

## Türkiye’de bulunan bazı keçi ırklarında mikrosatellit DNA markörlerinin kimliklendirme çalışmalarında kullanılabilirliğinin araştırılması

### Usefulness of Microsatellite DNA Markers for Parentage Testing for Some Goat Populations in Turkey

Zafer BULUT<sup>1\*</sup>, Ercan KURAR<sup>2</sup>, Yusuf ÖZŞENSOY<sup>3</sup>, Vahdettin ALTUNOK<sup>1</sup>, Mehmet NİZAMLIOĞLU<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Selçuk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Konya, Türkiye

<sup>2</sup> Necmettin Erbakan Üniversitesi, Meram Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Konya, Türkiye

<sup>3</sup> Cumhuriyet Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyometri ve Genetik Anabilim Dalı, Sivas, Türkiye

(\*Sorumlu Yazar: zbulut@selcuk.edu.tr)

Received: 27 October 2014; Accepted: 08 December 2014

#### Özet

Populasyonların moleküler düzeyde karakterizasyonu, ırk içi ve ırklar arası genetik çeşitlilik ve uzaklıkların belirlenmesine olanak sağlamaktadır. Bu amaçla mikrosatellit DNA markörleri yaygın olarak kullanılmaktadır. DNA seviyesinde elde edilen genotipik veriler, bir populasyonu oluşturan bireylerin genetik ilişkilerinin tespitinde ve pratik olarak kimliklendirme çalışmalarında kullanılabilirlerdir. Bu çalışmanın amacı, mikrosatellit markörlerinin Türkiye’de bulunan bazı keçi ırklarının ebeveyn tayini çalışmalarında kullanılabilirliğinin araştırılmasıdır. Kilis, Yayladağ, Honamlı, Kıl, Ankara, Saanen, Alpin ve Malta ırkı keçilerden toplam 248 adet kan örneği toplanmıştır. Standart organik yöntem kullanılarak DNA izolasyonu yapılmıştır. Mikrosatellit lokusları Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) ve Uluslararası Hayvan Genetiği Derneği (ISAG) tarafından tavsiye edilen listeden seçilmiştir. Toplam 11 farklı lokus kullanılarak polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ile spesifik genom bölgeleri çoğaltılmıştır. PZR ürünlerine kapiller elektroforez ile fragman analizi uygulanmıştır. İstatistiksel analizlerde allel sayısı, gözlenen heterozigotluk (Ho), beklenen heterozigotluk (He), Hardy-Weinberg Dengesine (HWE) uygunluk ve dışlama gücü (DG) parametreleri her bir lokus için hesaplanmıştır. Allel sayıları farklı lokuslar için 3 ile 25 arasında değişmektedir. Ortalama Ho değerlerinin 0.357-0.856, ortalama He değerlerinin ise 0.601-0.861 arasında değiştiği gözlenmiştir. Enformatif 11 lokusun kullanılması ile toplam DG değerinin Malta ırkında 0.998, diğer ırklarda ise 0.999 olacağı ve dolayısıyla keçi kimliklendirme çalışmalarında başarıyla kullanılabileceği tahmin edilmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Keçi, kimliklendirme, mikrosatellit, DNA markörü

#### Usefulness of microsatellite DNA markers for parentage testing for some goat populations in Turkey

#### Abstract

Characterization of populations at the molecular level provides an estimation of genetic diversity and distances between and within the populations. For this purpose, microsatellites are widely preferred marker systems in population analyses. Genotypic data at DNA level were also used to test genetic relationships between individuals in a population and for practical verification of paternity. The objective of this study is to evaluate the usefulness of microsatellite markers for parentage testing for some goat breeds in Turkey. A total of 248 blood samples were collected from Kilis, Yayladağ, Shami, Honamlı, Saanen, Kil, Angora, Alpin and Malta breeds. The DNA samples were isolated by using a standard organic based method. Eleven microsatellite loci were selected from a list suggested by a joint ISAG/FAO working group. Microsatellite markers were used to amplify genomic DNA by polymerase chain reaction (PCR). The amplified PCR products were separated and fragment analyses were accomplished by capillary electrophoresis. Allele numbers, observed heterozygosity (Ho), expected heterozygosity (He), deviation from Hardy-Weinberg Equilibrium and probability of exclusion (PE) at each microsatellite locus were calculated. Allele numbers were determined ranging from 3 to 25 at each locus. The mean Ho and mean He were ranged from 0.357-0.856 and from 0.601-0.861, respectively. Total PE values were calculated as 0.998 in Malta breed and 0.999 for the other goat populations. Our results suggested that a DNA test panel including these eleven loci will be useful for parentage assignment testing in goat populations.

**Keywords:** Goat, microsatellite, parentage testing, DNA marker

#### Giriş

Keçi yetiştiriciliği et, süt, tiftik, deri, gübre gibi verimleri yönüyle Türkiye’de kırsal kesimde yaşayan nüfusun önemli geçim kaynaklarından biridir. Evcil keçi *Capra hircus* olarak bilinmektedir. Evcil keçinin iki ayrı yaban keçi türü olan *Capra aegagrus* ve *Capra falconeri*’den köken aldığı tahmin edilmektedir (Dong *et al.*, 2012).

Keçinin birden fazla evcilleştirme merkezine sahip olduğu belirtilmektedir (Srozzi, 2012).

Kalıtım ve tekrarılma dereceleri gibi genetik parametrelerin doğru olarak hesaplanabilmesi ve etkili ıslah programlarının uygulanabilmesi için bir popülasyonda bulunan bireylerin genetik ilişkilerinin doğru olarak tespitinin önemi büyüktür.

Numaralandırma, kimlik ve verimle ilgili kayıtların büyük bir özenle tutulduğu ülkelerde dahi hatalı kimlik ve ebeveyn saptanması oranı oldukça yüksektir (Geldermann *et al.*, 1986; Ozkan *et al.*, 2009). Kan grup sistemleri ve protein polimorfizmi kullanılarak Macaristan (Fésüs *et al.*, 1983), Moğolistan (Nyamsamba *et al.*, 2003), Almanya (Menrad *et al.*, 1994) ve Arjantin (Deza *et al.*, 2001) gibi farklı ülkelerde keçi ırkları arasındaki genetik ilişkilerin belirlenmesi ve ebeveyn tayini amacıyla çalışmalar yapılmıştır. Deza *et al.*, (2001) toplam 14 lokustan 8 tanesinin en az 1 popülasyonda polimorfik olduğunu bildirmiştir. Beş kan proteininden 2 tanesinin (Pépin ve Nguyen, 1994) veya hepsinin popülasyonlar arasında polimorfik olduğu ancak 1 lokusun popülasyon içinde monomorfik olduğu belirlenmiştir (Menrad *et al.*, 1994). Diğer bir çalışmada (Nyamsamba *et al.*, 2003) ise 12 lokusun tamamının polimorfik olduğu bulunmuştur. Sekiz biyokimyasal lokusun kullanıldığı bir çalışmada tüm lokusların polimorfik olduğu ancak ebeveyn tayininde kullanılmasının faydalı olmayacağı bildirilmiştir (Fésüs *et al.*, 1983).

Türkiye’de keçi popülasyonlarında gerçekleştirilen ilk genetik çalışmaları daha çok protein ve enzim polimorfizmini kapsamaktadır. Ertuğrul ve Akyüz, (2000) protein markörleri kullanarak Ankara keçilerinde varyasyonun daha geniş olduğunu belirtmişlerdir. Ankara keçilerinin transferrin lokusu bakımından polimorfik olduğu (Elmacı ve Asal, 1998), ancak diğer bazı enzimler açısından polimorfizm görülmediği (Altunok *et al.*, 2007) bildirilmiştir. Protein markör sistemlerinin yeterince enformatif olmaması ve teknik nedenlerden dolayı günümüzde farklı hayvan türlerinin kimliklendirme çalışmalarında DNA markörleri tercih edilmektedir.

Enformatif mikrosatellit markörler genetik bağlantı (bileşiklik) analizleri, gen haritalarının oluşturulması, karakterleri kontrol eden gen ve kromozom bölgelerinin tayini, genetik çeşitliliğin belirlenmesi, moleküler ıslah, filogenetik çalışmaları ile adli tıpta birey ve ebeveyn tayini işlemlerin de yaygın olarak kullanılmaktadır ve genetik çalışmalarda tercih edilmektedir (Özşensoy ve Kurar, 2012). Keçilerde mikrosatellitlerin ebeveyn tayini çalışmalarında doğruluğunun yüksek sonuçlar verdiği bildirilmektedir (Luikart *et al.*, 1999).

Türkiye’de mikrosatellitler kullanılarak kimliklendirme çalışmaları koyun (Kurar *et al.*, 2012), sığır (Kurar *et al.*, 2013; Özşensoy *et al.*, 2014) ve at (Özşensoy *et al.*, 2008) popülasyonlarında yapılmış ve başarı ile kullanılabileceği tespit edilmiştir. Bu çalışmanın amacı, mikrosatellit markörlerinin Türkiye’de bulunan bazı keçi ırklarının ebeveyn tayini çalışmalarında kullanılabilirliğinin araştırılmasıdır.

## Metod

Çalışmada Kilis (n=32), Yayladağ (n=32), Shami (n=32), Honamlı (n=32), Malta (n=4), Saanen (n=27), Kıl (n=32), Ankara (n=44) ve Alpin (n=13) keçi ırklarına ait toplam 248 adet kan örneği K<sub>3</sub>-EDTA’lı tüplere alınmış ve standart fenol/kloroform yöntemi (Sambrook *et al.*, 1989) kullanılarak DNA izolasyonu yapılmıştır. Genomik DNA’lar Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) ve Uluslararası Hayvan Genetiği Derneği

(ISAG) tarafından tavsiye edilen listeden seçilen 11 adet mikrosatellit markör (Tablo 1) kullanılarak Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ile çoğaltılmıştır. PZR protokolü olarak bir reaksiyonunda 1X Mg<sup>++</sup> free PCR buffer (Fermentas), 200 µM dNTP (Fermentas), 1.5 mM MgCl<sup>++</sup>, 0.375 U Taq polimeraz (Fermentas), 5 pmol her bir primer çifti (Çizelge 1) ve 50-100 ng kaynak DNA kullanılmıştır. Her bir PZR reaksiyonu toplam 15 µl hacimde hazırlanmıştır.

Polimeraz zincir reaksiyonları, MJ Research PTC-200 Thermal Cycler kullanılarak iki aşamada gerçekleştirilmiştir. 95°C’de 2 dakika ile tam bir denatürasyon sonrası I. aşamada 5 döngü için 94°C’de 45 saniye denatürasyon, 59°C’de 45 saniye bağlanma ve 72°C’de 30 saniye uzama sağlanmıştır. II. aşamada 94°C’de 30 saniye, 60 °C’de 30 saniye ve 72°C’de 20 saniye olacak şekilde toplam 30 döngü kullanılmıştır. Son olarak örnekler 72°C’de 10 dakika tutularak tam bir adenilizasyona olanak sağlanmıştır.

Yükseltgenen PZR ürünü Beckman Coulter CEQ-8000 Genetik Analiz Sistemine yüklenmiştir. FragTest-3 protokolü (90°C’de 2 dk denatürasyon, 2.0 kV 30 saniye enjeksiyon, 6 kV 35 dk separasyon ve 50°C kapiller ısı) ile 33 cm DNA seperasyon kapilleri (Beckman Coulter p/n 608087) kullanılarak kapiller elektroforez tekniği ile ayrıştırılmış ve allel genotipleri fragman analizi ile tespit edilmiştir.

Mikrosatellit lokuslarına ait allel sayısı (Na), beklenen (He) ve gözlenen (Ho) heterozigotluk düzeyleri, Hardy-Weinberg Dengesi’nden (HWE) sapma, tek ve iki ebeveyn göre dışlama gücü olasılığı (DG) değerleri GenA1Ex6 (Peakall ve Smouse, 2006) paket programı kullanılarak hesaplanmıştır. Polimeraz zincir reaksiyonları, MJ Research PTC-200 Thermal Cycler kullanılarak iki aşamada gerçekleştirilmiştir. 95°C’de 2 dakika ile tam bir denatürasyon sonrası I. aşamada 5 döngü için 94°C’de 45 saniye denatürasyon, 59°C’de 45 saniye bağlanma ve 72°C’de 30 saniye uzama sağlanmıştır. II. aşamada 94°C’de 30 saniye, 60 °C’de 30 saniye ve 72°C’de 20 saniye olacak şekilde toplam 30 döngü kullanılmıştır. Son olarak örnekler 72°C’de 10 dakika tutularak tam bir adenilizasyona olanak sağlanmıştır.

Yükseltgenen PZR ürünü Beckman Coulter CEQ-8000 Genetik Analiz Sistemine yüklenmiştir. FragTest-3 protokolü (90°C’de 2 dk denatürasyon, 2.0 kV 30 saniye enjeksiyon, 6 kV 35 dk separasyon ve 50°C kapiller ısı) ile 33 cm DNA seperasyon kapilleri (Beckman Coulter p/n 608087) kullanılarak kapiller elektroforez tekniği ile ayrıştırılmış ve allel genotipleri fragman analizi ile tespit edilmiştir.

Mikrosatellit lokuslarına ait allel sayısı (Na), beklenen (He) ve gözlenen (Ho) heterozigotluk düzeyleri, Hardy-Weinberg Dengesi’nden (HWE) sapma, tek ve iki ebeveyn göre dışlama gücü olasılığı (DG) değerleri GenA1Ex6 (Peakall ve Smouse, 2006) paket programı kullanılarak hesaplanmıştır.

**Tablo 1.** Çalışmada kullanılan mikrosatellitler

Lokus	Kromozom	Primer Dizisi		Allel Aralığı (baz çifti)	İşaretleme (Well-Red*)
		Forward (5' → 3')	Reverse (5' → 3')		
MAF70	4	cacggagtcacaagagtcagacc	gcaggactctacggggcctttgc	134-168	D3
INRA023	3	gagtagagctacaagataaacttc	taactacaggggttagatgaact	196-215	D3
SPS113	10	cctccacacaggtctctgactt	cctaactgcttgagttattgcc	134-158	D3
CSR247	14	ggacttgccagaactctgcaat	cactgtggtttgtattagtcagg	220-247	D2
McM527	5	gtccattgctcaaatcaattc	aaaccactgactactcccaaa	165-187	D4
ILSTS087	28	agcagacatgatgactcagc	ctgcctctttcttgagag	135-155	D4
BM6444	2	ctctgggtacaacactgagtc	tagagagttccctgtccatcc	118-200	D2
P19 (DYA)	20	aacaccatcaaacagtaagag	catagtaacagatctctctaca	160-196	D4
TCRVB6	Bilinmiyor	gagtcctcagcaagcaggtc	ccaggaattggtacacacct	217-255	D4
DRBP1	23	atgggtcagcagcaaggtgagca	gggactcagtcctctctcttttg	195-229	D4
ETH10	5	gttcaggactgcccctgctaaca	cctccagcccactttctctctc	200-210	D4

\*Well-Red D2: Siyah, D3: Yeşil, D4: Mavi

Polimeraz zincir reaksiyonları, MJ Research PTC-200 Thermal Cycler kullanılarak iki aşamada gerçekleştirilmiştir. 95°C'de 2 dakika ile tam bir denatürasyon sonrası I. aşamada 5 döngü için 94°C'de 45 saniye denatürasyon, 59°C'de 45 saniye bağlanma ve 72°C'de 30 saniye uzama sağlanmıştır. II. aşamada 94°C'de 30 saniye, 60 °C'de 30 saniye ve 72°C'de 20 saniye olacak şekilde toplam 30 döngü kullanılmıştır. Son olarak örnekler 72°C'de 10 dakika tutularak tam bir adenilizasyona olanak sağlanmıştır.

Yükseltgenen PZR ürünü Beckman Coulter CEQ-8000 Genetik Analiz Sistemine yüklenmiştir. FragTest-3 protokolü (90°C'de 2 dk denatürasyon, 2.0 kV 30 saniye enjeksiyon, 6 kV 35 dk separasyon ve 50°C kapiller ısı) ile 33 cm DNA seperasyon kapilleri (Beckman Coulter p/n 608087) kullanılarak kapiller elektroforez tekniği ile ayrıştırılmış ve allel genotipleri fragman analizi ile tespit edilmiştir.

Mikrosatellit lokuslarına ait allel sayısı (Na), beklenen (He) ve gözlenen (Ho) heterozigotluk düzeyleri, Hardy-Weinberg Dengesi'nden (HWE) sapma, tek ve iki ebeveyne göre dışlama gücü olasılığı (DG) değerleri GenAEx6 (Peakall ve Smouse, 2006) paket programı kullanılarak hesaplanmıştır.

### Sonuçlar

ISAG ve FAO MoDAD tarafından tavsiye edilen 11 mikrosatellit lokusu kapiller elektroforez ile ayrıştırılmış, her bir markör lokusunda allel genotipleri fragman

analizi ile tespit edilmiştir. Genel populasyon parametrelerinden gözlenen allel sayıları (Na) (Tablo 2), beklenen (He) ve gözlenen (Ho) heterozigotluk düzeyleri, HWE'den sapma (Tablo 3) ve dışlama gücü (DG) değerleri (Tablo 4) özetlenmiştir.

Çalışmada toplam 160 farklı allel gözlemlenmiş ve ortalama Na ise 14.55 olarak tespit edilmiştir. En fazla allel BM6444 (33 allel) ve en az allel ise McM527 ve ILSTS087 (10 allel) markörlerinde gözlenmiştir.

Ortalama Ho ve He düzeylerinin sırasıyla 0.357-0.856 ve 0.601-0.861 arasında değiştiği belirlenmiştir (Tablo 3). Tespit edilen ortalama Ho ve He değerlerinin birbirinden fazla uzak olmadığı ve populasyonlarda genel olarak yüksek oranda heterozigotluk gözlemlendiği belirlenmiştir. Tüm populasyonların genel olarak HW dengesinde olduğu gözlenmiştir.

Dışlama gücü değerleri bir ebeveyn (DG-1) ve iki ebeveyn (DG-2) varlığında hesaplanmıştır (Tablo 4). DG-1 değerleri 0.125 (INRA023, Malta) – 0.849 (BM6444, Ankara) arasında değişmektedir. DG-2 değerleri en düşük (0.188) Malta populasyonunda INRA023, en yüksek (0.919) ise Ankara populasyonunda BM6444 lokusunda gözlenmiştir. En polimorfik 8 mikrosatellit (SPS113, MCM527, CSR247, BM466, ILSTS087, TCRVB6, DRB1 ve MAF70) ile toplam DG-1 değerleri ve 6 lokusla (SPS113, MCM527, CSR247, BM466, ILSTS087 ve TCRVB6) ise toplam DG-2 değerleri tüm populasyonlarda >0.999 olarak hesaplanmıştır.

**Tablo 2.** Popülasyonlarda gözlenen allel sayıları.

Markör	Popülasyonlar									Ort	Toplam
	Kilis	Yayladağ	Shami	Honamlı	Malta	Saanen	Kıl	Ankara	Alpin		
SPS113	7	6	6	7	4	9	7	10	5	6.78	<b>11</b>
McM527	8	5	6	7	4	6	7	6	6	6.11	<b>10</b>
CSR247	10	7	9	8	5	6	8	9	8	7.78	<b>11</b>
BM6444	16	13	18	17	5	14	20	25	10	15.33	<b>33</b>
ILSTS087	7	5	6	8	4	6	9	8	6	6.56	<b>10</b>
TCRVB6	12	10	9	11	4	9	11	12	8	9.56	<b>14</b>
DRBP1	6	8	6	6	3	4	6	8	4	5.67	<b>14</b>
MAF70	7	11	11	9	5	9	11	10	7	8.89	<b>18</b>
ETH10	4	6	5	5	3	3	6	8	4	4.89	<b>14</b>
P19 (DYA)	8	7	11	10	4	10	9	8	7	8.22	<b>13</b>
INRA023	8	8	9	6	2	4	5	9	5	6.22	<b>12</b>
<b>Ortalama</b>	8.45	7.82	8.73	8.55	3.91	7.27	9.00	10.27	6.36	<b>7.82</b>	<b>14.55</b>

**Tablo 3.** Gözlenen (Ho) ve beklenen (He) heterozigotluk ile HWE.

Markör	Ortalama		Kilis	Yayladağ	Shami	Honamlı	Malta	Saanen	Kıl	Ankara	Alpin
	Ho	He									
SPS113	0.803	0.752	ns	**	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
McM527	0.726	0.703	**	ns	ns	**	ns	***	ns	ns	ns
CSR247	0.844	0.788	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	**	ns
BM6444	0.856	0.861	ns	*	*	ns	ns	*	ns	***	ns
ILSTS087	0.709	0.668	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
TCRVB6	0.766	0.805	ns	ns	ns	ns	ns	ns	**	ns	ns
DRBP1	0.357	0.601	***	***	***	***	ns	**	***	ns	**
MAF70	0.763	0.777	ns	***	**	ns	ns	*	ns	ns	ns
ETH10	0.523	0.605	ns	***	***	ns	ns	ns	ns	***	ns
P19 (DYA)	0.692	0.797	ns	***	ns	*	ns	ns	***	ns	ns
INRA023	0.635	0.604	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
<b>Ortalama</b>	<b>0.698</b>	<b>0.724</b>									

ns=önemsiz, \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ , \*\*\*  $P < 0.001$

**Tablo 4.** Dışlama Gücünün 1 (DG-1) ve 2 (DG-2) ebeveyn varlığında değerleri.

Lokus	Popülasyonlar																	
	Kilis		Yayladağ		Shami		Honamlı		Malta		Saanen		Kıl		Ankara		Alpin	
	DG-1	DG-2	DG-1	DG-2	DG-1	DG-2	DG-1	DG-2	DG-1	DG-2	DG-1	DG-2	DG-1	DG-2	DG-1	DG-2	DG-1	DG-2
SPS113	0.542	0.707	0.486	0.660	0.486	0.660	0.542	0.707	0.328	0.504	0.626	0.772	0.542	0.707	0.657	0.795	0.416	0.595
McM527	0.588	0.743	0.416	0.595	0.486	0.660	0.542	0.707	0.328	0.504	0.486	0.660	0.542	0.707	0.486	0.660	0.486	0.660
CSRD247	0.657	0.795	0.542	0.707	0.626	0.772	0.588	0.743	0.416	0.595	0.486	0.660	0.588	0.743	0.626	0.772	0.588	0.743
BM6444	0.773	0.872	0.726	0.842	0.796	0.887	0.785	0.880	0.416	0.595	0.744	0.854	0.815	0.898	0.849	0.919	0.657	0.795
ILSTS087	0.542	0.707	0.416	0.595	0.486	0.660	0.588	0.743	0.328	0.504	0.486	0.660	0.626	0.772	0.588	0.743	0.486	0.660
TCRVB6	0.707	0.829	0.657	0.795	0.626	0.772	0.684	0.813	0.328	0.504	0.626	0.772	0.684	0.813	0.707	0.829	0.588	0.743
DRBP1	0.486	0.660	0.588	0.743	0.486	0.660	0.486	0.660	0.222	0.370	0.328	0.504	0.486	0.660	0.588	0.743	0.328	0.504
MAF70	0.542	0.707	0.684	0.813	0.684	0.813	0.626	0.772	0.416	0.595	0.626	0.772	0.684	0.813	0.657	0.795	0.542	0.707
ETH10	0.328	0.504	0.486	0.660	0.416	0.595	0.416	0.595	0.222	0.370	0.222	0.370	0.486	0.660	0.588	0.743	0.328	0.504
P19(DYA)	0.588	0.743	0.542	0.707	0.684	0.813	0.657	0.795	0.328	0.504	0.657	0.795	0.626	0.772	0.588	0.743	0.542	0.707
INRA023	0.588	0.743	0.588	0.743	0.626	0.772	0.486	0.660	0.125	0.188	0.328	0.504	0.416	0.595	0.626	0.772	0.416	0.595
Ortalama	0.576	0.728	0.557	0.715	0.582	0.733	0.582	0.734	0.314	0.476	0.510	0.666	0.590	0.740	0.633	0.774	0.489	0.656
Toplam	>0.999		>0.999		>0.999		>0.999		=0.998		>0.999		>0.999		>0.999		>0.999	

## Tartışma

Çalışmada gözlenen ortalama allel sayısı (14.55) ve lokuslarda gözlenen allel sayıları (10-33) Türkiye keçi ırklarında 20 mikrosatellit markörü kullanılarak gerçekleştirilen diğer çalışmadan (Ağaoğlu ve Ertuğrul, 2012) düşük bulunmakla birlikte yakın sonuçlar elde edilmiştir. Bu çalışma ile 3 markör (CSR247, MAF70 ve INRA023) ortak olarak kullanılmış ve benzer allel sayıları elde edilmiştir. Bu farklılığın Ağaoğlu ve Ertuğrul (2012) tarafından kullanılan örnek ve lokus sayısından kaynaklandığı tahmin edilmektedir. Keçilerde yapılan diğer ebeveyn tayini çalışmalarında elde edilen en fazla allel sayıları 10-24 arasında değiştiği (Luikart *et al.*, 1999; Bolormaa *et al.*, 2008; Siwek ve Knol, 2010; Visser *et al.*, 2011) bildirilmekle birlikte bu çalışmada allel sayıları daha yüksek tespit edilmiştir.

Dışlama gücü (DG), hatalı ebeveynlerin ne oranda dışlandığının matematiksel bir göstergesidir. Çalışmada kullanılan 11 mikrosatellit markörü ile DG-1 ve DG-2 değerlerinin >0.9999 olduğu belirlenmiştir. Keçilerde yapılan ebeveyn tayini çalışmalarında; Luikart *et al.*, (1999) her birinin 11 markör içerdiği iki multiplex sistem kullanılarak toplam 22 mikrosatellit lokusu ile yaptıkları bir çalışmada DG değerlerinin 0.999992 - 0.99997 arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Fan *et al.*, (2008) 5 farklı keçi ırkında 17 mikrosatellit kullanarak yaptıkları çalışmada ise en yüksek DG-1 değerini 0.534, DG-2 değerini ise 0.699 olarak belirlemişlerdir. İki farklı Avustralya keçi popülasyonunda 14 mikrosatellit markör kullanılarak yapılan ebeveyn tayini çalışmasında DG değerleri >0.9970 olarak hesaplanmıştır (Bolormaa *et al.*, 2008). Bu çalışma ile ortak 2 popülasyonu (Alpin ve Saanen) içeren Brezilya yerli keçisini içeren çalışmada tek ve iki ebeveyni bilinen DG değerlerinin sırasıyla 0.988375 ve 0.999591 olduğu bildirilmiştir (Araújo *et al.*, 2010). Bu çalışmada elde edilen DG değerleri diğer çalışmalara göre daha yüksek bulunmuştur.

Bu çalışmada toplam DG-1 değerine 8 (SPS113, MCM527, CSR247, BM466, ILSTS087, TCRVB6, DRB1 ve MAF70), DG-2 değerine ise 6 lokus (SPS113, MCM527, CSR247, BM466, ILSTS087 ve TCRVB6) ile >0.9999 oranında ulaşılmıştır. Yapılan diğer çalışmalarda ise bu değerlerin Avustralya keçilerinde ebeveynlerden bir tanesi bilindiğinde 10, ebeveynler her ikisi bilinmediği durumda ise 12 lokus (Bolormaa *et al.*, 2008) olduğu bildirilmiştir.

Bu çalışmada Ankara keçilerinde 11 lokus için ortalama 10.27 allel gözlenmiş ve ortalama DG-1 ve DG-2 değerleri sırasıyla 0.633 ve 0.774 olduğu tespit edilmiştir. Ankara keçilerinin bir varyasyonu olan Avustralya (Bolormaa *et al.*, 2008) ve Güney Afrika'da (Visser *et al.*, 2011) bulunan Ankara keçilerinin genel popülasyon parametreleri mikrosatellit lokusları kullanılarak araştırılmıştır. Bu çalışmalarda ortalama allel sayıları 7.5 (Bolormaa *et al.*, 2008), 8.83 (Visser *et al.*, 2011) ve DG-1 ve DG-2 değerleri 0.519-0.350 (Bolormaa *et al.*, 2008) ile 0.454-0.290 (Visser *et al.*, 2011) olduğu bildirilmiştir. Bu sonuçlara göre Türkiye Ankara keçilerinin diğer ülkelerde yetiştirilen popülasyonlara göre çok daha yüksek genetik çeşitliliğe sahip olduğu görülmektedir.

Ebeveyn tayini ve kimliklendirme çalışmalarının ekonomik ve pratik olarak uygulanabilmesi için mümkün olan en az markör/multipleks ile en yüksek dışlama gücü değerlerinin elde edilmesi amaçlanmaktadır. Örnek sayısının az olmasından dolayı Malta popülasyonu hariç tutulması sonucunda her seferinde bir lokus ilave edilerek, tüm lokusların kombinasyonu ile elde edilen toplam dışlama gücü değerleri hesaplandığında 4 lokus ve daha fazlasının kullanılmasıyla >0.999 DG elde edilmiştir.

Sonuç olarak, farklı kromozom bölgelerinden seçilen bu markörlerin genel popülasyon parametreleri ve özellikle dışlama gücü değerleri göz önüne alındığı zaman bir test paneli olarak ebeveyn tayini çalışmaları için kullanılabileceği kanaatine varılmıştır.

## Teşekkür

Yazarlar, örnekleme çalışmalarına katkısından dolayı Prof.Dr. Ramazan DURGUT'a teşekkür eder. Bu araştırma Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü 05401104 proje numarası ile desteklenmiştir.

## Notlar

Bu çalışma IV. Ulusal Veteriner Biyokimya ve Klinik Biyokimya Kongresi, İstanbul, 2-4 Temmuz 2009 da sözlü bildiri olarak sunulmuştur.

## Kaynaklar

- Ağaoğlu ÖK, Ertuğrul O. Assessment of genetic diversity, genetic relationship and bottleneck using microsatellites in some native Turkish goat breeds. *Small Ruminant Research*. 105: 53-60, 2012.
- Altunok V, Nizamlioğlu M, Bulut Z. Ankara Keçilerinin Genetik Yapılarının Nişasta Jel Elektroforezi Yöntemiyle Araştırılması. *Vet Bil Derg*. 21(2): 67-72, 2007.
- Araújo AMD, Guimarães SEF, Pereira CS, Lopes PS, Rodrigues MT, Machado TMM. Paternity in Brazilian goats through the use of DNA microsatellites. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 39(5): 1011-1014, 2010.
- Bolormaa S, Ruvinsky A, Walkden-Brown S, van der Werf J. DNA-based parentage verification in two Australian goat herds. *Small Ruminant Research*. 80: 95-100, 2008.
- Deza C, Pérez GT, Gardenal CN, Varela L, Villar M, Rubiales S, Barioglio C. Protein polymorphism in native goats from central Argentina. *Small Ruminant Research*. 35(3): 195-201, 2000.
- Dong Y, Xie Jiang Y, Xiao N, Du X, Zhang W, Tosser-Klopp G, Wang J, Yang S, Liang J, Chen W, Chen J, Zeng P, Hou Y, Bian C, Pan S, Li Y, Liu X, Wang W, Servin B, Sayre B, Zhu B, Sweeney D, Moore R, Nie W, Shen W, Zhao R, Zhang G, Li J, Faraut T, Womack J, Zhang Y, Kijas J, Cockett N, Xu X, Zhao S, Wang J, Wang W. Sequencing and automated whole-genome optical mapping of the genome of a domestic goat (*Capra hircus*). *Nature Biotechnology*. 31(2): 135-141, 2012.

- Elmacı C, Asal S. Ankara Keçilerinde Transferin (Beta-Globulin) Polimorfizmi. *Tr J of Veterinary and Animal Science*. 22: 321-323, 1998.
- Ertuğrul O, Akyüz B. Halk elinde yetiştirilen Ankara keçilerinde (*Capra hircus*) bazı kan protein polimorfizmi. *AÜ Veteriner Fak Derg*. 47(1): 23-29, 2000.
- Fan B, Han JL, Chen SL, Mburu DN, Hanotte O, Chenc QK, Zhao SH, Li K. Individual-breed assignments in caprine populations using microsatellite DNA analysis. *Small Ruminant Research*. 75: 154-161, 2008.
- Fésüs L, Várkonyi J, Ágnes Áts. Biochemical polymorphisms in goats with special reference to the Hungarian Native breed. *Animal Blood Groups and Biochemical Genetics*. 14(1): 1-6, 1983.
- Geldermann H, Pieper U, Weber WE. Effect of misidentification on the estimation of breeding value and heritability in cattle. *J Anim Sci*. 63: 1759-1768, 1986.
- Kurar E, Bulut Z, Çağlayan T, Garip M, Yılmaz A, Nizamlioğlu M. Kangal Akkaraman koçlarında genetik çeşitlilik ve ebeveyn testinin uygulanabilirliğinin mikrosatellit belirteçler kullanılarak araştırılması. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*. 18(6): 973-977, 2012.
- Kurar E, Bulut Z, Nizamlioğlu M. Sığır mikrosatellit test panelinin Türkiye’de ebeveyn tayini çalışmalarında kullanılabilirliği. *Eurasian J Vet Sci*. 29(1): 24-29, 2013.
- Luikart G, Biju-Duval MP, Ertugrul O, Zagdsuren Y, Maudet C, Taberlet P. Power of 22 microsatellite markers in fluorescent multiplexes for parentage testing in goats (*Capra hircus*). *Animal Genetics*. 30(6): 431-438, 1999.
- Menrad M, Müller E, Stier C-H, Geldermann H, Gall C. Protein polymorphisms in the blood of German improved fawn and Boer goats. *Small Ruminant Research*. 14(1), 49-54, 1994.
- Nyamsamba D, Nomura K, Nozawa, Yokohama M, Zagdsuren KYo, Amano T. Genetic relationship among Mongolian native goat populations estimated by blood protein polymorphism. *Small Ruminant Research*. 47(3), 171-181, 2003.
- Ozkan E, Soysal MI, Ozder M, Koban E, Sahin O, Togan I. Evaluation of parentage testing in the Turkish Holstein population based on 12 microsatellite loci. *Livest Sci*. 124: 101-106, 2009.
- Özşensoy Y, Kurar E. Markör Sistemleri ve Genetik Karakterizasyon Çalışmalarında Kullanımları. *J Cell Mol Biol*. 10(2): 11-19, 2012.
- Özşensoy Y, Kurar E, Bulut Z, Nizamlioğlu M. Mikrosatellit markörleri kullanılarak atlarda ebeveyn tayini: Bir vaka takdimi. *Eurasian J Vet Sci*. 24(1): 87-91, 2008.
- Özşensoy Y, Kurar E, Doğan M, Bulut Z, Nizamlioğlu M, Işık A, Çamlıdağ A, Altunok V. Genetic characterization of Turkish cattle breeds by microsatellite markers: Usefulness for parentage testing. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*. 20(4): 521-526, 2014.
- Peakall R, Smouse PE. GENALEX 6: Genetic analysis in excel. Population genetic software for teaching and research. *Mol Ecol Notes*. 6: 288-295, 2006.
- Pépin L, Nguyen TC. Blood groups and protein polymorphisms in five goat breeds (*Capra hircus*). *Animal Genetics*. 25(5): 333-336, 1994.
- Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T. Molecular Cloning: A Laboratory Manual. Second Edition, Cold-Spring Harbor, New York, USA, Volume 2, pp: 9.16-9.19, 1989.
- Siwek M, Knol EF. Parental reconstruction in rural goat population with microsatellite markers. *Italian Journal of Animal Science*. 9(3): e50, 2010.
- Srozzi F. Initiative to Develop the Goat HapMap, International Goat Genome Consortium Annual Meeting, 1/16/2012, 2012.
- Visser, C, van Marle-Köster E, Friedrich H. Parentage verification of South African Angora goats, using microsatellite markers. *South African Journal of Animal Science*. 41(3): 250-255, 2011.