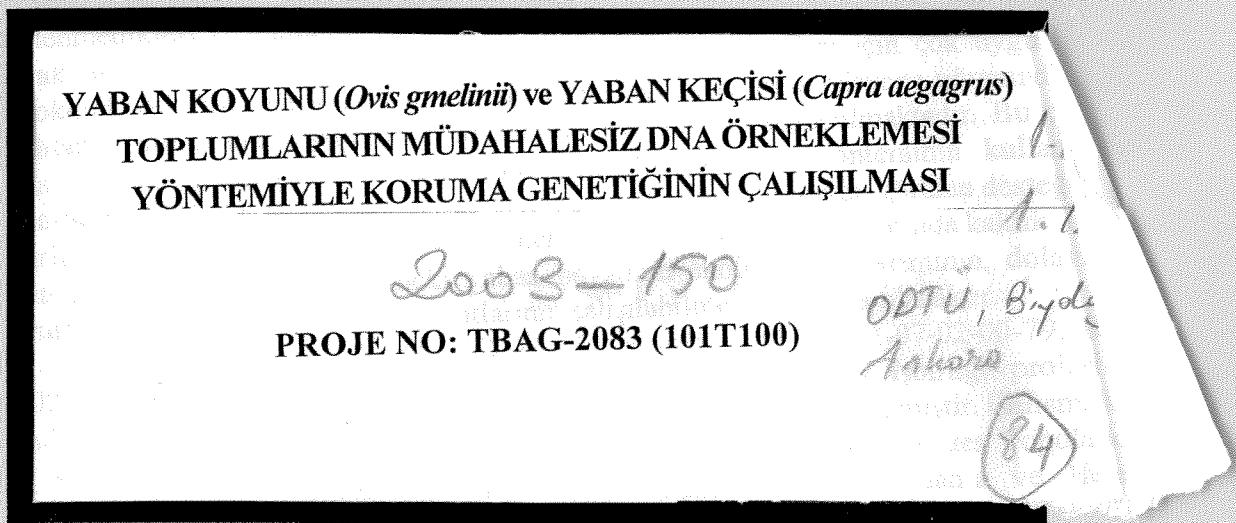




TÜRKİYE BİLİMSEL VE
TEKNİK ARAŞTIRMA KURUMU

THE SCIENTIFIC AND TECHNICAL
RESEARCH COUNCIL OF TURKEY



Temel Bilimler Araştırma Grubu
Basic Sciences Research Grant Committee

YABAN KOYUNU (*Ovis gmelini*) ve YABAN KEÇİSİ (*Capra aegagrus*)
TOPLUMLARININ MÜDAHALESİZ DNA ÖRNEKLEMESİ
YÖNTEMİYLE KORUMA GENETİĞİNİN ÇALIŞILMASI

1.1.2002

2003 - 150

PROJE NO: TBAG-2083 (101T100)

1.12.2003

ODTÜ, Biyoloji Bölümü
Ankara

84

1-50

PROF. DR. AYKUT KENCE
DOÇ. DR. MERAL KENCE
DENİZ ÖZÜT
ÖZGE BALKIZ

Nisan 2003
ANKARA

ÖNSÖZ

Ülkemizde yaban hayatı alanında gerek ekolojik gerekse genetik çalışmalar oldukça sınırlıdır. Yaban hayatı hızla kaybolmaya devam ederken, kaybolmakta olan yaban hayatı türlerinin korunması için ekolojik ve genetik araştırmalar son derece gereklidir. Bu çalışmada soyu tehlke altında bulunan yaban koyunları ile avcılığı kaçak olarak yoğun bir şekilde yapılan yaban keçilerinin genetiği ile ilgili araştırmalar yapılmıştır. Sunulan çalışmada yaban koyunu ve yaban keçisi toplumlarının (population) genetik çeşitliliği, müdahalesiz genetik örnekleme yöntemiyle yaban hayvanlarını ve yaşamalarını hiç etkilemeden alınan örnekler ve moleküller belirleyiciler kullanılarak çalışılmıştır. Bu moleküller belirleyicilerden mikrosatellitler, doğal seçilimden etkilenmedikleri ve toplumlar içi ve arası farklılaşmaları zamana ve mutasyon hızına bağlı olarak olduğu gibi yansıtıkları için toplum genetigi çalışmaları için çok uygunlardır. Mitokondriyel DNA ise sadece anneden kalıtlandığı ve rekombinasyona uğramadığı için canlıların filogenetik ilişkilerini belirlemeye uzun süredir kullanılmaktadır. Bu çalışma yaban hayatı genetigi ve müdahalesiz DNA örneklemesi yönteminin kullanılması açısından Türkiye'de yapılan ilk çalışmardır. Bu çalışma için uygun görülen destegin çok sınırlı olması nedeniyle çalışmayı öngörülen tarihten önce bitirmek zorunda kaldık. İleride daha geniş destekle, Türkiye'deki yaban hayatının ekolojisi ve evriminin, dolayısıyla koruma biyolojisinin en önemli boyutlarının çalışılabilmesi mümkün olacaktır.

Bu çalışma aynı zamanda ODTÜ-AFP projeleri (AFP-2001-07-02-00-79, BAP-2002-07-02-00-04), TÜBİTAK-CNRS [TBAG-U/31 (101T171)] işbirliği projesi ve NATO işbirliği projesi (CLG-977824) tarafından da kısmen desteklenmiştir. Çalışmaların bir kısmının gerçekleştirildiği Université Joseph Fourier, Laboratoire des Populations d'Altitude'dan Dr. Gordon Luikart'a, Célia Maudet'e, Steve Jordan'a ve Helena Fernandez'e yardımlarından dolayı çok teşekkür ederiz. Ayrıca T.C. Orman Bakanlığı Milli Parklar ve Av-Yaban Hayati Genel Müdürlüğü elemanlarına da örnekleme çalışmalarında gösterdikleri işbirliği ve yardımlardan dolayı teşekkür ederiz.

1.4.3 Mitokondriyel DNA Temelli Filogenetik Analizler

- a) Evidanslı Model Seçimi
- b) Matagum Olasılıkçı Analizi
- c) Bayes Analizi
- d) Neftotid Farklılıklar ve UPGMA

1.5 SÖNERİLEN ÇALIŞMA İLE GERÇEKLEŞTİRİLMEN ÇALIŞMALARIN KARŞILAŞTIRILMASI

1.5.1 İNDEKS

1.5.2 ÇALIŞMANIN DA YANDICI YEMEL

1.5.3 VERİLER, İŞLEMİLER VE BİLGİ EDİLEN ALGORİTMALAR

2.1.1 Mitokondriyel DNA Çiftliklerdeki Diferansiyeler	1
2.1.2 DNA Öğütleme ve İndeksleme	2
2.1.3 Polimeraz Zincirli İkayakontrol (PCR) İncelemesi	3
2.1.4 Mikrosatelli DNA Çalısmasının Diğer Sonuçları	30
2.2.4.1 PoBakteriyal İki Elektrophorez ve Görünüş deşifreleme Raporları	30
2.2.4.2 İstatistiksel Analiz Sonuçları	31

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	I
İÇİNDEKİLER	II
ÖZ	IV
ABSTRACT	VI
1. GİRİŞ	1
1.1 KONU	1
1.2 AMAÇ	2
1.3 KAPSAM	2
1.4 İNCELENEN PARAMETRELER VE YÖNTEMLER	3
1.4.1 Müdahalesiz DNA Örneklemesi	3
1.4.2 DNA Özütleme	4
1.4.3 Mikrosatellit DNA (Yaban Koyunu) Çalışması	4
1.4.3.1 Mikrosatellit Polimeraz Zincirleme Tepkimesi (PCR) ve Poliakrilamid Jel Elektroforezi	5
1.4.3.2 Mikrosatellit Çalışmasında Kullanılan İstatistiksel Analizler	6
a) Bağlantı Dengesizliği (Linkage Disequilibrium) Testi:	6
b) Özdeş Olma Olasılığının (P_{ID}) Hesaplanması ve Analize Girecek Bireylerin Belirlenmesi:	7
c) Alel Kaybinin Sınanması:	7
d) Genetik Çeşitlilik Analizleri:	7
e) Darboğaz Analizleri:	8
1.4.4 Mitokondriyal DNA (Yaban Keçisi) Çalışması	8
1.4.4.1 Mitokondriyal DNA Polimeraz Zincirleme Tepkimesi (PCR)	9
1.4.4.2 Dizilim Belirleme PCR'si ve Elektroforezi	9
1.4.4.3 Mitokondriyal DNA Temelli Filogenetik Analizler	10
a) Evrimsel Model Seçimi:	11
b) Maksimum Olabilirlik Analizi:	12
c) Bayes Analizi:	12
d) Nükleotid Farklılıklarını ve UPGMA:	13
1.5 ÖNERİLEN ÇALIŞMA İLE GERÇEKLEŞTİRİLEN ÇALIŞMANIN KARŞILAŞTIRILMASI	13
2. GELİŞME	14
2.1 ÇALIŞMANIN DAYANDIĞI TEMEL	14
2.2 VERİLER, İŞLEMLER VE ELDE EDİLEN BİLGİLER	16
2.2.1 Müdahalesiz DNA Örneklemesi Sonuçları	16
2.2.2 DNA Özütleme Sonuçları	17
2.2.3 Polimeraz Zincirleme Tepkimesi (PCR) Sonuçları	19
2.2.4 Mikrosatellit DNA Çalışmasının Diğer Sonuçları	20
2.2.4.1 Poliakrilamid Jel Elektroforezi ve Genotip Belirlemesi Sonuçları	20
2.2.4.2 İstatistiksel Analiz Sonuçları	21

a) Bağlantı Dengesizliği (Linkage Disequilibrium) Sonuçları:	21
b) Özdeş Olma Olasılığının (P_{ID}) Sonuçları ve Analize Girecek Bireylerin Belirlenmesi:	21
c) Alel Kaybı Testi Sonuçları:	21
d) Genetik Çeşitlilik Analizleri Sonuçları:	22
e) Darboğaz Analizleri Sonuçları:	26
2.2.5 Mitokondriyel DNA Çalışmasının Diğer Sonuçları	28
2.2.5.1 Dizilim Sonuçları	28
2.2.5.2 Filogenetik Sonuçlar	29
a) Dizilimlerin Hizalanması:	29
b) Evrimsel Model Seçimi Sonucu:	29
c) Maksimum Olabilirlik (ML) ve Bootstrap Analizi Sonuçları:	29
d) Bayes Analizi Sonuçları:	30
e) Nükleotid Farklılıklar Sonuçları:	30
f) UPGMA Sonuçları:	39
2.2 SONUÇLARIN KARŞILAŞTIRILMASI VE YORUMLANMASI	40
3. SONUÇ	46
3.1 SONUÇLARIN ÖZETİ	46
3.2 SONUÇLARIN AMAÇLAR AÇISINDAN İRDELENMESİ	47
3.3 KATKİLAR, UYGULAMALAR VE ÖNERİLER	48
3.4 ÇALIŞMAYA KATKIDA BULUNAN DİĞER KURULUŞLAR	49
KAYNAKLAR	50
EKLER	55
EK. A	55
EK. B	62

ÖZ

Anadolu yaban koyununun (*Ovis gmelinii anatolica*) günümüzde yaşayan tek toplumu, Konya-Bozdağ Yaban Koyunu Koruma İstasyonu'da bulunmaktadır. 1960'lı yıllarda Milli Parklar Av ve Yaban Hayatı Genel Müdürlüğü'nce yapılan çalışmalar, Anadolu yaban koyununun geçmişteki yayılım alanlarının çoğunda yokolduğunu ve kısıtlı bir alanda çok az sayıda kaldığını ortaya çıkardı. Anadolu yaban koyununun tamamen yokolmasını önlemek için 1966 yılında Konya-Bozdağ'da 45.000 ha büyüklüğünde bir alan koruma sahası ilan edildi. 1989 yılında ise koruma sahası içerisindeki 3500 hektarlık bir alan tel ile çevrildi ve sahadaki tüm yaban koyunları bu telin içerisinde sokulmaya çalışıldı. Koruma çalışmalarının başladığı 1966 yılında 35-50 olarak tahmin edilen sahadaki toplam yaban koyunu sayısı bugün 1400 civarında olup tamamına yakını tel ile çevrili alan içerisinde bulunmaktadır.

Bugüne kadar Anadolu yaban koyununun biyolojisi, ekolojisi ve toplum yaşayabilirliği konularında bazı çalışmalar yapılmıştır (Kaya, 1989; Arihan, 2000; Sezen, 2000). Toplumun genetik yapısı hakkında ise yapılmış bir çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmada, Anadolu yaban koyunun toplum genetiği çalışılmış olup, elde edilen bilgilerin, yapılmakta olan koruma çalışmalarına yapacağı katkılar ele alınmıştır.

Konya-Bozdağ yaban koyunu toplumunun genetik çeşitliliği on polimorfik mikrosatellit işaretleyicisi kullanılarak tahmin edilmeye çalışılmıştır. Çok düşük toplum büyüklüğüne inen bir darboğazdan geçmesinin, toplumun genetik çeşitliliğini azaltmış olabileceği varsayımları, elde edilen sonuçlarla doğrulanmıştır. Çalışılan on mikrosatellit lokusunda: lokus başına düşen ortalama alel sayısı (*A*) 2.5 olarak bulunmuştur. Bu değer bir mikrosatellit lokusu için çok düşüktür ve diğer 'sağlıklı' *Ovis* toplumlarında *A* değerinin 4 ile 8 arasında değiştiği görülmüştür. Beklenen heterozigotluk seviyesi 0.33 ve gözlenen heterozigotluk 0.31 olarak saptanırken bu değer yine diğer *Ovis* toplumlarında 0.50 ile 0.85 arasında değişmektedir. Bu sonuçlar Konya-Bozdağ toplumunun genetik çeşitliliğinin çok düşük olduğunu göstermektedir.

Bunun nedenleri arasında toplumun demografik bir darboğazdan (bottleneck) geçmiş olduğu varsayımlı test edilmiş, ancak testler yakın tarihte olmuş olan bir darboğazın sinyalini vermemiştir.

Koruma çalışmalarına katkıda bulunabilecek genetik yaklaşımlar arasında: *i)* yapılması planlanan yeniden aşılama çalışmasında aşılan toplumun genetik çeşitliliğinin kaynak toplumundan düşük olmasının önüne geçmek, *ii)* genetik parametrelerin toplum yaşayabilirlik analizlerine entegre edilerek bu modellerin tahmin gücünü yükseltmek, *iii)* müdahalesiz DNA örneklemeye yönteminin diğer yabani memeli toplumlarının koruma genetiğinde kullanılmasını sağlamak.

Yaban keçileri (*Capra aegagrus*) Türkiye'de geniş bir yayılıma sahiptir. Bugüne kadar tür üzerine Türkiye'de hiçbir genetik çalışma yapılmamıştır.

Bugüne kadar evcil keçilerin atalarını ortaya çıkarmayı amaçlayan birçok çalışmada, evcil keçilerin atalarının yaban keçileri (*Capra aegagrus*) olduğu bulunmuştur. Arkeolojik bulgular, Türkiye'nin keçiler ve diğer evcil hayvanların evcilleşme merkezlerinden biri olduğunu düşündürmektedir. Ancak, bugüne kadar Türkiye'de, evcil keçilerin atası olabilecek toplumları belirlemeye yönelik hiçbir çalışma yapılmamıştır.

Bu çalışmada, müdahalesiz DNA örneklemesi yöntemi kullanılarak yaban

keçilerinden dışkı ve doku örnekleri toplanmıştır. MtDNA D-halkası dizilimleri üzerine yapılan filogenetik araştırmalar, Türkiye'deki yaban keçisi toplumlarının birbirleri ve evcil keçiler arasındaki farklılaşmanın tayininde kullanılmıştır.

Bulgular, dizilimlerdeki 75 baz çiftlik bir farktan dolayı Türkiye'deki doğu ve batı toplumları arasında belirgin bir farklılaşma olduğunu göstermektedir. Filogenetik analizlerde, bütün domestik soyların doğu toplumlarıyla gruplandıkları görülmektedir. Bu bulgu, Türkiye'nin doğusunda olası bir evcilleşme merkezi olduğunu göstermektedir. Aynı olasılık yaban ve evcil keçi toplumları arasındaki ve içlerindeki nükleotid farklarında da ortaya çıkmaktadır. Bu sonuçlar doğrultusunda, yaban keçilerinin Türkiye'nin hem doğu hem de batısındaki toplumları 2' ayrı ESU (Evrimsel Açıdan Anlamlı Birim) olarak tanımlanmalıdır.

Olası evcilleşme merkezlerinin ve atasal toplumların tanımlanması, evcil keçi soylarının genetik iyileştirilmelerinde kullanılabilcecinden büyük önem taşımaktadır. Gelecekteki çalışmalarda, bu çalışmadan elde edilen bilgiler kullanılabilir, ayrıca bu çalışmayı tamamlayıcı nitelikte olan çekirdek genomu çalışmaları da önerilmektedir.

ABSTRACT

Anatolian mouflon, *Ovis gmelini anatolica* has presently one surviving population in Konya-Bozdağ Mouflon Breeding Station and Wildlife Protection Area. Since its crash in numbers around 1950'ies, certain conservation actions took place. A 45000 ha Area in Konya-Bozdağ was declared as a protection area in 1966 and later on in 1989 and 1996 a 3500 ha portion of it was circumscribed by an electroshocked fence.

There have been several studies in the last ten years accomplished in the area to gather knowledge about the population biology, ecology and population viability of *Ovis gmelini anatolica*. After such an accumulation of data on the general biology of that endangered animal, the need for a population genetics study of the population in Konya-Bozdağ has become a necessity.

In this study, the genetic diversity, population genetic parameters and conservation genetics of the Konya-Bozdağ Anatolian mouflon population was examined. The genetic diversity of Anatolian mouflon was studied using 10 microsatellite loci. The results supported the hypothesis that Anatolian mouflon has a very low level of genetic diversity due to a bottleneck. Although, the sign of a recent and severe bottleneck could not be found in the bottleneck tests, it was concluded that the bottleneck did occurred but could not be detected because of its uncharacteristic structure. Mean number of alleles per locus (A) was found to be 2.5 and expected and observed heterozygosities was found to be 0.33 and 0.31, respectively. The results revealed parallel outcomes with prior expectations. The population was found to contain very little genetic variation which is attributable to a possible bottleneck it suffered around 1950'ies, when the size of the population was at its minimum, around 35-50.

Implications of this study can be: i) the extent of genetic diversity in Konya-Bozdağ population is much less than any of the other relatively healthy populations of *Ovis* species, ii) the population most probably experienced a bottleneck, which can be regarded the cause of such a low genetic diversity, iii) the further conservation efforts should take into consideration the genetic diversity of the population and find possible ways to augment it.

The study is accomplished using noninvasive genetic sampling method, which is a revolutionary way to study the conservation genetics of wild animal populations.

Wild goats (*Capra aegagrus*) have widespread distribution in Turkey. Until today there has been no genetic analysis carried out on the species in Turkey.

Several studies, which focused on the ancestors of domestic goats revealed that one of the most possible progenitor species of domestic goats are the wild goats (*Capra aegagrus*). From the archeological findings, Turkey is suggested to be one of the domestication centers for goats and other livestock animals. However until today, there has not been any study that focused on revealing the possible ancestral populations of domestic goats in Turkey.

In this study, noninvasive sampling is carried out to collect fecal, tissue and horn samples from wild goats. The phylogenetic analysis on mtDNA D-loop sequencing is used to reveal the differentiation of wild goat populations within Turkey, and their differentiation from the domestic goats.

The findings suggested that; there is a clear differentiation between eastern and western wild goat populations in Turkey due to the 75 base pairs difference in the sequences. In the phylogenetic analysis all of the domestic lineages grouped with eastern populations, which indicate a possible domestication that took place in eastern Turkey. The same possibility was also revealed by the nucleotide differences between and within the populations of wild and domestic goats. According to these results, both the eastern and western Turkey populations of wild goats can be considered as two separate ESU's (Evolutionary Significant Unit).

Identification of possible domestication centers and also possible ancestral populations are quite important as these populations can be used in genetic improvement studies of domestic goats.

In future taxonomic and evolutionary studies, the information gathered from this study can be used, and it is also suggested to study the nuclear genome to complement these results.

1. GİRİŞ

1.1 KONU

Geçmişteki bilinen yayılım alanları, İç Anadolu Bölgesi'nde Nallıhan (Ankara), Polatlı (Ankara), Sivrihisar (Eskişehir), Emirdağ (Afyon), Ereğli (Konya), Karapınar (Konya), Karadağ (Konya) ve Bozdağı (Konya) kapsamaktayken (Arihan, 2000; Turan, 1984), bugün aynı bölgede yalnızca Konya-Bozdağ'da koruma altında bulunan bir Anadolu yaban koyunu (*Ovis gmelinii anatolica*) toplumu bulunmaktadır. Doğu ve Güneydoğu Anadolu Bölgeleri'nde ise, geçmişte Kahramanmaraş'tan İran ve Ermenistan sınırlarına kadar yayılım göstermiş olan Doğu Anadolu yaban koyunu (*Ovis gmelinii gmelinii*) bugün sadece Ağrı Dağı'nın güneyi, Van Gölü'nün doğusu ve Hakkari'nin kuzeyi ve doğusunu içine alan bölgede yayılım göstermektedir. İç Anadolu Bölgesi'ndeki *O. g. anatolica* yıllar boyunca kontolsüz aşırı avlanma ve yaşam alanlarının olumsuz insan etkilerine (karayollarının, var olan habitatları parçalaması; evcil koyunların besin rekabetine ve melezleşmeye yol açması; yeni yerleşimlerin kurulması ve var olanların genişlemesiyle yaban hayatı alanlarının azalması gibi) maruz kalarak parçalanmış ve yaşılmış toplumlara ayrılmıştır. Geriye kalan son toplum olan Konya-Bozdağ toplumunun tamamen yok olmasını önlemek için 1967'de Anadolu yaban koyununa av yasağı getirilmiş ve Konya-Bozdağ'da 42000 hektarlık bir alan koruma sahası ilan edilmiştir (Kence ve Tarhan, 1997). Aynı sahada 1989 yılında 3500 hektarlık bir alan tellerle çevrilmiş ve av üretim sahası olarak adlandırılarak, yöre halkın evcil koyunlarının ve çoban köpeklerinin yaban koyunları üzerinde yarattığı baskıyı (besin kaynağı olan bitkilerin tüketimi, köpeklerin yaban koyununa saldırması gibi) bir ölçüde hafifletmeyi amaçlamıştır. Doğu Anadolu yaban koyununu korumak amacıyla da 1971 yılında 150000 hektarlık Van-Özalp koruma sahası kurulmuştur. 1997'de yayımlanan IUCN-Caprinae Uzman Raporu'nda (Shackleton, 1997) duyarlı (vulnerable) olarak tanımlanan ve kırmızı listeye alınan yaban koyunu Türkiye'de av yasağı getirilmesi ve Konya-Bozdağ'ın koruma bölgesi ilan edilmesiyle birlikte toplumun 1967'deki 35-50 bireylik nüfusu (UNDP-FAO, 1967) sürekli olarak artmıştır (Kence ve Tarhan, 1997). Mart 2001'de koruma alanında yapılan son sayıma göre toplumun büyülüğünün 1000'in üzerine çıktıgı saptanmıştır. Öte yandan 1971 yılında ilan edilen Van-Özalp koruma sahasında Konya-Bozdağ'dakine benzer önlemler alınmadığından Doğu Anadolu yaban koyununun günümüzdeki durumu belirsizdir ve yok olma riski oldukça yüksektir.

O. gmelinii'nin evrimsel geçmişi, taksonomisi ve İç ve Doğu Anadolu'daki toplumlarının güncel durumu hakkında çok az bilgi vardır. Bu yüzden, yaban koyununun genetik ve demografik durumunu ortaya çıkaracak çalışmalara ihtiyaç vardır. Diğer taraftan, Türkiye'deki yaban keçisi (*Capra aegagrus*) toplumları da, yaban koyununa göre daha geniş bir yayılım göstermelerine karşın, yaşam alanı yıkımı ve kaçak avcılık gibi nedenlerden ötürü tehlike altında sayılabilirler. Türkiye'deki yaban keçilerinin demografisi ile ilgili bir tek tez çalışması (İnaç, 1995) bulunurken, genetiğiyle ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanamamıştır. Ayrıca, yaban koyunu ve yaban keçisi toplumlarından, evrimleşme ve değişen çevre koşulları karşısında yaşamalarını sürdürme potansiyellerine sahip olanlarını (Evrimsel Açıdan Anlamlı Birim, ESU: *Evolutionarily Significant Unit*, ESU) belirlemek; ve koruma altına alınmasında öncelik verilmesini sağlamak bu projenin konusunu oluşturmaktadır.

1.2 AMAÇ

Önerilen bu projede yapılması amaçlanmış olan çalışmalar şu şekilde sıralanabilir:

1. Türkiye'ye endemik olan ve bugün sadece Konya-Bozdağ'daki "Bozdağ Yaban Koyunu Koruma Sahası"nda koruma altında bulunan 'Anadolu muflonu' ya da 'Anadolu yaban koyunu' olarak adlandırılan *O. g. anatolica* toplumunun genetik yapısı ve özellikleri hakkında bilgi edinmek için, bir toplum genetigi çalışması yapılması amaçlanmıştır. 1967'de 35-50 bireylik bir toplum büyüklüğünden (UNDP-FAO, 1967) Mart 2001'de yapılan son toplum sayımına göre 1000'in üzerinde bir sayıya ulaşmış olan toplumun genetik çeşitliliği, geçerli büyülüklüğü, kendileşme düzeyi (inbreeding level), geçmişte geçirdiği darboğazlar (bottleneck) gibi bilgilerin ortaya çıkarılması amaçlanmıştır. Bu bilgilerin, toplumun genel biyolojisi ve ekolojisi üzerine yapılmış çalışmaların (Kaya, 1989; Arihan, 2000, Sezen 2000) sonuçları ile birlikte, *O. g. anatolica* için yapılmakta olan koruma çalışmasının bir ileri aşamasını oluşturmak üzere, türün geçmişteki coğrafi dağılımını yeniden kazanması için yapılması planlanan yeniden-aşılama çalışmasında kullanılması amaçlanmaktadır.
2. Doğu Anadolu Bölgesi'nde kalan tek toplum olup, Van-Özalp koruma sahasında bulunan Doğu Anadolu yaban koyununun (*O. g. gmelini*) oluşturduğu toplumun da genetik yapısı ve özellikleri hakkında benzer bilgiler edinerek, hem Türkiye'deki alttürler hem de Asya ve Avrupa'da da geniş bir yayılım alanına sahip farklı Ovis türleri arasındaki filogenetik ilişkiler ortaya çıkarılacak ve bu alttürlerin evrimsel tarihi ve taksonomisinin aydınlatılması amaçlanmıştır.
3. Anadolu'da yaşayan yaban keçisi toplumlarının toplum içi ve toplumlar arası genetik çeşitliliğinin belirlenmesi ve bu türün dünyadaki diğer *Capra* türleriyle olan ilişkisinin (taksonomik ve filogenetik) aydınlatılması amaçlanmıştır.
4. Yaban koyunu ve yaban keçisi toplumlarından, evrimleşme ve değişen çevre koşulları karşısında yaşamalarını sürdürme potansiyellerine sahip olanlarını (Evrimsel Açıdan Anlamlı Birim, ESU: *Evolutionarily Significant Unit, ESU*) belirlemek ve korumadaki önceliğini belirlemek amaçlanmıştır.

1.3 KAPSAM

Çalışmanın kapsamı aşağıdaki maddelerde şöyle belirtilmiştir:

1. Konya-Bozdağ koruma sahasındaki *O. g. anatolica* toplumundan müdahalesiz örnekleme yöntemiyle dişki örneklerinin alınması. Ayrıca arazide ölü bulunan veya hastalanarak ölen bireylerden deri, kıl ve doku örnekleri alınmaya çalışılması. Toplam 50-100 bireyden örnek alınması. Örneklerden öztülenecek DNA'larda mikrosatelit çeşitliliğine bakılarak, toplumun genetik yapısına ait bilgiler elde edilmesi. Elde edilen genetik çeşitlilik, geçerli büyülüklük ve kendileşme düzeyi değerlerinden yararlanarak, planlanan yeniden-aşılama çalışması için birey seçiminde kullanılması.
2. Doğu Anadolu'da, Van Gölü'nün doğusu ve Hakkari'nin kuzey ve doğusunda yayılım gösteren *O. g. gmelini* toplumlarından da aynı yöntemle mümkün olan en fazla sayıda (30-50 adet bireye ait) dişki örnekleri ile mümkün olduğunda deri, kıl ve doku örneklerinin alınması. Bu örneklerden öztülenen DNA'larda da mikrosatelit çeşitliliği gözlenerek iki alttür arasındaki genetik uzaklığın saptanması.

3. Yaban keçisi çalışması için Antalya-Düzlerçamı, Antalya-Akseki, Niğde-Demirkazık Dağı, Erzincan-Kemaliye, Artvin-Yusufeli bölgelerinden örneklemme yapılması.

Örneklemenin, yaban koyunu çalışmalarında olduğu gibi, esas olarak dışkı örneklerinden yapılip ve bunun yanında kıl, deri ve doku örneklerinden de yararlanması. Her toplumdan en az 30 birey örneklenmesine çalışılması.

1.4 İNCELENEN PARAMETRELER ve YÖNTEMLER

Çalışmada hedeflenen amaçlara ulaşmak için incelenmesi gereken parametreler; bireyler ve toplumları birbirinden ayırt etmede ve kıyaslamada kullanılacak olan alel, genotip ve haplotip frekanslarıdır. Anadolu yaban koyunu ile yapılan çalışmalarda Mendel tipi kalıtım gösteren mikrosatellit lokusları kullanıldığından alel ve genotip frekansları asıl parametreler olmuşlardır. Yaban keçisi çalışmasında ise mitokondriyal DNA'nın (mtDNA) D halkasının baz dizilimi belirlendiğinden, ana parametre haplotip frekansları olmuştur.

Yaban koyunu ve yaban keçisi çalışmalarının ilk aşamaları olan örnek toplanması ve DNA özütlemesi her iki çalışma için de aynı yöntemlerin kullanılmasıyla tamamlanmıştır.

1.4.1 Müdahalesiz DNA Örneklemesi

Genel olarak toplum genetigi çalışmalarında ve özel olarak da koruma genetiği ya da moleküler ekoloji çalışmalarında örneklemme aşaması, özellikle de yaban hayvanları söz konusu olduğunda sanıldığından daha büyük zaman, emek ve kaynağın kullanılmasını gerektirir. Bu çalışmalar için gerekli olan örneklerin toplanması farklı yaklaşımlar izlenerek gerçekleştirilebilir (Taberlet ve ark., 1999). (Tablo 1.1).

Tablo 1.1 Örneklemme yaklaşımları (Taberlet ve ark., 1999)

- **Zararlı örneklemme:** genetik ve diğer analizler için gerekli olan doku örneklerini elde etmek için hayvan öldürülür. Bu örneklemme yaklaşımı özellikle izozim ve mtDNA çalışmalarında kullanılmaktadır ama PCR (zincirleme polimerizasyon reaksiyonu) teknigi geliştirildikten sonra büyük ölçüde terk edilmiştir.
- **Zararsız örneklemme:** genetik ve diğer analizler için gerekli olan doku örnekleri, hayvan çoğunlukla yakalanarak kan örneği ya da biyopsi yoluyla zarar vermeden elde edilir. Bazen de hayvanın yakalanmasına gerek kalmadan biyopsi okları kullanılabilir (örn. balina çalışmalarında).
- **Müdahalesiz örneklemme:** yaban hayvanları ile yapılan toplum genetigi çalışmalarında örnek toplamak için hayvanın yakalanması, vurulması ve bayıltılması gereğini ortadan kaldırarak, hayvanın geride bıraktığı dışkı, kıl veya tüylerden, post parçalarından mitokondriyal DNA ve mikrosatellit alellerinin elde edilmesine dayanır. Bir hayvanın yakalanıp birkaç tüyünün ya da kılının çekilmesi müdahalesiz değil zararsız örneklemeye girer.

Müdahalesiz DNA örneklemesi yöntemiyle geleneksel yöntemlere göre daha fazla sayıda örnek toplanması mümkün olduğundan, toplum parametreleri asılca daha yakın olarak tahmin edilebilmektedir. Araziden toplanan taze dişki örnekleri %95'lik etanol içerisinde, oda sıcaklığında saklanmıştır. Kıl örnekleri ise temiz zarflar içerisinde, DNA'nın bozulmasına yol açabilecek olan nemi önlemek için, kurutucu silika taneleri ile saklanmıştır. Mümkün olduğu zamanlar alınacak doku örnekleri ise, i) kan örneği 1:10 kan:EDTA çözeltisi halinde, ii) deri örneği %95'lik etanol içerisinde saklanmıştır (Wasser ve ark., 1997; Frantzen ve ark., 1998;).

Müdahalesiz DNA örneklemesinin en büyük dezavantajı ise dişki, eski deri ve boynuz özi gibi örneklerde az miktarda DNA bulunması ile çevresel koşullardan ve geçen zamandan dolayı DNA'nın parçalanmış olma olasılığıdır. Bu faktörlerin yanlış sonuçlara götürmesi tehlikesinden kaçınmak için önerilen en geçerli yol, aynı örneklerin birden fazla defa laboratuar analizlerinden geçirilip genotip verilerinin sağlanmasıdır (Taberlet ve ark., 1996a; Taberlet ve Luikart, 1999; Taberlet ve Ark., 1999; .

1.4.2 DNA Özütleme

Toplum genetigi verilerinin elde edilmesi için yapılan laboratuar çalışmalarının geri kalan kısımları, yaban koyununda mikrosatellit lokuslarının çalışılması ve yaban kecilerinde mtDNA D-halkası diziliminin çalışmasından dolayı, birbirlerinden farklıdır.

1.4.3 Mikrosatellit DNA (Yaban Koyunu) Çalışması

Mikrosatellitler, basit dizilikim tekrarları olarak da adlandırılan 150-200 baz çifti (bç) uzunlığında DNA parçalarıdır ve çoğu canının genomunda bulunurlar. Mikrosatellitlerin birçok türün genomunda bulundukları tespit edilmiş ve yine birçoğunun dizilikimi belirlenmiştir (Tautz 1993). Esas olarak 3 bölgeden oluşturukları söylenebilir: i) başlangıç yanal (flanking) dizilikimi, primerlerden birinin dizilikiminin belirlendiği bölge, ii) tekrar dizilikimin bulunduğu bölge, 2 ila 5 bazlık bir dizilikimin ardı ardına tekrarından oluşur ve tekrarların sayısı alellerini belirler, iii) bitiş yanal dizilikimi, primerlerden diğerinin belirlendiği bölge. Mikrosatellitlerin tercih edilen özellikleri arasında: doğal seçilime

uğramamaları, yüksek mutasyon oranına sahip olmalarından dolayı toplum içi ve toplumlar arası çeşitliliklerinin yüksek olması, eşbaskın (codominant) olmaları, Mendel tipi kalıtım göstergemeleri ve primerlerinin türler arası uygulanabilir olması sayılabilir (Litt ve Luty 1989; Tautz 1989; Weber ve May 1989).

Yaban koyunları ile yapılan çalışmada 75 mikrosatellit lokusu içerisinde 14 mikrosatellit lokusu seçilmiş ve bunların 10 tanesinden analiz edilebilir sonuçlar elde edilmiştir (Tablo 1.2). Bu lokuslara ait ileri ve geri primerler, evcil koyun (*Ovis aries*), evcil keçi (*Capra hircus*) ve inek (*Bos taurus*) ile yapılmış olan çalışmalardan elde edilmiştir. Bu primerlerin yaban koyunu türünün genomunda da işlevsel olmaları mikrosatellitlerin daha önce de belirtilen türler arası uygulanabilir olmalarına güzel bir örnektir (Vaiman ve ark., 1996; Luikart ve ark., 1999).

Tablo 1.2 Mikrosatellit lokusları, uzunlukları ve işaretlendikleri flüoresan renk sınıfları

I (Mavi)		II (Yeşil)		III (Sarı)	
Lokus Adı	Uzunluk	Lokus Adı	Uzunluk	Lokus Adı	Uzunluk
OarAE16	90 – 110	ADCYAP1	95 – 120	CP20	75 – 100
OarFCB226	116 – 150	JMP29	130 – 150	FCB128	110 – 130
OarAE119	150 – 185	SRCRSP6	150 – 165	BM415	140 – 170
SRCRSP8	222 – 251	MAF214	180 – 190	SRCRSP3	182 – 192
ILSTS011	282 – 288			SRCRSP9	205 – 215

*gri renkli karelerdeki lokuslar çözümlenebilir sonuçlar vermemiştir ve çalışmadan çıkarılmışlardır.

1.4.3.1 Mikrosatellit Polimeraz Zincirleme Tepkimesi (PCR) ve Poliakrilamid Jel Elektroforezi

Çalışmada, yaban koyunu örneklerinden özütlenen DNA'lardaki hedef mikrosatellit lokusları, her lokusa özel ileri ve geri primerler kullanılarak, PCR yöntemiyle çoğaltılmıştır. PCR sırasında flüoresan boyalı işaretlenmiş dNTP'ler (bazlar) kullanılmıştır. Böylece çoğaltma sonucunda elde edilen alellerin poliakrilamid jel elektroforezi (% 6'lık) ile büyüklüklerine göre ayırtılmasından sonra bireyin her lokusundaki alellerini belirlenebilmiştir. Her lokusun PCR'si için kullanılmış olan kimyasallar ve PCR koşulları Tablo 1.3'te verilmiştir.

Tablo 1.3 Mikrosatellit lokuslarının PCR koşulları

Lokus	Miktar / tüp		Nihai Deterimler					PCR Koşulları		
	DNA (μ)	Yemek (μ)	MgCl ₂ (mM)	dNTP (mM)	Primer (μ M)	Taq (U/tüp)	Devir Sayısı	Denat.	Bağl.	Polim.
•AEI19 •SRC8 •ILSTS11	4	15	2.5	0.2	0.5	0.5	48	95°C 15 sn	55°C 15 sn	72°C 30 sn
•ADC1 •MAF214	4	15	2.5	0.2	0.5	0.5	48	95°C 15 sn	55°C 15 sn	72°C 30 sn
•BM415	4	15	2.5	0.2	0.5	0.5	48	95°C 15 sn	45°C 15 sn	72°C 30 sn
•CP20 •FCB128 •SRC3	4	15	2.5	0.2	0.5	0.5	48	95°C 15 sn	55°C 15 sn	72°C 30 sn
•FCB226	4	15	2.5	0.2	0.5	0.5	48	95°C 15 sn	63°C 15 sn	72°C 30 sn

PCR sonuçlarını kontrol etmek, her lokus için, rasgele seçilen 10 bireyin PCR ürünleri % 2'lik agaroz jelde yürütülmüşlerdir (her bir agaroz jel kuyucuğuna 5 μ l PCR ürünü, 2 μ l bromofenol mavi boyası konulmuştur). Her agaroz jelinin bir kuyucuğuna da DNA büyülüklük belirleyicisi yüklenmiştir (1 μ l büyülüklük belirleyicisi, 4 μ l steril su, 2 μ l bromofenol mavi boyası). DNA büyülüklük belirleyicisi belirli boylardaki DNA parçalarından oluşandan, elektroforez sonrasında jel üzerindeki ürünlerin uzunlıklarının tahmin edilmesini sağlamaktadır, böylece yabancı yükseltgenme ürünler olup olmadığı anlaşılabilmıştır.

Elde edilen PCR ürünlerinden, % 6'lık denature edici poliakrilamid jel elektroforezi ile her bireyin her lokusundaki genotipi belirlenmiştir. Bu aşamada, elektroforez çalışmasını en az zaman ve malzeme kullanarak tamamlayabilmek için “multiplexing” denen yöntem kullanılmıştır. Çalışılan 10 mikrosatellit lokusu uzunlıklarına göre üç gruba ayrılmış ve her gruba PCR sırasında ayrı bir renk verilerek, o gruptaki lokusların bu renkle işaretlenmeleri sağlanmıştır (Tablo 1.2). Poliakrilamid jelin her bir kuyucuğuna (kolonuna) bir bireye ait DNA'dan elde edilmiş 10 mikrosatellit lokusunun da PCR ürünleri yüklenmiştir. Her kuyucuga (kolona) kırmızı flüoresan ile işaretlenmiş DNA büyülüklük belirleyicisi Çok yakın uzunluklara sahip lokuslar farklı renklerde olduklarıdan, poliakrilamid jel üzerinde üst üste gelen bantlar renk farkları sayesinde birbirlerinden ayrılabilmişlerdir. Elektroforez otomatik ABI Prism 377 aleti kullanılarak gerçekleştirilmiş ve genotipler belirlenirken Genescan 2.0 ve Genotyper 2.0 adlı analiz programlarından yararlanılmıştır.

1.4.3.2 Mikrosatellit Çalışmasında Kullanılan İstatistiksel Analizler

a) Bağlantı Dengesizliği (Linkage Disequilibrium) Testi:

Bir lokustaki genotipler diğer bir lokustaki genotiplerden bağımsızlarsa bu iki lokus bağlantı dengesindedir denir. Bunun bir anlamı da bir lokustaki genotipin ne olduğunu bilmenin diğer lokustaki genotipi tahmin etmeyeceğidir. Bu şekilde

kullanılamayacaktır. Bir lokusun genotipi ile diğer bir lokusun genotipi arasında rasgele olmayan herhangi bir ilişki varsa bu iki lokus bağlantı dengesizliğindedir denir (Freeman ve Herron, 2001). Bağlantı testleri Genepop 3.3 yazılımı kullanılarak yapılmıştır (Raymond ve Rousset, 1995; <http://wbiomed.curtin.edu.au/genepop> internet adresinden ulaşılabilir).

b) Özdeş Olma Olasılığının (P_{ID}) Hesaplanması ve Analize Girecek Bireylerin Belirlenmesi:

Yaban hayvanlarından alınan örneklerden büyük bir kısmının dışkı örneği olmasından dolayı, aynı bireylerin birden fazla örneklenmiş olması riski göz önünde bulundurulmuştur. Elde edilen sonuçlarda çoklu lokus (multilocus) genotipi (10 mikrosatellit lokusundaki genotiplerinin tümü) çakışan bireylerin analiz dışında bırakılmış bırakılmamasına karar verebilmek için özdeş olma olasılığı (probability of identity) P_{ID} hesaplanmıştır. Bu olasılık önce her lokus için ayrı ayrı, sonra da çoklu lokus için hesaplanmıştır. Özdeş olma olasılığı bir lokus için hesaplanırken şu formül kullanılmıştır:

$$P_{ID} = \sum (p_i)^4 + \sum \sum (2p_i p_j)^2$$

Formülde p_i ve p_j , sırasıyla i. ve j. Alellerin frekanslarıdır. Çoklu lokus P_{ID} değeri ise, tüm lokusların P_{ID} değerlerinin çarpımıyla elde edilmiştir. P_{ID} değeri genetik çeşitlilik ile ters orantılıdır. Çoklu lokus P_{ID} ise ayrıca kullanılan lokus sayısıyla ters orantılıdır. Bu da şunu demek olur: çalışılan lokuslardaki genetik çeşitlilik parametrelerinin (heterozigosite, alel sayısı) değerleri yükseldikçe ve çalışılan lokus sayısı arttıkça P_{ID} değerinin azalması beklenir. Düşük bir P_{ID} değeri ise toplumdan rasgele seçilen iki bireyin çoklu lokus genotipinin aynı olma olasılığının düşük olması anlamına gelir (Waits ve ark., 2001).

c) Alel Kaybının Sınanması:

Müdahalesiz DNA örneklemesi çalışmalarının en önemli dezavantajlarından birisi, alel kaybından dolayı genotipin yanlış belirlenmesidir. DNA miktarının dışkı, boynuz özü ve post gibi örneklerde çok az olması, şans eseri olarak, mesela bir lokus için heterozigot olan bir bireyin alellerinden bir tanesinin PCR tüplerine konulan DNA özü içinde bulunmamasından dolayı homozigot bir bireyim gibi görünmesine sebep olabilmektedir. Alel kaybından doğan bu tip hataları en aza indirmek için önerilen en geçerli yol, PCR ve sonrasında aşamaların en az bir kez daha tekrarlanmasıdır (Navidi ve ark., 1992; Taberlet ve ark., 1996a ve 1999).

d) Genetik Çeşitlilik Analizleri:

Mikrosatellit çalışmasıyla belirlenen çoklu lokus genotip verilerini kullanarak genetik çeşitliliğin belirlenmesinde heterozigotluk (H) ve lokus başına düşen ortalama alel sayısı (A) parametreleri kullanılmıştır. Bu parametrelerin tahmini için Genetix 4.02 adlı bilgisayar yazılımindan yararlanılmıştır (Belkhir, 2001; <http://www.univ-montp2.fr/~genetix/genetix.htm>). Hardy-Weinberg dengesinden sapmaları saptamak için de Genepop 3.3 bilgisayar yazılımı kullanılmıştır (Luikart ve England, 1999; Louis ve Dempster, 1987; Guo ve Thompson, 1992).

e) Darboğaz Analizleri:

Demografik geçmişi 1960'tan bu yana kısmen takip edilmiş olan Konya-Bozdağ yaban koyunu toplumunun genetik verilerini kullanarak 1960 öncesindeki toplum büyülüğu değişimleri, bu değişimlerin yayıldığı zamansal süreçlerin büyüklükleri ve bunların toplumun genetik yapısına etkilerini anlayabilmek için darboğaz testleri yapılmıştır. Darboğaz testleri asıl olarak toplumun bir darboğazdan geçip geçmediğini belirli bir güvenilirlikle ortaya çıkan testlerdir. Bunun yanında darboğaz testleri típkı diğer modelleme çalışmalarında olduğu gibi, ortaya atılan varsayımları da teste yardımcı olarak toplum geçişini irdelemekte bir araç görevi görürler.

Darboğaz testleri için iki yöntem kullanılmıştır: i) Bottleneck 1.2.02 adlı bilgisayar yazılımı (Piry ve ark., 1999; Cornuet ve Luikart, 1996), ii) grafiksel gösterim (Luikart ve Cornuet, 1998). İki yöntem aynı temel prensipten hareket ederler: darboğaz sırasında toplumun gen havuzundaki alel sayısının, toplumun heterozigotluk değerine göre daha hızlı bir düşüş yaşaması. Bottleneck programında bu prensipten yararlanılarak, iki farklı yoldan heterozigotluk değeri hesaplanır ve bu iki değer üç farklı istatistiksel analiz yöntemiyle karşılaştırılır. Birbirinden anlamlı derecede farklı bulunan H değerleri, darboğazın bir işaretti olarak algılanır. Aynı prensip grafiksel analizde de kullanılır. Bu yöntemde, çalışılmış olan lokusların bütün alellerini bir araya toplandıktan sonra 10 eşit alel frekansı grubuna ayrılır ve her gruptaki alel sayısı bulunur. Ardından bu iki veriden alel frekans grupları X eksenine (apsis), alel sayıları da Y eksenine (ordinat) yerleştirilerek bir histogram çizilir. Birinci frekans grubu (frekansı 0,001-0,100 aralığında olan aleller) nadir aleller olarak adlandırılır. Mutasyon-genetik sürükleme dengesinde olan toplumlarda nadir aleller de nadir olmayan aleller kadar gen havuzunda bulunurlar. Oysa darboğazdan geçmiş bir toplumun gen havuzundan ilk önce nadir alellerin kaybolması beklenir. Bundan dolayı, grafiksel gösterimde nadir alellerin sayısının diğer herhangi bir gruptakinden daha düşük olması olası bir darboğazı işaret eder (Spencer ve ark., 2000).

1.4.4 Mitokondriyal DNA (Yaban Keçisi) Çalışması

Mitokondriyal DNA 15-20 bin baz uzunlığında, halka şeklinde, çift sarmallı bir moleküldür. Protein kodlayan 13 adet gen, 22 adet tRNA geni, 2 adet rRNA geni ve 1000 bazlık kodlanmayan bölgeden oluşan mtDNA'nın kodlanmayan bölgесine kontrol bölgesi adı verilir ve yaban keçilerinde çalıştığımız D-halkası da bu bölgenin bir parçasıdır. Kontrol bölgesi kopyalama (replication) ve yazılımın (transcription) başlatıldığı yerdir. Omurgalılarda bu bölge 3 kısımdan oluşur: i) sol bölüm (5' ucu), ii) korunmuş merkez bölümü ve iii) sağ bölüm (3' ucu). D-halkası, merkez bölümün tamamı ile sağ ve sol bölümlerin bir kısmını içerir. Mitokondriyal DNA'nın çekirdek DNA'sından farklılıklar arasında: anasal (maternal) kalıtım göstermesi, çekirdek DNA'sından 5-10 kat yüksek mutasyon oranı, rekombinasyonun olmaması bulunur. Maternal kalıtım göstermesi, mtDNA haplotiplerinin aynı anasal soy hatları boyunca takip edilebilmesini ve karmaşık genetik tarihin ortaya çıkarılabilmesini sağlar. Rekombinasyonun olmaması, çekirdek DNA'sı çalışmalarında oluşabilecek farklı genetik bileşimlerden kaynaklanan gürültünün olmaması demektir (Taberlet, 1996b; Avise, 1994).

Bunlara ek olarak kontrol bölgesi mtDNA'nın geri kalanından 4-5 kat hızlı evrimleşen değişken kısımlar içerir. Bu da tür içi çalışmalarındaki çözünürlüğün daha da artırmasını sağlar. Dolayısıyla kontrol bölgesinin diziliminin çalışılması, özellikle yakın türlerin veya aynı türün yakın toplumlarının konu olduğu araştırmalarda daha az deneySEL

çaba ile ayırtma kabiliyeti daha yüksek sonuçlar elde etmeyi sağlar. Mitokondriyel DNA çalışmasının basamaklarını ayrı ayrı ele alırsak:

1.4.4.1 Mitokondriyal DNA Polimeraz Zincirleme Tepkimesi (PCR)

Mitokondriyel DNA'nın kontrol bölgesinin 481 baz uzunluğundaki bir bölümünün diziliminin belirlenebilmesi için önce özütlenen DNA'lardan PCR yöntemiyle bu bölge seçici olarak çoğaltılmıştır. Bu işlem için ileri (5' TCCATATAACGGCGACATAC) ve geri (5' ATGGCCCTGAAGAAAGAAC) primerler kullanılmıştır. PCR tüplerine 25 µl toplam hacim içeresine: 5 µl DNA, 2.5 mM MgCl₂, 1 µM ileri primer, 1 µM geri primer, her dNTP'den 0.2 mM, 0.1 ünite Taq polimerazı (Goldstar, Eurogenetic) konulmuştur ve hacim steril su ile 25 µl'ye tamamlanmıştır. PCR koşulları ise: 95 °C'de 10 dak. başlangıç denaturasyonundan sonra 45 devirden oluşan, 95 °C'de 30 sn. denaturasyon, 60 °C'de 30 sn. bağlanma, ve 72 °C'de 60 sn. polimerleşme; bu devirlerin ardından, 45. devirin sonunda 72 °C'de 10 dak. son polimerleşmeyi içermektedir. Dışkı örneklerinde DNA miktarının çok az olmasından dolayı yüksek bir devir sayısı olan 45 devir kullanılmıştır. Ancak doku ve boynuz özü örneklerinde kaç PCR devri yapılacağına, örneğin eskiliği ve DNA özütlemesi kontrol jelinin sonucuna göre karar verilmiştir. Örneğin çok DNA özütlemesi kontrol jeline çok soluk bantlar veren eski örneklerde (>20 yıl) 50 PCR devri yapılrken, parlak bantlar veren çok yeni doku örneklerinde 40 PCR devri yapılmıştır.

yapılırken, parlak bantlar veren çok yeni doku örneklereinde PCR dozunu $\times 10$ olup PCR sonuçlarını kontrol etmek, ve tüm bireylerde yükseltgenmenin olup olmadığını anlamak için PCR ürünlerini % 2'lik agaroz jelde yürütülmüşlerdir (her bir agaroz jel kuyucuna 5 μ l PCR ürünü, 2 μ l bromofenol mavi boyası konulmuştur). Her agaroz jelinin bir kuyucuna da DNA büyülü belirleyicisi yüklenmiştir (1 μ l büyülü belirleyici, 4 μ l steril su, 2 μ l bromofenol mavi boyası). DNA büyülü belirleyicisi belirli boylardaki DNA parçalarından oluştugundan, elektroforez sonrasında jel üzerindeki ürünlerin uzunlıklarının tahmin edilmesini sağlamaktadır. Bunun yanısıra, derisi bilindiği için, DNA büyülü belirleyicisi bantlarının parlaklıkları PCR ürünü bantlarıyla kıyaslanarak, PCR ürünlerindeki DNA derisi tahmin edilebilmektedir. Bu sayede ‘Dizilim Belirleme PCR’si aşamasında kullanılacak ürünlerin derisi ayarlanabilmisti. Ayrıca, ürün bandı göstermeyen, ya da beklenen uzunluğun dışında bir bant gösteren yabancı yükseltgenme ürünlerini deneyden çıkarılmıştır. Ardından PCR ürünleri Quiagen Purification Kit adlı ürün ile, üreticinin protokolü kullanılarak, PCR sırasında kullanılmamış fazla kimyasallardan arındırılmıştır. Arındırma işleminden sonra PCR ürünlerini tekrar %2’lik agaroz jelde yürütülerek temizleme işlemi sırasında ürün kaybı olup olmadığı kontrol edilmiştir.

1.4.4.2 Dizilim Belirleme PCR'si ve Elektforezi

PCR sonrasında elde edilen 481 bazlık bölgenin kopyalarını kullanarak, bu bölgenin baz dizilimini ortaya çıkarmak için dizilim belirleme PCR'si yapılmıştır. Bu yöntemde normal PCR'den farklı olarak, kopyaların üretiminde kullanılan dNTP'lerin yanısıra, herbiri farklı bir renkte flüoresan boyası ile işaretlenmiş ddNTP'ler de kullanılmıştır. Bu ddNTP'lerin özelliği, kopyalama sırasında kalıp görevi gören DNA'ya (PCR ile edilmiş 481 bazlık DNA parçaları) bağlanınca kendilerinden sonra gelen bazın eklenmemesidir. Böylece farklı uzunluklarda birçok DNA parçası oluşmuş olup, bunların hepsinin sonunda flüoresan ile işaretlenmiş bir baz bulunmaktadır. Dizilim belirleme PCR'sinin sonucunda mtDNA D-halkasının 481 bazlık parçasının primer+1

bazlık kopyasından 481 bazlık kopyasına (primer dahil) kadar olan bütün boyutlardaki kopyaları elde edilmiştir.

Dizilim belirleme PCR'si, birinde ileri diğerinde geri primer kullanılarak her birey için iki defa yapılmıştır. Her bir tüpe: 2 μ l primer (2 μ M), flüoresan boyalı işaretlenmiş 4 μ l'lik ddNTP karışımı, dNTP ve PCR ürünü konulmuş, hacim steril su ile 20 μ l'ye tamamlanmıştır. Dizilim belirleme PCR koşulları: 25 devirden oluşan, 96 °C'de 30 sn. denaturasyon, 60 °C'de 30 sn. bağlanması, 60 °C'de 4 dak. Polimerleşme'den oluşmaktadır.

Dizilim belirlemenin ikinci aşamasında, dizilim belirleme PCR'si sonucunda olmuş olan en küçükünden en büyüğünne işaretli ürünler, elektroforez ile poliakrilamid jel üzerinde önce büyüklik sırasına dizilirler, ardından da lazerli bir okuyucu tarafından her bir sıradaki DNA parçasının son bazıları olan flüoresan işaretli bazın rengi belirlenir. Her bazın kendine ait bir rengi olduğundan ve jel üzerindeki DNA parçaları uzunluklarına göre sıralandığından, 481 baz uzunluğundaki bogenin dizilimi belirlenmiş olur. Elektroforez aşamasında % 6'lık denature edici poliakrilamid jel kullanılmıştır. Altı saat süren elektroforez işlemi ABI Prism 377 otomatik dizilim belirleyicisi kullanılarak yapılmıştır. Bu yöntemle belirlenen dizilim, ABI Prism Dizilim Analizi Programları yardımıyla, hem ileri hem de geri primerlerden elde edilen sonuçların karşılaştırmalı olarak çözümlenmesiyle her bireydeki dizilimler belirlenmiştir.

1.4.4.3 Mitokondriyal DNA Temelli Filogenetik Analizler

Elde edilen dizilimlerin hizalanması için DAMBE adlı program'dan (Data Analysis in Molecular Biology and Evolution) yararlanılmıştır (Xia, 2000). Filogenetik analiz sonucunda evcil koyun soylarının atasal toplumlarının Türkiye'nin hangi bölgelerinde olabileceği dair bilgi edinmek için, çalışmada elde edilen dizilimlerin yanı sıra, başka araştırmacılar tarafından daha önce yapılmış çalışmalarдан da (Luikart ve ark., 2001) alınan bazı dizilimler kullanılmıştır. Bu ilave dizilimler, sekiz adet evcil keçi, iki adet Türkmenistan'dan alınan yaban keçisi örneği ve üç adet markhor keçisi'ne (*Capra falconeri*) ait dizilimlerdir. Bugüne kadar yapılmış olan filogenetik araştırmalar üç farklı evcil keçi soyu olduğunu göstermektedir. Bunlar ana haplogrup (A soyu), Malezya haplo-grubu (B soyu) ve Togenberg-Slovenya haplo-grubudur (C soyu). A soyundan iki Angora keçisi ile iki Siyah Anadolu keçisi dizilimi; B ve C soylarından da ikişer dizilim analizlere ilave edilmiştir (toplam sekiz ilave dizilim). Markhor keçisine ait üç dizilim ise, filogenetik analiz sonucunda elde edilecek olan ağacın kökünü oluşturabilmek için 'diş grup' (outgroup) olarak kullanılmışlardır. Dizilim hizalaması sonucunda birbiriryle birebir örtüşen dizilimlerden sadece bir tanesi analize dahil edilmiştir (Luikart ve ark., 2001).

Filogenetik analizler sırasında kullanılabilen yöntemler arasında uzaklık ilkesini temel alan UPGMA (grup ortalaması kümelemesi) ve Komşusal Bağıntı (neighbor-joining) yöntemleri ile, karakter temelli parsimony, maksimum olabilirlik veya Bayes analizini sayabiliriz. Bu çalışmada, soyağacı (phylogeny) oluşturmak için maksimum olabilirlik ile Bayes analizleri kullanılmıştır.

Tablo 1.4 Filogeni oluşturmada kullanılan yöntemler (Hall, 2001)

1. Uzaklık İlkesine Dayalı Yöntemler:

UPGMA ve Komşusal bağıntı: her iki yöntemde de uzaklıklar, iki dizilim arasındaki farklı bazların oranı olarak ifade edilir. Her ikisi de belirli algoritmaları kullanarak yapılan hesaplarla filogenetik ağacı tahmin etmeye çalışırlar. Hesaplanan değerler arasında en önemli uzaklık matrisidir. Ancak uzaklık ilkesinin dezavantajlarından birisi, elde edilen uzaklık değerlerinin, soyular arasında bulunan gerçek uzaklık değerlerini hemen her zaman olduğundan daha düşük tahmin etmeleridir. Bunun en önemli sebebi ise çoklu ornatmalardır (multiple substitutions).

2. Karakter Bazlı Yöntemler:

a. Maksimum Parsimoni: Parsimoninin dayandığı esas varsayımdır, en olası ağacın, dizilim verisini açıklarken en az sayıda ornatmayı gerektiren ağaç olması gerektiği varsayımdır. Kullanılan algoritma, dizilim verileriyle tutarlı olan bir filogenetik ağacın oluşturulması için gerekli olan en az sayıda adımı belirlemek için kullanılır. Bu yöntemde karşımıza çıkabilecek sorunlar arasında en önemli homoplazilerdir (ters dönmeler, yakınlaşmalar -convergence-, paralellilikler). Homoplaziler, filogenetik ağaç belirleme aşamasındaki adım sayısını artırdıkları gibi, fazladan bazı varsayımları da gerekli kılabılır.

b. Maksimum Olabilirlik: bulunmuş olan verileri elde etme olasılığını en yüksek yapan ağacın bulunmaya çalışılması temeline dayanır. Dizilimler için hizalanmış nükleotid dizileri ya da aminoasitler veriyi oluşturur. Maksimum Olabilirlik, matrislerden ziyade sürekli (discrete) karakterler için kullanılır (Lewis, 2001).

c. Bayes Analizi: Bayez analizinde elde dilen çıkarsamalar ardıl olasılıkların kullanımına dayanır. Ardıl olasılıklar, verilerin belirli özellikleri kullanılarak kurulan modellerce tahmin edilen olasılıklardır. Bayes analizi eldeki verilere ve evrim modeline göre en olası ağaçlar kümesini arar.

a) Evrimsel Model Seçimi:

Filogenetik ilişkileri belirlerken en önemli aşamalardan birisi evrimsel modelin seçimidir. Yanlış bir evrimsel model seçildiğinde, filogenetik yöntemlerin verdiği sonuçlar gerçekten uzaklaşarak doğru olmayan filogenetik ağacların oluşturulmasına sebep olurlar (Felsenstein, 1978; Huelsenbeck ve Hillis, 1993; Swofford ve ark., 1996; Bruno ve Halpern, 1999). Bu nedenle, parametreleri, verilerle ve çalışan moleküller işaretleyici ile en iyi uyumu sağlayan evrimsel model araştırılmalı ve kullanılmalıdır (Huelsenbeck, 1995). Örneğin, ‘transition’ların, ‘transversion’lardan farklı sıklıklarda olduğu bilinen mitokondriyel DNA’dı bu iki olay için eşit sıklıklar öngören bir modeli seçmek yaniltıcı olacaktır. Bu konuda yapılan çalışmalar ‘genel zamansal-geri çevrilebilir’ (general time-reversible) (GTR) modelinin oluşturulmasını sağlamıştır. Bu modelde olası tüm baz değişimleri için ($A \leftrightarrow C$, $A \leftrightarrow G$, $A \leftrightarrow T$, $C \leftrightarrow G$, $C \leftrightarrow T$, $G \leftrightarrow T$) farklı sıklıklar belirlenebildiği

gibi, farklı nükleotid frekansları da hesaba katılmaktadır (Kimura, 1980; Brown ve ark., 1982; Hasegawa ve ark., 1985; Kishino ve Hasegawa, 1989; Rodriguez ve ark., 1990).

Dizilimi belirlenen DNA parçasının içinde birbirinden farklı ornatma sıklıklarına sahip baz yerleri bulunur. Bu ornatma sıklığının varyasyonunun da hesaba katılması modellerin geliştirilmesindeki bir ileri aşama olmuştur (Churchill ve ark., 1992; Yang, 1993, 1994). Baz yerleri arası varyasyonu ifade eden yöntemler arasında en çok kullanılan ‘Süreksız Gama Yöntemi’dir. Bu yaklaşımda, baz yerleri arasındaki ornatma sıklığının gama dağılımı gösterdiği varsayılmıştır (Lewis, 2001).

Filogenetik ağacın oluşturulmasında gerekli olan evrimsel modelin belirlenmesinde kullanılan bu gibi parametreler arttıkça, her parametre ile birlikte gelen standart hata payı da artar (Huelsenbeck ve Crandall, 1997). Bu yüzden optimum sayıda parametreyi kullanan bir evrimsel model tercih edilmelidir. Optimum model ise, “en az parametreyi kullanarak oluşturulan” ve aynı zamanda da “en çok sayıda parametreyi kullanarak oluşturulan ‘en uygun model’den anlamlı derecede farklı olmayan” modeldir (Swofford ve ark., 1996). Optimum modelin hangisi olduğuna karar verebilmek için kullanılan farklı istatistiksel yöntemler arasında ‘Akaike bilgi kriteri’ (AIC) adı verilen yöntem bu çalışmada kullanılmıştır (Akaike, 1974; Hasegawa ve ark., 1990; Hasegawa, 1990; Tamura, 1994). AIC yönteminin bileşenleri: kullanılan parametre sayısı, ‘goodness of fit’ ve parametre tahminlerinin varyansıdır. AIC formülü:

$$AIC = -2 \ln L + 2N$$

olup, N kullanılan parametre sayısı, L ise kullanılan verilerin maksimum olabilirlik değeridir (Posada ve Crandall, 2001). Bu çalışmada evrimsel model seçimi için PAUP adlı bilgisayar yazılımının 16 farklı olabilirlik modeli denenmiş ve AIC kriteri kullanılmıştır (Swofford, 2000). Elde edilen aday modeller komşusal bağıntı ağacı çizdirilerek karşılaştırılmıştır.

b) Maksimum Olabilirlik Analizi:

Tahmin edilen parametre değerleri sabit olup tamamen ‘heuristic’ bir Maksimum Olabilirlik (ML) araştırılmaya başlanmıştır. Birinci ML araştırması tamamlanınca modelin parametreleri ML ağacı üzerinde yeniden tahmin edilmiş ve bu yeni tahmin edilen parametreler veri olarak ikinci ML araştırmasına geri beslenmiştir. Bu süreç, yeni tahmin edilen parametrelerin bir önceliklere eşitlendiği ve aynı ML ağacını verdiği noktaya kadar tekrar edilmiştir.

ML analizi sonucunda elde edilen filogenetik ağacın dallarının, istatistiksel olarak ne kadar anlamlı olduğunu gösteren ve 0 ile 100 arasında değişen değerlerle her dalın güvenilirliğinin gösterilmesini sağlayan Bootstrap analizi yapılmıştır (Felsenstein, 1985).

c) Bayes Analizi:

Türkiye’deki yaban keçisi toplumlarının arasındaki filogenetik ilişkileri aydınlatmak için Bayes analizi kullanılmıştır Bayes analizinde daha önce maksimum olabilirlik (ML) analizinde kullanılan evrimsel model kullanılmıştır. Ancak Bayes analizinde, ML’de olduğu gibi olabilirliği en yüksek ağacı aramak yerine, Markov Chain Monte Carlo (MCMC) adı verilen farklı bir yöntem kullanılmaktadır (Larget ve Simon,

1999; Huelsenbeck ve Ronquist, 2001).

Bayes analizleri MrBayes adlı bilgisayar yazılımı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Programda bir milyon MCMC adımı uygulanmıştır (Huelsenbeck ve Ronquist, 2001).

d) Nükleotid Farklılıklarını ve UPGMA:

Bu uygulama altındaki analizlere başlamadan önce, dizilimler MEGA 2.1 yazılımı kullanılarak hizalanmışlardır. Bireyler ve gruplar arasındaki nükleotid farklılıklarını iki farklı yaklaşım kullanılarak tahmin edilmeye çalışılmıştır. Birinci yaklaşımında nükleotid dizilimleri arasındaki ham (raw) farklılıklar tahmin edilmiştir. İkinci yaklaşımında Kimura 2 parametreli (K2P) modelin gama düzeltmesi uygulanmış hali nükleotid farklılıklarının sayısını tahmin etmek için kullanılmıştır. K2P gama modeli, birbirile çakışan, ‘transition’ ve ‘transversion’ ornatma sıklıklarını ve baz yerleri arasındaki ornatma sıklığı farklılıklarını düzeltir. Baz yerleri arasındaki ornatma sıklıkları gama dağılımı kullanılarak modellenmiştir. Her iki analizde de 3 farklı gruplandırma arasındaki mesafeler tahmin edilmiştir:

1. Tüm evcil keçilerin bir grupta toplanmasıyla oluşan,
2. Evcil keçilerin soylarına göre 3 ayrı gruba ayrılmasıyla oluşan,
3. Aynı gruba dahil edilmiş bireylerden kendi gruplarına ait olan topolojiye uyuyanlarının ayrı olarak değerlendirilmesiyle oluşan,

gruplandırmalar kullanılarak mesafe matrisleri oluşturulmuştur.

K2P modelinden elde edilen mesafenin gama düzeltmesi yapıldıktan sonra UPGMA ağaçları da çizdirilmiştir. Ve bu ağaç ML ve Bayes analizlerinden elde edilen filogenetik ağaçlarla karşılaştırılmıştır. Burada da baz yerleri arasındaki evrimleşme hızları ML sonuçları ve gama dağılımı kullanılarak modellenmiştir.

1.5 ÖNERİLEN ÇALIŞMA İLE GERÇEKLEŞTİRİLEN ÇALIŞMANIN KARŞILAŞTIRILMASI

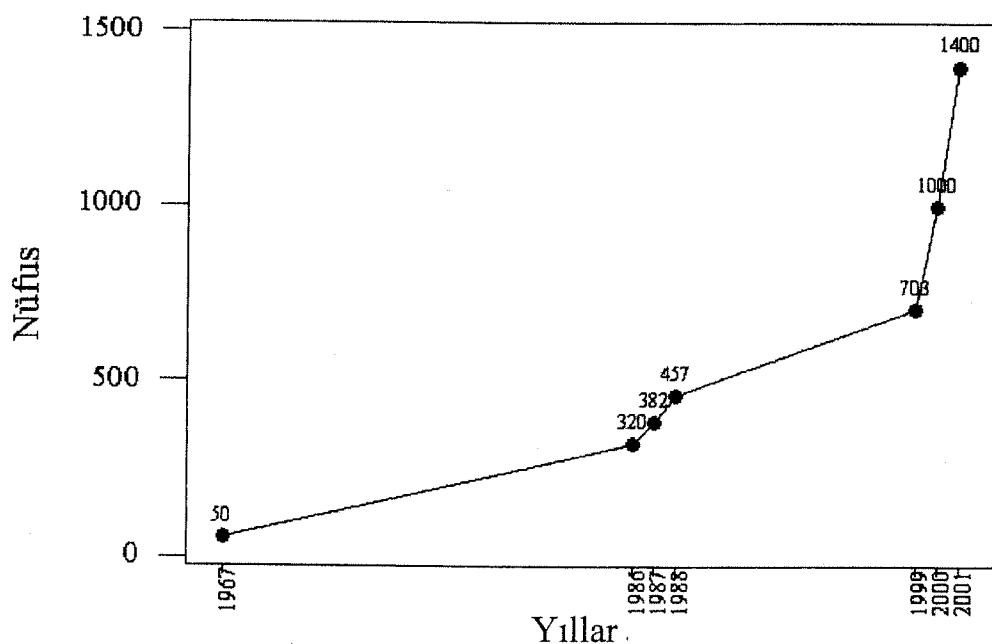
Önerilen çalışmada yaban koyunu ve yaban keçilerinin müdahalesiz DNA örneklemesiyle koruma genetiklerinin çalışılması ana başlığı yer almıştı ve yapılan çalışma da bu ana başlığı karşılamıştır. Yaban koyunu için önerilen çalışmanın amaçlarının çoğuna başarıyla ulaşılmıştır. Doğu Anadolu'da yayılış gösteren *Ovis gmelini gmelini* alttürünün toplumundan örneklemeler yapılmıştır fakat verilen destekin önerilen bütçenin çok altında olması nedeniyle laboratuar çalışmaları tamamlanamamıştır.

Yaban keçisi çalışmasındaki amaçların tümüne ulaşılmıştır. Türkiye'deki yaban keçisi toplumlarının genetik yapısı hem kendi aralarında, hem evcil keçi soylarıyla hem de diğer yaban keçisi türleriyle karşılaştırılmış ve ilginç sonuçlar elde edilmiştir. Yaban keçilerinin korunması stratejilerinde önemli bir rol oynayacak bulgulardan biri olan Evrimsel Açıdan Anlamlı Birimler (ESU) tespit edilmiştir.

2. GELİŞME

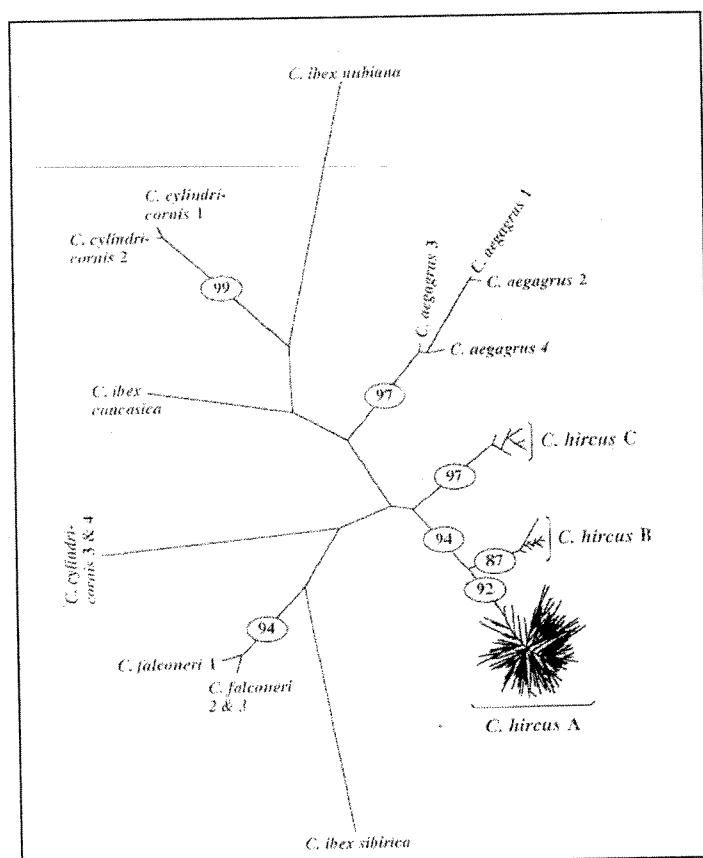
2.1 ÇALIŞMANIN DAYANDIĞI TEMEL

Konya-Bozdağ yaban koyunu toplumu 1967'de koruma altına alındığına yok olmak üzereydi. Aynı tarihlerde koruma altına alınan diğer birkaç alandaki yaban koyunları kısa süre içinde yok olmuşlardır. Konya-Bozdağ yaban hayatı koruma sahasında uygulanan etkili koruma buradaki toplumun nüfusunu arttırdı (Şekil 2.1). Bu bilgiler ışığında, 1967 yılından öncesi bilinmemekle birlikte bu toplumun bir darboğazdan geçtiği varsayılmıştır. Darboğaz, kimi sebeplerden dolayı (ör. afet, insan baskısı) bir toplumun nüfusunun aşırı azalması, bu seviyede bir süre kalması ve ardından tekrar artmasına denir. Konya-Bozdağ toplumunun darboğazdan geçmiş olmasından dolayı genetik çeşitliliğinin azalmış olması beklenmektedir (Luikart ve ark., 1998a, b). Çalışmamızda, demografik bir artışın her zaman genetik çeşitlilik artışını da beraberinde getirmedini göstermek ve koruma çalışmalarının bu çok yönlülüği barındırması gerektiğini vurgulamak istedik. Aynı amaçları Doğu Anadolu'da yayılış gösteren diğer alttürün toplumu için de güttük. Farklı alttürler olduğu söylenen coğrafik olarak ayrılmış bu iki toplumun genetik olarak da farklılaşmış olup olmadıklarını belirlemek ve bu farklılığın iki taxonun birbirine ve diğer Ovis türlerine göre durumunu açığa kavuşturmayı amaçladık. Böylece koruma statülerinde bir iyileşmeye katkıda bulunabilme olasılığını değerlendirmek mümkün olacaktır.



Şekil 2.1 Konya-Bozdağ toplumu yaban koyunu nüfusunun 1967'den 2001'e kadar gösterdiği değişim (Turan, 1967; Kaya, 1989; Arıhan, 2000; Özüt 2001).

Türkiye'deki diğer bütün etçil ve otçul büyük memeliler gibi yaban keçisi de bugüne kadar nerdeyse hiç çalışmamıştır. Bu çalışmada Türkiyedeki yaban keçisi toplumlarının nerdeyse tüm yayılış alanlarını kapsayacak bir örnekleme çalışması ile yaban keçisinin filogenetiği çalışılarak diğer *Capra aegagrus* toplumları ve Capra türleri ile ilişkisi belirlenerek genel bir çerçeve yakalanmaya çalışılmıştır. Genel olarak Anadolu'nun Güneybatısından Kuzeybatısı ve Güneydoğusuna kadar kesintisiz bir yayılış gösteren yaban keçisi toplumları arasındaki gen akışının varlığı ve miktarının anlaşılması moleküller işaretleyicilerle toplumların genetik yapısını araştırarak ortaya çıkarılabilir (Maudet ve ark., 2002). Anadolu'daki yaban keçilerinin diğer keçi türleri ve evcil keçilerle filogenetik ilişkilerinin araştırılması ise Anadolu'nun yaban keçisi ve evcil keçinin evrimleşmesinde genel resmin neresinde olduğunu ortaya koyacaktır. Evcil keçilerle yapılan çalışmalarda üç esas soy hattı olduğu görülmüştür ve bu soy hatları en yakın olarak *Capra aegagrus* ile gruplanmıştır (Şekil 2.2).



Şekil 2.2 Toplam 406 evcil keçi ve 15 yabani keçi mtDNA dizilimi ile elde edilen komşusal bağıntı ağıacı. Dallardaki rakamlar, dalların güvenilirliğini (100 üzerinden) belirleyen bootstrap değerleridir (Luikart ve ark., 2001).

Kaçak avcılığın tehditi altında olan ve son yıllarda av turizmi kapsamında avlanmaya başlayan yaban keçilerinin geniş yayılımlarına karşı tehdit altında olduğu ve bu yüzden sürdürülebilir avcılığının yapılabilmesi ve korunması için, özellikle evrimsel

olarak farklı geçmişlere sahip birimlerinin (ESU) belirlenmesi öncelik verilmesi gereken bir çalışma olacaktı (Meffe ve Carroll, 1994; Avise ve Hamrick, 1995). Bu moleküller çalışmalar için gerekli olan örneklerin ise özellikle hassas ve tehdit altında olan türler söz konusu olduğunda, örneklenen bireylere olabildiğince az zarar verecek örneklemeye yöntemleri kullanılmalıdır. Bu yüzden çalışmada kullanılan örneklerin tümü müdahalesiz bir şekilde, yaban keçileri ve koyunlarına zarar vermeden, dışkı, post ve boynuz özünden elde edilmiştir (Morin ve Woodruff, 1996; Taberlet ve ark., 1999; Taberlet ve Luikart, 1999). Bu yöntem de, gelecekteki çalışmalara örnek olabilecek niteliktir.

2.2 VERİLER, İŞLEMLER ve ELDE EDİLEN BİLGİLER

Çalışmanın yaban koyunu ve yaban keçisi için benzer olarak elde edilen müdahalesiz DNA örneklemesi, DNA özütlemesi ve PCR sonuçları aşağıda aynı başlıklar altında verilmiştir.

2.2.1 Müdahalesiz DNA Örnekleme Sonuçları

Yaban koyunu çalışmasında Konya-Bozdağ toplumundan yapılan örneklemeler tarih, yer ve örneğin çeşidi belirtilerek Tablo 2.1' de verilmiştir.

Tablo 2.1 Konya-Bozdağ yaban koyunu toplumu örnekleme çalışması

Örnekleme tarihi (ay/yıl)	Örneklenen alan	Örnekleyen kişi sayısı	Taranan alanın oranı* (%)	Örneğin çeşidi
03/2000	Tel örgü içi	6	~70	Doku
06/2000	Tel örgü içi	2	~50	Dışkı
09/2000	Tel örgü içi	2	~50	Dışkı
10/2000	Tel örgü içi	2	~50	Dışkı
03/2001**	Tel örgü içi	—	—	Doku
05/2001	Tel örgü içi	1	~35	Dışkı
06/2001	Hodulbaba D.	2	—	Dışkı

*Örneklenen alanın toplam tel örgü içindeki alana (3500 ha.) tahmini oranı. (Tel örgü dışında kalan koruma alanı büyüklüğü: 40.000 ha.)

**03/2001 tarihinde yapılan örnekleme çalışması, kış sonunda arazide koruma görevlileri tarafından bulunan ölü yaban koyularından yapılmıştır.

Yaban keçisi çalışmasında Türkiye'deki birçok yöreden yapılan örneklemeye çalışması ve toplanan örneklerle ilgili bilgi Tablo 2.2 de verilmiştir.

Tablo 2.2 Yaban keçisi örneklemeye çalışmasının özeti

Toplum	Örneklemeye tarihi	Doku örneği sayısı*	Dışkı örneği sayısı**	Toplam
Akseki	1999-2002	14	34	48
Mersin	2002	3	43	46
Tunceli	2002	12	-	12
Van	2001	7	-	7
Erzincan	2001-2002	3	-	3
G.Antep	2002	1	-	1
Artvin	?	1	-	1
Finike	2002	-	20	20
Anamur	2001-2002	2	-	2
K.Kanyon	2002	1	-	1
Tahtalı D.	2001	1	-	1
Siirt	2002	1	-	1
Toplam		46	97	143

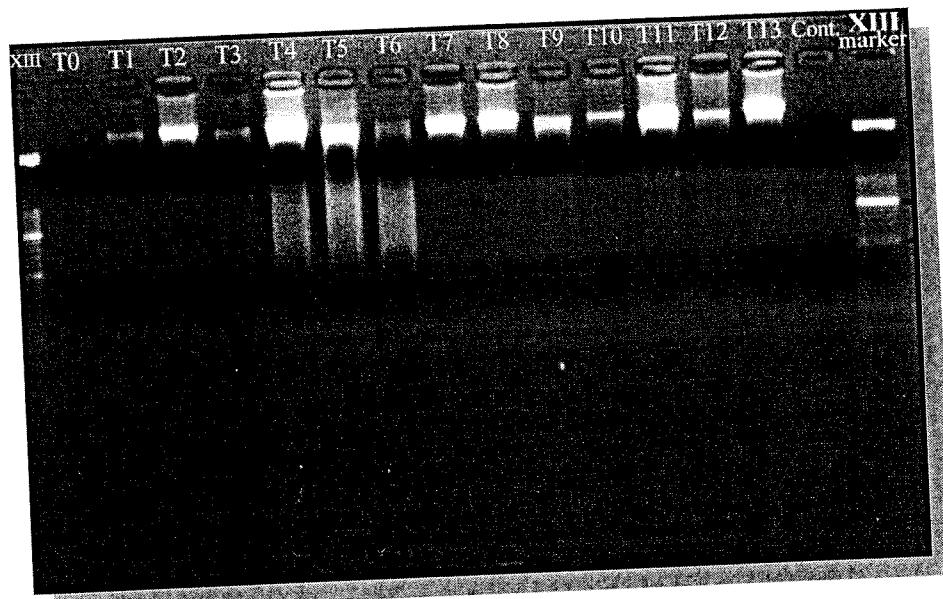
* Doku örneklerine boynuz özü örnekleri de dahildir

** Bir dışkı örneği, bir tüpteki 2-3 adet dışkı tanesine karşılık gelir

2.2.2 DNA Özütlemesi Sonuçları

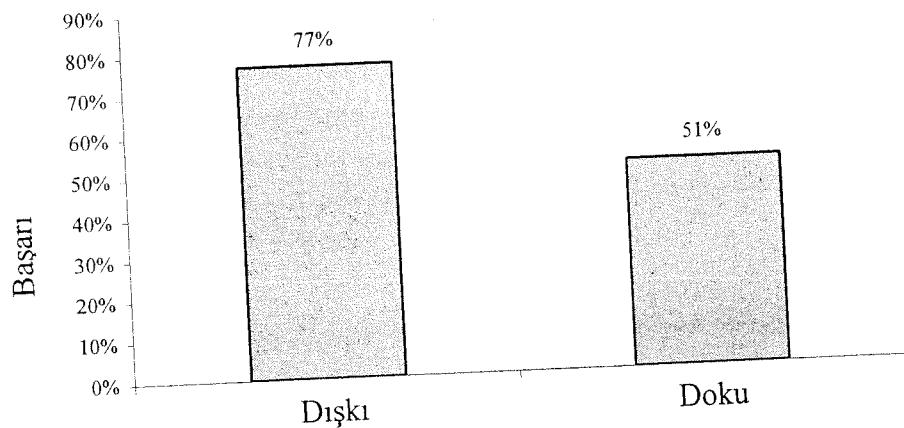
Yaban koyunu çalışmasında, 10.2000 tarihinde toplanan dışkı ve diğer tarihlerde toplanan tüm doku örnekleri kullanılmıştır. Kullanılan örneklerden (46 dışkı, 14 doku örneği) DNA özütlemesi 54 taneşinde başarıyla gerçekleştirilmiş, sadece 1 doku ve 5 adet de dışkı örneğinden DNA elde edilememiştir. 46 dışkı örneğinde 5 negatif sonuç gayet doğaldır çünkü dışıklar hem – dışkılayan hayvana ait – çok az genetik materyal içermektedirler, hem de DNA'nın tüm olumsuz çevre koşullarına maruz kalması DNA özütlemesindeki başarı şansını diğer örneklerle (doku, kan vs.) göre düşürmektedir. Şekil 2.3'te, doku örneklerinden yapılan DNA özütlemesinden elde edilen ürünlerin %2'lik agaroz jelde elektroforezinin sonucunu gösteren fotoğrafta 14 doku örneğinden 13'ünde görülen bantlar özütlenen DNA'yı simgelemektedir.

Çalışmanın ileriki aşamalarında, 6 dışkı örneğinin diğer 6 dışkı örneğiyle aynı genotipleri göstermesi nedeniyle 6 örnek daha çalışma dışında bırakılmıştır. Bu karar, yapılan istatistik analizler sonucunda alınmıştır: incelenen mikrosatellit lokuslarının tümünde iki farklı örneğin/bireyin aynı genotipe sahip olma olasılığı (P_{ID}) (düşük genetik çeşitlilik hesaba katılınca bile) 1/1000'den düşük çıkmıştır. Arazide toplanan dışkı örneklerinin hangi bireylere ait olduğunu görsel olarak saptamak neredeyse imkansızdır. Bunun dışında, örneklerin taze olarak elde edilebilmesi için, gözlenen hayvanların geride bıraktığı dışkı örnekleri tercih edilmektedir ve bu da aynı hayvandan birden fazla örneklemeye yapılması riskini artırmaktadır.



Şekil 2.3 Doku örneklerinden yapılan DNA özütlemesinin agaroz jel elektroforezi. Görülen bantlar başarıyla özütlenen DNA'ları gösteriyor

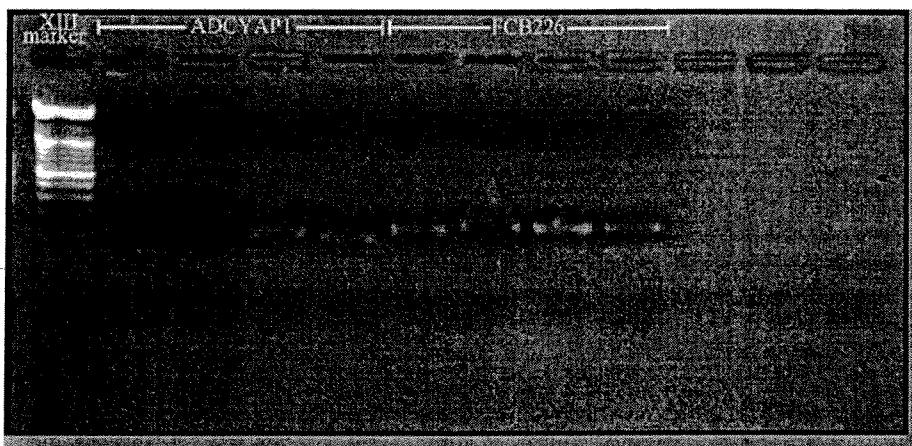
Yaban keçisi çalışmasında elde edilen doku ve boynuz özyörneklerinin tümünden DNA özütleme yapılmıştır. Aynı bireye ait hem doku hem de boynuz özyörneğinden özütlendiği elde edildiğinde, dokudan özütlenen DNA'lar tercih edilerek, sonraki analizlerde bu DNA'lar kullanılmıştır. Dışkı örneklerinden yapılan özütlemesinin % 77'si, doku ve boynuz özyörneklerinden yapılan DNA özütlemesinin ise % 50'si başarılı sonuç vermiştir (Şekil 2.4). Doku örneklerindeki özütleme başarısının daha düşük olmasının başlıca iki nedeni örneklerin aldığı postların eski olması ve kimyasal işlemlerden geçmiş olmalarıdır. Dışkı örnekleri arasında ise en taze ve yakın zamanda toplanmış olanları kullanıldı. Finike örneklerinin bulunduğu tüpler üzerindeki işaretler silindiği için bu örnekler kullanılamadı.



Şekil 2.4 Dışkı ve doku örneklerinden yapılan DNA özütlemesinin başarısı

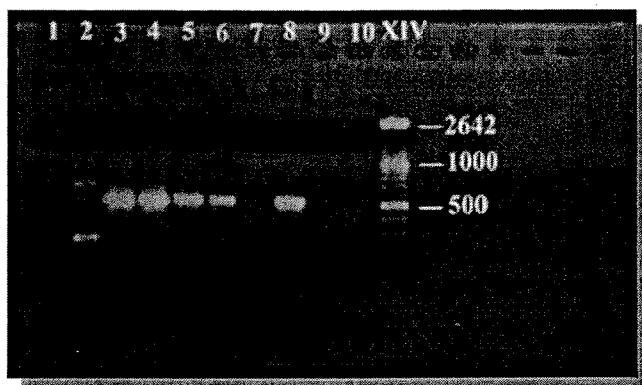
2.2.3 Polimeraz Zincirleme Tepkimesi (PCR) Sonuçları

14 mikrosatellit lokusuna ait ileri ve geri primerler (evcil koyun, evcil keçi ve inek genomundan elde edilmiş mikrosatellit lokuslarına ait primerler) kullanılarak, 54 örnekten elde edilen DNA'lardaki bu 14 mikrosatellit geni, PCR ile seçici olarak yükseltgenmiştir. Kullanılan mikrosatellit lokuslarının primerleri başka türlerden elde edildikleri için *Ovis gmelinii anatolica*'dan özütlenen DNA'lar üzerinde çalışıp çalışmamışları PCR'den sonra kontrol edilmiştir. Bunun için PCR ürünlerinden bazıları (her mikrosatellit lokusuna ait PCR tepkimesinden gelişigüzel seçilmiş dörder örnek) %2'lik agaroz jel elektroforezinde yürütülerek PCR'nin başarılı olup olmadığı kontrol edilmiştir. Bu sonuçlardan bir örnek Şekil 2.5'te görülmektedir.



Şekil 2.5 PCR ile yükseltgenen mikrosatellit lokuslarını kontrol için yapılan agaroz jel elektroforezi sonuçlarından bir örnek. İki lokustan (ADCYAPI ile FCB226) dört örnek birey. Soluk beyaz bantlar başarılı sonucu gösteriyor

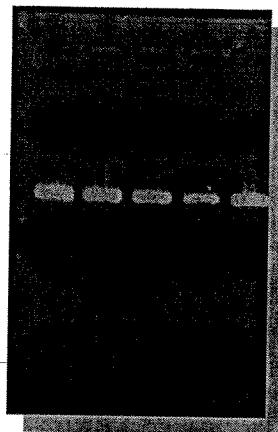
Yaban keçisi PCR çalışmasında, örneklerin yaşına (eskiliğine) göre, uygulanan PCR'nin devir sayısında değişiklikler yapılmıştır. PCR sırasında yükseltgenemeyen örnekler çalışma dışında bırakılmıştır. PCR kontrol jellerine örnek olarak bir agaroz jel fotoğrafı Şekil 2.6'da verilmiştir.



Şekil 2.6 DNA yükseltgenme kontrol jeli. İkinci bireyde yabancı yükseltgenme görülüyor 7. ve 9. örneklerde ve 10. kontrolde yükseltgenme yok.

Doku örneklerinden yapılan PCR'lerde kontrolleri pozitif çıkan (kirlenme görülen) PCR'ler tekrarlanmıştır. Dışkı örneklerinden ise kontrolü pozitif çıkan PCR'ler çalışma dışında bırakılmıştır.

PCR ürünlerinin dizilim belirleme PCR'sinden önce arındırılması aşaması da başarılı geçmiştir. Arındırılmış PCR ürünlerinin kontrolünü gösteren bir örnek agaroz jel fotoğrafı Şekil 2.7'de verilmiştir.



Şekil 2.7 Arındırma işlemi kontrolü agaroz jeline bir örnek. Belirgin bantlar PCR ürünlerinin arındırma işlemi sırasında kaybedilmediğini gösteriyor.

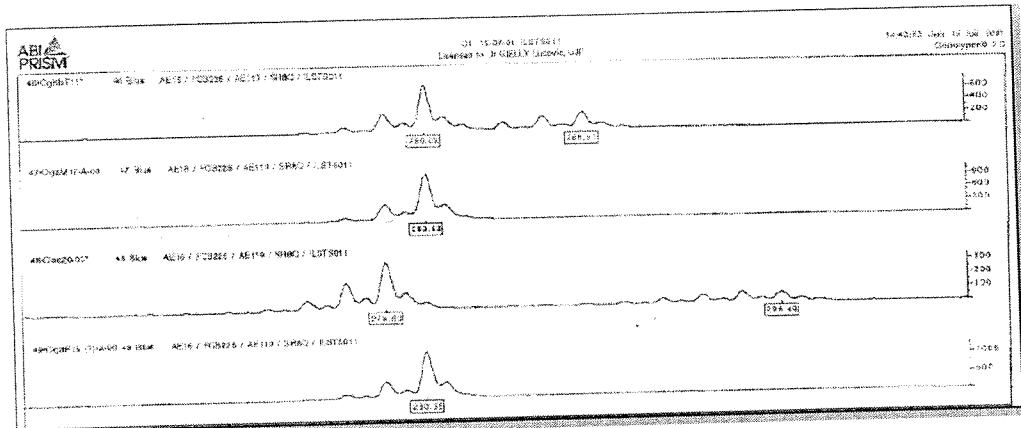
Yukarıda verilen ve mikrosatellit DNA (yaban koyunu) çalışmasıyla, mitokondriyal DNA (yaban keçisi) çalışmasının aynı başlıklar altında toplanan benzer sonuçlarının ardından, her iki çalışmada, takip eden farklı sonuçları ayrı başlıklar altında verilecektir.

2.2.4 Mikrosatellit DNA Çalışmasının Diğer Sonuçları

Aşağıdaki maddelerde, elktroforez sonuçları ve verilerin istatistiksel analizinin sonuçları verilmiştir.

2.2.4.1 Poliakrilamid Jel Elektroforezi ve Genotip Belirlemesi Sonuçları

Çalışılan 14 mikrosatellit lokusundan 10 tanesi PCR ile başarıyla yükseltgenmiştir. İşinir (flüoresan) boyayla işaretlenmiş olan – PCR sırasında yükseltgenen – mikrosatellit lokusları ABI Prism 377 otomatik dizilim belirleyici aletiyle poliakrilamid jel elektroforezinde yürütülmüş ve 54 örneğin 10 lokustaki genotipleri belirlenmiştir. Bu aşamadan sonradır ki, 6 örnek daha önce belirtilen nedenlerden dolayı çalışma dışı bırakılmış ve veriler 48 bireyle son halini almıştır. Bireylerin genotipleri, işinim (flüoresan) yoğunluğu değerlerinin tespit edilip, Genescan 2.0 ve Genotyper 2.0 adlı analiz yazılımlarından yararlanılarak belirlenmiştir. Bu yazılımların genotipleri gösteren çıktısına bir örnek Şekil 2.8'de verilmiştir.



Şekil 2.8 Her bireyin ilgili lokusundaki genotipini gösteren işnim (fluoresan) yoğunluğu değerlerinden (tepecikler) birkaç örnek

2.2.4.2 İstatistiksel Analiz Sonuçları

a) Bağlantı Dengesizliği (Linkage Disequilibrium) Sonuçları:

Genotipik bağlantı dengesizliği Genepop 3.3 yazılımı kullanılarak 10 lokus için sınanmıştır. Her lokusun diğer her lokusla bağlantı dengesizliği içinde olup olmadığı, sınanmıştır. Toplam 45 ikili yazılımın kullandığı Markov Chain ve Fisher's Exact Test ile sınanmıştır. 10'un ikili kombinasyonu (10'un ikili kombinasyonu) sadece iki tanesinde bağlantı dengesizliği görülmüştür. Bu, % 4,4'lük bir orana karşılık gelmektedir. Bu düzeydeki bir bağlantı dengesizliği şansa bağlı olarak ortaya çıkabilir, bu nedenle incelenen parametrelerin tahmin edilmesine etkisi göz ardı edilebilir (Hedrick, 2000).

b) Özdeş Olma Olasılığının (P_{ID}) Sonuçları ve Analize Girecek Bireylerin Belirlenmesi:

Toplam 54 bireyin 10 mikrosatellit lokusundaki genotipi (çoklu lokus genotipi) belirlenmiştir. Bunların içinden 6 bireyin diğer altı bireyle (ikili olarak) aynı çoklu lokus genotipine sahip olduğu görülmüştür. Elde edilen toplam (çoklu lokus) P_{ID} değeri ($P_{ID} = 9 \times 10^{-4}$) oldukça küçüktür. Bu değer, toplumdan rasgele seçilen iki farklı bireyin aynı çoklu lokus genotipin sahip olma olasılığını vermektedir. Bu olasılık anlamlı olarak düşük olduğundan, genotipleri aynı olan 6'şar bireyin aslında aynı bireyler oldukları, yani aynı bireylerin ikişer defa örneklenmesinden ibaret oldukları çok düşük bir hata payıyla gösterilmiştir. Sonuçta bu örneklerden birer tanesi analiz dışında bırakılmıştır. Böylece örnek sayısı 48'e inmiştir.

c) Alel Kaybı Testi Sonuçları:

Alel kaybı testi 6 adet rasgele seçilen bireyin çoklu lokus genotipinin tekrar bulunması (aynı DNA özüti kullanılarak PCR ve elektroforezin tekrar edilmesi) ile gerçekleştirılmıştır. Tekrarlanan 6 bireyin çoklu lokus genotipi önceki analizle aynı sonuçları verdiginden alel kaybının olmadığı sonucuna varılmıştır.

d) Genetik Çeşitlilik Analizleri Sonuçları:

Çalışılan 10 mikrosatellit lokusundaki aleller ve frekansları Tablo 2.3'te verilmiştir.

Tablo 2.3 On mikrosatellit lokusu ve gözlenen frekansları

Lokus	n	Alel (bç)	Frekans	Lokus	n	Alel (bç)	Frekans
FCB128	48	124	0,010	SRCRSP8	47	224	0,734
		128	0,990			238	0,011
FCB226	48	132	0,260	ADCYAP1	48	242	0,255
		138	0,167			108	0,688
		142	0,563			110	0,010
		150	0,010			112	0,302
CP20	48	75	0,479	BM415	46	138	0,152
		83	0,521			156	0,848
AE119	48	155	0,198	MAF214	48	187	0,344
		181	0,802			189	0,031
SRCRSP3	48	180	0,630	ILSTS011	48	219	0,625
		190	0,938			281	0,917
						289	0,083

Çalışılan 10 lokustan sadece bir tanesinin Hardy-Weinberg (HW) dengesinde bulunmadığı saptanmıştır (MAF214 lokusu). Genetik çeşitlilik parametrelerinden lokus başına düşen ortalama alel sayısı (A) 2,5 bulunurken, beklenen (H_e) ve gözlenen (H_o) heterozigotluk değerleri ise sırasıyla, $0,33 \pm 0,19$ ve $0,31 \pm 0,18$ olarak bulunmuştur. Her lokus için hesaplanan A , H_e , H_o , ve P_{ID} değerleri ile HW dengesinin P değerleri Tablo 2.4'te verilmiştir.

Tablo 2.4 10 mikrosatellit lokusundaki genetik çeşitlilik ve HW dengesi değerleri

Lokus	n	A	H_o	H_e	P_{HW}	P_{ID}
OarFCB128	48	2	0,0208	0,0206	1,0000	0,959
OarFCB226	48	4	0,6250	0,5941	0,8014	0,234
OarCP20	47	2	0,4583	0,5044	0,5715	0,375
OarAE119	48	2	0,3542	0,3208	0,6631	0,516
SRCRSP3	48	2	0,1250	0,1184	1,0000	0,786
SRCRSP8	46	3	0,4043	0,4001	1,0000	0,435
ADCYAP1	46	3	0,3958	0,4406	0,2719	0,405
BM415	48	2	0,2174	0,2609	0,2580	0,584
MAF214	48	3	0,2917	0,4954	0,0033	0,353
ILSTS011	48	2	0,1667	0,1544	1,0000	0,730
Toplam (ort.)	-	2,5	$0,3059 \pm 0,1784$	$0,3310 \pm 0,1888$	0,3835	0,0009

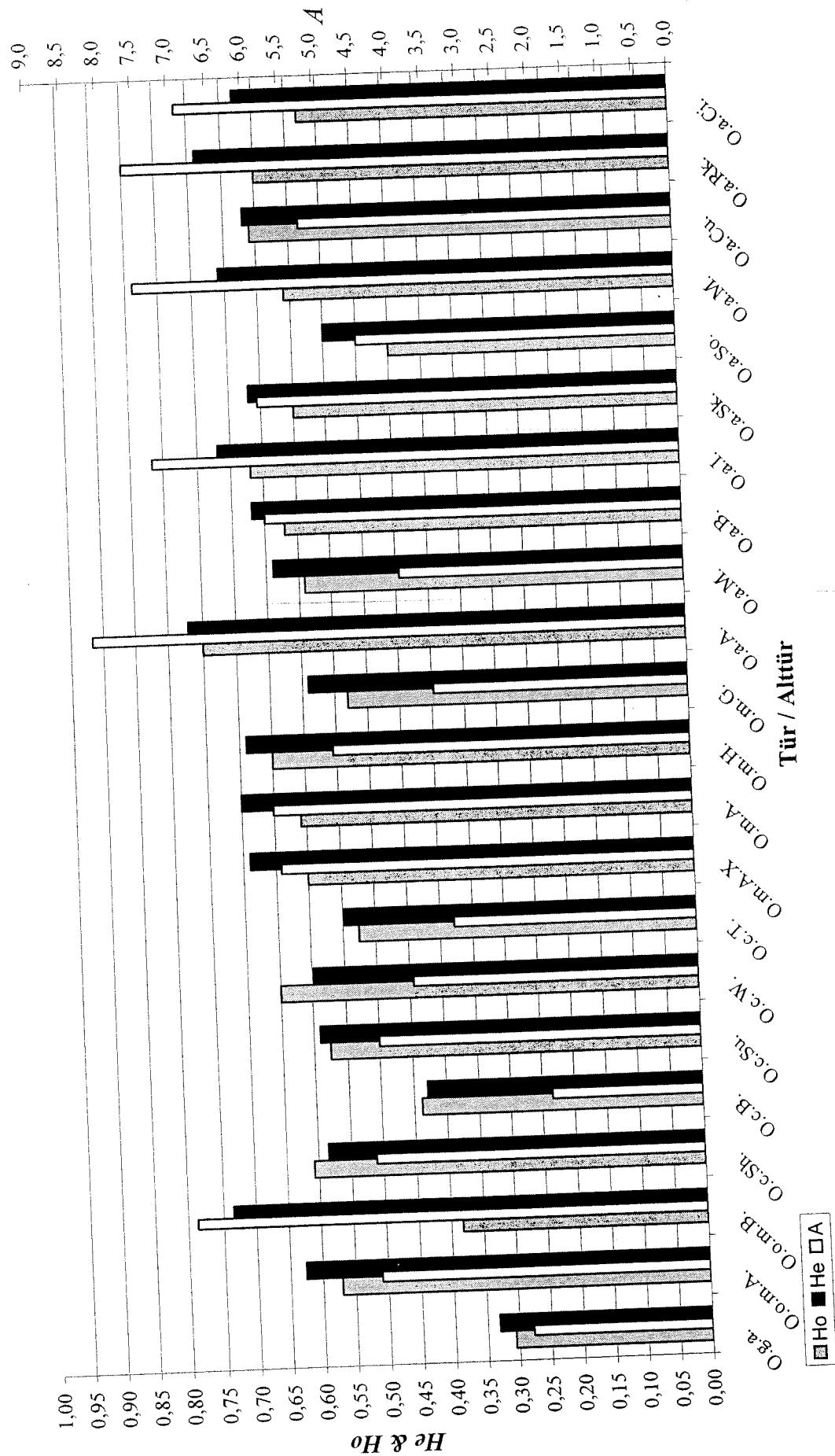
Beklenen ve gözlenen heterozigotluk seviyeleri birbirlerinden anlamlı bir farklılık göstermemiştir ki bu da toplumun – en azından – kullanılan lokuslarda Hardy-Weinberg dengesinde olduğunu göstermektedir. HW dengesinde olmayan tek lokus MAF214 ise geri kalan analizlerin dışında bırakılmıştır.

Bu değerler, çoğu genetik işaretleyicilerinden daha yüksek mutasyon oranına sahip olan ve dolayısıyla da daha yüksek bir çeşitliliğe (ör. alel sayısı) sahip olan mikrosatellit lokusları için çok düşük sayılır. Bu değerleri (H_e , H_o ve A), diğer Ovis türlerinde, yine mikrosatellit lokusları (kışmen aynı, kışmen farklı lokuslar) kullanılarak yapılmış olan genetik çeşitlilik analizleri ile karşılaştırdığımızda, Konya-Bozdağ toplumunun genetik çeşitliliğinin çok düşük olduğunu görmekteyiz. Tablo 2.5'te bu karşılaştırma için kullanılan Ovis toplumlari (farklı Ovis tür ve alttürlerine ait) hakkında bilgiler bulunmaktadır. Şekil 2.9'da ise bu toplumların genetik çeşitlilik parametrelerinin çubuk çizeneği ile görsel olarak karşılaştırması verilmiştir. A parametresi en düşük olan ikinci toplum Konya-Bozdağ'dır ve ilk toplum olan *O. canadensis* Bison Range toplumunun geçmişte 12 bireyden olduğu ve nüfusunun 20 yıl boyunca 40'ı aşmadığı, ardından da yine uzun süreler çok düşük bir nüfusla devam ettiği (yani birbirini takip eden uzun süreli ve az nüfuslu darboğazlardan geçtiği) bilinmektedir. H_e ve H_o değerleri en düşük toplum ise Konya-Bozdağ toplumu olduğu görülmektedir.

Tablo 2.5 Ovis türleri ve alttürleri arasında genetik çeşitliliğin karşılaştırılması

Tür / Alttür	Toplum / Irk	Yer	n	Paylaşilan lokus sayısı*	Lokus sayısı	A	H _o	H _e
<i>Ovis gmelinii anatolica</i>	Konya-Bozdağ	Türkiye, Orta Anadolu	48	10	10	2,50	0,31	0,33
<i>Ovis g. musimon</i>	Asco	Fransa, Korsika	39	10	12	4,58	0,57	0,63
<i>Ovis g. musimon</i>	Bavel	Fransa, Korsika	17	10	12	7,08	0,38	0,73
<i>Ovis canadensis</i>	Sheep River	Canada, Alberta	50	2	8	4,60	0,61	0,59
<i>Ovis canadensis</i>	Bison Range	Canada, Alberta	20	2	8	2,10	0,44	0,43
<i>Ovis canadensis</i>	Sun River	USA, Montana	10	2	8	4,50	0,58	0,59
<i>Ovis canadensis</i>	Whiskey Basin	USA, Wyoming	10	2	8	4,00	0,65	0,60
<i>Ovis canadensis</i>	Tarryail	USA, Colorado	10	2	8	3,40	0,53	0,55
<i>Ovis ammon</i>	Altay X	?	9	8	8	5,78	0,60	0,69
<i>Ovis ammon</i>	Altay	Moğolistan, Altay D.	12	2	14	5,86	0,61	0,70
<i>Ovis ammon</i>	Hangay	Moğolistan, Hangay D.	11	2	14	5,00	0,65	0,69
<i>Ovis ammon</i>	Gobi	Moğolistan, Gobi Çölü	7	2	14	3,57	0,53	0,59
<i>Ovis aries</i>	Awassi	?	20	3	20	8,25	0,75	0,77
<i>Ovis aries</i>	Mouflon	?	10	3	20	4,00	0,59	0,64
<i>Ovis aries</i>	Bizet	?	24	3	20	5,85	0,62	0,67
<i>Ovis aries</i>	Icelandic	?	32	3	20	7,35	0,67	0,72
<i>Ovis aries</i>	Skudde	?	32	3	20	5,90	0,60	0,67
<i>Ovis aries</i>	Soay	?	41	3	20	4,50	0,45	0,55
<i>Ovis aries</i>	Merino	?	40	3	20	7,55	0,61	0,71
<i>Ovis aries</i>	Churro	?	16	3	20	5,25	0,66	0,67
<i>Ovis aries</i>	Racka	?	30	3	20	7,65	0,65	0,74
<i>Ovis aries</i>	Chios	?	30	3	20	6,90	0,58	0,68

* Çalışmamızda kullanılan mikrosatelit lokusları ile diğer çalışmalarında kullanılan mikrosatelit lokusları arasındaki aynılarının sayısı.
O. g. Musimon verileri C. Maudet (UJF, Grenoble, Fransa) tarafından sağlanmıştır; *O. canadensis* verileri Forbes ve ark., (1995)'ten; *O. ammon* verileri Feng, (2000)'dem; *O. aries* verileri Bruford ve ark. (yayınlananmamış veriler)'den alınmıştır.



Şekil 2.9 Genetik çeşitlilik parametrelerinin farklı Ovis türleri / alttürleri arasında karşılaştırması.

Karşılaştırmada kullanılan Ovis türleri / alttürleri arasından, Konya-Bozdağ yaban koyunu toplumunda çalışılan mikrosatelit lokuslarının birçoğunu paylaşan çalışmalarındaki üç taxa (*Ovis gmelinii musimon*, Asco ve Bavella toplumları; *Ovis ammon*) seçilmiş ve bunların genetik çeşitlilik parametreleri Wilcoxon Signed Rank Test kullanılarak karşılaştırılmıştır. Testin sonuçları tüm karşılaştırmalarda anlamlı bir farklılığın varlığını ortaya koymuştur: Konya-Bozdağ toplumunun genetik çeşitliliğinin diğerlerinden anlamlı derecede düşük olduğu (Tablo 2.6).

Tablo 2.6 Konya-Bozdağ toplumunun genetik çeşitlilik parametrelerinin diğer üç taxa ile karşılaştırılması (K/A: Korsika/Asco, K/B: Korsika/Bavella, A: Altay, KB: Konya-Bozdağ)

Toplum İkilisi	A			H_0			H_e		
	t	n	P <	t	n	P <	t	n	P <
KB – K/A	2	10	10^{-3}	2	10	10^{-2}	0	10	10^{-3}
KB – K/B	0	10	10^{-3}	15	10	$5 \cdot 10^{-2}$	1	10	10^{-3}
KB – A	0	8	10^{-3}	5	8	$5 \cdot 10^{-2}$	0	8	10^{-3}

n: çalışmalar arasında paylaşılan ortak mikrosatelit lokusu sayısı; t: Student's t değeri

e) Darboğaz Analizleri Sonuçları:

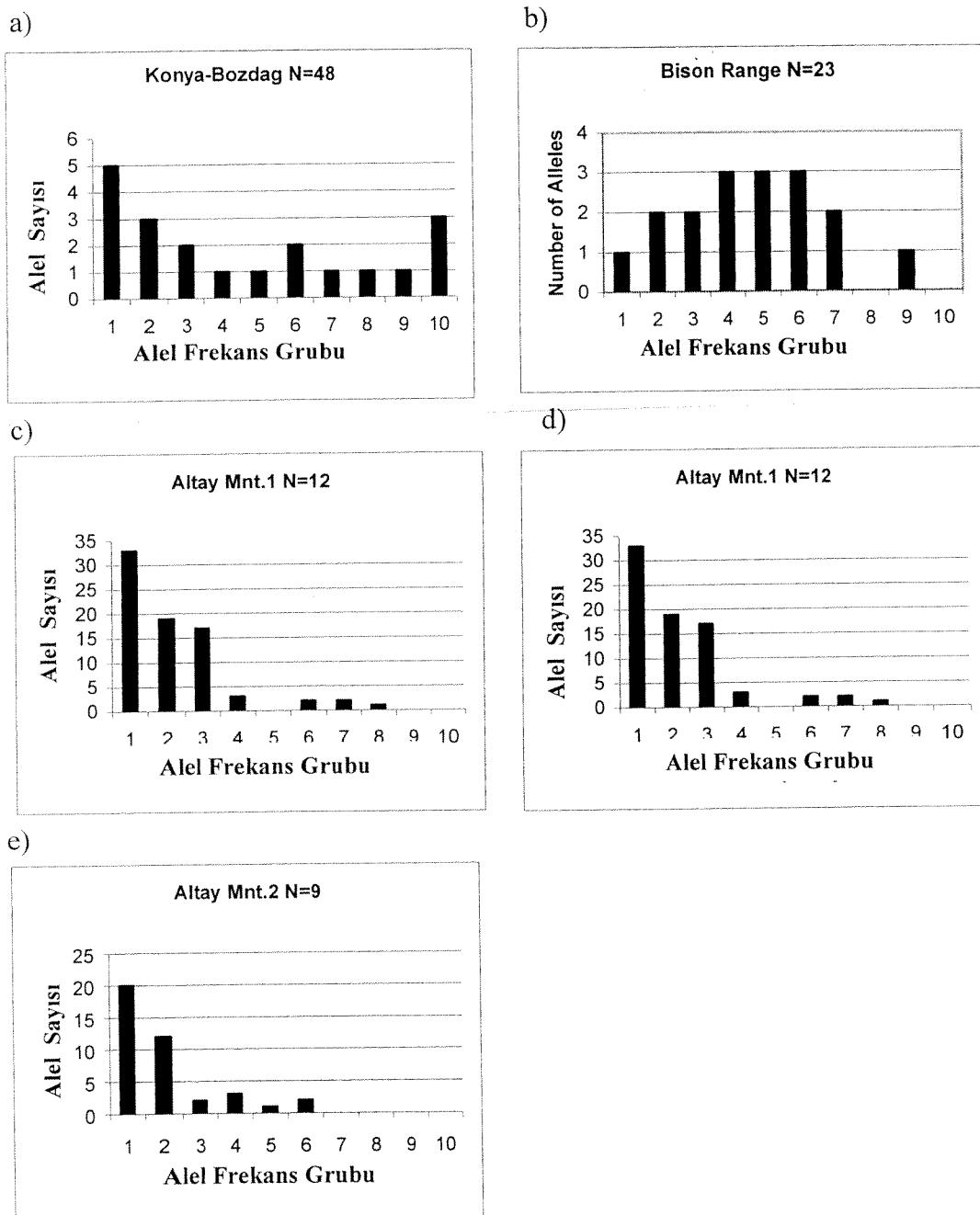
Darboğaz hipotezini test etmek, testlerde kullanılan varsayımların çalışılan toplum için ne kadar geçerli olduğunu araştırmak için yapılan darboğaz testlerinin sonuçları, Konya-Bozdağ yaban koyunu toplumunun darboğazdan geçmiş olduğunu gösterememiştir. Kullanılan ilk yöntem olan ve Bottleneck yazılımıyla yapılan testte istatistiksel olarak anlamlı bir darboğaz sinyali görülmemiştir. (Tablo 2.7).

Tablo 2.7 Bottleneck yazılımında kullanılan testler (1. sütun), varsayılan mutasyon modelleri* (1. sıra), ve karşılık gelen P değerleri

Testler	IAM	SMM	TPM
Sign Test	0,097	0,590	0,580
Standard. Diff. Test	0,078	0,460	0,460
Wilcoxon's Test	0,193	1,000	0,845

*Mutasyon modelleri: IAM, Infinite allele model – Sonsuz alel modeli; SMM, Stepwise mutation model – Adım adım mutasyon modeli; TPM, Transient phase model – Geçişli faz modeli (Piry ve ark., 1999).

Darboğaz testlerinin ikinci yöntemi olan grafiksel gösterimde de darboğaz sinyali Konya-Bozdağ toplumunda görülmemiştir. Genetik çeşitlik karşılaştırılması yapılan farklı Ovis toplumlarından dört tanesinin grafiksel gösterimi de yapılmış ve Konya-Bozdağ toplumununki ile karşılaştırılmıştır. Darboğazdan geçtiği bilinen *O. canadensis* Bison Range toplumu darboğaz sinyali göstermiştir (nadir alel grubundaki alel sayısı diğer herhangi bir gruptakinden daha düşüktür). Konya-Bozdağ toplumu ise grafiksel gösterimde darboğaz sinyali göstermemiştir (Şekil 2.10).



Şekil 2.10 Darboğaz testinin grafiksel gösterimi. (a), (c), (d) ve (e) darboğaz sinyali göstermiyorlar ama (b) gösteriyor. Her alel frekans grubu 0,999'luk bir aralığı kapsamaktadır (ör.nadir alellerin grubu 0,001-0,100 aralığını kapsar, bir sonraki grup 0,101-0,200 aralığını, ve böylece 10. ve son gruba kadar (0,901-1,000) devam eder).

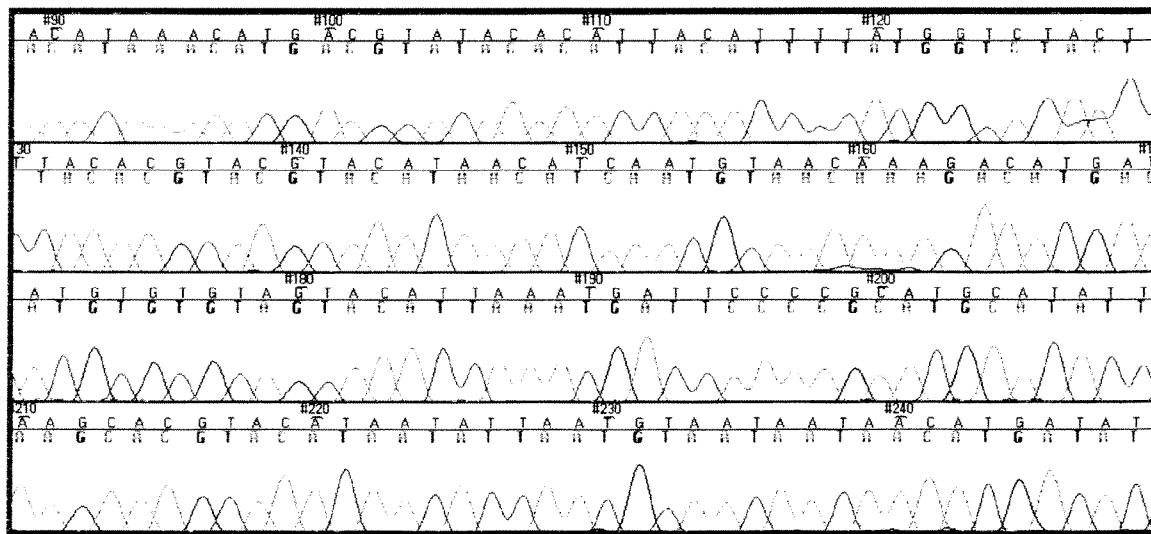
2.2.5 Mitokondriyel DNA Çalışmasının Diğer Sonuçları

2.2.5.1 Dizilim Sonuçları

Dizilim belirleme PCR'sinin ardından, ABI Prism 377 otomatik dizilim belirleyici aletiyle poliakrilamid gel elektroforezi yapılan örnekler, Sequence Navigator yazılımı kullanılarak görüntülenmiştir. Her baz için farklı bir renk kullanılmıştır (A: yeşil, C: mavi, T: kırmızı, G: siyah). Hem ileri hem de geri primerlerden elde edilen aynı dizilimlerdeki her baz tek tek karşılaştırılıp sağlanması yapılarak her bireyin dizilimlerinin son hali verilmiştir. Dizilimlerin son hali verilirken, her bazın kesin olarak belirlenip dizilimdeki yerinin kabul edilmesi için şu aşamalardan geçmiştir:

1. İlgili baz her iki dizilimde de (ileri ve geri primerlerden elde edilen) açık bir şekilde belirlenebiliyorsa (ör. belirgin ve yüksek bir tepeciğe sahipse, bkz. Şekil 2.6), o baz kabul edilir ve büyük harfle dizilimdeki yerinde bırakılır.
2. İlgili baz bir dizilimde açıkça belirgin değil ama diğerinde açıkça belirgin ise o baz kabul edilir ve küçük harfle dizilimdeki yerine yazılır.
3. İlgili baz bir dizilimde hiçbir şekilde belirlenemiyorsa, diğerinde ise açık bir şekilde belirlenebiliyorsa, o baz kabul edilmez ve yerine 'n' harfi yazılır.
4. İlgili baz her iki dizilimde de açık bir şekilde belirlenemiyorsa, o baz kabul edilmez ve yerine 'N' harfi yazılır.

Bu kurallar gözetilerek, tüm bireylerin dizilimleri son halini almıştır. Şekil 2.11'de bir bireyin diziliminin Sequence Navigator yazılımından elde edilmiş dizilim örneği görülmektedir.



Şekil 2.11 Bir bireyin Sequence Navigator yazılımı ile elde edilmiş dizilimi. Her tepecik bir baza karşılık gelmektedir.

2.2.5.2 Filogenetik Sonuçlar

a) Dizilimlerin Hizalanmasi:

Çalışmada elde edilen Türkiye'deki yaban keçisine ait dizilimler, diğer çalışmalarдан alınan Türkmenistan'daki yaban keçilerine, evcil keçi soylarına ve markhor keçisine (*Capra falconeri*) ait dizilimlerle birlikte DAMBE programı kullanılarak hizalandırılmışlardır. Dizilimleri tipatıp aynı olan bireylerden sadece bir tanesi tutulup diğerleri analizden çıkarılmışlardır. Sonuç olarak toplam 34 birey için mitokondriyal DNA D-halkası dizilimi hizalanmış şekilde elde edilmiştir. Hizalanma sonucunda görüldüğü üzere, tüm örnekler başlıca iki ana gruba ayrıldılar: D-halkası 481 baz uzunlığında olanlar ve 556 baz uzunlığında olanlar.

b) Evrimsel Model Seçimi Sonucu:

PAUP yazılımında bulunan 16 modelin arasından, Akaike Bilgi Kriteri (AIC) kullanılarak yapılan seçimde, HKY85+I+G (Hasegawa-Kishino-Yano modeli; Hasegawa ve ark., 1985) modeli ‘en az parametreyi kullanarak ‘en uygun model’den anlamlı derecede farklı olmayan model olarak belirlenmiş ve çalışmada (Maksimum Olabilirlik ve Bayes analizlerinde) kullanılacak evrimsel model olarak seçilmiştir. HKY85+I+G modeli için kullanılan 6 parametre: iki tip ornatma (t-oranı) parametresi, eşit olmayan baz frekansları, t-oranı için bir serbest parametre ve baz frekansları için üç serbest parametreden oluşmaktadır. Modelin I+G özelliği: I, çeşitlilik göstermeyen baz yerlerinin (baz yeri: dizilimdeki bazların bulunduğu noktası, bu noktası diğer bir bireyde farklı bir baz tarafından işgal edilmiş olabilir) oranına göre fazladan bir parametre ekleme yetisine sahip olduğunu; G, ise gama dağılımı için fazladan bir parametre ekleme yetisine sahip olduğunu göstermektedir.

c) Maksimum Olabilirlik (ML) ve Bootstrap Analizi Sonuçları:

Seçilen HKY85+I+G evrimsel modelini kullanarak, filogenetik ağaç için gerekli olan parametreler tahmin edilmiştir (Tablo 2.3).

olan parametreler tahmin edilmiştir (Tablo 2.5). Tablo 2.3'te, Ti/Tv oranı ‘transition’in ‘transversion’a oranını, $-\ln L$ değeri filogenetik ağacın topolojisinin maksimum olabilirlik değerini ve P inv. değeri ise çeşitlilik göstermeyen baz yerlerinin olasılığını ifade etmektedir. Dizilimde toplam 195 tane çeşitlilik gösteren baz yeri bulunmaktadır. Tahmin edilen α değeri düşük olması, çoğu baz yerlerinin yavaş evrimleştiğini ve az sayıda baz yerinin ise orta ve yüksek hızlarda evrimleştiğini göstermektedir. ‘Transition’ / ‘transversion’ oranından da anlaşıldığı gibi, ‘transition’ların ‘transversion’lara göre görülmeye sıklığı D-halkasında bekleniği gibi daha yüksek bulunmuştur (Brown ve ark., 1982). Bazlardan herhangi birinin diğerlerine göre daha sık veya daha az ornatmaya uğradığı, PAUP yazılımıyla sınanmış ve hiçbir bazın ornatma sıklığının diğerinden anlamlı olarak farklı olmadığı görülmüştür.

Tablo 2.3 HKY85+I+G evrimsel modeli için tahmin edilen parametreler

Baz Frekansları	-ln L	T _i / T _v Oranı	α	P inv.
A – 0,324014				
C – 0,214195				
G – 0,159558	2354,51341	17,206471	0,517823	0,306296
T – 0,302204				

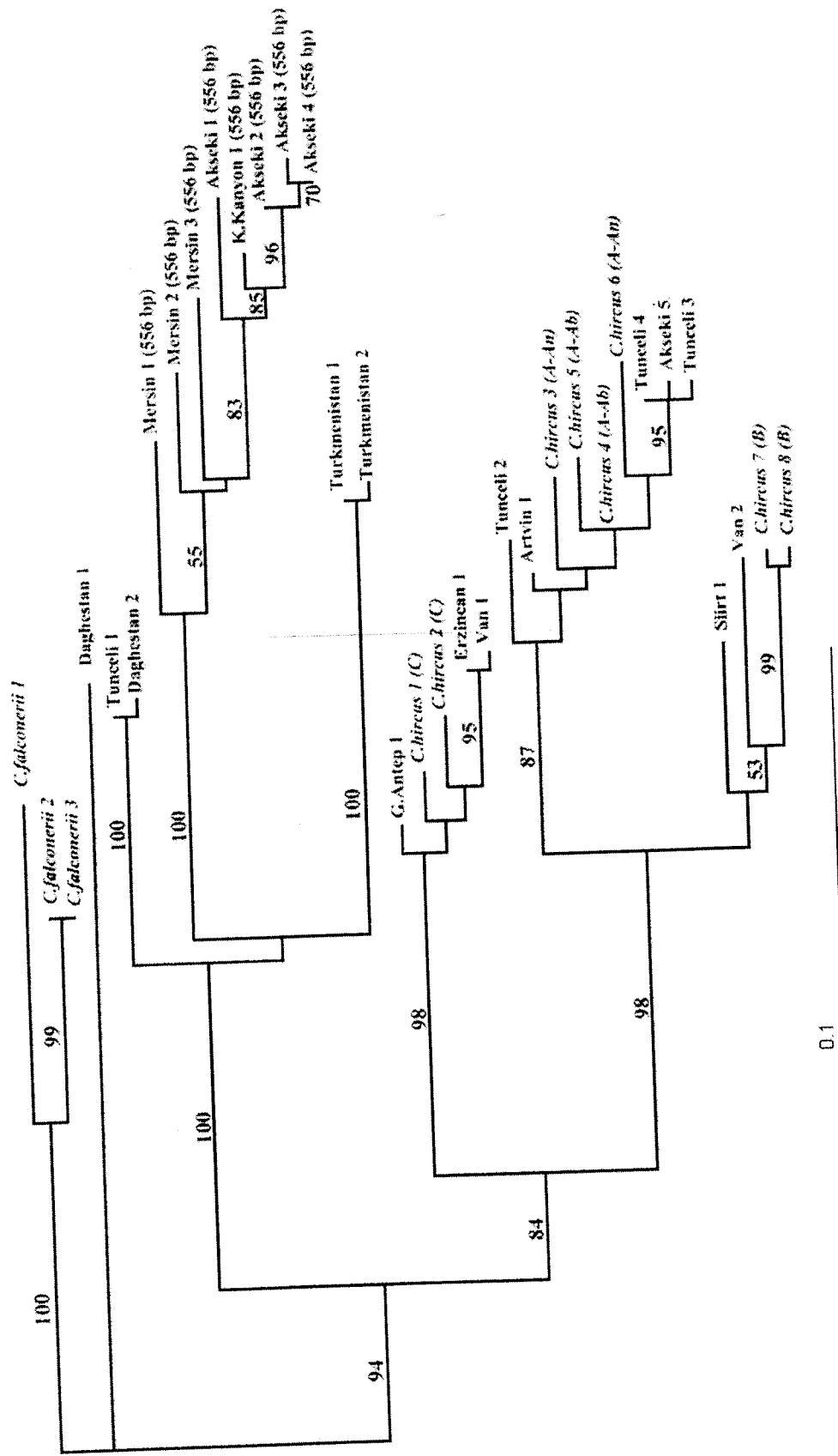
Parametreler tahmin edildikten sonra filogenetik ağacın bootstrap değerleri 100 tekrar ile elde edilmiştir. Filogenetik ağaç görsüntülemek için Treeview 1.6.6 yazılımı kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlarda Türkiye'deki yaban keçilerininki ana gruba ayrıldığı açıkça görülmektedir. Batı Anadolu yaban keçisi toplumları 556 bazlık mtDNA D-halkasında 75 bazlık bir ‘insertion’a sahipken (bir birey hariç), Doğu Anadolu toplumlarının mtDNA D-halkası 481 baz uzunluğunda bulunmuştur. Her üç soydan olan evcil keçiler, Doğu Anadolu yaban keçisi ile birlikte gruplandılar. Bunun yanı sıra, A, B ve C evcil keçi soyları, Doğu Anadolu yaban keçileri ile birlikte bulundukları grubun içinde üç ayrı alt grup halinde birbirlerinden ayrı gruplaştılar (Şekil 2.12).

d) Bayes Analizi Sonuçları:

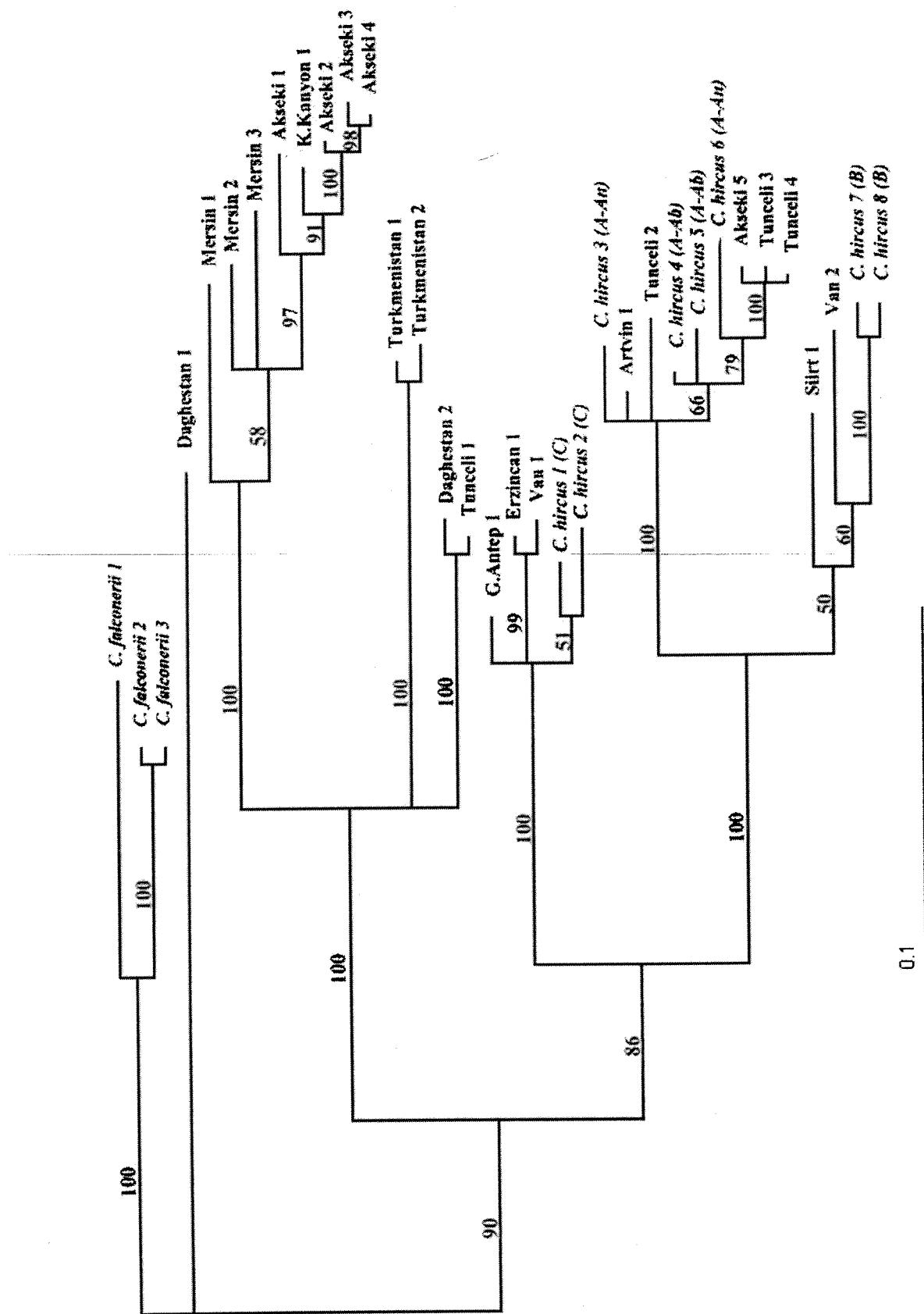
Bayes analizi sırasıyla 1 milyon tekrar yaptırılıp oluşan ağaçlardan 10000 tanesi hafızaya alınmıştır. Sonučta belirlenen ağaç Treeview 1.6.6 yazılımıyla görüntülenmiştir (Şekil 2.13). Birkaç küçük farklılık dışında Bayes analizi sonucunda elde edilen filogenetik ağaç maksimum olabilirlik analizi ile elde edilen ağaçla büyük ölçüde benzeşmektedir. Burada da Doğu ve Batı Anadolu yaban keçisi toplumları açıkça birbirlerinden ayrılmışlardır Evcil keçiler de yine Doğu Anadolu yaban keçisi toplumları ile aynı grupta yer almışlardır.

e) Nükleotid Farklılıklar Sonuçları:

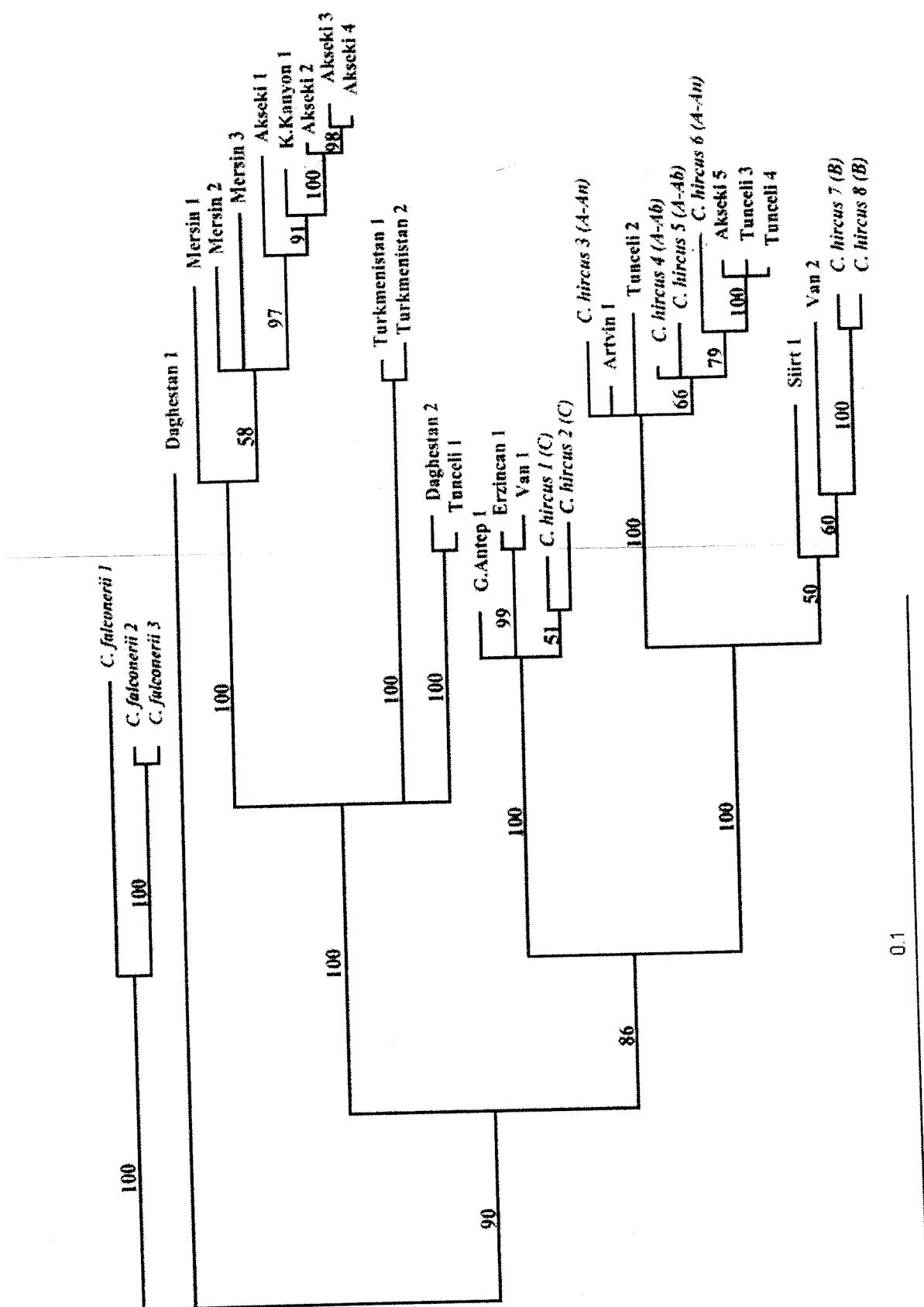
Nükleotid farklılıklar sonucları, ham nükleotid farklılıklar (Tablo 2.4-2.6) ve Kimura 2 Parametrelî modelinin gama düzeltmesi uygulanmış haliyle elde edilen nükleotid farklılıklar (Tablo 2.7-2.9) olarak hesaplanmıştır. Bu her iki farklı yaklaşım için üçer ayrı gruplandırma yapılarak ikili gruplar arasındaki ve grup içindeki nükleotid farklılıklar tablolar halinde verilmiştir.



Şekil 2.12 Maksimum Olabilirlik Analizi sonuncuda ortaya çıkan filogenetik ağacı, Dallarn üzerindeki değerler 100 tekrarlı bootstrap analizinden elde edilmiştir (50'den küçük bootstrap değerleri gösterilmemiştir).



Şekil 2.13 Bayes Analizi sonucunda oluşturulan filogenetik ağaç. Dalların üzerindeki güvenilirlik değerleri ardılı olasılıklar şeklinde hesaplamıştır.



Şekil 2.13 Bayes Analizi sonucunda oluşturulan filogenetik ağaç. Dalların üzerindeki güvenilirlik değerleri ardılı olasılıklar seklinde hesaplanmıştır.

Tablo 2.4 İkili gruplar arası ve grup içi (köşegen boyunca) ortalama han nükleotid farklılıkların Evciller tek grup halinde.

Gruplar	van	tunceli	mersin	k.kanyon	erzincan	akseki	g.antep	siirt	artvin	dağıstan	türkmen.	evcil	falconerii
van	38,000												
tunceli		37,375	26,500										
mersin	49,000	44,833	22,667										
k.kanyon	48,000	48,000	24,000	0									
erzincan	19,000	39,750	48,000	50,000	0								
akseki	47,700	42,900	30,733	17,600	48,200	26,800							
g.antep	23,000	35,000	47,000	49,000	9,000	46,000	0						
siirt	30,000	30,500	52,000	49,000	40,000	47,800	38,000	0					
artvin	31,500	20,250	49,333	54,000	38,000	48,400	34,000	22,000	0				
dağıstan	50,000	46,875	47,333	44,000	46,500	48,500	46,000	53,500	55,500	56,000			
türkmen.	46,750	46,500	39,000	37,500	46,000	40,100	47,000	48,500	50,500	48,500	1,000		
evcil	29,813	28,281	48,208	51,500	31,125	46,850	27,625	27,250	19,750	53,063	50,000	27,536	
falconerii	46,833	49,250	55,778	52,333	48,333	55,800	44,333	47,333	50,000	48,167	54,167	48,750	16,667

Tablo 2.5 İkili gruplar arası ve grup içi (köşegen boyunca) ortalama ham nükleotid farklılıklar. Evciller soylarına göre ayrılmış halde.

Gruplar	van	tunceli	mersin	k.kanyon	erzincan	akseki	g.antep	siirt	artvin	dağıstan	türkmen.	A soyu	B soyu	C soyu	g.			A	B	C									
															k	tunceli	mersin	kanyon	erzincan	akseki	antep	siirt	artvin	dağıstan	türkmen.	soyu	soyu	soyu	falconerii
van	38,00																												
tunceli	37,375	26,50																											
mersin	49,000	44,833	22,667																										
k.kanyon	48,000	48,000	24,000	0																									
erzincan	19,000	39,750	48,000	50,000	0																								
akseki	47,700	42,900	30,733	17,600	48,200	26,800																							
g.antep	23,000	35,000	47,000	49,000	9,000	46,000	0																						
siirt	30,000	30,500	52,000	49,000	40,000	47,800	38,000	0																					
artvin	31,500	20,250	49,333	54,000	38,000	48,400	34,000	22,00	0																				
dağıstan	50,000	46,875	47,333	44,000	46,500	48,500	46,000	53,50	55,50	56,000																			
türkmen.	46,750	46,500	39,000	37,500	46,000	40,100	47,000	48,50	50,50	48,500	1,00																		
A soyu	33,875	20,250	48,667	54,000	39,000	46,250	34,500	25,00	8,00	54,750	51,500	3,667																	
B soyu	28,000	32,750	48,667	50,500	36,000	48,700	34,000	20,00	26,00	55,000	49,500	29,500	2,00																
C soyu	23,500	39,875	46,833	47,500	10,500	46,200	7,500	39,00	37,00	47,750	47,500	39,250	38,50	7,00															
falconerii	46,833	49,250	55,778	52,333	48,333	55,800	44,333	47,33	50,00	48,167	54,167	50,833	45,33	48,00	16,667														

Tablo 2.6 İkili gruplar arası ve grup içi (köşegen boyunca) ortalama ham nükleoid farklılıklar. Evciller soyollarına ayrılmış halde (ve filogenetik ağacı beklenmeyen grupların içinde çıkan bireyler ayrılmış halde).

Tablo 2.7 İkili gruplar arası ve grup içi (köşegen boyunca) ortalama K2P nükleotid farklılıklar. Evciller tek grup halinde.
(Kimura 2 Parametreli modelinden elde edilen mesafe değerlerinin gama düzeltmesi yapılarak elde edilmişdir, $\alpha=0,52$).

<i>Gruplar</i>	<i>van</i>	<i>tunceli</i>	<i>mersin</i>	<i>k.kanyon</i>	<i>erzincan</i>	<i>akseki</i>	<i>g.antep</i>	<i>siirt</i>	<i>artvin</i>	<i>dağıstan</i>	<i>türkmen.</i>	<i>evcil</i>	<i>falconerii</i>
van	0,101												
tunceli	0,100	0,073											
mersin	0,140	0,126	0,046										
k.kanyon	0,143	0,146	0,051	0									
erzincan	0,050	0,108	0,136	0,151	0								
akseki	0,140	0,129	0,073	0,048	0,141	0,078							
g.antep	0,058	0,092	0,133	0,147	0,020	0,134	0						
siirt	0,078	0,079	0,154	0,148	0,109	0,143	0,102	0					
artvin	0,081	0,054	0,142	0,170	0,102	0,151	0,088	0,053	0				
dağıstan	0,146	0,142	0,140	0,130	0,133	0,147	0,132	0,164	0,171	0,172			
türkmen.	0,134	0,136	0,104	0,104	0,131	0,112	0,136	0,142	0,150	0,149	0,002		
evcil	0,077	0,075	0,137	0,158	0,082	0,141	0,071	0,069	0,049	0,161	0,148	0,071	
falconerii	0,129	0,139	0,164	0,157	0,135	0,168	0,121	0,132	0,142	0,135	0,160	0,137	0,040

Tablo 2.8 İkili gruplar arası ve grup içi (köşegen boyunca) ortalama K2P nükleotid farklılıklar. Evciller soyollarına ayrılmış halde.

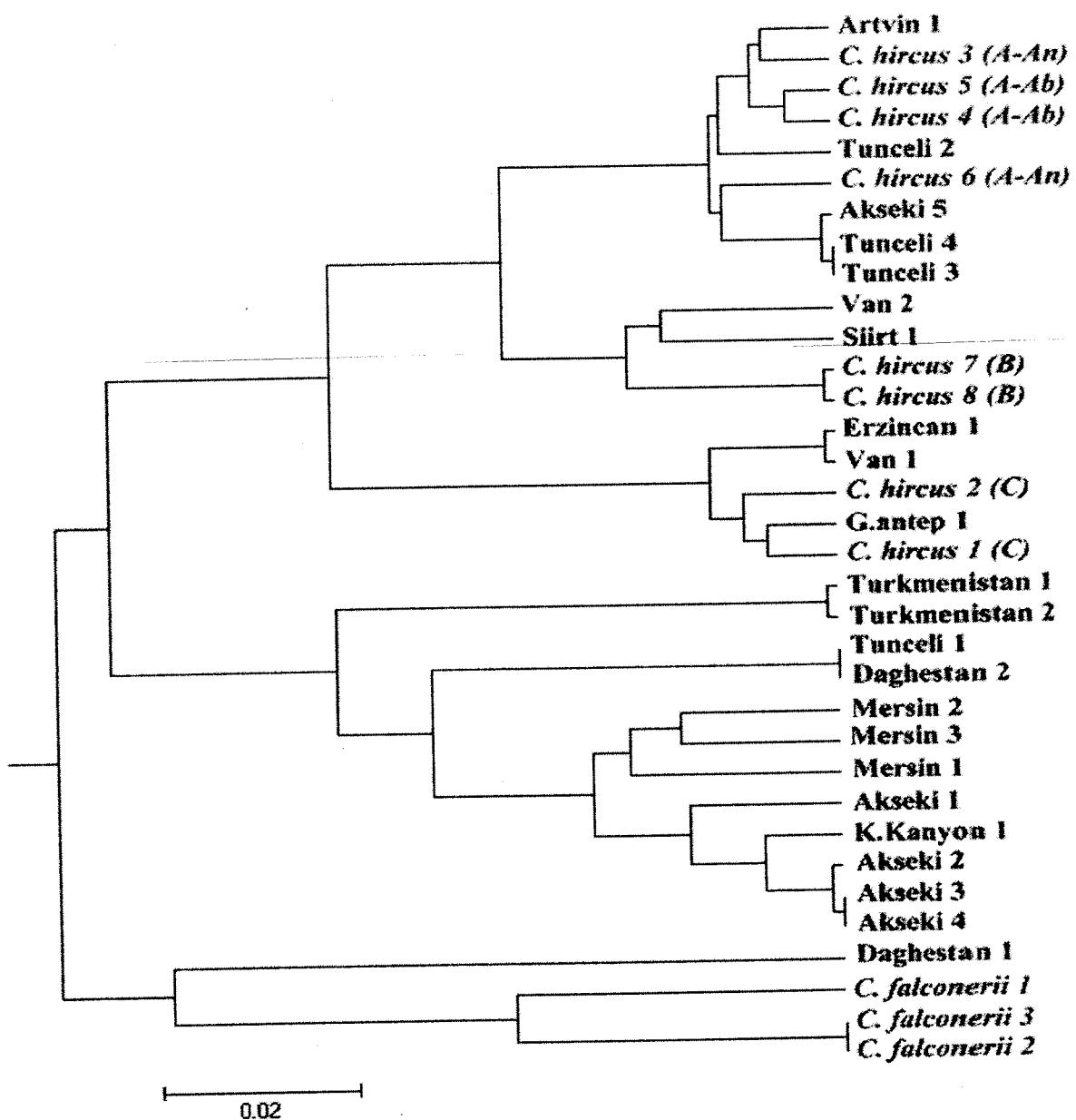
<i>Gruplar</i>	<i>van</i>	<i>tunceli</i>	<i>mersin</i>	<i>k.kanyon</i>	<i>erzincan</i>	<i>akseki</i>	<i>g.antep</i>	<i>siirt</i>	<i>artvin</i>	<i>dagistan</i>	<i>turkmen</i>	<i>A soyu</i>	<i>B soyu</i>	<i>C soyu</i>	<i>falconerii</i>
	0,101														
van	0,101	0,100	0,073												
tunceli	0,100	0,073													
mersin	0,140	0,126	0,046												
k.kanyon	0,143	0,146	0,051	0											
erzincan	0,050	0,108	0,136	0,151	0										
akseki	0,140	0,129	0,073	0,048	0,141	0,078									
g.antep	0,058	0,092	0,133	0,147	0,020	0,134	0								
siirt	0,078	0,079	0,154	0,148	0,109	0,143	0,102	0							
artvin	0,081	0,054	0,142	0,170	0,102	0,151	0,088	0,053	0						
dagistan	0,146	0,142	0,140	0,130	0,133	0,147	0,132	0,164	0,171	0,172					
turkmen	0,134	0,136	0,104	0,104	0,131	0,112	0,136	0,142	0,150	0,149	0,002				
A soyu	0,089	0,053	0,140	0,170	0,105	0,142	0,090	0,061	0,018	0,168	0,154				
B soyu	0,071	0,086	0,139	0,154	0,095	0,146	0,088	0,047	0,064	0,170	0,146	0,004			
C soyu	0,059	0,107	0,131	0,140	0,023	0,132	0,016	0,105	0,098	0,138	0,136	0,105	0,103	0,015	
falconerii	0,129	0,139	0,164	0,157	0,135	0,168	0,121	0,132	0,142	0,135	0,160	0,146	0,124	0,133	0,040

Tablo 2.9 İkili gruplar arası ve grup içi (köşegen boyunca) ortalama K2P nükleotid farklılıklarını. Evciller soylarına ayrılmış halde (KIRMIZI) ve filogenetik ağaçta bireyler ayrılmış halde (MİYAVI).

Gruplar	Van 2	Van 1	tunceli 2	tunceli 1	K. mersin	k. kanyon	akseki 5	Van 1	g. antep	dağ. 2	türkm.	dağ. 1	A soyu	B soyu	C soyu	falconerii
	Van 2	Van 1	tunceli 2	tunceli 1	mersin	kanyon	erzincan	akseki 5	akseli 5	antep	siirt	artvin	dağ. 2	türkm.	dağ. 1	falconerii
Van 2	0															
tunceli	0,07	0,02														
tunceli 1	0,14	0,13	0,00													
mersin	0,14	0,14	0,08	0,05												
k.kanyon	0,13	0,17	0,08	0,05	0,00											
erzincan	0,10	0,11	0,11	0,14	0,15	0,00										
akseli 5	0,08	0,01	0,13	0,14	0,17	0,11	0,00									
akseli 5	0,15	0,17	0,09	0,06	0,02	0,15	0,17	0,02								
akseli	0,15	0,17	0,09	0,06	0,02	0,15	0,17	0,02	0,00							
Van 1	0,10	0,11	0,12	0,14	0,16	0,00	0,11	0,11	0,15	0,00						
g.antep	0,09	0,09	0,10	0,13	0,15	0,02	0,09	0,11	0,11	0,02	0,00					
siirt	0,04	0,06	0,13	0,15	0,15	0,11	0,07	0,16	0,11	0,10	0,00					
siirt	0,04	0,06	0,13	0,15	0,15	0,11	0,07	0,16	0,11	0,10	0,00					
artvin	0,06	0,02	0,14	0,14	0,17	0,10	0,03	0,18	0,11	0,09	0,05	0,00				
dağ. 2	0,14	0,13	0,00	0,08	0,09	0,12	0,14	0,09	0,12	0,11	0,13	0,15	0,00			
türkm.	0,13	0,15	0,08	0,10	0,10	0,13	0,16	0,10	0,14	0,14	0,14	0,15	0,08	0,00		
dağ. 1	0,17	0,19	0,17	0,20	0,17	0,15	0,20	0,19	0,15	0,16	0,20	0,20	0,17	0,21	0,00	
A soyu	0,07	0,03	0,14	0,14	0,17	0,11	0,03	0,17	0,11	0,09	0,06	0,02	0,14	0,15	0,19	0,02
B soyu	0,04	0,07	0,13	0,14	0,15	0,10	0,08	0,16	0,10	0,09	0,05	0,06	0,14	0,15	0,21	0,07
C soyu	0,09	0,11	0,11	0,13	0,14	0,02	0,11	0,14	0,03	0,11	0,10	0,11	0,14	0,17	0,11	0,02
falconerii	0,12	0,14	0,13	0,16	0,16	0,14	0,15	0,17	0,14	0,12	0,13	0,14	0,14	0,16	0,13	0,04

f) UPGMA Sonuçları:

Elde edilen UPGMA ağıacı, ML ve Bayes filogenetik ağaçlarıyla aynı sonucu vermiştir (Şekil 2.14).



Şekil 2.14 MEGA 2.1 programı ile edilen UPGMA ağıacı.

2.2 SONUÇLARIN KARŞILAŞTIRILMASI ve YORUMLANMASI

Müdahalesiz genetik örneklemenin, özellikle soyu tehlikede olan yaban hayvanlarının örneklenmesi için çok uygun bir yöntem olduğu görülmüştür. Bu yöntem sayesinde çalışmada hiçbir hayvanın yakalanması gerekmemiş ama bununla beraber çok sayıda örnek toplanabilmiştir. Buna karşın dişki ve eski doku örneklerinde az miktarda DNA bulunması, birçok PCR engelleyicisinin (inhibitor) bulunması ve dişkilerin çevre koşulları nedeniyle dokuların ise zamansal ve kimyasal etmenlerden tahribata uğramasıyla içerdikleri DNA'nın parçalanmışlığı, güvenilir genotipler ve haplotipler elde etmeyi zorlaştırmaktadır. Bu olumsuzlukları azaltabilmek için toplanan dişki örneklerinin taze olmasına dikkat edilmelidir. Arazide gözlenen hayvanlardan dişki örneklemesi yapmak taze dişki elde etmenin en güvenilir yoludur. Yaban koyunu çalışmasında DNA'sı özütlenemeyeip çalışma dışında bırakılan örnekler gözlenmemiş hayvanlardan alınan örnekler olmuştur. Gözlenen hayvanlardan yapılan örneklemelerin tümünde DNA özütlemesi başarılı olmuştur. Benzer sonuçlar yaban keçisi çalışmasında da alınmıştır. Dişki örneklerinin DNA özütlemesinde olumlu sonuç verme oranı diğer örneklerde (doku ve boynuz özy) göre daha yüksek çıkmıştır. Bunun en önemli sebebi de dişki örneklerinin taze olmasıdır. Dişki örnekleri kullanmanın riski ise aynı bireyi birden fazla örneklemek olmaktadır. Yaban koyunu çalışmasında bu riske karşı P_{ID} değerinden faydalaniılmıştır. Sonuç olarak altı bireyin iki defa örneklediği ve yanlışlıkla 12 farklı birey gibi örnekler dahil edildiği anlaşılmış ve bunlardan birer tanesi verilerden çıkarılmıştır. Çalışmada kullanılan P_{ID} değeri beklenen P_{ID} değeridir. Waits ve arkadaşlarının (2001) çalışmasında beklenen P_{ID} ile gözlenen P_{ID} değerinin birbirinden birkaç ondalık değer (order of magnitude) farklı olabileceği belirtilmektedir. Bunun başlıca sebepleri arasında da toplum alt-yapılanması ile akrabaların örneklenmesi sayılmaktadır. Waits ve arkadaşları (2001) bu derece bir farkın sonuçları değiştirebileceğini belirtmekle beraber, kullanılan lokus sayısının 9-10'dan büyük olduğu durumlarda bu farkın gözardı edilebilcek seviyelerde olacığını vurgularlar. Çalışmamızda kullanılan lokus sayısının bu sınırla olduğu düşünülürse vardığımız sonuçların geçerliliği ortaya çıkmaktadır.

Yaban koyunu çalışmasında kullanılan 11 doku örneğinden sadece bir tanesinden DNA özütlemesi yapılamamıştır. Yaban keçisi çalışmasında ise doku örneklerinden yapılan DNA özütlemesinin başarı oranı daha düşüktür. Bu farkın oluşmasındaki en önemli neden, yaban koyunu doku örneklerinin birkaç yıllık postlardan ya da yeni olmuş bireylerden alınmış olması ama yaban keçisi doku örneklerinin çoğunun daha eski ve kimyasal işlemlerden geçmiş olmasıdır. Yaban keçisi çalışmasında toplanan boynuz özy örneklerinden DNA özütlemesi yapılmış, fakat aynı bireylere ait olan doku örneklerinden elde edilen DNA özütünün kullanılması yeğlendigidinden boynuz özy örnekleri değerlendirmeye alınmamıştır.

Müdahalesiz DNA örneklemesi yapılan çalışmalarla rastlanan diğer bir olumsuzluk ise alel kaybından doğan hatalı genotiplendirmedir. Dişki örneklerinyle yapılan çalışmalarla alel kaybının oranını araştıran bazı çalışmalar vardır. Bayes ve arkadaşlarının (2000) babun dişkileri ile yaptıkları çalışmada gözledikleri alel kaybı 238 genotipte 18 olmuştur. Çalışmamızda alel kaybını test etmek için tekrarladığımız altı örnekte alel kaybına rastlamadan aynı genotipleri elde etmemiz, tüm çalışmada alel kaybı olmuş olma ihtimalini sıfırlamaya yeterli değildir. Ancak genetik çeşitlilik, toplum yapısı, F istatistiği ve genetik mesafe gibi soruların yanıtlanmasımda düşük seviyelerde alel kaybının sonuçlara önemli bir etkisi olmayacağı düşünülmektedir. Düşük seviyelerde de

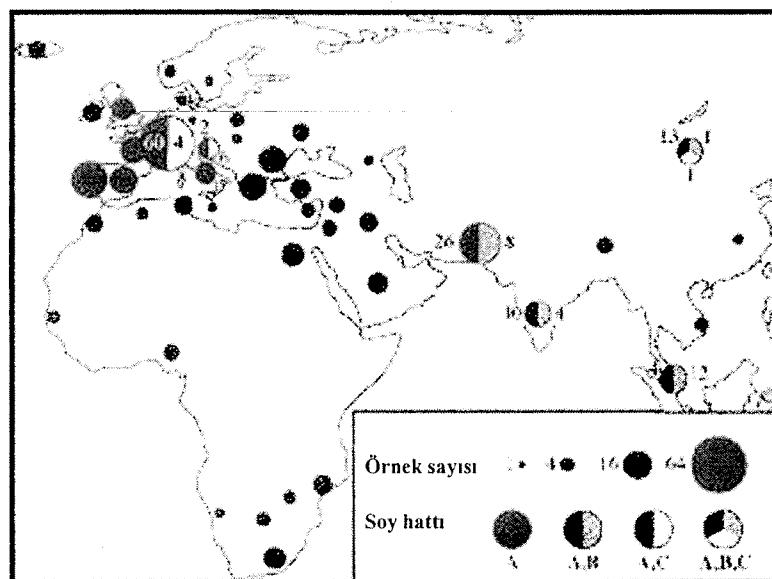
olsa alel kaybının kesinlikle önemli olduğu soruların başında ebeveyn belirleme ve adli tıp çalışmaları gelir.

Türkiye'deki yaban keçilerinin filogenetik çalışmasının sonuçlarından birisi, Doğu ve Batı Anadolu'daki toplumlarının arasında 75 bç'lik bir dizilim farkının bulunması oldu. Filogeniye evcil keçi soylarının ve birkaç fraklı yaban keçisi türünün de eklenmesi, sonuçların derinleşmesinde ve yorumlanmasında yarar sağladı. Evcil keçilerin atasal dizilimleri temsil etmesi ve Doğu Anadolu toplumlarının evcil keçilerle gruplanması, 481 bç'lik dizilimin – 556 bç'lik dizilime göre – öncül olduğunu, ve 556 bç'lik dizilimin çok büyük ihtimalle bir 'insertion' sonucunda ortaya çıktığını desteklemektedir. Bunun yanısıra batı Anadolu yaban keçisi toplumlarının dışındaki örneklenen tüm Anadolu yaban keçisi toplumlarda 481 bç'lik dizilim görülmüştür. Bu bilgilere ek olarak Luikart ve arkadaşlarının (2001) çalışmalarında 556 bç'lik dizilime sahip olan iki evcil keçi bireyi saptanmıştır.

Yaban keçisi filogenisi oluştururken kullanılan karakter bazlı yöntemlerden Maksimum Olabilirlik (ML) ve Bayes analizleri çok benzer sonuçlar verdiler. ML analizinde kullanılan bootstrap değerleri ile Bayes analizinde kullanılan ardıl olasılık değerleri ana dallarda çoğulukla %100'e yakın %85-%100 arasında değişen değerler göstererek sonuçların güvenilirliğini ortaya koydular. Fenetik bir yöntem olan UPGMA, kladistik yöntemlerle aynı sonucu vererek toplumlar arasındaki filogenetik topolojiyi desteklemiş olmakla beraber, basit fenetik yöntemlerin, çok daha karmaşık ve varsayımlı nükleotid farklılıklarını sonuçlarının yer aldığı matrislerde de görülmektedir. Bu sonuçlara göre iki ana grup belirlenmiştir: birincisi evcil keçilerle birlikte Doğu Anadolu dizilimlerinin oluşturduğu grup, ikincisi batı Anadolu yaban keçilerinin oluşturduğu grup. Bir tanesi Akseki toplumundan (Akseki-5) diğer Tunceli toplumundan olmak üzere bu gruplamaya aykırı iki dizilim bulunmaktadır. Akseki'den alınan bir dışkı örneğinden elde edilen dizilimin Doğu Anadolu toplumları ve evcil keçiler gibi 481 bç'lik dizilim vermesinin çalışma dahilinde olası iki açıklaması olabilir: yaban keçisine ait olduğu sanılan örneğin bir evcil keçiye ait olması, ya da yöredeki evcil keçilerle yaban keçileri arasında olmuş olan melezleşme sonucunda ortaya çıkan bir bireye ait olması. Örneğin toplandığı tarihlerde (kış) bölgede evcil keçi sürülerinin kesinlikle bulunmadığı ve alınan dışkı örneğinin de eski olmadığı bilindiği için ilk olasılık elenmiştir. Sonuçta geçmişte veya günümüzde vukuu bulan melezleşmelerden söz etmek ve batı Anadolu toplumlarda 481 bç'lik dizilime sahip başka bireylerin de bulunduğu şüphe etmek yerinde olur. Bunun yanısıra, Akseki-5 bireyinin A evcil keçi soyuyla arasındaki nükleotid farklılığı değerinin en düşük olması da bu bireyin evcil-yaban melezi olduğunu destekler niteliktir. Ancak bu savı araştırmak için daha çok örneklemeye ve devamında genetik çalışmalar yapmak gerekecektir.

Doğu Anadolu yaban keçiliyle gruplanan evcil keçi dizilimlerinin A, B ve C soyları, bazı yaban keçisi toplumlarıyla birlikte üç ayrı alt grubu ayrılmıştır. Tüm sonuçlarda görüldüğü üzere Tunceli toplumu ve Artvin toplumundan çalışılan bir birey A soyundan evcil keçilerle gruplanmıştır. Tunceli toplumundan yalnız bir birey (Tunceli-1) Dağıstan toplumundan bir bireyle gruplanarak batı Anadolu ana grubuna yakın yer almıştır. Nükleotid farklılığı matrislerinin bir tipinde (Tablo 3.5 ve 3.8) Tunceli-1 bireyi Tunceli grubundan ayrılmış ve sonucunda Tunceli grubu ile evcil keçilerin A soyu arasındaki farklılık minimuma inmişdir (20,250'den 11,000'a). Yine tüm analiz sonuçlarında görüldüğü üzere Siirt ve Van toplumlarından alınan örnekler evcil keçilerin B soyu ile gruplanmıştır. Yalnız Van-1 bireyi Van grubundan çıkartıldığında, nükleotid

farkları matrisinden de görüleceği üzere Siirt-Van grubunun B evcil soyu ile arasındaki fark minimuma inmiştir (Tablo 3.5 ve 3.8). Son olarak da Erzincan ve Gaziantep toplumlarına ait bireyler evcil keçilerin C soyu ile aynı grupta yer almışlardır. Bu gruba ayrıca Van-1 örneği de eklenebilir. Bu sonuçlarda ilgi çekici olan evcil-yaban gruplaşmasının coğrafi çizgileri de izliyor olmasıdır, evcil keçi soylarıyla aynı gruba düşen yaban keçilerinin toplumları ayrı coğrafi bölgelerde olmaktansa komşu bölgelerde olmuşlardır. Buna ek olarak Türkmenistan ve Dağıstan dizilimleri hiçbir evcil keçi soyuyla gruplanmamıştır. Evcil keçi soylarıyla bölgesel yabani keçi toplumlarının düzenli bir gruplanma göstermesi, bu tür bir gruplaşmanın daha uzak yaban keçisi toplumları ile görülmemiş olması Doğu Anadolu'nun olası bir evcilleştirme merkezi olduğunu destekler bulgulardır. Benzer sonuçların evcil ve yaban keçilerinin melezleşmesi sonucu da ortaya çıkabileceğini akla gelebilir. Ama melezleşme olasığını desteklemeyen iki noktadan birincisi evcil-yaban gruplaşmasında gayet düzgün bir evcil soyu-farklı yaban keçisi toplumları alt gruplaşmasının ortaya çıkış olması; ikincisi ise Doğu Anadolu'da görülebilecek bu boyutta bir melezleşmenin aynı oranda batı Anadolu'da da görülmesinin bekleneceği ama bunun aksının bulunmuş olmasıdır.



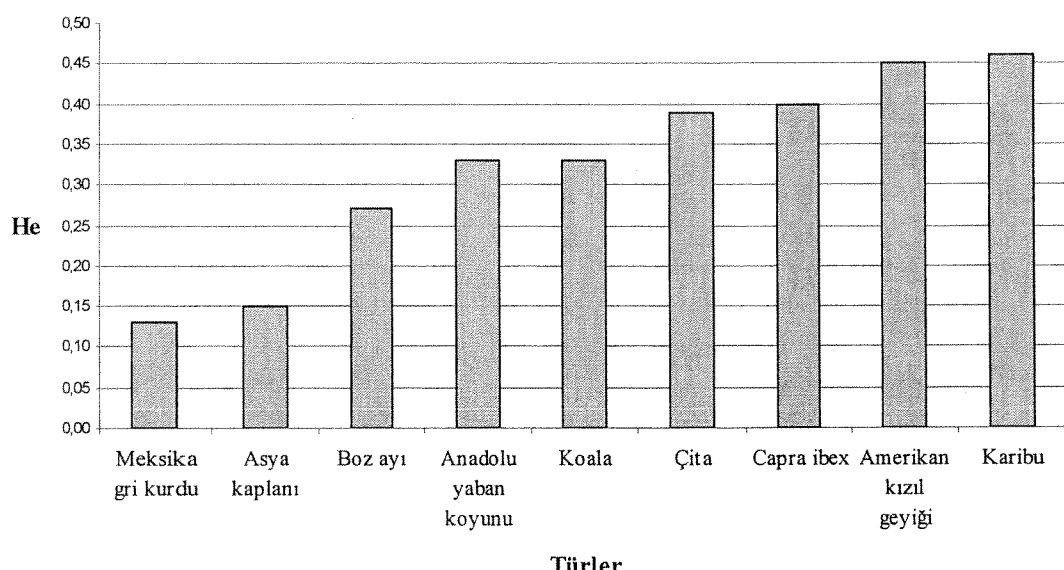
Şekil 2.15 MtDNA üç evcil keçi soyunun coğrafi dağılımını gösteren harita. Siyah: A soyu, gri: B soyu, beyaz: C soyu. (Luikart ve ark., 2001)

Tunceli ve Artvin toplumları dışındaki Doğu Anadolu toplumları B ya da C evcil keçi soyuyla birlikte gruplandılar. Oysa B ve C soylarının öne sürülen evcilleştirilme merkezleri sırasıyla Güney Asya ile Moğolistan ve Avrupa'dır. Ayrıca Türkiye'de bu soylardan olan evcil keçiler bulunmamaktadır ki bu da melezleşmiş olma ihtimalini ortadan kaldırmaktadır. Öyleyse Doğu Anadolu yaban keçisi toplumlarının evcil soyların atası olduğu olasılığı ortaya çıkmaktadır. Aynı zamanda, diğer birçok türün evcilleştirilmesinde olduğu gibi keçilerde birden fazla evcilleştirme merkezi olduğu savı ise bulgularla uyuşmamaktadır. Yaban keçilerinin Doğu Anadolu'daki ilk evcilleştirilmelerinin ardından Avrupa ve Asya'ya götürülmüş olma ihtimali sonuçlarımızı açıklar niteliktedir. Bu hipotezi desteklemek için daha çok sayıda örnektен alınacak mtDNA verisine ve çekirdek DNA'sı verilerine ihtiyaç vardır.

Konya-Bozdağ yaban koyunu toplumunun genetik çeşitliliği bekendiği gibi

düşük çıktı. Yakın sayılabilen bir tarihe (1960'lar) kadar nüfusu 35-50 kadar düşük bir seviyede olan bir toplumun özellikle gen sürüklənməsinin artan etkisiyle genetik çeşitliliğinin azalmış olacağı bekleniyordu. Ayrıca toplumun geçirdiği darboğazın bir kısmı kayıtlara geçtiğinden, (1960'larda en düşük seviyesinden 2001'e kadar hızla artması, darboğazdan çıkışın gerçekleşmesi) bu darboğazın yapısına göre toplumun genetik çeşitliliğinin daha da fazla azalmış olması mümkün oldu. Genetik çeşitlilik bir yarısı canlı toplumlarının özellikle uzun vadede, değişen çevre koşullarına uyum sağlayabilme potansiyellerini oluşturur. Bu potansiyelin kaybı toplumun yok olma riskini artırır. Genetik çeşitliliğin darboğaz etkisiyle kaybolması ise küçülmüş olan toplumda kendileşmenin (inbreeding) artmasına neden olarak kendileşme çöküntüsü (inbreeding depression) oluşmasına ve toplumun yaşayabilirliğinin azalmasına neden olur.

Elde ettiğimiz beklenen ve gözlenen heterozigotluk düzeylerinin yüksek bir standart hata payı içerdığını gördük ($H_o = 0,3059 \pm 0,1784$, $H_e = 0,3310 \pm 0,1888$). Bunun nedeni H_o ve H_e değerlerini tahmin etmek için kullandığımız lokus sayısının (10 lokus) genomdaki toplam lokus sayısına göre çok düşük olmasıdır. Daha düşük bir standart hata payı için en azından 30 lokus çalışılmalıdır. Lokus başına düşen ortalama alel sayısı (A) da düşük bir değerdi ($A = 2.5$) ve diğer Ovis türlerinin mikrosatellit lokusu çalışmalarının sonuçlarıyla karşılaştırıldığında bu daha açık bir şekilde görüldü. Diğer toynaklı (ungulata) türleriyle yapılan mikrosatellit çalışmalarından elde edilen H_e değerleri: *Capra ibex*, $H_e = 0,40$ (Maudet ve ark. 2002); *Rangifer tarandus*, $H_e = 0,46$ (Polziehn ve ark., 2000); *Cervus elaphus*, $H_e = 0,45$ (Polziehn ve ark., 2000); Anadolu yaban koyunundan yüksek değerlerdir. Soyları tehlike altında bulunan (endangered) farklı memeli türleri üzerinde yapılmış çalışmalarda bulunan H_e değerleri ise 18 bireyle başlatılmış bir koala toplumu için $H_e = 0,33$ (Houlden ve ark., 1996), çitalarda $H_e = 0,39$ (Menotti-Raymond ve O'Brien, 1995), izole haldeki bir Kuzey Amerika boz ayı toplumu için $H_e = 0,27$ (Paetkau ve ark., 1995), 10 bireyden az bir nüfusla başlayan bir Meksika gri kurdu toplumunda, $H_e = 0,13$ (Hedrick ve ark., 1997) ve Asya kaplanında, $H_e = 0,15$ (Menotti-Raymond ve O'Brien, 1995) (Şekil 2.16).



Şekil 2.16 Soyu tehlike altında olan farklı memeli türü toplumlarının H_e değerlerinin karşılaştırılması.

Genetik çeşitliliği azımsanamayacak kadar düşük olan Konya-Bozdağ yaban koyunu toplumunun bilinen tarihinde bir darboğazdan geçtiğinin bulguları da yer almaktadır. Toplumun geçirdiği darboğazın genetik çeşitlilik üzerine olan etkilerini kullanan istatistiksel testlerle aslında darboğaz hipotezinden çok darboğazın niteliği sorgulanmıştır. Kullanılan darboğaz testlerinin geçerli sonuçlar vermesi için girilmesi gereken veriler testlerin gerektirdiği maksimum ve minimum sınırlar içerisindeydi: i) örneklemeye büyülüklüğü, ii) yapılan polimorfik lokus sayısı, iii) darboğazdan örneklemeye tarihine kadar geçen süre ($0,2N_e T < \text{geçen süre} < 4 N_e T$; N_e : darboğaz sırasındaki etkili (üreyen) nüfus, T : nesil süresi) gibi parametreler net ve uygun olarak darboğaz testinde kullanılmıştı. Fakat her iki darboğaz testinin sonuçları da Konya-Bozdağ yaban koyunu toplumunun yakın bir tarihte darboğazdan geçtiğini göstermekte yetersiz kaldı. Bu noktada, i) testlerin kullandığı varsayımlardan bir ya da birkaçının ihlal edilmiş olabileceği, veya ii) çalışmada deneyel bazi hatalar yapılmış olabileceği, ya da iii) testlerin kuvvetini gösteren analizlerde deiginildiği üzere (Luikart ve Cornuet, 1998; Luikart ve ark., 1998b) testlerin kuvvetlerinin sınırlı olduğu ve % 80 civarında olduğu düşüncesinden yola çıkarak daha fazla lokus ve birey kullanarak testleri tekrarlamanın gerekli olduğu veya iv) Konya-Bozdağ yaban koyunu toplumunun 1965'ten önceki demografik tarihinin karmaşık süreçleri barındırdığı, sonuçlarından birine varılabilir. Çalışmada hata yapılmadığını kabul edersek ve üçüncü şıklık da aslında darboğazın varolduğu ve sadece bu testlerin onu yakalayamadığını belirterek testler hakkında bir yargı olduğunu düşünürsek geriye üzerinde düşünülmesi gereken birinci ve sonuncu şıklar kalır. Darboğazın işaretinin varsayımların ihlal edilmesinden dolayı görülememesinin öne çıkan iki nedeni şunlar olabilir:

1. Darboğazdan çıkıştan (~1965) örneklemeye (2001) kadar geçen sürede görülen nüfus artışının çok hızlı olması (36 yılda 25-40 kat artış) ve bu nedenle toplumun mutasyon-genetik sürüklendirme dengesine ulaşmış olabileceğinden dolayı özellikle mutasyon-genetik sürüklendirme dengesi üzerine kurulmuş olan darboğaz testlerinin bunu saptamada yetersiz kalmaları.
2. Koruma çalışmalarının başlatıldığı yıllarda ve özellikle de tel örgülü alan kurulduktan sonra bölgenin yakınında ve uzağındaki birbirlerinden genetik olarak farklı sayılabilecek alt-toplumların bir araya gelmesi ile gen havuzundaki alel sayısında doğal olmayan bir artışın olması. Bu açıklamanın geçerliliği bağıntı dengesizliğinin görülmemesinden dolayı biraz kuşkulu da olsa, deneyel hayvan toplumlarında (Clegg ve ark., 1980) alt-toplum karışımının ardından tekrar bağıntı dengesine ulaşmasının 10 – 50 nesil aldığı gösterilmiştir ($T \approx 4$ yıl), ki bu da Konya-Bozdağ toplumunun, alt-toplumların karışımı olsa bile, bağıntı dengesine ulaşmış olabileceği ihtimalini göstermektedir

Sonuncu sık hakkında söylemeyecekler, toplumun 1965 öncesinde de darboğazlar geçirmiş olabileceği, bunun büyük bir toplumun önce habitat parçalanmasından dolayı küçük parçalara ayrılması şeklinde olup ama hala gen akışının devam ettiği başlangıç döneminden sonra, parçalanmış toplumların nüfusunun azalması ve gittikçe izole kalmalarından dolayı gen akışının durduğu ileri sürülebilir. Bu sayısal değişimler ve izolasyon sürecinin genetik çeşitlilik üzerine çeşitli olumsuz etkileri olduğu gibi, sürecin zamansal boyutu tam olarak bilinemediğinden bu etkilerin toplumun genetik yapısı üzerindeki izleri hakkında tahminde bulunmak zorlaşmaktadır (Bancroft ve ark., 1995).

Kendileşme çöküntüsünü sayısal olarak belirlemek çok zordur ve ayrıntılı çalışmalar gerektirir ama nüfus azaldıkça çöküntü olasılığının artacağı bilinir. Darboğazdan geçmiş bir toplumda kendileşme çöküntüsünün ortaya çıkacağı ve bireyleri dolayısıyla da toplumu olumsuz etkileyeceği söylenebilir. Ancak Kirkpatrick ve Jarne (2000) kendileşme çöküntüsünün darboğazın hemen sonrasında birkaç puan azalacağını ve azalmanın da darboğazdaki nüfus ne kadar az olursa o kadar fazla olacağını göstermişlerdir. Burada dikkate alınan nokta, çekinik zararlı alellerin zaten düşük bir frekansa sahip olduklarıdan darboğazdaki nüfus azalması sırasında büyük ihtimalle yok olacaklarıdır. Kendileşme çöküntüsü, bu bakis açısından, darboğazdan sonra birkaç nesil daha azalmaya devam edecektir, ta ki yeni mutasyonlarla tekrar dengeye kavuşana kadar. Bu olaya aynı zamanda eleme (purging) de denilir. Özellikle darboğaz sonrasında hızla nüfus artışı yaşayan toplumlarda görülür (Kirkpatrick ve Jarne, 2000). Öte yandan genetik yük [genetic load: zararlı alellerden dolayı toplumun ortalama uyumundaki (fitness) azalma] darboğazla birlikte artacaktır çünkü artan kendileşmeden dolayı zararlı alellere homozigot olan bireyler artacaktır. Bu sebepten doğan uyum kaybı yok olan zararlı alellerin getirdiği uyum artışını fazlasıyla kapatacaktır. Ancak yine darboğazı izleyen nesillerde eleme sürecinden dolayı genetik yük denge değerine doğru azalacaktır (Freeman ve Herron, 2001; Kirkpatrick ve Jarne, 2000). Bu Konya-Bozdağ toplumunun da yaşadığı olaylar silsilesi olabilir.

3. SONUÇ

3.1 SONUÇLARIN ÖZETİ

Çalışma gerek çalışılan türler gerekse yöntemler bakımından iki ana başlık altında toplanabilir. Ancak çalışmanın bir bütün olarak görülmesinin doğru olacağı düşüncemizin altında yatan nedenler benzer tehditlerle karşı karşıya olan iki büyük yabani otçul memeli türünün müdahalesiz genetik örneklemeye yöntemiyle koruma genetiğine katkıda bulunacak sonuçlar elde edilmiş olmasıdır. Bu nedenlerden ötürü, çalışmanın ayrı ayrı ve ortak olarak değerlendirilebilecek sonuçları vardır.

Yaban keçisi (*Capra aegagrus*) Türkiye'de geniş bir yayılım gösteren ama tehdit altında sayılan bir büyük otçul memelidir. Çalışmamızda yaban keçisinin yayılış alanlarının kapsayacak bir müdahalesiz DNA örneklemesiyle dişki, doku ve boynuz özü örnekleri toplanmış ve örneklerden DNA özütlemesi gerçekleştirilmiştir (başarı oranları, dişki: % 77, doku: % 51). PCR ve dizilik belirleme işlemlerinin sonunda 34 bireye ait mitokondriyel DNA D-halkası (kontrol bölgesi) bölgesi ortaya çıkmıştır. Türkiye'deki yaban keçisi toplumlarının, kendi içindeki, kendi aralarındaki ve evcil keçi soyları ile diğer yaban keçisi türleri arasındaki filogenetik ilişkiye saptamak, ayırmalar yapabilmek için Maksimum Olabilirlik, Bayes, analizleriyle filogenetik ağaçlar, UPGMA analizi ile fenetik ağaç ve nüklotid farklılıklarını analizi ile farklı gruplandırma arasındaki farklılıkların sayısal olarak ifade edildiği matrisler oluşturulmuştur. Analiz sonuçlarının gösterdiği üzere Türkiye'deki yaban keçileri doğu ve batı olmak üzere iki ana gruba ayırmaktadırlar. Evcil keçi soyları Doğu Anadolu toplumları ile gruplanmaktadır ve bu da olası evcilleşme merkezi olarak Doğu Anadolu'yu öne çıkarmaktadır. Koruma stratejileri açısından doğu ve batı toplumlarını iki ayrı ESU (evrimsel açıdan anlamlı birim) olarak kabul etmek türün evrimsel geçmişinden gelen özelliklerini korumak açısından gereklidir. Doğu anadolu toplumlarının kendi içlerinde farklı evcil keçi soylarıyla gruplaşmaları ve atasal tür olarak gözükmenleri evcil keçi soylarının ıslahında potansiyel kaynaklar olarak kullanılabileceklerini göstermektedir.

Yaban koyununun (*Ovis gmelini*) Türkiye'de iki alttüre bulunmaktadır. Anadolu yaban koyunu (*O. g. anatolica*) Konya-Bozdağ koruma sahasında bulunan tek toplumdan ibarettir. Doğu Anadolu yaban koyunu (Ermeni koyunu) (*O. g. gmelini*) Ağrı'nın güneyinden Hakkari'nın kuzeyine Van Gölü'nün doğusundaki alanda İran'ın Urumiye gölüne kadar olan bölgede yayılış göstermektedir ancak toplumun nüfusu ve kesin güncel dağılımı konusunda hiçbir bilgi yoktur. Çalışmamızda Konya-Bozdağ toplumunun genetik çeşitliliği 48 bireyden alınan dişki ve doku örneklerindeki 10 adet mikrosatelit lokus genotipi çalışılarak belirlenmiştir. Beklenen ve gözlenen heterozigotluk ile lokus başına düşen ortalama alel sayısı gibi geneik çeşitlilik parametreleri tahmin edilmiş ve diğer Ovis, toynaklılar ve memeli türlerinde yapılmış olan benzer çalışmaların sonuçlarıyla karşılaştırılmıştır ($H_e = 0,33 \pm 0,19$, $H_0 = 0,31 \pm 0,18$, $A = 2,5$). Konya-Bozdağ yaban koyunu toplumunun genetik çeşitliliğinin çok düşük olduğu belirlenmiştir. Bunun sebepleri arasında toplumun geçirdiği darboğazın öne çıktığı varsayılmış ve darboğazları tespit etmek üzere geliştirilen istatistiksel testler yapılmıştır. Testlerin sonuçları bir darboğazın geçirilmiş olduğunu ortaya koyamadıklarından ve toplumun bilinen geçmişinde bir darboğazın varlığı da görüldüğünden test sonuçları yorumlanmaya

çalışılmıştır. Varolan bir darboğazın tespit edilememesinin olası sebepleri arasında alttoplum karışması veya darboğaz sonrası çok hızlı nüfus artışının olduğu sıralanmıştır. Genetik çeşitliliğin koruma çalışmaları sayesinde sağlanan nüfus artışıyla paralel bir şekilde artmadığı gösterilmiş ve bunun toplumun uygunluğu ve uzun vadede yaşayabilirliğine etkileri tartışılmıştır.

Çalışmamızda varılan genel sonuçların başında müdahalesiz DNA örnekleminin başarılı bir şekilde yaban hayatı çalışmalarına uygulanabildiğinin görülmESİ gelmektedir. Tehlike altındaki türlerin toplumlarına yaşam alanlarında en az rahatsızlığı vererek en çok sayıda örneğin toplanması müdahalesiz genetik örnekleminin yararını göstermektedir. Bu örneklerdeki DNA'nın yıpranmışlığından ve miktarının azlığından kaynaklanan sorunların ise fazladan bir laboratuar emeği ile aşılabildeği görülmüştür. Büyük yabani otçul memelilerin genetiği üzerine yapılmış bu çalışmanın, toplum genetığının tür korumasındaki önemini biraz olsun göstermiş ve arazi çalışmalarından gørece kolaylığından dolayı hiç olmazsa belirli koruma sorunlarını araştırmada kullanılabileceğini ortaya konmuştur.

3.2 SONUÇLARIN AMAÇLAR AÇISINDAN İRDELENMESİ

Çalışmanın amaçlarının çoğu gerçekleştirilmiş, bir kısmı bütçe darlığından gerçekleştirilememiş bir kısmı ise çalışmanın sürdürdüğü zaman süreci içerisindeki gelişiminin getirdiği sebeplerden ötürü bazı değişimlere uğramıştır. Konya-Bozdağ yaban koyunu toplumunun genetik yapısı belirlenmiş, kendileşme düzeyi hakkında yorumlar yapılmış, geçmişte girdiği darboğazların yapısı ve etkileri analiz edilmiş, olası koruma önerileri belirtilmiştir. Doğu Anadolu'da yayılış gösteren *O. g. gmelinii* toplumundan müdahalesiz örnekleme yapılmış ancak bütçe yetersizliğinden dolayı geri kalan araştırmalar (laboratuar analizleri) tamalanamamış ve amaçlanan sonuçlara ulaşlamamıştır. Yaban keçisi çalışması için proje önerisi aşamasında belirtilen amaçların içerisinde hangi moleküller işaretleyicilerin kullanılacağı – henüz karar verilmemiş olduğu için – belirtilememiştir. Yaban keçisi için mitokondriyal DNA dizilimi belirlemesi çalışmasına karar verilmesi neticesinde, yaban koyunu çalışmasında olduğu gibi genetik çeşitlilik belirleme yerine toplum içi, toplumlar arası ve türler arası filogenetik ilişkilerin belirlenmesi çalışması yapılmıştır. Böylece amaçlarda yer alan genetik çeşitlilik belirleme maddesi, filogenetik ilişki belirleme olarak değişiklik göstermiştir. Ancak bu değişiklik sadece yöntemsel bir farklılık yaratmış, ulaşılan sonuçlar açısından ise genetik çeşitlilik belirleme ile ulaşılacak sonuçların aynlarına farklı bir yoldan ulaşmasını sağlamıştır: toplum içi ve toplumlar arası genetik farklılıkların belirlenmesi ve bunun koruma birimleri tespitinde kullanılması. Bunlara ek olarak filogenetik ilişki belirleme çalışmasına dünyadaki evcil keçi soylarından dizilimler de eklenmiş ve Doğu Anadolu yaban keçisi toplumlarının evcil keçi soylarıyla gruplandığı görülmüş ve Doğu Anadolu'nun olası bir evcilleştirme merkezi olabileceği ortaya konmuştur (Özüt, 2001; Balkız, 2002).

3.3 KATKILAR, UYGULAMALAR VE ÖNERİLER

Çalışmamızda genel olarak kullanılan müdahalesiz genetik örneklemeye yöntemi, kolaylığı, işlevselliği ve de en önemlisi çalışılan canlı türüne hiçbir zarar vermemesi açısından, özellikle DNA'dan faydalanan çalışmalarında tercih edilen yöntem olmalıdır. Caprinae familyasına ait bir *Ovis gmelinii* türünün *O. g. anatolica* alttürünün tek toplumunu oluşturan Konya-Bozdağ toplumunun genetik parametrelerinin çalışılması, Caprinae ve Ovis üzerine yapılmakta olan taksonomik çalışmalarla kullanılarak filogenetik ilişkilerin daha tutatlı bir şekilde saptanmasını sağlayacaktır. Ayrıca korumakla yükümlü olduğumuz bu endemik alttürün tüm dünyadaki akrabalarının arasındaki yerinin neresi olduğu ve evcil koyunun atalarından birisi olup olmadığı hakkında yapılacak veya yapılmakta olan araştırmalar için gerekli önemli veriler sağlanmıştır. Soyu tehlike altında bir tür olan Anadolu yaban koyununu koruma çalışmalarında bundan böyle genetik çeşitliliğin de dikkate alınması gerektiği konusunu ortaya çıkarmıştır. Yapılması planlanan yeniden aşılama çalışması öncesinde bazı kriterleri (hangi cinsiyetten, kaç hayvan aşılacak gibi) belirlemek üzere yapılan modelleme çalışmalarına (toplum yaşayabilirlik analizi) genetik çeşitliliğin de bir parametre olarak girilmesi, sonuçların başarısını artıracak ve genetik çeşitliliğin yeni toplumda olabildiğince yüksek bir seviyede başlayabilmesi için gerekli olan uygulamaların (heterozigot birey seçimi gibi) yapılabilmesini sağlayacaktır. Türkiye'deki yaban keçisi toplumlarının neredeyse tüm yayılış alanlarında örneklenderek özellikle filogenetik çalışmalarla en çok kullanılan mtDNA D-halkası diziliminin belirlenmesi türün taksonomisi üzerine yapılan çalışmalarla çok önemli bir katkı sağlamıştır. Yapılacak uluslararası yayının alacağı atıflar bunu en güzel şekilde gösterecektir. Bunun yanısıra, Anadolu'daki yaban keçilerinin evcil keçi soyları ile karşılaşırımsıyla, Doğu Anadolu'nun olası bir evcilleştirme merkezi olabileceği görülmüştür. Bu sonuç keçilerin evcilleştirilmesi üzerine yapılan birçok çalışmayı etkileyecektir. Türkiye'deki yaban keçisi toplumlarının toplum içi ve arası farklılıklarının ortaya çıkarılması sonucunda Doğu ve Batı Anadolunun birbirinden oldukça farklı olduğu belirlenmiştir. Bir koruma stratejisi olarak, bu iki grubu ayrı ayrı korumanın, her ikisinin de evrimsel geçmişlerinin kendine özel yanını korumak anlamına geleceği görülmüştür.

Çalışmada eksik kalan Doğu Anadolu yaban koyununun genetik yapısı ilerde çalışılacaktır. Bu sayede bugün iki farklı alttür olarak kabul edilen *O. g. anatolica* ile *O. g. gmelinii*'nin taksonomisi daha netleşecektir. Genetik çeşitliliği artırıcı tedbirlerden birisi olan farklı toplumlardan gen akışını sağlama tekniğinin Türkiye'deki yaban koyunları için uygulanabilir olup olmadığı araştırılacaktır. Yeniden aşılacak toplumun genetik izlemesi yapılarak toplum uyumu, kendileşme düzeyi ve genetik çeşitliliğin zaman içinde değişiminin bunlar üzerindeki etkileri incelenerek hem kuramsal hem de koruma pratiği açısından bilgiler elde edilmesi yararlı olacaktır. Özellikle son yıllarda av turizminin Türkiye'de yaygın kazanması ve bunun bir koruma yöntemi olarak kullanılması, toplumlar hakkında daha çok bilgi edinilmesini hem olanaklı (müdahalesiz örneklemme) hem de gerekli kılmıştır. Yaban keçisi toplumları üzerinde mikrosatelit lokusları kullanılarak yapılacak genetik çeşitlilik belirleme çalışmalarının sonuçları, hem kaçak avcılıkla mücadelede hem de izinli avcılığın düzenlenmesinde kullanılacak çok önemli bilgiler sağlayacaktır.

3.4 ÇALIŞMAYA KATKIDA BULUNAN DİĞER KURULUŞLAR

Çalışmaya katkıda bulunan diğer kuruluşlar NATO, CNRS-TÜBİTAK, ODTÜ ve MPAY Genel Müdürlüğü'dür. Her bir kuruluşun verdiği destek hakkında bilgiler aşağıda sıralanmıştır:

1. **NATO [NATO işbirliği projesi (CLG-977824)]**: NATO Bilimsel Programı kapsamında, benzer konularda çalışan farklı ülkelerden bilim insanlarını bir araya getirmek ve ortak çalışmalarına katkıda bulunmak üzere verilen bir destektir. NATO işbirliği projesinde Fransa, Rusya ve Azerbaycan'dan bilim insanları bir araya gelinmiştir. Çalışmamızda kullanılan örneklerden bir kısmı bu projenin sağladığı seyahat ve konaklama ödentileriyle yapılan ömekleme gezilerinde toplanmıştır.
2. **CNRS-TÜBİTAK [TBAG-U/31 (101T171)]** : CNRS (Centre National de Recreche Scientifique – Fransa Ulusal Araştırma Merkezi) ve TÜBİTAK tarafından verilen ve Fransız ve Türk araştırmacılarının ortak çalışmaları için seyahat ve konaklama destegini içeren bir programdır. Ocak 2001-Aralık 2002 tarihlerini kapsayan sürede Türkiye'den Deniz Özüt ve Özge Balkız'ın Fransa, Grenoble'daki Joseph Fourier Üniversitesi'ndeki genetik laboratuvarında mikrosatellit ve mitokondriyal DNA üzerine analizler yapmışlardır. Fransa'dan araştırmacılar da Türkiye'ye gelerek ömekleme çalışmalarına katılmışlardır.
3. **ODTÜ [ODTÜ-AFP projeleri: AFP-2001-07-02-00-79 ve BAP-2002-07-02-00-04]**: Orta Doğu Teknik Üniversitesi AFP ve BAP fonları ile çalışmamıza destek vermiştir. Verilen bu destek ile çalışmanın laboratuvar kısmının bazı aşamaları ODTÜ Biyoloji Bölümündeki laboratuvarımızda yapılmıştır. Destek ile, laboratuvar çalışmalarında kullanılan sarf malzemeleri ve bazı teçhizatlar alınmıştır. Aynı zamanda projedeki araştırmacılardan Deniz Özüt'e proje asistanlığı verilerek çalışmaya tam zamanlı katılımı sağlanmıştır.
4. **MİLLİ PARKLAR ve AV-YABAN HAYATI GENEL MÜDÜRLÜĞÜ:**
Çalışma boyunca yapılan arazi çalışmalarında ziyaret edilen ve ömek toplanan toplumlar, Yaban Hayatı Koruma Sahaları arasından seçilmiştir. Bu alanlardaki rehberlik ve ulaşım imkanları ile harita ve benzeri dökümanlar yetkili Milli Parklar personeli tarafından sağlanmıştır.

KAYNAKLAR

- Akaike, H., A new look at the statistical model identification, IEEE Trans. Autom. Contr., 19, 716-723, (1974).
- Arihan, O., Population biology, spatial distribution and grouping patterns of the Anatolian mouflon *Ovis gmelinii anatolica*, Valenciennes, 1856, M.Sc., Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Ankara, (2000).
- Avise, J.C., and Hamrick, J.L., (ed.), Conservation Genetics: Case Histories from Nature, Chapman and Hall, New York, NY, (1995).
- Avise, J.C., Molecular Markers: Natural History and Evolution, Chapman and Hall, New York, (1994).
- Balkız, Ö., The phylogeny of wild goats (*Capra aegagrus* E.) in Turkey as determined by mtDNA D-loop sequencing, M.Sc., Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Ankara, (2002).
- Bancroft, D.R., Pemberton, J.M., Albon, S.D., Robertson, A., MacColl, A.D.C., Smith, J.A., Stevenson, I.R., and Clutton-Brock, T.H., Molecular genetic variation and individual survival during population crashes of an unmanaged ungulate population, Philosophical Transactions of Royal Society of London Series-B, 347, 263-273 (1995).
- Bayes, M.K., Smith, K.L., Alberts, S.C., Altmann, J., and Bruford, M.W., Testing the reliability of microsatellite typing from faecal DNA in the savannah baboon, Conservation Genetics, 1, 173-176, (2000).
- Belkhir, K., Genetix 4.02 Population genetics software, <http://www.univ-montp2.fr/~genetix/genetix.htm>, (2001).
- Boom, R., Sol, C.J.A., ve Salimans, M.M.M., Rapid and simple method for purification of nucleic acids, Journal of Clinical Microbiology, 28, 495-503, (1990).
- Brown, W.M., Prager, E.M., Wang, A., Wilson, A.C., Mitochondrial DNA sequence evolution in primates: tempo and mode of evolution, Journal of Molecular Evolution 18, 225-239, (1982).
- Bruno, W.J. ve Halpern, A.L., Topological bias and inconsistency of maximum likelihood using wrong models, Molecular Biology and Evolution 16, 564-566, (1999).
- Churchill, G.A., von Haeseler, A., Navidi, W.C., Sample size for a phylogenetic inference, Molecular Biology and Evolution 9, 753-769, (1992).
- Clegg, M. T., Kidwell, J. F., Horch, C. R., Dynamics of correlated genetic systems. V. Rates of decay of linkage disequilibria in experimental populations of *Drosophila melanogaster*, Genetics, 94, 214-237, (1980).
- Cornuet, J-M. ve Luikart, G., Description and power analysis of two tests for detecting recent population bottlenecks from allele frequency data, Genetics 144, 2001-2014, (1996).
- Felsenstein, J., Cases in which parsimony or compatibility methods will be positively misleading, Systematic Zoology, 27, 401-410, (1978).
- Felsenstein, J., Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap, Evolution, 39, 783-791, (1985).

- Feng, J., Molecular approaches for conservation of endangered giant argali sheep (*Ovis ammon*) and dwarf blue sheep (*Pseudois nayaur schaeferi*) in Asia, PhD Thesis, University of New York at Buffalo, USA, (2000).
- Forbes, S.H., Hogg, J.T., Buchanan, F.C., Crawford, A.M., ve Allendorf, F.W., Microsatellite evolution in congeneric mammals: domestic and bighorn sheep, *Molecular Biology and Evolution*, 12, 6, 1106-1113, (1995).
- Frantzen, M.A.J., Silk, J.B., Ferguson, J.W.H., Wayne, R.K., ve Kohn, M.H., Empirical evaluation of preservation methods for faecal DNA, *Molecular Ecology*, 7, 1423-1428, (1998).
- Freeman, S. ve Herron J.C., *Evolutionary Analysis*, 2nd edition, Prentice-Hall Inc., Upper Saddle River, New Jersey, (2001).
- Guo, S.W. ve Thompson, E.A., Performing the exact test of Hardy-Weinberg proportions for multiple alleles, *Biometrics*, 48, 361-372, (1992).
- Hall, B.G., *Phylogenetic Trees Made Easy: A How-To Manual for Molecular Biologists*, Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts, (2001).
- Hasegawa, M., Kishino, H., Hayasaka, K., Horai, S., Mitochondrial DNA evolution in primates: transition rate has been extremely low in the lemur, *Journal of Molecular Evolution*, 31, 113-121, (1990).
- Hasegawa, M., Kishino, H., ve Yano T., Dating of the human-ape splitting by a molecular clock of mitochondrial DNA, *Journal of Molecular Evolution*, 22, 160-174, (1985).
- Hasegawa, M., Phylogeny and evolution in primates, *Japanese Journal of Genetics*, 65, 243-266, (1990).
- Hedrick, P.W., *Genetics of Populations*, 2nd edition, Jones and Bartlett Publishers, Sudbury, MA, (2000).
- Hedrick, P.W., Miller, P.S., Geffen, E., and Wayne, R., Genetic evaluation of three captive Mexican wolf lineages, *Zoo Biology*, 16, 47-69, (1997).
- Höss, M. ve Pääbo, S., DNA extraction from Pleistocene bones by a silica-based purification method, *Nucleic Acids Research*, 21, 3913-3914, (1993).
- Houlden, B. A., England, P.R., Taylor, A., Greville W.D., and Sherwin, W.B., Low genetic variability of the koala (*Phascolarctos cinereus*) in south eastern Australia following a severe population bottleneck, *Molecular Ecology*, 5, 269-282, (1996).
- Huelsenbeck, J. P. ve Ronquist, F., MRBAYES: Bayesian inference of phylogenetic trees, *Bioinformatics*, 17, 8, 754-755, (2001).
- Huelsenbeck, J.P. ve Crandall, K.A., Phylogeny estimation and hypothesis testing using maximum likelihood, *Annual Review of Ecological Systematics*, 28, 437-466, (1997).
- Huelsenbeck, J.P., Performance of phylogenetic methods in simulation, *Systematic Biology*, 44, 17-48, (1995).
- Huelsenbeck, J.P., ve Hillis, D.M., Success of phylogenetic methods in the four-taxon case, *Systematic Biology*, 42, 247-264, (1993).
- İnaç, S., Antalya-Düzlerçamı, Adana-Pozantı ve Kayseri-Yahyalı Ormanlarında Doğal Olarak Yaşayan Yaban Keçisi'ni Koruma ve Üretme Olanakları Üzerine Araştırmalar Ph.D., İstanbul Üniversitesi, İstanbul, (1995).
- Kaya, M. A., Bozdağ (Konya)'da yaşayan Anadolu yaban koyunu *Ovis gmelini anatolica* (Mammalia: Artiodactyla)'nın biyolojisi, Ph.D., Selçuk Üniversitesi, Konya, (1989).

- Kence, A., Tarhan, S., Turkey, Wild Sheep and Goats and Their Relatives: Status Survey and Conservation Action Plan for Caprinae, ed: Shackleton D. M., IUCN, Gland, Switzerland, (1997), p: 137-138.
- Kimura, M. A., simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences, Journal of Molecular Evolution, 16, 111-120, (1980).
- Kirkpatrick, M. ve Jarne, P., The effects of a bottleneck on inbreeding depression and genetic load, The American Naturalist, 155, 2, 154-167, (2000).
- Kishino, H. ve Hasegawa, M., Evaluation of the maximum likelihood estimate of the evolutionary tree topologies from DNA sequence data, and the branching order in hominoidae, Journal of Molecular Evolution, 29, 170-179, (1989).
- Kohn, M., Knauer, F., Stoffella, A., Schroder W., Paabo, S., Conservation genetics of the European brown bear: a study using excremental PCR of nuclear and mitochondrial sequences, Molecular Ecologoy, 4, 1, 95-103, (1995).
- Larget, B. ve Simon, D., Markov chain Monte Carlo algorithms for the Bayesian analysis of phylogenetic trees, Molecular Biology and Evolution, 16, 750-759, (1999).
- Lewis, P.O., Phylogenetic systematics turns over a new leaf, Trends in Ecology and Evolution, 16, 30-37, (2001).
- Litt, M. ve Luty, J.A., A hypervariable microsatellite revealed by in vitro amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene, Am. J. Hu. Gen., 44, 397-401, (1989).
- Louis, E.J., ve Dempster E.R., An exact test for Hardy-Weinberg and multiple alleles, Biometrics, 43, 805-811, (1987).
- Luikart, G. ve Cornuet, J-M., Empirical evaluation of a test for identifying recently bottlenecked populations from allele frequency data, Conservation Biology, 12, 228-237, (1998).
- Luikart, G., Allendorf, F.W., Cornuet, J-M., ve Sherwin, W.B., Distortion of allele frequency distributions provides a test for recent population bottlenecks, Journal of Heredity, 89, 3, 238-47, (1998b).
- Luikart, G., Biju-Duval, M-P., Ertugrul, O., Zagdsuren, Y., Maudet, C., Taberlet, P., Power of 22 microsatellite markers in fluorescent multiplexes for parentage testing in goats (*Capra hircus*), Animal Genetics, 30, 431-438, (1999).
- Luikart, G., Gielly, L., Excoffier, L., Vigne, J-D, Bouvet, J., Taberlet, P., Multiple maternal origins and weak phylogeographic structure in domestic goats, Proceedings of National Academy of Sciences, 98, 10, 5927-5932, (2001).
- Luikart, G., Sherwin W.B., Steele, B.M., ve Allendorf, F.W., Usefulness of molecular markers for detecting population bottlenecks via monitoring genetic change, Molecular Ecology, 7, 8, 963-74, (1998a).
- Luikart, G., ve England, P.R., Statistical analysis of microsatellite DNA data, Trends in Ecology and Evolution, 14, 7, 253-256, (1999).
- Maudet, C., Miller, C., Bassano, B., Breitenmoser-Würsten, C., Gauthier, D., Obexer-Ruff, G., Michallet, J., Taberlet, P., Luikart, G., Microsatellite DNA and recent statistical methods in wildlife conservation management: applications in Alpine ibex [*Capra ibex (ibex)*], Molecular Ecology, 11, 421-436, (2002).
- Meffe, G.K. ve Carroll, C.R., Principles of Conservation, Sinauer Associates, Sunderland, Mass., USA, (1994).
- Menotti-Raymond, M.A., ve O'Brien, S.J., Evolutionary conservation of ten microsatellie loci in four species of Felidae, Journal of Heredity, 86, 319-321, (1995).

- Morin, P. A. ve Woodruff, D. S., Noninvasive genotyping for vertebrate conservation, Molecular Genetic Approaches in Conservation, ed: Smith T. B. ve Wayne R.K, Oxford University Press, New York, (1996), p: 298-313.
- Navidi, W., Arnheim, N., ve Waterman, M.S., A multiple-tube approach for accurate genotyping of very small DNA samples by using PCR: statistical considerations, American Journal of Human Genetics, 50, 347-359, (1992).
- Özüt, D., Conservation genetics of Anatolian mouflon *Ovis gmelinii anatolica*, M.Sc., Middle East Technical University, Ankara, (2001).
- Paetkau, D., Amstrup, S.C., Born, E.W., Calvert, W., Derocher, A.E., Garner, G.W., Messier, F., Stirling I., Taylor, M.K., Wiig, O., and Strobeck, C., Genetic structure of the world's polar bear populations, Molecular Ecology, 8, 1571-1584, (1995).
- Piry, S., Luikart, G., ve Cornuet, J-M., BOTTLENECK: A computer program for detecting recent reductions in the effective population size using allele frequency data, Journal of Heredity, 90, 4, 502-503, (1999).
- Polziehn, R.O., Hamr, J., Mallory, F.F., Strobeck, C., Microsatellite analysis of North American wapiti (*Cervus elaphus*) populations, Molecular Ecology, 9, 10, 1561-1576, (2000).
- Posada, D. ve Crandall, K.A., Selecting the best-fit model of nucleotide substitution, Systematic Biology, 50, 580-601, (2001).
- Raymond, M. ve Rousset, F., GENEPOL (version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism, Journal of Heredity, 86, 248-249, (1995).
- Rodriguez, F., Oliver, J.L., Marin, A., ve Medina, J.R., The general stochastic model of nucleotide substitution, Journal of Theoretical Biology, 142, 485-501, (1990).
- Sezen, Z., Population viability analysis for re-introduction and harvesting of Turkish mouflon, *Ovis gmelinii anatolica* Valenciennes, 1858., M.Sc., Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Ankara, (2000).
- Shackleton, D. M., (ed.), Wild Sheep and Goats and Their Relatives: Status Survey and Conservation Action Plan for Caprinae, IUCN, Gland, Switzerland, (1997).
- Spencer, C.C., Neigel, J.E., Leberg, P.L., Experimental evaluation of the usefulness of microsatellite DNA for detecting demographic bottlenecks, Molecular Ecology, 9, 1571-1528, (2000).
- Swofford, D. L., Olsen, G. J., Waddell, P. J. ve Hillis, D. M., Phylogenetic Inference, Molecular Systematics, ed: Hillis, D.M., Moritz, C., ve Mable, B. K., 2nd edition, Sinauer Associates Inc., Sunderland, Mass., (1996).
- Swofford, D. L., PAUP*: Phylogenetic Analysis Using Parsimony (*and Other Methods). Version 4, Sinauer Associates, Sunderland, Mass., (2000).
- Taberlet, P., Griffin, S., ve Goossens, B., Reliable genotyping of samples with very low DNA quantities using PCR, Nucleic Acids Research, 24, 3189-3194, (1996a).
- Taberlet, P. The Use of Mitochondrial DNA Control Regions Sequencing in Conservation Genetics. T.B. Smith and R.K. Wayne, ed: Molecular Genetic Approaches in Conservation, pp. 125-142. New York: Oxford University Press, (1996b).
- Taberlet, P. ve Luikart, G., Non-invasive genetic sampling and individual identification, Biological Journal of the Linnean Society, 68, 41-55, (1999).
- Taberlet, P., Waits, L. P., Luikart, G., Noninvasive genetic sampling: look before you leap, Trends in Ecology and Evolution, 14, 8, 323-327, (1999).
- Tamura, K., Model selection in the estimation of the number of nucleotide substitutions, Molecular Biology and Evolution, 11, 154-157, (1994).

- Tautz, D., Notes on the definition and nomenclature of tandemly repetitive DNA sequences, EXS, 67, 21-28, (1993).
- Tautz, D., Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers, Nuc. Ac. Res., 17, 6463-6471, (1989).
- Turan, N., Konya-Bozdağ Yaban Koyunu Koruma Sahası'nda yapılan çalışmalara dair rapor, Orman Bakanlığı, Ankara, (1967).
- Turan, N., Türkiye'nin Av ve Yaban Hayvanları, Memeliler, Ongun Kardeşler Matbaacılık Sanayii, Ankara, (1984).
- UNDP-FAO "Report to the government of Turkey – Wildlife Management No: TA2361, Rome, (1967).
- Vaiman, D., Schibler, L., Bourgeois, F., Oustry, A., Amigues, Y., Cribiu, E.P., Genetic-linkage map of the male goat genome, Genetics, 144, 279-305, (1996).
- Waits, L.P., Luikart, G., Taberlet, L., Estimating the probability of identity among genotypes in natural populations: cautions and guidelines, Molecular Ecology, 10, 249-256, (2001).
- Wasser, S.K., Houston, C.S., Koehler, G.M., Cadd, G.G., and Fain, S.R., Techniques for application of faecal DNA methods to field studies of Ursids, Molecular Ecology, 6, 1091-1097, (1997).
- Weber J.L. ve May, P.E., Abundant class of human DNA polymorphisms which can be typed using the polymerase chain reaction, Am. J. Hu. Gen., 44, 388-396, (1989).
- Xia, X., Data Analysis in Molecular Biology and Evolution, Kluwer Academic Publishers, Boston, (2000).
- Yang, Z., Maximum likelihood phylogenetic estimation from DNA sequences with variable rates over sites: approximate methods, Journal of Molecular Evolution, 39, 306-314, (1994).
- Yang, Z., Maximum-likelihood estimation of phylogeny from DNA sequences when substitution rates differ over sites, Molecular Biology and Evolution, 10, 1396-1401, (1993).

EKLER

EK. A

Dizilimler

Kullanılan örneklerin / bireylerin mitokondriyal DNA dizilimleri. "Van 2" bireyinin diziliği referans diziliş olarak kullanılmıştır. Nokta işaretleri o baz yerindeki bazın referans ile aynı olduğunu, tire işaretleri ise 'insertion' / 'deletion' olan baz yerlerini göstermektedir.

	AGCCTTCATA TAGTTACTA TATATCTACC CTATACATAT GCAGTACTAA (Referans)
Van 2G..G.....C.....G..
Tunceli 2	.A.....A...T.....C.T...A..A.G...
Tunceli 1G.....C.....
Tunceli 4G.....C.TG...A..A.G...
Mersin 2	.A...C....A...T.....C.TG...A..A.G...
Mersin 3	.A...C....A...T.....C.TG...A..A.G...
K.Kanyon 1	.C...C....A...T.....C.TG...A..A.G...
Erzincan 1C.T.....
Akseki 5	--.G.--.G.....C.....
Akseki 3	.A...C....A...T.....C.TG...A..A.G...
Akseki 2	.A...C....A...T.....C.TG...A..A.G...
Akseki 1	.A...C....A...T.....C.T.....
Van 1C.TG...A..A.G...
Akseki 4	.A...C....A...T.....C.....
Tunceli 3G.....C.T.....
G.antep 1C.....
Siirt 1C.....
Artvin 1G.....C.....
Daghestan2	.A.....A...T.....C.T...A..A.G...
Mersin 1	.A...C....A.C.T.....C.TG...A..A.G...
Turkmenistan 1	.A.....A...T.....C...T--T...A..A.G...
Turkmenistan 2	.A.....TA...T.....C...T--T...A..A.G...
Daghestan1T.....GC.T...C...CG
C.hircus 5 (A-Ab)G.....C.....
C.hircus 4 (A-Ab)G.....C.....
C.hircus 3 (A-An)G.....C.....CA.....
C.hircus 6 (A-An)G.....C.....G.....
C.hircus 7 (B)	.A.....C.....G.....
C.hircus 8 (B)G.....C.T.....
C.hircus 1 (C)C.T.....
C.hircus 2 (C)C.T.....T.
C.falconerii 3T.....C.T.....T.
C.falconerii 1TA...A.....C.T.....T.
C.falconerii 2T.....C.T.....T.

Van 2 TCCAACATAA ACGTAATG-T ATGTACATTA CATTATGA TCTACTTCAC (Referans)
 Tunceli 2 G.....
 Tunceli 1 A.G.C..... C..... G .. C..... T
 Tunceli 4 G.....
 Mersin 2 A.G.C..... AC..... G .. T..
 Mersin 3 A.G.C..... AC..... G .. T..
 K.Kanyon 1 A.G.C..... AC..... G .. T..
 Erzincan 1 G.....
 Akseki 5 G.....
 Akseki 3 A.G.C..... AC..... G .. T..
 Akseki 2 A.G.C..... AC..... G .. T..
 Akseki 1 A.G.C..... AC..... T .. G .. T..
 Van 1 G.....
 Akseki 4 A.G.C..... AC..... G .. T..
 Tunceli 3 G.....
 G.antep 1 G.....
 Siirt 1 G..... A.....
 Artvin 1 G.....
 Daghestan2 A.G.C..... C..... G .. C.....
 Mersin 1 A.G.C..... AC..... G .. T..
 Turkmenistan 1 A.G.C..... AC..... AG .. C.....
 Turkmenistan 2 A.G.C..... AC..... AG .. C.....
 Daghestani G..... A.G.C..... T .. G .. T .. G..
C.hircus 5 (A-Ab) G.....
C.hircus 4 (A-Ab) G.....
C.hircus 3 (A-An) G.....
C.hircus 6 (A-An) G.....
C.hircus 7 (B) G.....
C.hircus 8 (B) G.....
C.hircus 1 (C) G..... A..... G.....
C.hircus 2 (C) G..... A..... G.....
C.falconerii 3 G...G .. A.G.C..... G.....
C.falconerii 1 G...G .. A.G.C..... A.G..... G.....
C.falconerii 2 G...G .. A.G.C..... G.....

Van 2 GTGT----- (Referans)
 Tunceli 2 A.....
 Tunceli 1 C.....
 Tunceli 4 A...ACGTAC ATAACATCAA TGTAACAAAG ACATGATATG TATGTAGTAC
 Mersin 2 A...ACGTAC ATAACATCAA TGTAACAAAG ACATGATATG TGTGTAGTAC
 Mersin 3 A...ACGTAC ATAACATCAA TGTAACAAAG ACATGACATG TGTGTAGTAC
 K.Kanyon 1 A...ACGTAC ATAACATCAA TGTAACAAAG ACATGACATG TGTGTAGTAC
 Erzincan 1 A...ACGTAC ATAACATCAA TGTAACAAAG ACATGACATG TGTGTAGTAC
 Akseki 5 A...ACGTAC ATAACATCAA TGTAACAAAG ACATGACATG TGTGTAGTAC
 Akseki 3 A...ACGTAC ATAACATCAA TGTAACAAAG ACATGACATG TGTGTAGTAC
 Akseki 2 A...ACGTAC ATAACATCAA TGTAACAAAG ACATGACATG TGTGTAGTAC
 Akseki 1 A...ACGTAC ATAACATCAA TGTAACAAAG ACATGACATG TGTGTAGTAC
 Van 1 A.....
 Akseki 4 C.....
 Tunceli 3 A.....
 G.antep 1 A.....
 Siirt 1 A.....
 Artvin 1 A.....
 Daghestan2 A.....
 Mersin 1 A...GCGTAC ATAACATCAA TGTAACAAAG ACATGATATG TGTGTAATAC
 Turkmenistan 1 A...C.....
 Turkmenistan 2 A...C.....
 Daghestani A.....
C.hircus 5 (A-Ab) C.....
C.hircus 4 (A-Ab) C.....
C.hircus 3 (A-An) C.....
C.hircus 6 (A-An) C.....
C.hircus 7 (B) C.....
C.hircus 8 (B) C.....
C.hircus 1 (C) A.....
C.hircus 2 (C) A.....
C.falconerii 3 A.....
C.falconerii 1 A.....
C.falconerii 2 A.....

ACGTACATAA TATTAATGTA (Referans)

Van 2
Tunceli 2	G.....
Tunceli 1
Tunceli 4
Mersin 2	ATTAATGAT	TTCCCACATG	CATGTTAAC
Mersin 3	ATTAATGAT	TTCCCGCATG	TATATTAAGC
K.Kanyon 1	ATTAATGAT	TCCCCGCATG	CATATTAAGC
Erzincan 1	C.....
Akseki 5
Akseki 3	ATTAATGAT	TCCCCGCATG	CATATTAAGC
Akseki 2	ATTAATGAT	TC ^{CC} CGCATG	CATATTAAGC
Akseki 1	ATTAATGAT	TCCCCGCATG	CATGTTAAC
Van 1	C.....
Akseki 4	ATTAATGAT	TCCCCGCATG	CATATTAAGC
Tunceli 3
G.antep 1	C.....
Siirt 1
Artvin 1	G.....
Daghestan2
Mersin 1	ATTAATGAT	TTCCCACATG	CATATTGAGT
Turkmenistan 1
Turkmenistan 2	Y.....
Daghestan1	GTA.....GG.....
C.hircus 5 (A-Ab)
C.hircus 4 (A-Ab)
C.hircus 3 (A-An)
C.hircus 6 (A-An)
C.hircus 7 (B)
C.hircus 8 (B)
C.hircus 1 (C)	C.....
C.hircus 2 (C)	G.....
C.falconerii 3	A.....G.....
C.falconerii 1	A.....G.....
C.falconerii 2	A.....G.....

ACAAGGGCAT AATATGTATA TAGTACATTA AACGATTCC CGCATGCATA (Referans)

Van 2	-.....A.....G.....	T.....A.....
Tunceli 2	.T.....A.....G.....	T.....A.....
Tunceli 1A.A.....	T.....A.....
Tunceli 4TAA.....	C.....G.....T.....T.....
Mersin 2TAA.....	C.....C.....T.....C.....	A.....
Mersin 3T..TA-....G.....	-.....T.....
K.Kanyon 1A.....	G.T.G.....A.....
Erzincan 1A.A.....	T.....A.....
Akseki 5T..TAA...G.....	-.....T.....
Akseki 3T..TAA...G.....	C.....T.....
Akseki 2T..TAA...G.....	C.....T.....C.....
Akseki 1A.....	G.T.G.....A.....
Van 1A.....
Akseki 4T..TAA...G.....	C.....T.....
Tunceli 3A.A.....	T.....A.....
G.antep 1A.....	G.T.G.....A.....
Siirt 1A.....G.....	T.....
Artvin 1A.....G.....	T.....A.....
Daghestan2T.....A.....G.....	T.....A.....
Mersin 1CAA.....	C.....GT.....
Turkmenistan 1A.....C.....T.....	C.....
Turkmenistan 2A.....C.....T.....	C.....
Daghestan1T..A.A...G.....CG.....GA.....	T.....C.....
C.hircus 5 (A-Ab)A.....G.....T.....	A.....
C.hircus 4 (A-Ab)A.....G.....T.....	A.....
C.hircus 3 (A-An)A.....G.....T.....
C.hircus 6 (A-An)A.....G.....T.....	A.....
C.hircus 7 (B)A.....	T.....A.....
C.hircus 8 (B)A.....	T.....A.....
C.hircus 1 (C)A.....	G.T.G.....A.....
C.hircus 2 (C)A.....	G.T.G.....A.....
C.falconerii 3	.TG.....A.....G.....	A.....GT.....
C.falconerii 1A.....	A.....T.....T.....
C.falconerii 2	.TG.....A.....G.....	A.....GT.....

TTAAGCACGT ATATCACTAT TAATGTAATA AAGACATAAT ATGTATATCG (Referans)

Van 2	-C.....	G.....G.....
Tunceli 2C.-A..	GA.....
Tunceli 1C.....	G.....T.
Tunceli 4C.-A..	TA.....G.....
Mersin 2C.-A..	TA.....T.
Mersin 3C.-A..	T.....C.....C..
K.Kanyon 1C.-A..	T.....G.....T.
Erzincan 1C.....	G..	G.....G.....T.
Akseki 5	C.....	G.....T.
Akseki 3	-C.-A..	T.....CT.
Akseki 2C.-A..	T.....CT.
Akseki 1C.-A..	T.G.....
Van 1C.....	G..	G.....G.....T.
Akseki 4C.-A..	T.....CT.
Tunceli 3C.....	G.....T.
G.antep 1C.....	G..	G.....T.
Siirt 1C...G..	C.....G.....
Artvin 1C.....	G.....G.....
Daghestan2C.-A..	GA.....
Mersin 1C.-A..	TA.....G.....
Turkmenistan 1C.-A..	G.....GG.....
Turkmenistan 2C.-A..	G.....GG.....
Daghestan1C.T.A..	G.....G.....
<i>C.hircus</i> 5 (A-Ab)	A..	G.....G.....T.
<i>C.hircus</i> 4 (A-Ab)	C.....	G.....G.....T.
<i>C.hircus</i> 3 (A-An)	C.....	G.....G.....T.
<i>C.hircus</i> 6 (A-An)	C..	G.....T.
<i>C.hircus</i> 7 (B)
<i>C.hircus</i> 8 (B)	T..
<i>C.hircus</i> 1 (C)	C.....	G..	G.....T.
<i>C.hircus</i> 2 (C)	C..	G.....T.
<i>C.falconerii</i> 3	C..T..	G..	G.....
<i>C.falconerii</i> 1	C..T..	G.....
<i>C.falconerii</i> 2	C..T..	G..	G.....

TACATTAAC GATCTCCAC ATGCATATAA GCATGTACAA TGTTCTATT (Referans)

Van 2	T..C..	T..A.C.T..C
Tunceli 2	T..C..	AC.....
Tunceli 1	T..C..	T..C.T..C
Tunceli 4	T..C..	A.C.....
Mersin 2	T..T..	A.C.....
Mersin 3	CT..C..	A.C.....
K.Kanyon 1	T..C..	A.C.T.....
Erzincan 1	T..C..	T..C.T..C
Akseki 5	T..C..	A.C.....
Akseki 3	CT..C..	G..	A.C.....
Akseki 2	CT..C..	A.C.....
Akseki 1	TCT..C..	A.C.....
Van 1	T..TC..	A.C.T.....
Akseki 4	CT..C..	G..	A.C.....
Tunceli 3	T..C..	T..C.T..C
G.antep 1	T..C..	A.C.....C
Siirt 1	T..C..	C.....
Artvin 1	T..T..	T..T..C
Daghestan2	T..C..	AC.....
Mersin 1	T..C..	A.C.....C
Turkmenistan 1	T..C..	T.C....
Turkmenistan 2	T..C..	T.C....
Daghestan1	T..C..	G..A.....
<i>C.hircus</i> 5 (A-Ab)	T..T..	T..A..T..C
<i>C.hircus</i> 4 (A-Ab)	T..T..	T..T..C
<i>C.hircus</i> 3 (A-An)	T..C..	T..T..C
<i>C.hircus</i> 6 (A-An)	T..T..	C.T..C
<i>C.hircus</i> 7 (B)	C..	C.....	C.T....
<i>C.hircus</i> 8 (B)	C..	C.....	C.T....
<i>C.hircus</i> 1 (C)	T..T..	A.C.....C
<i>C.hircus</i> 2 (C)	T..C..	A.C.....C
<i>C.falconerii</i> 3	T..T..T..C..	T.C.....
<i>C.falconerii</i> 1	T..T..T..C..	G..TC.....
<i>C.falconerii</i> 2	T..T..T..C..	T.C.....

Van 2 AGCAGTACAT AGTACATTCT ACTGTATGTC CGTACATAGC ACATAAAGTC (Referans)
 Tunceli 2 -A.....T.....C..A.T.....G.....
 Tunceli 1 GA.....G..T..T..T..C..ACT.....T G..G.....
 Tunceli 4 GA.....T.....C..A.T.....G.....G.....
 Mersin 2 .A.....G.....C.....C..ACT.....G.....G.....
 Mersin 3 .A.....G.....TC.....C..ACT.....G.T.....G.....
 K.Kanyon 1 .A.....C..T..C..ACT.....G.....
 Erzincan 1 GAT.....G.....T..T.....AC.....G..G.....
 Akseki 5 GA.....T.....C..A.T.....G.....G.....
 Akseki 3 .-.....T..C..ACT.....G..G.....
 Akseki 2 .A.....T..C..ACT.....G..G.....
 Akseki 1 .A.....G.....C..T..C..ACT.....G.....
 Van 1 GAT.....G.....T..T.....AC.....G..G.....
 Akseki 4 .A.....T..C..ACT.....G..G.....
 Tunceli 3 GA.....T.....C..A.T.....G.....G.....
 G.antep 1 GA.....G.C.....T..T.....ACT.....G..G.....
 Siirt 1G.....T.....A.....
 Artvin 1 G.....A.T.....G.....G.....
 Daghestan2 GA.....G..T..T..T..C..ACT.....T G..G.....
 Mersin 1 GA.....T..T..C..ACT.....G..G.....
 Turkmenistan 1 .A....G...G.....T.....ACT.....T G.....
 Turkmenistan 2 .A....G...G.....T.....ACT.....T G.....
 Daghestani GA.....T.....C.....GG.....
 C.hircus 5 (A-Ab) G.....T..C..A.T.....G.....
 C.hircus 4 (A-Ab) G.....T..C..A.T.....G.....G.....
 C.hircus 3 (A-An) G.....C..A.T.....G.....G.....
 C.hircus 6 (A-An) G.....T..T..C..A.T.....G.....G.....
 C.hircus 7 (B)G.....T.....AC.....
 C.hircus 8 (B)G.....T.....AC.....
 C.hircus 1 (C) GAT.....G.C.....T..ACT.....G..G.....
 C.hircus 2 (C) GAT.....G.C.....T..AA.....G..G.....
 C.falconerii 3 .A.....G.....T..G.....T.....G.....
 C.falconerii 1 .A.....GA.....T..C..T.....T.....
 C.falconerii 2 .A.....G.....T..G.....T.....G.....

Van 2 AAATCCATTC TCGTCAACAT GCGTATCCG TCCACTAGAT CACGAGCTTG (Referans)
 Tunceli 2T.....
 Tunceli 1G..CT.....A.....A
 Tunceli 4T.C.....
 Mersin 2T.....
 Mersin 3C..C.....C.....
 K.Kanyon 1-.....C..T.....
 Erzincan 1G.C.....A.....C.....
 Akseki 5T.C.....
 Akseki 3C.....C..T.....
 Akseki 2C.....C..T.....
 Akseki 1-.....C..T.....
 Van 1G.C.....A.....C.....
 Akseki 4C.....C..T.....
 Tunceli 3T.C.....
 G.antep 1G.C.....A.....
 Siirt 1T.....
 Artvin 1T.....
 Daghestan2G..CT.....A..T.....A
 Mersin 1C.....
 Turkmenistan 1G.C..C.....T.....
 Turkmenistan 2G.C..C.....T.....
 DaghestaniG.C.....A.....T.....
 C.hircus 5 (A-Ab)T.C.....
 C.hircus 4 (A-Ab)T.C.....
 C.hircus 3 (A-An)G..T.....
 C.hircus 6 (A-An)T.C.....
 C.hircus 7 (B)T..C..T.....
 C.hircus 8 (B)T..C..T.....
 C.hircus 1 (C)G.....A.....
 C.hircus 2 (C)G.C.....A.....C.....
 C.falconerii 3G.C..T.....A.....T.....
 C.falconerii 1TG.C.....A.....
 C.falconerii 2G.C..T.....A.....T.....

Van 2 TCGACCATGC CGCGTGAAAC C-AGCAACCC GCTTGGCAGG GATCCCTTT (Referans)
 Tunceli 2
 Tunceli 1
 Tunceli 4 .T.....
 Mersin 2
 Mersin 3
 K.Kanyon 1
 Erzincan 1 .TC.....
 Akseki 5 .T.....
 Akseki 3
 Akseki 2
 Akseki 1 .T.C.....C.....
 Van 1 .TC.....
 Akseki 4
 Tunceli 3 .T.....
 G.antep 1 .TC.....
 Siirt 1
 Artvin 1 .T.....
 Daghestan2
 Mersin 1 .T.....
 Turkmenistan 1
 Turkmenistan 2
 Daghestan1A.....
C.hircus 5 (A-Ab) .T.....
C.hircus 4 (A-Ab) .T.....
C.hircus 3 (A-An) .T.....
C.hircus 6 (A-An)
C.hircus 7 (B)
C.hircus 8 (B)
C.hircus 1 (C) .TC.....
C.hircus 2 (C) .TC.....
C.falconerii 3
C.falconerii 1 .T.....
C.falconerii 2

Van 2 CTCGCTCCGG GCCCATTAAAC TGTGGGGTA GCTATTTAAT GAACTTTATC (Referans)
 Tunceli 2 C.....
 Tunceli 1 C.....
 Tunceli 4 C.....
 Mersin 2 C.....T.....
 Mersin 3 C.....T.....
 K.Kanyon 1 C.-.....T.....
 Erzincan 1 G.T.....
 Akseki 5 C.....
 Akseki 3 C.C.....T.....
 Akseki 2 C.....T.....
 Akseki 1 C.-.....
 Van 1 G.T.....
 Akseki 4 C.-.....T.....
 Tunceli 3 C.....T.....
 G.antep 1 T.....C.....
 Siirt 1 C.....
 Artvin 1 C.....
 Daghestan2 C.....
 Mersin 1 C.....K.....
 Turkmenistan 1 C.....
 Turkmenistan 2 C.....
 Daghestan1 G.T.....C.....T.....
C.hircus 5 (A-Ab) C.....
C.hircus 4 (A-Ab) C.....T.....
C.hircus 3 (A-An) C.....
C.hircus 6 (A-An) C.....
C.hircus 7 (B) C.....
C.hircus 8 (B) C.....
C.hircus 1 (C) T.....
C.hircus 2 (C) T.....
C.falconerii 3 C.....T.....
C.falconerii 1 T.....T.....
C.falconerii 2 C.....

	AG-ACATCTG (Referans)
Van 2-..
Tunceli 2
Tunceli 1
Tunceli 4
Mersin 2
Mersin 3
K.Kanyon 1	---,----
Erzincan 1
Akseki 5
Akseki 3G--
Akseki 2
Akseki 1	---,----
Van 1
Akseki 4
Tunceli 3
G.antep 1-..
Siirt 1
Artvin 1
Daghestan2
Mersin 1
Turkmenistan 1
Turkmenistan 2
Daghestani
<i>C.hircus</i> 5 (A-Ab)
<i>C.hircus</i> 4 (A-Ab)
<i>C.hircus</i> 3 (A-An)
<i>C.hircus</i> 6 (A-An)
<i>C.hircus</i> 7 (B)
<i>C.hircus</i> 8 (B)
<i>C.hircus</i> 1 (C)
<i>C.hircus</i> 2 (C)
<i>C.falconerii</i> 3
<i>C.falconerii</i> 1
<i>C.falconerii</i> 2

EK. B

Çalışmada Kullanılan Mikrosatelit Lokusları Hakkında Bilgiler

Jsim - Genbank Accession # - Tekrar dizilimi – Tekrar bölgesi (iki ucu dahil) - Krom. #

Asıl dizilimler 5' – 3' yönünde, karşılık gelen dizilim ise 3' – 5' yönünde verilmiştir. Kalın yazılmış dizilim parçası tekrar bölgesidir. Altı çizili italik ile yazılmış dizilim parçaları PCR'de kullanılan ileri ve geri primerlerdir.

OarECB226-I.20006-AC-(64-91)-2 (*Ovis aries*)

1 gtgagtcccc tagagcataa gctcaaagg aaacgtgaaa agacacatataatcaaatc
61 taaacacaca **cacacacaca cacacacaca** cagataata ttaaaagcag gaagggaaag
121 gcaacatata g

Karsılık gelen dizilim (ters yönde): 41-68

Kayıtlı gelen düzüm (ver. 3.0.0.0) :
1 **ctatatgttg ccttccctt ccigcttta** atatttatct **gtgtgtgtgt gtgtgtgtgt**
61 **gtgtgtgttt agatttgatt aatatgtgtc tttcacgtt tctctttgag cttatgcct**
121 atgggactca c

OarCP20-U15695-TG-(26-53)-21 (*Ovis aries*)

1 ggcatttcat ggettagca gggctgtgt gtgtgtgtgt gtgtgtgtgt gtgcgttc
61 ctccctccagg ggatc

Karsilik gelen dizilim (ters yönde): 23-50

gatccctgg aggagaaac ggcacacaca cacacacaca cacacacaca gccctgcta
61 aagccatgaa atgcc

QarFCB128-L01532-GT-(51-94)-2 (*Ovis aries*)

1 attaaagcat cttctcttta tttcctcgct ttgttcttat gactnactgc **gtgtgtgtgt**
61 **gtgcgtgtgt** **gtgtgtgtgt** **gtgtgtgtgt** gtgtgcagca tgtatgtctt agtgtcag
121 ctg

Karsılık gelen dizilim (ters yönde): 29-73

1 cagctgagca actaaggacat acatgc(t)gca cacacacaca cacacacacaca cacacacacg
61 **cacacacaca cactcgatna gtcataagaa caaagcggagg aaataaagag aagatgttt**
121 **aat**

MAF214-M88160-GT-(26-138)-16 (*Ovis aries*)

Karşılık gelen dizilim (ters yönde): 51-163

1 **gggtgatctt aggaggttt tggaggagaa** aaaaatgcac gcacgcaagc **acacacacac**
61 **acacaaaatg cacacacaca aaatgcacac acactgcac** **cacgcgcaca cacactgcac**
121 **gcacacacac acacactgca tgcacacaca cacacacaca cactgcac** ctcagatct
181 cctgcatt

OarAE119-L11050-AC-(66-103)-19 (Ovis aries)

1 **tttatagtg aggtgaccac ttgatgtata** tgatggttgn tttgtctatg agactgtaga
61 **cttctacaca cacacacaca cacacacaca cacgcataca cacgcataca**
121 cacactaat aagtagatc aagttcctaa agaaaggtagcc ccaggaacca tttgctgag

Karşılık gelen dizilim (ters yönde): 77-114

1 **ctcagcaaat gttccctggg caccttctt** taggaacttg atgtcttta ttgagttgtgt
61 gtatgcgtgt gtatgcgtgt **gtgtgtgtgt gtgtgtgtgt gtgtagaagt**
121 ctacagtctc atagacaaan caaccatcat atacatcaag tggcacctc actataaaa

BM415-G18413-GT?-(?-?)*-6 (Bos taurus)

1 **tggctacagc ccttctggtt tgcattgtgtc** cgtgtgtgt tggtgtgt tggtgtgt
61 tggtgtgtt tggtgtgtt gaagatgtca gcaaggacttg atgatttagag ttcttgctgt
121 tggtgattag ctctctaa

Karşılık gelen dizilim (ters yönde):

1 **ttagagagct aatcaccaac agcaagaact** ctaatcatca gtacttgctg acatcttcaa
61 **gccaaacaaa cacacacaca cacacacaca cacacacaca cacacacgg** cacatgcaaa
121 ccagaaggc tgtagcca

*İnek STS bölgesi: 3-133

ILSTS011-L23485-TC ve/ veya CA?-(121-160)-14 (Bos taurus)

1 **agtgcgttgc acatggaaag tgctcagtga** aaaggggatt gaggtgaaa taattgttg
61 attatagggtt nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn
121 **tetetctete tetcttataca cacacacaca cacacacaca** aanntgatga attttatgac
181 ntcatgttgc tgnnnacttt ttggtagggc tctgcattt agagactaa atca

Karşılık gelen dizilim (ters yönde):

1 **tgatttagtg ctctaaaatg cagagcccta ccaaaaagtn** nncagcaaca tgangtcata
61 aaattcatca nntttgtgt tggtgtgt tggtgtataa gagagagaga gagannnnnn
121 nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnaaccta taatcatca
181 attattcaa cctcaatccc ctttcactg agcacttcc atgtagcaag cact

SRCRSP3-L22195-GT veya TG-?-10 (*Capra hircus*)

1 gatcggtacc cggggatctg ttcatgaac tgatgttgt gtgtgtatat gtgtgtgt
61 gtgtgtgtgt gtttgtgtgt gagtgtgcatt gcacaaagggt ggttcttgg acattcagcc
121 agtaatcag gtaactggta ttccaacat ggaacataat gtctggcatg cagatacagt
181 taacatg

Karşılık gelen dizilim (ters yönde):

1 catgttaact gatatcgat gccagacatt atgttccatg ttggaaatac cagttacctg
61 attagctggc tgaatgtcca aagaaccacc tttgtgcatt cacactcaca cacaacaca
121 cacacacaca cacacacata tacacacaca cacatcatt catagaacag atccccgggt
181 accgatc

SRCRSP8-L22200-TG-(183-222)-2 (*Capra hircus*)

1 gtctcttcgg ctgcagaaga gacaggtgcg gtcgttgtct gatttcactg gtcttaattt
61 cttatctgac ctggtagtca atcaagggca tgggagaaag agaacaagag agagagagag
121 aggtgggtgg gaaaaggagg ctgggcactc tgagctgaag ggggagggggt ctccgtggaa
181 **cctgtgttg** **tgtgtgttg** **tgtgtgttg** **tgtgtgttg** tgagctaagc atcgactttc
241 tcatgcagga ctggcagccct gcctgtcatt ccgcacitct gtgtgtacac gctgcctgtg
301 caaatgattc gagtgttaca attctttca gctctgtaga t

Karşılık gelen dizilim (ters yönde):

1 atctacagag ctgaagagaa ttgtaacact cgaatcattt gcacaggcag cgtgtacaca
61 cagaagtgcg gaatgacagg caggtgcca g*ccctgcatt agaaagtgcg tgcttagctc
121 acacacacac acacacacac acacacacac acacacacag gtcccacgga gaccctccc
181 ctttcagtc agagtgccta gtcctttt cccacccacc tctctctc tctttgttc
241 tcattctccc atgcccatttga ttgactacca ggtcagataa gaaattaaga ccagtgaaat
301 cagaaccaga ccgcacctgt ctcttcgc gccgaagaga c

*gttgtct kuyruğu PCR çalışması için 3' ucuna fazladan eklenmiştir.

ADCYAP1-

İleri primer dizilimi: cca gac gcc gac ttc gcc gag g
Geri primer dizilimi: gcc tga agt cca ctg aga aga aag gag

1- Proje No : TBAG-2083 (101T100)
2- İlgili Araştırma Grubu : Temel Bilimler Araştırma Grubu
3- Projenin Başlangıç ve Bitiş Tarihleri : 01.01.2002 - 01.12.2003
4- Projenin Adı : Yaban Koyunu (<i>Ovis gmelinii</i>) ve Yaban Keçisi Toplumlarının Müdahalesiz DNA Örnekleme Yöntemiyle Koruma Genetiğinin Çalışılması
5- Proje Yürüttücsü ve Yardımcı Araştırmacılar : Aykut Kence (Proje Yürüttücsü), Meral Kence, Özge Balkız, Deniz Özüt
6- Projenin Yürüttüğü Kuruluş ve Adresi : Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Biyoloji Bölümü, Ekolojik Genetik Laboratuvarı, 06531, Ankara
7- Destekleyen Kuruluş(ların) Adı ve Adresi : TÜBİTAK, CNRS, NATO, ODTÜ, Milli Parklar ve Av-Yaban Hayatı Genel Müdürlüğü
8- Özet (Abstract) :
<p>Anadolu yaban koyununun (<i>Ovis gmelinii anatolica</i>) günümüzde ya ayan tek toplumu, Konya-Bozda Yaban Koyunu Koruma stasyonun'da bulunmaktadır. Koruma çalışmaları nın başı 1966 yılında 35-50 olarak tahmin edilen sahadaki toplam yaban koyunu sayısı bugün 1400 civarında olup tamamen yaklaşık ile çevrili alan içerisinde bulunmaktadır. Bu çalışma mada, Anadolu yaban koyunun toplum genetiği çalışılmış olup, elde edilen bilgilerin, yapılmakta olan koruma çalışmaları na yapaca katkılara ele alınmıştır.</p> <p>Çalışma on mikrosatelit lokusunda: lokus başına düşen ortalama alel sayısı (<i>A</i>) 2.5 olarak bulunmuştur. Bu değerlendirme bir mikrosatelit lokusu için çok düşük ve diğer 'sa 1 kl' <i>Ovis</i> toplumlarında <i>A</i> de erinin 4 ile 8 arasında iki tane görülmüşür. Beklenen heterozigotluk seviyesi 0.33 ve gözlenen heterozigotluk 0.31 olarak saptanırken bu değerlendirme di er <i>Ovis</i> toplumlarında 0.50 ile 0.85 arasında iki mektedir. Bu sonuçlar Konya-Bozda toplumunun genetik çeşitliliğinin çok düşük olduğunu göstermektedir. Bunun nedenleri arasında toplumun demografik bir darboazdan (bottleneck) geçmemesi olduğunu varsayılmaktır, ancak testler yaktan tarihte olmuş olan bir darboazının sinyalini vermemiştir.</p> <p>Yaban keçileri (<i>Capra aegagrus</i>) Türkiye'de geniş bir yayılıma sahiptir. Bu çalışma, müdahalesiz DNA örnekleme yöntemi kullanılarak yaban keçilerinden doku örnekleri toplanmıştır. MtDNA D-halkas dizilimleri üzerine yapılan filogenetik araştırmalar, Türkiye'deki yaban keçisi toplumlarının birbirleri ve evcil keçiler arasında farklılaşmanın tarihindeki tarihte olmasına bir darboazının sinyalini vermemiştir.</p> <p>Bulgular, dizilimlerdeki 75 baz çiftlik bir farktan dolayı Türkiye'deki doğu ve batı toplumları arasında belirgin bir farklılaşma olduğunu göstermektedir. Filogenetik analizlerde, bütün domestik soyların doğu toplumlarıyla gruplandırıldığı görülmektedir. Bu bulgu, Türkiye'nin doğusunda olası bir evcilleşme merkezi olduğunu göstermektedir. Aynı olasılık yaban ve evcil keçi toplumları arasındaki ve içlerindeki nükleotid farklarında da ortaya çıkmaktadır. Bu sonuçlar doğrultusunda, yaban keçilerinin Türkiye'nin hem doğu hem de batısındaki toplumları 2 ayrı ESU (Evrimsel Açıdan Anlamlı Birim) olarak tanımlanmalıdır.</p> <p>Abstract:</p> <p>Anatolian mouflon, <i>Ovis gmelinii anatolica</i> has presently one surviving population in</p>

Konya-Bozdağ Mouflon Breeding Station and Wildlife Protection Area. Since its crash in numbers around 1950'ies, certain conservation actions took place. A 45000 ha Area in Konya-Bozdağ was declared as a protection area in 1966 and later on in 1989 and 1996 a 3500 ha portion of it was circumscribed by an electroshocked fence.

The genetic diversity of Anatolian mouflon was studied using 10 microsatellite loci. The results supported the hypothesis that Anatolian mouflon has a very low level of genetic diversity due to a bottleneck. Although, the sign of a recent and severe bottleneck could not be found in the bottleneck tests, it was concluded that the bottleneck did occurred but could not be detected because of its uncharacteristic structure. Mean number of alleles per locus (A) was found to be 2.5 and expected and observed heterozygosities was found to be 0.33 and 0.31, respectively. The results revealed parallel outcomes with prior expectations. The population was found to contain very little genetic variation which is attributable to a possible bottleneck it suffered around 1950'ies, when the size of the population was at its minimum, around 35-50.

Wild goats (*Capra aegagrus*) have widespread distribution in Turkey. In this study, noninvasive sampling is carried out to collect fecal, tissue and horn samples from wild goats. The phylogenetic analysis on mtDNA D-loop sequencing is used to reveal the differentiation of wild goat populations within Turkey, and their differentiation from the domestic goats.

The findings suggested that; there is a clear differentiation between eastern and western wild goat populations in Turkey due to the 75 base pairs difference in the sequences. In the phylogenetic analysis all of the domestic lineages grouped with eastern populations, which indicate a possible domestication that took place in eastern Turkey. The same possibility was also revealed by the nucleotide differences between and within the populations of wild and domestic goats. According to these results, both the eastern and western Turkey populations of wild goats can be considered as two separate ESU's (Evolutionary Significant Unit).

9- Anahtar Kelimeler :

Yaban koyunu, yaban keçisi, toplum genetiği, müdahalesiz DNA örneklemesi, koruma biyolojisi, mikrosatelit, mtDNA

10- Projede Yapılan Çalışmaların Sonuçları ile İlgili Yayınlar (makale, tebliğ) :

- Özüt, D., Conservation genetics of Anatolian mouflon *Ovis gmelini anatolica*, M.Sc., Middle East Technical University, Ankara, (2001).
- Balkız, Ö., The phylogeny of wild goats (*Capra aegagrus* E.) in Turkey as determined by mtDNA D-loop sequencing, M.Sc., Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Ankara, (2002).
- Özüt, D., Maudet, C., Luikart, G., Kenne, A. (2002) Noninvasive genetic study of Anatolian mouflon, II. Eurasian IWRC Wildlife Rehabilitation Symposium & Education Course, Ankara, Turkey, May 16-20, 2002.
- Özüt, D., Maudet, C., Luikart, G., Kenne, A. (2002) A noninvasive genetic study of *Ovis gmelini anatolica* Using Microsatellite DNA Loci, III. World Conference on Mountain Ungulates, Saragossa, (Aragon, Spain), 10-15 June 2002.

11- Proje Sonuçlarının Gizlilik Durumu :

Gizli

Gizli Değil