

T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS PROGRAMI
2022-YL-055

AYDIN'DA YETİŞTİRİLEN ANADOLU MANDASI
POPÜLASYONLARINDA GENETİK ÇEŞİTLİLİĞİN
BELİRLENMESİ

Mehmet ÖZCOŞAR

Danışman

Dr. Öğr. Üyesi Ferhat KİREMİT

AYDIN-2022

KABUL VE ONAY

T.C. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tarımsal Biyoteknoloji Yüksek Lisans Programı öğrencisi Mehmet ÖZCOŞAR tarafından hazırlanan “AYDIN’DA YETİŞTİRİLEN ANADOLU MANDASI POPÜLASYONLARINDA GENETİK ÇEŞİTLİLİĞİN BELİRLENMESİ” başlıklı tez, aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 26/07/2022

Üye : Dr. Öğr. Üy. Ferhat KİREMİT Aydın Adnan Menderes
(T.D.) Üniversitesi

Üye : Prof. Dr. Eyyüp Mennan YILDIRIM Aydın Adnan Menderes
Üniversitesi

Üye : Doç. Dr. Hüseyin UYSAL Akdeniz Üniversitesi

ONAY:

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun görülmüş ve Fen Bilimleri Enstitüsünün tarih ve sayılı oturumunda alınan numaralı Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Gönül AYDIN

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

AYDIN'DA YETİŞTİRİLEN ANADOLU MANDASI POPÜLASYONLARINDA GENETİK ÇEŞİTLİLİĞİN BELİRLENMESİ adlı Yüksek Lisans çalışmam boyunca her türlü destek ve katkılarından dolayı danışman hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi Ferhat KİREMİT'e, saygılarımı sunar ve yürekten teşekkür ederim.

Çiftliklerini bana açan ve materyal toplama aşamasında destek olan çiftlik sahiplerine teşekkür ederim.

Tezle ilgili materyal toplama kısmında yanımda olan lisans ve yüksek lisans öğrencisi arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Varlıkları ile hayatım boyunca bana güç veren her daim desteklerini hissettiğim aileme en derin sevgi ve şükranlarım ile teşekkür ederim.

Mehmet ÖZCOŞAR

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY.....	i
TEŞEKKÜR	ii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
RESİMLER DİZİNİ	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	x
ÖZET	xi
ABSTRACT	xii
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Mandaların Gruplandırılması.....	2
1.1.1. Afrika Yabani Mandası	3
1.1.2. Asya Mandası	3
1.1.2.1. Yabani Manda.....	3
1.1.2.2. Evcil Mandalar.....	4
1.2. Mandaların Bilimsel Sınıflandırılması	6
1.3. Mandaların Önemli Verim Özellikleri.....	7
1.3.1. Manda Sütü ve Süt Ürünleri	7
1.3.2. Manda Eti ve Et Ürünleri.....	8
1.4. Mandaların Fizyolojik ve Biyolojik Özellikleri	9
1.5. Dünyada ve Türkiye’de Manda Varlığı.....	10
1.5.1. Dünyada Manda Varlığı	10
1.5.2. Türkiye’de Manda Varlığı	11
1.5.2.1. Aydın İli Manda Varlığı	12
1.6. Marker Sistemleri ve Genetik Karakterizasyon Çalışmalarında Kullanım Alanları	13
1.6.1. Morfolojik Markerler.....	14
1.6.2. Protein Markerleri.....	14
1.6.3. DNA Temelli Markerler	14

1.6.3.1. Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi	15
1.6.3.2. Tek Zincir Konformasyon Polimorfizmleri	15
1.6.3.3. Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA	15
1.6.3.4. Çoğaltılmış Parça Uzunluk Polimorfizmi	16
1.6.3.5. Tek Nükleotid Polimorfizmleri	16
1.6.3.6. Mikrosatellitler	16
1.7. Genetik Çeşitlilik ve Genetik Karakterizasyon	17
1.8. Mikrosatellit Markerlerin Uygulama Alanları	19
1.8.1. Ebeveyn Tayini	19
1.8.2. Genetik Uzaklığın Tahmini	19
1.8.3. Genom Haritalarının Oluşturulması	19
1.8.4. Kantitatif Karakter Lokuslarının Belirlenmesi	20
2. KAYNAK ÖZETLERİ	23
3. MATERYAL VE YÖNTEM	29
3.1. Materyal	29
3.1.1. Hayvan Materyali	29
3.1.2. Kullanılan Cihaz ve Aletler	29
3.1.2.1. Mikro Pipetler	29
3.1.2.2. Yatay Elektroforez Sistemi	30
3.1.2.3. PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) Cihazı	30
3.1.2.4. Görüntüleme Cihazı	30
3.2. Yöntem	31
3.2.1. Genetik Analizler	31
3.2.1.1. Saliva ve Kıl Örneklerinin Toplanması	31
3.2.1.2. Salivadan DNA İzolasyonu	31
3.2.1.3. Agaroz Jel Elektroforez	32
3.2.1.4. Polimeraz Zincir Reaksiyonu	32
3.2.1.5. Kullanılan Mikrosatellit Lokuslarına İlişkin Bilgiler	33

3.2.1.6. PZR Ürünlerinin Agaroz Jelde Yürütülmesi	33
3.2.2. Mikrosatellit Analizi ve İstatistiksel Hesaplamalar	34
3.2.2.1. Mikrosatellit Analizi	34
3.2.2.2. İstatistiksel Analizler	34
3.2.3. Genetik Varyasyon Ölçütleri	34
3.2.3.1. Allel ve Allel Frekanslarının Hesaplanması	34
3.2.3.2. Heterozigot Değerlerinin Hesaplanması	35
3.2.3.3. F İstatistikleri	35
3.2.3.4. Irklar Arası Genetik Uzaklıklar Testi	38
4. BULGULAR.....	39
4.1. Allellik Varyasyon.....	39
4.2. Heterozigotluk Ölçümleri	40
4.3. Mikrosatellit Bölgelerinin Popülasyonlarda Görülme Sıklığı ve Allel Uzunlukları.....	41
4.4. F İstatistikleri	42
4.5. Irklar Arası Genetik Uzaklıklar	42
4.5.1. Nei Standart Genetik Uzaklık Metodu	42
4.5.2. DA Genetik Uzaklık Metodu.....	43
5. TARTIŞMA.....	44
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	50
KAYNAKLAR	51
EKLER	64
BİLİMSEL ETİK BEYANI.....	65
ÖZ GEÇMİŞ.....	66

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

- AFLP** : Çoğaltılabilen Parça Uzunluğu Polimorfizmi (Amplified fragment length polymorphism)
- bp** : Baz Çifti (bç)
- C⁰** : Santigrad Derece
- DA** : DA Genetik Uzaklık Metodu
- dH₂O** : Distile Su
- DNA** : Deoksiribonükleikasit
- DS** : Nei Standart Genetik Uzaklık Metodu
- EDTA** : Etilendiamintetraasetik Asit
- FAO** : Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü
- FIS** : Saf Yetiştirme Katsayısı
- FIT** : Popülasyonun Akrabalı Yetiştirme Katsayısı Ve Hardy-Weinberg Dengesinden Sapmanın Ölçüsüdür.
- FST** : Alt Popülasyonlar Arasındaki Genetik Farklılığın Ölçüsü Olarak İfade Edilir.
- HE** : Beklenen Heterozigotluk
- HO** : Gözlenen Heterozigotluk
- MgCl₂** : Magnezyum Klorür
- ml** : Mililitre
- MoDAD**: Evcil Hayvan Çeşitliliği Ölçümü Programı
- PZR** : Polimeraz Zincir Reaksiyonu
- RAPD** : Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA Tekniği (Random Amplified DNA Polymorphism)
- RFLP** : Restriksiyon Enzimleri Uzunluk Polimorfizm Tekniği (Restriction Fragment Length Polymorphism)
- SNPs** : Tek Nükleotid Polimorfizm Tekniği (Single Nucleotide Polymorphism)

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

STS : Dizisi Etiketlenmiş Alanlar Tekniği (Sequence Tagged Sites)

TBE : Tris-Borik asit-EDTA

TÜİK : Türkiye İstatistik Kurumu

V : Volt

µl : Mikrolitre



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Manda ırklarına ait genel gruplandırma	3
Şekil 1.2. Kıtalara göre manda varlığı	10
Şekil 1.3. Mikrosatellit DNA'ya ait görsel.....	17
Şekil 1.4. Aynı lokusta farklı tekrar sayılarına sahip mikrosatellit allellerinin jel görünüm	20



RESİMLER DİZİNİ

Resim 1.1. Akdeniz mandası.....	4
Resim 1.2. Anadolu mandası	5
Resim 3.1. Mikro pipetler	29
Resim 3.2. Yatay elektroforez sistemi	30
Resim 3.3. Longgene A300 fast thermal cycler PCR cihazı.....	30
Resim 3.4. Maestrogen SMU-01 slider UV imager	30
Resim 3.5. Toplanan saliv örnekleri.....	31
Resim 3.6. QIAGEN DNeasy Blood Tissue Kit	31
Resim 3.7. Hassas terazi ve agarose.....	32

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Mandanın bilimsel sınıflandırılması.....	6
Çizelge 1.2. Manda ve diğer hayvan türlerinin süt içeriği yönünden karşılaştırılması	7
Çizelge 1.3. Manda sütünden elde edilen peynir ve tereyağı	7
Çizelge 1.4. 2020 yılı dünya manda sütü üretimi	8
Çizelge 1.5. Manda ve sığır etinin bileşenleri	8
Çizelge 1.6. 2020 yıllarında dünyada manda eti üretimi	9
Çizelge 1.7. Dünyada 1961-2020 yılları arasında manda sayısı	10
Çizelge 1.8. 1961-2021 yılı Türkiye’de manda varlığı değişimi.....	11
Çizelge 1.9. 2021 yılı Türkiye’de bölgelere göre manda varlığı.....	11
Çizelge 1.10. 2021 yılı Türkiye’de manda varlığı en yüksek olan 10 il	12
Çizelge 1.11. 2021 yılı Aydın ilçelere göre manda dağılımı.....	12
Çizelge 3.1. Lokalite bilgileri	29
Çizelge 3.2. Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) protokolü	32
Çizelge 3.3. Mikrosatellit belirteçlerin bilgileri	33
Çizelge 4.1. Çalışılan popülasyonlar ve lokuslar bazında gözlenen allel sayıları.....	39
Çizelge 4.2. Çalışmada gözlenen (HO) ve beklenen (HE) heterozigotluk değerlerinin her bir mikrosatellit lokusu için popülasyonlara dağılımı, lokuslar ve popülasyonlar bazında hesaplanan ortalama gözlenen heterozigotluk düzeyleri	40
Çizelge 4.3. Çalışılan popülasyonların F_{IS} değerlerine dağılımı	42
Çizelge 4.4. Popülasyonların ikili karşılaştırılması sonucunda hesaplanan F_{ST} değerleri önemlilik düzeyleri.....	42
Çizelge 4.5. Popülasyonların ikili karşılaştırılması sonucunda hesaplanan standart genetik uzaklık değerleri	43
Çizelge 4.6. Popülasyonların ikili karşılaştırılması sonucunda hesaplanan DA genetik uzaklık değerleri	43

ÖZET

AYDIN'DA YETİŞTİRİLEN ANADOLU MANDASI POPÜLASYONLARINDA GENETİK ÇEŞİTLİLİĞİN BELİRLENMESİ

Özcoşar M. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarımsal Biyoteknoloji Programı Yüksek Lisans Tezi, Aydın, 2022.

Amaç: Bu çalışma Aydın ilindeki Anadolu Mandası popülasyonlarının genetik çeşitliliğinin belirlenmesi amacı ile yapılmıştır. Çalışma Aydın ilindeki Anadolu mandası popülasyonlarında genetik anlamda yapılan ilk çalışma özelliği taşımaktadır.

Materyal ve Yöntem: Çalışmada Aydın ili, Bozdoğan Ziyaretli, Efeler Çiftlikköy ve Söke Serçin bölgelerinde yetiştiriciliği yapılan Anadolu Mandası popülasyonlarından saliva ve yedek olarak kıl örnekleri toplanmış, laboratuvarında DNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir. FAO/ISAG tarafından manda için belirlenen primerlerden 6 tanesi (CSSM033, ILSTS033, CSRM060, CSSM045, CSSM057, CSSM057, ILSTS030) ile çalışılmış ve mirosatellit analiz yapılmıştır.

Bulgular: Analizler sonucunda toplam 41 allel gözlemlenmiştir. Lokuslardaki allel sayısı 4 (ILSTS033) ile 11 (CSSM045) arasında değişmiştir. Gözlenen ve beklenen heterozigotluk değerinin sırayla (0,560 ile 0,629) ve (0,568 ile 0,651) değerleri arasında değiştiği gözlemlenmiştir. Çalışmadaki ırkların F_{IS} değerleri 0,0654 ile 0,0983 arasında bulunmuştur. Üç farklı manda popülasyonunda görülen F_{ST} değerleri 0,0123 ile 0,0321 arasında bulunmuştur. Nei Standart Genetik Uzaklık Metoduna göre ırklar içerisinde en yüksek genetik uzaklık değerinin Söke-Efeler popülasyonlarında (%0,3), en düşük genetik uzaklık değerinin ise Bozdoğan-Söke popülasyonlarında (%0,12) olduğu gözlemlenmiştir. DA Genetik Uzaklık Metoduna göre en yüksek genetik uzaklık değerinin, Söke-Efeler popülasyonunda (%0,42), en düşük genetik uzaklık değerinin ise Söke-Bozdoğan popülasyonunda (%0,16) olduğu gözlemlenmiştir.

Sonuç: Çalışmada, mandaların genetik yapısını tespit etmek için mikrosatellit lokuslarının kullanılabileceği kanısına varılmıştır. Elde edilen sonuçlar ülkemizde daha önce yapılan çalışmalarla benzerlik göstermiştir. İleride yapılacak çalışmalar için kaynak olması düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler: Manda, *Bubalus bubalis*, Mikrosatellit, Genetik çeşitlilik

ABSTRACT

DETERMINATION OF GENETIC DIVERSITY IN ANATOLIAN BUFFALO POPULATIONS GROWN IN AYDIN

Özcoşar M. Aydın Adnan Menderes University, Graduate School of Natural and Applied Sciences, Agricultural Biotechnology, Master Thesis, Aydın, 2022

Objective: This study was carried out to determine the genetic diversity of Anatolian Buffalo populations in Aydın province. This study is the first genetic study in Anatolian water buffalo populations in Aydın province.

Material and Methods: In the study, saliva and spare hair samples were collected from Anatolian Buffalo populations bred in Aydın province, Bozdoğan Ziyaretli, Efeler Çiftlikköy and Söke Serçin regions, and DNA isolation was carried out in the laboratory. Six of the primers (CSSM033, ILSTS033, CSRM060, CSSM045, CSSM057, CSSM057, ILSTS030) for buffalo were studied by FAO/ISAG and mirosatellite analysis was performed.

Results: Analyzes revealed a total of 41 alleles. The number of alleles at loci ranged from 4 (ILSTS033) to 11 (CSSM045). It was observed that the observed and expected heterozygosity values varied between (0,560 and 0,629) and (0,568 and 0,651), respectively. The FIS values of the breeds in the study were found to be between 0,0654 and 0,0983. The FST values were between 0,0123 and 0,0321 in three different buffalo population. According to the Nei's Standard Genetic Method, populations Söke-Efeler the populations with the highest genetic distance value (0,3%) within the race. The lowest genetic distance value (0,12%) among the populations was observed in Bozdoğan-Söke populations. According to the DA Genetic Distance Method, the highest genetic distance value was observed in Söke-Efeler population (0,42%) and the lowest genetic distance value was observed in Söke-Bozdoğan population (0,16%).

Conclusion: In the study, it was concluded that microsatellite loci can be used to make genetic comparisons of buffaloes. The results obtained are similar to previous studies. It can be a resource for future work.

Keywords: Buffalo, *Bubalus bubalis*, Microsatellite, Genetic diversity

1. GİRİŞ

Mandalar dünyada birçok özelliğiyle ülkeler için ekonomik değere sahip canlılardır. Manda, kavram karmaşası yaşanan türdür. Özellikle buffalo/bufalo terimi bu kavram karmaşasının temelini oluşturmaktadır. Amerikan Buffalo (Amerikan bizonu) ve Afrika Buffalo türlerinden ayrılmaları için, su ile olan yakınlıkları nedeniyle (Water Buffalo) ismi verilmiştir (Soysal, 2009). Mandalar, ülkemiz ve birçok yabancı ülkede çiftlik hayvanlarına göre daha az değer görmese de diğer hayvanlardan üstün özellikleri ve verimleriyle önem verilmesi gereken bir hayvandır. Yemleme konusundaki tutumu özellikleri arasında ilk sırada gelmektedir. Doğadaki olumsuz şartlara dayanıklılığı ve hastalıklara karşı direnci, yemden en üst düzeylerde yararlanması, yetiştiriciliğinde kalitesiz yemleri bile et ve süte dönüştürebilmesi ve yetiştirme maliyetlerinin sığırlara göre daha düşük olması nedeniyle önemli bir yere sahiptir (Atasever ve Erdem, 2008). Mera hayvancılığı için de uygun yapıya sahip olması, mandayı özellikle küçük tarım işletmeleri açısından hem süt hem de iş hayvanı olarak cazip kılmaktadır (Maymone, 1942). Manda genellikle nemli, çamurlu ve bataklık bölgelerin hayvanı olup, çok sıcak ve çok soğuk koşullara ayak uyduramamaktadır. Dünyanın yerli mandalarının çoğu (%97) Asya kıtasında bulunur. Ülkemizde manda yetiştiriciliğinin en fazla olduğu bölge Karadeniz Bölgesi'dir (Türkiye İstatistik Kurumu [TÜİK], 2021). Bugün dünyada 820 milyonun üzerinde insanın beslenme yetersizliğiyle karşı karşıya olduğu araştırmalar sonucunda bilinmektedir. Bu sayı Türkiye nüfusunun neredeyse 9,8 katıdır (Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü [FAO], 2020). Her yıl tarımsal ürünlerin üretiminde bir azalma meydana gelirken, insan nüfusunda ise hızla bir artış devam etmektedir. Bununla birlikte gıda ihtiyacının karşılanmasında ucuz, kolay sahip olunabilen, çevreye zarar vermeyen; organik ürünlere olan talepte de bir artış söz konusudur (Demiryürek, 2004).

Dünyada ise İtalya'da tamamıyla beyaz olan peyniri mozzarella adıyla büyük ün kazanmıştır. Ülkemizde bölgeden bölgeye değişen üretim kimi bölgelerde kaymak, kimi bölgelerde ise peynir olarak ön plandadır. Ancak tüketici bilinçsizliği nedeniyle henüz popülerize edilememiştir (Uslu, 1970). Mandalar dünyanın birçok ülkesinde elverişli bir iş hayvanı olarak kullanılır. Bir çift mandadaki çeki gücünün üç adet kuvvetli sığırın gücüne eşit olduğu bildirilmektedir (Yarkın, 1952).

Türkiye'de mandaların hak ettiği değeri tekrar görmesi için öncelikle korunmaları, melezleme ya da seleksiyona tabi tutularak ıslah edilmeleri bu yollarla verimlerinin de arttırılması gerekmektedir.

Moleküler çalışmalar (mikrosatellit, mtDNA) hem ırkların evrimleşme sürecini ortaya çıkararak hem de genetik içerik açısından popülasyonlar hakkında bilgi vererek yerli ırkların korunması sürecinde genetik yapının incelenmesine katkıda bulunacaktır.

Böylece hangi popülasyonların birbirine benzediği, hangilerinde gen alışverişine müsaade edilebileceği, hangilerinin farklı, özgün ve olası lokal adaptasyon özelliklerine sahip olup olmadığı hakkında bir ön bilgi elde edilecektir.

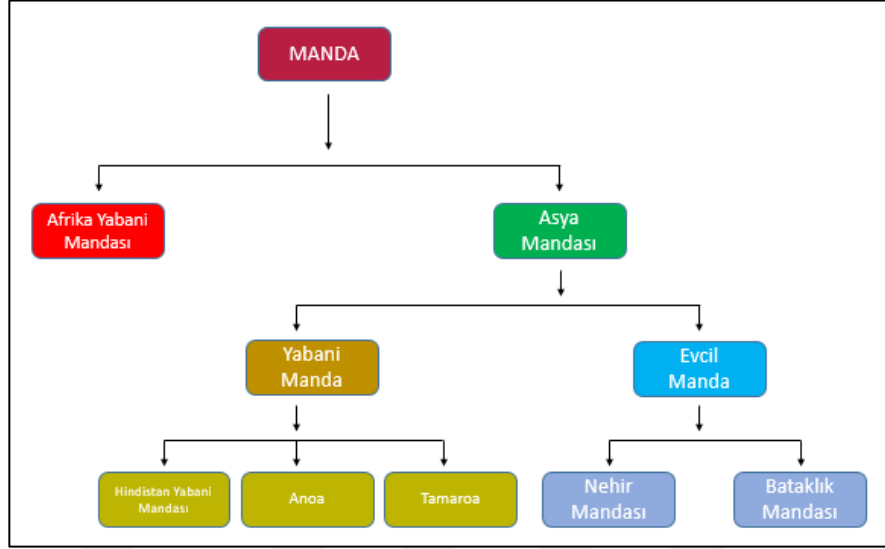
Manda popülasyonlarının genetik karakterizasyonunun bilinmesi, ırka özgü özelliklerin korunabilmeleri ve iyi bir ıslah çalışması için gereklidir. (Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü [FAO], 2011) tarafından önerilen MoDAD Projesi'nde, genetik çeşitlilik ve çiftlik hayvan popülasyonları arasındaki ilişkilerin analizi için mikrosatellitler önerilmektedir (Hoffmann vd., 2004).

Mikrosatellitler genom içerisinde farklı formlardaki nükleotid permutasyonların herhangi biri şeklinde tandem olarak tekrarlanan kısa DNA sekanslarıdır (Ellegren, 1995). Kısa diziler olmalarının avantajı klonlama, dizi analizi ve PCR işlemleri minisatellitlere göre daha kolay yapmalarıdır. Günümüzde pek çok tür için çok sayıda mikrosatellit primeri vardır. Mikrosatellit parça uzunluk analizleri floresan etiketli primerler kullanılarak otomatik DNA dizi analizi cihazı aracılığıyla çok kolay ve etkili olarak yapılabilmektedir. Mikrosatellitlerin en önemli bir özellikleri polimorf olmalarıdır. Mikrosatellitler temelde tüm popülasyonlar için aynı özelliklere sahip olsalar da bireyden bireye değişen farklılıkları da vardır (Hearne, 1992).

1.1. Mandaların Gruplandırılması

Mandalar, genel yapı itibarıyla Afrika yabani mandası ve Asya mandası olarak sınıflandırılırlar. Mandaların evcil ve yabani olmak üzere 70'den fazla farklı türü vardır. “Nehir (Irmak) Mandası” ve “Bataklık Mandası” olarak 2 sınıfa ayrılır. Hindistan'a özgü nehir mandası, et ve süt için yetiştirilen üretken karışık ırklardır. Çin ve Güneydoğu Asya'da Carabao olarak bilinen bataklık mandası süt üretimine adapte olmayıp hem çiftçilik hem de et üretimi için kullanılmaktadır (Küçükkebabçı ve Şahin, 2002). Türkiye'deki manda, nehir mandasının bir alt grubu olan Akdeniz mandasının soyundan gelmekte ve Anadolu mandası

olarak adlandırılmaktadır (Soysal vd., 2005). Mandaların gruplandırılması Şekil 1.1.'de ki gibidir (Ligda, 1998).



Şekil 1.1. Manda ırklarına ait genel gruplandırma (Ligda, 1998)

Mandaların gruplandırılması aşağıdaki gibidir (Metry, 1996):

1.1.1. Afrika Yabani Mandası (*Syncerus*)

Afrika yabani mandası 3 alt gruba ayrılmaktadır. Bunlar;

Cape Mandası (*Syncerus caffer caffer*), Savan mandası (*Syncerus caffer equinoctialis*) ve Kongo mandası (*Syncerus caffer nanus*)'dır.

1.1.2. Asya Mandası (*Bubalus*)

Asya mandası ise yabani manda ve evcil manda olmak üzere iki gruba ayrılır.

1.1.2.1. Yabani Manda

Yabani manda 3 alt gruba ayrılmaktadır. Bunlar;

Arni (Hint) mandası (*Bubalus arnee*), Anoa mandası (*Bubalus depressicornis*) ve Tamarao mandası (*Bubalus mindorensis*)'dır.

1.1.2.2. Evcil Mandalar

Genellikle “water buffalo” olarak isimlendirilen evcil mandalar, Bataklık (Swamp) mandaları ve Nehir (River) mandaları olmak üzere 2 alt grupta incelenir. Nehir mandalarından bazıları şunlardır;

Nilli-Ravi, Murrah, Kundi, Surti, Jafarabadi, Mehsana, Toda ve Akdeniz Mandası'dır

Akdeniz Mandası

Akdeniz mandası dünyada Türkiye, Azerbaycan, Irak, İran, Afganistan, Mısır, Brezilya, Bulgaristan, Romanya, Macaristan, Arnavutluk ve İtalya'da yetiştirilmektedir. Yetiştirildikleri ülkenin iklimine ve beslenme olanaklarına göre vücut yapıları, verimleri ve vücut ölçüleri farklılık göstermektedir (Şekerden, 2001). Kökeni nehir mandalarından gelen Akdeniz mandaları genelde diğer bataklık mandaları ve Asya mandalarına göre daha kısa boynuzludur ve Pakistan mandaları adlarını Hindistan'daki yetiştirildikleri bölgeden alır. Asya mandaları evcilleştirilip bu bölgelere getirilmişlerdir. Arap toplulukları ile 7. yüzyılda Ürdün ve Mısır'a getirilen bu manda ırkı Müslümanlar tarafından Avrupa'ya kadar gelmiştir. Mezopotamya olarak adlandırılan coğrafya çok daha önceleri evciltme merkezi olarak bilinmektedir. 6. yüzyılda Avar Hanı'nın, İtalyan Lombard Kralı Agiluf'a, hediye olarak manda gönderdiği bilinmektedir. Olasılıklardan biri 13. yüzyılda Haçlı seferleri sırasında Avrupa'ya çok sayıda mandanın götürüldüğüdür. Resim 1.1'de Akdeniz mandasına ait görsel yer almaktadır.



Resim 1.1. Akdeniz mandası (Çiftlikköy/Aydın)

Anadolu Mandası

Yüzyıllardır Anadolu'da var olan Anadolu mandası Türkiye ile özdeşleşmiş bir Akdeniz ırkıdır. Dünyada ki diğer manda ırklarına göre kalın ve bodur bir vücut yapısına sahip küçük cüsseli zayıf ve ince yapılıdır. Anadolu mandasının meme, tırnak ve boynuzları siyahtır. Derisi uzun kıllarla örtülüdür ve belirgin bir işareti yoktur. Süt emme zamanında malakların kılları siyah ve gözle görülür parlaklığa sahip, süttten kesildikten sonra 1-1.5 yaşlarına kadar kızılımtırak bir renk alır. Genel yapı itibariyle çenelerinin alt tarafında sakalları mevcuttur (Şekerden, 2001).

Ülkemizde Mandalar farklı yerlere göre farklı isimlerle anılırlar:

Balıkesir yöresinde "Dombey", İç Anadolu'da "Kömüş" olarak ifade edilir. Afyon-Balıkesir'de yavru manda doğumundan iki yaşlarına kadar "Malak" olarak adlandırılır. Samsun çevresinde bir yaşına kadar "Balak", bir iki yaşına gelinceye kadar "Yaşar" olarak isimlendirilir. Bugün süt ve et üretiminde sığra göre daha ekonomiktir. Yüzyıllar boyunca bu hayvanlar, yerli ırklarla birlikte buldukları bölgelerde yaşamışlardır. Akdeniz mandasından, doğal seleksiyon yoluyla Anadolu mandası adı verilen yerel bir tür ortaya çıkmıştır (Kök, 1996). Resim 1.2'de Anadolu mandasına ait görsel yer almaktadır.



Resim 1.2. Anadolu mandası (Çiftlikköy/Aydın)

1.2. Mandaların Bilimsel Sınıflandırılması

Mandanın bilimsel sınıflandırmadaki yeri aşağıda belirtildiği gibidir (Küçükkebağcı ve Şahin, 2002):

Çizelge 1.1. Mandanın bilimsel sınıflandırılması

ALEM	Hayvanlar (<i>Animales</i>)
ŞUBE	İskeletliler (<i>Chordata</i>)
ALT ŞUBE	Omurgalılar (<i>Vertebrata</i>)
SINIF	Memeliler (<i>Mamalia</i>)
ALT SINIF	Tırnaklılar (<i>Ungulata</i>)
TAKIM	Çift Tırnaklılar (<i>Artiodactyla/Poridigitata</i>)
ALT TAKIM	Geviş Getirenler (<i>Ruminantia</i>)
AİLE	Boş Boynuzlular (<i>Bovidae</i>)
ALT AİLE	Sığır Benzerleri (<i>Bovinae</i>)
KABİLE	<i>Bovini</i>
GRUP	Sığır (<i>Bovina</i>), Asya Mandası (<i>Bubalina</i>), Afrika Mandası (<i>Syncerina</i>)
CİNS	<i>Bubalus</i> ve <i>syncerus</i>
TÜR	<i>Bubalus arnee</i> <i>Bubalus bubalis</i> <i>Bubalus mindorensis</i>

Sığırların (bovines) karakteristik yapısını bir çift kalıcı ve içi boş boynuzları belirler. Boynuzlar sığırın derisinden yukarı doğru büyüyen ve kafasındaki kemikten yükselen bir yapıdır. Boynuzlar hayvanın doğumuyla ortaya çıkar ve hayvan yaşı ilerleyinceye kadar büyümeye devam eder. Bovidae türünün üçte ikisinde hem dişi hem de erkek hayvanlar boynuzludur. Fakat erkek mandalarda boynuz daha yaygındır ve kendilerini savunmak için kullanılır. Araştırmalar sonucunda diş yapılarına bakılarak atalarının ot yiyiciler olduğu, ruminantların ise ağız yapısı nedeniyle bunlardan türediği gözlemlenmiştir.

Mandaların sığırlardan genetik olarak ayrımı kromozom sayılarıdır.

Sığırda $2n = 60$ olan kromozom sayısı,

Nehir mandalarında $2n=50$,

Bataklık mandalarında ise $2n=48$ 'dir.

1.3. Mandaların Önemli Verim Özellikleri

1.3.1. Manda Sütü ve Süt Ürünleri

Dünyanın bazı ülkelerinde tüketiciler manda sütü tüketmekte ve sığır sütünden daha fazla manda sütüne para ödemektedir (Ligda, 1998). Manda sütü tercihinin, hayvansal üretimde yaygın olarak kullanılan sentetik, kimyasal ve hormon benzeri maddeler kullanılmadan elde edilen süt ve süt ürünlerini güvenli ve risksiz tüketme isteği olduğuna inanılmaktadır. Manda sütü yapısal olarak inek sütünden daha az su, daha fazla kuru madde, mineral, yağ ve protein içerir. Manda ve diğer hayvan türlerinin süt içeriği yönünden karşılaştırılması çizelge 1.2.'de verilmiştir (Oysun, 1987; Demirci vd. 1991).

Çizelge 1.2. Manda ve diğer hayvan türlerinin süt içeriği yönünden karşılaştırılması (%)

Tür	Su	Kuru madde	Protein	Yağ	Laktoz	Mineral madde
Manda	82,0	17,7	4,15	7,85	4,8	0,77
İnek	87,5	12,4	3,4	3,65	4,65	0,75
Koyun	82,9	17,2	5,4	6,25	4,55	0,88
Keçi	87,1	13,0	3,7	4,1	4,45	0,80

Manda sütünün ayrıcalık özellikleri olarak yüksek kuru maddenin yanında yüksek yağ ve kalori içermesi ön plandadır (Soysal, 2006). Manda sütü de inek sütü gibi birçok ürüne işlenmektedir (dondurma, yoğurt, kaymak, sert ve yumuşak peynir, tereyağı). Çizelge 1.3'de dünyada manda sütünden elde edilen peynir ve tereyağı verileri gösterilmektedir (FAO, 2020).

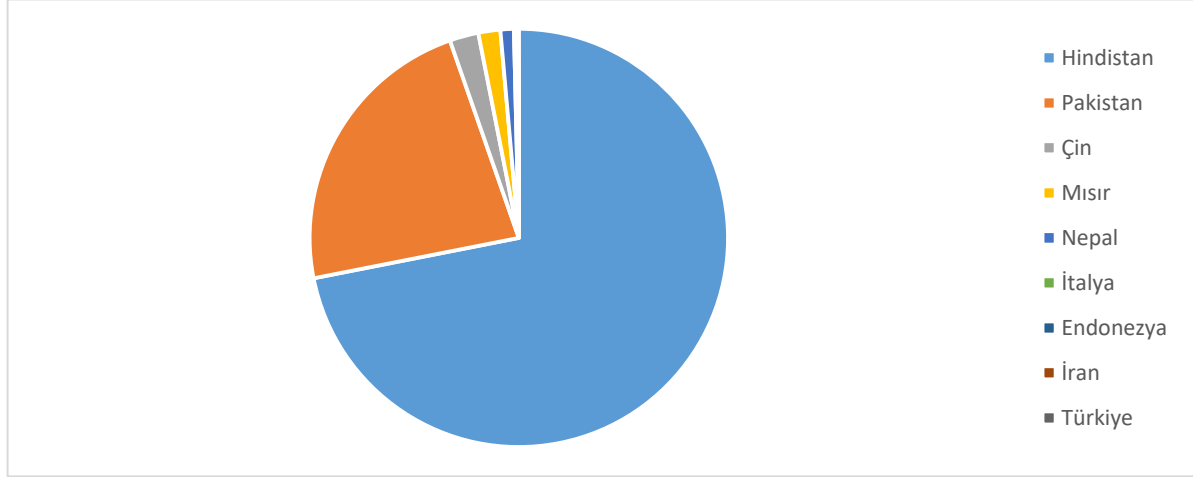
Çizelge 1.3. Manda sütünden elde edilen peynir ve tereyağı (ton)

Ürün	2015	2016	2017	2018	2019
Peynir	280,142	274,505	276,584	245,955	235,822
Tereyağı	1,556,545	1,567,552	1,620,785	1,662,560	1,694,899

Manda sütünden üretilen peynirine olan talebin ana nedeni dünyanın pek çok ülkesinde organik ürün olmasıdır (Bilal vd., 2006).

Verilere göre Hindistan, 90 milyon tonla dünyanın en yüksek manda sütü üreticisidir. Türkiye’de ise manda sütü üretimi 78 bin ton olarak bildirilmiştir (FAO, 2020). 2020 yılı dünya manda sütü üretimi çizelge 1.4’de verilmiştir.

Çizelge 1.4. 2020 yılı dünya manda sütü üretimi



1.3.2. Manda Eti ve Et Ürünleri

Manda hem et üretimi hem de süt üretimi için yetiştirilmektedir. Filipinler'de tüketilen tüm etlerin yarısından fazlası manda etidir. Geleneksel Azerbaycan yemeği dolma, manda etinden yapılır. Mısır'da sadece birkaç aylık olan mandalar salam ve sucuk yapımı için ayrılmaktadır. Manda ve sığır etinin kimyasal bileşimi çizelge 1.5'de gösterilmiştir.

Çizelge 1.5. Manda ve sığır etinin bileşenleri (100 gr)

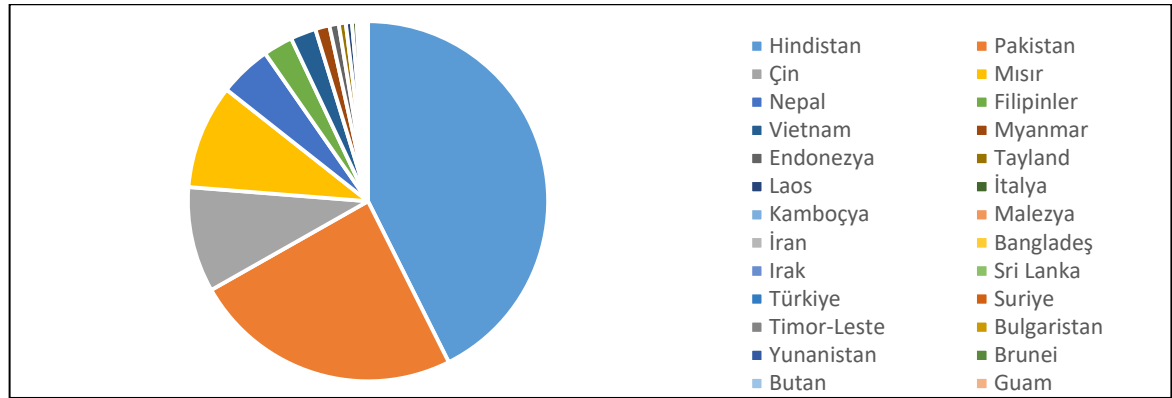
Bileşen	Manda	Sığır
Kalori (kkal)	131,0	289,0
Protein (gr)	26,8	24,0
Yağ (gr)	1,8	21,0
Kolesterol (gr)	61,0	90,0
Mineral (mg)	641,8	584,0
Vitamin (mg)	21,0	18,5

Sığır etine kıyasla %40 daha az kolesterol ve %55 daha az kalori, daha fazla protein ve mineral içermektedir (Soysal, 2006). 5,4 pH değerinde manda etinin soğuk koşullarda

çekme derecesi %2, nem içeriği %7,6, protein içeriği %19 ve kül içeriği %1'dir (Ligda, 1998).

Verilere göre dünyada mandadan üretilen et miktarı yaklaşık 5 milyon tondur. Hindistan yaklaşık 1,7 milyon ton et ile en büyük üretici ülke olarak görülmektedir. Türkiye'de üretilen manda eti ise 491 tondur (FAO, 2020). Manda eti üretimi çizelge 1.6'da verilmiştir.

Çizelge 1.6. 2020 yıllarında dünyada manda eti üretimi (Ton)



1.4. Mandaların Fizyolojik ve Biyolojik Özellikleri

Manda türleri yeni doğduğunda vücutları kalın, uzun tüylere sahiptir. Yaşlandıkça kıllar dökülmeye başlar, arkada ve ortada inceler. Mandalar 12 ila 14 aylıkken uzun, ince tüyler vücutlarından tamamen dökülür. Mandanın 6 aylık ortalama canlı ağırlığı 145-155 kg'dır (Yılmaz, 2013).

Alında, kuyruğun ucunda ve bacaklarda beyaz lekeler olabilir. Murrah, Nilli-Ravi, Kundi türleri koyu gri renkte, siyahtır. Kahverengi manda Hindistan, Pakistan ve Afganistan'da yaygın olarak bulunur (Soysal, 2009).

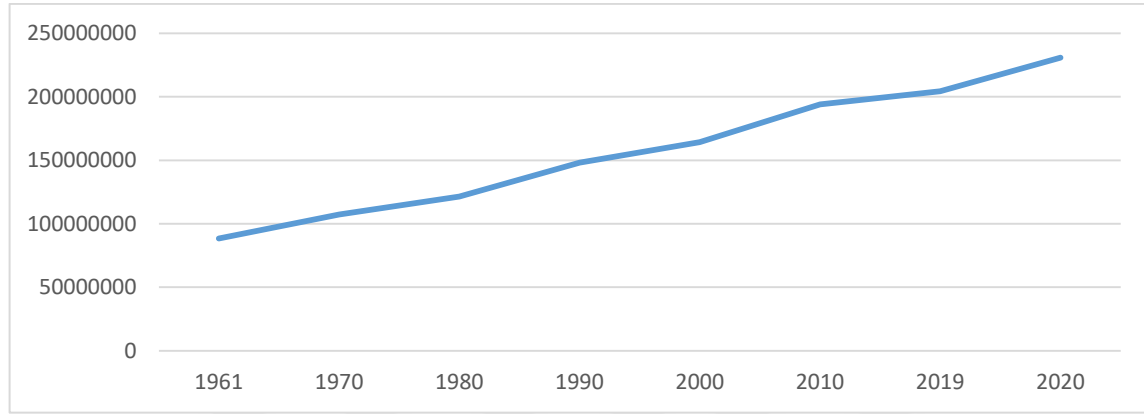
Vücut ısısı 37,5 ile 39 °C arasında değişir. Mandalar güneşte geniş getiremez, kaprisli olur, tükürük salgılar ve burun akıntısı artar. Yıkanarak vücut sıcaklıklarını doğal koşullara adapte ederler. Malaklar ısıya daha duyarlıdır. Mandada kalp hızı yaş, cinsiyet, mevsim, sıcaklık ve nem gibi birçok çevresel faktörden etkilenir (Yılmaz, 2013). Kalp hızı malaklarda dakikada 62-72, erişkinlerde 40-54'tür. Mandadaki ortalama solunum hızı dakikada 20 ila 27 nefestir (Soysal, 2009).

1.5. Dünyada ve Türkiye’de Manda Varlığı

1.5.1. Dünyada Manda Varlığı

Her geçen yıl dünyada manda varlığı giderek artmaktadır. 2020 yılı itibariyle 230 milyonu geçmiştir (FAO, 2020). Dünyada 1961-2020 yılları arasında manda sayısı çizelge 1.7’de verilmiştir.

Çizelge 1.7. Dünyada 1961-2020 yılları arasında manda sayısı



Dünyada 100 milyondan fazla manda varlığı ile Hindistan ilk sıradadır. Hindistan’ı sıra ile Pakistan ve Çin takip etmektedir (FAO, 2020).

Asya kıtası %97,4 ile dünya manda varlığının nerdeyse tamamını barındırmaktadır (FAO, 2020). Afrika kıtası dünya manda varlığının %1,7’sine (Mısır), Amerika kıtası %0,7’sine (Brezilya) ve Avrupa ise %0,2’sine sahiptir (Şekil 1.2).

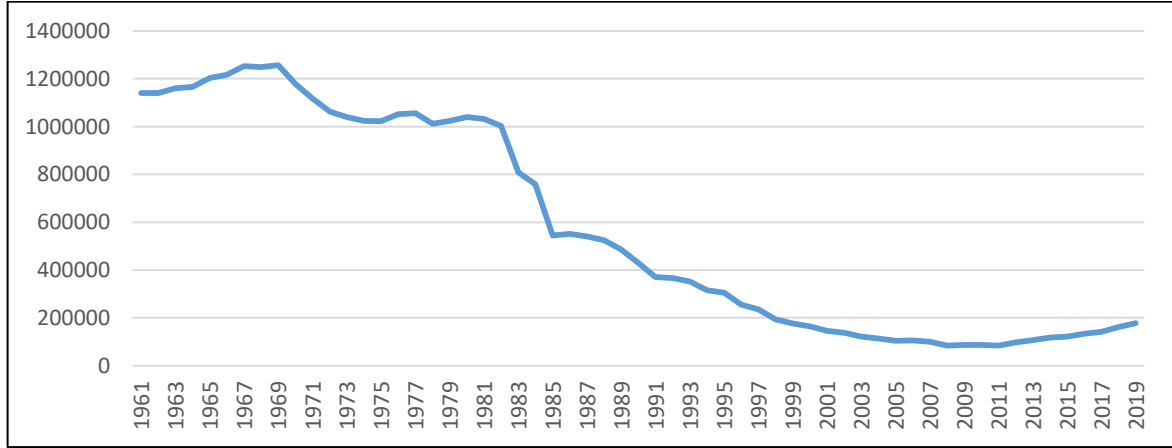


Şekil 1.2. Kıtalara göre manda varlığı (%) (FAO, 2020)

1.5.2. Türkiye’de Manda Varlığı

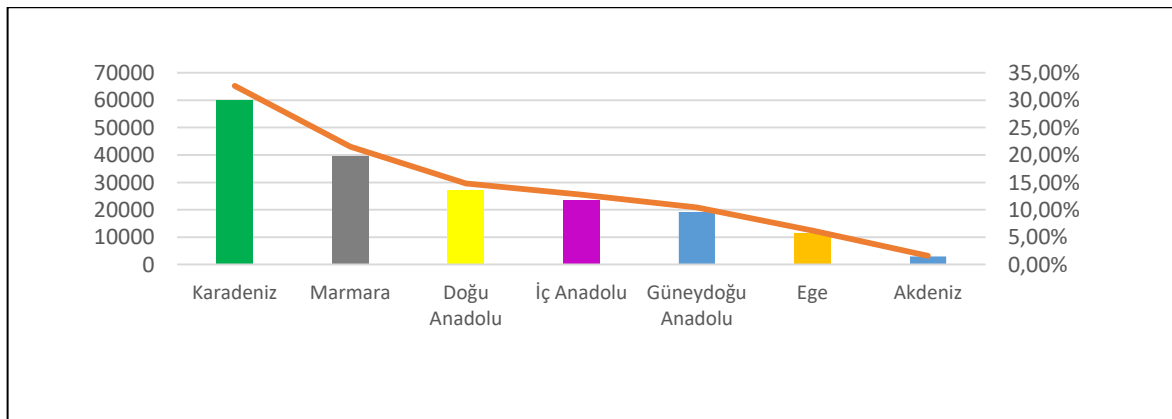
Ülkemizde manda popülasyon sayısı 1961 yılında 1 milyondan fazla iken, 2021 yılı mayıs ayı verilerine göre 186 bin başa kadar gerilemiştir (TÜİK, 2021). 1961-2021 yılı Türkiye’de manda varlığı değişimi çizelge 1.8’de gösterilmiştir.

Çizelge 1.8. 1961-2021 yılı Türkiye’de manda varlığı değişimi



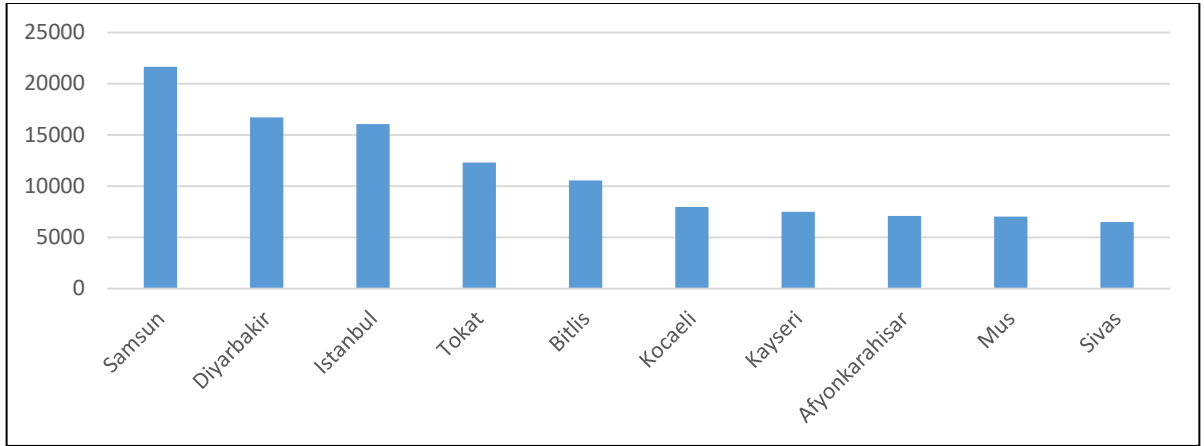
Manda ülkemizin her bölgesinde yetiştiriciliği yapılan bir hayvandır. Ülkemizin manda varlığı açısından en önemli bölgesi Karadeniz bölgesidir (TÜİK, 2021). Çizelge 1.9’da ülkemizdeki bölgelere göre manda dağılımı gösterilmiştir.

Çizelge 1.9. 2021 yılı Türkiye’de bölgelere göre manda varlığı



Türkiye’de manda sayısı en fazla olan il yaklaşık 24 bin manda varlığı ile Samsun’dur (TÜİK, 2021). Ülkemizdeki manda varlığı en fazla olan 10 il çizelge 1.10’da gösterilmiştir (Çizelge 1.10).

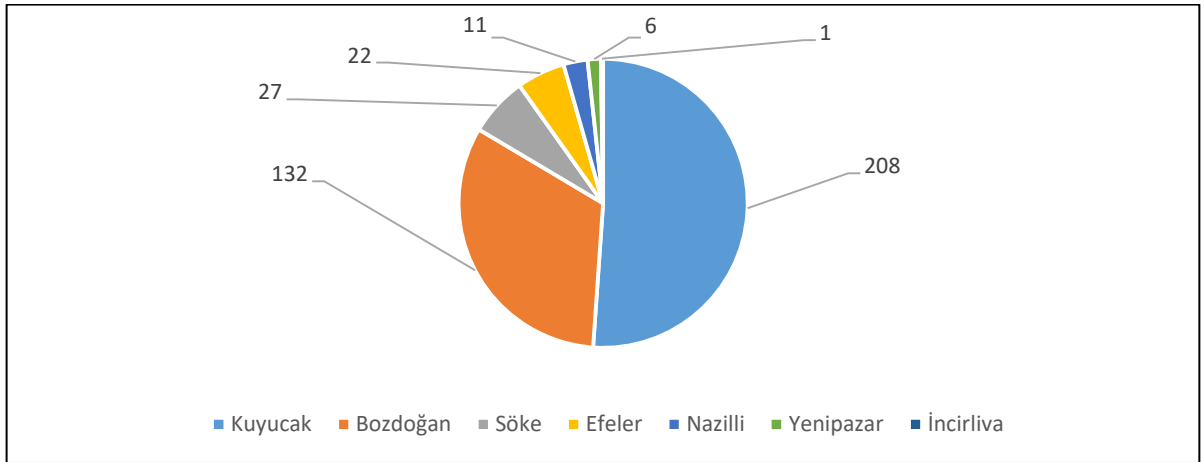
Çizelge 1.10. 2021 yılı Türkiye'de manda varlığı en yüksek olan 10 il



1.5.2.1. Aydın İli Manda Varlığı

Aydın ilinde toplam 407 baş manda varlığı mevcuttur. İlçelere bakıldığında 208 baş ile Kuyucak, 132 baş ile Bozdoğan, 27 baş ile Söke, 22 baş ile Efeler, 11 baş ile Nazilli, 6 baş ile Yenipazar, 1 baş ile Yenipazar, 1 baş ile İncirliova gelmektedir (TÜİK, 2021). 2021 yılı Aydın ilçelere göre manda dağılımı çizelge 1.11’de verilmiştir.

Çizelge 1.11. 2021 yılı Aydın ilçelere göre manda dağılımı



Aydın ili bu manda varlığı ile Türkiye’de 50. sıradadır. 2018 Mart ayında Manda Yetiştiricileri Birliği Kurulmuş ve varlığına devam etmektedir.

1.6. Marker Sistemleri ve Genetik Karakterizasyon Çalışmalarında Kullanım Alanları

Hayvancılıkta genetik gelişim, fenotipik verilere dayanmaktadır ve damızlık değerini tahmin etmek için fenotip ve soy bilgisi yaygın olarak kullanılmaktadır (Henderson, 1984; Montolda ve Herrera, 1998). Fenotipik seçilimin etkinliği, düşük kalıtım derecesi veya ölçülemeyen özellikler ile azalır ve sonuç olarak damızlık değerini tahmin etmek için güvenilir, daha kesin yöntemler geliştirmeye ihtiyaç vardır (Vanlı, 1987; Schwerin vd. 1995).

Kantitatif özelliklerdeki nispeten yavaş genetik ilerleme, bazı özelliklerin sadece bir cinsiyetteki performans için ölçülebilmesi, birçok genin bu konuda faaliyet göstermesi ve çevresel faktörlerin önemli etkileri olması gerçeğinden kaynaklanmaktadır. Ayrıca, generasyon aralığının uzatılması ve yıllık genetik ilerleme hızının azaltılması, sadece yetişkin hayvanlarda performans özelliklerinin ölçülmesinde etkilidir (Lara vd., 2002). Bu nedenle seleksiyonun erken yaşlarda uygulanabilmesine imkan sağlayacak ve genetik değer tahmininde başarıyı arttıracak kan grupları, protein polimorfizmi, SNP çipleri, mikrosatellitler ve son teknoloji dizileme analizleri gibi araçlara beklenti artmıştır (Lin vd., 1992).

Çiftlik hayvanlarının seleksiyonunda moleküler biyoloji tekniklerindeki gelişmeler umut verici yeni yaklaşımlar göstermektedir. Marker destekli seçim çalışmalarında (MAS) nicel özellik lokuslarının (QTL) tespiti çok önemlidir. Moleküler belirteçler kullanılarak, sürekli iyileştirme yöntemleri ile çözülemeyen bazı problemlerin ortaya çıkmasının önüne geçmek mümkündür (Kingham vd., 1994).

Bugün, belirteçler genellikle genomun belirli bir bölgesini tanımlamak için kullanılmaktadır. Genom analizi ve genetik çalışmalarda üç farklı markör kullanılmaktadır. Bu belirteçler; Morfolojik, protein ve DNA belirteçleri. PZR'nin genetik çalışmalarda kullanılmasından sonra, PZR tabanlı belirteçlere yüksek öncelik verilmiştir. Genetik karakterizasyon çalışmalarına alloenzimler, biyokimyasal belirteçler, mitokondriyal DNA ve Y kromozomuna özgü belirteçler de dâhil edilmiştir. PCR analiz çalışmaları esas olarak DNA markörlerinin, özellikle polimorfik mikrosatellit markörlerinin kullanımını içerir. Moleküler biyoloji alanındaki son gelişmelerle birlikte, tek nükleotid polimorfizmi (SNP) analizi, mikrosatellitlerle birlikte kullanılabilir, bu da daha ucuz ve daha hızlı gerçekleştirilmesini sağlar (Liu, 1998).

1.6.1. Morfolojik Markerler

Çok sayıdaki morfolojik belirteç kullanımına insan, hayvan ve bitki genetiği çalışmalarında yer verilmektedir. İlk morfolojik belirteçler ile yapılan çalışmalarda basit Mendel kalıtımı gösteren boynuzluluk, kanat yapısı, göz ve deri rengi gibi fenotipik özellikler araştırılmıştır. Morfolojik belirteçlerin çalışmalarda kullanım kolaylığı sağlamasına rağmen allel sayılarının oldukça az olmasından kaynaklı da sınırlılık gösterir (Liu, 1998).

1.6.2. Protein Markerleri

Amino asit kompozisyonları, moleküler yapılar ve antijen-antikor ilişkilerindeki farklılıklar nedeniyle bağımsız olarak var olan proteinler için farklı aleller vardır. Proteinlerin moleküler boyutları ve amino asit dizilimindeki farklılıklar nedeniyle jel elektroforezinde kolaylıkla gözlenebilir ve genetik belirteç olarak kullanılabilir (Özşensoy ve Kurar, 2012).

Genetik çalışmaların analizi, kan antijenleri ve izoenzim belirteçleri ilk olarak protein polimorfizm araştırmalarında kullanılmıştır. İzoenzimler, bir enzimin alternatif formunda bulunur ve enzimatik aktiviteye sahip olmalarına rağmen elektroforetik hareketleri farklıdır (Liu, 1998).

Genetik çalışmalarda kan ve doku protein belirteçlerinin kullanımı yaygındır. Bununla birlikte, genomun özellikle belirli bölgelerinde toplanması, düşük polimorfizm seviyeleri, spesifik kan örneklerine ihtiyaç duyulması, analiz için yüksek emek ve zaman gereksinimleri gibi olumsuz yönlerden dolayı kan grubu ve protein belirteçlerinin yerini DNA bazlı belirteçler almaktadır (Kurar, 2001).

1.6.3. DNA Temelli Markerler

DNA markörleri, belirli bir tür içindeki popülasyonlarda farklı bireylerde polimorfizm gösteren DNA bölgeleridir ve günümüzde genetik varyasyonu belirlemek için tercih edilen yöntemlerden biri haline gelmiştir (Liu, 1998). Polimeraz zincir reaksiyonunun (PZR) keşfinden sonra, genetik çalışmalarda PZR'den türetilen markörler tercih edilmiştir. Mullis ve Faloona (1987) tarafından bilimsel alanda ilk kez sunulan PZR teknolojisi sayesinde, genomda istenilen spesifik bölgelerin "in vitro" koşullarda çoğaltılması ve jel elektroforez

teknikleri kullanılarak görüntü elde edilmesi mümkündür. Artık günümüzde yaygın olarak kullanılan bir prosedür haline gelmiştir.

1.6.3.1. Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi (RFLP)

RFLP yöntemi, restriksiyon endonükleaz enzimlerini kullanır. Restriksiyon endonükleazları, restriksiyon bölgeleri olarak adlandırılan yalnızca çift sarmallı DNA'nın belirli baz dizilerini tanır ve diziyi bu bölgelerde parçalar. Restriksiyon endonükleazları, DNA baz dizisinde belirli bir dizideki nükleotidlerin spesifik tanıma dizilerinin bölgelerini tanır ve bu dizide belirli bir pozisyonda keserek DNA'yı ikiye böler. Her restriksiyon endonükleaz enziminin spesifik bir bölünme bölgesi vardır ve DNA dizisindeki dizi farklılıkları RFLP teknolojisi kullanılarak kolaylıkla tespit edilebilir. Restriksiyon enzimi ile parçalanmış DNA, agaroz veya poliakrilamid jel elektroforezi üzerinde boyut fraksiyonlarına ayrılır. Bu nedenle, genom bölgesindeki farklı restriksiyon enzimi bölünme bölgeleri, bireyler arasında farklı DNA parça profilleri oluşturur. RFLP belirteçleri benzersiz sıra bilgisi gerektirir. Polimorfizm oranı çok yüksek olduğu için soy ağacı ve harita analizlerinde tercih edilen markör sistemlerinden biridir. Analizin dezavantajları, teknolojik olarak pahalı, uzun ve yorucu bir süreç olan RFLP markör sistemini üretmek için yeterli miktarda DNA'ya ihtiyaç duyulmasıdır (Botstein vd., 1980).

1.6.3.2. Tek Zincir Konformasyon Polimorfizmleri (SSCP)

Tek sarmallı konformasyonel polimorfizm (SSCP), denatüre edici olmayan koşullar altında elektroforetik hareketliliği değiştirmek için tek sarmallı bir DNA molekülündeki tek veya çoklu nükleotid farklılıklarının etkisine dayanan mutasyonları, özellikle nokta mutasyonlarını saptamak için bir yöntemdir (Orita vd., 1989). PCR ile amplifiye edilen DNA molekülü, uygun sıcaklıkta denatürasyona tabi tutularak çift sarmallı yapısı tek sarmallı yapıya dönüştürülür ve poliakrilamid jel elektroforezinde gözlemlenir. DNA molekülleri jel elektroforezinde farklı bant profilleri göstererek varyasyonların saptanmasına olanak sağlar. SSCP; teknik olarak basit olmasına rağmen, her mutasyon için farklı ortamlar yaratma ihtiyacı bu tekniğin ana dezavantajıdır ve uygulanabilirliğini sınırlar (Liu, 1998).

1.6.3.3. Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA (RAPD)

Rastgele çoğaltılmış polimorfik DNA (RAPD) markörleri ilk olarak Williams vd. (1990), tarafından bilime sunulan PZR tabanlı bir tekniktir. DNA molekülü rastgele

nükleotid dizili bir primer kullanılarak amplifiye edilir ve elektroforez jeli üzerinde oluşturulan farklı bant profiline göre DNA polimorfizmi saptanır.

RAPD belirteçlerinin kullanıldığı çalışmalarda, aynı lokustaki iki farklı alel, belirli bir boyutta bantların yokluğu veya varlığı için değerlendirilir. RAPD markörlerinin avantajları, DNA dizi bilgisi gerektirmemeleri, diğer yöntemlere göre daha ucuz olmaları ve diğer PZR tabanlı yöntemlere göre kısa sürede sonuç vermeleridir. Başlıca dezavantajı, diğer belirteçlere kıyasla düşük güvenilirliğidir (Williams vd., 1990).

1.6.3.4. Çoğaltılmış Parça Uzunluk Polimorfizmi (AFLP)

Amplifiye Fragman Uzunluğu Polimorfizmi (AFLP) tekniği, parçalanmış genomik DNA moleküllerinin restriksiyon endonükleaz enzimleri ile seçici PCR amplifikasyonuna dayanır. Bu yöntem üç temel adımdan oluşmaktadır; DNA'nın enzimlerle bölünmesi ve oligonükleotid adaptörlerinin ligasyonu, seçici PCR teknikleri ile kesilen bölgelerin amplifikasyonu ve poliakrilamid jelde amplifiye edilen bölgenin analizi. Restriksiyon endonükleaz enzimleri ile kesilmiş DNA fragmanı, nükleotid dizi bilgisi olmadan jel elektroforezi ile görselleştirilebilir. AFLP marker sistemleri parmak izi analizinde yaygın olarak kullanılmaktadır ve RFLP tekniğine kıyasla daha az DNA ile çalışmayı sağlayan hızlı ve kolay bir teknik olduğu iddia edilmektedir (Vos vd., 1995).

1.6.3.5. Tek Nükleotid Polimorfizmleri (SNP)

Tek nükleotid polimorfizmleri (SNP'ler) genellikle bireyler arasında DNA molekülünün herhangi bir bölgesinde tek nükleotid değişiklikleri olarak ifade edilir. DNA molekülünde çok yaygın olan bu belirteçler, yaklaşık 500-1000 baz çiftinde (bç) bulunur, fakat aynı zamanda genin protein kodlamayan intron ve protein kodlayan ekson kısımlarında da bulunur (Wang vd., 1998). SNP belirteçleri genellikle iki alele sahiptir ve daha düşük polimorfizmlere sahiptir, bu da veri tabanı ve polimorfizm dizi bilgisi gerektiren bir katalog gerektirir (Smigielski vd., 2000).

1.6.3.6. Mikrosatellitler

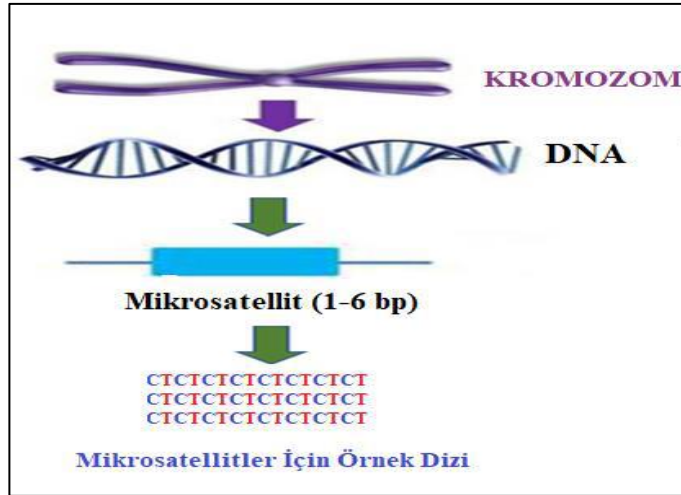
Mikrosatellitler, genomdaki mono-, di-, tri- veya tetranükleotitlerin düzenlemelerinden oluşur. Bir sitede birbiri ardına görünen rastgele tekrarlar kısa tandem tekrarları (STR'ler) denir. Kısa dizi tekrarı (STR) dizileri 1-6 nükleotit uzunluğundadır ve

tekrarlardan oluşan işaretleyicilere mikro uydular veya Basit Dizi Tekrarları (SSR) denir (Weber ve May, 1989; Liu, 1998).

Genomdaki 9 ila 100 bp'lik dizi tekrarları, değişken sayıda tandem tekrarı (VNTR'ler) veya mini uydu işaretleri olarak tanımlanır. Mikro uyduların tekrar sayısı genellikle 100 defadan, küçük uyduların tekrar sayısı ise 1000 defadan azdır (Liu, 1998).

Mikro uydular, prokaryotik ve ökaryotik genomların herhangi bir bölgesinde bulunabilir. Mikrosatellitlerin prokaryotlarda birçok biyolojik işlevi olmasına rağmen ökaryotik hücrelerdeki rolleri tam olarak anlaşılamamıştır (Bennett, 2000). Mikrosatellit markerler, genel olarak iki nükleotidli tekrarlardan [(CA)*n*] oluşmaktadır (Ellegren vd. 1997; Bruford vd. 2003).

Mikro uyduları çevreleyen DNA dizileri bir türün bireyleri arasında yaygın olmasına rağmen, mikro uydu tekrarları bireyler arasında ve hatta birey içindeki homolog kromozomlar arasında farklılık gösterebilir. Üç nükleotid tekrarlı mikro uydular 6 ve iki nükleotid tekrarlı mikro uydular 2 polimorfik özelliğe sahiptir (Metta vd., 2004). Mikrosatellitler, yüksek polimorfizm oranları, genomda geniş varlığı ve kullanım kolaylığı nedeniyle birçok moleküler biyoloji çalışmasında yaygın olarak kullanılmaktadır (Weber ve May, 1989; Liu, 1998). Mikrosatellit DNA'ya ait görsel Şekil 1.3.'de gösterilmiştir (Saeed, Wang ve Wang, 2016).



Şekil 1.3. Mikrosatellit DNA'ya ait görsel (Saeed, Wang ve Wang, 2016).

1.7. Genetik Çeşitlilik ve Genetik Karakterizasyon

Genetik çeşitlilik, belirli bir coğrafî bölgede yer alan ve o bölgede yaygın olan canlı türlerinin genetik özellikleri ile bu türlere ait ırklar ve içinde buldukları ekosistem

arasındaki etkileşimin doğası olarak tanımlanmaktadır. Hayvancılıkta ıslah programlarının temeli genetik çeşitliliğe dayanmaktadır (Ceriotti vd., 2003).

Evcil hayvanların genetik çeşitliliği, ırk içi ve ırklar arası olarak ikiye ayrılır. Genetik karakterizasyon çalışmaları, ırk içi ve ırklar arası genetik çeşitliliğin belirlenmesinde ve ırkların tanımlanmasında büyük önem taşımaktadır.

Kan ve süt proteini polimorfizmi 1980'lerde dünyada ve Türkiye'de yerel ırkların genetik bilgilerini ve bazı performans özelliklerini incelemek için kullanılırken, moleküler biyolojideki son gelişmelerle birlikte, mikro uydu belirteçlerine dayalı GWAS (genom çapında), SNP'ler ve genom analizi, ilişkilendirme çalışması) daha yaygın hale gelmektedir (Cañón vd. 2001; Kang vd. 2009; Molaei vd. 2009).

İlk evcilleştirme alanlarını belirlemek için arkeolojik ve genetik karakterizasyon çalışmaları yürütülmektedir. Sığır, manda, keçi, koyun ve domuzların ilk evcilleştirildiği bölgelerin Asya'nın iki farklı bölgesi olduğu bilinmektedir. Bu bölgelerin en eskisinin Anadolu ve Mezopotamya olduğu ve bu bölgeden ırkların dünyaya yayıldığı kanısına varılmıştır (Loftus vd. 1994; Luikart vd. 2001; Troy vd. 2001; Hiendleder vd. 2002; Cymbron vd. 2005).

Genetik karakterizasyon çalışmalarında en çok tercih edilen mikro uyduların yanı sıra çeşitli biyokimyasal markör sistemleri, mtDNA, Y kromozomuna özgü mikro uydular ve ayrıca SNP markörleri de ağırlıklı olarak kullanılmaktadır. Ayrıca soyağacı kayıtları da genetik karakterizasyon çalışmalarında kullanılmaktadır (Trinderup vd. 1999; Honda vd. 2006).

Sığır ırklarında mikro uydu markörü ile analiz edildiğinde Taurin ve Zebu da gen akışına rastlanmamıştır. Ancak mikro uydu belirteçleri, Y kromozomu ve mtDNA'nın kullanıldığı çalışmalar birlikte değerlendirildiğinde Zebu'dan gen akışı olmuştur (Lirón vd., 2006).

PZR teknolojisinden önce bitkilerde, kabuklu deniz hayvanlarında ve hayvanlarda birçok markör sistemi kullanılırken, PZR teknolojisi ile mikro uydular ve SNP'ler daha yaygın hale gelmiştir. Son yıllarda moleküler alandaki gelişmelerle birlikte SNP markörleri üzerine yapılan çalışmalar artmış ve SNP çipleri yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır (Muir vd. 2008; Yan vd. 2009; Zhu vd. 2012).

1.8. Mikrosatellit Markerlerin Uygulama Alanları

1.8.1. Ebeveyn Tayini

Hayvan akrabalıklarından ortaya çıkan veriler ile damızlık sayısının ölçülmesinde ebeveyn tespiti önemli bir faktördür. Ebeveyn analizlerindeki moleküler belirteçlerin (\geq %90), kan grubu (%70-90) ve diğer biyobelirteçleri (%40-60) kullanan testlerden daha sağlıklı olduğu belirtilmiştir (Geldermann, 1990). Ebeveyn tayinleri, mikro uydu DNA markörlerinin polimorfik olduğu gerçeğine dayanmaktadır (Jeffreys vd., 1985). Mikrosatellit belirteçleri, çiftlik hayvanlarında PZR tabanlı ebeveyn belirlemede başarılı bir şekilde kullanılmıştır (Mitra vd., 1999). Glowatzki-Mulis vd. (1995), sığırlar üzerinde üç mikro uydu işaretleyiciden oluşan iki primerin karışımını kullanarak yaptıkları araştırmada, ebeveyn belirlemesinin %99 doğru olduğunu göstermiştir.

1.8.2. Genetik Uzaklığın Tahmini

Genetik mesafeleri belirlemek için mikro uydu işaretleyiciler, AFLP, RAPD ve SNP teknikleri kullanılmaktadır (İvgin ve Bilgen, 2002; Erhardt ve Weismann, 2007; Negrini vd. 2007; Elmaci vd. 2007; Tapio vd. 2010). Genetik mesafelerin tahminleri, farklı ırklar veya popülasyonlar arasındaki suşları tanımlamaya, soy bilgisini doğrulamaya ve zaman içinde türlerdeki genetik farklılıkları değerlendirmeye önemli bir katkıdır (Mitra vd., 1999). Tapio vd. (2010), Avrasya'nın kuzeyinde yetiştiriciliği yapılan 52 koyun ırkında genetik ilişkiyi belirlemek için 20 mikro uydu işaretleyici kullanmıştır.

1.8.3. Genom Haritalarının Oluşturulması

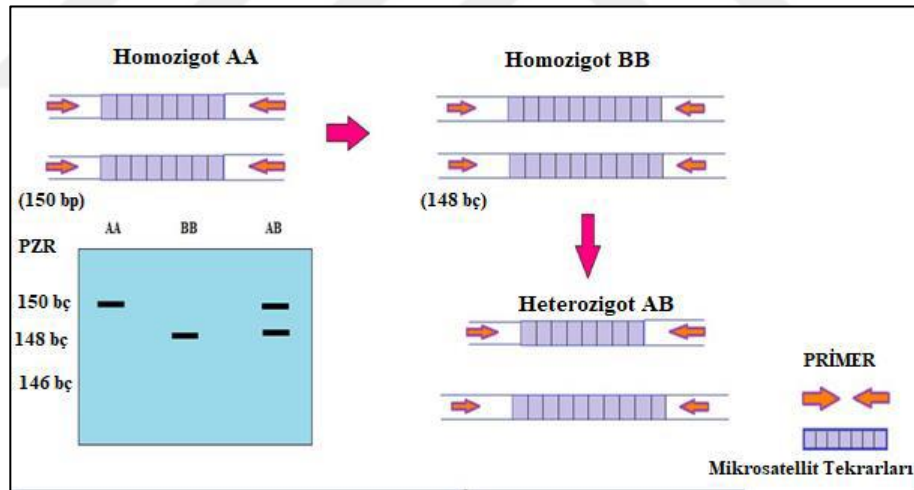
Genom haritası oluşturulurken lokuslar veya markörler, aralarındaki rekombinasyon oranları dikkate alınarak genetik haritaya yerleştirilir. Rekombinasyon birimleri, yaklaşık 106 baza karşılık gelen 1 cM ile santiorganlarda (cM) ifade edilir (Rhodes vd., 1998).

İnsan Genom Haritası 1990 yılında başlatıldı ve tamamlandığında 20.000-25.000 gen tanımlandı. İnsan Genom Projesi, diğer türlerin genom haritalarının kısa sürede oluşturulmasına ışık tuttu (Baltimore, 2001). Genom haritalarının oluşturulmasında farklı yaklaşımlar kullanılmaktadır. Bu yöntemler; in situ hibridizasyon, bağlama ve karşılaştırmalı haritalama olarak bilinir. Çiftlik hayvanlarının genomik haritaları oluşturulurken daha ilgili ve karşılaştırılabilir bir kartografik yöntem tercih edilir (Womack, 1997).

1.8.4. Kantitatif Karakter Lokuslarının Belirlenmesi

Doğumdaki yavru sayısı, ağırlıktaki artış, süt üretimi, kirli yapağı üretimi ve hastalık direnci gibi özellikler hem çevresel hem de genetik faktörlerden etkilenen nicel özelliklerdir (Bovenhuis vd. 1997; Beuzen vd. 2000; Sonstegard vd. 2001). QTL'nin tespiti ve doğrulanması karmaşık, zaman alıcı ve çok pahalı bir yoldur, ancak aynı zamanda çok karlı bir ticari geri dönüşüm sağlar (Van Marle-Koster ve Nel, 2003).

Mikrosatellit lokuslarının alellerindeki nükleotid tekrarlarının sayısı bireyden bireye değişir ve bu farklılık lokusta yüksek polimorfizmle sonuçlanır. Bir mikrosatellitin her lokusu, biri anneden diğeri babadan gelen iki alel içerir. Her tekrar formu tek bir alel ile ilişkili olduğundan, aynı lokusta biri anneden diğeri babadan gelen iki alel farklı tekrarlama oranları gösterir. Bir mikrosatellit lokusunun iki alleli aynı tekrar numarasına sahipse jel üzerinde tek çizgiler olarak görünürler ve homozigotlardır, tekrar sayıları birbirinden farklıysa jel üzerinde çift çizgiler olarak görünürler ve heterozigot olarak kabul edilirler (Ağaoğlu ve Ertuğrul, 2010).



Şekil 1.4. Aynı lokusta farklı tekrar sayılarına sahip mikrosatellit alellerinin jel görünümü (Ağaoğlu ve Ertuğrul, 2010)

Mikrosatellit dizileri tüm organizmalarda mevcuttur ve işlevleri tam olarak anlaşılamamıştır (Ramel, 1997). Bu diziler genellikle DNA'nın "kodlamayan" bölgelerinde bulunurken, "kodlayan (protein kodlayan)" kısımlarda bulunanlar genellikle patojenik olarak kabul edilir (Moxon ve Wills, 1999). DNA'nın kodlanmayan bölgeleri daha önce "Çöp DNA" olarak biliniyordu ve bu bölümün gereksiz bilgi materyalleri içerdiği iddia

edildi. Sonraki yıllarda yapılan bilimsel araştırmalar, öp DNA'nın aslında çok değerli genetik bilgiler içerdiğini gösterdiğinden, DNA'nın kodlanmayan kısmıyla ilgili araştırmalar hız kazandı.

Değişken sayılara ve farklı tekrar motiflerine sahip mikrosatellitler oldukça kararsızdır, yüksek polimorfizm gösterir ve genom boyunca yaygındır. Genomda tekrarlayan kısa veya uzun DNA parçalarının varlığı, türlerin evrimsel kökeninin araştırılmasında çok faydalıdır (Künzler vd., 1995). Bu Şekilde PZR ile oksidasyonun gen haritalaması, kanser araştırmaları, adli tıp ve aynı türün popülasyonlarındaki organizmaların genetik karşılaştırması gibi birçok farklı alanda kullanılmaktadırlar. Ayrıca Mikrosatellit DNA Polimorfizm Tekniği PZR tabanlı olduğu için diğer birçok teknikten üstündür. Mikrosatellit DNA Polimorfizm Tekniği kullanılarak bir organizmanın genotipinin belirlenmesinde 4 ana adım vardır. Bu adımların dikkatli ve doğru uygulanması, verilerin gerçekleri yansıtacak Şekilde bulunmasını sağlar (n vd., 2000).

1. DNA İzolasyonu

DNA izolasyonu, DNA'nın bulunduğu hücrelerden ayrılması olarak tanımlanabilir. Başarılı DNA izolasyonu temel olarak üç adımdan oluşur;

1. Lizis (hücre patlaması)
2. Proteinlerin Uzaklaştırılması
3. DNA'nın farklı moleküllerden ayrıştırılması

2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)

Basitçe tanımlandığında PZR, aslında herhangi bir canlı organizmanın genomik DNA'sında bulunan farklı işlevler için özelleşmiş genlerin bölgelerini in vitro koşullarda çoğaltabilen bir DNA sentez yöntemidir. PZR temel olarak üç adımdan oluşur;

1) Ayırma (denatürasyon); DNA'nın çift sarmallı formunun yüksek sıcaklığa (94°C) maruz bırakılarak tek sarmallı hale geldiği aşamadır.

2) Bağlanma (annealing); incelenen primerler, uygun sıcaklık koşulları altında DNA'daki hedef gen bölgelerine bağlanır. Her primerin benzersiz bir annealing sıcaklığı vardır.

3) Uzama (extension); PZR'de kullanılan Taq DNA Polimeraz enziminin ideal çalışma sıcaklığı 72 °C'dir ve hedef bölgeye bağlanan primerler bu enzim tarafından uzatılır.

3. DNA Miktar Tayini ve Kalite Kontrolü

Nükleik asitler ve proteinlerdeki miktar ve kalite parametreleri iki şekilde ölçülebilir. Bunlar; spektrofotometrik ve elektrofotometrik yöntemler:

Spektrofotometri; DNA kalitesi, farklı dalga boylarında absorpsiyon değerleri ile ölçülür. Spektrofotometrede DNA ölçümleri sırasında 230 nm, 260 nm veya 280 nm dalga boylarında absorpsiyon sırasında okunan değerler genellikle gerçeği yansıtır. Bu okumalar, test edilen nükleik asidin saflığı hakkında bilgi sağlar (Cseke vd., 2011).

Elektron fotometri; bir elektrik alanındaki yüklü nükleik asit veya protein parçacıklarının moleküler yük ve moleküler boyut gibi faktörlere bağlı olarak bir elektrottan diğerine yürütmesine dayanan bir yöntemdir. Mikrosatellit teknolojilerinden elde edilen nükleik asit DNA olduğundan, her zaman anottan katoda hareket vardır. Anottan katoda hareket DNA'nın negatif (-) yüklü olmasından kaynaklanmaktadır (Berik, 2002).

4. Fragment Analizi ve İstatistiksel Hesaplamalar

Nükleik asitlerin ayrımı ve fragment analizinde genellikle Kapiller (Kılcık) Elektroforez Tekniği kullanılmaktadır. Kapiller elektroforez, elektroforetik hareket, faz ayrımı, molekül boyutları gibi durumlardan bir ya da birkaçına bağlı elektrokinetik ayrım yapan bir tekniktir. Gelişen her yeni teknikle birlikte farklı istatistiksel metotlarda kullanılmaya başlanmıştır. Mikrosatellit işaretleyiciler, popülasyonların genetik çeşitliliğini tanımlamaya yönelik çalışmalarda sıklıkla kullanılmakta olup farklı istatistiksel parametrelerle analiz edilmektedirler. Bu parametreler; allelik varyasyon, gözlenen ve beklenen heterozigotlukların ölçümü, Hardy-Weinberg dengesine uyum, Wright'ın F istatistikleri, Genetik Uzaklık Analizleri olarak sıralanabilir.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Günümüzde organik ürünlere olan talep artmış ve bu talep doğrultusunda manda sütü ve ürünlerine olan ilgi de artmıştır. Manda sütüne ve ürünlerine artan ilgi, manda verimliliğinin artmasının da önemli bir göstergesi olmuştur. Verim artırma, ekonomik açıdan önemli özellikleri etkileyen genlerin uygun alelik bileşimine sahip bireyleri tanımlamaya ve onları yetiştirici olarak seçmeye bağlıdır. Bunu yapmak için gelecekteki iyileştirme programlarının temelini oluşturacak moleküler verilerin elde edilmesi gerekmektedir. Ülkemizin farklı bölgelerinde yetiştirilen manda yerli popülasyonlarımızı genetik olarak karakterize etmek için birçok çalışma yapılmıştır (Soysal vd. 2005; Aytekin vd. 2011; Toparslan, 2015; Akyüz vd. 2017; Kaplan, 2018).

Navani vd. (2002) sığırlarda kullanılan 108 mikro uydu işaretleyici ile 25 nehir mandasını analiz etmişlerdir. Bu mikro uydu işaretçilerinin 61'inin polimorfik olduğunu keşfetmişlerdir. Manda ve sığır arasındaki işaret başına ortalama alel sayısını karşılaştırmak için 39 işaretleyici kullanarak yeniden hesaplamışlardır. Sığırlarda 5,62 ve mandalarda 4,87'lik bir işaretleyici başına ortalama alel sayısı bulmuşlardır. Heterozigotluk skorunun 0,31 ile 0,89 arasında değiştiğini bildirmişler ve ortalama heterozigotluğun $0,66 \pm 0,02$ olduğunu bulmuşlardır.

Arora vd. (2004) Kuzey Hindistan'da yetiştirilen Bhadawari ve Tarai bufalosunda genetik çeşitliliği belirlemek için 22 set sığır mikro uydu işaretçisi kullanmış ve toplam 181 alel tanımlamışlardır. Alel sayısının 3 ila 9 arasında değiştiğini ve ortalama alel sayısının 4,7 olduğunu bulmuşlardır. Lokuslardaki PIC skorlarının 0,26 ile 0,84 arasında değiştiğini, ortalama heterozigotluk skorunun 0,596 ve PIC skorunun 0,54 olduğunu bildirmişlerdir. ILSTS019, ILSTS052 ve ILSTS059 lokuslarındaki üç alelin Bhadawari mandasına özgü olduğu, CSSM45 lokusunda bir alel ve ILSTS059 lokusunda yer alan iki alelin Terai mandasına özgü olduğu belirlemişlerdir. Ancak bu alellerin cinse özgü olduğunun belirlenmesi için diğer manda ırkları da dâhil olmak üzere çok sayıda örneğin incelenmesi gerektiği belirlemişlerdir.

Soysal vd. (2005) yaptıkları çalışmada Anadolu manda popülasyonunun genetik karakterizasyonu ve polimorfizmi SSR, PCR-RFLP, ISSR gibi çeşitli moleküler belirteçler kullanılarak gerçekleştirilmişlerdir. Çalışmalarında, SSR belirteçleri ile 40 Anadolu mandasını karakterize etmek için 11 sığır mikro uydu lokusları kullanmışlardır. Çalışmada, incelenen örneklerde bu lokuslardan dördünün polimorfik olduğunun gösterildiği ve

istatistiksel hesaplamalara ve F₁₅ değeri olan Anadolu manda popülasyonundan alınan örneklerin Hardy-Weinberg teorisine uyduğunu bildirmişlerdir.

Sukla vd. (2006) Hindistan'da Murrah, Mehrana, Jaffrabadi, Nagpuri, Nilli-ravi ve Bhadawari buffalo'nun genetik çeşitliliğini gözlemek için sığırlara özgü 20 mikro uydu işaretleyici kullanmış ve bunlardan belirteçlerin 10'unda polimorfizm tespit etmişlerdir. Tespit edilen 10 mikro uydu lokusundan sadece 4'ünü bilgilendirici görüp değerlendirmişlerdir. Lokusların tamamında 56 ayrı alel tanımlamışlardır. Tanımlanan lokuslardaki alel sayısının 2 ile 7 değerleri arasında farklılık gösterdiği ve her mikro uydu işaretçisi için ortalama alel sayısının $5,5 \pm 0,07$ olduğunu belirtmişlerdir. İçlerindeki en çok polimorfizmi lokus BM1818'de buldular. Mehsana ve Bhadawari ırkları arasındaki genetik uzaklık değeri 0,29; Murrah ve Mehsana arasında 0,27, Nili Ravi ile Bhadawari arasında ise 0,26 olarak hesaplamışlardır. En düşük genetik uzaklık (0,05) Jaffrabadi ve Nagpuri ırkları arasında bulmuşlardır.

Wang vd. (2007) 8 manda popülasyonunda 13 mikro uydu işaretleyici kullanmış ve toplam 147 alel saptamışlardır. Çalışma popülasyonundaki alel sayısının 2,290 ile 4,231 arasında değiştiğini, heterozigot skorlarının 0,495 ile 0,719 arasında ve PIC skorlarının 0,450 ile 0,678 arasında olduğunu bildirmişlerdir. Analiz edilen 13 mikro uydu belirteçlerinin 11'inin oldukça polimorfik olduğunu bulmuşlar ve bu mikro uydu lokuslarının manda genetik çeşitliliğinin hesaplanmasında kullanılabileceğini belirtmişlerdir.

Srphet vd. (2008) Taylan'daki bataklık mandalarında (105), genetik çeşitliliği gözlemek için 34 sığır mikro uydu işaretçisi kullanmışlardır. Kullandıkları mikro uydu işaretçilerinin 16'sında polimorfizm gözlemişlerdir. 16 polimorfik mikro uydu lokusundaki alel sayısının 2 ile 9 arasında değiştiğini ve lokus başına alel sayısının 4,7 olduğunu bulmuşlardır. Ortalama heterozigotluğun lokuslarda 0,165 ile 0,858 arasında olduğunu ve genetik mesafeleri 0,0574 ile 0,2575 değerleri içinde hesaplamışlardır.

Babar vd. (2009) Yetiştiriciliği Pakistan'da yapılan Nili, Kundi ve Azakheli mandalarının genetik karakterizasyonunu belirlemek için 3 mikro uydu işaretleyici (INRA005, ILSTS029 ve ILSTS033) kullanmış ve bunun sonucunda 15 allel keşfetmişlerdir. Belirteçlerde görülen alel sayısı 4 ile 6 arasında değişmiş ve her lokus için 5 alel olduğunu ifade etmişlerdir. PIC skorlarını ortalama 0,49, heterozigotluğu ise ortalama 0,55 olarak bulmuşlardır.

Nagarajan vd. (2009) mandada genetik karakterizasyonu amaçlamış ve 571 mikro uydu işaretleyici kullanmışlardır. Çalıştıkları bufalo popülasyonundaki heterozigotluk için medyan değerin 0,51 olduğunu bulmuşlardır. Polimorfik lokuslardaki alel sayısının 2 ile 11 arasında değiştiğini ve ortalama alel sayısının 4,64 olduğunu bulmuşlardır. Gözlenen heterozigotluğun 0 ile 1 arasında ve beklenen heterozigotluğun 0,04 ile 0,88 arasında değiştiğini bulmuşlardır. İnceledikleri 391 polimorfik lokustan 24'ünün Hardy-Weinberg dengesinde olmadığını bildirmişlerdir.

Bhuyan vd. (2010) çalışmalarında 35 Murrah mandasının DNA'sını, mikro uydu işaretleyicileri kullanılarak profillemişlerdir. Gözlenen heterozigotluk değerinin 0,375 ile 0,775 arasında farklılık gösterdiğini ve ortalama heterozigotluğun 0,543 olduğunu bulmuşlardır. Heterozigotların gözlenen ve beklenen değerlerinin 0,5'ten büyük olduğunu bildirmişlerdir. CSSM43 belirtecinde PIC'nin 0,476 olduğunu, CSSM61 belirtecinde PIC'nin 0,718 olduğunu ve ortalama PIC'nin 0,566 olduğunu hesaplamışlardır. Çalışma sonucunda, gözlenen ve beklenen heterozigotluk arasındaki farkın önemli olduğunu gözlemlemişlerdir ($P < 0,05$).

Gargani vd. (2010) 150 mandada 26 heterolog (sığır) mikro uydu işaretleyici kullanarak farklı bölgelerdeki Anadolu manda popülasyonları arasındaki genetik çeşitliliği ve ilişkileri analiz etmişlerdir. Toplam 254 alelden 7 ve 17 farklı alel mikro uydular tarafından tespit edilmiştir. Analiz edilen tüm örneklerdeki ortalama alel sayısının 12,57 olduğunu ve popülasyon başına beklenen ortalama heterozigotluğun (H_e) 0,5 ile 0,58 arasında olduğunu hesaplamışlardır. 44 lokus - popülasyon kombinasyonu için Hardy-Weinberg dengesinden önemli sapmalar gözlemlemişlerdir. Popülasyonlar F_{st} endeksini (0,053 ile 0,123 arasındaki değerler) tahmin ederek popülasyon farklılaşmasını analiz etmişlerdir. Varyans analizi sonuçlarının diğerlerine göre Merzifon popülasyonunda en yüksek polimorfizme sahip olduğu bulmuşlardır. Ayrıca Afyon, Coşkun, Pazar ve Tural popülasyonunun tek bir grup oluşturmasına rağmen, Damandıra popülasyonuna ait bazı bireylerin popülasyondan açıkça ayrıldığını bulmuşlardır. Bu çalışmanın sonuçlarının Türk mandası için koruma stratejileri geliştirmek için yararlı olduğunu açıkça belirtmişlerdir.

Zhang vd. (2011) Çin, Nepal ve Güneydoğu Asya'daki bataklık mandaları arasındaki genetik farklılıkları göstermek için yaptıkları çalışmada alel sayısının 4 ile 17 arasında farklılık gösterdiğini bildirmişlerdir. Çalışılan 4 belirtecin (CSSM038, CSSM045, BRN ve HMH1R) incelenen popülasyonların tümünde polimorfik özellik gösterdiğini tespit etmişlerdir. Tüm lokuslarda hesaplanan ortalama heterozigotluk değerinin 0,672 olduğunu

bildirmişlerdir. Çalışmaları için 56 mandadan örnekler aldılar ve aralarındaki genetik çeşitliliği belirlemek için 20 mikro uydu lokusunu kullanmışlardır.

Ünal vd. (2014) çalışmalarında, toplam 103 alel tanımladılar ve her bir mikro uydu lokusunda 3 ila 10 farklı alel tespit etmişlerdir. Analiz edilen mikro uydu lokuslarının polimorfizm bilgi içeriği (PIC) değerleri ortalama 0,4945 ile 0,14 ile 0,82 arasında değişmektedir. Beklenen heterozigotluğun (HE) 0,5359 ile 0,5208 arasında olduğunu ve popülasyon içi akrabalı yetiştirme katsayısının (FIS) sadece 4 lokusta pozitif olduğunu bulmuşlardır. Yapılan analizlerde, Karadeniz ve Trakya bölgesinde yetiştirilen manda popülasyonları arasındaki genetik uzaklığın en az olduğunu belirtmişlerdir.

Konca (2016) büyüme hormonu salgılatıcı hormon (GHRH) geni, büyüme hormonu (GH) geni ve PRL geni sığır yetiştiriciliğinde kullanılan en önemli genler arasındadır. Araştırmacılar, bu genlerdeki polimorfizmleri tanımlayarak genetik kaynakların çeşitliliğini ortaya çıkarmaya çalışıyorlar. 2016 yılında yapılan bir çalışmada Kayseri, Afyon, Amasya ve Çorum illerinde halk tarafından yetiştirilen Anadolu mandasında RFLP yöntemi kullanılarak GHRH, GH ve PRL genlerinin alelik yapısı belirlenmiştir. Çalışma sonucunda Anadolu manda örneklerinin GHRH gen allellere göre AA genotipine, GH gen allellere göre LL genotipine (0,755) ve ilişkili olarak AB genotipine (0,810) sahip olduğu tespit edilmiştir. GH geninde PRL geninin alelleri vardır. İncelenen manda örneklerinin gerçekleştirilen ki-kare analizinde GH genine göre genetik olarak stabil olduğunu, ancak PRL genine göre genetik olarak stabil olmadığını belirtmişlerdir.

Tekerli vd. (2016) çalışmalarında Orta ve Güneydoğu Karadeniz'in bazı illeri ile Afyonkarahisar'dan getirilen Bandırma Koyun Yetiştiriciliği Araştırma Enstitüsü'nden F1 mandalarının Anadolu mandası ve Murrah X Anadolu melezlerinden oluşan 85 baş sürüden 76 mandadan yararlanmışlardır. Süt üretimi ve bileşenleri açısından gruplar arasındaki farklar önemli görülmüştür ($P < 0,05$). Araştırma bulgularıyla uyumlu olarak, ırk orijin faktörünün süt, yağ, protein, laktoz ve yağsız kuru madde verimlerini etkilediğini bildirmişlerdir. Bu manda ve malakların moleküler analizleri sonucunda oluşan popülasyonun CSN3, STAT5A, PRL, GHRH, LEP, PIT-1 ve östrojen reseptör alfa ($ER\alpha$) genlerine göre genel olarak monomorfik olduğu ve bir büyüme hormonu reseptörü (GHR) için gene göre polimorfizm gösterdiği görülmüştür. Sonuç olarak Murrah X Anadolu F1 melezlerinin ve özellikle Orta Karadeniz mandasının süt üretimini artırmak için damızlık olarak kullanılabileceği ve farklı bölgelerden getirilen mandaların Afyonkarahisar'daki koşullara adapte edildiği sonucuna varmışlardır.

Akyüz vd. (2017) butirofilin geninin (BTN1A1) süt üretimi ve bileşimi üzerindeki etkisini araştırmak için Türkiye'de yetiştirilen Anadolu mandalarında BTN1A1 geninin (501 bç) genotip ve alel frekanslarını belirlemeyi amaçlamışlardır. Toplam 120 manda üzerinde çalışan araştırmacılar, PCR-RFLP yöntemini kullanarak HaeIII parçalama enzimini uygulamışlardır. Elde edilen bulguya göre; incelenen tüm örneklerin AA genotipinde olduğunu gözlemlenmişlerdir. İncelenen manda örneklerinin Türkiye'nin farklı bölgelerinden gelmesi nedeniyle AA genotipinde incelenen tüm mandaların tespitinin Anadolu mandasının ırksal bir özelliği olabileceğini vurgulamışlardır. Ayrıca Türkiye'de yetiştirilen manda popülasyonunda gözlenen azalma nedeniyle türün gen havuzunun daralmasının bu bulgunun nedeni olabileceğini belirtmişlerdir. Ayrıca literatür çalışmalarına göre BTN1A1 geni ile ilişkili AA genotipine sahip bireylerin farklı sığır ırkları arasında süt üretimi ve süt kalitesi açısından üstün özellikler gösterdiğini bildirmişlerdir. Ancak mandada BB genotipli bireylerden elde edilen süt üretiminin daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir. Sonuç olarak Anadolu mandasında BTN1A1 gen polimorfizminin incelendiği ilk çalışma olduğunu ve polimorfizm tespit edilmediğini bildirmişlerdir

Kévin vd. (2019) yaptıkları çalışmada genetik özellikleri çok az bilinen Benin sığır ırklarının genetik çeşitliliğini değerlendirmeyi amaçlamışlardır. Bu amaçla, 31 Girolando, 30 White Fulani sığır, 31 Borgou, 31 Lagunaire, 43 Somba ve 13 melez Azawak x Lagunaire olmak üzere 179 sığırdan 12 mikrosatellit markör kullanılarak kan örnekleri karakterize etmişlerdir. Kullanılan tüm mikrosatellitler her sığır cinsinde polimorfiktir. TGLA53 markörünün, Borgou sığırlarında en yüksek sayıda allel (15), Azawak x Lagunaire melezi için INRA 63 lokusunda allel en düşük (2) olarak bulunmuştur. Girolando ve Somba popülasyonlarında gözlemlenen heterozigotluk oranlarını sırasıyla 0,79 ile 0,57 arasında tespit etmişlerdir. En yüksek beklenen heterozigotluk oranları Girolando sığır popülasyonunda (0,79), en düşük (0,63) Lagunaire ve Somba popülasyonlarında görülmüştür. Popülasyon çiftleri arasındaki FST'nin en düşük değeri (0,084) Borgou ve White Fulani sığırları arasında gözlemlenmiştir. Genetik yapı analizi, Somba ve Lagunaire sığır ırklarını kümelerken, White Fulani ve Borgou sığır ırkları çok yakın bulunmuştur. Melez popülasyonları (Borgou ve Azawak x Lagunaire) taurin ve zebu arasında olmuştur.

Abdelmanova vd. (2020) Rus sığır ırklarının tarihsel ve modern popülasyonlarının genetik çeşitliliğinin belirlenmesi için yaptıkları çalışmada 49 sığırdan örnek almışlardır. Bu örnekler için 9 polimorfik mikrosatellit lokus kullanmışlardır. Analiz edilen tüm numunelerin/lokusların konsensüs genotiplerini belirlemişlerdir. Allelik bırakma (ADO) ve

yanlış alleller (FA) dâhil olmak üzere amplifikasyon hataları, sırasıyla ortalama %2,35 ve %0,79 sıklıkta meydana gelmiştir. Allel uzunluğunun ADO oranı üzerinde önemli bir etkisi ($r^2 = 0,620$, $p= 0,05$) gösterilmiştir. Kholmogor ve Yaroslavl ırklarının tarihi örnekleri ve modern temsilcileri arasında genetik çeşitlilikte önemli farklılıklar olduğu gözlemlenmiştir. Beklenen heterozigotluk değerleri 0,726-0,774 ve 0,708-0,739; allellik değerleri tarihsel ve modern örnekler için sırasıyla 2,716-2,893 ve 2,661-2,758 olmuştur. Kholmogor ve Yaroslavl sığırlarının modern popülasyonlarında tarihsel bileşenlerin bir kısmının muhafaza edildiği gösterilmiştir. Çalışmanın, sığırların yerel Rus genetik kaynaklarında biyoçeşitliliğin korunmasına katkıda bulunacağını vurgulamışlardır.

Radhika vd. (2021) çalışmalarında Hindistan'ın Kerala eyaletinde yedi farklı genetik gruba ait sığırların genetik çeşitliliği bulmayı amaçlamışlardır. Genomik DNA farklı gruplardan izole edilmiş, FAO/ISAG önerilen 25 mikrosatellit kullanmışlardır. Multipleks PCR yapmış. Allellik verileri uygun Bioinformatics yazılımları kullanılarak analiz etmişlerdir. Çalışmada tüm popülasyonlarda gözlenen allel sayısının beklenenden çok daha fazla olduğunu göstermişlerdir. Bu çalışma için elde edilen ortalama PIC değeri 0,8912 olup, özellikle Vilwadri ve Kasaragod gruplarında özel allel sayısında artış gözlenmiştir. FIS'nin negatif değeri (0,055) olarak bulunmuştur. FST değeri 0,1442 olup, popülasyonların iyi bir genetik farklılaşma gösterdiğini gösterdiğini bildirmişlerdir. Çalışmadan elde edilen sonuçların, Vilwadri ve Kasaragod sığırlarının diğer gruplardan belirgin farklılıklar gösterdiğini göstermişlerdir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Hayvan Materyali

Bu çalışmada Aydın ili sınırları içinde bulunan Bozdoğan Ziyaretli, Söke Serçin ve Efeler Çiftlikköy yerleşkelerinde bulunan 33 Anadolu mandasından saliva ve foliküllü kıl örnekleri alınmıştır (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1. Lokalite bilgileri

İl	İlçe/Köy	Koordinat
Aydın	Bozdoğan Ziyaretli /25	37° 41' 9.0132" K 28° 17' 47.8104" D
Aydın	Efeler Çiftlikköy /3	37°45'38.7" K 27°50'21.0" D
Aydın	Söke Serçin /5	37° 32' 40.7832" K 27° 23' 25.4256" D

3.1.2. Kullanılan Cihaz ve Aletler

3.1.2.1. Mikro Pipetler

Tüm sulandırmalar ve aplikasyonlar için 0,2 – 2; 0,5 – 10; 20 - 200 ve 100 – 1000 µl'lere ayarlanabilen Thermo Scientific ve Biohit Proline Plus mikro pipetleri kullanılmıştır (Resim 3.1).



Resim 3.1. Mikro pipetler

3.1.2.2. Yatay Elektroferez Sistemi

Elde edilen DNA'ların ve PCR ürünlerinin elektroforezde yürütülmeleri için CS-300V elektroforez jel sistemleri kullanılmıştır (Resim 3.2).



Resim 3.2. Yatay elektroforez sistemi

3.1.2.3. PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) Cihazı

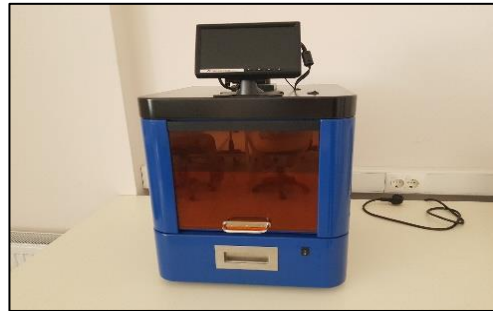
Uygun primerler kullanılarak, istenen DNA bölgelerinin çoğaltılması için Longgene A300 Fast Thermal Cycler PCR cihazı kullanılmıştır (Resim 3.3).



Resim 3.3. Longgene A300 fast thermal cycler PCR cihazı

3.1.2.4. Görüntüleme Cihazı

İzolasyonu yapılmış ve PCR aşamasından geçen örneklerin jel görüntüleri Maestrogen SMU-01 Slider UV Imager cihaz ile yapılmıştır (Resim 3.4).



Resim 3.4. Maestrogen SMU-01 slider UV imager

3.2. Yöntem

3.2.1. Genetik Analizler

3.2.1.1. Saliva ve Kıl Örneklerinin Toplanması

Saliva ve kıl örnekleri Aydın ilinde belirlenen çiftlilerdeki mandalardan alınmış. Örnek alma işlemi, içerisinde EtOH bulunan cryo tüplerle yapılmıştır. Alınan örnekler DNA izolasyonuna kadar -20 °C’de saklanmıştır (Resim 3.5). Saliva örneklerinden DNA elde etme işlemi başarılı olunca kıl örnekleri ihtiyaç halinde kullanılması için -20 °C’de muhafaza edilmiştir.

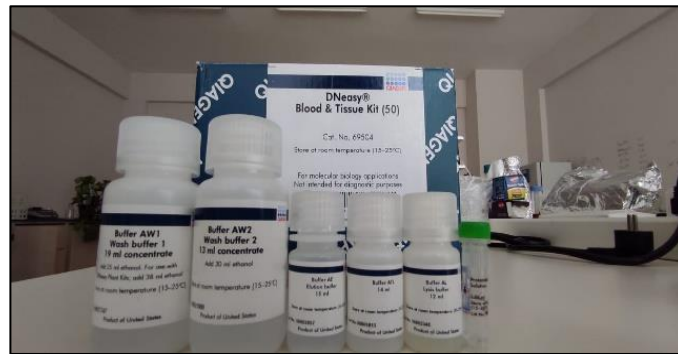


Resim 3.5. Toplanan saliva örnekleri

3.2.1.2. Salivadan DNA İzolasyonu

Alınan saliva örneklerinden DNA izolasyonu QIAGEN Animal Tissues Kit protokülüne göre yapılmıştır (Resim 3.6.) (DNeasy Blood & Tissue Handbook 07/2020).

2. Aşamada örnek materyal saliva olduğu için fiziksel parçalama işlemi yapılmamış doğrudan lysis işlemine başlanmıştır (Ek 1).

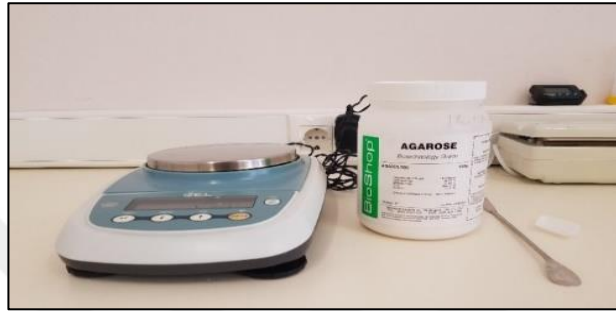


Resim 3.6. QIAGEN DNeasy Blood Tissue Kit

3.2.1.3. Agaroz Jel Elektroforez

Agaroz jel hazırlama:

Agaroz jel hazırlanırken; 0,48 g agaroz için 12 ml 5XTBE üzerine 48 ml distile su eklenerek 60 ml ye tamamlanmıştır (%0,8 V/W). Karışım mikrodalgada ısıtıldıktan sonra soğutulup üzerine 5 µl Etidyum bromür (10 mg/ml) eklenerek polimerizasyon için jel kalıbına dökülmüştür. Çalışmada kullanılan hassas terazi ve agarose Resim 3.7’de gösterilmiştir.



Resim 3.7. Hassas terazi ve agarose

Elektroforez tankı hazırlama:

180 ml 5XTBE üzerine 820 ml distile su eklenerek 900 ml karışım elektroforez tankına boşaltılmıştır. Üzerine 20 µl (10mg/ml) Etidyum bromür eklenerek karıştırılmıştır. Hazırlanan jel polimerize olduktan sonra tarakları çıkartılıp elektroforez tankına yerleştirilmiştir.

Her kuyucuğa 1 µl 6X ükleme tamponu ve 5 µl DNA örneğinden oluşan karışım eklenmiş ve 80 voltta 40 dk yürütülmüştür.

3.2.1.4. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)

Polimeraz zincir reaksiyonu protokolü çizelge 3.2’de verilmiştir.

Çizelge 3.2. Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) protokolü

Aşamalar	Sıcaklık/Zaman	Döngü Sayısı
İlk Denatürasyon	94 °C / 2 dk.	1 Döngü
Denatürasyon	94 °C / 1 dk.	30 Döngü
Annealing	55-65 °C / 1 dk	
Extension	72 °C / 60 sn.	
Final Extension	72 °C / 10 dk.	1 Döngü

3.2.1.5. Kullanılan Mikrosatellit Lokuslarına İlişkin Bilgiler

Çalışmada kullanılan 6 farklı mikrosatellit bölgesi, FAO ve Uluslararası Hayvan Genetiği Derneği (ISAG) tarafından önerilen mikrosatellitlerden; polimorfizm ve heterozigotluk düzeylerinin yüksek olması, farklı kromozom bölgeleri üzerinde bulunmaları, allel sayıları, allel uzunlukları gibi parametreler dikkate alınarak seçim yapılmıştır. Mikrosatellitlerin bilgileri çizelge 3.3’de gösterilmiştir.

Çizelge 3.3. Mikrosatellit belirteçlerin bilgileri

Lokus İsmi	Primer (İleri/Geri)	Allel Genişliği	Bağlanma Sıcaklığı (°C)	Kromozom	GenBank (Accession Number)
CSSM033	İleri: ACTGTGAATGCATGTGTGTGAGC Geri: CCATGATAAGAGTGCAGATGACT	154-175 bp	65 °C	17(17)	U03805
ILSTS033	İleri: TATTAGAGTGGCTCAGTGCC Geri: ATGCAGACAGTTTTAGAGGG	126-138 bp	55 °C	13(12)	-
CSRM060	İleri: AAGATGTGATCCAAGAGAGAGGC Geri: AGGACCAGATCGTGAAAGGCATAG	95-135 bp	60 °C	11(10)	AF232758
CSSM045	İleri: TAGAGGCACAAGCAAACCTAACAC Geri: TTGGAAAGATGCAGTAGAACTCAT	102-122 bp	60 °C	2q(2)	U03830
CSSM057	İleri: GTCGCTGGATAAACAATTTAAAGT Geri: TGTGGTGTTTAACCTTGTAATCT	102-130 bp	60 °C	9(7)	U03840
ILSTS030	İleri: CTGCAGTTCTGCATATGTGG Geri: CTTAGACAACAGGGGTTTGG	146-158 bp	55 °C	2q(2)	L37212

3.2.1.6. PZR Ürünlerinin Agaroz Jelde Yürütülmesi

PZR ile elde edilen DNA bantlarının görüntülenmesi için agaroz jel kullanılmıştır. Agaroz jel tartılmış TBE tamponu içerisinde mikrodalga fırında eritilmiş ve hazır hale getirilmiştir. Daha sonra DNA örnekleri jele yüklenerek yürütme yapılmıştır. Maestrogen SMU-01 Slider UV imager cihaz ile görüntülenmiştir.

3.2.2. Mikrosatellit Analizi ve İstatistiksel Hesaplamalar

3.2.2.1. Mikrosatellit Analizi

Mikrosatellit analizleri Heflin Center for Genomic Science'ta yapılmadan önce standart PZR ile tarafımızca işaresiz pirimerler kullanılarak optimizasyon yapılmıştır. Applied Biosystems 3130 Genetic Analyzer kullanılarak uygun boylarla işaretle (FAM, HEX) pirimerlerle allel uzunlukları tespit edilmiştir.

3.2.2.2. İstatistiksel Analizler

Altı mikrosatellit bölgesine ait veriler popülasyonlar içi ve popülasyonlar arası genetik varyasyonlar, heterozigotluk düzeyleri, Hardy-Weinberg dengesine uyum, Wright'ın F istatistik değerleri, genetik uzaklık hesaplamaları yapılarak Aydın iline ait 3 farklı ilçe popülasyonları incelenmiştir.

3.2.3. Genetik Varyasyon Ölçütleri

3.2.3.1. Allel ve Allel Frekanslarının Hesaplanması

Çalışılan popülasyonlarda mikro uydu bölgelerinde alelik varyasyonun varlığı, yani farklı uzunluklarda alellerin ortaya çıkması, bu popülasyonlarda genetik varyasyonun var olduğunu düşündürmektedir. Bir popülasyonun genetik çeşitliliğini ölçmenin bir yolu, alel frekanslarını hesaplamaktır. Alel frekanslarının hesaplanması, popülasyon genetik çalışmalarında genetik çeşitliliği incelemek için önemlidir, çünkü farklı uzunluklardaki aleller bir popülasyonda farklı oranlarda dağılacaktır. Alel frekansları aşağıdaki denkleme göre hesaplanmıştır (Nei, 1987).

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

X_i: A_i allelinin gen frekansını

n: Popülasyondaki toplam birey sayısını

n_{ii}: A_i allelindeki toplam homozigot birey sayısını

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

Bir popülasyonun genetik çeşitliliğini tanımlamak için kullanılan bir diğer faktör ise; allelik zenginlik (n_A) olarak bilinen lokus başına ortalama alel sayısının belirlenmesidir. Lokus başına ortalama alel sayısı (n_A), çalışılan popülasyonun örneklem büyüklüğünden etkilenir. Bu değer aşağıdaki gibi hesaplanır (Nei, 1987).

$$n_A = \frac{\sum n_{Ai}}{r}$$

n_A : Her bir lokus başına ortalama allel sayısı

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

r : Toplam lokus sayısı

3.2.3.2. Heterozigot Değerlerinin Hesaplanması

Genetik çeşitliliği inceleyen çalışmalarda en önemli parametrelerden biri heterozigotluk derecesinin belirlenmesidir. İncelenen lokus için heterozigotluk, popülasyonda tespit edilen heterozigot bireylerin ortalama yüzdesini temsil eder. Nei (1987) tarafından geliştirilen matematiksel yöntem kullanılarak, her bir lokus için heterozigotluk hesaplaması ve popülasyon düzeyinde heterozigotluk aşağıdaki denklemlere göre yapılabilir.

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

Tez kapsamında beklenen ve gözlenen heterozigotluklar için ortalama heterozigotluk değerleri de hesaplanmış, her popülasyon örneği için allelik ve genetik varyasyon belirlenmiştir.

Hesaplamalarda aşağıdaki formül kullanılmıştır.

$$\text{Gözlenen Heterozigotluk (H}_0\text{)} = \frac{\text{Bir lokus için gözlenen heterozigot birey sayısı}}{\text{Toplam birey sayısı}}$$

3.2.3.3. F İstatistikleri

Akrabalı yetiştirme, bir popülasyondaki homozigot bireylerin sayısındaki artışı ve heterozigot bireylerin sayısındaki azalmayı tanımlamak için kullanılan bir terimdir. Basitçe söylemek gerekirse, akraba bireylerin çiftleşmesi ve bu genotipin yavrularına aktarılması ve

zamanla popülasyonlarındaki heterozigot bireylerin sayısının azalmasıdır (Crow ve Kimura, 1970). Çalışılan popülasyonların herhangi birinde akrabalı yetiştirme olasılığı göz önüne alındığında, akrabalı yetiştirmenin bir ölçüsünü tanımlama ihtiyacı oluşmuş ve "akrabalı yetiştirme katsayısı" terimi ortaya çıkmıştır. Kendilenmiş popülasyonlarda Hardy-Weinberg'den sapmalar gözlenmektedir.

Akrabalık katsayıları için bazı istatistiksel formüller bugün hala geçerlidir (Wright, 1965). Wright'ın F istatistiği, popülasyon yapısını tanımlamak için yaygın olarak kullanılmaktadır (Nagylaki, 1998). Çiftlik hayvanlarının melezlenmesi, popülasyonlarda akrabalı çiftleşmeyi artırır.

Popülasyondaki ilgili bireylerin çiftleşme, akrabalı üreme ve Hardy-Weinberg dengesinden incelenen lokusa sapma, homozigotluk indeksi (F-sabitlenme indeksi) olarak adlandırılır. Sabit indeksler, aynı etnik kökene sahip farklı popülasyonlar arasındaki genetik çeşitliliği incelemek ve popülasyonlar veya ırklar arasındaki farklılıkları tanımlamak için kullanılabilir. Ayrıca Wright'ın formülünün uygulanmasının zor olduğunu savunarak alternatif yöntemler geliştirilmiştir (Cruden, 1949; Plum, 1954; Kudo, 1962; Maruyama ve Yasuda, 1970; Elandt-Johnson, 1971). Alternatif istatistiksel yöntemlerin ortaya çıkmasına rağmen, Wright'ın F-sabitlenme indeksi günümüzde en yaygın kullanılan hesaplama yöntemi olmaya devam etmektedir.

Bu indeksler; FIT, FIS, FST olarak isimlendirilmekte olup, aralarındaki ilişkinin formülü aşağıda verilmiştir.

$$1-F_{IS} = (1-F_{ST}) (1-F_{IT}) \text{ ya da } F_{ST} = (F_{IT} - F_{IS}) / (1 - F_{IS})$$

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

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

F_{ST} ; alt popülasyonlar arası farktır.

F İstatistiksel genetik varyasyonda; analizler, toplam popülasyona, alt gruplara ve bireylere göre yapılabilir. F_{IS} , F_{IT} , F_{ST} değerleri, beklenen ve gözlenen heterozigotluk değerlerine göre belirlenebilir (Nei, 1987).

F_{IT} , çalışılan genel popülasyondaki yakından ilişkili bireyler arasındaki alternatif alellerin ilişkisini tanımlar. Başka bir deyişle, popülasyon düzeyinde ortak bir atadan rastgele iki gametin birleşme olasılığını belirleyen bir değerdir ve tüm bireyleri dikkate

olarak toplam popülasyonda akrabalı yetiştirme kriteridir. Popülasyonun "aile içi üreme katsayısı" olarak tanımlanabilir. Akrabalı yetiştirmenin alt gruplar içindeki etkisi ve alt gruplar arasındaki farklılıkların etkisi dikkate alınarak hesaplanır. F_{IT} değerini hesaplama formülü aşağıda verilmiştir (Özkan, 2005).

$$FIT = (HT - H_0) / HT$$

HT: Toplam popülasyonlardaki heterozigotluk ortalaması (Nei 1987)

H₀: Alt popülasyonlarda gözlenen heterozigotluk ortalaması,

F_{IS} , bir alt popülasyondaki ilgili bireylerdeki homolog aleller arasındaki korelasyonu tanımlar. Ortak bir atadan gelen bir alt popülasyonda iki gametin rasgele birleşmesi olasılığıdır ve alt popülasyondaki akrabalı yetiştirme katsayısıdır. Alt gruplar içindeki Hardy-Weinberg dengesinden sapmaları ölçmek için F_{IS} , alt grup düzeyinde bireylerin akrabalıklarına atıfta bulunur.

F_{IS} değeri negatif ise homozigot fazlalığı, 0'a yakın ise, Hardy-Weinberg dengesinin olduğu, bir pozitif değer var ise, homozigot fazlalık olduğu, 1'e yakın ise saf yetiştirme, 1'den 0'a bir azalma var ise saf yetiştirmeden yavaş yavaş uzaklaştığını gösterir (Özkan, 2005). F_{IS} değerini hesaplama formülü aşağıdaki gibidir (Özkan, 2005).

$$FIS = HS - H_0 / HS$$

HS : Alt popülasyon içinde beklenen heterozigotluk ortalaması

H₀ : Alt popülasyon içinde gözlenen heterozigotluk ortalaması

F_{ST} , alt popülasyonlar arasındaki genetik farklılıkları ölçmek için belirlenen bir değerdir ve çalışılan lokuslara dayalı popülasyonları karşılaştırmak için kullanılır. Bir alt popülasyondan rastgele seçilen iki gametin ortak bir atadan gelme olasılığıdır ve alt popülasyonlar arasındaki genetik çeşitliliğin bir ölçüsüdür. 0 ila 1 arasında bir değer aralığında olup belirlenen değer 1'e ne kadar yakın ise alt popülasyonlar ortak atadan oldukça uzaktır denilebilir. Eğer F_{ST} değeri;

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

FST değerini hesaplamaya yönelik formül aşağıda verilmiştir.

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

H_S: Alt popülasyon içinde beklenen heterozigotluk ortalaması

H_T: Tüm popülasyonlardaki heterozigotluk ortalaması (Nei, 1987)

Hesaplanan F_{IS}, F_{ST} ve F_{IT} değerlerinin istatistiksel olarak anlamlı olup olmadığını belirlemek için permütasyon testi yapılır. Verilere 1000 kez permütasyon yapılmış ve bu permütasyonlar ile F_{IS}, F_{ST} ve F_{IT} değerleri ortaya çıkarılmıŐtır. Çalışmada, permütasyon testindeki her F istatistiği bir hipotezi üstlenir. F_{ST} değerlerinin varsayımı; çalışılan popülasyonlar, çalışılan lokuslara göre birbirinden farklı değildir. F_{IS} ve F_{IT} değerleri; popülasyonun çalışılan lokus için Hardy-Weinberg dengesinde olduğu varsayımıdır. Sonraki yıllarda birçok araŐtırmacı, ilk olarak Wright tarafından nerilen F istatistiğinin farklı örneklem büyüklükleri arasındaki farklılıkları dikkate almadığını belirtmiŐtir. Bu nedenle F istatistiğinin hesaplanma yöntemi ve değerinin yorumlanması konusunda araştırmacılar arasında bazı anlaşmazlıklar bulunmaktadır. Weir ve Cocherham (1984), F_{IT}, F_{ST} ve F_{IS} değerleri yerine sırasıyla F, θ ve f parametrelerini kullanarak F faktöründe bazı ayarlamalar yapmıŐtır. Bu parametreler için hesaplamalar, numune boyutu, heterozigot sıklığı veya popülasyon sayısı dikkate alınmadan yapılmıştır. Ayrıca hesaplanan bu değerler küçük veri kümeleri için uygundur.

3.2.3.4. Irklar Arası Genetik Uzaklıklar Testi

Allel frekans verileri, yakından ilişkili ırkların evrimsel iliŐkilerini aydınlatmak için önemlidir. Bu verileri kullanan genetik mesafe ölçümleri genellikle ırklar arasındaki evrimsel ilişkileri açıklamak için kullanılır. Irklar arasındaki genetik mesafenin ölçümü için NJ-Neighbor Joining Tree yöntemi ve UPGMA yöntemi kullanılmıştır. Bu, UPGMA yönteminde çalışılan popülasyonların aynı evrimsel zamana sahip olduğu kabul edilen bir yöntemdir (Takezaki ve Nei, 1996).

4. BULGULAR

4.1. Allellik Varyasyon

Aydın ilinin farklı ilçelerine ait popülasyonlardan seçilmiş 33 bireyde 6 farklı mikrosatellit lokusu ile çalışılmış ve toplam 41 allel gözlemlenmiştir. Çalışmada en çok allel CSSM045 mikrosatellit lokusunda (11 allel), en az allel ise ILTS033 mikrosatellit lokusunda (4 allel) gözlemlenmiştir.

Popülasyonlarda tespit edilen lokus başına düşen ortalama allel sayıları ve popülasyonlar bazında allel sayıları çizelge 4.1’de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Çalışılan popülasyonlar ve lokuslar bazında gözlenen allel sayıları

	Bozdoğan Ziyaretli 25	Efeler Çiftlikköy 3	Söke Serçin 5	Toplam	Ort./Lokus
CSSM033	4	1	2	7	2,33
ILSTS033	3	1	1	4	1,67
CSRM060	6	1	3	7	3,33
CSSM045	10	2	2	11	4,67
CSSM057	6	1	3	7	3,00
ILSTS030	5	2	2	5	3,00
Toplam	34	8	13	41	
Ort./İrk	5,67	1,33	2,17		

Her bir mikrosatellit bölgesi için gözlenen allel sayılarının popülasyonlara göre dağılımı her bir ırk için gözlenen lokus başına düşen ortalama allel sayıları, çalışılan lokuslar açısından elde edilen ortalama allel sayıları ve çalışılan popülasyonlar açısından elde edilen ortalama allel sayıları bu çizelgede özetlenmiştir.

Popülasyonlarda tespit edilen ortalama allel sayıları 5,67 allel/lokus Bozdoğan Ziyaretli’de çalışılan popülasyonda, 1,33 allel/lokus Efeler Çiftlikköy’de çalışılan popülasyonunda, 2,17 allel/lokus Söke Serçin’de çalışılan popülasyonlarda gözlemlenmiştir. En düşük ortalama allel sayısına sahip olan popülasyonun Efeler Çiftlikköy’de, en yüksek polimorfizm gösteren popülasyonun ise Bozdoğan Ziyaretli popülasyonda olduğu gözlemlenmiştir. Bozdoğan Ziyaretli popülasyonunun allel sayısının yüksekliği çalışılan birey sayısının fazlalığından kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir.

4.2. Heterozigotluk Ölçümleri

İrkların genetik çeşitliliğinin bir ölçütü olan heterozigotluk hesaplamalarında çalışılan mikrosatellit lokusları ve ırklara göre beklenen ve gözlenen heterozigotluk değerleri çizelge 4.2’de verilmiştir.

Popülasyonlarda çalışılan mikrosatellit lokuslarına ait heterozigotluk değerleri incelendiğinde ortalama gözlenen (HO) ve beklenen (HE) heterozigotluk düzeyleri (0,560 ile 0,629) ve (0,568 ile 0,651) değerleri arasında değiştiği gözlemlenmiştir (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.2. Çalışmada gözlenen (HO) ve beklenen (HE) heterozigotluk değerlerinin her bir mikrosatellit lokusu için popülasyonlara dağılımı, lokuslar ve popülasyonlar bazında hesaplanan ortalama gözlenen heterozigotluk düzeyleri

		Bozdoğan Ziyaretli	Efeler Çiftlikköy	Söke Serçin
CSSM033	HO	0,430	0,412	0,425
	HE	0,418	0,409	0,432
ILSTS033	HO	0,604	0,498	0,465
	HE	0,700	0,512	0,506
CSRM060	HO	0,745	0,706	0,654
	HE	0,718	0,568	0,624
CSSM045	HO	0,458	0,734	0,654
	HE	0,602	0,684	0,712
CSSM057	HO	0,780	0,764	0,675
	HE	0,832	0,658	0,733
ILSTS030	HO	0,513	0,657	0,488
	HE	0,636	0,613	0,402
Ort./ırk	HO	0,588	0,629	0,560
	HE	0,651	0,574	0,568

Popülasyonlar açısından en yüksek gözlenen ortalama heterozigotluk değerinin 0,629 ile Efeler Çiftlikköy popülasyonunda, en düşük gözlenen ortalama heterozigotluk değerinin ise 0,560 ile Söke Serçin popülasyonunda olduğu tespit edilmiştir. Çalışılan mikrosatellit bölgeleri bazında incelendiğinde gözlenen ortalama heterozigotluğun CSSM057 lokusunda (0,740) en yüksek, CSSM033 lokusunda (0,422) ise en düşük olduğu belirlenmiştir. Popülasyonlar açısından beklenen heterozigotluk düzeyleri incelendiğinde ise; en yüksek beklenen heterozigotluk değerinin (HE) 0,651 ile Bozdoğan Ziyaretli popülasyonunda olduğu tespit edilmiştir. Söke Serçin popülasyonunda ise 0,568 ile en düşük ortalama beklenen heterozigotluk değeri olduğu görülmektedir. Çalışılan lokuslar bazında beklenen

heterozigotlukların CSSM057 lokusunda (0,741) en yüksek, CSSM033 lokusunda (0,420) ise en düşük değere sahip olduğu gözlemlenmiştir. Irklar bazında ortalama değerler incelendiğinde, beklenen heterozigotluk değerlerinin gözlenen heterozigotluk değerlerinden yüksek olduğu görülmüştür. Lokuslar açısından ortalama değerler incelendiğinde, beklenen heterozigotlukların gözlenen heterozigotluklarla genel olarak benzer olduğu görülmektedir.

4.3. Mikrosatellit Bölgelerinin Popülasyonlarda Görülme Sıklığı ve Allel Uzunlukları

Aydın ilinde 3 farklı ilçeden toplanan manda popülasyonlarında;

CSSM033 isimli mikrosatellit bölgesinde görülen alleller incelendiğinde; Bozdoğan popülasyonunda en sık görülen allelin 128 bç uzunluğunda olduğu, Efeler popülasyonunda 163 bç olduğu, Söke popülasyonunda 218 bç olduğu belirlenmiştir.

ILSTS033 mikrosatellit bölgesine ait sonuçlar incelendiğinde; Bozdoğan, Efeler ve Söke popülasyonlarında en sık görülen allel uzunluklarının 204 bç, 186, 236 bç olduğu, ancak allel frekanslarının farklılık gösterdiği gözlemlenmiştir.

CSRM060 mikrosatellit bölgesine ait sonuçlar incelendiğinde çalışılan popülasyonlarda en sık görülen allel uzunlukları, Bozdoğan, Efeler ve Söke popülasyonları için 182 bç olarak gözlemlenmiş olup, popülasyonlara göre allel frekanslarının değişiklik gösterdiği belirlenmiştir.

CSSM045 mikrosatellit bölgesine ait sonuçlar incelendiğinde çalışılan popülasyonlarda en sık görülen allel uzunlukları, Bozdoğan popülasyonu için 212 bç, Efeler popülasyonu için 176 bç, Söke popülasyonu için 156 bç olduğu gözlemlenmiştir.

CSSM057 mikrosatellit bölgesine ait sonuçlar incelendiğinde çalışılan popülasyonlarda en sık görülen allel uzunlukları, Bozdoğan popülasyonu için 218 bç, Efeler popülasyonu için 324 bç, Söke popülasyonu için 154 bç olduğu gözlemlenmiştir.

ILSTS030 mikrosatellit bölgesine ait sonuçlar incelendiğinde çalışılan popülasyonlarda en sık görülen allel uzunlukları, Bozdoğan popülasyonu için 212 bç, Efeler popülasyonu için 268 bç, Söke popülasyonu için 213 bç olduğu gözlemlenmiştir.

4.4. F İstatistikleri

Çalışmadaki 6 mikrosatellit bölgesine ait verilerden elde edilen F istatistik değerleri incelediğimizde popülasyonların Hardy-Weinberg dengesinde olup olmadığını FIS değerleri ile gözlemlenebilir. Çalışılan popülasyonlara ait F_{IS} değerlerine ait dağılım çizelge 4.3’de gösterilmiştir.

Çizelge 4.3. Çalışılan popülasyonların F_{IS} değerlerine dağılımı

Popülasyon	FIS	Önemlilik
Bozdoğan Ziyaretli	0,0983	Önemli
Efeler Çiftlikköy	0,0654	Önemli
Söke Serçin	0,0789	Önemsiz

Popülasyonlar arası farkın önemli olup olmadığını görmek için F_{ST} değerleri hesaplanmış ve F_{IS} değerleri gibi bunlarında önemlilik testleri yapılmıştır (Çizelge 4.4).

Çizelge 4.4. Popülasyonların ikili karşılaştırılması sonucunda hesaplanan F_{ST} değerleri önemlilik düzeyleri

	BOZDOĞAN	EFELER	SÖKE
BOZDOĞAN	-	0,0123	0,0234
EFELER	-	-	0,0321
SÖKE	-	-	-

4.5. Irklar Arası Genetik Uzaklıklar

4.5.1. Nei Standart Genetik Uzaklık Metodu (DS)

Bu çalışmada 6 farklı mikrosatellit bölgesinin üç farklı manda popülasyonunda çalışılması sonucunda elde edilen allellik verilerinden yola çıkarak, ırkların birbirine olan genetik uzaklık matrisi Nei Standart Genetik Uzaklık Metodu (DS) (Nei, 1972)’na göre hesaplanmıştır (Çizelge 4.5).

Çizelge 4.5. Popülasyonların ikili karşılaştırılması sonucunda hesaplanan standart genetik uzaklık değerleri

	BOZDOĞAN ZİYARETLİ	EFELER ÇİFTLİKKÖY	SÖKE SERÇİN
BOZDOĞAN ZİYARETLİ	-	-	-
EFELER ÇİFTLİKKÖY	0,0203	-	-
SÖKE SERÇİN	0,0124	0,0302	-

Nei'nin standart genetik uzaklık metoduna göre hesaplanan genetik uzaklıklar incelendiğinde; çalışılan ırklar içerisinde en yüksek genetik uzaklık değerinin Söke-Efeler popülasyonları (%0,3) belirlenmiştir. Popülasyonlar arasında en düşük genetik uzaklık değerinin ise Bozdoğan-Söke popülasyonlarında (%0,12) gözlemlenmiştir.

4.5.2. DA Genetik Uzaklık Metodu

Genetik uzaklık metoduna göre hesaplanan sonuçlar çizelge 4.6'da verilmiştir. Nei vd.'nin (1983), DA genetik uzaklık metoduna göre hesaplanan genetik uzaklık değerleri incelendiğinde; çalışılan popülasyonlar içerisinde en yüksek genetik uzaklık değerinin, Söke-Efeler popülasyona ait bireyler arasında (%0,42) olduğu görülmektedir. Irklar arasında en düşük genetik uzaklık değerinin ise Söke-Bozdoğan popülasyona ait bireyler arasında (%0,16) olduğu gözlemlenmiştir (Çizelge 4.6).

Çizelge 4.6. Popülasyonların ikili karşılaştırılması sonucunda hesaplanan DA genetik uzaklık değerleri

	BOZDOĞAN ZİYARETLİ	EFELER ÇİFTLİKKÖY	SÖKE SERÇİN
BOZDOĞAN ZİYARETLİ	-	-	-
EFELER ÇİFTLİKKÖY	0,030	-	-
SÖKE SERÇİN	0,016	0,042	-

5. TARTIŞMA

Bu tez çalışmasında, Aydın ilindeki manda popülasyonlarında mikrosatellit markerler aracılığıyla genetik çeşitliliği belirlemek için, 3 farklı popülasyondan (Söke, Bozdoğan, Efeler) 33 birey örneklenmiştir.

Ülkemizde mikrosatellit markerler kullanılarak mandada yapılan birçok benzer çalışma vardır. Soysal vd. (2007)'nin Ülkemizde bulunan Anadolu mandası üzerinde yapmış oldukları benzer bir çalışmada Marmara Silivri bölgesindeki farklı lokasyonlardan toplamda 40 bireyin örneklenmiş olduğu belirtilmiştir.

Gargani vd. (2010)'nin yapmış oldukları çalışmada ise Türkiye'nin altı farklı ilinden 155 birey örneklenmiştir.

Ünal vd. (2014)'nin Anadolu mandasında yürütmüş oldukları çalışmada Türkiye'nin coğrafi olarak üç farklı bölgesinde yer alan sekiz farklı ilden 56 birey örneklemiştir.

Ünal vd. (2021)'nin son yıllarda yapmış oldukları çalışmada Türkiye'nin altı farklı bölgesinde yer alan 17 farklı ilden 837 birey çalıştıkları belirtilmiştir.

Bu tez çalışmasında örneklenen birey sayısı Aydın'daki manda popülasyonlarının (395) genetik çeşitliliğini tespit etmek için yeterlidir.

Dünyadaki farklı ülkelerde yapılan benzer çalışmalar incelendiğinde, en fazla araştırmanın Asya kıtasında yapıldığı gözlemlenmektedir. Asya kıtası mandan ırkının ana vatanı olarak görülmektedir. Asya kıtası %97,4 ile dünyadaki manda popülasyonlarının neredeyse tamamına ev sahipliği yapmaktadır (FAO, 2020). Bu sebeple dünyada manda ırkı üzerine yapılan çalışmaların en fazla bu kıtada olması normaldir. Asya kıtasında yapılan çalışmalarda genellikle örneklenen birey sayıları da çok fazladır. Bu sayı Avrupa'ya gidildikçe bariz bir şekilde azalmaktadır. Kıtalar arası köprü vazifesi gören ülkemizde de Asya kıtasına oranla yapılan çalışmalarda kullanılan örnekler daha azdır.

Çalışmamızda popülasyonların genetik çeşitliliğini incelemek 6 mikrosatellit belirteç ile çalışılmıştır. Çalışılan mikrosatellit belirteçler, FAO/ISAG tarafından belirlenen daha önce benzer çalışmalarda kullanılan çalışmalar göz önünde bulundurularak lokusların allel içerikleri ile polimorfizm düzeylerine göre belirlenmiştir.

Vijh vd. (2007)'nin Hindistan'daki manda popülasyonlarında yürüttükleri bir çalışmada 527 bireyde çalışılmak üzere 22 mikrosatellit lokusunun kullanıldığı belirtilmiştir. Bukhari vd. (2020)'nin Pakistan manda popülasyonlarında yapmış oldukları başka bir benzer çalışmada ise örneklenen 196 bireyde 12 mikrosatellit bölgesi ile çalışıldığı belirtilmiştir. İncelenen literatürlerde, benzer olan birçok çalışmada farklı sayılarda mikrosatellit markerdan faydalandığı gözlemlenmiştir. Tez çalışmamızda kullanılan mikrosatellit belirteçlerin sayısının, çalışılan birey sayısı ile bağlantısına bakıldığında uygun sayıda olduğu söylenebilir.

Allellik;

Tez çalışmamızda 33 bireyde 6 mikrosatellit belirteç ile çalışılarak toplamda 41 allel gözlemlenmiştir.

Soysal vd. (2007)' yapmış oldukları çalışmada 40 bireye ait örnekler üzerinde çalışılmış, 11 mikrosatellit belirteç kullanılmış ve 27 allel tespit edilmiştir.

Gargani vd. (2010)'nin yapmış olduğu çalışmada ülkemizin altı farklı bölgesinden alınan 155 bireye ait örnekler üzerinde çalışılmış, 26 mikrosatellit belirteç kullanılmış ve 254 allel tespit edilmiştir.

Ünal vd. (2014)'nin ülkemizin üç farklı bölgesinde yaptığı bir çalışmada 56 bireyde 20 mikrosatellit belirteç kullanmış ve toplam 103 allel belirlemiştir.

Ünal vd. (2021)'nin ülkemizde yaptıkları başka bir benzer çalışmada örneklenen 837 bireyde 20 mikrosatellit belirteç ile çalışılmış ve toplamda 190 allel tespit edildiği gözlemlenmiştir.

Dünyadaki yapılan çalışmalar incelendiğinde farklı sayıda mikrosatellit belirteç ve birey sayısı ile yapılan çalışmalarda, çeşitli uzunluklarda allel varlığı gözlemlenmiştir.

Kumar vd. (2006)'nin yaptıkları çalışmada, 383 bireyde 27 mikrosatellit belirteç kullanılmış, 288 allel gözlemlenmiştir.

Kataria vd. (2009)'nin yapmış oldukları çalışmada 48 bireyde, 25 mikrosatellit belirteç kullanılmış ve farklı uzunluklarda 131 allel gözlemlenmiştir. Kumar ve Kataria'nın çalışmaları Asya'da yürütülmüştür ve genetik çeşitliliğin tez çalışmamızdan daha fazla olduğu belirlenmiştir.

Aminafshar vd. (2008)'nin İran'daki manda popülasyonlarında yaptıkları çalışmada 60 bireyde 14 mikrosatellit belirteç kullanmış ve 58 allel bildirmişlerdir.

Yousefi vd. (2019)'nin yine İran'daki mandalarında yapmış oldukları diğer bir çalışmada 200 bireyde 10 mikrosatellit belirteç ile çalışmış ve 59 allel tespit edildiğini bildirilmiştir.

Bukhari vd. (2020)'nin Pakistan'da yapmış oldukları çalışmada 196 bireyde 12 mikrosatellit belirteç ile çalışılmış ve 96 allel tespit edildiği bildirilmiştir.

Çalışmamızda kullanılan belirteçlerin allel sayısı sonuçlarına bakıldığında, lokus başına allel sayısının 5 (ILSTS033) ile 11 (CSSM045) arasında değiştiği gözlemlenmiştir. Yapılan çalışmalar incelendiğinde tez çalışmamızda en düşük polimorfizm oranına sahip olan ILSTS033 lokusunun başka bir çalışmada ise en yüksek polimorfizm oranına sahip lokus olduğu belirlenmiştir (Babar vd., 2009).

Tez çalışmasında ortalama allel sayısının 6,83 olduğu tespit edilmiştir. Bu oran yapılan bazı çalışmalardaki allellik değerleri (4,7 ile 8,73) incelendiğinde arasında (Acosta vd. 2014; Yousefi vd. 2019; Bukhari vd. 2020) bir değer olarak bulunmuş, bazı yapılan çalışmalardaki allellik değerlerinden (11,4 ile 12,57) daha az bir değer olduğu tespit edilmiştir (Gargani vd., 2010).

Tez çalışmasında Aydın ilindeki üç farklı popülasyondan örnekler alınmış, ortalama allel sayıları Efeler Çiftlikköy için; 1,33 allel/lokus, Söke Serçin için; 2,17 allel/lokus ve Bozdoğan Ziyaretli için; 5,67 allel/lokus olduğu tespit edilmiştir.

Soysal vd. (2007) çalışmalarında 11 mikrosatellit kullanmış, ortalama allellik değerlerini 3 ile 9 arasında bulmuşlardır.

Gargani vd. (2010) çalışmalarında 26 mikrosatellit kullanmış, ortalama allellik değerlerini 5,14 ile 9,20 arasında bulmuşlardır.

Ünal vd. (2014)'nin yaptıkları çalışmada 20 mikrosatellit belirteç kullanmış, ortalama allellik değerlerini 3,70 ile 4,35 arasında bulmuşlardır.

Ünal vd. (2021) çalışmalarında 20 mikrosatellit belirteç kullanmış, ortalama allellik değerlerini 5,70 ile 8,80 arasında bulmuşlardır.

Tez çalışmasındaki ortalama allelik değerleri Türkiye’de yapılan diğer çalışmalarla benzerlikler göstermektedir. Dünyada yapılan bazı çalışmalar incelendiğinde ortalama allelik değerlerinin farklı değer aralığında olduğu gözlemlenmiştir. Özellikle Asya’da ki manda popülasyonları çalışmalarında genetik çeşitliliğin daha yüksek olduğu tahmin edilmektedir.

Heterozigotluk;

Tez çalışmasında gözlenen ve beklenen heterozigotluk oranlarının sırayla (0,560 ile 0,629) ve (0,568 ile 0,651) değerleri arasında değiştiiği gözlemlenmiştir. Sonuçlar %5den büyük olduğu için genetik çeşitliliği tahminde uygundur. Çalışılan mikrosatellit bölgeleri incelendiğinde ortalama heterozigotluğun CSSM057 lokusunda (0,740) en yüksek, CSSM033 lokusunda (0,422) ise en düşük olduğu belirlenmiştir. Popülasyonlar arasında en yüksek ortalama heterozigotluk değerinin 0,629 ile Efeler Çiftlikköy popülasyonunda, en düşük gözlenen ortalama heterozigotluk değerinin ise 0,560 ile Söke Serçin popülasyonunda olduğu tespit edilmiştir. Ülkemizde yapılan çalışmalardaki heterozigotluk oranlarıyla benzerlikler taşımaktadır. Ülkemizde batından doğuya gidildikçe mandalarda görülen genetik çeşitlilik düzeyleri artmaktadır. Buna birkaç sebep olarak mandaların geçim kaynağı olarak kullanılması ve Asya kıtasına olan yakınlık. Ülkemiz kıtalar arasında bir köprü görevi gördüğü için geçiş noktalarına yakın yerlerdeki genetik çeşitlilik daha fazla olmuştur.

Türkiye’de;

Soysal vd. (2007) 40 mandada 11 mikrosatellit belirteçle yapmış oldukları çalışmada gözlenen ve beklenen heterozigot değerlerinin sırasıyla 0,550 ile 0,775 ve 0,494 ile 0,815 arasında değişmiş olduğu bildirilmiştir.

Gargani vd. (2010) 155 mandada 26 mikrosatellit belirteçle yapmış oldukları çalışmada gözlenen ve beklenen heterozigot değerlerinin sırayla, 0,50 ile 0,58 ve 0,62 ile 0,81 arasında değişmiş olduğu bildirilmiştir.

Ünal vd. (2014) 56 mandada 20 mikrosatellit belirteçle yapmış oldukları çalışmada gözlenen ve beklenen heterozigot değerlerinin sırayla, 0,5335 ile 0,5491 ve 0,5208 ile 0,5359 arasında değişmiş olduğu bildirilmiştir.

Ünal vd. (2021) 837 mandada 20 mikrosatellit belirteçle yapmış oldukları çalışmada gözlenen ve beklenen heterozigot değerlerinin sırasıyla, 0,61 ve 0,70 olarak bildirmişlerdir.

Dünyada;

Navani vd. (2002) 25 mandada 108 mikrosatellit belirteçle yapmış oldukları çalışmada gözlenen ve beklenen heterozigotluk değerlerini sırayla, 0,31 ile 0,89 olarak bildirmişlerdir.

Arora vd. (2004) 40 mandada 22 mikrosatellit belirteçle yapmış oldukları çalışmada gözlenen ve beklenen heterozigotluk değerlerini sırasıyla, 0,2883 ile 0,8588 ve 0,2568 ile 0,9487 olarak bildirmişlerdir.

Wang vd. (2007) 8 mandada 13 mikrosatellit belirteçle yapmış oldukları çalışmada gözlenen ve beklenen heterozigotluk değerini sırayla, 0,495 ile 0,719 olarak bildirmişlerdir.

Sraphet vd. (2008) 105 mandada 34 mikrosatellit belirteçle yapmış oldukları çalışmada ortalama heterozigotluk değerini 0,165 ile 0,858 arasında bildirmişlerdir.

Zhang vd. (2011) 56 mandada 20 mikrosatellit belirteçle yapmış oldukları çalışmada gözlenen ve beklenen heterozigotluk değerini sırasıyla 0,367 ile 0,617 ve 0,353 ile 0,651 olarak bildirmişlerdir.

Radhika vd. (2021) 30 mandada 25 mikrosatellit belirteçle yapmış oldukları çalışmada gözlenen ve beklenen heterozigotluk değerini sırayla 0,5057 ile 0,9830 ve 0,7567 ile 0,9628 olarak bildirmişlerdir.

F istatistikleri;

Tez çalışmasında F_{IS} değerlerinin 0,0654 (Efeler Çiftlikköy) ile 0,0983 (Bozdoğan Ziyaretli) arasında olduğu belirlenmiştir. F_{IS} sayısı 0'a yaklaştıkça homozigotluk artmakta genetik çeşitlilik ise azalmaktadır. Bozdoğan Ziyaretli popülasyonunda homozigotluk fazlalığının örneklerin alındığı yerlerin birbirine yakınlığı, alınan örneklerin genellikle aynı birliğe bağlı olarak yetiştirildiği, aile işletmelerinden olduğu bireyler arasında bilinçsizce çiftleşme gerçekleştirildiğinden kaynaklı olabileceği tahmin edilmektedir.

Gargani vd. (2010) çalışmalarında F_{IS} değerini 0,08 ile 0,30) arasında bulmuş Homozigotluğun fazla olduğu bireylerin bilinçsiz ve akrabalı yetiştirmeden kaynaklanabileceği ve bunun yanında işletmelerde erkek mandaların fazla olmasından kaynaklı olabileceği tahmin edilmektedir. Tez çalışmamızda Bozdoğan Ziyaretli bölgesinde ki manda popülasyonlarında da akrabalı yetiştirmeler göz önüne alındığında çalışmalar arasında benzerlik görülmektedir.

Tez çalışmasında popülasyonlar arası farkın önemliliğini kontrol etmek için F_{ST} hesaplamaları yapılmıştır. Hesaplamalara göre F_{ST} değerleri 0,0123 ile 0,0321 arasında bulunmuştur. Değerler 0 ile 0,05 arasında olduğu için genetik farklılaşmanın çok az olduğu söylenebilir.

Gargani vd. (2010) çalışmalarında F_{ST} hesaplamaları yapmış ve hesaplamalara göre F_{ST} değerleri 0,005 ile 0,123 arasında bulunmuştur. Tez çalışmasına kıyasla F_{ST} değeri 1'e yakın bulunmuş ve bireylerin ortak atadan gelme ihtimalinin az olduğu yorumu yapılmıştır.

Joshi vd. (2012) çalışmalarında F_{ST} hesaplamaları yapmış ve hesaplamalara göre F_{ST} değerleri ortalama 0,092 olarak bulunmuştur. Tez çalışmasına göre bu çalışma Asya kıtasında yapıldığı için Asya kıtasındaki genetik farklılaşmalar daha yüksek olarak görülmüştür.

Yousefi vd. (2019) çalışmalarında F_{ST} hesaplamaları yapmış ve hesaplara göre F_{ST} değeri ortalama 0,01 olarak bulunmuştur. Genetik farklılığın az olduğu gözlemlenmiştir. Tez çalışmasıyla benzerlikler görülmektedir.

Nei Standart Genetik Uzaklık Metodu;

Tez çalışmasında hesaplanan genetik uzaklıklara baktığımızda popülasyonlar arasındaki en yüksek genetik uzaklık Söke Serçin ile Efeler Çiftlikköy popülasyonları arasında (0,0302) arasında görülmüştür. En düşük genetik uzaklık ise Söke Serçin ile Bozdoğan Ziyaretli popülasyonları arasında (0,0124) görülmüştür.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Araştırmalara göre dünyamızda yarım milyondan daha fazla insan beslenme sıkıntısı çekmektedir. Bu sıkıntıda her yıl tarımsal üretimdeki azalmalar ve hızla artan insan nüfusunun payı fazladır. Bunun yanı sıra ucuz ve kolay ulaşılabilen, çevreye zarar vermeyen; organik ürünlere olan talepte de bir artış söz konusudur. Mandalar, çoğunlukla sığırların yaşayamadığı koşullarda yaşayan, kaba yemleri dahi kaliteli ürüne çevirebilen, süt verimleri yüksek hayvanlar olması sebebiyle bu sıkıntıda önemli bir besin kaynağı olarak öne çıkmaktadır. Dünyada her geçen yıl manda sayısında bir artış yaşanırken ülkemizde 1961 yılından bu yana bir azalma söz konusudur. Ülkemizde manda yetiştiriciliği genellikle küçük aile işletmelerinde yapılmaktadır. Ülkemizde manda varlığı en yüksek bölge Karadeniz, en yüksek manda varlığında sahip il ise Samsun'dur. Aydın manda varlığı bakımından ülkemizde 50. sıradadır. Türkiye'de mandaların hak ettiği değeri tekrar görmesi için öncelikle korunmaları, melezleme ya da seleksiyona tabi tutularak ıslah edilmeleri bu yollarla verimlerinin de artırılması gerekmektedir. Moleküler çalışmalar genetik içerik açısından popülasyonlar hakkında bilgi vererek yerli ırkların korunması sürecinde genetik yapının incelenmesine katkıda bulunacaktır. Böylece hangi popülasyonların birbirine benzediği, hangilerinin farklı ve özgün olduğu hakkında bir ön bilgi elde edilecektir. Çiftlik hayvan popülasyonları arasındaki ilişkilerin analizi için mikrosatellitler önerilmektedir.

Türkiye'de genetik çeşitlilik alanında yapılan çalışmalar oldukça azdır. Bu çalışma Aydın ilinde üç farklı popülasyondan (Bozdoğan Ziyaretli, Efeler Çiftlikköy, Söke Serçin) toplam 33 manda ile yapılmış ve 6 mikrosatellit belirteç (CSSM033, ILSTS033, CSRM060, CSSM045, CSSM057) kullanılmıştır. Çalışma Aydın ilindeki mandalarda genetik çeşitlilik açısından ilktir. Çalışmada en çok allel CSSM045 mikrosatellit lokusunda (11 allel), en az allel ise ILSTS033 mikrosatellit lokusunda (4 allel) gözlemlenmiştir. Ortalama allel sayıları Bozdoğan Ziyaretli'de 5,67, Söke Serçin'de 2,17 ve Efeler Çiftlikköy'de 1,33 olarak hesaplanmıştır. Popülasyonlar açısından heterozigotluk değeri incelendiğinde en yüksek 0,629 ile Efeler Çiftlikköy popülasyonunda, en düşük ise 0,560 ile Söke Serçin popülasyonunda tespit edilmiştir.

Aydın ili manda yetiştiriciliğine daha geniş kapsamlı daha fazla moleküler belirteç kullanılan ve daha fazla sayıda popülasyonun çalışıldığı bir proje ile destek verebilir. Manda dayanıklılık, ekonomik, et ve süt katkısı nedeniyle önemli bir gelir kaynağı olmasından dolayı bu tür çalışmalar artırılarak desteklenmelidir.

KAYNAKLAR

- Abdelmanova, A. S., Kharzinova, V. R., Volkova, V. V., Mishina, A. I., Dotsev, A. V., Sermiyagin, A. A., ... Zinovieva, N. A. (2020). Genetic diversity of historical and modern populations of Russian cattle breeds revealed by microsatellite analysis. *Genes*, 11(8), 940. doi:10.3390/genes11080940
- Acosta, A., Uffo, O., Sanz, A., Obregón, D., Ronda, R., Osta, R., ... Zaragoza, P. (2014). Genetic characterization of Cuban water buffalo population using microsatellite DNA markers. *Buffalo Bull*, 33(1), 101-106.
- Ağaoğlu, Ö. K. (2010). *Türkiye'deki bazı yerli keçi ırklarında mikrosatellit polimorfizminin belirlenmesi* Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Ağaoğlu, Ö. K. ve Ertuğrul, O. (2010). Mikrosatellitlerin önemi ve kullanım alanları. *VeterinerHekimler Derneği Dergisi*, 81(1), 39-43.
- Akyüz, B., Arslan, K., İlgar, E.G. (2017). Türkiye'de Yetiştirilen Anadolu Mandalarında Butirofilin (BTN1A1) Gen Polimorfizminin HaeIII Restriksiyon Enzimi ile Araştırılması. *Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 14(1), 11-16.
- Aminafshar, M., Amirinia, C., Torshizi, R. V. (2008). Genetic diversity in buffalo population of guilan using microsatellite markers. *Journal Animal Veterinary Advances*, 7, 1499-1502.
- Arora, R., Lakhchaura, B. D., Prasad, R. B., Tantia, M. S., Vijh, R. K. (2004). Genetic diversity analysis of two buffalo populations of northern India using microsatellite markers. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 121(2), 111-118.
- Atasever, S. ve Erdem, H. (2008). Manda yetiştiriciliği ve Türkiye'deki geleceği. *Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi*, 23(1), 59-64.
- Aytekin, İ., Özdil, F., Zulkadir, U., Boztepe, S., Sariyel, V. (2011). Evaluation of ISSR markers for genetic diversity analysis in Anatolian Water Buffaloes. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91, 1957-1962. doi:10.1002/jsfa.4397
- Babar, M. E., Hussain, T., Nadeem, A., Jabeen, R., Javed, M. (2009). Genetic characterization of Azakheli buffalo breed of Pakistan using microsatellite DNA markers. *Pakistan Journal of Zoology*, 9, 361-6.

- Baltimore, D. (2001). Our genome unveiled. *Nature*, 409(6822), 815-816.
- Band, M. R., Larson, J. H., Rebeiz, M., Green, C. A., Heyen, D. W., Donovan, J., ... Lewin, H. A. (2000). An ordered comparative map of the cattle and human genomes. *Genome research*, 10(9), 1359-1368. doi:10.1101/gr.145900.
- Bennett, P. (2000). Demystified...: Microsatellites. *Molecular Pathology*, 53(4), 177.
- Berik, N. (2002). *İşlenmiş ve işlenmemiş su ürünlerinin elektroforez yöntemi ile cinslerinin tanımı* Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Beuzen ND., Stear MJ., Chang KC. (2000). Molecular Markers and Their Use In Animal Breeding. *Veterinary journal*, 160, 42-52. doi:10.1053/tvj.2000.0468
- Bhuyan D K., Sangwan M. L., Gole V.C., Sethi R. K. (2010) Studies on DNA Fingerprinting In Murrah Buffaloes Using Microsatellite Markers. *Indian Journal of Biotechnology* 9, 367-370.
- Bilal, M.Q., Suleman, M., Raziq, A. (2006). Buffalo: Black Gold of Pakistan. *Livestock Res. For Rural Development*, 18(9), 128.
- Botstein, D., White, R. L., Skolnick, M., Davis, R. W. (1980). Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *American journal of human genetics*, 32(3), 314.
- Bovenhuis, H., Van Arendonk, J. A. M., Davis, G., Elsen, J. M., Haley, C. S., Hill, W. G., ... Nicholas, F. W. (1997). Detection and mapping of quantitative trait loci in farm animals. *Livestock Production Science*, 52(2), 135-144.
- Bruford MW., Bradley DG., Luikart G. (2003). DNA Markers Reveal The Complexity of Livestock Domestication. *Nat. Rev. Genet.*, 4(11), 900– 910. doi:10.1038/nrg1203
- Bukhari, A., Ahmed, N., Khan, F., Shafique, M., Sahi, A. S. (2020). Assessment of genetic diversity and genetic characterization of Nili Ravi buffalo breed utilizing microsatellite markers. *Advancements in Life Sciences*, 7(4), 277-280.
- Cañón, J., Alexandrino, P., Bessa, I., Carleos, C., Carretero, Y., Dunner, S., ... Moazami-Goudarzi, K. (2001). Genetic diversity measures of local European beef cattle breeds for conservation purposes. *Genetics Selection Evolution*, 33(3), 311-332.

- Cerriotti G., Caroli A., Rizzì R., Crimella C. (2003). Genetic Relationships Among Taurine (*Bos Taurus*) and Zebu (*Bos Indicus*) Populations As Revealed By Blood Groups And Blood Proteins. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 120, 57–67. doi:10.1046/j.1439-0388.2003.00379.x
- Crow, J. F. ve Kimura, M. (1970). An introduction to population genetics theory. *An introduction to population genetics theory*, New York, ABD
- Cruden D. (1949). The computation of inbreeding coefficients for closed populations. *The Journal of heredity*, 40(9), 248-251. doi:10.1093/oxfordjournals.jhered.a106039
- Cseke, L. J., Kirakosyan, A., Kaufman, P. B., Westfall, M. V. (2011). *Handbook of molecular and cellular methods in biology and medicine*. (3. bs., ss. 20-23). CRC press. doi:10.1201/b11351
- Cymbron, T., Freeman, A. R., Isabel Malheiro, M., Vigne, J. D., Bradley, D. G. (2005). Microsatellite diversity suggests different histories for Mediterranean and Northern European cattle populations. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 272(1574), 1837-1843. doi:10.1098/rspb.2005.3138
- Demirci M., Yüksel A.N., Soysal M.İ. (1991). Memeden Mamül Maddeye Süt. *Hayvancılık Serisi, 1*, 364.
- Demiryürek, K. (2004). Dünya ve Türkiye’de organik tarım. Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 8(3-4), 63-71.
- Elandt-Johnson, R. C. (1971). *Probability models and statistical methods in genetics*. New York, London, Sydney, Toronto: John Wiley & Sons, Inc.
- Ellegren, H., (1995). *Genome Analysis with Microsatellite Markers* Ph.D. Thesis, Swedish University Agricultural Sciences, Sweden.
- Ellegren, H., Moore, S., Robinson, N., Byrne, K., Ward, W., Sheldon, B. C. (1997). Microsatellite evolution--a reciprocal study of repeat lengths at homologous loci in cattle and sheep. *Molecular Biology and Evolution*, 14(8), 854-860.
- Elmaci C., Oner Y., Ozis S., Tuncel E. (2007). RAPD Analysis of DNA Polymorphism In Turkish Sheep Breeds. *Biochemical Genetics*, 45, 691-696. doi:10.1007/s10528-007-9106-x

- Erhardt, G. ve Weimann, C. (2007). Use of molecular markers for evaluation of genetic diversity and in animal production. *Latin American Archives of Animal Production*, 15(5).
- Food and Agriculture Organization [FAO]. (2011). *FAO Tarafından Çiftlik Hayvanlarında Kullanımı Uygun Görülen Mikrosatellit İşaretleyiciler*. <https://www.fao.org/3/i2413e/i2413e00.pdf> [Erişim Tarihi: 26/06/2019]
- Food and Agriculture Organization [FAO]. (2020). *Hayvancılık Ürünleri*. <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL> [Erişim Tarihi: 20.09.2020]
- Gargani, M., Pariset, L., Soysal, M. I., Özkan, E., Valentini, A. (2010). Genetic variation and relationships among Turkish water buffalo populations. *Animal genetics*, 41(1), 93-96. doi:10.1111/j.1365-2052.2009.01954.x
- Geldermann, H. (1990). Applications of genome analysis in animal breeding. *Applications of genome analysis in animal breeding*, 291-323.
- Glowatzki-Mullis, M. L., Gaillard, C., Wigger, G., Fries, R. (1995). Microsatellite-based parentage control in cattle. *Animal Genetics*, 26(1), 7-12. doi:10.1111/j.1365-2052.1995.tb02612.x
- Hamrick, J. L. ve Godt, M. W. (1990). Allozyme diversity in plant species. *Plant population genetics, breeding, and genetic resources*, 43-63.
- Hearne, C. M., Ghosh, S., Todd, J. A. (1992). Microsatellites for linkage analysis of genetic traits. *Trends in genetics*, 8(8), 288-294. doi:10.1016/0168-9525(92)90256-4
- Heinrichs, E.A., Medrano, F.G., Rapusas, H.R. (1985) *Genetic evaluation for insect resistance in rice*. International Rice Research Institute, Manila, Philippines.
- Henderson CR. (1984). Applications of Linear Models In Animal Breeding. *University of Guelph*. Guelph, Canada.
- Hindleder S., Kaupé B., Wassmuth R., Janke A. (2002). Molecular Analysis of Wild and Domestic Sheep Questions Current Nomenclature And Provides Evidence for Domestication From Two Different Subspecies. *Proceedings. Biological sciences*, 269(1494): 893–904. doi:10.1098/rspb.2002.1975

- Hoffmann, I., Marsan, P. A., Stuart-Barker, J., Cothran, E. G., Hanotte, O., Lenstra, J. A., ...Simianer, H. (2004). New MoDAD marker sets to be used in diversity studies for the major farm animal species: recommendations of a joint ISAG/FAO working group.
- Honda, T., Fujii, T., Nomura, T., Mukai, F. (2006). Evaluation of genetic diversity in Japanese Brown cattle population by pedigree analysis. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 123(3), 172-179. doi:10/1111/j.1439-0388.200600586.x
- İvgin, R., ve Bilgen, G. (2002). Estimation of genetic distance in meat and layer pure lines using randomly amplified polymorphic DNA. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, 26(5), 1117-1120.
- Jeffreys, A. J., Wilson, V., Thein, S. L. (1985). Individual-specific 'fingerprints' of human DNA. *Nature*, 316(6023), 76-79.
- Joshi, J., Salar, R. K., Banerjee, P., Sharma, U., Tantia, M. S., Vijh, K. R. (2012). Comparative evaluation of Murrah breeds with buffaloes of Indo-Gangetic Plains. *DHR-IJBLS*, 3(1), 93-105.
- Kang, B. T., Kim, K. S., Min, M. S., Chae, Y. J., Kang, J. W., Yoon, J., ... Lee, H. (2009). Microsatellite loci analysis for the genetic variability and the parentage test of five dog breeds in South Korea. *Genes & genetic systems*, 84(3), 245-251. doi:10.1266/ggs.84.245
- Kaplan, S. (2018). Characterization of bubaline leptin gene polymorphism in Anatolian Buffaloes by using PCR-RFLP method. *Alinteri Journal of Agriculture Science*, 33(1), 93-97.
- Kataria, R. S., Sunder, S., Malik, G., Mukesh, M., Kathiravan, P., Mishra, B. P. (2009). Genetic diversity and bottleneck analysis of Nagpuri buffalo breed of India based on microsatellite data. *Russian journal of genetics*, 45(7), 826-832.
- Kévin, K. S., Charles, D. G. K., Valentine, Y. G., Souleymane, S., Maurice, K., Issaka, Y. A. K. (2019). Genetic diversity of Benin cattle populations using microsatellite markers. *International Journal of Animal Science and Technology*, 3(1), 7-19. doi:10.11648/j.ijast.20190301.12

- Kinghorn, B., Van Arendonk, J. A. M., & Hetzel, J. (1994). Detection and use of major genes in animal breeding. *AgBiotech news and information*, 6(12), 297N-302N.
- Konca, M.A. (2016). *Anadolu mandalarında büyüme hormonu salgılatıcı hormon, büyüme hormonu ve prolaktin hormonu gen polimorfizminin araştırılması* Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kayseri
- Kök, S. (1996). *Marmara ve Karadeniz Bölgesinin Çeşitli İllerindeki Manda Populasyonlarının Kimi Morfolojik ve Genetik Özellikleri Üzerinde Bir Araştırma* Doktora Tezi, Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ.
- Kudo, A. (1962). A method for calculating the inbreeding coefficient. *American journal of human genetics*, 14(4), 426.
- Kumar, S., Gupta, J., Kumar, N., Dikshit, K., Navani, N., Jain, P., Nagarajan, M. (2006). Genetic variation and relationships among eight Indian riverine buffalo breeds. *Molecular ecology*, 15(3), 593-600. doi:10.1111/j.1365-294X.2006.02837.x
- Kurar, E. (2001). *Comparative physical and linkage mapping of bovine chromosome 24 with human chromosome 18*. The University of Wisconsin-Madison.
- Küçükkebağcı, M. ve Şahin, M. (2002). *Dünyada ve Türkiye’de Mandacılık Semineri*. Kocatepe Tarımsal Araştırma Enstitüsü, Afyon.
- Künzler, P., Matsuo, K., Schaffner, W. (1995). Pathological, physiological, and evolutionary aspects of short unstable DNA repeats in the human genome. *Biological Chemistry Hoppe-Seyler*, 376(4), 201-224.
- Lara, M. A. C., Gama, L. T., Bufarah, G., Sereno, J. R. B., Celegato, E. M. L., De Abreu, U. P. (2002). Genetic polymorphisms at the k-casein locus in Pantaneiro cattle. *Archivos de zootechnia*, 51(194), 99-105.
- Lin C.Y., Sabour M.P., Lee A.J. (1992). Direct Typing to Milk Proteins As An Aid for Genetic Improvement of Dairy Bulls and Cows. *Animal Breeding Abstracts*, 60, 1-10.
- Liu BH. (1998). *Statistical Genomics: Linkage, Mapping, and QTL Analysis*. CRC Press LLC, New York, USA.

- Ligda, D.J. (1998). *The Water Buffalo, New Prospects for an Under Utilized Animal Production Naturel Academy*. <http://ww2.netnitco.net/users/djligda/waterbuf.htm> [Erişim Tarihi: 15.12.2020]
- Lirón, J. P., Peral-García, P., Giovambattista, G. (2006). Genetic characterization of Argentine and Bolivian Creole cattle breeds assessed through microsatellites. *Journal of Heredity*, 97(4), 331-339. doi:10.1093/jhered/esl003
- Loftus, R. T., MacHugh, D. E., Bradley, D. G., Sharp, P. M., Cunningham, P. (1994). Evidence for two independent domestications of cattle. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 91(7), 2757-2761.
- Luikart, G., Gielly, L., Excoffier, L., Vigne, J. D., Bouvet, J., Taberlet, P. (2001). Multiple maternal origins and weak phylogeographic structure in domestic goats. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98(10), 5927-5932.
- Maruyama, T. ve Yasuda, N. (1970). Use of graph theory in computation of inbreeding and kinship coefficients. *Biometrics*, 209-219. doi:10.2307/2529069
- Maymone, B. (1942). Die Büffelzucht in Italien. *Zeitschrift für Tierzüchtung und Züchtungsbiologie*, 52(1), 1-44. doi:10.1111/j.1439-0388.1942.tb01415.x
- Metry, G. H. (1996). The main dairy animal in Egypt. *Academy of Scientific and Technology*, 39.
- Metta, M., Kanginakudru, S., Gudiseva, N., Nagaraju, J. (2004). Genetic characterization of the Indian cattle breeds, Ongole and Deoni (*Bos indicus*), using microsatellite markers—a preliminary study. *BMC genetics*, 5(1), 1-5. doi:10.1186/1471-2156-5-16.
- Mitra, A., Yadav, B. R., Ganai, N. A., Balakrishnan, C. R. (1999). Molecular markers and their applications in livestock improvement. *Current Science*, 77(8), 1045-1053.
- Molaei, V., Osfoori, R., Nasab, M. E., Qanbari, S. (2009). Genetic relationships among six Iranian indigenous sheep populations based on microsatellite analysis. *Small Ruminant Research*, 84(1-3), 121-124. doi:10.1016/j.smallrumres.2009.05.004
- Moxon, E. R., ve Wills, C. (1999). DNA microsatellites: agents of evolution?. *Scientific American*, 280(1), 94-99.

- Muir, W. M., Wong, G. K. S., Zhang, Y., Wang, J., Groenen, M. A., Crooijmans, R. P., ... Cheng, H. H. (2008). Genome-wide assessment of worldwide chicken SNP genetic diversity indicates significant absence of rare alleles in commercial breeds. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *105*(45), 17312-17317. doi:10.1073_pnas.0806569105
- Mullis K.B. ve Faloona F. (1987). Specific Synthesis of DNA In Vitro Via Polymerase Chain Reaction. *Methods Enzymol*, *155*, 350–355. doi:10.1101/SQB.1986.051.01.032
- Nagarajan, M., Kumar, N., Nishanth, G., Haribaskar, R., Paranthaman, K., Gupta, J., ...Kumar, S. (2009). Microsatellite markers of water buffalo, *Bubalus bubalis*-development, characterisation and linkage disequilibrium studies. *BMC genetics*, *10*(1), 1-7. doi:10.1186/1471-2156-10-68
- Nagylaki, T. (1998). Fixation indices in subdivided populations. *Genetics*, *148*(3), 1325-1332. doi:10.1093/genetics/148.3.1325
- Navani, N., Jain, P. K., Gupta, S., Sisodia, B. S., Kumar, S. (2002). A set of cattle microsatellite DNA markers for genome analysis of riverine buffalo (*Bubalus bubalis*). *Animal genetics*, *33*(2), 149-154.
- Negrini, R., Nijman, I. J., Milanesi, E., Moazami-Goudarzi, K., Williams, J. L., Erhardt, G., ... (2007). European Cattle Genetic Diversity Consortium. Differentiation of European cattle by AFLP fingerprinting. *Animal Genetics*, *38*(1), 60-66.
- Nei, M. (1987). *Molecular evolutionary genetics*. Columbia University Press.
- Nei, M., Tajima, F., Tateno, Y. (1983). Accuracy of estimated phylogenetic trees from molecular data. *Journal of molecular evolution*, *19*(2), 153-170.
- Orita, M., Iwahana, H., Kanazawa, H., Hayashi, K., Sekiya, T. (1989). Detection of polymorphisms of human DNA by gel electrophoresis as single-strand conformation polymorphisms. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *86*(8), 2766-2770.
- Oysun, G. (1987). Süt Kimyası ve Biyokimyası. *Ondokuz Mayıs Üniversitesi Yayınları*. *18*, 194.

- Özkan, E. (2005). *Türkiye’de yetiştirilen yerli ve kültür sığır ırklarının genetik yapılarının mikrosatelitler ile incelenmesi* Doktora Tezi, Trakya Üniversitesi, Tekirdağ.
- Özşensoy Y. ve Kurar E. (2012). Marker Sistemleri ve Genetik Karakterizasyon Çalışmalarında Kullanımları. *Journal of Cell and Molecular Biology*, 10(2), 11- 19
- Plum, M. (1954). Computation Of Inbreeding And Relationship Coefficients: In Populations with a Relatively Small Number of Different Male Ancestors. *Journal of Heredity*, 45(2), 92-94
- Radhika, G., Aravindakshan, T. V., Anilkumar, K., Manoj, M., Thomas, S. (2021). Genetic diversity analysis of cattle genetic groups of Kerala state using microsatellite data. *Animal Biotechnology*, 1-9. doi:10.1080/10495398.2021.2014857
- Ramel, C. (1997). Mini-and microsatellites. *Environmental Health Perspectives*, 105(4), 781-789. doi:10.1289/ehp.97105s4781
- Rhodes, M., Straw, R., Fernando, S., Evans, A., Lacey, T., Dearlove, A., ... Brown, S. D. (1998). A high-resolution microsatellite map of the mouse genome. *Genome Research*, 8(5), 531-542. doi:10.1101/gr.8.5.531
- Saeed, A. F., Wang, R., Wang, S. (2016). Microsatellites in pursuit of microbial genome evolution. *Frontiers in microbiology*, 6, 1462. doi:10.3389/fmicb.2015.01462
- Schwerin M., Brockmann G., Vanselow J., Seyfert H.M. (1995). Perspectives of Molecular Genome Analysis In Livestock Improvement. *Archiv fur Tierzucht*, 38, 21-31.
- Smigielski, E. M., Sirotkin, K., Ward, M., Sherry, S. T. (2000). dbSNP: a database of single nucleotide polymorphisms. *Nucleic acids research*, 28(1), 352-355.
- Sonstegard, T. S., Van Tassell, C. P., Ashwell, M. S. (2001). Dairy cattle genomics: Tools to accelerate genetic improvement?. *Journal of Animal Science*, 79(suppl_E), E307-E315. doi:10.2527/jas2001.79E-SupplE307x
- Soysal, İ., Kök, S., Gürcan, E. K. (2005). Mandalarda alyuvar potasyum polimorfizmi üzerine bir araştırma. *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 2(2), 189-193.

- Soysal, M. I., Ozkan, E., Kok, S., Occidente, M., Tuna, Y. T., Gurcan, E. K., Matassino, D. (2007). Genetic characterization of indigenous anatolian water buffalo breed using microsatellite dna markers. *Italian Journal of Animal Science*, 6(sup2), 409-412. doi:10.4081/ijas.2007.s2.409
- Soysal, M. İ. (2006). *Manda Ürünleri ve Üretimi* Ders Notları, Tekirdağ Üniversitesi, Tekirdağ.
- Soysal, M. İ. (2009). *Manda Ürünleri ve Üretimi* Ders Notları, Tekirdağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi, ISBN, (978-9944), 5405-3.
- Sraphet, S., Moolmuang, B., Na-Chiangmai, A., Panyim, S., Smith, D. R., Triwitayakorn, K. (2008). Use of cattle microsatellite markers to assess genetic diversity of Thai Swamp buffalo (*Bubalus bubalis*). *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 21(2), 177-180.
- Sukla, S., Yadav, B. R., Bhattacharya, T. K. (2006). Characterization of Indian riverine buffaloes by microsatellite markers. *Asian-australasian journal of animal sciences*, 19(11), 1556-1560. doi:10.5713/ajas.2006.1556
- Şekerden, Ö. (2001). Büyükbaş hayvan yetiştirme (Manda yetiştiriciliği). *Temiz Yürek Ofset Matbaacılık Antakya-Hatay*.
- Takezaki, N. ve Nei, M. (1996). Genetic distances and reconstruction of phylogenetic trees from microsatellite DNA. *Genetics*, 144(1), 389-399. doi:10.1093/genetics/144.1.389
- Tapio, M., Ozerov, M., Tapio, I., Toro, M. A., Marzanov, N., Çinkulov, M., ... Kantanen, J. (2010). Microsatellite-based genetic diversity and population structure of domestic sheep in northern Eurasia. *BMC genetics*, 11(1), 1-11. doi:10.1186/1471-2156-11-76
- Tekerli, M., Altuntaş, A., Birdane, F., SARIMEHMETOĞLU, O., Doğan, İ., Bozkurt, Z., ... Çelikeloğlu, K. (2016). Farklı bölge orijinli Anadolu Mandalarından oluşturulan bir sürüde verim özellikleri, beden ölçüleri ve biyokimyasal polimorfizm yönünden ıslah olanaklarının karşılaştırmalı belirlenmesi: Laktasyon özellikleri ve genetik polimorfizm. *Lalahan Hayvancılık Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 56(1), 7-12.

- Toparslan, E. (2015). *Kızılırmak Deltası'nda yetiştirilen Anadolu mandalarının PRL, CSN3 ve PIT-1 genleri bakımından genotiplerinin PCR-RFLP yöntemi ile belirlenmesi* Yüksek Lisans Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun
- Trinderup, M., Jørgensen, J. N., Hansen, M. (1999). Conservation considerations on Danish Shorthorn Cattle using pedigree analysis. *Animal Genetic Resources/Resources génétiques animales/Recursos genéticos animales*, 26, 27-33. doi:10.1017/S101423390001164
- Troy, C. S., MacHugh, D. E., Bailey, J. F., Magee, D. A., Loftus, R. T., Cunningham, P., ... Bradley, D. G. (2001). Genetic evidence for Near-Eastern origins of European cattle. *Nature*, 410(6832), 1088-1091. doi:10.1038/35074088
- Türkiye İstatistik Kurumu [TÜİK]. (2021). *Türkiye İstatistik Kurumu Hayvancılık İstatistikleri*.
[http://www.tuik.gov.tr/PreHaberBultenleri.doid=1979PreistatistikTablo.doista_b_id=140, 141 ve 487](http://www.tuik.gov.tr/PreHaberBultenleri.doid=1979PreistatistikTablo.doista_b_id=140,141ve487). [Erişim tarihi: 23/06/2021]
- Uslu, N. T. (1970). *Afyon Bölgesi Mandalarının Çeşitli Özellikleri ile Rasyonel ve Köy Şartlarında Süt Verimleri Üzerinde Mukayeseli Araştırmalar* Doktora Tezi, Afyon Yem Bitkileri Üretim ve Zootekni Deneme İstasyonu, İzmir
- Ün, C., Wimmers, K., Ponsuksili, S., Schmoll, F., Schellander, K. (2000). Mikrosatellitler ve kullanım alanları. *Hayvansal üretim*, 41(1).
- Ünal, E. Ö., Işık, R., Şen, A., Geyik Kuş, E., Soysal, M. İ. (2021). Evaluation of genetic diversity and structure of Turkish water buffalo population by using 20 microsatellite markers. *Animals*, 11(4), 1067. doi:10.3390/ani11041067
- Ünal, E., Soysal, M. İ., Yüncü, E., Dağtaş, N. D., Togan, İ. (2014). Microsatellite based genetic diversity among the three water buffalo (*Bubalus bubalis*) populations in Turkey. *Archives Animal Breeding*, 57(8), 1-12. doi:10.7482/0003-9438-57-008
- Van Marle-Koster, E., Nel, L. H. (2003). Genetic markers and their application in livestock breeding in South Africa: A review. *South African Journal of Animal Science*, 33(1), 1-10.

- Vanlı, Y. (1987). *Atatürk Üniversitesi Koyun Sürülerinde Beta-Globulin Polimorfizminin Genetiği ve Kantitatif Karakterlerle Bağlantısı* Profesörlük Takdim Tezi. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootečni Bölümü, Erzurum.
- Vijh, R. K., Tantia, M. S., Mishra, B., (2007). Genetic diversity and differentiation of dromedarian camel of India. *Animal biotechnology*, 18(2), 81-90. doi:10.1080/10495390600648741
- Vos, P., Hogers, R., Bleeker, M., Reijans, M., Lee, T. V. D., Hornes, M., ... Zabeau, M. (1995). AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic acids research*, 23(21), 4407-4414. doi:10.1093/nar/23.21.4407
- Wang, D. G., Fan, J. B., Siao, C. J., Berno, A., Young, P., Sapolsky, R., ... Lander, E. S. (1998). Large-scale identification, mapping, and genotyping of single-nucleotide polymorphisms in the human genome. *Science*, 280(5366), 1077-1082. doi:10.1126/science.280.5366.1077
- Wang, D. L., Chang, H., Yang, J. X., Zhang, G. X., Wang, Z. G., Yu, B., ... Li, R. L. (2007). Analysis on the genetic structure of 8 Asia buffalo populations. *Yi Chuan= Hereditas*, 29(9), 1103-1109. doi:10.1360/yc-007-1103
- Weber, J. L. ve May, P. E. (1989). Abundant class of human DNA polymorphisms which can be typed using the polymerase chain reaction. *American journal of human genetics*, 44(3), 388-396.
- Weir, B. S. ve Cockerham, CC,(1984). *Estimating F-statistics for the analysis of population structure*. *Evolution*, 38, 1358-1370. doi:10.2307/2408641
- Williams, J. G., Kubelik, A. R., Livak, K. J., Rafalski, J. A., Tingey, S. V. (1990). DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic acids research*, 18(22), 6531-6535. doi:10.1093/nar/18.22.6531
- Womack J.E. (1997). Mapping Animal Genomes. In: Dodds WJ, Womack JE. (Editors). *Molecular Genetics, Gene Transfer and Therapy (Advances In Veterinary Medicine)*. San Diego. *Academic Press*, 40, 157-190.
- Wright, S. (1965). The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating. *Evolution*, 395-420. doi:10.2307/2406450

- Yan, J., Shah, T., Warburton, M. L., Buckler, E. S., McMullen, M. D., Crouch, J. (2009). Genetic characterization and linkage disequilibrium estimation of a global maize collection using SNP markers. *PloS one*, 4(12), e8451. doi:10.1371/journal.pone.0008451
- Yarkın, İ. (1952). Anadolu Mandaları Üzerinde Araştırmalar. *Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yıllığı*, 2.
- Yılmaz S. (2013). *Afyonkarahisar Yöresi Manda Yetiştiriciliği: Küçükçobanlı Köyü Örneği* Yüksek Lisans Tezi, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Aydın
- Yousefi, D. M., Miraei, A. S. R., Sadeghi, M. (2019). Study of genetic diversity of Iranian indigenous buffalo populations using microsatellite markers. *Genetika*, 51(1), 147-155. doi:10.2298/GENSR1901147D
- Zhang, Y., Vankan, D., Zhang, Y., Barker, J. S. (2011). Genetic differentiation of water buffalo (*Bubalus bubalis*) populations in China, Nepal and south-east Asia: inferences on the region of domestication of the swamp buffalo. *Animal genetics*, 42(4), 366-377. doi:10.1111/j.1365-2052.2010.02166.x
- Zhu, C., Cheng, L., Tong, J., Yu, X. (2012). Development and characterization of new single nucleotide polymorphism markers from expressed sequence tags in common carp (*Cyprinus carpio*). *International journal of molecular sciences*, 13(6), 7343-7353. doi:10.3390/ijms13067343

EKLER

EK 1

1. DNA izolasyonu yapılacak örnekler -20 °C'den çıkarılıp tüplerin ağızları açık şekilde alkollerini uçması için 56 °C'de bekletildi.
2. Alkollerini tamamen uçmuş örnekler Etüv'den çıkarıldı ve içerisine 180 µl ATL tampon eklenir.
3. Üzerine 20 µl Proteinaz-K eklenerek örneklerin ağızı kapatılır.
 - Tüpün alt kısmından hafifçe vurularak karıştırılır.
 - ATL ve Proteinaz-K eklenen örnekler 56 °C'sıcaklıkta Etüv'de bekletilir.
 - Örneklerin tamamen çözünmesi veya jelatinimsi hal alması önemlidir.
 - Örnekler tahmini 10 dakikada bir kontrol edilmeli ve hafifçe karıştırılmalıdır.
4. Örnekler Etüv'den çıkartıldıktan sonra üzerine 200 µl AL tamponu eklenir. Hafif karıştırıldıktan sonra 56 °C Etüv'de 10 dakika bekletirilir.
 - Örnekler Etüv'den çıkartılır ve üzerine 200 µl etanol (%96-100) eklenir ve vortekslenir.
5. Çözelti dâhil (örnek harici herşey) DNeasy mini spin kolona aktarılır.
 - 1 dk 8000 rpm'de santrifüj yapılır.
6. Spin kolon 2 ml yeni tüpe aktarılır.
 - Üzerine 500 µl AW1 eklenir.
 - 1 dk 6000g'de santrifüj yapılır.
7. Spin kolon 2 ml yeni tüpe aktarılır.
 - 500 µl AW2 eklenir.
 - 3 dk 14000 rpm'de santrifüj yapılır.
8. Spin kolon tam kuruma için yüksek devirde kısa süreli santrifüj yapılır.
9. Spin kolon 2 ml yeni tüpe aktarılır.
10. Üzerine tam kolon membranının ortasına gelecek şekilde 100 µl AE tamponu eklenir.
 - 1 dk 6000g'de santrifüj yapılır.
11. DNA izolasyonu yapılan örnekler üzerine etiket yapıştırılarak parafilmelenir.
 - Örnekler 15 dk 37 °C' İnkübatör'de bekletilir.
 - Daha sonra örnekler +4 °C'de 1 gün bekletilir.
12. İzolasyon yapılan örnekler elektroforez işlemine kadar -20 °C' de bekletilir.

T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİLİMSEL ETİK BEYANI

“AYDIN’DA YETİŞTİRİLEN ANADOLU MANDASI POPÜLASYONLARINDA GENETİK ÇEŞİTLİLİĞİN BELİRLENMESİ” başlıklı Yüksek Lisans tezindeki bütün bilgileri etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada, bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiz atıf yaptığımı bildiririm. İfade ettiklerimin aksi ortaya çıktığında ise her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim.

Mehmet ÖZCOŞAR

... / ... / ...

ÖZ GEÇMİŞ

Soyadı, Adı : Özcoşar Mehmet

Yabancı dil : İngilizce

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet tarihi(Yıl)
Doktora:		
Y. Lisans	: Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi	
Lisans	: Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi	2018

BURSLAR ve ÖDÜLLER

İŞ DENEYİMİ

Yıl	Yer/Kurum	Unvan
2017	Erzurum İl Tarım ve Orman Müdürlüğü	Stajer

AKADEMİK YAYILAR

A) Uluslararası Kongrelerde Yapılan Bildiriler

9. Uluslar Arası Tarım Kongresi / **Alınan yer:** Uludağ Üniversitesi

Uluslar Arası Genç Araştırmacılar Öğrenci Kongresi / **Alınan yer:** Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi.