



**SİMMENTAL VE ESMER İSVİÇRE
IRKI SIĞIRLARDA LEPTİN GENİ POLİMORFİZMİ
VE BAZI PERFORMANS ÖZELLİKLERİ
ARASINDAKİ İLİŞKİLERİ**

Tuğba ATALAY

**Yüksek Lisans Tezi
Zootekni Ana Bilim Dalı
Prof. Dr. Memiş ÖZDEMİR
2021**

(Her hakkı saklıdır)

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ZOOTEKNİ ANA BİLİM DALI

**SİMMENTAL VE ESMER İSVİÇRE IRKI SIĞIRLARDA LEPTİN GENİ
POLİMORFİZMİ VE BAZI PERFORMANS ÖZELLİKLERİ ARASINDAKİ
İLİŞKİLERİ**

(The Relationships Between Leptin Gene Polymorphism and Some Performans Traits in
Simmental and Brown Swiss Breeds)

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Tuğba ATALAY

Danışman: Prof.Dr. Memiş ÖZDEMİR

Erzurum
Nisan, 2021

KABUL VE ONAY TUTANAĞI

Tuğba ATALAY tarafından hazırlanan “**Simmental ve Esmer İsviçre Irkı Sığırlarda Leptin Geni Polimorfizmi ve Bazı Performans Özellikleri Arasındaki İlişkileri**” başlıklı çalışması 30/04/2021 tarihinde yapılan tez savunma sınavı sonucunda başarılı bulunarak jürimiz tarafından Zootekni Ana Bilim Dalı, Biyometri ve Genetik Bilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı: Prof. Dr. Vecihi AKSAKAL

Bayburt Üniversitesi

Aslı ıslak imzalıdır

Danışman: Prof. Dr. Memiş ÖZDEMİR

Atatürk Üniversitesi

Aslı ıslak imzalıdır

Jüri Üyesi: Doç.Dr. Sinan KOPUZLU

Atatürk Üniversitesi

Aslı ıslak imzalıdır

Enstitü Yönetim Kurulunun/.../.... tarih ve sayılı kararı.

Bu tezin Atatürk Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddelerinde belirtilen şartları yerine getirdiğini onaylarım.

Prof. Dr. Saltuk Buğrahan CEYHUN

Aslı ıslak imzalıdır

Enstitü Müdürü

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaklardan yapılan bildiriş, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir

ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU

Yüksek Lisans Tezi olarak Prof.Dr. Memiş ÖZDEMİR danışmanlığında sunulan “Simmental ve Esmer İsviçre Irkı Sığırlarda Leptin Geni Polimorfizmi ve Bazı Performans Özellikleri Arasındaki İlişkileri” başlıklı çalışmanın tarafımızdan bilimsel etik ilkelere uyularak yazıldığını, yararlanılan eserlerin kaynakçada gösterildiğini, Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından belirlenmiş olan Turnitin programı benzerlik oranlarının aşılmadığı ve aşağıdaki oranlarda olduğunu beyan ederiz.

Tez Bölümleri	Tezin Benzerlik Oranı (%)	Maksimum Oran (%)
Giriş	11	30
Kuramsal Temeller	28	30
Materyal ve Yöntem	13	35
Bulgular ve Tartışma	6	20
Sonuç	6	20
Tezin Geneli	17	25

Not: Yedi kelimeye kadar benzerlikler ile Başlık, Kaynakça, İçindekiler, Teşekkür, Dizin ve Ekler kısımları tarama dışı bırakılabilir. Yukarıdaki azami benzerlik oranları yanında tek bir kaynaktan olan benzerlik oranlarının %5'den büyük olmaması gerekir.

Beyan edilen bilgilerin doğru olduğunu, aksi halde doğacak hukuki sorumlulukları kabul ve beyan ederiz.

Tez Yazarı (Öğrenci)	Tez Danışmanı
Tuğba ATALAY	Prof.Dr. Memiş ÖZDEMİR
18.5.2021	18.5.2021
Aslı ıslak imzalıdır	Aslı ıslak imzalıdır

TEŞEKKÜR

Yapılan bu çalışma 2019-2020 Eğitim-Öğretim yılında Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootekni Bölümü Yüksek Lisans Tez çalışması olarak hazırlanmıştır. Yüksek lisans eğitimim süresince tarafıma göstermiş olduğu gerek anlayışlı ve sabırlı tutumu gerekse bilgi ve deneyimleri ile laboratuvar çalışmalarında sağladığı destek ve yönlendirmelerinden dolayı danışmanım Sayın Prof. Dr. Memiş ÖZDEMİR'e, kendisine her gittiğimde güler yüzü ve samimiyetiyle bana yardımcı olan Sayın Doç. Dr. Sinan KOPUZLU'ya teşekkür eder ve saygılarımı sunarım.

Hayatım boyunca sevgi ve desteklerini esirgemeyen her ümitsizliğimde beni motive eden sevgili AİLEM'e sevgi ve saygılarımı sunarım.

Laboratuvar çalışmalarında ekipman sıkıntısı yaşadığımız dönemde kendi ekipmanını kullanmama olanak sağladığı için Sayın Prof. Dr. Gürbüz KOTANCILAR'a teşekkür eder ve saygılarımı sunarım.

Yüksek lisans eğitim süresince bana her konuda yardım eden sevgili doktora öğrencisi arkadaşım Hamiye ÜNAL'a teşekkür ederim.

Tuğba Atalay

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SİMMENTAL VE ESMER İSVİÇRE IRKI SIĞIRLARDA LEPTİN GENİ POLİMORFİZMİ VE BAZI PERFORMANS ÖZELLİKLERİ ARASINDAKİ İLİŞKİLERİ

Tuğba ATALAY

Danışman: Prof. Dr. Memiş ÖZDEMİR

Amaç: Erzurum’da iki farklı özel işletmede yetiştirilen Simmental (60) ve Esmer İsviçre (62) ırkı sığırların Leptin geni *Sau3AI* polimorfizminin genotipik yapılarının incelenmesi, inceleme sonunda sığırlara ait genotip ve allel frekanslarının belirlenmesi ve bu genotiplerin bazı performans özellikleriyle ilişkilendirmesi hedeflenmiştir.

Yöntem: Çalışmada Simmental ve Esmer İsviçre ırkı sığırlardan elde edilen kan örneklerinden izole edilmiş DNA’larda, leptin/*Sau3AI* gen polimorfizmleri *PCR-RFLP* yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Elde edilen *PCR-RFLP* ürünleri (UV) ultraviyole ışınları altında elektroforezde yürütülerek sonuçlar bantlar halinde görüntülenmiştir. Çalışmada genotip, allel frekans dağılımları ve popülasyonun Hardy-Weinberg genetik denge testleri değerlendirilmiş, belirlenen performans özellikleri ile leptin genotiplerinin arasındaki ilişkiler *SPSS* istatistik programı kullanılarak Genel Linear Modele göre hesaplanmıştır.

Bulgular: Popülasyondaki leptin/*Sau3AI* genine ait genotip frekansları sırasıyla Esmer İsviçre ırkı sığırlarda %88,7 AA, %9,7 AB ve %1,6 BB genotipli sığır belirlenirken Simmental ırkta ise %78,3 AA, %16,7 AB ve %5,0 BB genotipli sığır belirlenmiştir. Ayrıca her iki ırkta da AA genotip frekansları popülasyon içerisinde en yüksek, BB genotiplilerin ise en düşük frekansa sahip olduğu gözlemlenmiştir. Popülasyon allel frekansları bakımından incelendiğinde Simmental ırkı sığırlarda A allelinin 0,87 B allelinin 0,13, Esmer İsviçrelerde ise A allelinin 0,94 B allelinin 0,06 olduğu belirlenmiştir. Hardy-Weinberg genetik denge testine göre çalışılan popülasyonda Esmer İsviçre ırkta genotip frekansları dağılımının dengede olduğu, Simmental ırkta ise dengede olmadığı gözlenmiştir. Simmental ırkta yapılan analiz sonucunda genel ortalamalar gerçek süt veriminde 5422,4±1901,74 kg; 305 günlük süt veriminde 5626,6±1475,85 kg; laktasyon süresinde 298,7±84,80 gün; günlük süt veriminde 18,5±4,84 kg olarak saptanmıştır. İstatistik analiz sonuçlarına göre laktasyon sırasının gerçek süt verimi, laktasyon süresi ve günlük süt verimine genotipin etkisi önemli ($P<0,05$) olarak bulunmuştur. Esmer İsviçre ırkta yapılan analiz sonucunda genel ortalamalar sırasıyla gerçek süt veriminde 3917,8±1584,38 kg; 305-günlük süt veriminde 4614,3±982,62 kg; laktasyon süresinde 254,9±99,88 gün; günlük süt veriminde 16,0±3,82 kg olarak saptanmıştır. İstatistik analiz sonuçlarına göre incelenen performans özellikleri üzerine genotipin etkisi önemsiz ($P>0,05$) bulunmuştur.

Sonuç Araştırma sonucunda *LEP* geni *Sau3AI* polimorfizmini belirlemek adına Simmental ve Esmer İsviçre ırkı sığırlardan ele edilen genomik DNA örneklerinden *PCR-RFLP* yöntemi kullanılarak her bir sığırın genotip ve allel frekansları belirlenmiştir. Yapılan ilişkilendirme analizleri sonucunda *LEP* geni *Sau3AI* genotipinin süt verim ve performans özellikleri üzerine etkisi önemsiz olarak bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: Leptin, *Sau3AI*, Polimorfizm, Esmer İsviçre, Simmental, Performans Özellikleri, *PCR-RFLP*

Nisan 2021, 47 sayfa

ABSTRACT

MASTER THESIS

THE RELATIONSHIPS BETWEEN LEPTIN GENE POLYMORPHISM AND SOME PERFORMANCE TRAITS IN SIMMENTAL AND BROWN SWISS CATTLE

Tuğba ATALAY

Supervisor: Associate Prof. Dr. Memiş ÖZDEMİR

Aim: It was aimed to investigate the genotypic structures of the Leptin gene Sau3AI polymorphism in Simmental (60) and Brown Swiss (62) breed cattle raised in the province of Erzurum in a private enterprise, to determine the genotype and allele frequencies of the cattle and to associate these genotypes with some performance characteristics.

Method: In the study, leptin/Sau3AI gene polymorphisms in DNA isolated from blood samples obtained from Simmental and Brown Swiss cattle were determined using PCR-RFLP method. The obtained PCR-RFLP products were run in electrophoresis under ultraviolet rays (UV) and the results were viewed in bands. In the study, genotype, allele frequency distributions and Hardy-Weinberg genetic balance tests of the population were evaluated, and the relationships between the determined performance characteristics and leptin genotypes were calculated according to the General Linear Model using the SPSS statistics program.

Results: As genotype frequencies of leptin/Sau3AI gene in the population, in Brown Swiss cattle, 88,7% with genotype AA, 9,7% with AB and 1,6% with BB genotypes were determined, Simmental breed cattle, 78,3% with genotype AA, 16,7% with AB and with 5,0% BB genotypes were determined. AA genotype frequencies were the highest in the population, and those with BB genotypes had the lowest frequency in both breeds. When the population was examined in terms of allele frequencies, the A allele was 0,87 and B allele was 0,13 in the Simmental cattle, and the A allele was 0,94 and B allele was 0,06 in the Brown Swiss breed. According to Hardy-Weinberg genetic balance test, the distribution of genotype frequencies was balanced ($P > 0,05$) in the Brown Swiss breed but not in the Simmental breed in the population studied. As a result of the analysis performed in the Simmental breed, the general averages were found to be $5422,4 \pm 1901,74$ kg for actual milk yield, $5626,6 \pm 1475,85$ kg for 305-day milk yield, $298,7 \pm 84,80$ days for lactation duration and $18,5 \pm 4,84$ kg for daily milk yield. According to the statistical analysis results, the effect of genotype on the actual milk yield during lactation, lactation duration and daily milk yield was significant. As a result of the analysis made in the Brown Swiss breed, the general averages were $3917,8 \pm 1584,38$ kg for actual milk yield, $4614,3 \pm 982,62$ kg for 305 days milk yield, $254,9 \pm 99,88$ days for lactation duration and $16,0 \pm 3,82$ kg for daily milk yield. According to the statistical analysis results, the effect of genotype on performance characteristics was insignificant.

Conclusion: As a result of the research, genotype and allele frequencies of each cattle were determined by using the PCR-RFLP method to determine the LEP gene Sau3AI polymorphism in the blood collected from Simmental and Brown Swiss breed cattle. As a result of the association made, the effect of the LEP gene Sau3AI genotype on the milk yield and performance characteristics of the was found to be insignificant in Simmental and Brown Swiss cattle.

Anahtar Kelimeler: Leptin, *Sau3AI*, polymorphism, performance characteristics Simmental, Brown Swiss, *PCR-RFLP*

April 2021, 47 pages

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY TUTANAĞI.....	i
ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
TABLolar DİZİNİ.....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	ix
GİRİŞ.....	1
KURUMSAL TEMELLER	7
MATERYAL VE YÖNTEM	15
MATERYAL.....	15
YÖNTEM.....	16
DNA'nın Kalitatif Olarak Gözlenmesi	16
DNA'nın Kantitatif Olarak Gözlenmesi	16
PCR (Polimeraz zincir reaksiyonu) işlemi	16
PCR Ürünlerinin Gözlenmesi.....	17
PCR-RFLP İşlemi	18
Örneklerin Yüklenmesi ve Yürütme İşlemi	18
İstatiksel Analizler.....	19
Genotip Frekanslarının Hesaplanması	19
Popülasyonların Genetik Denge Analizi	20
Süt Verim Özelliklerinin Analizi	21
DNA'nın Kantitatif Olarak Gözlenmesi	22
PCR Sonuçlarının Gözlenmesi.....	22
PCR-RFLP Sonuçları	23
Genetik Denge Testi.....	23
Bazı Performans Özelliklerine Ait Varyans Analiz Sonuçları.....	24
Gerçek Süt Verimi.....	25
305-gün Süt Verimi.....	26
Günlük Süt Verimi	27
Laktasyon süresi.....	27
SONUÇ	28
KAYNAKÇA.....	31
ÖZGEÇMİŞ	35

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Türkiye’de 2010-2020 yılları arası hayvan varlığı ve değişimi (Anonim 2020b).....	2
Tablo 2. Türkiye sığır varlığı 2010-2019 (Baş) (Anonim, 2019)	3
Tablo 3. Leptin genine ait primer dizilimi	17
Tablo 4. Leptin gen bölgesi için PCR programı	17
Tablo 5. Allellerin ayrımı için kullanılan reaksiyonun bileşenleri	18
Tablo 6. Restriksiyon enzimi, tanıma bölgesi ve beklenen bant uzunluğu.....	18
Tablo 7. NanoDrop’da okunan bazı DNA’ların kantitatif sonuçları (260-280 ng/μl).....	22
Tablo 8: Irklara ait Leptin geni Genotip ve Allel Gen Frekansları	23
Tablo 9. Irklara ait LEP genotip frekansları ve Hard-Weinberg genetik denge testi sonuçları	24
Tablo 10. Esmer İsviçre ve Simmental ırklarının bazı performans özelliklerine ait Varyans analiz sonuçları	25

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Simmental Sığırı (Anonim 2020c).....	3
Şekil 2. Esmer İsviçre sığırı (Anonim 2020c).....	4
Şekil 3. Leptin geninin yapısı (Taniguchi et al., 2002)	8
Şekil 4. PCR ürünlerinin agaroz jel görünümü (M: markör 1000 bç'den 100 bç'e; leptin PCR ürünü: 495 bç).....	22
Şekil 5. Leptin geni polimorfizmine ait PCR-RFLP jeli görüntüsü	23



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AFLP	: Çoğaltılmış Fragman Uzunluk Polimorfizmi
A	: Adenin
bç	: Baz çifti
C	: Sitozin
°C	: Santigrat Derece
dk	: Dakika
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
dNTP	: Deoksinukleosid Trifosfat
EDTA	: Ethylene Diamine Tetra Acetic Acid (Etilendiamin Tetra Asetik Asit)
EtBr	: Ethydium Bromide (Etidyum Bromid)
g	: Gram
G	: Guanin
He	: Expected Heterozygosity (Beklenen Heterozigotluk)
H-E	: Hardy-WeinbergEquilibrium (Hardy-Weinberg Dengesi)
QLT	: Kantitatif karakter lokusu
Ho	: Observed Heterozygosity (Gözlenen Heterozigotluk)
IU	: International Unit (Uluslararası Birim)
KDa	: Kilodalton
Kg	: Kilogram
LEP	: Leptin
m	: Metre
M	: Molar
MAS	: Marker Asisted Selection
ml	: Mililitre
mM	: Milimolar
PCR	: Polymerase Chain Reaction (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)

pH	: Power of Hydrogen (Hidrojenin Gücü)
QTL	: Kantitatif karakter lokusu
RAPD	: Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA
RE	: Restriction Endonuclease (Restriksiyon Endonükleaz)
RFLP	: Restriction fragment lenght polymorphism (Restriksiyon parça uzunluk polimorfizm)
rpm	: Rotor Per Minute (Bir Dakikadaki Rotor Devir Sayısı)
SSR	: Mikrosatelitler (Basit Tekrar Dizileri)
TBE	: Tris Borik asit EDTA
T	: Timin
UV	: Ultra violet (Ultra Viyole)
V	: Volt
µl	: Mikrolitre
<	: küçüktür
>	: büyüktür
AB	: Avrupa Birliği
sn	: Saniye

GİRİŞ

Dünya nüfusu giderek artmaktadır. 1970 yılında 3,6 milyar olan dünya nüfusu 2019 yılına gelindiğinde %108,3 artarak 7,7 milyara yükselmiştir. Ülkemizde ise 1970-2019 yılları arasında nüfus %135 aratarak 35 milyondan 82 milyona ulaşmıştır (Anonim, 2020a). Bu nüfus artışına bağlı olarak besin maddesi ihtiyacını karşılamak giderek zorlaşmaktadır. Gıda temel bir insan ihtiyacı olmasının yanı sıra içermiş olduğu makro ve mikro bileşenlerden dolayı insan fonksiyonlarının gerçekleştirilmesinde önemli role sahiptir (Tamburino et al., 2020).

Nüfus artışı birçok problemin oluşmasına neden olmaktadır. Özellikle tarım arazilerinin farklı amaçlar için kullanılması ve su kaynaklarının azalmasıyla insanoğlu için gerekli besin öğelerinin üretimini ve temini zorlaşmaktadır (Anonim, 1980).

Nüfus artışına paralel olarak artan gıda maddesi ihtiyacının karşılanması için hayvansal ve bitkisel kaynaklı ürünlerin üretiminin artırılması gerekmektedir. Ülkelerin gelişmişlik düzey göstergelerinden biri olarak ifade edilen hayvansal kaynaklı protein tüketimi ülkemizde de istenilen seviyede değildir. Bir insanın günlük protein ihtiyacının %35-40'nın hayvansal kaynaklı proteinlerden temin edilmesi gerektiği belirtilmektedir. Özellikle içermiş oldukları esansiyel aminoasit içeriği ve biyoyararlılığının yüksek olması hayvansal kaynaklı proteinlerin önemini artırmaktadır (Yılmaz ve Yılmaz, 2012).

Hayvansal kaynaklı proteinin yeterli düzeyde karşılanması hayvancılık sektörünün birçok yönden gelişmesiyle mümkün olmaktadır. Toplumların hayvansal kaynaklı protein ihtiyacını karşılamada sığır varlığı önemli bir yere sahiptir. Özellikle tarım ve hayvancılık alanında gelişmiş ülkelerde, et ve süt bakımından daha verimli olan sığır yetiştiriciliği tercih edilmektedir. Zira süt üretiminin büyük bir kısmı (%93) sığırlardan sağlanırken bu oran ülkeden ülkeye değişmektedir (Hodoğlugil, 1996; Kopuzlu, 2003; Ünal, 2020).

Türkiye’de 2010-2020 yılları arasında sığır, manda, koyun ve keçi sayılarında dikkati çeken düzeyde bir artış olduğu görülmektedir (Tablo 1). En büyük artış mandada (%117,4) gerçekleşmişken, keçide artış %78,1, koyunda %61,4, süt ve kırmızı et üretimine katkısı en fazla olan sığırdan ise artış (%55,6) diğerleri kadar yüksek gerçekleşmemiştir.

Tablo 1. Türkiye’de 2010-2020 yılları arası hayvan varlığı ve değişimi (Anonim 2020b)

Büyükbaş ve Küçükbaş Hayvan Sayıları				
Yıl	Sığır	Manda	Koyun	Keçi
2010	11 369 800	84 726	23 089 691	6 293 233
2011	12 386 337	97 632	25 031 565	7 277 953
2012	13 914 912	107 435	27 425 233	8 357 286
2013	14 415 257	117 591	29 284 247	9 225 548
2014	14 223 109	122 114	31 140 244	10 344 936
2015	13 994 071	133 766	31 507 934	10 416 166
2016	14 080 155	142 073	30 983 933	10 345 299
2017	15 943 586	161 439	33 677 636	10 634 672
2018	17 042 506	178 397	35 194 972	10 922 427
2019	17 688 139	184 192	37 276 050	11 205 429
2010-2019 Değişim (%)	55,6	117,4	61,4	78,1

17.688.139 baş sığır varlığı ile Türkiye, AB ülkeleri arasında önemli bir yere sahiptir (Anonim, 2020b). Türkiye’nin 2010 yılında toplam 11.369.800 baş olan sığır varlığının %40’ı kültür ırkı, %41’ü melez ırkı, %19’nuda de yerli ırklar oluşturur iken 2019 yılında toplam 18 milyon baş sığır varlığının %48’ini kültür ırkı, %43’ünü melez ırkı ve %9’unu yerli ırk oluşturmaktadır. Diğer bir ifadeyle Türkiye de 10 sığır ırkından yaklaşık 5 tanesi kültür, 4 tanesi kültür melezi ve 1 tanesi yerli ırklardan oluşmaktadır (Tablo 2).

Türkiye’de sığır yetiştiriciliği 1980’li yıllara kadar aile işletmeciliği şeklinde yürütülürken, tarımsal teknolojinin hızla gelişmesi ve hayvansal ürünlere olan talebin artmasıyla birlikte 1980’den itibaren ekonomik büyüklüğe sahip işletmeler kurulmaya başlamıştır. Son yıllarda devlet tarafından verilen desteklemeler sonucu büyük kapasiteli modern sığırcılık işletme sayıları hızla artmıştır (Anonim, 2019). Ülkemizde yetiştirilen kültür ırkı sığırların önemli bir bölümünü sütçü özelliği ile ön plana çıkan Siyah-Alaca ırkı oluştururken onu sırasıyla Simmental ve Esmer İsviçre ırkları takip etmektedir.

Tablo 2. Türkiye sığır varlığı 2010-2019 (Baş) (Anonim, 2019)

Yıl	Kültür	Kültür melezi	Yerli
2010	4 197 890	4 707 188	2 464 722
2011	4 836 547	5 120 621	2 429 169
2012	5 679 484	5 776 028	2 459 400
2013	5 954 333	6 112 437	2 348 487
2014	6 178 757	6 060 937	1 983 415
2015	6 385 343	5 733 803	1 874 925
2016	6 588 527	5 758 336	1 733 292
2017	7 804 588	6 536 073	1 602 925
2018	8 419 204	7 030 297	1 593 005
2019	8 559 855	7 554 625	1 573 659

Simmental ırkı dünya da yaygın olarak yetiştiriciliği yapılan hayvan ırklarından bir tanesidir. Özellikle süt ve et verimin yüksek olması ve hastalıklara karşı dirençli olmasından dolayı birçok ülkede popülütterisi giderek artmaktadır. Birçok ülkede farklı isimlere sahip olan Simmental adını İsviçre'nin Simme vadisinden almaktadır (Harmandar, 2019). 1925 yılında ilk olarak Macaristan'dan ithal edilen Simmental ırkı, saf yetiştirme ve melezme çalışmalarıyla birlikte önemi fazlasıyla artmıştır (Akbulut, 1998). Ayrıca erkek ve dişileri boynuzlu, annelik içgüdüsü yüksek ve uzun ömürlü bir ırk olarak tanımlanmaktadır (Koç, 2016; Harmandar, 2019). Canlı ağırlıkları erkeklerde 1100-1400 kg, dişilerde 600-900 kg arasında değişmekte ve yüksek döl verimi özelliği göstermektedir (Anonim, 2020c).



Şekil 1. Simmental Sığırı (Anonim 2020c)

Dünyanın en eski ırklarından biri olan Esmer İsviçrei (Brown swiss), özünde bir dağ sığırı olmasına rağmen farklı ortamlarda popülasyonlara sahiptir. Nitekim İsviçre'nin farklı bölgelerinde yetişmesine rağmen Peru, İtalya ve Meksika gibi birçok ülkede bulunmaktadır. İlk

olarak ülkemize 1947 yılında getirilen Esmer İsviçre, ırkında renk değişik tonda olmak üzere genellikle Esmer tonlardadır. Kulak içindeki tüyler çoğunlukla uzun ve beyaz, burun ve kuyruk ucu, boynuz uçları siyah olmakla beraber güçlü, kaslı, iri yapıya sahiptirler (Çakıllı, 2007; Harmandar, 2019). Uysal mizaçlı hem entansif hem de ekstansif yetiştiriciliğe uygundur. Erkeklerde canlı ağırlık 600-700 kg ve süt verimi 3500-4000 kg arasında değişmektedir (Anonim, 2020c).



Şekil 2. Esmer İsviçre sığırı (Anonim 2020c)

Hayvansal üretim faaliyetlerinden biri olan süt sığircılığı insan tarafından tüketilmesi mümkün olmayan yem kaynaklarını kullanarak çok değerli olan et ve süt gibi hayvansal ürünleri sağlamasının yanı sıra birçok sektöre (Gübre ve Deri, Yem sanayi vb.,) hammadde sağlaması bakımından en önemli tarımsal faaliyetlerden birisini oluşturmaktadır (Aytekin, 2011). Hayvansal kaynaklı gıda maddelerinin en başında ise süt ve süt ürünleri gelmektedir. 2019 TÜİK verilerine göre ülkemizde toplam 22.960.379 ton süt üretilmektedir. Mevcut sütün 20. 782.374 tonu sığırlardan, 1.521.455 tonu koyunlardan, 577.209 tonu keçilerden ve 70.341 tonu mandalardan elde edilmektedir (Anonim, 2020b).

Kompleks bir yapıya sahip olan süt, bileşim değerleri farklılık göstermekle birlikte genel olarak su, protein, laktoz, yağ, mineraller, vitaminler, enzimler ve diğer iz elementlerden meydana gelmektedir. Kalsiyum, fosfor ve B grubu vitaminleri açısından zengin olan süt, esansiyel amino asit ve protein bakımından insan beslenmesinde önemli bir yere sahiptir (Anonim, 2013). Sütün bileşimi birçok faktöre bağlı olarak değişmektedir. Bunlar;

- ✓ Hayvan türü ve ırkı,
- ✓ Laktasyon dönemi,
- ✓ Hayvanın sağlık-hastalık durumu,

- ✓ Hayvanın beslenmesi,
- ✓ İklim koşulları,
- ✓ Sağım zamanı ve şekli gelmektedir (Anonim, 2013).

Sütün ana bileşenleri su ve kuru maddedir. Sütün yaklaşık olarak %88,32'sini su oluştururken kuru madde; %4,52 karbonhidrat, %3,22 protein, %3,25 yağ, %0,69 kül içermektedir (USDA-ARS, 2004).

İnsanoğlunun hayvansal kaynaklı besin madde ihtiyacını karşılamada önemli bir yere sahip olan hayvancılık sektörü teknolojinin ve diğer faktörlerin etkisiyle birlikte hızlı bir gelişim göstermektedir. Gerçekleşen teknolojik gelişmelere paralel olarak, nüfus artışından dolayı hayvansal ürünlere olan talebi karşılamak için yeni ıslah yöntemleri ne başvurulmaktadır. Hayvanların herhangi bir özellik bakımından fenotipik değerine iki unsur etkilidir. Bunlardan biri genotip diğeri de çevredir. Herhangi bir verim bakımından fenotipik değeri yükseltmek bu iki öğenin etkileri toplamını artırmakla eş anlamlıdır. Bu öğelerden genotipin iyileştirilmesi oldukça zor ve uzun süreli çalışmaları gerektirir. Fakat çevre faktörlerini iyileştirme çabalarına göre daha az masraflı ve sonuçları da kalıcıdır (Akman, 2016).

Hayvanlarda üstün fenotipi oluşturmak, karakteri etkileyen iyi ve verimli genleri tespit edip genotipte istenen genleri bir araya getirerek ve genler arası etkileşimden faydalanmakla mümkündür. Laboratuvar metot ve tekniklerinin gelişmesine paralel olarak değişen melezleme ve seleksiyon ıslah yöntemleri genotip iyileştirme çalışmalarında ilerleme sağlamıştır (Ünal, 2020).

Yapılan çalışmalarda polimorfizmler ve mutasyonlar tespit edilmiştir. Polimorfizm, popülasyonlar arası DNA dizisindeki farklılıklar olarak tanımlanmaktadır. Allellerin genel popülasyondaki kromozomların %1'inden fazlasında bulunması haline "genetik polimorfizm", %1'den küçük olması haline ise "genetik mutasyon" olarak tanımlanmaktadır. Polimorfizmi mutasyondan ayıran en temel özellik görülme sıklığıdır. Polimorfizmler mutasyonlara nazaran çok daha fazla oranda görülmektedir (Sönmez, 2017).

Mutasyon sonucu DNA'da meydana gelen ters dönmeler, yer değiştirmeler ve eksilmeler aynı ortamdaki hayvanlarda fenotipik varyasyonu etkilemektedir. Mutasyona ilave olarak göç, şansa bağlı çiftleşme ve seleksiyon gibi nedenler popülasyonda mevcut olan allel ve genotip frekansları etkilemektedirler. Popülasyondaki mevcut genotipik varyasyonları belirlemek için DNA üzerinde moleküler biyoloji ve moleküler genetik alanlarında belirli

alışmalar yürütülmüştür. Yapılan DNA analizleri yaşamın erken dönemlerinde cinsiyet farkı gözetmeksizin ekonomik özelliklerinin değerlendirilmesinde önemli bir yer almıştır. Bu anlamda yapılan çalışmalarda markör sistemleri aracılığıyla elde edilen varyantlar arasında genetik bir bağlantının olduğu tespit edilmiş ve bu alanda markre dayalı seleksiyon (MAS) alışmaları başlatılmıştır (Aytekin, 2011). MAS teknolojiyle ileri üretim teknolojisinin birlikteliğinde sığırılarda generasyon aralığının 69 aydan 45 aya kadar kısaldığını bununla birlikte genetik ilerlemenin artacağını belirtmişlerdir (Meuwissen and Goddard, 1996).

Hayvancılık sektöründe hayvanların kantitatif özelliklerini belirlerken sadece fenotiplere bakarak ideal allelelere sahip genotipleri belirlemek olanaksız olmakla birlikte her zaman fenotipik değerler genotipik değerleri yansıtmamaktadır (Schnabel ve ark., 2005; Chebel et al., 2008).

Kantitatif karakterlerle ilgili QTL (Kantitatif karakter lokusu) analizinde, büyükbaş ve küçükbaş hayvanlarda ticari ve deneysel amaçlar güdülerek kantitatif karakterleri saptayan genetik yapılar belirlenmektedir. Bu alanda sığırılarda süt verimi, süt verim özellikleri, karkas ağırlığı, canlı doğum ağırlığı, döl verimi, boynuz uzunluğu ve kas hipertrofisi gibi verim özellikleri ile ilgili markör tespitleri yapılmıştır (Davis and DeNise, 1998).

Günümüzde DNA üzerinde yapılan moleküler çalışmalarda Restriksiyon Fragmentujm Uzunluk Polimorfizmi (RFLP), oğaltılmış Fragman Uzunluk Polimorfizmi (AFLP), Rastgele oğaltılmış Polimorfik DNA (RAPD) ve Mikrosatelitler (Basit Tekrar Dizileri- SSR) gibi yöntemler kullanılmaktadır (Aytekin, 2011).

RFLP yöntemi çoğunlukla PCR tabanında yapılmaktadır. Bu yöntemde hedef DNA belirlenen primerler yardımıyla çoğaltılmakta ve spesifik restriksiyon enzimleri ile DNA'nın önceden belirlenen kısımlardan kesilmesi ve sonrasında jel üzerinde yürütülerek UV ışınları altında incelenmesi esasına dayanmaktadır.

Bu alışmada, Erzurum ilinde iki farklı özel işletmede yetiştirilen Simmental ve Esmer İsviçre ırkı sığırılardan alınan kan örnekleri kullanılarak Leptin geni Sau3AI polimorfizminin genotipik yapılarının incelenmesi, inceleme sonunda sığırılara ait genotip ve allel frekanslarının belirlenmesi ve bu genotiplerin bazı performans özellikleri ile ilişkilendirmesi hedeflenmiştir.

KURUMSAL TEMELLER

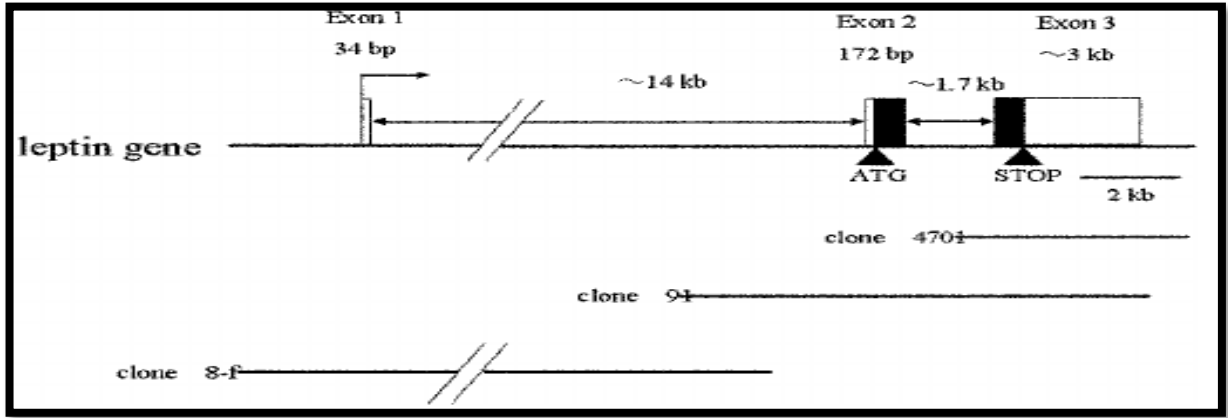
Leptin, hayvanların birçok fonksiyonun gerçekleşmesinde önemli role sahip bir proteindir. Özellikle hayvanların metabolizması ve büyüme üzerinde görev almasının yanı sıra sığırların yemden yararlanma, enerji metabolizması ve döl verimi gibi özellikler üzerine önemli görevleri bulunmaktadır. Ekonomik önemi olan bu mekanizmaların hepsinde önemli bir role sahip olan leptin geni, polimorfizmi ve bu polimorfizmlerin ekonomik özelliklerle ilişkilendirme çalışmaları için mükemmel bir aday genidir (Ninov et al., 2008; Özdemir, 2008).

Leptin geni tek nükleotid polimorfizleriyle ayrıca karkas yağı, yem tüketimi, süt verimi gibi birçok kantitatif karakterlerle ilişkilidir (Kök ve ark., 2015). Buna ek olarak 167 amino asitten oluşan bir polipeptit yapıya sahip olup 16 kDA ağırlığında ve sığırlarda 4. kromozom üzerinde yer alan 3 ekzondan oluşan adipoz dokulardan sentezlenmektedir (Zhang et al., 1994; Friedman and Halas, 1998; Block et al., 2003; Taniguchi et al., 2002; Lagonigro et al., 2003; Javanmard et al., 2004; Van Der Lende et al., 2005; Leifers et al., 2003). Ayrıca leptin geni plesanta, meme bezleri, beyin ve hipofiz bezinden de sentezlenmektedir (Houseknecht, 1998).

Optimum düzeyde leptin genine sahip olan memelilerde, plazma leptin düzeyi ile vücut yağ oranı arasında ilişki bulunmaktadır (Leifers et al., 2003; Aytekin, 2011). Ayrıca metabolizmada Leptin nöropeptit Y nöronlarına bağlı bir alıcıya bağlanarak çeşitli fonksiyonlar göstermekte ve düzenleyici özellik göstermektedir (Komisarek et al., 2005; Houseknecht, 1998; Aytekin, 2011).

Sığırlarda leptin geni 2 intron ve 3 ekzondan oluşmakta, genin protein kodlamasına katılan bölgeleri sadece ekzon 2 ve ekzon 3'tür (Javanman, 2008). Konfortov et al., (1999) yaptıkları bir çalışmada, Leptin geninin ekzon ve intron bölgelerinden oluşan 1788 baz çiftlik fragmentinin olduğunu ve toplamda 20 polimorfizm bulunduğunu tespit etmişlerdir.

Başka bir çalışmada Leptin geninin ekzon 2 bölgesinde *Clai* (tirozinden fenilalanin aminoasitine dönüşmesine yol açan A/T baz değişikliği) ve *Kpn2I* (argininden sistein amino asitine dönüşmesine yol açan C/T baz değişikliği), genin ekzon 3 bölgesinde ise, *NruI* (valinden alanin aminoasitine dönüşmesine yol açan C/T baz değişikliği) ve *HphI* (alaninden valin aminoasitine dönüşmesine yol açan C/T baz değişikliği) olduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca intron 2 bölgesinde *BsaAI* ve *Sau3AI* polimorfizmleri de tespit edilmiştir (Haegeman 2000; Buchanan, 2002; Lagonigro et al. 2003).



Şekil 3. Leptin geninin yapısı (Taniguchi et al., 2002)

Zwierzchowski et al., (2002), 102 Polonya Alacası ineğin süt verimi üzerinde yaptıkları çalışmada, leptin geni intron 2 bölgesindeki *Sau3AI* polimorfizmi yönünden genotip frekansını AA: 0,61, AB:0,14, BB:0,04, BC:0,01, AC:0,20 ve allel frekansını A:0,79, B:0,11, C:0,10 olarak tespit etmişlerdir. Aynı çalışmada polimorfizmlerin süt verimine etkisini önemsiz bulurken, sütün yağ, protein, laktoz oranına etkisinin önemli ($P<0,05$) olduğunu bildirmişlerdir. Sütün yağ, protein ve laktoz oranı yönünden genotiplerin $AC>AA>AB$ şeklinde sıralandığını, AC genotipli hayvanların günlük süt yağı, protein ve laktoz veriminin AA ve AB genotipli hayvanlardan yüksek olduğunu öne sürmüşlerdir.

İki farklı sürüden toplam 595 Holstein ineğin leptin geni *Sau3AI* ve *HphI* polimorfizmlerinin laktasyonun ilk 15 haftasında süt verim özellikleri, yem tüketimi ve canlı ağırlık üzerine etkilerini tespit etmek amacıyla yapılan bir çalışmada, *Sau3AI* polimorfizmi açısından AA ve AB genotipleri arasında süt, protein, laktoz verimi ve yem tüketimi arasındaki farklılıkları önemli ($P<0,05$) bulmuşlardır. Ayrıca AB genotipli hayvanların günlük 1,23 ila 1,32 kg arasında süt verdiğini, günlük 0,73 kg daha fazla yem tükettiklerini, *Sau3AI* polimorfizminin süt verimiyle ilişkili olduğunu, yem tüketimi ve canlı ağırlığı etkilediğini tespit etmişlerdir. *HphI* polimorfizminin ise sütün yağ oranını etkilediğini ve *Sau3AI* polimorfizmi yönünden B allelinin enerji dengesi ve dölverimini negatif etkilemeksizin süt verimini arttırdığını bildirmişlerdir (Liefers et al., 2002).

Liefers et al., (2003), süt ineklerinde gebeliğin son ve laktasyonun ilk dönemlerindeki leptin konsantrasyonlarındaki farklılıkları ve bu farklılıkların enerji dengesi, süt verimi, süt bileşenleri, kuru madde alımı, canlı ağırlık üzerine etkilerini belirlemek için yaptıkları bir çalışmada, gebeliğin sonlarında leptin konsantrasyonunun yüksek seviyede olduğunu

doğumdan hemen sonra laktasyonun ilk dönemlerinde en düşük seviyeye indiğini bildirmişlerdir.

Buchanan et al., (2003), et sığırlarında leptin geni ekson II bölgesindeki *Kpn2I* polimorfizminin süt sığırlarında süt verim özellikleri üzerine etkisini belirlemek amacıyla 416 Holstein ineğin genotipik ve laktasyon verilerini karşılaştırarak yaptıkları çalışmada tüm laktasyon dönemi boyunca TT ve TC genotipli ineklerin CC genotiplilere göre sırasıyla 1,5 kg/gün ve 0,91 kg/gün fazla süt verdiğini tespit etmişlerdir. Aynı çalışmada laktasyonun ilk 100 günlük döneminde TT ve TC genotipli ineklerin CC genotiplilere göre sırasıyla 2,44 kg/gün ve 1,74 kg/gün fazla süt verdiğini bildirmişlerdir. Ayrıca laktasyonun 101-200. günleri arası bu farkın TT ve TC genotipli inekler lehine sırasıyla 1,74 kg/gün ve 1,38 kg/gün, laktasyonun 200. gününden sonraki dönemde ise TT ve TC genotipli inekler lehine sırasıyla 0,24 kg/gün ve 0,22 kg/gün olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmada leptin TT genotipinin süt yağ verimini değiştirmeksizin süt verimi ve protein verimindeki artışla ilişkili olduğunu ve T alleli bakımından homozigot hayvanların göstermiş olduğu süt verimi üstünlüğünün süt üreticileri için ekonomik yönden büyük önem taşıdığını ortaya koymuşlardır.

Madeja et al., (2004), 117 Polonya Siyah-Beyaz boğaları üzerinde *Hph I*, *Kpn2 I* ve *Sau3AI* polimorfizmlerinin süt verimi üzerine etkisini araştırdıkları bir çalışmada, süt ve protein verimi bakımından damızlık değerleri üzerine ekson 3 bölgesindeki *HphI* polimorfizminin önemsiz olduğunu tespit etmişlerdir.

Komiserak et al., (2005) Toplam 187 boğa üzerinde leptin geni ve polimorfizmlerinin süt verimiyle ilişkisini belirlemek amacıyla yapmış oldukları çalışmalarında Arg4Cys TT genotipinin süt veriminde önemli bir etkisi olduğunu belirtmişlerdir.

Kulig (2005a), leptin geninin ekzon 3 bölgesindeki *Hph I* ve intron 2 bölgesindeki *Sau3AI* polimorfizm kombinasyonları (*HphI/Sau3AI*) ile süt verim özellikleri (süt verimi, yağ verimi, protein verimi, yağ oranı ve protein oranı) arasındaki ilişkiyi belirlemek amacıyla 5 farklı çiftlikte yetiştirilen, farklı oranlarda Holstein genotipi taşıyan (ortalama %68), en az bir laktasyon dönemini tamamlamış 860 inek üzerinde yaptığı araştırmada genotip kombinasyonları (*HphI/Sau3AI*) ile süt, protein ve yağ verimi arasındaki ilişkiyi önemli bulmuş ($P \leq 0,01$) ve bu verim özelliklerinin CC/BB genotipli hayvanlarda daha yüksek olduğunu bildirmiştir. Ayrıca Leptin geninin ekzon 3 bölgesindeki *HphI* ve intron 2 bölgesindeki *Sau3AI* polimorfizmlerinin süt verimi, sütün protein ve yağ içeriği yönünden moleküler marker olarak kullanılabileceğini öne sürmüştür.

Choudhary et al., (2005), Bos taurus (Holstein ve Jersey), Bos indicus (Hariana, Sahiwal, Gir ve Nimari) ve Bos taurus x Bos indicus (1/2 Holştyn x 1/2 Hariana) melezi toplam

403 sığır üzerinde yaptıkları çalışmada leptin geni intron 2 bölgesindeki *BsaAI* polimorfizminin hem *Bos taurus* hem de *Bos indicus* sığırlarda görülmesine rağmen ekzon 2 bölgesindeki *Kpn2I* polimorfizminin sadece *Bos taurus* sığırlarda görüldüğünü öne sürmüşler ve *Kpn2I* polimorfizmi allel frekanslarını Holstein ırkında C:0,60, T:0,40, Jersey ırkında C:0,44, T:0,56 ve Hoşltayn x Haryana (*Bos indicus*) melezlerinde C:0,82, T:0,18 olarak tespit etmişlerdir. Holstein ırkına göre Hoşltayn x Haryana melezlerinde C allelinin frekansının arttığını belirterek, Haryana ırkının melezlerde yabancı tip C allelinin frekansını arttırdığını bildirmişlerdir.

Kulig et al., (2005b) 905 baş Siyah-Alaca (Polonya) ırkı ineklerde LEP/*HphI* ile LEP/*Sau3AI* leptin geni polimorfizmlerinde süt verim özellikleriyle ilişkilerinin inceledikleri çalışmalarında, LEP/*HphI* için CC:0,582, CT:0,364 ve TT:0,054; LEP/*Sau3AI* için ise AA:0,638, AB:0,189, AC:0,137, BB:0,015, BC:0,013 ve CC:0,008 oranlarında tespit ederlerken, bu genotiplerin süt, yağ ve protein verim özellikleri arasındaki ilişkilerin önemli ($P<0,01$) olduğunu ve LEP/*HphI* CC ve LEP/*Sau3AI* BB genotipine sahip olan ineklerin üstün performans sergilediklerini bildirmişlerdir.

Özbatak vd. (2006), Güney Anadolu Kırmızısı, Doğu Anadolu Kırmızısı ve Boz ırk sığırlarda leptin geni polimorfizmlerini belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada, her ırktan 40 baş olmak üzere toplam 120 sığırın leptin geni ekzon 2, intron 2 ve ekzon 3 bölgelerindeki sırasıyla *Kpn2I*, *Sau3AI* ve *HphI* polimorfizmleri yönünden genotiplerini belirlemişlerdir. Allel frekanslarını *Kpn2I* polimorfizmi yönünden Güney Anadolu Kırmızısı'nda C:42,50, T:57,50, Doğu Anadolu Kırmızısı'nda C:48,75, T:51,25 ve Boz ırkta C:55,00, T:45,00; *Sau3AI* polimorfizmi yönünden Güney Anadolu Kırmızısı'nda A:72,50, B:18,75, C:8,75, Doğu Anadolu Kırmızısı'nda A:71,25, B:26,25, C:2,50 ve Boz ırkta A:67,50, B:30,00, C:2,50; *HphI* polimorfizmleri yönünden Güney Anadolu Kırmızısı'nda C:11,25, T:88,75, Doğu Anadolu Kırmızısı'nda C:13,75, T:86,25 ve Boz ırkta C:11,25, T:88,75 olarak tespit etmişlerdir.

Moussavi et al., (2006), leptin geni intron 2 bölgesindeki *Sau3AI* polimorfizminin (A ve B allelleri yönünden) süt verimi, döl verimi, vücut kondisyon skoru ve plazma glukoz seviyesi üzerine etkilerini araştırmak amacıyla 238 İran Holsteini üzerinde yaptıkları çalışmada, genotip frekansını AA:0,89, AB:0,11 ve allel frekansını A:0,947, B:0,053 olarak tespit etmişlerdir. Çalışmada AA ve AB genotiplerinin 60 günlük süt verimi benzer bulmalarına karşın AB genotipinin 305-günlük süt veriminin yüksek olduğunu ($P<0,05$), B allelinin yüksek süt verimi ile birlikte döl verimi özellikleri yönünden daha iyi olma eğiliminde olduğunu bildirmişlerdir.

161 İran Holstein inekleri için leptin geninin ekzon 2 bölgesindeki *Kpn2I* (*Bsp13I*) genetik varyasyonları dikkate alınarak Leptin genotipi ile süt üretimi ve üreme

özellikleri arasındaki ilişkiyi belirlemek için yaptıkları bir çalışmada Alashawkany et al., (2008), T alelinin C aleline karşı süt verimi üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğu, özellikle 60 ve 100. sağım günleri olan ineklerde daha belirgin olduğunu ($P<0,028$) ifade etmişlerdir. Ayrıca TT genotipli homozigot hayvanların CC genotipli hayvanlardan daha fazla süt (1,6 kg/gün) ürettiği, bununla birlikte 305-günlük süt veriminin iki genotip arasında önemli bir etki göstermediğini bildirmişlerdir.

Sadeghi et al., (2008), İran'da döl kontrolünden geçirilmiş 134 Holstein boğada leptin geni *Kpn2I* polimorfizminin süt verim özellikleri üzerine etkisini inceledikleri bir çalışmada, allel frekanslarını $T=0,425$ ve $C=0,575$ olarak tespit etmişlerdir. TT genotipli boğaların, TC ve CC genotipli boğalara kıyasla daha yüksek süt, yağ ve protein verimine sahip olduğunu ($P<0,05$) bildirmişlerdir. Aynı çalışmada CC genotipli boğaların TT ve TC genotipli boğalardan daha yüksek protein yüzdesine sahip olduğunu ifade etmişlerdir ($P<0,05$). Çalışmaları sonucunda leptin geni *Kpn2I* polimorfizmi ile süt verim özellikleri arasındaki ilişkinin genotipik seleksiyon uygulamalarında marker olarak kullanılabileceğini öne sürmüşlerdir.

Javanmard et al., (2008) 66 İran Sarabi ırkı sığırdaki leptin geni *Sau3AI* polimorfizminin belirlenmesi amacıyla yapmış oldukları çalışmalarında AA, AB ve BB genotiplerinin frekanslarını sırasıyla 0,31, 0,43 ve 0,14 olarak bulmuşlardır.

Ürdün'de yetiştirilmekte olan 45 Holstein ve 36 Yerel ırklardan toplam 81 sığır üzerinde *pit-1/Hinf1* ve Leptin *BFUC1* polimorfizmi yönünden genotiplerini belirledikleri bir çalışmada Jawasreh et al., (2009), Pit-1 gen frekansları sırasıyla A ve B allelleri için 0,15 ve 0,85 olarak tespit etmişlerdir. Ayrıca her iki ırktada AA genotipinin frekansları düşük (0,04 ve 0,00) bulunurken BB genotipinin frekanslarının yüksek (0,69 ve 0,82) olduğunu bildirmişlerdir. Leptin gen frekansları, A aleli için 0,775 ve B aleli için 0,225 olarak tespit etmişlerdir.

Kulig et al., (2009), leptin geni intron 2 bölgesindeki *Sau3AI* ve ekzon 3 bölgesindeki *HphI* polimorfizmlerinin süt verim özellikleri üzerine etkisini araştırmak amacıyla 19 babadan gelen 181 Jersey sığır ırkı üzerinde yaptıkları çalışmada, genotip frekanslarını *HphI* polimorfizmi yönünden $CC=0,52$, $CT=0,40$, $TT=0,08$, *Sau3AI* polimorfizmi yönünden $CC:0,30$, $CT:0,57$, $TT:0,13$, allel frekanslarını *HphI* polimorfizmi yönünden $C:0,72$, $T:0,28$, *Sau3AI* polimorfizmi yönünden $C:0,59$, $T:0,41$ olarak tespit etmişler ve *HphI* polimorfizminin süt, protein ve yağ verimini önemli derecede etkilediğini ve süt verim özellikleri yönünden C alelinin üstün olduğunu bildirmişlerdir. *Sau3AI* polimorfizmi ile süt verim özellikleri arasında herhangi bir ilişki tespit edememişlerdir. Jersey ırkında *HphI* polimorfizmi yönünden CC ve

CT genotipli hayvanların seleksiyonunun süt verimi, yağ ve protein veriminin artırılmasına katkıda bulunabileceğini bildirmişlerdir.

Dandapat et al., (2010), 30 *Bos indicus* (Sahiwal) ve 70 melez *Bos taurus* x *Bos indicus* (Jersey x Holstyn x Sahiwal) sığırın leptin geni polimorfizmi belirlemek için yapılan bir çalışmada, *HphI* geninin *Bos indicus* (Sahiwal) sığırlarında monomorfik olduğunu ve *HphI* polimorfizminin tespit edilmediğini bildirmişlerdir. Melez sığırlarda genotip ve gen frekansı AA, AV ve VV genotipleri sırasıyla 0,57, 0,36 ve 0,07 A ve V allelleri için 0,75 ve 0,25 olarak tespit etmişlerdir.

Gürses (2010) Türkiye’de yetiştirilen kültür (Holstein, Esmer İsviçre ve Jersey) ve yerli (Yerli Kara ve Doğu Anadolu Kırmızısı) sığır ırklarında leptin geni polimorfizmlerinin belirlenmesi, polimorfizmler yönünden genotip ve allel frekanslarının tespit edilmesi ve polimorfizmlerin süt verimi ile bileşimi üzerine etkilerinin ortaya çıkartılması amacıyla yaptığı bir çalışmada, Allel frekansları; *C1180T* polimorfizmi yönünden Holstein ırkında C=0,625, T=0,375, Esmer İsviçre ırkta C=0,625, T=0,375, Jersey ırkında C=0,539, T=0,461, Yerli Kara ırkında C=0,560, T=0,440 ve Doğu Anadolu Kırmızısı ırkında C=0,600, T=0,400; *C2059T/A2584G* polimorfizmleri yönünden Holstein ırkında A=0,822, B=0,084, C=0,094, Esmer İsviçre ırkta A=0,675, B=0,271, C=0,104, Jersey ırkında A=0,811, B=0,189, C=0,000, Yerli Kara ırkında A=0,720, B=0,220, C=0,060 ve Doğu Anadolu Kırmızısı ırkında A=0,714, B=0,271, C=0,014; *C3100T* polimorfizmi yönünden Holstein ırkında C=0,653, T=0,347, Esmer İsviçre ırkta C=0,908, T=0,092, Jersey ırkında C=0,654, T=0,346, Yerli Kara ırkında C=0,880, T=0,120 ve Doğu Anadolu Kırmızısı ırkında C=0,900, T=0,100 olarak tespit etmiştir. *C1180T* polimorfizminin Holstein ve Jersey ırklarında 100 günlük süt verimine etkisi istatistiksel olarak önemli bulunurken ($P<0,05$), 200 günlük süt verimine etkisi ($P<0,01$) düzeyinde önemli bulunmuştur. Esmer İsviçre ırkta ise 100 günlük süt verimine etkisi istatistiksel açıdan önemli ($P<0,01$) olduğu belirlenmiştir. *C1180T* polimorfizmi T allelinin süt bileşiminde önemli bir değişikliğe neden olmaksızın laktasyonun erken döneminde süt verimini arttırdığı tespit edilmiştir ($P<0,05$). *C2059T/A2584G* ve *C3100T* polimorfizmlerinin süt verimi ve bileşimi üzerine etkileri istatistiksel olarak önemli bulunmazken, *C3100T* polimorfizmi T alleli ve *C2059T/A2584G* polimorfizmleri C allelinin süt verimini yükseltme eğiliminde olduğu tespit edilmiştir.

Esmer İsviçre ve İran’ın yerli bir ırkı olan Sistani ineklerinde leptin geninin 2. intronundaki polimorfizm ile gelişme parametreleri arasındaki ilişkinin incelendiği bir çalışmada, AB genotipine sahip Sistani ineklerinin 9 ve 12 aylık canlı ağırlıkları bakımından

AA genotipine sahip bireylerden daha yüksek değerler gösterdiklerini bildirmişlerdir (Nobari et al., 2010).

Öztabak vd. (2010), 40’ar baş Doğu Anadolu Kırmızıısı (DAK), Güney Anadolu Kırmızıısı (GAK) ve Boz ırk sığırlarda leptin geni polimorfizmlerinin belirlenmesi amacıyla yaptıkları çalışmada, ekson 2’deki tek nükleotid polimorfizmi (SNP) içeren bölge *Kpn2I*, ekson 3’te SNP içeren bölge *HphI* ve intron 2’de SNP içeren bölge *Sau3AI* restriksiyon enzimleri ile kesmişlerdir. *Kpn2I* polimorfizmi için verim özellikleriyle ilişkili T allel frekansı en yüksek GAK ırkı sığırlarda bulmuşlardır. Her üç sığır ırkında da *HphI* polimorfizmi için T allel frekansı oldukça yüksek bulmuşlardır. *Sau3AI* polimorfizmi bakımından B ve C allel frekanslarının A allel frekansından dikkat çekici şekilde düşük olduğunu belirtmişlerdir. Çalışma sonucunda, leptin geni SNP’lerinin istatistiksel olarak üç sığır ırkı içinde avantaj oluşturabilecek önemli bir etki oluşturmadığını belirtmişlerdir.

Sharifzadeh and Doosti, (2010), 112 İran Holstein ırkı sığırdaki leptin geni *Sau3AI* polimorfizmlerinin belirlenmesi amacıyla yapmış oldukları çalışmalarında genotip frekanslarını AA, AB ve BB sırasıyla 60,7, 37,5 ve 1,7 olduğunu belirtmişlerdir.

Özdemir, (2011), 71 Doğu Anadolu Kırmızıısı (DAK) ve Holstein ırkı sığırında leptin geni *Sau3AI* polimorfizmlerinin belirlenmesi amacıyla yapmış olduğu çalışmada; her iki ırk içinde A allel frekansının 0,95 olduğunu, genotip frekanslarını AA, AB ve BB sırasıyla Doğu Anadolu Kırmızıısı’nda (0,93, 0,04 ve 0,03) Holstein ırkında (0,92, 0,07 ve 0,01) olduğunu belirtmiştir.

Cardoso et al., (2011) Brezilya’da Girolando ineklerinde leptin geni polimorfizmlerinin süt verimiyle ilgili çalışmalarında leptin geninin A allelinin populasyon içinde yaygın olarak bulunduğunu ve Girolando cinsinin kökeni için geriye çaprazlanmasında bu allelin kullanılabileceğini savunmuşlardır.

Bayram vd., (2013), Holstein sığırlarında Pit I ve Leptin genlerinin allel frekanslarının belirlenmesi için yaptıkları çalışmada, Pit-1 ve LEP geni allelleri için her ikisinde de A ve B allelleri olmak üzere iki iki tip allel gözlemlediğini, en yüksek frekans LEP geni için B allelinde (0,68) ve Pit-1 geni için ise A allelinde (0,87) gözlemlediğini belirtmişlerdir. Ayrıca popülasyonun iki gen bakımından Hardy–Weinberg dengesinde olmadıklarını ifade etmişlerdir.

Trakovická et al., (2013), 296 Slovak Benekli ve 85 Pinzgau ineklerinde leptin geni polimorfizmlerinin süt, protein ve yağ verimiyle ilk buzağılama yaşı ile ilgili parametreleri incelemek için yaptıkları çalışmalarında leptin geni *Sau3AI* polimorfizminin popülasyonda süt,

protein ve yağ verimini ($P < 0,05$) ve ilk buzağılama yaşını ($P < 0,01$) önemli ölçüde etkilediğini belirtmişlerdir.

Çoban (2015), Aydın ilinde yetiştirilen yerli sığır ırklarında leptin geni polimorfizmini tespit etmek için yaptığı çalışmada, gen frekanslarını A ve B allelleri için sırası ile 0,803 ve 0,197, genotip frekanslarını ise AA, AB ve BB genotipleri için sırası ile 0,641, 0,325 ve 0,034 olarak belirlemiştir.



MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Bu araştırmanın hayvan materyalini Erzurum ilinde entansif olarak üretim yapılan iki farklı işletmede yetiştirilen 62 baş Esmer İsviçre ve 60 baş Simmental ırkına ait daha önceki çalışmalar (Ünal, 2020) için alınmış kan numunelerinden elde edilen genomik DNA örnekleri oluşturmuştur. Çalışmanın laboratuvar aşamaları Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootekni Bölümü, Moleküler Genetik Laboratuvarında yapılmıştır.

Kullanılan Alet ve Cihazlar

Çalışmada Buzdolabı (Arçelik)

Hassas Terazı (Shimadzu)

Vorteks (Yellow Line)

Elektroforez sistemi (Biogen, Apelex, France, SN 280800)

Çeşitli amaçlar için kullanılan türlü cam malzemeler

Mikrodalga Jel Görüntüleme Sistemi (Bio Rad)

Otomatik Termocycle Sistem (Bioner)

Nanodrop (Thermo scientific)

Santrifüj (Kubota)

Spektrofotometre (Shimadzu)

Saf Su Cihazı (Ateks), Fırın (Blueline)

Otoklav gibi aletler ve cihazlar kullanılmıştır.

Yöntem

DNA'nın Kalitatif Olarak Gözlenmesi

Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootečni Bölümü Moleküler Genetik laboratuvarında daha önceki çalışmalarda kullanılmak amacıyla alınmış Esmer İsviçre ve Simmental sığırlarına ait kan örnekleri ve ilgili örneklerden elde edilen Genomik DNA numuneleri -80'de muhafaza edilmektedir. DNA'ların çalışmada kullanılmak amacıyla kalitatif kontrollerinin yapılması amacıyla önce numuneler -20 daha sonra +4 de bekletilmiştir.

50 ml 1XTBE tamponu içerisine 0,60 gram agaroz eklenerek 600 Watt 'lık mikrodalga fırında 2 dakika tutulup eritilmesiyle %1,2'lik agaroz jel elde edilmiştir. Elde edilen jele 3 µl EtBr eklendi ve hava kabarcığı oluşmayacak şekilde taraklı jel kabinine döküldü. %1,2'lik agaroz jelin donması beklenilmiştir.

1XTBE tamponuyla dolu olan elektroforez tankında yürütülmek üzere izolasyonu yapılan DNA'ları %1,2'lik agaroz jele yüklenip, 80 volt 'ta 30 dakika süreyle yürütülmüştür. Sonrasında intinayla çıkartılan jeldeki bantlar ultraviyole (UV) ışığı altında görüntülenmiştir.

DNA 'nın Kantitatif Olarak Gözlenmesi

NanoDrop ND-1000 (NanoDrop Technologies, İnç.) spektrofotometrede ekstrakte edilmiş DNA 'ların derişimleri ve saflıkları okuma yapılarak belirlenmiş ve DNA derişimi yeterli miktarda bulunmayan örnekler örneklemden çıkarılmıştır.

PCR (Polimeraz zincir reaksiyonu) işlemi

Belirlenen bir DNA parçasının kopyalanması ve primer vasıtasıyla yönlendirilip belirli bir süre ve sıcaklıkta enzimatik olarak sentezlenmesiyle tanımlanan in vitro bir tekniktir. İlklerde bu işlemle seçili bir genin küçük bir kısmını elde edebiliyorken şimdilerde DNA polimeraz enziminin de etkisiyle çok kısa süre içerisinde gen milyonlarca kez kopyalayıp çoğaltabilmektedir. Tablo 3'de PCR işlemi için kullanılan primerler (Leifers ve ark. 2002) ve döngü, sıcaklık, sayı ve sürelerinde içerisinde yer aldığı PCR işlemi aşağıdaki programa göre yapılmıştır. (Tablo 4)

Tablo 3. Leptin genine ait primer dizilimi

F: 5'-TCT TAA GCT AGT CAG GTT CCA CAA GGT-3'	(Ozdemir, 2011)
R: 5'-TGC TCC ACG CAG GTG AGC AAG-3'	

Tablo 4. Leptin gen bölgesi için PCR programı

Sıcaklık	Süre	Döngü	Basamak
94 °C	2 dk	30 Döngü	Başlangıç
94 °C	45 dk		Ayrılma
60 °C	45 dk		Bağlanma
72 °C	45 dk		Uzama
72 °C	5 dk		Son uzama

PCR ürünlerini elde etmek için (0,2ml) lik PCR tüpüne izolasyonu yapılan DNA örneklerinde her bir tüpe ayrı ayrı 3 μ l alınmıştır. Üzerine (3,75 μ l 10x Buffer, 1 μ l Primer R, 1 μ l Primer F, 1 μ l MgCl₂, 0,5 μ l DNTPs, 2.4 μ l Tag P ve 12.5 μ l dH₂O) mix karışımdan 20 μ l eklenmiştir. Ek olarak mineral oil üzerine örtecek şekilde koyulmuş ve tüpler 8-9 saniye mineral oilin üste çıkması için 1300 rpm'de santrifüj edilmiştir. Sonrasında Tablo 2. de belirtilen program doğrultusunda PCR işlemi yapılmıştır.

PCR Ürünlerinin Gözlenmesi

PCR işleminin ardından %1,2'lik agaroz jelde her bir PCR ürününün amplifikasyonun gerçekleşip gerçekleşmediğini belirlemek amacıyla yürütülmesi gerekmektedir. Bu nedenle 0,60 gr agaroz, 50 ml'lik 1XTBE Tamponu içerisinde 3500 Watt 'da çalışan mikrodalga fırında 2 dk agaroz tampon çözelti eritilmiştir. Tampon çözelti içerisine 3 μ l EtBr (%1'lik) damlatılıp homojen olarak dağılması için elle hafif hafif çalkalanmış olup öncesinde hazırlanan taraklı jel kabinine, jel hava kabarcığı oluşturulmadan dökülmüştür. Dökme işleminden sonra yaklaşık 30-35 dk katılaşmaya bırakılmıştır. Hazırlanan jel taraklardan çıkartılarak yükleme için kuyucuklara 8 μ l PCR ürünü aldıktan sonra parafin kâğıt üzerine damlatılan yükleme tamponu ile karıştırılıp otomatik pipet yardımıyla yükleme yapılarak 1XTBE tamponuyla dolu olan elektroforez tankına 1XTBE jelin yüzeyini kaplayacak şekilde yerleştirilmiş ve 80 Watt 'da 25 dk yürümeye bırakılmıştır. Sonrasında jeldeki bantları UV ışığı ile görüntüleri incelenmiş ve amplifikasyon işlemi gerçekleştikten sonra -20 °C'de dolaba konulmuştur.

PCR-RFLP İşlemi

Restriksiyon endonükleazların çift iplikli DNA'yı özel tanıma bölgelerine göre kesmesi esasına dayanmaktadır. PCR ile çoğaltılan DNA'lar restriksiyon enzimleri ile kesilir. Oluşan PCR ürünleri elektroferez yöntemiyle fragment büyüklüklerine göre ayrılıp görüntülenmesi yapılır. Bu yöntemde RE enzimi PCR ürünü ve tampon olarak kullanılacak enzimler karıştırılmış ve üzerine yaklaşık 3 μ l mineral oil konularak santrifüj yapılmıştır. Sonrasında etüvde 37 °C de 12 saat inkübasyona bırakılmış ve %2,8'lik agaroz jel de UV ışığı altında görüntülenerek incelenmiştir.

Tablo 5. Allellerin ayrımı için kullanılan reaksiyonun bileşenleri

Bileşenler	Bir örnek için
PCR Ürünü	9 (μ l)
10X Buffer	5 (μ l)
Sau3AI enzimi (10U/ μ l)	6 U

Amplifikasyonu işlemi gerçekleşen her bir örnek için yukarıda belirtilen bileşenler doğrultusunda tüplere konulmuş ve üzerine yaklaşık 3 μ l kadar mineral oil eklenip 8-10 sn kadar 1300 rpm'de santrifüj yapılmıştır. Inkübasyon için tüpler inkübatöre 37 °C'de 12 saat süreyle yerleştirilerek inkübasyonu sağlanmıştır.

Tablo 6. Restriksiyon enzimi, tanıma bölgesi ve beklenen bant uzunluğu

RE	PCR ürünü (bç)	Tanıma Bölgesi	Genotip ve Bant Büyüklüğü (bç)
			AA:299/196
<i>Sau3AI</i>	495	5'-/GATC-3'	AB: 299/214/196/85
			BB:214/196/85

Örneklerin Yüklenmesi ve Yürütme İşlemi

Reaksiyon enzimi ile kesim sonunda oluşan DNA parçalarının sonucunu gözlemlemek için elektroferez işlemi yapılmıştır. Elektroferez işleminde; etüvden çıkarılan örnekler otomatik pipet yardımı ile parafin kâğıt üzerinde 3 μ l yükleme tamponu her biri ayrı olacak şekilde karıştırılıp daha önceden hazırlanan %2,8'lik agaroz jele sırasıyla ayrı ayrı yüklenmiştir. Yüklemede DNA boy markeri önceden belirlenen 9 kuyucuğa yüklenmiş ve jel 1XTBE tamponuyla doldurulmuş olan elektroforez tankına dikkatlice yerleştirilmiştir. Sonrasında

elektroferez işlemi 30 Watt 'da 150 dk süreyle yapılmıştır. İşlem sonunda agaroz jel, UV ışığı altında görüntülenerek incelenmiştir.

İstatiksel Analizler

Genotip Frekanslarının Hesaplanması

Simmental ve Esmer İsviçre sığırların popülasyondaki genotip ve allel sayıları jel görüntülerine bakılarak değerlendirilmiştir. Aşağıdaki eşitliğe göre genotip frekansları hesaplanmıştır.

$$f(AA)=p^2= \Sigma(AA)/N \quad (1.1)$$

$$f(AB)=2pq= \Sigma(AB)/N$$

$$f(BB)=q^2= \Sigma(BB)/N$$

Denklemden;

N: İncelenen toplam birey sayısını göstermektedir.

Popülasyonların genotip frekanslarına göre allel frekansları aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

$$f(A)=p=(2n_{AA}+n_{AB})/2N \quad (1.2)$$

$$f(B)=q=(2n_{BB}+n_{AB})/2N$$

$p+q=1$ eşitliğine göre

Eşitliklerde;

$f(A)=p$ =A allelinin frekansını,

$f(B)=q$ =B allelinin frekansını

N: İncelenen toplam birey sayısını göstermektedir.

Gen frekanslarının standart hataları aşağıdaki eşitliğe göre hesaplandı.

$$\text{St. Hata} = \sqrt{q(1-q) / 2 \times N} \quad (1.3)$$

Burada;

Q =Verilen bir allel genin frekansını

N= İncelenen toplam birey sayısını göstermektedir.

Popülasyonların Genetik Denge Analizi

Hardy-Weinberg Prensibi bir popülasyonda mutasyon, seleksiyonun ve göçün olmadığı, eşleşmelerin rastgele meydana geldiği ve popülasyonun yeterli büyüklükte olduğu sürece gen ve genotip frekanslarının sabit kalacağı anlamına gelmektedir. Kısaca evrim mekanizmalarının yokluğunda popülasyonun ulaşacağı genetik dengeyi ortaya koymaktadır.

Denge test edilirken ilk olarak genotip frekansları hesaplanır sonrasında hesaplanan genotip frekanslarından allel frekansları belirlenir. Belirlenen allel frekansları kullanılarak genotip frekanslar tahmin edilir. Hardy-Weinberg denge eşitliği için genotiplerin beklenen değerleri eşitlik (1.4)'de göre hesaplandı.

$$E(AA)=p^2n \quad (1.4)$$

$$E(AB) = 2pqn$$

$$E(BB) = q^2 n$$

Eşitlikte,

p: C allelinin frekansı

q: T allelinin frekansı

n: popülasyondaki birey sayısı

Genetikte gözlemlenen sapmaları değerlendirmek önemlidir. Başlangıçta ölçülen değerler ile beklenen değerler arasında gerçek bir fark olmadığı kabul edilir ve buna göre H_0 hipotezi kurulur. Bu hipotez İstatistiksel analizler ile test edilerek H_0 hipotezi ya kabul edilir ya da reddedilir. H_0 hipotezi kabul edilmemişse beklenen orandan sapma sadece şansa bağlanmaz. Bu nedenle istatistiksel analizler, gözlenen verilerin beklenene ya da tahmin edilene ne kadar iyi uyduğunu, ondan ne ölçüde farklılık gösterdiğini belirlememiz için matematiksel bir temel oluşturur. Bu teste, Goodness of fit yani uyumun mükemmelliği adı verilir. H_0 hipotezinin mükemmellik uyumuna karar vermek, beklenen ve gözlenen değerler arasındaki farkın önemli ölçüde olup olmadığını belirlemek üzere geliştirilen en basit istatistiksel testlerden biri olan Ki-kare (χ^2) analizi kullanıldı. Ki-kare analizi eşitliği;

$$\chi^2 = \sum \frac{(G_i - B_i)^2}{B_i}$$

Eşitlikteki,

G_i : i kategorisi için gözlenen değeri,

B_i : i kategorisi için beklenen değeri

Süt Verim Özelliklerinin Analizi

İşletmelerde süt verimleri otomatik sağım sistemleri ile 12 saat aralıklı periyotlarla sabah ve akşam olmak üzere 2 kez yapılmaktadır. Sabah ve akşama ait sağımlarda elde edilen sütler günlük süt verimi oluşturmaktadır. Sağımı yapılan her bir hayvanın sütünün kaydı otomatik sağım ünitelerine entegre olan 100 g hassasiyete sahip bir sistemle kayıt altına alınmıştır. Hayvanların buzağılamasından sonraki ilk günden 305-güne kadar sürede ki süt verimi standart laktasyon olarak alınmıştır. 305-günden fazla laktasyon süresi olan hayvanların ilk 305-gün laktasyonları baz alınmış ve altında seyredenler ise 305. gün süt verimine göre düzeltilmiştir. Buzağılama mevsimi, sağılan günler ve buzağılama yaşı düzeltme katsayıları esas alınarak belirlenmiştir.

Yapılan istatistiksel ilişkilendirme çalışmasında; Erzurum'da özel işletmelerde yetiştirilen 60 baş Simmental ve 62 baş Esmer İsviçre hayvana ait verim kayıtları kullanılıp, performans özellikleri olarak da gerçek süt verimi, 305-gün süt verimi, laktasyon süresi ve günlük süt verimi gibi süt verim özellikleri incelenmiştir. Bu verim özelliklerine etkili göre genotip, laktasyon sırası ve buzağılama mevsimi gibi kesikli çevre faktörleri üzerinde durulmuştur. Çalışmada ki verim özelliklerine göre aşağıdaki istatistik model kullanılmıştır.

$$Y_{ijkl} = \mu + a_i + b_j + c_k + e_{ijkl}$$

Y_{ijkl} : Herhangi bir Simmental veya Esmer İsviçre ineğin ele alınan performans (gerçek süt verimi, 305-günlük süt verimi, laktasyon süresi ve günlük süt verimi) özelliklerinin herhangi biri bakımından değeri,

μ : popülasyon ortalaması,

a_i : i. Genotip etkisi (i:3; 1:AA; 2:AB; 3:BB)

b_j : j. Laktasyon sırasının etkisi (2.-7),

c_k : k. Buzağılama mevsiminin etkisi (k:2; 1: Kış ve ilkbahar, 2: Yaz ve Sonbahar)

e_{ijkl} : Hata payı.

Kullanılan modelde hata haricinde kalan bütün faktörler sabit, hata ise şansa bağlı olarak kabul edilmiştir.

ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

DNA'nın Kantitatif Olarak Gözlenmesi

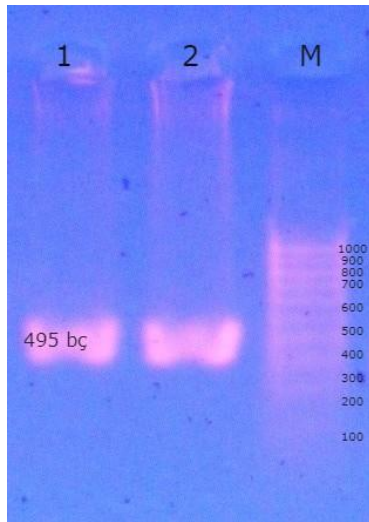
Ekstraksiyonu yapılmış olan DNA'ların derişimleri ve saflıkları NanoDrop ND-1000 (NanoDrop Technologies İnç.) spektrofotometrede okuma yapılarak belirlenmiştir (Tablo 7)

Tablo 7. NanoDrop'da okunan bazı DNA'ların kantitatif sonuçları (260-280 ng/µl)

Tarih	Örnek No	Değer (ng/µl)
04.05.2020	1	1,556
04.05.2020	2	1,422
04.05.2020	3	1,323
04.05.2020	4	1,333
04.05.2020	5	1,609
04.05.2020	6	1,419
04.05.2020	7	2,144

PCR Sonuçlarının Gözlenmesi

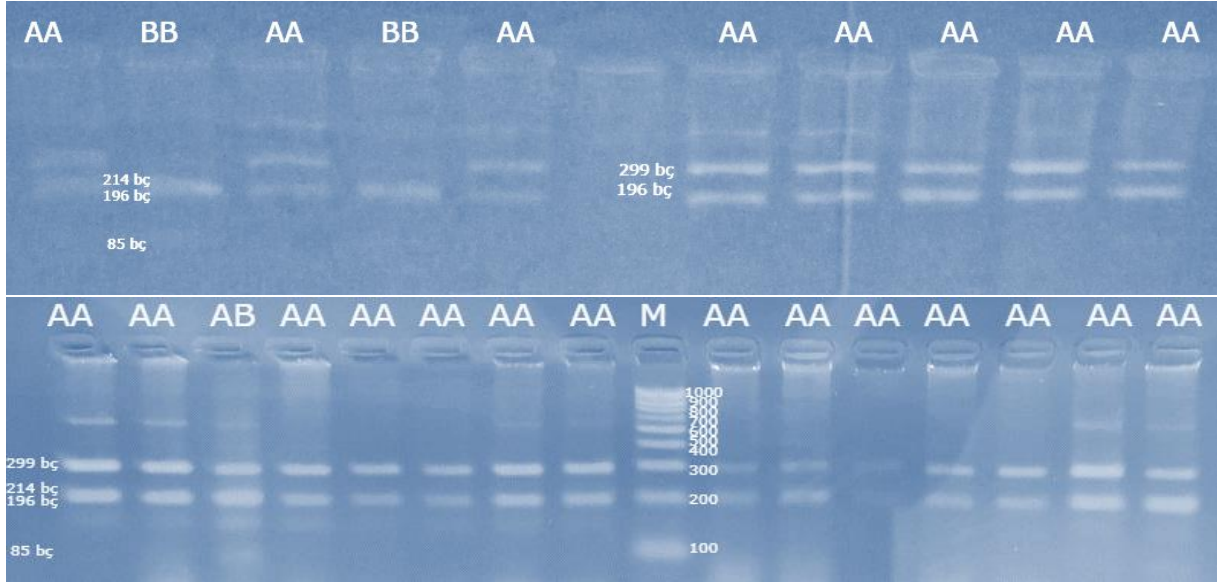
Simmental ve Esmer İsviçre ırkı sığırların kanlarından elde edilen DNA örneklerinin her birine PCR yapılarak %1,2'lik agaroz jelde yürütölmüş ve DNA bantları elde edilmiştir. Şekil 4'de PCR ürünlerine ait agaroz jel görüntüsü görölmektedir.



Şekil 4. PCR ürünlerinin agaroz jel görünümü (M: markör 1000 bç'den 100 bç'e; leptin PCR ürünü: 495 bç)

PCR-RFLP Sonuçları

Simmental ve Esmer İsviçre ırkı sığırlardan elde edilen DNA örnekleri PCR cihazında çoğaltılmış ve 495 bç uzunluğundaki PCR ürünü DNA fragmanlarının restiriksiyon enzimi ile kesimi sonucunda AA genotipi için 299 ve 196 bç, BB genotipi için 214, 196 ve 85 bç ve AB genotipi için ise 299, 214, 196 ve 85 bç uzunluğunda bantlar oluşturdukları tespit edilmiştir.



Şekil 5. Leptin geni polimorfizmine ait PCR-RFLP jeli görüntüsü (M: markör, AA: 299 bç ve 196 bç, AB: 299 bç, 214 bç, 196 bç ve 85 bç; BB: 214 bç, 196 bç ve 85 bç)

Genetik Denge Testi

İrklara ait genotipik ve allel gen frekansları Tablo 8’de, Hardy-Weinberg Genetik Denge Testi sonuçları Tablo 9’da sunulmuştur.

Tablo 8: Irklara ait Leptin geni Genotip ve Allel Gen Frekansları

Genotip	Esmer İsviçre		Simmental	
	n	%	n	%
AA	55	88,7	47	78,3
AB	6	9,7	10	16,7
BB	1	1,6	3	5,0
Allel Gen Frekansı (%)	A	B	A	B
	94	6	87	13

Popülasyon allel frekansları bakımından incelendiğinde Simmental ırkı sığırlarda A allelinin 0,87, B allelinin 0,13 ve Esmer İsviçre’lerde ise A allelini 0,94 ve B allelinin 0,06 olduğu belirlenmiştir (Tablo 8).

60 baş Simmental ve 62 baş Esmer İsviçre ırkı ineğe ait genotip frekansları dağılımının Hardy-Weinberg genetik denge testine göre değerlendirilmiş ve Esmer İsviçre ırkı sığırlarda 55 AA, 6 AB ve 1 BB genotipli sığırlar belirlenirken, Simmental ırkında 47 AA, 10 AB ve 3 BB genotipli sığırlar belirlenmiştir. Her iki ırkta da AA genotip frekansları popülasyon içerisinde en yüksek, BB genotiplilerin ise en düşük frekansa sahip olduğu gözlemlenmiştir (Tablo 9).

Tablo 9. Irklara ait LEP genotip frekansları ve Hard-Weinberg genetik denge testi sonuçları

	N	Gözlenen	Beklenen	X ² testi	P
		AA/AB/BB	AA/AB/BB		
Esmer İsviçre	62	55/6/1	54,26/7,48/0,26	0,1187	ÖS
Simmental	60	47/10/3	45,07/13,87/1,07	0,0307	*

ÖS: Önemsiz (P>0,05), *: P<0,05)

Hardy-Weinberg genetik denge testine göre Esmer İsviçre ırkta Leptin geni *Sau3AI* polimorfizminin (LEP genotipleri) dengede (P>0,05) olduğu, Simmental ırkında ise (P<0,05) dengede olmadığı saptanmıştır. Simmental ırkı sığırlarda dengede olmama durumu; yapılan ıslah çalışmalarında şansa bağlı çifleşmenin olmaması nedeniyle popülasyonda belirli genotiplerin artmasının engellendiği ya da örnekleme hatasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Diğer benzer çalışmalara bakıldığında; Pomp et al., (1997), Rasor et al., (2002), Javanmard et al., 2004, leifers et al., (2002), Leifers et al., (2003b), Javanmard et al., (2005), Javanmard et al., 2010, Öztapak vd. 2010, Kuling et al., (2010), Aytekin, (2011) yapmış oldukları çalışmalarındaki belirtilen allel frekanslar ile çalışmadaki allel frekanslar uyum göstermektedir.

Bazı Performans Özelliklerine Ait Varyans Analiz Sonuçları

Esmer İsviçre ve Simmental ırkı sığırlarda Leptin geni *Sau3AI* polimorfizminin (LEP Genotipi), gerçek süt verimi, 305-gün süt verimi, günlük süt verimi ve laktasyon süresi gibi performans özellikleri üzerine etkisi incelenmiştir. Belirtilen incelemelere ait Varyans analizi sonuçları Tablo 10’da Leptin polimorfik yapısının bazı verim özellikleri bakımından en küçük kareler ortalamaları ve standart hataları Tablo 11’de verilmiştir.

Tablo 10. Esmer İsviçre ve Simmental ırklarının bazı performans özelliklerine ait Varyans analiz sonuçları

Esmer İsviçre					Simmental			
Varyasyon Kaynakları	SD	Kareler Ort.	F	P	SD	Kareler Ort.	F	P
GERÇEK SÜT VERİMİ								
LEP Genotipi	2	3494672,790	1,456	ÖS	2	3221596,503	0,863	ÖS
Laktasyon Sırası	3	6438851,590	2,682	*	5	2900322,030	0,777	ÖS
Buzağılama Mevsimi	1	374903,371	0,156	ÖS	1	5258,863	0,001	ÖS
Hata	121	2400492,454			76	3730908,898		
305-GÜNLÜK SÜT VERİMİ								
LEP Genotipi	2	1645494,531	1,767	ÖS	2	3442099,562	1,568	ÖS
Laktasyon Sırası	3	2121396,162	2,278	ÖS	5	2045893,559	0,932	ÖS
Buzağılama Mevsimi	1	1150144,829	1,235	ÖS	1	128,973	0,000	ÖS
Hata	121	931296,624			76	2195389,611		
GÜNLÜK SÜT VERİMİ								
LEP Genotipi	2	22,457	1,670	ÖS	2	37,080	1,569	ÖS
Laktasyon Sırası	3	63,791	4,744	*	5	22,004	0,931	ÖS
Buzağılama Mevsimi	1	1,872	0,139	ÖS	1	0,006	0,000	ÖS
Hata	121	13,446			76	23,631		
LAKTASYON SÜRESİ								
LEP Genotipi	2	1366,894	0,153	ÖS	2	373,553	0,051	ÖS
Laktasyon Sırası	3	59095,230	6,602	*	5	8395,863	1,150	ÖS
Buzağılama Mevsimi	1	6,542	0,001	ÖS	1	4743,034	0,649	ÖS
Hata	121	8951,539			76	7303,089		

ÖS: Önemsiz; *P<0,05

Tablo 11: LEP Genotiplerinin bazı verim özellikleri bakımından en küçük kareler ortalamaları ve standart hataları.

İrk	Genotip	N	Gerçek Süt Verimi(kg)			305-gün Süt Verimi(kg)			Günlük Süt Verimi(kg)			Laktasyon Süresi(gün)		
			$\bar{x}$	$\pm$	$S\bar{x}$	$\bar{x}$	$\pm$	$S\bar{x}$	$\bar{x}$	$\pm$	$S\bar{x}$	$\bar{x}$	$\pm$	$S\bar{x}$
Esmer İsviçre	AA	113	3997,8		1625,69	4667,8		982,67	16,2		3,81	256,5		101,52
	AB	11	3076,5		943,68	4144,5		949,47	14,4		4,10	234,8		99,21
	BB	4	3973,2		1338,56	4395,4		1229,2	14,8		2,71	263,8		55,35
	Genel	128	3917,8		1584,38	4614,3		982,62	16,0		3,82	254,9		99,88
Simmental	AA	70	5455,7		1915,36	5665,9		1462,78	18,6		4,80	298,8		85,51
	AB	12	5563,7		2005,61	5739,8		1583,03	18,9		5,19	295,3		83,15
	BB	3	4079,4		585,72	4258,3		969,13	14,0		3,18	308,3		107,22
	Genel	85	5422,4		1901,74	5626,6		1475,85	18,5		4,84	298,7		84,80

Gerçek Süt Verimi

Simmental ve Esmer İsviçre ırkı sığırlarına ait gerçek süt veriminin varyans analiz sonuçları Tablo 10’da ortalamaları ve ortalamaların standart hataları Tablo 11’de belirtilmiştir. Esmer İsviçre ırk için gerçek süt verimine ait genel ortalama 3917,86±1584,38 kg bulunurken Simmental ırkı sığırlarda genel ortalama 5422,4±1901,74 kg olarak bulunmuştur. Gerçek süt

verimi açısından LEP genotipi ortalamaları incelendiğinde, Esmer İsviçre ırkında en yüksek ortalama AA genotipinde ($3997,8 \pm 1625,69$ kg) ve en düşük ortalama AB genotipinde ($3076,5 \pm 943,68$ kg) belirlenirken BB genotipinin ($3973,2 \pm 1338,56$) AA genotipine oldukça yakın olduğu gözlenmiştir. Simmental ırkında ise en yüksek ortalama AB genotipinde ($5563,7 \pm 2005,61$ kg) iken en düşük ortalama BB genotipinde ($4079,4 \pm 585,72$ kg) bulunmuştur. Esmer İsviçre ırkı için varyans analizi değerlendirildiğinde genotip ve buzağılama mevsiminin gerçek süt verimine etkisi önemsiz ($P > 0,05$) bulunurken, laktasyon sırasının etkisi önemli bulunmuştur ($P < 0,05$). Simmental ırkı sığırlarda yapılan varyans analiz sonuçlarına göre gerçek süt verimi üzerine genotip, buzağılama mevsimi ve laktasyon sırasının etkisi önemsiz ($P < 0,05$) olarak bulunmuştur.

Madeja et al., (2004), 117 Polonyalı Siyah Beyaz boğa üzerinde leptin geni *Sau3AI* polimorfizminin süt verimi üzerine yaptıkları bir çalışmada ve Gürses (2010) kültür ve sığır ırklarında leptin geni polimorfizmlerinin verim özelliklerine etkisini araştırdığı çalışmasında da benzer sonuçlar elde etmiş ve genin etkisi önemsiz bulunmuştur.

305-gün Süt Verimi

Simmental ve Esmer İsviçre ırkı ineklere ait 305-günlük süt verimi özelliği üzerine, Leptin genotipinin, buzağılama mevsiminin ve laktasyon sırası faktörlerinin analizleri Tablo 10'da gösterilmiştir. 60 baş Simmental ve 62 baş Esmer İsviçre ırkı ineğe ait verim kayıtları baz alındığında, 305-günlük süt verimi genel ortalaması Simmental ve Esmer İsviçre ırkta sırasıyla $5626,6 \pm 1475,85$ kg ve $4614,3 \pm 982,62$ kg olarak belirlenmiştir. *LEP* geni *Sau3AI* polimorfizmin Simmental ve Esmer İsviçre ırkı sığırlarda genotip ortalamalarına bakıldığında Simmental ırkta AA, AB ve BB genotipleri sırasıyla $5665,9 \pm 1462,78$ kg, $5739,8 \pm 1583,03$ kg ve $4258,3 \pm 969,13$ kg, Esmer İsviçre ırkta ise AA, AB ve BB genotipleri sırasıyla $4667,8 \pm 982,67$ kg, $4144,5 \pm 949,47$ kg ve $4395,6 \pm 915,12$ kg olarak belirlenmiştir. Her iki ırk içinde 305-günlük süt verimi üzerine genotiplerin, laktasyon sırasının ve buzağılama mevsiminin etkisi önemsiz ($P > 0,05$) olarak bulunmuştur.

Gürses (2010) Jersey, Esmer İsviçre, Holstein, Doğu Anadolu Kırmızısı ve Yerli Kara ırklarında Alashawkany et al., (2008) Siyah Alaca ırkı üzerinde yapmış oldukları çalışmalarda 305-günlük süt verimi için benzer sonuçlar elde ederken, Moussavi et al., (2006), 238 İran Holstein'lerinde yapmış olduğu çalışmalarında 305-günlük süt verimi üzerine LEP geninin etkisini önemli olarak bildirmişlerdir.

Günlük Süt Verimi

İncelenen *LEP* genotipinin, buzağılama mevsiminin ve laktasyon sırasının Simmental ve Esmer İsviçre ırkı ineklerden elde edilen günlük süt verimi üzerine etkisi Tablo 10'da gösterilmiştir. 60 baş Simmental ve 62 baş Esmer İsviçre ırkı ineğe ait verim kayıtları temel alındığında edinilen sonuçlarda günlük süt verimi genel ortalaması sırasıyla Simmental ve Esmer İsviçre ırkta $18,5 \pm 4,84$ kg, $16,0 \pm 3,82$ kg olarak belirlenmiştir. *LEP* genotipinin Simmental ırkı ineklerde sırasıyla AA $18,6 \pm 4,80$, AB $18,9 \pm 5,19$ ve BB $14,0 \pm 3,18$ ve Esmer İsviçre ırkı ineklerde sırasıyla AA $16,2 \pm 3,81$, AB $14,4 \pm 4,10$ ve BB $14,8 \pm 2,71$ kg olarak bulunmuştur. *LEP* genotipi günlük süt verimi ortalamalarına bakıldığında, Esmer İsviçre ırkı ineklerde AA genotipinin Simmental ırkında ise AB genotipinin yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Yapılan Varyans analiz sonucunda, Simmental ırkta genotiplerin, laktasyon sırasının ve buzağılama mevsiminin günlük ortalama süt verimi üzerine etkileri önemsiz bulunurken ($P > 0,05$), Esmer İsviçre ırkta sadece laktasyon sırasının günlük ortalama süt verimi üzerine etkisi önemli ($P < 0,05$) olarak bulunmuştur.

Yapılmış çalışmalara bakıldığında, Liefers et al., (2002), 595 Holstein inek üzerinde yapmış oldukları çalışmada AB genotipli ineklerin günlük süt veriminin AA genotipli ineklerden daha fazla olduğunu bildirmişlerdir.

Laktasyon süresi

Çalışmada laktasyon süresi için elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde laktasyon süresi genel ortalaması sırasıyla Esmer İsviçre $254,9 \pm 99,88$ gün ve Simmantel'lerde $298,7 \pm 84,80$ gün olarak bulunmuştur. *LEP* genotipinin Esmer İsviçre ırk için AA genotipi $256,5 \pm 101,52$ gün, AB genotipi $234,8 \pm 99,21$ gün ve BB genotipi $263,8 \pm 55,35$ gün olarak bulunmuş ve Esmer İsviçre ırk için laktasyon süresi en yüksek BB genotipi olduğu gözlemlenmiştir. Simmental ırk için laktasyon süresi ortalamaları değerlendirildiğinde AA genotipi $298,8 \pm 85,51$ gün, AB genotipi $295,3 \pm 83,15$ gün ve BB genotipi $308,3 \pm 107,22$ gün olarak bulunmuştur. Sonuç olarak yapılan çalışmada her iki ırk için BB genotipine sahip ineklerin laktasyon sürelerinin daha uzun olduğu görülmüştür. Çalışmada her iki ırk içinde değerlendirilen *LEP* genotipinin, laktasyon süresi üzerine etkisi istatistiksel olarak önemsiz ($P > 0,05$) bulunmuştur.

Yapılan çalışmanın aksine Ghazanferi et al., (2006), Esmer İsviçre ırkta yaptıkları çalışmada laktasyon süresinin AA genotipine sahip sığırlarda BB genotipine nazaran daha yüksek verim ve laktasyon süresine sahip olduğunu bildirmişlerdir.

SONUÇ

Erzurum ilinde 60 baş Simmental ve 62 baş Esmer İsviçre ırkı inek üzerinde yürütülen çalışmada her iki ırktan elde edilen genomik DNA örnekleri üzerine PCR-RFLP yöntemi kullanılarak leptin geninin intron 2 bölgesindeki *Sau3AI* polimorfizmi ortaya konmuş, *LEP/Sau3AI* geni poliorfizmi (LEP genotipi) ile süt verim özellikleri arasındaki ilişkileri incelenmiştir.

Popülasyon allel frekansları bakımından incelendiğinde, Simmental ırkı sığırlarda A allelinin 0,87 ve B allelinin 0,13 frekansında, Esmer İsviçre sığırlarda ise A allelinin 0,94 ve B allelinin 0,06 frekansında olduğu belirlenmiştir. LEP geni *Sau3AI* genotip frekanslarının, Simmentallerde AA, AB ve BB sırasıyla %78,3, %16,7 ve %5,0 olduğu, Esmer İsviçre ırkta ise AA, AB ve BB sırasıyla %88,7, %9,7 ve %1,6 olduğu gözlemlenmiştir. Her iki ırk için yapılan Hardy-Weinberg genetik denge testine göre Esmer İsviçre ırkta yapılan LEP/*Sau3AI* geni polimorfizminde dengede ($X^2=0,1187$) ($P>0,05$) olduğu, Simmental ırkta ise ($X^2=0,0307$) ($P<0,05$) dengede olmadığı saptanmıştır. Simmental ırkı sığırlarda dengede olmama durumunun, çalışmanın özel bir işletmede alınan örneklerden yapıldığı göz önüne alındığında işletmede yapılan ıslah çalışmalarında şansa bağlı çiftleşmenin olmaması nedeniyle popülasyonda belirli genotiplerin artmasının engellendiği düşünülmektedir.

Çalışmada Simmental ve Esmer İsviçre ırkı sığırlarda gerçek süt verimine etkisi incelendiğinde Esmer İsviçre ırk için gerçek süt verimine ait genel ortalama $3917,86 \pm 1584,38$ kg bulunurken Simmental ırkı sığırlarda genel ortalama $5422,4 \pm 1901,74$ kg olarak bulunmuştur. Popülasyon içi LEP genotipi ortalamalarına bakıldığında, Esmer İsviçre ırkında en yüksek ortalama AA genotipinde $3997,8 \pm 1625,69$ kg ve en düşük ortalama AB genotipinde $3076,5 \pm 943,68$ kg belirlenirken BB genotipinin $3973,2 \pm 1338,56$ kg olarak AA genotipine oldukça yakın olduğu gözlenmiştir. Simmental ırkta ise en yüksek ortalama AB genotipinde $5563,7 \pm 2005,61$ kg iken en düşük ortalama BB genotipinde $4079,4 \pm 585,72$ kg bulunmuştur. Esmer İsviçre ırkı için varyans analizi değerlendirildiğinde genotip ve buzağılama mevsiminin gerçek süt verimine etkisi önemsiz ($P>0,05$) bulunurken, laktasyon sırasının etkisi önemli ($P<0,05$) bulunmuştur. Simmental ırkı sığırlarda ise, LEP genotipi, buzağılama mevsimi ve laktasyon sırasının gerçek süt verimine etkisi önemsiz ($P>0,05$) olarak bulunmuştur.

Araştırma sürüsünde çalışılan Simmental ve Esmer İsviçre ırkı sığırlarda ait 305-gün süt verimi genel ortalaması sırasıyla Simmental ve Esmer İsviçre ırkta $5626,6 \pm 1475,85$ kg, $4614,3 \pm 982,62$ kg olarak belirlenmiştir. Simmental ve Esmer İsviçre ırkı sığırlarda LEP genotip ortalamalarına bakıldığında, Simmental ırkta AA, AB ve BB genotipleri sırasıyla $5665,9 \pm 1462,78$ kg, $5739,8 \pm 1583,03$ kg ve $4258,3 \pm 969,13$ kg, Esmer İsviçre ırkta ise AA, AB

ve BB genotipleri sırasıyla 4667,8±982,67 kg, 4144,5±949,47 kg ve 4395,6±915,12 kg olarak belirlenmiştir. Simmental ırkta AB genotipi ve Esmer İsviçre ırkta ise AA genotipine sahip hayvanların 305-günlük süt verimlerinin diğer genotiplerden daha fazla olduğu gözlemlenmiştir. Her iki ırkta 305-günlük süt verimi üzerine LEP genotipinin, laktasyon sırasının ve buzağılama mevsiminin etkisi önemsiz ($P>0,05$) olarak bulunmuştur.

Çalışmada laktasyon süresi için elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde laktasyon süresi genel ortalaması sırasıyla Esmer İsviçre 254,9±99,88 gün ve Simmentallerde 298,7±84,80 gün olarak bulunmuştur. LEP geni *Sau3AI* genotiplerinin laktasyon süresi ortalamaları, Esmer İsviçre ırk için AA genotipi 256,5±101,52 gün, AB genotipi 234,8±99,21 gün ve BB genotipi 263,8±55,35 gün olarak bulunmuş ve Esmer İsviçre ırk için laktasyon süresi en yüksek BB genotipi olduğu gözlemlenmiştir. Simmental ırk için laktasyon süresi ortalamalar, AA genotipi 298,8±85,51 gün, AB genotipi 295,3±83,15 gün ve BB genotipi 308,3±107,22 gün olarak bulunmuştur. Sonuç olarak yapılan çalışmada her iki ırk için BB genotipine sahip ineklerin laktasyon sürelerinin daha uzun olduğu belirlenmiştir. Çalışmada Varyans analiz sonuçlarıma göre, *LEP* genotipinin, laktasyon sırası ve buzağılama mevsiminin laktasyon süresine etkisi Simmental ırkta önemsiz ($P<0,05$) bulunurken Esmer İsviçre ırkta laktasyon sırasının etkisi önemli ($P>0,05$) olarak bulunmuştur.

Çalışmada günlük süt verimi için sonuçlar değerlendirildiğinde, günlük süt verimi genel ortalaması sırasıyla Simmental ve Esmer İsviçre ırkta 18,5±4,84 kg, 16,0±3,82 kg olarak belirlenmiştir. Ayrıca LEP genotiplerinin Simmental ırkı ineklerde AA 18,6±4,80 kg, AB 18,9±5,19 kg ve BB 14,0±3,18 kg ve Esmer İsviçre ırkı ineklerde sırasıyla AA 16,2±3,81 kg, AB 14,4±4,10 kg ve BB 14,8±2,71 kg olarak bulunmuştur. Günlük süt verimi bakımından LEP genotip ortalamalarına bakıldığında, Esmer İsviçre ırkında AA genotipinin, Simmentallerde ise AB genotipinin günlük süt veriminin yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Yapılan Varyans analiz sonucunda Simmental ırkta LEP genotipi, laktasyon sırası ve buzağılama mevsimi faktörlerinin günlük ortalama süt verimi üzerine etkisi önemsiz ($P>0,05$) olarak bulunurken, Esmer İsviçre ırkta farklı olarak laktasyon sırasının günlük ortalama süt verimine etkisi önemli ($P<0,05$) olarak bulunmuştur.

Araştırma sonucunda *LEP* geni *Sau3AI* polimorfizmini belirlemek adına Simmental ve Esmer İsviçre ırkı sığırlardan ele edilen genomik DNA'lerden PCR-RFLP yöntemi kullanılarak her bir sığır ırkının genotip ve allel frekansları belirlenmiştir. Elde edilen sonuçların popülasyonlara ait genotip ve allel frekanslarını ortaya çıkarmada yeterli olduğu ve yapılan ilişkilendirme analiz sonucunda *LEP* geni *Sau3AI* polimorfizminin süt verimi ile ilgili performans özellikleri üzerine etkisinin her iki ırkta da önemsiz ($P>0,05$) olduğu görülmüştür.

Bu tür çalışmaların sığırların ıslahında kullanılabilirliğinin ortaya konması ve benzer çalışmaların farklı ırklarda, farklı bölgelerde ve daha büyük popölasyonlarda uygulanması ile hayvancılığın geliştirilmesine büyük katkılar ve yeni olanaklar sağlayabileceği düşünölmektedir.



KAYNAKÇA

- Akbulut, Ö., 1998. Simental sığırların Türkiye'de verim performansı üzerine bir değerlendirme. Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Derg, 29(1): 43-49.
- Akman, N., 2016. Hayvan Islahı. Ankara Üniv. Ziraat Fakültesi Zootečni Bölümü ders notları. http://zootečni.agri.ankara.edu.tr/wp-content/uploads/sites/353/2016/03/HYB_ISLAH_2016.pdf
- Alashawkany, A.R., Shahroudi, F.E., Nassiry, M.R., Moussavi, A.H., Heydarpour, M., Sadeghi, B., 2008. Association of SNP in the exon II of leptin gene with milk and reproduction traits in Holstein Iranian Cows. Biotechnology 7(2): 347-350.
- Anonim, 1980. File//C:/Users/ASUS/Downloads/nufus-ve-gida-sorunlari.pdf
- Anonim, 2013. Gıda Teknolojisi işletmeleri, Ankara http://megep.meb.gov.tr/mte_program_modul/modullerpdf/S%C3%BCt%C3%BC%20%C4%B0%C5%9Fletmeye%20Alma.pdf
- Anonim, 2019. Tigem raporu. <https://www.tigem.gov.tr/WebUserFile/DosyaGaleri/2018/2/a374cc25-acc144e8a54663b4c8bce146/dosya/2019%20yılı%20hayvancılık%20sektor%20raporu.pdf>
- Anonim, 2020a. <https://www.nufusu.com/dunya-nufusu>
- Anonim, 2020b. <https://www.tarimorman.gov.tr/sgb/Belgeler/SagMenuVeriler/HAYGEM.pdf>
- Anonim, 2020c. <https://www.esk.gov.tr/tr/10889/Simmental-Sığır-Irkı-Sarı-Alaca>
- Aytekin, İ., 2011. Konuklar Tarım İşletmesinde Yetiştirilen Esmer İsviçre Sığırlarında Leptin ve PİT-1 Geni Polimorfizmleri ile Süt Verimi ve Kompozisyonu Arasındaki İlişkiler, Doktora tezi, Konya: Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Zootečni Anabilim Dalı, Konya
- Bayram, D., Akyüz B., İşcan K., 2013. Kayseri ve Civarında Yetiştirilen Holstein Sığırlarında Pit I ve Leptin Genlerinin Allel Frekanslarının Belirlenmesi, Araştırma projesi, Kayseri: Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi,
- Block, S.S., Butler, W.R., Ehrhardt, R.A., Bell, Aw., Van Amburgh, M.E. Boisclair, Y.R. 2003. Decreased Concentration of Plasma Leptin in Periparturient Dairy Cows is Caused by Negative Energy Balance. J. Endocrinol., 71:339-348.
- Buchanan, F.C., Fitzsimmons, C.J., Van Kessel, A.G., Thue, T.D., Winkelman-Sim, D.C., Schmutz, S.M., 2002. Association of a missense mutation in the bovine leptin gene with carcass fat content and leptin mRNA levels. Genet. Sel. Evol. 34: 105-116.
- Buchanan, F.C., Van Kessel, A.G., Waldner, C., Christensen, D.A., Laarveld, B., Schmutz, S.M., 2003. An association between a leptin single nucleotide polymorphism and milk and protein yield. J. Dairy Sci. 86: 3164-3166.
- Cardoso, S.R., Queiroz, L.B., Alonso Goulart, V., Mourão, G.B., Benedetti, E. and Goulart, L.R., 2011. Productive performance of the dairy cattle Girolando breed mediated by the fat-related genes DGAT1 and LEP and their polymorphisms. Research in Veterinary Science, 91,107–112.
- Choudhary, V., Kumar, P., Bhattacharya, T.K., Bhushan, B., Sharma, A., 2005. DNA polymorphism of leptin gene in Bos indicus and Bos taurus cattle. Genetics and Molecular Biology 28(4): 740-742. Cloning of the mouse obese gene and its human homologue, Nature, 372: 425-432.
- Çakıllı, F., ve Güneş H., 2007. Esmer Sı Gırların Süt Verim Özellikleri Üzerinde Ara Ştırmalar. İstanbul Üniv. Vet. Fak. Derg. 33 (3), 43-58, 2007
- Chebel, R. C., Susca, F. and Santos, J. E. P., 2008. Leptin Genotype Is Associated with Lactation Performance and Health of Holstein Cows, J. Dairy Sci., 91: 2893-2900.
- Çoban, Z., 2015. Aydın İlinde Yetiştirilen Yerli Sığırlarında Leptin Gen Polimorfizmlerinin Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Aydın: Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Zootečni Anabilim Dalı.

- Dandapat, A., Kumar, D., Ghosh, A.K., Umapathi, V., 2010. A note on a DNA polymorphism study of leptin gene in Sahiwal and crossbred cattle using PCR-RFLP technique. *Livestock Research for Rural Development* 22(1): Article Number 7.
- Davis, G. P. and DeNise, S. K., 1998, The Impact of Genetic Markers on Selection, *J. Anim.Sci.*, 76: 2331-2339.
- Friedman, J. M., and Halaas, J. L., 1998, Leptin and the regulation of body weight in mammals, Genetics and physiology of leptin in periparturient dairy cows, *Domest. Anim.* Ganja, May 14-16.
- Ghazanfari, S., Nassiry, M., Moussavi, A. H., 2006, Polymorphism in gene leptin and its relationship to milk production and reproduction traits in Brown Swiss cows, *Proceedings of The British Society of Animal Science*, Poster Presentation,
- Gürses, M., 2010. Bazı Kültür ve Yerli Sığır İrklarında Leptin Geni Polimorfizmlerinin Belirlenmesi ve Süt Verimi ile Bileşimi Üzerine Etkileri, Doktora Tezi, Elâzığ: Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Zootekni Anabilim Dalı.
- Haegeman, A., van Zaveren, A., Peelman, L.J., 2000. New mutation in exon 2 of bovine leptin gene. *Anim. Genet.* 31: 79.
- Harmandar, A., 2019. Siyah Alaca, Esmer ve Simental İrki Sığırların Bazı Süt Verim Özellikleribakımından Karşılaştırılması.Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Kahramanmaraş.
- Houseknecht, K. L., Baile, C. A., Matteri, R. L. and Spurlock, M. E., 1998, The biology of Leptin: a review, *J. Anim. Sci.*, 76:1405-1420.
- Hodoğlugil, S., 1996. Ereğli Koyunculuk Üretim İstasyonunda Yetiştirilen Siyah Alaca ve Esmer İsviçre Sürülerinindöl ve Süt Verim Özellikleri. Yüksek Lisans Tezi Selçuk üniversitesi Fen Bilimler Enstitüsü Zootekni Anabilim Dalı, Konya.
- Javanmard, A., Elyasi, G., Gharahedaghi, A. A., Nassiry, M.R., Ayazi, A. and Asadzadeh, N. 2004. Polymorphism Within The Intron Region Of The Bovine Leptin Gene In IranianSarabi Cattle. *The Joint Agriculture and Natural Resources Symposium*, Tabriz –Ganja, May 14-16.
- Javanmard, A., Asadzadeh, N., Hossein Banabazi, M. and Tavakolian, J., 2005. The Allele and Genotype Frequencies of Bovine Pitvitary- SpecificTranscription Factor and Leptin Gene in Iranian Cattle and buffaloPopulations using PCR-RFLP. *Iranian Journal of Biotechnology.*, 25: 3-2.
- Javanmard, A., Mohammadabadi, M.R., Zarrigabayi, G.E., Gharahedaghi, A.A., Nassiry, M.R., Javadmansh A., Asadzadeh, N., (2008). Polymorphism within the Intron Region of the Bovine Leptin Gene in Iranian Sarabi Cattle (Iranian Bos taurus). *Russian Journal of Genetics*, 2008, Vol. 44, No. 4, pp. 495–497.
- Javanmard, A., Khaledi, K., Asadzadeh, N. and Solimanifarjam, A.R., 2010, Detection of Polymorphisms in the Bovine Leptin (LEP) Gene: Association of a Single Nucleotide Polymorphism with Breeding Value of Milk Traits in Iranian Holstein Cattle, *Journal of Molecular Genetics*, 2(1): 10-14.
- Jawasreh F., Khaleel, I., Awawded, Z., Rawashded, I., Hejazeen. F., 2009. TheAllele and Genotype Frequencies of Bowine Pitvitary SpecificTranscription Factor and Leptin Genes in Jordanian Cattle Population by using PCR-RFLP. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 3(3): 1601-1606.
- Koç, A., 2016. Simmental yetiştiriciliğinin değerlendirilmesi: 1. Dünyada ve Türkiye'deki yetiştiriciliği. *Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi* 2016; 13(2) : 97 – 102.
- Komisarek, J., Szyda, J., Michalak, A., and Dorynek, Z., 2005. Impact of leptin gene polymorphisms on breeding value for milk production traits in cattle. *J. Anim. Feed Sci.*, 14 (3) 491-500.

- Konfortov, B.A., Licence, Miller, J.r. 1999. Re-sequencing of DNA from a Diverse Panel of Cattle Reveals a High Level of Polymorphism in Both Intron and Exon. *Mamm. Genome.*, 10(12):1142–5.
- Kopuzlu, S., 2003. Esmer ve Siyah Alaca Irkı Sığırların Doğu Anadolu Tarımsal Araştırma Enstitüsü İşletmesi Şartlarında Süt Verimi, Döl Verimi, Büyüme ve Yaşam Gücü. Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimler Enstitüsü, Zootekni Anabilim Dalı, Erzurum
- Kök, S., Vapur, G., Özcan, C., 2015. Sığır Etlerinde Mozaikleşme ile İlişkili Leptin (LEP) Geni Polimorfizmleri. *Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi* 2(4): 297–302, 2015
- Kulig, H., Kmiec, M, Kowalewska-Luczak, I, Andziak, G., 2009. Effect of leptin gene polymorphisms on milk production traits of Jersey cows. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.* 33(2): 143- 146.
- Kulig H. 2005a. Association between leptin combined genotypes and milk performance traits of Polish Black-and-White cows. *Arch. Tierz. Dummerstorf* 48(6): 547-554.
- Kulig, H. 2005b. Associations Between Leptin Gene Polymorphism and Some Milk Performance Traits of Cattle. *Journal of Animal and Feed Sciences.*, 14 (2): 235-243.
- Kulig, H., Kmiec, M. and Wojdak-Maksymiec, K., 2010, Associations between Leptin Gene Polymorphisms and Somatic Cell Count in Milk of Jersey Cows, *Acta Vet.*, 79: 237-242.
- Lagonigro, R., Wiener, P., Pilla F., Woolliams, J.A., Williams, J.L., 2003. A new mutation in the coding region of the bovine leptin gene associated with feed intake. *Anim. Genet.* 34: 371- 374.
- Liefers, S.C., te Pas M.F.W., Veerkamp, R.F., van der Lende T., 2002. Associations between Leptin Gene Polymorphisms And Production. Live Weight. Energy Balance. Feed intake. And Fertility in Holstein heifers. *J. Dairy Sci.* 85: 1633-1638.
- Liefers S.C., Veerkamp, R.F., te Pas M.F.W., Delavaud, C., Chilliard, Y., van der Lende T. 2003. Leptin concentrations in relation to energy balance, milk yield, intake, live weight and estrus in dairy cows. *J Dairy Sci.* 86(3): 799-807. Madeja Z, Adamowicz T, Chmurzynska A, Jankowski T, Melonek J, Switonski M, Strabel T. (2004). Short communication: effect of leptin gene polymorphisms on breeding value for milk production traits. *J. Dairy Sci.* 87: 3925-3927.
- Meuwissen, T.H.E., and Goddard, M.E., 1996, The use of marker-haplotypes in animal breeding schemes, *Genetics Selection Evolution*, 28: 161-176.
- Moussavi, A.H., Ahouei, M., Nassiry, M.R. and Javadmanesh, A. 2006. Association of leptin polymorphism with production, reproduction and plasma glucose level in Iranian Holstein cows. *Asian-Australasian J. of Anim. Sci.*, 19 (5):627-631 (Abst).
- Ninov, K., Ledur, M.C., Alves, H.J., Rosario, M.F., Nones, K., Coutinho, L.L., 2008. Investigation of leptin gene in broiler and layer chicken lines. *Scientia Agricola*.65: 214-219
- Nobari K., Ghazanfari, S., Nassiry, M.R., Tahmoorespur, M., Jorjani, E., 2010: Relationship between leptin gene polymorphism with economical traits in Iranian Sistani and Brown Swiss Cows. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 9(22), 2807-2810.
- Özdemir, M. ve Doğru, Ü., 2008. Sığırların Verim Özellikleri Üzerine Etkili Önemli Moleküler Markörler. *Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Derg.* 39 (1), 127-135, 2008 ISSN: 1300-9036.
- Özdemir, M. 2011. Genetic polymorphism of leptin gene in Holstein and native East Anatolian Red (EAR) cattle raised as genetic resource in Turkey. *Afr. J. of Agr. Res.*, Vol. 6(27):6008-6010.
- Öztabak, K., Tokar, N., Ün C., Akış, I., Mengi, A., Karadağ, O., Soysal, D., 2006. Leptin Gene Allele Frequencies of Turkish Grey, South Anatolian Red and East Anatolian Red cattle. Joint Scientific Symposium of the Veterinary Faculties of Ludwig Maximilians Universitaet München and Istanbul University. October 5-6, 2006. İstanbul, Turkey.

- Öztabak, K., Toker, N.Y, Ün, C., Akış, I., Mengi, A., Karadağ, O., Soysal, D., 2010. Leptin Gene Polymorphisms in Native Turkish Cattle Breeds. *Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg.*, 16 (6): 921-924.
- Pomp, D., Zou, T., Clutter, A.C., Barendse, W., 1997. Rapid communication: mapping of leptin to bovine chromosome 4 by linkage analysis of a PCR-based polymorphism. *J. Anim. Sci.* 75(5): 1427.
- Rasor, C.C., Thomas, M.G., Enns, R.M., Salazar, H.C., Zhang, H.M., Williams, G.L., Stanko, R.L., Randel, R.D. and Rios, J., 2002, Allelic and Genotypic Frequencies of the Leptin Gene Sau3AI Restriction Fragment Length Polymorphism and Evaluation of its Association to Age-of-Puberty in Cattle in the Southwestern United States and Northern Mexico, *Journal of Professional Animal Scientists*, 18 (2): 141-146.
- Sadeghi, M., Babak, M.M.S., Rahimi, G., Javaremi, A.N., (2008). Effect of leptin gene polymorphism on the breeding value of milk production traits in Iranian Holstein. *Animal* 2(7): 999-1002.
- Schnabel, R.D., Sonstegard, T. S., Taylor, J. F. and Ashwell, M. S., 2005, Whole genomescan to detect QTL for milk production, conformation, fertility and functional traits in two US Holstein families, *Animal Genetics*, 36: 408-416
- Sharifzadeh, A. and Doosti, A., (2010) Genetic polymorphism at the leptin gene in Iranian Holstein cattle by PCR-RFLP. *African Journal of Microbiology Research* Vol. 4(12), pp. 1343-1345.
- Sönmez, Z., 2017. Sığırlarda Verim Özelliklerini Etkileyen Bazı Moleküler Markır Polimorfizmlerinin Belirlenmesi ve Verimle İlişkilendirilmesi, Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Zootečni Anabilim Dalı, Erzurum
- Taniguchi, Y., Itoh, T., Yamada, T. and Sasaki, Y., 2002, Genomic structure and promoter the Polish population of Holstein-Friesian bulls, *Ann. Anim. Sci.*, 5 (2): 253-260.
- Tamburino, L., Bravo, G., Clough, Y., Nicholas, K., 2020. From Population To Production: 50 Years Of Scientific Literature On How To Feed The World. Elsevier, 2020. Cilt. 24, p. 1-8, makale kimliği 100346.
- Trakovická, A., Moravčíková, N., Kasarda, R., 2013. Genetic polymorphisms of leptin and leptin receptor genes in relation with production and reproduction traits in cattle. *Acta abp biochimica polonica*. Vol. 60, No 4/2013 783–787.
- USDA-ARS., (2004). USDA National Nutrient Database for Standard Reference, Release 18. USDA Agricultural Research Service, USDA Nutrient Data Laboratory, Washington, DC.
- Ünal, H., 2020. Simmental ırkı sığırlarda k-kazein (CSN3) geni polimorfizmi ve bazı performans özellikleri arasındaki ilişkileri. Yüksek Lisans Tezi. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Zootečni Anabilim Dalı, Erzurum.
- Van Der Lende, T., Te Pas, M.F., Veerkamp, R.F., Liefers, S.C., 2005, Leptin gene polymorphisms and their phenotypic associations, *Vitamins and Hormones*, 71, 373-404.
- Yılmaz, İ., ve Yılmaz, E., 2012. Türkiye’de hayvansal gıda tüketimi ve sorunlar. 10. Ulusal Tarım Ekonomisi Kongresi • 5-7 Eylül 2012 • Konya
- Zhang, Y, Proenca, R, Maffei, M., Barone, M., Leopold, L., Friedman, J.M. (1994). Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 372: 425-32.
- Zwierzchowski, L, Krzyzewski J, Strzalkowska N, Siadkowska E, Ryniewicz Z. (2002). Effects of polymorphism of growth hormone (GH), Pit-1, and leptin (LEP) genes, cow’s age, lactation stage and somatic cell count on milk yield and composition of Polish Black-and-White cows. *Anim. Sci. Pap. Rep.* 20: 213-227.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı: Tuğba ATALAY

Doğum tarihi:

Doğum Yeri:

Uyruğu:

Adres:

E-mail:

Eğitim

Lise: Faik- Fikriye Torunoğulları Anadolu Sağlık Meslek Lisesi

Lisans: Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği

Yüksek lisans: Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Zootekni Anabilim Dalı, Biyometri ve Genetik Bilimdalı (2020)

Yabancı Dil Bilgisi

İngilizce: Orta