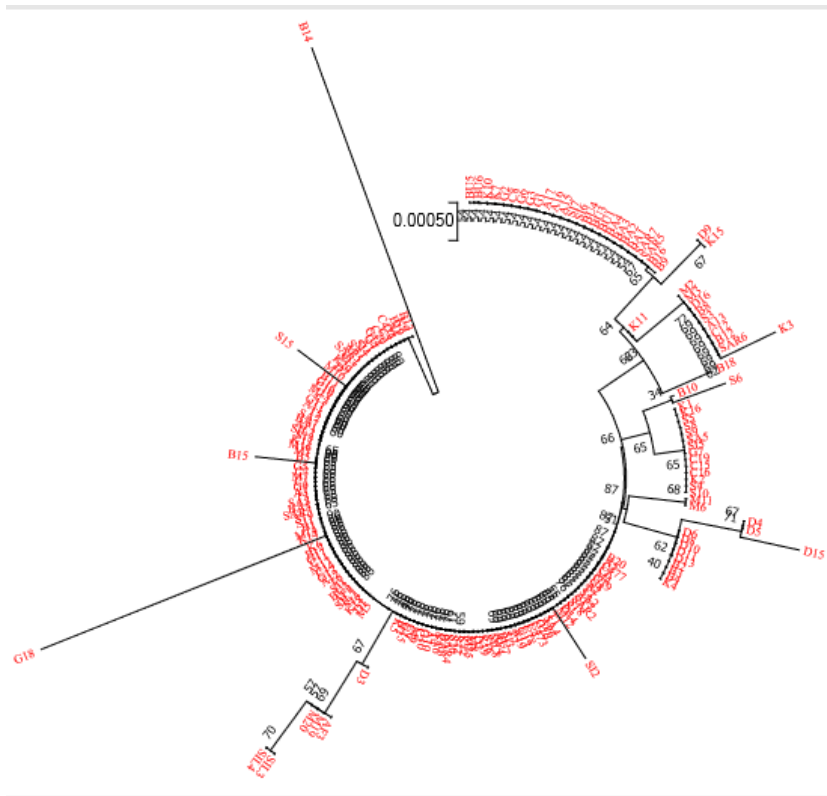
Sonuçlar Şekil 4.18.’ de gösterilmektedir. Şekilde kırmızı renk; Marmara-Ege Bölgesi (Afyon, Balıkesir, Bursa, İstanbul-Silivri, Tekirdağ- Saray) illerine ait populasyonları, mavi renk; Karadeniz Bölgesi (Samsun, Sinop, Tokat, Amasya, Giresun, Çorum) ) illerine ait populasyonları, yeşil renk; Doğu-Güney Doğu Anadolu Bölgesi (Diyarbakır, Muş, Bitlis) ) illerine ait populasyonları, Turuncu renk; İç Anadolu Bölgesi (Kayseri, Sivas) örneklerini temsil etmektedir.



**Şekil 4.18.** 1226 bp uzunluğundaki mtDNA *Cyto b* bölgesi sekansları kullanılarak oluşturulan Medyan Birleştirme Ağı.

#### 4.4.2.3 Komşu Birleştirme Ağacı Kullanılarak Cyto b Gen Bölgesi Sekansları ile mtDNA Haplotiplerinin Belirlenmesi

Çalışmada Türkiye'nin farklı illerine ait popülasyonlardan seçilen 197 bireyin mtDNA *Cyto b* bölgesi dizisi kullanılarak en uygun nükleotid değişim modeli MEGA programının "Modeller" seçeneği yardımıyla bulunmaya çalışılmıştır. Yapılan analiz sonucunda, ağaç çizimi için en uygun modelin gamma dağılımsız HKY (Hasegawa ve ark., 1985) evrimsel modeli olduğu bulunmuştur. Örneklerin dağılımını ve haplotiplerini tayin edebilmek amacıyla mtDNA *cyto b* bölgesi dizileri ile Komşu Birleştirme Ağacı, MEGA 7 programı (Tamura ve ark., 2011) kullanılarak oluşturulmuş ve sonuçlar Şekil 4.19' da verilmiştir. HKY modeli MEGA 7 programının içeriğinde olmadığı için serbest parametreler açısından HKY modelini kapsayan en yakın model Tamura-Nei (Tamura ve Nei, 1993) modeli (gamma dağılımsız) ağaç çiziminde kullanılmıştır.



**Şekil 4.19.** Türkiye'nin farklı bölgelerinden örneklenen popülasyonlarda yapılan mtDNA *Cyto b* bölgesi Komşu Birleştirme Ağacı.

Türkiye'nin farklı bölgelerinden toplanan manda örneklerinin mtDNA kontrol bölgesi Komşu Birleştirme Ağacı sonucunu incelediğimizde, Medyan Birleştirme Ağacı Analizi sonuçlarında olduğu gibi bireylerin büyük bir kısmının tek bir kümelenme grubu gösterdiği ve bu grupların birbirlerinden net ayrılamadığı, birçok alt grubun mevcut olduğu görülmektedir (Şekil 1.19.).



## 5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Mitokondrial DNA D-loop ve *Cyto b* gen bölgelerinin çalışılması sonucunda elde edilen sonuçları özetlersek;

**1.**Tez kapsamında çalışılan manda populasyonlarında anneden gelen kalıtımın incelendiği D-loop bölgesinin çalışılması sonucunda, 16 farklı ilden seçilen toplam 183 bireyde 55 farklı haplotipin görüldüğü belirlenmiştir. En yüksek haplotip çeşitliliği Karadeniz bölgesi populasyonlarında belirlenmişken, en düşük haplotip çeşitliliği ise Doğu/Güney Doğu Anadolu bölgesi populasyonlarında gözlenmiştir. Sitokrom b bölgesi sonuçları incelendiğinde ise, 197 bireyde 22 farklı haplotipin olduğu belirlenmiştir. Bu bölgede en yüksek haplotip çeşitliliği Doğu / Güney Doğu Anadolu bölgesi populasyonlarında belirlenmişken en düşük haplotip çeşitliliği ise Marmara Bölgesi populasyonlarında gözlenmiştir.

**2.**Bölgelere göre nükleotit çeşitliliği sonuçları değerlendirildiğinde ise, en yüksek değer Marmara/ Ege bölgesi populasyonlarında 0,00908 ( $\pm 0.00073$ ), en düşük değer ise Karadeniz bölgesi populasyonlarında 0.00634 ( $\pm 0.0073$ ) olduğu gözlenmiştir. Çalışmada polimorfik bölge sayısının İç Anadolu Bölgesi populasyonlarında diğer populasyonlara oranla daha yüksek olduğu bulunmuştur.

**3.**Parsimonik bilgi verici bölge sayısı sonuçları bölgelere göre incelendiğinde, Doğu / Güney Doğu Anadolu Bölgesi populasyonlarında diğer bölge populasyonlarına oranla daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Yine bu tabloda, D- loop bölgesi için Doğu / Güney Doğu Anadolu Bölgesi populasyonlarında az sayıda haplotip olduğunu ama en az iki haplotipin diğerlerinden farklı olabileceğini göstermektedir. Çalışmada Karadeniz bölgesinden 6 farklı ilden rastgele seçilen 69 bireyde çalışılmış olup bu bireylerde 22 farklı haplotipin mevcut olduğu belirlenmiştir. Marmara bölgesinden 5 farklı ilden seçilen 41 bireyde 21 haplotip, İç Anadolu bölgesinden 2 farklı ilden seçilen 37 bireyde 19 haplotip, Doğu / Güney Doğu Anadolu bölgesinden 3 farklı ilden seçilen 36 bireyde ise 18 haplotipin olduğu belirlenmiştir.

**4.**Çalışılan populasyonlarda  $F_{ST}$  değerleri hesaplanmış ve bölgeler arası farklılığın düşük de olsa mevcut olduğu belirlenmiştir. Populasyonlara ait  $F_{ST}$  ve önemlilik değerleri incelendiğinde, Marmara / Ege Bölgesi populasyonu ile Karadeniz bölgesi, Doğu/Güney Doğu Anadolu ve İç Anadolu Bölgesi populasyonları arasında  $P < 0.05$ 'e göre düşük düzeyde farklılık

olduğu grlmektedir. Karadeniz bölgesi populasyonu ile Doğu Anadolu Bölgesi ve İç Anadolu Bölgesi populasyonları arasında bu bölge açısından farklılığın olmadığı dikkati çekmektedir. Ayrıca Doğu/Güney Doğu Anadolu populasyonu ile İç Anadolu Bölgesi arasında da  $P < 0.05$ 'e göre düşük düzeyde farklılık olduğu grlmektedir.

**5.** Tez kapsamında çalışılan D-loop bölgesinin, *Cyto b* gen bölgesinden daha yüksek mutasyona sahip olduğu ve bu bölgenin Türkiye manda populasyonlarındaki genetik çeşitliliğin tanımlanmasında daha detaylı bilgi verebileceği belirlenmiştir

**6.** mtDNA üzerindeki iki ayrı bölge (D-loop ve *Cyto b*) Türkiye'de iki manda grubunun varlığına işaret etmekle beraber bu grupların ilişkileri konusunda Türkiyede yapılan çalışmaların yetersiz olması nedeni ile henüz kesin bir Őey söylenememektedir.

**7.** Mandada genetik çalışmalar koyun, keçi ve sığırda yapılan genetik çalışmalara oranla oldukça yetersizdir. Özellikle son 10 yılda moleküler genetik teknikler kullanılarak mandada yürütülen çalışmaların sayısının artış gösterdiği grlmektedir. İlerleyen yıllarda daha fazla genetik verinin ortaya konması ile Türkiye'deki populasyonların atası ve evrimsel süreci çok daha detaylı ortaya konulabilecektir. Bu nedenle proje kapsamında çalışılan bireylere ait 1084 bç uzunluğundaki mtDNA D-loop bölgesi ve 1226 b uzunluğundaki *Cyto b* bölgesi sonuçlarının gelecek çalışmalara önemli bir kaynak oluşturulacağı düşünülmektedir.

**8.** Bu alışma, Türkiye manda popülasyonlarında mtDNA D-loop ve *Cyto b* gen bölgelerinin ilk defa çalışıldığı (fazla birey ve populasyon sayısı) her bir bireye ait 2000 b 'den fazla uzunlukta DNA dizilimine sahip bir çalışma olması nedeni ile oldukça önemli sonuçlar içerdiği düşünülmektedir. Elde edilen veriler bir sonraki aşamada Dünyadaki manda ırk ve populasyonları ile karşılaştırılabilecektir.

## KAYNAKLAR

- Achilli, A., Bonfiglio, S., Olivieri, A., Malusa, A., Pala, M., Hooshar Kashani, B., Perego, U.A., AjmoneMarsan, P., Liotta, L., Semino, O., Bandelt, H.J., Ferretti, L. & Torroni, A. (2009). The Multifaceted Origin of Taurine Cattle Reflected by the Mitochondrial Genome. *PLoS ONE*, 4: e5753.
- Aminafshar M., Amirinia C., Vaez Torshizi R., Genetic Diversity in the Buffalo Population of Guilan Using Microsatellite Markers, *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 7(11), 1499-1502,(2008).
- Anderson, S., M. H. L. De Bruijn, A. R. Coulson, I. C. Eperon, F. Sanger, and I. G. Young. 1982. Complete Sequence of Bovine Mitochondrial Dna: Conserved Features of The Mammalian Mitochondrial Genome. *J. Mol. Biol.* 156:683-7 17.
- Avise, J.C., 1991. Ten unorthodox perspectives on evolution prompted by comparative population genetic findings on mitochondrial DNA. *Annual Rev. Genetic.* (25):45-69.
- Babar M.E.,Hussain T.,Imran M., Nagarajan M., Kumar S.,Mitochondrial DNA Diversity Patterns in Pakistani Buffalo,*Animal Genetics*, 43, 315–317, (2011).Bandelt H-J., Forster P., Röhl A., 1999. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Mol. Biol. Evol.*, 16:37-48.
- [Barker J.S.](#), [Moore S.S.](#), [Hetzl D.J.](#), [Evans D.](#), [Tan S.G.](#), [Byrne K.](#), Genetic Diversity of Asian Water Buffalo (*Bubalus bubalis*): Microsatellite Variation and a Comparison With Protein-coding Loci,*Animal Genetics*, 28(2), 103-15, (1997).
- Beckman J.S., Weber J.L., Survey of Human and Rat Microsatellites, *Genomics*,12,627-631, (1992).
- Beckman J.S., Soller M., Toward a Unified Approach to Genetic Mapping of Eukaryotes Based on Sequence Tagged Microsatellite Sites, *Biotechnology*,8, 930–932, (1990).
- 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).
- Bogenhagen D. F., 1999. Repair of mtDNA in vertebrates. *Am.J.Hum.Genet.* 64: 1276-1281
- Bollongino, R., Burger, J., Powell, A., Mashkour, M., Vigne, J.D. & Thomas, M.G. (2012). Modern Taurine Cattle Descended from Small Number of Near-Eastern Founders. *Molecular Biology and Evolution*, 29: 2101–2104.
- Botstein, D.; White, R. L.; Skolnick, M., Davis, R.W. (1980). Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphism. *Am. J. Hum. Genet.* **32**: 324–331.

- Boettcher, P.J., Stevering, D.W.B., Beitz, D.C., Freeman, A.E., McDaniel, B.T. 1996. Multiple herd evaluation of the effects of material lineage on yield traits of Holstein cattle. *J. Dairy Sci.* (79):655.
- Boyce W.M., Hedrick N.E., Muggli-Cocket N.E., Kalinowski S., Penedo M.C., Ramey R.R., Genetic Variation of Major Histocompatibility Complex and Microsatellite Loci: A Comparison in Bighorn Sheep, *Genetics*, 145, 421-433, (1996).
- Bruford M.W., Bradley D.G., Luikart G., DNA Markers Reveal the Complexity of Livestock Domestication, *Nature Review Genetics*, 4, 900-910, (2003).
- Chapuis M-P, Estoup A., 2007. Microsatellite null alleles and estimation of population differentiation. *Mol Biol Evol* 24: 621–631.
- Chen Y.C., Li X.H., New Evidence on the Origin and Domestication of the Chinese Swamp Buffalo (*Bubalus bubalis*), *Buffalo Journal*, 1, 51–5, (1989).
- Chikuni K., Mori Y., Tabata T., Saito M., Monma M., Kosugiyama M., Molecular Phylogeny Based on the Kappa-casein and Cytochrome b Sequences in the Mammalian Suborder Ruminantia, *Journal of Molecular Evolution*, 41(6), 859-866, (1995).
- Cieslak, M., Pruvost, M., Benecke, N., Hofreiter, M., Morales, A., Reissmann, M. & Ludwig, A. (2010). Origin and history of mitochondrial DNA lineages in domestic horses. *PLoS One*, 5: e15311. doi:10.1371/journal.pone.0015311
- Cockrill, W. R. 1981. The water buffalo: A review. *Br. Vet. J.* 137:8–16. Department of Animal Husbandry and Dairying, Government of India. 2003. *Livestock Census*. <http://www.dahd.nic.in> Accessed Feb. 8, 2007.
- Condit R., Hubbell S.P., Abundance and DNA Sequence of Two-base Repeat Regions in Tropical Tree Genomes, *Genome*, 34, 66-71, (1991).
- Coroian C.O., Coroian A., Suteu M., (2011). Genetic Diversity in Romanian Buffalo. Unpublished. Submitted (06-DEC-2011) *Animal Breeding, University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine of Cluj-Napoca, Manastur*, 3-5, Cluj-napoca 400372, Romania
- Cummings J (1998) Mitochondrial DNA in mammalian reproduction. *Rev Reprod* 3:172–182
- Dakin E. E. and Avise J. C., 2004. Microsatellite null alleles in parentage analysis. *Heredity* 93: 504–509.
- Edwards A., Civitello A., Hammond H.A., Caskey C.T., DNA Typing and Genetic Mapping with Trimeric and Tetrameric Tandem Repeats, *American Journal of Human Genetics*, 49, 746-756, (1991).

- Excoffier L., Laval G., Schneider S. (2006) Arlequin: An Integrated Software Package for Population Genetics Data Analysis. Version 3.1, Institute of Zoology, University of Berne, Bern, Switzerland.
- FAO; Food and Agricultural Organization of the United Nations. FAOSTAT | © FAO Statistics Division <http://faostat.fao.org/site/573/DesktopDefault.aspx?PageID=573#ancor>, 2010 | 16 April 2012
- Fatima, S., Bhong, C.D., Rank, D.N., Joshi, C.G. (2008) Genetic variability and bottleneck studies in Zalawadi, Gohilwadi and Surti goat breeds of Gujarat (India) using microsatellites. *Small Ruminant Research*, **77**: 58-64.
- Felsenstein J. (1993) PHYLIP: Phylogeny Inference Package. Version 3.6c, Department of Genetics, University of Washington, Seattle, USA.
- FELSENSTEIN, J. (2005) PHYLIP (Phylogeny Inference Package) version 3.6. Distributed by the author. Department of Genome Sciences, University of Washington, Seattle  
Erişim:[ <http://evolution.genetics.washington.edu/phylip.html>. Erişim tarihi: 28.07.2017
- Flamand J.R.B., Vankan D., Gairhe K.P., Duong H., Barker J.S.F., Genetic Identification of Wild Water Buffalo in Nepal, *Animal Conservation*, **6**, 265-270, (2003).
- Diez-Tasco'n, C., Littlejohn R. P., Almeida, P. A. R., Crawford A. M. (2000) Genetic variation within the Merino sheep breed: analysis of closely related populations using microsatellites. *Animal Genetics*, **2000**, 31, 243–251
- Garganı M., Pariset L., Soysal M.İ., Özkan E., Valentini A., Genetic Variation and Relationships among Turkish Water Buffalo Populations, *Animal Genetics*, **41**, 93–96, (2009).
- Geng, R.Q. and Chang, H. (2008). Genetic diversity and origin of water buffalo. Unpublished. Submitted (08-JUN-2008) Animal Science and Technology College, Yangzhou University, 88 Daxue Road (South), Yangzhou, Jiangsu. 225009, China
- Groeneveld, L.F., Lenstra, J.A., Eding, H., Toro, M.A., Scherf, B., Pilling, D., Negrini, R., Finlay, E.K., Jianlin, H., Groeneveld, E., Weigend, S. & the GOBALDIV Consortium. (2010). Genetic diversity in farm animals: A review. *Animal Genetics*, **41**: 6–31.
- Goudet, J., 2001. FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices (version 2.9.3). Available from <http://www.unil.ch/izea/software/fstat.html>. Updated from Goudet (1995) <http://www2.unil.ch/popgen/software/fstat.htm>
- Hall, T., 1997-2011. Bioedit: Biological sequence alignment editor. Tom Hall, Ibis Biosciences, Carlsbad, CA, 92008.

- Hamrick R. G., Pircalioglu T., Gunduz Ş., Carrol J.P. (2005) Feral donkey *Equus asinus* populations on the Karpaz peninsula, Cyprus *European Journal of Wildlife Research* June 2005, Volume 51, Issue 2, pp 108–116.
- Hasegawa, M., Kishino, H., ve Yano, T. 1985. Dating the human-ape split by a molecular clock of mitochondrial DNA. *Journal of Molecular Evolution*, 22:160-174.
- Hassan A.A., El Nahas S.M., Kumar S., Godithala P.S., Roushdy Kh., Mitochondrial D-Loop Nucleotide Sequences of Egyptian River Buffalo: Variation and Phylogeny Studies, *Livestock Science*, 125, 37–42, (2009).
- Hassanin A., Delsuc F., Ropiquet A., Hammer C., Jansen van Vuuren B., Matthee C., Ruiz-Garcia M., Catzefflis F., Areskoug V., Nguyen T.T., Couloux A., Pattern and Timing of Diversification of Cetartiodactyla (Mammalia, Laurasiatheria), As Revealed by a Comprehensive Analysis of Mitochondrial Genomes, *Comptes Rendus Biologies*, 335(1), 32-50, (2012).
- Iamartino D., Bruzzone A., Lanza A., Blasi M., Pilla F., Genetic Diversity Of Southern Italian Goat Populations Assessed by Microsatellite Markers, *Small Ruminant Research*, 57, 249-255, (2005).
- ISAG (2004) New MoDAD marker sets to be used in diversity studies for the major farm animal species: recommendations of a joint ISAG/FAO working group.
- Jin M., Gou C-L., Hu J-H., Gao W-B., Wang W., Correlation Analysis of Economic Traits in Liaoning New Breed of Cashmere Goats Using Microsatellite DNA Markers, *Acta Genetica Sinica*, 33(3), 230-235, (2006).
- Jobling, M.A., Hurles, M.E., Tyler-Smith, C., *Human Evolutionary Genetics: Origins, Peoples and Disease*, Garland Science Publishing, London/New York, (2004).
- Kathiravan P., Kataria R.S., Mishra B.P., Dubey P.K., Sadana D.K., Joshi B.K., 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, 295–304, (2011).
- Kikkawa Y., Yonekawa H., Suzuki H., Amano T., Analysis of Genetic Diversity of Domestic Water Buffaloes Based on Variations in the Mitochondrial Gene for Cytochrome b, *Animal Genetics*, 28, 195-201, (1997).
- Kierstem G., Vallinoto M., Silva A., Schneider M.P., Iannuzzi L., Brenig B., Analysis of Mitochondrial D-loop Region Casts New Light on Domestic Water Buffalo (*Bubalus bubalis*) Phylogeny, *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 30(2), 308-324, (2004).
- Klug, W.S., Cummings, M.R., *Genetik, Kavramlar*, Çev: Öner C., Palme Yayıncılık, Ankara, (2002).

- Kul B. Ç., Bilgen N., Akyüz B., Ertuğrul O. (2016) Anadolu Ve Kıbrıs Eşek Popülasyonlarında Mitokondriyal ve Y-Kromozomal Str'larına Dayanan Moleküler Filogeni Ankara Üniv Vet Fak Derg, 63, 143-149, 2016
- Kumar S., Nagarajan M., Sandhu J., Kumar N., Behl V., Phylogeography And Domestication Of Indian River Buffalo, *Bmc Evolutionary Biology*, 7, 186, (2007a).
- Kumar S., Nagarajan M., Sandhu J.S., Kumar N., Behl V., Nishanth G., Mitochondrial Dna Analyses of Indian Water Buffalo Support A Distinct Genetic Origin Of River And Swamp Buffalo, *Animal Genetics*, 38(3), 227-232, (2007b).
- Kumar S., Gupta J., Kumar N., Dikshit K., Navani N., Jain P., Nagarajan M., Genetic Variation And Relationships Among Eight Indian Riverine Buffalo Breeds, *Molecular Ecology*, 15, 593-600, (2006).
- Küçükkebağcı, M., Şahin, M. 2002. Dünyada ve Türkiye’de Mandacılık Semineri. Kocatepe Tarımsal Araştırma Enstitüsü, Afyon.
- Langella, O. (1999) Populations 1.2. 30: A Population Genetic Software.
- Lau C.H., Drinkwater R.D., Yusoff K., Tan S.G., Hetzel D.J., Barker J.S., Genetic Diversity Of Asian Water Buffalo (*Bubalus Bubalis*): Mitochondrial Dna D-Loop And Cytochrome B Sequence Variation, *Animal Genetics*, 29, 253–264, (1998).
- Lei C.Z., Zhang C.M., Weining S., Campana M.G., Bower M.A., Zhang X.M., Liu L., Lan X.Y., Chen H., Genetic Diversity Of Mitochondrial Cytochrome B Gene In Chinese Native Buffalo, *Animal Genetics*, 42(4), 432-436, (2011).
- Lei C.Z., Zhang W., Chen H., Lu F., Ge-Lan Q., Liu R.Y., Dang R.H., Yao L.B., Lu F.Z., Zhao Z.L., Two Maternal Lineages Revealed By Mitochondrial Dna D-Loop Sequences In Chinese Native Water Buffaloes (*Bubalus Bubalis*), *Asian-Australasian Journal Of Animal Sciences*, 20, 4, 471 – 476, (2007a).
- Lei C.Z., Zhang W., Chen H., Lu F., Liu R.Y., Yang X.Y., Zhang H.C., Liu Z.G., Yao L.B., Lu Z.F., Zhao Z.L., Independent Maternal Origin Of Chinese Swamp Buffalo (*Bubalus Bubalis*), *Animal Genetics*, 38(2), 97-102, (2007b).
- Lenstra, J.A., Ajmone-Marsan, P., Beja-Pereira, A., Bollongino, R., Bradley, D.G., Colli, L., De Gaetano, A., Edwards, C.J., Feliuss, M., Ferretti, L., Ginja, C., Hristov, P., Kantanen, J., Lirón, J.P., Magee, D.A., Negrini, R. & Radoslavov, G.A. (2014). MetaAnalysis of Mitochondrial DNA Reveals Several Population Bottlenecks During Worldwide Migrations of Cattle. *Diversity*, 6: 178–187.
- Librado P. ve Rozas J., 2009. DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics Applications Note* , 25: 1451-1452.

- Liu Z.W., Biyashev R.M., Saghai-Marroof M.A., Development Of Simple Sequence Repeat DNA Markers And Their Integration Into A Barley Linkage Map, *Theoretical And Applied Genetics*,93, 869-876, (1996).
- Lightowers, R.N., Chinnery, P.F., Turnbull, D.M., Howell, N., 1997. Mammalian mitochondrial genetics: heredity, heteroplasmy and disease. *TIG* (13): 450-455.
- Lodish, H., Baltimore, H.D., Berk, A., Zipursky, S.L., Matsudaira, P., Darnell, J., *Molecular Cell Biology*, W. H. Freeman Company, Usa, (2003).
- Marques J.R.F., Martínez A.M., Costa M.R., Albuquerque M.S.M., Quiroz J., Vega-Pla J.L., Delgado J.V., Genetic Diversity Of Brazilian Buffaloes (*Bubalus Bubalis*) Using Dna Microsatellites,*Arch. Zootec.*, 60(232), 1213-1221,(2011).
- Mateus J.C., Penedo M.C., Alves V.C., Ramos M., Rangel-Figueiredo T., Genetic Diversity And Differentiation In Portuguese Cattle Breeds Using Microsatellites, *Animal Genetics*,35,106-113, (2004).
- Maudet C., Luikart G., Taberlet P., Genetic Diversity And Assigment Test Among Seven French Cattle Breeds Based On Microsatellite Dna Analysis, *Journal Of Animal Science*, 80, 942–950, (2002).
- Mcmahon C.R., Isagi Y., Kaneko S., Bowman D.M.J.S., Brook B.W., Bradshaw C.J.A., Genetic Structure Of Introduced Swamp Buffalo Subpopulations In Tropical Australia, *Austral Ecology*, (2012). ([Http://Onlinelibrary.Wiley.Com/Doi/10.1111/J.1442-9993.2012.02373.X/Pdf](http://Onlinelibrary.Wiley.Com/Doi/10.1111/J.1442-9993.2012.02373.X/Pdf))
- Michelizzi V.N., Dodson M.V., Pan Z., Amaral M.E.J., Michal J.J., Mclean D.J., Womack J.E., Jiang Z., Water Buffalo Genome Science Comes Of Age, *International Journal Of Biological Sciences*, 6(4), 333-349, (2010).
- Mishra B.P., Kataria R.S., Kathiravan P., Bulandi S.S., Singh K.P., Sadana D.K., Evaluation Of Genetic Variability And Mutation Drift Equilibrium Of Banni Buffalo Using Multi Locus Microsatellite Markers, *Tropical Animal Health And Production*, 41, 1203-1211, (2009).
- Miao, Y.W., Peng, M.S., Wu, G.S., Ouyang, Y.N., Yang, Z.Y., Yu, N., Liang, J.P., Pianchou, G., Beja-Pereira, A., Mitra, B., Palanichamy, M.G., Baig, M., Chaudhuri, T.K., Shen, Y.Y., Kong Q.P., Murphy, R.W., Yao Y.G. & Zhang Y.P.(2013). Chicken Domestication: an Updated Perspective Based on Mitochondrial Genomes. *Heredity*, 110: 277–282.
- Moore S.S., Evans D., Byrne K., Barker J.S., Tan S.G., Vankan D., Hetzel D.J.,A Set Of Polymorphic Dna Microsatellites Useful In SwampAnd River Buffalo (*Bubalus Bubalis*), *Animal Genetics*,26, 355-359, (1995).
- Nagarajan M., Kumar N., Nishanth G., Haribaskar R., Paranthaman K., Gupta J., Mishra M., Vaidhegi R., Kumar S., Ranjan A.K., Kumar S.,Microsatellite Markers Of Water



- Buffalo, *Bubalus Bubalis*: Development, Characterisation And Linkage Disequilibrium Studies, *Bmc Genetics*,10, 68, (2009).
- Naderi S, Rezaei H-R, Taberlet P, Zundel S, Rafat S-A, et al. (2007) *PLoS ONE* 2(10): e1012.
- Naderi, S., Rezaei, H.R., Pompanon, F., Blum, M.G., Negrini, R., Naghash, H.R., Balkiz, O., Mashkour, M., Gaggiotti, O.E., Ajmone-Marsan, P., Vigne, J.D. & Taberlet P. (2008). The Goat Domestication Process Inferred from Large-Scale Mitochondrial DNA Analysis of Wild and Domestic Individuals. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105: 17659-17664
- Özdamar, K. (2002). Paket Programlar İle İstatistiksel Veri Analizi. Cilt 1, 2.Baskı, Kaan Kitabevi, 475-477 Eskişehir.
- Page, R.D.M. (1996) Treeview: An Application To Display Phylogenetic Trees On PersonalComputers. *Comput Appl Biosci.*,**12**(4):357-8.
- Parma P., Erra-Pujada M., Feligini M., Greppi G., Enne G., Water Buffalo (*Bubalus Bubalis*): Complete Nucleotide Mitochondrial Genome Sequence, *Dna Sequence*, 15(5-6), 369-373, (2004).
- Posada, D., Crandall, K.A. (1998); MODELTEST: testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics*. 14(9):817-8
- Ramamoorthi J., Thilagam K., Sivaselvam S.N., Karthickeyan S.M.K., Genetic Characterization Of Barbari Goats Using Microsatellite Markers, *Journal Of VeterinaryScience*, 10(1), 73-76, (2009).
- Richter, C., 1988. Do mitochondrial DNA fragments promote cancer and aging? *FEBS lett* 241:1-5.
- Roder M.S., Korzun V., Wendekake K., Plaschke J., Tixier M.-H., Leroy P., Ganal M.W., A Microsatellite Map Of Wheat, *Genetics*,149, 2007–2023, (1998).
- Rokas, A., Ladoukakis, E., Zouros, E., 2003. Animal mitochondrial recombination revisited. *TRENDS in Ecology and Evolution*, 18(8):411-417.
- Rozas, J., Ferrer-Mata, A., Sánchez-DelBarrio, J.C., Guirao-Rico, S., Librado, P., Ramos-Onsins, S.E., Sánchez-Gracia, A. (2017). DnaSP 6: DNA Sequence Polymorphism Analysis of Large Datasets. *Mol. Biol. Evol.* **34**: 3299-3302. DOI: 10.1093/molbev/msx248
- Röder M.S., Plaschke J., König S.U., Börner A., Sorrells M.E., Tanksley S.D., Ganal M.W., Abundance, Variability And Chromosomal Location Of Microsatellites In Wheat, *Molecular And General Genetics*,246(3), 327-333, (1995).
- Saara F. (2000). Phylogenetic Analysis Of Mitochondrial Dna: Detection Of Mutations In Patients With An Occipital Stroke. *Oulun Yliopisto, Mart. Oulu Üniversitesi*.
- Sadava D.E. (1993) *Cell Biology Organelle Structure and Function*. Jones & Bartlett Learning

- Saif R., Babar M.E., Babar Awan A.R., Nadeem A., Hashmi A.S., Hussain T., Dna Fingerprinting Of Pakistani Buffalo Breeds (Nili-Ravi, Kundi) Using Microsatellite And Cytochrome B Gene Markers, *Molecular Biology Reports*, 39, 851–856, (2012).
- Saif R., Babar,M.E., Hussain,T., Wajid,A., Khan,W.A., Shah,S.A., Iqbal,F. And Sabar,M.F. Cytochrome B Gene Analysis Of Pakistani Water Buffalo (Nili-Ravi Breed). Unpublished.Submitted (26-Apr-2011) Institute Of Biochemistry And Biotechnology, University Of Veterinary And Animal Sciences-Lahore, Out Fall Road, Lahore, Punjab 54000, Pakistan.
- Sambrook, J., Foritsch, E.F., Maniatis, T., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Vol:2, Cold Spring Harbor Laboratory, New York, Abd.
- Sandhu J.S., Kumar S., (2002) Analysis Of Cytochrome B And D-Loop Variation İn Riverine Buffaloes. Unpublished Submitted (28-Jan-2002) Genome Research Group, Centre For Cellular And Molecular Biology, East Wing, Third Floor, Ccmb, Uppal Road, Hyderabad, Andhra Pradesh 500007, India
- Sarıözkan S.,Türkiye’deManda Yetiştiriciliği’nin Önemi, *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 17(1), 163-166, (2011).
- Soysal, M.İ., Kök, S., Gürcan, E.K. 2005. Mandalarda alyuvar potasyum polimorfizmi üzerine bir araştırma. *Tekirdağ Ziraat Fak Dergisi*, 2(2):189-193.
- Soysal, İ., 2006. Manda ve Ürünleri Üretimi. *Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootekni Bölümü, Ders Notları*. Tekirdağ.
- Soysal M.I.,Özkan E., Kok S., Occidente M., Tuna Y.T., Gurcan E.K., Matassino D., Genetic Characterization Of Indigenous Anatolian Water Buffalo Breeds Using Microsatellite Dna Markers, *Italian Journal Of Animal Science*, 6(2), 409-412, (2007).
- Soysal, M.İ., Gürcan, E.K., Özkan, E., Dünya’da Ve Türkiye’de Çiftlik Hayvanları Genetik Çeşitliliğinin Korunması Sorunu, *Gap III. Tarım Kongresi, Urfa*, (2003) Pp:615-623.
- Tagem, 2009. Türkiye Evcil Hayvan Genetik Kaynakları, Ankara.[Http://Www.Tagem.Gov.Tr/Yayin/Tagem\\_Ehgk\\_Katalog.Pdf](http://www.Tagem.Gov.Tr/Yayin/Tagem_Ehgk_Katalog.Pdf)
- Tamura, K., Ve Nei, M., 1993. Estimation Of The Number Of Nucleotide Substitutions İn The Control Region Of Mitochondrial Dna İn Humans And Chimpanzees. *Molecular Biology And Evolution*, 10:512-526.
- Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Stecher, G., Nei, M., Ve Kumar, S., 2011. Mega5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. *Molecular Biology And Evolution*, 28: 2731-2739.
- Tanaka K., Solis C.D., Masangkay J.S., Maeda K., Kawamoto Y., Namikawa T., Phylogenetic Relationship Among All Living Species Of The Genus *Bubalus* Based On Dna

- Sequences Of The Cytochrome B Gene, *Biochemical Genetics*, 34(11-12), 443-452, (1996).
- Taramino G., Tingey S., Simple Sequence Repeats For Germplasm Analysis And Mapping in Maize, *Genome*,39, 277-287, (1996).
- Toro M.A., Fernández J., Caballero A., Molecular Characterization Of Breeds And Its Use In Conservation,*Livestock Science*,120, 174–195, (2009).
- Thompson J.D., Higgins D.G. and Gibson J.J. (1994) CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucl. Acids Res.*, 11, 4673-4680.
- Tungsudjai, S., Sariya, L., Boonyarittichai, R., Phonarkneng, R., Sirimujarin, R., Sungpradit, S., Bhuddirongawatr, R., Pattanarangsarn, R., Chaichoun, K., Rattanakorn, P., Using Sequencing And PCR-RFLP Analysis Of Cytochrome B Gene For Identify Species Of Wild Cervidae And Bovidae In Thailand. Unpublished. Submitted (16-DEC-2008) The Monitoring And Surveillance Center For Zoonotic Diseases In Wildlife And Exotic Animal, Faculty Of Veterinary Science, Mahidol University, 999 Phuttamonthon 4 Rd., Salaya, Phuttamonthon, Nakhon Pathom 73170, Thailand (2008)
- Uçar, M., Gündoğan, M., Yılmaz O. (2005) Mandalarda Mevsimsel Üreme Özellikleri Ve Folliküler Dinamikler. *Hayvancılık Araştırma Dergisi* (2005) 15, 2: 24–29
- Van Hooft W.F., Hanotte O., Wenink P.W., Groen A.F., Sugimoto Y., Prins H.H., Teale A., Applicability Of Bovine Microsatellite Markers For Population Genetic Studies On African Buffalo (*Syncerus Caffer*), *Animal Genetics*, 30, 214-220, (1999).
- Venables W. N., Smith D. M. And The R Development Core Team, 1999-2012 R: A Programming Environment For Data Analysis And Graphics Version 2.15.0 (2012-03-30). ISBN 3-900051-12-7
- Vijh R.K., Tantiya M.S., Mishra B., Bharani Kumar S.T., Genetic Relationship And Diversity Analysis Of Indian Water Buffalo (*Bubalus bubalis*), *Journal of Animal Science*, 86, 1495-1502, (2008).
- Yang D.Y., Liu L., Chen X., Speller C.F., Wild Or Domesticated: DNA Analysis Of Ancient Water Buffalo Remains From North China, *Journal Of Archaeological Science*, 35, 2778–85, (2008).
- Yue, X.P., Li, R., Xie, W.M., Xu, P., Chang, T.C., Liu, L., Cheng, F., Zhang, R.F., Lan, X.Y., Lei, C.Z., Phylogeography and Domestication of Chinese Swamp Buffalo, *PLoS ONE* 8(2), e56552, (2013).
- Yüncü, E. (2009) Mitochondrial DNA (mtDNA) Haplogroup Composition in Turkish Sheep Breeds. A Thesis Submitted To The Graduate School Of Natural and Applied Sciences Of Middle East Technical University. 2009 Ankara

Zhang Y., Vankan D., Zhang Y., Barker J.S.F., 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, 366–377, (2011).

Zhang,Y., Sun,D.-X., Yu,Y. and Zhang,Y.(2007). Molecular phylogenetics of mitochondrial control region in Chinese buffalo: implication for origins of domestic buffalo(*Bubalus bubalis*). Unpublished. Submitted (08-MAY-2007) Department of Animal Genetics and Breeding, College of Animal Science and Technology, China Agricultural University, No. 2 Yuanmingyuan Xi Lu, Haidian, Beijing 100094, P. R. China

## **ÖZGEÇMİŞ**

Şeref M. TOPALOĞLU 1994 İstanbul, Kadıköy’de doğdu. İlkokul ve Ortaokul eğitimini İstanbul’un Üsküdar ilçesinde, Lise eğitimini ise Kadıköy ilçesinde tamamladı. 2012 yılında Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootekni Bölümü’ne girdi, 2016 yılında mezun oldu. Aynı sene Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Zootekni Anabilim Dalı’nda yüksek lisans eğitimine başladı.