



## MtDNA D-loop Sequence Analysis of Some Anatolian Native Cattle Breeds: Evaluation of Genetic Diversity and Population History

Müge Doğan<sup>1,a,\*</sup> Mehmet Nizamloğlu<sup>2,b</sup>

<sup>1</sup>Konya Veterinary Control Institute, Molecular Microbiology Laboratory, Konya, Türkiye

<sup>2</sup>Department of Biochemistry, Faculty of Veterinary Medicine, Selcuk University, 42000 Konya, Türkiye

\*Corresponding author

ARTICLE INFO	ABSTRACT
<p><i>Research Article</i></p> <p>Received : 08/08/2022 Accepted : 11/10/2022</p> <p><b>Keywords:</b> MtDNA Cattle Population history Genetic diversity Phylogenetic</p>	<p>Mitochondrial DNA is the molecular indicator of maternal inheritance and is one of the frequently preferred markers in population genomics, phylogenetic and phylogeographic studies due to its features such as evolving faster than genomic DNA, lack of recombination and showing differences according to the geographical distribution of species. In this research, mitochondrial DNA D-Loop region sequence analyzes were performed in order to reveal the genetic diversity and phylogenetic relationships of some domestic cattle breeds bred in Anatolia. First of all, the sampling study of the cattle breeds that were the subject of the research, was completed. Mitochondrial DNA D-Loop region was amplified by Polymerase Chain Reaction from the DNA isolated samples using the Standard Phenol/Chloroform Method. After DNA sequencing, data of domestic cattle breeds were analyzed together with reference mitochondrial DNA sequences from GenBANK, and their haplotype and nucleotide diversity, and genetic and phylogenetic relationships within and between populations were evaluated. With the data obtained, it was determined that the nucleotide and haplotype diversity, haplotype numbers, intra and inter population variation were quite high in Anatolian native cattle breeds. It was also concluded that the native cattle breeds bred in Anatolia are phylogenetically between Asian and European cattle breeds.</p>

Türk Tarım – Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi, 11(1): 35-42, 2023

## Bazı Anadolu Yerli Sığır Irklarının MtDNA D-loop Dizi Analizi: Genetik Çeşitlilik ve Popülasyon Geçmişinin Değerlendirilmesi

MAKALE BİLGİSİ	ÖZ
<p><i>Araştırma Makalesi</i></p> <p>Geliş : 08/08/2022 Kabul : 11/10/2022</p> <p><b>Anahtar Kelimeler:</b> MtDNA Sığır Popülasyon geçmişi Genetik çeşitlilik Filogenetik</p>	<p>Maternal kalıtımın moleküler göstergesi olan mitokondrial DNA, genomik DNA'ya oranla daha hızlı evrimleşmesi, rekombinasyonun olmayışı ve türlerin coğrafi dağılımına göre farklılıklar göstermesi gibi özelliklerinden dolayı popülasyon genomiği, filogenetik ve filocoğrafik çalışmalarda sıklıkla tercih edilen belirteçlerden birisidir. Bu çalışmada Anadolu'da yetiştirilen bazı yerli sığır ırklarının, ırk içi ve ırklar arası genetik çeşitlilikleri ile filogenetik ilişkilerinin ortaya konulması amacıyla mitokondrial DNA D-Loop bölgesi dizi analizleri gerçekleştirildi. Öncelikle araştırmaya konu olan sığır ırklarının örnekleme çalışması tamamlandı. Standart Fenol/Kloroform Yöntemi kullanılarak DNA izolasyonu yapılan örneklerin mitokondrial DNA D-Loop bölgesinin yükseltgenmesi ise Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile yapıldı. DNA dizi analizi sonrası yerli sığır ırklarına ait veriler GenBANK' tan alınan referans mitokondrial DNA dizileri ile birlikte hizalandı. Haplotip ve nükleotid çeşitlilikleri ile popülasyon içi ve popülasyonlar arası genetik ve filogenetik ilişkileri değerlendirildi. Elde edilen veriler ile Anadolu yerli sığır ırklarının, nükleotid ve haplotip çeşitliliği, haplotip sayıları ile popülasyon içi ve popülasyonlar arası varyasyonun oldukça yüksek olduğu belirlendi. Anadolu da yetiştirilen yerli sığır ırklarının filogenetik olarak Asya ve Avrupa sığır ırkları arasında yer aldığı sonucuna varıldı.</p>

<sup>a</sup> [muge.dogan@tarimorman.gov.tr](mailto:muge.dogan@tarimorman.gov.tr)

<sup>b</sup> <http://orcid.org/0000-0002-0593-5476>

<sup>b</sup> [mnzmoglu@selcuk.edu.tr](mailto:mnzmoglu@selcuk.edu.tr)

<sup>b</sup> <https://orcid.org/0000-0002-7747-519X>



## Giriş

Asya, Avrupa ve Afrika kıtaları arasında adeta bir köprü vazifesi gören, göç ve ticaret yolları üzerinde olan, iklimsel ve çevresel özellikleri, verimli ve sulak arazilere sahip olması ile çok eski medeniyetlere ev sahipliği yapan Anadolu, hayvan ve bitki popülasyonu bakımından eşsiz bir genetik mirasa sahiptir. Türkiye, bir evcilleştirme merkezi olmasının yanı sıra, en eski evcilleştirme merkezlerine yakınlığı ile de çok çeşitli canlıları topraklarında barındırmaktadır (Clutton-Brock, 1999; Zeder ve ark., 2006; Zeder, 2008; Ertuğrul ve ark., 2010; Soysal ve ark., 2010). İnsanoglu, günümüzden 12000 yıl önce, göçebe hayattan adım adım yerleşik hayata geçerken, ilk olarak bitkileri ıslah etmeye başladı, sonraki süreçte ise hayvanları evcilleştirerek, avcı-toplayıcıdan yiyecek üreticisine dönüştü. Tarım Devrim'i ya da Neolitik Devrim olarak tanımlanan bu dönüşüm sürecinde kat edilen yol ile uygarlığın bu günkü durumuna gelmesi ise binlerce yıl sürdü (Nyamushamba ve ark., 2017; Zeder, 2017; Frantz ve ark., 2020; Daly ve ark., 2021; Cubric-Curik, 2022; Ginja ve Wright 2022; Ward ve ark., 2022). Teknolojik gelişmeler, ülkeleri ileriye götürürken bilinçsizce yapılan ıslah çalışmaları ile geliştirme planları ve yüksek kazanç getirisi olan ırk arayışı gibi sebeplere bağlı olarak yerli ırkların yetiştiriciliği giderek azalmaktadır (Ertuğrul ve ark., 2000; Allendorf ve Luikart, 2007; Ertuğrul ve ark., 2008; Ertuğrul ve ark., 2010; Soysal ve ark., 2010).

Yerli ırklar; bir ülke topraklarında yaşayan, o bölgeye has, bölgenin iklim yapısına adapte olmuş ve bölgede yaygın olabilecek hastalıklara dayanıklı ırklardır. Bu nedenlerden dolayı bir bölgedeki yerli ırklar o bölgenin gelecek yıllara aktarılacak genetik mirasını oluşturmaktadır. Türkiye yerli sığır ırkları üzerinde uzun zamandan bu yana kültür sığır ırkları ile melezleme çalışmaları yapılmaktadır. Bu sebeple yerli sığır ırklarına ait genetik saflık derecelerinin kaybolmaya başladığı düşünülmektedir (Ertuğrul ve ark., 2000; Ertuğrul ve ark., 2010). Özellikle gelişmekte olan ülkelerde yaşayan insanların önemli geçim kaynağını oluşturan yerli sığır ırklarının korunması için bu ırklara ait genetik çeşitliliğin ve popülasyon genetiği bilgilerinin belirlenerek ve bu doğrultuda önlemlerin alınması gerekmektedir (Çanta ve Oğuz, 2004; Allendorf ve Luikart, 2007; Mauki ve ark., 2021; Nyamushamba ve ark., 2017; Ward ve ark., 2022).

Nass ve Nass (1963) tarafından tanımlanan Mitokondrial DNA (mtDNA), evcil hayvanların maternal kökenini, filogenisini ve popülasyon yapısını değerlendirmek için kullanılan moleküler belirteçlerden biridir (Watson, 2004). Mitokondriyal DNA, türlerin coğrafi dağılımına göre farklılıklar gösterir, genomik DNA'ya oranla daha hızlı evrimleşir ve maternal kalıtıma sahip olduğu için anasal atanın geçmişi hakkında fikir vericidir. Gösterdiği bu özelliklerinden dolayı mtDNA, genetik polimorfizm çalışmalarında kullanılmaktadır. Diğer türlerde olduğu gibi, sığır ırkları üzerinde yapılan çalışmalarda da filogenetik ilişkiler, coğrafi ve genetik uzaklıkların belirlenmesi, popülasyon geçmişlerinin tahmin edilmesi ve ırkların farklılaşma zamanlarının tespit edilmesi için mtDNA dizi analizleri sıklıkla tercih edilmektedir (Anderson ve ark., 1982; Avise ve ark., 1987; Bradley ve ark., 1996; Troy ve ark., 2001; Watson, 2004;

Pramod ve ark., 2018; Xia ve ark., 2019; Mauki ve ark., 2021).

Çalışmanın amacı, Türkiye'de yetiştiriciliği yapılan bazı yerli sığır ırklarının (Boz Irk, Yerli Kara, Doğu Anadolu Kırmızısı, Güney Anadolu Kırmızısı, Yerli Güney Sarısı ve Zavot) mtDNA D-Loop bölgesi polimorfizmlerini DNA Dizi Analizi yöntemi ile belirlemektir. Çalışma ile Anadolu yerli sığır ırklarının mtDNA D-Loop dizilerininine ait kapsamlı bir veri elde ederek ön moleküler karakterizasyonunun oluşturulması hedeflenmiştir. Bu amaçla Türkiye yerli sığır ırklarının korunma çalışmasına katkı sağlamak, ırkların coğrafi olarak yetiştirildikleri bölge ile uyumlarını belirlemek, elde edilen diziler ile daha önce yapılan çalışmalarda kullanılan ırklara ait dizilerin genetik ilişkisini tespit etmek hedeflenmiştir. Ayrıca bu araştırmadan elde edilen sonuçlar ile Türkiye yerli sığır ırklarının evcilleştirme tarihine ışık tutmak, bir evcilleştirme merkezi olan Anadolu'nun, yerli sığır ırklarının mtDNA genetik çeşitliliğini belirlemek amaçlanmıştır.

## Materyal ve Yöntem

### Materyal

Örneklemeye çalışması Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) tarafından desteklenen KAMAG 106G005 numaralı; "Türkiye Yerli Hayvan Genetik Kaynaklarından Bazılarının *In vitro* Korunması ve Ön Moleküler Tanımlanması I" projesi kapsamında gerçekleştirildi. İrkların sahip oldukları genetik çeşitliliğin güvenilir olması için aralarında akrabalık ilişkisi olmayan bireyler arasından, yaş, cinsiyet, sağlıklı olma durumu ve ırklara has olan morfolojik özellikler dikkate alınarak, Boz Irk (BOZ, n=54), Yerli Kara (YK, n=50), Güney Anadolu Kırmızısı (GAK, n=51), Doğu Anadolu Kırmızısı (DAK, n=54), Yerli Güney Sarısı (YGS, n=51) ve Zavot (ZAV, n=19) toplam 279 baş sığırdan, vakumlu K<sub>3</sub>EDTA'lı tüplere kan örnekleri alındı. Soğuk zincirde (+4°C) laboratuvara ulaştırılan örnekler DNA izolasyonu aşamasına kadar -20°C'de saklandı.

### Yöntem

#### DNA İzolasyon Prosedürü

Örneklemeye çalışması yapılan yerli sığır ırklarına ait kanlardan, Standart fenol / klorofom yöntemi kullanılarak DNA izolasyonu yapıldı (Sambrook ve ark., 1989). DNA örneklerinin kalite ve yoğunluklarını belirlemek için Nanodrop-1000 Spektrofotometre (Thermo Fisher Scientific, USA) kullanıldı. Ölçüm sonrası A 260/280 oranı 1,8-2,00 arasında olanlar ile A 260/230 oranı 2-2,2 arasında olan örnekler PCR aşamasında kullanıldı. Sulandırılarak DNA örneklerinden 50 ng/µl yoğunluğunda DNA stok solüsyonları oluşturuldu.

#### mtDNA D-Loop Bölgesinin PZR ile Yükseltgenmesi ve Dizi Analizi

Loftus ve ark. (1994)'nin çalışmalarında kullandığı ileri primer (protRNA) ile bu araştırmada dizayn edilen geri primer (12SrNA-2) (Çizelge 1) kullanılarak mtDNA kontrol (D-Loop) bölgesi Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ile yükseltgendi. Her bir örneğin PZR'u 1X Mg+2 free Buffer (Fermentas), her bir dNTP'den 200 µM

(Fermentas), 1,5 mM MgCl<sub>2</sub> (Fermentas) her bir primerden 5 pmol, 0.375U Taq Polimeraz (Fermentas) ve 50 ng DNA örneğinden olacak şekilde (toplamda 60 µl) hazırlandı. PZR işleminde MJ-Research PTC-200 Thermal Cycler (Marshall Scientific, USA) cihazı kullanıldı. PZR profili iki aşamada gerçekleştirildi. Çalışma protokolünün ilk aşamasında DNA'nın tam olarak denatürasyonunu sağlamak amacıyla 95°C'de 4 dk bekletildi, 16 döngü için 94°C'de 30 sn denatürasyon, Touchdown PZR özelliği olan ve 60°C'den başlayarak her bir döngüde 0,5°C düşürülen ve 30 sn süren annealing ve 72°C'de 2 dk süren elongation ile sonrasında ise 94°C'de 30 sn denatürasyon, 52°C'de 30 sn annealing ve 72°C'de 2 dk süren elongation olacak şekilde 30 döngü ile ikinci aşama da gerçekleştirildi. Son olarak 72°C'de 10 dk tutularak tam bir adenilasyon sağlandı (Don ve ark., 1991). Örneklerin 10 µl'si %1,5'lik agaroz jel elektroforezi ile yürütülerek görüntüledi. Jel Görüntüsü üzerinde 1598 baz çift (bç)'lik bölgede DNA bandı görünen örnekler seçilerek 'Gene Clean Turbo Kit' ile (MP Biomedicals) kitin protokolüne göre temizlendi ve Nanodrop ND-1000 spektrofotometre ile konsantrasyonları belirlendi.

MtDNA Dizi Analizi için ileri ve geri primerler (protRNA, 12srRNA-2) ile DTCS GenomeLabTM Quick Start kit (Beckman Coulter, USA) protokolüne uygun olarak diziler çoğaltıldı. Sonrasında örnekler dNTP ve primer kalıntılarını uzaklaştırmak için etanolla çöktürülerek 25 µl SLS'de (Sample Loading Solution) ile sulandırıldı. Beckman Coulter CEQ-8000 Genetik Analizör (USA) sistemine yüklendi ve LRF-b 25 sn enjeksiyon protokolü ile kapiller elektroforez işlemi uygulandı.

#### Genetik Çeşitlilik, Popülasyon Geçmişi ve Filogenetik Analizler

Yerli sığır ırklarına ait mtDNA GenBANK'tan alınan referans diziler ile birlikte, BioEdit v.7.1.3.0. (Hall, 2001) Clustal W Multiple Alignment seçeneği ile hizalandı ve 621 baz çift (bç)'lik diziler FASTA formatında kaydedildi (GenBANK Erişim Numaraları: L27712-13, 16-19, 24-27, 30-31, 34-35; L27714-15, 20-23, 28-29, 32-33, 36-37; U51806, 15,36; AF034439, 46; AF016060-80; DQ124403; AY521119, Loftus ve ark., 1994; Bradley ve ark., 1996; Mannen ve ark., 1998; Cymbron ve ark., 1999; Kim ve ark., 2003; Mirol ve ark., 2003; Mannen ve ark., 2004; Miretti ve ark., 2004; Lai ve ark 2006; Beja-Pereira, 2006; Kantanen ve ark., 2009). Nükleotid ( $\pi$ ) ve haplotip çeşitliliği (H) ile nükleotid yer değiştirme oranlarının tespit edilmesi amacıyla, DnaSP v5 programı (Librado ve Rozas, 2009) kullanıldı. Popülasyonlar arasındaki genetik mesafe Nei'nin Standart Genetik Mesafe hesaplaması ve Wright'ın  $F_{ST}$  istatistiğine ( $F_{ST}$ ) göre değerlendirildi (Nei ve Kumar, 2009; Excoffier ve Lischer, 2010; Tamura ve ark., 2007). Elde edilen ırklar arası uzaklık verilerine göre popülasyonların genetik uzaklık ağaçları Phylip v3.6 programında (Felsenstein, 2005) Neighbor yazılımı altında TreeView (Page, 2002) programı ile açılarak oluşturuldu ve haplotiplerin dünyadaki diğer sığır ırklarındaki hangi haplogruplara dâhil olduğunun belirlenebilmesi amacıyla T (*Bos taurus*) ve I (*Bos indicus*) haplogruplarına ait referans diziler kullanıldı (Loftus ve ark., 1994; Bradley ve ark., 1996; Mannen ve ark., 1998; Cymbron ve ark., 1999; Kim ve ark., 2003; Mirol ve ark., 2003; Mannen ve ark.,

2004; Miretti ve ark., 2004; Lai ve ark 2006; Beja-Pereira, 2006; Kantanen ve ark., 2009).

Uyumsuzluk dağılım analizinin tespit edilmesi amacıyla DnaSP v5 programı (Librado ve Rozas, 2009) kullanıldı ve elde edilen raggedness istatistik değeri ve ikili grup farklılıkları ortalamaları açısından karşılaştırıldı. Nötral teorinin test edilmesi için DnaSP v5 programı (Librado ve Rozas, 2009) kullanıldı. Moleküler varyans analizi (AMOVA) Arlequin v3.5 programı altında hesaplanarak değerlendirildi (Excoffier ve Lischer, 2010).

#### Bulgular ve Tartışma

##### Genetik Çeşitlilik

Araştırmaya konu olan yerli sığır ırkları arasında, nükleotid çeşitliliği en yüksek olan ırkın Güney Anadolu Kırmızısı (%2,55), en düşük ırkın ise Boz İrk (%1,29) olduğu belirlendi. En fazla polimorfizme sahip olan ırkın da yine Güney Anadolu Kırmızısı (polimorfik bölge sayısı=159, parsimonik bilgi verici bölge sayısı=81) olduğu görüldü. En düşük polimorfizme sahip ırkın ise Zavot (polimorfik bölge sayısı =61, parsimonik bilgi verici bölge sayısı =13) olduğu tespit edildi. Haplotip çeşitliliğinin ise en yüksek Yerli Güney Sarısı (%99,8)'nda en düşük ise Boz ırk (%98,3)'da olduğu görüldü. Araştırmada 253 haplotip belirlendi. Haplotiplerin dağılımı incelendiğinde Doğu Anadolu Kırmızısı ve Güney Anadolu Kırmızısı'nın ırklar arasında en çok ortak paylaşılan haplotipe sahip oldukları, diğer ırkların ise neredeyse eşit sayıda haplotipi ortak olarak paylaştıkları tespit edildi. Haplotiplerin 37 tanesi sadece bir bireye özgün olarak değerlendirildi.

Sığır ırklarının mtDNA dizilerine ait olan transisyonel-transversiyonel eğilim oranı olan (R) ise 58:1 olarak bulundu ve bu değer çok yüksek olarak değerlendirildi (Librado ve Rozas, 2009). mtDNA D-Loop bölgesinin protein kodlamaması ve oluşan yeni mutasyonun pozitif veya negatif seçilime uğramadan sonraki nesillere aktarılmasından dolayı R değeri daha yüksek olarak hesaplanırken genomik DNA için daha düşük (R=2:1) olarak belirlendi (Horai ve Hayasaka, 1990; Loftus ve ark., 1994; Bradley ve ark., 1996; Troy ve ark., 2001; Miretti ve ark., 2004). Bireylere ait tek baz düzeyindeki mutasyonlar incelendiğinde, 159 polimorfizm ve parsimonik bilgi verici bölgelerde ise 81 farklılıkla GAK ırkının en fazla polimorfizme sahip ırk olduğu belirlenmiştir. Buna karşılık parsimonik bilgi verici bölge sayısı (13) ve polimorfik bölge sayısı (61) en düşük olan ırkın ise Zavot olduğu görüldü. Sunulan çalışmada, Zavot'un daha az sayıda polimorfizm göstermesinin nedeninin, örneklem sayısının düşük olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

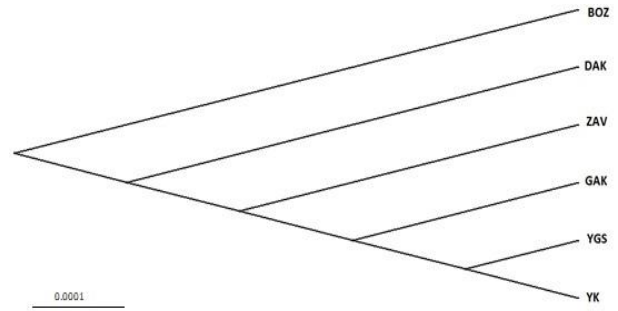
Bir bölgede çok uzun zamandır yaşayan popülasyonlarda, nükleotid ve haplotid çeşitliliğinin yüksek olması o popülasyonun evcilleştirme bölgesinde ya da evcilleştirme bölgelerine çok yakın olarak yetiştirildiği anlamına gelmektedir. Başka bir deyişle genetik havuzdan uzaklaştırılan popülasyonlar sadece sınırlı sayıda genotip taşıyabildiğinden, evcilleştirme bölgesinden uzaklaştıkça genetik çeşitliliğin azalması beklenmektedir (Troy ve ark., 2001; Bruford ve ark., 2003; Bruford ve Townsend, 2004; Götherström ve ark., 2005; Caramelli, 2006). Bu araştırmada elde edilen

genetik çeşitliliğin çok yüksek olarak belirlenmesi, yapılan birçok çalışma ile uyumlu olarak değerlendirildi (Loftus ve ark., 1994; Bradley ve Loftus, 1998; Mannen ve ark., 1998; Loftus ve ark., 1999; MacHugh ve Bradley, 2001; Troy ve ark., 2001; Mirol ve ark., 2003; Baig ve ark., 2005). Yapılan bazı araştırmalarda (Loftus ve ark., 1994, Mannen ve ark., 1998), haplotip sayısının bizim sonuçlarımıza göre daha düşük olmasını ise örnek sayılarının yetersizliğine ve örneklenen ırkların evcilleştirme merkezine olan uzaklığına bağlamak mümkündür. MtDNA ile ilgili yapılan araştırmaların çoğunda referans olarak kullanılan Troy ve ark. (2001)'nin çalışmaları, bu araştırmadaki sonuçları destekler nitelikte sonuçlar sunmaktadır. Özellikle Anadolu ve Yakın Doğu'daki (Bereketli hilal ve çevresi) yerli sığır ırklarının genetik çeşitliliğini çok yüksek olarak değerlendirildiği çalışmada Avrupa yerli sığır ırklarının Anadolu ve Yakın Doğu kökenli oldukları belirtmektedir. Bu araştırma orijinal bir merkezden gelen genetik lokusların daha fazla atasal varyansa ulaşması ve daha fazla polimorfik bölge sayısı ile daha yüksek haplotip ve nükleotid çeşitliliğine sahip olması gerektiğini, nitekim Orta Doğu ve Anadolu orjinli ırkların, incelenen diğer ırklar içerisinde en yüksek genetik çeşitliliğe sahip ırklar oldukları bildirilmektedir.

### Filogenetik İlişki

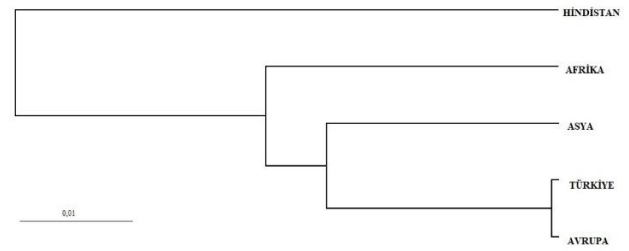
Anadolu yerli sığır ırklarına ait olan diziler ile referans dizilerin, MEGA 7 programı ile genetik mesafeleri belirlendi (Kumar ve ark., 2016). Bu amaçla Nei'nin genetik mesafe ölçümü yöntemi ile ırklar arası genetik mesafe aralıkları tespit edildi. Nei'nin genetik mesafe değerleri kullanılarak çizilen filogenetik cladogram ağacı Şekil 1.'de görülmektedir. Yerli sığır ırkları ile diğer bazı Avrupa, Yakın Doğu, Asya ve Afrika ırklarını karşılaştırmak amacı ile bu ırklara ait mtDNA D-Loop bölgesi referans dizileri gen bankasından alınmış ve genetik uzaklık değerlerine ( $F_{ST}$ ) göre Neighbor Joining (NJ) ağacı (cladogram) çizilmiştir (Şekil 2). Çalışmada örneklenen sığır ırklarının popülasyon içi ve popülasyonlar arası filogenetik ilişkilerini gözlenmek amacıyla ise Kimura-2 parametresi ve Pairwise Deletion modeli kullanılarak MEGA 7 programı ile Neighbour Joining Ağacı (Şekil 3.) oluşturulmuştur (Kumar ve ark., 2016).

Çalışmada kullanılan sığır ırklarının popülasyon bazında, genetik olarak birbirlerine uzaklık ve yakınlıklarını tespit edebilmek için çizilen Nei'nin  $D_{XY}$  genetik mesafe ağacı ile ırkların  $F_{ST}$  uzaklıklarına göre çizilen NJ ağacı karşılaştırıldığında, birbirine genetik olarak en yakın iki ırkın Yerli Kara ve Yerli Güney Sarısı olduğu görülürken, bu gruba sırasıyla Güney Anadolu Kırmızısı, Zavot ve Doğu Anadolu Kırmızısı popülasyonları ilişkilendirilmiştir. Boz Irk popülasyonunun ise diğer ırklardan uzak olarak yer aldığı tespit edilmiştir. Boz Irk popülasyonunun STR analizlerinde (Özkan, 2005; Özşensoy, 2011) de diğer ırklardan ayrı olarak dallandığı belirlenmiştir. Bu sonuçlar Boz Irk'ın, Balkanlar'da bulunan diğer step ırkları ile olan benzerlikleri ve Anadolu'ya sonradan getirildiği fikrini desteklemektedir. Verilere göre Boz Irk, tüm diğer yerli sığır ırklarından uzakta bulunurken, en yakın genetik mesafenin Yerli Kara ve Yerli Güney Sarısı ırkları arasında olduğu dikkat çekmektedir.



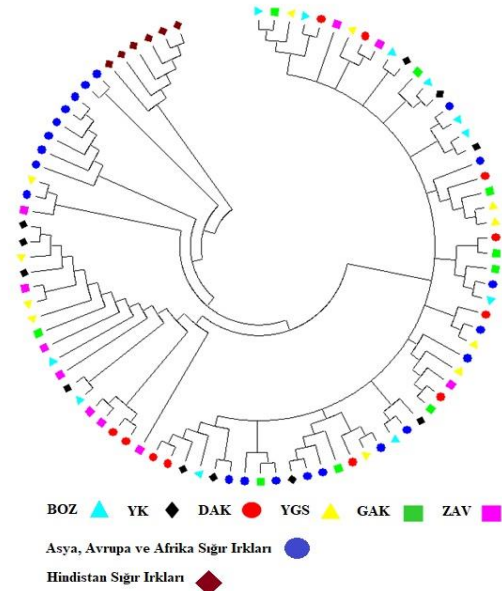
Şekil 1. Nei'nin  $D_{XY}$  uzaklığına göre çizilen cladogram ağacı (Phylip: Felsenstein, 2005; Treeview: Page, 2002)

Figure 1. Cladogram tree drawn according to the  $D_{XY}$  distance of Nei (Phylip: Felsenstein, 2005; Treeview: Page, 2002)



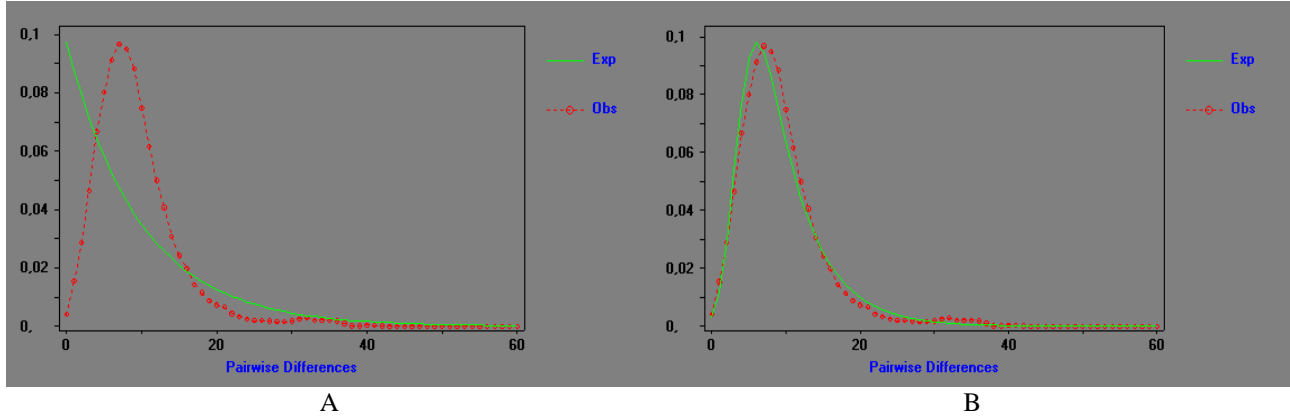
Şekil 2. Türkiye yerli sığır ırkları ve bazı Asya, Avrupa ve Afrika ırklarına ait  $F_{ST}$  uzaklıklarının göre çizilen Neighbor Joining ağacı (phylogram) (Phylip: Felsenstein, 2005).

Figure 2. Neighbor Joining tree (phylogram) drawn according to  $F_{ST}$  distances of Anatolian native cattle breeds and some Asian, European and African breeds (Phylip Phylip: Felsenstein, 2005).



Şekil 3. Bazı Avrupa, Asya, Afrika ve Anadolu yerli sığır ırkları ile oluşturulan dairesel Neighbour Joining Ağacı (MEGA 7, Kumar ve ark., 2016).

Figure 3. Circular Neighbor Joining Tree created with some European, Asian, African and Anatolian native cattle breeds (MEGA 7, Kumar et al., 2016).



Şekil 4. Türkiye yerli sığır ırklarına ait uyumsuzluk dağılım analizleri; (A) Sabit popülasyon ve (B) Artan-Azalan popülasyon.

Figure 4. mismatch distribution analyzes of Türkiye's native cattle breeds; (A) Fixed population and (B) Increasing-Declining population.

Çizelge 1. mtDNA D-Loop Bölgesini çoğaltmak için kullanılan primerler (erişim\*: [www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast))  
Table 1. The primers used to amplify the mtDNA D-Loop Region (access\*: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast>)

Kullanılan Primerler	Primer Dizisi; 5' 3'
İleri primer: protRNA (Loftus ve ark., 1994)	CTGCAGTCTCACCATCAACC
Geri Primer: 12srRNA-2*	AGGATATAAAGCACCGCCAAG

Çizelge 2. Nötralite testi sonuçları.

Table 2. Neutrality test results.

İrk Adı	Fu ve Li'nin F testi	Fu ve Li'nin D testi	Fu'nun Fs testi	Tajima'nın D testi
BOZ	-4,55079**	-4,63440**	-36,702	-2,44867**
DAK	-4,59501**	-4,67679**	-45,566	-2,49489**
GAK	-3,00667*	-2,75262*	-33,427	-2,11975*
YGS	-4,37201**	-4,35959**	-51,578	-2,48566**
YK	-4,28591**	-4,27713**	-34,337	-2,43821**
ZAV	-3,03420**	-2,79860*	-9,711	-2,15258**

\* P<0,10, \*\*, P<0,05

Çizelge 3. AMOVA analizi sonuçları.

Table 3. AMOVA analysis results.

Test Edilen Durum	Varyasyon Yüzdesi	Toplam Varyasyona Katkısı	AMOVA Fiksasyon indeksi, (F <sub>ST</sub> )
Gruplar Arası	1,87	0,07275	0,00638***
Grup İçi	98,13	2,92257	

(P<0,001)\*\*\*

Coğrafi açıdan ırkların dağılımı göz önüne alındığında, Yerli Kara popülasyonunun Anadolu'da azımsanmayacak derecede fazla olduğu ve geniş bir alana yayıldığı bilinmektedir. Bunun dışında Boz ırk Türkiye'nin en batısında bulunurken, Zavot ve Doğu Anadolu Kırmızısı en doğusunda bulunan ırklardır. Bu doğrultuda Türkiye'nin en doğusunda bulunan ırklar ile en batısında bulunan ırk arasındaki genetik mesafesinin uzak olması ve birbirlerinden tamamen ayrılmaları, Anadolu'nun evcilleştirmenin ilk olarak yapıldığı bölgelerden biri olduğunu doğrulayan kanıtlardan biri olabilir (Loftus ve ark., 1994; Mannen ve ark. 1998; Loftus ve ark., 1999; Troy ve ark., 2001; Mirol ve ark., 2003; Bağ ve ark., 2005). Sunulan çalışmada, Güney Anadolu Kırmızısı, Yerli Güney Sarısı ve Yerli Kara arasındaki genetik mesafelerin birbirine daha yakın olduğu görülmektedir. Bu durum, ırkların yetiştiriciliğinin yapıldığı bölgelerin birbirine yakın olmasından kaynaklanıyor olduğu sonucunu ortaya koymaktadır.

*Bos taurus* ve *Bos indicus*'un iki büyük evcil sığır hattını oluşturduğu, *Bos indicus*'un *Bos taurus*'tan çok sonra ve bu hattan bağımsız bir evcilleştirmeye uğradığı düşünülmektedir (Loftus ve ark., 1994; Loftus ve ark., 1999). Asya, Avrupa ve Afrika sığır ırklarının birbiriyle olan ilişkilerin, coğrafik ve tarihsel gelişimleri ile uyumlu olduğunu vurgulayan bazı araştırmalarda (Loftus ve ark., 1994; Bradley ve ark., 1996; Troy ve ark., 2001) elde edilen sonuçlara göre, Yakın Doğu sığır ırklarının (özellikle Hindistan'da yetiştirilen ırklar) diğer sığır ırklarından tamamen ayrıldığı ve hörgüce sahip olan Afrika ile Avrupa sığır ırklarının filogenetik olarak birlikte ilişkilendirildiği belirlendi. Yapılan incelemelerde binlerce yıl önce, Afrika bölgesine göç eden *Bos indicus* erkek bireylerin bu bölgedeki *Bos taurus* ana hatlarıyla birleştirildiği sonucuna ulaşıldı. Bu çalışmada da Anadolu yerli sığır ırklarının Avrupa ırkları ile yakın genetik ilişki içerisinde olduğu ve Hindistan ırklarından tamamen ayrıldığı tespit edildi (Şekil 2. ve Şekil 3.).

### Popülasyon Geçmişi

Araştırmada kullanılan popülasyonların geçmişini gözlemlemek amacıyla ırk içinde nötralite testleri (Çizelge 2), ırklar arasında ise uyumsuzluk dağılımı (mismatch) analizleri (Şekil 4) yapıldı (DnaSP v5). Uyumsuzluk dağılımı analizleri sonrası oluşturulan soldaki eğriler “artan-azalan popülasyon”, sağdaki eğriler ise “sabit popülasyon” verilerini göstermektedir.

Yeşil eğriler beklenen, kırmızı eğriler gözlenen uyumsuzluğu belirtmektedir (Librado ve Rozas, 2009). Tüm ırkların tek grup halinde olduğu uyumsuzluk dağılımı analizinde hem sabit hem de artan azalan varsayımları ile yapılan analizlerde unimodal (tek tepeli) çan eğrisi olduğu görüldü.

İrklara ait unimodal çan eğrileri şeklinde uyumsuzluk dağılımları gözlenmiş olup, bu durum popülasyonun geçmişte hızlı bir büyüme geçirdiğini göstermektedir. Uyumsuzluk dağılımı analizlerinin yapılan nötralite testleri ile de uyumlu olduğu görülmektedir (Librado ve Rozas, 2009; Depaulis ve ark., 2003). Nötralite testleri incelendiğinde, Fu ve Li'nin  $D^*$ , Fu ve Li'nin  $F^*$  negatif (-) değerler aldığı, bu durumun yerli sığır ırklarına ait yüksek miktarda ender haplotipi ifade ettiği ve ırkların geçmişte bir popülasyon genişlemesi gösterdiği şeklinde değerlendirildi (Depaulis ve ark., 2003). Ayrıca negatif (-) değerler alan Fu'nun  $F_s$  değeri yüksek miktarda yeni ortaya çıkan haplotiplerin varlığını, popülasyon genişlemesi ya da genetik süpürmeyi işaret etmektedir (Depaulis ve ark., 2003; Rogers ve Harpending, 1992). Benzer sonuçlar yapılan bazı çalışmalarda (Mannen ve ark., 2004; Baig ve ark., 2005) da görülmektedir. Bu veriler, kullanılan sığır ırklarının geçmişte oluşan yeni mutasyonlar sonrası popülasyon genişlemesi geçirmiş, çok sayıda ve ender haplotipe sahip ırklar olduğunu göstermektedir (Depaulis ve ark., 2003).

İrk içi ve ırklar arasında varyasyonu belirlenmek ve evrimsel köken hakkında bilgi öngörebilmek adına moleküler varyans analizi (AMOVA)  $F_{ST}$  değerleri 1000 permütasyon uygulanarak hesaplandı (Çizelge 3.)  $F_{ST}$  değerleri yüksek ve istatistiksel olarak önemli olarak değerlendirildi (Excoffier ve ark., 1992). Sığır ırklarının genetik yapısı üzerinde yapılan birçok çalışmada (Luikart ve ark 2001; Mateus ve ark 2004; Wiener ve ark 2004; Li ve ark 2007), ırk içi genetik varyasyonun %80-95 arasında olduğu görüldü. Keçilerde yapılan bazı çalışmalarda (Luikart ve ark., 2001, Çınar, 2010) da ırk içi genetik farklılıkların yüksek derecede olduğu belirlendi (Excoffier ve ark., 1992).

Anadolu yerli sığır ırklarına ait anasal kalıtımın moleküler ve filogenetik olarak değerlendirildiğinde, yerli sığır ırklarının genetik çeşitliliğin ve moleküler varyansın çok yüksek olduğu, Asya ve Avrupa ırkları arasında ilişkilendirildiği ve yapılan birçok moleküler veriyle uyumlu olduğu görülmektedir (Excoffier ve ark., 1992; Loftus ve ark., 1994; Bradley ve ark., 1994; MacHugh, 1996; Loftus ve ark., 1999; Edwards ve ark., 2000; Troy ve ark., 2001; Bruford ve ark., 2003; Mannen ve ark., 2004; Götherström ve ark., 2005; Kantanen ve ark., 2009). Çalışmada, ırk içi varyasyonun ırklar arası varyasyondan çok yüksek bulunmasının, Anadolu yerli sığır ırklarının mtDNA çeşitliliklerini koruduğunu ve Anadolu'nun bir evcilleştirme merkezi olduğunu, ilk evcilleştirilen atasal varyantlara coğrafik yakınlığı dolayısıyla tarihsel gelişimi ile uyumlu sonuçlar elde edildiğini destekleyen verilere sunulduğu düşünülmektedir.

### Sonuç

Sığırların genomik DNA ve mtDNA tabanlı genetik varyasyon araştırmalarına ilişkin ilk çalışmalar 1990'larda ortaya çıkmaya başladı (Loftus ve ark., 1994; Bradley ve ark., 1994; MacHugh, 1996; Loftus ve ark., 1999; Edwards ve ark., 2000; Luikart ve ark., 2001; Troy ve ark., 2001; Bruford ve ark., 2003; Mannen ve ark., 2004; Mateus ve ark., 2004; Wiener ve ark 2004; Götherström ve ark., 2005; Özkan, 2005; Kantanen ve ark., 2009; Özsensoy, 2011). Bu araştırmalarda Taurin hattına dahil olan sığırların evcilleştirildiği yer olarak, Orta ve Doğu Anadolu bölgesi ile Bereketli Hilal bölgelerini işaret etmektedir. Evcilleştirme tarihi açısından önemli bilgi ve verilere ev sahipliği yapan Anadolu'da yetiştirilen yerli sığır ırklarına ait mitokondrial DNA çeşitliliği ve maternal geçmişlerinin belirlendiği bu araştırma, sahip olduğu genetik çeşitlilik ve önemli özellikleri dolayısıyla geleceğin sigortası durumunda olan ırklarımızın korunması ve sürdürülmesi için önemli olduğunu düşündüğümüz verileri sunmaktadır. Yerli sığır ırklarımızın koruma stratejilerine katkı sunmak adına, belirlenen bu sonuçların alternatif moleküler belirteçler ve karşılaştırmalar kullanılarak analiz edilmesi varsayımların kuvvetini artırabilir. Ayrıca evcilleştirme tarihini destekleyen bilgilerin ortaya çıkartılabilmesi için arkeoloji biliminin destekleri ile multidisipliner bir bakış açısı sağlanarak araştırmalar sürdürülmelidir.

### Teşekkürler

Bu araştırma, Türkhyaygen I Projesi (TÜBİTAK-KAMAG 106G005) kapsamında yürütüldü. Ayrıca Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından desteklendi (Doktora Tezi Proje Numarası: BAP 09202015).

### Kaynaklar

- Allendorf FW, Luikart G. 2007. Conservation and The Genetics of Populations. Wiley-Blackwell Publishing, US.
- Anderson S, Bruijn MHL, Coulson AR, Eperon IC, Sanger F, Young IG. 1982. Complete Sequence of Bovine Mitochondrial DNA. Journal of Molecular Biology, doi: [https://doi.org/10.1016/0022-2836\(82\)90137-1](https://doi.org/10.1016/0022-2836(82)90137-1)
- Avise JC, Arnold J, Ball RM, Bermingham E, Lamb T, Neigel J, Reeb C, Saunders N. 1987. Intraspecific Phylogeography: The Mitochondrial DNA Bridge Between Population-Genetics and Systematics. Annual Reviews of Ecology and Systematics, doi: <https://doi.org/10.1146/annurev.es.18.1101.87.002421>
- Baig M, Beja-Pereira A, Mohammad R, Kulkarni K, Farah S, Luikart G. 2005. Phylogeography and Origin of Indian Domestic Cattle. Current Science, 89: 38–40.
- Beja-Pereira A. 2006. The Origin of European Cattle: Evidence from Modern and Ancient DNA. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, doi: <https://doi.org/10.1073/pnas.0509210103>
- Bradley DG, MacHugh DE, Cunningham P, Loftus RT. 1996. Mitochondrial Diversity and the Origins of African and European Cattle. Anthropology, 93: 5131-5135. doi: [10.1073/pnas.93.10.5131](https://doi.org/10.1073/pnas.93.10.5131)
- Bradley DG, Loftus RT, Cunningham P, MacHugh DE. 1998. Genetics and Domestic Cattle Origins. Evolutionary Anthropology, doi: [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1520-6505\(1998\)6:3](https://doi.org/10.1002/(SICI)1520-6505(1998)6:3)
- Bruford MW, Bradley DG, Luikart G. 2003. DNA Markers Reveal the Complexity of Livestock Domestication. Nature Reviews. Genetics, 4: 900–910. doi: [10.1038/nrg1203](https://doi.org/10.1038/nrg1203)



- Bruford MW, Townsend SJ. 2004. Case Studies in the Genetics of Animal Domestication: Sheep. Documenting Domestication: New Genetic and Archaeological Paradigms. California University Press, USA. ISBN: 9780520246386.
- Caramelli D. 2006. The Origins of Domesticated Cattle. *Human Evolution*, 21: 107-122. doi: <https://doi.org/10.1007/s11598-006-9013-x>
- Clutton-Brock J. 1999. *Cattle, A Natural History of Domesticated Mammals*. Cambridge University Press, UK. ISBN: 0521632471.
- Cubic-Curik V, Novosel D, Brajkovic V, Rota Stabelli O, Krebs S, Sölkner J, Medugorac I. 2022. Large-scale mitogenome sequencing reveals consecutive expansions of domestic taurine cattle and supports sporadic aurochs introgression. *Evolutionary Applications*, 15(4): 663-678, doi: <https://doi.org/10.1111/eva.13315>
- Cymbron T, Loftus RT, Malheiro MI, Bradley DG. 1999. Mitochondrial Sequence Variation Suggests an African Influence in Portuguese Cattle. *Proceedings. Biological Sciences*, doi: <https://doi.org/10.1098/rspb.1999.0678>
- Çanta F, Oğuz İ. 2004. Çiftlik Hayvanı Genetik Kaynaklarının Korunması ve Kullanımı için Yapılan Küresel Çabalar. *Hayvansal Üretim Dergisi*, 45(1): 1-6.
- Çınar Kul B. 2010. Türkiye Yerli Keçi Irklarının Mitokondrial DNA Çeşitliliği ve Filocoğrafyası. Doktora tez çalışması. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara Üniversitesi, Ankara, Türkiye.
- Daly KG, Mattiangeli V, Hare AJ, Davoudi H, Fathi H, Doost SB, Amiri S, Khazaeli R, Decruyenaere D, Nokandeh J, Richter T, Darabi H, Mortensen P, Pantos A, Yeomans L, Bangsgaard P, Mashkour M, Zeder MA, Bradley DG. 2021. Herded and hunted goat genomes from the dawn of domestication in the Zagros Mountains. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 118(25): e2100901118 doi: <https://doi.org/10.1073/pnas.2100901118>
- Depaulis F, Mousset S, Veuille M. 2003. Power of Neutrality Tests to Detect Bottlenecks and hitchhiking. *Journal of Molecular Evolution*, 57: 190-200. doi:10.1007/s00239-003-0027-y
- Don RH, Cox PT, Wainwright BJ, Baker K, Mattick JS. 1991. 'Touchdown' PCR to Circumvent Spurious Priming During Gene Amplification. *Nucleic Acids Research*, 19(14): 4008. doi:10.1093/nar/19.14.4008.
- Edwards CJ, Gaillard C, Bradley DG, Machugh DE. 2000. Y-specific Microsatellite Polymorphism in a Range of Bovid Species. *Animal Genetics*, doi: 10.1046/j.1365-2052.2000.00602.x
- Ertuğrul M, Akman N, Dellal G, Goncagül T. 2000. Hayvan Gen Kaynaklarının Korunması ve Türkiye hayvan Gen Kaynakları. Türkiye Ziraat Mühendisliği V. Teknik Kongresi, Ankara, Türkiye, 17-21 Ocak 2000, s. 285-300,
- Ertuğrul M, Dellal G, Soysal İ, Elmacı C, Akın O, Arat S, Barıtcı İ, Pehlivan E, Yılmaz O. 2008. Türkiye Yerli Koyun Irklarının Korunması. U.Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi, 23(2): 97-119.
- Ertugrul M, Dellal G, Elmacı C, Akın AO, Pehlivan E, Soysal M, Arat S. 2010. Çiftlik Hayvanları Genetik Kaynaklarının Korunması ve Sürdürülebilir Kullanımı. Türkiye Ziraat Mühendisliği VII. Teknik Kongresi, Ankara, Türkiye, 11-15 Ocak 2010, S. 179-198.
- Excoffier L, Smouse PE, Quattro JM. 1992. Analysis of Molecular Variance Inferred from Metric Distances Among DNA Haplotypes: Application to Human Mitochondrial DNA Restriction Data. *Genetics*. 131(2): 479-491. doi:10.1093/genetics/131.2.479
- Excoffier L, Lischer HEL. 2010. Arlequin v3.5: A New Series of Programs to Perform Population Genetics Analyses Under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*, doi: <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2010.02847.x>
- Felsenstein J. 2005. PHYLIP (Phylogeny Inference Package) Version 3.6. Department of Genome Sciences, University of Washington Seattle. Erişim: <http://evolution.genetics.washington.edu/phylip.html> [Erişim Tarihi: 07.10.2022]
- Frantz LAF, Bradley DG, Larson G. 2020. Animal Domestication in The Era of Ancient Genomics. *Nature Reviews Genetics*, 21: 449-460, doi: <https://doi.org/10.1038/s41576-020-0225-0>
- Ginja C, Wright E. 2022. *Cattle and People: Interdisciplinary Approaches to an Ancient Relationship (Vol. 4)*. ISD LLC. Columbus, USA.
- Götherström A, Anderung C, Hellborg L, Relburg R, Smith C, Bradley DG, Ellegren H. 2005. Cattle Domestication in the Near East was Followed by Hybridization with Aurochs Bulls in Europe. *Proceedings. Biological Sciences*, doi: <https://doi.org/10.1098/rspb.2005.3243>
- Hall T. 2001. BioEdit version 5.0.6 North Carolina State University, USA.
- Horai S, Hayasaka, K. 1990. Intraspecific Nucleotide Sequence Differences in The Major Noncoding Region of Human Mitochondrial DNA. *American Journal of Human Genetics*, 46(4): 828-842.
- Kantanen J, Edwards CJ, Bradley DG, Viinalass H, Thessler S, Ivanova Z, Kiselyova T, C' inkulov M, Popov R, Stojanovic S, Ammosov I, Vilkki J. 2009. Maternal and Paternal Genealogy of Eurasian Taurine Cattle (*Bos taurus*). *Heredity*, doi: <https://doi.org/10.1038/hdy.2009.68>
- Kim K, Lee JH, Lee SS, Yang YH. 2003. Phylogenetic relationships of Northeast Asian cattle to other cattle populations determined using Mitochondrial DNA D-Loop sequence polymorphism. *Biochemical Genetics*, doi: <https://doi.org/10.1023/a:1022021900205>
- Kumar S, Stecher G, Tamura K. 2016. MEGA 7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets. *Molecular Biology and Evolution*, 33(7): 1870-1874. doi: 10.1093/molbev/msw054 86.
- Lai SJ, Liu PY, Liu XY, Li WX, Yao GY. 2006. Genetic Diversity and Origin of Chinese Cattle Revealed by MtDNA D-Loop Sequence Variation. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 38: 146-154. doi: 10.1016/j.ympev.2006.06.013.
- Li MH, Zerabruk M, Vangen O, Olsaker I, Kantanen J. 2007. Reduced Genetic Structure of North Ethiopian Cattle Revealed by Y-Chromosome Analysis. *Heredity*, 98(4): 214-221. doi:10.1038/sj.hdy.6800931
- Librado P, Rozas J. 2009. DnaSP v5: A Software for Comprehensive Analysis of DNA Polymorphism Data. *Bioinformatics*, doi: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp187>.
- Loftus RT, Machugh DE, Bradley DG, Sharp PM, Cunningham P. 1994. Evidence for Two Independent Domestications of Cattle. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, doi: <https://doi.org/10.1073/pnas.91.7.275>
- Loftus RT, Ertugrul O, Harba AH, El-Barody MA, Machugh DE, Park SD, Bradley DG. 1999. A Microsatellite Survey of Cattle from a Centre of Origin: The Near East. *Molecular Ecology*, doi: <https://doi.org/10.1046/j.1365-294x.1999.00805.x>
- Luikart GL, Grelly L, Excoffier JD, Vigne J, Bouvet P. 2001. Multiple Maternal Origins and Weak Phylogeographic Structure in Domestic Goats. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, doi: <https://doi.org/10.1073/pnas.091591198>
- Mannen H, Tsuji S, Loftus RT, Bradley DG. Mitochondrial DNA Variation and Evolution of Japanese Black Cattle. *Genetics*, doi: <https://doi.org/10.1073/pnas.091591198>
- MacHugh DE. 1996. *Molecular Biogeography and Genetic Structure of Domesticated Cattle*. (PhD thesis) Trinity College, Dublin, Ireland.
- Mannen H, Tsuji S, Loftus RT, Bradley DG. 1998. Mitochondrial DNA Variation and Evolution of Japanese Black Cattle. *Genetics*, doi: <https://doi.org/10.1073/pnas.091591198>
- Mannen H, Kohno M, Nagata Y, Tsuji S, Bradley DG, Yeo JS, Nyamsamba D, Zagdsuren Y, Yokohama M, Nomura K, Amanof T. 2004. Independent Mitochondrial Origin and Historical Genetic Differentiation in North Eastern Asian Cattle. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, doi: <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2004.01.010>

- Mateus JC, Penedo MCT, Alves VC, Ramos M, Rangel-Figueiredo T. 2004. Genetic Diversity and Differentiation in Portuguese Cattle Breeds Using Microsatellites. *Animal Genetics*, doi: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2052.2004.01089.x>
- Mauki DH, Adeola AC, Ng'ang'a SI, Tijjani A, Akanbi IM, Sanke OJ, Abdussamad AM, Olaogun SC, Ibrahim J, Dawuda PM, Mangbon GF, Gwakisa PS, Yin TT, Peng MS, Zhang YP. 2021. Genetic variation of Nigerian cattle inferred from maternal and paternal genetic markers. *PeerJ*, 9, e10607. doi: <https://doi.org/10.7717/peerj.10607>
- Miretti MM, Dunner S, Naves M, Contel EP, Ferro JA. 2004. Predominant African-derived mtDNA in Caribbean and Brazilian Creole Cattle is also Found in Spanish Cattle (*Bos taurus*). *The Journal of Heredity*, doi: <https://doi.org/10.1093/jhered/esh070>
- Mirol PM, Giovambattista G, Liron JP, Dulout FN. 2003. African and European Mitochondrial Haplotypes in South American Creole Cattle. *Heredity*, doi: <https://doi.org/10.1038/sj.hdy.6800312>
- Nass S, Nass MM. 1963. Intramitochondrial Fibers with DNA Characteristics: Enzymatic and Other Hydrolytic Treatments. *Journal of Cell Biology*, 19(3):613-29. doi: [10.1083/jcb.19.3.613](https://doi.org/10.1083/jcb.19.3.613).
- NCBI, 2022. The National Center for Biotechnology Information, Primer-Blast. Erişim: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast>, [Erişim Tarihi: 07.08.2022]
- Nei M, Kumar, S. 2009. *Molecular Evolution and Phylogenetics*. New York. Oxford University Press. 2009.
- Nyamushamba GB, Mapiye C, Tada O, Halimani TE, Muchenje V. 2017. Conservation of indigenous cattle genetic resources in Southern Africa's smallholder areas: turning threats into opportunities- A review. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 30(5): 603–621, doi: <https://doi.org/10.5713/ajas.16.0024>
- Özkan E. 2005. Türkiye'de Yetiştirilen Yerli ve Kültür Sığır Irklarının Genetik Yapılarının Mikrosatellitler ile İncelenmesi. Doktora tez çalışması, Fen Bilimleri Enstitüsü, Trakya Üniversitesi, Tekirdağ, Türkiye.
- Özşensoy Y. 2011. Türkiyede Bulunan Bazı Yerli Sığır Irklarının Genetik Karakterizasyonun Mikrosatellitlerle İncelenmesi. Doktora tez çalışması, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Selçuk Üniversitesi, Konya, Türkiye.
- Page RDM. 2002. Visualizing Phylogenetic Trees Using TreeView. *Current Protocols in Bioinformatics*. John Wiley and Sons Press, US. <https://doi.org/10.1002/0471250953.bi0602s01>
- Pramod RK, Velayutham D, Zachariah A, Santhosh S, Iype S, Dhinoth Kumar B, Gupta R, Thomas G. 2018. The complete mitochondrial genome of Indian cattle (*Bos indicus*). *Mitochondrial DNA. Part B, Resources*, 3(1): 207–208, doi: <https://doi.org/10.1080/23802359.2018.1437836>
- Rogers AR, Harpending H. 1992. Population Growth Makes Waves in the Distribution of Pairwise Genetic Differences. *Molecular Biology and Evolution*, doi: <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a040727>
- Sambrook, J, Fritsch EF, Maniatis T. 1989. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, US.
- Soysal Mİ, Elmacı C, Dođru Ü. 2010. Organik Hayvansal Üretim ve Yerel Evcil Çiftlik Hayvan Irklarımızın Sürdürülebilir Korunma Sürecinde Coğrafi İşaretleme Kavramı. Türkiye I. Organik Hayvancılık Kongresi, Gümüşhane, Türkiye. 16. 1-4 Temmuz 2010, s. 16.
- Tamura K, Dudley J, Nei M, Kumar S. 2007. Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) Software Version 4.0. *Journal of Molecular Biology and Evolution*, 24(8): 1596–1599. doi: [10.1093/molbev/msm092](https://doi.org/10.1093/molbev/msm092).
- Troy CS, MacHugh DE, Balley JF, Magee, DA, Loftus TR, Cunningham P, Chamberlain AT, Sykes BC, Bradley DG. 2001. Genetic Evidence for Near-Eastern Origins of European Cattle. *Nature*, doi: <https://doi.org/10.1038/35074088>
- Ward JA, McHugo GP, Dover MJ, Hall TJ, Ng'ang'a SI, Sonstegard TS, Bradley DG, Frantz L, Salter-Townshend M, MacHugh DE. 2022. Genome-Wide Local Ancestry and Evidence for Mitonuclear Coadaptation in African Hybrid Cattle Populations. *iScience*, 25(7): 104672, doi: <https://doi.org/10.1016/j.isci.2022.104672>
- Watson JD. 2004. *Molecular Biology of the Gene*. CSHL Press, USA.
- Wiener P, Burton D, William JL. 2004. Breed Relationships and Definition in British Cattle: A Genetic Analysis. *Heredity*, doi: <https://doi.org/10.1038/sj.hdy.6800566>
- Xia X, Huang G, Wang Z, Sun J, Wu Z, Chen N, Lei C, Hanif Q. 2019. Mitogenome Diversity and Maternal Origins of Guangxi Cattle Breeds. *Animals*, MDPI, 10(1): 19, doi: <https://doi.org/10.3390/ani10010019>
- Zeder MA, Smith B, Emswiler E, Bradley DG. 2006. Documenting Domestication: New Genetic and Archaeological Paradigms. University of California Press, USA.
- Zeder MA. 2008. Domestication and Early Agriculture in The Mediterranean Basin: Origins, Diffusion, and Impact. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. doi: <https://doi.org/10.1073/pnas.0801317105>
- Zeder M. 2017. Out of the Fertile Crescent: The Dispersal of Domestic Livestock Through Europe and Africa. In N. Boivin, R. Crassard, & M. Petraglia (Eds.), *Human Dispersal and Species Movement: From Prehistory to the Present* (pp. 261-303). Cambridge: Cambridge University Press, doi:10.1017/9781316686942.012