

ÖZET

FARKLI VERİM YÖNLERİNDE SELEKSİYON UYGULANAN JAPON BILDİRCİNLERİNDE (*Coturnix coturnix japonica*) GENETİK VARYASYONUN RAPD-PCR YÖNTEMİYLE BELİRLENMESİ

Kemal KARABAĞ

Doktora Tezi, Zootekni Anabilim Dalı
Danışman: Doç. Dr. Murat Soner BALCIOĞLU
Kasım 2008, 110 sayfa

Bu tez, 35. gün yüksek (YCA1) ve düşük canlı ağırlık (DCA), 120 günlük yaşta yüksek yumurta verimine (Y) göre 12 generasyon ve 28. gün yüksek canlı ağırlık (YCA2) bakımından 7 generasyon seleksiyon uygulanan 4 hat ile 1 kontrol (K) hattına ait Japon bildircinlerinde populasyon içi ve arası genetik polimorfizm ve ilişkiler RAPD-PCR yöntemi kullanarak tespit etmeyi kapsamaktadır. Her hattan rastgele seçilen 14 bildircine ($7\text{♀}-7\text{♂}$) ait toplam 70 bireysel genomik DNA 24 adet primer ile analiz edilmiştir. Büyüklükleri 150-2600 bp ve sayıları 4-14 arasında değişen değerlendirilebilir niteliğe sahip 197 lokusun 196'sının (%99,6) polimorfik olduğu belirlenmiştir. K, YCA1, YCA2, DCA ve Y bildircin hatlarındaki genotipik polimorfizm oranları sırasıyla %63,45, %42,13, %35,53, %31,47 ve %36,55 olarak hesaplanmıştır. Tüm allel frekansları üzerinden hat içi ortalama heterozigotluk (H_s), toplam heterozigotluk (H_T), Shannon indeksi (I) ve toplam genetik farklılaşma (G_{st}) değerleri sırasıyla 0,1686, 0,3538, 0,5233 ve 0,3538 olarak tahmin edilmiştir. Bu sonuçlara göre en yüksek genotipik varyasyon kontrol hattında, en düşük ise DCA hattında belirlenmiştir. Hat içi genetik benzerlik değerlerinin 0,7469 (K) ile 0,8747 (DCA) aralığında ve hatlar arası genetik benzerlik değerlerinin de 0,6027 (K-Y) ile 0,8131 (YCA1-DCA) aralığında değiştiği saptanmıştır. Genotipik olarak ortak ataya (K) en yakın seleksiyon hattı YCA2 (0,6674) ve en uzak Y (0,5064) hattı olduğu bulunmuştur. Elde edilen tüm sonuçlar, selekte edilmiş Japon bildircinlerinde gurup içi genetik varyasyonun ve guruplar arası genetik ilişkilerin RAPD-PCR yöntemi ile başarılı bir şekilde tahmin edildiğini göstermiştir.

ANAHTAR KELİMELER: RAPD-PCR, seleksiyon, polimorfizm, Japon bildircini

JÜRİ

Doç. Dr. Murat Soner BALCIOĞLU
Prof. Dr. İbrahim Zafer ARIK
Prof. Dr. Hüseyin BASIM
Prof. Dr. Mehmet Ziya FIRAT
Doç. Dr. Cengiz ELMACI

ABSTRACT

DETERMINATION of GENETIC VARIATION in DIVERGENT SELECTED JAPANESE QUAIL (*Coturnix coturnix japonica*) by RAPD-PCR METHOD

Kemal KARABAĞ

Ph.D. Thesis in Animal Science

Adviser: Associate Prof. Dr. Murat Soner BALCIOĞLU

November 2008, 110 pages

This thesis involves determining the intragenetic and intergenetic polymorphism and genetic relatedness of 12 generations selected for 35. day high weight (YCA1), 35. day low weight (DCA), 120 days of age high egg production (Y), 7 generations selected for 28. day high weight (YCA2) and a control (K) line in Japanese quail by RAPD-PCR method. A total of 70 individual DNA samples including 14 birds (7♀-7♂) from each line were analyzed by using 24 primers. 196 polymorphic bands were obtained from 197 resolved fragments and polymorphism rate was calculated as 99.49%. Their numbers were ranging from 4 to 14 and amplified products were ranging from 150 bp to 2600 bp. Genotypic polymorphism rates were calculated for K, YCA1, YCA2, DCA and Y as 63.45%, 42.13%, 35.53%, 31.47% and 36.55% in, respectively. Average heterozygosity within lines (H_S), total heterozygosity (H_T), Shannon index (I) and proportion of the total diversity (G_{st}) values were estimated via all allele frequencies as 0.1686, 0.3538, 0.5233 and 0.3538, respectively. According to the obtained results, the highest genetic variation was found in K and lowest in DCA lines. The genetic identities within line varied from 0.7469 (K) to 0.8747 (DCA) and between lines varied from 0.6027 (K-Y) to 0.8131 (YCA1-DCA). It was found that genetically the most similar line to base ancestor (K) is YCA2 line (0.6674) while furthest is Y line (0.5064). Genetic variation within lines and the genetic relationships among lines were successfully estimated by using RAPD-PCR in selected Japanese quails.

KEY WORDS: RAPD-PCR, selection, polymorphism, Japanese quail

COMMITTEE

Assoc. Prof. Dr. Murat Soner BALCIOĞLU

Prof. Dr. İbrahim Zafer ARIK

Prof. Dr. Hüseyin BASIM

Prof. Dr. Mehmet Ziya FIRAT

Assoc. Prof. Dr. Cengiz ELMACI

ÖNSÖZ

Son asrın bilim dalı sayılan genetik, tüm dünyada ve özellikle gelişmiş ülkelerde çok sayıda ve yönde araştırma ve uygulama alanı bulmuştur. Özellikle insan beslenmesinin vazgeçilmez kaynaklarından biri olan çiftlik hayvanlarının verimlerinin arttırılması ve genetik olarak araştırılması konularında da yoğun çalışmalar yapılmaktadır. Tamamlanan bu tez çalışması ile baş döndürücü bir hızla katlanarak artan moleküler genetik bilim dalına ülkemiz adına katkıda bulunulmuştur. Ayrıca, bu çalışma sayesinde kanatlı hayvan yetiştiriciliği için önemle ihtiyaç duyulan yüksek verimlere sahip bıldırcınlar elde edilmesinin yanında bölümümüzde rutin olarak çalışabilecek kapasiteye sahip bir moleküler genetik laboratuvarının kurulmasına da destek verilmiştir. Bu itibarla, doktora tez çalışmasının önerilmesi, yürütülmesi ve sonuçlandırılmasında sağladığı tüm desteklerden dolayı tez danışmanım Sayın Doç. Dr. Murat Soner BALCIOĞLU' na ve tez çalışmam süresince yaptıkları bilimsel katkılar ve manevi desteklerinden dolayı tez izleme komitesi hocalarım Sayın Prof. Dr. Hüseyin BASIM ve Prof. Dr. İbrahim Zafer ARIK' a yürekten teşekkür ederim.

Bu tezde hayvan materyali olarak kullanılan bıldırcınların ıslah çalışmaları 2000 yılından bugüne devam etmiştir. Bu çalışmaların başlatılmasında ve sürdürülmesinde büyük emek harcayan Dr. Halil İbrahim YOLCU' ya, yardımlarını esirgemeyen tüm araştırma görevlisi arkadaşlarıma ve ayrıca çalışmaların sürdüğü yıllarda özveriyle yardımcı olan Zootekni Bölümü lisans öğrencilerine ayrı ayrı teşekkür etmeği bir borç bilmekteyim.

Bu projenin gerçekleşmesinde maddi olanak sağlayan Akdeniz Üniversitesi Araştırma Projeleri Yönetim Birimi ve Satın Alma Daire Başkanlığına, DNA izolasyon çalışmalarında yardımlarını esirgemeyen Akdeniz Üniversitesi Merkezi Laboratuvarına, Bitki Koruma Bölümü Fitopatoloji Anabilim Dalı Moleküler Bitki Bakteriyoloji Laboratuvarında bulunan tüm malzeme ve teçhizatın kullanılmasına olanak sağlayan Prof. Dr. Hüseyin BASIM' a ayrıca teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	İ
ABSTRACT.....	İİ
ÖNSÖZ.....	İİİ
İÇİNDEKİLER.....	İV
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VIII
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	IX
1. GİRİŞ.....	1
2. KURAMSAL BİLGİLER ve KAYNAK TARAMALARI.....	7
2.1. Polimeraz Zincir Tepkimesi (PCR).....	7
2.1.1. PCR için gerekenler.....	7
2.1.2. PCR aşamaları.....	8
2.1.3. PCR' nin kullanım alanları.....	10
2.1.4. PCR bileşenleri.....	11
2.1.5. Laboratuvar önerlileri.....	12
2.1.6. PCR' nin çalışmama sebepleri.....	13
2.1.7. PCR ürünlerinin değerlendirilmesi.....	13
2.2. Elektroforez.....	14
2.3. DNA Parmakizi Yöntemleri.....	15
2.3.1. Genetik marker.....	15
2.3.1.1. RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA).....	16
2.3.1.2. RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism).....	19
2.3.1.3. SSR (Simple Sequence Repeats).....	20
2.3.1.4. AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism).....	21
2.4. Kaynak Taramaları.....	22
2.4.1. Kanatlılarda RAPD çalışmaları.....	22
2.4.2. Sığırlarda RAPD çalışmaları.....	33
2.4.3. Koyun ve keçilerde RAPD çalışmaları.....	34
2.4.4. Balıklarda RAPD çalışmaları.....	35
2.4.5. Diğer çiftlik hayvanlarında RAPD çalışmaları.....	36
3. MATERYAL ve METOD.....	38
3.1. Materyal.....	38
3.2. Yöntem.....	38
3.2.1. Seleksiyon.....	38
3.2.2. Kan örneklerinin alınması.....	40
3.2.3. DNA ekstraksiyonu.....	40
3.2.4. Genomik DNA miktarının hesaplanması.....	42
3.2.5. RAPD-PCR uygulamaları.....	43
3.2.5.1. Primerlerin seçimi.....	43
3.2.5.2. PCR uygulamaları.....	45
3.2.5.3. Elektrolit çözeltisi hazırlama.....	47
3.2.5.4. Agaroz jel hazırlama.....	47
3.2.5.5. PCR ürünlerinin jele yüklenmesi.....	48
3.2.5.6. Elektroforez işlemi.....	49
3.2.5.7. Jel boyama ve RAPD lokusların saptanması.....	49

3.2.5.8. RAPD sonuçlarının değerlendirilmesi ve istatistiki analizler.....	51
4. BULGULAR.....	55
4.1. Seleksiyon sonuçları.....	55
4.2. RAPD-PCR Sonuçları.....	60
4.2.1. RAPD sonuçlarının değerlendirilmesi ve istatistiki analizler.....	60
4.2.1.1. Primerlerin değerlendirilmesi.....	62
4.2.1.2. Polimorfik lokus oranı (P_{poly}).....	63
4.2.1.3. Ortalama allel sayısı (n_a).....	64
4.2.1.4. Ortalama etkili allel sayısı (n_e).....	64
4.2.1.5. Ortalama heterozigotluk (H).....	64
4.2.1.6. Shannon bilgi indeksi (I).....	65
4.2.1.7. Genetik farklılaşma katsayısı (G_{ST}).....	65
4.2.1.8. Genetik mesafeler.....	66
4.2.1.9. Filogenetik ilişkiler.....	67
5. TARTIŞMA.....	68
6. SONUÇ.....	75
7. KAYNAKLAR.....	78
8. EKLER.....	86
Ek-1. Primerlere ait RAPD-PCR ürünlerinin elektroforez jel görüntüleri.....	86
ÖZGEÇMİŞ.....	110

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

A	Adenin
bç	baz çifti
cm	Santimetre
EsA	Ariesteraz
G	Guanin
g	Gram
G _{ST}	Genetik farklılaşma katsayısı
H	Ortalama heterozigotluk
Hb	Hemoglobin
I	Shannon bilgi indeksi
kb	Kilobayt
kg	Kilogram
M	Mol
MgCl ₂	Magnezyum Klorür
MgSO ₄	Magnezyum Sülfat
ml	Mililitre
na	Ortalama allel sayısı
np	Polimorfik lokus sayısı
NaCl ₂	Sodyum Klorür
ne	Ortalama etkili allel sayısı
ng	Nanogram
nm	Nanometre
P _{poly}	Polimorfik lokus oranı
rpm	rotation per minute
C	Citozin
T	Timin
Taq	Thermus Aquaticus
Tf	Tansferrin
Tm	Thermal melting
V	Volt
vd	ve diğerleri
µl	Mikrolitre
°C	Santigrat derece

Kısaltmalar

AFLP	Amplified Fragment Length Polymorphism
AÜZF	Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi
ATP	Adenin Tri Phosphate
CTP	Citozin Tri Phosphate
DCA	Düşük Canlı Ağırlık
DNA	Deoksiribo Nukleik Asit
DNTP	di Nukleotide Tri Phosphate
EDTA	Ethylen Diamin Tetra Aceticacid
E.coli	Escherichia coli
GTP	Guainin Tri Phosphate
K	Kontrol
ME	Metabolik Enerji
MJ	Mega Jül
NRC	National Research Council
OD	Optic Density
PCR	Polymerase Chain Reaction
PLO	Polimorfik Lokus Oranı
PLS	Polimorfik Lokus Sayısı
QTL	Quantitative Trait Loci
RAPD	Random Amplified Polymorphic DNA
RFLP	Resrtriction Fragment Length Polymorphism
RNA	Ribo Nukleik Asit
SB	Sodyum Borat
SNP	Single Nukleotide Polymorphism
SSR	Single strand repeats
TAE	Tris Asetat EDTA
TBE	Tris Borat EDTA
TE	Tris EDTA
TTP	Timin Tri Phosphate
UV	Ultra Viole
Y	Yumurtacı
YCA1	Yüksek Canlı Ağırlık 1
YCA2	Yüksek Canlı Ağırlık 2

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1a. DNA çift sarmalının sıcaklık uygulaması sonucu açılması.....	8
Şekil 2.1b. Nükleotid çiftleri arasındaki zayıf hidrojen bağlarının kopması.....	8
Şekil 2.2. Primerlerin tek sarmal DNA'ya bağlanması.....	9
Şekil 2.3. Tek sarmal DNA moleküllerinin enzimatik çoğaltımı.....	10
Şekil 2.4. PCR uygulamasında genomik DNA çoğaltımının grafiksel görünümü.....	10
Şekil 2.5. RAPD-PCR yönteminin çalışma şeması.....	19
Şekil 3.1. DNA miktar tespitinde kullanılan spektrofotometre cihazı (A.Ü.Z.F. Bitki Koruma Bölümü Moleküler Bitki Bakteriyolojisi Laboratuvarı).....	43
Şekil 3.2. Eppendorf Master Gradient Thermal Cyclers PCR cihazı (A.Ü.Z.F. Zootečni Bölümü Moleküler Genetik Laboratuvarı).....	46
Şekil 3.3. Agaroz jel çözeltisinin kalıba dökülmesi	48
Şekil 3.4. Elektroforez tankındaki jel kuyucuklarına PCR ürünlerinin yüklenmesi.....	49
Şekil 3.5. Elektrofrez tankı ve güç kaynağının görünümü (A.Ü.Z.F. Zootečni Bölümü Moleküler Genetik Laboratuvarı).....	50
Şekil 3.6. Jel görüntüleme donanımı (A.Ü.Z.F. Bitki Koruma Bölümü Moleküler Bitki Bakteriyolojisi Laboratuvarı).....	50
Şekil 4.1. Bildircin hatlarına ait dişilerin generasyonlar boyu canlı ağırlık ortalamaları.....	56
Şekil 4.2. Seleksiyon hatlarına ait dişiler bildircinlerin generasyonlar boyu canlı ağırlık ortalamalarının kontrol popülasyonuna ait dişilerin canlı ağırlık ortalamalarından farkları.....	56
Şekil 4.3. Bildircin hatlarına ait erkeklerin generasyonlar boyu canlı ağırlık ortalamaları.....	57
Şekil 4.4. Seleksiyon hatlarına ait erkek bildircinlerin generasyonlar boyu canlı ağırlık ortalamalarının kontrol popülasyonuna ait erkeklerin canlı ağırlık ortalamalarından farkları.....	57
Şekil 4.5. Bildircin hatlarına popülasyonların generasyonlar boyu canlı ağırlık ortalamaları.....	58
Şekil 4.6. Seleksiyon hatlarının generasyonlar boyu canlı ağırlık ortalamalarının kontrol hattı ortalamalarından farkları.....	58
Şekil 4.7. Bildircin hatlarına ait dişilerin 12. generasyondaki sıcak karkas görünümü ve ağırlıkları.....	59
Şekil 4.8. Bildircin hatlarına ait erkeklerin 12. generasyondaki sıcak karkas görünümü ve ağırlıkları	59
Şekil 4.9. Bildircin hatları arasındaki filogenetik ilişkiler dendogramı.....	67

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. RAPD, RFLP, Mikrosatellit ve AFLP yöntemlerinin bazı özellik- ler yönünden karşılaştırılması.....	22
Çizelge 3.1. DNA ekstraksiyon kitinin içeriği.....	42
Çizelge 3.2. Çalışmada kullanılan primerleri tanımlayıcı bilgiler.....	44
Çizelge 3.3. PCR reaksiyon karışımı.....	45
Çizelge 3.4. PCR döngü programı.....	46
Çizelge 3.5. 50X' lik Tris-Acetate-EDTA (TAE).....	47
Çizelge 4.1. Primerlerin bildircin hatlarında ortaya çıkardığı genetik değişim- ler.....	61
Çizelge 4.2. Bildircin hatlarına ait ortalama allel sayısı (n_a), ortalama etkili allel sayısı (n_e), beklenen ortalama heterozigotluk (H), Shannon bilgi indeksi (I) ve polimorfik lokus (P_{poly}) değerleri.....	62
Çizelge 4.3. Bildircin hatları arasındaki genetik mesafe oranları.....	66

1. GİRİŞ

Populasyon genetiğinin kuramsal esaslarını deneysel olarak kanıtlamada ve buna ek olarak yeni kuramların geliştirilmesinde laboratuvar hayvan ve bitkilerinden geniş ölçüde yararlanılmaktadır. Model hayvan olarak memelilerle ilgili çalışmalarda fare ve tavşan, kanatlılarda ise bildircin kullanılmaktadır. Japon bildircini (*Coturnix coturnix japonica*) generasyonlar arası sürenin kısa oluşu, az yem tüketmesi, canlı ağırlık başına yumurta üretiminin yüksek olması, birim alanda fazla sayıda hayvan barındırılabilmesi, üretiminde basit araç gerece ihtiyaç göstermesi ve diğer kanatlı çiftlik hayvanlarıyla kıyaslandığında hastalıklara karşı nispeten daha dayanıklı olması nedeniyle bilimsel çalışmalarda yoğun olarak kullanılmaktadır. Ayrıca ticari olarak da her geçen gün önemi artan bildircinin canlılar âlemindeki sınıflandırılması aşağıda verilmiştir.

Biyolojik yeri (*Superregnum*): Hücre çekirdekli (Eukaryota)

Alem (*Regnum*): Hayvanlar (*Animalia*)

Alt alem (*Subregnum*): Gerçek dokulular (*Eumetazoa*)

Üst şube (*Superphylum*): İkincil ağızlılar (*Deuterostomia*)

Şube (*Phylum*): Sırt iplikliler (*Chordata*)

Alt şube (*Subphylum*): Omurgalılar (*Vertebrata*)

Küçük şube (*Infraphylum*): Gerçek çeneliler (*Gnathostomata*)

Üst sınıf (*Superclassis*): Dört üyeliler (*Tetrapoda*)

Sınıf (*Classis*): Kuşlar (*Aves*)

Alt sınıf (*Subclassis*): Uçucu kuşlar (*Carinatae*)

Küçük sınıf (*Infraclassis*): Yaşayan kuşlar (*Neornithes*)

Takım (*Ordo*): Tavuksular (*Galliformes*)

Aile (*Familia*): Sülüngiller (*Phasianidae*)

Alt aile (*Subfamilia*): Keklikgiller (*Perdicinae*)

Cins (*Genus*): bildircingiller (*Coturnix*)

Tür (*Species*): bildircin (*Coturnix coturnix*)

Alt tür (*Subspecies*): *C.c. Japonica*, *C.c. africana*, *C.c.confisa*, *C.c.conturbans*, *C.c. coturnix*, *C.c. erlangeri*, *C.c. inopinata*, *C.c. parisii*, *C.c. ragonierii*.

Sharma vd'nin (2000a) bildirdiğine göre; Howard ve Moore, *Coturnix* cinsi, *phasianidae* ailesi, *galliformes* sınıfından 5 tür belirlemiştir. Bıldırcın ismi altında, en fazla yetiştiriciliği yapılan bıldırcın Japon bıldırcını (*C. coturnix japonica*) olması yanında, siyah göğüslü bıldırcın (*C. coromondelica*), herlekuin bıldırcın (*C. delgordue*) ve pektoral bıldırcın (*C. pectoralis*) gibi türleri de yaygın olarak bulunmaktadır. Modern evcil bıldırcının atası hakkındaki tartışmalar bulunmasına rağmen genel kabul bunun Japon bıldırcını olduğudur (Sharma vd 2000a).

Bıldırcınlarda ergin ağırlıklar ırklara ve seleksiyon düzeyine göre değişmekle birlikte genel olarak 110-200 g arasında olup yaklaşık 12-18 cm vücut uzunluğuna sahiptirler. Yumurta ağırlıkları genel olarak vücut ağırlığının %8' i kadar, ortalama olarak 9-10 gramdır (Sarica vd 1995). 16-19 gün arasında değişebilen kuluçka süresi ortalama 17 gündür. Bahsedilen özellikleriyle birlikte seleksiyon uygulamalarına hızlı cevap vermesinden dolayı kanatlı kümes hayvanları ile ilgili ıslah ve genetik çalışmaları için deneme hayvanı olarak oldukça uygun bir materyaldir.

Tarımsal faaliyetlerin temel amacı üretimi yapılan verim bakımından işletme koşullarına uygun ve ıslah edilmiş genotipik değeri yüksek materyaller ile çalışarak, işletme kârlılığını arttırmaktır. Doğal kaynakların giderek azalması, küresel ısınma ve artan dünya nüfusuna paralel olarak artan beslenme gereksinimi, çiftlik hayvanlarının birkaç verim yönünde geliştirilmesini kaçınılmaz kılmaktadır. Bu amaca uygun genotipleri geliştirmek ise ıslah ile uğraşan araştırmacıların en önemli hedefidir. Islah çalışmalarında önce mevcut koşullarda, amaca uygun en üstün genotipler belirlenir, daha sonra bu hayvanlar gelecek neslin yavrularını vermek üzere damızlıkta kullanılır. Hayvan ıslahında bu süreç seleksiyon olarak tarif edilir. Seleksiyon, genotipik ilerleme ve genetik değişkenlik için anahtar bir yöntemdir (Deepak 1998). Kumar vd (2000a, b) çiftlik hayvanı veya kanatlı türlerinde tatmin edici bir genetik ilerleme sağlayabilmek için genetik varyasyonun belirlenmesi ve buna uygun yetiştirme stratejilerinin geliştirilmesini birinci koşul olarak görmüşlerdir. İnsanoğlu hayvansal ürünlerden yararlanmaya başladığı zamandan bu güne seleksiyon çalışmaları sayesinde çiftlik hayvanı popülasyonlarının verimlerinde hem miktar hem de nitelik olarak önemli değişimler ve artışlar sağlamışlardır. Öyleki bugün sadece hayvansal ürünlerin miktarında değil aynı zamanda ürünlerin

içeriklerini oluşturan bileşenlerin miktar veya çeşitlerinde dahi önemli değişiklikler meydana getirilebilmektedir.

Ancak, yapılan seleksiyon çalışmalarının önemli bir bölümü tek verim özelliği ile ilgilenmektedir. Bu sebepten dolayı, yapılan tek yönlü seleksiyonun, diğer özelliklerde ne tip bir değişikliğe neden olabileceği hayvan ıslahı ile uğraşan araştırmacıların merak ettiği bir konudur. Herhangi bir seleksiyon çalışmasının özellikle populasyonun devamı için önemli olan biyolojik işlevlerde ne gibi değişikliklere neden olduğunu belirlemek gerekmektedir. Buna ek olarak, bilindiği gibi ekonomik özellikler üzerine yapılan yapay seleksiyonun yanında doğal seleksiyon da populasyon üzerinde etkisini sürdürmektedir..

Seleksiyon ve melezleme gibi geleneksel ıslah ve yetiştirme yöntemlerinin kullanılması hayvan populasyonlarının verimlerini geliştirmenin yanında hayvancılığın ülke ekonomisine olan katkısını artırmak olarak da değerlendirilebilir. Çiftlik hayvanlarına ait ekonomik karakterler nicel (kantitatif) özelliğe sahiptir. Bu karakterler çevresel etmenlerden fazlaca etkilenir ve çok sayıda gen tarafından kontrol edilirler. Kantitatif karakterlerin bu özelliğinden dolayı populasyon içerisinde genotip sınıflarının belirlenmesinin zorluğu ıslah çalışmalarında verimliliği düşüren bir faktördür. Buna bağlı olarak da sadece fenotipe dayalı seleksiyonda başarı oranı azalmakta ve üstün bireylerin saptanmasında zorluklar yaşanmaktadır. Bu gibi durumlarda erken yaşta ortaya çıkan, saptanması kolay ve üzerinde durulan karakter ile genetik ilişki halinde bulunan diğer bir karakter seleksiyon ölçütü olarak kullanılabilir. Bu yöntem “dolaylı seleksiyon” olarak tanımlanmaktadır. Birçok genetik değişken dolaylı seleksiyon ölçütü olarak kullanılabilir. Ancak dolaylı seleksiyonda kullanılacak karakterleri çok iyi tanımlamak ve asıl üzerinde durulan verim ile ilişkisini doğru saptamak gerekir. Bu amaca yönelik olarak, populasyonun yapısını, seleksiyon hikâyesini ve yetiştirme stratejilerini yansıtması bakımından populasyon içi genotipik ve fenotipik değişimin sağlıklı bir şekilde belirlenmesi çok önemlidir.

Bir populasyonu oluşturan bireylerin genetik, biyokimyasal ve biyofiziksel yöntemlerle araştırılması, o populasyonun genetik yapısına ilişkin daha ayrıntılı ve kesin bilgilerin elde edilmesine olanak verir (Asal vd 1996). Polimorfizm, populasyonlardaki ge-

netik dengenin bir ürünü olup; söz konusu bir populasyonda herhangi bir özelliğin iki ya da daha fazla formunun aynı anda ve sadece tekrarlanan mutasyonlarla açıklanamayan oranlarda bulunmasını ifade eder. Diğer bir ifadeyle polimorfizm, bir lokusta birden fazla allelin varlığı şeklinde tanımlanabilir. Hedrick' e (1985) göre, bir gen lokusunun polimorfik olabilmesi için, nadir allelin populasyondaki nispi frekansının en az 0,05 veya 0,01 olması gerekmektedir.

Son yıllarda moleküler biyoloji ve genetik alanında geliştirilen yeni teknolojiler kullanılarak genetik varyasyonlar doğrudan DNA düzeyinde belirlenebilmektedir. Böylece protein polimorfizminde saptanamayan intronlar gibi kodlama görevi olmayan bölgelerdeki varyasyonlar da ortaya çıkarılabilmektedir.

DNA zincirini oluşturan bazı bölgeler, aynı nükleotid sıralarının genom üzerinde tekrarlanmasından oluşmaktadır. Kalıtsal değişimler (mutasyon) sonucunda bu bölgelerden bazılarının koparak yer değiştirdikleri (delesyon) ya da rastlantısal olarak aynı dizinin DNA sarmalının değişik yerlerinde de olduğu (insersiyon) kabul edilir. Böylece, genomda yeni değişimler ortaya çıktığı da bilinmektedir. Bu değişimler tür, ırk, hat, tip, hatta birey düzeyinde bile görülebilmektedir. Buna dayanarak geliştirilen moleküler tipleme yöntemleri, genetik hatlar içi ve arası akrabalılığın tahmininde kullanılabilir (Smith vd 1996). Moleküler genetik alanda birçok dalda elde edilen ilerlemeler, çiftlik hayvanı türlerinin genetik analizlerinde önemli aşamalar kaydetmiştir. Son yirmi yılda moleküler teknolojideki gelişmeler moleküler seviyede genom çalışmaları için yeni yaklaşımlara bağlı olarak genetik yapıların açıklanması için yeni imkanlar ortaya çıkartmıştır. Moleküler düzeyde ve DNA temelinde çalışan bu yöntemler genetik alanındaki çalışmaların artmasına ve hızlanmasına yol açmıştır. DNA markerlerinin kullanımı ile genetik değişimin saptanması ve buna dayalı genetik harita yapımı 1980' li yılların başında ilk kez RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) tekniğinin kullanılması ile gerçekleştirilmiştir (Griffiths vd 1996).

Daha sonra geliştirilen tekniklerden başlıcaları, AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism), RAPD (Randomly Amplified Polymorphic DNA) ve SSR (Single Sequence Repeat)' dir. Önceleri uzun uğraş gerektiren bu teknikler manuel olarak ça-

lışmaktayken artık neredeyse tüm analizler otomasyona dönüştürülmüştür. Bu yöntemler genel olarak DNA parçalarının polimeraz zincir tepkimesi (PCR: Polymerase Chain Reaction) tekniği kullanılarak çoğaltılması temeline dayanmaktadır. PCR' nin bulunması moleküler genetik çalışmalarında çığır açmıştır. DNA' nın küçük bir miktarı ile yapılan bu basit teknikte binlerce/milyonlarca çoğaltılmış ürün çabuk ve kolayca elde edilebilmektedir.

Populasyon genetiği çalışmalarında yaygın olarak kullanılan yöntemlerden biri olan RAPD ilke olarak, rasgele seçilmiş kısa DNA dizilerinin (primer) yardımıyla üzerinde çalışma yapılan genomik DNA' nın PCR' de çoğaltılması temeline dayanır. Williams vd (1990) ile Welsh ve McClelland (1990) tarafından farklı laboratuarlarda aynı zamanda geliştirilmiştir.

Bu yöntem; yabani hayvan türlerinin tespiti (Lee ve Chang 1994, Koh vd 1998, Stepniak vd 2002), ebeveyn tespiti (Scott vd 1992), hayvanlarda cinsiyet tayini (Adan vd 1997, McGowan ve Davidson 1998, Hidas ve Edvi 2001), genom haritalama (Levin vd 1993, Shiue vd 1999) ve bağlantı analizleri (Kemp ve Teale 1992, Kantanen vd 1995, Appa-Rao vd 1996) gibi biyolojik araştırmalarda yoğun olarak uygulanmıştır. Ayrıca sığır (Gwakisa vd 1994, Parejo vd 2002, Serrano vd 2002), bufalo (Salah ve Esayed 2007), koyun (Cushwa ve Medrano 1996, Cushwa vd 1996, Ali 2003a, Paiva vd 2005), keçi (Li vd 2002), at (Apostolidis vd 2001), domuz (Yen vd 2001), tavuk (Zhang vd 1995, Wei vd 1997, Sharma vd 1998a, Lu vd 1999, Sharma vd 2001a, b, Romanov ve Weigend 2001, Zhang vd 2002a, b, Pipalia vd 2006), devekuşu (Bello ve Sanchez 1999), hindi (Smith vd 1996, Smith vd 2005), bıldırcın (Yeğenoğlu 1999, Sharma vd 2000a, Kumar vd 2000a, Akyüz vd 2002, Ali vd 2002), balık (Liu vd 1998, Yon ve Kim 2004, Ali vd 2004) ve arı (Suazo vd 1998) gibi farklı türlere ait populasyonlar arası ve içi genetik değişimin tahmin edilmesine yönelik birçok araştırmada da başarılı sonuçlar vermiştir.

Önceki yıllarda Türkiye çiftlik hayvanlarında yapılan moleküler düzeyde polimorfizm çalışmalarının neredeyse tamamı biyokimyasal (Tf, Hb, EsA) yöntemler içermekteydi (Balcıoğlu 1995, Elmacı vd 2001, Karabağ vd 2002). Ancak, DNA düze-

yinde yapılabilen moleküler analizler son yıllarda ülkemizde de çalışılmaktadır. Örnek olarak sığırlarda (Güneren 1999, Cerit 2003, Özkan 2005, Özdemir 2006), koyunlarda (Budak 2003, Mercan 2004, Elmacı vd 2006, 2007), kıl keçilerinde (Şahin 2005), balıklarda (Akhan ve Canyurt 2005), mandada (Soysal vd 2005), bıldırcınlarda (Yeğenoğlu 1999, Akyüz vd 2002), tavuklarda (İvgin ve Bilgen 2002, Kaya 2003) ve kazlarda (Devrim 2007) yapılmış çalışmaların yanında devam etmekte olan projelerde bulunmaktadır.

Bu tezde, farklı verim yönlerine göre seleksiyon uygulanmış 4 hat (YCA1, YCA2, DCA, Y) ile bir kontrol (K) hattına ait toplam 5 Japon bıldırcını (*Coturnix coturnix japonica*) populasyonunda seleksiyon çalışmalarının etkilerini moleküler seviyede araştırmak, seleksiyon sonucu oluşan hatlar içi ve hatlar arası genetik değişimleri belirlemek, kullanılan 24 adet primer ile bıldırcın hatlarına ait DNA parmakizlerini ortaya çıkarabilmek ve genetik marker tespit edebilmek amacıyla RAPD-PCR yöntemi kullanılmıştır.

2. KURAMSAL BİLGİLER ve KAYNAK TARAMALARI

2.1. Polimeraz Zincir Tepkimesi (PCR)

İlk kez Kary Mullis vd tarafından geliştirilen bu yöntem en basit tanımıyla nükleik asitlerin invitro olarak çoğaltılmasıdır (Mullis ve Faloona, 1987). Doğal hücre bölünmesinde meydana gelen DNA replikasyonu taklit ederek çalışan bu yöntem, spesifik bir DNA parçasına ait kopyaların primer adı verilen kısa DNA dizileri tarafından yönlendirilerek enzimatik olarak çoğaltılması şeklinde tanımlanabilir.

PCR' de her bir döngünün 3 aşaması vardır. Bu aşamalar; denatürasyon, bağlanma ve uzamadır. PCR' de ilk iki döngü, spesifik DNA parçalarının (primer) hedef DNA' da yapışabilecekleri yerleri tarama aşamasıdır. Hedeflenen bölgeleri çoğaltma işlemi üçüncü döngüden itibaren gerçekleşir. PCR' nin tüm döngüleri, bir önceki döngüde sentezlenen DNA örneklerinin denatürasyonu ile başlar. Bir DNA molekülünden, 20 döngü sonunda 1 milyon (2^{20}), 30 döngü sonunda ise 1 (2^{30}) milyar kopya elde edilebilmektedir. Böylece az miktarda DNA ile başlayan tepkime sonucunda yeterli miktarda DNA' ya ulaşılabilir.

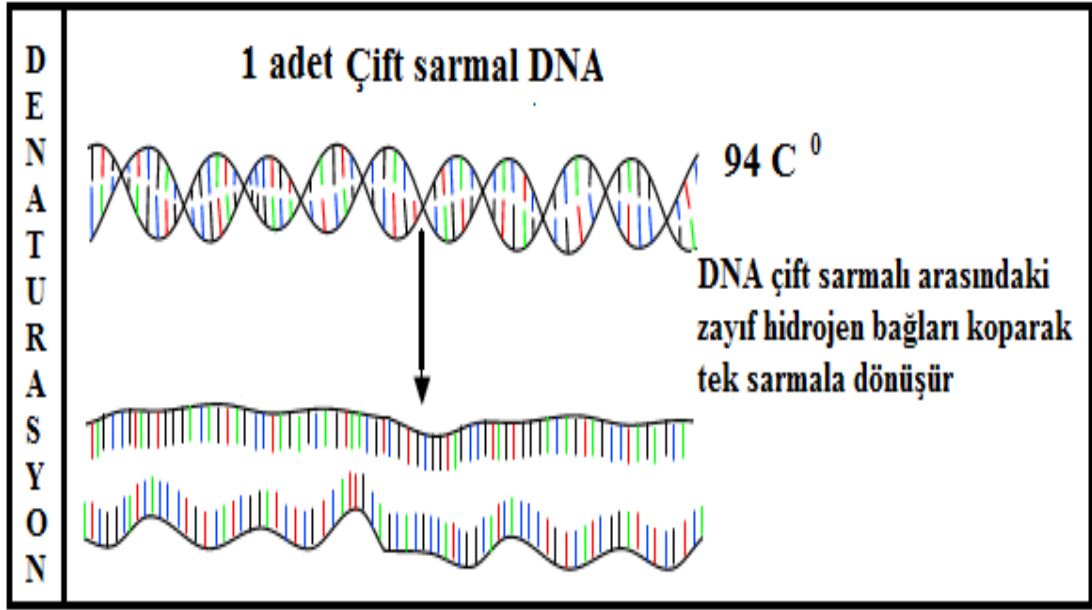
2.1.1. PCR için gerekenler

Polimeraz zincir tepkimesinde kullanılan başlıca kimyasallar şunlardır;

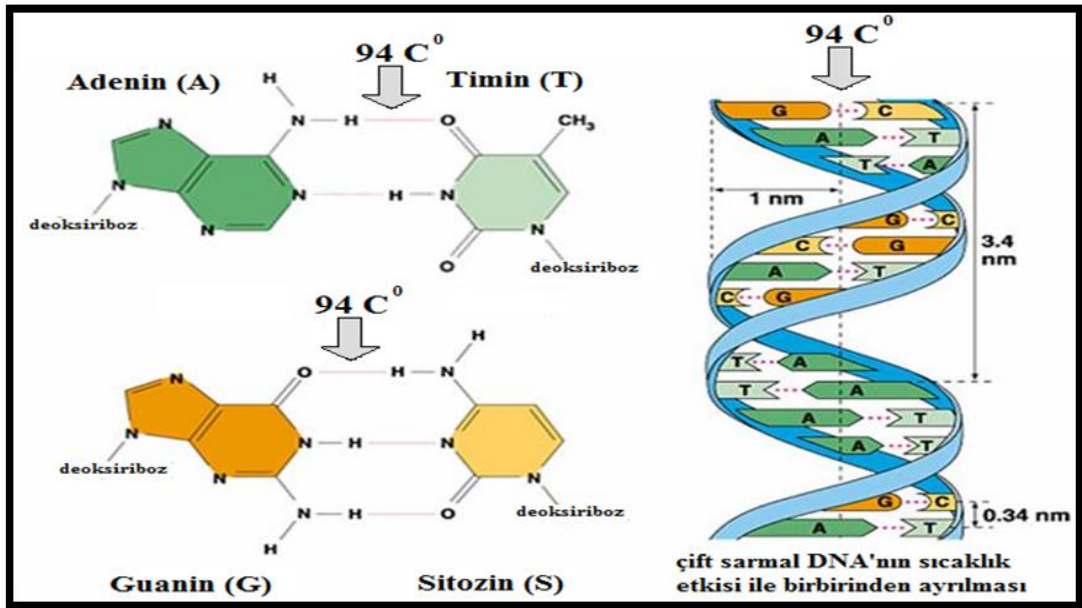
- a) *Kalıp DNA*: genellikle tüm genomik DNA
- b) *Primer*: genellikle kısa oligonukleotidler
- c) *Termostabil DNA polimeraz*: Taq polimeraz enzimi
- d) *dNTPs*: dATP, dCTP, dGTP, dTTP
- e) *Mg⁺⁺ iyonları*

2.1.2. PCR aşamaları

- a. **Denatürasyon:** DNA molekülü $90-95^{\circ}\text{C}$ ' de birkaç dakika süreyle muamele edildiğinde nükleotid çiftleri arasındaki zayıf hidrojen bağları kopar ve iki eksenli DNA molekülü tek eksenli hale gelir (Şekil 2.1a, b). PCR çalışmaları için kullanılacak DNA, kurumuş kan, semen veya vücut salgıları gibi adli tıp örnekleri, uzun süre saklanmış tıbbi örnekler, tek bir saç teli, mumya kalıntıları ve fosil gibi değişik kaynaklardan elde edilebilmektedir.

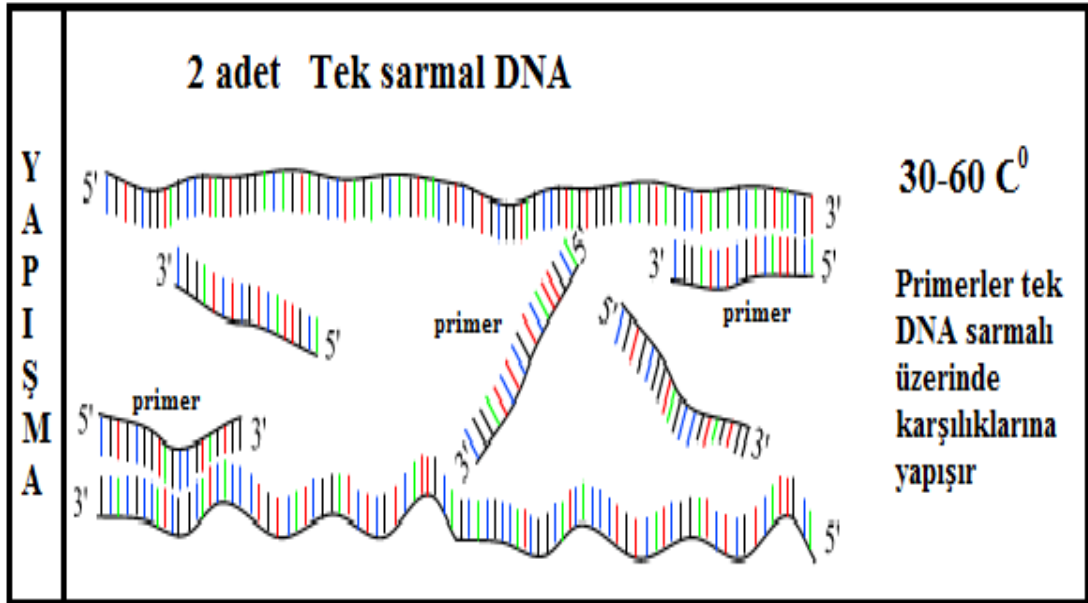


Şekil 2.1a. DNA çift sarmalının sıcaklık uygulaması sonucu açılması



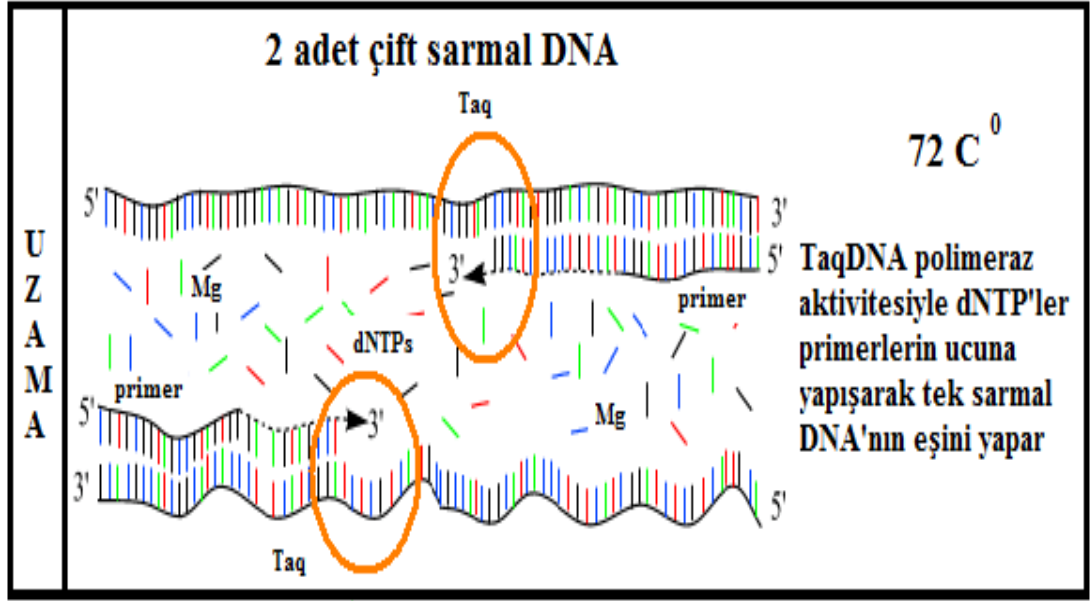
Şekil 2.1b. Nükleotid çiftleri arasındaki zayıf hidrojen bağlarının kopması

- b. **Bağlanma/Yapışma (Annealing)**: DNA molekülünün muamele edildiği sıcaklık 30-60 °C arasında bir değere düşürüldüğünde, ortamda bulunan ve DNA replikasyonunun başlangıç noktasını tespit eden primerler tek zincirli hale getirilmiş DNA'ya bağlanır (Şekil.2.2). Bu primerler yapay oligonükleotidlerdir ve çoğaltılacak DNA kısmının uçlarındaki tamamlayıcı dizileri özgün olarak tanırlar. Bu işlemde herhangi bir yardımcı kimyasala veya güce gerek duyulmamasının nedeni DNA molekülünün çift sarmal yapısını korumak eğiliminden ileri gelmektedir. Ortamda primerler bulunmasa dahi yüksek sıcaklık muamelesi ile açılan DNA tek sarmalları ortam sıcaklığı düşürüldüğünde tekrar çift sarmal yapısını oluşturabilmektedir.

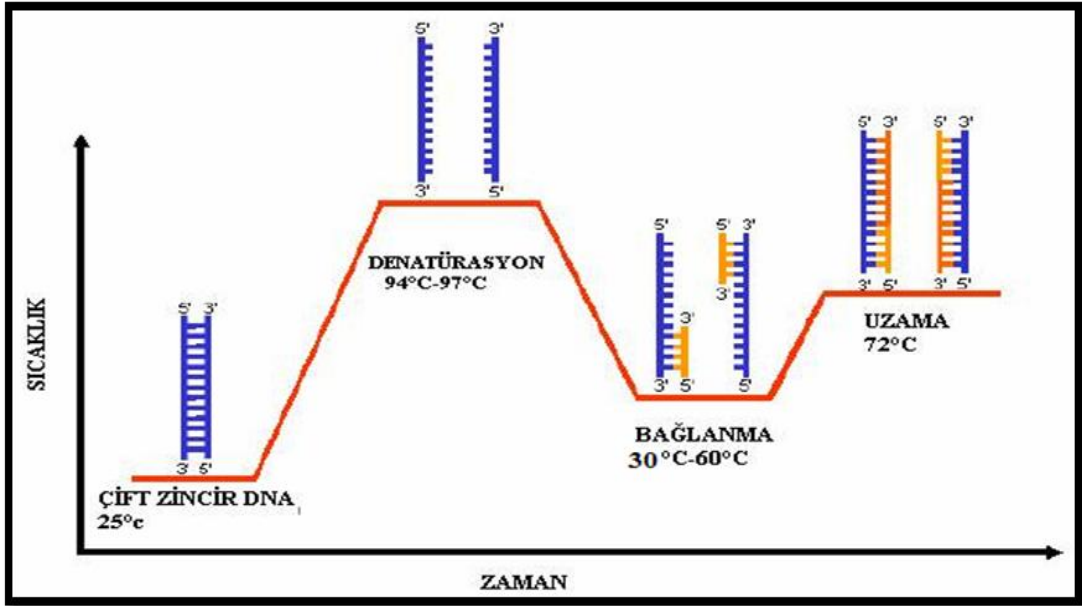


Şekil 2.2. Primerlerin tek sarmal DNA'ya bağlanması

- c. **Uzama (Extension)**: Tepkime ortamına Taq-polimeraz'ın eklenmesi ve ortam sıcaklığının bu enzimin çalışma sıcaklığı olan 70-75 °C'ye ayarlanması ile primerlerin özgün olarak tespit ettiği kısımdan itibaren ortamdaki dNTP'ler yardımıyla DNA sentezi gerçekleşir (Şekil 2.3). Taq-polimerazın aktivitesi sınırlı olduğu için genomik DNA'nın tamamı değil sadece kullanılan primere bağlı olarak belirli bir kısmı çoğaltılabilir. Bu şekilde başlangıçta birbirinden ayrılan her bir tek sarmal DNA çift sarmal hale gelir. Üç aşamadan oluşan bir PCR döngüsü sonucunda ortamda bulunan bir DNA molekülü 2 katına çıkmış olur (Şekil 2.4). İlk iki döngüde istenilen DNA kısmı belirlenirken devam eden döngülerde bu kısmın üssel çoğaltılması gerçekleştirilir.



Şekil 2.3. Tek sarmal DNA moleküllerinin enzimatik çoğaltımı



Şekil 2.4. PCR uygulamasında genomik DNA çoğaltımının grafiksel görünümü

2.1.3. PCR' nin kullanım alanları

- Kalıtsal hastalıklarda taşıyıcının ve hastanın tanısı.
- Doğum öncesi tanı.
- Tümör araştırmaları.
- DNA etiketlerinin oluşturulması.

- e) Genetik klonlama.
- f) Gen işleyiş araştırmaları.
- g) Büyük miktarda DNA örneklerinin oluşturulması.
- h) Bilinmeyen DNA dizilerinin tayini.
- i) Evrim çalışmaları.
- j) DNA-protein ilişkilerinin araştırılması.
- k) Bireylerin ayırımı.
- l) Çevre mikrobiyolojisi.
- m) Genetik polimorfizm araştırmaları.

2.1.4. PCR bileşenleri

Polimeraz zincir tepkimesi kendine özel bileşenler yardımıyla çalışan bir kimyasal tepkimedir. Burada kullanılan kimyasalların değerlendirilebilir doğru sonuçlar verebilmesi için bazı niteliklere sahip olması gerekir. PCR tepkimelerinde kullanılan bu kimyasallara ait tanımlayıcı bazı özet bilgiler aşağıda sıralanmıştır.

Taq-Polimeraz: PCR' nin özgün çalışmasında, *E.Coli* DNA polimeraz I' in *Klenow* kısmı oligonükleotidlerin polimerizasyonunda kullanılmıştır. Ancak DNA' yı yapısal olarak bozmak için gerekli olan ısıya ulaşıldığında, kullanılan enzim etkisini kaybetmiştir. İlk uygulamalarda PCR ürünü çok iyi olmayıp, primerin yanlış bölgelere yapışmasına bağlı olarak farklı büyüklüklerde PCR ürünü elde edilmiştir. Bu tip sorunlar ısıya dayanıklı Taq Polimerazın bulunması ile giderilmiştir. *Taq polymerase* ("Taq Pol" veya basitçe "Taq") sıcak tatlı sularda yaşayan *Thermus aquaticus* bakterisinden izole edilmektedir. Enzimatik yarılanma ömrü 95 °C' de 40 dakikadır. Taq polimeraz 3' → 5' ekzonukleaz düzeltme mekanizmasına sahiptir. Taq DNA polimeraz DNA sarmalı oluştururken 10,000 nükleotid de bir hata yapabilir. 72 °C' de 1 kb büyüklüğündeki DNA iplikçliğini yaklaşık 30 saniyede çoğaltabilir. Ancak üretilen PCR ürünlerinin parça uzunluğu 2000-3000 nükleotid çiftinden daha büyük olamamaktadır. DNA polimerizasyonunda en önemli nokta DNA polimerazın doğruluğudur. Başka bir deyişle tepkime sırasında meydana gelen hata miktarı polimerazın doğruluğunu gösterir. DNA' nın, DNA polimerazlar aracılığı ile çoğaltılması hem çok karmaşık hem de önemli ölçüde sıralı bir işlemdir. Bu hataların ayrılabilmesi, her adımda; polimeraza, kalıp DNA

dizisine ve nukleotid uyumuna bağlıdır. Her enzim, kendisine uygun tamponda kullanılmalıdır. Taq polimeraz miktarı önerildiği miktarda olmalıdır. Fazla konulması ile oluşan PCR ürünlerinin miktarı arttırmaz hatta tepkimeyi bozabilir.

Primer: PCR’ de kullanılan primerler, ticari olarak hazır halde sağlanabileceği gibi, isteğe bağlı olarak da üretilmektedir. Primerler DNA’ nın çoğalması sırasında DNA’ nın 3’ ucuna bağlanıp polimerizasyon için başlama noktasını tespit ederler. Primerlerin PCR işleminden önce bir ön seçime tabi tutulması ve uygun olanların seçilmesi zamandan tasarruf sağlaması açısından önerilebilir. Primerlerin seçiminde G/C oranı ortalama % 50-70 olmasına dikkat edilmelidir. Böylece primerlerin DNA’ ya bağlanması daha istikrarlı olur. Fazla uzun olması primer bağlanma oranını azaltabilir. Bu nedenle 10 bç uzunluğundaki primerler yeterli olarak görülmektedir. Primerler birbirinin tamamlayıcısı olmamalıdır. Oligonükleotidlerin miktarı yüksek olması durumunda istenen hedef DNA dışında bölgelerde çoğalmaya başlayabilir. Düşük olması ise PCR ürünün yetersiz olmasına yol açabilir.

dNTP: Bugün ticari olarak kolayca elde edilebilen dNTP’ lerin doğru miktarda kullanılması tepkime başarısını önemli derecede etkilemektedir. PCR ortamındaki yüksek dNTP miktarı hata oranını arttırırken, düşük dNTP ve Magnezyum miktarı hata oranını azaltır.

Magnezyum: PCR uygulamalarında kullanılan Mg’ un optimizasyonu önemli bir gerekliliktir. Fazla olması enzimin seçiciliğini azaltır. Az olması enzim etkisinin durmasına sebep olabilir. EDTA, dNTP, protein varlığı serbest magnezyum aktivitesini etkileyen faktörlerdir.

2.1.5. Laboratuvar önerileri

Polimeraz zincir tepkimesi yöntemi uygulanırken dikkat edilmesi gereken bazı hassasiyetler vardır. Bunlar;

- a) PCR, tek bir molekül DNA’ yı çoğaltabileceğinden, tepkime karışımlarının yabancı DNA molekülleri ile bulaşması engellenmelidir veya kontrol edilmelidir.

- b) Laboratuarlarda DNA ekstraksiyonu, PCR uygulamaları, PCR ürünlerinin boyanması ve görüntülenmesi birbirinden izole yerlerde yapılmalıdır.
- c) Sarf malzemeler stok şeklinde hazırlanmalı ve küçük hacimlerde saklanmalıdır. Başka laboratuvar veya ortamlardan sarf malzeme kullanılmamalıdır.
- d) Analizlerde PCR reaksiyon tüpüne en son DNA eklenmelidir.
- e) Reaksiyon tüpüne kimyasallar eklenirken hava kabarcıkları oluşmamalıdır.
- f) PCR uygulamalarında sonucun kesinliğinden emin olmak için artı ve eksi kontrol kullanılmalıdır.
- g) Otomatik pipetler gibi çok sık kullanılan aletler bulaşma kaynağı olabileceğinden dolayı sıkça temizlenmelidir.

2.1.6. PCR' nin çalışmama sebepleri

Moleküler genetik çalışmalarda kullanılan kimyasallar oldukça hassas ve pahalı gereçlerdir. Mikrolitre düzeyde hazırlanan tepkime karışımlarının bile maliyeti bazen oldukça yüksek olabilmektedir. Fazla dikkat ve ayrıntı gerektiren bu çalışmalarda başarısızlığa uğramanın tahmin edilebilir bazı sebepleri olabilir. Bunlar;

- a) Tepkime ortamında RNA düzeyinin yüksek olması,
- b) EDTA' nın yüksek yoğunlukta olması,
- c) Heparin bulunması,
- d) Fenol kalıntısının bulunması,
- e) Urasil varlığı,
- f) Uzun süre UV ışın etkisi.

2.1.7. PCR ürünlerinin değerlendirilmesi

PCR koşullarının en uygun şekilde hazırlanması sonuçların yeterliliği ve güvenilirliğini önemli derecede etkileyebilmektedir. Bunun yanında yeterli düzeyde ürün alınabilse de sonuçların doğru değerlendirilebilmesi oldukça dikkat gerektirmektedir.

Bu sebeple PCR ürünlerini değerlendirirken aşağıda sıralanan hususlara dikkat edilmesinde fayda olduğu düşünülmektedir.

a) PCR enzimatik bir tepkimedir, bu nedenle;

1. DNA' nın niteliği ve miktarı tepkime sonuçlarını değiştirebilir.
2. Taq polimeraz, dNTPs, Mg⁺⁺ iyonları ve tampon çözeltinin pH' sı tepkimeyi etkileyebilir.
3. PCR döngü koşulları ve PCR cihazının çeşidi tepkimeyi etkileyebilir.

b) İki farklı çizgide RAPD bandları kıyaslanırken iki hata ortaya çıkabilir.

4. İki çizgide de aynı bantlar görülmesine rağmen bu bantlar farklı PCR ürünleri olabilir.
5. Bir çizgide görülen bant diğerinde olmayabilir fakat görülmeyen bantın sebebi düşük oranda çoğalmış olmasından kaynaklanabilir.

c) Az miktardaki DNA kopyalarına sebep olan PCR hataları;

6. İlk döngülerde meydana gelen olası bir mutasyon sonraki çoğalmaları etkiler.
7. Az miktardaki yabancı DNA bulaşmaları ile DNA tercihi olarak çoğalabilir.
8. Rekombinasyon kalıp DNA' nın farklı iki tipi arasında şekillenebilir.

2.2. Elektroforez

Elektroforez yöntemi ilk kez 1809 yılında Reuss' in fikirlerinden yararlanılarak geliştirilmiştir ve ilk kez 1937 yılında Tiselius, protein fonksiyonlarının belirli bir pH derecesinde taşıdıkları elektriksel yüklere göre değişik hızda hareket ettiklerini göstererek, plazma proteinlerinin bu yolla sınıflandırılabilirliklerini açıklamıştır (Rahman 1974).

Elektroforez, büyük moleküllü iyonların ve yüklü parçacıkların elektrik akımı verilen bir alanda artı uca (anot) ya da eksi uca (katod) doğru hareket etmelerini ifade etmektedir. Moleküllerin hareket hızları; sahip oldukları elektrik yüküne, molekülün büyüklüğüne ve şekline bağlı olarak değişmektedir. Ayrıca kullanılan tampon çözeltiler, taşıyıcı materyalin özelliği, akım şiddeti ve süresi, ortam sıcaklığı ve pH moleküllerin hareketlerini etkileyen temel etmenlerdir (Harris ve Angal 1995). Elektroforez işleminde taşıyıcı-

cı materyaller genel özelliklerine göre üç grup altında toplanmaktadır. Bunlar; süngersi maddeler (lastik sünger, kâğıt, selüloz asfalt), toz formunda (sellüloz, cam) ve jel yapısında (nisaşta, pektin, agaroz, poliakrilamid, silika jel) olabilir.

Jel yapısındaki materyallerin geçirgenliği diğerlerine göre daha nitelikli olduğu ve daha güvenilir sonuçlar verdiği için genetik alanında yapılan elektroforez çalışmalarında kullanımı daha yaygındır. DNA molekülleri iskeletini oluşturan fosfat sebebiyle eksi yüklü olduğu için elektroforez esnasında artı kutup olan anota doğru hareket eder. DNA'nın bu hareketi kütlelerinin logaritmasıyla ters orantılıdır. DNA moleküllerinin jel elektroforezdeki göçünü moleküllerin şekli belirler. Uzun DNA parçaları kısıllara göre daha yavaş hareket eder. Böylece DNA molekülleri büyüklüklerine göre birbirlerinden ayrılarak jel üzerinde farklı yerlere göç ederler.

2.3. DNA Parmakizi Yöntemleri

DNA parmakizi yöntemi ilk kez İngiliz genetikçi Alec Jeffreys (1985) tarafından DNA'nın baz dizisi fotoğrafını yapmak için kullanılmıştır. Bu tarihten itibaren hızla geliştirilen ve ortaya çıkan yeni yöntemler ile çalışmak günümüzde oldukça yaygın hale gelmiştir. Bu yöntemlerin hepsinde ilk yapılması gereken üzerinde araştırma yapılacak organizmanın herhangi bir dokusuna ait hücrelerden DNA ekstrakte etmek ve saflaştırmaktır. Temel mantık elde edilen DNA'nın enzimler ile kesilmesi ve böylece değişik uzunlukta kökenine ait DNA parçalarının oluşturulmasıdır. Enzimler yardımıyla meydana getirilen DNA parçacıkları elektroforez sonrası jel üzerinde kullanılan DNA'ya özgü desenler meydana getirmektedir. Bu şekilde ortaya çıkartılan desenler tıpkı parmak izi gibi bir birey için bile ayırt edici olabilmektedir.

2.3.1. Genetik marker

Moleküler genetik alanlarda çeşitli yöntemler kullanılarak elde edilen DNA temelindeki ürünlerin genetik marker olarak tanımlanmasında ve kullanılmasında bazı ölçütler kullanılmaktadır. Böylece ortaya çıkartılan ürünün gerçekten genetik marker olarak değerlendirilebilmesi sağlanmış olur. Bu kıstasları şöyle özetleyebiliriz;

- a) Kromozom üzerinde bulunan bir gen veya DNA parçası, belirli bir gen veya özellik ile ilişkide ise,
- b) Populasyon çalışmalarında veya bağlantı (*linkage*) analizlerinde kullanılacak herhangi bir özel gen kolaylıkla ayırt edilebiliyorsa ve genetik bir özellik üretiyorsa,
- c) Basit deneylerle elde edilebiliyorsa ve sekansı bilinen bir DNA parçası ise,
- d) Mutasyonlar veya değişiklikler sonucu genomik lokus üzerinde ortaya çıkan kısa DNA kısımlarına sahip ise,
- e) Bir lokus ile ilişkili yüksek polimorfizm gösteren DNA parçası ise genetik marker olarak tanımlanabilir.

Genetik marker tespit etmek amacıyla geliştirilmiş birçok teknik bulunmaktadır. Bunlardan en yaygın olarak kullanılanlara ait özet bilgiler ve bu tez çalışmasında kullanılan RAPD tekniği için daha detay bilgi alt başlıklar halinde aşağıda sunulmuştur.

2.3.1.1. RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA)

Genomik DNA diziliminin bilinmesine ihtiyaç duyulmadan rasgele primerler kullanılarak PCR' ye dayalı genetik farklılığın tespit edilmesine olanak sağlayan bu yöntem, farklı laboratuvarlarda ancak aynı zamanda iki farklı isim altında geliştirilmiştir. Bu yöntemi Williams vd (1990) RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) olarak, Welsh ve Mclelland (1990) ise AP-PCR (Arbitrarily Primed-PCR) olarak isimlendirmişlerdir. Bu yöntemle elde edilen parça DNA molekülleri elektroforez işlemi sonucu, hareket hızlarındaki farklılıktan dolayı kolayca ayrılabilir. Büyüklüklerine göre bu moleküllerin birbirinden ayrılmasını takiben, değişik uygulamalarla taşıyıcı jelin boyanması sonrasında jelde band desenleri oluşmakta ve böylece elektroforetik modelden bireyin söz konusu lokus bakımından genotipi saptanabilmektedir. Genelde % 60-80 G+C oranına sahip 10 nükleotidlik primerlerin kullanıldığı bu yöntem DNA sekans bilgisi, fazla zaman, donanım ve maliyet gerektirmemektedir (Williams vd 1993). Radyoaktif değildir ve çabuk sonuç verir. Çok sayıda bireyle çalışmak mümkün olduğundan dolayı

populasyon genetiği çalışmaları için son derece uygundur ve populasyon çalışmaları için marker seçimine olanak sağlar. RAPD polimorfizmleri jel elektroforezden sonra belirli bir DNA bandın yokluğunda çekinik (resesif) allel için homozigot, varlığında ise en az bir baskın (dominant) allele sahip olmaktadır (Wei vd 1997). Bununla birlikte uzunluk ve parlaklık gibi polimorfizmin diğer tipleri de belirlenebilmektedir. RAPD yonteminin en önemli ozelliklerinden biri kullanılan primerlerin, birçok hayvan turnde ortak olmasından dolayı evrensel olmasıdır. Klonlanmış DNA parçalarına, hibridizasyonlar için filtrelerin hazırlanmasına, nukleotid sırasının tespitine gerek yoktur ve bu yontem otomasyona oldukça elverişlidir. Elde edilen verilerin tekrarlanabilirliği, tepkimeğe giren tum değişkenlere bağlı olduğundan düşk olabilmektedir. Bu sebeplerden dolayı da guvenirliliği nisbi olarak diğer yontemlere (AFLP ve RFLP gibi) gore daha düşktur ve dominant kalıtım gostermesi nedeniyle heterozigotların homozigotlardan ayırt edilememesi bu yonteme ait en önemli eksikliklerdir (Williams vd 1990, 1993, Hunt ve Page 1992).

RAPD tekniğinin olumsuz yonlerini en aza indirmek için çalışmanın başlangıcında yontemi çok iyi optimize etmek ve analizleri tekrarlamak gerekir. RAPD yonteminin guvenirliliğini ve tekrarlanabilirliğini etkileyen pek çok sebep vardır. En önemli sebeplerden biri hedef DNA' nın miktarı, niteliği, kaynağı ve DNA ekstraksiyon tekniğidir. Bunun dışında, yabancı DNA bulaşması, PCR koşulları ve PCR cihazının tipi, MgCl₂, Taq DNA polimeraz, primer ve dNTP yoğunluğu, primer bağlanması, başlangıç denaturasyonu, primer karışımları gibi değişkenlerde sonucu etkileyen temel sebeplerdir. Bu değişkenlerin çoğu birbirine bağlı olduğundan bir RAPD tekniğini optimize etmek oldukça zor olabilmektedir. Bununla birlikte RAPD yonteminin otomasyona elverişli olması çalışmaların guvenirliliğini artırmakta ve sonuca daha çabuk varmayı sağlamaktadır.

Öte yandan, aynı primerler ile çalışılmasına rağmen kullanılan primerlerin bazı turlerde diğer turlere gore daha fazla ürün verdiği çeşitli çalışmalarda bildirilmiştir. Bu durum, muhtemelen primerlerin farklı turlerde farklı DNA bölgelerine yapışması sonucu ortaya çıkan parça DNA (fragment) sayısının ture oğgu olmasından kaynaklanıyor olabilir. Bununla birlikte bazı turlerde elektroforez sonunda RAPD bantları gözlenirken

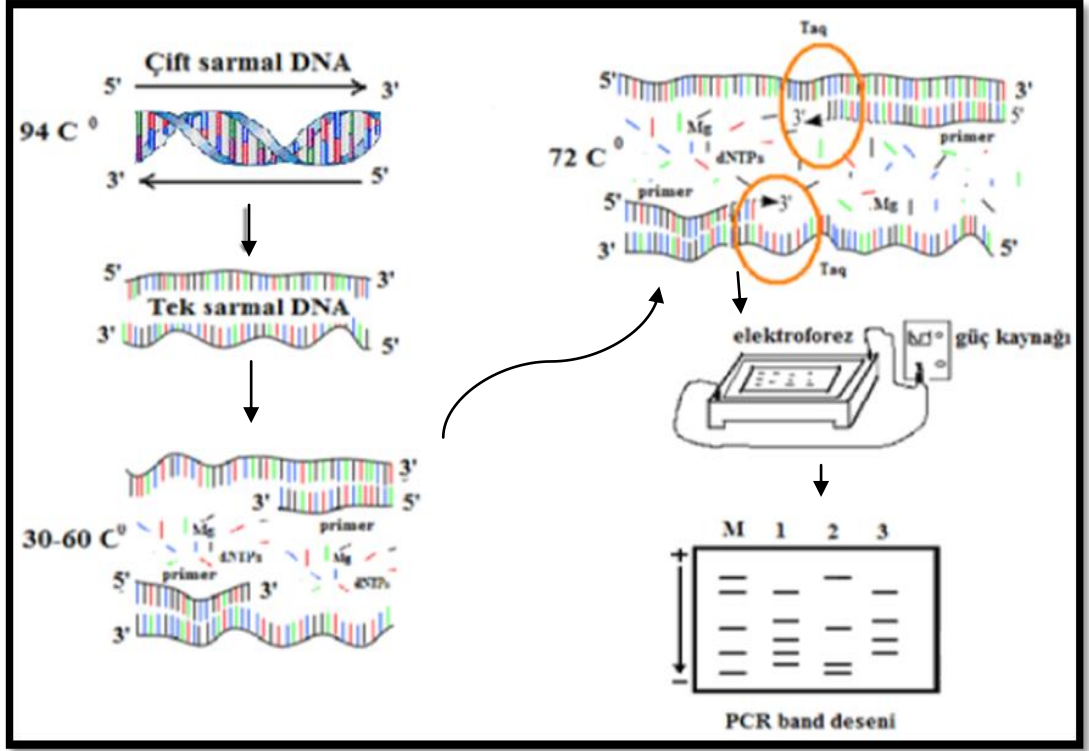
diğer türlerde ya gözlenmemekte ya da farklı lokusta gözlemlenmektedir. Bunun sebebinin ise kullanılan primerin o türe özgü olduğundan ya da kullanılan primerler ile ilişkili olan benzer ya da aynı genin genomlar üzerinde farklı formlarının olmasından kaynaklanabileceği bildirilmiştir (Smith vd 1996).

RAPD Yönteminin Aşamaları

RAPD-PCR yöntemi başlıca 5 aşamada gerçekleştirilmektedir. Özellikle a, b ve d aşamalar, hem sağlık güvenliği hem de sonuçların doğruluğu açısından laboratuvarın birbirinden bağımsız bölümlerinde yapılmalıdır.

- a) DNA ekstraksiyonu (herhangi bir dokudan olabilir).
- b) PCR uygulamaları.
- c) Elektroforez uygulamaları (genellikle agaroz jel kullanılmaktadır).
- d) Elektroforez sonucu oluşan band desenlerinin görünür hale getirilmesi (genellikle edhidium-bromide ile yapılmaktadır).
- e) DNA desenlerinin değerlendirilmesi (çeşitli bilgisayar paket programlar kullanılmaktadır).

RAPD uygulamasında, PCR aşamasından itibaren gerçekleştirilen işlemlere ait görsel açıklamalar Şekil 2.5' de özetlenmiştir.



Şe

kil 2.5. RAPD-PCR yönteminin çalışma şeması

2.3.1.2. RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism)

RFLP (restriksiyon parça uzunluk polimorfizmi) yöntemi genomik DNA'nın nükleik asit dizilişlerini tanıyan restriksiyon enzimlerince özgün bir yerden kesilmesi ve prob (etiketlenmiş tek sarmal kısa DNA parçası) DNA'nın melezlendiği DNA üzerindeki farklı kesme yapılarının saptanması esasına dayanır. Genomik DNA'nın kesimi tipik olarak 4-6 nükleotidi tanıyan enzimlerce yapılır. DNA, bu enzimlerle kesildiğinde farklı uzunlukta parçalar oluşur ve elektroforez sonucu farklı konumlarda görülürler. Bu güne kadar 200 den fazla farklı bakteri türünden yüzlerce restriksiyon enzimi sağlanmıştır. Restriksiyon enzimlerinin kesim sonucunda oluşturduğu parçalar "restriksiyon fragment" olarak tanımlanmaktadır. Restriksiyon enzimleriyle kesilip bir filtre üzerine taşınan DNA ile prob birbirinin aynı veya benzeri ise prob DNA üzerine yapışır. Probun yapıştığı kısmın etrafında enzim kesimi bakımından bir farklılık (polimorfizm) varsa, prob üzerindeki etiketin gözlenmesiyle iki bireye ait DNA'lar birbirinden ayırt edilir. Bu durum işlemin yapıldığı ortam şartlarının (sıcaklık, tuz yoğunluğu vb) değiştirilmesi ile farklılık gösterebilir. Kullanılan problemlerin en önemli özelliği genomda az sayıda kopyasının bulunmasıdır. Genellikle RFLP probu olarak gen ürünleri olan mRNA'nın

DNA'ya çevrilmiş hali olan cDNA'lar kullanılır. Genler çoğunlukla az kopya olup kendilerine özgü dizilişler taşıdıkları için cDNA'lar da az kopya olurlar.

RFLP markerlerinin çok önemli üstünlüklerinden biri türler, cinsler ve hatta familyalar arasında ortaklaşa kullanılabilmesidir. Böylece bir canlı türünde bir RFLP belirteci bir kez haritalandığında akraba pek çok tür için o haritalama bölgesi potansiyel bir marker olmaktadır. Farklı laboratuvarlarda ve araştırmacıların elinde tamamen aynı sonuçların elde edilebilmesi RFLP markerlerin güvenilir olmasını sağlamaktadır. RFLP markerleri eş baskın (ko-dominant) özellikte kalıtım gösterir. Böylece heterozigot bireylerin de karakterize edilmesi mümkün olmaktadır.

2.3.1.3. SSR (Simple Sequence Repeats)

Genomik DNA üzerinde bulunan tekrarlı bölgelerin tespitine dayanan bu yöntemde tekrarların sayısı ve uzunluğuna göre alt yöntemler geliştirilmiştir. DNA zincirini oluşturan oligonükleotid dizisinin tekrar eden durumları ökaryotik genomlarda önemli oranda bulunan basit dizi tekrarlarıdır (mikrosatellit). Bu tekrarların sayısı ve tekrarlanma aralığı zoolojik sistemdeki farklı sınıflara göre değişime sahiptir. DNA üzerinde (AT)_n, (GT)_n, (ATT)_n veya (GACA)_n şeklinde tekrar eden dizilimler bulunmakta ve "n" ardışık tekrar sayısını belirtmektedir. Bu değişimlerin birey düzeyinde bile ortaya çıkabilmesi ve genetik marker olarak oldukça elverişli olmaları nedeniyle polimorfizm araştırmalarında yoğun olarak kullanılmaktadırlar.

(CA)_n mikrosatellitelerde en yaygın tekrar bölgesidir. Özellikle bu ardışık tekrarlar 10 veya daha fazla ise yüksek seviyede polimorfizm belirteçidir. 2'li (di-nükleotid), çoklu-(CA) ve çoklu-(GT) tekrarlarının varlığı ilk kez Weber ve May (1989) tarafından bildirilmiştir. Bu yöntemin en önemli özelliği primerlerin bireyleri DNA düzeyinde ayırabilmesi olmuştur. Ancak, PCR tekniğinde kullanılacak olan primerlerin nükleotid dizilerinin yapılabilmesi için araştırılacak genomik DNA'nın ilgili bölgesindeki baz dizisinin bilinmesi gerekir. Bu da mikrosatellit parmakizi yönteminin en büyük zorluğu olarak kabul edilmektedir.

Mikrosatellitler tek bir lokusu temsil etmeleri nedeniyle fazla band oluşturmazlar ve bu açıdan güvenilirliği yüksektir. Alleller arasındaki ilişkileri anlamak için oldukça güçlü bir yöntemdir. Eş-baskındır, kopyalaması ve çoğaltılması kolay olduğu için genetik çalışmalarında özellikle akrabalık ve ebeveyn belirleme, popülasyonların genetik yapısını belirleme ve rekombinasyon haritaları için ideal bir yöntemdir.

2.3.1.4. AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism)

Vos vd (1995) restriksiyon enzimiyle oluşturulan DNA parçalarından bir kısmının seçici çoğaltımına dayanan bir polimorfizm belirleme yöntemi olarak AFLP' yi (Çoğaltılmış Fragment Uzunluk Polimorfizmi) tanımlamışlardır. Bu yöntemde restriksiyon endonükleazları ve PCR yöntemi bir arada kullanılabilir. DNA, restriksiyon enzimleri kullanılarak farklı uzunlukta parçalara ayrıldıktan sonra oluşan restriksiyon parçalarının kesim yerlerine adaptör olarak adlandırılan, restriksiyon enzimi için özgün olan DNA sıraları takılır ve iki aşamalı PCR yapılır. Uyarlayıcı DNA sırasına ve bu kesim yerine tamamlayıcı olan, ayrıca 3' ucundaki seçiciliği arttırmak için fazladan bir nükleotid taşıyan +1 primer eklenir. Primerin seçici nükleotidi ve nadir kesim yapan enzimin birlikte kullanılmasıyla önemli ölçüde sayısı azalan kesilmiş DNA parçaları jel elektroforezinde ayrılır. Röntgen filmi ya da floresan kullanılarak görünür hale getirilirler.

AFLP tekniği ile fazla miktarda değerlendirilebilir, tekrarlanabilir ve güvenilir sonuçlara ulaşılır. Bu açıdan RAPD ve RFLP yöntemlerine nazaran daha etkin görülmektedir. Bununla birlikte, AFLP yöntemi tepkime karışımındaki değişimlere duyarlı değildir. Başlangıç maliyeti yüksek olmakla birlikte büyük popülasyon çalışmaları için düşünüldüğünde RFLP analizlerinden daha düşük maliyetlidir. Yüksek seviyede polimorfizm ve çözünürlük göstermesi, genomun çoğunu tanıtan markerler vermesi, önceden dizi bilgisi gerektirmemesi bu yöntemin üstünlüğü olarak görülebilir. Yukarıda anlatılan DNA polimorfizmini belirlemek amacıyla kullanılan bu yöntemlere ait kısa bilgiler ve karşılaştırmalar Çizelge 2.1.' de verilmiştir.

Çizelge 2.1. RAPD, RFLP, Mikrosatellit ve AFLP tekniklerinin bazı özellikler yönünden karşılaştırılması

	RAPD	RFLP	Mikrosatellit	AFLP
Genomik miktar	Çok yüksek	Yüksek	Orta	Çok yüksek
Polimorfizm	Yüksek	Orta	Yüksek	Çok yüksek
Kalıtım	Mendel	Mendel	Mendel	Mendel
	Baskın	Eş-baskın	Eş-baskın	Baskın/eş-baskın
DNA miktarı	10-25 ng	2-10 ng	50-100 ng	500 ng
DNA ön bilgisi	Hayır	Hayır	Evet	Hayır
İzotop kullanımı	Hayır	Evet/ Hayır	Hayır/Evet	Evet
Jel sistemi	Agaroz	Agaroz	Akrilamid/Agaroz	Akrilamid
Maliyet	Düşük	Orta	Yüksek	Orta/Yüksek
Laboratuar	Orta	Yüksek	Orta/Yüksek	Orta/Yüksek

2.4. Kaynak Taramaları

RAPD yöntemi mikroorganizma, bitki, hayvan ve insanlara ait birçok birey, ırk, tür ve cinslerde tanımlama, hastalık tespiti, genetik haritalama ve türler için evrimsel sürecin tahmin edilmesi gibi çalışmalarda yoğun biçimde kullanılmaktadır. Bu tez çalışmasının hayvan materyali bir çiftlik hayvanı olduğundan, çeşitli çiftlik hayvanlarında RAPD-PCR tekniği kullanılarak yapılmış bazı çalışmalar aşağıda özetlenmiştir.

2.4.1. Kanatlılarda RAPD çalışmaları

RAPD-PCR yöntemi kullanılarak bildircinler ile ilgili hem ülkemizde hemde dünyada yapılmış çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Kanatlılarla ilgili literatür bilgileri verirken öncelikle bu çalışmanın da hayvan materyalini oluşturan bildircinlerde yapılmış bazı çalışmaların özetlenmesi uygun görülmüştür.

Kumar vd (2000a) seleksiyon uygulamaları sonucu elde edilmiş 5 Japon bildircin hattını (Kontrol, WES, HWt, WFe, WBr) genetik olarak tanımlamak için 3 primer kullanarak RAPD-PCR yöntemini kullanmışlardır. Elde edilen verilere göre hatlar arası genetik benzerlik değerleri (0,738-0,925) hatlar içinden daha yüksek (0,667-0,798) bulunmuştur. Et verimine göre seleksiyon uygulanan 2 hat arasındaki genetik benzerliğin

diğer hatlara göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmayla RAPD-PCR tekniğinin Japon bıldırcınlarının genetik analizi için kullanışlı olduğu gösterilmiştir.

Sharma vd (2000a) et ve yumurta verimlerine göre 8 generasyon seleksiyon yapılan bıldırcın hatların da genetik ilişkileri belirlemek için 20 adet primer kullanarak RAPD-PCR çalışmaları yapmışlardır. Tespit edilen 60 lokusun 19 (%31,7)' u polimorfik ve primer başına lokus sayısının ortalama 3,16 olduğu hesaplanmıştır. Ortaya çıkan sonuçlar RAPD tekniğinin bu tip çalışmalar için elverişli bir teknik olduğunu göstermiştir.

Ali vd (2002) 17 generasyon yumurta ve et verimine göre seçilmiş 2 Japon bıldırcın hattı ve 1 kontrol hattında DNA seviyesinde RAPD-PCR çalışmaları yapmışlardır. 7 primer ile yapılan bu çalışmada 6 primerin seleksiyon hatlarında ve 1 primerin de kontrol hattında polimorfik DNA markerleri ürettiği saptanmıştır.

Akyüz vd (2002) bıldırcınlar üzerinde ülkemizde yapılan bir çalışmada, ebeveyn-yavru akrabalığını saptamak amacıyla RAPD tekniğini kullanmışlardır. Saptanan 145 RAPD lokusundan faydalanılarak bireyler arasındaki genetik benzerlik değerlerinin 0,0069-0,2759 arasında olduğu belirlenmiştir. Çalışma sonunda RAPD-PCR parmak izi yönteminin bıldırcın populasyonunu oluşturan bireyler arasındaki genetik mesafenin belirlenmesinde başarılı bir şekilde uygulanabileceği gösterilmiştir.

Yeğenoğlu (1999) tarafından yapılan bir çalışmada herhangi bir seleksiyona tabi tutulmamış Japon bıldırcınlarına ait DNA parmakizleri 8 primer kullanılarak RAPD tekniği ile araştırılmıştır. Toplam 69 RAPD lokusu saptanmış ve bunların 59' unun polimorfik olduğu tespit edilmiştir. Populasyon içi genetik benzerlik oranı %35 olarak ve toplam polimorfizm oranını da %65 olarak hesaplanmıştır.

Ali (2003b), etçi tavuklarda anatomik kusurlar gösteren bireyler ile olağan görünüşteki bireyleri genotipik olarak ayırt etmek için 2 erkek bireyde 15 primer ile RAPD-PCR çalışmıştır. Kullanılan primerlerden 13'ü 1-15 arasında değişen sayıda polimorfik bant üretmiş, polimorfizm oranları %9,09-100 arasında değişmiştir. Vücut yapısında sakatlık bulunan erkekte kullanılan primerlere göre %25-75 arasında lokus kaybı olduğu

saptanmıştır. Bu çalışma anatomik kusurları olan hayvanların genotipik yapısındaki farklılıkları belirlemede RAPD yönteminin uygunluğunu göstermiştir.

Pipalia vd (2006), 13 RAPD primeri ile Bantam (BNT), Beyaz Leghorn (WLH) ve Bantamised Beyaz Leghorn (BWLH) tavuk ırklarını araştırmışlardır. 13 primerin üçü (BG-1, PLANTAGO-OI ve PLANTAGO-06) birleştirilmiş DNA örneklerinde cinsiyete özgü polimorfizm göstermiştir. BG-1 üç hatta da dişi cinsiyete bağlı 1285 bp büyüklüğünde bant üretmiştir. Ayrıca BWLH ve WLH' ye özel 625 ve 550 bp büyüklüğünde lokuslar saptanmıştır. Bu çalışmada kullanılan PLANTAGO-OI primeri ile BWLH ve WLH ırklarına özgü 1014 bp büyüklüğünde bir marker ve PLANTAGO-06 primeri ile BNT ırkına özgü 790 ve 832 bp büyüklüğünde markerler saptamıştır.

Aynı veya farklı kökenden gelen kanatlı ırk veya hatları arasındaki genetik değişimleri belirlemek amacıyla RAPD kullanılarak birçok çalışma yapılmıştır. Plotsky vd (1995) yaptıkları bir araştırmada yüksek verimli 13 tavuk hattına ait DNA parmakizi tespiti için rastgele primer kullanarak RAPD-PCR çalışmışlardır. Genelde, hat içindeki bireylerin DNA motiflerinin benzer olduğu belirlenmiştir. Farklı ırklardan (Leghorn, Fayoumi, Spanish) geliştirilmiş hatlar arasında ortak bant sayılarına göre (BS) hesaplanan genetik benzerlik değerleri 0,1-0,2 aralığında bulunmuştur. Farklı genetik geçmişe sahip hatlardan Leghorn hatları arasındaki genetik benzerlik değerleri ise 0,42-0,79 aralığında bulunmuştur. Bazı RAPD-PCR ürünlerinin tek bir hat için özel olduğu görülmüştür. Benzer şekilde yapılan diğer bir araştırmada Ren vd (2001), Çin' nin Jiangxi bölgesinde bulunan 8 yerel tavuk ırkı (Guangfeng hair huang, Jingde huang, Yugan wuhei, Nancheng hei, Congren ma, Taihe silky fowl, Nindu san huang, Dongxiang gren-shell, Wanzai kangle huang), 1 kültür ve 1 yabancı ırkın (beyaz İsrail tavuğu) genetik yapısını incelemek için birleştirilmiş DNA' larında 100 OPERON primer ile RAPD çalışmışlardır. Kullanılan primerlerden 14' ü 1-10 aralığında değişen sayıda 200-4000 bp büyüklüklerinde 75 RAPD marker üretmiştir ve bunların 34' ü (%34) polimorfik bulunmuştur. Nancheng hei ve Yugan wuhei tavuklarının birbirine oldukça yakın oldukları (0,976) ve bu yüzden bu iki ırkın farklı bölgelerde yetiştirilen aynı kökenden gelen ırklar olabilecekleri bildirilmiştir.

Ukrayna (ABU, PC, UB, YC) ve Almanya' da (LBL) bulunan toplam 5 tavuk ırkında 6 primer kullanılarak yapılan RAPD çalışması sonucunda değerlendirilebilir 100 bant elde edilmiştir. Irk içi ve ırklar arası genetik benzerlik ve farklılıklar hesaplanmıştır. Irk içi genetik değişimlerin Ukrayna tavuklarında orta seviyede ve daha az polimorfizm gösteren Alman ırkına göre daha fazla polimorfik olduğu bildirilmiştir. Alman ırkının kapalı sürüler halinde yetiştirilmesinin sahip olduğu düşük polimorfizme sebep olabileceği düşünülmüştür. Farklı genetik kökene sahip ABU, YC ve LBL ırkları arasında ise beklendiği gibi daha yüksek genetik farklılıklar hesaplanmıştır (Romanov ve Weigend 2001).

Semyanova vd (2002), 3 Avrupa kökenli yumurtacı ve 3 Asya kökenli etçi ırk ile farklı morfolojik ve üretim tipinde olan 9 Rus tavuk ırkı için polimorfik DNA (RAPD ve minisatellite) ve protein markerlerini kıyaslamışlardır. Her bir ırk için genetik farklılık hesaplanmış ve genetik benzerlik dendogramı çizilmiştir. Tüm hatlarda minisatellite ve RAPD markerler protein markerlere göre daha yüksek fark ortaya çıkartmıştır. Minisatellite sonuçları ile RAPD sonuçları oldukça benzer çıkmış ve iki RAPD primerine göre Asya ve Rusya tavukları arasındaki genetik mesafe oldukça yakın bulunmuştur (0,506 ve 0,406). RAPD' e göre hesaplanan heterozigotluk değerleri Avrupa yumurtacı ırklarında 0,212, Asya etçi ırklarında 0,446 ve Rusya ırklarında 0,575 olarak hesaplanmıştır. Sonuç olarak Rusya ve Asya et tipi ırklarındaki genetik farklılıkların Avrupa yumurtacı tiplerinden önemli derecede fazla olduğu saptanmıştır.

Sharma vd (1998a), RAPD yöntemini kullanarak 2 yumurtacı (Beyaz Leghorn=WLH ve Rhode Island Red=RIR), 2 etçi (Red Cornish=RC ve Beyaz Plymouth Rock=WR) ve 2 yerli ırk (Assel=AS ve Kadanakth=KN) tavuk ırkında genetik ilişkileri araştırmışlardır. Toplam 50 rastgele primer öncelikle test edilmiş ancak DNA çoğaltımını gerçekleştirebilen 26 primerden sadece 12' si bir veya daha fazla ırkta polimorfizm göstermiştir. Bu primerin ortaya çıkarttığı toplam 146 lokusun % 30' u polimorfik bulunmuş ve polimorfik bantların sayısı 1-5 arasında değiştiği bildirilmiştir. Et tipi ırklar (RC ve WR) en fazla genetik benzerlik gösterirken (0,840), yumurta tipi ırklar (WL ve RIR) arasındaki genetik benzerlik 0,796 olarak bulunmuştur. Irklar arasındaki genetik mesafe en çok WR ve KN arasında gözlenmiş (0,722) ve bunu RIR ve AS takip etmiştir

(0,726). Yerli ırkların et ve yumurta tipi ırklara göre daha düşük genetik benzerliğe sahip olduğu saptanmıştır. Ayrıca aynı verim yönündeki ırkların daha fazla genetik benzerlik gösterdiği bildirilmiştir. Başka bir çalışmada Sharma vd (1998b), üç Afrika tavuku ırkında (Lavender, Pearl ve White) populasyonlar içi ve arası genetik değişimi hesaplamak için 32 primer ile RAPD tekniğini çalışmışlardır. Değerlendirilebilir sonuçlar veren 12 primerin ürettiği lokus sayısı 14-24 arasında ve lokus büyüklükleri de 250-4000 bp arasında değişmiştir. Toplam 166 band elde edilmiş ve bunların 27 tanesi (% 17) polimorfizm göstermiştir. Primer başına belirlenen lokus sayısı 1-7 arasında değişirken ırk içi ortalama primer sayısı 2,1-2,7 aralığında birbirine yakın bulunmuştur. OPA-05 primeri ile üretilen 1100 bp büyüklüğündeki lokusun tüm ırklarda polimorfik ve OPB-19 primeri ile üretilen 850 bp büyüklüğündeki lokusunda monomorfik olduğu saptanmıştır. En fazla lokus OPM-10 primeri ile (24 adet) ve en az OPP-05 ile (12 lokus) üretilmiştir. Populasyonlar içi benzerlik oranları 0,946–0,971 ve populasyonlar arası genetik benzerlik oranları 0,990–0,999 aralığında saptanmıştır. Bu sonuçlar çalışılan Afrika tavuğu tipleri arasında yüksek genetik benzerlik olduğunu ve bundan dolayı genetik değişimin oldukça düşük olduğunu göstermiştir.

Sharma vd (2000b) önemli 2 yerel tavuk ırkında (Aseel ve Kadaknath) RAPD marker saptamak amacıyla polimorfizm çalışmaları yapmışlardır. Kullanılan 30 primerden 24' ü ayırt edilebilir RAPD desenleri üretmiştir ve bunlardan sadece 7' si bu iki ırk için polimorfik bulunmuştur. Seçilen 7 primerden toplam 63 lokus üretilmiş ve bunların 30 adetinin polimorfik olduğu saptanmıştır. Aseel ırkında hesaplanan ırk içi genetik benzerlik değerlerinin Kadaknath ırkına göre daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Başka bir çalışmada Sharma vd (2001a) tavuk, bıldırcın, Afrika tavuğu ve hindi türlerinde genetik marker saptamak ve onlar arasındaki genetik ilişkileri hesaplamak için RAPD çalışmışlardır. Kullanılan 32 rasgele primerin 29' u türe özel DNA desenleri üretmiştir. Saptanan DNA bantlarının 696' sı başka bir deyişle yaklaşık %95' i polimorfik bulunmuştur. Elde edilen verilere göre türler oldukça net bir şekilde ayırt edilebilmiştir ve buna dayanarak RAPD tekniğinin tür tanımlamak, genetik ilişkileri hesaplamak ve moleküler sistematik analizler yapmak için güçlü bir yöntem olduğu söylenmiştir.

Wei vd (1997), Rhode Island Red ve Beyaz Leghorn tavuk ırkları kullanılarak yumurta verimi ve yumurta kalitesi bakımından karşılıklı ve geriye melezleme çalışmaları yapmışlardır. 120 primer ile yapılan çalışmalar sonucunda 550-1360 bp büyüklüklerinde 22 polimorfik DNA bantı belirlenmiştir. Kullanılan bazı primerlere ait DNA ürünlerinin otozomal ve birbiriyle bağlantılı olduğu saptanmıştır (Du01-Du06, Du03-Du05, Eu01-Eu05, Eu07-Eu08). Ayrıca geriye melez döller de saptanan 12 polimorfik belirtecin 2' sinin Z-kromozomu (cinsiyet kromozomu) üzerinde olduğu bildirilmiştir. Singh ve Sharma (2002) beş beyaz Leghorn (WLH) hattında (G, H, I, J ve C) genetik değişim oranlarını 50 rastgele 10' luk primer kullanılarak RAPD ile araştırmışlardır. Kullanılan primerlerden sadece 12' si (OPA-12, OPA-16, OPA-17, OPA-18, OPA-19, OPI-05, OPM-09, OPP-05, OPP-09, OPP-11, OPP-12, OPP-17) hatlar arasındaki genetik farklılıkları belirlemede yeterli olmuştur. Saptanan 96 RAPD lokusunun 21' inin (% 21,9) polimorfik olduğu ve bunların büyüklükleri 250-3500 bp arasında değiştiği saptanmıştır. Hat içi genetik benzerlik değerlerine göre hatların birbirinden oldukça farklılaştıkları bildirilmiştir. Ortaya çıkan sonuçlar C ve H hatlarının diğerlerinden herhangi birine göre çok daha kapalı yetiştirildiğini ve J hattının diğer hatlardan genetik yapı olarak uzak olduğunu göstermiştir. Ancak 5 WLH hattının 12 primer ile elde edilen RAPD markerlerin büyük bir kısmının tüm hatlar için ortak olması hatlar arasında yüksek derecede benzerlik olduğunu göstermiştir. Benzer bir çalışmada Deepak vd (1998), dört seleksiyon hattını içeren beyaz Leghornun 5 değişik hattına (IWL, IWH, IWI, IWJ, IWC) ait dışı kuşlarda 5'-GAGCCTCCA-3' sekansına sahip bir primer kullanarak RAPD-PCR yöntemi çalışmışlardır. Farklı genotiplerde değişen sayılarda polimorfik olduğu saptanan 5 bantın büyüklükleri sırasıyla 1216, 1002, 895, 672 ve 595 bp olarak bildirilmiştir. Bunlardan 1002 bp'lik lokusun sadece IWH hattında bulunduğu ve monomorfik olarak ortaya çıkan ürünlerin moleküler büyüklükleri 760 ve 484 olarak saptanmıştır.

Ahlawat vd (2004) üç Nicobari tavuk ırkı ve Beyaz Leghorn tavukları arasındaki genetik ilişkileri araştırmak için RAPD çalışmışlardır. Analizlerde kullanılan 25 adet 10 nukleotid uzunluğundaki primerlerin 24 tanesi uzunlukları 200-2000 bp arasında değişen DNA fragmentleri üretmiştir. Bu primerlerden en iyi sonucu veren 10 tanesi ile toplam 94 adet RAPD lokusu tespit edilmiştir. Elde edilen bu lokusların %32' si polimorfik bulunmuştur. Polimorfik lokus sayısı 1-5 arasında ve primer başına ortalama polimorfik

lokus sayısı da 3,0 olarak belirlenmiştir. Yerli kahverengi Nicobari tavuklarda ırk içi genetik benzerlik oranı %85 olarak hesaplanmış ve bu oran siyah (0,80) ve beyaz (0,82) ırklara göre daha yüksek bulunmuştur. PBG5 ve PBA12 primerleri ile çoğaltılan RAPD deseni tüm Nicobari ırklarında 785 ile 1050 bp büyüklüğünde özel bir RAPD marker ortaya çıkartmıştır. Ayrıca çizilen filogenetik ağaç 3 yerli Nikobari ırkının açıkça genetik benzerliğini göstermiş ve Beyaz Leghorn ırkının bu ırklardan farklı bir genetik kökene sahip olduğu saptanmıştır.

Zhang vd (2002a), yerli Çin tavukları ve ekonomik önemi olan et ve yumurta verimi yüksek tavuk ırkları arasındaki genetik ilişkileri belirlemek için allozim, RAPD ve mikrosatelit yöntemlerini kullanmışlardır. Allozim ile ortaya çıkan sonuçlar ırklar arasındaki genetik farklılıkları belirlemek için yetersiz kalmıştır. RAPD ise genetik olarak ırk içi farklılıkların Çin tavuk ırkları arasında büyük, etçi ırklar arasında orta ve yumurtacılar arasında ise düşük olduğunu ve ırklar arası genetik farklılıkların ise Çin tavukları ile diğer ırklar arasında düşük olduğunu göstermiştir. Aynı araştırmacının yaptığı diğer bir çalışmada benzer şekilde allozim, RAPD ve mikrosatelit yöntemleri 5 yerli Çin tavuğu, 2 hızlı büyüyen et tavuğu ve 1 yumurtacı tavuk ırkında polimorfizm çalışmaları için kullanılmıştır. Bu üç yöntem ile elde edilen heterozigotluk ve genetik uzaklık değerleri birbirinden farklı bulunmuştur. RAPD çalışmaları için 200 primer denenmiş ve değerlendirilebilir sonuçlar veren 20 tanesi 7 populasyon için 43 polimorfik bant üretmiştir. Elde edilen sonuçlara göre RAPD ile, allozim ve mikrosatelitin arasında bir heterozigotluk (0,2632) ortaya çıkartılmış ve çalışılan ırkların ayırımında kullanılabilir olduğu gösterilmiştir (Zhang vd 2002b).

Yerel tavuk ırkları için yapılan başka bir çalışmada Hidas vd (2000) nadir bulunan Transilvanya Naked Neck tavuk ırkının 2 populasyonu arasında karşılaştırma yapmak ve genetik yapıyı ortaya çıkartmak için RAPD yöntemini çalışmışlardır. Sonuç olarak iki populasyon arasında önemli moleküler genetik farklılıklar bulunduğu bildirilmiştir.

Kanatlılarla ilgili ülkemizde yapılan bir çalışmada İvgin ve Bilgen (2002) saf tavuk hatları arasındaki genetik benzerlik ve uzaklıkları hesaplamak amacıyla RAPD tekniğini kullanmışlardır. Çalışmada bir ticari işletmeden sağlanan pedigrili elit sürüden 4 yumur-

tacı ve 3 etçi saf hattı kullanılmıştır. Her bir hattın 5 erkek ve 5 dişi olacak şekilde toplam 70 hayvanın DNA' sında 35 primer (OPA-1-20 ve OPQ-1-15) denenmiş ve 23 primerden elde edilen bantlar etçi ve yumurtacı saf hatlarda genetik benzerlik ve uzaklıkların hesaplanmasında kullanılmıştır. Belirlenen 274 RAPD bantının 213' ü (% 77,7) polimorfik bulunmuştur. Ortalama polimorfik bant sayısı 9,2 ve hatlar arası ortalama genetik benzerlik 0,736 olarak hesaplanmıştır.

Önemli kanatlı türlerinden olan kazlarla ilgili Bednarczyk vd (2002)' nin yaptıkları bir çalışmada 10 generasyon boyunca et ve yumurta verimi bakımından seleksiyon yapılmış sekiz kaz hattında RAPD tekniği ile genetik değişkenlikler araştırılmıştır. Her bir primer için üretilen bant sayısı 1-8 aralığında ve ortalama 2,86 olarak hesaplanmıştır. Et verimi yönünde seleksiyon yapılan hatlara ait genetik farklılık yumurta verimine göre seçilenlerden daha fazla bulunmuştur. Sonuç olarak kaz populasyonlarına ait genetik bilgiyi ortaya çıkartmada RAPD tekniğinin etkili bir yöntem olduğu gösterilmiştir. Kazlarda seleksiyon sonuçlarını değerlendirmek için yapılan diğer bir çalışmada Siwek vd (2000) 10 primer yardımıyla RAPD çalışmışlardır. Burada beyaz İtalyan kaz ırkından (*Anser anser*=Ro) yumurta ve et verimi yönünde seleksiyon sonucu oluşturulan WD1 ve WD3; Polonya kaz ırkından elde edilen Ka, Ki, Sw hatları ve *Anser cygnoides* ırkından et verimi yönünde seleksiyonla ıslah edilen K hattı kullanılmıştır. Hatlar arası genetik benzerlik değerleri Ka-Sw hatları arasında 0,59 ve WD1-Sw hatları arasında 0,91 olarak belirlenmiştir. Aynı kökenden gelmelerine rağmen WD3 hattının WD1 hattına göre Ro ırkından genetik olarak daha fazla uzaklaştığı saptanmıştır. Elde edilen sonuçlara göre et verimi yönünde yapılan seleksiyonun yumurta verimine göre yapılandan daha fazla genetik farklılığa yol açtığı bildirilmiştir.

Yerel kaz ırklarında yapılan bir çalışmada Horn vd (1996), rastgele 87 primer kullanılarak 20 yetişkin Magpie kazında RAPD çalışmışlardır. DNA çoğaltımını sağlayan 53 primerin 37' si 106 polimorfik bant üretmiştir. Primer başına 6,2 bant hesaplanmış, genetik farklılık 0,183 ile 0,573 arasında ve ortalama genetik farklılık 0,338 olarak bildirilmiştir. Başka bir çalışmada farklı bölgelere ait kaz ırklarını genetik olarak karşılaştırmak için 20 OPAE primeri ile RAPD çalışılmıştır. Rastgele seçilen 20 erkek 20 dişi Çin (*Anser cygnoides*), 20 erkek 20 dişi beyaz Roman (*Coscoroba cocoroba*) ve 15 dişi

14 erkek Landaise kazı kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan primerlerden OPAE-06 primeri, Çin kazlarının sadece tüm dişilerinde 938 bç büyüklüğünde bir marker ortaya çıkartmıştır. Bu sonuç kaz ırklarının dişilerinde erkeklerden farklı bazı genetik değişimler olduğunu göstermiştir (Huang vd 2003). Benzer bir çalışmada Maciuszonek vd (2005), Polonya’ da genetik kaynak olarak korunan kaz ırklarından Kartuska (Ka), Lubelska (Lu), Kielecka (Ki) ve Podkarpacka (Pd) kaz ırklarını genetik olarak analiz etmek için 7 primer ile RAPD tekniği kullanmışlardır. Lokus sayısı 0-8 ve büyüklükleri 200-1500 bç aralığında değişen toplam 102 değerlendirilebilir bant elde etmişlerdir. Tüm hatlar arasında genetik benzerlikler 0,37 (Ka ile Lu) ile 0,89 (Ki ile Lu) arasında değişmiş ve tüm ırklar için ortalama benzerlik değeri 0,638 olarak hesaplanmıştır. Sonuç olarak RAPD yöntemi ile sağlanan potansiyel markerlerin koruma altına alınan türler için oldukça kullanılabilir olduğunu bildirmişlerdir.

Kazlarla ilgili ülkemizde yapılan bir araştırmada Devrim vd (2007), Anadolu ve Kafkas dağları arasında bulunan geçiş bölgesinde yaşayan beyaz, siyah, alaca ve sarı kaz hatlarının sahip olduğu genetik yapıyı, akrabalık ilişkilerini ve aralarındaki genetik farklılıkları saptamak için RAPD çalışmışlardır. 23 beyaz, 24 siyah, 27 alaca ve 26 sarı olmak üzere toplam 100 kazdan sağlanan DNA örneklerinde 50 primer ile ön çalışmalar yapılmış ve bunların sadece 10 tanesinin değerlendirilebilir sonuçlar verdiği saptanmıştır. Primer başına 300-1500 bç aralığında 3-7 bant elde edilmiştir. Bu 10 primer ile yapılan RAPD analizleri sonucu gözlenen toplam 48 lokusun 40 tanesinin (% 83,33) polimorfik olduğu hesaplanmıştır.

Ülkemizde henüz önemli ekonomik bir değeri olmayan ördek ile ilgili olarak bazı ülkelerde yoğun yetiştiricilik yapılmaktadır. Aynı zamanda bu ülkelerde ördekler üzerinde moleküler genetik çalışmalar da yürütülmektedir. Örneğin, Pekin ve Musk ördek popülasyonlarına ait genetik farklılıkları belirlemek için RAPD yönteminin kullanıldığı bir çalışmada, ortaya çıkartılan genetik markerlere göre hesaplanan genetik benzerlik değerleri bu ırklar arasında çok küçük genetik değişiklikler olduğunu göstermiştir (Dolmatova vd 2000a,b). Başka bir araştırmada Wisniewska vd (2005), Polonya’ da koruma altına alınan 4 ördek popülasyonunun genetik özelliklerini tanımlamak ve genetik değişimi tespit etmek için RAPD-PCR yöntemini uygulamışlardır. A1, A3, P8 ve P9

populasyonlarında 7 primer ile çalışılmış ve büyüklükleri 300-2000 bp aralığında değişen toplam 85 lokus elde edilmiştir. Primer başına ortalama polimorfik band sayısı 3,04 olarak hesaplanmış ve saptanan 5 markerin bu hatları tanımlamada kullanılabileceği bildirilmiştir. Hatlar arasında hesaplanan yüksek genetik benzerlikler (0,68-0,78) bunların aynı filogenetik kökenden geldiğini ya da koruma programı altına alınmadan önce benzer seleksiyon ölçütüne göre yetiştirildiklerini göstermiştir. Su vd (2006), Moskova Cherry Valley et ördeği, kekligimsi ördek ve bunların melezleri F1 ve F2 populasyonlarında genetik polimorfizmi saptamak için RAPD çalışmışlardır. Kullanılan 20 primer ile 760 band üretilmiş ve bunların % 74,70' i polimorfik olarak tanımlanmıştır. Elde edilen sonuçlar RAPD yönteminin ördek türlerinde polimorfizm belirlemede etkili olduğunu göstermiştir.

Özellikle avcılık sporunun yaygın yapıldığı ülkelerde ekonomik öneme sahip olan keklilik ile ilgili çeşitli moleküler genetik çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmaların büyük kısmı sıklıkla birbirleriyle çiftleşen ve melez döller üreten keklilik türleri üzerine yoğunlaşmıştır. Örneğin, Negro vd (2001), Iberian Peninsula' daki keklilik türüne ait tek örnek olan kırmızı ayaklı keklilikte (*Alectoris rufa*) RAPD yönteminden faydalanarak hibridlerin belirlenebilmesi için çalışmalar yapmışlardır. Başlangıçta kırmızı ayaklı keklilik ve kaya kekliliğinin alt hatlarına ait örneklerde 46 RAPD primer denenmiş ve sonuçta kaya kekliliğine özel 11 marker veren 6 primer seçilmiştir. Seçilen bu primerler yetiştirilen farklı generasyonlar üzerinde yapılan genetik araştırmada kullanılmıştır. Kullanılan primerlerden elde edilen ürünler kırmızı ayaklı keklilik ile kaya kekliliği melezlerinin saf-lardan DNA seviyesinde ayırt edilebilmesini sağlamıştır. Benzer bir çalışmada, Barbanera vd (2005) İtalya' da yaygın olarak bulunan kırmızı ayaklı keklilik (*Alectoris rufa*) ve sıklıkla kınalı keklilik (*Alectoris chukar*) ile çiftleşmelerinden meydana gelen melezleri moleküler seviyede tanımlamak için mitokondrial DNA örneklerinde RAPD markerleri araştırmışlar ve bireysel düzeyde farklılık ortaya çıkartmışlardır. Pianosa ve Bieri bölgesinde bulunan her iki ırka ait populasyonların mtDNA' larının benzer olduğu, ama Scarlino bölgesinde sadece kırmızı ayaklı kekliliğe ait mtDNA bulunduğu, bununla beraber her iki ırkın melezlerinin yaygın olduğu sonucuna varmışlardır. Oldukça benzer çalışmalar Garcia ve Arruga (2005, 2006) tarafından kırmızı bacaklı kekliliğin aynı türden diğer keklilik ve hibritlerinden DNA seviyesinde ayırt edilebilmesi amacıyla

yapılmıştır. RAPD yöntemiyle yapılan bu çalışmalar sonucunda elde edilen DNA bant sayılarından yararlanarak genetik ilişkiler ortaya çıkartılmış ve bu yöntemin bu tip çalışmalarda başarılı sonuçlar verdiği gösterilmiştir.

Kanatlılarda tavuktan sonra et üretiminde en yoğun kullanılan tür olan hindi ile ilgili çeşitli moleküler genetik araştırmalar yapılmıştır. Bunlardan birinde, Gödöllü ve Debrecen’ de yürütülen genetik kaynakların muhafazası programları kapsamında yetiştirilen 5 farklı hindi popülasyonunda genetik yapıyı araştırmak için 26 primer ile RAPD tekniği kullanılmıştır. Kullanılan primerlerden sadece 3’ ü 2-5 adet lokus üreterek değerlendirilebilir sonuçlar vermiştir. Elde edilen sonuçlara göre, Tunç ve siyah hatlar oldukça benzer olmasına karşın diğer 3 hat arasındaki genetik mesafe yüksek çıkmıştır. Polimorfizm oranı 0,73 (silver) ile 1.00 (Bronz, beyaz ve siyah) aralığında, ortalama heterozigotluk 0,23 (bakır) ile 0,35 (bronz) aralığında ve genetik benzerlik 0,92-0,99 aralığında hesaplanmıştır. Ayrıca 1700 bp büyüklüğünde sadece dişi cinsiyetlerde gözlenen bir marker saptanmıştır. Ancak bu 5 hindi tipini birbirinden kesin olarak ayırt edebilecek bir marker bulunmadığı bildirilmiştir (Hidas vd 2002). Genetik yapıları hakkında çok az bilgi bulunan beş hindi hattı (*Blue Slate, Bourbon Red, Narragansett, Royal Palm, ve Spanish Black*) 3 farklı marker yöntemi (RAPD, microsatellite ve SNP) kullanılarak araştırılmıştır. 5 primer ile çalışılan RAPD yöntemi ile tüm hatlar için değerlendirilebilir 14 marker saptanmıştır. Elde edilen DNA bantlarının büyüklükleri 300-2500 bp arasında bildirilmiştir. Hat içi benzerliğin hatlar arasından yüksek olduğu ve OPB1 ile OPB12 primerlerinden üretilen yaklaşık 850 bp büyüklüğündeki bir DNA parçası sadece N ve RP hattında gözlemlendiği bildirilmiştir (Smith vd 2005).

Hinckley vd (2005), deve kuşlarında (*Struthio camelus*) cinsiyete bağlı DNA markerleri bulmak için 1400 primer ile RAPD-PCR çalışmaları yapmışlardır. Kullanılan primerlerden 5 tanesi dişi kuşların W-kromozomunda (cinsiyet kromozomu) 430-1120 bp arasında değişen büyüklüklerde özel markerler çoğaltmıştır. Bu DNA markerleri ile yapılan ileriki çalışmalarda bunların cinsiyete özel olmadığı ancak deve kuşuna özel olabilecekleri sonucuna varılmıştır. Elde edilen sonuçlarla RAPD yöntemlerinin kanatlılarda W-kromozomuna bağlı markerler saptama gücüne sahip olduğu gösterilmiştir.

Kulikova vd (2002), Mançurya sülününde (*Phasianus colchicus pallasii*) 5 primer ile RAPD çalışmışlardır. PCR sonucu saptanan DNA motifleri; popülasyonların genetik değişimleri, bireyler arasındaki genetik mesafe, filogenetik ağaç ve genetik benzerlik gösterimi için kullanılmıştır. Sayısı 17-22 arasında değişen 400-2200 bp büyüklüğüne sahip toplam 102 bant elde edilmiştir. Çalışma sonucunda Manchurian sülün ırkının yüksek genetik değişkenliğe sahip olduğu ($P= 0,794$) gösterilmiştir. Sülünlerde yapılan diğer bir çalışmada Wei vd (2006), Çin' nin nadir yerli türlerinden olan Tibet kulaklı-sülününde (*Crossoptilon harmani*) 53 (OPG-1:20 ve CPK143-1:33) rastgele primer ile genetik değişimleri hesaplamaya çalışmışlardır. 7 bireyde yapılan çalışmada kullanılan primerlerden 14' ü ayırt edilebilir ve değerlendirilebilir 226 lokus üretmiştir. Tespit edilen genetik benzerlik oranları (0,310-0,750) Tibet kulaklı-sülün popülasyonunun yüksek genetik varyasyona sahip olduğunu göstermiştir.

10 kanatlı türüne (evcil tavuk, sülün, keklik, bıldırcın, yerli ördek, mallard ördeği, Afrika tavuğu, güvercin, emu ve deve kuşu) ait DNA parmakizi desenlerini belirlemek amacıyla yapılan bir araştırmada GC oranı % 50-80 arasında değişen 39 primer ile RAPD yöntemi kullanılmıştır. Elde edilen RAPD sonuçlarına dayanarak, bu yöntemin farklı kanatlı türlerinin genetik ayırımı için kullanılabilir olduğu bildirilmiştir (Chai vd 1997).

2.4.2. Sığırlarda RAPD çalışmaları

Türkiye yerli sığırlarında RAPD tekniği ile yapılan bir çalışmada, Yerli Kara (YK), Doğu Anadolu Kırmızısı (DAK), Güney Anadolu Kırmızısı (GAK) ve Boz Irk' tan oluşan 4 sığır ırkı genetik olarak analiz edilmiştir. Elde edilen bulgulara göre hesaplanan genetik benzerlik-farklılık değerleri bu ırkları iki farklı genotipik kümede toplanmıştır. Bunlardan ilki GAK, DAK ve YK ırklarının toplandığı kümedir. Boz Irk' ın ise genetik yönden diğer üç ırktan oldukça farklı olduğu bildirilmiştir (Güneren 1999). Appannavar vd (2003) farklı tiplerde Deoni ırkı sığırlar (Balankya, Wannera ve Waghya) arasındaki genetik benzerlik ve farklılıkları ortaya çıkartmak için 19 oligonukleotid kullanarak RAPD analizleri yapmışlardır. Kullanılan primerlerden sadece 8 primer DNA çoğaltımı sağlamış ve sadece 6 primer toplanmış DNA' lar için polimorfik bantlar vermiştir. Sap-

tanan 48 RAPD belirtecin 33' ü tüm Deoni tipleri için ortak bulunmuştur ve gözlenen bant sayısı 5-13 ve büyüklükleri de 230-2320 bç arasında değişmiştir. Wannera ve Balankya arasındaki genetik mesafenin Waghya arasındakinden daha düşük olduğu gösterilmiştir.

Sığır ve koyun türlerini kapsayan başka bir çalışmada, nesli tehlikede olan 5 Finlandiya sığır ırkı (doğudan 18, kuzeyden 24, batıdan 24, Finnish Ayrshire' den 24, ve Finnish Friesian'dan 18) ile 6 beyaz ve 9 gri Finlandiya koyunu populasyonlarının genetik değişkenliğini belirlemek için RAPD kullanılmıştır. Koyunlarda daha fazla polimorfik RAPD marker ortaya çıkartılmasına rağmen, sığır ırklarına göre daha fazla benzerliğe sahip oldukları belirlenmiştir. Aynı hayvanlarda kan gurubu ve protein polimorfizmi ile yapılan önceki çalışmaların sonuçlarına ters olarak sığırlarda ırk içi ve ırklar arası benzerlik katsayısı Fin ırklarında herhangi bir önemli farklılaşma olmadığını göstermiştir (Kantanen vd 1995).

2.4.3. Koyun ve keçilerde RAPD çalışmaları

Cushwa vd (1996), RAPD yöntemini 5 koyun ırkında (Coopworth, Merinos, Perendale, Romney ve Texel) ve melezlerinde uygulayarak, bu tekniğin koyun genomunun tanımlanmasında ve genetik haritalamada kullanılabilir polimorfik markerler ortaya çıkartmak için uygunluğunu denemişlerdir. Sonuçta genetik bağlantı haritalarının oluşturulması ve polimorfizmi belirlemek için RAPD markerlerin yeterli olduğunu bildirmişlerdir. Ali (2003a)' nin 19 primer kullanarak yaptığı RAPD çalışmasında dört koyun ırkına (Baladi, Barki, Rahmani, Suffolk) ait genetik varyasyon araştırılmıştır. Elde edilen bulgulara göre ırklar arası genetik mesafeler hesaplanmıştır.

Önemli yerli gen kaynaklarımızdan biri olan Karayaka koyununda genetik değişimin ortaya çıkartılması amacıyla Mercan (2004) tarafından yapılan bir çalışmada 5 farklı populasyondan alınan toplam 25 örnekte 40 RAPD primeri kullanılarak tanımlama yapılmış ve sadece 5 primerin polimorfizm sağladığı bildirilmiştir. Bu 5 primerden elde edilen toplam 54 bantın 38' i polimorfik bulunmuş ve polimorfik bantlara dayalı olarak yapılan değerlendirmelere göre populasyonlar arası genetik benzerlik oranlarının 0,2500

ila 0,6677 aralığında değiştiği bildirilmiştir. Benzer bir çalışmada Elmacı vd (2007), Türkiye yerli koyun ırklarından Kıvırcık, Gökçeada ve Sakız' a ait toplam 108 bireyde genetik farklılık ve akrabalık ilişkilerini 15 primer kullanarak RAPD tekniği ile araştırmışlardır. Kullanılan primerlerden 8 tanesi değerlendirilebilir nitelikte 82 lokus üretmiştir. Primer başına polimorfik lokus sayısı 3-14 arasında ve lokus büyüklükleri 250-2500 b aralığında bulunmuştur. Polimorfik lokus oranı Kıvırcık, Gökçeada ve Sakız ırkları için sırasıyla % 80,49, % 78,05 ve % 73,17 olarak hesaplanmıştır. Gökçeada ırkında yüksek (0,2360) ve Kıvırcık ırkında düşük (0,1569) genetik farklılık olduğu saptanmıştır. Sonuç olarak Gökçeada ırkının Sakız ırkına Kıvırcık ırkından daha yakın olduğu belirlenmiştir.

Paiva vd (2005), 5 Brezilya kıl koyunu ırkında (Santa Ines, Rabo Largo, Somali, Morada Nova ve Bergamasca) toplam 140 primer denemişler ve polimorfik bant veren 19 adet RAPD primerini çalışmada kullanmışlardır. Kıl koyunları arasında genetik farklılık değerlerini 0,0512-0,1492 arasında, ırklar arası ortalama genetik değerimi ise 0,1492 olarak tespit etmişlerdir.

Shanxi bölgesi keçi ırklarında (Bai, Hei, Qing) yapılan bir çalışmada genetik çeşitliliğin belirlenmesi ve B, H, Q ırkları arasındaki genetik akrabalığın hesaplanmasında RAPD tekniği kullanılmıştır (Li vd 2002). Çalışmada 60 primerin n değerlendirilmesi sonucunda yüksek polimorfizm gösteren 8 primer ile üretilen 76 bandın 44' ünün polimorfik olduğu saptanmıştır. lkemizde de şahin (2005), RAPD yöntemi ile Antalya yöresi kıl keçilerinde genetik polimorfizmi tespit etmek amacıyla toplam 20 primer kullanarak 152 bant elde etmiş ve bunlardan 142' sinin (% 92,8) polimorfik olduğunu bildirmiştir. Kıl keçi populasyonu içinde genetik benzerliğin 0,6464, genetik uzaklığın 0,3536 ve ortalama heterozigotluğun 0,3691 olduğu bildirilmiştir.

2.4.4. Balıklarda RAPD alışmaları

lkemizde yapılan bir çalışmada, Akhan ve Canyonurt (2005) Muğla-Fethiye, Burdur-Glhisar ve Denizli-ameli yöresinde üretim yapan üç işletmeye ait toplam 45 damızlık gök kuşağı alabalıkları (*Oncorhynchus mykiss*) arasında genetik çeşitliliği belirlemek

amacıyla 10 primer kullanarak RAPD-PCR yapmışlardır. Üç primer ile elde edilen sonuçlar Fethiye, Çameli ve Gölhisar alabalıkları için hesaplanan populasyon içi genetik benzerlik değerlerinin (0,429, 0,311 ve 0,348) oldukça farklı olduğunu göstermiştir. Belirlenen en yüksek genetik farklılık değeri Fethiye-Gölhisar populasyonları arasında 0,752 olarak, en düşük ise 0,659 olarak Fethiye-Çameli populasyonları arasında belirlenmiştir.

Callejas ve Ochando (1998), oldukça yüksek benzer dış görünüme sahip 3 İspanya kärkeci balığı türünde (*Barbus bocagei*, *B. graellsii* ve *B. sclateri*) 7 primer kullanarak RAPD çalışmaları yapmışlardır. Elde edilen sonuçlara göre *B. bocagei* ve *B. graellsii* türlerinin birbirlerine daha fazla benzedikleri belirlenmiştir. Saptanan 170 ayırt edilebilir bandın 20' sinin tüm türlerde ortak olduğu görülmüştür. *B. Bocagei* türüne özel 6, *B.graellsii* türüne özel 11 ve *B. sclateri* türüne özel 9 bant gözlenmiştir. En yüksek tür içi genetik benzerlik değeri 0,81 olarak *B. graellsii*' de ve en yüksek türler arası genetik benzerlik değeri 0,4123 olarak *B. graellsii* ve *B. bocagei* arasında tespit edilmiştir. ABD' de önemi gittikçe artan bir tür olan kanal kedi balığında (*Ictalurus punctatus*) DNA temelinde genetik polimorfizm belirlemek için rastgele çoğaltılan 42 polimorfik DNA (RAPD) primeri kullanılarak yapılan bir çalışmada denenen 22 primer 171 tane marker üretmiş ve yaklaşık primer başına 8 polimorfik band saptanmıştır (Liu vd 1998). Ali vd (2004)' nin bildirdiğine göre çeşitli araştırmacılar tarafından yapılan çalışmalarda farklı balık türleri için genetik haritaların çıkarılmasında, genetik benzerlik ve farklılıkların birey ve populasyon düzeyinde belirlenmesinde, populasyonlar arası genetik benzerlik ve farklılıkların belirlenmesinde RAPD tekniği başarıyla kullanılmıştır.

2.4.5. Diğer çiftlik hayvanlarında RAPD çalışmaları

Apostolidis vd (2001), RAPD tekniğini 5 Yunan at ırkında genetik markerler tespit etmek amacıyla çalışmışlardır. Üretilen 93 RAPD lokusunun 51' i polimorfik bulunmuştur. Tüm lokuslardan elde edilen genetik mesafe ortalaması 0,055 olarak hesaplanmıştır. Tüm ırklarda tespit edilen ırk içi genetik değişkenliğe rağmen ırkların ayırımında özel bir marker bulunamamıştır. Bu durumun kullanılan hayvanların melez ırk olmasından kaynaklanabileceği belirtilmiştir.

Calvo vd (2001) domuz, tavuk, ördek, hindi ve kaz etlerinden elde ettikleri DNA' ları kullanarak RAPD-PCR tekniği ile tür tanımlaması yapmışlardır. Koh vd (1998) değişik türlerin (sığır, domuz, kangru, geyik, yaban domuzu, at, bufalo, tavşan, köpek, kedi) et tiplerini moleküler seviyede ayırt etmek için 29 primer ile RAPD-PCR çalışmışlardır. Martinez ve Yman (1998) tarafından yapılan benzer bir çalışmada RAPD parmakizi yöntemi ile sığır, at (6 ırk), katır, eşşek, bufalo, kanada geyiği, ren geyiği, domuz, kuzu, keçi, kanguru, deve kuşu etlerinin ayırımını kolaylıkla yaptıklarını bildirmişlerdir. Tüm bu sonuçlar RAPD yönteminin et örneklerinden DNA parmakizi çıkartmak ve tür tespiti yapmak için oldukça yüksek potansiyele sahip olduğunu göstermiştir.

Lee ve Chang (1994), bazı memeli ve kanatlı türlerinin tanımlanması amacıyla RAPD yöntemini kullanmışlardır. Bu türlere ait parmakizleri karşılaştırılarak tür tanımlanmasında basit, hızlı ve hassas bir yöntem olan RAPD-PCR yönteminin kullanılabilirliğini ve çalışılan türlerin RAPD bant dağılımına göre kolaylıkla ve tam olarak ayırt edilebileceğini göstermişlerdir. Benzer bir çalışmada Joshi vd (1998) keçi, koyun, bufalo, sığır ve köpek türlerinde RAPD yöntemiyle 3 primer kullanarak türler arası genetik farklılıkları ortaya çıkartmaya çalışmışlardır.

Suazo vd (1998), RAPD yöntemi ile Avrupa ve Afrika bal arıları arasındaki genetik farklılığı tespit etmek amacıyla çalışmalarında toplam 700 primer kullanmışlar ve bu primerlerden 5 tanesinin arı populasyonlarını ayırt edebilmek için kullanılabileceğini bildirmişlerdir. Primerlerden birinin Avrupa bal arılarının alt türü olan Doğu Avrupa grubuna, iki primerin ise Afrika bal arı türüne özgü olduğunu bildirmişlerdir. Diğer iki primerin ise Afrika bal arı populasyonlarına nazaran Avrupa bal arı populasyonlarında daha yüksek seviyede frekansa sahip olduğunu, diğer bir ifadeyle Avrupa bal arı populasyonlarında daha fazla RAPD lokusu elde edildiğini bildirmişlerdir. Sonuç olarak RAPD yöntemi ile Avrupa ve Afrika bal arılarını ayırt etmek için türe özgü markerler elde edilebileceğini göstermişlerdir.

3. MATERYAL ve METOD

3.1. Materyal

Araştırmada kullanılan kan örnekleri Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootekni Bölümü Hayvancılık Uygulama ve Araştırma tesislerinde seleksiyon çalışmaları sonucunda elde edilen 4 seleksiyon (YCA1, YCA2, DCA, Y) ve 1 kontrol hattını içeren bıldırcın popülasyonlarından sağlanmıştır.

Bu çalışma kapsamında gerçekteşirilen tüm DNA ekstraksiyon, RAPD-PCR, elektroforez ve jel boyama işlemleri ile çözelti hazırlıkları Akdeniz Üniveristesi Ziraat Fakültesi Zootekni Bölümü bünyesindeki Moleküler Genetik Laboratuvarında yapılmıştır. PCR ürünlerine ait jel görüntülerinin alınması ise aynı üniversitenin Bitki Koruma Bölümü' ne ait Fitopatoloji Anabilim Dalı Moleküler Bitki Bakteriyoloji Laboratuvarında gerçekteşirilmifitir.

3.2. Yöntem

Bu tez çalışması seleksiyon ve laboratuvar uygulamalarını içeren ve birbirini izleyen aşamalarda gerçekteşirilmifitir. Araştırmada kullanılan yöntemler ve çalışma materyalleri alt başlıklar halinde aşağıda verilmiştir.

3.2.1. Seleksiyon

Bu tez çalışmasında hayvan materyali olarak kullanılan bıldırcın hatları elde edilirken her bir bıldırcın hattına özel seleksiyon ölçütü uygulanmıştır;

K: Kontrol hattı, herhangi bir seleksiyon ölçütü uygulanmadan rasgele çiftleştirilmifitir bıldırcınların diğer seleksiyon hatları ile eş zamanlı olarak 12 generasyon boyunca üretilmesiyle elde edilmiştir. Tüm seleksiyon hatları ile kontrol popülasyonu aynı temel popülasyondan elde edilmiştir.

YCA1: Yüksek canlı ağırlık 1 olarak tanımlanan bu hat, bıldırcınların her iki cinsiyetinde de 35. gün yaştaki (5 hafta) yüksek canlı ağırlığa göre 12 generasyon boyunca seleksiyon yapılarak elde edilmiştir.

YCA2: Yüksek canlı ağırlık 2 olarak tanımlanan bu hattın seleksiyon çalışmalarına diğer hatlar 5 generasyon seleksiyon yapıldıktan sonra başlanmıştır. Diğer seleksiyon hatlarında olduğu gibi bu hat da kontrol populasyonundan ve bıldırcınların her iki cinsiyetinde 28. gün yaştaki (4 hafta) yüksek canlı ağırlığa göre 7 generasyon boyunca seleksiyon yapılarak elde edilmiştir.

DCA: Düşük canlı ağırlık hattı olarak tanımlanan bu hat, bıldırcınların her iki cinsiyetinde de 35. gün yaştaki (5 hafta) en düşük canlı ağırlığa göre 12 generasyon boyunca seleksiyon yapılarak elde edilmiştir. Aşırı küçük veya seleksiyon yaşında cinsel olgunluğa gelmemiş hayvanlar seleksiyon ölçütüne uygun olsa bile çalışma dışı tutulmuştur.

Y: Yumurtacı olarak tanımlanan bu hat, dişi bıldırcınların 120 günlük yaşa kadar verdiği yumurta sayısına göre en fazla yumurta üreten dişilere ait yavruların 12 generasyon boyunca seleksiyonu ile elde edilmiştir.

Amaçlanan verim yönlerinde seleksiyon uygulamaları için 2 hafta boyunca toplanan yaklaşık 500' er kuluçkalık yumurta analarına göre numaralanarak kuluçka makinesine konulmuş ve yumurtadan çıkış ebeveyn kayıtlarına (pedigri) göre numaralandırılmış çıkış tepsilerinde yapılmıştır. Bıldırcın civcivleri yumurtadan çıktığı gün tartılarak kanat numarası takılmış ve büyütme kafeslerine aktarılmıştır. Bıldırcınlara yönelik tüm uygulamalar eşit ve sabit tutularak herhangi bir faktörün seleksiyona etki etmesi engellenmeye çalışılmıştır. Tüm bıldırcınların bireysel canlı ağırlıkları çıkıştan itibaren haftalık olarak 35 günlük yaşa kadar saptanmıştır. Dördüncü haftadan sonra bıldırcınların tüy rengi ve desenlerine göre cinsiyet tayini yapılmıştır. Seleksiyon hatlarında dişiler için ortalama %40 seleksiyon yoğunluğu (*intensite*) uygulanmış ve bütün hatlarda dişi ve erkek damızlıklar numaralanarak bireysel kafes gözlerinde barındırılmıştır. 1 erkek ve 3 dişiden oluşan aile setlerinde bulunan erkekler her bir dişinin yanında birer gün tutularak tüm dişilerde döllenme sağlanmaya çalışılmıştır. Bıldırcınlar ilk beş hafta 240 g/kg

ham protein ve 10,8 MJ metabolik enerji (ME/kg) ihtiva eden büyütme yemiyle ve beşinci haftadan itibaren tüm yetişkin bıldırcınlar 200 g/kg ham protein ve 10,1 MJ metabolik enerji (ME/kg) ihtiva eden damızlık bıldırcın yemi ile sınırlama olmadan beslenmişlerdir (NRC 1994).

3.2.2. Kan örneklerinin alınması

RAPD-PCR çalışmalarında kullanılacak hayvan sayısı, benzer amaçlar için yapılan önceki çalışmalarda kullanılan hayvan sayıları dikkate alınarak belirlenmiştir. DNA ekstraksiyon amacıyla bıldırcın hatlarının her birinden rastgele seçilen 14 (7♀ ve 7♂) bıldırcının kanat altı toplardamarından (*venous cutenea ulnaris*) ACD-antiquaglant (% 0,48 sitrik asit, %1,32 sodyum sitrat, % 1,47 glukoz) içeren tüplere 2' şer ml kan alınmıştır. Bütün kan örnekleri hızlı bir şekilde laboratuara getirilmiş ve DNA ekstraksiyon işlemine kadar -35 °C' de saklanmıştır.

3.2.3. DNA ekstraksiyonu

DNA izolasyonu, içeriği Çizelge 3.1' de verilen ticari kitler (Bio Basic Inc. Genomic DNA Minipreps Kit-SK252) kullanılarak yapılmıştır. Bu kitin içerisinde bulunan Proteinase-K ve RNase-A -35 °C' de, diğer çözeltiler ise oda sıcaklığında muhafaza edilmiştir. Hatlara ait bıldırcınların DNA ekstraksiyonları bireysel olarak aşağıda belirtilen şekilde yapılmıştır:

- a) Hatlara ve kanı alınan bireylere göre numaralandırılmış 1,5 ml' lik steril Eppendorf tüplere, 40 µl kan örneği konulmuş ve üzerine 700 µl Cell Lysis çözeltisi eklenerek 30 saniye hafifçe karıştırılmıştır. Böylece hücre duvarlarının parçalanıp hücre içeriğinin serbest kalması sağlanmıştır.
- b) Aynı tüplerin içerisine 6 µl Proteinase-K eklenmiş ve bu enzimin aktif olduğu 65 °C' de 15 dakika süresince ve ara sıra çalkalanarak inkübe edilmiştir. Bu muamele ile tüm protein ve protein yapısındaki moleküllerin denatürasyonu gerçekleştirilmiştir.

- c) İnkübasyon işlemi ardından aynı tüplere 600 µl oktanol-kloroform (1:24 oranında) eklenmiş ve iyice çalkalanıp, karıştırıldıktan sonra 12000 rpm' de 4 dakika santrifüj yapılmıştır. Böylece DNA moleküllerinin diğer hücresel yapılardan uzaklaştırılması sağlanmıştır.
- d) Yüksek devirli santrifüj işleminden sonra tüplerin içerisinde üç faz gözlenmiştir. DNA ihtiva eden en üstteki kısımdan 500 µl alınıp yeni tüplere aktarılmıştır. Bunun üzerine 600 µl çökeltme çözeltisi eklenmiş ve tüpler 2 dakika çalkalanmıştır. Bu sayede çözelti içerisinde dağınık halde bulunan DNA sarmallarının birbirlerine yapışarak toplanması gerçekleştirilmiştir. Uygulama sonucunda bir araya toplanan DNA sarmalları, çözelti içerisinde asılı şekilde çıplak göz ile görünür hale gelmiştir.
- e) Bu tüpler 2 dakika oda sıcaklığında bekletildikten sonra 1 dakika süreyle 3000 rpm' de santrifüj yapılmıştır. Bu işlem sonucunda DNA molekülleri tüpün alt kısmına çöktüğü için, geriye kalan kısım dikkatlice dökülmüş ve tüplere 100 µl 1,2 M NaCl eklenmiştir. Bu aşamada tüplerdeki DNA pelet halini almıştır.
- f) Pelet haldeki DNA molekülleri NaCl çözeltisinde tamamen çözülene kadar pipet ucu yardımıyla DNA' ya zarar vermeden dikkatlice karıştırılmış ve üzerine 3 µl RNase-A eklenerek sıcak su banyosunda 37 °C' de 15 dakika inkübe edilmiştir. RNase-A enzimi kullanılarak DNA harici nükleik asitlerin uzaklaştırılmasıyla DNA saflaştırma işlemi gerçekleştirilmiştir.
- g) İnkübasyonun ardından tüplere, önceden -20 °C' de tutulan, % 99,5' lik soğuk alkol-den 300 µl eklenip karıştırıldıktan sonra 10 dakika -20 °C' de bekletilmiştir. Böylece DNA moleküllerinin istenmeyen ve ortamda olması muhtemel yapılardan arındırılması sağlanmıştır.
- h) Bu aşamada tüpler 3-4 dakika yüksek hızda (12000-13000 rpm) santrifüj yapılarak DNA peletinin tüpün dibine çökmesi sağlanmıştır. Tüplerdeki alkol dikkatlice döküldükten sonra bu işlem % 70' lik soğuk alkol ile bir kere daha tekrarlanarak DNA

nın iyice temiz olması sağlanmıştır. Bu aşamadan sonra tüpler yatay olarak ağız açık şekilde 10 dakika oda sıcaklığında tutulmuş ve alkolün uzaklaşması sağlanmıştır.

- i) Son aşamada DNA moleküllerinin bulunduğu tüplere 100 µl T.E. buffer (ya da bi-distil su) eklenerek DNA' lar çözdürülmüştür. Kullanıma hazır hale getirilen saf DNA' ların bulunduğu tüplerin kapakları buharlaşmayı engellemek amacıyla parafilm ile iyice sarıldıktan sonra +4 °C' de saklanmıştır.

Çizelge 3.1. DNA ekstraksiyon kitinin içeriği

Cell Lysis Solution	40 ml
Precipitation Solution	60 ml
TE Buffer	25 ml
1.2 M NaCl	20 ml
Proteinase K	6 mg
RNAse A	3 mg

3.2.4. Genomik DNA miktarının hesaplanması

Polimeraz Zincir Tepkimesine başlamadan önce ekstraksiyon yapılan DNA miktarlarının spektrofotometre ile ölçümleri gerçekleştirilerek, analizlerde kullanılacak DNA' ların miktar ve niteliği saptanmıştır. Böylece, düşük DNA miktarından dolayı PCR ürünlerinin yetersiz olması veya hiç olmaması nedeniyle kullanılan kimyasalların boşa kullanılmasının önüne geçilmiş, diğer yandan, gereğinden fazla DNA olması ile de PCR tepkimesi içerisindeki çözeltilerin yetersiz kalması ve DNA' nın istenilen miktarda çoğaltılamaması gibi durumların da ortaya çıkması önlenmeye çalışılmıştır.

Genomik DNA miktarını hesaplama yöntemi, DNA içeren çözeltinin emdiği ultraviyole radyasyon miktarının spektrofotometre ile ölçülmesi esasına dayanmaktadır. DNA miktar ölçümleri 260-280 nm dalga boyunda belirlenmektedir. Bunlardan, 260 nm dalga boyunda yapılan okuma, örnekteki DNA yoğunluğunun hesaplanmasına olanak sağlamaktadır. 1 OD (Optic Density) örnekte yaklaşık 50 µl/ml (40 ng) çift sarmallı DNA olduğunu göstermektedir. 260 nm ve 280 nm' de okunan değerlerin oranı (OD_{260} / OD_{280}) DNA saflığının ölçüsünü vermektedir. Nükleik asitlerle yapılan çalışmalarda,

DNA ve RNA örneklerinin bulunduğu çözeltinin OD_{260} / OD_{280} oranının 1,8 ve 2,0 olması istenir. DNA çözeltisinde protein ya da fenol artıklarının bulunması durumunda bu oran önemli ölçüde azalmakta ve nükleik asit miktarının kesin olarak hesaplanması güçleşmektedir. Toplam 70 bıldırcından izole edilen DNA miktarlarının ölçümü NanoDrop-spektrofotometre ile yapılmıştır (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. DNA miktar tespitinde kullanılan spektrofotometre cihazı (A.Ü.Z.F. Bitki Koruma Bölümü Moleküler Bitki Bakteriyolojisi Laboratuvarı)

3.2.5. RAPD-PCR uygulamaları

RAPD uygulamalarında hedef DNA bölgelerin çoğaltılması için Kumar vd (2000a, b), Sharma vd (1998a, 2000a) ve Ali vd (2002), tarafından bildirilen PCR reaksiyon prensipleri araştırmanın yürütüldüğü laboratuvar koşullarına göre optimize edilerek uygulanmıştır.

3.2.5.1. Primerlerin seçimi

Çiftlik hayvanlarında önceki çalışmalarda kullanılmış ve başarılı sonuçlar vermiş 10 nukleotid uzunluğundaki 30 adet primer bu çalışmada kullanılmak amacıyla tek tek de-

nenmiştir. Ön deneme çalışmaları sonucunda, primerlerin monomorfik/polimorfik olmaları ile yeterli sayıda görüntü netliği ve polimorfik bant üretmelerine bağlı olarak en iyi sonuç veren 24 adet primer seçilerek (Çizelge 3.2) RAPD-PCR çalışmalarına başlanılmıştır.

Çizelge 3.2. Çalışmada kullanılan primerleri tanımlayıcı bilgiler

primerler	Kaynak	% GC	Baz dizisi	Tm
<i>DU05</i>	Wei vd 1997	40	5-ATGACGTTGA-3	28 °C
<i>DU08</i>	Wei vd 1997	70	5-ACCCGGAACG-3	34 °C
<i>OPA5</i>	İvgin ve Bilgen 2002	70	5-TGCGCCCTTC-3	34 °C
<i>OPA7</i>	Sharma vd 2000b	60	5-GAAACGGGTG-3	32 °C
<i>OPA8</i>	İvgin ve Bilgen 2002	70	5-GTCCACACGG-3	34 °C
<i>OPA10</i>	Maciuzonek vd 2005	70	5-CTGCTGGGAC-3	34 °C
<i>OPA11</i>	Hidas vd 2002	60	5-GTAGACCCGT-3	32 °C
<i>OPA12</i>	Sharma vd 2000b	60	5-TCGGCGATAG-3	32 °C
<i>OPA17</i>	Sharma vd 2000b	60	5-GACCGCTTGT-3	32 °C
<i>OPB5</i>	Smith vd 1996	70	5'-TGCGCCCTTC-3'	34 °C
<i>OPB19</i>	Smith vd 1996	70	5-ACCCCGAAG-3	34 °C
<i>OPP03</i>	Sharma vd 1998b	60	5'-CTGATACGCC-3'	32 °C
<i>OPP08</i>	Li vd 2002	60	5-ACATCGCCCA-3	32 °C
<i>OPP11</i>	Sharma vd 2001b	70	5-AACGCGTCGG-3	34 °C
<i>OPP15</i>	Sharma vd 1998a	60	5-GGAAGCCAAC-3	32 °C
<i>OPQ02</i>	Yeğenoğlu 1999	60	5- TCTGTCGGTC -3	32 °C
<i>OPQ04</i>	Li vd 2002	60	5-AGTGCGCTGA-3	34 °C
<i>OPQ06</i>	Li vd 2002	70	5-GAGCGCCTTG-3	34 °C
<i>OP09</i>	Negro vd 2001	70	5-CTCACCGTCC-3	34 °C
<i>RA09</i>		60	5-ACTCCGCAGT-3	32 °C
<i>RA23</i>		60	5-CTAGCTGACG-3	32 °C
<i>RA33</i>		70	5-TGCGGACGTC-3	34 °C
<i>RA35</i>		70	5-AAGCTCCCCG-3	34 °C
<i>RA59</i>		70	5-CGGGCAACGT-3	34 °C

Çalışmada kullanılan primerlerin hepsi 10 nukleotid çifti uzunluğunda olup kalıp DNA' ya bağlanma sıcaklıkları (Tm) 28-34 °C değerleri arasında değişmektedir. Her bir primer için G/C oranları % 40-70 değerleri arasındadır. PCR uygulamalarında her bir primer için kullanılan bağlanma sıcaklığı hesaplanırken primerlerin sahip olduğu G/C oranları dikkate alınmıştır. Böylece bağlanma sıcaklık gereksinimleri yani primerler için

erime sıcaklığı olarak tanımlanan T_m (Thermal melting) değerleri “[(A + T’ lerin sayısı) x 2 °C + (G + C’ lerin sayısı) x 4 °C]” formülü kullanılarak hesaplanmıştır.

3.2.5.2. PCR uygulamaları

RAPD-PCR çalışmaları sırasıyla K, YCA1, YCA2, DCA ve Y hatları için yapılmıştır. Her bir hat için 7 dişi ve 7 erkeğe ait toplam 14 DNA örneği kullanılmıştır. Hatlara göre bireysel numaralar ile etiketlenmiş 0,2 ml’ lik PCR tüplerine (Eppendorf) her biri 50 ng/μl olacak şekilde eşitlenen DNA örneklerinden 0,8 μl ilave edilmiştir. PCR’ nin diğer bileşenleri de hesaplanan yoğunluk ve miktarda sırasıyla aynı tüplere eklenmiştir. Her bir tüp bir birey için kullanılmıştır ve toplamda bir PCR tüpünün tepkime hacmi 20 μl olacak şekilde hazırlanmıştır. Mikrolitre seviyedeki hacimsel ölçümler için değişik hacimlere sahip otomatik pipetler (Eppendorf) ve steril pipet uçlarından faydalanılmıştır. Tüm sarf malzemesi bir kere kullanılmış ve uygun şekilde imha edilmiştir. PCR tepkimesinde kullanılan kimyasallar ve miktarları Çizelge 3.3. de verilmiştir.

Çizelge 3.3. PCR reaksiyon karışımı

Steril distile su	11,1 μl
10 X Buffer pH: 8,5 (48,4 g Tris base, 10,22 ml Glacial Asetik asit, 20 ml EDTA pH 8,0)	1,6 μl
MgSO ₄ (2 mM/μl)	2,5 μl
dNTP _s (2,5 mM/μl)	3,2 μl
Primer (10 pm/μl)	0,4 μl
Taq Polimeraz (2,5 U/μl)	0,4 μl
DNA (50 ng/μl)	0,8 μl
Toplam	20,0 μl

PCR uygulamaları için Eppendorf Master Gradient Thermal Cycler marka cihaz kullanılmıştır (Şekil 3.2). Cihazın ısıtmalı üst kapağa sahip olmasının PCR tüplerinden buharlaşma sonucu kapaktaki su yoğunlaşmasını engellemesi nedeniyle, mineral yağ kullanımına gerek kalmamıştır. PCR döngülerine başlamadan önce cihazın kapak sıcaklığı 102 °C’ ye ve tepkime tüplerinin yerleştirileceği kuyucukların sıcaklığı da 94 °C’ ye ayarlanmıştır. Her biri 0,8 μl bireysel DNA içeren PCR tüpleri cihaza yerleştirilerek 94

°C’ de 2 dakika bir ön sıcaklığa (hot start) tabi tutulmuştur. Böylece tüm DNA çift sarmallarının birbirinden ayrılması sağlanmıştır. Daha sonra, yukarıda tanımlandığı gibi hazırlanan tepkime karışımı (master mix) her bir PCR tüpüne hızla dağıtılmıştır. Kapağı kapatılan cihaz çalıştırılarak önceden hazırlanmış olan PCR programı başlatılmıştır. Bu çalışmada uygulanan sıcaklık/süre döngü programı Çizelge 3.4’ de verilmiştir. Burada, başlangıç denatürasyonu ve son uzama aşamaları hariç diğer aşamalar 40 defa tekrarlanmıştır. PCR’ den sonra elde edilen ürünlerin bulunduğu tüpler, elektroforez işlemine kadar kapakları parafilm ile sarılarak 4 °C’ de saklanmıştır.



Şekil 3.2. Eppendorf Master Gradient Thermal Cycler PCR cihazı (A.Ü.Z.F. Zootekni Bölümü Moleküler Genetik Laboratuvarı)

Çizelge 3.4. PCR döngü programı

Sıcaklık	Süre	Döngüler	
94 °C’de	2 dakika	Başlangıç denatürasyonu	40 döngü
94 °C’de	50 saniye	Denatürasyon	←
32 °C’de	55 saniye	Yapışma	←
72 °C’de	50 saniye	Uzama	←
72 °C’de	5 dakika	Son Uzama	

3.2.5.3. Elektrolit çözeltisi hazırlama

Agaroz jel elektroforez için kullanılan değişik tampon çözeltileri bulunmaktadır. En yaygın kullanılanlar tris asetat EDTA (TAE), Tris/Borate/EDTA (TBE) ve Sodyum-borat (SB)' tır. TAE düşük tamponlama kapasitesine sahip olmasına rağmen uzun DNA' lar için en iyi çözünürlüğü sağlar. Düşük elektrik akımı ve daha fazla zaman gerektirmesine karşın daha iyi sonuç elde edilebilmektedir. Bu sebepten dolayı bu çalışmada elektrolit çözeltisi olarak TAE kullanılması tercih edilmiştir.

Çizelge 3.5' de belirtilen kimyasallar kullanılarak 50X yoğunlukta pH: 8,0 olacak şekilde TAE stok çözeltisi hazırlanmıştır. Bu stok çözeltilerden 20 ml alınıp 1L distile su- da çözdürülerek 1X yoğunlukta TAE çalışma çözeltisi elde edilmiştir. Bu tampon hem elektroforez tankına konulacak çözelti olarak hem de agarozu eritmek için kullanılacak çözelti olarak kullanılmıştır.

Çizelge 3.5. 50X' lik Tris-Acetate-EDTA (TAE)

Tris base	242,0 g
Glacial Asetik Asit	51,1 ml
EDTA (0,5 M, pH 8,0)	100,0 ml

3.2.5.4. Agaroz jel hazırlama

PCR örneklerinin elektroforetik ayrımı için %1,5 agaroz (AMRESCO) kullanılmıştır. 1,5 gram agaroz-SFR 0.001 grama hassas terazi ile tartılarak 250 ml' lik erlen-meyere aktarılmıştır. Üzerine 1X TAE tampon çözeltisinden 100 ml eklenerek yüksek sıcaklıkta (300 °C) mikrodalga fırın içinde 2-3 dakika kaynatılarak eritilmiştir. Eritme işlemi sırasında çözeltinin köpürmesini ve agarozun yanmasını önlemek için yaklaşık 10-15 saniye' de bir fırının çalışması durdurularak bu çözelti dikkatlice sallanmıştır. Bu işlem jel tamamen şeffaf bir görünüm kazanıncaya kadar tekrarlanmıştır.

Agaroz tamamen eridikten sonra, oda sıcaklığında hava kabarcığı oluşturmadan dikkatlice sallanarak yaklaşık 45-50 °C' ye kadar soğutulmuştur. Elektroforez işleminden önce DNA örneklerinin yükleneceği kuyucukların oluşması amacıyla 15 dişli ve her bir

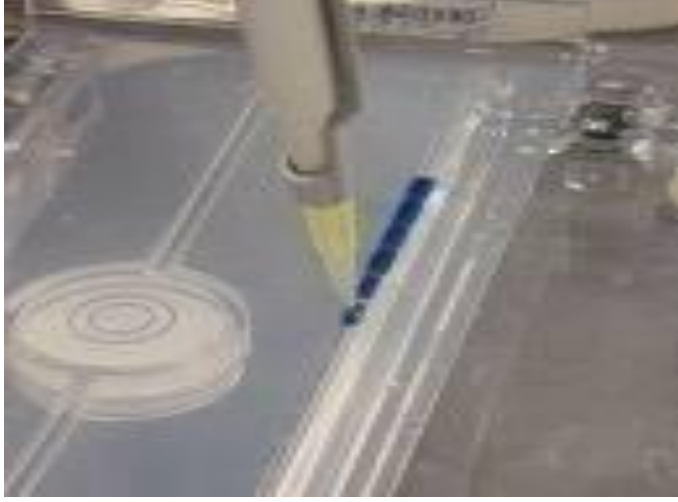
dişi yaklaşık 18 µl hacmine sahip bir tarak tepsi üzerindeki yuvasına yerleştirilmiştir. Daha sonra soğutulan eriyik jel, tarakların bulunduğu bölgelerde hava kabarcığı oluşmamasına dikkat edilerek tepsiye dökülmüştür (Şekil 3.3.a). Jel tamamen sertleştikten sonra tarak dikkatli bir şekilde jelden çıkartılmıştır. Elektroforeze hazır hale getirilen jel, yatay elektroforez tankına (BioRad-Midi) yerleştirilmiş daha sonra önceden hazırlanan TAE elektrolit çözeltisi jelin üst kısmı tamamen kapatacak şekilde eklenmiştir. PCR ürünlerinin jelde düzgün bir şekilde ilerleyebilmesi elektriksel akımın jel üzerinden tam ve eşit geçmesine bağlı olduğundan dolayı bu dikkat edilmesi gereken bir durumdur.



Şekil 3.3. Agaroz jel çözeltisinin kalıba dökülmesi

3.2.5.5. PCR ürünlerinin jele yüklenmesi

PCR ile çoğaltılan DNA örneklerinin her birinden 15 µl alınarak üzerlerine 3' er µl yükleme boyası (Loading Dye: %0,25' lik Bromfenol Blue, %0,25' lik Xylene Cyanol, %30' luk Glycerol, su) eklenmiştir. Elektroforez tankında bulunan agaroz jelin kuyucukları tampon çözelti ile dolu olduğundan, PCR ürünlerinin doğrudan kuyucuklara yüklenmesi sırasında örneklerimiz çözeltiyle karışıp dağılıbilir. Yükleme boyasının kullanımı ile ağırlaşan PCR ürünlerinin jeldeki kuyucuklara dağılmadan dolması ve elektroforez sırasında jelde hareket halinde olan DNA moleküllerinin görünür hale getirilip çıplak gözle takip edilebilmesi sağlanmıştır.



Şekil 3.4. Elektroforez tankındaki jel kuyucuklarına PCR ürünlerinin yüklenmesi

PCR ürünlerinin jel üzerinde molekül büyüklüklerine göre ayrılaştıkları bant aralığını (baz çifti) tespit edebilmek için standart DNA moleküler büyüklük markeri (100 bp Ladder, AMRESCO) kullanılmıştır. Moleküler büyüklük markerinden 4 µl (50 ng/µl) alınıp üzerine 1 µl yükleme boyası eklenmiş ve bunların üzerine de 13 µl TAE eklenerek jeldeki ilk kuyucuğa yüklenmiştir. İkinci kuyucuktan itibaren 7 erkek ve 7 dişi bıldırcına ait PCR ürünleri jeldeki kuyucuklara yüklenmiştir (Şekil 3.3.b).

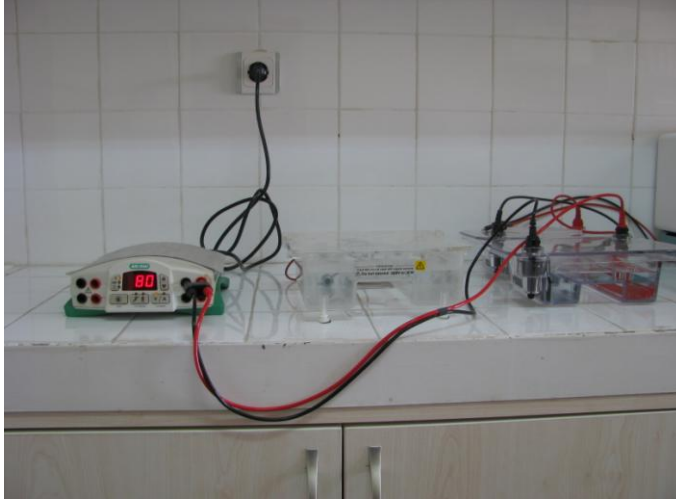
3.2.5.6. Elektroforez işlemi

PCR ile çoğaltılan DNA moleküllerinin büyüklüklerine göre ayırımı yatay elektroforez kullanılarak yapılmıştır. Elektroforez uygulamasında, jel yoğunluğu, elektrik akımı ve elektroforez süreleri en net sonucu alabilmek amacıyla, birçok deneme sonucunda ayarlanmıştır. Böylece PCR ürünleri 80 V' da 180 dakika koşturulmuş ve jelde molekül büyüklüklerine göre sıralanmaları sağlanmıştır (Şekil 3.3.c).

3.2.5.7. Jel boyama ve RAPD lokusların saptanması

Elektroforez işleminden sonra agaroz jelde moleküler büyüklüklerine göre sıralanan PCR ürünlerinin görüntülenebilmesi için ethidium-bromid boya çözeltisi kullanılmıştır. Elektroforez tankından çıkartılan jel dikkatlice 200 ml Ethidium-bromide (0,5 ug/ml) çözeltisinin bulunduğu kapaklı kaba aktarılmıştır. Bu aşamada jelin kırılmamasına,

ezilmemesine ve tamamının boya çözeltisi ile temas etmesine dikkat edilmiştir. 15-20 dakika boyada bekletilerek ethidium-bromidin jele nüfus etmesi ve böylece ethidium-bromidin DNA moleküllerine bağlanması sağlanmıştır. Ethidium muamelesinden sonra, RAPD bantlarına ilişkin fotoğrafları elde etmek için jel görüntüleme donanımı kullanılmıştır (şekil 3.4). Transilüminatör yardımı ile 254 nm dalga boyundaki UV ışığı altında görüntülenen RAPD ürünlerine ait veriler elektronik ortamda saklanmıştır.



Şekil 3.5. Elektrofrez tankı ve güç kaynağının görünümü (A.Ü.Z.F. Zootekni Bölümü Moleküler Genetik Laboratuvarı)



Şekil 3.6. Jel görüntüleme donanımı (A.Ü.Z.F. Bitki Koruma Bölümü Moleküler Bitki Bakteriyolojisi Laboratuvarı)

3.2.5.8. RAPD sonuçlarının değerlendirilmesi ve istatistik analizler

RAPD-PCR ürünlerine ait jel fotoğrafları değerlendirilmek üzere bilgisayar ortamına aktarılmıştır. Her bir primer için bireye özgü olarak tespit edilen bir bant bir lokus olarak tanımlanmıştır. Değerlendirmeye alınan bireylerin genotipi mevcut bantlar için 1 (AA ve Aa genotipleri), olmayan bantlar için 0 (aa genotipi) olarak tespit edilmiştir. Bu şekilde, 24 primerden elde edilen RAPD-PCR ürünlerine ait veri matrisleri oluşturulmuştur. Bıldırcın hatlarının genetik değişim düzeylerini tespit etmek amacıyla elde edilen bu veri matrisleri POPGEN32 bilgisayar paket programı kullanılarak analiz edilmiştir (Yeh vd 1997). İstatistik analizlerin matamatiksel modelleri aşağıda verilmiştir.

a) Allel frekansları

RAPD markerler dominant kalıtım yolu gösterdiği için heterozigot genotipler dominant homozigot genotiplerden ayırt edilememektedir. Bunun sonucunda da heterozigot genotiplerin allel frekansları doğrudan RAPD görünümünden hesaplanamamaktadır. Bu durum göz önünde tutularak RAPD marker allel frekansları (P_i) ve standart hatalarının (S_{P_i}) hesaplanmasında karekök (*square root*) yöntemi kullanılmıştır (Nei 1987).

$$p_i = \sqrt{n_g / n}$$

$$S_{P_i} = \sqrt{(1 - q_i^2) / 4n}$$

$n_g = i$. resesif etkili allel bakımından homozigot genotipli bireylerin sayısı,

n = toplam birey sayısı.

b) Polimorfik lokus oranları (P_{poly})

Populasyonda mevcut genetik değişimin ortaya konulması amacıyla çok sayıda lokus üzerinde ve çok büyük örnek genişliğiyle çalışılıyorsa, bu durumda toplam genetik değişim, polimorfizm derecesi veya polimorfik lokus oranı (P_{poly}) olarak ifade edilmektedir. Polimorfizm ölçütü (0,95 veya 0,99) araştırmacı tarafından belirlenmekte olup, örnek

genişliğinin yüksek ($n \geq 100$) olduğu durumlarda 0,95 olarak ta tespit edilebilmektedir (Nei 1987).

$$P_{poly} = n_p / r$$

n_p = polimorfik lokus sayısı, r = toplam lokus sayısı.

c) Ortalama allel sayısı (n_a)

Bir populyasyondaki genetik değişim, populyasyondaki ortalama allel sayısı (n_a) ile ifade edilebilmektedir. Pratik olarak bir populyasyonda bulunan toplam allel sayısı tespit edilememektedir. Bunun yerine populyasyonu temsil eden örneklerden hesaplanan belirli allellerin sayısı üzerinden bir tahmin yapılmaktadır. Bu nedenle ortalama allel sayısı örnek genişliğinden büyük ölçüde etkilenmekte ve çoklu allelizmin var olduğu lokuslar bakımından daha duyarlı bir istatistik olarak değerlendirilmektedir (Nei 1987).

$$n_a = \sum_i n_{ai} / r$$

n_{ai} = i . lokustaki allel sayısı, r = toplam lokus sayısı.

d) Ortalama etkili allel sayısı (n_e)

Kimura ve Crow (1964) tarafından geliştirilen ve populyasyon genetiği çalışmalarında kullanılmakta olan ortalama etkili allel sayısı (n_e) homozigotluğun tersi olarak tanımlanmaktadır (Nei 1987). Bu ölçüt populyasyondaki allel frekanslarının dağılımı üzerinden tahmin edilmekte olup, kuramsal olarak bir populyasyonda var olan tüm allel frekansları aynı olduğu zaman n_a değerine eşit olmaktadır. Genellikle, allel frekanslarının eşit olmadığı durumlarda n_e ölçütü n_a değerinden daha küçük tahmin edilmektedir.

$$n_e = \sum_j (1 / \sum_i P_i^2) / r$$

p_i = i . allel frekansı,

r = lokus sayısıdır.

e) Ortalama heterozigotluk (H)

Populasyonlardaki ortalama genetik varyasyonun (H) tahmin edilmesinde Nei (1973)' nin alt populasyonlarda beklenen ortalama heterozigotluk (H_e) değerlerinden yararlanılmıştır (Nei 1987).

$$H = \frac{\sum H_e}{r}$$

$$H_e = 1 - \sum_{i=1}^m (f_i)^2$$

H_e = beklenen tek lokus heterozigotluk, r = lokus sayısı,

$\sum_{i=1}^m (f_i)^2$ = homozigot genotiplerin oranı,

m = hedef lokustaki allellerin sayısı,

f_i = hedef lokustaki i^{th} allelin frekansıdır.

f) Shannon bilgi indeksi (I)

RAPD markerleriyle çalışılan organizmalardaki genetik değişimin ortalama tahmininde, çalışılan tüm lokuslar üzerinden ayrı ayrı hesaplanmakta ve daha sonra bu değerlerin ortalaması alınarak elde edilmektedir. Shannon bilgi indeksi (I) sınıflandırılmış verilerde varyasyon ölümü için kullanılan birkaç göstergeden biridir. Basit tanımı, dağılımın tür davranışlarının ve onların olası oransal populasyon büyüklüklerinin entropi bilgisidir (Lewontin 1972) ve biyolojik farklılıkların ölümünde yaygın olarak kullanılmaktadır.

$$I = \sum_{i=1}^s p_i \ln p_i, \quad p_i = i. \text{ genotipe ait bireylerin sayısıdır.}$$

g) Genetik farklılaşma katsayısı (G_{ST})

Nei (1987)' nin genetik farklılaşma kat sayısı ya da alt populasyonlar arası genetik farklılaşmanın oransal değeri (G_{ST}) bu çalışmada kullanılan bıldircın populasyonları için hesaplanmıştır. G_{ST} populasyonlar arasındaki genetik farklılıkların derecesini ifade

etmekte olup 0 ile 1 arasında değişmektedir. Hatlar arası genetik farklılıklar değerlendirilirken aşağıdaki ölçüler dikkate alınmıştır.

$0.00 < G_{ST} < 0.05$ ise, populasyonlar arasındaki genetik farklılaşma düşük seviyede.

$0.05 < G_{ST} < 0.15$ ise, populasyonlar arasındaki genetik farklılaşma orta seviyede.

$0.15 < G_{ST} < 0.25$ ise, populasyonlar arasındaki genetik farklılaşma yüksek seviyede.

$0.25 < G_{ST}$ ise, populasyonlar arasındaki genetik farklılaşma çok yüksek seviyede.

1) Genetik mesafe (D)

Çeşitli yöntemlerle ele alınan özellikler bakımından populasyonlar arasındaki genetik farklılığın bir göstergesi olan genetik mesafe genel olarak iki populasyon arasındaki gen farklılıklarını ortaya koymakta ve allel frekanslarının bir fonksiyonu olarak ölçülmektedir. Nei (1972) genetik mesafe kavramını her bir lokus bakımından iki populasyon arasında meydana gelen gen değişim sayısının bir tahmini olarak ifade etmektedir. Bu çalışmada populasyonlar arasındaki genetik mesafe (D) genetik benzerliklerden yararlanılarak hesaplanmıştır (Nei 1978). Ele alınan iki populasyon özdeş gen sayılarına sahip ise genetik benzerlik 1, değilse 0 olarak kabul edilmiştir.

$$D = -\ln G_I$$

$$G_I = (\sum Pix * Piy) / \sqrt{(\sum Pix^2) * (\sum Piy^2)}$$

$Pix = i.$ allelin X populasyonundaki miktarı

$Piy = i.$ allelin Y populasyonundaki miktarı

$G_I = x$ ve y populasyonları arasındaki genetik benzerlik

i) Filogenetik dendogram

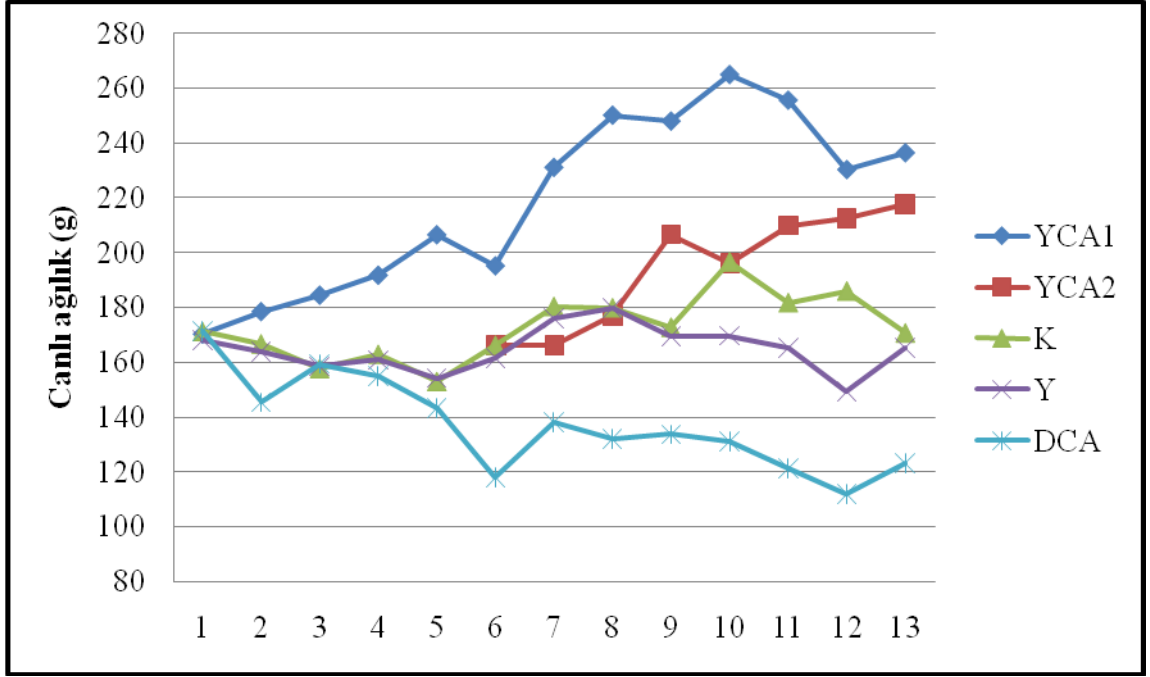
Bıldırıcın hatları arasındaki filogenetik ilişkilerin ortaya konulması amacıyla genetik mesafe değerlerinden yararlanılarak oluşturulan kümeleme analizinde UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic mean) yöntemi kullanılmıştır (Nei ve Kumar 2000).

4. BULGULAR

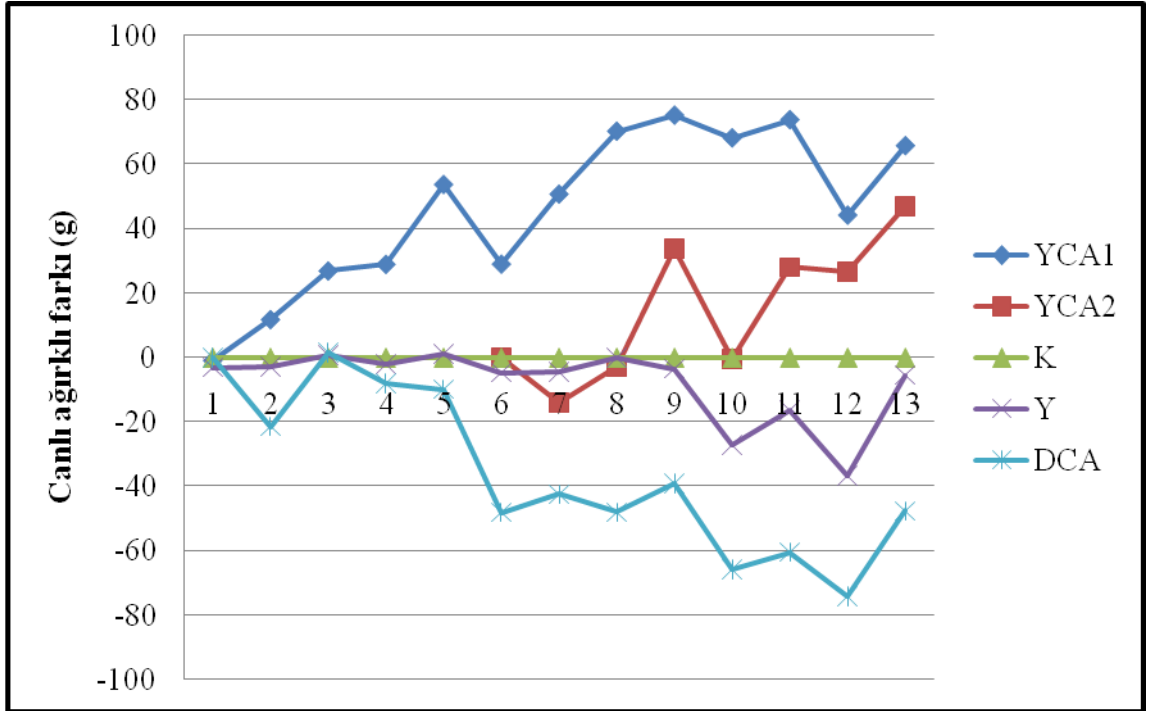
4.1. Seleksiyon Sonuçları

Bu çalışma kapsamında gerçekleştirilen seleksiyon uygulamaları sonucunda seleksiyon hatlarının ortalama canlı ağırlık değerleri kontrol popülasyonuna göre oldukça farklılaşmıştır. Farklı ölçütlere göre yüksek canlı ağırlık yönünde seleksiyona tabi tutulan YCA1 ve YCA2 hatlarında ortalama canlı ağırlık değerleri generasyonlar ilerledikçe artış göstermiş ve 12. generasyonda canlı ağırlık ortalamaları sırasıyla 229,65 g ve 209,41 g olarak belirlenmiştir. Yüksek yumurta verimine (Y) ve düşük canlı ağırlık değerlerine (DCA) göre seleksiyon uygulanan hatlarda ise canlı ağırlık ortalamalarının generasyonlar boyu azaldığı ve 12. generasyonda sırasıyla 140,12 g ve 118,96 g olduğu tespit edilmiştir. Elde edilen bu değerlere göre YCA1 ve YCA2 hatlarının 12. generasyon canlı ağırlık ortalamalarının Y, DCA ve kontrol popülasyonu (160,14 g) ortalamalarından daha yüksek ve birbirlerine daha yakın olduğu, benzer şekilde yüksek yumurta verimi ve düşük canlı ağırlık gibi farklı ölçütlere göre selekte edilmelerine rağmen Y ve DCA hatlarının canlı ağırlık bakımından diğer hatlara göre birbirlerine daha yakın ortalama değerler gösterdiği belirlenmiştir. RAPD-PCR çalışmaları için kan örneklerinin alındığı 12. generasyonda bildircin hatlarına ait canlı ağırlık ortalamaları kontrol popülasyonu ortalamasına oranlandığında YCA1 ve YCA2 hatlarında yaklaşık olarak sırasıyla %43 ve % 31' lik bir canlı ağırlık artışı, Y ve DCA hatlarında ise sırasıyla %13 ve %26' lük bir canlı ağırlık azalışı meydana geldiği saptanmıştır.

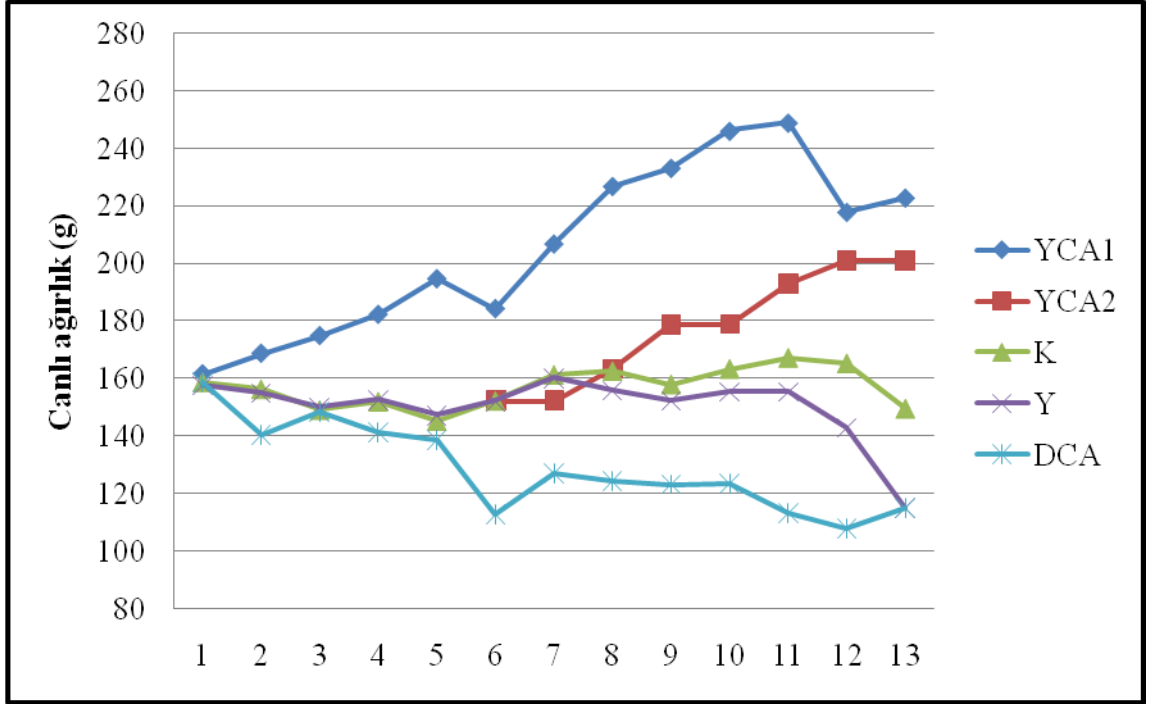
Seleksiyon çalışmalarının etkisini göstermek amacıyla bildircin hatlarında canlı ağırlık bakımından ortaya çıkan farklılaşmalar her iki cinsiyette ve genel olarak tüm hatlar için Şekil 4.1, 4.2, 4.3, 4.4, 4.5, 4.6' da özetlenmiştir. Ayrıca bildircin hatlarının seleksiyon çalışmaları sonucunda sahip oldukları sıcak karkas ağırlıkları ve görünümleri arasındaki farklılıklar Şekil 4.7 ve 4.8' de gösterilmeğe çalışılmıştır. Seleksiyon hatlarının sıcak karkas ağırlıkları kontrol popülasyonu ile kıyaslandığında, dişi ve erkek bildircinler için YCA1 (%41 ve %39) ve YCA2' de (%28 ve %27) artış, DCA(%32 ve %25) ve Y' de ise (%18 ve %21) azalma olduğu belirlenmiştir.



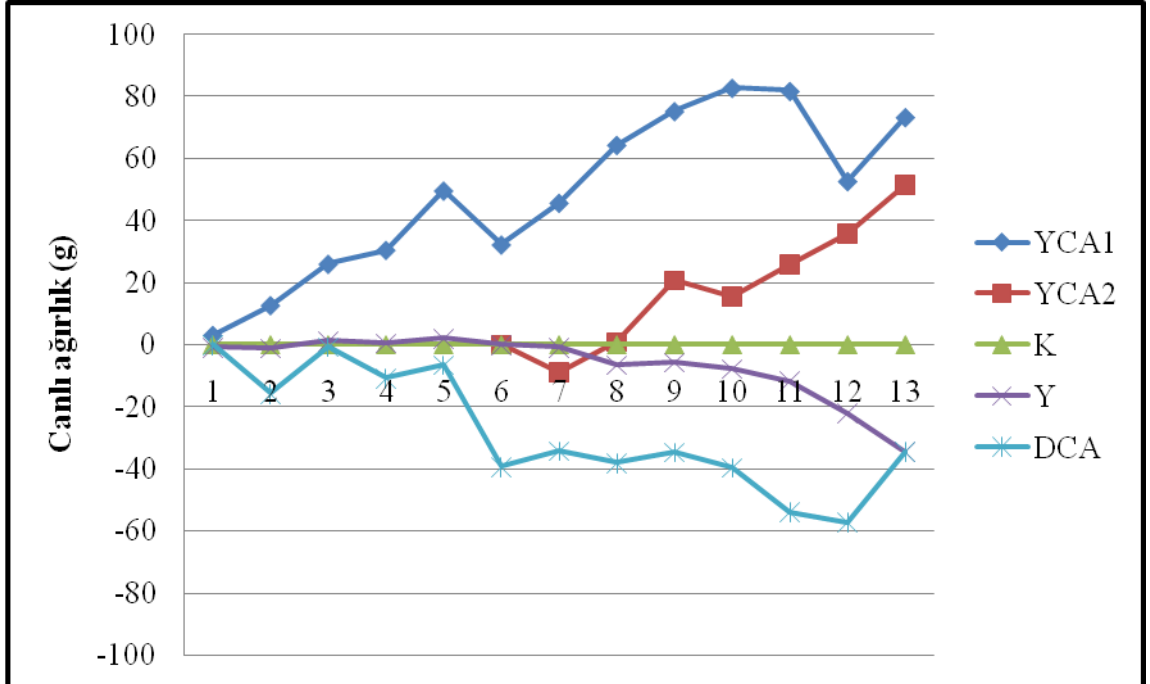
Şekil 4.1. Bildircin hatlarına ait dişilerin generasyonlar boyu canlı ağırlık ortalamaları



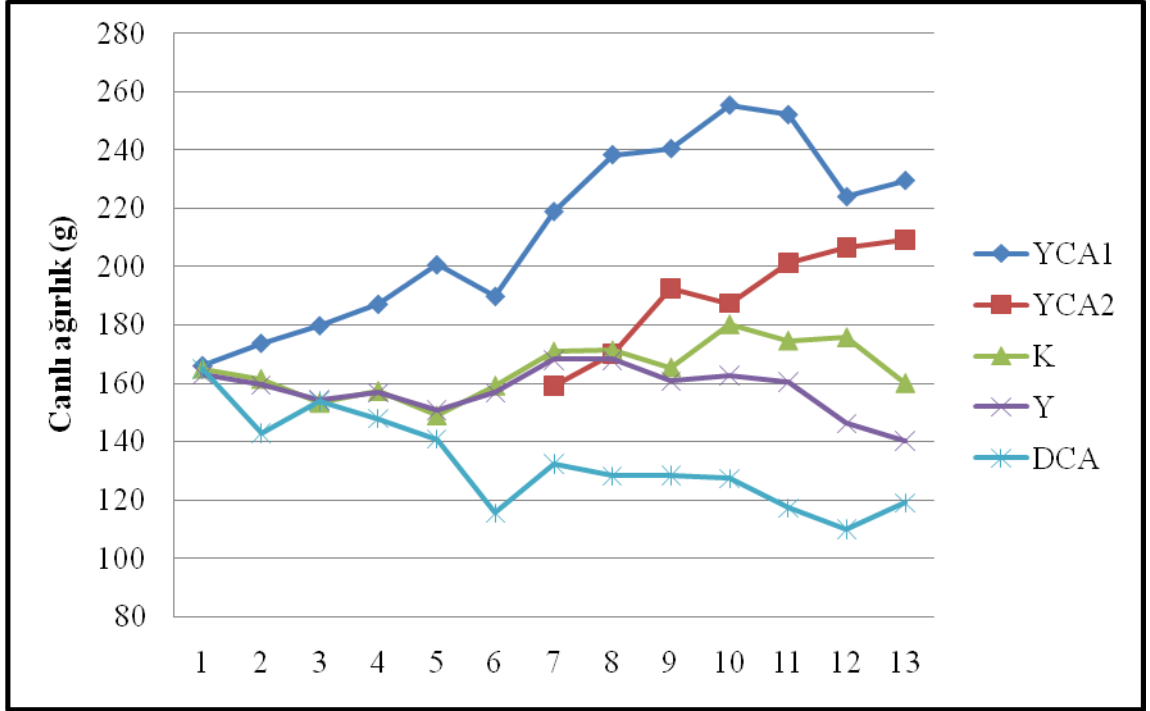
Şekil 4.2. Seleksiyon hatlarına ait dişî bildircinlerin generasyonlar boyu canlı ağırlık ortalamalarının kontrol popülasyonuna ait dişilerin canlı ağırlık ortalamalarından farkları



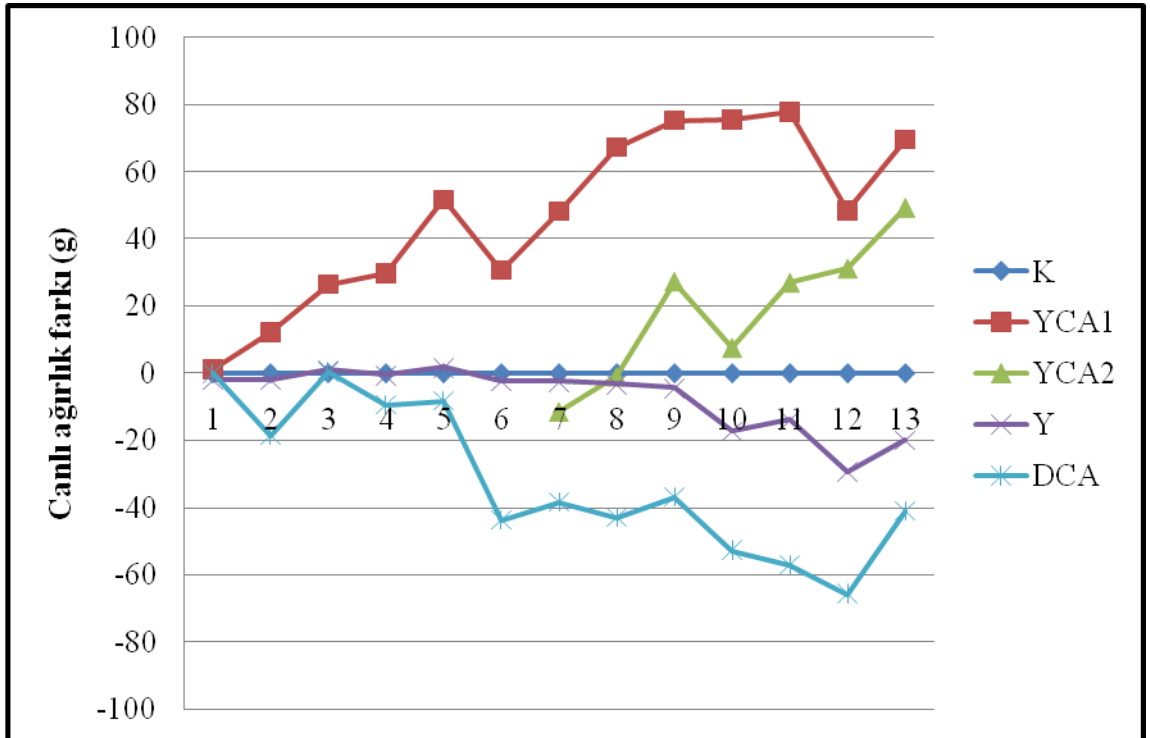
Şekil 4.3. Bildircin hatlarına ait erkeklerin generasyonlar boyu canlı ağırlık ortalamaları



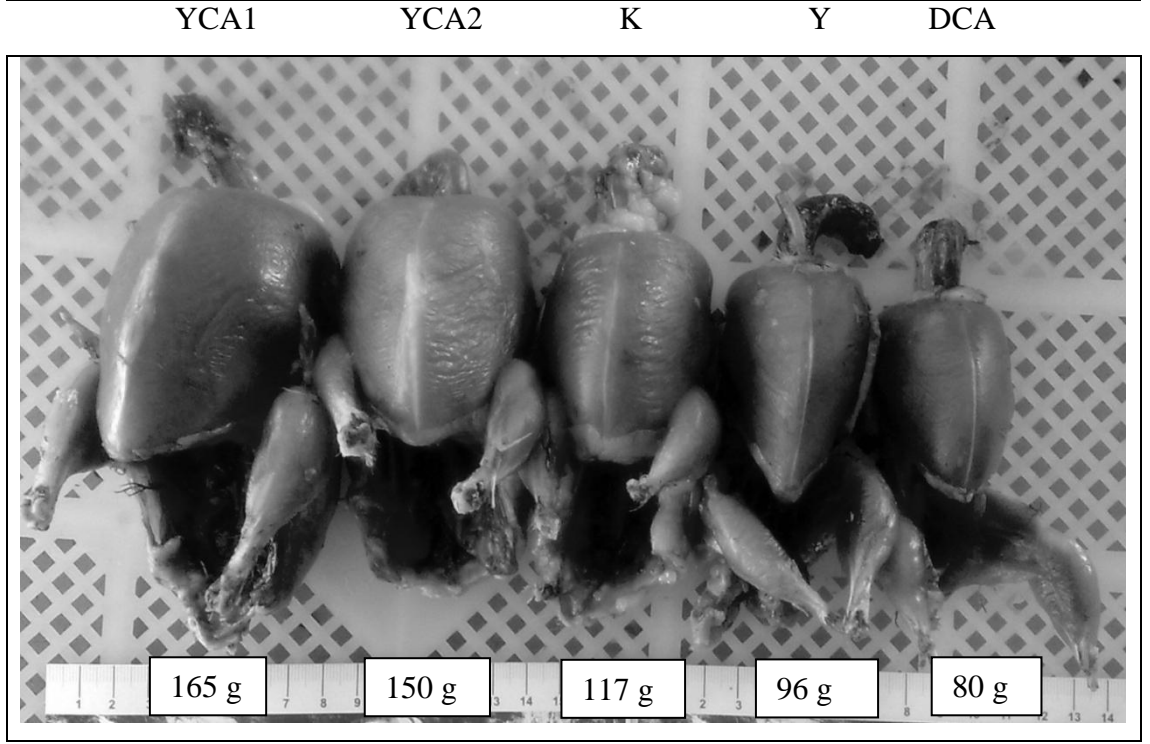
Şekil 4.4. Seleksiyon hatlarına ait erkek bildircinlerin generasyonlar boyu canlı ağırlık ortalamalarının kontrol popülasyonuna ait erkeklerin canlı ağırlık ortalamalarından farkları



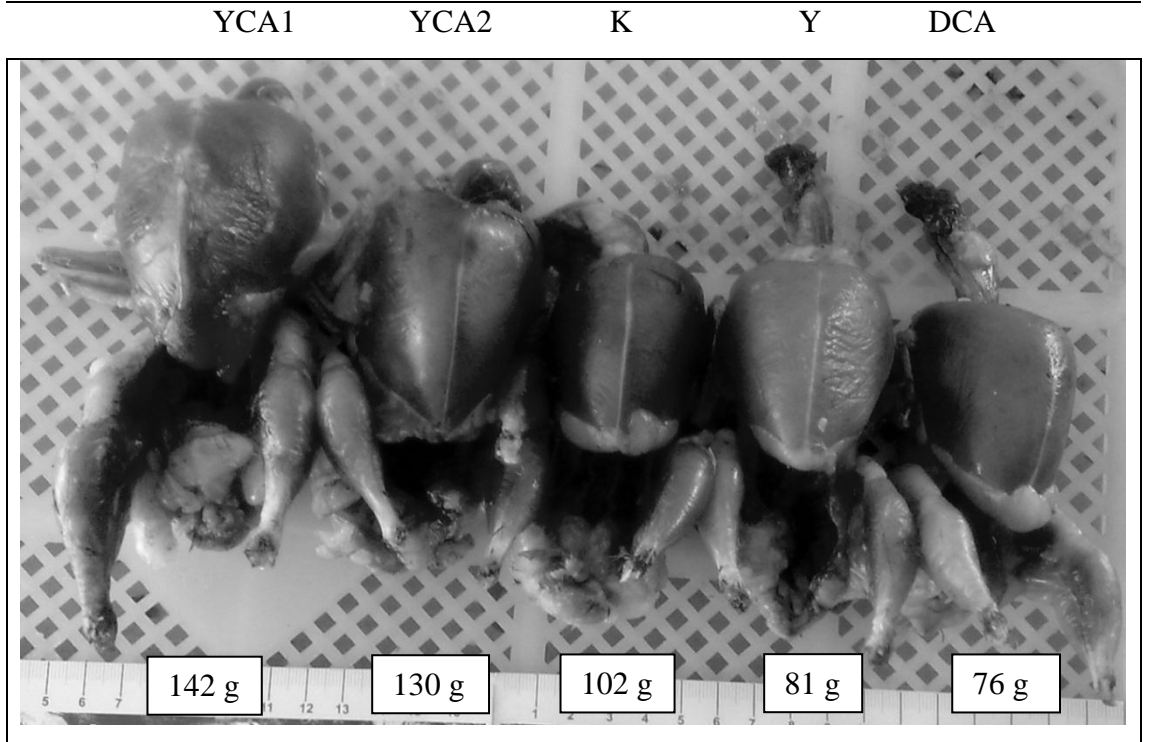
Şekil 4.5. Bildirim hatlarına ait populasyonların generasyonlar boyu canlı ağırlık ortalamaları



Şekil 4.6. Seçilim hatlarının generasyonlar boyu canlı ağırlık ortalamalarının kontrol hattı ortalamalarından farkları



Şekil 4.7. Bildircin hatlarına ait dişilerin 12. generasyondaki sıcak karkas görünüm ve ağırlıkları



Şekil 4.8. Bildircin hatlarına ait erkeklerin 12. generasyondaki sıcak karkas görünüm ve ağırlıkları

Genel olarak kanatlı türlerinde erkeklerin canlı ağırlıkları dişilerden daha fazla olmasına karşın bıldırcınlarda dişilerin canlı ağırlıkları erkeklerden daha yüksektir. Çizelgelerde görüldüğü gibi dişilerin erkeklere nazaran daha yüksek canlı ağırlığa sahip olmalarının sebebi de bu durumdan kaynaklanmaktadır. Dolayısıyla seleksiyon sonucunda dişilerdeki canlı ağırlık değişimlerinin erkeklerden daha fazla olduğu söylenebilir. Çizelgelerde de görüldüğü gibi seleksiyon etkileri kontrol popülasyonundan köken alan seleksiyon hatlarında sürekli bir canlı ağırlık değişimine sebep olmuştur. Ancak özellikle mevsim ile beraber bazı çevre faktörleri değişim miktarını etkilemiştir. Hatlar için çizilen canlı ağırlık çizelgelerinde generasyonlar arasında görülen dalgalanmaların buradan kaynaklandığı tahmin edilmektedir.

4.2. RAPD-PCR Sonuçları

Aynı temel bıldırcın popülasyonundan (K) köken alan seleksiyon hatlarında (YCA1, YCA2, DCA ve Y) fenotipik değerlere göre sürdürülen seleksiyon çalışmaları sonucu ortaya çıkan genotipik farklılaşmaları moleküler seviyede araştırmak için 10 baz uzunluğunda 24 adet primer kullanılarak RAPD-PCR tekniği çalışılmıştır. Sonuçların güvenilirliğini sağlamak amacıyla reaksiyonlar her primer için iki defa tekrarlanmıştır. Primerlerden elde edilen DNA çoğaltımları polimorfik durum, parlaklık ve netlik bakımından çalışmanın amacına ulaşılabilmesi için yeterli görülmüştür. RAPD uygulamaları sonucu her bir primerin hayvan materyali olarak kullanılan bıldırcın popülasyonlarında ortaya çıkardığı lokus görünümüleri Ek-1’ de gösterilmiştir. Burada, çalışılan primerler bakımından hatlar arasında ortaya çıkan genotipik durumun daha iyi görülmesini sağlamak amacıyla her bir primer için 5 bıldırcın popülasyonuna ait band desenleri yanyana aynı satırda verilmiştir.

4.2.1. RAPD sonuçlarının değerlendirilmesi ve istatistikî analizler

RAPD-PCR çalışmaları sonucunda elde edilen tüm bulgular ve yapılan istatistikî analizlerin sonuçları alt başlıklar halinde özetlenmeye çalışılmıştır. Aynı genetik kökene sahip bıldırcın hatlarında seleksiyon çalışmaları sonucu meydana gelen genetik değişimleri tespit etmek ve karşılaştırmalar yapabilmek amacıyla her bir primerin ortaya çıkart-

tığı allel frekanslarından ve genetik değişimlerden (Çizelge 4.1) yararlanılarak her bir populasyondaki polimorfik lokus sayısı ve oranları, ortalama allel sayısı, ortalama etkili allel sayısı, ortalama heterozigotluklar ve Shannon bilgi indeksi hesaplamaları yapılmıştır (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.1. Primerlerin bildiren hatlarında ortaya çıkardığı genetik değişimler

<i>primerler</i>	Band genişliği (bc)	Band sayısı	K		DCA		YCA1		YCA2		Y	
			P. L. S. (n _p)	P.L.O. (%)	P. L. S. (n _p)	P.L.O. (%)	P. L. S. (n _p)	P.L.O. (%)	P. L. S. (n _p)	P.L.O. (%)	P. L. S. (n _p)	P.L.O. (%)
<i>DU05</i>	580-2600	11	10	0,909	7	0,636	4	0,363	5	0,454	5	0,454
<i>DU08</i>	350-1000	7	5	0,714	2	0,287	5	0,714	3	0,285	5	0,714
<i>OPA5</i>	300-1900	11	6	0,545	4	0,363	5	0,454	5	0,454	2	0,181
<i>OPA7</i>	200-1500	6	4	0,667	1	0,166	4	0,667	1	0,166	1	0,166
<i>OPA8</i>	400-1400	4	1	0,250	1	0,250	0	0,000	2	0,500	1	0,250
<i>OPA10</i>	250-1700	14	9	0,643	7	0,500	7	0,500	8	0,571	0	0,000
<i>OPA11</i>	400-2300	9	8	0,889	3	0,333	6	0,667	3	0,333	9	1,000
<i>OPA12</i>	900-1700	4	3	0,750	2	0,500	4	1,000	0	0,000	1	0,250
<i>OPA17</i>	500-1200	6	0	0,000	1	0,166	1	0,167	2	0,333	1	0,166
<i>OPB5</i>	200-2500	9	7	0,778	4	0,444	5	0,556	2	0,222	2	0,222
<i>OPB19</i>	300-1700	6	5	0,833	1	0,166	4	0,667	2	0,333	3	0,500
<i>OPP03</i>	500-1300	7	3	0,429	4	0,571	1	0,143	2	0,285	4	0,571
<i>OPP08</i>	150-1300	14	8	0,571	5	0,357	3	0,214	5	0,357	4	0,285
<i>OPP11</i>	600-2600	10	9	0,900	1	0,100	4	0,400	3	0,300	5	0,500
<i>OPP15</i>	300-1500	7	1	0,143	2	0,285	0	0,000	2	0,285	0	0,000
<i>OPQ02</i>	500-2000	4	0	0,000	1	0,250	0	0,000	1	0,250	0	0,000
<i>OPQ04</i>	300-1900	14	12	0,857	3	0,214	4	0,286	7	0,500	5	0,357
<i>OPQ06</i>	400-1900	8	5	0,625	3	0,375	5	0,625	4	0,500	4	0,500
<i>RA09</i>	450-1800	7	4	0,571	1	0,142	3	0,428	4	0,571	3	0,428
<i>RA23</i>	400-2100	6	3	0,500	2	0,333	3	0,500	1	0,166	2	0,333
<i>RA33</i>	600-2400	7	5	0,714	2	0,285	4	0,571	0	0,000	2	0,285
<i>RA35</i>	300-2000	8	5	0,625	1	0,125	4	0,500	3	0,375	4	0,500
<i>RA59</i>	200-1700	14	10	0,714	4	0,285	7	0,500	3	0,214	8	0,571
<i>OP09</i>	700-1900	4	2	0,500	0	0,000	0	0,000	2	0,500	1	0,250
<i>toplamlar</i>		197	125	0,635	62	0,315	83	0,421	70	0,355	72	0,366

P.L.S: Polimorfik lokus sayısı, P.L.O: Polimorfik Lokus Oranı

Ayrıca seleksiyon çalışmaları sonucu bildircin hatları arasında meydana gelen genetik farklılıkların ortaya konulması amacıyla genetik farklılaşma katsayısı (G_{ST}) ve filogenetik ilişkilerin gösterildiği dendogramın çizilmesi amacıyla da genetik mesafe istatistiklerinden yararlanılmıştır.

Çizelge 4.2. Bildircin hatlarına ait ortalama allel sayısı (n_a), ortalama etkili allel sayısı (n_e), beklenen ortalama heterozigotluk (H), Shannon bilgi indeksi (I) ve polimorfik lokus (P_{poly}) değerleri

	N	na	ne	H	I	Ppoly	
		$\bar{X} \pm S_x$	$\bar{X} \pm S_x$	$\bar{X} \pm S_x$	$\bar{X} \pm S_x$	np	%
K	14	1,6345±0,4828	1,4467±0,3953	0,2531±0,2077	0,3703±0,2951	125	63,45
DCA	14	1,3147±0,4656	1,2223±0,3577	0,1253±0,1952	0,1828±0,2803	62	31,47
YCA1	14	1,4213±0,4950	1,3106±0,3898	0,1748±0,2117	0,2538±0,3038	83	42,13
YCA2	14	1,3553±0,4798	1,2491±0,3687	0,1411±0,2000	0,2066±0,2874	70	35,53
Y	14	1,3655±0,4828	1,2664±0,3834	0,1488±0,2059	0,2163±0,2944	72	36,55
Ortalama		1,9949±0,0712	1,6056±0,2960	0,3538±0,1296	0,5284±0,1565	196	99,49

4.2.1.1. Primerlerin değerlendirilmesi

Çalışma kapsamında kullanılan 24 primerden elde edilen DNA fragment büyüklükleri 150-2600 bç arasında ve fragment sayıları da 4-14 arasında değişmiştir (Çizelge 4.1). OPA-10, OPP-08, OPQ-04 ve RA-59 primerlerinin her biri toplamda 14 lokus ortaya çıkartarak en fazla RAPD marker üreten primerler olmuştur. OPA-08, OPA-12, OPQ-02 ve OP-09 primerinin ise 4 band ile en az RAPD marker üreten primerler olduğu görülmüştür. Band genişliği en fazla 200-2500 bç büyüklüklerine sahip lokuslar üreten OPB-5 primerinde ve en az 500-1200 bç arasında lokus üreten OPA-17 primerinde saptanmıştır. OPP-08 primeri 150 bç uzunluğunda gözlenen en küçük marker ortaya çıkartırken, OPA-12 primerinden elde edilen en küçük DNA fragmentinin 900 bç büyüklüğünde olduğu tespit edilmiştir.

Ayrıca, YCA1 hattında OPA-12 ve Y hattında OPA-11' den elde edilen bandların tamamının polimorfik olduğu saptanmıştır. Diğer hatlarda tüm bandları polimorfik olan başka bir primer görülmemiştir. Bununla beraber, K hattında OPA-17, OPQ-02; DCA

hattında OP-09; YCA1 hattında OPA-8, OPP-15, OPQ-02, OP-09; YCA2' de OPA-12, RA-33 ve yumurtacı hatta OPA-10, OPP-15 ve OPQ-02 primerlerinin hiç polimorfik ürün vermediği belirlenmiştir. Tüm hatlarda ortaya çıkardığı polimorfizm oranları bakımından en yüksek ortalama sahip primer OPA-11 (0,644) en düşük primer ise OPQ02 (0,100) olarak tespit edilmiştir. Bu bakımdan OPA-11 primeri bu tip çalışmalarda kullanılabilecek uygun bir primer olarak değerlendirilmiştir. Tüm bildircin hatları tek tek ve genel olarak değerlendirildiğinde kullanılan primerler arasında en verimsiz primerin OPQ-02 olduğu ve onu OP-09' un takip ettiği belirlenmiştir. Bununla beraber, polimorfik band sayısı bakımından primerler için hatların ortalaması alındığında en fazla polimorfik band üreten primer 6,4 band ile RA-59 iken aynı şekilde en az polimorfik band üreten primer 0,4 band ile OPQ-02 olmuştur. Tüm bu sonuçlar OPQ-02 primerinin üzerinde çalışılan bildircin populasyonları için en az genetik bilgi verici primer olduğu görülmüştür. Tüm primerler için hatlardaki ortalama polimorfizm oranı ve ortalama polimorfik lokus sayısı sırasıyla 0,418 ve 82,4 olarak hesaplanmıştır.

4.2.1.2. Polimorfik lokus oranı (P_{poly})

Çalışmada kullanılan 24 adet primer ile 5 bildircin hattında ortaya çıkartılan toplam 197 RAPD lokusundan 196' sının, başka bir deyişle % 99,49' unun polimorfik olduğu belirlenmiştir. Ortaya çıkan bu yüksek polimorfizm oranı, seleksiyon uygulamalarının bildircin hatları üzerinde önemli genetik değişimlere yol açığının bir göstergesi olarak kabul edilmiştir. Bu yüksek polimorfizm oranına dayanarak, farklı verim ve yönlerde selekte edilmiş bildircinlerde genetik yapının da farklı yön ve oranlarda değiştiği söylenebilir. Ayrıca RAPD çalışmaları için seçilen 24 adet primerin daha önce kanatlılarda benzer çalışmalar için kullanılmış ve başarılı sonuçlar vermiş olmasının da polimorfizm oranını etkilediği ve çalışmanın başarısını arttırdığı düşünülmektedir. Bunların yanında, parlaklığı ve ayrımı iyi olmayan bandlar ile monomorf bandların değerlendirmeye alınmaması ortaya çıkan bu yüksek polimorfizm oranına katkıda bulunmuş olabileceği düşünülmektedir.

PCR çalışmalarında kullanılan 24 primerin ortaya çıkardığı toplam RAPD lokusunun 125 'i kontrol populasyonunda, 62' si DCA, 83' ü YCA1, 70' i YCA2 ve 72' sinin de Y

hattında polimorfizm gösterdiği belirlenmiştir (Çizelge 4.2). Tespit edilen polimorfik lokus sayılarına göre bildircin hatları için hesaplanan polimorfizm oranları ve primer başına ortalama polimorfik lokus sayıları aynı sırayla %63,45, %31,47, %42,13, %35,53, %36,55 ve 5,21, 2,58, 3,46, 2,92, 3 olarak bulunmuştur.

4.2.1.3. Ortalama allel sayısı (n_a)

Bıldircin populasyonlarındaki genetik değişimin saptanabilmesi amacıyla yararlanılan tüm allel frekansları üzerinden ortalama allel sayısı (n_a) $1,9949 \pm 0,0712$ olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.2). Her bir hat için ayrı ayrı hesaplama yapıldığında ortalama allel sayısı en yüksek kontrol hattında ($1,6345 \pm 0,4828$) belirlenmiş ve bunu sırasıyla YCA1 ($1,4213 \pm 0,4950$), Y ($1,3655 \pm 0,4828$), YCA2 ($1,3553 \pm 0,4798$) ve DCA ($1,3147 \pm 0,4656$) takip etmiştir. Bu değerlere göre hat içi genetik varyasyonun en fazla kontrol hattında, en düşük DCA hattında olduğu görülmüştür.

4.2.1.4. Ortalama etkili allel sayısı (n_e)

Tüm allel frekansları üzerinden ortalama etkili allel sayısı $1,6056 \pm 0,2960$ olarak hesaplanmıştır. Ortalama allel sayısında olduğu gibi burada da en yüksek değer K hattında ($1,4467 \pm 0,3953$) ve en düşük DCA hattında ($1,2223 \pm 0,3577$) tespit edilmiştir (Çizelge 4.2). Dolayısıyla ortalama allel sayısı için yapılan açıklamalara benzer yorumlar burada da yapılabilir.

4.2.1.5. Ortalama heterozigotluk (H)

Genetik varyasyonun önemli bir göstergesi olan ortalama heterozigotluk en yüksek kontrol gurubunda ($0,2531$) ve en düşük DCA gurubunda ($0,1253$) tespit edilmiştir (Çizelge 4.2). Oldukça düşük heterozigotluk değerine sahip olan DCA hattının diğer seleksiyon hatlarına göre daha homojen bir yapıda olduğu söylenebilir. Tüm bildircin hatları birlikte değerlendirildiğinde hat içi ortalama heterozigotluk (H_s) ve toplam heterozigotluk (H_T) değerleri sırasıyla $0,1686 \pm 0,0112$ ve $0,3538 \pm 0,0168$ olarak tahmin edilmiştir. Hat içi ortalama heterozigotluk değerinin toplam heterozigotluktan daha dü-

şük olması, beklendiği gibi hat içi genetik benzerliklerin hatlar arasındakinden daha yüksek olduğunu göstermiştir.

4.2.1.6. Shannon bilgi indeksi (I)

Populasyonlardaki genetik değişimin tahmin edilmesinde kullanılan ölçütlerden biri olan Shannon bilgi indeksi (*I*) diğer genetik göstergelerde olduğu gibi yine en yüksek kontrol gurubunda (0,3703) ve en düşük DCA hattında (0,1828) saptanmıştır (Çizelge 4.2). Tüm allel frekansları birlikte değerlendirildiğinde $0,5284 \pm 0,1565$ olarak hesaplanan Shannon sabiti çalışılan populasyonların yüksek polimorfizme sahip olduğunu göstermiştir.

Bıldırcın hatlarında genetik yapıların ortaya konulmasında kullanılan ortalama polimorfizm oranı, allel sayısı, ortalama etkili allel sayısı, ortalama heterozigotluk ve Shannon bilgi indeksi göstergelerinin hepsinin benzer sonuçlar vermesi çalışmanın güvenilirliğini desteklemektedir. Ele alınan bu göstergelere dayanarak çalışmada kullanılan primerlere göre kontrol gurubunun beklendiği gibi en yüksek genetik varyasyona sahip olduğu ve YCA1 seleksiyon hattının takip ettiği belirlenmiştir. Düşük canlı ağırlık ölçütüne göre selekte edilen hattın (DCA) ise diğer seleksiyon hatlarına kıyasla daha düşük hat içi genetik varyasyon gösterdiği ve oldukça homojen bir yapıya sahip olduğu görülmüştür.

4.2.1.7. Genetik farklılaşma katsayısı (G_{ST})

Populasyonlar arası genetik farklılıkların ortaya konulmasında kullanılan göstergelerden biri olan genetik farklılaşma katsayısı (G_{ST}) çalışmada kullanılan tüm bıldırcın hatları için ortalama 0,5233 olarak hesaplanmıştır. Bu değer, 12 generasyon seleksiyon uygulanan bıldırcın hatları arasında kullanılan 24 RAPD primerine göre genotipik olarak %52,33 oranında farklılaşma olduğunu ortaya çıkartmıştır. Aynı zamanda, populasyonların birbirlerinden olan farklılaşmalarını gösteren G_{ST} değerinden yararlanılarak hesaplanan toplam genetik değişimin % 52,33' ünün populasyonlar arasından, % 47,67' inin ise populasyonlar içerisindeki farklılıklardan kaynaklandığı olduğu tespit

edilmiştir. Hartl ve Clark (1997) populasyonlar arasındaki genetik farklılığın %25' den büyük olması durumunda bunun çok yüksek seviyede bir farklılaşma olduğunu bildirmiştir. Bu çalışmada hesaplanan G_{ST} değeri (0,5233) dikkate alındığında seleksiyon çalışmaları sonucunda bıldırcın hatları arasında oldukça yüksek genetik değişimler meydana geldiği belirlenmiştir.

4.2.1.8. Genetik mesafeler

Bu çalışmada kullanılan 24 adet primer ile elde edilen bireysel RAPD lokus sayıları ve lokus büyüklüklerinden faydalanılarak hat içi ve hatlar arası genetik değişimler hesaplanmıştır (Çizelge 4.3). Bu sonuçlara göre, ortak ata olan kontrol populasyonundan genotipik olarak en fazla uzaklaşan seleksiyon hattı yüksek yumurta verimine seleksiyon uygulanan Y hattı olmuştur (0,5064) ve bu onu DCA takip etmiştir (0,5041). Ortak ataya (K) genotipik olarak en yakın olan hat ise seleksiyon çalışmalarına diğer hatlardan daha sonra başlanan ve 7 generasyon seleksiyon uygulanan YCA2 hattı (0,6674) olmuştur. Bu hattı YCA1 izlemiştir (0,6640).

Çizelge 4.3. Bıldırcın hatları arasındaki genetik mesafe oranları *

Hatlar	K	DCA	YCA1	YCA2	Y
K		0,6040	0,6640	0,6674	0,6027
DCA	0,5041		0,8131	0,7442	0,7823
YCA1	0,4094	0,2069		0,8098	0,8128
YCA2	0,4044	0,2955	0,2110		0,7559
Y	0,5064	0,2456	0,2073	0,2798	

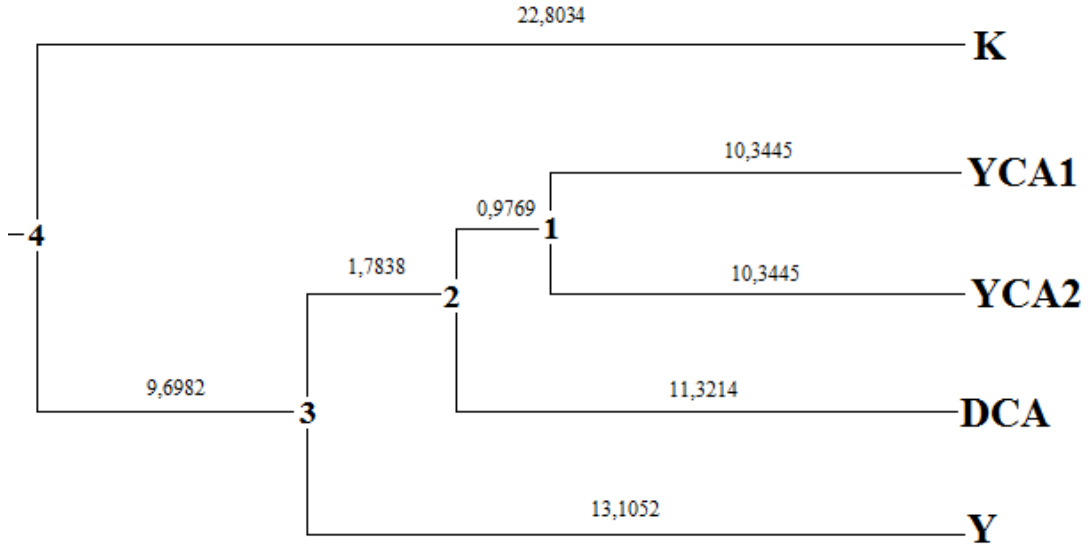
* Genetik benzerlik (üst diagonal) ve genetik uzaklık (alt diagonal).

Y ve DCA hatlarına farklı ölçütlere göre seleksiyon uygulanmasına rağmen canlı ağırlık bakımından birbirine oldukça benzer sonuçlar göstermişlerdir (Şekil 4.1). Ancak, bu iki hat arasındaki genotipik benzerlik (0,7823) beklendiği gibi en yüksek değere sahip çıkmamıştır. Ayrıca, canlı ağırlık bakımından birbirine oldukça yakın olan ve benzer şekilde yüksek canlı ağırlık değerlerine göre seleksiyon yapılan YCA1 ile YCA2 arasındaki genotipik benzerlik değeri (0,8098) de en yüksek değer olarak bulunmamış-

tır. Oldukça şaşırtıcı bir şekilde, tamamen ters yönde seleksiyon uygulanan ve canlı ağırlık gibi fenotipik değerleri birbirine en az benzeyen YCA1 ile DCA hatları arasındaki genetik benzerlik, bu çalışmada kullanılan primerlere göre en yüksek değere sahip olmuştur (0,8131). Bunu YCA1 ile Y arasındaki benzerlik (0,8128) izlemiştir.

4.2.1.9. Filogenetik ilişkiler

Bu çalışmada kullanılan 24 RAPD primeri ile elde edilen tüm allel frekanslarına dayanarak bıldırcın hatları arası genetik benzerlik ve farklılıklar hesaplanmıştır. Önceki bölümlerde ayrıntılarıyla anlatılan genetik ilişkileri özetlemek ve görselleştirmek amacıyla filogenetik dendogram çizilmiştir (Şekil 4.34). Burada açıkça görülmektedir ki uygulanan seleksiyon çalışmaları sonucunda kontrol populasyonundan genetik olarak en fazla uzaklaşan hat yumurta verimine göre seleksiyon yapılan Y hattı olmuştur. İki farklı ölçüt ile yüksek canlı ağırlıklarına göre seleksiyon yapılan YCA1 ve YCA2 hatlarının filogenetik ağacın aynı dalında kümelenmesi bu iki hattın ortak genlere sahip olduğunun bir göstergesi olarak değerlendirilmiştir. Benzer şekilde, farklı ölçütlere göre seleksiyon yapılmalarına rağmen canlı ağırlık ve diğer bazı fenotipik özellikler bakımından birbirine çok benzeyen DCA ve Y hattının yakın dallarda sıralanmalarında da bu iki hattın diğer seleksiyon hatlarına göre daha benzer genotipik yapıya sahip olduğunu göstermiştir.



Şekil 4.9. Bıldırcın hatları arasındaki filogenetik ilişkiler dendogramı

5. TARTIŞMA

Üzerinde herhangi bir seleksiyon çalışması yapılmamış rastgele yetiştirilen Japon bildircinlarına (*C.c. japonica*) ait DNA parmakizleri belirlemek için yapılan bir çalışmada, 8 primer (OPQ-1-GGGACGATGG, OPQ-2-TCTGTCCGGTC, OPQ-3-GGTCACCTCA, OPQ-4-AGTGCGCTGA, OPQ-8-CTCCAGCGGA, OPU-1-ACGGACGTCA, OPU-2-CTGAGGTCTC, OPU-3-CTATGCCGAC) kullanılarak RAPD yöntemi uygulanmıştır. Sekiz primerden 5' i (OPQ-1, OPQ-3, OPQ-4, OPU-1, OPU-2) değerlendirilebilir DNA fragmentleri üretmiştir. Toplam 69 RAPD lokusu saptanmış ve bunların 59' u polimorfik bulunmuştur. Ortalama polimorfik bant sayısı 11,8 olarak hesaplanmıştır. OPQ-4 primeri en çok ve OPQ-1 ise en az polimorfik bant üreten primerler olmuştur. Populasyon içi genetik benzerlik oranı %35 olarak ve toplam polimorfizm oranını %65 olarak tespit edilmiştir (Yeğenoğlu 1999). Herhangibir seleksiyon uygulanmamış bildircin populasyonu için burada kullanılan primer sayısı (8) ve saptanan lokus sayısı (69) bu tezde kullanılan primer sayısından (24) ve lokus sayısından (197) daha düşük olmasına rağmen elde edilen populasyon içi genetik benzerlik (%35) ve polimorfizm oranı (%65) değerleri bu tez çalışmasında kontrol hattı için bulunan değerler (%37 ve %63,5) ile oldukça benzer bulunmuştur. Bildircinlar üzerinde farklı zaman ve populasyonlarda benzer şekilde yapılan bu iki çalışmanın benzer sonuçlar vermesi, bildircin populasyonlarındaki genetik yapının oldukça benzer olduğunu düşündürmektedir.

Kumar vd (2000a), seleksiyon çalışmaları sonucu elde edilmiş 5 Japon bildircin hattını (Kontrol, WES, HWt, WFe, WBr) genetik olarak tanımlamak için RAPD-PCR çalışmaları yapmışlardır. 3 primer kullanarak hatlar arası ve içi genetik ilişkileri araştırmışlardır. Bunlardan 2 primer polimorfik ve 1 primer ise monomorfik sonuçlar vermiştir. Elde edilen verilere göre hatlar arası genetik benzerlik değerleri (0,738-0,984) hatlar içinden daha yüksek (0,667-0,798) bulunmuştur. Burada hesaplanan hatlar arası genetik benzerlik oranları bu tez çalışmasında bulunan sonuçlardan daha yüksek (0,6027-0,8131) ve dolayısıyla genetik uzaklık değerlerinin de daha düşük olduğu görülmüştür. Bu durumun kullanılan primer sayısının oldukça az olmasından, sadece 2 tanesinin polimorfizm göstermesinden ve uygulanan seleksiyon yoğunluğunun derecesinden kaynaklandığı sanılmaktadır. Bu çalışmada en yüksek genetik benzerlik değerinin (0,984)

iki etçi hat arasında (WFe-WBr) hesaplanmasına rağmen tamamlanan tez çalışmasının sonuçlarına göre en yüksek genetik benzerlik oranı (0,8131) YCA1 ve DCA arasında hesaplanmasına karşın

Sharma vd (2000a) farklı verim yönlerinde 8 generasyon seleksiyon yapılmış bildir-cin hatlarında genetik ilişkileri belirlemek için rastgele seçilen 20 adet primer kullanarak RAPD-PCR çalışmaları yapmışlardır. Yumurta verim yönünde seleksiyon yapılan WES ve KLQ, canlı ağırlık yönünde seleksiyon yapılan HBW, MTQ ve JLQ ile MTQ, KLQ ve JLQ hatlarının melezlenmesi sonucu elde edilen SLQ bildir-cin hatlarının her birinden 6 dişi 6 erkek olmak üzere toplam 72 bireyden alınan DNA' lar bu çalışmada kullanılmıştır. Her hatta ait bildir-cinlerin bireysel DNA' ları birleştirilmiş ve kullanılan primerler ile ayırt edilebilir 16 farklı RAPD deseni üretmiştir. Bunlardan polimorfik olduğu tespit edilen 6 primer seçilerek bireysel RAPD çalışmalarında kullanılmıştır. Bu 6 primerden tespit edilen lokus sayısı 7-13 arasında ve bunların büyüklüğü de 250-4000 bp arasında değişmiştir. 6 primer (OPA-07 GAAACGGGTG, OPA-12 TCGGCGATAG, OPA-17 GACCGCTTGT, OPP-11 AACGCGTCCG, OPM-10 TCTGGCGCAC, OPB-19 ACCCCCGAAG) ile ortaya çıkartılan 60 lokusun 19' u (%31,7) polimorfik ve primer başına lokus sayısı ortalama 3,16 olarak hesaplanmıştır. Ürettiği 11 lokusun 7' si polimorfik olan OPP-11 primeri en yüksek polimorfizme (% 63) ve 7 lokustan sadece 1 tanesi polimorfik olan OPB-19 ve OPA-17 primerleri en düşük polimorfizme (% 14) sahip olmuşlardır. Hat içi genetik benzerlik değerleri 0,749 (SLQ) ile 0,815 (WES) aralığında oldukça yüksek bulunmuştur. Bildir-cin hatları arasında genetik benzerlik 0,709 (HBW-SLQ)' dan 0,808 (WSE-MTQ)' e kadar genişlikte olduğu hesaplanmıştır. Bu çalışmada polimorfik sonuçlar veren primerlerin hepsinin bu tez çalışmasında da kullanılmasına rağmen polimorfik lokus sayısı (60) ve polimorfizm oranının (%31,7) bu tezde bulunan sonuçlardan (197 ve %99,49) oldukça düşük olduğu görülmüştür. Değerlendirmeye alınan fragment büyüklük aralığı (250-4000) bu tezde tespit edilenden (150-2500) daha geniş olmasına rağmen bant sayıları bakımından benzer sonuçlar elde edilmiştir (4-14). Tez çalışmasında lokus sayısı ve polimorfizm bakımından yüksek değerler gösteren OPP-11 primeri bu çalışmada da benzer sonuçlar ortaya çıkartmıştır. Benzer şekilde seleksiyon uygulanmış yaklaşık aynı sayıda bildir-cin ile RAPD uygulanan bu iki çalışmanın sonuçları genel olarak benzemesine rağmen iki ça-

lışma arasındaki farkların burada sadece 6 primer kullanılmasından ortaya çıkmış olabileceği dūřünölmektedir.

Bıldırcınlar üzerinde ölkemizde yapılan bir çalışmada, ebeveyn-yavru akrabalığını saptanması için RAPD yöntemini kullanılmıştır (Akyüz vd 2002). Temel sürüden rastgele seçilen 9 erkek, dörderli kümelere ayrılan 36 diři ile birleştirilerek akrabalı yetiştirilmiş toplam 36 aile oluşturulmuştur. Bu ailelerden 5 generasyon sonra elde edilen bıldırcınlar ve akrabasız yetiştirilen kontrol hattına ait bıldırcınlardan toplam 69 bireye ait DNA örneği RAPD-PCR çalışmalarında kullanılmıştır. Başlangıçta denenen 10 adet primerden en iyi sonucu veren P-06 (CTGCAGCCGT) primeri ile çalışmalar tamamlanmıştır. Sonuçta, araştırılmaya alınan bireylerde toplam 145 RAPD lokusu belirlenmiştir. Bireyler arasındaki genetik benzerlik değerleri oldukça dūřük (0,0069-0,2759) bulunmuş ve çalışma sonunda RAPD-PCR parmak izi yönteminin bıldırcın popülasyonunu oluşturan bireyler arasındaki genetik mesafenin belirlenmesinde başarılı bir şekilde uygulanabileceği gösterilmiştir. Bu çalışmada tespit edilen genetik benzerlik değerlerinin bu tez çalışmasında bulunan değerlerden oldukça dūřük (0,6027-0,8131) olduğu görölmüştür. Aynı türden bıldırcınlar üzerinde yapılmış olmalarına rağmen bu iki çalışma arasında ortaya çıkan farklılıkların uygulanan seleksiyon ölçütlerinin farklı olmasına ve kullanılan primer sayısına bağlı olduğu dūřünölmektedir.

Ali vd (2003c) Mısırdaki bulunan yumurta ve et verim yönüne göre seleksiyon yapılmış 5 tavuk hattı arasındaki genetik benzerliği belirlemek için 4 adet 10 nükleotidlik (AGGCCCTGC, ATGCCCTGT, AAAGCTGCGG, ACCGCCGAAG) ve 2 adet 21 nükleotidlik primer ile RAPD yöntemini çalışmışlardır. Genetik benzerliğin 3 yumurtacı hat için (Anshas, Silver Montazah ve Mandarah) %72,4-85,4 arasında değiştiğini ve et tipi hatlarda (Baheij ve El-Salam) saptanan genetik benzerliğin daha yüksek (% 86,9) olduğunu bildirmişlerdir. Benzer şekilde bu tez çalışmasında da yüksek canlı ağırlık yönünde seleksiyon yapılan iki seleksiyon hattı (YCA1-YCA2) arasındaki genetik benzerlik (0,8098), yakın fenotipik özelliklere sahip DCA ve Y arasındaki genetik benzerlikten (0,7823) daha yüksek bulunmuştur.

Dahlem Red tavuk ırkına ait aynı temel populasyondan (NB) köken alan 2 seleksiyon hattı 5 generasyon boyunca tam akrabalı (FS) ve yarı akrabalı (HS) şekilde yetiştirilmiştir. Bu hatlarda 5 generasyon sonra fenotipik değerlerden hesaplanan hat içi akrabalık derecesi sırasıyla % 67,2 ve % 44,9 olarak bulunmuştur. Bu hatlarda genetik benzerlik ve uzaklıkları moleküler seviyede incelemek için 42 primer kullanılarak RAPD-PCR çalışmaları yapılmıştır. Bu primerlerin 21' i (TGGCGTCCTT, TCGGCGGTTC, CTCGCTATCC, TCGGCACGCA, CCCC GGTAAC, AAGGGCGAGT, CCAGCCGAAC, TGTGCCCGAA, TCTCCGCAAC, CCCCTATCA, ACCGTTCCAG, GTCGTTCTTG, AAAGGGGTCC, CATTGGGGAG, GGCACGTAAG, ACAACGCCTC, GGGACGTTGG, AGCGTCACTC, CAGCGACTGT, GTCCGTA CTG, TCGCCCCAAA) değerlendirilebilir nitelikte 128-5467 bp aralığında değişen uzunluklarda toplam 111 lokus vermiştir. Populasyon içi genetik benzerliğin 0,7054' den (NB) 0,7139' a (FS) kadar değiştiği ve FS hattına ait bireyler arası genetik benzerliğin en yüksek olduğu saptanmıştır. Populasyonlar arası genetik benzerlik değerlerinin 0,6868' den (NB-HS) 0,7812' e (HS-FS) değiştiği bildirilmiştir. Bu değerlere göre FS ve HS' nin genetik yapı bakımından çok benzer oldukları tespit edilmiştir. Bant sayılarına göre hesaplanan genetik mesafe değerleri FS-NB' nin en yüksek, FS-HS' nin de en düşük genetik mesafeye sahip olduğunu göstermiştir. Genetik mesafeler NB-HS arasında 0,3789, NB-FS arasında 0,3856, HS-FS arasında 0,2693 olarak bulunmuştur Chatterjee vd (2007). Tam akrabalı yetiştirilen ve hat içi bireyler arası benzerliğin en fazla olduğu hem fenotipik hem de genotipik olarak saptanan FS hattı ortak ata NB populasyonundan HS hattına göre daha fazla uzaklaştığı bildirilmiştir. Bu durum göz önüne alındığında, bu tez çalışmasında Y hattının genetik olarak kontrol hattından en fazla uzaklaşan (0,5064) hat olması yumurta verimine göre seleksiyonun diğer ölçütlerden daha fazla hat içi genetik benzerliğe yol açtığı kanısını uyandırmıştır.

Rahimi vd (2005) et ve yumurta verimlerine göre 10 generasyon ıslah çalışması yapılmış tavuk hatları arasındaki genetik değişimleri hesaplamak için RAPD yöntemini çalışmışlardır. Her iki cinsiyetten 100 bireye ait DNA örneklerinde 20 primer (TCACGATGCA, TCTCGATGAA, CGGCCCTGT, TGGTCACTGT, GGA CTGGAGT, TGGACCGGTG, GGACCCAACC, GGGCTAGGGT, GAAACGGGTG, GACCGCTTGT, AACGCGTCGA, TTCGAGCCAG,

GAACGGACTC, GTGAGGCGTC, GTTGCCAGCC, AAAGCTGCGG, TGAGTGGGTG, TTCCCAGGAT, AAGCCTCGTC, CGCGGCCATA) denenmiş ve değerlendirilebilir sonuçlar veren 14 primer çalışmada kullanılmıştır. Toplam 140 lokus saptanmış ve bunların 63 tanesi (% 45) polimorfik bulunmuştur. Büyüklükleri 200-2100 bç ve sayıları 4-16 arasında değişen lokuslar saptanmıştır. Genetik benzerlik hesaplamaları ortak lokus sayısına göre yapılmış ve 0,79-0,96 arasında değiştiği hesaplanmıştır. Hat içi ortalama genetik benzerlik değeri 0,89 olarak bulunmuştur. Tavuklar üzerinde yapılmış olmasına rağmen seleksiyon ölçütleri, RAPD sonucu saptanan lokus sayısı ve lokus büyüklükleri bakımından bu çalışma, bu tez sonuçları ile oldukça benzer göstermektedir.

Kumar vd (2000b), 1972 yılından beri yumurta verim yönünde 23 generasyon seleksiyon uygulanan 4 Beyaz Leghorn (IWH, IWJ, IWI, IWG) ve 1 kontrol (IWC) hattında genetik yapıyı araştırmak için 7 primer (GGCACTGAGG, AATCGGGCTG, GAGCCTCCAA, TGCCGAGCTG, TGCCGAACTG, TCTGTGCTGG, GGTGACGCAG) ile RAPD çalışmışlardır. Primer başına 3-9 adet ve 300-3100 bç büyüklüğünde lokuslar saptanmıştır. Ortak lokus sayılarına göre hesaplanan hat içi genetik benzerlik değerleri 0,64 (IWI) ile 0,76 (IWJ) aralığında değişmiştir. Hatlar arası genetik mesafe değerleri 0,05 (IWJ-IWH) ve 0,15 (IWI-IWC) aralığında oldukça düşük bulunmuştur. Bu çalışmada tespit edilen genetik benzerlik değerlerinin burada saptanan değerlerden yüksek olmasının bu çalışmada seleksiyonun sadece yumurta verimine göre aynı yönde uygulanmış olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu tez çalışmasında da aynı yönde seleksiyon uygulanan YCA1 ve YCA2 hatlarının yüksek genetik benzerliğe sahip olması bu düşüncüyü desteklemektedir.

Smith vd (1996) et ve yumurta verimleri için 15 generasyon seleksiyon yapılmış 4 tavuk ırkının (Araucón, Rhode Island Red, White Leghorn, White Plymouth Rock) her iki cinsiyetinden 30 birey, uzun süre rastgele çiftleştirilmiş RBC-2 hindi popülasyonundan 20 birey ve bir ticari hindi hattından (Tc) 30 birey üzerinde moleküler genetik çalışmalar yapmışlardır. OPA, OPB ve OPG primer dizilerinden rastgele seçilen 60 primer ile RAPD yöntemini kullanarak popülasyonlar arasındaki ve içindeki genetik polimorfizmi ve akrabalığı hesaplamışlardır. 60 primerin 42'si (% 70) popülasyonların

çoğunda veya en az birinde sayıları 3-8 arasında ve büyüklükleri 250-2500 bç aralığında değişen lokuslar üretmiştir. Tavuklarda ırk içi ortalama genetik benzerlik değeri en düşük RIR ve WPR ırkında (0,70) bulunurken en yüksek AR ırkında (0,83) saptanmıştır. Hindilerde ise RBC-2 için hesaplanan ortalama genetik benzerlik değeri (0,73) Tc için hesaplanan değerden (0,77) daha düşük bulunmuştur. Bu çalışmada 6 primer (OPA-04, OPA-14, OPB-07, OPB-19, OPG-03, OPG-05) ile tüm popülasyonlara ait bireyler arası genetik mesafeler belirlenmeğe çalışılmıştır. Irklar arası genetik mesafeler (D) 0,02' den (RBC2-Tc ve AR-RIR arasında) 0,28' e (RIR-RBC2 ve AR-RBC2) kadar değiştiği bildirilmiştir. Burada kullanılan hayvan materyallerinin uzun yıllardır seleksiyona tabi tutulmaları, tavuk ıve hindi ırklarının et ve yumurta verimleri bakımından oldukça homojen genotiplere sahip olmaları ve çalışmada kullanılan primer sayısının (6) az olması burada hesaplanan genetik uzaklıkların bu tezde saptanan değerlerden daha düşük olmasının nedenleri olduğu düşünülmektedir.

Benzer bir araştırmada, sırasıyla kısmi yumurta verimine ve yumurta kütlesine göre seleksiyon yapılmış White Leghorn ve Rhode Island Red, erken vücut gelişimine göre seleksiyon yapılmış Red Cornish ve White Plymouth Rock tavuk ırkları ile yerli tavuk ırkı olan Kadaknath arasındaki genetik çeşitliliği tespit etmek amacıyla RAPD tekniği kullanılmıştır. Kullanılan 50 primerden sadece 12 tanesi ayırt edilebilir DNA desenleri ortaya çıkartmıştır. Saptanan 94 lokustan 25' inin (% 26,6) polimorfik olduğu belirlenmiştir. Elde edilen bant büyüklükleri 250-4000 bç arasında değişmiş ve en düşük lokus sayıları OPM-09 primeriyle RIR ve KN ırklarında, OPA-10 primeriyle RIR ve RC ırklarında saptanmıştır. OPP-17 primeri ile 400 bç büyüklüğünde monomorf bir lokus bulunmuştur. Hat içi genetik benzerlik oranları 0,81 ile 0,96 arasında değişmiştir ve genelde dışarıdan gelen ırkların yerli ırklara göre daha fazla birbirlerine benzedikleri bildirilmiştir. WL, RIR, RC, WR ve KN ırkları için sırasıyla gözlenen band sayısı ortalama 7,00, 7,41, 6,83, 6,58, ve 6,58 olarak hesaplanmıştır. Yerli ırka göre seleksiyon yapılan ırklar daha fazla ırk içi genetik benzerlik göstermiştir. Et tipi 2 ırk kendi aralarında diğerlerine göre daha fazla genetik benzerlik göstermişlerdir. White Leghorn ırkının diğer ırklara en az benzeyen ırk olduğu saptanmıştır. Ayrıca yerli ırkın en fazla Rhodes Island Red ırkına benzediği görülmüştür ve sonuçta RAPD yönteminin çeşitli tavuk ırkları arasında polimorfizmi belirlemek için yapılan çalışmalarda etkili olduğu gösterilmiştir.

Ortak bant sayısına (BS) göre hesaplanan genetik benzerlik oranı en düşük WL ve RC arasında (0,778) ve en yüksek RIR ile KN (0,945) arasında bulunmuştur (Sharma vd 2001b). Bu çalışmada saptanan genetik polimorfizm oranı (%26,6) bu tez çalışmasında bulunandan (%99,45) oldukça düşük olmasına rağmen ortalama lokus sayısı, lokus büyüklükleri ve hesaplanan genetik benzerlik bakımından daha yüksek değerler elde edilmiştir. Ancak bu iki çalışmada da farklı verim yönlerinde selekte edilmiş kanatlı populasyonlarında hat içi genetik benzerlik değerlerinin, üzerinde herhangi bir çalışma yapılmamış populasyonlardan daha yüksek çıkması ortak bir sonuç olarak görülmektedir. Bu da seleksiyonun hat içi genetik benzerliği arttırdığının açık bir sonucudur.

Yukarıda da özetlendiği gibi, çeşitli kanatlı çiftlik hayvanı tür ve ırklarında, farklı verim ve yönlerde seleksiyon çalışmaları sonucu elde edilmiş genotiplerde genetik yapıları ve ilişkileri belirlemek amacıyla RAPD yöntemi kullanılarak birçok çalışma yapılmıştır. Ortaya çıkartılan sonuçlar, RAPD yönteminin özellikle genetik polimorfizm ve filogenetik ilişkileri tahmin etmede oldukça kullanılabilir olduğunu göstermiştir.

6. SONUÇ

Çalışmada kullanılan 24 adet primer ile 5 bildircin hattında ortaya çıkartılan toplam 197 RAPD lokustan 196' sının polimorfik olduğu, DNA fragment büyüklüklerinin 150-2600 bç ve fragment sayılarının da 4-14 arasında değiştiği saptanmıştır (Çizelge 4.1). Tespit edilen lokusların 125'i K, 62' si DCA, 83' ü YCA1, 70' i YCA2 ve 72' si de Y hattında polimorfizm göstermiştir (Çizelge 4.2). Hat içi polimorfizm oranları ve primer başına ortalama polimorfik lokus sayıları aynı sırayla %63,45, %31,47, %42,13, %35,53, %36,55 ve 5,21, 2,58, 3,46, 2,92, 3 olarak bulunmuştur.

OPA-10, OPP-08, OPQ-04 ve RA-59 primerlei ortaya çıkarttıkları 14 lokus ile en fazla, OPA-08, OPA-12, OPQ-02 ve OP-09 primerleri ise 4 band ile en az RAPD marker üreten primerler olmuştur. En yüksek band genişliği 200-2500 bç büyüklüklerine sahip lokuslar üreten OPB-5 primerinde ve en az 500-1200 bç arasında lokus üreten OPA-17 primerinde saptanmıştır. OPP-08 primeri 150 bç uzunluğunda gözlenen en küçük marker ortaya çıkartırken, OPA-12 primerinden elde edilen en küçük DNA fragmentinin 900 bç büyüklüğünde olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, YCA1 hattında OPA-12 ve Y hattında OPA-11' den elde edilen bandların tamamının polimorfik olduğu saptanmıştır.

Populasyonlar arası genetik farklılıkların ortaya konulmasında kullanılan göstergelerden biri olan genetik farklılaşma katsayısı (G_{ST}) çalışmada kullanılan tüm bildircin hatları için ortalama 0,5233 olarak hesaplanmıştır. Tüm bildircin hatları birlikte değerlendirildiğinde hat içi ortalama heterozigotluk (H_S) ve toplam heterozigotluk (H_T) değerleri sırasıyla $0,1686 \pm 0,0112$ ve $0,3538 \pm 0,0168$ olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.2).

Ortak ata olan kontrol populasyonundan genotipik olarak en fazla (0,5064) Y hattının, en az (0,4044) YCA2 hattının uzaklaştığı, en yüksek genetik benzerliğin (0,8131) ters yönde seleksiyon uygulanan ve canlı ağırlık gibi fenotipik değerleri birbirine en az benzeyen YCA1 ile DCA hatları arasında olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.3).

Bu tez çalışmasında, RAPD-PCR yöntemi kullanılarak elde edilen bulgular doğrultusunda, farklı verim yönlerinde selekte edilmiş bıldırcın popülasyonlarında DNA parmakizleri belirlenerek genetik yapılarının ortaya çıkarılması ve bu popülasyonlara özgü RAPD band modellerinin analizi temelinde hatlar arasındaki genetik benzerlik ve uzaklıklar saptanmıştır. Bıldırcın hatlarında kesin olarak belirlenmiş spesifik bir RAPD marker bulunamamasına rağmen bazı primerlerin (OPA-11, OPA-12, RA-59, OPP-08) ortaya çıkarttığı sonuçların hatlar için oldukça ayırt edici olduğu görülmüştür. Bıldırcın hatlarına özel sonuçlar veren bu primerler ile yapılacak daha ayrıntılı çalışmalar sonucunda bıldırcın hatlarını kesin olarak ayırt edebilecek spesifik markerlerin de tespit edilebileceği ön görülmektedir.

RAPD analizlerinde kullanılacak primer ve DNA örneği sayısı bakımından kesin sınırlar bulunmamaktadır. Ancak, literatür araştırmalarına ve bu çalışmanın sonuçlarına dayanarak, burada kullanılan hayvan materyallerine ait DNA örnek sayısı (70) ve çalışılan primer sayısının (24) böyle bir çalışma için oldukça yeterli olduğu söylenebilir. Bu durum göz önüne alındığında burada ortaya çıkartılan sonuçların güvenilirliğinin de yüksek olduğu düşünülmektedir. Bu bakımdan bu tez çalışmasında tespit edilen genetik bilginin sonraki benzer çalışmalar için iyi bir alt yapı oluşturacağı düşünülmektedir.

Tarımsal işletmeler, artan dünya nüfusunun ihtiyaçlarını kısıtlı olanaklarla karşılamak için yüksek verimli materyaller ile çalışma eğilimindedirler. Bundan dolayı evcil hayvan ıslahı ile uğraşan araştırmacıların en önemli hedefi, mevcut ekonomik koşullarda yetiştiricilere en fazla geliri getirecek genotipleri geliştirmek olmuştur. Evcil hayvanların verimlerinin ıslahında öncelikle üzerinde durulan özellik bakımından popülasyonun genetik yapısının çok iyi tanımlanması, kalıtım ve değişim olaylarının çok iyi bilinmesi, takip edilmesi ve değerlendirilmesi gerekmektedir. Popülasyonların genetik özelliklerinin iyi bir şekilde belirlenmesi ıslah faaliyetlerinin daha hızlı, güvenilir ve verimli olmasını da sağlayacaktır. Hayvansal ürünlerde nitelik ve nicelik bakımından hedeflenen seviyelere ulaşmada genetik analize dayalı ve uygulamalı genetiğin gerektirdiği yöntemlerle çalışmanın büyük katkısı bulunmaktadır.

Çiftlik hayvanlarının ekonomik özelliklerini etkileyen yüzlerce gen taşıdıkları tahmin edilmektedir. Bazı genler bir özellik üzerinde doğrudan etkili olup tespiti ve tanımlanmaları kolayken, ekonomik önemi olan karakterleri belirleyen genler oldukça karmaşık yapıdadır. Bu genlerin işleyişlerini araştırma konusu yapmış moleküler genetik alanındaki çalışmalar baş döndürücü bir hızla ilerlemektedir. Çiftlik hayvanlarında genlerin yapıları ve işlevlerinin belirlenmesinde, karşılaştırmalı kromozom incelemelerinde, farklı türlerdeki evrimsel sürecin aydınlatılmasında, ekonomik önemi olan lokusların belirlenmesinde ve marker destekli seleksiyon uygulamalarında bu yöntemlerden yoğun şekilde faydalanılmaktadır. Çiftlik hayvanlarının verimleriyle ilgili yapılan seleksiyon çalışmalarında düşük kalıtım derecesine sahip, zor belirlenen, cinsiyete bağlı ve ileri yaşlarda ortaya çıkan özelliklerin seleksiyonunda, bir ölçüt olarak DNA markerlerinin kullanılabilir olduğu birçok literatürde gösterilmiştir. Buna karşın benzer çalışmalar ülkemizde önemi ölçüsünde yeterli düzeyde kullanım alanı bulamamıştır. Hem klasik seleksiyon uygulamaları hemde RAPD-PCR gibi moleküler bir yöntem kullanılarak tamamlanan bu çalışmanın ülkemiz adına önemli bilimsel bir adım olduğu ve bu alanda yapılacak çalışmalara katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

7. KAYNAKLAR

- ADAN, A.G., CUSHWA, W.T., ANDERSON, G.B. and MEDRANO, J.F. 1997. Ovine-specific Y-chromosome RAPD-SCAR marker for embryo sexing. *Animal Genetics*, 28, 135-138.
- AHLAWAT, S.P.S., SUNDER, J., KUNDU, A., CHATTERJEE, R.N., RAI, R.B., KUMAR, B., SENANI, S., SAHA, S.K. and YADAV, S.P. 2004. Use of RAPD-PCR for genetic analysis of Nicobari fowl of Andamans. *British Poultry Science*, 45 (2), 194-200.
- AKHAN, S. ve CANYURT, M.A. 2005. Üç Farklı Kuluçkahanedeki Damızlık Gökkuşığı Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1972) Stokları Arasında Genetik Çeşitliliğin RAPD-PCR Yöntemiyle Belirlenmesi Üzerine Bir Araştırma. *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi*, 22(1-2): 25-30.
- AKYÜZ, B., GÜNEREN, G., ÖZDEMİR, E., ERTUĞRUL, O. ve ÖZDEMİR, S. 2002. Bildircinlarda akrabalığın saptanmasında rasgele çoğaltılmış polimorfik DNA parmak izi yönteminin kullanılma olanakları. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 49, 129-134.
- ALI, B.A., AHMED, M.M.M., BAHIE EL-DEEN, M. and SHALAN, H.M. 2002. Genetic variability in the 17th generation of Japanese quail selected for high eggs and meat production. *Egypt Poultry Science Journal*, 22: 59-71.
- ALI, B.A. 2003a. Genetics similarity among four breeds of sheep in Egypt detected by RAPD markers. *African Journal of Biotechnology*, 2 (7): 194-197.
- ALI, B.A. 2003b. Detection of DNA alteration in abnormal phenotype of broiler chicken male by random amplified polymorphic DNA (RAPD). *African Journal of Biotechnology*, 2 (6), 153-156.
- ALI, B.A., AHMED, M.M.M. and ALY, M.O.M. 2003c. Relationship between genetic similarity and some productive traits in local chicken strains. *African Journal of Biotechnology*, 2 (2): 46-47.
- ALI, B.A., HUANG, T.H., QIN, A.N. and WANG, X.M. 2004. A review of random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers in fish research. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 14: 443-453.
- APOSTOLIDIS, A.P., MAMURIS, Z., KARKAVEIA, E. and ALIFAKIOTIS, T. 2001. Comparison of Greek breeds of horses using RAPD markers. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 118: 45-46.
- APPA-RAO K.B.C., BHAT, K.V., and TOTEY, S.M. 1996. Detection of species-specific genetic markers in farm animals through random amplified polymorphic DNA (RAPD). *Genetic Analysis-Biomolecular Engineering*, 13 (5): 135-138.
- APPANNAVAR, M.M., GOVINDAIAH, M.G. and RAMESHA, K.P. 2003. Genetic Distance Study among Deoni Breed of Cattle Using RAPD Markers. *Asian-Australian Journal Animal Science*, 16(3): 315-319.
- ASAL, S., DELLAL, G. ve KOCABAŞ, Ş. 1996. Akkaraman ve Anadolu merinoslarında hemoglobin ve arilesteraz tipleri. *Turk Journal of Veterinary Animal Science*, 20: 215-217.
- BALCIOĞLU, M.S. 1995. Türkiye Yağlı Kuyruklu Koyun Irklarında Genetik Varyasyon. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Zootekni Anabilim Dalı, *Doktora Tezi*, 62 sayfa. Ankara.
- BARBANERA, F., NEGRO, J.J., GIUSEPPE, G.D., BERTONCINI, F., CAPPELLI, F. and DINI, F. 2005. Analysis of the genetic structure of red-legged partridge

- (*Alectoris rufa*, Galliformes) populations by means of mitochondrial DNA and RAPD markers: a study from central Italy. *Biological Conservation*, 122 (2005) 275–287.
- BEDNARCZYK, M., SIWEK, M., MAZANOWSKI, A., and CZEKALSKI, P. 2002. DNA polymorphism in various goose lines by RAPD-PCR. *Folia Biologica (Krakow)*, 50: 45-48.
- BELLO, N. and SANCHEZ, A. 1999. The identification of a sex-specific DNA marker in the ostrich using a random amplified polymorphic DNA (RAPD) assay. *Molecular Ecology*, 8, 667-669.
- BUDAK F.A., 2003. Karayaka, Sakız ve Bafra Koyun Irklarının RAPD-PCR Yöntemi ile Moleküler Genetik Analizi. Kırıkkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, *Yüksek Lisans Tezi*, 84 sayfa. Kırıkkale.
- CALLEJAS, C. and OCHANDO, M.D. 1998. Identification of Spanish barbel species using the RAPD technique. *Journal of Fish Biology*, 53, 208-215.
- CALVO, J.H., ZARAGOZA, P. and OSTA, R. 2001. Random amplified polymorphic DNA fingerprints for identification of species in poultry pate. *Poultry Science*, 80 (4): 522-524.
- CERİT, H. 2003. Bir Holştayn Sığır Populasyonunda Bazı Genomik Lokusların Allel Frekanslarının Belirlenmesi ve Birey Tanımlanmasındaki Önemi. *Turk Journal of Veterinary Animal Science*, 27: 81-91.
- CHAI, K.M., HUAT, L.C., THAI, C.S. and PHANG, S.T.W. 1997. Random amplified polymorphic DNA (RAPD) fingerprint profiling of domestic and game birds. *Asia-Pacific Journal of Molecular Biology and Biotechnology*, 5 (3): 173-182.
- CHATTERJEE, R.N., SHARMA, R.P., REDDY, B.L.N., NIRANJAN, M., SHIVAPRASAD and MISHRA, S.K. 2007. Genetic Analysis of Highly Inbred Chicken Using RAPD-PCR and Immunocompetence. *International Journal of Poultry Science*, 6 (12): 967-972.
- CUSHWA, W.T. and MEDRANO, J.F.1996. Applications of The Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) Assay for Genetic Analysis of Livestock Species. *Animal Biotechnology*, 7(1):11-31.
- CUSHWA, W.T., DODDS, K.G., CRAWFORD, A.M. and MEDRANO, J.F. 1996. Identification and genetik mapping of random amplified polymorphic DNA(RAPD) Markers to the Sheep Genome. *Mamalian Genome*, 7(8): 580-585.
- DEEPAK G.Y., KUMAR S., SINGH R.K., BUTCHAIHAH G., JOHARI D.C., 1998. DNA polymorphism in various White Leghorns lines by RAPD-PCR. *Proc. 10th European Poultry Conference*, Jerusalem, Israel 21-26.
- DEVİRİM, A.K., KAYA, K., GUVEN, A. ve KOCER, B. 2007. Genetic diversity of local geese of varying productivity and feather color in Kars. *Biochemical Genetics*, 45:515-522.
- DOLMATOVA, I.Y.U., SAITBATALOV, T.F., and GAREEV, F.T. 2000a. The study of genetic polymorphism using randomly amplified polymorphic DNA in ducks: Differences between breeds. *Russian Journal of Genetics*, 36(5): 553-557.
- DOLMATOVA, I.YU., SAITBATALOV, T.F., and GAREEV, F.T. 2000b. The study of genetic polymorphism using randomly amplified polymorphic DNA in ducks: Estimation of interlinear differences in Peking duck. *Russian Journal Of Genetics*, 36(6): 661-667.

- ELMACI, C, KOYUNCU, M. ve TUNCEL, E. 2001. Bursa Yöresi Kıl Keçilerinde Transferin Polimorfizmi. *Turk Journal of Veterinary Animal Science*, 25: 131-134.
- ELMACI, C., ONER, Y. ve BALCIOĞLU, M.S. 2006. Genetic polymorphism of beta-lactoglobulin gene in native Turkish sheep breeds. *Biochemical Genetics*, 44 (7-8): 379-84.
- ELMACI, C., ÖNER, Y., OZİS, S. ve TUNCEL, E. 2007. RAPD Analysis of DNA Polymorphism in Turkish Sheep Breeds. *Biochemical Genetics*, 45: 691-695.
- GARCIA, C.B. and ARRUGA, M.V. 2005. Advances in DNA Analysis by RAPD Methodology in An Avian Species with Little Available Sequence Information: the Red-Legged Partridge (*Alectoris rufa*). *Avian and Poultry Biology Reviews*, 16 (2), 81-86.
- GARCIA, C. B. and ARRUGA, M. V. 2006. Application of RAPD Methodology to Preserve the Purity of Wild Red-Legged Partridges (*Alectoris rufa*, L.). *Wild Biological Practicse*, 2(1): 13-16.
- GÜNEREN, G., 1999. Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile Rasgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA Parmakizi Yönteminin (RAPD-PCR) Türkiye Yerli Sığır Irklarında Uygulanma Olanakları. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Zootekni Anabilim Dalı, *Doktora Tezi*, Ankara.
- GRIFFITHS, A.J.F., MILLER, J.H., SUZUKI, D.T., LEWONTIN, R.C. and GELBART, W.M. 1996. An introduction to Genetic Analysis (6th edn.). *W.H. Freeman and Co., NY*.
- GWAKISA, P.S., KEMP, S.J. and TEALE, A. J. 1994. Characterization of Zebu cattle breeds in Tanzania using random amplified polymorphic DNA markers. *Animal Genetics*, 25, 89-94.
- HARRIS, E.L.V. and ANGAL, S. T. 1995. Protein purification methods: a practical approach. *P. imprenta* : Oxford.1st ed. 317 p.
- HARTL, D.L. and CLARK, A.G. 1997. Principles of Population Genetics. Third Edition. *Sinauer Associates*, Sunderland, Massachusetts.
- HEDRICK, P.W. 1985. Genetics of populastions. Jones and Bartlett publishers. Boston.
- HIDAS, A., SZALAY, I., KOPPANY, G. and SOFALVY, F. 2000. RAPD marker analysis of domestic fowl stocks maintained in a Hungarian gene conservation program. Proc. XXI. *World's Poultry Congress*, 20-24. August, Montreal, CANADA.
- HIDAS, A. and EDVI, M.E. 2001. Sex determination with RAPD markers. *Proc. 2nd Poultry Genetics Symposium*, 12-14. Sept. Gödöllő, Hungary, 89.
- HIDAS, A., KOPPANY, G., MIHOK, S., EDVI, M. E. and SZALAY, I. 2002. DNA Polymorphism (RAPD) in Hungarian Turkey Gene Conservation Stocks. *11th European Poultry Conference*, 6-10 September, Bremen, Germany.
- HINCKLEY, J.D., PARK, R.L., XIONG, S., ANDERSEN, W.R. and KOOYMAN, D.L. 2005. Identification and Development of Sex Specific DNA Markers in the Ostrich Using Polymerase Chain Reaction. *International Journal of Poultry Science*, 4(9): 663-669.
- HORN, P.L., RAFALSKI, J.A. and WHITEHEAD, P.J. 1996. Molecular Genetic (RAPD) Analysis of Breeding Magpie Geese. *The Auk*, 113(3): 552-557.
- HUANG, M.C., LIN, W.C., HORNG, Y.M., ROUVIER, R. and HUANG, C.W. 2003. Female-specific DNA sequences in geese. *British Poultry Science*, 44(3): 359-364.

- HUNT, G.J. and PAGE, R.E. 1992. Patterns of inheritance with RAPD molecular markers reveal novel types of polymorphisms in the honey bee. *Theoretical and Applied Genetics*, 85: 15-20.
- İVGİN, R. ve BİLGEN, G. 2002. Estimation of Genetic Distance in Meat and Layer Pure Lines Using Randomly Amplified Polymorphic DNA. *Turk Journal of Veterinary Animal Science*, 26: 1117-1120.
- JEFFREYS, A.J., WILSON, V. and THEIN, S.L. 1985. Hypervariable 'minisatellite' regions in human DNA. *Nature*, 314: 67-73.
- JOSHI, C.G., RANK, D.N., BRAHMAKSHTR, B.P., PATEL, A.V., VATALIYA, P.H., MURALEEDHARAN, P., KHODA, V.K. and SOLANKI, J.V. 1998. RAPD Analysis By PCR Using Arbitrary Primers in Different Animal Species. *Indian Veterinary Journal*, 75, 1029-1031.
- KANTANEN, J., VILKKI, J. ELO, K. and MAKITANILA, A. 1995. Random Amplified Polymorphic DNA in Cattle and Sheep-Application for Detecting Genetic-Variation. *Animal Genetics*, 26(5):315-320.
- KARABAĞ, K., BALCIOĞLU, M. S., FIRAT, M. Z. ve YOLCU, H. İ. 2002. Antalya İlinde Yetiştirilen Kıl Keçilerinde Potasyum ve Hemoglobin Polimorfizmi. *Turk Journal of Veterinary Animal Science*, 26, 761-764.
- KAYA, M. 2003. Tavuk Genotiplerinde Genetik Uzaklığın RAPD (Rasgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA) Yöntemiyle Belirlenmesi. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Zootekni Anabilim Dalı, *Yüksek Lisans Tezi*, 50 sayfa, Samsun.
- KEMP, S.J. and TEALE, A.J. 1992. Random amplified DNA polymorphism (RAPDs) and pooled DNA in bovine genetic studies. *Animal Genetics*, 23, suppl. 1, 62.
- KIMURA, M. and CROW, J.F. 1964. The Number Of Alleles That Can Be Maintained In A Finite Population. *Genetics*, 49: 725-738 April 19M.
- KOH, M.C., LIM, C.H., CHUA, S.B., CHEW, S.T. and PHANG, S.T.W. 1998. Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) Fingerprints for Identification of Red Meat Animal Species. *Meat Science*. 48, ³/₄, 275-285.
- KULIKOVA, I.V., CHELOMINA, G.N. and ZHURAVLEV, I.U.N. 2002. RAPD-PCR analysis of genetic diversity in the Manchurian pheasant. *Genetika*, 38: 836-841.
- KUMAR, K.G., AHLAWAT, S.P.S., KUMAR, P., SINGH, R.K. and BISHT, G.S. 2000a. Random amplified polymorphic DNA markers in genetic analysis of relatedness in Japanese quail lines. *Indian journal of Animal Science*, 70: 604-607.
- KUMAR, S., KUMAR, K.G. and SINGH, D. 2000b. Evaluation of genetik biodiversity in White Leghorn Chicken Lines Using RAPD-PCR. *XXI. World's Poultry Congress*, 20-24 August, Montreal, CANADA.
- LEE, J.C. and CHANG, J.G. 1994. Random amplified polymorphic DNA polymerase chain reaction (RAPD-PCR) fingerprints in forensic species identification. *Forensic Sci. Int. (Ireland)* 67: (2) 103-107. In: (CD-ROM) *CAS Index Medicus*, No: 95011922.
- LEVIN, I., CRITTENDEN, L.B. and DODGSON, J.B., 1993 Genetic map of the chicken Z chromosome using RAPD markers. *Genomics*, 16, 224-230.
- LEWONTIN, R.C. 1972. The apportionment of human diversity. *Evol. Biopl.* 6:381-398.
- LI, B., DU, M., GUO, X. and ZHOU, Z. 2002. Genetic analysis of shanxi native goats using RAPD markers. *7th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production*, August 19-23.

- LIU, Z.J., LI, P., ARGUE, B. and DUNHAM, R. 1998. Inheritance of RAPD markers in channel catfish (*Ictalurus punctatus*), blue catfish (*I. furcatus*) and their F1, F2 and backcross hybrids. *Animal Genetics*, 29, 58-62.
- LU, X.M., YANG, G. F. and ZHANG, X. Q. 1999. Studies of RAPD Variability of Chicken Lines and 1st Relationship of Heterosis. *Hereditas*, 21(2): 24-28.
- MACIUSZONEK, A., GRAJEWSKI, B. and BEDNARCZYK, M. 2005. RAPD-PCR Analysis of Various Goose Populations. *Folia Biologica (Krakow)*, 53: 83-85.
- MARTINEZ, I. and YMAN, I.M. 1998. Species Identification in Meat Products By RAPD Analysis. *Food Research International*, 31(6-7): 459-466.
- McGOWAN, C. and DAVIDSON, W. S. 1998. The RAPD technique fails to detect male-specific genetic marker in Atlantic salmon. *Journal of Fish Biology*, 53, 1134-1136.
- MERCAN L., 2004. Karayaka Koyun Populasyonlarında Genetik Varyasyonun RAPD Yöntemiyle Analizi. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Zootekni Anabilim Dalı, *Yüksek Lisans Tezi*, 33 Sayfa. Samsun.
- MULLIS K. B. and FALOONA F.A. 1987. Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction. *Methods in Enzymology*, 155, 335.
- NEGRO, J.J., TORRES, M.J. and GODOY, J.A. 2001. RAPD analysis for detection and eradication of hybrid partridges (*Alectoris rufa* X *A. graeca*) in Spain. *Biological Conservation*, 98, 19-24.
- NEI, M., 1972. Genetic distance between populations. *Am. Nat.* 106: 283-292.
- NEI, M., 1973: The Theory and Estimation of Genetic Distance. Genetic Structure of Populations. *N. E. Morton University Press of Hawaii*, Honolulu.
- NEI, M., 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*, 89: 583-590.
- NEI, M. 1987. Molecular evolutionary genetics. *Columbia University Press*, New York.
- NEI, M. and KUMAR, 2000. Molecular Evolution and Phylogenetics. *Oxford University Press*, Oxford.
- NRC 1994. National Research Council. Nutrient Requirements of Poultry, 9th revised ed. *National Academy Press*, Washington, D.C.
- ÖZDEMİR M., 2006. Türkiye Yerli Sığır Irklarında Mitokondriyal DNA Polimorfik Yapılarının PCR-RFLP ve DNA Dizi Analizi Yöntemleri ile İncelenmesi. Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Zootekni Anabilim Dalı, *Doktora Tezi*, 110 sayfa, Erzurum.
- ÖZKAN E., 2005. Türkiye’de Yetiştirilen Yerli ve Kültür Sığır Irklarının Genetik Yapılarının Mikrosatelitler ile İncelenmesi. Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Zootekni Anabilim Dalı, *Doktora Tezi*, 190 sayfa, Tekirdağ.
- PAIVA, S. R., SILVERIO, V. C, EGITO, A A, MCMANUS, C, ASSIS DE FARIA, D., MARIANTE, A. S., CASTRO, S. R., ALBUQUERQUE, M. S. M. and DERGAM, J. A. 2005. Genetic variability of the Brazilian hair sheep breeds. *Pesq. agropec.bras.*, Brasilia, 40 (9): 887-893.
- PAREJO, J.C., PADILLA, J. A., RABASCO, A., SANSINFORIANO, M. E. and TRANCON, M. M. 2002. Population structure in the endangered Blanca Cacerena bovine breed demonstrated by RAPD analyses. *Genes Genetic Systems*, 77, 51-58.
- PIPALIA, D.L., JOSHI, E.G., KHANNA, K., RANK, D.N., THAKKAR, K.M. BRAHMKSHTRI, B.P. and SOLANKI, J.V. 2006. RAPD profiling of Bantam, White Leghorn and Bantamised White Leghorn birds. *Indian Journal of Poultry Science*, 41(2): 111-114.

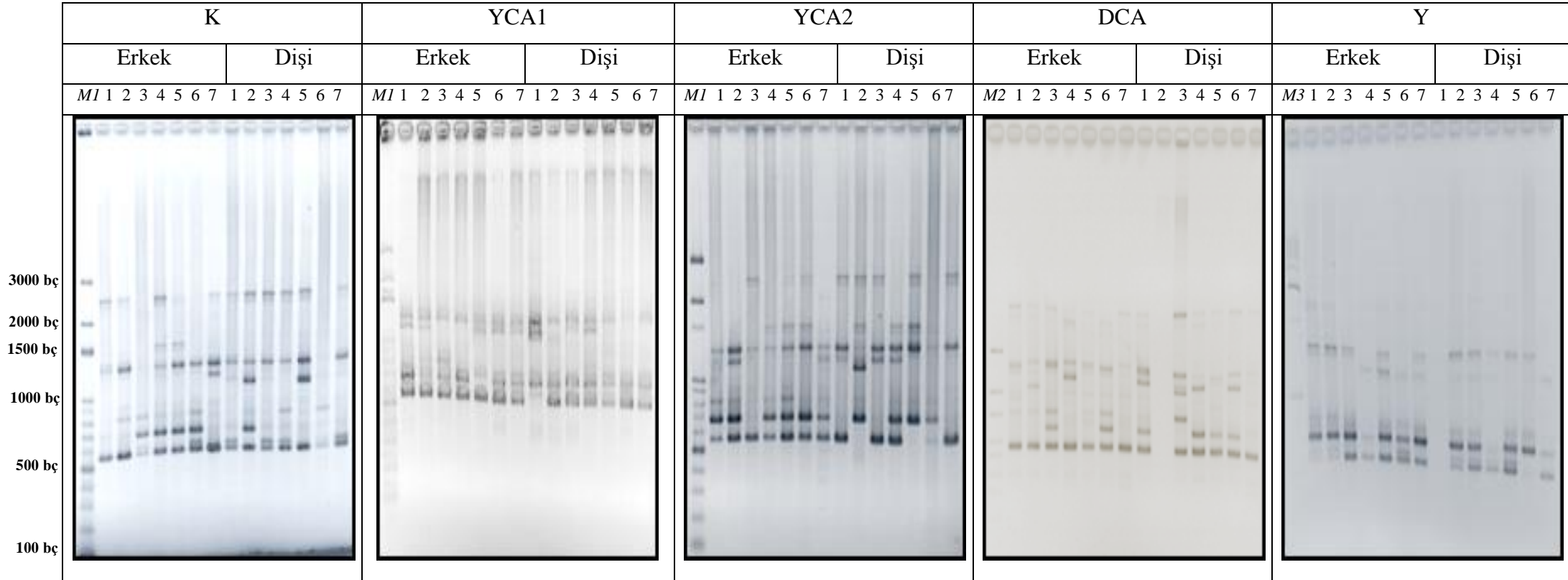
- PLOTSKY, Y., KAISER, M.G. and LAMONT, S.J. 1995. Genetic Characterization of Highly Inbred Chicken Lines by Two DNA Methods: DNA Fingerprinting and Polymerase Chain Reaction Using Arbitrary Primers. *Animal Genetics*, 26: 163-170.
- RAHIMI, G., KHANAHMADI, A., NEJATI-JAVAREMI, A., ve SMAILKHANIAN, S. 2005. Evaluation of genetic variability in a breeder flock of native chicken based on randomly amplified polymorphic DNA markers. *Iranian Journal of Biotechnology*, 3 (4): 231-234.
- RAHMAN, F. 1974. Koyunlarda Transferrin (β -laktoglobulin) Tipleri ile Et Tutma Yeteneği Arasındaki İlgisi Üzerine Araştırma. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Veterinerlik Fizyoloji Kürsüsü, Ankara.
- REN, J., GAO, J., HUANG L. S., WU, H. H., HUANG, F. Y., AI, H. S., ZHOU, L. H., ZHONG, X. F., SHU, X. F., LIN, S. M., LI, L. and LUO, M. 2001. Study on Population Genetic Relationships among Jiangxi Native Chicken Breeds by RAPD Analysis. *Hereditas*, 23(4): 301-305.
- ROMANOV, M.N. and WEIGEND, S. 2001. Using RAPD markers for assessment of genetic diversity in chickens. *Archive Geflügelkunde*, 65(4), 145-148.
- SALAH, M. A. R. and ELSAYED, E. H. 2007. Genetic similarity Among the Three Egyptian Water Buffalo Flocks Using RAPD-PCR and PCR-RFLP Techniques. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*, 3(5): 351-355.
- SARICA, M., CAMCI, Ö. ve SELÇUK, E.,1995. Bildircin, Sülün, Keklik ve Etçi Güvercin Yetiştiriciliği. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi, *Ders Notu*:10, Samsun.
- SCOTT, M.P., HAYMES, K.M. and WILLIAMS, S.M. 1992. Parentage analysis using RAPD-PCR. *Nucleic Acids Research*, 20: 5493.
- SEMYENOVA, S.K., MOISEEV, I.G., VASILEV, V.A., FILENKO, A.L., NIKIFOROV, A.A., SEVASTYANOVA, A.A. and RYSKOV, A.P. 2002. Genetic Polymorphism of Russian, European, and Asian Chicken Breeds as Revealed with DNA and Protein Markers. *Genetika*, 38(9): 1304-1308.
- SERRANO, G. M. S., EGITO, A. A., MARIANTE, A. S. and McMANUS, C. 2002. Genetic Diversity and Population Structure of Brazilian Native Bovine Breeds Based on RAPD Markers. *7th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production*, August 19-23, 2002, Montpellier, France.
- SHARMA, D., APPA RAO, K.B.C., TOTTEY, S.M. 1998a. Estimation of genetic diversity among various breeds of poultry using randomly amplified polymorphic DNA. *10th European Poultry Conference*, Israel, "The Poultry Industry Towards the 21st Century". 259-262.
- SHARMA, D., APPA RAO, K.B.C., SINGH, H.P. and TOTTEY, S.M. 1998b. Randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) for evaluating genetic relationships among varieties of guinea fowl. *Genetic Analysis Biomolecular Engineering*, 14: 125-128.
- SHARMA, D., APPA RAO, K.B.C. and TOTTEY, S.M. 2000a. Measurement of within and between population genetic variability in quails. *British Poultry Science*, 41: 29-32.
- SHARMA, D., RAO, K.B.C.A, and TOTTEY, S.M. 2001a. Genetic diversity among some important poultry species by using randomly amplified polymorphic DNA markers. *Indian Journal of Animal Sciences*, 71 (8): 784-788.

- SHARMA, D., RAO, K.B.C.A, SINGH, R.V. and TOTEY, S.M. 2001b. Genetic diversity among chicken breeds estimated through randomly amplified polymorphic DNA. *Animal Biotechnology*, 12(2): 111-120.
- SHARMA, D., SINGH, D.P. and SINGH, R.V. 2000b. Polymorphism in indigenous poultry germplasm detected through randomly amplified polymorphic DNA. *Journal of Applied Animal Research*, 18 (1): 115-120.
- SHIUE, Y. L., BICKEL, L. A., CAETANO, A. R., MILLON, L. V., CLARK, R. S. EGGLESTON, M. L., MICHELMORE, R., BAILEY, E., GUERIN, G., GODARD, S., MICKELSON, J. R., VALBERG, S. J., MURRAY, J. D. and BOWLING, A. T. 1999. A Synteny map of the horse genome comprised of 240 microsatellite and RAPD markers. *Animal Genetics*, 30,1-9.
- SINGH, R.V. and SHARMA, D. 2002. Within and between strain genetic variability in White Leghorn population detected through RAPD markers. *British Poultry Science*, 43: 33-37.
- SIWEK, M., BEDNARCZYK, M. and MAZANOWSKI, A. 2000. DNA Polymorphism in Various Goose Lines by RAPD-PCR. XXI. *World's Poultry Congress*, 20-24 August, Montreal, Canada.
- SMITH, E.J., JONES, C.P., BARTLETT, J. and NESTOR, K.E. 1996. Use of randomly amplified polymorphic DNA markers for the genetic analysis of relatedness and diversity in chickens and turkey. *Poultry Science*, 75: 579-584.
- SMITH, E.J., GENG, T., LONG, E., PIERSON, E.W., SPONENBERG, D.P., LARSON, C. and GOGAL, R. 2005. Molecular Analysis of the Relatedness of Five Domesticated Turkey Strains. *Biochemical Genetics*, 43,35-47.
- SOYSAL, M. İ, ÖZKAN, E., KÖK, S., TUNA, Y. T. ve GÜRCAN, E. K. 2005. Genetic Characterization of Indigenous Anatolian Water Buffalo Breed Using Microsatellite DNA Markers. *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 2(3): 204-244.
- STEPNIAK, E., ZAGALSKA, M. and SWITONSKI, M. 2002. Use of RAPD technique in evolution studies of four species in the family Canidae. *Journal of Applied Genetics*, 43: 489-499.
- SU, Y., LIU, C.W., LIU, L., YE, C.H., CAO, W.Q., HUANG, Y.Q., ZHENG, J., CAI, D.Y. and OLOWOSFESO, O. 2006. Studies on Genetic Variation of Different Duck Populations with Random Amplified Polymorphic DNA Analysis. *Asian-Australian Journal Animal Science*, 19 (4): 475-480.
- SUAZO, A., MCTIERNAN, R. and HAIL, H. G. 1998. Differences between African and European Honey Bees (*Apis mellifera* L.) in Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD). *Journal of Heredity*, 89: 32-36.
- ŞAHİN, E. 2005. Antalya yöresi kıl keçilerinde genetik polimorfizmin RAPD-PCR yöntemiyle belirlenmesi. Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Zootekni Anabilim Dalı, *Yüksek Lisans Tezi*, Antalya.
- VOS, P., HOGERS, R., BLEEKER, M., REIJANS, M., VAN DE LEE, T., HORNES, M., FRIJTERS, A., POT, J., PELEMAN, J., KUIPER, M. and ZABEAU, M. 1995. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Research*, 23: 4407-4414.
- WEBER, J. L. and MAY, P. E., 1989. Abundant class of human DNA polymorphisms which can be typed using the polymerase chain reaction, *American Journal Human Genetics*, 44, 388.

- WEI, R., DENTINE, M.R. and BITGOOD, J.J. 1997. Random amplified polymorphic DNA markers in crosses between inbred lines of Rhode Island Red and White Leghorn chickens. *Animal Genetics*, 28: 291-294.
- WEI, D., ZHANG, Z., CHANG, J., ZHANG, E., WU, X. and ZHANG, J. 2006. Intra-specific relationships among Tibetan Eared-pheasants based on randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis. *Front. Biological China*, 4:394-397.
- WELSH, J. and McCLELLAND, M., 1990. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. *Nucleic Acids Research*, 18(24): 7213-7218.
- WILLIAMS, J.G.K., KUBELIK, A.R., LIVAK, K.J., RAFALSKI, J.A., and TINGEY, S.V., 1990. DNA Polymorphisms Amplified by Arbitrary Primers are Useful as Genetic Markers. *Nucleic Acids Research*, 18:(22) 6531-6535.
- WILLIAMS, J.G., HANAFEY, M.K., RAFALSKI, J.A. and TINGEY, S.V., 1993. Genetic analysis using random amplified polymorphic DNA markers. *Method Enzymology*, 218: 704-740.
- WISNIEWSKA, E., GRAJEWSKI, B. and BEDNARCZYK, M. 2005. Use of RAPD-PCR for the genetic characterization of some duck populations. *Medycyna Weterynaryjna*, 61(12): 1410-1412.
- YEĞENOĞLU, E.D. 1999. Japon bildircinlarında (Coturnix Coturnix Japonica) DNA izolasyonu ve DNA parmakizlerinin çıkarılması. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Zootekni Anabilim Dalı, *Yüksek Lisans Tezi*, İzmir.
- YEH, F.C., Yang, R.C. and Boyle, T. 1997. POPGENE Version 1.21. Microsoft window-based freeware for population genetic analysis, quick user guide, <http://www.ualberta.ca/~fyeh>.
- YEN, N.T., HUANG, M.C. and TAI, C. 2001. Genetic Variations of Randomly Amplified Polymorphic DNA Polymorphisms in Taoyuan and Duroc Pigs. *Journal of Animal Breeding Genetics*, 118: 111-118.
- YON, J. M. and KIM, J. Y. 2004. Genetic Differences within and between Populations of Korean Catfish (*S. asotus*) and Bullhead (*P. fulvidraco*) Analysed by RAPD-PCR. *Asian-Australian Journal of Animal Science*, 17(8): 1053-1061.
- ZHANG, X., McDANIEL, C.R. and GIAMBORNE, J.R. 1995. Random amplified polymorphic DNA comparisons among broiler lines selected for incidence of tibial dyschondroplasia. *Poultry Science*, 74: 1253-1258.
- ZHANG, X., F.C. LEUNG, D.K. CHAN, Y. CHEN AND C. WU, 2002a. Comparative analysis of allozyme, random amplified polymorphic DNA, and microsatellite polymorphism on Chinese native chickens. *Poultry Science*, 81: 1093-1098.
- ZHANG, X., F.C. LEUNG, D.K. CHAN, G. YANG AND C. WU, 2002b. Genetic diversity of Chinese native chicken breeds based on protein polymorphism, randomly amplified polymorphic DNA, and microsatellite polymorphism. *Poultry Science*, 81: 1463-1472.

8. EKLER

EK-1. Primerlere ait RAPD-PCR ürünlerinin elektroforez jel görüntüleri

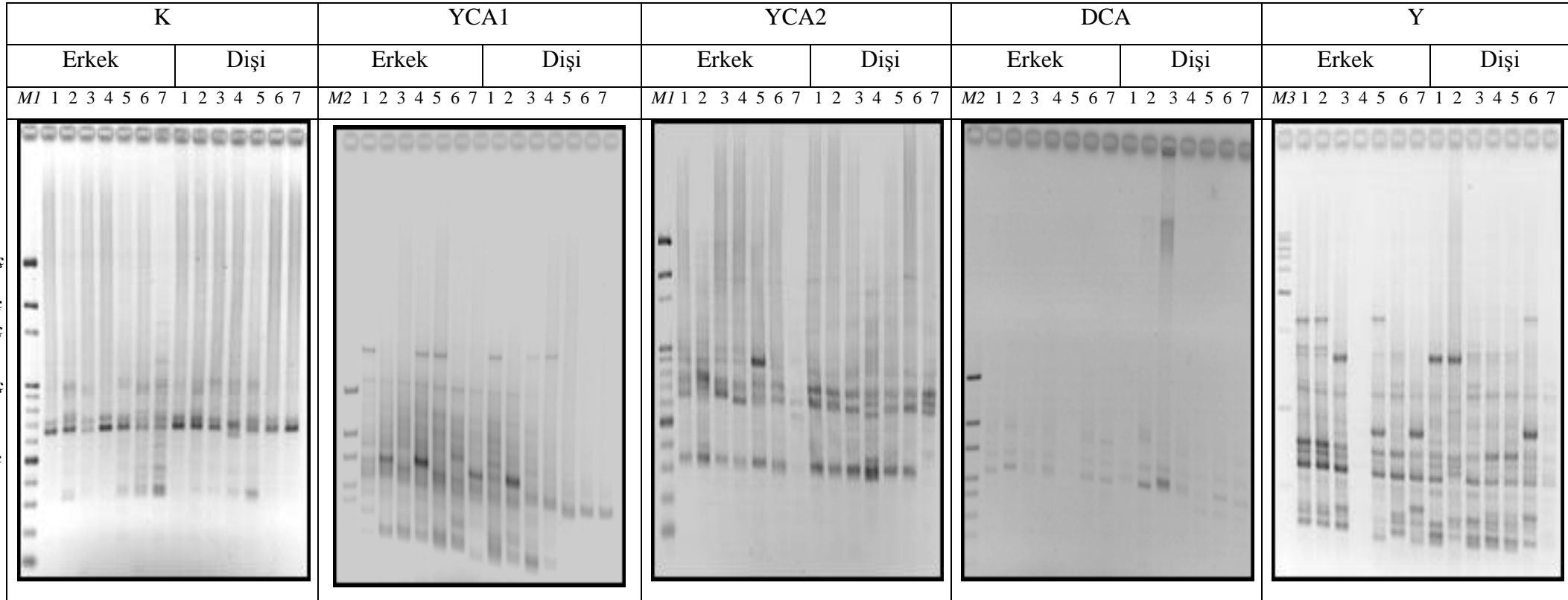


M1: standart DNA moleküler büyüklük markeri (fragment büyüklükleri 3000-2000-1500-1000-900-800-700-600-500-400-300-200-100 bç)

M2: standart DNA moleküler büyüklük markeri (fragment büyüklükleri 1000-500-400-300-200-100 bç)

M3: standart DNA moleküler büyüklük markeri (fragment büyüklükleri 8000-7000-6000-5000-3000-2000-1000-500 bç)

1. Du-05

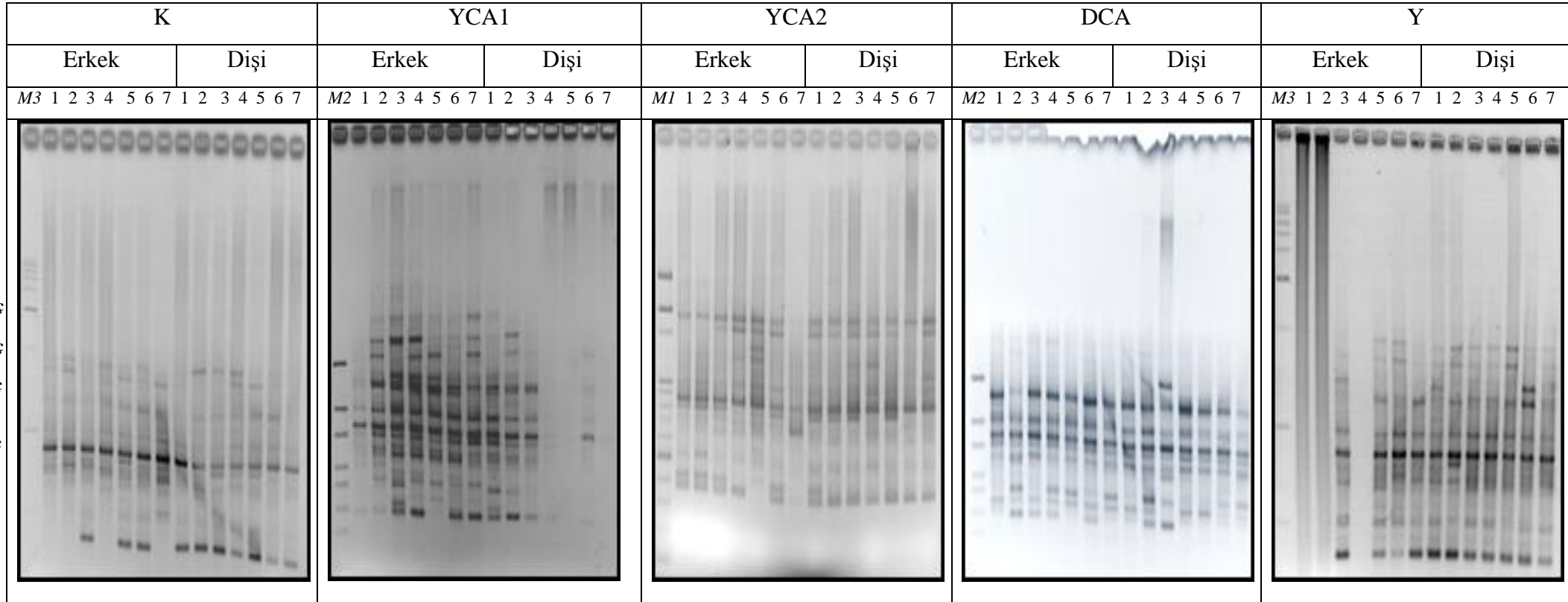


M1: standart DNA moleküler büyüklük markeri (fragment büyüklükleri 3000-2000-1500-1000-900-800-700-600-500-400-300-200-100 bç)

M2: standart DNA moleküler büyüklük markeri (fragment büyüklükleri 1000-500-400-300-200-100 bç)

M3: standart DNA moleküler büyüklük markeri (fragment büyüklükleri 8000-7000-6000-5000-3000-2000-1000-500 bç)

2. Du-08

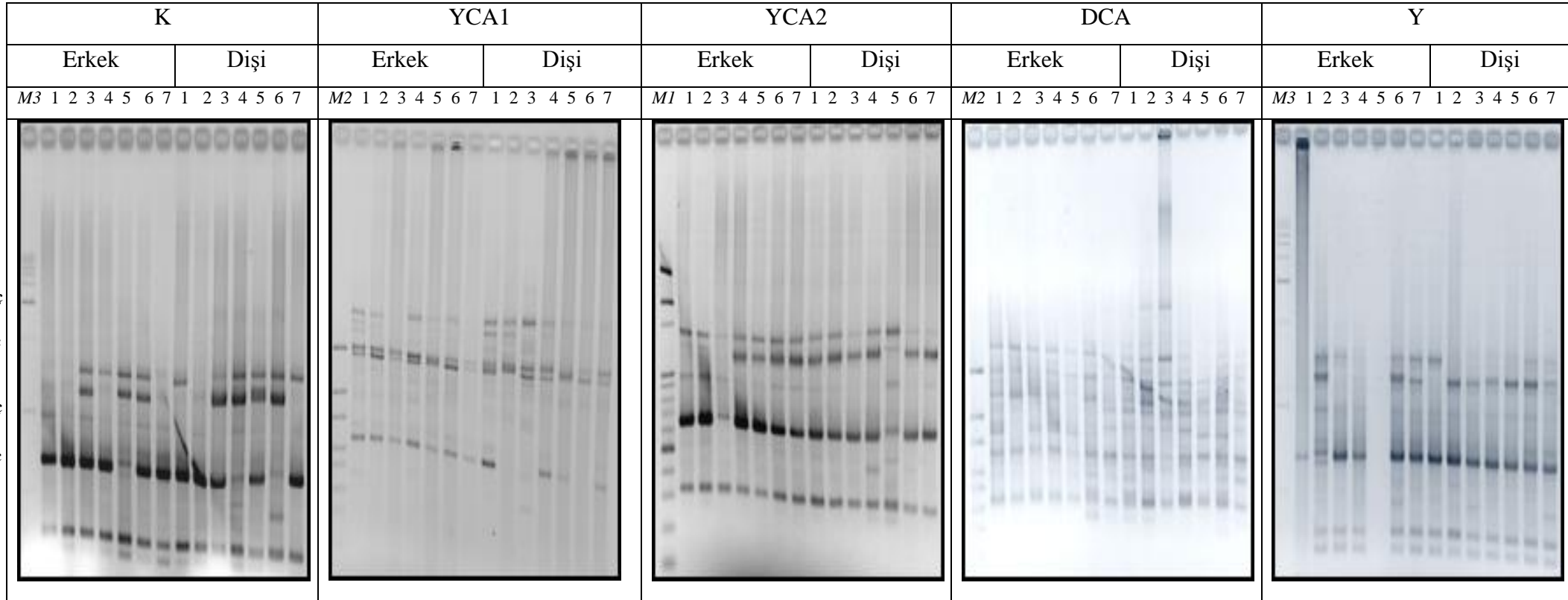


M1: standart DNA moleküler büyüklük markeri (fragment büyüklükleri 3000-2000-1500-1000-900-800-700-600-500-400-300-200-100 bç)

M2: standart DNA moleküler büyüklük markeri (fragment büyüklükleri 1000-500-400-300-200-100 bç)

M3: standart DNA moleküler büyüklük markeri (fragment büyüklükleri 8000-7000-6000-5000-3000-2000-1000-500 bç)

3. OPA-05

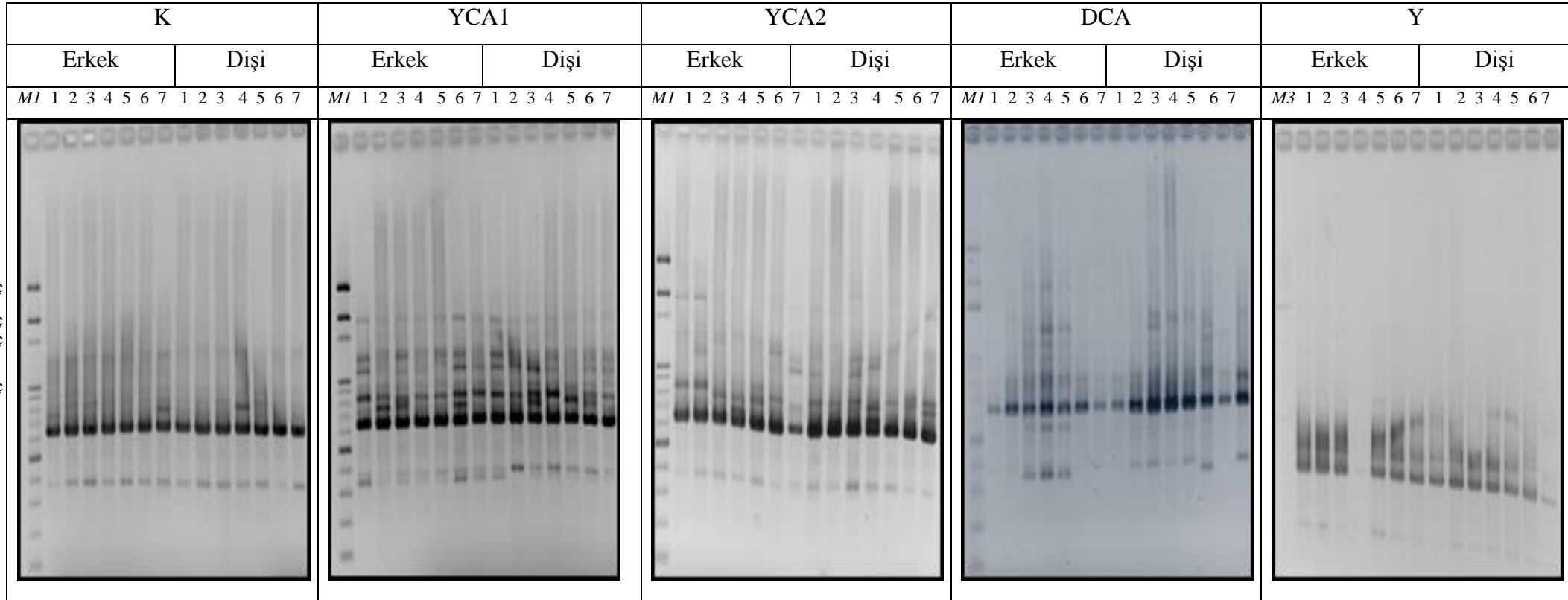


M1: standart DNA moleküler büyüklük markeri (fragment büyüklükleri 3000-2000-1500-1000-900-800-700-600-500-400-300-200-100 bç)

M2: standart DNA moleküler büyüklük markeri (fragment büyüklükleri 1000-500-400-300-200-100 bç)

M3: standart DNA moleküler büyüklük markeri (fragment büyüklükleri 8000-7000-6000-5000-3000-2000-1000-500 bç)

4. OPA-07

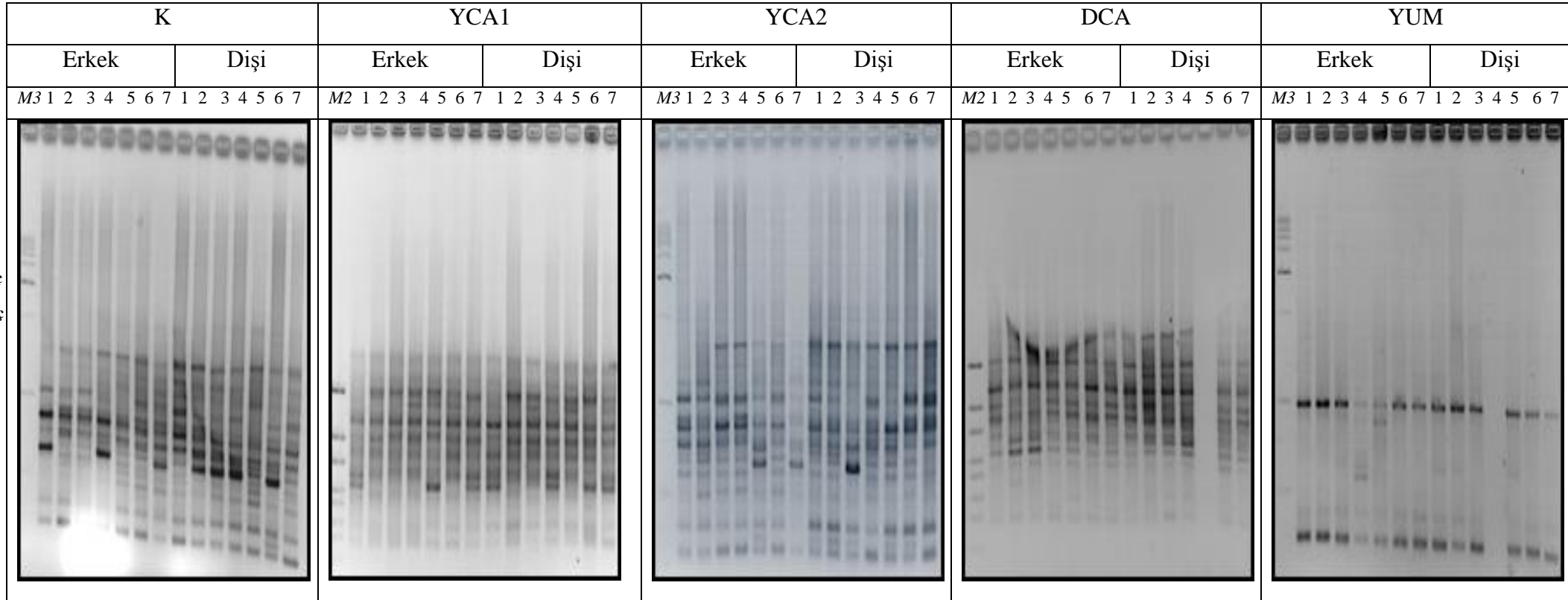


M1: standart DNA moleküler büyüklük markeri (fragment büyüklükleri 3000-2000-1500-1000-900-800-700-600-500-400-300-200-100 bç)

M2: standart DNA moleküler büyüklük markeri (fragment büyüklükleri 1000-500-400-300-200-100 bç)

M3: standart DNA moleküler büyüklük markeri (fragment büyüklükleri 8000-7000-6000-5000-3000-2000-1000-500 bç)

5. OPA-08

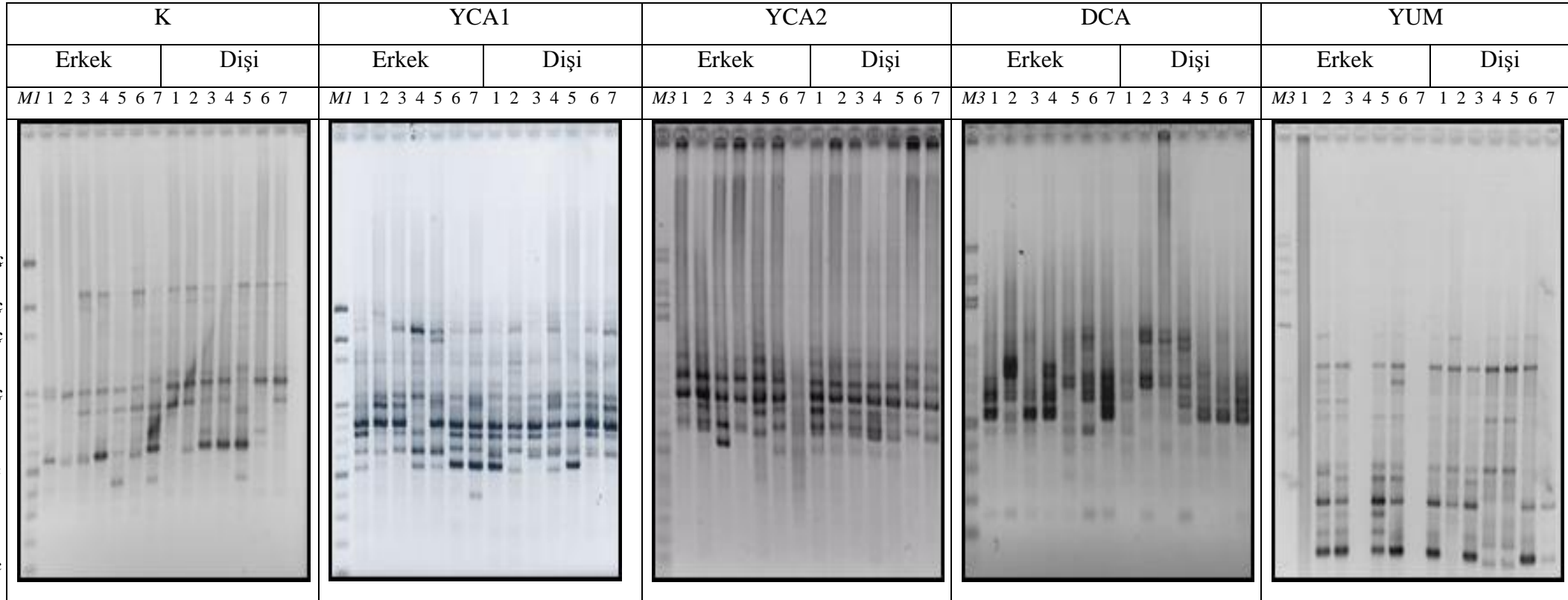


M1: standart DNA moleküler büyüklük markeri (fragment büyüklükleri 3000-2000-1500-1000-900-800-700-600-500-400-300-200-100 bç)

M2: standart DNA moleküler büyüklük markeri (fragment büyüklükleri 1000-500-400-300-200-100 bç)

M3: standart DNA moleküler büyüklük markeri (fragment büyüklükleri 8000-7000-6000-5000-3000-2000-1000-500 bç)

6. OPA-10

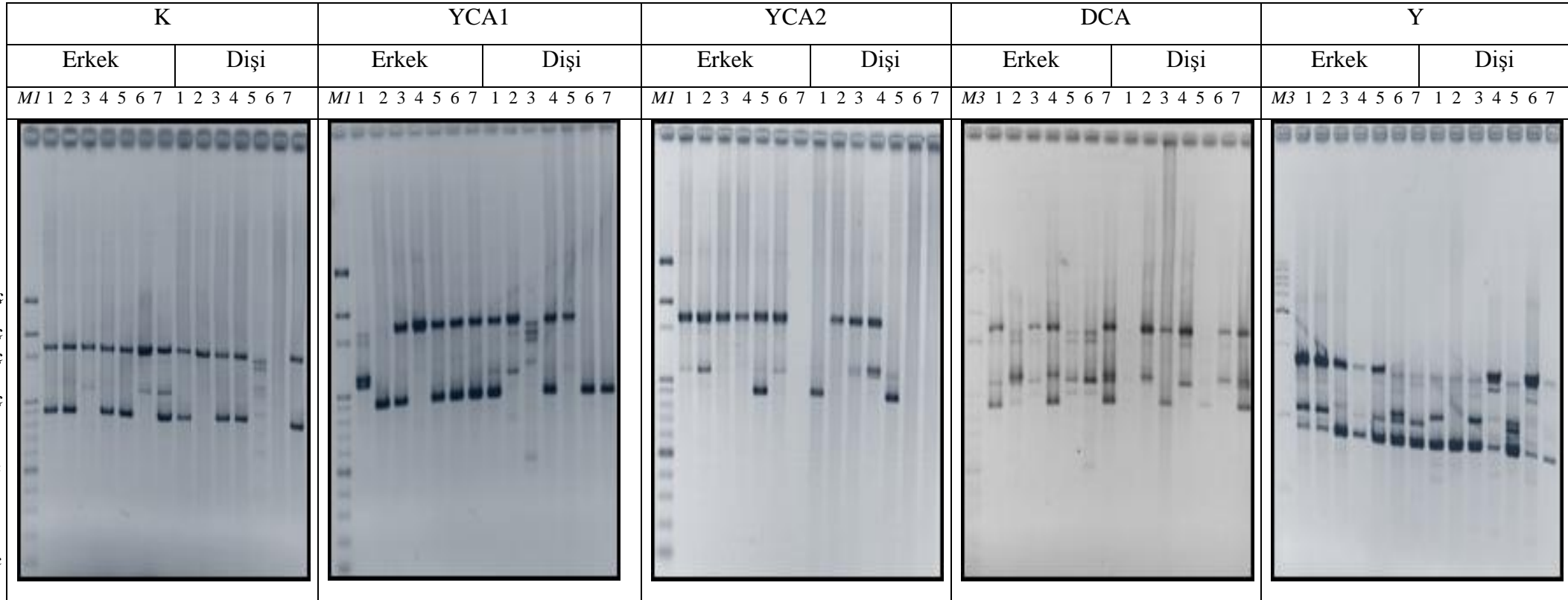


M1: standart DNA moleküler büyüklük markeri (fragment büyüklükleri 3000-2000-1500-1000-900-800-700-600-500-400-300-200-100 bç)

M2: standart DNA moleküler büyüklük markeri (fragment büyüklükleri 1000-500-400-300-200-100 bç)

M3: standart DNA moleküler büyüklük markeri (fragment büyüklükleri 8000-7000-6000-5000-3000-2000-1000-500 bç)

7. OPA-11

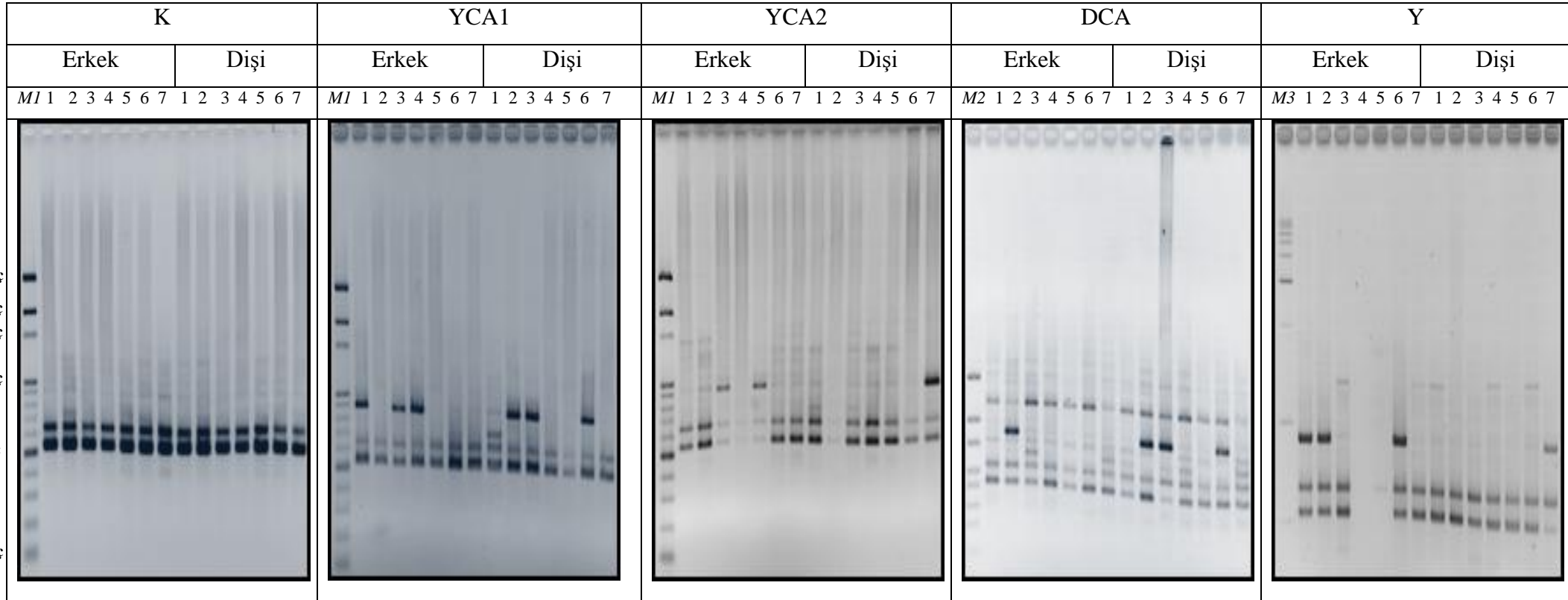


M1: standart DNA moleküler büyüklük markeri (fragment büyüklükleri 3000-2000-1500-1000-900-800-700-600-500-400-300-200-100 bç)

M2: standart DNA moleküler büyüklük markeri (fragment büyüklükleri 1000-500-400-300-200-100 bç)

M3: standart DNA moleküler büyüklük markeri (fragment büyüklükleri 8000-7000-6000-5000-3000-2000-1000-500 bç)

8. OPA-12

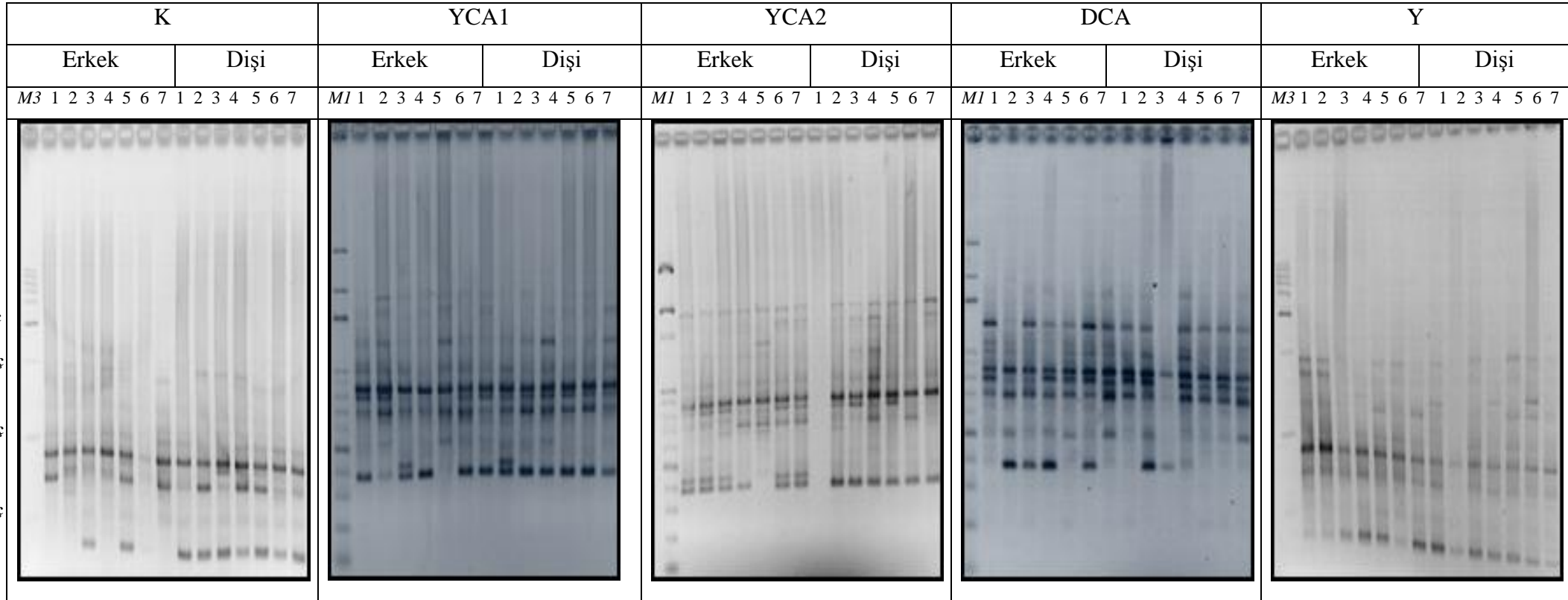


M1: standart DNA moleküler büyüklük markeri (fragment büyüklükleri 3000-2000-1500-1000-900-800-700-600-500-400-300-200-100 bç)

M2: standart DNA moleküler büyüklük markeri (fragment büyüklükleri 1000-500-400-300-200-100 bç)

M3: standart DNA moleküler büyüklük markeri (fragment büyüklükleri 8000-7000-6000-5000-3000-2000-1000-500 bç)

9. OPA-17

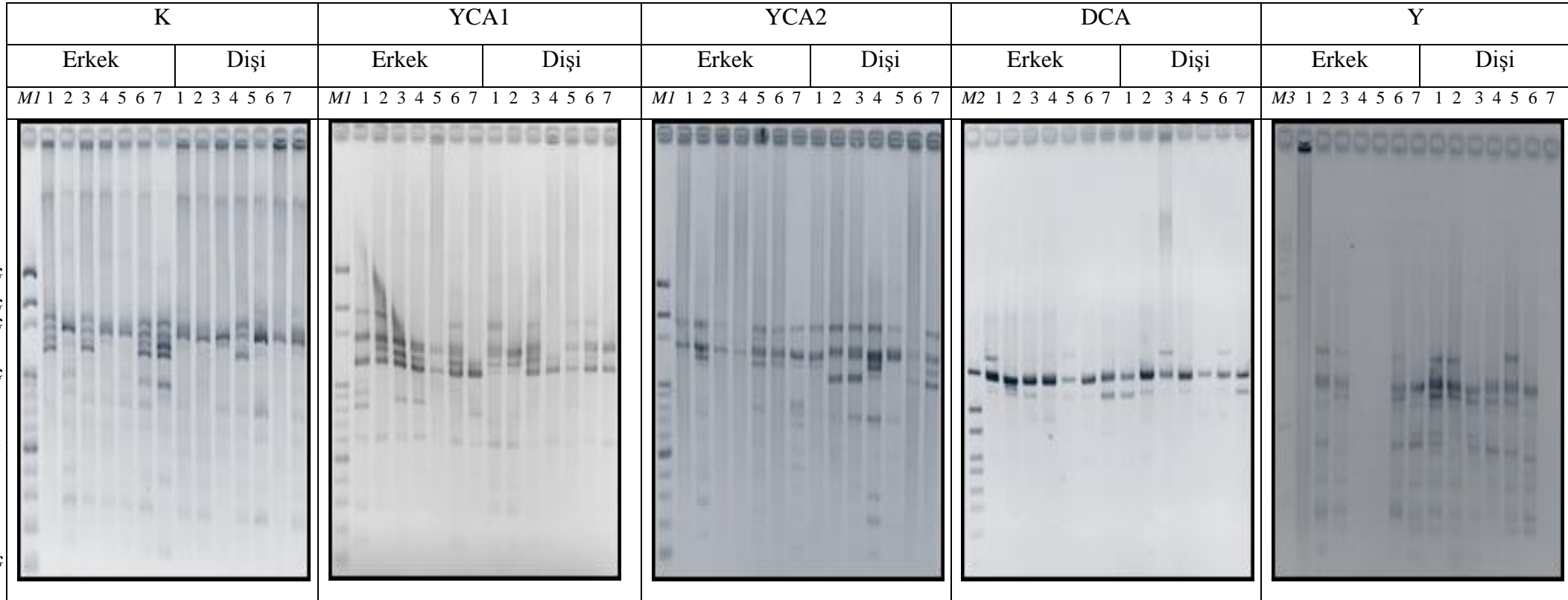


M1: standart DNA moleküler büyüklük markeri (fragment büyüklükleri 3000-2000-1500-1000-900-800-700-600-500-400-300-200-100 bç)

M2: standart DNA moleküler büyüklük markeri (fragment büyüklükleri 1000-500-400-300-200-100 bç)

M3: standart DNA moleküler büyüklük markeri (fragment büyüklükleri 8000-7000-6000-5000-3000-2000-1000-500 bç)

10. OPB-05

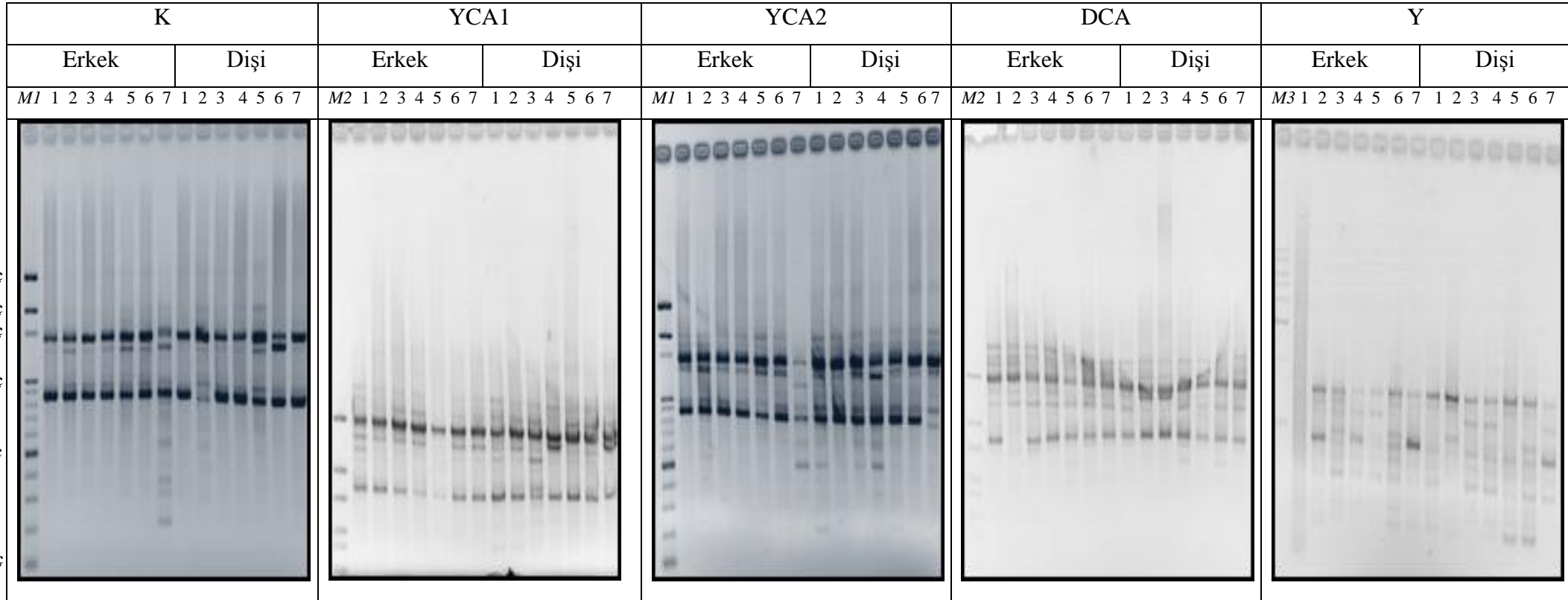


M1: standart DNA moleküler büyüklük markeri (fragment büyüklükleri 3000-2000-1500-1000-900-800-700-600-500-400-300-200-100 bç)

M2: standart DNA moleküler büyüklük markeri (fragment büyüklükleri 1000-500-400-300-200-100 bç)

M3: standart DNA moleküler büyüklük markeri (fragment büyüklükleri 8000-7000-6000-5000-3000-2000-1000-500 bç)

11. OPB-19

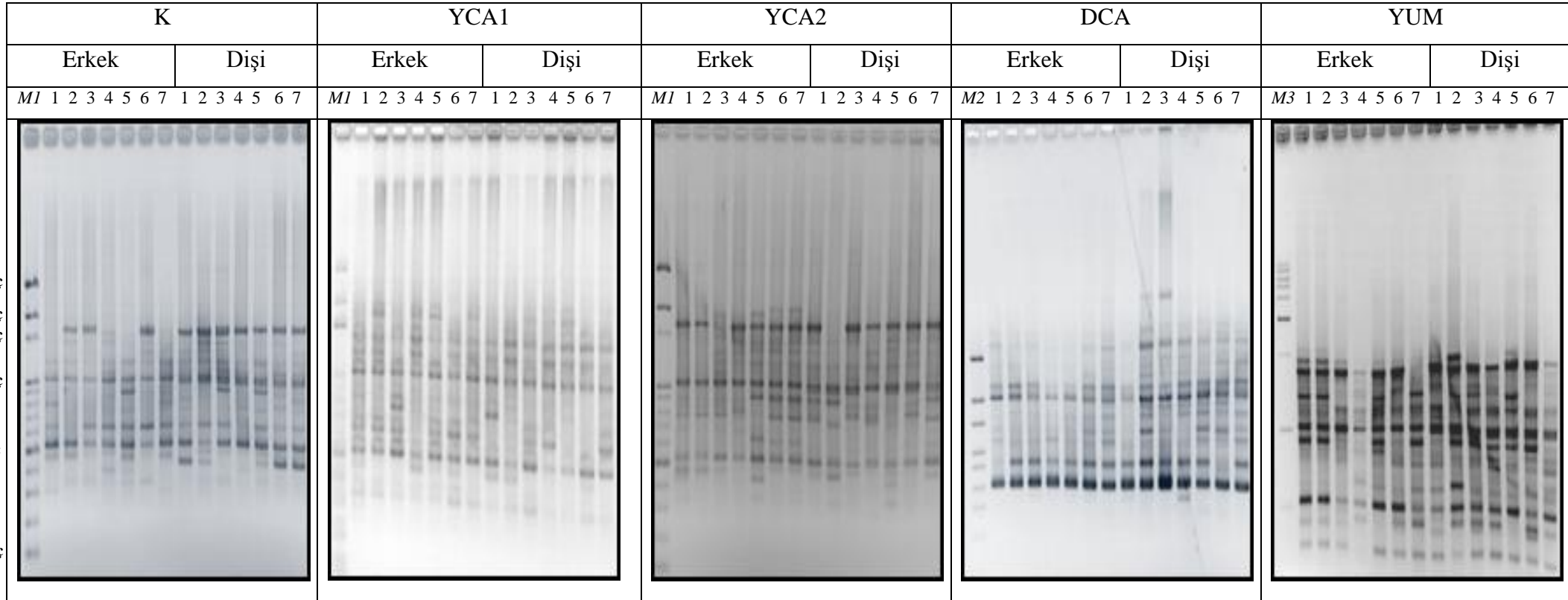


M1: standart DNA moleküler büyüklük markeri (fragment büyüklükleri 3000-2000-1500-1000-900-800-700-600-500-400-300-200-100 bç)

M2: standart DNA moleküler büyüklük markeri (fragment büyüklükleri 1000-500-400-300-200-100 bç)

M3: standart DNA moleküler büyüklük markeri (fragment büyüklükleri 8000-7000-6000-5000-3000-2000-1000-500 bç)

12. OPQ-02

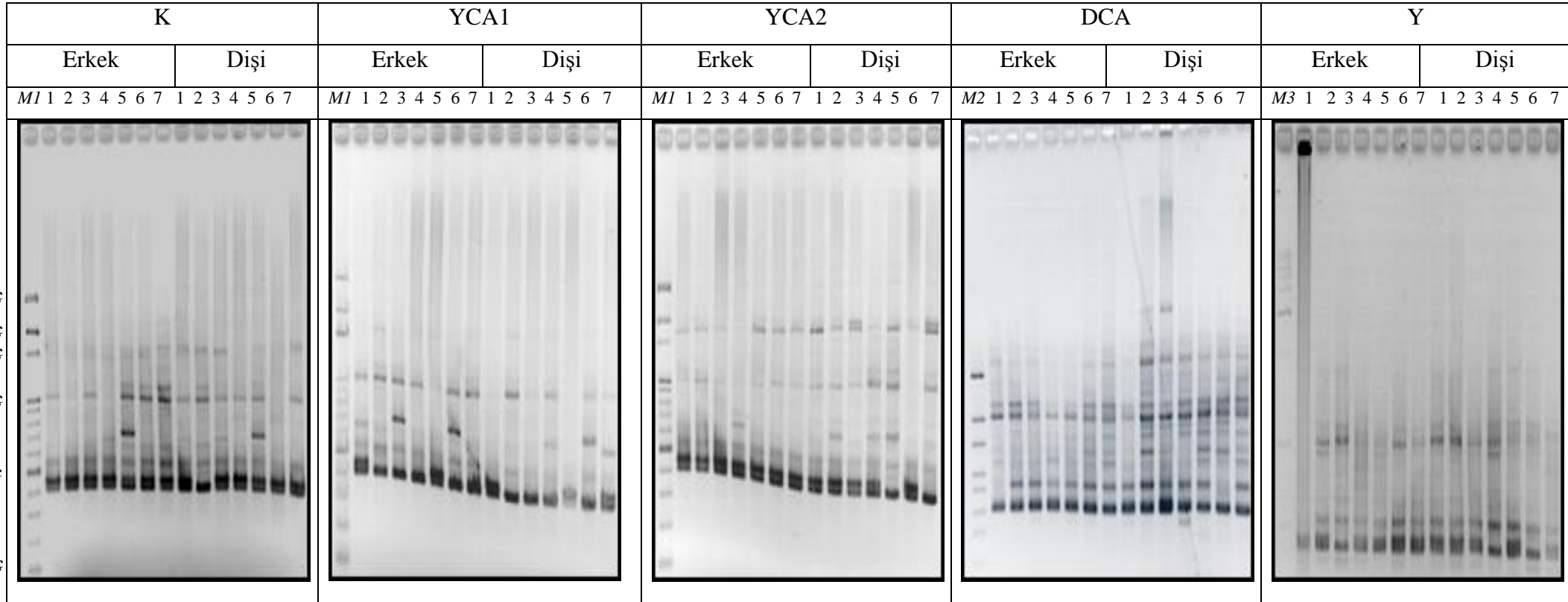


M1: standart DNA moleküler büyüklük markeri (fragment büyüklükleri 3000-2000-1500-1000-900-800-700-600-500-400-300-200-100 bç)

M2: standart DNA moleküler büyüklük markeri (fragment büyüklükleri 1000-500-400-300-200-100 bç)

M3: standart DNA moleküler büyüklük markeri (fragment büyüklükleri 8000-7000-6000-5000-3000-2000-1000-500 bç)

13. OPQ-04

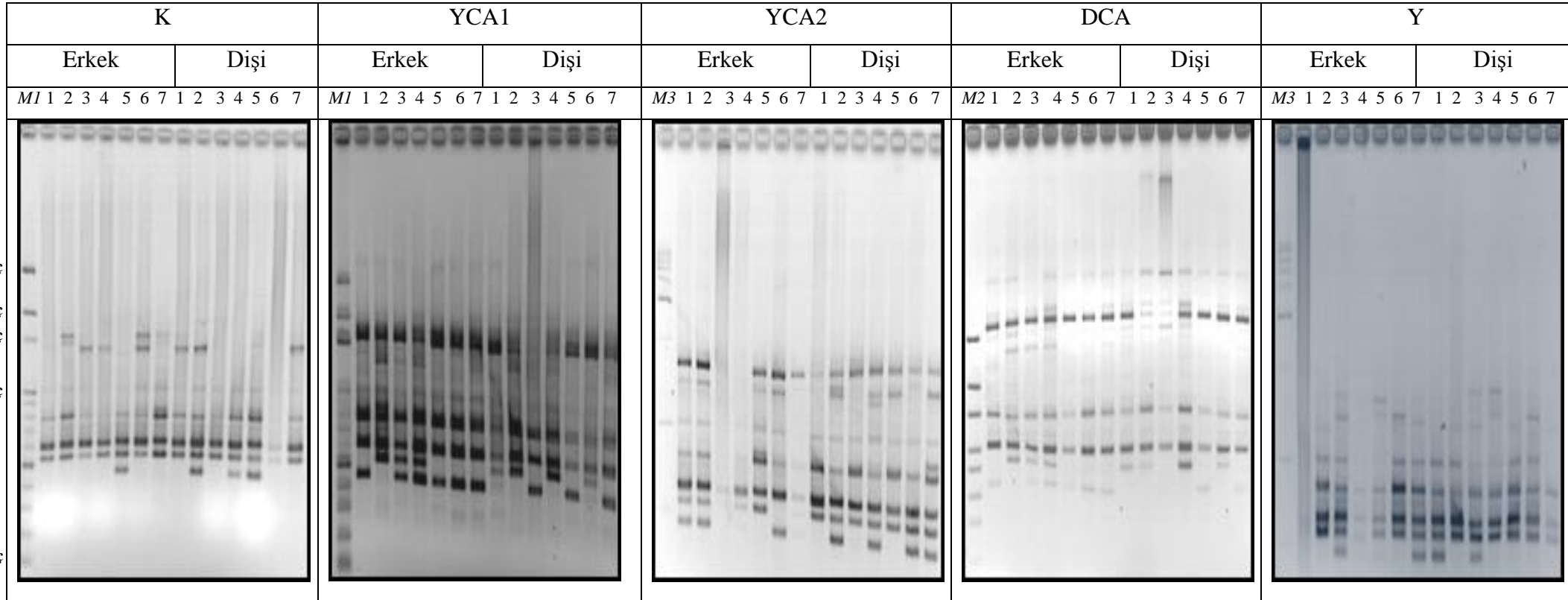


M1: standart DNA moleküler büyüklük markeri (fragment büyüklükleri 3000-2000-1500-1000-900-800-700-600-500-400-300-200-100 bç)

M2: standart DNA moleküler büyüklük markeri (fragment büyüklükleri 1000-500-400-300-200-100 bç)

M3: standart DNA moleküler büyüklük markeri (fragment büyüklükleri 8000-7000-6000-5000-3000-2000-1000-500 bç)

14. OPQ-06

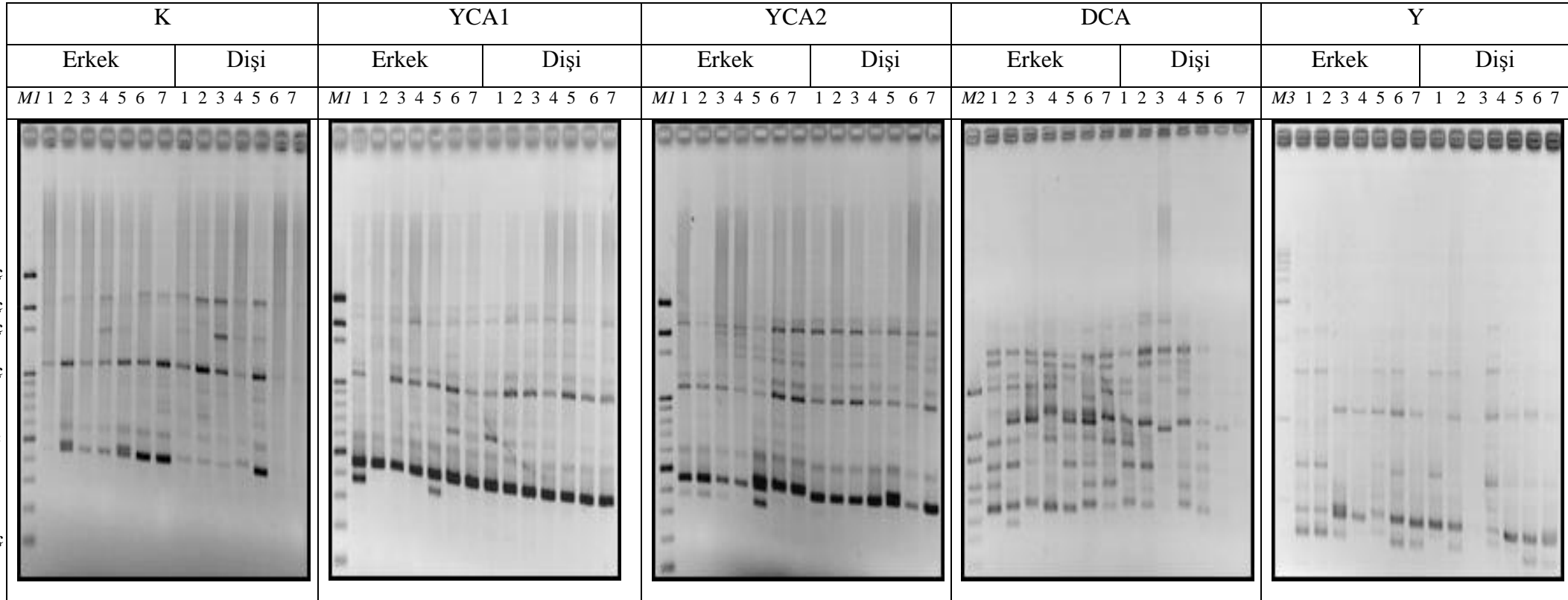


M1: standart DNA moleküler büyüklük markeri (fragment büyüklükleri 3000-2000-1500-1000-900-800-700-600-500-400-300-200-100 bç)

M2: standart DNA moleküler büyüklük markeri (fragment büyüklükleri 1000-500-400-300-200-100 bç)

M3: standart DNA moleküler büyüklük markeri (fragment büyüklükleri 8000-7000-6000-5000-3000-2000-1000-500 bç)

15. RA-09

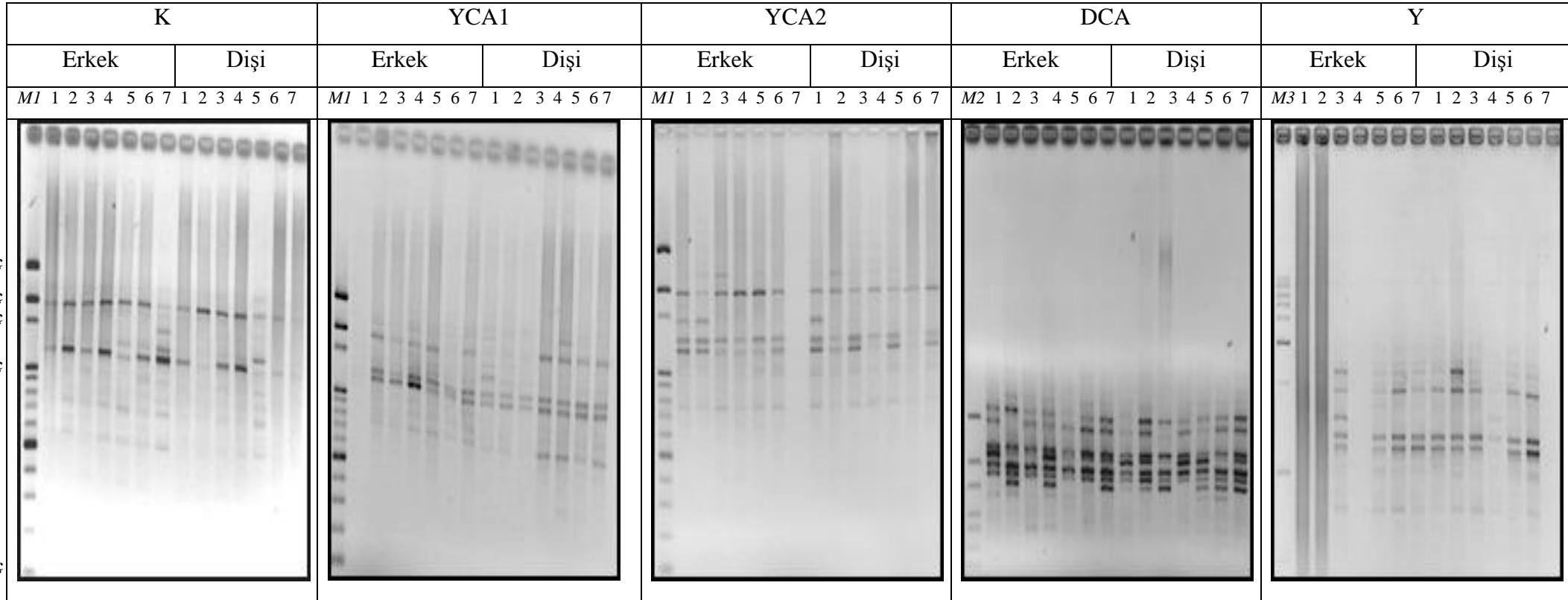


M1: standart DNA moleküler büyüklük markeri (fragment büyüklükleri 3000-2000-1500-1000-900-800-700-600-500-400-300-200-100 bç)

M2: standart DNA moleküler büyüklük markeri (fragment büyüklükleri 1000-500-400-300-200-100 bç)

M3: standart DNA moleküler büyüklük markeri (fragment büyüklükleri 8000-7000-6000-5000-3000-2000-1000-500 bç)

16. RA-23

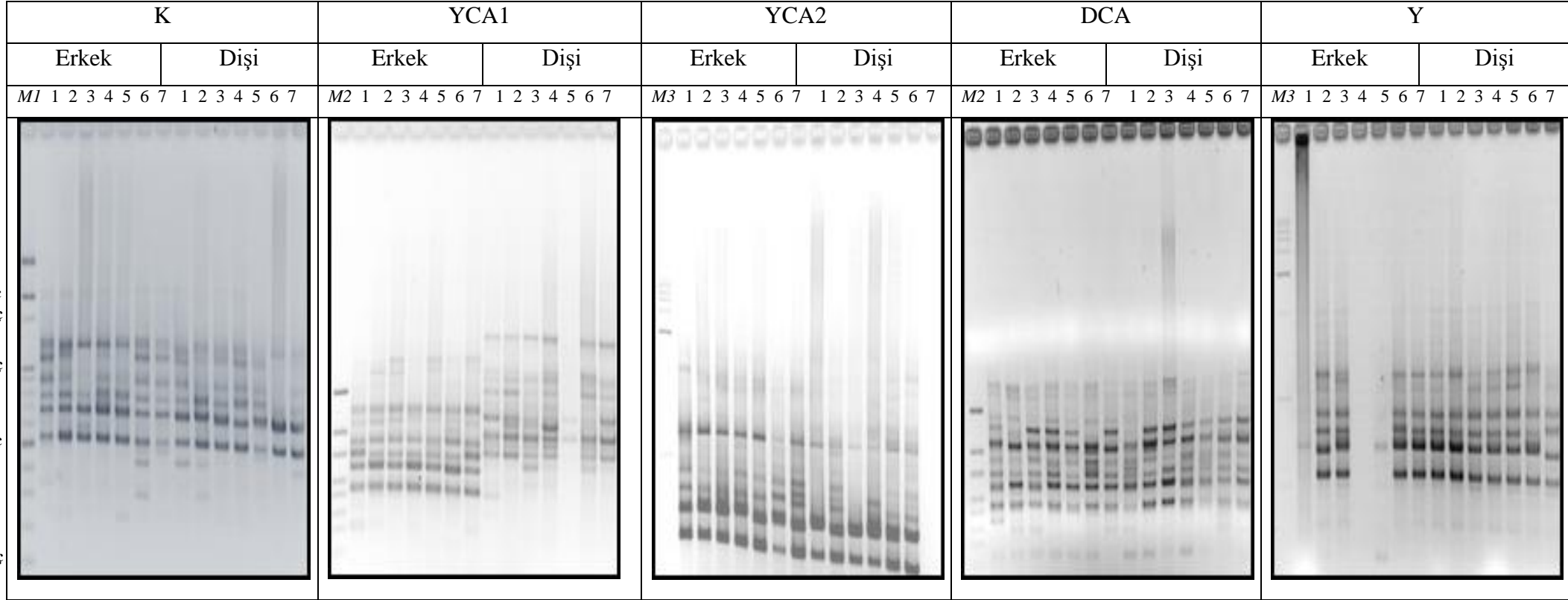


M1: standart DNA moleküler büyüklük markeri (fragment büyüklükleri 3000-2000-1500-1000-900-800-700-600-500-400-300-200-100 bç)

M2: standart DNA moleküler büyüklük markeri (fragment büyüklükleri 1000-500-400-300-200-100 bç)

M3: standart DNA moleküler büyüklük markeri (fragment büyüklükleri 8000-7000-6000-5000-3000-2000-1000-500 bç)

17. RA-33

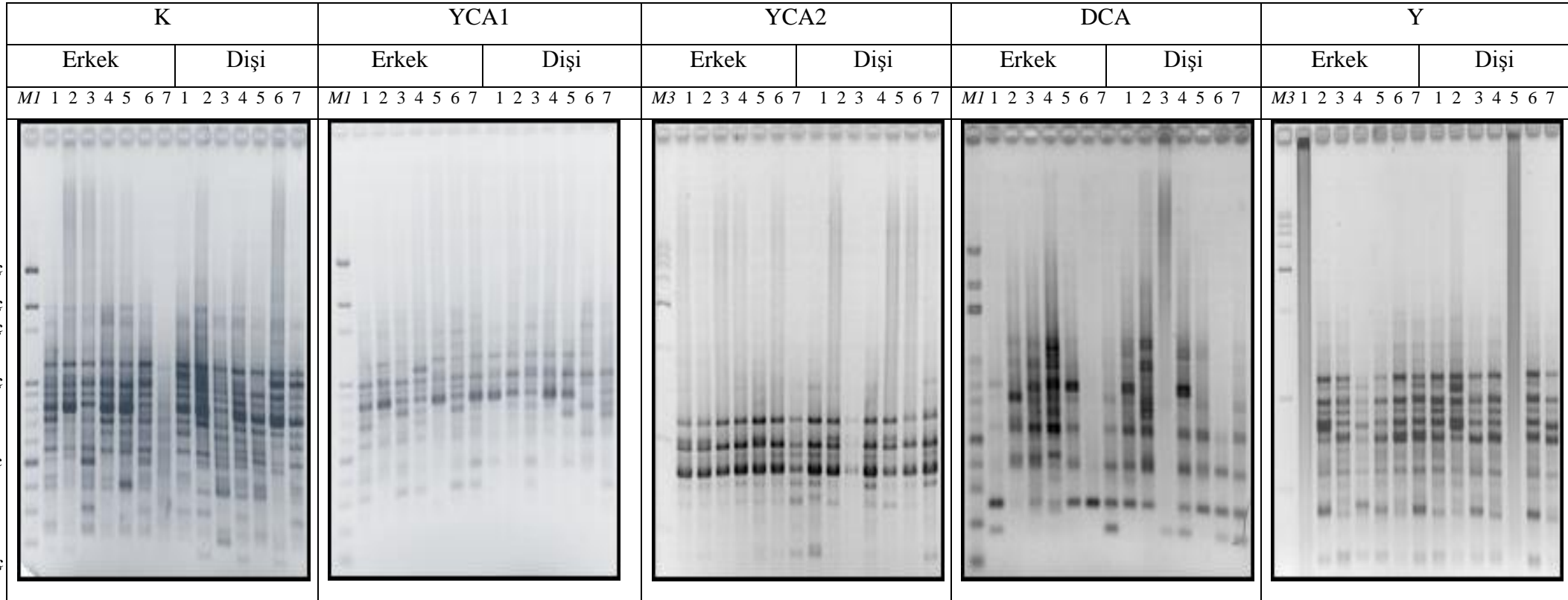


M1: standart DNA moleküler büyüklük markeri (fragment büyüklükleri 3000-2000-1500-1000-900-800-700-600-500-400-300-200-100 bç)

M2: standart DNA moleküler büyüklük markeri (fragment büyüklükleri 1000-500-400-300-200-100 bç)

M3: standart DNA moleküler büyüklük markeri (fragment büyüklükleri 8000-7000-6000-5000-3000-2000-1000-500 bç)

18. RA-35

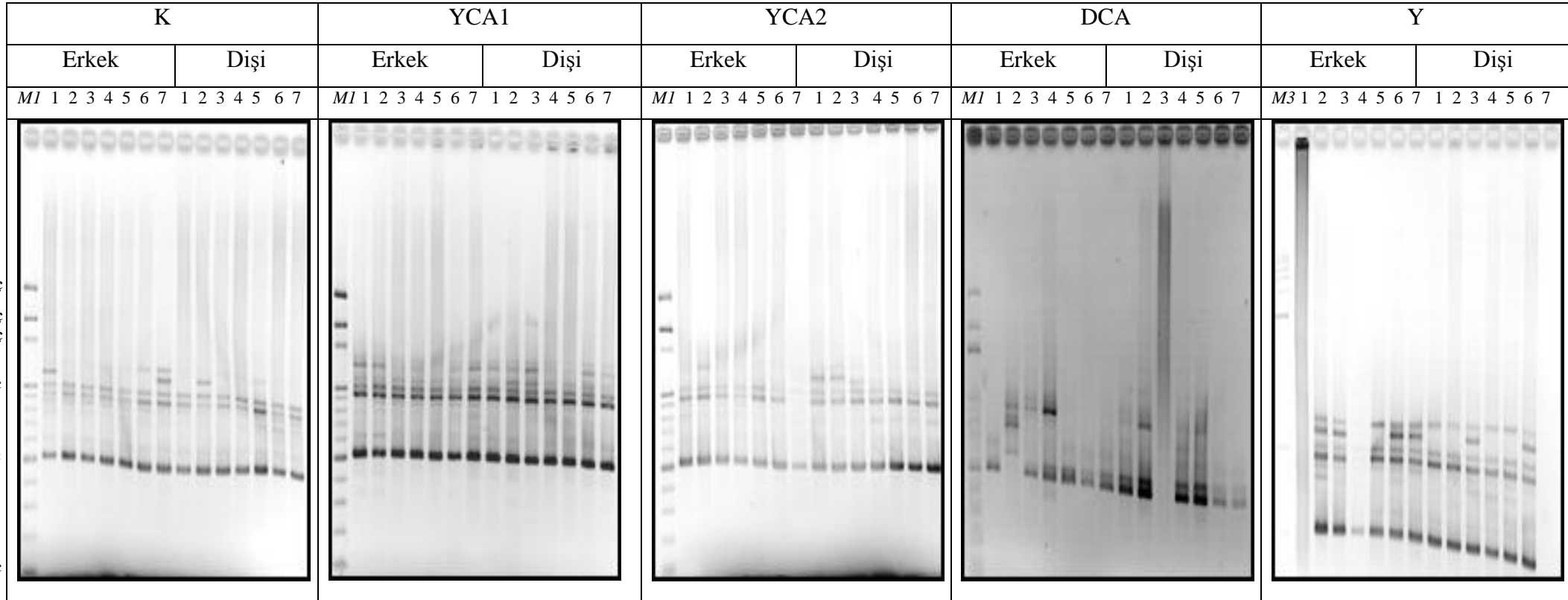


M1: standart DNA moleküler büyüklük markeri (fragment büyüklükleri 3000-2000-1500-1000-900-800-700-600-500-400-300-200-100 bç)

M2: standart DNA moleküler büyüklük markeri (fragment büyüklükleri 1000-500-400-300-200-100 bç)

M3: standart DNA moleküler büyüklük markeri (fragment büyüklükleri 8000-7000-6000-5000-3000-2000-1000-500 bç)

19. RA-59

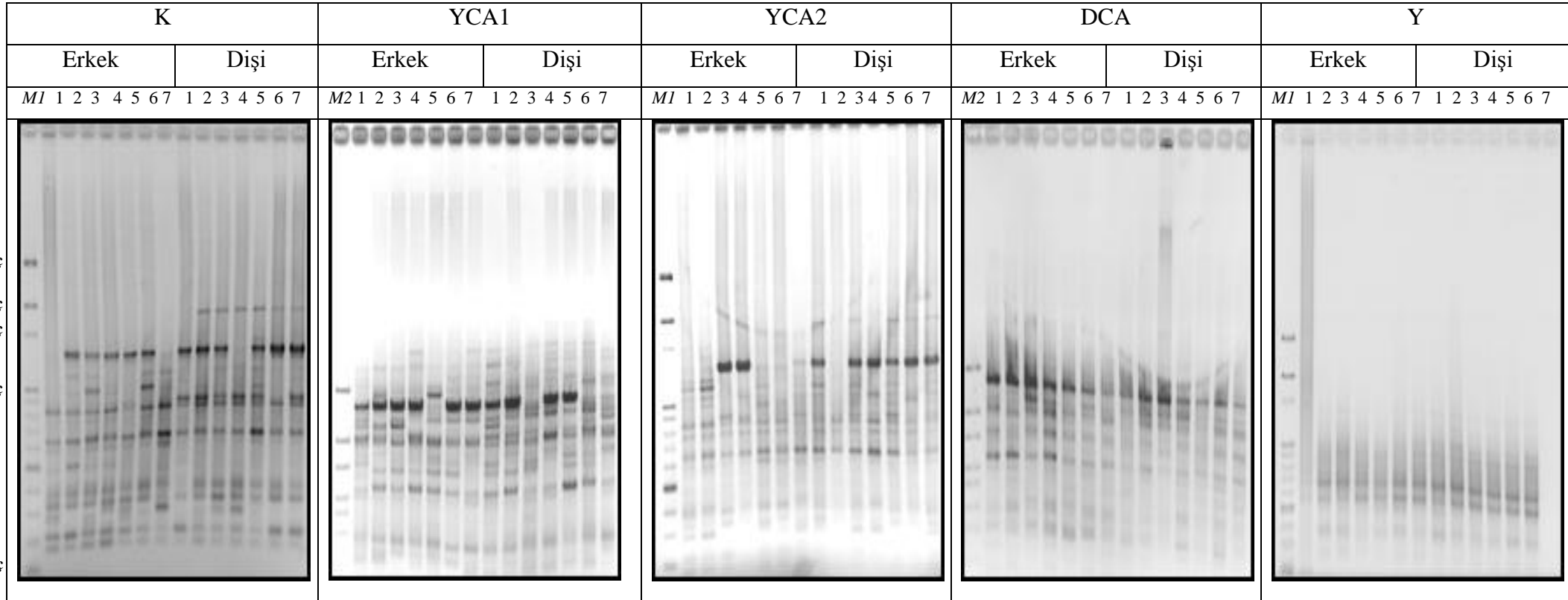


M1: standart DNA moleküler büyüklük markeri (fragment büyüklükleri 3000-2000-1500-1000-900-800-700-600-500-400-300-200-100 bç)

M2: standart DNA moleküler büyüklük markeri (fragment büyüklükleri 1000-500-400-300-200-100 bç)

M3: standart DNA moleküler büyüklük markeri (fragment büyüklükleri 8000-7000-6000-5000-3000-2000-1000-500 bç)

20. OPP-03

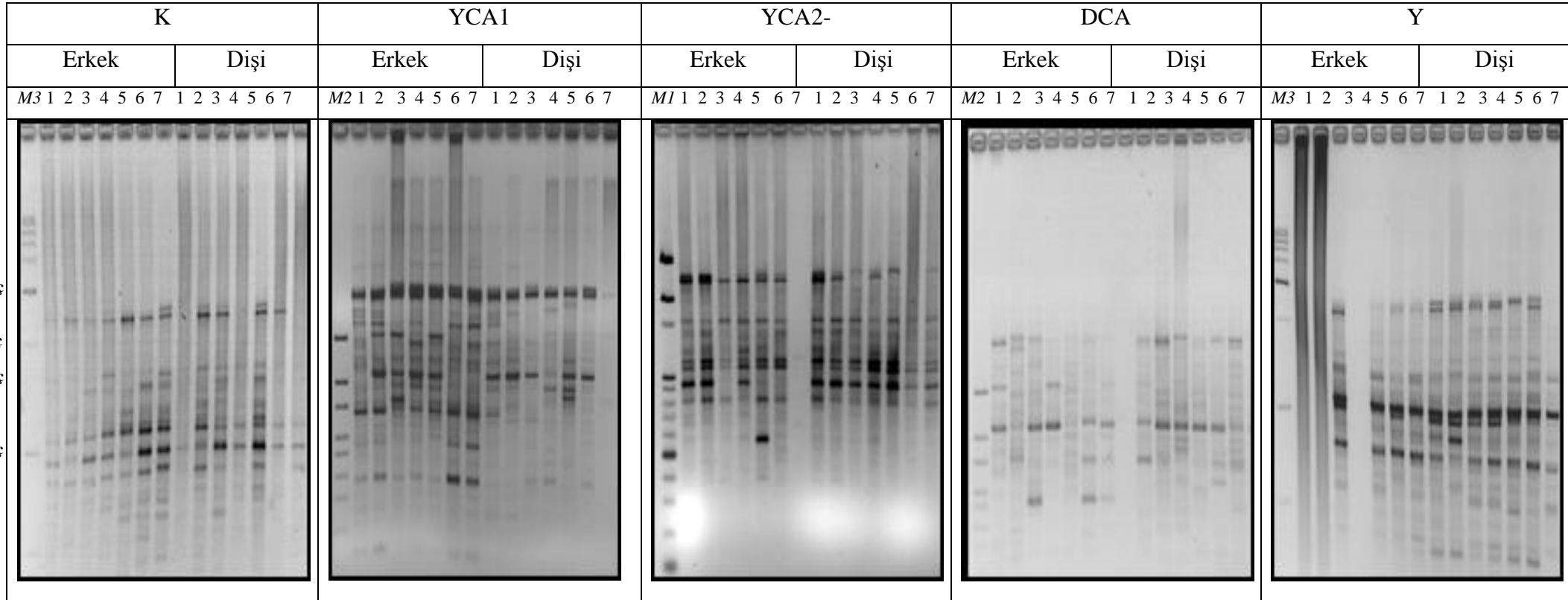


M1: standart DNA moleküler büyüklük markeri (fragment büyüklükleri 3000-2000-1500-1000-900-800-700-600-500-400-300-200-100 bç)

M2: standart DNA moleküler büyüklük markeri (fragment büyüklükleri 1000-500-400-300-200-100 bç)

M3: standart DNA moleküler büyüklük markeri (fragment büyüklükleri 8000-7000-6000-5000-3000-2000-1000-500 bç)

21. OPP-08

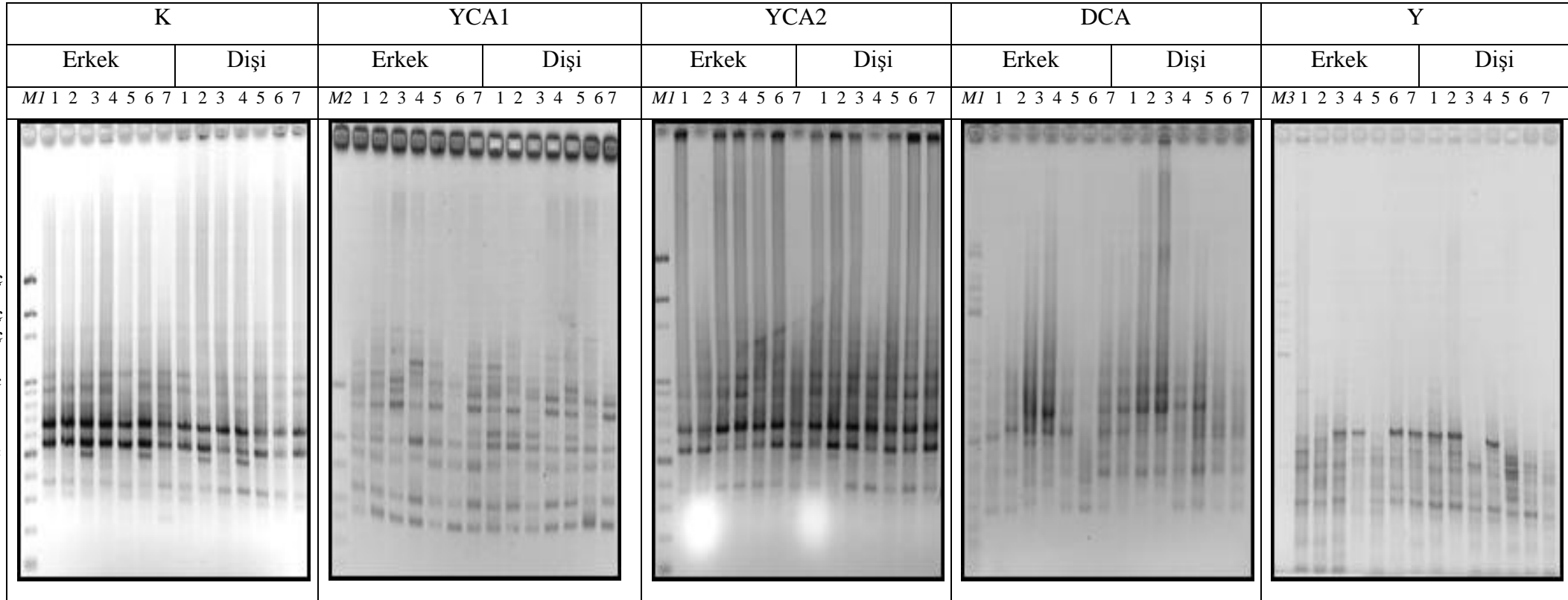


M1: standart DNA moleküler büyüklük markeri (fragment büyüklükleri 3000-2000-1500-1000-900-800-700-600-500-400-300-200-100 bç)

M2: standart DNA moleküler büyüklük markeri (fragment büyüklükleri 1000-500-400-300-200-100 bç)

M3: standart DNA moleküler büyüklük markeri (fragment büyüklükleri 8000-7000-6000-5000-3000-2000-1000-500 bç)

22. OPP-11

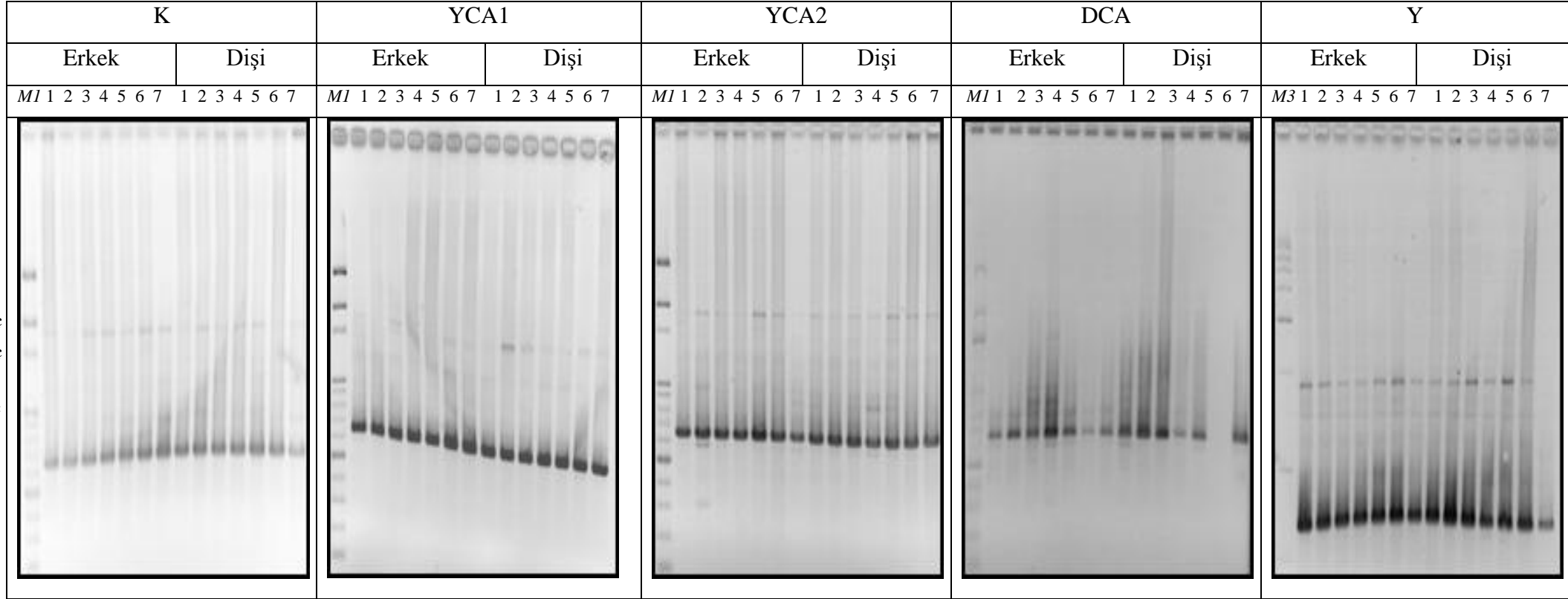


M1: standart DNA moleküler büyüklük markeri (fragment büyüklükleri 3000-2000-1500-1000-900-800-700-600-500-400-300-200-100 bç)

M2: standart DNA moleküler büyüklük markeri (fragment büyüklükleri 1000-500-400-300-200-100 bç)

M3: standart DNA moleküler büyüklük markeri (fragment büyüklükleri 8000-7000-6000-5000-3000-2000-1000-500 bç)

23. OPP-15



M1: standart DNA moleküler büyüklük markeri (fragment büyüklükleri 3000-2000-1500-1000-900-800-700-600-500-400-300-200-100 bç)

M2: standart DNA moleküler büyüklük markeri (fragment büyüklükleri 1000-500-400-300-200-100 bç)

M3: standart DNA moleküler büyüklük markeri (fragment büyüklükleri 8000-7000-6000-5000-3000-2000-1000-500 bç)

24. OP-09

ÖZGEÇMİŞ

Kemal KARABAĞ, 15.09.1974 tarihinde Kars ilinin Arpaçay ilçesinde doğmuştur. İlk, orta ve lise öğrenimini Kdz. Ereğli' de tamamlamış ve 1993 yılında Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootečni Bölümü' nde lisans öğrenimine, 1997 yüksek lisans öğrenimine başlamıştır. 1998 yılında Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Zootečni Anabilim Dalı' a Araştırma Görevlisi olarak atanmıştır. 2000 yılında yüksek lisans öğrenimini tamamlayarak ziraat yüksek mühendisi unvanını alan Kemal KARABAĞ 2001 yılında aynı anabilim dalında doktora öğrenimine başlamıştır.