

Akkaraman ve Merinos Koyunlarında Bir Batında Doğan Yavru Sayısı ile Bazı Genlerdeki
(*BMP15*, *GDF9*, *BMPR-IB*, *PRL*, *GHR*, *NR5A2*) Polimorfizmler Arasındaki İlişkinin

Araştırılması

Aslı Görgülü

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Zootečni Anabilim Dalı

Nisan 2025

Investigation of The Relationship Between The Number Of Offspring Born In a Litter and
Polymorphisms in Some Genes (*BMP15*, *GDF9*, *BMPR-IB*, *PRL*, *GHR*, *NR5A2*) In
Akkaraman and Merino sheep

Aslı Görgülü

MASTER OF SCIENCE THESIS

Department of Animal Science

April 2025

Akkaraman ve Merinos Koyunlarında Bir Batında Doğan Yavru Sayısı ile Bazı Genlerdeki
(*BMP15*, *GDF9*, *BMPR-IB*, *PRL*, *GHR*, *NR5A2*) Polimorfizmler Arasındaki İlişkinin
Araştırılması

Aslı Görgülü

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmelięi
Zootečni Anabilim Dalı
Biyometri ve Genetik Bilim Dalında
YÜKSEK LİSANS TEZİ
olarak hazırlanmıştır.

Danışman: Doç. Dr. Taki KARSLI

Nisan 2025

ONAY

Zootekni Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi Aslı GÖRGÜLÜ'nün YÜKSEK LİSANS tezi olarak hazırladığı “Akkaraman ve Merinos Koyunlarında Bir Batında Doğan Yavru Sayısı ile Bazı Genlerdeki (*BMP15*, *GDF9*, *BMPIR-IB*, *PRL*, *GHR*, *NR5A2*) Polimorfizmler Arasındaki İlişkinin Araştırılması” başlıklı bu çalışma, jürimizce lisansüstü yönetmeliğin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek oybirliği ile kabul edilmiştir.

Danışman : Doç. Dr. Taki KARSLI :

İkinci Danışman :--

Yüksek Lisans Tez Savunma Jürisi:

Üye: Doç. Dr. Taki KARSLI

Üye: Prof. Dr. Yasemin ÖNER

Üye: Dr. Öğr. Üyesi Yasemin GEDİK

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun tarih ve sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Fatma TÜMSEK

Enstitü Müdürü

ETİK BEYAN

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kılavuzuna göre, Doç. Dr. Taki KARSLI danışmanlığında hazırlamış olduğum “Akkaraman ve Merinos Koyunlarında Bir Batında Doğan Yavru Sayısı ile Bazı Genlerdeki (*BMP15*, *GDF9*, *BMPRII*, *PRL*, *GHR*, *NR5A2*) Polimorfizmler Arasındaki İlişkinin Araştırılması” başlıklı Yüksek Lisans tezimin özgün bir çalışma olduğunu; tez çalışmamın tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallarına uygun davrandığımı; tezimde verdiğim bilgileri, verileri akademik ve bilimsel ilke ve kurallara uygun olarak elde ettiğimi; tez çalışmamda yararlandığım eserlerin tümüne atıf yaptığımı ve kaynak gösterdiğimi ve bilgi, belge ve sonuçları bilimsel etik ilke ve kurallara göre sunduğumu beyan ederim. 10/04/2025

Aslı GÖRGÜLÜ

İmza

ÖZET

Koyunlar günümüzde birçok ülkede öncelikle et amaçlı üretilen önemli bir çiftlik hayvanı türüdür. Kasaplık kuzu üretimi yapan işletmeler için önemli olan bir batında doğan yavru sayısı diğer ekonomik özellikler gibi poligenik kalıtım göstermektedir. Koyunlarda bir batında doğan yavru sayısı bazı majör ya da aday genler tarafından etkilenmektedir. Gerçekleştirilen çalışmada Akkaraman (AKR-60 örnek) ve Anadolu Merinosu (AMR-60 örnek) yerli koyun ırklarında toplam 120 örnekte çoklu doğumu artırdığı bildirilen 6 gen bölgesi üzerindeki 9 lokusta polimorfizm PCR, AS-PCR, PCR-RFLP ve T-ARMS-PCR yöntemleri kullanılarak belirlenmiştir. Elde edilen polimorfizmler ile bir batında doğan yavru sayısındaki ilişki ki-kare ve tek yönlü varyans analizi kullanılarak incelenmiştir. Tamamlanan yüksek lisans tez çalışmasında AKR ve AMR koyun ırklarında çalışılan 9 lokusun 3 tanesi monomorf (*BMPR-IB/FecB*, *BMP15/FecX^{Bar}* ve *NR5A2/SNP-T1419C*), altı lokus ise polimorfik bulunmuştur. Polimorfik bulunan altı lokusta genetik çeşitlilik parametreleri (H_o , H_e ve N_e) genellikle yüksek seviyelerde gözlenmiştir. Çalışmada elde edilen genotipler ile bir batında doğan yavru sayısı arasında yapılan ilişki analizleri sonucunda AMR ırkında *NR5A2* SNP (T40C) gen bölgesi için CC ve AKR ırkında *GDF9* G4 gen bölgesi için AG genotipi taşıyan koyunlarda bir batında doğan yavru sayısının daha yüksek olduğu saptanmıştır ($p<0.05$). Çalışmada elde edilen sonuçlara göre AKR ve AMR koyun ırklarında bir batında doğan yavru sayısı ile ilişkili majör ve aday genler üzerindeki farklı lokuslarda yeterli polimorfizm ve genetik çeşitlilik olduğu anlaşılmıştır. Özellikle *NR5A2* geni SNP (T40C) lokusu ve *GDF9* geni G4 lokusunun koyunlarda çoklu doğumun artırılması için yapılacak Marker Destekli Seleksiyon (MAS) çalışmalarında kullanılabileceği anlaşılmaktadır. Bir batında doğan yavru sayısı ile ilişkili majör genler (*BMPR1B*, *BMP15* ve *GDF9*) öncelikli olmak üzere mümkün olduğunca çok sayıda aday gen (*NR5A2*, *PRL* vb.) yerli koyun ırklarında taranmalı ve çoklu doğuma ait fenotipik verilerle ilişkilendirilmelidir. MAS çalışmalarında çok sayıda majör ya da aday genin kullanılması poligenik katılan özellikler için seleksiyonda başarıyı ve genetik ilerlemeyi artıracaktır.

Anahtar Kelimeler: Akkaraman, Anadolu Merinosu, koyun, bir batında doğan yavru sayısı, SNP, indel

SUMMARY

Sheep are an important livestock species primarily reared for meat production in many countries today. Litter size, a key trait for lamb meat production enterprises, is a polygenic trait, similar to other economically important characteristics. Litter size in sheep is affected by certain major or candidate genes. In this study, polymorphisms in nine loci across six gene regions, which have been reported to increase multiple births, were identified in a total of 120 samples from the Akkaraman (AKR - 60 samples) and Anatolian Merino (AMR - 60 samples) native sheep breeds. These polymorphisms were determined using PCR, AS-PCR, PCR-RFLP, and T-ARMS-PCR methods. Subsequently, the relationship between the identified polymorphisms and litter size was analyzed using chi-square tests and one-way ANOVA. In the completed master's thesis, 3 out of 9 loci studied in AKR and AMR sheep breeds were identified as monomorphic (*BMPR1B*/FecB, *BMP15*/FecX^{Bar}, and *NR5A2*/SNP-T1419C), while the remaining six loci were polymorphic. Genetic diversity parameters (Ho, He, and Ne) were generally observed to be high across the six polymorphic loci. Relationship analyses between the genotypes identified in this study and litter size revealed that sheep with the CC genotype at the *NR5A2* SNP (T40C) locus in the AMR breed, and those with the AG genotype at the *GDF9* G4 locus in the AKR breed, had significantly higher litter sizes ($P < 0.05$). The results of the study revealed sufficient polymorphism and genetic diversity at various loci of major and candidate genes associated with litter size in AKR and AMR sheep breeds. In particular, the T40C SNP locus of the *NR5A2* gene and the G4 locus of the *GDF9* gene appear to be promising markers for use in Marker-Assisted Selection (MAS) programs aimed at increasing multiple births in sheep. As many candidate genes as possible (e.g., *NR5A2*, *PRL*), and especially major genes (*BMPR1B*, *BMP15*, and *GDF9*) associated with litter size, should be screened in native sheep breeds and correlated with phenotypic data on multiple births. The incorporation of a large number of major and candidate genes into MAS programs is expected to enhance selection success and accelerate genetic improvement, particularly for polygenic traits.

Keywords: Akkaraman, Anatolian Merino, sheep, litter size, SNP, indel

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans eğitimim boyunca tezim her aşamasında desteklerini esirgemeyen başta kıymetli tez danışmanım Doç.Dr. Taki KARSLI olmak üzere laboratuvar bilgi birikimini benimle paylaşan değerli hocam Doç.Dr. Bahar ARGUN KARSLI ‘ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tezimin laboratuvar aşamalarında bana 24 saat yardımcı olan, desteğini esirgemeyen sevgili arkadaşlarım Zootečni Bölümü yüksek lisans öğrencisi Veli ATMACA başta olmak üzere, Ziraat Mühendisleri İrem Nilay ERSİN ve Yusuf AKTAŞ’a, ayrıca Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü yüksek lisans öğrencileri Ebru DEMİR ve Nimet TUFAN’a teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek Lisans tezimin materyalinin toplanması aşamasında desteklerini esirgemeyen Haymana İlçe Tarım Orman Müdürlüğü’nde çalışanı kıymetli mesai arkadaşım Veteriner Hekim Hüseyin GÜL’e teşekkürlerimi sunarım.

Her zaman arkamda duran her yol kat ettiğimde benim yanımda olan maddi manevi desteğini esirgemeyen hayatımın en değerli insanı canım babam Satılmış GÖRGÜLÜ başta olmak üzere diğer yarım canım annem Sevim GÖRGÜLÜ sonsuz teşekkürlerimi snuyorum. Ayrıca hayatım boyunca bana güç veren iyi ve kötü her anımda yanımda olan canım ablalarım Doç. Dr. Arzu KAKIŞIM ve Nurdan VİJAYADHARAN’a teşekkür ediyorum.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	vi
SUMMARY	vii
TEŞEKKÜR.....	viii
İÇİNDEKİLER.....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xiv
1.GİRİŞ ve AMAÇ.....	1
2. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI	4
2.1. Türkiye’de Koyun Yetiştiriciliği	4
2.2. Araştırmada Kullanılan Koyun Irkları.....	5
2.2.1. Akkaraman koyun ırkı	5
2.2.2. Anadolu Merinosu koyun ırkı	7
2.3. Çalışılan Gen Bölgeleri	8
2.3.1. <i>BMPR-1B</i> (Bone Morphogenetic Protein Receptor 1B / Kemik Morfogenetik Protein Reseptörü 1B).....	8
2.3.2. <i>BMP15</i> (Bone Morphogenetic Protein 15 / Kemik Morfogenetik Protein 15) ...	9
2.3.3. <i>GDF9</i> (Growth Differentiation Factor 9 / Büyüme Farklılaşma Faktörü 9)	10
2.3.4. <i>NR5A2</i> (Nuclear receptor subfamily 5, group A, member 2).....	11
2.3.5. <i>PRL</i> (Prolactin / Prolaktin)	11
2.3.6. <i>GHR</i> (Growth Hormone Receptor / Büyüme Hormon Reseptörü)	12
2.4. Çalışmada Kullanılan DNA Marker Yöntemleri.....	12
2.4.1. AS-PCR (Allele Specific PCR / Allel Spesifik PCR)	12
2.4.2. T-ARMS-PCR (Tetra-primer Amplification Refractory Mutation System Polymerase Chain Reaction)	13
2.4.3. PCR-RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism / Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi)	14
2.5. Literatür Taraması	15

İÇİNDEKİLER (devam)

3. MATERYAL ve YÖNTEM	26
3.1. Hayvan Materyali	26
3.2. Yöntem	26
3.2.1. DNA izolasyonu	26
3.2.2. Bir batında doğan yavru sayısı ile ilişkili genlerdeki polimorfizmlerin belirlenmesi	28
3.2.2.1. <u>BMPR-IB geni FecB lokusu 90 bc delesyon polimorfizminin belirlenmesi ..</u>	29
3.2.2.2. <u>BMPR-IB geni FecB lokusu (c.746A > G) polimorfizminin belirlenmesi</u>	31
3.2.2.3. <u>BMP15 geni FecX^{Bar} lokusu SNP (c.301G > T) polimorfizminin belirlenmesi</u>	32
3.2.2.4. <u>NR5A2 geni SNP (T1419C) polimorfizminin belirlenmesi</u>	33
3.2.2.5. <u>NR5A2 geni SNP (T40C) polimorfizminin belirlenmesi</u>	34
3.2.2.6. <u>GDF9 geni (G4) polimorfizminin belirlenmesi</u>	35
3.2.2.7. <u>PRL geni üzerindeki 23 bc insersiyon polimorfizminin belirlenmesi</u>	36
3.2.2.8. <u>GHR geni üzerindeki P2 (23 bc delesyon) polimorfizminin belirlenmesi</u>	37
3.2.2.9. <u>GHR geni üzerindeki P8 (23 bc delesyon) polimorfizminin belirlenmesi</u>	37
3.2.3. İstatistik analizler	38
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	39
4.1. DNA İzolasyonu	39
4.2. Çalışılan Gen Bölgelerinde Tespit Edilen Genetik Çeşitlilik Parametreleri	39
4.3. Çalışılan Gen Bölgelerinde Tespit Edilen Polimorfizmler ile Bir Batında Doğan Yavru Sayısı Arasında İlişki Analizleri	52
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	56
KAYNAKLAR DİZİNİ	59

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. Akkaraman koyunu.....	6
2.2. Anadolu Merinosu Koyunu	7
2.3. AS-PCR Yöntemi	13
2.4. T-ARMS-PCR Yöntemi.....	14
2.5. PCR-RFLP Yöntemi.....	15
4.1. Akkaraman ırkında 20 örneğe ait agaroz jel görüntüsü (%1).....	39
4.2. <i>BMPR-IB</i> geni (746A > G) için PCR örneklerinin <i>AvaI</i> RE ile kesimine ait agaroz jel görüntüsü (%2).....	40
4.3. <i>BMPR-IB</i> geninde 90 bç delesyon mutasyonu için PCR agaroz jel görüntüsü (%3)..	41
4.4. <i>BMP15</i> geni $FecX^{Bar}$ Alleli için AS-PCR agaroz jel görüntüsü (%1.5).....	43
4.5. <i>NR5A2</i> geni SNP (T1419C) için AS-PCR agaroz jel görüntüsü (%2).....	44
4.6. <i>NR5A2</i> geni SNP (T40C) için PCR-RFLP agaroz jel görüntüsü (%2).....	45
4.7. <i>GDF9</i> geni G4 polimorfizmi için T-ARMS-PCR agaroz jel görüntüsü (%2).....	46
4.8. <i>PRL</i> geni 23 bç insersiyon polimorfizmi PCR agaroz jel görüntüsü (%3.5).....	48
4.9. <i>GHR</i> geni P2 (23 bç delesyon) polimorfizmi PCR agaroz jel görüntüsü (%3.5).....	49
4.10. <i>GHR</i> geni P8 (23 bç delesyon) polimorfizmi PCR agaroz jel görüntüsü (%3.5).....	51

ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Cizelge</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. <i>BMP15</i> geninde çoklu doğumu artırdığı bildirilen bazı mutasyonlar.....	10
3.1. Araştırmada kullanılan örneklerin yaptığı doğum tipi ve sayıları.....	26
3.2. DNA izolasyonu için tampon çözeltilerin molaritesi/miktarı ve içerikleri.....	28
3.3. Çalışmada kullanılan gen bölgelerine ait tanımlayıcı bilgiler.....	30
3.4. <i>BMPIB</i> geni FecB lokusu 90 bç delesyon polimorfizmi için kullanılan PCR içeriği ve programı.....	31
3.5. <i>BMPIB</i> geni FecB lokusu üzerindeki SNP (c.746A>G) polimorfizmi için kullanılan PCR içeriği ve programı.....	32
3.6. <i>BMP15</i> geni FecX ^{Bar} lokusu üzerindeki SNP (c.301G > T) polimorfizmi için kullanılan PCR içeriği ve programı.....	33
3.7. <i>NR5A2</i> geni üzerindeki SNP (T1419C) polimorfizmi için kullanılan PCR içeriği ve programı.....	34
3.8. <i>NR5A2</i> geni üzerindeki SNP (T40C) polimorfizmi için kullanılan PCR içeriği ve programı.....	35
3.9. <i>GDF9</i> geni G4 (SNP, A721G) polimorfizmi için kullanılan PCR içeriği ve programı.....	36
3.10. <i>PRL</i> geni 23 bç insersiyon polimorfizmi için kullanılan PCR içeriği ve programı..	37
3.11. <i>GHR</i> geni P2 (23 bç delesyon) polimorfizmi için kullanılan PCR içeriği ve programı.....	37
3.12. <i>GHR</i> geni P8 (23 bç delesyon) polimorfizmi için kullanılan PCR içeriği ve programı.....	38
4.1. <i>BMPIB</i> geninde 90 bç delesyon mutasyonu için çalışılan ırklarda gen, genotip frekansları, genetik çeşitlilik ve ki-kare değerleri.....	42
4.2. <i>NR5A2</i> geni SNP (T40C) için çalışılan ırklarda gen, genotip frekansları, genetik çeşitlilik ve ki-kare değerleri.....	45
4.3. <i>GDF9</i> geni G4 polimorfizmi için çalışılan ırklarda gen, genotip frekansları, genetik çeşitlilik ve ki-kare değerleri.....	47

4.4. <i>PRL</i> geni 23 bç insersiyon polimorfizmi için çalışılan ırklarda gen, genotip frekansları, genetik çeşitlilik ve ki-kare değerleri.....	48
4.5. <i>GHR</i> geni P2 (23 bç delesyon) polimorfizmi için çalışılan ırklarda gen, genotip frekansları, genetik çeşitlilik ve ki-kare değerleri.....	50
4.6. <i>GHR</i> geni P8 (23 bç delesyon) polimorfizmi için çalışılan ırklarda gen, genotip frekansları, genetik çeşitlilik ve ki-kare değerleri.....	51
4.7. Çalışılan ırklarda elde edilen genotiplerde tekiz ve çoğuz doğumların dağılımı.....	53
4.8. Akkaraman koyun ırkında elde edilen genotipler ile bir batında doğan yavru sayısı arasındaki ilişki.....	54
4.9. Merinos koyun ırkında elde edilen genotipler ile bir batında doğan yavru sayısı arasındaki ilişki.....	55

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

Açıklama

%	Yüzde
Cm	Santimetre
Kg	Kilogram
>	Büyüktür
<	Küçüktür
Bç	Baz çifti
°C	Santigrat derece
µl	Mikrolitre
ml	Mililitre
Rpm	Rotor Per Minute
dk	Dakika
g	Gram
sn	Saniye
V	Volt
Nm	Nanometre

Kısaltmalar

Açıklama

BMP15	Kemik morfogenetik protein 15
GDF9	Büyüme farklılaşma faktörü 9
BMPR1B	Kemik morfogenetik protein reseptörü IB)
PRL	Prolaktin
GHR	Büyüme hormon reseptörü
NR5A2	Nükleer reseptör alt ailesi 5 grup A
SNP	Single nükleotide polymorphism- Tek nükleotid polimorfizmi
MAS	Marker Destekli Seleksiyon
GS	Genomik Seleksiyon

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Kısaltmalar</u>	<u>Açıklama</u>
AKR	Akkaraman
AMR	Anadolu Merinosu
TÜİK	Türkiye İstatistik Kurumu
FAO	Food and Agriculture Organization- Gıda ve Tarım Örgütü
TAGEM	Tarım İşletmeleri Genel Müdürlüğü
TGF- β	Dönüştürücü büyüme faktörü beta
Fec	Fekundite
Val	Valin
Glu	Glutamik asit
Ser	Serin
Gln	Glutamin
Cys	Sistein
Tyr	Trozin
FTF	Fetoprotein transkripsiyon faktörü
NR	Nükleer hormon reseptörü
LRH-1	Liver receptor homolog-1
GH	Büyüme hormonu
IGF-1	İnsülin benzeri büyüme faktörü-1
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
AS-PCR	Allel Spesifik Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RFLP	Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi
T-ARMS	Tetra- Primer Amplifikasyon Refrakter Mutasyon Sistemi
SSCP	Tek Zincirli Konformasyon Polimorfizmi
RE	Restriksiyon enzimi
CAST	Calpastatin
PIC	Polimorfizm Bilgi İçeriği
DNA	Deoksiriboz Nükleik Asit
MgCl ₂	Magnezyum klorür
H ₂ O	Su

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ**Kısaltmalar****Açıklama**

EDTA	Etilendiamin tetraasetik
Del	Delesyon
NEB	New England Biolabs
DNTPs	Deoksiribonükleozid trifosfat
FP	Forward primer
RP	Reverse primer
Ho	Gözlenen heterozigotluk
He	Beklenen heterozigotluk
Ne	Etkili allel sayısı
M	DNA ladder

1.GİRİŞ ve AMAÇ

Neolitik çağ insanoğlunun yaşam tarzında köklü değişikliklerin olduğu bir dönemdir. Bu dönemde ilk bitkisel üretim faaliyetlerinin başlaması ve hayvanların evcilleştirilmesi sonucu insanlar yerleşik hayata geçmiş ve besin zincirinde ciddi değişiklikler yaşanmıştır (Pedrosa vd., 2005; Aytan O.A, 2021). Evcil koyun (*Ovis aries*), yaklaşık 11.000 yıl önce Yakın Doğu'da (Verimli Hilal Bölgesi) evcilleştirilmeye başladığı tarihten bu yana ekonomik ve kültürel açıdan önemli bir çiftlik hayvanı türü olmuştur (Tapio vd., 2010; Kijas vd., 2012). Evcilleştirilme hayvanların morfolojik ve verim özellikleri yanı sıra üreme özelliklerini de ciddi şekilde etkilemiştir. Ergenlik, sperm üretimi, yumurtlama oranı, embriyonik ölüm oranı, gebelik süreci, bir batında doğan yavru sayısı, anöstrus süreci etkilenmiştir (Setchell, 1992).

Daha sosyal ve itaatkâr olmalarından dolayı yönetimlerin kolay olması, daha küçük vücut büyüklükleri, daha erken cinsi olgunluğa ulaşmaları, daha fazla yavru vermeleri gibi nedenlerden ötürü koyunlar, ineklerden binlerce yıl önce evcilleştirilmiştir. Koyunlar ilk olarak et, süt ve derileri için insan eli altında yetiştirilmiştir (Mazinani ve Rude, 2020). İnsan eli altında yetiştirilmelerinin kolay, adaptasyon ve yürüme yeteneklerinin yüksek oluşu nedeniyle evcilleştirilme bölgelerinden dünyanın farklı coğrafyaları ve iklim kuşaklarına yayılmışlardır. Evcilleştirilmeden sonraki yıllarda dünyanın farklı bölgelerinde geçirdikleri adaptasyon süreci, yetiştirici tercihleri (sistemik olmayan seleksiyon) ve 1900'lü yılların başından günümüze geçen süreçte farklı amaçlar için yapılan ıslah çalışmaları (sistemik seleksiyon) günümüz koyun genomunun şekillenmesine ve çok sayıda koyun ırkının oluşmasına neden olmuştur. Günümüzde dünyada yetiştiriciliği yapılan, Hayvan Genetik Kaynakları Küresel Veri Bankası'na kayıtlı yaklaşık 1.400 lokal ve kozmopolit koyun ırkı bulunmaktadır (Marković vd., 2022).

İnsanlar binlerce yıldır et, süt, yapağı, deri, gübre gibi ihtiyaçları karşılamak ya da hobi üretimi amacıyla koyun yetiştiriciliği yapmaktadır (Rasali vd., 2006). Günümüzde de koyun yetiştiriciliği tüm dünyada hayvancılık faaliyetleri arasında önemli bir yer tutar. Ancak sentetik liflerin yapağının yerini alması, süt üretiminde de sığırın sektörü domine etmesi nedeniyle koyun yetiştiriciliğinde öncelikle amaç et üretimi olmuştur (Rasali vd., 2006; de Klerk, 2022). Ayrıca dini nedenlerden ötürü domuz eti tüketmeyen toplumlarda, kırmızı et ihtiyacının karşılanmasında koyun eti daha da önem kazanmaktadır. Koyunlar günümüzde birçok ülkede

öncelikle et amaçlı üretilen önemli bir çiftlik hayvanıdır. Koyun yetiştiriciliğinde ekonomik verimliliği esas olarak büyüme ve üreme yeteneği belirler (Zamani vd., 2015).

Döl verimi hayvansal üretimde en önemli ekonomik özelliklerden biridir (Mahmoud ve Nawito, 2012). Çiftlik hayvanları yetiştiriciliğinde ekonomik önemi olan tüm özelliklerin temelinde döl verimi vardır (Koç, 2001; Karşlı vd., 2011; Karakuş, 2016). Çiftlik hayvanı tür ve ırklarında döl veriminin yüksek olması sadece popülasyonların sürdürülebilirliği açısından değil aynı zamanda daha fazla ürün eldesi ve ıslah çalışmaları içinde önemlidir (Mahmoud ve Nawito, 2012). Diğer çiftlik hayvanlarına benzer olarak koyunlarda da döl verimi büyük önem taşımaktadır. Özellikle et amaçlı kasaplık kuzu üretimi yapan işletmelerde döl verimi ve bir batında doğan yavru sayısı gibi özellikler ön plana çıkmaktadır (Karşlı vd., 2011).

Koyunlarda döl verimi genetik ve çevresel faktörlerin (besleme, ana yaşı, iklimsel faktörler vb.) etkisi ile şekillenen (Robinson vd., 2006; Notter, 2008; Ajafar vd., 2022) kantitatif bir özellik olup, poligenik kalıtım izler (Karşlı ve Balcıoğlu, 2011). Ancak bazı koyun ırklarında bir batında doğan yavru sayısı üzerine etkisi daha büyük olan gen bölgeleri (majör genler) vardır (Abdoli vd., 2016; Nenova vd., 2023). Genellikle koyun genomunda Tek Nükleotid Değişimi (Single Nucleotide Polymorphism – SNP) sonucu oluşan majör genler, ovulasyon oranını ve fekunditeyi artırarak çoklu doğumlara neden olmaktadır. Bu nedenle çoklu doğumu artıran majör genlere fekundite (fecundity-Fec) denilmektedir (Liu vd., 2015; Abdoli vd., 2016). Koyunlarda SNP sonucu meydana gelen ve keşfedildikleri günden bu yana en fazla çalışılan majör genler *BMPR-IB* (Bone Morphogenetic Protein Receptor IB), *BMP15* (Bone Morphogenetic Protein 15) ve *GDF9* (Growth Differentiation Factor 9) genleri üzerindeki farklı mutasyonlardır (Notter, 2008; Karşlı vd., 2012; Saleh vd., 2020). Ancak son yıllarda yapılan çalışmalar bazı yukarıdaki ya da farklı genler üzerindeki indel varyantlarında çoklu doğum üzerinde majör etkili olduğunu göstermiştir (Akhatayeva vd., 2020; Li vd., 2021). Yine son yıllarda koyunlarda tüm genom çapında, farklı yaklaşımlarla yapılan çalışmalarda bilinen bölgelerin dışında çok sayıda aday gen bölgesinin bir batında doğan yavru sayısı ile ilişkili olduğu belirtilmiştir (Tao vd., 2021; Krivoruchko vd., 2022; Zhang vd., 2022; Tsartsianidou vd., 2023).

Bir batında doğan yavru sayısı koyunculuk işletmelerinin ve koyun yetiştiricilerinin karlılığını belirleyen en önemli döl verim özelliklerinden birisidir (Tao vd., 2021). Ancak bir batında doğan yavru sayısı ya da döl verimini belirleyen diğer özelliklere ait kalıtım derecesi

düşük ya da orta (0.10-0.15) seviyelerdedir (Notter, 2008; Abdoli vd., 2016). Ayrıca bir batında doğan yavru sayısı gibi parametreler sadece dişilerde ve en erken ilk kuzulamayı takiben belirlenmektedir. Yukarıda belirtilen nedenler klasik ıslah çalışmalarını zorlaştırırken, başarının da sınırlı bir düzeyde kalmasına neden olmaktadır (Liu vd., 2015). Bu kısıtlamaları aşmak için bir batında doğan yavru sayısı ile ilişkili majör ya da aday genlerin farklı moleküler yöntemlerle belirlenmesi önemlidir. Belirlenen bu genlerin Marker Destekli Seleksiyon (Marker Assisted Selection-MAS) ya da Genomik Seleksiyon (Genomic Selection-GS) çalışmalarında kullanımı, bir batında doğan yavru sayısının artırılması için yapılacak ıslah çalışmalarında büyük fırsatlar sunabilir.

Bu bağlamda gerçekleştirilen yüksek lisans tez çalışmasında Türkiye yerli koyun ırklarından Akkaraman (AKR) ve Anadolu Merinosu (AMR) koyunlarında bir batında doğan yavru sayısı ile ilişkili bazı genler üzerindeki polimorfizmin belirlenmesi ve elde edilen polimorfizmler ile bir batında doğan yavru sayısı arasındaki ilişkinin araştırılması amaçlanmıştır. Ayrıca çalışılan gen bölgelerinin ileride bu ırklarda bir batında doğan yavru sayısının artırılması için yapılacak MAS çalışmalarında kullanım olanaklarının tartışılması hedeflenmiştir.

2. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI

2.1. Türkiye’de Koyun Yetiştiriciliği

Türkiye’de hayvancılık faaliyetleri arasında koyunculuk önemli yer tutmaktadır. Koyunlar genel olarak zayıf meralar, nadas, anız ve bitkisel üretime uygun olmayan alanları değerlendirip et, süt, yapağı ve deri gibi ürünler verdiği için ülke ekonomisine ve halkın beslenmesine büyük katkı sağlar. Türkiye’nin doğal kaynaklarının, özellikle çayır-meraların koyunlar için uygun oluşu ve ülke halkının tüketim alışkanlıkları gibi etmenler, koyun yetiştiriciliği için uygun bir ortam yaratmaktadır (Kaymakçı, 2006). Koyun yetiştiriciliği özellikle küçük işletmelere düzenli nakit para girişi ve kırsal ekonomiye önemli katkı sağlaması yanında yarattığı istihdam ile kırsal alanlardan göçün azaltılması açısından önemlidir.

Türkiye İstatistik Kurumu verilerine göre 2023 yılı itibari ile Türkiye koyun varlığı yaklaşık 42 milyon baş olup bunun % 9,2’sini Merinos koyunları oluşturmaktadır (TUİK, 2023a). Yine TUİK’in 2023 yılı verilerine göre çiğ süt üretiminin % 4,35’i (TUİK, 2023b), et üretiminin ise % 23,86’sı koyunlardan karşılanmaktadır (TUİK, 2023c). Mevcut yapısıyla Türkiye’de koyunculuk insanların sağlıklı beslenmesi ve ülke ekonomisi açısından oldukça önemlidir. Yukarıdaki veriler et üretimi açısından koyunculuğun önemini ortaya koymaktadır. Bu bilgiler ışığında son yıllarda Türkiye’de sıkça tartışılan et açığının kapatılmasında koyun yetiştiriciliği kilit rol oynayabilir.

Türkiye’de koyun yetiştiriciliği tarih boyunca kültürel değerlerin bir parçası olmuştur. Ağırlıklı olarak kırsal kesimlerde aile işletmeleri şeklinde yapılan koyun yetiştiriciliği, bazı bölgelerde neredeyse tamamen doğaya bağlı göçebe koyun yetiştiriciliği olarak bilinen bir yaşam tarzı şeklinde yapılmaktadır (Argun Karşlı vd., 2020). Türkiye mevcut koyun varlığı bakımından dünyada önemli bir yere sahiptir. FAO’nun 2022 verilerine göre Türkiye koyun varlığı bakımından Avrupa’da 1. dünyada ise 7. sırada olup önemli bir üretici durumundadır (FAO, 2022). Türkiye’de koyun yetiştiriciliği büyük bir oranda yerli ırklarla yapılmaktadır. Türkiye günümüzde tescil edilmiş yaklaşık 30 koyun ırkı ya da tipiyle dünya koyun genetik

kaynaklarına önemli katkılar yapmaktadır (Argun Karşlı vd., 2024). Yerli koyun ırkları yetiştirildikleri bölgelerdeki zorlu çevresel koşullara (hastalık ve zararlılara ya da farklı iklimsel koşullara) çok iyi adapte olmuştur. Bu durum gelecekte sürdürülebilir koyun yetiştiriciliği açısından büyük fırsat olarak görülmektedir (Argun Karşlı vd., 2020; Argun Karşlı, 2024).

Türkiye’de koyunculuk genellikle ekstansif koşullarda altında aile işletmelerinde yapılmaktadır. Koyunculuğun entansif koşullarda yürütülmesinin başlıca nedenleri arasında, genellikle aile işletmeleri şeklinde yapılması, işletmelerin sermaye yapısının yetersiz oluşu, çoğunlukla meraya dayalı besleme yapılması gibi birçok neden gösterilebilir. Bu nedenler dışında bir diğer neden olarak yüksek döl verimli hayvanlarla çalışılmaması söylenebilir (Karşlı vd., 2011; Oral vd., 2021). Diğer dünya ülkelerine benzer şekilde Türkiye’de de koyun yetiştiriciliğinde öncelikli amaç et üretimidir (Oğuz vd., 2019; Gootwine, 2020). Koyunculukta et üretimi ön plana çıktığında döl verimi ve bir batında doğan yavru sayısı önemli hale gelmektedir. Ancak yerli koyun ırklarımızın neredeyse tamamında bir batında doğan yavru sayısı ve döl verimi düşük seviyelerdedir. Türkiye’de yerli koyun ırklarında düşük olan verimlerinin ıslahında izlenen yol genellikle melezleme olmuştur. Yapılan melezleme çalışmaları ile çeşitli verim özellikleri (yapağı, et, süt, döl verimi) yüksek tipler elde edilmiştir. Döl verimi için yapılan melezleme çalışmalarında döl verimi yüksek olan kültür ırkları (Merinos gibi) ya da yerli ırklar (Sakız gibi) kullanılmıştır (Kaymakçı ve Taşkın 2008; Kaymakçı vd., 2009).

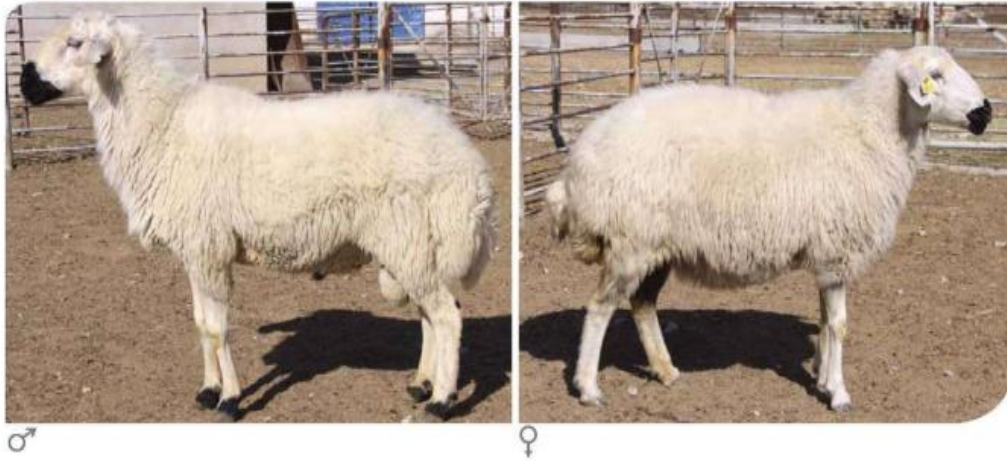
2.2. Araştırmada Kullanılan Koyun Irkları

Gerçekleştirilen yüksek lisans tez çalışması Türkiye’de yetiştiriciliği en çok yapılan yerli koyun ırkları olan AKR koyunları ile Merinos melezleri içerisinde en çok yetiştirilen AMR koyun ırkları üzerinde yürütülmüştür. Bu ırklara ait bazı tanımlayıcı bilgiler aşağıda özetlenmiştir.

2.2.1. Akkaraman koyun ırkı

Akkaraman koyun ırkı Türkiye’de en yaygın yetiştirilen ırk olup koyun varlığının %38’lik kısmını oluşturmaktadır (Yağcı ve Baş, 2024). Türkiye’de İç Anadolu bölgesinde batıda Eskişehir ve Kütahya’dan başlayarak, doğuda Sivas’a kadar, Orta Anadolu’da ve Doğu

Anadolu’da yetiştirilir (Kozaklı vd., 2022). AKR koyunları, Anadolu’nun bölge şartlarına iyi uyum sağlayan, açlığa, kuraklığa, kötü hava şartlarına ve uzun yürüme yeteneğine sahip geç gelişen bir ırktır (Noyan ve Ceyhan, 2021). AKR koyun ırkının bilinen 5 varyetesi vardır. Bunlar “Kangal, Karakaş, Güney Karaman, Zom Koyunu ve Şavak koyunu” olarak bilinmektedir (Yağcı ve Baş, 2024).

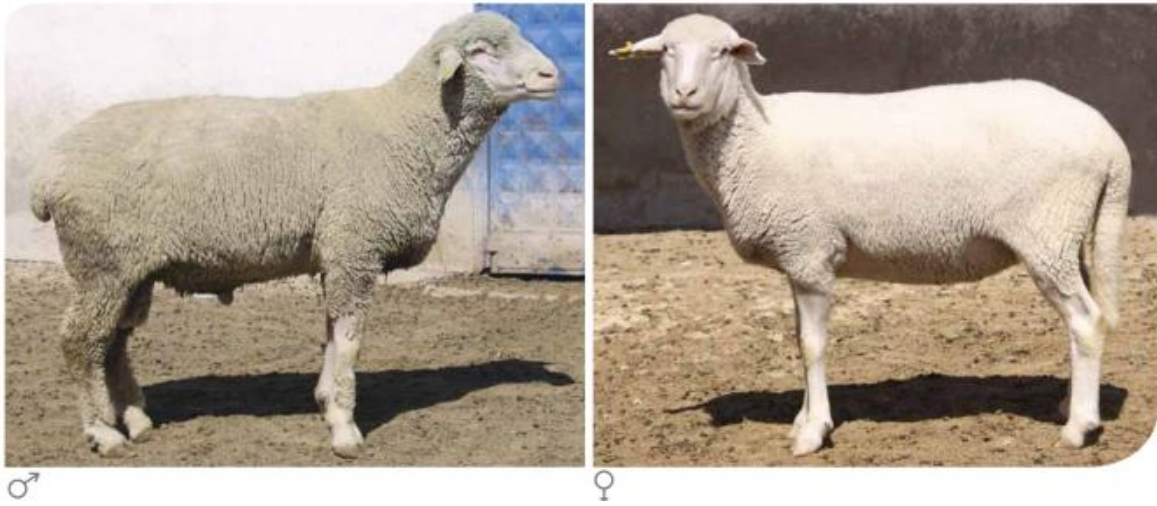


Şekil 2.1. Akkaraman koyunu (TAGEM, 2009)

Akkaraman koyunu, yerli ırklar içinde iri yapılı olanıdır. Vücut dar ve uzundur. Sırt hattı düzdür, bazılarında hafif bir çukurluk görülebilir (Kutlu vd., 2022). Vücut orta irilikte olup, cigado yüksekliği 65 cm’dir. Ergin koyunlarda canlı ağırlık 35–40 kg, koçlarda ise canlı ağırlık 50-60 kg kadardır. AKR ırkının kuyrukları üç parçalı, yuvarlak yapılı ve “S” harfi görünümündedir. Kuyruk ağırlığı 4–6 kg kadardır. Ancak 12 kg’a kadar ulaşanları da vardır. Akkaramanlarda baş, boyun, karın altı ve bacaklar çıplaktır. Ağız, burun, göz çevresi, kulak ve ayaklarda siyah lekelere rastlanır. Yapağıları kaba ve karışık olup, vücut örtüsünün rengi beyazdır. Yıllık kirli yapağı verimi 1,5–2 kg’dır, lüle uzunluğu 8–12 cm, incelik 29–35 mikrondur. Laktasyon süt verimi 40–55 kg, laktasyon süresi 120– 150 gün, ikizlik oranı %6–10 arasında olup 100 koyundan ortalama 100–110 kuzu alınmaktadır (Noyan ve Ceyhan, 2021). AKR ırkı kuzuların doğum ağırlığı 4.83 kg ve sütten kesim (90. gün) canlı ağırlığı da 23.05 kg olarak bildirilmiştir (Kozaklı vd., 2022).

2.2.2. Anadolu Merinosu koyun ırkı

Türkiye’de yetiştiriciliği yapılan AMR Türkiye’nin İç Anadolu Bölgesi’nin batı kısımlarında yayılım göstermektedir. İç Anadolu’nun az engebeli ve yetersiz mera şartları ile karasal iklimine iyi uyum sağlamıştır. Bununla birlikte bakım besleme ve barınma koşulları nispeten iyi olan işletmelerde başarılı bir şekilde yetiştirilmektedir. Anadolu merinosu, Konya Harası’nda Alman et merinosu koçlarıyla yerli AKR koyunları arasındaki melezlemeyle geliştirilmiş olan bu tip, % 75–80 Merinos genotipi taşımaktadır (Koyuncu, 2024; TAGEM, 2009).



Şekil 2.2. Anadolu Merinosu Koyunu (TAGEM)

Kombine verim yönü açısından et ve yapağı için yetiştirilmektedir. Vücut iri, geniş, derin ve uzun, butlar dolgun ve etli, bacaklar uzun ve kuvvetlidir. Yapağısı beyaz, kuyruğu yağsız ince ve uzun, genellikle boynuzsuz, yüz kısmı yapağı ile örtülüdür. Cidago yüksekliği koyunlarda 66 cm, koçlarda 75 cm’dir. Ergin koyunlarda canlı ağırlık 50-55 kg, koçlarda ise canlı ağırlık 80-90 kg kadardır. Lüle uzunluğu 7,5-8 cm ve yapağısı 60–64’S’dir. Laktasyon süt verimi 40-50 kg, laktasyon süresi 140-450 gün’dür. İkizlik oranı %35-40 olup, kuzu verimi 1,4’tür. Kirli yapağı verimi 3–3,5 kg düzeyindedir. Yapağı inceliği 22 mikrondur (Atav ve Buğdaycı, (2022); Koyuncu M. 2024; TAGEM, 2009).

2.3. Çalışılan Gen Bölgeleri

Gerçekleştirilen yüksek lisans tezinde daha önce farklı koyun ırklarında çoklu doğumla ilişkili olduğu bildirilen altı farklı gen (majör ya da aday genler) bölgesi üzerindeki dokuz lokus üzerinde çalışılmıştır. Bu gen bölgeleri hakkındaki temel bilgiler aşağıda özetlenmeye çalışılmıştır.

2.3.1. *BMPR-IB* (Bone Morphogenetic Protein Receptor 1B / Kemik Morfogenetik Protein Reseptörü IB)

BMPR-IB geni TGF- β (Dönüştürücü Büyüme Faktörü Beta/Transforming Growth Factor Beta) gen ailesinin bir üyesidir. BMP'ler endokondral kemik oluşumu ve embriyogenezde önemli rol oynarlar. Koyunlarda 6. kromozom üzerinde haritalanan *BMPR-IB* geninin 15 ekzonu vardır. Bu gen, koyun ve keçi türlerinde fekundite ve ikizlik oranından sorumlu otozomal dominant bir gendir. *BMPR-IB* geni üzerindeki çeşitli mutasyonlar koyunlarda ovulasyon oranı ve yavru sayısı gibi doğurganlık özellikleriyle ilişkilidir. *BMPR-IB* geni üzerinde fekunditeyi (Fec) dolayısıyla bir batında doğan yavru sayısını artırdığı belirlenen ilk mutasyon Avustralya Booroola koyularında gösterildiği için bu gen Booroola (FecB) geni olarak da bilinir. Bu gen koyunlarda çoklu doğumu artırdığı bilinen ilk majör gendir. Günümüzde dünyadaki farklı koyun ırklarında bu gen üzerindeki çeşitli mutasyonların çoklu doğumu artırdığı tespit edilen çok sayıda çalışma vardır (Abdoli vd., 2016; Gateneh vd., 2024).

Booroola (FecB) geninin bir kopyasını taşıyan (B/+) koyunlarda ovulasyon oranı ve bir batında doğan yavru sayısı sırasıyla 1.5 ve 1 kat fazla olurken, genin iki kopyasını taşıyan koyunlarda (BB) ovulasyon oranı ve bir batında doğan yavru sayısı sırasıyla 3 ve 1.5 kat fazla olmaktadır (Davis, 2005). Koyunlarda çoklu doğumu artırdığı bilinen ilk majör gen olan Booroola (FecB) genine koyun 6. kromozomundaki bir tek nükleotid mutasyonu (SNP) neden olmaktadır. Bu gen bölgesinin 746. baz çiftinde meydana gelen bir mutasyon tek bazlık bir A>G değişim (SNP / c.746A > G) ile sonuçlanmaktadır. 16 ekzondan oluşan *BMPR-IB* geninin 8. ekzonunda meydana gelen bu değişimin, olgun proteinin 249. amino asidinde (p.Q249R) glutamin yerine arjinin gelmesine neden olduğu raporlanmıştır (Akhatayeva vd., 2023; Zamani vd., 2023; Wang vd., 2024),

BMPR-IB geni üzerinde en çok bilinen ve çalışılan *FecB* mutasyonu (SNP / c.746A > G) olmasına rağmen literatürde bu genin intron ve ekzon bölgelerinde belirlenmiş ve çalışılan çok sayıda mutasyon vardır. (Akhatayeva vd., 2023). Son yıllarda *BMPR-IB* geni üzerinde çoklu doğumla ilişkili olduğu bildirilen mutasyonlardan birisi de 90 bç'lik bir mutasyondur (Li vd., 2023). 90 bç'lik delesyonun *BMPR-IB* 1. ekzonu üzerinde olduğunu ve bu mutasyon için belirlenen üç genotipten (II, ID ve DD) ID ve DD genotipini taşıyan koyunların daha yüksek bir batında doğan yavru sayısına sahip olduğunu raporlamışlardır.

2.3.2. BMP15 (Bone Morphogenetic Protein 15 / Kemik Morfogenetik Protein 15)

BMPR-IB geni gibi *BMP15* geni de TGF- β süper ailesinin bir üyesi olup X kromozomu üzerinde bulunmaktadır. Bu nedenle *FecX* geni olarak da adlandırılmaktadır (Muneeb ve Faiz, 2014). *BMP15* geni koyunlarda foliküler gelişim için gerekli olan yumurtalık kaynaklı bir büyüme faktörünü kodlar. Protein, foliküler gelişimin birincil aşamasından itibaren yumurtalıklarda üretilir. *BMP15* yalnızca yumurtalığın oositinde bulunur ve ekspresyonu folikül gelişimi ve büyümesiyle birlikte artar. *BMP15*'e bağlanan ve aktivitesini engelleyen bir bağlayıcı protein olan follistatin, *BMP15*'in eylemlerini düzenler (Deac vd., 2020). *BMP15* mutasyonlarını heterozigot olarak koyunlarda ovulasyon oranı ve bir batında doğan yavru sayısı artarken, homozigot olarak taşıyan koyunlarda yumurtalık foliküllerinin birincil aşamasının ötesine geçememesinden dolayı folikül gelişimi başarısız olur ve yumurtalık hipoplazisi meydana gelerek kısırlığa neden olur (Mishra, 2014).

Farklı koyun ırklarında *BMP15* geni üzerinde çoklu doğumu artırdığı bildirilen çok sayıda mutasyon tanımlanmıştır. Bu mutasyonlardan bazıları aşağıda Çizelge 2.1'de özetlenmiştir. Aşağıdaki mutasyonlardan *FecX^{BAR}* *BMP15* geni üzerindeki diğer mutasyonlara göre daha geç keşfedildiği için daha az çalışılan bir gen bölgesidir. *BMP15* geni 1. ekzonu üzerinde bulunan *FecX^{BAR}* allelinde üç farklı mutasyon (bir SNP, c.301G > T; 3 bç bir delesyon c.302_304delCTA ve bir C nükleotid insersiyonu c.310insC) bildirilmiştir (Lassoued vd., 2017). Bu mutasyonlardan c.301 G > T SNP'i heterozigot durumda ovulasyon oranını ve bir batında doğan yavru sayısını sırasıyla 0.7 ve 0.3 artırırken homozigot bireyler gelişmemiş ovaryumlardan dolayı infertil olmaktadır (Arari vd., 2022).

Çizelge 2.1. *BMP15* geninde çoklu doğumu artırdığı bildirilen bazı mutasyonlar

İrk	Allel Sembolü-İsim	Mutasyon	Baz Değişimi	Amino asit Değişimi	Kaynaklar
Romney (Yeni Zelanda)	FecX ^I (Inverdale)	V299D / V31D	T-A	Val-Asp	Muneeb ve Faiz 2014; Mishra 2014; Deac vd. 2022
Romney (Yeni Zelanda)	FecX ^H (Hanna)	Q291stop / Q23stop	C-T	Glu-Stop	
Belclare (İrlanda)	FecX ^B (Belclare)	S3671 / S991	G-T	Ser-Ile	
Belclare (İrlanda) Cambridge (İngiltere)	FecX ^G (Galway)	T239 stop / no	C-T	Gln-Stop	
Lacaune (Fransa)	FecX ^L	C321Y / C53Y	G-A	Cys-Tyr	
Rasa-Aragonesa (İspanya)	FecX ^{RA}	17 nt deletion (525-541)			
Olkuska (Polonya)	FecX ^O	-	A-C	N337H	
Mehraban, Lori (İran) Barbarine (Tunus)	FecX ^{Bar}	c.301 G > T	G-T	-	

2.3.3. GDF9 (Growth Differentiation Factor 9 / Büyüme Farklılaşma Faktörü 9)

TGF- β süper ailesinin bir diğer üyesi olan *GDF9* geni 5. kromozom üzerinde haritalanmıştır. *GDF9* geni yaklaşık 2,5 kb büyüklüğünde bir alana yayılmış olup iki ekzon (ekzon 1: 1397 bç ve ekzon 2: 2965 bç) ve bir introndan (1126 bç) oluşmaktadır. Bu genin memelilerde oositler tarafından salgılanan bir büyüme ve farklılaşma faktörü olarak dişi üremesinde erken folikülogenez sırasında önemli role sahip olduğu raporlanmıştır (Wasng vd., 2021; Aboelhassan vd.,2021).

İlk olarak Cambridge ve Belclare koyunlarında *GDF9* geni üzerinde gösterilen SNP'in (FecG^H) koyunlarda çoklu doğumu artırdığı gösterilmiştir (Hanrahan vd., 2004). *BMP15* genine benzer olarak bu gen bölgesinde de heterozigot koyunlarda ovulasyon oranı artarken mutasyonu homozigot olarak taşıyan koyunlar infertil olmaktadır. *GBF9* geninde FecG^H allelinin koyunlarda çoklu doğumu artırdığının gösterilmesinden sonra farklı koyun ırklarında *GDF9* geni üzerinde yapılan çalışmalar artmıştır. Günümüze kadar bu gen üzerinde çok sayıda mutasyonun varlığı gösterilerek çoklu doğum ile ilişkisi araştırılmıştır. *GDF9* geni üzerinde tanımlanan 8 SNP'den (GDF1-8) üç tanesi amino asit değişikliğine neden olmazken (G2: C→T,

471; G3: G→A, G5: A→G) beş tanesi amino asit değişikliğine (G1, G4, G6, G7 ve G8) neden olmaktadır. Bu varyantlardan G4 alleli (A→G) olgun proteinde Glutamin - Lisin (E241 K) değişikliğine yol açmaktadır (Aboelhassan vd., 2021).

2.3.4. NR5A2 (Nuclear receptor subfamily 5, group A, member 2)

NR5A2, fetoprotein transkripsiyon faktörü (fetoprotein transcription factor / FTF) ya da karaciğer reseptörü homolog-1 (liver receptor homolog-1 / LRH-1) olarak da bilinir ve transkripsiyon faktörlerinin nükleer hormon reseptörü (NR) alt ailesinin bir üyesi olup embriyonik gelişim, hücre farklılaşması, safra asidi metabolizması ve steroidogeneizde önemli roller oynar (Li vd., 2015). Koyunlarda 12. kromozom üzerinde bulunan NR5A2 geninde üreme performansını olumlu yönde etkileyen iki nokta mutasyonu raporlanmıştır (Li vd., 2015; Abdoli vd., 2016). Hu koyunlarında genin uzunluğunun 1488 bp olduğu ve en az yedi ekzon ve altı introndan oluştuğu bildirilmiştir (Genbank erişim No. JN182926). Bu genin kodlama bölgesinin sığır ile %96,98, insan ile %88,37 ve zebra balığı ile %73,62 homolog olduğu bildirilmiştir (Li vd., 2015).

2.3.5. PRL (Prolactin / Prolaktin)

Prolaktin (PRL) hayvanlarda görevi olan ve farklı biyolojik yollara dahil olan önemli hormonlardan birisidir. PRL memelilerde hipofiz bezinden salgılanır ve etkilerini reseptörü (PRLR) aracılığıyla gösterir ve bu reseptör birçok dokuda bulunur. Laktasyonun başlaması ve sürdürülmesine ek olarak davranış, metabolizmanın düzenlenmesi, folikül gelişimi ve yumurtlama gibi üreme süreçlerinde de önemli bir rol oynar. PRL konsantrasyonundaki değişiklikler özellikle östrus ve yumurtlama ile yakından ilişkilidir (Diler ve Turgut, 2016; Yue vd., 2024). Koyunlarda 16. kromozom üzerinde bulunan PRL genindeki SNP'ler ve indeller ile bir batında doğan yavru sayısı arasındaki ilişkinin araştırıldığı çok sayıda çalışma mevcuttur (Chu vd., 2007; Ozmen vd., 2011; Akhatayeva vd., 2020). Bu çalışmaların bazılarında elde edilen polimorfizmler ile bir batında doğan yavru sayısı arasında ilişkinin pozitif tespit edilmesi koyun yetiştiriciliğinde bir batında doğan yavru sayısını artırmak için prolaktin geninin MAS çalışmalarında kullanılabileceğine işaret etmektedir.

2.3.6. GHR (Growth Hormone Receptor / Büyüme Hormon Reseptörü)

Büyüme hormonu (GH), hipofiz bezi tarafından salgılanan bir peptit hormondur. Koyunlarda çoğu organ ve dokunun morfolojik ve işlevsel oluşumunu belirleyen, doğum öncesi gelişimin temel bir bileşenidir. Bu gen, büyüme faktörleri ve insülin benzeri büyüme faktörü-1 (IGF-1) yolaklarını düzenleyerek kas ve iskelet gelişimini, vücut kompozisyonunu ve enerji metabolizmasını kontrol eder. Ayrıca üreme sistemi, GH-GHR-IGF-1 eksenini ile ayrılmaz bir şekilde bağlantılıdır ve bu eksen, üreme fonksiyonunun oluşumu ve sürdürülmesindeki işlevsel bütünlüğü kontrol eder (Akhatayeva vd., 2020). Prolaktin ve GH sinyal yolakları benzerdir ve büyük ölçüde sinyal iletilicileri ve transkripsiyon aktivatörleri 5 (STAT5) proteinlerine dayanır. Hücre çoğalmasını teşvik edip, apoptozu engelleyerek fetal gelişimde önemli rol oynayan GH ve PRL, aynı zamanda embriyogenez, organ gelişimi ve doğum sonrası büyümenin önemli araçlarıdır. GH reseptörü (GHR) ve PRL'nin biyolojik etkileri, hormonun hücre yüzeyindeki reseptörlere bağlanma şekline ve ardından başlatılan sinyal yolaklarına bağlı olarak lokal veya sistemik olabilir (Al-Jaryan vd., 2023). Koyunlarda 16. kromozom üzerinde bulunan GHR geni, 10 ekzon ve 9 intron içeren bir yapıya sahiptir (Sahu vd., 2020).

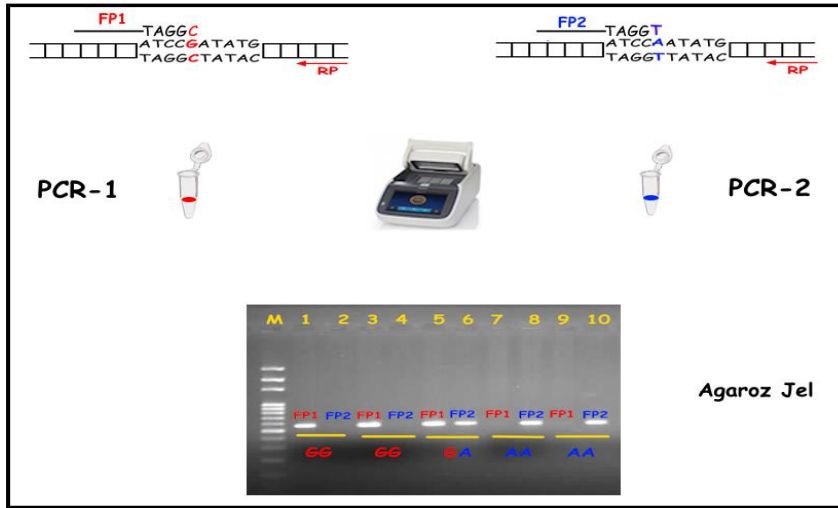
2.4. Çalışmada Kullanılan DNA Marker Yöntemleri

Tamamlanan yüksek lisans tez çalışmasında incelenen tüm gen bölgelerindeki polimorfizmler bir SNP ya da indel mutasyonu sonucu oluşmuştur. SNP'lerin tespit edilmesinde AS-PCR, PCR-RFLP ya da T-ARMS-PCR yöntemleri kullanılırken indellerin belirlenmesinde PCR işlemi kullanılmıştır.

2.4.1. AS-PCR (Allele Specific PCR / Allel Spesifik PCR)

AS-PCR yönteminde SNP sonucu oluşan mutant allel ve yabani allele özgü iki ayrı primerle, iki ayrı PCR tüpünde ortak reverse primer kullanılarak PCR işlemi gerçekleştirilir. Mutant ya da yabani allel için uygulanan PCR işlemlerinin sonuçları agaroz jel elektroforezinde kontrol edilerek genotipler belirlenir. Eğer allel mutant ise sadece mutant primer ile gerçekleştirilen PCR işleminde bant, allel yabani ise sadece yabani primer ile gerçekleştirilen PCR işleminde bant elde edilir. Eğer her iki tüpde de bant elde edilirse birey heterozigottur.

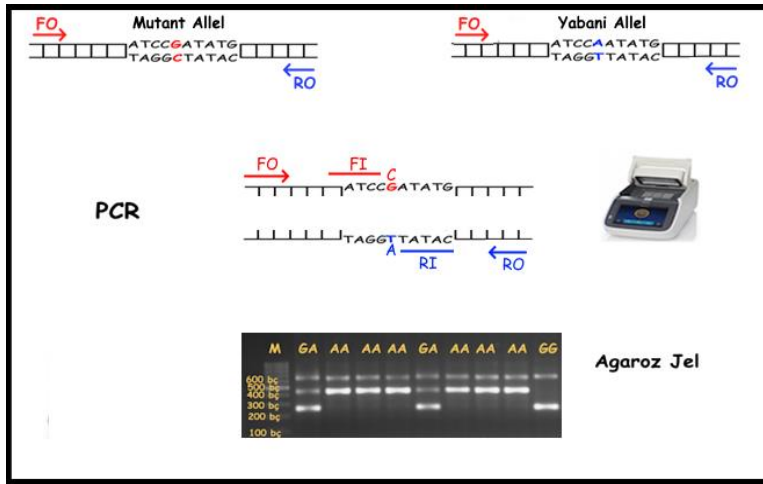
(Sajjanar vd., 2015; Mayer vd., 2021). AS-PCR yöntemi SNP'lerin tespitinde PCR-RFLP, PCR-SSCP ve ARMS-PCR yöntemleriyle kıyaslandığında nispeten daha ucuz, daha az iş gücü ve laboratuvar altyapısı gerektiren bir yöntemdir. Bu nedenle kullanımı her geçen gün yaygınlaşmaktadır (He vd., 2020; Yurdagül vd., 2023). Ancak mutant ve yabani allelleri tanıyan primerler arasında sadece tek baz farkı olmasından dolayı non-spesifik bağlanmalar olasıdır. Bu durum optimizasyonunda sorunlar oluşturmakta olup yöntemin en büyük dezavantajıdır (Imyanitov vd., 2002; He vd., 2020). Bu sorunun aşılması için laboratuvarlarda optimizasyon aşamasında gradient PCR işlemi denenip mümkün olan en yüksek annealing sıcaklığı belirlenmelidir.



Şekil 2.3. AS-PCR Yöntemi

2.4.2. T-ARMS-PCR (Tetra-primer Amplification Refractory Mutation System Polymerase Chain Reaction)

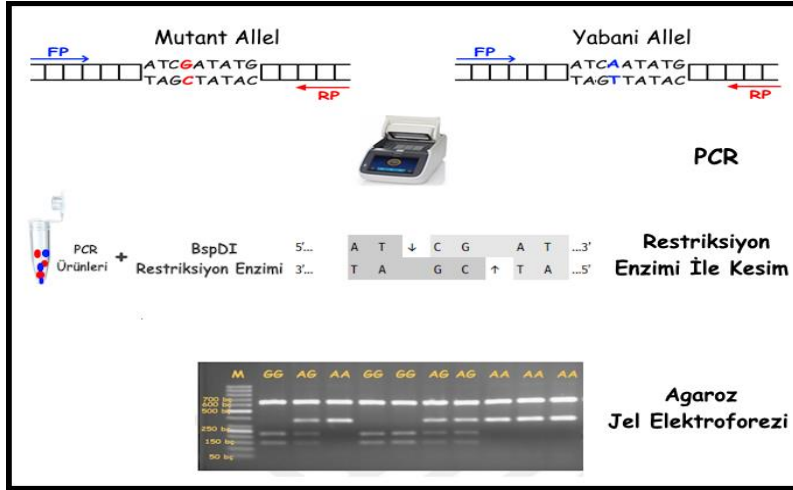
T-ARMS-PCR yöntemi SNP'ler için basit, hızlı ve ekonomik genotipleme metodudur. Restriksiyon enzimi, prob ya da pahalı ekipmanlara gerek olmaksızın, tek bir PCR reaksiyonunda dört primer kullanılarak, gerçekleştirilir. PCR işlemini takiben yapılacak jel elektroforezi ile genotipler belirlenir (Medrano vd., 2014; Jin vd., 2020). İki iç ile iki dış primerin kullanıldığı yöntemde dış primerler ile SNP'in de içinde bulunduğu bölgeyi, iç primerler ise mutant ya da yabani alleli çoğaltır. ARMS-PCR işleminin Allel Spesifik PCR (AS-PCR) işleminden farkı tek PCR işleminde mutant ve yabani allelin belirlenebilmesidir (Karayel, 2018).



Şekil 2.4. T-ARMS-PCR Yöntemi

2.4.3. PCR-RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism / Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi)

Genomdaki yeri ve pozisyonları daha önce farklı çalışmalar kapsamında belirlenmiş SNP'lerin tespitinde PCR-RFLP tekniği kullanışlı ve etkili bir yöntemdir (Hashim ve Al-Shuhaib, 2019). Yöntem iki temel basamaktan oluşmaktadır. İlk basamakta genomik DNA üzerindeki SNP'in de içinde bulunduğu hedef bölge PCR ile çoğaltılır. İkinci basamakta ise SNP'i (mutant ya da yabani alleli) tanıyan bir restriksiyon enzimi kullanılarak PCR ürünlerinin kesim işlemi yapılır. Daha sonra kesim ürünlerinin elektroforez işlemi yapılarak genotipler belirlenir (Karşlı, 2010) Fazla teknik bilgi ya da laboratuvar alt yapısı gereksinimi olmaması, uygulamasının kolay, tekrarlanabilirliği yüksek olması gibi nedenlerden dolayı sıklıkla tercih edilmektedir. Ancak RE kullanımı süre, maliyet ve iş gücü gereksinimini artırmaktadır (Rasmussen ve Morrissey, 2008; Hashim ve Al-Shuhaib, 2019).



Şekil 2.5. PCR-RFLP Yöntemi

2.5. Literatür Taraması

Türkiye’de yetiştirilen koyun ırklarında çoklu doğumla ilişkili majör genler ya da aday genler üzerindeki polimorfizmlerin belirlenmesine yönelik yapılan çok sayıda araştırma vardır. Ancak bu genler üzerindeki polimorfizmler ile bir batında doğan yavru sayısı arasındaki ilişkinin araştırıldığı çalışma sayısı nispeten daha azdır. Türkiye yerli koyun ırklarında çoklu doğum ile ilgili yapılan bazı çalışmalar aşağıda özetlenmiştir

Karslı ve Balcıoğlu (2010) Akkaraman (19 örnek), Morkaraman (19 örnek), Dağlıç (18 örnek), İvesi (18 örnek), Tuj (18 örnek) ve Karakaş (19 örnek) koyun ırklarında *BMPR-IB* genindeki *FecB* allellinin varlığını PCR-RFLP yöntemini kullanarak araştırmıştır. Araştırmacılar yapmış oldukları çalışmada toplam 111 örnekte *FecB* allellini tespit edememişlerdir. Araştırmacılar Türkiye’de yetiştiriciliği yapılan yerli koyun ırklarında çoklu doğumu etkileyen diğer majör genlerinde araştırılmasının önemli olduğunu ayrıca söz konusu çalışmaların örnek sayısının artırılarak yapılmasının daha faydalı olacağını belirtmişlerdir.

Gürsel vd. (2011) Sakız (50 örnek), Kıvırcık (50 örnek), İvesi (50 örnek) ve İmroz (50 örnek) yerli koyun ırklarında çoklu doğumu etkilediği düşünülen *BMP15* ($FecX^I$, $FecX^H$, $FecX^G$ ve $FecX^B$), *BMPR-IB* (*FecB*) ve *GDF9* ($FecX^H$) genleri üzerindeki farklı mutasyonları PCR-RFLP yöntemiyle araştırmışlardır. Araştırmacılar üç gen üzerindeki altı farklı allel için çalışılan ırklarda polimorfizm ve mutant birey tespit edememiştir. Çalışmada özellikle çoklu doğum oranı yüksek olan Sakız ırkında çoklu doğumun bu genlerden kaynaklanmadığı ve farklı gen bölgelerinin çalışılması gerektiği belirtilmiştir.

Karslı vd. (2011) Kangal (42 örnek) ve Güney Karaman (29 örnek) koyun ırklarının ovulasyon oranını arttırdığı bilinen *FecB* (*BMPR-IB*), *FecX^G* ve *FecX^H* (*BMP15*) allellerini taşıyıp taşımadığını PCR-RFLP yöntemiyle araştırmışlardır. Araştırmacılar yapmış oldukları çalışmada incelenen 71 örnekte *FecB*, *FecX^G* ve *FecX^H* allelleri için mutant bireyin tespit edilemediğini raporlamışlardır.

Karslı vd. (2012) Akkaraman (24 örnek), Dağlıç (19 örnek), İvesi (19 örnek), Tuj (15 örnek) ve Karakaş (19 örnek) koyun ırklarında *BMP15* geni üzerinde çoklu doğumu artırdığı bilinen dört farklı mutasyonun *FecX^G*, *FecX^I*, *FecX^H* ve *FecX^B* varlığını PCR-RFLP yöntemi ile araştırmışlardır. Araştırmacılar toplam 96 örneğin *FecX^G*, *FecX^I*, *FecX^H* ve *FecX^B* lokusları bakımından monomorfik olduğunu ve mutant alleli taşıyan bireyin olmadığını raporlamışlardır.

Dinçel vd. (2015) 71 baş Sakız ırkı koyununda *FecB*, *BMP15* (*FecX^G*, *FecX^I*) ve *CAST* gen mutasyonlarını sırasıyla *AvaII*, *HinfI*, *XbaI* ve *MspI* restriksiyon enzimleri kullanarak PCR-RFLP yöntemiyle araştırmayı amaçlamışlardır. Araştırmacıların sonuçlarına göre *FecB* mutasyonu saptanmamış ve benzer şekilde *BMP15* geninde *FecX^G* ve *FecX^I* mutasyonları da gözlenmemiştir. Ancak *CAST* geni açısından AA, AB ve BB genotip frekanslarını sırasıyla 0.59, 0.36 ve 0.05 olarak bildirmişlerdir. *CAST* geni açısından çalışmış oldukları sürünün Hardy-Weinberg dengesinde olduğunu raporlamışlardır ($P>0.05$). Araştırmacılar *CAST* geninde polimorfizm elde etmesine rağmen bu genin üreme özellikleri ile ilişkisinin net olmadığını ve üreme özellikleri ile ilişkisinin çalışılması gerektiğini vurgulamışlardır. Ayrıca *BMP15* geninin diğer lokusları veya diğer majör genlerle daha fazla çalışılması gerektiğini ve daha büyük örneklem grupları kullanılmasını gerektiğini belirtmişlerdir.

Çelikeloglu vd. (2018) Pırlak koyun ırkında tekli ve çoklu doğum yapmış 16 baş koyunda çoklu doğum etkileyen bazı majör genlerdeki (*BMPR-IB*, *BMP15* ve *GDF9*) polimorfizmlerin varlığını araştırmışlardır. Araştırmacılar yapmış oldukları çalışma sonucunda, Pırlak koyunlarında *BMPR-IB*, *BMP15* ve *GDF9* genlerinde çoklu doğumu etkileyen mutasyonların bulunmadığını ve çalışılan koyunlarının bu genler için monomorf olduklarını raporlamışlardır. Araştırmacılar çoklu doğumu etkileyen bu genler yönünden daha kapsamlı araştırmalar yapılması gerektiğini belirtmişlerdir.

Kırıkçı ve Çam (2020) 24 baş Of koyununda çoklu doğum ile ilişkilendirilen *GDF9* (*FecG^L*) gen polimorfizmini PCR-RFLP yöntemiyle araştırmıştır. Araştırmacılar Of koyunlarında A ve G allel frekanslarını sırasıyla 0.46 ve 0.54, GA ve GG genotip frekanslarını ise 0.92 ve 0.08 olarak bildirmişlerdir. Gözlenen (H_o) ve beklenen (H_e) heterozigotluk değerlerini sırasıyla 0.917 ve 0.507 olarak raporlamışlardır. İlgili gen bakımından popülasyonun Hardy–Weinberg dengesinde olmadığı ($P<0.001$) ancak polimorfik bulunduğu belirtilmiştir. Araştırmacılar literatürde *GDF9* (*FecG^L*) geni bakımından heterozigot genotipe sahip koyunlarda bir batında doğan yavru sayısının daha yüksek olduğunu gösteren çalışmalar bulunduğunu ve yaptıkları çalışmada heterozigot genotip frekansının yüksek olduğunu belirtmişlerdir. Bu nedenle Of koyunları ve diğer yerli ırklarda da *GDF9* (*FecG^L*) genindeki polimorfizmler ile bir batında doğan yavru sayısı arasındaki ilişki analizlerinin yapılacağı çalışmaların artırılması gerektiğini vurgulamışlardır.

Çelikeloglu vd. (2021) Ramlıç ve Dağlıç ırkı 120 örnekte (60 tek ve 60 çoklu doğum yapmış örnek) *BMPR-IB*, *BMP15* ve *GDF9* genlerinde üzerindeki mutasyonların döl verimi ile olası ilişkilerini belirlemeyi ve bu genlerin seleksiyon programında kullanılma olanaklarını tartışmayı amaçlamışlardır. Araştırmacılar *BMPR-IB*, *BMP15* ve *GDF9* gen bölgesinde yaptıkları DNA dizi analizi sonucunda Ramlıç ırkında sırasıyla 36, 4 ve 11 ve Dağlıç ırkında ise sırasıyla 40, 3 ve 11 SNP tespit etmişlerdir. Araştırmacıların yapmış oldukları analizler sonucunda, Ramlıç ırkında *BMPR-IB* genindeki dört SNP (g.49496G>A, c.1658A>C, c.2037C>T, c.2053C>T), *BMP15* genindeki bir delesyon (c.28_30delCTT), Dağlıç ırkında *BMPR-IB* genindeki beş SNP (c.1487C>A, c.2492C>T, c.2523G>A, c.2880A>G ve c.2763G>A) için nadir alleller ile arzu edilen özellik arasında pozitif ilişki olduğunu raporlamışlardır. Her iki ırk içinde bulunan polimorfizmlerin daha yüksek verimli hayvanlar elde edilmesi için seleksiyon programlarında genetik marker olarak kullanılabileceği vurgulanmıştır.

Kırıkçı vd. (2021) Karadeniz Bölgesi'ndeki illerinde yetiştirilen dört alt popülasyona ait 100 baş Karayaka ırkı koyunda *GDF9* geninin 1. ekzonundaki genetik polimorfizmi PCR-RFLP yöntemiyle araştırmışlardır. Araştırmacılar incelemiş oldukları tüm örneklerde G (yabanil tip) ve A (mutant tip) allel frekanslarını sırasıyla 0.90 ve 0.10 olarak, GG ve GA genotip frekansları ise sırasıyla 0.79 ve 0.21 olarak hesaplamışlardır. Karayaka ırkında beklenen ve gözlenen heterozigotluk değerlerini sırasıyla 0.189 ve 0.210 olarak raporlamışlardır. Araştırmacılar DNA sekans analizi sonuçlarına göre, *GDF9* geninin 1.

ekzonunun 462 bç uzunluğundaki DNA fragmentinin 260. pozisyonda bir nükleotid değişikliğinin (c.260G>A) varlığını göstermişlerdir. Sonuç olarak bu gen bölgesinin Karayaka koyunlarında bir batında doğan yavru sayısının artırılması için yapılacak seleksiyon çalışmalarında potansiyel marker olarak kullanılabileceğini vurgulamışlardır.

Gedik (2021) İvesi ırkına ait prolifik 88 baş koyunda PCR-RFLP yöntemini kullanarak *BMP15* geni üzerindeki Inverdale (*FecX^I*) mutasyonunun varlığını araştırmıştır. Gerçekleştirilen çalışmada incelenen tüm örneklerin monomorf olduğu ve ilgili mutasyonu taşıyan bireyin tespit edilemediği raporlanmıştır. Araştırması İvesi ırkındaki çoklu doğumların altında yatan genetik temelin *BMP15* geni Inverdale (*FecX^I*) lokusu olmadığını, bu ırkta diğer majör genlerinde araştırılması gerektiğini vurgulamıştır.

Ağyar ve Kırıkçı (2022) 50 baş İvesi koyununda *BMP15* genindeki *FecX^I* (Inverdale) allelindeki polimorfizmi PCR-RFLP yöntemi ile tespit etmeyi amaçlamışlardır. Araştırmacılar *FecX^I* mutasyonunun çalıştıkları örneklerde bulunup bulunmadığını belirlemek için tüm PCR ürünlerini *XbaI* enzimi kullanarak kesmişlerdir. Restriksiyon enzimi sonrası elde ettikleri sonuçlar, çalışmış oldukları tüm örneklerde polimorfizm tespit edilemediği ve tüm örneklerin yabanıl genotiplere sahip olduğu raporlanmıştır. Araştırmacılar elde ettikleri bulgularla, *FecX^I* mutasyonunun İvesi koyun ırkında çoklu doğumla arasında ilişkili olmadığını raporlamışlar ve daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç duyulduğunu bildirmişlerdir.

Atay vd. (2023) 100 baş Pırlak koyun ırkında yavru sayısı ile ilişkili olduğu bilinen Prolaktin (*PRL*) intron 2 ve Büyüme Hormonu Reseptörü (*GHR*) intron 3 ve intron 4 genlerindeki varyasyonları PCR yöntemiyle incelemişlerdir. Araştırmacıların yapmış oldukları incelemeler sonucunda *PRL* (intron 2) geni için I ve D allel frekansları sırasıyla 0.421 ve 0.579 olarak, II, ID ve DD genotip frekanslarını ise sırasıyla 0.232, 0.379 ve 0.389 olarak bildirmişlerdir. *GHR* (intron 3) geni için I ve D allel frekanslarını sırasıyla 0.599-0.401 olarak, *GHR* (intron 4) geni için I ve D allel frekanslarını sırasıyla 0.372-0.628 olarak raporlamışlardır. En düşük II (0,181) ve DD (0,177) genotip frekansları sırasıyla *GHR*-intron 4 ve *GHR*-intron 3 gen bölgelerinde tespit edilirken, populasyon genelinde en düşük (DD için 0,177) ve en yüksek (ID için 0,448) genotip frekanslarının *GHR* intron 3 lokusunda tespit edildiği bildirilmiştir. Araştırmacıların çalışmış oldukları *GHR* gen bölgesi için Hardy-Weinberg dengesinden sapma olmadığını ancak *PRL* geninde Hardy-Weinberg dengesinde sapma olduğunu raporlamışlardır. Çalışmada Pırlak koyun ırkında *GHR* ve *PRL* gen bölgeleri için önemli genetik varyasyon

belirlendiği, bununla gelecekte bir batında doğan yavru sayısının artırılması için seleksiyon stratejilerinde kullanılabileceği belirtilmiştir.

Kırıkçı (2023) Akkaraman ırkı 100 baş örnekte *BMP15* ($FecX^G$ ve $FecX^I$) ve *GDF9* (G1 ve G4) gen bölgelerindeki polimorfizmi belirlemişler ve elde edilen genotipler ile doğum sayısı arasındaki ilişkiyi PCR-RFLP yöntemiyle araştırmayı amaçlamıştır. Araştırmada sadece *GDF9* (G1) gen bölgesinin polimorfik olduğu, G1 lokusu için A ve G allel frekansları sırasıyla 0.13 ve 0.87 olduğu, AA, GA ve GG genotip frekanslarının ise sırasıyla 0.00, 0.26 ve 0.74 olduğu raporlanmıştır. Çalışmada yapılan ilişki analizleri sonucunda, genotipin Akkaraman koyunlarında yavru sayısını önemli ölçüde etkilemediği ($p > 0,05$) raporlanmıştır. Ancak, G1 mutasyonunun bir kopyasına sahip koyunlar, mutasyona sahip olmayanlara göre 0,13 daha fazla kuzu ürettiği ($p > 0,05$), bununla önceki çalışmalara benzer olarak heterozigot koyunların yavru sayısını artırma eğiliminde olduğu belirtilmiştir.

Gedik (2023) İvesi ırkına ait prolific 88 baş koyunda PCR-RFLP yöntemini kullanarak *BMPIR-IB* geni üzerindeki *FecB* allel varlığını araştırmıştır. Gerçekleştirilen çalışmada incelenen tüm örneklerin monomorf olduğu ve ilgili lokusta çoklu doğumu artırdığı bildirilen mutasyonu taşımadığı raporlanmıştır. Araştırması İvesi ırkındaki çoklu doğumların altında yatan genetik temelin *BMPIR-IB* geni olmadığını, bu ırkta diğer majör genlerinde araştırılması gerektiğini vurgulamıştır.

Demir (2024) 31 baş Hamdani koyununda *BMP15* (E1+28-30) ve *GDF9* (G1, G4 ve G6) genlerinde toplam dört mutasyonu T-ARMS-PCR yöntemiyle araştırmıştır. Araştırmacı Hamdani koyun popülasyonunun, *BMP15* geninin E1+28-30 mutasyonu ve *GDF9* geninin G1 ve G6 polimorfizmleri açısından monomorfik olduğunu vurgulamıştır. Tüm hayvanlarının *BMP15* geni için yabanil tip (++) genotipine ve *GDF9* geninin G1 ve G6 polimorfizmleri açısından GG genotipine sahip olduğunu bulmuştur. Araştırmacı polimorfizmi yalnızca *GDF9* geninin G4 mutasyonunda tespit etmiş olup, G ve C allel frekanslarını sırasıyla 0.613 ve 0.387 olarak bildirmiştir. *GDF9* geninin G4 mutasyonunda AA, AG ve GG genotip frekansları sırasıyla 0.150, 0.470 ve 0.380 olarak raporlamıştır. *GDF9*/G4 polimorfizmi için Hardy-Weinberg dengesinden önemli bir sapma tespit etmiştir.

Yukarıdaki bölümde Türkiye yerli koyun ırklarında çoklu doğumla ilişkili gen bölgelerinde yapılan çalışmalar özetlenmiştir. Bu özetlerden de anlaşılacağı üzere yapılan çalışmalar daha çok polimorfizm belirleme üzerine olup ağırlıklı olarak PCR-RFLP yöntemiyle yapılmıştır. Fenotipik verilerle genotipik veriler arasındaki ilişkinin incelendiği çalışmalar daha azdır. Ayrıca ağırlıklı olarak çoklu doğuma ilişkili olduğu belirlenen majör genler çalışılmış olup aday genler çok daha az çalışılmıştır.

Dünya üzerinde farklı koyun ırklarında 1990'ların başından günümüze kadar çoklu doğumla ilişkili gen bölgelerinin belirlenmesine yönelik çok sayıda çalışma mevcuttur. Bu çalışmalarında bazıları (özellikle gerçekleştirilen tez çalışmasında kullanılan gen bölgelerinin çalışıldığı araştırmalar öncelenmiştir) aşağıda özetlenmiştir.

Kumar vd. (2008) Hindistan'da yetiştiriciliği yapılan Garole, Malpura, Decaani ve Kendrapada koyunlarından toplam 125 örnekle yapmış oldukları çalışmada *FecB* ve *FecX^G* mutasyonlarını PCR-RFLP yöntemiyle araştırmışlardır. İncelenen Kendrapada ırkı 46 baş koyunda *FecB* mutasyonu için 26 tane homozigot BB, 15 tane heterozigot B⁺ ve 5 tane ++ genotipi raporlamışlardır. Araştırmacılar çalışılan koyun ırklarının tamamının *BMP15* geninin *FecX^G* allelinde çoklu doğumu artıran mutasyonu taşımadığını raporlamışlardır. Bu ırklardaki çoklu doğumu artıran genetik altyapının *BMP15* geninin *FecX^G* alleli olmadığını, Kendrapada koyunlarında ise çoklu doğumun ise *BM^{PR}-IB* genindeki *FecB* alleli kaynaklı olabileceğini belirtmişlerdir.

Polley vd. (2010) Hindistan'da yetiştiriciliği yapılan Garole ırkı 22 baş koyunda çoklu doğumla alakalı *BMP15*, *GDF9* ve *BM^{PR}-IB* genlerindeki bilinen on bir tane nokta mutasyonunun varlığını T-ARMS-PCR ve TD-PCR yöntemiyle araştırmışlardır. Araştırmacılar *BM^{PR}-IB* geni *FecB* lokusunda ve *GDF9* geni G1 lokusunda polimorfizm tespit ederken diğer tüm gen bölgeleri için popülasyonun monomorf olduğunu raporlamışlardır. *FecB* lokusunda iki genotip (yabanil tip ++ ve mutant BB) tespit edildiği ve frekanslarının sırasıyla 0.39 ve 0.61 olduğu bildirilmiştir. BB genotipinin çoklu doğumu artıran mutant genotip olduğu ve Garole koyunlarında çoklu doğumdan sorumlu gen bölgelerinden birisi olduğu vurgulanmıştır. *GDF9* geninin G1 lokus için G ve A allel frekanslarını sırasıyla 0.82 ve 0.18 olarak, GG ve AG genotip frekanslarını ise sırasıyla 0.64 ve 0.36 olarak bildirmişlerdir.

Mahdavi vd. (2014) İran yerli koyun ırkı olan Kalehkoohi koyunlarında (92 örnek) *BMPR-IB* genini PCR-RFLP yöntemi kullanarak tespit etmiş ve koyunlardaki yavru sayısı ile olan ilişkisini araştırmışlardır. *BMPR-IB* geninin FecB mutasyonunda B ve + allel frekanslarını sırasıyla 0.35 ve 0.65 olarak, BB, B+ ve ++ genotip frekanslarını ise sırasıyla 0.13, 0.45 ve 0.42 olarak bildirmişlerdir. BB, B+ ve ++ genotipine sahip koyunlar için ortalama yavru sayıları sırasıyla 1.90, 1.73 ve 1.38 olarak hesaplandığı çalışmada, BB ve B+ genotiplerine sahip koyunların yabanıl genotipi (++) taşıyanlara göre istatistiki olarak daha fazla yavru sayısına sahip olduğunu raporlamışlardır ($p < 0.01$).

Li vd. (2015) Çin’de yetiştiriciliği yapılan Hu koyun ırkından 239 örnekte *NR5A2* genini karakterize etmiş ve bu genin üreme performansı ile olan ilişkisini araştırmışlardır. Araştırmacılar NCBI veri tabanından çekilen dizilerle yaptıkları BLAST analizlerle, *NR5A2* geninin en az yedi ekzon ve altı introndan oluştuğunu ve koyun (*Ovis aries*) 12. kromozomu üzerinde NW_004080175.1 içinde 76960-77100 kbp arasında yer aldığını bildirmişlerdir. *NR5A2* gen bölgesinde araştırmacılar iki SNP, (T40C ve T1419C) tespit etmişlerdir. Araştırmacılar gen üzerindeki T40C lokusunu PCR-RFLP yöntemiyle genotiplendirmişler ve TT, CT ve CC genotip frekanslarını sırasıyla 0.137, 0.751 ve 0.111 olarak bildirmişlerdir. T40C lokusunda C ve T allel frekanslarını ise sırasıyla 0.487 ve 0.513 olarak bildirmişlerdir. T40C lokusunun polimorfizm bilgi içeriğini (PIC) 0.375 olarak raporlamışlardır. T1419C lokusu için ise TT, CT ve CC genotip frekanslarını sırasıyla 0.115, 0.823 ve 0.062 olarak, C ve T allel frekanslarını ise sırasıyla 0.473 ve 0.527 olarak bildirmişlerdir. Hu koyunlarında *NR5A2* T40C polimorfizmi için, CC ve TC genotipini taşıyan koyunlarda doğum sayısının TT genotipini taşıyanlardan daha yüksek olduğunu, T1419C polimorfizmi için ise TT genotipindeki bireylerin, CC veya CT genotipindekilere göre daha yüksek doğum sayısına sahip olduğunu raporlamışlardır.

Dash vd. (2017) Hindistan’ın koyun ırklarından biri olan Kendrapada (85 örnek) koyunlarında *GDF9*, *BMP15* ve *BMPR-IB* genlerindeki polimorfizmi tespit etmek ve bu genlerin çoklu doğum ile olan ilişkisini araştırdıkları çalışmada, *GDF9*, *BMP15* ve *BMPR-IB* genleri üzerinde 11 tane nokta mutasyonu çalışılmış ve bunlardan sadece *BMPR-IB* geninin FecB ve *GDF9* geninin G4 nokta mutasyonunun polimorfik olduğunu bildirmişlerdir. *BMPR-IB* geninin FecB mutasyonunda G ve A allel frekansları sırasıyla 0.60 ve 0.40 olarak, GG, AG ve AA genotip frekanslarını ise sırasıyla 0.35, 0.50 ve 0.15 olarak bildirmişlerdir. *GDF9* geninin G4 mutasyonunda G ve A allel frekanslarını sırasıyla 0.67 ve 0.33 olarak, GG, AG ve

AA genotip frekanslarını ise sırasıyla 0.58, 0.20 ve 0.22 olarak raporlamışlardır. FecB mutasyonu bakımından AA, AG ve GG genotipi taşıyanların ortalama doğum sayıları sırasıyla 1.61, 1.80 ve 2.06 olup, G4 mutasyonu bakımından AA, AG ve GG genotipi taşıyanların ortalama doğum sayıları ise sırasıyla 1.63, 2.00 ve 1.92 olduğunu bildirmişlerdir.

Gorlov vd. (2018) Rusya’da yetiştiriciliği yapılan Salsk (500 örnek) ve Volgograd (500 örnek) koyun ırklarında *GDF9* geninin G1 ve G4 mutasyonlarının doğum sayısı ile olan ilişkisini incelemişlerdir. *GDF9* geni için G1 ve G4 bölgelerinin polimorfizm oranını düşük düzeyde bulmuşlardır. Çalışılan 2 ırkta da G1 bölgesinde G alleli ve GG genotipi, G4 bölgesinde ise A alleli ve AA genotipinin yüksek frekanslara sahip olduğunu bildirmişlerdir. *GDF9* genine sahip Salsk koyunları arasında, AG genotipine sahip bireylerin daha yüksek doğum oranına sahip olduğunu bildirmişlerdir ($P < 0.001$). *GDF9* genine sahip Volgograd koyunları arasında ise, AG genotipine sahip bireylerin daha yüksek doğum oranına sahip olduğu bildirilmiştir ($P < 0.01$).

Nagdy vd. (2019) Mısırda yetiştiriciliği yapılan Barki, Ossimi ve Rahmani koyun ırklarından toplam 115 baş koyunda (20 yüksek doğurgan ve 95 düşük doğurgan) *BMP15* genindeki polimorfizmleri PCR-RFLP yöntemiyle araştırmışlardır. Araştırmacılar tüm hayvanları CC genotipi ile homozigot bulmuş ve çalışılan koyunlarda FecX geninde herhangi bir mutasyon tespit edememişlerdir.

Saleh vd. (2020) Mısır'da yetiştirilen altı koyun ırkında (Rahmani, Barki, Rahmani X Barki melezleri, Awassi, Awassi X Suffolk melezleri ve Ossimi) *BMPR-1B* (FecB), *BMP-15* (Fec^G_H) ve *GDF9* (FecX^G) mutasyonlarının varlığını ve bunların doğum oranlarıyla olan ilişkisini PCR-RFLP, SSCP ve DNA dizileme yöntemleriyle belirlemeyi amaçlamışlardır. Araştırmacıların çalışmış olduğu toplam 132 koyunda FecB mutasyonuna rastlamamışlardır. FecX^G ve Fec^G_H mutasyonlarını ise Rahmani ve Rahmani X Barki melezlerinde tespit etmişlerdir. Araştırmacılar Rahmani ırkında ve Rahmani X Barki melezlerinde ikizlilik oranının sırasıyla 1.28 ve 1.22 olduğunu, diğer ırkların ortalamasının ise 1.00 ile 1.04 arasında değiştiğini belirtmişlerdir.

Mohamed vd. (2020) 156 baş Watish Sudan Çöl koyunlarında *BMPR-1B* (FecB), *BMP15* (FecX^B, FecX^G, FecX^H ve FecX^I), *GDF9* (G1 ve G8) ve *PRL* genlerini üzerindeki polimorfizmleri PCR-RFLP yöntemiyle belirlemiş ve çoklu doğumla ilişkilerini

araştırmışlardır. Watish koyunlarında *FecB*, *FecX^B*, *FecX^H*, *FecX^I* ve *G8* genlerinde herhangi bir mutasyona rastlamamışlardır. *FecX^G* geninde *G* ve *+* allel frekansları sırasıyla 0.003 ve 0.997 olup, *G+* ve *++* genotip frekansları ise sırasıyla 0.006 ve 0.994 olarak bildirmişlerdir. *G1* geninde *G* ve *+* allel frekanslarını sırasıyla 0.036 ve 0.964 olarak, *G+* ve *++* genotip frekansları ise sırasıyla 0.07 ve 0.93 olarak bildirmişlerdir. *PRL* geninde *B* ve *+* allel frekanslarını sırasıyla 0.31 ve 0.69 olarak, *BB*, *B+* ve *++* genotip frekanslarını ise sırasıyla 0.137, 0.347 ve 0.516 olarak raporlamışlardır. Araştırmacılar *FecX^G*, *G1* ve *PRL* genleri bakımından polimorfizm tespit ettiler ancak bu varyasyonların çoklu doğumla ile ilişkilendirilmediğini raporlamışlardır.

Akhatayeva vd. (2020) 922 baş Avustralya Beyazı (AUW) koyunlarında *GHR* (P2-del-23 bç ve P8-del-23 bç) ve *PRL* (P1-ins-23 bç) gen polimorfizmlerini ve farklı doğum sayıları üzerindeki etkilerini değerlendirmeyi amaçlamışlardır. *PRL*-P1-ins-23 bç, *GHR*-P2-del-23 bç ve *GHR*-P8-del-23 bç genleri için Polimorfizm Bilgi İçeriği (PIC) değerlerinin sırasıyla 0.371, 0.366 ve 0.375 olarak raporlamışlardır. AUW koyunlarının ilgili genler bakımından yüksek genetik varyasyon gösterdiğini bildirmişlerdir. *GHR*-P2-del-23 bç ve *GHR*-P8-23 bç lokuslarında ise *ID* genotip frekansını sırasıyla 0.435 ve 0.463 olarak bulmuşlardır. Araştırmacılar *PRL* genindeki 23 bç'lik varyant bakımından *DD* genotipine sahip bireylerin *II* ve *ID* genotiplerine sahip bireylere göre daha yüksek yavru sayısına sahip olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca, *GHR*-P8 genindeki 23 bç'lik delsyon sonucu oluşan varyantlardan *II* genotipine sahip bireylerin, *ID* ve *DD* genotiplerine sahip olanlara göre yavru sayısına sahip olduğunu belirtmişlerdir. Araştırmacılar çalışılan üç lokusun AUW koyunlarında yavru sayısı ile anlamlı bir şekilde ilişkili olduğunu raporlamışlardır.

Chaudhari vd. (2021) Nilagiri koyunlarında *FecB* geninin bir batında doğan yavru sayısı ile ilişkisini belirlemek için yaptıkları çalışmada *FecB* mutasyonu açısından *B* ve *+* allel frekanslarını sırasıyla 0.210 ve 0.790 olarak, *B+* ve *++* genotip frekanslarını ise sırasıyla 0.117 ve 0.883 olarak bildirmişlerdir. Araştırmacılar *B* alelinin bir kopyasını taşıyan koyunların, yaşamları boyunca koyun başına doğan kuzu sayısını 3.13 ve sütten kesilen kuzu sayısını 3.04 oranında artırdığını raporlamışlardır.

Aboelhassan vd. (2021) Mısır'da yetiştirilen beş koyun ırkı (Barkı, Osseimi, Rahmani, Saudanez ve Awase) ile beş keçi ırkından (Zaraibi, Şam, Boer, Saanen ve Barkı) toplam 139 baş hayvanda *GDF9* genindeki beş nokta mutasyonu (*G1*, *G4*, *G6*, *G7* ve *G8*) sonucu oluşan

genetik polimorfizmleri araştırmışlardır. Bu mutasyonların Mısır koyun ve keçi ırklarında doğum sayısı ortalaması ve ikiz doğum ortalaması ile ilişkisini incelemişlerdir. GDF9 genindeki beş adet nokta mutasyonunu T-ARMS-PCR yöntemiyle belirlemişlerdir. Koyunlarda G1, G4 ve G7 mutasyon bölgelerinin polimorfik olduğu ancak G8 mutasyon bölgesini monomorfik olduğu raporlanmıştır. Keçilerde ise yalnızca G4 ve G7 mutasyon bölgelerinin polimorfik olduğu, G1, G6 ve G8 mutasyon bölgelerini ise monomorfik olduğu raporlanmıştır.

Mo vd. (2021) Han (STHP), Hu (HP), Mongolian (MM), Oula (OM), Dorper (DM), Gansu Alpine fine-wool (GAFM) ve Australian White (AWM) koyun ırklarında *BMPR-IB* genindeki tek nükleotid polimorfizmleri ile döl verimi arasındaki ilişkiyi araştırmışlardır. *BMPR-IB* geninin rs427897187G>A lokusu için, Oula koyunlarında GG ve GA genotiplerine sahip olan koyunların AA genotipine sahip olanlara kıyasla sırasıyla 0.26 ($p<0.05$) ve 0.33 ($p<0.05$) daha az doğum yapmış olduğunu bildirmişlerdir. rs418841713 A>G, rs159952533 T>C ve rs429416173 C>A mutasyonları için, yedi koyun ırkında farklı genotipler arasında doğum sayısı açısından anlamlı bir fark bulunmadığını belirtmişlerdir. *BMPR-IB* geninin rs427897187G>A lokusunun A aleli ve rs403555643 A>G lokusunun G alelinin, Oula koyunlarının bir batında doğan yavru sayısını artırılması için potansiyel moleküler belirteçler olduğunu ve Oula koyunu yetiştiriciliğinde kullanılabileceğini vurgulamışlardır. Ayrıca *BMPR-IB* geninde rs403555643 A>G mutasyonu için G alelinin, MM koyun ırkında yavru sayısının artırılmasında potansiyel moleküler belirteç olarak kullanılabileceğini raporlamışlardır.

Li vd. (2022) Australian White (AUW), Han (STH), Guiqian semi-fine wool (GQSW), Luxi Blackhead (LXBH), Lanzhou fat tailed (LZFT) ve Weining (WN) koyun ırklarında *BMPR-IB* genindeki FecB (p.Q249R) mutasyonunun döl verimine olan etkisini incelemeyi amaçlamışlardır. Araştırmacılar AUW, GQSW ve WN koyun ırklarında herhangi bir mutasyona rastlamamışlardır. LXBH, LZFT ve STH koyun ırklarını polimorfik olarak bulmuşlardır. LXBH koyun ırkında + ve B allel frekanslarını sırasıyla 0.931 ve 0.069 olarak, ++ ve B+ genotip frekanslarını ise sırasıyla 0.863 ve 0.137 olarak bulmuşlardır. LZFT koyun ırkında + ve B allel frekanslarını sırasıyla 0.239 ve 0.761 olarak, ++, B+ ve BB genotip frekanslarını ise sırasıyla 0.182, 0.114 ve 0.705 olarak bildirmişlerdir. STH koyun ırkında + ve B allel frekanslarını sırasıyla 0.263 ve 0.737 olarak, ++, B+ ve BB genotip frekanslarını ise sırasıyla 0.109, 0.154 ve 0.737 olarak raporlamışlardır.

Li vd. (2023) Çin’de yetiştiriciliği yapılan Hu, Doğu Friesian ve Doğu Fresian ve Hu melezi koyunlarında *BMPR-IB* genindeki c.746A>G ve 90 bç’lik Delesyon mutasyonlarının üreme performansı üzerindeki etkilerini değerlendirmeyi amaçlamışlardır. 90 bç’lik delesyon lokusunun genotiplendirilmesi sonucu Hu koyunlarının üç genotipten yalnızca iki tanesini (ID ve DD) taşıdığını ve D alelinin frekansının I alelinden daha yüksek olduğunu ortaya koymuşlardır. Ancak, Doğu Friesian ve Doğu Fresian ile Hu melezi koyunlarda üç genotipin de (II, ID ve DD) bulunduğunu belirtmişlerdir. Hu koyunları düşük genetik polimorfizm sergilerken, melez ve Doğu Friesian koyunlarının orta derecede polimorfizm gösterdiğini bildirmişlerdir. c.746A>G lokusundaki genotiplendirme sonucunda, Hu koyunlarının yalnızca BB ve B+ genotiplerini taşıdığını ve B alelinin frekansının + alelinden daha yüksek olduğunu ortaya koymuşlardır. Buna karşın, Doğu Friesian koyunları ve melez koyunlar (F2) yalnızca ++ ve B+ içerirken, + alelinin frekansı B alelinden daha yüksek bulmuşlardır. F1 melez popülasyonunun ++, BB ve B+ genotiplerini barındırdığı ve yüksek düzeyde heterozigotluk gösterdiğini bildirmişlerdir. Hu ve Doğu Friesian koyunlarında düşük derecede polimorfizm belirlenirken F1 ve F2 melez popülasyonlarını orta derecede polimorfik olarak vurgulamışlardır. Araştırmacılar East Friesian ve Hu melez koyunlarının doğum sayısı üzerinde anlamlı bir etkisi olduğunu raporlamışlardır.

Basrin vd. (2023) TGF β gen ailesinden seçilen bazı genlerdeki polimorfizmler ve bunlar ile koyunlardaki yavru sayısı arasındaki ilişkiyi incelemişlerdir. Araştırmacılar *GDF9* [c.260G>A (FecG1) ve c.1184C>T (FecG8)] ve *BMP15* [c.69C>T (FecXG) ve c.718C>T)] genleri üzerinde farklı noktalarda polimorfizm tespit edememişlerdir. *BMPR-IB* (c.746A>G) ve *INH β A* (c.218A>G) gen bölgelerinin ise polimorfik olduğunu bildirmişlerdir. *BMPR-IB* geninin c.746A>G polimorfizmi için + ve B allel frekansları sırasıyla 0.44 ve 0.56 olduğunu, ++, +B ve BB genotip frekanslarının ise sırasıyla 0.31, 0.26 ve 0.43 olduğunu belirtmişlerdir. *INH β A* gen mutasyonu için A ve G allel frekansları sırasıyla 0.56 ve 0.44, AA, AG ve GG genotip frekanslarını ise sırasıyla 0.36, 0.40 ve 0.24 olarak bildirmişlerdir. *BMPR-IB* geninin ++, +B ve BB genotiplerinin bir batında doğan yavru sayısı ortalamalarını sırasıyla 1.19 ± 0.07 , 1.44 ± 0.09 ve 2.13 ± 0.09 olarak bildirmişlerdir. *INH β A* geni için AA, AG ve GG genotiplerde bir batında doğan yavru sayısı ortalamalarını sırasıyla ise sırasıyla 2.11 ± 0.39 , 1.70 ± 0.30 ve 2.83 ± 0.40 olarak raporlamışlardır. Araştırmacılar çalışılan koyunlarda *BMPR-IB* (c.746A>G) ve *INH β A* (c.218A>G) genlerinin bir batında doğan yavru sayısı ile ilişkili olduğunu vurgulamışlardır.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Hayvan Materyali

Gerçekleştirilen çalışmada AKR ve AMR koyun ırkları üzerinde çalışılmıştır. Araştırmada kullanılan her bir ırk için Ankara ili Haymana ilçesinde bulunan 3'er farklı işletmede yetiştirilen 60'ar örnek olmak üzere toplam 120 örneğe ait bir batında doğan yavru sayısı kayıtları ve kan örnekleri alınmıştır. Kan örneklerinin alınması işlemi, Ankara İli Haymana İlçe Tarım ve Orman Müdürlüğü'nün rutin veteriner ziyaretleri esnasında Veteriner Hekim Hüseyin GÜL tarafından gerçekleştirilmiştir. Kan örnekleri hayvanların boyun toplar damarından (*Vena jugularis*) tek kullanımlık iğnelerle ortalama 5 ml olacak şekilde vakumlu EDTA'lı tüpler kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Alınan kan örnekleri mümkün olan en kısa sürede Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootečni Bölümü Genetik laboratuvarında getirilerek, -20°C'ye alınmış ve DNA izolasyonuna kadar muhafaza edilmiştir. Kan örnekleri alınan hayvanların daha önce yaptığı doğum tipleri Çizelge 3.1'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Araştırmada kullanılan örneklerin yaptığı doğum tipi ve sayıları

İrk	Doğum Tipi			Toplam
	Tekiz	İkiz	Üçüz	
Akkaraman	30	28	2	60
Merinos	29	27	4	60
Toplam	59	55	6	120

3.2. Yöntem

3.2.1. DNA izolasyonu

Gerçekleştirilen yüksek lisans tez çalışmasında DNA molekülünün izolasyonunda Miller vd. (1988) tarafından bildirilen DNA izolasyon protokolü laboratuvar koşullarında ortamında optimize edilerek aşağıdaki şekilde uygulanmıştır.

1. -20 °C'de muhafaza edilen kan örnekleri çözülene kadar oda sıcaklığında (24–25 °C) bekletilmiştir.

2. Her bir kan örneğinden 500 µl alınarak 1,5 ml'lik ependorf tüp içine konulmuştur.

3. Örneklerin üzerine 1.000 µl Eritrosit Lisis Tampon Çözeltisi (Çizelge 3.2.) ilave edilmiş ve kısa bir süre vorteksle iyice karıştırılarak 10 dakika oda sıcaklığında bekletilmiştir.
4. Bekletme süresinin sonunda örnekler 5.000 rpm de 10 dk santrifüj edilmiştir.
5. Ependorf tüplerin üst kısmındaki sıvı kısım (süpernatant) dikkatli bir şekilde uzaklaştırılmıştır. Dipte kalan peletlerin (hücre kısmı) rengi gözlenerek peletlerin rengi beyaz olana kadar Eritrosit Lisis Tampon Çözeltisi ile tekrar (ortalama 2-3 defa) muamele edilmiştir.
6. Peletlerin üzerine 1.000 µl Fizyolojik Tampon Çözeltisi (Çizelge 3.2.) eklenmiş ve kısa bir süre karıştırılmıştır.
7. Örnekler 5.000 rpm de 10 dk santrifüj edilmiş ve santrifüj sonunda sıvı kısım dikkatli bir şekilde tekrar uzaklaştırılmıştır.
8. Peletlerin üzerine 600 µl Lisis TE Tampon Çözeltisi (Çizelge 3.2.) eklenmiş ve peletlerin iyice çözünmesi sağlanmıştır.
9. Çözülen peletlerin üzerine 100 µl SDS solusyonu ve 5 µl proteinaz K (20 mg/ml) eklenerek hafifçe karıştırılmış ve 65 °C’de 1,5 saat su banyosunda tutulmuştur. İnkübasyon süresince her 15 dakikada bir hafifçe karıştırılmıştır.
10. İnkübasyondan çıkarılan örneklerin üzerine 200 µl 6M NaCl Çözeltisi (Çizelge 3.2.) eklenmiş ve 15 dk vorteksle iyice karıştırılmıştır.
11. Örnekler 10.000 rpm de 10 dk santrifüj edilmiştir.
12. Santrifüj sonunda üstte kalan ve DNA moleküllerini içeren sıvı kısım yeni bir ependorf tüp içine koyulmuştur.
13. Örnekler 10.000 rpm de 5 dk tekrar santrifüj edilmiş ve yine üstte kalan sıvı kısım yeni bir ependorf tüp içine alınmıştır.
14. Örnekler üzerine örnek hacminin iki katı hacimde (yaklaşık 1.000 µl) %99,9’luk saf etil alkolden (–20 °C’de saklanan) ilave edilmiştir.
15. Etil alkol ilave edildikten sonra ependorf tüpü DNA iplikçikleri kümeleşinceye kadar 10-15 kez hafifçe karıştırılmıştır.
16. Kümeleşen DNA iplikçiklerinin tüpün dibine çökmesi için tüp 10.000 rpm de 5 dk santrifüj edilmiştir.

17. Santrifüj sonunda etil alkol uzaklaştırılarak tüpün dibine çökmüş olan DNA peletinin üzerine 1.000 µl %70'lik etil alkol ilave edilerek 10.000 rpm de 5 dk santrifüj edilmiştir.

18. Santrifüj işleminden sonra tüpün üstünde yer alan alkol uzaklaştırılmıştır.

19. Tüp içindeki alkolün tamamen uzaklaşmasını sağlamak amacıyla örnekler çeker ocak içinde kurumaya bırakılmıştır.

20. Tamamen kuruyan örnekler üzerine 100 µl TE Tampon Çözeltisi (Çizelge 3.2.) ilave edilmiş olup, DNA peletinin çözülmesi için bir gece buzdolabında +4 °C'de bekletilmiştir.

DNA izolasyonunun başarılı olup olmadığı %1'lik agaroz jel kullanılarak belirlenmiştir. Başarılı olan örneklerin miktar ve saflıklarının ölçülmesinde ise spektrofotometre (Allsheng Nano-400A) kullanılmıştır. DNA miktarlarının belirlenmesinden sonra tüm örneklerin yoğunluğu 25 ng/µL olacak şekilde ayarlanmıştır. İstenilen miktar ve kalitede olmayan örneklerde DNA izolasyonu tekrar edilmiştir.

Çizelge 3.2. DNA izolasyonu için kullanılan tampon çözeltilerin molaritesi/miktarı ve içerikleri

Tampon Çözelti	Molarite/Miktar	İçerik
Eritrosit Lisis Tampon Çözeltisi	0,32 M 10 mM 5 mM	Sukroz EDTA MgCl ₂
Fizyolojik Tampon Çözeltisi	75 mM 25 mM	NaCl EDTA
Lisis TE Tampon Çözeltisi	500 mM 20 mM 10 mM	Tris-HCl EDTA NaCl
TE Tampon Çözeltisi	10 mM 1mM	Tris EDTA
6M NaCl Çözeltisi	5.64 g 10 ml'ye tamamlanır	NaCl Deiyonize H ₂ O

3.2.2. Bir batında doğan yavru sayısı ile ilişkili genlerdeki polimorfizmlerin belirlenmesi

Gerçekleştirilen çalışmada incelenen tüm gen bölgelerindeki polimorfizmler bir SNP ya da indel mutasyonu sonucu oluşmuştur. SNP'lerin tespit edilmesinde AS-PCR, PCR-RFLP ya da T-ARMS-PCR yöntemleri kullanılırken indellerin belirlenmesinde direk PCR işlemi kullanılmıştır. Çalışmada *BMPR-IB* geni üzerindeki SNP'in (c.746A > G) ve NR5A2 geni

üzerindeki SNP'in (T40C) belirlenmesi için PCR-RFLP yöntemi kullanılmıştır. *BMPR-IB* geni üzerindeki 90 bç'lik delesyon, PRL geni üzerindeki 23 bç uzunluğundaki insersiyon, GHR2 geni üzerindeki 23 bç uzunluğundaki iki delesyon polimorfizmi PCR işlemi ile belirlenmiştir. BMP15 geni ve NR5A2 geni (T1419C) üzerindeki iki SNP ise AS-PCR yöntemi ile tespit edilmeye çalışılmıştır. GDF9 geni üzerindeki bir SNP (G4) polimorfizmi ise T-ARMS-PCR işlemi ile tespit edilmiştir. Çalışılan gen bölgelerine ait bazı tanımlayıcı bilgiler ve bu gen bölgelerinin çoğaltılması için kullanılan primerler Çizelge 3.3'de özetlenmiştir.

3.2.2.1. BMPR-IB geni FecB lokusu 90 bç delesyon polimorfizminin belirlenmesi

BMPR-IB geni FecB lokusu üzerindeki 90 bç delesyon polimorfizminin belirlenmesi için Li vd. (2023) tarafından bildirilen protokol ve PCR içeriği laboratuvar koşullarımızda optimize edilerek kullanılmıştır. Çalışılan gen bölgesi için kullanılan PCR içeriği ve programı Çizelge 3.4'de verilmiştir. Gerçekleştirilen PCR işleminden sonra genotiplerinin belirlenmesi için PCR ürünleri %3'lük agaroz jelde 100 V'da, 150 dk yürütülmüştür. Elektroforez işlemi sonucunda II genotipi için 387 bç, ID genotipi için 387-297 bç ve DD genotipi için 297 bç büyüklüğündeki bantların elde edilmesi gerekmektedir. Bu gen için DD ve ID genotiplerini taşıyan koyunlarda bir batında doğan yavru sayısı II genotipini taşıyan hayvanlara göre daha yüksek olduğu bildirilmiştir.

Çizelge 3.3. Çalışmada kullanılan gen bölgelerine ait tanımlayıcı bilgiler

Gen	Lokus	Mutasyon	Yöntem	Primer	Enzim	Olası Bant Büyüklükleri	Kaynak
<i>BMPR-IB</i>	FecB	Delesyon	PCR	F: CAACCTGAGTGGTCATGTCTGT	-	II:387 bç, ID:387, 297 bç, DD:297 bç	Li vd. 2023
				R: GAGCAGCTGTTGCTTTTGAA			
<i>BMPR-IB</i>	FecB	SNP (c.746A > G)	PCR-RFLP	F: GTCGCTATGGGGAAGTTTGGATG	AvaII	++: 140 bç, B+; 140, 110 bç, BB: 110 bç	
				R: CAAGATGTTTTCATGCCTCATCAACACGGTC			
<i>BMP15</i>	FecX ^{Bar}	SNP (c.301G > T)	AS-PCR	F: 5'-TTCCTTGCCCTATCCTTTGTG-3'	-	445 bç	Arari vd. 2022
				R+: 5'-GAGGCCTTGCTACACTAGCC-3'			
				R-: 5'-TGAGAGGCCTTGGCTACACA-3'			
<i>NR5A2</i>		SNP (T1419C)	AS-PCR	F1: GGCCGAGGAGTACCTGTACTAC	-	213 bç	Li vd. 2015
				F2: GGCCGAGGAGTACCTGTACTAT			
				R: GTTCAATCCATGTTGCTTGG			
<i>NR5A2</i>		SNP (T40C)	PCR-RFLP	F: CTCTAAACCAAAGGACTGCC	MseI	221 bç	
				R: AACACAACCTGGAAAAGCAGTG			
<i>GDF9</i>	G4	SNP (A721G)	T-ARMS PCR	IF(G): TTCACATGTCTGTAAATTTACATGTGAGG	-	Mut: 212 Wt: 261 Co: 417	Aboelhassan vd. (2021)
				IR(A): GCTGAAGGATGCTGCAGCTGGTCGTT			
				OF: CAACAACCTCCATTTCTTTTCCCTTTCCTG			
				OR: TAGGCAGATAGCCCTCTC TTCTGGTCAG			
<i>PRL</i>	P1-ins-23 bç	İnsersiyon	PCR	F: GGGAAGGGAAGAGAAACAGAGG	-	ID: 87 ve 110 bç; DD: 87 bç; II: 110 bç	Akhatayeva vd. (2020)
				R: GCTTGTAGGGTGGAACTGA			
<i>GHR</i>	P2-del-23 bç	Delesyon	PCR	F: TGCTGTATGGCCCCTCTAGTA	-	ID: 260 ve 283 bç; DD: 260 bç; II: 283 bç	
				R: CTAAAGAGTTTCCCCAGTCCCC			
	P8-del-23 bç	Delesyon	PCR	F: GCTTCTTGCCCAACCCAATG	-	ID: 238 ve 261 bç; DD: 238 bç; II: 261 bç	
				R: CTGGGCAGTGGAGGAGAAAG			

Çizelge 3.4. *BMPR-IB* geni *FecB* lokusu 90 bç delesyon polimorfizmi için kullanılan PCR içeriği ve programı

PCR Bileşeni	Miktar µl (1X)	PCR programı	
Kalıp DNA	4 µl	İlk denatürasyon	94°C de 4 dk
Forward Primer	0,5 µl	Denatürasyon	94 °C de 30 sn
Reverse Primer	0,5 µl	Bağlanma	55 °C de 30 sn
EcoMix	8 µl	Uzama	72 °C de 30 sn
H2O	12 µl	Son uzama	72 °C de 10 dk

34 döngü

3.2.2.2. *BMPR-IB* geni *FecB* lokusu (c.746A > G) polimorfizminin belirlenmesi

BMPR-IB geni *FecB* lokusu üzerindeki (c.746A>G) tek nükleotid polimorfizminin belirlenmesinde Li vd. (2023) tarafından bildirilen protokol ve PCR-RFLP içeriği laboratuvar koşullarımızda optimize edilerek kullanılmıştır. PCR işleminde ilgili gen bölgesinin çoğaltılmasında EcoTech 2x PCR Master Mix (Katolog No: ET-5) kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan PCR programı ve içeriği Çizelge 3.5.'de verilmiştir. PCR ürünlerinin elektroforez işlemi %2'lik agaroz jelde 90 V altında 120 dk yürütülerek gerçekleştirilmiştir. PCR işlemi ardından RFLP işlemi için PCR ürünleri *AvaII* restriksiyon enzimi (NEB, Katolog No: R0153S) ile kesilmiştir. Kesim işlemi için 15 µl PCR ürünü, 4 µl buffer, 0.2 µl *AvaII* restriksiyon enzimi ve 13 µl H₂O'dan oluşan 32.2 µl hacmindeki karışım, thermal cycler kullanılarak 37 °C de 5 saat bekletilmiştir. Genotiplendirme işlemi kesim ürünlerinin %2'lik agaroz jelde, 90 V elektrik alanda 120 dk yürütülmesi ile yapılmıştır. Kesim ürünlerinin elektroforez işlemi sonucunda yabanil (++), taşıyıcı (B+) ve mutant (BB) genotipler için sırasıyla 140 bç, 140 ile 110 bç ve 110 bç'lik üç bant elde edilmesi gerekmekte olup bunlardan B+ ve BB genotipini taşıyan hayvanlarda ovulasyon oranı ve bir batında doğan yavru sayısının yüksek olduğu bildirilmiştir. (Li vd., 2023).

Çizelge 3.5. *BMPR-IB* geni *FecB* lokusu üzerindeki SNP (c.746A>G) polimorfizmi için kullanılan PCR içeriği ve programı

PCR Bileşeni	Miktar μ l (1X)	PCR programı	
Kalıp DNA	4 μ l	İlk denatürasyon	95°C de 4 dk
Forward Primer	0,5 μ l	Denatürasyon	94 °C de 30 sn
Reverse Primer	0,5 μ l	Bağlanma	57 °C de 30 sn
EcoMix	8 μ l	Uzama	72 °C de 30 sn
H ₂ O	12 μ l	Son uzama	72 °C de 2 dk

35 döngü

3.2.2.3. *BMP15* geni *FecX^{Bar}* lokusu SNP (c.301G > T) polimorfizminin belirlenmesi

BMP15 geni *FecB* lokusu üzerindeki *FecX^{Bar}* lokusu üzerindeki SNP (c.301G > T) polimorfizminin belirlenmesinde Arari vd. (2022) tarafından bildirilen AS-PCR programı ve içeriği laboratuvar koşullarımızda optimize edilerek kullanılmıştır. AS-PCR işlemi için kullanılan program ve PCR içeriği Çizelge 3.6.'da verilmiştir. AS-PCR işleminde ilgili gen bölgesinin çoğaltılmasında EcoTech 2x PCR Master Mix (Katolog No: ET-5) kullanılmıştır. Normal (yabanil) ve mutant bireylerin belirlenmesi için iki farklı PCR işlemi uygulanmıştır. Bu PCR işlemlerinde tüm içerikler aynı iken sadece revers primerler farklıdır. İki farklı PCR tüpünün birinde yabanil diğerinde ise mutant bireyi tanıyan revers primerler kullanılmıştır. Sadece yabanil bireyi tanıyan primer ile gerçekleştirilen PCR işleminde ürün elde edilirse birey normal, sadece mutant bireyi tanıyan primer ile gerçekleştirilen PCR işleminde ürün elde edilirse birey mutant olmaktadır. Her iki PCR işleminde de ürün elde edilirse birey taşıyıcı heterozigot olmaktadır. AS-PCR işleminde elde edilmesi gereken bant büyüklüğü 445 bp'dir (Arari vd., 2022).

Çizelge 3.6. *BMP15* geni *FecX^{Bar}* lokusu üzerindeki SNP (c.301G > T) polimorfizmi için kullanılan PCR içeriği ve programı

PCR Bileşeni	Miktar μ l (1X)	PCR programı	
Kalıp DNA	5 μ l	İlk denatürasyon	95°C de 5 dk
Forward Primer (ortak)	0,75 μ l	Denatürasyon	94 °C de 40 sn
Reverse Primer (R1, R2)	0,75 μ l	Bağlanma	60 °C de 40 sn
EcoMix	9 μ l	Uzama	72 °C de 40 sn
H ₂ O	7,5 μ l	Son uzama	72 °C de 5 dk

35 döngü

3.2.2.4. *NR5A2* geni SNP (T1419C) polimorfizminin belirlenmesi

NR5A2 geni üzerindeki SNP (T1419C) polimorfizminin belirlenmesinde Li vd. (2015) tarafından bildirilen AS-PCR programı ve içeriği laboratuvar koşullarımızda optimize edilerek kullanılmıştır. AS-PCR işlemi için kullanılan program ve PCR içeriği Çizelge 3.7.'de verilmiştir. AS-PCR işleminde ilgili gen bölgesinin çoğaltılmasında EcoTech 2x PCR Master Mix (Katolog No: ET-5) kullanılmıştır. Normal (yabanıl) ve mutant bireylerin belirlenmesi için iki farklı PCR işlemi uygulanmıştır. PCR işlemi sonunda 213 bp uzunluğundaki PCR ürünlerinin belirlenmesi gerekmektedir. Çalışmada PCR ürünlerinin belirlenmesinde %1,5'lik agaroz jel kullanılmıştır. Elektroforez işlemi 75 V, 90 dk şeklinde uygulanmıştır. Bu gen bölgesi için elde edilecek üç farklı genotipten (TT, TC ve CC) TT genotipine sahip olanların daha fazla bir batında doğan yavru sayısına sahip olduğu raporlanmıştır (Li vd., 2015).

Çizelge 3.7. NR5A2 geni üzerindeki SNP (T1419C) polimorfizmi için kullanılan PCR içeriği ve programı

PCR Bileşeni	Miktar µl (1X)	PCR programı	
Kalıp DNA	4 µl	İlk denatürasyon	95°C de 5 dk
F. Primer (F1, F2)	0,5 µl	Denatürasyon	94 °C de 30 sn
Reverse Primer	0,5 µl	Bağlanma	60 °C de 30 sn
EcoMix	8 µl	Uzama	72 °C de 30 sn
H ₂ O	12 µl	Son uzama	72 °C de 10 dk

35 döngü

3.2.2.5. NR5A2 geni SNP (T40C) polimorfizminin belirlenmesi

NR5A2 geni üzerindeki bir diğer tek nükleotid polimorfizminin belirlenmesinde (T40C) Li vd. (2015) tarafından bildirilen protokol ve PCR-RFLP içeriği laboratuvar koşullarımızda optimize edilerek kullanılmıştır. PCR işleminde ilgili gen bölgesinin çoğaltılmasında EcoTech 2x PCR Master Mix (Katolog No: ET-5) kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan PCR programı ve içeriği Çizelge 3.8.'de verilmiştir. PCR ürünlerinin elektroforez işlemi %2'lik agaroz jelde 90 V altında 100 dk yürütülerek gerçekleştirilmiştir. PCR işlemi ardından RFLP işlemi için PCR ürünleri *MseI* restriksiyon enzimi (NEB, Katolog No: R0525M) ile kesilmiştir. Kesim işlemi için 15 µl PCR ürünü, 4 µl buffer, 0.2 µl *MseI* restriksiyon enzimi ve 13 µl H₂O'dan oluşan 32.2 µl hacmindeki karışım, thermal cycler kullanılarak 37 °C de 3 saat bekletilmiştir. Genotiplendirme işlemi kesim ürünlerinin %2'lik agaroz jelde, 75 V elektrik alanda 150 dk yürütülmesi ile yapılmıştır. Bu gen bölgesi için elde edilecek üç farklı genotipten (TT, TC ve CC) CC ve CT genotipine sahip olanların TT genotipine sahip olanlara göre daha fazla bir batında doğan yavru sayısına sahip olduğu raporlanmıştır (Li vd., 2015).

Çizelge 3.8. *NR5A2* geni üzerindeki SNP (T40C) polimorfizmi için kullanılan PCR içeriği ve programı

PCR Bileşeni	Miktar μ l (1X)	PCR programı	
Kalıp DNA	5 μ l	İlk denatürasyon	95°C de 5 dk
Forward Primer	0,5 μ l	Denatürasyon	94 °C de 30 sn
Reverse Primer	0,5 μ l	Bağlanma	56 °C de 30 sn
EcoMix	8 μ l	Uzama	72 °C de 30 sn
H ₂ O	11 μ l	Son uzama	72 °C de 10 dk

35 döngü

3.2.2.6. *GDF9* geni (G4) polimorfizminin belirlenmesi

GDF geni üzerindeki G4 (SNP, A721G) polimorfizminin belirlenmesinde Aboelhassan vd. (2021) tarafından bildirilen T-ARMS-PCR programı ve içeriği laboratuvar koşullarımızda optimize edilerek kullanılmıştır. T-ARMS-PCR işlemi için kullanılan program ve PCR içeriği Çizelge 3.9’da verilmiştir. T-ARMS-PCR işleminde ilgili gen bölgesinin çoğaltılmasında Thermo Taq DNA Polimeraz (Katolog No: EP0405) kullanılmıştır. PCR ürünlerinin görüntülemesi 90 V 120 dk olacak şekilde %2’lik agaroz jel kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu gen bölgesi için mutant bireylerin (GG) 417, 212 bp uzunluğunda iki bant, yabanil tip (normal -AA) bireylerin 417 ve 261 bp uzunluğunda iki bant ve taşıyıcı (heterozigot AG) bireylerin 417, 261 ve 212 bp uzunluğunda üç bant taşınması gerekmektedir. Bu gen bölgesi için heterozigot genotipe sahip koyunlarda ikiz doğum oranının AA (yabanil tip) genotipine sahip olanlara göre daha fazla olduğu raporlanmıştır (Aboelhassan vd., 2021)

Çizelge 3.9. *GDF9* geni G4 (SNP, A721G) polimorfizmi için kullanılan PCR içeriği ve programı

PCR Bileşeni	Miktar μ l (1X)	PCR programı	
Kalıp DNA	6 μ l	İlk denatürasyon 95°C’de 5 dk Denatürasyon 94 °C’de 45 sn Bağlanma 57 °C’de 45 sn Uzama 72 °C’de 45 sn Son uzama 72 °C’de 5 dk	35 döngü
dNTPs	5 μ l		
10X	4 μ l		
MgCl ₂	4 μ l		
Inner FP	2 μ l		
Outer FP	1 μ l		
Inner RP	2 μ l		
Outer RP	1 μ l		
Taq Polimeraz	0.3 μ l		
H ₂ O	27.2 μ l		

3.2.2.7. *PRL* geni üzerindeki 23 bç insersiyon polimorfizminin belirlenmesi

PRL geni üzerindeki 23 bç uzunluğundaki insersiyon polimorfizminin belirlenmesi için Akhatayeva vd. (2020) bildirilen protokol ve PCR içeriği laboratuvar koşullarımızda optimize edilerek kullanılmıştır. Çalışılan gen bölgesi için kullanılan PCR içeriği ve programı Çizelge 3.10’da verilmiştir. PCR işleminde ilgili gen bölgesinin çoğaltılmasında EcoTech 2x PCR Master Mix (Katolog No: ET-5) kullanılmıştır. Gerçekleştirilen PCR işleminden sonra genotiplerinin belirlenmesi için PCR ürünleri %3.5’luk agaroz jelde 90 V’da, 150 dk yürütülmüştür. Elektroforez işlemi sonucunda II genotipi için 110 bç büyüklüğünde tek bant, ID genotipi için 110 ve 87 bç büyüklüğünde iki bant ve DD genotipi için 87 bç büyüklüğünde tek bant elde edilmesi gerekmektedir. Bu gen için DD genotipini taşıyan koyunların ID ve II genotipini taşıyanlara göre daha yüksek çoğuz doğum oranına sahip olduğu bildirilmiştir (Akhatayeva vd., 2020).

Çizelge 3.10. *PRL* geni 23 bç insersiyon polimorfizmi için kullanılan PCR içeriği ve programı

PCR Bileşeni	Miktar μ l (1X)	PCR programı	
Kalıp DNA	6 (μ l)	İlk denatürasyon	95°C de 5 dk
Forward Primer	0,5 μ l	Denatürasyon	94 °C de 30 sn
Reverse Primer	0,5 μ l	Bağlanma	58 °C de 30 sn
EcoMix	7 μ l	Uzama	72 °C de 30 sn
H ₂ O	11 μ l	Son uzama	72 °C de 10 dk

30 döngü

3.2.2.8 *GHR* geni üzerindeki P2 (23 bç delesyon) polimorfizminin belirlenmesi

GHR geni üzerindeki P2 polimorfizminin (23 bç delesyon) belirlenmesi için Akhatayeva vd. (2020) bildirilen protokol ve PCR içeriği laboratuvar koşullarımızda optimize edilerek kullanılmıştır. Çalışılan gen bölgesi için kullanılan PCR içeriği ve programı Çizelge 3.11’de verilmiştir. Gerçekleştirilen PCR işleminden sonra genotiplerinin belirlenmesi için PCR ürünleri %3,5’luk agaroz jelde 90 V’da, 150 dk yürütülmüştür. Elektroforez işlemi sonucunda II genotipi için 283 bç, ID genotipi için 283 ve 263 bç ve DD genotipi için 260 bç büyüklüğündeki bantların elde edilmesi gerekmektedir. Bu gende çoklu doğum için istenilen genotipin II olduğu bildirilmiştir (Akhatayeva vd., 2020).

Çizelge 3.11. *GHR* geni P2 (23 bç delesyon) polimorfizmi için kullanılan PCR içeriği ve programı

PCR Bileşeni	Miktar μ l (1X)	PCR programı	
Kalıp DNA	4 (μ l)	İlk denatürasyon	95°C de 5 dk
Forward Primer	0,5 μ l	Denatürasyon	94 °C de 30 sn
Reverse Primer	0,5 μ l	Bağlanma	68 °C de 30 sn
EcoMix	12 μ l	Uzama	72 °C de 30 sn
H ₂ O	8 μ l	Son uzama	72 °C de 10 dk

30 döngü

3.2.2.9 *GHR* geni üzerindeki P8 (23 bç delesyon) polimorfizminin belirlenmesi

GHR geni üzerindeki P2 polimorfizminin (23 bç delesyon) belirlenmesi için Akhatayeva vd. (2020) bildirilen protokol ve PCR içeriği laboratuvar koşullarımızda optimize edilerek kullanılmıştır. Çalışılan gen bölgesi için kullanılan PCR içeriği ve

programı Çizelge 3.12’de verilmiştir. PCR işleminde ilgili gen bölgesinin çoğaltılmasında EcoTech 2x PCR Master Mix (Katolog No: ET-5) kullanılmıştır. Gerçekleştirilen PCR işleminden sonra genotiplerinin belirlenmesi için PCR ürünleri %3,5’luk agaroz jelde 90 V’da, 150 dk yürütülmüştür. Elektroforez işlemi sonucunda II genotipi için 261 bç büyüklüğünde tek bant, ID genotipi için 261 ve 238 bç büyüklüğünde iki bant ve DD genotipi için 238 bç büyüklüğünde tek bant elde edilmesi gerekmektedir. Bu gen için II genotipini taşıyan koyunların ID ve DD genotipini taşıyanlara göre daha yüksek çoklu doğum oranına sahip olduğu bildirilmiştir (Akhatayeva vd., 2020).

Çizelge 3.12. GHR geni P8 (23 bç delesyon) polimorfizmi için kullanılan PCR içeriği ve programı

PCR Bileşeni	Miktar μ l (1X)	PCR programı	
Kalıp DNA	4 μ l	İlk denatürasyon	95°C de 5 dk
Forward Primer	0,5 μ l	Denatürasyon	94 °C de 30 sn
Reverse Primer	0,5 μ l	Bağlanma	50 °C de 30 sn
EcoMix	12 μ l	Uzama	72 °C de 30 sn
H ₂ O	8 μ l	Son uzama	72 °C de 10 dk

30 döngü

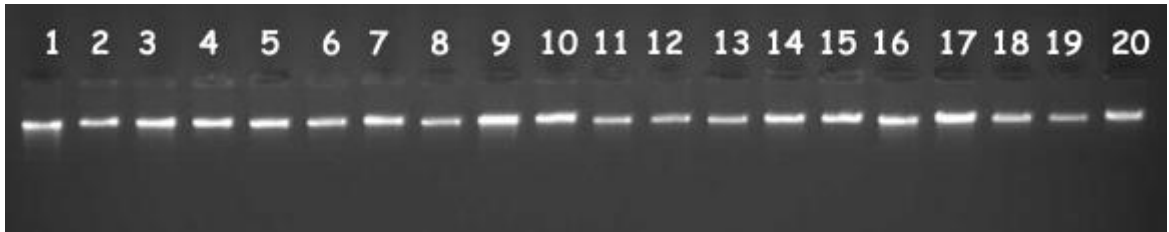
3.2.3. İstatistik analizler

AKR ve AMR koyun ırkında çalışılan gen bölgelerinde elde edilen polimorfizmler için gen ve genotip frekanslarının hesaplanmasında, genetik çeşitlilik parametrelerinin belirlenmesinde ayrıca ilgili gen bakımından populasyonların Hardy-Weinberg dengesinde olup olmadığının belirlenmesinde Popgene V.1.32. (Yeh vd., 1997) paket programı kullanılmıştır. AKR ve AMR koyun ırklarında polimorfizm tespit edilem 6 gen bölgesi bakımından elde edilen genotipler ile tekiz ya da çoğuz doğum arasındaki ilişkilerin önemini saptamak için için iki yaklaşım kullanılmıştır. Bunlardan birincisinde tekiz ya da çoğuz doğumlar için elde edilen genotiplerin oranları arasındaki farklılıkların belirlenmesi için ki-kare testi uygulanmıştır. Ki kare analizleri IBM SPSS Statistics (Version 20) programı kullanılarak belirlenmiştir. Diğer yaklaşımda ise AKR ve AMR koyun ırklarında çalışılan genler için elde edilen genotiplerdeki yavru sayıları arasında fark olup olmadığı tek yönlü varyans analizi ile değerlendirilmiştir. Genotipler arasında farkın önemli olduğu gruplarda çoklu karşılaştırma için Duncan testi kullanılmıştır.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. DNA İzolasyonu

Gerçekleştirilen çalışmada Akkaraman ve Anadolu Merinosu ırkından 60'şar örnek olmak üzere toplam 120 örnek üzerinde çalışılmıştır. Klasik tuzla çöktürme yöntemine göre 120 örnekte gerçekleştirilen DNA izolasyonunun başarılı olup olmadığı agaroz jelde kontrol edilmiştir. Akkaraman ırkında 20 örneğe ait DNA izolasyon jel görüntüsü Şekil 4.1'de verilmiştir. DNA izolasyonu başarılı örneklerin miktar (en az 25 ng/μL) ve kaliteleri (260 nm dalga boyunda 1.8-2.0 aralığında olması gerekmektedir) spektrofotometrede ölçülerek 25 ng/μL olacak şekilde ayarlanmıştır. DNA izolasyonu başarısız olan ya da miktar ve kalitesi düşük örneklerde DNA izolasyonu tekrar edilmiştir. Çalışılan 120 örnekte yeterli miktar ve kalitede DNA elde edilmiştir. DNA izolasyonundan sonra ilgili marker yöntemi kullanılarak genotiplerin belirlenmesi işlemine geçilmiştir.

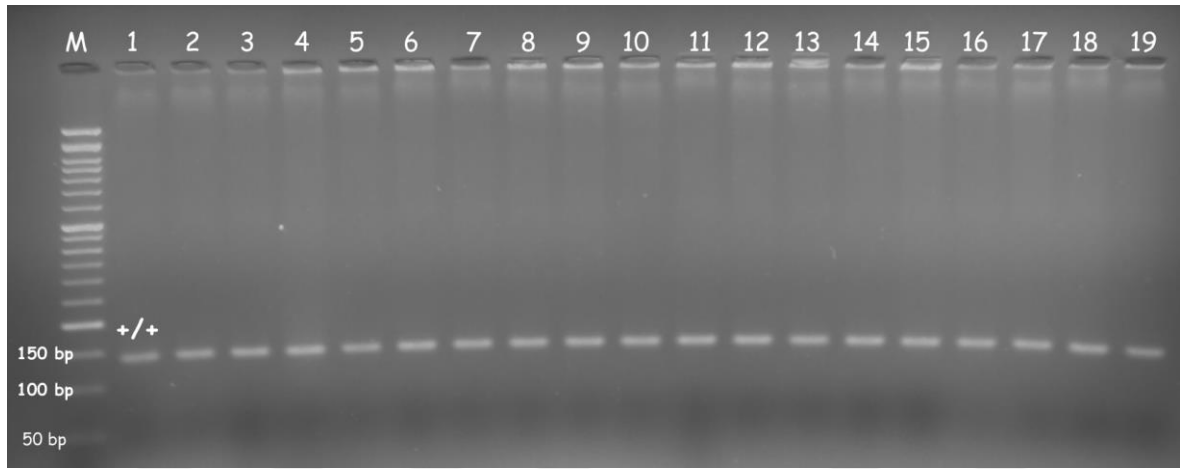


Şekil 4.1. Akkaraman ırkında 20 örneğe ait agaroz jel görüntüsü (%1)

4.2. Çalışılan Gen Bölgelerinde Tespit Edilen Genetik Çeşitlilik Parametreleri

Gerçekleştirilen çalışmada koyunlarda çoklu doğumla ilişkili olduğu bildirilen 6 gen bölgesi üzerindeki 9 farklı lokus üzerinde çalışılmıştır. Akkaraman ve Anadolu Merinosu ırklarında çalışılan bu 9 lokusun 3 tanesi monomorf olarak tespit edilirken altı lokus polimorfik bulunmuştur.

BMPR-IB geni üzerindeki SNP'in (c.746A > G) belirlenmesi için PCR-RFLP işlemi kullanılmıştır. Bu amaçla ilgili gen bölgesi PCR ile çoğaltıldıktan sonra *Ava*II restriksiyon enzimi ile kesim işlemi uygulanmıştır. Bu gen bölgesi için kesim işleminden sonra tüm bireylerin yabanıl tip (++) genotipinde olduğu belirlenmiş ve populasyonlarda polimorfizm tespit edilememiştir. Çalışılan koyun ırklarında *BMPR-IB* geni SNP (c.746A > G) lokusu için çoklu doğum artırdığı bildirilen B+ ya da BB genotipleri belirlenememiştir. 19 örneğin PCR ürünlerinin *Ava*II restriksiyon enzimi ile kesim görüntüsü Şekil 4.2'de verilmiştir.

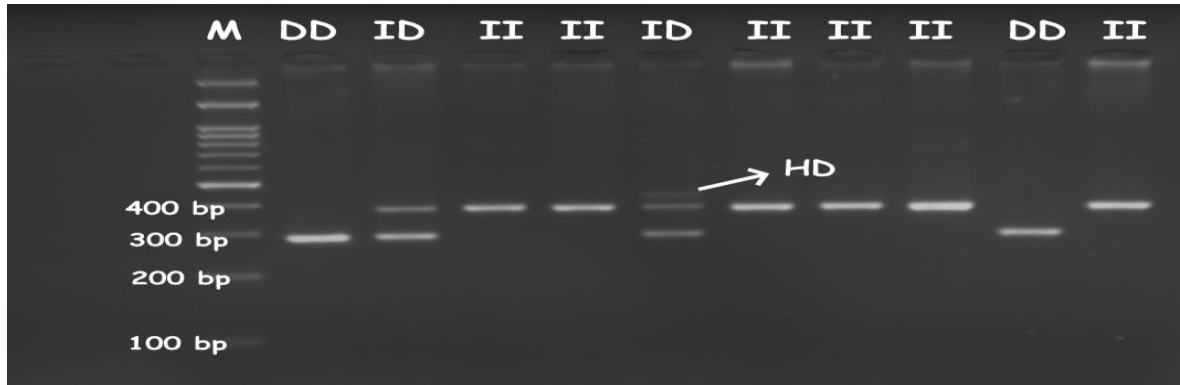


Şekil 4.2. *BMPR-IB* geni (746A > G) için PCR örneklerinin *Ava*I RE ile kesimine ait agaroz jel görüntüsü (%2)

Karslı ve Balcıoğlu (2010); Gürsel vd. (2011); Karslı vd. (2011); Dinçel vd. (2015); Çelikeloglu vd. (2018); Gedik (2023) daha önce farklı Türkiye yerli koyun ırklarında *BMPR-IB* geninde polimorfizm tespit edememiştir. Benzer olarak tamamlanan yüksek lisans tez çalışmasında da *BMPR-IB* geni (746A > G) için polimorfizm tespit edilememiştir. Yukarıdaki çalışmalarda ve bizim çalışmamızda PCR-RFLP yöntemi kullanılmış ve tek bir gen üzerinde durulmuştur. Bu çalışmalardan farklı olarak Çelikeloglu vd. (2021) Ramlıç ve Dağlıç ırkında *BMPR-IB* geni üzerinde DNA sekans analizi ile farklı SNP'ler tespit etmişler ve bunların bir batında doğan yavru sayısı ile ilişkili olabileceğini raporlamışlardır. Bu farklılığın altında yatan nedenin yöntem farklılığı olduğu düşünülmektedir. Çelikeloglu vd. (2021) diğer çalışmalardan farklı olarak *BMPR-IB* geni üzerinde daha büyük bir bölgede sekans analizi yapmışlardır. Bu nedenle farklı SNP'ler elde etmelerinin doğal olduğu düşünülmektedir.

Wang vd. (2015) Çin yerel ırklarından Hu ve Han koyunlarında, Maskur vd. (2016) Endonezya yağlı kuyruklu koyunlarında, Li vd. (2023) Hu melezi koyunlarda *BMPR-IB* geni (746A > G) için çoklu doğumu artırdığı rapor edilen B+ ve BB genotiplerinin varlığını raporlamışlardır. Bizim çalışmamızdan farklı olarak yukarıda B+ ve BB genotiplerinin bildirildiği çalışmada kullanılan ırklar prolific ırklardır ve farklılığın altında bunun yattığı düşünülmektedir.

BMPR-IB geni üzerinde çalışılan bir diğer lokus 90 bç uzunluğundaki mutasyonun neden olduğu polimorfik bölgedir. Bu gen bölgesi için yapılan PCR işlemi sonunda her popülasyonunda polimorfik olduğu belirlenmiş ve her üç genotip de (II, ID ve DD) tespit edilmiştir. Yapılan PCR işlemi sonunda elde edilen genotiplere ait bir agaroz jel görüntüsü Şekil 4.3’de verilmiştir. İlgili gen bölgesi için popülasyonlarda tespit edilen gen, genotip frekansları ve genetik çeşitlilik parametreleri ise Çizelge 4.1’de verilmiştir. Şekil 4.2’de görülen ve HD olarak belirtilen, heterozigot tipe eşlik eden bant heterodubleks olarak adlandırılmaktadır. Bu yapı genetik rekombinasyon esnasında farklı çift iplikli ebeveyn moleküllerin tamamlayıcı tek ipliklerinin baz eşleşmesiyle meydana gelmektedir (Gao vd., 2020).



Şekil 4.3. *BMPR-IB* geninde 90 bç delesyon mutasyonu için PCR agaroz jel görüntüsü (%3) (M: DNA Ladder, Thermo 100 bp; Cat.No: SM0241, HD: heterodubleks)

Akkaraman ve Anadolu Merinosu koyun ırklarında *BMPR-IB* geni (90 bç del.) için II, ID ve DD geotip frekasnları eşit bulunmuş olup sırasıyla 0.50, 0.12 ve 0.37 olarak tespit edilmiştir. Gözlenen heterozigotluk değerinin 0.37, etkili allel sayılarının ise 1.75 bulunduğu

çalışmada ilgili gen bölgesi bakımından her iki populasyonunda Hardy Weinberg dengesinde olduğu saptanmıştır.

Çizelge 4.1. *BMPR-IB* geninde 90 bç delesyon mutasyonu için çalışılan ırklarda gen, genotip frekansları, genetik çeşitlilik ve ki-kare değerleri

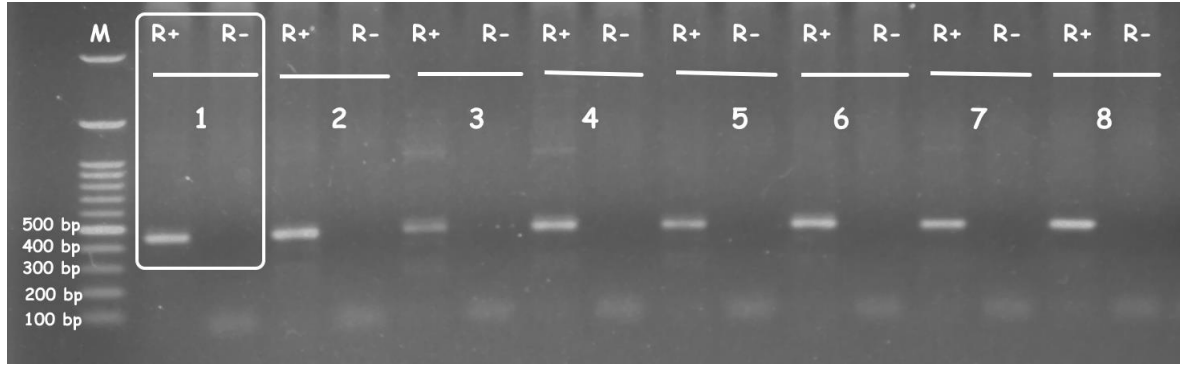
Gen	İrk	n	Gen Frekansları		Genotip Frekansları			Gen. Çeşitlilik			HWE
			I	D	II	ID	DD	Ho	He	Ne	
BMPR-IB 90 bç del.	AKR	60	0.69	0.31	0.50 (30)	0.38 (23)	0.12 (7)	0.37	0.43	1.75	0.62 ^a
	AMR	60	0.69	0.31	0.50 (30)	0.38 (23)	0.12 (7)	0.37	0.43	1.75	0.62 ^a

Ho: Gözlenen heterozigotluk, He: Beklenen heterozigotluk, Ne: Etkili allel sayısı, χ^2 0.05;1: 3.84; a: Hardy-Weinberg dengesinden sapma önemsiz, b: Hardy-Weinberg dengesinden sapma önemli.

BMPR-IB geninde 90 bç delesyon mutasyonu Türkiye yerli koyun ırklarında ilk defa çalışılmıştır. Akhatayeva vd. (2022) altı koyun ırkından 1605 koyunda ırklarında *BMPR-IB* geni (90 bç del.) polimorfizmini ve çoklu doğumla ilişkisini araştırdıkları çalışmada II genotip frekansını 0.109 (STH) ile 0.841 (WN) aralığında, ID genotip frekansını 0.145 (WN) ile 0.455 (LXBH ve LZFT) aralığında DD genotip frekansını ise 0.004 (AUW) ile 0.737 (STH) aralığında bildirmişlerdir. Li vd. (2015) Çin Hu koyunlarında DD genotip frekansını 0.875, ID frekansını ise 0.125 olarak bildirirken II genotipine rastlanmadığını raporlamışlardır. Araştırmacılar DD genotipine sahip hayvanlarda çoklu doğum oranının daha fazla olduğunu ve bu gen bölgesinin seleksiyonda kullanılabileceğini belirtmişlerdir. Yukarıdaki iki çalışmada STH ve Hu koyunlarında DD genotipi bizim Akkaraman ve Anadolu Merinosu koyun ırklarında elde ettiğimiz değerlerden oldukça yüksektir. STH ve Hu koyunları Çin’de yetiştirilen prolific ırklardır ve yüksek doğum oranlarıyla tanınır. Bu nedenle bizim çalışmamızda elde edilen değerlerin daha düşük olması normaldir. Buna rağmen çoklu doğumla ilişki olduğu bildirilen DD genotipinin Akkaraman ve Anadolu Merinosu ırklarında bulunması önemlidir.

BMP15 geni *FecX* lokusu üzerindeki *FecX*^{Bar} lokusu üzerindeki SNP (c.301G > T) polimorfizminin belirlenmesinde AS-PCR yöntemi kullanılmıştır. AS-PCR işlemi sonucunda her iki ırkta da polimorfizm tespit edilememiştir. Çalışılan tüm örneklerin R+/R+ (normal/yabanil) genotipinde olduğu belirlenmiş olup çoklu doğumu artırdığı belirtilen

mutant ya da taşıyıcı genotipler belirlenememiştir. AS-PCR işleminde elde edilen bir agaroz jel görüntüsü Şekil 4.4’de verilmiştir.

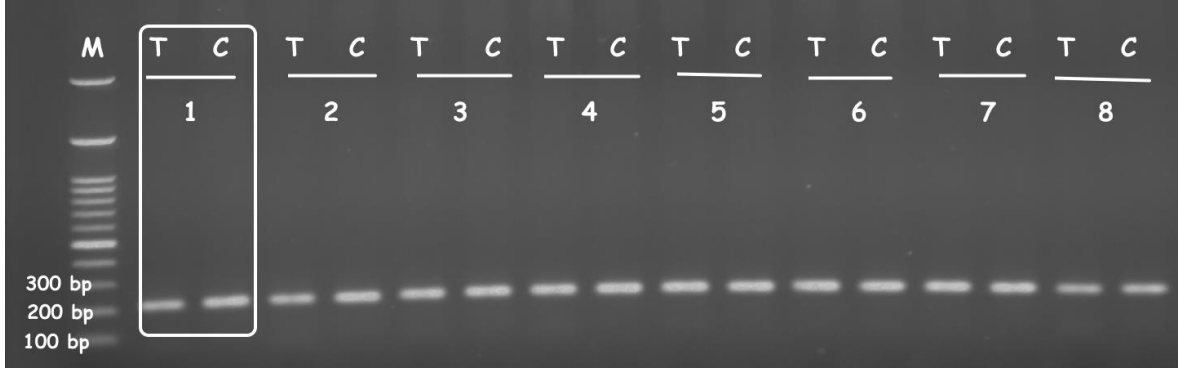


Şekil 4.4. *BMP15* geni $FecX^{Bar}$ Alleli için AS-PCR agaroz jel görüntüsü (%1.5)

(M: DNA Ladder, Thermo 100 bp; Cat.No: SM0241)

Günümüze kadar farklı bölgelerde yetiştirilen Türkiye yerli koyun ırklarında *BMP15* geni üzerinde çoklu doğumu artırdığı bildirilen *FecX* lokusları üzerinde çok sayıda araştırma yapılmıştır (Karlı vd., 2012; Dinçel vd., 2015; Çelikeloglu vd., 2018; Gedik, 2021). Bu çalışmaların hiçbirinde polimorfizm tespit edilemezken çoklu doğumu artırdığı bildirilen bir mutasyonun varlığı belirlenememiştir. Gerçekleştirilen yüksek lisans tez çalışmasında iki yerli koyun ırkında ilk kez *BMP15* genindeki $FecX^{Bar}$ lokusunda çoklu doğumu artırdığı bildirilen genotiplerin varlığı araştırılmış ancak tespit edilememiştir.

NR5A2 geni SNP (T1419C) polimorfizminin belirlenmesi için AS-PCR yöntemi kullanılmıştır. AS-PCR işlemi sonucunda her iki ırkta da polimorfizm tespit edilememiştir. Çalışılan tüm örneklerin TC genotipinde olduğu belirlenmiş olup çoklu doğumu artırdığı belirtilen TT genotipi belirlenememiştir. AS-PCR işleminde elde edilen bir agaroz jel görüntüsü Şekil 4.5’de verilmiştir.

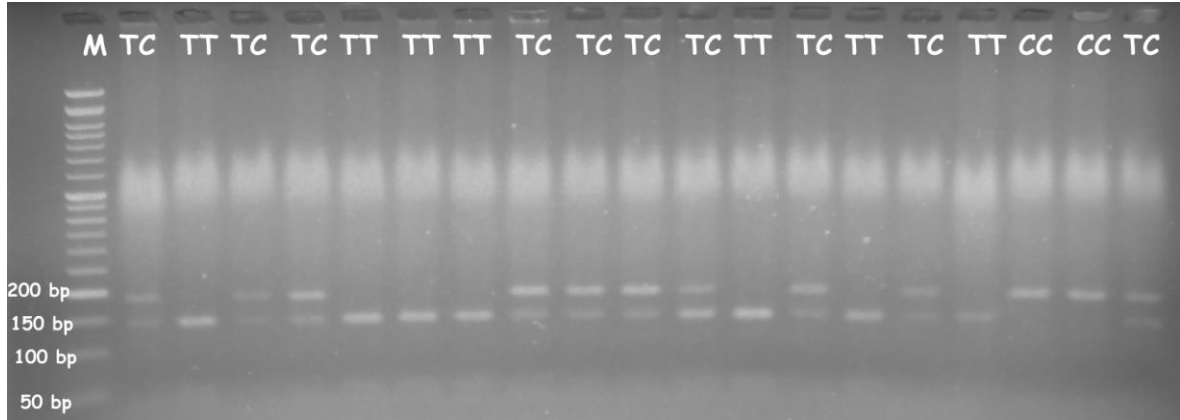


Şekil 4.5. *NR5A2* geni SNP (T1419C) için AS-PCR agaroz jel görüntüsü (%2)

(M: DNA Ladder, Thermo 100 bp; Cat.No: SM0241)

Literatürde Türkiye yerli koyun ırklarında *NR5A2* geni SNP (T1419C) polimorfizminin belirlenmesine yönelik bir çalışmaya rastlanmamıştır. Gerçekleştirilen çalışma Türkiye yerli koyun ırklarında *NR5A2* geni SNP (T1419C) polimorfizminin belirlenmesine yönelik gerçekleştirilen ilk çalışmadır. Dünya üzerinde yetiştirilen farklı koyun ırklarında *NR5A2* geni üzerindeki lokuslar ile çoklu doğum arasındaki ilişkinin araştırıldığı çok sayıda araştırma yoktur (Li vd., 2015; Zhang vd., 2019; Chen vd., 2022). Li vd. (2015) *NR5A2* geni SNP (T1419C) polimorfizmi için elde edilen genotiplerden TT genotipinin çoklu doğum için arzu edilen genotip olduğunu raporlamıştır. Li vd. (2015) aynı gen bölgesi için CC, CT ve TT genotip frekanslarını sırasıyla 0.062, 0.823 ve 0.115 olarak raporlamıştır. Li vd. (2015) tarafından yapılan çalışmada TT genotipinin belirlenmesinin altında Hu koyunlarının prolifik bir ırk olmasının yattığı düşünülmektedir.

NR5A2 geni üzerindeki bir diğer lokusun (SNP, T40C) belirlenmesinde PCR-RFLP yöntemi kullanılmıştır. Gerçekleştirilen PCR-RFLP işlemi sonucunda her iki ırkında polimorfik olduğu tespit edilmiştir. Yapılan PCR-RFLP işlemi sonunda elde edilen genotiplere ait bir agaroz jel görüntüsü Şekil 4.6'da verilmiştir. İlgili gen bölgesi için popülasyonlarda tespit edilen gen, genotip frekansları ve genetik çeşitlilik parametreleri ise Çizelge 4.2'de verilmiştir.



Şekil 4.6. NR5A2 geni SNP (T40C) için PCR-RFLP agaroz jel görüntüsü (%2)
(M: DNA Ladder, softec, Kat. No: ZT-50BP-1)

Gerçekleştirilen çalışmada Akkaraman koyun ırkında NR5A2 geni SNP (T40C) için CC, CT ve TT genotip frekansları sırasıyla 0.32, 0.50 ve 0.18 olarak tespit edilmiştir. Ho ve He değerlerinin sırasıyla 0.50 ve 0.49 bulunduğu çalışmada etkili allel sayısı 1.76 olarak belirlenmiştir. Anadolu Merinosu koyun ırkında ise CC, CT ve TT genotip frekansları sırasıyla 0.22, 0.55 ve 0.23 olarak tespit edilmiştir. Anadolu Merinosu koyun ırkında Ho değeri (0.55) He (0.50) değerinden yüksek olup etkili allel sayısı için 1.99 gibi yüksek bir değer hesaplanmıştır. Her iki popülasyonda bu gen bölgesi bakımından Hardy Weinberg dengesindedir.

Çizelge 4.2. NR5A2 geni SNP (T40C) için çalışılan ırklarda gen, genotip frekansları, genetik çeşitlilik ve ki-kare değerleri

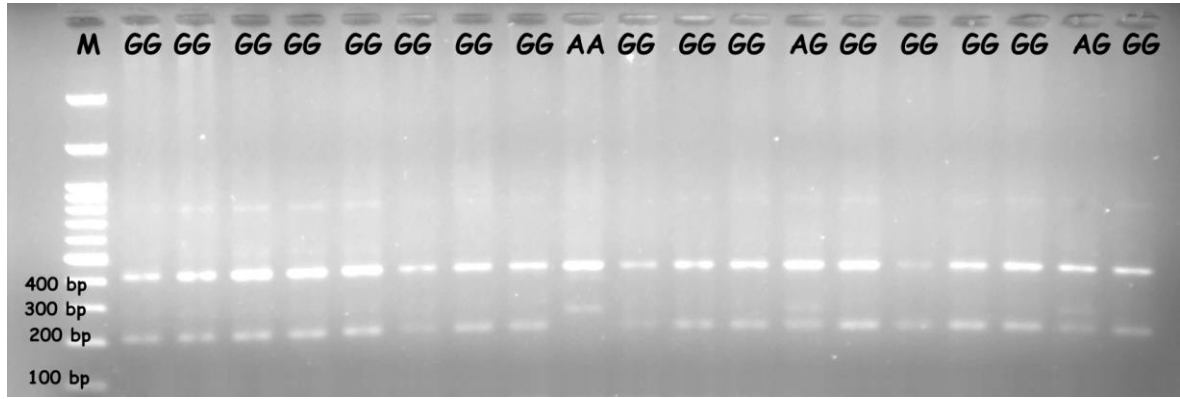
		Gen Frekansları			Genotip Frekansları			Gen. Çeşitlilik			HWE
Gen	İrk	n	C	T	CC	CT	TT	Ho	He	Ne	χ^2
NR5A2 T40C	AKR	60	0.57	0.43	0.32 (19)	0.50 (30)	0.18 (11)	0.50	0.49	1.76	0.02 ^a
	AMR	60	0.49	0.51	0.22 (13)	0.55 (33)	0.23 (14)	0.55	0.50	1.99	0.60 ^a

Ho: Gözlenen heterozigotluk, He: Beklenen heterozigotluk, Ne: Etkili allel sayısı, χ^2 0.05;1: 3.84; a: Hardy-Weinberg dengesinden sapma önemsiz, b: Hardy-Weinberg dengesinden sapma önemli.

Bu gen bölgesi için Li vd. (2015) tarafından Hu koyunlarında yapılan çalışmada CC, CT ve TT genotip frekansları sırasıyla 0.11, 0.76 ve 0.13 olarak belirlenmiş olup CC ve CT genotiplerini taşıyan hayvanların daha yüksek bir batında doğan yavru sayısına sahip olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmada Akkaraman ve Anadolu Merinosu koyun ırklarında NR5A2 geni

SNP (T40C) için elde edilen CC ve CT frekanslarının ve genetik çeşitlilik parametrelerinin yüksek olması bu ırklarda bir batında doğan yavru sayısının artırılması için yapılacak MAS çalışmalarında kullanımı açısından umut vericidir.

GDF9 geni üzerindeki G4 polimorfizminin belirlenmesi için T-ARMS-PCR yöntemi kullanılmıştır. Gerçekleştirilen T-ARMS-PCR yöntemi sonucunda her iki popülasyonda da GG genotipi çok yaygın olarak tespit edilirken AA ve AG genotipleri sınırlı sayıda tespit edilmiştir. T-ARMS-PCR işleminde elde edilen bir agaroz jel görüntüsü Şekil 4.7’de verilmiştir. İlgili gen bölgesi için popülasyonlarda tespit edilen gen, genotip frekansları ve genetik çeşitlilik parametreleri ise Çizelge 4.3’de verilmiştir.



Şekil 4.7. *GDF9* geni G4 polimorfizmi için T-ARMS-PCR agaroz jel görüntüsü (%2)
(M: DNA Ladder, Thermo 100 bp; Cat.No: SM0241)

Gerçekleştirilen çalışmada Akkaraman koyun ırkında *GDF9* geni G4 polimorfizmi için AA, AG ve GG genotip frekansları sırasıyla 0.03, 0.10 ve 0.87 olarak tespit edilmiştir. H_o ve H_e değerlerinin sırasıyla 0.10 ve 0.15 bulunduğu çalışmada etkili allel sayısı 1.18 olarak belirlenmiştir. Bu gen bakımından Akkaraman popülasyonunda Hardy Weinberg dengesinden sapma gözlenmiştir. Anadolu Merinosu koyun ırkında ise AA genotipi tespit edilemezken, AG ve GG genotip frekansları sırasıyla 0.10 ve 0.90 olarak belirlenmiştir. Anadolu Merinosu koyun ırkında da H_o , H_e ve N_e değerleri düşük seviyelerde olup sırasıyla 0.10, 0.09 ve 1.10 olarak hesaplanmıştır. Bu gen bölgesi bakımından her iki popülasyonda da düşük genetik varyasyon olduğu görülmüştür.

Türkiye yerli koyun ırklarında *GDF9* geni üzerindeki farklı mutasyonların çalışıldığı çok sayıda çalışma mevcuttur (Gürsel vd., 2011; Çelikeloglu vd., 2018; Kırıkçı ve Çam, 2020; Çelikeloglu vd., 2021; Kırıkçı vd., 2021; Kırıkçı, 2023). Kırıkçı (2023) Akkaraman koyun ırkında G1 ve G4 polimorfizmini araştırdığı çalışmada G1 polimorfizmi için AA, GA ve GG genotip frekanslarını sırasıyla 0.00, 0.26 ve 0.74 olarak raporlamış ve bu gen bölgesinde elde edilen genotiplerin Akkaraman ırkı koyunlarda çoklu doğumla ilişkili olmadığını raporlamışlardır. Araştırmacı *GDF9* G4 bölgesi için polimorfizm elde edilemediğini bildirmiştir. Bu çalışmadan farklı olarak gerçekleştirilen yüksek lisans tez çalışmasında *GDF9* G4 bölgesi için polimorfizm tespit edilmiştir. Bu farklılığın altında yatan nedenin örnekleme olduğu düşünülmektedir.

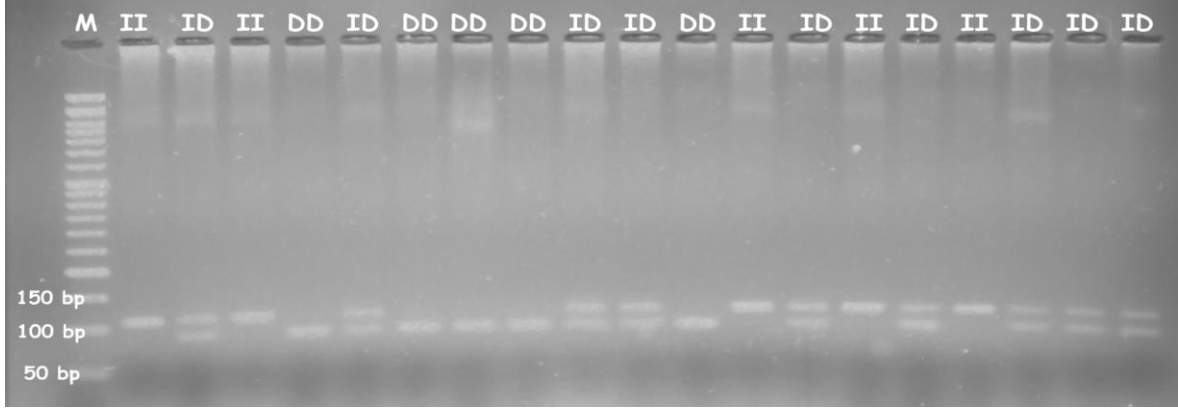
Aboelhasan vd. (2021) *GDF9* genindeki G4 polimorfizmi için heterozigot taşıyıcı koyunların (AG) homozigotlara göre daha yüksek ikiz doğum oranına sahip olduğunu raporlamışlardır. Bu çalışma her iki ırkta da düşük frekanslarda da olsa heterozigot bireylerin belirlenmesi ileride yapılması muhtemel MAS çalışmaları açısından umut verici olsa da ilgili gen bölgesinde düşük genetik varyasyon engel olarak görülmektedir.

Çizelge 4.3. *GDF9* geni G4 polimorfizmi için çalışılan ırklarda gen, genotip frekansları, genetik çeşitlilik ve ki-kare değerleri

			Gen Frekansları		Genotip Frekansları			Gen. Çeşitlilik			HWE
Gen	İrk	n	A	G	AA	AG	GG	Ho	He	Ne	χ^2
<i>GDF9</i> G4	AKR	60	0.08	0.92	0.03 (2)	0.10 (6)	0.87 (52)	0.10	0.15	1.18	7.16 ^b
	AMR	60	0.05	0.95	0.00	0.10 (6)	0.90 (54)	0.10	0.09	1.10	0.16 ^a

Ho: Gözlenen heterozigotluk, He: Beklenen heterozigotluk, Ne: Etkili allel sayısı, χ^2 0.05;1: 3.84; a: Hardy-Weinberg dengesinden sapma önemsiz, b: Hardy-Weinberg dengesinden sapma önemli

PRL geni üzerindeki 23 bç insersiyon polimorfizminin belirlenmesi için PCR işlemi gerçekleştirilmiştir. Bu gen bölgesi için gerçekleştirilen PCR işlemi sonunda her iki popülasyonun da polimorfik olduğu belirlenmiş ve her üç genotip de (II, ID ve DD) tespit edilmiştir. Yapılan PCR işlemi sonunda elde edilen genotiplere ait bir agaroz jel görüntüsü Şekil 4.8’de, ilgili gen bölgesi için popülasyonlarda tespit edilen gen, genotip frekansları ve genetik çeşitlilik parametreleri ise Çizelge 4.4’de verilmiştir.



Şekil 4.8. *PRL* geni 23 bç insersiyon polimorfizmi için PCR agaroz jel görüntüsü (%3.5) (M: DNA Ladder, softec, Kat. No: ZT-50BP-1)

PRL geni (23bç insersiyon) için Akkaraman koyun ırkında II, ID ve DD allel frekansları sırasıyla 0.68, 0.27 ve 0.05 olarak tespit edilmiş olup populasyonun Hardy Weinberg dengesinde olduğu saptanmıştır. Gözlenen ve beklenen heterozigotluk oranları sırasıyla 0.27 ve 0.30 olarak bulunmuş olup düşük seviyelerdedir. Aynı şekilde etkili allel sayısı da nispeten düşük (1.43) seviyelerde tespit edilmiştir. Anadolu Merinosu koyun ırkında ise II, ID ve DD allel frekansları sırasıyla 0.55, 0.38 ve 0.07 olarak tespit edilmiştir. H_o , H_e ve N_e sayıları Akkaraman koyun ırkına göre nispeten yüksek bulunmuş olup sırasıyla 0.38, 0.39 ve 1.62 olarak hesaplanmıştır. Anadolu Merinosu popülasyonunun da Hardy Weinberg dengesinde olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.4. *PRL* geni 23 bç insersiyon polimorfizmi için çalışılan ırklarda gen, genotip frekansları, genetik çeşitlilik ve ki-kare değerleri

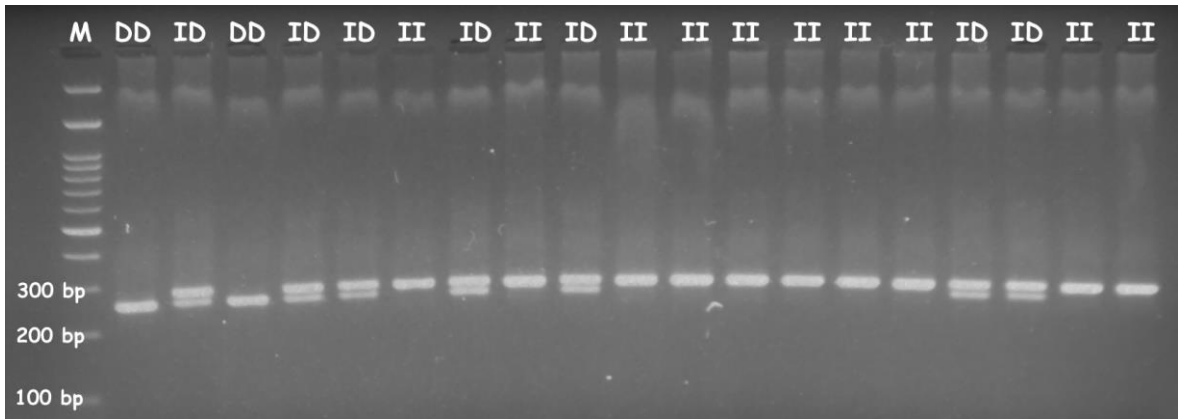
			Gen Frekansları		Genotip Frekansları			Gen. Çeşitlilik			HWE
Gen	İrk	n	I	D	II	ID	DD	H_o	H_e	N_e	χ^2
<i>PRL</i> 23 bç ins.	AKR	60	0.82	0.18	0.68 (41)	0.27 (16)	0.05 (3)	0.27	0.30	1.43	0.72 ^a
	AMR	60	0.74	0.26	0.55 (33)	0.38 (23)	0.07 (4)	0.38	0.39	1.62	0.00 ^a

H_o : Gözlenen heterozigotluk, H_e : Beklenen heterozigotluk, N_e : Etkili allel sayısı, χ^2 0.05;1: 3.84; a: Hardy-Weinberg dengesinden sapma önemsiz, b: Hardy-Weinberg dengesinden sapma önemli.

Akhatayeva vd. (2020) Australian White (AUW) koyun ırkında II, ID ve DD genotip frekanslarını sırasıyla 0.233, 0.659 ve 0.107 olarak raporlamışlar ve DD genotipine sahip koyunların II ve ID genotiplerini taşıyan koyunlara göre daha yüksek yavru verimine sahip olduğunu bildirmişlerdir. Akhatayeva vd. (2020) Australian White (AUW) koyun ırkında

bildirilen DD genotip frekansının bizim Akkaraman (0.05) ve Anadolu Merinosu (0.07) ırklarında elde ettiğimiz değerlerden yüksek olmasının altında yatan nedenin bu ırkların çoklu doğum oranının düşük olması olduğu düşünülmektedir. Aynı gen bölgesi için Atay vd. (2023) 100 baş Pırlak koyunda II, ID ve DD genotip frekansını sırasıyla 0.232, 0.379 ve 0.389 olarak bildirmiştir. Pırlak koyunlarında bildirilen DD genotip frekansının (0.389) bizim Akkaraman ve Anadolu Merinosu ırkında elde ettiğimiz DD genotip frekanslarından ayrıca Akhatayeva vd. (2020) tarafından Australian White (AUW) koyun ırkında elde edilen DD genotip (0.107) frekansından oldukça yüksektir. Pırlak koyun ırkının Dağlıç ve Kıvırcık ırklarının melezlenmesi ile edilmiş, bir batında yavru sayısı yüksek olan bir ırktır. Bu nedenle DD genotip frekansının bu ırkta yüksek olduğu düşünülmektedir.

GHR geni üzerindeki P2 polimorfizminin (23 bç delesyon) belirlenmesinde PCR yöntemi kullanılmıştır. Bu gen bölgesi için gerçekleştirilen PCR işlemi sonunda her iki popülasyonun da polimorfik olduğu tespit edilmiştir. Yapılan PCR işlemi sonunda elde edilen genotiplere ait bir agaroz jel görüntüsü Şekil 4.9'da, ilgili gen bölgesi için popülasyonlarda tespit edilen gen, genotip frekansları ve genetik çeşitlilik parametreleri ise Çizelge 4.5'de verilmiştir.



Şekil 4.9. *GHR* geni P2 (23 bç delesyon) polimorfizmi için PCR agaroz jel görüntüsü (%3.5) (M: DNA Ladder, Thermo 100 bp; Cat.No: SM0241)

GHR, P2 (23 bç delesyon) gen bölgesi için Akkaraman koyun ırkında her üç genotip de belirlenmiştir. II, ID ve DD allel frekansları sırasıyla 0.40, 0.45 ve 0.15 olarak tespit edilirken aynı genotiplerin frekansı Anadolu Merinosu koyun ırkında sırasıyla 0.22, 0.55 ve 0.23 olarak hesaplanmıştır. Akkaraman koyun ırkında Ho, He ve Ne sırasıyla 0.45, 0.47 ve

1.88 olarak belirlenirken, Anadolu Merinosu koyun ırkında 0.55, 0.50 ve 1.99 olarak tespit edilmiştir. İlgili gen bölgesi için her iki populasyonunda Hardy Weinberg dengesinde bulunduğu çalışmada genetik çeşitlilik değerlerinin yüksek olduğu göze çarpmaktadır.

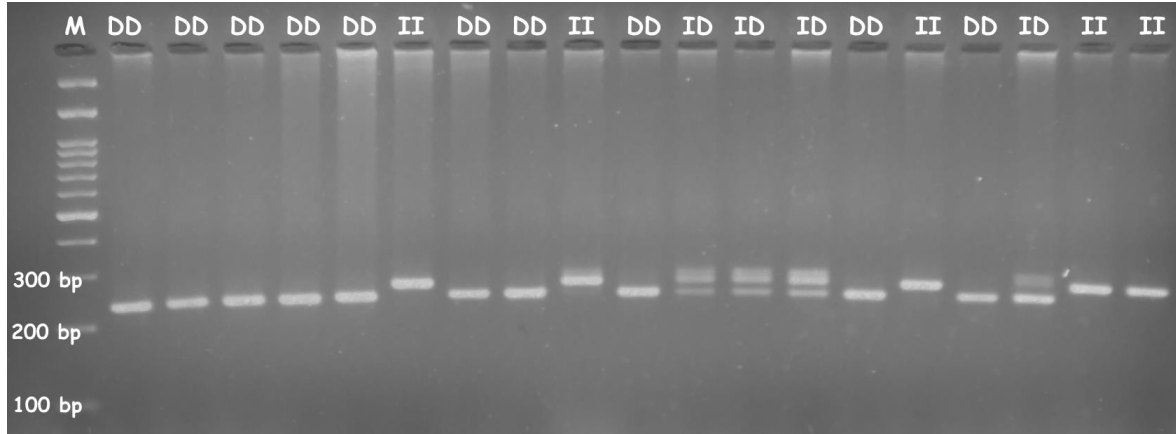
Çizelge 4.5. *GHR* geni P2 (23 bç delesyon) polimorfizmi için çalışılan ırklarda gen, genotip frekansları, genetik çeşitlilik ve ki-kare değerleri

Gen	İrk	n	Gen Frekansları		Genotip Frekansları			Gen. Çeşitlilik			HWE
			I	D	II	ID	DD	Ho	He	Ne	χ^2
GHR P2	AKR	60	0.62	0.38	0.40 (24)	0.45 (27)	0.15 (9)	0.45	0.47	1.8 8	0.10 ^a
	AMR	60	0.49	0.51	0.22 (13)	0.55 (33)	0.23 (14)	0.55	0.50	1.9 9	0.60 ^a

Ho: Gözlenen heterozigotluk, He: Beklenen heterozigotluk, Ne: Etkili allel sayısı, χ^2 0.05;1: 3.84; a: Hardy-Weinberg dengesinden sapma önemsiz, b: Hardy-Weinberg dengesinden sapma önemli

Akhatayeva vd. (2020) Australian White (AUW) koyun ırkında *GHR* geni P2 (23 bç delesyon) gen bölgesi için II, ID ve DD genotip frekanslarını sırasıyla 0.378, 0.435 ve 0.187 olarak raporlamışlar ve II genotipinin bir batında doğan yavru sayısı için istenilen genotip olduğunu belirtmişlerdir. Aynı gen bölgesi için Atay vd. (2023) Pırlak koyunlarında II, ID ve DD genotip frekanslarını sırasıyla 0.375, 0.448 ve 0.177 olarak bildirmişlerdir. Her iki çalışmada da bildirilen genotip frekansları benzerdir. Bizim Akkaraman koyun ırkında elde ettiğimiz II genotip frekansı (0.45) yukarıdaki iki çalışma ile benzer iken, Anadolu Merinosu koyun ırkında elde ettiğimiz II genotip frekansı (0.22) yukarıdaki çalışmalardan daha düşük seviyelerdedir. Anadolu Merinosu koyun ırkında bir miktar düşük olmasına rağmen, her iki ırkta da II genotipinin gösterilmesi, yüksek genetik varyasyon bu gen bölgesinin MAS çalışmalarında kullanım olanağının varlığın işaret etmektedir.

GHR geni üzerindeki P8 polimorfizmi (23 bç delesyon) PCR yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. PCR işlemi sonunda her iki populasyon da polimorfik olduğu tespit edilmiş ve PCR işlemini sonunda elde edilen genotiplere ait bir agaroz jel görüntüsü Şekil 4.10'da verilmiştir. *GHR* geni P8 (23 bç delesyon) gen bölgesi için populasyonlarda tespit edilen gen, genotip frekansları ve genetik çeşitlilik parametreleri ise Çizelge 4.6'da verilmiştir.



Şekil 4.10. GHR geni P8 (23 bç delesyon) polimorfizmi için PCR agaroz jel görüntüsü (%3.5) (M: DNA Ladder, Thermo 100 bp; Cat.No: SM0241)

GHR geni P8 (23 bç delesyon) gen bölgesi yapılan PCR işlemi sonunda her iki popülasyonda da II, ID ve DD genotipleri elde edilmiştir. Akkaraman koyun ırkında II, ID ve DD genotip frekansları sırasıyla 0.36, 0.32 ve 0.32 olarak tespit edilmiştir. Beklenen heterozigotluğun (0.50) gözlenen heterozigotluktan (0.31) oldukça yüksek çıktığı Akkaraman koyun ırkı Hardy Weinberg dengesinden sapma göstermiştir. Anadolu Merinosu koyun ırkında II, ID ve DD genotip frekansları sırasıyla 0.18, 0.54 ve 0.28 olarak belirlenmiştir. Gözlenen heterozigotluk değeri (0.53) beklenen heterozigotluk (0.49) değerinde yüksek bulunmuş olup, populasyon Hardy Weinberg dengesindedir. Ayrıca Ne oldukça yüksek (1.98) bulunmuştur. Bu gen bölgesi bakımından özellikle Anadolu Merinosu koyun ırkında yüksek genetik varyasyon tespit edilmiştir.

Çizelge 4.6. *GHR* geni P8 (23 bç delesyon) polimorfizmi için çalışılan ırklarda gen, genotip frekansları, genetik çeşitlilik ve ki-kare değerleri

		Gen Frekansları			Genotip Frekansları			Gen. Çeşitlilik			HWE
Gen	İrk	n	I	D	II	ID	DD	Ho	He	Ne	χ^2
<i>GHR</i> P8	AKR	60	0.52	0.4 8	0.36 (22)	0.32 (19)	0.32 (19)	0.31	0.50	1.99	7.99 ^b
	AMR	60	0.45	0.5 5	0.18 (11)	0.54 (32)	0.28 (17)	0.53	0.49	1.98	0.36 ^a

Ho: Gözlenen heterozigotluk, He: Beklenen heterozigotluk, Ne: Etkili allel sayısı, χ^2 0.05;1: 3.84; a: Hardy-Weinberg dengesinden sapma önemsiz, b: Hardy-Weinberg dengesinden sapma önemli.

Akhatayeva vd. (2020) Australian White (AUW) koyun ırkında GHR geni P8 (23 bç delesyon) gen bölgesi için II, ID ve DD genotip frekanslarını sırasıyla 0.287, 0.463 ve 0.250 olarak raporlamışlardır. Araştırmacılar bu gen bölgesi için II genotipine sahip koyunların daha yüksek bir batında doğan yavru sayısına sahip olduğunu bildirmişlerdir. Aynı gen bölgesi için Atay vd. (2023) Pırlak koyunlarında II, ID ve DD genotip frekanslarını sırasıyla 0.181, 0.383 ve 0.436 olarak bildirmişlerdir. Gerçekleştirilen yüksek lisans tez çalışmasında Akkaram ırkında el edilen II genotip frekansı (0.36) yukarıdaki iki çalışmada bildirilen II genotip frekanslarından yüksek iken, Anadolu Merinosu koyun ırkında elde edilen II genotip frekansı (0.18) Akhatayeva vd. (2020) tarafından bildirilen değerden düşük, Atay vd. (2023) tarafından Pırlak koyunlarında bildirilen değere benzerdir. GHR, P2 (23 bç delesyon) gen bölgesine benzer olarak bu gen bölgesinde bir batında doğan yavru sayısının iyileştirilmesi için yapılacak MAS çalışmalarında kullanılabileceği düşünülmektedir.

4.3. Çalışılan Gen Bölgelerinde Tespit Edilen Polimorfizmler ile Bir Batında Doğan Yavru Sayısı Arasında İlişki Analizleri

Akkaraman ve Anadolu Merinosu koyun ırklarında ayrı ayrı olmak üzere, polimorfizm bulunan 6 gen bölgesi bakımından farklı genotiplerde tekiz ya da çoğuz doğumların dağılımları ve istatistiki açıdan önem testleri için ki-kare uygulanmıştır. Elde edilen sonuçlar Çizelge 4.7’de verilmiştir. Çizelgede verilen sonuçlardan da anlaşılağı üzere, yalnızca Anadolu Merinosu ırkında NR5A2 MseI bakımından farklı genotiplerde tekiz/çoğuz doğum arasında önemli bir ilişki saptanmıştır ($P<0,05$).

Çizelge 4.7’de görüldüğü gibi Anadolu Merinosu koyun ırkında NR5A2 MseI bakımından farklı genotiplerde tekiz/çoğuz doğum arasındaki farkın önemli olduğu görülmektedir. Genotipler incelendiğinde oransal olarak en çok çoğuz doğumun CC genotipinde olduğu görülmektedir. Bu gen bölgesi için CC genotipini taşıyan hayvanlarda çoğuz doğum olasılığı diğer genotiplere oranla daha fazladır.

Çizelge 4.7. Çalışılan ırklarda elde edilen genotiplerde tekiz ve çoğuz doğumların dağılımı

		AKR		AMR	
		Tekiz	Çoğuz	Tekiz	Çoğuz
<i>BMPR-IB</i>	DD	3	4	4	3
	ID	9	14	15	8
	II	18	12	16	14
		NS		NS	
<i>PRL</i>	DD	3	0	2	2
	ID	7	9	13	10
	II	20	21	20	13
		NS		NS	
<i>NR5A2</i> <i>MseI</i>	CC	9	10	4	9
	CT	16	14	20	13
	TT	5	6	11	3
		NS		*	
<i>GDF9</i>	AA	4	0	1	3
	AG	3	3	4	2
	GG	23	27	24	26
		NS		NS	
<i>GHR-P8</i>	DD	7	12	9	8
	ID	10	9	20	12
	II	13	9	6	5
		NS		NS	
<i>GHR-P2</i>	DD	2	7	7	7
	ID	14	13	21	12
	II	14	10	7	6
		NS		NS	

*genotipler arasındaki fark öneli $P < 0.05$; NS: genotipler arasındaki fark önemsiz

Gerçekleştirilen çalışmada elde edilen genotipler ile bir batında doğan yavru sayısı arasındaki ilişki tek yönlü varyans analizi ile değerlendirilmiştir. Bunun için genotiplerdeki tekiz, ikiz ve üçüz doğum oranlarının ortalaması alınarak aradaki farklar değerlendirilmiştir. Akkaraman koyun ırkında elde edilen sonuçlar Çizelge 4.8’de, Anadolu Merinosu koyun ırkında elde edilen sonuçlar Çizelge 4.9’da verilmiştir. Çizelgelerde verilen sonuçlardan da anlaşılacağı üzere, yalnızca Akkaraman ırkında GDF9 G4 polimorfizmi için AG genotipini taşıyan koyunlarda bir batında doğan yavru sayısının daha yüksek olduğu saptanmıştır ($P < 0,05$).

Çizelge 4.8. Akkaraman koyun ırkında elde edilen genotipler ile bir batında doğan yavru sayısı arasındaki ilişki

	Ort±SH (n)			P Değeri
	DD	ID	II	
<i>BMPR-IB</i>	1,57±0,20 (7)	1,65±0,12 (23)	1,43±0,10 (30)	0,378
	DD	ID	II	
<i>PRL</i>	1,00±0,00 (3)	1,56±0,13 (16)	1,56±0,09 (41)	0,250
	CC	CT	TT	
<i>NR5A2 MseI</i>	1,58±0,14 (19)	1,47±0,09 (30)	1,64±0,20 (11)	0,644
	AA	AG	GG	
<i>GDF9</i>	1,00±0,00 (4) ^B	1,57±0,08 (56) ^A	-	0,050
	DD	ID	II	
<i>GHR-P8</i>	1,63±0,11 (19)	1,58±0,16 (19)	1,41±0,11 (22)	0,423
	DD	ID	II	
<i>GHR-P2</i>	1,78±0,15 (9)	1,56±0,12 (27)	1,42±0,10 (24)	0,258

A, B farklı harflerin olduğu gruplar arasındaki fark istatistiki olarak önemlidir (p<0.05)

Anadolu Merinosu koyun ırkında çalışılan gen bölgeleri bakımından elde edilen genotiplerde bir batında doğan yavru sayısı bakımından anlamlı bir ilişki tespit edilememiştir. Ancak *NR5A2* geni SNP (T40C) (*MseI*) polimorfizmi için elde edilen CC ve CT frekanslarının TT genotip frekansından fazla olduğu görülmektedir. Ancak burada elde edilen p değeri eşik değerinin (0.05) bir miktar üzerinde olduğu görülmektedir. Li vd. (2015) Hu koyunlarında CC ve CT genotiplerini taşıyan hayvanların daha yüksek bir batında doğan yavru sayısına sahip olduğu bildirmiştir. Bu çalışmada da benzer olarak CC ve CT genotipini taşıyan hayvanlarda bir batında doğan yavru sayısının daha yüksek olduğu görülmüş ancak anlamlı bir ilişki tespit edilememiştir. Ancak benzer çalışmalarda örnek sayısının artırılması faydalı olacaktır.

Çizelge 4.9. Merinos koyun ırkında elde edilen genotipler ile bir batında doğan yavru sayısı arasındaki ilişki

	Ort±SH (n)			<i>P Değeri</i>
	DD	ID	II	
<i>BMPR-IB</i>	1,43±0,20 (7)	1,43±0,14 (23)	1,53±0,08 (30)	0,830
<i>PRL</i>	1,75±0,48 (4)	1,48±0,12 (23)	1,45±0,11 (33)	0,677
<i>NR5A2 MseI</i>	1,77±0,17 (13)	1,48±0,12 (33)	1,21±0,11 (14)	0,067
<i>GDF9</i>	1,25±0,25 (4)	1,50±0,08 (56)	-	0,444
<i>GHR-P8</i>	1,53±0,15 (17)	1,44±0,11 (32)	1,55±0,21 (11)	0,834
<i>GHR-P2</i>	1,57±0,17 (14)	1,39±0,10 (33)	1,62±0,21 (13)	0,471

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Gerçekleştirilen yüksek lisans tez çalışmasında Akkaraman ve Anadolu Merinosu koyunlarında bir batında doğan yavru sayısı ile ilişkili bazı genler üzerindeki polimorfizmler belirlenerek, elde edilen polimorfizmlerin bir batında doğan yavru sayısı ile ilişkisi araştırılmıştır. Çalışmadan elde edilen bulgular eşliğinde çalışılan gen bölgelerinin ileride bu ırklarda bir batında doğan yavru sayısının iyileştirilmesi için yapılacak MAS çalışmalarında kullanım olanakları tartışılmıştır. Bu bağlamda çalışmada elde edilen sonuç ve öneriler aşağıda maddeler halinde verilmiştir.

1-) Çalışılan ırklarda *BMPR-IB* geni üzerinde çoklu doğumu artırdığı bildirilen SNP (c.746A > G) temelinde polimorfizm elde edilememiştir. Dolayısıyla bu gen bölgesinin Akkaraman ve Anadolu Merinosu koyun ırklarında yapılacak MAS çalışmaları için uygun olmadığı görülmüştür.

2-) Çalışılan ırklarda *BMPR-IB* geni üzerinde çoklu doğumu artırdığı bildirilen bir diğer lokus (90 bç del.) için her iki ırkta da polimorfizm elde edilmiştir. Bu gen bölgesi için çoklu doğumu artırdığı raporlanan DD genotipinin her iki ırkta da frekansı 0,12 olarak belirlenmiştir. Ayrıca bu gen bölgesi için Akkaraman ve Anadolu Merinosu koyun ırklarında elde edilen genetik varyasyonun yüksek, populasyonların ise Hardy Weinberg dengesinde olduğu belirlenmiştir. Ancak bu gen için elde edilen genotipler ile bir batında doğan yavru sayısı arasında istatistiki bir ilişki tespit edilememiştir. Bu durum MAS çalışmalarında bu gen bölgesinin aday gen olarak kullanımı önünde bir engel oluşturmaktadır. Aynı gen bölgesindeki ilişki analizlerinin örnek sayısının artırılarak tekrarlanması faydalı olabilir.

3-) Akkaraman ve Anadolu Merinosu koyun ırklarında *BMP15* genindeki $FecX^{Bar}$ lokusunda çoklu doğumu artırdığı bildirilen genotiplerin varlığı ve polimorfizm tespit edilememiştir. Bu gen bölgesi Akkaraman ve Anadolu Merinosu koyun ırklarında bir batında doğan yavru sayısının artırılması için yapılacak MAS çalışmaları için uygun değildir.

4-) Çalışılan koyun ırklarında *NR5A2* geni üzerindeki SNP (T1419C) için çoklu doğumu artırdığı bildirilen genotip ve polimorfizm tespit edilememiştir. Dolayısıyla bu gen bölgesinin bu ırklarda çoklu doğumun artırılması için yapılacak MAS çalışmaları için uygun olmadığı anlaşılmaktadır.

5-) Gerçekleştirilen çalışmada Akkaraman ve Anadolu Merinosu koyun ırklarında *NR5A2* geni SNP (T40C) için çoklu doğumla ilişkili olduğu bildirilen CC ve CT değişen frekanslarda tespit edilmiştir. Ayrıca bu gen bakımından her iki populasyonda genetik çeşitlilik parameterleri istenilen seviyede olup populasyonlar Hardy-Weinberg dengesindedir. Ayrıca yapılan ki kare analiz sonucunda CC genotipini taşıyan hayvanların çoklu doğum oranının daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Bu gen bölgesi AMR koyun ırkında çoklu doğumun artırılması için yapılacak MAS çalışmalarında kullanılabilir.

6-) Çalışılan her iki populasyonda da *GDF9* (G4) geninde polimorfizm tespit edilmiş olup, çoklu doğum için istenilen AG genotipinin frekansı 0.10 olarak tespit edilmiştir. Ayrıca yapılan tek yönlü varyans analizi sonuçlarına göre AKR ırkında AG genotipini taşıyan hayvanlardaki daha yüksek yavru veriminin istatistiki olarak anlamlı ($p < 0.05$) olduğu görülmüştür. *GDF9* (G4) polimorfizmi için AKR koyun ırkında AG genotipi muhtemel MAS çalışmalarında kullanılabilir.

7-) Akkaraman ve Anadolu Merinosu koyun ırkları *PRL* geni (23bç insersiyon) bakımından polimorfik bulunmuştur. Her iki ırkta bu gen bölgesinde çoklu doğumu artırdığı bildirilen DD genotip frekansları düşük düzeylerde (0.05 ve 0.07) tespit edilmiştir. Ayrıca ilgili gen bölgesi bakımından gözlenen heterozigotluk değerleri düşük seviyelerde bulunmuştur. Ayrıca yapılan ilişki analizlerinde elde edilen genotipler ile çoklu doğum ya da bir batında doğan yavru sayısı arasında önemli bir ilişki tespit edilememiştir. Bu nedenle *PRL* geni (23bç insersiyon) polimorfizminin AKR ve AMR ırklarında bir batında doğan yavru sayısının artırılması için yapılacak MAS çalışmaları uygun olmadığı düşünülebilir.

8-) *GHR*, P2 (23 bç delesyon) gen bölgesi için Akkaraman ve Anadolu Merinosu koyun ırkında her üç genotip de belirlenmiştir. Bu gen bölgesinde bir batında doğan yavru sayısı ile ilişkili olduğu bildirilen II genotipi özellikle Akkaraman ırkında yüksek frekanslarda (0.40) tespit edilmiştir. Genetik çeşitlilik parametreleri her iki ırkta da yüksek olup popülasyonlar Hardy Weiberg dengesindedir. Ancak bu gen için elde edilen genotipler ile çoklu doğum ya da bir batında doğan yavru sayısı arasında ilişki tespit edilememiş olması MAS çalışmalarında kullanımı önünde engel oluşturmaktadır. Bu gen bölgesindeki ilişki analizlerinin örnek sayısının artırılarak tekrarlanması faydalı olabilir.

9-) *GHR*, P8 (23 bç delesyon) gen bölgesi için Akkaraman ve Anadolu Merinosu koyun popülasyonları polimorfik bulunmuştur. *GHR*, P2 (23 bç delesyon) gen bölgesine benzer olarak bir batında doğan yavru sayısı ile ilişkili olduğu bildirilen II genotipi her iki ırkta da yüksek oranlarda (0.18 ve 0.36) tespit edilmiştir. Ancak *GHR* bölgesindeki diğer lokus gibi bu lokusta da elde edilen genotipler ile çoklu doğum ya da bir batında doğan yavru sayısı arasında ilişki tespit edilememiş olması MAS çalışmalarında kullanımına engel teşkil etmektedir.

10-) Koyunlarda bir batında doğan yavru sayısının majör genlerden etkilenmekle birlikte poligenik kalıtım izlediği unutulmamalıdır. Bu nedenle majör genler (*BMPR-IB*, *BMP15* ve *GDF9*) öncelikli olmak üzere çoklu doğumla ilişkili tanımlanan mümkün olduğunca çok aday gen (*NR5A2*, *PRL* vb.) yerli koyun ırklarında taranmalı ve çoklu doğuma ait fenotipik verilerle ilişkilendirilmelidir. MAS çalışmalarında mümkün olduğunca çok sayıda genin kullanılması seleksiyonda başarıyı ve genetik ilerlemeyi artıracaktır.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Abdoli, R., Zamani, P., Mirhoseini, S. Z., Ghavi Hossein-Zadeh, N., & Nadri, S. (2016). *A review on prolificacy genes in sheep*. *Reproduction in Domestic Animals*, 51(5), 631-637. DOI: 10.1111/rda.12733.
- Aboelhassan, D. M., Darwish, A. M., Ali, N. I., Ghaly, I. S., & Farag, I. M. (2021). *A study on mutation points of GDF9 gene and their association with prolificacy in Egyptian small ruminants*. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 19(1), 85. DOI: 10.1186/s43141-021-00181-8.
- Ağyar, O., & Kırıkçı, K. (2022). *Investigation of FecXI mutation by PCR-RFLP method in Awassi sheep breed*. *Bahri Dağdaş Hayvancılık Araştırma Dergisi*, 11(2), 88-93.
- Ajafar, M. H., Kadhim, A. H., & AL-Thuwaini, T. M. (2022). *The reproductive traits of sheep and their influencing factors*. *Reviews in Agricultural Science*, 10, 82-89. DOI: 10.7831/ras.10.0_82.
- Akhatayeva, Z., Bi, Y., He, Y., Khan, R., Li, J., Li, H., ... & Lan, X. (2023). *Survey of the relationship between polymorphisms within the BMPR-IB gene and sheep reproductive traits*. *Animal Biotechnology*, 34(3), 718-727. DOI: 10.1080/10495398.2021.1979023.
- Akhatayeva, Z., Cao, C., Huang, Y., Zhou, Q., Zhang, Q., Guo, Z., ... & Lan, X. (2022). *Newly reported 90-bp deletion within the ovine BMPR-IB gene: Does it widely distribute, link to the famous FecB (p. Q249R) mutation, and affect litter size?*. *Theriogenology*, 189, 222-229. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2022.06.020.
- Akhatayeva, Z., Mao, C., Jiang, F., Pan, C., Lin, C., Hao, K., ... & Lan, X. (2020). *Indel variants within the PRL and GHR genes associated with sheep litter size*. *Reproduction in Domestic Animals*, 55(11), 1470-1478. DOI: 10.1111/rda.13796.
- Al-Jaryan, I. L., AL-Thuwaini, T. M., Merzah, L. H., & Alkhammas, A. H. (2023). *Reproductive physiology and advanced technologies in sheep reproduction*. *Reviews in Agricultural Science*, 11, 171-180. DOI: 10.7831/ras.11.0_171.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Argun Karsli, B., Demir, E., Bilginer, U., Dogru, H., Karsli, T., & Kaya, S. (2024). *Genome-wide discovery of selection signatures in four Anatolian sheep breeds revealed by ddRADseq*. Scientific Reports, 14(1), 20518. DOI: 10.1038/s41598-024-71617-7.
- Atav, R., & Buğdaycı, B. (2022). *Türkiye’de Kaliteli Yapağı Verimine Sahip Koyun Irkı Eldesinde Merinoslaştırma Faaliyetlerinin Geçmişi, Bugünü ve Geleceğine Genel Bakış ve Türk Merinosu (Karacabey Merinosu) Irkının Yapağı Özelliklerine İlişkin Önceki Çalışmalar*. Tekstil ve Mühendis, 29(127), 185-197. DOI: 10.7216/1300759920222912708.
- Atay, S., Yurdağül, K. G., Bilginer, Ü., Karşlı, T., & Demir, E. (2023). *InDel Variations of PRL and GHR Genes Associated with Litter Size in Pirlak sheep breed*. Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi, 20(4), 890-897. DOI: 10.33462/jotaf.1226643.
- Aytan, O. A. (2021). *Hareketli Avcı-Toplayıcı Grupların Yaşam Biçimiyle Yerleşik Çiftçi Toplulukların Yaşam Biçim Arasındaki İnsan-Mekan İlişkisinin Mukayesesi*. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Sosyal Bilimler Dergisi, 18(2), 979-1012. DOI: 10.33437/ksusbd.780605.
- Basrin, R., Khanom, R., Hossain, M. M., Islam, M. S., Bhuiyan, A. K. F. H., & Bhuiyan, M. S. A. (2023). *Polymorphisms in BMPR-IB and INHβA Genes Associated with Litter Size in Indigenous sheep of Bangladesh*, JAPS: Journal of Animal & Plant Sciences, 33(2). DOI: 10.36899/JAPS.2023.2.0632.
- Chaudhari, A. B., Ramanujam, R., & Ragothaman, V. (2023). *Effect of Booroola fecundity (FeCB) gene on litter size and scope for exploitation of Nilagiri synthetic sheep*. DOI: 10.21203/rs.3.rs-3196952/v1.
- Chen, Q., Cai, J., Zhang, W., Xiao, L., Liu, G., Li, H., ... & Zhang, J. (2022). *Expression analysis of the NR5A2 gene and associations between its polymorphisms and reproductive traits in Jiaying Black sows*. Journal of Applied Animal Research, 50(1), 13-20. DOI: 10.1080/09712119.2021.2020124.
- Chu, M. X., Mu, Y. L., Fang, L., Ye, S. C., & Sun, S. H. (2007). *Prolactin receptor as a candidate gene for prolificacy of Small Tail Han sheep*. Animal Biotechnology, 18(1), 65-73. DOI: 10.1080/10495390601090950.
- Çelikeloglu, K., Erdoğan, M., Hacan, Ö., Koçak, S., Bozkurt, Z., & Tekerli, M. (2018). *Pirlak koyunlarında BMPR-IB, BMP15 ve GDF9 genlerinde olası polimorfizmlerin araştırılması*. Kocatepe Veterinary Journal, 11(4), 356-362. DOI: 10.30607/kvj.428999.
- Çelikeloglu, K., Tekerli, M., Erdoğan, M., Koçak, S., Hacan, Ö., & Bozkurt, Z. (2021). *An investigation of the effects of BMPR-IB, BMP15, and GDF9 genes on litter size in Ramliç and Dağlıç sheep*. Archives Animal Breeding, 64(1), 223-230. DOI: 10.5194/aab-64-223-2021.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Dash, S., Maity, A., Bisoi, P. C., Palai, T. K., Polley, S., Mukherjee, A., & De, S. (2017). *Coexistence of polymorphism in fecundity genes BMPR-1B and GDF9 of Indian Kendrapada sheep*. Exploratory Animal and Medical Research, 7(1), 33-38.
- Davis, G. H. (2005). *Major genes affecting ovulation rate in sheep*. Genetics Selection Evolution, 37(Suppl. 1), S11-S23. DOI: 10.1051/gse:2004026.
- de Klerk, J. N., & Robinson, P. A. (2022). *Drivers and hazards of consumption of unpasteurised bovine milk and milk products in high-income countries*. PeerJ, 10, e13426. DOI: 10.7717/peerj.13426.
- Deac, A. M., Muscă, A. S., Aipătioaie, M. G., Coşier, V., & Zăhan, M. (2022). *Methods of Improving Reproductive Parameters in Sheep and The Major Genes Associated with Prolificacy: A Review*. Bulletin of the University of Agricultural Sciences & Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Animal Science & Biotechnologies, 79(1). DOI: 10.15835/buasvmcn-asb:2021.0020.
- Demir, E. (2024). *Variations in Fecundity Genes (Bmp15 And Gdf9) in Hamdanı Sheep Revealed by T-ARMS-PCR*. Conference: 7. International Agriculture, Environment and Health Congress, Bursa, Türkiye, 30 Mayıs - 01 Haziran 2024, ss.534-539
- Diler, A., & Turgut, T. (2016). *Prolaktin Reseptör PRLR Gen Ekspresyonunun Süt Kompozisyonuna Etkisi*. Akademik Gıda, 14(4), 351-355.
- Dincel, D., Ardıclı, S., Soyudal, B., Er, M., Alpay, F., ŞAMLI, H., & Balci, F. (2015). *Analysis of FecB, BMP15 and CAST gene mutations in Sakiz sheep*. Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 21(4). DOI: 10.9775/kvfd.2014.12680.
- FAO, (2022). Food and Agriculture Organization of the United Nations. Food and agriculture data. <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL>, Erişim Tarihi: 12.12.2024.
- Gao, J., Song, X., Wu, H., Tang, Q., Wei, Z., Wang, X., ... & Zhang, B. (2020). *Detection of rs665862918 (15-bp indel) of the HIAT1 gene and its strong genetic effects on growth traits in goats*. Animals, 10(2), 358. DOI: 10.3390/ani10020358.
- Gedik, Y. (2021). *Screening for inverdale (FecXI) mutation in BMP15 gene in prolific Turkish Awassi Sheep*. Black Sea Journal of Agriculture, 4(4), 130-132. DOI: 10.47115/bsagriculture.988347.
- Gedik, Y. (2023). *Investigation for Mutation in BMPR-1B (FecB) Fecundity Gene in Awassi Sheep*. Selcuk Journal of Agriculture and Food Sciences, 37(2), 242-247. DOI: 10.15316/SJAFS.2023.024.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Getaneh, M., Taye, M., Alemayehu, K., Haile, A., Getachew, T., & Ayalew, W. (2024). *A review on candidate genes associated with sheep fertility traits: Implications for genetic improvement of indigenous sheep breeds in developing countries*. Ecological Genetics and Genomics, 100243. DOI: 10.1016/j.egg.2024.100243.
- Gootwine, E. (2020). *Invited review: opportunities for genetic improvement toward higher prolificacy in sheep*. Small Ruminant Research, 186, 106090. DOI: 10.1016/j.smallrumres.2020.106090.
- Gorlov, I. F., Kolosov, Y. A., Shirokova, N. V., Getmantseva, L. V., Slozhenkina, M. I., Mosolova, N. I., ... & Zlobina, E. Y. (2018). *GDF9 gene polymorphism and its association with litter size in two Russian sheep breeds*. Rendiconti Lincei. Scienze Fisiche e Naturali, 29, 61-66. DOI: 10.1007/s12210-017-0659-2.
- Gursel, E., Akis, I., Durak, H., Mengi, A., & Oztabak, K. (2011). *Determination of BMP-15, BMPR-1B and GDF-9 gene mutations of the indigenous sheep breeds in Turkey*. Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 17(5). DOI: 10.9775/kvfd.2011.4256.
- Hanrahan, J.P., Gregan, S.M., Mulsant, P., Mullen, M., Davis, G.H., Powell, R., Galloway, S., (2004). *Mutations in the genes for oocyte derived growth factors GDF9 and BMP15 are associated with both increased ovulation rate and sterility in Cambridge and Belclare sheep (Ovis aries)*. Biol. Reprod, 70, 900–909. DOI: 10.1095/biolreprod.103.023093.
- Hashim, H. O., & Al-Shuhaib, M. B. S. (2019). *Exploring the potential and limitations of PCR-RFLP and PCR-SSCP for SNP detection: A review*. Journal of applied biotechnology reports, 6(4), 137-144. DOI: 10.29252/JABR.06.04.02.
- He, Q., Chen, M., Lin, X., & Chen, Z. (2020). *Allele-specific PCR with a novel data processing method based on difference value for single nucleotide polymorphism genotyping of ALDH2 gene*. Talanta, 220, 121432. DOI: 10.1016/j.talanta.2020.121432.
- IBM, Corp. (2011). IBM SPSS Statistics for Windows (Version 20.0) [Computer software]. IBM Corp.
- Imyanitov, E. N., Buslov, K. G., Suspitsin, E. N., Kuligina, E. S., Belogubova, E. V., Grigoriev, M. Y., ... & Hanson, K. P. (2002). *Improved reliability of allele-specific PCR*. Biotechniques, 33(3), 484-490. DOI: 10.2144/02333bm04.
- Jin, C., Li, Z., Zheng, X., Shen, K., Chao, J., Dong, Y., ... & Zhu, W. (2020). *Development and validation of T-ARMS-PCR to detect CYP2C19 17 allele*. Journal of Clinical Laboratory Analysis, 34(1), e23005. DOI: 10.1002/jcla.23005.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Karakuş, F. (2016). *Keçilerde vücut kondisyon puanının döl verimi, canlı ağırlık ve bazı vücut ölçüleri üzerine etkisi*. Yüzüncü Yıl Üniv. Tarım Bilimleri Dergisi, 26, 372-379.
- Karayel, F. (2018). *Türkiye’de yetiştirilen bazı sığır ırklarında mastitis, şap ve tüberküloz hastalıklarına dirençle ilişkili genlerdeki polimorfizmlerin belirlenmesi*. [Yüksek Lisans Tezi, 46s, Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Antalya]. YÖK Ulusal Tez Merkezi. <https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi/tezSorguSonucYeni.jsp>.
- Karslı, T. (2010). *Türkiye koyun ırklarında BMPR-IB (Booroola) geninde Fecb allel varlığının PCR-RFLP yöntemi ile araştırılması*. [Yüksek Lisans tezi, Akdeniz Üniversitesi, Antalya]. YÖK Ulusal Tez Merkezi. <https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi/tezSorguSonucYeni.jsp>.
- Karslı, T., & Balcıoğlu MS. (2010). *Türkiye’de Yetiştirilen Altı Yerli Koyun Irkında BMPR-IB (Booroola Geninde FecB Allel Varlığının PCR-RFLP Yöntemiyle Araştırılması*. Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 16(6). DOI: 10.9775/kvfd-2010-2333.
- Karslı, T., & Balcıoğlu MS. (2011). *Türkiye’de Yetiştirilen Altı Yerli Koyun Irkında BMPR-IB (Booroola Geninde FecB Allel Varlığının PCR-RFLP Yöntemiyle Araştırılması*. Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 16(6). DOI: 10.9775/kvfd.2010.2333.
- Karslı, T., Şahin, E., Karslı, B. A., Eren, M. G., & Balcıoğlu, M. S. (2011). *An investigation of presence of FecB, FecXG, FecXH allele in Kangal and Güney Karaman sheep using PCR-RFLP method*. Lalahan Hayvancılık Araştırma Enstitüsü Dergisi, 51(2), 71-80. DOI: 10.5555/20123062563.
- Karslı, T., Şahin, E., Karslı, B. A., Alkan, S., & Balcıoğlu, M. S. (2012). *An investigation of mutations (FecXG, FecXI, FecXH, FecXB) on BMP-15 gene in some local sheep breeds raised in Turkey*. Akdeniz University Journal of the Faculty of Agriculture, 25(1), 29-33.
- Karslı, B. A. (2024). *Genetic diversity and population structure of four Anatolian sheep revealed by genome-wide ddRADseq data*. Small Ruminant Research, 235, 107285. DOI: 10.1016/j.smallrumres.2024.107285.
- Karslı, B. A., Demir, E., Fidan, H. G., & Karslı, T. (2020). *Assessment of genetic diversity and differentiation among four indigenous Turkish sheep breeds using microsatellites*. Archives Animal Breeding, 63(1), 165-172. DOI: 10.5194/aab-63-165-2020.
- Kaymakçı, M. (2006). *İleri Koyun Yetiştiriciliği*. Meta Basım Matbaacılık Hizmetleri. ISBN: 9944-5334-0-8 Bornova-İzmir, 336ss.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Kaymakçı, M., & Taşkın, T. (2008). *Türkiye koyunculuğunda melezleme çalışmaları*. Hayvansal üretim, 49(2).
- Kaymakçı, M., Özder, M., Karaca, O., Torun, O., Baş, S., & Koşum, N. (2009). *Türkiye Koyun Islahı Stratejisi*. Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 23(2), 67-77.
- Kırıkçı, K., Cam, M. A., & Mercan, L. (2021). *Investigation of G1 (c. 260G> A) polymorphism in exon 1 of GDF9 gene in Turkish sheepbreed Karayaka*. Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences, 45(1), 191-197. DOI: 10.3906/vet-2009-40.
- Kırıkçı, K. (2023). *Investigation of BMP15 and GDF9 gene polymorphisms and their effects on litter size in Anatolian sheep breed Akkaraman*. Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences, 47(3), 248-254. DOI: 10.55730/1300-0128.4292.
- Kırıkçı, K., & Cam, M. (2020). *Türkiye yöresel yeni koyun tipi Of koyunlarında GDF9 (FecG1) gen polimorfizminin PCR-RFLP yöntemi ile araştırılması*. Manas Journal of Agriculture Veterinary and Life Sciences, 10(2), 98-102.
- Kijas, J. W., Lenstra, J. A., Hayes, B., Boitard, S., Porto Neto, L. R., San Cristobal, M., ... & International Sheep Genomics Consortium. (2012). *Genome-wide analysis of the world's sheep breeds reveals high levels of historic mixture and strong recent selection*. PLoS biology, 10(2), e1001258. DOI: 10.1371/journal.pbio.1001258.
- Koç, A. (2001). *Dalaman Tarım İşletmesi'nde yetiştirilen Siyah-Alaca süt sığırlarının döl ve süt verimlerine ilişkin genetik ve fenotipik parametre tahminleri*. Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Zootečni Anabilim Dalı, Doktora Tezi, 92s, Aydın, Türkiye.
- Koyuncu, M. (2024). *Merinos Koyunu ve Yapağısı*. Hayvansal Üretim, 65(1), 88-99. DOI: 10.29185/hayuretim.1498665.
- Kozaklı, Ö., Ceyhan, A., & Fırat, M. Z. (2022). *Akkaraman Kuzularda Cinsiyete Göre Büyüme Eğrilerinin Farklı Yöntemlerle Modellenmesi: Logistik ve Gompertz Modelleleme Örneği*. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi, 25(4), 916-926. DOI: 10.18016/ksutarimdog.vi.946895.
- Krivoruchko, A., Yatsyk, O., & Kanibolockaya, A. (2022). *New candidate genes of high productivity in North-Caucasian sheep using genome-wide association study (GWAS)*. Animal Gene, 23, 200119. DOI: 10.1016/j.angen.2021.200119.
- Kumar, S., Mishra, A. K., Kolte, A. P., Dash, S. K., & Karim, S. A. (2008). *Screening for Booroola (FecB) and Galway (FecXG) mutations in Indian sheep*. Small Ruminant Research, 80(1-3), 57-61. DOI: 10.1016/j.smallrumres.2008.09.007.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Kutlu, M. A., Çelik, Ş., & Kaygusuzoğlu, E. (2022). *Bingöl ilinde halk elinde yetiştirilen Akkaraman ırkı kuzuların büyüme performansının incelenmesi*. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi, 25(6), 1502-1509. DOI: 10.18016/ksutarimdog.vi.1011360.
- Lassoued, N., Benkhlil, Z., Woloszyn, F., Rejeb, A., Aouina, M., Rekik, M., ... & Bedhiaf-Romdhani, S. (2017). *FecX Bar a Novel BMP15 mutation responsible for prolificacy and female sterility in Tunisian Barbarine Sheep*. BMC genetics, 18, 1-10. DOI: 10.1186/s12863-017-0510-x.
- Liu, Q., Pan, Z., Wang, X., Hu, W., Di, R., Yao, Y., & Chu, M. (2015). *Progress on major genes for high fecundity in ewes*. Frontiers of Agricultural Science and Engineering, 1(4), 282-290. DOI: 10.15302/J-FASE-2014042.
- Li, D., Zhang, L., Wang, Y., Chen, X., Li, F., Yang, L., ... & Song, Y. (2023). *FecB mutation and litter size are associated with a 90-base pair deletion in BMPR-IB in East Friesian and Hu crossbred sheep*. Animal Biotechnology, 34(4), 1314-1323. DOI: 10.1080/10495398.2021.2020805.
- Li, H., Xu, H., Akhatayeva, Z., Liu, H., Lin, C., Han, X., ... & Pan, C. (2021). *Novel indel variations of the sheep FecB gene and their effects on litter size*. Gene, 767, 145176. DOI: 10.1016/j.gene.2020.145176.
- Li, Y. X., Zhang, J., Qian, Y., Meng, C. H., Wang, H. L., Tao, X. J., ... & Li, Q. F. (2015). *Molecular characterization, expression, polymorphism of NR5A2 and its relationship with litter size in Hu sheep*. Genet Mol Res, 14(4), 12765-12775. DOI: [10.4238/2015](https://doi.org/10.4238/2015).
- Li, Y., Zhang, J., Qian, Y., Meng, C., Wang, H., Zhong, J., & Cao, S. (2019). *AT> G mutation in the NR5A2 gene is associated with litter size in Hu sheep through upregulation of promoter activity by transcription factor MTF-1*. Frontiers in Genetics, 10, 1011. DOI: 10.3389/fgene.2019.01011.
- Mahdavi, M., Nanekarani, S., & Hosseini, S. D. (2014). *Mutation in BMPR-IB gene is associated with litter size in Iranian Kalehkoohi sheep*. Animal reproduction science, 147(3-4), 93-98. DOI: 10.1016/j.anireprosci.2014.04.003.
- Mahmoud, K. G. M., & Nawito, M. F. (2012). *Molecular markers for fertility in farm animals*. Iranian Journal of Applied Animal Science, 2(3), 203-222.
- Marković, M., Radonjić, D., Zorc, M., Đokić, M., & Marković, B. (2022). *Genetic Diversity of Montenegrin Local Sheep Breeds Based on Microsatellite Markers*. Animals, 12(21), 3029. DOI: 10.3390/ani12213029.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Maskur, M., Tapaul, R., & Kasip, L. (2016). *Genetic polymorphism of bone morphogenetic protein receptor 1B (BMPR-1B) gene and its association with litter size in Indonesian fat-tailed sheep*. African Journal of Biotechnology, 15(25), 1315-1319. DOI: 10.5897/AJB2015.15093.
- Mayer, H. K., Lenz, K., & Halbauer, E. M. (2021). “A2 milk” authentication using isoelectric focusing and different PCR techniques. Food Research International, 147, 110523. DOI: 10.1016/j.foodres.2021.110523.
- Mazinani, M., & Rude, B. (2020). *Population, world production and quality of sheep and goat products*. Am. J. Anim. Vet. Sci, 15(4), 291-299. DOI: 10.3844/ajavsp.2020.291.299.
- Medrano, R. F. V., & De Oliveira, C. A. (2014). *Guidelines for the tetra-primer ARMS-PCR technique development*. Molecular biotechnology, 56, 599-608. DOI: 10.1007/s12033-014-9734-4.
- Miller, S., Dykes, D., Plesky, H.A. (1988). *Simple Salting out Procedure for Extracting DNA from Human Cells*. Nucleic Acids Research, 16: 1215.
- Mishra, C. (2014). *Genetic basis of prolificacy in sheep*. Int J Livest Res, 4(1), 46-57.
- Mo, F., Sun, W., Zhang, L., Zhang, X., La, Y., Xiao, F., ... & Jin, J. (2023). *Polymorphisms in BMPR-1B gene affect litter size in Chinese indigenous sheep breed*. Animal Biotechnology, 34(3), 538-545. DOI: 10.1080/10495398.2021.1980400.
- Mohamed, S. E. I., Ahmed, R. M., Jawasreh, K. I., Salih, M. A. M., Abdelhalim, D. M., Abdelgadir, A. W., ... & Ahmed, M. K. A. (2020). *Genetic polymorphisms of fecundity genes in Watish Sudanese desert sheep*. Veterinary world, 13(4), 614. DOI: 10.14202/vetworld.2020.614-621.
- Muneeb, M., & Faiz, M. (2014). *An overview of major genes affecting prolificacy in sheep and related mechanisms*. Iranian Journal of Applied Animal Science, 2(4), 1. DOI:
- Nagdy, H., Mahmoud, K. G. M., Kandiel, M. M., Helmy, N. A., Ibrahim, S. S., Nawito, M. F., & Othman, O. E. (2018). *PCR-RFLP of bone morphogenetic protein 15 (BMP15/FecX) gene as a candidate for prolificacy in sheep*. International journal of veterinary science and medicine, 6(sup1), S68-S72. DOI: 10.1016/j.ijvsm.2018.01.001.
- Nenova, R., Dimitrova, I., Stancheva, N., Bozhilova-Sakova, M., Tzonev, T., & Minkova, T. (2023). *Genetic markers associated to improving prolificacy of sheep. A review*. Bulgarian Journal of Agricultural Science, 29(2).
- Notter, D. R. (2008). *Genetic aspects of reproduction in sheep*. Reproduction in Domestic Animals, 43, 122-128. DOI: 10.1111/j.1439-0531.2008.01151.x.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- NOYAN, M., & CEYHAN, A. (2021). *Yarı Entansif Kosullarda Yetiştirilen Akkaraman Irkı Kuzuların Büyüme Performansı*. Journal of Agriculture, Food, Environment and Animal Sciences, 2(2), 147-162.
- Oğuz, C., Özer, H., Yılmaz, R. (2019). *Koyunculuk İşletmelerinin Yapısal Özelliklerinin Belirlenmesi: Konya İli Örneği*. Cataloging-In-Publication Data, 199.
- Oral, H. H., Kuz, H. İ., Dayanıklı, C., Önalı, A. T., Alarslan, E., Duman, E. (2021). *Ekstansif Küçükbaş Hayvancılık İşletmelerinin Yapısal Özellikleri ve Organik Hayvancılığa Geçiş Olanakları: Balıkesir İli Örneği*", Türkiye. Türkiye Tarımsal Araştırmalar Dergisi, 8(3), 320-330. DOI: 10.19159/tutad.996602.
- Ozmen, O., Seker, I., Ertugrul, O., Ozkan, E., & Tekin, N. (2011). *Prolactin receptor (PRLR) gene polymorphism in Chios, White Karaman and Awassi sheep breeds*. Archiv für Tierzucht, 54, 381–390. DOI: 10.5194/aab-54-381-2011.
- Pedrosa, S., Uzun, M., Arranz, J. J., Gutiérrez-Gil, B., San Primitivo, F., & Bayón, Y. (2005). *Evidence of three maternal lineages in Near Eastern sheep supporting multiple domestication events*. Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences, 272(1577), 2211-2217. DOI: 10.1098/rspb.2005.3204.
- Polley, S., De, S., Brahma, B., Mukherjee, A., Pv, V., Batabyal, S., ... & Goswami, S. L. (2010). *Polymorphism of BMPR-IB, BMP15 and GDF9 fecundity genes in prolific Garole sheep*. Tropical animal health and production, 42, 985-993. DOI: 10.1007/s11250-009-9518-1.
- Rasali, D. P., Shrestha, J. N. B., & Crow, G. H. (2006). *Development of composite sheep breeds in the world: A review*. Canadian Journal of Animal Science, 86(1), 1-24.
- Rasmussen, R. S., & Morrissey, M. T. (2008). *DNA-based methods for the identification of commercial fish and seafood species*. Comprehensive reviews in food science and food safety, 7(3), 280-295. DOI: 10.1111/j.1541-4337.2008.00046.x.
- Robinson, J. J., Ashworth, C. J., Rooke, J. A., Mitchell, L. M., & McEvoy, T. G. (2006). *Nutrition and fertility in ruminant livestock*. Animal Feed Science and Technology, 126(3-4), 259-276. DOI: 10.1016/j.anifeedsci.2005.08.006.
- Sahu, A. R., Jeichitra, V., Rajendran, R., & Raja, A. (2020). *Association analysis of novel SNPs in exon 10 of the growth hormone receptor gene with growth traits in Indian sheep*. Veterinarski arhiv, 90(6), 593-602. DOI: 10.24099/vet.arhiv.0600.
- Sajjanar, B., Deb, R., Singh, U., Kumar, S., Brahmane, M., Nirmale, A., ... & Minhas, P. S. (2015). *Identification of SNP in HSP90AB1 and its association with the relative thermotolerance and milk production traits in Indian dairy cattle*. Animal biotechnology, 26(1), 45-50. DOI: 10.1080/10495398.2014.882846.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Saleh, A. A., Hammoud, M. H., Dabour, N. A., Hafez, E. E., & Sharaby, M. A. (2020). *BMPR-1B, BMP-15 and GDF-9 genes structure and their relationship with litter size in six sheep breeds reared in Egypt*. BMC research notes, 13, 1-7. DOI: 10.1186/s13104-020-05047-9.
- Setchell, B. P. (1992). *Domestication and reproduction*. Animal Reproduction Science, 28(1-4), 195-202. DOI: 10.1016/0378-4320(92)90106-N.
- TAGEM, Tarım ve Orman Bakanlığı, Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü. (2009). Türkiye Evcil Hayvanlar Genetik Kaynakları Tanıtım Katoloğu. ss:100, 65.s. Erişim adresi: <https://www.tarimorman.gov.tr/TAGEM/Belgeler/yayin/Katalog%20T%C3%BCrk%C3%A7e.pdf> (Erişim tarihi:07.04.2025)
- Tao, L., He, X. Y., Wang, F. Y., Pan, L. X., Wang, X. Y., Gan, S. Q., ... & Chu, M. X. (2021). *Identification of genes associated with litter size combining genomic approaches in Luzhong mutton sheep*. Animal Genetics, 52(4), 545-549. DOI: 10.1111/age.13078.
- Tapio, M., Ozerov, M., Tapio, I., Toro, M. A., Marzanov, N., Çinkulov, M., ... & Kantanen, J. (2010). *Microsatellite-based genetic diversity and population structure of domestic sheep in northern Eurasia*. BMC genetics, 11, 1-11.
- Tsartsianidou, V., Pavlidis, A., Tosiou, E., Arsenos, G., Banos, G., & Triantafyllidis, A. (2023). *Novel genomic markers and genes related to reproduction in prolific Chios dairy sheep: a genome-wide association study*. Animal, 17(3), 100723. DOI: 10.1016/j.animal.2023.100723.
- TUIK, (2023a). Animal Production Statistics. *Number of Sheep and Goat*. Turkish Statistical Institute, <https://data.tuik.gov.tr/Kategori/GetKategori?p=tarim-111&dil=1>, Son Erişim Tarihi: 12.12.20.
- TUIK, (2023b). Turkish Statistical Institute, Animal Production Statistics, Quantity of Milk Production 2020 and Afterwards, <https://data.tuik.gov.tr/Kategori/GetKategori?p=tarim-111&dil=1>, Son Erişim Tarihi: 12.12.2024.
- TUIK, (2023c). Turkish Statistical Institute, Animal Production Statistics, Number of Slaughtered Animals and the Quantity of Meat Production, <https://data.tuik.gov.tr/Kategori/GetKategori?p=tarim-111&dil=1>, Son Erişim Tarihi: 12.12.2024.
- Wang, F., Chu, M., Pan, L., Wang, X., He, X., Zhang, R., ... & Di, R. (2021). *Polymorphism detection of GDF9 gene and its association with litter size in Luzhong mutton sheep (Ovis aries)*. Animals, 11(2), 571. DOI: 10.3390/ani11020571.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Wang, J., Liu, Y., Guo, S., Di, R., Wang, X., He, X., & Chu, M. (2024). *Polymorphisms of the BMPR-IB, BMP15 and GDF9 fecundity genes in four Chinese sheep breeds*. Archives Animal Breeding, 67(1), 51-60. DOI: 10.5194/aab-67-51-2024.
- Wang, W., Liu, S., Li, F., Pan, X., Li, C., Zhang, X., ... & Li, T. (2015). *Polymorphisms of the ovine BMPR-IB, BMP-15 and FSHR and their associations with litter size in two Chinese indigenous sheep breeds*. International journal of molecular sciences, 16(5), 11385-11397. DOI: 10.3390/ijms160511385.
- Yağcı, S., & Baş, S. Şavak. (2024). Akkaraman Koyunlarının Süt Verimi, Meme Özellikleri ve Meme Ölçüm Değerleri Arası İlişkiler. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi, 27(Ek Sayı 2 (Suppl 2)), 559-573. DOI: 10.18016/ksutarimdog.vi.1507001.
- Yeh, FC., Yang, RC., Boyle, TBJ., Ye, ZH., Mao, JX. (1997). *POPGENE, The user-friendly shareware for population genetic analysis*. Molecular Biology and Biotechnology Centre, University of Alberta, Canada.
- Yue, S., Chen, J., Duan, C., Li, X., Yang, R., Chen, M., ... & Liu, Y. (2024). *The Effect of Prolactin on Gene Expression and the Secretion of Reproductive Hormones in Ewes during the Estrus Cycle*. Animals, 14(13), 1873. DOI: 10.3390/ani14131873.
- Yurdagül, K. G., Atay S., Bilginer, Ü., Karslı, T., Demir, E. (2023). *Genetic variations in HSP90AA1 gene region in Pırlak sheep breed*. Hayvansal Üretim, 64(1), 12-16. DOI: 10.29185/hayuretim.1268591.
- Zamani, P., Akhondi, M., & Mohammadabadi, M. (2015). *Associations of inter-simple sequence repeat loci with predicted breeding values of body weight in sheep*. Small Ruminant Research, 132, 123-127. DOI: 10.1016/j.smallrumres.2015.10.018.
- Zamani, P., Rabiei, F., Hadiei, E., Abdoli, R., Ahmadi, A., & Rabiei, S. (2023). *Screening for causative mutations in ovine BMPR-IB and BMP15 genes and their homologous fragments in human*. Journal of Assisted Reproduction and Genetics, 40(8), 1973-1982. DOI: 10.1007/s10815-023-02865-1.
- Zhang, Z., Sui, Z., Zhang, J., Li, Q., Zhang, Y., Wang, C., ... & Xing, F. (2022). *Identification of Signatures of Selection for Litter Size and Pubertal Initiation in Two Sheep Populations*. Animals, 12(19), 2520. DOI: 10.3390/ani12192520.