



T.C.
BURSA ULUDAĞ
ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ
ENSTİTÜSÜ
VETERİNER FAKÜLTESİ
ZOOTEKNİ ANABİLİM DALI



**YERLİ KARA VE DOĞU ANADOLU KIRMIZISI IRKI
SIĞIRLARDA CALPASTATİN
LEPTİN VE BÜYÜME HORMONU RESEPTÖRÜ GEN
FREKANSLARININ BELİRLLENMESİ**

MEHLİKA ER ONAN

(DOKTORA TEZİ)

BURSA-2022

Mehlika ER ONAN

ZOOTEKNİ ANABİLİM DALI DOKTORA TEZİ

2022



**T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VETERİNER FAKÜLTESİ
ZOOTEKNİ ANABİLİM DALI**



**YERLİ KARA VE DOĞU ANADOLU KIRMIZISI IRKI
SIĞIRLARDA CALPASTATİN, LEPTİN VE BÜYÜME HORMONU
RESEPTÖRÜ GEN FREKANSLARININ BELİRLENMESİ**

Mehlika ER ONAN

(DOKTORA TEZİ)

**DANIŞMAN:
Prof.Dr. Hakan ÜSTÜNER**

BURSA-2022

**T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

ETİK BEYANI

Doktora tezi olarak sunduğum Yerli Kara ve Doğu Anadolu Kırmızısı Irkı Sığırlarda *Calpastatin*, *Leptin* ve *Büyüme Hormonu Reseptörü* Gen Frekanslarının Belirlenmesi adlı çalışmanın, proje safhasından sonuçlanmasına kadar geçen bütün süreçlerde bilimsel etik kurallarına uygun bir şekilde hazırlandığını ve yararlandığım eserlerin kaynaklar bölümünde gösterilenlerden oluştuğunu belirtir ve beyan ederim.

**Mehlika ER ONAN
19.09.2022**

TEZ KONTROL ve BEYAN FORMU

19/09/2022

Adı Soyadı: Mehlika ER ONAN

Anabilim Dalı: Veterinerlik Zootečni A.B.D.

Tez Konusu: Yerli Kara ve Doğu Anadolu Kırmızısı Irkı Sığırlarda *Calpastatin*,
Leptin ve *Büyüme Hormonu Reseptörü* Gen Frekanslarının Belirlenmesi

<u>ÖZELLİKLER</u>	<u>UYGUNDUR</u>	<u>UYGUN DEĞİLDİR</u>	<u>ACIKLAMA</u>
Tezin Boyutları	☒	☐	
Dış Kapak Sayfası	☒	☐	
İç Kapak Sayfası	☒	☐	
Kabul Onay Sayfası	☒	☐	
Sayfa Düzeni	☒	☐	
İçindekiler Sayfası	☒	☐	
Yazı Karakteri	☒	☐	
Satır Aralıkları	☒	☐	
Başlıklar	☒	☐	
Sayfa Numaraları	☒	☐	
Eklerin Yerleştirilmesi	☒	☐	
Tabloların Yerleştirilmesi	☒	☐	
Kaynaklar	☒	☐	

DANIŞMAN ONAYI

Unvanı Adı Soyadı: Prof. Dr. Hakan
ÜSTÜNER

İmza:

İÇİNDEKİLER

Dış Kapak	
İç Kapak	
ETİK BEYANI	II
KABUL ONAY SAYFASI	III
TEZ KONTROL ve BEYAN FORMU	IV
İÇİNDEKİLER	V
TÜRKÇE ÖZET	VIII
İNGİLİZCE ÖZET	IX
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	8
2.1. Türkiye’deki Sığır Popülasyonu	8
2.2. Yerli Kara Irkı Sığırlar	10
2.3. Doğu Anadolu Kırmızısı Irkı Sığırlar	12
2.4. DNA’nın Yapısı ve Özellikleri	13
2.5. Genin Moleküler Özellikleri ve Tanımlaması	13
2.6. Tek Nükleotid Polimorfizmi (SNP)	15
2.7. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR).....	15
2.8. Elektroforez.....	16
2.9. Agaroz Jel Elektroforez.....	16
2.10. Restriksiyon Endonükleaz Fragment Analizi (RFLP)	17
2.11. İşaretleyici Yardımcı Seleksiyon	18
2.12. İncelenen Gen ve Polimorfizmlere Ait Bilgiler	19
2.12.1. <i>CAST</i> Geni.....	19
2.12.1.1. <i>CAST</i> - S20T Polimorfizmi	20
2.12.2. <i>LEP</i> Geni.....	21
2.12.2.1. <i>LEP</i> - A80V Polimorfizmi	22
2.12.3. <i>GHR</i> Geni.....	24
2.12.3.1 <i>GHR</i> - S555G Polimorfizmi.....	26
3. GEREÇ VE YÖNTEM	27
3.1. Etik Kurul İzin Belgesi.....	27
3.2. Hayvan Materyali.....	27
3.3. Kan Örnekleri.....	27
3.4. Çalışmada Kullanılan Cihazlar	27
3.5. Çalışmada Kullanılan Kimyasallar ve Sarf Malzemeler	28
3.6. <i>GHR</i> geni S555G Polimorfizmi İçin Gerekli Primerler (Alpha DNA).....	28

3.7. <i>LEP</i> - A80V Geni Polimorfizmi İçin Gerekli Primerler (Alpha DNA).....	28
3.8. <i>CAST</i> - S20T Geni Polimorfizmi İçin Gerekli Primerler (Alpha DNA).....	29
3.9. Tampon ve Solüsyonların Hazırlanışı.....	30
3.9.1. 1X TE Buffer:	30
3.9.2. 1 M Tris (ph:7,5-8):.....	30
3.9.3. 0,5 M EDTA (ph:8):.....	30
3.9.4. SDS:	30
3.9.5. 1 M NaCl:.....	30
3.9.6. Proteinaz K:.....	30
3.9.7. Forward Primer <i>CAST</i> - S20T polimorfizmi için:.....	30
3.9.8. Reverse Primer <i>CAST</i> - S20T polimorfizmi için:	30
3.9.9. Forward Primer <i>LEP</i> - A80V polimorfizmi için:.....	31
3.9.10. Reverse Primer <i>LEP</i> - A80V polimorfizmi için:	31
3.9.11. Forward Primer <i>GHR</i> - S555G polimorfizmi için:	31
3.9.12. Reverse Primer <i>GHR</i> - S555G polimorfizmi için:	31
3.10. %2'lik Agaroz Jel Hazırlama.....	31
3.11. %3'lük Agaroz Jelin Hazırlanması	31
3.12. Periferik Kandan DNA İzolasyonu	32
3.13. <i>CAST</i> geni S20T Polimorfizmi İçin PCR Koşulları	33
3.14. <i>CAST</i> geni S20T Polimorfizmi İçin Oluşturulan 50 µl PCR Karışımı	33
3.15. <i>CAST</i> geni S20T Polimorfizmi İçin Hazırlanan PCR Isı Döngüsü.....	33
3.16. <i>CAST</i> geni S20T Polimorfizmi <i>AluI</i> Restriksiyon RFLP işlemi	34
3.17. <i>LEP</i> geni A80V Polimorfizmi İçin PCR Koşulları	34
3.18. <i>LEP</i> Geni A80V Polimorfizmi İçin Oluşturulan 50 µl PCR Karışımı.....	34
3.19. <i>LEP</i> Geni A80V Polimorfizmi İçin Hazırlanan Thermal Cycler Isı Döngüsü .	35
3.20. <i>LEP</i> Geni A80V Polimorfizmi İçin <i>HphI</i> Restriksiyon RFLP işlemi.....	35
3.21. <i>GHR</i> geni S555G Polimorfizmi İçin PCR Koşulları.....	36
3.22. <i>GHR</i> Geni S555G Polimorfizmi İçin Hazırlanan 50 µl'lik PCR Mixi	36
3.23. <i>GHR</i> geni S555G Polimorfizmi PCR Protokolü	36
3.24. <i>GHR</i> Geni S555G Polimorfizmi İçin <i>AluI</i> Restriksiyon RFLP İşlemi	36
4. BULGULAR	38
4.1. Laboratuvar Bulguları	38
4.2. DNA İzolasyonu.....	38
4.3. <i>CAST</i> - S20T Polimorfizmi	38
4.4. <i>GHR</i> - S555G Polimorfizmi.....	40
4.5. <i>LEP</i> - A80V Polimorfizmi	41

4.6. Genotip ve Alel Frekansları	42
4.7. Popülasyon Genetiği Parametreleri.....	44
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	46
5.1. <i>CAST</i> - S20T Polimorfizmi	46
5.2. <i>GHR</i> - S555G Polimorfizmi.....	48
5.3. <i>LEP</i> - A80V Polimorfizmi	50
5.4. Sonuç.....	52
6. KAYNAKLAR	55
7. SİMGELER VE KISALTMALAR	67
8. TEŞEKKÜR	68
9. ÖZGEÇMİŞ.....	69



TÜRKÇE ÖZET

Bu çalışma, Yerli Kara (YK) ve Doğu Anadolu Kırmızısı (DAK) ırkı sığırlarda *Calpastatin* (CAST), *Leptin* (LEP) ve *Büyüme Hormonu Reseptörü* (GHR) gen polimorfizmlerinin frekanslarının belirlenmesi amacıyla yapılmıştır. Çalışmada yaş ve cinsiyet ayrımı yapılmaksızın 50 baş YK, 50 baş DAK ırkı sığır kullanılmıştır. Alınan kan örneklerinden PCR-RFLP yöntemi ile genotiplendirme işlemi gerçekleştirilmiştir. CAST geni S20T polimorfizmi açısından CC, GC ve GG genotiplerine ilişkin frekanslar sırasıyla YK'larda %56, %40 ve %4; DAK'da ise sırasıyla %26, %40 ve %34 olarak belirlenmiştir. GHR geni S555G polimorfizmi açısından hem YK'da (%56) hem de DAK'da (%38) en yüksek frekansın AG genotipi olduğu tespit edilmiştir. LEP geni A80V polimorfizmi açısından ise incelenen tüm ırklarda sadece TT genotipi görülmüştür. Sonuç olarak, incelenen YK ve DAK ırkı sığırların hedeflenen CAST ve GHR polimorfizmleri açısından varyasyon gösteriği; ancak LEP-A80V polimorfizmi açısından ise monomorfik olduğu tespit edilmiştir. Et verim ve kalitesine etkili olduğu düşünülen CAST ve GHR genlerindeki polimorfik yapının, YK ve DAK ırkı sığırlarda fenotipi ne düzeyde etkilediğine ilişkin gerçekleştirilecek çalışmaların gerekliliği açıktır. Mevcut çalışmanın yerli gen kaynaklarının korunması açısından literatüre katkı sağlayacağı düşünüldüğün; söz konusu çalışmalara da temel oluşturacağı öngörülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Yerli Kara, Doğu Anadolu Kırmızısı, CAST, LEP, GHR.

İNGİLİZCE ÖZET

This study was performed to determine the frequencies of Calpastatin (CAST), Leptin (LEP), and Growth hormone receptor (GHR) gene polymorphisms in Native Black (NB), and Eastern Anatolian Red (EAR) cattle. In the study, 50 heads of NB and 50 heads of EAR cattle were used, regardless of age and gender. Genotyping was done from the blood samples by PCR-RFLP method. In terms of CAST gene S20T polymorphism, the frequencies of CC, GC, and GG genotypes were determined at 56%, 40%, and 4% in NBs, 26%, 40%, and 34% in EARs, respectively. It was detected that the highest frequency in both NB (56%) and EAR (38%) was the AG genotype for GHR gene S555G polymorphism. In terms of LEP gene A80V polymorphism, only TT genotype was observed in all investigated breeds. As a result, a variation was identified for targeted CAST and GHR polymorphisms in the studied NB and EAR cattle; however, the flocks were found to be monomorphic in terms of LEP-A80V polymorphism. It is clear that further studies, which will determine the effects of the polymorphic structure in the CAST and GHR genes, are thought to be effective on meat yield and quality, on the phenotype in NB, and EAR cattle are necessary. While it is thought that the current study will contribute to the literature in terms of the protection of local gene resources, it will form the basis of these studies are predicted.

Key words: Anatolian Black, East Anatolian Red, *CAST*, *LEP*, *GHR*.

1. GİRİŞ

Çiftlik hayvanları yetiştiriciliğinde mevcut üretim stratejileri, artan dünya nüfusunu doyurmak amacıyla yığmsal üretime olanak sağlayan yüksek verimli kültür ırklarının tüm dünyaya yayılmasına neden olmuştur. Bunun sonucu olarak da tüm Dünya’da çiftlik hayvanları yetiştiriciliğinde kullanılan yerel ırkların sayısı hızlı bir şekilde azalmaktadır. Birçok yerli ırk düşük verimleri ve yığmsal üretime uygun olmamaları nedeniyle, soyu tükenme tehlikesiyle karşı karşıyadır. Son yirmi yılda genetik alanındaki ilerlemeler ve moleküler genetik yöntemler; soyu tükenme tehlikesiyle karşı karşıya olan türlerin korunması ve genetik yapılarının belirlenmesinde önemli olanaklar sunmuştur. Genetik tanımlama tür ve ırk koruma programlarında ilk basamağı oluşturmaktadır. Bu çalışmalardan elde edilen bilgiler gelecekteki yetiştirme programlarının geliştirilmesine ve türün devamının sağlanmasında yardımcı olabilir.

Anadolu yarım adası üç kıtanın birleştiği bir bölgedir. Aynı zamanda insanlık tarihinde çok önemli medeniyetlerin kurulduğu Mezopotamya’nın da bir kısmını oluşturmaktadır. Bu bölge önemli bir evcilleştirme merkezidir. Son yıllarda yapılan genetik ve arkeolojik çalışmalardan elde edilen bulgular göstermektedir ki Anadolu çiftlik hayvanlarından sığır, koyun ve keçinin evcilleştirilme yerlerinden biridir (Zeder, 2008).

Anadolu yarım adası Afrika, Asya ve Avrupa’dan göç yollarının üzerinde olması nedeniyle insanlık tarihi boyunca bir köprü olmuştur. İnsan hareketleri sonucunda hem farklı insan ırkları hem de farklı hayvan tür ve ırkları için geçit olmuştur (Haak ve ark., 2010). Yakın zamanda çiftlik hayvanlarının kökenleri üzerine yapılan moleküler çalışmalar göstermiştir ki evcil sığır, koyun ve keçi Anadolu üzerinden Avrupa’ya yayılmıştır (Loftus ve ark., 1999). Sığırların M.Ö. 5000-6000 yıllarında Anadolu’da evcilleştirildiği ve buradan dünyanın diğer bölgelerine yayıldığı kabul edilmektedir. Bugün dünyada yaklaşık olarak 300 sığır ırkının var olduğu ve bu ırkların *Bos taurus primigenius* ve *Bos taurus brachyceros* yabani formlarından köken aldığı bildirilmektedir (Özbeyaz, Yıldız, & Çamdeviren 1999). Avrupa, Batı Asya ve Kuzey Afrika’da yaygın olarak bulunan *Bos taurus primigenius* formundan orijin alan sığır ırkları arasında Holştayn (Siyah Alaca) ve

Boz step ırkları yer almaktadır. Jersey, İsviçre Esmeri ve Anadolu'nun yerli ırkları ise Avrupa'nın yerleşik sığır ırklarının köken aldığı *Bos taurus brachyceros* grubuna dahil edilmektedir (Özbeyaz ve ark.,1999). Ayrıca, Kafkas, Orta Asya ve Orta Doğu'nun yerli ırkları iki büyük alt grupta incelenmektedir. Bu alt gruplardan ilkinde Mezopotamya'dan köken alan sığır ırkları yer almaktadır. Anadolu Yerli Kara (YK) sığırı bu grupta değerlendirilmektedir. Diğer alt grupta ise, Güney Anadolu Kırmızısı (GAK) ırkının da içinde yer aldığı Damascus bulunmaktadır (Özbeyaz ve ark., 1999). İnsanlar tarafından yapılan melezleme ve seleksiyon işlemleri sonucu kaybolmuş birçok genetik bilgi bu yerli ırklarda mevcuttur. Bu bilgiler kullanılmış, halen kullanılmakta olan ya da olası şartlara göre kullanılmayı bekleyen genetik bilgilerdir. Seleksiyon baskısı olmadığı için bu ırklar aynı karakter yönünden varyasyon gösterirler. Artan insan nüfusunun getirdiği aşırı gıda ihtiyacı ve sentetik ürünlerin giderek yaygınlaşması, düşük verimli yerli ırkları yok olma tehlikesi ile karşı karşıya bırakmıştır. Bu durum tür içindeki genetik çeşitliliğin en önemli kaynağı olan yerli ırkların sahip oldukları genomik bilgilerin kaybolması gibi ciddi tehditler oluşturmaktadır. Birleşmiş Milletler Yiyecek ve Tarım Organizasyonu (FAO) lokal ırklardaki yüksek verim ve hastalıklara direnç özellikleri nedeniyle korunmalarının, gelecekte insanlık için artan ihtiyaçların karşılanmasında zorunlu olduğunu bildirmiştir (Pereira, Pereira, Van Asch, Bradley, & Amorim, 2005). Mevcut hayvan yetiştiriciliği ve bu amaçla kullanılan tür ve ırklar, değişen ekonomi, artan insan nüfusu ve hızla büyüyen dünyanın küresel bir köy olması gerçekleri, tüm dünyada yüksek verim özelliklerine sahip tür ve ırklar da bir örnek üretime doğru gitmektedir.

Mevcut entansif üretimde kullanılan ırklar, sürü idaresinde işçilik masrafı düşük ve yüksek verim özellikleri yönünden seleksiyona tabi tutulan ırklardır. Kullanılan bu ırklarda çevre koşullarına ve hastalıklara duyarlılıklar göz ardı edilmiştir. Bütün bunların sonucunda Orta Avrupa orijinli birçok ırk hayvancılık sektöründe bol yağış alan ve kuvvetli meraya sahip Orta ve Kuzey Avrupa'dan, Türkiye gibi yıllık yağış miktarı çok düşük karasal iklimin hüküm sürdüğü, geçit bölgesi olduğu için bir çok paraziter ve mikrobiyolojik enfeksiyon kaynağının bulunduğu bölgelere kadar yayılmıştır. Bunun sonucu olarak birçok yerel tür ve ırk yok olma tehlikesi altındadır. Oysa genetik varyasyonu hala muhafaza eden yerli

evcil hayvanlar, genetik kaynak olma bakımından gelecek için önemlidir. Türkiye bu yönden oldukça zengin bir ülkedir. Ancak yapılan ıslah ve melezleme çalışmaları sonucunda sahip olunan zenginlik tam tanımlanamadan ve ne gibi üstün yanlara sahip olduğu belirlenmeden kaybedilme tehlikesi ile karşı karşıyadır. Fakat yetiştiriciliğin devam etmesini sağlayan çiftlik hayvanlarında herhangi bir şekilde varyasyonun azaldığı durumlarda, genetik varyasyonu tekrar sağlayabilmek amacıyla yerli hayvan ırkları kullanılabilecektir. Bu amaçla yerli ırklar ve hatta bu ırklar içerisinde bulunan bölgesel ya da özel hatlar, sahip oldukları özel genlerin kaybolmaması amacıyla koruma altına alınmalıdır. Her ne kadar çiftlik hayvanları yetiştiriciliğinde yerli ırkların durumu kötü ve ortadan kalkma tehlikesi ile karşı karşıya kalsada bazı türlerde türün geleceği daha çok tehlike altındadır. Örneğin Türkiye’de eşek ve bazı keçi ırkları artık birçok bölgede yetiştirilmemektedir, YK ile DAK sığır ırkları ise nesli kaybolma tehdidi altındaki ırklar olarak tanımlanmaktadır.

Ülkelerin nüfusu arttıkça, süt ve et ihtiyacı da doğru orantılı olarak artmaktadır. Türkiye’de de artan nüfusa bağlı olarak hayvansal protein açığı yükselmektedir. Bu sebeple Cumhuriyet’in ilk kurulduğu günlerden bu güne yerli ırklarımız üzerinde birçok bilimsel ve ıslah çalışmaları gerçekleştirilmiştir. 1988 yılına kadar yapılan çalışmalarla kültür ırkı sığırların sayısı giderek artarak toplam popülasyonun %64’üne ulaşmış; yerli ırk sayısı ise %36’ya kadar gerilemiştir. Bu çalışmaların ekonomik faydaları kesinlikle küçümsenemez fakat söz konusu çalışmalar, yerli sığır kaynaklarımızın giderek azalmasına neden olmuştur. Ülkemiz yerli gen kaynakları olan YK ve DAK ırkı sığırlar düşük verimli olmalarına rağmen bulundukları çevre şartlarına çok iyi uyum sağlamış sığır ırklarıdır. Yerli ırkların bu genetik özelliklerinden melezleme çalışmalarında yararlanmakla beraber sahip olduğu gen kaynağının tamamen yok olmaması için gereken koruma tedbirlerinin alınması gerekmektedir (Ertuğrul, 1993).

Türkiye sığır yetiştiriciliğinde sütçü özelliği ile tercih edilen Siyah-Alaca ırkını Simmental, Esmer ve Jersey ırkları takip etmekte olup son yıllarda etçi özelliği ile ön plana çıkan Hereford ve Angus ırklarında da önemli artış olduğu görülmektedir. Yerli ırkların ise önemli bir kısmını YK, Boz, DAK ve Güneydoğu Anadolu Kırmızısı (GAK) ırkları oluşturmaktadır. Melez genotipler ise genel

itibariyle, kültür ırklarının yerli ırklar ile melezlenmesi sonucu elde edilmektedir. Bu melezlemeler çoğunlukla kasaplık hayvan elde edilmesi için yapılmaktadır.

Türkiye'nin 1991 yılında toplam 11 milyon 973 bin baş olan sığır varlığının %10'u kültür ırkları, %34'ü melez bireyler, %56'sını da yerli ırklar oluşturur iken 2021 yılında toplam 17 milyon 851 bin baş sığır varlığının %49'unu kültür ırkları %43'ünü melez bireyler ve %8'ini yerli ırklar oluşturmaktadır (Tarım İşletmeleri Genel Müdürlüğü [TİGEM] 2021).

Ülkemizde, Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) verilerine göre 1991 yılında toplam 8,6 milyon ton olan sığır süt üretimi 2021 yılında ise 21,4 milyon ton olarak gerçekleşmiştir. Ülkemiz sığırlarının ıslahı konusunda yapılan çalışmalarla birlikte, hayvan besleme ve yetiştirme alanında sağlanan gelişmeler 1991 yılında ortalama 143 kg/baş olan karkas ağırlığını 2021 yılında 285 kg/baş'a ulaştırmıştır (TÜİK, 2021).

Ülkemizde hali hazırda 17 milyon 851 bin baş sığır bulunmasına rağmen ülkemizin yıllar içerisinde ithalat işlemlerinin önemli derecede arttığı gözlemlenmiştir. 2000 yılında 2.695 baş hayvanla yapılan damızlık sığır ithalatı 2021 yılında 23.863 baş damızlık sığıra ulaşmıştır. 2010 yılından itibaren ise 117.032 baş olan kasaplık sığır ithalatı 2018 yılında 132.904 kasaplık sığıra ulaşmıştır. 2000 yılında 5 ton civarında olan et ithalatı ise 2018 yılına kadar yükselerek 55.752 ton civarına ulaşmış, 2021 yılında ise 1.205 ton olarak gerçekleşmiştir (TİGEM,2021).

Ülkemizde hayvancılık sektörü günümüzde istenilen boyuta henüz gelmemiştir. Gelişmiş ülkelere toplam tarımsal gelirin %60-80'i hayvancılıktan elde edilmektedir. Ancak ülkemizin tarımsal üretim değerinde hayvansal üretimin payı bu oranının neredeyse yarısı kadardır (Kan, & Direk, 2006).

Et, yüksek biyolojik değeri, doyuruculuğu ve içerdiği proteinler açısından beslenmede çok önemli bir yere sahiptir. Dünya nüfusunun hızla artışı ve kentlerde yoğunlaşması sonucu et üretimi dünyanın önde gelen sanayileri arasına girmiştir. Günümüz et endüstrisinde hem et veriminin artırılması hem de daha kaliteli et ve et ürünlerinin elde edilmesi amaçlanmaktadır (Fries, & Ruvinsky, 2004).

Et üretimine ilişkin özelliklerin geliştirilmesinde geleneksel yöntem, fenotipik verilerin istatistiksel analizlerinin yapılması esasına dayanmaktadır. Bu seleksiyon metodu, yüksek kalıtıma sahip özellikler için etkilidir. Ancak et endüstrisinde özellikle de kaliteye ilişkin veriler genellikle kesim sonrası elde edilmektedir. Bu nedenle bu özelliklerin analizinin önceden yapılması zordur. Genetik işaretleyici destekli seleksiyon ise bu özellikler için genetik ilerlemede çok yüksek bir potansiyele sahiptir (Gill, Bishop, Mccorquodale, Williams, & Wiener, 2008)

On dokuzuncu yüzyılın başlarından itibaren sığırların genom analizlerine ilişkin çalışmalar devam etmektedir ve BowMap olarak da bilinen sığır genom haritası projesi ile de sığır genomunun anlaşılmasına yönelik birçok gelişme sağlanmıştır (“Bovine Genome Project”, 2022).

Damızlık adaylarının gelecekteki verimlerinin doğru tahmin edilebilmesi, çiftlik hayvanları yetiştiriciliğindeki en önemli ve en karmaşık konulardan biridir. Tüm seleksiyon yöntemlerinde asıl amaç, damızlık adayının genetik değerini kolay ve yüksek bir doğrulukta tahmin edebilmektir (Bal, & Akyüz, 2014). Jenerasyon aralığının uzunluğu nedeniyle, çiftlik hayvanları yetiştiriciliğinde mevcut konvansiyonel seleksiyon yöntemleri ile hızlı bir genetik ilerleme sağlayabilmek zordur. Çiftlik hayvanları yetiştiriciliğinde, jenerasyon aralığını kısaltmak ve damızlık seçiminde başarı oranını artırmak zootekni biliminin önemli bir uğraş alanıdır. Araştırmacılar klasik yetiştirme yöntemleri ile genotipik verileri birlikte kullanarak daha doğru damızlık seçimi üzerine yoğunlaşmışlardır. Doksanlı yıllara kadar protein polimorfizmi ve verimler arasında ilişki kurulup kurulamayacağı konusunda çalışmalar yapılmıştır. Bu amaçla süt protein polimorfizmi, kan grupları ve kan protein polimorfizmleri ile sığırlarda süt verimi (Şekerden, Doğrul, & Erdem, 1999), atlarda yarış performansı (Mullen, Hopes, & Sewell, 1979) arasında ilişkiler araştırılmıştır.

Moleküler genetik yöntemlerin çiftlik hayvanları yetiştiriciliğinde kullanılmaya başlanması, bazı kantitatif özellik lokuslarının (Quantitative Trait Loci, QTL) düzenleyici ve yapısal bölgelerindeki veya bu genlerin komşu dizinlerindeki varyasyonlar ile sığırlarda süt verimi ve et verimi arasında ilişki olabileceği ve bu

genlerin damızlık seçiminde belirteç (marker) gen olarak kullanılabileceği bildirilmiştir (Bal, & Akyüz, 2014).

Bireyin verimi ile ilişkili olduğu düşünülen belirteç genlerin keşfedilmesi, İşaretleyici Destekli Seleksiyon (Marker Assisted Selection, MAS) olarak adlandırılan moleküler ıslah yöntemlerinin geliştirilmesine katkı sağlamıştır. MAS yardımıyla ıslah edilmesi istenilen ırkta elde edilmesi hedeflenen genetik ilerleme, klasik seleksiyon yöntemlerine göre çok daha hızlı olabilecektir (Reis, Navas, Pereira, & Cravador, 2001). Diğer yandan istenilen belirteç aleline sahip bireylerin seçim ile damızlık seçiminde yüksek doğruluk ve isabet sağlanabilecektir (Unanian, Barreto, Cordeiro, Freitas, & Josahkian, 2002). Özellikle sığır yetiştiriciliğinde MAS ile birlikte suni tohumlama, embriyo transferi ve invitro fertilizasyon gibi yardımcı üreme tekniklerinin yaygınlaşması, yöntemin güvenilirliğini dolayısıyla yaygınlığı artıracaktır. MAS 'ın yaygınlaşması, klasik ıslah çalışmalarında kullanılacak hayvan sayısını, işçiliği, bakım maliyetini ve süreyi azaltacağı gibi maliyeti de düşüreceği için işletmelerin ekstra kazanç sağlamasına olanak verecektir.

MAS yönteminde, farklı belirteç genleri kullanılarak yapılacak seleksiyon sonucunda daha hızlı bir genetik ilerleme sağlamak ve birim hayvandan elde edilmesi beklenen verim düzeyini artırmak hedeflenmektedir (Tambasco ve ark., 2003). Bu yöntem ile çiftlik hayvanlarında elde edilecek genetik ilerleme hızının %15-30 oranında artırabileceği bildirilmiştir (Litwinczuk, & Krol, 2002). Çiftlik hayvanları yetiştiriciliğinde, moleküler belirteçlerdeki polimorfizmler ile farklı verim özellikleri arasındaki ilişkilerin araştırıldığı çalışmalar da artık önem kazanmaya başlamıştır (Dybus, Grzesiak, Szatkowska, & Błaszczuk, 2004).

Sığır genom haritası projesi (BovMap) adıyla bilinen sığır gen diziliminin belirlenmesi için birçok çalışma yapılmıştır. Gen markerları ve mikrosatellit çalışmaları da kantitatif karakterlerin belirlenmesine imkan sağlamaktadır. Moleküler boyuttaki çalışmalar günümüzde et verim miktar ve kalitesinin belirlenmesinde artarak önem kazanmaktadır (Switonski, 2002). Bu sebeple et verimi miktarı ve etin kalitesi gibi aynı ırka mensup bireylerde bile farklılık içeren kantitatif karakterlerin tespitinde; moleküler çalışmalarla birlikte yürütülen seleksiyon yöntemlerinin

kullanımı ön plana çıkmaktadır. Böylelikle fenotipik özelliklere istatistiksel olarak anlamlı etkisi bulunan pek çok gen polimorfizmi tespit edilmiştir.

Et verimine etki eden genlerden birisi olan *Calpastatin* geni (*CAST*) ise spesifik bir calpain inhibitörüdür. Calpain; protein dönüşümü metabolizması, myoblastların füzyonu ve migrasyonu, ve kas gelişimi regülasyonunda rol almaktadır. *CAST* geni hemen hemen tüm çiftlik hayvanlarında büyüme ve kas yapısı oluşumunda yüksek etkiye sahiptir (Li, Ekerljung, Lundstrom, & Lunden, 2013).

Leptin (*LEP*), hipotalamustaki Ob–Rb reseptörlerini uyarmak ve metabolizma düzenlenmesinde önemli paya sahip bir gendir. Yağ doku; Leptinin vücuttaki sentezi ve ekspresyonu ile ilişkilendirilmiştir (Friedman, & Halaas, 1998).

Growth Hormone Receptor Gene (*GHR*) yani *Büyüme Hormonu Reseptörü* geni, sığırlarda büyüme metabolizması konularında önemli olduğu için besi sığırcılığında karkas nitelikleri ve miktarı yönünden belirleyici bir gen olduğu tespit edilmiştir. (Blot ve ark., 2003; Di Stasio, Destefanis, Brugiapaglia, Albera, & Rolando, 2005).

Bu araştırmada yerli sığır ırklarından YK ve DAK ırklarında et verimi etkileyen önemli genler olan *CAST*, *LEP* ve *GHR* gen polimorfizm frekanslarının belirlenmesi hedeflenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

YK ve DAK ırkı sığırlarda *CAST*, *LEP* ve *GHR* genlerinin frekanslarının belirlenmesi adlı çalışmaya ait genel bilgiler aşağıda sunulmuştur.

2.1. Türkiye 'deki Sığır Popülasyonu

Türkiye sığır varlığı bakımından dünyanın önde gelen ülkeleri arasında bulunmaktadır fakat et ve süt üretimi gibi değerlendirmelerde diğer ülkelerin oldukça gerisinde kalmıştır. Türkiye Cumhuriyeti 'nin kuruluşunun ilk yıllarından beri et ve süt verimlerini yükseltmek amacıyla çok çeşitli ıslah çalışmaları yapılmıştır fakat bu çalışmalarla istenilen başarıya ulaşılamamıştır. Ülkemizde işletme bazında bakıldığında ise daha çok küçük ölçekli yerel işletme yapısı hakim olduğu bilinmektedir. Bu işletmelerde üretim kayıtlarının tutulmadığı gibi pazara katkı yapacak büyük ölçekli üretimler yapılmamaktadır. Hayvan varlığının fazlalığına rağmen oluşan üretim dengesizliği ülkemizi yurt dışından et ithalatı gibi olumsuz durumları doğurmuştur (Bal, & Akyüz, 2014).

Türkiye hayvan varlığı, Cumhuriyetin kuruluşundan günümüze önemli değişim göstermiştir. Cumhuriyetin ilk yıllarından İkinci Dünya Savaşına kadar önemli bir sayısal artış yaşanmış, savaş yıllarında artış hızı düşmüş, hatta bazı türlerde azalma meydana gelmiştir. Savaşın bitmesini takip eden dönemde sayısal artış tekrar hızlanmış, türlere bağlı olarak en yüksek sayısal değerlere 1960-1980 yılları arasında ulaşılmıştır. 1980'li yıllarda ise bütün türlerde hayvan sayısı hızla azalmaya başlamıştır (TİGEM,2021).

Ülkemiz coğrafi özellikleri bakımından her türlü hayvan yetiştiriciliği için uygun ortam ve potansiyele sahiptir. Ülkemizde, 1970'li yıllara kadar hem büyükbaş ve hem de küçükbaş hayvan yetiştiriciliğinin tamamına yakını, yerli ırk hayvan varlıkları ile mera hayvancılığı şeklinde sürdürülmüştür. Hayvanlar, kış aylarında kuru ot, saman ve kısıtlı kesif yem ile yaşam payı oranında beslenmiş, diğer zamanlarda ise doğal meralarda otlatılmıştır. 1980'li yıllara kadar Türkiye bu potansiyeli çok iyi değerlendirmiş ve hayvan varlığı sürekli artış göstermiştir. 2000 yılından itibaren ise yapılan devlet desteklemeleri ve teşvikler sayesinde büyük ölçekli hayvancılık tesis sayılarında önemli ölçüde artış olmuştur (TİGEM,2021).

Türkiye’de cumhuriyetin ilk yıllarından itibaren sığircılık önemli bir üretim kolu olarak algılanmış ve hemen hemen her dönemde diğer hayvansal üretim kollarına göre daha fazla ilgi görmüştür. Öyle ki, özellikle son yıllarda, hayvancılık denildiğinde sığır yetiştiriciliği anlaşılır hale gelmiştir. Bunda sığircılığın sağladığı avantajlar kadar sığır ticaretinin gelişmiş ülkeler için de daha önemli olmasının büyük payı olmuştur (Akış Akad, Mengi, & Öztapak, 2012).

Bu durum sığircılığın biyolojik avantajlarından kaynaklanmaktadır Genetik ıslah ve üremenin denetimine yönelik uygulamalara olumlu reaksiyon göstermesi ve farklı koşullara uyum sağlayabilecek çok sayıda sığır ırkının bulunması sığır yetiştiriciliğini ön plana çıkaran avantajlar arasındadır.

Ülkemiz sığır yetiştiriciliği 1980’li yıllara kadar ağırlıklı olarak aile işletmeciliği şeklinde yürütülmüş, 1980 yılından itibaren ekonomik büyüklüğe sahip sığircılık işletmeleri kurulmaya başlamıştır. Son yıllarda da sağlanan devlet desteklerinin artması sonucu büyük kapasiteli modern sığircılık işletmelerinin sayısı hızla artmıştır. Ülkemiz sığır yetiştiriciliğinde sütçü özelliği ile tercih edilen Siyah-Alaca ırkını Simental, Esmer ve Jersey ırkları takip etmekte olup son yıllarda etçi özelliği ile ön plana çıkan Hereford ve Angus ırklarında da önemli artış olduğu görülmektedir (Akbulut, Yanar, Tüzemen, & Bayram, 2004).

Ülkemizde yıllar içerisinde süt ve et üretimini artırmayı hedefleyen ülke çapındaki projelerde yerli ırkların verim potansiyellerinin belirlenmesinin ardından Boz Irk x Esmer, DAK x Esmer, DAK x Simental, YK x Jersey ve Holştayn x GAK melezlerinin verim performansını belirlemek, et sektöründe kullanım alanlarının incelenmesini sağlayan birçok çalışma gerçekleştirilmiştir (Akbulut ve ark., 2004). Ayrıca ithalatı yapılan kültür ırklarının ve bunların melezlerinin ülkemiz koşullarında gösterdikleri besi performansı izlenerek kırmızı et üretimindeki performansları belirlenmeye çalışılmıştır.

Tablo-1. Türkiye’de 1991-2021 yılları arasında kültür, kültür melezi ve yerli ırklar olmak üzere sığır varlığı (TÜİK 2021)

Yıl	Kültür Sığır İrkları	Kültür Melezi	Yerli İrklar	Toplam Sığır Sayısı
1991	1.253.865	4.033.375	6.685.683	11.972.923
1992	1.337.410	4.131.507	6.481.990	11.950.907
1993	1.442.000	4.342.000	6.126.000	11.910.000
1994	1.512.000	4.543.000	5.846.000	11.901.000
1995	1.702.000	4.776.000	5.311.000	11.789.000
1996	1.795.000	4.909.000	5.182.000	11.886.000
1997	1.715.000	4.690.000	4.780.000	11.185.000
1998	1.733.000	4.695.000	4.603.000	11.031.000
1999	1.782.000	4.826.000	4.446.000	11.054.000
2000	1.806.000	4.738.000	4.217.000	10.761.000
2001	1.854.000	4.620.000	4.074.000	10.548.000
2002	1.859.786	4.357.549	3.586.163	9.803.498
2003	1.940.506	4.284.890	3.562.706	9.788.102
2004	2.109.393	4.395.090	3.564.863	10.069.346
2005	2.354.957	4.537.998	3.633.485	10.526.440
2006	2.771.818	4.694.197	3.405.349	10.871.364
2007	3.295.678	4.465.350	3.275.725	11.036.753
2008	3.554.585	4.454.647	2.850.710	10.859.942
2009	3.723.583	4.406.041	2.594.334	10.723.958
2010	4.197.890	4.707.188	2.464.722	11.369.800
2011	4.836.547	5.120.621	2.429.169	12.386.337
2012	5.679.484	5.776.028	2.459.400	13.914.912
2013	5.954.333	6.112.437	2.348.487	14.415.257
2014	6.139.810	6.005.089	1.977.948	14.122.847
2015	6.385.343	5.733.803	1.874.925	13.994.071
2016	6.588.527	5.758.336	1.733.292	14.080.155
2017	7.804.588	6.536.073	1.602.925	15.943.586
2018	8.419.204	7.030.297	1.593.005	17.042.506
2019	8.559.855	7.554.625	1.573.659	17.688.139
2020	8.838.498	7.594.127	1.530.274	17.962.899
2021	8.824.784	7.641.100	1.384.659	17.850.543

Ülkemizde, TÜİK verilerine göre 1991 yılında toplam 8,6 milyon ton olan sığır süt üretimi 2021 yılında ise 21,4 milyon ton olarak gerçekleşmiştir. Ülkemiz sığırlarının ıslahı konusunda yapılan çalışmaların yanında, hayvan besleme ve işletmecilik alanında sağlanan gelişmeler 1991 yılında ortalama 143 kg/baş olan karkas ağırlığını 2021 yılında 285 kg/baş’a ulaştırmıştır (TÜİK 2021).

2.2. Yerli Kara Irkı Sığırlar

Bu kapsamda araştırmaya konu olan YK ırkı sığırlar Orta Anadolu’nun bir ırkıdır (Batu, 1962). *Bos taurus brachiceros* yani kısa boynuzlu gruptan köken alır (Batu, 1962). Türkiye yerli sığır ırkları arasında gerek sayı, gerekse yayılma alanının genişliği bakımından birinci sırayı alır. Irk yayılma alanının çok geniş olması ve bu geniş alanın çeşitli bölgelerinde toprak ve diğer çevre şartlarının farklılığı nedeniyle bu bölgelerdeki YK’lar arasında da farklar bulunmaktadır (Alpan, & Aksoy, 2009). Orta Anadolu’nun toprak ve iklim yönünden daha fakir olan Ankara-Çankırı

yörelere yetişen sığırlar, Afyonkarahisar-Kütahya yörelerindekiyle göre daha ufak yapıdırlar (TAGEM,2009). Bu fark yöreler arasındaki çayır-mera şartlarının değışik olmasından ileri gelmektedir (Alpan, & Aksoy, 2009).

Yerli karalarda ilk göze çarpan ortak özellik rengin siyah ve beden yapısının ufak olmasıdır (Batu, 1962). Baş dar ve uzun, boynuzlar kısa, ince ve uçları öne yöneliktir. Boyun ince ve kas gelişimi zayıftır (Batu, 1962). Beslenme ve çevre şartlarına göre farklılıklar yaşansa da YK, Türkiye sığır ırkları arasında en ufak yapıya sahip olan ırktır (Alpan, & Aksoy, 2009). Cidago yüksekliği 110 cm kadardır. Cidago sivri, sağrı dar ve meyilli bacaklar kısa ve kalın tırnaklar siyah renktedir (Batu, 1962). Beden ağırlığı ergin dişilerde ortalama 200 kg kadardır (Batu, 1962). Deri ince ve yumuşaktır (Batu, 1962). Kollar yazın kısa ve ince olmasına karşılık kışın tüyler uzar ve rengi de donuklaşır (Alpan, & Aksoy, 2009). Bu ırk sığırlarda kas gelişmesi yetersizdir (Alpan, & Aksoy, 2009). Göğüs dar, butlar genellikle zayıf ve incedir (Alpan, & Aksoy, 2009). Meme küçük ve cılız, meme başları ufaktır (Alpan, & Aksoy, 2009). Memeler çoğunlukla kıllarla örtülüdür (Alpan, & Aksoy, 2009).

Yerli karalar geç gelişirken; düveler ilk defa sığara üç yaşında alınırlar (TAGEM, 2009). Bu sebeple diş sığırlar ilk yavrularını yaklaşık olarak 4 yaşında verirler. Buzağılarda doğum ağırlığı yaklaşık olarak 15-20 kg arasındadır. İneklerinin laktasyon süreleri yaklaşık 200 gün olup yıllık süt verimi %4 yağlı 700 kg'dır (TAGEM, 2009). İrkin ıslahı için yapılan çalışmalar ve aynı zamanda çevre şartlarının iyileştirilmesine karşılık süt verimi ancak 1200 kg'a kadar yükseltilebilmiştir (TAGEM, 2009).

İrkin besi performansı ve et verimi yönünden de durum aynıdır (Alpan & Aksoy, 2009). Ufak yapılı olması ve beden kapasitesinin kas gelişimine yeterince uygun olmamasına bağlı olarak et tutma kabiliyeti sınırlıdır (Alpan, & Aksoy, 2009). Halk elinde yapılan 90 gün civarındaki besi sürelerinde günlük ağırlık artışları 500-600 g, kesim ağırlıkları ise ortalama 200 kg civarındadır (Alpan, & Aksoy, 2009). Lalahan Zootekni araştırma Enstitüsünde 6 ay süreli beside 1-2 yaşlı erkek hayvanlar günde ortalama 600 g ağırlık artışı sağlamışlardır (Alpan, & Aksoy, 2009).

Her ne kadar yerli ırkların besi ve süt performansları bahsedildiği gibi düşük olsa da; bu ırkların ortama adaptasyonu ve hastalıklara karşı genetik direnci, söz konusu lokal ırkları değerli kılmaktadır. Yüksek verimli kültür ırklarının adaptasyon ve hastalıklara olan direncinin arttırılmasında önemli rolü olan yerli ırkların genetik yapılarının ortaya konulması, yerli gen kaynaklarımızın korunması açısından önem taşımaktadır. Tüm bunların yanı sıra yerli ırkların genetik ıslahı için de mevcut genomik yapılarının bilinmesi ülke hayvancılığına büyük katkı sağlayacaktır.

2.3. Doğu Anadolu Kırmızısı Irkı Sığırlar

Doğu Anadolu Kırmızısı ırkı sığırlar da *Bos taurus brachyceros*'dan köken almaktadır (Batu, 1962). Doğu ve Kuzey Doğu Anadolu'ya ait bir sığır ırkıdır. Bölgenin doğal yapısı, mera ve bitki florası şartları sığır yetiştiriciliği yönünden orta Anadolu'dan çok daha elverişlidir. Kars ili DAK'ın en yoğun yayılma bölgesidir. DAK sığırlarının sayısı yerli ırklar arasında ikinci sırayı almaktadır (TAGEM, 009).

Doğu Anadolu Kırmızısı ırkının rengi açık kırmızıdan koyu kestane rengine kadar değişiklik göstermektedir. Bazı hayvanlarda arka bacağın iç taraflarında beyaza kadar değişen açık renkler görülebilir. Boynuzlar kısa ve öne yöneliktir (Batu, 1962). Vücut yapısı tıpkı renkte olduğu gibi büyük farklılıklar gösterebilir. Bazı hayvanlar sütçü sığır tipinin inceliğine sahip olduğu gibi diğer bazıları etçi sığır tipine daha yakındır. Bu farklılıklara rağmen en çok göze çarpan kusuru özellikle göğüs bölgesinin dar olmasıdır (Alpan, & Aksoy, 2009).

DAK sığırlarda cıdago yüksekliği 115 cm, beden ağırlığı 250 kg civarındadır (Batu, 1962). Irk içinde renk ve beden yapısı yönünden görünen büyük varyasyon diğer ırklarla hayli karışmış olmasından kaynaklanmaktadır. Bu karışmada batıdan YK, doğudan ise 19. Yüzyıl sonlarında Rusya'dan getirilen İsviçre Esmeri, Simental ve Alman Kırmızıları önemli rol almıştır. En fazla etkinin İsviçre Esmerinden geldiği söylenebilir. Özellikle Bursa, Balıkesir bölgelerinden geniş çapta İsviçre ve Karacabey Esmeri getirilerek bölgedeki sığırların melezlenmesinde kullanılmıştır. 1982 yılından itibaren uygulanmaya başlayan Doğu Anadolu Kırmızısı Hayvancılık Projesi bu çalışmaları daha da yaygınlaştırmıştır (Alpan, & Aksoy, 2009).

DAK sığırları geç gelişen bir sığır ırkıdır. İlk buzağılarını 3,5-4 yaşları civarında verirler (Batu, 1962). Doğumda buzağılar oldukça cılızdır. Beslenme durumuna göre bazı yerlerde yıllık 600 kg olan süt verimi bazı yerlerde %4 yağlı 1200 kg ortalamaya kadar ulaşabilmektedir (Alpan, & Aksoy, 2009). Irkın besi kabiliyeti yerli ırklar arasında oldukça iyidir (Batu, 1962). Bir yaşındaki genç erkekler besiye alındıklarında 5 aylık bir beside 700 g günlük ortalama ağırlık artışı sağlarlar. Kesimde et randımanı %53 civarındadır (Alpan, & Aksoy, 2009).

2.4. DNA'nın Yapısı ve özellikleri

Nesiller arasında aktarılan kalıtım materyali olarak adlandırılan Deoksiribo Nükleik Asit (DNA)'ın üç boyutlu yapısı 1953 yılında James Watson ve Francis Crick tarafından keşfedilmiştir. (Watson, & Crick, 1953). DNA fosfatlanmış şeker molekülü ile bağlı 4 farklı nükleotitten oluşmaktadır. Bunlardan ikisi pirimidin (Sitozin ve Timin), diğer ikisine ise iki pürin (Adenin ve Guanin) olarak adlandırılmaktadır (Watson, & Crick, 1953). DNA yapısal olarak çift sarmaldan oluşmakta, fosfat ve şekerden oluşan mekanizma ile desteklenir. Sarmalın iç kısmında bulunan pürin ve pirimidinler hidrojen bağları ile birbirine tutunur. Bu bazlar özgün bir şekilde eşleşerek Timin bazı Adenin ile fakat Sitozin bazı ise daima Guanin ile hidrojen bağı oluşturur (Watson, 1968). DNA yapısında bulunan baz dizilimi türler hatta bireyler arasında farklılıklar göstermektedir. DNA'nın A, B, C, D, E ve Z gibi farklı tipleri vardır (Watson, 1968). Bireylere özgü olan fenotipik farklılıklar DNA içerisindeki dizilim farkından meydana gelmektedir.

2.5. Genin Moleküler Özellikleri ve Tanımlaması

Gen; DNA ipliğinde bulunan ekspresyonda gerekli olan regülatör dizileri taşıyan bölümlere verilen addır (Carlson, 1987). Genler kalitatif yada kantitatif karakterlerin kalıtımını sağlarlar. Genom ise bir organizmada bulunan kalıtsal bilginin tümü anlamına gelir. Genomda bulunan ve polipeptitleri kodlayan genler; gen kontrol bölgeleri ve yapısal gen bölgeleri olarak iki bölümden oluşur. (Carlson, 1987). Gen kontrol bölgeleri; Ribonükleik asitin (RNA) işlenmesi ve protein sentezinin meydana geldiği aşamalarda transkripsiyon için gerek duyulan hızlandırıcı (enhancer) ve susturucu (silencer) dizilimlerini içerir (Nelson, & Cox, 2000). 7-12

baz çifti (bç) büyüklüğünde hücre gelişim aşamasında özel olarak aktive edici proteinlerin veya transkripsiyon faktörlerinin bağlanabildiği ve özel gen bölgelerinin transkripsiyonunun artırıldığı küçük kontrol bölgeleri “Enhancer” olarak tanımlanır. Silencer ise enhancer dizilerinin tam tersi uygun düzenleyici proteinler bağlandığında transkripsiyonal düzenleyici bölgesi içinde gen ekspresyonunu engelleyen bölgelerdir (Nelson, & Cox, 2000)

Ökaryot ve prokaryot canlılarda yapısal gen bölgeleri farklıdır. Prokaryotlarda genin yapısal kısmı tek parçaya sahiptir. Ökaryotlarda genlerin yapısal bölümü parçalı gen yapısına sahiptir (Stern, & Hota, 1973). Ökaryot canlılarda parçalı gen yapısı ekzon ve intronlardan meydana gelir. Ekzonik ve intronik bölgede yer alan DNA sekansları RNA’ya birlikte aktarılır. Ekzonlar gen içinde bulunan üçerli kodonları (nükleotid birimleri) içerir (Alberts ve ark., 2002). mRNA olgunlaşması sırasında intronlar kesilerek uzaklaştırılır. Bu olguya RNA splicing mekanizması denmektedir. Genlere göre ekzon ve intron uzunluk ve sayıları farklılıklar içerir. Fakat sıklıkla gen yapısında ekzonlar intronlardan daha küçük DNA bölgeleridir. İntronlar, translasyona uğramayan ve hem 5’ hem de 3’ ucunda bulunan gen bölgeleridir. Pre-mRNA’nın kesilmesini intron tanıma-kesme bölgesinde bulunan mutasyonlar tarafından etkilenir. İntronların kesim-tanım kısmındaki GT ve AG ikili nükleotidlerinde meydana gelen mutasyon en sık gözlenen mRNA splicing mutasyonudur (Ekmekçi, 2014).

Ökaryotik canlıların genlerinde ayrıca intronların her iki uç kısmında bulunan akseptör adı verilen kesme-çıkarma ve tanıma bölgesi, mRNA’da kullanılan 3’ uçta poliadenilasyon (PoliA) bölgesi ve ribozom bağlanma ve tanıma kısmı gibi özel diziler de bulunmaktadır (Ruddle, & Kucherlapati, 1974). Fenotipik özellikler üzerinde bulunan gen etkisinin anlaşılabilir olması için ekzon-intron yapıları incelenmelidir (Deutsch, & Long 1999).

2.6. Tek Nükleotid Polimorfizmi (SNP)

Bir popülasyonda yer alan bireylerin genomları birbirinde büyük miktarda benzerlik göstermektedir. İnsan genomunun yaklaşık %99 civarında birbirine benzediği tespit edilmiştir (Lander, Linton, & Birren 2001). Benzer genomlar arasındaki küçük farklılıklar fenotipik olarak farklı görünümlere sebep olurken genotipik çeşitliliği oluşturmaktadır. Mutasyon; DNA'nın baz diziliminde dış etkilerle ya da kendiliğinden oluşan değişikliklerin genel adıdır (Patterson, 1987). Yüzde 1'den düşük oranda görülen varyasyonlar mutasyon kabul edilmiştir. (Patterson, 1987). DNA baz diziliminde tek nükleotid değişimi ile meydana gelen dizilim değişikliğine single nucleotide polymorphism (SNP) yani tek nükleotid polimorfizmi denir (Schork, & Fallin, 2000). Popülasyonda genetiğinde tek nükleotid polimorfizminin SNP olarak kabul edilebilmesi için popülasyona dahil olan bireylerin en az % 1'inde gözlenmesi gerektiği bildirilmiştir (Schork, & Fallin, 2000). Tespiti yapılmış olan 1,42 milyon SNP; genom üzerinde 500-1000 bç sıklıkta bulunmaktadır (Wang ve ark., 1998). Gen bölgelerinin ekzon kısımlarında 60.000 civarında SNP yer almaktadır (Wang ve ark., 1998). SNP oluşumunda pürin bazlarının kendi arasında ya da pirimidin bazlarının kendi arasında olan değişimi transisyon olarak adlandırılır. Adenin ile Guanin değişimi ya da Sitozin ile Timin değişimi birer transisyonudur (Zakour, & Loeb, 1982). Bununla beraber bir pirimidin bazının pürin bazı ile olan değişimine ise transversiyon denmektedir. Adenin bazının Sitozin bazı ile ya da Guanin bazının Timin bazı ile değişimi birer transversiyondur (Zakour, & Loeb, 1982). Popülasyonların genetik yapılarının belirlemek amaçlı yapılan QTL ve MAS çalışmalarında sıklıkla SNP 'lerden yararlanılmaktadır. (Kwork, & Chen, 2003).

2.7. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) bir DNA parçasından ya da bir genin primer olarak adlandırılan kalıp parçaları ile enzimler aracılığı ile çok sayıda kopya oluşturulması işlemidir (Mullis, 1990). Cetus firması tarafından 1980'li yıllarda geliştirilen PCR in vitro bir yöntemdir. PCR'ın çalışma prensibinin temeli; çift ipliğe

sahip DNA sarmalındaki hedef bölgelere iki primerin bağlanarak DNA diziliminin uzatılmasına dayanmaktadır. PCR işlemi 3 basamaktan oluşmaktadır. Bu basamaklar denatürasyon, bağlanma, uzama olarak adlandırılır ve birçok kez tekrarlanan döngüler şeklindedir. DNA sarmalı denaturasyon basamağında yüksek sıcaklık yardımıyla tek iplikli hale getirilir. İkinci aşama olan bağlanma aşamasında primerler düşük sıcaklıkta belirlenen DNA bölgesine bağlanır. DNA polimeraz enziminin etkisiyle üçüncü aşamada ise primerler, iplikçiğin 3' hidroksil ucundan dNTP ile uzamaktadır. Bu işlemler sonucunda elde edilmek istenilen DNA hedef bölgelerinin kopya sayısı artmaktadır (Mullis, 1990).

PCR işleminin bileşenleri; kalıp DNA, genellikle *Thermus aquaticus*'tan yapılan Taq polimeraz, ticari olarak 20-30 baz çifti uzunluğunda forward ve reverse primerler, tampon (10X konsantrasyonda), $MgCl_2$ ya da $MgSO_4$ iyonları ve dCTP, dTTP, dGTP, dATP, karışımından oluşan dNTP 'dir (Arı, Temizkan, & Arda, 2008).

2.8. Elektroforez

Makromolekülleri elektrik yükü ve büyüklüğü gibi fiziki özellikleri aracılığıyla ayırma tekniğine elektroforez adı verilmektedir (Westermeier, 2005). Elektroforez işlemi negatif ya da pozitif elektrik yükü olan parçacıkların elektrik akımının var olduğu ortamda hareketlerinin gözlemlendiği teknik olarak da isimlendirilmektedir (Bej, Mahbubani, Atlas, & Salkı, 1991). Çözünmüş moleküllerin büyüklükleriyle orantılı hızlarda sahip oldukları elektrik yükü doğrultusunda elektrik akımı ile hareket etmeleri elektroforezin temel prensibidir. Parçacıkların hareket edebilmeleri için ihtiyaç duydukları ortam genellikle jeller yardımıyla sağlanır. Agarozdan elde edilen jeller uygun bir tampon çözeltisi bulunan elektroforez tankına yerleştirilir. Jelin içinde bulunan yükleme kuyucuklarına son örnekler yüklenerek elektrik akımı yardımıyla hareketleri sağlanır (Bej ve ark., 1991).

2.9. Agaroz Jel Elektroforez

Agaroz; galaktoz ve 3,6 anhidrogalaktoz'dan oluşan tekrarlayan disakkarit birimlerinden oluşan bir polimerdir (Bej ve ark., 1991).

Parçacık ağırlığı 12.000 Da civarında olan agaroz polisakkaritten; DNA ve RNA moleküllerini tanımlamakta faydalanılmaktadır. (Temizkan, Temizkan & Arda, 2021). Agaroz jel Tris-borat-EDTA (TBE) veya Tris-asetat-EDTA (TAE) tampon çözeltiler içinde yüksek sıcaklıkta agarozun çözündürülmesi ile elde edilir. Ultraviyole ışık altında görünür hale gelen DNA moleküllerinin görüntülenmesi için jel içine interkalatör boya olan etidyum bromür/propidyum iodit veya daha kanserojenik etkileri açısından daha güvenilir SafeRed ilave edilmektedir (Ünlü, & Sağlar, 2012). DNA örneklerin ayrımının yapılabilmesi için, moleküler kütlesi bilinen bir marker ilk kuyucuğa yüklenir. Yükleme yapılmış olan jelle ayrım tamamlanıncaya kadar elektrik akımı verilir. Agarozun yoğunluğu ve örneklerin moleküler ağırlıkları; İncelenen DNA ya da RNA'ların jel içerisindeki hareketleri ile doğrudan ilişkilidir. Moleküler kütle artışı ile agaroz jelin konsantrasyon miktarı ters orantılıdır(Temizkan, Temizkan & Arda, 2021).

2.10. Restriksiyon Endonükleaz Fragment Analizi (RFLP)

Restriksiyon endonükleaz enzimlerinin kullanılarak DNA üzerinde oluşan bir yada birden fazla baz değişimini tespit etmek için kullanılan yöntem RFLP analizi denmektedir. (Filiz, & Koç, 2011). En yaygın kullanılan moleküler işaretleyici tekniği RFLP analizidir (Filiz, & Koç, 2011). Restriksiyon endonükleaz enzimleri belirli sıcaklıklarda aktive olan, DNA hedef bölgesindeki her iki ipliği de kesebilen ve DNA dizilimlerini tanıyabilen enzimlerdir. RE enzimlerinden en sık kullanılan tip II endonükleazlar Hamilton ve arkadaşları tarafından 1970 yılında keşfedilmiştir (Smith, & Welcox, 1970). Restriksiyon enzimleri DNA üzerinde 4-6 baz çiftlik bölgeyi tanıyabilirken, enzim kesimi sonucunda yapışkan ya da küt uçlara sahip DNA molekülleri oluşturmaktadır (Beckmann, & Soller, 1983). Popülasyondaki bireyler arasında bulunan varyasyonların sonucu olarak bireylerin DNA dizilimleri çeşitlilik gösterir ve farklı kesim noktaları vardır. Bu dizilim noktaları aynı enzim kullanılarak enzim kesimi işlemi uygulandığında bireyin sahip olduğu mutasyonlara bağlı çeşitli miktar ve uzunlukta parçacıklar elde edilir. Enzim kesimi işlemi sonucu elde edilen son ürünlerin tespitinde jel elektroforez yönteminden faydalanılır. Bu yöntem ile bireyler arasındaki genotipik farklılıkların tespiti yapılmış olur. (Beckmann, & Soller, 1983). Popülasyondaki genotipik çeşitliliğin belirlenmesi, gen

haritalama işlemleri, soy bağı tespiti, filogenetik çalışmalarda RFLP yönteminden yararlanılmaktadır (Beckmann, & Soller, 1983).

2.11. İşaretleyici Yardımcı Seleksiyon

Marker Asisted Selection (MAS), işaretleyici yardımcı seleksiyon anlamına gelen ve geleneksel seleksiyon yöntemlerinin genetik ölçümler ile hızlandıran bir tekniktir (Ellegren ve ark., 1997). Kantitatif verim özelliklerinin çoğunluğu çevre koşulları ve genotipin ortak etkisiyle meydana çıkmaktadır. Fenotipik özellikler göz önünde bulundurularak yapılan seleksiyon geleneksel yetiştirme yöntemlerinde ön plana çıkmaktadır. Fakat dış bakıyla yapılan seleksiyon yöntemlerinde daha çok çevrenin etkisinde olan bireylerin genotipik özellikleri gözden kaçmaktadır. Başka bir deyişle verimler arasında negatif korelasyonun olduğu zaman; herhangi bir özelliğin genotip frekansı popülasyonda artarken diğerlerinin ise düşmektedir (Ellegren, ve ark., 1997). Geleneksel ya da yenilikçi tüm seleksiyon yöntemlerinde hedef genetik ilerlemedir (Ün, Wimmers, Ponsuksili, Schmoll, & Schellander, 2000). Bir seleksiyondaki generasyon süresi, seleksiyon yoğunluğu, kalıtım derecesi, sürü içerisindeki varyasyon genetik ilerleme ile doğrudan ilişkilidir. Geleneksel seleksiyon yöntemlerindeki diğer bir dez avantaj ise generasyonlar arasındaki sürenin uzunluğu nedeniyle genetik ilerleme konusunda uzun zamana ihtiyaç duyulmasıdır (Sellier, 1994).

İlerleyen zamanda gen haritalarının çıkarılması işaretçiler yardımıyla yapılan seleksiyon yönteminin kullanımını oldukça arttırmıştır. Nesilden nesile aktarılabilen ve DNA üzerinde özgün yerlerde bulunan işaretleyicilerin biyokimyasal ve morfolojik gibi farklı çeşitleri mevcuttur. (Rasmussen, & Magdeldin, 2012). RFLP, Mitokondriyal DNA (mtDNA), SNP'ler, tek zincir konformasyon polimorfizmi (SSCP), mikrosatellitler, DNA baz dizilimleri moleküler işaretçilerin tespitinde sıklıkla başvuru yöntemlerdendir (Özdemir, & Doğru, 2008). Günümüzde genom taraması ve genetik işaretleyicilerin fenotipik özelliklerle ilişkilendirilmesi ile bir çok kantitatif karakter lokusu tespit edilmiştir (Georges ve ark., 1995). Etkilenen verim özelliği ile QTL 'lerin arasındaki etki tam olarak belirlenmesi bu seleksiyon

lokuslarının seleksiyonda kullanılması ve geliştirilmesine imkan sağlamıştır (Williams, 2005). İşaretçi yardımıyla (MAS) seleksiyonun ortaya çıkışı seleksiyonlarda moleküler işaretleyicilerin kullanılmaya başlamasıyla gündeme gelmiştir. Kalıtım derecesi düşük olan verim özellikleri, erkek ya da dişi cinsiyetle ortaya çıkan verim özellikleri, ölçümü ileri yaşlarda yapılabilen et ve süt verimi gibi verim parametreleri için MAS dengeli bir seleksiyon yapmaya olanak sağlamaktadır. (Gürses, & Bayraktar, 2014). Bununla beraber sürüde yeni dünyaya gelen bireylere işaretleyici taraması yapıldığında sürüye dahil olacak olan hayvanların fenotipleri ilk gününden itibaren belirlenebilmektedir. Bu uygulama da generasyon süresinde önemli düşüş sağlamakta ve genetik ilerleme hızını önemli ölçüde artırmaktadır (Ellegren, ve ark., 1997). MAS ile sağlanan kazancın yaklaşık %44,7-99,5 arasında olacağı bildirilmiştir (Edwards, & Sayfa, 1994). İlk elde edilen yavrularda kazancın %8,8-38 arasında olacağı bildirilmiştir (Meuwissen, & Goddard, 1996).

2.12. İncelenen Gen ve Polimorfizmlere Ait Bilgiler

Bu çalışmada *CAST*, *LEP*, *GHR* genlerine ait sırasıyla S20T, A80V, S555G polimorfizmlerinin frekansları araştırılmış ve bu genlere ait bilgiler aşağıda sunulmuştur.

2.12.1. CAST Geni

Calpainlere özel bir inhibitör olan Calpastatin (*CAST*) geni; Myoblastların migrasyonu, proteinlerin döngüsü, vücutta kas gelişimi üzerinde etkilidir ve calpainlerin spesifik bir inhibitörüdür (Ouali, & Talmant, 1990). Postmortem dönemde calpain aktivitesini başlatarak myofibrillerin proteolizisini *CAST* geni sağlamaktadır (Goll, Thompson, Taylor, & Christiansen, 1992). *CAST* geni; Sığır genomunda kromozom 7'de 117,8 cM konumunda haritalandırılmıştır (Kappes ve ark., 1997). Bu gen 98,44-98,58 Mb arasındaki lokasyona sahiptir (**Şekil-1**). Postmortem zamanda yükselen *CAST* aktivitesi etin gevrekliğinin azalması ile yakın ilişki içerisindedir. Bu sebeple *CAST* geni büyük baş hayvancılıkta et kalitesi ve et verimi üzerinde etkisi yüksek bir gen olarak tanımlanmaktadır. (Schenkel ve ark., 2006).

Calpastatin fenotip üzerinde geniş etkilere sahiptir (Barendse ve ark., 2007). Sözü geçen fenotipik çeşitliliğe örnek olarak çiftlik hayvanlarında döl verimi özellikleri ve kesim sonrasında karkasta gelişen gevreklik düzeyindeki değişiklik verilebilir (Betts, & Anagli, 2004).

Ülkemizde *CAST* geni ile ilgili çalışmalar koyunculuk alanında da yapılmış olup, yapılan bir çalışmada Kıvırcık ırkının MN genotipi için en yüksek genotip frekansına sahip olması; yerli koyun ırklarının yetiştirildikleri bölgelerdeki seleksiyon sürecinden kaynaklanmış olabileceği bildirilmiştir (Avanus, 2015). Tüketici açısından ön planda olan et kalite özelliklerinden biri de etin gevrekliğidir. Etin gevrekliğinde kesim sonrasındaki saklama koşulları ve genotipik yapı en önemli etkenlerdendir. Postmortem dönemde karkasta meydana gelen sertlik ile sarkomer uzunluğu doğrudan ilişkilidir (Koohmaraie, 1996). Etteki sertliğin artması sarkomer uzunluğunun azalmasının bir işaretidir. Yukarıda açıklanan sebeplerle kesim sonrası ve etin saklanması süreçlerinde *CAST* aktivitesinin önem kazanmaktadır (Koohmaraie, 1996). Tüm bu nedenlerle *CAST* geninin MAS’da kullanımı önem kazanmıştır.

CAST calpastatin [*Bos taurus* (cattle)]

Gene ID: 281039, updated on 16-Aug-2022

[Download Datasets](#)

Summary

Official Symbol *CAST* provided by [VGNC](#)
Official Full Name *calpastatin* provided by [VGNC](#)
Primary source [VGNC:VGNC:26790](#)
See related [BGD:BT19504](#); [Ensembl:ENSBTAG00000000874](#)
Gene type protein coding
RefSeq status PROVISIONAL
Organism [Bos taurus](#)
Lineage Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi; Mammalia; Eutheria; Laurasiatheria; Artiodactyla; Ruminantia; Pecora; Bovidae; Bovinae; Bos
Orthologs [human](#) [mouse](#) [all](#)
[NEW](#) Try the new [Gene table](#)
Try the new [Transcript table](#)

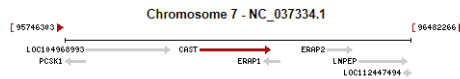
Genomic context

Location: chromosome: 7

See *CAST* in [Genome Data Viewer](#)

Exon count: 39

Annotation release	Status	Assembly	Chr	Location
106	current	ARS-UCD1.2 (GCF_002263795.1)	7	NC_037334.1 (96034228..96183530)
105	previous assembly	Bos_taurus_UMD_3.1.1 (GCF_000003055.6)	7	AC_000164.1 (98444826..98581260)



Şekil 1. *CAST* geninin lokasyonu ve genel bilgileri (*CAST calpastatin [Bos taurus (cattle)]* 2022)

2.12.1.1. CAST- S20T Polimorfizmi

CAST geninde 20. amino asit pozisyonunda Serin-Treonin (S/T) değişikliğine; ekzon 1C/1D ve kodlayan sekans pozisyonu 61'de yer alan guanin/sitozin değişimi (G/C) sebep olmaktadır (Smith, & Casas, 2007). Sığır *CAST* sekansı; koyun ile %89 ve insan ile %82 benzerlik göstermektedir (Allais ve ark., 2011). Bu polimorfizm protein sentezinde oluşturduğu farklılığı aminoasit değişimine neden olarak gerçekleştirmektedir. Bu durumun büyükbaş hayvancılık işletmelerindeki et verimine etkisi üzerine araştırmalar devam etmektedir. *CAST-S20T* polimorfizmi CC, GG ve GC genotiplerini içermektedir.

CAST geni polimorfizminin etin su tutma özelliği, gevrekliği, sululuğu ve rengi gibi parametrelerde etkin olduğu saptanmıştır (Casas ve ark., 2006). Holştayn, Limousin, Simmental, Charolaise, Angus ve Hereford ırkı sığır popölasyonları üzerinde yapılan bir çalışmada *CAST-S20T* polimorfizminin total hemoglobin pigmenti içeriği, etin gevrekliği, renk parametreleri ve su kaybı gibi et kalitesini etkileyen parametrelerde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde etkisi olduğu sonucuna varılmıştır (Juszczuk-Kubiak, Rosochacki, Wicińska, Szreder, & Sakowski, 2004).

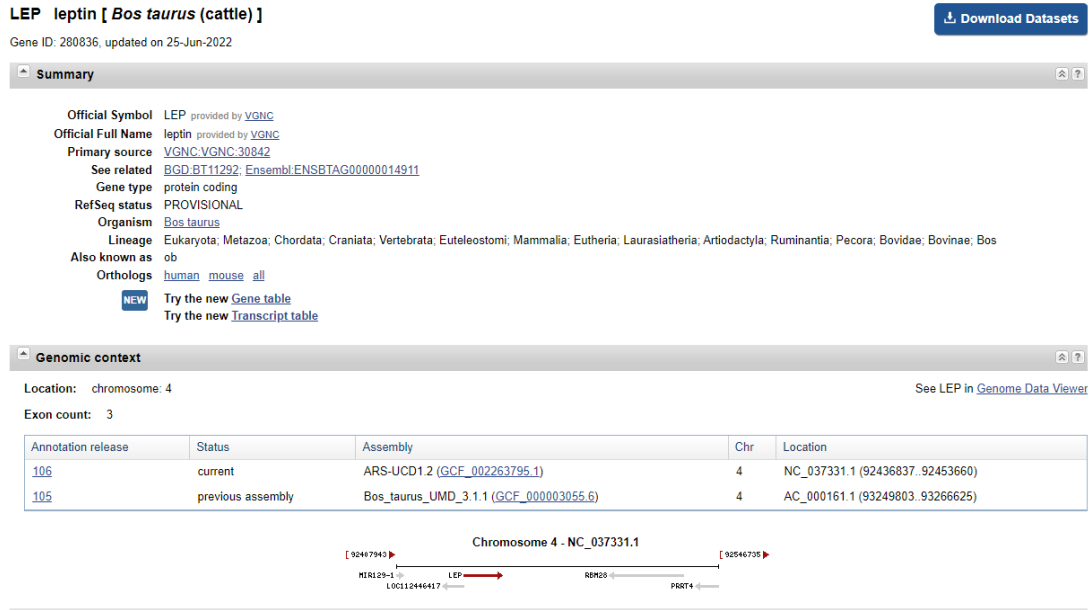
YK ırkı ve DAK ırkı sığırlarda *CAST* geni üzerine yapılmış yeterli miktarda çalışma bulunmazken; *CAST* geni, et verimi kalitesi üzerine yüksek etkisi sebebiyle MAS uygulamalarında yüksek potansiyelli bir gen olarak bildirilmiştir (Barendse, 2009).

2.12.2. *LEP* Geni

Memelilerde Leptin peptid yapısında, 14-16 kDa ağırlığında bir hormondur. *LEP* 1994 yılında bulunmuş, *LEP* geni reseptörü 1995 yılında tespit edilmiştir. *LEP* geni metabolizmadaki etkisini Leptin reseptörlerinin yardımıyla gerçekleştirmektedir (Zhang ve ark., 1994). *LEP* geni domuz ve sığırlarda; insan *LEP* geni ile %89 benzerdir (Ji, Willis, Scott, & Spurlock, 1998). *LEP* geninde altı adet reseptör (Ra, Rb, Rc, Rd, Re, Rf) tespit edilmiştir (Tartaglia, ve ark., 1995). *LEP* geninin ekspresyonu ve sentezlenmesi yağ doku ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca *LEP* geni reseptörlerini arttıran diğer bir etkenin de büyüme hormonu olduğu belirlenmiştir. *LEP* geni büyüme metabolizması, iştah mekanizması ve enerji metabolizmasında büyük payı olduğu bildirilmiştir (Friedman, & Halaas 1998). *LEP*

geni etkisini; iştahı azaltarak vücut ağırlık artışını kısıtlama yöntemiyle ortaya çıkarmaktadır. (Friedman, & Halaas 1998).

Sığır *LEP* geni, kromozom 4'te; 93,24-93,26 Mb arasında yer almaktadır (Şekil-2). *LEP* geni sığırlarda; 3 ekzon ve 2 intron bulundurmaktadır (Konfortov, Licence, & Miller 1999). *LEP* genine ait promotör bölge takribi 3kb'den oluşmaktadır. *LEP* geninin kodlama bölümü 501 nükleotidden oluşur ve ekson 2 ile 3 arasında bulunmaktadır. (Konfortov ve ark., 1999).



Şekil 2. *LEP* geninin lokasyonu ve genel bilgileri (*LEP* Leptine [*Bos taurus* (cattle)] 2022)

İnsanlarda *LEP* geni etkisinde olan obezite probleminin engellenebilmesi ve çiftlik hayvanlarında ekonomik yönden önem taşıyan verim özelliklerinin geliştirilmesinde *LEP* geninin etkilerinin araştırılmasının yararlı olacağı anlaşılmıştır (Lagonigro, Wiener, Pilla, Woolliams, & Williams, 2003). *LEP* geninin süt verimi ve süt bileşimini de etkilediği bildirilmiştir (Madeja ve ark., 2004). *LEP* geninde çok sayıda SNP bildirilmiş olup, C/T değişimi ile ön plana çıkan SNP ekzon 2 pozisyon 305'te bulunmaktadır ve sistein-arjinin aminoasitlerinin değişimine yol açmaktadır (Buchanan ve ark., 2002). Aynı bölgesinde pozisyon 252'de bulunan A/T değişimi gözlenen SNP ise tirosin- fenilalanin değişimine yol açmaktadır (Lagonigro ve ark., 2003).

2.12.2.1. *LEP*- A80V Polimorfizmi

Ekzon 3'de pozisyon 239'da yer bulunan, timin/sitozin (C/T) değişimiyle karakterize *LEP*-A80V polimorfizmi (Gen Bank No: AF536174.1); protein pozisyonu 80'de alanin/valin şeklinde olan bir aminoasit farklılaşmasına sebep olmaktadır (Haegeman, Van Zeveren, & Peelman 2000). A80V polimorfizmi etkilediği proteine göre yapılan adlandırmada ise A59V olarak anılmaktadır.

LEP geni büyüme metabolizması, yağ depolanması ve yağ metabolizmasında önemli etkiye sahiptir (Doran, Berry, & Creevey 2014). *LEP* geninin; A1457G ve A80V polimorfizmlerinin iskelet gelişimine, yalnızca A80V polimorfizminin et ve süt verimi üzerine ve A1457G, USAMS2, UASMS1 polimorfizmlerinin ise fertilitte üzerine etkili olduğu belirtilmiştir (Clempton ve ark., 2011). 2014 yılında 100 bireye sahip Nerole ırkı sığırardan oluşan bir deney grubunda yapılan çalışmada; *Lep* geninin A80V polimorfizminin kesim sonrasında gözlenen et rengi üzerine etkili olduğu ve but yağı kalınlığı ile önemli düzeyde ilişkili olduğu bulunmuştur (Silva ve ark., 2014). 40 adet GAK, 40 adet DAK ve 40 adet Boz Irk yerli sığır üzerinde yapılmış olan bir çalışmada ise Türkiye'nin yerli sığır ırklarında; *LEP* A80V polimorfizmi süt verimi ve canlı ağırlık artışı ile ilişkilendirilmiş olup, TT genotip frekansı CC genotip frekansına oranla hayli yüksek hesaplanmıştır (Öztabak ve ark., 2010). Angus, Hereford, Holştayn, Charolais ve Highland ırkı sığırardan oluşan popülasyonda yapılan bir çalışmada ise *LEP* geninin ekzon 2 pozisyon 252'de bulunan T/A alel değişimi ile karakterize polimorfizminde AA genotipinde olan bireylerin yem tüketiminin AT genotipinde olan bireylerin yem tüketimine kıyasla %19 daha düşük olduğu bildirilmiştir (Lagonigro ve ark., 2003). Simental ırkı hayvanlardan oluşan başka bir popülasyonda yapılan çalışmada ise *LEP* geni polimorfizimlerinin et kalitesi ve karkas verimi üzerine etkisinin önemli olduğu ve işaretleyici yardımcı seleksiyonda kullanılabileceği bildirilmiştir (Tian ve ark., 2013).

Amerikada 2008 yılında çeşitli sığır ırklarından oluşan 595 bireyin olduğu popülasyon üzerinde yapılan bir çalışmada *LEP* geni ekzon 2 pozisyon 305'te

bulunan T/C polimorfizmi ile popülasyondaki buzağların sütten kesilme vücut ağırlığı arasında önemli bir etki olduğu bildirilmiştir. Aynı çalışmada CC genotipine sahip sığırların buzağlarının TT ve CT genotipine sahip olanlara göre daha düşük ağırlıklarda sütten kesildikleri bildirilmiştir. Fakat benzer sonuçlar bu çalışmada ele alınan A80V polimorfizminde tespit edilmemiştir (Devuyst, Bauer, Cheng, Mitchell, & Larson, 2008).

Yapılan birçok araştırma *LEP* geninin yağ depolama, et kalitesi, karkas randıman özellikleri, canlı ağırlık artışının düzenlenmesi gibi seleksiyonlarda göz önünde bulundurulmuş birçok parametre yönünden önemli rol aldığını göstermektedir. *LEP* geninin etkileri coğrafi bölgeler ve ırk bazında önemli değişiklik gösterdiği için etkilerinin tam olarak anlaşılabilmesi için farklı sayılardaki farklı ırklardan popülasyonlarda gözlenmesi ortak kanıdır.

2.12.3. GHR Geni

Memeli hayvanlarda gelişim ve büyüme kontrolünde ve büyüme hormonu (*GH*) düzenlenmesinde etkili olan *GHRH* (büyüme hormonu salgılatıcı hormon) somatotropik eksen reaksiyon zincirinin önemli bir unsurudur (Wojcik, & Postel-Vinay, 1999). Büyüme hormonunun hipofizden salgılanması; hipotalamus tarafından salgılanan iki farklı nöropeptid tarafından sağlanmaktadır. Somatosistein büyüme hormonu üzerinde baskılayıcı bir özellik gösterirken büyüme hormonu salgılatıcı hormon (*GHRH*) *GH* sentezini uyarmaktadır. Büyüme hormonu; hipofizden salgılandıktan sonra hepatik büyüme hormonu reseptörüyle ilişkili bir proteine ardından karaciğer hücre yüzeyinde yer alan büyüme hormonu reseptörüne (*GHR*) bağlanır. (Sørensen, Chaudhuri, Louveau, Coleman, & Etherton, 1992). Adı üzerinde büyüme hormonu; hücredeki metabolik faaliyetler, hücre çoğalması, hücresel protein sentezi gibi reaksiyonlarda düzenleyici olarak yer almaktadır. Büyüme hormonu sığırlarda 191 aminoasit ve tek zincirli bir polipeptid yapısındadır (Wojcik, & Postel-Vinay, 1999). Büyüme hormonunun kıkırdak ve kemik doku, kalp kası gelişimi, stres ve bağışıklık sistemi üzerinde önemli etkisi olduğu tespit edilmiştir (Madsen, Friberg, Roos, Edén, & Isaksson, 1983).

GHR hücre membranı boyunca myogenetik stimülasyon işaretlerinin ilerlemesini sağlar (Ge, Davis, Hines, Irvin, & Simmen, 2003). Sığırlarda *GHR*; kromozom 20'de 33,90-34,20 Mb aralığında yer almaktadır (Moody, Pomp, Barendse, & Womack, 1995) (Şekil-3). *GHR* 9 adet ekzon içermektedir. Fakat 5' bölgesinde 1A-II olmak üzere kodlama yapmayan 9 ekzon bulunmaktadır (Jiang, & Lucy, 2001). Kodlama yapmayan bölümdeki ekzonların alternatif bir splicing mekanizmaları vardır. Bu ekzonların hepsi kendilerine özgü transkripsiyon başlatma kısmına sahiptir (Lucy ve ark., 1998). Sığırlarda *GHR*'de ekzon 1A'nın tersi istikametinde 1,2 kb uzunluğunda retrotranspozonal LINE-1 yer almaktadır. Avrupa kökenli sığır ırklarında tipik olarak LINE-1 gözlenmekte iken, *Bos indicus* orjinli ırklarda benzer durum görülmemiştir (Lucy ve ark., 1998). *GHR* transkripsiyonu sığır ırklarında ekzon 1A, 1B ve 1C'de bulunan 3 promotör bölge ile başlamaktadır. *GHR*'nin ekspresyonu başta karaciğer ve tüm vücutta gerçekleşmektedir (Jiang, & Lucy, 2001). *GHR* miktarı beslenme, hormon salınım aktiviteleri, ve büyüme ile ilişkilendirilmektedir (Adams, Baker, Fiddes, & Brandon, 1990). Popülasyon içindeki bireylere olan *GHR* etkileri araştırıldığında vücut gelişiminde meydana çıkan varyasyonlarda önemli etkisi olduğu gözlemlenmiştir. Fertilite üzerine etkileri de belirlenmiştir. *GHR* etkinliği engellenmiş olan farelerde, cücelik ve büyüme geriliği izlenmiştir (Kopchick, & Andry, 2000). *GHR* geninde meydana gelen mutasyonların diğer bir sonucu olarak ise insanlarda ortaya çıkan idiopatik kısa boyluluk ve Laraon sendromu örnekleri gösterilmektedir (Blair, & Savage, 2002). Tavuklarda bazı *GHR* mutasyonlarının cücelik ile sonuçlandığı bildirilmiştir (Tixier-Boichard, 2002). Tüm bu sonuçlar dikkate alınarak *GHR* geni, çiftlik hayvanlarında et verimi, süt verimi, büyüme oranı yönünden önemli bir aday gen olduğu söylenebilmektedir (Garrett ve ark., 2008).

GHR growth hormone receptor [*Bos taurus* (cattle)]

Gene ID: 280805, updated on 6-May-2021

Download Datasets

Summary

Official Symbol: GHR provided by VGN
Official Full Name: growth hormone receptor provided by VGN
Primary source: VGN:VGN:50:84
See related: BGD:BT10760; Ensembl:ENSBTAG00000001335
Gene type: protein coding
RefSeq status: PROVISIONAL
Organism: *Bos taurus*
Lineage: Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi; Mammalia; Eutheria; Laurasiatheria; Artiodactyla; Ruminantia; Pecora; Bovidae; Bovinae; Bos
Annotation information: Annotation category: partial on reference assembly
Orthologs: human mouse all
NEW Try the new Gene table
Try the new Transcript table

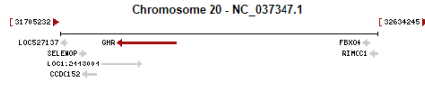
Genomic context

Location: chromosome: 20

See GHR in Genome Data Viewer

Exon count: 9

Annotation release	Status	Assembly	Chr	Location
106	current	ARS-UCD1.2 (GCF_002263795.1)	20	NC_037347.1 (31869704..32043372, complement)
105	previous assembly	Bos_taurus_UMD_3.1.1 (GCF_000003055.6)	20	AC_000177.1 (31890736..32064204, complement)



Şekil 3. *GHR* geninin lokasyonu ve genel bilgileri (*GHR* Growth Hormone Receptor 2022)

2.12.3.1. *GHR*- S555G Polimorfizmi

Ekzon 10'da yer alan 555 protein pozisyonunda Serin/Glisin (S/G) değişimine sebep olan *GHR* geninin S555G polimorfizminin pozisyon 257'de yer aldığı bildirilmiştir (Di Stasio ve ark, 2005). Adenin/Guanin değişmesi ile bilinen bu polimorfizmin sekans pozisyonu 1663'dür. Bu polimorfizm kodlayan sekans pozisyonu 1663'de Adenin/Guanin değişimi ile karakterizedir (*GHR* c.1663A>G). Ayrıca bu polimorfizm, ekzon 730'da bulunmaktadır (Ge, Davis, Hines, & Irvin 2000).

Sığırlarda *GHR*; kromozom 20'de 33,90-34,20 Mb aralığında yer almaktadır (Moody ve ark., 1995) (Şekil-3). *GHR* 9 adet ekzon içermektedir. Fakat 5' bölgesinde 1A-II olmak üzere kodlama yapmayan 9 ekzon bulunmaktadır (Jiang, & Lucy, 2001).

GHR geni S555G polimorfizminin daha önce Şarole, Şarole x Angus melezi, Angus (Sherman ve ark., 2008), Simental ırkı etçi sığırlar (Ardıçlı, Dinçel, Şamli, & Balcı, 2017) ile Holstein (Ardıçlı ve ark., 2019) ırkı sütçü sığırlarda çalışıldığı görülmüştür. Yapılan bu çalışmalarda *GHR* geni S555G polimorfizmi açısından AA, AG ve GG genotipli bireylerin varlığı tespit edilerek; incelenen sürülerin varyasyon gösterdiği anlaşılmıştır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Etik Kurul İzin Belgesi

“YK ve DAK ırkı sığırlarda *CAST*, *LEP* ve *GHR* gen polimorfizm frekanslarının belirlenmesi” isimli bu tezin çalışmalarına başlanmadan önce, hayvanlar üzerinde yapılacak işlemler için (alınacak kan örnekleri) ‘Uludağ Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu ’ndan (HADYEK) onay alınmıştır (27.03.2012 tarih ve 2012-4/4 sayılı yazı).

3.2. Hayvan Materyali

Araştırmanın hayvan materyalini Afyonkarahisar ilinde özel çiftliklerde yetiştirilen, rastgele seçilmiş 50 baş YK ırkı ve 50 baş DAK ırkı sığırlar oluşturmaktadır. Sığırların bakım besleme koşulları işletmelerin rutin programına uygun olarak devam etmiş olup herhangi özel bir bakım ve besleme uygulanmamıştır.

3.3. Kan Örnekleri

Araştırma kapsamında bulunan 100 baş sığırın 4 ml kan numunesi; genotiplendirme aşamasında DNA izolasyonu işleminde kullanılmak üzere EDTA’lı tüplere vena jugularislerinden alınmıştır.

3.4. Çalışmada Kullanılan Cihazlar

- Hassas ölçüm terazisi
- Santrifüj cihazı
- Spektrofotometre
- Isıtıcı Blok
- PCR cihazı
- Vortex
- Isıtmalı karıştırıcı
- Saf su cihazı
- Çeker ocak
- Otoklav

- Etüv
- Mikro Pipetler 1-10 µl, 10-100 µl, 20-200 µl ve 100-1000 µl
- Güç kaynağı
- Elektroforez
- Agoroz Jel görüntüleme
- Buzdolabı
- Dondurucu dolabı (-20⁰C)
- Dondurucu (-80⁰C)
- Mikrodalga

3.5. Çalışmada Kullanılan Kimyasallar ve Sarf Malzemeler

- Sodyum dodesil sülfat (SDS)
- Tris-EDTA (TE) Buffer
- Tris-Borat-EDTA (TBE) Buffer
- Proteinaz – K
- NaCl
- Etil alkol
- Fenol-Kloroform-izoamil alkol (25:24:1)

3.6. *GHR* geni S555G polimorfizmi için gerekli primerler (Alpha DNA)

F: 5'- GCTAACTTCATCGTGGACAAC – 3'

R: 5'- CTATGGCATGATTTTGTTTCAG – 3'

3.7. *LEP- A80V* geni polimorfizmi için gerekli primerler (Alpha DNA)

F: 5'- GGGAAGGGCAGAAAGATAG – 3'

R: 5'- CCAAGCTCTCCAAGCTCTC – 3'

3.8. CAST- S20T geni polimorfizmi için gerekli primerler (Alpha DNA)

F: 5' - TGGGGCCCAATGACGCCATCGATG – 3'

R: 5' - GGTGGAGCAGCACTTCTGATCACC – 3'

Enzim 1: NEB-New England Biolabs AluI restriksiyon enzimi

Enzim 2: NEB-New England Biolabs HphI restriksiyon enzimi

Biomatik Tag DNA polimeraz

Biomatik MgCl₂

Biomatik termal cycler tamponu

NEB-New England Biolabs dNTP mix, 10 mM

Vivantis 50bp, 100bp DNA Ladder 50 µl DNA marker

Distile Su H₂O

Sigma Aldrich - Absolut etil alkol

Sigma Aldrich - Agaroza

Fisher Bioreagents - 10X TBE buffer

Fisher Bioreagents - Etidyum bromür

NEB-New England Biolabs - Bromphenol blue

Eppendorf - Steril beyaz, mavi ve sarı pipet uçları

Thermo Scientific Finnzymes - 1,5-0,5 ml'lik Ependorf tüpleri

Thermo Scientific Finnzymes - 0,2 µl lik PCR tüpleri)

3.9. Tampon ve Solüsyonların Hazırlanışı

3.9.1. 1X TE Buffer:

2 ml 0,5M EDTA (pH:8), 10 ml 1M Tris-HCl'ye (pH:8), ve 988 ml distile su kullanılarak hazırlanmıştır.

3.9.2. 1 M Tris (ph:7,5-8):

700 ml distile su ve 121,1 g Tris base kullanılarak hazırlanmıştır.

3.9.3. 0,5 M EDTA (ph:8):

800 ml distile su ve 186,1 g EDTA kullanılarak hazırlanmıştır.

3.9.4. SDS:

100 ml distile suya 10 g SDS eklenerek hazırlanmıştır.

3.9.5. 1 M NaCl:

100 ml distile suya 5,844 g NaCl eklenerek hazırlanmıştır.

3.9.6. Proteinaz K:

4,5 ml dH₂O suda Proteinaz K çözülerek hazırlanmıştır.

3.9.7. Forward Primer CAST- S20T polimorfizmi için:

10 pmol primer konsantrasyonu hazırlanması için liyofilize içeriğe 1520 µl steril distile su eklenmiştir.

3.9.8. Reverse Primer CAST- S20T polimorfizmi için:

10 pmol primer konsantrasyonu hazırlanması için liyofilize içeriğe 1426 µl steril distile su eklenmiştir.

3.9.9. Forward Primer *LEP- A80V* polimorfizmi için:

10 pmol primer konsantrasyonu hazırlanması için liyofilize içeriğe 1683 µl steril distile su eklenmiştir.

3.9.10. Reverse Primer *LEP- A80V* polimorfizmi için:

10 pmol primer konsantrasyonu hazırlanması için liyofilize içeriğe 1387 µl steril distile su eklenmiştir.

3.9.11. Forward Primer *GHR- S555G* polimorfizmi için:

10 pmol primer konsantrasyonu hazırlanması için liyofilize içeriğe 1545 µl steril distile su eklenmiştir.

3.9.12. Reverse Primer *GHR- S555G* polimorfizmi için:

10 pmol primer konsantrasyonu hazırlanması için liyofilize içeriğe 1785 µl steril distile su eklenmiştir.

3.10. %2'lik Agaroz Jel Hazırlama

PCR ürünlerinin kontrolü için %2'lik agaroz jel hazırlanmıştır. 3 g agaroz, 150 ml 0,5X TBE içine eklenerek mikrodalgada tamamen şeffaflaşana kadar kaynatılıp, 12 µl EtBr çeker ocak altında içerisine eklenmiş ve toplam karışım jel dökme setine dökülmüş ve yükleme kuyuları için tarak yerleştirilmiştir. Jel tamamen donduğunda tarak çıkarılarak, hazırlanmış olan %2'lik agaroz jel; içerisinde 0,5X TBE bulunan elektroforez tankına yerleştirilmiştir. Tarağının meydana getirdiği kuyuların birincisine 2 µl marker DNA, 1 µl 6X yükleme boya solüsyonu, 3 µl distile su karışımı; kalan tüm kuyulara ise 10µl PCR ürünü ile 5 µl bromphenol blue yükleme tamponu yüklenmiştir. 1 saat süresince 100 voltta yürütülüp elde edilen sonuçlar jel görüntüleme sisteminde görüntülenmiş ve kayıt altına alınmıştır.

3.11. %3'lük Agaroz Jelin Hazırlanması

Enzim Kesimi (PCR-RFLP) işlemi sonunda, kontrol işlemi için %3'lük agaroz jel kullanılmıştır. 4,5 g agaroz; 150 ml 0,5 X TBE içerisine ilave edilerek mikrodalga fırında şeffaflaşmaya kadar ısıtılıp, içine çeker ocak altında 12 µl etidyum bromür ilave edilerek tamamı jel dökme setine dökülmüş ve yükleme kuyularının oluşması için tarak yerleştirilmiştir. Jel katılaştıktan sonra kuyucuklardan tarak çıkarılarak, hazır olan agaroz jel, 0,5X TBE içeren elektroforez tankına koyulmuştur. Yükleme kuyularından ilkin 2 µl marker DNA, 1 µl 6X yükleme boya solüsyonu, 3 µl distile su karışımı; diğer tüm kuyulara 10 µl amplifikasyon ürünü ile beraber 5 µl yükleme tamponu bromphenol blue yüklenmiştir. 1,5 saat süreyle 80 voltta yürütülüp elde edilen sonuçlar jel görüntüleme sisteminde görüntülenmiş ve kayıt altına alınmıştır.

3.12. Periferik Kandan DNA İzolasyonu

Çalışmada kullanılan hayvanlardan alınan kanlardan fenol-kloroform yöntemi ile DNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir. 1,5'luk eppendorf tüplere 750 µl kan numunesi alınmıştır. 750 µl TE buffer tüplere eklendikten sonra 1 dakika boyunca 13000 rpm 'de santrifüjlenip süpernatant kısmı atılmıştır. Elde edilen toplam volum 1 ml olacak şekilde TE buffer eklenmiştir. 1ml TE buffer ve numune karışımı vorteks kullanılarak homojenize hale getirilmiştir. İstenilen renk seviyesine elde edilene kadar bu işle 3 kez tekrar edilmiştir. En son yapılan yıkama işleminden sonra ayrılan üst kısım uzaklaştırılmıştır. Elde edilen ürüne 30 µl Proteinaz K, 80 µl SDS ve 90 µl 1M NaCl eklenmiştir. Karışıma TE buffer ilave edilerek son hacim 500 µl olarak tamamlanmıştır. Elde edilen izolasyon örnekleri 12 saat süre ile 56°C'de çalkalamalı inkübatörde bekletilmiştir. 500 µl fenol-kloroform inkübasyonun ardından örnekler ilave edilmiş ve 2 dakika süre ile 500 rpm'de santrifüj işlemi uygulanmıştır. Bu işlemde sonra üste çıkan DNA ipliğinin bulunduğu kısım temiz numune tüplerine aktarılmıştır. Elde edilen DNA içeren kısmın çökeltme işlemi için absolute etanol ilave edilerek hacim 1,5 ml'ye tamamlanmıştır. Bu karışım DNA görünür hale gelinceye kadar elde altüst edilmiştir. Tekrar santrifüj işlemi yapıp DNA çöktürüldüğünde alkollü kısım tamamen geri alınmıştır. Tekrar 500 µl %70'lik etanol eklenerek vorteks işlemi yapılmıştır. Sonrasında 1 dakika süre ile 12000 rpm' de 1 dakika santrifüj işlemi yapılmış ve ihtiyaç duyulmayan kısım atılmıştır.

Santrifüj işlemi ile DNA ipliği çöktürülmüştür. Etanolden arındırılarak kurutma yapılmıştır. 10 mM Tris tamponunda 500 µl ilave edilerek 1 saat süre ile 60°C 'de beklenerek DNA izolasyonu işlemi bitirilmiştir (Powell, & Gannon 2002). Spektrofotometre ile izolasyon işlemi sonrasında edilen DNA'ların saflık ve miktar ölçümleri yapılmıştır. Ölçüm parametrelerinden miktar "ng/µl" olarak, saflık ise "260/280 nm dalga boyundaki absorpsiyon değeri" olarak değerlendirilmeye alınmıştır.

3.13. CAST geni S20T Polimorfizmi İçin PCR Koşulları

50 µl'lik PCR karışımı hazırlanarak CAST geni ekzon 1C/D'de bulunan S20T SNP'sini RFLP yöntemiyle belirlemek için PCR işlemi yapılmıştır.

3.14. CAST geni S20T Polimorfizmi İçin Oluşturulan 50 µl PCR Karışımı

➤ MgCl ₂ (25mM)	5 µl
➤ 10x PCR Buffer	5 µl
➤ Taq DNA polimeraz	0,5 µl
➤ F Primer (10 pmol)	1 µl
➤ R Primer (10 pmol)	1 µl
➤ dNTP mix (25mM)	1 µl
➤ Kalıp DNA	3 µl
➤ Distile su	33,5 µl

Eppendorf numune tüplerine hazırlanan karışım Thermal Cycler 'a yerleştirilmiştir. Termal Cycler ısı döngüsü aşağıdaki şekildedir.

3.15. CAST geni S20T Polimorfizmi İçin Hazırlanan PCR Isı Döngüsü

➤ 94 °C	5 dk	} 32 Döngü
➤ 94 °C	30 sn	
➤ 62 °C	45 sn	
➤ 72 °C	45 sn	
➤ 72 °C	5 dk	
➤ 4 °C	Saklama	

3.16. *CAST* geni S20T Polimorfizmi *AluI* Restriksiyon RFLP işlemi

PCR ile amplifiye olan örneklerle jel görüntüleme işlemi yapıldıktan sonra enzim kesimi işlemi için aşağıda sunulan mix hazırlanmıştır.

- PCR ürünü 10 µl
- Distile su 15 µl
- *AluI* 1 µl
- 10XBuffer R 5 µl

Yukarıda içeriği sunulan enzim karışımı Eppendorf numune tüpü içerisinde hazırlanmıştır. Karışımı bir süre vortekslenerek mikropipet yardımıyla 0,2'lik strip tüplere dağıtılmıştır. PCR ürününden üzerine 10 µl ilave edilmiştir. 16 saat süre ile 37°C'de inkübasyon işlemi yapılmıştır. Enzim kesimi işleminden elde edilen son ürünler %3'lük agaroz jelde yürütülmüş ve görüntüleme işlemi yapılmıştır. Yükleme işlemi için jel içine tarak yerleştirilmiştir. Oluşan yükleme kuyularından birincisine 2 µl marker DNA, 1 µl 6X boya solüsyonu ve 3 µl distile sudan oluşan karışım yüklenmiştir. Kalan diğer yükleme kuyularına ise 10 µl amplifikasyon ürünü ve 5 µl bromphenol blue karıştırılarak yüklenmiştir. 1,5 saat süresince 80 voltta elektroforez tankında yürütülmüştür. Elde edilen sonuçlar görüntüleme sisteminde izlenmiştir. Enzim kesimi işlemi ile elde edilen bantlar doğrultusunda genotiplendirme yapılmıştır.

3.17. *LEP* geni A80V Polimorfizmi İçin PCR Koşulları

50 µl'lik PCR karışımı hazırlanarak *LEP* geninin 3. ekzonunda yer alan A80V SNP'sini RFLP yöntemiyle belirlemek için PCR işlemi yapılmıştır.

3.18. *LEP* Geni A80V Polimorfizmi İçin Oluşturulan 50 µl PCR Karışımı

- MgCl₂ (25mM) 5 µl
- 10x PCR Buffer 5 µl
- Taq DNA polimeraz 0,5 µl

➤ F Primer (10 pmol)	1 µl
➤ R Primer (10 pmol)	1 µl
➤ dNTP mix (25mM)	1 µl
➤ Kalıp DNA	5 µl
➤ Distile su	31,5 µl

Eppendorf numune tüplerine hazırlanan karışım Thermal Cycler'a yerleştirilmiştir. Termal Cycler ısı döngüsü aşağıdaki şekildedir.

3.19. *LEP* Geni A80V Polimorfizmi İçin Hazırlanan Thermal Cycler Isı Döngüsü

➤ 94 °C	2 dk	} 35 Döngü
➤ 94 °C	30 sn	
➤ 57 °C	1 dk	
➤ 72 °C	30 sn	
➤ 72 °C	15 dk	
➤ 4 °C	Saklama	

3.20. *LEP* Geni A80V Polimorfizmi İçin *HphI* Restriksiyon RFLP İşlemi

PCR ile amplifiye olan örneklerle jel görüntüleme işlemi yapıldıktan sonra enzim kesimi işlemi için aşağıda sunulan mix hazırlanmıştır.

➤ PCR ürünü	12 µl
➤ Distile su	15 µl
➤ <i>HphI</i>	0,7 µl
➤ 10X Buffer R	2,5 µl

Yukarıda içeriği sunulan enzim karışımı Eppendorf numune tüpü içerisinde hazırlanmıştır. Karışımı bir süre vortekslenerek mikropipet yardımıyla 0,2'lik strip tüplere dağıtılmıştır. PCR ürününden üzerine 10 µl ilave edilmiştir. 16 saat süre ile 37°C'de inkübasyon işlemi yapılmıştır. Enzim kesimi işleminden elde edilen son ürünler %3'lük agaroz jelde yürütülmüş ve görüntüleme işlemi yapılmıştır. Yükleme işlemi için jel içine tarak yerleştirilmiştir. Oluşan yükleme kuyularından birincisine 2 µl marker DNA, 1 µl 6X boya solüsyonu ve 3 µl distile sudan oluşan karışım yüklenmiştir. Kalan diğer yükleme kuyularına ise 10 µl amplifikasyon ürünü ve 5 µl

bromphenol blue karıştırılarak yüklenmiştir. 1,5 saat süresince 80 voltta elektroforez tankında yürütülmüştür. Elde edilen sonuçlar görüntüleme sisteminde izlenmiştir. Enzim kesimi işlemi ile elde edilen bantlar doğrultusunda genotiplendirme yapılmıştır.

3.21. *GHR* geni S555G Polimorfizmi İçin PCR Koşulları

GHR geninin 10. ekzonunda bulunan S555G SNP'sini RFLP yöntemiyle belirlemek için PCR işlemi yapılmıştır.

3.22. *GHR* Geni S555G Polimorfizmi İçin Hazırlanan 50 µl'lik PCR Mixi

➤ MgCl ₂ (25mM)	5 µl
➤ 10x PCR Buffer	5 µl
➤ Taq DNA polimeraz	0,7 µl
➤ F Primer (10 pmol)	1 µl
➤ R Primer (10 pmol)	1 µl
➤ dNTP mix (25mM)	1 µl
➤ Kalıp DNA	3 µl
➤ Distile su	33,3 µl

Eppendorf numune tüplerine hazırlanan karışım Thermal Cycler'a yerleştirilmiştir. Termal Cycler ısı döngüsü aşağıdaki şekildedir.

3.23. *GHR* geni S555G Polimorfizmi PCR Protokolü

➤ 95 °C	5 dk	
➤ 94 °C	45 sn	} 35 Döngü
➤ 53 °C	30 sn	
➤ 72 °C	50 sn	
➤ 72 °C	5 dk	
➤ 4 °C	Saklama	

3.24. *GHR* Geni S555G Polimorfizmi İçin *AluI* Restriksiyon RFLP İşlemi

PCR ile amplifiye olan örneklere jel görüntüleme işlemi yapıldıktan sonra enzim kesimi işlemi için aşağıda sunulan mix hazırlanmıştır.

- PCR ürünü 10 µl
- Distile su 7,5 µl
- *AluI* 0,5 µl
- 10X Buffer 2 µl

Yukarıda içeriği sunulan enzim karışımı Eppendorf numune tüpü içerisinde hazırlanmıştır. Karışımı bir süre vorteksenerek mikropipet yardımıyla 0,2'lik strip tüplere dağıtılmıştır. PCR ürününden üzerine 10 µl ilave edilmiştir. 16 saat süre ile 37°C'de inkübasyon işlemi yapılmıştır. Enzim kesimi işleminden elde edilen son ürünler %3'lük agaroz jelde yürütülmüş ve görüntüleme işlemi yapılmıştır. Yükleme işlemi için jel içine tarak yerleştirilmiştir. Oluşan yükleme kuyularından birincisine 2 µl marker DNA, 1 µl 6X boya solüsyonu ve 3 µl distile sudan oluşan karışım yüklenmiştir. Kalan diğer yükleme kuyularına ise 10 µl amplifikasyon ürünü ve 5 µl bromphenol blue karıştırılarak yüklenmiştir. 1,5 saat süresince 80 voltta elektroforez tankında yürütülmüştür. Elde edilen sonuçlar görüntüleme sisteminde izlenmiştir. Enzim kesimi işlemi ile elde edilen bantlar doğrultusunda genotiplendirme yapılmıştır.

4. BULGULAR

4.1. Laboratuvar Bulguları

4.2. DNA İzolasyonu

YK ırkı 50 baş ve DAK 50 baş sığırdan EDTA 'lı tüplere alınan 5 'er ml kan numunelerinden DNA izolasyon işlemi yapılmıştır. İzolasyonu sonucunda elde edilen DNA örneklerinin saflık ve miktarları spektrofotometre (NanoDrop) ile ölçümü yapılmıştır. Elde edilen sonuçlarda; DNA'ların saflıkları 1,72-1,87 (260/280), miktarı ise; 92-272 ng/ml, aralığında ölçülmüştür.

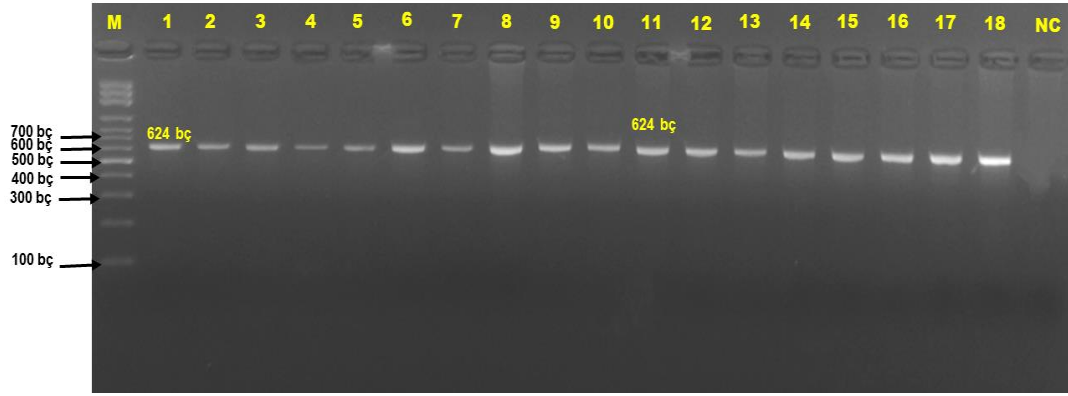
4.3. CAST- S20T Polimorfizmi

CAST geni S20T polimorfizmini belirlemek amacıyla öncelikle PCR işlemi uygulanmıştır. PCR sonucu elde edilen 624 bp'lik ürünler agaroz jelde (%2) görüntülemeye alınmıştır. Elde edilen bazı sonuçlara ait agaroz jel görüntüsü aşağıda verilmiştir (Şekil 4). PCR'dan elde edilen son ürünlere RFLP işlemi ile *AluI* enzim kesimi işlemi uygulanmıştır. Genotiplendirme enzim kesimi işlemi sonuçları ile yapılmıştır. Enzim kesimi işlemini takiben elde edilen örneklerin agaroz jelde (%3) görüntüleri alınmıştır (Şekil 5). Elektroforez sonrası agaroz jelde beklenen bantların değerlendirilmesi sonucu elde edilecek genotipler şu şekildedir;

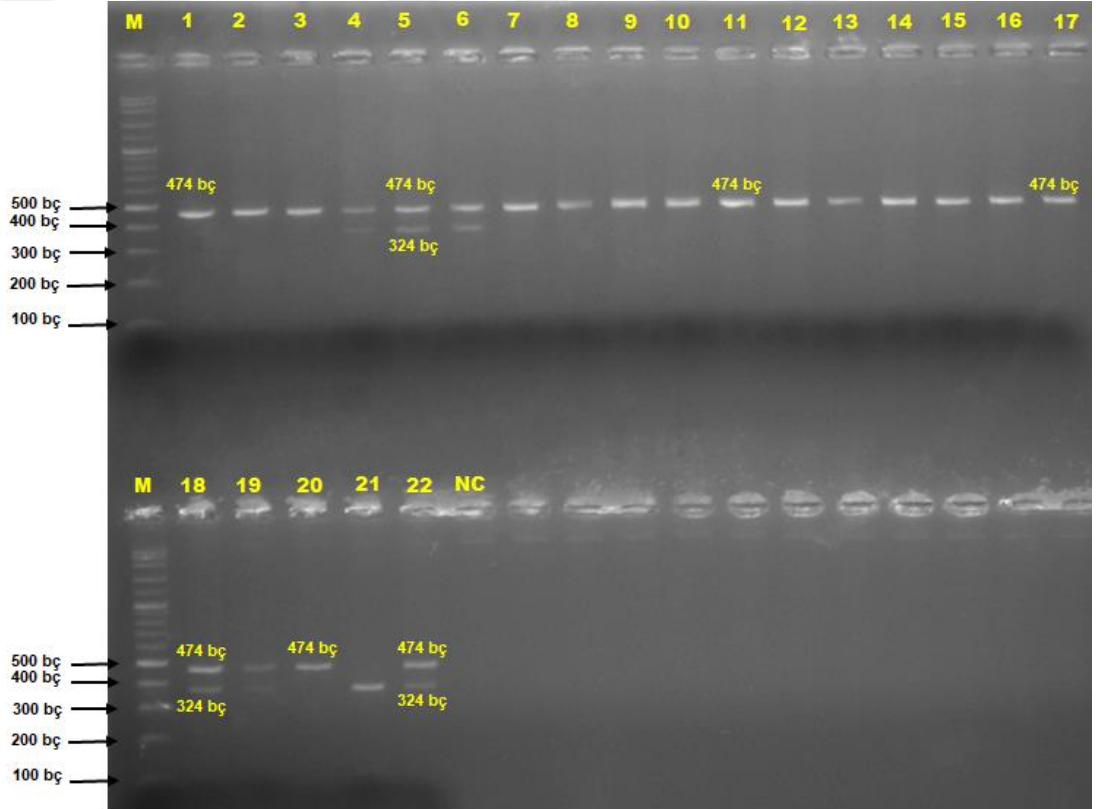
CC: 474 baz çifti büyüklüğünde 1 bant

GG: 324 baz çifti büyüklüğünde 1 bant

GC: 474 baz çifti, 324 baz çifti büyüklüğünde 2 bant



Şekil-4. CAST geni S20T polimorfizmine ait 624 baz çift'lik PCR ürününün agaroz jel (%2) görüntüsü. M: Marker, Sütun 1-10: YK sığırlara ait PCR görüntüsü, Sütun 11-18: DAK sığırlara ait PCR görüntüsü.



Şekil-5. CAST genine ait S20T polimorfizminin RFLP yöntemiyle *AluI* enzim kesimi işlemi sonucunda agaroz jelde (%3) elde edilen görüntü. M: Marker, Sütun 1-3, 7-10, 12-17: YK ırkı bireyler CC homozigot 474 bp büyüklüğünde 1 bant. Sütun 4, 5, 6: YK ırkı bireyler heterozigot GC: 474 bp, 324 bp büyüklüğünde 2 bant. Sütun 18, 19, 22: DAK bireyler heterozigot GC: 474 bp, 324 bp büyüklüğünde 2 bant. Sütun 20: DAK birey homozigot CC 474 bp büyüklüğünde tek bant. Sütun 21: DAK birey homozigot GG: 324 bp büyüklüğünde tek bant gözlenmiştir.

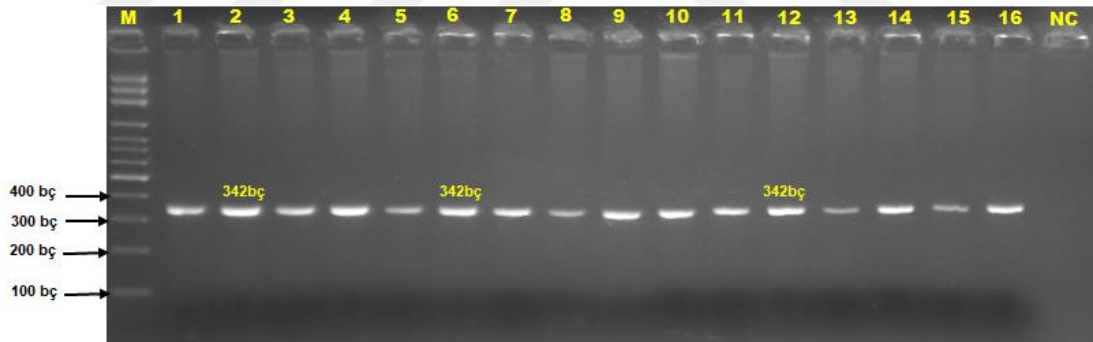
4.4. GHR- S555G Polimorfizmi

GHR geni S555G polimorfizmini belirlemek amacıyla öncelikle PCR işlemi uygulanmıştır. PCR sonucu elde edilen 342 baz çiftlik ürünler agaroz jelde (%2) görüntülemeye alınmıştır. Elde edilen bazı sonuçlara ait agaroz jel görüntüsü aşağıda verilmiştir (Şekil 6). PCR'dan elde edilen son ürünlere RFLP işlemi ile *AluI* enzim kesimi işlemi uygulanmıştır. Genotiplendirme enzim kesimi işlemi sonuçları ile yapılmıştır. Enzim kesimi işlemini takiben elde edilen örneklerin agaroz jelde (%3) görüntüleri elde edilmiştir (Şekil 7). Elde edilen bantların değerlendirilmesinde şu kriterler dikkate alınmıştır;

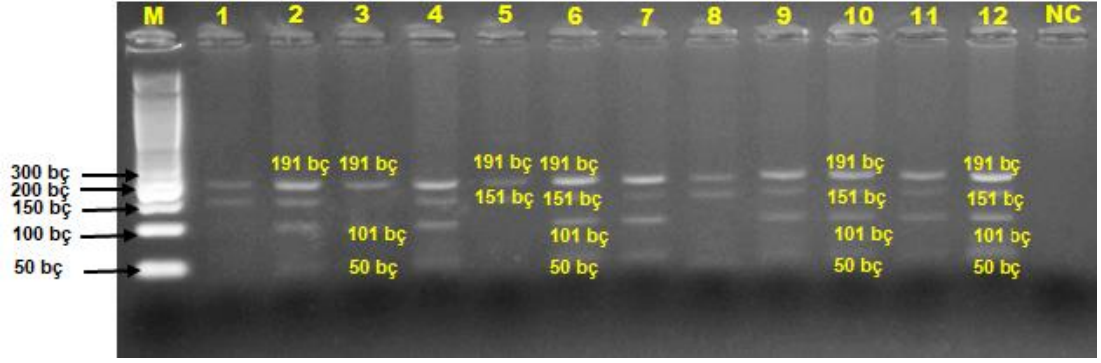
GA: 191 bç, 151 bç, 101 bç, 50 bç büyüklüğünde 4 bant

GG: 191 baz çifti, 151 baz çifti büyüklüğünde 2 bant

AA: 191 baz çifti, 101 baz çifti, 50 baz çifti büyüklüğünde 3 bant



Şekil-6. *GHR* geni S555G polimorfizmine ait 342 baz çift'lik PCR ürününün agaroz jel (%2) görüntüsü. M: Marker, Sütun 1-8: YK sığırlara ait PCR görüntüsü, Sütun 9-16: DAK sığırlara ait PCR görüntüsü.



Şekil-7. *GHR* genine ait S555G polimorfizminin RFLP yöntemiyle *AluI* enzim kesimi işlemi sonucunda agaroz jelde (%3) elde edilen görüntü. M: Marker, Sütun 1-5: YK ırkı bireyler homozigot GG: 191 bç, 151 bç büyüklüğünde 2 bant. Sütun 2-4-6: YK ırkı bireyler heterozigot AG: 191 bç, 151 bç, 101 bç, 50 bç büyüklüğünde 4 bant. Sütun 3: YK ırkı bireyler homozigot AA: 191 bç, 101 bç, 50 bç büyüklüğünde 3 bant. Sütun 7-9-10-11-12: Doğu Anadolu Kırmızısı ırkı bireyler heterozigot AG: 191 bç, 151 bç, 101 bç, 50 bç büyüklüğünde 4 bant. Sütun 8: DAK birey heterozigot GG: 191 bç, 151 bç büyüklüğünde 2 bant. Sütun 11: DAK birey homozigot homozigot AA: 191 bç, 101 bç, 50 bç büyüklüğünde 3 bant gözlenmiştir.

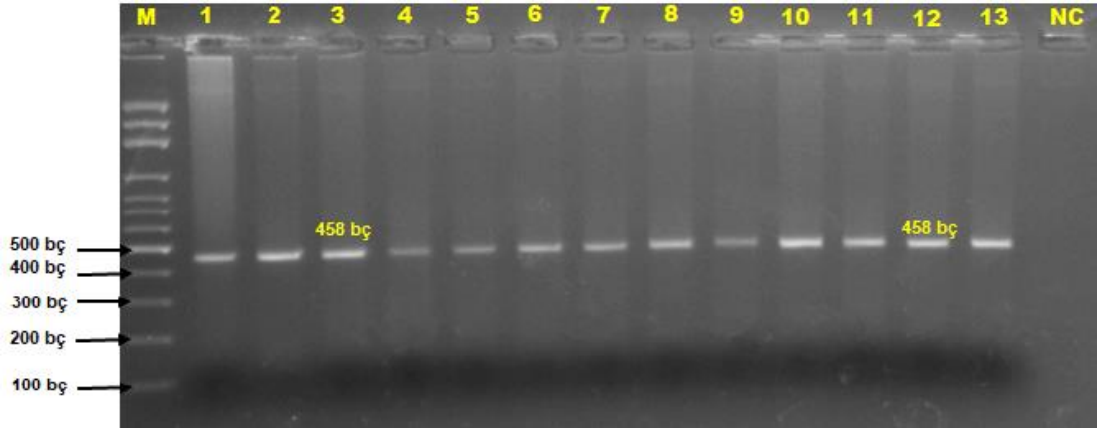
4.5. *LEP*- A80V Polimorfizmi

LEP geni 140-C/T polimorfizmini belirlemek amacıyla öncelikle PCR işlemi uygulanmıştır. PCR sonucu elde edilen 458 bç'lik ürünler agaroz jelde (%2) görüntülemeye alınmıştır. Elde edilen bazı sonuçlara ait agaroz jel görüntüsü aşağıda verilmiştir (Şekil 8). PCR'dan elde edilen son ürünlere RFLP işlemi ile *HphI* enzim kesimi işlemi uygulanmıştır. Genotiplendirme enzim kesimi işlemi ile elde edilen DNA parçalarının görüntüleri ile yapılmıştır. Enzim kesimi işlemini takiben elde edilen örneklerin agaroz jelde (%3) görüntüleri alınmıştır (Şekil 9). Jel sonuçları şu şekilde değerlendirilmiştir;

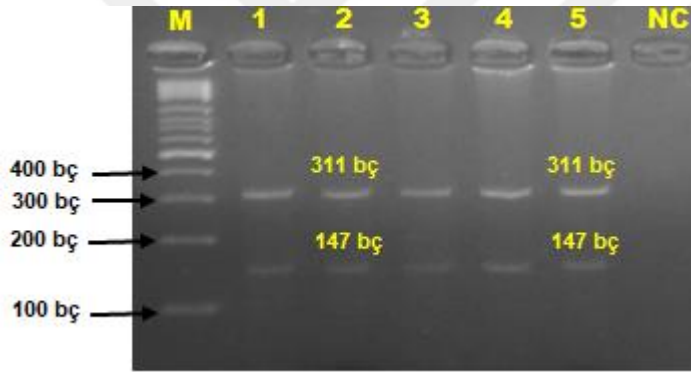
CC: 458 baz çifti büyüklüğünde 1 bant

TT: 311 baz çifti, 147 baz çifti büyüklüğünde 2 bant

CG: 458 baz çifti, 311 baz çifti, 147 baz çifti büyüklüğünde 3 bant



Şekil-8. *LEP* geni A80V polimorfizmine ait 458 baz çift'lik PCR ürününün agaroz jel (%2) görüntüsü. M: Marker, Sütun 1-7: YK sığırlara ait PCR görüntüsü, Sütun 8-13: DAK sığırlara ait PCR görüntüsü.



Şekil-9. *LEP* genine ait A80V polimorfizminin RFLP yöntemiyle *HphI* enzim kesimi işlemi sonucunda agaroz jelde (%3) elde edilen görüntü. M: Marker, Sütun 1-5 YK ve DAK ırkı bireyler TT homozigot 311 baz çifti, 147 baz çifti büyüklüğünde 2 bant olarak görüntülenmiştir.

4.6. Genotip ve Alel Frekansları

Sunulan tez çalışması kapsamında, 50 baş YK ve 50 baş DAK ırkından olmak üzere toplam 100 baş sığır *CAST*, *GHR* ve *LEP* genlerine ait üç polimorfizm için PCR-RFLP yöntemi ile genotiplendirilerek belirlenen genotipik varyasyon ırka özgü ve toplam popülasyon düzeyinde değerlendirilmiştir. Gözlenen genotip ve alel frekansları, Tablo 2 ve 4 'te sunulmuştur.

Genotiplendirme sonucunda *CAST* geni S20T polimorfizmi ve *GHR* geni S555G polimorfizmi için her üç genotipin de incelenen popülasyonda mevcut olduğu

belirlenmiştir. *LEP* geni A80V polimorfizminde ise CC ve heterozigot genotip gözlenmemiştir.

CAST geni S20T polimorfizminde, YK sığırlarda genotipik frekanslar CC, GC ve GG genotipleri için sırasıyla %56, %40 ve %4 olarak hesaplanmıştır. Yerli Kara ırkında GG genotipi taşıyan hayvan sayısı sadece 2'dir. Bu frekanslar, DAK ırkında ise CC, GC ve GG genotipleri için sırasıyla %26, %40 ve %34 olarak belirlenmiştir. Tüm popülasyondaki genotipik frekanslar göz önüne alındığında CC, GC ve GG frekansları sırasıyla %41, %40 ve %19'dur. Alelik frekanslar bakımından daha yaygın alelin YK ırkında C (0,76); DAK sığırlarda ise G (0,56) olduğu belirlenmiştir. Tüm popülasyonda ise baskın alel C (0,61) olarak belirlenmiştir.

Tablo 2. *CAST*- S20T polimorfizmine ait genotip ve alellerin frekansları.

Irk	Genotip frekansı, % *			Alel frekansı	
	CC	GC	GG	C	G
Yerli Kara	56 (28)	40 (20)	4 (2)	0,76	0,24
Doğu Anadolu Kırmızısı	26 (13)	40 (20)	34 (17)	0,44	0,56
Toplam	41 (41)	40 (40)	19 (19)	0,61	0,39

GHR geni S555G polimorfizminde, YK sığırlar için AA, AG ve GG genotiplerine ait frekanslar sırasıyla %38, %56 ve %6 olarak hesaplanmıştır. Bu ırkta GG genotipi taşıyan sadece 3 hayvan bulunmaktadır. DAK ırkında genotipik frekans dağılımının daha dengeli olduğu görülmüş ve AA, AG ve GG genotip frekanslarının sırasıyla %36, %38 ve %26 olduğu belirlenmiştir. Tüm popülasyonda ise frekanslar, AA, AG ve GG genotipleri için %37, %47, ve %32'dir. Alelik frekanslar göz önüne alındığında A alelinin hem ırka özgü değerlendirmede hem de tüm popülasyonda daha baskın olduğu görülmüştür. Bu bağlamda A alel frekansı, YK ve DAK ırkı sığırlarda sırasıyla 0,66 ve 0,55'tir. Tüm popülasyonda ise bu frekans 0,61 olarak hesaplanmıştır.

Tablo 3. *GHR* - S555G polimorfizmine ait genotip ve alellerin frekansları.

GHR

İrk	Genotip frekansı, % *			Alel frekansı	
	AA	GA	GG	A	G
Yerli Kara	38 (19)	56 (28)	6 (3)	0,66	0,34
Doğu Anadolu Kırmızısı	36 (18)	38 (19)	26 (13)	0,55	0,45
Toplam	37 (37)	47 (47)	32 (16)	0,61	0,39

LEP geni A80V polimorfizmi için tez kapsamında genotiplendirilen tüm hayvanların TT genotipini taşıdığı belirlenmiştir. Dolayısıyla incelenen popülasyonda T alelinin sabit olduğu gözlenmiştir.

Tablo 4. *LEP* – A80V polimorfizmine ait genotip ve alellerin frekansları

LEP

İrk	Genotip frekansı, % *			Alel frekansı	
	TT	CT	CC	T	C
Yerli Kara	100 (50)	0	0	100	0
Doğu Anadolu Kırmızısı	100 (50)	0	0	100	0
Toplam	100 (100)	0	0	100	0

4.7. Popülasyon Genetiği Parametreleri

Çalışmada *CAST*, *GHR* ve *LEP* gen polimorfizmlerine ait genotip ve alel frekanslarının belirlenmesini takiben veriler popülasyon genetiği açısından değerlendirilmiştir. Bu bağlamda Hardy-Weinberg dengesine uyumluluk ve H_e , H_o , N_e , PIC ve F_i parametreleri YK ve DAK ırklarına özgü ve ayrıca tüm popülasyon bakımından incelenmiştir (Tablo 5 ve 6).

Çalışmada değerlendirilen *CAST* -S20T ve *GHR* -S555G polimorfizmleri için YK ve DAK ırkı sığırlarda genotipik dağılımın HWE'ye uyumlu olduğu belirlenmiştir. Benzer şekilde tüm popülasyonda her iki polimorfizm için de HWE'ye uyum görülmüştür. Popülasyon genetiği parametrelerinin, YK sığırlarda hem *CAST* hem de *GHR* genleri için DAK ırkına göre daha düşük seviyede olduğu belirlenmiştir. Bu bağlamda *CAST* geni için Yerli Kara sığırlarda hesaplanan H_e , N_e ,

PIC, F_i parametreleri sırasıyla 0,3648, 1,5743, 0,2983 ve 0,4517'dir. Bu parametreler DAK ırkında ise 0,4928, 1,9716, 0,3714 ve 0,5941 olarak hesaplanmıştır. *GHR* geninde H_e , H_o , PIC ve F_i parametreleri YK sığırlarda sırasıyla 0,4488, 1,8142, 0,3481 ve 0,3761; DAK ırkında ise sırasıyla 0,4950, 1,9842, 0,3725 ve 0,6161 olarak hesaplanmıştır. Dolayısıyla, *GHR* S555G polimorfizmi için DAK ırkında hesaplanan popülasyon genetiği parametrelerinin YK sığırlara göre daha yüksek seviyede olduğu belirlenmiştir. Tüm popülasyon açısından değerlendirildiğinde seçilen genetik belirteçlerde kabul edilebilir düzeyde bir varyasyonun olduğu görülmüştür. Bu bağlamda *CAST* geni için H_e , H_o , PIC, F_i parametreleri sırasıyla 0,4758, 1,9077, 0,3626 ve 0,1593; *GHR* geni için ise bu parametreler 0,4758, 1,9077, 0,3626 ve 0,0121 olarak hesaplanmıştır. Araştırma kapsamındaki YK ve DAK ırkı sığırlarda *LEP* A80V polimorfizminin monomorfik olması nedeniyle popülasyon genetiği parametreleri hesaplanamamıştır.

Tablo 5. *CAST*- S20T polimorfizmine ait genotip ve alellerin frekansları ile Hardy-Weinberg dengesine uyumluluğu.

CAST

İrk	H_e	H_o	N_e	PIC	F_i	Lokus HWE testi
Yerli Kara	0,3648	0,6352	1,5743	0,2983	0,4517	$P>0.05$
Doğu Anadolu Kırmızısı	0,4928	0,5072	1,9716	0,3714	0,5941	$P>0.05$
Toplam	0,4758	0,5242	1,9077	0,3626	0,1593	$P>0.05$
<i>He: Heterozigotluk; Ho: Homozigotluk; Ne: Efektif alel sayısı; PIC: Polimorfizm bilgi içeriği; Fi: Fiksasyon indeksi; HWE: Hardy-Weinberg eşitliği</i>						

Tablo 6. *GHR*- S555G polimorfizmine ait genotip ve alellerin frekansları ile Hardy-Weinberg dengesine uyumluluğu.

GHR

İrk	H_e	H_o	N_e	PIC	F_i	Lokus HWE testi
Yerli Kara	0,4488	0,5512	1,8142	0,3481	0,3761	$P>0.05$
Doğu Anadolu Kırmızısı	0,4950	0,5050	1,9842	0,3725	0,6161	$P>0.05$
Toplam	0,4758	0,5242	1,9077	0,3626	0,0121	$P>0.05$
<i>He: Heterozigotluk; Ho: Homozigotluk; Ne: Efektif alel sayısı; PIC: Polimorfizm bilgi içeriği; Fi: Fiksasyon indeksi; HWE: Hardy-Weinberg eşitliği</i>						

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

5.1. CAST- S20T Polimorfizmi

YK ırkında yapılan bu çalışmada ekzon 39'da bulunan CAST geni S20T polimorfizminde bulunan CC, GC ve GG genotipleri sırasıyla %56, %40 ve %4 olarak tespit edilmiştir. DAK ırkında ise CC, GC ve GG genotipleri sırasıyla %26, %40 ve %34 olarak tespit edilmiştir. GG genotipi YK 'larda en düşük frekansa sahip olduğu belirlenmiş ve bu genotipi taşıyan hayvan sayısı 4 olarak tespit edilmiştir. DAK'ta ise GG genotipini taşıyan hayvan sayısı 34 olarak belirlenmiştir. YK'larda en yüksek frekansa CC genotipi sahip olurken DAK'ta en yüksek frekans %40 ile GC genotipine sahip bireyler olduğu tespit edilmiştir. Bu popülasyonda C ve G alel frekanslarının YK'da 0,76 ve 0,24 olduğu DAK'ta ise 0,44 ve 0,56 olduğu belirlenmiştir. YK'larda bu polimorfizmde homozigot hayvanlar en yüksek frekansa sahip olurken, DAK'larda heterozigot hayvanlar en yüksek frekansa sahip bulunmuşlardır. 2004 yılında yapılan bir çalışmada Holştayn, Polish Red, Angus, Şarole ırkı sığırlarda CC genotipinin en yüksek frekansta olduğu saptanmıştır (Juszczuk-Kubiak ve ark., 2004). Holştayn ırkı sığırlarda yapılan diğer bir çalışmada ise CAST- S20T polimorfizminde GG genotipinin tespit edilmediği bildirilmiştir (Yousefi, & Azari, 2012). Fakat sözü geçen bu çalışmalarda popülasyondaki birey sayısı oldukça düşük olup, genotiplendirmedeki frekans farklılığının bu nedenle meydana geldiğini düşündürmektedir. Birbirinden farklı çalışmalarda farklı sığır ırklarından oluşan popülasyonlarda yapılan çalışmalarda elde edilen sonuçlar ile yukarıda sözü geçen çalışmalar arasında birbirine benzer sonuçlar elde edilmiş ve C alel frekansı yüksek saptanmıştır. 2006 yılında Simental ırkı sığırlar üzerinde yapılan bir çalışmada tüm bunlardan farklı olarak G alel frekansı C alel frekansına oranla daha yüksek tespit edilmiştir (Schenkel ve ark., 2006). 81 adet büyük baş Simental ırkı sığırın bulunduğu bir popülasyonda yapılan çalışmada CC, GC ve GG genotip frekansları sırasıyla 0,222, 0,654 ve 0,123 olarak hesaplanmıştır (Ardıçlı, Dinçel, Şamlı, & Balcı, 2017a). Yine aynı yıl aynı araştırmacılar tarafından Holştayn ırkı 400 hayvandan oluşan popülasyonda yapılan bir çalışmada ise CC, GC ve GG genotip frekansları sırasıyla 0,312, 0,520 ve 0,167 olarak hesaplanmıştır (Ardıçlı, Şamlı, Dinçel, Soyudal, & Balcı, 2017b). Yine 296 baş Holştayn ırkı sığırlardan oluşan bir

popülasyonda yapılan araştırmada ise CC, GC ve GG genotiplerine ait frekanslar sırasıyla 0,304, 0,527 ve 0,169 olarak hesaplanmış olup, C alel frekansı 0,57, G alel frekansı ise 0,43 hesaplanmıştır (Ardıçlı ve ark., 2019) (Tablo-7). Tüm bu verilerden yola çıkılarak daha güvenilir sonuçların, ancak çalışma yapılan popülasyonlardaki birey sayısı arttığı zaman elde edilebileceği sonucuna varılmıştır.

Tablo 7. Bu tez çalışmasında tespit edilen CAST- S20T polimorfizminin genotip ve alel frekanslarının benzer çalışmalar ile karşılaştırılması.

Çalışmadaki İrklar	N	Genotip frekansları			Alel frekansları		Referans
		CC	GC	GG	C	G	
Yerli Kara	50	0,56	0,40	0,04	0,76	0,24	Bu tez çalışması
DAK	50	0,26	0,40	0,34	0,44	0,56	Bu tez çalışması
Holştayn	296	0,304	0,527	0,169	0,57	0,43	Ardıçlı ve ark., 2019
Holştayn	50	0,46	0,54	0	0,77	0,23	Yousefi ve Azari 2008
Holştayn	400	0,312	0,520	0,167	-	-	Ardıçlı ve ark., 2017b
Simental	81	0,222	0,654	0,123	-	-	Ardıçlı ve ark., 2017a
Holştayn	84	0,37	0,42	0,21	0,58	0,42	Juszczuk-Kubiak ve ark., 2004
Angus	9	0,89	0,11	-	0,93	0,07	
Hereford	8	0,50	0,50	-	0,75	0,25	
Limuzin	10	0,60	0,30	0,10	0,75	0,25	
Polish Red	7	0,57	0,14	0,29	0,64	0,36	
Simental	9	0,33	0,56	0,11	0,61	0,39	
Şarole	12	0,83	0,13	-	0,58	0,42	Schenkel ve ark., 2006
Şarole	8	-	-	-	0,69	0,31	
Limuzin	28	-	-	-	0,73	0,27	
Simental	33	-	-	-	0,36	0,64	
Angus	12	-	-	-	0,62	0,38	

5.2. *GHR*- S555G Polimorfizmi

Bu çalışmada kullanılan ırklardan YK'da *GHR* geni ekzon 10'da bulunan S555G polimorfizmi AA, GA, GG genotiplerine ait frekansları AA: 0,38, Ga:0,56 ve GG:0,06 olarak tespit edilmiştir. DAK'ta ise AA: 0,36, GA:0,38 ve GG:0,26 olarak tespit edilmiştir. Çalışmadaki YK ırkı sığırlarda GG genotipinde yalnızca 3 birey tespit edilmiştir. Buna karşılık DAK bireyler arasında 13 tanesinin GG genotipinde olduğu tespit edilmiştir. Yine YK ırkı sığırlarda 19 birey AA genotipi taşıırken DAK 'da ise bu sayı 18 olarak tespit edilmiştir. *GHR* geni S555G polimorfizmine ait A ve G alel frekansları Yerli Kara ırkında 0,66 ve 0,34 hesaplanmış olup, DAK ırkında ise 0,55 ve 0,45 olarak hesaplanmıştır. Bu sonuçlardan görüldüğü üzere YK'larda A alel frekansının hayli yüksek olduğu fakat DAK'ta A alel frekansı ile G alel frekansı arasında 0,10'luk bir fark olduğu tespit edilmiştir. Hem YK'larda hem de DAK'larda heterozigot olan GA genotipindeki bireyler homozigot bireylerden sayısal olarak üstünlük göstermiştir. Ayrshire ırkında yapılan bir çalışmada bu tez çalışması bulgularının aksine A alel frekansının daha düşük olduğu tespit edilmiştir (Viitala ve ark., 2006). Yine Piemontose ırkı sığırlarda yapılan bir çalışmada A alel frekansı G alel frekansına oranla düşük tespit edildiği bildirilmiştir (Ribeca ve ark., 2010). Piemontese ırkında gerçekleştirdikleri çalışmada ise bu çalışmadan elde edilen sonuçların aksine A alel frekansının daha düşük frekansa sahip olduğu bildirilmiştir. *GHR* geni S555G polimorfizmi frekanslarda gözlenen bu farklılıkların yetiştirme etkileri ve ırk faktöründen kaynaklanmaktadır. Yine *GHR* geni S555G polimorfizmi üzerine Şarole ve Angus ırkı sığırlarda yapılan bir çalışmada; A alel frekansı, Şarole X Angus melezlerinde ve saf Şarole ırkı bireylerde 0,65 Angus bireylerde ise 0,80 hesaplanmış olup bu çalışmada A alel frekansı yüksek bulunmuştur (Sherman ve ark., 2008). 81 adet Simental ırkı sığırın bulunduğu bir popülasyonda yapılan çalışmada AA, AG ve GG genotip frekansları sırasıyla 0,641, 0,148, ve 0,299 olarak hesaplanmıştır (Ardıçlı ve ark., 2017a). Yine aynı yıl aynı araştırmacılar tarafından Holştayn ırkı 400 hayvandan oluşan popülasyonda yapılan bir çalışmada ise AA, AG ve GG genotip frekansları sırasıyla 0,635, 0,250 ve 0,115 olarak hesaplanmıştır (Ardıçlı ve ark., 2017b). Yine 296 baş Holştayn ırkı sığırlardan oluşan bir popülasyonda yapılan araştırmada ise AA, AG ve GG genotiplerine ait frekanslar sırasıyla 0,662, 0,229 ve 0,109 olarak hesaplanmış olup, G alel frekansı 0,22, A alel

frekansı ise 0,78 hesaplanmıştır (Ardıçlı ve ark., 2019). Tablo 8’de farklı sığır popülasyonlarında yapılan *GHR-S555G* polimorfizmine ait alel frekansları verilmiştir.

Tablo 8. Bu tez çalışmasında tespit edilen *GHR-S555G* polimorfizminin genotip ve alel frekanslarının benzer çalışmalar ile karşılaştırılması.

İncelenen ırklar	N	Genotip frekansları			Alel frekansları		Referans
		AA	AG	GG	A	G	
Yerli Kara	50	0,38	0,56	0,06	0,66	0,34	Bu tez çalışması
DAK	50	0,36	0,38	0,26	0,55	0,45	Bu tez çalışması
Holştayn	296	0,662	0,229	0,109	0,78	0,22	Ardıçlı ve ark., 2019
Holştayn	315	0,92	0,07	0,01	0,95	0,05	Hradecka ve ark., 2008
Holştayn	848	0,78	0,21	0,01	-	-	Waters ve ark., 2011
Holştayn	400	0,635	0,250	0,115	-	-	Ardıçlı ve ark., 2017b
Bos taurus melezleri	130	-	-	-	0,58	0,42	Reardon ve ark., 2010
Simental	477	-	-	-	0,58	0,42	Chessa ve ark., 2015
Piemontese	1208	-	-	-	0,38	0,62	Ribeca ve ark., 2010
Simental	81	0,641	0,148	0,209	-	-	Ardıçlı ve ark., 2017a
Piemontese	213	-	-	-	0,49	0,51	Di Stasio ve ark., 2005
Şarole	464	-	-	-	0,65	0,35	Sherman ve ark., 2008
Şarole x Angus		-	-	-	0,65	0,35	
Angus		-	-	-	0,80	0,20	
Ayrshire	1528	-	-	-	0,13	0,87	Viitala ve ark., 2006

5.3. *LEP*- A80V Polimorfizmi

Yapılan bu tez çalışmasında *LEP* geni ekzon 3'te bulunan A80V polimorfizminde TT, CT, CC genotiplerine ait frekanslar incelenmiştir. Çalışma sonucunda hem YK ırkı sığırlarda hem de DAK ırkı sığırlarda TT genotipi frekansı %100 hesaplanmış olup CT ve CC genotipinde birey saptanmamıştır. *LEP* geni A80V polimorfizminde bireylerin tamamının TT genotipinde olması dikkat çekicidir. *LEP* geni A80V polimorfizmine ait T ve C alellerinin frekansları %100 ve %0 hesaplanmıştır. Çalışma yapılan YK ve DAK ırklarda T alel frekansının %100 olması ilgi çekicidir. 100 adet Nellore ırkı sığırında yapılan bir çalışmada, bu polimorfizmde T alel frekansı %85 C alel frekansı %15 hesaplanmıştır. Aynı çalışmada CC genotipine sahip birey gözlenmemiş olup TT genotipindeki bireylerin frekansı 0,70 hesaplanmıştır (Silva ve ark., 2014). Ülkemizde Güney GAK ve Boz ırkta T alel frekansı 0,89 DAK'ta ise 0,86 olarak hesaplanmıştır. CC fenotipindeki bireylerin frekansı Gak, Boz Irk ve DAK'ta sırasıyla 0,05, 0,03, 0,05 olarak hesaplanmıştır. Bu çalışmada da TT genotipindeki bireylerin sayısal üstünlüğü söz konusudur (Öztabak ve ark., 2010) Öte yandan bu tez çalışmasında elde edilen sonuçların aksine; 255 bireyin bulunduğu Holştayn ırkı sığırlarda yapılmış olan bir çalışmada TT genotipinin frekansı 0,02 hesaplanırken T alel frekansı 0,22 hesaplanmıştır (Gıblın ve ark., 2010). Aynı şekilde 255 bireyli Holştayn ırkı sığır popülasyonunda gerçekleştirilen diğer bir çalışmada da TT genotip frekansı 0,02 hesaplanırken T alel frekansı 0,22 olarak hesaplanmıştır (Yazdanı, Rahmani, Edris, & Dırandeh, 2013). 81 adet Simmental ırkı sığırın bulunduğu bir popülasyonda yapılan çalışmada CC, CT ve TT genotip frekansları sırasıyla 0,086, 0,382 ve 0,53 olarak hesaplanmıştır (Ardıçlı ve ark., 2017a). Yine aynı yıl aynı araştırmacılar tarafından Holştayn ırkı 400 hayvandan oluşan popülasyonda yapılan bir çalışmada ise CC, CT ve TT genotip frekansları sırasıyla 0,148, 0,202 ve 0,650 olarak hesaplanmıştır (Ardıçlı ve ark., 2017b). Yine 296 baş Holştayn ırkı sığırlardan oluşan bir popülasyonda yapılan araştırmada ise CC, CT ve TT genotiplerine ait frekanslar sırasıyla 0,145, 0,152 ve 0,703 olarak hesaplanmış olup, C alel frekansı 0,22, A alel frekansı ise 0,78 hesaplanmıştır (Ardıçlı ve ark., 2019). (Tablo 9) Bu polimorfizmin frekanslarında oluşan farklılıkların ırk farklılıklarının yanında yetiştirme metotları ve coğrafi bölgeden etkilendiğini düşündürmektedir.

Tablo 9. Bu tez çalışmasında tespit edilen *LEP- A80V* polimorfizminin genotip ve alel frekanslarının benzer çalışmalar ile karşılaştırılması.

İncelenen ırklar	N	Genotip frekansları			Alel frekansları		Referans
		CC	CT	TT	C	T	
Yerli Kara	50	0	0	100	0	100	Bu tez Çalışması
DAK	50	0	0	100	0	100	Bu tez Çalışması
Holştayn	400	0,148	0,202	0,650	-	-	Ardıçlı ve ark., 2017b
Holştayn	296	0,145	0,152	0,703	0,22	0,78	Ardıçlı ve ark., 2019
Holştayn	323	0,58	0,34	0,08	-	-	Liefers ve ark., 2003
Holştayn	860	-	-	-	0,76	0,24	Kulig 2005
Holştayn	845	0,49	0,44	0,07	-	-	Giblin ve ark., 2010
Holştayn	255	0,59	0,39	0,02	0,78	0,22	Yazdani ve ark., 2013
Holştayn x Şarole	169	0,22	0,59	0,19	0,53	0,47	Lagonigro ve ark., 2003
Limousin	129	0,54	0,39	0,07	-	-	Kulig ve Kmiec 2009
Simental	81	0,086	0,382	0,53	-	-	Ardıçlı ve ark., 2017a
Jersey	181	0,52	0,40	0,08	0,73	0,27	Kulig ve ark., 2010
Kore Sığırtı	434	-	-	-	0,94	0,06	Cheong ve ark., 2006
Nellore	2162	-	-	-	0,999	0,001	Da Silva ve ark., 2012
Nellore	100	0	0,30	0,70	0,15	0,85	Silva ve ark., 2014
GAK*	40	0,05	0,12	0,83	0,11	0,89	Öztabak ve ark., 2010
Boz Irk	40	0,03	0,17	0,80	0,11	0,89	
DAK*	40	0,05	0,17	0,78	0,14	0,86	

5.4. Sonuç

Genetik çeşitlilik bir ülkenin zenginliği açısından en önemli unsurlardan biridir (Çobanoğlu, & Ardıçlı, 2022). Türkiye YK, DAK, GAK, Boz Irk, Zavot, Yerli Güney Sarısı olmak üzere 6 farklı yerli ırk ile dünya sığır ırkları genetik kaynaklarına katkıda bulunur (Demir, Karslı, & Balcıoğlu, 2021). Bu ırklar arasında DAK yetiştiriciliği Erzurum ve Kars illerinde sınırlı kalmıştır (Demir ve ark., 2021). YK ırkı ise Orta Anadolu'dan köken almakta olup, ülkenin geneline yayılmıştır (Demir ve ark., 2021). Son yıllarda uygulanan ithalat politikalarının, yerli ırklar üzerinde önemli derecede olumsuz etkileri olmuştur. Yerli sığır ırklarındaki majör genlerdeki moleküler yapı ırkların hastalıklara karşı direnç ve çevre koşullarına direncinde önemli etkisi vardır. Diğer yandan Anadolu'nun yerli ırkları; evciltelen ilk sığırlar ile birincil derecede akrabalıklarının olması sebebiyle gen kaynaklarının korunması açısından önem arz etmektedir (Özşensoy, Kurar, Doğan, Bulut, & Nizamlioğlu, 2019). Özellikle çiftlik hayvanlarında fenotipik değerlendirmeye dayandırılan, tamamen verim odaklı çalışmalar verim yönünden düşük olan yerli ırkların göz ardı edilmesine sebep olmuştur. Ancak yerli ırklar genetik biyoçeşitliliğin en önemli bileşenlerindendir. Bu durum birçok ırkın dünyaya gelmesine fakat yerli gen kaynaklarının da yok olma tehlikesiyle karşı karşıya kalmasına sebep olmuştur (Çobanoğlu, & Ardıçlı, 2022). Son yıllarda pek çok konuda olduğu gibi dünyada bazı araştırma proje ve çalışmalarında yerli ırkların korunması ele alınmıştır fakat bu çalışmalar ülkemizde istikrarlı bir şekilde yürütülememiştir (Çobanoğlu, & Ardıçlı, 2022). Bu nedenle Türkiye yerli ırklarının gen kaynaklarının korunması için daha çok çalışma yapılmalıdır. Ülkemizde yerli ırklar üzerinde yapılan çalışmaların çoğunda sınırlı sayıda genetik marker kullanılmış ve çalışmalarda kullanılan popülasyonlardaki birey sayısı yetersiz olduğu gözlenmiştir (Çobanoğlu, & Ardıçlı, 2022).

YK ırkında yapılan bu çalışmada ekzon 39'da bulunan CAST geni S20T polimorfizminde bulunan CC, GC ve GG genotipleri sırasıyla %56, %40 ve %4 olarak tespit edilmiştir. DAK ırkında ise CC, GC ve GG genotipleri sırasıyla %26, %40 ve %34 olarak tespit edilmiştir. GG genotipi YK 'larda en düşük frekansa sahip olduğu belirlenmiş ve bu genotipi taşıyan hayvan sayısı 4 olarak tespit edilmiştir. DAK 'ta ise GG genotipini taşıyan hayvan sayısı 34 olarak belirlenmiştir. YK 'larda

en yüksek frekansa CC genotipi sahip olurken DAK'ta en yüksek frekans %40 ile GC genotipine sahip bireyler olduğu tespit edilmiştir. Bu popülasyonda C ve G alel frekanslarının YK'larda 0,76 ve 0,24 olduğu DAK'ta ise 0,44 ve 0,56 olduğu belirlenmiştir. YK'larda bu polimorfizmde homozigot hayvanlar en yüksek frekansa sahip olurken, DAK'larda heterozigot hayvanlar en yüksek frekansa sahip bulunmuşlardır.

Bu çalışmada Yerli Kara ırkında *GHR* geni ekzon 10'da bulunan S555G polimorfizmi AA, GA, GG genotiplerine ait frekansları AA: 0,38, GA:0,56 ve GG:0,06 olarak tespit edilmiştir. DAK'larda ise AA: 0,36, GA:0,38 ve GG:0,26 olarak tespit edilmiştir. Çalışmadaki YK ırkı sığırlarda GG genotipinde yalnızca 3 birey tespit edilmiştir. Buna karşılık DAK bireyler arasında 13 tanesinin GG genotipinde olduğu tespit edilmiştir. Yine YK ırkı sığırlarda 19 birey AA genotipi taşıırken DAK 'ında ise bu sayı 18 olarak tespit edilmiştir. *GHR* geni S555G polimorfizmine ait A ve G alel frekansları YK ırkında 0,66 ve 0,34 hesaplanmış olup, DAK ırkında ise 0,55 ve 0,45 olarak hesaplanmıştır. Bu sonuçlardan görüldüğü üzere YK'larda A alel frekansının hayli yüksek olduğu fakat DAK'larda A alel frekansı ile G alel frekansı arasında 0,10'luk bir fark olduğu tespit edilmiştir. Hem YK'larda hem de DAK'larda heterozigotluk olan GA genotipindeki bireyler homozigot bireylerden sayısal olarak üstünlük göstermiştir.

Yapılan bu tez çalışmasında *LEP* geni ekzon 3'te bulunan A80V polimorfizminde TT, CT, CC genotiplerine ait frekanslar incelenmiştir. Çalışma sonucunda hem YK ırkı sığırlarda hem de Doğu Anadolu Kırmızısı ırkı sığırlarda TT genotipi frekansı %100 hesaplanmış olup CT ve CC genotipinde birey saptanmamıştır. *LEP* geni A80V polimorfizminde bireylerin tamamının TT genotipinde olması dikkat çekicidir. *LEP* geni A80V polimorfizmine ait T ve C alellerinin frekansları %100 ve %0 hesaplanmıştır. Çalışma yapılan YK ve DAK ırklarda T alel frekansının %100 olması ilgi çekicidir.

YK ve DAK ırkı yerli sığırlarda gerçekleştirilen bu çalışmada *CAST*, *LEP* ve *GHR* gen polimorfizmlerine ilişkin özgün verilere ulaşılmış ve seleksiyon amaçlı kullanım için önemli verilere ulaşılmıştır. Son günlerde moleküler yardımcı seleksiyon giderek önem kazanmakta fakat ülkemiz bunun gerisinde kalmaktadır.

Kırmızı et açığını kapatmak amacı ile ithalata bağımlı kalınmaktadır. Ülkemizdeki gerek küçükbaş gerekse büyük baş hayvan yetiştiriciliğinde hayvan sayısında artış olduğu gözlenirse de hayvancılık sektöründeki uygulama hataları sebebiyle arz - talep arasında dengesizlikler oluşmaktadır. Günümüzde moleküler düzeyde yapılan çalışmalar ile sürülerdeki bireylerin genotipik yapılarının belirlenmesi et ve süt verimi gibi önemli verim parametrelerinde bu çalışmaların önemini ortaya çıkarmıştır. Bu nedenle ülkemizde hastalıklara karşı dirençlilik, çevre koşullarına dayanıklılık açısından değerlendirildiğinde ve ayrıca gen kaynaklarının korunması açısından ele alındığında bu çalışmada kullanılan YK ve DAK ırkı büyük önem taşımaktadır. Ayrıca ülkemizde yürütülecek olan moleküler genetik temelli bilimsel projelerin desteklenmesi ve elde edilecek olan genotipik veri setlerinin yetiştirme ve ıslah programlarına entegre edilmesi gerekmektedir.

Yapılan bu tez çalışmasında; ülkemiz gen kaynakları içerisinde önemli yeri olan YK ve DAK ırkı sığırlarda *CAST*, *LEP* ve *GHR* gen polimorfizm frekanslarının belirlenmesi ile gelecekte ortaya çıkabilecek adaptasyon yeteneği yüksek ırklarda durum tespiti ve iklim değişimlerine uyumlu ırklara bazında kullanım olanakları değerlendirilmiştir. Pandemi sonrasında ortaya çıkan gıda arzlarının yerli ırklara yönelimi; organik üretimde önemli yere sahip bu ırklarda bundan sonra yapılacak araştırmalara ışık tutacağı düşünülmektedir.

6. KAYNAKLAR

2021 Yılı hayvancılık Sektör Raporu. (2022, 8 Eylül) ErişimAdresi: <https://www.tigem.gov.tr>

Adams, T.E., Baker, L., Fiddes, R.J., & Brandon, M.R. (1990) The sheep growth hormone receptor: molecular cloning and ontogeny of mRNA expression in the liver. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 73 (2): 135-145.

Akbulut, Ö., Yanar, M., Tüzemen, N., & Bayram, B. (2004) Türkiye’de et üretiminin artırılması için kültür ırkı sığırlardan yararlanma imkanları. IV. Ulusal Zootekni Bilim Kongresi, Isparta, s: 16-21.

Akış Akad, I., Mengi, A., Öztabak, K.Ö. (2012) A determinatio of growth hormone receptor gene polymorphisms in East Anatolian Red cattle, South Anatolian Red cattle and Turkish Grey cattle. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Scienses*, 2012;36(1): 27-33

Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., Walter, P. (2002) *Molecular Biology of the Cell*, 4th edition, *Garland Science*, New York, page 191-235

Allais, S., Journaux, L., Levezuel, H., Payet-Duprat, N., Raynaud, P., Hocquette, J.D.F., ... Renand, G. (2011) Effects of polymorphisms in the calpastatin and mu-calpain genes on meat tenderness in 3 French beef breeds. *Journal of animal science*, 89(1):1-11.

Alpan, O., & Aksoy, A.R. (2009) *Sığır Yetiştiriciliği ve Besiciliği*. Erzurum: Zafer Ofset Matbaacılık.

Ardıçlı, S., Dinçel, D., Şamlı, H., & Balcı, F. (2017) Effects of polymorphisms at LEP, CAST, CAPN1, GHR, FABP4 and DGAT1 genes on fattening performance and carcass traits in Simmental bulls. *Archives Animal Breeding*, 60, 61–70.

Ardıçlı, S., Şamlı, H., Dinçel, D., Soyudal, B., & Balcı, F. (2017) Individual and combined effects of CAPN1, CAST, LEP and GHR gene polymorphisms on carcass characteristics and meat quality in Holstein bulls. *Archives Animal Breeding*, 60, 303–313.

Ardıçlı, S., Samlı, H., Vatansever, B., Soyudal, B., Dinçel, D., & Balcı, F. (2019) Comprehensive assessment of candidate genes associated with fattening performance in Holstein–Friesian bulls. *Archives Animal Breeding*, 62, 9–32.

Arı, Ş., & Temizkan, G., Arda, N. (Ed.). (2008) DNA'nın polimeraz zincir reaksiyonu ile uzatılması. *Moleküler biyolojide kullanılan yöntemler*. İstanbul: Nobel Matbaacılık, s: 101-120

Avanus, K. (2015) Genetic Variability of CAST Gene in Native Sheep Breeds of Turkey. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 21 (6): 789-794

Bal, O., Akyüz, B. (2014) Halk elinde yetiştirilen Holştayn, Doğu Anadolu Kırmızısı ve Yerli Kara sığır ırklarında Diacylglycerol O-Acyltransferanse 1(DGAT1) Gen Polimorfizminin PCR-RFLP yöntemi ile belirlenmesi. *Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 11(1), 7-13

Barendse, W.J., (2009) Using presence of calpastatin (CAST) alleles to evaluate softness and quality of beef; animal husbandry. Patent application No: US 10/467.665, *The United States of America as represented by the Secretary of Agriculture, Publication*, No: US7625698 B2.

Barendse, W., Harrison, B.E., Hawken, R.J., Ferguson, D.M., Thompson, J.M., Thomas, M.B., Bunch, R.J. (2007) Epistasis between calpain 1 and its inhibitor calpastatin within breeds of cattle. *Genetics*, 176 (4): 2601-2610.

Batu, S. (1962) *Türkiye Sığır Irkları ve Sığır Yetiştirme Bilgisi*. Ankara: Ankara Üniv. Vet. Fak. Yay: 41. Ankara Üniv. Basımevi.

Beckmann, J.S., & Soller, M. (1983) Restriction fragment length polymorphisms in genetic improvement: methodologies, mapping and costs. *Theoretical and Applied Genetics*, 67: 35-43

Bej, A.K., Mahbubani, M.H., Atlas, R.M., & Salkl, R.K. (1991) Amplification of nucleic acids by polymerase chain reaction (PCR) and other methods and their applications. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*, 26 (3-4): 301-334.

Betts. R., & Anagli. J. (2004) The β -and γ -CH₂ of B27-WT's Leu11 and Ile18 side chains play a direct role in calpain inhibition. *Biochemistry*, 43 (9): 2596-2604.

Blair, J.C., & Savage, M.O. (2002) The GH-IGF-I axis in children with idiopathic short stature. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 13 (8): 325-330.

Bovine Genome Project. (2022, October 8). Erişim adresi: <https://www.hgsc.bcm.edu/other-mammals/bovine-genome-project>

Buchanan, F.C., Fitzsimons, C.J., Van Kessel, A.G., Thue, T.D., Winkelman-Sim, D.C., & Schmutz SM. (2002) Association of a missense mutation in the bovine leptin

gene with carcass fat content and leptin mRNA levels. *Genetics Selection Evolution*, 34 (1): 105-116.

Carlson, E.A. (1987) *The gene: A critical history*. 2. Edition Philadelphia: Saunders.

Casas, E., White., S.N., Wheeler, T.L., Shackelford, S.D., Koohmaraie, M., & Riley, D.G. (2006) Effects of calpastatin and micro-calpain markers in beef cattle on tenderness traits. *Journal of Animal Science*, 84 (3): 520-525.

CAST genine ait bilgiler. (2022, 8 Eylül) Erişim adresi: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/281039>

Cheong HS, Yoon D, Kim LH, Park BL, Chung ER, Lee HJ...& Shin HD. (2006) Leptin polymorphisms associated with carcass traits of meat in Korean cattle. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 19 (11): 1529-1535.

Chessa, S., Nicolazzi, E.L., Nicoloso, L., Negrini, R., Marino, R., Vicario... Stefanon B. (2015) Analysis of candidate SNPs affecting milk and functional traits in the dual-purpose Italian Simmental cattle. *Livestock Science*, 173: 1-8.

Clempson, A.M., Pollott, G.E., Brickell, J.S., Bourne, N.E., Munce, N., Wathes, D.C. (2011) Evidence that leptin genotype is associated with fertility, growth, and milk production in Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 94 (7): 3618-3628.

Çobanoğlu, Ö., & Ardiçlı, S. (2022) Genetic variation at the *OLR1*, *ANXA9*, *MYF5*, *LTF*, *IGF1*, *LGB*, *CSN3*, *PIT1*, *MBL1*, *CACNA2D1*, and *ABCG2* loci in Turkish Grey Steppe, Anatolian Black, and East Anatolian Red cattle. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 46:494-504.

Da Silva, R., Ferraz, J., Meirelles, F., Eler, J., Balieiro, J., Cucco, ... Silva, S.L. (2012) Association of single nucleotide polymorphisms in the bovine leptin and leptin receptor genes with growth and ultrasound carcass traits in Nellore cattle. *Genetics and Molecular Research*, 11 (4): 3721-3728.

Demir, E., Karşlı, T., & Balcıoğlu, M.S. (2021) A comprehensive review on genetic diversity and phylogenetic relationships among native Turkish cattle breeds based on microsatellite markers. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Science*, 45 (1): 1-10

Deutsch, M., Long, M. (1999) Intron-exon structures of eukaryotic model organisms. *Nucleic Acids Research*, 27 (15): 3219-3928

Devuyst, E., Bauer, M., Cheng, F.C., Mitchell, J., & Larson, D. (2008) The impact of a leptin gene SNP on beef calf weaning weights. *Animal Genetics*, 39 (3): 284-286.

Di Stasio, L., Destefanis, G., Brugiapaglia, A., Albera, A., Rolando, A. (2005) Polymorphism of the GHR gene in cattle and relationships with meat production and quality. *Animal Genetics*, 36 (2): 138-140, 2005.

Doran, A.G., Berry, D.P., & Creevey, C.J. (2014) Whole genome association study identifies regions of the bovine genome and biological pathways involved in carcass trait performance in Holstein-Friesian cattle. *BMC genomics*, 15 :837.

Dybus, A., Grzesiak, W., Szatkowska, I., & Błaszczuk, P. (2004) Association between the growth hormone combined genotypes and dairy traits in Polish Black-and-White cows. *Animal Science Paper and Reports*, 22(2): 185-94.

Edwards, M.D., & Sayfa, N.J. (1994) Evaluation of marker assisted selection through computer simulation. *Theoretical and Applied Genetics*, 88: 376-382.

Ellegren, H., Moore, S., Robinson, N., Byrne, K., Ward, W., & Sheldon, B.C. (1997) Microsatellite evolution-a reciprocal study of repeat lengths at homologous loci in cattle and sheep. *Molecular Biology and Evolution*, 14(8): 854-860.

Ekmekçi, A. (2014) *Tıbbi biyoloji ve genetik*, 1. baskı, Ankara: Gazi Kitabevi, s 138-153

Ertuğrul, O. (1993) Ceylanpınar Tarım İşletmesinde yetiştirilen G.A.K sığırlarında bazı verim özellikleri, *Lalahan Hayvancılık Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 33 (1-2):1-12.

Filiz, E., Koç, İ. (2011) Bitki biyoteknolojisinde moleküler markerler. *GOÜ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 28(2): 207-214

Friedman, J.M., Halaas, J.L. (1998) Leptin and the regulation of body weight in mammals. *Nature*, 395: 763-770, 1998.

Fries, R., & Ruvinsky, A. (2004). The Genetics of Cattle, 577-603, *Cabi publishing*.

Garrett, A., Rincon, G., Medrano, J., Elzo, M., Silver, G., & Thomas, M. (2008) Promoter region of the bovine growth hormone receptor gene: single nucleotide polymorphism discovery in cattle and association with performance in Brangus bulls. *Journal of Animal Science*, 86 (12): 3315-3323.

Ge, W., Davis, M., Hines, H., & Irvin K. (2000) Rapid communication: single nucleotide polymorphisms detected in exon 10 of the bovine growth hormone receptor gene. *Journal of Animal Science*, 78 (8): 2229-2230.

Ge, W., Davis, M., Hines, H., Irvin, K., & Simmen, R. (2003) Association of single nucleotide polymorphisms in the growth hormone and growth hormone receptor genes with blood serum insulin-like growth factor I concentration and growth traits in Angus cattle. *Journal of Animal Science*, 81 (3): 641-648.

Georges, M., Nielsen, D., Mackinnon, M., Mishra, A., Okimoto, R., Pasquino, A.T., ... Hoeschele, I. (1995) Mapping Quantitative Trait Loci Controlling Milk Production in Dairy Cattle by Exploiting Progeny Testing. *Genetics*, 139: 907-920.

GHR genine ait bilgiler. (2022, 8 Eylül) Erişim adresi: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/280805>

Giblin, L., Butler, S.T., Kearney, B.M., Waters, S.M., Callanan, M.J., & Berry, D.P. (2010) Association of bovine leptin polymorphisms with energy output and energy storage traits in progeny tested Holstein-Friesian dairy cattle sires. *Biomed Central Genetics*, 11 (1): 73-82.

Gill, J.L., Bihop, S., Mccorquodale, C., Williams J.L., Wiener P.(2008) : Association of selected SNP with carcass and taste panel assessed meat quality traits in a commercial population of Aberdeen Angus-sired beef cattle, *Genetics Selection Evolution*, 41:36.

Goll, D.E., Thompson, V.F., Taylor, R., & Christiansen, J. (1992) Role of the calpain system in muscle growth. *Biochimie*, 74 (3): 225-237, 1992.

Gürses, M., & Bayraktar, M. (2014) Moleküler markerlerin hayvan yetiştiriciliği ve genetiğinde kullanımı. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Veteriner Dergisi*, 28(2): 99-106.

Haak, W., Balanovski, O., Sanchez, Jj., Koshel, S., Zaparozhchenko, V., Adler, Cj., ... Alt, Kw, Cooper, A.; MEMBERS OF THE GENOGRAPHIC CONSORTIUM (2010): Ancient DNA from European early neolithic farmers reveals their near eastern affinities. *PLoS Biol*, 9: 8(11): e1000536.

Haegeman, A., Van Zeveren, A., & Peelman, L. (2000) New mutation in exon 2 of the bovine leptin gene. *Animal Genetics*, 31 (1): 79-84.

Hradecká, E., Citek, J., Panicke, L., Rehout, V., Hanusová, L. (2008) The relation of GH1, GHR and DGAT1 polymorphisms with estimated breeding values for milk

production traits of German Holstein sires. *Czech Journal of Animal Science*, 53 (6): 238-245.

Ji. S., Willis. G.M., Scott, R.R., & Spurlock, M.E. (1998) Partial cloning and expression of the bovine leptin gene. *Animal Biotechnology*, 9 (1): 1-14.

Jiang, H., & Lucy, M.C. (2001) Variants of the 5'-untranslated region of the bovine growth hormone receptor mRNA: isolation, expression and effects on translational efficiency. *Gene*, 265 (1): 45-53.

Juszczuk-Kublak, E., Rosochacki, S.J., Wicińska, K., Szreder, T.S., & Sakowski, T.(2004) A novel RFLP/AluI polymorphism of the bovine calpastatin (CAST) gene and its association with selected traits of beef. *Animal Science Papers and Reports*, 22 (2): 195-204.

Kan, A., Direk, M., (2006) Konya ili merkez ilçelerindeki sığır besiciliğine yer veren tarım işletmelerinin ekonomik analizi. *Ziraat Fakültesi Dergisi*, 20(40): 43-52.

Kappes, S.M., Keele, J.W., Stone R.T., McGraw, R.A., Sonstegard, T.S., Smith TP, ... Beattie CW. (1997) A second-generation linkage map of the bovine genome. *Genome Research*, 7 (3): 235-249.

Konfortov, B.A., Licence, V.E., & Miller JR. (1999) Re-sequencing of DNA from a diverse panel of cattle reveals a high level of polymorphism in both intron and exon. *Mammalian Genome*, 10 (12): 1142-1145.

Koohmaraie, M. (1996) Biochemical factors regulating the toughening and tenderization processes of meat. *Meat Science*, 43: 193-201, 1996.

Kopchick, J.J., & Andry, J.M. (2000) Growth hormone (GH), GH receptor, and signal transduction. *Molecular Genetics and Metabolism*, 71 (1): 293-314.

Kulig, H. (2005) Association between leptin combined genotypes and milk performance traits of Polish Black-and-White cows. *Archiv Fur Tierzucht*, 48 (6): 547-554.

Kulig, H., Kmiec, M. (2009) Association between leptin gene polymorphisms and growth traits in Limousin cattle. *Russian Journal of Genetics*, 45 (6): 738-741.

Kulig, H., Kmiec, M., Wojdak-Maksymiec, K. (2010) Associations between leptin gene polymorphisms and somatic cell count in milk of Jersey cows. *Acta Veterinaria Brno*, 79 (2): 237-242.

Kwork, P.Y., Chen, X. (2003) Detection of single nucleotide polymorphisms. *Current Issues in Molecular Biology*, 5:43-60,

Lagonigro, R., Wiener, P., Pilla, F., Woolliams, J., & Williams, J. (2003) A new mutation in the coding region of the bovine leptin gene associated with feed intake. *Animal Genetics*, 34 (5): 371-374

Lander, E.S., Linton, L.M., Birren, B. (2001) Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature*, 409: 860-921

LEP genine ait bilgiler. (2022, 8 Eylül) Erişim adresi: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/280836>

Li, X., Ekerljung, M., Lundstrom, K., Lunden, A. (2013) Association of polymorphisms at DGAT1, leptin, SCD1, CAPN1 and CAST genes with color, marbling and water holding capacity in meat from beef cattle populations in Sweden. *Meat Science*, 94 (2):153-158

Liefers, S.C., Te, Pas, M.F, Veerkamp, R.F., Chilliard, Y., Delavaud, C., Gerritsen, R., & Van, Der, Lende, T. (2003) Association of leptin gene polymorphisms with serum leptin concentration in dairy cows. *Mammalian Genome*, 14 (9): 657-663.

Litwinczuk, Z., & Krol, J. (2002) Polymorphism of main milk proteins in beef cattle maintained in East-Central Poland. *Animal Science Papers and Reports*, 20(Suppl 1): 33- 40.

Loftus, RT., Ertugrul, O., Harba, A.H., El-Barody, M.A.A., Machugh, D.E., Park, S.D.E., Bradley, D.G. (1999) : A microsatellite survey of cattle from a centre of origin the Near East. *Molecular Ecology*, 8(12): 2015-2022.

Lucy, M., Johnsson, G., Shibuya, H., Boyd, C., Herring, W., Werin, M. (1998) Rapid communication: polymorphic (GT) n microsatellite in the bovine somatotropin receptor gene promoter. *Journal of Animal Science*, 76: 2209-2210.

Madeja, Z., Adamowicz, T., Chmurzynska, A., Jankowski, T., Melonek, J., Switonski, M., & Strabel, T. (2004) Short communication: effect of leptin gene polymorphisms on breeding value for milk production traits. *Journal of Dairy Science*, 87 (11): 3925-3927.

Madsen, K., Friberg, U., Roos, P., Edén, S., & Isaksson, O. (1983) Growth hormone stimulates the proliferation of cultured chondrocytes from rabbit ear and rat rib growth cartilage. *Nature*, 304 (5926): 545-547.

- Meuwissen, T.H.E., & Goddard, M.E. (1996) The use of marker haplotypes in animal breeding schemes. *Genetic Selection Evolution*, 28: 161-176,
- Moody, D., Pomp, D., Barendse, W., & Womack, J. (1995) Assignment of the growth hormone receptor gene to bovine chromosome 20 using linkage analysis and somatic cell mapping. *Animal Genetics*, 26 (5): 341-343.
- Mullen, P.A., Hopes, R., & Sewell, J. (1979) The biochemistry, haematology, nutrition and racing performance of two-year-old thoroughbreds throughout their training and racing season. *Veterinary Record*, 104: 90-5.
- Mullis, K.B. (1990) The unusual origin of the polymerase chain reaction. *Scientific American*, 262:56-65
- Nelson, D.L., & Cox M.M., (2000) (Eds) (Third Ed.) *Lehninger Principles of Biochemistry*. NY: Worth Publishers.
- Ouali, A., & Talmant, A. (1990) Calpains and calpastatin distribution in bovine, porcine and ovine skeletal muscles. *Meat Science*, 28 (4): 331-348.
- Özbeyaz, C., Yıldız, M.A., Çamdeviren, H. (1999) Türkiye’de yetiştirilen çeşitli sığır ırkları arasındaki genetik ilişkiler. *Lalahan Hayvancılık Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 39(1)17-32
- Özdemir, M., & Doğru, Ü. (2008) Sığırların Verim Özellikleri Üzerine Etkili Önemli Moleküler İşaretleyiciler. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 39(1): 127-135
- Özşensoy, Y., Kurar, E., Doğan, M., Bulut, Z., & Nizamlioğlu, M. (2019) Phylogenetic relationships of native Turkish cattle breeds using microsatellite markers. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*. 43 (1): 23-29.
- Öztabak, K., Toker, N.Y., Ün, C., Akış, I., Mengi, A., Karadağ, & O., Soysal, D. (2010) Leptin gene polymorphisms in native Turkish cattle breeds. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 16 (6): 921-924.
- Patterson, D. (1987) The causes of Down Syndrome. *Scientific American*, 257:52-61
- Pereira, F., Pereira, L., Van Asch, B., Bradley, DG., Amorim, A. (2005): The mtDNA catalogue of all Portuguese autochthonous goat (*Capra hircus*) breeds: high diversity of female lineages at the western fringe of European distribution. *Molecular Ecology*, 14: 2313–2318.
- Powell R, & Gannon F. (2002) Purification of DNA by phenol extraction and ethanol precipitation, volume 180, *Oxford University Press, United Kingdom*, page 52-63.

Rasmussen, H.B. & Magdeldin, S. (Ed.). (2012) Restriction Fragment Length Polymorphism Analysis of PCR-Amplified Fragments (PCR-RFLP) and Gel Electrophoresis - Valuable Tool for Genotyping and Genetic Fingerprinting. *Gel Electrophoresis - Principles and Basics*, (1. Edition) Intech, (pp: 315-334)

Reardon, W., Mullen, A., Sweeney, T., & Hamill R. (2010) Association of polymorphisms in candidate genes with colour, water-holding capacity, and composition traits in bovine *M. longissimus* and *M. semimembranosus*. *Meat Science*, 86 (2): 270-275.

Reis, C., Navas, D., Pereira, M., & Cravador, A. (2001) Growth hormone *AluI* polymorphism analysis in eight Portuguese bovine breeds. *Archivos de Zootecnia*, 50: 41-8.

Ribeca, C., Bittante, G., Albera, A., Bonfatti, V., Maretto, & F., Gallo, L. (2010) Investigation on variability of candidate genes for meat quality traits in Piemontese cattle. *Italian Journal of Animal Science*, 8 (2):132-134.

Ruddle, F.H., & Kucherlapati, R.S. (1974) Hybrid cells and human genes. *Scientific American*, 231: 36-49

Schenkel, F., Miller, S., Jiang, Z., Mandell, I., Ye, X., Li, H., & Wilton, J.W. (2006) Association of a single nucleotide polymorphism in the calpastatin gene with carcass and meat quality traits of beef cattle. *Journal of Animal Science*, 84 (2): 291-299.

Schork, N.J., Fallin, D. (2000) Lanchbury Single nucleotide polymorphisms and the future of genetic epidemiology. *Clinical Genetics*, 58: 250-264

Sellier, P. (1994) The Future Role of Molecular Genetics in the Control of Meat Production and Meat Quality. *Meat Science* 36: 29-44.

Sherman, E., Nkrumah, J., Murdoch, B., Li, C., Wang, Z., Fu, A., & Moore, S.S. (2008) Polymorphisms and haplotypes in the bovine neuropeptide Y, growth hormone receptor, ghrelin, insulin-like growth factor 2, and uncoupling proteins 2 and 3 genes and their associations with measures of growth, performance, feed efficiency, and carcass merit in beef cattle. *Journal of Animal Science*, 86 (1): 1-16.

Silva, D., Crispim, B., Silva, L., Oliveira, J., Siqueira, & F., Seno, L. (2014) Genetic variations in the leptin gene associated with growth and carcass traits in Nellore cattle. *Genetics and Molecular Research*, 13 (2): 3002-3012.

Smith, H.O., Welcox, K.W. (1970) A restriction enzyme from *Hemophilus influenzae*: I.Purification and general properties. *Journal of Molecular Biology*, 51(2): 379-391

Smith, T.P., & Casas E. (2007) Single nucleotide polymorphism markers in the bovine CAPN1 gene to identify meat tenderness. Patent application No: US 10/739.904, *The United States of America as represented by the Secretary of Agriculture*, Publication No: US7238479 B2.

Sørensen, M., Chaudhuri, S., Louveau, I., Coleman, M., & Etherton, T. (1992) Growth hormone binding proteins in pig adipose tissue: number, size and effects of pGH treatment on pGH and bGH binding. *Domestic Animal Endocrinology*, 9 (1): 13-24.

Stern, H., & Hota, Y. (1973) Biochemical controls in meiosis. *Annual Review of Genetics*, 7:37-66

Switonski, M. (2002) Molecular genetics in beef cattle breeding—a review. *Animal Science Papers and Reports*, 20 (1): 7-18,.

Şekerden, Ö., Doğrul, F., & Erdem, H. (1999) Türkiye’de Simental ineklerde kan ve süt protein polimorfizmi ve bunların muhtelif verim özelliklerine etkileri. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, 23: 87-93.

Tambasco, D.D., Paz, C.C.P., Tambasco-Studart, M.D., Pereira, A.P., Alencar, M.M., Freitas, A.R., ... Regitano, L.C.A. (2003) Candidate genes for growth traits in beef cattle crosses Bos taurus x Bos indicus. *Journal of Anim Breeding Genetics*, 120: 51-6.

Tartaglia, L.A., Dembski, M., Weng, X., Deng, N., Culpepper, J., Devos, R., ... Deeds, J. (1995) Identification and expression cloning of leptin receptor OB-R. *Cell*, 83, 1263-1271.

Temizkan, G., Arda, N. (2021) DNA'nın izolasyonu analizi. *Moleküler biyolojide kullanılan yöntemler*. (2. Baskı) içinde (s. 30-80) İstanbul Nobel Matbaacılık

Tian, J., Zhao, Z., Zhang, L., Zhang, Q., Yu, Z., Li, J., & Yang, R. (2013) Association of the leptin gene E2-169 T>C and E3-299 T>A mutations with carcass and meat quality traits of the Chinese Simmental-cross steers. *Gene*, 518 (2): 443-448.

Tixier-Boichard M. (2002) From phenotype to genotype: major genes in chickens. *World's Poultry Science Journal*, 58 (1): 65-75.

TÜİK (Türkiye İstatistik Kurumu). 2021

- Unanian, M.M., Barreto, C.C., Cordeiro, C.M.T., Freitas, A.R., & Josahkian, L.A. (2002) Possible associations between bovine growth hormone gene polymorphism and reproductive traits. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 45(3): 293-9.
- Ün, C., Wimmers, K., Ponsuksılı, S., Schmoll, F., Schellander, K. (2000) Mikrosatellitler ve Kullanım Alanları. *Hayvansal Üretim*, 41: 9-14
- Ünlü, S., & Sağlar, E. (2012) Tek hücre jel elektroforezi yöntemi için alternatif güvenli boyalar. *Cumhuriyet Tıp Dergisi*. 34: 393-398.
- Viitala, S., Szyda, J., Blott, S., Schulman, N., Lidauer, M., Mäki-Tanila, A., ... Vilkki, J. (2006) The role of the bovine growth hormone receptor and prolactin receptor genes in milk, fat and protein production in Finnish Ayrshire dairy cattle. *Genetics*, 173 (4): 2151-2164.
- Wang, D.G., Fan, J.B., Siao, C.J., Berno, A., Young, P., Sapolsky, R., ... & Lander, E.S. (1998) Large-scale identification, mapping, and genotyping of single-nucleotide polymorphisms in the human genome. *Science*. 280(5366): 1077–1082
- 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): 39-49.
- Watson, J.D. (1968) The double helix. New York: Athenum.
- Watson J. D., & Crick F. H. C. (1953) Molecular Structure of Nucleic Acids: A Structure for Deoxyribose Nucleic Acid. *Nature*, 171, 737–738.
- Westermeyer R. (2005) Chapter I: Electrophoresis. *Electrophoresis in Practice: A Guide to Methods and Application of DNA and Protein Separations*, Wiley-VCH, s: 9-24
- Williams J.L. (2005) The use of marker-assisted selection in animal breeding and biotechnology. *Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics)*, 24 (1): 379-391.
- Wojcik, J., & Postel-Vinay, M. (1999) Signal transduction of the growth hormone (GH) receptor, and GH-binding protein. *Growth Hormone & IGF Research*, 9: 51-55.
- Yazdani, H., Rahmani, H., Edris, M., Dirandeh, E. (2013) Association between A59V polymorphism in exon 3 of leptin gene and reproduction traits in cows of Iranian Holstein. *African Journal of Biotechnology*, 9 (36): 5997-6000.

Yousefi, S., & Azari, M.A. (2012) Study of Calpastatin Gene Polymorphism in Holstein Cattle and Buffalo. *Animal Sciences and Biotechnologies*, 45 (1): 285-288.

Zakour, R.A., & Loeb, L.A., (1982) Site-specific mutagenesis by error-directed DNA synthesis. *Nature*. 295: 708-710

Zeder, MA. (2008) Domestication and early agriculture in the Mediterranean Basin: Origins, diffusion, and impact. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, Aug 19; 105 (33): 11597-11604.

Zhang, Y., Proenca, R., Maffei, M., Barone, M., Leopold, L., & Friedman JM. (1994) Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature*, 372 (6505): 425-432.



7. SİMGELER VE KISALTMALAR

A	: Adenin
ATP	: Adenozin trifosfat
Bç	: Baz çifti
C	: Sitozin
CAST	: Calpastatin
cm	: Santimetre
CO ₂	: Karbondioksit
DAK	: Doğu Anadolu Kırmızısı
dH ₂ O	: Distile su
dk	: Dakika
DNA	: Deoksiribonükleik asit
dNTP	: Deoksi Nükleotit Trifosfat
EtBr	: Etidyum Bromür
F primer	: Forward primer
G	: Guanin
g	: Gram
GAK	: Güney Anadolu Kırmızısı
GH	: Büyüme hormonu (Growth hormone)
GHR	: Büyüme hormonu reseptörü (Growth hormone receptor)
GHRH	: Büyüme hormonu salgılatıcı hormon (Growth hormone releasing hormone)
HWE	: Hardy-Weinberg dengesi (Hardy-Weinberg equilibrium)
kg	: Kilogram
kPa	: Kilopascal
LEP	: Leptin
MAS	: Markır yardımcı seleksiyon (Marker Assisted Selection)
MgCl ₂	: Magnezyum Klorür
ml	: Mililitre
mM	: Mikromolar
NaCl	: Sodyum Klorür
ng	: Nanogram
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Polymerase chain reaction)
pmol	: Pikomol
QTL	: Kantitatif özellik lokusları (Quantitative trait loci)
R primer	: Reverse primer
RFLP	: Restriksiyon Fragment Uzunluk Polimorfizmi (Restriction fragment length polymorphism)
SDS	: Sodyum Dodesil Sülfat
sn	: Saniye
SNP	: Tek nükleotid polimorfizmi (Single nucleotide polymorphism)
T	: Timin
TE	: Tris EDTA
YK	: Yerli Kara
µl	: Mikrolitre

8. TEŞEKKÜR

Doktora eğitimime devam etmemi sağlayan, bilgi ve deneyimlerini paylaşmaktan kaçınmayan ve her konuda yardım ve desteklerini esirgemeyen danışman hocam sayın Zootehni Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Hakan ÜSTÜNER'e, doktora eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerini esirgemeyen, tez konumun seçimi ve yürütülmesinde yol gösteren ve destekleyen ilk tez danışmanım Genetik Anabilim Dalı emekli Öğretim üyesi Prof. Dr. Faruk BALCI 'ya, akademik ve bilimsel alandaki sorgulanamaz desteğini hiç esirgemeyen tüm laboratuvar deneyimlerimi sayesinde öğrendiğim Genetik Anabilim Dalı başkanı öğretim üyesi Prof.Dr. Hale ŞAMLI 'ya, Bu meşakkatli ve yorucu süreç sırasında hep yanımda olan, her daim sıkıntılarımı, sevinçlerimi, yorgunluğumu paylaşan, bilgilerini benden esirgemeyen çok sevgili hocalarım Doç. Dr. Deniz DİNÇEL ve Doç. Dr. Sena ARDIÇLI'ya katkılardan dolayı sonsuz minnetimi sunarım.

Desteklerinden dolayı başta Prof.Dr. Abdülkadir ORMAN olmak üzere Zootehni Anabilim Dalı öğretim üye ve elemanlarına, Tez çalışmamın uygulamaları esnasında bilgi ve materyal desteğini benden esirgemeyen Genetik Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Özden ÇOBANOĞLU'na, Doktora çalışmam sürecinde iş yerinde yokluğuma katlanıp tüm iş yükümü omuzlayan birim arkadaşlarım Veteriner Hekim Mahmut KAYAR ve Veteriner Hekim Merve ARDIÇ AVGAN 'a, tüm anlayışı ile desteğini hissettiren kurum amirim Veteriner Hekim İlker BEKTAŞ'a teşekkür ederim.

Bugünlere gelmemde maddi ve manevi desteğini hiç eksik etmeyen; en iyi koşullarda yetişmem için çaba gösteren, her fırsatta iyi ki varsınız dedirten annem ve babama, doktora eğitimim süresince, her an beni destekleyerek yüreklendiren, her yıldığımda yola devam etmemi sağlayan çok sevgili eşime, en önemlisi de eğitimim süresince ondan çaldığım zamana anlayış gösteren, kızım ASYA'ya çok teşekkür ederim.

9. ÖZGEÇMİŞ

İlköğretimi, Mehmetçik İlk Okulu'nda tamamladı. Orta ve lise öğretimini 1999-2003 eğitim-öğretim yılları arasında Uşak Orhan Deniz Anadolu Lisesi'nde tamamladı.

Lise öğrenimini bitirdiği 2003 yılında; Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi'ne girmeye hak kazanarak lisan eğitime başladı. 2009 yılında bölüm lisans eğitimimi tamamlayarak veteriner hekim unvanı aldı. Aynı yıl Uludağ Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Zootekni Anabilim Dalı doktora programında lisansüstü eğitime başladı.

2011 yılında KPSS sınav sonucu ile alım yapan Tarım ve Orman Bakanlığı Taşra Teşkilatına atanarak Afyonkarahisar İli Hocalar ilçesinde kamu veteriner hekimi olarak göreve başladı. Günümüzde ise Bursa İl Tarım ve Orman Müdürlüğü, Hayvan Sağlığı ve Yetiştiriciliği Şube Müdürlüğünde veteriner hekim olarak iş hayatına devam etmektedir. Evli ve bir kız çocuk annesidir.