T.C.

SELÇUK ÜNIVERSITESI

SAGLIK BILIMLERI ENSTITÜSÜ

BIYOKIMYA (VET) ANABILIM DALI

TÜRKIYEDEKI BAZI KEDI IRKLARININ GENETIK YAPILARININ MIKROSATELLITLERLE INCELENMESI

Yüksek Lisans Tezi

Hazirlayan

Tekin EROGLU

Danisman

Doç. Dr. Vahdettin ALTUNOK

Konya-2007

IÇINDEKILER

Içindekiler I

Tablo Listesi IV

Sekil Listesi V

Grafik Listesi VI

Resim Listesi VII

Kisaltmalar VIII

1.GIRIS 1

2.LITERATÜR ÖZETI 3

2.1. Kedigillerin Morfolojik Özellikleri 3

2.2. Kedilerin Genel Özellikleri 4

2.3. Kedilerin Evcillestirilmesi 5

2.4. Kedilerin Önemi ve Dünyaya Yayilisi 6

2.5. Genetik ve DNA 8

2.6. Genetik Kaynaklar ve Önemi 9

2.7. Kedilerin Genetik Çalismalarinin Önemi 11

2.8. Arastirmaya Konu Olan Kedi Irklari 12

2.8.1. Van Kedisi 12

2.8.2. Ankara Kedisi 14

2.8.3. Siyam Kedisi..... 15

2.8.4. Iran Kedisi 16

2.8.5. Tekir Kedisi 17

2.9. Kedilerde Yapilan Genetik Karakterizasyon Çalismalari 18

2.10. DNA düzeyindeki Polimorfizm Teknikleri 22

2.11. Simple sequence repeat (SSR veya Mikrosatellit) Markerler 22

3. MATERYAL METOT 24

3.1. Materyal 24

3.2. Metot 24

3.2.1. DNA Izalosyonu 24

3.2.2. Mikrosatellit Lokuslar 25

3.2.3. Polimeraz Zincir Reaksiyonu 25

3.2.4. DNA Bantlarinin Gözlenmesi 28

3.2.5. Kapiller Elektroforez 28

3.2.6. Istatistiksel Analizler 29

4. BULGULAR 30

4.1. DNA izalasyonu 30

4.2. PZR Reaksiyonu 30

4.3. Kapiller Elektroforez ve Fragman Analizi 31

4.4. IDENTY Testi 33

4.5. Populasyon içi genetik varyasyon ve heterozigozluk düzeyi 33

4.6. Özel Alleller 40

4.7. F parametreleri 41

4.8. Hardy-Weinberg Dengesi 42

4.9. Filogenetik iliskileri gösterir sema agaçlari 44

4.10. Bireyler arasi allel paylasim uzakliklari (ASD) 45

4.11. Faktöriyel birlestirici analiz sonuçlari (Factorial Correspondence Analysis (FCA) 46

5. TARTISMA SONUÇ 48

5.1. Populasyon içi varyasyonlar ve heterozigotluk degerleri sonuçlari 48

5.2. F parametreleri 49

5.3. Irklar Arasi Genetik Uzakliklar 50

5.4. Bireyler arasi allel paylasim uzakliklari (ASD) 51

5.5. Faktöriyel birlestirici analiz sonuçlari (Factorial Correspondence

Analysis (FCA) 51

5.6. Özel Alleller 52

5.7. Sonuç 52

6. ÖZET 54

7. ABSTRACT 56

8. KAYNAKLAR 58

9. ÖZGEÇMIS 64

10. TESEKKÜR 65

TABLO LISTESI

Tablo 1. Kedinin sistematik haritasi 6

Tablo 2. Genetik analizlerde kullanilan bazi çözeltiler ve hazirlanisi 26

Tablo 3. Kullanilan mikrosatellit lokuslari 27

Tablo 4. Kapiller elektroforez isleminde kullanilan havuz sistemi 28

Tablo 5. Populasyonlarda gözlenen allel sayilarinin irklar ve lokuslar açisindan dagilimi, irk basina ve lokus basina gözlenen allel sayilari ve ortalamalari 34

Tablo 6. Populasyonlarda her bir lokus için gözlenen ve beklenen heterozigotluk degerleri 39

Tablo 7. Çalismada gözlenen özgün allellerin lokuslar ile irklar açisindan dagilimi ve gözlenen özgün allel frekanslari 40

Tablo 8. Çalismada kullanilan populasyonlar arasinda bulunan genetik farkliliklarin F_{IS} degerleri 41

Tablo 9. Çalismada kullanilan populasyonlar arasinda bulunan genetik farkliliklarin F_{ST} degerleri 42

Tablo 10. Hardy Weinberg dengesi 43

Tablo 11. Populasyonlar arasi genetik uzaklik degerlerinin gösteren matriks (Nei) 44

SEKIL LISTESI

Sekil 1. Kedigillere ait toplam 37 kedi türünün siniflandirilmasi 7

Sekil 2. NJT agaci tüm irklar ve örnekler için D_A genetik uzakligi kullanilarak komsu birlestirme metotu ile çizilen filogenetik iliski 44

Sekil 3. NJT agaci tüm irklar ve örnekler için D_A genetik uzakligi kullanilarak komsu birlestirme metotu ile çizilen Radyal agaç 45

Sekil 4. Bireyler arasi paylasim uzakligi (ASD) agaci 46

Sekil 5. Çalisilan tüm irklara ait bireylerin arasindaki iliskiyi gösteren Faktöriyel Benzerlik Analizi Grafigi (FCA) 47

GRAFIK LISTESI

Grafik 1. Kapiller elektroforezve fragment analizi sonucu FCA105, FCA220 ve FCA240 lokuslarin pikleri 32

Grafik 2. Kapiller elektroforez fragment analizi sonucu FCA069, FCA075 ve FCA149 lokuslarinin pikleri 32

Grafik 3. Kapiller elektroforez fragment analizi sonucu FCA310, FCA441, FCA229 ve FCA678 lokuslarinin pikleri 33

Grafik 4. FCA069 mikrosatellit lokusu açisindan populasyonlar arasinda allel görülme sikliklari 35

Grafik 5. FCA075 mikrosatellit lokusu açisindan populasyonlar arasinda allel görülme sikliklari 35

Grafik 6. FCA105 mikrosatellit lokusu açisindan populasyonlar arasinda allel görülme sikliklari 35

Grafik 7. FCA149 mikrosatellit lokusu açisindan populasyonlar arasinda allel görülme sikliklari 36

Grafik 8. FCA220 mikrosatellit lokusu açisindan populasyonlar arasinda allel görülme sikliklari 36

Grafik 9. FCA229 mikrosatellit lokusu açisindan populasyonlar arasinda allel görülme sikliklari 36

Grafik 10. FCA240 mikrosatellit lokusu açisindan populasyonlar arasinda allel görülme sikliklari 37

Grafik 11. FCA310 mikrosatellit lokusu açisindan populasyonlar arasinda allel görülme sikliklari 37

Grafik 12. FCA441 mikrosatellit lokusu açisindan populasyonlar arasinda allel görülme sikliklari 37

Grafik 13. FCA678 mikrosatellit lokusu açisindan populasyonlar arasinda allel görülme sikliklari 38

RESIM LISTESI

Resim 1. Van kedisi..... 12

Resim 2. Ankara kedisi 14

Resim 3. Siyam kedisi..... 15

Resim 4. Iran kedisi..... 16

Resim 5. Tekir kedisi..... 17

Resim 6. Izole edilen bazi DNA örneklerinin ve 100 bp DNA standardi (Vivantis) ile birlikte agoroz jel (%1'lik) üzerinde görüntülenmesi. 30

Resim 7. FCA441 ve FCA678 mikrosatellit markörleri ile yükseltgen PZR ürünleri agoroz jel (%2,5) üzerindeki bantlarin görüntülenmesi. 100 bp DNA standardi (I. Kuyucuk) PZR ürünleri ile birlikte yürütülmüstür..... 31

KISALTMALAR

AFLP : Çogaltilabilen parça uzunlugu polimorfizmi

ASD : Bireyler arasi allel paylasim uzakliklari

D_A : Nei ve ark (1983) tarafindan gelistirilen genetik uzaklik metodu

EAAP : Avrupa Zootekni Federasyonu

FAO : Birlesmis Milletler Gida ve Tarim Örgütü

FCA : Faktöriyel birlestirici analiz

F_{IS} : Saf yetistirme katsayisi

F_{ST} : Populasyonlar arasi standardize varyans

He : Populasyonlarda beklenen heterozigotluk

Ho : Populasyonlarda gözlenen heterozigotluk

ISAG : Uluslararasi Hayvan Genetigi Dernegi

mtDNA : Mitokondrial DNA

NJT : Nei'nin D_A genetik uzakligi kullanilarak komsu birlestirme metotu

OMIA : Online Mendelian Inheritance in Animals

PZR : Polimeraz Zincir Reaksiyonu

RFLP : Restriksiyon enzimleri uzunluk polimorfizm teknigi

SD : Serbestlik Derecesi

SNP_s : Tek nükleotit polimorfizm teknigi

SSCP : Rastgele çogaltilmis polimorfik DNA teknigi

SSR veya STR : Genom içerisinde bir lokusta arka arkaya gelen rastgele tekrarlar

STS : Dizisi etiketlenmis alanlar teknigi

UNEP : Birlesmis Milletler Çevre Projesi

VNTR : Degisken sayida ard arada tekrarlanan bölgeler polimorfizmi

X^2 : Ki-Kare

1. GIRIS

Türkiye, eski dünya kitalari olan Asya, Avrupa ve Afrika'nin merkezinde jeopolitik bir öneme sahip bir konumdadir. Bu özelligi ile Türkiye, göç yollarinin ve dogu bati arasindaki ticaret yollarinin arasinda yer alan, dünyadaki ilk uygarliklarin kuruldugu, birçok canlinin hayatinin sürdürmesi için ihtiyaç duydugu yasam kosullarina sahip yerlerden birisidir. Bu özelliginden dolayi ilk yerlesim yerlerinden ve genetik çesitliligi çok yüksek bölgelerin basinda gelir. Bütün canlilarin etkilesim içerisinde bulundugu evcillestirmelerin bu sinirlar içerisinde veya buralara yakin yerler baslamasi esi bulunmaz bir genetik çesitlilik hazinesine sahip oldugunun bir göstergesidir.

Dogada varligini sürdüren bitki, hayvan ve insanlar canlilar grubunu olusturmaktadir. Her canli kendi türüne özgü karakterlere sahiptir. Tür içerisindeki her birey, sahip oldugu karakteri kendisini meydana getiren ebeveynlerden alir ve kendisinden sonraki yavrulara geçirir (Odabasioglu 2005).

Son yillarda irklarin korunmasina yönelik arastirmalar hizla devam etmektedir. Günlerimizin yorucu ve sikintili geçtigi hayat sartlarinin zor oldugu günümüzde her insanin, bilimsel olarak rahatlamasini saglayacak en güzel yollardan birisi de ev hayvanlari ile ilgilenmektir. Evcil hayvanlar denildiginde ilk akla gelen ise kedilerdir. Kediler uzun zamandan beri insanlarla iliski içerisindedirler (Raymond ve ark 1999). Kediler gösterdikleri davranislar itibariyle eski çaglardan beri insanlarin dikkatini üzerlerine çekmeyi basarmislardir. Ancak özgürlügü sevmeleri ve serbest çiftlesmelerden ötürü safliklarini yitirmeye ve özelliklerini kaybetmeye baslamislardir. Bunun en büyük nedenlerinden birisi de nesil kayitlarinin tutulmamasindan kaynaklanmaktadir.

Bu çalisma ile son yillarda yaygin olarak kullanilan mikrosatellit DNA markörleri kullanilarak bazi evcil kedilerin (Van kedisi, Ankara kedisi, Siyam kedisi, Iran kedisi ve Tekir kedisi) genetik karaktarizasyon yapilmistir. Çalismada 10 mikrosatellit lokusu (FCA069, FCA075, FCA105, FCA149, FCA220, FCA229, FCA240, FCA310, FCA441, FCA678) kullanilarak irk içi ve irklar arasi genetik çesitlilik tespit edilmistir. Populasyon genetiginde yeni gelistirilen çok degiskenli istatistiksel metotlar ve

yazilimlarin kullanimi saglanmistir. Belirtilen irklar ve populasyonlarda irk içi ve irklar arasindaki heterozigotluk düzeyleri, bireylerin benzerlik durumlari tespit edilmistir.

LITERATÜR ÖZETI

Türkiye eski kitalar olan Asya, Avrupa ve Afrika'nin kesisim noktasinda ve göç yollarinin üzerinde oldugu için genetik kaynaklar açisindan dünyanin en zengin bölgelerinden biri haline gelmistir. Birçok hayvan türünün Anadolu'da veya Anadolu'ya yakin bölgelerde evcillestirildigi ve yetistirilmeye baslandigi görülmektedir (Tamada ve ark 2005). Genetik çesitlilik ve özgün özellikler bakimindan çok degerli bir mirasa sahip oldugumuz bir gerçektir.

Insanlar bitki yetistirmeye, hayvanlari evcillestirmeye basladigindan beri biyolojik çesitlilikleri gözlemeye ve merak etmeye baslamislardir. Her çagdaki bilim adamlari biyolojik farkliliklari bilgileri nispetinde yorumlamaya ve canlilarin nasil meydana geldigi konusunu açiklamaya çalismislardir (Odabasioglu 2005).

Kediler, gösterdikleri davranis özellikleri ile eski çaglardan beri insanlarin dikkatini çekmis ve ilgi odagi olmuslardir (Odabasioglu ve Ates 2000). Insanlar kedilerle çok uzun zamandir iliski içindedir (Raymond ve ark 1999, Tamada ve ark 2005). Günümüzde insanlar bedenen ve zihnen yorucu, stres dolu bir yasam sürmektedir. Ev hayvanlari ile ilgilenmenin insanlarda stresi azalttigi, yorgunluk giderdigi ve psikolojik rahatlik sagladigi bilimsel çalismalarla ortaya konulmasi nedeniyle, bu gün dünyada ev hayvanlarina ve özellikle de kedilere karsi gösterilen ilgi giderek artmaktadir (Odabasioglu ve Ates 2000). Evcil ve yabani olarak 37 kedi türü (Sekil 1) vardir. Amerika'da 60 milyon, Avrupa'da ise yaklasik 50-60 milyon kedi evlerde beslenmektedir (Odabasioglu ve Ates, 2000).

2.1 Kedigillerin Morfolojik Özellikleri

Kedilerin **v**ücutlari çogunlukla ince uzun, boyunlari kural olarak kisa ve baslari yuvarliktir. Vücudunun tümü kürkle kaplidir. Postlari çogunlukla beneklidir. Eseysel dimorfizm yoktur (*aslanlar hariç*). Ancak erkekler biraz daha büyüktür. Bas yuvarlak, boyun kisa, vücut ince, kuyruk uzun ve hareketlidir. Gözleri büyük, öne yönelik, pupilleri kedilerde çubuk seklinde, digerlerinde yuvarlaktir. Göz kapaklari etlidir. Bunlarin altinda saydam membran bulunur. Kulaklar gözlerin arkasindadir. Gövde, dar bir gögüs kafesi (*thorax*) ve ona oranla daha genis bir abdomenden meydana gelmistir.

Karin kisminin ventralinde dört veya bes meme (*papilla mamma*) bulunur. Kuyrugun altinda anüs ve dis urogenital organlar bulunur. Deri vücudun her tarafinda yumusak ve ince olup, sadece ayak tabanlarinda belirgin bir keratinlesme gösterir. Her bir tüy, yag bezleri ile baglantisi olan folüküllerden çikar. Folüküllere kil diken kaslar (*M.arrector pili*) baglidir. Bunlarin sayesinde kizdigi, üsüdügü veya asiri streste oldugu zaman kedinin tüyleri diklesir. Diger zamanlarda tüyler yatiktir. Tüyler ilkbahar ve sonbaharda dökülür. Kilin rengini kortekste bulunan pigment maddeleri olusturur. Beyaz kedilerde her hangi bir pigment maddesi yoktur. Bacaklari orta boydan uzuna kadar degisir. Kuyruklari kisadan uzuna kadar olabilmektedir. Agiz-burun kisimlari kisa; bullalari çikik ve perdelerle bölmelere ayrilmistir. Normal yürüyüslerinde tüylü tabanlarina bastiklari için çok sessizdirler. Çok iyi görür ve çok iyi ses algilarlar. Kulaklari orta büyüklükte olup sesin geldigi yöne çevirebilirler. Renkleri görürler; kisa isik dalgalarina insandan 6 kez daha duyarlidirlar, gözlerinin karanliga uyumu da insanlara göre çok hizlidir. Tapetum lucidum tabakasindan dolayi, isik düsünce geceleri gözleri parlar. Kediler, kisilip genisleyen gözbebekleri sayesinde çok az isikta bile insanlardan daha iyi görürler. Denge organlari ve duyusu gelismis oldugu için, çogunluk dört ayak üzerine düserler. (Demirsoy 1992, Demirsoy 1996, Kuru 1987, Senler 1986).

Besinlerini çesitli büyüklükteki memeliler, kuslar, kertenkeleler, kurbagalar, baliklar ve çesitli omurgasizlar olusturur. Kedi, kaplan ve diger bazi yirticilar ot da yerler. (Demirsoy 1992, Demirsoy 1996, Kuru 1987).

2.2 Kedilerin Genel Özellikleri

Evcil kediler mart ve haziranda olmak üzere yilda iki kez çiftlesirler. Gebelik süreleri 59 gündür ve bir batinda 4-6 yavru dogururlar. Erkek kedilerin yavru kediler ve olanak buldukça yedikleri saptanmistir. Insanlarin yedikleri her seyi hemen hemen yerler; özellikle siçan ve farelerin düsmanidirlar; 2-3 m. kadar siçrayabilirler. Iyi tirmanir, yüzer (Van kedileri yüzmeyi severler) ve kisa mesafelerde iyi kosarlar. Temizliklerine özen gösterirler. Dilleri ile sik sik post tüylerini yalarlar. Yasadiklari yöreye ve eve baglidirlar. Melezlemeler ve olusturulan varyasyonlar sonucu, vücuttaki desen ve beneklerin sekillerinde, killarin yapisinda ve uzunlugunda birçok degisiklik elde edilmistir (Demirsoy 1992).

Keskin duyu organlarinin varligi, karanlikta bile çok iyi görebilen gözleri, kivrak vücudu, sivri pençeleri, keskin disleri ve ayaklarinin üzerinde sessiz yürümesi onu etkili bir avci yapmistir. Çogu tek tek, aslanlar ise gruplar halinde yasarlar. Büyük bir kismi gençken insanlara alismasina karsin, erginlestikçe tehlikeli olmaya baslarlar. Dört altfamilya halinde gruplandirilmislardir. Notogaea (*Avustralya ve Yeni Zellanda*) ve Madagaskar hariç dünyanin her yerine yayilmislardir. Karanlik korkusu ve kedilerin gece görebilme özelliginden dolayi, misirlilar kedilerin sihirli güçlere sahip olduklarina inanirlardi. Misir dilinde kedinin adi görmek anlamina gelen "Mau" dur. (Demirsoy1992, Demirsoy 1996, Kuru 1987, Senler 1986, Odabasioglu ve Ates 2000).

2.3 Kedilerin Evcillestirilmesi

Kedilerde evcillestirme isleminin M.Ö. 5000 yilinda Misirda basladigi, M.Ö. 1600 yilindan itibaren ise tamamen evcillestirilmis oldugu ileri sürülmüstür (Tamada ve ark 2005, Lipinski ve ark 2008, Eizirik ve ark 2001). Avrupa'da ise evcillestirme 2000 yil öncesine dayanmaktadir (Tamada ve ark 2005). Türkiye'de, kedilere ait evcillestirmeyi destekleyen Hacilar'da, M.Ö. VI. yüzyila ait, kedi ile oynayan kadin heykelleri bulunmustur (Demirsoy 1992).

Evcil kedilerin Afrika vahsi kedisinin (*Felis silvestris libyca*) soyundan geldigine inanilmaktadir. Bu kisa tüylü vahsi kedi bugünkü büyüklük, renk ve çizgilerine göre evcil kedilere benzerlik göstermektedir (Tamada ve ark 2005, Demirsoy 1992, Eizirik ve ark 2001). Tarihi ve arkeolojik bulgular, kedilerin M.Ö. 5000 yillarinda Bati Asya, Mezopotamya, Filistin, Anadolu ve Harapan uygarliginda, Misirdan bagimsiz olarak evcillestirildigi yönündedir (Tamada ve ark 2005, Odabasioglu ve Ates 2000). Bu görüsler dogrultusunda, bu günkü evcil kedilerin atalarinin, Avrupa (*Felis silvestris*) ve Afrika yabani kedisi (*Felis silvestris lybica*) oldugu kabul edilmektedir (Tamada ve ark 2005, Eizirik ve ark 2001).

Kediler evcillestirilmeden önce, insanlar tarafindan daha çok zararlilarla mücadele sirasinda sergiledikleri yetenekleri nedeniyle tercih edilmektedir. Insanlarin tahil yetistirmeye baslamasindan bu yana kediler, bu görevlerini basariyla sürdürmüstür. Kirsal kesimde, zararli kemirgenleri etkisiz hale getirmek için birkaç tane iyi yetismis

kedi, yeterli gelmektedir. Kediler kullanilmadan önce, insanlik bu tür belalar karsisinda çaresizdi (Odabasioglu ve Ates 2000).

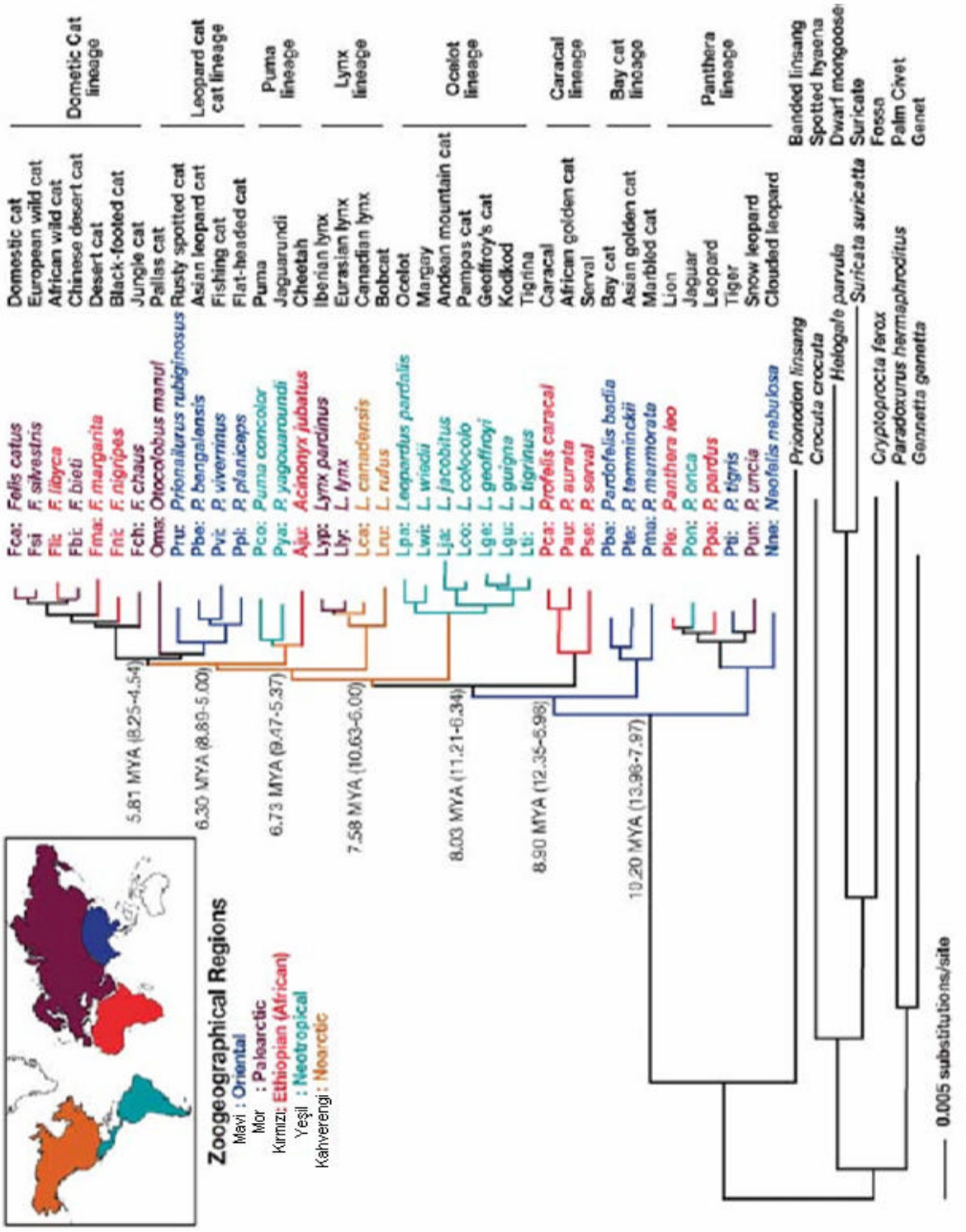
2.4 Kedinin Önemi ve Dünyaya Yayilisi

Otuz dört milyon yil öncesinde bilinen kediyi paleontologlar “proailurus” diye adlandiriyorlardi. Tropikal ormanlardaki agaçlarda hayatlarini sürdüren proailuruslarin, vücut büyüklügü günümüz evcil kedileri kadardi. Kediler etcil memelilerden felidae familyasindandir (Tablo 1). Kediler; Büyük Kediler, Çitalar ve Felis olmak üzere 3’e ayrilir (Sekil 1). Aslan, Leopar, Jaguar ve Kaplan büyük kediler içerisinde yer alirken, küçük kedilerin ise otuzdan fazla çesidi vardir. Dünyadaki bütün evcil kediler de Felis grubunda (Sekil 1) yer alir.

Alem	**Animalia**	**Hayvanlar**
Alt alem	Metazoa	Çok Hücreli Canlilar
Sube	Craniata	Kafataslilar
Alt Sube	Vertebrata	Omurgalilar
Grup	Gnathostomata	Çeneliler-Gerçek Omurgalilar
Süper Sinif	Tetrapoda	4 Ayaklilar
Sinif	Mammalia	Memeliler
Grup	Carnivora	Etcil Memeliler
Familya	Felidae	Kedigiller
Tür	Felis domestica	**Ev Kedisi**

Tablo 1: Kedinin sistematik haritasi (Ellerman ve Morrison 1966)

Evcil kedilerin dünyaya yayilmasinda, temelde iki faktör rol oynamistir. Bunlardan birincisi; insanlarin rat ve farelerle mücadelede kedileri kullanmalari, ikincisi ise sans ve talih oyunlarini kedi ile iliskilendirme inançlaridir. Kediler M.S. VI. yüzyilda Çin'e, VIII. yüzyilda ise Almanya'ya sokulmustur (Odabasioglu ve Ates 2000, Demirsoy 1992, Demirsoy 1996)



Sekil 1: Kedigillere ait toplam 37 kedi türünün siniflandirilmasi. Terminal kodlar üç harfli kodlarla etiketlenmistir. Örnegin Felis catus, Fca olarak tanimlanmistir. Kediler 8 ana cinse gruplandirilmistir. Kedi türlerinin biyocografik ve tarihsel dagilimi kodlanmistir (O'Brien ve Johnsen 2005'den uyarlanmistir).

Eski misirlilar ürün olarak elde ettikleri bugdayi büyük silolarda depoluyorlardi. Ana besin kaynagi tahillar olan fare ve siçan gibi kemiriciler, bu silolarda büyük zararlara sebep oluyorlardi. Afrika yabani kedilerinin (*Felis silvestris libyca*) kemirgenlerle mücadelede etkili olduklarini fark eden misirlilar bu kedileri beslemeye, onlarla birlikte yasamaya basladilar. Misirlilar kedilere büyük deger verir ve saygi gösterirlerdi. Kedilerin ülke disina çikarilmasina izin vermiyorlar, kedi öldürenleri ölüm ile cezalandiriyorlardi (Odabasioglu ve Ates 2000). Arkeolojik kalintilarda Misirlilarin kedilere taptiklari, kaybettiklerinde yas tuttuklari ve öldüklerinde öbür dünya için mumyaladiklari görülmektedir (Odabasioglu ve Ates 2000).

2.5 Genetik ve DNA

Genetik, biyolojinin kalitim ve varyasyonlar (çesitlilik) ile ilgilenen bilim dalidir. Bu disiplin, basit tek hücrelilerde gelismis olup tüm canlilarin temelini olusturan genetik materyallerin yapisinda bu canlilarin populasyonlarindaki çesitliligi arastirmaktadir (Klug ve Cummings 2000).

Klasik olarak, genetik çesitliligin iki kaynagi vardir: kromozomal varyasyonlar ve DNA dizilim varyasyonlaridir. Kromozomal varyasyonlar inversiye, duplikasyon, delesyon yada kromozom bölümlerinin (*segmentlerin*) yeniden düzenlenmesi olaylarini kapsar. DNA dizilim mutasyonlari, DNA'da depolanan kimyasal bilgideki degisim sonucu ortaya çikar. Bu kimyasal bilgiyi olusturan nükleotitlerin yer degisimlerini (*substitution*), kendi kopyasini olusturmasini (*dublikasyon*) ya da aradan çikislari (*delesyon*) ve yenilerinin eslesmesi (*insersiyon*) içerebilir. DNA diziliminde olusan alternatif formlari allel olarak isimlendirilir. Genetik çesitlilik, her zaman olmasa dahi, organizmanin fenotipi olarak bilinen özelliklerinin bazilarinda degisim ile sonuçlanir. Bir geni olusturan bir DNA parçasinda, nükleotit olarak isimlendirilen kimyasal yapi taslarinin dört çesidi vardir. Bir geni olusturan nükleotit dizisi, genetik ifadenin son ürünü olan proteinlerin kimyasal dogasini (amino asit kompozisyonunu) kodlar. Nükleotitlerin siralanmasindaki (genetik sifredeki) degisim sonucu, varyasyonlar genlerin dolayisiyla alternatif formlari olan alleller olusur (Klug ve Cummings 2000).

1940’li yillarin basinda baslayan moleküler çalismalar, yasamsal olaylarda genetigin rolü ile ilgili bilgilerimizi sürekli olarak genisletmektedir. Baslangiçta, sadece bakteriler ve virüslerle ilgili arastirmalarda elde edilen bilgiler olmakla birlikte, simdi ökaryotlarda da, genetik bilginin dogasi, gen ifadesi özgürlügü, replikasyonu ve düzenlenmesi ile ilgili çok genis bir bilgi mevcuttur. Laboratuarda klonlanan birçok genin nükleotit dizisi tam olarak saptanmis durumdadir. Bir baska organizmadan alinan DNA dizilerinin, bakteri yada virus DNA’sina klonlandigi yeni bilesen rekombinant DNA çalismalari, moleküler genetik çalismalarinda kullanilan genis kapsamli arastirma teknolojisinin temeli olarak hizmet görmektedir. Bu yaklasimin üzerine, genlerin tanimlandigi, izole edildigi, klonlandigi ve dizisinin saptandigi yeni bir alan olan DNA biyoteknolojisi alani kurulmustur. Bu yeni teknoloji kullanilarak genom ve gen islevini en ince ayrintilari ile arastirmak mümkündür. Böyle moleküler ve biyokimyasal analizler, gen tedavisi için bir olanak yaratmakta ve tip, tarim ve biyoetik alanlarinda çok genis yer bulmaktadir (Klug ve Cummings 2000). Günümüzde çok sayida tek hücreli canlilarda, insan, fare, sigir gibi canlilarin genom projeleri tamamlanmistir.

1900'lü yillarda çok az anlasilmis olan genetik, genetik alanindaki arastirmalarda kullanilan çesitli yaklasimlarin sayesinde günümüzde en çok ilerleme kaydetmis bilim disiplinlerinden biri haline gelmistir (Klug ve Cummings 2000).

2.6 Genetik kaynaklar ve Önemi

Genetik çesitlilik, belli bir cografi alandaki canlilarin türlerinin bu türlere iliskili irklarin genetik niteliklerin ve içinde yasadiklari ekosistem de birbirleri ile iliskilerinin niteligini ifade eder (Soysal 2004). Bu gün soyu tükenmis olanlarin disinda 1 500 000’in üzerinde hayvan türünün varligi tahmin edilmektedir. En küçük mikro organizmalardan artik soyu tükenmis canlilara kadar, tüm varliklar bir hayat piramit olusturmuslardir

Hayvansal genetik kaynaklarin korunmasi, biyolojik çesitliligin korunmasi anlamindadir. Biyolojik çesitliligin korunmasi ise herhangi bir ülkenin degil tüm dünyanin mevcut varliklarindan birisinin korunmasi anlamini tasimaktadir. Biyolojik sistemlerin temel özelligi olan varyasyon, pek çok faktöre bagli olan tür, irk ve genetik

varyasyonlari nedeni ile giderek önemli ölçüde azalmaktadir. Bu azalma tropik bölgelerdeki düzeydeki kadar olmasa bile, diger bölgeler ve bu arada Türkiye içinde geçerlidir. Bir irkin yok olma tehlikesi veya tehdidi altinda bulunmasi, bu irkin mevcudu disindaki bir dizi nedene baglidir. Bunlar; populasyon büyüklügündeki azalmanin hizi, diger irklarla melezlenme hizi veya riski, yetistiricilerinin örgütlenme düzeyi ve örgütün gücü ile bu irka mensup hayvanlarin bulundugu sürülere dagiliminin deseni olarak siralanabilir (Ertugrul ve Akman 2000).

Özel fizyolojik, davranimsal veya genotipik niteliklere sahip olan irklara koruma programlarinda öncelik verilmelidir. Bu tip ayirici özellikler; ender rastlanmalari, adaptasyon veya ekonomik potansiyellerinin bulunmasi yaninda, insan hastaliklarina model olusturmalari, fizyolojik özellikler ve adaptasyon ile ilgili niteliklerinin genetik mekanizmalarinin belirlenmesi gibi bilimsel olanaklari sunmasi bakimindan da önemlidir. Digerlerinden genetik olarak farkli olan irklarin; adaptasyon, gelecekteki yetistiricilik çevresi veya bilimsel çalismalarda kullanima elverislilik gibi pek çok ayirici özelligi determine eden farkli allel gen kombinasyonlarina sahip olmalari olasidir. Bu nedenle genetik farkliligi olan bu irklarin korunmasinin, türün geleceginin garanti altina alinmasinda önemli katkisi olacaktir. (Ertugrul ve Akman 2000).

Yapilan Genetik kaynaklarin korunmasi çalismalarinda genel anlamda amaç, canlilarin genetik yapisinin arastirilmasi ve önemli genetik kaynaklarinin koruma stratejilerinin belirlenmesidir. Genetik kaynaklarin korunmasi ile ilgili görüslerin geçmisi; Sovyet botanikçi Vavilov'un ilk bitki gen bankasini olusturdugu 1928 yilina kadar uzanmaktadir. Hayvan genetik kaynaklarin korunmasi gerekliligi ise 1959 yilinda Chicago da düzenlenen bir sempozyumda ilk kez ortaya atilmistir. Bunun üzerine 1960li yillardan itibaren hayvan genetik kaynaklarin korunmasina iliskin girisimler ivme kazanmistir (Ertugrul ve Akman 2000). Bu konuda özellikle FAO (Birlesmis Milletler Gida ve Tarim Örgütü), UNEP (Birlesmis Milletler Çevre Projesi) ve EAAP (Avrupa Zootekni Federasyonu) gibi ulusal ve uluslar arasi örgütler tarafindan 1960"li yillardan sonra hayvan genetik kaynaklarin saptanmasi, korunmasi ve degerlendirilmesi alanlarinda projeler ileri sürülmüs ve halen devam ettirilmektedir (Altunok ve Demir 2004).

2.7 Kedilerin genetik çalismalarinin önemi

Kediler üzerinde yapilan çalismalarda 200 den fazla genetik defekt (Nicholas ve ark 1998) belirlenmistir. Kedi hastaliklariyla baglantili genler son yillarda tanimlanmaya baslanmistir (Byers ve ark 1997). Evcil kediler, en yaygin olarak beslenen ev hayvanlarindan biridir, fakat bu türlerde nesil ve kimlik testlerinde geri kalinmistir ve kedilerde istenilen geçerli nesil kayitlari yoktur (Lipinski ve ark 2007). Dünyadaki kediler tarihteki evcillestirmeye ve irklarin gelisimine genomik çesitlilikleri ile isik tutarlar (Driscoll ve ark 2007).

Kedilerin genetik yapisinin arastirilmasi, iki ilgi çekici gerekçeden dolayi önemlidir. Bunlardan birincisi, OMIA veritabanina göre kedilerde tespit edilen 135 hastalik insan kalitsal hastaliklarina benzerlik göstermesi nedeni ile, kedinin insan kalitsal hastaliklarinin arastirilmasinda model organizma olarak kullanilmasina olanak saglamaktadir. Yine kedilerde tespit edilen 235 kalitsal hastalik insan haricide diger hayvanlarin kalitsal hastaliklariyla benzerlik göstermektedir. Ikincisi ise kedi genom organizasyonunun insan genomuna göre belirgin bir sekilde daha iyi korundugu bulgusunun tespit edilmis olmasidir (O’Brien ve ark 1997). Bu evrimsel korunma nedeniyle, hastaliklara neden olan genlerinin izolasyonu, evcil kedi ve insanlar arasindaki korunmus kromozom bölgelerinin identifikasyonu ile oldukça kolaylastirilabilir (Murphy ve ark 1999). Ayrica Dünyadaki kedilerin büyük çogunlugu rastgele çogalirlar (Lipinski ve ark 2007) ve dolayisiyla zengin bir genetik çesitlilige sahiptirler. Bu gibi özellikler kediye genetik çalismalarda kullanilabilecek iyi bir model organizma yapmaktadir.

2.8 Arastirmaya konu olan kedi irklar

2.8.1 Van Kedisi

Türkiye’de yetistirilen ve saf Türk kedisi olarak anilan Van kedisinin asil kökeni Türkiye’nin Van yöresidir. Van kedisinin en büyük özelligi suyu sevmesi ve korkmadan suya girmesidir. Van kedisi 1969 yilinda saf kan kedi irki olarak kabul edilmistir (Anonim 2007a).



Resim 1: Van kedisi (Anonim 2007e)

Türkiye’de büyük ilgi toplayan Van Kedisi bölgenin ve kültürümüzün bir parçasidir. Yapilan arastirmalara göre Van kedilerinin ana vatani, Altay Daglarinin eteklerinde olan Buhtamara sehridir. (Odabasioglu ve Ates 2000).

Dünya kedi irklari arasinda özel bir yere sahip Van kedisi orijinal göz renkleri, uzun beyaz tüyleri ve sevecen mizaçlariyla insanlarin büyük begenisini kazanmistir. Bu özelliklerinden dolayi, çaglar boyunca Anadolu’da ve tüm dünyada insanlarin dikkatini çekmistir. Özellikle neslinin azalmasindan dolayi, son yillarda yogun ilgi görmektedir. Van kedilerinin Iran, Pakistan ve Tayland kedileri ile akraba olduklarini kabul edenler de vardir. Van kedilerine ait ilk bilgilere, Hitit mücevherlerinde ve mühürlerinde rastlanmistir. Daha sonralari Romalilarin bölgeyi egemenlikleri altina almasi ile (MS

75-387) Roma kalkanlarina ve savas bayraklarina Van kedisi resmedilmistir. Bugün bu kalkanlardan birinin Paris Lourve Müzesinde bulundugu bildirilmektedir (Odabasioglu ve Ates, 2000).

Orta büyüklükte bir basa sahip olan Van kedilerinin yüzü üçgen seklinde ve elmacik kemikleri çikiktir. Kulak yapilari büyük ve genis olmakla birlikte kulaklarinin dip kismi yuvarlaktir. Burun uçlari, patileri ve kuklalarinin iç kismi pembe renktedir. Arka patileri ön patilerinden daha uzun, kuyruklari uzun ve tüylüdür. Van kedilerinin en büyük morfolojik özelligi gözlerinin rengidir. Van kedilerinin gözlerinin her ikisi mavi, her iki gözü kehribar sari rengi ve tonlarinda olabilecegi gibi bir gözü mavi bir gözü kehribar sari renkte de olabilmektedir (Anonim 2007a). Van kedisinin diger önemli bir özelligi ise, tüy renginin gövdede beyaz iken kuyruk ve bas bölgesinde sari renklerin bulunmasidir (Anonim 2007b).

Van kedisi diger kedi irklari içerisinde en çok Ankara kedisi ile karistirilmaktadir. Fakat bu iki irki birbirinden ayiran özellikler mevcuttur. Van kedisi ile Ankara kedisi arasindaki farklar su sekildedir;

- Van kedisinin gözleri badem seklinde ve kehribar renginde iken Ankara kedisinin gözleri yuvarlak yapida ve mavi-sari renktedir.
- Yüz yapisi olarak Van kedisinde yuvarlak, Ankara kedisinde sivridir.
- Van kedisinin bas ve kuyruk kisminda sari lekeler bulunurken Ankara kedisinin rengi bembeyazdir.
- Van kedisinin tüyleri Ankara kedisinin tüylerinden genellikle daha kisadir (Anonim 2007c).

2.8.2 Ankara Kedisi

Türkiye'de üretilen ve saf bir Türk kedisi olarak anilan Ankara kedisinin anavatani Ankara yöresidir. Ankara kedisi uzun tüylü kedilerin atasi olarak kabul edilmekte ve Dünya'da Angora olarak taninmaktadir (Anonim 2007a).



Resim 2: Ankara Kedisi (Anonim 2007a).

Ankara kedisinin morfolojik özellikleri: kafa yapisi orta büyüklükte ve keskin hatlarla ayrilmis durumdadir. Kulak yapisi, uzun, dik ve birbirine yakin konumda ve kulak uçlari dik ve tüylüdür. Göz rengi olarak genellikle mavi gözle olmakla birlikte kehribar sari, yesil-sari tonlari ve sari-mavi gibi iki farkli göz renkleri de gözlenebilmektedir. Tüy yapisi olarak tek tabakadan olusmus ve beyaz renktedir. Kuyrugu uzun, kabarik ve bol tüylü yapidadir. Ankara kedilerinin en önemli karakteristik yapisi kalitsal olarak sagir olmalaridir. Fakat çok nadir olarak sagirlik görülmeyen kedilerde mevcuttur (Anonim 2007a).

2.8.3 Siyam Kedisi

Siyam kedilerinin anavatani eski Siyam (Tayland)'dir. Vücut yapilarina göre Wedgehead (modern), traditionals (geleneksel) ve klasik olarak 3'e ayrilmaktadir. Siyam kedileri temel olarak 5 renge (Seal Point, Chocolate Point, Blue Point, Lilac Point ve Albino Siamese) ayrilmaktadirlar (Anonim 2007d).

Siyam kedisinin morfolojik özellikleri: orta boyda olan kafa yapilari üsten asagiya dogru genisten incelerek inmekte ve burundan kulaklara dogru üçgen seklindedir. Uç kisimlari sivri olan kulaklari alta yuvarlak ve birbirinden ayrik durumdadir. Badem seklinde olan gözleri burun kisminda çekik haldedir. Bacaklari ince ve arka ayaklari ön



Resim 3: Siyam kedisi (Anonim 2007d).

ayaklarindan daha uzundur. Kuyrugu uzun ve incedir. Tüyleri vücuduna yatik durumda, ince, kisa ve parlaktir (Anonim 2007a). Biyik bölgesi fazla çikintili degildir ancak erkek kedilerin çeneleri daha belirgindir. Boynu zariftir. Agiz kismi narin, uzun ve üçgendir. Sivri uçlu kulaklari altta genistir ve birbirlerinden ayriktir. Dogulu badem biçimli gözleri burnuna dogru daha da çekiklesir. Iki gözünün arasindaki mesafe bir gözün büyüklügünden daha uzun olmamalidir. Ince kemikli orta boy gövdesi siki kaslidir. Vücut hatlarinda hep kalindan inceye dogru akis vardir. Omuzlari ve kalçalari gögüs kafesiyle ayni kalinliktadir. Bacaklari incedir ve arka ayaklari önlerden daha uzundur. Küçük ve oval patileri zariftir. Uzun ve ince kuyrugu ucuna dogru daha da incelir. Bedenine dogru yatik duran tüyleri ince, parlak ve kisadir (Anonim 2007e).

Degisik renkler elde etmek için yetistiricilerin yaptigi çalismalar sonucunda bazi Siyam kökenli yan irklar ortaya çikmistir. Bunlardan bazilari Colorpoint Shorthair, Javanese ve Ocicat'tir (Anonim 2007e).

2.8.4 Iran Kedisi

Iran kedileri, soylarinin ortaya çiktigi ülke olan Iran'in adiyla bilinirler, fakat M.Ö 1684 yillarina kadar uzanan hiyeroglif kaynaklarinin incelenmesi sonucu, bu kedilerin daha önce varolduklari ortaya çikmistir. Iran kedilerinin kökeni olarak uzun tüylü Ankara kedisi oldugu düsünülmektedir. Agirlikli yetistirildikleri yer olan Iran'in ismiyle anilmislardir (Anonim 2007a).



Resim 4: Iran kedisi (Anonim 2007a).

Iran kedisinin morfolojik özellikleri: kafa kemikleri tamamen yuvarlak yapidadir, gözleri iri, yuvarlak ve kabarik olan Iran kedilerinin önemli bir özelligi de burun yapisidir. Iran kedilerinin burun kismi kisa, kalkik ve basik belirgin bir girintisi vardir.

Kulaklari ufak, öne egik durumda ve uç kismi yuvarlaktir. Kaslari ise çok gelismis durumdadir. Iran kedilerinin ayaklari kalin ve kisa olmakla birlikte iri, yuvarlak ve sikidir. Ön ayaklarini da kaplayacak kadar uzun kürk gibi tüylere sahiptir (Anonim 2007a).

Iran Kedileri'nin genis, kisa vücutlarini destekleyen kisa ve kalin kemikli bacaklari vardir.

2.8.5 Tekir Kedisi

Tekir Kedisi, melez bir irktir. Diger kedi irklari gibi saf bir irk degildir, yine de ortak özellikleri bir baslik altinda toplanabilecek kadar benzer görünüs ve kisilik özellikleri sergileyebilir (Anonim 2007e).



Resim 5: Tekir kedisi (Anonim 2007a)

Bugün, dünyanin hemen her kösesinde çok yaygin olarak rastlanan, çesitli renk tonlarindaki evcil Tekir kediler, Eski Misir'in, Afrika Vahsi Kedisi, (Felis Sylvestris Lybica) ile Avrupa'nin Mahalli Vahsi Kedisi (Felis Sylvestris Sylverstris)nin karisimindan ortaya çikmistir. Türkiye'de, pek çok evde beslenen Tekir kedilerine Tekir adi verilmektedir. Tekir, yaygin bir kedi ismi haline gelmistir. evlerde beslenen kedilerin büyük kismi Tekir kedi guruplarindan birine aittir. Tabi ülkemizdeki, çogunlugunu Tekir kedilerin olusturdugu sokak kedilerini de unutmamamiz gerekir. Tekir - Tabby , Ingilizce konusulan ülkelerde de has isim olarak kullanilmaktadir. Tekir sözcügü aslinda bir post desenini ifade etmektedir. Türkçedeki Tekir sözcügünün etimolojik kökeni Eski Yunan ve Latin dillerindeki kaplan anlamindaki tigris sözcügüne dayanmaktadir. Bugün Tekir, kaplan gibi sirti çizgili ve benekli olan anlaminda kullanilmaktadir. Nitekim, Fransizca'da Tekir kedinin karsiligi, "chattigré" dir. Italyanca'da, "gatto tigrato", Almanca'da ise "tiger katze" olarak ifade edilmektedir. Ingilizce'deki tabby cat sözcügü ise biraz farkli bir hikâyeye dayanmaktadir. "Bagdat'in, Attabiye adli bir semti veya banliyösü mevcuttur. Burada çok uzun yillar önce, attabi

denilen tafta cinsi ipekli bir kumas dokunmaktadir. Bu kumas, kaplanin çizgilerini andiran hatlarla düzenlenmis bir desen tasimaktadir. Ingiltere'ye bu kumas ithal edilmektedir ve oldukça revaçtadir. Melez Tekir kediler Ingiltere'de de yayginlasirken, bunlara önceleri tiger cat denilirken, sonradan kumasin adi agir basmis ve attabi'den mülhem tabby denilmeye baslanmistir" (Anonim 2007e).

Van Kedisi veya Siyam Kedisinde oldugu gibi, Tekir kedsinin karakter özelliklerini açik seçik bir sekilde ortaya koyup tarif etmek olanagi yoktur. Hemen hepsi tüm evcil kedilerin genel karakterini ve yapisini tasiyabilirler (Anonim 2007e).

Tekir kedisinin en önemli morfolojik önemli özellikleri postlarindaki çizgili desenlerin çok bariz ve canli olmasidir. Tekir kedileri postlarindaki desen, renk ve renk tonlarina göre degisik isimler almaktadirlar (Anonim 2007a). Bugünkü sekilleri ile, Tekir kedilerin postundaki çizgili desenler genel olarak çok bariz ve canlidir. Oysa, arkeologlarin, magara duvarlarindaki resimlerden çikarttiklari sonuçlara göre, bundan üç dört bin yil öncesinde Misir kedilerinde görülen desenler çok soluk renkli ve kirik hatlar halinde idi. Keza benzer gözlemler, o tarihlerde Avrupa kedilerindeki desenlerin ve hatlarin da belli belirsiz olduguna isaret etmektedir (Anonim 2007e).

2.9 Kedilerde yapilan genetik karaktarizasyon çalismalari

Kedilerde yapilan genetik karaktarizasyon çalismalari, vahsi ve evcil kedilerde gerçeklestirilmistir. Vahsi kedilerden Pumalarda (Culver ve ark 2000), Asya Aslanlari ve Hindistan kaplanlarinda (Shankaranarayanan ve ark 1997), Rusya Panterlerinde (Uphyrkina ve ark 2002), Güney Afrika Çitalarin da (O'Brien ve ark 1985), Kalifornia Dag Aslanlarinda (Ernest ve ark 2000), Leoparlarda (Uphyrkina ve ark 2001), Tanzanya Leoparlarinda (Spong ve ark 2000) Hindistan'daki büyük kedilerde (Singh ve ark 2004) ve Kaplanlarda (Xu ve ark 2005) farkli sayida lokuslar kullanilarak genetik karakterizasyon çalismalari gerçeklestirmislerdir.

Lipinski ve ark (2007) Amerika'da ve Avrupa'da bulunan 15 kedi populasyonunda Florasans isaretli mikrosatellit lokuslar ile kimliklendirme çalismasi yapmistir. 20 ayri laboratuarda çalisilarak sonuçlar birlestirilip birbirini tamamlayan veriler sunulmus 19 mikrosatellit lokusla çalisilmaya baslanmis 9 mikrosatellit lokus

sonuçlanmistir. 261 kedi kullanilmistir. Çalisma sonucunda kedilerdeki gözlenen heterozigotluk 0,41 ile 0,73 arasinda degistigini gözlenmistir. Görülen allel ortalamasi kedi irklari ortalamasi 3,0 ile 6,1, kedi populasyonlarinin allel ortalamasinin ise 4,2 ile 7,8 arasinda degistigi belirlenmistir. Buradaki çalisma konu olan kedi irklarindan iki tanesi (Siyam kedisi ve Iran kedisi) Lipinski ve ark (2007)'nin çalismasina materyal olusturmustur. Siyam kedisi ve Iran kedisinin gözlenen heterozigotluk degerleri sirasiyla 0,48 ve 0,60 olarak belirlenmis ve allel sayilari ise sirasiyla 4,0 ve 5,3 olarak tespit edilmistir. Kullanilan 9 mikrosatellit lokus (FCA069, FCA075, FCA105, FCA149, FCA220, FCA229, FCA310, FCA441, FCA678) açisindan ortalama gözlenen heterozigotluk ise 0,28 ile 0,67 arasinda degistigi belirlenmistir.

Sokak kedileri üzerinde 9 mikrosatellit lokus ile (Say ve ark 2003) çalisilmis ve sokak kedilerinin olusturdugu kolonilerin belirgin olarak heterozigot oldugu belirlenmistir.

Lipinski ve ark (2008)'nin çalismasinda 22 saf kedi irkinda, çesitli ülkelerden rastgele seçilen 17 populasyon ve 3 vahsi irka ait DNA örnekleri üzerinde 38 mikrosatellit lokus kullanarak kedilerdeki filogenetik iliskiler incelenmistir. Çalisma sonucunda kedilerdeki gözlenen heterozigotluk 0,34 ile 0,69 arasinda degistigini gözlenmistir. Kedi populasyonlarinda görülen allel ortalamasinin 2,82 ile 6,65 arasinda degistigi belirlenmistir. Buradaki çalisma konu olan kedi irklarindan dört tanesi (Van kedisi, Ankara kedisi, Siyam kedisi ve Iran kedisi) Lipinski ve ark (2008)'nin çalismasina materyal olusturmustur. Van kedisi, Ankara kedisi, Siyam kedisi ve Iran kedisinin gözlenen heterozigotluk degerleri sirasiyla 0,49, 0,56, 0,47 ve 0,51 olarak belirlenmis ve allel sayilari ise sirasiyla 4,62, 5,21, 4,06 ve 5,68 olarak tespit edilmistir. Van kedisi, Ankara kedisi, Siyam kedisi ve Iran kedisinin Fis degerleri ise sirasiyla 0,18, 0,15, 0,10 ve 0,19 arasinda degistigi belirlenmistir. Günümüz kedisinin evcillestirme merkezinin Akdeniz çevresi oldugu belirlenmistir. Bu çalisma sonucunda Akdeniz, Avrupa, Asya ve Afrika kedilerinin genetik açidan ayrilabilen gruplar olusturdugu, Kuzey Amerika kedilerinin Avrupa kedileriyle genetik benzerlik gösterdigi belirlenmistir.

Asya kedilerinin daha önce ayrildigi özel bölgesel izolasyona bagli olarak yayildigi gözlenmistir. Genel olarak saf yetistirmenin genetik çesitliligin kaybolmasina neden olmasi dolayisiyla saf yetistirmenin daha kontrollü yapilmasi gerektigini ortaya koymustur. Yine 20'den fazla kalitsal hastalik, kan yakinligina bagli olarak saf yetistirilen kedi irklarinda gözükmektedir (Lipinski ve ark 2008).

Kedilerde biyokimyasal genetik varyasyonun özelliklerini arastiran O'Brien (1980), kedilerde jel elektroforezi ile 55 biyokimyasal lokusun analizini gerçeklestirmislerdir. Bu lokuslardan 12 lokus polimorfik (% 22) olarak bulmustur. Kedilerde polimorfik lokuslarin genetik frekanslari ilk defa bu çalisma ile hesaplanmis ve Hardy -Weinberg dengesinde olan populasyonda ortalama heterozigotluk düzeyi 0,07 olarak hesaplanmistir.

Wiseman ve ark (2000) Afrika vahsi kedileri ile evcil kedilerin birbirleri ile farklilasmasi ve melezlenme miktarini belirlemek için vahsi kedilerle evcil kedileri karsilastirmistir. Toplam 16 Afrika vahsi kedisinden doku örnegi yaygin olarak bulunan Güney Afrika'dan temin etmistir. Ender bulunan örnekler yollarda ölü bulunan vahsi kedilerden ve koruma altina alinmis kedilerden almislardir. Evcil kedi örnekleri ise 2 ayri sehirde basi bos gezen sokak kedilerinden almislardir. Evcil kedilerde bulunan yüksek polimorfik 8 evcil kedi mikrosatelliti kullanmislardir. Analizler sonucu 3 lokusta Hardy Weinberg dengesinden ($p<0,005$) sapma oldugu belirlemislerdir. Linkage yapida ise %5 lik bir bozulmanin söz konusu oldugunu belirlemislerdir. Karsilastirmali testlerde özel allellerin düsük frekansli oldugu tespit etmislerdir.

Afrika vahsi kedilerinde belirgin bir sekilde melezlenme tehdidi altinda oldugu görülmektedir. Çalisma ile vahsi kedilerin özel yapilarini korumak ve vahsi hayata özgü allellerin yok olma tehdidini önlemek amaciyla korunma altina alinmasi gerçegini ortaya koymustur. Vahsi kediler sehirlerden uzakta kirsal kesimlerden kontrol altinda tutulmalidir (Wiseman ve ark 2000).

O'Brien ve ark (1980) tarafindan kedi, fare ve insan populasyonlarinda genetik varyasyon iliskisinin arastirildigi çalismada, bu üç türde 57 homolog lokusun elektroforetik genetik analizi yapilmistir. Incelenen lokuslarin % 60'i 3 türde de

monomorfik, % 30'u 2 ya da daha fazla türde polimorfik oldugunu, ayrica kedilerdeki polimorfizm oranini 0,22 (12/55) olarak tespit etmislerdir.

Kaeuffer ve ark (2004)'nin yaptigi çalismada iki evcil sokak kedisi populasyonunda büyüklükleri ve hayatta kalma parametreleri birbirleriyle karsilastirilmistir.

Evcil Kedilerle vahsi kedilerin karsilastirildigi çalismalarda; Beaumont ve ark (2001) evcil kedilerle Vasaklari, Pierpaoli ve ark (2003) ise evcil kedilerle Sirdinyali Vahsi kedilerin genetik yapilarini ve 130 evcil kedi, 165 Avrupa vahsi kedisi ve 25 tane irki bilinmeyen muhtemelen Avrupa vahsi kedisi ile evcil kedilerin melezi olan kediler genetik olarak birbirleriyle karsilastirilmistir.

Raymond ve ark (1995) 10 mikrosatellit lokusu ile evcil kedilerde genetik yapi arastirilmasi yaparken, bir baska çalismada 9 mikrosatellit lokus çalisilarak iki evcil kedi irkinin genetik yapilari (Say ve ark 1999) karsilastirilmistir.

Van kedilerinde daha önce yapilan bir çalismada (Altunok ve ark 2007), 7 farkli alyuvar enzimleri kullanilarak Van kedilerinin genetik karaktarizasyonu protein elektroforezi yöntemi ile ortaya konulmustur. Türkiye'de enzim elektroforez teknigi Van kedilerinde ilk defa uygulanmis ve Gpi, Pgd, Sod, Me, Ca_1, EsD ve Got enzim lokuslari yönüyle Van kedilerinin genetik yapilari belirlenmistir. Pgd, Me ve EsD lokuslari açisindan Van kedilerinin polimorfik olduklari, populasyonda homozigot ve heterozigot kedilerin bir arada bulundugu, polimorfizm oraninin spesifik bir irk olan Van kedilerinde diger kedilere göre yüksek oldugu gösterilmistir. Gpi, Sod, Ca_1 ve Got lokuslari açisindan ise Van kedilerinin monomorfik olduklari ve bu genlerin bütün bireylerde homozigot oldugu ortaya konulmustur. Van kedilerinin arastirilan lokuslar açisindan, çalisilan diger kedi irklarindan farkli bir allel tasimadigi gözlemlenmistir. Van ve Ankara kedilerinde PGD enzimi açisindan heterozigot üstünlügü olabilecegi görülmüstür. Polimorfik lokuslar açisindan ortalama heterozigotluk degerlerinin 0.33 ile 0.49 arasinda degistigi gözlenmistir. Genetik iliskiler agaci Van-Iran-Ankara-Tekir kedi irklarindan olusan grubun çok yüksek tekrarlanabilirlikle Siyam ve Bonbay irki grubundan farkli oldugunu sergilemistir.

Driscoll ve ark (2007) dünyadaki kedilerin tarihteki evcillestirmeye ve irklarin genomik çesitlilige nasil isik tuttugunu mikrosatellit lokuslar kullanarak arastirilmistir.

2.10 DNA düzeyindeki polimorfizm teknikleri

Genetik düzeyde bireyler arasindaki çesitliliginin arastirilmasini mümkün kilan en iyi yöntem DNA teknolojisidir. DNA polimorfizmleri iki ana grupta incelenebilir. Bunlar tek nükleotid degisimi ile meydana gelen polimorfizmler ve tekrar eden dizi uzunluguna bagli polimorfizmlerdir (Cerit 2001). Tek nükleotid polimorfizmlerin Restriksiyon enzimleri uzunluk polimorfizm teknigi (RFLP), Rastgele çogaltilmis polimorfik DNA teknigi (RAPD), Çogaltilabilen parça uzunlugu polimorfizmi (AFLP), Tek nükleotit polimorfizm teknigi (SNP_s) gibi farkli yenilikler ile tanimlanabilir. Ardisik tekrar eden nükleotid sayilarina göre minisatellitler ve mikrosatellitler olarak ikiye ayrilir. Minisatellitler 10 ile 60 bp'lik ardi ardina tekrarlayan dizilerden olusmustur (Yildirim ve Kandemir 2001, Cerit 2001).

2.11 Simple sequence repeat (SSR veya Mikrosatellit) Markerler

Son yillarda genotipin belirlenmesi, irk içi ve irklar arasi benzerlik yada farkliliklarin belirlenmesi çalismalarinda mikrosatellit DNA markörleri yaygin olarak kullanilmaktadir. Mikrosatellitler genom boyunca ardisik olarak tekrarlanan kisa DNA motifleridir. Tekrarlarin sayisi bir populasyon içinde yer alan bireyleri hatta ayni kardes kromozomlar arasinda daha farkli olabileceginden polimorfizm tespitinde kullanilabilir. Mikrosatellitler 1-6 baz çifti uzunluguna sahip basit tekrarlardan olusmus polimorfik markerlerdir. Yaygi olarak $(AT)_n$, $(GT)_n$, $(ATT)_n$ ve $(GACA)_n$ tekrarlari gözükmektedir. Tekrar eden nükleotid dizisinin farkliligindan dolayi yüksek derecede polimorfizm görülür. Mikrosatellitleri tri ve tetra nükleotit dizi sikliklari dinükleotit dizilerden daha düsüktür. Tekrar eden dizi sayisi, Mendel kalitim kurallarina uyarak bir kusaktan digerine aktarilir. Bu teknik daha dogru, daha hassas ve daha kisa sürede bilgi verebilmektedir. Ayrica mikrosatellit DNA teknigi, maddi açidan kiyaslandiginda diger moleküler tekniklere göre daha ucuz bir tekniktir. DNA temeline dayandirilan en yeni teknolojilerden biri olan bu metot yüksek düzeyde

varyasyon gösteren bölgelerin incelenmesi açisindan kullanilan bir analiz metodudur. Mikrosatellit DNA bölgeleri bitki ve hayvan genomunda oldukça yüksek sayida varyasyon göstermektedir (Özkan 2005, Cerit 2001). Mikrosatellitler araciligi ile genotipin belirlenmesi birbirini izleyen 4 basamaktan olusmaktadir. Bu basamaklar sirasi ile DNA izolasyonu, PZR, elektroforez, verilerin elde edilmesi ve uygun istatistikî ve matematiksel yöntemlerle degerlendirilmesidir (Cerit 2001).

Mikrosatellitleri çevreleyen DNA dizileri genellikle ayni türün bireyleri arasinda korunmus olduklarindan, Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) primerleri ile çogaltilabilmektedir. Ardisik SSR tekrarlarinin sayisindaki farklilik, PZR sonucu farkli uzunlukta parça çogalimiyla sonuçlanir ve genotipin belirlenmesinde kullanilabilir (Yildirim ve Kandemir 2001). Mikrosatellitler yüksek oranda polimorfik olduklari için canli populasyonlari hakkinda oldukça fazla bilgi verir (Hansen ve ark 2001).

Mikrosatellitler genomda yaygin olmalari, yüksek oranda polimorfizm olmalari, PZR ve jel elektroforez ile kolayca tanimlanabilmeleri ve karaktarizasyon islemlerinin daha kolay ve hesapli olmasi gibi nedenlerden dolayi gen haritalama, hastalik ve verimleri kontrol eden kromozom ve genom bölgelerinin tanimlanmasi, DNA düzeyinde ebeveyn ve adli tip çalismalarinda ve populasyonlarin moleküler düzeyde karaktarizasyon çalismalarinda yaygin olarak tercih edilen markör sistemi olmustur.

3. MATERYAL ve METOT

3.1 Materyal

Çalismada materyal olarak 62 Van kedisi, 6 Ankara kedisi, 6 Siyam kedisi, 6 Iran kedisi ve 18 Tekir kedisi kullanilmistir. Van kedisinin 56kan örnegi Yüzüncü Yil Üniversitesi Van Kedi Evinden yetistirilen kedilerden, 6 adet Van kedisi ve diger irk kediler ise özel ve tüzel kisilerin elinde bulunan kedilerden temin edilmistir. Toplam 98 kediden kan örnekleri sabah aç karnina teknigine uygun olarak Vena cephalica antebrachii'den antikuagulantli (K_3EDTA'li) tüplere alindi ve analize kadar -20 ºʔ 'de saklandi.

3.2 Metot

3.2.1 DNA izalosyonu:

Kan örneklerinden standart fenol/kloroform yöntemiyle DNA izolasyonu yapilmistir. 100 µl tüm kan örnegi üzerine 300 µl 1XTNE, 30 µl 100 mM Tris-HCl (pH 8.0), 5 µl Proteinase-K (10 mg/ml) ve 10 µl % 20 SDS ilave edilerek 50-55 °C'de 12 saat (1 gece) karistiricili inkübatörde bekletildi (Tablo 2). Inkübasyon isleminden sonra her bir tüpe 445 µl fenol (pH.8.0) çözeltisi eklenerek tüpler ters düz edilerek nazikçe 10 dakika (dk) karistirildi ve 3000 rpm'de +4 °C'de, 10 dk satrifüj edildi. Santrifüj isleminden sonra tüplerin üst fazi (süpernatant) dikkatlice alinarak temiz ependorf tüplerine aktarildi ve üzerlerine 445 µl fenol:kloroform:isomilalkol (25:24:1) eklendi ve tüpler 10 dk alt üst edildikten sonra 3000 rpm'de, +4 °C' de, 10 dk santrifüj edildi. Süpernatant kismi tekrar toplandi ve bu sefer üzerine 445 µl kloroform:isoamil alkol (24:1) eklenerek 10 dk alt üst edilip, 3000 rpm'de, +4 °C' de 10 dk satrifürüj edildi. Süpernatant tekrar temiz ependorf tüplerine aktarildi ve üzerine -20 C de bekletilen % 96'lik etil alkolden 890 µl eklenerek 10.000 rpm'de +4 C' de 10 dk santrifürüj islemi yapildi. DNA pelleti % 70'lik 890 µl etil alkol ile yikandi. 10.000 rpm'de +4 C' de 10 dk santrifirüj islemi yapildi. DNA pelleti tamamen kurutuldu ve 100 µl 10 mM Tris-HCl (pH 8.0) ilave edilerek çözdürüldü.

DNA örneklerinin miktari ve kalitesi 260 ve 280 nm UV ile Biofotomotre (BioRad) kullanilarak tespit edilmis ve kullanilincaya kadar -20 °C'de saklanmistir. DNA örneklerinin kalitesi ve miktari 6X Loading Dye ile birlikte % 0.8 Agar jeline yüklenerek 100V/h elektroforez sonrasi ethidium bromide (EtBr) ile boyanarak UV kaynagi altinda gözlemlemistir ve Bio-Rad Gel Doc 2000 görüntüleme sistemi kullanilarak görüntülenmistir.

3.2.2 Mikrosatellit lokuslari

Çalismada kullanilan mikrosatellit lokuslari Uluslararasi Hayvan Genetigi Dernegi (ISAG) tarafindan tavsiye edilen listeden seçilmistir (Lyons 2004). Poliformorfik ve farkli kromozomlarda bulunan lokuslar tercih edilmistir. Kapiller elektroforez ve fragman analizinde kullanilmasi amaciyla her bir lokusun forward primeri Beckman Coulter CEQ-8000 Genetik Analiz Sistemine uygun WELL-RED (D4, D3 veya D2) floresans ile isaretlenmistir. PZR oligolari Sigma-Proligo tarafindan sentezlenmistir. Çalismada kullanilan mikrosatellit lokuslari Tablo 3'de özetlenmistir.

3.2.3 Polimeraz Zincir Reaksiyonu

PZR protokolü olarak bir reaksiyonunda 1x Mg++ free PCR buffer (Fermentas), 200 mM dNTP (Fermentas), 1.5 mM MgCl++, 0.375 ünite *Taq* polimeraz (Fermentas), 5 pmol her bir primer çifti (Tablo 2) ve 50ng template DNA kullanildi. Her bir PZR reaksiyonu toplam 15 µl hacimde hazirlandi.

Polimeraz zincir reaksiyonlari, MJ Research PTC-200 Thermal Cycler ve touchdown PZR profili kullanilarak iki asamada gerçeklestirildi. 95 °C'de 4 dakika ile tam bir denatürasyon saglandiktan sonra I. asamada 16 döngü için 94 °C'de 30 saniye denatürasyon, primerlerin ideal baglanma noktasinin saglanmasi için 60 °C'den baslayarak her bir döngüde 0,5 °C düsürülen ve 30 saniye süren annealing ve 72°C'de 60 saniye elongation saglandi. II. asamada 94 °C'de 30 saniye denatürasyon, 52 °C'de 30 saniye annealing ve 72 °C'de 30 saniye elongation olacak sekilde toplam 25 döngü kullanildi. Son olarak örnekler 72°C'de 10 dakika tutularak tam bir adenilizasyona olanak saglandi.

1XTNE (30ml) 0,1 M Tris-HCl (pH:8) (1,5 ml) 1 M NaCl (3ml) 0,5 M EDTA (300 µl) Distile su ile 30 ml'ye tamamlanir.	**0,5 M EDTA (pH:8) (1 lt)** 86,1 g EDTANa2 800ml distile su ile çözdürülür. NaOH ile pH ayarlanir Distile su ile 1 lt'ye tamamlanir.
0,1 M Tris-HCl (pH:8) (1 lt) 12,1 g Tris 800 ml distile su HCl kullanilarak pH ayarlanir Distile su ile 1 lt'ye tamamlanir.	**1 M EDTA (pH:8) (1 lt)** 172,2 g EDTANa2 800 ml distile su ile çözdürülür NaOH ile pH ayarlanir Distile su ile 1 lt'ye tamamlanir.
1 M NaCl (1 lt) 58,44 g NaCl 800 ml distile su ile çözdürülür. Distile su ile 1 lt'ye tamamlanir.	**SDS % 20 (1lt)** 200 g SDS 900 ml distile su ile çözdürülür pH 7,2 ye ayarlanir 1 lt'ye tamamlanir.
TE (100 ml) 1 M Tris-HCl (pH:8) (2 ml) 1 M EDTA (pH:8) (200 µl) Distile su ile 100 ml'ye tamamlanir.	**10XTBE (pH: 8,3)** 108 g Tris 55 g Borik Asit 9,3 g EDTANa2 Distile su ile 1 lt ye NaOH kullanilarak pH 8,3 e ayarlanir.

Tablo 2: Genetik analizlerde kullanilan bazi çözeltiler ve hazirlanisi.

Lokus	Kromozom	Primer Sekansi	PZR Ürünü (bp)	Isaretlen
FCA069	B4	aatcactcatgcacgaatgc	96-116	D4
		aatttaacgttaggctttttgcc		
FCA075	E2	atgctaatcagtggcatttgg	104-146	D3
		gaacaaaaattccagacgtgc		
FCA105	A2	ttgaccctcataccttctttgg	173-205	D3
		tgggagaataaatttgcaaagc		
FCA149	B1	cctatcaaagttctcaccaaatca	104-118	D2
		gtctcaccatgtgtgggatg		
FCA220	F2	cgatggaaattgtatccatgg	210-224	D2
		gaatgaaggcagtcacaaactg		
FCA229	A1	caaactgacaagcttagagggc	150-176	D2
		gcagaagtccaatctcaaagtc		
FCA240	X	tctttaagatggccggactg	179-201	D4
		tcccctcaaatatgcaaagg		
FCA310	C2	ttaattgtatcccaagtggtca	112-140	D3
		taatgctgcaatgtagggca		
FCA441	D3	atcggtaggtaggtagatatag	145-173	D4
		gcttgcttcaaaattttcac		
FCA678	A1	agcaatctccagaatgtgtgg	216-236	D4
		tcaaaagattaaagccttccaa		

*D4 mavi, D3 yesil, D2 siyah.

Tablo 3: Kullanilan mikrosatellit lokuslari

3.2.4 DNA bantlarinin gözlemlenmesi

Mikrosatellit lokuslari kullanilarak yükseltgenen PZR ürünleri kapiller elektroforez öncesi öncelikle 6X Loading Dye ile birlikte %2,5 Agaroz jelinde 300V/h elektroforez yöntemiyle ayristirilip ethidium bromide (EtBr) ile boyanarak UV kaynagi altinda gözlemlemistir. Bio-Rad Gel Doc 2000 görüntüleme sistemi kullanilarak görüntülendikten sonra kapiller elektroforez ve fragment analizlerinde kullanabilirligi degerlendirilmistir.

3.2.5 Kapiller elektroforez

Floresans WELL-RED isaretli primerler (Tablo 3) kullanilarak yükseltgenen PZR ürünlerine S.Ü. Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalinda bulunan Beckman Coulter CEQ-8000 Genetik Analiz Sistemi kullanilarak kapiller elektroforez islemi uygulanmistir. Kapiller elektroforez islemlerinde farkli WELL-RED (D4, D3 ve D2) isaretli ve farkli büyüklükte ayni DNA'ya ait farkli mikrosatellit PZR ürünleri birlestirilerek 3 farkli havuz (pool) sistemi uygulanmistir (Tablo 4).

Havuz	Lokus	PZR Ürünü	Isaretleme*	PZR ürünü (µl)
I	FCA069	96-116	D4	4
	FCA075	104-146	D3	7
	FCA149	104-118	D2	15
II	FCA105	173-205	D3	10
	FCA220	210-224	D2	15
	FCA240	179-201	D4	4
III	FCA229	150-176	D2	15
	FCA310	112-140	D3	10
	FCA441	145-173	D4	4
	FCA678	216-236	D4	5

*D4 mavi, D3 yesil, D2 siyah.

Tablo 4: Kapiller elektroforez isleminde kullanilan havuz sistemi

Hazirlanan her bir PZR ürünü havuzundan 0,5 µl PZR ürününe 25 µl Hi-Di formamide içeren SLS (Sample Loading Solution) ve S-400 DNA standardi (Beckman Coulter p/n 608098) eklendi. FRAG-3 metodu (95^0C'de 2 dakika denatürasyon, 2.0 kV 30 sn injeksiyon, 6 kV 35 dakika seperasyon ve 50^0C kapiller isisi) ile 33 cm DNA seperasyon kapilleri (Beckman Coulter p/n 608087) kullanilarak kapiller elektroz ile ayristirilmistir. Fragtest programi kullanilarak marker genotipleri belirlenmistir.

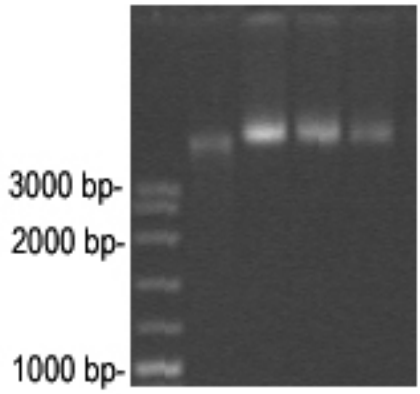
3.2.6 Istatistiksel analizler

Istatistiksel analizlerde, toplam allel sayisi, gözlenen heterozigotluk (H_O), beklenen heterozigotluk (H_E), poliformizm bilgi içerigi (PIC), Hardy-Weinberg Dengesine (HWE) uygunluk exact ve Wright'in F istatistikligi degerleri Population 1.0 (Goldstein ve Pollock 1997), TreeWiev (Nei M 1983), GenePop (Raymond ve Rousset 1995), GenAlEx6 (Peakell ve Smouse 2006) ve GENETIX 4.0 (Belkhir ve ark 1996) paket programlari kullanilarak hesaplanmistir. Populasyon içi akraba olan bireylerin tespiti amaciyla IDENTY testi CERVUS v2.0 (Marshall ve ark 1998) paket programi kullanilarak yapilmistir. Allel Paylasim Uzunluklari (ASD, Allel Sharing Distance), Faktoriyel Birlestirici Analizleri (FCA; Factorial Correspondence Analysis) GENETIX v4.0 (Belkhir ve ark 1996) paket programlari kullanilarak hesaplanmistir.

BULGULAR

4.1 DNA izolasyonu

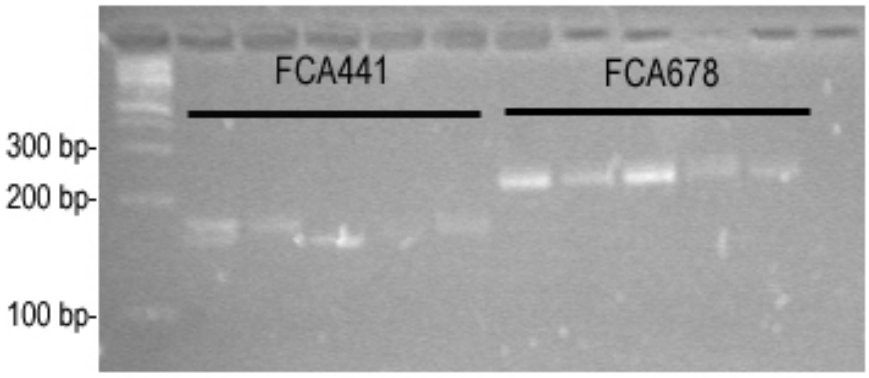
Organik DNA izalasyon yöntemi kullanilarak PZR'da kullanabilecek kalitede DNA örnekleri basariyla elde edilmistir. DNA örneklerinin kalitesi ve miktari %1 Agaroz jelinde (Resim 6) ve 260/280 nm UV ile kontrol edilmistir.



Resim 6: Izole edilen bazi DNA örneklerinin ve 100 bp DNA standardi (Vivantis) ile birlikte agoroz jel (%1'lik) üzerinde görüntülenmesi.

4.2 PZR Reaksiyonu

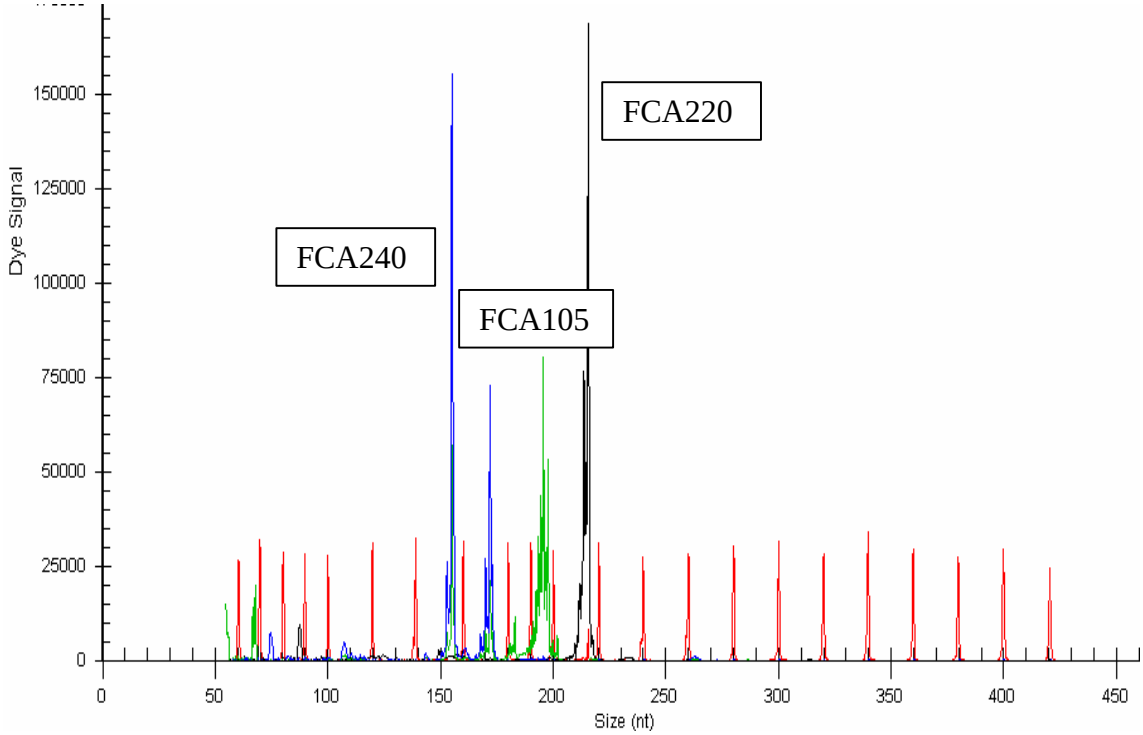
DNA örnekleri 10 adet mikrosatellit markörü kullanilarak yükseltgenmis ve alleller tespit edilmistir. Bu çalismada farkli kondisyon ve profile sahip olan mikrosatellit lokuslarin PZR ile yükseltgenmesinde esnek olan Touchdown PZR profili kullanilmistir. Yükseltgen PZR ürünleri öncelikle %2,5 Agoroz jel elektroforezi ile Kapiller elektroforez uygunlugu test edilmistir (Resim 7). Kullanilan PZR protokolü ve profilini basariyla tüm lokuslari yükseltgenilmistir.



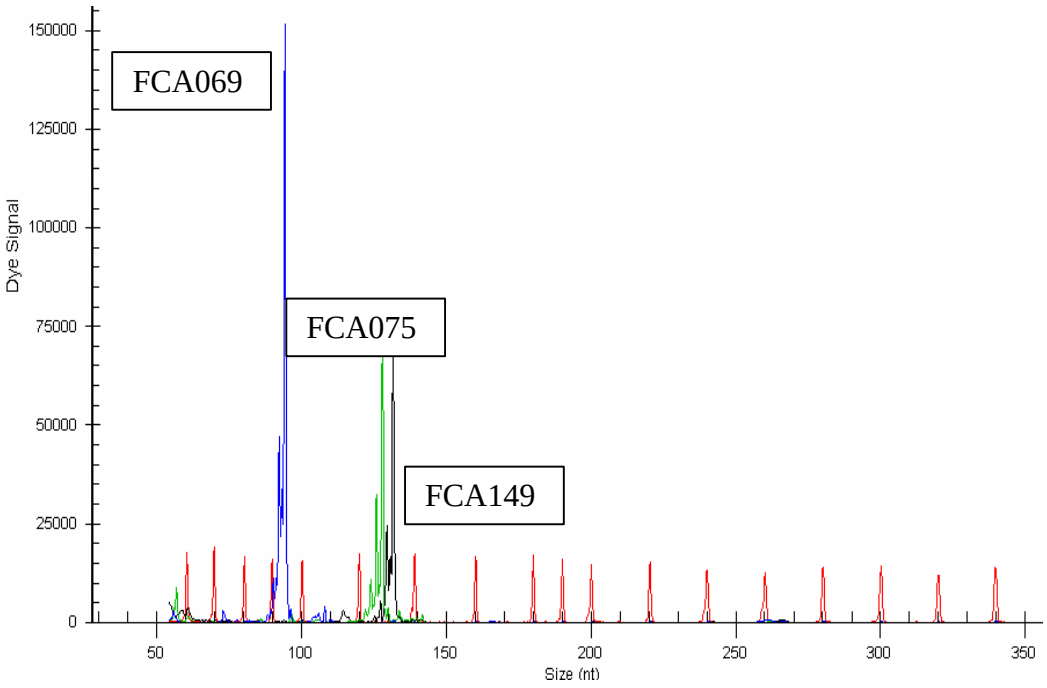
Resim 7: FCA441 ve FCA678 mikrosatellit markörleri ile yükseltgen PZR ürünleri agoroz jel (%2,5) üzerindeki bantlarin görüntülenmesi. 100 bp DNA standardi (I. Kuyucuk) PZR ürünleri ile birlikte yürütülmüstür.

4.3 Kapiller Elektroforez ve Fragman Analizi

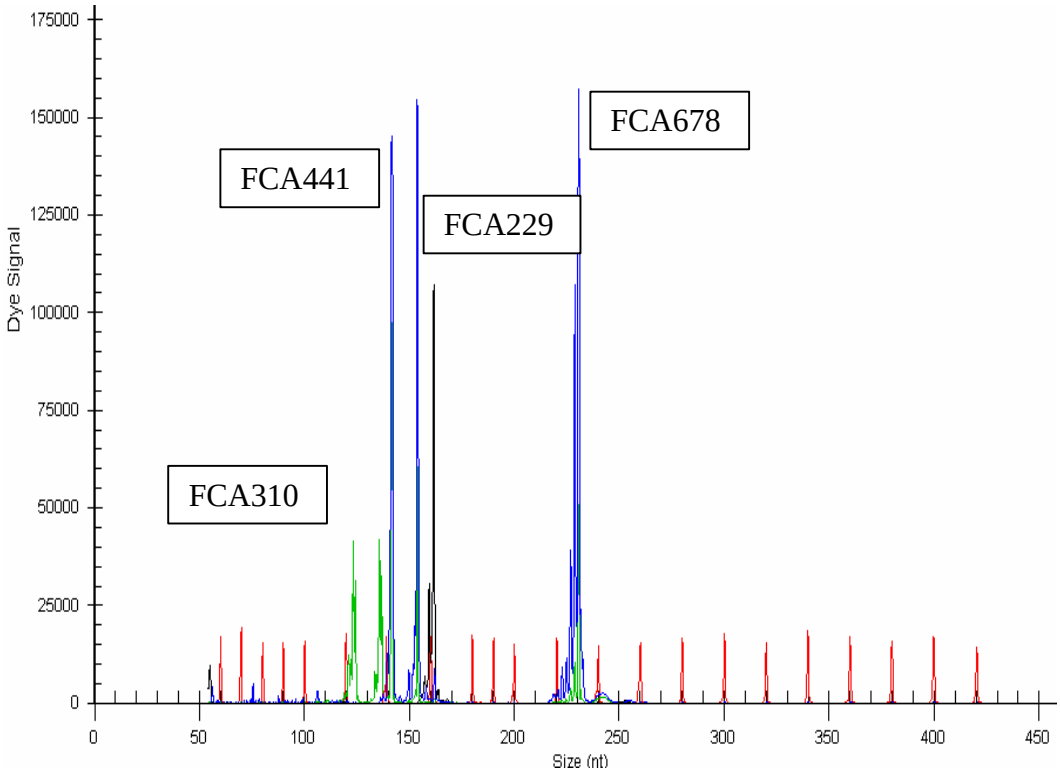
Yükseltgenen mikrosatellit PZR ürünlerinin büyüklükleri (bp) ve allellerin tespiti amaciyla Kapiller elektroforez islemi uygulanmistir. Öncelikle florosans ile isaretli primerler kullanilarak isaretlenen PZR ürünleri Kapiller elektroforez ile ayristirilmis ve uygulanan fragman analizi ile PZR ürünlerinin büyüklükleri tespit edilmistir. Bu çalismada özellikle Kapiller elektroforez isleminde maliyeti düsürmek amaciyla ayni DNA kullanilarak yükseltgen PZR ürünleri farkli florosans (mavi, yesil, siyah) ile isaretlenmesi saglanarak ayni anda Kapiller elektroforezine olanak saglamistir. Bu amaçla olusturulan 3 farkli havuz (pool) sisteminin (Tablo 4) genotipleme çalismalarinda basariyla kullanildigi gözlenmistir (Grafik 1, 2, 3).



Grafik 1: Kapiller elektroforezve fragman analizi sonucu FCA105, FCA220 ve FCA240 lokuslarin pikleri



Grafik 2: Kapiller elektroforez fragman analizi sonucu FCA069, FCA075 ve FCA149 lokuslarinin pikleri



Grafik 3: Kapiller elektroforez fragman analizi sonucu FCA310, FCA441, FCA229 ve FCA678 lokuslarinin pikleri

4.4 IDENTY Testi

Çalismada toplam 98 kediye ait kan örnegi kullanilarak 10 farkli mikrosatellit bakimindan genetik karaktarizasyon yapilmistir. Çalismaya konu olan kediler arasinda mevcut olarak genetik profilin tespiti amaciyla Cervus v2.0 programi kullanilarak IDENTY testi yapilmistir. Iki farkli kedinin diger iki kedi ile ayni fenotipe sahip olmasi nedeniyle 2 kediye ait genotipik veri çikarilarak populasyon analizinde 96 kediye ait genotip verileri kullanilmistir.

4.5 Populasyon içi genetik varyasyon ve heterozigotluk düzeyi

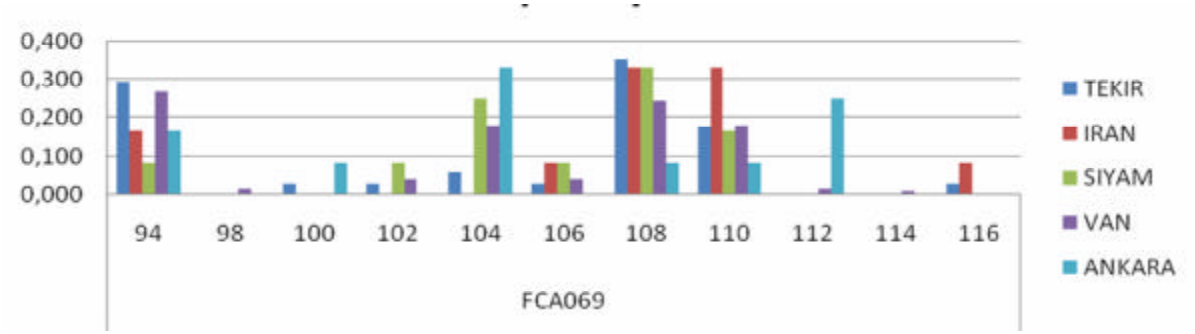
Çalismada toplam 5 populasyon (Van kedisi, Ankara kedisi, Siyam kedisi, Iran kedisi ve Tekir kedisi), 96 birey ve 10 mikrosatellit lokusu kullanilmistir. Toplam 274 allel gözlemlenmistir. Populasyonlarda tespit edilen lokus basina düsen ortalama allel

sayilari dagilimi Tablo 5'de verilmistir. Her bir lokus için gözlenen allel sayilarinin irklara göre dagilimi, her bir irk için gözlenen lokus basina düsen ortalama allel sayilari, çalisilan lokuslar açisindan elde edilen ortalama allel sayilari Tablo 5'de özetlenmistir.

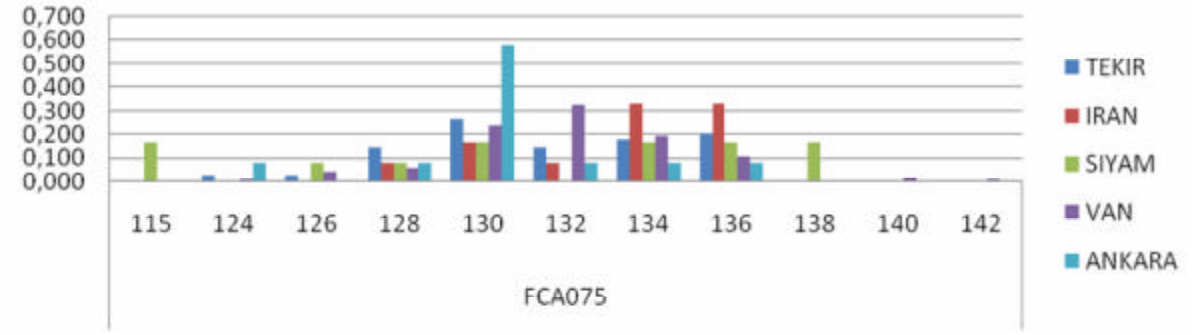
	Van	**Ankara**	**Siyam**	**Iran**	**Tekir**	**Toplam**	**Ortalama**
FCA069	10	8	3	4	6	31	**6,2**
FCA075	10	5	4	5	6	30	**6**
FCA105	10	5	4	4	8	31	**6,2**
FCA149	6	6	5	5	6	28	**5,6**
FCA220	8	3	3	5	6	25	**5**
FCA229	9	4	4	4	5	26	**5,2**
FCA240	6	3	2	4	6	21	**4,2**
FCA310	9	6	4	3	7	29	**5,8**
FCA441	8	4	4	2	7	25	**5**
FCA678	7	5	4	5	7	28	**5,6**
Toplam	83	49	37	41	64	274	
Ortalama	**8,3**	**4,9**	**3,7**	**4,1**	**6,4**		**5,48**

Tablo 5: Populasyonlarda gözlenen allel sayilarinin irklar ve lokuslar açisindan dagilimi, irk basina ve lokus basina gözlenen allel sayilari ve ortalamalari

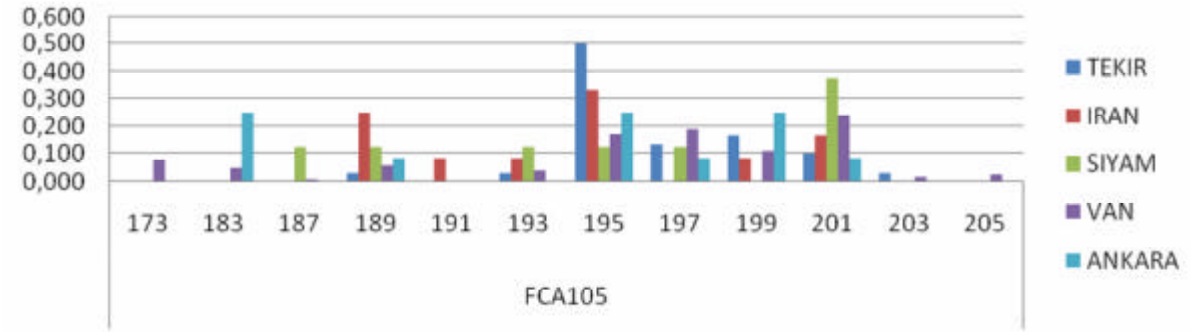
Populasyonlarda en fazla allel sayisinin Van populasyonunda (10 allel/lokus) FCA069, FCA075 ve FCA105 lokuslari için gözlenmistir. Ancak en az allel sayisi Iran irki kedilerde FCA441 lokusunda (2 allel/lokus) gözlenmistir. Mikrosatellit markörler incelendigi zaman en fazla ortalama allel FCA069 ve FCA105 (6,2 allel) lokuslarinda en az ortalama allel ise 4,2 allel ile FCA240 lokusunda gözlenmistir. Populasyonlara göre tespit edilen ortalama allel sayisinin en fazla Van kedisi (8,3), en az ise Siyam kedisi populasyonunda (3,7) gözlenmistir Incelenen tüm populasyonlarda ortalama allel sayisi 5.48 olarak tespit edilmistir. Çalismada kullanilan lokuslarin allel frekanslarinin Van, Ankara, Siyam, Iran ve Tekir populasyonlarinda dagilimi gösterilmistir (Grafik 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13).



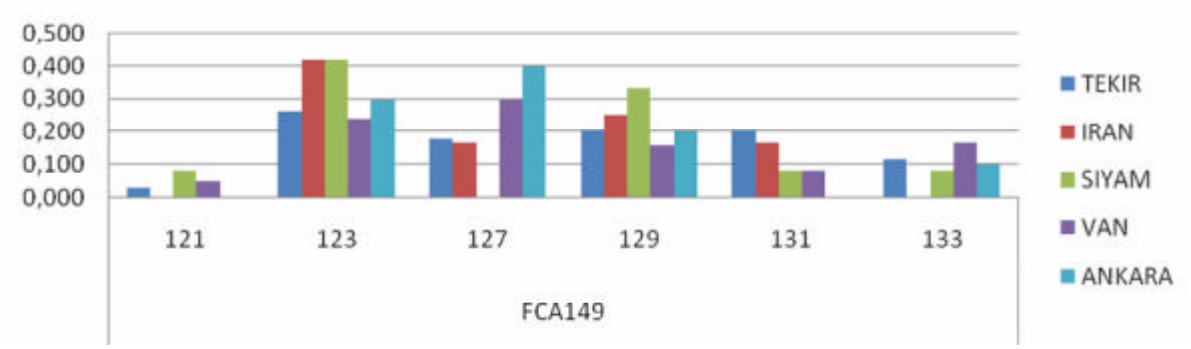
Grafik 4: FCA069 mikrosatellit lokusu açisindan populasyonlar arasinda allel görülme sikliklari



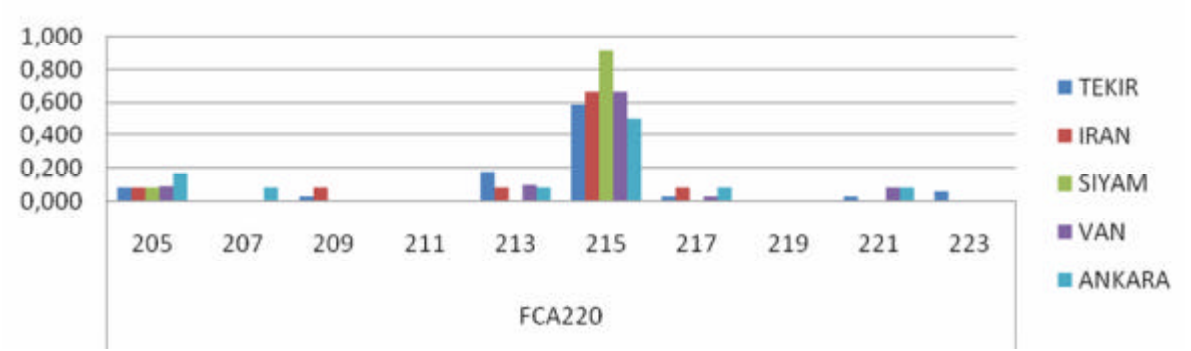
Grafik 5: FCA075 mikrosatellit lokusu açisindan populasyonlar arasinda allel görülme sikliklari



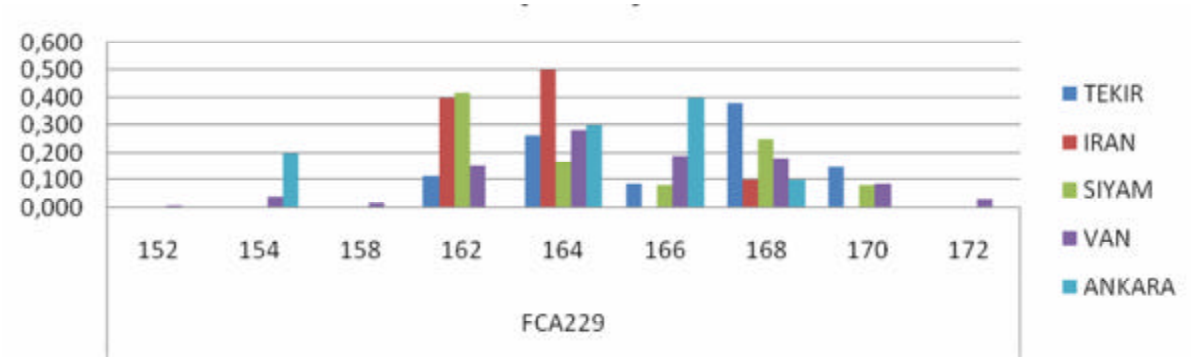
Grafik 6: FCA105 mikrosatellit lokusu açisindan populasyonlar arasinda allel görülme sikliklari



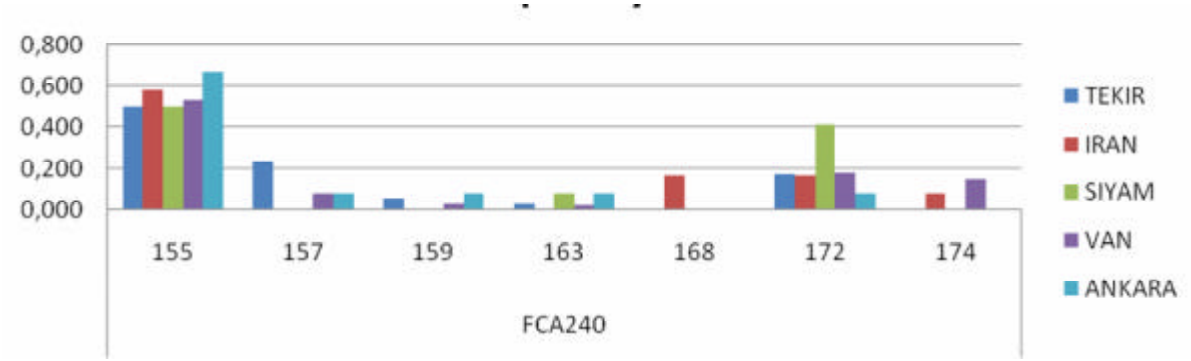
Grafik 7: FCA149 mikrosatellit lokusu açisindan populasyonlar arasinda allel görülme sikliklari



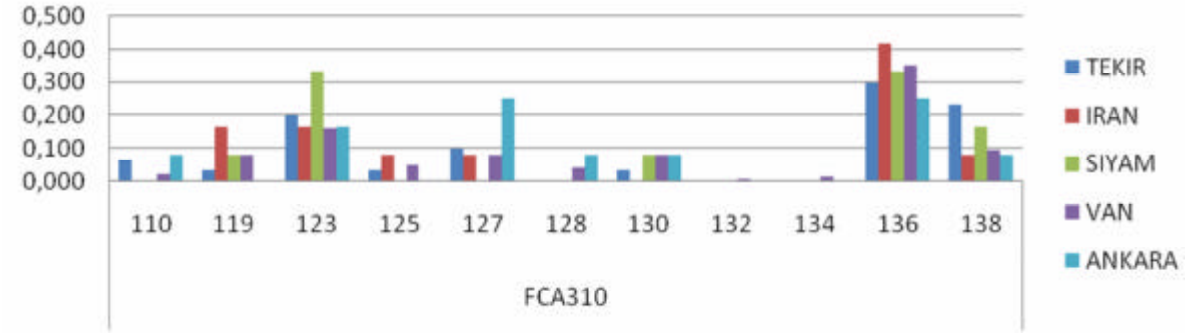
Grafik 8: FCA220 mikrosatellit lokusu açisindan populasyonlar arasinda allel görülme sikliklari



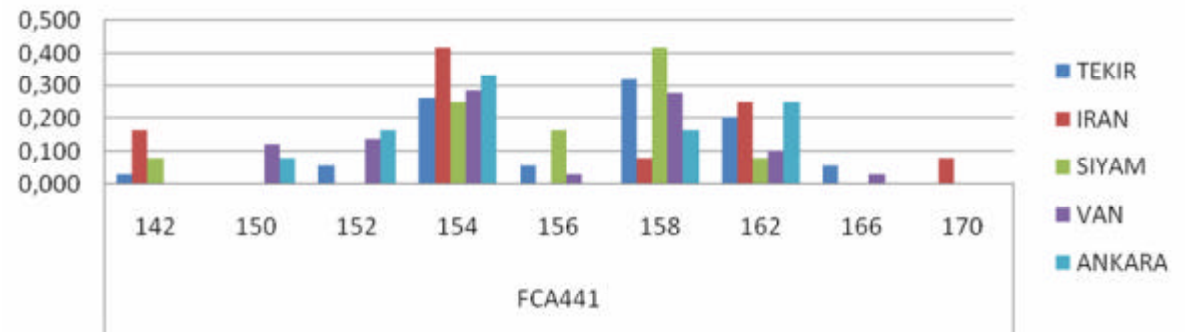
Grafik 9: FCA229 mikrosatellit lokusu açisindan populasyonlar arasinda allel görülme sikliklari



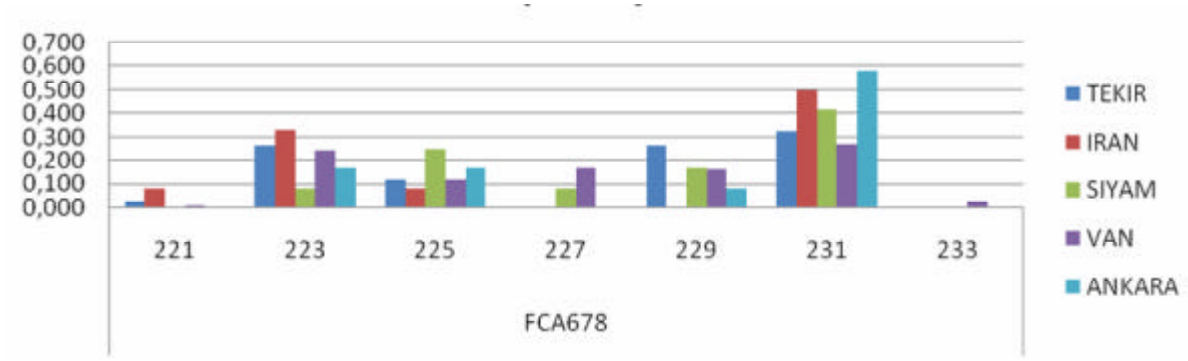
Grafik 10: FCA240 mikrosatellit lokusu açisindan populasyonlar arasinda allel görülme sikliklari



Grafik 11: FCA310 mikrosatellit lokusu açisindan populasyonlar arasinda allel görülme sikliklari



Grafik 12: FCA441 mikrosatellit lokusu açisindan populasyonlar arasinda allel görülme sikliklari



Grafik 13: FCA678 mikrosatellit lokusu açisindan populasyonlar arasinda allel görülme sikliklari

Populasyonlarda her bir lokus için gözlenen ve beklenen heterozigotluk degerleri Tablo 6'da verilmistir. Populasyonlara göre her bir lokus için heterozigotluk degerlerine bakildiginda gözlenen (Ho) ve beklenen heterozigotluk (He) düzeyleri sirasiyla 1,0000 ile 0,1667 ve 0,8939 ile 0,4394 degerleri arasinda degistigi belirlenmistir. En yüksek gözlenen ortalama heterozigotluk 0,6901 ile Van kedisinde tespit edilmistir. En düsük gözlenen ortalama heterozigotluk 0,4833 ile Siyam kedisinde tespit edilmistir. Çalisilan lokuslar bazinda saptanan gözlenen ortalama heterozigotluk degerleri ele alindiginda en çok sayida allel tespit edilen FCA 310 lokusunda 0,7778 ile en yüksek heterozigotluk, en az sayida allel tespit edilen FCA 240 lokusunda 0,3297 degerine sahip oldugu belirlenmistir.

Çalisilan lokuslar bazinda saptanan beklenen ortalama heterozigotluk degerleri ele alindiginda en çok sayida allel tespit edilen FCA149 lokusunda 0,7914 ile en yüksek heterozigotluk, en az sayida allel tespit edilen FCA240 lokusunda 0,5704 degerine sahip oldugu belirlenmistir. Gerek lokuslar gerek populasyonlar açisindan ortalama beklenen ve gözlenen heterozigotluk degerleri incelendiginde tespit edilen heterozigotluk degerlerinin birbirine yakin oldugu görülmektedir.

	Van		Ankara		Siyam		Iran		Tekir		Ortalama (Lokus)	
Lokus	Ho	He	Ho	He	Ho	He	Ho	He	Ho	He	**Ho**	**He**
FCA069	0,7541	0,8086	0,6667	0,8939	0,3333	0,5455	0,5000	0,6364	0,8235	0,7932	**0,6155**	**0,7355**
FCA075	0,6721	0,7956	1,0000	0,8182	0,5000	0,7727	0,5000	0,7424	0,7647	0,7950	**0,6874**	**0,7848**
FCA105	0,8167	0,8511	1,0000	0,8667	0,6667	0,6364	0,6667	0,6970	0,6667	0,8514	**0,7634**	**0,7805**
FCA149	0,7541	0,7756	0,6667	0,8485	0,6667	0,7424	0,6667	0,7879	0,8125	0,8024	**0,7133**	**0,7914**
FCA220	0,5246	0,5284	0,3333	0,5455	0,3333	0,4394	0,8333	0,7576	0,4118	0,5258	**0,4873**	**0,5593**
FCA229	0,7241	0,8148	0,6000	0,7778	0,1667	0,7727	0,4000	0,5333	0,5882	0,7683	**0,4958**	**0,7334**
FCA240	0,3443	0,6631	0,1667	0,5909	0,1667	0,1667	0,5000	0,6970	0,4706	0,7344	**0,3297**	**0,5704**
FCA310	0,9016	0,8361	0,8000	0,8889	0,8333	0,7424	0,6667	0,7121	0,6875	0,7238	**0,7778**	**0,7807**
FCA441	0,7705	0,8056	1,0000	0,7424	0,8333	0,6970	0,5000	0,5303	0,7647	0,7772	**0,7737**	**0,7105**
FCA678	0,6393	0,7741	0,5000	0,8030	0,3333	0,5606	0,5000	0,7576	0,6667	0,7908	**0,5279**	**0,7372**
Ortalama (irk)	**0,6901**	**0,7653**	**0,6733**	**0,7776**	**0,4833**	**0,6076**	**0,5733**	**0,6852**	**0,6657**	**0,7562**		

Ho:gözlenen heterozigotluk, He: beklenen heterozigotluk

Tablo 6: Populasyonlarda her bir lokus için gözlenen ve beklenen heterozigotluk degerleri

4.6 Özel Alleller

Özel (private allel) alleller türe spesifik yapida alleller olup, bir türün tanimlanmasinda ayirt edebilecegi, genetik bakimdan farkli kullanabileceklerinden oldukça önemlidir. Bu çalismada her irka ait her lokus için özel alleller Tablo 7'de gösterilmistir. Bu çalismada toplam 21 özgün allel gözlenmistir.

Populasyon	Lokus	Allel	Frekans	Populasyon	Lokus	Allel	Frekans
Van	FCA069	98	0,016	**Van**	FCA229	172	0,043
Van	FCA069	114	0,008	**Van**	FCA310	132	0,008
Van	FCA075	140	0,016	**Van**	FCA310	134	0,016
Van	FCA075	142	0,008	**Van**	FCA678	233	0,025
Van	FCA105	173	0,078	**Siyam**	FCA075	115	0,167
Van	FCA105	205	0,026	**Siyam**	FCA075	138	0,167
Van	FCA220	211	0,008	**Iran**	FCA105	191	0,083
Van	FCA220	219	0,008	**Iran**	FCA240	168	0,167
Van	FCA229	152	0,009	**Tekir**	FCA220	223	0,056
Van	FCA229	158	0,017	**Tekir**	FCA441	170	0,028

Tablo 7: Çalismada gözlenen özgün allellerin lokuslar ile irklar açisindan dagilimi ve gözlenen özgün allel frekanslari

FCA75 isimli mikrosatellit bölgesine ait lokusta 4 özgün allelin gözlendigi, FCA105, FCA220 ve FCA229 isimli mikrosatellit bölgelerinde 3 özgün allelin bulundugu, FCA069 ve FCA310 isimli mikrosatellit bölgelerinde 2 özgün allelin bulundugu ve FCA240, FCA441 ve FCA678 mikrosatellit bölgelerinde ise yalnizca 1 özgün allelin bulundugu ve çalismada kullanilan her mikrosatellit lokusta bir veya daha fazla özel allelleri oldugu belirlenmistir. Çalismada Van kedisi ve Siyam kedisinde en fazla özgün allel sayisinin görüldügü (4'er allel) belirlenmistir. Gözlenen allellerin frekanslari 0,008 ile 0,167 arasinda degisim gösterdigi belirlenmistir.

Dört özgün allel ile en fazla özgün allele sahip olan FCA075 lokusunun, ayni zamanda ortalama allel sayisinin (6) ve toplam (30) allel sayisinin (Tablo 5), diger tüm lokuslardan (FCA069 ve FCA105 lokuslari hariç) yüksek oldugu görülmektedir.

4.7 F parametreleri

Çalismada kullanilan 10 mikrosatellit lokusunun hepsi bir arada düsünüldügü zaman irklarin Hardy-Weinberg dengesinde olup olmadigi F_{is} degerleri ile gözlemek mümkündür. Populasyonlar için hesaplanan genel F_{IS} degerlerinin 0.09894 ile 0.22043 arasinda degistigi belirlenmistir (Tablo 8).

Van Kedisi	**0.09894******
Ankara Kedisi	**0.14588***
Siyam Kedisi	**0.22043****
Iran Kedisi	0.17703**
Tekir Kedisi	0.12340***

*istatiksel olarak anlamli degil

**p<0.05, ***p<0.01, ****p<0.001

Tablo 8: Populasyonlar arasinda bulunan genetik farkliliklarin F_{IS} degerleri

Mevcut allellerin GENETIX.V.4.0 programi kullanilarak, her bir populasyon içinde 1000 kere permutasyonu yapilmis ve hesaplanan Fis degerlerinin dagilim tablosu yapilmistir. Fis, alt populasyonlar da birbirine akraba olan bireylerin içinde homolog alleller arasindaki korelasyonlari tanimlar. Sunulan çalismada Ankara kedisinin Fis degerlerinin istatistiksel olarak önemsiz digerlerinin ise önemli oldugu görülmüstür.

Populasyonlar arasi varyasyonun önemli olup olmadigini görmek için F_{ST} degerleri hesaplanmistir ve yine F_{ST} degerleri içinde “önemlilik testi” yapilmistir.

Populasyonlarin ikili karsilastirmalariyla hesaplanan F_{ST} degerlerinin önemlilik düzeyleri Tablo 9'da verilmistir. Bu tabloda F istatistiklerinden biri olan F_{ST} degeri ile 10 mikrosatellit lokusuna dayali irk içi populasyonlar arasi ve irklar arasi farkliliklarin anlamlilik düzeylerini ikiserli olarak karsilastirilip hesaplanan F_{ST} degerleri ve istatistiksel anlamlilik testi sonuçlari görülmektedir. Van ve Ankara kedisinin ile Ankara ve Tekir kedileri arasinda hesaplanan istatistiksel olarak F_{ST} degerlerinin anlamsiz oldugu görülmüstür. Diger irklar arasinda F_{ST} degerlerinin önemli oldugu görülmüstür ($p<0.05$).

	Van	**Ankara**	**Siyam**	**Iran**	**Tekir**
Van	0	-0.00759*	0.08008****	0.08157****	0.01699**
Ankara		0	0.08182**	0.10225**	-0.01384*
Siyam			0	0.11255**	0.06524***
Iran				0	0.05584***
Tekir					0

*istatiksel olarak anlamli degil **p<0.05, ***p<0.01, ****p<0.001

Tablo 9: Populasyonlar arasi F_{ST} degerleri

4.8 Hardy-Weinberg Dengesi

Çalismaya konu olan bütün irklarin (Van kedisi, Ankara kedisi, Siyam kedisi, Iran kedisi ve Tekir kedisi) F_{IS} degerleri incelendiginde irklara ait degerlerin istatistiki olarak Van kedisinde FCA105, FCA149 ve FCA240 lokuslarinda P<0.001'e göre önemli oldugu Tekir kedisinde ise FCA229 lokusunda P<0.01'e göre, FCA678 lokusunda da P<0.001'e göre önemli oldugu diger irklarda ve lokuslarda önemli olmadigi ve populasyonlar da Hardy-Weinberg Dengesinden sapma olmadigi gözlenmis ve Tablo 10'da Ki-Kare (X^2) sonuçlari, serbestlik derecesi (SD) ve F_{IS} degerleri (P) degerleri verilmistir. Ankara kedisi, Siyam kedisi ve Iran kedisinde incelenen 10 lokus açisindan Hardy-Weinberg dengesinde oldugu görülmüs, Van kedisinde 3 lokusta Tekir kedisinde ise 2 lokus açisindan Hardy-Weinberg dengesinden sapma görülmüstür.

	Hardy-Weinberg Dengesi																			
	Van				Ankara				Siyam				Iran				Tekir			
	SD	X^2	P	ÖNEM	SD	X^2	P	ÖNEM	SD	X^2	P	ÖNEM	SD	X^2	P	ÖNEM	SD	X^2	P	ÖNEM
FCA069	36,000	38,354	0,363	Ns	15,000	16,560	0,346	ns	15,000	12,000	0,679	ns	15,000	12,500	0,641	ns	28,000	36,455	0,131	ns
FCA075	36,000	30,701	0,719	Ns	10,000	12,375	0,261	ns	21,000	30,000	0,092	ns	10,000	5,250	0,874	ns	21,000	25,807	0,214	ns
FCA105	55,000	138,004	0,000	***	10,000	10,000	0,440	ns	15,000	12,000	0,679	ns	15,000	10,800	0,767	ns	21,000	12,640	0,921	ns
FCA149	21,000	80,478	0,000	***	6,000	2,300	0,890	ns	10,000	15,360	0,119	ns	6,000	3,667	0,722	ns	28,000	34,556	0,183	ns
FCA220	36,000	32,860	0,619	Ns	10,000	12,122	0,277	ns	1,000	0,050	0,824	ns	10,000	3,061	0,980	ns	21,000	22,975	0,345	ns
FCA229	36,000	44,090	0,167	Ns	6,000	3,750	0,710	ns	10,000	8,827	0,549	ns	3,000	2,689	0,442	ns	10,000	23,219	0,010	**
FCA240	15,000	74,811	0,000	***	6,000	12,074	0,060	ns	3,000	1,627	0,653	ns	10,000	18,240	0,051	ns	10,000	10,795	0,374	ns
FCA310	55,000	53,167	0,545	Ns	21,000	16,667	0,731	ns	10,000	16,500	0,086	ns	15,000	7,667	0,936	ns	28,000	36,527	0,130	ns
FCA441	21,000	25,014	0,247	Ns	10,000	6,500	0,772	ns	10,000	8,560	0,574	ns	10,000	5,627	0,846	ns	28,000	23,469	0,709	ns
FCA678	21,000	16,899	0,717	Ns	6,000	9,707	0,138	ns	10,000	8,560	0,574	ns	3,000	0,888	0,828	ns	10,000	33,382	0,000	***

ns=önemli degil * P<0.05, ** P<0.01, *** P<0.001

Tablo 10: Hardy Weinberg degerleri

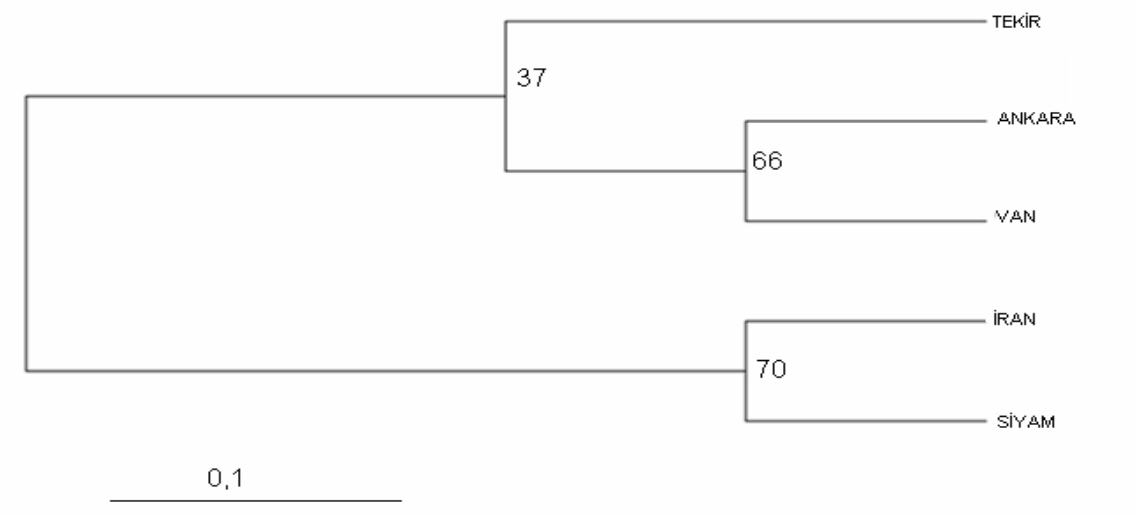
4.9 Filogenetik analizler

Nei (1972) tarafindan gelistirdigi standart genetik uzaklik metoduna göre irklar arasi genetik uzakliklari belirlemede beklenen degeri mutasyon ve göç gibi etkilerin hesaba katilmasi ile yapilmaktadir (Tablo 11).

	Van	**Ankara**	**Siyam**	**Iran**	**Tekir**
Van	0	0,180	0,167	0,173	0,104
Ankara		0	0,375	0,309	0,237
Siyam			0	0,204	0,201
Iran				0	0,167
Tekir					0

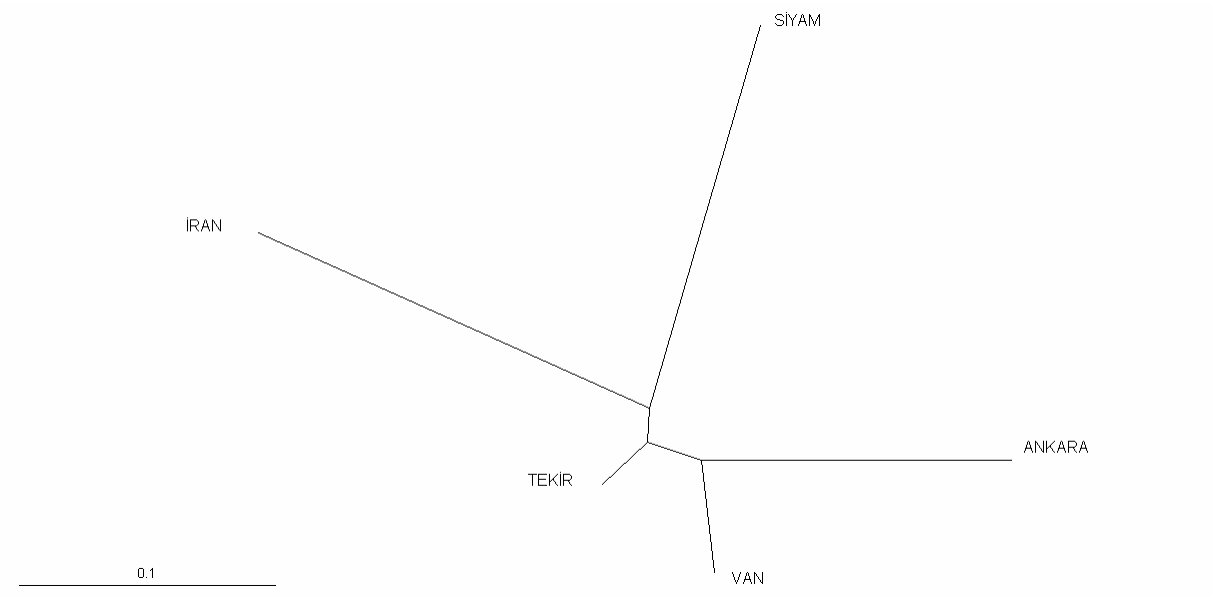
Tablo 11: Populasyon arasi genetik uzaklik degerlerinin gösteren matriks (Nei 1987, Nei ve Kumar 2000).

Nei'nin D_A genetik uzakligi kullanilarak komsu birlestirme metotu (NJT) ile çizilen agaç Sekil 2 ve 3'te sunulmustur.



Sekil 2: NJT agaci tüm irklar ve örnekler için D_A genetik uzakligi kullanilarak komsu birlestirme metotu ile çizilen filogenetik iliski (Nei ve ark 1983)

Çizilen agacin (Sekil 2 ve Sekil 3) güvenilirligini belirlemek için 1000 kez tekrarlanan bootstrap testi sonucunda ayni gruplamayi verdigi agaçlarin üzerindeki dallanma noktalarinda belirtilmistir. Tekrar orani Tekir kedisi hariç % 65 in üzerindedir.



Sekil 3: NJT agaci tüm irklar ve örnekler için D_A genetik uzakligi kullanilarak komsu birlestirme metotu ile çizilen Radyal agaç.

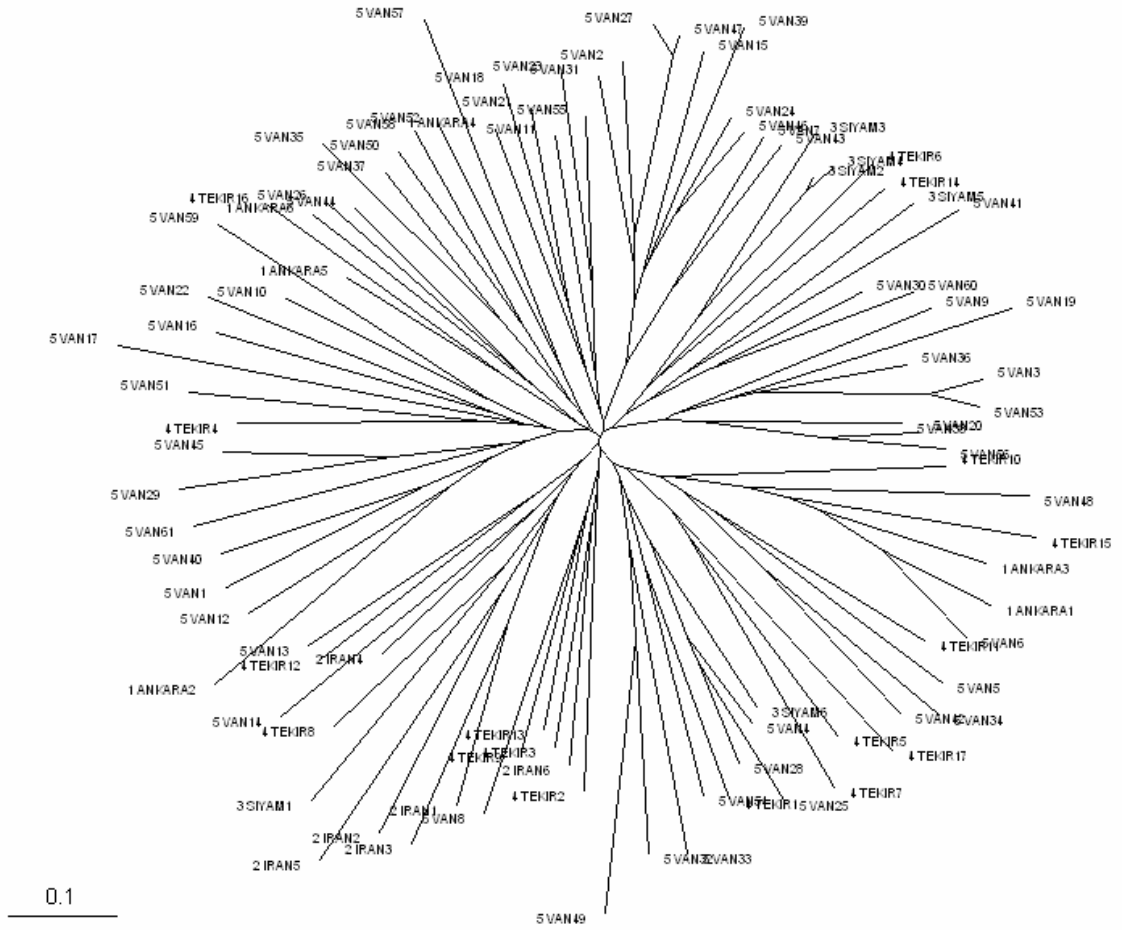
Radyal agaç (Sekil 3) seklinde gruplarda Siyam ve Iran kedisinin Türkiye'deki irklardan ayri oldugu görülmektedir. Tekir ise aralara dagilmis bir pozisyondadir. Van, Ankara ve Tekir kedisinin bir grup olusturdugu, Siyam ve Iran kedisinin ise ikinci bir grup olusturdugu görülmektedir.

4.10 Bireyler arasi allel paylasim uzakliklari (ASD)

Farkli kedi irklarina ait bireylerin çalisilan 10 mikrosatellit bölgesi açisindan genetik olarak birbirine ne derece benzedikleri, bazi irklara ait bireylerin daha farkli ayrilip ayrilmadigini arastirmak için allel paylasim uzakligi metodu ölçüt olarak alinmis ve komsu birlestirme agaci ile bireylerin iliskileri Sekil 4'te sergilenmistir.

Bireyler arasi allel paylasim uzakliklari (ASD) ile çizilen agaçta (Sekil 4) ayni populasyonlara ait bireylerin yer yer bir arada oldugu, fakat araya baska populasyonlarin

da karistigi görülmektedir. Ancak sadece bir dalda yalniz Van kedilerinden olusan bir gruplanma söz konusudur.

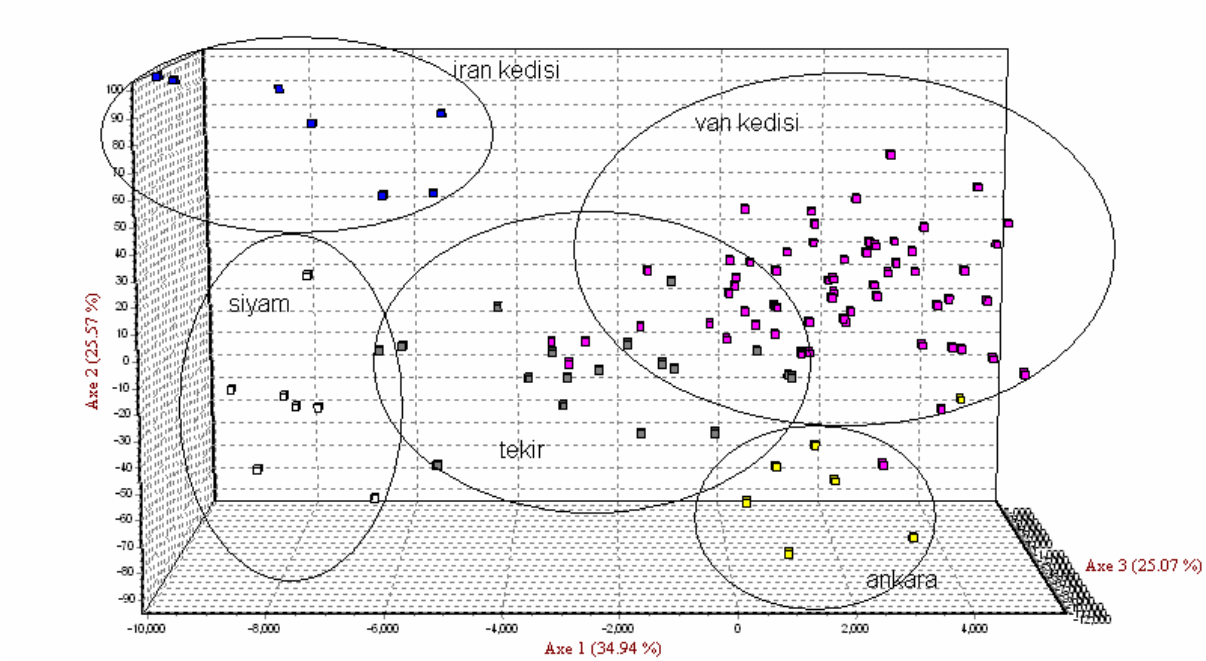


Sekil 4: Bireyler arasi paylasim uzakligi (ASD) agaci

4.11 Faktöriyel birlestirici analiz sonuçlari (Factorial Correspondence Analysis (FCA)

Farkli kedi irklarina ait bireylerin çalisilan mikrosatellit bölgeler açisindan genetik olarak birbirine ne derece benzediklerini, bazi irklara ait bireylerin daha farkli ayrilip ayrilmadigini arastirmak için allel paylasim uzakligi metodu ölçüt alinarak bireylerin iliskileri Sekil 5'de gösterilmistir. FCA grafiginde Iran, Siyam, Ankara ve Van kedileri birbirlerinden ayrilarak kendi gruplarini olusturmuslar ve ancak burada da yerli irk kedilerin (Van, Ankara ve Tekir kedisi) birbirleri ile yakin olduklari diger kedilerin ise

(Siyam ve Iran kedisi) ayri birer grup olusturduklari gözükmektedir. Tekir ise diger populasyonlara dagilmis durumda görülmektedir.



Sekil 5: Çalisilan tüm irklara ait bireyler arasindaki iliskiyi gösteren Faktöriyel Benzerlik Analizi Grafigi (FCA)

Faktöriyel benzerlik analizi bireylerin akrabaligini arastirmak için çok boyutlu ortamda bireylerin yakinliginin görülmesi için yapilan bir analizdir. Üç boyutlu düzlemdeki görsel grafikleri elde etmek için GENETIX V 4.0 paket programi kullanilmistir.

Analizler sonucu elde edilen FCA grafigi incelendiginde Iran, Siyam, Van ve Ankara kedilerinin ayri ayri gruplar olusturdugunu, ancak Tekir kedisinin belirgin bir öbek olusturamayip aralara dagildigi gözlenmektedir. Diger 4 irka ait öbeklerde agirlikli olarak irka özgü bireylere ait örnekler görülmektedir.

5. TARTISMA SONUÇ

Genetik karaktarizasyon çalismalari populasyon içi ve populasyonlar arasi genetik çesitliligin seviyesinin belirlenmesi dolayisiyla, koruma programlarinin gelistirilmesi, evcillestirilme ve göç yollarinin tespiti gibi çalismalar için oldukça önemlidir. DNA markörleri özellikle polimorfik mikrosatellit lokuslari bu amaçla yaygin olarak tercih edilmektedir. Bu çalismaya konu olan 5 kedi irkinin (Van kedisi, Ankara kedisi, Siyam kedisi, Iran kedisi ve Tekir kedisi) 10 farkli mikrosatellit markeri kullanilarak genetik karaktarizasyonu yapilmistir. Çalismada 10 mikrosatellit lokusu (FCA069, FCA075, FCA105, FCA149, FCA220, FCA229, FCA240, FCA310, FCA441, FCA678) kullanilarak populasyon içi populasyonlar arasi genetik çesitlilik arastirilmistir.

Çalismada toplam 98 kediye ait kan örnekleme çalismasi ve DNA izolasyonu yapilmistir. PZR reaksiyonlari için DNA izolasyonu ve fenotipleme çalismasi yapilmistir. Fakat uygulanan IDENTY testi ile 1 ile 27 ve 51 ile 84 numarali bireylerin ayni genotipe sahip oldugu belirlendi. Bu durum örnek aldigimiz kedilerden 2 tanesinin tek yumurta ikizleri olma olasiligindan ileri gelebilecegi veya örnekleme esnasinda yanlislikla bir kediden iki kez örnekleme yapilmasindan dolayi kaynaklanabilecegini göstermektedir.

5.1 Populasyonlar Içi Varyasyonlar Ve Heterozigotluk Degerleri Sonuçlari

Bu çalismada 5 farkli populasyona ait 96 kedinin ve 10 mikrosatellit lokusu kullanilarak karaktarizsyon yapilmis ve toplam 274 farkli allel tespit edilmistir. Lokus basina düsen ortalama allel sayisi 5,48 oldugu; en çok allelin FCA069, FCA075 ve FCA105 mikrosatellit bölgelerinde (10 allel/lokus) ve en az allelin ise FCA240 ve FCA441 lokuslarinda (2 allel/lokus) oldugu belirlenmistir.

Çalismada Türkiye'de bulunan kedi irklarinda görülen ortalama allel sayilarin yüksek olmasinin sebebi Türkiye'nin cografi konum itibariyle eski medeniyetlerin yasam alani olmasi ve kedilerin evcillestirmelerinin basladigi yer olan Misir'a yakin ve ticaret yollari üzerinde olmasindan kaynaklanmis olabilecegi düsünülmektedir. Türkiye'deki kedilerde görülen genetik çesitlilik dünyadaki diger evcil kedi irklariyla karsilastirildiginda, Türkiye'deki kedilerin genetik çesitliliginin birkaç kedi irki hariç belirgin düzeyde yüksek oldugu görülmektedir (Lipinski ve ark 2007, Lipinski ve ark

2008). Özellikle Van kedisinde gözlenen ortalama allel sayisinin (8,3) diger çalismalarda incelenen kedi populasyonlarindan (Lipinski ve ark 2007, Lipinski ve ark 2008) daha yüksek oldugu gözlenmistir.

Populasyonlarda heterozigotluk degerleri incelendiginde, populasyonlar da gözlenen heterozigotluk (Ho) degerlerinin 0,1667 ile 1,000, beklenen heterozigotluk (He) degerlerinin ise 0,8939 ile 0,1667 arasinda degistigi belirlenmistir. Lipinski ve arkadaslarinin 2007 yilinda yapilan çalismalarinda kullandiklari mikrosatellit lokuslardan 9 tanesi (FCA069, FCA075, FCA105, FCA149, FCA220, FCA229, FCA310, FCA441, FCA678) bu çalismada kullanilan lokuslarla ayni olmasina ragmen, elde ettikleri Ho degerlerinin hepsi, bu çalismanin degerlerinden daha düsük seviyededir. Çalismada 10 farkli mikrosatellit lokus kullanarak Türkiye'de bulunan kedi irklarinin (Van ve Ankara kedisi) Ho ve He degerlerinin diger çalismalarla (Lipinski ve ark 2008, Lipinski ve ark 2007, Raymond ve ark 2008) karsilastirildiginda heterozigotluk düzeylerinin daha yüksek oldugu belirlenmistir. Bu çalismada elde edilen heterozigotluk düzeylerinin yüksek olmasinin nedeni, önceki çalismalarda (Lipinski ve ark 2008) kullanilan materyal sayisinin az olmasindan kaynaklanabilecegi veya bu çalismada daha etkin bir örnekleme çalismasinin etkisinin olabilecegi tahmin edilmektedir. Bu çalismada da ve diger üç çalismada da (Lipinski ve ark 2008, Lipinski ve ark 2007, Raymond ve ark 2008) Siyam ve Iran kedilerinin Ho düzeylerinin birbirine benzer oldugu görülmektedir.

5.2 F Parametreleri

Populasyonlar için hesaplanan F_{IS} degerinin 0,09894 ile 0,22043 arasinda degistigi gözlenmistir. Incelenen tüm populasyonlarin populasyon F_{IS} degerlerinin istatiksel olarak anlamli olmadigi görülmüstür.

Raymond ve ark 2008' de yaptigi çalismada kullandigi lokuslar bu çalismadaki lokuslari da içermektedir. Raymond ve ark (2008) çalismasinda belirlenen Ho düzeyleri bu çalismada belirlenen heterozigotluk düzeyleri ile karsilastirildiginda, 2 mikrosatellit lokus (FCA229, FCA240) haricindeki diger lokuslarin Ho düzeyleri birbirlerine benzer oldugu görülmektedir. Heterozigotluklarda görülen bu benzerlik bu çalismanin saglikli oldugunun en büyük delillerinden birisidir.

Lipinski ve ark (2007) yaptigi çalismada Ankara, Van ve Iran kedilerinin populasyon içi genetik çesitlilik (F_{IS}) degerlerinin, bu çalismanin bulgularina benzer oldugu gözlenmistir. Ancak, bu çalismada Siyam kedisine ait F_{IS} degerinin yüksek oldugu görülmektedir. Burada ortaya çikan sorunun Siyam kedisi için yeterli sayida örnek toplanamamasina bagli oldugu düsünülmektedir.

5.3 Irklar Arasi Genetik Uzakliklar

Nei (1987)'nin genetik uzakligi kullanilarak çizilen komsu birlestirme agacinda (Neighbor-Joining Tree;NJT) 2 ana grup olusmustur. Bu gruplar incelendiginde Türkiye'de bulunan kedi irklarinin birlikte bir grup olusturdugu ve arastirmaya konu olan Siyam ve Iran kedilerinin birbirlerine benzedigi ve ayni grup içerisinde digerlerinden ayrildigi görülmektedir. Gruplar arasi genetik mesafeler incelendigi zaman, Van kedisi ile Ankara kedisinin ayni grupta yer aldigi görülmektedir. Diger taraftan Siyam ve Iran kedilerinin birlikte bir grup olusturarak digerlerinden farkli ama birbirleriyle benzerlik tasidigi tespit edilmistir. Türkiye'de bulunan Tekir kedisinin, ise Ankara ve Van kedilerinin arasinda ve ikisine de benzer yapida oldugu dikkat çekmektedir. Tekir kedisinin, Van ve Ankara kedileriyle ayni grupta yer almasinin, bu irkin saf bir irk olmadigi fikrini desteklemektedir (Anonim 2007a). Nitekim, serbest çiftlesme ve dolayisiyla diger irklarin ile karisabildigi tahmin edilmektedir. Nei'nin (1987) genetik uzakligi kullanilarak çizilen diger agaçta da Iran ve Siyam kedilerinin ayri birer dal üzerinde oldugu ve ayni sekilde Van ve Ankara kedilerinin de bir dal üzerinde durdugu gözlenmektedir. Ancak Tekir kedisinin arada kaldigi rahatlikla gözlenmekle birlikte Iran kedisi ile de bir yakinligi olabilecegi düsünülebilir. Bu durum Tekir kedisinin saf bir irk olmadigi ve diger irklardan etkilendigini düsündürmektedir.

Çizilen agacin güvenilirligini belirlemek için yapilan permutasyon sonucunda gruplasmanin görüldügü 4 irkin (Van, Iran, Siyam, Ankara) degerlerinin % 60 dan fazla oldugu gözlenmistir. Ancak bu deger istenilen % 95'lik degerin altindadir. Bu durum populasyonlardaki örnek sayisinin uyumsuz olmasindan kaynaklanabilecegini düsündürmektedir.

Lipinski ve ark (2008)'nin yaptigi çalismada Van kedisi ve Ankara kedisinin komsu birlestirme agacinda birbirleri ile yakin iliskide oldugu Siyam ve Iran kedilerinin ise birbirlerine çok uzak oldugu görülmektedir. Bu farkliligin bu çalismada kullanilan Siyam kedisi ve Iran kedisi için yeterli materyal bulamamasindan dolayi birbirleri ile yakin bulundugu tahmin edilmektedir. Van kedisi ve Ankara kedilerinde ise 2 ayri dal üzerinde ama birbirleri ile yan yana oldugu görülmektedir.

5.4 Bireyler Arasi Allel Paylasim Uzakliklari (ASD)

10 mikrosatellit lokusun çalisildigi 5 populasyona ait bireylerin genetik olarak ne derece benzedikleri, bazi irklara ait bireylerin daha farkli ayrilip ayrilmadigini gözlemleyebilmek için allel paylasim metotu kullanilmistir.

ASD grafigini incelediginde bazi dallarda ayrilma saglandigi gözlenmektedir. Grup olarak bakildiginda genellikle Van kedileri ile Ankara kedilerinin bir birleriyle karismis oldugunu, Siyam ve Iran kedisinin de kendi aralarinda karistigi gözlenmekte, ancak Tekir kedisinin analiz sonuçlari incelendiginde bütün gruplarin içerisine dagilmis oldugu kendi basina bir grup olusturamadigi belirlenmistir. Bu sonuçlar Tekir kedisinin 4 kedi irkiyla da birer birer akrabaligi olabilecegini akla getirmektedir.

Çalisilan 10 mikrosatellit lokusa göre, Tekir hariç Van ve Ankara kedisi ile Iran ve Siyam kedileri birbirlerinden ayrimlanabilmektedir. Yani yerli kedi irklari ile (Tekir hariç) yabanci kedi irklarinin ayrimlanmasi mümkün olabilmektedir. Tekir kedisi ise bu 10 lokusa göre ayrimlanamamaktadir. Çünkü bireyler arasi paylasim uzakliklarina (Sekil 4) bakildiginda Tekir kedisinin her tarafa dagildigi görülmektedir. Dolayisiyla Tekir kedisinin diger irklarin bir melezi olabilecegi fikrini güçlendirmektedir (Anonim 2007a).

5.5 Faktöriyel Birlestirici Analiz (FCA)

FCA grafigi incelendiginde Iran kedisi ve Siyam kedisinin belirgin bir sekilde diger irklardan ayrildigi gözlenmektedir. Van kedisi ile Ankara kedisinin de birbirlerinden ayrildigi görülmektedir. Ancak bir Ankara kedisinin Van kedileri tarafinda oldugu ve iki Van kedisinin de Ankara kedilerinin olmasi gereken yerde oldugu görülmektedir. Ankara kedisi ile Van kedisinin dis görünüsleri birbirleriyle benzer olmasi nedeniyle, örnekleme

hatasi veya kendi aralarinda melezlesmenin olabilecegi tahmin edilmektedir. Tekir hariç, diger tüm populasyonlarda ayri ayri öbeklenme görülmektedir. Tekir kedisinde ise bu öbeklenme gözükmeyip aralara yayildigi gözlemlenmektedir. Bu grafikte örnek seçiminin güzel yapildigini olusan öbeklere yeni bireyler ilave edilerek analiz edilmeye basladikça daha da belirginlesecegi düsünülmektedir.

5.6 Özel (özgün) alleller

Özel (özgün) alleller belirli irka ait olup irklar arasi spesifik kimlik belirleme ayiracidirlar. Bu çalismada, Van kedilerinde özel allellerin daha fazla diger populasyonlarda gözlenen daha az sayida özel allelin daha düsük örnek sayisindan kaynaklanabilecegi tahmin edilmektedir. Dört özgün allel ile en fazla özgün allele sahip olan FCA075 lokusunun, ayni zamanda ortalama allel (6) ve toplam allel sayisi (30) (Tablo 5) bakimindan FCA069 ve FCA105 lokuslari hariç diger tüm lokuslardan yüksek oldugu görülmektedir. Diger kedi populasyonlarinda iki ve ya daha fazla lokuslarda özel alleller tespit edilmesine karsin, Siyam kedisinde sadece FCA075 lokusunda özel allel tespit edilmistir. Bu Ankara, Siyam ve Iran populasyonlarinda örnek sayisinin artirilmasiyla farkli lokuslarda yeni özel alleller ortaya çikabilecegi tahmin edilmektedir.

5.7 Sonuç: Bu çalismada 5 farkli populasyona ait toplam 96 örnek ile 10 mikrosatellit lokus kullanilarak genetik karaktarizasyon çalisilmasi yapilmistir. Van ve Ankara populasyonlarinda daha önce yayinlanan çalismalara göre daha yüksek oranda genetik çesitlilik tespit edilmistir. Siyam ve Iran kedisinde ise nispeten daha düsük seviyede genetik çesitlilik belirlenmistir. Siyam ve Iran kedilerinde yeni örnekleme çalisilmasi yapilarak, yeni mikrosatellit markerler ile genetik karaktarizasyon çalismalarinin yapilmasi bu populasyonlarin genetik yapilarinin daha detayli incelenmesine olanak saglayacaktir.

Her ne kadar bu çalismada nispeten yüksek oranda heterozigotluk tespit edilmis olsa da, benzer çalismalarda (Lipinski ve ark 2008) kan yakinligi kedilerde diger hayvan türlerine göre Lipinski ve ark (2008)'den yüksek çikmasi, kedi islah çalismalarinin daha dikkatli ve yavas yapilmasi gerektigini ortaya koymustur. Özellikle mevcut kedi irklarinin bazilarinin son 50 yilda ortaya çikmasi, bu irklarin yalnizca sinirli sayida gen varyasyonlari

sonucu akla getirmektedir. Ayni zamanda kedilerde sik kan yakinligina bagli olarak saf kedi populasyonlarinda tespit edilen kalitsal hastaliklar artmaktadir. Kedi populasyonlari arasindaki genetik iliskilerin tespiti bazi kalitsal hastaliklarin tespitine yardimci olacaktir. (Raymond ve ark 2008). Insanligin yakin dostu olan kedilerde karsilastirmali genom çalismalari ile, insan ve ekonomik önemi olan hayvanlarda ilgili hastalik genlerinin tespitine, dolayisiyla alternatif teshis ve tedavi yöntemlerinin gelistirilmesine olanak saglayacaktir.

6. ÖZET

S.Ü. Saglik Bilimleri Enstitüsü

Biyokimya (Vet) Anabilim Dali

YÜKSEK LISANS TEZI/KONYA – 2007

Tekin EROGLU

Danisman

Doç. Dr. Vahdettin ALTUNOK

TÜRKIYEDEKI BAZI KEDI IRKLARININ GENETIK YAPILARININ MIKROSATELLITLERLE INCELENMESI

Genetik karaktarizasyon çalismalari populasyon içi ve populasyonlar arasi genetik çesitliligin seviyesinin belirlenmesi dolayisiyla, koruma programlarinin gelistirilmesi, evcillestirilme ve göç yollarinin tespiti gibi çalismalar için oldukça önemlidir. DNA markörleri özellikle polimorfik mikrosatellit lokuslari bu amaçla yaygin olarak tercih edilmektedir. Bu çalismaya konu olan 5 kedi irkinin (Van kedisi, Ankara kedisi, Siyam kedisi, Iran kedisi ve Tekir kedisi) 10 farkli mikrosatellit markeri (FCA069, FCA075, FCA105, FCA149, FCA220, FCA229, FCA240, FCA310, FCA441, FCA678) kullanilarak genetik karaktarizasyonu yapilmistir.

Van kedisi, Ankara kedisi, Siyam kedisi, Iran kedisi ve Tekir kedisi populasyonlarina ait toplam 96 DNA örnegi izole edilmis ve Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile 10 mikrosatellit lokusu kullanilarak yükseltgenmistir. PZR ürünleri CEQ-8000 Beckman Coulter Genetik Analiz Sistemi kullanilarak kapiller elektroforez ile ayristirilmis ve her bir lokusa ait alleller belirlenmistir. Toplam 274 farkli allel gözlemlenmis ve her lokus için tespit edilen ortalama allel sayisinin 8,3 (Van kedisi) ile 3,7 (Siyam) arasinda degistigi gözlenmistir.

Populasyonlara göre her bir lokus için heterozigotluk degerlerine bakildiginda gözlenen (Ho) ve beklenen heterozigotluk (He) düzeylerinin sirasiyla 1,0000 ile 0,1667 ve 0,8939 ile 0,4394 degerleri arasinda degistigi belirlenmistir. En yüksek ortalama Ho 0,6901 ile Van kedisinde tespit edilmistir. En düsük gözlenen ortalama heterozigotluk degeri ise 0,4833 ile Siyam kedisinde tespit edilmistir.

Bu çalismada Ankara kedisinin Fis degerlerinin istatistiksel olarak önemsiz digerlerinin ise önemli oldugu görülmüstür. Van ile Ankara kedisinin ve Ankara ve Tekir kedisinin istatistiksel olarak F_{ST} degerlerinin anlamsiz oldugu görülmüstür. Diger irklar arasinda F_{ST} degerlerinin önemli oldugu görülmüstür.

Farkli kedi irklarina ait bireylerin genetik olarak birbirine ne derece benzedikleri, diger irklara ait bireylerden farkli olarak ayrilip ayrilmadigini arastirmak için allel paylasim uzakligi metodu (FCA) ölçüt olarak alinmis ve komsu birlestirme agaci ile bireylerin iliskileri sergilenmistir.

FCA grafiginde Iran, Siyam, Ankara ve Van kedileri birbirlerinden ayrilarak kendi gruplarini olusturmuslar ve ancak yerli olan Van, Ankara ve Tekir kedilerinin birbirleri ile yakin olduklari, Siyam ve Iran kedilerinin ise ayri birer grup olusturduklari gözükmektedir. Tekir kedisi ise aralara dagilmis durumda görülmektedir.

Bes farkli kedi populasyonunda genetik karaktarizasyonun yapildigi bu çalismada genetik çesitliligin seviyesinin saf olarak yetistirilen populasyonlarda düsük oldugu tespit edilmistir. Özellikle son yillarda tespit edilen mutasyonlarin sayisinda gözlenen artisa bagli olarak kedi islah çalismalarinin daha dikkatli yapilmasi anlamli olacaktir.

7. SUMMARY

INVESTIGATION OF GENETIC STRUCTURE OF VARIOUS CAT BREEDS BY USING MICROSATELLITES IN TURKEY

Genetic characterization of animal populations and thereby determination of genetic level diversity between populations and in a breed are critically important for development of management programs for genetic resources and determination of population migrations in the history. Microsatellite DNA markers, which are known highly polymorphic, are widely preferred and used in genetic characterization efforts. In this study, five cat populations including, Turkish Van, Turkish Angora, Turkish Tekir, Siamese and Persian were genetically characterized at the DNA level by using 10 microsatellite loci including FCA069, FCA075, FCA105, FCA149, FCA220, FCA229, FCA240, FCA310, FCA441 and FCA678).

A total of 96 DNA samples were isolated from these cat populations and were amplified by use of Polimerase Chain Reaction (PCR) using 10 microsatellite markers. The resulting PCR products were separated by capillary electrophoresis using a CEQ-8000 Beckman Coulter Genetic Analysis System and alleles were determined. In this presenting study, a total of 274 different alleles were observed. Average number of alleles were determined as ranging from 8.3 (Turkish Van) to 3.7 (Siamese).

When levels of heterozygosity were inspected for each locus, the observed heterozygosity (H_O) and expected heterozygosity (H_E) were ranged from 1.0000 to 0.1667 and from 0.8939 to 0.871, respectively. Based on populations, the highest H_O was observed in Turkish Van (0,6901); however, the lowest H_O was seen in Siamese (0,4833).

In this study, F_{IS} values were calculated and were found statistically unimportant in all cat population except the Turkish Angora. F_{ST} values between Turkish Van and Turkish Angora, and Turkish Angora and Turkish Tekir were found to be statistically unimportant. However, statistically important F_{ST} values were determined between other analyzed cat populations.

In order to asses whether cats from different populations are genetically similar and distinguished each other, Factorial Correspondence Analysis (FCA) was performed and the genetical relationships of cat populations were investigated by Neighbor-joining tree analyses.

In FCA, it is observed that Persian, Siamese, Turkish Van and Turkish Angora Cats were totally separated to create their own groups. Also, there were close localization between Turkish local cat populations including Turkish Van, Angora and Tekir. Persian and Siamese cats were located separately.

In this presenting study, five cat populations were genetically dissected, and lower genetic diversity was observed in pure breeds. It is well known that recently an increased number of deleterious mutations are observed in pure cat breed and population, it is therefore suggested that attention should be paid in cat breeding efforts.

8. KAYNAKLAR

Altunok V, Yüksek N ve Agaoglu ZT (2007) *Van Kedilerinin Genetik Yapilarinin Alyuvar Enzimleri Kullanilarak Arastirilmasi,* Proje No: 104V010 (VHAG-2076) TÜBITAK sonuç raporu.

Altunok V ve Demir S (2004) *Hayvan gen kaynaklarinin önemi ve korunma gerekçeleri (Niçin gen kaynaklarimiza sahip çikmaliyiz?)* Ulusal Veteriner Biyokimya ve Klinik Biyokimya Kongresi, 9-11 Eylul 2004, Elazig/Türkiye.

Anonim (2007a) http://www.evcilkediler.com/kedi-irklari ERISIM: 26.12.2007.

Anonim (2007b) http://www.juen.com.tr/irkDetay.aspx?PTT=2&ID=123 ERISIM: 26.12.2007.

Anonim (2007c) http://www.vankedisi.net/ ERISIM: 26.12.2007.

Anonim (2007d) http://www.siyamkedi.com/tur.htm ERISIM: 26.12.2007.

Anonim (2007e) http://www.vankedisi.net/yenifoto/05.jpg ERISIM: 26.12.2007.

Beaumont M, Barratt EM, Gottelli D, Kitchener AC, Daniels MJ, Pritchars JK et al (2001) *Genetic diversity and introgression in the Scottish wild cat,* Molecular Ecology, 10, 319-336.

Belkhir K, Borsa P, Chikhi L, Goudet J and Bonhomme F (1996) *GENETIX 4.00 WindowsTM software for sample genetics.* Laboratoire Genome, Populations, Interactions, University of Montpellier, France.

Bowcock AM, Ruiz-Linares A, Tomfohrde J, Minch E, Kidd JR and Cavalli-Sforza LL (1994) *High resolution of human evolutivary trees with polymorphic microsatellites,* Nature, 368, 455-457.

Byers SL, Nuttall JD, Crawley AC, Hopwood JJU, Smith KL and Fazzalari NL (1997) *Effect of enzyme replacement therapy on bone formation in a feline model of mucopolysaecharidosis type VI,* Bone, 21, 425-431.

Cerit H, Altinel A, Demir H, Elmaz Ö, Atasoy S, Abaci E ve ark (2001) *Damizlik seçiminde DNA tipleme yöntemlerinin kullanilmasinin arastirilmasi,* VHAG-1471, TÜBITAK.

Culver M, Johnson WE, Pecon-Salttery J and O'Brien SJ (2000) *Genomic Ancestry of the American Puma (Puma concolor),* The American Genetic Assoctation, 91, 186-197.

Demirsoy A (1992) *Yasamin temel kurallari- Omurgalilar/Amniyota*, Meteksan A.S. Yayin Evi, Ankara.

Demirsoy A (1996) *Türkiye omurgalilari,* Meteksan A.S. Yayin Evi, Ankara.

Driscoll CA, Raymond MM, Roca AL, Hupe K, Johnson WE, Geffen E et al (2007) *The Near Eastern Origin of Cat Domestication,* Science, 317(5837), 519-523.

Eizirik E, Kim JH, Raymond MM, Crawshaw JR, Peter G, O'Brien SJ et al (2001) *Phylogeography, population history and conservation genetics of jaguars (Panthera onca, Mammalia, Felidae),* Molecular Ecology, 10, 65-79.

Ellerman JR and Morrison-Scott TCS (1996) *Chaeclist of Palaearctic and Indian Mammals*, British Museum Natural History, London.

Ernest HB, Penedo MC, Ivlay BP, Syvanen M and Boyce WM (2000) *Molecular trackin of mountain lions In the Yosemite valley region in California: genetic analysis using microsatetlites and faecal DMA,* Molecular Ecology, 9(4), 433-441.

Ertugrul M ve Akman N (2000) *Hayvan gen kaynaklarinin korunmasi ve Türkiye hayvan gen kaynaklari*, Türkiye Ziraat Mühendisligi V. Teknik Kongresi, 17-21 Ocak, Ankara.

Hansen MM, Kenchington E and Nielsen EE (2001) *Assigning Invidual Fish to Population Using Microsatellite DNA Markers*, Fish and Fisheries, 2, 93-112.

Goldstein DB and Pollock D D (1997) *Launching Microsatellites: A Review of Mutation Processes and Methods of Phylogenetic Inference* Journal of Heredity, 88 (335-342).

Kaeuffer R, Pontier D, Devillard S and Perrin N (2004) *Effective size of two feral domestic cat populations (Felis catus L.): effect of the mating system,* Molecular Ecology, 13, 483-490.

Klug WS and Cummings MR (2000) *Genetik kavramlar,* Ed Cihan Öner, Palme Yayincilik, Ankara.

Kuru M (1987) *Omurgali Hayvanlar,* Atatürk Üniversitesi Basimevi, Erzurum.

Lipinski MJ, Amigues Y, Blasi M, Broad TE, Cherbonnel C, Cho GJ et al (2007) *An international parentage and identification panel for the domestic cat (Felis catus),* Animal Genetics, 38, 371-377.

Lipinski MJ, Froenicke K, Baysac KC, Billings NC, Leutenegger CM, Levy AM et al (2008) *The ascent of cat breds: Genetic evaluations of breeds and wordwide random-bred populations*, Genomics, 91, 12-21.

Lyons (2004) *Report by Leslie **Lyons** on allele sequencing of panel markers for the cat* ISAG Tokyo.

Marshall TC, Slate J, Kruuk LEB and Pemberton JM (1998) *Statistical confidence for likelihood-based paternity inference in natural populations* Molecular Ecology 7: 639-655.

Migaki G (1982) *Section VIII, Compendium of inherited metabolic diseases in animals. In "Animal Models of Inherited Metabolic Disease"* 473-501 edt. Desnick R, Patterson D and Scarpeooi DG) A.R.Liss, New York.

Murpy WJ, Raymond MM, Lyons LA, Thompson M*A* and O'Brien SJ (1999) *Development of a feline whole genome radiation hybrid panel and comparative mapping of human chromosome 12 and 22 locus,* Genomics, 57, 1-8.

Nei M (1972) *Genetic Distance Between Populations*, American Naturalist, 106, 283-292.

Nei M, Tajima F, Tateno Y (1983) *Accuracy of Estimate Phylogenetic Trees from Molecular Data II. Gene frequency data,* Journal of Molecular Evolution, 19, 153-170.

Nei M (1987) *Moleculer Evolutionary Genetics, Columbia University Press, Newyork Belkhir K, Borsa P, Chikhi L, Goudet J and Bonhomme F (1996-2000) Genetix Windows*^{TM} *software population genetics,* Laboratoire Genome, Populations, Interactions, Universty of Montpellier, France.

Nei M and Kumar S (2000) *Moleculer evolution and phylogenetics,* Oxford Universty Press.

Nicholas FW, Brown SC and Le Tissier PR (1998). *Mendelian inheritance in animals (OMIA). Sydney, Australia,* (http://morgan.angis.su,oz.au/BI.RX/omia/omia_form.html).

O'Brien SJ (1980) *The Extent And Character of Biochemical Genetic Variation in the Domestic Cat,* The Journal of Heredity, 71, 2-8.

O'Brien SJ, Gail MH and Levin DL (1980) *Correlative genetic variation in natural populations of cats, mice and men,* Nature, 288(5791), 580-583.

O'Brien SJ, Roelke ME, Marker L, Newman A, Winkler CA, Meltzer D et al (1985) *Genetic basis for species vulnerability in the cheetah,* Science, 227(4693), 1428-1434.

O'Brien SJ, Wienberg J and Lyons L (1997) *Comparative genomics lessons from cats,* Trends in Genetics, 10(13), 393-399.

O'Brien SJ and Johnson WE (2005) *Big Cat Genomics,* Annual Review of Genomics and Human Genetics, 6, 407-429.

Odabasioglu F (2005) *Veteriner Genetik,* S.Ü. Basim Evi, Konya.

Odabasioglu F ve Ates CT (2000) *Van Kedisi,* S.Ü Basim Evi, Konya.

Özkan E (2005) *Türkiye'de yetistirilen yerli ve kültür sigir irklarinin genetik yapilarinin mikrosatelitlerle incelenmesi,* Doktora Tezi, Trakya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdag.

Peakall R and Smouse PE (2006) *GENALEX 6: genetic analysis in Excel, Population genetic software for teaching and research,* Molecular Ecology Notes, 6, 288-295.

Pierpaoli M, Bio ZS, Herrmann M, Hupe K, Fernandes M, Ragni B et al (2003) *Genetic distinction of wildcat (felis silvestris) populations in europe, and hybridization with domestic cats in hungary,* Molecular Ecology, 12, 2585-2598.

Raymond MM and O'Brien SJ (1995) *Evolutionary conservation of ten microsatellite loci in four species of Felidae,* The Journal of Heredity, 86(4), 319-322.

Raymond M, Rousset F (1995) *GENEPOP (v 1.2). A Population Genetics Software for Exact Tests and Ecumenicism*. Montpellier, France.

Raymond MM, David VA, Lyons LA, Schaffer AA, Tomiin JF, Hutton MK et al (1999) *A Genetic Linkage Map of Microsatellites in the Domestic Cat (Felis catus),* Genomics 57(1), 9-23.

Raymond MM, David VA, Pflueger SM, Lindblad TK, Wade CM, O'Brien SJ ve ark (2008) *Patterns of molecular genetic variation among cat breeds*, Genomics, 91(1) 1-11.

Say L, Bonhomme F, Desmarab E and Pontier B (2003) *Microspatial geneti heterogeneity and gene flow in stray cats (Felis catus L,): a comparison of coat colour and microsatellite loci*, Molecular Ecology, 12(6), 1669-1674.

Say L, **Pontier D and Natoli E (1999)** *High variation in multiple paternity of domestic cats (Felis catus L.) in relation to environmental,* Proceedings: Biological Sciences, 266(1433), 2071-2074.

Shankaranarayanan P, Banerjee M, Kacker RK, Aggarwall RK and Singh L (1997*) Genetic variation in Asiatic lions and Indian tigers*, Electrophoresis, 18(9), 1693-1700.

Singh A, Gaur A, Shailaja K, Satyare BB and Singh L (2004*) A novel microsatellite (STR) marker for forensic identification of big cats in India*, Forensic Science International 141 (2-3), 143-147.

Soysal I (2004) *Türkiye yerli hayvan genetik kaynaklarimiz*, Trakya üniversitesi, Tekirdag.

Spong G, Johansson M and Bjorklund M (2000) *High genetic variation in leopards indicates large and long-term stable effective population size*, Molecular Ecology, 9(11), 1773-1782.

Senler N (1986) *Van kedisinin biyolojisi ve davranis özellikleri*, Yüksek Lisans tezi, Yüzüncü Yil Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Van.

Tamada T, Kurose N and Masuda R (2005) *Genetic Diversity in Domestic Cats Felis catus of the Tsushima Islands, Based on Mitochondrial DNA Cytochrome b and Control Region Nucleotide Sequences,* Zoological Science, 22(6), 627-633.

Uphyrkina O, Johnson We, Quigley H, Miquelle D, Marker L, Bush M et al (2001) *Phylogenetics, genome diversity and origin of modern leopard,* Panthera Pardus, Molecular Ecology 10 (11), 2617-2633.

Uphyrkina O, Miquelle D, Quigley H, Driscoll C and O'Brien SJ (2002) *Consevation genetics of the Far Eastern Leopard (Pantera Pardus Orientalis)* The Journal of Heredity, 93(5), 303-311.

Wiseman RC, O'Ryan and EH Harley (2000) *Microsatellite analysis reveals that domestic cat (Felis catus) and southern African wild cat (F. lybica) are genetically distinct,* Animal Conservation (2000) 3, 221–228.

Xu YC, Li B, Li WS, Bai SY, Jin Y, Li XP et al (2005) *Individualization of tiger by using microsatellites,* Forensic Science International, 151(1), 45-51.

Yildirim A ve Kandemir N (2001) *Genetik Markörler ve Analiz metotlari In "Bitki Biyoteknolojisi II-Genetik Mühendisligi ve Uygulamalari*" Ed by Özcan S, Gürel E, Babaoglu M, Bölüm 23, 334-363 Selçuk Üniversitesi Basimevi, Konya.

9. ÖZGEÇMIS

15 Ocak 1982 yilinda Amasya'da dogdu. Ilk ögrenimini Samsun Havza 25 Mayis Ilkokulunda tamamladi. Anadolu lisesi sinavini kazanarak Samsun Havza Anadolu Lisesini kazanip orta ve lise ögrenimini Havza ilçesinde tamamladi. 2000 yilinda Selçuk Üniversitesi Egitim Fakültesi Fen Bilgisi Ögretmenligini kazandi ve 2004 yilinda ayni fakülteden Fen Bilgisi Ögretmeni olarak mezun oldu. Eylül 2004'de Selçuk Üniversitesi Saglik Bilimleri Enstitüsü Biyokimya Anabilim Dalinda yüksek lisansa basladi.

10. TESEKKÜR

Yüksek Lisansa basladigim günden itibaren maddi manevi destegini esirgemeyen, hosgörüsü, fikirleri ile beni yönlendiren, çalismamin sonuna kadar bana güvenip destek veren danismanim sayin Doç. Dr. Vahdettin ALTUNOK'a, moleküler teknikleri ögrenmemde çok büyük emegi olan, zaman ayirip yardimlarini hiç eksik etmeyen, sonuçlarin degerlendirilmesi ve yorumlanmasinda büyük destek gördügüm hocam Yrd. Doç. Dr. Ercan KURAR'a, sonuçlarin istatistikî metodlar ile analiz edilmesi konusunda bana destek veren Dr. Evren KOBAN'a laboratuar çalismalarinda hergün birlikte çalistigimiz ve bana yardimci olan Veteriner Hekim Yusuf ÖZSENSOY, tez çalismalarim boyunca desteklerini esirgemeyen özellikle Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dali baskani Prof. Dr. Mehmet NIZAMLIOGLU ve diger ögretim üyeleri Prof. Dr. Behiç SERPEK, Prof. Dr. Nuri BASPINAR, Prof. Dr. Firuze KURTOGLU, Doç. Dr. Seyfullah HALILOGLU'na ve diger ögretim elemanlarina, maddi katkilarindan dolayi S.Ü. BAP Koordinatörlügüne, yardimlarini esirgemeyen Saglik Bilimleri Enstitüsü çalisanlarina tesekkürü bir borç bilirim.

Kan örneklerinin toplanmasinda sagladiklari kolaylik ve yardimlardan dolayi Van Yüzüncü Yil Üniversitesi Kedi Evi yöneticilerine, Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dahiliye, Cerrahi ve Dogum Kliniklerindeki hocalarima, ayrica yerel yetistiricilerden kan almamda bana yardimci olan Doç. Dr. Vahdettin ALTUNOK'a ve Özge HASANDAYIOGLU'na tesekkür ederim.

Bu günlere gelmemde en büyük emegi olan, hiçbir fedakârliktan kaçinmayan, beni her zaman maddi ve manevi yönden destekleyen babam Aslan EROGLU'na, annem Huriye EROGLU'na ve kardeslerim Emine EROGLU ile Neslihan EROGLU'na yürekten tesekkür ederim.