



**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**



DOKTORA TEZİ

**KIL, TİFTİK VE KİLİS KEÇİLERİNİN ÜREME ÖZELLİKLERİNİ ETKİLEYEN
KITLG VE KISS1 GEN BÖLGELERİNİN POLİMORFİZMLERİNİN
BELİRLENMESİ**

Berk Özcan ATALAY

DANIŞMAN
Prof. Dr. Atila ATES
(danışman imzalı olacaktır)

Veterinerlik Biyokimyası Anabilim Dalı

Veterinerlik Biyokimyası, Doktora Programı

Mayıs, 2025

Hayatta her koşulda bilimin yolundan sapmamayı bana öğreten sevgili anneme ithaf ediyorum...

BÜTÇE DESTEKLERİ

KIL, TİFTİK VE KİLİS KEÇİLERİNİN ÜREME ÖZELLİKLERİNİ ETKİLEYEN KITLG VE KISS1 GEN BÖLGELERİNİN POLİMORFİZMLERİNİN BELİRLENMESİ

Bu çalışma İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon
Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje numarası: TDK-2023-36287

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim ve tez çalışmam süresince destek ve yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen, çalışmamın her aşamasında değerli bilgi ve tecrübelerini benimle her an paylaşan, bu zorlu sürecin tamamlanmasında sabır ve hoşgörü gösteren saygıdeğer danışmanım Sayın Prof. Dr. Atila ATEŞ' e;

Tez çalışmam boyunca sağladığı bilimsel katkılar ve yönlendirmeleri için Sayın Prof. Dr. İraz AKAD AKIŞ' a;

Doktora eğitimim süresince gösterdikleri samimi tüm destek ve rehberlikleri için hocalarım Sayın Prof. Dr. Feraye ESEN GÜRSEL, Prof. Dr. Ayşen ALTINER, Prof. Dr. Nezir Yaşar TOKER, Prof. Dr. Hasret DEMİRCAN YARDİBİ, Araştırma Görevlisi Dr. Gizem ATMACA ve Araştırma Görevlisi Dr. İsmail Bergutay KALAYCILAR' a;

Ve bu uzun ve meşakkatli yolculukta maddi ve manevi tüm desteğini benden esirgemeyen sevgili anneme en içten teşekkürlerimi sunarım.

Mayıs 2025

Berk Özcan ATALAY

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

TEZ KABUL VE ONAYI.....	ii
BEYAN	iii
BÜTÇE DESTEKLERİ	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
ŞEKİL LİSTESİ	ix
TABLO LİSTESİ.....	x
SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ	xi
ÖZET	xiii
ABSTRACT	xv
1. GİRİŞ.....	1
1.1. KITLG GENİ.....	4
1.2. KISS1 GENİ.....	4
2. KAVRAMSAL ÇERÇEVE	12
2.1. KEÇİLERDE GENETİK VERİMLİLİK ÜZERİNE YAPILAN ÇALIŞMALAR: DOĞURGANLIK, SÜT VE ET VERİMİ, KIL ÜRETİMİ VE GENETİK İYİLEŞTİRME YÖNTEMLERİ	12
2.1.1. Doğurganlık Özellikleri ve Genetik Seçim	12
2.1.2. Süt Verimi ve Genetik İyileştirme.....	12
2.1.3. Et Verimi ve Genetik Seçim.....	13
2.1.4. Kıl ve Yün Verimi	14
2.1.5. Genetik İyileştirme Yöntemleri ve Seçim Programları	14
2.1.6. Keçilerde Genetik Sağlık ve Dayanıklılık Çalışmaları.....	15
2.2. KIL, TİFTİK VE KİLİS KEÇİLERİ	16
2.3. KEÇİLERDE DOĞURGANLIKLA İLİŞKİLİ ADAY GENLERİN GENETİK TEMELLERİ.....	21
2.3.1. KITLG (KIT Ligand) Geninin Fonksiyonu ve Polimorfizmleri	21
2.3.2. KISS1 Geninin Fonksiyonu ve Polimorfizmleri	21

2.4. POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU – RESTRİKSİYON PARÇACIK UZUNLUĞU POLİMORFİZMİ METODU (PZR–RFLP)	22
2.5. TEK NÜKLEOTİD POLİMORFİZMİ (SNP)	25
3. YÖNTEM	26
3.1. MATERYAL	26
3.1.1. Hayvan Materyali	26
3.1.2. DNA Örnekleri	26
3.2. LABORATUVAR ANALİZ YÖNTEMLERİ	26
3.2.1. Çalışmada Kullanılan Cihazlar	26
3.2.2. Çalışmada Kullanılan Kimyasal Maddeler	27
3.2.3. Elektroforezde Kullanılan Çözeltiler	27
3.2.4. Primer Çözeltisinin Hazırlanması	27
3.2.5. dNTP Çözeltisinin Hazırlanması	27
3.2.6. PZR Reaksiyonu	28
3.2.7. Restriksiyon Parçacık Uzunluk Polimorfizmi (RFLP) Döngüsü	29
3.2.8. Agaroz Jel Hazırlığı ve PZR Ürünleri Yürütme İşlemi	30
3.2.9. İstatistiksel Analiz	31
3.2.10. Etik Kurul Onayı	31
4. BULGULAR	32
4.1. KITLG GENİNE AİT PZR-RFLP METODU İLE BELİRLENEN POLİMORFİZMLER	32
4.2. KITLG GENİ GENOTİP VE ALLEL FREKANSLARININ ANALİZİ	34
4.3. KISS1 GENİ PZR-RFLP METODU İLE BELİRLENEN POLİMORFİZMLER	40
4.4. KISS1 GENİ GENOTİP VE ALLEL FREKANSLARININ ANALİZİ	42
5. TARTIŞMA	47
5.1. KITLG	48
5.2. KISS1	53
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	58
6.1. SONUÇ	58
6.2. ÖNERİLER	58
KAYNAKLAR	60
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI	71
ETİK KURUL İZİN YAZISI	72
KURUM İZNİ YAZILARI	73
ÖZGEÇMİŞ	74

ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa No
Şekil 1.1: c-Kit yapısal alanlarının şematik gösterimi	6
Şekil 1.2: Sp1 aracılığıyla KISS1 transkripsiyonunun düzenlenmesine dair şematik bir model.....	10
Şekil 2.1: Kıl Keçisi.....	17
Şekil 2.2: Tiftik Keçisi.....	19
Şekil 2.3: Kılı Keçisi.....	20
Şekil 2.4: Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) Döngüsü.....	24
Şekil 2.5: Restriksiyon Parçacık Uzunluk Polimorfizmi Döngüsü.....	25
Şekil 4.1: KITLG geni 438 bp'lik hedef bölgesinin <i>BsaI</i> ile kesim sonrası %2'lik Agaroz jeldeki görüntüsü	32
Şekil 4.2: KITLG geni 438 bp'lik hedef bölgesinin <i>NsiI</i> ile kesim sonrası %2'lik Agaroz jeldeki görüntüsü	33
Şekil 4.3: KITLG geni 438 bp'lik hedef bölgesinin <i>Hpy188I</i> ile kesim sonrası %2'lik Agaroz jeldeki görüntüsü	34
Şekil 4.4: KISS1 geni 832 bp'lik hedef bölgesinin <i>SacI</i> ile kesim sonrası %2'lik Agaroz jeldeki görüntüsü	41
Şekil 4.5: KISS1 geni 832 bp'lik hedef bölgesinin <i>PvuII</i> ile kesim sonrası %2'lik Agaroz jeldeki görüntüsü	42

TABLO LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 1.1. Keçi ırklarında üreme ve fertilitite özellikleri ile ilişkilendirilen aday genler ve fizyolojik işlevleri.....	3
Tablo 2.1: Kıl Keçisi Vücut Ölçüleri ve Verim Özellikleri.....	17
Tablo 2.2: Tiftik Keçisi Vücut Ölçüleri ve Verim Özellikleri.....	18
Tablo 2.3: Kilis Keçisi Vücut Ölçüleri ve Verim Özellikleri.....	20
Tablo 3.1: KITLG geni 25 µl PZR karşımındaki solüsyonlar ve miktarları.....	27
Tablo 3.2: KISS1 geni 25 µl PZR karşımındaki solüsyonlar ve miktarları.....	28
Tablo 4.1: Kıl, Tiftik ve Kilis ırk keçilerde KITLG için g.12654 G>A lokusu gen polimorfizmi genotip ve allel frekansları.....	33
Tablo 4.2: Kıl, Tiftik ve Kilis ırk keçilerde KITLG için g.12829 T>C lokusu gen polimorfizmi genotip ve allel frekansları.....	35
Tablo 4.3: Kıl, Tiftik ve Kilis ırk keçilerde KITLG için g.12772 G>A lokusu gen polimorfizmi genotip ve allel frekansları.....	37
Tablo 4.4: Kıl, Tiftik ve Kilis ırk keçilerde KITLG için C2540T lokusu gen polimorfizmi genotip ve allel frekansları.....	41
Tablo 4.5: Kıl, Tiftik ve Kilis ırk keçilerde KITLG için A2510G lokusu gen polimorfizmi genotip ve allel frekansları.....	43

SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ

Simgeler	Açıklama
A :	Adenin
A260 :	260 nanometre dalga boyundaki absorbands
bç :	Baz çifti
C :	Sitozin
C° :	Celsius
cm :	Santimetre
d :	Domain
g :	Gram
G :	Guanin
kg :	Kilogram
L :	Litre
N :	Azot
ng :	Nanogram
nm :	Nanometre
nmol:	Nanomol
T :	Timin
U :	Ünite
UV :	Ultraviyole
V :	Volt
µL :	Mikrolitre
µM :	Mikromolar
χ² :	Ki-kare

Kısaltmalar	Açıklama
DNA :	Deoksiribonükleik asit
dNTP:	Deoksiribonükleozid trifosfat
EDTA :	Etilen diamin tetra asetik asit
GDF9 :	Büyüme farklılaşma faktörü-9
HVR1 :	Hiperdeğişken bölge
mRNA :	Mesajcı ribonükleik asit
NaCl :	Sodyum klorür
NH₄Cl :	Amonyum klorür
PZR :	Polimeraz zincir reaksiyonu
QTL :	Kantitatif karakter lokusları
RE :	Restriksiyon enzimi
RFLP :	Restriksiyon parçacık uzunluğu polimorfizmi
RNA :	Ribonükleik asit
SDS :	Sodyum dodesil sülfat
SNP :	Tek nükleotid polimorfizmi
TEB :	Tris Borik asit Etidyum Bromür

ÖZET

[DOKTORA TEZİ]

KIL, TİFTİK VE KİLİS KEÇİLERİNİN ÜREME ÖZELLİKLERİNİ ETKİLEYEN KITLG VE KISS1 GEN BÖLGELERİNİN POLİMORFİZMLERİNİN BELİRLENMESİ

[Berk Özcan ATALAY]

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Veterinerlik Biyokimyası Anabilim Dalı

Veterinerlik Biyokimyası, Doktora Programı

[Danışman : Prof. Dr. Atila ATES]

[Bu çalışma, Kıl, Tiftik ve Kilis keçilerinin üreme özelliklerini etkileyen KITLG ve KISS1 gen bölgelerindeki polimorfizmlerin belirlenmesini amaçlamaktadır. KISS1 geni, üreme fonksiyonlarının düzenlenmesinde kritik bir rol oynayan Kisspeptin proteinini kodlarken, KITLG geni ise hücre büyümesi, farklılaşması ve migrasyonu üzerinde etkili olan bir ligand kodlamaktadır. Bu genlerdeki varyasyonlar, keçilerin üreme performansı ve verimliliği üzerinde önemli etkiler yaratabilir. Bu amaçla çalışmaya dahil edilen üç keçi ırkından (n=50) 150 adet numune kullanılmıştır. Genomik DNA örneklerinde KITLG ve KISS1 genleri PZR yöntemiyle çoğaltılmıştır. KITLG ve KISS1 gen bölgelerindeki polimorfizmleri belirlemek amacıyla Polimeraz Zincir Reaksiyonu-Kısıtlama Parçacık Uzunluğu Polimorfizmi (PZR-RFLP) tekniği kullanılmıştır. Popülasyonlardaki genetik varyasyonu değerlendirmek amacıyla Hardy-Weinberg dengesi test edilmiştir. Bu çalışma kapsamında, KISS1 (C2540T ve A2510G) ve KITLG (g.12654G>A, g.12829T>C, g.12772G>A) genlerine ait belirli SNP bölgeleri moleküler düzeyde incelenmiştir. KISS1 geninde analiz edilen her iki SNP (C2540T ve A2510G) için, üç ırkta da Hardy-Weinberg genetik dengesi sağlanmış ve popülasyonların bu lokuslar açısından genetik olarak stabil olduğu saptanmıştır. Bu SNP'lerde genotip dağılımı dengeli olup, ırklar arasında anlamlı fark gözlenmemiştir. Buna karşılık, KITLG genindeki

g.12654G>A ve g.12829T>C polimorfizmleri, tüm ırklarda Hardy-Weinberg dengesinden anlamlı sapma göstermiştir. Bu sapmalar, heterozigot genotip fazlalığı ve homozigot genotip eksikliğiyle birlikte değerlendirilmiş; popülasyonlarda genetik sürüklenme, seçim baskısı ya da kapalı çiftleşme sistemlerinin etkili olabileceği düşünülmüştür. Yalnızca g.12772G>A SNP'si dengededir. Sonuç olarak, çalışmada incelenen her iki genin farklı SNP'lerinde genetik çeşitlilik tespit edilmiş ve bu varyasyonların Türkiye yerli keçi ırklarının genetik korunması ve moleküler düzeyde ıslahı için önemli potansiyel taşıdığı gösterilmiştir. Bulgular, fenotipik verilerle desteklenecek ileri araştırmalar için temel oluşturacak niteliktedir. Bu bulgular, keçi ıslah programlarında kullanılabilecek genetik markerların belirlenmesine yönelik önemli veriler sunmaktadır. |

Mayıs 2025 , 90 sayfa.

Anahtar kelimeler: | Kıl Keçisi, Tiftik Keçisi, Kilis keçisi, KITLG, KISS1, Polimorfizm |

ABSTRACT

Ph.D. THESIS

**DETERMINATION OF GENE POLYMORPHISMS IN KITLG AND KISS1 GENE
REGIONS EFFECTING THE REPRODUCTIVE TRAITS OF HAIR, ANGORA, AND
KILIS GOATS**

Berk Özcan ATALAY

Istanbul University-Cerrahpaşa

Institute of Graduate Studies

Department of Biochemistry

Veterinary Biochemistry, Ph. D. Program

Supervisor: Prof. Dr. Atila ATEŞ

This study investigates polymorphisms in the KITLG and KISS1 gene regions, which influence reproductive traits in Hair, Angora, and Kilis goats. The KISS1 gene encodes the Kisspeptin protein, which plays a critical role in regulating reproductive functions, while the KITLG gene encodes a ligand that influences cell growth, differentiation, and migration. Variations in these genes can have significant impacts on the reproductive performance and productivity of goats. For this purpose, a total of 150 samples were used from three goat breeds (n=50) included in the study. Genomic DNA samples were amplified by PCR for the KITLG and KISS1 genes. Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism (PCR-RFLP) technique was employed to detect polymorphisms in the KITLG and KISS1 gene regions. The Hardy-Weinberg equilibrium was tested to assess the genetic variation within the populations. In this study, specific SNP regions of the KISS1 (C2540T and A2510G) and KITLG (g.12654G>A, g.12829T>C, g.12772G>A) genes were analysed at the molecular level in indigenous Turkish goat breeds: Hair, Angora and Kilis. For both SNPs in the KISS1 gene

(C2540T and A2510G), Hardy-Weinberg equilibrium was maintained across all three breeds, indicating that the populations were genetically stable at these loci. Genotype distributions were balanced, and no significant differences were observed among the breeds. In contrast, the g.12654G>A and g.12829T>C polymorphisms of the KITLG gene showed statistically significant deviations from Hardy-Weinberg equilibrium in all breeds. These deviations, characterized by an excess of heterozygous genotypes and a lack of homozygotes, suggest the potential influence of genetic drift, selection pressure, or non-random mating systems within the populations. Only the g.12772G>A SNP was found to be in equilibrium. In conclusion, genetic diversity was detected in the different SNPs of both genes studied, highlighting their potential for molecular-level conservation and genetic improvement of Turkish indigenous goat breeds. These findings provide a valuable foundation for future studies to be supported with phenotypic reproductive data. Furthermore, the results offer important insights for the identification of molecular markers that may be utilized in goat breeding programs. |

May 2025, |90| pages.

Keywords: |Hair Goat, Angora Goat, Kilis Goat, KITLG, KISS1, Polymorphism

1. GİRİŞ

Günümüzde hayvansal üretimde genetik verimliliğin artırılması, sadece yetiştiricilik açısından değil, sürdürülebilir gıda güvenliği politikaları açısından da stratejik önem arz etmektedir. Keçiler, özellikle zor doğa koşullarına adaptasyonları ve düşük bakım gereksinimleri nedeniyle kırsal ekonomilerde ön planda olmaktadır. Ancak bu avantajlarına rağmen, üreme verimliliği gibi düşük kalıtsal özellikler, geleneksel ıslah yöntemlerinin sınırlı etkili olmasına neden olmaktadır. Bu durum, moleküler genetik araçlara dayalı seleksiyon stratejilerini zorunlu kılmaktadır. Bu tez çalışması, KISS1 ve KITLG gibi doğurganlıkla doğrudan ilişkili aday genlerdeki polimorfizmleri tanımlayarak, Türkiye’ye özgü bazı keçi ırklarında genetik seleksiyon potansiyelini ortaya koymayı amaçlamaktadır.

Keçiler (*Capra hircus*), koyun, sığır ve domuzlarla birlikte ilk evcilleştirilen çift tırnaklılardır ve et, süt ve yün gibi ürünlerin üretimi yoluyla yerleşik hayata geçişi kolaylaştırarak insan tarım topluluklarına önemli faydalar sağlamışlardır (Naderi ve diğ., 2008). Keçiler, Antarktika hariç, şaşırtıcı bir şekilde %93,4’ü Asya ve Afrika’da olmak üzere her kıtada bulunmaktadır. Keçi varlığı, seyrek nüfuslu endüstrileşmemiş ülkelerle birlikte endüstrileşmiş ülkeleri de içine alan geniş bir yelpazede kritik rollere sahip olmakla birlikte bu rollerin içinde geçim kaynağı olarak yer almasının yanı sıra tarımsal üretimi de kapsayan girişimlerde mevcuttur. Afrika, dünya keçi popülasyonunun yaklaşık %35,7’sini barındırmakta olup, bu hayvanların %60’ı Çad ve Etiyopya gibi ülkeleri içine alan Sahra Altı Afrika bölgesinde yoğunlaşmıştır (World Population Review, 2021).

Otlaklar gibi Türkiye’nin doğal kaynakları, koyun ve keçi türlerinin yetiştirilmesi için ideal bir ortam sunmaktadır. Kırsal bölgelerdeki tüketim alışkanlıkları gibi faktörler, küçük ruminant yetiştiriciliği için olumlu bir zemin oluşturmaktadır (Kaymakçı ve diğ., 2006). Türkiye’nin doğal kaynakları, özellikle otlaklar, koyun ve keçi türlerinin yetiştirilmesi için uygun bir ortam sunmakta; kırsal bölgelerdeki tüketim alışkanlıkları gibi faktörler küçük ruminant yetiştiriciliği için olumlu bir zemin oluşturmaktadır (Kaymakçı ve diğ., 2006). Türkiye’de keçi yetiştiriciliği söz konusu olduğunda genellikle Kıl keçileri akla gelmektedir. Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) 2024 verilerine göre, keçi varlığı 10.822.084 baş olup, bu

miktarın yaklaşık %98'i Kıl keçileri ve onların melezleri, %2'si ise Tiftik keçilerinden oluşmaktadır. Ülkemizin küçük ruminant nüfusu içinde keçi nüfusunun payı yaklaşık %19,71'dir. TÜİK verilerine göre, 2023 yılından 2024 yılına geçişte ülke genelindeki keçi varlığı yaklaşık %5 oranında artış göstermiştir. Bu artış, yerli ırkların korunması, kırsal bölgelerde küçükbaş hayvancılığın teşvik edilmesi ve keçi sütü ile etine yönelik talebin artması gibi faktörlerle ilişkilendirilmektedir. Söz konusu büyüme, keçi yetiştiriciliğinin sürdürülebilirliğine dair olumlu bir gösterge olmakta ve bölgesel hayvancılık politikalarının etkili biçimde yürütüldüğünü ortaya koymaktadır.

Primatlar ve birçok ruminant türü genellikle her döngüde tek bir yumurta hücresi üretmekte, fakat fare ve domuzlar gibi bazı türlerde ise ovulasyon oranları sürekli olarak yüksek seyretmektedir. Memelilerde, ovulasyon oranı ve yavru sayısı, hormonal ve parakrin sinyallerin etkileşimleri sonucunda iyi şekilde yönetilmektedir. Yavru sayısının nasıl tam olarak kontrol edildiği, üreme biyolojisinde kritik ve önemli bir soru olarak karşımıza çıkmaktadır (Polley ve diğ., 2009). Yavru sayısı, düşük kalıtsal özelliğe sahip bir özellik ($h^2 = 0.10 - 0.15$) olarak kabul edilmekte (Liu ve diğ., 2019) ve geleneksel seleksiyon keçi yetiştiriciliğinde etkisiz kalmaktadır (Cui ve diğ., 2018). Hayvan moleküler genetiği ve modern moleküler biyoteknolojideki hızlı gelişmeler, tek gen veya kromozom parçalarının analizini, doğurganlık özelliklerinin incelenmesinde temel bir yaklaşım haline getirmiştir (Zhang ve diğ., 2021a). Genom taramaları sayesinde, çeşitli verim özelliklerini etkileyen birçok genetik bölge (Kantitatif Karakter Lokusu-QTL) belirlenmiş ve beslenme, büyüme ile enerji metabolizmasının fizyolojik düzenlemesinde rol oynayan genleri tanımlamak için aday gen çalışmaları yürütülmüştür (Schrooten ve diğ., 2000; Ashwell ve diğ., 2004; Weikard ve diğ., 2004). QTL haritalama çalışmalarının ana hedefi, belirli genetik işaretçiler ile fenotipler arasındaki ilişkiyi belirlemek olmuştur. Çiftlik hayvanlarında, polimorfik olan işaretçi bölgelerinin varlığı halinde, bir populasyon içerisinde işaretçi-QTL bağlantı çalışmaları gerçekleştirilebilmektedir (Primrose ve diğ., 2006; Weller, 2009). Çiftlik hayvanlarında moleküler işaretçiler, DNA düzeyinde genetik varyasyonu ortaya çıkarmak, gen bölgelerini ekonomik olarak önemli özelliklerle ilişkilendirmek veya belirli bir özelliği etkileyen tek genleri tanımlamak için yaygın olarak kullanılmaktadır (Balcıoğlu ve diğ., 2014). Burada elde edilen veriler, hayvan yetiştiriciliği alanında üretkenliği artırmayı amaçlayan seçim çalışmalarında kullanılmaktadır. Canlı hayvan türlerinde üreme özelliklerinin iyileştirilmesi, özellikle koyun ve keçi türlerinde, yavruların sayısında küçük iyileştirmelerin bile önemli kar artışları sağlayabileceği dikkat çekmektedir.

Tablo 1.1. Keçi ırklarında üreme ve fertilite özellikleri ile ilişkilendirilen aday genler ve fizyolojik işlevleri (Getaneh ve Alemayehu, 2022)

Aday Gen	Yer	Fizyolojik işlevler ve ilgili özellikler	Kaynak
CDC25C	7	Ovaryum gelişimini etkiler ve dolayısıyla keçilerde yavru sayısı ile ilişkilidir.	Wang ve diğ., 2020
PSEN2	16	Yavru sayısı ile ilişkilidir.	Rui-Qian ve diğ., 2018
GDF9	5	Yavru sayısı ile ilişkilidir.	Shaha ve diğ., 2022
	7	Birincil ve preantral folikül büyümesini artırır ve dolayısıyla doğurganlık ile ilişkilidir.	He ve diğ., 2010; Feng ve diğ., 2011; Ghoreishi ve diğ., 2019; Jun-jie ve diğ., 2020
BMP15	X	Doğurganlık özellikleri ile ilişkilidir	Shaha ve diğ., 2022
		Birincil ve preantral folikül büyümesini artırır ve dolayısıyla doğurganlık/üretkenlik ve yüksek doğum oranı ile ilişkilidir.	He ve diğ., 2010; Feng ve diğ., 2011; Ghoreishi ve diğ., 2019; Jun-jie ve diğ., 2020; Dangar ve diğ., 2022
CSN1S1	6	Yavru sayısı ile ilişkilidir.	Shaha ve diğ., 2022
KDM6A	X	Yavru sayısı ve doğurganlık özellikleri ilişkilidir.	Cui ve diğ., 2018
YBOX2	19	Tekelerde meni hacmi ile ilişkilidir.	Talouarn ve diğ., 2020
POU1F1	6	Yavru sayısı ve büyüme ile ilişkilidir.	Guo ve diğ., 2019
BMPR1B	6	Birincil ve preantral folikül büyümesini artırır ve dolayısıyla doğurganlık ile ilişkilidir.	He ve diğ., 2010; Jun-jie ve diğ., 2020
INH α	2	Keçilerde doğurganlık özellikleri ile ilişkilidir.	He ve diğ., 2010
GnRHR	6	LH ve FSH konsantrasyonunu değiştirerek doğurganlık/yavru sayısı ile ilişkilidir.	Ariyaratne ve diğ., 2017
NR6A1	11	Embriyonik gelişimde kritik rol oynar, dolayısıyla yavru sayısı ile ilişkilidir.	E ve diğ., 2019
SMAD2	24	Yavru sayısı ile ilişkilidir.	Wijayanti ve diğ., 2022

Tablo 1.1. devamı

NGF	3	Keçilerde folikülojenezin artırılması yoluyla yavru sayısı üzerinde önemli bir etkiye sahiptir.	Naicy ve diğ., 2016
SLAIN1	12	Kök hücrede ifade edilir ve birçok embriyonik yapının gelişimi ile sinir sistemi ve morfogenezde rol oynar.	Berihulay ve diğ., 2019
DSCAML1		Erkeklerde sperm hareketliliği ve yoğunluğu ile, dişi keçilerde ise ilk doğum yavru sayısı ile ilişkilidir.	Wang ve diğ., 2020

Sonuç olarak, keçilerde üreme özellikleriyle ilişkili genlerin ve aday genlerin belirlenmesine yönelik birçok araştırma yapılmıştır (Getaneh ve Alemayehu, 2022). Son yıllarda, keçilerde üreme performansını etkileyen genetik faktörlerin anlaşılması konusunda önemli ilerlemeler kaydedilmiştir. Bu süreçte, KISS1 ve KITLG gibi aday genler, üreme mekanizmalarındaki kritik rollerinden dolayı bilimsel camiada giderek daha fazla ilgi görmektedir.

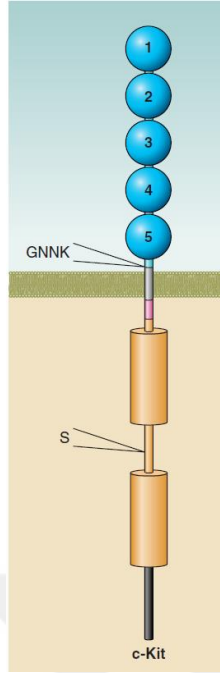
1.1 KITLG Geni

KIT ligand (KITLG), KITLG (ayrıca steel olarak da bilinir) geni tarafından kodlanan, ovaryum fonksiyonlarında birçok rolü olduğu düşünülen yerel bir faktördür (Yoshida ve diğ., 1997a). Şu ana kadar incelenen tüm türlerde, KITLG mRNA ifadesi foliküllerde granüloza hücrelere lokalize olmuştur (Motro ve Bernstein, 1993). KIT geni, tip III transmembran tirozin kinaz reseptörleri ailesine ait bir reseptörü (KIT) kodlamaktadır. KIT reseptörü için tek ligand, kök hücre faktörü (SCF) olarak da adlandırılan KIT ligandıdır (KITLG) (Ronnstrand, 2004). SCF ifadesinin gen düzeyinde düzenlenmesi oldukça karmaşıktır. Bedell ve diğerleri (1996), SCF'nin gen yapısını tanımlamışlardır. mRNA'yı kodlayan SCF, kısa bir 5' çevrilmemiş bölge, 0,8 bç'lik bir açık okuma çerçevesi ve uzun bir 3' çevrilmemiş bölgeden oluşmaktadır. 5' bölgesinde, üçüncüsünün çeviri başlatma bölgesine hizmet ettiği üç ATG motifi bulunmaktadır. Transkripsiyon başlatma bölgelerinin yukarı akışında yirmi sekiz baz, bir TATA kutusu konsensüs dizisi (TATAAA) ve üç örtüşen GGCGGG motifi bulunmaktadır. Bunlar, sırasıyla transkripsiyon faktörleri Transkripsiyon Faktörü II D ve Specificity Protein 1 için bağlanma bölgeleri olmaktadır (Treff ve diğ., 2004).

KITLG'nin zara bağlı iki formu olan KL-1 ve KL-2, çözünebilir bir KITLG formu üretebilmektedirler (Driancourt ve diğ., 2000). Keçilerde, KITLG proteini ve mRNA'sı foliküler gelişimin tüm aşamalarında granüloza hücrelerinde ifade edilmekte ve KITLG/c-kit

sistemi, folikülogenezis ve luteal aktivite gibi süreçlerde önemli roller üstlenmektedir (Silva ve diğ., 2006a). Hayvan modelleri üzerinde yapılan araştırmalar, granüloza hücresinden türetilen KITLG'nin, oosit ve teka hücresinden türetilen KIT ile etkileşiminin, primordial germ hücrelerinin yumurtalık içinde yerleşimi, primordial folikül aktivasyonu, oositin hayatta kalması ve büyümesi, granüloza hücre çoğalması, teka hücresi alımı ve mayotik arrestin sürdürülmesi gibi kritik olaylarda etkili olduğunu göstermektedir (Hutt ve diğ., 2006a). Ayrıca, elde edilen kanıtlar, KITLG/KIT sisteminin folikül gelişiminin ileri aşamalarında da önemli olduğunu ortaya koymaktadır; preantral foliküllerin antral foliküllere dönüşümü, KITLG'nin çeşitli türlerde üreme fonksiyonlarını düzenlemede kilit bir role sahip olduğunu düşündürmektedir (Knapczyk-Stwora ve diğ., 2013; An ve diğ., 2015). Knock-in fare modellerinde yapılan araştırmalarda, c-Kit'in PI3-kinaz p85 alt birimi için bağlanma bölgesi olan Y719F mutantını taşıyan farelerde, PI3-kinaz aktivasyonunun bozulduğu ve bunun sonucunda erkek kısırlılığının geliştiği gösterilmiştir (Blume-Jensen ve diğ., 2000; Kissel ve diğ., 2000).

Kissel ve diğ. (2000) yaptıkları çalışmada, aynı mutasyonu taşıyan dişi farelerde de azalmış doğurganlık tespit etmişlerdir. Bu bulgular, c-Kit'in oogenez, folikülogenez ve spermatogenez süreçlerinde kritik bir rol oynadığını göstermektedir. c-Kit'in üreme hücrelerindeki fonksiyonu, doğrudan PI3-kinaz aktivasyon yeteneğine sıkı sıkıya bağlıdır. Dikkat çekici bir nokta, bu mutant farelerin başka herhangi bir fenotip sergilemiyor olmasıdır. Bu durum, PI3-kinazın reseptöre doğrudan bağlanma yetisinin kaybını kompanse edebilecek alternatif mekanizmaların varlığına işaret etmektedir. Muhtemel bir kompenzasyon mekanizması, PI3-kinazın tirozin ile fosforillenmiş GAB2'ye bağlanarak aktive edilmesi olabilir. Nitekim hematopoietik Ba/F3 hücrelerinde yapılan çalışmalar, PI3-kinaz aktivasyonunun hem c-Kit'teki Y721 kalıntısına doğrudan bağlanmaya hem de fosforillenmiş GAB2'ye bağlanmaya bağımlı olduğunu göstermektedir (Sun ve diğ., 2008). c-Kit reseptörü, tip III reseptör tirozin kinazdır ve trombosit kaynaklı büyüme faktörü reseptörleri, makrofaj koloni uyarıcı faktör reseptörü ve Flt3 ile yakından ilişkilidir. Sınıf III reseptör tirozin kinazları, beş immünoglobulin benzeri alanın varlığı ve kinaz alanının ortasında bulunan 70-100 amino asitlik bir kinaz ek dizisinin varlığı ile karakterize edilmektedir (**Şekil 1-1**) (Lennartsson ve Rönnstrand, 2012).



Hücre dışı bölge (Ig benzeri bölgeler 1–5)

Transmembran bölge

Juxtamembran bölge

Bölünmüş tirozin kinaz bölgesi
(kinaz ek parçası ile)

Karboksiterminal kuyruk bölgesi

Şekil 1.1: c-Kit yapısal bölgelerinin şematik gösterimi (Lennartsson ve Rönnstrand, 2012)

Hücre dışı bölgenin ilk üç immünoglobulin (Ig) benzeri alanı, kök hücre faktörüne (SCF) bağlanırken, Ig-benzeri 4. ve 5. alanlar dimerizasyon sürecine katılmaktadırlar (Lennartsson ve Rönnstrand, 2012). c-Kit'teki ilk üç Ig benzeri bölge, SCF'nin sıkı bir şekilde bağlanmasına izin vermek için tamamlayıcı bir şekle ve yüke sahip olmakta ve birbirlerine bağlandıktan sonra, önemli yapısal değişiklikler meydana gelmemektedir (Yuzawa ve diğ., 2007). Hücre içi bölge, bir ek bölge ile iki parçaya ayrılmış bir tirozin kinaz alanı içermektedir. Plazma zarı ile kinaz bölgesinin başlangıcı arasında yer alan yaklaşık 30 amino asitlik bölge, 'juxtamembran alanı' olarak adlandırılmakta ve düzenleyici bir işlev görmektedir. Son 50 amino asit, COOH-terminal kuyruğunu oluşturmaktadır. Juxtamembran, kinaz ek bölgesi ve COOH-terminal kuyruğu tirozin tarafından fosforillendiğinde, sinyal iletim proteinleriyle etkileşime girmektedir. c-Kit'in dört farklı eklem (splice) formu, plazma zarının hemen dışında bulunan dört amino asitlik Gly-Asn-Asn-Lys (GNNK) sekansının varlığına veya yokluğuna göre karakterize edilmektedir (Lennartsson ve Rönnstrand, 2012).

Büyüme faktörü reseptörlerinin aktivasyonu evrensel olarak monomerik reseptör moleküllerinin dimerizasyonunu veya oligomerizasyonunu gerektirmektedir (Lemmon ve Schlessinger, 2010). Bazı durumlarda dimer liganddan bağımsız olarak oluşmaktadır (örn.

insülin ve insülin benzeri büyüme faktörü reseptörleri), ancak en sık dimerizasyon ligand bağlanmasıyla tetiklenmektedir (Lennartsson ve Rönnstrand, 2012).

c-Kit aktivasyonunun kinetiği hızlı olmakla birlikte dimerler ligandın eklenmesinden birkaç dakika sonra tespit edilebilmektedir (Broudy ve diğ., 1998). c-Kit, ATP bağlanma ve aktif bölgesi ara yüzeyde bulunan klasik bir kinaz yapısına sahiptir ve iki lobdan oluşmaktadır. İnaktif durumda, juxtamembran bölgesi bir saç tokası şeklinde kıvrılarak (hairpin loop) aktif bölgeye girmekte, düzenleyici α C-sarmalı ve ATP bağlanma P-loop'unu bozarak kinaz aktivitesini baskılamaktadır. c-Kit'in dimerizasyon süreci, ligand tarafından tetiklenen dimerizasyonla gerçekleşmekte ve bu süreç, iki yakın reseptör molekülündeki immünoglobulin (Ig)-benzeri 4. ve 5. alanlar ile muhtemelen transmembran bölgeler arasındaki etkileşimlerle daha da stabilize edilmektedir. Dimer içinde iki kinaz bölgesinin yakınlığı, transfosforilasyonun gerçekleşmesini sağlamaktadır. İlk olarak, fosforilasyon juxtamembran bölgesinde meydana gelmekte ve bu bölgenin inaktif durumda üstlendiği oto-inhibisyon konformasyonunu ortadan kaldırmaktadır. Daha sonra, otofosforilasyon diğer tirozin kalıntılarındaki belirli bir düzen içinde ilerlemektedir. Aktivasyon halkasındaki tirozin kalıntısının c-Kit içindeki rolü tam olarak netleşmemiştir; ancak kinaz bölgesinin aktivasyonu için gerekli olmamakla birlikte, aktif konformasyonun stabilizasyonuna katkıda bulunabilmektedir (Lennartsson ve Rönnstrand, 2012).

c-Kit'in aşağı akış sinyal iletimi ile ilgili bilgilerimizin çoğu hücre hattı çalışmalarına dayanmaktadır. Ancak, transgenik fare modelleri, spesifik sinyal moleküllerinin nokta mutasyonları (knock-out) veya c-Kit'te belirli tirozin kalıntılarının fenilalanin ile değiştirilmesi gibi genetik yaklaşımlar sayesinde c-Kit'in fizyolojik işlevi hakkında daha ayrıntılı veriler elde edilmiştir. Bununla birlikte, bu yolların fizyolojik bağlamda rolünü tam olarak anlamak için daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır (Lennartsson ve Rönnstrand, 2012).

1.2 KISS1 Geni

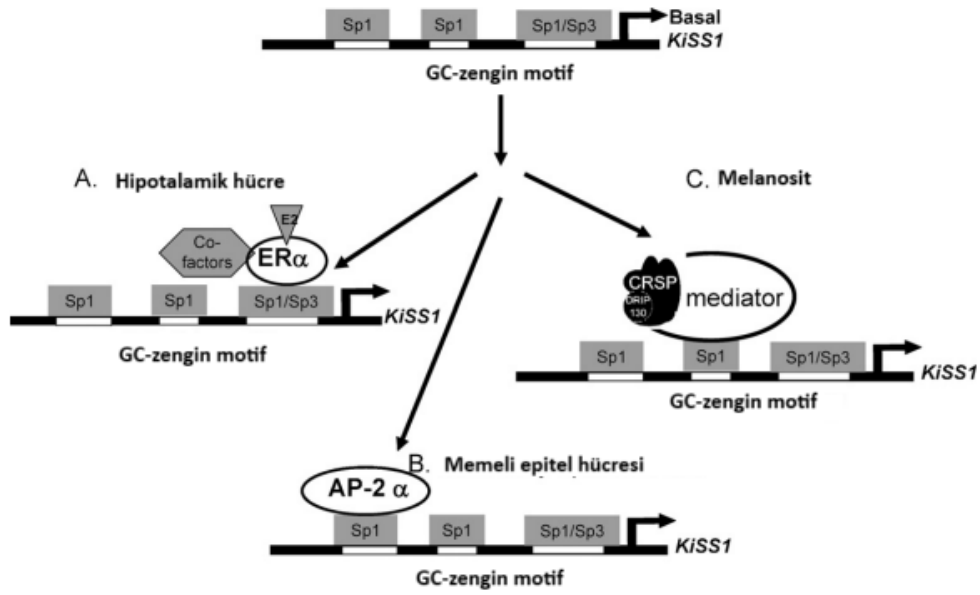
Kisspeptin / G-protein bağlı reseptör 54 (GPR54) yolunun, pubertal gelişim ve üreme fonksiyonunun ana düzenleyicisi olarak kabul edildiği bilinmektedir. Bugüne kadar, hayvanlarda üreme özellikleri için aday gen olarak KISS1 geni üzerine çalışmalar yapılmıştır (West ve diğ., 1998). Hipotalamustaki KISS1 nöronları, üreme olgunlaşmasının ve fonksiyonunun önemli yönlerine katkıda bulunmaktadır; bu yönler arasında beyin düzeyinde cinsiyet ayrımı, ergenlik başlangıcı ve gonadotropin salınımı ile ovulasyonun nöroendokrin düzenlenmesi yer almaktadır (Caraty ve diğ., 2010).

KISS1 geni, kisspeptinler olarak bilinen bir peptit ailesini kodlamaktadır; bu peptitler, GPR54 adlı G proteinine bağlı reseptörün endojen ligandları olarak görev yapmaktadırlar (Kotani ve diğ., 2001; Muir ve diğ., 2001). Kisspeptinler ve GPR54'ün gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH) ve gonadotropin salgılanmasının düzenlenmesinde kritik bir rol oynadığı düşünülmektedir (Smith ve diğ., 2006b). Kisspeptinler, hipotalamik GnRH / Luteinleştirici Hormon (LH) salınımını uyarmakta, kuvvetle muhtemeldir ki GnRH nöronları üzerinde doğrudan etkili olarak, bu nöronlar GPR54 ekspresyonu göstermektedirler (Irwig ve diğ., 2005). Memelilerde, KISS1 geni özellikle hipotalamusun arkuatik çekirdeği (ARC) ve anteroventral periventriküler çekirdek (AVPV) tarafından eksprese edilmektedir. Bu bölgeler, periventriküler çekirdek (PeN) de dahil olmak üzere, KISS1 nöronlarının yoğun olarak bulunduğu alanları oluşturmaktadır (Gottsch ve diğ., 2004; Irwig ve diğ., 2005; Shahab ve diğ., 2005; Smith ve diğ., 2005). KISS1 nöronları, AVPV ve ARC bölgelerinde östrojen reseptörü alfa (ER α) ekspresyonu göstermektedir. Gonadal steroidler, ARC'de KISS1 ekspresyonunu baskımlarken, AVPV'de bu ekspresyonu artırarak düzenleyici bir rol oynar (Irwig ve diğ., 2005; Navarro ve diğ., 2004; Smith ve diğ., 2005). ARC'deki KISS1 popülasyonunun cinsiyet steroidleri tarafından baskılanması, bu popülasyonun her iki cinsiyetin de bazal pulsatif GnRH salgılanmasındaki gonadal cinsiyet steroidlerinin negatif geri bildirim etkilerinin aracılığında bir rol oynadığı hipotezini desteklemektedir. Öte yandan, AVPV/PeN KISS1 nöronlarının cinsiyet steroidleri tarafından uyarılması, bu popülasyonun, yalnızca dişilerde meydana gelen preovulatr LH artışının, yani östradiol (E2) ile pozitif geri bildirim indüksiyonunun aracılığında yer aldığını düşündürmektedir (Semaan ve Kauffman, 2013). Daha ileri çalışmalar, GPR54'ün GnRH salınımı yapan nöronlarla birlikte hipotalamusta lokalize olduğunu ve kisspeptinlerle uyarılarak aktive olduğunu ortaya koymaktadır (Irwig ve diğ., 2005; Kinoshita ve diğ., 2005). Dahası, farklı türlerde kisspeptinlerin merkezi ve periferik uygulanması, hipotalamus-hipofiz-gonad (HPG) aksındaki GnRH'nun doğrudan aşağı akış hedefleri olan ve üreme fonksiyonlarını kontrol eden hipofiz hormonlarının (Luteinleştirici Hormon ve Folikül Uyarıcı Hormon (FSH)) plazma konsantrasyonlarını artırmıştır (Gottsch ve diğ., 2004; Matsui ve diğ., 2004; Navarro ve diğ., 2005a; Navarro ve diğ., 2005b; Shahab ve diğ., 2005). Çünkü KISS1, GnRH'nin yukarı akış sinyali olup pubertenin başlangıcını tetiklemektedir, bu nedenle pubertal KISS1 ekspresyonunun pubertenin başlangıcında rol oynayan diğer faktörler tarafından nasıl düzenlendiğini açıklamak önemli olmaktadır (Li ve diğ., 2009).

Mevcut literatürde, KISS1 geninin keçi üremesi üzerindeki etkilerine ilişkin çalışmalar oldukça sınırlıdır. KISS1'in ergenlik başlangıcı düzenleyicisi olarak önemli olması nedeniyle,

bu genin polimorfizmlerinin keçilerde yüksek üretkenlik, erken ergenlik ve yıl boyu östrus fenotipleri gibi bazı üreme özellikleri ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir (Sharma ve diğ., 2013a). Aynı zamanda, Smith ve diğ. (2006b), koyun hipofiz hücre fraksiyonlarında GPR54'ün ifade edildiğini ve kisspeptin tedavisinin, östrus döngüsünün foliküler evresindeki koyunlardan izole edilen birincil kültürlenmiş hipofiz hücrelerinden ortamdaki LH konsantrasyonunu artırdığını bulmuşlardır (Smith ve diğ., 2008).

Kisspeptinlerin minimal aktif formu metastinin son 10 amino asidinden oluşan Kisspeptin-10 (KP-10)'dur ve bu form, insan ve farede %90 oranında benzerlik göstermektedir (Stafford ve diğ., 2002). KP-10'un kodlayan bölgesi yüksek derecede korunmuş olmasına rağmen, 5' flanking düzenleyici bölgeler türler arasında farklılık göstermektedir. İnsanlar ve fareler ya da sıçanlar arasında bulunan dizi korunumunun bölgeleri, bir dizinin (örneğin bir promotör dizisi) evrimsel süreçte korunarak önemli bir moleküler işlevi yerine getirip getiremeyeceğini belirlemede yaygın olarak kullanılmaktadır (Mitchell ve diğ., 2006). KISS1 promotörünün proksimal 600 bp'lik dizisi korunmuş olup, yaklaşık %50 homoloji göstermektedir. Bu bölge, birden fazla GC-zengin element içermekte olup, Specificity Protein 1 (Sp1) ailesi proteinleri için potansiyel bağlanma bölgeleri oluşturmaktadır (**Şekil 1.2**). Sp protein ailesinin üyeleri, GC-zengin elementlere bağlanarak gen ekspresyonunu düzenleyen yaygın olarak eksprese edilen transkripsiyon faktörleridir (Navarro ve diğ., 2007). Sp proteinleri, hipotalamus, hipofiz ve meme dokusunda geniş çapta tespit edilmiştir. Sp1 ve Sp3, Sp protein ailesine ait yapısal olarak benzer transkripsiyon faktörleridir ve iki proteinin oranına bağlı olarak hedef genlerin aktivasyonu veya baskılanması dimerleşme yoluyla gerçekleşmektedir (Li ve diğ., 2009).



Şekil 1.2: Sp1 aracılığıyla KISS1 transkripsiyonunun düzenlenmesine dair şematik bir model: Normal şartlar altında, Sp1 ve Sp3 proteinleri, promotörün GC-zengin motifine bağlanarak dimerler oluşturmakta ve böylece KISS1 ifadesinin stabil bir şekilde artmasını sağlamaktadır. (A) Östrojen (E2) etkisiyle ER α aktifleşmekte ve kofaktörlerle etkileşime girerek KiSS-1 ekspresyonunu artırabilmekte veya baskılayabilmektedir. (B) Melanositlerde, DRIP130'un bozulması KiSS-1 ekspresyonunun kaybına ve metastatik melanomda tümör baskılamanın ortadan kalkmasına yol açmaktadır. (C) Benzer şekilde, AP-2 α 'nın azalması veya kaybı, metastatik meme kanserinde KiSS-1 ekspresyonunun düşmesine neden olabilmektedir. (Li ve diğ., 2009).

Genetik araştırmalara göre, KISS1 geninin keçilerde önemli bir doğurganlık geni olduğu düşünülmektedir. KISS1 genindeki polimorfizmler, daha yüksek yavruleme sayısı ile ilişkilendirilmiştir (Cao ve diğ., 2010; An ve diğ., 2013). Keçilerde KISS1 geni kromozom 16'da yer almaktadır. KISS1 geni, iki kodlayıcı bölge (ekzon) ve bir tek kodlamayan bölge (intron) içeren, 408 baz çifti uzunluğunda bir transkript olup, 135 amino asit kodlamaktadır. Bu genin uzunluğu yaklaşık olarak 2,62 kilo bazaldır (Febriana ve diğ., 2022a). Bu gen, GPR54'ü aktive eden kisspeptin adlı nöropeptid ailesini kodlamaktadır (Harter ve diğ., 2018; Yeo ve Colledge, 2018; Ohtaki ve diğ., 2001).

Bu çalışma, keçilerde doğurganlıkla ilişkili genetik varyantların belirlenmesi açısından önemli bir başlangıç noktası sunmaktadır. Aday genlerin uygun alellerinin seçimi, yüksek döl verimliliğine sahip keçi hatlarının geliştirilmesinde etkili bir strateji olarak öne çıkmaktadır.

Özellikle yerli keçi ırkları olan Kıl, Tiftik ve Kilis keçilerinde, doğurganlıkla ilişkili genetik faktörlerin anlaşılması; sürdürülebilir hayvancılık uygulamaları, üretim verimliliğinin artırılması ve genetik çeşitliliğin korunması açısından büyük önem taşımaktadır. Bu doğrultuda, çalışmada döl verimi ilişkili aday genlerden KITLG ve KISS1'de yer alan varyantların bu ırklardaki dağılımı analiz edilmiş; söz konusu varyantların yavru verimi üzerindeki potansiyel etkileri incelenmiştir. Ayrıca, daha önce farklı keçi ırklarında bildirilen mutasyonların bu üç yerli ırkta bulunup bulunmadığı araştırılmış; varyantların doğurganlıkla olan istatistiksel ilişkisi değerlendirilmiş ve KITLG–KISS1 gen kombinasyonlarının muhtemel epistatik etkileri ele alınmıştır.

Bununla birlikte, genotip-fenotip ilişkilerinin daha doğru ve güvenilir şekilde ortaya konabilmesi için, farklı çevresel ve yönetimsel koşullarda, daha geniş popülasyonlar üzerinde benzer çalışmaların yürütülmesi gereklidir. Çalışmada yer alan genetik varyantlar ve bu varyantların fizyolojik etkileri, yalnızca morfolojik değişiklikler veya doğurganlık düzeyiyle sınırlı kalmamalıdır. Ayrıca, bu varyantların bireylerin çevresel koşullarına, beslenme durumlarına veya stres faktörlerine nasıl tepki verdiği gibi etkileşimsel süreçler de incelenmelidir. Bu tür detaylı bir inceleme, genetik faktörlerin çevresel faktörlerle nasıl etkileşime girdiğini ve buna bağlı olarak nasıl bir fenotipik değişim yarattığını daha iyi anlamamıza olanak tanıyacaktır. Bu genetik temellerin daha ayrıntılı bir şekilde açıklanması, sonuçların genetik seleksiyon uygulamalarına daha doğrudan yansınmasını sağlayacak ve yerli keçi ırklarında verimliliği artırmaya yönelik ıslah çalışmalarına katkıda bulunacaktır. Ayrıca, elde edilen genetik belirteçlerin yalnızca varlığı değil, fonksiyonel etkileri de önem taşımaktadır. Bu bağlamda, söz konusu genetik varyantların transkriptomik düzeydeki etkilerinin araştırılması, gen ekspresyon profillerinin incelenmesi ve epigenetik düzenleme mekanizmalarının aydınlatılması, doğurganlıkla ilişkili biyolojik yolların daha bütüncül bir şekilde anlaşılmasını sağlayacaktır. Nihai hedef, bu moleküler bilgilerin hayvan ıslah programlarında etkin biçimde kullanılması ve yerli keçi ırklarının genetik potansiyelinin verimli ve sürdürülebilir bir şekilde değerlendirilmesidir.

Bu tezin temel amacı, Türkiye'ye özgü yerli keçi ırklarında (Kıl, Tiftik ve Kilis) KISS1 ve KITLG genlerine ait belirli tek nükleotid polimorfizmlerinin (SNP) moleküler düzeyde belirlenmesi ve bu polimorfizmlerin ırklar arasındaki genotip ve allel dağılımlarının tanımlanmasıdır.

2. KAVRAMSAL ÇERÇEVE

2.1. Keçilerde Genetik Verimlilik Üzerine Yapılan Çalışmalar: Doğurganlık, Süt ve Et Verimi, Kıl Üretimi ve Genetik İyileştirme Yöntemleri

Keçilerde genetik kapasite, ekonomiye katkı sağlayan temel üretim özelliklerinin iyileştirilmesi amacıyla yürütülen yoğun çalışmalarla gündeme gelmiştir. Bu çalışmalar, doğurganlık, et verimi, süt verimi, kıl üretimi gibi keçi yetiştiriciliğinde önemli ekonomik parametrelerin genetik olarak optimize edilmesini hedeflemektedir. Türkiye'de ve dünya çapında, genetik seleksiyon ve moleküler biyoteknoloji yöntemleri kullanılarak bu özelliklerin iyileştirilmesi için önemli adımlar atılmaktadır. Aşağıda, keçilerde yürütülen başlıca genetik verimlilik çalışmaları özetlenmiştir.

2.1.1. Doğurganlık Özellikleri ve Genetik Seçim

Keçilerde doğurganlık, verimliliği doğrudan etkileyen önemli bir özellik olup, doğurganlık oranlarının iyileştirilmesi, süt ve et verimi ile birlikte ekonomik üretimin artırılmasında kritik bir rol oynamaktadır. Doğurganlık, östrus döngüsü, ovulasyon oranı, doğum oranı gibi birçok faktöre bağlı olarak genetik bir temele sahiptir. Bu nedenle, doğurganlıkla ilişkili genlerin araştırılması, bu özelliklerin seleksiyonla iyileştirilmesinde önemli bir adım olmaktadır.

Keçilerde doğurganlıkla ilişkilendirilen genetik markörlerden bazıları Kisspeptin-1 (KISS1), Kit Ligand (KITLG), Growth Differentiation Factor 9 (GDF9) ve Bone Morphogenetic Protein 15 (BMP15) genleridir. Özellikle KISS1 ve KISS1R genlerinin, GnRH salınımını düzenleyerek doğurganlık üzerinde önemli etkiler oluşturduğu gösterilmiştir. KITLG geninin de folikül gelişimi ve germ hücreleri üzerindeki etkileri nedeniyle doğurganlıkla ilişkilendirildiği bildirilmiştir (Wang ve diğ., 2019). Bu genlerin keçilerde araştırılması, doğurganlık oranlarının artırılması amacıyla genetik seleksiyon stratejilerinin geliştirilmesine olanak sağlamaktadır.

2.1.2. Süt Verimi ve Genetik İyileştirme

Süt üretimi, keçi yetiştiriciliğinde doğrudan ekonomik gelir sağlayan temel verim özelliklerinden biridir. Süt verimini etkileyen başlıca faktörler; laktasyon süresi, meme yapısı,

hormon düzeyleri, beslenme durumu ve genetik yapıdır. Bu faktörler arasında genetik yapı, kalıcı verim artışı sağlanmasında kritik öneme sahiptir (Mavrogenis ve diğ., 2006).

Keçilerde süt verimiyle ilişkili başlıca aday genler arasında Prolaktin (PRL) ve Büyüme Hormonu (GH) genleri öne çıkmaktadır. PRL geni, süt salgısını başlatan ve sürdüren prolaktin hormonunu kodlamakta; GH geni ise meme bezlerinin gelişimini ve süt sentezinde yer alan metabolik süreçleri düzenlemektedir (Akers, 2002). Bu genlerin ekspresyon düzeyleri ve yapısal varyasyonları, süt verimindeki bireysel farklılıklara etki edebilmektedir. Son yıllarda, bu genlerdeki tek nükleotid polimorfizmlerinin (SNP) süt verimiyle olan ilişkisi çeşitli çalışmalarda ortaya konmuştur. Örneğin Viitala ve diğ. (2006), GH geni üzerindeki polimorfizmlerin süt miktarı ve yağ içeriğini etkileyebileceğini göstermiştir. Türkiye'ye özgü Kilis keçilerinde yapılan daha güncel bir çalışmada ise, POU1F1, PRLR ve β -Lg genlerindeki SNP'lerin süt verimi üzerinde anlamlı etkileri olduğu bildirilmiştir (Gündüz ve Biçer, 2023).

Bu bağlamda, genetik markerlara dayalı seleksiyon uygulamaları süt veriminin artırılmasında etkili bir araç olarak değerlendirilmektedir. Çalışmamızın odağında bulunan KISS1 ve KITLG genleri doğrudan süt verimiyle ilişkili olmamakla birlikte, doğurganlık ile süt verimi arasındaki dolaylı ilişki göz önüne alındığında, bu genlerin de genetik iyileştirme programlarında değerlendirilmeye alınması gerekliliğini göstermektedir.

2.1.3. Et Verimi ve Genetik Seçim

Et üretimi, keçi yetiştiriciliğinde hem etçi ırkların değerlendirilmesi hem de melezleme programlarının planlanması açısından önemli bir verim özelliğidir. Et verimini etkileyen temel unsurlar arasında canlı ağırlık artışı, karkas randımanı, kas gelişimi ve yağ dağılımı yer almaktadır. Bu özelliklerin büyük bölümü genetik olarak belirlenmekte ve genetik varyasyonlar, et verimini artırmak amacıyla kullanılabilir.

Keçilerde et verimiyle ilişkili en dikkat çekici genlerden biri Myostatin (MSTN) genidir. Bu gen, kas hücrelerinin çoğalmasını ve büyümesini negatif yönde düzenleyen bir büyüme faktörüdür. MSTN geninde meydana gelen mutasyonlar veya polimorfizmler, kas kitlesinin artmasına neden olabilmektedir (McPherron ve diğ., 1997). Bu durum, özellikle et verimi yönünden seleksiyonda değerlendirilebilecek önemli bir genetik mekanizma sunmaktadır.

Ayrıca Callipyge, LEP (Leptin) ve CAST (Calpastatin) gibi diğer aday genler de keçilerde kas gelişimi, etin yumuşaklığı ve yağ kompozisyonu gibi özellikleri etkileyebilmektedir (Zhou ve diğ., 2018). Bu genlerdeki SNP'ler, karkas kalitesi ve et randımanı açısından genetik belirteç olarak değerlendirilmektedir.

Çalışmamızın odak noktası olan KISS1 ve KITLG genleri, doğrudan et verimiyle ilişkili olmamakla birlikte, bu genlerin üreme kapasitesi üzerindeki etkileri nedeniyle dolaylı olarak büyüme ve vücut kompozisyonu üzerinde etkili olabileceği düşünülmektedir. Özellikle puberte yaşı ve hormonal regülasyon, et verimiyle ilişkili büyüme evrelerini etkileyebilmektedir.

2.1.4. Kıl ve Yün Verimi

Keçiler, süt ve et üretiminin yanı sıra, lif üretimi yönünden de değerlendirilen çok yönlü hayvanlardır. Özellikle Tiftik keçisi, ince ve parlak lif üretimiyle tanınmakta ve bu yönüyle tekstil endüstrisinde yüksek ticari değere sahip olmaktadır. Türkiye, dünya tiftik üretiminde tarihsel olarak önemli bir konuma sahiptir. Kıl ve tiftik verimi; lif uzunluğu, inceliği, dayanıklılığı ve parlaklık gibi birçok kalite kriterine bağlı olmaktadır.

Lif üretimi genetik olarak kontrol edilen bir özelliktir. Bu bağlamda, keratin gen ailesi ve özellikle KAP (Keratin Associated Protein) genleri, kıl ve tiftik liflerinin yapısal temelini oluşturmaktadırlar. Bu genlerdeki polimorfizmler, lif kalitesi ve üretim miktarı üzerinde belirleyici olabilmektedir (Ryder ve diğ., 2001). Örneğin KRTAP6-1, KRTAP8-1 gibi genlerin ekspresyon düzeyi ile lif uzunluğu ve mukavemeti arasında korelasyon bulunmuştur (Li ve diğ., 2021).

Ayrıca hormon düzeylerinin mevsimsel tüy dökümünü ve folikül döngüsünü etkilediği bilinmektedir. Bu bağlamda, KISS1 ve KITLG genleri, doğrudan lif üretimini etkilemeseler de üreme hormonları üzerinden mevsimsel döngülerin düzenlenmesi yoluyla dolaylı etkiler yaratabilmektedirler. Bu genlerin ekspresyon profillerinin, kıl folikülü aktivitesiyle örtüşen dönemlerde değişim gösterdiği bazı çalışmalarda gözlenmiştir.

2.1.5. Genetik İyileştirme Yöntemleri ve Seçim Programları

Geleneksel hayvan ıslahında, fenotipik özelliklerin gözlenmesi ve soy kütüğü bilgilerinin değerlendirilmesi yoluyla seçim yapılmaktaydı. Ancak bu yöntemler, özellikle düşük kalıtsal özellikler için yetersiz kalmakta ve verim artışını sınırlamaktadır. Bu nedenle modern hayvancılıkta, genetik markerlara dayalı seleksiyon yöntemleri ön plana çıkmıştır.

En yaygın uygulamalardan biri olan marker-assisted selection (MAS), belirli özelliklerle ilişkili tek nükleotid polimorfizmlerinin (SNP) tespiti ve bu markerlar üzerinden seleksiyon yapılmasına dayanmaktadır. Örneğin doğurganlık, süt verimi veya kas gelişimi gibi karmaşık özelliklerle bağlantılı olan genetik varyasyonlar, bireylerin taşıdığı genotipe göre seçilmesine imkân tanımaktadır (Dekkers, 2004).

Daha ileri bir yaklaşım olan genomik seleksiyon (genomic selection-GS) ise tüm genom çapında genotiplendirme ve fenotipleme verilerini kullanarak bireylerin toplam genetik değerini tahmin etmektedir. Bu yöntem, ilk olarak Meuwissen ve diğ. (2001) tarafından önerilmiş ve hayvan ıslahı alanında genetik ilerlemeyi hızlandıran çığır açıcı bir strateji olarak kabul edilmiştir.

Türkiye’de bu tür moleküler ıslah tekniklerinin yaygınlığı henüz sınırlı olmakla birlikte, yerli ırkların korunması ve verimliliklerinin artırılması amacıyla bu yöntemlerin potansiyeli oldukça yüksektir. Özellikle KISS1 ve KITLG gibi doğurganlıkla ilişkili genlerde saptanan polimorfizmler, MAS temelli ıslah programlarında genetik belirteç (marker) olarak değerlendirilebilecek niteliktedir.

Bu çalışmada elde edilen genetik varyasyon bilgileri, ileride damızlık seçiminde veya ırk ıslah projelerinde kullanılabilecek bilimsel verilerin oluşturulmasına katkı sağlayacaktır.

2.1.6. Keçilerde Genetik Sağlık ve Dayanıklılık Çalışmaları

Hayvansal üretimde yüksek verimin yanı sıra, hastalık direnci, çevresel strese tolerans ve metabolik denge gibi sağlıkla ilişkili özellikler de sürdürülebilir yetiştiricilik açısından kritik öneme sahip olmaktadır. Bu özelliklerin önemli bir bölümü genetik temele dayanmakta ve bu nedenle sağlıkla ilişkili genetik işaretçilerin belirlenmesi, modern seleksiyon programlarında değerlendirilmektedir.

Keçilerde paraziter hastalıklara direnç, solunum yolu enfeksiyonlarına duyarlılık ve metabolik bozukluklara karşı tolerans gibi özellikler üzerinde yapılan çalışmalar, bazı genlerin bu konularda belirleyici olabileceğini göstermektedir. Özellikle Major Histocompatibility Complex (MHC), Toll-like receptor (TLR) gen ailesi, SCD (stearyl-CoA desaturase) ve BoLA-DRB3 gibi genlerin bağışıklık sistemi tepkilerinde rol oynadığı bildirilmiştir (Anderson ve diğ., 2012).

Yerli keçi ırkları, Türkiye'nin çeşitli ekolojik bölgelerine adaptasyonları sayesinde genetik olarak dayanıklı bireyler sunabilmektedir. Bu doğal direnç özellikleri, ıslah programlarında korunması ve desteklenmesi gereken genetik mirasın bir parçasıdır.

Çalışmamızın temelini oluşturan KISS1 ve KITLG genleri doğrudan bağışıklıkla ilişkili olmamakla birlikte, hormonal sistem üzerinden üreme-bağışıklık eksenini üzerinde etkili olabilmektedirler. Özellikle KISS1 geninin GnRH ve LH/FSH üzerinden hormonal dengeyi düzenlemesi, stres, enerji dengesi ve dolaylı olarak immün sistem üzerinde etkiler yaratabilmektedir.

Bu bağlamda, üreme genlerinin sadece doğurganlık açısından değil, sağlıkla ilişkili fizyolojik süreçler üzerindeki etkileri de dikkate alınmalı ve ıslah programlarında bütüncül bir yaklaşım benimsenmelidir.

2.2. Kıl, Tiftik ve Kilis Keçileri

Arkeolojik kanıtlar çerçevesinde yaklaşık olarak 10.000 yıl önce Orta Doğu'da evcilleştirildiği tahmin edilen keçinin *Capra prisca adamets* (kılıç boynuzlu), *Capra falcomeri* (burgu boynuzlu) ve *Capra aegagrus* (hilal boynuzlu) olmak üzere üç yabancı keçi türünden türediği kabul edilmektedir (Özcan, 1989; Getaneh ve Alemayehu, 2022).

Keçi yetiştiriciliği, genellikle gelişmemiş veya az gelişmiş olan ülkelerde geleneksel yöntemlerle yapılmaktadır. Bu alışkanlık, ormanlık ve kırsal alanlarda yaşayan düşük gelirli aileler için önemli bir geçim kaynağı sağlamaktadır. Keçi yetiştiriciliğinin başlıca özelliği, elverişsiz alanlarda (dağlık, taşlık ve fundalık arazilerde) hayvansal ürünlerin elde edilmesine olanak sağlamasıdır (Sönmez, 1974; Şengonca ve Kaymakçı, 1982; Kaymakçı ve diğ., 2005a, b).

Ülkemizde kıl keçisi ve tiftik keçisi yetiştiriciliği yaygın olarak yapılmaktadır. Bunlar arasında en çok yetiştirilen ırk %96'lık oranla kıl keçisi (*Capra hircus* L.) (**Şekil 2.1**) olmakta (Özder, 1997) ve yaygın olarak Ege, Akdeniz ve Güneydoğu Anadolu bölgelerinde yetiştirilmektedirler (Ocak ve diğ., 2007). Kıl keçileri, olumsuz bakım koşullarında dahi yetiştirilebilen, hastalıklara karşı oldukça dirençli, iklim farklılıklarına karşı dayanıklı, sağlam vücut yapılarına sahip bir ırk olmasından dolayı Anadolu'nun her türlü iklim ve arazi koşullarına uyum sağlayabilmiştir. Fundalık ve makiliklerden en iyi faydalanabilen, kötü arazi

koşullarını kullanabilen bir ırktır (Türkiye Evcil Hayvan Genetik Kaynakları, 2009). (Tablo 2.1).



Şekil 2.1: Kıl Keçisi

(Kaynak: Et ve Süt Kurumu)

Tablo 2.1: Kıl Keçisine ait Bazı Özellikler

Vücut Ölçüleri	Erkek	Dişi	Verim Özellikleri	Dişi
Cidago Yüksekliği (cm)		69	Laktasyon Süt Verimi (kg)	98
Vücut Uzunluğu (cm)		68	Laktasyon Süresi (gün)	183
Doğum Ağırlığı (kg)	3.4	2.5	Üst Kaba Kıl / Kaşmir (g)	410 / 46
Ergin Canlı Ağırlık (kg)	45-90	40-65	Damızlık Yaşı (ay)	18-20
Günlük Canlı Ağırlık Artışı (g)	160		Oğlak Verimi	1.1

(Kaynak: Türkiye Evcil Hayvan Genetik Kaynakları, 2009)

Evcilleştirilen keçi türleri içerisinde en narin yapıya sahip olan Ankara keçisi, dünya genelinde “Angora” olarak bilinmektedir. Özellikle sahip olduğu beyaz, parlak, uzun ve ince olan tiftiği için yetiştirilmektedir (Şahin, 2011) (**Tablo 2.2**).

Anavatanı Orta Asya olan Ankara (Tiftik) keçisi (*Capra hircus ancryrensis*), Anadolu’ya Türkler tarafından getirilmişlerdir (Ertuğrul, 1993) (**Şekil 2.2**).

Tablo 2.2: Tiftik Keçisine ait Bazı Özellikler

	Erkek	Dişi		Dişi
Cidago Yüksekliği (cm)	66	51	Laktasyon Süt Verimi (kg)	25 – 50
Vücut Uzunluğu (cm)	67	58	Tiftik Verimi (kg)	2.8
Doğum Ağırlığı (kg)	2.7	2.5	Lüle Uzunluğu (cm)	15
Ergin Canlı Ağırlık (kg)	45	35	Damızlık Yaşı (ay)	18
Günlük Canlı Ağırlık Artışı (g)	110		Oğlak Verimi	1.1

(Kaynak: Türkiye Evcil Hayvan Genetik Kaynakları, 2009)



Şekil 2.2: Tiftik Keçisi

(Kaynak: Et ve Süt Kurumu)

Kilis keçisi, Kıl keçisi ile Şam keçisinin (kökeni Suriye) melezlenmesi ile meydana gelmiş ve özellikle Güneydoğu Anadolu bölgesinin Suriye'ye yakın il ve ilçelerinde yaygın olarak yetiştirilmektedir (İriadam, 2004) (**Şekil 2.3**). Yapılan araştırmalar sonucunda ergin Kilis keçilerinin ortalama 40 kg canlı ağırlığa sahip olduğu, yaklaşık 330 L süt verimi ve ortalama 260 günlük laktasyon sürelerine sahip olduğu bildirilmektedir (**Tablo 2.3**). Sönmez ve diğ. (1971), Ege bölgesi koşullarında yetiştirilen keçilerin adaptasyon süreçlerini incelemek üzere yaptıkları bir araştırmada, ortalama olarak, anaç başına düşen oğlak sayısının 1,23, süt veriminin 250 L ve laktasyon süresinin 195 gün olduğunu tespit etmişlerdir.



Şekil 2.3: Kilis Keçisi
(Kaynak: Et ve Süt Kurumu)

Tablo 2.3: Kilis Keçisine ait Bazı Özellikler

Vücut Ölçüleri	Erkek	Dişi	Verim Özellikleri	Dişi
Cidago Yüksekliği (cm)	70	67	Laktasyon Süt Verimi (kg)	217
Vücut Uzunluğu (cm)		66	Laktasyon Süresi (gün)	227
Doğum Ağırlığı (kg)	3	2.8	Kıl Verimi (g)	550
Ergin Canlı Ağırlık (kg)	60	40	Damızlıkta Yaşı (ay)	16
			Oğlak Verimi	1.4

(Kaynak: Türkiye Evcil Hayvan Genetik Kaynakları, 2009)

2.3. Keçilerde Doğurganlıkla İlişkili Aday Genlerin Genetik Temelleri

2.3.1. KITLG (KIT Ligand) Geninin Fonksiyonu ve Polimorfizmleri

KIT Ligand (KITLG), c-KIT tirozin kinaz reseptörü için özgül bir ligandı olup, germ hücrelerinin proliferasyonu, migrasyonu, folikül gelişimi ve oositin hayatta kalması gibi temel üreme süreçlerinde önemli rol oynamaktadır. Bu genin granüloza hücrelerinde lokalize olarak ekspresyonu, keçiler de dâhil olmak üzere memeli türlerinde folikülogenez ve luteal aktivite gibi işlevlerin düzenlenmesine katkı sağlamaktadır (Silva ve diğ., 2006b).

Çin’de Boer, Xinong Saanen ve Guanzhong keçi ırklarında yapılan bir çalışmada, KITLG geninde tespit edilen üç SNP (g.769T>C, g.817G>T, g.9760G>C) ile doğum başına düşen oğlak sayısı arasında anlamlı ilişki saptanmıştır. Bu varyantların genotip dağılımları Hardy-Weinberg dengesinden sapmış olup, popülasyon üzerinde seleksiyon etkisinin varlığına işaret etmektedir (An ve diğ., 2012).

Ayrıca, bu genin 3'-UTR bölgesinde yer alan varyantların, mikroRNA’ların bağlanma bölgelerini etkileyerek post-transkripsiyonel regülasyonu değiştirebildiği ve bu yolla doğurganlık parametrelerini etkilediği gösterilmiştir (An ve diğ., 2016). Bu bulgular, KITLG geninin yalnızca protein düzeyinde değil, RNA düzeyinde de fonksiyonel değişkenlik taşıyabileceğini göstermektedir.

2.3.2. KISS1 Geninin Fonksiyonu ve Polimorfizmleri

KISS1 geni, kisspeptin adlı nöropeptitleri kodlar ve bu peptitler GPR54 (KISS1R) reseptörü aracılığıyla hipotalamusta yer alan GnRH nöronlarını uyarmaktadır. Bu etkileşim, LH

ve FSH gibi gonadotropinlerin salınımını başlatarak puberte, östrus siklusu ve fertilité gibi süreçlerin nöroendokrin kontrolünü sağlamaktadır (Smith ve diğ., 2006a).

Keçilerde yapılan çalışmalar, KISS1 genindeki belirli SNP'lerin doğurganlıkla ilişkili olduğunu ortaya koymaktadır. Örneğin, Irak Siyah ve Kıbrıs keçisi ırklarında g.893G>C varyantının, oğlak sayısı ile pozitif ilişkili olduğu bildirilmiştir (Rahawy ve Al-Mutar, 2021). Benzer şekilde, Mısır'a özgü Baladi, Zairaibi ve Damascus keçilerinde KISS1 geninde tanımlanan varyantlar, doğum sıklığı ve toplam yavru sayısı gibi verim parametreleriyle anlamlı ilişkiler göstermiştir (El-Sayed ve diğ., 2017).

Türkiye'ye özgü Kıl, Tiftik ve Kilis keçi ırkları, farklı ekolojik koşullara uyum sağlamış olup, verim özellikleri açısından genetik çeşitlilik sergileyen önemli kaynaklardır. Ancak, bu ırklarda KITLG ve KISS1 genlerinin genetik karakterizasyonuna yönelik çalışmalar oldukça sınırlıdır. Bu tez çalışması, söz konusu yerli keçi ırklarında KISS1 ve KITLG genlerinde bulunan polimorfizmleri belirlemeyi ve bu genetik varyantların doğurganlık üzerindeki etkilerini ortaya koymayı amaçlamaktadır.

Özellikle yüksek doğurganlık kapasitesiyle bilinen Kilis keçisi, KISS1 geninin ekspresyon düzeylerinin incelenmesi açısından öncelikli bir ırk sayılmaktadır. Öte yandan Tiftik keçisi, düşük doğurganlık oranları nedeniyle bu genlerin düşük ekspresyonuna veya fonksiyonel olmayan varyantlara sahip olabileceği varsayımıyla dikkat çekmektedir. Kıl keçisi ise geniş coğrafi yayılımı ve heterojen genetik yapısıyla bu iki genin farklı alel kombinasyonlarını taşıma potansiyeline sahiptir.

2.4. Polimeraz Zincir Reaksiyonu – Restriksiyon Parçacık Uzunluğu Polimorfizmi Metodu (PZR–RFLP)

Son zamanlarda, hayvanlarda genetik yapıların belirlenmesi için kullanılan moleküler genetik yöntemler yaygınlaşmaktadır. Bu yöntemler, özellikle genetik kaynakların korunması ve yönetilmesinde önemli rol oynamakta, koruma programlarının etkinliğini değerlendirmede kritik bir araç olarak kullanılmaktadır. Koruma programları, genetik çeşitliliği mevcut haliyle gelecek nesillere en az kayıpla aktarmayı hedeflemektedir. Bu hedef doğrultusunda çeşitli moleküler genetik yöntemler geliştirilmiş ve uygulanmıştır: rastgele çoğaltılmış polimorfik DNA (RAPD), çoğaltılmış parça uzunluk polimorfizmi (AFLP), sınırlayıcı enzim parça uzunluğu çeşitliliği (RFLP), tek zincir konformasyon polimorfizmi (SSCP), mikrosatellit veya kısa ard arda tekrarlar (STR), dizi etiketli alanlar ve tek nükleotid polimorfizmleri (SNP) gibi.

Moleküler belirteçler, özellikle hayvan genetiği çalışmalarında, DNA düzeyindeki polimorfizmleri tespit etmek için yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Fatima, 2006). PZR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu), moleküler biyolojide DNA parçalarının hızlı ve büyük ölçekte çoğaltılması için kullanılan bir yöntemdir. PZR, belirli bir DNA bölgesini seçici olarak çoğaltmak için kullanılır ve genomik araştırmalarda, genetik tanıda, tıbbi tanıda, forenzik analizlerde ve biyoteknolojik uygulamalarda yaygın olarak kullanılmaktadır (Müller ve diğ., 1989).

Polimeraz zincir reaksiyonu için kalıp DNA (mtDNA), primerler, dNTP'ler, kofaktör olan (iki değerli) katyonlar (Mg), DNA Taq polimeraz enzimi ve polimerazın çalışması için tamponlar (Tris-HCl) gerekmektedir. Tüm materyallerin varlığında ve uygun ortam koşulları sağlandığında PZR hedeflenmiş DNA veya RNA dizisinin kopyalanmasıyla tamamlanmaktadır.

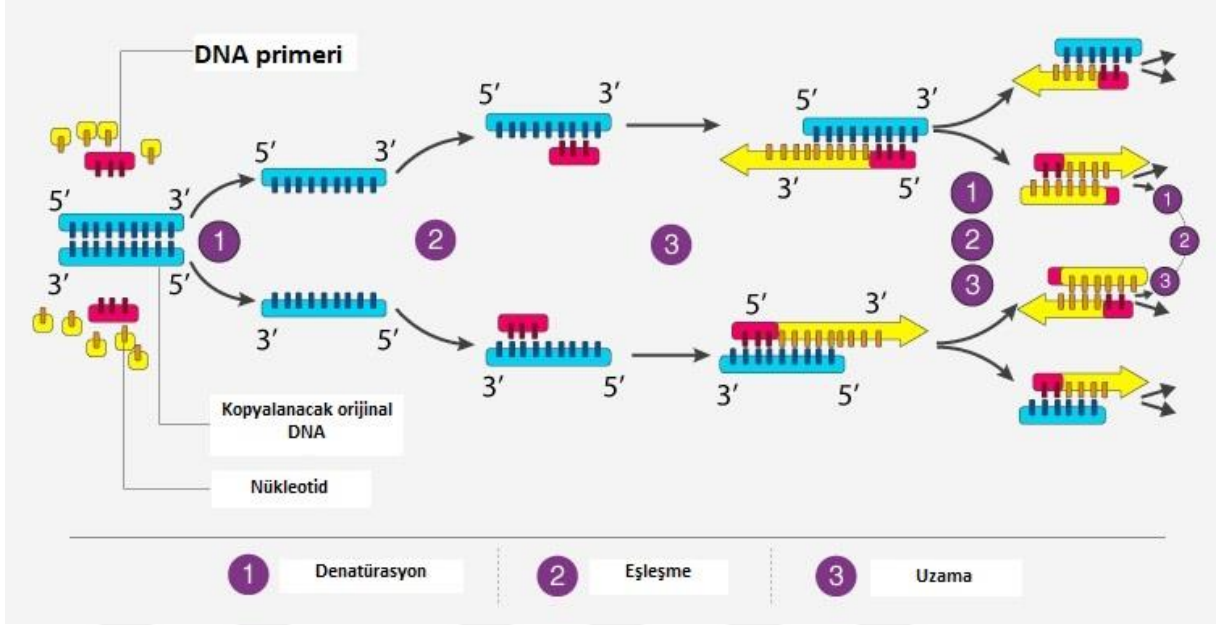
PZR yöntemi, DNA'nın belirli bölgelerinin *in vitro* olarak hızlı ve spesifik bir şekilde çoğaltılmasını sağlamaktadır. Bu işlem, üç ana adımdan oluşan döngüler şeklinde gerçekleştirilmektedir:

1. Denatürasyon (Denaturation): Isı 94-98°C'ye çıkarılarak DNA örneğinin çift sarmallı iki iplikçiği ayrılır ve tek iplikli DNA zincirleri oluşur.

2. Eşleşme (Annealing): Reaksiyon karışımı 50-65°C'ye soğutulur. Bu sıcaklık aralığında, spesifik olarak tasarlanmış kısa DNA primerleri, hedef DNA dizisinin tamamlayıcı bölgelerine bağlanır.

3. Uzama (Extension): Sıcaklık 72°C'ye ayarlanır ve DNA polimeraz enzimi primerlerin 3' ucuna nükleotidleri ekleyerek yeni DNA zincirlerini sentezler (**Şekil 2.4**).

Bu üç adım, bir PZR döngüsünü oluşturmakta ve her döngüde hedef DNA bölgesi ekspanansiyel olarak çoğaltılmaktadır. Tipik bir PZR reaksiyonu, genellikle 25-35 döngü boyunca tekrarlanır ve böylece başlangıçtaki DNA miktarı milyonlarca kat artırılır (Mullis ve Faloona, 1987).



Şekil 2.4: Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) Döngüsü

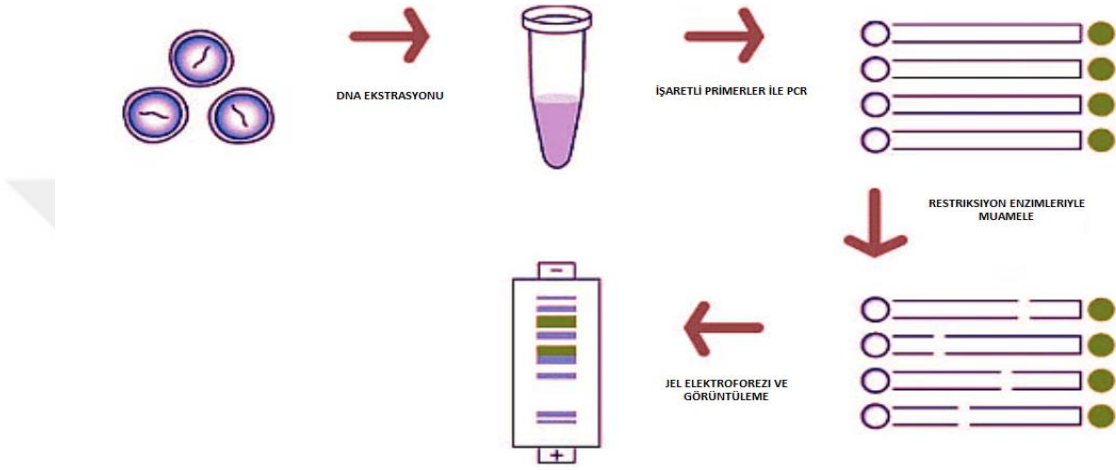
(<https://byjus.com/biology/PCR/>)

Restriksiyon endonükleazlar, belirli DNA dizilerini tanıyan ve bu dizilerin içinde veya yakınında çift sarmallı DNA'yı kesen enzimlerdir. Bu enzimler, bakterilerde doğal olarak bulunur ve bakterilerin viral DNA'ya karşı savunma mekanizması olarak işlev görür. Her restriksiyon endonükleaz, kendine özgü bir nükleotid dizisini tanıır ve bu tanıma dizisinde çift sarmallı DNA'yı spesifik bir konumda keser (Roberts, 1976). RFLP (Restriksiyon Parçacık Uzunluk Polimorfizmi), DNA polimorfizmlerini tanımlamak ve genetik çeşitliliği analiz etmek için kullanılan bir moleküler biyoloji tekniğidir. RFLP analizi, restriksiyon endonükleazlar kullanılarak DNA'nın kesilmesi ve elde edilen DNA fragmanlarının boyutlarına göre ayrılması prensibine dayanır.

RFLP metodunun temel adımları şunlardır:

- 1. DNA İzolasyonu (DNA Isolation):** İlk adım, çalışılacak örneklerden yüksek kaliteli DNA'nın izole edilmesidir.
- 2. Restriksiyon Enzim Kesimi (Restriction Enzyme Digestion):** İzole edilen DNA, belirli nükleotid dizilerini tanıyan ve bu dizilerin içinde veya yakınında DNA'yı kesen restriksiyon endonükleazlar ile muamele edilir. Bu işlem, DNA'yı farklı uzunluklarda fragmanlara ayırır.

3. **Elektroforez (Gel Electrophoresis):** Elde edilen DNA fragmanları, agaroz veya poliakrilamid jel elektroforezi kullanılarak boyutlarına göre ayrılır. Fragmanlar, jeldeki göç mesafelerine göre ayrılarak görselleştirilir.
4. **Görüntüleme ve Analiz:** Elde edilen bant paternleri, DNA örnekleri arasındaki polimorfizmleri (varyasyonları) analiz etmek için kullanılır (Botstein ve diğ., 1980) (Şekil 2.5).



Şekil 2.5: Restriksiyon Parçacık Uzunluk Polimorfizmi Döngüsü

(<https://edurev.in/t/314945/RFLP>)

2.5. Tek Nükleotid Polimorfizmi (SNP)

SNP, tanım gereği popülasyonun %1'inden fazlasında bulunan, genomun belirli bir yerindeki tek bir nükleotid varyasyonudur (Brookes, 1999). Genel olarak SNP'ler, genomun kodlayan bölgelerinde kodlamayan bölgelere göre çok daha az sıklıkta meydana gelir; SNP'lerin çoğu kodlamayan bölgelerde bulunur (Li ve Sadler, 1991; Nickerson ve diğ., 1998). Kodlamayan bölgelerdeki SNP'ler, kodlanan proteinleri değiştirmeseler de karşılaştırmalı veya evrimsel genomik çalışmaları için önemli genetik veya fiziksel belirteçler olarak hizmet ederler. SNP'ler, bir genin düzenleyici bölgelerinde bulunduklarında, transkripsiyon hızlarını etkileyerek kodlanan proteinin üretiminde değişikliklere neden olabilirler (Kim ve Misra, 2007).

3. YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Hayvan materyali

Çalışmada, Kıl, Tiftik ve Kilis keçi ırklarına ait 50'şer adet DNA örneği kullanılmıştır. Söz konusu DNA örnekleri, PZR yöntemiyle çoğaltılmak üzere kullanılmıştır. Bu örnekler, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı DNA koleksiyonundan seçilmiştir. Rastgele bir örnekleme ve sağlıklı hayvanlardan alınan kanlara ait keçilerin bulundukları bölgeler şu şekildedir:

Tiftik keçisi: Ankara ili Nallıhan ilçesine bağlı köylerden

Kilis keçisi: Kilis il merkezine bağlı köylerden

Kıl keçisi: İzmir ili Menemen ilçesine bağlı köylerden

Çalışmanın analizleri için, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'na ait DNA laboratuvarı kullanılmıştır.

3.1.2. DNA örnekleri: DNA örnekleri, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimi tarafından yürütülen 1433 no'lu Bilimsel Araştırma Projesi (BAP) kapsamında oluşturulmuş DNA koleksiyonundan seçilerek kullanılmıştır. Genomik DNA izolasyonu “Standart Amonyum Asetat Çöktürme Yöntemi” kullanılarak (Miller ve diğ.,1988) yapılmıştır.

3.2. Laboratuvar Analiz Yöntemleri

3.2.1. Çalışmada kullanılan cihazlar

UV görüntüleme tablası (Kodak El Logic 200 Imaging System)

Güç Kaynağı (Consort E833)

Haier Derin dondurucu (-186 °C) – Çin

Hassas terazi (Chyo MK-500C)

Vorteks (Elektromag M16)

Thermal cycler (Techne TC-312)

Elektroforez (Thermo EC320)

Güvenlik kabineti

Masa üstü mini santrifüj (Eppendorf minispın plus)

3.2.2. Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler

Taq DNA polimeraz (2,5 mM dNTP'ler ile), 500 U (ELK BIOTECH AP101-12)

FlyCut *SacI* restriksiyon enzimi, 2000 U (TRANSGEN BIOTECH JS101-02)

BsaI-HF v2 restriksiyon enzimi, 1000 U (NEB R3733S)

Hpy188I, rekombinant restriksiyon enzimi, 1000 U (NEB R0617)

NsiI, rekombinant restriksiyon enzimi, 1000 U (NEB R0127S)

PvuII-HF (High Fidelity), restriksiyon enzimi, 5000 U (NEB R3151S)

100bp Plus DNA Ladder, 1 mL (TRANSGEN BIOTECH BM311-01)

10x TBE Buffer 1000 mL (SOFTECH MG-TBE-1000)

Steril distile su, 1 L (SOFTECH)

GelStain Blue, 500 µL (TRANSGEN BIOTECH GS102-01)

Agaroz 100 g (TRANSGEN BIOTECH GS201-01)

Yükleme tamponu (6x) (Takara A129)

KITLG Primerleri (SENTEBIOLAB)

KISS1 Primerleri (PROBESYNTHESIS BIYOTEKNOLOJİ)

3.2.3. Elektroforezde Kullanılan Çözeltiler

10x TEB Çözeltisi: 10x TEB'den 50 mL kullanılarak steril distile suda çözündürülmüş ve 1000 mL'ye tamamlanmıştır. Oda ısısı koşullarında saklanmıştır.

3.2.4. Primer Çözeltisinin Hazırlanması

Liyofilize primerler, üzerlerine 100 µL distile su ilave edilerek çözündürülmüştür. Elde edilen stok solüsyonun 1 µL'si, primerin nmol değerine distile su ile tamamlanmış ve böylece 10 pmol/µL'lik bir konsantrasyon elde edilmiştir.

3.2.5. dNTP çözeltisinin hazırlanması

Bu amaçla nükleotid trifosfatların her birinden (dATP, dTTP, dGTP ve dCTP) 10'ar µL alınarak 40 µL distile su ile 0,5 mL'lik ependorf tüp içerisinde karıştırılmıştır. Sonuçta 100 µM konsantrasyonluk dNTP çözeltisi elde edilmiştir. Bu çözelti -20 °C'da saklanmıştır.

3.2.6. PZR Reaksiyonu:

KITLG Geni Polimorfizmlerini Belirlemek İçin PZR Analizi: KITLG geni polimorfizmlerini belirlemek amacıyla, ilgili bölgeler PZR işlemi ile çoğaltılmıştır. Bu bölgelerin çoğaltılmasında kullanılan oligonükleotid primer dizileri aşağıda belirtilmiştir (An ve diğ., 2014).

KITLG-F: 5' – CAGGAGAACATGACTAGAGG - 3'

KITLG-R: 5' – CTGGAGGAGACAAGAGACT - 3'

KITLG geni, 438 baz çiftlik bir hedef bölgeye sahiptir. Bu bölgenin amplifikasyonu için uygulanan PZR) protokolü, ön ısıtma (preheat) aşaması olmaksızın optimize edilmiştir. İlk denatürasyon adımı, 95°C'de 5 dakika boyunca gerçekleştirilmiştir. Ardından, 35 siklusa oluşan her bir döngü aşağıdaki aşamaları içermektedir: 94°C'de 30 saniye denatürasyon, 52°C'de 30 saniye primer bağlanması ve 72°C'de 35 saniye uzatma. Reaksiyonun sonunda, hedef ürünlerin tamamlanmasını sağlamak amacıyla 72°C'de 10 dakika süren bir son uzatma aşaması uygulanmıştır. 72°C'deki 35 saniyelik uzatma ve son uzatma adımı, kullanılan Taq polimeraz enziminin optimal aktivasyon koşulları dikkate alınarak tasarlanmıştır. Hedef bölgeyi çoğaltmak için kullanılan 25 µL PZR karışımı içeriği **Tablo 3.1**'de verilmiştir:

Tablo 3.1: KITLG geni PZR karışımındaki solüsyonlar ve miktarları

Materyal	Miktar (25 µL için)
dH ₂ O	17,75 µL
PZR Buffer	2,5 µL
Primer F	0,5 µL
Primer R	0,5 µL
dNTP	0,5 µL
Taq DNA polimeraz	0,25 µL
Numune örneği	3 µL

KISS1 Geni Polimorfizmlerini Belirlemek İçin PZR Analizi: KISS1 genine ait A2510G ve C2540T SNP'lerini kapsayan bölgeler için özel primer dizileri, keçi türüne ait referans genetik diziler temel alınarak (GenBank Accession No: GU142847.1) tasarlanmış ve Probesynthesis Biyoteknoloji (Türkiye) firması tarafından sentezlenmiştir (NCBI, 2009).

Kullanılan primer dizileri aşağıdaki gibidir:

KISS1-F: 5' – TCTTCTCTCCTGGGATCGGG - 3'

KISS1-R: 5' – CTTCTGTTTGTGGCTGGCTG - 3'

KISS1 geni için 832 baz çiftlik hedef bölgenin amplifikasyonunda kullanılacak polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) koşulları, ön ısıtma aşaması belirlenmiştir. Başlangıç denatürasyonu 95°C'de 15 dakika süresince gerçekleştirilmiştir. Ardından, 30 siklustan oluşan her bir döngü şu adımlardan oluşmaktadır: 95°C'de 1 dakika süreyle denatürasyon, 64°C'de 30 saniye bağlanma ve 72°C'de 1 dakika uzatma. Reaksiyonun sonunda, son uzatma adımı olarak 72°C'de 10 dakika süren bir uzatma aşaması uygulanmıştır. Bu uzatma süreleri, kullanılan Taq polimeraz enziminin optimal aktivasyon koşulları göz önünde bulundurularak planlanmıştır. Hedef bölgeyi çoğaltmak için kullanılan 25 µL PZR karışımı içeriği **Tablo 3.2**'de verilmiştir:

Tablo 3.2: KISS1 geni PZR karışımındaki solüsyonlar ve miktarları

Materyal	Miktar (25 µL için)
dH ₂ O	17,75 µL
PZR Buffer	2,5 µL
Primer F	0,5 µL
Primer R	0,5 µL
dNTP	0,5 µL
Taq DNA polimeraz	0,25 µL
Numune örneği	3 µL

3.2.7. Restriksiyon Parçacık Uzunluk Polimorfizmi (RFLP) Döngüsü

KITLG geni polimorfizmleri belirlemek amacıyla çoğaltılan bölgeler *Bsa*I, *Nsi*II ve *Hpy*188I restriksiyon enzimleri ile sindirilmiştir. Sindirim işlemi için hazırlanan karışımların içeriği aşağıdaki gibidir:

5 µl PZR ürünü

0,5 µL restriksiyon enzimi

2,5 µL tampon solüsyonu

17 µL distile su

Dondurulmuş çalışma rakında hazırlanan 0,2 mL'lik PZR tüpleri mikro santrifüj cihazında karıştırıldıktan sonra, inkübasyon sıcaklığı ve süresi daha önce belirlenmiş termal cycler'a yerleştirilmiştir. *BsaI* ve *NsiI* ile 15 dakika boyunca, *Hpy188I* ile de 60 dakika boyunca 37°C'de sindirim işlemi gerçekleştirilmiştir. İnkübasyon sonrası enzim inaktivasyonu için *BsaI* kesim ürünü 80 °C'de 20 dakika, *NsiI* kesim ürünü 65 °C'de 20 dakika, *Hpy188I* kesim ürünü ise 65 °C'de 20 dakika boyunca inkübe edilmiştir.

KISS1 geni polimorfizmleri belirlemek amacıyla çoğaltılan bölgeler *SacI* ve *PvuII* restriksiyon enzimleri ile sindirilmiştir. Sindirim işlemi için hazırlanan karışımların içeriği aşağıdaki gibidir:

5 µl PZR ürünü

0,5 µl restriksiyon enzimi

2,5 µl tampon solüsyonu

17 µl distile su

Dondurulmuş çalışma rakında, 0,2 ml'lik PZR tüplerinde hazırlanan karışım mikro santrifüj cihazında karıştırıldıktan sonra inkübasyon sıcaklığı ve süresi daha önce belirlenmiş termal cycler'a yerleştirilmiştir. *SacI* ve *PvuII* 15 dakika boyunca 37°C'de sindirim işlemi gerçekleştirilmiştir. İnkübasyon sonrası enzim inaktivasyonu için ise *SacI* kesim ürünü 80 °C'de 20 dakika boyunca inkübe edilmiştir. *PvuII* kesim ürünü inaktivasyona gereksinimi bulunmamaktadır.

3.2.8. Agaroz Jel Hazırlığı ve PZR Ürünleri Yürütme İşlemi

PZR ürünlerinin ayrılması ve tanımlanması agaroz jel elektroforez yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. %2 agaroz jel hazırlanması için, bir beher içine 30 ml 10x TEB ve 0,6 g agaroz eklenmiş, ardından mikrodalgada çözelti berraklaşana kadar ısıtılarak çözülmüştür. Bu aşamada yürütülecek olan DNA parçacıklarının görüntülenebilmesi için berraklaşan jelin içine 3 µL Gelstain Blue eklenerek karıştırılmıştır. Elde edilen jel, tarakların önceden yerleştirildiği jel tankına dökülmüştür. Jel içerisinde hava kabarcığı bulunmamasına özen gösterilmiştir. Jelin

polimerleşmesi için yaklaşık 20 dakika beklendikten sonra taraklar çıkarılmıştır. Jel tankı, 10x TEB ile dolu elektroforez cihazına yerleştirilmiştir.

PZR uygulaması sonrasında her bir sindirim ürününden 7 µL kullanılmıştır. Bu ürünler parafilm üzerinde 2 µL yükleme tamponu ile karıştırılmış ve ardından jel üzerinde oluşturulmuş olan kuyucuklara yüklenmiştir. Elektroforez işlemi 110 voltta 25 dakika süreyle yürütülmüştür. Elektroforez işlemi tamamlandıktan sonra, jelde birbirinden ayrılan DNA örnekleri görüntüleme cihazı (iBright™ CL1500 Imaging System, Invitrogen™, ThermoFisher Scientific, Cat.No.: A4414) ile tespit edilerek fotoğraflanmış ve genotipleri belirlenmiştir.

3.2.9. İstatistiksel Analiz

İrklara ait beklenen ve gözlenen genotip frekansları ile Hardy-Weinberg eşitliğine uyum analizleri ve Ki kare analizi için IBM SPSS Data Editor (version 21, 2012) bilgisayar programı kullanılmıştır.

3.2.10. Etik Kurul Onayı

Etik kurul adı: İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Veteriner Fakültesi Birim Etik Kurulu

Etik kurul kararı: Etik kurula ihtiyaç olmadığı kararına varılmıştır.

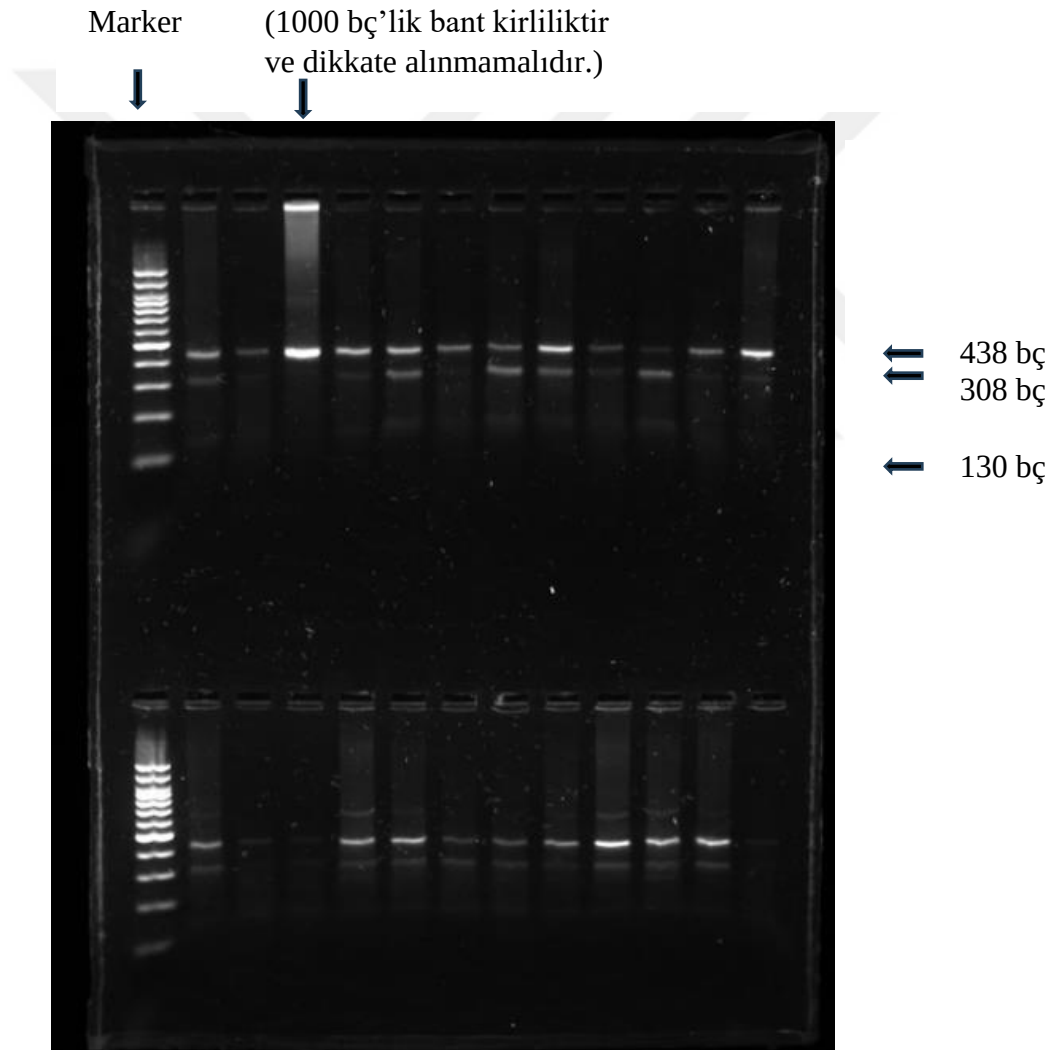
Etik kurul kararının tarihi: **28/09/2022**

Etik kurul kararının sayısı: **2022/31**

4. BULGULAR

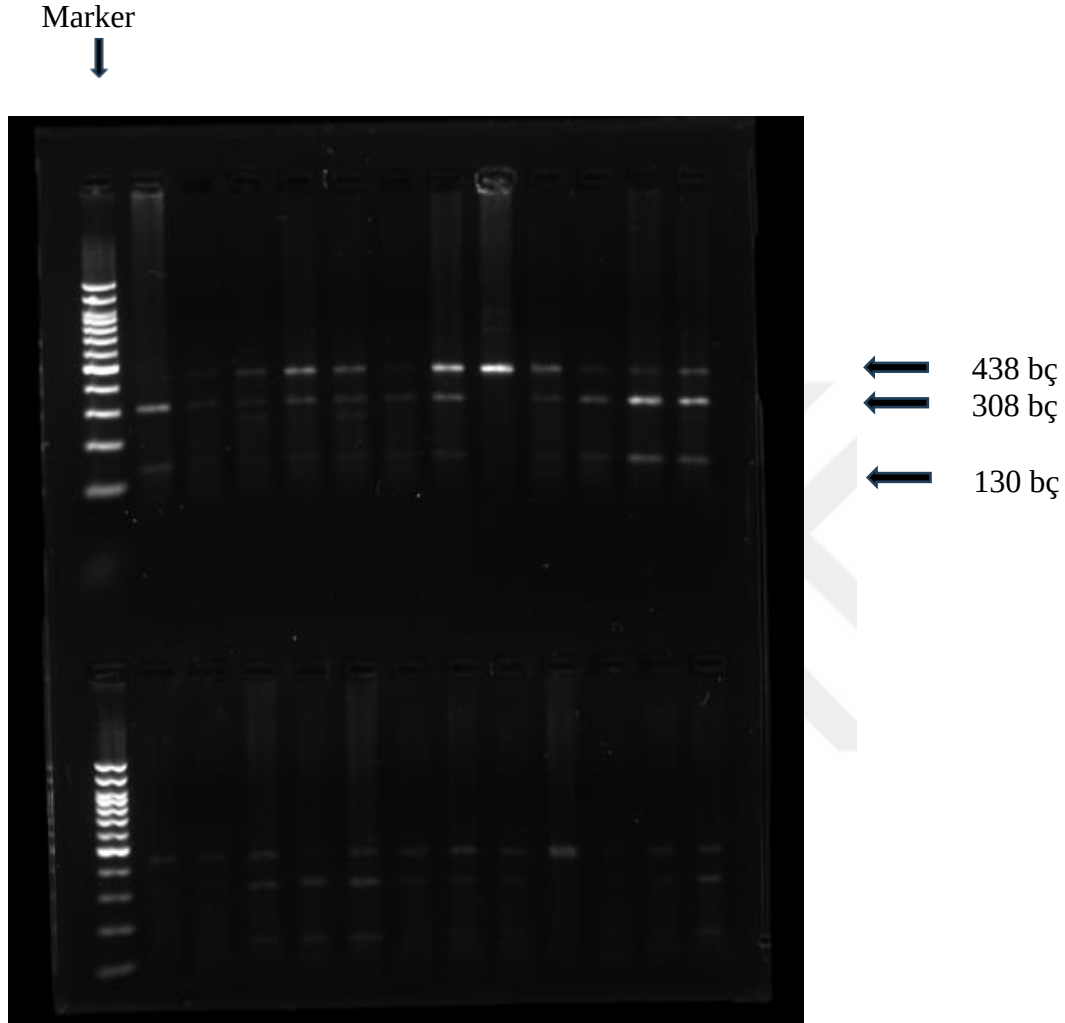
4.1. KITLG genine ait PZR-RFLP metodu ile belirlenen polimorfizmler

g.12654 G>A: KITLG geni 438 bç büyüklüğündeki bölgenin PZR ile çoğaltılması ve g.12654 G>A lokusunun tespiti için *BsiI* enzimi ile kesimi sonucunda CC genotipli bireylerde 438 bç'lik tek bant, CT genotipli bireylerde 438, 308 ve 130 bç'lik 3 adet bant elde edilmiştir (Şekil 4.1).



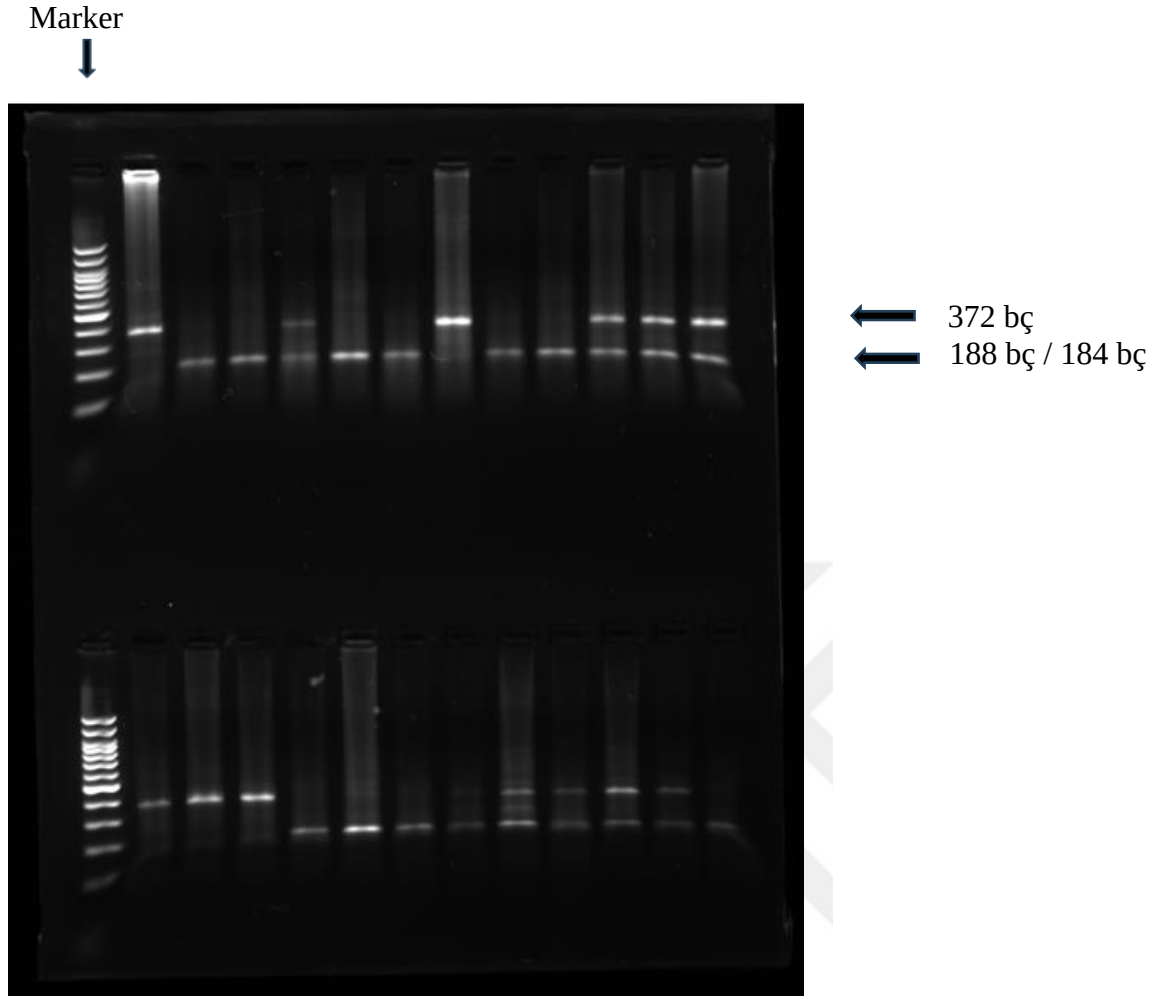
Şekil 4.1: KITLG geni 438 bç'lik hedef bölgesinin *BsaI* ile kesim sonrası %2'lik Agaroz jeldeki görüntüsü [1. kuyu: Markör (Transgen Biotech 100 bç Plus DNA Ladder), diğer kuyular 438, 308 ve 130 bç'lik hedef bölgeler]

g.12829 T>C: KITLG geni 438 bç büyüklüğündeki bölgenin PZR ile çoğaltılması ve g.12829 T>C lokusunun tespiti için *NsiI* enzimi ile kesimi sonucunda GG genotipli bireylerde 438 bç'lik tek bant, GA genotipli bireylerde 438, 308 ve 130 bç'lik 3 adet bant elde edilmiştir (**Şekil 4.2**).



Şekil 4.2: KITLG geni 438 bç'lik hedef bölgesinin *NsiI* ile kesim sonrası %2'lik Agaroz jeldeki görüntüsü [1. kuyu: Markör (Transgen Biotech 100 bç Plus DNA Ladder), diğer kuyular 438, 308 ve 130 bç'lik hedef bölgeler]

g.12772 G>A: KITLG geni 438 bç büyüklüğündeki bölgenin PZR ile çoğaltılması ve g.12772 G>A lokusunun tespiti için *Hpy188I* enzimi ile kesimi sonucunda CC genotipli bireylerde 372 bç'lik tek bant, CT genotipli bireylerde 372, 188 ve 184 bç'lik 3 adet bant, TT genotipli bireylerde ise 188 ve 184 bç'lik 2 adet bant elde edilmiştir (**Şekil 4.3**).

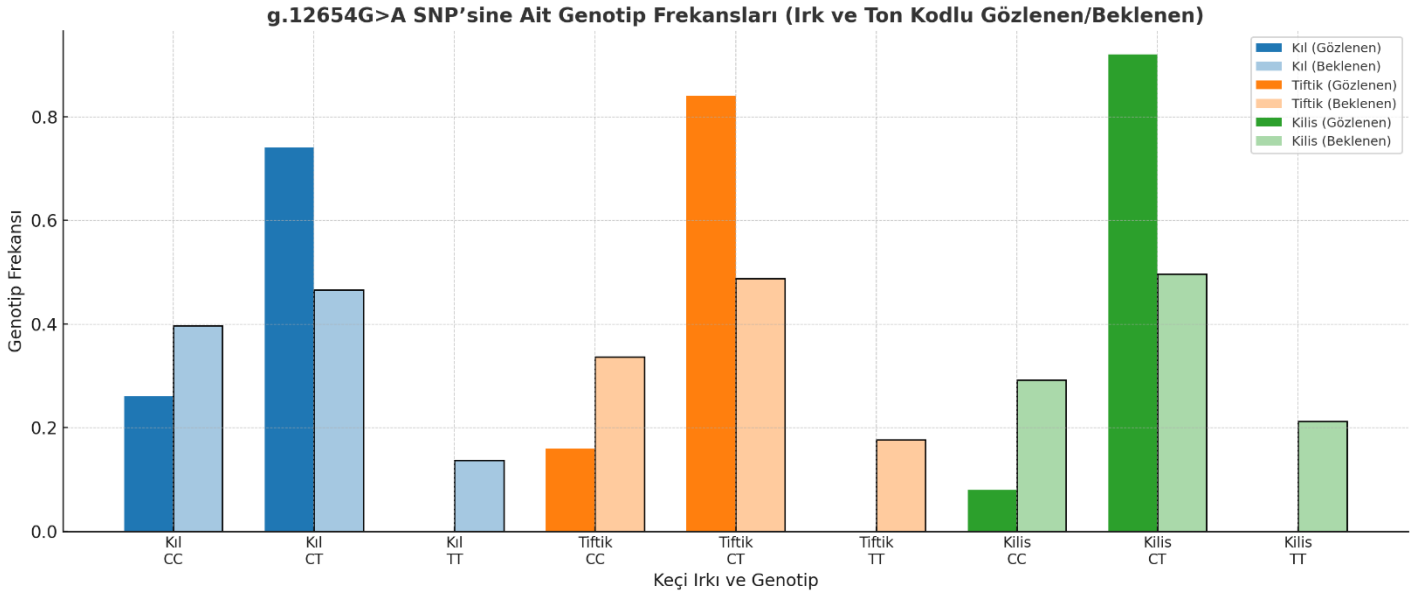


Şekil 4.3: KITLG geni 438 bç'lik hedef bölgesinin *Hpy188I* ile kesim sonrası %2'lik Agaroz jeldeki görüntüsü [1. kuyu: Markör (Transgen Biotech 100 bç Plus DNA Ladder), diğer kuyular 378, 188 ve 184 bç'lik hedef bölgeler]

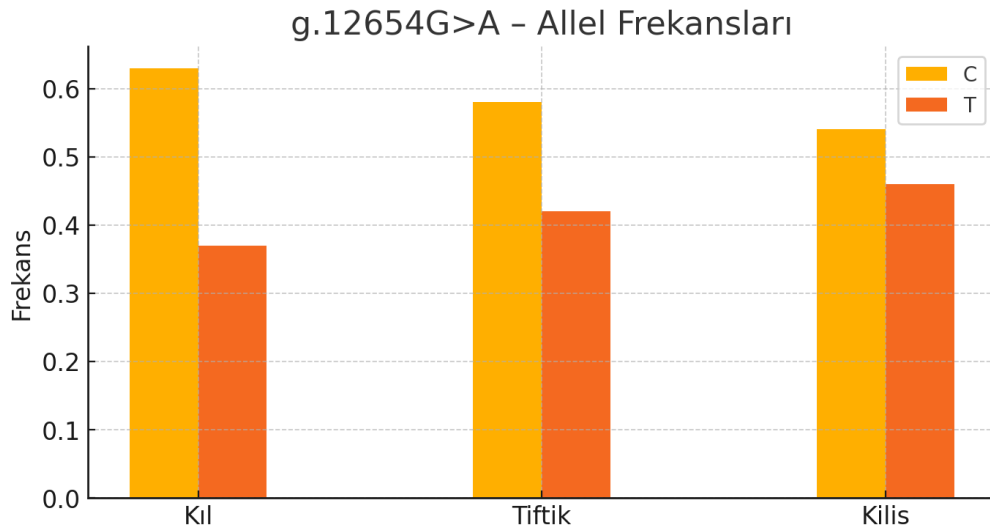
4.2. KITLG Geni Genotip ve Allel Frekanslarının Analizi

Tablo 4.1: Kıl, Tiftik ve Kilis ırk keçilerde KITLG için g.12654 G>A lokusu gen polimorfizmi genotip ve allel frekansları (* İşaretli değerler Hardy-Weinberg dengesinden sapmaktadır)

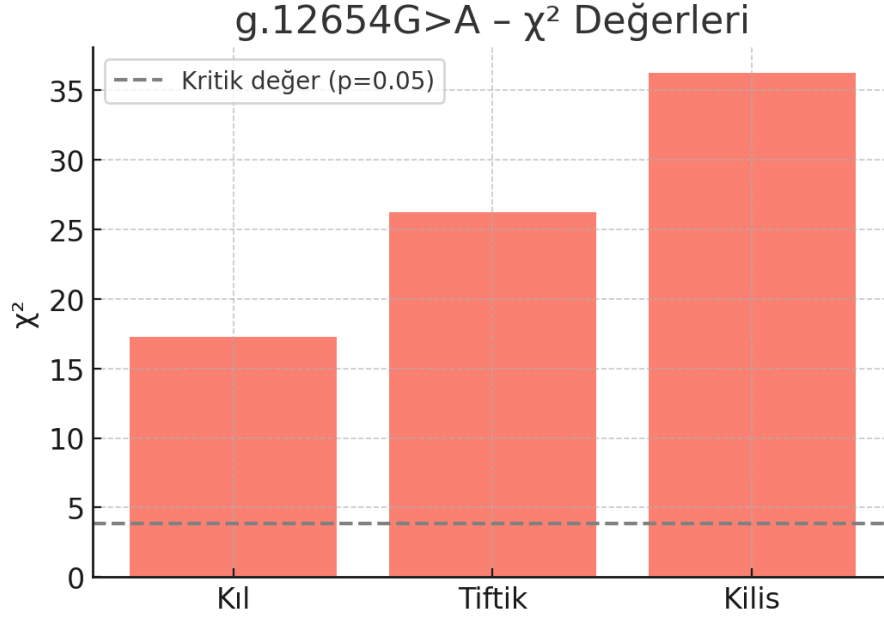
İrk	Hayvan Sayısı	Genotip						Allel Frekansı (%)		(χ^2)
		CC		CT		TT		C	T	
		Gözlenen	Beklenen	Gözlenen	Beklenen	Gözlenen	Beklenen			
Kıl	50	0.26	0.3969	0.74	0.4662	0.00	0.1369	0.63	0.37	17.25*
Tiftik	50	0.16	0.3364	0.84	0.4872	0.00	0.1764	0.58	0.42	26.22*
Kilis	50	0.08	0.2916	0.92	0.4968	0.00	0.2116	0.54	0.46	36.28*



Gözlenen CT genotip frekansı, her üç keçi ırkında da beklenen değerlere göre belirgin şekilde daha yüksek bulunmuştur. Buna karşılık, TT genotipi hiçbir bireyde gözlenmemiştir. Bu durum, popülasyonların Hardy-Weinberg dengesinden sapmasına neden olan temel unsurlardan biridir. Özellikle CT genotipinin baskınlığı, heterozigot fazlalığına işaret ederken, TT genotipinin yokluğu ise homozigot resesif genotipin eksikliği ile açıklanabilir. Bu genotip dağılımı, incelenen popülasyonlarda muhtemel bir yönlü seleksiyon baskısı, allelik dengesizlik ya da genetik sürüklenme etkisi gibi faktörlerin etkili olabileceğini düşündürmektedir. Bulgular, özellikle heterozigot bireylerin doğurganlıkla avantaj sağlayabileceği bir senaryoya da işaret edebilir.



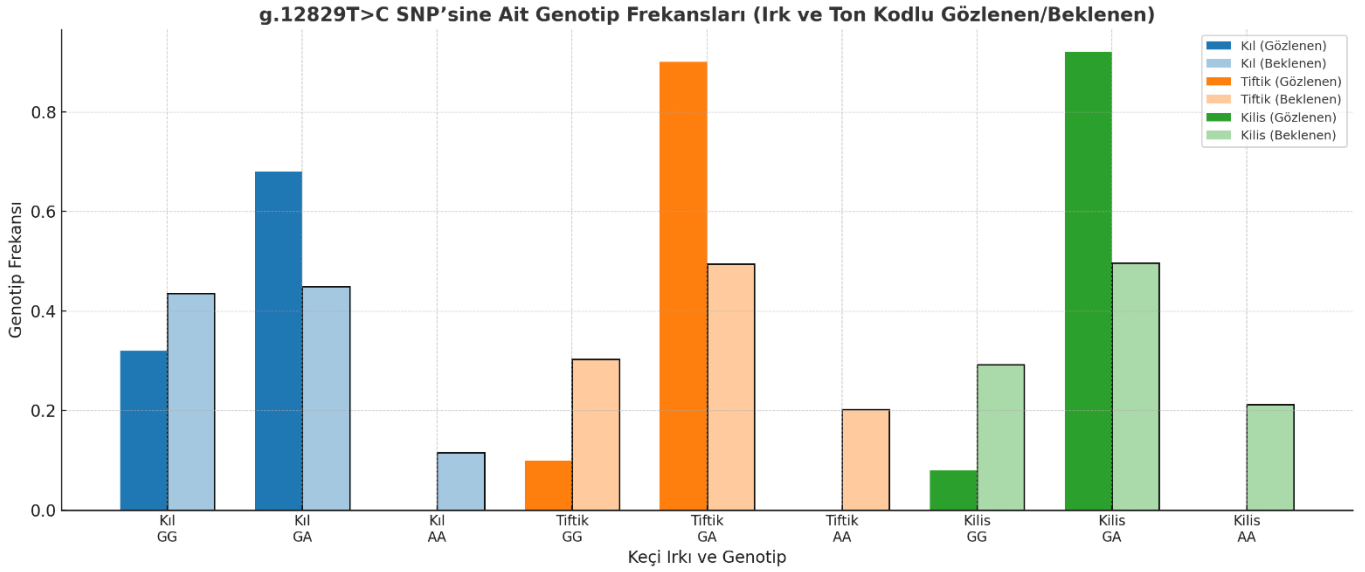
C alleli her üç ırkta da T alleleline göre daha yüksek frekansa sahiptir. Bu allelik dağılımı, genetik olarak baskın bir varyantın varlığına veya doğal seçilim etkisine işaret edebilir.



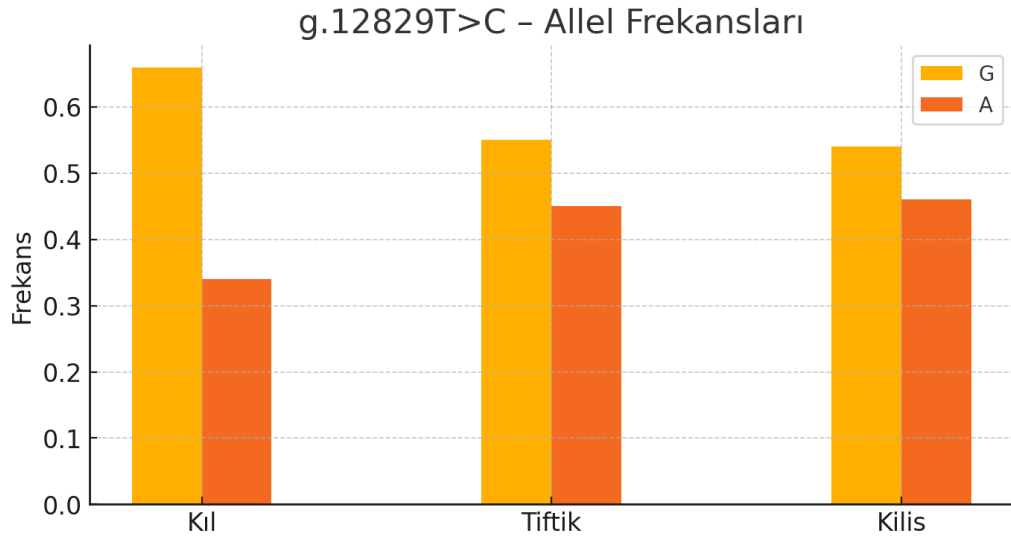
Kıl (17.25), Tiftik (26.22) ve Kilis (36.28) ırklarında χ^2 değerleri 3.84 eşik değerinin oldukça üzerindedir. Bu sonuçlar, her üç ırkta da Hardy-Weinberg dengesinin istatistiksel olarak anlamlı şekilde bozulduğunu göstermektedir.

Tablo 4.2: Kıl, Tiftik ve Kilis ırk keçilerde KITLG için g.12829 T>C lokusu gen polimorfizmi genotip ve allel frekansları (* İşaretli değerler Hardy-Weinberg dengesinden sapmaktadır)

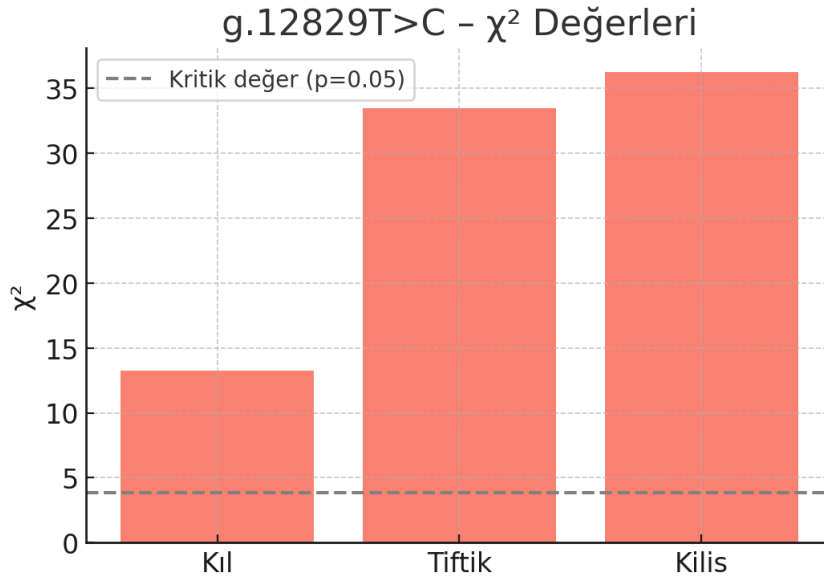
Genotip								Allel Frekansı (%)		(χ^2)
		GG		GA		AA		G	A	
İrk	Hayvan Sayısı	Gözlenen	Beklenen	Gözlenen	Beklenen	Gözlenen	Beklenen			
Kıl	50	0.32	0.4356	0.68	0.4488	0.00	0.1156	0.66	0.34	13.27*
Tiftik	50	0.10	0.3025	0.90	0.4950	0.00	0.2025	0.55	0.45	33.47*
Kilis	50	0.08	0.2916	0.92	0.4968	0.00	0.2116	0.54	0.46	36.28*



Gözlenen veriler incelendiğinde, GA heterozigot genotipi her üç keçi ırkında da beklenen değerlerden oldukça yüksek frekanslarda bulunmuştur. Buna karşılık, AA homozigot genotipi hiçbir bireyde gözlenmemiştir. Bu durum, genotip frekanslarının Hardy-Weinberg dengesinden sapmasına neden olmuş ve özellikle heterozigot bireylerin fazlalığı ile dikkat çekmiştir. Bu dağılım, popülasyonlarda baskın G alleli altında alternatif A allelinin düşük frekansla taşındığını ve bu nedenle homozigot resesif bireylerin oluşamadığını göstermektedir. Ayrıca GA genotipinin artışı, belirli bir seleksiyon baskısının ya da genetik yapıyı etkileyen farklı popülasyon dinamiklerinin varlığına işaret edebilir. Bu SNP özelinde, heterozigot genotipin potansiyel bir adaptif avantaj taşıyor olması da göz ardı edilmemelidir.



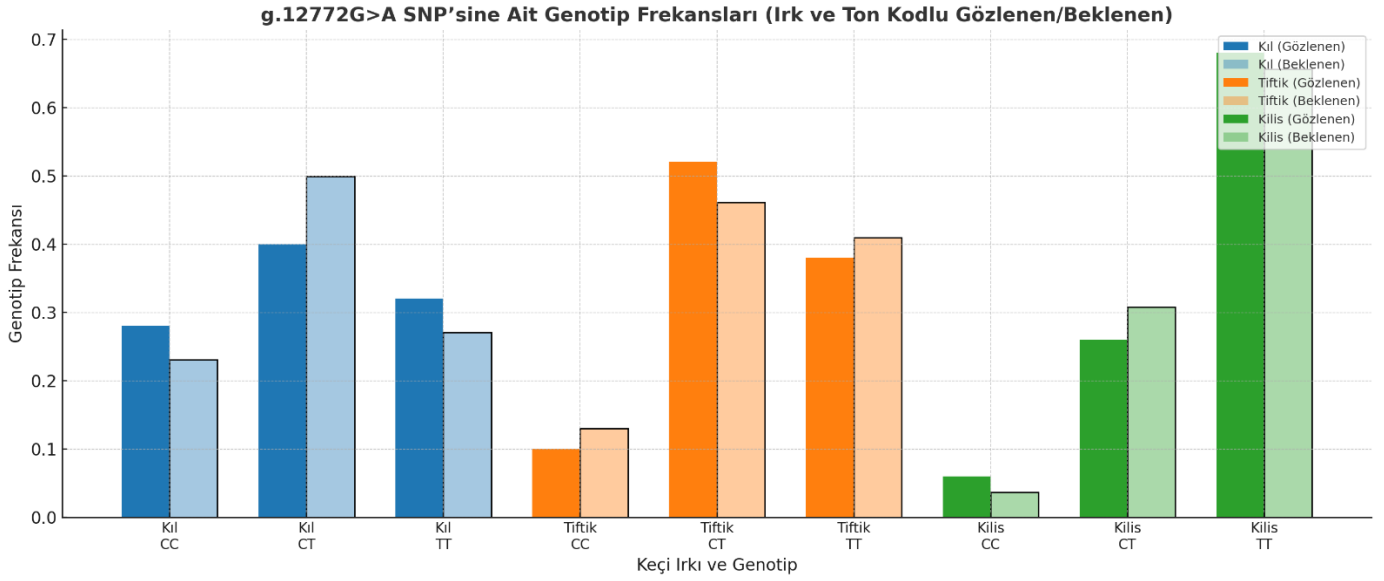
G alleli, her üç ırkta da A alleleline kıyasla daha yüksek frekansla gözlenmiştir. Ancak bu fark Kilis keçisinde en düşük seviyede olup, ırklar arasında allel dağılımındaki değişkenliği göstermektedir.



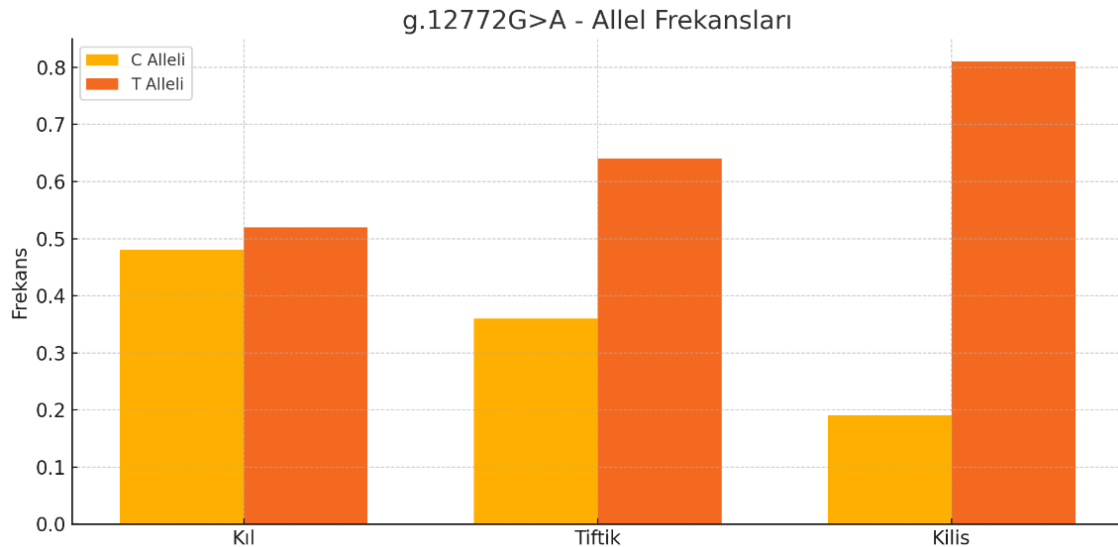
Kıl (13.27), Tiftik (33.47) ve Kilis (36.28) ırklarında oldukça yüksek χ^2 değerleri hesaplanmıştır. Bu bulgular, popülasyonların bu SNP açısından Hardy-Weinberg dengesi ile uyumsuz olduğunu ortaya koymaktadır.

Tablo 4.3: Kıl, Tiftik ve Kilis ırk keçilerde KITLG için g.12772 G>A lokusu gen polimorfizmi genotip ve allel frekansları (* İşaretli değerler Hardy-Weinberg dengesinden sapmaktadır)

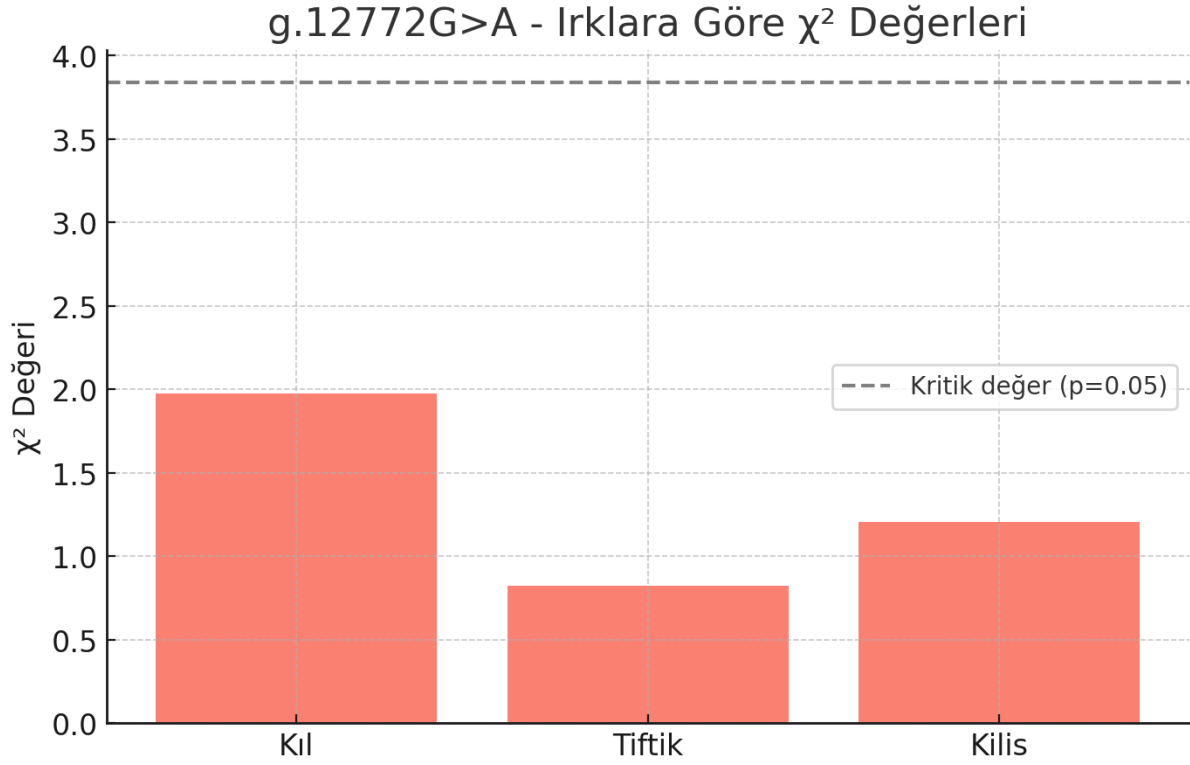
Genotip								Allel Frekansı (%)		(χ^2)
İrk	Hayvan Sayısı	CC		CT		TT		C	T	
		Gözlenen	Beklenen	Gözlenen	Beklenen	Gözlenen	Beklenen			
Kıl	50	0.28	0.2304	0.40	0.4992	0.32	0.2704	0.48	0.52	1,974
Tiftik	50	0.10	0.1296	0.52	0.4608	0.38	0.4096	0.36	0.64	0,825
Kilis	50	0.06	0.0361	0.26	0.3078	0.68	0.6561	0.19	0.81	1,206



Bu SNP'ye ait analiz sonuçlarında, her üç keçi ırkı arasında genotip frekans dağılımlarında belirgin farklılıklar gözlemlenmiştir. Kilis keçisinde TT genotipi hem beklenen hem de gözlenen frekanslar açısından en yüksek orana sahipken, Tiftik keçisinde CT genotipi baskın olarak öne çıkmıştır. Kilis keçisinde ise TT genotipi açık şekilde dominant, CC genotipi ise çok düşük frekansta yer almıştır. Genel olarak, gözlenen veriler Hardy-Weinberg dengesine büyük ölçüde yakın olmakla birlikte, özellikle Kilis ırkında gözlenen genotip dağılımı, dengenin tam sağlanmadığını ve popülasyon içinde allel frekanslarının asimetrik olduğunu göstermektedir. Bu dağılım, ilgili SNP'nin popülasyonlar arası genetik farklılıkları yansıtmaya potansiyeli taşıdığını ve özellikle TT genotipinin seçilimle korunuyor olabileceğini göstermektedir. TT genotipi, bu varyantta iki A alleli taşıyan bireyleri temsil ettiğinden, bu genotipin üç ırkta da yüksek frekansla gözlemlenmesi, adenin (A) allelinin popülasyon içinde baskın şekilde temsil edildiğini göstermektedir. Bu da söz konusu allelin popülasyon içinde herhangi bir negatif seleksiyon etkisine maruz kalmadığını ve hatta bazı avantajlarla ilişkilendirilerek korunduğunu düşündürmektedir.



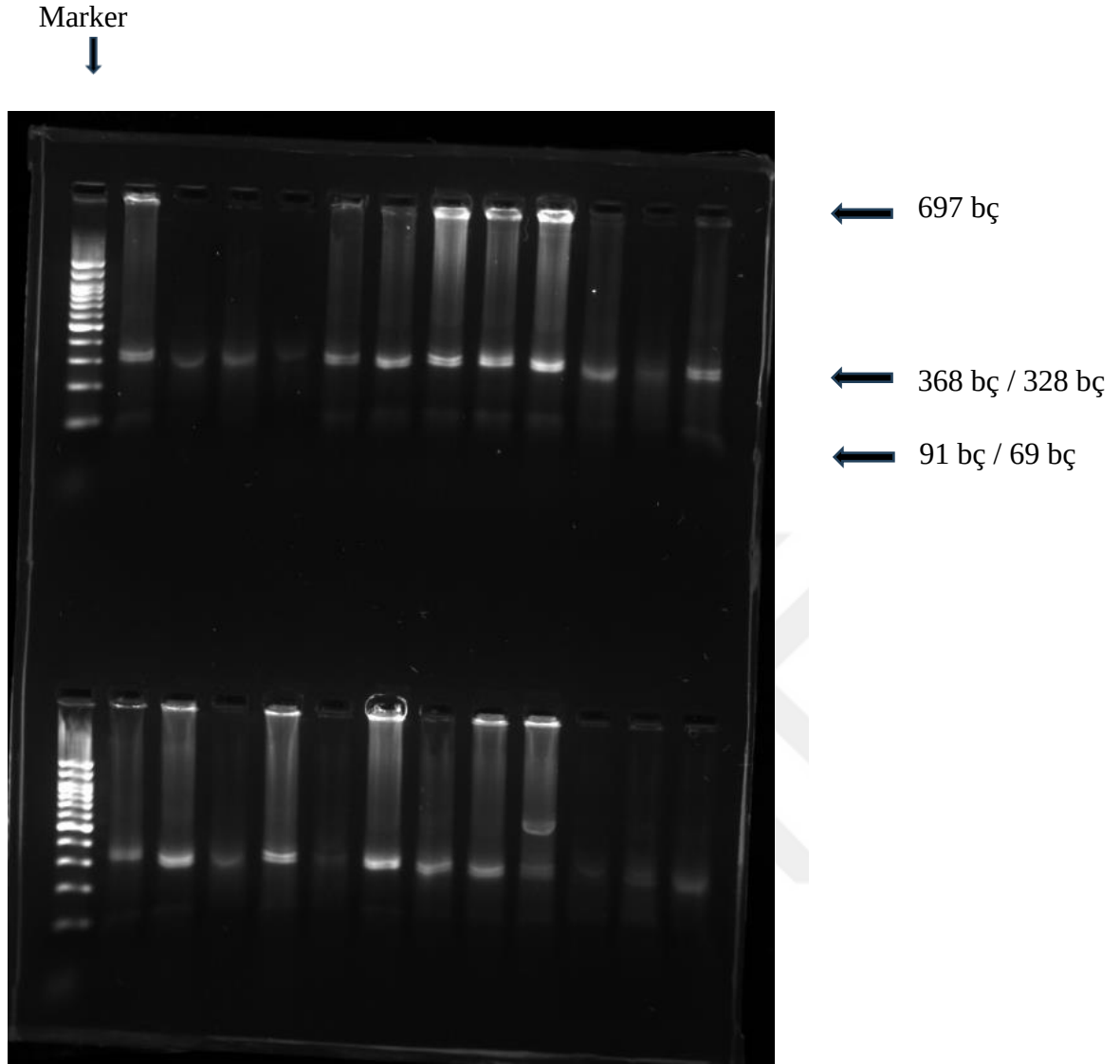
C ve T allellerinin frekans dağılımı ırklar arasında farklılık göstermektedir. Kıl keşisinde C ve T allelleri dengeli dağılırken (C: 0.48, T: 0.52), Kilis keşisinde T alleli baskındır (T: 0.81). Bu durum, allel düzeyinde genetik varyasyonun ırklar arasında nasıl değiştiğini ve potansiyel selektif baskıların hangi allelleri etkiliyor olabileceğini ortaya koymaktadır.



Her bir ırk için hesaplanan χ^2 değerleri, Hardy-Weinberg dengesinden sapma düzeyini göstermektedir. Eşik değer olan 3.84'ün altında kalan tüm χ^2 değerleri (Kıl: 1.97, Tiftik: 0.82, Kilis: 1.21), dengenin istatistiksel olarak bozulmadığını göstermektedir ($p > 0.05$). Bu durum, bu SNP açısından ırkların genetik yapılarında anlamlı bir sapma bulunmadığı şeklinde yorumlanabilir.

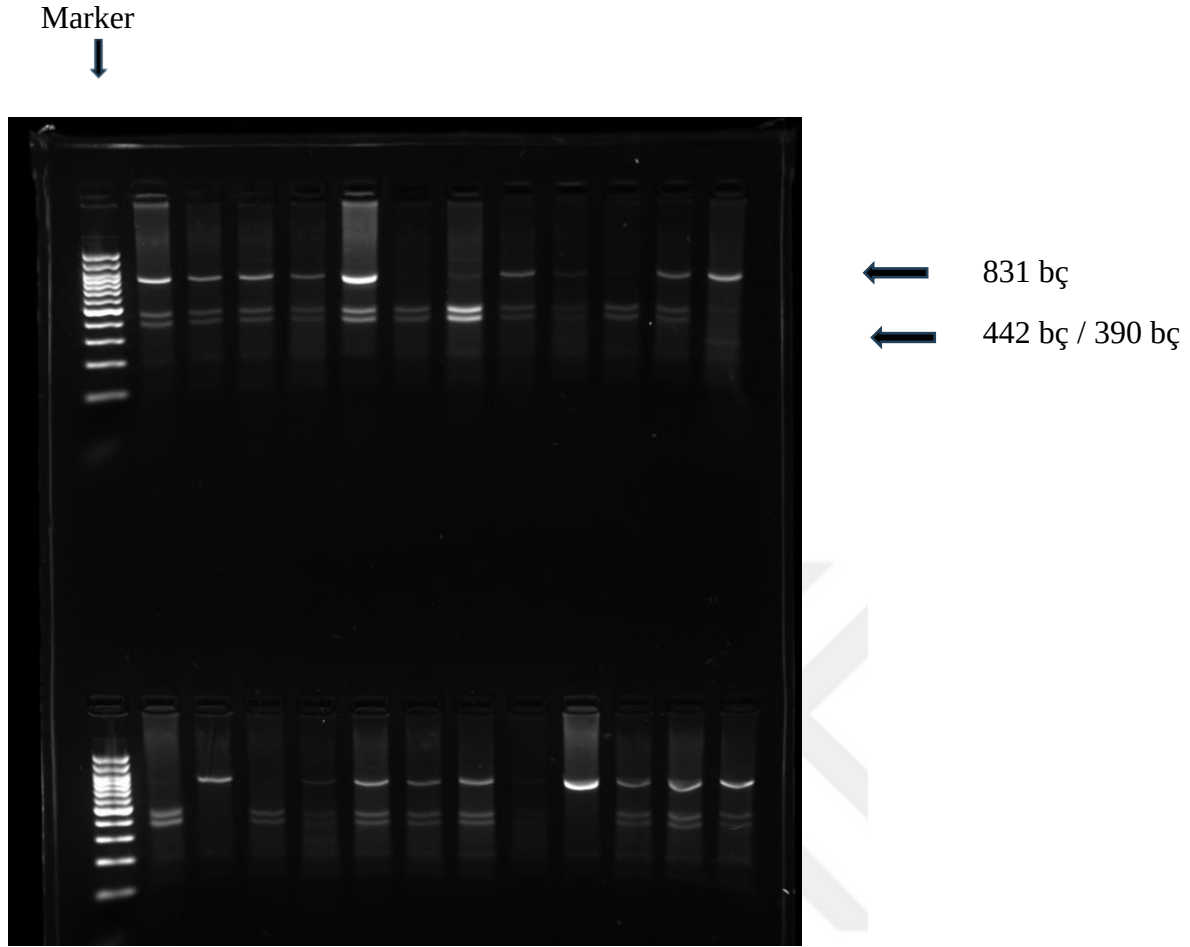
4.3. KISS1 geni PZR-RFLP metodu ile belirlenen polimorfizmler

C2540T: KISS1 geni 832 bp büyüklüğündeki bölgenin PZR ile çoğaltılması ve C2540T lokusunun tespiti için *SacI* enzimi ile kesimi sonucunda CC genotipli bireylerde 368, 328, 91 ve 69 bp'lik dört bant, CT genotipli bireylerde 697, 368, 328, 91 ve 69 bp'lik beş adet bant elde edilmiştir (Şekil 4.4).



Şekil 4.4: KISS1 geni 832 bç'lik hedef bölgesinin *SacI* ile kesim sonrası %2'lik Agaroz jeldeki görüntüsü [1. kuyu: Markör (Transgen Biotech 100 bç Plus DNA Ladder), diğer kuyular 697, 368, 328, 91 ve 69 bç'lik hedef bölgeler]

A2510G: KISS1 geni 832 bç büyüklüğündeki bölgenin PZR ile çoğaltılması ve A2510G lokusunun tespiti için *PvuII* enzimi ile kesimi sonucunda AA genotipli bireylerde 831 bç'lik tek bant, AG genotipli bireylerde 831, 442 ve 390 bç'lik üç bant elde edilmiştir (**Şekil 4.5**).

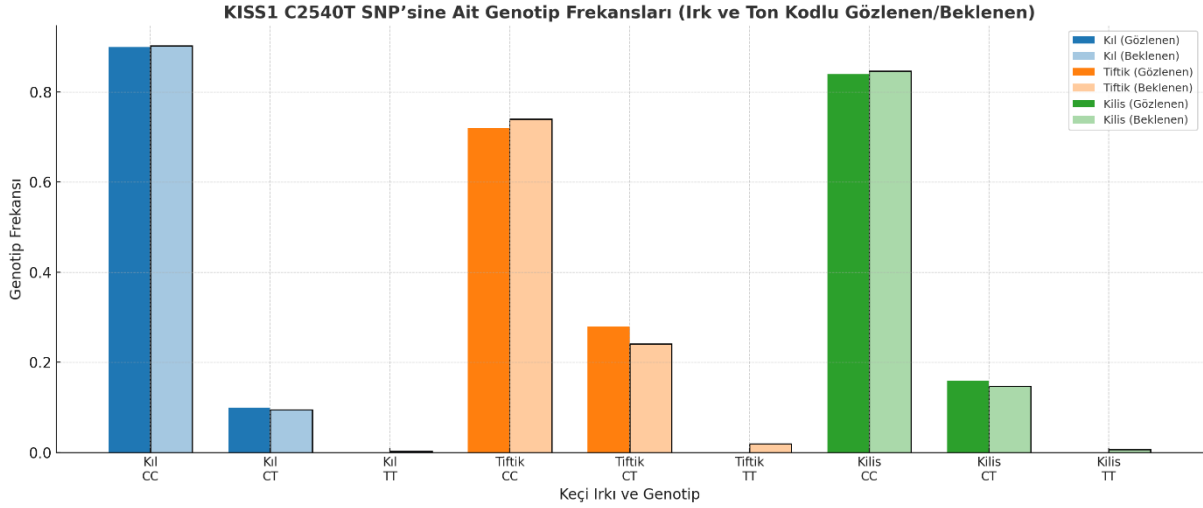


Şekil 4.5: KISS1 geni 832 bç'lik hedef bölgesinin *PvuII* ile kesim sonrası %2'lık Agaroz jeldeki görüntüsü [1. kuyu: Markör (Transgen Biotech 100 bç Plus DNA Ladder), diğer kuyular 831, 442 ve 390 bç'lik hedef bölgeler]

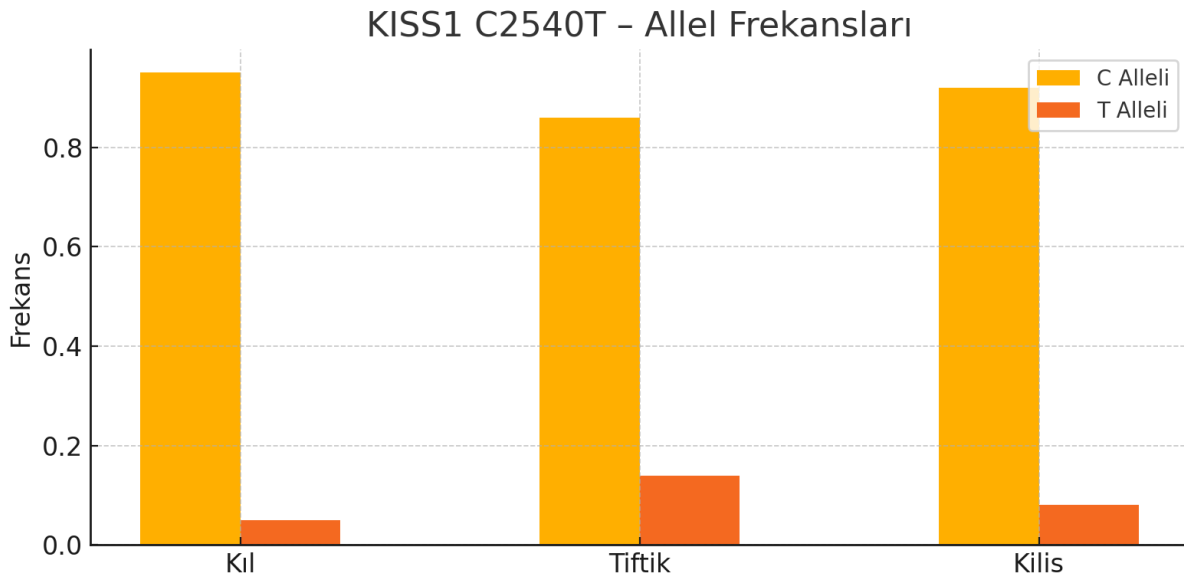
4.4. KISS1 Geni Genotip ve Allel Frekanslarının Analizi

Tablo 4.4: Kıl, Tiftik ve Kilis ırk keçilerde KISS1 için C2540T lokusu gen polimorfizmi genotip ve allel frekansları (* İşaretli değerler Hardy-Weinberg dengesinden sapmaktadır)

		Genotip						Allel Frekansı (%)		
		CC		CT		TT		C	T	
İrk	Hayvan Sayısı	Gözlenen	Beklenen	Gözlenen	Beklenen	Gözlenen	Beklenen			(χ^2)
Kıl	50	0.90	0.9025	0.10	0.0950	0	0.0025	0.95	0.05	0.1385
Tiftik	50	0.72	0.7396	0.28	0.2408	0	0.0196	0.86	0.14	1.3251
Kilis	50	0.84	0.8464	0.16	0.1472	0	0.0064	0.92	0.08	0.3781

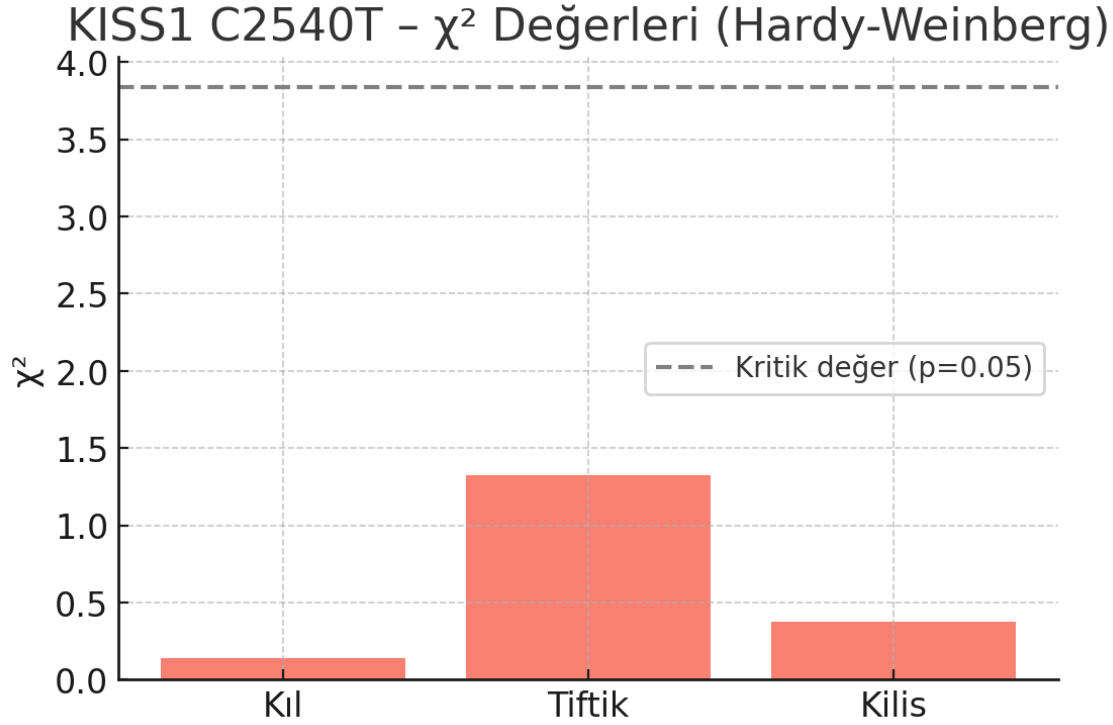


C2540T varyantına ait analizlerde, her üç keçi ırkında da CC genotipi baskın olarak gözlenmiştir. CT genotipi, tüm ırklarda beklenen frekansa yakın veya biraz üzerinde görülmüştür. TT genotipi ise hiçbir bireyde tespit edilmemiştir, bu durum Hardy-Weinberg dengesinin sınırlarında bir dağılım olduğunu göstermektedir. Bu bulgular, C allelinin popülasyon içinde oldukça baskın olduğunu, T allelinin ise düşük frekansta kaldığını ortaya koymaktadır. Özellikle TT genotipinin yokluğu, T allelinin homozigot formda taşınmasının nadir olduğunu, belki de biyolojik ya da üretimsel dezavantajlar nedeniyle negatif seleksiyon altında tutulduğunu düşündürülebilir. Ayrıca heterozigot bireylerin (CT) gözlenebilir oranda bulunması, bu SNP'nin taşıdığı varyantların popülasyonda aktif olarak taşınmakta olduğunu, ancak T allelinin çift kopya halinde taşınmasının sınırlı olduğunu göstermektedir. Bu yapı, hem allel dağılımı açısından dengesizliği hem de SNP'nin selektif süreçlerle şekillendiğini ima etmektedir.



C alleli her üç ırkta da baskın pozisyonundadır (Kıl: 0.95, Tiftik: 0.86, Kilis: 0.92). Bu durum, KISS1 genindeki C2540T varyantının evrimsel olarak korunan bir form taşıdığını, T

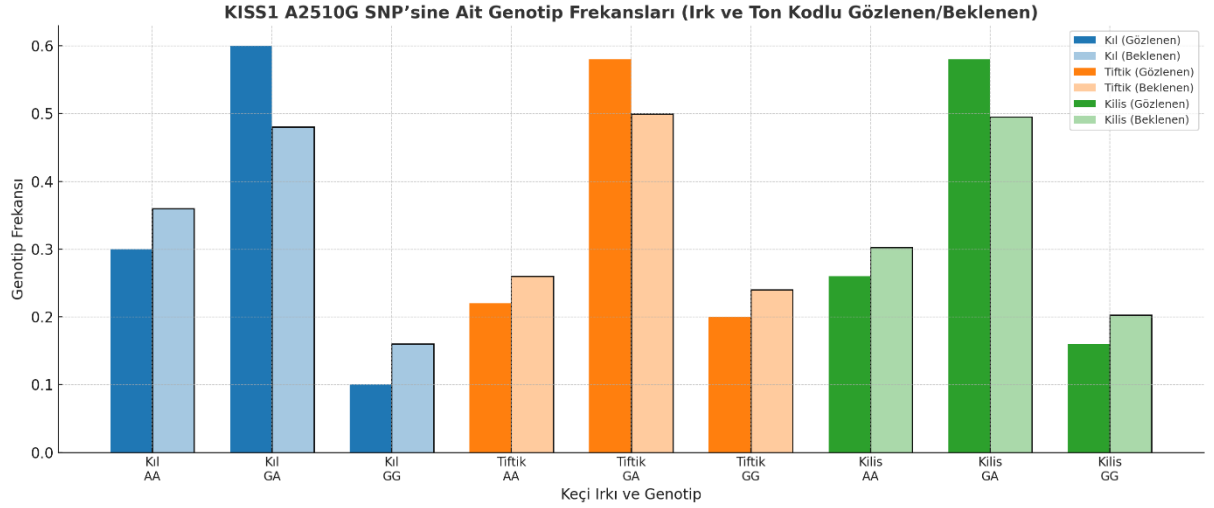
allelinin ise düşük frekansla sınırlı kaldığını göstermektedir. Özellikle T allelinin homozigot formda gözlenmemesi, genetik seleksiyonla ilişkilendirilebilir.



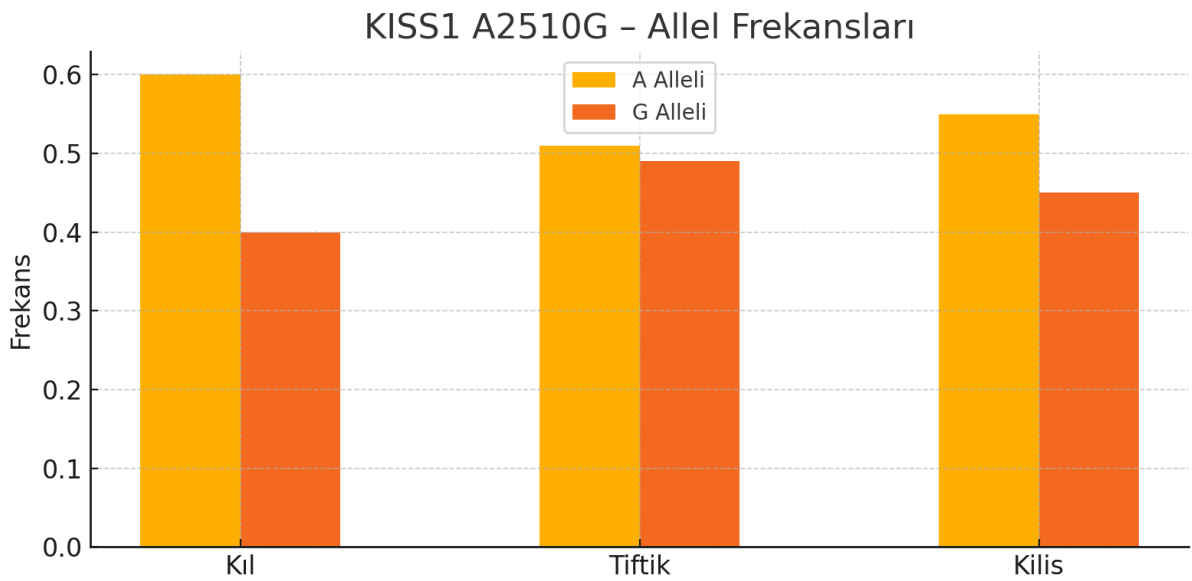
Kıl ($\chi^2 = 0,1385$), Tiftik ($\chi^2 = 1,3251$) ve Kilis ($\chi^2 = 0,3781$) keçisi ırklarında hesaplanan χ^2 değerleri, kritik eşik olan 3.84'ün altında kalmıştır. Bu sonuçlar, popülasyonların Hardy-Weinberg dengesi ile istatistiksel olarak uyumlu olduğunu göstermekte ve söz konusu SNP için popülasyon yapısında anlamlı bir sapma olmadığını desteklemektedir.

Tablo 4.5: Kıl, Tiftik ve Kilis ırk keçilerde KISS1 için A2510G lokusu gen polimorfizmi genotip ve allel frekansları (* İşaretli değerler Hardy-Weinberg dengesinden sapmaktadır)

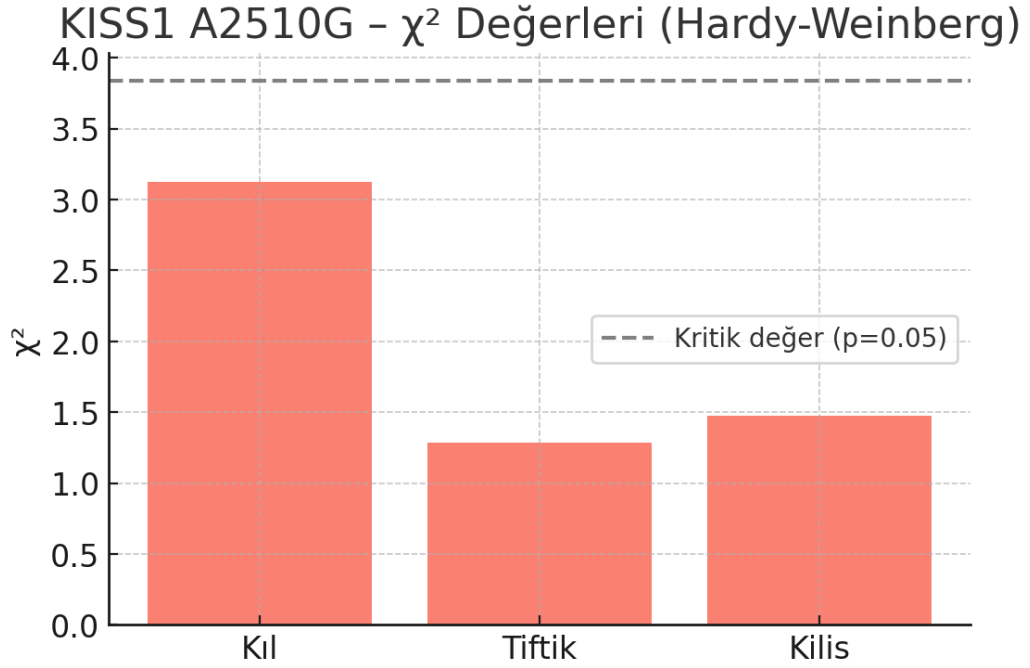
İrk	Hayvan Sayısı	Genotip						Allel Frekansı (%)		(χ^2)
		AA		AG		GG		A	G	
		Gözlenen	Beklenen	Gözlenen	Beklenen	Gözlenen	Beklenen			
Kıl	50	0.30	0.3600	0.60	0.4800	0.10	0.1600	0.60	0.40	3.1250
Tiftik	50	0.22	0.2601	0.58	0.4998	0.20	0.2401	0.51	0.49	1.2875
Kilis	50	0.26	0.3025	0.58	0.4950	0.16	0.2025	0.55	0.45	1,4744



A2510G varyantına ilişkin analizlerde, her üç keçi ırkında da AG heterozigot genotipi hem beklenen hem de gözlenen frekans açısından en baskın dağılıma sahiptir. AA ve GG homozigot genotipleri ise daha düşük frekansta gözlenmiştir. Bu dağılım, Hardy-Weinberg dengesine genel olarak yakın olmakla birlikte, özellikle heterozigot birey oranının yüksekliği, genetik çeşitliliğin sürdüğünü ve allellerin popülasyonda dengeli şekilde taşındığını göstermektedir. Tüm ırklarda AG genotipinin yüksek frekansta gözlenmesi, bu genotipin bireylerde yaygın olduğunu ve muhtemelen selektif olarak nötr ya da avantajlı olabileceğini düşündürmektedir. Öte yandan, her iki homozigot genotipin düşük frekansta kalması, tam homozigotlaşmanın sınırlı olduğunu ve popülasyonlarda allelik denge durumunun sürdüğünü ortaya koymaktadır. Bu SNP'ye ait genotip dağılımı, heterozigotluk düzeyinin yüksekliğini ve üç ırkta da benzer kalıtsal eğilimlerin varlığını göstermesi açısından dikkat çekicidir. Bu durum, KISS1 geninin bu varyantı üzerinde herhangi bir negatif seleksiyon baskısının bulunmadığını ve her iki allelin de popülasyonda serbestçe taşındığını düşündürmektedir.



A ve G allelleri her üç ırkta da birbirine yakın frekanslarla temsil edilmiştir (A: 0,51–0,60 arası, G: 0,40–0,49 arası). Bu denge, allel çeşitliliğinin korunduğunu ve olası yönlü seleksiyon baskılarının henüz belirginleşmediğini göstermektedir. Bu durum, SNP'nin üreme özellikleriyle ilişkilendirilmiş olmasına rağmen nötr kalıtsal bir varyant olabileceğini de düşündürmektedir.



Kıl ($\chi^2 = 3,1250$), Tiftik ($\chi^2 = 1,2875$) ve Kilis ($\chi^2 = 1,4744$) ırklarında hesaplanan χ^2 değerleri, Hardy-Weinberg denge testi için kritik değer olan 3.84'ün altında kalmıştır. Bu sonuçlar, A2510G SNP'sinin ırklarda istatistiksel olarak dengeli dağıldığını ve genetik sapma olmadığını göstermektedir.

5. TARTIŞMA

Gıda ve Tarım Örgütü'ne göre, çiftlik hayvanı ırklarının sayısı, 20. yüzyılın ortalarından beri devam eden entansif tarım nedeniyle azalmaktadır. Diğer faktörlerin yanı sıra, bu durum tek tip tarım alanlarının artması, hayvancılık üretiminin ayrılması ve yüksek verimli birkaç hayvan ırkının dünya çapında kullanılması ile ilişkilidir. FAO'nun raporuna göre, yaklaşık 9000 çiftlik hayvanı ırkının %24'ü risk altında, %59'unun ise risk durumu bilinmemektedir. Ayrıca, %7'si yok olmuş olarak kabul edilirken, sadece %10'u risk altında olmayan ırk olarak sınıflandırılmıştır. Çiftlik hayvanı ırklarının çoğunluğu (%88) "yerel ırklar" olarak sınıflandırılmıştır (FAO, 2019).

Türkiye'de keçi yetiştiriciliği önemli bir tarımsal faaliyet olarak kabul edilmekte olup, bu sektör ülkenin çeşitli bölgelerinde yaygın olarak yapılmaktadır. Keçi yetiştiriciliği genellikle küçük ölçekli işletmeler ve aile işletmeleri tarafından yürütülmekte olup, yerel ırkların korunması ve geliştirilmesi önemli bir strateji olarak öne çıkmaktadır. Türkiye'de keçi yetiştiriciliği hem et hem de süt üretimi açısından önemli katkılar sağlamakta olup, özellikle kırsal bölgelerde sosyo-ekonomik kalkınmaya olumlu katkı sağlamaktadır. Ancak, sektördeki verimliliği artırmak ve yerel ırkların genetik yapısını korumak için modern yöntemlerin ve teknolojilerin kullanımı önemli bir gereklilik olarak ön plana çıkmaktadır (Özcan, 1989; Özalp ve Sayın, 2018; Soysal ve diğ., 2020).

Keçilerde üreme davranışları, çeşitli faktörler tarafından etkilenmektedir. Bu faktörler arasında beslenme, fotoperiyot ve mevsimsel değişiklikler, sürü içi hiyerarşi, fizyolojik durumlar (örneğin, gebelik veya laktasyon), stres düzeyleri ve çevresel koşullar yer almaktadır. Örneğin, doğal çiftleşme davranışı, erkek ve dişi keçiler arasındaki sosyal etkileşimler ve hormonal değişimler tarafından modüle edilmektedir (Ramírez-Vera ve diğ., 2012; Farsi ve diğ., 2018; Bolacalı ve diğ., 2019; Zuñiga-Garcia ve diğ., 2020).

Quantitative Trait Loci (QTL'ler), karmaşık fenotipik özelliklerin genetik temellerini anlamak için önemli bir araç olarak kabul edilmektedir. QTL'ler, belirli bir fenotipik özelliğin genetik kontrolünü sağlayan ve genetik haritalarda lokalize edilen DNA bölgeleridir (Mackay ve diğ., 2009). Hayvan yetiştiriciliğinde, QTL haritalaması, istenen özelliklerin seleksiyon ve ırkların ıslahı için kullanılan temel bir stratejidir (Andersson ve Georges, 2004). Örneğin, sığırlarda süt verimi, et verimi, hastalık direnci gibi önemli özellikler için QTL haritalaması

yapılmış ve bu bilgiler hayvan yetiştiriciliğinde genetik iyileştirme programlarının geliştirilmesine katkı sağlamıştır (Georges ve diğ., 2019). Ancak, QTL haritalaması sürecinde genetik arka plan, fenotipin ölçüm yöntemleri ve istatistiksel analizlerin doğru bir şekilde yapılmış olması büyük önem taşır (Visscher ve Goddard, 2010). Bu nedenle, QTL'lerin keşfi ve karakterizasyonu, modern hayvan ıslahı ve genetik iyileştirme stratejilerinin temelini oluşturmaktadır.

Son on yılda, moleküler genetikteki ilerlemeler, ekonomik öneme sahip özellikler üzerinde önemli etkisi olan bireysel genleri veya aday genleri keşfetmeyi mümkün kılmıştır. Aday gen yaklaşımı, fizyolojik ve biyokimyasal kanıtlara dayanarak fenotipik varyasyona neden olabilecek genlerdeki polimorfizmleri belirleme amacı gütmektedir ve bu yaklaşım, keçi üreme özelliklerinin iyileştirilmesini hızlandırabilir. Bu yöntem, hormon düzenlemesi, foliküler gelişim ve üreme verimliliği gibi üreme ile ilişkili bilinen belirli genlere odaklanmaktadır. Bu genetik varyantları belirleyerek, araştırmacılar keçi üreme ile ilgili özellikleri daha iyi anlayabilir ve potansiyel olarak manipüle edebilir, böylece üretim programlarını ve tarımsal verimliliği artırabilirler (Silva ve diğ., 2019; El-Sayed ve diğ., 2020).

5.1. KITLG

Bu çalışmada, Kıl, Tiftik ve Kilis gibi ülkemize özgü üç yerli keçi ırkında, üreme performansı ile ilişkili olduğu bildirilen g.12654G>A, g.12829T>C ve g.12772G>A SNP'lerinin popülasyon genetik yapısı üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir. Özellikle üç farklı SNP'nin genotip frekansları, Hardy-Weinberg dengesi (HWD) ile uyumu ve allel dağılımı analiz edilerek, bu varyantların popülasyon içindeki genetik çeşitliliğe ve potansiyel seleksiyon baskılarına katkısı ortaya konmuştur.

Genetik ve İstatistiksel olarak SNP g.12654G>A

Hardy-Weinberg Dengesi:

g.12654G>A SNP'si, Kıl, Tiftik ve Kilis keçisi ırklarında Hardy-Weinberg dengesinden anlamlı düzeyde sapma göstermiştir (χ^2 değerleri sırasıyla 17,25, 26,22 ve 36,28). Özellikle CT (heterozigot) genotipinin üç ırkta da beklenenin üzerinde frekansta gözlenmesi ve TT genotipinin hiç gözlenmemesi, genetik popülasyon yapısında önemli bir heterozigot fazlalığına işaret etmektedir.

Kalıtsal Değerlendirme:

Bu bulgu, An ve diğ. (2014) tarafından bildirilen sonuçlarla uyumludur. Söz konusu çalışmada da CT genotipinin hem daha yaygın olduğu hem de doğurganlıkla pozitif ilişki gösterdiği ifade edilmiştir. Bu da, CT genotipine sahip bireylerin seçim avantajına sahip olabileceğini düşündürmektedir.

Allel Perspektifi:

C alleli üç ırkta da T alleleline göre baskın durumdadır. Ancak T allelinin TT homozigot formunun hiç gözlenmemesi, bu allelin resesif zararlı olabileceği ya da negatif seleksiyonla baskılandığına işaret etmektedir. Bu SNP, popülasyonların doğurganlık açısından gizil genetik potansiyelini taşıyan heterozigot bireyleri öne çıkarıyor olabilir.

Genetik ve İstatistiksel olarak SNP g.12829T>C

Hardy-Weinberg Dengesi:

Kıl, Tiftik ve Kilis ırklarında bu SNP için de χ^2 testleri anlamlı sapmalara işaret etmiştir (χ^2 : 13,27, 33,47 ve 36,28). GA genotipi baskın, AA genotipi ise hiçbir örnekte gözlenmemiştir. Bu, popülasyon düzeyinde genetik yapının HWD ile uyuşmadığını açıkça göstermektedir.

Kalıtsal Değerlendirme:

An ve diğ. (2014) çalışmasında, GA genotipinin doğurganlık ile ilişkili olduğunu ve yüksek döl verimliliği açısından avantajlı olabileceğini ortaya koymuştur. Çalışmamızda GA genotipinin ırklar genelinde yaygın şekilde gözlenmesi, bu bulguları desteklemektedir. Bu SNP’de de heterozigot üstünlüğü (heterosis) olasılığı oldukça güçlüdür. Bu durum, bizim çalışma bulgularımızla uyumludur ve genetik ıslah programlarında bu SNP’nin dikkate alınmasını gerekli kılmaktadır.

Allel Perspektifi:

G alleli her üç ırkta da A alleleline göre daha yüksek frekanstadır. Ancak AA genotipinin yokluğu, A allelinin yüksek dozda zararlı veya fonksiyonel olarak baskılanmış olabileceğini düşündürmektedir. Bu allelik dengesizlik, seçim baskılarının sadece genotip düzeyinde değil, allel düzeyinde de işlediğini göstermektedir.

Genetik ve İstatistiksel olarak SNP g.12772G>A

Hardy-Weinberg Dengesi:

Bu SNP, diğer iki SNP'ye kıyasla dengenin daha çok korunduğu bir varyanttır. Kıl ($\chi^2 = 1,97$), Tiftik ($\chi^2 = 0,82$) ve Kilis ($\chi^2 = 1,21$) ırklarında χ^2 değerleri 3,84 eşik değerinin altında kalmıştır. Bu durum, popülasyonların bu lokustaki genetik yapılarının rasgele çiftleşme varsayımına daha uygun olduğunu göstermektedir.

Kalıtsal Değerlendirme:

g.12772G>A SNP'i, Hardy-Weinberg dengesine genel olarak uyum göstermiştir ($\chi^2 < 2$). Bu dengenin korunmuş olması, ilgili SNP'nin popülasyon içinde şu anda selektif bir baskıya maruz kalmadığını veya evrimsel olarak daha tarafsız bir bölgede yer aldığını düşünmeye olanak tanır. Bununla birlikte, Kilis ırkında T allelinin baskın (0,81) olması, bölgesel adaptasyon ve popülasyon yapısının allel frekansları üzerinde etkili olabileceğini göstermektedir. An ve diğ. (2014) çalışmalarında bu SNP'ye dair doğrudan bir fonksiyonel ilişki kurulmamış olsa da çalışmanın sunduğu moleküler altyapı, bu SNP'nin de potansiyel bir kalıtsal belirteç olarak değerlendirilebileceğini göstermektedir.

Allel Perspektifi:

Kıl ve Tiftik ırklarında C ve T allelleri nispeten dengeliyken, Kilis ırkında T alleli belirgin şekilde baskındır (T: 0.81). Bu dağılım, ırksal farklılaşma düzeyinde doğal seçim, sürü yapısı veya lokal adaptasyon etkilerini yansıtabilir.

Özetle, çalışma bulguları, g.12654G>A ve g.12829T>C SNP'lerinin HWD sapması, heterozigot baskınlığı ve literatürle uyumlu fonksiyonel etkileri göz önüne alındığında, üreme başarısı açısından öncelikli seçim kriterleri arasında yer alabileceğini ortaya koymaktadır. Bu SNP'lerin, marköre dayalı seleksiyon programlarında kullanılabilirliği, yerli keçi ırklarının verimlilik potansiyelini artırmaya yönelik önemli bir strateji olarak öne çıkmaktadır.

An ve diğ. (2015), Çin menşeli Xinong Saanen ve Guanzhong süt keçisi ırklarında KITLG geninin 5'-flanking bölgesinde yer alan g.13090G>T ve g.13664C>A olmak üzere iki yeni SNP tanımlamış ve bu varyantların yavrulama sayısı ile istatistiksel olarak anlamlı düzeyde ilişki gösterdiğini ($P < 0,05$) raporlamıştır. Ayrıca söz konusu SNP'ler arasında bağlantı dengesizliği (LD; $r^2 > 0,33$) saptanmış olması, KITLG lokusunun bu ırklarda güçlü bir kalıtsal blok yapısı taşıyabileceğini ortaya koymuştur. Bu bulgular, çalışmamızda yer alan g.12654G>A SNP'si ile karşılaştırıldığında, KITLG geninin farklı pozisyonlarında yer alan

varyantların benzer şekilde doğurganlıkla ilişkili potansiyel taşıyabileceğini düşündürmektedir. Bizim çalışmamızda incelenen Kıl, Tiftik ve Kilis keçisi ırklarında g.12654G>A varyantı, özellikle heterozigot CT genotipinin yüksek frekansta bulunması ile dikkat çekmiş, buna karşın TT homozigot formun yokluğu, allelik çeşitliliğin kısıtlı olduğunu göstermiştir. Ayrıca Hardy-Weinberg dengesinden sapma durumu özellikle Kilis keçisi ırkında daha belirgindir ($\chi^2 = 17,16$). Bu yönüyle An ve diğ. (2015)'in bulgularına kıyasla, bizim çalışmamızda tespit edilen SNP, istatistiksel olarak yavru sayısı ile ilişkilendirilmemiş olsa da, popülasyon yapısını etkileyebilecek bir varyant olarak öne çıkmaktadır. Ayrıca, iki çalışmada incelenen ırklar farklı olduğu için varyantların etkisi genetik arka plana bağlı olarak değişkenlik gösterebilir. Bu durum, ırk-spesifik SNP etkileşimlerinin dikkate alınması gerektiğini ve KITLG geninin farklı bölgelerinde yer alan varyantların fonksiyonel etkilerinin bağımsız olarak değerlendirilmesinin önemli olduğunu göstermektedir.

An ve diğ. (2012), Xinong Saanen, Guanzhong ve Boer keçi ırklarını içeren geniş kapsamlı çalışmalarında g.769T>C, g.817G>T ve g.9760G>C olmak üzere üç yeni SNP tanımlamış ve bu varyantların her birinin yavrulama sayısı ile anlamlı derecede ilişkili olduğunu bildirmiştir ($P < 0.05$). Özellikle çalışmada bildirilen tüm lokusların Hardy-Weinberg dengesinden sapmış olması, söz konusu varyantların selektif baskı altında olabileceği ya da genetik sürüklenme gibi popülasyon dinamiklerinin etkili olabileceğini düşündürmektedir. Bizim çalışmamızda ise Türkiye'ye özgü yerli keçi ırklarında (Kıl, Tiftik, Kilis) g.12654G>A varyantı analiz edilmiştir. Tüm ırklarda CT heterozigot genotipinin yüksek frekansta bulunması, GG homozigot formunun ise yokluğu, popülasyonlarda asimetri ve allelik dengesizlik olduğunu göstermiştir. Özellikle Kilis keçisinde beklenen ile gözlenen dağılımlar arasında ciddi fark bulunmuş ve Hardy-Weinberg dengesi anlamlı şekilde sapmıştır ($\chi^2 = 17,16$, $p < 0,05$). Bu bulgular, An ve diğ. (2012)'nin çalışmalarıyla örtüşmektedir. Zira her iki çalışmada da KITLG geninde farklı bölgelerde yer alan SNP'lerin genotip dağılımlarında dengesizlik saptanmış ve bu varyantların doğurganlıkla ilişkili potansiyeli olduğu vurgulanmıştır. Ancak çalışmalardaki ırk farklılıkları, elde edilen SNP'lerin etkilerinin ırka özgü genetik altyapılar tarafından şekillendirilebileceğini göstermektedir. Bu da marker dayalı seleksiyon (MAS) programlarında ırk-spesifik moleküler varyantların dikkate alınmasının önemini ortaya koymaktadır.

Cheng ve diğ. (2020), Boer keçisi ırkında KITLG geninin intron bölgelerinde yer alan varyantların testis gelişimi ve erkek fertilitesi ile ilişkili olabileceğini bildirmiştir. Bu durum,

KITLG geninin yalnızca doğurganlık değil, farklı reproduktif özellikleri etkileyen çok yönlü işlevlere sahip olduğunu göstermektedir. Bizim çalışmamızda testis fonksiyonları doğrudan analiz edilmemiştir; ancak SNP'lerin hem dişi hem erkek bireylerdeki üreme parametrelerine etkileri gelecekteki çalışmalar açısından değerlidir.

Zhang ve diğ. (2021b), Saanen keçilerinde yaptıkları çalışmada KITLG gen bölgesindeki varyantların folikül gelişimi ve ovulasyon mekanizmaları ile bağlantılı olabileceğini göstermiştir. Bu, KITLG'nin sadece genetik değil, aynı zamanda moleküler düzenleyici düzeyde de etkili olduğunu ortaya koymaktadır. Bizim bulgularımızda da, genetik çeşitliliğin yüksek heterozigotlukla temsil edilmesi bu biyolojik aktiviteyle ilişkili olabilir.

Silva ve diğ. (2006c) keçilerde KITLG proteininin tüm folikül gelişim aşamalarında granüloza hücrelerinde eksprese olduğunu ve folikülogenezde temel bir rol oynadığını vurgulamıştır. Hutt ve diğ. (2006b), fare modellerinde KITLG/c-Kit sisteminin germ hücresi gelişimi, primordial folikül aktivasyonu ve mayotik arrestin sürdürülmesinde etkili olduğunu göstermiştir. Bu mekanizmalar göz önünde bulundurulduğunda, popülasyon düzeyinde CT genotipinin baskınlığı, biyolojik olarak avantajlı bir heterozigotluk durumunu yansıtır olabilir.

Yoshida ve diğ. (1997b) ise sığır ve koyun türlerinde, farklı folikül gelişim evrelerinin c-kit ligand ekspresyonuna bağlı olarak değiştiğini bildirmiştir. Bu bağlamda, KITLG SNP'lerinin bu düzeydeki düzenleyici mekanizmalarla ilişkili olması kuvvetle muhtemeldir.

Sonuç olarak, mevcut çalışma, Türkiye'ye özgü üç yerli keçi ırkında KITLG genine ait g.12654G>A, g.12829T>C ve g.12772G>A SNP'lerinin popülasyon içi dağılımını ortaya koymuş, özellikle Kilis keçisinde genetik dengesizlik ve yüksek heterozigotluk göstermiştir. Bu sonuçlar, yukarıda sunulan çok sayıda literatür ile paralellik göstererek, KITLG geninin reproduktif fizyolojide önemli bir moleküler aday olduğunu desteklemektedir. Ancak yavru sayısı ile doğrudan ilişkilendirilebilmesi için daha geniş örneklemli ve fenotipik veriye dayalı analizler gereklidir.

5.2. KISS1

Bu çalışmada, Kıl, Tiftik ve Kilis gibi ülkemize özgü üç yerli keçi ırkında, üreme performansı ile ilişkili olduğu bildirilen A2510G ve C2540T SNP'lerinin popülasyon genetik yapısı üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir. Özellikle üç farklı SNP'nin genotip frekansları, Hardy-Weinberg dengesi (HWD) ile uyumu ve allel dağılımı analiz edilerek, bu varyantların popülasyon içindeki genetik çeşitliliğe ve potansiyel seleksiyon baskılarına katkısı ortaya konmuştur.

Genetik ve İstatistiksel olarak SNP A2510G

Hardy-Weinberg Dengesi:

A2510G SNP'si için yapılan χ^2 testleri, hem Kıl ($\chi^2 = 3,1250$), hem Tiftik ($\chi^2 = 1,2875$), hem de Kilis ($\chi^2 = 1,4744$) keçisi ırklarında Hardy-Weinberg dengesine uygunluk göstermiştir ($p > 0,05$). Bu bulgular, söz konusu SNP'nin popülasyonlar içinde rastlantısal olarak dağıldığını ve mevcut genotip frekanslarının teorik beklentilerle çelişmediğini ortaya koymaktadır. Elde edilen sonuçlar, üreme açısından seçici baskıların bu bölge üzerinde sınırlı etkisi olduğunu düşündürmektedir.

Kalıtsal Değerlendirme:

A2510G varyantı bakımından AG genotipinin tüm ırklarda en sık gözlenen form olması, heterozigot avantajı olasılığını gündeme getirmektedir. Literatürde benzer şekilde AG genotipinin, bazı keçi ırklarında doğurganlıkla ilişkili olarak daha yüksek frekans gösterdiği belirtilmiştir (Rahawy ve Al-Mutar, 2021). Ancak bu çalışmada genotiplerin yavru sayısı üzerine doğrudan etkisi ölçülmediğinden, fonksiyonel sonuçları belirlemek adına ileri fenotipik analizler önerilmektedir.

Allel Perspektifi:

A alleli her üç ırkta da baskın konumda (%51–60 arası) olup, G allelinin varlığı popülasyon içindeki genetik çeşitliliği göstermektedir. Bu SNP, yüksek allelik çeşitliliği sunmakla birlikte, yönlü bir seleksiyon etkisi altında olmadığını düşündürecek biçimde iki allel arasında dengeli bir dağılım sergilemiştir. Bu durum, söz konusu lokusun üreme karakterlerine doğrudan etkisinin sınırlı olabileceğine işaret edebilir.

Genetik ve İstatistiksel olarak SNP C2540T

Hardy-Weinberg Dengesi:

C2540T SNP'si için χ^2 değerleri (Kıl: 0,1385, Tiftik: 1,3251, Kilis: 0,3781) Hardy-Weinberg dengesine tam uyum göstermiştir. Özellikle TT genotipinin hiçbir bireyde gözlenmemesi, T allelinin ya çok düşük frekansta kalmasına ya da potansiyel olarak selektif baskı altında olmasına bağlanabilir. Ancak bu dağılım, dengenin bozulmasına neden olacak ölçüde değildir.

Kalıtsal Değerlendirme:

Kıl ve Kilis keçilerinde CC genotipi oldukça yüksek frekansta gözlenmiş (%90 ve %84), CT heterozigotlar ise nadir kalmıştır. T alleli homozigot formda (TT) hiçbir bireyde saptanamamıştır. Bu yapı, söz konusu varyantın genetik havuzda sabitlenmeye eğilimli olduğunu ve T allelinin ya nötr ya da hafifçe olumsuz seçildiğini düşündürmektedir.

Allel Perspektifi:

C alleli tüm ırklarda baskın (%86–95), T alleli ise düşük (%5–14) frekans göstermektedir. Düşük T alleli frekansı ve TT genotipinin yokluğu, allelin popülasyon içinde sınırlı etkili olduğunu düşündürmektedir. Ayrıca, genotip frekanslarının Hardy-Weinberg ile uyum göstermesi, herhangi bir güçlü yapısal sapmanın olmadığını doğrulamaktadır.

Bu çalışmada elde edilen sonuçlar, KISS1 geni üzerinde incelenen A2510G ve C2540T SNP'lerinin, üç yerli keçi ırkında (Kıl, Tiftik, Kilis) Hardy-Weinberg dengesine uyumlu şekilde dağıldığını göstermiştir. Bu bulgular, Rahawy ve Al-Mutar (2021) tarafından Irak kara keçileri ve Kıbrıs keçilerinde bildirilen sonuçlarla paralellik göstermektedir. Söz konusu çalışmada da AG heterozigotluğu yüksek frekansta saptanmış ve KISS1 varyantlarının doğurganlıkla ilişkili olabileceği ve üreme verimliliğiyle dolaylı bir bağlantı olabileceğini düşündürmektedir.

Ancak mevcut çalışmada SNP'lerin yavru sayısı ile doğrudan ilişkisi test edilmediğinden, genotip-fenotip etkileşimlerini belirlemek adına daha geniş örneklemli, fenotipik verilerin entegre edildiği ileri çalışmalara ihtiyaç vardır. Ayrıca, KISS1 geninin ekspresyon düzeyleri ve epigenetik düzenlenmeleri de dikkate alınarak yapılacak transkriptomik analizler, üreme biyolojisine yönelik daha derinlemesine bilgiler sunabilir.

Sharma ve diğ. (2013b) tarafından yapılan başka bir çalışmada, KISS1 gen varyantlarının erken ergenlik ve yıl boyu östrus gibi reproduktif özellikleri etkileyebileceği vurgulanmıştır. Bizim çalışmamızda bu tür fenotipik veriler doğrudan test edilmemiş olsa da,

özellikle nadir allellerin (örneğin T) popülasyon içinde zayıf temsili, genetik düzeyde olası bir baskılanma mekanizmasına işaret etmektedir.

Smith ve diğ. (2006b) ve Navarro ve diğ. (2005a) gibi çalışmalar, KISS1 geninin GPR54 reseptörü aracılığıyla GnRH/LH aksını düzenleyen temel bir nöropeptid olduğunu ve özellikle hipotalamus-hormon sinyallemede rol oynadığını göstermiştir. Bu bağlamda, bizim çalışmamızda analiz edilen SNP'ler, bu sinyal yollarını etkileyen regülatör bölgelerdeki varyantlar olarak fonksiyonel etki potansiyeline sahiptir.

Febriana ve diğ. (2022b), Endonezya'ya özgü üç yerli keçi ırkında (Kacang, Kejobong ve Senduro) yürüttükleri çalışmada, KISS1 geninin intron 1 bölgesinde 14 adet SNP ve bir indel (inserksiyon/delesyon) tespit etmiş, bu varyantlardan özellikle SNP9'un, SNP8 ve SNP10 ile birlikte yüksek bağlantı dengesine (linkage disequilibrium) sahip olduğunu ve yavrulama sayısı ile anlamlı ilişki gösterdiğini belirtmişlerdir. Bu çalışmada ayrıca, H2 haplotipine (CCATAGCGCAACGT) sahip bireylerin, diğer haplotiplere göre daha yüksek doğurganlığa sahip olduğu gösterilmiştir. Bu bulgular, haplotip temelli analizlerin SNP analizlerinden daha kapsamlı bilgi sağlayabileceğini vurgulamaktadır. Bizim çalışmamızda ise KISS1 geninin kodlayıcı bölgesine (özellikle 3' UTR'a yakın) ait iki SNP (A2510G ve C2540T) analiz edilmiştir. Her iki varyantta da heterozigot formun baskın olduğu gözlenmiş, ancak homozigot alternatif allellerin (GG ve TT) popülasyonda ya çok nadir ya da hiç gözlenmediği kaydedilmiştir. Bu yapı, genetik çeşitliliğin var olduğunu ancak dengesiz bir allelik dağılıma işaret ettiğini ortaya koymuştur. Hardy-Weinberg denge analizlerinde, genotip dağılımlarının büyük ölçüde dengede olması bu SNP'lerin popülasyonda şu anda nötr kalıtıldığını gösterebilir. Febriana ve diğ. (2022b)'nin çalışmasında vurgulanan intron içi varyantların yavru sayısı ile doğrudan ilişkili bulunması, KISS1 geninin sadece kodlayan bölgelerindeki değil, regülatör ve intronik bölgelerindeki polimorfizmlerin de doğurganlık üzerinde etkili olabileceğini göstermektedir. Bu, bizim çalışmamızda değerlendirilmeyen bir yön olmakla birlikte, gen ekspresyonunu etkileyen intronik varyantların da dahil edileceği daha kapsamlı analizlerin gerekliliğini ortaya koymaktadır. Ayrıca, bahsedilen çalışmada tanımlanan H2 haplotipinin doğurganlık avantajı sağlaması, haplotip temelli seleksiyon programlarının, sadece tekli SNP analizlerinden daha etkili olabileceğini düşündürmektedir. Bu perspektif, KISS1 geninin MAS stratejilerinde değerlendirilebilmesi açısından önemli bir örnektir.

KISS1 genine ait g.2124T>A ve g.2270C>T SNP'lerinin, Xinong Saanen, Guanzhong ve Boer keçi ırklarında incelendiği bir çalışmada toplam 723 birey analiz edilmiş ve söz konusu SNP'lerin özellikle Xinong Saanen ve Guanzhong ırklarında Hardy-Weinberg dengesizliği gösterdiği raporlanmıştır (An ve diğ., 2013). Bu dengesizlik, genetik sürüklenme, yapay seleksiyon, mutasyon veya gen akışı gibi popülasyon yapısını etkileyen faktörlere bağlanmıştır. Bu durum, KISS1 geninin, bu türlerde evrimsel baskı altında olabileceğine veya belirli genotiplerin selektif avantaj taşıdığına işaret etmektedir. Bizim çalışmamızda incelenen A2510G ve C2540T varyantları açısından ise Hardy-Weinberg dengesi genellikle korunmuştur; yalnızca A2510G SNP'sinde Kıl keçisinde anlamlı sapma gözlenmiştir. Bu farklılık, hem ırklar arasındaki genetik arka plan farklılıklarından hem de örneklem büyüklüğü gibi metodolojik faktörlerden kaynaklanabilir. Özellikle An ve diğ.'nin çalışmasında kullanılan örneklem büyüklüğünün çok daha yüksek olması, dengenin sapmalarını daha güçlü biçimde ortaya koymuş olabilir. Her iki çalışmada da bazı SNP'lerin belirli ırklarda genetik dengeyi bozacak ölçüde dağıldığı gözlenmiş, bu da KISS1 geninin popülasyon yapısı içinde duyarlı bir genetik bölge olabileceğini ve ırka özgü etkiler taşıyabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca, her iki analizde de farklı lokuslarda gözlenen dengesizlik, genin farklı bölgelerindeki varyantların farklı seçim baskılarına maruz kalabileceğini vurgulamaktadır.

Sankhyan ve diğ. (2020), Hindistan menşeli göçebe Gaddi keçi ırkında yürüttükleri çalışmada, KISS1 geninin intron 1 bölgesinde T125A olarak adlandırılan bir nükleotid mutasyonu tespit etmiş ve bu mutasyonun yavrulama sayısı ile anlamlı ilişkili olduğunu bildirmiştir. Araştırma kapsamında PZR-RFLP ve DNA dizileme yöntemleri ile doğrulanan bu mutasyonun, popülasyonda %43 A ve %57 T allel frekansı ile taşındığı belirlenmiştir. Bu çalışma, KISS1 geninin intronik bölgelerinin, kodlayıcı bölgeler kadar reproduktif özellikleri etkileyebileceğini açıkça ortaya koymaktadır. Bizim çalışmamızda ise KISS1 geninin A2510G ve C2540T SNP'leri analiz edilmiştir. Her iki varyantta da homozigot alternatif genotiplerin (GG ve TT) ya nadir gözlemlendiği ya da hiç tespit edilmediği kaydedilmiştir. Bununla birlikte, heterozigot bireylerin yüksek oranda bulunması, genetik çeşitliliğin korunduğunu, ancak bazı allellerin baskılanabileceğini düşündürmektedir. Sankhyan ve diğ. (2020)'nin bulguları, nadiren gözlenen allellerin yavru sayısı üzerinde anlamlı etkileri olabileceğini desteklemekte ve bu nedenle, düşük frekanslı varyantların ihmal edilmemesi gerektiğini göstermektedir. Her iki çalışma da KISS1 geninin yalnızca kodlayan bölgelerinde değil, aynı zamanda intronik bölgelerinde bulunan varyantların da fonksiyonel etkiler taşıyabileceğine işaret etmektedir. Bu,

genetik ıslah programlarında yalnızca SNP analizlerinin değil, aynı zamanda haplotip yapılarının, ekspresyon düzeylerinin ve epigenetik modifikasyonların da dikkate alınması gerektiğini vurgular.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

6.1. SONUÇ

Bu çalışmada, Türkiye'ye özgü üç yerli keçi ırkı olan Kıl, Tiftik ve Kilis keçilerinde, doğurganlıkla ilişkili olduğu düşünülen KITLG ve KISS1 genlerine ait toplam beş SNP (g.12654G>A, g.12829T>C, g.12772G>A, A2510G, C2540T) analiz edilmiştir. Genotip frekansları, allel dağılımları ve Hardy-Weinberg dengesine göre istatistiksel değerlendirmeler yapılmıştır.

- KITLG geninde analiz edilen g.12654G>A ve g.12829T>C varyantları, özellikle Tiftik ve Kilis keçilerinde Hardy-Weinberg dengesinden anlamlı sapmalar göstermiştir. CT ve GA genotiplerinin baskınlığı ve TT/AA formunun yokluğu, bu varyantların popülasyon içinde selektif baskı altında olabileceğini düşündürmektedir. Buna karşın g.12772G>A SNP'si her üç ırkta da Hardy-Weinberg dengesine uygunluk göstermiştir.
- KISS1 genine ait A2510G varyantı, üç ırkta da GA heterozigot genotipinin baskın olduğunu göstermiştir. Hardy-Weinberg dengesinden sadece Kıl keçisinde sapma tespit edilmiştir. C2540T varyantı ise TT genotipinin hiç gözlenmemesi ile dikkat çekmiş, buna rağmen popülasyonlar Hardy-Weinberg dengesine uygunluk göstermiştir.

Bu bulgular hem KITLG hem de KISS1 genlerinde popülasyon içi genetik çeşitliliğin ırka özgü olarak değişebileceğini ve bazı varyantların doğurganlıkla ilişkili genetik belirteçler olabileceğini göstermektedir. Ancak bu ilişkilerin doğrulanabilmesi için genotiplere ait fenotipik veriler (yavru sayısı, ovulasyon oranı, doğum aralığı vb.) ile desteklenmesi gerekmektedir.

6.2. ÖNERİLER

Fenotipik Veri Entegrasyonu: Bu çalışmada kullanılan SNP'lerin doğurganlık özellikleri ile doğrudan ilişkisini ortaya koyabilmek için, her bireye ait doğum sayısı, doğum aralığı, süt verimi gibi detaylı reproduktif kayıtların toplanması ve genotiplerle istatistiksel olarak ilişkilendirilmesi gerekmektedir.

Gen İfade (Ekspresyon) Analizleri: Özellikle KISS1 geninin GnRH aksı üzerindeki etkisi göz önüne alındığında, genotip farklılıklarının KISS1 ekspresyon düzeyine etkisi RNA düzeyinde araştırılmalı; real-time PCR gibi yöntemlerle ifade düzeyi analiz edilmelidir.

Haplotip Temelli Çalışmalar: Literatürde bildirildiği gibi (örneğin, Febriana ve diğ., 2022), haplotip analizleri, bireysel SNP analizlerinden daha anlamlı sonuçlar verebilmektedir. Bu nedenle, özellikle intronik ve promotör bölgelere ait SNP'lerin bir arada değerlendirildiği haplotip analizleri önerilmektedir.

İrk Bazlı Moleküler İslah Stratejileri: Bu çalışmada tespit edilen varyantlar, özellikle yüksek heterozigotluk gösteren SNP'ler, MAS programlarına dahil edilerek, her bir keçi ırkı için ırka özgü doğurganlık verimini artırmaya yönelik genetik ıslah programlarında değerlendirilebilir.

Epigenetik ve Protein Seviyesi Analizleri: Sadece DNA düzeyinde değil, epigenetik modifikasyonlar (metilasyon, histon değişiklikleri) ve ilgili proteinlerin düzeyleri de doğurganlık üzerine etkili olabilir. Bu nedenle, gelecekteki çalışmalarda bu moleküler düzeylerin de araştırılması önerilmektedir.

Ayrıca, yapılan 15 farklı ki-kare analizi sonucunda, popülasyonun her iki gen bölgesi için Hardy-Weinberg dengesine uyumsuzluk belirlenmiştir. Hardy-Weinberg dengesi, bir popülasyonda gen frekanslarının nesiller boyunca değişmeyeceğini öngörür; bu dengenin bozulması, popülasyonda genetik olarak rastgele eşleşmenin olmadığını veya başka genetik faktörlerin etkili olduğunu gösterebilir. Bu bulgular, genetik yapıların zaman içinde nasıl değişebileceğini anlamak ve ıslah programları için genetik yönetim stratejileri geliştirmek açısından önemli bir işaret verebilmektedir.

KAYNAKLAR

- Akers, R. M., 2002, *Lactation and the mammary gland*. Iowa State Press.
- An, X., Hou, J., Li, G., Song, Y. X., Wang, J. G., Chen, Q. J., Cui, Y. H., Wang, Y. F., Cao, B., 2012, Polymorphism identification in the goat KITLG gene and association analysis with litter size. *Animal Genetics*, 43 (1): 104-107.
- An, X., Ma, T., Hou, J., Fang, F., Han, P., Yan, Y., Zhao, H., Song, Y., Wang, J., Cao, B., 2013, Association analysis between variants in KISS1 gene and litter size in goats. *BioMed Central Genetics*, 14: 63.
- An, X. P., Han, L., Hou, J. X., Li, G., Wang, J. Y., Cao, B. Y., 2013, Polymorphism of KiSS1 gene and its association with litter size in goats. *Reproduction in Domestic Animals*, 48(5): 732–737.
- An, X., Han, P., Hou, J., Zhao, H. B., Yan, Y., Ma, T., Fang, F., Meng, F., Song, Y. X., Wang, J. G., Cao, B., 2013, Molecular cloning and characterization of KISS1 promoter and effect of KISS1 gene mutations on litter size in the goat. *Genetics and Molecular Research: GMR*, 12 (4): 4308-4316.
- An, X. P., Hou, J. X., Gao, T. Y., Lei, Y. N., Song, Y. X., Wang, J. G., Cao, B. Y., 2015, Association analysis between variants in KITLG gene and litter size in goats. *Gene*, 558 (1): 126–130.
- An, X., Hou, J., Lei, Y., Gao, T., Song, Y. X., Wang, J. G., Cao, B., 2015, Two mutations in the 5'-flanking region of the KITLG gene are associated with litter size of dairy goats. *Animal Genetics*, 46 (3): 308-11.
- An, X. P., Song, Y. X., Bu, S. H., Ma, H., Gao, K., Hou, J. X., Wang, S. J., Lei, Z. H., Cao, B. Y., 2016, Association of polymorphisms at the microRNA binding site of the caprine KITLG 3'-UTR with litter size. *Scientific Reports*, 6: 25691.
- Andersson, L., Georges, M., 2004, Domestic-animal genomics: deciphering the genetics of complex traits. *Nature Reviews Genetics*, 5(3): 202-212.
- Anderson, R. M., Wilkinson, R. G., 2012, Genetic resistance to disease in farm animals. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 148(1): 1–7.
- Ariyaratne, H. B. P. C., Ariyaratne, H. B. S., Lokugalappatti, L. G. S., 2017, Single nucleotide polymorphism of candidate genes in non-descript local goats of Sri Lanka. *Livestock Science*, 196: 49–54.

- Ashwell, M. S., Hayen, D. W., Sonstegard, T. S., Van Tanssell, C. P., Da, Y., VanRaden, P. M., Ron, M., Weller, J. I., Lewin, H. A., 2004, Detection of quantitative trait loci affecting milk production, health and reproductive traits in Holstein cattle. *Journal of Dairy Science*. 87: 468-475.
- Balcıoğlu, M. S., Karşlı, T., Şahin, E., Ulutaş, Z., Aksoy, Y., 2014, Türkiye’de yetiştirilen bazı yerli koyun ırklarında kalpastatin (CAST) geni polimorfizminin PZR-RFLP yöntemiyle belirlenmesi. *Journal of Agricultural Sciences*. 20: 427-433.
- Bedell, M. A., Copeland, N. G., Jenkins, N. A., 1996, Multiple pathways for Steel regulation suggested by genomic and sequence analysis of the murine Steel gene. *Genetics* 14: 927–934.
- Berihulay, H., Li, Y., Gebrekidan, B., Gebreselassie, G., Liu, X., Jiang, L., Ma, Y., 2019, Whole genome resequencing reveals selection signatures associated with important traits in Ethiopian indigenous goat populations. *Frontiers in Genetics*, 10: 1–12.
- Blume-Jensen, P., Jiang, G., Hyman, R., Lee, K. F., O’Gorman, S., Hunter, T., 2000, Kit/stem cell factor receptor-induced activation of phosphatidylinositol 3=kinase is essential for male fertility. *Nature Genetics*, 24: 157–162.
- Bolacalı M., Öztürk Y., Yılmaz O., Küçük M., Karşlı M. A., 2019, Effect of Non-Genetic Factors on The Reproductive Performance and Milk Yield Characteristics of Hair Goats. *Kocatepe Veterinary Journal*. 12(1): 52-61.
- Botstein, D., White, R. L., Skolnick, M., Davis, R. W., 1980, Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *American Journal of Human Genetics*, 32(3): 314-331.
- Brookes, A. J., 1999, The essence of SNPs. *Gene*, 234:177–86.
- Broudy, V. C., Lin, N. L., Bühring, H. J., Komatsu, N., Kavanagh, T. J., 1998, Analysis of c-kit receptor dimerization by fluorescence resonance energy transfer. *Blood*, 91: 898–906.
- Caraty, A., Franceschini, I., Hoffman, G. E., 2010, Kisspeptin and the preovulatory gonadotrophin-releasing hormone/luteinising hormone surge in the ewe, basic aspects and potential applications in the control of ovulation. *Journal of Neuroendocrinol*. 22: 710–715.
- Cao, G., Chu, M., Fang, L. J., Di, R., Feng, T., Li, N., 2010, Analysis on DNA sequence of KiSS-1 gene and its association with litter size in goats. *Molecular Biology Reports*, 37: 3921-3929.
- Cheng, J. B., Zhang, Y. F., Wang, Y., Liu, X. H., 2020, Polymorphisms in the KITLG gene and their association with testicular development and sperm quality in Boer goats. *Theriogenology*, 157: 213–220.
- Cui, Y., Yan, H., Wang, K., Xu, H., Zhang, X., Zhu, H., Liu, J., Qu, L., Lan, X., Pan, C., 2018, Insertion/deletion within the KDM6A gene is significantly associated with litter size in goat. *Frontiers in Genetics*, 9: 1–11.

- Dangar, N. S., Pandya, G. M., Ramani, U. V., Kharadi, V. B., Brahmkshtri, B. P., 2022, Association study of fecundity gene BMP 15 with prolificacy in surti goats under farm and field condition of South Gujarat Region. *The Indian Journal of Veterinary Sciences and Biotechnology*, 18: 100–104.
- Dekkers, J. C. M., 2004, Commercial application of marker- and gene-assisted selection in livestock: strategies and lessons. *Journal of Animal Science*, 82: E313–E328.
- Driancourt, M. A., Reynaud, K., Cortvrindt, R., Smitz, J., 2000, Roles of KIT and KIT LIGAND in ovarian function. *Reviews of Reproduction*, 5: 143–152.
- El-Sayed, A., Abdel-Aziz, S., Abdel-Rahman, H., 2017, Association analysis of polymorphism in KiSS1 gene with reproductive traits in goats. *Small Ruminant Research*, 146: 1–5.
- El-Sayed, M., Rashed, M., Mahmoud, E., Khalil, H., 2020, Molecular genetics of goat reproductive traits: A review. *Animal Biotechnology*, 31(1): 1-15.
- Ertuğrul, M., 1993, *Hayvan Yetiştirme*, Ankara.
- FAO, 2019, The State of the World's Biodiversity for Food and Agriculture, <http://www.fao.org/3/CA3129EN/CA3129EN.pdf>. (Ziyaret Tarihi: 27.05.2025).
- Farsi, H., Mhani, M., Achaâban, M. R., Boukhliq, R., Tibary, A., El Allali, K., 2018, Environmental cues and seasonal patterns of reproduction in goats. *Revue Marocaine des Sciences Agronomiques et Vétérinaires*, 6 (2): 158-167.
- Fatima, S., 2006, *Study of genetic variability among Gohilwadi, Surti and Zalawadi goats using microsatellite analysis*, Thesis (Master of Veterinary Science), Anand Agricultural University.
- Febriana, A., Sutopo, S., Kurnianto, E., Widiyanto, W., 2022a, A Novel SNPs of KISS1 Gene Strongly Associated with Litter Size in Indonesian Goat Breeds. *Tropical Animal Science Journal*, 45(3): 255-269.
- Febriana, C. W., Astuti, P., Widodo, E., Sumantri, C., Subandriyo, 2022b, Identification of SNP and haplotype of KISS1 gene and their association with reproductive traits in three local goat breeds of Indonesia. *Tropical Animal Science Journal*, 45(2): 93–100.
- Feng, T., Geng, C. X., Lang, X. Z., Chu, M. X., Cao, G. L., Di, R., Fang, L., Chen, H. Q., Liu, X. L., Li, N., 2011, Polymorphisms of caprine GDF9 gene and their association with litter size in Jining Grey goats. *Molecular Biology Reports*, 38(8): 5189–5197.
- Georges, M., Charlier, C., Hayes, B., 2019, Harnessing genomic information for livestock improvement. *Nature Reviews Genetics*, 20(3): 135–156.
- Getaneh, M., Alemayehu, K., 2022, Candidate genes associated with economically important traits in dairy goats. *Cogent Food & Agriculture*, 8(1).
- Ghoreishi, H., Fathi-Yosefabad, S., Shayegh, J., Barzegari, A., 2019, Identification of mutations in BMP15 and GDF9 genes associated with prolificacy of Markhoz goats. *Archives Animal Breeding*, 62(2): 565–570.

- Gottsch, M. L., Cunningham, M. J., Smith, J. T., Popa, S. M., Acohido, B. V., Crowley, W. F., Seminara, S., Clifton, D. K., Steiner, R. A., 2004, A role for kisspeptins in the regulation of gonadotropin secretion in the mouse. *Endocrinology*, 145: 4073– 4077.
- Guo, J., Zhong, J., Li, L., Zhong, T., Wang, L., Song, T., Zhang, H., 2019, Comparative genome analyses reveal the unique genetic composition and selection signals underlying the phenotypic characteristics of three Chinese domestic goat breeds. *Genetics, Selection and Evolution*, 51: 1–18.
- Gündüz, C., Biçer, B., 2023, Milk-y way: the impact of single-nucleotide polymorphisms on milk production traits in Kilis dairy goats. *Frontiers in Veterinary Science*, 10: 10726025.
- Harter, C. J., Kavanagh, G. S., Smith, J., 2018. The role of kisspeptin neurons in reproduction and metabolism. *The Journal of Endocrinology*, 238 (3): R173-R183.
- He, Y., Ma, X., Liu, X., Zhang, C., Li, J., 2010, Candidate genes polymorphism and its association to prolificacy in Chinese goats. *Journal of Agricultural Science*, 2(1): 88–92.
- Hutt, K. J., McLaughlin, E. A., Holland, M. K., 2006a, Kit ligand and c-Kit have diverse roles during mammalian oogenesis and folliculogenesis. *Molecular Human Reproduction*, 12: 61–69.
- Hutt, K. J., McLaughlin, E. A., Holland, M. K., 2006b, KIT ligand and c-KIT have roles in both the primordial to primary follicle transition and the survival of primordial follicles. *Molecular Human Reproduction*, 12(12): 843–852.
- Irwig, M. S., Fraley, G. S., Smith, J. T., Acohido, B. V., Popa, S. M., Cunningham, M. J., Gottsch, M. L., Clifton, D. K., Steiner, R. A., 2005, Kisspeptin activation of gonadotropin releasing hormone neurons and regulation of KiSS-1 mRNA in the male rat. *Neuroendocrinology*, 80: 264 –272.
- İriadam, M., 2004, Kilis keçilerine ait bazı hematolojik ve biyokimyasal parametreler. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 51: 83-85.
- Jun-jie, W., Zhang, T., Chen, Q., Zhang, R., Li, L., Duncan, H. F., 2020, Genomic signatures of selection associated with litter size trait in Jining grey goat. *Frontiers in Genetics*, 11: 1–14.
- Kaymakçı, M., Tuncel, E., Güney, O., 2005a, Türkiye’de süt keçisi ıslahı çalışmaları. *Süt Keçiciliği Ulusal Kongresi*, 26-27 Mayıs, Bornova-İzmir.
- Kaymakçı, M., Eliçin, A., Işın, F., Taşkın, T., Karaca, O., Tuncel, E., Ertuğrul, M., Özder, M., Güney, O., Gürsoy, O., Torun, O., Altın, T., Emsen, H., Seymen, S., Geren, H., Odabaşı, A., Sönmez, R., 2005b, Türkiye Küçükbaş Hayvan Yetiştiriciliği Üzerine Teknik ve Ekonomik Yaklaşımlar. *Türkiye Ziraat Mühendisliği 6. Teknik Kongresi*, 3-7 Ocak, 707-726, Ankara.
- Kaymakçı, M., 2006, Keçi Yetiştiriciliği. *İzmir ili damızlık koyun-keçi yetiştiricileri birliği yayınları*, No:2. Bornova-İzmir, Türkiye.

- Kaymakçı, M., Koşum, N., Taşkın, T., Akbaş, Y., 2006, Menemen koyunlarında kimi verim özelliklerinin belirlenmesi üzerine bir araştırma. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi* 43: 63-74.
- Kim, S., Misra, A., 2007, SNP Genotyping: Technologies and Biomedical Applications. *Annual Review of Biomedical Engineering*, 9(1): 289–320.
- Kinoshita, M., Tsukamura, H., Adachi, S., Matsui, H., Uenoyama, Y., Iwata, K., Yamada, S., Inoue, K., Ohtaki, T., Matsumoto, H., Maeda, K., 2005, Involvement of central metastin in the regulation of preovulatory luteinizing hormone surge and estrous cyclicity in female rats. *Endocrinology*, 146(10): 4431–4436.
- Kissel, H., Timokhina, I., Hardy, M. P., Rothschild, G., Tajima, Y., Soares, V., Angeles, M., Whitlow, S. R., Manova, K., Besmer, P., 2000, Point mutation in kit receptor tyrosine kinase reveals essential roles for kit signalling in spermatogenesis and oogenesis without affecting other kit responses. *European Molecular Biology Organization Journal*, 19: 1312–1326.
- Knapczyk-Stwora, K., Grzesiak, M., Duda, M., Koziorowski, M., Slomczynska, M., 2013, Effect of flutamide on folliculogenesis in the fetal porcine ovary-regulation by Kit ligand/c-Kit and IGF1/IGF1R systems. *Animal Reproduction Science*, 142: 160–167.
- Kotani, M., Detheux, M., Vandenbogaerde, A., Communi, D., Vanderwinden, J. M., Le Poul, E., Brezillon, S., Tyldesley, R., Suarez-Huerta, N., Vandeput, F., Blanpain, C., Schiffmann, S. N., Vassart, G., Parmentier, M., 2001, The metastasis suppressor gene KiSS-1 encodes kisspeptins, the natural ligands of the orphan G protein coupled receptor GPR54. *The Journal of Biological Chemistry*, 276: 34631–34636.
- Lemmon, M. A., Schlessinger, J., 2010, Cell signalling by receptor tyrosine kinases. *Cell*, 141:1117–1134.
- Lennartsson, J., Rönnstrand, L., 2012, Stem Cell Factor Receptor/c-Kit: From Basic Science to Clinical Implications. *The Journal of Physiology*, Rev 92: 1619–1649.
- Li, W. H., Sadler, L. A., 1991, Low nucleotide diversity in man. *Genetics*, 129 (2): 513–523.
- Li, D., Weishi, Y., Mingyao, L., 2009, Regulation of KiSS1 Gene Expression. *Peptides*, 30 (1): 130-138.
- Liu, N., Cui, W., Chen, M., Zhang, X., Song, X., Pan, C., 2019, A 21-bp indel within the LLGL1 gene is significantly associated with litter size in goat. *Animal Biotechnology*, 1: 6.
- Li, S., Wang, X., Zhou, J., Wang, J., 2021, Expression and polymorphism of keratin-associated protein genes in cashmere and mohair-producing goats. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 138(1): 21–30.
- Mackay, T. F., Stone, E. A., Ayroles, J. F., 2009, The genetics of quantitative traits: challenges and prospects. *Nature Reviews Genetics*, 10(8): 565–577.
- Matsui, H., Takatsu, Y., Kumano, S., Matsumoto, H., Ohtaki, T., 2004, Peripheral administration of metastin induces marked gonadotropin release and ovulation in the rat. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 320: 383–388.

- Mavrogenis, A. P., Constantinou, A., Louca, A., 2006, Environmental and genetic factors influencing the milk yield of Damascus goats. *Animal Production*, 22(1): 57–65.
- McPherron, A. C., Lawler, A. M., Lee, S. J., 1997, Regulation of skeletal muscle mass in mice by a new TGF- β superfamily member. *Nature*, 387(6628): 83–90.
- Meuwissen, T. H., Hayes, B. J., Goddard, M. E., 2001, Prediction of total genetic value using genome-wide dense marker maps. *Genetics*, 157(4): 1819–1829
- Miller, M., Dykes, D. D., Polesky, H. F., 1988, A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Research*, 16: 1215.
- Mitchell, D. C., Abdelrahim, M., Weng, J., Stafford, L. J., Safe, S., Bar-Eli, M., Liu, M., 2006, Regulation of KiSS-1 metastasis suppressor gene expression in breast cancer cells by direct interaction of transcription factors activator protein-2 α and specificity protein-1. *The Journal of Biological Chemistry*, 281(1): 51–58.
- Motro B., Bernstein A., 1993, Dynamic changes in ovarian C-Kit and Steel expression during the estrous reproductive-cycle. *Developmental Dynamics* 197: 69–79
- Muir, A. I., Chamberlain, L., Elshourbagy, N. A., Michalovich, D., Moore, D. J., Calamari, A., Szekeres, P. G., Sarau, H. M., Chambers, J. K., Murdock, P., Steplewski, K., Shabon, U., Miller, J. E., Middleton, S. E., Darker, J. G., Larminie, C. G., Wilson, S., Bergsma, D. J., Emson, P., Faull, R., Philpott, K. L., Harrison, D. C., 2001, AXOR12, a novel human G protein-coupled receptor, activated by the peptide KiSS-1. *The Journal of Biological Chemistry*, 276: 28969–28975.
- Mullis, K., Faloona, F., 1987, Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalysed chain reaction. *Methods in Enzymology*, 155: 335–350.
- Müller, C. R., Wittwer, C. T., Heid, C. A., Flanders, D. J., Hillyard, D. R., Ririe, K. M., 1989, Continuous, Fluorescence-Based Capillary Electrophoresis for Single-Strand Conformation Polymorphism Analysis. *Bio/Technology*, 7(10): 1109–1112.
- Naderi, S., Rezaei, H. R., Pompanon, F., Blum, M. G., Negrini, R., Naghash, H. R., Balkiz, O., Mashkour, M., Gaggiotti, O. E., Ajmone-Marsan, P., Kence, A., Vigne, J. D., Taberlet P., 2008, The goat domestication process inferred from large-scale mitochondrial DNA analysis of wild and domestic individuals. *Proceeding of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 46: 17659–17666.
- Naicy, T., Venkatachalapathy, R. T., Aravindakshan, T. V., Radhika, G., Raghavan, K. C., Mini, M., Shyama, K., 2016, Nerve Growth Factor gene ovarian expression, polymorphism identification, and association with litter size in goats. *Theriogenology*, 86(9): 2172–2178.e3.
- National Center for Biotechnology Information (NCBI), 2009, *Capra hircus kisspeptin 1 (KiSS1)*, mRNA, complete cds (Accession No. GU142847.1). GenBank. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/GU142847.1>
- Navarro, V. M., Castellano, J. M., Fernandez-Fernandez, R., Barreiro, M. L., Roa, J., Sanchez-Criado, J. E., Aguilar, E., Dieguez, C., Pinilla, L., Tena-Sempere, M., 2004,

- Developmental and hormonally regulated messenger ribonucleic acid expression of KiSS-1 and its putative receptor, GPR54, in rat hypothalamus and potent luteinizing hormone-releasing activity of KiSS-1 peptide. *Endocrinology*, 145: 4565– 4574.
- Navarro, V. M., Castellano, J. M., Fernández-Fernández, R., Tovar, S., Roa, J., Mayen, A., Nogueiras, R., Vázquez, M. J., Barreiro, M. L., Magni, P., Aguilar, E., Diéguez, C., Pinilla, L., Tena-Sempere, M., 2005, Effects of KiSS-1 peptide, the natural ligand of GPR54, on follicle-stimulating hormone secretion in the rat. *Endocrinology*, 146(4), 1689–1697.
- Navarro, V. M., Castellano, J. M., Fernández-Fernández, R., Tovar, S., Roa, J., Mayen, A., Nogueiras, R., Vázquez, M. J., Barreiro, M. L., Magni, P., Aguilar, E., Diéguez, C., Pinilla, L., Tena-Sempere, M., 2005, Characterization of the potent luteinizing hormone-releasing activity of KiSS-1 peptide, the natural ligand of GPR54. *Endocrinology*, 146(1), 156–163.
- Navarro, V. M., Castellano, J. M., Garcia-Galiano, D., Tena-Sempere, M., 2007, Neuroendocrine factors in the initiation of puberty: the emergent role of kisspeptin. *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders*, 8: 11–20.
- Nickerson, D. A., Taylor, S. L., Weiss, K. M., Clark, A. G., Hutchinson, R. G., Stengård, J., Salomaa, V., Vartiainen, E., Boerwinkle, E., Sing, C. F., 1998, DNA sequence diversity in a 9.7-kb region of the human lipoprotein lipase gene. *Nature Genetics*, 19(3): 233–240.
- Ocak, S., Bahadır, B., Güney, O., 2007, Geleneksel Keçi Yetiştiriciliği ve Kırsal Kalkınma, 5. *Ulusal Zootekni Bilim Kongresi*, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Van.
- Ohtaki, T., Shintani, Y., Honda, S., Matsumoto, H., Hori, A., Kanehashi, K., Terao, Y., Kumano, S., Takatsu, Y., Masuda, Y., Ishibashi, Y., Watanabe, T., Asada, M., Yamada, T., Suenaga, M., Kitada, C., Usuki, S., Kurokawa, T., Onda, H., Nishimura, O., Fujino, M., 2001, Metastasis suppressor gene KiSS-1 encodes peptide ligand of a G-protein-coupled receptor. *Nature*, 411: 613-617.
- Özalp, M., Sayın, C., 2018, Antalya’da Küçükbaş Hayvancılıkta Sürdürülebilirliğe Etki Eden Ekonomik Faktörlerin Değerlendirilmesi. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım Ve Doğa Dergisi*, 21: 1-11.
- Özcan, L., 1989, Küçükbaş hayvan yetiştirme I, Keçi üretimi. *Çukurova üniversitesi ziraat fakültesi, zootekni bölümü, ders kitabı*, no:111, Adana.
- Özder, M., 1997, Keçi Yetiştiriciliği, Editörler: M. Kaymakçı ve Y. Aşkın, Keçi Besleme, *Baran Yayınları*, 1. Baskı., İzmir, s: 34-55.
- Primrose, S. B., Twyman, R. M., 2006, Principles of gene manipulation and genomics. 7th edition. *Malden-Blackwell*, United States of America.
- Polley, S., De, S., Batabyal, S., Kaushik, R.A., Yadav, P., Arora, J.S., Chattopadhyay, S., Pan, S., Brahma, B., Datta, T.K., Goswami, S. L., 2009, Polymorphism of fecundity genes (BMPR1B, BMP15 and GDF9) in the Indian prolific Black Bengal goat. *Small Ruminant Research*, 85: 122-129.

- Rahawy, M. A., Al-Mutar, H. A., 2021, Association of the KiSS1 gene with litter size in Cyprus and Iraqi black goats. *Veterinary World*, 14(7): 1995 - 1999.
- Ramírez-Vera, S., Terrazas, A., Delgadillo, J. A., Flores, J. A., Serafin, N., Vielma, J., Duarte, G., Fernandez, I. G., Fitz-Rodriguez, G., Hernandez, H., 2012, Inclusion of maize in the grazing diet of goats during the last 12 days of gestation reinforces the expression of maternal behaviour and selectivity during the sensitive period. *Livestock Science*, 148: 52–59.
- Roberts, R. J., 1976, Restriction endonucleases. *CRC Critical Reviews in Biochemistry*, 4(2): 123-164.
- Ronnstrand, L., 2004, Signal transduction via the stem cell factor receptor/c-Kit. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 61: 2535–2548.
- Rui-Qian, Z., Lai, F. N., Wang, J. J., Zhai, H. L., Zhao, Y., Sun, Y. J., Min, L. J., Shen, W., 2018, Analysis of the SNP loci around transcription start sites related to goat fecundity trait base on whole genome resequencing. *Gene*, 643: 1–6.
- Ryder, M. L., Stephenson, S. K., 2001, The biology and genetics of hair and fiber production in goats. *Small Ruminant Research*, 42(2): 151–164.
- Sankhyan, V., Kumar, D., Kumar, S., Thakur, Y. P., 2020, Identification of single nucleotide polymorphism in KISS1 gene and its association with litter size in migratory Gaddi goats of Himachal Pradesh. *Indian Journal of Animal Sciences*, 90(9): 1263–1266.
- Schrooten, C., Bovenhuis, H., Coppieters, W., Van Arendonk, J. A. M., 2000, Whole genome scan to detect quantitative trait loci for conformation and functional traits in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 83 (4): 795-806.
- Semaan, S. J., Kauffman, A. S., 2013, Emerging concepts on the epigenetic and transcriptional regulation of the Kiss1 gene. *International Journal of Developmental Neuroscience*, 31(6): 452-462.
- Shaha, M., Miah, G., Lima, A., Miazi, O. F., Gupta, M. D., Das, A., 2022, Identification of polymorphisms in GDF9 and BMP15 genes in Jamunapari and crossbred goats in Bangladesh. *Tropical Animal Health and Production*, 54(6): 350.
- Shahab, M., Mastronardi, C., Seminara, S. B., Crowley, W. F., Ojeda, S. R., Plant, T. M., 2005, Increased hypothalamic GPR54 signaling: a potential mechanism for initiation of puberty in primates. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102: 2129 –2134.
- Sharma, A., Dutt, G., Jayakumar, S., Saroha, V., Verma, N. K., 2013a, Genetic structuring of nine Indian domestic goat breeds based on SNPs identified in IGF-1 gene. *Animal Biotechnology*, 24: 148–157.
- Sharma, A., Bharti, V. K., Pankaj, P. K., Gupta, M., Jain, A., 2013b, Molecular characterization and polymorphism of the KiSS1 gene and its association with reproductive traits in goats. *Small Ruminant Research*, 114(1): 104–109.

- Silva, J. R. V., van den Hurk, R., van Tol, H. T. A., Roelen, B. A. J., Figueiredo, J. R., 2006a, The Kit ligand/c-Kit receptor system in goat ovaries: gene expression and protein localization. *Zygote*, 14: 317–28.
- Silva, J. R. V., van den Hurk, R., van Tol, H. T. A., Roelen, B. A. J., Figueiredo, J. R., 2006b, Expression of growth differentiation factor 9, bone morphogenetic protein 15 and KIT ligand in the ovaries of goats. *Molecular Reproduction and Development*, 73(4): 485–492.
- Silva, J. R. V., Figueiredo, J. R., van den Hurk, R., 2006c, Involvement of KIT ligand and c-KIT in ovarian follicle development in mammals. *Animal Reproduction Science*, 97(1–2), 1–12.
- Silva, A. R., Soares, P. C., Coutinho, L. L., 2019, Candidate genes associated with economic traits in goats: A review. *Genetics and Molecular Biology*, 42(1): 255–269.
- Smith, J. T., Dungan, H. M., Stoll, E. A., Gottsch, M. L., Braun, R. E., Eacker, S. M., Clifton, D. K., Steiner, R. A., 2005, Differential regulation of KiSS-1 mRNA expression by sex steroids in the brain of the male mouse. *Endocrinology*, 146: 2976–2984.
- Smith, J. T., Clay, C. M., Caraty, A., Clarke, I. J., 2006a, KiSS-1 messenger ribonucleic acid expression in the hypothalamus of the ewe is regulated by sex steroids and season. *Endocrinology*, 148(3): 1150–1157.
- Smith, J. T., Clifton, D. K., Steiner, R. A., 2006b, Regulation of the neuroendocrine reproductive axis by kisspeptin-GPR54 signalling. *Reproduction*, 131: 623–630.
- Smith, J. T., Rao, A., Pereira, A., Caraty, A., Millar, R. P., Clarke, I. J., 2008, Kisspeptin is present in ovine hypophysial portal blood but does not increase during the preovulatory luteinizing hormone surge: evidence that gonadotropes are not direct targets of kisspeptin in vivo. *Endocrinology*, 149: 1951–1959.
- Soysal, M. İ., Ünal, E. Ö., Gürcan, E. K., 2020, Çiftlik hayvan genetik kaynaklarının koruma ve sürdürülebilir kullanımı, *Journal of Animal Science and Products (JASP)*, 3 (2): 210–227.
- Sönmez, R., Şengonca M., Alpbaz, A. G., 1971, EÜ Ziraat Fakültesi'nde Yetiştirilen Malta Keçilerinin Çeşitli Özellikleri ve Verimleri Üzerine Bir Araştırma, *EÜZF. Cilt 8, Sayı 1, Ayrı Baskı*
- Sönmez, R., 1974, Melezleme Yolu İle Yerli Kıl Keçilerin Süt Keçisine Çevrilme Olanakları. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi No:226, İzmir.*
- Stafford, L. J., Xia, C., Ma, W., Cai, Y., Liu, M., 2002, Identification and characterization of mouse metastasis-suppressor KiSS1 and its G-protein-coupled receptor. *Cancer Research*, 62: 5399–5404.
- Sun, J., Pedersen, M., Rönnstrand, L., 2008, Gab2 is involved in differential phosphoinositide 3-kinase signalling by two splice forms of c-Kit. *The Journal of Biological Chemistry*, 283: 27444–27451.

- Şahin, G., 2011, Türkiye’de Ankara (Tiftik) Keçisi Yetiştiriciliğinin Dünü Bugünü ve Yarını, *Uluslararası Katılımlı Coğrafya Kongresi*, 07 – 10 Eylül 2011, İstanbul
- Şengonca, M., Kaymakçı, M., 1982, Orman Bölgeleri Açısından Kıl Keçi varlığının Islahı. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakülteleri Dergisi*, 19/1: 189-192.
- Talouarn, E., Bardou, P., Palhière, I., Oget, C., Clément, V., VarGoats Consortium, Tosser-Klopp, G., Rupp, R., Robert-Granié, C., 2020, Genome wide association analysis on semen volume and milk yield using different strategies of imputation to whole genome sequence in French dairy goats. *BioMed Central Genetics*, 21(1): 19.
- Treff, N. R., Dement, G.A., Adair, J. E., Britt, R. L., Nie, R., Shima, J. E., Taylor, W. E., Reeves, R., 2004, Human KIT ligand promoter is positively regulated by HMGA1 in breast and ovarian cancer cells. *Oncogene*, 23: 8557– 8562.
- Turkish Statistical Institute, 2024, <http://www.tuik.gov.tr/Start.do> (Ziyaret Tarihi: 27.05.2025)
- Türkiye Evcil Hayvan Genetik Kaynakları, 2009, TC. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı- TAGEM, Ankara.
- Wang, K., Kang, Z., Jiang, E., Yan, H., Zhu, H., Liu, J., Qu, L., Lan, X., Pan, C., 2020, Genetic effects of DSCAML1 identified in genome-wide association study revealing strong associations with litter size and semen quality in goat (*Capra hircus*). *Theriogenology*, 146: 20–25.
- Weikard, R., Kühn, C., Goldammer, T., Freyer, G., Schwerin, M., 2004, The bovine PPARGC1A gene: molecular characterization and association of an SNP with variation of milk fat synthesis. *Physiological Genomics*, 21: 1-13.
- Weller, J. I., 2009, Quantitative trait loci analysis in animals. *Modular Texts*. Cambridge, United States of America.
- West, A., Vojta, P. J., Welch, D. R., Weissman, B. E., 1998, Chromosome localization and genomic structure of the KiSS-1 metastasis suppressor gene (KISS1). *Genomics*, 54(1): 145–148.
- Wijayanti, D., Zhang, S., Bai, Y., Pan, C., Chen, H., Qu, L., Guo, Z., Lan, X., 2022, Investigation on mRNA expression and genetic variation within goat SMAD2 gene and its association with litter size. *Animal biotechnology*, 34(7): 2111–2119.
- World Population Review, 2021, Goat Population by Country. World Population. Retrieved May 2025 from <https://worldpopulationreview.com/country-rankings/goat-population-by-country>
- Viitala, S., Szyda, J., Blott, S., Schulman, N., Lidauer, M., Mäki-Tanila, A., Georges, M., Vilkkii, J., 2006, The role of the bovine growth hormone receptor and prolactin receptor genes in milk, fat and protein production in Finnish Ayrshire dairy cattle. *Genetics*, 173(4), 2151–2164
- Visscher, P. M., Goddard, M. E., 2010, Genomic heritability: what is it? *PLoS Genetics*, 6(5), e1001088.

- Yeo, S., College, W. H., 2018, The role of KiSS 1 neurons as integrators of endocrine, metabolic, and environmental factors in the hypothalamic–pituitary–gonadal axis. *Frontiers in Endocrinology*, 9(188):1-13.
- Yoshida H., Takakura N., Kataoka H., Kunisada T., Okamura H., Nishikawa S., 1997a, Stepwise requirement of c-kit tyrosine kinase in mouse ovarian follicle development. *Developmental Biology*, 184: 122–37.
- Yoshida, H., Kunisada, T., Kusakabe, M., Nishikawa, S., Nishikawa, S. I., 1997b, Distinct stages of follicular development require different c-kit ligand expression by ovarian granulosa cells. *Development*, 124(15): 3065–3073
- Yuzawa, S., Opatowsky, Y., Zhang, Z., Mandiyan, V., Lax, I., Schlessinger, J., 2007, Structural basis for activation of the receptor tyrosine kinase KIT by stem cell factor. *Cell*, 130: 323–334.
- Zhang, S., Gao, X., Jiang, Y., Shen, Y., Xie, H., Pan, P., Huang, Y., Wei, Y., Jiang, Q., 2021a, Population validation of reproductive gene mutation loci and association with the litter size in Nubian goat. *Archives Animal Breeding*, 64: 375–386.
- Zhang, C. Y., Wang, Z. Y., Gao, Y., Li, X. W., Ma, Y. H., 2021b, Polymorphisms in the KITLG gene and their association with reproductive traits in Saanen goats. *Livestock Science*, 249: 104512.
- Zhou, H., Hickford, J. G. H., Gong, H., 2018, Polymorphisms in the myostatin gene and their associations with growth and carcass traits in goats: A review. *Small Ruminant Research*, 160: 1–7.
- Zuñiga-Garcia, S., Meza-Herrera, C. A., Mendoza-Cortina, A., Otal-Salaverri, J., Perez-Marin, C., Lopez-Flores, N. M., Carrillo, E., Calderon-Leyva, G., Gutierrez-Guzman, U. N., Veliz-Deras, F. G., 2020, Effect of Social Rank upon Estrus Induction and Some Reproductive Outcomes in Anestrus Goats Treated With Progesterone + eCG. *Animals*, 10(7): 1125.

berk-tez-v2_Rev_Atila_Jüri isimleri olmayan.docx

ORJİNALLİK RAPORU

%9

BENZERLİK ENDEKSİ

%8

İNTERNET KAYNAKLARI

%4

YAYINLAR

%3

ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1

acikbilim.yok.gov.tr

İnternet Kaynağı

%3

2

Submitted to The Scientific & Technological
Research Council of Turkey (TUBITAK)

Öğrenci Ödevi

%2

3

www.yumpu.com

İnternet Kaynağı

<%1

4

core.ac.uk

İnternet Kaynağı

<%1

5

Submitted to Erciyes Üniversitesi

Öğrenci Ödevi

<%1

6

docplayer.biz.tr

İnternet Kaynağı

<%1

7

Submitted to Istanbul University

Öğrenci Ödevi

<%1

8

Alizadehasl, Maziar. "Kilis, Norduz ve Honanlı
keçilerinde bazı morfolojik özellikler", Ankara
Universitesi (Turkey), 2024

Yayın

<%1

9

d.docksci.com

İnternet Kaynağı

<%1

10

dspace.yildiz.edu.tr

İnternet Kaynağı

<%1

KURUM İZNİ YAZILARI

Uyarı: Canlı ve cansız deneklerle yapılan tüm çalışmalar için kurum izin belgelerinin eklenmesi zorunludur. Gizlilik ve mahremiyet içeren durumlarda kurum adı kapatılmalıdır.

- ☐ Kurum izni gerekmektedir.
- ☒ Kurum izni gerekmemektedir.

Berk Özcan ATALAY

