

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

**BAZI SÜT PROTEİN VE REGÜLATÖR GENLERİNİN
TEK NÜKLEOTİT POLİMORFİZMLERİNİN SÜT
VERİMİ VE BİLEŞENLERİ ÜZERİNE ETKİSİ**

**Hazırlayan
Ahmet E. YETİMAN**

**Danışman
Prof. Dr. Mahmut DOĞAN**

Doktora Tezi

**Haziran 2020
KAYSERİ**

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

**BAZI SÜT PROTEİN VE REGÜLATÖR GENLERİNİN
TEK NÜKLEOTİT POLİMORFİZMLERİNİN SÜT
VERİMİ VE BİLEŞENLERİ ÜZERİNE ETKİSİ**

(Doktora Tezi)

**Hazırlayan
Ahmet E. YETİMAN**

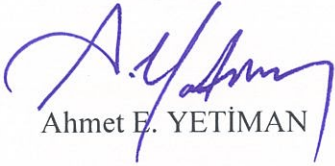
**Danışman
Prof. Dr. Mahmut DOĞAN**

**Bu çalışma, Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi
tarafından FDK-2017-7281 kodlu proje ile desteklenmiştir.**

**Haziran 2020
KAYSERİ**

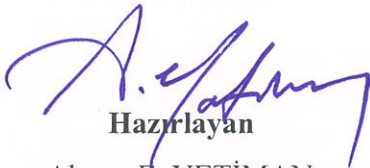
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.


Ahmet E. YETİMAN

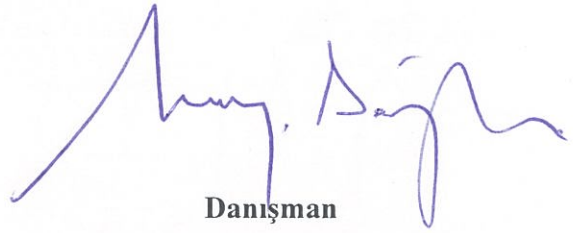
**“BAZI SÜT PROTEİN VE REGÜLATÖR GENLERİNİN TEK NÜKLEOTİT
POLİMORFİZMLERİNİN SÜT VERİMİ VE BİLEŞENLERİ ÜZERİNE ETKİSİ”**

adlı Doktora tezi, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi’
ne uygun olarak hazırlanmıştır.



Hazırlayan

Ahmet E. YETİMAN



Danışman

Prof. Dr. Mahmut DOĞAN



Gıda Mühendisliği ABD Başkanı

Prof. Dr. Hasan YALÇIN

Prof. Dr. Mahmut DOĞAN danışmanlığında **Ahmet E. YETİMAN** tarafından hazırlanan “**BAZI SÜT PROTEİN VE REGÜLATÖR GENLERİNİN TEK NÜKLEOTİT POLİMORFİZMLERİNİN SÜT VERİMİ VE BİLEŞENLERİ ÜZERİNE ETKİSİ**” adlı bu çalışma jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Gıda Mühendisliği** Anabilim Dalında **Doktora** tezi olarak kabul edilmiştir.

..... / / 2020

JÜRİ:

Danışman : Prof. Dr. Mahmut DOĞAN

Üye : Prof. Dr. Kemal SARIOĞLU

Üye : Prof. Dr. Mikail AKBULUT

Üye : Prof. Dr. Ali KAYGISIZ

Üye : Doç. Dr. Efe SEZGİN

ONAY:

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun tarih ve sayılı kararı ile onaylanmıştır.

..... / /

Prof. Dr. Mehmet AKKURT

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Doktora tez çalışmalarının, yoğun birikim, sabır, dikkat ve özen gösterilmesi gereken çalışmalar olduğu su götürmez bir gerçektir. Çalışmam süresince gerekli sabır, özen ve dikkati göstermem konusunda desteklerini esirgemeyen danışman hocam sayın Prof. Dr. Mahmut DOĞAN'a,

Benzer şekilde çalışmam süresince yaptığım moleküler analizler konusunda bana fikir veren ve yol gösteren sayın Prof. Dr. Mikail AKBULUT'a,

Bu çalışmayı gerçekleştirebilmem için örnek temininde yardımlarını esirgemeyen sayın Prof. Dr. Ali KAYGISIZ ve Murat KAYA beyefendiye,

Multivariate Adaptive Regression Splines (Çok Yönlü Uyarlanabilir Regresyon Uzanımları) veri madenciliği algoritması ile ilgili yöntem optimizasyonu konusunda, bilgilerini benden esirgemeyen sayın Prof. Dr. Ecevit EYDURAN ve sayın Doç. Dr. Ercan ŞENYİĞİT'e

Tüm hayatım boyunca olduğu gibi, gerçekleştirdiğim tez çalışması sırasında her türlü desteklerini benden esirgemeyen Annem ve Babama,

Tez çalışmamı tamamlayabilmek için onlara ayırmam gereken zamanı kullanmamı anlayışla karşılayan, desteklerini ve motivasyonlarını benden esirgemeyen Eşim ve Oğluma,

Bu çalışmayı, FDK-2017-7281 kodlu doktora tez projesi ile destekleyen Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine,

teşekkürlerimi sunarım.

Ahmet E. YETİMAN

Haziran 2020, KAYSERİ

BAZI SÜT PROTEİN VE REGÜLATÖR GENLERİNİN TEK NÜKLEOTİT POLİMORFİZMLERİNİN SÜT VERİMİ VE BİLEŞENLERİ ÜZERİNE ETKİSİ

Ahmet E. YETİMAN

Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü
Doktora Tezi, Haziran 2020
Danışman: Prof. Dr. Mahmut DOĞAN

ÖZET

Bu çalışmada, Kayseri ve Kahramanmaraş bölgelerinde bulunan üç farklı çiftliklerdeki Holstein-Fresian ırkı ineklerde (182 baş), yeni nesil nükleik asit dizileme teknolojisi ile, *PPARGC1A*, *GHR*, *CSN3*, *ATF3* ve *PAEP* genlerinde tespit edilen, toplamda 16 farklı SNP'nin süt verimi (kg) ve sütün bileşenleri üzerine etkilerinin istatistiksel olarak belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla gerçekleştirilen istatistiksel testlerden olan, Ki-Kare (χ^2) testine göre, *GHR* geni rs382888926 G>A ($p<0.05$) hariç, diğer tüm SNP'lerin Hardy-Weinberg dengesinde olduğu tespit edilmiştir. Ardından, en küçük kareler yöntemi ile yapılan varyans analizlerine göre, *PPARGC1A* geni rs109579682 G>A'nın, süt verimi (kg), protein verimi(kg) ve laktoz verimi (kg); *PPARGC1A* geni rs133669403 A>G'nin, yağ oranı (%) ve yağ verimi (kg); *CSN3* geni rs43703015 C>T, rs43703016 A>C, rs110014544 A>G ve rs109787476 A>T'nin, yağ verimi ile ilişkili ($p<0.05$) olduğu tespit edilmiştir. Diğer taraftan, bir veri madenciliği yöntemi olan Çok Yönlü Uyarlanabilir Regresyon Uzanımları (MARS) algoritması ile yapılan analizler sonucunda, *PPARGC1A* geni rs133669403 A>G'nin GG genotipi yüksek süt verimi ile ilişkili tespit edilirken (düz R^2 : 0.921, GCV: 0.0486), *GHR* geni rs382888926 G>A'nın AA genotipinin yağ oranı (düz R^2 : 0.944, GCV: 0.248), protein oranı (düz R^2 : 0.757, GCV: 0.0095) ve laktoz oranı (düz R^2 : 0.707, GCV: 0.0258) üzerinde etkili olduğu belirlenmiştir. Sonuç olarak, hedef popülasyon içerisinde yaklaşık 114 baş yüksek süt verimli bireylerin seçilebileceği tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: MARS algoritması, Yeni nesil dizileme, *PPARGC1A*, *GHR*, Belirteç destekli seleksiyon, Süt verimi

THE EFFECTS OF SINGLE NUCLEOTIDE VARIANTS OF SOME MILK PROTEIN AND REGULATORY GENES ON MILK YIELD AND INGREDIENTS

Ahmet E. YETİMAN

Erciyes University, Graduate School of Natural and Applied Sciences

PhD Thesis, June 2020

Supervisor: Prof. Dr. Mahmut DOĞAN

ABSTRACT

In this study, it was aimed to investigate the relationships between 16 SNPs which were detected by next-generation sequencing on *PPARGC1A*, *GHR*, *CSN3*, *ATF3*, and *PAEP* genes and economically important milk traits of Holstein-Friesian cows from farms located in Kayseri and Kahramanmaraş provinces. For this purpose, at the first chi-square test was performed and all SNP were found at Hardy-Weinberg equilibrium except *GHR* gene rs382888926 G>A polymorphism ($p<0.05$). After that, according to the analysis of variance by least square method, the *PPARGC1A* gene rs109597682 G>A polymorphism; *PPARGC1A* gene rs133669403 A>G polymorphism; *CSN3* gene rs43703015 C>T, rs43703016 A>C, rs110014544 A>G and rs109787476 A>T polymorphisms were found to be associated with milk yield (kg), protein yield (kg), and lactose yield (kg); fat percentage and yield; fat yield, respectively ($p<0.05$). On the other hand, as a result of the analyses made with Multivariate Adaptive Regression Splines (MARS) algorithm, which is a machine learning method, *PPARGC1A* gene rs133669403 A>G polymorphism's GG genotype (adj. R^2 : 0.921, GCV: 0.0486) was found to be correlated to higher milk yield while *GHR* gene rs382888926 G>A polymorphisms AA genotype were determined as effective on fat (adj. R^2 : 0.944, GCV: 0.248), protein (adj. R^2 : 0.757, GCV: 0.0095) and lactose (adj. R^2 : 0.707, GCV: 0.0258) yields. As a result, it has been determined that approximately 114 of target population can be selected as high milk productive individuals.

Keywords: MARS algorithm, Next generation sequencing, *PPARGC1A*, *GHR*, Marker assisted selection, Milk yield

İÇİNDEKİLER

BAZI SÜT PROTEİN VE REGÜLATÖR GENLERİNİN TEK NÜKLEOTİT POLİMORFİZMLERİNİN SÜT VERİMİ VE BİLEŞENLERİ ÜZERİNE ETKİSİ

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK	iii
YÖNERGEYE UYGUNLUK.....	iv
KABUL VE ONAY	iv
TEŞEKKÜR.....	vi
ÖZET.....	vii
ABSTRACT.....	viii
İÇİNDEKİLER	ix
KISALTMALAR	xiii
TABLolar LİSTESİ.....	xv
ŞEKİLLER LİSTESİ	xix
GİRİŞ	1

1. BÖLÜM

GENEL BİLGİLER ve LİTERATÜR ÇALIŞMASI

1.1. Sütün Besinsel Özellikleri ve İnsan Sağlığı İçin Önemi.....	4
1.2. Yeni Nesil Nükleik Asit Sekanslama (Dizileme) Teknolojileri.....	9
1.2.1.Roche 454 Pirodizileme Tekniği	12
1.2.2. ABI SOLiD Platformu	13
1.2.3. Illumina (Solexa) Dizileme Platformu	13
1.2.4. İyon Yarı İletken (Ion Torrent) Nükleik Asit Dizileme Teknolojisi.....	15
1.2.5. Tek Molekül Yeni Nesil Nükleik Asit Dizileme Sistemleri	16
1.2.5.1. Pacific Biosciences (Tek Molekül Gerçek Zamanlı/SMRT) Dizileme Platformu.....	16
1.2.5.2. Oxford Nanopor Nükleik Asit Dizileme Platformu	17
1.3. YND Teknolojilerinin Geliştirilmesine Kadar Olan Süreçte Sığır Genom Araştırmaları	18
1.4. Multivariate Adaptive Regression Splines (MARS) Algoritması	20

1.5. Literatür Özeti.....	26
1.6. Araştırmanın Amacı ve Önemi	36

2. BÖLÜM

YÖNTEM VE MATERYAL

2.1. Materyal.....	38
2.2. Yöntem	38
2.2.1. Süt Örneklerinin Analizi	38
2.2.2. Kan Örneklerinden DNA Ekstraksiyonu	39
2.2.3. Primer Dizaynı ve PCR koşullarının Optimizasyonu.....	41
2.2.4. Yeni Nesil Dizileme (YND) Analizi.....	44
2.2.4.1. Kütüphane Oluşturma.....	45
2.2.4.2. Hedef Genlere Spesifik Kütüphane Oluşturma Sonrası İlk Saflaştırma	46
2.2.4.3. İndeks PCR.....	47
2.2.4.4. İndeks PCR Sonrası Saflaştırma	48
2.2.4.5. Denatürasyon, Megapooling ve Örneklerin Cihaza Yüklenmesi	49
2.2.4.6. Sonuçların Yorumlanması.....	50
2.2.5. İstatistiksel Analiz ve Modeller.....	51
2.2.5.1. Allel ve Genotip Frekansları ve Popülasyonun Hardy-Weinberg (HW) Dengesinde Olup Olmadığının Belirlenmesi	51
2.2.5.2. En Küçük Kare Ortalamaları ve Standard Hata Değerlerinin Belirlenmesi.....	52
2.2.5.3. Analiz Edilecek Verilerin Dağılımlarının Normalliğinin Test Edilmesi	52
2.2.5.4. Multivariate Adaptive Regression Splines (MARS) Algoritması Kullanılarak Genotipler ile Süt Verimi ve Bileşenleri Arasındaki İlişkinin Modellenmesi.....	52

3. BÖLÜM

BULGULAR

3.1. Adaptör Dizileri Eklenmiş NGS Primerlerinin Sıcaklık Optimizasyonu Sonuçları.....	57
--	----

3.2. NGS sonucu tespit edilen SNPlar, Genotip, Allel frekansları ve HW Genetik Denge Test Sonuçları.....	59
3.3. SNP'lere Ait En Küçük Kare Ortalamaları ve Standard Hata Değerleri	59
3.4. MARS Algoritması ile Oluşturulan Tahminleyici Modellerin Sonuçları	64
3.4.1. Süt Verimi (kg) için Oluşturulan MARS Modeli	64
3.4.2. Yağ Oranı (%) için Kullanılan MARS Modeli.....	71
3.4.3. Yağ Verimi (kg) için Kullanılan MARS Modeli.....	77
3.4.4. Protein Oranı (%) için Oluşturulan MARS Modeli	80
3.4.5. Protein Verimi (kg) için Kullanılan MARS Modeli	86
3.4.6. Laktoz Oranı (%) için Oluşturulan MARS Modeli	93
3.4.7. Laktoz Verimi (kg) için Kullanılan MARS Modeli.....	98
3.4.8. Yağsız Kuru Madde (SNF) oranı için oluşturulan MARS Modeli.....	105
3.4.9. Yoğunluk (kg/m ³) için Kullanılan MARS Modeli.....	107
3.4.10. Bağımlı Değişken Olarak Kullanılan Tüm Parametreler İçin Oluşturulan MARS Modellerine Ait Yorumlama Kriterleri	111

4. BÖLÜM

TARTIŞMA-SONUÇ ve ÖNERİLER

4.1. Tartışma	113
4.1.1. Konvansiyonel istatistiksel yöntemler ile yapılan analizler	113
4.1.1.1. GHR geninde tespit edilen SNP'ler	114
4.1.1.2. PPARGC1A geninde tespit edilen SNP'ler	118
4.1.1.3. CSN3 geninde tespit edilen SNP'ler	124
4.1.1.4. ATF3 geninde tespit edilen SNP'ler	129
4.1.1.5. LGB (PAEP) geninde tespit edilen SNP'ler.....	131
4.1.2. MARS algoritması kullanılarak varyantlar ile süt verimi ve diğer parametreler arasındaki ilişkinin tespiti	134
4.2. Sonuç ve Öneriler	141
KAYNAKÇA	144
EKLER.....	161
EK 1. İndex PCR aşamasında barkodlama amacıyla her bir inek için kullanılan oligonükleotit dizileri.....	161
EK 2. Hardy-Weinberg Denge testi için örnek R kodları	165

EK 3. En Küçük Kareler Yöntemi için kullanılan örnek R kodları.....	165
EK 4. MARS Algoritması için örnek R kodları	166
EK 5. Korelasyon Matrisi oluşturmak için kullanılan örnek R kodları	168
EK 6 Süt verimi (kg) için MARS algoritması ile oluşturulan modelin denklemi .	169
EK 7. Yağ oranı (%) için MARS algortması ile oluşturulan modelin denklemi.....	171
EK 8 Yağ verimi (kg) için MARS algortması ile oluşturulan modelin denklemi	172
EK 9. Protein oranı (%) için MARS algoritması ile oluşturulan modelin denklemi	173
EK 10. Protein verimi (kg) için MARS algoritması ile oluşturulan modelin denklemi	175
EK 11. Laktoz oranı (%) için MARS algoritması ile oluşturulan modelin denklemi	177
EK 12. Laktoz verimi (kg) için MARS algoritması ile oluşturulan modelin denklemi	179
EK 13. Yağsız kuru madde oranı için MARS algoritması ile oluşturulan modelin denklemi	180
EK 14. Yoğunluk parametresi için MARS algoritması ile oluşturulan modelin denklemi	180
EK 15. Süt verimi (kg) parametresine ait histogram.....	181
EK 16. Yağ oranı (%) parametresine ait histogram.....	181
EK 17. Yağ verimi (kg) parametresine ait histogram.....	182
EK 18. Protein oranı (%) parametresine ait histogram	182
EK 19. Protein verimi (kg) parametresine ait histogram.....	183
EK 20. Laktoz oranı (%) parametresine ait histogram.....	183
EK 21. Laktoz verimi (kg) parametresine ait histogram.....	184
EK 22. Yağsız kuru madde oranı (%) parametresine ait histogram	184
EK 23. Yoğunluk (kg/m ³)parametresine ait histogram	185
EK 24. Tez çalışması kapsamında bir laktasyon (~305 gün) boyunca, her bir inekten alınan tekerrürlü süt numunelerinde gerçekleştirilen multiparametre ölçümlere ait ortalama sonuçlar.....	186
EK 25. Her bir MARS modelinde, bağımlı değişken olarak kullanılan faktörlerin kendi arasındaki etkileşimlerini gösteren korelasyon matrisine ait grafik..	191
EK 26. Her bir MARS modelinde, bağımlı değişken olarak kullanılan faktörlerin kendi arasındaki etkileşimlerini gösteren korelasyon matrisine ait p-değerleri	192
EK 27. Her bir MARS modelinde, bağımlı değişken olarak kullanılan faktörlere ait korelasyon matrisinin grafiksel olarak ayrıntılı sunumu	193
ÖZGEÇMİŞ.....	194

KISALTMALAR

Bç	: Baz çifti
BDS	: Belirteç Destekli Seleksiyon
BLAST	: Basic Local Alignment Search Tool
CSV	: Comma separated values
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
EDTA	: Etilen Diamin Tetra Asetik Asit
GATK	: Genome Analysis Toolkit
GCV	: Generalized Cross Validation (Genelleştirilmiş Çapraz Geçerlilik) katsayısı
GWAS	: Genome wide association studies/ Genom çapında ilişkilendirme çalışmaları
LSM	: Least Squares Method (En küçük kareler Yöntemi)
MAD	: Mean Absolute Deviation
MARS	: Multivariate Adaptive Regression Splines
MAS	: Marker Assisted Selection
Mb	: Mega baz
NaCl	: Sodyum Klorür
NGS (YND)	: Next Generation Sequencing / Yeni Nesil Dizileme
NH ₄ Cl	: Amonyum Klorür
PCR (PZR)	: Polymerase Chain Reaction / Polimeraz Zincir Reaksiyonu

PIRA : Primer Introduced Restriction Analysis

QTL : Quantitative trait Locus

RAE : Relative Approximation Error

RFLP : Restriction Fragment Length Polymorphism

RMSE : Root Mean Square Error

RNA : Ribo Nükleik Asit

SE : Standart Error (Standart Hata)

SSCP : Single Stranded Conformation Polymorphism

VCF : Variant Call Format

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 1.1. Sütün bileşenleri ve bu bileşenlerin diyetle alınması gereken referans miktarı karşılama oranı ve sağlık üzerine etkileri	5
Tablo 1.2. Yeni Nesil Nükleik Asit Dizileme Platformlarının Karşılaştırılması	10
Tablo 2.1. Primerler için uygulanacak reaksiyon kurma koşullarının optimizasyonu ...	42
Tablo 2.2. Primerlerin bağlanma sıcaklıklarının (T _m) optimizasyonu için uygulanan termal döngü koşulları	42
Tablo 2.3. Araştırmada kullanılan PCR primer dizileri ve bazı özellikleri.....	43
Tablo 2.4. Optimizasyonu yapılmış primerlere ilave edilen adaptör oligonükleotit dizileri.....	45
Tablo 2.5. Kütüphane hazırlamak için gerçekleştirilen PCR için reaksiyon hazırlama koşulları ve termal döngü protokolü	45
Tablo 2.6. İndeks PCR karışımının bileşimi ve uygulanan sıcaklık protokolü	48
Tablo 2.7. Çalışmada kullanılan hedef gen bölgelerinin Bos Taurus (UMD 3.1.1/bosTau8) genomu üzerindeki kromozomal koordinatları	50
Tablo 3.1. Tespit edilen SNP'lerin, Bos taurus (UMD 3.1.1) genomu üzerindeki konumları, Genotip ve Allel frekansları ile HW genetik denge test sonuçları	60
Tablo 3.2. Tespit edilen SNP'lerin en küçük kareler ortalaması ve standart hataya (LSM±SE) göre süt verimi ve diğer parametreler üzerine tahmini birliktelik etkileri	62
Tablo 3.3. Süt verimi(kg) için oluşturulan MARS modeline ait temel fonksiyonlar ve bu fonksiyonlara ait katsayılar, standart hata, t ve p değerleri	65

Tablo 3.4. Süt verimi (kg) üzerinde etkili, kestiricilerin(faktör) önem sırasının değerlendirilmesi	68
Tablo 3.5. Yağ oranı (%) için oluşturulan MARS modeline ait temel fonksiyonlar ve bu fonksiyonlara ait katsayılar, standart hata, t ve p değerleri	72
Tablo 3.6. Yağ oranı (%) üzerinde etkili olan faktörlerin bağıl önemlilik (%) dereceleri	74
Tablo 3.7. Yağ verimi (kg) için oluşturulan MARS modeline ait temel fonksiyonlar ve bu fonksiyonlara ait katsayılar, standart hata, t ve p değerleri	78
Tablo 3.8. Yağ verimine (kg) etki eden etkili kestiricilerin (predictor) önem sırasının değerlendirilmesi	78
Tablo 3.9. Protein oranı için oluşturulan MARS modeline ait temel fonksiyonlar ve bu fonksiyonlara ait katsayılar, standart hata, t ve p değerleri	81
Tablo 3.10. Protein oranına etki eden etkili kestiricilerin (predictor) önem sırasının değerlendirilmesi	83
Tablo 3.11. Protein verimi(kg) için oluşturulan MARS modeline ait temel fonksiyonlar ve bu fonksiyonlara ait katsayılar, standart hata, t ve p değerleri	88
Tablo 3.12. Protein verimine(kg) etki eden etkili kestiricilerin (predictor) önem sırasının değerlendirilmesi	90
Tablo 3.13. Laktoz oranı (%) için oluşturulan MARS modeline ait temel fonksiyonlar ve bu fonksiyonlara ait katsayılar, standart hata, t ve p değerleri	94
Tablo 3.14. Laktoz oranına (%) etki eden etkili kestiricilerin (predictor) önem sırasının değerlendirilmesi	96
Tablo 3.15. Laktoz verimi (kg) için oluşturulan MARS modeline ait temel fonksiyonlar ve bu fonksiyonlara ait katsayılar, standart hata, t ve p değerleri	100
Tablo 3.16. Laktoz verimi (kg) etki eden etkili kestiricilerin (predictor) önem sırasının değerlendirilmesi	102

Tablo 3.17. Yağsız Kuru Madde (SNF) oranı için oluşturulan MARS modeline ait temel fonksiyonlar ve bu fonksiyonlara ait katsayılar, standart hata, t ve p değerleri	106
Tablo 3.18. Yağsız Kuru Madde (Solid Non Fat-SNF) oranına etki eden etkili kestiricilerin (predictor) önem sırasının değerlendirilmesi	106
Tablo 3.19. Yoğunluk parametresi için oluşturulan MARS modeline ait temel fonksiyonlar ve bu fonksiyonlara ait katsayılar, standart hata, t ve p değerleri	109
Tablo 3.20. Yoğunluk parametresine etki eden etkili kestiricilerin (predictor) önem sırasının değerlendirilmesi.....	109
Tablo 3.21. MARS algoritması ile modellenen süt verimi ve diğer bileşen parametrelerine ait analiz sonuçları	111

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.1. Pirodizileme ve SOLiD dizilemede kullanılan iş akış protokolleri	12
Şekil 1.2. Yüksek hacim ve eşleştirilmiş uç modülüyle Illumina dizileme sistemi konsepti	14
Şekil 1.3. İyon yarı iletken nükleik asit dizilemenin çalışma prensibi	16
Şekil 1.4. MARS algoritması tarafından kullanılan Temel Fonksiyonlar	24
Şekil 2.1. Yeni Nesil Dizileme Protokol akış şeması	44
Şekil 2.2. 96'lık örnek hazırlama için PCR ürünü indeks bağlama düzeni	47
Şekil 2.3. IGV yazılımı ile analiz edilen gen bölgelerindeki SNP'lerin doğrulanması ..	51
Şekil 3.1. <i>CSN3</i> (Kappa Kazein) geni için dizayn edilen adaptörlü primerlerin PCR optimizasyon sonuçları.....	57
Şekil 3.2. <i>ATF3</i> (Cyclic AMP-dependent transcription factor) geni için dizayn edilen adaptörlü primerlerin PCR optimizasyon sonuçları	57
Şekil 3.3. <i>PPARGC1A</i> (Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma Coactivator 1- α) geni için dizayn edilen adaptörlü primerlerin PCR optimizasyon sonuçları	58
Şekil 3.4. <i>GHR</i> (Growth Hormone Receptor) geni için dizayn edilen adaptörlü primerlerin PCR optimizasyon sonuçları	58
Şekil 3.5. <i>PAEP</i> (Progestagen-Associated-Endometrial-Protein) geni için dizayn edilen adaptörlü primerlerin PCR optimizasyon sonuçları	59
Şekil 3.6. Süt verimi için seçilen MARS modeline ait hata terimleri ve belirlenme katsayılarına ait grafikler.....	64
Şekil 3.7. Süt verimi (kg) ve oluşturulan MARS modelinin temel fonksiyonları arasındaki korelasyon	68

Şekil 3.8. Süt verimi ile diğer bağımsız değişkenler arasındaki etkileşimi gösteren grafikler-1.....	69
Şekil 3.9. Süt verimi ile diğer bağımsız değişkenler arasındaki etkileşimi gösteren grafikler-2.....	70
Şekil 3.10. Yağ oranı (%) için seçilen MARS modeline ait hata terimleri ve belirlenme katsayılarına ait grafikler.....	71
Şekil 3.11. Yağ oranı (%) ve oluşturulan MARS modelinin temel fonksiyonları arasındaki korelasyon	72
Şekil 3.12. Yağ oranı ile diğer bağımsız değişkenler arasındaki etkileşimi gösteren grafikler-1.....	75
Şekil 3.13. Yağ oranı ile diğer bağımsız değişkenler arasındaki etkileşimi gösteren grafikler-2.....	76
Şekil 3.14. Yağ verimi (kg) için oluşturulan MARS modeline ait hata terimleri ve belirlenme katsayılarına ait grafikler	77
Şekil 3.15. Yağ verimi (kg) ile diğer bağımsız değişkenler arasındaki etkileşimi gösteren grafikler	79
Şekil 3.16. Yağ verimi (kg) ve oluşturulan MARS modelinin temel fonksiyonları arasındaki korelasyon.....	79
Şekil 3.17. Protein oranı için seçilen MARS modeline ait hata terimleri ve belirlenme katsayılarına ait grafikler.....	80
Şekil 3.18. Protein oranı ile diğer bağımsız değişkenler arasındaki etkileşimi gösteren grafikler-1.....	84
Şekil 3.19. Protein oranı ile diğer bağımsız değişkenler arasındaki etkileşimi gösteren grafikler-2.....	85
Şekil 3.20. Protein oranı (%) ve oluşturulan MARS modelinin temel fonksiyonları arasındaki korelasyon	86

Şekil 3.21. Protein verimi (kg) için seçilen MARS modeline ait hata terimleri ve belirlenme katsayılarına ait grafikler.....	87
Şekil 3.22. Protein verimi (kg) ve oluşturulan MARS modelinin temel fonksiyonları arasındaki korelasyon.....	87
Şekil 3.23. Protein verimi (%) ile diğer bağımsız değişkenler arasındaki etkileşimi gösteren grafikler-1	91
Şekil 3.24 Protein verimi (%) ile diğer bağımsız değişkenler arasındaki etkileşimi gösteren grafikler-2	92
Şekil 3.25. Laktoz oranı için seçilen MARS modeline ait hata terimleri ve belirlenme katsayılarına ait grafikler.....	93
Şekil 3.26. . Laktoz oranı ile diğer bağımsız değişkenler arasındaki etkileşimi gösteren grafikler	97
Şekil 3.27. Laktoz oranı (%) ve oluşturulan MARS modelinin temel fonksiyonları arasındaki korelasyon.....	98
Şekil 3.28. Laktoz verimi (kg) için seçilen MARS modeline ait hata terimleri ve belirlenme katsayılarına ait grafikler	99
Şekil 3.29. Laktoz verimi (kg) ve oluşturulan MARS modelinin temel fonksiyonları arasındaki korelasyon.....	99
Şekil 3.30. Laktoz verimi (kg) ile diğer bağımsız değişkenler arasındaki etkileşimi gösteren grafikler-1	103
Şekil 3.31. Laktoz verimi (kg) ile diğer bağımsız değişkenler arasındaki etkileşimi gösteren grafikler-2	104
Şekil 3.32. Yağsız Kuru Madde (SNF) oranı için seçilen MARS modeline ait hata terimleri ve belirlenme katsayılarına ait grafikler	105
Şekil 3.33. Yağsız Kuru Madde (SNF) oranına etki eden bağımsız değişkenler arasındaki etkileşimi gösteren grafikler	106

Şekil 3.34. Yağsız Kuru Madde miktarı ve oluşturulan MARS modelinin temel fonksiyonları arasındaki korelasyon.....	107
Şekil 3.35. Yoğunluk için seçilen MARS modeline ait hata terimleri ve belirlenme katsayılarına ait grafikler	108
Şekil 3.36. Yoğunluk ve oluşturulan MARS modelinin temel fonksiyonları arasındaki korelasyon	108
Şekil 3.37. Yoğunluk üzerine etki eden bağımsız değişkenler arasındaki etkileşimi gösteren grafikler	110



GİRİŞ

Süt proteinlerinin genetik polimorfizmi, hayvan ıslahı çalışmaları ve süt kompozisyonu, kalitesi, verimi ve teknolojik karakterleri gibi endüstriyel özelliklerden dolayı süt endüstrisi için de çok önemlidir [1]. Ayrıca, süt proteinlerinin dışında, sığır genomu içerisinde, sütün verimini ve bileşenlerinin kompozisyonlarını etkileyen, moleküler belirteçlerin bulunduğu, son yıllarda literatürde yapılan çalışmalarca doğrulanmıştır [2]. Diğer taraftan, halk sağlığının korunması ve besin kayıplarının önlenmesi amacıyla, artan dünya nüfusuna paralel olarak süt ve süt ürünleri üretimindeki artışın sağlanmasının önemli bir gereklilik olduğu ortadadır. Birleşmiş Milletler, Ekonomik ve Sosyal İşler Biriminin (UN, Department of Economic and Social Affairs) raporlarına göre günümüzde 7.3 milyar olan insan nüfusunun 2030’da 8.5 milyara, 2050’de ise 9.7 milyara ulaşacağı tahmin edilmektedir [3]. Bu ise, mevcut tarımsal üretimin artan nüfusa karşı yetersiz kalacağı gerçeğini ve daha çok gıda maddesi üretilmesi gereksinimini göz önüne sermektedir.

Tarımsal üretim miktarını, hem üretim birimi sayısını arttırarak hemde üretim birimi başına üretim hacmini arttırarak yükseltmek mümkündür. Ancak, Süt endüstrisi açısından bakıldığında, hayvan sayısını arttırmanın her durumda mümkün olmadığı ve üretim maliyeti başta olmak üzere bir takım olumsuzluklar taşıdığı bilinmekle birlikte, üretim artışı sağlanmak istendiğinde, genellikle üretim ünitesi başına verimi arttırmaya öncelik verildiği bildirilmektedir [4]. Bunun yanısıra, Türkiye’de hayvan başına düşen süt verimi gelişmiş ülkelerin gerisindedir. Özellikle, inek sütü başına düşen yıllık süt verim miktarı ortalaması Avrupa birliği ülkelerinde yaklaşık 6.9 ton [5] iken, Türkiye’de ise 3.86 ton [6] civarındadır. Ulusal Süt Konseyi’nin FAOSTAT’dan derlediği verilere göre ise, 2015’te tüm dünyadaki süt üretimi 818 milyon ton iken, Türkiye’de 18.6 milyon tondur [7]. İstanbul İhracatçılar birlikleri genel sekreterliğinin 2014 yılında yayınladığı süt ve süt ürünleri sektör raporunda, Türkiye süt ve süt ürünleri sektörünün, ekonomiye katma değer sağlama hususunda, geçmiş yıllara göre ihracatta ilerlemeler kaydetmiş olduğu, ancak

hala dünya genelinde yapılan ihracata göre çok küçük bir miktarda pay (%0.3) aldığı bildirilmiştir[8]. TÜİK 2018 yılı verilerine göre ise, Türkiye'deki süt üretimi 22.12 milyon tona yükselmiştir [9]. Diğer taraftan, dünya çapındaki toplam süt üretimi ise, 826 milyon ton olmuştur [10]. Türkiye'de Süt üretimindeki bu artış, süt üretiminde kullanılan hayvan sayısındaki artış ile paralel gerçekleşmiştir [11].

Dünya süt ve süt ürünleri ihracatından önemli pay alan dünyanın en güçlü ekonomileri, sahip oldukları hayvansal veya bitkisel yenilebilir kaynakları etkin bir şekilde kullanıp ekonomiye katma değer sağlamak için tarımsal faaliyetlerde daha çok teknolojik olmak üzere, alternatif yöntemleri kullanmaktadırlar. Son yıllarda, Türkiye'de tarım işletmelerinin başarı durumunu sorgulayan, tarımsal üretimin sahip olduğu riskleri ölçebilen, üreticilerin tutum ve davranışlarını inceleyen akademik çalışmalar yapılmaktadır. Bu çalışmalarda genellikle, süt üreten işletmelerde, süt verimi yüksek hayvanlarla çalışılmasının işletmenin başarısı için önemli bir faktör olduğu bildirilmiştir [12]. Türkiye'deki süt üretimi ve süt verimi değerlerinin tüm dünyadaki önemli süt ve süt ürünleri üreticisi ülkelere ve süt üretiminde söz sahibi Avrupa ülkelerine göre düşük olmasında, hayvanların genetik yapısının düşük olması, uygun olmayan çevresel koşullar ve yetersiz beslenme gibi faktörlerin etkili olduğu bildirilmiştir [13]. Bununla birlikte, geçmiş yıllarda yapılan süt verimini iyileştirmeye yönelik akademik yada endüstriyel amaçlı genetik ıslah çalışmalarında hayvanların fenotipik karakterleri referans alındığı, bu karakterlerin kalıtım derecesi düşük yada ölçülmesi zor özellikler oldukları için seleksiyon etkinliğinin düşük olduğu, fenotipin genotipi iyi bir şekilde yansıtamadığı ve zaman içerisinde yapılan seleksiyonların yetersiz kaldığı ve süt veriminde yeterli bir iyileştirme yapılamadığı belirtilmektedir [2]. Bu sebeple süt hayvancılığıyla ilgili yapılan çalışmalarda, herhangi bir kantitatif karakter ile ilgili genetik değerlerin tahmininde yüksek doğrulukta ve güvenilir yöntemlerin geliştirilmesine ihtiyaç duyulmuştur. Son 35 yıl içerisinde moleküler biyoloji alanındaki gelişmelerle birlikte, protein polimorfizmleri (kan serum ve süt proteinleri) ve DNA polimorfizmleri yöntemlerinin kullanılması, genetik değerlerin tahmininde doğruluğu arttırmış ve yapılan seleksiyonun erken yaşlarda uygulanabilmesini mümkün kılmıştır. DNA'daki nükleotid dizilim farklılıklarını gösteren DNA belirteçlerinin (marker) keşfedilmesiyle, literatürde bu belirteçler kullanılarak (MAS; marker assisted selection/ belirteç destekli seleksiyon) süt verimi ve sütün kompozisyonu ile ilgili ekonomik parametreleri iyileştirmeye yönelik çalışmalar

artmıştır. Ancak Türkiye’de bu çalışmalar yetersizdir. Moleküler belirteçlerin kullanımıyla, süt verimi ve sütün yağ, protein gibi önemli bileşenlerinin kalite ve miktarını iyileştirebilmek mümkündür.

Bu tez çalışmasında Kayseri ve Kahramanmaraş illerinde bulunan üç farklı çiftlikte yetiştirilen Holstein-Fresian (Siyah-Alaca) ırkı 182 baş sağmal inekten elde edilen DNA ve süt numuneleri çalışma kapsamında kullanılmıştır. Literatürce süt verimi ve bileşenlerine etkisinin olduğu vurgulanan, *PPARGC1A*, *GHR*, *ATF3*, *CSN3* ve *LGB(PAEP)* genlerinde konumlanmış olan belirli moleküler belirteçlerin YND teknolojisiyle incelenmesi ve bu belirteçler ile sütün ekonomik parametreleri arasındaki ilişkilerin tez kapsamında bahsedilen istatistiksel yöntemler ile belirlenmesi amaçlanmıştır.

1. BÖLÜM

GENEL BİLGİLER ve LİTERATÜR ÇALIŞMASI

1. 1. Sütün Besinsel Özellikleri ve İnsan Sağlığı İçin Önemi

Süt, “dişi memeli organizmaların dünyaya getirdikleri yavrularının besinsel ihtiyaçlarını karşılayabilmek için, organizmanın süt bezlerinde türden türe değişik sürelerde salgılanan, içerisinde içerisinde yavrunun kendi kendini besleyecek duruma gelinceye kadar, gerekli oranlarda besinsel maddeleri içeren, krem-beyaz rengi ve kendine has kokusu olan bir sıvıdır.”[14]. Sütün besinsel içeriği türden türe değişiklik gösterdiği gibi, hayvanın yaşadığı çevre koşulları, beslenme rejimine, laktasyon, yaş, enerji dengesi ve sağlık durumu gibi faktörlere göre de değişiklik göstermektedir. Gıda Endüstrisinde, süt denildiğinde genellikle “inek sütü” akla gelmektedir. Çünkü başta içme sütü olarak üretilen, ambalajlanan süt ve diğer süt ürünlerinin ham maddesi inek sütüdür. Bunun dışında farmakoloji, bebek mamaları için protein konsantreleri üretiminde, hayvan yetiştiriciliğinde besin materyali olarak, çeşitli süt mamullerinin üretilmesinde, yardımcı madde olarak çeşitli gıda ürünlerinin üretiminde, temel gıda maddesi olarak toplumun ihtiyaçlarının karşılanmasında, endüstriyel kazein ve laktoz üretiminde, süt kullanılmaktadır [14]. Süt içeriğindeki besinsel maddeler ve bu maddelerin insan sağlığı üzerine etkilerinden dolayı, sadece temel besin maddesi olarak değil aynı zamanda koruyucu bir gıda olarak da kabul görmektedir. Süt içeriği denildiğinde temel olarak lipidler, proteinler, aminoasitler, vitaminler, mineraller vb. ön plana çıkan bileşikler içerdiği gibi, immunoglobulinler, hormonlar, büyüme faktörleri, nükleotidler, peptidler, enzimler, farklı biyoaktif peptidler içermektedir. Ortalama olarak, 1L sütte 33g lipid bulunmaktadır (Tablo 1.1). Sütün lipid fraksiyonunun, %95’ini değişik uzunluklarda yağ asitlerinden (4-24 C’lu) oluşan Triasilgliseroller oluştururken, %2’sini diaçilgliseroller, %0.5’den az kısmını kolesterol, yaklaşık %1’lik kısmını fosfolipidler, %0.5’den az

kısmını ise serbest yağ asitleri oluşturmaktadır. Sütün yağ fraksiyonunun her bir bileşeni insan metabolizması için özel bir işleve sahiptir.

Tablo 1.1. Sütün bileşenleri, bu bileşenlerin diyetle alınması gereken referans miktarı karşılama oranı ve sağlık üzerine etkileri [15].

Süt Bileşeni	Tam yağlı süt içerisindeki konsantrasyon ^A	Diyetle alınması gereken referans miktarı karşılama oranı (0.5L süt) ^B	Sağlık üzerine etkileri
Yağ	33g/L		Yüksek Enerji
Doymuş yağ asitleri	19g/L		HDL miktarını yükseltir, LDL ve toplam kolesterolü düşürür, bakteri ve virüslerin inhibisyonu sağlar
Laurik asit	0.8g/L		Antiviral ve antibakteriyel etki gösterir
Miristik Asit	3g/L		LDL ve HDL konsantrasyonunu yükeltir
Oleik asit	8g/L		Hücre membran yapılarını stabilleştirir, koroner kalp rahatsızlıklarından korur
Linoleik Asit	1.2g/L		Omega-6-yağ asitleri için kaynak
Alfa-linolenik asit	0.75g/L		Omega-3-yağ asitleri için kaynak
Protein	32g/L	30-40%	Esansiyel amino asitler, biyoaktif proteinler ve peptidler için kaynak, gelişmiş biyoyaralanım
Laktoz	53g/L		Laktozülasyon ürünleri
Kalsiyum	1.2g/L	40-50%	Kemik, diş yapılarında, kan basıncında, kilo kontrolünde etkili
Potasyum	1.45g/L		Vücut asit dengesinin sağlanması, sinir sistemi ve kalp ritmi için önemli minerallerdir.
Magnezyum	130mg/L		Yaşlılar için astım tedavisinde kullanılır
Çinko	4mg/L	18-25%	Bağışıklık fonksiyonlarında ve gen ifadesinde etkili
Selenyum	37ug/L	30%	Kanser, alerji ve koroner kalp rahatsızlıkları üzerinde olumlu etki
Vitamin E	0.6mg/L	2%	Antioksidan
Vitamin A	280ug/L	15-20%	Görme ve hücre farklılaşması üzerine etkili
Folat	50ug/L	6%	DNA sentezi, hücre bölünmesi, aminoasit metabolizmasında etkili
Riboflavin (Vit. B2)	1.83mg/L	60-80%	Ariboflavinoz dan korunma üzerine etkili
Vitamin B12	4.4 ug/L	90%	Folat metabolizmasında önemli rolü vardır.

A:ABD Tarım Bakanlığı Gıda kompozisyonu verilerinden alıntı, **B:** Erkekler ve Kadınlar için günlük alınması gereken diyetle alınması gereken referans miktar.

Sütün yağ fraksiyonunun yaklaşık olarak yarısından fazlası (19g/L) doymuş yağ asitlerinden oluşmaktadır. Bu doymuş yağ asitlerinin her birinin fonksiyonları literatürde geniş bir biçimde çalışılmıştır [15]. Bunlardan, Bütirik Asit (4:0)'in iyi bilinen bir gen fonksiyonu düzenleyicisi olduğu ve kanserin önleyici rolünün olduğu bildirilmiştir[16]. Kaprilik (8:0) ve kaprik (10:0) asitlerin ise, antiviral aktivitelerinin olduğu ve tümör

gelişimini geciktirdiği bildirilmiştir [17]. Laurik asit (12:0)'in de aynı şekilde antiviral ve antibakteriyel fonksiyonlarının olduğu, anti plak ajanı gibi hareket edebileceği bildirilmiştir [18]. Benzer şekilde *Helicobacter pylori* bakterisinin gelişiminin Laurik asit tarafından inhibe edildiği bildirilmiştir [19]. Doymamış yağ asitlerinden olan, oleik asit, sütte konsantrasyonu en yüksek miktarda (8g/L) bulunan doymamış yağ asitlerindendir. Literatürde, oleik asidin LDL-kolesterol ve triaçil gliserol konsantrasyonunu düşürdüğü gibi, kalp rahatsızlıkları riskini düşürücü ve kanserden koruyucu etkilerinin olduğu bildirilmiştir [20, 21]. Süt içerisindeki Çoklu doymamış yağ asitlerinin (Polyunsaturated Fatty Acids/PUFA), süt içerisindeki miktarı yaklaşık 2g/L kadardır. Süt içerisindeki ana PUFA'lar ise, linonelik(18:2 omega-6) ve alfa-linolenik (18:3 omega-3) asitlerdir. Bu yağ asitleri vücuda alındıktan sonra, 20 karbonlu araşidonik asit (20:4 omega-6) ve eikozapentanoik asit (EPA, 20:5 omega-3)'e, ardından metabolik olarak çok aktif ve lokal fonksiyonları olan eikozanoidlere dönüştürülebilirler. EPA, omega-6 yağ asitlerinin zararlı eikozanoidlere dönüşmesini kısmen engelleyebilir. Bu sebeple, EPA kardivasküler riskleri azaltır ve tümör oluşumunu engelleyebilir [15].

Süt içerisinde yaklaşık %3.2 (Tablo 1.1.) oranında bulunan süt proteinleri ise, kimyasal yapıları ve fiziksel yapılarına göre iki ana kategoriye [kazeinler ve serum (peynir altı suyu/whey) proteinleri] ayrılırlar. Kazeinler, fosfor içeren ve pH 4.6'da pıhtı oluşturan yada çökelen proteinler iken, Serum proteinleri ise, fosfor içermezler ve pH 4.6'da çözelti halinde sütün bileşiminde bulunurlar. Kazeinler tarafından düşük pH'da pıhtı oluşumu yada çökelek/teleme oluşumu, peynir üretiminin temellerini oluşturmaktadır. Sütün protein fraksiyonunun, yaklaşık olarak %82'sini kazeinler oluştururken, geriye kalan %18'ini serum proteinleri oluşturmaktadır. Kazeinler kendi içinde 4 farklı gruba ayrılmaktadır (α -s1, α -s2, β ve κ). Her bir kazein türünün kendi amino asit kompozisyonu, genetik çeşitliliği ve fonksiyonel özellikleri vardır. Serum proteinleri ise, %50 β -laktoglobulin, %20 α -laktalbumin, ve geriye kalan fraksiyon ise, serum albuminleri, immunoglobulinler, laktoferrin, bir çok küçük protein ve enzimlerden oluşmaktadır [22]. Süt proteinleri insan beslenmesi için gerekli olan ve insan vücudunda sentezlenemeyen 9 esansiyel aminoasidin (fenilalanin, valin, treonin, triptofan, metiyonin, lösin, izolösin, lizin ve histidin) tamamını yapılarında bulundurlar. Ayrıca süt içerisindeki esansiyel amino asitlerin yanı sıra, dallanmış zincirli amino asitlerce zengindirler. Bu aminoasitlerin, hücrel protein sentezine substrat sağlamak, proteinlerin

yıkımını baskılamak, kaslarda protein sentezini başlatmak ve desteklemek, glukoneogenez'e substrat sağlamak gibi benzersiz görevlerinin olduğu kanıtlanmıştır. Özellikle kaslarda protein sentezi için esansiyel aminoasitlerin, elzem olmayanlara göre daha önemli olduğu belirtilmiştir [23-25]. Yapılan araştırmalar sonucunda sütün içeriğindeki lösin, izolösin, valin, lizin ve treonin amino asitlerinin, insülün salınımını tetiklediği, yüksek glisemik indeksli bir yemek ile birlikte süt tüketilmesi sonucunda, bu amino asitlerin kandaki tokluk kan şekeri konsantrasyonunun düşmesini sağlayabileceği bildirilmiştir [26]. Benzer şekilde, sütteki peptidler üzerine yapılan çalışmalar sonucunda, süt tüketimi ile kan basıncı arasında ters bir ilişki bulunduğu, sütteki peptidlerin angiotensin dönüştürücü enzimi (ACE) inhibe ederek, antihipertansif etki gösterdiği bildirilmiştir [27]. Taze süt içerisinde tatmin edici miktarda bulunan, sistein, glisin ve glutamat'dan oluşan, başka bir peptid yapı olan, glutatyon tripeptidinin, hücre içerisindeki reaktif oksijen türlerini silerek antioksidan etki gösterdiği bildirilmiştir[28].

Sütün bileşiminde, antioksidan fonksiyonları bulunan birçok mineral ve vitaminde bulunmaktadır. Süt içerisinde suda çözünebilen vitaminlerden, tiamin (vitamin B1), riboflavin (vitamin B2), niasin (vitamin B3), pantotenik asit (vitamin B5), piridoksin (vitamin B6), kobalamin (vitamin B12), vitamin C ve folat bulunabilmektedir. Süt riboflavin, vitamin B12 ve folat için iyi bir kaynak iken, diğer bahsedilen suda çözünür vitaminler, sütün içeriğinde eser miktarda bulunmaktadırlar. Riboflavin, hücre içerisinde önemli metabolik olaylardan sorumlu koenzimlerin bir parçasıdır. Ribonükleotid redüktaz metabolik yolağı üzerinden DNA onarımı ve glutatyon peroksidaz üzerinden antioksidan aktiviteden sorumludur. Süt içerisinde 1.83mg/L bulunur. Riboflavinin tavsiye edilmiş günlük alım miktarı ise kadınlar için 1.1 mg iken, erkekler için 1.3 mg'dır [15]. Vitamin B12, süt içersinde 4.4 ug/L kadar bulunur. Vitamin B12 sadece hayvansal gıdalarda bulunur ve metil grupları transferi yaparak folat ve homosistein metabolizmalarında rol oynar. Eksikliğinde ise, megaloblastik anemi ve myelin kılıf hasarı meydana gelebileceği bildirilmiştir [15]. Folat, inek sütünde 50µg/L kadar bulunur, yapılan çalışmalar sonucunda süt içeriğindeki folatın, 5-metil-tetrahidrofolat formunda bulunduğu tespit edilmiştir [29]. Yetişkinler için tavsiye edilen günlük tüketilmesi gereken folat miktarı ise, 400 µg'dır. Folat üzerine yapılan çalışmalar sonucunda, 5-metil-tetrahidrofolat ve dihidrofolatın, kolon kanseri hücrelerinin gelişimini durdurduğu bildirilmiştir [30]. Süt ayrıca, yağda çözünebilen vitaminleri (vitamin A ve E) de

içermektedir. Ancak, bu vitaminlerin sütteki miktarları, sütün yağ oranına göre değişiklik göstermektedir. Standart %3 yağlı bir süt için vitamin A ve E oranları tablo 1.1’de verilmiştir [15, 22]. Vitamin A, insan vücudunda görme, uygun büyüme, üreme, bağışıklık, hücre farklılaşması ve sağlıklı kemik, deri ve mukozal mebranların korunmasında rol oynamaktadır. Vitamin E, süt içerisinde tek bir bileşik halinde bulunmamaktadır, tokoferoller ve tokotrienollerle birlikte sütte bulunmaktadırlar. Süt içerisinde vitamin E’nin büyük bir fraksiyonu, alfa-tokoferol olarak (>%85) bulunmaktadır. Literatürde yapılan çalışmalar, Vitamin E’nin, kanser ve koroner kalp rahatsızlığı risklerini düşürdüğü, ayrıca T hücrelerini uyararak bağışıklık sistemini güçlendirdiği bildirilmiştir [31, 32]. Süt, vücut içerisinde değişik görevleri olan (enzim fonksiyonları, kemik oluşumu, vücut sıvı dengesi vb.) kalsiyum (Ca^{+2}), magnezyum (Mg^{+2}), selenyum (Se), çinko (Zn^{+2}) ve potasyum (K^{+}) gibi mineraller için de iyi bir kaynaktır. Sütün içerisindeki bir çok mineral, kalsiyum fosfat gibi tuzlar şeklinde bir arada bulunurlar. Süt içerisinde bulunan minerallerden, kalsiyumun %66’sı, Magnezyumun %35’i, ve fosfatın %57’si kazein miçellerine bağlı, kolloidal halde bulunurlar. Geriye kalan mineraller ise, serum fazında çözünür halde bulunurlar.

Vücutta sıvılarında ve dokularda bulunan selenyum konsantrasyonu direkt selenyum alımı ile ilişkilidir. Selenyum, bağışıklık ve antioksidan sistemler, DNA sentezi ve onarımındaki rollerinden dolayı insan sağlığı için önemlidir. Ayrıca, selenyumun bir çok kanser türüne karşı koruyucu etkilerinin olduğu bildirilmiştir. Normal dozlarda selenyum tüketiminin astıma karşı koruma sağlayabileceği, düşük selenyum tüketiminin ise, astım semptomlarını daha da kötüleştirdiği bildirilmiştir. Bunların dışında, selenyum eksikliğinin olumsuz ruh hallerine sebep olabileceği ve selenyumun tiroid hormonu metabolizmasında aktif olan enzimlerin bir bileşeni olduğu bildirilmiştir [15, 33]. Magnezyum, bir çok gıda da bulunabilen, sütün içerisinde de 130mg/L civarında bulunan bir mineraldir. Bu sebeple süt magnezyum içinde iyi bir kaynaktır. Yetişkinlerde tavsiye edilen tüketim miktarı erkekler için 400mg iken, kadınlar için 310mg’dır. Magnezyum eksikliğinin arteroskleroz ve oksidatif stress ile ilgili olduğu bildirilmiştir [15]. İnek sütündeki kalsiyum miktarı ise diyetle alınması gerekenin yaklaşık olarak yarısı (1.1 g/L) kadardır. İnsan beslenmesinde yeterli kalsiyum tüketimi çok elzemdir. Diyetle birlikte yeterli miktarda kalsiyum tüketilmesi, kemik ve diş sağlığını sağlar, kolon ve göğüs kanseri risklerini azaltır, kilo kontrolünü geliştirir ve böbrek taşı oluşum riskini azaltır.

Ayrıca, yeterli kalsiyum tüketiminin hipertansiyonu engellemeye yardımcı olabileceği, bildirilmiştir. Bu sebeple süt önemli bir kalsiyum kaynağı olarak ön plana çıkmaktadır [15, 22]. Benzer şekilde süt, yaklaşık olarak 4mg/L civarında miktar ile çinko içinde iyi bir kaynaktır. Çinko, önemli enzimler ve metalloproteinlerin gerekli bir parçasıdır. Çinkonun insan vücudunda DNA onarımı, hücre gelişimi ve çoğalması, gen ifadesi, protein ve lipid metabolizması, bağışıklık fonksiyonu, hormon aktivitesi gibi önemli fonksiyonları bulunmaktadır. İnsan beslenmesinde süt ile sağlanan çinkonun biyoyararlanımı, sebze yemekleriyle sağlanandan daha iyi olduğu bildirilmektedir. Bu sebeple, süt tüketimini de içeren bir diyetin toplam çinko biyoyararlanımını daha da geliştirebileceği bildirilmiştir [34].

1.2.Yeni Nesil Nükleik Asit Sekanslama (Dizileme) Teknolojileri

Son otuz yıl içerisinde, teknolojinin gelişimine bağlı olarak yaşam bilimleri araştırmalarında da kullanılan yöntemler oldukça gelişmiştir. Özellikle günümüzde, Sanger sekanslama teknolojisinden, yeni nesil sekanslama teknolojilerine geçiş yapılmış olması gıda bilimleri ve çiftlik hayvanları araştırmalarında kaydadeğer fırsatlar oluşturmuştur. Nükleik asit sekanslama teknolojilerinde, kimya, mühendislik, yazılım ve moleküler biyoloji alanlarının bir arada multidisipliner yaklaşımı sayesinde, yüksek iş/ürün hacimli inovatif platformların kullanımıyla, bir çok disiplinde (adli-tıp, hastalık teşhisi ve tedavi amacıyla yapılan tıbbi çalışmalar, gıda teknolojileri, tarımsal biyoteknoloji vb.) yapılan genomik çalışmalar sırasında yüksek hacimli veri üretmek ve bunların analizini yapmak mümkün olmuştur [35, 36]. Sürdürülebilir bir tarımsal genomik geliştirilmesi, sürdürülebilir üretkenliğin sağlanmasına yardımcı olabileceği gibi, artan dünya nüfusuna besin sağlama gibi sorunlara çözümler sunabilir. Son yirmi yıl süresince uygulamalı genetik alanında meydana gelen kaydadeğer gelişmeler, genom analizine yeni bakış açıları kazandırmıştır. Farklı biyoteknolojik tekniklerin gıda ve tarımsal araştırma programlarına dahil edilmesi genetik iyileşme (ıslah) oranını hızlandırdığı gibi, gıda, beslenme, sağlık, ekonomik ve çevre güvenliğine de katkı sağlamaktadır. Günümüzde gerçekleştirilmiş olan genom araştırma projeleri sonucunda belirlenmiş olan tam veya kısmi genom dizileri genetik kodun hücresel fonksiyonları nasıl yönettiğini daha iyi anlamamızı sağlamıştır. Bu sebeple, Yeni Nesil Nükleik Asit dizileme teknolojileri genetik ve genomik araştırmaların kapsamında önemli değişiklikler yapmıştır. Yeni nesil dizileme platform pazarında, dünya genelinde en çok kullanılan

cihaz Illumina HiSeq (%20) iken, bunu takiben sırasıyla, Roche 454 (%18), Ion Torrent ve Illumina MiSeq(%13), ABI SOLiD (%10), PacBio (%2) ve Oxford Nanopore MinION (%0.3) gelmektedir. Global Yeni Nesil Dizileme pazarının 2022 yılına kadar 14.7 milyar dolara ulaşması beklenmektedir. Teknolojik ve ekonomik özellikleriyle Nükleotid Dizileme Platformları tablo 1.1.' de mukayese edilmiştir. Birim maliyeti düşük ve yaygın olarak kullanılan bu tip nükleik asit dizileme teknolojileri mevcut biyolojik araştırmaları geliştirecek olmasının yanısıra, fare, maymun, köpek, inek, koyun, tavuk ve at gibi evcilleştirilmiş yada model olan organizmalar üzerinde çeşitli yeni genomik ve teknolojik araştırmaların hızlanmasına da olanak sağlayacaktır [37, 38].

Tablo 1.2. Yeni Nesil Nükleik Asit Dizileme Platformlarının Karşılaştırılması [36].

Platform	Dizileme Prensibi	Okuma Uzunluğu	Çalışma süresi	Doğruluk	Maliyet/Mb (\$)
Roche 454 GS	Piroidizileme	700 (FLX) 400(Junior)	24sa.(FLX) 10sa.(Junior)	99	31 (junior)
Illumina-Solexa	Floresans işaretli nükleotitleri emisyonu	36-100 (HiSeq) 30-300(MiSeq)	2-5g.(HiSeq) 27sa.(MiSeq)	99	5.87(HiSeq) 0.5(MiSeq)
ABI-SOLiD	Ligasyon temelli adaptör kürecikler ve emülsiyon PCR	75+35	7 gün	99.99	5.81
Ion Torrent PGM	DNA polimerizasyonu sırasındaki salınan H ⁺ iyonlarının tespiti	35-400	3 sa.	99	4.25 (316 Chip) 0.63 (318 Chip)
Pacific Bio. SMRT	Floresans emisyonu ile gerçek zamanlı tek molekül DNA dizileme	1000-3000	1-2 sa.	85-86	2. nesil platformlardan daha az
Oxford Nanopore Seq.	Nanopor membran ve ekzonükleaz temellik dizileme	>~200.000 baz	~2-48 sa. arası	90	~0.025 -0.04 arasında

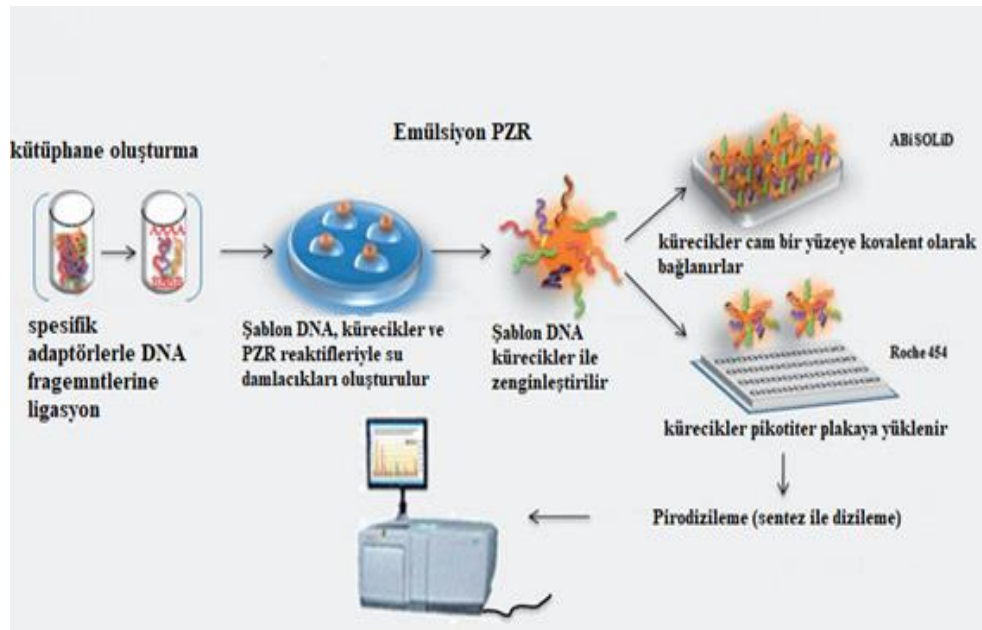
Mb:Mega baz, **Gb:** Giga baz

Yeni Nesil dizileme için geliştirilen ve halen geliştirilmeye devam edilen yöntemler; isabetli seleksiyon, hastalık dirençli hayvanların geliştirilmesi, biyoçeşitliliğin korunması ve ekonomik olarak önemli hayvancılıkla ilgili özelliklerin (süt verimi, et verimi vb.) de genetik tepkilerinin tahmin edilmesi gibi konularda önemli gelişmelere imkan sağlamıştır [36]. Nükleik Asit Dizileme teknolojisinin zengin bir tarihçesi bulunmaktadır. Ancak, modern dizilemenin temelleri 1977 yılında Maxam&Gilbert'in kimyasal degradasyon ve Sanger'in dideoxy yöntemini keşfetmesi başlamıştır. Her iki yönteminde birbirine benzerlikleri olsa da, kimyasal degradasyon yöntemi Sanger yöntemi kadar kabul görmemiştir. Kapiller elektroforez tekniğine dayanan Sanger dizileme yöntemi kullanımı yaygın olan ilk DNA dizileme teknolojisidir [39]. Sanger dizileme yönteminin yüksek hassasiyetine rağmen, sahip olduğu teknik kısıtlamalardan dolayı, sağlam DNA

dizileme teknolojilerine yüksek bir talep oluşmuştur. Daha sonraki geliştirmelerle, DNA dizileme teknolojilerinin ilk nesili olarak kabul edilecek olan, otomatize flüoresans tekniği ile Nükleik asit dizileri analiz edilebilmiştir. Applied Biosystems 1986’da, flüoresans dizileme teknolojisini piyasaya sürmüştür. DNA’nın küçük fragmentlerini analiz edebilen, bu modifiye edilmiş Sanger DNA dizileme teknolojisi, 1990 yılında başlayan İnsan Genom Projesinde kullanılmıştır. 2003 yılında sonuçlanan proje için, dünya çapında kamusal gayret gösterilmiştir, Wellcome Trust (Birleşik Krallık) ve Tıbbi Araştırma Konseyi kurulduktan sonra da DNA dataları bütünleştirilmiştir. Sanger yöntemi ile dizilenen, 3.2 milyar baz çifti insan genomu, yaklaşık 10 yıllık bir çabaya ve 3 milyar \$’a mal olmuştur. Projenin başarılı ve umuma açık olması, düşük maliyetli ve yüksek iş hacimli DNA dizileme teknolojilerine olan talebin artmasına yardımcı olmuştur. Özellikle İnsan Genom projesinden sonra yapılan ar-ge faaliyetleri sonucunda günümüzde kullandığımız yeni nesil dizileme teknolojileri geliştirilmiştir. “Yeni nesil dizileme (YND)” ve/veya “çok büyük ölçekte paralel” DNA dizileme terimleri, tek reaksiyonda yüksek sayıda farklı DNA dizilerini analiz edebilen teknolojiler için kullanılmaktadır. Yıllar içerisinde YND teknolojileri ile bir çok alanda, transkriptomik analiz, de novo montaj (assembly), genotiplendirme, hedeflenmiş veya tüm genom dizileme, kopya sayısı çeşitliliği analizi, ekzom dizileme, DNA metilasyonu, tek nükleotit polimorfizmi (SNP) tespiti, protein-protein etkileşimi analizlerinin yapılması mümkün olmuştur. YND tekniklerinin genel prensibi ise, her bir hedef DNA fragmentine sentetik DNA adaptörlerinin, DNA ligaz ile kovalent bağlanması ve bu fragmentlerin katı bir yüzeyde *in situ* amplifikasyonuna dayanmaktadır. Ayrıca, YND teknikleri Sanger dizileme gibi, klonlama aşaması gerektirmezler. Sanger platformlarından sonra ticari olarak temin edilebilen, kütüphane hazırlamak için birbirinde farklı stratejileri olan, herbirinin avantajları ve dezavantajları olan DNA dizileme cihazları “İkinci Nesil” platformlar olarak adlandırılmaktadır. İkinci Nesil DNA dizi analizi cihazları (Roche 454, Illumina, ABI SOLiD), tek molekül DNA şablonlarını analiz etmek için yeterince hassas değilken, üçüncü nesil DNA dizileme cihazları (PacBio, Oxford Nanopore) PCR ile ön-amplifikasyon gerektirmedikleri gibi hassastırlar. Bu bahsi geçen DNA dizileme platformları ve biyokimyasal mekanizmaları hakkında her bir başlıkta kısaca bilgi verilecektir.

1.2.1.Roche 454 Pirodizileme Tekniği

Pirodizileme tekniği temel olarak, termo-kararlı bir polimeraz enzimi ile gerçekleştirilen DNA sentezi sırasında salınan pirofosfatın tespit edilmesine dayanmaktadır. İlk başarılı ticari yeni nesil dizileme sistemi olan pirozilime Melamade (1985) tarafından tarif edilen sentez ile dizileme (sequencing by synthesis/SBS) teorisinden yola çıkılarak geliştirilmiştir. Bu tekniğin sonraki yıllarda daha da geliştirilmesi sonucunda işaretli nükleotidler kullanılmıştır. Roche Life Sciences tarafından otomatize olarak geliştirilen 454 pirodizileme tekniğinde, DNA fragmentleri, amplifikasyon kürecikleri olarak isimlendirilen özel bilyeciklere ilgisi olan spesifik adaptörlere ligasyon ile bağlanır. Sonraki adımda, küreciklere bağlanmış fragmentlere DNA polimeraz ve primerler eklenir ve ip üzerine sabitlenmiş bu küreciklere nükleotitler sıra ile eklenir ve tamamlayıcı DNA zincir sentezi başlar. Sentez sırasında, primere DNA polimeraz tarafından bir nükleotit eklendiğinde bir pirofosfat molekülü salınır [40]. Sonra pirofosfat molekülü ATP'ye dönüştürülür, ardından ATP ise lusiferaz enzimi tarafından luciferin'i oksilusiferin'e dönüştürmek için kullanılması sonucunda ışıma meydana gelir ve cihaz tarafından bu ışımanın görüntüsü alınır ve niceliği belirlenir (şekil 1.1.).



şekil 1.1. Pirodizileme ve SOLiD Dizilemede Kullanılan İş Akış Protokolleri [36].

Pirosekanlamanın en büyük avantajı, diğer YND tekniklerine göre daha uzun okuma uzunluğunun olmasıdır. Homopolimerlerin tekrar sayısı, daha az sayıda numune okunması ve baz başı okuma maliyetinin yüksek olması ise ana dezavantajlarıdır.

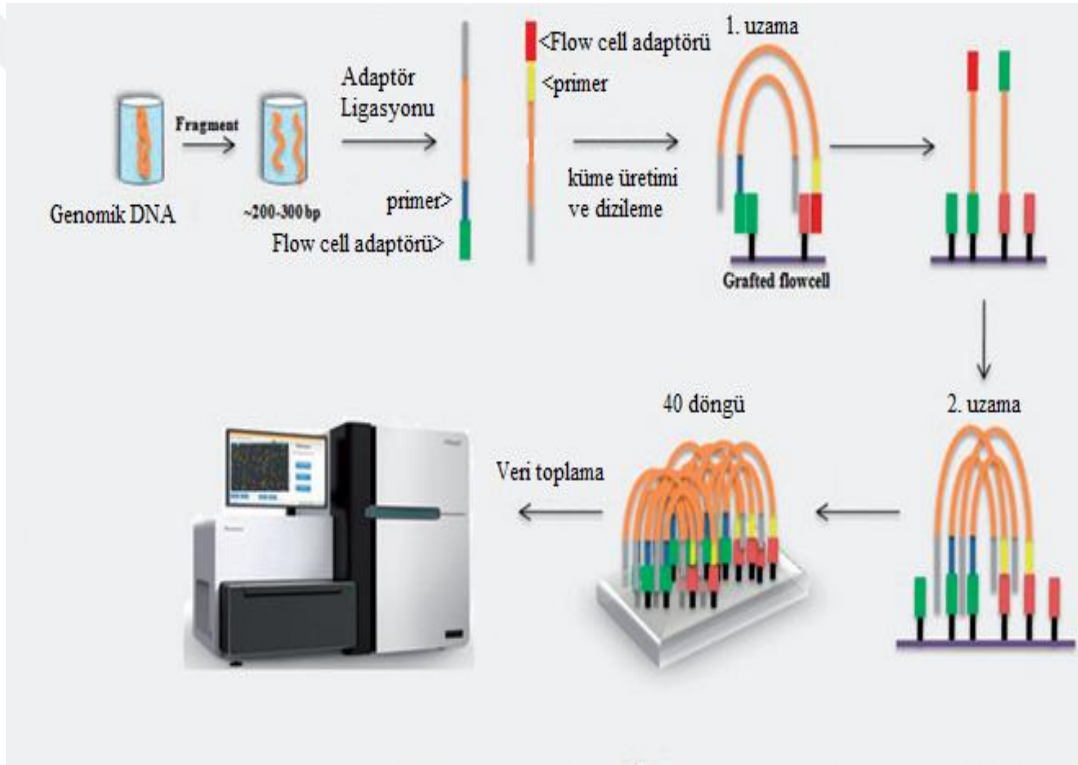
1.2.2. ABI SOLiD Platformu

SOLiD platformu Harvard Tıp ve Howard Hughes Tıp Enstitüsü tarafından dizayn edilmiş ve ticari olarak ABI (Applied Biosystems) tarafından kasım 2007’de piyasaya sürülmüştür. SOLiD sistemi, kademeli ligasyon ile kitlesel paralel dizileme prensibine göre çalışmaktadır. Bu süreç prob hibridizasyonu, ligasyon, tespit etme ve prob ayrılması aşamalarını kapsamaktadır. İlk aşamada analiz edilecek DNA fragmentleri adaptör molekülüne ligasyon ile bağlanmasından özel küreciklere bağlanırlar. Daha sonra, bu DNA fragmentleri emülsiyon PCR ile amplifiye edilir. Ardından seçili küreciklere bağlı olan şablon DNA, 3’ modifikasyon geçirir ve camdan bir destek yüzeye kovalent bağ ile tutturulur. Ligasyon dizileme de, primerin, adaptöre hibridize olmuş DNA şablonuna bağlanmasıyla dizileme işlemi başlar. Ardından, ortamda bulunan dört farklı floresans işaretli iki bazlı problemler (A, T, G ve C bazlarına spesifik) primerin 3’ pozisyonundan DNA şablonuna bağlanmak için yarışır, bağlanamayan problemler ise, yıkanarak ortamdan atılır. Bir sonraki döngüde ise, önceki primerin n-1 pozisyonundan (bir baz eksik) tamamlayıcısı olan yeni bir primer ile şablon yenilenir ve ardından floresans deteksiyon gerçekleştirilir. Analiz edilen şablondaki tüm dizinin floresans ışıması görüntüleninceye kadar ligasyon döngüsü devam eder. Hata oranını düşürmek için, elde edilen renkli kodlanmış dizideki her şablon bazı iki kez sorgulanır [37]. Daha sonra renkli kodlanmış dizi nükleik asit dizisine dönüştürülür. SOLiD dizi analizi cihazı 6 dakikalık sürede 4cigabazlık dizilenmiş data oluşturabilmektedir. İki bazlı yüksek kalitede ligasyon ve her döngüde primer yenilenmesi (n-1) fonksiyonları sayesinde, SOLiD sisteminin gerçekleştirdiği büyük ölçekli yeniden dizileme işlemini doğruluğunu arttırmıştır. Ancak, dizileme için yanlış renk kodlamasının kullanılması kod çözme hatalarına sebep olabilmektedir [38].

1.2.3. Illumina (Solexa) Dizileme Platformu

1990’ların ortasında Balasubramanian ve Klenermanın, floresans işaretli nükleotitleri tek molekül seviyesinde polimeraz aktivitesi gözlemlemek için kullanmasından sonra, 1998 yılında Solexa şirketi kurulmuştur. Kümeleme teknolojisinin tek DNA moleküllerinin

çoğaltılması için bu platformda kullanılması, güçlü sinyaller üreterek sistemin doğruluk ve kesinliğini arttırırken, diğer bir taraftan da sistemde kullanılan optiklerin maliyetini azaltmıştır. Haziran 2006’da ilk Solexa marka nükleik asit dizileme sisteminin (Genome Analyzer) piyasaya sürülmesinden bir yıl sonra solexa Illumina tarafından satın alınmıştır. Bu Nükleik asit dizileme teknolojisi kütüphane hazırlama, küme oluşturma, dizileme ve veri analizi gibi temel basamaklarla çalışmaktadır. Bu sistem ile DNA dizilemek için ilk önce, DNA fargmentleri hem 5’ hemde 3’ uçlarından spesifik adaptörlere ligasyon ile bağlanırlar, ardından DNA zincirleri denatüre edilir ve katı bir destek üzerine adaptörler aracılığıyla bir uçtan sabitlenirler [41].



Şekil 1.2. Yüksek Hacim ve Eşleştirilmiş Uç Modülüyle Illumina Dizileme Sistemi Konsepti [36].

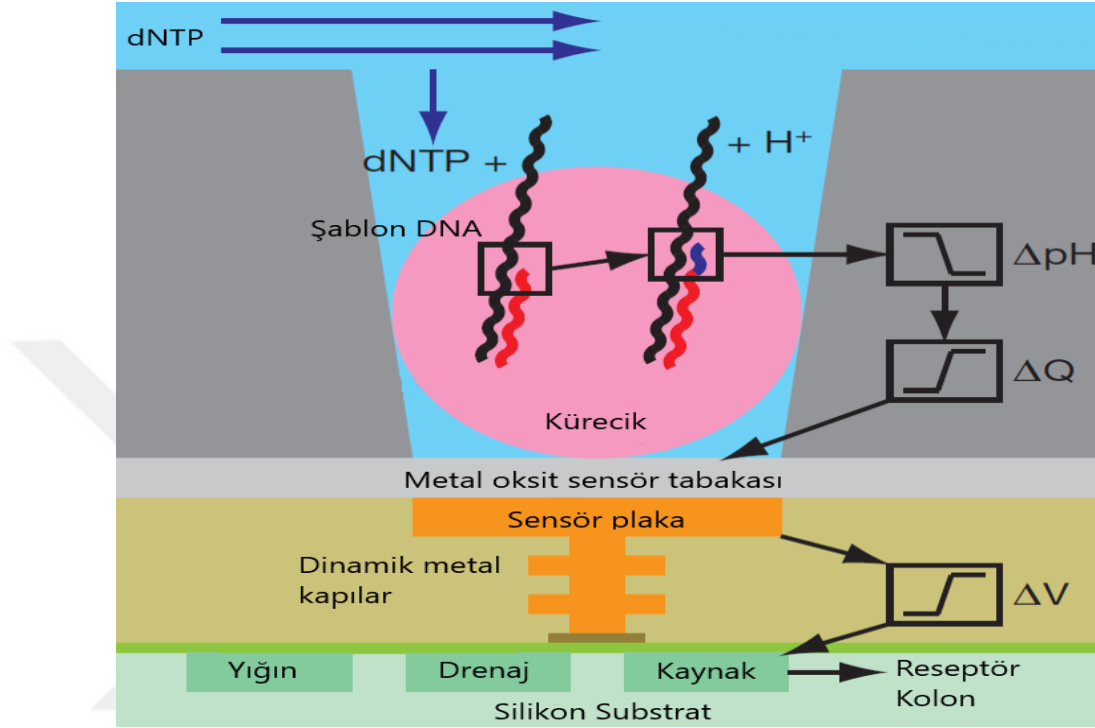
Bir sonraki aşamada ise, DNA fragmentlerinin kütüphanesini hazırlamak ve küme (yığın) oluşturmak için, adaptörlere göre bir seri ileri ve geri oligonükleotidler (barkod) kullanılır. Her bir bazı tespit etmek için Sanger metodunda kullanılan, primer uzamasını kalıcı olarak sonlandıran modifiye nükleotidler (ddNTP) yerine, dönüştürülebilir terminatör nükleotid (dNTP) kullanılarak dizileme yapılır. Kullanılan dNTP’lerin her biri adenin, timin, guanin ve sitozin bazlarına spesifik olarak farklı floresans boyalarla işaretlenmiştir. Bu nükleotidler 3’ pozisyonundan bölünebilir sonlandırıcı kısım ile

modifiye edilmiştir. Sentezin her döngüsünden sonra floresans sinyal ölçülür ve nükleotidlerden 3' engelleme grubu ve floresans boya çıkarılır. Hedef alınan tüm DNA molekülü dizilenene kadar bu döngü devam eder (Şekil 1.2). Illumina cihazlarından alınan en yaygın çıktı formatı ise FASTQ dosyalarıdır. Bu dosyaların içerisinde her baz için kalite skorlarının yer aldığı kısa okumalar bulunmaktadır. Veri analizi yapılabilmesi için, FASTQ dosyalarının biyoinformatik veri yolları ile BAM., BAM.BAI. ve VCF. dosyalarına dönüştürülmesi gerekmektedir. Günümüzde kullanılan Illumina sistemleri ile tek çalışmada 85 gigabayt data işlenebilmektedir (HiSeq 4000, 3000).

1.2.4. İyon Yarı İletken (Ion Torrent) Nükleik Asit Dizileme Teknolojisi

İyon yarı iletken nükleik asit dizileme teknolojisi, DNA zincirinin polimerizasyonu sırasında açığa çıkan hidrojen (H^+) iyonlarının eş zamanlı olarak bir sensör ile belirlenmesi temeline dayanmaktadır. Bu sistemlerde, ne işaretlenmiş oligonükleotitler ne de pahalı optikler kullanılmamaktadır. Sistemin öne çıkan özelliği ise hızlı olmasıdır, Life Technologies (Ion Torrent) insan genomunu bir gün içerisinde 1000 \$ maliyetle analiz edebileceklerini beyan etmektedirler. Illumina sistemlerinde olduğu gibi bu sistemlerde de analiz dört basamaklı iş akışı (Kütüphane oluşturma, Şablon hazırlama, dizileme ve veri analiz) ile gerçekleşmektedir. Dizileme için, ilk aşama da DNA fragmentlerine ligasyon ile adaptör dizileri eklenir ve bu aşaması by-pass etmek için primer dizayn edilirken 5' kısmına adaptör dizileri de eklenebilir. Daha sonra Emülsiyon PCR ile çoğaltılan DNA fragmentleri çiplere uygulanır. DNA uzaması primer ile başlatılmış DNA zincirine yeni bir nükleotidin eklenmesiyle ortama pozitif yüklü hidrojen salınmakta bu ise reaksiyon çözeltisinin pH'sını değiştirecek ve bu değişim iyon duyarlı alan etkili transistör olarak adlandırılan sensörlerce tespit edilecektir (Şekil 1.3). Eklenen dNTP, uzayan zincirin kalıp zincirdeki tamamlayıcı değilse, herhangi bir nükleotit eklenmediği için biyokimyasal bir reaksiyonda meydana gelmeyecek ve pH değişimi meydana gelmeyecektir. İyon dizilemede analiz edilen A, C, G, T bazları yarı iletken çiplere ikili sistemde (1, 0) kodlanmaktadır. Daha sonra, çipten alınan elektriksel sinyaller halinde alınan veri, nükleik asit dizisine dönüştürülmektedir [42]. Avantajlarının aksine, sistemin okuma kesinliği önemli bir mevzudur. Cihaz tarafından üretilen yüksek gürültülü sinyal nükleotit dizisine dönüştürüldüğünde yüksek hata oranlarının meydana gelmesine sebep olabilir. Ayrıca, zaman içerisinde meydana gelebilecek sinyal bozunumları, Sinyal/Gürültü oranının azalmasına sebep olacaktır. Ion torrent

platformlarındaki hata oranları %1.8 olarak rapor edilirken bu rakam Illumina platformlarından elde edilen datalarda %0.4'den aşağı olarak rapor edilmiştir [36, 41]. Bu durum ise İyon yarı iletken dizilemenin kısıtlayıcı özelliği olarak ön plana çıkmaktadır.



Şekil 1.3. İyon Yarı İletken Nükleik Asit Dizilemenin Çalışma Prensibi [43].

1.2.5. Tek Molekül Yeni Nesil Nükleik Asit Dizileme Sistemleri

1.2.5.1. Pacific Biosciences (Tek Molekül Gerçek Zamanlı/SMRT) Dizileme Platformu

SMRT dizileme platformları ile gerçek zamanlı yüksek hassasiyetli sinyal görüntüsü alma, DNA polimeraz ile üretilen datayı paralelleştirme ve kesintisiz DNA şablonu yönelimli sentez ile nükleik asit dizi analizi yapmaktadırlar. Diğer yeni nesil dizileme platformlarının aksine, bu platformlarla çok uzun okumalar yapmak mümkündür. Pacific Biosciences (PacBio) Şirketi, 2011 yılında SMRT dizileme sistemini ticarileştirmiştir. PacBio teknolojisinin okuma uzunluğu ortalama 1200 baz iken, bu sayı 1000 ile 3000baz arasında değişiklik göstermektedir. SMRT teknolojisi iki önemli yenilik üzerine inşa edilmiştir. Bunlar; sıfır mod dalga kılavuz çipleri (zero-mode waveguides/ZMW) ve fosfo bağlantılı nükleotitlerdir. Nanoteknoloji ürünü ışık odaklama yapıları olan sıfır mod dalga kılavuz çipleri, silikon-su yüzeylerin üzerinde normal düzenli bir dizi ile onlarca yada

binlerce ZMW kuyucuğun entege edilmesiyle üretilebilirler. Dizileme işlemini oluşturan tüm süreç, içerisinde tek molekül DNA polimeraz bulunan bu ZMW kuyucuklarında meydana gelmektedir. Yaklaşık boyutları 70nm çapında ve 100nm derinliğinde olan bu kuyucuklar dizileme işleminin gerçek zamanlı olarak hassas dedektörler tarafından görüntülenmesine imkan sağlamaktadır. DNA polimerizasyonu sırasında, her nükleotit, kuyucukların üzerine önceden ilave edilen, değişik renkli floroforlar ile işaretlenmektedir. Dizileme esnasında, florofor işaretli nükleotitler DNA polimeraz enziminin aktif bölgesinden analiz edilen DNA zincirine bağlanırken, floresans ışıma verirler, ve bu tek nükleotitlerin ışıması ZMW kuyucukları içerisinde çok hassas bir şekilde algılanıp bilgisayar yazılımına veri olarak aktarılmaktadır. Yapılan deneyler sonucunda SMRT dizileme ile normalden 15 kat daha uzun konsensüs dizleri %99.3 doğrulukla ve florfor bağımlı hata oranlarının her hangibir sistemik hata göstermeden analiz edilebilmiştir [41]. PacBio 2015 yılında ise ortalama okuma uzunluklarını 15-20kbaz'a çıkartmıştır. Dizileme maliyeti çoğu 2. Nesil dizileme platformlarından düşük olan SMRT dizileme, halen geliştirme sürecindedir.

1.2.5.2. Oxford Nanopor Nükleik Asit Dizileme Platformu

Oxford Nanopor teknolojisi ile DNA, RNA, protein ve tek moleküllerin direk elektronik analizi yapılabilmektedir. Minimum enzim gerekliliği, ligaz enziminin kullanımına ihtiyaç duyulmaması ve düşük dizileme maliyeti bu dizileme platformlarının öne çıkan avantajlarıdır. Nanopor dizileme teknolojisinin en önemli özelliği biyolojik yada katı hal bir membran üzerine nano boyutta açıklıklar (yaklaşık 1nm) oluşturan nanopor denilen bakteriyel yada sentetik proteinleri membrana sabitlenmiş olmasıdır. Bu sayede membran tabaka üzerinden nükleik asit transferi yapılabilecek açıklıklar meydana gelir. Birbirinden nanoporların gömülü olduğu bir membran ile ayrılan iki elektrolit ortama çok düşük bir elektriksel akım uygulandığında (~100 mV) porlardan geçen iyonik akım hassas sensörler ile ölçülebilmektedir. Membran üzerinden sürekli bir iyonik akım geçirildiğinde, nanoporlardan biyolojik moleküllerin geçişi sırasında, akım şiddetinde geçirilen moleküle özgü (A, C, T, G bazlarına spesifik) bir düşüş meydana gelir. Akım bilgilerindeki değişikliğin ölçülmesiyle ve elektriksel sinyal olarak bilgisayara aktarılmasıyla bilinmeyen moleküllerin tanımlanması mümkün olmuştur [44]. 2014 yılında beta testlerinin yapılması için, dünya çapında seçilmiş bazı laboratuvarlara dağıtılan, içerisinde nanoporlar (R7) içeren 512 kanal bulunduran MinION dizi analizi

cihazlarının saniyede 10 baz okuyabildikleri bildirilmiştir. Bu teknoloji ile 1 cıgabazlık bir tek molekül nükleotit dizisini 25-40\$ gibi bir maliyetle gerçek zamanlı olarak okunabildiği kanıtlanmıştır. Ayrıca, biyoinformatik data analizleri diğer kısa zincir okuyan dizileme cihazlarına göre daha kolaydır, çünkü elde edilen nükleotit dizilerinin hizalanması ve montajı daha kolaydır. Her ne kadar Nanopor nükleik asit dizileme aygıtları, umut verici bir araç olarak ortaya çıksa da, daha tam olgunlaşmış bir teknoloji olduğu için hala kavram ispatı aşamasındadır. Sistemin analiz doğruluğu (%90), Illumina sistemlerinin analiz doğruluğundan (%99) daha düşüktür. Oxford Nanopor teknolojileri, 2016 yılında, akış hücreleri ve kullanılan nanopor kimyasında (R 9.4) yaptıkları güncellemelerle %90'nın biraz üzerinde bir doğrulukla saniyede 240 baz okuma yapmayı mümkün kılmıştır [36].

1.3. YND Teknolojilerinin Geliştirilmesine Kadar Olan Süreçte Sığır Genom Araştırmaları

Sığır (*Bos taurus*) genomu üzerine yapılan araştırmalar, Amerikan Ulusal Sağlık Enstitüleri ve ABD Tarım Bakanlığının İnsan genom projesinin öncül başarılarından yararlanmak ve hayvan genom projesinde önemli bir ilerleme kaydetmek amacıyla “Çiftlik Hayvan genomu için ufukları keşfetmek (Exploring horizons for domestic animal genomics)” temalı bir çalıştay düzenlemelerinin ardından, 2009 yılında tüm sığır genom dizisi kamu veritabanlarında yayınlanmıştır [45]. Maryland Üniversitesi biyoenformatik ve işlemsel biyoloji merkezinin raporlarına göre, NCBI’da UMD 3.1 koduyla yayınlanan *Bos taurus* tüm genomunun 2.86 milyar baz çiftinden oluştuğu bildirilmiştir [46].

ABD Tarım Bakanlığı, Tarımsal Araştırma Hizmetleri (USDA-ARS) Betsville Tarımsal Araştırma Merkezinde, 1952 ile 1999 yılları arasında doğan 5369 baş Holstein (Siyah-Alaca) sığır, Illumina BovineSNP50 BeadChip (mikroarray) ile genotiplendirilmiştir. Gibbs vd. [45] tarafından, 497 baş coğrafi ve biyolojik olarak 19 farklı sığır ırkı üzerine yapılan bir çalışma sonucunda, 37.000 farklı tek nükleotit polimorfizmi (SNP) ile ırklar arasındaki genetik çeşitlilik açığa çıkarılmıştır [47, 48]. YND teknolojileri öncesinde sanger dizileme ile yapılan analizler sonucunda tamamen ortaya çıkarılan sığır genomunun dizileme maliyetinin rat genomu ile yaklaşık maliyette (~50 milyon \$) olduğu bildirilmiştir. Geçen zaman içerisinde, sığır genomu araştırmacılarının genom

datalarını daha kaliteli yorumlayabilmesi için, sığır genom veritabanında (bovinegenome.org), BovineMine ve JBrowse/WebApollo gibi biyoinformatik aletler kullanıma açılmıştır [49]. Sığır genomunun Btau 3.1 (gene spesifik analizlerde kullanılan) ve Btau 4.0 (kromozom üzerinde belirli dizilerin haritalanmasında kullanılan) asembleleri ilk başlarda bakteri yapay kromozomu kullanılarak yapılırken, daha sonradan WGS (whole genome shotgun) dizileme yapılmıştır. Genom araştırmalarında kullanılan Hereford ineğinin ilk defa yapılan (%99.2 doğrulukla) tüm genom dizilemesi sonucunda en az 22.000 genden oluştuğu ve bu genlerden 14.345 adedinin diğer yedi farklı memeli türü ile ortolog (benzer nükleotid dizilimi ve benzer fonksiyona sahip) olduğu bildirilmiştir [36]. Sığır türünün gen yorumlanması, UniProt, NCBI RefSeq, ve INSDC gibi 3 ana kaynaktan elde edilen protein dizilerinin karşılaştırılarak analiz edilmesiyle yapılmıştır. Sığır modelinin insan sağlığı ile ilgili çalışmalar da kullanılması uygun bulunmuş ve bu modelin kullanımı insanlarda hormonal, fizyolojik ve üreme hastalıklarının anlaşılmasına yardımcı olmuştur. Sığır modeli, insanlar ve kemirgenler ile karşılaştırıldığında bağışıklıkla alakalı gen ailelerinin organizasyonunda önemli farklılıkların olduğu tespit edilmiştir. Bu durumun sığır türünün yıllar içerisinde gelişimi sırasında, değişik enfeksiyon hastalıklarına maruz kalması ve uyum sağlamasından ileri geldiği anlaşılmıştır. Yapılan genom dizileme ve transkriptom profil analizleri, belirli genlerde meydana gelen mutasyonların hayvandan hayvana süt verimi ve sütün bileşenleri üzerinde değişikliğe sebep olduğu anlaşılmıştır [50].

Sığırların evcilleştirilmesine/ehlileştirilmesine katkıda bulunan fenotiplerin seçimi genom içerisindeki değişkenliğin kapsamını ve dağılımını etkilediği gibi, kromozomal bölgelere tabi seçici taramalarda varyasyon kaybına neden olmuştur. Literatürde, Lewontin&Krauer yaklaşımı, genetik otostop teorisi ve uzun menzilli haplotip homozigotluk düzenleri, yoğun SNP haritalarından seleksiyon yapmak için kullanılmıştır. Bu tez çalışmasında uygulandığı gibi, seçici taramaların başarılı bir şekilde yapılması için sığır popülasyon havuzlarının DNA dizi analizinin yapılması ve seleksiyon için genomik bölgelerinin yada SNP'lerin belirlenmesi popüler bir strateji olmuştur [51]. Chen vd. [52], Çin Holstein ve Simmental Popülasyonları üzerine yaptıkları bir çalışmada, Avrupalı Holstein ve Simmental popülasyonuna ait genom dizilerini referans olarak kullandıkları genom analizi sonucunda, Çin Holstein popülasyonunun, Avrupalı Holstein popülasyonu ile aynı genomik şablona sahip

olmasının yanısıra, Çinli Simmental popülasyonunun, Avrupalı Simmental popülasyonuna çok benzer ilişkiler gösterdiğini tespit etmişlerdir. Bu sebeple iki popülasyon arasında artan mesafeyle birlikte, nötral multi lokus farklılaşması arasında kuvvetli bir etki olduğu söylenebilir [51]. Illumina BovineSNP50 kiti kullanılarak, 14 farklı sığır ırkında yapılan bir çalışmada, iki yada daha fazla ırk tahmini ortalama olarak 441.314 bazlık bir bölge ortaklık gösterirken, buna karşılık ırka özel yapılan taramalarda 207.050 baz ile 702.424 baz arasındaki değişen uzunluklardaki bölgelerde ırka spesifik olarak belirlenmiştir [53]. Günümüzdeki sığır nicel özellik lokusları (Quantitative Trait Loci/QTL) veritabanı, ekonomik açıdan önemli sığır fenotiplerinin büyük bir çoğunluğunu temsil eden, toplamda 376 fenotipik özellik için 4682 QTL'den oluştuğu bildirilmiştir [54]. Son zamanlarda, mRNA seviyesinde yapılan gen ekspresyonu çalışmaları, beklenmedik genlerinde ineklerde süt üretimi, kas gelişimi ve büyüme ile ilişkili olduklarını göstermiştir. Sığır genomu üzerine yeni nesil dizileme ile yapılan çalışmaların önemli ölçüde artması sonucunda yeni moleküler işaretçi olarak kullanılabilme potansiyeli olabilecek mevcut gen polimorfizmlerinin sayısını artmasına neden olmuştur. Ayrıca, miRNA ekspresyon profillerinin ise bağışıklık ve enfeksiyonlar hakkında önemli bilgiler verdiği ve bunların biyobelirteç olarak kullanılabileceği bildirilmiştir [55].

1.4. Multivariate Adaptive Regression Splines (MARS) Algoritması

Regresyon analizi denildiğinde, bir veya birden fazla bağımsız değişken ile tek bir bağımlı değişken arasındaki karşılıklı etkileşimin açıklandığı bir istatistiksel analiz yöntemi olarak akla gelmektedir. Regresyon analizlerinde, kolayca ölçülebilen parametreler olan bağımsız değişkenleri (faktörler) kullanarak, ölçülmesi ve/veya anlaşılması kolay olmayan bağımlı değişken için bir prediktif (tahminleyici) denklem oluşturmak, başka bir deyişle regresyon analizi ile tahmin edilen değer ile bağımlı (response) değişkenin gerçek değeri arasındaki farkı azaltmak (korelasyonu arttırmak) amaçlanır. Çoklu Doğrusal Regresyonlarda (Genelleştirilmiş Doğrusal Modellerde), regresyon katsayıları ile ilgili parametrelerin tahmininde En Küçük Kareler yöntemi kullanılmaktadır. Fakat, bazı temel hipotezlerin sağlıklı bir analizde olması gerektiği gibi gerçekleşmesi durumunda bu yöntemle elde edilen parametre tahminleri de güvenilir olmayacaktır. Benzer şekilde çoklu doğrusal regresyon analizlerinde bağımsız değişkenler arası yüksek korelasyon kaynaklı multicollinearity (çoklu bağlantılılık)

problemleri, R^2 değerlerinde ciddi düşüşlere sebep olacaktır. Bu durumda doğrusal regresyon yerine alternatif istatistiksel modellerin kullanılması daha doğru olacaktır [56, 57]. Çoklu doğrusal regresyon yöntemine alternatif olarak Temel Bileşen Regresyonu (Principal Component Regression), Lojistik Regresyon (Logistic Regression), Aşamalı Regresyon (Stepwise regression), Faktör analizi skorları ile çoklu regresyon analizleri akla gelmektedir. Bunların dışında, CHAID (Chi-Square Automatic Interaction Detector/ Ki-kare otomatik etkileşim algıyıcı), CART (Classification and Regression Trees/ Sınıflandırma ve Regresyon Ağaçları), ANN (Artificial Neural Networks/ Yapay Sinir Ağları), MLPNN (Multilayer Perceptron Neural Network/ Çok katmanlı Algılayıcı Sinir Ağları), RBFNN (Radial Basis Function Neural Network/ Radyal Temel Fonksiyon Sinir Ağları), MARS (Multivariate Adaptive Regression Splines/ Çok Değişkenli Uyarlanabilir Regresyon Uzanımları), veri madenciliği algoritmaları ön plana çıkmaktadır. Ancak, literatürde yapılan çalışmalarda bu yöntemlerin içinden ANN ve MARS algoritmalarının daha doğru ve güvenilir sonuçlar verdiği, MARS algoritmasının analiz edilen bağımlı değişken hakkında daha bilgilendirici (informatif) olduğundan bahsedilmektedir [11, 57]. MARS algoritmasının gıda ve tarımsal bilimlerde fazla uygulamaları bulunmamaktadır [58]. Grzesiak vd. [59], ineklerde suni tohumlama güçlüğü olan bireyleri tespit etmek için, makine öğrenmesi algoritmaları ve istatistiksel yöntemler kullanarak yapmış oldukları bir çalışmada, en iyi sonuçların ANN ve MARS algoritmaları ile yapılan analizlerden elde edildiğini bildirmişlerdir. Zhang ve Goh, [60] inşaat kazıkları ile ilgili, 4072 kazık verisinden oluşan bir veri seti ile ANN ve MARS algoritmalarıyla yaptıkları çalışmada, MARS algoritmasının hesaplamalarda daha verimli olduğu, ve esnek modeller oluşturulması açısından, ANN'ye göre daha kullanışlı olduğundan bahsetmişlerdir. Aksoy vd. [61], Ağrı, Kars ve Erzurum illerindeki 180 farklı arıcılık işletmesinden aldıkları veriler ile bal üretiminin üzerine etki eden parametrelerin Çoklu Doğrusal Regresyon analizi, CHAID ve MARS algoritmalarıyla yaptıkları bir çalışmada, CHAID algoritması bir sonuç alınamadığı ve MARS algoritmasının çalışmada kullanılan tüm yöntemlerden daha üstün olduğunu bildirmişlerdir. Kaygısız vd. [62], yarış atlarının yarış zamanı performanslarını, MARS algoritması ile belirlemek için yaptıkları bir çalışmada, neredeyse %100 kesinlikle yeni bir prediktif model oluşturabildiklerini, aynı verilerle atların üreme performanslarını da analiz edebildiklerini ve MARS algoritmasının güçlü bir metod olduğunu bildirmişlerdir. Nieto vd. [63], ise Kuzey İspanyada Trasona rezervuarında meydana gelen Alg patlamasını, MARS

algoritmasıyla önceden tahmin edebilecek bir model geliştirmek için yaptıkları çalışma da, MARS algoritmasının kısa dönemde alg patlamasını tahmin etmede başarılı olmasının yanı sıra siyanotoksin oluşumunda hangi siyano-bakteri türlerinin sorumlu olduğunu da tespit edebilmişlerdir. Xu vd. [64], HIV virüsü revers transkriptaz (HIV-RT) enzim inhibitörlerinin etki mekanizmalarını belirlemek için, MARS algoritmasını kullanarak yaptıkları bir çalışmada, belirli amino asitler ve bunların kimyasal etkileşimlerinin HIV-RT enzimi üzerindeki inhibitör etkilerinin MARS modeliyle belirlenerek, HIV-RT enziminin çalışmasını engellemek için önemli olabilecek sonuçlar alındığını belirtmişlerdir. Xiong ve Meullenet, [65] peynir çubuklarında hedonistik skala (Genel kabul edilebilirlik, renk, boyut, görünüş, tuzluluk ve tekstür vb. parametreler) kriterlerine ait verileri bağımsız değişken olarak kullanarak, tüketici tercihlerini haritalamak için MARS algoritmasını kullanmışlardır. Çalışmanın sonucunda MARS algoritmasının tüketici tercihlerini belirlemek için yüksek doğruluğa sahip ve büyük potansiyelleri olan bir teknik olduğunu söyledikleri gibi, gıda sektöründe ürün geliştiren gıda bilimcilerin bu algoritmayı kullanması durumunda tekniğin kendilerine çok kullanışlı bilgiler sağlayabileceğini belirtmişlerdir. Temel vd. [66], kanser ve behçetli hastaların ailelerinden edindikleri bir takım davranış ve psikolojik test sonuçlarına ait verileri kullanarak hastaların depresyon derecesini tahmin etmek için, MARS algortması ile bir model geliştirmişlerdir. Oluşturdıkları modelin tahmin performansının ($p < 0.001$) çok başarılı olduğunu, ve geliştirilen modelin hekimlere biyolojik yapıyı daha iyi anlama ve tanımlama fırsatı sunacağını belirtmişlerdir.

Parametrik olmayan bir regresyon yöntemi olan MARS algoritması Stanford Üniversitesinde istatistikçi olan Jerome Friedman tarafından 1991 yılında geliştirilmiştir [57]. Bu yöntem sayesinde, doğrusal olmayan ilişkilere sahip kestiriciler (predictor) ile bağımlı değişkenleri inceleyip yorumlayabilmek mümkündür. Çok güçlü bir yaklaşım olan MARS algoritması ile geleneksel istatistiksel analiz yöntemlerinde olduğu gibi bağımlı ve bağımsız değişkenler arasındaki fonksiyonel ilişkiler hakkında varsayımlara (hipotezlere) ihtiyaç duymadığı gibi, bağımsız değişkenlerin bireysel etkilerini ve birbirleriyle olan etkileşimlerini model içerisinde tanımlar ve grafiksel gösterimlerle sunumunu yapar [11]. Bu yöntem ile tahminleyici bir model oluşturmak için, bağımlı değişken ile bağımsız değişkenler arasındaki muhtemel bir bağlantıyı tespit eden eğri parçalara bölünür (bu oluşan parçacıklara “splines” denir) ve oluşan lineer doğru

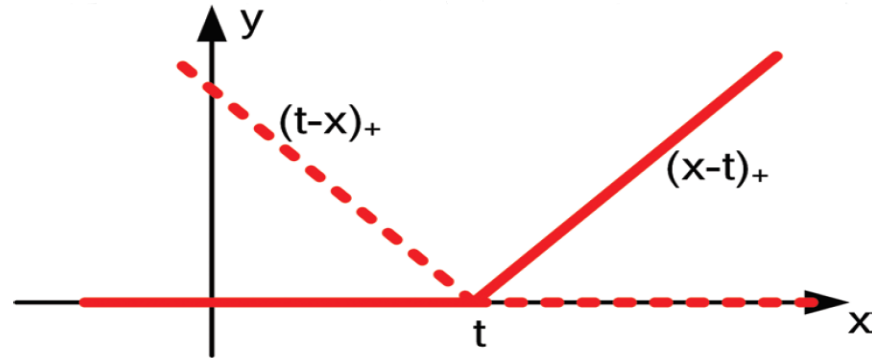
parçaları bir arada analiz edilir. Bağımsız değişkenin farklı aralıklarında farklı regresyon eğrileri kullanılarak, parçalı lineer temel fonksiyonlara doğrusallık (linearity) kazandırılır. Doğrusal parçaların birbirine bağlandığı ve regresyon eğrisinin eğimin değiştiği bağlantı noktalarına düğüm (knot) denir. Bu algoritma modeldeki tüm değişkenler arasındaki muhtemel etkileşimleri kapsayan her bir düğümü, farklı değişken kombinasyonları kullanarak belirlemeye çalışır. Modeldeki bütün bileşenlerin analizi sonucunda elde edilen değişken kombinasyonlarına temel fonksiyon (basis function) denilmektedir [11, 56, 67, 68]. MARS algoritması ile oluşturulan modellerde, tahmin performansı en yüksek fonksiyonların tespiti için düğümler ve temel fonksiyonlar tespit edildikten sonra, en küçük kareler yöntemi kullanılır [69, 70]. Algoritmada kullanılan, bağımlı değişken, temel fonksiyonların, doğrusal bir fonksiyonudur. Temel fonksiyonlar ise bağımsız değişkenlerin doğrusal olmayan şekil değiştirmiş halleri olabilirler [11]. Temel fonksiyonları tanımlayan denklem aşağıdaki gibidir;

$$\prod_{r=1}^{L_b} [S_{a,b}(Y_{v(a,b)} - t_{a,b})] \quad (1)$$

Denklem (1) de L_b etkileşim derecesini (degree), $S_{a,b}$ işaret değerini (-1 veya +1), $Y_{v(a,b)}$ bağımsız değişken değerini ve $t_{a,b}$ ise knot değerini göstermektedir. Bağımsız değişkenler arasındaki etkileşimi ifade eden, etkileşim derecesi terimi, model oluştururken etkileşim derecesi olarak 1., 2., 3., ve 4. derecelerin test edilebileceğini ancak, en iyi sonuçların $2 \leq d \leq 4$ aralığında alındığı ve genellikle modellerde $d=2$ derecesinin kullanımı tavsiye edilmiştir [57, 69, 71]. Model içerisinde temel fonksiyonlar, doğrusal ve doğrusal olmayan yayılma için çift yönlü olarak kullanılırlar. Aşağıda 2 ve 3 nolu eşitliklerde, t knot değeri olmak üzere, çift yönlü temel fonksiyonlar $(x-t)_+$ ve $(t-x)_+$ olarak ifade edilmişlerdir. Fonksiyonların yanındaki alt indis (+) sembolleri, sonucun pozitif olduğunu, diğer durumlarda ise sonuçların sıfır noktasında değerlendirileceği ifade edilmektedir [11, 70].

$$(x - t)_+ = \begin{cases} x - t, & x > t \\ 0, & \text{diğer} \end{cases} \quad (2)$$

$$(t - x)_+ = \begin{cases} t - x, & x < t \\ 0, & \text{diğer} \end{cases} \quad (3)$$



Şekil 1.4. MARS Algoritması Tarafından Kullanılan Temel Fonksiyonlar; $(t-x)_+$ = Kesikli Çizgi ve $(x-t)_+$ = Düz Çizgi Fonsiyonları Yansıyan Çiftleri Göstermektedir [70, 72].

Şekil 1.4.'de gibi t tek düğüm (knot) noktasını gösterirken, ve düğüm noktasının sağ ve sol istikametlerinde 2 farklı temel fonksiyon görülmektedir. Her fonksiyon t değeri sayesinde parçalı doğrusal özellik göstermektedir. Buradan yola çıkarak temel fonksiyonların, bağımsız değişkenleri en uygun knotlar ile belirli aralıklara bölen parçalı doğrusal regresyon eğrileri olduklarını söyleyebiliriz. Bu eğriler aşağıda eşitlik (4) ve (5) de gösterildiği gibi ifade edilirler.

$$C = \{(x_k - t)_+, (t - x_k)_+\} \quad (4)$$

$$t \in \{x_{1k}, x_{2k}, \dots, x_{Nk}\}, \quad k = 1, 2, \dots, r \quad (5)$$

MARS algoritması ile model oluşturulurken, mümkün olan bütün temel fonksiyonlar oluşturulduktan sonra, modelin tahmin hatasını minimize etmek için, algoritma tarafından, bazı temel fonksiyonlar çıkarılır, bu işleme budama (pruning) denmektedir. Budama işlemini gerçekleştirmek için model yöntemi olarak geriye adım tekniği (method="backward") kullanılır. Backward prosedüründe, model oluşturulurken, sadece temel fonksiyon sabitini içeren en küçük model ile başlanır. Tahmin hatasını minimum tutmak ve olası her düğüm ve değişken için temel fonksiyon uzayı taranır ve tarama işlemi maksimum karmaşıklığa sahip modeli oluşturuncaya kadar devam eder [66]. En son aşamada budama protokolü gerçekleştirilir. Hata kareler toplamı en küçük olan modeli oluşturmak için, model budanarak önemli faktörler ve bu faktörlerin etkileşimleri tespit edilir. Budama süreci, genelleştirilmiş çapraz geçerlilik (Generalized Cross Validation /GCV) tekniği ile model karmaşası ve artıkların hatası göz önünde bulundurularak gerçekleştirilir ve eşitlik (6) da belirtilen formüle göre hesaplanır. İstisnai olarak,

algoritmadaki ceza (penalty) değerinin -1 olduğu durumlarda ise, GCV değeri, artık kareler toplamının (RSS-Residual Sum of Squares), model içerisinde analiz edilen örnek sayısına bölünmesiyle bulunur [69, 71].

$$GCV(\lambda) = \frac{\sum_{i=1}^n (y_a - y_{ab})^2}{\left[1 - \frac{M(\lambda)}{n}\right]} \quad (6)$$

Denklemden, n modeli eğitmek için kullanılan durum sayısı, y_a bağımlı değişkenin gözlenen değeri, y_{ab} bağımlı değişkenin tahmin edilen değeri, $M(\lambda)$ ise, model kompleksliği için ceza (penalty) fonksiyonudur. Model Yorumlanırken, ana kıstaslar en düşük GCV değeri, en yüksek belirleme katsayısı (R^2), düzeltilmiş belirleme katsayısı (adj. R^2), ve Pearson korelasyonudur. Friedman (1991), etkileşim terimi bulunduran modellerde, sadece düzeltilmiş belirleme katsayısı (adj. R^2) yüksekse modelin tercih edilebileceğini belirtmiştir [69]. Modelin değerlendirilmesi için kullanılan uyum iyiliği kriterlerinden ise, materyal ve yöntem kısmında bahsedilmiştir.

1.5. Literatür Özeti

Dybus [73], Polonya da yetiştirilen, 1086 baş Siyah Alaca ırkı ineklerde (3 Laktasyon boyunca), *GH* (ekzon 3, *MspI* restriksiyon enzimi) ve *PRL* (ekzon 3, *RsaI* restriksiyon enzimi) genlerinde belirtilen ekzonlardaki polimorfizmleri, PCR-RFLP ile analiz edip, süt verimi, yağ verimi, yağ oranı, protein verimi ve protein oranı üzerine etkilerini araştırmıştır. Yapılan çalışma sonucunda, *GH* genindeki polimorfizm süt verimi ile ilişkili olarak tespit edilirken, *PRL* geninde ki polimorfizmin ise süt protein oranı ile ilişkili olarak tespit edildiği bildirilmiştir.

Brym vd. [74], *STAT5* geni üzerindeki belirli ekzon ve intron üzerindeki SNP'lerin, süt verimi, yağ verimi, yağ oranı, protein verimi ve protein oranı üzerindeki etkilerini araştırmak için 186 baş Siyah Alaca (Holstein) ve 138 baş Jersey ırkı inek üzerinde, 10 farklı PCR ürünüde (PCR1: 240bp: ekzon9, PCR2: 224bp: ekzon10, PCR3: 219bp: ekzon11, PCR4: 209bp: ekzon12, PCR5: 251bp: ekzon13, PCR6: 369bp: ekzon14 ve ekzon15, PCR7: 223bp: ekzon14-intron14-ekzon15(1.bölüm), PCR8: 235bp: ekzon15(2.bölüm), PCR9: 249bp: ekzon16, PCR10: 241bp: ekzon19) SNP taraması ve tespit edilen SNP'lerin General Linear Model (GLM) ile ekonomik parametrelerle ilişkilendirmesi yapılmıştır. Analiz edilen PCR ürünlerinde bulunan SNP'lerden hiç birisi Holstein ırkı ineklerde, herhangi bir ekonomik parametre ile ilişkilendirilememiştir. İntron9, c.9501A>G polimorfizmini ise jersey ırkı ineklerde hem 1. hemde 2. laktasyonlarda süt verimi, yağ oranı ve protein oranı ile ilişkili ($p<0.05$) olarak tespit edilmiştir.

Ganai vd. [75], β -laktoglobulin genindeki SNP'lerin süt içerisinde bulunan β -laktoglobulin protein konsatrasyonuna etkisini belirlemek ve yeni SNP'ler tespit etmek için, Hollanda da bulunan 208 baş Holstein ırkı inek üzerinde sanger dizileme tekniği ile, bir araştırma yapmışlardır. Araştırmacılar, analiz sonucunda, 50 farklı SNP tespit etmişlerdir, tespit ettikleri SNP'lerin 8 adedinin (6 SNP proteinin A alleli üzerine etkili; promotör bölgesi: g.-731G>A, g.-407T>A, intron 2: 905C>T, 915C>A, ekzon 3:1770C>T, intron 6:4346G>A, 2 SNP proteinin B alleli üzerine etkili; promotör bölgesi: g-462G>A, ekzon 5:g.3748 G>A) ise süt içeriğindeki β -laktoglobulin proteinin konsantrasyonu üzerine etkili olarak tespit ettiklerini bildirmişlerdir.

Sun vd. [76], Çin'deki 14 farklı çiftlikten toplamda 1222 baş inek üzerinde, *DGAT1* geni p.Lys232Ala mutasyonu ve *GHR* geni p.Phe279Tyr mutasyonu üzerine PCR-RFLP ve PCR-PIRA yöntemleriyle ve mixed model ile yapılan istatistiksel değerlendirme sonrasında, bu mutasyonların Çine adapte edilmiş Holstein inek ırklarında süt verimi ve protein verimini arttırmak için kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

Schennink vd. [77], Hollanda'da yetiştirilen, 398 ticari Holstein sürüsünden 1905 inek üzerinde yaptıkları bir çalışmada, *FASN* (k19: g.16024 G>A, g.17924 A>G), *OLR1* (k5: g.8232 C>A), *PPARGC1A* (k6: c.1790+514G>A, c.1892+19C>T), *PRL* (k23: g.8398 G>A) ve *STAT5A* (k19: g.9501G>A) genlerinde belirtilen SNP'lerin sanger dizileme (SNaPshot single base primer extension assay) ve mikroarray (Illumina Golden gate ve Infinum assays) tekniklerini kullanarak, süt yağ asidi kompozisyonu üzerine etkilerini tespit etmek için yaptıkları bir araştırmada, analiz edilen SNP'lerin hepsinin süt yağ asidi kompozisyonu ile ilişkili olduğunu tespit etmişlerdir.

Komisarek ve Dorynek [78], Polonyada bulunan 453 baş Holstein ırkı inek üzerinde, *ABCG2* (kr6:ekzon14:Y581S (A>C)), *PPARGC1A* (kr6: ekzon9:c.1847C>T; intron9:c.1892+19T>C; 3'UTR:c.3359A>C), *OLR1* (kr5: 3'UTR:g.8232C>A) ve *SCD1* (kr26: ekzon5: T878C) genlerinde hedef aldıkları bazı polimorfizmlerin süt üretimi ile ilgili parametreler ve somatik hücre sayısı üzerine etkilerini inceledikleri bir çalışmada, *ABCG2*-Y581S SNP'sini yağ verimi, yağ oranı ve protein oranı üzerine etkili ($p<0.05$) olarak tespit ederlerken, *PPARGC1A*-c.1892+19T>C, SNP'sini protein verimi üzerine etkili($p<0.05$), *OLR1*- g.8232C>A ve *SCD1*- T878C SNP'lerini ise yağ oranı üzerinde etkili ($p<0.05$) olarak tespit etmişlerdir. Komisarek ve Dorynek, analiz ettikleri SNP'ler ile süt verimi arasında herhangi bir ilişki ($p>0.05$) tespit edememişlerdir.

Bao vd. [79], PCR-SSCP yöntemi ile, 279 baş Çinde yetiştirilen Holstein ırkı inek üzerinde 2 laktasyon boyunca, *STAT5A* (intron 9 belli bir kısmı ve ekzon 10 içerisindeki A9501G, intron 15 belirli bir kısmı ve ekzon 16 içerisindeki C12735T polimorfizmleri) geni içerisinde bulunan iki farklı polimorfizmin süt verimi, yağ oranı ve protein oranı üzerine etkisini araştırmak için bir araştırma yapmışlardır. Aynı araştırmacılar, gerçekleştirdikleri araştırmanın sonraki aşamasında ise, tespit ettikleri belirli genotipleri sanger dizileme ile analiz etmişlerdir. Çalışma sonucunda 1. laktasyonda A9501G polimorfizmi süt verimi ve protein oranı üzerinde etkili ($p<0.05$) bulunurken, C12735T

polimorfizminin hiçbir parametre üzerinde etkisi tespit edilmemiştir. 2. Laktasyonda ise her iki polimorfizmin sadece protein oranı üzerinde etkili ($p<0.05$) olduğu bildirilmiştir.

Komisarek vd. [80], Polonyada bulunan 209 baş Jersey ırkı inek üzerinde yaptıkları bir çalışmada, PCR-RFLP tekniğini kullanarak, *DGAT1* (kr14:ekzon8: K232A(AA/GC)), *GH* (kr19:ekzon5:L127V(C/G)) ve *GHR* (kr20:A(-154)G(A/G); F279Y(T/A)) genlerindeki 4 SNP'nin, süt verimi, yağ verimi, protein verimi, buzağılama aralığı ve buzağılamadan bir sonraki gebe kalmaya kadar geçen süreye olan etkilerini araştırmışlardır. Komisarek vd., yaptıkları çalışmanın sonucunda *DGAT1* K232A polimorfizminin hiçbir parametre ile ilişkisinin bulunmadığını, *GHR* geni F279Y polimorfizmini düşük süt, yağ ve protein verimleri ile ilişkili olduğunu, *GH* geni L127V-CC polimorfizminin daha kısa buzağılama aralığı ve buzağılamadan bir sonraki gebe kalmaya kadar geçen süreye sebep olduğunu bildirmişlerdir.

Rahmatalla vd. [81], Pirodizileme tekniği ile Almanya da yetiştirilen, 1370 baş Holstein ırkı inek üzerinde, *GHR* geni ekzon 8 üzerinde bulunan F279Y (p.Phe279Tyr) mutasyonunun, süt verimi, yağ, protein, kazein, laktoz verim ve oranları, somatik hücre sayısı üzerine etkisini çalışmışlardır. Sonuç olarak, araştırmacılar F279Y polimorfizminin süt verimi, yağ ve protein ile ilişkili olmasının yanısıra, aynı polimorfizmin süt kazein ve laktoz içeriği ile de ilişkili olduğunu tespit etmişlerdir. Araştırmalar ayrıca, 279Y allellerini taşıyan yüksek sütverimli ineklerin somatik hücre sayılarının çok düşük olduğunu, bu sebeple bu polimorfizmin somatik hücre sayısının kontrolü içinde bir belirteç olarak kullanılabileceği belirtilmiştir.

Hamza vd. [82], Yangzhou Üniversitesinin deneysel hayvan çiftliğinde bulunan Çine adapte olmuş, Holstein ırkı ineklerde, Kappa kazein (*CSN3*) geni ekzon 4'de ki polimorfizmlerin, süt yağ, protein, laktoz oranları, yağsız kuru madde ve toplam kuru madde miktarları üzerine etkisini PCR-SSCP yöntemi ile araştırmışlardır. Hamza vd., gerçekleştirdikleri çalışmada, ekzon 4 üzerindeki buldukları 1 adet SNP'nin süt yağ, protein ve laktoz oranları ile ilişkililikten ($p<0.05$), yağsız kuru madde ve toplam kuru madde miktarları ile ilişkili olmadığını tespit etmişlerdir.

Strucken vd. [83], Almanyada yetiştirilen 152 baş Holstein-Freserian ırkı inek üzerinde, 8 laktasyon boyunca yaptıkları bir çalışmada, Illumina mikroarray BovineSNP50 BeadChip kullanarak 54001 SNP tarayarak genom çapında ilişkilendirme çalışmaları

(GWAS) gerçekleştirmişlerdir. Yaptıkları taramalar sonucunda, 1. laktasyonda yağ verimi üzerinde etkili, BTB-01887376 (3. kromozom/ 74980952. baz) kodlu polimorfizmi, yağ oranı üzerinde etkili, BTB-011529976 (17. kromozom/ 9147967. baz) kodlu polimorfizmi, yine yağ verimi üzerinde etkili, ARS-BFGL-NGS-102113 (X kromozomu/ 20413713. baz) kodlu polimorfizmi tespit etmişlerdir. 3. laktasyonda ise Hapmap60738-rs29023086 (13. kromozom /79464267. baz) kodlu belirteci protein oranı üzerinde etkili, BTA-62484-no-rs (27. kromozom / 29157878. baz) kodlu belirteci süt verimi üzerinde etkili bulmuşlardır. Aynı araştırmacılar, yaptıkları çalışmanın 2. ve 4. laktasyonlarında ise, ARS-BFGL-NGS-4939 (14.kromozom/ 443936. baz) ve ARS-BFGL-NGS-107379 (14. Kromozom/ 679601. baz) kodlu belirteçlerin yağ oranı üzerinde etkili olduğunu tespit etmişlerdir. Elde ettikleri sonuçlardaki bu genetik varyasyonun, hayvanlarda meydana gelebilecek metabolik değişiklikler ve bedensel büyüme ile ilişkili olabileceğini, en belirleyici faktörün, genom ile ilişkilendirmek için çalışılan özelliğin sürekliliği olduğunu vurgulamışlardır.

Boleckova vd. [84], Çekya da yetiştirilen 505 baş Fleckvieh ırkı inek üzerinde, *PPARGC1A* (c.1892+19T>C), *SPP1* (g.8514C>T), *CYP11B1* (p.Val30Ala) ve *PRL* (g.8398G>A; c.-1043A>G) genlerindeki polimorfizmlerin süt verimi, yağ verimi, yağ oranı, protein verimi ve protein oranı üzerine etkilerini, PCR-RFLP tekniği ile çalışmışlardır. Araştırmacılar, *PPARGC1A* genindeki polimorfizmin süt verimi ($p<0.05$), yağ verimi ($p<0.001$), yağ oranı ($p<0.01$) ve protein verimi ($p<0.05$) üzerinde etkili olduğunu, *CYP11B1* genindeki polimorfizmin sadece yağ oranı üzerinde etkili ($p<0.01$) olduğunu, *PRL* genindeki, g.8398G>A polimorfizminin süt verimi, yağ verimi ve protein verimi üzerine etkili ($p<0.05$), c.-1043A>G polimorfizminin süt verimi ($p<0.05$), yağ verimi ve protein verimi ($p<0.01$) üzerine etkili olduğunu bildirmişlerdir.

Alim vd. [85], Çine adapte olmuş, toplam 752 baş Holstein ırkı inekler üzerinde, *ABCG2* (ekzon 7: g.45599 A>C) geni üzerinde belirtilen bir polimorfizmin süt verimi, yağ verimi, yağ oranı, protein oranı ve protein verimi gibi, sütün ekonomik parametreleri üzerine etkisini pooled dizileme (ngs) ile tespit üzerine bir araştırma yapmışlardır. Alim vd., analiz edilen SNP'nin sadece protein verimi ve protein oranı üzerine etkili ($p<0.05$) iken, süt verimi, yağ verimi ve yağ oranı gibi parametreler üzerinde etkili olmadığını tespit etmişlerdir.

Fontanesi vd. [86], İtalya’da yetiştirilen yaklaşık 800 baş Holstein ırkı inekler üzerinde 25 farklı gene ait 58 farklı SNP’nin, süt verimi ve süte ait diğer ekonomik özellikler üzerine etkilerini araştırmışlardır. Yaptıkları çalışmanın sonucunda, *LEP* geni, 4:g.93261877 C>G ve 4: g.93262056T>C/p.Cys120Arg SNP’leri, *PPARGC1A* geni, 6: g.44875315G>A/p.Pro616Leu SNP’si, *DGAT1* geni, 14: g.1804647C>T ve 14: g.1802265A>G/p.Lys232Ala SNP’leri, *TPH1* geni, 15: g.34999982G>A SNP’si, *PRLR* geni, 20: g.39071965 C>T SNP’si ve *MFGE8* geni 21: g.20890529 T>G SNP’si, süt verimi üzerine olumlu etkili ($p<0.05$) olarak tespit edilirken, *CSN2* geni, 6: g.87181619G>T/p.Pro82His SNP’si, *LGB(PAEP)* geni, 11: g.103301229C>G, 11: g.103303475G>A/p.Gly80Asp, 11 : g.103304757T>C/p.Val134Ala SNP’leri, *TG* geni 14: g.9472109G>T SNP’si, *GH1* geni, 19: g.48769565G>A ve 19: g.48768766T>G SNP’leri süt verimi üzerine olumsuz etkili ($p<0.05$) olarak tespit edildiği araştırmacılar tarafından bildirilmiştir. Bunların dışında, *CXCR1* geni, 2: g.106940247T>C ve *THRSP* geni 29: g.18090403A>G/p.Val51Ala SNP’leri yağ verimi ve protein verimi üzerine olumsuz etkili bulunurken, *PRLR* geni, 20: g.39071965C>T ve *LEP* geni, 4:g.93261877 C>G, 4: g.93262056T>C/p.Cys120Arg SNP’leri yağ verimi ve protein verimi üzerine olumlu etkili olarak tespit etmişlerdir. *CSN3* geni 6: g.87390573C>T/p.Thr156Ile SNP’si ise protein oranına olumsuz etkili olmasının dışında, diğer hiçbir ekonomik özellik üzerine etkili olmadığı tespit edilmiştir.

Başka bir çalışmada, Alim vd. [87], *FASN* genindeki 6 farklı SNP’nin (g.8948C>T:ss491228481, g.13965C>T, g.14439T>C:rs133498277, g.16907T>C, g.17924A>G, g.18663T>C) süt verimi ve sütün kompozisyonu üzerine etkisini araştırmak için, Çinde yetiştirilen 752 baş Holstein ırkı inek üzerinde bir çalışma yapmışlardır. Yaptıkları araştırmanın neticesinde, SNP’lerden g.8948C>T: ss491228481 ve g.13965C>T’nin, süt verimi ($p<0.01$), yağ verimi ($p<0.01$) ve protein verimi ($p<0.05$) üzerine etkili olarak tespit edildiğini bildirmişlerdir.

Jiang vd. [88], Daha önceden NGS ile tespit edilmiş 127.218 SNP içerisinden hedef olarak seçtikleri 200 farklı SNP’nin, Çine adapte olmuş 2634 baş Holstein ırkı inek üzerinde süt verimi, yağ verimi, yağ oranı, protein verimi ve protein oranı gibi ekonomik parametreler üzerine etkilerini kütle spektroskopisi temelli (Sequenom Mass-Array iPLEX MALDI-TOF-MS) DNA dizi analizi ile araştırmışlardır. Araştırmacılar, çalışma sonucunda 53 farklı gen içerisinde bulunan 66 farklı SNP’nin bahsedilen süt ile ilgili

ekonomik parametreler ile yakından ilişkili olduğunu, bu analiz edilen 53 gene ait SNP sonuçlarından 26 gene ait olanlarının daha önceden gerçekleştirdikleri genom çapında ilişkilendirme çalışmasıyla (GWAS) uyumlu olduğunu bildirmişlerdir.

Alim vd.[89], Pekinde bulunan 14 farklı çiftlikteki Çin koşullarına adapte olmuş 507 baş Holstein ırkı inek üzerinde Kappa kazein (*CSN3*) geni, 4.ekzon üzerinde 6 SNP'nin, süt verimi, yağ verimi, yağ oranı, protein verimi ve protein oranı üzerine etkilerini araştırmak için sanger dizileme ve kütle spektroskopisi temelli dizileme (Sequenom Mass Array) ile bir araştırma yapmışlardır. Alim vd., çalışma sonucunda SNP'lerden; g.10888 T>C, g.10924C>A, g.10985G>A ve g.10993T>A sadece yağ oranı ve protein oranı üzerine etkili ($p<0.05$), g.10944A>G, süt verimi, yağ verimi, yağ oranı ve protein oranı etkili ($p<0.05$), g.12703T>G ise süt verimi, yağ verimi, protein verimi ve protein oranı üzerine etkili($p<0.05$) olarak tespit ettiklerini, *CSN3* geni ekzon 4'de çalıştıkları bu SNP'lerin, belirteç destekli seleksiyon ile süt ineklerinin süt üretimiyle alakalı ekonomik parametrelerin iyileştirilmesi amacıyla kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

Chessa vd. [90], İtalya da yetiştirilen 477 baş Simmental ırkı ineklerde farklı genlerde bulunan 64 farklı polimorfizmin (varyantın), süt verimi ve süt ile ilgili ekonomik parametreler üzerine etkisini araştırmışlardır. Gerçekleştirdikleri çalışma da, *LEP* geni, rs29004488 ($p=0.043$) ve *MFGE8* geni rs41974998 ($p=0.033$) varyantları süt verimi üzerinde etkili, *LGB* (*PAEP*) geni rs41255679 varyantı protein verimi($p=0.027$) ve yağ verimi ($p=0.024$) üzerinde etkili, *THRSP* geni rs42714483 ($p=0.004$) ve *GHR* geni rs385640152 ($p=0.0009$) varyantları protein oranı üzerinde etkili, *CSN3* geni rs43703015 ($p=0.032$) polimorfizmi ise somatik hücre sayısı üzerinde etkili olarak tespit edildiği bildirilmişlerdir.

Alim vd. [91], Çinde bulunan 752 baş Holstein ırkı inek üzerinde yaptıkları bir çalışmada, β -lactoglobulin (*LGB* veya *PAEP*) ve κ -kazein (*CSN3*) SNP'lerin süt verimi, yağ verimi, yağ oranı, protein verimi, protein oranı gibi ekonomik parametreler üzerine etkisini çalışmışlardır. Araştırmacılar, β -lactoglobulin (*LGB*) geni ekzon 3:g.1810C>T SNP'sinin süt verimi, yağ verimi ve protein verimi üzerine etkili ($p<0.01$) olduğunu, κ -kazein geni ekzon 4:g.10888T>C SNP'si protein verimi ve protein oranı üzerine etkili ($p<0.05$), intron 4:g.12703G>T SNP'si süt verimi, yağ verimi, protein verimi ve protein oranı üzerine etkili ($p<0.05$) olduğunu bildirmişlerdir.

Molee vd. [92], β -kazein, κ -kazein, *LGB*, *DGAT1*, *GH* ve *LHR* genlerindeki belirli polimorfizmlerin, Tayland da bulunan Holstein melezi ineklerde (231 baş), süt verimi, süt yağ oranı, protein oranı, yağsız kuru madde oranı ve toplam kuru madde oranı üzerine etkilerini, allel spesifik PCR ve RFLP yöntemlerini kullanarak araştırmışlardır. Molee vd., gerçekleştirdikleri analizler sonucunda, β -kazein geninin tüm genotiplerinin (A1A2, A2A2, A2B) analiz edilen tüm ekonomik parametreler üzerine etkili ($p<0.05$) olduğunu, κ -kazein genine ait genotiplerin (AA, AB, AE) yağsız kuru madde oranı hariç, diğer analiz edilen parametreler üzerinde etkili ($p<0.05$) olduğunu, *LGB* genine ait polimorfizmlerin (AA, AB, BB) protein oranı hariç, diğer parametreler üzerine etkili ($p<0.05$) olduğunu, *DGAT1* genine ait genotiplerin (AA, KA, KK) analiz edilen tüm parametreler üzerinde etkili ($p<0.05$) olduğunu, *LHR* genine ait genotiplerin (CC, CT, TT) sadece yağ oranı ve toplam kuru madde oranı üzerine etkili ($p<0.05$) olduğunu, *GH* genine ait genotiplerin ise hiçbir parametre üzerinde etkili olmadığını bildirmişlerdir.

Arslan vd. [93], Orta Anadolu Bölgesinde çiftliklerde bulunan 154 baş Holstein ırkı inek üzerinde, *GH1*, *GHR*, *IGF-1* ve *PRL* genlerinin promotör polimorfizmlerinin süt verimi üzerine etkisini, real-time PCR ile mRNA ekspresyonunu analiz etmişlerdir. Araştırmacılar, yaptıkları araştırmanın sonucunda, süt verimi ile *GH1* genindeki polimorfizm (rs13533632, C>T) arasında ilişki bulunurken, diğer *GHR*, *IGF-1* ve *PRL* genlerindeki polimorfizmler ile süt verimi arasında negatif korelasyon olduğunu bildirmişlerdir.

Li vd. [94], Pekin (Çin) Sanyuan süt çiftliği merkezindeki 13 farklı çiftlikten yetiştirilen 346 baş Holstein ırkı ineklerde, *FASN* (exon 10: g.7709 T>C, intron 12: g.8948 C>T, intron 18: g.10568 T>C, ekzon 21: g.11280 G>A, ekzon 27: g.13965 C>T, intron 28: g.14439 T>C, Ekzon 37: g.16907 T>C, ekzon 39: g.17924 A>G, ekzon 42: g.18663 T>C, intron 11:ARS-BFGL-NGS-39328 A>G), *PPARGC1A* (intron 9: g.85330 C>T, intron 2: Hapmap26001-BTC-038813 A>G, Hapmap31284-BTC-039204 C>T), *ABCG2* (intron 1:BTB-00246150 A>G, intron 7:g.45599 A>C) ve *IGF1* (5'UTR:g.1407C>T, intron 2: Hapmap50366-BTA-46960 C>T) genlerindeki SNP'lerin, süt yağ fraksiyonundaki yağ asidi kompozisyonu üzerine etkisini belirlemek için yaptıkları bir araştırmada, bu genlerde çalışılan SNP'lerin çoğunlukla süt içeriğindeki orta zincirli doymuş yağ asitleri ve uzun zincirli doymamış yağ asitlerinin süt içerisindeki konsantrasyonu ile ilişkili olduğunu

(özellikle FASN genindeki SNP'ler C10:0, C12:0 ve C14:0 orta zincirli yağ asitleri üzerine) bildirmişlerdir.

Yang vd. [95], Sanger dizileme ve Maldi-tof-MS temelli iPLEX Mass ARRAY (Sequenom, ABD) teknikleri ile *SAA1* geni üzerindeki tanımladıkları 7 farklı SNP'nin [Promotör bölgede; g.-1788C>T(ss831884868), g.-963C>A(ss831884869), g.-781A>G(ss831884870), g.-757T>C(ss831884871), ekzon 3; c.+2510 A>G(rs133033048), c.+2535 C>T, c.+2665G>A(rs467989313)] Süt verimi, yağ verimi, yağ oranı, protein verimi ve protein oranı üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Araştırmada, sonuç olarak, yağ verimi ve protein verimi üzerine etkili her hangi bir SNP tespit edilmezken, g.-1788C>T, g.-963C>A, g.-781A>G, c.+2510A>G, c.+2535C>T, c.2565G>A polimorfizmleri süt verimi ve protein verimi üzerine etkili ($p<0.01$) bulunmuştur. Yağ verimi için ise, g.-963C>A($p<0.05$), c.+2510 A>G($p<0.01$), c.+2535 C>T($p<0.05$) ve c.+2565 G>A ($p<0.05$) polimorfizmlerinin etkili olduğu tespit edilmiştir.

Buitenhuis vd. [96], Danimarkada yetiştirilen Holstein (371 baş) ve Jersey (321 baş) ırkı inekler üzerinde yaptıkları bir çalışmada, sığır kromozomu üzerindeki, önemli süt proteinlerinin (kazeinler: α 1-, α 2-, β -, ve κ -Kazein, serum proteinleri: β -Laktoglobulin ve α -Laktalbumin), süt içerisindeki bileşimi etkileyen polimorfizmleri (494,984 adet SNP belirteci), DNA mikroarray (Illumina Infinum II, multisample assay device/BovineHD Genotyping BeadChip) teknolojisini kullanarak taramışlardır. Araştırmacılar, yaptıkları tarama sonucunda Holstein ırkı ineklerde, κ -kazein genlerinin konsantrasyonlarının kazein protein kinaz genlerindeki (*CSNK1G3*, *PRKCQ*) SNP'lerden etkilendiğini bildirirken, sığır genomundaki BTA6 (6.kromozom üzerindeki kazein kümesi), BTA11 (11 kromozom üzerindeki *PAEP* yada diğer bir isimle isimlendirmeyeyle β -Laktoglobulin geni) ve BTA14 (14. kromozom üzerindeki *DGAT1*/ Diasilgliserol O-asiltransferaz 1 geni) kromozomal bölgelerinin süt içerisindeki protein kompozisyonunu önemli derecede etkilediğini bildirmişlerdir[96].

Han vd. [97], Çin'deki 27 farklı süt çiftliğinde 1093 baş Holstein ırkı inekler üzerinde, 16. kromozomdaki *ATF3* geninin 5' promotör bölgesinde 4 SNP (g.72834301 C>A, g.72834229 C>A, g.72833969 A>G, g.72833562 G>T) ekzonik bölgelerde 2 SNP (Exon 4:c.291 G>A, exon 5:489G>A), 3' UTR (un-traslated region/ tranlasyona uğramamış) bölgesinde 7 SNP (c.190 A>G, c.321 G>C, c.326 A>G, c.640 G>A, c.685 G>C, c.1064

G>A), 3'yan bölgede(flanking region; g.72819977 T>C, g.72819850 A>G, g.72818819 A>G, g.72818818 C>T, g.72818292 T>C, g.72818161 T>C) 6 SNP olmak üzere toplamda 19 SNP, 23. kromozomdaki *CDKN1A* geninin exon 5 bölgesinde 1 SNP (c.271 C>T), 3' UTR bölgesinde, 2 SNP(c.9 C>G, c.654 C>T) ve 3' flanking bölgesinde 2 SNP (g.10569766 T>C, g.10569779 T>C) olmak üzere toplamda 5 SNP'yi yeni nesil dizileme ile tespit etmişlerdir. Araştırmacılar ayrıca, tespit edilen bu SNP'lerin süt verimi ve süte ait diğer ekonomik parametrelerle olan ilişkilerini analiz etmişlerdir. Çalışılan bu SNP'ler ile süt verimi, yağ verimi, protein verimi ve protein oranı arasında istatistiksel olarak bir ilişki tespit edilirken, yağ oranı ile bir ilişki tespit edilmemiştir.

Viale vd. [98], İtalya da yetiştirilen 423 baş Holstein ırkı hayvanlar üzerinde yaptıkları bir çalışmada, 53 farklı genden 96 farklı SNP'nin mikroarray (Illumina, GoldenGate) analizi ile süt verimi, süt ile ilgili diğer ekonomik parametreler (yağ oranı, yağ verimi, protein oranı, protein verimi, kazein oranı, kazein verimi, rennet ilavesinden sonra 30dk sonraki lor (pıhtı) sıklığı, kazein/protein oranı, protein/yağ oranı) ve somatik hücre sayısı ile ilişkisini belirlemek için yaptıkları bir çalışmada, 32 farklı genden 45 SNP'yi bahsedilen parametrelerden en az biri ile ilişkili olarak tespit etmişlerdir. Araştırmacılar, *DGKG* (rs41608610), *STAT1* (rs43705173), *CSN2* (rs43703013), *FABP4* (rs110757796) genlerindeki belirtilen SNP'ler süt verimi üzerinde önemli ve pozitif etkili ($p<0.01$) olarak tespit ederlerken, *PPARGC1A*, *AGPAT6*, *CSN1S1*, *GHR*, *TLR4*, *OLR1*, *CSN2*, *CCL2*, *PRLR*, *LTF*, *PLCE1* genlerindeki polimorfizmleri ise süt kompozisyonu ile ilgili parametrelerle ilişkili olarak ($p<0.01$ veya $p<0.05$) tespit etmişlerdir. *GHR* ($p<0.01$) ve *POU1F1* ($p<0.05$) genlerindeki SNP'lerin ise somatik hücre skorunda azaltıcı etkili olduğu aynı araştırmacılar tarafından bildirilmiştir. Viale vd., tespit ettikleri SNP'lerin Holstein-Friesian ırkı ineklerin belirteç destekli seleksiyonunda kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

Neamt vd. [99], Romanyada bulunan Simmental ırkı ineklerde (114 baş), *CSN3* (AA, AB, BB) genine spesifik 350bp'lik ve *LGB* (AA, AB, BB) genine spesifik 247bp'lik PCR ürünlerine RFLP yöntemiyle, elde edilen genotiplerin süt verimi, yağ verimi, yağ oranı, protein verimi ve protein oranı üzerine etkilerini araştırmışlardır. Neamt vd., çalışma sonucunda, *CSN3* geni için, AA genotipinin yüksek süt verimi ve yüksek yağ oranı ile ilişkili olduğunu, BB genotipinin ise yüksek protein oranı ile ilişkili olduğunu bildirmişlerdir. *LGB* geni için ise, AB genotipinin yüksek süt verimi ile ilişkili olduğunu,

BB genotipinin ise yüksek yağ oranı ile ilişkili olduğu araştırmacılar tarafından bildirilmiştir.

El-Nahas vd. [100], Mısır da bulunan değişik çiftliklerdeki, 148 baş Holstein-Friesian (48), Holstein melezi (68) ve Baladi (32, Yerli) ırkı ineklerde, sanger dizileme ve PCR-RFLP tekniği ile, *ABCG2*, *GH* ve *GHR* genlerindeki polimorfizmlerinin, süt verimi, yağsız kuru madde oranı, yağ oranı, protein oranı ve laktoz oranı üzerine etkilerini incelemişlerdir. Araştırmacılar, *ABCG2* genindeki polimorfizmin hiçbir ırkta herhangi bir parametre ile ilişkisini bulunmaz iken, *GH* ($p<0.05$) genindeki polimorfizmin sadece melez ırklarda, yağsız kuru madde, protein ve laktoz oranlarıyla ilişkili olduğunu, *GHR* genindeki polimorfizmin ise, yerli ırk ineklerde, yağsız kuru madde, yağ, protein ve laktoz oranlarıyla ilişkili ($p<0.05$) olduğunu, melez ırklarda ise sadece süt verimi ile ilişkili ($p<0.05$) olduğunu bildirmişlerdir.

Oğuzkan ve Bozkurt [101], 155 baş Holstein ırkı inek üzerinde *PRL* geni exon 3 üzerindeki polimorfizmler ile süt verimi, yağ oranı, protein oranı, laktoz oranı ve üre oranı arasındaki ilişkiyi tespit etmek için, PCR-RFLP ve sanger dizileme kullanarak yaptıkları bir araştırmada, Prolaktin genotiplerinin (AA genotipi yüksek süt verimi üzerine etkili, $p<0.05$) süt verimi üzerinde etkili olduğunu bildirmişlerdir.

1.6. Araştırmanın Önemi ve Amacı

Daha önceki başlıklarda da açıklandığı üzere, süt; yapısındaki bileşenler nedeniyle özellikle insan ve memeli hayvanların beslenmesinde hayati derecede önemlidir. Gelişmiş toplumlarda, hayvansal kaynaklı besinlerin tüketim oranı, gelişmemiş toplumlara göre daha yüksektir. Özellikle hayvansal protein kaynaklı besinler (elzem aminoasitlerden ve diğer önemli bileşenlerinden dolayı), fiziksel ve zihinsel gelişim üzerinde önemli bir rolü vardır. Bu sebeple hayvansal bir besin olan süt, insan beslenmesinde diyetle alınması gereken besinsel ihtiyaçları karşılaması açısından çok önemlidir. Süt, tüketici için önemli olduğu gibi, üretici açısından da önemli bir mamuldür. Süt işletmelerine, günlük nakit akışını avantajını sağladığı gibi, gıda sektöründe üretilen bir çok ürünün hammaddesidir. Bunların dışında, farmasötik endüstrisinde, bebek mamalarının üretiminde, değişik aminoasit yada protein konsantrelerinin üretiminde hammadde olarak süt kullanılmaktadır [14, 102]. Süt endüstrisinde üretilen toplam sütün yaklaşık olarak %90'ı inek sütünden sağlanmaktadır [103]. Türkiye'de son yıllardaki süt üretimi ve tüketimine yönelik olumlu politikalar sonucunda, son 5 yıl içerisinde (2013-2018), süt ineklerinin sayısı % 10 oranında artmış, 2007-2018 yılları arasındaki süt üretim miktarı %70 artmıştır. 2018 yılı dünyadaki toplam süt üretimi 826 milyon iken, TÜİK verilerine göre, Türkiye'de üretilen süt miktarı ise 22.12 milyon ton olmuştur. Süt üretimindeki bu artışın, birey başına elde edilen verimin yükselmesinden değil, hayvan sayısındaki artıştan kaynaklandığını görebilmekteyiz [11]. Türkiye'nin süt endüstrisinin üretim kapasitesi dünya genelinde 8. sıraya girmiş olsa da, gelişmiş ülkelerdeki süt üretimine erişebilmek, artan nüfusa paralel olarak, Türkiye'deki bireylerin ve endüstrinin süt ihtiyaçlarının karşılanması için, süt verimi yüksek hayvanların seçilmesi ve çiftliklerde yüksek süt verimli hayvanların sayısının çoğaltılması önemlidir. Dünya genelinde yetiştirilen ve ıslahı yapılan 300'ün üzerindeki sığır ırklarının her birinde farklı verim özellikleri ön plana çıkmaktadır. Bahsedilen bu ırklarda, yetiştirildikleri yada adapte oldukları bölgeler, coğrafi koşullara bağlı olarak gelişen iklimsel koşullar, beslenme rejimi ve sahip oldukları genotiplere göre farklı seviyelerde verim parametreleri (süt verimi, et verimi yada her ikisinin kombinasyonu) gösterebilmektedirler. Geçtiğimiz son 30 yıl içerisinde, süt ve süt bileşenlerinin verimi ile ilgili parametreleri [yağ verimi (kg), yağ oranı (%), protein verimi (kg), protein oranı (%), laktoz verimi (kg), laktoz oranı (%), süt proteinlerinin pıhtı oluşturma özellikleri, süt

peynir verimi, toplam kazein verimi, somatik hücre sayısı] iyileştirmek amacıyla bir çok araştırma yapılmıştır [2, 103]. Başlangıçta yapılan araştırmalar süt proteinlerinin, protein elektroforezi ile gösterdiği polimorfizmlerin tespit edilmesine dayanmış olsa da, zaman içerisinde moleküler biyolojideki gelişmelerle birlikte, bu araştırmalar yerini DNA yada RNA'ya dayalı moleküler biyoloji teknikleri (RFLP, SSCP, Real-Time PCR, Sanger Dizileme, Yeni Nesil Dizileme) ile yapılan polimorfizm/varyant yada SNP taramalarına bırakmıştır. Nükleik aside dayalı tekniklerin kullanılmaya başlamasının en önemli sebebi, sığır genomu içerisinde, belirli kromozomlardaki belirli lokuslar içerisinde, genotiplere spesifik DNA yada RNA'lardaki nükleik asit dizilim farklılıklarını çeşitli şekilde ortaya koyan belirteçlerin (marker), sığırlardaki ekonomik kantitatif karakterler (Quantitative Trait Locus/ QTL) ile ilişkilendirilebilmesi olmuştur. Günümüzde moleküler belirteçler, geleneksel ıslah yöntemlerinin bazı sınırlamalarını ortadan kaldırmasının yanı sıra, yeni özelliklerin seleksiyonuna imkan tanıdığı için çiftlik hayvanlarının ıslahında, yada ekonomik parametrelerinin iyileştirilmesi amacıyla yapılan araştırmalarda yoğun bir şekilde kullanılmaktadır.

Bu tez çalışmasında, Kayseri ve Kahramanmaraş illerinde bulunan belirli çiftliklerdeki yaklaşık 182 baş Holstein-Friesian (Siyah Alaca) ırkı süt sığırlarında, *PPARGC1A* (*Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha*) *GHR* (*Growth hormone receptor*), *ATF3* (*Cyclic AMP-dependent transcription factor*), *CSN3* (*Kappa Casein*) ve *LGB* (*PAEP/ Progestagen Associated Endometrial Protein*) genlerinde bulunan belirli moleküler belirteçlerin, 305 günlük ortalama süt verimi (kg) üzerindeki etkilerinin araştırılmasının yanı sıra, önemli bir gıda maddesi olan sütün besinsel özelliklerini geliştirmek amaçlı, bir laktasyon boyunca yağ verimi (kg), yağ oranı (%), protein verimi (kg), protein oranı (%), laktoz verimi (kg), laktoz oranı (%), Yoğunluk (kg/m^3) ve yağsız kuru madde (%) gibi ekonomik parametreler üzerine etkileri araştırılmıştır. Ayrıca kullanılan belirteçler ile bahsedilen parametreler arasındaki ilişkilerin Multivariate Adaptive Regression Splines (MARS) veri madenciliği algoritmasıyla analiz edilmiştir. Türkiye'de benzer bazı çalışmalar bulunsa da, bu çalışmada ilk defa YND teknolojisi *PPARGC1A*, *GHR*, *ATF3*, *CSN3* ve *LGB* (*PAEP*) genlerinde tespit edilen SNP'ler ile süt verimi ve sütün kalite parametreleri arasındaki ilişki veri madenciliği algoritması (MARS) kullanılarak yapılmıştır.

2. BÖLÜM

MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Materyal

Araştırmada kullanılan hayvan materyali olarak, Holstein-Fresian (Siyah Alaca) ırkı süt sığırlarından kan ve süt numuneleri temin edilmiştir. Materyallerin, 64'ü Kayseri ili Bünyan ilçesinde faaliyet gösteren bir entegre tarım işletmesinden, 51'i Kayseri ili Develi ilçesinde faaliyet gösteren özel bir süt sığırcılığı çiftliğinden, 77 adedi ise, Kahramanmaraş ilinde bulunan özel bir entegre tarım işletmesinden temin edilmiştir. Kan örnekleri, yaklaşık 10 mL hacimli K2/K3 EDTA'lı tüplere veteriner hekim yardımıyla DNA izolasyonunda kullanılmak üzere alınırken, süt örnekleri ise fiziko-kimyasal özellikleri tespit edilmek üzere 50'mL'lik steril falkon tüplere alınmıştır. Örneklerin analiz edilinceye kadar mikrobiyal bozulmadan korunması için, tüp içerisine toplam konsantrasyonu %2 olacak şekilde bronopol (Sigma-Aldrich, Almanya) ilave edilmiş ve 4°C'de muhafaza edilmiştir [104]. Süt Numuneleri tek laktasyon (yaklaşık 305 gün) boyunca, düzenli aralıklarla temin edilmiştir.

2.2.Yöntem

2.2.1. Süt Örneklerinin Analizi

Süt örneklerinin analizi için multiparametre ölçüm yapan bir ultrasonik süt analiz cihazı (Boeco LAC-SPA-50, Almanya) kullanılmıştır. Süt numunelerinin Protein oranı, Yağ oranı, Laktoz oranı, Yağsız Kuru madde miktarı ve yoğunluk parametreleri değerlendirilmiştir. Cihazda ölçümler en az 2 tekerrür ve her tekerrürde 4 paralelli olacak şekilde yapılmıştır. Ayrıca, cihazın ölçüm doğruluğu konvansiyonel analiz teknikleri ile de doğrulanmıştır.

2.2.2. Kan Örneklerinden DNA Ekstraksiyonu

Çalışmada hedef alınan popülasyondaki her bireyden alınan kan numunelerinden DNA ekstraksiyonu için, spin kolon protokolü kullanılan, bir ticari DNA ekstraksiyon kiti (Geneall, Exgene Clinic SV Mini, Seul, Güney Kore) kullanılmıştır. Kit protokolü uygulamasından önce, kan bünyesindeki Eritrositleri (kırmızı kan hücrelerini) parçalamak ve lökositleri (beyaz kan hücreleri) çöktürmek için aşağıdaki işlem basamakları uygulanmıştır [105].

1. Öncelikle, en az 2 paralelli olacak şekilde, 2mL'lik mikrosantrifüj tüplerine 750 µL kan numunesi ve üzerine 1.25 mL soğuk steril Red Blood Cell(RBC) lysis buffer [150 mM NH₄Cl, 10 mM KCl, 10 mM EDTA, pH:8.0] ilave edilmiştir. Ardından, el yordamıyla 5-10 sn'lik homojenizasyondan sonra tüpler 5-10 dk kadar, renkleri şeffaf kan kırmızısına yada şeffaf koyu kırmızı renge dönüşüncüye kadar buzda bekletilmiştir. Sonra, tüpler 3000 rpm'de 10 dk. santrifüjlenmiştir. Santrifüjleme işleminden sonra süpernatant kısmı atılmış, pellet kısmına ise lökositler çökmüştür. Kırmızı kan hücresi kalıntıları kalması durumunda aynı işlem bir kez daha tekrarlanmıştır.

2. Tüplere yaklaşık 2 mL Tris-Buffered Saline [140 mM NaCl, 0.5 mM KCl, 0.5 mM Tris-HCl, pH:7.4] ilave edilip, düşük hızla vortekslendikten sonra 3000 rpm'de 5 dk santrifüjlenmiş ve süpernatant kısmı atıldıktan sonra, kit protokolü uygulamasına hazır hale getirilmiştir.

DNA ekstraksiyonu için, spin kolon protokolünde ufak modifikasyonlar yapılarak aşağıdaki işlem basamakları takip edilmiştir.

1. İçerisinde lökositler bulunan 2 mL'lik mikrosantrifüj tüplerine 400 µL kit içeriğinde sağlanan BL tamponundan ve 25 µL Proteinaz K çözeltisinden (20mg/mL) ilave edildikten sonra, tüpler yüksek devirde vorteks tüp karıştırıcı ile homojenize edilmiş ve 56°C'de 2 saat inkübe edilmiştir. Tüp kapaklarında ve üst çeperlerinde oluşan damlalar kısa süreli ve düşük devirli santrifüjleme ile giderilmiştir.
2. Bir sonraki aşamada, RNA'sız DNA elde etmek için, mikrosantrifüj tüplerine 20 µL RNase A çözeltisi (20 mg/mL, 50 mM Tris-HCl, pH 8.0, 10 mM EDTA) ilave edilerek, 2-3 defa pipetaj ile tüpün içeriğindeki sıvı homojenize edilmiş ve mikrosantrifüj tüpleri oda sıcaklığında 2 dk. inkübe edilmiştir.

3. Tüp içeriğindeki enzimlerin inaktivasyonu için 70°C'de 10 dk. inkübasyon yapılmıştır. Tüp kapaklarında ve üst çeperlerinde oluşan damlalar kısa süreli ve düşük devirli santrifüjleme ile giderilmiştir.
4. İnkübasyon sonrasında tüplere 400 µL Etanol (absolute) ilave edilmiş ve tüpler yüksek devirde vorteks tüp karıştırıcı ile homojenize edilmiştir. Bir önceki basamakta olduğu gibi tüp kapaklarında ve üst çeperlerinde oluşan damlacıklar oluşması durumunda kısa süreli ve düşük devirli santrifüjleme yapılmıştır.
5. Tüplerdeki sıvı içerik, kit içeriğinde sağlanan silika membranlı SV spin kolonlara dikkatli bir şekilde aktarılmış ve spin kolonlar 6000x g'de 1 dk. santrifüjlenmiştir. Santrifüjleme sonrasındaki kolondan geçen filtrat atılmıştır. Tüplerdeki sıvı içerik spin kolonların kapasitesinden fazla olduğu için, bu aşama iki kere tekrarlanarak tamamlanmıştır (Bazı durumlarda, santrifüjleme sonucunda spin kolonun üst kısmında hala sıvı bulunması durumunda, tıkanmayı engellemek için, spin kolonlar 13000x g'de 1 dk. santrifüjlenmiştir).
6. Daha sonra tüplere, kit içeriğinde sağlanmış olan BW tamponundan 600 µL, spin kolonlara ilave edilir ve 6000x g'de 1 dk. santrifügasyon gerçekleştirilir. Spin kolondan geçen filtrat toplama tüpüyle atılır ve spin kolon yeni bir tüpe aktarılır (Spin kolonda renkli kalıntılar kalması durumunda, spin kolondan renkli kalıntı kayboluncaya kadar tekrarlanır).
7. Bir sonraki aşamada tüplere, kit içeriğinde sağlanan TW tamponundan 700 µL, spin kolonlara ilave edilir ve spin kolonlar 6000x g'de yaklaşık 1 dk. santrifüjlenir. spin kolondan geçen filtrat atılır.
8. Spin kolonda kalması muhtemel yıkama tamponu kalıntılarını tamamen temizlemek için, spin kolonları yeni bir mikrosantrifüj tüplerine yerleştirip, 20000x g'de 1dk santrifügasyon gerçekleştirilir ve spin kolonlar yaklaşık 5dk oda sıcaklığında bekletilir.
9. Spin kolonlardaki DNA'yı tüplere aktarmak için, spin kolonun tam ortasına yaklaşık 40-50 µL kadar, kit içeriğinde sağlanan AE tamponundan ilave edilmiş ve 5 dk oda sıcaklığında inkübasyondan sonra, spin kolonlar 20000x g'de 1 dk santrifüjlenmiştir.
10. Elde edilen DNA'ların konsantrasyonları, nanodrop UV/VIS spektrofotometre (ThermoFisher Scientific, Nanodrop Lite, ABD) kullanılarak ölçülmüştür. Daha sonra PCR'da kullanılmak üzere DNA'ların konsantrasyonu 40 ng/µL olarak ayarlanmış ve kullanılıncaya kadar -20°C'de muhafaza edilmiştir.

2.2.3. Primer Dizaynı ve PCR Koşullarının Optimizasyonu

Araştırmada kullanılan primer dizilerinin bazıları literatürden alınırken, bazıları ise bu çalışmaya özgü olarak dizayn edilmiştir. Dizayn için Primer 3 [106] yazılımından faydalanılmıştır. Dizayn edilen primer dizilerinde çalışmasını olumsuz etkileyecek SNP ve/veya SNP'ler olup olmadığı Primer BLAST [107] algoritması ile NCBI Refseq veritabanı kullanılarak kontrol edilmiş ve doğrulanmıştır. Literatürden alınan primerlerde, Primer BLAST sonucunda olumsuzluklar tespit edilmesi durumunda, YND için önceki primerlerle aynı bölgeyi hedef alacak şekilde yeniden dizayn edilmiştir. Ayrıca primerler dizayn edilirken aşağıdaki bazı hususlara da dikkat edilmiştir [108, 109]. Bunlar:

- Primer uzunluklarının 18-25 baz arasında olmasına, GC oranını 40-60% civarında olmasına, bağlanmayı teşvik etmek için dizlerin 3' G veya C ile bitmesine,
- Primer çiftlerinin, primer dimer denilen yapıları oluşturmamasına,
- Primerlerin yanlış eşleşmesine sebep olacak, dizisi içerisinde dört veya daha fazla baz tekrarlarından veya dinükleotit tekrarlarından kaçınılmasına,
- Primerlerin 3' tarafındaki son beş baz içerisinde en az iki baz G ve C bazlarını (GC clamp) içermesine,
- PCR boyunca, DNA polimeraz enzimi çalışmaya primerlerin 3' den başlayacağı için, primerlerin 3' ucunun kalıp DNA ile tam eşleşmesine,
- Primer çiftlerinin benzer Tm değerlerine sahip olmasına ve bunlar arasındaki Tm farkının maksimum 2°C olmasına,
- Saç tokası (hairpin) tarzı yapıların oluşmaması için primer dizileri içinde eşlenik baz dizilerinin olmamasına dikkat edilmiştir. Ayrıca, saç tokası yapıları 50°C ve altındaki (Tm) erime sıcaklıklarında meydana geldiği için, primerlerin bağlanma sıcaklıklarının, 55-65°C arasında olmasına dikkat edilmiştir.

Dizayn edilen primerler, bir özel sektör firması (Oligomer, Çankaya, Ankara) tarafından, desalted ve HPLC saflaştırma yöntemleri sentezlenerek liyofilize halde tarafımıza ulaştırılmıştır. Son konsantrasyonları 100 µM/mL olarak sulandırılan primerler, 20

$\mu\text{M}/\text{mL}$ olacak şekilde seyreltilerek porsiyonlara ayrılmış ve -20°C 'de stoklanmıştır. PCR koşulları optimize edilirken ise, her primer için bağlanma sıcaklığı, ABI veriti96 (Thermo-Fisher Scientific, Applied Biosystems, ABD) termal döngü cihazında, 6'lı veriflex bloklar kullanılarak her blokta, primerlerin dizayn edilen T_m sıcaklıklarının aşağı ve yukarı değerleri 1'er $^{\circ}\text{C}$ farklarla test edilmiştir. Ayrıca primer konsantrasyonları da 0.1-0.25 $\mu\text{M}/\mu\text{L}$ arasında test edilmiştir. Uygulanan reaksiyon kurma ve sıcaklık koşulları Tablo 3.1'de verilmiştir. Daha sonra PCR ürünleri, içerisinde 50 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ etidyum bromür (Sigma / E1510) bulunan %1.7'lik Agaroz jelde, 65V'da 50 dakika elektrik akımı uygulanarak yürütülmüş ve ürünlerdeki bantlar jel görüntüleme sisteminde (GelDoc XR+, Bio-rad, Hercules, CA, ABD) görüntülenmiştir. PCR sıcaklık protokolleri jel sonuçlarına göre belirlenmiştir.

Tablo 2.1. Primerler İçin Uygulanacak Reaksiyon Kurma Koşullarının Optimizasyonu

Bileşen	Hacim (μL)	Son Konsantrasyon/ μL
<i>Pfu</i> DNA polimeraz	0.25	0.5 Ünite
İleri primer	değişken	0.1-0.25 μM
Geri primer	değişken	0.1-0.25 μM
<i>Pfu</i> Buffer (5x)*	2.5	1.25x
ddH ₂ O	5.175	-
Kalıp DNA (~ 40 ng)	1	~ 4 ng
PCR stimulant	0.5	-
2.5 mM dNTPs	0.8	0.2mM
Toplam Reaksiyon Hacmi	10	-

*Buffer içeriği: 100mM Tris-SO₄ (pH:9.2), 50mM (NH₄)₂SO₄, 200mM KCl, 10mM MgSO₄, 10% Gliserol

Tablo 2.2. Primerlerin Bağlanma Sıcaklıklarının (T_m) Optimizasyonu İçin Uygulanan Termal Döngü Koşulları

Aşama	Sıcaklık ($^{\circ}\text{C}$)	Süre	Döngü sayısı
İlk Aktivasyon aşaması	95	2 dakika	1
Denatürasyon	95	20 saniye	35
İndeks Bağlanma	T_m (veriflex)*	25 saniye	
Uzama	72	30 saniye	
Son uzama	72	5 dakika	1

*Dizayn sonucunda elde edilen T_m sıcaklıkları, aşağı ve yukarı 1'er $^{\circ}\text{C}$ farklarla 6'lı veriflex blokta test edilmiştir

Tablo 2.3. Araştırmada Kullanılan PCR Primer Dizileri ve Bazı Özellikleri

	Primer Kodu	Primer Dizisi (5'-3')	Hedef Bölge	PCR ürünü YND*	PCR Ürünü Agaroz jel**	Tm	GC %	Referans
1	ATF3ex5F ^{¥1}	ATGGCATCTCGTGAAGTT	3' UTR	464bç	566bç	52	44.44	[97]
	ATF3ex5R ^{¥1}	TCAATCGCAAGAACAGG					47.06	
2	CSN3ngsF ^{¥2}	ACCATTGCTAGTGGTGAGCC	Ekzon 4 +intron 4	137bç	244bç	59	55	Bu çalışma
	CSN3ngsR ^{¥2}	ACCTGCGTTGTCTTCTTTGA					45	
3	GHR-F ^{¥3}	AATACTTGGGCTAGCAGTGAC	Ekzon 8 +intron 8	132bç	242bç	58	47.62	Bu çalışma
	GHR-R ^{¥3}	ACTGGGTTGATGAAACACTTCA					40.91	
4	PAEPex3F ^{¥4}	CCTGGCCCTCAGTTCATCCT	Ekzon 3	197bç	264bç	59,5	52.38	Bu çalışma
	PAEPex3R ^{¥4}	CACCTGCCCCACAGTCCC					55	
5	PPARGC1A ^{¥5}	GGTATTCTTCCCTCTTGAGC	Ekzon 9 ve10 +İntron 8ve 9	371bç	478bç	55	50	[77]
	PPARGC1A ^{¥5}	GCCGGTTTATGTTAAGACAG					45	

*Yeni Nesil Dizileme sırasında okunan PCR ürün uzunluğu.

**Agaroz jelde görüntülenen adaptör ve primer dizileri dahil olan PCR ürün uzunluğu.

¥1; **ATF-3**: Cyclic AMP-dependent transcription factor (Siklik AMP'ye bağlı transkripsiyon faktörü) geni

¥2; **CSN3**: Kappa Kazein geni

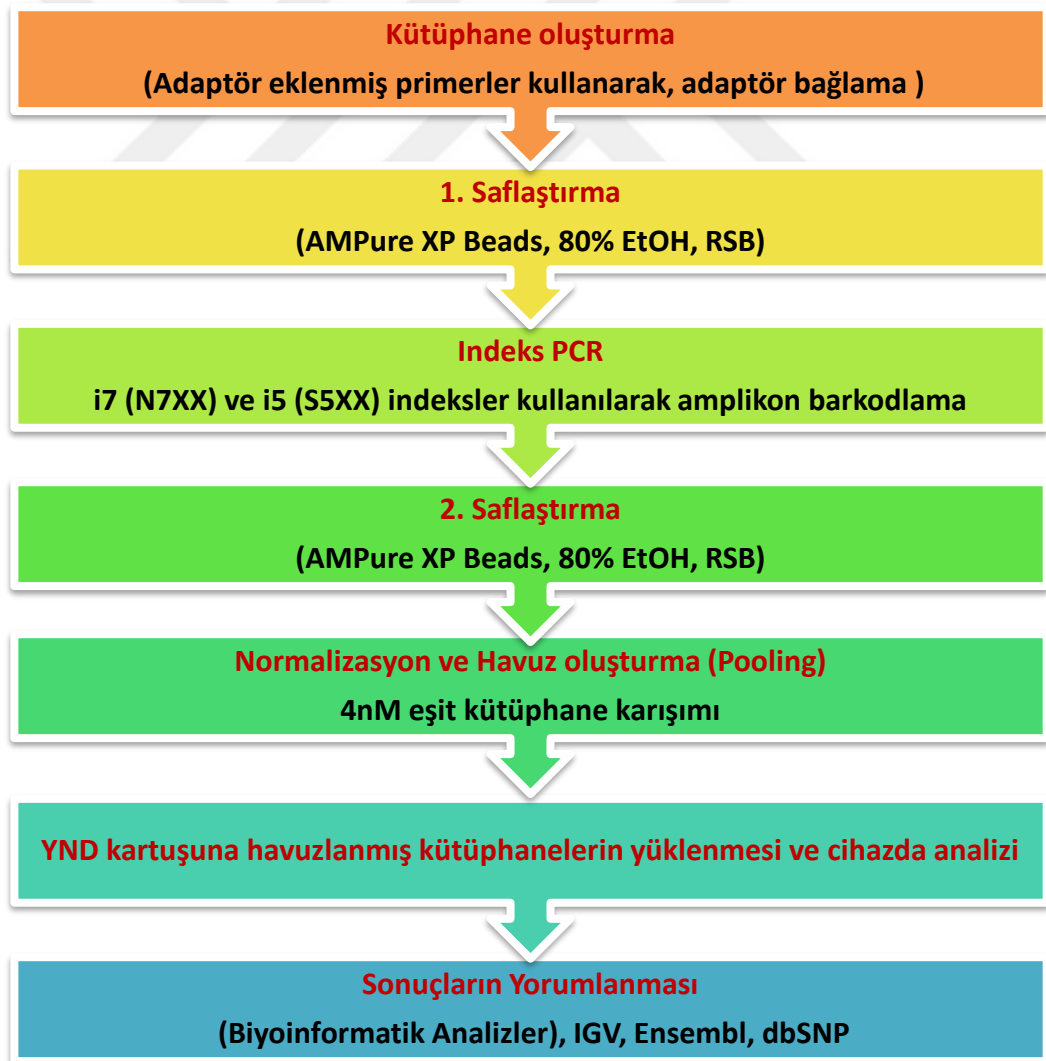
¥3; **GHR**: Growth Hormone Receptor (Büyüme Hormonu Reseptörü) geni

¥4; **PAEP**: Progestagen-Associated-Endometrial-Protein (Progesteron ilişkili endometriyal protein/ β -Lactoglobulin geni)

¥5; **PPARGC1A**: Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma Coactivator 1-alpha (Peroksizom Proliferatör -Aktif Reseptör Gama Koaktivatörü 1-alfa) geni

2.2.4.Yeni Nesil Dizileme (YND) Analizi

Hedef alınan gen bölgelerinin, ampikon temelli yeni nesil dizileme analizi için Nextera XT DNA Library Prep Kit (Illumina, FC-131-1024, ABD) ve Nextera XT Index Kit (Illumina, FC-131-1002, ABD) içerikleri kullanıldı ve yaklaşık olarak benzer protokoller uygulandı. Dizileme maliyetini düşürmek için, daha önceden dizayn edilen ve optimizasyonu yapılmış olan hedef genlere spesifik primerlere, adaptör dizileri eklenerek yeniden sentezlenmiş ve kütüphane oluşturulurken bu primerler kullanılmıştır. Uygulanan Protokol sayesinde, hedef PCR ürünlerine, adaptör ve indeks dizileri eklemeleri ve saflaştırma yapılarak kalıp DNA yeni nesil dizileme cihazında analiz edilebilir hale getirilmiştir. Uygulanan protokolün özet hali Şekil 2.1’de gösterilmiştir.



Şekil 2.1. Yeni Nesil Dizileme Protokol Akış Şeması

2.2.4.1. Kütüphane Oluşturma

Daha önce de bahsedildiği üzere, bu aşamada kütüphane oluşturmak için, adaptör dizileri eklenmiş hedef spesifik primerler (Oligomer, Çankaya, Ankara) kullanılarak polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) gerçekleştirilmiştir. Reaksiyon karışımında, genellikle PCR da kullanılan, *Taq* DNA polimeraz enziminden, 50 kat daha düşük hata oranına sahip olmasının yanı sıra, 5'→3' polimeraz aktivitesi, 3'→5' ekzonükleaz aktivitesi ve küt uçlu ampikon ürünü üretebilen bir *Pfu* DNA polimeraz enzimi içeren Ticari PCR karışımı (Bio-rad, iProof High-Fidelity PCR Master mix, Kaliforniya, ABD) kullanılmıştır. Böylece, bu çalışmada ampikon ürünlerindeki Tek Nükleotit Varyantları (SNV) inceleneceği için, enzim kaynaklı hataların önüne geçilmiştir. Reaksiyon hazırlama koşulları ve termal döngü protokolü Tablo 2.5.'de verilmiştir. PCR sonrasında çalışılan her bir inek için, 10 farklı gene ait ampikon ürünleri tek bir 0.2 mL'lik tüpte birleştirilmiş ve bir sonraki işlem basamağına kadar -20°C'de muhafaza edilmiştir.

Tablo 2.4. Optimizasyonu Yapılmış Primerlere İlave Edilen Adaptör Oligonükleotit Dizileri.

Primer	Adaptör oligonükleotit dizisi ve primere göre konumu
İleri Primer	5'-TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAG-(İ)primer-3' Illumina adaptör + İleri hedef primer
Geri Primer	5'-GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAG-(G)primer-3' Illumina adaptör + Geri hedef primer

Tablo 2.5. Kütüphane Hazırlamak İçin Gerçekleştirilen PCR Mix Hazırlama Koşulları ve Termal Döngü Protokolü.

PCR için reaksiyon kurma koşulları			
Bileşen		Hacim (µL)	Son konsantrasyon/µL
PCR Master Mix		5	1x
İleri primer		0.1	0.2 µM
Geri primer		0.1	0.2 µM
DMSO (Dimetilsülfoksit)		0.3	3%
ddH ₂ O		3.5	-
Kalıp DNA(~ 40 ng)		1	~ 4 ng
Toplam Reaksiyon Hacmi		10	-
Reaksiyon karışımlarına uygulanan PCR sıcaklık protokolü			
Aşama	Sıcaklık (°C)	Süre	Döngü sayısı
İlk Aktivasyon aşaması	98	30 saniye	1
Denatürasyon	98	10 saniye	35
İndeks Bağlanma	Tm*	30 saniye	
Uzama	72	30 saniye	
Son uzama	72	5 dakika	1

*Her primer için optimize edilen kendi bağlanma sıcaklığı uygulanmıştır.

2.2.4.2. Hedef Genlere Spesifik Kütüphane Oluşturma Sonrası İlk Saflaştırma

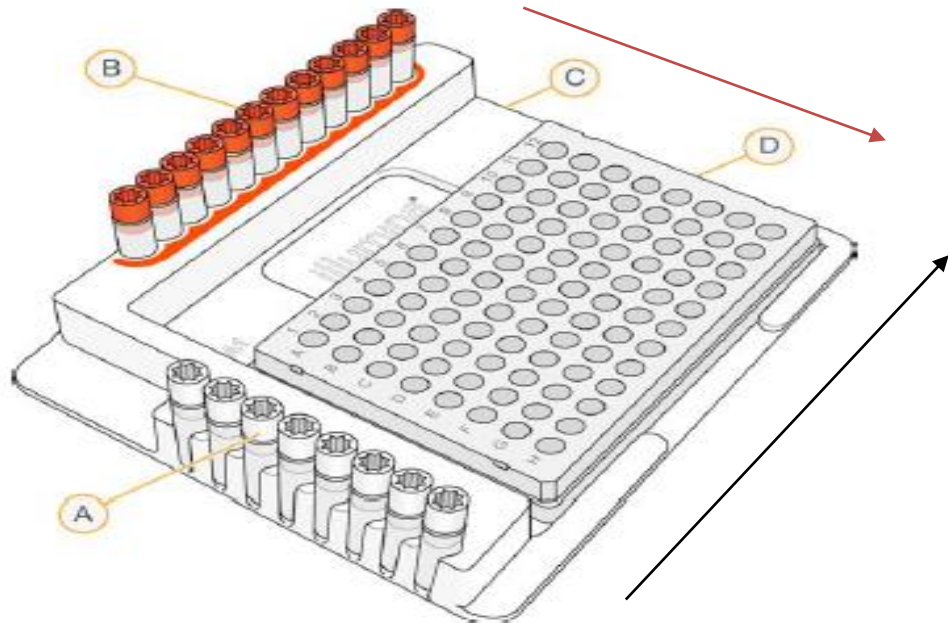
PCR sonrasında çalışılan her gene ait PCR ürünü, her bir örnek için ayrı bir 0.2 mL'lik tüpte toplanmıştır. Daha sonra her bir örnek için aşağıdaki işlem basamakları uygulanmıştır [110].

1. 96'lık bir PCR plakanın tüm kuyucuklarına, 50 μ L AMPure XP (Beckman Coulter, A638814, ABD) manyetik nanoboncuklar ilave edilmiş ardından aynı kuyucuklara 72,5 μ L adaptör bağlanmış ampikon karışımı ilave edilmiştir.
2. Yaklaşık 20-25 sefer pipetaj ile nanoboncuklar ile ampikon karışımı homojenize edilmiştir (Nanoboncukların, adaptör eklenmiş PCR ürünlerine iyice bağlanması sağlanmıştır).
3. Örnekler, oda sıcaklığında 5 dk inkübe edilmiştir.
4. Daha sonra, 96'lık PCR plaka, bir manyetik standa (üzerinde her bir kuyucuktaki manyetik boncukları, kutucuk duvarına tutturacak kuvvette neodyum mıknatıs sütunlar bulunan bir plaka) yerleştirilmiş ve süpernatant kısım tamamen berraklaşıncaya kadar, 5 dk oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. Sonrasında herbir numunedeki süpernatant nanoboncuklara dokunmadan pipetle atılmıştır.
5. PCR plaka, manyetik stand üzerinde iken, her bir manyetik boncuk pelletine 200 μ L taze %80'lik etanol ilave edilmiş ve plaka oda sıcaklığında 30 sn bekletilmiştir. Daha sonra her bir kuyucuktan süpernant pipet yardımıyla atılmıştır (Kalıntı etanol kalması durumunda 20 μ L'lik pipetle temizlenmiştir).
6. Bir önceki basamak tekrar edilmiş ve kuyucuklardaki tüm etanolün uzaklaştırılmıştır.
7. PCR plaka kuruması için oda sıcaklığında 10 dk boyunca manyetik standda inkübe edilmiştir.
8. Ardından, PCR plaka içerisindeki her bir kuyucukta bulunan kurumuş nanoboncuklara 27 μ L Resüspanyon tamponu (Resuspension buffer (RSB), Illumina, 15027913, ABD) ilave edilmiştir.
9. RSB'nin, 20-25 defa pipetaj ile nanoboncuklara iyice nüfus etmesi sağlandı ve örnekler oda sıcaklığında 3 dk inkübe edilmiştir.
10. PCR plate yeniden, manyetik standa yerleştirildi ve örnekler berraklaşıncaya kadar oda sıcaklığında yaklaşık 2 dk bekletilmiştir.

11. En son, 25 μ L süpernatant, indeks PCR aşamasında kullanılmak üzere yeni PCR tüplerine aktarılmıştır.

2.2.4.3. İndeks PCR

Bu aşamada, havuz oluşturma (pooling) işlemi öncesinde ampliconların hangi örneğe ait olduklarının karışmaması için, indeks primerleri (i5 ve i7) kullanılarak, basit bir şekilde ampliconları barkodlamak amaçlanmış ve 12 döngülük bir PCR gerçekleştirilmiştir. PCR için Nextera XT Index Kit (Illumina, FC-131-1002, ABD) içeriğindeki indeks primerler ve Nextera PCR master mix kullanılmıştır. PCR için gerekli reaksiyon hazırlama koşulları ve termal döngü protokolü Tablo 2.6.'de verilmiştir. İndekslerin 96'lık PCR plaka düzeninde her bir numuneye nasıl ilave edildiği ise Şekil 2.2'de gösterilmiştir. S5xx şeklinde kodlanan i5 indeksler multikanal bir pipetle kendi sıraları boyunca soldan sağa her bir kuyucuğa eklenirken, N7xx şeklinde kodlanan i7 indeksler ise yine multikanal pipet kullanılarak kendi sıraları boyunca her bir kuyucuğa eklenmiştir. Reaksiyon karışımı hazırlandıktan sonra örnekler, 280x g'de 20°C sıcaklıkta 1 dk santrifüjlenmiş ve termal döngü cihazına yerleştirilmiştir. Her bir örnek için kullanılan index ayrıntıları EK 1.'de sunulmuştur [110].



Şekil 2.2. 96'lık Örnek Hazırlama İçin PCR Ürünü İndeks Bağlama Düzeni (A: i5 İndeksler (Beyaz Kapaklı Tüpler), B: i7 İndeksler (Turuncu Kapaklı Tüpler), C: Truseq İndeks PCR Hazırlama Plakası, D: 96'lık PCR Plaka)

Tablo 2.6. İndeks PCR Karışımının Bileşimi ve Uygulanan Sıcaklık Protokolü

PCR İçin Reaksiyon Kurma Koşulları			
Bileşen			Hacim (µL)
Saflaştırılmış ve adaptör eklenmiş PCR ürünleri			25
i5 index barkod (10 µM)			5
i7 index barkod (10 µM)			5
Nextera PCR master mix			15
Toplam Reaksiyon Hacmi			50
Reaksiyon Karışımlarına Uygulanan Termal Döngü Protokolü			
Aşama	Sıcaklık (°C)	Süre	Döngü sayısı
İlk uzama	72	3 dakika	1
İlk Aktivasyon aşaması	95	30 saniye	1
Denatürasyon	95	10 saniye	12
İndeks Bağlanma	55	30 saniye	
Uzama	72	30 saniye	
Son uzama	72	5 dakika	1

2.2.4.4. İndeks PCR Sonrası Saflaştırma

Barkodlanmış amplikonlar, PCR sonrası, reaksiyon karışımında bulunabilecek ve cihazın okumasını olumsuz etkileyecek safsızlıkların uzaklaştırılması için ikinci bir saflaştırma aşaması uygulanmıştır. Saflaştırma için, ilk saflaştırmaya benzer olarak aşağıdaki işlem basamakları uygulanmıştır[110, 111].

1. 90 µL AMPure XP manyetik nanoboncuklar eklenmiş 96'lık PCR plakanın her bir kuyucuğuna 50 µL indeks PCR ürünü ilave edilmiş ve yaklaşık 20-25 defa pipetaj ile mantetik boncuklar ile PCR ürünlerinin homojenizasyonu sağlanmıştır.
2. Örnekler 5 dk oda sıcaklığında inkübe edildikten sonra, PCR plaka manyetik stand üzerine yerleştirilmiş ve süpernatant kısım berraklaşınca kadar tekrar oda sıcaklığında 5 dk bekletilmiştir. Daha sonra her bir numunedeki süpernatant pipet ile atılmıştır.
3. Aşağıda tarif edilen etanol ile yıkama aşaması iki defa tekrar edilmiştir; 200 µLtaze %80'lik etanol her bir kuyucuktaki nanoboncuk pelletinin üzerine ilave edilmiş ve PCR plaka bir manyetik stand üzerinde 30 saniye bekletilmiştir. İnkübasyon sonrasında her kuyucuktan süpernatant kısım pipet yardımıyla atılmıştır. Kuyucuklarda kalıntı etanol olması durumunda ise, 20 µL'lik pipet ile kalıntılar temizlenmiştir.

4. PCR plaka, manyetik stand üzerinde kuruması amacıyla 10 dakika oda sıcaklığında bekletilmiştir.
5. Daha sonra, PCR plaka, manyetik stand üzerinden alınmış ve her bir kuyucuğa 52.5 μ L resüspansiyon tamponu ilave edilmiş ve yaklaşık 20-25 defa pipetaj ile tampon ile nanboncukların homojenizasyonu sağlanmıştır. PCR plaka oda sıcaklığında 2 dakika bekletilmiştir.
6. Ardından, PCR plaka manyetik stand üzerine tekrar yerleştirilmiş ve örneklerin süpernatant kısmı berraklaşınca kadar oda sıcaklığında 2 dakika inkübe edilmiştir.
7. En son olarak, her bir kuyucuktan 50 μ L süpernatant alınarak yeni bir 96'lık PCR plakaya aktarılmış ve her bir örneğin florometrik yöntem (Qubit, Invitrogen, ThermoFisher Scientific, ABD) ile konsantrasyonu ölçülmüştür.

2.2.4.5. Denatürasyon, Megapooling ve Örneklerin Cihaza Yüklenmesi

Qubit ölçümleri sonrasında her bir pool edilmiş, yani her numune için tek tüpte, 10 gene ait PCR ürünleri bulunan kütüphanelerin konsantrasyonu, 0.8 ng/ μ L (~4 nM) olacak şekilde seyreltilmiştir. Denatürasyon aşamasında her bir örneğe ait amplikon kütüphanesinin, havuzu oluşturulmuş kütüphane içerisinde, eşit konsantrasyonlarda, homojen bir örnek dağılımı amaçlanmıştır. Denatürasyon sonrasında amplikon kütüphaneleri denatüre olup dsDNA formundan, ssDNA formuna geçecektir. Denatürasyon aşamasında, her bir örnek için; 5 μ L, 4nM kütüphane ile 5 μ L 0.2N NaOH bir mikrosantrifüj tüpü içerisinde karıştırılmıştır. Daha sonra kısaca vorkeslendikten sonra 280 x g'de 1 dakika santrifüjlenmiştir. Oda sıcaklığında 5 dakika inkübe edildikten sonra, her bir örnek için hazırlanan ve içerisinde denatüre edilmiş kütüphane bulunan, 10 μ L hacim, üzerine önceden soğutulmuş 990 μ L HT1 ilave edilerek 20 pM/ μ L konsantrasyon elde edilmiştir. Daha sonra her bir numune için oluşturulan havuz(pool)lardan, her havuzdaki PCR ürünü sayısı kadar μ L pool alınıp, megapool oluşturulmuştur. Daha sonra, normalizasyon öncesi Qubit ile toplam konsantrasyonun 4 nM'a yakın olup olmadığı kontrol edilmiştir. Örneklerin YND için, cihaza yüklenmesinden önce, bir eppendorf tüpünde 375 μ L 20 pM kütüphane ile 225 μ L HT1 buffer karışımı hazırlanmıştır. Daha sonra toplam 600 μ L hacimden 30 μ L'si atılıp üzerine daha önceden konsantrasyonu 12.5 pM'e ayarlanmış phiX kontrol

ilave edilmiştir. Ardından megapool YND kartuşuna yüklenmiş ve flow cell ile birlikte YND cihazına yerleştirildikten sonra, sekanslama başlatılmıştır[111].

2.2.4.6. Sonuçların Yorumlanması

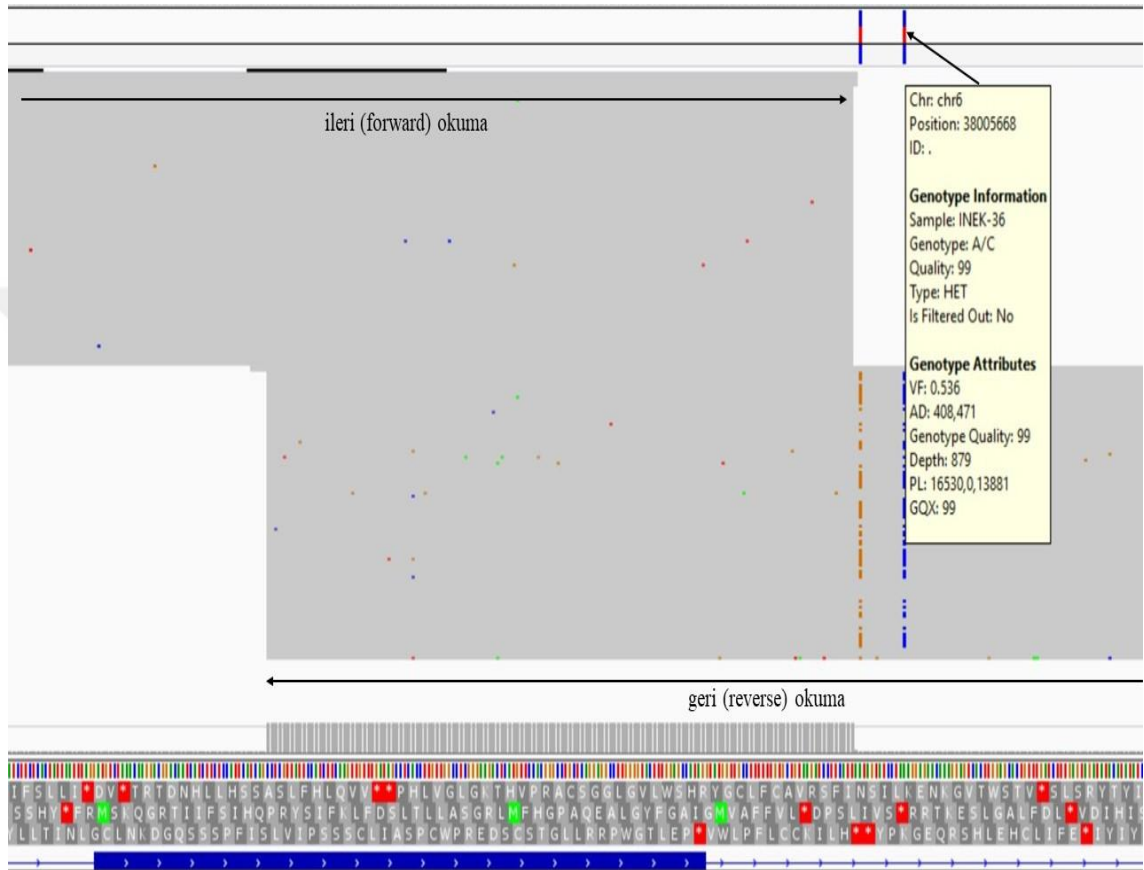
Örneklerin Miseq (Illumina, ABD) YND cihazında analizinden sonra, cihaz arayüzünden her bir örnek için, .BAM, .BAM.BAI ve .VCF uzantılı dosyalar alınmıştır. İlk aşamada alınan dosyalardan içerisinde SNP/Varyant verilerinin olduğu Variant Call Format (.VCF) dosyaları, grafiksel kullanıcı arayüzü (Graphical User Interface - GUI) olmayan, Genome Analysis Toolkit (GATK) 4.1.3.0.[112, 113] yazılımını (<https://software.broadinstitute.org/gatk/>) Linux Ubuntu 18.04 LTS terminal ortamında çalıştırılarak, tek bir dosyada birleştirilmiş (cohort) ve daha sonra CSV dosyası olarak MS Excel programına aktarılmıştır. Diğer bir taraftan ise, her örnek için, tüm dosyaları analiz etmek için Integrative Genomics Viewer (IGV) yazılımı (<https://software.broadinstitute.org/software/igv/>) kullanılmıştır [114, 115]. Öncelikle, analiz edilen hedef gen bölgelerinin *Bos Taurus* Genomu (bosTau8/UMD 3.1.1) üzerindeki kromozomal koordinatları, yazılımın Region Navigator kısmında belirlenmiştir (Tablo 2.7.). Daha sonra, hedef alınan gen bölgelerinde polimorfik noktaların analizine imkan sağlayacak ampikon oluşumu ve okuma derinliği kontrol edilmiştir. Literatürde belirtilen ≥ 25 okuma derinliği referans olarak kabul edilmiştir [116]. Ayrıca programda, analiz edilen gen bölgeleri ve referans genom ile karşılaştırılarak nükleotid değişimleri ve Tek Nükleotid Polimorfizmleri (Single Nucleotide polymorphisms, SNPs) tespit edilerek (Şekil 2.3.), MS excel ortamına aktarılan toplu VCF dosyasındaki SNPlar bu şekilde doğrulanmıştır.

Tablo 2.7. Çalışmada Kullanılan Hedef Gen Bölgelerinin *Bos Taurus* (UMD 3.1.1/ bosTau8) Genomu Üzerindeki Kromozomal Koordinatları

Kromozom	Hedef Gen Bölgesi	Başlangıç (bç)	Bitiş (bç)
6	<i>CNS3</i>	87390533	87390726
6	<i>PPARGC1A</i>	44875054	44875475
16	<i>ATF3</i>	72820336	72820853
20	<i>GHR</i>	31909323	31909507
11	<i>PAEP</i>	103303130	103303806

Ayrıca, tespit edilen SNP'lerin dbSNP referans numaralarını tespit etmek için, çalışmada kullandığımız primer setlerine ait dizileri kullanarak, *Bos taurus* UMD

3.1.1/bosTau8 sığır genomu asemblesine göre, in-silico PCR (<https://genome.ucsc.edu/cgi-bin/hgPcr>) gerçekleştirildikten sonra, UCSC (University of California Santa Cruz) Genome Browser üzerinden SNP/SNV referans numarası taraması yapılmıştır [117].



Şekil 2.3. IGV Yazılımı ile Analiz Edilen Gen Bölgelerindeki SNP'lerin Doğrulanması

2.2.5. İstatistiksel Analiz ve Modeller

2.2.5.1. Allel ve Genotip Frekansları ve Popülasyonun Hardy-Weinberg (HW) Dengesinde Olup Olmadığının Belirlenmesi

Tespit edilen her SNP için, çalışılan popülasyona ait allel ve genotip frekansları Hardy-Weinberg teorisinin varsayımlarından biri olan, $p^2 + 2pq + q^2 = 1$ denkleminde göre belirlenmiştir [118, 119]. Benzer şekilde her SNP için, popülasyonun Hardy-Weinberg dengesinde olup olmadığını test etmek ki-kare (X^2) testi yapılmıştır. Allel ve genotip frekansları belirlenmesi ile ki-kare testi R ortamında (RStudio), **Hardyweiberg**

istatistiksel test paketi kullanılarak gerçekleştirilmiştir [120]. Analiz ile ilgili örnek R kodları EK 2.'de gösterilmiştir.

2.2.5.2. En Küçük Kare Ortalamaları ve Standard Hata Değerlerinin Belirlenmesi

Tespit edilen SNP'lere ait genotiplerin, süt verimi, yağ oranı (%), yağ verimi (kg), protein oranı (%), protein verimi (kg), laktoz oranı (%) ve laktoz verimi (kg) üzerine, tahmini birliktelik etkilerini incelemek için, en küçük kareler ortalaması (LSM) ve standart hata (SE) değerleri hesaplanmış, hesaplanan değerlere varyans analizi yapılmıştır. Ayrıca, genotiplere ait en küçük kareler ortalamaları arasında farklılıklar olup olmadığını belirlemek için, Tukey (HSD-Honestly Singificant Difference) çoklu karşılaştırma testi uygulanmıştır. Tüm bu işlemler R ortamında, *lsmeans* ve *agricolae* paketleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir [120]. Bu analiz ile ilgili örnek R kodları EK 3.'de verilmiştir.

2.2.5.3. Analiz Edilecek Verilerin Dağılımlarının Normalliğinin Test Edilmesi

MARS analizi öncesinde, analiz edilecek olan datanın normal dağılımı gösterip göstermediği hakkında fikir sahibi olmak için, R paketlerinin kullanıldığı R Studio açık kaynaklı programlama dilinde [120], *stats* paketi kullanılarak, Shapiro-Wilk Testi yapılmış ve dataların histogramı (EK 15.- 23.) çıkarılmıştır.

2.2.5.4. Multivariate Adaptive Regression Splines (MARS) Algoritması Kullanılarak Genotipler ile Süt Verimi ve Bileşenleri Arasındaki İlişkinin Modellenmesi

MARS algoritması ile model oluşturmak için, bağımlı değişken olarak, süt verimi, yağ oranı (%), yağ verimi (kg), protein oranı (%), protein verimi (kg), laktoz oranı (%), laktoz verimi (kg), yoğunluk (kg/m^3) ve yağsız kuru madde (SNF) oranı parametreleri kullanılırken, bağımsız değişken olarak NGS sonucunda elde edilen SNP verileri, Laktasyon (1, 2) ve çevresel faktör(çiftlikler; 1, 2, 3) kullanılmıştır. Yukarıda bahsedilen her bağımlı değişken için ayrı bir model oluşturulmuş, oluşturulan modeller içinde modelin doğruluğunu ve güvenilirliğini arttırmak için, bazı modellerin bağımlı değişkenleri başka modellerin içersinde bağımsız değişken olarak kullanılmıştır. MARS algoritması ile model oluşturmak için R ortamında (R studio), *earth*, *plotmo*, *rsample*, *vip*, *pdp* ve *ggplot2* paketleri kullanılmıştır [71, 120, 121]. MARS algortması

kullanılarak Modeller oluşturulurken, ceza (penalty) değeri = -1, d (degree) değeri = 2, budama (pruning) metodu olarak “Backward” tercih edilmesine yapılan ön denemeler sonucunda karar verilmiştir. Bu çalışmada da kullandığımız gibi MARS modelleri için oluşturulan denklemler aşağıdaki formüle göre oluşturulmaktadır.

$$\hat{y} = \beta_0 + \sum_{m=1}^M \beta_m \prod_{k=1}^{K_m} h_{km} (X_{v(k,m)}) \quad (1)$$

Eşitlikte, $\hat{y}$ bağımlı değişkenin tahmin edilen değeri, β_0 modelin sabit terimini, β_m temel fonksiyonların katsayısını, $h_{km} (X_{v(k,m)})$ temel fonksiyonu, k . ıncı ürünün m . İnci bileşeni için tahminleyici indeksini, K_m interaksiyon sırasını kontrol eden parametreyi, X bağımsız değişkeni belirtir. Model oluşturulurken hata kareler toplamının minimum olmasına imkan sağlayacak bütün olası değişkenler ve düğümler için temel fonksiyon kümesi maksimum karmaşıklığa ulaşınca kadar muhtemel bütün temel fonksiyonlar araştırılır. Ardından modele katkısı olmayan yada az katkısı olan bağımsız değişkenler ve/veya etkileşimleri budama (pruning) işlemi ile modelden çıkartılarak, hata kareler toplamı en küçük olan, önemli bağımsız değişkenler ve bunların etkileşimlerinden oluşan en uygun model oluşturulmuştur. Budama işlemi, Genelleştirilmiş Çapraz geçerlilik (Generalized Cross Validation-GCV) tekniğine göre gerçekleştirilmektedir. Penalty değeri -1 olarak seçildiği için GCV değeri artık kareler toplamının (RSS-Residual Sum of Squares), analiz edilen örnek sayısına bölünmesiyle bulunmuştur. Diğer bir taraftan, oluşturulan modelin tahminleyici (predictive) performansını ölçmek için uyum iyiliği (Goodness of fit) kriterleri kullanılmıştır. Bu kriterler ise aşağıda belirtilen başlıklardaki formüllere göre hesaplanmıştır.

Kök Ortalama Kare Hatası (Root-Mean-Square-Error/RMSE):

$$RMSE = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{a=1}^n (y_a - y_{ab})^2} \quad (2)$$

Ortalama Hata (Mean Error/ME):

$$ME = \frac{1}{n} \sum_{a=1}^n (y_a - y_{ab}) \quad (3)$$

Standart Sapma Oranı (SD_{ratio}):

$$\mathbf{SDratio} = \frac{S_m}{S_d} \quad (4)$$

Global Bağlı Yaklaşım Hatası (Global Relative Approximation Error/RAE):

$$\mathbf{RAE} = \sqrt{\frac{\sum_{a=1}^n (y_a - y_{ab})^2}{\sum_{a=1}^n y_a^2}} \quad (5)$$

Ortalama Mutlak Sapma (Mean Absolute Deviation/MAD):

$$\mathbf{MAD} = \frac{1}{n} \sum_{a=1}^n |y_a - y_{ab}| \quad (6)$$

Akaike Bilgi Kriteri (Akaike Information Criterion/AIC):

$$\mathbf{AIC} = n \ln \left[\frac{1}{n} \sum_{a=1}^n (y_a - y_{ab})^2 \right] + 2k \quad (7)$$

Düzeltilmiş R^2 değerinin hesaplanması (Adjusted R^2):

$$\mathbf{Adj. R^2} = 1 - \left(\frac{(1-R^2) \cdot (n-1)}{n-k-1} \right) \quad (8)$$

Uyum iyiliği kriterlerine ait denklemlerde, n modelde kullanılan hayvan sayısını, k model parametrelerinin (yani model içerisinde seçilen terimler), y_a bağımlı değişkenin gerçek değerini, y_{ab} bağımlı değişkenin tahmin edilmiş değeri, S_m model hatalarının standart sapmasını, S_d bağımlı değişkenin standart sapmasını belirtmektedir. Model oluşturulurken iyi bir tahminleme için, En düşük GCV değeri ile en yüksek R^2 , düzeltilmiş R^2 ve Pearson Korelasyon değerlerinin elde edilmesi kriterlerine göre değerlendirme yapılmıştır. Diğer bir taraftan, diğer uyum iyiliği kriterlerinin de düşük olması gerekmektedir [56-58, 68]. MARS algoritması için kullanılan örnek R kodları EK 4.'de verilmiştir.

*Bu tez çalışması süresince hayvanlarla gerçekleştirilen çalışmalar için, T.C. Tarım ve Orman Bakanlığına, 13.11.2011 tarih ve 28141 sayılı Resmi Gazetede yayınlanarak yürürlüğe giren, “Deneyisel ve Diğer Bilimsel Amaçlar için Kullanılan Hayvanların Refah ve Korunmasına Dair Yönetmelik” kapsamında proje bazlı çalışma izni başvurusunda bulunulmuştur. Bakanlığa bağlı ilgili “İl Tarım ve Orman Müdürlüğü”nün yaptığı değerlendirmeler sonucunda, yönetmeliğin 2.maddesi ikinci fıkrasında bahsedilen **“Bu Yönetmelik; deneyisel olmayan tarımsal ve klinik veterinerlik uygulamaları, veteriner sağlık ürünlerinin ruhsatı için yapılan saha denemeleri, kayıtlı veya onaylı hayvancılık işletmelerinin yapmakla yükümlü oldukları uygulamaları, birincil amacı bir hayvanın kimliklendirilmesi olan uygulamalar, iyi veterinerlik uygulamalarına uygun olarak bir iğnenin batırılmasıyla oluşan ağrıya eşit veya daha fazla ağrı, eziyet, sıkıntı ve kalıcı hasar oluşturma olasılığı bulunmayan uygulamaları kapsamaz.”** hükmü gereğince, kapsam dışı olduğundan, T.C. Tarım ve Orman Bakanlığından izin alınmasına gerek olmadığı yetkililer tarafından yazılı olarak bildirilmiştir.*

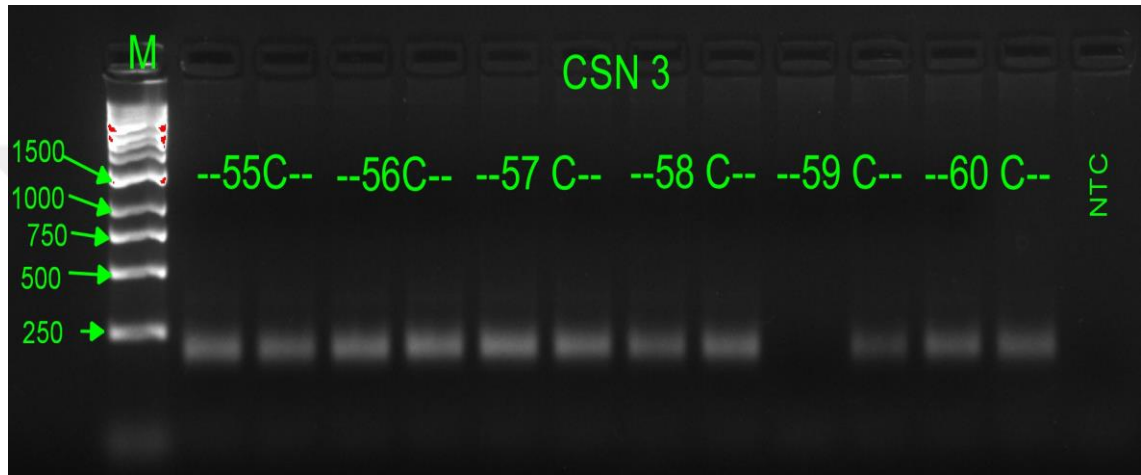
3. BÖLÜM

BULGULAR

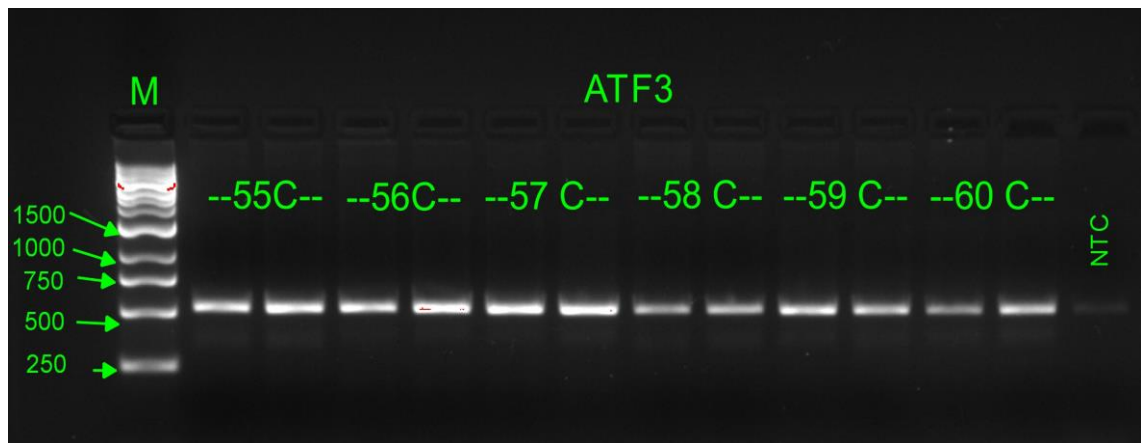
Bu çalışmada, Kayseri ve Kahramanmaraş bulunan çiftliklerden bulunan toplamda 192 baş Holstein-Fresian ırkı süt sığırlarından EDTA'lı tüplere alınan kan numuneleri ve düzenli aralıklarla temin edilen süt numuneleri kullanılmış, her bir örnek için materyal metod kısmında belirtilen protokol uygulanmıştır. NGS analizi sonucunda bazı örneklerin eksik sonuç vermesinden dolayı, toplam analiz edilen örnek sayısı 182 ile sınırlı kalmıştır. Diğer bir taraftan, süt verimi ve bileşenleri ile ilişkisi olduğu bilenen genlerden, *CSN3* (Kappa Kazein), *ATF3* (Döngüsel AMP'ye bağlı transkripsiyon faktörü), *GHR* (Büyüme Hormonu Reseptörü), *PAEP* (Progestogen ilişkili endometriyal protein), *PPARGC1A* (Peroksizom Proliferatör - Aktif Reseptör Gama Koaktivatörü 1-alfa) genlerine spesifik olan adaptör dizileri eklenmiş olan primerlerin PCR reaksiyon ve termal döngü koşulları optimize edilmiştir. Ayrıca, agaroz jel elektroforez görüntüleri elde edilmiş ve aşağıdaki bölümlerde gösterilmiştir. NGS analizi sonucunda, çalışılan genlere ait toplamda 16 adet SNP tespit edilmiştir. Bu SNP'lerin, Hardy-Weinberg popülasyon dengesinde olup olmadıklarını anlamak için her SNP için, ki-kare testi yapılmıştır. Süt verimi ve bileşenleri ile SNP'lerin ilişkilerinin olup olmadığını basit ve anlaşılır bir şekilde tespit etmek amacıyla her parametre için en küçük kareler ortalamaları ve standart hata değerleri hesaplanmıştır. Daha sonra, analiz edilen SNP'lerin, süt verimi, yağ oranı, protein oranı, laktoz oranı, yağsız kuru madde oranı ve yoğunluk parametreleri ile arasındaki ilişkiyi daha ayrıntılı ve daha bilgilendirici şekilde analiz edebilmek için, MARS algoritması kullanılarak bir prediktif (tahminleyici) model oluşturulmuş ve her bir SNP ile çalışılan parametreler arasındaki ilişki ayrıntılı bir şekilde ortaya çıkarılmıştır.

3.1. Adaptör Dizileri Eklenmiş NGS Primerlerinin Sıcaklık Optimizasyonu Sonuçları

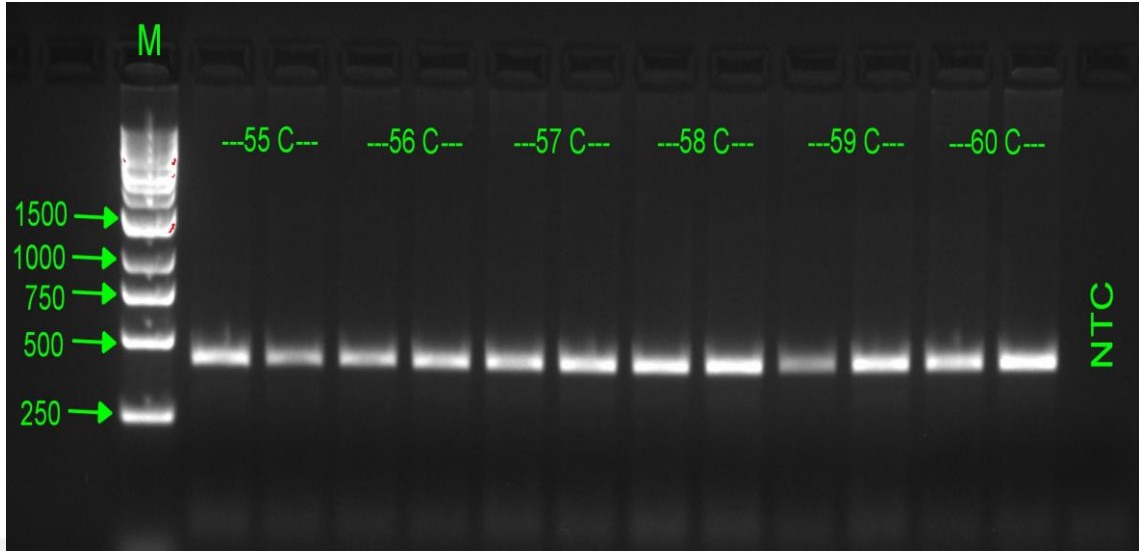
Agaroz jel elektroforezi sonucunda, NGS için kullanılacak adaptörlü primer T_m sıcaklıkları; *CSN3* =56°C, *ATF3*=57°C, *PPARGC1A*=58°C, *GHR*=56°C, *PAEP*=56°C olarak belirlenmiştir. Her gene ait PCR ürünlerinin yürütüldüğü agaroz jel görüntüleri Şekil 3.1., 3.2., 3.3., 3.4., ve 3.5. 'de gösterilmiştir.



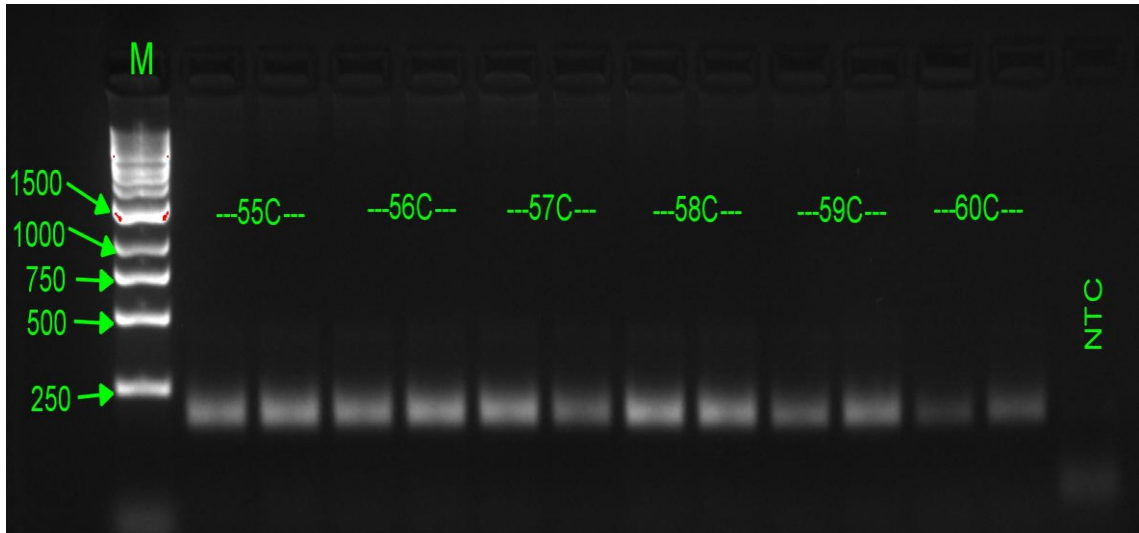
Şekil 3.1. *CSN3* (Kappa Kazein) Geni İçin Dizayn Edilen Adaptörlü Primerlerin PCR Optimizasyon Sonuçları, 244 bp Boyutunda Amplikon Elde Edilmiştir (M: Marker, NTC: Negative Template Control/Negatif Örnek Kontrolü).



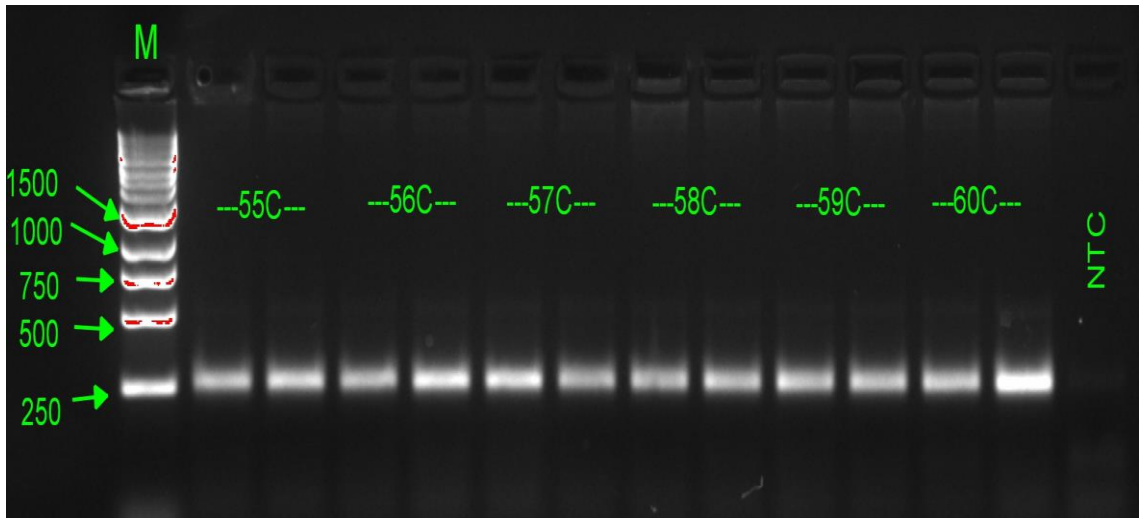
Şekil 3.2. *ATF3* (Cyclic AMP-Dependent Transcription Factor) Geni İçin Dizayn Edilen Adaptörlü Primerlerin PCR Optimizasyon Sonuçları, 566 bp Boyutunda Amplikon Elde Edilmiştir (M: Marker, NTC: Negative Template Control/Negatif Örnek Kontrolü).



Şekil 3.3. *PPARGC1A* (Peroxisome Proliferator Activated Receptor Gamma Coactivator 1-Alpha) Geni İçin Dizayn Edilen Adaptörlü Primerlerin PCR Optimizasyon Sonuçları, 478 bç Boyutunda Amplikon Elde Edilmiştir (M: Marker, NTC: Negative Template Control/Negatif Örnek Kontrolü).



Şekil 3.4. *GHR* (Growth Hormone Receptor) Geni İçin Dizayn Edilen Adaptörlü Primerlerin PCR Optimizasyon Sonuçları, 242 bç Boyutunda Amplikon Elde Edilmiştir (M: Marker, NTC: Negative Template Control/Negatif Örnek Kontrolü).



Şekil 3.5. *PAEP* (Progestagen-Associated-Endometrial-Protein) Geni İçin Dizayn Edilen Adaptörlü Primerlerin PCR Optimizasyon Sonuçları, 264 bp Boyutunda Amplikon Elde Edilmiştir (M: Marker, NTC: Negative Template Control/Negatif Örnek Kontrolü).

3.2. NGS Sonucu Tespit Edilen SNP'ler, Genotip, Allel frekansları ve HW Genetik Denge Test Sonuçları

YND sonucunda, Çalışmada hedef alınan genlerden, *PAEP* geni 4. ekzon üzerinde 2 SNP, *PPARGC1A* ekzon 4 üzerinde 4 SNP, *CSN3* geninin 4. ekzonun son %45'lik kısmında 5 SNP, *ATF3* geninin 4. Ekzonu üzerinde 3 SNP ve *GHR* geninin 8. Ekzonunda 2 SNP olmak üzere toplamda 16 SNP tespit edilmiştir. Tespit edilen SNP'lere ait NCBI yada Ensembl SNP/varyant veritabanlarının da her hangi bir referans numarası bulunamamıştır. Ancak, UCSC Genome Browser içinde bulunan in-silico PCR tool ile tespit edilen SNP'lerin büyük çoğunluğunun (dbSNP) referans numarası tespit edilebilmiştir. Tespit edilen SNP'lere ait genotip, allel frekansları, referans numaraları ile ki-kare test sonuçları Tablo 3.1'de gösterilmiştir.

3.3. SNP'lere Ait En Küçük Kare Ortalamaları ve Standard Hata Değerleri

Tespit edilen her SNP'nin genotipleri ile, bir laktasyonda elde edilen, Süt verimi (kg), yağ oranı (%), yağ verimi (kg), protein oranı (%), protein verimi (kg), laktoz oranı (%) ve laktoz verimi (kg) parametreleri arasında bir ilişkinin olup olmadığını tahmin etmek için en küçük kareler ortalamaları ile standart hata değerleri hesaplanmış ve Tablo 3.2'de gösterilmiştir.

Tablo 3.1. Tespit Edilen SNP'lerin, *Bos taurus* (UMD 3.1.1) Genomu Üzerindeki Konumları, Genotip ve Allel Frekansları ile HW Genetik Denge Test Sonuçları

S/N	SNP	Gen	Lokasyon	Kromozom	dbSNP Referans Numarası	UMD_3.1.1 (bosTau8) üzerindeki pozisyon	Genotip	N	Genotip frekansları	Allel	Allel frekansları	X ² değeri	p-değeri
1	C>T	PAEP	Ekzon 3	11	rs110180463	103303473 bç	CC	41	0.225	C	0.508	3.179618	0.07456215
							CT	103	0.566	T	0.492		
							TT	38	0.209				
2	G>A	PAEP	Ekzon 3	11	rs110066229	103303475 bç	GG	36	0.198	G	0.464	0.9278390	0.3354251
							GA	97	0.533	A	0.536		
							AA	49	0.269				
3	G>A	PPARGC1A	İntron 9	6	rs109579682	44875251 bç	GG	114	0.626	G	0.724	2.125482	0.1448672
							GA	64	0.352	A	0.276		
							AA	4	0.022				
4	A>G	PPARGC1A	Ekzon 9	6	rs133669403	44875315 bç	GG	171	0.940	G	0.943	0.1767288	0.6741997
							GA	11	0.060	A	0.057		
							AA	0	0.000				
5	C>T	PPARGC1A	İntron 8	6	rs17870811	44875421 bç	CC	161	0.885	C	0.897	0.682215	0.4088248
							CT	21	0.115	T	0.103		
							TT	0	0.000				
6	C>A	PPARGC1A	İntron 8	6	T.E.	44875457 bç	CC	181	0.995	C	0.995	0.0013812	0.970353
							CA	1	0.005	A	0.005		
							AA	0	0.000				
7	C>T	CSN3	Ekzon 4	6	rs43703015	87390576 bç	TT	16	0.088	T	0.359	0.012789	0.9099591
							TC	77	0.423	C	0.641		
							CC	89	0.489				
8	A>C	CSN3	Ekzon 4	6	rs43703016	87390612 bç	CC	15	0.082	C	0.355	0.0673517	0.7952324
							CA	77	0.423	A	0.645		
							AA	90	0.495				

N: Analiz edilen popülasyon içerisindeki her bir genotipe ait birey sayısı, ***p<0.05**, **T.E.:** Tespit Edilmedi

Tablo 3.1. Tespit Edilen SNP'lerin, *Bos taurus* (UMD 3.1.1) Genomu Üzerindeki Konumları, Genotip ve Allel Frekansları ile HW Genetik Denge Test Sonuçları

9	A>G	CSN3	Ekzon 4	6	rs43703017	87390632 bç	AA	151	0.830	A	0.854	0.141279349	0.7070125
							AG	30	0.165	G	0.146		
							GG	1	0.005				
10	G>A	CSN3	Ekzon 4	6	rs110014544	87390673 bç	GG	15	0.082	G	0.363	0.3246255	0.5688411
							GA	80	0.440	A	0.637		
							AA	87	0.478				
11	T>A	CSN3	Ekzon 4	6	rs109787476	87390681 bç	TT	15	0.082	T	0.363	0.3246255	0.5688411
							TA	80	0.440	A	0.637		
							AA	87	0.478				
12	T>C	ATF3	3'UTR	16	rs210174407	72820542 bç	CC	150	0.824	C	0.848	1.2623527	0.2612062
							CT	29	0.159	T	0.152		
							TT	3	0.016				
13	G>C	ATF3	3'UTR	16	rs209048412	72820592 bç	CC	150	0.824	C	0.848	1.2623527	0.2612062
							CG	29	0.159	G	0.152		
							GG	3	0.016				
14	G>A	ATF3	3'UTR	16	rs210941907	72820637 bç	AA	150	0.824	A	0.848	1.2623527	0.2612062
							AG	29	0.159	G	0.152		
							GG	3	0.016				
15	G>A	GHR	İntron 8	20	rs382888926	31909419 bç	AA	172	0.945	A	0.970	4.4474798	0.03495279*
							AG	9	0.049	G	0.030		
							GG	1	0.005				
16	T>A	GHR	Ekzon 8	20	rs385640152	31909478 bç	AA	113	0.621	A	0.797	1.3321628	0.2484208
							AT	64	0.352	T	0.203		
							TT	5	0.027				

N: Analiz edilen popülasyon içerisindeki her bir genotipe ait birey sayısı, * $p < 0.05$

Tablo 3.2. Tespit Edilen SNP'lerin En Küçük Kareler Ortalaması ve Standart Hataya (LSM±SE) Göre Süt Verimi ve Diğer Parametreler Üzerine Tahmini Birliktelik Etkileri

SNP	Genotip	Süt verimi (kg)	Yağ oranı (%)	Yağ verimi (kg)	Protein oranı (%)	Protein verimi (kg)	Laktoz oranı (%)	Laktoz verimi (kg)
kr.11:g.103303473 C>T (PAEP) dbSNP: rs110180463	CT (103)	8744±259	3.51±0.233	305±21.5	3.23±0.0228	282±8.89	4.85±0.0327	424±13.3
	TT (38)	8806±427	3.36±0.383	281±35.4	3.25±0.0375	288±14.64	4.89±0.0539	432±21.9
	CC (41)	8871±411	3.71±0.369	312±34.1	3.22±0.0361	286±14.09	4.84±0.0519	430±21.1
	P-değeri	0.9646	0.7975	0.7974	0.7778	0.9343	0.7852	0.9353
kr.11:g.103303475 G>A (PAEP) dbSNP: rs110066229	GA (97)	8695±267	3.55±0.240	303±22.2	3.23±0.0235	281±9.16	4.85±0.0337	281±9.16
	AA (49)	8801±376	3.48±0.338	300±31.2	3.23±0.0331	284±12.88	4.85±0.0475	284±12.88
	GG (36)	9009±438	3.52±0.394	298±36.4	3.22±0.0386	292±15.03	4.85±0.0554	292±15.03
	P-değeri	0.8276	0.9828	0.993	0.9697	0.8448	0.966	0.8448
kr.20:g.31909419 G>A (GHR) dbSNP: rs382888926	AG (9)	7672±847	4.67±0.782	355.45±72.4	3.26±0.0769	250±29.18	4.91±0.1104	376±43.65
	AA(172)	8893±194	3.48±0.179	300.39±16.6	3.23±0.0176	288±6.68	4.85±0.0253	432±9.99
	P-değeri	0.1617	0.1404	0.4593	0.6618	0.2061	0.6164	0.2077
kr.20:g.31909478 T>A (GHR) dbSNP: rs385640152	AT(64)	8890±331	3.44±0.296	296±27.4	3.21±0.0286	287±11.35	4.84±0.0411	431±17
	AA(113)	8760±249	3.58±0.223	306±20.6	3.24±0.0215	284±8.54	4.87±0.0309	427±12.8
	P-değeri	0.7528	0.7029	0.7688	0.4662	0.8477	0.4707	0.8421
kr.16:g.72820542 T>C (ATF3) dbSNP: rs210174407	AG (29)	9170±490	3.35±0.441	303±40.8	3.23±0.0430	297±16.81	4.85±0.0618	446±25.2
	AA (150)	8712±215	3.56±0.194	301±17.9	3.23±0.0189	282±7.39	4.86±0.0272	423±11.1
	P-değeri	0.3930	0.6582	0.9703	0.9779	0.4084	0.9866	0.4106
kr.16:g.72820592 G>C (ATF3) dbSNP: rs209048412	CG (29)	9170±490	3.35±0.441	303±40.8	3.23±0.0430	297±16.81	4.85±0.0618	446±25.2
	CC (150)	8712±215	3.56±0.194	301±17.8	3.23±0.0189	282±7.39	4.86±0.0272	423±11.1
	P-değeri	0.3930	0.6582	0.9703	0.9779	0.4084	0.9866	0.4106
kr.16:g.72820637 G>A (ATF3) dbSNP: rs210941907	CT(29)	9170±490	3.35±0.441	303±40.8	3.23±0.0430	297±16.81	4.85±0.0618	446±25.2
	CC(150)	8712±215	3.56±0.194	301±17.8	3.23±0.0189	282±7.39	4.86±0.0272	423±11.1
	P-değeri	0.3930	0.6582	0.9703	0.9779	0.4084	0.7866	0.4106
kr.6:g.44875251 G>A (PPARGC1A) dbSNP: rs109579682	GA(64)	9352±327 ^A	3.30±0.287	298±26.3	3.26±0.0279	305±11.20 ^A	4.9±0.0401	458±16.8 ^A
	GG(114)	8461±245 ^B	3.55±0.215	292±19.7	3.23±0.0209	274±8.39 ^B	4.85±0.03	411±12.6 ^B
	P-değeri	0.0303*	0.4852	0.8522	0.4149	0.0269*	0.4106	0.0264*

** p<0.01, *p<0.05

Tablo 3.2. Tespit Edilen SNP'lerin En Küçük Kareler Ortalaması ve Standart Hataya (LSM±SE) Göre Süt Verimi ve Diğer Parametreler Üzerine Tahmini Birliktelik Etkileri (devamı)

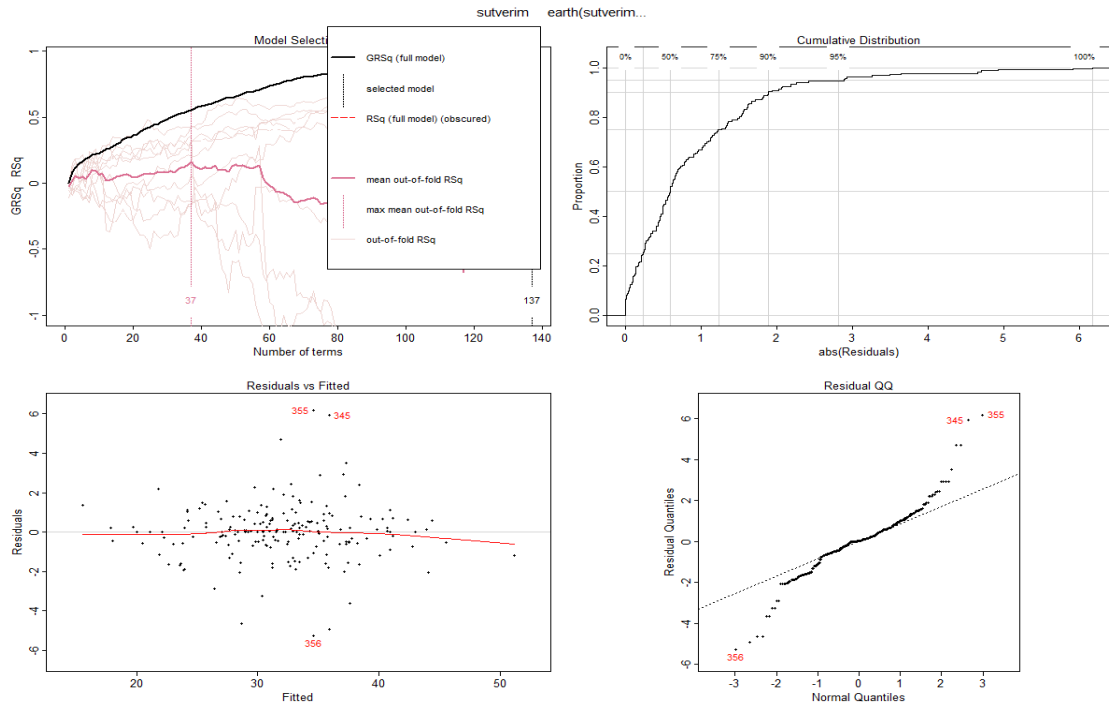
SNP	Genotip	Süt verimi (kg)	Yağ oranı (%)	Yağ verimi (kg)	Protein oranı (%)	Protein verimi (kg)	Laktoz oranı (%)	Laktoz verimi (kg)
kr.6:g.44875315 A>G (PPARGC1A) dbSNP: rs133669403	GA(11)	8636±791	5.21±0.699 ^A	441±64.8 ^A	3.13±0.0692	272±27.12	4.72±0.0994	410±40.6
	GG(171)	8795±201	3.42±0.177 ^B	293±16.4 ^B	3.24±0.0175	285±6.88	4.87±0.0252	428±10.3
	P-değeri	0.8453	0.01362*	0.0281*	0.1411	0.6483	0.155	0.6643
kr.6:g.44875421 C>T (PPARGC1A) dbSNP: rs17870811	CT(21)	8712±573	3.36±0.514	289±47.6	3.25±0.0503	284±19.64	4.9±0.0723	427±29.4
	CC(161)	8795±207	3.55±0.186	303±17.2	3.23±0.0182	284±7.09	4.85±0.0261	427±10.6
	P-değeri	0.8919	0.7351	0.7808	0.6051	0.9971	0.5859	0.9954
kr.6:g.87390576 C>T (CSN3) dbSNP: rs43703015	TC(77)	8660±299	3.17±0.266	260±24.3 ^B	3.26±0.0260	284±10.27	4.91±0.0374	427±15.4
	CC(89)	8749±278	3.65±0.247	314±22.6 ^{AB}	3.22±0.0242	281±9.55	4.84±0.0348	423±14.3
	TT(16)	9590±655	4.57±0.583	433±53.3 ^A	3.13±0.0571	300±22.53	4.72±0.0820	451±33.7
	P-değeri	0.249	0.07465	0.0101*	0.08911	0.7597	0.085	0.7472
kr.6:g.87390612 A>C (CSN3) dbSNP: rs43703016	CA(77)	8669±298	3.22±0.267	265±24.5 ^B	3.26±0.0261	284±10.3	4.9±0.0375	427±15.4
	AA(90)	8744±276	3.65±0.247	314±22.6 ^{AB}	3.22±0.0242	281±9.5	4.84±0.0347	423±14.2
	CC(15)	9633±676	4.33±0.605	413±55.4 ^A	3.15±0.0592	302±23.3	4.74±0.0580	455±34.8
	P-değeri	0.4195	0.1917	0.03749*	0.1723	0.7002	0.1626	0.6895
kr.6:g.87390632 A>G (CSN3) dbSNP: rs43703017	AG(30)	9021±480	2.75±0.426 ^B	236±39.5	3.30±0.0419	299±16.44	4.95±0.0602	449±24.6
	AA(151)	8739±214	3.69±0.190 ^A	315±17.6	3.22±0.0187	281±7.33	4.84±0.0268	423±11
	P-değeri	0.5924	0.04404*	0.0685	0.07558	0.3311	0.07785	0.3390
kr.6:g.87390673 G>A (CSN3) dbSNP: rs110014544	GA(80)	8652±293	3.3±0.262	271±24 ^B	3.25±0.0257	283±10.08	4.89±0.0369	425±15.1
	AA(87)	8776±281	3.58±0.252	309±23 ^{AB}	3.22±0.0246	283±9.66	4.85±0.0354	425±14.5
	GG(15)	9554±677	4.4±0.606	418±55.5 ^A	3.15±0.0593	300±23.27	4.74±0.0852	452±34.8
	P-değeri	0.4738	0.2433	0.05*	0.2566	0.7786	0.2455	0.7668
kr.6:g.87390681 T>A (CSN3) dbSNP: rs109787476	TA(80)	8644±293	3.22±0.262	264±24 ^B	3.26±0.0256	283±10.08	4.9±0.0368	426±15.1
	AA(87)	8783±281	3.66±0.251	316±23 ^{AB}	3.22±0.0246	282±9.66	4.84±0.0353	425±14.5
	TT(15)	9554±677	4.4±0.604	418±55.3 ^A	3.15±0.0592	300±23.27	4.74±0.0850	452±34.8
	P-değeri	0.4686	0.1572	0.02816*	0.1711	0.7775	0.1621	0.7661

** p<0.01, *p<0.05

3.4. MARS Algoritması ile Oluşturulan Prediktif Modellerin Sonuçları

3.4.1. Süt Verimi (kg) İçin Oluşturulan MARS Modeli

Süt verimi (kg) ile çalışılan SNP'ler arasındaki ilişkinin tahmini ve süt verimi üzerine en etkili SNP'yi tespit etmek için, bir MARS modeli oluşturulmuştur. SNP verileri dışında, yapılan denemeler sonucunda en düşük GCV ve en yüksek R^2 ve korelasyonu veren tahminleyici modeli oluşturmak için, yağsız kuru madde (SNF), laktasyon ve çevresel faktörler (farklı çiftlikler) modele bağımsız değişken olarak dahil edilmiştir. Süt verimi için seçilen modele ait hata terimleri ve belirlenme katsayılarına ait grafikler Şekil 3.6.'da verilmiştir. Kullanılan modele ait denklem, EK 5.'de verilirken, MARS modelinin temel fonksiyonları ile süt verimi parametresi arasındaki korelasyonu gösteren grafik Şekil 3.7'de gösterilmiştir. Süt verimi için oluşturulan MARS modelinin, terimlerine ait katsayılar, standart hata, t ve p değerleri Tablo 3.3'de gösterilirken, süt verimine etki eden kestiriciler (predictor) önem sırasına göre Tablo 3.4'de sıralanmıştır. Ayrıca süt verimi ile oluşturulan modelde kullanılan bağımsız değişkenler arasındaki etkileşimleri anlatan grafikler ise Şekil 3.8., ve 3.9.'da gösterilmiştir.



Şekil 3.6. Süt Verimi (kg) İçin Seçilen MARS Modeline Ait Hata Terimleri ve Belirlenme Katsayılarına Ait Grafikler

Tablo 3.3. Süt Verimi (kg) İçin Oluşturulan MARS Modeline Ait Temel Fonksiyonlar ve Bu Fonksiyonlara Ait Katsayılar, Standart Hata, t ve p Değerleri

TF	Temel Fonksiyonlar	Katsayılar	Standart Hata	t değeri	Pr > t
1	Sabit terim (intercept)	-128.5782	36.3622	-3.536	0.000492***
2	h(cevre-2)	-30.8246	6.6405	-4.642	5.84e-06***
3	h(2-cevre)	-25.0339	7.7164	-3.244	0.001355**
4	GHR_2MUT(TT)	-0.4317	7.6546	-0.056	0.955070
5	PPARGC1A_1WT(GG)	-238.9993	35.8181	-6.673	1.90e-10***
6	PPARGC1A_2WT(GG)*h(cevre-2)	21.3674	2.7096	7.886	1.31e-13***
7	GHR_2WT(AA)*h(cevre-2)	19.6291	1.2382	15.853	< 2e-16***
8	CSN3_3WT(AA)*h(cevre-2)	3.0006	5.1141	0.587	0.557967
9	PPARGC1A_1WT(GG)*h(cevre-2)	6.5918	1.0072	6.544	3.92e-10***
10	PPARGC1A_1WT(GG)*h(2-cevre)	5.4558	1.7281	3.157	0.001809**
11	PPARGC1A_2WT(GG)*h(2-cevre)	38.5222	3.5534	10.841	< 2e-16***
12	PPARGC1A_1WT(GG)*PPARGC1A_2WT(GG)	1.0513	1.6887	0.623	0.534191
13	GHR_2MUT(TT)*ATF3_1WT(AA)	12.9135	4.8503	2.662	0.008314**
14	PAEP_2WT(GG)	-74.7766	6.4935	-11.516	< 2e-16***
15	h(SNF-9.1675)	-2358.7429	221.5456	-10.647	< 2e-16***
16	h(9.1675-SNF)	163.2603	33.3302	4.898	1.84e-06***
17	h(2-cevre)*h(SNF-8.21375)	-11.8325	37.1059	-0.319	0.750107
18	h(2-cevre)*h(8.21375-SNF)	-85.7551	29.8051	-2.877	0.004395**
19	h(cevre-2)*h(SNF-9.31625)	-65.1114	16.6714	-3.906	0.000124***
20	h(cevre-2)*h(9.31625-SNF)	-19.6866	6.7788	-2.904	0.004046**
21	h(SNF-8.6475)	-415.5041	57.7603	-7.194	9.09e-12***
22	h(SNF-9.31625)	286.3739	47.5505	6.023	6.85e-09***
23	PAEP_2WT(GG)*CSN3_3WT(AA)	19.3428	2.1044	9.192	< 2e-16***
24	CSN3_3WT(AA)	143.3424	30.1189	4.759	3.46e-06***
25	ATF3_1WT(AA)*h(SNF-9.1675)	-237.7000	111.9219	-2.124	0.034769*
26	PAEP_1wt(CC)*h(9.1675-SNF)	-9.7280	2.7226	-3.573	0.000431***
27	PPARGC1A_1WT(GG)*CSN3_3WT(AA)	-2.2130	1.2903	-1.715	0.087701
28	PPARGC1A_1WT(GG)*h(SNF-8.21625)	14.4843	8.9415	1.620	0.106643
29	PPARGC1A_1WT(GG)*h(8.21625-SNF)	-53.1082	6.1622	-8.618	1.17e-15***
30	PAEP_1Mut(TT)*GHR_2MUT(TT)	-8.7881	8.1665	-1.076	0.283020
31	GHR_1WT(AA)*PPARGC1A_1WT(GG)	233.0425	36.7332	6.344	1.20e-09***
32	CSN3_2WT(CC)	3.3416	2.7765	1.204	0.230018
33	PPARGC1A_3WT(CC)*h(9.1675-SNF)	16.3444	3.9026	4.188	4.03e-05***
34	PAEP_2WT(GG)*Lakt	9.0544	1.7345	5.220	4.03e-07***
35	CSN3_3WT(AA)*h(9.1675-SNF)	85.0427	17.5502	4.846	2.34e-06***
36	ATF3_1WT(AA)*h(SNF-9.31625)	-125.6095	34.1427	-3.679	0.000293***
37	PAEP_2MUT(AA)*h(SNF-8.6475)	-424.2459	58.1884	-7.291	5.08e-12***
38	CSN3_3WT(AA)*h(SNF-8.74)	-40.7802	63.9211	-0.638	0.524131
39	CSN3_3WT(AA)*h(8.74-SNF)	-35.3684	18.7098	-1.890	0.059982
40	PAEP_2MUT(AA)*h(SNF-9.1675)	-141.9292	10.2152	-13.894	< 2e-16***
41	h(2-cevre)*h(SNF-8.09)	-16.1390	34.9639	-0.462	0.644816
42	PAEP_2MUT(AA)*CSN3_3WT(AA)	8.0248	1.2172	6.593	2.99e-10***
43	PAEP_2WT(GG)*h(SNF-8.64875)	732.0949	69.5180	10.531	< 2e-16***
44	PAEP_2WT(GG)*h(8.64875-SNF)	52.2718	5.2174	10.019	< 2e-16***
45	CSN3_3WT(AA)*h(SNF-8.94875)	-166.3203	30.4666	-5.459	1.25e-07***
46	h(SNF-9.15625)	1894.3194	215.9686	8.771	4.26e-16***
47	GHR_2WT(AA)*h(SNF-9.31625)	-129.1940	15.0436	-8.588	1.43e-15***
48	h(SNF-8.12875)	134.8597	31.7966	4.241	3.24e-05***
49	CSN3_3WT(AA)*h(SNF-8.45625)	-40.6266	20.3802	-1.993	0.047411*
50	h(SNF-7.76125)	163.1648	17.9652	9.082	< 2e-16***
51	ATF3_1WT(AA)*CSN3_2WT(CC)	11.0762	1.8631	5.945	1.03e-08***
52	PPARGC1A_1WT(GG)*Lakt	1.8642	1.7487	1.066	0.287554
53	PAEP_2WT(GG)*PPARGC1A_1WT(GG)	6.3370	1.0332	6.133	3.78e-09***

Önemli, *** = 0, ** = 0.001, * = 0.01, TF : Temel Fonksiyon Sırası

Tablo 3.3. Süt Verimi (kg) İçin Oluşturulan MARS Modeline Ait Temel Fonksiyonlar ve Bu Fonksiyonlara Ait Katsayılar, Standart Hata, t ve p Değerleri (devamı)

TF	Temel Fonksiyonlar	Katsayılar	Standart Hata	t değeri	Pr > t
54	h(SNF-8.58125)	285.1157	114.3887	2.493	0.013399*
55	PAEP_2WT(GG)*h(SNF-8.5)	412.8718	67.2744	6.137	3.71e-09***
56	h(cevre-2)*h(SNF-9.1675)	60.2336	15.8536	3.799	0.000186***
57	h(2-cevre)*h(SNF-9.1675)	-146.1622	18.1787	-8.040	4.92e-14***
58	ATF3_1MUT(GG)*h(9.1675-SNF)	-32.0272	4.9867	-6.423	7.76e-10***
59	PPARGC1A_1MUT(AA)*h(9.1675-SNF)	-43.3878	3.7703	-11.508	< 2e-16***
60	CSN3_3WT(AA)*cevre	14.7364	4.5517	3.238	0.001386**
61	CSN3_3WT(AA)*h(SNF-8.8025)	190.8913	62.9727	3.031	0.002717**
62	CSN3_1MUT(CC)*h(SNF-9.1675)	-15.9300	5.7291	-2.781	0.005883**
63	CSN3_4MUT(AA)*h(SNF-9.1675)	-945.1498	144.9955	-6.518	4.54e-10***
64	h(SNF-9.63125)	-3274.1251	484.4995	-6.758	1.17e-10***
65	GHR_2MUT(TT)*h(SNF-9.1675)	230.1333	95.9423	2.399	0.017263*
66	CSN3_2WT(CC)*Lakt	-7.1841	2.0120	-3.571	0.000435***
67	h(SNF-8.74)	571.4241	83.9302	6.808	8.72e-11***
68	h(SNF-8.78375)	-435.5774	73.3060	-5.942	1.05e-08***
69	PPARGC1A_2WT(GG)*h(9.1675-SNF)	-36.8521	4.8400	-7.614	7.09e-13***
70	ATF3_1WT(AA)	1.5867	3.5392	0.448	0.654342
71	ATF3_1WT(AA)*CSN3_3WT(AA)	15.7930	1.4346	11.009	< 2e-16***
72	GHR_1WT(AA)*CSN3_3WT(AA)	-232.6107	36.6130	-6.353	1.14e-09***
73	h(SNF-9.49625)	1399.6110	182.8496	7.654	5.53e-13***
74	h(SNF-9.225)	444.5582	78.5261	5.661	4.51e-08***
75	PPARGC1A_3WT(CC)*CSN3_3WT(AA)	-19.1102	2.4475	-7.808	2.13e-13***
76	CSN3_5MUT(AA)*h(SNF-9.15625)	949.2167	140.7174	6.746	1.25e-10***
77	h(SNF-8.5175)	-97.5617	84.4102	-1.156	0.248976
78	PAEP_2WT(GG)*PPARGC1A_1MUT(AA)	64.3285	5.4616	11.778	< 2e-16***
79	PAEP_2WT(GG)*h(SNF-8.0775)	419.1014	50.5465	8.291	9.85e-15***
80	CSN3_4WT(GG)*h(SNF-8.12875)	-1.9679	1.2217	-1.611	0.108621
81	CSN3_5MUT(AA)*h(9.1675-SNF)	7.7690	1.3147	5.909	1.25e-08***
82	GHR_2WT(AA)*CSN3_3WT(AA)	15.3225	1.4022	10.928	< 2e-16***
83	GHR_2WT(AA)	-12.6533	1.7866	-7.082	1.76e-11
84	PPARGC1A_3WT(CC)	1.7351	3.8924	0.446	0.656189
85	CSN3_1MUT(CC)	-12.9169	1.3655	-9.460	< 2e-16***
86	PAEP_2MUT(AA)*h(SNF-8.12875)	-12.3427	3.7401	-3.300	0.001122**
87	PAEP_2WT(GG)*CSN3_5MUT(AA)	7.0496	0.9324	7.561	9.85e-13***
88	PAEP_1wt(CC)*CSN3_2WT(CC)	8.5093	1.3407	6.347	1.18e-09***
89	h(SNF-9.51375)	-582.5726	117.5993	-4.954	1.42e-06***
90	GHR_2WT(AA)*h(SNF-9.15625)	96.9190	11.0976	8.733	5.48e-16***
91	(cevre-2)*h(SNF-8.58125)	-20.1385	15.1312	-1.331	0.184548
92	h(2-cevre)*h(SNF-8.58125)	14.8251	13.0902	1.133	0.258604
93	PAEP_2WT(GG)*h(SNF-8.12875)	-358.2471	53.2229	-6.731	1.36e-10***
94	PPARGC1A_1WT(GG)*CSN3_2WT(CC)	-5.8580	1.2237	-4.787	3.05e-06***
95	h(SNF-7.95125)	-162.5895	21.3966	-7.599	7.79e-13***
96	h(SNF-8.8675)	283.8706	71.9684	3.944	0.000107***
97	CSN3_3WT(AA)*h(SNF-9.05875)	-6.2106	27.8429	-0.223	0.823691
98	CSN3_3WT(AA)*h(SNF-8.29875)	56.0794	16.6928	3.360	0.000916***
99	PAEP_1wt(CC)*h(SNF-8.58125)	-48.9560	8.4025	-5.826	1.93e-08***
100	h(SNF-9.25875)	-372.9704	54.1729	-6.885	5.60e-11***
101	h(SNF-9.6825)	171.5862	39.3528	4.360	1.97e-05***
102	GHR_1WT(AA)*h(SNF-8.58125)	9.6957	2.7429	3.535	0.000494***
103	CSN3_1WT(TT)*h(SNF-8.58125)	15.7027	7.5586	2.077	0.038883*
104	ATF3_1WT(AA)*h(SNF-8.58125)	-865.6490	160.6014	-5.390	1.76e-07***
105	h(SNF-8.8355)	-194.8930	92.8820	-2.098	0.036986*
106	CSN3_3MUT(GG)	6.5977	1.5646	4.217	3.58e-05***

Önemli, *** = 0, ** = 0.001, * = 0.01, TF : Temel Fonksiyon Sırası

Tablo 3.3. Süt Verimi (kg) İçin Oluşturulan MARS Modeline Ait Temel Fonksiyonlar ve Bu Fonksiyonlara Ait Katsayılar, Standart Hata, t ve p Değerleri (devamı)

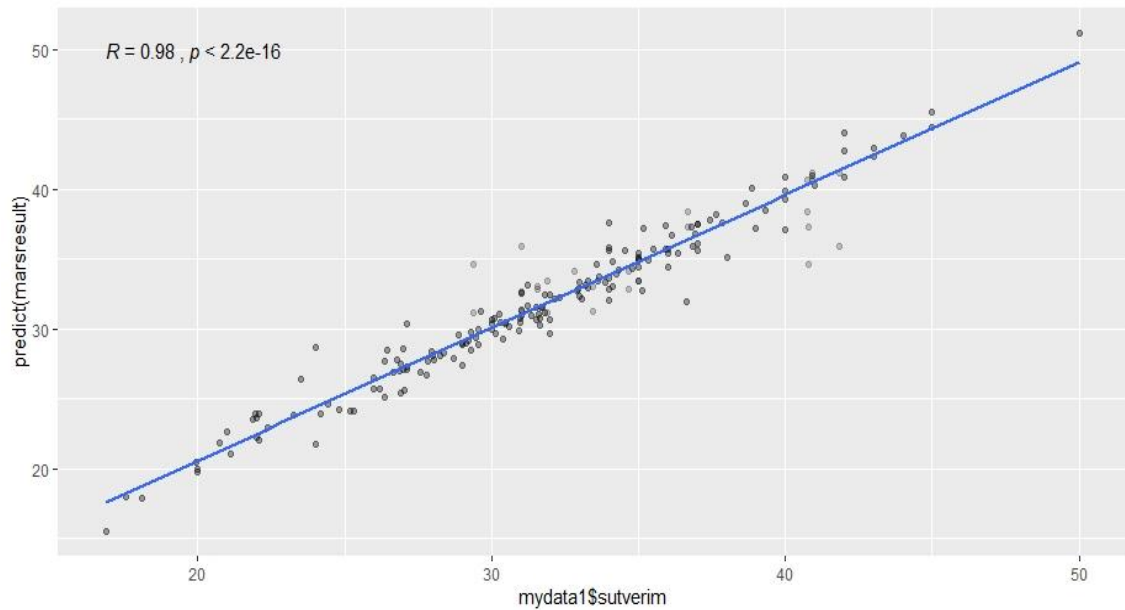
TF	Temel Fonksiyonlar	Katsayılar	Standart Hata	t değeri	Pr > t
107	PAEP_2WT(GG)*h(SNF-8.58125)	-1144.538	126.5845	-9.042	< 2e-16***
108	Lakt*h(SNF-9.63125)	2912.9767	484.1461	6.017	7.07e-09***
109	PAEP_2MUT(AA)	-12.8064	1.9135	-6.693	1.69e-10***
110	Lakt*h(SNF-8.12875)	24.5473	3.6936	6.646	2.21e-10***
111	h(SNF-9.4775)	-1338.312	186.8746	-7.162	1.10e-11***
112	h(SNF-9.4625)	505.9771	173.6258	2.914	0.003923**
113	h(SNF-9.42)	114.4952	59.8784	1.912	0.057119
114	PAEP_2MUT(AA)*h(SNF-8.74)	262.7035	29.1883	9.000	< 2e-16***
115	PPARGC1A_1WT(GG)*h(SNF-8.58125)	205.3533	63.0247	3.258	0.001293**
116	PPARGC1A_1WT(GG)*h(SNF-8.74)	-71.2898	16.0349	-4.446	1.37e-05***
117	PAEP_2MUT(AA)*h(SNF-8.58125)	240.6599	38.1248	6.312	1.43e-09***
118	PPARGC1A_3WT(CC)*h(SNF-9.63125)	86.3903	26.8791	3.214	0.001499**
119	PPARGC1A_3WT(CC)*h(SNF-8.78375)	-80.8438	13.3381	-6.061	5.58e-09***
120	PAEP_2MUT(AA)*ATF3_1WT(AA)	6.7724	1.3170	5.143	5.85e-07***
121	ATF3_1WT(AA)*Lakt	-8.8861	1.5110	-5.881	1.45e-08***
122	PPARGC1A_3WT(CC)*h(SNF-8.58125)	77.0288	12.8336	6.002	7.64e-09***
123	h(Lakt-1)*h(SNF-8.78375)	-432.5101	69.3707	-6.235	2.18e-09***
124	ATF3_1WT(AA)*h(SNF-8.61125)	523.7593	98.9231	5.295	2.81e-07***
125	ATF3_1WT(AA)*h(8.61125-SNF)	-12.8607	2.5764	-4.992	1.19e-06***
126	ATF3_1WT(AA)*h(SNF-8.53625)	334.5217	70.5529	4.741	3.75e-06***
127	GHR_2WT(AA)*h(SNF-8.12875)	-13.9343	1.7441	-7.989	6.80e-14***
128	PAEP_2MUT(AA)*h(SNF-9.49625)	85.5275	13.1146	6.522	4.46e-10***
129	GHR_2MUT(TT)*h(SNF-8.12875)	-88.6243	35.2051	-2.517	0.012514*
130	h(cevre-2)*h(SNF-8.78375)	-20.8154	14.9965	-1.388	0.166493
131	h(2-cevre)*h(SNF-8.78375)	79.8741	17.1481	4.658	5.44e-06***
132	ATF3_1WT(AA)*CSN3_1MUT(CC)	5.2480	1.0920	4.806	2.80e-06***
133	CSN3_1WT(TT)*h(SNF-8.78375)	-37.8646	9.0312	-4.193	3.95e-05***
134	ATF3_1WT(AA)*PPARGC1A_2WT(GG)	-5.5960	2.4120	-2.320	0.021223*
135	GHR_1MUT(GG)*h(SNF-9.225)	30.7637	11.6558	2.639	0.008882**
136	PPARGC1A_1WT(GG)*h(SNF-8.5175)	-156.4955	58.6190	-2.670	0.008140**
137	ATF3_1WT(AA)*h(SNF-9.2)	357.1086	135.7062	2.631	0.009084**

Önemli, *** = 0, ** = 0.001, * = 0.01, F değeri: 32.18 p – değeri: < 2.2e-16, TF :Temel Fonksiyon Sırası

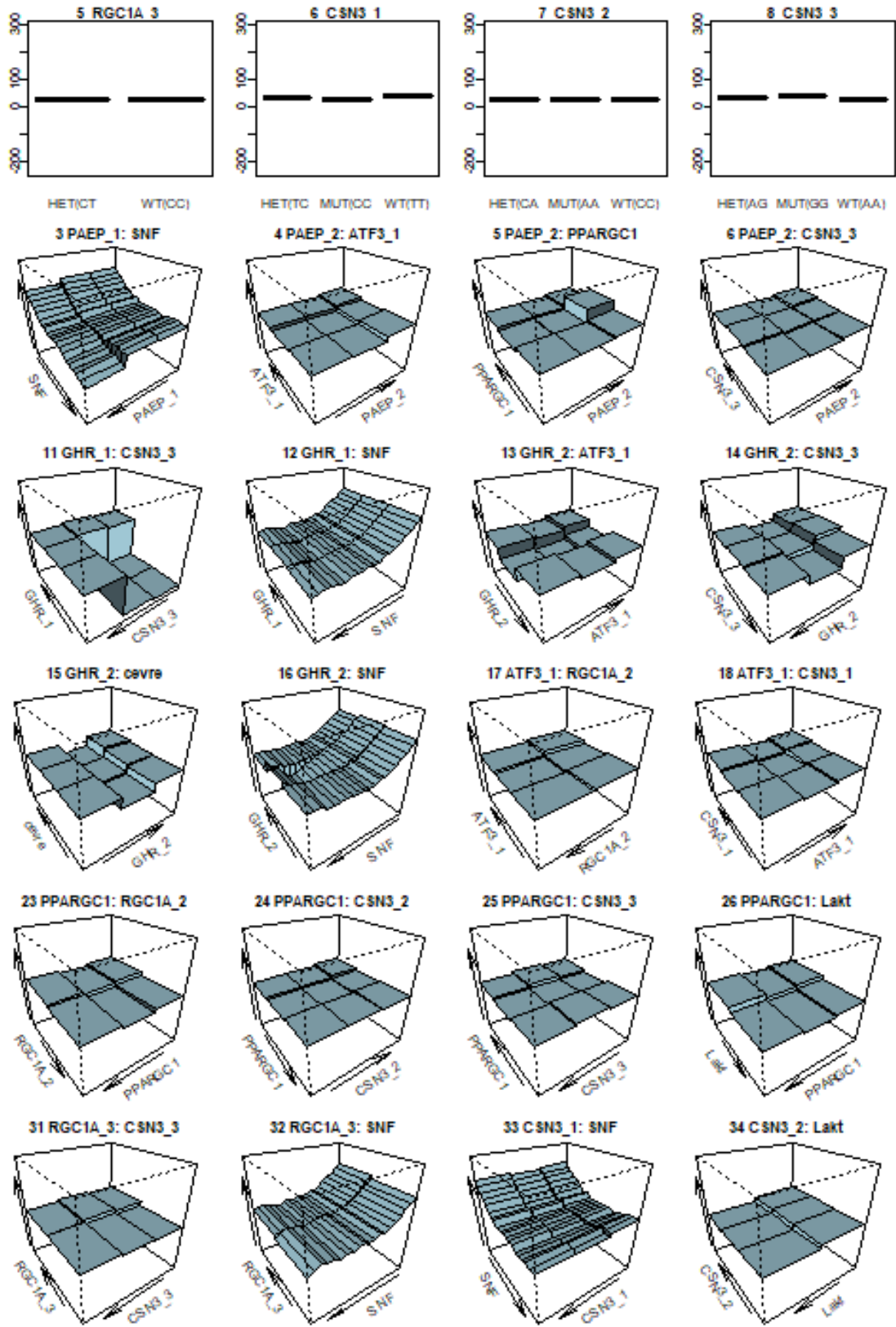
Klasik istatistiksel yöntemlerin aksine, bu tez çalışmasında kullanılan MARS algoritması, belirlenen tek nükleotit polimorfizmlerinin her bir genotipini bir kestirici (faktör) olarak tanımlamış ve Tablo 3.4.'de, süt verimi (kg) üzerinde etkili olan kestiriciler bağıl önem oranına (%) göre sıralanmıştır. Tablo 3.4. içerisinde, algoritmanın kendi içerisindeki faktör kodlaması kalın harflerle vurgulanırken, gerçekte hangi polimorfizmin genotipi oldukları ise, yanlarına yazılmıştır.

Tablo 3.4. Süt Verimi (kg) Üzerinde Etkili, Kestiricilerin (Faktör) Önem Sırasının Değerlendirilmesi

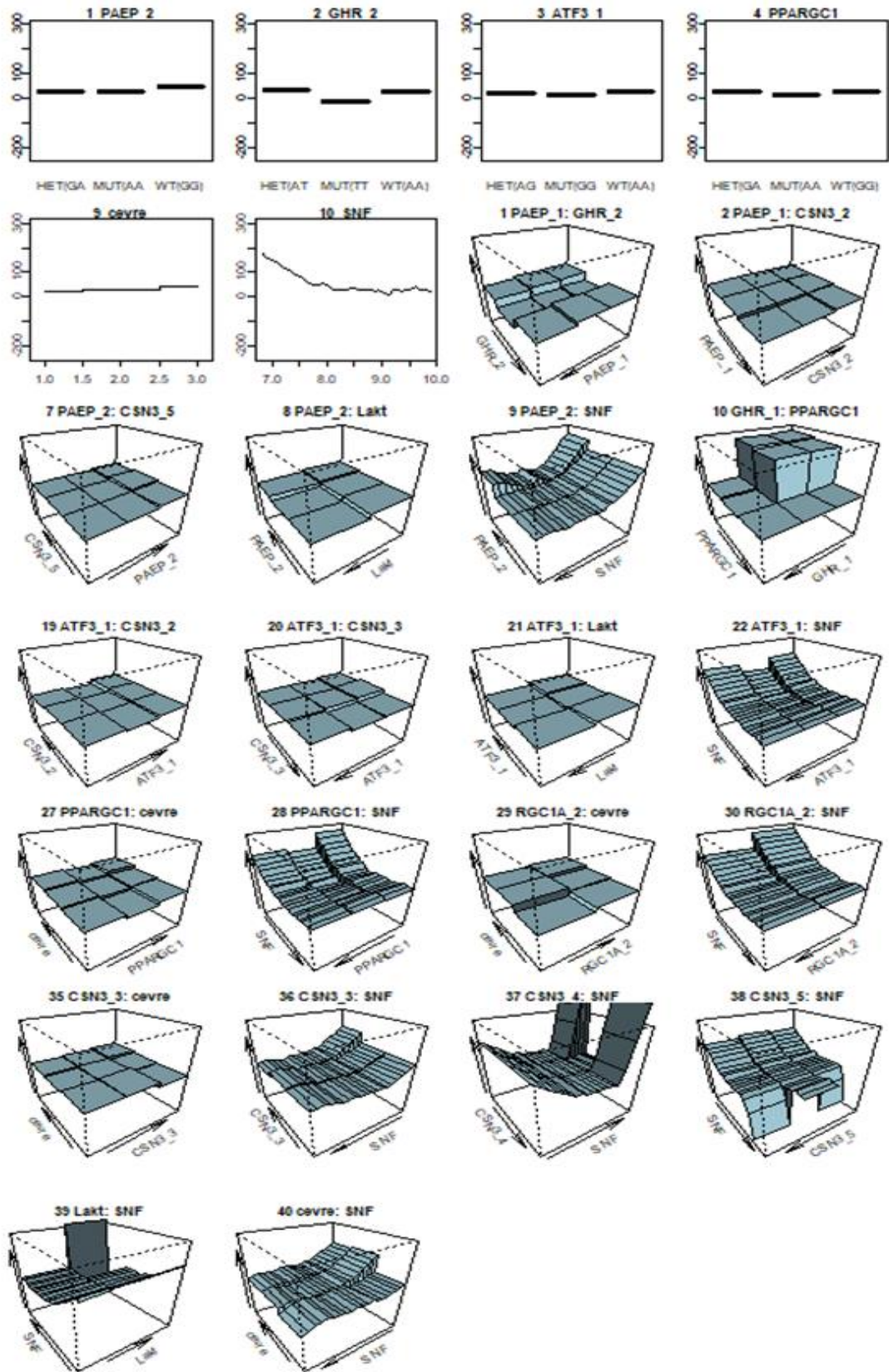
Kestirici (Faktör)	Altküme Sayısı	Bağıl Önemlilik (%)
PPARGC1A_2 WT (GG): Ekzon 9-rs133669403 kodlu SNP'nin GG genotipi	136	100
Çevre (farklı çiftlikler)	136	100
PPARGC1A_1 WT(GG): İntron 9-rs109579682 kodlu SNP'nin GG genotipi	135	95.4
GHR_2 MUT(TT): rs385640152 kodlu SNP'nin TT genotipi	134	93.5
GHR_2 WT(AA): rs385640152 kodlu SNP'nin AA genotipi	133	91.8
CSN3_3 WT(AA): Ekzon 4, rs43703017 kodlu SNP'nin AA genotipi	130	89.2
Yağsız kuru Madde (SNF)	127	88.5
ATF3_1 WT(AA): rs210174407 kodlu SNP'nin AA genotipi	125	85.3
GHR_1 WT(AA): rs382888926 kodlu SNP'nin AA genotipi	124	84.7
PAEP_2 MUT(AA): rs110066229 kodlu SNP'nin AA genotipi	123	84.2
PPARGC1A_1MUT(AA): intron 9-g.44875251. bazdaki SNP'nin AA genotipi	115	77
PAEP_2 WT(GG): rs110066229 kodlu SNP'nin GG genotipi	115	76.4
PAEP_1 wt(CC): rs110180463 kodlu SNP'nin CC genotipi	112	74.5
Laktasyon (Lakt)	105	68.3
PPARGC1A_3 WT(CC): rs178708811 kodlu SNP'nin CC genotipi	102	66.1
ATF3_1 MUT(GG): rs210174407 kodlu SNP'nin GG genotipi	99	63.6
CSN3_2 WT(CC): rs43703016 kodlu SNP'nin CC genotipi	98	62.7
CSN3_1MUT(CC): rs43703015 kodlu SNP'nin CC genotipi	78	48.5
CSN3_5MUT(AA): rs109787476 kodlu SNP'nin AA genotipi	70	41.5



Şekil 3.7. Süt Verimi (kg) ve Oluşturulan MARS Modelinin Temel Fonksiyonları Arasındaki Korelasyon



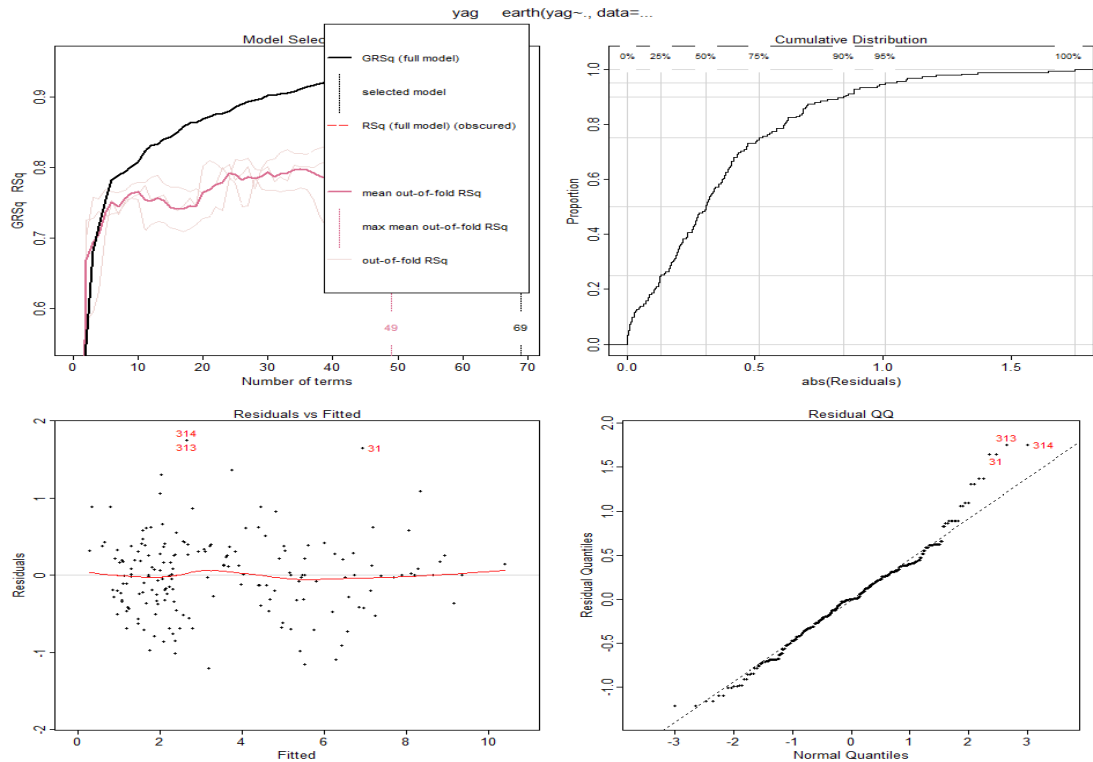
Şekil 3.8. Süt Verimi (kg) ile Diğer Bağımsız Değişkenler Arasındaki Etkileşimi Gösteren Grafikler-1



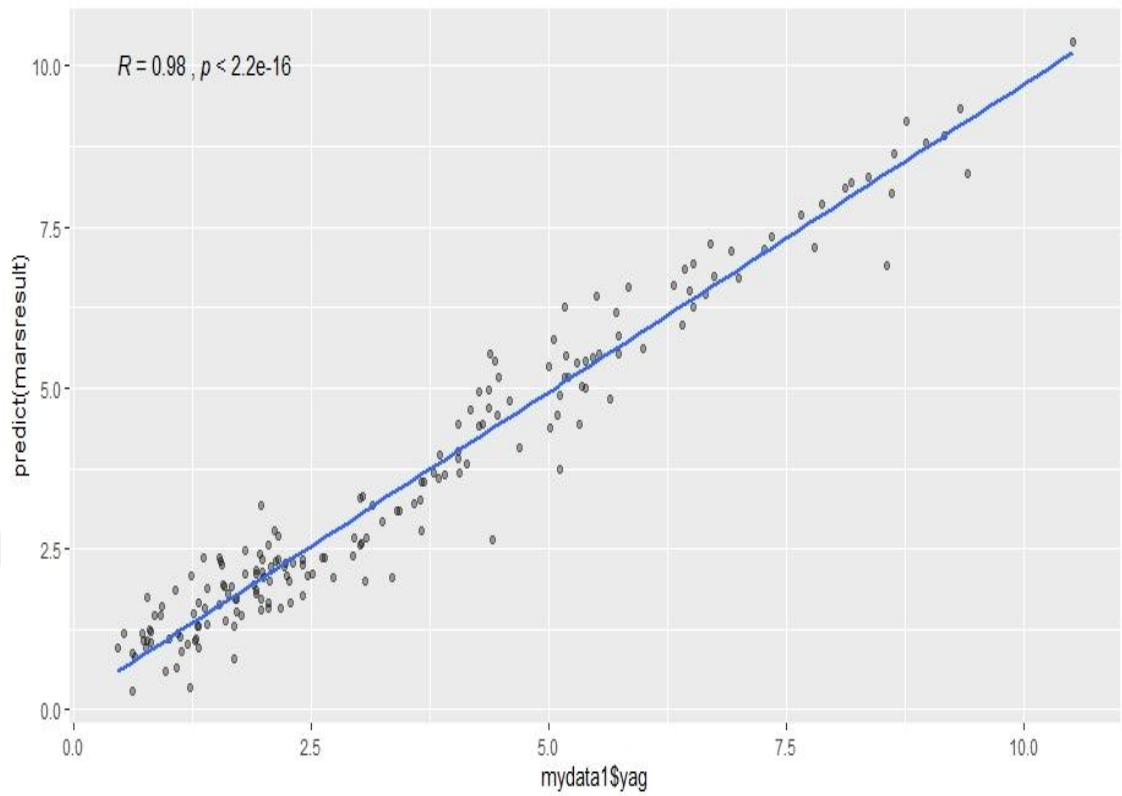
Şekil 3.9. Süt Verimi (kg) ile Diğer Bağımsız Değişkenler Arasındaki Etkileşimi Gösteren Grafikler-2

3.4.2. Yağ Oranı (%) İçin Kullanılan MARS Modeli

Yağ oranı (%) ile YND ile belirlenen SNP'ler arasındaki ilişkiyi tahmin etmek ve yağ oranı üzerine en etkili SNP'yi saptamak için, süt verimi parametresinde olduğu gibi bir MARS modeli oluşturulmuştur. Yapılan ön denemeler sonucunda, en düşük GCV, en yüksek R^2 ve korelasyon katsayısını veren prediktif modeli elde etmek için, SNP verileri ile birlikte, yağsız kuru madde (SNF), laktasyon ve çevresel faktörler (farklı çiftlikler) modele bağımsız değişken olarak dahil edilmiştir. Yağ oranı (%) için seçilen modele ait hata terimleri ve belirlenme katsayılarına ait grafikler Şekil 3.10.'da verilirken, model denklemini EK 6.'da gösterilmiştir. MARS modelinin temel fonksiyonları ile yağ oranı arasındaki korelasyonu gösteren grafik Şekil 3.11'de sunulmuştur. Yağ oranı için kullanılan MARS modelinin, terimlerine ait katsayılar, standart hata, t ve p değerleri Tablo 3.5'de gösterilirken, yağ oranına etki eden kestiriciler (predictor) önem sırasına göre Tablo 3.6'de sıralanmıştır. Yağ oranının bağımlı değişken olduğu MARS modelinde kullanılan bağımsız değişkenler arasındaki etkileşimleri anlatan grafikler ise Şekil 3.12. ve 3.13.'de gösterilmiştir.



Şekil 3.10. Yağ Oranı (%) İçin Seçilen MARS Modeline Ait Hata Terimleri ve Belirlenme Katsayılarına Ait Grafikler



Şekil 3.11. Yağ Oranı (%) ve Oluşturulan MARS Modelinin Temel Fonksiyonları Arasındaki Korelasyon

Tablo 3.5. Yağ Oranı (%) İçin Oluşturulan MARS Modeline Ait Temel Fonksiyonlar ve Bu Fonksiyonlara Ait Katsayılar, Standart Hata, t ve p Değerleri

TF	Temel Fonksiyonlar	Katsayılar	Standart Hata	t değeri	Pr > t
1	Sabit terim (intercept)	164.36823	17.95464	9.155	< 2e-16***
2	h(SNF-9.21375)	203.34220	24.11284	8.433	1.52e-15***
3	h(9.21375-SNF)	-193.27606	22.35506	-8.646	3.47e-16***
4	h(cevre-2)	-12.47468	2.47593	-5.038	8.20e-07***
5	h(2-cevre)	3.80190	1.32496	2.869	0.004409**
6	GHR_1WT(AA)*h(2-cevre)	1.15440	0.56993	-2.026	0.043714*
7	GHR_1WT(AA)	-43.79313	6.01885	-7.276	3.12e-12***
8	Lakt	3.18349	0.91609	3.475	0.000587***
9	ATF3_1WT(AA)*h(2-cevre)	1.54024	0.27808	5.539	6.74e-08***
10	GHR_1WT(AA)*Lakt	-2.22977	0.86954	-2.564	0.010833*
11	GHR_2WT(AA)*Lakt	0.37571	0.07952	4.725	3.57e-06***
12	PPARGC1A_2WT(GG)	-13.71170	2.36625	-5.795	1.76e-08***
13	CSN3_4MUT(AA)*Lakt	-2.02246	0.19633	-10.301	< 2e-16***
14	CSN3_1MUT(CC)*h(cevre-2)	0.56485	0.18816	3.002	0.002912**
15	CSN3_5MUT(AA)*h(2-cevre)	5.54806	0.59689	9.295	< 2e-16***
16	GHR_2WT(AA)*h(cevre-2)	0.04912	0.16347	0.300	0.764020
17	CSN3_2MUT(AA)*h(2-cevre)	-4.32320	0.61541	-7.025	1.48e-11***
18	CSN3_1MUT(CC)	3.81882	0.95603	3.994	8.19e-05***
19	PPARGC1A_2WT(GG)*h(SNF-9.21375)	-27.49639	8.85874	-3.104	0.002095**
20	PPARGC1A_2WT(GG)*h(9.21375-SNF)	12.75680	1.78679	7.140	7.32e-12***

Önemli, *** = 0, ** = 0.001, * = 0.01, TF :Temel Fonksiyon Sırası

Tablo 3.5. Yağ Oranı (%) İçin Oluşturulan MARS Modeline Ait Temel Fonksiyonlar ve Bu Fonksiyonlara Ait Katsayılar, Standart Hata, t ve p Değerleri (devamı)

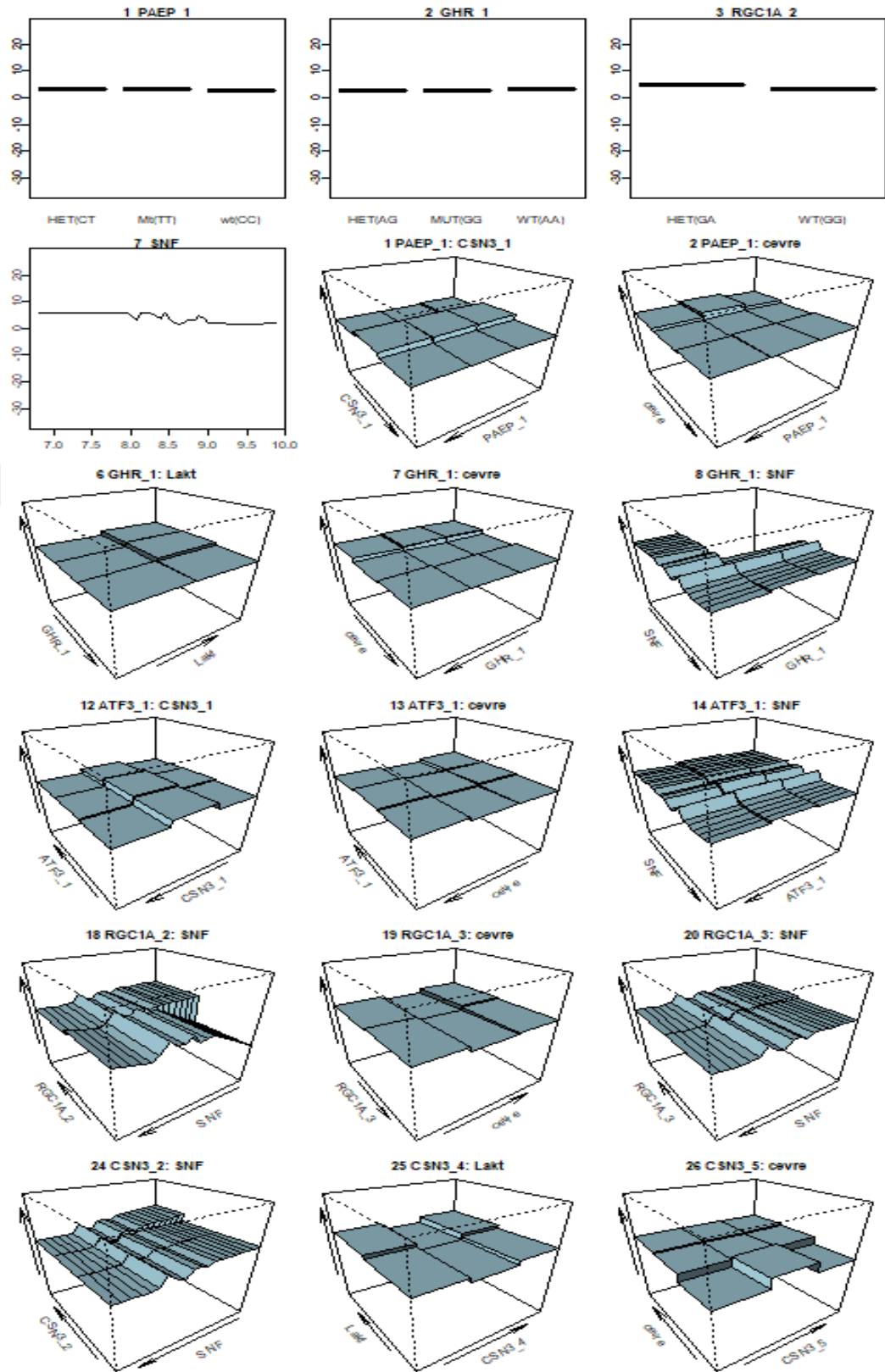
TF	Temel Fonksiyonlar	Katsayılar	Standart Hata	t değeri	Pr > t
21	PPARGC1A_3WT(CC)*h(cevre-2)	-1.30998	0.27683	-4.732	3.45e-06***
22	GHR_1WT(AA)*h(SNF-8.66375)	-139.08397	23.49598	-5.919	8.96e-09***
23	GHR_1WT(AA)*h(8.66375-SNF)	174.09048	21.12972	8.239	5.72e-15***
24	h(SNF-8.47625)	-123.72006	13.79556	-8.968	< 2e-16***
25	GHR_1WT(AA)*h(SNF-8.71375)	-41.36290	6.47218	-6.391	6.42e-10***
26	Lakt*h(SNF-8.0775)	0.74405	0.51517	1.444	0.149721
27	Lakt*h(8.0775-SNF)	6.94167	0.97301	7.134	7.56e-12***
28	Lakt*h(SNF-8.9125)	-151.20229	18.15210	-8.330	3.09e-15***
29	Lakt*h(SNF-9.0225)	0.93243	6.34383	0.147	0.883247
30	Lakt*h(SNF-8.86375)	68.10277	9.15753	7.437	1.13e-12***
31	PPARGC1A_2WT(GG)*h(SNF-8.99875)	7.28145	3.56168	2.044	0.041803*
32	Lakt*h(SNF-8.94875)	80.45579	15.97806	5.035	8.32e-07***
33	ATF3_1WT(AA)*CSN3_1MUT(CC)	-0.66166	0.18293	-3.617	0.000350***
34	PAEP_1Mut(TT)*h(2-cevre)	2.07732	0.28855	7.199	5.05e-12***
35	GHR_1WT(AA)*ATF3_1WT(AA)	0.53857	0.15196	3.544	0.000458***
36	GHR_1WT(AA)*PPARGC1A_1WT(GG)	-0.24971	0.09912	-2.519	0.012287*
37	ATF3_1WT(AA)*h(9.21375-SNF)	-0.11882	0.29800	-0.399	0.690396
38	CSN3_1MUT(CC)*h(SNF-9.3475)	6.89855	1.89433	3.642	0.000320***
39	CSN3_1MUT(CC)*h(9.3475-SNF)	-1.82521	0.63185	-2.889	0.004155**
40	h(cevre-2)*h(SNF-8.84625)	-19.71209	3.64059	-5.415	1.28e-07***
41	h(cevre-2)*h(8.84625-SNF)	11.94677	3.51289	3.401	0.000764***
42	h(cevre-2)*h(SNF-8.18875)	20.09296	3.55907	5.646	3.87e-08***
43	ATF3_1MUT(GG)*PPARGC1A_2WT(GG)	0.86667	0.38339	2.261	0.024516*
44	h(cevre-2)*h(9.21375-SNF)	4.60087	1.30467	3.526	0.000488*
45	h(2-cevre)*h(9.21375-SNF)	-0.06722	0.47398	-0.142	0.887324
46	GHR_2MUT(TT)*h(cevre-2)	1.00201	0.27909	3.590	0.000387***
47	PPARGC1A_2WT(GG)*h(SNF-8.47625)	35.84851	7.56821	4.737	3.38e-06***
48	CSN3_1MUT(CC)*h(SNF-9.0275)	9.95206	4.00592	2.484	0.013534*
49	CSN3_1MUT(CC)*h(SNF-8.54125)	19.03558	1.73202	10.990	< 2e-16***
50	CSN3_1MUT(CC)*h(SNF-8.9175)	-21.77819	3.87766	-5.616	4.51e-08***
51	CSN3_1MUT(CC)*h(SNF-8.12875)	-69.50299	9.23528	-7.526	6.39e-13***
52	GHR_1WT(AA)*h(SNF-8.36375)	118.58905	19.42253	6.106	3.22e-09***
53	GHR_1WT(AA)*h(SNF-8.5175)	60.36180	9.07121	6.654	1.38e-10***
54	CSN3_1MUT(CC)*h(SNF-8.09)	58.43095	8.78225	6.653	1.39e-10***
55	PAEP_1wt(CC)	-0.36560	0.09600	-3.808	0.000170***
56	PPARGC1A_1MUT(AA)*CSN3_1MUT(CC)	4.51623	0.51110	8.836	< 2e-16***
57	h(SNF-7.95125)	-22.34362	2.74720	-8.133	1.17e-14***
58	PPARGC1A_2WT(GG)*h(SNF-8.09)	25.87027	3.60363	7.179	5.73e-12***
59	CSN3_1WT(TT)*h(9.21375-SNF)	1.95733	0.43477	-4.502	9.70e-06***
60	CSN3_2WT(CC)*h(9.21375-SNF)	1.84635	0.44457	4.153	4.30e-05***
61	PPARGC1A_2WT(GG)*h(SNF-8.29875)	46.52005	8.25242	-5.637	4.04e-08***
62	PPARGC1A_3WT(CC)*h(9.21375-SNF)	0.68037	0.19938	3.412	0.000734***
63	PPARGC1A_1WT(GG)*h(9.21375-SNF)	0.84132	0.18352	4.584	6.74e-06***
64	h(SNF-8.78375)	14.34510	4.10520	3.494	0.000548***
65	h(SNF-8.40375)	-66.01996	17.42656	-3.788	0.000184***
66	PPARGC1A_2WT(GG)*h(cevre-2)	-0.72471	0.56478	-1.283	0.200433
67	PPARGC1A_2WT(GG)*h(2-cevre)	-3.57700	1.20923	-2.958	0.003346**
68	PAEP_1Mut(TT)*h(9.21375-SNF)	-0.95391	0.27120	-3.517	0.000504***
69	PAEP_1Mut(TT)*CSN3_1MUT(CC)	0.39256	0.14768	2.658	0.008286**

Önemli, *** = 0, ** = 0.001, * = 0.01, F değeri: 91.88, p – değeri: < 2.2e-16, TF : Temel Fonksiyon Sırası

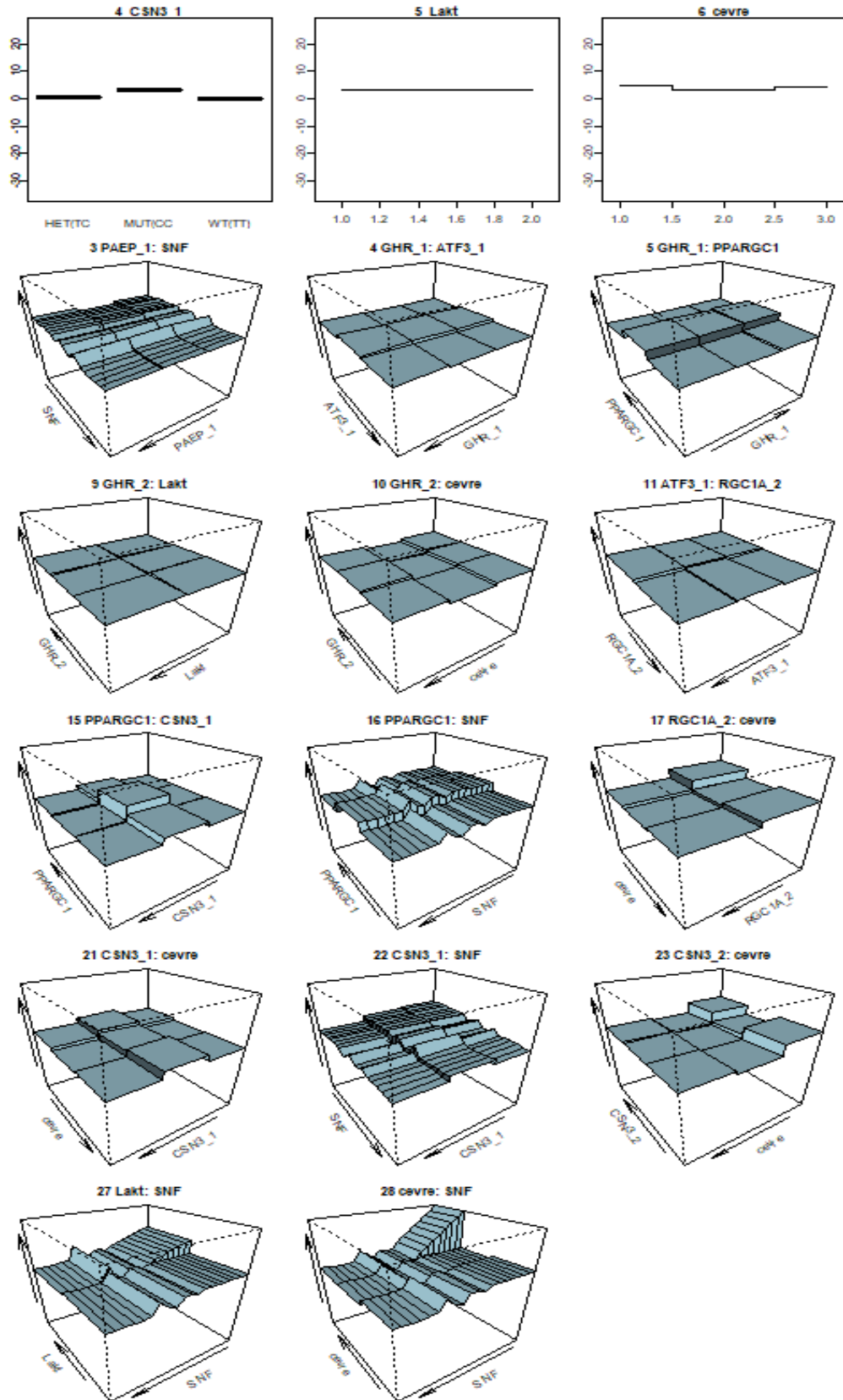
Süt verimi parametresinde gerçekleştirildiği gibi, çalışma da kullanılan MARS algoritması, belirlenen SNP'lerin her genotipini bir kestirici (faktör) olarak tanımlamış ve Tablo 3.6.'da, yağ oranı (%) üzerinde etkili olan kestiriciler bağıl önem oranına (%) göre sıralanmıştır. Oluşturulan modelde algoritmanın kullandığı faktör adlandırmaları Tablo 3.6. içerisinde kalın harflerle gösterilirken, algoritmanın kullandığı faktör adlandırmalarının gerçekte, hangi polimorfizmin hangi genotipi olduğu ise yanlarına yazılmıştır.

Tablo 3.6. Yağ Oranı (%) Üzerinde Etkili Olan Faktörlerin Bağıl Önemlilik (%) Dereceleri

Kestirici (Faktör)	Altküme Sayısı	Bağıl Önemlilik (%)
Yağsız Kuru Madde (SNF) oranı	68	100.0
GHR_1WT(AA): rs382888926 kodlu SNP'nin AA genotipi	66	90.7
Çevre (farklı çiftlikler)	65	50.0
Laktasyon (Lakt)	65	49.8
ATF3_1WT(AA): rs210174407 kodlu SNP'nin AA genotipi	63	44.1
GHR_2WT(AA): rs385640152 kodlu SNP'nin AA genotipi	61	40.9
CSN3_1MUT(CC): rs 43703015 kodlu SNP'nin CC genotipi	59	39.3
CSN3_4MUT(AA): rs110014544 kodlu SNP'nin AA genotipi	59	39.3
CSN3_5MUT(AA): rs109787476 kodlu SNP'nin AA genotipi	59	39.3
PPARGC1A_2WT(GG): Ekzon 9, rs133669403 kodlu SNP'nin GG genotipi	44	27.0
CSN3_2MUT(AA): rs43703016 kodlu SNP'nin AA genotipi	43	26.1
PAEP_1Mut(TT): rs110180463 kodlu SNP'nin TT geneotipi	42	25.6
PPARGC1A_1MUT(AA): intron 9, g.44875251. bazdaki polimorfizmin AA geontipi	36	22.9
PAEP_1wt(CC): rs110180463 kodlu SNP'nin CC geneotipi	33	20.7
CSN3_1WT(TT): rs43703015 kodlu SNP'nin TT genotipi	24	15.3
CSN3_2WT(CC): rs43703016 kodlu SNP'nin CC genotipi	23	14.9
PPARGC1A_1WT(GG): intron 9, g.44875251. bazdaki polimorfizmin GG geontipi	22	14.4
PPARGC1A_3WT(CC): intron 8, rs178708811 kodlu SNP'nin CC genotipi	20	12.9
GHR_2MUT(TT): rs385640152 kodlu SNP'nin TT genotipi	16	10.4
ATF3_1MUT(GG): rs210174407 kodlu SNP'nin GG genotipi	9	5.0



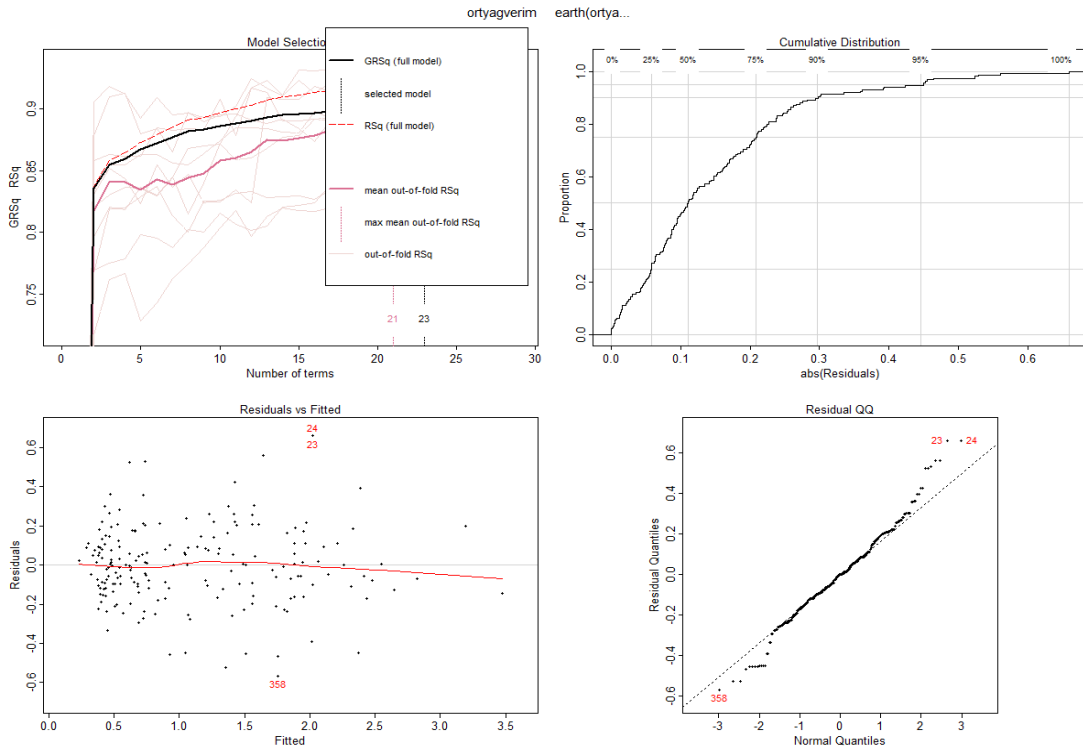
Şekil 3.12. Yağ Oranı (%) İle Diğer Bağımsız Değişkenler Arasındaki Etkileşimi Gösteren Grafikler-1



Şekil 3.13. Yağ Oranı (%) İle Diğer Bağımsız Değişkenler Arasındaki Etkileşimi Gösteren Grafikler-2

3.4.3. Yağ Verimi (kg) İçin Kullanılan MARS Modeli

Yağ verimi (kg) ile çalışılan SNP'ler arasındaki ilişkiyi tahmin etmek ve yağ verimi üzerine en etkili SNP yada SNP'leri tespiti için, daha önceki parametreler de kullanılan modellere benzer bir MARS modeli kullanılmıştır. Yapılan ön denemeler neticesinde, en düşük GCV ve en yüksek R^2 ve korelasyona sahip prediktif modeli elde etmek için, SNP verileriyle birlikte, laktasyon, çevresel faktörler (farklı çiftlikler) ve yoğunluk parametreleri bağımsız değişken olarak modele dahil edilmiştir. Yağ verimi için oluşturulan modele ait hata terimleri ve belirlenme katsayılarına ait grafikler Şekil 3.14.'de verilmiştir. Yağ verimi için kullanılan modelin denklemi EK 7.'de verilirken, MARS modelinin temel fonksiyonları ile yağ verimi arasındaki korelasyonu gösteren grafik Şekil 3.16'da gösterilmiştir. Yağ verimi için oluşturulan MARS modelinin, terimlerine ait katsayılar, standart hata, t ve p değerleri Tablo 3.7'de sunulurken, yağ verimine etki eden kestiriciler (predictor) önem sırasına göre Tablo 3.8'de sıralanmıştır. Bunların dışında, yağ verimi için kullanılan modelde kullanılan bağımsız değişkenler arasındaki etkileşimleri anlatan grafikler ise Şekil 3.15. de gösterilmiştir.



Şekil 3.14. Yağ Verimi (kg) İçin Kullanılan MARS Modeline Ait Hata Terimleri ve Belirlenme Katsayılarına Ait Grafikler

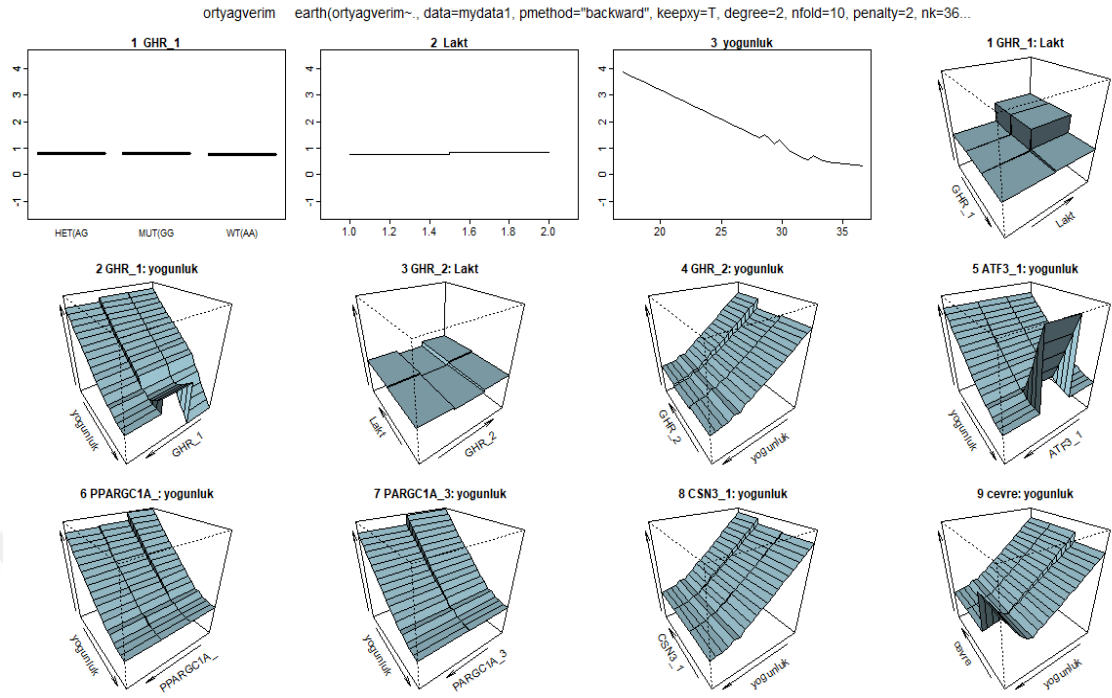
Tablo 3.7. Yağ Verimi (kg) İçin Kullanılan MARS Modeline Ait Temel Fonksiyonlar ve Bu Fonksiyonlara Ait Katsayılar, Standart Hata, t ve p Değerleri

TF	Temel Fonksiyonlar	Katsayılar	Standart Hata	t değeri	Pr > t
1	Sabit terim (intercept)	0.536228	0.199546	-2.687	0.007558**
2	h(yogunluk-32.3387)	-1.442909	0.323854	-4.455	1.14e-05***
3	h(32.3387-yogunluk)	0.261858	0.017749	14.753	<2e-16***
4	GHR_1WT(AA)	0.909756	0.188844	4.818	2.19e-06***
5	PPARGC1A_1WT(GG)*h(32.3387-yogunluk)	-0.035912	0.006313	-5.689	2.75e-08***
6	GHR_2WT(AA)*h(32.3387-yogunluk)	0.029341	0.005858	5.009	8.80e-07 ***
7	PPARGC1A_3WT(CC)*h(32.3387-yogunluk)	-0.034395	0.008976	-3.832	0.000151***
8	PPARGC1A_1MUT(AA)*h(32.3387-yogunluk)	-0.030883	0.011264	-2.742	0.006431 **
9	Lakt	1.238365	0.155282	7.975	2.33e-14 ***
10	GHR_1WT(AA)*Lakt	-1.159158	0.158647	-7.307	1.96e-12 ***
11	h(2-cevre)*h(yogunluk-32.3387)	0.516120	0.134043	3.850	0.000141***
12	h(2-cevre)*h(32.3387-yogunluk)	-0.030157	0.009929	-3.037	0.002572 **
13	CSN3_1WT(TT)*h(32.3387-yogunluk)	0.021165	0.007344	2.882	0.004205 **
14	ATF3_1MUT(GG)*h(yogunluk-32.3387)	0.982070	0.175459	5.597	4.48e-08 ***
15	GHR_2MUT(TT)*Lakt	-0.124767	0.053336	-2.339	0.019898 *
16	h(yogunluk-32.1163)	1.215459	0.304937	3.986	8.22e-05 ***
17	h(yogunluk-29.665)	-1.222793	0.188316	-6.493	2.97e-10 ***
18	GHR_1WT(AA)*h(yogunluk-30.4612)	0.331132	0.068023	4.868	1.73e-06 ***
19	GHR_1MUT(GG)*h(yogunluk-32.3387)	0.614720	0.155431	3.955	9.31e-05 ***
20	h(yogunluk-29.0687)	3.656225	0.576758	6.339	7.32e-10 ***
21	h(yogunluk-28.8538)	-3.341094	0.539707	-6.191	1.72e-09 ***
22	h(yogunluk-28.1487)	0.564415	0.114869	4.914	1.39e-06 ***
23	h(yogunluk-33.3975)	0.183928	0.075186	2.446	0.014937 *

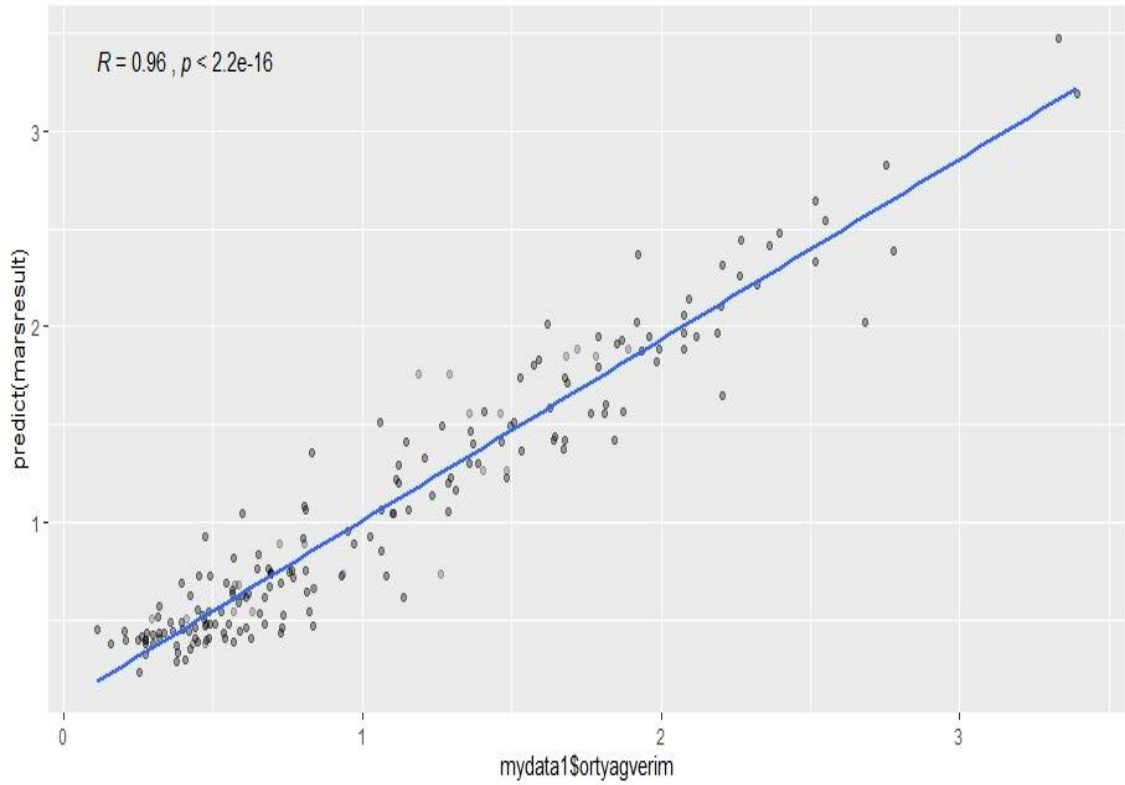
Önemli, *** = 0, ** = 0.001, * = 0.01, F değeri: 91.88, p – değeri: < 2.2e-16, TF :Temel Fonksiyon Sırası

Tablo 3.8. Yağ Verimine (kg) Etki Eden Etkili Kestiricilerin (predictor) Önem Sırasının Değerlendirilmesi

Kestirici (Faktör)	Altküme Sayısı	Bağıl Önemlilik (%)
Yoğunluk	22	100.0
GHR_1WT(AA) : rs382888926 kodlu SNP'nin AA genotipi	20	23.4
Laktasyon	19	22.1
GHR_2WT(AA): rs385640152 kodlu SNP'nin AA genotipi	17	18.8
PPARGC1A_1WT(GG): intron 9, g.44875251. bazdaki polimorfizmin GG genotipi	16	17.2
PPARGC1A_1MUT(AA): intron 9, g.44875251. bazdaki polimorfizmin AA genotipi	15	15.7
Çevre (farklı çiftlikler)	12	13.3
PPARGC1A_3WT(CC): intron 8, rs178708811 kodlu SNP'nin CC genotipi	12	13.3
ATF3_1MUT(GG): rs210174407 kodlu SNP'nin GG genotipi	9	9.7
GHR_1MUT(GG) : rs382888926 kodlu SNP'nin GG genotipi	7	8.9
CSN3_1WT(TT): rs43703015 kodlu SNP'nin TT genotipi	3	4.3
GHR_2MUT(TT) : rs385640152 kodlu SNP'nin TT genotipi	1	1.9



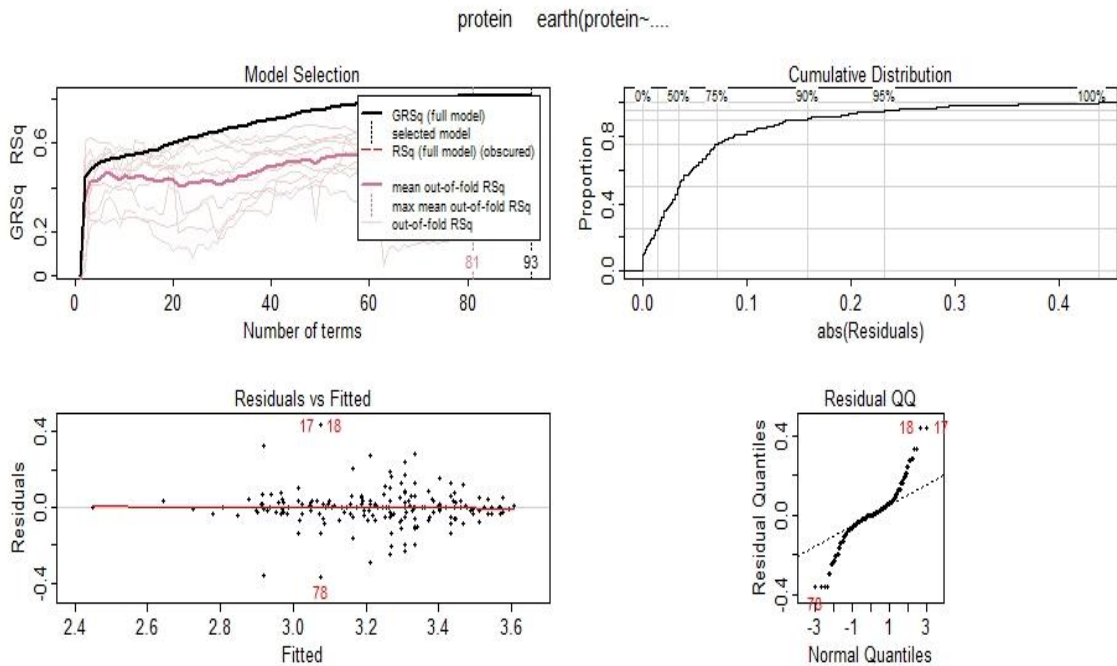
Şekil 3.15. Yağ Verimi (kg) İle Diğer Bağımsız Değişkenler Arasındaki Etkileşimi Gösteren Grafikler



Şekil 3.16. Yağ Verimi (kg) ve Oluşturulan MARS Modelinin Temel Fonksiyonları Arasındaki Korelasyon

3.4.4. Protein Oranı (%) İçin Oluşturulan MARS Modeli

Bu çalışmada tespit edilen SNP'ler ile Protein oranı (%) arasındaki ilişkiyi kestirmek ve protein oranı üzerine en etkili SNP'yi saptamak amacıyla, protein oranı parametresinin bağımlı değişken olduğu bir MARS modeli kullanılmıştır. Gerçekleştirilen ön denemeler sonucunda en düşük GCV ve en yüksek R^2 ve korelasyona sahip prediktif modeli elde etmek için, SNP verileriyle birlikte laktasyon ve çevresel faktörler (farklı çiftlikler) modele bağımsız değişken olarak dahil edilmiştir. Protein oranı için kullanılan modele ait hata terimleri ve belirlenme katsayılarına ait grafikler Şekil 3.17.'de sunulmuştur. Bununla birlikte, protein oranı için oluşturulan modelin denklemi EK 8.'de verilirken, MARS modelinin temel fonksiyonları ile protein oranı arasındaki korelasyonu gösteren grafik Şekil 3.20'de gösterilmiştir. Diğer bir taraftan, protein oranı için belirlenen MARS modelinin, terimlerine ait katsayılar, standart hata, t ve p değerleri Tablo 3.9'da gösterilirken, protein oranına etki eden kestiriciler (predictor) önem sırasına göre Tablo 3.10'da sıralanmıştır. Ayrıca, protein oranı ile oluşturulan modelde kullanılan bağımsız değişkenler arasındaki etkileşimleri anlatan grafikler ise Şekil 3.18. ve 3.19.'de gösterilmiştir.



Şekil 3.17. Protein Oranı (%) İçin Seçilen MARS Modeline Ait Hata Terimleri ve Belirlenme Katsayılarına Ait Grafikler

Tablo 3.9. Protein Oranı (%) İçin Oluşturulan MARS Modeline Ait Temel Fonksiyonlar ve Bu Fonksiyonlara Ait Katsayılar, Standart Hata, t ve p Değerleri

TF	Temel Fonksiyonlar	Katsayılar	Standart Hata	t değeri	Pr > t
1	Sabit Terim(intercept)	3.377133	0.035115	96.174	< 2e-16 ***
2	h(cevre-2)	-0.888496	0.401835	-2.211	0.0278 *
3	h(2-cevre)	0.045585	0.227558	0.200	0.8413
4	GHR_1WT(AA)*h(2-cevre)	0.212051	0.257822	-0.822	0.411531
5	GHR_1WT(AA)*PPARGC1A_1MUT(AA)*h(2-cevre)	-0.774198	0.132983	-5.822	1.64e-08***
6	GHR_1WT(AA)*h(cevre-2)	0.674371	0.364256	1.851	0.06520
7	ATF3_1WT(AA)*h(cevre-2)	0.200766	0.111231	-1.805	0.07219
8	GHR_2WT(AA)	0.413013	0.180291	2.291	0.02274
9	GHR_1WT(AA)*ATF3_1WT(AA)*h(2-cevre)	-0.141527	0.062450	-2.266	0.02422
10	CSN3_1WT(TT)*h(2-cevre)	0.018899	0.090562	-0.209	0.834852
11	PAEP_1Mut(TT)*ATF3_1WT(AA)*h(cevre-2)	0.323988	0.098452	3.291	0.001 **
12	PAEP_1wt(CC)*h(cevre-2)	0.396739	0.110119	3.603	0.0003***
13	GHR_2WT(AA)*CSN3_5MUT(AA)	-0.038876	0.243068	-0.160	0.87305
14	CSN3_4MUT(AA)	0.055403	0.152200	0.364	0.71613
15	GHR_2WT(AA)*ATF3_1MUT(GG)	0.274184	0.091674	2.991	0.0030**
16	PAEP_1wt(CC)*h(2-cevre)	1.010099	0.182509	5.535	7.36e-08 ***
17	PAEP_1wt(CC)	0.454820	0.123394	3.686	0.0002***
18	GHR_1MUT(GG)	0.726366	0.160007	4.540	8.48e-06 ***
19	GHR_1WT(AA)*CSN3_1MUT(CC)*h(2-cevre)	0.217772	0.149665	1.455	0.1468
20	ATF3_1WT(AA)*CSN3_3WT(AA)*h(cevre-2)	-0.211831	0.085220	-2.486	0.01353*
21	PAEP_1wt(CC)*PPARGC1A_1WT(GG)*h(cevre-2)	-0.310660	0.096584	-3.216	0.0014**
22	GHR_2WT(AA)*PPARGC1A_1WT(GG)	-0.305400	0.152957	-1.997	0.04686 *
23	GHR_1WT(AA)*GHR_2WT(AA)*CSN3_5MUT(AA)	0.015290	0.216576	0.071	0.943768
24	PAEP_2WT(GG)*GHR_2WT(AA)*CSN3_5MUT(AA)	0.203962	0.063300	3.222	0.0014**
25	GHR_2WT(AA)*ATF3_1WT(AA)*CSN3_5MUT(AA)	0.181680	0.114051	1.593	0.112332
26	ATF3_1WT(AA)*CSN3_4MUT(AA)	-0.492076	0.281802	-1.746	0.081913
27	GHR_2WT(AA)*ATF3_1WT(AA)*h(cevre-2)	-0.349854	0.115089	-3.040	0.0025**
28	PAEP_1wt(CC)*GHR_2WT(AA)*h(cevre-2)	-0.200932	0.127621	-1.574	0.116551
29	PAEP_1wt(CC)*ATF3_1WT(AA)*h(2-cevre)	-0.847976	0.142159	-5.965	7.62e-09 ***
30	PAEP_1wt(CC)*PAEP_2WT(GG)*h(2-cevre)	-0.811895	0.131979	-6.152	2.74e-09 ***
31	GHR_2WT(AA)*CSN3_1WT(TT)*h(2-cevre)	-0.135345	0.105341	-1.285	0.19995
32	GHR_2WT(AA)*PPARGC1A_3WT(CC)*CSN3_5MUT(AA)	-0.359491	0.080258	-4.479	1.11e-05 ***
33	PAEP_1Mut(TT)*CSN3_4MUT(AA)	-0.316172	0.303800	-1.041	0.298931
34	PAEP_1Mut(TT)*GHR_2WT(AA)	-0.710540	0.128702	-5.521	7.90e-08 ***
35	PAEP_2MUT(AA)*CSN3_4MUT(AA)	-0.617434	0.157766	-3.914	0.000115 ***
36	CSN3_4MUT(AA)*h(cevre-2)	0.085085	0.142602	0.597	0.551231
37	CSN3_4MUT(AA)*h(2-cevre)	0.161448	0.196846	0.820	0.412838
38	CSN3_3WT(AA)	-0.190497	0.049657	-3.836	0.0001 ***
39	GHR_2WT(AA)*PPARGC1A_2WT(GG)	-0.208317	0.155298	-1.341	0.18091
40	PAEP_1wt(CC)*PPARGC1A_2WT(GG)	-0.709390	0.110548	-6.417	6.18e-10 ***
41	GHR_2WT(AA)*PPARGC1A_1WT(GG)*h(cevre-2)	0.529381	0.094518	5.601	5.23e-08 ***
42	GHR_2WT(AA)*PPARGC1A_1WT(GG)*h(2-cevre)	0.229256	0.094085	2.437	0.015466 *
43	CSN3_2MUT(AA)	-0.199748	0.205339	-0.973	0.331535
44	PAEP_2MUT(AA)*h(cevre-2)	-0.259254	0.094316	-2.749	0.006384 **
45	PPARGC1A_1WT(GG)*h(cevre-2)	-0.644208	0.116588	-5.525	7.71e-08 ***
46	PAEP_1wt(CC)*CSN3_1MUT(CC)*h(2-cevre)	0.470775	0.140746	3.345	0.00094***
47	PAEP_1wt(CC)*CSN3_1WT(TT)	0.228087	0.117100	1.948	0.052472
48	PPARGC1A_2WT(GG)*h(cevre-2)	0.568470	0.106551	5.335	2.02e-07 ***
49	PAEP_2MUT(AA)*ATF3_1WT(AA)*CSN3_4MUT(AA)	-0.077657	0.091765	-0.846	0.398152
50	ATF3_1WT(AA)*CSN3_4MUT(AA)*h(cevre-2)	0.164125	0.124608	1.317	0.188910
51	ATF3_1WT(AA)*CSN3_4MUT(AA)*h(2-cevre)	0.655948	0.116361	5.637	4.33e-08 ***

Önemli, *** = 0, ** = 0.001, * = 0.01, TF : Temel Fonksiyon Sırası

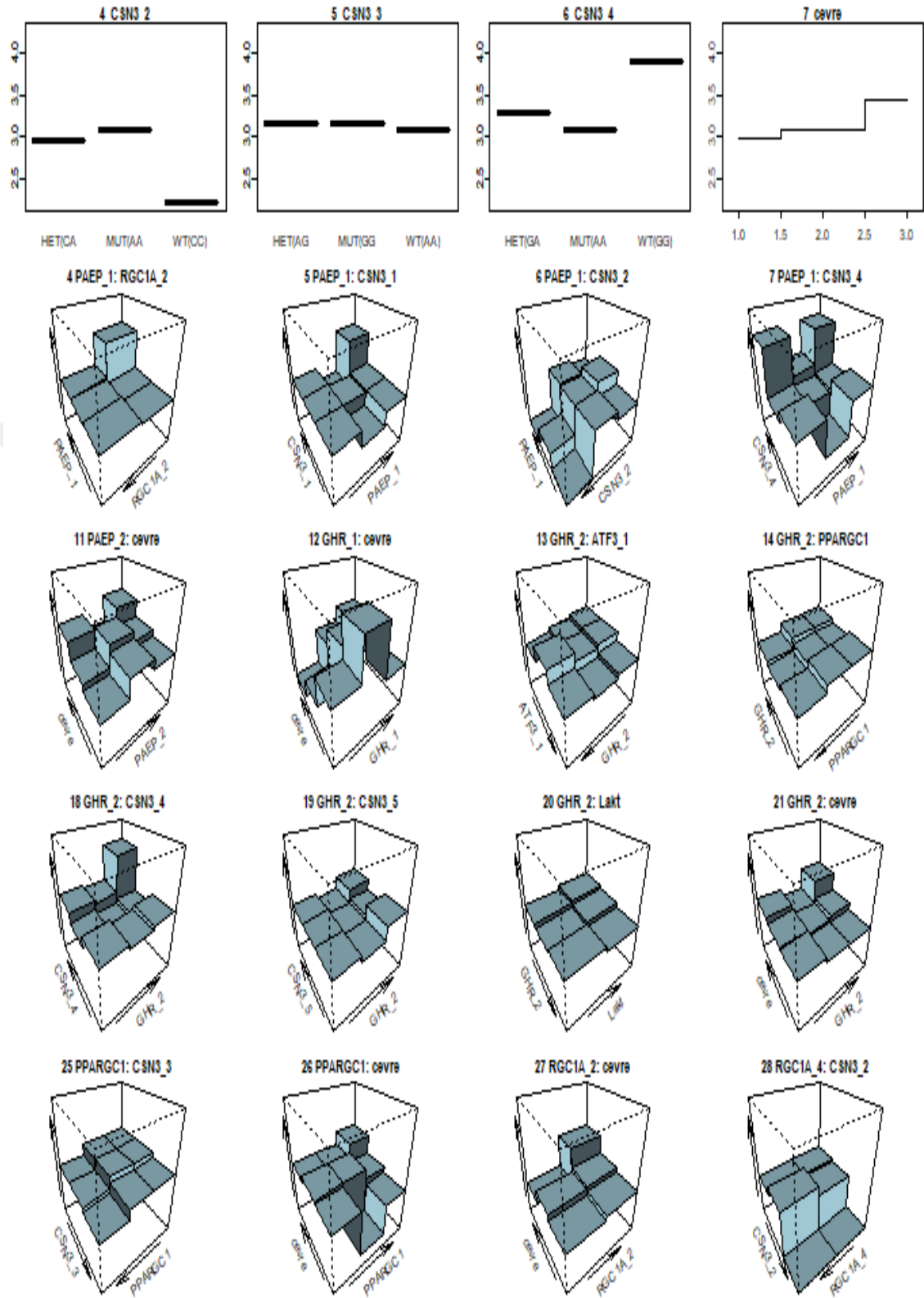
Tablo 3.9. Protein Oranı (%) İçin Oluşturulan MARS Modeline Ait Temel Fonksiyonlar ve Bu Fonksiyonlara Ait Katsayılar, Standart Hata, t ve p Değerleri (devamı)

TF	Temel Fonksiyonlar	Katsayılar	Standart Hata	t değeri	Pr > t
52	GHR_2WT(AA)*CSN3_5MUT(AA)*h(cevre-2)	-0.079070	0.109575	0.722	0.4711
53	GHR_2WT(AA)*CSN3_5MUT(AA)*h(2-cevre)	-0.167098	0.11284	-1.481	0.1398
54	PAEP_2MUT(AA)*GHR_2WT(AA)	0.354764	0.074985	4.731	3.60e-06 ***
55	GHR_1WT(AA)*CSN3_5MUT(AA)*h(2-cevre)	-0.557353	0.212195	-2.627	0.00911 **
56	PAEP_1wt(CC)*GHR_2WT(AA)	-0.213923	0.079350	-2.696	0.007458 **
57	GHR_2WT(AA)*ATF3_1WT(AA)	0.001253	0.056305	0.022	0.982264
58	GHR_2WT(AA)*CSN3_2WT(CC)	-0.742881	0.141532	-5.249	3.09e-07 ***
59	GHR_2WT(AA)*CSN3_4WT(GG)	0.628051	0.123964	5.066	7.51e-07 ***
60	PAEP_1wt(CC)*PPARGC1A_1WT(GG)	0.282823	0.065753	4.301	2.37e-05 ***
61	GHR_1WT(AA)*PPARGC1A_3WT(CC)*h(2-cevre)	0.091745	0.057097	1.607	0.109258
62	PAEP_1wt(CC)*PPARGC1A_1MUT(AA)	0.591579	0.174308	3.394	0.00079 ***
63	PAEP_1Mut(TT)*CSN3_3WT(AA)*CSN3_4MUT(AA)	0.235520	0.078697	2.993	0.003020 **
64	PAEP_2MUT(AA)*GHR_1WT(AA)*h(2-cevre)	-0.027747	0.064640	-0.429	0.668073
65	PAEP_1Mut(TT)*GHR_2WT(AA)*Lakt	0.294022	0.079320	3.707	0.00025 ***
66	GHR_2WT(AA)*Lakt	-0.149199	0.048219	-3.094	0.002180 **
67	PAEP_1Mut(TT)*CSN3_4MUT(AA)*cevre	0.360264	0.121483	2.966	0.003290 **
58	GHR_1WT(AA)*PPARGC1A_1WT(GG)*h(2-cevre)	-0.019496	0.065409	-0.298	0.765880
69	PAEP_2MUT(AA)*PPARGC1A_3WT(CC)*CSN3_4MUT(AA)	0.521764	0.138688	3.762	0.0002 ***
70	PPARGC1A_1WT(GG)*CSN3_4MUT(AA)*h(2-cevre)	-0.266984	0.092123	-2.898	0.004061 **
71	PAEP_1wt(CC)*GHR_1WT(AA)	0.191420	0.081018	2.363	0.018850 *
72	PAEP_2MUT(AA)*CSN3_4MUT(AA)*h(cevre-2)	-0.642695	0.174324	-3.687	0.00027 ***
73	PAEP_1wt(CC)*CSN3_4MUT(AA)*h(cevre-2)	-0.201092	0.082565	-2.436	0.015515 *
74	GHR_2WT(AA)*h(cevre-2)	0.143900	0.098263	1.464	0.144235
75	GHR_2WT(AA)*h(2-cevre)	-0.139745	0.105235	-1.328	0.185318
76	PPARGC1A_1WT(GG)*CSN3_3WT(AA)	0.039617	0.034332	1.154	0.249542
77	ATF3_1WT(AA)*PPARGC1A_1WT(GG)*CSN3_4MUT(AA)	-0.190840	0.050280	-3.796	0.0001 ***
78	PAEP_2MUT(AA)*PPARGC1A_1WT(GG)*CSN3_4MUT(AA)	0.214268	0.098127	2.184	0.02985 *
79	GHR_2WT(AA)*CSN3_2MUT(AA)	0.160141	0.115290	1.389	0.165965
80	PAEP_2MUT(AA)*PPARGC1A_1WT(GG)*h(cevre-2)	0.211000	0.087275	2.418	0.01628 *
81	PAEP_1Mut(TT)*GHR_2WT(AA)*PPARGC1A_1WT(GG)	-0.191446	0.079558	-2.406	0.01678 *
82	PPARGC1A_1WT(GG)*CSN3_3WT(AA)*h(cevre-2)	0.557085	0.114389	4.870	1.90e-06 ***
83	GHR_2MUT(TT)*PPARGC1A_1WT(GG)*h(cevre-2)	-0.536794	0.121208	-4.429	1.38e-05 ***
84	GHR_2MUT(TT)*CSN3_3WT(AA)	-0.085511	0.079580	-1.075	0.283544
85	ATF3_1WT(AA)*CSN3_3WT(AA)	0.081594	0.042113	1.937	0.053725
86	PPARGC1A_4WT(CC)*CSN3_2MUT(AA)	0.183444	0.137421	1.335	0.183028
87	PAEP_1wt(CC)*GHR_1WT(AA)*CSN3_1WT(TT)	0.380045	0.162609	2.337	0.020159 *
88	GHR_2MUT(TT)*PPARGC1A_2WT(GG)*h(cevre-2)	0.445532	0.118801	3.750	0.00021 ***
89	PAEP_1Mut(TT)*GHR_2WT(AA)*CSN3_1MUT(CC)	0.255364	0.136032	1.877	0.06155
90	GHR_2WT(AA)*PPARGC1A_1WT(GG)*PPARGC1A_2WT(GG)	0.274466	0.149240	1.839	0.06699
91	ATF3_1WT(AA)*CSN3_4MUT(AA)*Lakt	0.080790	0.048800	1.656	0.098972
92	GHR_1WT(AA)*ATF3_1WT(AA)*CSN3_4MUT(AA)	0.355435	0.240635	1.477	0.140817
93	PAEP_1Mut(TT)*CSN3_2MUT(AA)	-0.309573	0.225427	-1.373	0.170802

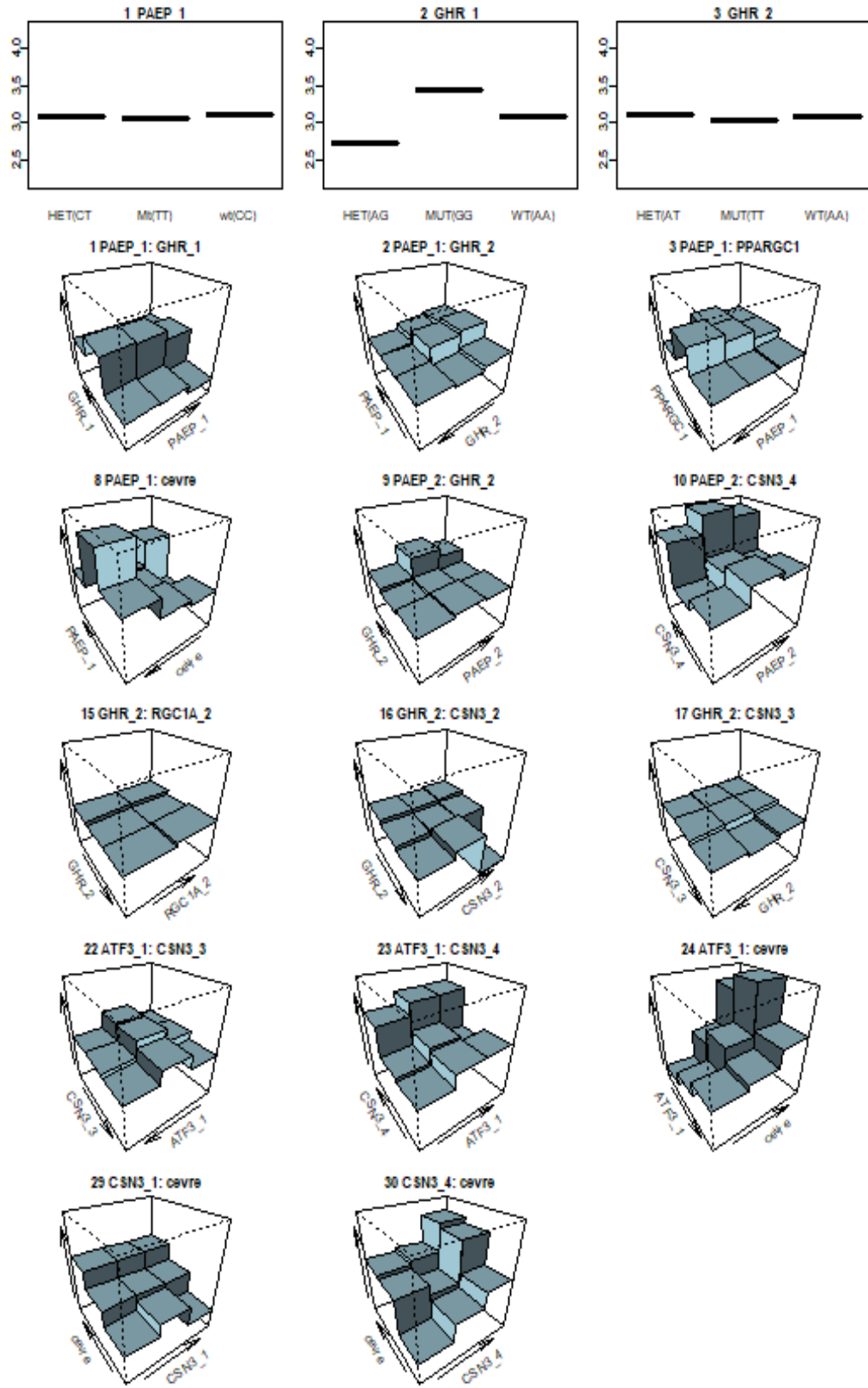
Önemli, *** = 0, ** = 0.001, * = 0.01, F değeri: 10.69, p – değeri: < 2.2e-16, TF :Temel Fonksiyon Sırası

Tablo 3.10. Protein Oranına (%) Etki Eden Etkili Kestiricilerin (Predictor) Önem Sırasının Değerlendirilmesi

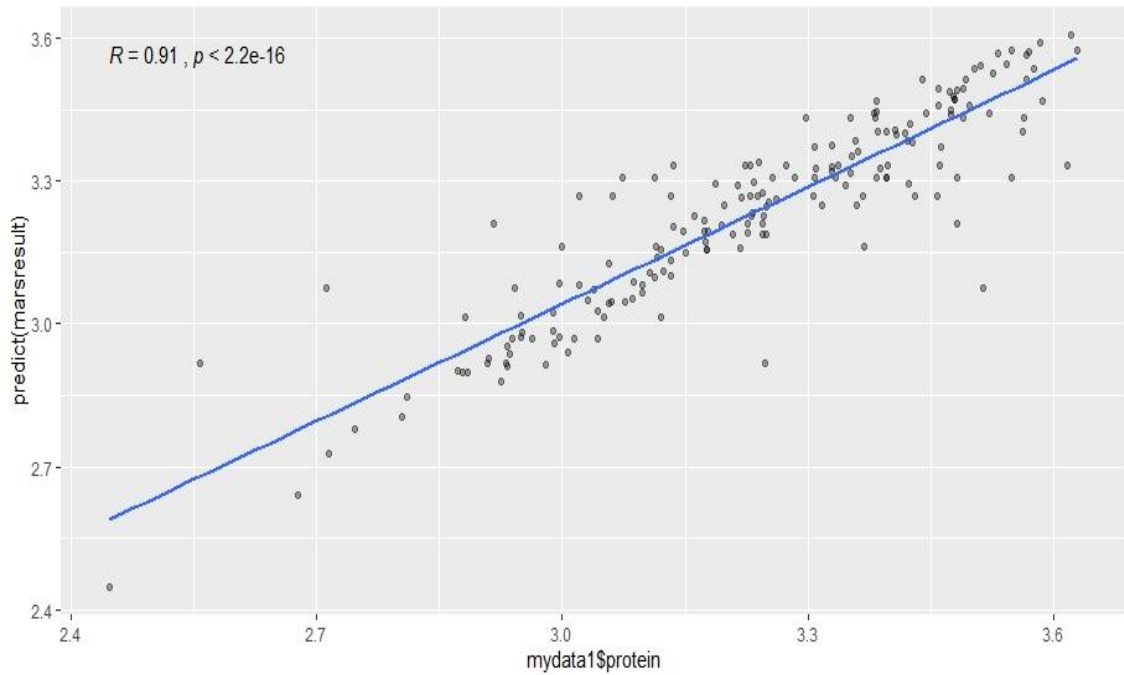
Kestirici (Faktör)	Altküme Sayısı	Bağıl Önemlilik (%)
GHR_1WT(AA) : rs382888926 kodlu SNP'nin AA genotipi	92	100.0
Çevre (farklı çiftlikler)	92	100.0
PPARGC1A_1MUT(AA) intron 9, g.44875251. bazdaki polimorfizmin AA genotipi	90	64.2
ATF3_1WT(AA) : rs210174407 kodlu SNP'nin AA genotipi	89	62.1
GHR_2WT(AA) : rs385640152 kodlu SNP'nin AA genotipi	88	60.9
PAEP_1Mut(TT) rs110180463 kodlu SNP'nin TT genotipi	85	59.2
PAEP_1wt(CC) : rs110180463 kodlu SNP'nin CC genotipi	85	59.2
ATF3_1MUT(GG) :rs210174407 kodlu SNP'nin GG genotipi	84	58.5
GHR_1MUT(GG) : rs382888926 kodlu SNP'nin GG genotipi	80	57
PPARGC1A_1WT(GG) : rs109579682 kodlu polimorfizmin GG genotipi	56.1	56.1
CSN3_3WT(AA) : Ekzon 4, rs43703017 kodlu SNP'nin AA genotipi	78	56.1
CSN3_4MUT(AA) : rs110014544 kodlu SNP'nin AA genotipi	77	55.2
CSN3_5MUT(AA) : rs109787476 kodlu SNP'nin AA genotipi	77	55.2
PAEP_2WT(GG) : rs110066229 kodlu SNP'nin GG genotipi	76	54.8
PPARGC1A_3WT(CC) : intron 8, rs178708811 kodlu SNP'nin CC genotipi	70	49.0
PAEP_2MUT(AA) :rs110066229 kodlu SNP'nin AA genotipi	68	47.6
PPARGC1A_2WT(GG) : Ekzon 9-rs133669403 kodlu SNP'nin GG genotipi	68	47.6
PPARGC1A_4WT(CC) : intron 8, g.44.875.421. bazdaki SNP'nin CC genotipi	68	46.9
CSN3_2MUT(AA) : rs43703016 kodlu SNP'nin AA genotipi	67	46.9
GHR_2MUT(TT) :rs385640152 kodlu SNP'nin TT genotipi	66	46.0
CSN3_2WT(CC) : rs43703016 kodlu SNP'nin CC genotipi	60	41.7
CSN3_4WT(GG) : rs110014544 kodlu SNP'nin GG genotipi	59	41.3
CSN3_1WT(TT) : rs43703015 kodlu SNP'nin TT genotipi	56	40.2
Laktasyon (Lakt)	55	37.9
CSN3_1MUT(CC) : rs 43703015 kodlu SNP'nin CC genotipi	40	26.3



Şekil 3.18. Protein Oranı (%) İle Diğer Bağımsız Değişkenler Arasındaki Etkileşimi Gösteren Grafikler-1



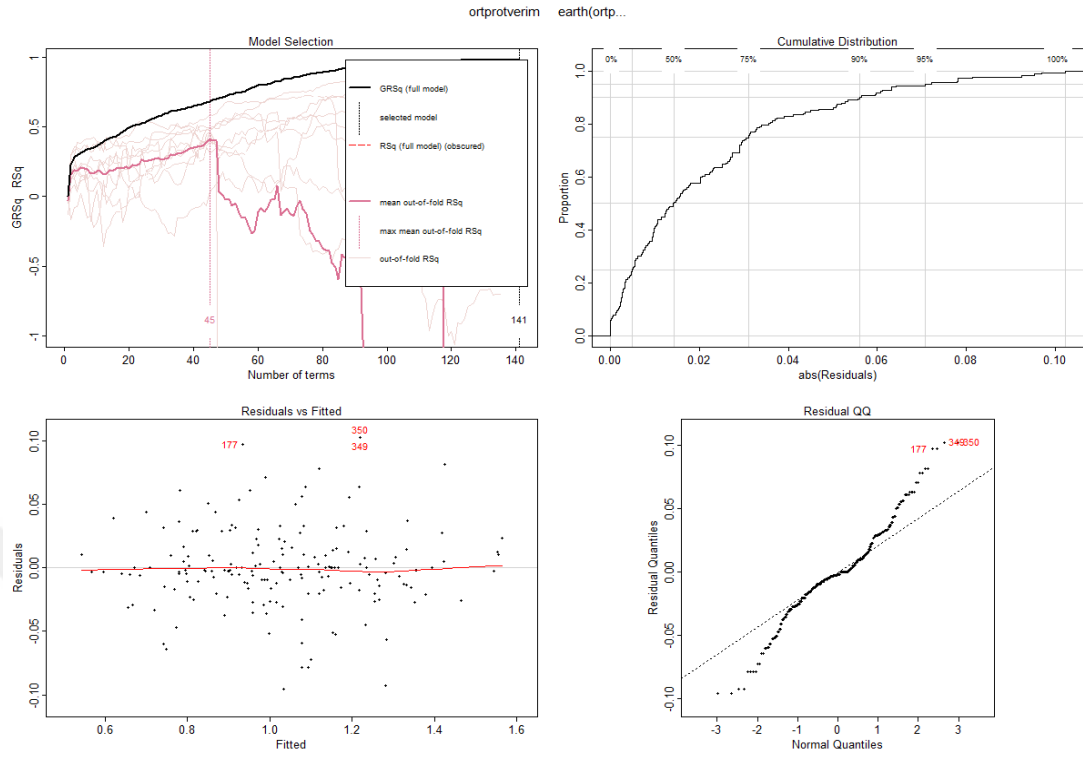
Şekil 3.19. Protein Oranı (%) İle Diğer Bağımsız Değişkenler Arasındaki Etkileşimi Gösteren Grafikler-2



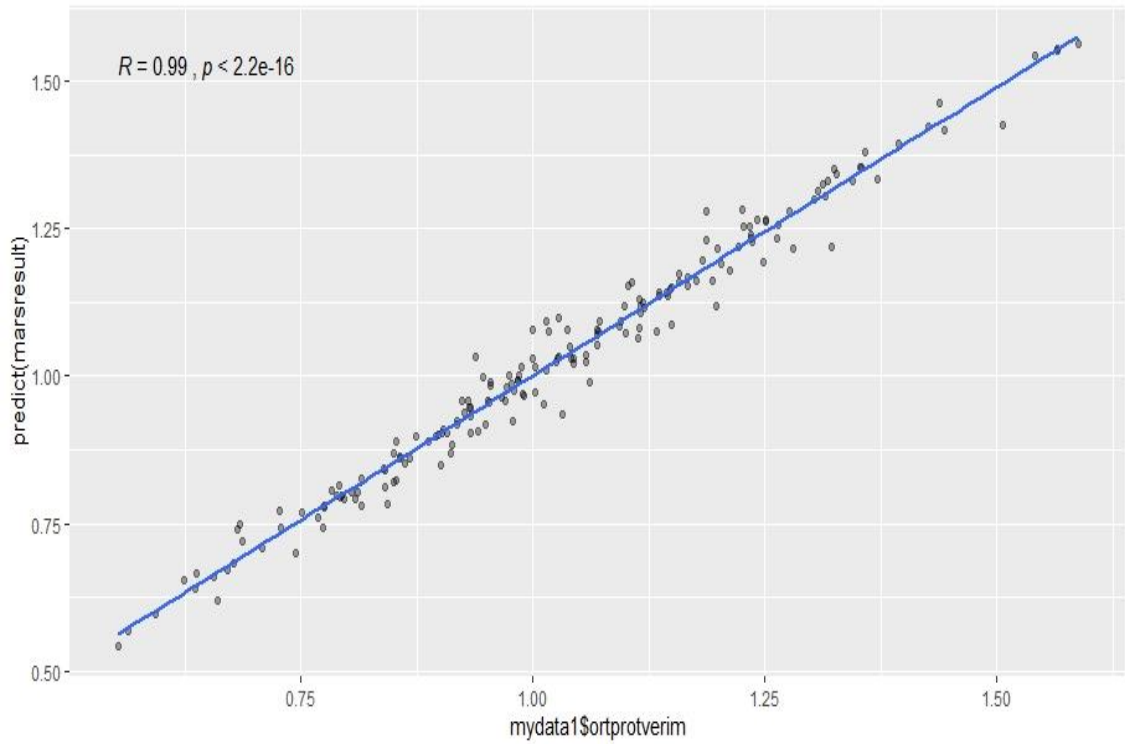
Şekil 3.20. Protein Oranı (%) ve Oluşturulan MARS Modelinin Temel Fonksiyonları Arasındaki Korelasyon

3.4.5. Protein Verimi (kg) İçin Kullanılan MARS Modeli

Protein verimi (kg) parametresi için kullandığımız MARS modelinde, protein verimi (kg) ile modele bağımsız değişken olarak dahil edilen SNP'ler arasındaki ilişkinin tespit edilmesi ve protein verimi (kg) üzerine en etkili SNP'nin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu sebeple, model kurmak amacıyla yapılan ön denemelerde, en düşük GCV, en yüksek R^2 ve korelasyona sahip modeli elde etmek için, laktasyon, çevresel faktörler(farklı çiftlikler) ve yoğunluk parametreleri de modele bağımsız değişken olarak eklenmiştir. Protein verimi için oluşturulan MARS modelinin, terimlerine ait katsayılar, standart hata, t ve p değerleri Tablo 3.11'de gösterilirken, protein verimine etki eden kestiriciler (predictor) önem sırasına göre Tablo 3.12'de sıralanmıştır. Protein verimi için oluşturulan modele ait hata terimleri ve belirlenme katsayılarına ait grafikler Şekil 3.21.'de verilmiştir. Protein verimi için oluşturulan modelin denklemi EK 9.'da verilirken, MARS modelinin temel fonksiyonları ile protein verimi arasındaki korelasyonu gösteren grafik Şekil 3.22'de gösterilmiştir. Bunların dışında, protein verimi ile oluşturulan modelde kullanılan bağımsız değişkenler arasındaki etkileşimleri anlatan grafikler ise Şekil 3.23. ve 3.24.'de gösterilmiştir.



Şekil 3.21. Protein Verimi (kg) İçin Seçilen MARS Modeline Ait Hata Terimleri ve Belirlenme Katsayılarına Ait Grafikler



Şekil 3.22. Protein Verimi (kg) ve Oluşturulan MARS Modelinin Temel Fonksiyonları Arasındaki Korelasyon

Tablo 3.11. Protein Verimi (kg) İçin Oluşturulan MARS Modeline Ait Temel Fonksiyonlar ve Bu Fonksiyonlara Ait Katsayılar, Standart Hata, t ve p Değerleri

TF	Temel Fonksiyonlar	Katsayılar	Standart Hata	t değeri	Pr > t
1	Sabit terim (intercept)	-5.007835	0.745004	-6.722	1.48e-10 ***
2	h(yogunluk-33.1887)	-9.790048	0.721206	-13.575	< 2e-16 ***
3	h(33.1887-yogunluk)	0.809795	0.098467	8.224	1.62e-14 ***
4	PPARGC1A_1WT(GG)	-0.420880	0.189004	-2.227	0.026958 *
5	GHR_2MUT(TT)	0.151201	0.060491	2.500	0.013156 *
6	h(cevre-2)*h(33.1887-yogunluk)	2.306994	0.265628	8.685	8.15e-16 ***
7	h(2-cevre)*h(33.1887-yogunluk)	10.420989	0.715123	14.572	< 2e-16 ***
8	h(cevre-2)	5.284897	0.409761	12.898	< 2e-16 ***
9	h(2-cevre)	-72.15166	4.934445	-14.622	< 2e-16 ***
10	CSN3_1MUT(CC)*h(yogunluk-33.1887)	-1.610020	0.373018	-4.316	2.39e-05 ***
11	GHR_2WT(AA)*h(cevre-2)	0.203288	0.023912	8.502	2.71e-15 ***
12	PPARGC1A_2WT(GG)*h(cevre-2)	-0.217851	0.062137	-3.506	0.000550***
13	PAEP_2WT(GG)*PPARGC1A_1WT(GG)	0.203368	0.046999	4.327	2.28e-05 ***
14	PPARGC1A_3WT(CC)	-0.148916	0.068016	-2.189	0.029603 *
15	PPARGC1A_3WT(CC)*h(yogunluk-33.1887)	0.685395	0.050210	13.651	< 2e-16 ***
16	PPARGC1A_1WT(GG)*CSN3_1WT(TT)	0.353628	0.029994	11.790	< 2e-16 ***
17	PPARGC1A_1WT(GG)*CSN3_5MUT(AA)	0.245005	0.018645	13.141	< 2e-16 ***
18	GHR_2MUT(TT)*h(33.1887-yogunluk)	-0.047231	0.016966	-2.784	0.005831 **
19	CSN3_3WT(AA)*h(cevre-2)	0.549743	0.045272	12.143	< 2e-16 ***
20	CSN3_3WT(AA)*h(yogunluk-33.1887)	5.915787	0.617586	9.579	< 2e-16 ***
21	ATF3_1MUT(GG)*h(yogunluk-33.1887)	0.374712	0.250359	1.497	0.135885
22	h(2-cevre)*h(yogunluk-26.2938)	10.325329	0.724416	14.253	< 2e-16 ***
23	h(2-cevre)*h(26.2938-yogunluk)	-10.25156	0.721149	-14.216	< 2e-16 ***
24	PAEP_2MUT(AA)*PPARGC1A_3WT(CC)	0.049327	0.033231	1.484	0.139125
25	PPARGC1A_3WT(CC)*h(yogunluk-31.24)	-0.244944	0.023356	-10.488	< 2e-16 ***
26	PPARGC1A_3WT(CC)*h(31.24-yogunluk)	-0.024348	0.008596	-2.832	0.005043 **
27	PPARGC1A_3WT(CC)*h(cevre-2)	-0.526799	0.049818	-10.575	< 2e-16 ***
28	PPARGC1A_3WT(CC)*h(2-cevre)	-0.019392	0.043968	-0.441	0.659608
29	PAEP_1wt(CC)*h(yogunluk-33.1887)	2.345712	0.278377	8.426	4.41e-15 ***
30	PAEP_1Mut(TT)*h(33.1887-yogunluk)	-0.013612	0.004318	-3.152	0.001841 **
31	PAEP_1wt(CC)*PPARGC1A_1WT(GG)	-0.093506	0.050382	-1.856	0.064783
32	GHR_1WT(AA)*h(cevre-2)	-0.744044	0.136084	-5.468	1.22e-07 ***
33	h(cevre-2)*h(yogunluk-33.595)	0.016003	0.149166	0.107	0.914660
34	h(cevre-2)*h(33.595-yogunluk)	-2.735182	0.275865	-9.915	< 2e-16 ***
35	h(cevre-2)*h(yogunluk-34.17)	0.817696	0.170953	4.783	3.14e-06 ***
36	PPARGC1A_1WT(GG)*h(cevre-2)	-0.252695	0.030819	-8.199	1.90e-14 ***
37	PPARGC1A_1WT(GG)*h(2-cevre)	0.277381	0.039077	7.098	1.67e-11 ***
38	PPARGC1A_1WT(GG)*h(yogunluk-32.6138)	-0.933723	0.679496	-1.374	0.170777
39	PPARGC1A_1WT(GG)*h(32.6138-yogunluk)	0.025866	0.010113	2.558	0.011201 *
40	PPARGC1A_1WT(GG)*h(yogunluk-34.1025)	1.583073	0.342482	4.622	6.42e-06 ***
41	PPARGC1A_1WT(GG)*h(yogunluk-32.49)	-0.498068	0.398184	-1.251	0.212301
42	GHR_1WT(AA)*PPARGC1A_1WT(GG)	0.007798	0.106665	0.073	0.941783
43	GHR_1WT(AA)	2.823855	0.344620	8.194	1.97e-14 ***
44	PPARGC1A_1WT(GG)*Lakt	-0.058568	0.029738	-1.969	0.050141
45	h(yogunluk-30.5775)	0.398963	0.086003	4.639	5.97e-06 ***
46	h(yogunluk-22.675)	0.185176	0.043452	4.262	3.00e-05 ***
47	PPARGC1A_1WT(GG)*CSN3_4WT(GG)	-0.191236	0.035978	-5.315	2.58e-07 ***
48	h(yogunluk-24.215)	-0.414791	0.048232	-8.600	1.42e-15 ***
49	h(yogunluk-28.82)	0.817982	0.370292	2.209	0.028191 *
50	h(yogunluk-27.8938)	-3.505624	0.588453	-5.957	9.90e-09 ***
51	PPARGC1A_1WT(GG)*h(yogunluk-33.8387)	-4.929730	0.757176	-6.511	4.89e-10 ***
52	h(yogunluk-27.7012)	4.962548	0.541419	9.166	< 2e-16 ***
53	h(yogunluk-29.0687)	-2.021888	0.330734	-6.113	4.32e-09 ***

Önemli, *** = 0, ** = 0.001, * = 0.01, TF : Temel Fonksiyon Sırası

Tablo 3.11. Protein Verimi (kg) İçin Oluşturulan MARS Modeline Ait Temel Fonksiyonlar ve Bu Fonksiyonlara Ait Katsayılar, Standart Hata, t ve p Değerleri (devamı)

TF	Temel Fonksiyonlar	Katsayılar	Standart Hata	t değeri	Pr > t
54	PAEP_1wt(CC)*h(2-cevre)	-0.077645	0.052733	-1.472	0.142321
55	PPARGC1A_1WT(GG)*CSN3_3WT(AA)	-0.022117	0.030074	-0.735	0.462860
56	CSN3_3WT(AA)	-0.675238	0.090383	-7.471	1.79e-12 ***
57	PPARGC1A_1WT(GG)*h(yogunluk-25.2875)	0.109493	0.018580	5.893	1.39e-08 ***
58	ATF3_1WT(AA)*h(2-cevre)	-0.243890	0.032231	-7.567	9.96e-13 ***
59	PAEP_1Mut(TT)*PPARGC1A_1WT(GG)	0.201993	0.021952	9.201	< 2e-16 ***
60	PAEP_2MUT(AA)	-0.028778	0.046903	-0.614	0.540124
61	Lakt*h(2-cevre)	0.076504	0.027610	2.771	0.006063 **
62	GHR_2MUT(TT)*h(2-cevre)	0.164721	0.090325	1.824	0.069543
63	h(yogunluk-32.8137)	4.130571	0.423017	9.765	< 2e-16 ***
64	PPARGC1A_1WT(GG)*PPARGC1A_2WT(GG)	-0.441036	0.032984	-13.371	< 2e-16 ***
65	ATF3_1MUT(GG)*PPARGC1A_1WT(GG)	-0.251532	0.040329	-6.237	2.21e-09 ***
66	PPARGC1A_2WT(GG)*h(2-cevre)	0.247281	0.030757	8.040	5.24e-14 ***
67	GHR_1WT(AA)*h(yogunluk-29.015)	2.596667	0.268947	9.655	< 2e-16 ***
68	GHR_1WT(AA)*h(29.015-yogunluk)	-0.969018	0.104303	-9.290	< 2e-16 ***
69	GHR_1WT(AA)*h(yogunluk-32.6175)	-3.580222	0.394114	-9.084	< 2e-16 ***
70	GHR_1WT(AA)*h(yogunluk-27.3463)	-2.161423	0.195677	-11.046	< 2e-16 ***
71	PAEP_1wt(CC)*h(yogunluk-30.5775)	0.399255	0.047215	8.456	3.64e-15 ***
72	PAEP_2WT(GG)*GHR_1WT(AA)	-0.510010	0.059825	-8.525	2.32e-15 ***
73	PAEP_2WT(GG)*h(2-cevre)	0.649258	0.053930	12.039	< 2e-16 ***
74	h(cevre-2)*h(yogunluk-30.5775)	-1.168756	0.085256	-13.709	< 2e-16 ***
75	h(2-cevre)*h(yogunluk-30.5775)	-0.611360	0.065527	-9.330	< 2e-16 ***
76	PPARGC1A_1WT(GG)*h(yogunluk-29.0687)	-0.102007	0.021376	-4.772	3.30e-06 ***
77	GHR_1WT(AA)*h(yogunluk-28.6788)	-1.588378	0.324277	4.898	1.86e-06 ***
78	CSN3_4MUT(AA)	-0.795072	0.100884	-7.881	1.42e-13 ***
79	PPARGC1A_1MUT(AA)*h(yogunluk-30.5775)	-0.817140	0.075035	-10.890	< 2e-16 ***
80	CSN3_4WT(GG)*h(yogunluk-22.675)	-0.006590	0.002329	-2.829	0.005091 **
81	PAEP_2WT(GG)*h(yogunluk-22.675)	-0.006590	0.002329	6.236	2.22e-09 ***
82	PPARGC1A_1WT(GG)*PPARGC1A_3WT(CC)	0.212993	0.040632	5.242	3.68e-07 ***
83	h(cevre-2)*h(yogunluk-28.82)	2.053357	0.132432	15.505	< 2e-16 ***
84	h(2-cevre)*h(yogunluk-28.82)	-0.141581	0.094056	-1.505	0.133667
85	h(cevre-2)*h(yogunluk-27.7012)	-1.715740	0.128226	-13.381	< 2e-16 ***
86	h(2-cevre)*h(yogunluk-27.7012)	0.170379	0.110843	1.537	0.125683
87	h(yogunluk-34.1775)	8.018626	0.612710	13.087	< 2e-16 ***
88	GHR_2WT(AA)*h(yogunluk-28.82)	-0.746523	0.115235	-6.478	5.86e-10 ***
89	PPARGC1A_1WT(GG)*h(yogunluk-33.3725)	4.844772	0.905287	5.352	2.16e-07 ***
90	GHR_1WT(AA)*h(yogunluk-34.46)	-6.358387	1.580228	-4.024	7.85e-05 ***
91	GHR_1WT(AA)*h(yogunluk-28.1487)	1.306065	0.302883	4.312	2.43e-05 ***
92	PPARGC1A_3WT(CC)*CSN3_3WT(AA)	-0.125217	0.059796	-2.094	0.037382 *
93	PAEP_2MUT(AA)*CSN3_3WT(AA)	-0.138491	0.027431	-5.049	9.24e-07 ***
94	CSN3_5MUT(AA)	1.010433	0.088983	11.355	< 2e-16 ***
95	CSN3_3WT(AA)*h(yogunluk-34.755)	2.467322	0.220703	11.179	< 2e-16 ***
96	CSN3_3WT(AA)*h(34.755-yogunluk)	0.084238	0.005647	14.916	< 2e-16 ***
97	h(yogunluk-30.1562)	-0.864023	0.105451	-8.194	1.97e-14 ***
98	GHR_1WT(AA)*h(yogunluk-31.24)	0.052261	0.073830	-0.708	0.479776
99	GHR_1WT(AA)*h(yogunluk-32.2062)	3.388226	0.652282	5.194	4.63e-07 ***
100	CSN3_3WT(AA)*h(yogunluk-33.2738)	0.399025	0.950664	0.420	0.675084
101	CSN3_5MUT(AA)*h(yogunluk-24.215)	-0.039087	0.013545	-2.886	0.004288 **
102	CSN3_1MUT(CC)*h(yogunluk-27.7012)	0.062267	0.011880	5.242	3.69e-07 ***
103	ATF3_1WT(AA)*CSN3_3WT(AA)	0.530567	0.030890	17.176	< 2e-16 ***
104	ATF3_1WT(AA)	-0.474737	0.065452	-7.253	6.64e-12 ***
105	Lakt*h(yogunluk-24.215)	-0.018594	0.009718	-1.913	0.056986

Önemli, *** = 0, ** = 0.001, * = 0.01, TF : Temel Fonksiyon Sırası

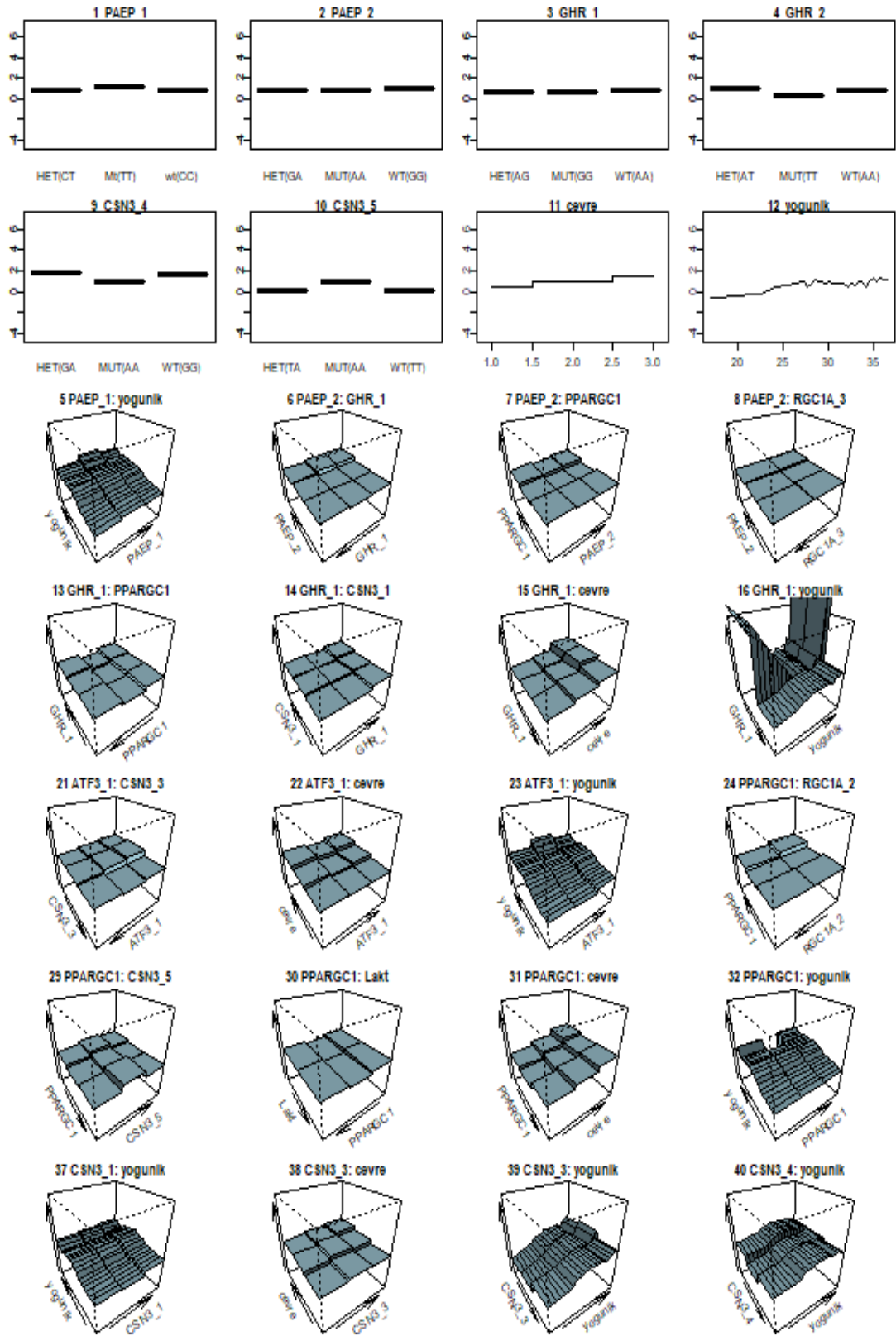
Tablo 3.11. Protein Verimi (kg) İçin Oluşturulan MARS Modeline Ait Temel Fonksiyonlar ve Bu Fonksiyonlara Ait Katsayılar, Standart Hata, t ve p Değerleri (devamı)

TF	Temel Fonksiyonlar	Katsayılar	Standart Hata	t değeri	Pr > t
106	PAEP_1wt(CC)*h(yogunluk-27.7012)	-0.019884	0.023825	-0.835	0.404843
107	CSN3_1MUT(CC)*h(yogunluk-32.8137)	1.372840	0.259934	5.281	3.04e-07 ***
108	CSN3_3WT(AA)*h(yogunluk-33.7075)	7.999913	0.582722	13.729	< 2e-16 ***
109	h(yogunluk-34.6525)	6.340234	0.784795	8.079	4.09e-14 ***
110	GHR_1WT(AA)*h(yogunluk-33.3975)	7.914784	1.577614	5.017	1.07e-06 ***
111	CSN3_3MUT(GG)*h(yogunluk-24.215)	0.043677	0.005419	8.060	4.63e-14 ***
112	PAEP_1wt(CC)*h(yogunluk-32.8137)	-2.593515	0.265903	-9.754	< 2e-16 ***
113	CSN3_3WT(AA)*h(yogunluk-34.17)	-4.580425	0.402827	-11.371	< 2e-16 ***
114	CSN3_5MUT(AA)*h(yogunluk-29.0687)	-0.123991	0.017874	-6.937	4.29e-11 ***
115	CSN3_3WT(AA)*h(yogunluk-33.3975)	-11.86623	1.165559	-10.181	< 2e-16 ***
116	GHR_1WT(AA)*h(yogunluk-32.1)	-2.516926	0.482911	-5.212	4.25e-07 ***
117	GHR_1WT(AA)*h(yogunluk-34.755)	-7.915419	0.720490	-10.986	< 2e-16 ***
118	ATF3_1WT(AA)*h(yogunluk-32.8137)	0.128527	0.034598	3.715	0.000257***
119	h(yogunluk-29.665)	1.025658	0.113068	9.071	< 2e-16 ***
120	GHR_1WT(AA)*h(yogunluk-34.5012)	2.299356	1.750212	1.314	0.190277
121	GHR_1WT(AA)*ATF3_1WT(AA)	0.206218	0.056570	3.645	0.000332***
122	ATF3_1WT(AA)*h(yogunluk-29.0687)	-0.093554	0.013402	-6.981	3.33e-11 ***
123	h(yogunluk-35.2675)	-3.004203	0.539055	-5.573	7.19e-08 ***
124	h(yogunluk-35.4988)	-5.353991	0.601722	-8.898	< 2e-16 ***
125	h(yogunluk-35.395)	8.453322	1.097110	7.705	4.26e-13 ***
126	PAEP_1wt(CC)	-0.237747	0.051874	-4.583	7.62e-06 ***
127	PAEP_1Mut(TT)*h(yogunluk-32.8137)	0.145431	0.023121	6.290	1.66e-09 ***
128	GHR_2WT(AA)*h(yogunluk-29.0687)	0.820842	0.121016	6.783	1.04e-10 ***
129	Lakt*h(yogunluk-29.0687)	0.059271	0.021853	2.712	0.007202 **
130	PAEP_1Mut(TT)*GHR_1WT(AA)	-0.075377	0.031698	-2.378	0.018254 *
131	PAEP_1Mut(TT)*CSN3_4MUT(AA)	0.175202	0.021426	8.177	2.19e-14 ***
132	GHR_2WT(AA)*CSN3_4MUT(AA)	-0.154440	0.017442	-8.855	2.66e-16 ***
133	PAEP_1wt(CC)*CSN3_4MUT(AA)	0.184970	0.021773	8.495	2.82e-15 ***
134	GHR_2MUT(TT)*CSN3_4MUT(AA)	-0.769005	0.096181	-7.995	6.94e-14 ***
135	CSN3_4MUT(AA)*h(yogunluk-34.0425)	0.472483	0.144652	3.266	0.001261 **
136	CSN3_4MUT(AA)*h(34.0425-yogunluk)	-0.013010	0.008434	-1.543	0.124348
137	h(yogunluk-23.4763)	0.284904	0.062345	4.570	8.08e-06 ***
138	PAEP_2MUT(AA)*h(yogunluk-32.8137)	-0.086464	0.019812	-4.364	1.95e-05 ***
139	GHR_1WT(AA)*CSN3_1MUT(CC)	-0.147109	0.044089	-3.337	0.000993***
140	GHR_1WT(AA)*h(yogunluk-33.7075)	-5.463326	1.087504	-5.024	1.04e-06 ***
141	h(yogunluk-32.3387)	1.131400	0.308697	3.665	0.000309***

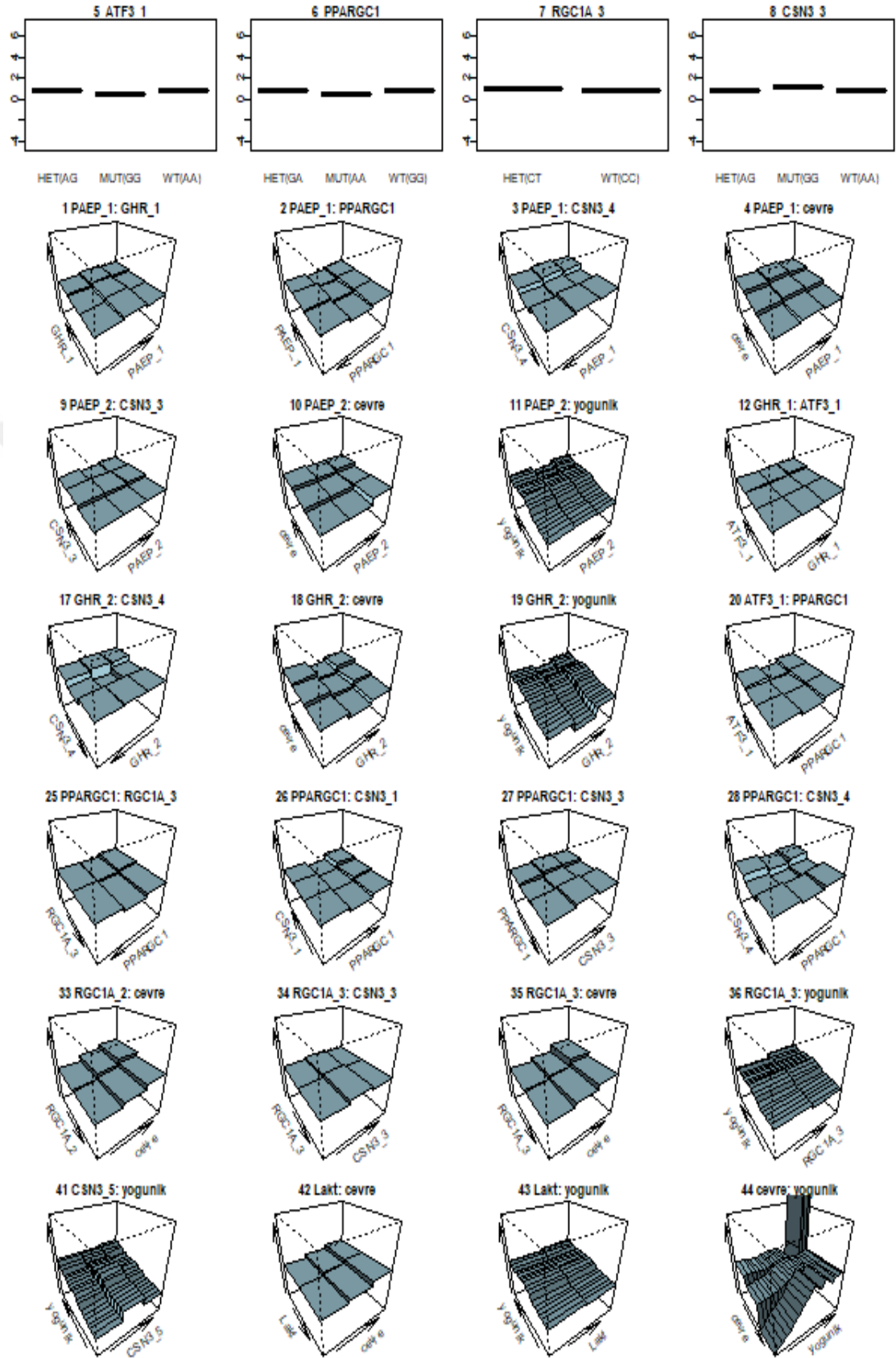
Önemli, *** = 0, ** = 0.001, * = 0.01, F değeri: 72.76, p – değeri: < 2.2e-16, TF : Temel Fonksiyon Sırası

Tablo 3.12. Protein Verimine (kg) Etki Eden Etkili Kestiricilerin (Predictor) Önem Sırasının Değerlendirilmesi

Kestirici (Faktör)	Altküme Sayısı	Bağlı Önemlilik (%)
Yoğunluk	140	100.0
Çevre (farklı çiftlikler)	138	86.5
PPARGC1A_1WT(GG): kr6: g.44875251. bazdaki SNP GG genotipi	134	81.6
PPARGC1A_3WT(CC): rs178708811 kodlu SNP'nin CC genotipi	132	79.0
CSN3_3WT(AA): rs43703017 kodlu SNP'nin AA genotipi	130	78.0
PPARGC1A_2WT(GG): rs133669403 kodlu SNP'nin GG genotipi	130	77.9
CSN3_5MUT(AA): rs109787476 kodlu SNP'nin AA genotipi	125	74.6
PAEP_2WT(GG): rs110066229 kodlu SNP'nin GG genotipi	125	74.0
CSN3_4MUT(AA): rs110014544 kodlu SNP'nin AA genotipi	124	74.6
GHR_1WT(AA): rs382888926 kodlu SNP'nin AA genotipi	123	72.9



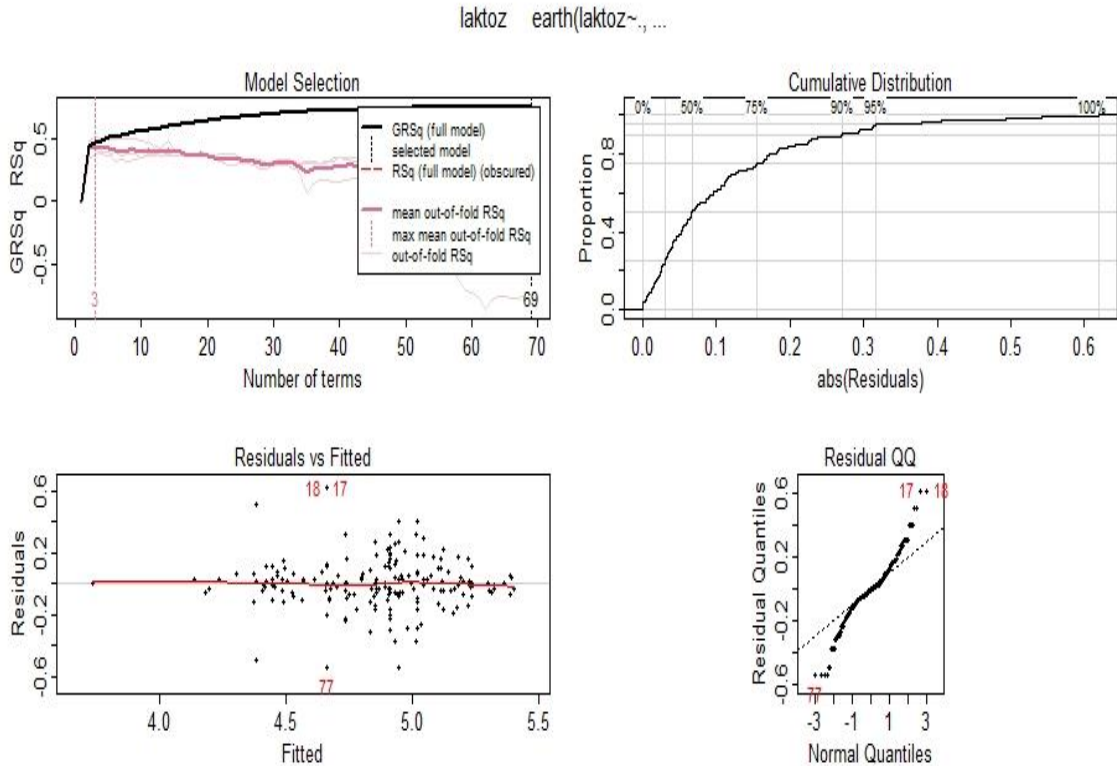
Şekil 3.23. Protein Verimi (%) İle Diğer Bağımsız Değişkenler Arasındaki Etkileşimi Gösteren Grafikler-1



Şekil 3.24. Protein Verimi (%) İle Diğer Bağımsız Değişkenler Arasındaki Etkileşimi Gösteren Grafikler-2

3.4.6. Laktoz oranı (%) için oluşturulan MARS modeli

Laktoz oranı (%) ile çalışılan SNP'ler arasındaki ilişkiyi belirlemek ve laktoz oranı üzerine en etkili SNP'yi tespit etmek amacıyla, bir MARS modeli oluşturulmuştur. En düşük GCV, en yüksek R^2 ve korelasyona sahip modeli elde etmek amacıyla, ön denemeler yapılmıştır. Gerçekleştirilen bu ön denemeler sonucunda, laktasyon ve çevresel faktörler (farklı çiftlikler) parametrelerinin de bağımsız değişken olarak modele dahil edilmesi gerektiği anlaşılmıştır. Laktoz oranı için kullanılan modele ait hata terimleri ve belirlenme katsayılarına ait grafikler Şekil 3.25.'de sunulmuştur. Laktoz oranı için oluşturulan modelin denklemi EK 10.'da gösterilirken, oluşturulan MARS modelinin temel fonksiyonları ile laktoz oranı arasındaki korelasyonu gösteren grafik Şekil 3.27.'de verilmiştir. Laktoz oranı için oluşturulan MARS modelinin, terimlerine ait katsayılar, standart hata, t ve p değerleri Tablo 3.13'de gösterilirken, protein oranına etki eden kestiriciler (predictor) önem sırasına göre Tablo 3.14'de sıralanmıştır. Laktoz oranı ile oluşturulan modelde kullanılan bağımsız değişkenler arasındaki etkileşimleri anlatan grafikler ise Şekil 3.26.'da gösterilmiştir.



Şekil 3.25. Laktoz Oranı İçin Seçilen MARS Modeline Ait Hata Terimleri ve Belirlenme Katsayılarına Ait Grafikler

Tablo 3.13. Laktoz Oranı (%) İçin Oluşturulan MARS Modeline Ait Temel Fonksiyonlar ve Bu Fonksiyonlara Ait Katsayılar, Standart Hata, t ve p Değerleri

TF	Temel Fonksiyonlar	Katsayılar	Standart Hata	t değeri	Pr > t
1	Sabit terim (intercept)	4.90906	0.03133	156.667	< 2e-16***
2	h(cevre-2)	-0.03522	0.19452	-0.181	0.856449
3	h(2-cevre)	0.03614	0.17190	0.210	0.833611
4	GHR_1WT(AA)*h(2-cevre)	-0.45053	0.17117	-2.632	0.008934**
5	GHR_1WT(AA)*PPARGC1A_1MUT(AA)*h(2-cevre)	-0.54074	0.17561	-3.079	0.002272**
6	GHR_1WT(AA)*h(cevre-2)	0.34843	0.20972	1.661	0.097698
7	PAEP_1wt(CC)*GHR_1WT(AA)*PPARGC1A_1MUT(AA)*h(2-cevre)	-0.53523	0.30065	-1.780	0.076067
8	ATF3_1WT(AA)*h(cevre-2)	-0.55504	0.14497	-3.829	0.000157***
9	GHR_2WT(AA)	-0.01275	0.12663	-0.101	0.919880
10	CSN3_1WT(TT)*h(2-cevre)	0.10377	0.12571	0.825	0.409764
11	CSN3_1MUT(CC)*h(2-cevre)	-0.43628	0.10659	-4.093	5.50e-05***
12	PPARGC1A_2WT(GG)*h(2-cevre)	0.27568	0.07398	3.726	0.000233***
13	PAEP_1Mut(TT)*ATF3_1WT(AA)*h(cevre-2)	0.26225	0.17131	1.531	0.126871
14	PAEP_1wt(CC)*h(cevre-2)	0.46141	0.09856	4.682	4.34e-06***
15	GHR_2WT(AA)*ATF3_1MUT(GG)	0.50270	0.16569	3.034	0.002628**
16	GHR_2WT(AA)*CSN3_5MUT(AA)	0.12247	0.22752	0.538	0.590783
17	CSN3_4MUT(AA)	0.16788	0.07443	2.256	0.024822*
18	GHR_1MUT(GG)	0.44717	0.18579	2.407	0.016703*
19	PPARGC1A_1WT(GG)*CSN3_1MUT(CC)*h(2-cevre)	0.15418	0.18579	0.954	0.341017
20	GHR_1WT(AA)*GHR_2WT(AA)	0.06524	0.09308	0.701	0.483930
21	PAEP_1wt(CC)*CSN3_1MUT(CC)*h(2-cevre)	1.91067	0.32165	5.940	8.00e-09***
22	PAEP_1wt(CC)	-0.10153	0.09559	-1.062	0.289076
23	PAEP_1Mut(TT)*ATF3_1WT(AA)*PPARGC1A_1WT(GG)*h(cevre-2)	0.37371	0.11606	3.220	0.001425**
24	PAEP_1wt(CC)*CSN3_1WT(TT)*h(2-cevre)	0.32224	0.15811	2.038	0.042437*
25	PAEP_1wt(CC)*PPARGC1A_1WT(GG)*h(cevre-2)	-0.41631	0.12267	-3.394	0.000784***
26	PAEP_2WT(GG)*PPARGC1A_2WT(GG)*h(2-cevre)	-0.85350	0.15207	-5.612	4.60e-08***
27	GHR_2WT(AA)*CSN3_1WT(TT)*h(2-cevre)	-0.44347	0.14546	-3.049	0.002506**
28	PAEP_1wt(CC)*h(2-cevre)	0.27501	0.11638	2.363	0.018773*
29	GHR_1WT(AA)*GHR_2WT(AA)*CSN3_5MUT(AA)	-0.06790	0.18545	-0.366	0.714513
30	GHR_2WT(AA)*PPARGC1A_3WT(CC)*CSN3_5MUT(AA)	-0.24463	0.11434	-2.139	0.033217*
31	GHR_2WT(AA)*ATF3_1WT(AA)*h(cevre-2)	0.21663	0.25785	0.840	0.401496
32	PAEP_1Mut(TT)*CSN3_4MUT(AA)	0.09979	0.20993	0.475	0.634879
33	PAEP_1Mut(TT)*GHR_2WT(AA)	-0.77114	0.20407	-3.779	0.000191***
34	PAEP_1wt(CC)*CSN3_4MUT(AA)	-0.08373	0.11618	-0.721	0.471683
35	PAEP_2MUT(AA)*PPARGC1A_2WT(GG)*h(2-cevre)	-0.20793	0.06938	-2.997	0.002958**
36	PAEP_1wt(CC)*GHR_2WT(AA)	-0.26178	0.08644	-3.028	0.002676**
37	GHR_1WT(AA)*GHR_2WT(AA)*CSN3_2WT(CC)	-0.30572	0.13324	-2.294	0.022467*

Önemli, *** = 0, ** = 0.001, * = 0.01, F değeri: 13.11, p – değeri: < 2.2e-16, TF : Temel Fonksiyon Sırası

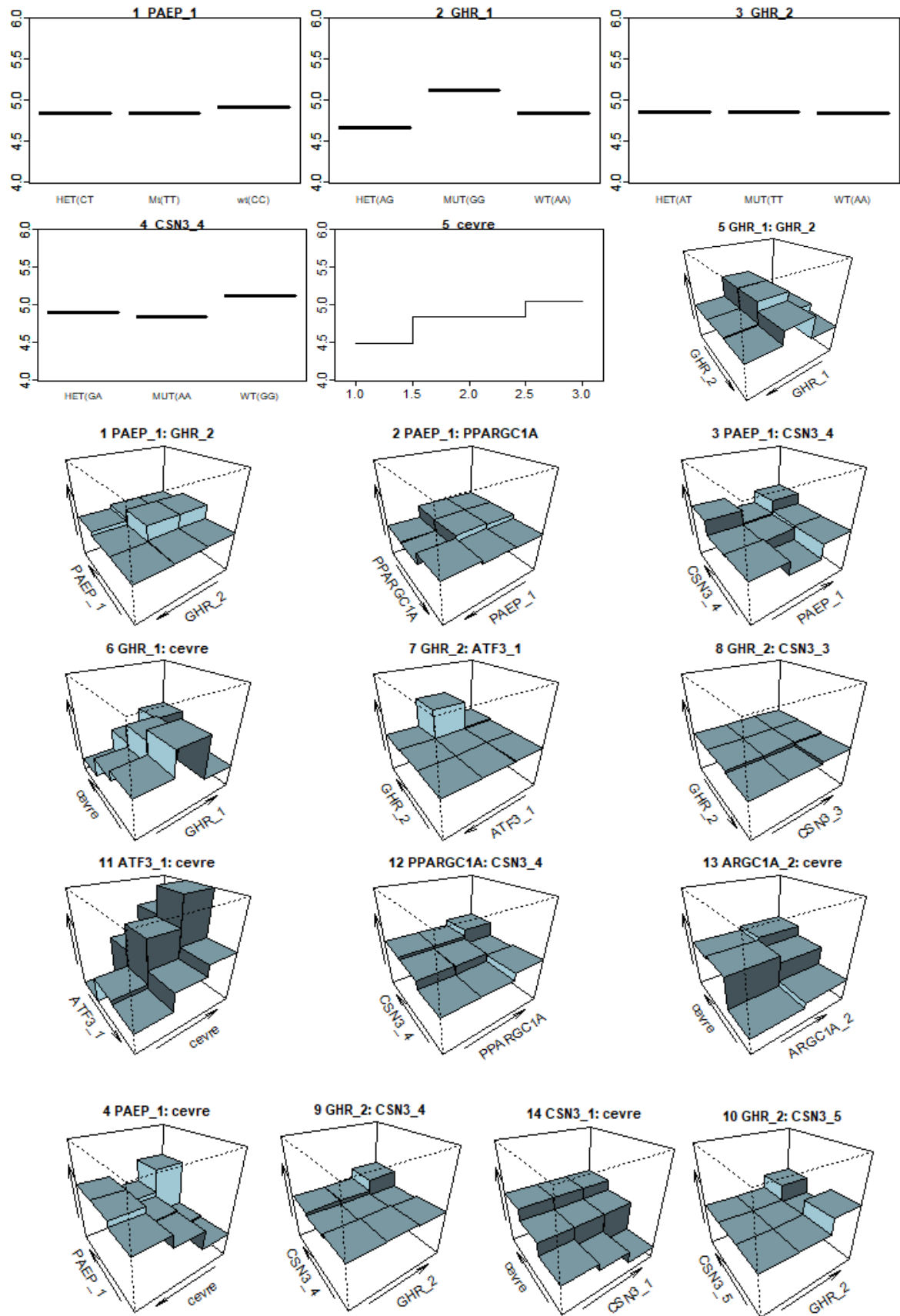
Tablo 3.13. Laktoz Oranı (%) İçin Oluşturulan MARS Modeline Ait Temel Fonksiyonlar ve Bu Fonksiyonlara Ait Katsayılar, Standart Hata, t ve p Değerleri

TF	Temel Fonksiyonlar	Katsayılar	Standart Hata	t değeri	Pr > t
38	GHR_2WT(AA)*ATF3_1WT(AA)*CSN3_5MUT(AA)	-0.21415	0.09056	-2.365	0.018687*
39	PAEP_1wt(CC)*ATF3_1WT(AA)*CSN3_1MUT(CC)*h(2-cevre)	-0.93524	0.19856	-4.710	3.82e-06***
40	ATF3_1WT(AA)*PPARGC1A_1WT(GG)*CSN3_1MUT(CC)*h(2-cevre)	0.57789	0.13410	4.309	2.23e-05***
41	GHR_2WT(AA)*ATF3_1WT(AA)	0.16220	0.06553	2.475	0.013881*
42	PPARGC1A_1WT(GG)*CSN3_1MUT(CC)*CSN3_3WT(AA)*h(2-cevre)	-0.24787	0.09362	-2.648	0.008541**
43	PAEP_1wt(CC)*PPARGC1A_1WT(GG)*CSN3_1MUT(CC)*h(2-cevre)	-0.46877	0.20670	-2.268	0.024056*
44	PAEP_2MUT(AA)*GHR_1WT(AA)*GHR_2WT(AA)	0.23927	0.07071	3.384	0.000812***
45	PAEP_1wt(CC)*PPARGC1A_1WT(GG)	0.14336	0.09057	1.583	0.114516
46	GHR_2WT(AA)*CSN3_4WT(GG)	0.22514	0.11330	1.987	0.047829*
47	PPARGC1A_1WT(GG)*CSN3_4MUT(AA)	-0.22646	0.08570	-2.643	0.008666**
48	GHR_2WT(AA)*PPARGC1A_1WT(GG)*CSN3_5MUT(AA)	0.12727	0.09459	1.346	0.179473
49	PAEP_1Mut(TT)*GHR_2WT(AA)*ATF3_1WT(AA)*h(cevre-2)	-0.27097	0.13133	-2.063	0.039962*
50	PAEP_1Mut(TT)*h(cevre-2)	-0.26279	0.14013	-1.875	0.061729
51	GHR_1WT(AA)*GHR_2WT(AA)*h(cevre-2)	0.23135	0.13288	1.741	0.082719
52	GHR_1WT(AA)*GHR_2WT(AA)*h(2-cevre)	0.01648	0.08613	0.191	0.848394
53	ATF3_1WT(AA)*CSN3_3WT(AA)*h(cevre-2)	0.02679	0.07057	0.380	0.704471
54	PAEP_1wt(CC)*GHR_2WT(AA)*CSN3_5MUT(AA)	0.22214	0.11780	1.886	0.060309
55	GHR_1WT(AA)*GHR_2WT(AA)*CSN3_2MUT(AA)	0.16759	0.10515	1.594	0.112057
56	ATF3_1WT(AA)*PPARGC1A_2WT(GG)*h(cevre-2)	0.25011	0.11008	2.272	0.023809*
57	ATF3_1WT(AA)*PPARGC1A_1WT(GG)*h(cevre-2)	-0.2077	0.07663	-2.711	0.007098**
58	GHR_2WT(AA)*PPARGC1A_3WT(CC)*CSN3_3WT(AA)*CSN3_5MUT(AA)	0.13955	0.07948	1.756	0.080179
59	GHR_2WT(AA)*ATF3_1WT(AA)*PPARGC1A_1WT(GG)*h(cevre-2)	0.31559	0.10315	3.059	0.002421**
60	GHR_2WT(AA)*CSN3_3WT(AA)	-0.1027	0.06020	-1.707	0.088877
61	PAEP_1Mut(TT)*CSN3_4MUT(AA)*Lakt	0.03389	0.17775	0.191	0.848920
62	GHR_2WT(AA)*PPARGC1A_1WT(GG)*CSN3_1MUT(CC)*h(2-cevre)	-0.1709	0.12228	-1.398	0.163225
63	PAEP_1Mut(TT)*GHR_2WT(AA)*PPARGC1A_3WT(CC)	0.32877	0.10861	3.027	0.002687**
64	GHR_2WT(AA)*ATF3_1WT(AA)*PPARGC1A_3WT(CC)*h(cevre-2)	-0.3784	0.19473	-1.943	0.052907
65	PAEP_1Mut(TT)*GHR_2WT(AA)*Lakt	0.17905	0.11592	1.545	0.123507
66	GHR_1WT(AA)*ATF3_1WT(AA)*h(2-cevre)	-0.0993	0.07626	-1.303	0.193511
67	GHR_2WT(AA)*PPARGC1A_2WT(GG)*CSN3_5MUT(AA)	-0.1619	0.09474	-1.709	0.088495
68	PAEP_1Mut(TT)*CSN3_3WT(AA)*CSN3_4MUT(AA)	0.14052	0.09630	1.459	0.145562
69	PAEP_1wt(CC)*PPARGC1A_1WT(GG)*CSN3_4MUT(AA)	0.15359	0.12432	1.235	0.217668

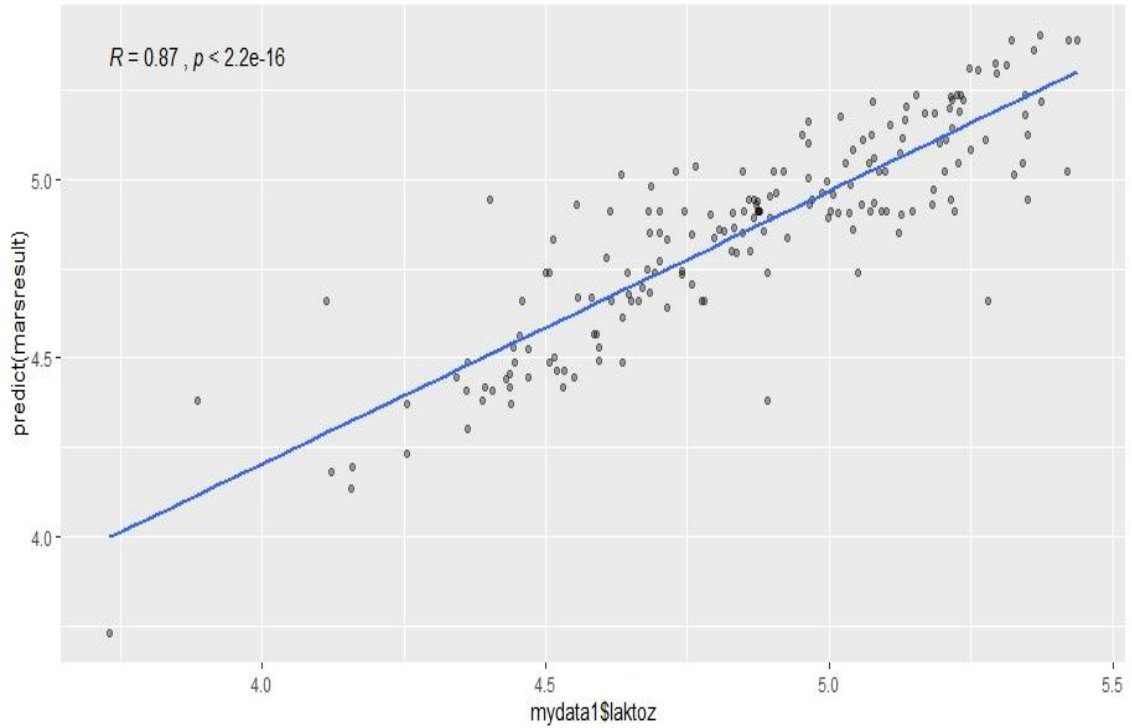
Önemli, *** = 0, ** = 0.001, * = 0.01, F değeri: 13.11, p – değeri: < 2.2e-16, TF : Temel Fonksiyon Sırası

Tablo 3.14. Laktoz Oranına (%) Etki Eden Etkili Kestiricilerin (Predictor) Önem Sırasının Değerlendirilmesi

Kestirici (Faktör)	Altküme Sayısı	Bağıl Önemlilik (%)
GHR_1WT(AA): rs382888926 kodlu SNP'nin AA genotipi	68	100
Çevre (faklı çiftlikler)	68	100
PPARGC1A_1MUT(AA): g.44875251. bazdaki SNP'nin AA genotipi	66	61.0
PAEP_1wt(CC): rs110180463 kodlu SNP'nin CC genotipi	65	59.2
ATF3_1WT(AA): rs210174407 kodlu SNP'nin AA genotipi	64	57.3
GHR_2WT(AA): rs385640152 kodlu SNP'nin AA genotipi	62	55.2
PPARGC1A_1WT(GG): g.44875251. bazdaki SNP'nin GG genotipi	62	55.2
CSN3_1MUT(CC): rs43703015 kodlu SNP'nin CC genotipi	62	55.2
PAEP_1Mut(TT): rs110180463 kodlu SNP'nin TT genotipi	61	53.5
PAEP_2WT(GG): rs110066229 kodlu SNP'nin GG genotipi	58	49.2
PPARGC1A_2WT(GG): rs133669403 kodlu SNP'nin GG genotipi	58	49.2
CSN3_1WT(TT): rs43703015 kodlu SNP'nin TT genotipi	58	48.8
PPARGC1A_3WT(CC): rs17870811 kodlu SNP'nin CC genotipi	55	45.6
CSN3_5MUT(AA): rs109787476 kodlu SNP'nin AA genotipi	55	45.6
CSN3_2MUT(AA): rs43703016 kodlu SNP'nin AA genotipi	54	44.8
GHR_1MUT(GG): rs382888926 kodlu SNP'nin GG genotipi	53	43.7
CSN3_4MUT(AA): rs110015544 kodlu SNP'nin AA genotipi	50	39.5
ATF3_1MUT(GG): rs210174407 kodlu SNP'nin GG genotipi	49	38.4
PAEP_2MUT(AA): rs110066229 kodlu SNP'nin AA genotipi	38	26.9
CSN3_3WT(AA): rs43703017 kodlu SNP'nin AA genotipi	37	25.8
Laktasyon(Lakt)	23	15.9
CSN3_2WT(CC): rs43703016 kodlu SNP'nin CC genotipi	20	12.8
CSN3_4WT(GG): rs110014544 kodlu SNP'nin GG genotipi	19	12.4



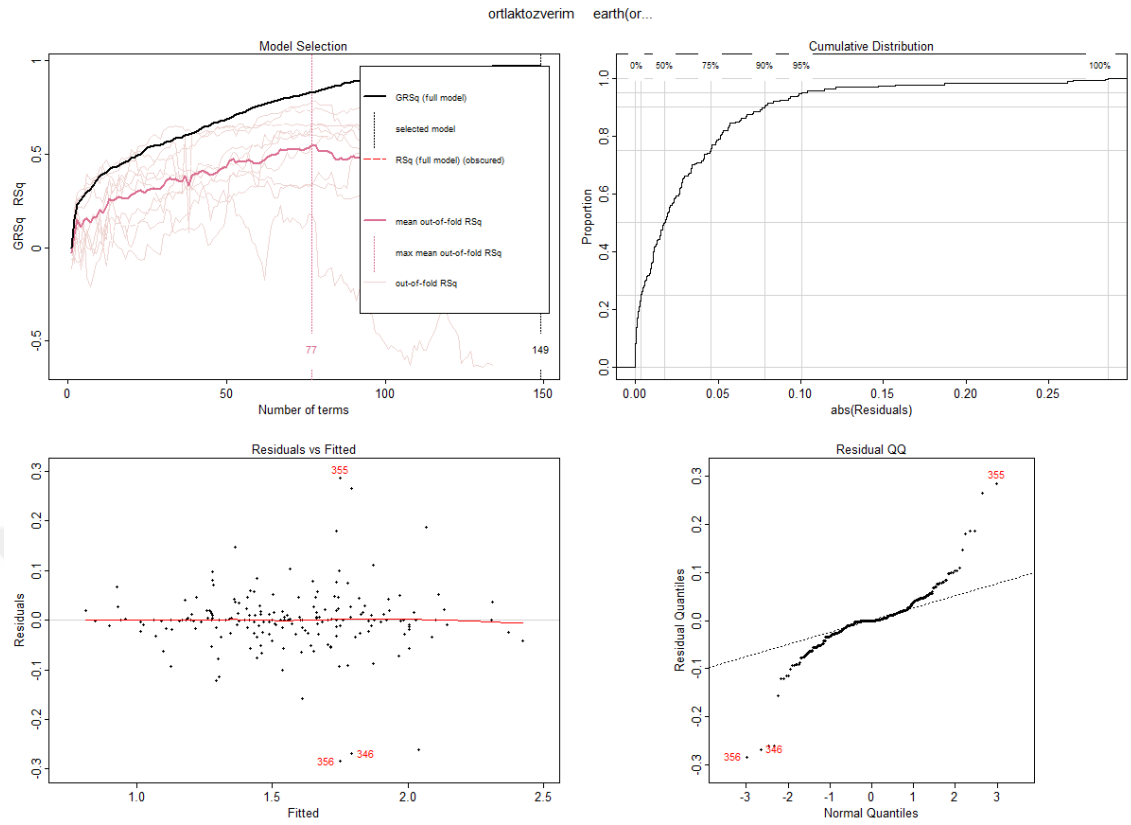
Şekil 3.26. Laktoz Oranı ile Diğer Bağımsız Değişkenler Arasındaki Etkileşimi Gösteren Grafikler



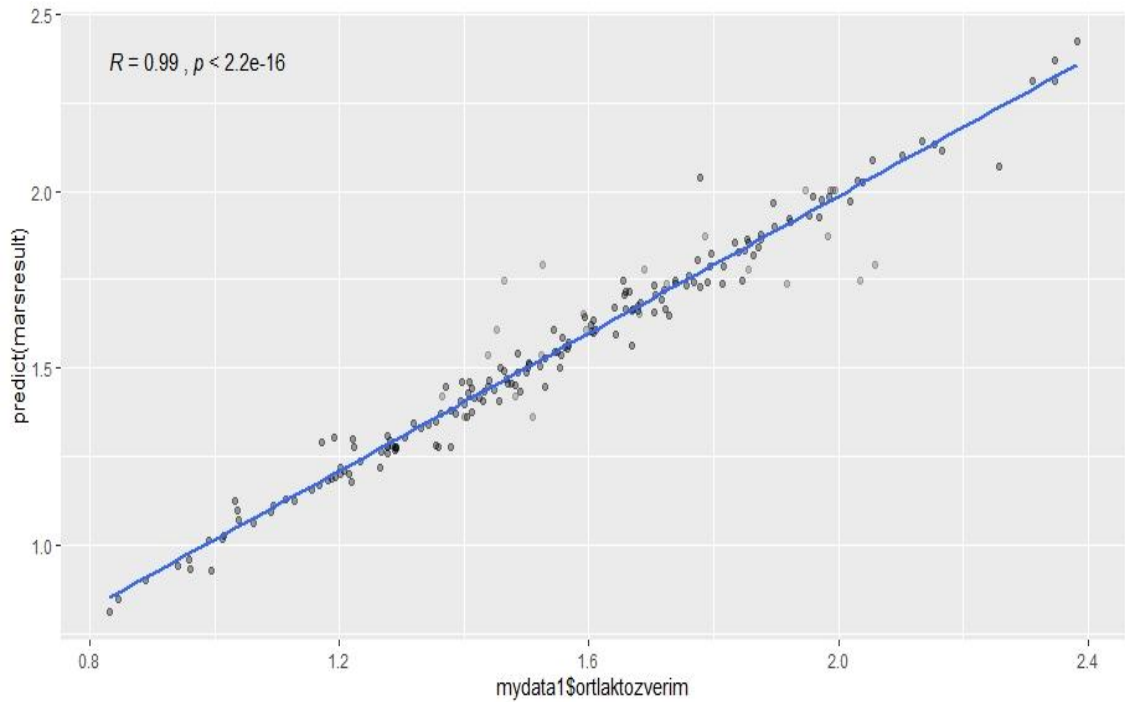
Şekil 3.27. Laktoz Oranı (%) ve Oluşturulan MARS Modelinin Temel Fonksiyonları Arasındaki Korelasyon

3.4.7. Laktoz Verimi (kg) İçin Kullanılan MARS Modeli

Laktoz verimi (kg) parametresinin bağımlı değişken olarak bulunduğu MARS modelinde, bu parametre ile çalışılan SNP'ler arasındaki ilişkinin tespit edilmesi ve parametre üzerinde en etkili polimorfizmin belirlenmesi amaçlanmıştır. Yapılan ön denemeler neticesinde, en düşük GCV, en yüksek R^2 ve korelasyona sahip bir MARS modeli elde etmek için, laktasyon, çevresel faktörler (farklı çiftlikler) ve yoğunluk parametrelerinin de bağımsız değişken olarak modele dahil edilmesinin gerektiği anlaşılmıştır. Laktoz verimi için kullanılan MARS modelinin denklemi EK 11.'de sunulmuştur. Laktoz verimi için oluşturulan modele ait hata terimleri ve belirlenme katsayılarına ait grafikler ise, Şekil 3.28.'de gösterilmiştir. Oluşturulan MARS modelinin temel fonksiyonları ile laktoz verimi arasındaki korelasyonu gösteren grafik Şekil 3.29.'da verilmiştir. Laktoz verimi için oluşturulan MARS modelinin, terimlerine ait katsayılar, standart hata, t ve p değerleri Tablo 3.15.'de gösterilirken, laktoz verimine etki eden kestiriciler (predictor) önem sırasına göre Tablo 3.16'da sunulmuştur. Laktoz verimi ile oluşturulan modelde kullanılan bağımsız değişkenler arasındaki etkileşimleri anlatan grafikler ise Şekil 3.30. ve 3.31.'de gösterilmiştir.



Şekil 3.28. Laktoz Verimi (kg) İçin Seçilen MARS Modeline Ait Hata Terimleri ve Belirlenme Katsayılarına Ait Grafikler



Şekil 3.29. Laktoz Verimi (kg) ve Oluşturulan MARS Modelinin Temel Fonksiyonları Arasındaki Korelasyon

Tablo 3.15. Laktoz Verimi (kg) İçin Oluşturulan MARS Modeline Ait Temel Fonksiyonlar ve Bu Fonksiyonlara Ait Katsayılar, Standart Hata, t ve p Değerleri

TF	Temel Fonksiyonlar	Katsayılar	Standart Hata	t değeri	Pr > t
1	Sabit terim (intercept)	5.73964	0.43775	13.112	< 2e-16 ***
2	h(cevre-2)	3.94051	0.78556	-5.016	1.10e-06 ***
3	h(2-cevre)	-0.56315	0.10621	-5.302	2.83e-07 ***
4	h(SNF-9.1675)	-19.44068	8.96977	-2.167	0.031306 *
5	h(9.1675-SNF)	-3.12207	0.59602	-5.238	3.86e-07 ***
6	GHR_2MUT(TT)*h(cevre-2)	0.99252	0.10562	9.397	< 2e-16 ***
7	h(cevre-2)*h(9.1675-SNF)	31.35080	4.34436	7.216	9.04e-12 ***
8	h(2-cevre)*h(9.1675-SNF)	0.30185	0.13789	2.189	0.029670 *
9	h(SNF-9.31625)	-108.64112	14.09053	-7.710	4.60e-13 ***
10	PPARGC1A_2WT(GG)*h(cevre-2)	-0.38810	0.20325	-1.909	0.057532
11	h(SNF-8.99875)	-28.57727	5.22769	-5.467	1.27e-07 ***
12	Lakt*h(SNF-9.1675)	26.76362	2.27613	11.758	< 2e-16 ***
13	h(cevre-2)*h(SNF-9.22125)	6.71008	3.47882	1.929	0.055068
14	h(cevre-2)*h(9.22125-SNF)	-27.35826	4.41997	-6.190	3.01e-09 ***
15	PPARGC1A_1WT(GG)	-0.76709	0.23307	-3.291	0.001166 **
16	PPARGC1A_3WT(CC)*h(9.1675-SNF)	-0.15854	0.07596	-2.087	0.038046 *
17	CSN3_2WT(CC)*h(9.1675-SNF)	-46.34257	3.86588	-11.988	< 2e-16 ***
18	CSN3_4MUT(AA)*h(2-cevre)	-0.23705	0.06808	-3.482	0.000603 ***
19	CSN3_3WT(AA)*h(cevre-2)	0.88366	0.06031	14.652	< 2e-16 ***
20	CSN3_3WT(AA)*h(SNF-8.99875)	118.05832	11.36462	10.388	< 2e-16 ***
21	PPARGC1A_1WT(GG)*h(cevre-2)	0.02636	0.05312	0.496	0.620219
22	PPARGC1A_1WT(GG)*h(2-cevre)	0.11829	0.05143	2.300	0.022411 *
23	GHR_2WT(AA)*h(cevre-2)	1.47329	0.10874	13.549	< 2e-16 ***
24	h(cevre-2)*h(SNF-8.99875)	-18.03061	2.36627	-7.620	8.00e-13 ***
25	h(2-cevre)*h(SNF-8.99875)	-1.62554	0.28751	-5.654	4.96e-08 ***
26	GHR_1WT(AA)*h(SNF-9.1675)	-47.69648	3.99622	-11.935	< 2e-16 ***
27	GHR_1WT(AA)*PPARGC1A_1WT(GG)	-0.44068	0.16964	-2.598	0.010033 *
28	GHR_2WT(AA)*h(SNF-9.31625)	29.71295	9.45768	3.142	0.001916 **
29	CSN3_1MUT(CC)*h(cevre-2)	-0.59141	0.08710	-6.790	1.08e-10 ***
30	h(cevre-2)*h(SNF-9.3625)	-24.05419	3.70557	-6.491	5.79e-10 ***
31	h(cevre-2)*h(SNF-8.84625)	7.75069	1.55404	4.987	1.26e-06 ***
32	h(cevre-2)*h(SNF-8.66375)	-4.33412	0.79777	-5.433	1.50e-07 ***
33	PPARGC1A_3WT(CC)*h(SNF-9.31625)	13.87808	2.33086	5.954	1.05e-08 ***
34	PPARGC1A_1WT(GG)*h(SNF-8.21625)	0.49165	0.12407	3.963	0.000101 ***
35	PPARGC1A_1WT(GG)*h(8.21625-SNF)	0.11480	0.11669	0.984	0.326304
36	GHR_1WT(AA)*h(9.1675-SNF)	-0.51221	0.29435	-1.740	0.083261
37	GHR_2MUT(TT)*h(SNF-8.99875)	-4.82240	3.69684	-1.304	0.193470
38	h(cevre-2)*h(SNF-8.18875)	5.72067	0.69238	8.262	1.46e-14 ***
39	h(SNF-9.225)	90.48064	18.91110	4.785	3.18e-06 ***
40	ATF3_1MUT(GG)	65.00257	4.75560	13.669	< 2e-16 ***
41	h(SNF-9.25875)	-25.42716	7.50808	-3.387	0.000841 ***
42	h(SNF-9.28375)	68.49329	10.56010	6.486	5.96e-10 ***
43	PPARGC1A_1WT(GG)*CSN3_1WT(TT)	-0.08359	0.07224	-1.157	0.248519
44	PPARGC1A_1WT(GG)*CSN3_5MUT(AA)	0.08850	0.04048	2.186	0.029888 *
45	CSN3_2MUT(AA)	-0.38916	0.21911	-1.776	0.077139
46	PPARGC1A_1WT(GG)*PPARGC1A_2WT(GG)	1.00930	0.12596	8.013	7.06e-14 ***
47	PPARGC1A_2WT(GG)*h(9.1675-SNF)	1.51516	0.19542	7.753	3.53e-13 ***
48	h(cevre-2)*h(SNF-9.31625)	21.78533	6.09520	3.574	0.000434***
49	GHR_2WT(AA)*PPARGC1A_1WT(GG)	-0.11075	0.03450	-3.210	0.001531 **
50	CSN3_4WT(GG)*h(9.1675-SNF)	46.03097	3.87442	11.881	< 2e-16 ***
51	GHR_2MUT(TT)*PPARGC1A_1WT(GG)	-0.68297	0.07891	-8.655	1.17e-15***
52	PPARGC1A_1WT(GG)*Lakt	-0.02645	0.05012	-0.528	0.598322
53	GHR_2WT(AA)*h(SNF-9.1675)	36.36719	5.45935	6.661	2.23e-10***
54	GHR_2WT(AA)*h(9.1675-SNF)	0.37445	0.09681	3.868	0.000145***

Önemli, *** = 0, ** = 0.001, * = 0.01 , TF :Temel Fonksiyon Sırası

Tablo 3.15. Laktoz Verimi (kg) İçin Oluşturulan MARS Modeline Ait Temel Fonksiyonlar ve Bu Fonksiyonlara Ait Katsayılar, Standart Hata, t ve p Değerleri (devamı)

TF	Temel Fonksiyonlar	Katsayılar	Standart Hata	t değeri	Pr > t
55	h(Lakt-1)*h(SNF-9.31625)	-37.80372	3.38640	-11.163	< 2e-16 ***
56	GHR_1WT(AA)*h(SNF-8.99875)	27.69143	2.65642	10.424	< 2e-16 ***
57	CSN3_4WT(GG)	-1.27394	0.11877	-10.726	< 2e-16 ***
58	CSN3_2WT(CC)	0.74828	0.15272	4.900	1.89e-06 ***
59	PPARGC1A_1MUT(AA)	-0.57796	0.09441	-6.122	4.34e-09 ***
60	ATF3_1WT(AA)*h(SNF-9.31625)	-11.59399	1.58748	-7.303	5.39e-12 ***
61	GHR_2WT(AA)	1.25466	0.23100	5.431	1.51e-07 ***
62	CSN3_3MUT(GG)*h(SNF-8.99875)	-8.26045	4.97095	-1.662	0.098021
63	h(SNF-9.0275)	-19.62796	4.73813	-4.143	4.94e-05 ***
64	PPARGC1A_1WT(GG)*CSN3_3WT(AA)	0.02362	0.05701	0.414	0.679071
65	CSN3_3WT(AA)	-1.10038	0.24842	-4.429	1.50e-05 ***
66	GHR_2WT(AA)*h(SNF-8.99875)	-28.78206	4.99246	-5.765	2.81e-08 ***
67	h(SNF-8.9175)	91.50942	16.12014	5.677	4.41e-08 ***
68	GHR_1WT(AA)*h(cevre-2)	0.51851	0.12668	4.093	6.02e-05 ***
69	h(SNF-9.6825)	11.94479	5.36781	2.225	0.027102 *
70	GHR_2MUT(TT)*h(SNF-9.31625)	4.02408	6.80083	0.592	0.554670
71	h(SNF-9.51375)	8.23922	4.10185	2.009	0.045824 *
72	h(SNF-9.71875)	-8.58105	4.93508	-1.739	0.083504
73	ATF3_1MUT(GG)*SNF	-7.42131	0.53411	-13.895	< 2e-16 ***
74	h(SNF-9.63125)	-14.06129	2.83503	-4.960	1.43e-06 ***
75	PPARGC1A_2WT(GG)*CSN3_2MUT(AA)	-0.25464	0.07410	-3.437	0.000707 ***
76	GHR_1WT(AA)*CSN3_2MUT(AA)	0.73953	0.08995	8.222	1.89e-14 ***
77	CSN3_2MUT(AA)*h(SNF-8.6325)	-23.34170	3.00079	-7.779	3.02e-13 ***
78	CSN3_2MUT(AA)*h(8.6325-SNF)	0.47747	0.20973	2.277	0.023797 *
79	h(SNF-8.74)	21.26062	3.32985	6.385	1.04e-09 ***
80	h(SNF-8.6475)	37.79862	6.69142	5.649	5.09e-08 ***
81	h(SNF-8.78375)	-11.53780	3.69405	-3.123	0.002034 **
82	h(SNF-8.62125)	-27.50949	3.95580	-6.954	4.19e-11 ***
83	CSN3_5MUT(AA)*h(SNF-8.99875)	1.66221	0.41988	3.959	0.000102 ***
84	h(SNF-9.21375)	-77.44933	20.08543	-3.856	0.000152 ***
85	CSN3_5MUT(AA)*h(9.1675-SNF)	-0.61627	0.19002	-3.243	0.001370 **
86	PPARGC1A_2WT(GG)*h(SNF-9.225)	22.62399	2.03763	11.103	< 2e-16 ***
87	CSN3_1WT(TT)*h(9.1675-SNF)	0.13196	0.08194	1.610	0.108763
88	CSN3_1WT(TT)*h(SNF-9.1675)	-4.77757	1.27861	-3.737	0.000239 ***
89	PPARGC1A_1MUT(AA)*CSN3_2MUT(AA)	0.40957	0.11546	3.547	0.000478 ***
90	CSN3_2MUT(AA)*h(SNF-8.71375)	18.42841	3.40115	5.418	1.61e-07 ***
91	CSN3_2MUT(AA)*CSN3_4MUT(AA)	-0.53785	0.20163	-2.667	0.008224 **
92	CSN3_1MUT(CC)	0.24473	0.08051	3.040	0.002662 **
93	h(SNF-8.3725)	-2.39768	0.70637	-3.394	0.000819 ***
94	ATF3_1WT(AA)*h(9.1675-SNF)	-0.35157	0.07814	-4.499	1.12e-05 ***
95	h(SNF-8.89875)	-47.42767	14.74691	-3.216	0.001500 **
96	h(SNF-8.85625)	-35.50876	8.03096	-4.421	1.56e-05 ***
97	h(SNF-8.8355)	15.26520	6.67764	2.286	0.023228 *
98	h(SNF-8.685)	-23.71261	6.18892	-3.831	0.000167 ***
99	ATF3_1WT(AA)*CSN3_4WT(GG)	0.79972	0.08140	9.824	< 2e-16 ***
100	CSN3_2MUT(AA)*Lakt	0.32386	0.05313	6.095	5.00e-09 ***
101	PPARGC1A_3WT(CC)*CSN3_2MUT(AA)	-0.23831	0.09922	-2.402	0.017163 *
102	h(SNF-9.08375)	66.43296	10.84246	6.127	4.21e-09***
103	h(SNF-9.1025)	-45.04248	10.50886	-4.286	2.74e-05***
104	ATF3_1WT(AA)	-0.61059	0.07508	-8.133	3.32e-14***
105	ATF3_1WT(AA)*h(SNF-9.1675)	6.08851	0.87730	6.940	4.55e-11***
106	CSN3_3WT(AA)*h(SNF-9.1675)	84.94600	16.45149	5.163	5.51e-07***
107	GHR_2WT(AA)*CSN3_3WT(AA)	0.78503	0.09806	8.005	7.38e-14***
108	GHR_2WT(AA)*ATF3_1WT(AA)	-0.19162	0.04877	-3.929	0.000115***

Önemli, *** = 0, ** = 0.001, * = 0.01 , TF :Temel Fonksiyon Sırası

Tablo 3.15. Laktoz Verimi (kg) İçin Oluşturulan MARS Modeline Ait Temel Fonksiyonlar ve Bu Fonksiyonlara Ait Katsayılar, Standart Hata, t ve p Değerleri (devamı)

TF	Temel Fonksiyonlar	Katsayılar	Standart Hata	t değeri	Pr > t
109	GHR_2WT(AA)*PPARGC1A_2WT(GG)	-1.46030	0.13678	-10.676	< 2e-16 ***
110	PPARGC1A_2WT(GG)	-0.53031	0.16293	-3.255	0.001317 **
111	CSN3_2MUT(AA)*h(SNF-8.8625)	30.80469	3.17884	9.691	< 2e-16 ***
112	CSN3_2MUT(AA)*h(SNF-8.78375)	-17.17918	3.81677	-4.501	1.11e-05 ***
113	GHR_2WT(AA)*h(SNF-8.9125)	13.05777	3.06041	4.267	2.97e-05 ***
114	GHR_2WT(AA)*CSN3_4MUT(AA)	0.02908	0.04494	0.647	0.518274
115	PPARGC1A_2WT(GG)*CSN3_3WT(AA)	-0.61574	0.16312	-3.775	0.000207 ***
116	CSN3_3WT(AA)*h(SNF-8.62125)	11.91401	1.81631	6.559	3.96e-10 ***
117	CSN3_3WT(AA)*h(8.62125-SNF)	2.07588	0.29970	6.927	4.92e-11 ***
118	CSN3_3WT(AA)*h(SNF-8.94875)	-96.70560	9.69797	-9.972	< 2e-16 ***
119	CSN3_3WT(AA)*h(SNF-9.09125)	-64.96596	8.85029	-7.341	4.32e-12 ***
120	ATF3_1WT(AA)*CSN3_3WT(AA)	0.54945	0.06438	8.535	2.55e-15 ***
121	GHR_2WT(AA)*h(SNF-9.4175)	-14.01736	3.24382	-4.321	2.37e-05 ***
122	h(SNF-9.3515)	57.28681	7.39241	7.749	3.62e-13 ***
123	PPARGC1A_1WT(GG)*h(SNF-9.31625)	0.79676	0.63045	1.264	0.207668
124	CSN3_3WT(AA)*h(SNF-9.1425)	-44.25512	17.85185	-2.479	0.013943 *
125	CSN3_3WT(AA)*h(SNF-8.822)	-13.87798	3.57749	-3.879	0.000139 ***
126	h(SNF-9.49625)	0.97653	3.52120	0.277	0.781793
127	GHR_2WT(AA)*h(SNF-9.255)	-33.86344	5.93655	-5.704	3.84e-08 ***
128	CSN3_1MUT(CC)*h(SNF-9.51375)	-2.10163	0.96631	-2.175	0.030728 *
129	CSN3_3WT(AA)*Lakt	-0.10004	0.04926	-2.031	0.043496 *
130	PPARGC1A_1WT(GG)*h(SNF-8.9175)	-1.26785	0.39530	-3.207	0.001544 **
131	GHR_2WT(AA)*h(SNF-8.45625)	-0.03704	0.20448	-0.181	0.856442
132	GHR_2WT(AA)*cevre	-0.29956	0.05877	-5.097	7.56e-07 ***
133	GHR_2WT(AA)*h(SNF-9.33125)	-7.62996	8.97203	-0.850	0.396039
134	PPARGC1A_3WT(CC)*h(SNF-9.1675)	-16.15473	2.52652	-6.394	9.91e-10 ***
135	PPARGC1A_3WT(CC)*h(SNF-8.9175)	4.44198	0.69784	6.365	1.16e-09 ***
136	GHR_2WT(AA)*PPARGC1A_3WT(CC)	-0.06118	0.06027	-1.015	0.311183
137	ATF3_1WT(AA)*CSN3_2MUT(AA)	0.45971	0.06353	7.236	8.03e-12 ***
138	CSN3_2MUT(AA)*h(SNF-8.48875)	-4.22612	1.54559	-2.734	0.006773 **
139	CSN3_1MUT(CC)*h(SNF-8.9175)	-31.73398	3.56312	-8.906	2.26e-16 ***
140	CSN3_2MUT(AA)*h(SNF-9.1675)	44.07331	5.88502	7.489	1.77e-12 ***
141	CSN3_3WT(AA)*h(SNF-8.86375)	23.36167	4.52117	5.167	5.42e-07 ***
142	CSN3_2MUT(AA)*h(SNF-8.55)	16.99832	3.00501	5.657	4.89e-08 ***
143	CSN3_2MUT(AA)*h(SNF-9.21375)	-45.99103	6.79678	-6.767	1.23e-10 ***
144	CSN3_3WT(AA)*h(SNF-9.25375)	-11.80575	2.83500	-4.164	4.52e-05 ***
145	CSN3_2MUT(AA)*h(SNF-9.30875)	13.07305	3.03551	4.307	2.52e-05 ***
146	CSN3_1WT(TT)*h(SNF-8.74)	1.54575	0.63129	2.449	0.015144 *
147	GHR_2WT(AA)*Lakt	-0.15891	0.05678	-2.799	0.005598 **
148	CSN3_3WT(AA)*h(SNF-8.58125)	-8.61838	2.14465	-4.019	8.10e-05 ***
149	CSN3_3WT(AA)*h(SNF-8.45625)	3.27745	1.15345	2.841	0.004923 **

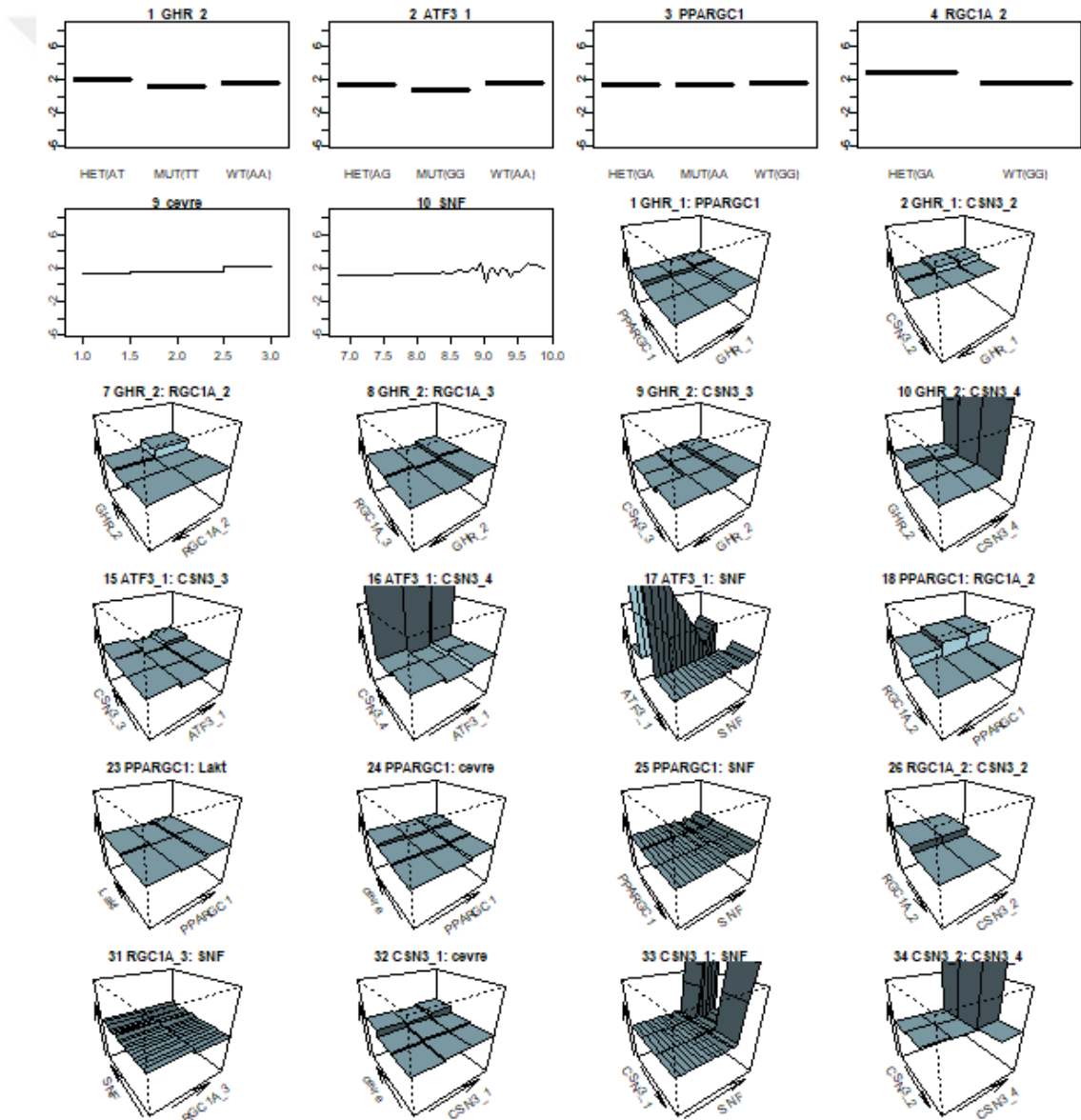
Önemli, *** = 0, ** = 0.001, * = 0.01, F-değeri: 47.8, P-değeri: <2.2e-16, TF : Temel Fonksiyon Sırası

Tablo 3.16. Laktoz Verimi (kg) Etki Eden Etkili Kestiricilerin (Predictor) Önem Sırasının Değerlendirilmesi

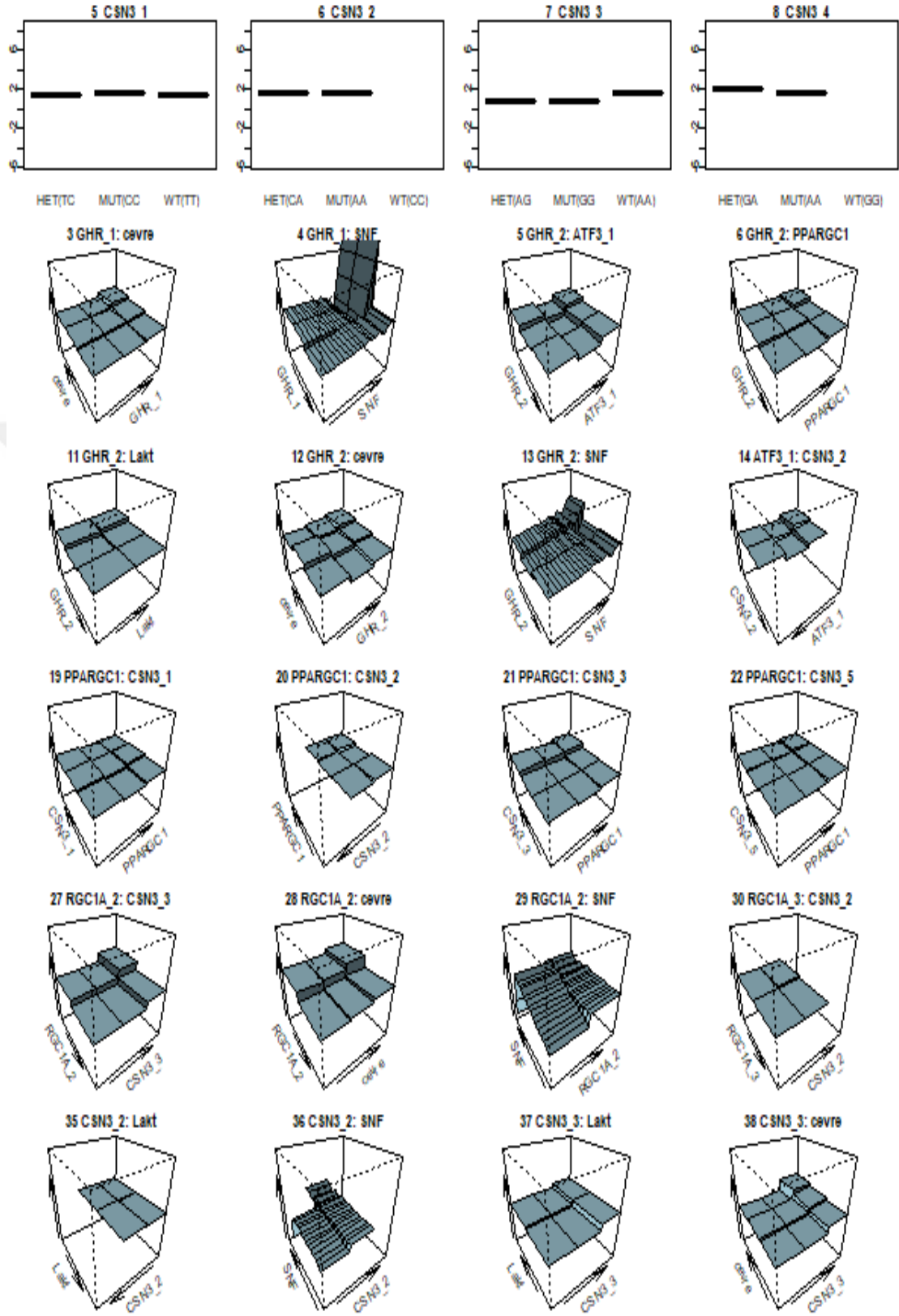
Kestirici (Faktör)	Altküme Sayısı	Bağlı Önemlilik (%)
Çevre (farklı çiftlikler)	148	100.0
Laktasyon	147	91.8
Yağsız Kuru Madde (SNF) miktarı	147	91.8
CSN3_3WT(AA): rs43703017 kodlu SNP'nin AA genotipi	146	87.3
GHR_2WT(AA): rs385640152 kodlu SNP'nin AA genotipi	141	81.5
GHR_2MUT(TT): rs385640152 kodlu SNP'nin AA genotipi	140	79.4
PPARGC1A_2WT(GG): rs133669403 kodlu SNP'nin GG genotipi	137	76.5

Tablo 3.16. Laktoz Verimi (kg) Etki Eden Etkili Kestiricilerin (Predictor) Önem Sırasının Değerlendirilmesi (devamı)

Kestirici (Faktör)	Altküme Sayısı	Bağıl Önemlilik (%)
CSN3_2MUT(AA): rs43703016 kodlu SNP'nin AA genotipi	134	73.9
GHR_1WT(AA): rs382888926 kodlu SNP'nin AA genotipi	136	75.7
PPARGC1A_1WT(GG): kr6:g.44875251. bazdaki SNP GG genotipi	126	69.0
CSN3_4WT(GG): rs110014544 kodlu SNP'nin GG genotipi	123	66.4
ATF3_1MUT(GG): rs210174407 kodlu SNP'nin GG genotipi	122	66.2
CSN3_2WT(CC): rs43703016 kodlu SNP'nin CC genotipi	119	65.7
CSN3_1MUT(CC): rs43703015 kodlu SNP'nin CC genotipi	98	53.4
CSN3_5MUT(AA): rs109787476 kodlu SNP'nin AA genotipi	92	49.0
CSN3_4MUT(AA): rs110014544 kodlu SNP'nin AA genotipi	87	46.5



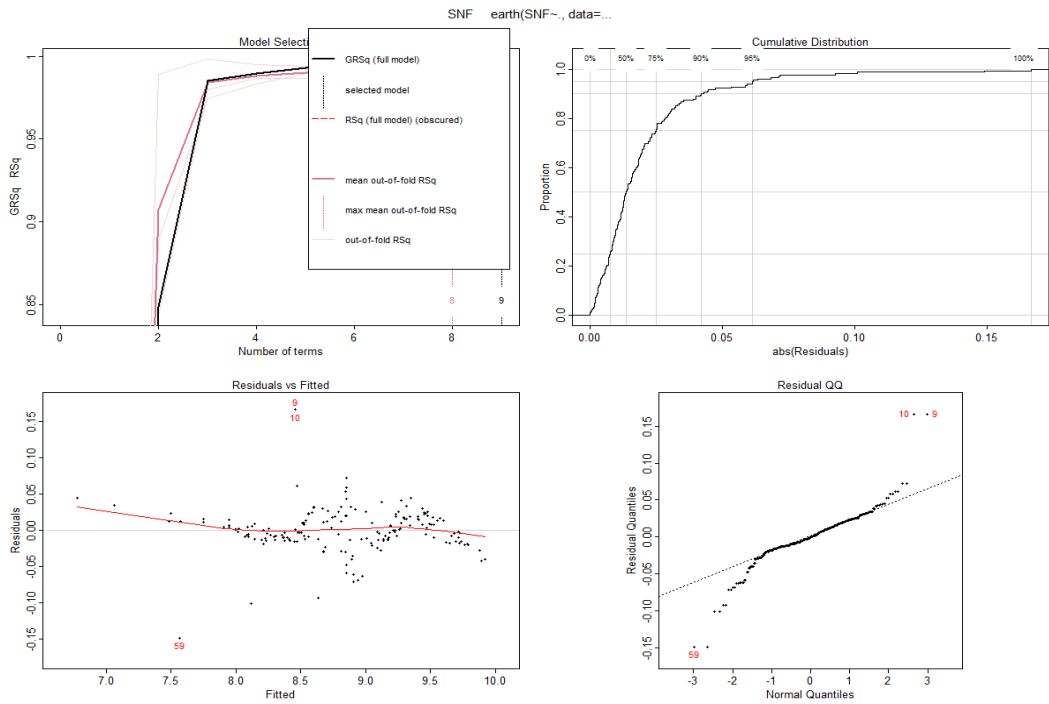
Şekil 3.30. Laktoz Verimi (kg) ile Diğer Bağımsız Değişkenler Arasındaki Etkileşimi Gösteren Grafikler-1



Şekil 3.31. Laktoz Verimi (kg) ile Diğer Bağımsız Değişkenler Arasındaki Etkileşimi Gösteren grafikler-2

3.4.8. Yağsız Kuru Madde (SNF) Oranı İçin Oluşturulan MARS Modeli

Yağsız Kuru Madde oranı (%) için kullanılan MARS modelinde, bu parametre ile çalışılan SNP'ler arasındaki ilişkiyi belirlemek ve SNF üzerine en etkili polimorfizmi saptamak amaçlanmıştır. En düşük GCV, en yüksek R^2 ve korelasyona sahip yüksek doğrulukta bir model elde etmek için, ön denemeler yapılmıştır. Gerçekleştirilen bu ön denemeler sonucunda, laktasyon, çevresel faktörler (farklı çiftlikler), laktoz oranı, yağ oranı ve yoğunluk parametrelerinin de modele bağımsız değişken olarak dahil edilmesine karar verilmiştir. Yağsız kuru madde oranı için oluşturulan MARS modelinin denklemini EK 12.'de gösterilirken, oluşturulan MARS modelinin temel fonksiyonları ile SNF arasındaki korelasyonu gösteren grafik Şekil 3.34.'de sunulmuştur. Yağsız kuru madde oranı için oluşturulan modele ait hata terimleri ve belirlenme katsayılarına ait grafikler Şekil 3.32.'de verilmiştir. SNF oranı için oluşturulan MARS modelinin, terimlerine ait katsayılar, standart hata, t ve p değerleri Tablo 3.17.'de gösterilirken, SNF oranına etki eden kestiriciler (predictor) önem sırasına göre Tablo 3.18'de verilmiştir. SNF oranı ile oluşturulan modelde kullanılan bağımsız değişkenler arasındaki etkileşimleri anlatan grafikler ise Şekil 3.33'de gösterilmiştir.



Şekil 3.32. Yağsız Kuru Madde (SNF) Oranı İçin Seçilen MARS Modeline Ait Hata Terimleri ve Belirlenme Katsayılarına Ait Grafikler

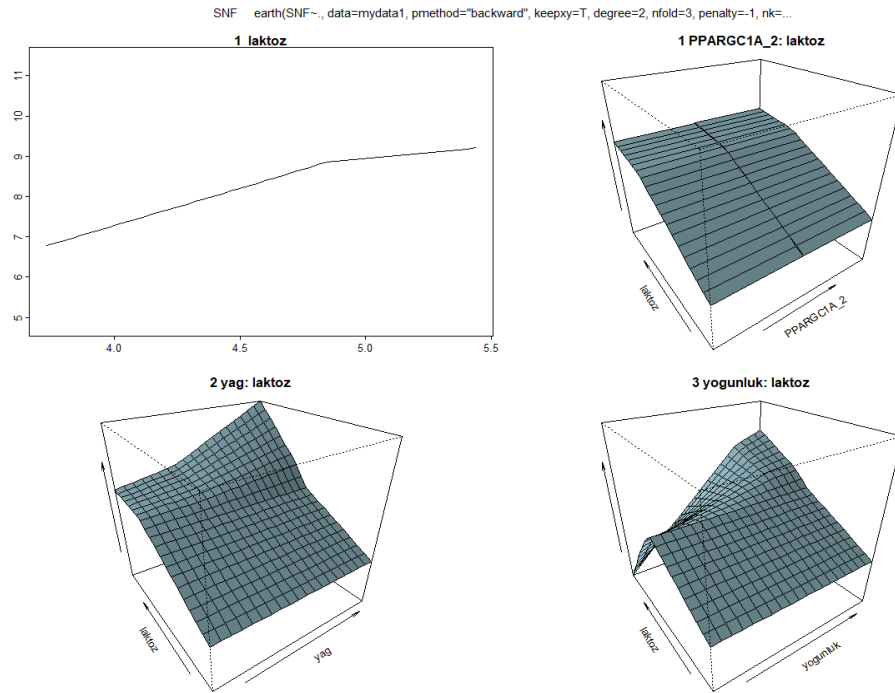
Tablo 3.17. Yağsız Kuru Madde (SNF) Oranı İçin Oluşturulan MARS Modeline Ait Temel Fonksiyonlar ve Bu Fonksiyonlara Ait Katsayılar, Standart Hata, t ve p Değerleri

TF	Temel Fonksiyonlar	Katsayılar	Standart Hata	t değeri	Pr > t
1	Sabit terim (intercept)	8.470857	0.003799	2229.675	< 2e-16***
2	h(laktoz-4.645)	2.654535	0.064872	40.920	< 2e-16***
3	h(4.645-laktoz)	-1.855270	0.014910	-124.429	< 2e-16***
4	PPARGC1A_2WT(GG)*h(laktoz-4.645)	0.055637	0.029014	1.918	0.056
5	h(yogunluk-32.7425)*h(laktoz-4.645)	0.152111	0.009093	16.728	< 2e-16***
6	h(32.7425-yogunluk)*h(laktoz-4.645)	-0.390067	0.012857	-30.340	< 2e-16***
7	h(yag-4.0425)*h(laktoz-4.645)	0.407600	0.018445	22.098	< 2e-16***
8	h(4.0425-yag)*h(laktoz-4.645)	-0.152332	0.010144	-15.017	< 2e-16***
9	h(laktoz-4.84875)	-1.326301	0.064925	-20.428	< 2e-16***

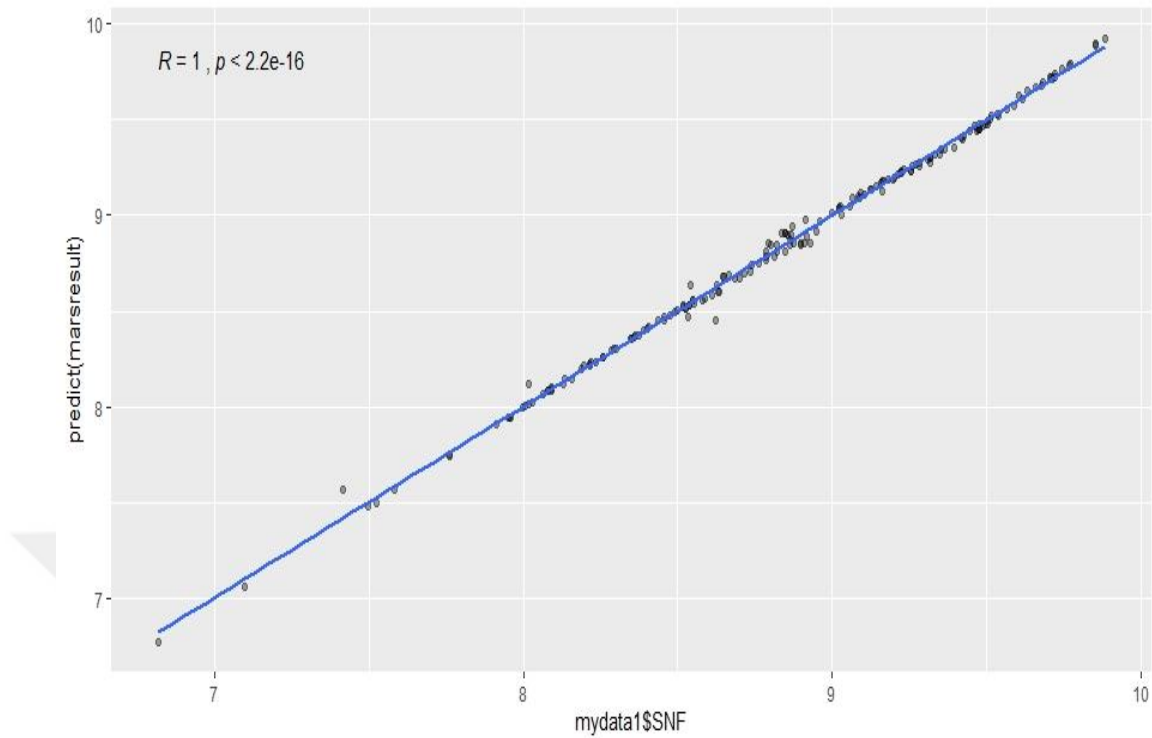
Önemli, *** = 0, ** = 0.001, * = 0.01, F değeri: 1.69e+4, p – değeri: < 2.2e-16, TF : Temel Fonksiyon Sırası

Tablo 3.18. Yağsız Kuru Madde (Solid Non Fat-SNF) Oranına Etki Eden Etkili Kestiricilerin (Predictor) Önem Sırasının Değerlendirilmesi

Kestirici (Faktör)	Altküme sayısı	Bağıl Önemlilik (%)
Laktoz oranı	8	100.0
Yağ oranı	5	8.7
Yoğunluk	5	8.7
PPARGC1A_2WT(GG):Ekzon9, rs133669403 koldu SNP'nin GG genotipi	2	6.9



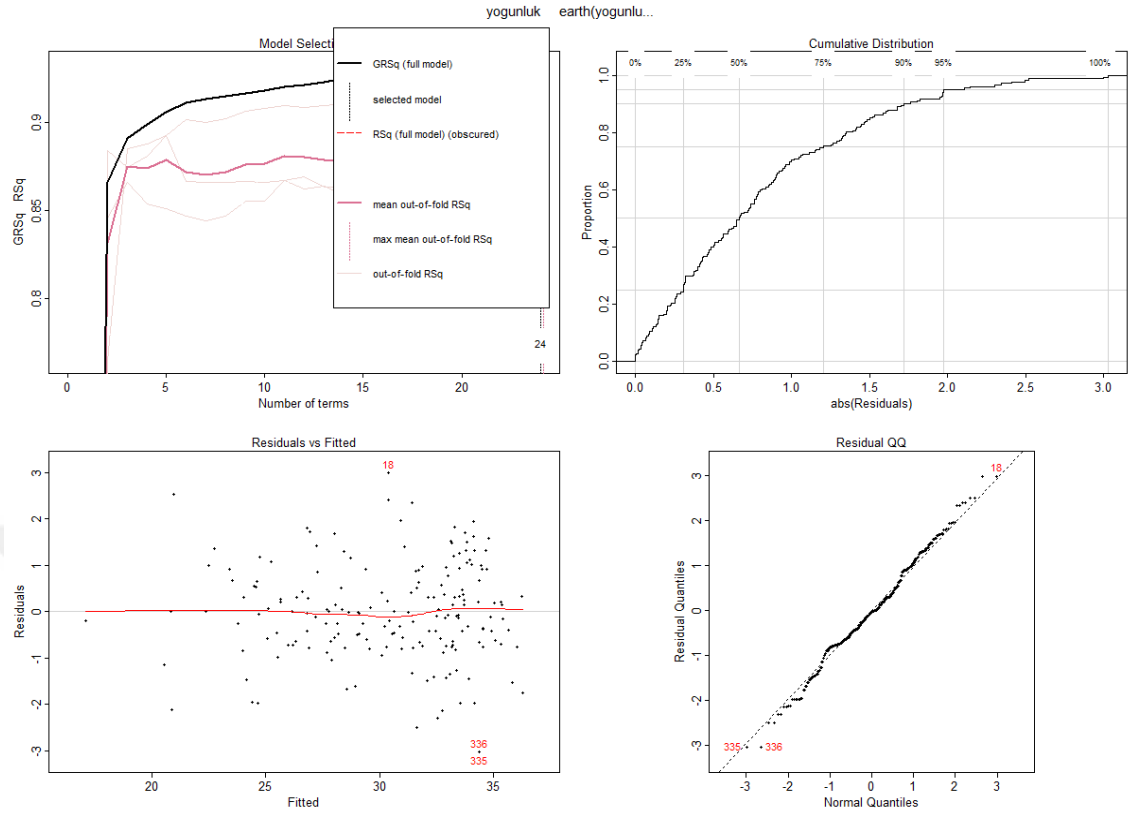
Şekil 3.33. Yağsız Kuru Madde (SNF) Oranına Etki Eden Bağımsız Değişkenler Arasındaki Etkileşimi Gösteren Grafikler



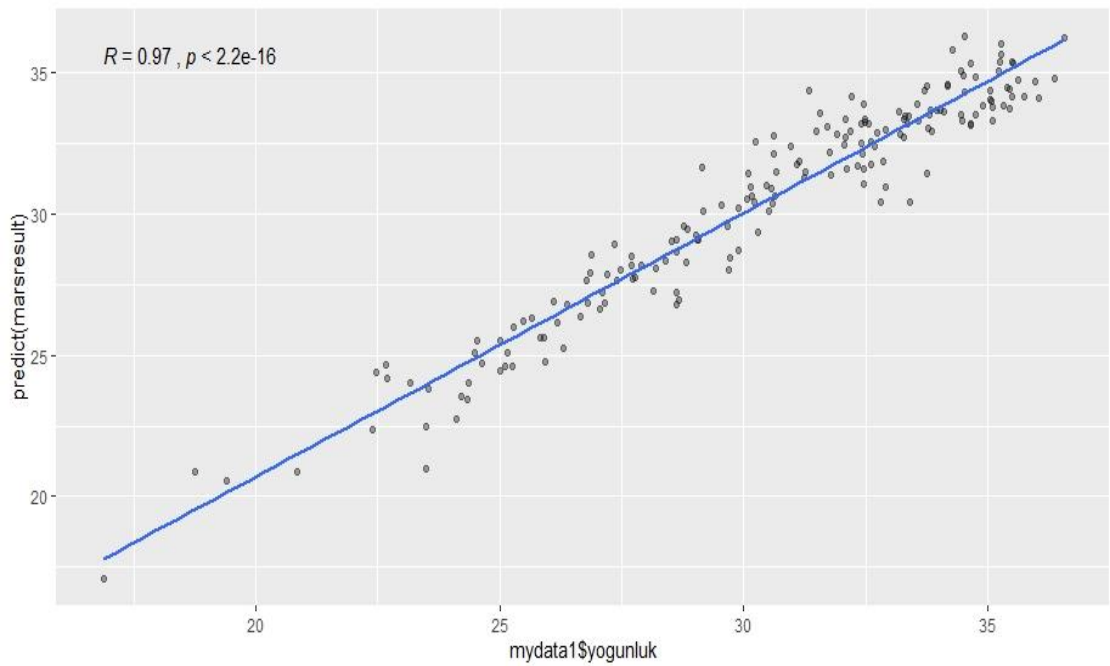
Şekil 3.34. Yağsız Kuru Madde Miktarı ve Oluşturulan MARS Modelinin Temel Fonksiyonları Arasındaki Korelasyon

3.4.9. Yoğunluk (kg/m^3) İçin Kullanılan MARS Modeli

Yoğunluk (kg/m^3) ile bu çalışmada belirlenen SNP'ler arasındaki ilişkiyi tahmin etmek ve yoğunluk üzerine en etkili bağımsız değişkeni belirlemek için, bir MARS modeli oluşturulmuştur. En yüksek GCV, en yüksek R^2 ve korelasyona sahip MARS modelini elde etmek amacıyla R ortamında ön denemeler yapılmıştır. Gerçekleştirilen bu denemeler neticesinde, SNP verileriyle birlikte, laktasyon, çevresel faktörler (farklı çiftlikler) ve yağ oranı parametreleri de modele bağımsız değişken olarak dahil edilmiştir. Yoğunluk parametresinin bağımlı değişken olduğu modele ait hata terimleri ve belirlenme katsayılarına ait grafikler Şekil 3.35.'de verilmiştir. Yoğunluk modeli için oluşturulan modelin denklemi EK 13.'de gösterilirken, oluşturulan MARS modelinin temel fonksiyonları ile yoğunluk parametresi arasındaki korelasyonu gösteren grafik Şekil 3.36.'da sunulmuştur. Yoğunluk için oluşturulan MARS modelinin, terimlerine ait katsayılar, standart hata, t ve p değerleri Tablo 3.19.'da verilirken yoğunluk miktarına etki eden kestiriciler (predictor) önem sırasına göre Tablo 3.20'de sıralanmıştır. Yoğunluk ile oluşturulan modelde kullanılan bağımsız değişkenler arasındaki etkileşimleri anlatan grafikler ise Şekil 3.37'de sunulmuştur.



Şekil 3.35. Yoğunluk İçin Seçilen MARS Modeline Ait Hata Terimleri ve Belirlenme Katsayılarına Ait Grafikler



Şekil 3.36. Yoğunluk (kg/m^3) ve Oluşturulan MARS Modelinin Temel Fonksiyonları Arasındaki Korelasyon

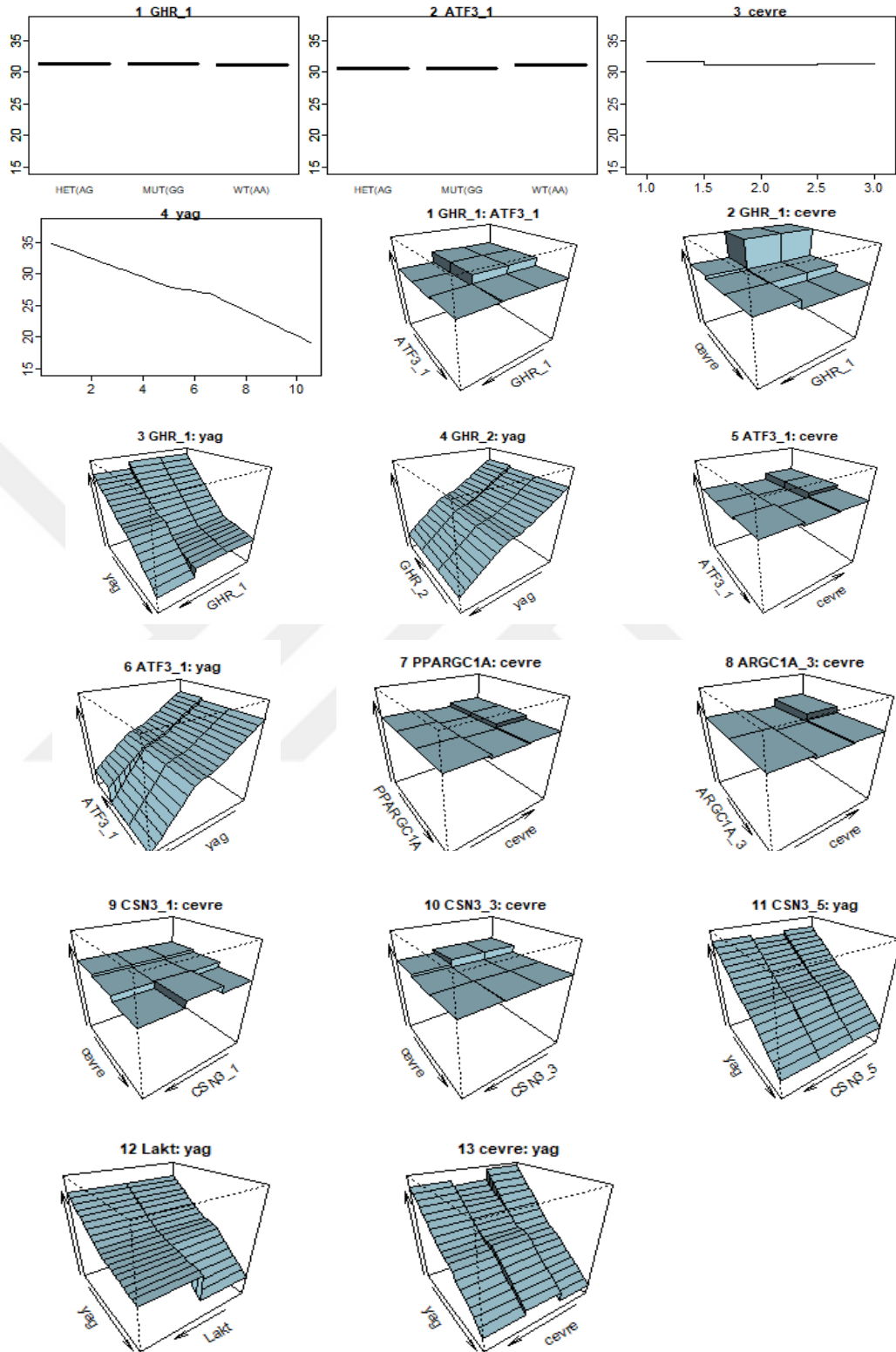
Tablo 3.19. Yoğunluk Parametresi İçin Oluşturulan MARS Modeline Ait Temel Fonksiyonlar ve Bu Fonksiyonlara Ait Katsayılar, Standart Hata, t ve p Değerleri

TF	Temel Fonksiyonlar	Katsayılar	Standart Hata	t değeri	Pr > t
1	Sabit terim (intercept)	25.67584	1.02975	24.934	< 2e-16***
2	h(yag-6.655)	-3.04225	0.63968	-4.756	2.92e-06***
3	h(6.655-yag)	2.06777	0.30379	6.807	4.53e-11***
4	GHR_1WT(AA)*h(yag-6.655)	-2.79784	0.71884	-3.892	0.000120***
5	Lakt*h(yag-6.655)	1.49643	0.20598	7.265	2.57e-12***
6	GHR_1WT(AA)	-1.39621	0.72970	-1.913	0.056536
7	ATF3_1WT(AA)*h(yag-6.655)	0.99590	0.37151	2.681	0.007705**
8	h(cevre-2)*h(6.655-yag)	0.33728	0.11349	2.972	0.003170**
9	h(2-cevre)*h(6.655-yag)	0.73764	0.16568	4.452	1.15e-05***
10	GHR_1WT(AA)*h(cevre-2)	1.94207	1.15369	1.683	0.093225
11	GHR_1WT(AA)*h(2-cevre)	-5.96878	1.11191	-5.368	1.48e-07***
12	h(cevre-2)	-0.83574	1.17493	-0.711	0.477381
13	h(2-cevre)	4.88779	1.14466	4.270	2.54e-05***
14	GHR_1WT(AA)*h(yag-5.1175)	1.36774	0.41593	3.288	0.001113**
15	GHR_1WT(AA)*h(5.1175-yag)	-0.53017	0.30967	-1.712	0.087800
16	GHR_2WT(AA)*h(6.655-yag)	0.09123	0.03103	2.940	0.003510**
17	ATF3_1WT(AA)*h(cevre-2)	-1.37959	0.36813	-3.748	0.000210***
18	CSN3_1MUT(CC)*h(cevre-2)	1.39370	0.29776	4.681	4.14e-06***
19	CSN3_5MUT(AA)*h(6.655-yag)	-0.14012	0.04010	-3.494	0.000539***
20	CSN3_3WT(AA)*h(2-cevre)	-1.01603	0.37238	-2.729	0.006693**
21	GHR_1WT(AA)*ATF3_1WT(AA)	2.36889	0.67958	3.486	0.000555***
22	ATF3_1WT(AA)	-1.90313	0.65369	-2.911	0.003836**
23	PPARGC1A_3WT(CC)*h(cevre-2)	-1.49807	0.49870	-3.004	0.002863**
24	PPARGC1A_1WT(GG)*h(cevre-2)	-0.59966	0.22700	-2.642	0.008630**

Önemli, *** = 0, ** = 0.001, * = 0.01, F değeri: 207.8, p – değeri: < 2.2e-16, TF : Temel Fonksiyon Sırası

Tablo 3.20. Yoğunluk Parametresine Etki Eden Etkili Kestiricilerin (Predictor) Önem Sırasının Değerlendirilmesi

Kestirici (Faktör)	Altküme Sayısı	Bağlı Önemlilik (%)
Yağ oranı	23	100.0
GHR_1WT(AA):rs382888926 kodlu SNP'nin AA genotipi	21	21.3
Laktasyon(Lakt)	20	19.3
Çevre (farklı çiftlikler)	19	17.2
ATF3_1WT(AA):rs210174407 kodlu SNP'nin AA genotipi	18	15.4
GHR_2WT(AA): rs385640152 kodlu SNP'nin AA genotipi	15	13.6
PPARGC1A_3WT(CC): rs178708811 kodlu SNP'nin CC genotipi	14	12.5
CSN3_1MUT(CC): rs43703015 kodlu SNP'nin CC genotipi	14	12.5
CSN3_5MUT(AA): rs109787476 kodlu SNP'nin AA genotipi	13	11.9
PPARGC1A_1WT(GG): rs109579682 SNP'nin GG genotipi	11	10.6
CSN3_3WT(AA): rs43703017 kodlu SNP'nin AA genotipi	7	7.4



Şekil 3.37. Yoğunluk Üzerine Etki Eden Bağımsız Değişkenler Arasındaki Etkileşimi Gösteren Grafikler

3.4.10. Bağımlı Değişken Olarak Kullanılan Tüm Parametreler İçin Oluşturulan MARS Modellerine Ait Yorumlama Kriterleri

Bu tez çalışmasında, süt ile ilgili çalışılan her bir parametre için ayrı ayrı MARS modeli oluşturulmuştur. Oluşturulan her bir model elde edilirken, istenilen kriterleri sağlayıncaya kadar, değişik parametre, derece (2, 3 ve 4), ceza (penalty= -1, 2, 3 ve 4) kombinasyonları denenmiş, materyal metod kısmında sadece en uygun modelin elde edilmesinde kullanılan parametrelerden bahsedilmiştir. Modeller oluşturulurken, GCV'nin en küçük (mümkünse sıfıra yakın), uyum iyiliği (goodness of fit) kriterlerinde benzer şekilde düşük olmasına dikkat edilirken; R^2 , düzeltilmiş R^2 ve korelasyonun en yüksek olmasına çalışılmıştır. Tablo 3.21'de bağımlı değişken olarak analiz edilen her bir parametre için oluşturulan en uygun MARS modellerine ait analiz sonuçları verilmiştir.

Tablo 3.21. MARS Algoritması İle Modellenen Süt Verimi ve Diğer Bileşen Parametrelerine Ait Analiz Sonuçları

	Süt Verimi	Yağ Oranı	Yağ Verimi	Protein Oranı	Protein Verimi	Laktoz Oranı	Laktoz Verimi	Yağsız Kuru Madde (SNF)	Yoğunluk
GCV	1.72	0.248	0.0486	0.0095	0.00099	0.0258	0.00304	0.000918	1.08
RSS	626	90.3	13.6	3.46	0.362	9.4	1.11	0.334	392
GR²	0.951	0.954	0.904	0.819	0.979	0.763	0.971	0.997	0.934
R²	0.951	0.955	0.926	0.819	0.979	0.763	0.971	0.997	0.934
Düzeltilmiş R²	0.921	0.944	0.921	0.757	0.966	0.707	0.951	0.997	0.929
Pearson Korelasyonu (r)	0.975	0.977	0.9622	0.905	0.989	0.873	0.9851	0.999	0.966
RAE	0.041	0.118	0.149	0.03	0.03	0.033	0.035	0.003	0.034
SDratio	0.222	0.212	0.272	0.425	0.146	0.487	0.172	0.051	0.258
RMSE	1.312	0.498	0.193	0.098	0.032	0.161	0.055	0.03	1.037
MSE	1.72	0.248	0.037	0.01	0.001	0.026	0.003	0.001	1.076
MAD	0.882	0.377	0.147	0.061	0.022	0.11	0.032	0.02	0.807
AIC	472	-370	-1151	-1444	-2235	-1193	-1812	-2528	75

GCV: Genelleştirilmiş Çapraz Geçerlilik, **R²:** Belirleme Katsayısı, **RSS:** Artık Kareler Toplamı, **RMSE:** Hata kareler ortalamasının karekökü, **r:** Gerçek ve model tahmini yanıt (response) arası korelasyon katsayısı, **RAE:** Global bağıl yaklaşım hatası, **SDratio:** Standart sapma oranı, **MSE:** Hata kareler ortalaması, **MAD:** ortalama mutlak sapma, **AIC:** Akaike ölçütü (Akaike information criterion)

4. BÖLÜM

TARTIŞMA-SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında, Kayseri ve Kahramanmaraş illerinde bulunan süt sığırcılığı çiftliklerindeki, 182 baş Holstein-Fresian (siyah alaca) ırkı ineklerde, bir laktasyon boyunca, alınan süt örneklerinde, yağ oranı (%), yağ verimi (kg), protein oranı (%), protein verimi (kg), laktoz oranı (%), laktoz verimi (kg), yağsız kuru madde oranı (%) ve yoğunluk (kg/m³) gibi ekonomik parametreler analiz edilirken, işletmelerden seçilen hayvanlara ait süt verimi (kg) verileri alınmıştır. Diğer bir taraftan işletmelerden süt örneği alınan her hayvandan laktasyon da, veteriner hekim yardımıyla kuyruktan alınan kan numuneleri DNA ekstraksiyonu yapılmış ve yeni nesil nükleik asit dizileme (YND) tekniği ile *PPARGC1A* (g.44875251 G>A, g.44875315 A>G, g.44875421 C>T, g.44875457 C>A), *CSN3* (g.87390576 C>T, g.87390612 A>C, g.87390632 A>G, g.87390673 G>A, g.87390681 T>A), *GHR* (İntron 8: g.31909419 G>A, ekzon 8: g.31909478 T>A (F279Y)), *ATF3* (Ekzon 4: g.72820542 G>A, g.72820592 G>C, g.72820637 T>C) ve *PAEP* (g.103303473 C>T, g.103303475 G>A) genlerinde hedef alınan genomik bölgelerde, belirli SNP/V'leri (tek nükleotit polimorfizmi yada varyantları) tespit edilmiştir. Tespit edilen bu varyantların, süt verimi ve analiz edilen diğer ekonomik parametreler ile olan ilişkilerini tespit etmek için, ilk önce konvansiyonel istatistiksel yöntemler (Allel ve Genotip frekanslarının tespiti, X² testi, En küçük kareler ortalamaları ve Standart hata değerlerine göre varyans analizi, Tukey HSD testi) kullanılmıştır. Daha sonraki aşamada ise, MARS veri madenciliği algoritması kullanılarak, tespit edilen varyantların, süt verimi, yağ oranı, yağ verimi, protein oranı, protein verimi, laktoz oranı, laktoz verimi, yağsız kuru madde ve yoğunluk üzerine etkileri ve bu parametreler ile varyantlar arasındaki ilişkiler analiz edilmiştir.

4.1.Tartışma

4.1.1. Konvansiyonel istatistiksel yöntemler ile yapılan analizler

İlk etapta YND ile tespit edilen SNP'ler ile süt verimi (kg) ve sütün bileşenleri ile ilgili ekonomik parametrelerin arasındaki ilişkilerin tespiti ve analiz edilen popülasyonun Hardy-Weinberg dengesinde olup olmadığını test etmek için yapılan, en küçük kareler ortalamaları ve standart hata değerlerini kullanarak Tukey HSD ve ki-kare (X^2) testleri yapılmıştır. X^2 testi sonucunda *GHR* geni rs382888926 dsSNP referans numaralı SNP ($p<0.05$) hariç, diğer tespit edilen tüm SNP'ler için popülasyonun Hardy-Weinberg dengesinde olduğu tespit edilmiştir. Diğer bir taraftan, En küçük kareler ortalamaları ve standart hata değerlerine göre yapılan varyans analizi ve sonrasındaki Tukey HSD testine göre; *PPARGC1A* geni rs109579682 kodlu SNP'nin GA (9352 ± 327 kg) genotipinin yüksek süt verimi (kg) ile ilişkili olarak ($p<0.05$) tespit edilirken, GG genotipi (8461 ± 245 kg), GA genotipine göre düşük süt verimli olarak tespit edilmiştir. Çalışmada tespit edilen diğer SNP'lerin ise, yapılan konvansiyonel istatistiksel analizlere göre süt verimi ile herhangi bir ilişkisi tespit edilememiştir. Süt yağ oranı için yapılan varyans analizi sonuçlarına göre, *PPARGC1A* geni ekzon 9'da bulunan rs133669403 kodlu SNP'nin GA genotipi (5.21 ± 0.699), *CSN3* geni ekzon 4'de konumlanmış olan rs43703015 kodlu SNP'nin AA genotipi (3.69 ± 0.19) yüksek yağ oranı ile ilişkili ($p<0.05$) olarak tespit edilmiştir. Bu bahsedilen SNP'ler dışında diğer SNP'lerin süt yağ oranı (%) ile bir ilişkileri tespit edilmemiştir ($p>0.05$). Diğer bir taraftan, rs133669403 kodlu SNP'nin GA (441 ± 64.8 kg) genotipi ile *CSN3* geni ekzon 4'de konumlanmış olan rs43703015 kodlu SNP'nin TT (433 ± 53.3 kg), rs43703016 kodlu SNP'nin CC (413 ± 55.4 kg), rs110014544 kodlu SNP'nin GG (418 ± 55.5) ve rs109787476 kodlu SNP'nin TT (418 ± 55.3) genotiplerinin yüksek yağ verimi (kg) ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Analiz edilen diğer SNP'lerin ise süt yağ verimi ile herhangi bir ilişkileri tespit edilmemiştir ($p>0.05$). Protein verimi (kg) ve laktoz verimi (kg) parametreleri için yapılan konvansiyonel istatistiksel analizlere göre, *PPARGC1A* geni intron 9 rs109579682 referans numaralı SNP'nin GA genotipinin yüksek protein (305 ± 11.2 kg) ve laktoz (458 ± 16.8 kg) verimiyle ilişkiliyken, GG genotipinin ise nispeten daha düşük protein (274 ± 8.39 kg) ve laktoz (411 ± 12.6 kg) verimi ile ilişkili olduğu ($p<0.05$) belirlenmiştir. Bununla birlikte, analizi yapılan polimorfizmlerden hiçbirinin protein oranı (%) ve laktoz oranı (%) parametreleri ile herhangi bir ilişkileri tespit edilmemiştir ($p>0.05$). Süt verimi ve sütün diğer ekonomik parametreleri üzerine tahmini birliktelik etkilerini, en küçük kareler yöntemine belirlenen

SNP'lerin durumu ve literatür ile olan uyumu, çalışılan her bir gen için ayrı bir başlıkta tartışılmıştır.

4.1.1.1. *GHR* geninde tespit edilen SNP'ler

Büyüme hormonu reseptörü (Growth Hormone Receptor, *GHR*) geni, hücre içerisinde büyüme hormonu reseptörü (*GHR*) denilen bir proteinin sentezlenmesi için talimat vermektedir. *GHR* proteini, hedef hücrelerde Büyüme Hormonunun (Growth hormone, *GH*) sinyallerini hücre içerisine geçirerek ve bir çok genin (insülün benzeri büyüme faktörü-1/ IGF-1 gibi) transkripsiyonunu uyararak, büyüme hormonunun biyolojik aktivitelerine aracılık eder. *GHR* geni polimorfik karakterde bir genidir ve değişik türlerde değişik ekonomik parametreler ile ilişkilidir. Dokuz ekzondan oluşan *GHR* geninin, 8. ekzonundaki, *GHR* proteinin transmembran alanındaki tirozinin, fenilalanine dönüşmesine sebep olan T/A nükleotit farklılığının ineklerde süt verimi üzerinde majör etkisinin olduğu, literatürde yapılan bir çok çalışmada da bahsedilmiştir [122].

Bu tez çalışmasında *GHR* geni üzerinde ekzon 8 de bulunan rs385640152 (g.31909478 bç) kodlu T>A polimorfizmi ile intron 8 üzerinde bulunan rs382888926 (g.31909419 bç) kodlu G>A polimorfizmi YND yöntemi ile tespit edilmiştir. Tespit edilen bu SNP'lerin genotip frekansları, rs385640152 için AA (0.621), AT (0.352), TT (0.027) olarak belirlenirken, rs382888926 için AA (0.945), AG (0.049), GG (0.005) olarak tespit edilmiştir. Aynı SNP'ler için allel frekansları ise, rs385640152 için A (0.797) ve T (0.203) olarak belirlenirken, rs382888926 için A(0.970) ve G(0.030) olarak tespit edilmiştir. *GHR* geninde tespit edilmiş olan SNP'lerin, süt verimi ve bileşenleri üzerine olan etkilerini en küçük kareler yöntemine göre analiz edilmeden önce popülasyon içerisinde kendini temsil etme gücü zayıf olan genotipler analizden çıkarılmıştır. Bu amaçla, rs382888926 G>A polimorfizminin GG (1) genotipi ile rs385640152 T>A polimorfizminin TT (5) genotipi popülasyondan çıkarılmıştır. En küçük kareler yöntemi ile yapılan varyans analizi sonuçlarına göre *GHR* geninde tespit edilen SNP'ler istatistiksel olarak süt verimi ve sütün diğer ekonomik parametreleri ile her hangi bir ilişkisi tespit edilememiştir ($p>0.05$). Ancak, literatür ile kıyas yapabilmek için bazı beyanlarda bulunmak mümkündür. SNP'lerden rs382888926 G>A'nın süt verimi ve bileşenleri üzerine ilişkisi olduğundan bahsedilen her hangi bir literatüre rastlanılmamıştır. Benzer bir şekilde bu çalışmada da aynı polimorfizmin hiçbir etkisinin

olmadığı anlaşılmıştır. Bu çalışmada da tespit edilen rs385640152 kodlu T>A (F279Y) polimorfizmi ile ilgili literatürde gerçekleştirilmiş bir çok çalışma bulunmaktadır.

Blott vd. [123], Yeni Zelanda ve Hollanda daki çiftliklerde yaşayan Jersey ve Holstein-fresian ırkı ineklere ait veri setlerini kullanarak kromozom 20'deki GHR geninin QTL etkilerini analiz etmek için, sanger dizileme ile GHR geni ekzon 3-10 üzerinde SNP taraması yapmışlardır. Bununla birlikte Sığır genomu kromozom 20'nin mikrosatellit haritası çıkartılmıştır. Dizileme sonucunda tespit ettikleri SNP'lere bağlantı dengesizliği (linkage disequilibrium) analizi yapmışlardır. Yaptıkları analizler neticesinde ekzon 8 de konumlanmış olan fenilalanin aminoasidinin tirozinle yer değiştirmesine sebep olan F279Y ve ekzon 10 üzerinde konumlanmış olan polar asparajin ile polar treoninin yer değişmesinden sorumlu N528T polimorfizmlerinin süt verimi ve bileşenleri üzerinde güçlü bir etki ile ilişkili olduğunu bildirmişlerdir. Fontanesi vd. [124], İtalya Bologna çevresinde toplamda 679 adet olmak üzere 7 farklı inek ırkında (İtalyan Holstein-fresian: 108, Reggiana: 108, İtalyan Brown:104, İtalyan Simmental:104, Jersey:104, Modenese: 66, Rendena: 85) *GHR* geni ekzon 8 de bulunan F279Y (A>T) polimorfizminin allel frekanslarını PCR-RFLP yöntemi ile araştırmışlardır. Araştırdıkları bütün ırklarda F (T) allelinin en sık rastlanan allel olduğunu, İtalyan Holstein-Fresian ırkı için Allel frekansları, F:0.727 ve Y:0.273 olarak tespit etmişler ve analiz ettikleri tüm popülasyonların Hardy-Weinberg dengesinde olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada ise, Fontanesi vd. bulduklarının aksine F (T) alleli için allel frekansı 0.203 iken, Y(A) alleli için ise 0.797 olarak tespit edilmiştir. Ayrıca, F279Y polimorfizmi için popülasyonun Hardy-Weinberg dengesinde olduğu belirlenmiştir.

Sun vd. [76], Çin'deki çiftliklerde bulunan Holstein ırkı 1222 inek üzerindeki *GHR* geni ekzon 8 üzerinde konumlanmış F279Y yada diğer adıyla p.Phe279Tyr (rs385640152) polimorfizminin, süt verimi (kg), yağ verimi (kg), protein verimi (kg), yağ oranı (%) ve protein oranı (%) üzerine etkilerini araştırmak için PCR-RFLP yöntemi ile yaptıkları araştırmada; F279Y polimorfizminin Hardy-Weinberg dengesinden önemli ölçüde saptığını ($p<0.01$), bu sebebinin ise, analiz ettikleri popülasyonda bulunan yerel Holstein süt sığırları ile ithal edilmiş olan Holstein süt sığırları arasındaki farklı allel frekansı dağılımından kaynaklanabileceğini bildirmişlerdir. Benzer bir şekilde, gerçekleştirilen bu çalışmada, *GHR* geni intron 8'e konumlu olan, rs382888926 kodlu tek nükleotit

polimorfizminin, Hardy-Weinberg dengesinden önemli ölçüde ($p < 0.05$) sapmış olmasının sebebinin, analiz edilen popülasyondaki yerel Holstein inekleri ile yurtdışından ithal edilerek popülasyona dahil edilmiş Holstein inekleri farklı allel frekansı dağılımından kaynaklandığını belirtmek mümkündür. Ayrıca, bu durumu bu çalışmada analiz edilen F279Y polimorfizminin, literatürdeki çalışmalardan farklı allel ve genotip frekansı göstermesinin izahı içinde kullanabiliriz. Çalışmada hayvan popülasyonundan yaralandığımız çiftliklerin, belirli zamanlarda Almanya ve Hollanda gibi ülkelerden Holstein süt sığırları ithal ettiğini bilmekteyiz.

Kadri vd.[125], Danimarkada bulunan Holstein-Fresian (5.966), Kızıl Süt Sığırları (5.458) ve Jersey (1.142) ineklerin olduğu bir popülasyonu, 1.568 adedi sığır genomu 20. kromozomda bulunan, 54.000 SNP'nin bulunduğu bir mikroarray paneli (Illumina, Bovine SNP50 BeadChip) ile analiz ederek, bu SNP'ler ile süt verimi ve diğer ekonomik parametreleri ilişkilendirmeye çalışmışlardır. Daha önceki çalışmaları doğrulayacak şekilde, *GHR* geni ekzon 8 de bulunan F279Y (rs385640152) polimorfizminin süt, yağ ve protein verimi ile güçlü bir ilişki gösterdiğini bildirmişlerdir. Bu çalışma da ise istatistiksel olarak benzer bir ilişkiye ($p > 0.05$) rastlanılmamıştır.

Li-Juan vd.[126], Holstein-Fresian ırkı inekler (351) üzerinde, PCR-RFLP ve sanger dizileme yöntemleri ile *GHR* geni ekzon 8 F279Y polimorfizminin, süt verimi, protein oranı ve yağ oranı üzerine etkilerini inceledikleri bir çalışmada, Allel frekanslarını, A alleli için 0.6339, T alleli için ise 0.3661 olarak tespit ederken, genotip frekanslarını homozigot AA genotipi için 0.4587, heterozigot AT için 0.3504, homozigot TT genotipi için ise, 0.1909 olarak tespit etmişlerdir. Ayrıca, analiz ettikleri popülasyonun F279Y polimorfizmi için Hardy-Weinberg (HW) dengesinde olmadığını ($p < 0.05$) bildirmişlerdir. Bu durumun ise, analiz ettikleri popülasyonun genetik sürüklenme ve suni seleksiyondan etkilendiğini göstermekte olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışma da ise, her ne kadar tespit edilen rs385640152 (F279Y) polimorfizmi HW dengesinde olsa da, popülasyon içerisindeki allel ve genotip frekanslarının literatürden farklılık göstermesine etki eden faktörlerden birisi de Li-Juan vd.'nin de teyit ettiği gibi genetik sürüklenme olduğu anlaşılmaktadır.

Viitala vd.[127], Fin Ayrshire ırkı ineklerde, GHR geni ekzon 8 de bulunan F279Y polimorfizmi için, allel frekanslarını T alleli (0.89), A alleli (0.11) olarak tespit etmişlerdir. En küçük kareler ortalamasına göre, F279Y polimorfizminin istatistiksel olarak yağ oranı ile ilişkili olduğunu bildirmişlerdir. Homozigot TT genotipinin (3.839 ± 0.123), AA genotipinden (3.534 ± 0.105) daha yüksek yağ oranına sahip olduğunu, her ne kadar istatistiksel olarak önemli olmasa bile, homozigot AA genotipinin, homozigot TT, ve heterozigot AT genotipine göre, yüksek süt verimi (6446 ± 457.7 kg) ve yüksek protein oranı (3.074 ± 0.054) gösterdiğini, doğru sonuç almak için ise, popülasyon sayısını daha da genişletmek gerektiğini bildirmişlerdir. Bu tez çalışmasındaki bulgulara göre, istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç elde edilmese de, Viitala vd.'den farklı olarak AA genotipi (8760 ± 194 kg)'nin AT genotipiden (8890 ± 331 kg) daha düşük süt verimine sahip olduğu anlaşılmaktadır. Popülasyonda, TT genotipinden sadece 5 birey tespit edilmiş ve bu tespit edilen bireyler kendi genotiplerini anlamlı bir şekilde temsil edemeyecekleri için en küçük kareler ortalaması ile varyans analizine dahil edilmemişlerdir. Li-Juan vd.[126] yukarıda da bahsedildiği üzere, Viitala vd. den nerdeyse tam tersi denilebilecek sonuçlar bulmuşlardır. Bulgulardaki bu uyumsuzlukların, coğrafi farklılıkların yanı sıra, farklı kaynaklardan popülasyona aktarılan hayvanlardan kaynaklanabileceği gibi, farklı sığır ırkları arasındaki gen dizilimi farklılıklarından da kaynaklanabileceğini bildirmişlerdir. Benzer varsayımlar, gerçekleştirilen bu çalışmada, elde edilen bulgular için de geçerlidir.

Rahmatalla vd.[81], benzer şekilde, GHR geni ekzon 8'de bulunan F279Y (T>A) polimorfizminin, süt verimi, yağ, protein, laktoz, kazein oran ve verimleri üzerine etkisini, yaklaşık 1370 Alman Holstein-Fresian ırkı inek üzerinde, pirodizileme tekniğini kullanarak araştırmışlardır. Yaptıkları araştırma sonucunda 279Y(A) allel frekansını 0.165 olarak bildirirken, gözlenen genotip frekanslarını ise, TT (FF) homozigot fenilalanin varyantı için, 0.691, TA (FY) heterozigot için, 0.288 ve AA (YY) homozigot tirozin varyantı için ise 0.21 olarak tespit etmişlerdir. F279Y genotiplerinin çok önemli derecede ($p < 0.0001$) süt ve laktoz verimi üzerinde etkili olduğu gibi, laktoz oranı hariç diğer analiz ettikleri parametreler üzerinde de etkili olduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca, istatistiki olarak önemi kanıtlanamamış ($p > 0.05$) olsa da, protein ve yağ verimlerinin heterozigot hayvanlarda daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. İstatistiki olarak, heterozigot genotipler, homozigot YY (AA) genotiplerine göre daha yüksek süt verimi

ve laktoz verimi sağlamaktadırlar. Allel değişimi etkilerine baktıklarında ise, Tirozin (279Y) varyantının, süt verimi ve laktoz verimi üzerine çok önemli derecede pozitif etkisinin olduğu gibi, yağ, protein ve kazein oranları üzerinde de negatif etkilerinin olduğunu tespit etmişlerdir. Çalışmalarında, ilginç bir bulgu olarak, geçmiş on yıllarda yüksek süt verimli Holstein inekleri seleksiyonda kullanılmasına rağmen, düşük süt verimli ve yüksek protein, yağ oranına sahip homozigot FF (TT) genotipinin yüksek frekansa sahip olduğunu bildirmişlerdir. Bu çelişkinin muhtemel sebebinin ise Waters vd.[128], yüksek buzağılama aralığıyla ilişkili olabileceğini, hayvanların yüksek süt veriminden ziyade yüksek buzağılama aralığına göre seleksiyona uğramış olabileceklerini bildirmişlerdir. Bu tez çalışmasında ise, her ne kadar varyans analizine göre önemli bulunmasa da ($p>0.05$), Rahmatalla vd.[81], teyid edecek şekilde heterozigot AT genotipleri (8890 ± 331 kg), homozigot AA genotiplerine (8760 ± 249 kg) göre daha fazla süt verimine sahip olduğu gözlenmiştir. Allel frekansları ise, Rahmatalla vd. analiz ettikleri popülasyonun aksine, 279Y(A) alleli frekansı 0.797, 279F(T) allelinin frekansı ise 0.203 olarak belirlenmiştir. Literatürdeki çalışmalar ve Waters vd.'nin yukarıda bahsedilen varsayımlarına göre, çok yüksek ihtimalle, bu çalışmada kullanılan Holstein-Fresian popülasyonun büyük bir kısmını daha önceden süt verimi yerine, yüksek buzağılama aralığı yada başka bir parametreyi geliştirmek amacıyla, seleksiyona uğradığı (279Y(A) alleli için) fikrini akla getirmektedir. Daha kesin bir yargıya varabilmek için GHR geni ekzon 8 özelinde, daha yüksek sayıda bir popülasyonla çalışılması daha uygun olacaktır.

4.1.1.2. *PPARGC1A* geninde tespit edilen SNP'ler

Peroksizom proliferatör-etkinleştirilmiş reseptör- γ koaktivatör-1 α (peroxysome proliferator-activated receptor- γ coactivator-1 α , *PPARGC1A*) geni, Sığır 6. kromozomunda (BTA6) bulunan ve bu kromozomal pozisyonundan dolayı, süt yağ veriminden sorumlu belirteçlerden biridir. Çünkü *PPARGC1A* geni hücre içerisinde enerji, yağ ve glukoz metabolizmasında rol oynamaktadır. Toplamda 13 ekzon şeklinde organize olmuş ve ekzonların toplam uzunluğu 6261 baz çifti olan *PPARGC1A* geni farklı dokularda değişik seviyelerde gen ifadesi göstermektedir. Ayrıca, yapılan analizler sonucunda sığır *PPARGC1A* genine ait, cDNA ve protein dizilerinin insan, sıçan(rat) ve fare türlerindeki ortologları (farklı türlerdeki yapısal ve işlevsel benzerliği olan genler) ile %92-95 benzerlik gösterdiği bildirilmiştir[129].

Gerçekleştirilen bu çalışma da, *PPARGC1A* geni üzerinde, intron 9'da bulunan rs109579682 (g.44875251 bç) kodlu G>A polimorfizmi, ekzon 9'da bulunan rs133669403 (g.44875315 bç) kodlu A>G polimorfizmi, intron 8'de bulunan rs178708811 (g.44875421 bç) kodlu C>T ve g.44875457. bazda bulunan C>A polimorfizimleri belirlenmiştir. Tespit edilen bu SNP'lerin genotip frekansları, rs109579682 [GG (0.626), GA (0.352), AA (0.022)], rs133669403 [GG (0.940), AG (0.060)], rs178708811 [CC (0.885), CT (0.115)], ve g.44875457. bazdaki C>A polimorfizmi [CC (0.995), CA (0.005)] olarak tespit edilmiştir. Aynı SNP'lere ait allel frekansları ise, rs109579682 [G (0.724), A (0.276)], rs133669403 [G (0.943), A (0.057)], rs178708811 [C (0.897), T (0.103)] ve g.44875457. bazdaki C>A polimorfizmi [C (0.995), A (0.005)] olarak belirlenmiştir. *PPARGC1A* geninde tespit edilen SNP'lerin, süt verimi ve sütün bileşenleri üzerine olan etkilerini belirlemek için, en küçük kareler yöntemiyle varyans analizi yapmadan önce, popülasyon içerisinde kendini temsil etme gücü zayıf olan (sayıca çok az olan) genotipler çıkarılmıştır. Bu nedenle, rs109579682 polimorfizminin AA (4) genotipi popülasyondan çıkarılırken, intron 8'de bulunan g.44875457. bazdaki G>A polimorfizmi, popülasyonun %99.5'inde CC genotipi baskın olduğu için analiz edilmemiştir (Tablo 3.1.). En küçük kareler yöntemiyle yapılan varyans analizi sonuçlarına göre, rs109579682 (intron 9, G>A) polimorfizminin GA (9352±327 kg) genotipi yüksek süt verimiyle, GG (8461±245 kg) genotipi ise nispeten daha düşük süt verimi ile ilişkili olarak ($p<0.05$) tespit edilmiştir. Bununla birlikte aynı polimorfizmin GA genotipinin yüksek protein (305±11.2 kg) ve laktoz (458±16.8 kg) verimi ile ilişkili olduğu ($p<0.05$) anlaşılmıştır. Diğer bir taraftan, rs133669403 (ekzon9, A>G) polimorfizminin GA genotipinin yüksek yağ oranı (%5.21±0.669) ve yağ verimi (441±64.8 kg) ile ilişkili olduğu ($p<0.05$) tespit edilmiştir.

Schennink vd.[77], Hollanda da bulunan, Holstein cinsi ineklerde yaptıkları bir çalışmada, *PPARGC1A* geni intron 9 üzerinde bulunan c.1790+514 G>A (UMD 3.1.1/bosTau8 üzerindeki konumu 6. Kromozom, 48.875.251. baz) ve intron 8 üzerinde bulunan c.1892+19 C>T (UMD 3.1.1/bosTau8 üzerindeki konumu 6. Kromozom, 48.875.421. baz, rs17870811) polimorfizmlerinin süt yağı kompozisyonu üzerine etkilerini sırasıyla 1724 ve 1722 hayvan üzerinde test etmişlerdir. Allel frekanslarını ise c.1790+514 G>A polimorfizminin G alleli için 0.80, c.1892+19 C>T polimorfizminin C alleli için ise, 0.75 olarak belirtmişlerdir. Bu tez çalışmasında ise, c.1790+514 G>A için

G allelinin frekansı 0.724, (rs17870811) c.1892+19 C>T için C allelinin frekansı 0.897 olarak bulunmuştur. Çalışmada, tamamen birbirine benzer allel frekansları yakalanamasa da, kısmen yakın frekanslar elde edilmiştir. Schennink vd., çalışmalarında *PPARGC1A* genine ait analiz ettikleri polimorfizmlerin süt yağ kompozisyonları üzerinde önemli etkileri olduğunu bildirmişlerdir.

Viale vd. [98], İtalyada yetiştirilen Holstein-Fresian ırkı ineklerin bulunduğu bir popülasyonda (423), bir SNP paneli içerisinde, *PPARGC1A* geni rs109579682 kodlu A>G ile rs133669403 kodlu A>G polimorfizmlerinin süt verimi ve sütün bileşenleriyle ilgili parametreler ile ilişkilerini istatistiksel olarak analiz etmişlerdir. Yaptıkları çalışma sonucunda, rs133669403 kodlu SNP'nin süt verimine negatif etki (-0.693 kg/gün, $p<0.05$) yaptığını, aynı SNP'nin Weikard vd.[129]'nin 2005 yılında gerçekleştirdikleri çalışmanın aksine, süt yağ oranını arttırdığını (0.127%, $p<0.05$) bildirmişlerdir. Bununla birlikte, rs 133669403 ve rs109579682 kodlu SNP'nin süt protein oranını arttırıcı etki ($p<0.05$) gösterdiklerini bildirmişlerdir. Gerçekleştirilen bu çalışmada ise, Viale vd. bulduklarının aksine rs109579682 kodlu polimorfizmi A>G yerine G>A olarak tespit edilmiş ve bu polimorfizmin GA genotipinin yüksek süt verimi ile ilişkili olduğu belirlenmiştir. Bununla birlikte, bu tez çalışmasında, hem rs109579682 (G>A) hem rs133669403 (A>G) polimorfizminin süt protein oranı ile istatistiksel olarak bir ilişkisi ($p>0.05$) tespit edilmezken, rs109579682 (G>A)'nın protein ve laktoz verimiyle, rs133669403 (A>G)'ninde yağ oranı ve yağ verimiyle ilişkisi olduğu belirlenmiştir. Bu tarz farklılıkların sebebinin, daha önceki bölümde de tartışıldığı üzere, coğrafi farklılıklar, farklı kaynaklardan popülasyona aktarılmış hayvanlar, popülasyondaki hayvan sayısı, çalışılan laktasyon sayısı gibi faktörlerin olduğu bilinmektedir [89, 126].

Weikard vd. [129], sığır *PPARGC1A* genini moleküler olarak karakterize etmek ve tek nükleotit polimorfizmlerinin süt yağı sentezi üzerine etkisi araştırmak için yaptıkları bir çalışmada, toplamda 434 baş olmak üzere Alman Holstein cinsi ineklerde, intron 8 deki (rs17870811) c.1892+19 T>C polimorfizminin TT ve TC genotiplerinin yüksek süt yağ verimi gösterdiğini bildirmişlerdir. Khatib vd. [130], ABD'de bulunan iki farklı holstein popülasyonu (1362 ve 891 baş) üzerinde yaptıkları bir çalışmada, *PPARGC1A* ve *OPN* genlerindeki bazı polimorfizmlerin sütün bileşimi üzerine etkisini araştırmışlardır. *PPARGC1A* geni (rs17870811) c.1892+19 C>T polimorfizmini 891 inek üzerinde

çalışmışlar ve CC, CT, TT genotipleri için frekanslarını sırasıyla, %33.1 (0.331), %65 (0.65) ve %1.9 (0.019) olarak tespit etmişlerdir. Ayrıca, bu SNP için analiz ettikleri popülasyonun Hardy-Weinberg dengesinde olmadığını bildirmişlerdir. Yaptıkları çalışma sonucunda bu, Weikard vd. nin aksine, (rs17870811) c.1892+19 C>T polimorfizminin istatistiksel olarak, süt ile ilgili herhangi bir parametre ile ilişkisinin olmadığını bildirmişlerdir. Bu tez çalışmasın da ise Weikard vd. bulgularının aksine, Kahtib vd.'nin teyit edecek şekilde (rs17870811) c.1892+19 C>T polimorfizminin, istatistiksel olarak süt verimi ve sütün bileşimiyle alakalı diğer ekonomik parametreler üzerine herhangi bir etkisi bulunamamıştır.

Alim vd. [131], Çinli Hostein ırkı 752 baş inek üzerinde c.1892+19 C>T (rs17870811) polimorfizminin süt verimi ve sütün bileşenleri üzerine etkisini araştırmak için yaptıkları bir çalışmada, C alleli için 0.69 frekans tespit ederken, T alleli için ise, 0.31 frekans belirlemişlerdir. Analiz ettikleri polimorfizmin süt protein oranı ve verimi ile arasında bir ilişki ($p<0.05$) bulunurken, diğer parametreler ile bir ilişkisinin olmadığını tespit etmişlerdir. Özellikle heterozigot CT genotipine sahip ineklerin yüksek protein verimine sahip olduğunu, süt protein oranı için ise, homozigot TT genotipine sahip olan ineklerin aynı özelliği gösterdiğini belirtmişlerdir. Analiz ettikleri polimorfizmin CC genotipinin ise protein oranı ve verimini düşürürken, TT genotipinin tam tersi arttırdığını bildirmişlerdir. Bu çalışmada ise, aynı SNP'nin sadece CT ve CC genotipleri tespit edildiği için, tam bir kıyaslama yapmak mümkün olmamıştır.

Pasandideh vd. [132], İran koşullarına adapte olmuş, 398 Holstein Irkı inek üzerinde *PPARGC1A* ve *OPN* genlerindeki bazı polimorfizmlerin süt verimi ve bileşenleri üzerine etkisini araştırmak için, PCR-RFLP yöntemini kullanarak yaptıkları bir çalışmada, intron 8'deki c.1892+19 T>C (rs17870811) ve 5'UTR bölgesinde c.3359 A>C, polimorfizmlerinin süt verimi, yağ verimi, yağ oranı, protein verimi ve protein oranı gibi parametreler ile ilişkisini istatistiksel olarak araştırmışlardır. Araştırma sonucunda çalıştıkları SNP'ler için popülasyonun Hardy-Weinberg dengesinden saptığını ($p<0.05$), c.1892+19 T>C (rs17870811) polimorfizminin TT, TC ve CC genotipleri için, sırasıyla genotip frekanslarının 0.12, 0.65, 0.23 olduğunu, Allel frekanslarının ise, T alleli için 0.44, C alleli için 0.56 olduğunu bildirirler iken, c.3359 A>C polimorfizmi için, AA, AC ve CC genotipleri için sırasıyla genotip frekanslarını 0.38, 0.52 ve 0.1 olarak tespit

edildiğini, A ve C allelleri için ise, allel frekanslarını 0.64 ve 0.36 olarak bildirmişlerdir. Pasandideh vd. çalışmalarında belirledikleri Allel ve genotip frekansları bu çalışmadaki bulgulara göre farklılık göstermektedir. Pasandideh vd., En küçük kareler yöntemine göre, c.1892+19 T>C polimorfizminin süt verimi ile herhangi bir ilişkisinin olmadığını ($p>0.05$), ancak yağ oranı ve protein oranı ile istatistiksel olarak ilişkili ($p<0.05$) olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca, analiz edilen SNP'lere göre popülasyonun Hardy-Weinberg dengesinde olmayışının, analiz edilen popülasyonun yıllar boyunca süt verimi ve kompozisyon parametrelerine yönelik bir seleksiyonda olabileceğinin göstergesi olduğunu bildirmişlerdir. *PPARGC1A* geni c.1892+19 T>C polimorfizminin TT genotipinin yüksek süt yağı oranı ile ilişkili ($p<0.05$) olduğunu bildirmişlerdir. Yapılan bu çalışmada ise, c.1892+19 C>T (rs17870811) polimorfizmine ait sadece heterozigot CT ve homozigot CC genotipleri tespit edilebilmiştir. İstatistiksel olarak c.1892+19 C>T polimorfizminin süt verimi ve diğer parametreler üzerinde bir etkisinin olmadığı ($p>0.05$) belirlenmiştir. Bu durumun, nispeten az sayıda örnekle çalışılmasından, yada çalışılan popülasyona genetik olarak daha önceden hedef parametre için yada başka bir parametre (buzağılama aralığı vb.) için seleksiyon yapılmış olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir [128, 132]. Diğer bir taraftan, bu yapılan çalışmada c.1892+19 C>T (rs17870811) polimorfizmi, *Bos taurus* UMD 3.1.1 genomuna göre 8. ekzonda görülürken, referans aldığımız literatürlerin bir çoğunda aynı polimorfizmin 9. ekzonda olduğundan bahsedilmiştir. Literatürün yayınlandığı tarihler ve son yıllarda ki yeni nesil dizileme teknolojilerindeki gelişmelerle birlikte, çok yüksek bir olasılıkla geçmiş çalışmalarda UMD 3.1.1'den daha eski versiyonların göz önüne alınarak çalışmış olabileceği anlaşılmaktadır [94, 129, 131, 132].

Boleckova vd. [84], Çek Fleckvieh ırkı süt sığırlarında (505 ad.), *PPARGC1A* genininde içinde olduğu 5 farklı gendeki belirli SNP'lerin süt verimi ve diğer ilgili parametreler üzerine etkisini araştırmak için gerçekleştirdikleri bir çalışmada, *PPARGC1A* geni c1892+19 T>C (rs17870811) polimorfizminin süt verimi ve bileşenleri üzerine istatistiksel olarak etkisi 500 baş hayvan üzerinde test etmişlerdir. Polimorfizmin genotip frekanslarını CC (0.64), CT (0.33), TT (0.03) olarak tespit ederken, allel frekanslarını ise, C alleli için 0.80, T alleli için 0.20 olarak tespit etmişlerdir. Ayrıca, analiz ettikleri tüm SNP'lerin Hardy-Weinberg dengesinde olduğunu ve c.1892+19 T>C polimorfizminin TT genotipinin yüksek süt verimi ($p<0.05$), yağ oranı ($p<0.01$), yağ verimi ($p<0.001$) ve

protein verimi ($p<0.05$) ile ilişkili olduğunu bildirmişlerdir. Raschia vd. [133], Arjantin de bulunan, Holstein ve Holstein x Jersey melez ineklerden oluşan bir popülasyonda, süt verimi ile ilişkilerini tespit etmek için *PPARGC1A* geni, rs109579682 (A>G), rs133669403(G>A), rs17870811 (C>T) polimorfizmlerini test etmişlerdir, ancak istatistiksel olarak süt verimi ile herhangi bir ilişki bulamamışlardır. Bu çalışmada ise, literatürdeki verilerden farklı olarak, intron 9, g.44.785.315. bazdaki G>A (rs109579682) polimorfizminin, Süt verimi ($p<0.05$), Protein oranı ($p<0.05$) ve Laktoz oranı ($p<0.05$) ile istatistiksel olarak önemli düzeyde ilişkili olduğu tespit edilirken, ekzon 9’da bulunan, rs133669403 kodlu A>G polimorfizminin ise yağ oranı ($p<0.05$) ve yağ verimi ($p<0.05$) ile istatistiksel olarak önemli düzeyde ilişkili olduğu tespit edilmiştir.

PPARGC1A genine ait diğer SNP’lerin ise istatistiksel olarak, çalışmada analiz edilmiş hiçbir parametre ile ilişkisi bulunamamıştır. Ancak, hem bu çalışmada hem de literatürden teyit edildiği üzere *PPARGC1A* geni intron 9, içerisindeki polimorfizmler, sütün bileşimi ile olası ilişkisi sebebiyle ön plana çıkmaktadır [77, 134]. Ayrıca, bildiğimiz kadarıyla, Weikard vd. [134],’nin gerçekleştirdiği başka bir çalışmada, Almanyada bulunan bir Holstein popülasyonunda, ekzon 9 da bulunan, polipeptid zincirindeki 616. aminoasidin **prolin** yerine **lösin** ile yer değiştirmesine sebep olan, rs133669403, A>G (p.Pro616Leu) polimorfizminin, süt yağı verimi ile nominal olarak anlamlı bir ilişki ($p_{\text{nominal}}>0.05$) bulunduğunu bildirirken, Gerçekleştirilen bu çalışmada, Weikard vd., teyit edecek şekilde, rs133669403 A>G (p.Pro616Leu) polimorfizminin süt yağı oranı ve verimi ile önemli derecede ilişkili ($p<0.05$) olduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte, Gerçekleştirilen çalışmada, intron 9’da tespit edilen rs109579682 kodlu (kr6:g.44.875.251. baz) A>G polimorfizminin pleotropik etki (tek bir genin yada polimorfizmin birden fazla fenotipik özelliği etkilemesi durumu) göstererek, süt verimi (kg), protein verimi (kg), ve laktoz verimi (kg) ile istatistiksel olarak ilişkili ($p<0.05$) olduğunu belirlemiş bulunmaktayız.

Literatürde *PPARGC1A* genine ait yapılan çalışmalarda genellikle intronik yada 5’ UTR (Çevrilmemiş bölge) bölgelerdeki SNP’ler olduğu öne çıkmaktadır. Genellikle intronik bölgeler, mRNA translasyonu (çevirimi) için küçük nükleer RNA(snRNA)’ları kodlayan genlerden oluşmaktadır. Ayrıca, snRNA’lar, tek genden çoklu tipte mRNA sentezini mümkün kılan, alternatif uç uça birleştirme (splicing) prosesi için elzemdirler [135].

İntronların bu fonksiyonları, *PPARGC1A* geninde proteine dönüşmeyen (kodlanmayan bölgelerin) gen bölgelerindeki polimorfizmlerin yüksek laktasyon durumu süresince, glukoz, yağ ve enerji metabolizmasını etkileyebileceğinin bir kanıtı olduğu literatürde bildirilmiştir [132, 136].

4.1.1.3 *CSN3* geninde tespit edilen SNP'ler

Süt bileşiminin yaklaşık olarak %3-5'ini oluşturan, süt proteinleri serum proteinleri ve kazeinler olarak 2 gruba ayrılırlar. İnek sütünün, protein fraksiyonunun yaklaşık %80'ini kazeinlerden meydana gelmektedir. Kazein fraksiyonunda yaklaşık %12'si κ -kazein proteinlerinden oluşmaktadır[137]. κ -kazein, yapısı ve özellikleri bakımından diğer kazeinlerden farklılık göstermektedir. Yapısal olarak fibrinojen γ -zincirine türdeş (homolog) olduğu gibi, fonksiyon olarak da benzerlik göstermektedir. κ -Kazein, süt kesilirken yada pıhtılaşırken, miçel yapılarının oluşumu süresince, dengeleyici faktör olarak görev almaktadır[138]. Kazeinler peynir üretiminde, süt içeriğindeki kazein miktarı ve bağlı konsantrasyonlarından dolayı, peynir verimini belirlemek ve koagülasyon gibi teknolojik özellikleri etkilemesi bakımından önemli oldukları için, değişik amaçlarla ve değişik türlerde olmak üzere, literatürde çok çalışılmıştır [75, 91, 104, 139, 140]. κ -kazein (*CSN3*) proteini, Sığır (*Bos taurus*) genomu, 6. Kromozom üzerinde *CSN3* geni tarafından kodlanmakta ve bu gen toplamda 5 ekzondan oluşmaktadır. Yaklaşık 13.062 bp uzunluğunda olan *CSN3* geninde, protein kodlayan genomik dizinin büyük bir kısmı ekzon 4'te konumlanmıştır. Kazein genleri, kümeler halinde kalıtıldıkları için, süt verimi ve bileşenleri gibi özelliklerin belirteç/gen destekli seleksiyonunda potansiyel bir rolleri vardır. Son yıllarda, genetik mutasyonlar ile süt verimi ve sütün diğer bileşen özelliklerini ilişkilendirmeye yönelik çalışmalar, kazein genlerindeki genetik varyasyonun, çiftlik hayvanlarının süt performans özelliklerini iyileştirmek için belirteç destekli seleksiyonda kullanımını teşvik etmiştir [89]. *CSN3* geninin allellerinin seleksiyonu, bir çok gelişmiş ülkede hayvan ıslah/seleksiyon programlarının bir parçası olmuştur [141]. Bahsedilen özelliklerinden dolayı, bu tez çalışmasında, *CSN3* geni Ekzon 4'ün, Sığır (*Bos taurus*) genomu, 6. kromozom üzerindeki g.87.390.533. baz ile 87.390.726. baz arasındaki kısmı hedef alınmıştır.

Gerçekleştirilen tez çalışmasında, hedef aldığımız *CSN3* geni ekzon 4 içerisinde, g. 87.390.576. bazda rs43703015 (C>T), g.87.390.612. bazda rs43703016 (A>C),

87.390.632. bazda rs43703017 (G>A), g.87.390.673. bazda rs110014544 (A>G) ve 87.390.681. bazda rs109787476 (A>T) tek nükleotit polimorfizmleri tespit edilmiştir. Tespit edilen bu SNP'lerden bazıları, κ -kazein proteininin aminoasit dizisinde değişikliğe sebep olmazken, bazıları da amino asit dizisinde değişime sebep olmaktadır. Bunlardan, rs43703015 kodlu C>T polimorfizmi kodon diziliminin ACC>ATC'ye dönüşümüyle, polipeptid diziliminde **threonin** yerine, **izolösin** aminoasidinin gelmesine sebep olurken, rs43703016 kodlu A>C polimorfizmin de kodon dizilimi GAT>GCT'ye dönüşümüyle, aminoasit diziliminde **aspartik asit** yerine, **alanin** aminoasidinin gelmesine sebep olmaktadır. Tespit edilen SNP'ler bir diğeri olan, rs43703017 referans numaralı G>A polimorfizmi, kodon diziliminde GGC>AGC dönüşümüyle, peptid diziliminde **glisin** yerine, **serin** aminoasidinin gelmesine sebep olurken, rs110015544 kodlu A>G polimorfizmi kodon dizilimde GCA>GCG şeklinde bir değişim meydana gelmesinde sebep olsa da, peptid diziliminde herhangi bir aminoasit değişikliğine sebep olmayacağı için, **alanin** amino asidi, polipeptid zincirindeki yerinde kalacaktır [89]. CSN3 geninde tespit edilen SNP'lerden sonuncusu olan, rs109787476 referans numaralı A>T polimorfizmi ise, kodon diziliminde meydana getirdiği ATA>AAA dönüşümüyle, peptid diziliminde **izolösinin**, **lizin**'e dönüşümüne sebep olmaktadır.

Tespit edilen bu SNP'lerin genotip frekansları; rs43703015 [TT (0.088), TC (0.423), CC (0.489)], rs43703016 [CC (0.082), CA (0.423), AA (0.495)], rs43703017 [AA (0.830), AG (0.165), GG (0.005)], rs110014544 [GG (0.082), GA (0.440), AA (0.478)] ve rs109787476 [TT (0. 082), TA (0.440), AA (0.478)] olarak tespit edilmiştir. Aynı SNP'lerin allel frekanları ise, rs43703015 [T (0.359), C (0.641)], rs43703016 [C (0.355), AA (0.645)], rs43703017 [A (0.854), G (0.146)], rs110014544 [G (0.363), A (0.637)] ve rs109787476 [T (0.363), A (0.637)] olarak belirlenmiştir. CSN3 geninde tespit edilen bu SNP'lerin süt verimi ve bileşenleri ile olan ilişkilerini tespit etmek için en küçük kareler ortalamalarına göre analiz edilmeden önce, istatistiksel olarak popülasyon içerisinde kendisini temsil etme gücü olmayan (az sayıdaki) genotipler analize dahil edilmemiştir. Bu amaçla rs43703017 A>G polimorfizminin GG (1) genotipi analiz edilecek hedef popülasyondan çıkarılmıştır. En küçük kareler yöntemi ile yapılan varyans analizi sonuçlarına göre, CSN3 geninde tespit edilen SNP'lerden rs43703015'in TT genotipi (433±53.3 kg), rs43703016'nın CC genotipi (413±55.4 kg), rs110014544' ün GG genotipi (418±55.5 kg) ve rs109787476'nın TT genotipi (418±55.3 kg) yüksek süt yağ

verimi ile ilişkili olarak ($p<0.05$) tespit edilmiştir. *CSN3* geninde belirlediğimiz SNP'lerden bir diğeri olan rs43703017'nin AA genotipi (% 3.69 ± 0.19) yüksek süt yağ oranı ile ilişkili ($p<0.05$) olduğu belirlenmiştir. Bunların dışında SNP'lerin başka hiçbir parametre ile istatistiksel olarak bir ilişkileri bulunmamıştır.

Fontanesi vd. [86], Yaklaşık 800 civarında İtalyan Holstein ırkı inekten oluşan bir popülasyonda, bir SNP panelinde, ekzon 4 üzerinde bulunan rs43703015 C>T polimorfizminin süt verim, yağ verimi, protein verimi, yağ oranı ve protein oranı parametreleri üzerine etkilerini test ettikleri bir çalışmada, SNP'nin protein oranı ($p<0.05$) dışında, çalışılan diğer parametreler ile istatistiksel olarak bir ilişkisinin ($p>0.05$) olmadığını, polimorfizmin C allelinin protein verimini düşürücü etkisinin olduğunu bildirmişlerdir. Bu gerçekleştirilen çalışmada ise, Fontanesi vd. ni teyit edecek yada kıyaslanacak bir sonuç alınamamıştır.

Alim vd.[89], 507 baş Çinde yetiştirilen Holstein ırkı ineklerden oluşan bir popülasyonda, sanger dizileme ile *CSN3* ekzon 4 üzerinde, g. 10888 T>C (rs43703015), g.10924 C>A (rs43703016), g.10944 A>G (rs43703017), g.10985 G>A (rs110014544), g.10993 T>A (rs109787476) SNP'leri ile, intron 4 üzerinde g.12703 G>T polimorfizminin, süt verimi, yağ verimi, yağ oranı, protein oranı ve protein verimi üzerine etkileri ve bu parametreler ile ilişkilerini belirlemek için gerçekleştirdikleri bir çalışmada, tespit ettikleri tüm polimorfizmlerin Hardy-Weinberg Dengesinde olduğunu bildirmişlerdir. En küçük kareler yöntemine göre, süt verimi ile çok yüksek düzeyde ($p<0.0001$) ilişkili olarak tespit edilen g.10944 G>A (rs43703017) polimorfizminin AA genotipi süt verimini arttırırken, GG genotipinin süt verimini düşürdüğü bildirilmiştir. Bu çalışmada tespit edilen aynı SNP'nin istatistiksel olarak süt verimi ile bir ilişkisi bulunmasa da, AA genotipinin süt verimi ($8739\pm214\text{kg}$) yüksek olsa bile, en yüksek süt verimini ($9021\pm480\text{kg}$) heterozigot AG genotipinin sağladığını gözlemlemekteyiz. Alim vd., aynı SNP'nin süt verimi dışında, süt yağ verimi, protein verimi ile ilişkisinin olduğunu bildirmişlerdir.

Alim vd. [91] başka bir çalışmada ise, 752 baş Çinde yetiştirilen Holstein ırkı ineklerin olduğu bir popülasyonda, *CSN3* geni ekzon 4 üzerindeki g.10888 T>C (rs43703015) polimorfizmi ile süt verimi ve bileşenleri arasındaki ilişkiyi istatistiksel olarak belirlemeye çalışmıştır. SNP'nin genotip frekanslarını, CC(0.7286), CT(0.2499) ve TT

(0.0214) olarak tespit ederken, allellerin frekanslarını ise, C(0.8536) ve T(0.1464) olarak tespit ederek, popülasyonun Hardy-Weinberg dengesinde olduğunu bildirmiştir. Diğer bir taraftan ise, rs43703015 polimorfizminin, istatistiksel olarak sadece süt protein verimi ve protein oranı ile ilişkili ($p < 0.05$) olduğunu bildirmişlerdir. Alim vd., polimorfizmin TT genotipinin yüksek protein verimine sahip olduğunu vurgulamıştır. Bu çalışmada da her ne kadar istatistiksel olarak önemli bir sonuç bulunmasa da Alim vd.'ni teyit edecek şekilde TT genotipi (9590 ± 655) en yüksek süt verimine sahiptir. Ayrıca, X^2 testi p değerinin, $p > 0.05$ olmasının, *CSN3* genindeki bu SNP'ler üzerindeki seleksiyon baskısının çok güçlü olmadığını bildirilmişlerdir [142].

Viale vd.[98], İtalyan Holstein-Fresian popülasyonunda, belirli genlerde bulunan spesifik belirteçlerin sütün verimi ve teknolojik özellikleri üzerine etkisini, bir DNA mikroarray paneli ile analiz ederek yaptıkları bir çalışmada, *CSN3* geni ekzon 4 üzerinde konumlu rs43703015 (C>T) nolu SNP'nin süt protein oranı üzerinde istatistiksel olarak negatif etkili (-0.024% , $p < 0.05$), süt ve yağ verimi üzerinde de istatistiksel olarak kanıtlanamasa da nominal olarak negatif etkilerinin ($p < 0.1$) olduğunu tespit etmişlerdir. Aynı çalışmada rs43703017 (G>A) nolu SNP'nin ise sadece protein oranı üzerinde etkili olduğunu ($p < 0.05$) ve bu etkinin negatif olduğunu bildirmişlerdir. Kucerova vd.[143], aynı SNP'nin Çek Fleckvieh ırkı ineklerde, süt verimini düşürücü etkisi olduğunu bildirmiştir.

Alim vd.[89]'nin tespit ettiği SNP'lerden g. 10888 T>C (rs43703015), g.10924 C>A (rs43703016), g.10944 A>G (rs43703017), g.10985 G>A (rs110014544), g.10993 T>A (rs109787476)'nın süt yağ oranı (%) ile ilişkili ($p < 0.05$) olduğunu, bu SNP'lerden rs43703015'in TT genotipi, rs43703016'nın CC genotipi, rs43703017'nin GG genotipi, rs110014544'ün GG genotipi ve rs109787476'nın TT genotipleri süt yağ oranını yükseltici etki gösterdikleri bildirilmiştir. Benzer şekilde bu gerçekleştirilen bu tez çalışmasında, yağ oranı ile ilgili istatistiksel bir ilişki bulunmasa da, *CSN3* geninde, rs43703017 hariç, tespit edilen diğer SNP'lerin aynı genotiplerinin Alim vd. yağ oranında bulunduğu sonuçlarla benzer olarak, yüksek yağ verimine sahip oldukları anlaşılmıştır. Bununla birlikte aynı SNP'lerin istatistiksel olarak yüksek süt yağ verimi ile ilişkili ($p < 0.05$) oldukları tespit edilmiştir. Alim vd. ekzon 4 üzerinde g.10944 G>A (rs43703017) hariç, tespit ettikleri tüm SNP'lerin süt protein üzerinde etkili olarak

bildirirken, bu çalışmada ise, rs43703017'nin sadece süt yağ verimi ile ilişkili ($p<0.05$) olduğu belirlenmiştir.

Raschia vd. [133], daha önceden bahsedilen bir çalışmada, toplamda 1643 (1156 Holstein ırkı, 462 Holstein x Jersey melezi) inekten oluşan bir popülasyonda, sanger dizileme ile oluşturdukları bir SNP panelinde bulunan *CSN3* geni ekzon 4 üzerinde bulunan rs43703015 (T>C) ve rs43703017 (A>G) polimorfizmlerinin istatistiksel olarak 305 günlük süt verimi üzerine etkisini analiz etmişler ve bahse konu olan SNP'lerin, süt verimi ile istatistiksel olarak bir ilişkisinin olmadığını bildirmişlerdir.

Bartonova vd. [144], 152 baş Çek Fleckvieh ırkı inekten oluşan bir popülasyonda PCR-RFLP tekniği ile, *CSN3* genotipleri ile süt verimi, yağ oranı ve protein oranı ile ilişkilendirmek için gerçekleştirdikleri bir çalışmada, *CSN3* genotiplerinin süt verimi ile bir ilişkisi tespit edilse de, ne süt yağ oranı nede süt protein oranı ile bir ilişkisinin tespit edilemediğini bildirmişlerdir.

Meredith vd. [145], İrlanda da bulunan toplamda 563 baş Holstein-Friesian ırkı inekten oluşan bir popülasyonda, bir SNP mikroarray paneli(54.001 SNP, Illumina BovineSNP50) ile, panelde bulunan SNP'ler ile süt verimi, süt yağ verimi, süt protein verimi, süt protein oranı, süt yağ oranı ve somatik hücre skoru ile ilişkiyi istatistiksel olarak analiz ettikleri bir çalışmada, *CSN3* genine ait hiçbir SNP'nin istatistiksel olarak, analiz edilen parametreler ile bir ilişkisinin olmadığını bildirmişlerdir.

Literatürde, *CSN3* geni ile ilgili, farklı araştırma gruplarının, birbiri ile çelişkili farklı sonuçlar tespit etmesinin, farklı sığır ırklarında arka plan genleri ile olan etkileşimden yada yapılan çalışmaların bazılarında tekli belirteçli ilişkilendirme testi yerine çok belirteçli ilişkilendirme testlerinin yapılmasından kaynaklanabileceği bildirilmiştir. Alim vd. [89], *CSN3* geni için gerçekleştirdikleri çalışmada kullandıkları popülasyondaki, Çinli Holstein ırklarının orjinin, son bir asırdaki, Avrupalı yada Amerikan safkan Holstein Boğaları ile, Çin yerel ırkı olan Sarı öküzün melezlenmesinden kaynaklandığını, bu sebeple arka plan gen etkileşimlerinden dolayı, değişik popülasyonlarda veya ırklarda genetik mutasyonların etkilerinin farklılaşabileceğini vurgulamışlardır. Gerçekleştirilen bu çalışmada her ne kadar, popülasyonun tamamı Holstein olarak, bilinse de, kesin teyit

edilmiş bir bilgi bulunmamakla birlikte, bu hayvanlar hastalıklara dirençlilik yada süt veriminin dışında etinden faydalanma gibi amaçlarla başka ırklarla (Simmental vb.) melezlenmiş olma ihtimalleri de göz ardı edilmemelidir. Diğer bir taraftan, literatürde yapılan genom çapında ilişkilendirme çalışmalarının (GWAS-Genome Wide Association Studies) bir çoğunda, ön deneme aşamasının tek belirteç analizi ile sınırlı olduğu bildirilmiştir [146]. Genellikle analizlerde çok sık uygulanan, çok aşamalı/çoklu testler, işlemsel yükü minimize etmek için kullanılmaktadır. Tek belirteçli testler, her ne kadar, uygulaması kolay ve hızlı, basit bir çoklu test ayarlaması içeren ve yorumlaması genel olarak basit testler olsa da, çok belirteçli testlerin geniş bir kullanım alanı vardır. Ancak, tek belirteçli testlere göre, analizin ön deneme aşaması sınırlıdır. Klasik çoklu testlerin büyük bir sorunu ise, çok belirteçli testlerin gücünü, tek belirteçli testlerle kıyaslandığında benzer yada daha düşük hale getiren, yüksek serbestlik derecesidir [147]. Genellikle, ilişkilendirme testlerinin etkinliğinin, test çokluğu, serbestlik derecesi ve risk ile işaretlenen SNP'ler arasındaki korelasyon modeli gibi bir çok faktöre bağlıdır. Ancak, belirli çoklu belirteçli testlerin kullanımı halen tavsiye edilmektedir [89]. Gerçekleştirilen çalışmada, ilerleyen bölümlerde açıklayacağımız üzere, konvasiyonel çoklu lineer testlerdeki çoklu korelasyon probleminden dolayı (multicollinearity), MARS algoritmasını kullanmış bulunmaktayız.

4.1.1.4 *ATF3* geninde tespit edilen SNP'ler

ATF3 (Activating transcription factor 3/ aktive edici transkripsiyon faktörü 3) geni, aktive edici transkripsiyon faktörler ve cAMP (döngüsel adenosin monofosfat) duyarlı element bağlayıcı (CREB) protein ailesinin bir mensubu olan, *ATF3* transkripsiyon faktörü proteinin sentezinden sorumludur[148]. *ATF3* geninin lipid metabolizması, glikoprotein yığılması, apoptoz, süt yağı oluşumu ve meme epitel hücre gelişimiyle ilgili olan, epitel hücre yenilenmesinde rol oynadığı bildirilmiştir[149]. Literatürde daha önceden yapılan GWAS çalışmalarında, *Bos taurus* genomu 16. kromozom üzerinde 72.820.025 ile 72.832.974. bazlar arasında yer alan, *ATF3* geninin, aynı kromozom üzerinde, 74.741.746. bazda yer alan süt protein oranı ile önemli ilişkileri ($p < 3.58E-0.7$) olan, ARS-BFGL-NGS-70836 kodlu SNP'ye 1.9 Mb, 76.091.078. bazdaki, süt yağ oranı ($p < 6.46E-07$) ve protein oranı ($p < 8.33E-09$) ile ilişkili ARS-DFGL-NGS-85980 kodlu SNP'ye 3.3 Mb uzaklıkta olduğu için, literatürde yapılmış çok fazla bir çalışma olmamasına rağmen,

süt yağ oranı ve protein oranı ile ilişkili olabilecek potansiyel SNP'lere sahip olabileceği bildirilmiştir [150].

Bu tez çalışmasında *ATF3* geni 3'UTR bölgesinde konumlanmış olan rs210174407 kodlu (kr16:72.820.542. bazdaki) T>C, rs209048412 kodlu (kr16:72.820.592. bazdaki) G>C, rs210941907 (kr16:72.820.637. bazdaki) G>A polimorfizmleri tespit edilmiştir. Tespit edilen bu SNP'lerin genotip frekansları rs210174407 için [CC (0.824), CT (0.159), TT (0.016)], rs209048412 için [CC (0.824), CG (0.159), GG (0.016)] ve rs210941907 [AA (0.824), AG (0.159), TT (0.016)] tespit edilmiştir. Aynı SNP'ler için allel frekansları ise, rs210174407 için [C (0.848), T (0.152)], rs209048412 için [C (0.848), G (0.152)] ve rs210941907 [A (0.848), T (0.152)] olarak belirlenmiştir. *ATF3* geninde tespit edilen SNP'lerin süt verimi ve bileşenleri üzerine etkilerini tespit etmek için, en küçük kareler yöntemine göre varyans analizi yapılmıştır. Varyans analizi öncesi, her bir SNP'den istatistiksel olarak temsil gücü zayıf olan genotipler elenmiştir. Ancak, yapılan varyans analizi soncunda *ATF3* geninde çalışılan SNP'lerin süt verimi ve bileşenleriyle ilgili parametreler ile istatistiksel olarak önemli bir ilişkisi ($p>0.05$) bulunamamıştır.

Han vd. [97], yaklaşık 1093 baş Çinli Holstein ırkı inekten oluşan bir popülasyonda, literatürde ilk defa, iki laktasyon boyunca *ATF3* ve *CDKN1A* genlerinde olması muhtemel tek nükleotit polimorfizmlerinin, süt verimi ve bileşenleri ile olan ilişkisini açığa çıkarmak için yaptıkları bir çalışmada, ayrıca bu çalışmada da tespit edilen 3'UTR bölgesinde bulunan SNP'ler olan olan, rs210174407 kodlu T>C, rs209048412 kodlu G>C, rs210941907 G>A polimorfizmlerinin süt verimi, süt yağ verimi ve protein verimi ile ilişkilerinin bulunduğu tespit etmişlerdir. Bu SNP'lerden c.*640 G>A (rs210941907), ilk laktasyonda süt verimi ($p<0.001$), yağ verimi ($p<0.05$) ve protein verimi ($p<0.001$) ile ilişkileri tespit edilse bile, 2. laktasyon da ise hiçbir parametre ile bir ilişki tespit edilmemiştir. Han vd. nin tespit ettiği bir diğer SNP'olan c.*685 G>C (rs209048412) ise, ilk laktasyonda sadece protein verimi ile ilişkili ($p<0.05$) olarak tespit edilirken, 2.laktasyonda, süt verimi ($p<0.001$), yağ verimi ($p<0.05$) ve protein verimi ($p<0.05$) ile ilişkili olarak belirlenmiştir. 3'UTR'de bulunan SNP'lerden bir diğeri olan, c.*735 (rs210174407) T>C polimorfizminin ise, ilk laktasyonda herhangi bir parametre ile ilişkileri bulunmazken, 2. laktasyonda süt verimi ($p<0.001$), yağ verimi ($p<0.05$) ve protein verimi ($p<0.05$) ile ilişkili olarak tespit edildiği bildirilmiştir.

Bu gerçekleştirilen çalışmada ise, yukarıda Çinli Holstein ırkı ineklerde, süt verimi, yağ verimi ve protein verimi ile ilişkilerinin olduğu bildirilen SNP'lerin, bu analiz edilen hiçbir parametre (süt verimi ve bileşenleriyle ilgili) ile bir ilişkisi bulunamamıştır. Benzer bir durumu ise, Han vd. çalışmalarında yaşamışlardır. Tespit edilen SNP'lerin bazıları ilk laktasyonda süt verimi ve bileşenleri ile ilgili parametrelerle ilişkiliyken, 2. laktasyonda, herhangi bir ilişki göstermemişlerdir. Han vd.[97], ineklerin 2.laktasyonda, ilk laktasyona göre fizyolojik durumlarının farklı olduğunu, normal koşullarda 2. laktasyonda genellikle ineklerin daha yüksek süt verimi gösterdiğini bildirmişlerdir. Bulgularında ki bu anormalliğin, ilk laktasyonda popülasyonda çalışılan hayvan sayısı 1093 iken, 2. laktasyonda sadece yaklaşık 324 inek laktasyonun tamamladığı için, 2. laktasyondaki popülasyon sayısının 769 hayvana düştüğü, bu durumun ise, verinin dağılımını etkileyerek, istatistiksel anlamlılık üzerinde etkili olmuş olabileceğini bildirmişlerdir. Benzer şekilde bu çalışmada, istatistiksel anlamlılığı sağlayacak seviyede popülasyon sayısı (her ne kadar popülasyon Hardy-Weinberg dengesinde olsa bile) yeterli gelmemiş olabileceği için, *ATF3* geninde analiz edilen SNP'lerin etkilerini ölçememiş yada anlamlandırmamış olabiliriz.

4.1.1.5 *LGB (PAEP)* geninde tespit edilen SNP'ler

Sütün, majör serum proteinlerinden biri olan β -laktoglobulin genellikle geniş getiren hayvanların sütünde bulunan bir protein iken, kemirgenler, tavşan, deve ve insan sütünde bulunmamaktadır [75, 139]. β -laktoglobulin proteini, sığır genomu kromozom 11 üzerinde 103.301.488. baz ile 103.306.381. baz arasında yer alan, toplamda 6 ekzon, 6 intron, 3'UTR ve 5'UTR bölgelerinden meydana gelen yaklaşık 4893 bp uzunluğunda olan, *LGB* veya diğer adıyla *BLG* geni tarafından kodlanmaktadır. Sığır genomunda yapılan son düzenlemeler (*Bos taurus*, UMD 3.1.1 ve ARS-UCD1.2 versiyonlarına göre) neticesinde, β -laktoglobulin proteini kodlayan genin ismi *PAEP* (Progestagen-associated endometrial protein, NCBI: AC_000168.1, Ensembl: ENSBTAG00000014678) olarak revize edilmiştir. İnekütünün normal pH aralığında meydana gelen β -laktoglobulin, amfipatik yani hem hidrofilik hemde hidrofobik kısımları olan, aşırı asit pH'lara dirençli, 36 kDa moleküler ağırlıklı çift zincirli bir proteindir. Moleküler ağırlığı 18 kDa olan tek bir polipeptidinin zinciri 162 aminoasit kalıntısından oluşmaktadır. β -laktoglobulin proteinin 15 alleli olmakla birlikte, yaygın olanları A, B, C ve D allelleri iken, en sık

rastlanılan literatürde en çok çalışılmış olanları ise A ve B allelleridir [151]. β -laktoglobulin proteinin A ve B allelleri, polipeptid dizisindeki iki aminoasidin farklılaşması ile birbirinden ayırt edilebilmektedir. β -laktoglobulin A alleli, aminoasit zincirinde 80. aminoasidin **asparajin** olmasına sebep olan, ekzon 3 üzerinde konumlu kr11:g.103.303.475. bazdaki G>A (rs110066229) polimorfizminin A alleli ile, aminoasit zincirinin 134.aminoasidinin **valin** olmasına sebep olan, ekzon 4 üzerinde konumlu kr16:g.103.304.757. bazdaki C>T (rs109625649) polimorfizminin T alleleline sahiptir. Proteinin B allelli ise, polipeptid zincirindeki 80. aminoasit kalıntısının **glisin** olmasına sebep olan ekzon 3'teki G>A polimorfizminin G alleli ve 134.aminoasit kalıntısının **alanin** olmasına sebep olan, ekzon 4 üzerindeki C>T polimorfizminin C alleleline sahiptir [86, 139]. Biyolojik fonksiyonları tam olarak bilinmese de, inek meme bezlerinde fosfat metabolizması ile yağ asitleri ve retinolün barsağa taşınımında rol oynayabilecekleri bildirilmiştir [1, 152, 153]. β -laktoglobulin geninin içerdiği polimorfizmler sebebiyle süt verimi ve bileşenlerini etkileyebileceği bildirilmiştir [91].

Bu çalışmada, *PAEP* geni ekzon 3 üzerinde bulunan rs110180463 C>T ve rs110066229 G>A polimorfizmleri YND ile tespit edilmiştir. Bu SNP'lerin genotip frekansları rs110180463 için [CC (0.225), CT (0.556), TT (0.209)] ve rs110066229 için [GG (0.198), GA (0.533), AA (0.269)] olarak belirlenmiştir. Allel frekansları ise, rs110180463 için [C (0.508), T (0.492)] ve rs110066229 için [G (0.464), A (0.536)] olarak tespit edilmiştir. *PAEP* geninde tespit edilen bu SNP'lerin süt verimi ve bileşenleri üzerine etkilerini analiz etmek için gerçekleştirilen en küçük kareler yöntemine göre varyans analizi yapılmıştır. Varyans analizi sonucunda, *PAEP* genindeki polimorfizmler ile süt verimi ve bileşenleri arasında her hangi bir istatistiksel ilişki tespit edilmemiştir ($p>0.05$).

Ganai vd. [75], Danimarka da yetiştirilen Holstein ırkı bir popülasyonda *LGB(PAEP)* geninin intronik, ekzonik ve promotör bölgelerinde tespit ettikleri, toplamda 50 farklı SNP'nin süt β -laktoglobulin konsantrasyonuna etkisini istatistiksel olarak analiz etmişlerdir. Ekzon 3 üzerinde bulunan rs110180463 (g.1770 C>T) ve rs110066229 (g.1772 G>A) polimorfizmlerinin Hardy-Weinberg dengesinde olmadıklarını bildirilmiştir. Literatürde, g.1772 G>A polimorfizminin A allelinin, daha önceden de bahsedildiği üzere β -laktoglobulin proteinin A varyantının oluşmasına sebep olduğu ve

bu proteinin A varyantının B varyantına göre yüksek β -laktoglobulin seviyelerine sebep olduğu, dolayısıyla kısmen protein konsantrasyonunu yükselttiği bildirilmiştir [154]. Ganai vd. de bu bulguyu teyit edecek şekilde proteinin A varyantının yüksek β -laktoglobulin konsantrasyonuna sebep olduğunu bildirmiştir. Bu protein varyantları arasındaki, süt β -laktoglobulin konsantrasyon farklılıklarının, A allelinin/varyantının yüksek transkripsiyon oranlarına (meme dokusu içindeki yüksek mRNA kopya sayısından dolayı) yada üretilen mRNA'ların yüksek stabiliteye sahip olmasından kaynaklandığı bildirilmiştir [155, 156]. Bu çalışmada ise, rs110066229 G>A polimorfizminin, istatistiksel olarak bir etkisi bulunmamakla birlikte, polimorfizmin genotiplerinin süt protein oranına, sayısal değer olarak gözle görülebilecek bir farklılığın olmadığı anlaşılmıştır.

Fontanesi vd. [86], daha önceki bölümlerde bahsedilen bir çalışmada, İtalyan Holstein ırkı inekten oluşan bir popülasyonda, hazırladıkları bir SNP panelinde, bu çalışmada da tespit edilen, *PAEP* geni ekzon 3 (kr11:g.103.303.475. baz) üzerinde konumlu rs110066229 kodlu G>A polimorfizminin G allelinin frekansını 0.515 olarak tespit etmiş ve polimorfizmin G allelinin süt verimi ($p=0.00689$) ve protein verimi ($p=7.08E-05$) üzerinde olumsuz etkisinin olduğunu istatistiksel olarak tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Analiz ettikleri diğer parametrelerden, yağ verimi, yağ oranı ve protein oranı ile istatistiksel olarak herhangi bir ilişki tespit etmemişlerdir.

Chessa vd.[90], İtalyan Simmental ırkı ineklerden (477) oluşan bir popülasyonda, *PAEP* geni 5' UTR bölgedeki, rs41255679 (G>C), Ekzon 3'teki, rs110066229 (A<G) ve Ekzon 4'teki rs110641366 (T>C) SNP'lerinin, süt verimi, süt bileşenleri ve üreme ile ilgili parametrelere etkilerini istatistiksel olarak analiz etmişler ve bu SNP'lerin pleotropik etki gösterdiğini, SNP'lerin protein verimi, yağ verimi ve fertilité ile ilişkili olduğunu bildirmişlerdir.

Alim vd. [91], *CSN3* geni ile ilgili bölümde bahsedilen bir çalışmada, 752 baş Çinde yetiştirilen Holstein ırkı hayvandan oluşan bir popülasyonda, *LGB* geni ekzon 3 üzerinde konumlu olan, rs110180463 kodlu g.1810 C>T polimorfizminin, genotiplerinin frekanslarını CC(0.313), CT(0.4929), TT(0.194) olarak tespit ederken, allellerin frekanslarını ise, C(0.5595) ve T(0.4405) olarak tespit etmişlerdir. Bahse konu olan SNP

için popülasyonun Hardy-Weinberg dengesinde ($p>0.05$) olduğunu bildirmişlerdir. Popülasyonun Hardy-Weinberg dengesinde olmasının, bu polimorfizm için seleksiyon baskısının yeterli güçte olmadığı anlamına geldiğini bildirmişlerdir. Bununla birlikte, g.1810 C>T polimorfizminin mRNA (NCBI: NC_007309) dizisinin 277 pozisyonunda olduğunu ve β -laktoglobulin peptid dizisinde herhangi bir aminoasit değişikliğine sebep olmadığını (**Asparajin**, AAC>AAT) bildirmişlerdir. Alim vd. SNP'nin süt verimi ve bileşenleri ile olan ilişkisini tespit etmek için, en küçük kareler yöntemine göre yaptıkları analiz sonucunda, g.1810 C<T polimorfizminin süt verimi, süt yağ verimi ve protein verimi ile ilişkili ($p<0.01$) olduğunu bildirmişlerdir. Ancak, Alim vd. β -laktoglobulin geni ile ilgili gerçekleştirilen ilk çalışma olan Ganai vd. çalışmasındaki genotip frekanslarının Hardy-Weinberg dengesinde olmadığını, ve çalışmanın sonuçları yönüyle kendi çalışmaları ile çeliştiğini bildirmiştir. Bu çalışmada ise, her ne kadar istatistiksel olarak, süt verimi ve bileşenleri ile ilgili parametreler ile bir ilişki ($p>0.05$) tespit edilmese de, rs110180463 kodlu C>T polimorfizminin genotip ve allel frekanslarının, Alim vd. [91] bulduklarıyla kısmen benzerlik gösterdiğini söyleyebiliriz. Alim vd. literatürdeki, *CSN3* ve *LGB* geni ile ilgili paradoksal sonuçların; örnek sayısının yetersizliği, farklı amaçlarla veya başka genlere spesifik uzun süreli ıslah yapılması, popülasyondaki hayvanların seleksiyon hikayesi ve baba soyunun etkisi gibi sebeplerle açıklanabileceğini bildirmişlerdir.

4.1.2. MARS Algoritması Kullanılarak Genetik Varyantlar ile Süt Verimi ve Diğer Parametreler Arasındaki İlişkinin Tespiti

Parametrik olmayan bir regresyon tekniği olan MARS veri madenciliği algoritması ile YND (Yeni Nesil Nükleik Asit Dizi Analizi/ Next Generation Sequencing) ile tespit edilen SNP'ler ile Süt verimi (kg), süt yağ oranı (%), süt yağ verimi (kg), süt protein oranı (%), süt protein verimi (kg), süt laktoz oranı (%), süt laktoz verimi (kg), yağsız kuru madde (%) ve yoğunluk (kg/m^3) parametreleri arasındaki etkileşimi tahmin etmek için, bu parametrelerin her biri için, ayrı ayrı model tahmin denklemi oluşturulmuştur. Çalışmada, MARS algoritmasının doğruluğunu tespit etmek için, GCV (Genelleştirilmiş Çapraz Doğrulama) katsayısı, Belirleme katsayısı (R^2), düzeltilmiş belirleme katsayısı (R^2_{adj}), SD_{ratio} ve gerçek veriler ile oluşturulan modele özgü parametre arasındaki Pearson

korelasyon katsayısı (r) gibi model değerlendirme kriterleri göz önünde bulundurulmuştur. MARS model sonuçları yorumlanırken, GCV değerleri ile diğer uyum iyiliği kriterlerinin düşük olması, özellikle GCV değerinin sıfıra yakın olmasına, R^2 , düzeltilmiş R^2 ve Pearson korelasyonun yüksek olmasına dikkat edilmiştir [57, 58]. Diğer taraftan analiz edilen her parametre için, analiz edilen tahminleyicilerin (predictor) önem dereceleri tablo halinde, her bir parametre için bulgular kısmında gösterilmiştir. Bildiğimiz kadarıyla, gerçekleştirilen bu çalışma, SNP verileri ile süt verimi ve bileşenleriyle ilgili özelliklerin ilişkilendirilmesi amacıyla MARS algoritmasının kullanılmış olması yönüyle literatürde bir ilktir. Ayrıca, bu çalışmada SNP verilerini nümerik olarak değil (1, 2, 3, ...), nominal (kategorik) olarak, her bir SNP'nin genotipi (WT(yabanıl tip), MUT(mutant), HET(heterozigot)) ayrı bir faktör olarak algoritmaya tanıtılmıştır [157]. Normalde bu algoritmayla, backward pruning (geriye budama) ile model oluşturulurken ceza (penalty) değerinin 2, 3 ve 4 olarak tavsiye edilirken [70], yapılan denemeler sonucunda iyi genelleme yeteneklerine bir MARS modeli bulmak için, algoritma içerisinde geriye budama prosesinin kapanmasına neden olan, -1 değeri tercih edilmiştir [71]. Böylece algoritmanın varsayılan modellerinden daha küçük bir MARS modeli oluşturulmuştur [57]. Modelde bulunan bağımlı değişkenin, bağımsız değişkenlerdeki değişimi daha yüksek düzeyde açıklayabilmesini sağlamak için, tıpkı general lineer modelde olduğu gibi, SNP verileriyle birlikte, farklı çiftlikleri kategorize eden (**çevre= 1, 2, 3**) ve **Laktasyon** (2. laktasyonda olan bazı hayvanlardan dolayı, (**1, 2**)) bağımsız değişken olarak MARS modeline dahil edilmiştir. Daha önceden bahsedildiği üzere, Friedman [69], gerçekleştirilen çalışmalar sonucunda MARS algortması ile oluşturulan modellerde, d (degree=derece) değerinin, $2 \leq d \leq 4$ aralığında olduğunu bildirmiş ve etkileşimli modellerde düzeltilmiş R^2 bir etkileşimli modellerde bir değerlendirme ölçütü olarak tavsiye etmiştir. Ayrıca, Orhan vd., etkileşim terimleri içeren bir modelin sadece düzeltilmiş R^2 değerleri yüksek ise tercih edilebileceğini vurgulamıştır[11]. Bu sebeple, Friedman'ın belirttiği aralıklarda yapılan testler sonucunda, süt verimi (kg), yağ oranı(%), yağ verimi (kg), protein verimi(kg), laktoz verimi(kg), yağsız kuru madde oranı (%), yoğunluk parametreleri için 2'li etkileşimli ($d=2$) modellerini; protein oranı (%) için 3'lü etkileşimli($d=3$) modeli; laktoz oranı için ise, 4'lü etkileşimli ($d=4$) modeli, diğerlerine göre daha yüksek düzeltilmiş R^2 değerleri olduğu için tercih etmiş bulunmaktayız.

Süt verimi (kg) parametresi ile SNP verileri arasındaki ilişkiyi tespit etmek için oluşturduğumuz model, 137 temel fonksiyondan (Tablo 3.3.) oluşmaktadır. Tablo 3.21.'de verilen süt verimi için oluşturulan modele ait R^2 (0.951), düzeltilmiş R^2 (**0.921**), GCV(**1.72**), Pearson korelasyonu (0.975) değerleri ve diğer uyum iyiliği kriterleri, modelin yüksek doğrulukta olduğunu ve modelin önemli ($p < 2.2e-16$) göstermektedir. Model içerisindeki bağımsız değişkenlerin, süt verimi (kg) üzerine olan etkileri, Tablo 3.4.'de sıralanmıştır. Bu SNP'lerden PPARGC1A geni Ekzon 9'a bulunan-rs133669403 polimorfizmin GG genotipinin (**PPARGC1A_2 WT (GG)**) %100 bağıl önemlilikle süt verimi (kg) üzerinde etkili olduğu anlaşılmaktadır. Ayrıca, aynı genin intron 9'da bulunan rs109579682 polimorfizminin GG genotipinin (**PPARGC1A_1 WT(GG)**) %95.4 bağıl önemlilik ile süt verimi (kg) üzerinde etkili olduğu görülmektedir. Süt verimi için elde edilen MARS algoritmasının faktör önem sıralaması sonuçlarına göre *PPARGC1A* geni rs133669403 kodlu SNP'nin GG genotipinin (8795±201 kg) yüksek süt verimi ile ilişkili olduğu ve sayısal değer olarak en küçük kareler yöntemiyle uyumlu olduğu anlaşılmıştır. Diğer bir taraftan, %95.4 bağıl önemlilik ile, ikinci önemli SNP genotipi olan, rs109579682 polimorfizminin GG genotipide (8461±245 kg) en küçük kareler yöntemi ile uyumlu olmasa da, algoritma tarafından yüksek süt verimi ile ilişkili olarak tespit edilmiştir. Her ne kadar, bu durum Viale vd [98]'nin bulgularını teyit edecek nitelikte olsa da, Tablo 3.2.'de gösterilen en küçük kareler yöntemi ile elde edilen sonuçlarla çelişmektedir. Bunu sebebi ise, MARS algoritmasının temel fonksiyon uzayında, birbiriyle çok yönlü olarak korelasyon gösteren bağımsız değişkenlerin (Çoklu Doğrusal Bağlantı=multicollinearity), algoritma tarafından model oluşumu sırasında elenmesidir [56, 57].

Süt yağ oranı (%) ile SNP verileri arasındaki ilişkiyi tespit etmek için oluşturduğumuz MARS modelin, 69 temel fonksiyondan oluştuğu Tablo 3.5.'de verilmiştir. Diğer taraftan, Tablo 3.21.'de verilen süt yağ oranı (%) için oluşturulan modele ait R^2 (0.955), düzeltilmiş R^2 (**0.944**), GCV(**0.248**), pearson korelasyonu (0.977) değerleri ve diğer uyum iyiliği kriterleri, modelin yüksek doğrulukta ve önemli ($p < 2.2e-16$) olduğunu göstermektedir. Oluşturulan model içerisindeki bağımsız değişkenlerin, süt yağ oranı (%) üzerine olan etkilerinin sıralandığı, Tablo 3.6.'deki bulgulara göre, *GHR* geni intron 8'de tespit edilen rs382888926 kodlu SNP'nin AA genotipi (**GHR_1WT(AA)**) %90.7 bağıl önemlilik ile en etkili olduğu belirlenmiştir.

Süt yağ verimi (kg) ile SNP verileri arasındaki ilişkiyi tespit etmek için oluşturduğumuz MARS modeli ise toplamda 23 temel fonksiyondan (Tablo 3.7.) oluşmakta olup, model içerisindeki tüm temel fonksiyonlar önemli ($p=0$ yada $p<0.001-0.05$) bulunmuştur. Süt yağ verimi için oluşturulan modele ait R^2 (0.926), düzeltilmiş R^2 (**0.921**), GCV (**0.0486**), pearson korelasyonu (0.9622) değerleri ve diğer uyum iyiliği kriterleri, daha önceki parametreler için olan modellerde olduğu gibi, modelin yüksek doğrulukta ve önemli ($p<2.2e-16$) olduğunu göstermektedir. Oluşturulan modeldeki bağımsız değişkenlerin süt yağ verimi(kg) üzerine olan etkilerini Tablo 3.8.'deki bulgulara göre, yoğunluk parametresinin %100 bağıl önemlilik ile en etkili faktör olduğu anlaşılmıştır. Tespit edilen SNP'lerden ise, *GHR* geni intron 8'de bulunan rs382888926 polimorfizminin AA genotipinin %23.4 bağıl önemlilik ile etkili olduğu belirlenmiştir. Bu sebeple, süt yağ veriminin ise yoğunluk parametresi ile ilişkili olduğu ve rs382888926 kodlu polimorfizminin düşük önem düzeyine sahip olduğu gerçeği ortaya çıkmıştır.

Süt protein oranı (%) ile SNP verileri arasındaki ilişkiyi belirlemek için oluşturulan model, 93 temel fonksiyondan (Tablo 3.9.) oluşmaktadır. MARS algoritması ile modellerin değerlendirmesi için Tablo 3.21.'de gösterilen, süt protein oranı (%) için oluşturulan modele ait R^2 (0.819), düzeltilmiş R^2 (**0.757**), GCV (**0.0095**), pearson korelasyonu (0.905) değerleri ve diğer uyum iyiliği kriterlerinden, modelin kabul edilebilir ve önemli ($p<2.2e-16$) olduğu anlaşılmaktadır. Tablo 3.10.'daki bulgulara göre, *GHR* geni rs382888926 kodlu SNP'nin AA genotipinin %100 bağıl önemlilik ile en önemli faktör olduğu belirlenmiştir.

Süt protein verimi (kg) parametresi ile çalışmada tespit edilen polimorfizmler arasındaki etkileşimi açığa çıkarmak için oluşturulan MARS modelinde ise, toplamda 141 temel fonksiyondan (Tablo 3.11.) oluşmaktadır. MARS Algoritması ile oluşturulan modellerin değerlendirmesi için Tablo 3.21.'de sunulan, süt protein verimi (kg) için oluşturulan modele ait R^2 (0.979), düzeltilmiş R^2 (**0.966**), GCV (**0.00099**), pearson korelasyonu (0.989) değerleri ve diğer uyum iyiliği kriterlerinden, modelin yüksek doğrulukta ve önemli ($p<2.2e-16$) olduğu anlaşılmaktadır. Protein veriminin bağımsız değişken olarak kabul edilerek oluşturulan modeldeki faktörlerin, etkilerinin (%) bağıl önemliliğe göre

sıralandığı Tablo 3.12.'deki bulgulara göre, yoğunluk parametresinin %100 bağıl önemlilik ile en önemli faktör olduğu belirlenmiştir.

MARS algoritması ile laktoz oranı (%) ve bu çalışmada belirlediğimiz polimorfizmlerin genotipleri arasındaki ilişkinin belirlenmesi amacıyla oluşturulan model 69 adet temel fonksiyondan (Tablo 3.13.) oluşmaktadır. Tablo 3.21.'de gösterilen model değerlendirme kriterlerinden, laktoz oranı (%) için oluşturulan modele ait R^2 (0.763), düzeltilmiş R^2 (**0.707**), GCV (**0.0258**), pearson korelasyonu (0.873) değerleri ve diğer uyum iyiliği kriterlerinden, modelin kabul edilebilir ve önemli ($p < 2.2e-16$) olduğu anlaşılmaktadır. Düzeltilmiş R^2 değeri, bağımlı değişkenin, bağımsız değişkenlerdeki değişimin %70.7'sini açıklayabildiğini, geriye kalan kısmın ise model tarafından açıklanamadığı, bu problemin ise daha önceden bahsedilen çoklu doğrusal bağlantı probleminden kaynaklanabileceği düşünülmektedir [158]. Diğer bir taraftan, modelde bağımlı değişken olarak kullandığımız laktoz oranı (%) veri setinin, 10'luk sistemde ayrı ayrı logaritmaları, kare-kökleri ve küp-kökleri alındıktan sonra da, dağılım eğrisi (histogram) ve Shapiro-Wilk normalite testine ($p=3.387E-06$, $p<0.05$) göre normal dağılım göstermediği, bu durumun da modelin R^2 ve düzeltilmiş R^2 değerlerine etki edebileceği anlaşılmaktadır [159]. Laktoz oranı için oluşturulan modele ait genelleştirilmiş capraz geçerlilik katsayısı (GCV) değeri göz önüne alındığında model bu çalışma için kabul edilmiştir [57]. Tablo 3.14.'deki bulgulara göre, *GHR* geni intron 8'de tespit edilen rs382888926 kodlu SNP'nin AA genotipinin yağ ve protein oranı parametrelerinde olduğu gibi, süt laktoz oranı için çok yüksek düzeyde önemli (%100) olduğu belirlenmiştir.

Laktoz verimi (kg) ve çalışılan polimorfizmlerin genotipleri arasındaki etkileşimi belirlemek için oluşturduğumuz MARS modelinde ise, 149 temel fonksiyon (Tablo 3.15) bulunmaktadır. Tablo 3.21.'de, laktoz verimi (kg) için oluşturulan modele ait R^2 (0.971), düzeltilmiş R^2 (**0.951**), GCV (**0.00304**), pearson korelasyonu (0.9851) değerleri ve diğer uyum iyiliği kriterlerinden, modelin yüksek doğrulukta ve önemli ($p < 2.2e-16$) olduğu anlaşılmaktadır. Tablo 3.16.'daki bulgulara göre çevrenin (farklı çiftlikler) %100 bağıl önemlilikle, laktasyonun %91.8 bağıl önemlilikle ve yağsız kuru madde miktarının ise %91.8 bağıl önemlilik ile laktoz verimi üzerinde etkili olan faktörler olduğu anlaşılmaktadır. Laktoz verimine etki eden ilk 3 parametre içerisinde herhangi bir SNP genotipi yer almazken, 4. etkili faktör olarak CSN3 geni ekzon 4 üzerindeki, rs43703017

kodlu SNP'nin AA genotipi %87.3 bağıl önemlilik ile süt laktoz verimi üzerinde etkili bulunmuştur.

Yağsız kuru madde (%) oranı ile polimorfizmlerin etkileşimini tespit etmek için oluşturulan MARS modeli ise, 9 temel fonksiyondan (Tablo 3.17.) oluşmaktadır. Tablo 3.21. de gösterilen MARS algoritması ile modelleri oluşturulan parametrelere ait analiz sonuçlarına göre, yağsız kuru madde (%) oranı için, için oluşturulan modele ait R^2 (0.997), düzeltilmiş R^2 (**0.997**), GCV (**0.000918**), pearson korelasyonu (0.999) değerleri ve diğer uyum iyiliği kriterlerinden, modelin yüksek doğrulukta ve önemli ($p < 2.2e-16$) olduğu anlaşılmaktadır. Tablo 3.18.'deki bulgulara göre, yağsız kuru madde (%) oranı üzerinde etkili faktörler, en çok etkili olandan en az etkili olana doğru; laktoz oranı (%100)> yağ oranı (%8.7)> yoğunluk(%8.7)> *PPARGC1A* geni ekzon 9'da bulunan rs133669403 kodlu SNP'nin GG genotipi(%6.9) olarak sıralanmaktadır. Algoritmanın faktör önem sıralamasına göre, yağsız kuru madde parametresi için, herhangi bir SNP'nin kayda değer bir etkisi bulunmaz iken, laktoz oranının, bu parametre üzerinde çok etkili olduğu anlaşılmıştır.

Yoğunluk (kg/m^3) parametresi ile SNP verileri arasında herhangi bir etkileşim olup olmadığını anlamak için oluşturduğumuz MARS modeli ise, toplamda 24 temel fonksiyondan (Tablo 3.19.) oluşmaktadır. Tablo 3.21. deki model değerlendirme kriterlerine göre, yoğunluk parametresi için oluşturulan modelin, ait R^2 (0.934), düzeltilmiş R^2 (**0.929**), GCV (**1.08**), pearson korelasyonu (0.966) değerleri ve diğer uyum iyiliği kriterlerinden, oluşturulan modelin yüksek doğrulukta ve önemli ($p < 2.2e-16$) olduğu görülmektedir. Yoğunluk parametresine etki eden faktörlerin sıralandığı Tablo 3.20'deki bulgulara göre, yağ oranının %100 bağıl önemlilik ile en etkili faktör olduğu tespit edilmiştir. Diğer bir taraftan, tespit edilen SNP'ler içersinden *GHR* geninde bulunan rs382888926 kodlu SNP'nin AA genotipinin %21.3 bağıl önemlilik ile en yüksek etkiyi gösterdiği anlaşılmaktadır. Yağsız kuru madde parametresinde olduğu gibi, yoğunluk içinde, direkt olarak kayda değer bir SNP etkisi gözlenmezken, yağ oranının %100 olarak, yoğunluk üzerinde etkili olduğu anlaşılmıştır.

Bildindiği kadarıyla, literatürde MARS algoritmasının kullanılarak, SNP verileri ile süt verimi ve bileşenleri arasındaki ilişkileri tespit etmeye yönelik, direkt referans

alabileceğimiz bir çalışma bulunmamaktadır. Ancak, MARS algoritmasının kullanım amacı bakımından bu tez çalışmasıyla benzerlik gösterecek bir iki literatür tespit etmiş bulunmaktayız. Bunlardan biri olan, Li vd.[160]'nin gerçekleştirdikleri bir çalışmada, Random Forest ve MARS makine öğrenmesi algoritmalarını birlikte iki aşamalı kullanarak, 1674 SNP'nin, gıda ve hayvancılık endüstrisi için önemli bir bitki olan, Kolza bitkisinin (*Brassica Napus*) çiçek açma zamanı parametresi ile olan ilişkilerini tespit etmek amacıyla kullanmışlardır. Lin vd.[161] ise, bu çalışmaya prensipte benzerlik gösterecek nitelikte, 649 kafkasya kökenli hasta üzerinde SNP-SNP etkileşimlerinin prostat kanseri riski üzerine etkisini logistik regresyon ile MARS algoritmasını karşılaştırarak bir çalışma gerçekleştirmişlerdir. Çalışma sonucunda MARS algoritmasının 2'li ve 3'lü etkileşimli modellerinin Logistik regresyona göre çok yüksek üstünlük gösterdiğini bildirmişlerdir. Literatürde MARS algoritmasının, CART ve logistik regresyona göre daha esnek olduğu ve benzer işleve sahip yapay sinir ağları algoritmalarına göre daha informatif ve daha iyi olduğu bildirilmiştir [57, 162, 163]. Bununla birlikte, MARS algoritmasının gen-fenotipik karakter (çevresel) etkileşimlerinin test edilmesi için kullanılabilecek, polinomiyal en küçük kareler eğri uydurumuna göre daha güçlü olduğu bildirilmiştir [162]. Gerçekleştirilen bu çalışmada da, literatürü doğrulayacak nitelikte, MARS algoritmasının, en küçük kareler yöntemine göre, daha doğru ve daha gerçekçi bir şekilde, SNP-fenotipik karakter etkileşimleri analiz edilebilmiştir. Ancak, çalıştığımız popülasyonun nispeten küçüklüğü ve daha önceden seleksiyona uğramış olma belirtileri, algoritmanın başarısının, SNP-fenotipik karakter ilişkilendirmesi bakımından, oluşturulan tüm modellerde görülmesini perdelemektedir. Ancak, süt verimi (kg), süt yağ oranı (%), süt protein oranı (%) ve süt laktoz oranı (%) parametreleri ile ilgili SNP'ler arasındaki ilişkilerin belirlenmesi bakımından MARS algoritması başarısını bu çalışmada da ispatlamıştır.

4.2. Sonuç ve Öneriler

Türkiye’de yetiştirilen Holstein-Fresian (Siyah alaca) ırkı süt sığırlarının *PPARGC1A* (Ekzon 4:g.44875251 G>A, g.44875315 G>A, g.44875421 C>T, g.44875457 C>A), *CSN3* (Ekzon 4:g.87390576 T>C, g.87390612 C>A, g.87390632 A>G, g.87390673 G>A, g.87390681 T>A), *GHR* (İntron 8: g.31909419 A>G, ekzon 8: g.31909478 A>T (F279Y)), *ATF3* (Ekzon 4: g.72820542A>G, g.72820592 C>G, g.72820637 C>T) ve *PAEP* (Ekzon 3: g.103303473 C>T, g.103303475 G>A) genlerindeki belirtilen polimorfizmlerin tek laktasyon döneminde süt verimi ve sütün bazı bileşenleri arasındaki ilişkileri belirlemeye yönelik yapılan çalışmada;

1. En küçük kareler yöntemine göre test edilen SNP’lerin, çalışılan parametreler (fenotipik karakterler) üzerindeki tahmini birliktelik etkilerine göre, *PPARGC1A* geni rs109579682 polimorfizminin (GA genotipi, 9352±327kg) süt verimiyle ilişkili olduğu ($p<0.05$) tespit edilmiştir. Bununla birlikte, süt yağ oranı (%) ile *PPARGC1A* geni rs133669403 ile *CSN3* geni rs43703017 polimorfizmlerinin; süt yağ verimi (kg) ile *PPARGC1A* geni rs133669403 ve *CSN3* geni rs43703015, rs43703016, rs110014544 ve rs109787476 polimorfizmlerinin ilişkili olduğu ($p<0.05$) belirlenmiştir. Diğer bir taraftan, *PPARGC1A* geni rs109579682 polimorfizminin hem süt protein verimiyle hemde süt laktoz verimiyle ilişkili ($p<0.05$) olduğu da anlaşılmıştır.
2. En küçük kareler yöntemine göre, ekzon 9’da bulunan polipeptid zincirindeki p.Pro616Leu, rs133669403 A>G polimorfizminin süt yağı ve verimi ile önemli derece ilişkili bulunmuş ve bu ilişki literatürden teyit edilmiştir[134].
3. Bilindiği kadarıyla literatürde ilk defa, *GHR* geni intron 8’deki rs382888926 G>A polimorfizminin MARS algoritmasıyla, süt protein, yağ ve laktoz oranlarıyla ilişkili olduğu tespit edilmiştir.
4. Gerçekleştirilen çalışmanın sonuçları itibarıyla, sadece genlerin protein kodlayan ekzonik bölgelerinin değil, snRNA kodlayan intronik yada UTR bölgelerinin, glukoz, yağ ve enerji metabolizmalarını etkileyerek, süt verimi ve diğer sütün bileşimiyle ilgili parametreleri etkileyebileceği ve bu protein kodlamayan bölgelerdeki SNP’lerinde

belirteç (marker) olarak, belirteç destekli seleksiyon çalışmalarında kullanılabileceği literatürden [132, 135, 136] doğrulanarak ispatlanmıştır.

5. Hem en küçük kareler yöntemine göre, hem de MARS algoritması ile yapılan analizlere göre, bazı SNP'lerin birden fazla ekonomik parametreyi etkileyerek pleiotropik etki (tek bir genin yada polimorfizmin birden fazla fenotipik özelliği etkilemesi durumu) gösterdiği saptanmıştır.
6. MARS algoritması ile oluşturulan prediktif modellerin kullanılması neticesinde, *PPARGC1A* geni ekzon 9, rs133609403 dbSNP referans numaralı SNP'nin GG genotipi (%100) ile intron 9 üzerindeki rs109579682 referans numaralı SNP'nin GG genotipinin süt verimini yükseltici ilişkilerinin olduğu yüksek doğrulukla tespit edilmiştir. Bununla birlikte, *GHR* geni rs382888926 koldu SNP'nin AA genotipinin süt yağ, protein ve laktoz oranlarıyla olan ilişkileri de yüksek doğrulukta tespit edilmiştir. Ancak, diğer verim parametreleri ile SNP'ler arasında direkt/kayda değer bir ilişki tespit edilememiştir. Bu sebeple, literatürde prensip olarak bu çalışmaya benzer olan çalışmalarda [160] olduğu gibi, Random Forest algoritmasının, MARS algoritması ile kombineli/aşamalı olarak kullanılması daha uygun olacağı düşünülmektedir.
7. En küçük kareler yöntemi ile her SNP'nin çalışılan parametreler üzerine etkisi ayrı ayrı analiz edilirken, MARS algoritması ile oluşturulan prediktif modellerde ise, yeni nesil dizileme ile tespit edilen SNP'lerin tamamı ve bunların etkileşimleri temel fonksiyon uzayında test edilmiştir. Bu sebeple, modellerin R^2 değerini düşürücü nitelikte olan ve çoklu doğrusal bağlantı (multicollinearity) gösteren veriler algoritma tarafından elendiği için, her iki yöntem sonuçları itibariyle farklılık göstermektedir.
8. Süt verimi ve bileşenleriyle ilgili yapılabilecek çalışmalar için, eğer mümkünse, çalışılacak popülasyonun seleksiyon hikayesi, baba soyunun etkisi ve popülasyonun yeterli örneklem büyüklüğüne sahip olup olmadığını göz önünde bulundurulması tavsiye edilmektedir. Bununla birlikte, MARS algoritması ile birlikte tanımlayıcı istatistik olarak, en küçük kareler yönteminin kullanımı da tavsiye edilmektedir. Sonuç olarak, MARS algoritmasının test gücünü literatürde ilk defa SNP – süt parametreleri etkileşimleri, analiz ederek ispatlanmıştır.

9. Birden fazla laktasyon kapsamında ve bu çalışmada kullanılan hayvan popülasyonundan daha yüksek sayıda bir hayvan popülasyonu ile aynı çalışmanın yapılması tavsiye edilir.



KAYNAKÇA

1. Oner, Y. ve Elmaci, C., 2006. Milk protein polymorphisms in Holstein cattle. **International Journal of Dairy Technology**, 59 (3): p. 180-182.
2. Gürses, M. ve Bayraktar, M., 2014. Moleküler markerlerin hayvan yetiştiriciliği ve genetiğinde kullanımı. **Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Veteriner Dergisi**, 28 (2): p. 99-106.
3. Anonim, 2015. World population projected to reach 9.7 billion by 2050, United Nations-Department of Economic and Social Affairs. Erişim adresi: <https://www.un.org/en/development/desa/news/population/2015-report.html> [Erişim tarihi: 21.10.2019 2019].
4. Düzgüneş, O., Eliçin, A., Akman, N., 2003. Hayvan Islahı. Ankara: Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi 298.
5. Anonim, 2017. Milk and Milk Product Statistics, EUROSTAT. Erişim adresi: <http://ec.europa.eu/eurostat> [Erişim tarihi: 16.01.2017 2017].
6. Anonim, 2016. Hayvancılık İstatistikleri, TÜİK. Erişim adresi: <http://www.tuik.gov.tr> [Erişim tarihi: 2016 Aralık, 2016].
7. Anonim, 2015. 2015 yılı dünyada ve Türkiye de süt üretimi, Ulusal Süt Konseyi. Erişim adresi: <http://www.ulusalsutkonseyi.org.tr/kategori/sut-uretimi/> [Erişim tarihi: 16.10.2017 2017].
8. Anonim, 2014. Süt ve Süt Ürünleri Sektörü Raporu (Sirküler Tarih/No:19.12.2014/910; Sayı:ARGUYG1/11537), İstanbul İhracatçı Birlikleri Genel Sekreterliği Erişim adresi: http://www.iib.org.tr/files/downloads/PageFiles/%7B047c36de-83a4-4c40-add6-a080f4b74b4c%7D/Files/SutVeSutUrunleriRaporu_Kasim2014.pdf [Erişim tarihi: 11.01.2017].
9. Anonim, 2018. Hayvancılık İstatistikleri, TÜİK. Erişim adresi: <http://www.tuik.gov.tr> [Erişim tarihi: 21.10.2019 2019].
10. Artık, N., 2019. Turkish Dairy Sector, Dünya Süt Zirvesi Sunumları (2019 İstanbul), Ulusal Süt Konseyi. Erişim adresi: <https://ulusalsutkonseyi.org.tr/dunya-sut-zirvesi-sunulari-2019-istanbul-2724/> [Erişim tarihi: 16.10.2019 2019].

11. Orhan, H., Teke, E.Ç., Karcı, Z., 2018. Laktasyon Eğrileri Modellemesinde Çok Değişkenli Uyarlanabilir Regressyon Eğrileri (Mars) Yönteminin Uygulanması. **Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi**, 21 (3): p. 363-373.
12. Doğan, N. ve Kızıloğlu, S., 2015. Süt Üreten İşletmelerin Başarısını Etkileyen Faktörlerin Analizi, Gümüşhane İli Örneği. **Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitü Dergisi**, 5 (3): p. 49-56.
13. Çankaya, S., Ülker, M., Çobanoğlu, Ö., Gürcan, E.K., Kul, E., Abacı, S.H., 2014. Jersey İneklerinde STAT5A Geninin Süt Verimi ve Bileşenleri Üzerine Etkisinin Araştırılması. **Türk Tarım - Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi**, 2(6): p.289-295.
14. Metin, M., 2014. Süt Teknolojisi, Sütün Bileşimi ve İşlenmesi. 13. ed. Vol. 8. Bornova, İzmir: Ege Üniversitesi Yayınları802.
15. Haug, A., Hostmark, A.T., Harstad, O.M., 2007. Bovine milk in human nutrition - a review. **Lipids in Health and Disease**, 6.
16. German, J.B., 1999. Butyric acid: a role in cancer prevention. **Nutrition Bulletin**, 24 (4): p. 203-209.
17. Thormar, H., Isaacs, C.E., Kim, K.S., Brown, H.R., 1994. Inactivation of visna virus and other enveloped viruses by free fatty acids and monoglycerides. **Annals of the New York Academy of Sciences**, 724: p. 465-471.
18. Sun, C.Q., O'Connor, C.J., Robertson, A.M., 2002. The antimicrobial properties of milkfat after partial hydrolysis by calf pregastric lipase. **Chemico-Biological Interactions**, 140 (2): p. 185-198.
19. Sun, C.Q., O'Connor, C.J., Robertson, A.M., 2003. Antibacterial actions of fatty acids and monoglycerides against *Helicobacter pylori*. **Fems Immunology and Medical Microbiology**, 36 (1-2): p. 9-17.
20. Kris-Etherton, P.M., Pearson, T.A., Wan, Y., Hargrove, R.L., Moriarty, K., Fishell, V., Etherton, T., 1999. High-monounsaturated fatty acid diets lower both plasma cholesterol and triacylglycerol concentrations. **American Journal of Clinical Nutrition**, 70 (6): p. 1009-1015.
21. Mensink, R.P., Zock, P.L., Kester, A.D.M., Katan, M.B., 2003. Effects of dietary fatty acids and carbohydrates on the ratio of serum total to HDL cholesterol and

- on serum lipids and apolipoproteins: a meta-analysis of 60 controlled trials. **American Journal of Clinical Nutrition**, **77** (5): p. 1146-1155.
22. O'Mahony, J.A. ve Fox, P.F., 2014. Milk: An Overview, p. 19-73. *In: Milk Proteins, From Expression to Food* (Eds: H. Singh, M. BolandA. Thompson). Elsevier, Academic Press: USA.
 23. Wolfe, R.R., 2002. Regulation of muscle protein by amino acids. **Journal of Nutrition**, **132** (10): p. 3219s-3224s.
 24. Layman, D.K., 2003. The role of leucine in weight loss diets and glucose homeostasis. **Journal of Nutrition**, **133** (1): p. 261s-267s.
 25. Etzel, M.R., 2004. Manufacture and use of dairy protein fractions. **Journal of Nutrition**, **134** (4): p. 996s-1002s.
 26. Frid, A.H., Nilsson, M., Holst, J.J., Bjorck, I.M., 2005. Effect of whey on blood glucose and insulin responses to composite breakfast and lunch meals in type 2 diabetic subjects. **American Journal of Clinical Nutrition**, **82** (1): p. 69-75.
 27. Jauhiainen, T. ve Korpela, R., 2007. Milk peptides and blood pressure. **the Journal of Nutrition**, **137** (3): p. 825S-829S.
 28. Cai, J., Chen, Y., Seth, S., Furukawa, S., Compans, R.W., Jones, D.P., 2003. Inhibition of influenza infection by glutathione. **Free Radical Biology and Medicine**, **34** (7): p. 928-936.
 29. Forssen, K.M., Jagerstad, M.I., Wigertz, K., Witthoft, C.M., 2000. Folate and dairy products: A critical update. **Journal of the American College of Nutrition**, **19** (2): p. 100s-110s.
 30. Akoglu, B., Faust, D., Milovic, V., Stein, J., 2001. Folate and chemoprevention of colorectal cancer: Is 5-methyl tetrahydrofolate an active antiproliferative agent in folate-treated colon-cancer cells? **Nutrition**, **17** (7-8): p. 652-653.
 31. Kaushik, S., Wander, R., Leonard, S., German, B., Traber, M.G., 2001. Removal of fat from cow's milk decreases the vitamin E contents of the resulting dairy products. **Lipids**, **36** (1): p. 73-78.
 32. Hayes, K., Pronczuk, A., Perlman, D., 2001. Vitamin E in fortified cow milk uniquely enriches human plasma lipoproteins. **American Journal of Clinical Nutrition**, **74** (2): p. 211-218.
 33. Rayman, M.P., 2002. The argument for increasing selenium intake. **Proceedings of the Nutrition Society**, **61** (2): p. 203-215.

34. Hansen, M., Sandstrom, B., Lonnerdal, B., 1996. The effect of casein phosphopeptides on zinc and calcium absorption from high phytate infant diets assessed in rat pups and caco-2 cells. **Pediatric Research**, **40** (4): p. 547-552.
35. Metzker, M.L., 2005. Emerging technologies in DNA sequencing. **Genome Research**, **15** (12): p. 1767-1776.
36. Ghosh, M., Sharma, N., Singh, A.K., Gera, M., Pulicherla, K.K., Jeong, D.K., 2018. Transformation of animal genomics by next-generation sequencing technologies: a decade of challenges and their impact on genetic architecture. **Critical Reviews in Biotechnology**, **38** (8): p. 1157-1175.
37. Mardis, E.R., 2008. Next-generation DNA sequencing methods. **Annu. Rev. Genomics Hum. Genet.**, **9**: p. 387-402.
38. Mardis, E.R., 2008. The impact of next-generation sequencing technology on genetics. **Trends in Genetics**, **24** (3): p. 133-141.
39. Sanger, F., 2004. Determination of nucleotide sequences in DNA. **Bioscience Reports**, **24** (4-5): p. 237-253.
40. Ronaghi, M., 2001. Pyrosequencing sheds light on DNA sequencing. **Genome research**, **11** (1): p. 3-11.
41. Mardis, E.R., 2013. Next-generation sequencing platforms. **Annual review of analytical chemistry**, **6**: p. 287-303.
42. Rusk, N., 2010. Torrents of sequence. **Nature Methods**, **8** (1): p. 44.
43. Merriman, B., D Team, I.T., Rothberg, J.M., 2012. Progress in ion torrent semiconductor chip based sequencing. **Electrophoresis**, **33** (23): p. 3397-3417.
44. Zhang, J., Chiodini, R., Badr, A., Zhang, G.F., 2011. The impact of next-generation sequencing on genomics. **Journal of Genetics and Genomics**, **38** (3): p. 95-109.
45. Bovine HapMap, C., Gibbs, R.A., Taylor, J.F., Van Tassell, C.P., Barendse, W., Eversole, K.A., 2009. Genome-wide survey of SNP variation uncovers the genetic structure of cattle breeds. **Science**, **324** (5926): p. 528-32.
46. Zimin, A.V., Delcher, A.L., Florea, L., Kelley, D.R., Schatz, M.C., Puiu, D., Hanrahan, F., Pertea, G., Van Tassell, C.P., Sonstegard, T.S., Marcais, G., Roberts, M., Subramanian, P., Yorke, J.A., Salzberg, S.L., 2009. A whole-genome assembly of the domestic cow, *Bos taurus*. **Genome Biology**, **10** (4).

47. Elsik, C.G., Tellam, R.L., Worley, K.C., Gibbs, R.A., 2009. The Genome Sequence of Taurine Cattle: A Window to Ruminant Biology and Evolution. **Science**, **324** (5926): p. 522-528.
48. Tellam, R.L., Lemay, D.G., Van Tassell, C.P., Lewin, H.A., Worley, K.C., Elsik, C.G., 2009. Unlocking the bovine genome. **BMC genomics**, **10** (1): p. 193.
49. Elsik, C.G., Unni, D.R., Diesh, C.M., Tayal, A., Emery, M.L., Nguyen, H.N., Hagen, D.E., 2015. Bovine Genome Database: new tools for gleaning function from the *Bos taurus* genome. **Nucleic acids research**, **44** (D1): p. D834-D839.
50. Vatsiou, A.I., Bazin, E., Gaggiotti, O.E., 2016. Detection of selective sweeps in structured populations: a comparison of recent methods. **Molecular Ecology**, **25** (1): p. 89-103.
51. Clement, J.A.J., Toulza, E., Gautier, M., Parrinello, H., Roquis, D., Boissier, J., Rognon, A., Mone, H., Mouahid, G., Buard, J., Mitta, G., Grunau, C., 2013. Private Selective Sweeps Identified from Next-Generation Pool-Sequencing Reveal Convergent Pathways under Selection in Two Inbred *Schistosoma mansoni* Strains. **Plos Neglected Tropical Diseases**, **7** (12).
52. Chen, M.H., Pan, D.F., Ren, H.Y., Fu, J.L., Li, J.Y., Su, G.S., Wang, A.G., Jiang, L., Zhang, Q., Liu, J.F., 2016. Identification of selective sweeps reveals divergent selection between Chinese Holstein and Simmental cattle populations. **Genetics Selection Evolution**, **48**.
53. Ramey, H.R., Decker, J.E., McKay, S.D., Rolf, M.M., Schnabel, R.D., Taylor, J.F., 2013. Detection of selective sweeps in cattle using genome-wide SNP data. **Bmc Genomics**, **14**.
54. Pareek, C.S., Smoczynski, R., Pierzchala, M., Czarnik, U., Tretyn, A., 2011. From genotype to phenotype in bovine functional genomics. **Briefings in Functional Genomics**, **10** (3): p. 165-171.
55. McLoughlin, K.E., Nalpas, N.C., Rue-Albrecht, K., Browne, J.A., Magee, D.A., Killick, K.E., Park, S.D.E., Hokamp, K., Meade, K.G., O'Farrelly, C., Gormley, E., Gordon, S.V., MacHugh, D.E., 2014. RNA-seq transcriptional profiling of peripheral blood leukocytes from cattle infected with *Mycobacterium bovis*. **Frontiers in Immunology**, **5**: p. 1-12.
56. Akkuş, O., 2017. Hayvancılık Alanında Çok Değişkenli Uyarlanabilir Regresyonun Kullanımı. Iğdır University, Yüksek Lisans Tezi, 43

57. Eyduran, E., Akın, M., Eyduran, S.P., 2019. Application of Multivariate Adaptive Regression Splines in Agricultural Sciences through R Software. Nobel Bilimsel Eserler. İskitler, Ankara: Nobel Akademik Yayıncılık104.
58. Aytekin, I., Eyduran, E., Karadas, K., Aksahan, R., Keskin, I., 2018. Prediction of Fattening Final Live Weight from some Body Measurements and Fattening Period in Young Bulls of Crossbred and Exotic Breeds using MARS Data Mining Algorithm. **Pakistan Journal of Zoology**, **50** (1): p. 189-195.
59. Grzesiak, W., Zaborski, D., Sablik, P., Zukiewicz, A., Dybus, A., Szatkowska, I., 2010. Detection of cows with insemination problems using selected classification models. **Computers and Electronics in Agriculture**, **74** (2): p. 265-273.
60. Zhang, W.G. ve Goh, A.T.C., 2016. Multivariate adaptive regression splines and neural network models for prediction of pile drivability. **Geoscience Frontiers**, **7** (1): p. 45-52.
61. Aksoy, A., Erturk, Y.E., Erdogan, S., Eyduran, E., Tariq, M.M., 2018. Estimation of Honey Production in Beekeeping Enterprises from Eastern Part of Turkey through Some Data Mining Algorithms. **Pakistan Journal of Zoology**, **50** (6): p. 2199-2207.
62. Kaygısız, A., Eyduran, E., Işık Taçyıldız, S.S., *Use of Multivariate Adaptive Regression Splines For Predicting Recing Time of Racehorses*, in *10th International Animal Science Conference*. 2018: Antalya, Turkey. p. 327-336.
63. Nieto, P.J.G., Lasheras, F.S., Juez, F.J.D., Fernandez, J.R.A., 2011. Study of cyanotoxins presence from experimental cyanobacteria concentrations using a new data mining methodology based on multivariate adaptive regression splines in Trasona reservoir (Northern Spain). **Journal of Hazardous Materials**, **195**: p. 414-421.
64. Xu, Q.S., Daszykowski, M., Walczak, B., Daeyaert, F., de Jonge, M.R., Heeres, J., Koymans, L.M.H., Lewi, P.J., Vinkers, H.M., Janssen, P.A., Massart, D.L., 2004. Multivariate adaptive regression splines - studies of HIV reverse transcriptase inhibitors. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, **72** (1): p. 27-34.

65. Xiong, R. ve Meullenet, J.F., 2004. Application of Multivariate Adaptive Regression Splines (MARS) to the preference mapping of cheese sticks. **Journal of Food Science**, **69** (4): p. S131-S139.
66. Orekici Temel, G., Ankaralı, H., Yazıcı, A.C., 2010. Regresyon Modellerine Alternatif Bir Yaklaşım: MARS. **Türkiye Klinikleri Biyoistatistik Dergisi**, **2** (2): p. 58-66.
67. Sahin, G., Eydurhan, E., Turkoglu, M., Sahin, F., 2018. Estimation of Global Irradiation Parameters at Location of Migratory Birds in Igdir, Turkey by Means of MARS Algorithm. **Pakistan Journal of Zoology**, **50** (6): p. 2317-2324.
68. Zaborski, D., Ali, M., Eydurhan, E., Grzesiak, W., Tariq, M.M., Abbas, F., Waheed, A., Think, C., 2019. Prediction of Selected Reproductive Traits of Indigenous Harnai Sheep under the Farm Management System via various Data Mining Algorithms. **Pakistan Journal of Zoology**, **51** (2): p. 421-431.
69. Friedman, J.H., 1991. Multivariate Adaptive Regression Splines. **Annals of Statistics**, **19** (1): p. 1-67.
70. Hastie, T., Tibshirani, R., Friedman, J.H., 2008. The Elements of Statistical Learning: Data Mining, Inference, and Prediction. . Second Edition ed. Springer Series in Statistics. New York: Springer745.
71. Milborrow, S., *Derived from mda:mars by Trevor Hastie and Rob Tibshirani. Uses Alan Miller's Fortran utilities with Thomas Lumley's leaps wrapper. Earth: Multivariate Adaptive Regression Splines, R package version 5.1.1, <https://CRAN.R-project.org/package=earth>. 2019.*
72. Liu, T., 2018. Multivariate Adaptive Regression Splines in Standard Cell Characterization for Nanometer Technology in Semiconductor, p. 47-62. *In: Topics in Splines and Applications* (Eds: Y. Kinh-Nhue Truong ve M. Sarfraz). IntechOpen.
73. Dybus, A., 2002. Associations of growth hormone (GH) and prolactin (PRL) genes polymorphisms with milk production traits in Polish Black-and-White cattle. **J Anim Sci Pap Rep**, **20** (20): p. 203-212.
74. Brym, P., Kamiński, S., Rusc, A., 2004. New SSCP polymorphism within bovine STAT5A gene and its associations with milk performance traits in Black-and-White and Jersey cattle. **Journal of Applied Genetics**, **45** (4): p. 445-452.

75. Ganai, N.A., Bovenhuis, H., van Arendonk, J.A.M., Visker, M.H.P.W., 2009. Novel polymorphisms in the bovine beta-lactoglobulin gene and their effects on beta-lactoglobulin protein concentration in milk. **Animal Genetics**, **40** (2): p. 127-133.
76. Sun, D., Jia, J., Ma, Y., Zhang, Y., Wang, Y., Yu, Y., Zhang, Y., 2009. Effects of DGAT1 and GHR on milk yield and milk composition in the Chinese dairy population. **Animal Genetics**, **40** (6): p. 997-1000.
77. Schennink, A., Bovenhuis, H., Leon-Kloosterziel, K.M., van Arendonk, J.A.M., Visker, M.H.P.W., 2009. Effect of polymorphisms in the FASN, OLR1, PPARGC1A, PRL and STAT5A genes on bovine milk-fat composition. **Animal Genetics**, **40** (6): p. 909-916.
78. Komisarek, J. ve Dorynek, Z., 2009. Effect of ABCG2, PPARGC1A, OLR1 and SCD1 gene polymorphism on estimated breeding values for functional and production traits in Polish Holstein-Friesian bulls. **Journal of Applied Genetics**, **50** (2): p. 125-132.
79. Bao, B., Zhang, C., Fang, X., Zhang, R., Gu, C., Lei, C., Chen, H., 2010. Association between polymorphism in STAT5A gene and milk production traits in Chinese Holstein cattle. **J Animal Science Papers Reports** **28** (1): p. 11.
80. Komisarek, J., Michalak, A., Walendowska, A., 2011. The effects of polymorphisms in DGAT1, GH and GHR genes on reproduction and production traits in Jersey cows. **Animal Science Papers and Reports**, **29** (1): p. 29-36.
81. Rahmatalla, S.A., Muller, U., Strucken, E.M., Reissmann, M., Brockmann, G.A., 2011. The F279Y polymorphism of the GHR gene and its relation to milk production and somatic cell score in German Holstein dairy cattle. **Journal of Applied Genetics**, **52** (4): p. 459-465.
82. Hamza, A.E., Yang, Z.P., Wang, X.L., Chen, R.J., Wu, H.T., Ibrahim, A.I., 2011. The Impact of Kappa Casein Gene Polymorphism on Milk Components and Other Productive Performance Traits of Chinese Holstein Cattle. **Pakistan Veterinary Journal**, **31** (2): p. 153-156.
83. Strucken, E.M., Bortfeldt, R.H., de Koning, D.J., Brockmann, G.A., 2012. Genome-wide associations for investigating time-dependent genetic effects for milk production traits in dairy cattle. **Animal Genetics**, **43** (4): p. 375-382.

84. Boleckova, J., Matejickova, J., Stipkova, M., Kyselova, J., Barton, L., 2012. The association of five polymorphisms with milk production traits in Czech Fleckvieh cattle. **Czech Journal of Animal Science**, **57** (2): p. 45-53.
85. Alim, M.A., Xie, Y., Fan, Y.P., Wu, X.P., Sun, D.X., Zhang, Y., Zhang, S.L., Zhang, Y., Zhang, Q., Liu, L., 2013. Genetic effects of ABCG2 polymorphism on milk production traits in the Chinese Holstein cattle. **Journal of Applied Animal Research**, **41** (3): p. 333-338.
86. Fontanesi, L., Calò, D., Galimberti, G., Negrini, R., Marino, R., Nardone, A., Ajmone-Marsan, P., Russo, V., 2014. A candidate gene association study for nine economically important traits in Italian Holstein cattle. **J Animal genetics**, **45** (4): p. 576-580.
87. Alim, M.A., Wang, P., Wu, X.P., Li, C., Cui, X.G., Zhang, S.L., Zhang, Q., Zhang, Y., Sun, D.X., 2014. Effect of FASN gene on milk yield and milk composition in the Chinese Holstein dairy population. **Animal Genetics**, **45** (1): p. 111-113.
88. Jiang, L., Liu, X., Yang, J., Wang, H.F., Jiang, J.C., Liu, L.L., He, S., Ding, X.D., Liu, J.F., Zhang, Q., 2014. Targeted resequencing of GWAS loci reveals novel genetic variants for milk production traits. **Bmc Genomics**, **15**.
89. Alim, M.A., Dong, T., Xie, Y., Wu, X.P., Zhang, Y., Zhang, S.L., Sun, D.X., 2014. Effect of polymorphisms in the CSN3 (kappa-casein) gene on milk production traits in Chinese Holstein Cattle. **Molecular Biology Reports**, **41** (11): p. 7585-7593.
90. Chessa, S., Nicolazzi, E.L., Nicoloso, L., Negrini, R., Marino, R., Vicario, D., Marsan, P.A., Valentini, A., Stefanon, B., 2015. Analysis of candidate SNPs affecting milk and functional traits in the dual-purpose Italian Simmental cattle. **Livestock Science**, **173**: p. 1-8.
91. Alim, M.A., Sun, D., Zhang, Y., Zhang, Y., Zhang, Q., Liu, L., 2015. DNA polymorphisms in the beta-lactoglobulin and K-casein genes associated with milk production traits in dairy cattle. **Bioresearch Communications**, **1** (2): p. 82-86.
92. Molee, A., Poompramun, C., Mernkrathoke, P., 2015. Effect of casein genes - beta-LGB, DGAT1, GH, and LHR - on milk production and milk composition traits in crossbred Holsteins. **Genetics and Molecular Research**, **14** (1): p. 2561-2571.

93. Arslan, K., Taheri, S., Sener, E.F., Akyuz, B., Akcay, A., Ozkul, Y., Iscan, K.M., 2016. Investigation of the promoter polymorphisms of the growth hormone (GH1), growth hormone receptor (GHR), insulin-like growth factor (IGF-I), and prolactin (PRL) genes and the correlation between gene expression and milk yields in Holstein cattle raised in Central Anatolia. **Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences**, **40** (5): p. 609-615.
94. Li, C., Sun, D.X., Zhang, S.L., Yang, S.H., Alim, M.A., Zhang, Q., Li, Y.H., Liu, L., 2016. Genetic effects of FASN, PPARGC1A, ABCG2 and IGF1 revealing the association with milk fatty acids in a Chinese Holstein cattle population based on a post genome-wide association study. **Bmc Genetics**, **17**.
95. Yang, S., Gao, Y., Zhang, S., Zhang, Q., Sun, D., 2016. Identification of genetic associations and functional polymorphisms of SAA1 gene affecting milk production traits in dairy cattle. **PloS one**, **11** (9): p. e0162195.
96. Buitenhuis, B., Poulsen, N.A., Gebreyesus, G., Larsen, L.B., 2016. Estimation of genetic parameters and detection of chromosomal regions affecting the major milk proteins and their post translational modifications in Danish Holstein and Danish Jersey cattle. **Bmc Genetics**, **17**.
97. Han, B., Liang, W., Liu, L., Li, Y., Sun, D., 2017. Determination of genetic effects of ATF3 and CDKN1A genes on milk yield and compositions in Chinese Holstein population. **J BMC genetics**, **18** (1): p. 47.
98. Viale, E., Tiezzi, F., Maretto, F., De Marchi, M., Penasa, M., Cassandro, M., 2017. Association of candidate gene polymorphisms with milk technological traits, yield, composition, and somatic cell score in Italian Holstein-Friesian sires. **Journal of Dairy Science**, **100** (9): p. 7271-7281.
99. Neamt, R.I., Saplacan, G., Acatincai, S., Czisster, L.T., Gavojdian, D., Ilie, D.E., 2017. The influence of CSN3 and LGB polymorphisms on milk production and chemical composition in Romanian Simmental cattle. **Acta Biochimica Polonica**, **64** (3): p. 493-497.
100. El-Nahas, A.F., Basiony, W.M., El-Kassas, S., Mahmoud, S., 2018. Variation in the Genetic Effects of ABCG2, Growth Hormone and Growth Hormone Receptor Gene Polymorphisms on Milk Production Traits in Egyptian Native, Holstein and Hybrid Cattle Populations. **Pakistan Veterinary Journal**, **38** (4): p. 371-376.

- 101.Oguzkan, S.B. ve Bozkurt, A.S., 2019. A Study on the Effect of Prolactin Gene Variants on Milk Production Traits of Holstein Cattle. **Russian Journal of Genetics**, 55 (4): p. 480-486.
- 102.Niyaz, Ö.C., İnan, H., Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Z.F., ²Namık Kemal Üniversitesi, Z.F., *Türkiye'de Süt Sektörünün Mevcut Durumu ve Sektöre Yönelik Politikaların İrdelenmesi*, in *XII. Tarım Ekonomisi Kongresi*, B. Karlı, T. Bal, D. Sarıca, Ş. Özger, Editors. 2016: Isparta, Türkiye. p. 829-838.
- 103.Şahin, E., 2017. Siyah Alaca İneklerin Kappa Kazein (CSN3), β -Laktoglobulin (LGB), Prolaktin (PRL) ve DGAT1 (Diacylglycerol acyltransferase1) Gen Lokusları Bakiminden Genotipik Yapılarının ve Bu Özellikleriyle Süt Verimleri Arasındaki İlişkilerin Saptanması. Akdeniz Üniversitesi, Doktora Tezi, 102
- 104.Hallen, E., Allmere, T., Naslund, J., Andren, A., Lunden, A., 2007. Effect of genetic polymorphism of milk proteins on rheology of chymosin-induced milk gels. **International Dairy Journal**, 17 (7): p. 791-799.
- 105.Montgomery, G.W. ve Sise, J.A., 1990. Extraction of DNA from Sheep White Blood-Cells. **New Zealand Journal of Agricultural Research**, 33 (3): p. 437-441.
- 106.Untergasser, A., Cutcutache, I., Koressaar, T., Ye, J., Faircloth, B.C., Remm, M., Rozen, S.G., 2012. Primer3-new capabilities and interfaces. **Nucleic Acids Research**, 40 (15).
- 107.Ye, J., Coulouris, G., Zaretskaya, I., Cutcutache, I., Rozen, S., Madden, T.L., 2012. Primer-BLAST: a tool to design target-specific primers for polymerase chain reaction. **BMC Bioinformatics**, 13: p. 134.
- 108.Koressaar, T. ve Remm, M., 2007. Enhancements and modifications of primer design program Primer3. **Bioinformatics**, 23 (10): p. 1289-91.
- 109.Dieffenbach, C.W., Lowe, T.M., Dveksler, G.S., 1993. General concepts for PCR primer design. **PCR Methods Appl**, 3 (3): p. S30-7.
- 110.Anonim, 2019. Nextera XT Library Prep Kit (Reference Guide), Illumina Document#15031942 v05. Erişim adresi: https://support.illumina.com/content/dam/illumina-support/documents/documentation/chemistry_documentation/samplepreps_nextera/nextera-xt/nextera-xt-library-prep-reference-guide-15031942-05.pdf [Erişim tarihi: Mayıs 2019].

111. Anonim, 2018. MiSeq System (Denature and Dilute Libraries Guide) Illumina Document# 15039740 v09. Erişim adresi: https://support.illumina.com/content/dam/illumina-support/documents/documentation/system_documentation/miseq/miseq-denature-dilute-libraries-guide-15039740-10.pdf [Erişim tarihi: Kasım 2018].
112. DePristo, M.A., Banks, E., Poplin, R., Garimella, K.V., Maguire, J.R., Hartl, C., Philippakis, A.A., del Angel, G., Rivas, M.A., Hanna, M., McKenna, A., Fennell, T.J., Kernytsky, A.M., Sivachenko, A.Y., Cibulskis, K., Gabriel, S.B., Altshuler, D., Daly, M.J., 2011. A framework for variation discovery and genotyping using next-generation DNA sequencing data. **Nature Genetics**, **43** (5): p. 491-+.
113. McKenna, A., Hanna, M., Banks, E., Sivachenko, A., Cibulskis, K., Kernytsky, A., Garimella, K., Altshuler, D., Gabriel, S., Daly, M., DePristo, M.A., 2010. The Genome Analysis Toolkit: A MapReduce framework for analyzing next-generation DNA sequencing data. **Genome Research**, **20** (9): p. 1297-1303.
114. Robinson, J.T., Thorvaldsdottir, H., Wenger, A.M., Zehir, A., Mesirov, J.P., 2017. Variant Review with the Integrative Genomics Viewer. **Cancer Research**, **77** (21): p. e31-e34.
115. Thorvaldsdottir, H., Robinson, J.T., Mesirov, J.P., 2013. Integrative Genomics Viewer (IGV): high-performance genomics data visualization and exploration. **Brief Bioinform**, **14** (2): p. 178-92.
116. Muzzey, D., Evans, E.A., Lieber, C., 2015. Understanding the Basics of NGS: From Mechanism to Variant Calling. **Curr Genet Med Rep**, **3** (4): p. 158-165.
117. Kent, W.J., Sugnet, C.W., Furey, T.S., Roskin, K.M., Pringle, T.H., Zahler, A.M., Haussler, D., 2002. The human genome browser at UCSC. **Genome research**, **12** (6): p. 996-1006.
118. Andrews, C., 2010. The Hardy-Weinberg Principle. Erişim adresi: <https://www.nature.com/scitable/knowledge/library/the-hardy-weinberg-principle-13235724/>, Nature Education Knowledge, [Erişim tarihi: 02.09. 2019].
119. Klug, W.S., Cummings, M.R., Spencer, M.R., Palladino, M.A., 2016. Essential of Genetics. Ninth Edition, Global Edition ed. Edinburgh Gate, Harlow, Essex CM20 2JE, England: Pearson Education Limited. p. 459-483 606.

- 120.Team, R.C., *R: A language and environment for statistical computing*. 2019: R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- 121.Milborrow, S., *plotmo: Plot a Model's Residuals, Response, and Partial Dependence Plots*, *R package version 3.5.5*, <https://CRAN.R-project.org/package=plotmo>. 2019.
- 122.Chakraborty, D., Kumar, D., Azhar, P.M., Singh, S.G., Singh, S., Sudan, A., 2016. Growth Hormone Receptor (GHR) gene and its applications in livestock: A review. **Agricultural Reviews**, **37** (3).
- 123.Blott, S., Kim, J.J., Moiso, S., Schmidt-Kuntzel, A., Cornet, A., Berzi, P., Cambisano, N., Ford, C., Grisart, B., Johnson, D., Karim, L., Simon, P., Snell, R., Spelman, R., Wong, J., Vilkkil, J., Georges, M., Farnir, F., Coppieters, W., 2003. Molecular dissection of a quantitative trait locus: A phenylalanine-to-tyrosine substitution in the transmembrane domain of the bovine growth hormone receptor is associated with a major effect on milk yield and composition. **Genetics**, **163** (1): p. 253-266.
- 124.Fontanesi, L., Scotti, E., Tazzoli, M., Beretti, F., Dall'Olio, S., Davoli, R., Russo, V., 2007. Investigation of allele frequencies of the growth hormone receptor (GHR) F279Y mutation in dairy and dual purpose cattle breeds. **Italian Journal of Animal Science**, **6** (4): p. 415-420.
- 125.Kadri, N.K., Guldbbrandtsen, B., Lund, M.S., Sahana, G., 2015. Genetic dissection of milk yield traits and mastitis resistance quantitative trait loci on chromosome 20 in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, **98** (12): p. 9015-9025.
- 126.Li-Juan, W., Qiu-Ling, L., Chang-Fa, W., Hong-Mei, W., Jian-Bin, L., Yun-Dong, G., Ming-Hai, H., Ji-Feng, Z., 2009. CRS-PCR polymorphisms of the GHR gene and its relationship with milk production traits in Chinese Holstein cows. **Chinese Journal of Agricultural Biotechnology**, **6** (3): p. 215-219.
- 127.Viitala, S., Szyda, J., Blott, S., Schulman, N., Lidauer, M., Maki-Tanila, A., George, M., Vilkkil, J., 2006. The role of the bovine growth hormone receptor and prolactin receptor genes in milk, fat and protein production in Finnish Ayrshire dairy cattle. **Genetics**, **173** (4): p. 2151-2164.
- 128.Waters, S.M., McCabe, M.S., Howard, D.J., Giblin, L., Magee, D.A., MacHugh, D.E., Berry, D.P., 2011. Associations between newly discovered polymorphisms

- in the *Bos taurus* growth hormone receptor gene and performance traits in Holstein-Friesian dairy cattle. **Animal Genetics**, **42** (1): p. 39-49.
129. Weikard, R., Kuhn, C., Goldammer, T., Freyer, G., Schwerin, M., 2005. The bovine PPARGC1A gene: molecular characterization and association of an SNP with variation of milk fat synthesis. **Physiological Genomics**, **21** (1): p. 1-13.
130. Khatib, H., Zaitoun, I., Wiebelhaus-Finger, J., Chang, Y., Rosa, G., 2007. The association of bovine PPARGC1A and OPN genes with milk composition in two independent Holstein cattle populations. **Journal of Dairy Science**, **90** (6): p. 2966-2970.
131. Alim, M., Fan, Y., Xie, Y., Wu, X., Sun, D., Zhang, Y., Zhang, S., Zhang, Y., Zhang, Q., Liu, L., 2012. Single nucleotide polymorphism (SNP) in PPARGC1A gene associates milk production traits in Chinese Holstein cattle. **Pakistan Vet J**, **32** (4): p. 609-12.
132. Pasandideh, M., Mohammadabadi, M., Esmailzadeh, A., Tarang, A., 2015. Association of bovine PPARGC1A and OPN genes with milk production and composition in Holstein cattle. **Czech Journal of Animal Science**, **60** (3): p. 97-104.
133. Raschia, M.A., Nani, J.P., Maizon, D.O., Beribe, M.J., Amadio, A.F., Poli, M.A., 2018. Single nucleotide polymorphisms in candidate genes associated with milk yield in Argentinean Holstein and Holstein x Jersey cows. **Journal of Animal Science and Technology**, **60**.
134. Weikard, R., Widmann, P., Buitkamp, J., Emmerling, R., Kuehn, C., 2012. Revisiting the quantitative trait loci for milk production traits on BTA6. **Animal Genetics**, **43** (3): p. 318-323.
135. Carmel, L. ve Chorev, M., 2012. The Function of Introns. **Frontiers in Genetics**, **3** (55).
136. Benton, C.R., Wright, D.C., Bonen, A., 2008. PGC-1 α -mediated regulation of gene expression and metabolism: implications for nutrition and exercise prescriptions. **Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism**, **33** (5): p. 843-862.
137. Lien, S. ve Rogne, S., 1993. Bovine casein haplotypes: number, frequencies and applicability as genetic markers. **Animal genetics**, **24** (5): p. 373-376.

138. Fiat, A.-M. ve Jollès, P., 1989. Caseins of various origins and biologically active casein peptides and oligosaccharides: structural and physiological aspects. **Molecular and cellular biochemistry**, **87** (1): p. 5-30.
139. Caroli, A.M., Chessa, S., Erhardt, G.J., 2009. Invited review: Milk protein polymorphisms in cattle: Effect on animal breeding and human nutrition. **Journal of Dairy Science**, **92** (11): p. 5335-5352.
140. Marziali, A. ve Ng-Kwai-Hang, K., 1986. Effects of milk composition and genetic polymorphism on coagulation properties of milk. **Journal of Dairy Science**, **69** (7): p. 1793-1798.
141. Pedersen, J., 1991. Selection to increase frequency of kappa-casein variant B in dairy cattle. **Journal of Animal Breeding and Genetics (Germany, FR)**.
142. Ju, Z., Huang, J., Li, Q., Wang, H., Zhong, J., Wang, C., 2011. The polymorphisms of κ -casein gene and their associations with milk production traits and expression analysis in Chinese Holstein cattle. **African Journal of Biotechnology**, **10** (62): p. 13368-13375.
143. Kucerova, J., Matejicek, A., Jandurová, O., Sorensen, P., Nemcova, E., Stipkova, M., Kott, T., Bouska, J., Frelich, J., 2006. Milk protein genes CSN1S1, CSN2, CSN3, LGB and their relation to genetic values of milk production parameters in Czech Fleckvieh. **Czech Journal of Animal Science**, **51** (6): p. 241.
144. Bartonova, P., Vrtkova, I., Kaplanova, K., Urban, T., 2012. Association between CSN3 and BCO2 gene polymorphisms and milk performance traits in the Czech Fleckvieh cattle breed. **Genet. Mol. Res**, **11** (2): p. 1058-1063.
145. Meredith, B.K., Kearney, F.J., Finlay, E.K., Bradley, D.G., Fahey, A.G., Berry, D.P., Lynn, D.J., 2012. Genome-wide associations for milk production and somatic cell score in Holstein-Friesian cattle in Ireland. **BMC genetics**, **13** (1): p. 21.
146. Becker, T. ve Herold, C., 2009. Joint analysis of tightly linked SNPs in screening step of genome-wide association studies leads to increased power. **European Journal of Human Genetics**, **17** (8): p. 1043.
147. Wang, X.F., Morris, N.J., Schaid, D.J., Elston, R.C., 2012. Power of Single- vs. Multi-Marker Tests of Association. **Genetic Epidemiology**, **36** (5): p. 480-487.
148. Chen, B., Liang, G., Whelan, J., Hai, T., 1994. ATF3 and ATF3 delta Zip. Transcriptional repression versus activation by alternatively spliced isoforms. **Journal of Biological Chemistry**, **269** (22): p. 15819-15826.

149. Cui, X., Hou, Y., Yang, S., Xie, Y., Zhang, S., Zhang, Y., Zhang, Q., Lu, X., Liu, G.E., Sun, D., 2014. Transcriptional profiling of mammary gland in Holstein cows with extremely different milk protein and fat percentage using RNA sequencing. **BMC genomics**, **15** (1): p. 226.
150. Cole, J.B., Wiggans, G.R., Ma, L., Sonstegard, T.S., Lawlor, T.J., Crooker, B.A., Van Tassell, C.P., Yang, J., Wang, S., Matukumalli, L.K., 2011. Genome-wide association analysis of thirty one production, health, reproduction and body conformation traits in contemporary US Holstein cows. **BMC genomics**, **12** (1): p. 408.
151. Farrell Jr, H., Jimenez-Flores, R., Bleck, G., Brown, E., Butler, J., Creamer, L., Hicks, C., Hollar, C., Ng-Kwai-Hang, K., Swaisgood, H., 2004. Nomenclature of the proteins of cows' milk—Sixth revision. **Journal of dairy science**, **87** (6): p. 1641-1674.
152. Heck, J.M.L., Olieman, C., Schennink, A., van Valenberg, H.J.F., Visker, M.H.P.W., Meuldijk, R.C.R., van Hooijdonk, A.C.M., 2008. Estimation of variation in concentration, phosphorylation and genetic polymorphism of milk proteins using capillary zone electrophoresis. **International Dairy Journal**, **18** (5): p. 548-555.
153. Heck, J.M.L., Schennink, A., van Valenberg, H.J.F., Bovenhuis, H., Visker, M.H.P.W., van Arendonk, J.A.M., van Hooijdonk, A.C.M., 2009. Effects of milk protein variants on the protein composition of bovine milk. **Journal of Dairy Science**, **92** (3): p. 1192-1202.
154. Graml, R., Weiss, G., Buchberger, J., Pirchner, F., 1989. Different rates of synthesis of whey protein and casein by alleles of the β -lactoglobulin and α s1-casein locus in cattle. **Genetics Selection Evolution**, **21** (4): p. 547.
155. Prosser, C.G., Turner, S.-A., McLaren, R.D., Langley, B., L'huillier, P.J., Molan, P., Auldist, M.J., 2000. Milk whey protein concentration and mRNA associated with β -lactoglobulin phenotype. **Journal of dairy research**, **67** (2): p. 287-293.
156. Ogorevc, J., Kunej, T., Razpet, A., Dovc, P., 2009. Database of cattle candidate genes and genetic markers for milk production and mastitis. **Animal Genetics**, **40** (6): p. 832-851.

157. York, T.P., Eaves, L.J., van den Oord, E.J., 2006. Multivariate adaptive regression splines: a powerful method for detecting disease–risk relationship differences among subgroups. **Statistics in medicine**, **25** (8): p. 1355-1367.
158. Topal, M., Eydurhan, E., Yağanoğlu, A.M., Sönmez, A., Keskin, S., 2010. Çoklu doğrusal bağlantı durumunda ridge ve temel bileşenler regresyon analiz yöntemlerinin kullanımı. **Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi**, **41** (1): p. 53-57.
159. Chou, Y.-M., Polansky, A.M., Mason, R.L., 1998. Transforming Non-Normal Data to Normality in Statistical Process Control. **Journal of Quality Technology**, **30** (2): p. 133-141.
160. Li, L., Long, Y., Zhang, L.B., Dalton-Morgan, J., Batley, J., Yu, L.J., Meng, J.L., Li, M.T., 2015. Genome Wide Analysis of Flowering Time Trait in Multiple Environments via High-Throughput Genotyping Technique in Brassica napus L. **Plos One**, **10** (3).
161. Lin, H.Y., Wang, W.Q., Liu, Y.H., Soong, S.J., York, T.P., Myers, L., Hu, J.J., 2008. Comparison of multivariate adaptive regression splines and logistic regression in detecting SNP-SNP interactions and their application in prostate cancer. **Journal of Human Genetics**, **53** (9): p. 802-811.
162. Cook, N.R., Zee, R.Y.L., Ridker, P.M., 2004. Tree and spline based association analysis of gene-gene interaction models for ischemic stroke. **Statistics in Medicine**, **23** (9): p. 1439-1453.
163. Deconinck, E., Zhang, M.H., Petitet, F., Dubus, E., Ijjaali, I., Coomans, D., Heyden, Y.V., 2008. Boosted regression trees, multivariate adaptive regression splines and their two-step combinations with multiple linear regression or partial least squares to predict blood-brain barrier passage: A case study. **Analytica Chimica Acta**, **609** (1): p. 13-23.

EKLER

EK 1. İndex PCR aşamasında barkodlama amacıyla, her bir inek için kullanılan oligonükleotid dizileri (Nextera XT İndex Kit v2, Illumina, ABD)

Örnek	S5xx index	Nükleotit Dizisi	S7xx index	Nükleotit Dizisi
İnek-1	S513	TCGACTAG	N701	TCGCCTTA
İnek-2	S513	TCGACTAG	N702	CTAGTACG
İnek-3	S513	TCGACTAG	N703	TTCTGCCT
İnek-4	S513	TCGACTAG	N704	GCTCAGGA
İnek-5	S513	TCGACTAG	N705	AGGAGTCC
İnek-6	S513	TCGACTAG	N706	CATGCCTA
İnek-7	S513	TCGACTAG	N707	GTAGAGAG
İnek-8	S513	TCGACTAG	N710	CAGCCTCG
İnek-9	S513	TCGACTAG	N711	TGCCTCTT
İnek-10	S513	TCGACTAG	N712	TCCTCTAC
İnek-11	S513	TCGACTAG	N714	TCATGAGC
İnek-12	S513	TCGACTAG	N715	CCTGAGAT
İnek-13	S515	TTCTAGCT	N701	TCGCCTTA
İnek-14	S515	TTCTAGCT	N702	CTAGTACG
İnek-15	S515	TTCTAGCT	N703	TTCTGCCT
İnek-16	S515	TTCTAGCT	N704	GCTCAGGA
İnek-17	S515	TTCTAGCT	N705	AGGAGTCC
İnek-18	S515	TTCTAGCT	N706	CATGCCTA
İnek-19	S515	TTCTAGCT	N707	GTAGAGAG
İnek-20	S515	TTCTAGCT	N710	CAGCCTCG
İnek-21	S515	TTCTAGCT	N711	TGCCTCTT
İnek-22	S515	TTCTAGCT	N712	TCCTCTAC
İnek-23	S515	TTCTAGCT	N714	TCATGAGC
İnek-24	S515	TTCTAGCT	N715	CCTGAGAT
İnek-25	S516	CCTAGAGT	N701	TCGCCTTA
İnek-26	S516	CCTAGAGT	N702	CTAGTACG
İnek-27	S516	CCTAGAGT	N703	TTCTGCCT
İnek-28	S516	CCTAGAGT	N704	GCTCAGGA
İnek-29	S516	CCTAGAGT	N705	AGGAGTCC
İnek-30	S516	CCTAGAGT	N706	CATGCCTA
İnek-31	S516	CCTAGAGT	N707	GTAGAGAG
İnek-32	S516	CCTAGAGT	N710	CAGCCTCG
İnek-33	S516	CCTAGAGT	N711	TGCCTCTT
İnek-34	S516	CCTAGAGT	N712	TCCTCTAC
İnek-35	S516	CCTAGAGT	N714	TCATGAGC
İnek-36	S516	CCTAGAGT	N715	CCTGAGAT
İnek-37	S517	GCGTAAGA	N701	TCGCCTTA
İnek-38	S517	GCGTAAGA	N702	CTAGTACG
İnek-39	S517	GCGTAAGA	N703	TTCTGCCT
İnek-40	S517	GCGTAAGA	N704	GCTCAGGA
İnek-41	S517	GCGTAAGA	N705	AGGAGTCC
İnek-42	S517	GCGTAAGA	N706	CATGCCTA
İnek-43	S517	GCGTAAGA	N707	GTAGAGAG

EK 1. İndex PCR aşamasında barkodlama amacıyla, her bir inek için kullanılan oligonükleotid dizileri (Nextera XT İndex Kit v2, Illumina, ABD)

Örnek	S5xx index	Nükleotit Dizisi	S7xx index	Nükleotit Dizisi
İnek-44	S517	GCGTAAGA	N710	CAGCCTCG
İnek-45	S517	GCGTAAGA	N711	TGCCTCTT
İnek-46	S517	GCGTAAGA	N712	TCCTCTAC
İnek-47	S517	GCGTAAGA	N714	TCATGAGC
İnek-48	S517	GCGTAAGA	N715	CCTGAGAT
İnek-49	S518	CTATTAAG	N701	TCGCCTTA
İnek-50	S518	CTATTAAG	N702	CTAGTACG
İnek-51	S518	CTATTAAG	N703	TTCTGCCT
İnek-52	S518	CTATTAAG	N704	GCTCAGGA
İnek-53	S518	CTATTAAG	N705	AGGAGTCC
İnek-54	S518	CTATTAAG	N706	CATGCCTA
İnek-55	S518	CTATTAAG	N707	GTAGAGAG
İnek-58	S518	CTATTAAG	N710	CAGCCTCG
İnek-59	S518	CTATTAAG	N711	TGCCTCTT
İnek-60	S518	CTATTAAG	N712	TCCTCTAC
İnek-61	S518	CTATTAAG	N714	TCATGAGC
İnek-62	S518	CTATTAAG	N715	CCTGAGAT
İnek-63	S520	AAGGCTAT	N701	TCGCCTTA
İnek-64	S520	AAGGCTAT	N702	CTAGTACG
İnek-65	S520	AAGGCTAT	N703	TTCTGCCT
İnek-66	S520	AAGGCTAT	N704	GCTCAGGA
İnek-67	S520	AAGGCTAT	N705	AGGAGTCC
İnek-68	S520	AAGGCTAT	N706	CATGCCTA
İnek-69	S520	AAGGCTAT	N707	GTAGAGAG
İnek-71	S520	AAGGCTAT	N710	CAGCCTCG
İnek-72	S520	AAGGCTAT	N711	TGCCTCTT
İnek-73	S520	AAGGCTAT	N712	TCCTCTAC
İnek-74	S520	AAGGCTAT	N714	TCATGAGC
İnek-75	S520	AAGGCTAT	N715	CCTGAGAT
İnek-76	S521	GAGCCTTA	N701	TCGCCTTA
İnek-77	S521	GAGCCTTA	N702	CTAGTACG
İnek-78	S521	GAGCCTTA	N703	TTCTGCCT
İnek-79	S521	GAGCCTTA	N704	GCTCAGGA
İnek-80	S521	GAGCCTTA	N705	AGGAGTCC
İnek-81	S521	GAGCCTTA	N706	CATGCCTA
İnek-82	S521	GAGCCTTA	N707	GTAGAGAG
İnek-83	S521	GAGCCTTA	N710	CAGCCTCG
İnek-84	S521	GAGCCTTA	N712	TCCTCTAC
İnek-85	S521	GAGCCTTA	N714	TCATGAGC
İnek-86	S521	GAGCCTTA	N715	CCTGAGAT
İnek-87	S522	TTATGCGA	N701	TCGCCTTA
İnek-88	S522	TTATGCGA	N702	CTAGTACG
İnek-89	S522	TTATGCGA	N703	TTCTGCCT
İnek-90	S522	TTATGCGA	N704	GCTCAGGA
İnek-91	S522	TTATGCGA	N705	AGGAGTCC
İnek-92	S522	TTATGCGA	N706	CATGCCTA
İnek-93	S522	TTATGCGA	N707	GTAGAGAG
İnek-94	S522	TTATGCGA	N710	CAGCCTCG
İnek-95	S522	TTATGCGA	N711	TGCCTCTT
İnek-96	S522	TTATGCGA	N712	TCCTCTAC
İnek-97	S522	TTATGCGA	N714	TCATGAGC

EK 1. İndex PCR aşamasında barkodlama amacıyla, her bir inek için kullanılan oligonükleotid dizileri (Nextera XT İndex Kit v2, Illumina, ABD)

Örnek	S5xx index	Nükleotit Dizisi	S7xx index	Nükleotit Dizisi
İnek-98	S522	TTATGCGA	N715	CCTGAGAT
İnek-99	S502	CTCTCTAT	N716	TAGCGAGT
İnek-100	S502	CTCTCTAT	N718	GTAGCTCC
İnek-101	S502	CTCTCTAT	N719	TACTACGC
İnek-102	S502	CTCTCTAT	N720	AGGCTCCG
İnek-103	S502	CTCTCTAT	N721	GCAGCGTA
İnek-104	S502	CTCTCTAT	N722	CTGCGCAT
İnek-105	S502	CTCTCTAT	N723	GAGCGCTA
İnek-106	S502	CTCTCTAT	N724	CGCTCAGT
İnek-107	S502	CTCTCTAT	N726	GTCTTAGG
İnek-108	S502	CTCTCTAT	N727	ACTGATCG
İnek-109	S502	CTCTCTAT	N728	TAGCTGCA
İnek-110	S502	CTCTCTAT	N729	GACGTCTGA
İnek-111	S503	TATCCTCT	N716	TAGCGAGT
İnek-112	S503	TATCCTCT	N718	GTAGCTCC
İnek-113	S503	TATCCTCT	N719	TACTACGC
İnek-114	S503	TATCCTCT	N720	AGGCTCCG
İnek-115	S503	TATCCTCT	N721	GCAGCGTA
İnek-116	S503	TATCCTCT	N722	CTGCGCAT
İnek-117	S503	TATCCTCT	N723	GAGCGCTA
İnek-118	S503	TATCCTCT	N724	CGCTCAGT
İnek-119	S503	TATCCTCT	N726	GTCTTAGG
İnek-120	S503	TATCCTCT	N727	ACTGATCG
İnek-121	S503	TATCCTCT	N728	TAGCTGCA
İnek-122	S503	TATCCTCT	N729	GACGTCTGA
İnek-123	S505	GTAAGGAG	N716	TAGCGAGT
İnek-124	S505	GTAAGGAG	N718	GTAGCTCC
İnek-125	S505	GTAAGGAG	N719	TACTACGC
İnek-126	S505	GTAAGGAG	N720	AGGCTCCG
İnek-127	S505	GTAAGGAG	N721	GCAGCGTA
İnek-128	S505	GTAAGGAG	N722	CTGCGCAT
İnek-129	S505	GTAAGGAG	N723	GAGCGCTA
İnek-130	S505	GTAAGGAG	N724	CGCTCAGT
İnek-131	S505	GTAAGGAG	N726	GTCTTAGG
İnek-132	S505	GTAAGGAG	N727	ACTGATCG
İnek-133	S505	GTAAGGAG	N728	TAGCTGCA
İnek-134	S505	GTAAGGAG	N729	GACGTCTGA
İnek-135	S506	ACTGCATA	N716	TAGCGAGT
İnek-136	S506	ACTGCATA	N718	GTAGCTCC
İnek-137	S506	ACTGCATA	N719	TACTACGC
İnek-138	S506	ACTGCATA	N720	AGGCTCCG
İnek-139	S506	ACTGCATA	N721	GCAGCGTA
İnek-140	S506	ACTGCATA	N722	CTGCGCAT
İnek-141	S506	ACTGCATA	N723	GAGCGCTA
İnek-142	S506	ACTGCATA	N724	CGCTCAGT
İnek-143	S506	ACTGCATA	N726	GTCTTAGG
İnek-144	S506	ACTGCATA	N727	ACTGATCG
İnek-145	S506	ACTGCATA	N728	TAGCTGCA
İnek-146	S506	ACTGCATA	N729	GACGTCTGA
İnek-147	S507	AAGGAGTA	N716	TAGCGAGT
İnek-148	S507	AAGGAGTA	N718	GTAGCTCC

EK 1. İndex PCR aşamasında barkodlama amacıyla, her bir inek için kullanılan oligonükleotid dizileri (Nextera XT İndex Kit v2, Illumina, ABD)

Örnek	S5xx index	Nükleotit Dizisi	S7xx index	Nükleotit Dizisi
İnek-149	S507	AAGGAGTA	N719	TACTACGC
İnek-150	S507	AAGGAGTA	N720	AGGCTCCG
İnek-151	S507	AAGGAGTA	N721	GCAGCGTA
İnek-152	S507	AAGGAGTA	N722	CTGCGCAT
İnek-153	S507	AAGGAGTA	N723	GAGCGCTA
İnek-154	S507	AAGGAGTA	N724	CGCTCAGT
İnek-155	S507	AAGGAGTA	N726	GTCTTAGG
İnek-156	S507	AAGGAGTA	N727	ACTGATCG
İnek-157	S507	AAGGAGTA	N728	TAGCTGCA
İnek-158	S507	AAGGAGTA	N729	GACGTCTGA
İnek-159	S508	CTAAGCCT	N716	TAGCGAGT
İnek-160	S508	CTAAGCCT	N718	GTAGCTCC
İnek-161	S508	CTAAGCCT	N719	TACTACGC
İnek-162	S508	CTAAGCCT	N720	AGGCTCCG
İnek-163	S508	CTAAGCCT	N721	GCAGCGTA
İnek-164	S508	CTAAGCCT	N722	CTGCGCAT
İnek-165	S508	CTAAGCCT	N723	GAGCGCTA
İnek-166	S508	CTAAGCCT	N724	CGCTCAGT
İnek-167	S508	CTAAGCCT	N726	GTCTTAGG
İnek-168	S508	CTAAGCCT	N727	ACTGATCG
İnek-169	S508	CTAAGCCT	N728	TAGCTGCA
İnek-170	S508	CTAAGCCT	N729	GACGTCTGA
İnek-171	S510	CGTCTAAT	N716	TAGCGAGT
İnek-172	S510	CGTCTAAT	N718	GTAGCTCC
İnek-173	S510	CGTCTAAT	N719	TACTACGC
İnek-174	S510	CGTCTAAT	N720	AGGCTCCG
İnek-175	S510	CGTCTAAT	N721	GCAGCGTA
İnek-176	S510	CGTCTAAT	N722	CTGCGCAT
İnek-177	S510	CGTCTAAT	N723	GAGCGCTA
İnek-178	S510	CGTCTAAT	N724	CGCTCAGT
İnek-179	S510	CGTCTAAT	N726	GTCTTAGG
İnek-180	S510	CGTCTAAT	N727	ACTGATCG
İnek-181	S510	CGTCTAAT	N728	TAGCTGCA
İnek-182	S510	CGTCTAAT	N729	GACGTCTGA
İnek-183	S511	TCTCTCCG	N716	TAGCGAGT
İnek-184	S511	TCTCTCCG	N718	GTAGCTCC
İnek-185	S511	TCTCTCCG	N719	TACTACGC
İnek-186	S511	TCTCTCCG	N720	AGGCTCCG
İnek-187	S511	TCTCTCCG	N721	GCAGCGTA
İnek-188	S511	TCTCTCCG	N722	CTGCGCAT
İnek-189	S511	TCTCTCCG	N723	GAGCGCTA
İnek-190	S511	TCTCTCCG	N724	CGCTCAGT
İnek-191	S511	TCTCTCCG	N726	GTCTTAGG
İnek-192	S511	TCTCTCCG	N727	ACTGATCG
İnek-193	S511	TCTCTCCG	N728	TAGCTGCA
İnek-194	S511	TCTCTCCG	N729	GACGTCTGA

EK 2. Hardy-Weinberg Denge testi için örnek R kodları

```
#####

```{r}
setwd("C://R/AHMET/")
library(HardyWeinberg)
x <- c(113, 64, 5)
names(x) <- c("AA", "AT", "TT")
HWdengetest <- HWExact(x, verbose = TRUE)
HWAlltests(x, verbose = TRUE)
```

#####
```

EK 3. En küçük kareler ortalaması ve standart hata ($LSM \pm SE$) değerlerinin belirlenmesi için kullanılan örnek R kodları

```
#####

```{r}

setwd("C://R/AHMET/LSM/SUTV/")
library(readxl)
data11=read_xlsx("C://R/AHMET/LSM/SUTV/CSN35.xlsx")
head(data11)
str(data11)
library(psych)
headTail(data11)
str(data11)
summary(data11)

rm(input)
#####toplamsütverimi (LSM±SE) #####
model1 = lm(topsutverim~CSN3_5, data = data11)
library(lsmeans)
lsmeans(model1, pairwise ~ CSN3_5, adjust="tukey")

library(car)
anova(model1)
summary(model1)
library(agricolae)
tukey.test2<- HSD.test(model1, trt = 'CSN3_5')
tukey.test2

```

#####
```

EK 4. Multivariate Adaptive Regression Splines (MARS) Algoritması için örnek R kodları

```
#####

```{r}
setwd("C://R/AHMET")
library(readxl)
mydata1=read_xlsx("C://R/AHMET/sutverimSNF.xlsx")
head(mydata1)
str(mydata1)
summary(mydata1)
library(stats)
library(ggplot2)
library(car)
library(caret)
library(ggcorrplot)
ls(mydata1)

qplot(mydata1$sutverim, geom = "histogram", xlab = "Sütverimi (Kg)", ylab =
"Frekans", y = ..density.., fill = I("blue"), colour = I("darkblue")) + stat_density(geom
= "line")
shapiro.test(mydata1$sutverim)

#####
library(earth)#MARS istatistik paketi
marsresult=earth(sutverim~., data=mydata1, penalty=-1, degree=2,
pmethod="backward", nk=364, nfold=10, keepxy = T)
summary(marsresult, digits=3, style = "max")
print(marsresult)

MARS model çıktıları
#####
Etkili tahminleyicilerin (predictors) önem sırasının değerlendirilmesi
evimp(marsresult)
#####
MARS model katsayıları için önem(significance) testi##
bx<-model.matrix(marsresult)
a.lm<-lm(mydata1$sutverim~bx[,-1])
#a.lm<-lm(data=training ~ bx[,-1])
summary(a.lm)
#####
n<-length(mydata1$sutverim)
n ## örnek sayısı
k= length(marsresult$selected.terms)
k ## MARS predictive modelindeki terimlerin sayısı
cor.test(mydata1$sutverim, predict(marsresult))
Pearsoncorr=round(cor(mydata1$sutverim, predict(marsresult)), digits = 3)
Pearsoncorr ## Korelasyon katsayısı
error=mydata1$sutverim-predict(marsresult)
```

```

sdratio=round(sd(error)/sd(mydata1$sutverim), digits=3)
sdratio
Coefofvariation=round(sd(error)*100/mean(mydata1$sutverim), digits=2)
Coefofvariation #CV(Varyasyon Katsayısı)
RMSE=round(sqrt(mean(error^2)), digits=3)
RMSE
MSE=round((mean(error^2)), digits=3)
MSE
ME=round(mean(error), digits=3)
ME
RAE=round(sqrt(sum(error^2)/sum(mydata1$sutverim^2)), digits=3)
RAE
MAD=round(mean(abs(error)), digits = 3)
MAD
Rsqr=round(1-(sum(error^2)/(var(mydata1$sutverim)*(n-1))), digits = 3)
Rsqr
AdjRsqr=round(1-((1- Rsqr)*(n-1)/(n-k-1)), digits=3)
AdjRsqr
AIC=round(n*log(mean(error^2), base=exp(1))+2*k, digits=0)
AIC
plot(marsresult)
plotmo(marsresult)
library(pastecs)
stat.desc(mydata1$sutverim)
stat.desc(marsresult$residuals)

library(ggpubr)
qplot(mydata$sutverim, predict(marsresult), geom=c("point", "smooth"), method="lm"
alpha=I(1/5), se=FALSE+ stat_cor(method="pearson")

shapiro.test(error)

...

#####

```

**EK 5.** Her bir MARS modelinde bağımlı değişken olarak kullanılan, süt verimi ve diğer ekonomik parametrelerin aralarındaki etkileşimi tespit etmek için oluşturulan korelasyon matrisine (*ggcorrplot*) ait örnek R kodları

```
#####

```{r}

setwd("C://R/corrplot")
library(readxl)
mydata2=read_xlsx("C://R/corrplot/milkcorr.xlsx")
head(mydata2)
str(mydata2)
summary(mydata2)
library(stats)
library(ggplot2)
library(car)
library(caret)
library(ggcorrplot)

corr<- round(cor(mydata2), 1)
head(corr)
p.val <-cor_pmat(mydata2)

head(p.val)
ggcorrplot(corr, hc.order = TRUE, type = "lower", colors = c("#6D9EC1", "white",
"#E46726"), lab=TRUE, ggtheme = ggplot2::theme_gray, p.mat = p.val)

```

#####
```

**EK 6.** Süt verimi için MARS algoritması ile oluşturulan modelin denklemi

$$\begin{aligned}
 \text{Süt Verimi} = & -129 - 12.8 * \text{PAEP\_2MUT}(\text{AA}) - 74.8 * \text{PAEP\_2WT}(\text{GG}) - 0.432 * \text{GHR\_2MUT}(\text{TT}) \\
 & - 12.7 * \text{GHR\_2WT}(\text{AA}) + 1.59 * \text{ATF3\_1WT}(\text{AA}) - 239 * \text{PPARGC1A\_1WT}(\text{GG}) + 1.74 * \\
 & \text{PPARGC1A\_3WT}(\text{CC}) - 12.9 * \text{CSN3\_1MUT}(\text{CC}) + 3.34 * \text{CSN3\_2WT}(\text{CC}) + 143 * \\
 & \text{CSN3\_3WT}(\text{AA}) + 6.6 * \max(0, \text{CSN3\_3MUT}(\text{GG}) - 0) - 25 * \max(0, 2 - \text{cevre}) - 30.8 * \max(0, \\
 & \text{cevre} - 2) + 163 * \max(0, \text{SNF} - 7.76) - 163 * \max(0, \text{SNF} - 7.95) + 135 * \max(0, \text{SNF} - 8.13) - 97.6 \\
 & * \max(0, \text{SNF} - 8.52) + 285 * \max(0, \text{SNF} - 8.58) - 416 * \max(0, \text{SNF} - 8.65) + 571 * \max(0, \text{SNF} \\
 & - 8.74) - 436 * \max(0, \text{SNF} - 8.78) - 195 * \max(0, \text{SNF} - 8.84) + 284 * \max(0, \text{SNF} - 8.87) + 1894 \\
 & * \max(0, \text{SNF} - 9.16) + 163 * \max(0, 9.17 - \text{SNF}) - 2359 * \max(0, \text{SNF} - 9.17) + 445 * \max(0, \text{SNF} - \\
 & 9.23) - 373 * \max(0, \text{SNF} - 9.26) + 286 * \max(0, \text{SNF} - 9.32) + 114 * \max(0, \text{SNF} - 9.42) + 506 * \max(0, \\
 & \text{SNF} - 9.46) - 1338 * \max(0, \text{SNF} - 9.48) + 1400 * \max(0, \text{SNF} - 9.5) - 583 * \max(0, \text{SNF} - 9.51) - \\
 & 3274 * \max(0, \text{SNF} - 9.63) + 172 * \max(0, \text{SNF} - 9.68) - 8.79 * \text{PAEP\_1Mut}(\text{TT}) * \text{GHR\_2MUT}(\text{TT}) + \\
 & 8.51 * \text{PAEP\_1wt}(\text{CC}) * \text{CSN3\_2WT}(\text{CC}) + 6.77 * \text{PAEP\_2MUT}(\text{AA}) * \text{ATF3\_1WT}(\text{AA}) + 8.02 * \\
 & \text{PAEP\_2MUT}(\text{AA}) * \text{CSN3\_3WT}(\text{AA}) + 64.3 * \text{PAEP\_2WT}(\text{GG}) * \text{PPARGC1A\_1MUT}(\text{AA}) + 6.34 * \\
 & \text{PAEP\_2WT}(\text{GG}) * \text{PPARGC1A\_1WT}(\text{GG}) + 19.3 * \text{PAEP\_2WT}(\text{GG}) * \text{CSN3\_3WT}(\text{AA}) + 7.05 * \\
 & \text{PAEP\_2WT}(\text{GG}) * \text{CSN3\_5MUT}(\text{AA}) + 9.05 * \text{PAEP\_2WT}(\text{GG}) * \text{Lakt} + 233 * \text{GHR\_1WT}(\text{AA}) * \\
 & \text{PPARGC1A\_1WT}(\text{GG}) - 233 * \text{GHR\_1WT}(\text{AA}) * \text{CSN3\_3WT}(\text{AA}) + 12.9 * \text{GHR\_2MUT}(\text{TT}) * \\
 & \text{ATF3\_1WT}(\text{AA}) + 15.3 * \text{GHR\_2WT}(\text{AA}) * \text{CSN3\_3WT}(\text{AA}) - 5.6 * \text{ATF3\_1WT}(\text{AA}) * \\
 & \text{PPARGC1A\_2WT}(\text{GG}) + 5.25 * \text{ATF3\_1WT}(\text{AA}) * \text{CSN3\_1MUT}(\text{CC}) + 11.1 * \text{ATF3\_1WT}(\text{AA}) * \\
 & \text{CSN3\_2WT}(\text{CC}) + 15.8 * \text{ATF3\_1WT}(\text{AA}) * \text{CSN3\_3WT}(\text{AA}) - 8.89 * \text{ATF3\_1WT}(\text{AA}) * \text{Lakt} + 1.05 \\
 & * \text{PPARGC1A\_1WT}(\text{GG}) * \text{PPARGC1A\_2WT}(\text{GG}) - 5.86 * \text{PPARGC1A\_1WT}(\text{GG}) * \text{CSN3\_2WT}(\text{CC}) \\
 & - 2.21 * \text{PPARGC1A\_1WT}(\text{GG}) * \text{CSN3\_3WT}(\text{AA}) + 1.86 * \text{PPARGC1A\_1WT}(\text{GG}) * \text{Lakt} - 19.1 * \\
 & \text{PPARGC1A\_3WT}(\text{CC}) * \text{CSN3\_3WT}(\text{AA}) - 7.18 * \text{CSN3\_2WT}(\text{CC}) * \text{Lakt} + 14.7 * \text{CSN3\_3WT}(\text{AA}) * \\
 & \text{cevre} - 9.73 * \text{PAEP\_1wt}(\text{CC}) * \max(0, 9.17 - \text{SNF}) - 49 * \text{PAEP\_1wt}(\text{CC}) * \max(0, \text{SNF} - 8.58) - 424 * \\
 & \text{PAEP\_2MUT}(\text{AA}) * \max(0, \text{SNF} - 8.65) - 142 * \text{PAEP\_2MUT}(\text{AA}) * \max(0, \text{SNF} - 9.17) - 12.3 * \\
 & \text{PAEP\_2MUT}(\text{AA}) * \max(0, \text{SNF} - 8.13) + 85.5 * \text{PAEP\_2MUT}(\text{AA}) * \max(0, \text{SNF} - 9.5) + 732 * \\
 & \text{PAEP\_2WT}(\text{GG}) * \max(0, \text{SNF} - 8.65) + 52.3 * \text{PAEP\_2WT}(\text{GG}) * \max(0, 8.65 - \text{SNF}) + 413 * \\
 & \text{PAEP\_2WT}(\text{GG}) * \max(0, \text{SNF} - 8.5) + 419 * \text{PAEP\_2WT}(\text{GG}) * \max(0, \text{SNF} - 8.08) + 9.7 * \\
 & \text{GHR\_1WT}(\text{AA}) * \max(0, \text{SNF} - 8.58) + 230 * \text{GHR\_2MUT}(\text{TT}) * \max(0, \text{SNF} - 9.17) + 19.6 * \\
 & \text{GHR\_2WT}(\text{AA}) * \max(0, \text{cevre} - 2) - 129 * \text{GHR\_2WT}(\text{AA}) * \max(0, \text{SNF} - 9.32) + 96.9 * \\
 & \text{GHR\_2WT}(\text{AA}) * \max(0, \text{SNF} - 9.16) - 13.9 * \text{GHR\_2WT}(\text{AA}) * \max(0, \text{SNF} - 8.13) - 32 * \\
 & \text{ATF3\_1MUT}(\text{GG}) * \max(0, 9.17 - \text{SNF}) - 238 * \text{ATF3\_1WT}(\text{AA}) * \max(0, \text{SNF} - 9.17) - 126 * \\
 & \text{ATF3\_1WT}(\text{AA}) * \max(0, \text{SNF} - 9.32) - 866 * \text{ATF3\_1WT}(\text{AA}) * \max(0, \text{SNF} - 8.58) + 524 * \\
 & \text{ATF3\_1WT}(\text{AA}) * \max(0, \text{SNF} - 8.61) - 12.9 * \text{ATF3\_1WT}(\text{AA}) * \max(0, 8.61 - \text{SNF}) + 335 * \\
 & \text{ATF3\_1WT}(\text{AA}) * \max(0, \text{SNF} - 8.54) + 357 * \text{ATF3\_1WT}(\text{AA}) * \max(0, \text{SNF} - 9.2) - 43.4 * \\
 & \text{PPARGC1A\_1MUT}(\text{AA}) * \max(0, 9.17 - \text{SNF}) + 6.59 * \text{PPARGC1A\_1WT}(\text{GG}) * \max(0, \text{cevre} - 2) + 5.46 \\
 & * \text{PPARGC1A\_1WT}(\text{GG}) * \max(0, 2 - \text{cevre}) + 14.5 * \text{PPARGC1A\_1WT}(\text{GG}) * \max(0, \text{SNF} - 8.22) - \\
 & 53.1 * \text{PPARGC1A\_1WT}(\text{GG}) * \max(0, 8.22 - \text{SNF}) + 205 * \text{PPARGC1A\_1WT}(\text{GG}) * \max(0, \text{SNF} - \\
 & 8.58) - 71.3 * \text{PPARGC1A\_1WT}(\text{GG}) * \max(0, \text{SNF} - 8.74) + 21.4 * \text{PPARGC1A\_2WT}(\text{GG}) * \max(0,
 \end{aligned}$$

cevre-2) +38.5 \* PPARGC1A\_2WT(GG)\* max(0, 2 - cevre) - 36.9 \* PPARGC1A\_2WT(GG)\* max(0, 9.17 - SNF) + 16.3 \* PPARGC1A\_3WT(CC) \* max(0, 9.17 - SNF) + 86.4 \* PPARGC1A\_3WT(CC) \* max(0, SNF - 9.63) - 80.8 \* PPARGC1A\_3WT(CC)\* max(0, SNF - 8.78)+ 77 \* PPARGC1A\_3WT(CC)\* max(0, SNF - 8.58) - 15.9 \* CSN3\_1MUT(CC) \* max(0, SNF - 9.17) + 15.7 \* CSN3\_1WT(TT) \* max(0, SNF - 8.58) - 37.9 \* CSN3\_1WT(TT) \* max(0, SNF - 8.78) + 3 \* CSN3\_3WT(AA)\* max(0, cevre - 2)+ 85 \* CSN3\_3WT(AA)\* max(0, 9.17 - SNF) - 40.8 \* CSN3\_3WT(AA) \* max(0, SNF - 8.74) - 35.4 \* CSN3\_3WT(AA) \* max(0, 8.74 - SNF) - 166 \* CSN3\_3WT(AA) \* max(0, SNF - 8.95) - 40.6 \* CSN3\_3WT(AA) \* max(0, SNF - 8.46) + 191 \* CSN3\_3WT(AA) \* max(0, SNF - 8.8) - 6.21 \* CSN3\_3WT(AA) \* max(0, SNF - 9.06) + 56.1 \* CSN3\_3WT(AA) \* max(0, SNF - 8.3) - 945 \* CSN3\_4MUT(AA)\* max(0, SNF - 9.17) - 1.97 \* CSN3\_4WT(GG) \* max(0, SNF - 8.13) + 7.77 \* CSN3\_5MUT(AA) \* max(0, 9.17 - SNF) + 2913 \* Lakt \* max(0, SNF - 9.63) + 24.5 \* Lakt \* max(0, SNF - 8.13) + 263 \* max(0, PAEP\_2MUT(AA) - 0) \* max(0, SNF - 8.74) + 241 \* max(0, PAEP\_2MUT(AA) - 0) \* max(0, SNF - 8.58) - 358 \* max(0, PAEP\_2WT(GG) - 0) \* max(0, SNF - 8.13) - 1145 \* max(0, PAEP\_2WT(GG) - 0) \* max(0, SNF - 8.58) + 30.8 \* max(0, GHR\_1MUT(GG) - 0) \* max(0, SNF - 9.23) - 88.6 \* max(0, GHR\_2MUT(TT) - 0) \* max(0, SNF - 8.13) - 156 \* max(0, PPARGC1A\_1WT(GG) - 0) \* max(0, SNF - 8.52) + 949 \* max(0, CSN3\_5MUT(AA) - 0) \* max(0, SNF - 9.16) - 433 \* max(0, Lakt - 1) \* max(0, SNF - 8.78) - 11.8 \* max(0, 2 - cevre) \* max(0, SNF - 8.21) - 85.8 \* max(0, 2 - cevre) \* max(0, 8.21 - SNF) - 16.1 \* max(0, 2 - cevre) \* max(0, SNF - 8.09) - 146 \* max(0, 2 - cevre) \* max(0, SNF - 9.17) + 14.8 \* max(0, 2 - cevre) \* max(0, SNF - 8.58) + 79.9 \* max(0, 2 - cevre) \* max(0, SNF - 8.78) - 65.1 \* max(0, cevre - 2) \* max(0, SNF - 9.32) - 19.7 \* max(0, cevre - 2) \* max(0, 9.32 - SNF) + 60.2 \* max(0, cevre - 2) \* max(0, SNF - 9.17) - 20.1 \* max(0, cevre - 2) \* max(0, SNF - 8.58) - 20.8 \* max(0, cevre - 2) \* max(0, SNF - 8.78)

**EK 7.** Yağ oranı (%) için MARS algoritması ile oluşturulan modelin denklemi

$$\begin{aligned}
 \text{Yağ oranı (\%)} = & 164 - 0.366 * \text{PAEP\_1wt(CC)} - 43.8 * \text{GHR\_1WT(AA)} - 13.7 * \\
 & \text{PPARGC1A\_2WT(GG)} + 3.82 * \text{CSN3\_1MUT(CC)} + 3.18 * \text{Lakt} + 3.8 * \max(0, 2 - \text{cevre}) - 12.5 * \\
 & \max(0, \text{cevre} - 2) - 22.3 * \max(0, \text{SNF} - 7.95) - 66 * \max(0, \text{SNF} - 8.4) - 124 * \max(0, \text{SNF} - 8.48) + \\
 & 14.3 * \max(0, \text{SNF} - 8.78) - 193 * \max(0, 9.21 - \text{SNF}) + 203 * \max(0, \text{SNF} - 9.21) + 0.393 * \\
 & \text{PAEP\_1Mut(TT)} * \text{CSN3\_1MUT(CC)} + 0.539 * \text{GHR\_1WT(AA)} * \text{ATF3\_1WT(AA)} - 0.25 * \\
 & \text{GHR\_1WT(AA)} * \text{PPARGC1A\_1WT(GG)} - 2.23 * \text{GHR\_1WT(AA)} * \text{Lakt} + 0.376 * \text{GHR\_2WT(AA)} \\
 & * \text{Lakt} + 0.867 * \text{ATF3\_1MUT(GG)} * \text{PPARGC1A\_2WT(GG)} - 0.662 * \text{ATF3\_1WT(AA)} * \\
 & \text{SN3\_1MUT(CC)} + 4.52 * \text{PPARGC1A\_1MUT(AA)} * \text{CSN3\_1MUT(CC)} - 2.02 * \text{CSN3\_4MUT(AA)} \\
 & * \text{Lakt} + 2.08 * \text{PAEP\_1Mut(TT)} * \max(0, 2 - \text{cevre}) - 0.954 * \text{PAEP\_1Mut(TT)} * \max(0, 9.21 - \\
 & \text{SNF}) - 1.15 * \text{GHR\_1WT(AA)} * \max(0, 2 - \text{cevre}) - 139 * \text{GHR\_1WT(AA)} * \max(0, \text{SNF} - 8.66) \\
 & + 174 * \text{GHR\_1WT(AA)} * \max(0, 8.66 - \text{SNF}) - 41.4 * \text{GHR\_1WT(AA)} * \max(0, \text{SNF} - 8.71) + 119 \\
 & * \text{GHR\_1WT(AA)} * \max(0, \text{SNF} - 8.36) + 60.4 * \text{GHR\_1WT(AA)} * \max(0, \text{SNF} - 8.52) + 1 * \\
 & \text{GHR\_2MUT(TT)} * \max(0, \text{cevre} - 2) + 0.0491 * \text{GHR\_2WT(AA)} * \max(0, \text{cevre} - 2) + 1.54 * \\
 & \text{ATF3\_1WT(AA)} * \max(0, 2 - \text{cevre}) - 0.119 * \text{ATF3\_1WT(AA)} * \max(0, 9.21 - \text{SNF}) + 0.841 * \\
 & \text{PPARGC1A\_1WT(GG)} * \max(0, 9.21 - \text{SNF}) - 0.725 * \text{PPARGC1A\_2WT(GG)} * \max(0, \text{cevre} - 2) - \\
 & 3.58 * \text{PPARGC1A\_2WT(GG)} * \max(0, 2 - \text{cevre}) - 27.5 * \text{PPARGC1A\_2WT(GG)} * \max(0, \text{SNF} - 9.21) \\
 & + 12.8 * \text{PPARGC1A\_2WT(GG)} * \max(0, 9.21 - \text{SNF}) + 7.28 * \text{PPARGC1A\_2WT(GG)} * \max(0, \text{SNF} - 9) \\
 & + 35.8 * \text{PPARGC1A\_2WT(GG)} * \max(0, \text{SNF} - 8.48) + 25.9 * \text{PPARGC1A\_2WT(GG)} * \max(0, \text{SNF} - 8.09) \\
 & - 46.5 * \text{PPARGC1A\_2WT(GG)} * \max(0, \text{SNF} - 8.3) - 1.31 * \text{PPARGC1A\_3WT(CC)} * \max(0, \text{cevre} - 2) \\
 & + 0.68 * \text{PPARGC1A\_3WT(CC)} * \max(0, 9.21 - \text{SNF}) + 0.565 * \text{CSN3\_1MUT(CC)} * \max(0, \text{cevre} - 2) \\
 & + 6.9 * \text{CSN3\_1MUT(CC)} * \max(0, \text{SNF} - 9.35) - 1.83 * \text{CSN3\_1MUT(CC)} * \max(0, 9.35 - \text{SNF}) \\
 & + 9.95 * \text{CSN3\_1MUT(CC)} * \max(0, \text{SNF} - 9.03) + 19 * \text{CSN3\_1MUT(CC)} * \max(0, \text{SNF} - 8.54) \\
 & - 21.8 * \text{CSN3\_1MUT(CC)} * \max(0, \text{SNF} - 8.92) - 69.5 * \text{CSN3\_1MUT(CC)} * \max(0, \text{SNF} - 8.13) + \\
 & 58.4 * \text{CSN3\_1MUT(CC)} * \max(0, \text{SNF} - 8.09) - 1.96 * \text{CSN3\_1WT(TT)} * \max(0, 9.21 - \text{SNF}) - 4.32 * \\
 & \text{CSN3\_2MUT(AA)} * \max(0, 2 - \text{cevre}) + 1.85 * \text{CSN3\_2WT(CC)} * \max(0, 9.21 - \text{SNF}) + 5.55 * \\
 & \text{CSN3\_5MUT(AA)} * \max(0, 2 - \text{cevre}) + 0.744 * \text{Lakt} * \max(0, \text{SNF} - 8.08) + 6.94 * \text{Lakt} * \max(0, \\
 & 8.08 - \text{SNF}) - 151 * \text{Lakt} * \max(0, \text{SNF} - 8.91) + 0.932 * \text{Lakt} * \max(0, \text{SNF} - 9.02) + 68.1 * \text{Lakt} * \\
 & \max(0, \text{SNF} - 8.86) + 80.5 * \text{Lakt} * \max(0, \text{SNF} - 8.95) - 0.0672 * \max(0, 2 - \text{cevre}) * \max(0, 9.21 - \text{SNF}) \\
 & - 19.7 * \max(0, \text{cevre} - 2) * \max(0, \text{SNF} - 8.85) + 11.9 * \max(0, \text{cevre} - 2) * \max(0, 8.85 - \text{SNF}) \\
 & + 20.1 * \max(0, \text{cevre} - 2) * \max(0, \text{SNF} - 8.19) + 4.6 * \max(0, \text{cevre} - 2) * \max(0, 9.21 - \text{SNF})
 \end{aligned}$$

**EK 8.** Yağ verimi (kg) için MARS algoritması ile oluşturulan modelin denklemi

$$\begin{aligned}
 \text{Yağ Verim (kg)} = & -0.536 + 0.91 * \text{GHR\_1WT(AA)} + 1.24 * \text{Lakt} + 0.564 * \max(0, \text{yogunluk} - 28.1) - 3.34 * \max(0, \text{yogunluk} - 28.9) + 3.66 * \max(0, \text{yogunluk} - 29.1) \\
 & 1.22 * \max(0, \text{yogunluk} - 29.7) + 1.22 * \max(0, \text{yogunluk} - 32.1) + 0.262 * \max(0, 32.3 - \text{yogunluk}) - 1.44 * \max(0, \text{yogunluk} - 32.3) \\
 & + 0.184 * \max(0, \text{yogunluk} - 33.4) - 1.16 * \text{GHR\_1WT(AA)} * \text{Lakt} - 0.125 * \text{GHR\_2MUT(TT)} * \text{Lakt} \\
 & + 0.331 * \text{GHR\_1WT(AA)} * \max(0, \text{yogunluk} - 30.5) + 0.0293 * \text{GHR\_2WT(AA)} * \max(0, 32.3 - \text{yogunluk}) \\
 & + 0.982 * \text{ATF3\_1MUT(GG)} * \max(0, \text{yogunluk} - 32.3) - 0.0309 * \text{PPARGC1A\_1MUT(AA)} * \max(0, 32.3 - \text{yogunluk}) - 0.0359 * \text{PPARGC1A\_1WT(GG)} \\
 & * \max(0, 32.3 - \text{yogunluk}) - 0.0344 * \text{PPARGC1A\_3WT(CC)} * \max(0, 32.3 - \text{yogunluk}) + 0.0212 * \text{CSN3\_1WT(TT)} * \max(0, 32.3 - \text{yogunluk}) \\
 & + 0.615 * \max(0, \text{GHR\_1MUT(GG)} - 0) * \max(0, \text{yogunluk} - 32.3) + 0.516 * \max(0, 2 - \text{cevre}) * \max(0, \text{yogunluk} - 32.3) \\
 & - 0.0302 * \max(0, 2 - \text{cevre}) * \max(0, 32.3 - \text{yogunluk})
 \end{aligned}$$

**EK 9.** Protein oranı (%) için MARS algoritması ile oluşturulan modelin denklemi

$$\begin{aligned}
 \text{Protein Oranı (\%)} = & 3.38 + 0.455 * \text{PAEP\_1wt(CC)} + 0.726 * \text{GHR\_1MUT(GG)} + 0.413 \\
 & * \text{GHR\_2WT(AA)} - 0.2 * \text{CSN3\_2MUT(AA)} - 0.19 * \text{CSN3\_3WT(AA)} + 0.0554 * \text{CSN3\_4MUT(AA)} + \\
 & 0.0456 * \max(0, 2 - \text{cevre}) - 0.888 * \max(0, \text{cevre} - 2) - 0.711 * \text{PAEP\_1Mut(TT)} * \text{GHR\_2WT(AA)} - 0.316 \\
 & * \text{PAEP\_1Mut(TT)} * \text{CSN3\_4MUT(AA)} + 0.191 * \text{PAEP\_1wt(CC)} * \text{GHR\_1WT(AA)} - 0.214 * \\
 & \text{PAEP\_1wt(CC)} * \text{GHR\_2WT(AA)} + 0.592 * \text{PAEP\_1wt(CC)} * \text{PPARGC1A\_1MUT(AA)} + 0.283 * \\
 & \text{PAEP\_1wt(CC)} * \text{PPARGC1A\_1WT(GG)} - 0.709 * \text{PAEP\_1wt(CC)} * \text{PPARGC1A\_2WT(GG)} + 0.228 * \\
 & \text{PAEP\_1wt(CC)} * \text{CSN3\_1WT(TT)} + 0.355 * \text{PAEP\_2MUT(AA)} * \text{GHR\_2WT(AA)} - 0.617 * \\
 & \text{PAEP\_2MUT(AA)} * \text{CSN3\_4MUT(AA)} + 0.0855 * \text{GHR\_2MUT(TT)} * \text{CSN3\_3WT(AA)} + 0.274 * \text{GHR\_2WT(AA)} * \\
 & \text{ATF3\_1MUT(GG)} + 0.00125 * \text{GHR\_2WT(AA)} * \text{ATF3\_1WT(AA)} - 0.305 * \text{GHR\_2WT(AA)} * \\
 & \text{PPARGC1A\_1WT(GG)} - 0.208 * \text{GHR\_2WT(AA)} * \text{PPARGC1A\_2WT(GG)} + 0.16 * \text{GHR\_2WT(AA)} * \\
 & \text{CSN3\_2MUT(AA)} - 0.743 * \text{GHR\_2WT(AA)} * \text{CSN3\_2WT(CC)} + 0.628 * \text{GHR\_2WT(AA)} * \\
 & \text{CSN3\_4WT(GG)} - 0.0389 * \text{GHR\_2WT(AA)} * \text{CSN3\_5MUT(AA)} - 0.149 * \text{GHR\_2WT(AA)} * \text{Lakt} + \\
 & 0.0816 * \text{ATF3\_1WT(AA)} * \text{CSN3\_3WT(AA)} - 0.492 * \text{ATF3\_1WT(AA)} * \text{CSN3\_4MUT(AA)} + 0.0396 \\
 & * \text{PPARGC1A\_1WT(GG)} * \text{CSN3\_3WT(AA)} + 0.183 * \text{PPARGC1A\_4WT(CC)} * \text{CSN3\_2MUT(AA)} - \\
 & 0.31 * \max(0, \text{PAEP\_1Mut(TT)} - 0) * \text{CSN3\_2MUT(AA)} + 0.397 * \text{PAEP\_1wt(CC)} * \max(0, \text{cevre} - \\
 & 2) + 1.01 * \text{PAEP\_1wt(CC)} * \max(0, 2 - \text{cevre}) - 0.259 * \text{PAEP\_2MUT(AA)} * \max(0, \text{cevre} - 2) - \\
 & 0.212 * \text{GHR\_1WT(AA)} * \max(0, 2 - \text{cevre}) + 0.674 * \text{GHR\_1WT(AA)} * \max(0, \text{cevre} - 2) + 0.144 * \\
 & \text{GHR\_2WT(AA)} * \max(0, \text{cevre} - 2) - 0.14 * \text{GHR\_2WT(AA)} * \max(0, 2 - \text{cevre}) - 0.201 * \\
 & \text{ATF3\_1WT(AA)} * \max(0, \text{cevre} - 2) - 0.644 * \text{PPARGC1A\_1WT(GG)} * \max(0, \text{cevre} - 2) + 0.568 * \\
 & \text{PPARGC1A\_2WT(GG)} * \max(0, \text{cevre} - 2) - 0.0189 * \text{CSN3\_1WT(TT)} * \max(0, 2 - \text{cevre}) + 0.0851 * \\
 & \text{CSN3\_4MUT(AA)} * \max(0, \text{cevre} - 2) + 0.161 * \text{CSN3\_4MUT(AA)} * \max(0, 2 - \text{cevre}) - 0.191 * \\
 & \text{PAEP\_1Mut(TT)} * \text{GHR\_2WT(AA)} * \text{PPARGC1A\_1WT(GG)} + 0.255 * \text{PAEP\_1Mut(TT)} * \\
 & \text{GHR\_2WT(AA)} * \text{CSN3\_1MUT(CC)} + 0.294 * \text{PAEP\_1Mut(TT)} * \text{GHR\_2WT(AA)} * \text{Lakt} + \\
 & 0.236 * \text{PAEP\_1Mut(TT)} * \text{CSN3\_3WT(AA)} * \text{CSN3\_4MUT(AA)} + 0.36 * \text{PAEP\_1Mut(TT)} * \\
 & \text{CSN3\_4MUT(AA)} * \text{cevre} + 0.38 * \text{PAEP\_1wt(CC)} * \text{GHR\_1WT(AA)} * \text{CSN3\_1WT(TT)} - 0.0777 \\
 & * \text{PAEP\_2MUT(AA)} * \text{ATF3\_1WT(AA)} * \text{CSN3\_4MUT(AA)} + 0.214 * \text{PAEP\_2MUT(AA)} * \\
 & \text{PPARGC1A\_1WT(GG)} * \text{CSN3\_4MUT(AA)} + 0.522 * \text{PAEP\_2MUT(AA)} * \text{PPARGC1A\_3WT(CC)} * \text{CSN3\_4MUT(AA)} \\
 & + 0.204 * \text{PAEP\_2WT(GG)} * \text{GHR\_2WT(AA)} * \text{CSN3\_5MUT(AA)} + 0.0153 * \\
 & \text{GHR\_1WT(AA)} * \text{GHR\_2WT(AA)} * \text{CSN3\_5MUT(AA)} + 0.355 * \text{GHR\_1WT(AA)} * \text{ATF3\_1WT(AA)} \\
 & * \text{CSN3\_4MUT(AA)} + 0.182 * \text{GHR\_2WT(AA)} * \text{ATF3\_1WT(AA)} * \text{CSN3\_5MUT(AA)} + 0.274 * \\
 & \text{GHR\_2WT(AA)} * \text{PPARGC1A\_1WT(GG)} * \text{PPARGC1A\_2WT(GG)} - 0.359 * \text{GHR\_2WT(AA)} * \\
 & \text{PPARGC1A\_3WT(CC)} * \text{CSN3\_5MUT(AA)} - 0.191 * \text{ATF3\_1WT(AA)} * \text{PPARGC1A\_1WT(GG)} * \\
 & \text{CSN3\_4MUT(AA)} + 0.0808 * \text{ATF3\_1WT(AA)} * \text{CSN3\_4MUT(AA)} * \text{Lakt} + 0.324 * \\
 & \text{PAEP\_1Mut(TT)} * \text{ATF3\_1WT(AA)} * \max(0, \text{cevre} - 2) - 0.812 * \text{PAEP\_1wt(CC)} * \text{PAEP\_2WT(GG)} \\
 & * \max(0, 2 - \text{cevre}) - 0.201 * \text{PAEP\_1wt(CC)} * \text{GHR\_2WT(AA)} * \max(0, \text{cevre} - 2) - 0.848 * \\
 & \text{PAEP\_1wt(CC)} * \text{ATF3\_1WT(AA)} * \max(0, 2 - \text{cevre}) - 0.311 * \text{PAEP\_1wt(CC)} * \\
 & \text{PPARGC1A\_1WT(GG)} * \max(0, \text{cevre} - 2) + 0.471 * \text{PAEP\_1wt(CC)} * \text{CSN3\_1MUT(CC)} * \max(0, \\
 & 2 - \text{cevre}) - 0.201 * \text{PAEP\_1wt(CC)} * \text{CSN3\_4MUT(AA)} * \max(0, \text{cevre} - 2) - 0.0277 *
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
& \text{PAEP\_2MUT(AA)} * \text{GHR\_1WT(AA)} * \max(0, 2 - \text{cevre}) + 0.211 * \text{PAEP\_2MUT(AA)} * \\
& \text{PPARGC1A\_1WT(GG)} * \max(0, \text{cevre} - 2) - 0.142 * \text{GHR\_1WT(AA)} * \text{ATF3\_1WT(AA)} * \max(0, 2 - \\
& \text{cevre}) - 0.774 * \text{GHR\_1WT(AA)} * \text{PPARGC1A\_1MUT(AA)} * \max(0, 2 - \text{cevre}) - 0.0195 * \\
& \text{GHR\_1WT(AA)} * \text{PPARGC1A\_1WT(GG)} * \max(0, 2 - \text{cevre}) + 0.0917 * \text{GHR\_1WT(AA)} * \\
& \text{PPARGC1A\_3WT(CC)} * \max(0, 2 - \text{cevre}) + 0.218 * \text{GHR\_1WT(AA)} * \text{CSN3\_1MUT(CC)} * \max(0, 2 - \\
& \text{cevre}) - 0.557 * \text{GHR\_1WT(AA)} * \text{CSN3\_5MUT(AA)} * \max(0, 2 - \text{cevre}) - 0.537 * \text{GHR\_2MUT(TT)} \\
& * \text{PPARGC1A\_1WT(GG)} * \max(0, \text{cevre} - 2) + 0.446 * \text{GHR\_2MUT(TT)} * \text{PPARGC1A\_2WT(GG)} * \\
& \max(0, \text{cevre} - 2) - 0.35 * \text{GHR\_2WT(AA)} * \text{ATF3\_1WT(AA)} * \max(0, \text{cevre} - 2) + 0.529 * \\
& \text{GHR\_2WT(AA)} * \text{PPARGC1A\_1WT(GG)} * \max(0, \text{cevre} - 2) + 0.229 * \text{GHR\_2WT(AA)} * \\
& \text{PPARGC1A\_1WT(GG)} * \max(0, 2 - \text{cevre}) - 0.135 * \text{GHR\_2WT(AA)} * \text{CSN3\_1WT(TT)} * \max(0, 2 - \\
& \text{cevre}) - 0.0791 * \text{GHR\_2WT(AA)} * \text{CSN3\_5MUT(AA)} * \max(0, \text{cevre} - 2) - 0.167 * \text{GHR\_2WT(AA)} * \\
& \text{CSN3\_5MUT(AA)} * \max(0, 2 - \text{cevre}) - 0.212 * \text{ATF3\_1WT(AA)} * \text{CSN3\_3WT(AA)} * \max(0, \text{cevre} - 2) \\
& + 0.164 * \text{ATF3\_1WT(AA)} * \text{CSN3\_4MUT(AA)} * \max(0, \text{cevre} - 2) + 0.656 * \text{ATF3\_1WT(AA)} * \\
& \text{CSN3\_4MUT(AA)} * \max(0, 2 - \text{cevre}) + 0.557 * \text{PPARGC1A\_1WT(GG)} * \text{CSN3\_3WT(AA)} * \max(0, \\
& \text{cevre} - 2) - 0.267 * \text{PPARGC1A\_1WT(GG)} * \text{CSN3\_4MUT(AA)} * \max(0, 2 - \text{cevre}) - 0.643 * \max(0, \\
& \text{PAEP\_2MUT(AA)} - 0) * \text{CSN3\_4MUT(AA)} * \max(0, \text{cevre} - 2)
\end{aligned}$$

**EK 10.** Protein verimi (kg) için MARS algoritması ile oluşturulan modelin denklemi

$$\begin{aligned}
 \text{Proteinverim (\%)} = & -5.01 - 0.238 * \text{PAEP\_1wt(CC)} - 0.0288 * \text{PAEP\_2MUT(AA)} + 2.82 * \\
 & \text{GHR\_1WT(AA)} + 0.151 * \text{GHR\_2MUT(TT)} - 0.475 * \text{ATF3\_1WT(AA)} - 0.421 * \\
 & \text{PPARGC1A\_1WT(GG)} - 0.149 * \text{PPARGC1A\_3WT(CC)} - 0.675 * \text{CSN3\_3WT(AA)} \\
 & - 0.795 * \text{CSN3\_4MUT(AA)} + 1.01 * \text{CSN3\_5MUT(AA)} - 72.2 * \max(0, 2 - \text{cevre}) + 5.28 * \\
 & \max(0, \text{cevre} - 2) + 0.185 * \max(0, \text{yogunluk} - 22.7) + 0.285 * \max(0, \text{yogunluk} - 23.5) - 0.415 \\
 & * \max(0, \text{yogunluk} - 24.2) + 4.96 * \max(0, \text{yogunluk} - 27.7) - 3.51 * \max(0, \text{yogunluk} - 27.9) + \\
 & 0.818 * \max(0, \text{yogunluk} - 28.8) - 2.02 * \max(0, \text{yogunluk} - 29.1) + 1.03 * \max(0, \text{yogunluk} - \\
 & 29.7) - 0.864 * \max(0, \text{yogunluk} - 30.2) + 0.399 * \max(0, \text{yogunluk} - 30.6) + 1.13 * \max(0, \\
 & \text{yogunluk} - 32.3) + 4.13 * \max(0, \text{yogunluk} - 32.8) + 0.81 * \max(0, 33.2 - \text{yogunluk}) - \\
 & 9.79 * \max(0, \text{yogunluk} - 33.2) + 8.02 * \max(0, \text{yogunluk} - 34.2) + 6.34 * \max(0, \\
 & \text{yogunluk} - 34.7) - 3 * \max(0, \text{yogunluk} - 35.3) + 8.45 * \max(0, \text{yogunluk} - 35.4) - 5.35 \\
 & * \max(0, \text{yogunluk} - 35.5) - 0.0754 * \text{PAEP\_1Mut(TT)} * \text{GHR\_1WT(AA)} + 0.202 * \\
 & \text{PAEP\_1Mut(TT)} * \text{PPARGC1A\_1WT(GG)} + 0.175 * \text{PAEP\_1Mut(TT)} * \text{CSN3\_4MUT(AA)} - 0.0935 \\
 & * \text{PAEP\_1wt(CC)} * \text{PPARGC1A\_1WT(GG)} + 0.185 * \text{PAEP\_1wt(CC)} * \text{CSN3\_4MUT(AA)} \\
 & + 0.0493 * \text{PAEP\_2MUT(AA)} * \text{PPARGC1A\_3WT(CC)} - 0.138 * \text{PAEP\_2MUT(AA)} * \\
 & \text{CSN3\_3WT(AA)} - 0.51 * \text{PAEP\_2WT(GG)} * \text{GHR\_1WT(AA)} + 0.203 * \text{PAEP\_2WT(GG)} \\
 & * \text{PPARGC1A\_1WT(GG)} + 0.206 * \text{GHR\_1WT(AA)} * \text{ATF3\_1WT(AA)} + 0.0078 * \text{GHR\_1WT(AA)} \\
 & * \text{PPARGC1A\_1WT(GG)} - 0.147 * \text{GHR\_1WT(AA)} * \text{CSN3\_1MUT(CC)} - 0.769 * \text{GHR\_2MUT(TT)} \\
 & * \text{CSN3\_4MUT(AA)} - 0.154 * \text{GHR\_2WT(AA)} * \text{CSN3\_4MUT(AA)} - 0.252 * \text{ATF3\_1MUT(GG)} * \\
 & \text{PPARGC1A\_1WT(GG)} + 0.531 * \text{ATF3\_1WT(AA)} * \text{CSN3\_3WT(AA)} - 0.441 * \\
 & \text{PPARGC1A\_1WT(GG)} * \text{PPARGC1A\_2WT(GG)} + 0.213 * \text{PPARGC1A\_1WT(GG)} * \\
 & \text{PPARGC1A\_3WT(CC)} + 0.354 * \text{PPARGC1A\_1WT(GG)} * \text{CSN3\_1WT(TT)} - 0.0221 * \\
 & \text{PPARGC1A\_1WT(GG)} * \text{CSN3\_3WT(AA)} - 0.191 * \text{PPARGC1A\_1WT(GG)} * \text{CSN3\_4WT(GG)} + \\
 & 0.245 * \text{PPARGC1A\_1WT(GG)} * \text{CSN3\_5MUT(AA)} - 0.0586 * \text{PPARGC1A\_1WT(GG)} * \text{Lakt} - 0.125 \\
 & * \text{PPARGC1A\_3WT(CC)} * \text{CSN3\_3WT(AA)} - 0.0136 * \text{PAEP\_1Mut(TT)} * \max(0, 33.2 - \text{yogunluk}) + \\
 & 0.145 * \text{PAEP\_1Mut(TT)} * \max(0, \text{yogunluk} - 32.8) - 0.0776 * \text{PAEP\_1wt(CC)} * \max(0, 2 - \text{cevre}) \\
 & + 2.35 * \text{PAEP\_1wt(CC)} * \max(0, \text{yogunluk} - 33.2) + 0.399 * \text{PAEP\_1wt(CC)} * \max(0, \text{yogunluk} - \\
 & 30.6) - 0.0199 * \text{PAEP\_1wt(CC)} * \max(0, \text{yogunluk} - 27.7) - 2.59 * \text{PAEP\_1wt(CC)} * \max(0, \\
 & \text{yogunluk} - 32.8) - 0.0865 * \text{PAEP\_2MUT(AA)} * \max(0, \text{yogunluk} - 32.8) + 0.649 * \text{PAEP\_2WT(GG)} \\
 & * \max(0, 2 - \text{cevre}) + 0.0445 * \text{PAEP\_2WT(GG)} * \max(0, \text{yogunluk} - 22.7) - 0.744 * \text{GHR\_1WT(AA)} \\
 & * \max(0, \text{cevre} - 2) + 2.6 * \text{GHR\_1WT(AA)} * \max(0, \text{yogunluk} - 29) - 0.969 * \text{GHR\_1WT(AA)} * \\
 & \max(0, 29 - \text{yogunluk}) - 3.58 * \text{GHR\_1WT(AA)} * \max(0, \text{yogunluk} - 32.6) - 2.16 * \text{GHR\_1WT(AA)} \\
 & * \max(0, \text{yogunluk} - 27.3) - 1.59 * \text{GHR\_1WT(AA)} * \max(0, \text{yogunluk} - 28.7) - 6.36 * \\
 & \text{GHR\_1WT(AA)} * \max(0, \text{yogunluk} - 34.5) + 1.31 * \text{GHR\_1WT(AA)} * \max(0, \text{yogunluk} - 28.1) - \\
 & 0.0523 * \text{GHR\_1WT(AA)} * \max(0, \text{yogunluk} - 31.2) + 3.39 * \text{GHR\_1WT(AA)} * \max(0, \text{yogunluk} - \\
 & 32.2) + 7.91 * \text{GHR\_1WT(AA)} * \max(0, \text{yogunluk} - 33.4) - 2.52 * \text{GHR\_1WT(AA)} * \max(0, \\
 & \text{yogunluk} - 32.1) - 7.92 * \text{GHR\_1WT(AA)} * \max(0, \text{yogunluk} - 34.8) + 2.3 * \text{GHR\_1WT(AA)} \\
 & * \max(0, \text{yogunluk} - 34.5) - 5.46 * \text{GHR\_1WT(AA)} * \max(0, \text{yogunluk} - 33.7) + 0.165 *
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
& \text{GHR\_2MUT(TT)} * \max(0, 2 - \text{cevre}) - 0.0472 * \text{GHR\_2MUT(TT)} * \max(0, 33.2 - \text{yogunluk}) + \\
& 0.203 * \text{GHR\_2WT(AA)} * \max(0, \text{cevre} - 2) - 0.747 * \text{GHR\_2WT(AA)} * \max(0, \text{yogunluk} - 28.8) + \\
& 0.821 * \text{GHR\_2WT(AA)} * \max(0, + 0.375 * \text{ATF3\_1MUT(GG)} * \max(0, \text{yogunluk} - 33.2) - 0.244 \\
& * \text{ATF3\_1WT(AA)} * \max(0, 2 - \text{cevre}) + 0.129 * \text{ATF3\_1WT(AA)} * \max(0, \text{yogunluk} - 32.8) - \\
& 0.0936 * \text{ATF3\_1WT(AA)} * \max(0, \text{yogunluk} - 29.1) - 0.253 * \text{PPARGC1A\_1WT(GG)} * \max(0, \text{cevre} \\
& - 2) + 0.277 * \text{PPARGC1A\_1WT(GG)} * \max(0, 2 - \text{cevre}) - 0.934 * \text{PPARGC1A\_1WT(GG)} * \max(0, \\
& \text{yogunluk} - 32.6) + 0.0259 * \text{PPARGC1A\_1WT(GG)} * \max(0, 32.6 - \text{yogunluk}) + 1.58 * \\
& \text{PPARGC1A\_1WT(GG)} * \max(0, \text{yogunluk} - 34.1) - 0.498 * \text{PPARGC1A\_1WT(GG)} * \max(0, \text{yogunluk} \\
& - 32.5) - 4.93 * \text{PPARGC1A\_1WT(GG)} * \max(0, \text{yogunluk} - 33.8) + 0.109 * \text{PPARGC1A\_1WT(GG)} \\
& * \max(0, \text{yogunluk} - 25.3) - 0.102 * \text{PPARGC1A\_1WT(GG)} * \max(0, \text{yogunluk} - 29.1) - 0.218 \\
& * \text{PPARGC1A\_2WT(GG)} * \max(0, \text{cevre} - 2) + 0.247 * \text{PPARGC1A\_2WT(GG)} * \max(0, 2 - \text{cevre}) \\
& - 0.527 * \text{PPARGC1A\_3WT(CC)} * \max(0, \text{cevre} - 2) - 0.0194 * \text{PPARGC1A\_3WT(CC)} * \max(0, \\
& 2 - \text{cevre}) + 0.685 * \text{PPARGC1A\_3WT(CC)} * \max(0, \text{yogunluk} - 33.2) - 0.245 * \\
& \text{PPARGC1A\_3WT(CC)} * \max(0, \text{yogunluk} - 31.2) - 0.0243 * \text{PPARGC1A\_3WT(CC)} * \max(0, 31.2 \\
& - \text{yogunluk}) - 1.61 * \text{CSN3\_1MUT(CC)} * \max(0, \text{yogunluk} - 33.2) + 0.0623 * \text{CSN3\_1MUT(CC)} \\
& * \max(0, \text{yogunluk} - 27.7) + 1.37 * \text{CSN3\_1MUT(CC)} * \max(0, \text{yogunluk} - 32.8) + 0.55 * \\
& \text{CSN3\_3WT(AA)} * \max(0, \text{cevre} - 2) + 5.92 * \text{CSN3\_3WT(AA)} * \max(0, \text{yogunluk} - 33.2) + 2.47 \\
& * \text{CSN3\_3WT(AA)} * \max(0, \text{yogunluk} - 34.8) + 0.0842 * \text{CSN3\_3WT(AA)} * \max(0, 34.8 - \text{yogunluk}) \\
& + 0.399 * \text{CSN3\_3WT(AA)} * \max(0, \text{yogunluk} - 33.3) + 8 * \text{CSN3\_3WT(AA)} * \max(0, \text{yogunluk} - \\
& 33.7) - 4.58 * \text{CSN3\_3WT(AA)} * \max(0, \text{yogunluk} - 34.2) - 11.9 * \text{CSN3\_3WT(AA)} * \max(0, \\
& \text{yogunluk} - 33.4) + 0.472 * \text{CSN3\_4MUT(AA)} * \max(0, \text{yogunluk} - 34) - 0.013 * \text{CSN3\_4MUT(AA)} \\
& * \max(0, 34 - \text{yogunluk}) - 0.00659 * \text{CSN3\_4WT(GG)} * \max(0, \text{yogunluk} - 22.7) - 0.0391 * \\
& \text{CSN3\_5MUT(AA)} * \max(0, \text{yogunluk} - 24.2) - 0.124 * \text{CSN3\_5MUT(AA)} * \max(0, \text{yogunluk} - \\
& 29.1) + 0.0765 * \text{Lakt} * \max(0, 2 - \text{cevre}) - 0.0186 * \text{Lakt} * \max(0, \text{yogunluk} - 24.2) + 0.0593 * \\
& \text{Lakt} * \max(0, \text{yogunluk} - 29.1) - 0.817 * \max(0, \text{PPARGC1A\_1MUT(AA)} - 0) * \max(0, \text{yogunluk} - \\
& 30.6) + 0.0437 * \max(0, \text{CSN3\_3MUT(GG)} - 0) * \max(0, \text{yogunluk} - 24.2) + 10.4 * \max(0, 2 - \\
& \text{cevre}) * \max(0, 33.2 - \text{yogunluk}) + 10.3 * \max(0, 2 - \text{cevre}) * \max(0, \text{yogunluk} - 26.3) - 10.3 * \\
& \max(0, 2 - \text{cevre}) * \max(0, 26.3 - \text{yogunluk}) - 0.611 * \max(0, 2 - \text{cevre}) * \max(0, \text{yogunluk} \\
& - 30.6) - 0.142 * \max(0, 2 - \text{cevre}) * \max(0, \text{yogunluk} - 28.8) + 0.17 * \max(0, 2 - \text{cevre}) \\
& * \max(0, \text{yogunluk} - 27.7) + 2.31 * \max(0, \text{cevre} - 2) * \max(0, 33.2 - \text{yogunluk}) + 0.016 \\
& * \max(0, \text{cevre} - 2) * \max(0, \text{yogunluk} - 33.6) - 2.74 * \max(0, \text{cevre} - 2) * \max(0, 33.6 - \text{yogunluk}) \\
& + 0.818 * \max(0, \text{cevre} - 2) * \max(0, \text{yogunluk} - 34.2) - 1.17 * \max(0, \text{cevre} - 2) * \max(0, \\
& \text{yogunluk} - 30.6) + 2.05 * \max(0, \text{cevre} - 2) * \max(0, \text{yogunluk} - 28.8) - 1.72 * \max(0, \text{cevre} - 2) * \\
& \max(0, \text{yogunluk} - 27.7)
\end{aligned}$$

**EK 11.** Laktoz oranı (%) için MARS algoritması ile oluşturulan modelin denklemi

$$\begin{aligned}
 \text{Laktoz Oranı(\%)} = & 4.91 - 0.102 * \text{PAEP\_1wt(CC)} + 0.447 * \text{GHR\_1MUT(GG)} - 0.0127 * \\
 & \text{GHR\_2WT(AA)} + 0.168 * \text{CSN3\_4MUT(AA)} + 0.0361 * \max(0, 2 - \text{cevre}) - 0.0352 * \max(0, \text{cevre} - \\
 & 2) - 0.771 * \text{PAEP\_1Mut(TT)} * \text{GHR\_2WT(AA)} + 0.0998 * \text{PAEP\_1Mut(TT)} * \text{CSN3\_4MUT(AA)} - \\
 & 0.262 * \text{PAEP\_1wt(CC)} * \text{GHR\_2WT(AA)} + 0.143 * \text{PAEP\_1wt(CC)} * \text{PPARGC1A\_1WT(GG)} - 0.0837 \\
 & * \text{PAEP\_1wt(CC)} * \text{CSN3\_4MUT(AA)} + 0.0652 * \text{GHR\_1WT(AA)} * \text{GHR\_2WT(AA)} + 0.503 * \\
 & \text{GHR\_2WT(AA)} * \text{ATF3\_1MUT(GG)} + 0.162 * \text{GHR\_2WT(AA)} * \text{ATF3\_1WT(AA)} - 0.103 * \\
 & \text{GHR\_2WT(AA)} * \text{CSN3\_3WT(AA)} + 0.225 * \text{GHR\_2WT(AA)} * \text{CSN3\_4WT(GG)} + 0.122 * \\
 & \text{GHR\_2WT(AA)} * \text{CSN3\_5MUT(AA)} - 0.226 * \text{PPARGC1A\_1WT(GG)} * \text{CSN3\_4MUT(AA)} - 0.263 * \\
 & \text{PAEP\_1Mut(TT)} * \max(0, \text{cevre} - 2) + 0.461 * \text{PAEP\_1wt(CC)} * \max(0, \text{cevre} - 2) + 0.275 * \\
 & \text{PAEP\_1wt(CC)} * \max(0, 2 - \text{cevre}) - 0.451 * \text{GHR\_1WT(AA)} * \max(0, 2 - \text{cevre}) + 0.348 * \\
 & \text{GHR\_1WT(AA)} * \max(0, \text{cevre} - 2) - 0.555 * \text{ATF3\_1WT(AA)} * \max(0, \text{cevre} - 2) + 0.276 * \\
 & \text{PPARGC1A\_2WT(GG)} * \max(0, 2 - \text{cevre}) - 0.436 * \text{CSN3\_1MUT(CC)} * \max(0, 2 - \text{cevre}) + 0.104 * \\
 & \text{CSN3\_1WT(TT)} * \max(0, 2 - \text{cevre}) + 0.329 * \text{PAEP\_1Mut(TT)} * \text{GHR\_2WT(AA)} * \\
 & \text{PPARGC1A\_3WT(CC)} + 0.179 * \text{PAEP\_1Mut(TT)} * \text{GHR\_2WT(AA)} * \text{Lakt} + 0.141 * \\
 & \text{PAEP\_1Mut(TT)} * \text{CSN3\_3WT(AA)} * \text{CSN3\_4MUT(AA)} + 0.0339 * \text{PAEP\_1Mut(TT)} * \\
 & \text{CSN3\_4MUT(AA)} * \text{Lakt} + 0.222 * \text{PAEP\_1wt(CC)} * \text{GHR\_2WT(AA)} * \text{CSN3\_5MUT(AA)} + 0.154 \\
 & * \text{PAEP\_1wt(CC)} * \text{PPARGC1A\_1WT(GG)} * \text{CSN3\_4MUT(AA)} + 0.239 * \text{PAEP\_2MUT(AA)} * \\
 & \text{GHR\_1WT(AA)} * \text{GHR\_2WT(AA)} + 0.168 * \text{GHR\_1WT(AA)} * \text{GHR\_2WT(AA)} * \text{CSN3\_2MUT(AA)} \\
 & - 0.306 * \text{GHR\_1WT(AA)} * \text{GHR\_2WT(AA)} * \text{CSN3\_2WT(CC)} - 0.0679 * \text{GHR\_1WT(AA)} * \\
 & \text{GHR\_2WT(AA)} * \text{CSN3\_5MUT(AA)} - 0.214 * \text{GHR\_2WT(AA)} * \text{ATF3\_1WT(AA)} * \\
 & \text{CSN3\_5MUT(AA)} + 0.127 * \text{GHR\_2WT(AA)} * \text{PPARGC1A\_1WT(GG)} * \text{CSN3\_5MUT(AA)} - 0.162 * \\
 & \text{GHR\_2WT(AA)} * \text{PPARGC1A\_2WT(GG)} * \text{CSN3\_5MUT(AA)} - 0.245 * \text{GHR\_2WT(AA)} * \\
 & \text{PPARGC1A\_3WT(CC)} * \text{CSN3\_5MUT(AA)} + 0.262 * \text{PAEP\_1Mut(TT)} * \text{ATF3\_1WT(AA)} * \max(0, \\
 & \text{cevre} - 2) - 0.416 * \text{PAEP\_1wt(CC)} * \text{PPARGC1A\_1WT(GG)} * \max(0, \text{cevre} - 2) + 1.91 * \\
 & \text{PAEP\_1wt(CC)} * \text{CSN3\_1MUT(CC)} * \max(0, 2 - \text{cevre}) + 0.322 * \text{PAEP\_1wt(CC)} * \text{CSN3\_1WT(TT)} * \\
 & \max(0, 2 - \text{cevre}) - 0.208 * \text{PAEP\_2MUT(AA)} * \text{PPARGC1A\_2WT(GG)} * \max(0, 2 - \text{cevre}) - 0.854 * \\
 & \text{PAEP\_2WT(GG)} * \text{PPARGC1A\_2WT(GG)} * \max(0, 2 - \text{cevre}) + 0.231 * \text{GHR\_1WT(AA)} * \\
 & \text{GHR\_2WT(AA)} * \max(0, \text{cevre} - 2) + 0.0165 * \text{GHR\_1WT(AA)} * \text{GHR\_2WT(AA)} * \max(0, 2 - \text{cevre}) - \\
 & 0.0994 * \text{GHR\_1WT(AA)} * \text{ATF3\_1WT(AA)} * \max(0, 2 - \text{cevre}) - 0.541 * \text{GHR\_1WT(AA)} * \\
 & \text{PPARGC1A\_1MUT(AA)} * \max(0, 2 - \text{cevre}) + 0.217 * \text{GHR\_2WT(AA)} * \text{ATF3\_1WT(AA)} * \max(0, \\
 & \text{cevre} - 2) - 0.443 * \text{GHR\_2WT(AA)} * \text{CSN3\_1WT(TT)} * \max(0, 2 - \text{cevre}) - 0.208 * \text{ATF3\_1WT(AA)} \\
 & * \text{PPARGC1A\_1WT(GG)} * \max(0, \text{cevre} - 2) + 0.25 * \text{ATF3\_1WT(AA)} * \text{PPARGC1A\_2WT(GG)} * \\
 & \max(0, \text{cevre} - 2) + 0.0268 * \text{ATF3\_1WT(AA)} * \text{CSN3\_3WT(AA)} * \max(0, \text{cevre} - 2) + 0.154 * \\
 & \text{PPARGC1A\_1WT(GG)} * \text{CSN3\_1MUT(CC)} * \max(0, 2 - \text{cevre}) + 0.14 * \text{GHR\_2WT(AA)} * \\
 & \text{PPARGC1A\_3WT(CC)} * \text{CSN3\_3WT(AA)} * \text{CSN3\_5MUT(AA)} - 0.271 * \text{PAEP\_1Mut(TT)} * \\
 & \text{GHR\_2WT(AA)} * \text{ATF3\_1WT(AA)} * \max(0, \text{cevre} - 2) + 0.374 * \text{PAEP\_1Mut(TT)} * \text{ATF3\_1WT(AA)} \\
 & * \text{PPARGC1A\_1WT(GG)} * \max(0, \text{cevre} - 2) - 0.535 * \text{PAEP\_1wt(CC)} * \text{GHR\_1WT(AA)} * \\
 & \text{PPARGC1A\_1MUT(AA)} * \max(0, 2 - \text{cevre}) - 0.935 * \text{PAEP\_1wt(CC)} * \text{ATF3\_1WT(AA)} *
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
& \text{CSN3\_1MUT(CC)} * \max(0, 2 - \text{cevre}) - 0.469 * \text{PAEP\_1wt(CC)} * \text{PPARGC1A\_1WT(GG)} * \\
& \text{CSN3\_1MUT(CC)} * \max(0, 2 - \text{cevre}) + 0.316 * \text{GHR\_2WT(AA)} * \text{ATF3\_1WT(AA)} * \\
& \text{PPARGC1A\_1WT(GG)} * \max(0, \text{cevre} - 2) - 0.378 * \text{GHR\_2WT(AA)} * \text{ATF3\_1WT(AA)} * \\
& \text{PPARGC1A\_3WT(CC)} * \max(0, \text{cevre} - 2) - 0.171 * \text{GHR\_2WT(AA)} * \text{PPARGC1A\_1WT(GG)} * \\
& \text{CSN3\_1MUT(CC)} * \max(0, 2 - \text{cevre}) + 0.578 * \text{ATF3\_1WT(AA)} * \text{PPARGC1A\_1WT(GG)} * \\
& \text{CSN3\_1MUT(CC)} * \max(0, 2 - \text{cevre}) - 0.248 * \text{PPARGC1A\_1WT(GG)} * \text{CSN3\_1MUT(CC)} * \\
& \text{CSN3\_3WT(AA)} * \max(0, 2 - \text{cevre})
\end{aligned}$$


**EK 12.** Laktoz verimi (kg) için MARS algoritması ile oluşturulan modelin denklemi

$$\begin{aligned}
 \text{Laktozverim(kg)} = & 2.54 + 0.508 * \text{GHR\_2WT(AA)} + 17.7 * \text{ATF3\_1MUT(GG)} - 0.162 * \\
 & \text{ATF3\_1WT(AA)} - 0.379 * \text{PPARGC1A\_1MUT(AA)} - 1.75 * \text{PPARGC1A\_1WT(GG)} - 0.836 * \\
 & \text{PPARGC1A\_2WT(GG)} + 0.328 * \text{CSN3\_1MUT(CC)} - 0.327 * \text{CSN3\_2MUT(AA)} + 0.152 * \\
 & \text{CSN3\_2WT(CC)} - 0.555 * \text{CSN3\_3WT(AA)} - 0.698 * \text{CSN3\_4WT(GG)} - 0.0367 * \max(0, 2 - \text{cevre}) \\
 & - 0.656 * \max(0, \text{cevre} - 2) + 0.955 * \max(0, \text{SNF} - 8.37) + 4.73 * \max(0, \text{SNF} - 8.62) - 9.25 * \max(0, \\
 & \text{SNF} - 8.65) - 6.82 * \max(0, \text{SNF} - 8.68) + 27.9 * \max(0, \text{SNF} - 8.74) - 15.7 * \max(0, \text{SNF} - 8.78) \\
 & + 10.3 * \max(0, \text{SNF} - 8.84) - 28.4 * \max(0, \text{SNF} - 8.86) + 57.8 * \max(0, \text{SNF} - 8.9) - 40.1 * \max(0, \\
 & \text{SNF} - 8.92) - 0.131 * \max(0, \text{SNF} - 9) - 8.95 * \max(0, \text{SNF} - 9.03) + 53.9 * \max(0, \text{SNF} - 9.08) - \\
 & 50.6 * \max(0, \text{SNF} - 9.1) + 1.23 * \max(0, 9.17 - \text{SNF}) - 2.23 * \max(0, \text{SNF} - 9.17) - 65 * \max(0, \text{SNF} \\
 & - 9.21) + 72.2 * \max(0, \text{SNF} - 9.23) - 45.6 * \max(0, \text{SNF} - 9.26) + 35.3 * \max(0, \text{SNF} - 9.28) - 0.745 * \\
 & \max(0, \text{SNF} - 9.32) + 5.35 * \max(0, \text{SNF} - 9.51) - 5.78 * \max(0, \text{SNF} - 9.63) - 17.6 * \max(0, \text{SNF} - 9.68) \\
 & + 20.2 * \max(0, \text{SNF} - 9.72) + 0.683 * \text{GHR\_1WT(AA)} * \text{PPARGC1A\_1WT(GG)} + 0.381 * \\
 & \text{GHR\_1WT(AA)} * \text{CSN3\_2MUT(AA)} - 0.376 * \text{GHR\_2MUT(TT)} * \text{PPARGC1A\_1WT(GG)} - 0.253 \\
 & * \text{GHR\_2WT(AA)} * \text{ATF3\_1WT(AA)} - 0.0738 * \text{GHR\_2WT(AA)} * \text{PPARGC1A\_1WT(GG)} - 0.837 * \\
 & \text{GHR\_2WT(AA)} * \text{PPARGC1A\_2WT(GG)} + 0.506 * \text{GHR\_2WT(AA)} * \text{CSN3\_3WT(AA)} - 2.07 * \\
 & \text{ATF3\_1MUT(GG)} * \text{SNF} + 0.529 * \text{ATF3\_1WT(AA)} * \text{CSN3\_4WT(GG)} + 0.00847 * \\
 & \text{PPARGC1A\_1MUT(AA)} * \text{CSN3\_2MUT(AA)} + 0.364 * \text{PPARGC1A\_1WT(GG)} * \\
 & \text{PPARGC1A\_2WT(GG)} + 0.315 * \text{PPARGC1A\_1WT(GG)} * \text{CSN3\_1WT(TT)} + 0.405 * \\
 & \text{PPARGC1A\_1WT(GG)} * \text{CSN3\_3WT(AA)} + 0.332 * \text{PPARGC1A\_1WT(GG)} * \text{CSN3\_5MUT(AA)} - \\
 & 0.00216 * \text{PPARGC1A\_1WT(GG)} * \text{Lakt} - 0.258 * \text{PPARGC1A\_2WT(GG)} * \text{CSN3\_2MUT(AA)} + \\
 & 0.0185 * \text{PPARGC1A\_3WT(CC)} * \text{CSN3\_2MUT(AA)} + 0.469 * \text{CSN3\_2MUT(AA)} * \text{CSN3\_4MUT(AA)} \\
 & - 0.000634 * \text{CSN3\_2MUT(AA)} * \text{Lakt} + 0.779 * \text{GHR\_1WT(AA)} * \max(0, \text{cevre} - 2) - 7.34 * \\
 & \text{GHR\_1WT(AA)} * \max(0, \text{SNF} - 9.17) - 1.5 * \text{GHR\_1WT(AA)} * \max(0, 9.17 - \text{SNF}) + 2.11 * \\
 & \text{GHR\_1WT(AA)} * \max(0, \text{SNF} - 9) + 0.617 * \text{GHR\_2MUT(TT)} * \max(0, \text{cevre} - 2) - 20.5 * \\
 & \text{GHR\_2MUT(TT)} * \max(0, \text{SNF} - 9) + 0.628 * \text{GHR\_2WT(AA)} * \max(0, \text{cevre} - 2) - 9.48 * \\
 & \text{GHR\_2WT(AA)} * \max(0, \text{SNF} - 9.32) + 7.94 * \text{GHR\_2WT(AA)} * \max(0, \text{SNF} - 9.17) + 0.15 * \\
 & \text{GHR\_2WT(AA)} * \max(0, 9.17 - \text{SNF}) + 4.67 * \text{GHR\_2WT(AA)} * \max(0, \text{SNF} - 9) - 5.78 * \\
 & \text{GHR\_2WT(AA)} * \max(0, \text{SNF} - 8.91) - 5.13 * \text{ATF3\_1WT(AA)} * \max(0, \text{SNF} - 9.32) + 0.00511 * \\
 & \text{ATF3\_1WT(AA)} * \max(0, 9.17 - \text{SNF}) + 3.09 * \text{ATF3\_1WT(AA)} * \max(0, \text{SNF} - 9.17) - 0.223 * \\
 & \text{PPARGC1A\_1WT(GG)} * \max(0, \text{cevre} - 2) + 0.0545 * \text{PPARGC1A\_1WT(GG)} * \max(0, 2 - \text{cevre}) + \\
 & 0.336 * \text{PPARGC1A\_1WT(GG)} * \max(0, \text{SNF} - 8.22) - 0.435 * \text{PPARGC1A\_1WT(GG)} * \max(0, 8.22 \\
 & - \text{SNF}) + 0.413 * \text{PPARGC1A\_2WT(GG)} * \max(0, \text{cevre} - 2) + 1.25 * \text{PPARGC1A\_2WT(GG)} * \max(0, \\
 & 9.17 - \text{SNF}) + 10.8 * \text{PPARGC1A\_2WT(GG)} * \max(0, \text{SNF} - 9.23) - 0.201 * \text{PPARGC1A\_3WT(CC)} * \\
 & \max(0, 9.17 - \text{SNF}) + 0.0259 * \text{PPARGC1A\_3WT(CC)} * \max(0, \text{SNF} - 9.32) - 0.406 * \\
 & \text{CSN3\_1MUT(CC)} * \max(0, \text{cevre} - 2) - 0.194 * \text{CSN3\_1WT(TT)} * \max(0, 9.17 - \text{SNF}) + 0.419 * \\
 & \text{CSN3\_1WT(TT)} * \max(0, \text{SNF} - 9.17) - 3.17 * \text{CSN3\_2MUT(AA)} * \max(0, \text{SNF} - 8.63) + 0.939 * \\
 & \text{CSN3\_2MUT(AA)} * \max(0, 8.63 - \text{SNF}) + 4.94 * \text{CSN3\_2MUT(AA)} * \max(0, \text{SNF} - 8.71) + 8.71 * \\
 & \text{CSN3\_2MUT(AA)} * \max(0, \text{SNF} - 8.86) - 10.1 * \text{CSN3\_2MUT(AA)} * \max(0, \text{SNF} - 8.78) - 11.1 *
 \end{aligned}$$

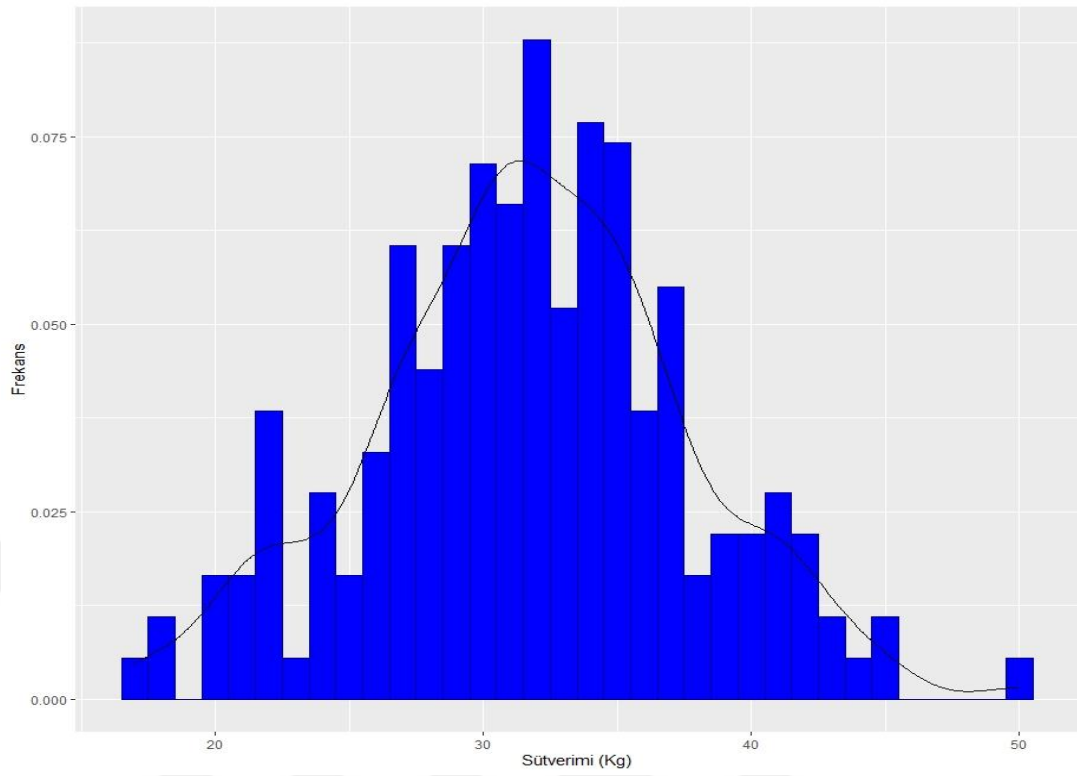
$$\begin{aligned}
& \text{CSN3\_2WT(CC)} * \max(0, 9.17 - \text{SNF}) + 0.508 * \text{CSN3\_3WT(AA)} * \max(0, \text{cevre} - 2) - 3.14 * \\
& \text{CSN3\_3WT(AA)} * \max(0, \text{SNF} - 9) + 3.48 * \text{CSN3\_3WT(AA)} * \max(0, \text{SNF} - 9.17) + 0.188 * \\
& \text{CSN3\_4MUT(AA)} * \max(0, 2 - \text{cevre}) - 0.476 * \text{CSN3\_5MUT(AA)} * \max(0, \text{SNF} - 9) - 1.4 * \\
& \text{CSN3\_5MUT(AA)} * \max(0, 9.17 - \text{SNF}) + 8.37 * \text{Lakt} * \max(0, \text{SNF} - 9.17) + 34.4 * \max(0, \\
& \text{GHR\_2MUT(TT)} - 0) * \max(0, \text{SNF} - 9.32) + 17.7 * \max(0, \text{CSN3\_3MUT(GG)} - 0) * \max(0, \text{SNF} - \\
& 9) + 11.2 * \max(0, \text{CSN3\_4WT(GG)} - 0) * \max(0, 9.17 - \text{SNF}) - 11.8 * \max(0, \text{Lakt} - 1) * \max(0, \text{SNF} - \\
& 9.32) - 0.312 * \max(0, 2 - \text{cevre}) * \max(0, 9.17 - \text{SNF}) - 2.05 * \max(0, 2 - \text{cevre}) * \max(0, \text{SNF} - 9) + \\
& 24.7 * \max(0, \text{cevre} - 2) * \max(0, 9.17 - \text{SNF}) + 2.55 * \max(0, \text{cevre} - 2) * \max(0, \text{SNF} - 9.22) - 24.6 * \\
& \max(0, \text{cevre} - 2) * \max(0, 9.22 - \text{SNF}) - 15.2 * \max(0, \text{cevre} - 2) * \max(0, \text{SNF} - 9) - 6.01 * \max(0, \\
& \text{cevre} - 2) * \max(0, \text{SNF} - 9.36) + 12.2 * \max(0, \text{cevre} - 2) * \max(0, \text{SNF} - 8.85) - 7.11 * \max(0, \text{cevre} \\
& - 2) * \max(0, \text{SNF} - 8.66) + 2.02 * \max(0, \text{cevre} - 2) * \max(0, \text{SNF} - 8.19) + 10.9 * \max(0, \text{cevre} - 2) * \\
& \max(0, \text{SNF} - 9.32)
\end{aligned}$$

**EK 13.** Yağsız Kuru Madde oranı (%) için MARS algoritması ile oluşturulan modelin denklemi

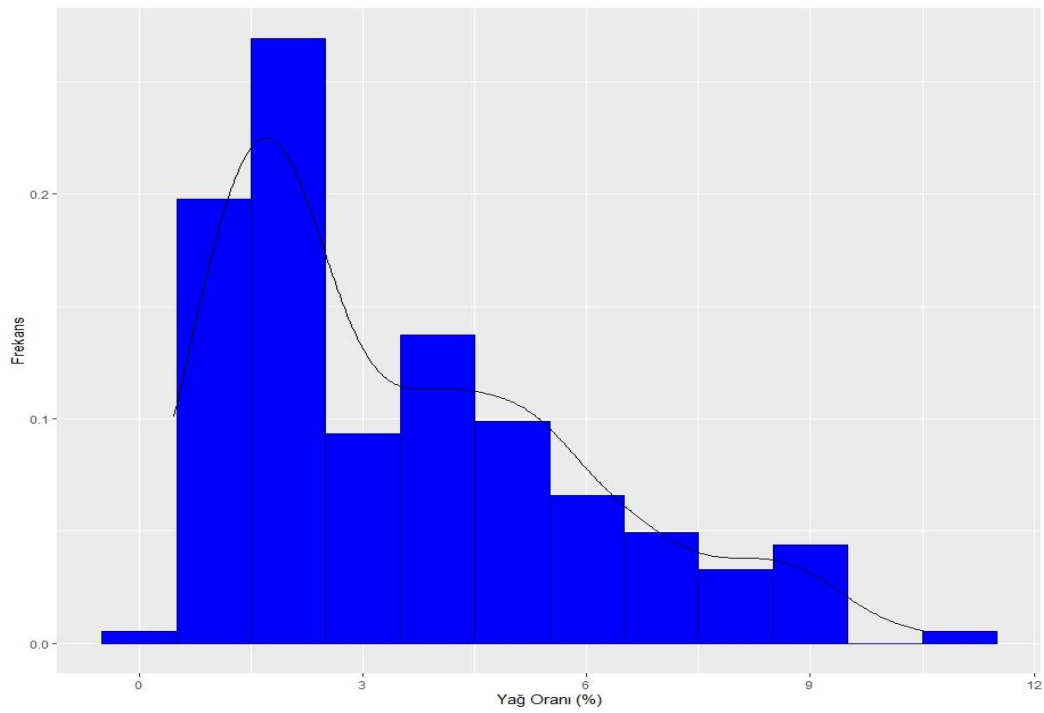
$$\begin{aligned}
& \text{Yağsız Kuru Madde (SNF) oranı} = 8.47 - 1.86 * \max(0, 4.64 - \text{laktoz}) + 2.65 * \max(0, \text{laktoz} - 4.64) - \\
& 1.33 * \max(0, \text{laktoz} - 4.85) + 0.0556 * \text{PPARGC1A\_2WT(GG)} * \max(0, \text{laktoz} - 4.64) - 0.152 * \\
& \max(0, 4.04 - \text{yag}) * \max(0, \text{laktoz} - 4.64) + 0.408 * \max(0, \text{yag} - 4.04) * \max(0, \text{laktoz} - 4.64) - 0.39 * \\
& \max(0, 32.7 - \text{yogunluk}) * \max(0, \text{laktoz} - 4.64) + 0.152 * \max(0, \text{yogunluk} - 32.7) * \max(0, \text{laktoz} - \\
& 4.64)
\end{aligned}$$

**EK 14.** Yoğunluk (kg/m<sup>3</sup>) parametresi için MARS algoritması ile oluşturulan modelin denklemi

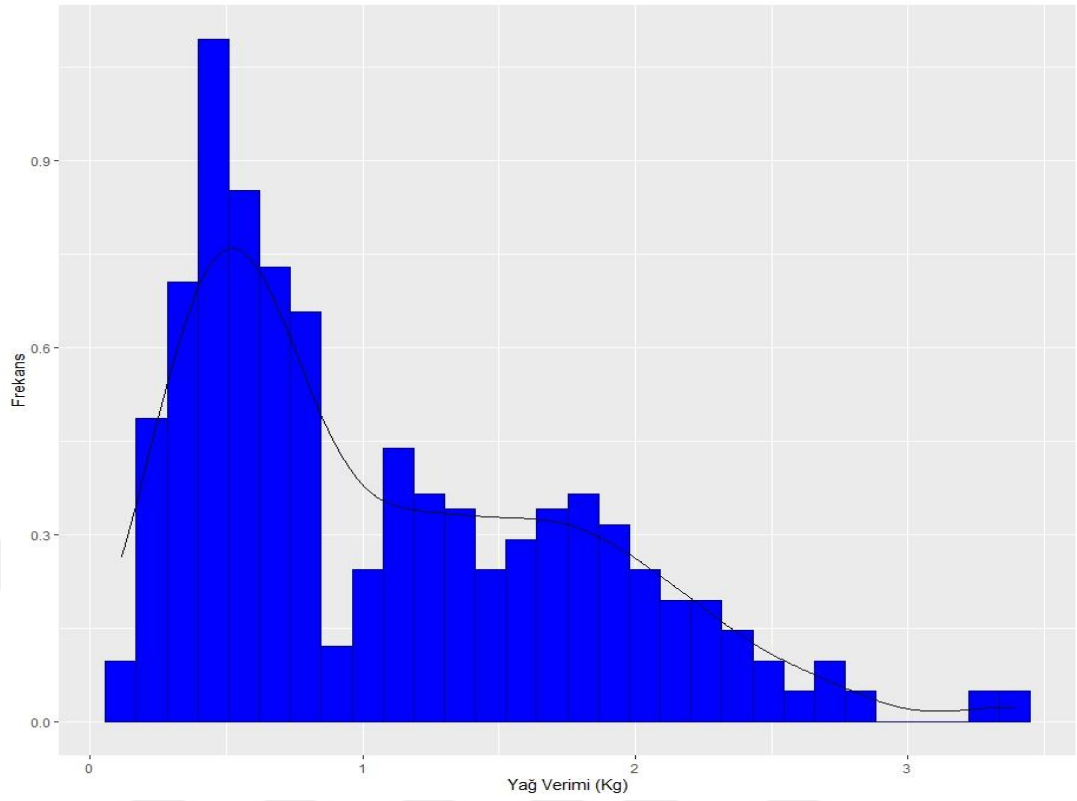
$$\begin{aligned}
& \text{Yoğunluk} = 25.7 - 1.4 * \text{GHR\_1WT(AA)} - 1.9 * \text{ATF3\_1WT(AA)} + 4.89 * \max(0, 2 - \text{cevre}) - 0.836 * \\
& \max(0, \text{cevre} - 2) + 2.07 * \max(0, 6.65 - \text{yag}) - 3.04 * \max(0, \text{yag} - 6.65) + 2.37 * \text{GHR\_1WT(AA)} * \\
& \text{ATF3\_1WT(AA)} + 1.94 * \text{GHR\_1WT(AA)} * \max(0, \text{cevre} - 2) - 5.97 * \text{GHR\_1WT(AA)} * \max(0, 2 - \\
& \text{cevre}) - 2.8 * \text{GHR\_1WT(AA)} * \max(0, \text{yag} - 6.65) + 1.37 * \text{GHR\_1WT(AA)} * \max(0, \text{yag} - 5.12) - 0.53 \\
& * \text{GHR\_1WT(AA)} * \max(0, 5.12 - \text{yag}) + 0.0912 * \text{GHR\_2WT(AA)} * \max(0, 6.65 - \text{yag}) - 1.38 * \\
& \text{ATF3\_1WT(AA)} * \max(0, \text{cevre} - 2) + 0.996 * \text{ATF3\_1WT(AA)} * \max(0, \text{yag} - 6.65) - 0.6 * \\
& \text{PPARGC1A\_1WT(GG)} * \max(0, \text{cevre} - 2) - 1.5 * \text{PPARGC1A\_3WT(CC)} * \max(0, \text{cevre} - 2) + 1.39 * \\
& \text{CSN3\_1MUT(CC)} * \max(0, \text{cevre} - 2) - 1.02 * \text{CSN3\_3WT(AA)} * \max(0, 2 - \text{cevre}) - 0.14 * \\
& \text{CSN3\_5MUT(AA)} * \max(0, 6.65 - \text{yag}) + 1.5 * \text{Lakt} * \max(0, \text{yag} - 6.65) + 0.738 * \max(0, 2 - \text{cevre}) * \\
& \max(0, 6.65 - \text{yag}) + 0.337 * \max(0, \text{cevre} - 2) * \max(0, 6.65 - \text{yag})
\end{aligned}$$



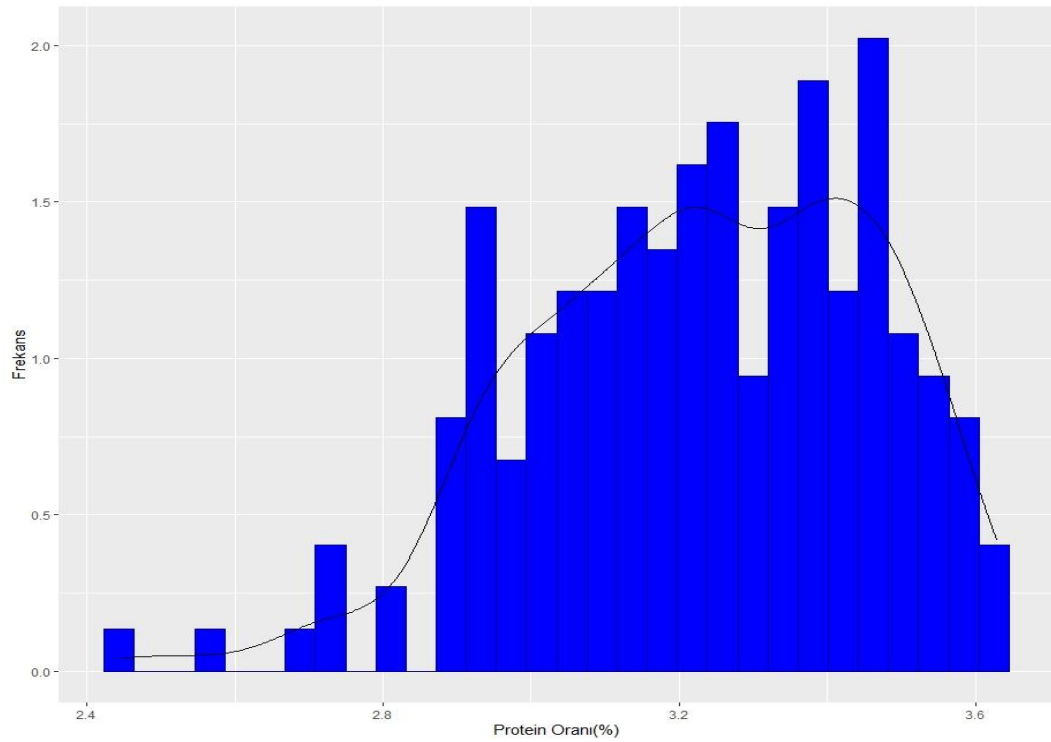
**EK 15.** Süt verimi (kg) parametresine ait histogram (Shapiro-Wilk Normalite Test sonuçları:  $W = 0.99401$ ,  $p\text{-değeri} = 0.1623$ )



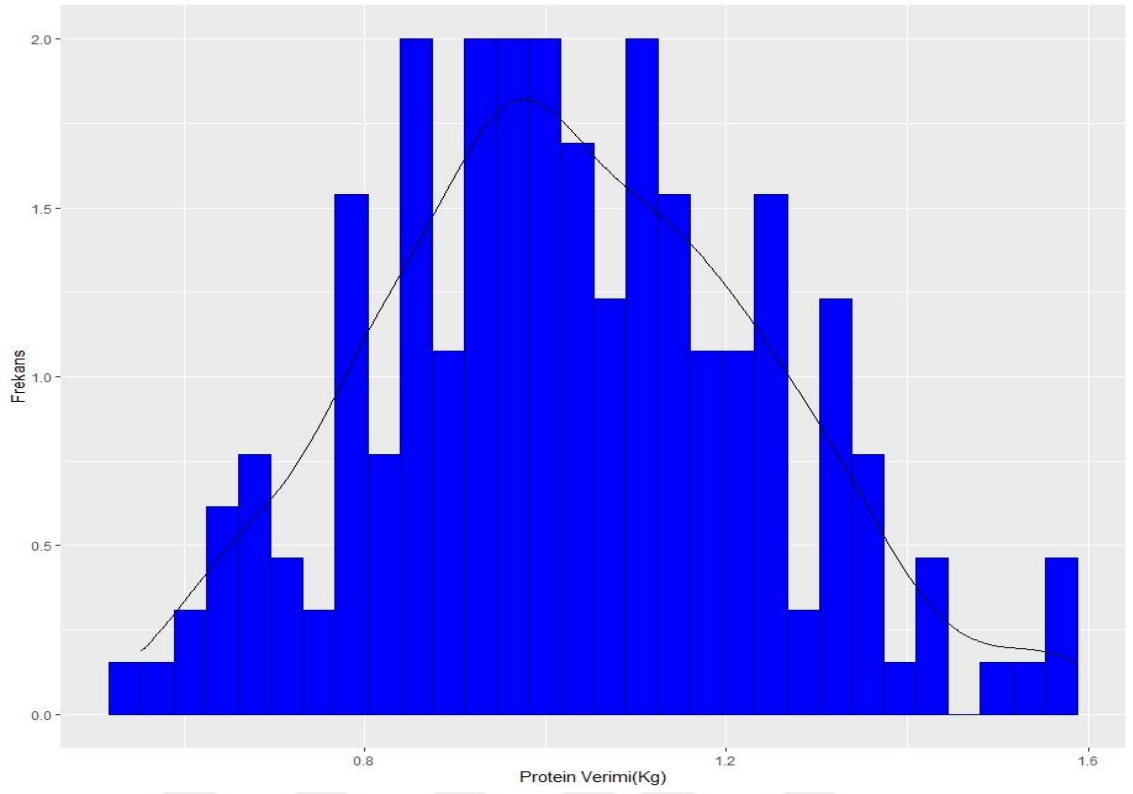
**EK 16.** Yağ Oranı (%) parametresine ait histogram (Shapiro-Wilk Normalite Test sonuçları:  $W = 0.91365$ ,  $p\text{-değeri} = 1.37e-13$ )



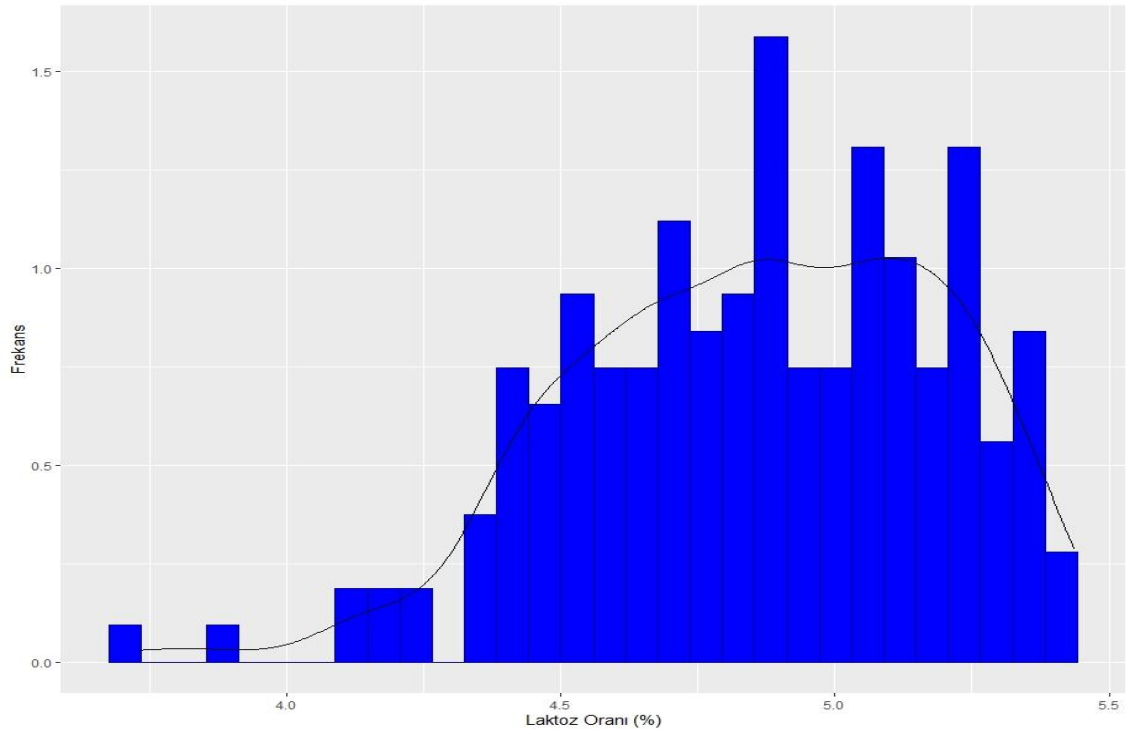
**EK 17.** Yağ Verimi (Kg) parametresine ait histogram (Shapiro-Wilk Normalite Test sonuçları:  $W = 0.91347$ ,  $p\text{-değeri} = 1.322e-13$ )



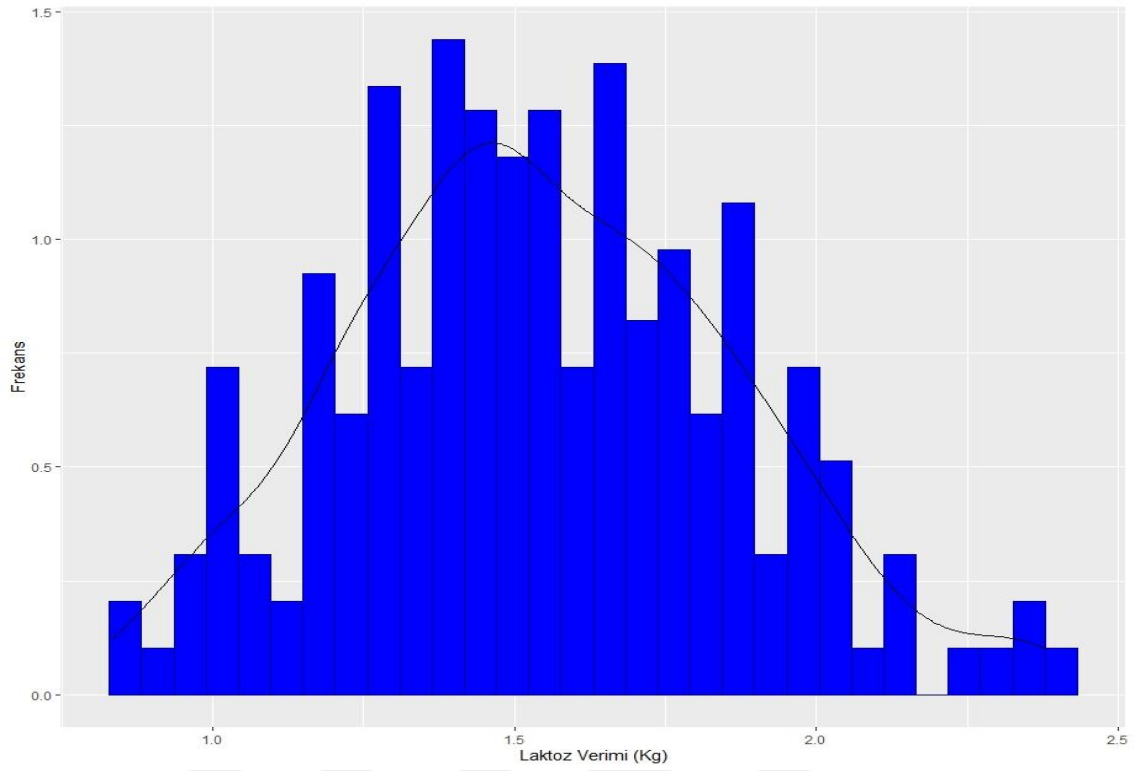
**EK 18.** Protein Oranı (%) parametresine ait histogram (Shapiro-Wilk Normalite Test sonuçları:  $W = 0.97144$ ,  $p\text{-value} = 1.395e-06$ )



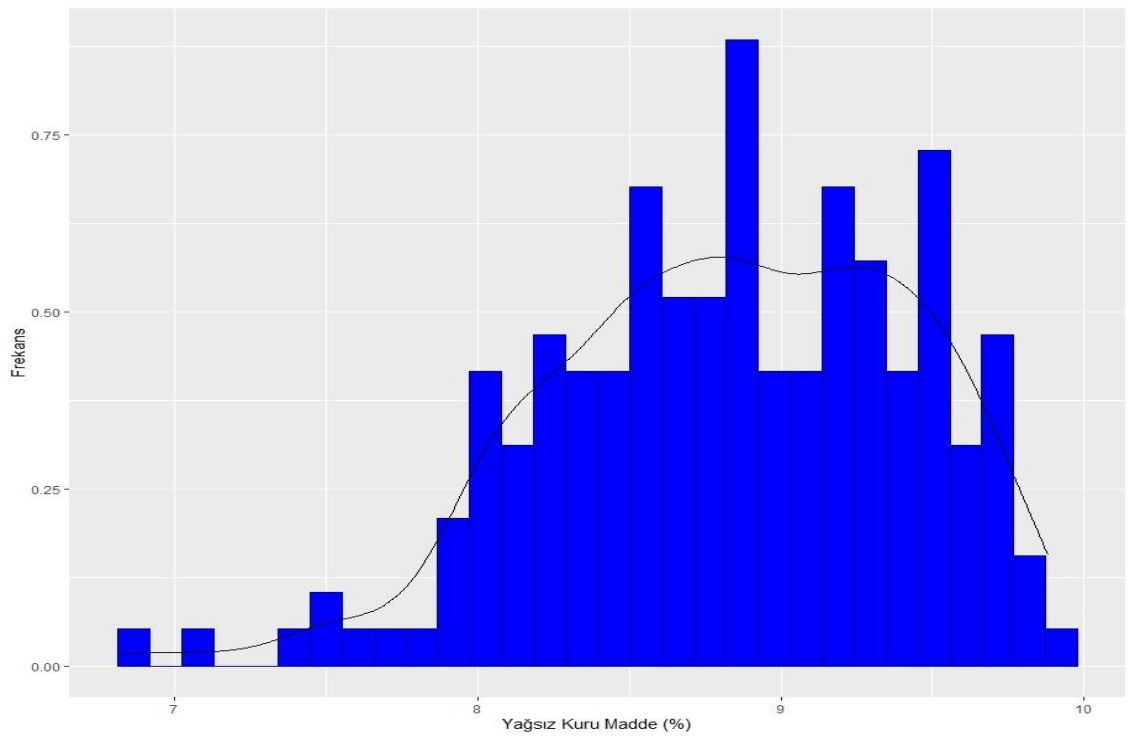
**EK 19.** Protein Verimi (Kg) parametresine ait histogram (Shapiro-Wilk Normalite Test sonuçları:  $W = 0.94765$ ,  $p\text{-değeri} = 4.651e-10$ )



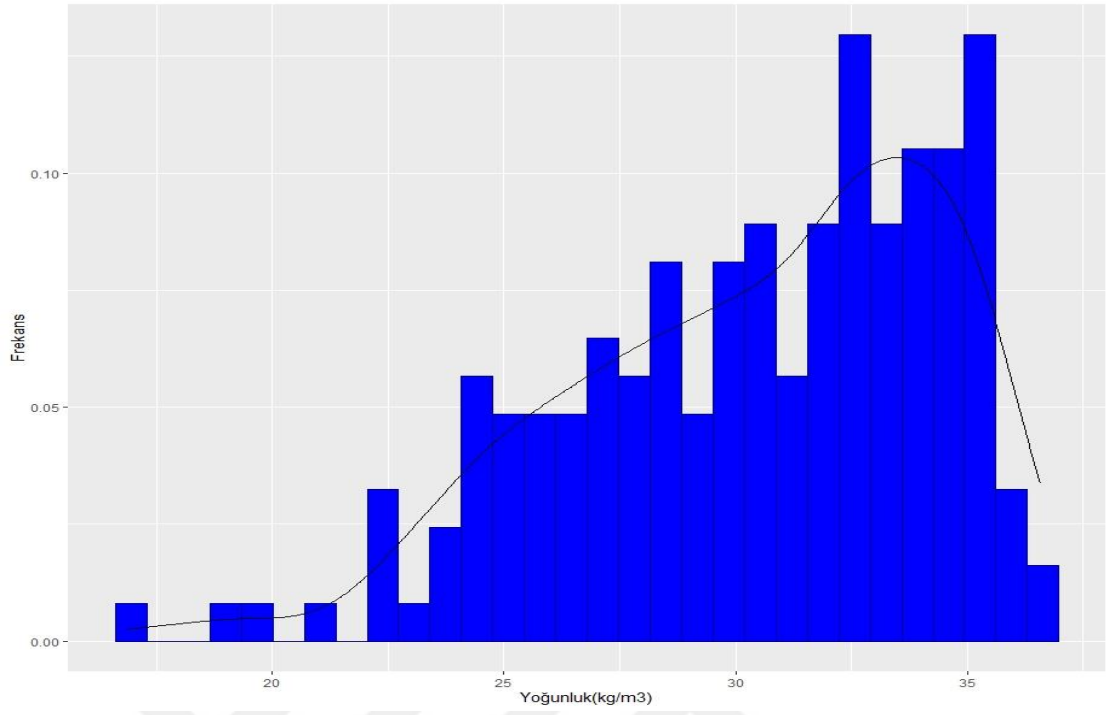
**EK 20.** Laktoz Oranı (%) parametresine ait histogram (Shapiro-Wilk Normalite Test sonuçları:  $W = 0.97358$ ,  $p\text{-value} = 3.387e-06$ )



**EK 21.** Laktöz Verimi (Kg) parametresine ait histogram (Shapiro-Wilk Normalite Test sonuçları:  $W = 0.99223$ ,  $p\text{-value} = 0.05448$ )



**EK 22.** Yağsız Kuru Madde Oranı (%) parametresine ait histogram (Shapiro-Wilk Normalite Test sonuçları:  $W = 0.97509$ ,  $p\text{-value} = 6.456e-06$ )



**EK 23.** Yoğunluk ( $\text{Kg/m}^3$ ) parametresine ait histogram (Shapiro-Wilk Normalite Test sonuçları:  $W = 0.97509$ ,  $p\text{-value} = 6.456\text{e-}06$ )

**EK 24.** Tez çalışması kapsamında, bir laktasyon boyunca (~305 gün) her bir inekten alınan tekerrürlü süt numunelerinde gerçekleştirilen multiparmetre ölçümlere ait ortalama sonuçlar (SNF: Solid Non Fat/ Yağsız Kuru Madde)

| S/N | Örnek Kodu | Yağ (%)     | SNF           | Yoğunluk (kg/m3) | Protein (%)   | Laktoz (%)  |
|-----|------------|-------------|---------------|------------------|---------------|-------------|
| 1   | i42        | 3.6625±2.48 | 8.822±0.4095  | 30.231±3.6325    | 3.223±0.16625 | 4.84±0.232  |
| 2   | i43        | 5.048±3.80  | 8.40125±0.96  | 27.476±6.84      | 3.06125±0.37  | 4.613±0.53  |
| 3   | i44        | 1.577±0.295 | 9.1625±0.2475 | 33.27375±0.683   | 3.36±0.087    | 5.04±0.1375 |
| 4   | i45        | 2.4062±1.11 | 9.2325±0.0925 | 32.85±0.6        | 3.38375±0.026 | 5.078±0.048 |
| 5   | i46        | 1.9825±0.2  | 9.0225±0.135  | 32.40875±0.335   | 3.3075±0.05   | 4.963±0.073 |
| 6   | i47        | 0.765±0.01  | 9.31625±0.108 | 34.5325±0.407    | 3.4225±0.0425 | 5.126±0.061 |
| 7   | i48        | 4.45±0.141  | 8.91125±0.188 | 29.90125±0.596   | 3.2525±0.0675 | 4.896±0.106 |
| 8   | i49        | 1.91±0.348  | 9.72±0.46     | 35.09625±2.03    | 3.56625±0.17  | 5.346±0.253 |
| 9   | i50        | 1.068±0.34  | 9.125±0.07    | 33.555±0.56      | 3.35125±0.026 | 5.02±0.04   |
| 10  | i72        | 2.243±0.051 | 9.09±0.2125   | 32.4375±0.76     | 3.328±0.07625 | 4.998±0.118 |
| 11  | i73        | 3.68±1.58   | 9.51375±0.331 | 32.813±2.591     | 3.4775±0.132  | 5.228±0.186 |
| 12  | i74        | 5.99±3.55   | 8.917±0.505   | 28.6337±4.9      | 3.245±0.207   | 4.8962±0.28 |
| 13  | i75        | 0.92±0.3    | 9.4875±0.14   | 35.042±0.27      | 3.4825±0.05   | 5.22±0.08   |
| 14  | i76        | 1.231±0.01  | 9.541±0.06    | 34.998±0.23      | 3.503±0.021   | 5.251±0.033 |
| 15  | i77        | 2.5112±1.01 | 9.2±0.235     | 32.617±1.74      | 3.367±0.09    | 5.056±0.131 |
| 16  | i78        | 1.7087±0.54 | 9.167±0.45    | 33.188±2.17      | 3.361±0.168   | 5.04±0.24   |
| 17  | i79        | 1.887±0.24  | 9.091±0.323   | 32.74±1.41       | 3.333±0.118   | 5.002±0.17  |
| 18  | i81        | 5.117±3.03  | 8.611±1.056   | 28.211±6.54      | 3.136±0.408   | 4.728±0.588 |
| 19  | i82        | 2.93±1.14   | 9.161±0.46    | 32.116±2.72      | 3.353±0.17    | 5.03±0.26   |
| 20  | i83        | 1.77±0.71   | 9.427±0.3     | 34.102±1.73      | 3.458±0.11    | 5.185±0.167 |
| 21  | i84        | 1.23±0.85   | 8.87±0.122    | 32.45±0.262      | 3.256±0.038   | 4.878±0.063 |
| 22  | i85        | 5.08±2.9    | 8.388±0.898   | 27.39±5.84       | 3.056±0.348   | 4.606±0.501 |
| 23  | i86        | 3.032±0.945 | 8.802±0.172   | 30.677±0.145     | 3.23±0.07     | 4.901±0.158 |
| 24  | i87        | 2.128±0.666 | 8.998±0.348   | 32.193±1.88      | 3.297±0.132   | 4.951±0.193 |
| 25  | i88        | 2.147±0.565 | 9.445±0.42    | 33.858±2.06      | 3.462±0.15    | 5.19±0.23   |
| 26  | i89        | 2.613±0.413 | 8.818±0.326   | 31.103±1.573     | 3.228±0.121   | 4.848±0.181 |
| 27  | i90        | 3.352±0.05  | 9.462±0.1     | 32.907±0.25      | 3.46±0.025    | 5.202±0.074 |
| 28  | i91        | 3.035±0.64  | 9.631±0.056   | 33.812±0.757     | 3.525±0.022   | 5.296±0.031 |
| 29  | i94        | 2.951±1.63  | 9.255±0.49    | 32.46±3.22       | 3.388±0.188   | 5.088±0.271 |
| 30  | i96        | 1.925±0.235 | 8.626±0.111   | 30.958±0.613     | 3.161±0.04    | 4.743±0.063 |
| 31  | i97        | 2.2275±0.3  | 9.1025±0.205  | 32.497±1.025     | 3.3362±0.076  | 5.006±0.113 |
| 32  | i98        | 3.065±0.165 | 9.281±0.416   | 32.47±1.712      | 3.396±0.153   | 5.101±0.228 |
| 33  | i99        | 1.971±0.183 | 8.55±0.277    | 30.621±0.893     | 3.132±0.102   | 4.701±0.151 |
| 34  | i100       | 2.212±0.055 | 9.058±0.013   | 32.33±0.098      | 3.316±0.003   | 4.97±0.002  |
| 35  | i101       | 2.462±0.59  | 8.517±0.422   | 30.087±2.09      | 3.116±0.161   | 4.682±0.237 |
| 36  | i102       | 4.058±0.988 | 8.927±0.685   | 30.298±3.416     | 3.261±0.258   | 4.906±0.378 |
| 37  | i104       | 2.4125±0.03 | 8.783±0.218   | 31.137±0.795     | 3.217±0.08    | 4.831±0.118 |

**EK 24.** Tez çalışması kapsamında, bir laktasyon boyunca (~305 gün) her bir inekten alınan tekerrürlü süt numunelerinde gerçekleştirilen multiparmetre ölçümlere ait ortalama sonuçlar (SNF: Solid Non Fat/ Yağsız Kuru Madde)

| S/N | Örnek Kodu | Yağ (%)      | SNF          | Yoğunluk (kg/m3) | Protein (%)  | Laktoz (%)   |
|-----|------------|--------------|--------------|------------------|--------------|--------------|
| 38  | i105       | 1.39±0.227   | 9.09±0.167   | 33.147±0.82      | 3.335±0.06   | 5±0.092      |
| 39  | i106       | 3.076±1.876  | 8.783±0.293  | 30.57±2.68       | 3.213±0.118  | 4.83±0.165   |
| 40  | i107       | 4.181±2.11   | 8.63±0.627   | 29.068±4.14      | 3.15±0.242   | 4.74±0.347   |
| 41  | i108       | 4.041±2.43   | 8.541±1.036  | 28.853±5.95      | 3.475±0.037  | 5.212±0.057  |
| 42  | i109       | 3.427±1.897  | 8.862±0.515  | 30.587±3.54      | 3.2387±0.201 | 4.8712±0.288 |
| 43  | i110       | 2±0.205      | 9.2587±0.343 | 33.277±1.46      | 3.395±0.127  | 5.092±0.187  |
| 44  | i111       | 2.412±1.2525 | 9.477±0.17   | 33.75±0.41       | 3.472±0.0574 | 5.213±0.09   |
| 45  | i112       | 3.247±2.35   | 8.713±0.531  | 30.173±3.98      | 3.186±0.211  | 4.79±0.29    |
| 46  | i113       | 1.405±0.1    | 9.851±0.241  | 36.06±0.94       | 3.616±0.088  | 5.42±0.135   |
| 47  | i114       | 5.39±0.71    | 8.403±0.238  | 27.20±1.5        | 3.06±0.09    | 4.616±0.131  |
| 48  | i115       | 4.042±2.665  | 8.523±1.086  | 28.778±6.388     | 3.112±0.415  | 4.681±0.603  |
| 49  | i116       | 1.366±0.569  | 8.835±0.179  | 32.206±1.156     | 3.239±0.067  | 4.861±0.101  |
| 50  | i117       | 0.8025±0.26  | 9.3087±0.076 | 34.476±0.071     | 3.4212±0.026 | 5.122±0.04   |
| 51  | i118       | 1.807±0.29   | 9.351±0.433  | 33.79±1.88       | 3.430±0.162  | 5.146±0.24   |
| 52  | i119       | 2.0475±0.97  | 8.867±0.137  | 31.767±1.34      | 3.248±0.056  | 4.876±0.076  |
| 53  | i120       | 1.953±0.273  | 9.268±0.153  | 33.353±0.348     | 3.397±0.055  | 5.098±0.083  |
| 54  | i121       | 1.29±0.012   | 8.648±0.096  | 31.57±0.348      | 3.173±0.036  | 4.75±0.052   |
| 55  | i122       | 7.266±3.146  | 8.476±0.601  | 25.898±4.91      | 3.076±0.238  | 4.651±0.33   |
| 56  | i123       | 1.307±0.517  | 9.417±0.135  | 34.46±0.0725     | 3.457±0.045  | 5.182±0.075  |
| 57  | i124       | 2.73±0.857   | 9.028±0.046  | 31.801±0.546     | 3.306±0.013  | 4.966±0.023  |
| 58  | i125       | 3.013±1.10   | 8.74±0.067   | 30.461±0.681     | 3.197±0.017  | 4.805±0.035  |
| 59  | i126       | 2.647±0.297  | 8.863±0.056  | 31.24±0.0375     | 3.246±0.0187 | 4.876±0.031  |
| 60  | i127       | 0.768±0.413  | 9.741±0.046  | 36.13±0.527      | 3.578±0.021  | 5.361±0.026  |
| 61  | i128       | 1.57±0.73    | 9.53±0.08    | 34.64±0.887      | 3.49±0.035   | 5.248±0.041  |
| 62  | i129       | 2.07±0.34    | 9.121±0.208  | 32.69±1.08       | 3.34±0.08    | 5.01±0.117   |
| 63  | i130       | 4.27±2.26    | 8.813±0.543  | 29.718±3.98      | 3.218±0.218  | 4.84±0.307   |
| 64  | i131       | 1.371±0.233  | 9.70±0.085   | 35.491±0.516     | 3.56±0.033   | 5.34±0.036   |
| 65  | i184       | 5.326±2.45   | 8.298±0.763  | 26.85±4.95       | 3.02±0.29    | 4.55±0.42    |
| 66  | i185       | 4.377±2.27   | 8.216±0.81   | 27.346±4.98      | 2.99±0.31    | 4.51±0.45    |
| 67  | i186       | 3.018±0.328  | 8.948±0.043  | 31.25±0.435      | 3.27±0.0175  | 4.92±0.0225  |
| 68  | i188       | 1.39±0.152   | 8.64±0.21    | 31.483±0.658     | 3.173±0.076  | 4.758±0.116  |
| 69  | i189       | 2.045±0.35   | 8.856±0.06   | 31.72±0.055      | 3.24±0.022   | 4.87±0.037   |
| 70  | i190       | 1.553±0.171  | 8.846±0.086  | 32.09±0.18       | 3.233±0.021  | 4.86±0.046   |
| 71  | i191       | 1.971±0.18   | 8.55±0.27    | 30.621±0.89      | 3.13±0.1     | 4.70±0.15    |
| 72  | i192       | 1.006±0.001  | 9.06±0.272   | 33.37±1.02       | 3.32±0.098   | 4.98±0.15    |
| 73  | i194       | 4.05±2.37    | 8.456±0.51   | 28.52±3.94       | 3.08±0.2     | 4.64±0.288   |
| 74  | i195       | 5.39±3.09    | 8.291±1      | 26.77±6.42       | 3.02±0.39    | 4.55±0.56    |

**EK 24.** Tez çalışması kapsamında, bir laktasyon boyunca (~305 gün) her bir inekten alınan tekerrürlü süt numunelerinde gerçekleştirilen multiparmetre ölçümlere ait ortalama sonuçlar (SNF: Solid Non Fat/ Yağsız Kuru Madde)

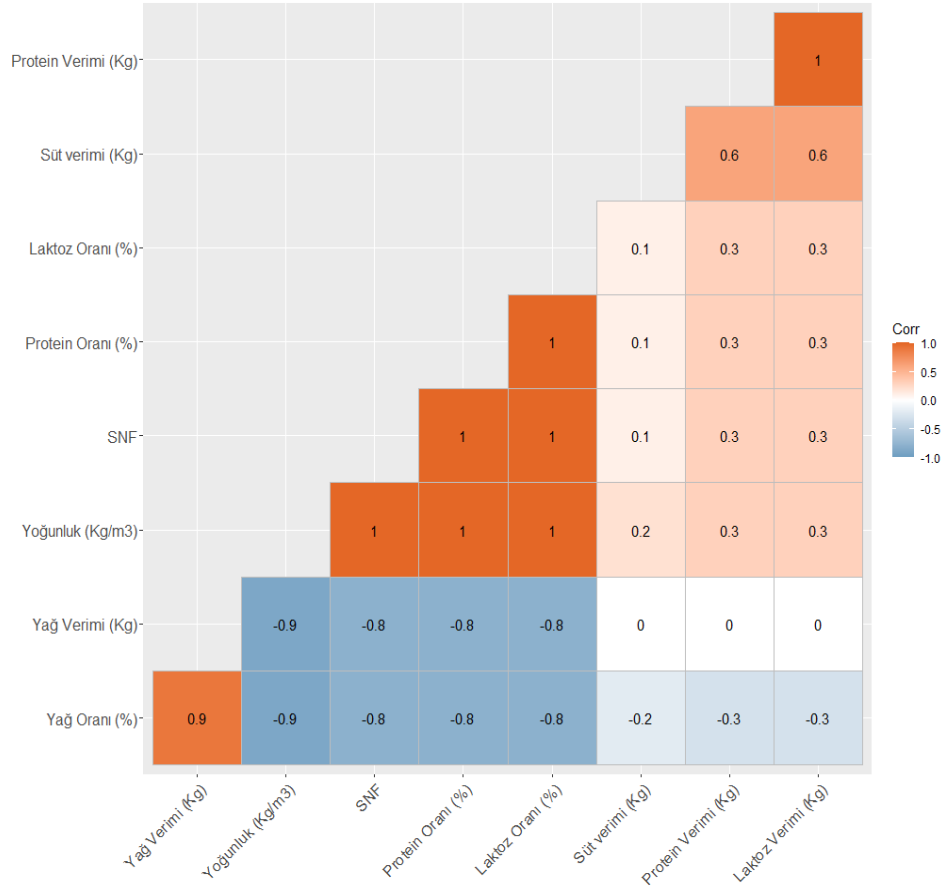
| S/N | Örnek Kodu | Yağ (%)     | SNF         | Yoğunluk (kg/m3) | Protein (%) | Laktöz (%) |
|-----|------------|-------------|-------------|------------------|-------------|------------|
| 75  | i196       | 1.982±0.202 | 9.022±0.135 | 32.40±0.33       | 3.30±0.05   | 4.96±0.07  |
| 76  | i197       | 1.802±0.39  | 9.22±0.192  | 33.31±0.4        | 3.38±0.07   | 5.075±0.1  |
| 77  | i1         | 5.505±3.26  | 8.28±0.74   | 26.65±5.55       | 3.015±0.29  | 4.55±0.41  |
| 78  | i2         | 3.66±1.18   | 8.78±0.55   | 30.078±3.10      | 3.208±0.21  | 4.82±0.31  |
| 79  | i3         | 3.848±1.45  | 8.58±0.44   | 29.16±2.92       | 3.13±0.175  | 4.71±0.251 |
| 80  | i4         | 5.35±3.45   | 8.35±1.04   | 27.058±6.85      | 3.043±0.4   | 4.59±0.58  |
| 81  | i5         | 3.583±0.79  | 8.621±0.44  | 29.54±2.33       | 3.12±0.135  | 4.63±0.133 |
| 82  | i6         | 6.31±2.45   | 8.372±0.83  | 26.29±5.18       | 3.042±0.31  | 4.593±0.46 |
| 83  | i7         | 4.43±2      | 8.89±0.52   | 29.88±3.68       | 3.24±0.2    | 4.89±0.29  |
| 84  | i8         | 6.52±1.74   | 8.07±0.26   | 25.02±0.48       | 2.93±0.08   | 4.43±0.13  |
| 85  | i9         | 3.405±1.29  | 9.605±0.09  | 33.39±0.74       | 3.51±0.02   | 5.28±0.04  |
| 86  | i10        | 2.063±0.14  | 9.083±0.028 | 32.57±0.23       | 3.32±0.011  | 4.99±0.017 |
| 87  | i11        | 5.83±0.72   | 7.99±0.23   | 25.28±1.48       | 2.90±0.088  | 4.38±0.128 |
| 88  | i12        | 7.65±2      | 0.75        | 24.11±4.54       | 2.93±0.291  | 4.43±0.421 |
| 89  | i13        | 4.371±1.22  | 8.09±0.5    | 26.87±2.92       | 2.95±0.19   | 4.44±0.27  |
| 90  | i14        | 3.64±0.44   | 8.89±0.148  | 30.52±0.18       | 3.24±0.05   | 4.89±0.079 |
| 91  | i15        | 5.64±0.29   | 8±0.15      | 25.48±0.35       | 2.91±0.057  | 4.39±0.086 |
| 92  | i16        | 5.82±0.29   | 8.23±0.27   | 26.17±1.26       | 2.99±0.1    | 4.51±0.14  |
| 93  | i17        | 8.56±4.78   | 8.128±1.088 | 23.49±8.133      | 2.941±0.42  | 4.45±0.61  |
| 94  | i18        | 5.301±2.67  | 8.763±0.78  | 28.62±5.21       | 3.19±0.3    | 4.81±0.43  |
| 95  | i19        | 9.33±2.73   | 8.912±0.56  | 26.17±4.04       | 3.23±0.21   | 4.88±0.315 |
| 96  | i20        | 5.171±2.92  | 8.133±0.89  | 26.383±5.82      | 2.96±0.345  | 4.47±0.49  |
| 97  | i21        | 6.52±1.74   | 8.077±0.26  | 25.02±0.48       | 2.93±0.08   | 4.436±0.13 |
| 98  | i22        | 8.36±0.70   | 7.76±0.08   | 22.38±0.785      | 2.8±0.03    | 4.25±0.045 |
| 99  | i23        | 3.141±0.51  | 8.68±0.34   | 30.15±1.71       | 3.17±0.128  | 4.77±0.19  |
| 100 | i24        | 4.68±0.1    | 8.21±0.03   | 27.09±0.03       | 2.99±0.011  | 4.51±0.018 |
| 101 | i25        | 6.74±0.42   | 8.02±0.097  | 24.64±0.72       | 2.92±0.024  | 4.40±0.055 |
| 102 | i26        | 4.13±0.04   | 8.58±0.02   | 29.05±0.22       | 3.13±0.004  | 4.71±0.009 |
| 103 | i27        | 4.36±0.2    | 8.48±0.038  | 28.38±0.31       | 3.09±0.014  | 4.66±0.021 |
| 104 | i28        | 7.79±0.88   | 7.95±0.31   | 23.47±1.95       | 2.88±0.12   | 4.36±0.17  |
| 105 | i29        | 6.40±2.24   | 8.09±0.31   | 25.16±3.09       | 2.93±0.12   | 4.44±0.18  |
| 106 | i30        | 3.9±0.21    | 8.55±0.006  | 29.01±0.164      | 3.12±0.001  | 4.70±0.003 |
| 107 | i31        | 8.61±2.57   | 7.41±0.075  | 18.75±4.4        | 2.67±0.042  | 4.15±0.044 |
| 108 | i32        | 5.20±0.035  | 8.25±0.15   | 26.79±0.54       | 3.00±0.057  | 4.53±0.083 |
| 109 | i33        | 5.00±1.46   | 8.5±0.75    | 27.89±4.09       | 3.09±0.28   | 4.67±0.42  |
| 110 | i34        | 10.52±0.67  | 6.82±0.02   | 16.89±0.635      | 2.44±0.01   | 3.73±0.01  |

**EK 24.** Tez çalışması kapsamında, bir laktasyon boyunca (~305 gün) her bir inekten alınan tekerrürlü süt numunelerinde gerçekleştirilen multiparmetre ölçümlere ait ortalama sonuçlar (SNF: Solid Non Fat/ Yağsız Kuru Madde)

| S/N | Örnek Kodu | Yağ (%)     | SNF         | Yoğunluk (kg/m3) | Protein (%) | Laktoz (%)  |
|-----|------------|-------------|-------------|------------------|-------------|-------------|
| 111 | i35        | 7.35±0.311  | 7.58±0.21   | 22.45±1.08       | 2.74±0.08   | 4.16±0.12   |
| 112 | i36        | 3.78±1.63   | 8.7±0.87    | 29.66±4.68       | 3.176±0.331 | 4.78±0.485  |
| 113 | i37        | 8.77±2.65   | 7.09±0.82   | 19.41±5.35       | 2.55±0.32   | 3.88±0.46   |
| 114 | i38        | 5.173±0.34  | 8.06±0.086  | 26.09±0.61       | 2.93±0.033  | 4.43±0.05   |
| 115 | i39        | 4.59±0.84   | 8.363±0.28  | 27.72±0.36       | 3.05±0.1    | 4.59±0.155  |
| 116 | i40        | 6.70±1.7    | 7.49±0.84   | 22.67±4.64       | 2.71±0.31   | 4.11±0.46   |
| 117 | i41        | 7.87±0.648  | 7.76±0.273  | 22.69±0.481      | 2.81±0.097  | 4.25±0.14   |
| 118 | i51        | 6.42±0.93   | 7.91±0.26   | 24.47±1.77       | 2.87±0.1    | 4.34±0.14   |
| 119 | i52        | 4.26±2.5    | 8.53±0.46   | 28.62±3.86       | 3.11±0.185  | 4.64±0.305  |
| 120 | i53        | 8.185±0.13  | 7.958±0.15  | 23.16±0.69       | 2.878±0.058 | 4.361±0.086 |
| 121 | i54        | 5.711±0.97  | 8.01±0.34   | 25.84±1.74       | 2.95±0.095  | 4.45±0.135  |
| 122 | i55        | 8.97±0.318  | 7.52±0.25   | 20.85±1.23       | 2.71±0.095  | 4.12±0.14   |
| 123 | i58        | 8.11±0.285  | 8.25±0.04   | 24.35±0.42       | 2.99±0.019  | 4.52±0.027  |
| 124 | i59        | 6.49±0.42   | 7.95±0.011  | 24.54±0.41       | 2.88±0.007  | 4.36±0.007  |
| 125 | i60        | 9.16±0.71   | 8.45±0.35   | 24.21±0.72       | 3.05±0.12   | 4.63±0.19   |
| 126 | i61        | 7.00±0.15   | 8.21±0.05   | 25.11±0.33       | 2.98±0.02   | 4.50±0.028  |
| 127 | i62        | 5.73±0.72   | 8.873±0.148 | 28.67±1.17       | 3.23±0.058  | 4.87±0.083  |
| 128 | i63        | 4.47±0.44   | 8.63±0.16   | 28.82±0.97       | 3.14±0.06   | 4.74±0.08   |
| 129 | i64        | 6.65±1      | 8.35±0.38   | 25.93±2.33       | 3.03±0.148  | 4.58±0.214  |
| 130 | i65        | 9.40±0.7    | 8.53±1.05   | 24.32±4.56       | 3.08±0.39   | 4.68±0.58   |
| 131 | i66        | 5.18±0.006  | 8.34±0.11   | 27.15±0.43       | 3.03±0.04   | 4.58±0.06   |
| 132 | i67        | 6.91±0.42   | 8.23±0.145  | 25.27±0.185      | 2.98±0.051  | 4.51±0.078  |
| 133 | i68        | 5.52±0.27   | 9.34±0.58   | 30.64±1.96       | 3.4±0.21    | 5.13±0.31   |
| 134 | i69        | 8.63±0.051  | 8.15±0.002  | 23.52±0.032      | 2.95±0      | 4.47±0.002  |
| 135 | i133       | 1.59±0.355  | 9.708±0.18  | 35.32±0.99       | 3.56±0.07   | 5.34±0.1    |
| 136 | i134       | 0.80±0.16   | 9.61±0.09   | 35.63±0.48       | 3.53±0.03   | 5.29±0.049  |
| 137 | i135       | 0.971±0.52  | 9.47±0.1    | 34.90±0.06       | 3.473±0.03  | 5.20±0.05   |
| 138 | i136       | 1.923±0.29  | 9.02±0.11   | 32.49±0.66       | 3.31±0.04   | 4.96±0.06   |
| 139 | i137       | 2.30±0.04   | 8.51±0.23   | 30.23±0.91       | 3.12±0.08   | 4.68±0.12   |
| 140 | i138       | 1.195±0.3   | 9.31±0.29   | 34.17±0.84       | 3.418±0.1   | 5.12±0.16   |
| 141 | i139       | 2.276±0.091 | 9.14±0.30   | 32.61±1.23       | 3.351±0.11  | 5.028±0.16  |
| 142 | i140       | 1.68±0.79   | 9.51±0.18   | 34.50±1.37       | 3.49±0.07   | 5.23±0.1    |
| 143 | i141       | 0.84±0.11   | 9.718±0.016 | 35.98±0.16       | 3.57±0.007  | 5.35±0.009  |
| 144 | i142       | 0.52±0.047  | 9.19±0.14   | 34.29±0.56       | 3.381±0.05  | 5.06±0.077  |
| 145 | i143       | 1.69±0.51   | 9.676±0.016 | 35.11±0.49       | 3.548±0.006 | 5.32±0.009  |
| 146 | i144       | 1.97±0.58   | 9.156±0.29  | 32.91±1.61       | 3.35±0.11   | 5.036±0.16  |

**EK 24.** Tez çalışması kapsamında, bir laktasyon boyunca (~305 gün) her bir inekten alınan tekerrürlü süt numunelerinde gerçekleştirilen multiparmetre ölçümlere ait ortalama sonuçlar (SNF: Solid Non Fat/ Yağsız Kuru Madde)

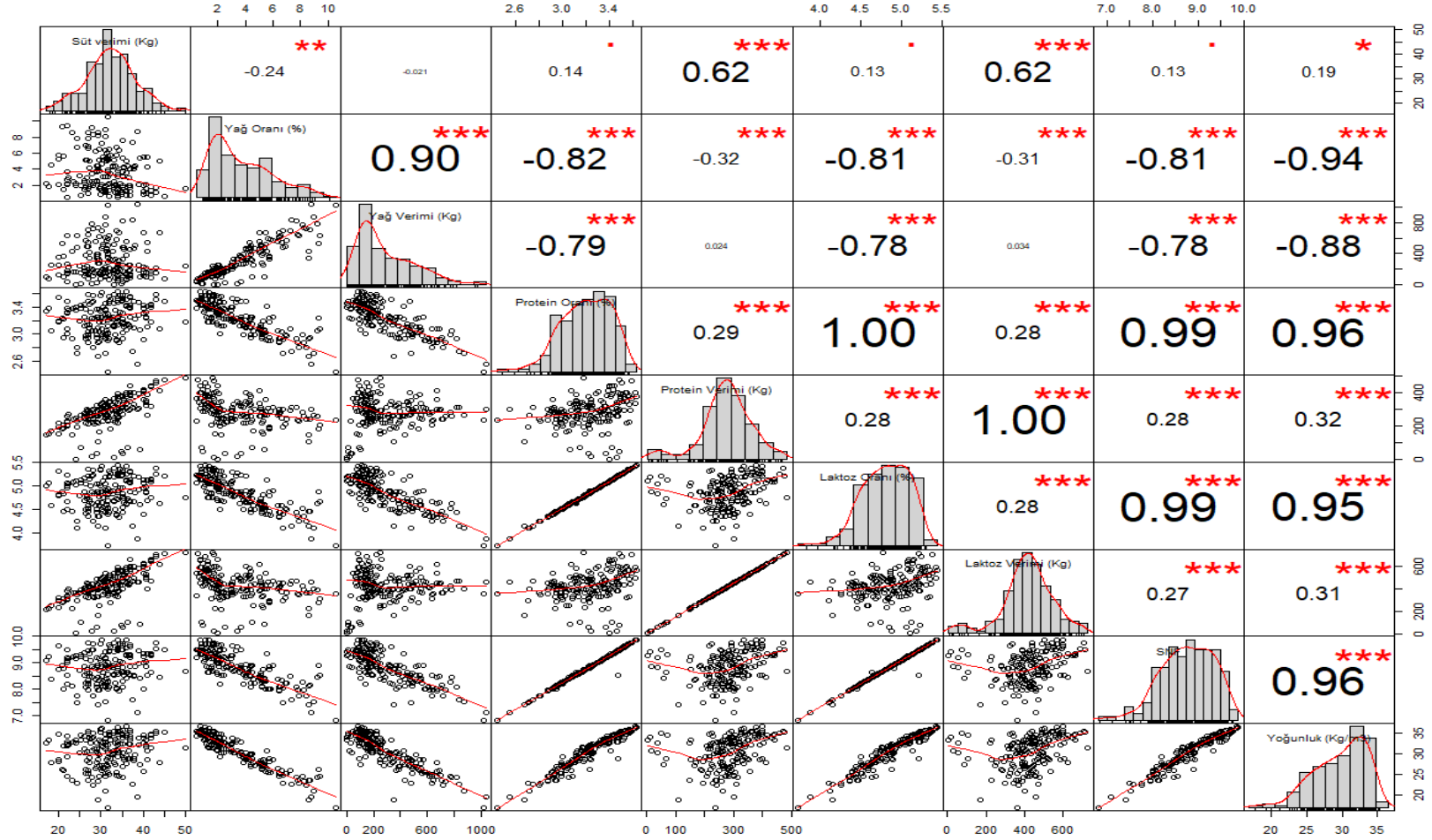
| S/N | Örnek Kodu | Yağ (%)     | SNF         | Yoğunluk (kg/m <sup>3</sup> ) | Protein (%) | Laktoz (%)  |
|-----|------------|-------------|-------------|-------------------------------|-------------|-------------|
| 147 | i145       | 2.27±0.75   | 9.68±0.21   | 34.65±0.174                   | 3.548±0.07  | 5.32±0.11   |
| 148 | i146       | 1.26±0.146  | 9.22±0.24   | 33.75±1.06                    | 3.38±0.09   | 5.07±0.13   |
| 149 | i147       | 1.7±0.76    | 9.76±0.4    | 35.44±0.87                    | 3.58±0.14   | 5.371±0.22  |
| 150 | i148       | 0.80±0.031  | 9.58±0.42   | 35.53±1.57                    | 3.52±0.15   | 5.27±0.23   |
| 151 | i149       | 1.71±0.81   | 9.77±0.63   | 35.44±3.06                    | 3.58±0.23   | 5.37±0.34   |
| 152 | i150       | 1.09±0.59   | 9.42±0.19   | 34.64±0.24                    | 3.458±0.066 | 5.183±0.1   |
| 153 | i151       | 2.15±0.77   | 8.19±0.0025 | 29.14±0.65                    | 3±0.005     | 4.50±0.0025 |
| 154 | i152       | 1.29±0.256  | 9.213±0.47  | 33.70±1.57                    | 3.38±0.172  | 5.07±0.26   |
| 155 | i153       | 1.118±0.43  | 9.88±0.087  | 36.373±0.026                  | 3.62±0.031  | 5.43±0.047  |
| 156 | i154       | 0.715±0.157 | 9.36±0.11   | 34.75±0.28                    | 3.438±0.041 | 5.153±0.061 |
| 157 | i155       | 0.758±0.26  | 9.31±0.20   | 34.53±0.56                    | 3.423±0.07  | 5.128±0.11  |
| 158 | i156       | 1.66±0.027  | 9.74±0.1    | 35.3±0.39                     | 3.57±0.036  | 5.36±0.056  |
| 159 | i158       | 1.22±0.19   | 9.56±0.22   | 35.08±0.99                    | 3.51±0.08   | 5.26±0.12   |
| 160 | i159       | 1.26±0.55   | 9.18±0.37   | 33.59±1.89                    | 3.36±0.14   | 5.05±0.20   |
| 161 | i160       | 0.76±0.222  | 9.85±0.258  | 36.56±1.16                    | 3.62±0.096  | 5.42±0.14   |
| 162 | i161       | 1.13±0.23   | 9.53±0.33   | 35.06±1.46                    | 3.50±0.12   | 5.24±0.185  |
| 163 | i162       | 1.52±0.31   | 9.39±0.52   | 34.17±2.23                    | 3.44±0.19   | 5.16±0.28   |
| 164 | i163       | 0.73±0.12   | 9.49±0.21   | 35.25±0.90                    | 3.49±0.07   | 5.22±0.11   |
| 165 | i165       | 5.01±4.12   | 8.43±1.1    | 27.70±7.55                    | 3.07±0.42   | 4.63±0.61   |
| 166 | i166       | 3.83±3.45   | 8.18±1.03   | 27.69±6.81                    | 2.98±0.39   | 4.5±0.57    |
| 167 | i167       | 0.613±0.14  | 9.47±0.2    | 35.26±0.89                    | 3.47±0.07   | 5.216±0.11  |
| 168 | i168       | 4.30±3.21   | 8.53±1.13   | 28.61±6.97                    | 3.11±0.43   | 4.69±0.62   |
| 169 | i169       | 5.46±3.21   | 8.016±1.13  | 25.66±6.97                    | 2.91±0.43   | 4.4±0.62    |
| 170 | i170       | 4.4±3.1     | 8.84±0.98   | 29.68±6.3                     | 3.22±0.38   | 4.85±0.55   |
| 171 | i171       | 2.18±0.82   | 9.50±0.21   | 34.04±1.51                    | 3.48±0.08   | 5.22±0.12   |
| 172 | i173       | 1.08±0.41   | 9.71±0.14   | 35.76±0.89                    | 3.56±0.05   | 5.34±0.08   |
| 173 | i174       | 1.31±0.68   | 9.28±0.12   | 33.94±0.098                   | 3.40±0.04   | 5.10±0.067  |
| 174 | i175       | 2.045±1.39  | 9.65±0.024  | 34.74±1.26                    | 3.54±0.01   | 5.31±0.014  |
| 175 | i176       | 0.462±0.074 | 9.50±0.028  | 35.49±0.048                   | 3.49±0.01   | 5.23±0.016  |
| 176 | i177       | 1.54±0.057  | 8.84±0.013  | 32.1±0                        | 3.24±0.006  | 4.86±0.008  |
| 177 | i178       | 2.11±0.1    | 8.95±0.07   | 32.05±0.36                    | 3.28±0.026  | 4.92±0.04   |
| 178 | i179       | 1.53±1.01   | 8.79±0.27   | 31.91±1.89                    | 3.22±0.1    | 4.83±0.15   |
| 179 | i180       | 5.11±4.64   | 8.52±1.03   | 27.76±7.9                     | 3.10±0.4    | 4.68±0.57   |
| 180 | i181       | 1.62±0.92   | 8.66±0.1    | 31.34±1.15                    | 3.17±0.04   | 4.76±0.05   |
| 181 | i182       | 0.91±0.3    | 9.33±0.24   | 34.46±1.16                    | 3.42±0.09   | 5.13±0.13   |
| 182 | i183       | 1.31±0.32   | 9.253±0.58  | 33.83±2.48                    | 3.39±0.21   | 5.08±0.33   |



**EK 25.** Her bir MARS modelinde, bağımlı değişken olarak kullanılan faktörlerin kendi arasındaki etkileşimlerini gösteren korelasyon matrisine ait grafik (SNF: Solid Non Fat/ Yağsız Kuru Madde)

**EK 26.** Her bir MARS modelinde, bağımlı değişken olarak kullanılan faktörlerin kendi arasındaki etkileşimlerini gösteren korelasyon matrisine ait p-değerleri (SNF: Solid Non Fat/ Yağsız Kuru Madde)

|                                | <b>Süt verimi<br/>(Kg)</b> | <b>Yağ Oranı<br/>(%)</b> | <b>Yağ Verimi<br/>(Kg)</b> | <b>Protein Oranı<br/>(%)</b> | <b>Protein Verimi<br/>(Kg)</b> | <b>Laktoz Oranı<br/>(%)</b> | <b>Laktoz<br/>Verimi (Kg)</b> | <b>SNF</b>    | <b>Yoğunluk<br/>(Kg/m³)</b> |
|--------------------------------|----------------------------|--------------------------|----------------------------|------------------------------|--------------------------------|-----------------------------|-------------------------------|---------------|-----------------------------|
| <b>Süt verimi<br/>(Kg)</b>     | 0.000000e+00               | 1.195705e-03             | 7.777373e-01               | 6.039387e-02                 | 2.090794e-20                   | 7.313925e-02                | 2.196640e-20                  | 8.988974e-02  | 1.191536e-02                |
| <b>Yağ Oranı<br/>(%)</b>       | 1.195705e-03               | 0.000000e+00             | 3.575837e-67               | 4.632983e-46                 | 1.022011e-05                   | 3.394109e-43                | 1.932243e-05                  | 3.345181e-43  | 9.216780e-88                |
| <b>Yağ Verimi<br/>(Kg)</b>     | 7.777373e-01               | 3.575837e-67             | 0.000000e+00               | 6.632962e-40                 | 7.482714e-01                   | 1.311673e-38                | 6.462009e-01                  | 8.371664e-39  | 9.673205e-59                |
| <b>Protein Oranı<br/>(%)</b>   | 6.039387e-02               | 4.632983e-46             | 6.632962e-40               | 0.000000e+00                 | 6.637010e-05                   | 2.696702e-255               | 1.112201e-04                  | 8.985223e-167 | 1.135818e-101               |
| <b>Protein Verimi<br/>(Kg)</b> | 2.090794e-20               | 1.022011e-05             | 7.482714e-01               | 6.637010e-05                 | 0.000000e+00                   | 1.007432e-04                | 0.000000e+00                  | 1.536661e-04  | 1.463579e-05                |
| <b>Laktoz Oranı<br/>(%)</b>    | 7.313925e-02               | 3.394109e-43             | 1.311673e-38               | 2.696702e-255                | 1.007432e-04                   | 0.000000e+00                | 1.643789e-04                  | 4.068421e-166 | 1.575677e-94                |



EK 27. Her bir MARS modelinde, bağımlı değişken olarak kullanılan faktörlere ait korelasyon matrisinin grafiksel olarak ayrıntılı sunumu ( her bir değişkenin dağılımı diagonal (çapraz) olarak gösterilmiştir, p-değerleri  $\leq 0.001$ \*\*\*, 0.01\*\*, 0.05\*, 0.1 " " )

## ÖZGEÇMİŞ

### KİŞİSEL BİLGİLER

**Adı Soyadı:** Ahmet E. YETİMAN  
**Uyruğu:** Türkiye (T.C.)  
**Medeni Durumu:** Evli, 1 çocuk babası  
**E-mail:** [ahmetyetiman@erciyes.edu.tr](mailto:ahmetyetiman@erciyes.edu.tr)  
[ahmetyetiman@gmail.com](mailto:ahmetyetiman@gmail.com)  
**Yazışma adresi:** Erciyes Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, 38030, Talas, Kayseri

### EĞİTİM

| Derece        | Kurum                                                                           | Mezuniyet Tarihi |
|---------------|---------------------------------------------------------------------------------|------------------|
| Doktora       | Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı | 2020             |
| Yüksek Lisans | Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı | 2012             |
| Lisans        | Erciyes Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü                   | 2008             |

### İŞ DENEYİMLERİ

| Yıl        | Kurum                                                                 | Görev             |
|------------|-----------------------------------------------------------------------|-------------------|
| 2017-Halen | Erciyes Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü | Öğretim Görevlisi |
| 2011-2017  | Erciyes Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü | Uzman             |

### YABANCI DİL

İngilizce (iyi)

## YAYINLAR

### SCI-E, INDEKSLERİNE GİREN DERGİLERDE YAYINLANAN MAKALELER

1. Ozturk, G., **Yetiman, A.E.**, Doğan, M., "The bioactive efficiency of ultrasonic extracts from acorn leaves and green walnut husks against Bacillus Cereus: a hybrid approach to PCA with the Taguchi method", JOURNAL OF FOOD MEASUREMENT AND CHARACTERIZATION, vol.13(2), pp. 1257-1268, 2019.
2. **Yetiman A.E.**, Kesmen Z., "Identification of acetic acid bacteria in traditionally produced vinegar and mother of vinegar by using different molecular techniques", INTERNATIONAL JOURNAL OF FOOD MICROBIOLOGY, vol.204, pp.9-16, 2015.
3. Kesmen Z., Gulluce A., Yilmaz M.T., **Yetiman A.E.**, Yetim H., "Taqman-based duplex real-time polymerase chain reaction approach for the detection and quantification of donkey and pork adulterations in raw and heat-processed meats", INTERNATIONAL JOURNAL OF FOOD PROPERTIES, vol.17, pp.629-638, 2014.
4. Kesmen Z., **Yetiman A.E.**, Güllüce A. , Kaçmaz N., Sağdıç O., Çetin B. , et al., "Combination of culture-dependent and culture-independent molecular methods for the determination of lactic microbiota in sucuk", INTERNATIONAL JOURNAL OF FOOD MICROBIOLOGY, vol.153, pp.428-435, 2012.
5. Kesmen Z., **Yetiman A.E.**, Şahin F., Yetim H., "Detection of Chicken and Turkey Meat in Meat Mixtures by Using Real-Time PCR Assays", JOURNAL OF FOOD SCIENCE, vol.77, pp.0-0, 2012.

### HAKEMLİ KONGRE/SEMPOZYUMLARIN BİLDİRİ KİTAPLARINDA YER

#### ALAN YAYINLAR

1. Yetim H., Okuyan N., **Yetiman A.E.**, Kesmen Z., "Demlenmiş Çaylarda Mikrohazne/Termal Ekstraktör ( $\mu$ -CTE) ve Termal Desorber (TD) ile Gaz Kromatografisi/Kütle Spektrometresinde (GC/MS) Uçucu Bileşiklerin Tespiti", 10. GIDA MÜHENDİSLİĞİ KONGRESİ , ANTALYA, TÜRKİYE, 9-11 Kasım 2017, ss.132-133.
2. Kesmen Z., **Yetiman A.E.**, Güllüce A. , Aslan H., "Pksl 1 Genine Özgül Pcr Yöntemi İle Aflatoksikojenik Aspergillus Flavus Türlerinin Tespiti", 8. Ulusal Moleküler ve Tanısal Mikrobiyoloji Kongresi, ANKARA, TÜRKİYE, 4-7 Haziran 2014, ss.142-143.
3. Çelebi Y., Kesmen Z., **Yetiman A.E.**, Yetim H., "Evaluation Of Competitiveness And Adaptation Ability Of Autochthonous Starter Cultures In Sucuk Fermentation", 59th

ICoMST International Congress of Meat Science and Technology, TÜRKİYE, 18-23 Ağustos 2013.

4. Çelebi Sezer Y., Kesmen Z., **Yetiman A.E.**, Yetim H., "Sucukta Laktik Mikrofloranın Belirlenmesinde Polimeraz Zincir Reaksiyonu-Denatüre Gradient Jel Elektroforez (PCR-DGGE) Yönteminin Propidium Monoazide (PMA) İle Birlikte Kullanımı", 3. GELENEKSEL GIDALAR SEMPOZYUMU, KONYA, TÜRKİYE, 10-12 Mayıs 2012.
5. Kesmen Z., **Yetiman A.E.**, Aslan H., Yetim H., "Sucuk Dolumunda Kullanılan Kollajen Yapay Kiliflerin Orijinin Real-Time Pcr Yöntemi İle Belirlenmesi", 3. GELENEKSEL GIDALAR SEMPOZYUMU, KONYA, TÜRKİYE, 10-12 Mayıs 2012.
6. **Yetiman A.E.**, Kesmen Z., Yetim H., "Organik Sirke Mikroflorasında Bulunan Asetik Asit Bakterilerinin Polimeraz Zincir Reaksiyonu-Denatüre Gradient Jel Elektroforez (Pcr-Dgge) Yöntemi İle Tespiti", 3. GELENEKSEL GIDALAR SEMPOZYUMU, KONYA, TÜRKİYE, 10-12 Mayıs 2012, ss.122-124.
7. Kesmen Z., **Yetiman A.E.**, Aslan H., Yetim H., "Isıl İşlem Uygulanmış Sütlerde Canlı Escherichia Coli O157 H:7'Nin Sayısının Pma/Real-Time PCR Tekniği İle Belirlenmesi", 3. Gıda Güvenliği Kongresi, İSTANBUL, TÜRKİYE, 3-5 Mayıs 2012.
8. Kesmen Z., **Yetiman A.E.**, Yetim H., "Determination of Viability of food-borne bacterial pathogens in milk by using PMA/real-time PCR technique", European Biotechnology Congress , İSTANBUL, TÜRKİYE, 1-4 Temmuz 2011, pp.s100-s100.
9. Kesmen Z., Güllüce A., Erdem İ., **Yetiman A.E.**, Yetim H., "IDENTIFICATION AND QUANTIFICATION OF MYCOTOXIGENIC FUNGI IN FOODS: A REVIEW OF REAL-TIME PCR APPLICATIONS IN FOOD SAFETY", 3rd SAFE Consortium International Congress on Food Safety, TUBITAK MAM FP7 , İSTANBUL, TÜRKİYE, 12-14 Ekim 2011, pp.236-236.
10. Kesmen Z., **Yetiman A.E.**, Yetim H., "Detection Of Chicken And Turkey Meat In Meat Mixtures By Using Real-Time Pcr Assay", International Food Congress, Novel Approaches in Food Industry (NAFI), TÜRKİYE, 26-29 Mayıs 2011, pp.586-590.
11. Kesmen Z., Güllüce A., Erdem İ., **Yetiman A.E.**, Ertü H., Yetim H., "DETECTION OF AFLATOXIN PRODUCING ASPERGILLUS SPECIES IN TURKISH RED PEPPERS BY USING PCR BASED METHODS", 3rd SAFE Consortium International Congress on Food Safety, TUBITAK MAM FP7, İSTANBUL, TÜRKİYE, 12-14 Ekim 2011, pp.234-234.
12. Kesmen Z., Yetim H., **Yetiman A.E.**, "Geleneksel Et Ürünümüz Olan Sucuktaki Laktik Asit Bakterilerinin Moleküler Biyoloji Teknikleri İle Tanımlanması", 1. ET ÜRÜNLERİ "SUCUK" ÇALIŞTAYI, AYDIN, TÜRKİYE, 2-3 Aralık 2010, ss.59-60.

13. Yetim H., Kesmen Z., Kaçmaz N., Güllüce A. , **Yetiman A.E.**, "The Pcr-Dgge Analysis Of The Microbial Ecology Of Turkisk Sausage(Sucuk)", 55th International Congress of Meat Science and Technology, DANIMARKA, 17-21 Ağustos 2009, pp.1443-1446.

### **PROJELER**

1. “Sucuktan İzole Edilen Fementatif Bakterilerin Starter Kültür Olarak Kullanım Potansiyelinin Belirlenmesi” projesi, TÜBİTAK 1001-TOVAG (107O897), Yürütücü: Yrd. Doç. Dr. Zülal KESMEN, 2008 Agustos-2009 Aralık, **Bursiyer.**
2. “Gıda Kaynaklı Patojen Bakterilerin Belirlenmesinde PMA/Real-Time PCR Tekniğinin Kullanım Olanaklarının Araştırılması” projesi, TÜBİTAK-KARİYER -TOVAG (107O676), Yürütücü: Yrd. Doç. Dr. Zülal KESMEN, 2009 Aralık-2010 Nisan, **Bursiyer.**
3. “Sirke Mikroflorasındaki Asetik Asit Bakterilerinin Moleküler Teknikler İle Tanımlanması” projesi, ERÜ-BAP Y. Lisans Tez projesi, Yürütücü: Yrd. Doç. Dr. Zülal KESMEN, FBY-10-3229, **Araştırmacı**, 2012.
4. “Çeşitli Gıda Formülasyonlarında Gıda Katkı Maddesi Olarak Kullanılan Jelatinin Orijininin UPLC-MS-QToF-MS Sistemi Kullanılarak Tespine Yönelik Yöntem Geliştirilmesi” projesi, ERÜ-BAP, Normal Araştırma Projesi (NAP), FBA-10-3330, Yürütücü: Prof. Dr. Hasan YETİM, 2010 Aralık -2014 Ocak, **Araştırmacı.**
5. "Kırmızı Biberlerde Aflatoksin Oluşumunun Tespiti ve Kontrolü için Aflatoksijenik Fungusların Farklı Sıcaklık, Su Aktivitesi ve Depolama Süresine Bağlı Olarak Gelişimlerinin Gerçek Zamanlı-Polimeraz Zincir Reaksiyonu Tekniği ile İzlenerek Modellenmesi", projesi TÜBİTAK 1002, TOVAG (113O832), **Araştırmacı**, 2014-2015.

### **SERTİFİKA, KURS VE EĞİTİMLER**

- Fen ve Mühendislik Bilimlerinde TÜBİTAK ARDEB Fonlarına Yönelik Uygulamalı Proje Önerisi Yazma Eğitimi, ERCİYES TEKNOLOJİ TRANSFER OFİSİ, 2017.
- Scientific Writing and Publishing Workshop, ASM(AMERICAN SOCIETY FOR MICROBIOLOGY), İstanbul, Aralık 2015.
- Food Safety Management Workshop, WORLD FOOD SAFETY ORGANIZATION, Mayıs 2013.
- İleri Proteom Analiz Teknikleri Uygulamalı Eğitimi ( TÜBİTAK – MAM – Genetik Mühendisliği ve Biyoteknoloji Enstitüsü, Ekim 2010)
- 1<sup>st</sup> Anaerobic Microorganisms Course- Isolation, Culturing and Identification Techniques in Health, Food and Environment ( Yeditepe Üniversitesi – Genetik ve Biyomühendislik Bölümü, Ocak 2010 )

- BIO-RAD GelDoc XR system ve software kullanımı eğitim sertifikası ( MED-TEK, 2008 )

### **KONGRE, SEMPOZYUM VE BİLİMSEL TOPLANTILAR**

- The First Turkish-International Circle's Workshop on Food Science and Technology, Kayseri, Mayıs 2013.
- Tübitak /MAM- 4th International Congress on Food and Nutrition/3rd SAFE Consortium International Congress on Food Safety, İstanbul, Ekim 2011
- I. Ulusal Genetik ve Biyoteknoloji Çalıştayı ( Erciyes Üniversitesi - Şubat 2010 )

### **BİLGİSAYAR BİLGİSİ**

- Microsoft Office ve Libre Office ( çok iyi)
- Adobe Photoshop bilgisi (iyi)
- Windows, Linux (Ubuntu, Mint)
- SPSS, Minitab, Xlstat, R, Python