

Bıldırcınlarda akrabalığın saptanmasında rasgele çoğaltılmış polimorfik DNA parmak izi yönteminin kullanılma olanakları*

Bilal AKYÜZ¹, Güven GÜNEREN², Emine ÖZDEMİR³, Okan ERTUĞRUL², Sertaç ÖZDEMİR³

¹ Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Genetik Anabilim Dalı, Kayseri; ²Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Genetik Anabilim Dalı, Ankara; ³Ankara Nükleer Tarım ve Hayvancılık Araştırma Merkezi, Kazan, Ankara

Özet: Bu çalışmada ebeveyn ve yavru jenerasyona ait bireylerden DNA örnekleri elde edilerek, jenerasyon içi ve jenerasyonlar arası, ortak ve polimorfik DNA bantları aranmıştır. Farklı orijinlerden, elde edilen bıldırcınlar rasgele birleştirilerek temel sürü elde edilmiştir. Temel sürüden rasgele seçilen dokuz erkek, dörderli gruplara ayrılan 36 dişi ile birleştirilerek akrabalık yetiştirilmiş toplam 36 aile oluşturulmuştur. Bu 36 aileye ait bireylerden elde edilen DNA örnekleri, PCR analizi yapılarak değişik bantlar elde edilmiştir. PCR sonunda, araştırılmaya alınan bireylerde toplam 145 gen lokusu ve 556 RAPD-DNA bandı belirlenmiştir. Bireyler arasındaki genetik benzerlik 0.0069-0.2759 arasında bulunmuştur. Çalışma sonunda RAPD-PCR parmak izi yönteminin bıldırcın popülasyonu oluşturan bireyler arasındaki genetik mesafenin belirlenmesinde başarılı bir şekilde uygulanabileceği gösterilmiştir.

Anahtar kelimeler: Akrabalık, bıldırcın, PCR, RAPD

The use of randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) fingerprinting method for the determination of kinship in quails

Summary: In this study, the DNA samples from the parents and its offspring in an inbred quail flock were compared by using the randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) method. Comparison of within and between generations revealed monomorphic and polymorphic DNA bands. The quails taken from different sources constituted the base population. Nine male and 36 female (separated into 9 groups each had 4 female) quails taken randomly from this base population were mated to form 36 families. The RAPD-DNA bands were photographed to form the data set. One hundred forty-five gene loci and 556 RAPD-DNA bands were determined. The genetic similarities among individuals were found between 0.0069-0.2759. This study shows that the RAPD-PCR fingerprinting method could be used successfully to estimate genetic distances of individuals from the same population.

Key words: Kinship, PCR, quail, RAPD

Giriş

Hızla artan dünya nüfusuna paralel olarak artan hayvansal gıda gereksinimi, çiftlik hayvanlarının tür bazında çeşitliliğinin çoğaltılmasını, birkaç verim yönünden geliştirilmesini ve birim hayvan başına düşen verimin artırılmasını gerekli kılmaktadır. Verimlerin genetik olarak geliştirilmesi ise hayvan ıslahı ile sağlanabilir.

Hayvan ıslahında uygulanan yöntemlerin başında seleksiyon gelir. Seleksiyon: üstün verimlilerden üstün verimli döllerin elde edilmesi ilkesine dayanmaktadır (12). İnsanlar evciltmenin ilk gününden beri, daha kaliteli ürün veren hayvanları elde edebilmek amacıyla, seleksiyon uygulamışlardır (29).

Akrabalık yetiştirmeye dayanan seleksiyon uygulamalarının bazı olumsuzlukları vardır. Uzun zamana yayılmış olan akrabalık yetiştirmelerde, akrabalık katsayısının artmasına bağlı olarak ilk önce çeşitli verimlerde daha sonra döl verimi ve yaşama gücünde bir gerileme

görülmür. Buna, kan yakınlığı depresyonu denir. Bıldırcınlarda devamlı tam kardeş birleştirmeleri sonucunda 3. jenerasyonda üreme yeteneğinin tamamen ortadan kalktığı bildirilmiştir (24).

Düşük kalıtım dereceli, hayatın ileri dönemlerinde veya hayvanın kesiminden sonra belirlenebilen özelliklerin araştırılmasında geleneksel ıslah yöntemleri çok uzun süre almakta ve başarı oranı düşük olmaktadır (30). Akrabalık yetiştirmeye dayanan yetiştirme sistemlerinde kan yakınlığı depresyonunun önlenmesi için akrabalık düzeyinin belirlenerek, önlemlerin alınması gereklidir. Kayıtlı ve kontrollü birleştirmelerde akrabalık yetiştirme derecesinin hesaplanması mümkündür. Birleştirmeler kontrollü yapılmadığı takdirde moleküler teknikler kullanılarak akrabalıklar belirlenebilir (8,25).

Moleküler biyolojideki hızlı gelişmeler sonucu ortaya çıkarılan yeni teknikler hayvan ıslahında daha hızlı, daha güvenilir ve daha az maliyetle hedeflenen verim düzeyine ulaşmaya yardımcı olabilecektir (7,21,27).

* Bu araştırma ARFO 97-10-00-01 no'lu proje ile Ankara Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir.

RAPD (randomly amplified polymorphic DNA) çeşitli hayvan ve bitki türleriyle ilgili genetik çalışmalarda başarıyla uygulanabilmektedir (3,5,9,15,17). RAPD'nin ebeveyn analizlerinde güvenilir bir yöntem olduğu, çeşitli organizmalarla yapılan çalışmalar sonucunda ortaya konmuştur. Bazı araştırmacılar RAPD'nin organizmalar üzerinde cins düzeyine kadar belirleyici olabileceğini belirtmişlerdir (4,6,10,19,31).

Bıldırcınlar et ve yumurta üretimi ile laboratuvar hayvanı olarak çok kullanılan ve özellikle genetik çalışmalarda tercih edilen bir türdür. Bıldırcınların zoolojik olarak sınıflandırılması ve evelleştirilmesi ile ilgili yanıtlanması gerekli pek çok soru bulunmaktadır. Özellikle moleküler DNA çalışmaları bu soruların çözülmesinde büyük ölçüde yardımcı olabilecektir (28).

DNA parmak izi yöntemlerinin, canlıların genetik yapılarını araştırmada kullanılması son 20 yılda dünyada hızla yaygınlaşmasına karşın Türkiye'de bu tip çalışmalar adli olaylar haricinde sınırlı olarak kullanılmaktadır (30).

Bu çalışmanın amacı, üzerinde daha önce herhangi bir ıslah çalışması yapılmamış olan bir bıldırcın popülasyonunda, genetik ilişkileri ve akrabalık durumlarını DNA teknolojisini kullanarak belirlemektir. Bu amaç için kullanılan yöntem: PCR yöntemiyle rasgele çoğaltılmış olan DNA segmentleri polimorfizmleri olmuştur.

Materyal ve Metot

Temel sürü farklı orijinlerden getirilen bıldırcınların rasgele birleştirilmesi ile elde edilmiştir. Bu temel sürüden 9 erkek ve her erkek 4 dişi ile birleştirilerek 36 aile oluşturulmuştur. Bu ailelerden elde edilen yavruların kendi aralarında birleştirilmeleri ile bir sonraki jenerasyonlar oluşturulmuştur. Ayrıca, değişik kaynaklardan elde edilen ve akraba dışı yetiştirilmiş hayvanlardan oluşan 50 bıldırcınlık bir kontrol grubu oluşturulmuştur. Çalışmada kullanılan bireyler kontrol grubu, 2., 3., 4. ve 5. jenerasyona aittir. Her jenerasyon değişik sayıda aile ve her aile de farklı sayıda bireylerden oluşmaktadır. Toplam birey sayısı 69'dur. Kalpten alınan kandan, döllü yumurtalar içinde gelişen embriyonların embriyonik doku parçalarından ve dölsüz yumurtaların yumurta sarılarından, konsantre tuz solüsyonu metodu ile DNA elde edilmiştir (13,14,18). Örneklere ait DNA'ların tümü 10 adet primer ile ayrı ayrı denenmiştir. Deneme sonucunda en fazla bant veren P06 numaralı primer (CTG CAG CCG T) PCR analizinde kullanılmıştır (19,22,23).

PCR işlemi her bir döngü; 94°C'de 1 dk, 35°C'de 30 sn, 72°C'de 1 dk olacak şekilde, toplam 45 döngü olarak uygulanmıştır. Son olarak örnek DNA'ları, 76°C'de 6 dk bekletilerek reaksiyona son verilmiştir.

PCR sonunda elde edilen ürünlere %0.7'lik agaroz ile hazırlanan jelde elektroforez işlemi yapılmıştır. Bantların fotoğraftaki görüntüleri bilgisayara geçirilerek, Sigma Gel® programı ile bantların yerleri saptanmış ve veri seti oluşturulmuştur. Unweighted pair-group method with arithmetic averages (UPGMA) yöntemiyle kümeleme analizi yapılmıştır (13).

Bandın görülmemesi (resesif) "0", görülmesi ise (dominant) "1" ile gösterilerek veri seti oluşturulmuştur (23,29). Matris formatı oluşturulması işlemi MS Excel® programı kullanılmıştır. Uzaklık matrislerinin hesaplanması ve veri setinin istatistik analize uygun şekilde biçimlendirilmesinde The RAPD distance package (Version 1.04) programından yararlanılmıştır (11).

RAPD bantlarının "dominant kalıtım yolu" izlediği kabul edilerek, bireyler arasındaki karşılaştırmalar, BO (Benzerlik Oranı) = $(n_{11} + n_{22}) / n$ eşitliğine göre yapılmıştır (1,2). Bu eşitlikten yararlanarak bireyler arasında "benzerlik matrisi" oluşturularak, bireyler arasındaki genetik benzerlik hesaplanmıştır. Benzerlik matrisindeki veriler esas alınarak ve bireyler arasında genotipik ilişki kullanılarak UPGMA yöntemiyle dendogramlar yapılmıştır (Eşitlik 1) (13). Dendogramların yapılmasında Statistica™ programı kullanılmıştır. UPGMA yöntemi ile dendogramlar hazırlanırken, iki bireyin sahip olduğu lokuslarda benzerlik oranının "b" olması durumunda, bu iki birey arasındaki uzaklık "D" aşığıdaki şekilde hesaplanmıştır:

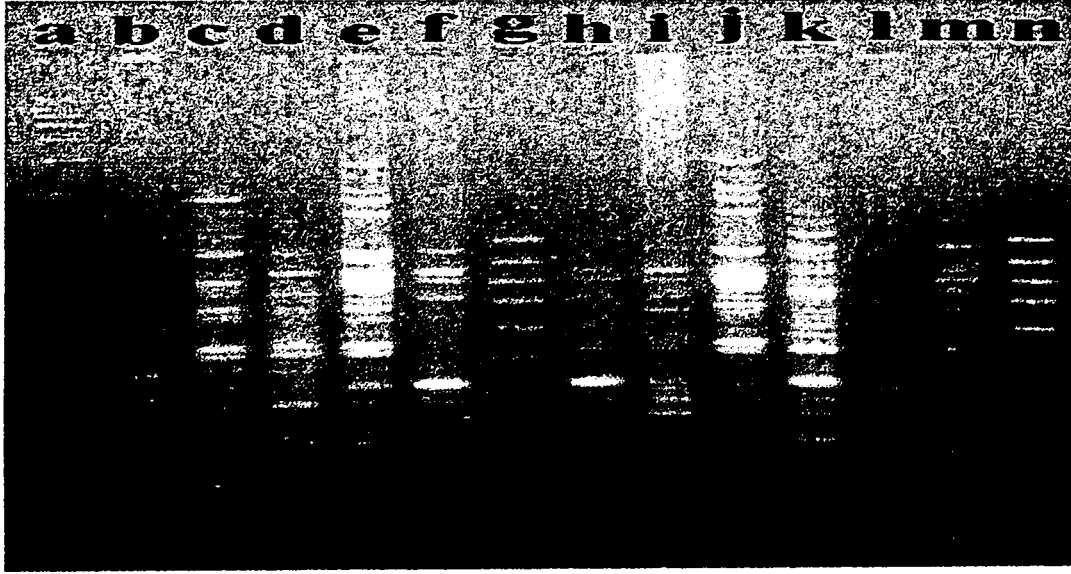
$$D = \frac{3}{4} \ln \left(\frac{3}{4b-1} \right) \quad (\text{Eşitlik 1})$$

RAPD-PCR analizi sonunda elde edilen gen lokuslarında gözlenen RAPD bantlarına göre genetik uzaklıkları hesaplanmıştır. Genetik uzaklıklar, birim olarak ele alınmış ve uygulamalı sınıflandırma birimi (operational taxonomic unit, OTU) olarak verilmiştir (26).

Bulgular

Elektroforez sonunda elde edilen fotoğraflar incelendiğinde, P06 primeriyle her bireyde 1-15 arasında değişen RAPD bantı gözlenmiştir (Şekil 1). Buna bağlı olarak popülasyonda toplam 145 gen lokusu belirlenmiştir. Bu gen lokuslarının tamamında elde edilen RAPD bant sayısı 556'dır. Bireyler arasındaki genetik benzerlik 0.0069-0.2759 arasında bulunmuştur.

Hazırlanan dendogramda bazı bireylerin ait oldukları ailelerde değil de başka ailelere ait bireylerle bir küme oluşturdukları belirlenmiştir. İncelenen bireylerin birbirleriyle olan genetik uzaklıkları esas alınarak UPGMA yöntemiyle hazırlanan tüm bireylere ait den



Şekil 1. Bıldırcınlarda P06 primeri ile çoğaltılan genomik DNA örneklerinde gözlenen RAPD bantları [100 bp'lik (g ve n) ve 1 kb'lik (a) DNA ölçekleri; bireysel polimorfik RAPD bantları (b,c,d,e,f,h,i,j,k,l,m)].
Figure 1. RAPD bands observed in amplified quail genomic DNA samples with P06 primer used in the research [100 bp (g and n) and 1 kb (a) DNA markers; individual based polymorphic RAPD bands (b,c,d,e,f,h,i,j,k,l,m)].

dogram Şekil 2'de verilmiştir (Dendogramda bireyler örneğin: G020602, G031405, G041313, G051428 şeklinde kodlanmıştır. G020602'de G02; ikinci jenerasyonu, 06; altıncı aileyi, 02; bu ailenin ikinci bireyini belirtmektedir).

Tartışma ve Sonuç

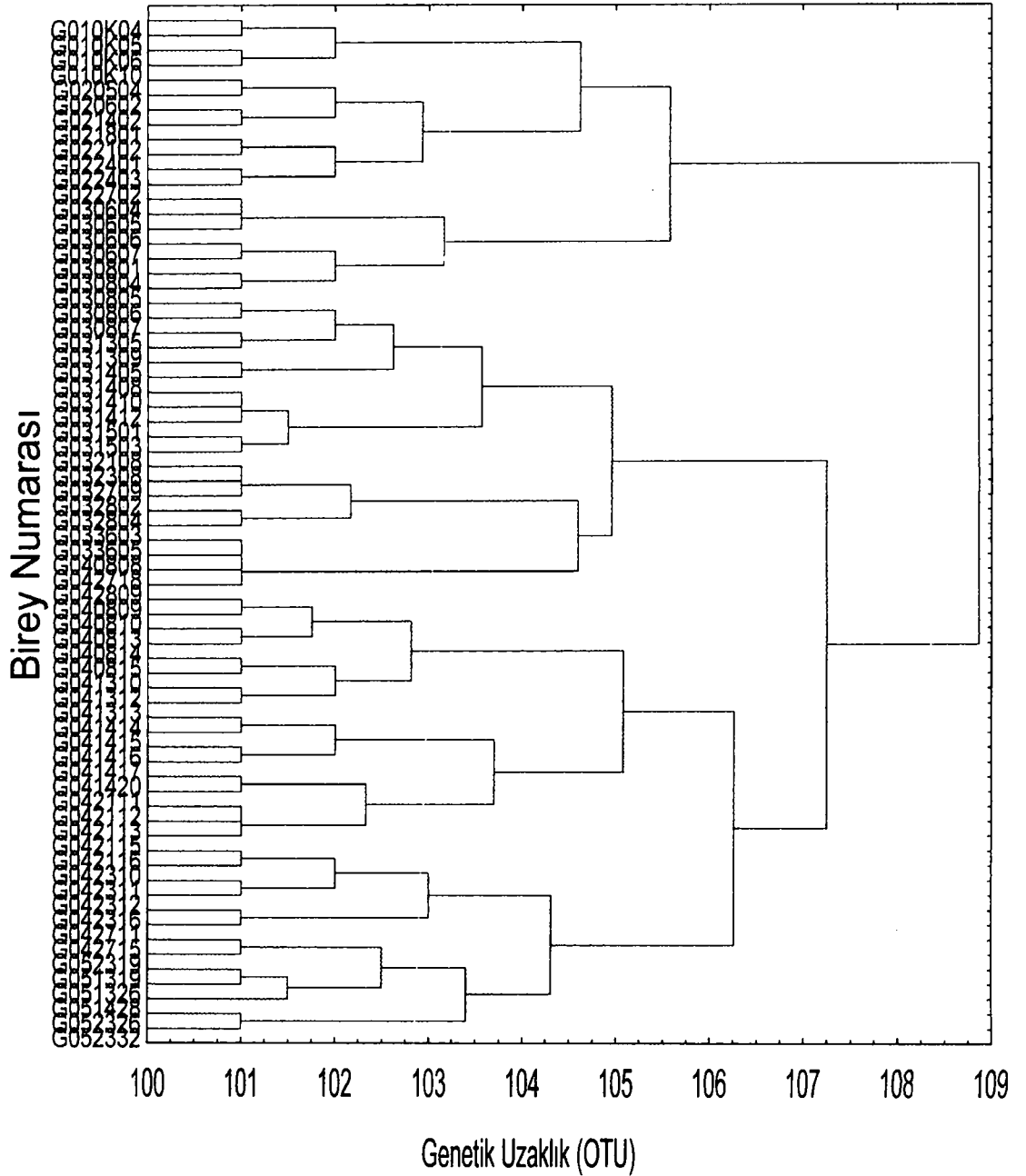
Çalışma sonucunda elde edilen verilerin doğruluğunu sağlamak amacıyla PCR reaksiyonunun sağlıklı olarak çalışması ve diğer araştırmacıların RAPD-PCR parmak izi yönteminin bir kusuru olarak belirttikleri aynı bireye ait birden fazla RAPD-PCR reaksiyonunda farklı RAPD bantlarının elde edilme riski test edilmiştir (10). Bu amaçla, bir bireye ait genomik DNA en az iki kez RAPD-PCR reaksiyonunda kullanılmıştır. Daha sonra, bu verilerle dendogramlar hazırlanmış ve aynı bireye ait tekrarların aynı kümede toplandıkları gözlenmiştir. Yapılan kontrollerde bu çalışmada elde edilen RAPD-DNA'ların yeniden elde edilebilir özellikte olduğuna karar verilmiştir. RAPD-PCR yönteminde en uygun primer-genomik DNA birleşme ısısının 35°C olduğu görüşüne paralel yönde bulgular elde edilmiştir (16,20,27).

Hayvanların alındığı populasyonda birleştirme yöntemi tam kardeş birleştirmesi şeklinde uygulanmamıştır. Çalışmaya alınan ailelerin birey sayıları her jenerasyon da farklı olmuştur. Jenerasyonların tümünde devam eden aileler olduğu gibi tek bir jenerasyonda görülen aileler de mevcuttur. Bu durum, RAPD bantlarının kalıtım yollarının incelenmesini güçleştiren faktörlerden biridir. Bununla birlikte, araştırmada uygulanan RAPD yöntemi ile

aynı aileye ait olduğu belirtilen bireylerden bazılarının aslında başka bir aileye dahil olduğu saptanmıştır. Bu bulgu bazı araştırmacıların RAPD yönteminin tür, nrk ve aileler arası ilişkilerin belirlenebileceği yönündeki görüşleriyle benzerdir (4,6,23,29,30) Böylelikle RAPD-PCR yöntemiyle elde edilen RAPD bantları ile jenerasyon-aile-birey düzeylerinde sınıflandırma yapabileceği belirlenmiştir.

RAPD bantlarının dominant özellikte olduğu ve bu nedenle de 'fenotip' olarak kabul edilmesi gerektiği bildirilmektedir (1). Bu görüş, çerçevesinde kalınarak dendogramda dördüncü jenerasyondaki G040808, G042718 ve G042809 numaralı bireyler aynı jenerasyonda kümelenebilmelerine karşılık, jenerasyon içi genetik benzerlik derecesi ortalamasından daha düşük düzeyde genetik ilişkiye sahiptirler. Aynı şekilde, 8. ailenin 15 numaralı bireyi ve 13. ailenin 10 numaralı bireyinin dendogramda aynı yerde bulunması bunların şüpheli bireyler olabileceği varsayımını akla getirmektedir. Bu durum, çikimden sonra civecivlerin kafes telleri arasındaki açıklıklardan ya da kafes duvarından atlayarak diğer aileden civecivlerle karışması sonucu olduğunu düşündürmektedir. Ayrıca, akrabalı yetiştirme sırasında sıkça karşılaşılan döl verimi düşüklüğü nedeniyle sürü büyüklüğünün korunması amacıyla bakıcı tarafından sürüye dışarıdan katılmış olabileceği de düşünülebilir.

Belirlenen 145 gen lokusunda gözlenen toplam 556 RAPD bandından aynı jenerasyonda ve takip eden jenerasyonlarda ortak olan bant sayısının tüm ailelerde ikiye geçmediği saptanmıştır. Ancak, kontrol grubundan



Şekil 2. Tüm bireylerin dahil edildiği kümeleme analizine göre hazırlanan dendrogram.
Figure 2. Dendrogram constructed based on cluster analysing where all individuals are included.

elde edilen RAPD bantlarının tamamına yakınının tüm aile ve jenerasyonlarda incelenen bireylerden elde edilen bantlarla ortak oldukları belirlenmiştir. Aynı ailede birden fazla sayıda gözlenen RAPD bantlarının tamamının kontrol grubu bireylerinden elde edilen bantlarla ortak olduğu gözlenmiştir. Aynı şekilde, birden fazla jenerasyondan DNA örneği alınan ailelerin tamamında takip eden jenerasyondan bireylerde bazı lokuslarda ortak RAPD bantları saptanmıştır. Ancak, ilgili aile ve jenerasyonlara ait bireyler arasındaki ilişki, tüm bireylerin analize dahil

edilmemesi nedeniyle çelişkili olarak gözlenmektedir. Bu durumun yine bireylerin civciv kafesleri, örnek toplama ya da laboratuvar aşamalarından birisinde schven hatalı olarak etiketlenmeden kaynaklandığını düşündürmektedir. Buna rağmen, örneğin üç jenerasyon devam eden ailelerde ilgili gen lokuslarında gözlenen ortak RAPD bantları ardışık olarak iki jenerasyonda gözlenmiştir.

Kontrol grubuna ait bireylerde gözlenen bantların diğer bireylerde de ortak olması ve bir bireyde rastlanan bandın takip eden jenerasyonda aynı ailede birden fazla bireyde gözlenmesi durumu RAPD bantlarının basit Men-

del kalıtım yolu izlediği sonucunu desteklemektedir (10,22).

Uygulamaya alınan bireylerin tümünde görülen her bir lokus, bireylerin tanımlanmasında bir parametre olarak kabul edilirse 69 bıldırcının her birisinin tanımlanmasında 145 parametre kullanıldığı anlaşılır. Bu durum, tüm bireylerin birbirinden farklı özellikte olduğunun bir ifadesidir. Bu da RAPD-PCR yönteminin araştırmada kullanılan her bir bireyi diğerinden ayırabilecek güçte olduğunu göstermektedir (6,10,19,22,23).

Dendogram incelendiğinde ikinci ve üçüncü jenerasyon arasındaki genetik uzaklığın takip eden jenerasyonlar arasındaki uzaklığa göre daha fazla olduğu görülmüştür. İkinci ve üçüncü jenerasyonun her ikisinde birden ardışık ortak ailenin olmaması ve ikinci jenerasyonda aynı ailedeki bireylerin akrabalık dereceleri öz kardeşten kuzene kadar değişirken üçüncü jenerasyonda öz kardeşten kuzen çocuklarına değişen bir varyasyonun olması 2. ve 3. jenerasyon arasındaki genetik uzaklığın daha fazla olmasına neden olmuş olabilir. Diğer taraftan ikinci jenerasyonda diğer jenerasyonlara göre daha fazla aile olmasına karşılık, her ailedeki birey sayısının az olması, jenerasyon içerisindeki genetik uzaklığın diğer jenerasyonlara oranla daha fazla olmasına yol açmış olabilir.

Her bir kümeleme analizi, analize alınan bireylerin nispi uzaklıklarını dikkate alır. Bireylerin birbirlerine olan uzaklıkları üç boyutlu uzayda hesaplanır. Daha sonra da UPGMA yöntemiyle iki boyutlu ortamda grafik şeklinde sunulur. İki birey arasında bir grafikte verilen benzerlik düzeyi, aynı bireylerin içinde bulunduğu bir alt populasyonda farklı olabilir. Ancak, genel olarak, incelemeye alınan tüm populasyona ve populasyona ait olan grafiklerde bu yakınlık düzeyleri de orantılı olarak değişmektedir. Bazı durumlarda ise alt populasyonu simgeleyen grafikte birbirleriyle yakın ilişkili görülen bireylerin genel grafikte tamamen farklı kümeler toplandıkları gözlenmiştir. Bunun nedeninin, üç boyutlu uzayda hesaplanan uzaklıkların iki boyutlu düzlemde sunulmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Araştırma materyalinin tümünde jenerasyonlara ait kümelerin en belirgin kümeler oldukları gözlenmiştir. Jenerasyonlar içinde incelenen ailelere ait örnekler göz önüne alındığında aynı aileden bireylerin bir alt kümede toplanma eğiliminde oldukları saptanmıştır. Kümelerin oluşmasında cinsiyetin etkisi gözlenmemiştir.

Jenerasyon ağacı bir "kümeleme analizi" olmasına karşın, kümeleme analizi sonucunda elde edilen grafik bir "jenerasyon ağacı" olmayabilir. Çünkü, kümeleme ana-

lizinde elde edilen diyagram, analize alınan hayvanlar arasında ele alınan parametre/ler yönünden uzaklıklara göre düzey 1'den başlayarak artan seviyelerde alt dallar verir. İncelenen bireylerin tamamı aynı jenerasyon, hatta kardeş bile olsalar, bireylerin ikili karşılaştırmalarında değişen seviyelerde alt dallar vereceklerdir ki, bu durumda ele alınan bireylerden bazılarının diğer bireylerin ata soyunu oluşturan jenerasyondan oldukları söylenemez.

Çalışmada kullanılan bireyler arasındaki genetik benzerlik oranının 0.0069-0.2759 arasında bulunmuş olması, bireyler arasındaki genotipik farklılığın yüksek olması anlamına gelir (4,22,23,30). Elde edilen bu veriler kullanılan bıldırcınlar arasında tam bir akrabalı yetiştirmenin olmadığını bir kanıtı olarak düşünülebilir.

Materyal ve Metot'ta açıklandığı şekilde yapılan birleştirmelerde 2. jenerasyondaki bireylerin öz ve baba bir üvey kardeş olmaları beklenirdi. Ancak, RAPD-PCR parmak izi analizi sonucu UPGMA yöntemiyle elde edilen diyagramda yukarıda söylenenin tersi gözlenmiştir. Bir başka deyişle, jenerasyonlar ilerledikçe aynı jenerasyondaki bireyler arasındaki genetik ilişkinin düzeyi paralel olarak artmıştır.

Aynı jenerasyondaki tüm bireylere ait DNA örneklerinin dahil edilmediği bu çalışmada incelemeye alınan bireyler arasında gözlenen genetik ilişki düzeyine bakarak iki birey arasındaki akrabalığın tam kardeş, yarım kardeş, kuzen gibi belirlenmesi mümkün değildir.

Bununla beraber, kısıtlı olanaklarla DNA örnekleri toplanan bireylerden elde edilen RAPD bantları esas alınarak jenerasyonlar ve jenerasyonlardaki aileler başarılı bir şekilde belirlenmiştir. Bunun anlamı, örnek sayısının artırılmasıyla, bireyler arasındaki akrabalığın belirlenmesi daha sağlıklı bir şekilde yapılabileceğidir.

Ayrıca, RAPD-PCR analizinde tek primer kullanılabilmesi bireyler arasındaki akrabalığın başarılı bir şekilde belirlenmesini engellemiştir. Çünkü, RAPD analizinde kullanılan primer ve ele alınan birey sayısı konusunda kesin belirlenmiş sınırlar henüz yoktur. Ancak, tek bir primer kullanıldığında bireysel farklılıklar ortaya çıkmayabilir. Bu nedenle, bireylerin genotiplerinin tanımlanmasında mümkün olduğu kadar çok primer kullanılmalıdır (29).

Bu çalışmayla, RAPD-PCR parmak izi yönteminin, populasyonu oluşturan bireylerin genetik özelliklerine göre filogenetik sınıflandırılmasının (ırk, hat, aile vb.) başarılı bir şekilde yapılabileceği gösterilmiştir. Ancak, adı geçen yöntemin iki birey arasındaki genetik ilişkinin düzeyinin belirlenmesinde kullanılamayacağı anlaşılmıştır.

Kaynaklar

1. **Apostol BL, Black WC, Miller BR, Reither P, Beaty BJ** (1993): *Estimation of the number of full sibling families at an oviposition site using RAPD-PCR markers: applications to the mosquito Aedes aegypti*. Theor Appl Genet. **86**, 991-1000.
2. **Apostol BL, Black WC, William IV, Reiter P, Miller B** (1996): *Population genetics with RAPD-PCR markers: the breeding structure of Aedes aegypti in Puerto Rico*. Hered. **76**, 325-334.
3. **Baird E, Cooper-Bland S, Waugh R, De Maine M, Powell W** (1992): *Molecular characterisation of inter- and intra-specific somatic hybrids of potato using randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) markers*. Mol Gen Genet. **223**, 469-475.
4. **Bao H, Xu H, Ku H** (1999): *Studies on forest musk deer and alpine musk deer using Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD)*. Acta Theriol Sin. **19**, 241-246.
5. **Bardin MG, Bandi C, Comincini S, Damiani G, Rognoni G** (1992): *Use of RAPDs markers to estimate genetic variation in bovine populations*. Anim Genet. **23**, Suppl 1, 57-61.
6. **Benecke M** (1998): *Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) typing of necrophagous insect (diptera, coleoptera) in criminal forensic studies: validation and use in practice*. Forensic Sci Int. **98**, 157-168.
7. **Botstein D, White RL, Skolnick MH, Davis RW** (1980): *Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms*. Am J Hum Genet. **32**, 314-312. "Alınmıştır" Williams JGK, Kubelik AR, Livak KJ, Rafalski JA, Tingey SV (1990): *DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers*. Nucleic Acids Res. **18**, 6531-6535.
8. **Burr B, Evola SV, Burr FA** (1983): *The Application of Restriction Fragment Length Polymorphism to Plant Breeding 45-59*. In: JK Setlow, A Hollaender (Eds). Genetic Engineering, Principles and Methods. Vol. 5. Plenum Press, New York. "Alınmıştır" Ragot M, Hoisington DA (1993): *Molecular markers for plant breeding: comparisons of RFLP and RAPD genotyping costs*. Theor Appl Genet. **86**, 975-984.
9. **Chapco W, Ashton NW, Martel RK, Antonishyn N, Crosby WL** (1992): *A feasibility study of the use of random amplified polymorphic DNA in the population genetics and systematics of grasshoppers*. Genome. **35**, 569-574.
10. **Ellsworth D L, Rittenhouse KD, Honeycutt RL** (1993): *Artifactual variation in Random Amplified Polymorphic DNA banding patterns*. BioTechniques. **14**, 214-217.
11. **Excoffier L** (1998): [excoffier@sc2a.unige.ch] Permission Alicer: [günceren@veterinary.ankara.edu.tr].
12. **Falconer DS** (1989): *Introduction to Quantitative Genetics*. 3rd ed. Longman, Scientific and Technical, London.
13. **Günceren G** (1999): *Polimeraz zincir reaksiyonu ile rasgele çoğaltılmış polimorfik DNA parmak izi yönteminin (RAPD-PCR) Türkiye yerli sığır ırklarında uygulanma olanakları*. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Doktora Tezi.
14. **Jeanpierre M** (1987): *A rapid method for the purification of DNA from blood*. Nucleic Acids Res. **15**, 9611.
15. **Kemp SJ, Teale AJ** (1992): *Random amplified DNA polymorphisms (RAPDs) and pooled DNA in bovine genetic studies*. Anim Genet. **23**, Suppl 1, 62-66.
16. **Khaled AK, Neilan BA, Henriksson A, Conway PL** (1997): *Identification and phylogenetic analysis of lactobacillus using multiplex RAPD-PCR*. FEMS Microbiol Lett. **153**, 191-197.
17. **McPherson JM, Gajadhar AA, Wilson SM** (1992): *Random amplified polymorphic DNA*. Parasit Today. **8**, 235-236. In: CAB Abstracts No: 1993 017-01703
18. **Miller SA, Dykes DD, Polesky HF** (1988): *A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells*. Nucleic Acids Res. **16**, 1215.
19. **Parejo JC, Sansinforiano ME, Rabasco A, Martinez-Trancon M, Fernandez-Garcia JL, Padilla JA** (1998): *The use of technique in population studies of Blanca Cacerena bovine breed*. Arch Zootec. **47**, 279-286.
20. **Rothuizen J, Van Wolferen M** (1994): *Randomly amplified DNA polymorphisms in dogs are reproducible and display Mendelian transmission*. Anim Genet. **25**, 13-18.
21. **Scott MP, Haynes KM, Williams SM** (1992): *Parentage analysis using RAPD PCR*. Nucleic Acids Res. **20**, 5493.
22. **Sharma D, Rao KBCA, Singhs SM, Totey SM** (1998): *Randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) for evaluating genetic relationships among varieties of guinea fowl*. Genet Anal Biomol Eng. **14**, 125-128.
23. **Sharma D, Rao KBCA, Totey SM** (2000): *Measurement of within and between population genetic variability in quails*. Br Poul Sci. **41**, 29-32.
24. **Sittman K, Abplanalp H, Fraser RA** (1966): *Inbreeding depression in Japanese quail*. Genet. **54**, 371-379.
25. **Tanksley SD, Young ND, Paterson AH, Bonierbale MW** (1989): *RFLP mapping in plant breeding: new tools for an old science*. BioTechnology. **7**, 257-264 "Alınmıştır" Ragot M, Hoisington DA (1993): *Molecular markers for plant breeding: comparisons of RFLP and RAPD genotyping costs*. Theor Appl Genet. **86**, 975-984.
26. **Weir, BS** (1990): *Genetic Data Analysis. Methods for Discrete Population Genetic Data*. Sinauer Associates Inc. Sunderland, Massachusetts.
27. **Welsh J, McClelland M** (1990): *Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers*. Nucleic Acids Res. **18**, 7213-7218.
28. **Williams JGK, Kubelik AR, Livak KJ, Rafalski JA, Tingey SV** (1990): *DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers*. Nucleic Acids Res. **18**, 6531-6535.
29. **Williams MNV, Pande N, Nair S, Bennet J** (1991): *Restriction fragment length polymorphism analysis of polymerase chain reaction products amplified from mapped loci of rice (Oryza sativa L.) generic DNA*. Theor Appl Genet. **82**, 489-498.
30. **Yeğenoğlu ED** (1999): *Japon bildircinlarında (Coturnix coturnix japonica) DNA izolasyonu ve DNA parmak izinin çıkarılması*. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Yüksek Lisans Tezi.
31. **Zhu J, Nestor KE, Moritsu Y** (1996): *Relationship between band sharing levels of DNA fingerprints and inbreeding coefficients and estimation of true inbreeding in turkey lines*. Poultry Sci. **75**, 25-28.

Geliş tarihi: 1.10.2001 / Kabul tarihi: 12.12.2001

Yazışma adresi:

Araş. Gör. Vet.Hek. Bilal Akyüz
Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi
Genetik Anabilim Dalı
Kocasinan, Kayseri
e-mail: akyuz@veterinary.ankara.edu.tr