



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ**  
**ANKARA ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



**BAZI YERLİ KOYUN IRKLARINDA**  
**INHBB GENİ EKZON-2 BÖLGESİNİN**  
**ve FSHB GENİ EKZON-3 BÖLGESİNİN**  
**YAVRU VERİMİNE ETKİSİ**

**İlke ÜNLÜSOY**

**GENETİK ANABİLİM DALI**  
**DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN**  
**Prof. Dr. Okan ERTUĞRUL**

**2015- ANKARA**

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ**  
**ANKARA ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BAZI YERLİ KOYUN IRKLARINDA**  
**INHBB GENİ EKZON-2 BÖLGESİNİN**  
**ve FSHB GENİ EKZON-3 BÖLGESİNİN**  
**YAVRU VERİMİNE ETKİSİ**

**İlke ÜNLÜSOY**

**GENETİK ANABİLİM DALI**  
**DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN**

**Prof. Dr. Okan ERTUĞRUL**

**Bu Tez, TAGEM tarafından ve**  
**TÜBİTAK tarafından 2214/A**  
**programı ile desteklenmiştir.**

**2015- ANKARA**

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri

**Genetik Doktora Programı**

çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından

**Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 02.03.2015

Prof. Dr. Okan ERTUĞRUL

Ankara Üniversitesi

Jüri Başkanı

Prof. Dr. Necmettin ÜNAL

Ankara Üniversitesi

Doç. Dr. Bilal AKYÜZ

Erciyes Üniversitesi

Yard. Doç Dr. Bengi

ÇINAR KUL

Ankara Üniversitesi

Raportör

Yard. Doç Dr. Özgecan

KORMAZ AĞAOĞLU

Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi

## İÇİNDEKİLER

	Kabul ve Onay	ii
	İçindekiler	iii
	Önsöz	viii
	Simgeler ve Kısaltmalar	x
	Şekiller	xii
	Çizelgeler	xiv
<b>1.</b>	<b>GİRİŞ</b>	<b>1</b>
1.1.	Yerli Koyun Irkları ve Özellikleri	2
1.1.1.	Akkaraman Koyunu	3
1.1.2.	Bafra Koyunu	5
1.2.	Koyunlarda Üreme Mekanizması	7
1.3.	Folikülerin Gelişim Mekanizması	8
1.3.1.	Embriyonik Dönemdeki Gelişimi	8
1.3.2.	Primordial Folikül Gelişimi	10
1.3.3.	Preantral Folikül Gelişimi	11
1.3.4.	Antral Folikül Gelişimi	12
1.3.5.	Preovülatör Folikül Gelişimi	13
1.4.	Büyüme Faktörlerinin Yavru verimi Üzerine Etkisi	13
1.5.	Majör Genler	16
1.5.1	Booroola Geni (FecB)	16
1.5.2.	BMP-15 Geni (FecX)	17

1.5.2.1.	Inverdale Geni (FecX <sup>I</sup> )	18
1.5.2.2.	Hanna Geni (FecX <sup>H</sup> )	19
1.5.2.3.	Galway Geni (FecX <sup>G</sup> )	19
1.5.2.4.	Belclare Geni ( FecX <sup>B</sup> )	20
1.5.2.5.	Lacaune Geni (FecX <sup>L</sup> )	20
1.5.3.	GDF-9 Geni (FecG <sup>H</sup> )	21
1.5.4.	Lacaune geni (FecL <sup>L</sup> )	22
1.5.5.	Woodlands Geni (FecX2 <sup>W</sup> )	23
1.5.6.	Thoka Geni (FecI <sup>I</sup> )	23
1.5.7.	Olkuska Geni	24
1.5.8.	Belle-Ile Geni	24
1.6.	Folikül Sitümüle Edici Hormon (FSH) ve Folikül Sitümüle Edici Hormon Beta (FSHB)	25
1.7.	İnhibin ve İnhibin Beta B (INHBB)	27
1.8.	FSH ve İnhibin Etkileşimi	28
1.9.	Dizi Analiz Yöntemleri	29
1.9.1.	Maxam-Gilbert Yöntemi	29
1.9.2.	Sanger Yöntemi	31
1.9.3.	Otomatik Cihazlar	34
1.10.	İstatistiki Değerlendirmeler	35
1.10.1.	Allel Değerlendirmesi	35
1.10.2.	Komşu Birleştirme Ağacı (Neighbour Joining Tree)	37
1.10.3.	Uyumsuzluk (Mismatch) Dağılımı	37
1.10.4.	Nötralite Testleri	39

1.10.4.1.	Fu ve Li's F* Testi	40
1.10.4.2.	Fu ve Li's D* Testi	40
1.10.4.3.	Tajima's D Testi	40
1.10.4.4.	Nükleotit Farklılığı ( $\pi$ )	41
1.10.5.	Temel Bileşenler Analizi ( Principal Component Analysis: PCA)	41
1.10.6.	Varyans Analizi	42
1.10.6.1.	Standart Sapma	43
1.10.6.2.	Aritmetik Ortalama	43
1.10.6.3.	Standart Hata	43
1.10.6.4.	Medyan (Ortanca)	44
1.10.6.5.	Değişim (Dağılım) Aralığı	44
1.10.7.	Regresyon Analizi	44
1.10.7.1.	Lojistik Regresyon	44
<b>2.</b>	<b>GEREÇ ve YÖNTEM</b>	<b>46</b>
2.1.	Hayvan Materyali	46
2.2.	DNA İzolasyonu	46
2.3.	DNA Kalite ve Miktar Tayinleri	48
2.4.	Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)	49
2.5.	Agaroz Jel Kontrolü	51
2.6.	PZR Pürifikasyonu	51
2.7.	Sekans PZR'si	52
2.8.	Sekans Ürünlerinin Temizlenmesi	53
2.9.	Dizi Analizi (Sekans)	53
2.10.	Sekans Dizilerinin Hizalanması ve SNP Tespiti	54

2.11.	İstatistiki Analizler	55
2.11.1.	Allel Değerlendirmesi	55
2.11.2.	Haplotip Değerlendirmesi	55
2.11.3.	Komşu Birleştirme Ağacı Metodu	55
2.11.4.	Uyumsuzluk (Mismatch) Dağılımı	55
2.11.5.	Nötralite Testleri	56
2.11.6.	Temel Bileşenler Analizi (PCA)	56
2.11.7.	Protein Analizleri	56
2.11.8.	Varyans Analizi ve Lojistik Regresyon Analizi	56
<b>3.</b>	<b>BULGULAR</b>	<b>58</b>
3.1.	DNA Kalite ve Miktar Tayini	58
3.2.	Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)	61
3.3.	Dizi Analizi	64
3.4.	İstatistiki Değerlendirmeler	73
3.4.1.	Allel Değerlendirmesi	73
3.4.2.	Network Analizi	74
3.4.3.	Kimura Komşu Birleştirme Ağacı	78
3.4.4.	Uyumsuzluk Analizleri	80
3.4.5.	Nötralite Testleri	81
3.4.6.	Temel Bileşenler Analizi (PCA)	82
3.4.7.	Protein Analizleri	82
3.4.8.	Gen Bankası Taraması	83
3.4.9.	SNP Kombinasyonlarının Belirlenmesi	84
3.4.10.	Varyans Analizi	86

3.4.11.	Lojistik Regresyon Analizi	90
<b>4.</b>	<b>TARTIŞMA</b>	<b>93</b>
4.1.	Allel Değerlendirmesi	94
4.2.	Protein Analizi	96
4.3.	Haplotip Değerlendirmesi	96
4.4.	Uyumsuzluk ve Nötralite Testleri	97
4.5.	Temel Bileşenler Analizi (PCA)	99
4.6.	Varyans Analizi ve Lojistik Regresyon	99
<b>5.</b>	<b>SONUÇ ve ÖNERİLER</b>	<b>102</b>
	<b>ÖZET</b>	<b>104</b>
	<b>SUMMARY</b>	<b>105</b>
	<b>KAYNAKLAR</b>	<b>106</b>
	<b>EKLER</b>	<b>114</b>
	<b>ÖZGEÇMİŞ</b>	<b>116</b>

## ÖNSÖZ

Genetik ve çevresel faktörlerin yavru verimi üzerine etkisi bilinen bir gerçektir. Çevresel faktörlerin özellikle beslemenin yavru verimi üzerine etkisinin araştırılması uzun yıllardır yapılırken yavru verimi üzerine hangi genlerin etkili olduğuna dair araştırmalar ancak DNA teknolojisindeki gelişmelerle başlayabilmıştır. Bunun için RFLP, dizi analizi, mikroarray, yeni nesil sekansı gibi teknikler sıklıkla kullanılmaktadır. Yavru verimi ile ilişkilendirilen genler içinde tek nükleotid polimorfizmlerinin varlığı sıklıkla bildirilmiştir. Bunun sonucunda bazı koyun ırklarında yavru verimi ile ilişkili bazı polimorfizmler tespit edilmiştir. Yerli koyun ırklarında bu konudaki çalışmalar devam etmektedir. Yavru verimi ile ilişkilendirilen bazı polimorfizmlerin aminoasit değişimine yol açtığı ve bazı hormonların serum düzeyinde değişikliğe sebep olduğu bildirilmiştir. Bu yüzden, yavru verimi üzerine etkili hormonları sentezleyen genlerin genetik yapısını incelemenin ayrı bir önemi bulunmaktadır. Bu çalışmada yavru verimine etkili iki önemli hormon FSH'nin yapısına katılan bir alt ünitenin ve İnhibin'in yapısına katılan bir alt ünitenin gen bölgeleri incelenmiştir ve tespit edilen polimorfizmlerin yavru verimi ile ilişkisi ortaya konulmaya çalışılmıştır.

Çalışmam sırasında yaşadığım tüm zorlukları aşmama yardımcı olan, beni yetiştiren ve manevi desteğini esirgemeyen saygıdeğer danışman hocam Prof. Dr. Okan ERTUĞRUL'a sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Kendi çalışma saatinden ayırıp sorularımı sabırla cevaplayan, tezime büyük katkısı bulunan Yard. Doç Dr. Özge ÖZMEN'e ve çalışmalarım sırasında da yardımını esirgemeyen Yard. Doç. Dr. Bengi ÇINAR KUL'a ve tez tecrübelerini benimle paylaşan Yard. Doç Dr. Özgecan KORMAZ AĞAOĞLU'na teşekkürlerimi sunuyorum.

Laboratuvar çalışmalarım sırasındaki yardımlarından dolayı doktora öğrencileri Nüket BİLGİN, Cevat TEMİZKAN ve Yenal AKKURT'a teşekkür ediyorum.

Hayvan materyali bulmam için çabalayan, destek olan hocalarım Prof. Dr. Halil AKÇAPINAR'a ve Doç. Dr. Bilal AKYÜZ'e, sadece tez ile değil diğer projelerdeki sorularımı da sıkılmadan yanıtlayan Prof. Dr. Necmettin ÜNAL'a teşekkürlerimi sunuyorum.

Bioinformatik değerlendirmeler için bana laboratuvarının kapılarını açan farklı teknikler hakkında bilgi sahibi olmamı sağlayan Trinity Collage Dublin öğretim üyelerinden Prof. Dr. Daniel BRADLEY ve doktora öğrencisi Ian RICHARDSON'a çok teşekkür ediyorum.

İstatistik değerlendirmelerde büyük yardımı dokunan Prof. Dr. Sefa GÜRÇAN'a, Prof. Dr. Sıddık KESKİN'e ve doktora öğrencisi Pınar AMBARCIOĞLU'na gönülden teşekkür ediyorum.

Doktora öğrenimime gösterdikleri kolaylıklardan ötürü Hayvancılık Merkez Araştırma Enstitüsü idari personeline, içinden çıkamadığım kimyasal formüllerde yardımcı olan Kimya Mühendisi Vedat KARAKAŞ'a, kan almama yardımcı olan Yard. Doç. Dr. Tahir KARAŞAHİN'e, ve kayıt tutmama yardımcı olan Ziraat Mühendisi Engin ÜNAY'a, , tezimdeki yazım hatalarımın kontrolünde büyük emek harcayan Biyolog Senem Esin SELÇUK'a bütün kalbimle teşekkür ediyorum.

Laboratuvar problemlerine hızlı çözüm üreten, işimin aksamaması için çaba sarf eden firma çalışanlarından Samet ECE'ye ve Hasan ŞAHİN'e, PZR ve sekans analizlerinin optimizasyonunda çok emeği geçen Yörük DİVANOĞLU'na teşekkürlerimi sunuyorum.

Projeye sağladıkları desteklerden ötürü TAGEM ve TÜBİTAK'a çok teşekkür ediyorum.

Yaşadığım sıkıntıları ve başarıları ilk olarak anlattığım, beni sıkılmadan dinleyen, benimle beraber genetiği öğrenen, en büyük destekçim, kıymetlim, biricik annem Mesure ÜNLÜSOY'a ve hoşgörülü sevgili babam Behçet ÜNLÜSOY'a sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

**İlke ÜNLÜSOY**

## SİMGELER ve KISALTMALAR

A	:Adenin
Akk	:Akkaraman
$\alpha$	:Alfa
Baf	:Bafra
$\beta$	:Beta
BMP	:Bone Morphogenic Protein (Kemik Morfojenik Proteinleri)
FecB	:Booroola Geni
FecX	:BMP-15 Geni
FecX <sup>I</sup>	:Inverdale Geni
FecX <sup>H</sup>	:Hanna Geni
FecX <sup>G</sup>	:Galway Geni
FecX <sup>B</sup>	:Belclare Geni
FecX <sup>L</sup>	:Lacaune Geni
FecG <sup>H</sup>	:GDF-9 Geni
FecL <sup>L</sup>	:Lacaune Geni
FecX2 <sup>W</sup>	:Woodlands Geni
FecI <sup>I</sup>	:Thoka Geni
C	:Sitozin
cm	:Santimetre
°C	:Santrigrat Derece
DMSO	:Dimetil Sülfoksit
DNA	:Deoksiribonükleikasit (Deoxyribonucleic acid)
dNTP	:Deoksiribonükleotit Trifosfat
ddH <sub>2</sub> O	:Bidistile Su
ddNTP	:Dideoksiribonükleotit Trifosfat
dk	:Dakika
EDTA	:Etilendiamintetraasetik Asit (Ethylene di-amin tetra acetic acid)
EtBr	:Etidyum Bromid
FSH	:Folikül Sitümüle Edici Hormon
FSHB	:Folikül Sitümüle Edici Hormon Beta
G	:Guanin
gr	:Gram
GDF	:Growth Differentiation Factor (Büyüme Farklılaşma Faktörü)
Hap	:Haplotip
HCl	:Hidroklorik Asit
H <sub>O</sub>	:Gözlenen Heterozigotluk
H <sub>E</sub>	:Beklenen Heterozigotluk
HW	:Hardy-Weinberg Dengesi

INHBB	:İnhibin Beta B
KITL	:Kit Ligand
LH	:Lüteinleştirici Hormon
MAF	:Minör Allel Frekansı
MgCl <sub>2</sub>	:Magnezyum Klorür
µl	:Mikrolitre
mM	:Milimolar
NaCl	:Sodyum Klorür
ng	:Nanogram
NJ	:Neighbour Joining Tree (Komşu Birleştirme Ağacı)
PCA	:Principal Components Analysis (Temel Bileşenler Analizi)
PKH	:Primordial Kök Hücre
pmol	:Pikomol
PZR	:Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Polymerase Chain Reaction, PCR)
rg	:Raggedness İstatistiği
RFLP	:Restriction Fragment Length Polymorphism (Restriksiyon Enzimleri Uzunluk Polimorfizm)
SDS	:Sodyum Dodesil Sülfat (Sodium Dodecyl Sulfate)
sn	:Saniye
SNP	:Single Nucleotid Polymorphism (Tek Nükleotid Polimorfizmi)
T	:Timin
TAGEM	:Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü
TAE	:Tris-Asetat-EDTA
TE	:Tris-HCL-EDTA
TGF-β	:Transforming Growth Factor Beta
TUBİTAK	:Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu
UV	:Ultraviyole

## ŞEKİLLER

<b>Şekil 1.</b>	Akkaraman koyunu	<b>4</b>
<b>Şekil 2.</b>	Bafra koyunu	<b>6</b>
<b>Şekil 3.</b>	Folikülogenezis ve folikül gelişiminin aşamaları.	<b>10</b>
<b>Şekil 4.</b>	Primordial folikül aktivasyonu	<b>11</b>
<b>Şekil 5.</b>	Booroola merinosu	<b>17</b>
<b>Şekil 6.</b>	FSH'nin folikül gelişimine etkisi	<b>26</b>
<b>Şekil 7.</b>	İnhibin'in yapısı	<b>27</b>
<b>Şekil 8.</b>	İnhibin ve FSH etkileşimi	<b>29</b>
<b>Şekil 9.</b>	Maxam-Gilbert dizi analiz yöntemi	<b>31</b>
<b>Şekil 10.</b>	Sanger dizi analiz yöntemi	<b>33</b>
<b>Şekil 11.</b>	Gözlenen heterozigotluğun hesaplanması	<b>35</b>
<b>Şekil 12.</b>	Beklenen heterozigotluğun hesaplanması	<b>36</b>
<b>Şekil 13.</b>	Raggedness istatistiği	<b>38</b>
<b>Şekil 14.</b>	Fu ve Li'nin D testi	<b>40</b>
<b>Şekil 15.</b>	Tajima's D testi	<b>41</b>
<b>Şekil 16.</b>	ABI 3130 sekans cihazı yürütme koşulları	<b>54</b>
<b>Şekil 17.</b>	Bafra koyunlarına ait INHBB geni Ekzon-2 bölgesinin yükseltgenmesi sonucu elde edilen agaroz jel görüntüsü	<b>62</b>
<b>Şekil 18.</b>	Akkaraman koyunlarına ait INHBB geni Ekzon-2 bölgesinin yükseltgenmesi sonucu elde edilen agaroz jel görüntüsü	<b>62</b>
<b>Şekil 19.</b>	Akkaraman ve Bafra koyunlarına ait FSHB geni Ekzon-3 bölgesinin yükseltgenmesi sonucu elde edilen agaroz jel görüntüsü 1	<b>63</b>
<b>Şekil 20.</b>	Akkaraman ve Bafra koyunlarına ait FSHB geni Ekzon-3 bölgesinin yükseltgenmesi sonucu elde edilen agaroz jel görüntüsü 2	<b>63</b>
<b>Şekil 21.</b>	Bazı Akkaraman koyunlarında gözlenen SNP1'in elektroferogram görüntüleri	<b>65</b>
<b>Şekil 22.</b>	Bazı Bafra koyunlarında gözlenen SNP1'in elektroferogram	

	görüntüleri	66
<b>Şekil 23.</b>	Bazı Akkaraman koyunlarında gözlenen SNP2'nin elektroferogram görüntüleri	67
<b>Şekil 24.</b>	Bazı Bafra koyunlarında gözlenen SNP2'nin elektroferogram ve hizalama görüntüleri	68
<b>Şekil 25.</b>	Bazı Akkaraman koyunlarında gözlenen SNP3'ün elektroferogram ve hizalama görüntüleri	69
<b>Şekil 26.</b>	Bazı Bafra koyunlarında gözlenen SNP3'ün elektroferogram ve hizalama görüntüleri	70
<b>Şekil 27.</b>	Bazı Akkaraman koyunlarında gözlenen SNP4'ün elektroferogram görüntüleri	71
<b>Şekil 28.</b>	Bazı Bafra koyunlarında gözlenen SNP4'ün elektroferogram ve hizalama görüntüleri	72
<b>Şekil 29.</b>	Akkaraman ve Bafra koyunlarında A) INHBB gen bölgesi için, B) FSHB gen bölgesi için elde edilen haplotipler ve buna yol açan mutasyon noktaları	74
<b>Şekil 30.</b>	INHBB Ekzon-2 gen bölgesine ait Network analiz sonuçları	77
<b>Şekil 31.</b>	INHBB bölgesine ait radiant Kimura Komşu Birleştirme Ağacı	78
<b>Şekil 32.</b>	INHBB bölgesine ait klasik Kimura Komşu Birleştirme Ağacı	79
<b>Şekil 33.</b>	INHBB bölgesi için uyumsuzluk analiz sonuçları	80
<b>Şekil 34.</b>	FSHB bölgesi için uyumsuzluk analiz sonuçları	81
<b>Şekil 35.</b>	PCA grafiği	82
<b>Şekil 36.</b>	INHBB geni Ekzon-3 bölgesinde tespit edilen SNP3'ün sebep olduğu aminoasit değişimi	83
<b>Şekil 37.</b>	INHBB geni Ekzon-2 bölgesi GenBank SNP kayıtları	84

## ÇİZELGELER

<b>Çizelge 1.</b>	Kullanılan primerler ve özellikleri	<b>49</b>
<b>Çizelge 2.</b>	INHBB Ekzon-2 ve FSHB Ekzon-3 bölgesi için optimize edilmiş PZR karışım miktarları.	<b>50</b>
<b>Çizelge 3.</b>	INHBB Ekzon-2 ve FSHB Ekzon-3 bölgesi için kullanılan PZR koşulları.	<b>50</b>
<b>Çizelge 4.</b>	Sekans PZR'si için hazırlanan karışım miktarları	<b>52</b>
<b>Çizelge 5.</b>	Sekans PZR'si koşulları	<b>53</b>
<b>Çizelge 6.</b>	Akkaraman koyunlarına ait DNA izolasyon ürünlerinin kalite ve miktar tayini sonuçları	<b>58</b>
<b>Çizelge 7.</b>	Bafra koyunlarına ait DNA izolasyon ürünlerinin kalite ve miktar tayini sonuçları	<b>60</b>
<b>Çizelge 8.</b>	Akkaraman ve Bafra koyunlarına ait allel değerlendirme	<b>73</b>
<b>Çizelge 9.</b>	Akkaraman koyunlarına ait allel değerlendirme	<b>73</b>
<b>Çizelge 10.</b>	Bafra koyunlarına ait allel değerlendirme	<b>74</b>
<b>Çizelge 11.</b>	Akkaraman ve Bafra koyunlarında INHBB geni Ekzon-2 bölgesi için tespit edilen haplotiplere ait bireyler	<b>75</b>
<b>Çizelge 12.</b>	Akkaraman ve Bafra koyunlarına FSHB geni Ekzon-3 bölgesi için tespit edilen haplotiplere ait bireyler	<b>76</b>
<b>Çizelge 13.</b>	INHBB ve FSHB bölgesine ait nötralite testi sonuçları	<b>81</b>
<b>Çizelge 14.</b>	Bafra koyunlarında gözlenen, varyasyona sahip tek SNP'nin (SNP1) bireylerde bulunma durumu	<b>84</b>
<b>Çizelge 15.</b>	Akkaraman ırkında gözlenen SNP kombinasyonuna göre oluşturulmuş gruplar ve bu kombinasyonları taşıyan birey sayıları	<b>85</b>
<b>Çizelge 16.</b>	Bafra koyunlarında gözlenen SNP1 genotipleri ile yavru verimi arasındaki ilişkinin saptanması amacıyla uygulanan varyans analiz sonucu	<b>86</b>
<b>Çizelge 17.</b>	Akkaraman koyunlarında gözlenen SNP'lerin tek başına yavru verimi üzerine etkisinin saptanması amacıyla uygulanan	

	varyans analizi sonuçları	87
<b>Çizelge 18.</b>	Akkaraman koyunlarında gözlenen SNP'lerin üçlü kombinasyonlarının yavru verimi üzerine etkisinin belirlenmesi amacıyla uygulanan varyans analizi sonuçları	88
<b>Çizelge 19.</b>	Akkaraman koyunlarında gözlenen SNP'lerin üçlü kombinasyonlarının yavru verimi üzerine etkisinin belirlenmesi amacıyla uygulanan varyans analizi sonuçları	89
<b>Çizelge 20.</b>	Akkaraman ve Bafra koyunları için oluşturulmuş tek SNP varyasyonları ile yavru verimi arasındaki lojistik regresyon analiz sonuçları	90
<b>Çizelge 21.</b>	Akkaraman koyunları için oluşturulmuş ikili SNP kombinasyonları ile yavru verimi arasındaki lojistik regresyon analiz sonuçları	91
<b>Çizelge 22.</b>	Akkaraman koyunları için oluşturulmuş üçlü SNP kombinasyonları ile yavru verimi arasındaki lojistik regresyon analiz sonuçları	92

## 1.GİRİŞ

Koyun yetiştiriciliğinin Türkiye ekonomisinde önemli bir yeri vardır. Türkiye'nin doğal yapısı, ekonomik koşulları ve gelenekleri koyun yetiştiriciliğinin yaygın olarak yapılmasına uygun bir ortam oluşturmaktadır (Akçapınar, 2000; Atasoy ve ark.,2003; Işık, 2010). Koyun verimsiz meraları, anızı ve bitkisel üretime uygun olmayan alanları tketebilmekte ve bunları et, süt, yapağı ve deri gibi ürünlere dönüştürülebilmektedir (Atasoy ve ark., 2003; Kaymakçı ve ark., 2009). Yani kurak iklim koşullarında yapılan koyun yetiştiriciği ile ekonomiye ve insan beslenmesine katkı sağlanabilmektedir (Akçapınar, 2000). Ayrıca koyun yetiştiriciliğinin zararlı ve yabancı ot mücadelesine fayda sağladığı da bildirilmiştir (Demiral, 2011).

Türkiye'deki koyun yetiştiriciliğinin büyük kısmı ekstansif olarak yapılmakta ve genelde verimleri düşük yerli koyun ırkları kullanılmaktadır. Artan besin ihtiyaçının karşılanması için yetiştiricilikte verimlerin arttırılması kaçınılmazdır. Bunun için modern yetiştirme tekniklerinin uygulanması gerekmektedir. Bu nedenle koyun yetiştiriciliğinde verimleri yüksek genotiplerin geliştirilmesi, büyük önem taşımaktadır (Atasoy ve ark.,2003; nal ve ark., 2003; nal ve ark., 2004).

Başarılı bir koyuncuk için ilk şart, yetiştiricilik yapılacak bölgenin coğrafi ve ekonomik şartlarının iyi tespit edilmesi ve amaca uygun koyun ırkının doğru bir şekilde seçilmesi (Akçapınar, 2000). Sonrasında ise, koyunlara olabildiğince iyi bakım besleme koşulları sağlamak ve koyunları genotipik olarak ıslah etmek gerekmektedir (Sönmez ve ark., 2009).

Türkiye’de yapılan koyun ıslah çalışmaları ilk olarak Cumhuriyetin ilk yıllarında, yünlü dokuma endüstrisinin nitelikli yapağı gereksinimini karşılamak amacıyla Merinoslaştırma uygulamaları ile başlatılmıştır. Daha sonraları ise yerli koyun ırkları üzerinde et, süt ve kuzu verimi açısından yapılan ıslah çalışmaları devreye sokulmuştur (Sönmez ve ark., 2009).

Süt, et, ve yapağı verimi üzerine olumlu etkilerinden ötürü yerli ırkların ıslahında ele alınması gereken en önemli özelliğin döl verim özellikleri olduğu bildirilmiştir (Demiral, 2011). Sürüde verimliliğin sağlanmasının yanında, sürü büyüklüğünün devam ettirilmesi, sürüde ayıklama ve seleksiyon işlemlerinin etkili şekilde yapılması için döl verim özellikleri gerekli ve önemlidir (Akçapınar, 2000).

Hayvan ıslahı, uygulanması zaman ve yoğun çalışma isteyen çok pahalı çalışmalardır (Karisiyan ve ark., 2009). Döl verim özelliklerinin kantitatif nitelikli olması, bu özelliklerde seleksiyonla genetik ilerlemenin sınırlı kalmasına sebep olmaktadır (Akçapınar, 2000). Moleküler genetik yöntemler kullanılarak yapılan ıslah çalışmalarında ise daha kısa zamanda başarı sağlandığı ve moleküler belirteçler temel alınarak yapılan seleksiyon ile ıslahta başarı oranının arttığı bildirilmiştir (Karisiyan ve ark., 2009).

### **1.1. Yerli Koyun Irkları ve Özellikleri**

Yerli koyun ırkları genel olarak düşük verimli olmasına rağmen, kaba yemden yararlanma, kalitesi düşük meraları değerlendirme, hastalıklara ve olumsuz çevre şartlarına karşı dayanıklı olma gibi özelliklere sahiptir (Işık, 2010). Yapılan ıslah çalışmaları ile koyun verimlerinde ırklar arası farklar çoğalmış, bir ırk et verimi yönünden gelişirken, bir başka ırk süt verimi, döl verimi ya da yapağı verimi yönünden gelişmiştir (Demiral, 2011). Türkiye yerli koyun ırklarından

özellikle yağlı kuyruklu yerli koyunların (Akkaraman, Morkaraman, Dağlıç, İvesi gibi) ikizlik oranlarının %1-10 arasında değişmektedir. İnce kuyruklu yerli koyunların ise yağlı kuyruklara nazaran daha yüksek ikizliğe sahip olduğu, hatta Sakız ırkının, yavru verimi yüksek kültür ırklarıyla yarışabilecek döl verim özelliklerine sahip olduğu da bildirilmiştir (Sönmez ve ark., 2009).

### **1.1.1. Akkaraman Koyunu**

Akkaraman koyun ırkının esas yayılma alanı İç Anadolu Bölgesi'dir. Bununla birlikte, bu bölgeye komşu bölgelerde de yetiştiriciliği yapılabilmektedir (Akçapınar, 2000). Batıda Eskişehir ve Kütahya'dan başlayarak, doğuda Sivas'a kadar dâhil olan İç Anadolu Bölgesi'nde bununla birlikte Karadeniz ve Akdeniz Bölgesi'nin İç Anadolu'ya yakın yörelerinde yetiştirilebilmektedir (Akçapınar, 2000; Demiral, 2011). Akkaraman koyunu Türkiye'deki toplam koyun varlığının %40'ından fazlasını oluşturarak ilk sırada yer almaktadır (Akçapınar, 2000; Ertuğrul ve ark., 2009; Demiral, 2011). Bölge şartlarına adapte olduğu, açlığa, kuraklığa ve kötü hava şartlarına dayandığı bildirilmiştir (Demiral, 2011). Yetersiz bakım ve besleme koşullarında dahi yaşamını ve verimini sürdürebilmekte, ekstansif koşullarda düşük de olsa gelir sağlamaktadır (Ertuğrul ve ark., 2009).

Akkaraman koyununda vücut beyaz renkli kaba-karışık yapağı ile örtülüdür ancak baş ve ayaklarda siyah lekeler görülebilir. Baş, boyun, bacaklar ve karın altı çıplaktır. Vücut yapısı ve baş yapısı dar ve uzundur. Kulaklar uzun ve sarkık, kaburgalar yassı, bacaklar uzun ve sağlamdır. Kuyruk yağlı olup kuyruk omurlarının uç kısmı S şeklinde kıvrımlıdır (Akçapınar, 2000).



**Şekil 1.** Akkaraman koyunu (Anonim 1, 2015)

Akkaraman ırkında canlı ağırlık 50-60 kg, kirlı yapağı verimi 2-2,5 kg, yapağı kalitesi 36-42S, süt verimi 80-90 kg, laktasyon süresi 150-160 gün ve ikiz doğum oranı %20-30'dur (Akçapınar, 2000). Diğer yerli ırklarla karşılaştırıldığında, Akkaraman ırkının uzun bir çiftleşme dönemine sahip olduğu söylenebilir (Sönmez ve ark., 2009). Akkaraman yetiştiricilerinin çoğunluğu, yetiştiricilikten elde ettiği gelirlerden hoşnut olmamakla birlikte gelirlerinin artırılmasına yönelik birçok yetiştiricilik önerisine sıcak bakmamakta ve mevcut yetiştiricilikte değişiklik yapmaksızın gelir artışı sağlayacak çözümler beklemektedirler. Bu problemlerden dolayı yetiştiricilerin bir bölümü sektörü terk ederken, bir bölümü ise melezleme yoluyla gelirlerini artırma çabası içerisindeydirler. Akkaraman ırkı için şu anda yok olma tehdidi olmasa da, melezleme hızının beklendiği şekilde artması halinde gelecekte çeşitli risklerin oluşabileceği düşünülmektedir (Ertuğrul ve ark., 2009).

### 1.1.2. Bafra Koyunu

Bafra koyunu, Sakız ırkı koçlar ile Karayaka koyunlarının geriye melezlemesi sonucunda elde edilmiş ve genotip olarak %75'i Sakız, %25'i Karayaka olan bir ırktır (Ünal ve ark., 2003; Akçapınar ve ark., 2005; Kaymakçı ve Taşkın, 2008). Bafra koyununun elde edilmesinde kullanılan Karayaka ırkı, Karadeniz Bölgesinde yetiştirilir ve Türkiye'deki koyun varlığının %6'sını teşkil eder. Karadeniz sahil şeridinde özellikle Samsun, Sinop, Ordu, Giresun'da bununla birlikte Tokat ili çevresinde yetiştirilen ince kuyruklu, kaba ve karışık yapağılı, süt ve döl verimi düşük yerli bir koyun ırkıdır (Akçapınar, 2000). Karayaka koyunu küçük cüsseli bir ırktır (Demiral, 2011). Yürüme ve tırmanma yeteneği bölgenin engebeli yapısına uygun şekilde geliştiği için yüksek ve engebeli meralardan rahatlıkla yararlanabilmektedir (Ertuğrul ve ark., 2009). Canlı ağırlığının 35-40 kg, süt veriminin 30-45 kg, laktasyon süresinin 100-140 gün, bir doğuma kuzu sayısının ise 1,04-1,06 arasında değiştiği bildirilmiştir (Akçapınar, 2000). Karayaka ırkının et verimi düşük, ancak et lezzeti bakımından Kıvırcık ırkına yakındır (Akçapınar, 2000; Ertuğrul ve ark., 2009).

Bafra koyununun genotipik olarak %75'ini oluşturan Sakız ise iri yapılı bir ırktır ve yüksek döl ve süt verimi ile tanınmaktadır. İzmir yöresi özellikle Çeşme ilçesi başta olmak üzere tüm Ege Bölgesi kıyı kesimlerinde yetiştirilebilmektedir (Akçapınar, 2000). Genellikle ikiz ve üçüz yavru doğururlar. Bir doğuma kuzu sayısı 1,7-2,3 arasındadır. Ancak Sakız ırkının diğer bölgelere uyum kabiliyeti düşüktür (Akçapınar, 2000; Işık, 2010; Demiral, 2011)

Karaköy Tarım İşletmesinde yapılan melezleme çalışmaları sonucunda Sakız koçlarla, Karayaka koyunlar çiftleştirilmiş ve F1 dölleri elde edilmiştir. F1 dişilere tekrar Sakız koçları verilerek geriye melezlenmiş ve elde edilen G1'ler de kendi aralarında çiftleştirilerek bugünkü Bafra koyunu elde edilmiştir (Işık, 2010). Bafra

koyununda döl veriminin yüksek olduğu bildirilmiştir (Ünal ve ark., 2008). Bafra koyunlarının vücutları beyaz yapağı ile örtülüdür ancak ağız, göz etrafı ve kulaklarda siyahlıklara rastlanmaktadır. Baş, karın altı ve bacaklar genellikle çıplak, kuyruk ince ve uzundur (Işık, 2010).



**Şekil 2.** Bafra koyunu (Anonim 2, 2015).

Önce Karaköy Tarım İşletmesinde başlatılan melezleme çalışmaları sonrasında Amasya Gökhöyük Tarım İşletmesinde devam ettirilmiştir (Atasoy ve ark., 2003; Ünal ve ark. 2003). Daha sonrasında Bafra koyunu üzerinde Lalahan Araştırma Enstitüsünde (Ünal ve ark. 2006), Gökhöyük İşletmesinde (Ünal ve ark. 2003) ve Kazım Karabekir Tarım İşletmesinde (Işık, 2010) çalışmalar yapılmıştır. Bafra koyununun Orta ve Batı Karadeniz Bölgesi başta olmak üzere, İç Anadolu, Doğu Anadolu, Ege ve Akdeniz Bölgesinde de yetiştiriciliğinin yapılabileceği belirtilmiş ve çeşitli bölge koşullarına uyum kabiliyetinin iyi olduğu bildirilmiştir (Ünal ve ark., 2003; Ünal ve ark., 2008).

Karayaka ve Bafra koyunlarda yapılan bir çalışmada (Akçapınar ve ark., 2005), sırasıyla doğum oranı % 92,3 ve 93,7, bir doğuma kuzu sayısı ise 1,08 ve 1,78 olarak bulunmuştur. Araştırma sonucunda Bafra ırkında önemli bir döl verimi kriteri olan bir doğuma kuzu sayısı ile büyüme kabiliyetinin Karayaka ırkına göre daha iyi olduğu tespit edilmiştir (Akçapınar ve ark., 2005). Başka bir çalışmada ise Bafra koyununun bir doğuma kuzu sayısı 1,78 – 2,2 arasında olduğu bildirilmiştir (Ünal ve ark., 2003; Ünal ve ark., 2008).

## 1.2. Koyunlarda Üreme Mekanizması

Koyun ırklarının birçoğu mevsimsel olarak poliöstrus gösteren hayvanlardır (Horoz ve ark., 2003; Ataman ve ark., 2009). Gebe kalma yılın belli bir döneminde gerçekleşir (Foster ve Jackson, 2006). Ortalama 17 günlük bir östrus siklusuna sahip olduğu bildirilmiştir (Akçapınar, 2000). Bu dönem çiftleşme sezonu olarak adlandırılır (Foster ve Jackson, 2006). Östrus sezonu, günlerin uzunluğu, gün ışığının miktarı ve yoğunluğu ile doğrudan ilişkilidir (Ataman ve ark., 2009). Gün ışığının azaldığı, sıcaklığın düştüğü sonbahar aylarında başlar (Horoz ve ark., 2003; Ataman ve ark., 2009). Türkiye yerli koyun ırklarının genelde kısa bir çiftleşme dönemine sahip olduğu bildirilmiştir (Sönmez ve ark., 2009). Bazı bölgelerde Ağustos-Aralık ayları arasında, bazı bölgelerde ise Haziran-Ocak ayları arasında östrus sezonu değişebilmektedir (Horoz ve ark., 2003).

Diğer mevsimsel üreyen hayvanlar gibi koyunlar da üreme faaliyetlerini belli dönemlerde gerçekleştirir (Foster ve Jackson, 2006). Günlerin kısalması ile üreme siklusunu etkileyen hormonların aktivitesi artar. Bu aktivite değişikliklerine melatonin hormonu aracılık eder (Horoz ve ark., 2003). Koyunların ortalama gebelik süresi 5 ay olduğundan doğumlar genelde ilkbahar mevsiminde toplu

halde olur. Bu üreme stratejisi yüksek kalitedeki otlaklara erişimi olanaklı kılar (Foster ve Jackson, 2006).

Koyunlar ilk östrusunu ırklara göre değişmek üzere 6-9 aylıkken gösterirler ve doğumda genellikle 1'den 3'e kadar yavru verirler. Dördüz kuzulamanın ise yüksek yavru verimine sahip (prolifik) ırklarda dahi nadir gözleendiği bildirilmiştir (Mikesel ve Baker, 2011). Anöstrusta kaldığı dönem boyunca ise koyunlar östrus davranışı göstermezler (Foster ve Jackson, 2006).

Foliküler aktivite ve ovülasyon oranları östrus sezonu sonuna doğru azalır. Irk özellikleri, beslenme ve hayvanların yaşı östrus siklusunun başlaması ve siklus süresi üzerinde etkili olmaktadır. Yerli ırklarda ve bunların melezlerinde bu faktörlerin etkileri yeterince bilinmemektedir (Ataman ve ark. 2009).

### **1.3. Foliküllerin Gelişim Mekanizması**

#### **1.3.1. Embriyonik Dönemdeki Gelişimi**

Birçok memeli türünde folikülogenezin başlaması primordial folikülün indüklenmesi ile şekillenir ve bu işleyişe etki eden faktörler, yavru verimi üzerinde de etkin rol oynarlar. İnsanda ve sığırdada olduğu gibi koyunlarda da primordial hücre havuzu embriyonik gelişim sırasında şekillenir (Parrott ve Skinner, 1998).

Yavrunun vitellus kesesinin epitelyumundan oluşan Primordial Kök Hücre (PKH)'ler, genital kabartıyı kolonize ederler. PKH'lerin, sitokinler, Kit Ligand (KL) ve büyüme faktörleri tarafından kontrol edildiği bildirilmiştir (Molyneaux ve Wylie, 2004). Genital kabartı oluşurken PKH göçü içeriye doğru ilerlemekte ve hareketliliğini kaybettiği yerde cinsiyet kordonlarını şekillendirmektedirler. Sonuç

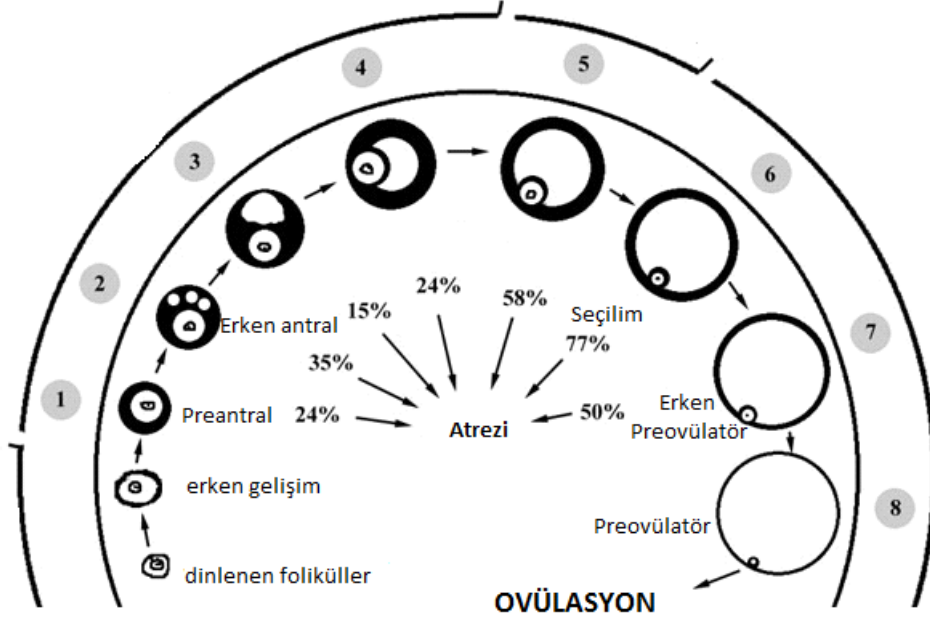
olarak dişilerde oogoniaya dönüşmektedirler. Somatik hücreler ise gonadların medullasından kortekse doğru gelerek, oogonial yuvaları evrelemektedirler (McLaughlin ve McIver, 2009). Gonadların periferinde bulunan oogonial yuvaların en son oluştuğu, iç kısımlarda bulunan ve daha önce oluşan oogonial yuvaların ise mayoza girecek olan ilk oositler olarak gözlemlendiği bildirilmiştir (VanWezel ve Rodgers, 1996).

Ovaryumunda gelişen ilk primordial folikülün insanda anne karnında iken, kemirgenlerde ise doğduktan 2-3 gün sonra belirlendiği bildirilmiştir (Hirshfield, 1991). Bu aşamadan sonra üreme çağına gelip folikül havuzundan seçilinceye kadar primordial foliküller içinde tutulur ve uzun bir süre istirahatte beklerler (Reynaud ve Driancourt, 2000). Üreme ağına gelindiğinde ise hem ovaryum foliküllerinden salınan büyüme faktörleri hem de hipofizden salınan gonadotropinlerin beraber çalışması sonucu üreme fonksiyonları oluşmaya başlar (Webb ve ark., 2003). Foliküler somatik hücrelerin mayozun tekrar başlamasına ve bunun metafaz 2'ye kadar ilerlemesine yardımcı olduğu bildirilmiş ve bu durum çekirdek olgunlaşması olarak nitelendirilmiştir (Pincus ve Enzman 1935). Foliküler somatik hücreler ayrıca yeterli oositin fertilizasyon oluşturmasına ve embriyonun implante olmasına katkıda bulunmaktadır (Buccione ve ark., 1990).

Gelişmeye başlayan bir folikül ya ovüle oluncaya kadar durmaksızın gelişimine devam eder ya da atretik folikül haline dönüşür. Bir folikülün graft folikül aşamasına ulaşması birkaç ayı almaktadır (Webb ve ark., 2003).

Folikülogenezis, foliküllerden salınan steroidler, büyüme faktörleri, ekstraovarian faktörler ve hipotalamo-pituary-ovarian geri izleme mekanizmasının karmaşık ilişkisi ile kontrol edilmektedir. Koyunlarda ve ineklerde bir folikülün ovlasyona kadar geçirdiği gelişim süreci yaklaşık 180 gün kadardır ve bu süre sonunda

folikül çapı koyunlarda 5mm'den büyük, ineklerde 10mm'den büyük boyuta ulaşmaktadır (Cahill ve Mauleon, 1981).

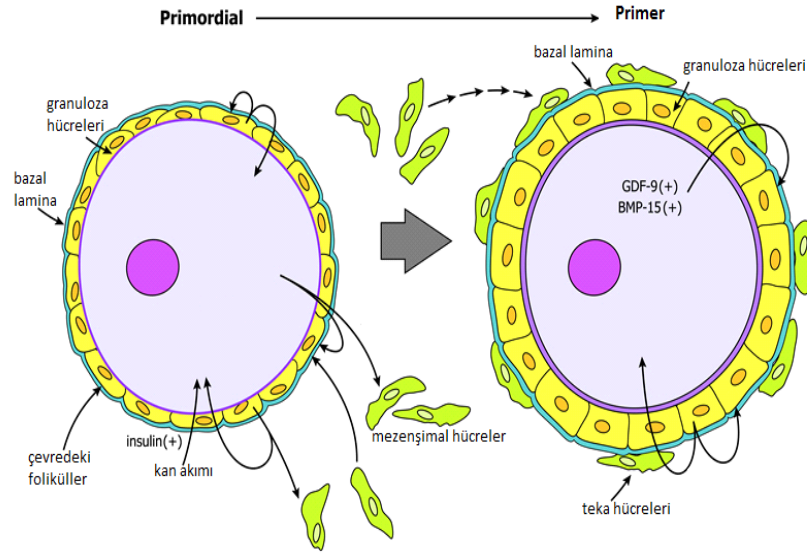


**Şekil 3.** Folikülogenezis ve folikül gelişiminin aşamaları (Anonim 3, 2015'den alınarak düzenlenmiştir).

### 1.3.2. Primordial Folikül Gelişimi

Primordial folikül gelişim prosesini Kök Hücre Faktörü'nün (Kit Ligand :KL) başlattığı bildirilmiştir (Parrott ve Skinner, 1998). Oositin mayozun uzatılmış diploten aşamasına girişinden hemen sonra (dictyate aşaması), foliküler somatik hücrelerin ön maddeleri, tekli dairesel katman içinde oositi çevrelemekte ve primordial folikülleri oluşturmaktadırlar. Bu primordial foliküller gelecekte oositlerin kaynağı olacak ve dişilerin üreme fizyolojisine hizmet edeceklerdir (Handel ve Eppig, 1997).

Primordial foliküllerin ortalama 24 düz ve kübik granuloza hücrelerinden oluştuğu bildirilmiştir (Webb ve ark., 2003). Primordial folikül aktivasyonu oosit-granuloza hücrelerinin etkileşimi ile oluşur (Webb ve ark., 2003). Bunun sonucunda primordial foliküllerden bazıları seçilerek preantral faza geçerler (Handel ve Eppig, 1997).



**Şekil 4.** Primordial folikül aktivasyonu. Primer folikül kendinden, bunu çevreleyen mezenşimal hücrelerden, çevre foliküllerden ve endokrin faktörlerden etkilenerek aktive olur (Anonim 3, 2015'den alınarak düzenlenmiştir).

### 1.3.3. Preantral Folikül Gelişimi

Preantral folikül gelişimde folikül büyümesi 2 farklı faza ayrılabilir. İlk faz oositi saran ve yer yer düz şekilli olan granuloza hücrelerinin değişimini kapsar ve bunun sonucunda hücreler kübik bir hal alır (primer folikül). İkinci faz ise granuloza hücrelerinin çoğalması ile karakterizedir (Webb ve ark., 2003). Folikülü çevreleyen kübik hücreler proliferatif bir hal aldıktan sonra granuloza hücresi olarak anılmaya başlarlar. Büyüyen oosit, bir sıradan fazla granuloza

hücresi ile çevrelendiğinde folikül artık sekonder folikül olarak adlandırılır (Handel ve Eppig, 1997).

Primer ve sekonder foliküllerin gelişimi gonadotropinler olmaksızın başlasa da ancak gonadotropinlerin varlığı ile gelişimini sürdürebilirler. Bu nedenle preantral foliküllerin gelişimine devam edebilmesi için bu hormonlara gereksinim duyulur (Fortune ve Eppig 1979; Cortvrindt ve ark., 1997).

#### **1.3.4. Antral Folikül Gelişimi**

Bazen tersiyer folikül olarak da anılırlar. Foliküler antrum gelişirken önce bazı noktalarda boşlukların şekillendiği ve foliküler boşluğun oluşması ile granüloza hücrelerinin iki gruba ayrıldığı bildirilmiştir (Eppig, 2001). Bu hücrelerin, foliküler duvara doğru uzananları granüloza hücreleri, diğerleri ise kumulus hücreleri olarak adlandırılır (Eppig, 2001). Preantral folikülden antral foliküle geçiş sırasında oosit içindeki kritik bir değişimin şekillendiği gözlenmiştir. Antrum şekillenmeden önce oositler, gerekli düzenleyici moleküllerin yoksun olmasından dolayı mayoz 1'in diploten aşamasına geçişte yetersiz kalmaktadırlar. Fakat antral folikül içindeki birçok oositin mayotik olarak yeterli olduğu tespit edilmiş ve bu aşamada çıkarılan oositlerin invitro olarak uygun medyumda kültüre edilecek olursa mayozu devam edebileceği bildirilmiştir (Handel ve Eppig, 1997). Her şeye rağmen oositler mayozu sürdürmede yeterli olsalar bile metafaz 2'ye geçebilmek için yeterli değildirler. Küçük antral foliküllerden izole edilen oositlerde vezikül çökmesi oluşur ve metafaz 1'e kadar ilerlese bile gelişimi genellikle bu aşamada tutulur. Bu sebeple metafaz 2'ye ilerlemesi için bir oositin erken antral aşamadan daha ileri aşamalara doğru gelişim göstermesi gerekmektedir (Eppig, 2001).

Erken antral dönem aşıldıktan sonraki gelişimde gonadotropinlerin rolü olduğu anlaşılmıştır. Antral foliküllerin iyi gelişmiş olması çoğu zaman graff foliküllerini işaret ederler. Gonadotropin artışının ardından foliküller preovulatör folikül olarak adlandırılırlar (Eppig, 2001).

### **1.3.5. Preovulatör Folikül Gelişimi**

Gonadotropinlerin artışı ile hem folikülün hem de oositin kumulus hücrelerinde bazı değişiklikler başlamakta ve oositler ovulasyondan hemen önce metafaz 2'ye geçmektedirler (Eppig, 1979). Oositler, gonadotropin artışına bağlı olarak olgunlaşırken kumulus hücrelerinin hiyaluronik asit salgıladığı ve sülfatlanmamış glikoaminoglikan bağlayıcı proteinlerin kumulus hücrelerine bağlandığı tespit edilmiştir (Eppig, 1979; Chen ve ark., 1996). Hiyaluronik asit su ile bileşik oluşturarak kumulus hücreleri arasındaki alanı genişletir ve hücreler yapışkana gömülü bir hal alır. Bu sebeple bu aşama kumulus genişlemesi olarak bilinmektedir. Kumulus genişlemesi baskılanırsa ovulasyon oranının büyük ölçüde azaldığı bildirilmiştir (Chen ve ark., 1993). Özetle preovulatör bir folikül, ovulasyona yeterli olabilmesi için kumulus genişlemesi meydana getirmek zorundadır (Handel ve Eppig, 1997).

### **1.4. Büyüme Faktörlerinin Yavru Verimi Üzerine Etkisi**

Büyüme faktörleri içerisinde bulunan Transforming Growth Factor Beta (TGF- $\beta$ ) yavru verimi üzerinde önemli etkisi bulunan ve omurgalılarda en az 35 alt gruba sahip çok çeşitli bir protein ailesidir. Bu protein ailesi hem post hem de prenatal yaşamda birçok fizyolojik işleve katılır (Massague ve Wotton, 2000). Tüm üyelerinin olgun biyoaktif formları homo ya da heterodimer şeklindedir ve bu yapılar birçoğunda disulfid bağlarıyla bağlanırlar. Bu aileye ait BMP (Bone

Morphogenic Protein: Kemik Morfojenik Proteinleri) alt ailesi yaklaşık 20 üyeye, GDF (Growth Differentiation Factor: Büyüme Farklılaşma Faktörü) alt ailesi ise en az 9 üyeye sahiptir (Knight ve Glistler, 2006).

BMP'ler çok fonksiyonlu büyüme faktörleridir (Chen ve ark., 2004; Dean 2002). BMP'lerin, embriyonik dönemde foliküllerin oluşumu üzerine, postnatal dönemde ise folikül fonksiyonları üzerine etkileri bulunmaktadır (Chen ve ark., 2004). Ovaryumdaki TGF sinyal yolları ovaryum fonksiyonları, ovulasyon oranı ve fertilité üzerinde kritik bir öneme sahiptir. Kromozom 5 üzerinde bulunan GDF-9 ve X kromozomu üzerinde bulunan BMP-15 bu yolaktaki önemli iki gendir (Zhao ve ark., 2008).

BMP-15, primordial folikül gelişimi ile ilişkili ilk büyüme faktörü olarak bildirilmiştir (Dean, 2002). GDF-9B olarak da adlandırılır (Nilsson ve Skinner, 2002). BMP-15 oositler tarafından üretilmekte ve folikül gelişimini etkilemektedir (Dube ve ark., 1998). Böylelikle granüloza ve teka hücrelerinin artışında rol oynamaktadır (Ülker ve Baş, 2009). Koyunlarda BMP-15'in folikülogenezisin erken döneminde folikülün gelişimini desteklerken bunun aksine preovulasyon aşamasında foliküllerin gelişimini engellediği tespit edilmiştir (Galloway ve ark., 2000).

Oositlerden ifade edilen GDF-9 geninin ise folikül gelişimi sürecinde granüloza ve teka hücreleri artışında rol oynadığı bildirilmiştir (Ülker ve Baş, 2009). Folikül gelişiminin primer aşamasından ovulasyona kadar salınmaktadırlar (McGrath ve ark., 1995; Laitinen ve ark., 1998). Ancak GDF-9 geni taşımayan (knock-out) dişi fareler primer aşamada foliküler gelişimin bloke olması sebebiyle infertil olarak gözlenmişlerdir (Dong ve ark., 1996). Yani GDF-9 geninin primer folikül aşamasında etkin bir rol oynadığı tespit edilmiştir ancak folikül gelişimin ileri safhalarında etkisi tespit edilememiştir (Nilsson ve Skinner, 2002).

BMP-15 ve GDF-9 birbirlerinin homologudur ve bu iki faktör arasındaki sinerjik etki, gelişen folikül içindeki oosit ve kumulus hücreleri arasında bir etkileşim oluşturmaktadır. Fakat primordial folikülde böyle bir etkileşim tespit edilmemiştir (McNatty ve ark., 2005).

BMP-7'nin erken folikül gelişimi üzerinde bir rolü vardır ve primordial folikül ile stroma hücreleri arasındaki ilişkiye dahil olmaktadır. BMP-4 ise primordial folikülün primer foliküle geçişini destekleyerek oositin hayatta kalmasında temel bir rol oynamaktadır (Skinner, 2005). Gelişen teka hücreleri tarafından üretilen BMP-4, granüloza hücreleri üzerine etki ederler ve oositlerin yaşamını devam ettirmesini sağlarlar (Nilsson ve Skinner, 2003).

İmmunositokimya (ICC) tekniği kullanılarak primer foliküllerle ilişkili olan teka hücreleri içinde BMP-4'ün varlığı bildirilmiştir (Nilsson ve Skinner, 2003). Yine ICC tekniği kullanılarak foliküllerle ilişkili olmayan stroma hücresi adasında da BMP-4 tespit edilmiştir (Nilsson ve Skinner, 2003). Sonuç olarak BMP-4 oosit ve primer folikülün hayatta kalması için gereklidir (Skinner, 2005).

Fenotipik bir özelliğin ifade edilmesi için tek bir genin kuvvetli etkisi söz konusu ise bu gen majör gen olarak ifade edilmektedir (McClearn ve Vogler, 2001). Yavru verimini etkileyen tespit edilmiş majör genlerin koyun sürülerinde üreme performansının artırılmasında önemli bir role sahip olduğu bildirilmiştir (Davis, 2005).

## 1.5. Majör Genler

### 1.5.1. Booroola Geni (FecB)

BMPR-1B kemik ve kıkırdak gelişiminde kritik bir role sahip bir BMP reseptörüdür (Chen ve ark., 2004). BMPR-1B granüloza hücrelerinden ve her aşamadaki oositlerden ifade edilmektedir (Wilson ve ark., 2001). Birçok BMP faktörünün bağlandığı bir reseptör olduğu belirlenmiştir (ten Dijke ve ark., 2003; Fabre ve ark., 2006).

FecB mutasyonunun 6. kromozom üzerinde bulunan BMPR-1B geni içerisinde 830. nükleotit pozisyonunda gözlenen baz değişimi sonucunda oluştuğu ve Glutamin aminoasidini, Arjinin aminoasidine dönüştürdüğü belirlenmiştir (McNatty ve ark., 2005; Davis, 2008).

FecB mutasyonunda gözlenen baz değişiminin BMP-1B reseptöründe kısmi fonksiyon kaybına neden olduğu düşünülmüş, bunun sonucunda FecB mutasyonlu bireylerde, mutasyon taşımayan bireylere göre daha küçük çapta, ancak sayıca fazla folikülün olgunlaştığı bildirilmiştir (Ülker ve Baş, 2009).

Booroola genini heterozigot olarak taşıyan koyunlardan, taşımayanlara göre yaklaşık 1,5 fazla yumurta ve her kuzulamada yaklaşık 1 fazla kuzu elde edildiği, homozigot taşıyıcılarından ise taşımayanlara göre 3 fazla yumurta ve 1,5 fazla kuzu elde edildiği belirtilmiştir (Davis, 2005).

FecB mutasyonu ilk kez Avustralya kökenli Booroola merinoslarında belirlenmiş ve sonrasında Hindistan'ın Garole ırkında da aynı mutasyona rastlanmıştır (Davis ve ark., 2002). Ayrıca Çin'in prolific ırkları olan Han ve Hu koyunlarında da FecB'nin var olduğu bildirilmiştir (Mason, 1980a,b; Bose ve ark., 1999).



**Şekil 5.** Booroola merinosu (Anonim 4, 2015'den alınmıştır).

FecB mutasyonunun ovulasyon oranına yaptığı pozitif etkinin yanı sıra bir doğuma kuzu sayısı bakımından da dominant etkiye sahip olduğu bildirilmiştir (Galloway ve ark., 2000).

### **1.5.2. BMP-15 Geni (FecX)**

Koyunlarda X kromozomu üzerinde bulunan ve FecX olarak da adlandırılan bu gen 5,4 kb büyüklüğündedir ve bir intron ile iki ekzondan oluşmaktadır (Galloway ve ark., 2000). Bu genden ifade edilen protein TGF- $\beta$  üst ailesine ait bir üyedir ve hem oosit hem de folikül gelişimine katılırlar (Pasquale ve Brivanlou, 2009). Oositlerde üretilen bu genden ifade edilen proteinin birçok türde, foliküler büyümede ve granuloza hücre artışında rol oynadığı ortaya konmuştur (Juengel ve ark., 2002; Fabre ve ark., 2006).

Koyunlarda BMP-15'in folikülogenezisin erken döneminde folikül gelişimini desteklemesi, preovulasyon aşamasında ise folikül gelişimini engellemesinden

ötürü ovulasyon oranı ve yavrulama sayısının belirlenmesinde çok önemli bir rol üstlendiği bildirilmiştir (Galloway ve ark., 2000).

X kromozomu üzerinde bulunması sebebiyle koçlar bu genin sadece bir allelini taşıyabilir ve sadece dişi döllerine aktarabilirler (Galloway ve ark., 2000). BMP-15 geninde döl verimini etkileyen beş farklı Tek Nükleotit Polimorfizmi (Single Nucleotide Polymorphism: SNP) tespit edilmiştir (Galloway ve ark., 2000; Hanrahan ve ark., 2004). Bu SNP'ler: Inverdale ( $FecX^I$ ), Hanna ( $FecX^H$ ), Galway ( $FecX^G$ ), Belclare ( $FecX^B$ ) ve Lacaune ( $FecX^L$ ) genleri olarak adlandırılırlar (Galloway ve ark., 2000).  $FecX$  (BMP-15) geni üzerindeki bu mutasyonların farklı noktalarda olmasına ve genin ekspresyonunda farklılığa yol açmasına rağmen heterozigot bireylerdeki ovaryum morfolojisi ve ovulasyon oranı üzerine benzer etkide bulunduğu bildirilmiştir (Ülker ve Baş, 2009).

#### **1.5.2.1. Inverdale Geni ( $FecX^I$ )**

Heterozigot taşıyıcılarında ovulasyon oranını arttıran, homozigot taşıyıcılarında ise steriliteye sebep olan bu SNP ilk kez Romney ırkı koyunlarda bildirilmiştir (Davis ve ark., 2001; Davis ve ark., 2002).  $FecX^I$  mutasyonunu heterozigot olarak taşıyan koyunlarda bir doğuma kuzu sayısı 2,7 olarak tespit edilmiştir (Davis ve ark., 1993).

$FecX^I$  mutasyonu, BMP-15 genindeki 896. nükleotit pozisyonundaki T/A yer değişimi olarak tespit edilmiştir. Bu mutasyon, olgunlaşmamış peptidin 299. amino asidinde bir değişikliğe (V31D) sebep olmaktadır (Galloway ve ark., 2000).

Inverdale alleli taşıyıcısı koyunlarda yapılan bir çalışmada (Jennifer ve ark., 2000) homozigot bireylerin çoğunda küçük şerit şeklinde ovaryumlar tespit edilmiş ve bu ovaryumlarda corpus luteum ve folikül gözlenmemiş, bazı ovaryumların yüzeyinde ise anormal yapılar gözlenmiştir. Bu anormal yapıların büyük kistler, avasküler ya da vasküler katı kitleler şeklinde olabildiği belirtilmiştir (Jennifer ve ark., 2000).

### 1.5.2.2. Hanna Geni (FecX<sup>H</sup>)

Mac Hanna adlı bir çiftçi sahip olduğu Romney koyunlarında Inverdale geninin kalıtımına benzer bir olguyu bildirmiştir (Davis ve ark., 2001). FecX<sup>H</sup> olarak adlandırılan allelin Inverdale mutasyonuna benzer şekilde heterozigot dişilerde doğum başına kuzu veriminde artış sağladığı, homozigot dişilerde ise kısırılığa yol açtığı tespit edilmiştir (Davis ve ark., 2001).

FecX<sup>H</sup> alleli, BMP-15 geninin 871. nükleotit pozisyonunda C/T değişimi ile oluşmuş bir mutasyondur. FecX<sup>H</sup> allelinin 291. aminoasit pozisyonunda bir sonlanmaya sebep olduğu bunun sonucu olarak olgunlaşmamış proteinin 23. aminoasidinde Q23 durdurucu kodonunun oluştuğu ve kodlanan proteinin tam olarak tamamlanamadığı bildirilmiştir (Galloway ve ark., 2000) .

### 1.5.2.3. Galway Geni (FecX<sup>G</sup>)

Galway geni, İngiltere'de prolific bir koyun popülasyonundan oluşturulmuş olan Cambridge ırkında tespit edilmiş bir mutasyondur. FecX<sup>G</sup> 'yi oluşturan bu mutasyonun Inverdale (FecX<sup>I</sup>) ya da Hanna (FecX<sup>H</sup>) mutasyonlarından farklı bir mutasyon olduğu bildirilmiştir (Davis, 2005). FecX<sup>G</sup> mutasyonu, BMP-15 geninin 718. nükleotit pozisyonunda Sitozin'in Timin'e yer değiştirmesiyle oluşmuştur

(Galloway ve ark., 2000).  $FecX^G$  mutasyonunun gen üzerinde durdurucu (stop) kodon oluşturarak BMP-15'in normal olarak üretilmesini engellediği belirtilmiştir (Ülker ve Baş, 2009).

Bu mutasyonun bir allelinin mutasyon taşımayanlara göre ovulasyon oranında yaklaşık 0,7'lik bir artış sağladığı, homozigot dişilerin ise kısır olduğu ve ovaryumlarının homozigot Inverdale genotipinde görülen ovaryum görünümü ile aynı olduğu bildirilmiştir (Davis, 2005).

#### **1.5.2.4. Belclare Geni ( $FecX^B$ )**

İrlanda'nın Belclare koyun ırkında yüksek ovulasyon oranı sergileyen ve prolific olarak gösterilen bir aile hattı tanımlanmıştır. Yüksek ovulasyon oranı ve yüksek tekrarlanabilirliğin gözlenmesi bu ırkta majör bir genin varlığını düşündürmüştür (Davis, 2005).

$FecX^B$ , BMP-15 geni üzerindeki 1100. nükleotit pozisyonunda Guanin'in Timin'e değişimi sonucu oluşmuş bir mutasyondur. Kodlanan proteinin 367. aminoasiti olan serin'in izolösin ile yer değiştirmesine (S99I) sebep olmaktadır. Bu alleli heterozigot olarak taşıyan koyunlarda taşımayanlara göre 1,0 fazla ovulasyon gözlenirken homozigot olarak taşıyanlarda ise sterilite şekillendiği belirlenmiştir (Galloway ve ark., 2000).

#### **1.5.2.5. Lacaune Geni ( $FecX^L$ )**

Lacaune, Fransa'da yetiştirilen bir koyun ırkıdır ve her biri farklı amaçlar için yetiştirilen birkaç soyu bulunmaktadır (Bodin, 2002). Etçi Lacaune koyunlarında tespit edilen bir doğuma yüksek kuzu verimi, bu ırkta ovulasyon oranında majör etkili genlerin varlığını düşündürmüştür (Bodin ve ark., 2007).

Lacaune koyunlarında üremeyi etkileyen iki majör gen tespit edilmiştir. Bunlardan ilki X kromozomunda bulunan BMP-15 geni üzerindeki  $FecX^L$  mutasyonudur ve bu mutasyonun heterozigot varlığı 1,5 ovulasyon artış sağlarken homozigot varlığı ise steriliteye sebep olmaktadır (Martin ve ark., 2014). BMP-15 geni üzerinde 53. pozisyonadaki Guanin'in Adenin'e dönüşmesi sonucu ani bir aminoasit değişikliği (C53Y) gözlenmiştir. Diğer BMP15 mutasyonlarında olduğu gibi  $FecX^L$  allelini homozigot olarak taşıyan dişilerde kısırılık olduğu, ovaryumlarının ise homozigot Inverdale ( $FecX^L$ ) ve homozigot Hanna ( $FecX^H$ ) taşıyıcıları gibi şerit şeklini aldığı gözlenmiştir (Bodin ve ark.,2007).

Homozigot  $FecX^L$  taşıyıcıların ovaryumları histolojik olarak incelendiğinde sadece primordial ve primer foliküllerin bulunduğu bildirilmiştir (Brawtal ve ark., 1993; McNatty ve ark., 2005; Bodin ve ark., 2007). Ayrıca bu foliküllerin oositten yoksun ve anormal yapıda oldukları gözlenmiştir. Bu anormal foliküllerin çoğu düzensiz granüloza hücre katmanıyla çevrilmiş ve kalınlaşmış bir zona pellucida içeren geniş oositlerden oluşmuştur. Tüm bunların ışığında homozigot  $FecX^L$  mutasyonu taşıyan koyunların folikülogenezisin primer aşamasında prematüre blokaj sebebiyle kısır oldukları bildirilmiştir (Bodin ve ark., 2007).

### 1.5.3. GDF-9 Geni ( $FecG^H$ )

GDF-9 geninin ifade ettiği GDF-9 proteininin, oositlerden folikül gelişiminin primer aşamasından ovulasyona kadar salındığı bildirilmiştir (McGrath ve ark., 1995; Laitinen ve ark.,1998). GDF-9 geninden yoksun (knock-out) dişi farelerde, foliküllerin primer aşamadaki gelişiminin bloke olması sebebiyle infertilite gözlenmiştir (Dong ve ark., 1996). Koyunlarda GDF-9, 5. kromozomda bulunmaktadır (Sadighi ve ark., 2002). Bu gen yaklaşık 2,5 kilobaz (kb) boyutunda ve 1126 bazlık tek bir intronla birbirinden ayrılmış iki ekzonlu bir

yapıdır. Olgun proteininin 135 aminoasit uzunluğuda olduğu tespit edilmiştir (Bodensteiner ve ark., 1999). FecG<sup>H</sup> mutasyonunun GDF9 proteininin 77. pozisyonundaki serin aminoasidinin yerine fenil alaninin geçmesine (S77F) sebep olduğu tespit edilmiştir ( Bodin ve ark., 2007).

Bu mutasyonu heterozigot olarak taşıyan bireylerde taşımayanlara göre daha yüksek ovulasyon oranı gözlenmiştir. Bunların yanında GDF-9 mutasyonu, BMP-15 mutasyonu ile etkileşim içindedir ve iki mutasyonu da heterozigot olarak taşıyan dişiler daha yüksek ovulasyon oranına sahiptirler. Yani GDF-9'un bir alleli ve BMP-15'in bir allelini bir arada bulunduran dişilerin yavru veriminde katlamalı bir etkisi olduğu bildirilmiştir (Shimasaki ve ark., 2003; Davis, 2005).

#### **1.5.4. Lacaune Geni (FecL<sup>L</sup>)**

Fransa'nın etçi Lacaune koyunlarında gözlenen yüksek ovulasyon oranının FecL<sup>L</sup> olarak isimlendirilen otozomal majör bir genin kontrolü altında olduğu bildirilmiştir (Bodin ve ark., 2007). Yeri tam olarak tespit edilememiş Lacaune geninin kromozom 11 üzerinde lokalize olduğu ve B4GALNT2 genine yakın pozisyonda bulunduğu tahmin edilmektedir (Martin ve ark., 2014).

Lacaune etçi koyunları üzerinde yapılan seleksiyon programında yavru miktarının yüksek kalıtım derecesi ( $h^2=0,4$ ) ve bir doğuma yavru sayısının 4 ya da 4'den fazla olması bu ırkta FecX<sup>L</sup> geninden farklı bir majör genin varlığını doğrulamıştır (Davis, 2005).

### 1.5.5. Woodlands Geni (FecX2<sup>W</sup>)

Prolifik bir ırk olan Coopworth koyunlarında ovulasyon oranı üzerine artış sağlayan olası bir gen belirlenmiştir. Woodlands (FecX2<sup>W</sup>) olarak isimlendirilen bu genin bir allelinin her kuzulamada yaklaşık 0,25 daha fazla kuzu artışı sağladığı tespit edilmiştir. Bu genin Inverdale ve Hanna gibi X kromozomu üzerinde yer aldığı belirlenmiştir (Davis, 2005).

FecX2<sup>W</sup> genetik açıdan tanımlanamamıştır ancak potansiyel olarak BMP-15 içinde belirlenemeyen bir mutasyon olabileceği ya da BMP-15 ile etkileşime geçerek ovulasyonun kontrol mekanizmasında yer alan GDF-9 ile yakın ilişki içinde olabileceği bildirilmiştir (Feary ve ark., 2007). Diğer bir ihtimal ise FecX2<sup>W</sup> nin ovülasyon oranını düzenleyen genlerin aktive ettiği ifadelenmeleri değiştirerek etki ediyor olabileceğidir (Feary ve ark., 2007).

Genin homozigot olduğu durumlarda Inverdale ve Hanna genlerinde olduğu gibi kısırılığa sebep olduğu belirtilmiştir (Davis, 2005).

### 1.5.6. Thoka Geni (FecI<sup>I</sup>)

İkizliğin oldukça az olduğu dönemlerde bile yüksek yavru verimi kayıtlarına sahip İzlanda'nın Thoka koyun ırkından gelen bir soy incelenmiş ve bunlar üzerinde majör bir genin yavru verimini etkilediği düşünülmüştür (FecI<sup>I</sup>). En az bir kez üçüz yavrulama kaydı olan ve genotipik olarak heterozigot taşıyıcı olduğu varsayılan koyunların taşıyıcı olmadığı varsayılanlardan 0,64 daha fazla yavru verimine sahip olduğu belirlenmiştir. Heterozigot olduğu varsayılan koçlar ile yine heterozigot olduğu varsayılan koyunların çiftleştirilmesi sonucunda doğan 46 dişi yavrunun 7'sinde infertilite tespit edilmiştir (Davis, 2005). Cheviots ile

İzlanda'nın Thoka koyununun çaprazlanması ile yavru verimi tespitine çalışılmış ve her kuzulama döneminde yavru miktarında 0,70 artış sağlayan otozomal majör bir genin kuvvetli kanıtları bulunmuştur (Jonmundsson ve Adalsteinsson, 1985).  $FecL^1$  geninin kromozomal bölgesi bilinmemektedir ancak otozomal Booroola ya da X bağlantılı Inverdale mutasyonlarından farklı olduğu tespit edilmiştir (Davis, 2005).

### **1.5.7. Olkuska Geni**

Polonya'nın Olkuska koyun ırkında gözlenen ve Booroola geni ile benzer prolific özellik gösteren olası majör bir genin varlığı tespit edilmeye çalışılmıştır (Martyniuk ve Radomsa, 1991). Koyunların olası genotipi, ovulasyon oranı kayıtları temel alınarak belirlenmiştir. Ovulasyon oranı üç ve üçten fazla en az bir kaydı bulunan koyunlar heterozigot, ovulasyon oranı beş ve beşten fazla en az bir kaydı olan koyunlar homozigot taşıyıcılar olarak gruplandırılmıştır (Kaczor ve ark., 1998). Yavru verimi oldukça yüksek Olkuska koyunlarında ne Booroola ne de Inverdale mutasyonlarının varlığını tespit edilebilmiştir. Olkuska koyun ırkı nesli tükenenler statüsünde olduğundan ve küçük populasyonlarla çalışıldığından yavru verim kalıtımını açıklayacak veriler tam olarak elde edilememiştir (Davis, 2005).

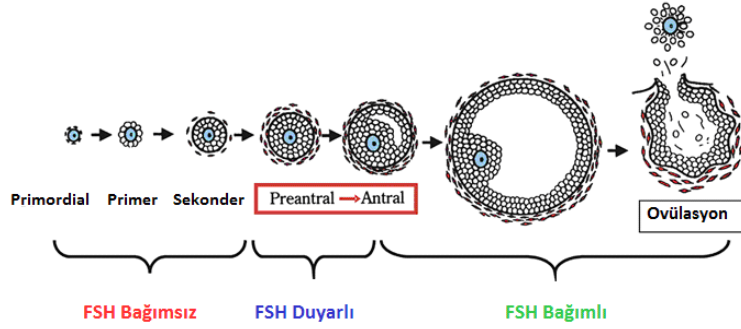
### **1.5.8. Belle-Ile Geni**

Fransa'nın Belle-Ile koyunlarında yüksek ovulasyon oranı (2,54) ve yüksek yavru verimi (2,23) bildirilmiştir (Malher ve Le Chere, 1998). Ovulasyon oranındaki ve yavru verimindeki yüksek varyasyonun, yüksek tekrarlanabilirlikle beraber, sürülerde majör bir genin varlığı işaret edilmiştir (Davis, 2005). Belle Ile'deki ovulasyon oranındaki tekrarlanabilirlik 0,8 olarak bulunmuştur ki bu

durumun majör gene sahip olan Jawanes'lerde (0,6), Booroola koyunlarında (0,6-0,7) Cambridge koyunlarında (0,7) ve İzlanda koyunlarında (0,6-0,8) kayıt edilenlerle hemen hemen aynı olduğu gözlenmiştir (Davis, 2005). Yavru verim kayıtlarının değerlendirildiği bir çalışmada yavru verimine etkili otozomal bir genin bu ırklarda var olduğu hipotezi ortaya atılmıştır (Malher ve LeChere, 1998). Olkuska gibi Belle-Ile de küçük sürülerde korunan, nesli tükenen bir ırk olarak sınıflandırılmıştır. Bu nedenle ovulasyon oranını ölçmek mümkün olamamıştır (Davis, 2005).

### **1.6. Folikül Stimüle Edici Hormon (FSH) ve Folikül Stimüle Edici Hormon Beta (FSHB)**

Folikül stimüle edici hormon (FSH) memeli gonad fonksiyonlarını düzenleyen başlıca hormondur (Miller ve ark., 2002). FSH hipofiz tarafından salgılanan bir glikoproteindir (Grigorova ve ark., 2007). Ön hipofizdeki gonadotropik hücrelerde sentezlenir. Hem spermatogenezis de hem de folikül gelişiminde önemli bir fonksiyona sahiptir (Miller ve ark., 2002). Erkeklerde sertoli hücrelerinde ve testislerdeki spermanın kalitesinde rol oynarken dişilerde folikül somatik hücrelerinin proliferasyonundan ve yaşamından sorumludurlar (Plant ve Marshall, 2001). FSH folikülün erken antral döneminden başlayarak ovulasyona kadar geçen süre içinde siklusa katılırlar. FSH'nin folikül gelişimi, folikülün proliferasyonu ve hayatta kalması için gerekli temel hormon olduğu bildirilmiştir (McGee ve Hsueh, 2000). Folikül gelişiminin antrum oluşumu evresinde FSH'nin gerekli olduğu bilinmektedir (Ülker ve Baş, 2009).



**Şekil 6.** FSH'nin folikül gelişimine etkisi (Craig ve ark., 2007'den alınarak düzenlenmiştir).

FSH tüm vertebralılarda salgılanan heterodimerik bir hormondur. Ortak bir  $\alpha$  ve her hormona fonksiyonel spesiflik kazandıran  $\beta$  alt ünitesi içerirler (Fox ve ark., 2001; Miller ve ark., 2002; Fan ve Hendrickson, 2005; Sang-oh, 2009). İki yapıda aynı reseptöre bağlanır (Fan ve Hendrickson, 2005; Fox ve ark., 2001).

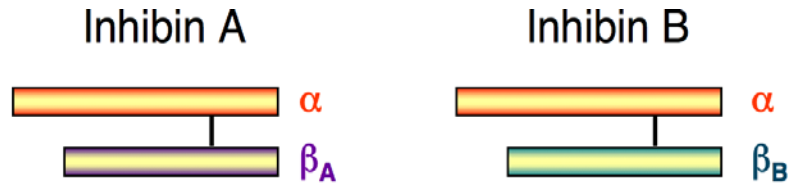
FSH'nin etkinliğinin beta alt ünitesinin transkripsiyonuna bağlı olduğu bildirilmiştir ki bu etkinlik altıdan fazla üreme hormonunun regülasyonu ile olur (Jesse, 2008). FSH'nin beta alt yapısı (FSHB) vertebralılarda hipofizin gonadotropinlerinden ifade edilir ve FSH düzeyinde majör bir rolü vardır. FSHB, FSH üretim düzeyini sınırlandırır. Bu da yavru verimi ile doğrudan ilişkilidir (Jia ve ark., 2013). FSHB'nin domuzlarda yavru verimi ile yüksek oranda ilişkili olduğu bildirilmiştir (Chen ve ark., 2000; Liu, 2009). FSHB ile yapılan bir çalışmada tespit edilen bazı polimorfizmlerin keçilerde yavru verimi ile ilişkisi saptanmış ve bir aday gen olabileceği bildirilmiştir (McGee ve Hsueh, 2000). Keçilerde FSHB genindeki mutasyonun genin ifadenmesinde muhtemel bir değişikliğe yol açarak FSH konsantrasyonunu etkileyebileceği bildirilmiştir ki bu durum ovülasyon oranında değişiklikle sonuçlanabilmektedir (Zhang, 2011). FSHB işleyişinin tam olarak anlaşılabilmesi için sinyal yollarını ve eksprese

eden faktörleri anlamak gerekir (Sang-oh, 2009). FSH salınımının kontrolünde TGF- $\beta$  üst ailesine ait üyelerin etkinliği de bilinmektedir (Jesse, 2008).

### 1.7. İnhibin ve İnhibin Beta B (INHBB)

İnhibin TGF- $\beta$  üst ailesine bağlı bir büyüme faktürüdür. Disülfid bağıyla bağlanmış heterodimerik glikoproteinlerdir. Bir  $\alpha$  alt yapısı ve muhtemel bir  $\beta$  alt yapısından oluşur.  $\alpha$  yapısına,  $\beta_A$  alt yapısının bağlanması sonucunda İnhibin A ( $\alpha$ - $\beta_A$ ),  $\beta_B$  alt yapısının bağlanması sonucunda İnhibin B ( $\alpha$ - $\beta_B$ ) heterodimeri oluşur (Evans ve Grome, 2001; Miller ve ark., 2002; Charda ve ark., 2003). Yani beta alt yapısı, İnhibin A ve B arasındaki farkı yaratır (Coward, 2013).

İnhibin B ovaryum foliküllerinin granüloza hücreleri tarafından üretilen bir ovaryum glikoproteinidir. Bunlar başta FSH olmak üzere gonadotropinlerin suprese edilmesine sebep olurlar. İnhibinin hipofiz ürünü olan FSH'nin baskılanmasındaki rolü bilinmektedir (Mann ve ark., 1991).



**Şekil 7.** İnhibin'in yapısı (Anonim 5, 2014'den alınarak düzenlenmiştir).

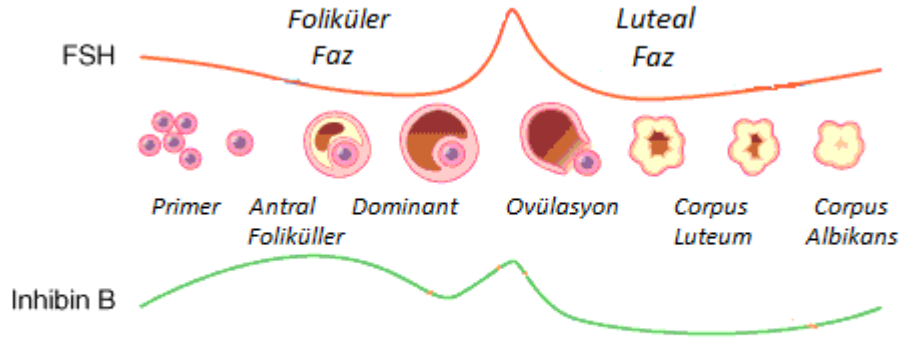
Koyunlarda yapılan bir çalışmada INHBB geninde tespit edilen bazı polimorfizmlerin çoklu doğum ile ilişkili olduğu bildirilmiş ve yavru verimini etkileyen aday gen olabileceği yorumu yapılmıştır (Chu ve ark., 2011).

## 1.8. FSH ve İnhibin Etkileşimi

Primordial folikül büyümesinin başlangıcı ve folikülogenezisin erken evresi gonadotropinler olmaksızın oluşmaktadır ancak gonadotropinler preantral folikülleri sitümüle ederler ve folikülün ovulasyon aşamasına ulaşması için gereken süreyi kısaltırlar. Antral folikül çapının (koyunlarda 2 mm, sığırlarda 4 mm) gonadotropinlere bağlı olarak geliştiği bildirilmiştir (Webb ve ark., 2003).

FSH'nin hipofizden, İnhibin'in ise gonadal sıvıdan izole edildiği bildirilmiştir (Hall, 2012). İnhibin B küçük antral foliküllerin granüloza hücrelerinden sentezlenir ve FSH'ye yanıt olarak serum seviyesinde artış gösterir ve bu durum ovüle olacak oositlerin sayısının belirlenmesinde rol oynar (Hall, 2012). Östrus siklusu boyunca folikül iyileşmesi FSH'nin artışına bağlı olarak şekillenir (Webb ve ark., 2003). İnhibin, FSH'nin negatif etki mekanizmasında önemli bir rol oynamaktadır (Hall, 2012).

İnhibin azlığının FSHB ekspresyonunda artış sağladığı bildirilmiştir. Östrojen konsantrasyonu arttığında İnhibinin negatif etki mekanizması devreye girer ve FSH'nin ani artışının önüne geçilir. FSH'nin yükselişi İnhibinin özellikle de İnhibin B'nin azlığından kaynaklanır (Chapman ve ark., 2004). Sonuç olarak bir folikülün gelişimine devam edip etmeyeceğini belirleyen, intrafoliküler faktörler ve ekstraovarian sinyallerin birleşimidir (Webb ve ark., 2003).



**Şekil 8.** İnhibin ve FSH etkileşimi (Hall, 2012'den alınarak düzenlenmiştir).

## 1.9. Dizi Analiz Yöntemleri

DNA dizi analizleri (sekans), bir DNA parçasında bulunan nükleotit sırasının belirlenmesi olarak tanımlanabilmektedir (Yumurtacı, 2009). Dizi analizlerinde iki temel teknik kullanılmaktadır. Bunlar: Maxam-Gilbert ve Sanger yöntemleridir (Olive ve Bean, 1999).

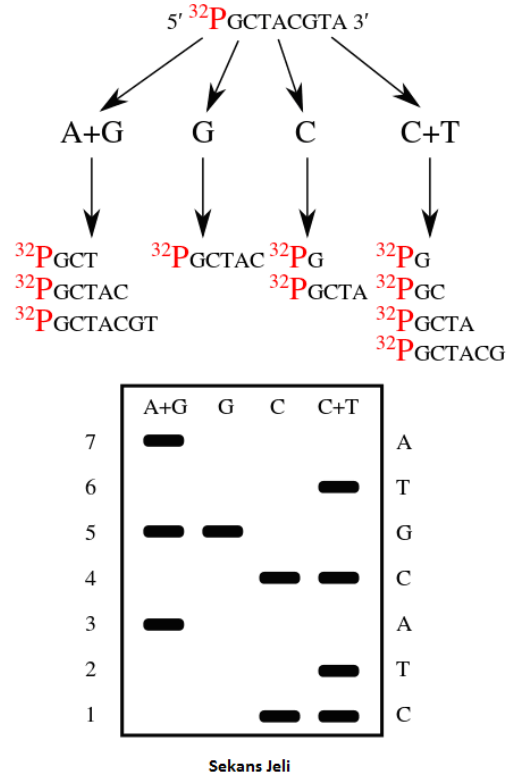
### 1.9.1. Maxam-Gilbert Yöntemi

Allan Maxam ve Walter Gilbert 1970'lerin sonunda 500 baza kadar DNA fragmentlerinin sekansında başarı sağlayan bir metodu geliştirmişlerdir (Verma ve ark., 2012; Slatter ve Fitches, 2013). Aynı zamanda kimyasal kırılma yöntemi olarak da isimlendirilen bu metot (Maxam ve Gilbert, 1977), toksik etkili kimyasal ajanların kullanılması nedeniyle günümüzde daha az kullanılmaktadır (Hoy, 1994; Verma ve ark., 2012). Bu yöntemde, Sanger metodunda olduğu gibi sentezlenen DNA molekülü değil orijinal DNA molekülü kullanılır. Bu yüzden

metilasyon gibi DNA'nın sekonder modifikasyonlarını tespit etmede ya da protein ile DNA arasındaki ilişkinin incelenmesinde Maxam-Gilbert metodu avantaj sağlamaktadır (Hoy, 1994).

Bu yöntemde saf DNA, restriksiyon enzimleriyle kesilerek DNA fragmentleri oluşturulur. Her DNA fragmenti 5' ucundan radyoaktif  $^{32}\text{P}$  ile işaretlenir (Hoy, 1994). Kimyasal kırılma işlemi iki aşamalı katalitik enzim aracılığıyla şekillenir. İlk aşamada pürin ve pirimidin bazlarına spesifik kimyasallar riboz şekeri ile baz arasındaki glikozid bağını kopararak ilgili bazı yerinden ayırır (Maxam ve Gilbert, 1977). Bu yüzden en az dört farklı kimyasal reaksiyon hazırlanır (Hoy, 1994). Örneğin dimetil sülfat, Guanin nükleotidinin olduğu yerden kırılma sağlarken formik asit içindeki dimetil sülfat, hem Guanin hem de Adenin nükleotidlerinin olduğu yerden zincir kırılmasını sağlar. Aynı şekilde NaCl içindeki hidrazin sadece Sitozin nükleotidinin ayrılmasını sağlarken sadece hidrazin hem Timin'in hem de Sitozin'in ayrılmasını sağlar (Maxam ve Gilbert, 1977).

Hazırlanan dört kimyasalın içine eklenen piperidin kırılmanın ikinci aşamasını sağlar. Bazın koptuğu yerde piperidin devreye girer ve fosfodiester bağının ayrılmasını aktive eder. Böylelikle zincir kırılması tamamlanır (Maxam ve Gilbert, 1977). Reaksiyona belli bir süre verilerek kontrollü kırılma sağlanır (Maxam ve Gilbert, 1977; Klug ve Clummings, 2000). Böylece işaretli zincirin sadece bir kez kırılması sağlanmış olur. Sonuçta bir ucu işaretli bir ucu kimyasalla kırılmış fragmentler elde edilir (Maxam ve Gilbert, 1977). Elde edilen DNA dizilerini büyüklüklerine göre ayırmak için yüksek yoğunluktaki poliakrilamik jel aracılığıyla elektroforez uygulanır ve X ray ışığı ile görüntülenerek baz işaretlemesi yapılır (Maxam ve Gilbert, 1977; Klug ve Clummings, 2000).



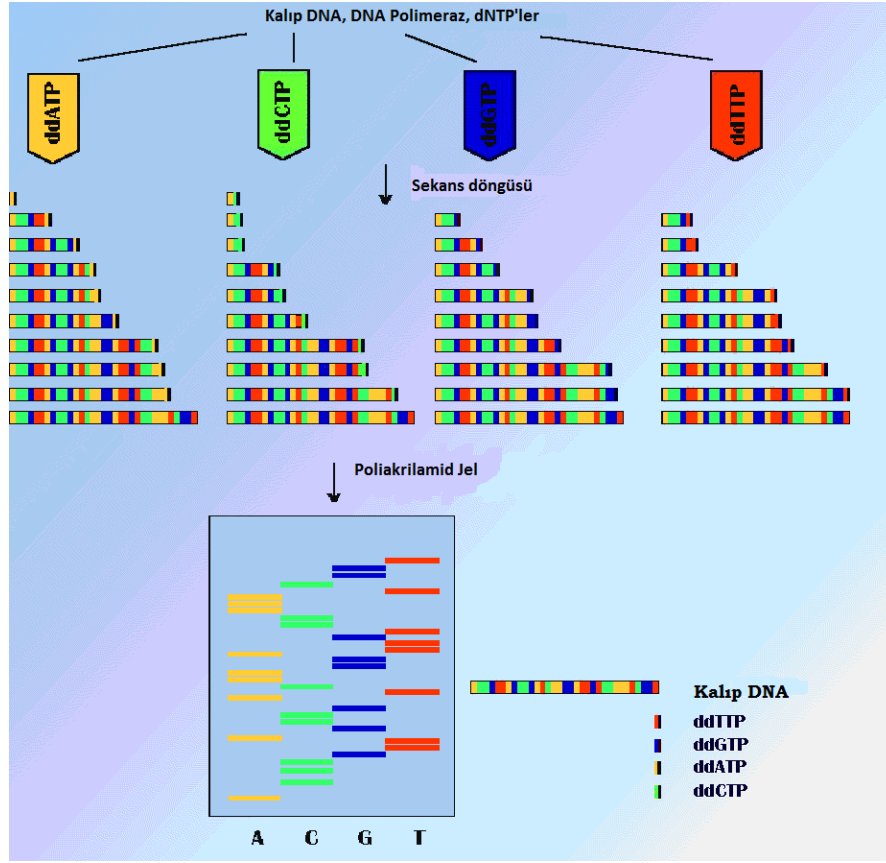
**Şekil 9.** Maxam-Gilbert dizi analiz yöntemi (Anonim 6, 2014'den alınarak düzenlenmiştir).

### 1.9.2. Sanger Yöntemi

Sanger ve Coulson'un 1975'de "plus ve minus" metodu olarak tanıttığı ilk çalışma bugünkü modern DNA dizileme yöntemlerinin geliştirilmesinde ilk kritik rolü oynamıştır. Kullanılmayacak bir dNTP çıkartılarak diğer üç dNTP ile hazırlanan karışıma minus, sadece eksik olan diğer dNTP ile hazırlanan karışıma plus denilmiş ve dört farklı plus ve minus karışımı hazırlanarak ayrı ayrı tepkimeler gerçekleştirilmiştir. Jel elektroforezi ile bantlar incelenmiş ve reaksiyonun hangi dNTP'nin noksanlığında durduğu tespit edilmiştir (Wu, 1994).

Bu yöntemin ışığında Frederick Sanger ve ark. (1977) tarafından enzimatik zincir sonlanma metodu geliştirilmiştir. Bu güvenilir ve etkili yöntem az miktarda

toksik kimyasal gerektirir. Sanger dizileme tekniği bugün yaygın bir biçimde kullanılan otomatik cihazların da temelini oluşturmaktadır (Slatter ve Fitches, 2013). Kullanılan kalıp DNA genellikle saflaştırılmış bir Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ürünüdür (Sanger ve ark., 1977). Temel prensibi, dideksinükleotit (ddNTPs) olarak bilinen kimyasal yapısı değiştirilmiş deoksinükleotitlerin (dNTPs) kullanımına dayanır (Slatter ve Fitches, 2013). Bu yöntemde DNA'ya bağlanan polimerazların kullanılması şarttır (Wu, 1994). Her biri farklı bir dalga boyunda veya farklı renkte ışımaya yapan fluoresan boyaarla işaretlenmiş belli miktarda dideksinükleotit trifosfatlar (ddNTP'ler: ddATP, ddCTP, ddGTP ve ddTTP'dir) aynı test tüpünde dNTP'lerle bir araya getirilir ( Sanger ve ark., 1977), böylelikle ddNTP'ler de dNTP'ler gibi uzayan zincir reaksiyonuna katılırlar (Slatter ve Fitches, 2013). DNA bir taraftan DNA polimeraz yardımı ile dATP, dCTP, dGTP ve dTTP ile polimerize olurken ddNTP'ler zincire dahil olur (Sanger ve ark., 1977) ve 3' ucunda hidroksil (OH) grubundan yoksun ddNTP'lerin tepkimeye katılması bir sonraki nükleotitin bağlanmasına izin vermez, sonuç olarak reaksiyon durur (Sanger ve ark., 1977; Slatter ve Fitches, 2013). Jel elektroforezi ile bu parçacıklar jel boyunca yürütülerek boyutuna göre ayrışırlar ve yaydığı ışımaya göre bilinmeyen bir DNA bölgesinin baz dizisi artık tanımlanabilir duruma gelir (Sanger ve ark., 1977; Verma ve ark., 2012).



**Şekil 10.** Sanger dizi analiz yöntemi (Anonim 7, 2014'den alınarak düzenlenmiştir).

Sanger dizi analiz yöntemi virus, böcek RNA ve DNA'sından insanın tüm genomunun sekansına kadar kullanılabilen bir yöntemdir (Venter ve ark., 1998). Bu yöntemden köken alan cihazlar aracılığı ile hedef bölgenin iki zinciri, ya ileri ya da geri oligonükleotit primerler kullanılarak kaydedilir. Oluşan iki tamamlayıcı dizi bilgisayar tarafından eşleştirilir ve böylece mutasyonun var olup olmadığı referans diziye göre kontrol edilir (Sanger ve ark., 1977).

### 1.9.3. Otomatik Cihazlar

Dizi analiz yönteminin geliştirilmesinin ardından artan talepler, uzun zaman ve yüksek iş gücü gerektirmekteydi ve otomasyon kaçınılmaz olmuştu (Beyhan, 2011). Birinci nesil otomatik dizi analizi cihazlarının devreye girmesi ile manuel sekans uygulamaları bugün tamamen terk edilmiştir (Valencia ve ark., 2013). Bir tüp içinde hazırlanan reaksiyon ile Sanger sekansından köken alan ilk nesil otomatik sekans sistemleri geliştirilmiştir (Olive ve Bean, 1999; Sambrook ve Russell, 2001; Yumurtacı, 2009; Valencia ve ark., 2013).

İlk cihazlar 1986'da Applied BioSystem firmasının öncülüğüyle tasarlanmıştır. Bu yarı otomatik cihazlar jel elektroforez aşamasının ancak manuel olarak yapılmasına izin verirken fluoresan ile boyanmış DNA bantlarının tespiti ve görüntülenmesi otomatik olarak yapılmaktaydı. Sekans dizisi jelde yürürken bantlar jelin tabanında bulunan dedektör yardımı ile okunmaktaydı (Smith ve ark., 1986).

Son sistem otomatik DNA cihazlarının geliştirilmesi ile poliakrilamid jellerin kullanımı son bulmuştur (Beyhan, 2011). Primerler ve ddNTP'ler için kullanılan fluoresan boyaların çeşitlenmesi ile birlikte polimeraz enziminin gelişmesi günümüzde kullanılan cihazların tasarlanmasını sağladı. Bu cihazlar jel yerine kapiller elektroforez sistemi kullanan tam otomatik dizi analiz sistemleridir (Valencia ve ark., 2013). Dört farklı fluoresan boya ile işaretli dideoksinükleotitler kullanılarak tüm reaksiyon tek bir tüp içerisinde yapılabilmektedir. Fragmentler kapiller içerisine yürütülürken boyutlarına göre ayrılırlar ve görüntüleme sistemine yaklaştığında DNA'ya bağlanan fluoresan boyanın lazerle uyarılması sonucunda boyaya özgü dalga boyundaki ışık geri yansıtılır. Yansıyan bu ışık demeti dedektör tarafından toplanarak bilgisayara gönderilir ve sonuçlar grafik şeklinde aktarılır (Beyhan, 2011).

Zaman içinde yeni kapiller sistemler geliştirilmesi ile aynı anda 96 analiz yapılabilen ve daha güçlü ışınlar yapan son nesil boyalarla daha doğru sonuçlar alınmaktadır (Valencia ve ark., 2013). Bu cihazlar sadece zaman kazancı sağlamakla kalmamış standart çalışma koşulları da yaratmışlardır (Beyhan, 2011). Ortalama okuma 500 ile 1000 baz arasında olduğundan insan da dahil birçok organizmada bu yöntem rahatlıkla kullanılmaktadır (Verma ve ark., 2012).

## 1.10. İstatistiki Değerlendirmeler

### 1.10.1. Allel Değerlendirmesi

Verilerin istatistiksel analizine başlarken, allelik varyasyonun hesaplanması en temel basamaktır. Allelik varyasyon, allelik çeşitliliği ortaya koyan bir kavramdır ve genetik varyasyonun ölçüm yollarından biri olduğu bildirilmiştir (Korkmaz Ağaoğlu, 2010). Allellerin tespit edilmesinin ardından ve beklenen ve gözlenen heterozigotluklar ile ortalama heterozigotluk hesaplanır. Her populasyon tüm lokuslar için gözlenen allel sayıları, ortalama allel sayıları, beklenen heterozigotluk ( $H_e$ ) ve gözlenen heterozigotluk ( $H_o$ ) saptanarak allelik ve genetik varyasyon hesaplamaları yapılır (Özkan, 2005).

Bir lokusta görülen heterozigot birey sayısının toplam birey sayısına oranlanması ile gözlenen heterozigotluk belirlenir (Belkhir ve ark., 2001).

$$H_o = \frac{\sum_{i=1}^n (1 \text{ if } a_{i1} \neq a_{i2})}{n}$$

**Şekil 11.** Gözlenen heterozigotluğun hesaplanması (n: populasyon içindeki birey sayısı,  $a_{i1}$  ve  $a_{i2}$ : i bireyinde saptanan hedef lokustaki alleller)

Beklenen heterozigotluk değerleri ( $2pq$ ), her bir lokus için ayrı ayrı hesaplandıktan sonra tüm lokusların ortalaması alınır (Belkhir ve ark., 2001).

$$H_e = 1 - \sum_{i=1}^m (f_i)^2$$

**Şekil 12.** Beklenen heterozigotluğun hesaplanması (m: hedef lokustaki allel sayısı,  $f_i$ : hedef lokustaki allelin frekansı).

İlk kez 20 yüzyılın başlarında tanımlanan Hardy-Weinberg (HW) dengesi, populasyon genetiğinde bir devrim olmuştur ve bugün sıklıkla kullanılan bu hesaplama yöntemi, populasyon tarihi hakkında bilgi verir. Bir takım belirteç için HW dengesinde sapma genotiplendirme ya da populasyon yapısında oluşan bir problemi ya da etkilenen bireylerin hastalığa yatkınlığında bir belirteci işarete edebilir. Yani populasyon yapısını anlamada ya da hasta bireylerle belirteç arasındaki ilişkinin tespitinde HW hesaplamaları fayda sağlamaktadır (Hardy, 1908; Weinberg, 1908). HW genellikle basit Ki kare testi ile hesaplanmaktadır. Ancak çok sayıda örnekle çalışıldığında bu testin bazı hatalara sebep olabileği de unutulmamalıdır (Wigginton ve ark., 2005). Elde edilen bilgilerin HW dengesine uygun olup olmadığı gözlenen ve beklenen heterozigotluklar arasında bağlantı kurularak hesaplanır (Hardy, 1908; Weinberg, 1908).

Minör allel frekansı (MAF) %5'den fazla olan SNP'ler yaygın SNP olarak değerlendirilmektedir. Yaygın SNP ilişkilendirme çalışmalarında tercih edilen SNP'lerdir. Bu sebeple İnsan Genom Projesi'nde kullanılan SNP'lerin tamamı yaygın SNP'lerden oluşturulmuştur (Gorlov ve ark., 2008).

### **1.10.2. Komşu Birleştirme Ağacı (Neighbour Joining Tree)**

Genetik uzaklıkların tespitinde kullanılan Komşu Birleştirme Ağacı en basit metotlardan biridir. Bu metotta, önce birbirine en yakın ilişkili sekanslar seçilir sonra bir sonraki uzak sekans seçilerek ağacın üçüncü dalı olarak eklenir ve böylelikle total ağaç uzunluğu minimize edilmeye çalışılır (Özmen, 2010)

Komşu Birleştirme metoduna ile çizilen genetik uzaklık ağacı, UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean) metoduna göre çizilenden daha çok tercih edilmektedir (Özkan, 2005). Çünkü UPGMA ağacının dalları, değişiklik hızının sabit olduğu varsayılarak çizilir. Hesaplamalar yapılırken ağacın kökü ortak ata olarak alınır (Özmen, 2010). Yani UPGMA metodunda populasyonların evrim zamanı her populasyon için aynı kabul edilerek ağaç çizilir. Komşu Birleştirme metodunda ise çizilen ağaçta populasyonların evrim zamanı arasındaki fark göz önüne alınmaktadır (Özkan, 2005). Bu nedenle ağacın kökünü hesaplamaz (Özmen, 2010).

### **1.10.3. Uyumsuzluk (Mismatch) Dağılımı**

Uyumsuzluk dağılımı nükleotit farklılıklarının dağılımını gösteren grafiklerdir. Histogram grafikleri ya da saçılma grafikleri şeklinde oluşturulabilirler. Bu grafikler populasyonun tarihi hakkında hipotezde bulunulmasını sağlar(Rogers, 1996). Alleller arasında oluşan sekans farklılıklarının miktarı zamana bağlı olarak arttığı için populasyon tarihine bu hesaplamalardan yola çıkılarak bakılabilmektedir. Bu hesaplamalar sayesinde çalışılan lokusa dayalı olarak populasyonların geçmişteki büyüklükleri, ani büyüme gösterip göstermedikleri ya da bir seleksiyon baskısı altında genişleyip genişlemedikleri ile ilgili bilgi edinilebilmektedir (Özmen, 2010). Elimizdeki veriler ile kesikli farklar

belirlenebiliyorsa uyumsuzluk analizleri gerçekleştirilebilmektedir. Nükleotit verileri, RFLP verileri ve Mikrosatelit verileri bunlardan bazılarıdır (Anonim 8, 2008). Uzun bir süredir populasyon büyüklüğünün sabit kalması söz konusu olmuş ise grafik genellikle multimodal dağılım şeklinde oluşur, ancak populasyon büyümesi hızlı gerçekleşmiş ya da seleksiyon baskısı altında genişlemiş ise grafik genellikle unimodal dağılım şeklinde oluşur (Özmen, 2010). Uyumsuzluk dağılımlarında elde edilen bu iki dağılım şekli arasındaki farkı belirlemede ise raggedness (rg) istatistiği kullanılmaktadır. Raggedness istatistiği komşu iki tepe arasındaki farkın kareleri toplamı ile hesaplanır (Anonim 8, 2008).

$$r = \sum_{i=1}^{d+1} (x_i - x_{i-1})^2 ,$$

**Şekil 13.** Raggedness istatistiği ( $d$ : aleller arasındaki en büyük farkı,  $x$ : allelik değişim frekansını ifade etmektedir).

Sekans verileri için sabit populasyonlarda gözlenen multimodal dağılımlarda tespit edilen raggedness, hızlı büyüyen populasyon (unimodal) dağılımına göre 0,03'den daha büyük değerler alır (Özmen, 2010). Ancak bu metod da uyumsuzluk dağılım analizleri baz alınarak oluşturulduğundan, ortaya çıkan veri güçlü bir veri değildir (Ramos-Onsins ve Rozas, 2002).

Bireyler arasında tespit edilen mutasyonlar, sabit populasyonlarda genişleyen populasyonlara nazaran daha fazla paylaşılmaktadır. Uyumsuzluk dağılımı ile gözlenen populasyon genişlemesinin ne zaman olduğu da tahmin edilebilir. Dağılım ortalaması  $y$  ekseninden uzaklaştıkça populasyon genişlemesinin daha eski bir tarihte gerçekleştiği şeklinde yorum yapılabilir (Anonim 8, 2008).

Gözlenen genetik varyasyon populasyon genişlemesi dışında başka bir nedenle de ortaya çıkmış olabilir. Bu sebeple genetik varyasyonu kullanarak populasyon geçmişi ile fikir edinmeye çalışırken populasyonun daha önce seçilime uğrayıp

uğramadığı belirlemek gerekmektedir. Bu amaçla nötralite testleri uygulanmaktadır (Özmen, 2010).

#### 1.10.4. Nötralite Testleri

Sekans tekniklerindeki hızlı gelişme ile DNA düzeyindeki polimorfik verilerin değerlendirilmesinde çarpıcı gelişmeler yaşanmıştır ve geçmişte meydana gelen seleksiyon etkisinin belirlenmesi için güçlü bir teste ihtiyaç duyulmuştur (Özmen, 2010).

Nötral teori olarak isimlendirilen ve genetik çeşitliliğin büyük bölümünün seçilimle değil genetik sürüklenme ile oluştuğunu ve bazı allellerin nötral durumda kaldığını savunan bir yöntem geliştirilmiştir. Buna teoriye göre, populasyonda birkaç alleli bulunan bir gen için nötralite söz konusu ise, o populasyonda bütün alellerin eşit düzeyde iş gördüğü, yaşama veya üreme açısından fark oluşturmadığı şeklinde yorumlanır. Bu sebeple söz konusu gen için tespit edilen negatif ya da pozitif değerler bu populasyondaki pozitif ya da negatif seçilimden kaynaklanmış olabilir (Çınar Kul, 2010). Eğer gözlenen değişimler nötral teoriden farklıysa yani sıfır hipotezi çürütülmüş ise sözü edilen baz diziliminin organizma için fonksiyonel öneme sahip olduğu savunulabilir ve doğal seçilimin moleküler evrime neden olduğu düşünülebilir (Özmen, 2010).

Tajima's  $D$ ,  $F_u$  ve Li's  $D^*$ ,  $F_u$  ve Li's  $F^*$  istatistik testleri sekans verileri kullanılarak yapılan temel istatistik yöntemleridir ve bu istatistikler tür içi veri bilgisini kullanırlar (Ramos-Onsins ve Rozas, 2002).

#### 1.10.4.1. Fu ve Li's F\* Testi

F\* testi sekans dizileri arasında sadece bir kez gözlenen mutasyon sayısı ile sekans çiftleri arasındaki nükleotit farklılıkların ortalama sayısı arasındaki farktan köken olarak hesaplanır (Vieyra, 2000).

Bu test sonucunda elde edilen negatif değerler popülasyonda yüksek miktarda ender haplotip gözleendiği şeklinde yorumlanır ve popülasyon genişlemesini ifade edebilir (Anonim 8, 2008).

#### 1.10.4.2. Fu ve Li's D\* Testi

Nötralite testleri birkaç yöntemle oluşturulabilmektedir. D\* testi, Fu ve Li tarafından oluşturulmuş ikinci bir testtir (McVean, 2002). D\* testi istatistiği, sekans dizileri arasında sadece bir kez gözlenen mutasyon sayısı ile toplam mutasyon sayısı arasındaki farklılıktan köken alınarak hesaplanır (Vieyra, 2000).

$$D = \frac{S - a_n \eta_e}{\sqrt{\text{Var}(S - a_n \eta_e)}}$$

**Şekil 14.** Fu ve Li'nin D testi (Burada bulunan  $n_e$ ,  $\theta$  değeri ile eşittir).

Fu ve Li's D\* ve F\* değerlerinin negatif olması yüksek miktarda ender gözlenen haplotip varlığı ile beraber popülasyon genişlemesi ya da arka plan seçilimi olarak yorumlanabilir (Özmen, 2010).

#### 1.10.4.3. Tajima's D Testi

D testi, 1989 yılında Japon araştırmacı Tajima tarafından oluşturulan ilk nötralite testidir (McVean, 2002). Bütün mutasyonların doğal seçim ile oluştuğu hipotezini test etmek amacıyla kullanılan bir metottur ve segregasyon alanları sayısı (S) ile farklı nükleotit sayısı ( $\pi$ ) arasındaki farkı esas alır (Özmen, 2010).

$$D = \frac{\pi - S/a_n}{\sqrt{\text{Var}(\pi - S/a_n)}}$$

**Şekil 15.** Tajima's D testi ( $\pi$ : Örnekteki ikili farklılıkların ortalaması,  $S/a_n$ : Watterson sabiti).

Tajima's D'nin aldığı negatif değerler yeni mutasyonların yüksek miktarda gözlendiğini ve seçici süpürme ya da populasyon genişlemesini ifade ederken pozitif değerler yeni mutasyonların çok az miktarda gözlendiğini, populasyon azalması ve dengeli seçilimi ifade etmektedir (Özmen, 2010).

#### 1.10.4.4. Nükleotit Farklılığı ( $\pi$ )

Sekans verilerinde populasyondaki polimorfizmi belirlemenin en uygun ölçümü nükleotit farklılığının hesaplanmasıdır. Nükleotit farklılığı, rastgele seçilen iki sekans arasında gözlenen nükleotit farklılığının ortalama sayısıdır. Sekans dizisinden rastgele çekilmiş, aynı nükleotitin iki kopyasından birinin diğerinden farklı olabilme olasılığını tanımlar (Özmen, 2010). Bu istatistik değer populasyonlar arasındaki ya da içindeki çeşitliliği görmek için ve evrimsel ilişkileri belirlemek için sıklıkla kullanılır (Çınar Kul, 2010).

#### 1.10.5. Temel Bileşenler Analizi ( Principal Component Analysis: PCA)

Çeşitlilik gösteren veri grubunu dikkate alan ve bu verilerin boyutları küçültülerek yapılan bir matematiksel algoritmadır. Bu küçülme, yönlerin belirlenmesi ile başarılı ve bu yönlere Temel Bileşen adı verilir. Bu bileşenler hangi veri daha fazla çeşitlilik gösteriyorsa ona dayalı olarak şekillenir. Diğer bileşene göre daha

az çeşitlilik içeren başka bileşenler seçilerek örnekler temsil edilebilir (Ringner, 2008). Birinci temel bileşen verilerde mevcut olan varyasyonun mümkün olduğunca en fazla bölümünü tanımlamaktadır. Diğer temel bileşenler ise kalan varyasyonun mümkün olan en fazla bölümünü tanımlarlar (Özkan, 2005). Böylelikle gruplar belirlenerek veri benzerlikleri ve farklılıkları dikkate alınarak çizilen bir grafik oluşturulur. Birden fazla bileşen seçildiğinde, her bileşen için ayrı ayrı gösterim yapmak yerine daha az noktada görselleştirilebilmektedir (Ringner, 2008).

PCA, anlamlı olan değişkenleri belirleyerek verilerin boyutsallığını indirgermeyi amaçlar. Temel bileşenler analizinde belirlenen ilk birkaç ekseninde, mevcut varyasyonun büyük çoğunluğunun bireyler arasındaki farklılıktan kaynaklandığı görülmüştür (Özkan, 2005).

#### **1.10.6. Varyans Analizi**

Bağımsız üç ya da daha fazla grup olduğunda, incelenen değişkenin çok kategorili testlerle karşılaştırılması yapılabilir. Tek yönlü varyans analizi (One Way ANOVA) parametrik test varsayımları sağlandığı takdirde, değişken yönünden ikiden fazla bağımsız grubun ortalamaları arasında fark olup olmadığını test etmek için kullanılır (Alpar, 2014). Varyans analizi tek yönlü, iki yönlü, çok yönlü olarak farklı şekillerde uygulanabilir (Gürcan, 2014) Tek yönlü varyans analizinde (One-way ANOVA) kullanılan bağımsız değişken sayısı bir tanedir. Karşılaştırılacak gruplar normal dağılım göstermeli, karşılaştırılacak grupların varyasyonları homojen olmalıdır ve gruplar birbirinden bağımsız olmalıdır. Bazı kısıtlayıcılar karşısında testin parametrik olmayan karşılığı ise Kruskal Wallis varyans analizidir (Alpar, 2014). Kruskal wallis, ikiden fazla bağımsız grup ortalamasının karşılaştırılmasında parametrik varsayımlarının

(normallik, varyansların homojenliği gibi) sağlanamadığı durumlarda kullanılan bir testtir (Gamgam ve Altunkaynak, 2008).

Varyans analizinde bazı tamamlayıcı ölçütlerin kullanımına gereksinim vardır (Alpar, 2014).

#### **1.10.6.1. Standart Sapma**

Varyansın karekökü standart sapma olarak adlandırılır. Standart sapma verilerin yaygınlığını göstermekte akla ilk gelen ölçüdür ve verilerdeki tüm değerlerin aritmetik ortalamaya olan uzaklıklarının ortalama bir göstergesi olarak tanımlanır (Alpar, 2014).

#### **1.10.6.2. Aritmetik Ortalama**

Genellikle tek tepeli simetrik bir yapıya sahip sürekli sayısal veriler için kullanılan bir ortalama ölçüsüdür. Fakat bir büyüklük belirtilmesi açısından kesikli sayısal veriler içinde kullanılabilir. Sınıflandırılmamış verilerin aritmetik ortalaması, herbir gözleme ilişkin değerleri toplayarak ve bunu gözlem sayısına bölerek bulunur (Alpar, 2014).

#### **1.10.6.3. Standart Hata**

Gözlem sayısı arttıkça hesaplanan ortalamalar evren ortalamasına yaklaşır. Gözlem sayısına bağlı olarak elde edilen bu yaygınlık standart hata olarak adlandırılır (Alpar, 2014). Varyans büyüdükçe standart hata da büyümektedir (Ergin, 1995).

#### **1.9.6.4. Medyan (Ortanca)**

Büyükölük sırasına konulmuş veri değerlerini iki eşit parçaya bölen değerdir. Bunun sonucunda bir verideki gözlemlerin %50'si ortancaya eşit ya da onun altında, %50'si ortancaya eşit ya da üzerinde değerler olarak ortaya çıkar (Alpar, 2014).

#### **1.10.6.5. Değişim (Dağılım) Aralığı**

En basit yaygınlık ölçüsüdür ve verideki en büyük değerden en küçük değerin çıkarılması ile bulunur. Dağılım aralığının daha küçük olduğu verilerde değişkenliğin daha az olduğu düşünülür (Alpar, 2014).

#### **1.10.7. Regresyon Analizi**

Regresyon analizinin temel amacı, bağımlı değişken ile bağımsız değişken ya da değişkenler arasındaki ilişkiyi matematiksel modellerle açıklayarak bağıntılar bulmaktır. Regesyon denklemleri, iki değişken arasındaki ilişkinin doğrusal olup olmamasına, bağımsız değişkenin kaç tane olduğuna ve bağımlı değişkenin veri türüne göre değişiklik gösterir (Alpar, 2014). Farklı şekilde ortaya çıkan ilişkiler için farklı regresyon modelleri uygulanır. Bunlara basit doğrusal regresyon, doğrusal olmayan regresyon, çoklu doğrusal regresyon, lojistik regresyon gibi regresyon modelleri örnek olarak verilebilir (Alpar, 2014).

##### **1.10.7.1. Lojistik Regresyon**

Lojistik Regresyon analizinde temel amaç, bağımlı ve bağımsız değişkenler arasındaki ilişkiyi, en az değişken ile en iyi uyuma sahip bir şekilde tanımlayabilen, kabul edilebilir bir model kurmaktır (Çokluk, 2010). Lojistik

regresyon modelleri biyoloji, tıp, ekonomi, tarım ve veteriner hekimlik ve taşıma sahalarında yaygın olarak kullanılmaktadır (Bircan, 2004). Lojistik regresyon analizinde temel alınan, bireylerin hangi grubun üyesi olduğunu kestirmek için bir regresyon denklemi oluşturmaktır. Analizin bir amacı sınıflandırma, diğer amacı bağımlı ve bağımsız değişkenler arasındaki ilişkileri araştırmaktır (Çokluk, 2010).

Sonuç değişkenin ikili (binary) veya çoklu (multinomial) olması lojistik regresyonu doğrusal regresyondan ayıran en belirgin özelliktir. Lojistik regresyon ve doğrusal regresyon arasındaki bu fark ile hem parametrik model seçimini, hem de varsayımları etkiler (Bircan, 2004).

Lojistik regresyon analizinde bağımlı ve bağımsız değişken arasındaki ilişkinin doğrusal olmasına ihtiyaç duyulmaz. Lojistik regresyon bağımlı ve bağımsız değişkenler arasında logit bir ilişki olduğunu varsayarak doğrusal olmayan modeller üretebilir. Lojistik regresyon, bağımlı değişkene ait verilerin dağılımının bağımsız değişkenle ya da değişkenlerle doğrusal olmayan bir ilişki gösterdiğinin beklenmesi durumunda özellikle yararlıdır (Çokluk, 2010).

Bu çalışmada, Türkiye yerli koyun ırklarından yavru verimi düşük Akkaraman koyunu ile yavru verimi yüksek Bafra koyununun yavru verimi ile ilişkili aday gen bölgeleri olarak bildirilen INHBB geninin Ekzon-2 bölgesi ve FSHB geninin Ekzon-3 bölgesi üzerindeki polimorfizmler incelenmiş ve bunların yavru verimi ile ilişkili olup olmadığı araştırılmıştır.

## 2. GEREÇ ve YÖNTEM

### 2.1. Hayvan Materyali

Bu araştırmanın hayvan materyalini, Türkiye yerli koyun ırklarından Lalahan Hayvancılık Araştırma Enstitüsünde yetiştirilen 50 baş Akkaraman koyunu ve Gökhöyük Tarım İşletmesi Müdürlüğünde yetiştirilen 50 baş Bafra koyunu oluşturmuştur Akkaraman ırkına ait yaş ve verim kayıtları enstitü kayıtlarından belirlenmiştir. Bafra ırkına ait verim kayıtları TİGEM kayıtlarından, koyunların yaşları ise dışten yaş tayini yapılarak elde edilmiştir. Ortalama 3-5 yaşlarındaki koyunlar tercih edilmiştir. İki sürüye de koç katımından önce 200-300 gr kadar ilave yemlemler yapılmıştır.

Bu çalışmada kullanılan hayvanlardan, 10'ar ml kan örnekleri, antikoagulant olarak EDTA içeren vakumlu tüplere asepti, antisepti kurallarına uyularak *V. jugularis*'ten alınmış ve soğuk zincir altında Lalahan Hayvancılık Merkez Araştırma Enstitüsü Genetik Laboratuvarına ulaştırılmıştır. Kan örnekleri DNA izolasyon işlemleri gerçekleştirilene kadar -20 °C'de muhafaza edilmiştir.

### 2.2. DNA İzolasyonu

Kan örneklerinin DNA izolasyonları Sambrook ve arkadaşlarının (1989) geliştirdiği fenol-kloroform yönteminde bazı değişiklikler yapılarak uygulanmıştır. Uygulanan bu yöntemin kimyasalları ve basamakları aşağıda listelenmiştir:

- Dondurucuda -20 °C'de saklanan kan örnekleri oda sıcaklığında çözdürüldükten sonra 3 ml'si her birey için farklı bir numune numarası

verilerek etiketlenmiş steril falkon tüplere konulmuştur. Üzerine 160 µl EDTA (Etilendiamintetraasetik asit) eklendikten sonra 2X parçalama tamponu (10X Parçalama Tamponu: 770 mM NH Cl, 446 mM KHCO<sub>3</sub>, 10mM EDTA) ile 1600 µl'ye tamamlanmıştır.

- Tüpler 10 dk boyunca alt üst edilerek iyice karıştırılmış ve 20 dk buzun içinde bekletilmiş, sonrasında 4000 rpm'de 10 dk santrifüj edilmiştir
- Supernatant fazı dikkatlice döküldükten sonra geride kalan peletin üzerine 1000 µl tuz/EDTA (75mM NaCl, 25 mM EDTA) eklenmiş pelet iyice çözülene kadar vortekslenmiştir.
- Ardından 10 µl %10'luk SDS (Sodium Dodecyl Sulfate) solusyonu ve 50 µl proteinaz-K eklenen örnekler 55 °C'de 3 saat etüvde bekletilmiştir.
- Bekleme süresi bittiğinde 1000 µl fenol (pH: 8.0) eklenen örnekler 20 sn sert bir şekilde iyice çalkalandıktan sonra 5 dk kan çalkalama cihazında hafif bir şekilde çalkalanmıştır. Sonrasında 20 dk buzda bekletilen tüpler 3000 rpm de 10 dakika santrifüj edilmiştir.
- Santrifüj işlemi sonunda 2 faza ayrılan sıvının üst fazı (supernatant faz) yeni steril falkon tüpe aktarılmıştır. Bu aktarma işlemi ayrılan fazları bozmamak için önceden ucu verev şeklinde kesilip steril edilmiş 1000 µl'lik pipet uçlarıyla gerçekleştirilmiştir. Alt faz ise bertaraf edilmiştir.
- Alınan sıvının üzerine 1000 µl fenol:kloroform:izoamil alkol (25:24:1) eklenmiştir. Örnekler 20-30 sn sert bir şekilde iyice çalkalandıktan sonra 5 dk kan çalkalama cihazında hafif bir şekilde çalkalanmıştır. Sonrasında 20 dk buzda bekletilen tüpler 3000 rpm'de 10 dk santrifüj edilmiştir.
- Süpernatant faz yeni steril falkon tüpe aktarılmış ve üzerine yaklaşık 2 katı kadar -20 °C'de soğutulmuş-etanol eklenmiştir. Tüpler hemen ters yüz edilerek DNA'nın yoğunlaşması sağlanmıştır.
- Yoğunlaşarak çöken DNA ucu kesik pipet ucu ile alınarak 1.5 ml'lik santrifüj tüpüne aktarılmış ve üzerine 1000 µl kadar etanol eklenerek 1 gece -20 °C'de bekletilmiştir. Sonrasında 5000 rpm'de 5 dk santrifüj edilen tüplerdeki etanol DNA, peletinin düşmemesine dikkat edilerek dökülmüştür. Geriye

kalan etanolün uçurulması amacıyla tüplerin ağzı açılarak birkaç saat kurumaya bırakılmıştır.

- Etanolün uçurulmasının ardından DNA örnekleri TE solusyonunda (Tris-HCl:EDTA, 10:1, pH: 8) ya da ddH<sub>2</sub>O içinde çözdürülmüş ve daha sonra kullanılmak üzere -20 °C 'de saklanmıştır.

### **2.3. DNA Kalite ve Miktar Tayinleri**

Elde edilen DNA örneklerinin spektrofotometrik olarak miktarının ve saflığının belirlenmesi amacıyla Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Genetik Anabilim Dalında bulunan UV spektrofotometre cihazı (NanoDrop 2000) kullanılmıştır.

Bu cihaz ile izolasyon ürünlerinin DNA ve RNA için 260 nm, protein için 280 nm ve fenol için 230 nm dalga boylarındaki absorpsiyon değerleri ölçülmüş, 260/280 ve 260/230 oranları hesaplanarak izolasyon ürünlerinin miktarları ve saflıkları tespit edilmiştir. Ölçüm için önce ilgili örnekte hangi solüsyon, elusyon tamponu olarak kullanıldı ise (TE Buffer ya da ddH<sub>2</sub>O) o referans solüsyon olarak kullanılmıştır. Tüm örnekler ölçüm yapılmadan önce Thermoshaker'de 37 °C'de 30 dk çalkalanmıştır. Örneklerden 2 µl pipete edilerek alındıktan sonra cihaza yüklenmiştir. Buna göre 260/280 oranı yaklaşık 1,8 değerine ne kadar yakınsa elde edilen izolasyon ürünlerinin DNA bakımından o kadar saf olduğunu kanısına varılmıştır. 260/230 oranının ise 2,0-2,2 arasında olması beklendiğinden bu değerden daha düşük değerler bulunduğu anda izolasyon ürünü içinde fenol kirliliği olduğu sonucuna varılmıştır. Değerleri kötü çıkan örneklerin izolasyonu tekrar edilerek birçoğunun değerlerinde düzelme sağlanmıştır. Düzelme sağlanmayanlar ise dizi analizi aşamasına kadar ilerletilmiş, elektroferogram kalitesi iyi olanlar değerlendirilmeye alınmıştır.

## 2.4. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)

FSHB Ekzon-3 ve INHBB Ekzon-2 bölgeleri için aday primerler PerlPrimer ve Primer3 programı kullanılarak hazırlanmış, FastPCR programında dimer kontrolleri yapılmıştır. Bölge yükseltgenmesinde kullanılan primerler ve özellikleri aşağıdaki çizelgede verilmiştir.

**Çizelge 1.** Kullanılan primerler ve özellikleri.

Primer adı	Primer Dizisi 5'-3'	GC içeriği	Yükseldiği bölge	Bölge uzunluğu
Primer 2/2 F	AGTGGTATTTCTGGTCAGGAC GG	%52	INHBB- Ekzon-2	897bp
Primer 2/2 R	ACTCCTCCACGATCATATTGG GC	%52		
Oar_FSHB_Ekzo n-3_p3_F	TTCAATCCCTGTCTCATTTTG	%38	FSHB- Ekzon-3	584bp
Oar_FSHB_Ekzo n-3_p3_R	AAGCACCCCTCGTGTCTGTAAG	%52		

FSHB ve INHBB genleri ilgili ekzon bölgeleri için ayrı ayrı gradient PZR'leri yapılarak en uygun ısı ve MgCl<sub>2</sub> miktarları belirlenmiştir. Buna göre INHBB Ekzon-2 bölgesi için 60 °C en uygun sıcaklık, 1mM MgCl<sub>2</sub> en uygun konsantrasyon olarak tespit edilirken, FSHB Ekzon-3 bölgesi için 53 °C en uygun sıcaklık, 3mM MgCl<sub>2</sub> en uygun konsantrasyon olarak belirlenmiştir. Buna göre toplam hacim 25 µl olacak şekilde INHBB Ekzon-2 bölgesi ve FSHB Ekzon-3 bölgesinin PZR karışımları ve PZR koşulları aşağıdaki çizelgelerde verilmiştir.

**Çizelge 2.** INHBB Ekzon-2 ve FSHB Ekzon-3 bölgesi için optimize edilmiş PZR karışım miktarları.

	<b>INHBB Ekzon-2</b>	<b>FSHB Ekzon-3</b>
ddH <sub>2</sub> O (µl)	16,95	15,95
dNTP (µl)	2,5	2,5
MgCl <sub>2</sub> (µl)	0,5	1,5
Primer F (µl)	0,5	0,5
Primer R (µl)	0,5	0,5
DMSO (µl)	1,25	1,25
Tag Polimeraz (µl)	0,3	0,3
DNA (µl)	2	2
<b>Toplam (µl)</b>	<b>25</b>	<b>25</b>

**Çizelge 3.** INHBB Ekzon-2 ve FSHB Ekzon-3 bölgesi için kullanılan PZR koşulları.

<b>INHBB Ekzon-2</b>		<b>FSHB Ekzon-3</b>	
95 <sup>0</sup> C 3 sn		95 <sup>0</sup> C 3 sn	
95 <sup>0</sup> C 30 sn	X 45 döngü	95 <sup>0</sup> C 45 sn	X 35 döngü
60 <sup>0</sup> C 30 sn		52 <sup>0</sup> C 45 sn	
72 <sup>0</sup> C 1 sn		72 <sup>0</sup> C 45 sn	
72 <sup>0</sup> C 5 sn		72 <sup>0</sup> C 5 dk	
4 <sup>0</sup> C ∞		4 <sup>0</sup> C ∞	

## 2.5. Agaroz Jel Kontrolü

Negatif yüklü DNA'nın pozitif yüke doğru hareket etmesi ve hareket etme hızının DNA parçasının büyüklüğüne göre değişmesi baz alınarak tasarlanan bu sistem sayesinde PZR ürünlerinin kalite ve miktar tayinleri yapılmıştır. Elde edilen PZR örneklerinin kontrolü için %2'lik agaroz jel tercih edilmiştir. Toz halindeki agaroz (Prona)'dan 2 gr kadar alınmış, 100 ml 1xTAE tamponu (Tris Asetat EDTA Buffer) içerisine eklenerek ısı etkisi ile çözdürülmüş, içerisine 4-6 µl etidyum bromit (EtBr, 10mg/ml) ilave edilmiştir. Karışım jel tepsisine dökülüp kuyucuk oluşması için taraklar yerleştirilerek oda sıcaklığında polimerize olması beklenmiştir Thermo marka jel tankı 1xTAE ile doldurulduktan sonra hazırlanan jel içerisine yerleştirilmiştir. PZR örneğinden 2 µl, yükleme tamponundan (Loading buffer; 2x) 2 µl pipet yardımı ile karıştırılmış ve jel kuyucuklarına yüklenmiştir. PZR örneklerinin büyüklüğünün kontrolü için 2 µl 100bp'lik DNA Ladder yine 2 µl yükleme tamponu ile karıştırıldıktan sonra kuyucuğa yüklenmiştir. Yükleme işlemi tamamlanan jele 120 volt elektrik yükü 20 dakika uygulanarak PZR ürünlerinin yürütülmesi sağlanmıştır. Kodak marka görüntüleme sistemine yerleştirilen jel ultraviyole ışığa tabii tutularak oluşan görüntünün fotoğrafı çekilmiştir. Bu görüntüye göre PZR ürününün yeterli miktarda olup olmadığı, nonspesifik bant oluşup oluşmadığı, beklenen boyutta olup olmadığı ve primer dimer miktarı bakımından değerlendirilmiştir.

## 2.6. PZR Pürifikasyonu

Vivantis'in Nükleik Asit Extraction kitinin protokolüne göre PZR ürününün miktarı µl olarak ölçüldükten sonra ddH<sub>2</sub>O ile 100 µl ye tamamlanmıştır. Ardından 500 µl PZR tamponu ve 5 µl sodyum asetat eklendikten sonra filtrelili tüplere yüklenen örneklere 1 dakika 10.000 rpm'de santrifüj işlemi uygulanmıştır. Filtrelili tüplere 750 µl yıkama tamponu eklendikten sonra tekrar aynı şartlarda santrifüj işlemi

uygulanmıştır. İkinci santrifüj işlemi uygulanarak filtrelerin iyice kuruması sağlanmıştır. Elusyon için 30 µl ddH<sub>2</sub>O damlatılan filtreler oda ısısında 3-5 dk bekletilerek DNA'nın çözdürülmesi sağlanmıştır. Aynı şartlarda santrifüj işlemi uygulanarak temiz tüplere çöktürülen PZR ürünleri sekans PZR'sinde kullanılmaya hazır hale getirilmiştir.

## 2.7. Sekans PZR'si

PZR için tasarlanan primerlerin oranı 3,2 pmol'e düşürülerek sekans PZR için de kullanılmıştır. Sekans PZR'si için kullanılan ticari kit Applied Biosystem BigDye Terminator 3.1v kiti olmuştur. Her bir örnek için biri forward primer ile diğeri reverse primerle ayrı ayrı hazırlanan karışım ile iki farklı tepkime gerçekleştirilmiştir. BigDye'nin içeriğinde bulunan işaretli ddNTP'ler (Dideoksi nükleotit trifosfatlar) ile tepkimenin gen bölgesinin her bazında sonlandırması sağlanmış ve dizi analiz cihazında okunmaya hazır hale getirilmiştir. Buna göre hazırlanan PZR karışım miktarları ve PZR koşulları aşağıdaki çizelgede verilmiştir.

**Çizelge 4.** Sekans PZR'si için hazırlanan karışım miktarları.

<b>Kimyasallar</b>	<b>Miktar(µl)</b>
Primer	2
ddH <sub>2</sub> O	2
5xBuffer	2
BigDye	2
PZR ürünü	2
<b>Toplam</b>	<b>10</b>

**Çizelge 5.** Sekans PZR'si koşulları.

Uygulanan ısı ( <sup>0</sup> C)	Süre	
96 <sup>0</sup> C	1dk	
96 <sup>0</sup> C	10sn	X25 döngü
50 <sup>0</sup> C	5sn	
60 <sup>0</sup> C	4dk	
4 <sup>0</sup> C	∞	

## 2.8. Sekans Ürünlerinin Temizlenmesi

Sekans PZR'sinden sonra oluşan ürünlerin tuzdan ve ağır metallerinden arındırılması işlemi Sephadex GF50 Fine ticari kiti ile yapılmıştır. Buna göre 1 gr Sephadex tozu yaklaşık 15 ml su ile karıştırıldıktan sonra 30 dk kadar bekletilmiş, özel kolonlarına 750 ml miktarında yüklenmiş ve 4600 rpm'de 2 dakika santrifüj uygulanmıştır. PZR ürünleri kolonlar içinde oluşan özel yapının tam ortasına dikkatlice konulduktan sonra 4800 rpm de 2 dakika santrifüj uygulanmıştır. Aşağı süzülen temiz PZR ürünü artık dizi analiz cihazına yüklenmeye hazır hale getirilmiştir.

## 2.9. Dizi Analizi (Sekans)

Tüm sekans işlemi Hayvancılık Merkez Araştırma Enstitüsü Genetik Laboratuvarı bünyesinde bulunan ABI 3130 dizi analiz cihazında gerçekleştirilmiştir. POP7 polimer ve 36 cm'lik kapiller yürütme için tercih edilmiştir. Cihazın yürütme koşulları aşağıda sunulmuştur:

Name	Value	Range
Oven_Temperature	60	18...65 Deg. C
Poly_Fill_Vol	4840	4840...38000 steps
Current_Stability	5.0	0...2000 uAmps
PreRun_Voltage	15.0	0...15 kVolts
Pre_Run_Time	180	1...1000 sec.
Injection_Voltage	1.2	1...15 kVolts
Injection_Time	12	1...600 sec.
Voltage_Number_Of_Steps	30	1...100 nk
Voltage_Step_Interval	15	1...60 sec
Data_Delay_Time	120	1...3600 sec.
Run_Voltage	8.5	0...15 kVolts
Run_Time	2580	300...14000 sec.

**Şekil 16.** ABI 3130 sekans cihazı yürütme koşulları.

Sequence Analyzing Tm programları ile verilerin ilk değerlendirilmesi yapılmış elektroferogram kalitesi yetersiz bulunanlar sekans PZR aşamasından itibaren tekrar edilmiştir.

## 2.10. Sekans Dizilerinin Hizalanması ve SNP Tespiti

Tüm örneklerin dizi analizi ABI 3130 cihazında gerçekleştirildikten sonra Bioedit programı (Hall, 1999) yardımıyla hizalanmıştır. Referans dizi olarak INHBB için Texel ırkı koyunun gen bölgesi (GenBank erişim numarası: FJ167874.1), FSHB için yine Texel ırkı koyunun gen bölgesi (GenBank erişim numarası: NC019472.1) kullanılmıştır. Her bireyin sekans dizisindeki bazıları tek tek gözden geçirilmiş ve heterozigotluklar çizelgeye işlenmiştir. Bunun sonucunda tespit edilen her SNP'e bir kod numarası verilmiştir.

## **2.11. İstatistiki Analizler**

### **2.11.1. Allel Değerlendirmesi**

Elde edilen SNP verileri PLINK1.9 programı (Chang ve ark., 2014) ile allelik varyasyon, genotip oranı, minör allel frekansı (MAF), beklenen ve gözlenen heterozigotluklar, Hardy Weinberg (HW) dengesi bakımından analiz edilmiştir.

### **2.11.2. Haplotip Değerlendirmesi**

Hizalanan dizi analiz sonuçları önce DnaSP programı (Librado ve Rozas, 2009) sonrasında, Network programı (Bandelt ve ark., 1999) aracılığıyla değerlendirmeye alınarak haplotip değerlendirmesi yapılmıştır.

### **2.11.3. Komşu Birleştirme Ağacı Metodu**

Elde edilen sekans verileri aracılığı ile Komşu Birleştirme Ağacı, Kimura-two parameter modeline dayanarak çizdirilmiştir. Bunun için MEGA5 bilgisayar programı (Tamura ve ark., 2011) kullanılmıştır. Böylelikle haplotipler arasındaki genetik ilişki ortaya konulmaya çalışılmıştır.

### **2.11.4. Uyumsuzluk (Mismatch) Dağılımı**

Uyumsuzluk dağılım grafiğinin oluşturulmasında DnaSP yazılımı (Librado ve Rozas, 2009) kullanılmış beklenen ve gözlenen değerler değerlendirilmiştir.

### **2.11.5. Nötralite Testleri**

Uyumsuzluk analizlerinin doğruluğunun saptanması amacıyla kullanılan nötralite testleri ile ilgili bütün hesaplamalar DnaSP programı (Librado ve Rozas, 2009) aracılığı ile yapılmıştır.

### **2.11.6. Temel Bileşenler Analizi (PCA)**

PLINK1.9 (Chang ve ark., 2014) aracılığı ile işlenen veriler ve R programı (Ihaka ve Gentleman, 1996)'nın grafik oluşturabilmesi için uygun hale getirilmiştir. Temel bileşenler grafiğinin en fazla çeşitlilik gösteren kesikli veriler kullanılarak oluşturulması uygun olduğundan en fazla çeşitlilik gösteren veri birinci temel bileşen (PC1) olarak, en fazla çeşitlilik gösteren ikinci veri ise ikinci temel bileşen (PC2) olarak alınıp enlem ve boylam oluşturulmuştur. Verilerin iz düşümleri alınarak coğrafik bir harita üzerinde görselleştirilmiştir. Buna göre oluşan PCA grafiği ile ırkların birbirine olan uzaklıkları incelenmiştir.

### **2.11.7. Protein Analizleri**

SNP'lerin belirlenmesinin ardından MEGA5 programı (Tamura ve ark., 2011) aracılığı ile referans dizi baz alınarak protein değişimi olup olmadığı belirlenmiştir.

### **2.11.8. Varyans Analizi ve Lojistik Regresyon Analizi**

SPSS paket programı kullanılarak Bafra'larda ve Akkaraman'larda tespit edilen SNP'lerin yavru verimleri ile ilişkisi olup olmadığı parametrik ve nonparametrik

testler aracılığı varyans analizleri ve ikili lojistik regresyon analizi (binary logistic regression analysis) ile ortaya konulmuştur.

### 3. BULGULAR

#### 3.1. DNA Kalite ve Miktar Tayini

Çalışmada kullanılan toplam 100 baş koyunun kanlarından elde edilen DNA izolasyon ürünlerinin spektrofotometre yöntemiyle elde edilen kalite ve miktar analiz sonuçları aşağıdaki çizelgelerde verilmiştir:

**Çizelge 6.** Akkaraman koyunlarına ait DNA izolasyon ürünlerinin kalite ve miktar tayini sonuçları (Akk: Akkaraman koyunlarını temsil etmektedir. NAK: Nükleik asit konsantrasyonu).

Sıra No	Örnek Adı	NAK (ng/µl)	A260	A280	260/280	260/230	Örnek Tipi	Faktör
1.	Akk1	1548,4	30,969	16,749	1,85	2,24	DNA	50
2.	Akk2	1212,1	24,242	13,220	1,83	2,31	DNA	50
3.	Akk3	1107,0	22,14	11,985	1,85	2,28	DNA	50
4.	Akk5	0494,9	9,898	05,499	1,80	2,32	DNA	50
5.	Akk6	1821,5	36,431	19,851	1,84	2,28	DNA	50
6.	Akk7	1058,7	21,174	11,513	1,84	2,30	DNA	50
7.	Akk8	1589,1	31,781	17,134	1,85	2,25	DNA	50
8.	Akk9	1550,8	31,015	16,804	1,85	2,24	DNA	50
9.	Akk10	1197,8	23,955	13,008	1,84	2,27	DNA	50
10.	Akk11	1255,5	25,110	13,749	1,83	2,33	DNA	50
11.	Akk12	1851,8	37,035	20,116	1,84	2,26	DNA	50
12.	Akk13	2107,4	42,148	22,916	1,84	2,21	DNA	50
13.	Akk14	1788,2	35,765	19,507	1,83	2,26	DNA	50
14.	Akk15	2569,8	51,396	27,990	1,84	2,22	DNA	50
15.	Akk16	0868,7	17,373	09,531	1,82	2,28	DNA	50
16.	Akk17	2060,5	41,210	22,287	1,85	2,27	DNA	50
17.	Akk18	2293,0	45,861	24,819	1,85	2,27	DNA	50
18.	Akk19	2119,0	42,381	22,856	1,85	2,27	DNA	50
19.	Akk20	1768,8	35,376	18,935	1,87	2,23	DNA	50
20.	Akk21	2191,7	43,834	23,612	1,86	2,26	DNA	50
21.	Akk22	1505,7	30,115	16,093	1,87	2,29	DNA	50
22.	Akk23	2096,7	41,934	22,621	1,85	2,28	DNA	50
23.	Akk24	0991,7	19,835	10,627	1,87	2,30	DNA	50

**Çizelge 6. (Devam)** Akkaraman koyunlarına ait DNA izolasyon ürünlerinin kalite ve miktar tayini sonuçları (Akk: Akkaraman koyunlarını temsil etmektedir. NAK: Nükleik asit konsantrasyonu).

Sıra No	Örnek Adı	NAK (ng/µl)	A260	A280	260/280	260/230	Örnek Tipi	Faktör
24.	Akk25	2572,0	51,439	27,832	1,85	2,27	DNA	50
25.	Akk26	1938,6	38,772	21,052	1,84	2,30	DNA	50
26.	Akk27	2198,8	43,976	23,574	1,87	2,18	DNA	50
27.	Akk28	2698,2	53,963	29,422	1,83	2,25	DNA	50
28.	Akk29	1818,0	36,360	19,608	1,85	2,30	DNA	50
29.	Akk30	2387,2	47,744	25,641	1,86	2,24	DNA	50
30.	Akk31	1796,5	35,929	19,441	1,85	2,29	DNA	50
31.	Akk32	2131,2	42,623	22,917	1,86	2,25	DNA	50
32.	Akk33	2682,3	53,646	28,669	1,87	2,25	DNA	50
33.	Akk34	2482,5	49,651	26,329	1,89	2,27	DNA	50
34.	Akk35	2770,7	55,414	29,510	1,88	2,25	DNA	50
35.	Akk36	2085,2	41,704	22,110	1,89	2,29	DNA	50
36.	Akk37	1215,2	24,304	12,879	1,89	2,35	DNA	50
37.	Akk38	2058,7	41,174	21,753	1,89	2,28	DNA	50
38.	Akk39	0659,2	13,184	07,653	1,72	0,97	DNA	50
39.	Akk40	2252,4	45,048	23,874	1,89	2,28	DNA	50
40.	Akk41	2627,8	52,556	27,917	1,88	2,27	DNA	50
41.	Akk42	2708,2	54,165	28,923	1,87	2,25	DNA	50
42.	Akk45	0286,9	05,738	03,627	1,58	0,58	DNA	50
43.	Akk46	1039,3	20,785	12,556	1,66	1,19	DNA	50
44.	Akk47	2490,4	49,809	27,900	1,79	1,71	DNA	50
45.	Akk48	2917,5	58,349	31,738	1,84	2,14	DNA	50
46.	Akk49	1190,0	23,800	12,629	1,88	2,31	DNA	50
47.	Akk50	2117,2	42,344	22,668	1,87	2,28	DNA	50
48.	Akk51	2324,9	46,499	24,920	1,87	2,27	DNA	50
49.	Akk52	2401,0	48,020	25,629	1,87	2,27	DNA	50
50.	Akk53	2462,1	49,242	26,392	1,87	2,28	DNA	50

**Çizelge 7.** Bafra koyunlarına ait DNA izolasyon ürünlerinin kalite ve miktar tayini sonuçları (Baf: Bafra koyunlarını temsil etmektedir. NAK: Nükleik asit konsantrasyonu).

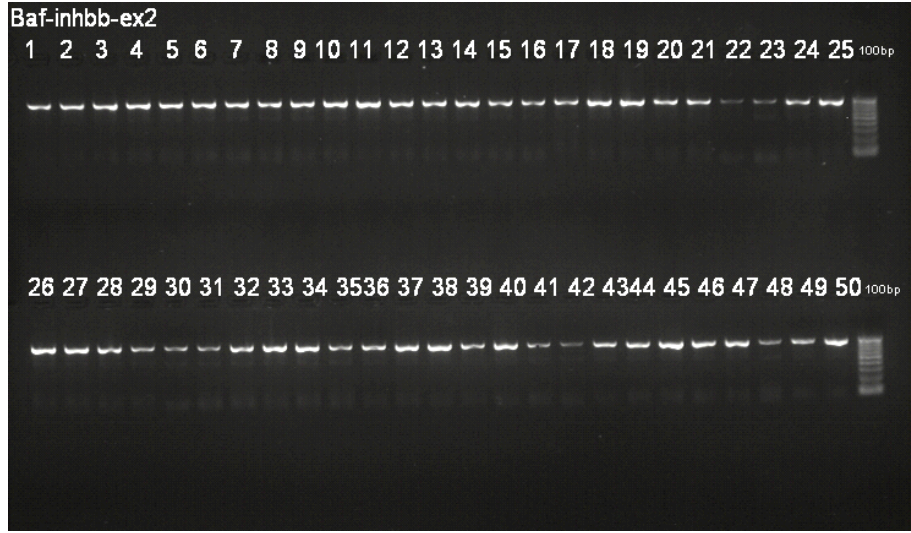
Sıra No	Örnek Adı	NAK (ng/µl)	A260	A280	260/280	260/230	Örnek Tipi	Faktör
1.	Baf1	1567,4	31,348	16,881	1,86	2,28	DNA	50
2.	Baf2	1312,7	26,253	14,166	1,85	2,28	DNA	50
3.	Baf3	845,1	16,903	9,276	1,82	2,33	DNA	50
4.	Baf4	1178,6	23,572	13,088	1,8	2,23	DNA	50
5.	Baf5	958,7	19,174	10,431	1,84	2,36	DNA	50
6.	Baf6	684,9	13,699	7,425	1,84	2,27	DNA	50
7.	Baf7	1311,4	26,228	14,158	1,85	2,33	DNA	50
8.	Baf8	1195,5	23,91	12,979	1,84	2,3	DNA	50
9.	Baf9	1202,3	24,047	13,25	1,81	2,3	DNA	50
10.	Baf10	1808,4	36,168	19,72	1,83	2,27	DNA	50
11.	Baf11	1409,8	28,196	15,263	1,85	2,32	DNA	50
12.	Baf12	881,3	17,625	9,596	1,84	2,34	DNA	50
13.	Baf17	956,8	19,136	10,346	1,85	2,33	DNA	50
14.	Baf18	1879	37,581	20,445	1,84	2,29	DNA	50
15.	Baf19	661,9	13,239	7,549	1,75	2,38	DNA	50
16.	Baf20	861,4	17,228	9,417	1,83	2,37	DNA	50
17.	Baf21	776,7	15,533	8,713	1,78	2,34	DNA	50
18.	Baf22	567,8	11,356	6,335	1,79	2,28	DNA	50
19.	Baf23	625,7	12,514	6,973	1,79	2,29	DNA	50
20.	Baf24	806,8	16,136	8,832	1,83	2,39	DNA	50
21.	Baf25	1671,8	33,436	18,192	1,84	2,32	DNA	50
22.	Baf26	929,2	18,584	10,146	1,83	2,35	DNA	50
23.	Baf27	1541,8	30,836	16,609	1,86	2,29	DNA	50
24.	Baf28	688,7	13,774	7,649	1,8	2,38	DNA	50
25.	Baf29	1192,1	23,842	12,885	1,85	2,34	DNA	50
26.	Baf30	436,7	8,734	4,886	1,79	2,3	DNA	50
27.	Baf31	1176,7	23,535	12,766	1,84	2,35	DNA	50
28.	Baf32	2078,2	41,565	22,345	1,86	2,28	DNA	50
29.	Baf33	1269,8	25,397	13,742	1,85	2,35	DNA	50
30.	Baf34	1066,1	21,321	11,641	1,83	2,36	DNA	50
31.	Baf35	866	17,32	9,529	1,82	2,38	DNA	50
32.	Baf36	674,5	13,49	7,41	1,82	2,38	DNA	50
33.	Baf37	793,7	15,873	8,812	1,8	2,41	DNA	50
34.	Baf38	1537,9	30,759	16,729	1,84	2,32	DNA	50
35.	Baf39	849,9	16,997	9,351	1,82	2,35	DNA	50
36.	Baf40	1196,5	23,929	12,987	1,84	2,37	DNA	50
37.	Baf41	988,7	19,773	10,763	1,84	2,3	DNA	50
38.	Baf42	885,2	17,705	9,637	1,84	2,31	DNA	50
39.	Baf43	1259,2	25,184	13,661	1,84	2,33	DNA	50

**Çizelge 7. (Devam)** Bafra koyunlarına ait DNA izolasyon ürünlerinin kalite ve miktar tayini sonuçları (Baf: Bafra koyunlarını temsil etmektedir. NAK: Nükleik asit konsantrasyonu).

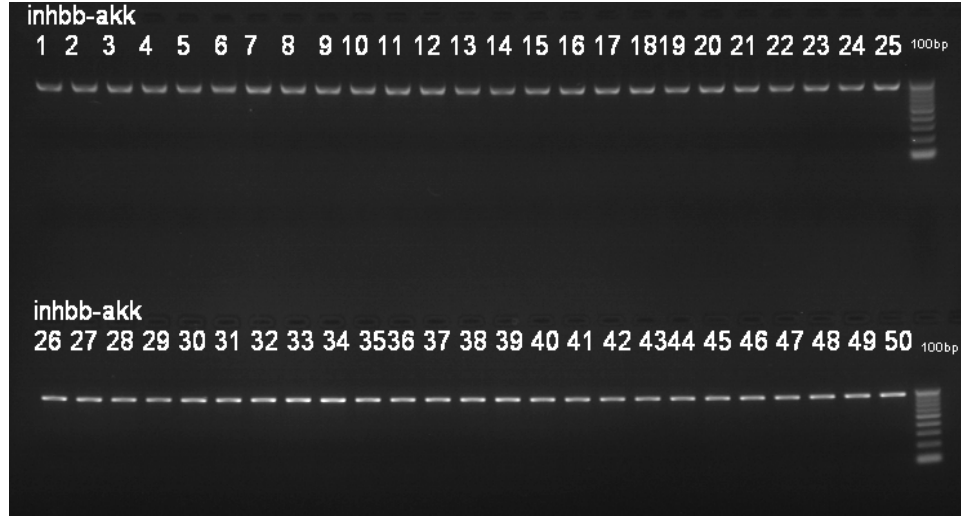
Sıra No	Örnek Adı	NAK (ng/µl)	A260	A280	260/280	260/230	Örnek Tipi	Faktör
40.	Baf44	500,9	10,017	5,569	1,8	2,24	DNA	50
41.	Baf45	1581,3	31,627	16,961	1,86	2,3	DNA	50
42.	Baf46	1540,7	30,815	16,612	1,86	2,29	DNA	50
43.	Baf47	1229,7	24,595	13,271	1,85	2,33	DNA	50
44.	Baf48	1183	23,66	12,809	1,85	2,31	DNA	50
45.	Baf49	926,1	18,523	10,089	1,84	2,29	DNA	50
46.	Baf50	1429,9	28,599	15,399	1,86	2,28	DNA	50
47.	Baf51	1715,7	34,314	18,471	1,86	2,28	DNA	50
48.	Baf52	1076,7	21,534	11,653	1,85	2,3	DNA	50
49.	Baf53	1470,1	29,403	15,87	1,85	2,3	DNA	50
50.	Baf54	1609,7	32,194	17,369	1,85	2,26	DNA	50

### 3.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)

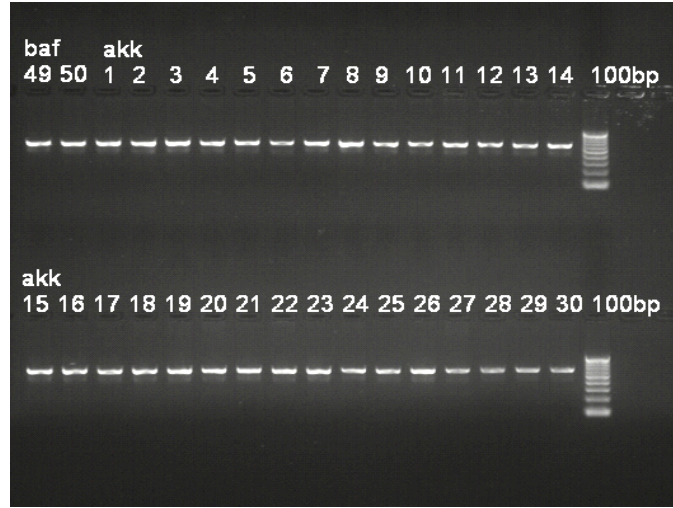
INHBB geni Ekzon-2 bölgesi ve FSHB geni Ekzon-3 bölgesi için gerçekleştirilen PZR'lerin agaroz jel görüntüleri aşağıda verilmiştir:



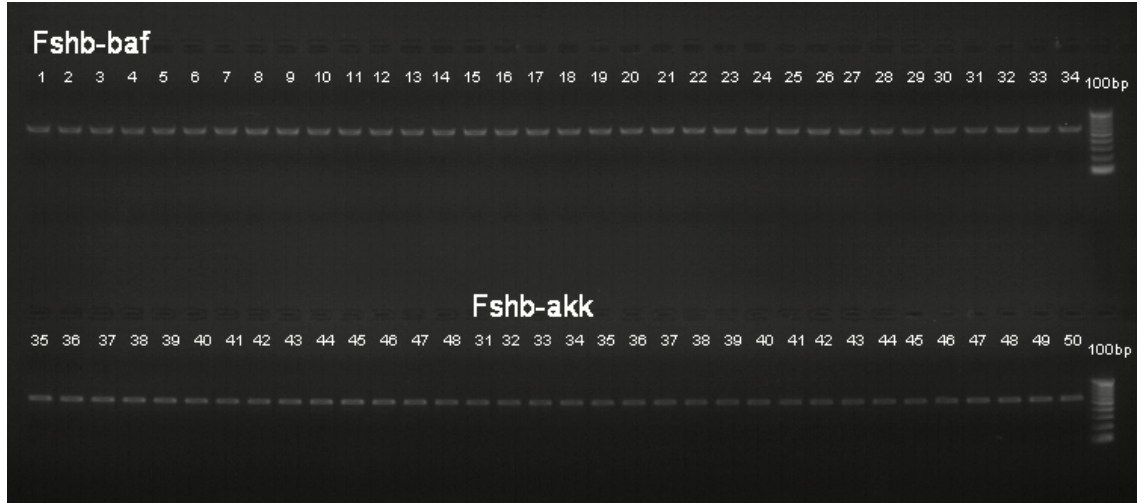
**Şekil 17.** Bafra koyunlarına ait INHBB geni Ekzon-2 bölgesinin yükseltgenmesi sonucu elde edilen agaroz jel görüntüsü (Bireyler sıra numarası ile işaretlenmiştir: (1-50)).



**Şekil 18.** Akkaraman koyunlarına ait INHBB geni Ekzon-2 bölgesinin yükseltgenmesi sonucu elde edilen agaroz jel görüntüsü (Bireyler sıra numarası ile işaretlenmiştir: 1-50).



**Şekil 19.** Akkaraman ve Bafra koyunlarına ait FSHB geni Ekzon-3 bölgesinin yükseltgenmesi sonucu elde edilen agaroz jel görüntüsü-1 (49 ve 50 Bafra ırkına ait bireyler, 1-30 arası Akkaraman ırkına ait bireylerdir).

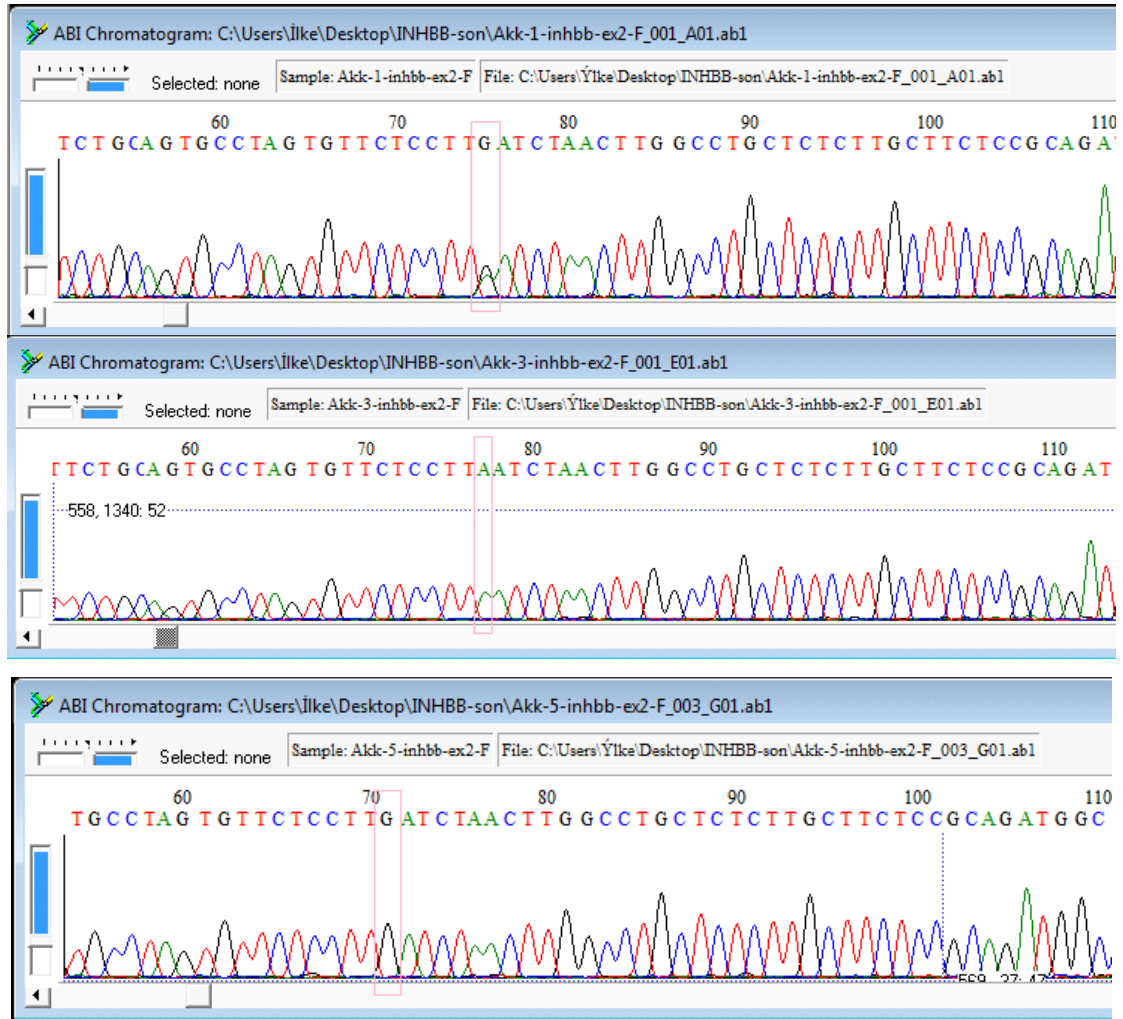


**Şekil 20.** Akkaraman ve Bafra koyunlarına ait FSHB geni Ekzon-3 bölgesinin yükseltgenmesi sonucu elde edilen agaroz jel görüntüsü-2 (1-48 arası Bafra ırkına ait bireyler, 31-50 arası Akkaraman ırkına ait bireylerdir).

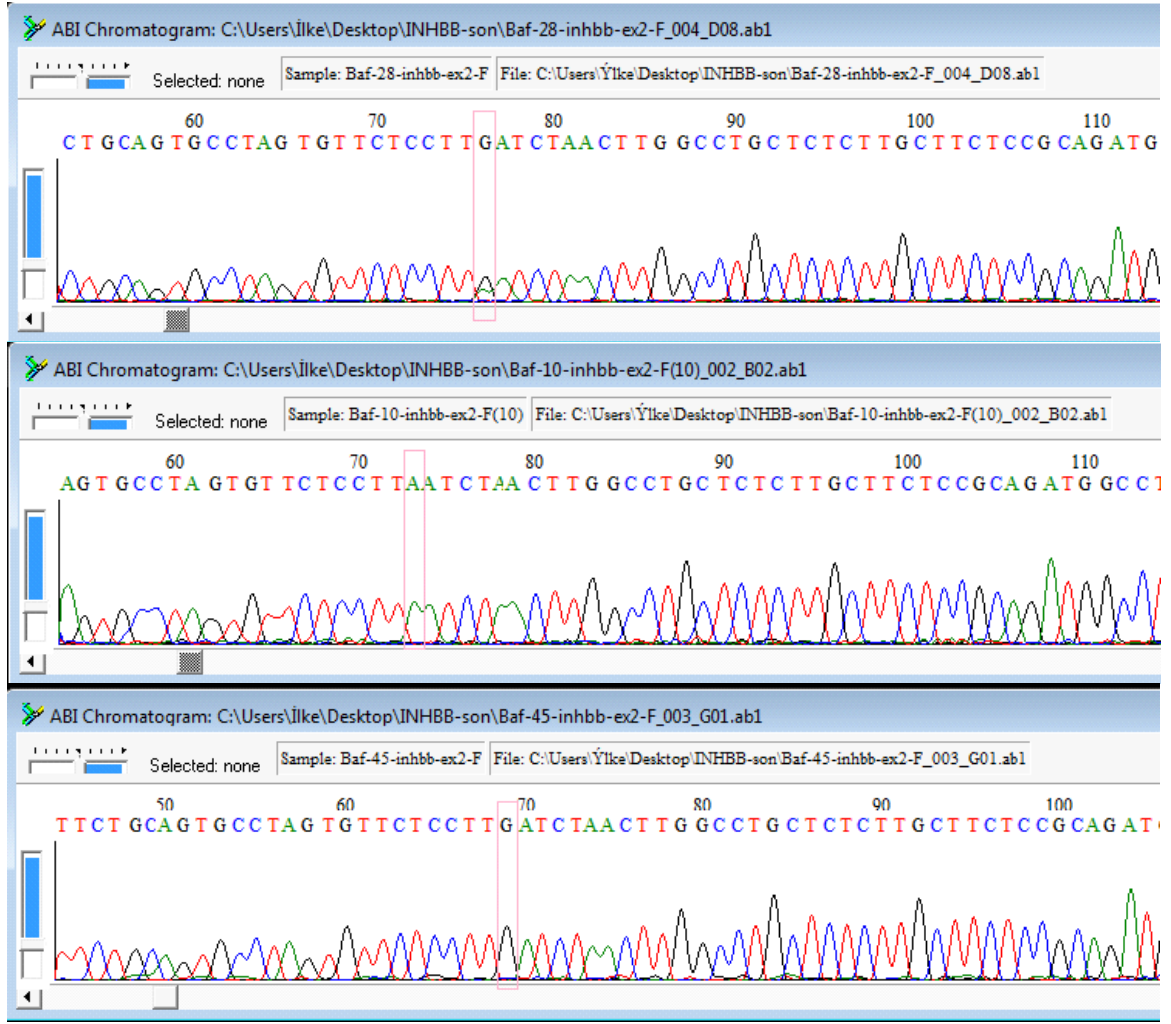
### 3.3. Dizi Analizi

ABI 3130 cihazında gerçekleştirilen dizi analiz sonucunda Bioedit Programı yardımıyla hizalanmıştır. Referans dizi olarak INHBB için Texel ırkı koyunun gen bölgesi (GenBank erişim numarası: FJ167874.1), FSHB için yine Texel ırkı koyunun gen bölgesi (GenBank erişim numarası: NC019472.1) olarak kullanılmıştır. INHBB gen bölgesinde tespit edilen SNP'ler 3'-5' yönüne göre sırasıyla SNP1, SNP2, SNP3 olarak, FSHB gen bölgesinde tespit edilen tek SNP ise SNP4 olarak kodlanmıştır. Buna göre SNP1'e referans INHBB geninin 1186. nükleotit pozisyonunda rastlanmış ve AA, GG ve GA olmak üzere üç genotipi tespit edilmiştir. SNP2'ye referans INHBB geninin 1495. nükleotit pozisyonunda rastlanmıştır ve genotipleri CC, CT, TT olarak tespit edilmiştir. SNP3'e, referans INHBB geninin 1611. rastlanmış ve sadece CC genotipi tespit edilmiştir. SNP4'e ise referans FSHB gen bölgesinin 2691. nükleotit pozisyonunda rastlanmış ve CC, CT ve TT olmak üzere üç genotipi tespit edilmiştir

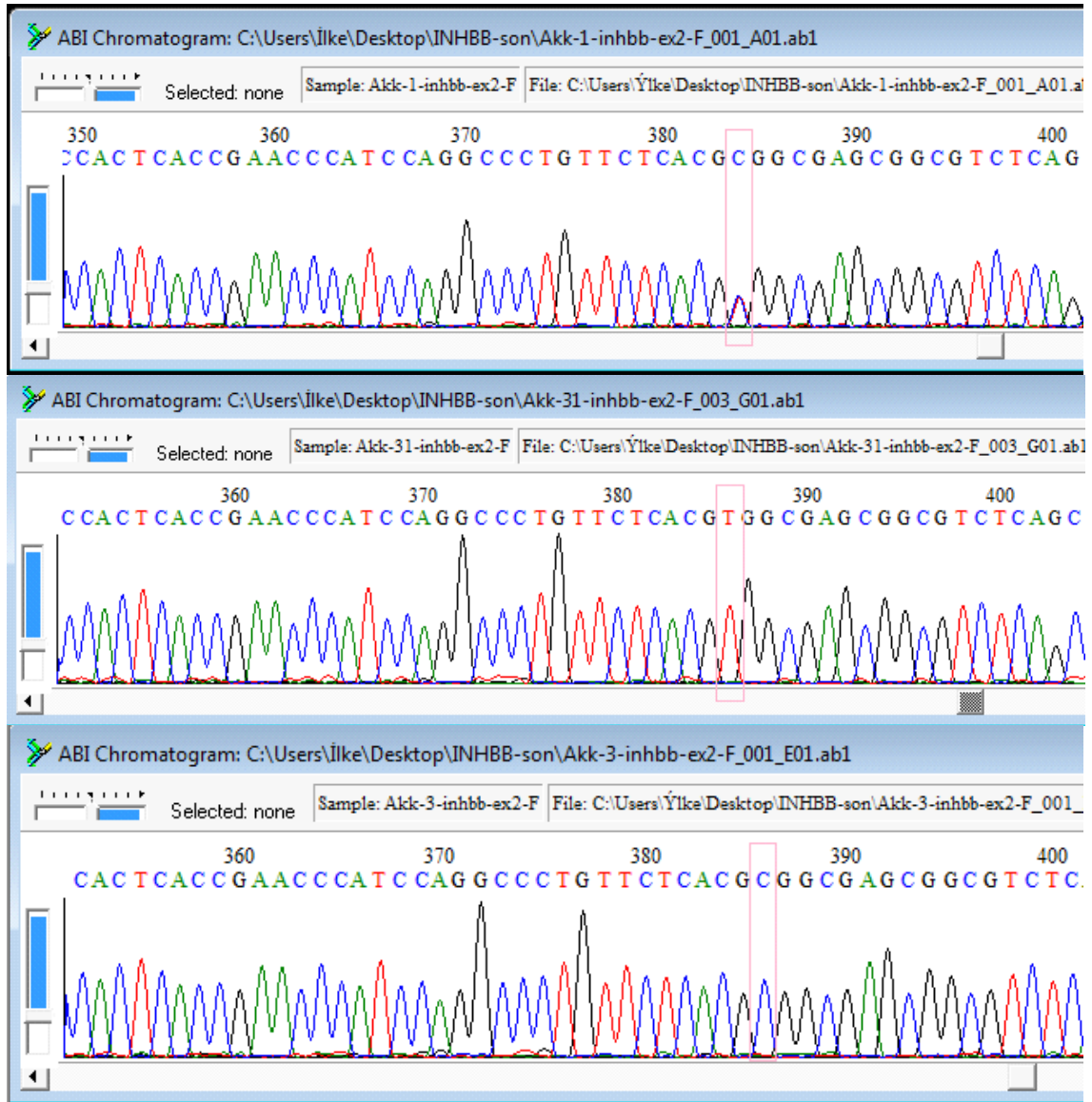
Tespit edilen SNP'ler ve genotiplerine ait bazı elektroferogram ve hizalama görüntüleri aşağıda sunulmuştur.



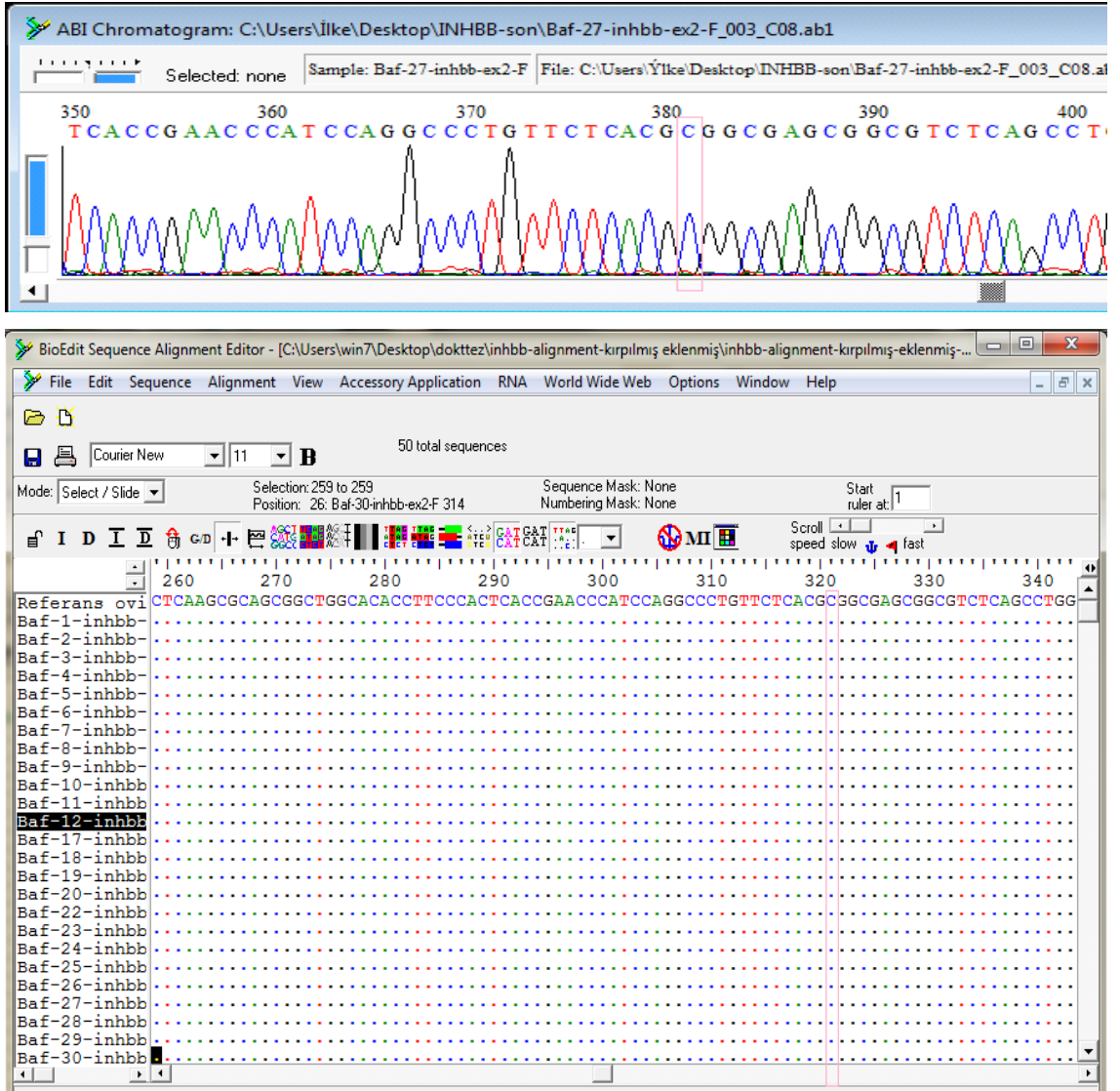
**Şekil 21.** Bazı Akkaraman koyunlarında gözlenen SNP1'in elektroferogram görüntüleri (Üstten alta sırasıyla GA genotipi, AA genotipi, GG genotipi).



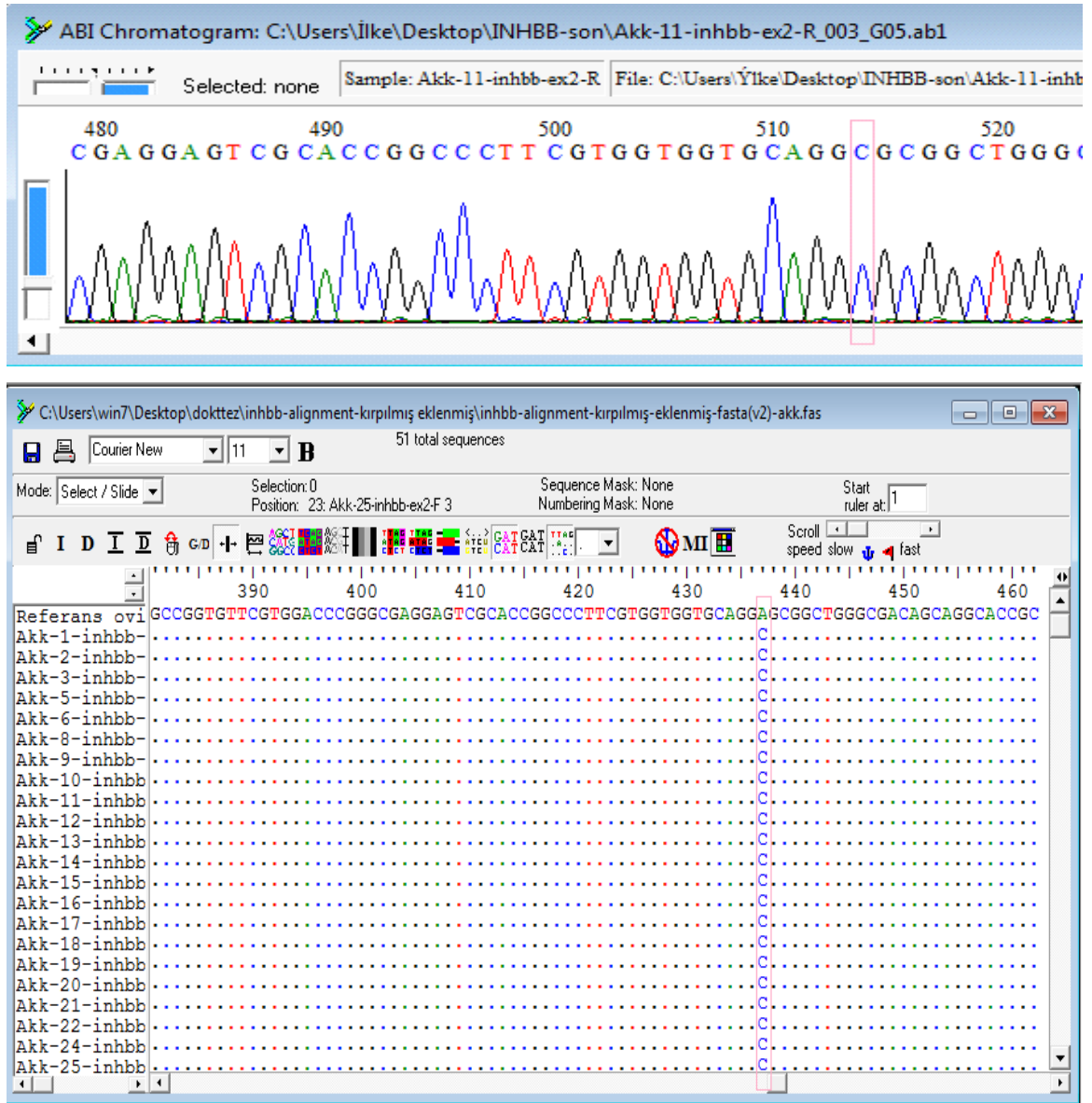
**Şekil 22.** Bazı Bafra koyunlarında gözlenen SNP1'in elektroferogram görüntüleri (Üstten alta sırasıyla GA genotipi, AA genotipi, GG genotipi).



**Şekil 23.** Bazı Akkaraman koyunlarında gözlenen SNP2'nin elektroferogram görüntüleri (Üstten alta sırasıyla CT genotipi, TT genotipi, CC genotipi).



**Şekil 24.** Bazı Bafra koyunlarında gözlenen SNP2'nin elektroferogram (üstte) ve hizalama (altta) görüntüleri (Tüm bireylerde gözlenen CC genotipi).



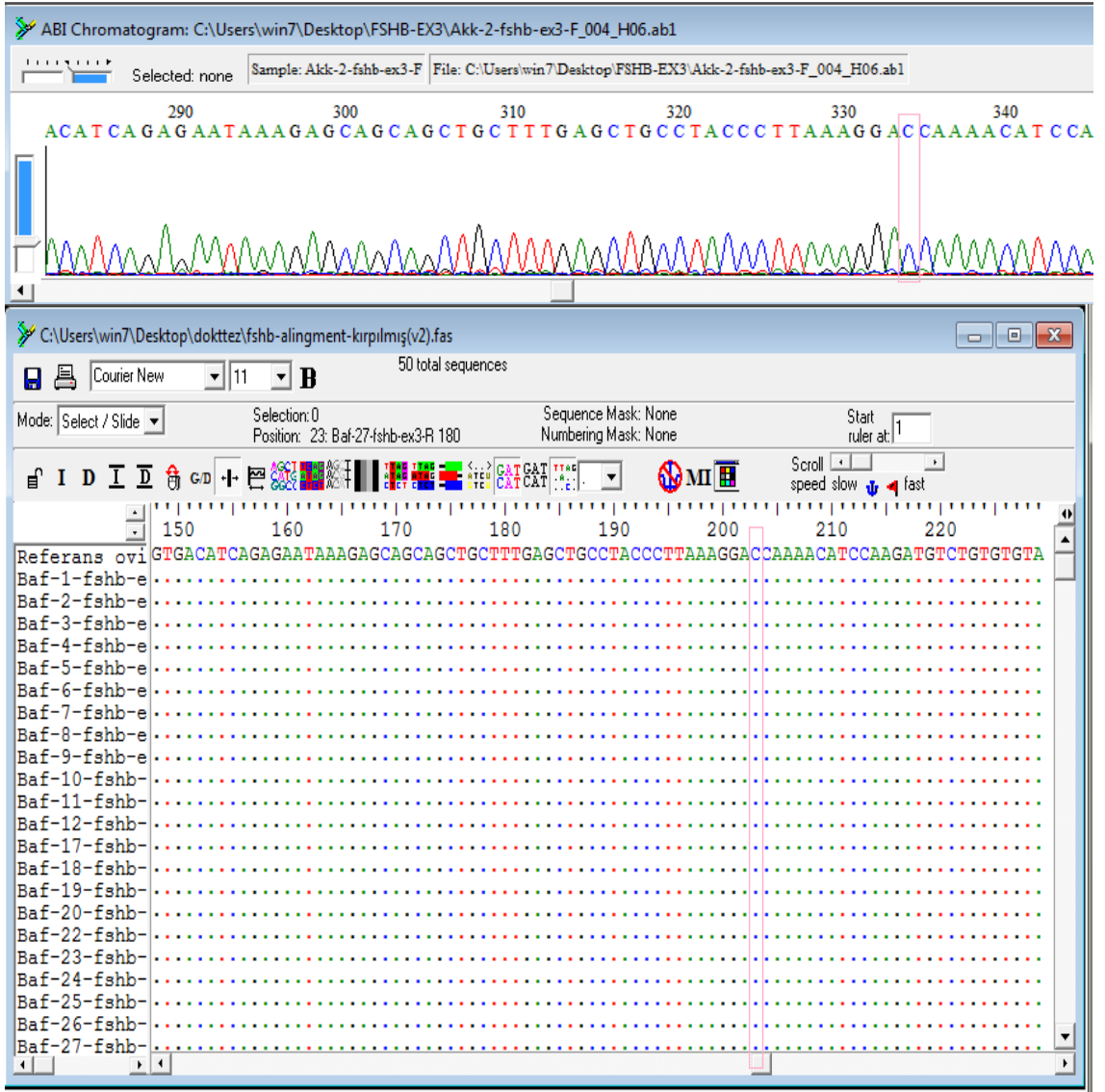
**Şekil 25.** Bazı Akkaraman koyunlarında gözlenen SNP3'ün elektroferogram (üstte) ve hizalama (altta) görüntüleri (Tüm bireylerde gözlenen CC genotipi).



**Şekil 26.** Bazı Bafra koyunlarında gözlenen SNP3'ün elektroferogram (üstte) ve hizalama (altta) görüntüleri (Tüm bireylerde gözlenen CC genotipi).



**Şekil 27.** Bazı Akkaraman koyunlarında gözlenen SNP4'ün elektroferogram görüntüleri (Üstten alta sırasıyla CT genotipi, TT genotipi, CC genotipi).



**Şekil 28.** Bazı Bafra koyunlarında gözlenen SNP4'ün elektroferogram (üstte) ve hizalama (altta) görüntüleri (Tüm bireylerde gözlenen CC genotipi).

### 3.4. İstatistiki Değerlendirmeler

#### 3.4.1. Allel Değerlendirmesi

PLINK1.9 programı (Chang ve ark., 2014) aracılığı ile ırklar arası ve ırk içi ayrı ayrı yapılan alleller ile ilgili değerlendirmeler aşağıda sunulmuştur.

**Çizelge 8.** Akkaraman ve Bafra koyunlarına ait allel değerlendirmesi (n:99). KR: Kromozom no, SNP: SNP kodu, A1: Minör allel, A2: Majör allel, NMA: Okunan allel sayısı (Non-missing allel), GENO: Genotip oranı, Ho: gözlenen heterozigotluk, He: Beklenen heterozigotluk, HWp: Hardy-Weinberg p değeri, ns: nonsignificant (\*P<0,01)

KR	SNP	A1	A2	MAF	NMA	GENO	Ho	He	HWp
2	SNP1	G	A	0,3980	196	15/48/35	0,4898	0,4792	1ns
2	SNP2	T	C	0,1263	198	5/15/79	0,1515	0,2206	0,0070*
2	SNP3	0	C	0	198	0/0/99	0	0	1ns
15	SNP4	T	C	0,0858	198	1/15/83	0,1515	0,157	0,5278ns

**Çizelge 9.** Akkaraman koyunlarına ait allel değerlendirmesi (n:50). (KR: Kromozom no, SNP: SNP kodu, A1: Minör allel, A2: Majör allel, NMA: Okunan allel sayısı (Non-missing allel), GENO: Genotip oranı, Ho: gözlenen heterozigotluk, He: Beklenen heterozigotluk, HWp: Hardy-Weinberg p değeri, ns: nonsignificant.

KR	SNP	A1	A2	MAF	NMA	GENO	Ho	He	HWp
2	SNP1	G	A	0,4082	98	8/24/17	0,4898	0,4831	1ns
2	SNP2	T	C	0,2500	100	5/15/30	0,3000	0,3750	0,1495ns
2	SNP3	0	C	0	100	0/0/50	0	0	1ns
15	SNP4	T	C	0,1700	100	1/15/34	0,3000	0,2822	1ns

**Çizelge 10.** Bafra koyunlarına ait allel değerlendirmesi (n:49). (KR: Kromozom no, SNP: SNP kodu, A1: Minör allel, A2: Majör allel, NMA: Okunan allel sayısı (Non-missing allel), GENO: Genotip oranı, Ho: gözlenen heterozigotluk, He: Beklenen heterozigotluk, HWp: Hardy-Weinberg p değeri, ns: nonsignificant.

KR	SNP	A1	A2	MAF	NMA	GENO	Ho	He	HWp
2	SNP1	G	A	0.3878	98	7/24/18	0.4898	0.4748	1ns
2	SNP2	0	C	0	98	0/0/49	0	0	1ns
2	SNP3	0	C	0	98	0/0/49	0	0	1ns
15	SNP	0	C	0	98	0/0/49	0	0	1ns

### 3.4.2. Network Analizi

INHBB ve FSHB gen bölgeleri için DnaSP (Librado ve Rozas, 2009) aracılığı ile ayrı ayrı haplotip değerlendirmesi yapılmış ve haplogruplar içinde bulunan bireyler belirlenmiştir. Network analizi (Bandelt ve ark., 1999) ise sadece INHBB Ekzon-2 gen bölgesi için oluşturulabilmiştir. Sonuçlar aşağıda sunulmuştur.

A)

Absolute Position				
1 Hap 1		a	c	a
2 Hap 2		g	t	c
3 Hap 3		.	.	c
4 Hap 4		g	.	c

B)

Absolute Position		
1 Hap 1		c
2 Hap 2		t

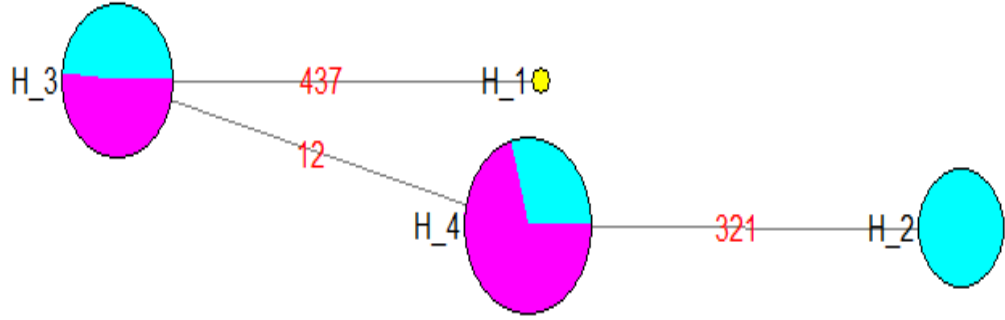
**Şekil 29.** Akkaraman ve Bafra koyunlarına A) INHBB gen bölgesi için, B) FSHB gen bölgesi için elde edilen haplotipler ve buna yol açan mutasyon noktaları (Hap 1: referans diziyi ifade etmektedir).

**Çizelge 11.** Akkaraman ve Bafra koyunlarında INHBB geni Ekzon-2 bölgesi için tespit edilen haplotiplere ait bireyler (Akk: Akkaraman, Baf: Bafra ırkını ifade etmektedir. Birey numaraları çalışma kayıtlarına göre verilmiştir).

<b>INHBB Haplotip Kodu</b>	<b>Haplotip dizisi</b>	<b>Birey sayısı (n)</b>	<b>Birey kodu</b>
Hap1	ACA	1	Referans
Hap2	GTC	20	Akk1, Akk2, Akk12, Akk13, Akk19, Akk24, Akk31, Akk32, Akk38, Akk40, Akk41, Akk46, Akk47, Akk48, Akk49, Akk51, Akk52, Akk53, Akk23, Akk39
Hap3	ACC	35	Akk3, Akk6, Akk10, Akk14, Akk16, Akk20, Akk21, Akk26, Akk28, Akk29, Akk33, Akk34, Akk35, Akk36, Akk37, Akk42, Akk45, Baf6, Baf8, Baf10, Baf11, Baf23, Baf24, Baf27, Baf29, Baf32, Baf33, Baf40, Baf41, Baf44, Baf46, Baf47, Baf49, Baf54, Baf53
Hap4	GCC	44	Akk5, Akk8, Akk9, Akk11, Akk15, Akk17, Akk18, Akk22, Akk25, Akk27, Akk30, Akk50, Baf1, Baf2, Baf3, Baf4, Baf5, Baf7, Baf9, Baf12, Baf17, Baf18, Baf19, Baf20, Baf22, Baf25, Baf26, Baf28, Baf30, Baf34, Baf35, Baf37, Baf38, Baf39, Baf45, Baf48, Baf50, Baf51, Baf52, Baf31, Baf42, Baf43, Baf36, Akk7

**Çizelge 12.** Akkaraman ve Bafra koyunlarında FSHB geni Ekzon-3 bölgesi için tespit edilen haplotiplere ait bireyler (Akk: Akkaraman, Baf: Bafra ırkını ifade etmektedir. Birey numaraları çalışma kayıtlarına göre verilmiştir).

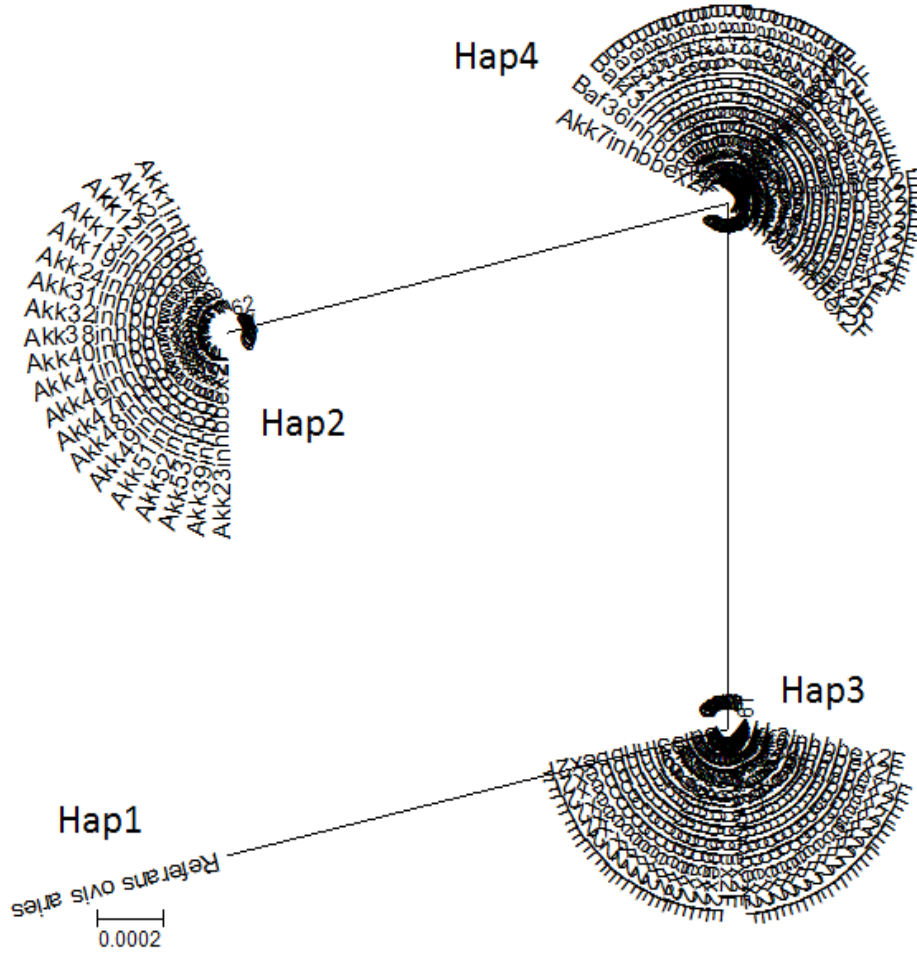
<b>INHBB Haplotip Kodu</b>	<b>Haplotip dizisi</b>	<b>Birey sayısı (n)</b>	<b>Birey kodu</b>
Hap1	C	83	Referans, Akk1, Akk2, Akk3, Akk7 Akk11 Akk12, Akk15, Akk16, Akk18, Akk19, Akk20, Akk22, Akk24, Akk25, Akk26, Akk27, Akk29, Akk30, Akk32, Akk33, Akk34, Akk35, Akk36, Akk37, Akk40, Akk41, Akk46, Akk47, Akk48, Akk49, Akk50, Akk51, Akk52, Baf1, Baf2, Baf3, Baf4, Baf5, Baf6, Baf7, Baf8, Baf9, Baf10, Baf11, Baf12, Baf17, Baf18, Baf19, Baf20, Baf22, Baf23, Baf24, Baf25, Baf26, Baf27, Baf28, Baf29, Baf30, Baf31, Baf32, Baf33, Baf34, Baf35, Baf36, Baf37, Baf38, Baf39, Baf40, Baf41, Baf42, Baf43, Baf44, Baf45, Baf46, Baf47, Baf48, Baf51, Baf52, Baf54, Baf49, Baf53, Baf50
Hap2	T	17	Akk5, Akk6, Akk8, Akk9, Akk10, Akk13, Akk14, Akk17, Akk21, Akk23, Akk28, Akk31, Akk38, Akk39, Akk42, Akk45, Akk53



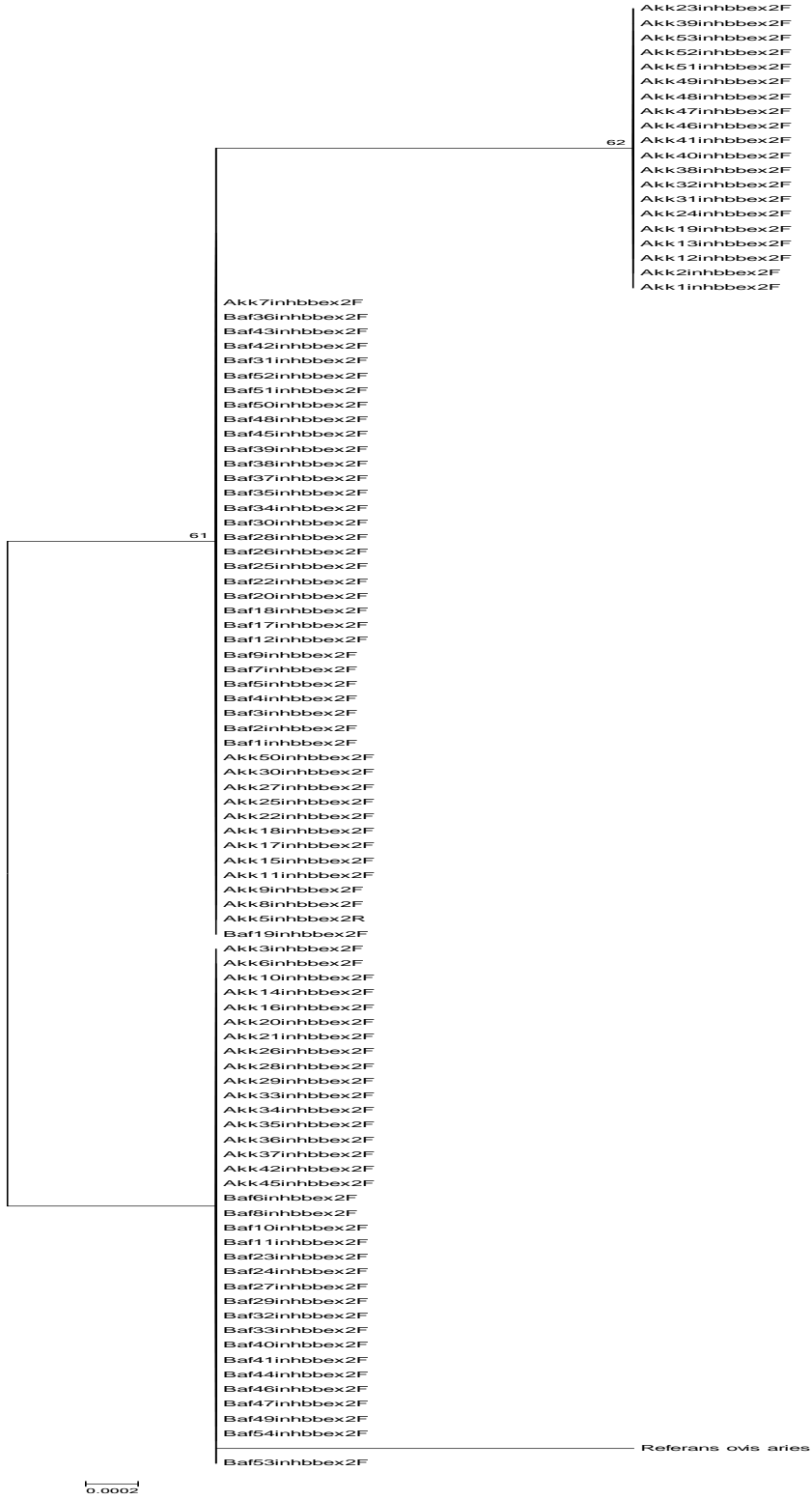
**Şekil 30.** INHBB Ekzon-2 gen bölgesine ait Network analiz sonuçları (Her daire bir haplotipi göstermektedir. H: Haplotipi ifade etmektedir).

### 3.4.3. Kimura Komşu Birleştirme Ağacı

MEGA5 programı (Tamura ve ark., 2011) aracılığı ile oluşturulan Kimura Komşu Birleştirme Ağacı, radiant ve klasik yöntemle göre dizayn edilmiştir.



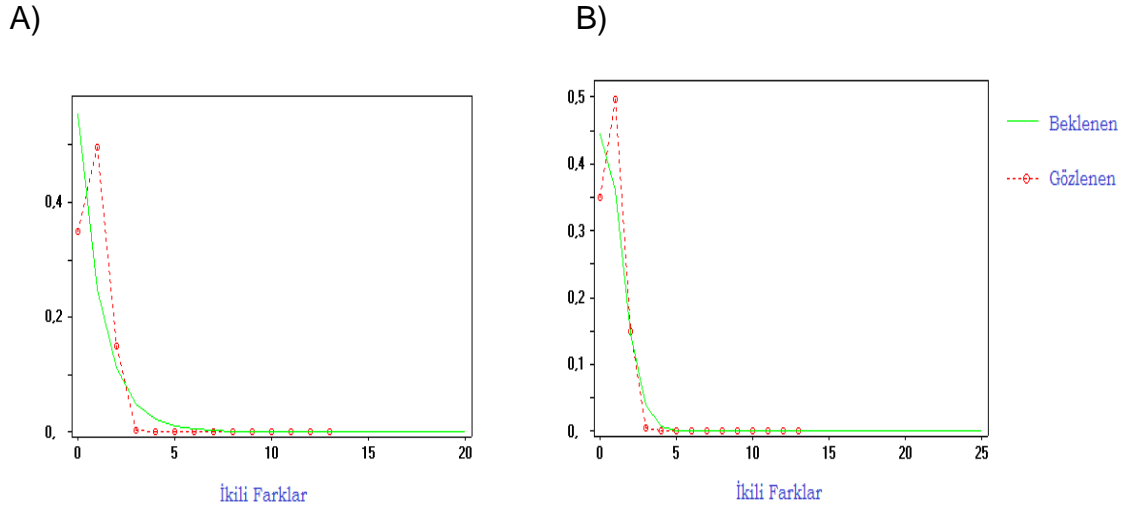
**Şekil 31.** INHBB bölgesine ait radiant Kimura Komşu Birleştirme Ağacı (Hap: Haplotipi ifade etmektedir)



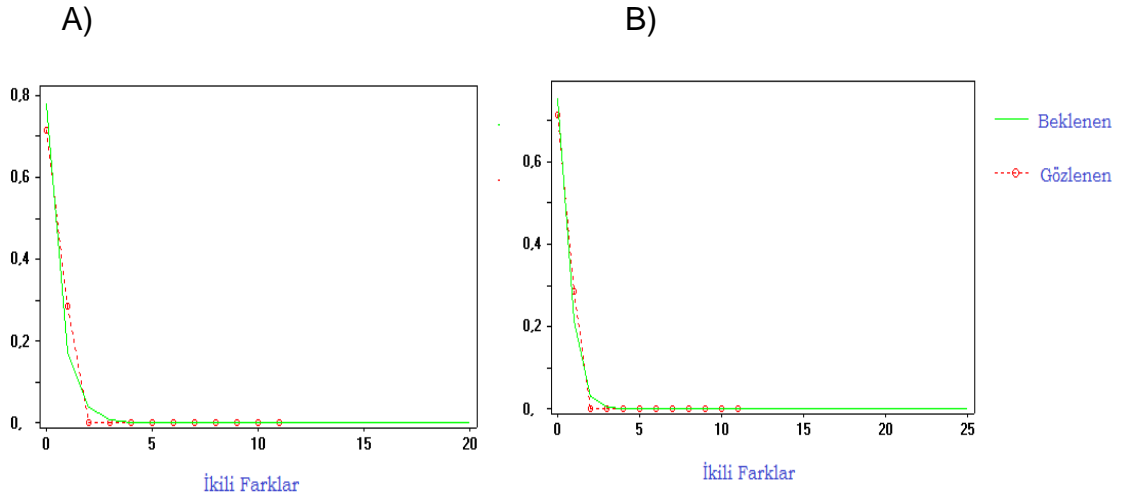
Şekil 32. INHBB bölgesine ait klasik Kimura Komşu Birleştirme Ağacı

### 3.4.4. Uyumsuzluk Analizleri

Tüm bireyler için DnaSp programı (Librado ve Rozas, 2009) kullanılarak INHBB ve FSHB gen bölgelerine göre ayrı ayrı oluşturulan sabit populasyon (A) ve büyüme küçülme (B) eğrileri aşağıda sunulmuştur.



**Şekil 33.** INHBB bölgesi için uyumsuzluk analiz sonuçları. A) Sabit Populasyon grafiği, B) Populasyon Büyüme-Küçülme grafiği



**Şekil 34.** FSHB bölgesi için uyumsuzluk analiz sonuçları. A) sabit Populasyon Grafiği, B) Populasyon Büyüme-Küçülme Grafiği

### 3.4.5. Nötralite Testleri

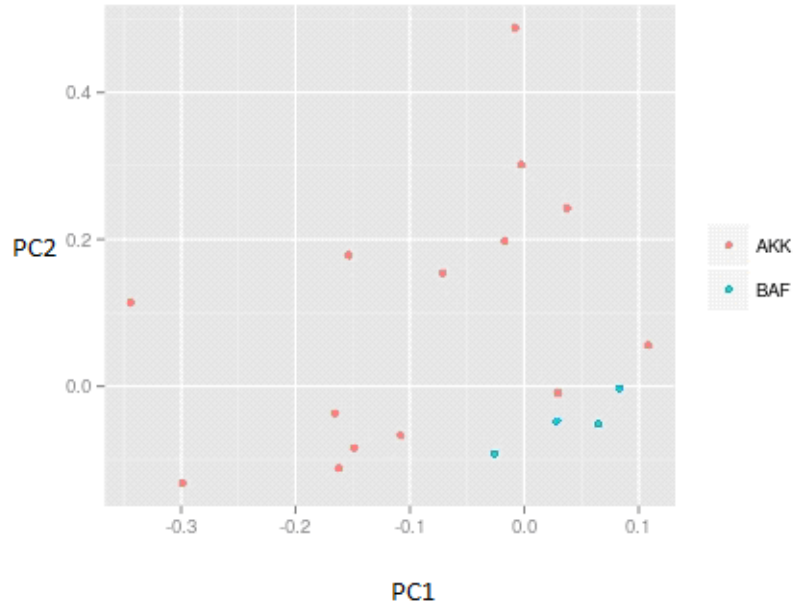
DnaSP programı (Librado ve Rozas, 2009) ile oluşturulan ve uyumsuzluk analizlerinin daha doğru değerlendirilmesini sağlayan nötralite testi sonuçları aşağıda sunulmuştur.

**Çizelge 13.** INHBB ve FSHB bölgesine ait nötralite testi sonuçları.

	INHBB Ekzon-2	FSHB Ekzon-3
<b>Haplotip Sayısı</b>	4	2
<b>Nükleotit Farklılığı Pi</b>	0,0012	0,0009
<b>Haplotip Farklılığı Hd</b>	0,6500	0,3590
<b>Tajima test</b>	0,7099	0,5455
<b>Fu and Li's D* test</b>	-0,5858	0,4923
<b>Fu and Li's F* test</b>	-0,2077	0,5922
<b>Raggedness (rg)</b>	0,1623	0,2661

### 3.4.6. Temel Bileşenler Analizi (PCA)

En çok varyasyon gösteren iki temel bileşen hedeflenerek oluşturulan ve ırkların coğrafik uzaklıklarınının saptanmasını sağlayan temel bileşenler analizi aşağıda sunulmuştur.



**Şekil 35.** PCA grafiği (PC1: Birinci bileşen, PC2: İkinci bileşen)

### 3.4.7. Protein Analizleri

MEGA programı (Tamura ve ark., 2011) aracılığı ile yapılan protein analizleri sonucunda INHBB geni Ekzon-2 bölgesine denk gelen SNP3 ün oluşturduğu Glutamat (Glu:E)'in Alanin (Ala:A)'e dönüşmesi sonucu oluşan aminoasit değişimi aşağıda sunulmuştur.

Name	Group	D	P	G	E	E	S	H	R	P	F	V	V	Q	E	R	L	G	D	S	R	H	R	I	R	K	R	G	L	E
1. Referans-ovis aries		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	-	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
2. Akk-1-inhbb-ex2-F		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
3. Akk-2-inhbb-ex2-F		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
4. Akk-3-inhbb-ex2-F		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
5. Akk-5-inhbb-ex2-R		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
6. Akk-6-inhbb-ex2-F		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
7. Akk-8-inhbb-ex2-F		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
8. Akk-9-inhbb-ex2-F		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
9. Akk-10-inhbb-ex2-F		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
10. Akk-11-inhbb-ex2-		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
11. Akk-12-inhbb-ex2-		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
12. Akk-13-inhbb-ex2-		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
13. Akk-14-inhbb-ex2-		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
14. Akk-15-inhbb-ex2-		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.

**Şekil 36.** INHBB geni Ekzon-3 bölgesinde tespit edilen SNP3'ün sebep olduğu aminoasit değişimi.

#### 3.4.8. Gen Bankası Taraması

Tespit ettiğimiz SNP'ler ile karşılaştırmasını yapmak amacıyla INHBB Ekzon-2 gen bölgesi ve FSHB Ekzon-3 gen bölgesi için tanımlanmış SNP'ler gen bankasında taranmıştır. Koyunlarda INHBB Ekzon-2 bölgesi için GenBank'a bildirilen SNP'ler aşağıda sunulmuştur. Koyunlarda FSHB Ekzon-3 için ise GenBank'a SNP olarak tanımlanmış veriye rastlanmamıştır. Ancak gen taramasında varyasyon olarak bildirilen tek bir SNP'ye rastlanmıştır.

184592435	rs428539907	N.D.						intron	C/T				
184592528	rs407158491	N.D.						intron	A/G				
184592599	rs422549699	N.D.						intron	C/G				
184592656	rs161737972	N.D.						intron	A/G				
184592797	rs159550366	N.D.						intron	A/G				
184592864	rs401204847	N.D.						intron	A/G				
184592961	rs408229747	N.D.						intron	A/G				
184593241	rs418472159	N.D.						intron	C/T				
184593356	rs401186046	N.D.						intron	C/T				
184593477	rs412664494	N.D.						intron	C/T				
184593681	rs159550367	N.D.						intron	A/G				
184593826	rs423923738	N.D.						intron	C/T				
184593895	rs398280101	N.D.						intron	A/G				
184594025	rs159550368	N.D.						intron	A/G				
184594488	rs413846364	N.D.						intron	C/T				
184594544	rs425127735	N.D.						intron	C/T				
184594600	rs409298247	N.D.						intron	C/T				
184594669	270 rs159550369	N.D.						synonymous	C	Phe [F]	3	90	
								contig reference	T	Phe [F]	3	90	
184594705	306 rs159550370	N.D.						synonymous	G	Val [V]	3	102	
								contig reference	A	Val [V]	3	102	
184594783	384 rs159550371	N.D.						synonymous	C	Val [V]	3	128	
								contig reference	A	Val [V]	3	128	

**Şekil 37.** INHBB geni Ekzon-2 bölgesi GenBank SNP kayıtları (Anonim 6, 2015).

### 3.4.9. SNP Kombinasyonlarının Belirlenmesi

Her SNP için gözlenen varyasyonlar tespit edilmiş ve bu varyasyonların bireylerde tek başına ve beraber bulunma durumları (kombinasyonları) çizelgeye işlenerek aşağıda sunulmuştur.

**Çizelge 14.** Bafra koyunlarında gözlenen, varyasyona sahip tek SNP'nin (SNP1) bireylerde bulunma durumu.

Grup Adı	Gruba dahil olan SNP'ler	Genotipler	Genotipi taşıyan birey sayısı (n)
Grup 1	SNP1	GA	24
		GG	7
		AA	18

**Çizelge 15.** Akkaraman koyunlarında gözlenen SNP kombinasyonuna göre oluşturulmuş gruplar ve bu kombinasyonları taşıyan birey sayıları.

Grup Adı	Gruba dahil olan SNP'ler	Genotipler	Genotipi taşıyan birey sayısı (n)
Grup 1	SNP1	GA	25
		GG	8
		AA	17
Grup 2	SNP2	CC	31
		CT	14
		TT	5
Grup 3	SNP4	TT	2
		TC	15
		CC	33
Grup 4	SNP1, SNP2	GA, CT	13
		GA, CC	12
		GG, CT	1
		GG, CC	2
		GG, TT	5
		AA, CC	17
Grup 5	SNP2, SNP4	CC, TC	12
		CC, CC	18
		CC, TT	1
		TT, TC	3
		TT, CC	2
		CT, CC	13
		CT, CT	1
Grup 6	SNP1, SNP4	GA, TC	4
		GA, CC	19
		GA, TT	2
		GG, TC	4
		GG, CC	3
		GG, TT	1
		AA, TC	7
		AA, CC	10
Grup 7	SNP1, SNP2, SNP4	GA, CT, CC	13
		GA, CC, TC	4
		GA, CC, CC	7
		GA, CC, TT	1
		GG, CT, TT	1
		GG, CC, TC	1
		GG, CC, CC	1
		GG, TT, TC	3
		GG, TT, CC	2
		AA, CC, TC	7
		AA, CC, CC	10

### 3.4.10. Varyans Analizi

SNP kombinasyonlarına göre oluşturulan gruplarda yer alan bireylerin yavru verimleri ile ilişkisi baz alınarak yapılan varyans analizleri aşağıdaki çizelgelerde sunulmuştur:

**Çizelge 16.** Bafra koyunlarında gözlenen SNP1 genotipleri ile yavru verimi arasındaki ilişkinin saptanması amacıyla uygulanan varyans analiz sonucu (n: Birey sayısı, YV: Yavru verimi).

BAFRA								One Way ANOVA
Değişken	Genotip	n	YV Aritmetik Ortalama	Std. Hata	Std. Sapma	Medyan	Değişim Aralığı	p
Grup 1	SNP1=GA	24	2,13	0,14	0,68	2,00	3,00	0,888
	SNP1=GG	7	2,00	0,00	0,00	2,00	0,00	
	SNP1=AA	18	2,17	0,23	0,99	2,00	4,00	

**Çizelge 17.** Akkaraman koyunlarında gözlenen SNP'lerin tek başına yavru verimi üzerine etkisinin saptanması amacıyla uygulanan varyans analizi sonuçları (a: One way ANOVA, b: Kruskal Wallis, n: Birey sayısı, YV: Yavru verimi).

AKKARAMAN								One Way ANOVA/ Kruskal Wallis
Değişken	Genotipler	n	YV Aritmetik Ortalaması	Std. Hata	Std. Sapma	Medyan	Değişim Aralığı	P
Grup 1	SNP1=GA	25	1,16	0,05	0,24	1,00	1,00	0,995 <sup>a</sup>
	SNP1=GG	8	1,17	0,09	0,25	1,00	0,67	
	SNP1=AA	17	1,16	0,05	0,21	1,00	0,67	
Grup 2	SNP2=CC	31	1,14	0,04	0,21	1,00	0,67	0,512 <sup>a</sup>
	SNP2=CT	14	1,17	0,07	0,25	1,17	1,00	
	SNP2=TT	5	1,27	0,12	0,28	1,33	0,67	
Grup 3	SNP4=TT	2	1,00	0,00	0,00	1,00	0,00	0,388 <sup>b</sup>
	SNP4=TC	15	1,13	0,05	0,21	1,00	0,67	
	SNP4=CC	33	1,18	0,04	0,24	1,00	1,00	

**Çizelge 18.** Akkaraman koyunlarında gözlenen SNP'lerin üçlü kombinasyonlarının yavru verimi üzerine etkisinin belirlenmesi amacıyla uygulanan varyans analiz sonuçları (n: Birey sayısı, YV: Yavru verimi).

AKKARAMAN								Kruskal Wallis
Değişken	Genotipler	n	YV Aritmetik Ortalama	Std. Hata	Std. Sapma	Medyan	Değişim Aralığı	p
Grup 4	SNP1=GA, SNP2=CT	13	1,18	0,07	0,26	1,33	1,00	0,671
	SNP1=GA, SNP2=CC	12	1,14	0,06	0,22	1,00	0,67	
	SNP1=GG, SNP2=CT	1	1,00	-	-	1,00	0,00	
	SNP1=GG, SNP2=CC	2	1,00	0,00	0,00	1,00	0,00	
	SNP1=GG, SNP2=TT	5	1,27	0,12	0,28	1,33	0,67	
	SNP1=AA, SNP2=CC	17	1,16	0,05	0,21	1,00	0,67	
Grup 5	SNP2=CC, SNP4=TC	12	1,14	0,06	0,22	1,00	0,67	0,472
	SNP2=CC, SNP4=CC	18	1,15	0,05	0,21	1,00	0,67	
	SNP2=CC, SNP4=TT	1	1,00	-	-	1,00	0,00	
	SNP2=TT, SNP4=TC	3	1,11	0,11	0,19	1,00	0,33	
	SNP2=TT, SNP4=CC	2	1,50	0,17	0,24	1,50	0,33	
	SNP2=CT, SNP4=CC	13	1,18	0,07	0,26	1,33	1,00	
	SNP2=CT, SNP4=TC	1	1,00	-	-	1,00	0,00	
Grup 6	SNP1=GA, SNP4=TC	4	1,33	0,14	0,27	1,33	0,67	0,256
	SNP1=GA, SNP4=CC	19	1,14	0,05	0,23	1,00	1,00	
	SNP1=GA, SNP4=TT	2	1,00	0,00	0,00	1,00	0,00	
	SNP1=GG, SNP4=TC	4	1,08	0,08	0,17	1,00	0,33	
	SNP1=GG, SNP4=CC	3	1,33	0,19	0,33	1,33	0,67	
	SNP1=GG, SNP4=TT	1	1,00	-	-	1,00	0,00	
	SNP1=AA, SNP4=TC	7	1,05	0,05	0,13	1,00	0,33	
	SNP1=AA, SNP4=CC	10	1,23	0,07	0,22	1,33	0,67	

**Çizelge 19.** Akkaraman koyunlarına gözlenen SNP'lerin üçlü kombinasyonlarının yavru verimi üzerine etkisinin belirlenmesi amacıyla uygulanan varyans analiz sonuçları (n: Birey sayısı, YV: Yavru verimi).

AKKARAMAN								Kruskal Wallis
Değişken	Genotipler	n	YV Aritmetik Ortalama	Std. Hata	Std. Sapma	Medyan	Değişim Aralığı	P
Grup 7	SNP1=GA, SNP2=CT, SNP4=CC	13	1,18	0,07	0,26	1,33	1,00	0,182
	SNP1=GA, SNP2=CC, SNP4=TC	4	1,33	0,14	0,27	1,33	0,67	
	SNP1=GA, SNP2=CC, SNP4=CC	7	1,05	0,05	0,13	1,00	0,33	
	SNP1=GA, SNP2=CC, SNP4=TT	1	1,00	-	-	1,00	0,00	
	SNP1=GG, SNP2=CT, SNP4=TT	1	1,00	-	-	1,00	0,00	
	SNP1=GG, SNP2=CC, SNP4=TC	1	1,00	-	-	1,00	0,00	
	SNP1=GG, SNP2=CC, SNP4=CC	1	1,00	-	-	1,00	0,00	
	SNP1=GG, SNP2=TT, SNP4=TC	3	1,11	0,11	0,19	1,00	0,33	
	SNP1=GG, SNP2=TT, SNP4=CC	2	1,50	0,17	0,24	1,50	0,33	
	SNP1=AA, SNP2=CC, SNP4=TC	7	1,05	0,05	0,13	1,00	0,33	
	SNP1=AA, SNP2=CC, SNP4=CC	10	1,23	0,07	0,22	1,33	0,67	

### 3.4.11. Lojistik Regresyon Analizi

Oluşturulan SNP kombinasyon gruplarının yavru verimleri ile ilişkisinin saptanması amacıyla yapılan Lojistik Regresyon analizi sonuçları aşağıdaki çizelgelerde sunulmuştur.

**Çizelge 20.** Akkaraman ve Bafra koyunları için oluşturulmuş tek SNP varyasyonları ile yavru verimi arasındaki lojistik regresyon analiz sonuçları.

Değişken	Genotipler	Regresyon katsayısı	Standart hata	p-değeri	Odds oranı	%95 güven aralığı	
						Alt değer	Üst değer
Baf (Grup1)	SNP1=GA			0,720			
	SNP1=AA	-0,788	0,972	0,417	0,455	0,068	3,057
	SNP1=GG	18,805	15,515	0,999	14,299	0,000	.
	Regresyon sabiti	2,398	0,739	0,001	11,000		
Akk (Grup1)	SNP1=GA			0,564			
	SNP1=AA	-0,916	0,888	0,302	0,400	0,070	2,281
	SNP1=GG	0,000	0,943	1,000	1,000	0,158	6,346
	Regresyon sabiti	-1,099	0,471	0,020	0,333		
Akk (Grup2)	SNP2 =CT			0,475			
	SNP2=CC	-0,799	1,125	0,478	0,450	0,050	4,085
	SNP2=TT	-1,243	1,035	0,230	0,288	0,038	2,194
	Regresyon sabiti	-0,405	0,913	0,657	0,667		
Akk (Grup3)	SNP4 =CT			0,827			
	SNP4=CC	20,191	28,726	0,999	0,896	0,000	.
	SNP4=TT	19,737	28,726	0,999	0,607	0,000	.
	Regresyon sabiti	-21,203	28,726	0,999	0,000		

**Çizelge 21.** Akkaraman koyunları için oluşturulmuş ikili SNP kombinasyonları ile yavru verimi arasındaki lojistik regresyon analiz sonuçları.

Değişken	Genotipler	Regresyon katsayısı	Standart hata	p-değeri	Odds oranı	%95 güven aralığı	
						Alt değer	Üst değer
Akk (Grup4)	SNP1=GA, SNP2=CT			0,853			
	SNP1=GA, SNP2=CC	0,916	1,006	0,362	2,500	0,348	17,941
	SNP1=GG, SNP2=CT	0,916	1,006	0,362	2,500	0,348	17,941
	SNP1=GG, SNP2=CC	-19,188	40,970	1,000	0,000	0,000	.
	SNP1=GG, SNP2=TT	-19,188	28,722	0,999	0,000	0,000	.
	SNP1=AA, SNP2=CC	1,609	1,183	0,174	5,000	0,492	50,831
	Regresyon Sabiti	-2,015	0,753	0,007	0,133		
Akk (Grup5)	SNP2=CC, SNP4=TC			0,700			
	SNP2=CC, SNP4=CC	0,105	0,937	0,910	1,111	0,177	6,970
	SNP2=TT, SNP4=TC	-0,875	0,998	0,380	0,417	0,059	2,946
	SNP2=CT, SNP4=CC)	0,511	1,390	0,713	1,667	0,109	25,433
	Regresyon Sabiti	-1,204	0,658	0,067	0,300		
Akk (Grup6)	SNP1=GA, SNP4=TC			0,722			
	SNP1=GA, SNP4=CC	2,197	1,453	0,130	9,000	0,522	155,242
	SNP1=GG, SNP4=TC	0,875	1,195	0,464	2,400	0,231	24,964
	SNP1=GG, SNP4=CC	1,099	1,563	0,482	3,000	0,140	64,262
	SNP1=GG, SNP4=TT	1,504	1,616	0,352	4,500	0,190	106,823
	SNP1=AA, SNP4=CC	0,405	1,509	0,788	1,500	0,078	28,890
	Regresyon Sabiti	-2,197	1,054	0,037	0,111		

**Çizelge 22.** Akkaraman koyunları için oluşturulmuş üçlü SNP kombinasyonları ile yavru verimi arasındaki Lojistik Regresyon analiz sonuçları.

Değişken	Genotipler	Regresyon katsayısı	Standart hata	p-değeri	Odds oranı	%95 güven aralığı	
						Alt değer	Üst değer
Akk (Grup7)	SNP1=GA, SNP2=CT, SNP4=CC			0,954			
	SNP1=GA, SNP2=CC, SNP4=TC	1,099	1,258	0,383	3,000	0,255	35,334
	SNP1=GA, SNP2=CC, SNP4=CC	1,386	1,620	0,392	4,000	0,167	95,756
	SNP1=GG, SNP2=TT, SNP4=TC	-19,123	17,843	0,999	0,000	0,000	.
	SNP1=AA, SNP2=CC, SNP4=TC	1,386	1,620	0,392	4,000	0,167	95,756
	SNP1=AA, SNP2=CC, SNP4=CC	-19,123	20,485	0,999	0,000	0,000	.
	Regresyon Sabiti	-2,079	1,061	0,050	0,125		

#### 4.TARTIŞMA

Bu araştırma, Akkaraman ve Bafra koyunlarındaki INHBB geni Ekzon-2 ve FSHB geni Ekzon-3 bölgelerinin dizi analizi kullanılarak olası polimorfizmlerinin incelenmesi ve bunların yavru verimi ile ilişkilendirilmesi amacıyla yürütülmüştür.

Çalışmada 50 baş Akkaraman ve 50 Baş Bafra koyununun kanları kullanılarak yapılan DNA izolasyonları fenol:kloroform yöntemi aracılığıyla başarılmıştır. Ardından gerçekleştirilen PZR aşamasında iki bölgenin de tüm bireylerde tam olarak yükseltildiği agaroz jel ile belirlenmiştir. Ancak dizi analizi aşamasında bir örnek (Baf 21) hem INHBB hem de FSHB bölgelerinde sonuç vermemiştir. Bu durumun örnek içindeki herhangi bir inhibitör faktörden kaynaklandığı düşünülmüştür. Bu sebeple dizi analiz sonuçlarına göre 50 baş Akkaraman 49 baş Bafra bireyine ait sonuçlar değerlendirmeye alınmıştır.

Elde edilen dizi analiz verileri Bioedit programı ile hizalanması sonucunda kullanılan referans dizilere göre toplam dört tip polimorfizm gözlenmiştir. Bu polimorfizmlerin hepsi SNP olarak karşımıza çıkmıştır. Buna göre SNP1, INHBB geni İntron bölgesinde; SNP2 ve SNP3 INHBB geni Ekzon-2 bölgesinde; SNP4 ise FSHB geni İntron bölgesinde gözlenmiştir.

SNP1, INHBB geni içerisinde referans diziyeye göre Adenin'in Guanin'e değişimi sonucunda ortaya çıkmış bir polimorfizmdir. Her iki ırkta da AA, GG ve GA olmak üzere üç genotipi tespit edilmiştir. SNP2, INHBB geni içerisinde referans diziyeye göre Sitozin'in Timin'e değişimi sonucu oluşmuş bir polimorfizmdir. Akkaraman ırkında CC, CT, TT olmak üzere üç genotipi tespit edilmiştir. Bafra ırkında ise CC tek genotip olarak gözlenmiş ve referans dizi ile uyum gösterdiği belirlenmiştir. SNP3, INHBB geninde referans diziyeye göre Adenin nükleotitinden

Sitozin nükleotidine değişimi (g.1611A>C) sonucu oluşmuş bir transversiyon polimorfizmidir ve her iki ırkta da CC genotipi olarak gözlenmiştir. SNP4 ise FSHB gen bölgesinde referans diziye göre Sitozin'in Timin'e değişimi sonucu oluşmuş bir polimorfizmdir ve Akkaraman koyunlarında CC, CT ile TT olmak üzere üç genotipi tespit edilirken Bafra koyunlarında sadece CC genotipi gözlenmiştir.

#### 4.1. Allel Değerlendirmesi

Tüm bu SNP verilerininin toplam genotip oranı, minör allelleri, minör allel frekansları, majör allelleri, beklenen-gözlenen heterozigotlukları ve HW p-değeri değerlendirilmiştir. Buna göre SNP1 için MAF değeri dikkate alındığında iki ırkta da G alleli minör allel olarak tespit edilmiş ve ırklara arası MAF değeri 0,3980 olarak tespit edilmiştir. Akkaraman ve Bafra ırklarına ait örnekler ayrı ayrı değerlendirildiğinde ise Bafra ırkının MAF değeri (0,3878) ve Akkaraman ırkının MAF değeri (0,4082) birbirine yakın bulunmuştur. SNP1 hem ırk içi hem de ırklar arası yaygın SNP olarak değerlendirilmiştir (MAF>0,05). ırklar arasında ve her iki ırk içinde de gözlenen heterozigotluk, beklenen heterozigotluktan fazla bulunmuştur. Buna göre incelenen populasyonun hem ırklar arası hem de ırk içi HW dengesinde olduğu gözlenmiştir (p>0,05).

SNP2 için MAF değerleri dikkate alınmış ve ırklar arası ve ırk içi polimorfik değerlendirmeleri yapılmıştır. Buna göre ırklar arası MAF değeri T alleli için 0,1263 olarak bulunmuştur. ırk içi değerlendirmede ise yine T allelinin MAF değeri Akkaraman koyunlarında 0,25 olarak bulunurken Bafrada koyunlarında MAF değeri sıfır olarak tespit edilmiştir. SNP2 Akkaraman ırkı için yaygın SNP olarak değerlendirilirken (MAF>0,05) Bafra ırkında bu bölge monomorfik olarak gözlenmiştir. ırklar arası değerlendirmede gözlenen heterozigotluk beklenenden düşük bulunmuş ve HW dengesinden sapma tespit edilmiştir (p<0,01). Ancak ırk

içi değerlendirmede Akkaraman ve Bafra ırklarının SNP2 açısından ayrı ayrı HW dengesinde olduğu gözlenmiştir. Irklar arasında tespit edilen bu dengesizliğin Bafra ırkının monomorfik olmasından kaynaklandığı kanaatine varılmıştır.

SNP3 MAF değerleri hem ırklar arası hem de ırk içi değerlendirmede sıfır olarak tespit edilmiştir. Bu durum SNP3'ün her iki ırkta da monomorfik olmasından kaynaklanmıştır.

SNP4 için tüm bireyler değerlendirildiğinde MAF değeri T allelinde 0.0858 olarak, sadece Akkaraman ırkı değerlendirildiğinde 0,17 olarak, Bafra ırkı değerlendirildiğinde ise 0 olarak tespit edilmiştir. Bafra ırkı bu bölge açısından referans diziden farklı bulunmazken Akkaraman ırkında yaygın bir SNP olarak değerlendirilmiştir (MAF>0,05).

Bu araştırmada tespit edilen tüm SNP'lerin gen bankasına bildirilmiş verilerle uyumlu olup olmadığı kontrol edilmiştir. Buna göre SNP1 2. kromozomun 184594600. pozisyonunda bulunan SNP (GenBank SNP erişim numarası: rs409298247) ile uyumlu bulunmuştur. Gen bankasında INHBB Ekzon-2 bölgesinde olduğu bildirilen u SNP tanımlanmıştır. Bunlar 2. kromozomun tüm genom sekansına (GenBank SNP erişim numarası: NC019459.1) göre, 184594669. pozisyonunda (GenBank SNP erişim numarası: rs159550369), 184594705. pozisyonunda (GenBank SNP erişim numarası: rs159550370) ve 184594783. pozisyonunda (GenBank SNP erişim numarası: rs159550371) olduğu görülmüştür. SNP2 ise 184594909. pozisyonunda yer alırken SNP3 184595024. pozisyonda tespit edilmiştir. Gen bankası SNP verilerine göre SNP2 ve SNP3'n ilk defa tespit edilen tek nükleotit polimorfizmi olması dikkat çekici bulunmuştur. FSHB geninin kodlanmayan bölgesinde tespit edilen SNP4 ise 15. kromozomun 59190087. pozisyonuna denk gelmektedir. Protein sentezine katılmayan bu varyasyonun gen bankasına bildirilmiş bir varyasyon ile uyumlu

olduğu belirlenmiştir (GenBank erişim numarası:AY853254.1 olan b3lgenin 261.pozisyonu).

#### 4.2. Protein Analizi

MEGA programı aracılığı ile yapılan protein analizleri sonucunda INHBB geni İtron b3lgesine denk gelen SNP1 kodlanmayan gen b3lgesine rastladığından protein sentezine herhangi bir etkisi bulunmamaktadır. INHBB geni Ekzon-2 b3lgesinde bulunan SNP2'nin herhangi bir aminoasit değişimine sebep olmadığı tespit edilmiştir. Yine INHBB geni Ekzon-2 b3lgesine denk gelen SNP3'ün ise Glutamat'tan (Glu: E) Alanin'e (Ala: A) aminoasit değişimi oluşturmuştur. FSHB geni İtron b3lgesine denk gelen SNP4'ün ise protein sentezine herhangi bir etkisi bulunmamaktadır.

Zhang ve arkadaşlarının (2011) keşiler üzerinde yaptığı bir çalışmada FSHB Ekzon-3 b3lgesinde Glutamin'den (Gln) Arjinin'e (Arg) bir değişim saptanmıştır. Üzerinde çalıştıkları d3rt keçi ırkında AA, AB, BB olarak isimlendirdikleri üç genotipe rastlamışlardır ve bu polimorfizmin yavru verimi üzerinde 3nemli bir etkisi olduğunu bildirmişlerdir. Ancak yaptığımız bu çalışmada aynı n3kleotit pozisyonunda herhangi bir polimorfizm tespit edilememiştir.

#### 4.3. Haplotip Değerlendirmesi

DnaSP (Librado ve Rozas, 2009) ve Network analizi (Bandelt ve ark., 1999) sonucunda INHBB b3lgesi için d3rt farklı haplotip tespit edilmiştir. Bu haplotipler referans dizi (Haplotip1) baz alındığında Haplotip2; g.1186A>G, g.1495C>T, g.2691A>C, Haplotip3; g.2691A>C, Haplotip4; g.1186A>G, g.2691A>C, olarak

belirlenmiştir. Akkaramanların %40'ı Haplotip2 içinde yer alırken %34'ü Haplotip3, %26'sı Haplotip4 içinde yer almıştır., Bafra ırkı için ise %37'si Haplotip3, %63'ü Haplotip4'de yer almıştır. Haplotip4 Bafra ırkında en fazla gözlenen haplotip olmuştur. Haplotip2 ise Akkaraman ırkında en fazla gözlenen haplotip olarak tespit edilirken Bafra ırkında hiç gözlenmemiş olması dikkat çekici bulunmuştur.

DnaSP (Librado ve Rozas, 2009) programı ile analiz edilen FSHB bölgesinde iki farklı haplotip belirlenmiştir. Referans dizi (Haplotip1) baz alındığında Haplotip2: g.2691C>T olarak tespit edilmiştir. Haplotip1 Akkaraman ırkının %66'sında gözlenirken Bafra ırkının tamamında bu haplotip gözlenmiştir. Haplotip2 sadece Akkaraman ırkında gözlenen haplotip olarak belirlenmiştir. Bu durum Bafra'ların bu bölge açısından monomorfik olmasından kaynaklanmıştır. Network analizi (Bandelt ve ark., 1999) üçten az haplotip varlığında değerlendirme yapamadığından FSHB açısından network analizi gerçekleştirilememiştir.

#### **4.4. Uyumsuzluk ve Nötralite Testleri**

INHBB bölgesinin uyumsuzluk analizleri değerlendirildiğinde Populasyon Büyüme Küçülme eğrisinin unimodel olması bu bölge için populasyon büyümesini ifade etmektedir. Populasyon geçmişindeki seleksiyon etkisini test etmek amacıyla uygulanan nötralite testlerine göre Fu'nun F ve D istatistiklerinin negatif değer alması ender gözlenen mutasyon varlığını gösterirken Tajima D değerinin pozitif olması bireyler arasında paylaşılan mutasyonların az sayıda olduğunu ve populasyonda dengeli bir seçilim olduğunu ifade etmektedir. Orta frekansta genetik varyantlarda dengeli seçilim sağlanmışsa, Tajima's D değeri pozitifdir, ancak çiftlik hayvanları gibi insan eliyle seleksiyona tabi tutulan populasyonların nötralite testleri için gerekli olan sabit populasyon büyüklüğü ve

rastgele çiftleşme beklentilerini karşılamadıkları, bu nedenle pozitif Tajima's D değerinin ırkların gerçek dengeli seçiliminden ziyade bu populasyonların demografik geçmişinden dolayı meydana gelmiş olabileceği de düşünülmelidir. Bu sebeptendir ki doğru yorumların yapılabilmesi için populasyonların demografik geçmişlerinin araştırılması ve buna yönelik çalışmaların yapılması yerinde olacaktır. Bununla birlikte elde edilen nötralite test sonuçlarının darboğaz etkisinin ve dengeli seçilim olgularının söz konusu olup olmadığını incelemek için incelenen lokusa yakın olan bağlantılı lokusların ve bölgenin daha ayrıntılı incelemesinin yapılması gerekmektedir.

FSHB bölgesinin uyumsuzluk analizleri değerlendirildiğinde hem Sabit Populasyon eğrisinde hem de Populasyon Büyüme Küçülme eğrisi gözlenen ve beklenen değerlerin uyum gösterdiği belirlenmiş bu yüzden populasyon hakkında sonuca varabilmek için nötralite testleri değerlendirilmiştir. Nötralite test değerleri (Tajima's D, Fu and Li's D ve F) pozitiftir. Tajima D değerinin pozitif olması, bireyler arasında az sayıda varyasyonun olmasından ve bu varyasyonların yüksek frekansta bulunmasından kaynaklanmaktadır. Bu durum, populasyon büyümesinde bir azalma ya da dengeli seleksiyon sonucunda şekillenmiş olabilir. Raggedless istatistik değeri de, populasyon daralmasını doğrular niteliktedir ( $r_g > 0,03$ ).

Ancak hem INHBB hem de FSHB bölgeleri için Tajima's D değeri ile populasyonda şekillenen seleksiyon ve demografik geçmişi birbirinden kesin olarak ayırt etmek mümkün değildir. Bu yüzden daha doğru yorum yapılabilmesi için populasyonların demografik geçmişlerinin araştırılması gerektiği sonucuna varılmıştır. Bununla birlikte incelenen lokusa yakın olan bağlantılı lokusların ve bölgenin daha geniş ayrıntılı incelemesinin yapılması gerekmektedir.

#### 4.5. Temel Bileşenler Analizi (PCA)

İki temel bileşen (PC1, PC2) kullanılarak oluşturulmuş PCA grafiğine göre iki ırkın ilgili gen bölgeleri açısından coğrafik olarak ne kadar birbirinden uzakta yer aldığı kontrol edilmiştir. Buna göre Akkaraman ırkı yaygın dağılım gösterirken Bafra ırkındaki tüm bireylerin dört noktada kümelendiği gözlenmiştir. Bu kümelenmenin sadece bir temel bileşenin Bafra ırkında varyasyon göstermesinden diğer bileşenin varyasyon göstermemesinden kaynaklandığı kanaatine varılmıştır. Ayrıca Akkaraman ırkının, Bafra ırkının bulunduğu bölgeye yakın yerlerde de yer alması ilgili SNP'ler açısından ırkların birbirinden uzakta yer almadığı sonucunu doğurmuştur.

#### 4.6. Varyans Analizi ve Lojistik Regresyon

İrklar arasında yapılan değerlendirmede çalışmada tespit edilen varyasyonlara göre sadece Bafra ırkına özgü herhangi bir SNP, SNP kombinasyonu ya da haplotipe rastlanmamıştır. Bu yüzden Bafra ırkının özelliği olan yüksek yavru verimi ile herhangi bir SNP arasında ilişki kurulamamıştır.

İrk içinde değerlendirme yoluna gidilmiş ve gözlenen varyasyonların ırk içinde yavru verimi üzerinde nasıl bir etkiye sebep olduğu varyans analizi ile araştırılmıştır. Gruplar varyasyon gösteren üç adet SNP (SNP1, SNP2 ve SNP4) baz alınarak oluşturulmuştur. SNP3 varyasyon göstermediğinden gruplara dahil edilmemiştir. Buna göre Bafra ırkında SNP1 varyasyon gösteren tek SNP olduğundan Bafra sadece Grup1'e dahil olmuş, diğer gruplar içinde değerlendirilmesi yapılamamıştır. Yavru verimlerinin aritmetik ortalamaları, standart hata, standart sapma, medyan ve değişim aralığı hesaplanarak varyans

analizi ile tüm grupların ayrı ayrı ilişkilendirilmesi yapılmıştır. Ayrıca oluşturulan bu gruplara Lojistik Regresyon analizi uygulanmış ve bu yöntem ile belirlenen bir referans kombinasyona göre diğer kombinasyonların yavru verimi açısından karşılaştırması yapılmıştır.

İki ırkta da gözlenen SNP1'in varyasyonlarına göre oluşturulan Grup1'e dahil olan bireyler parametrik varyans analizi yöntemi olan One-way ANOVA testine tabi tutulmuştur. Buna göre hem Akkaraman, hem de Bafra ırkı için Grup1'in yavru verimi ile ilişkisi istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ( $p>0.05$ ). Lojistik Regresyon analizinde hem Akkaramanlar hem de Bafralar için GA genotipi referans olarak alınmış ve bu referansa göre diğer genotiplerle arasında fark bulursa dahi bu fark istatistiki olarak önem arz etmemiştir ( $p>0.05$ ).

Akkaraman ırkında gözlenen SNP2 varyasyonlarına göre oluşturulan Grup2'nin yavru verimiyle ilişkisini analiz etmek için One-way ANOVA analizi uygulanmış ve elde edilen sonuca göre Grup2'nin yavru verimi ile ilişkisi istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ( $p>0.05$ ). Lojistik regresyon analizinde ise CT genotipi referans olarak alınmış ve diğer genotiplerin bu referansa göre farkı olsa da istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ( $p>0.05$ ).

SNP4 varyasyonlarına göre oluşturulan ve sadece Akkaraman ırkında gözlenen Grup 3 için varyans analizi, birey sayısı üçten az alt gruplar olduğu için non-parametrik yöntem olan Kruskal Wallis ile yapılmıştır. Grup3'ün yavru verimi ile ilişkisi istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ( $p>0.05$ ). Lojistik Regresyon analizinde ise CT genotipi referans olarak alınmış ve diğer genotiplerin bu referansa göre farkı istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ( $p>0.05$ ).

SNP'lerin beraber bulunma durumuna göre ikili kombinasyonları oluşturulmuştur. Oluşturulan tüm ikili kombinasyonlar sadece Akkaraman ırkında çeşitlilik göstermiş olduğundan Bafra ırkı ikili kombinasyonlar açısından analiz edilememiştir. Grup4 olarak isimlendirilen grup SNP1 ve SNP2'nin beraber bulunma durumuna göre oluşturulmuş ve SNP4 dışlanmıştır. Non parametrik Kruskal Wallis ile yapılan varyans analiz sonucu ve Grup4'ün yavru verimi ile ilişkisi istatistiki açıdan önemsiz bulunmuştur ( $p>0,05$ ). SNP1 in dışlandığı, SNP2 ve SNP4'ün beraber bulunma durumu Grup5 olarak isimlendirilmiştir ve bu grubun varyans analizi non-parametrik olarak Kruskal Wallis aracılığı ile yapılmıştır. Grup5'in yavru verimi ile ilişkisi istatistiki açıdan önemsiz bulunmuştur ( $p>0,05$ ). İkili kombinasyonların sonucusu olan Grup6, SNP1 ve SNP4'ün bir arada bulunma ihtimali göz önüne alınarak ve SNP2 dışlanarak oluşturulmuştur. Kruskal Wallis aracılığı ile yapılan nonparametrik varyans analizi sonucunda Grup6'nın yavru verimi ile ilişkisi istatistiki açıdan önemsiz bulunmuştur ( $p>0,05$ ). Lojistik Regresyon analizinde ise Grup4 için GA/CT, Grup5 için CC/TT, Grup6 için GA/TC referans olarak belirlenmiş ve diğer kombinasyonlar bu referanslara göre karşılaştırıldığında yavru verimi ile kombinasyonlar arasında tespit edilen fark istatistiki açıdan önem arz etmemiştir ( $p>0,05$ ).

Son olarak, varyasyon gösteren üç SNP'nin de beraber bulunma durumları incelenmiştir. Yine sadece Akkaraman ırkında gözlenen bu üçlü SNP kombinasyonu Grup7 olarak isimlendirilmiştir. Nonparametrik Kruskal Wallis varyans analizine tabi tutulan bu grubun analiz sonucunda Grup7'nin yavru verimi ile ilişkisi, istatistiki açıdan önemsiz bulunmuştur ( $p>0,05$ ). Lojistik Regresyon analizi ile GA/CT/CC kombinasyonu referans olarak alınmış ve bu referans ile diğer kombinasyonlar arasında fark bulunsa bile istatistiki açıdan önemsiz bulunmuştur ( $p>0,05$ ).

## 5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Tüm dünyada döl verimini etkileyen genler yıllardır araştırmacıların dikkatini çekmektedir. Ancak döl verim özelliklerinin kantitatif nitelikte olması, majör olarak nitelendirilebilecek bir genin ortaya konmasını zorlaştırmaktadır. Yavru verimi yüksek bazı koyun ırklarında tespit edilen majör genlerin, yavru verimi yüksek başka koyun ırklarında gözlenmemesi bu genlerin sadece ırk düzeyinde etkili olduğunu göstermektedir. Bu genlerden Fec B allelinin varlığı yavru verimi yüksek Sakız koyunlarında araştırılmış ancak rastanmamıştır (Polat, 2006). Majör genlerden başka, aday gen olarak nitelendirilen ve yavru verimi ile ilişkisi, yapılacak çalışmalar ile desteklenmeyi bekleyen genler bulunmaktadır. Yapılan bu araştırma ile aday gen olarak bildirilen INHBB geninin Ekzon-2 bölgesi ve FSHB geninin Ekzon-3 bölgesindeki polimorfizmler incelenmiş ve bunların yavru verimi ile ilişkisi ortaya konmaya çalışılmıştır.

Irklar arası değerlendirme söz konusu olduğunda ve yavru verimi düşük Akkaramanlar kontrol grubu olarak alındığında, INHBB geni Ekzon-2 bölgesinde ve FSHB geni Ekzon-3 bölgesinde sadece Bafra ırkına özgü herhangi bir polimorfizme rastlanmamıştır. Dolayısıyla Bafra ırkında bir ırk özelliği olan yüksek yavru verimi, incelenen gen bölgelerindeki hiçbir polimorfizmle ilişkilendirilememiştir. Bu sebeple Bafra ırkında yavru verimi ile ilişkili ırka özgü gen bölgeleri üzerine yapılacak çalışmaların diğer aday bölgeler ve olası varyasyonlar üzerinde kaydırılması kanaatine varılmıştır.

Irk içinde gözlenen bireysel yavru verim farkları ile tespit edilen polimorfizmler arasında herhangi bir ilişkinin olup olmadığının araştırılması ise varyans analizi

ve lojistik regresyon analizi ile gerçekleştirilmiştir. Varyans analizinde yavru verimlerinin aritmetik ortalaması ile ilişkilendirme yapılmış, lojistik regresyon analizinde ise Bafralar tek doğum yapanlar, ikiz doğum yapanlar ve ikiden fazla çoklu doğum yapanlar olarak ve Akkaramanlar ise tek doğum yapanlar ve ikiz doğum yapanlar olarak kendi içinde değerlendirilmiştir. Her iki analizde de söz konusu SNP'lerin ırk içinde gözlenen yüksek yavru verimi ile ilişkisinin açıklanabilmesi için ise daha büyük populasyonlarda çalışılması gerektiği kanaatine varılmıştır.

INHBB geni için tespit edilen haplotip gruplardan Haplotip 2'nin yalnızca Akkaraman ırkında gözlenmiş olması bu haplotipin ırka özgü olabileceğini düşündürmüştü ve takip edilmeye değer bulunmuştur.

SNP1'in her iki ırkta da yaygın polimorfizm göstermesinin diğer ilişkilendirme çalışmalarında dikkate alınabilecek bir SNP olabileceği kanaatine varılmıştır. SNP2 ve SNP4'ün Akkaraman ırkı içinde yaygın polimorfizm gösterdiği bu yüzden Akkaraman ırkı içinde yapılacak ilişkilendirme çalışmalarında dikkate alınabilecek bir SNP olduğu kanaatine varılmıştır.

## ÖZET

### **Bazı yerli koyun ırklarında INHBB geni ekzon-2 bölgesinin ve FSHB geni ekzon-3 bölgesinin yavru verimine etkisi.**

Bu çalışma, Türkiye yerli koyun ırklarından Akkaraman ve Bafra ırklarında INHBB geni Ekzon-2 ve FSHB geni Ekzon-3 bölgelerinin polimorfizmlerinin incelenmesi ve bunların yavru verimi ile ilişkisinin araştırılması amacıyla yapılmıştır. Bu amaçla 50 baş Akkaraman ve 50 baş Bafra koyunundan kan alınmış ve bu kanlardan fenol:kloroform yöntemi aracılığı ile DNA ekstraksiyonu yapılmıştır. Her iki gen bölgesine PZR aşamasının ardından dizi analizi uygulanmış ve saptanan polimorfizmler bazı biyoinformatik analizlere tabi tutulmuştur. Buna göre INHBB geni Ekzon-2 bölgesi için dört farklı haplotip belirlenmiş, bunlardan Haplotip 2 sadece Akkaraman ırkında gözlenmiştir. FSHB geni Ekzon-3 bölgesi için iki haplotip belirlenmiş ve bunlardan Haplotip 2 sadece Akkaraman ırkında gözlenmiştir. Irklar arası değerlendirmede Bafra ırkına özgü herhangi bir haplotip ya da SNP tespit edilememiştir.

INHBB Ekzon-2 bölgesi içinde tespit edilen ve referans dizinin 1611. pozisyonunda rastlanan SNP3 (g.1611A>C) Glutamat'tan (Glu:E) Alanin'e (Ala:A) aminoasit değişimi yaratmıştır.

Irk içi değerlendirmede tüm SNP'ler varyasyon ve lojistik regresyon analizine tabi tutulmuş buna göre bireylerin taşıdıkları SNP ya da SNP kombinasyonlarının yavru verimi ile arasındaki ilişkileri istatistiki olarak önemsiz bulunmuştur.

**Anahtar Sözcükler:** Akkaraman, Bafra, FSHB, gen, INHBB, koyun, yavru verimi

## SUMMARY

### **The effects of exon-2 region of INHBB gene and exon-3 region of FSHB gene on litter size in some local sheep breeds**

The objectives of this study were to determine the polymorphisms in Exon-2 of INHBB gene and Exon-3 of FSHB gene and to determine the relationship among these polymorphisms and litter size in Bafra and Akkaraman which are native sheep breeds in Turkey. For this aim 50 Bafra and 50 Akkaraman ewes were used to take blood samples and DNA extracted with phenol: chloroform process from the blood samples. After PCR process, DNA sequencing was applied to these two gene regions and some bioinformatics analysis were applied the polymorphisms determined by sequencing. After analyses, four haplotype were determined for Exon-2 of INHBB and Haplotype 2 was observed only in Akkaraman sheep breed. Two haplotypes were determined for Exon-3 of FSHB and Haplotype 2 was only in Akkaraman sheep breed. When breeds evaluated together Bafra sheep had no haplotype and SNP which were not shared with Akkaraman sheep.

SNP3 which has determined in Exon-2 region of INHBB gene is at 1611. position in reference gene and makes an aminoacid difference from Glutamate (E) to Alanin (A).

In each breed, all SNPs were evaluated with Variation and Logistic Regression Analysis. In conclusion, the effects of SNP or SNP combinations on litter size of ewes were not statistically significant, so there was no relationship among genes investigated and litter size.

**Keywords:** Akkaraman, Bafra, FSHB, gene, INHBB, litter size, sheep

## KAYNAKLAR

- AKÇAPINAR, H. (2000). *Koyun Yetiştiriciliği*, Yenilenmiş 2. Baskı. İsmat Matbaacılık, Ankara.
- AKÇAPINAR, H., ÜNAL, N., ATASOY, F. (2005) The Effects of Early Age Mating on Some Production Traits of Bafra (Chios X Karayaka B1) Sheep. *Turk J Vet Anim Sci* 29 531-536
- ALPAR, R. (2014). *Uygulamalı İstatistik ve Geçerlilik Güvenilirlik*, 3. Baskı, Detay yayıncılık, Ankara.
- ANONİM, 1. (2015). Akkaraman koyunu. Erişim: <http://www.ziraatfakultesi.net/akkaraman-koyun-irki.htm> . Erişim tarihi:16.02.2015
- ANONİM, 2. (2014). Bafra koyunu. Erişim: <http://www.panfi.com/galeri/2345/bafra-koyunu.html> , Erişim tarihi: 16.02.2015
- ANONİM, 3. (2014). Folikül aktivasyonu. Erişim: <http://www.endotext.org/chapter/page/20/> Erişim tarihi: 18.02.2015
- ANONİM, 4. (2014). Booroola koyunu. Erişim: <http://www.sheep101.info/breedsB.html> Erişim tarihi: 18.07.2012
- ANONİM, 5. (2014). İnhibin/Aktivin yapısı. Erişim: [http://en.wikipedia.org/wiki/Activin\\_and\\_Inhibin#mediaviewer/File:Activin\\_Inhibin.png](http://en.wikipedia.org/wiki/Activin_and_Inhibin#mediaviewer/File:Activin_Inhibin.png), Erişim tarihi: 11.11.2014
- ANONİM, 6 (2015). Erişim: [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp\\_ref.cgi?chooseRs=all&locusId=101119286&mrna=XM\\_004023190.1&ctg=NW\\_004080165.1&prot=XP\\_004023239.1&orient=forward&refresh=refresh](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?chooseRs=all&locusId=101119286&mrna=XM_004023190.1&ctg=NW_004080165.1&prot=XP_004023239.1&orient=forward&refresh=refresh) Erişim tarihi: 15.01.2015
- ANONİM, 6. (2014). Maxam-Gilbert Sekans prensibi. Erişim: [http://en.wikipedia.org/wiki/Maxam%E2%80%93Gilbert\\_sequencing#mediaviewer/File:Maxam-Gilbert\\_sequencing\\_en.svg](http://en.wikipedia.org/wiki/Maxam%E2%80%93Gilbert_sequencing#mediaviewer/File:Maxam-Gilbert_sequencing_en.svg) . Erişim tarihi:11.11.2014
- ANONİM, 7. (2014). Sanger Sekans prensibi. Erişim: <http://www.cryst.bbk.ac.uk/pps97/assignments/projects/borek/Domina/page8.html>, Erişim tarihi: 11.11.2014
- ANONİM, 8. (2008). TÜRKHAYGEN-I Populasyon Genomiği-II Çalışmayı Erişim:[http://www.turkhaygen.gov.tr/doc/Populasyon\\_Genomigi\\_Calistayi\\_II.pdf](http://www.turkhaygen.gov.tr/doc/Populasyon_Genomigi_Calistayi_II.pdf) Erişim tarihi:15.08.2014
- ATAMAN, M.B., AKÖZ, M., FINDIK, M., SABAN, E. (2009). Geçiş Dönemi Başındaki Akkaraman Melezi Koyunlarda Farklı Dozda Flourogestene Acetate, Norgestomet ve PGF<sub>2</sub>α İle Senkronize Östrüslerin Uyarılması. *Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg.* 15 (5): 801-805
- ATASOY, F., ÜNAL, N., AKÇAPINAR, H., MUNDAN, D. (2003). Karayaka ve Bafra (Sakız x Karayaka G1) Koyunlarında Bazı Verim Özellikleri. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.* 27 259-264
- BELKHİR K, BORSA P, CHIKHI L, RAUFASTE N, BONHOMME F (2001) genetix 4. 02, logiciel sous Windows TM pour la g.n.tique des populations . Laboratoire G.nome, Populations, Interactions:CNRS UMR 5000, Universit. de Montpellier II, Montpellier,France.
- BEYHAN, Y.E. (2011). Samsun Yöresi Mandalarda Kistik Ekinokozisin Yaygınlığı, Suşların PZR ve DNA Dizi Analizi İle Tesbiti. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Parazitoloji (Veteriner) Anabilim Dalı Doktora Tezi.
- BİRCAN, H. (2004). Lojistik Regresyon Analizi:Tıp Verileri Üzerine Bir Uygulama. *Kocaeli Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü Dergisi*, 2 : 185-208
- BODENSTEINER, K.J., CLAY, C.M., MOELLER, C.L., SAWYER, H.R. (1999). Molecular cloning of the ovine growth/differentiation factor-9 gene and expression of growth/differentiation factor-9 in ovine and bovine ovaries. *Biol Reprod.* 60:381–386.
- BODIN, L., PASQUALE, E. D., FABRE, S., BONToux, M., MONGET, P., PERSANI, L., MULSANT, P. (2007). A novel mutation in the bone morphogenetic protein 15 gene

- causing defective protein secretion is associated with both increased ovulation rate and sterility in Lacaune sheep. *Endocrinology* 148 (1): 393-400.
- BOSE, S., DUTTAGUPTA, R., MAITRA, D.N. (1999). Phenotypic characteristics and management practices of Bengal sheep. *Indian Journal Animal Production Management* 15(1), 18–22.
- BRAWTAL, R., MCNATTY, K.P., SMITH, P., HEATH, D.A., HUDSON, N.L., PHILLIPS, D.J., MCLEOD B.J., DAVIS G.H. (1993). Ovaries of ewes homozygous for the X-linked Inverdale gene [Fecx(1)] are devoid of secondary and tertiary follicles but contain many abnormal structures. *Biol Reprod.* 49:895–907
- BUCCIONE, R., SCHROEDER, A.C., EPPIG, J.J. (1990). Interactions between somatic cells and germ cells throughout mammalian oogenesis. *Biology of Reproduction.* 43 543–547
- CAHILL, L.P., MAULEON, P. (1981). A study of the population of primordial and small follicles in the sheep *Journal of Reproduction and Fertility.* 61 201-206
- CAMPBELL, B. K., SCARAMUZZI, R. J., WEBB, R. (1995). Control of antral follicle development and selection in sheep and cattle. *Journal of Reproduction and Fertility Supplement* 49, 335-350
- CHADA, M., PRUSA, R., BRONSKY, J., PECHOVA, M., KOTASKA, K., LISA, L. (2003). Inhibin B, Follicle Stimulating Hormone, Luteinizing Hormone, and Estradiol and Their Relationship to the Regulation of Follicle Development in Girls during Childhood and Puberty. *Physiological Research.* 52: 341-346.
- Chang, C.C., Chow, C.C., Tellier, L.C.A.M., Vattikuti, S., Purcell, S.M., Lee, J.J., (2014). Second-generation PLINK: rising to the challenge of larger and richer datasets. *Cornel University Library.* arXiv:1410.4803
- CHAPMAN, S.C., KENNY, H.A., WOODRUFF, T.K (2004). Activin, inhibin, and Folistatin in Ovarian Physiology. *The Ovary.* Edited by Leung P.C.K., Adashi E.Y., Chapter:16, Pp:275-278.
- CHEN, L., RUSSELL, P.T., LARSEN, W.J. (1993). Functional significance of cumulus expansion in the mouse: roles for the preovulatory synthesis of hyaluronic acid within the cumulus mass. *Molecular Reproduction and Development.* 34 87–93
- CHEN, L., ZHANG, H., POWERS, R.W., RUSSEL, P.T., LARSEN, W.J. (1996) Covalent linkage between proteins of the inter- $\alpha$  inhibitor family and hyaluronic acid is mediated by a factor produced by granulosa cell *Journal of Biological Chemistry.* 271 19 409–19 414
- CHEN, K.F., HUANG, L.S., LI, N., ZHANG, Q., ZHANG, J.S., SUN, S.Q., LUO, M., WU, C.X. (2000). The effect of genotypes of FSHB and ESR on trait of litter size in pig. *Chin. Sci. Bull.* 45, 1963–1966.
- CHEN, D., ZHAOB, M., MUNDY, G.R. (2004). *Bone Morphogenetic Proteins. Growth Factors.* ISSN 0897-7194 print / ISSN 1029-2292 online. Taylor & Francis
- CORTVRINDT, R., SMITZ, J., VAN STEIRTEGHEM, A.C. (1997). Assessment of the need for follicle stimulating hormone in early preantral mouse follicle culture in vitro. *Hum. Reprod.* 12, 759–768.
- CRAIG, J., ORISAKA, M., WANG, H., ORISAKA, S., THOMPSON, W., ZHU, C., KOTSUJI, F., TSANG, B.K. (2007). Gonadotropin and intra-ovarian signals regulating follicle development and atresia: the delicate balance between life and death. *Frontiers in Bioscience.* 12, 3628-3639
- ÇINAR KUL, B. (2010). Türkiye Yerli Keçi Irklarının Mitokondrial DNA Çeşitliliği ve Filocoğrafyası. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Veteriner Fakültesi Genetik Anabilim Dalı. Doktora Tezi
- ÇOKLUK, Ö. (2010). Lojistik Regresyon Analizi: Kavram ve Uygulama Kuram ve Uygulamada Eğitim Bilimleri / *Educational Sciences: Theory & Practice* 10 (3) 1357-1407

- DAVIS, G.H. (2005) Major genes affecting ovulation rate in sheep. *Ag Research*, Invermay Agricultural Centre, Private Bag, Mosgiel, New Zealand. *Genet. Sel. Evol.* 37 (Suppl. 1) S11–S23
- DAVIS, G.H. (2008) The Booroola gene: origin, distribution, use and management of the FecB mutation. Use of the FecB(Booroola) gene in sheep-breeding programs Proceedings of the Helen Newton Turner Memorial International Workshop held in Pune, Maharashtra, India, 10–12 November
- DAVIS, G.H., BRUCE, G.D., DODDS, K.G. (2001). Ovulation rate and litter size of prolific Inverdale (FecXI) and Hanna (FecXH) sheep, *Proc. Assoc. Adv. Anim. Breed. Genet.* 14: 175–178.
- DAVIS, G.H., GALLOWAY S.M., ROSS I.K., GREGAN S.M., WARD J., NIMBKAR B.V., GHALSASI P.M., NIMBKAR C., GRAY G.D., SUBANDRIYO, INOUNU I., TIESNAMURTI B., MARTYNIUK E., EYTHORSODOTTIR E., MULSANT P., LECERF F., HANRAHAN J.P., BRADFORD G.E. AND WILSON, T. (2002). DNA tests in prolific sheep from eight countries provide new evidence on origin of the Booroola (FecB) mutation. *Biology of Reproduction* 66, 1869–1874.
- DAVIS, G.H., DODDS, K.G., BRUCE, G.D. (1993). Combined Effect Of The Inverdale And Booroola Prolificacy Genes On Ovulation Rate In Sheep *Proc. Assoc. Advmt. Anim. Breed. Genet.* Vol13.
- DEAN, J. (2002) Oocyte-specific genes regulate follicle formation, fertility and early mouse development. *J Reprod Immunol* 53,171–180.
- DEMİRAL, K. (2011). Akkaramanırkı Koyunlarda Flushing Uygulamasının Dölverimi Özelliklerine Etkisi Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Zootekni Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi.
- DONG, J., ALBERTINI, D.F., NISHIMORI, K., KUMAR, T.R., LU N., MATZUK M.M. (1996) Growth differentiation factor-9 is required during early ovarian folliculogenesis. *Nature.* 383:531–535.
- DUBE, J.L., WANG, P., ELVIN, J., LYONS, K.M., CELESTE, A.J., MATZUK, M.M. (1998) The bone morphogenetic protein 15 gene is X-linked and expressed in oocytes. *Mol Endocrinol* 12,1809–1817.
- EPPIG, J.J. (1979) FSH stimulates hyaluronic acid synthesis by oocyte–cumulus cell complexes from mouse preovulatory follicles *Nature* 281 483–484
- EPPIG, J.J. (2001). Oocyte control of ovarian follicular development and function in mammals *Reproduction* 122, 829–838
- ERGİN, D.Y., (1995). 1. Ölçeklerde geçerlik ve güvenilirlik. M.Ü.Atatürk Eğitim Fakültesi Eğitim Bilimleri Dergisi Yıl: 1995, Sayı : 7 Sayfa 125-148
- ERTUĞRUL, M., DELLAL, G., SOYSAL, İ., ELMACI, C., AKIN, O., ARAT, S., BARITÇI, İ., PEHLIVAN, E., YILMAZ, O. (2009). Türkiye Yerli Koyun Irklarının Korunması. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi.* Cilt 23, Sayı 2 (97-119)
- EVANS, L.W., GROOME, N.P. (2001). Development of immunoassays for inhibin, activin and follistatin. Inhibin, activin and follistatin in human reproductive physiology. Editors: Shanthi Muttukrishna and William Ledger, London, page: 11-12
- FABRE, S., PIERRE, A., MULSANT, P., BODIN, L., DI PASQUALE, E., PERSANI, L., MONGET, P., MONNIAUX, D. (2006). Regulation of ovulation rate in mammals: contribution of sheep genetic models. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 4: 20.
- FAN, Q.R., HENDRICKSON, W.A. (2005). Structure of human follicle-stimulating hormone in complex with its receptor. *Nature* 433, 269–277.
- FEARY, E.S., JUENGEL, J.L., SMITH, P., FRENCH, M.C., O'CONNELL, A.O., LAWRENCE, S.B., GALLOWAY, S.M., DAVIS, G.H., MCNATTY, K.P. (2007). Patterns of Expression of Messenger RNAs Encoding GDF9, BMP15, TGFBR1, BMPR1B, and BMPR2 During Follicular Development and Characterization of Ovarian Follicular Populations in Ewes Carrying the Woodlands FecX<sup>W</sup> Mutation. *Biology of Reproduction* vol. 77 no. 6 990-998

- FORTUNE, J.E., EPPIG J.J. (1979). Effects of gonadotropins on steroid secretion by infantile and juvenile mouse ovaries in vitro. *Endocrinology* 105 760–768
- FOSTER, D. L., JACKSON, L.M., (2006). *Puberty in the Sheep*. Knobil and Neill's Physiology of reproduction. 2.cilt chapter 39,.Third edition. Edited by Elsevier 2006
- FOX, K.M., DIAS, J.A., VAN ROEY, P. (2001). Three- dimensional structure of human follicle-stimulating hormone. *Molecular Endocrinology* 15, 378–389.
- GALLOWAY, S.M., MCNATTY, K.P., CAMBRIDGE, L.M., LAITINEN, M.P.E., JUENGEL, J.L., JOKIRANTA, T.S., MCLAREN, R.J., LUIRO, K., DODDS, K.G., MONTGOMERY, G.W., BEATTIE, A.E., DAVIS, G.H., RITVOS, O. 2000. Mutations in an oocyte-derived growth factor gene (BMP15) cause increased ovulation rate and infertility in a dosage-sensitive manner. *Nat. Genet.* 25: 279–283.
- GAMGAM, H., ALTUNKAYNAK, B., (2008) Parametrik Olmayan Yöntemler SPSS Uygulamalı, Özbaran Ofset Matbaacılık, 496s. Ankara.
- GRIGOROVA, M., RULL, K., LAAN, M. (2007). Haplotype Structure of FSHB, the Beta-Subunit Gene for Fertility-Associated Follicle-Stimulating Hormone:Possible Influence of Balancing Selection. *Annals of Human Genetics* 71(Pt 1):18-28.
- GORLOV, I.P., GORLOVA, O.Y., SUNYAEV, S.R., SPITZ, M.R., AMOS, C.I. (2008). Shifting Paradigm of Association Studies: Value of Rare Single-Nucleotide Polymorphisms. *The American Journal of Human Genetics.* 82, 100–112.
- GÜRCAN, S., (2014). Varyans Analizi. erişim: 80.251.40.59/veterinary.ankara.edu.tr/sgurcan/varyansanalizi.doc. erişim tarihi: 28.02.2014
- HALL, J.E. (2012). The Female Reproductive System, Infertility, and Contraception. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. Chapter 347, 18. edition.
- HALL, T.A., (1999). BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucl. Acids. Symp. Ser.* 41:95-98
- HANDEL, M.A., EPPIG J.J. (1997). Sexual dimorphism in the regulation of mammalian meiosis. In *Current Topics in Developmental Biology: Meiosis and Gametogenesis* pp 333–358 Ed. MA Handel. Academic Press, Orlando
- HANRAHAN, J.P., GREGAN, S.M., MULSANT, P., MULLEN, M., DAVIS, G.H., POWELL, R., GALLOWAY, S.M. (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
- HIRSHFIELD, A.N. (1991). Development of follicles in the mammalian ovary. *International Reviews of Cytology* 124 43–101.
- HOROZ, H., KAŞIKÇI, G., AK, K., ALKAN, S., SÖNMEZ, C. (2003). Controlling the breeding season using melatonin and progesterone in Kıvrıkcık ewes. *Turk J Vet Anim Sci*, 27 301-305
- HOY, M.A. (1994). DNA sequencing and genome analysis. *Insect molecular genetics*. Chapter:8 Pp:195-196. Academic press.
- IHAKA, R., GENTLEMAN, R., (1996). R: A Language for Data Analysis and Graphics. *Journal of Computational and Graphical Statistics* Volume 5, Issue 3
- IŞIK, S. (2010). Bafra Koyununun (Sakız × Karayaka G1) Kazım Karabekir Tarım İşletmesi Şartlarında Döl Verimi, Yaşama Gücü ve Büyüme Özellikleri. Kafkas Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Zootekni Anabilim Dalı Doktora Tezi.
- JESSE, G.A. (2008). Activin induction of the ovine follicle-stimulating hormone beta-subunit is mediated by Smad4 and a forkhead box transcription factor. North Carolina State University, ProQuest, UMI Dissertations Publishing, 2008. 3345378.
- JUENGEL, J.L., QUIRKE, L.D., TISDALL, D.J., SMITH, P., HUDSON, D.L., MCNATTY, K.P. (2000). Gene Expression in Abnormal Ovarian Structures of Ewes Homozygous for the Inverdale Prolificacy Gene1 *BIOLOGY OF REPRODUCTION* 62, 1467–1478
- JIA, J., SHAFIEE-KERMANI, F, MILLER, W.L. (2013). Gonadotrope-Specific Expression and Regulation of Ovine Follicle Stimulating Hormone Beta: Transgenic and Adenoviral

- Approaches Using Primary Murine Gonadotropes. PLOS ONE. www.plosone.org. Volume 8, Issue 7, e66852.
- JONMUNDSSON, J.V., ADALSTEINSSON, S. (1985). Single Genes for Fecundity in Icelandic Sheep, in: Land R.B., Robinson D.W. (Eds.), Genetics of Reproduction in Sheep, Butterworths, London, UK, 1985, pp. 159–168.
- JUENGEL, J.L., HUDSON, N.L., HEATH, D.A., SMITH, P., READER, K.L., LAWRENCE, S.B., O'CONNELL, A.R., LAITINEN, M.P., CRANFIELD, M., GROOME, N.P., RITVOS, O., MCNATTY, K.P. (2002). Growth differentiation factor 9 and bone morphogenetic protein 15 are essential for ovarian follicular development in sheep. *Biol. Reprod.* 67: 1777-1789.
- KACZOR, U., KLEWIEC, J., MARTYNIUK, E., MURAWSKI, M., RYCHLIK, T., WIERZCHOS, E., Analysis of relationship between blood protein polymorphism and hypothetical genotype in Olkuska fecundity gene carriers, *Proc. Europe. Assoc. Anim. Prod.* 49 (1998) paper SA1.7: p. 209.
- KARISYAN, MM, HAFEZEYAN, H, SAYAHZADEH, H., JAMSHIDI, R., ASGHARI, S.R., IRAJEYAN, G.H., BUESAGH, H. (2009). Genetic Polymorfism FecB and BMP15 genes and its association with litter size in sangsari sheep breed of iran. *Journal of animal and veterinary Advances.vol: 8 No. 5 pp:1025-1031*
- KAYMAKÇI, M., TAŞKIN, T. (2008). Türkiye Koyuncululuğunda Melezleme Çalışmaları. *Hayvansal Üretim* 49(2): 43-Kehler J, Tolkunova E, Koschorz B, Pesce M, Gentile L, Boiani M, Lomeli H, Nagy A, McLaughlin KJ, Scholer HR., 2004 Oct4 is required for primordial germ cell survival. *EMBO Reports* 5 1078–1083.
- KAYMAKÇI, M., ÖZDER, M., KARACA, O., TORUN, O., BAŞ, S., KOŞUM, N. (2009). Türkiye Koyun Islahı Stratejisi. *U. Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi*, Cilt 23, Sayı:2, 67-77
- KLUG, S.W., CUMMINGS, W.R. (2000). *Concept of Genetics*. Prentice Hall. New Jersey. p 745
- KNIGHT, P.G., GLISTER, C. (2006). Focus on TGF- $\beta$  Signalling TGF- $\beta$  superfamily members and ovarian follicle development. *Reproduction* ISSN 1470–1626 (paper) 1741–7899 (online).
- KORKMAZ AĞAOĞLU, Ö. (2010). Türkiye'deki bazı yerli keçi ırklarında mikrosatellit polimorfizminin belirlenmesi. Ankara üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Veteriner Fakültesi Genetik Anabilim Dalı. Doktora Tezi
- LAITINEN, M., VUOJOLAINEN, K., JAATINEN, R., KETOLA, I., AALTONEN, J., LEHTONEN, E., HEIKINHEIMO, M., RITVOS, O., (1998). A novel growth differentiation factor-9 (GDF-9) related factor is co-expressed with GDF-9 in mouse oocytes during folliculogenesis. *Mech Dev*; 78:135–140.
- LIU, J.J., RAN, X.Q., LI, S., FENG, Y.L., WANG, J.F. (2009). Polymorphism in the first intron of follicle stimulating hormone beta gene in three Chinese pig breeds and two European pig breeds. *Anim. Reprod. Sci.* 111, 369–375.
- MALHER, X., LE CHERE A.K. (1998). High prolificacy in Belle-Ile sheep (Brittany, France): major effects of a putative single gene and the Awh colour gene on ovulation rate and litter size, *Reprod. Nut. Dev.* 38 473–484.
- MANN, G.E., CAMPBELL, B.K., MCNEILLY, A.S., BAIRD, D.T. (1991). The role of inhibin and oestradiol in the control of FSH secretion in the sheep. *Journal of Endocrinology* (192)133,381
- MARTIN, P., RAOUL, J., BODIN, L. (2014). Effects of the FecL major gene in the Lacaune meat sheep population. *Genetics Selection Evolution.* 46:48
- MARTYNIUK, E., RADOWSA, M.J. (1991) A single gene for prolificacy in Olkuska sheep, in: Elsen J.M., Bodin L., Thimonier J. (Eds.), *Major Genes for Reproduction in Sheep*, Inra, Paris, France, 1991, pp. 85–92.
- MASON, I.L. (1980a). Hu-yang breed of China. Pp. 90–91 in: 'Prolific tropical sheep', ed. by I.L. Mason. *FAO Animal Production and Health Paper 17*. FAO: Rome.
- MASON, I.L. (1980b). Prolific sheep in Java. Pp. 65–76 in 'Prolific tropical sheep', ed. by I.L. Mason. *FAO Animal Production and Health Paper 17*. FAO: Rome.

- MAXAM, A.M., GILBERT, W. (1977). A new method for sequencing DNA (DNA chemistry/dimethyl sulfate cleavage/hydrazine/piperidine). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* Vol. 74, No. 2, pp. 560-564
- MCCLEARN, G.E., VOGLER, G.P. (2001). *The genetics of behavioral aging*. In J. E. Birren & K. W. Schaie (Eds.), and book of the psychology of aging (5th ed.) (pp.109–131). San Diego, CA: Academic Press
- MCGRATH, S.A., ESQUELA, A.F., LEE, S.J. (1995). Oocyte-specific expression of growth differentiation factor-9. *Mol Endocrinol*; 9:131–136.
- MCGEE, E.A., HSUEH, A.J. (2000) Initial and cyclic recruitment of ovarian follicles. *Endocr Rev.* Apr;21(2):200-14.
- MCNATTY, K.P., GALLOWAY, S.M., WILSON, T., SMITH, P., HUDSON, N.L., O'CONNELL, A., BIBBY, A.H., HEATH, D.A., DAVÍS, G.H., HANRAHAN, J.P., JUENGEL, J.L. (2005). Physiological effects of major genes affecting ovulation rate in sheep. *Genet. Sel. Evol.* 37(Suppl 1): 25-38.
- MIKESELL, R., BAKER, M., (2011). *Animal science biology & technology*. third edition. Delmar, Cengage Learning, USA say:80-81
- MILLER, W.L., SHAFIEE-KERMANI, F., STRAHL, B.D., HUANG, H.J. (2002). The nature of FSH induction by GnRH. *Trends in Endocrinology & Metabolism*. Vol.13 No.6
- MOLYNEAUX, K., WYLIE, C. (2004). Primordial germ cell migration. *International Journal of Developmental Biology* 48 537–544
- MCLAUGHLIN, E.A., MCIVER, S.C., (2009). Awakening the oocyte: controlling primordial follicle development. *Society for Reproduction and Fertility* ISSN 1470–1626
- MCNATTY, K.P., GALLOWAY, S.M., WILSON, T., SMITH, P., HUDSON, N.L., O'CONNELL, A., BIBBY, A.H., HEATH, D.A., DAVÍS, G.H., HANRAHAN, J.P., JUENGEL, J.L. (2005). Physiological effects of major genes affecting ovulation rate in sheep. *Genet. Sel. Evol.* 37(Suppl 1): 25-38.
- MCVEAN, G., AWADALLA, P., FEARNHEAD, P. (2002). A coalescent-based method for detecting and estimating recombination rates from gene sequences. *Genetics* in press.
- NILSSON, E.E., SKINNER, M.K. (2002) Growth and differentiation factor-9 stimulates progression of early primary but not primordial rat ovarian follicle development. *Biol Reprod* 67,1018–1024.
- NILSSON, E.E., SKINNER, M.K. (2003) Bone morphogenetic protein-4 acts as an ovarian follicle survival factor and promotes primordial follicle development. *Biol Reprod*, 69,1265–1272.
- OLIVE, D.M., BEAN, P. (1999). Principles and applications of methods for DNA-based typing of microbial organisms. *J Clin Microbiol.* 1999;37(6):1661-1669.
- ÖZKAN, E. (2005). Türkiye'de Yetiştirilen Yerli ve Kültür Sığır Irklarının Genetik Yapılarının Mikrosatelitler İle İncelenmesi. Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tekirdağ Ziraat Fakültesi Zootekni Ana Bilim Dalı. Doktora Tezi
- ÖZMEN, Ö. (2010). Sakız, Akkaraman ve İvesi İrki Koyunlarda Prolaktin Reseptör (*PRLR*) Geni Polimorfizmi. Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Veteriner Fakültesi Zootekni Anabilim Dalı. Doktora Tezi.
- PARROTT, J.A., SKINNER, M.K., (1998). Thecal cell–granulosa cell interactions involve a positive feedback loop among keratinocyte growth factor, hepatocyte growth factor, and Kit ligand during ovarian follicular development. *Endocrinology* 139,2240–2245.
- PASQUALE, E.D., BRIVANLOU, A.H. (2009). Bone Morphogenetic Protein 15 (BMP15) Acts as a BMP and Wnt Inhibitor during early Embryogenesis. *J Biol Chem.* 284(38): 26127-26136.
- PINCUS, G., ENZMANN, E.V. (1935). The comparative behavior of mammalian eggs in vivo and in vitro. The activation of ovarian eggs. *Journal list j exp med* V.62(5)
- PLANT, T.M., MARSHALL, G.R. (2001). The functional significance of FSH in spermatogenesis and the control of its secretion in male primates. *Endocrine Reviews* 22, 764–786.

- POLAT, Y.Ö., (2006). Sakız Koyun Irkında BMPR-IB geninde çoklu doğuma neden olabilecek FecB alleli varlığının PCR-RFLP yöntemi ile araştırılması. Uludağ Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Zootekni Anabilim Dalı. Doktora Tezi.
- REYNAUD, K., DRIANCOURT, M.A. (2000) Oocyte attrition. *Molecular and Cellular Endocrinology* 163 101–108.
- RINGNER, M. (2008). What is principal component analysis. *Nature Biotechnology*. Volume:26, Number:3
- SADIGHI, M., BODENSTEINER, K.J., BEATTIE, A.E., GALLOWAY, S.M. (2002). Genetic mapping of ovine growth differentiation factor 9 (GDF9) to sheep chromosome 5. *Anim Genet*. 33:244–245.
- SAMBROOK, J., RUSSEL, D.W. (2001). *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. Cold Spring Harbor Laboratory Press. Volume 2. Chapter 12. Third Ed.,
- SANGER, F., NICKLEN, S., COULSON, A.R. (1977). DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc Natl Acad Sci USA*. 74: 5463 -5467
- SANG-OH, H. (2009). Identification of DNA sequences that are necessary and sufficient for activin induction of ovine follicle stimulating hormone beta-subunit. North Carolina State University, ProQuest, UMI Dissertations Publishing, 2009. 3357713.
- SHIMASAKI, S., MOORE, R.K., ERICKSON, G.F., OTSUKA, F. (2003). The role of bone morphogenetic proteins in ovarian function. *Reproduction*.61(suppl):323–337.
- SLATTER, T., FITCHES, A. (2013). DNA sequencing. *Tools and Techniques in Biomolecular Science*, Edit: Divan A., Royds J., Oxford University Press, Sayfa: 67-68
- SKINNER, M.K. (2005). Regulation of primordial follicle assembly and development. *Human Reproduction Update* 11 461–471.
- SMITH, L.M., SANDERS J.Z., KAISER, R.J., HUGLES, P., DODD, C.,CONNELL C.R., HEINER, C., KENT, S.B.H., HOOD, L.E. (1986). Fluorescence detection in automated DNA sequence analysis. *Nature* Vol:321
- SÖNMEZ, R., KAYMAKÇI, M., ELİÇİN, A., TUNCEL, E., WASSMUTH, R., TAŞKIN, T. (2009). Türkiye Koyun Islahı Çalışmaları. U. Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi, Cilt 23, Sayı 2, 43-65.
- TAMURA, K., PETERSON, D., PETERSON, N., STECHER, G., NEI, N., KUMAR, S.,(2011). MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods
- TEN DIJKE, P., KORCHYNSKYI, O., VALDIMARSDOTTİR, G., GOUMANS, M.J. (2003). Controlling cell fate by bone morphogenetic protein receptors. *Mol. Cell Endocrinol*. 211: 105-113.
- ÜLKER H., BAŞ S., (2009). Koyunlarda Majör Etkili Fekondite Genlerinin Çoklu Ovulasyon Oluşturma Mekanizması *Hayvansal Üretim* 50(1): 47-51, 2009 47 181.
- ÜNAL, N., ATASOY, F., AKÇAPINAR, H., ERDOĞAN, M. (2003). Karayaka ve Bafra (Sakız X Karayaka G1) koyunlarda döl verimi, kuzularda yaÇama gücü ve büyüme. *Turk J Vet Anim Sci.*, 27: 265-272.
- ÜNAL, N., AKÇAPINAR, H., ATASOY, F., KOÇAK, S., AYTAÇ, M. (2004). Akkaraman, Sakız X Akkaraman ve Kıvırcık X Akkaraman melezleri (F1, G1) ile Karayaka ve Bafra koyunlarda canlı ağırlık ve yapağı özellikleri. *Lalahan Hay Araşt Enst Derg.*, 44 (2): 15-22.
- ÜNAL, N., AKÇAPINAR, H., ATASOY, F., YAKAN, A., UĞURLU, M. (2008). Bafra koyunlarında bazı meme özellikleri ve kuzularda büyüme ile bu özelliklerin farklı süt kontrol yöntemleriyle tespit edilen süt verimi ve sağım özellikleriyle fenotipik korelasyonları. *Ankara Üniv Vet Fak Derg.*, 55: 117-124.
- VALENCIA, C.A., PERVAIZ, M.A., HUSAMI, A., QIAN, Y., ZHANG, K. (2013). Sanger Sequencing Principles, History and Landmarks. *Next Generation Sequencing Technologies in Medical Genetics*. Chapter:1
- VENTER, J.C., ADAMS, M.D., SUTTON, G.G.,KERLAVEGE, A.R., SMITH, H.O., HUNKAPILLER, M. (1998). Shotgun sequencing of the human genome. *Science* Vol.280 No.5369

- VANWEZEL, I.L., RODGERS, R.J. (1996). Morphological characterization of bovine primordial follicles and their environment in vivo. *Biology of Reproduction* 55 1003–1011.
- VERMA, S., BARKOH, B.A., LUTHRA R. (2012). *Pyrosequencing in Cancer Modern Clinical Molecular Techniques*, Springer, Edit: Hu, P.C., Hegde M.R., Lennon P.A., Chapter:20, Sayfa: 295
- WEBB, R., NICHOLAS, B., GONG, J.G., CAMPBELL, B.K., GUTIERREZ, C.G., GARVERICK, H.A., ARMSTRONG, D.G. (2003). Mechanisms regulating follicular development and selection of the dominant follicle. *Reprod Suppl.* 61:71-90.
- WIGGINTON J.E., CUTLER D.J., ABECASIS G.R., (2005). A Note on Exact Tests of Hardy-Weinberg Equilibrium. *Am. J. Hum. Genet.* 76:887–883
- WU, R. (1994). Development of the primer-extension approach: a key role in DNA sequencing. *Trends Biochem Sci.* 1994 Oct;19(10):429–433
- YUMURTACI, A. (2009). DNA Dizi Analizi. Floresan Temelli Yeni Nesil Genetik Analiz Uygulamaları. TÜBİTAK Marmara Araştırma Merkezi, Gen Mühendisliği ve Biyoteknoloji Enstitüsü Yayını, Gebze-Kocaeli. 2009; 62-66.
- ZHANG, C.Y., WU, C.J., ZENG, W.B., HUANG, K.K., LIA, X., FENG, J.H., WANG, D., HUA, G.H., XU, D.Q., WEN, Q.Y., YANG, L.G., (2011). Polymorphism in exon 3 of follicle stimulating hormone beta (FSHB) subunit gene and its association with litter traits and superovulation in the goat. *Small Ruminant Research.* Volume 96, Issue 1, Pages 53–57
- ZHAO, Z.Z, PAINTER, J.N., PALMER, S.J., WEBB, P.M., HAYWARD, N.K., WHITEMAN, D.C., BOOMSMA, D.I., MARTIN, N.G., DUFFY, D.L., MONTGOMERY, G.W. (2008). Variation in bone morphogenetic protein15 is not associated spontaneous human dizygotic twinning. *Hum.Reprod.* 23(10): 2372-2379

Ek 1

T.C.  
GIDA TARIM ve HAYVANCILIK BAKANLIĞI  
Hayvancılık Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü  
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu

**KURUL KARARI**

**KARAR SAYISI** : 66  
**KARAR TARİHİ** : 29.02.2012

Hayvancılık Merkez Araştırma Enstitüsü Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu, 29 Şubat 2012 tarihinde Şubat ayı olağan toplantısını yapmak üzere toplanmıştır. Toplantıda:

1. Bazı Yerli Koyun Irklarında İnhibin βB Geninin Yavru Verimine Etkisi
2. Süt Sığırlarında Bazı Metabolizma Değerleri ile Döl Verimi İlişkisi
3. Doku Kültürü Medyumuna Katılan Trehaloz, Sistein ve Dithioerythitol Antioksidanlarını İle Horoz Spermasının Dondurulması
4. Koyunlarda Rasyona Katılan Yucca Schidigera Ekstraktının Rumen Fermantasyonu, Nitrojen Metabolizması, Bazı Kan Parametreleri ve Ham Besin Maddeleri Sindirimine Etkileri
5. Saanen, Kıl Keçisi ve Melezlerinin Bazı Kıl Özelliklerinin Belirlenmesi
6. Erkek ve Kastre Edilmiş Ankara Keçisi Oğlaklarında Farklı Kesim Ağırlıklarının Besi Performansı, Kesim, Karkas ve Bazı Et Kalite Özellikleri,
7. Süt Verimi ile ilgili SNP Paneli Oluşturulması, Yerli Kara ve Siyah Alaca Sığırların Genotiplendirilerek Karşılaştırılması
8. Halk Elinde Korunan Yerli Kara Sığırlarda Biyoçeşitlilik Analizi
9. Sığırlarda Görülen Bazı Kalıtsal Bozuklukların Tespitinde Multipleks PCR Optimizasyon İmkanlarının Araştırılması projeleri etik yönünden değerlendirilmesi ile ilgili başvurular ele alınmıştır.

Söz konusu projelerin Hayvancılık Merkez Araştırma Enstitüsü Hayvan Deneyleri Etik Kurul Çalışma Yönergesinde belirtilen ilkelere uygun olduğuna *oy birliğiyle karar verilmiştir.*

Dr. Sedat H. KIZIL  
Kurul Başkanı

Engin ÜNAY  
Başkan Vekili

Dr. P. Barbaros TUNCER  
Üye

Tahir KARAŞAHİN  
Üye

Halil EROL  
Üye

Dr. Neval ÖZDOĞAN  
Üye

Selahattin ŞEN  
Üye

Mustafa KÖYLÜOĞLU  
Üye

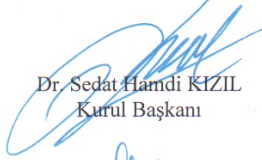
Ek-2

T.C.  
GIDA TARIM ve HAYVANCILIK BAKANLIğI  
Hayvancılık Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü  
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu

**KURUL KARARI**

**KARAR SAYISI** : 106  
**KARAR TARİHİ** : 05.02.2015

Hayvancılık Merkez Araştırma Enstitüsü Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu, 05 Şubat 2015 tarihinde, 03.02.2015 tarih ve 0224 sayılı dilekçe sebebiyle toplanmıştır. Toplantıda ilke ÜNLÜSOY'un "Bazı Yerli Koyun Irklarında İnhibin βB Geninin Yavru Verimine Etkisi" isimli tez projesinde bildirilen değişiklikler ile birlikte yeni isminin "Bazı Yerli Koyun Irklarında İNHBB Geni Ekzon 2 Bölgesinin ve FSHB Geni Ekzon 3 Bölgesinin Yavru Verimine Etkisi" olması, oy birliği ile kabul edilmiştir.

  
Dr. Sedat Hamdi KIZIL  
Kurul Başkanı

İlke ÜNLÜSOY  
Sorumlu Vet. Hekim  
(Katılmadı)

  
Dr. Hüseyin KİNET  
Üye

Dr. Sema YAMAN  
Üye

  
Vedat KARAKAŞ  
Üye

Halil EROL  
Üye

  
Selahattin ŞEN  
Üye

  
Mustafa KÖYLÜOğLU  
Üye

**ÖZGEÇMİŞ****I – BİREYSEL BİLGİLER**

**Adı** : İlke  
**Soyadı** : ÜNLÜSOY  
**Doğum Yeri** : YIĞILCA  
**Doğum Tarihi** : 19.03.1977  
**Uyruğu** : T.C.  
**Medeni Durumu** : Bekar  
**İletişim Adresi** : 19 Mayıs Mah. Yunus Emre Cad. Çaylak Sok. 8/14  
İncirli/ANKARA  
**Tel. No** : (90) 505 3750828 (Gsm)  
**E-posta** : ilke.unlusoy@gmail.com

**II – EĞİTİM**

**2008** : Doktora Programı (PhD)  
Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü,  
Genetik Anabilim Dalı (Ankara)  
**2001-2004** : Yüksek Lisans Programı  
Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü,  
Cerrahi Anabilim Dalı (Ankara)  
**1995-2001** : Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi  
**Yabancı Dili** : İngilizce

**III – ÜNVANLARI**

**2004** :Uzman Veteriner Hekim  
**2001** :Veteriner Hekim

**IV-MESLEKİ DENEYİMİ**

**2009** : Araştırmacı  
Hayvancılık Merkez Araştırma Enstitüsü  
**2006-2009** : Gıda Denetçisi  
Gıda Tarım Hayvancılık İl Müdürlüğü/Bilecik

## V – BİLİMSEL İLGİ ALANLARI

-ÜNAY, E., ÜNLÜSOY İ., (2014) Çorum İli Akkaraman Irkı Halk Elinde Islahı Proje Sürülerinde Yıllara Göre Bazı Verim Kayıtları. Uluslararası Katılımlı Küçükbaş Hayvancılık Kongresi. Poster bildirim. 16-18 Ekim

-ÜNLÜSOY, İ., ERTUĞRUL, O. (2014) Foliküler Aktivasyonu Etkileyen Transkripsiyon Faktörleri. Lalahan Hay. Araşt. Enst. Derg. 54(1) 28-32

- ÜNLÜSOY İ., BİLGİLİ, H., (2005). Köpeklerde intrameduller çivileme teknikleri ve uygulama alanları. Ankara Üniv Vet Fak Derg, 52, 85-91

## VI – BİLİMSEL ETKİNLİKLER

**Aldığı Burslar** :TÜBİTAK BİDEB tarafından finanse edilen 2214/A programı ile Populasyon Genetiğinde Biyoinformatik Uygulamalar eğitim bursu. 1 Ekim-28 Aralık 2014. Trinity Collage Dublin/İrlanda

**Projeler** :Rasyona İlave Edilen Linoleik Asidin Koyunlarda Döl Verimine Etkisi, TAGEM (Yardımcı Araştırmacı)

Halk Elinde Korunan Yerli Kara Sığırlarda Multipleks PCR Optimizasyonu, TAGEM (Yardımcı Araştırmacı)

Koyun Koruma Sürülerinin Yönetiminde Genetik ve İstatistiksel Yaklaşımlardan Yararlanma: Bir Model Çalışma, TAGEM (Yardımcı Araştırmacı)

Türkiye Yerli Keçi Irklarında Genetik Polimorfizmin Mikrosatellit Belirteçler Kullanılarak Araştırılması (Yardımcı Araştırmacı)

Çorum İli Akkaraman Irkı Halk Elinde Islahı, TAGEM (Yardımcı Araştırmacı)

## VII – DİĞER BİLGİLER

**Eğitim programı haricinde aldığı kurslar ve katıldığı eğitim seminerleri** : Tübitak Proje Hazırlama ve Yürütme Eğitimi  
13-15 Haziran 2014/ A.Ü. Tıp Fakültesi

Suni Tohumlama Kursu  
20-24 Mayıs 2013/ Hayvancılık Mer. Araş. Enst.

Akreditasyon Eğitimi  
8-10 Mayıs 2012 / Hayvancılık Mer. Araş. Enst.